

Chemoenzymatische Zugänge zu CMP - aktivierten Sialinsäure - Derivaten

Von der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover

zur Erlangung des Grades
Doktorin der Naturwissenschaften
- Dr. rer. nat. -

genehmigte Dissertation

von

Diplom - Chemikerin Sina Hartlieb
geboren am 20.09.1976 in Slawgorod

2007

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Oktober 2003 bis August 2007 unter der Anleitung von Herrn Prof. Dr. Andreas Kirschning am Institut für Organische Chemie der Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover angefertigt.

Hierdurch versichere ich an Eides Statt, dass ich diese Dissertation selbstständig verfasst und alle benutzten Hilfsmittel sowie eventuell zur Hilfeleistung herangezogene Institutionen vollständig angegeben habe.

Ich versichere an Eides Statt, dass diese Dissertation nicht schon als Diplom - oder ähnliche Prüfungsarbeit verwendet wurde.

Hannover, den 02.10.2007

Referent: Prof. Dr. A. Kirschning

Koreferent: Prof. Dr. M. Boysen

Tag der Promotion: 28.08.2007

Zusammenfassung

Sina Hartlieb

Chemoenzymatische Zugänge zu CMP - aktivierten Sialinsäure - Derivaten

Schlagworte: *N* - Acetylmannosamin – chemoenzymatische Umsetzung – Sialinsäure –
CMP - Sialinsäure

Ziel der vorliegenden Dissertation ist die chemoenzymatische Synthese von CMP - Sialinsäure - Derivaten, die zur Darstellung modifizierter Polysialinsäure eingesetzt werden sollen. Dabei ist es gelungen ausgehend von D - Glucose einen neuen, im Vergleich zu den literaturbekannten Synthesen deutlich flexibleren Zugang zu einer Vielzahl verschiedener Vorläufer der Sialinsäure zu etablieren. Dieser Syntheseweg wurde besonders intensiv für C - 4 modifizierte Mannosamin - Derivate optimiert. Sieben C - 4 - Modifikationen konnten erfolgreich in guten Ausbeuten und ausreichender Quantität synthetisiert werden. Highlight dieser Synthesesequenz ist die Bildung des *N* - Acetylaltrosamins, das in wenigen Stufen mit einer sehr guten Gesamtausbeute synthetisiert werden konnte und die Darstellung einer neuen Modifikation der Sialinsäure ermöglicht.

Die darauf aufbauende Synthese der Sialinsäure - Derivate erfolgte enzymatisch. Drei verschiedene Sialinsäure - Synthetasen unterschiedlicher Herkunft wurden hierfür eingesetzt. Die Aktivität und Substratbreite dieser Enzyme wurde an diversen Derivaten untersucht und miteinander verglichen.

Die Aktivierung der Sialinsäure - Derivate zu den entsprechenden CMP - Estern wurde am Beispiel der 7 - Fluoro - Sialinsäure untersucht. Für die enzymatische Umsetzung der Mannosamin - Derivate zu den entsprechenden aktivierten CMP - Sialinsäureestern wurde eine Eintopf - drei Enzyme - Reaktion am Beispiel des natürlichen Substrats etabliert. Dieses Verfahren wurde erfolgreich auf die Fluor - Talopyranose übertragen. Die Aktivität von drei verschiedenen CMP - Sialinsäure - Synthetasen aus unterschiedlichen Organismen wurde dabei untersucht und per LC - MS verglichen.

Abstract

Sina Hartlieb

Chemoenzymatic approaches to CMP - sialic acid derivatives

Key words: *N* - acetyl mannosamine – chemoenzymatic synthesis – sialic acid –
CMP - activated sialic acid

Aim of this Ph. D. thesis is the chemoenzymatic synthesis of CMP - sialic acid derivatives. These monomers can be used for preparation of modified polysialic acids. A synthetic route was successfully established starting from D - Glucose. This way enables, in comparison with literature - known procedures, a distinct flexible chemoenzymatic access to a diversity of sialic acids. This method was intensively optimized for C - 4 modified mannosamine derivatives. Seven C - 4 modifications could be synthesized in good yields and sufficient quantity. A highlight of this synthetic route is the formation of the *N*-acetyl altrosamine. This compound could be synthesized in few steps and excellent yields and enables an approach to modified sialic acids.

The synthesis of sialic acid modifications was performed using appropriate enzymes. Three different sialic acid synthetases with different modes of action were used. The specific activity and substrate specificity of these enzymes were examined and compared.

One - step activation of sialic acid derivatives to the corresponding CMP - esters was in detail examined for 7 - fluoro sialic acid. A one pot - three enzymes reaction was established for the enzymatic transfer of modified mannosamines to the corresponding activated CMP - sialic acids using the natural substrate. This procedure was successfully transferred to 5 - fluoro talopyranose. In this context three CMP - sialic acid synthetases cloned from different organisms were examined and the specific activity was compared.

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG UND GRUNDLAGEN	1
1.1	ALLGEMEINES	1
1.2	BIOSYNTHESE DER NEURAMINSÄURE	4
1.3	CHEMISCHE UND CHEMOENZYMATISCHE SYNTHESE VON NEURAMINSÄUREN	6
1.4	ENZYMATISCHE SYNTHESE VON CMP - NEURAMINSÄURE	10
1.5	CHEMISCHE SYNTHESE VON CMP - NEURAMINSÄURE	12
1.6	CHEMISCHE SYNTHESE VON O - SIALOSIDEN	14
1.7	ENZYMATISCHE SYNTHESE VON O - SIALOSIDEN	18
2	ZIELSETZUNG	23
3	BESCHREIBUNG UND DISKUSSION DER ERGEBNISSE	26
3.1	SYNTHESEPLAN ZU C - 8 MODIFIZIERTEN SIALINSÄURE - DERIVATEN AUSGEHEND VON N - ACETYLGLUCOSAMIN 13	26
3.1.1	<i>Strategie zur Synthese von C - 8 modifizierten Sialinsäuren ausgehend von N - Acetylglucosamin 13</i>	26
3.1.2	<i>Synthese des Silyl - geschützten Alkohols 70</i>	28
3.1.3	<i>Versuche zur Darstellung der Methyl - Verbindung 80</i>	30
3.1.4	<i>Versuche zur Darstellung der Desoxy - Verbindung 90</i>	32
3.1.5	<i>Versuche zur Darstellung von weiteren Derivaten von 70</i>	35
3.2	DARSTELLUNG VON C - 8 MODIFIZIERTEN SIALINSÄUREN AUSGEHEND VON GLUCOSAMIN - HYDROCHLORID 94	36
3.2.1	<i>Synthesestrategie zur Darstellung von C - 8 modifizierten Sialinsäuren ausgehend von Glucosamin - Hydrochlorid 94</i>	36
3.2.2	<i>Darstellung des per-O-acetylierten Phthalamids 95</i>	37
3.2.3	<i>Studien zur Ringöffnung von 95</i>	38
3.3	DARSTELLUNG VON C - 8 MODIFIZIERTEN SIALINSÄUREN AUSGEHEND VON D - GLUCOSE 112	41
3.3.1	<i>Strategie zur Darstellung von C - 8 modifizierten Sialinsäuren ausgehend von D - Glucose 112</i>	41
3.3.2	<i>Synthese des manno - konfigurierten Azids 113</i>	42
3.3.3	<i>Ringöffnung von 113</i>	43
3.4	SYNTHESE VON MODIFIZIERTEN SIALINSÄUREN AUSGEHEND VON D - GLUCOSE	45
3.4.1	<i>Überarbeitete Synthesestrategie zur Darstellung von modifizierten Sialinsäuren ausgehend von D - Glucose</i>	45
3.4.2	<i>Synthese der an Position 7 modifizierten Neuraminsäure -Derivate</i>	48

3.4.3	<i>Geänderte Synthesestrategie zur Darstellung der Cyano - und Amino - Derivate</i>	61
3.4.4	<i>Synthese von altro - Pyranose</i>	67
3.4.5	<i>Studien zur Darstellung von 6 - epi - Sialinsäure - Derivaten</i>	68
3.4.6	<i>Synthese der an Position 8 modifizierten Neuraminsäure</i>	72
3.5	ENZYMATISCHE UMSETZUNG VON N - ACETYLMANNOSAMIN -DERIVATEN ZU DEN ENTPRECHENDEN SIALINSÄUREN UND IHRE AKTIVIERUNG	77
3.5.1	<i>Optimierung der Reaktionsbedingungen zur direkten Umsetzung von N - Acetylmannosamin zu CMP - Sialinsäure</i>	78
3.5.2	<i>Enzymatische Umsetzung von Fluor - Mannosamin 218 zu Fluor - Sialinsäure 220 und CMP - Fluor - Sialinsäure 219</i>	80
3.5.3	<i>Enzymatische Umsetzung der N-Acetylmannosamin - Derivate zu den entsprechenden Sialinsäuren mittels Sialinsäure - Synthetase NeuB</i>	83
3.5.4	<i>Enzymatische Umsetzung der N-Acetylmannosamin - Derivate zu den entsprechenden Sialinsäuren mittels Aldolase</i>	85
4	ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK	87
5	EXPERIMENTELLER TEIL	92
5.1	ALLGEMEINES	92
5.2	DARSTELLUNG DER VERBINDUNGEN AUS KAPITEL 3	96
5.2.1	<i>Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3.1</i>	96
5.2.2	<i>Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3.3</i>	107
5.2.3	<i>Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3.4.2</i>	109
5.2.4	<i>Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3.4.3</i>	136
5.2.5	<i>Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3.4.4</i>	150
5.2.6	<i>Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3.4.5</i>	154
5.2.7	<i>Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3.4.6</i>	162
5.2.8	<i>Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3.5</i>	173

Symbole und Abkürzungsverzeichnis

Å	Angström
[α]	Drehwert
δ	chemische Verschiebung
Δ	Rückfluss
abs.	absolut
Ac	Acetyl
AIBN	Azobisisobutyronitril
APS	Ammoniumperoxiddisulfat
Äq.	Äquivalente
ATP	Adenosintriphosphat
Bn	Benzyl
Boc	<i>tert</i> - Butyloxycarbonyl
Bu	Butyl
Bz	Benzoyl
c	Konzentration
ca.	circa
CMP	Cytidinmonophosphat
CMP - Neu5Ac	Cytidinmonophosphat - 5 - <i>N</i> - Acetylneuraminsäure
COSY	Korrelationsspektroskopie
CTP	Cytidintriphosphat
d	dublett (^1H - NMR)
d	Tag
dd	doppeltes dublett (^1H - NMR)
DAST	Dimethylaminoschwefeltrifluorid
DC	Dünnschichtchromatographie
DCM	Dichlormethan
DEPT	distortionless enhancement by polarisation transfer
DMAP	<i>N,N</i> - Dimethylaminopyridin
DMF	Dimethylformamid
DMP	Dess - Martin - Periodinan
DMSO	Dimethylsulfoxid
DTT	Dithiothreitol
<i>E. coli</i>	Escherichia coli
EE	Essigsäureethylester
ESI	Elektronenspray - Ionisation
Et	Ethyl
h	Stunde(n)
H _{ax}	axiales H - Atom
H _{eq}	equatoriales H - Atom
His ₆ - tag	Sequenz aus sechs hintereinander folgenden Histidinmolekülen
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
Hz	Hertz
Im	Imidazol

i-Pr	isopropyl
IPTG	Isopropyl - β - D - thiogalactopyranosid
IR	Infrarot
<i>J</i>	Kopplungskonstante
kat.	katalytisch
kDa	Kilodalton
KDN	Ketodesoxyonulosonsäure
konz.	konzentriert
LB - Medium	Luria - Bertrani - Medium
LC - MS	Flüssigkeitschromatographie gekoppelt mit Massenspektrometrie
Lsg.	Lösung
m	multipllett (NMR - Analytik)
ManNAc	<i>N</i> - Acetylmannosamin
Me	Methyl
min	Minute(n)
N	normal
NCAM	Neurales Zelladhäsionsmolekül
Neu5Ac	5 - <i>N</i> - Acetylneuraminsäure
Neu5Gc	<i>N</i> - Glycolylneuraminsäure
NmB	<i>Neisseria meningitidis</i> der Serogruppe B
NMR	nuclear magnetic resonance
NOE	nuclear Overhauser enhancement
NTA	Nitrilotriacetat
ρ	primär (^{13}C - NMR)
<i>p</i> - TSA	<i>para</i> - Toluolsulfonsäure
PE	Petrolether
PEP	Phosphoenolpyruvat
Ph	Phenyl
PPase	Pyrophosphatase
PPi	Pyrophosphat
ppm	parts per million
PSA	Polysialinsäure
<i>q</i>	quartär (^{13}C - NMR)
R	Rest
R. B.	Reaktionsbedingungen
R _f	Retentionsfaktor
Rkt.	Reaktion
rpm	Umdrehungen pro Minute
RT	Raumtemperatur
s	singulett (^1H - NMR), sekundär (^{13}C - NMR)
s	Sekunde(n)
SDS	Natriumdodecylsulfat
SDS - Page	denaturierende Polyacrylamid - Gelelektrophorese
t	triplett (^1H - NMR), tertiär (^{13}C - NMR)
T	Temperatur
TASF	Tris - (dimethylamino) - sulfoniumdifluortrimethylsilicat
TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid

TBAI	Tetrabutylammoniumiodid
TBDPS	<i>tert</i> - Butyldiphenylsilyl
<i>tert</i>	tertiär
Tf	Trifluormethansulfonyl
THF	Tetrahydrofuran
TMEDA	N,N,N',N' - Tetramethylethyldiamin
Tris	Tris - (hydroxymethyl) - aminomethan
UDP	Uridindiphosphat
UDP - GlcNAc	Uridindiphosphat - N - Acetylglucosamin
V	Volt

1 Einleitung und Grundlagen

1.1 Allgemeines

Der Begriff Sialinsäure umfasst eine Familie von über fünfzig in der Natur vorkommenden Derivaten der Neuraminsäure - eines sauren Zuckers in Pyranoseform mit neun Kohlenstoffatomen, die ausgehend von Mikroorganismen, wie Bakterien und Viren, über primitive Organismen, wie den Echinodermaten (z. B. Seestern), bis zu den Vertebraten weit verbreitet sind. Die Sialinsäure spielt eine zentrale Rolle in vielen physiologisch und pathologisch wichtigen Prozessen, wie zelluläre Wiedererkennung, neuronale Transmission, Ionentransport, Reproduktion, Differenzierung, Maskierung und bakterielle und virale Infektion^{1,2,3}. Weiterhin werden durch Sialinsäure auch hochspezifische Prozesse, wie Zell - Zell - Interaktionen reguliert. Ein Beispiel dafür ist die Einwanderung von Leukozyten aus dem Blut in entzündetes Gewebe. Dieser Prozess wird durch die Wechselwirkung der Leukozyten mit den Endothelzellen ausgelöst und als Transmigration bezeichnet⁴. Auch einige pathogene Organismen exprimieren Neuraminsäure auf ihrer Oberfläche und treten über diese in Interaktion mit dem Wirtsorganismus. Das Expressionsmuster der verschiedenen Sialinsäure-derivate ist dabei sowohl von der Spezies als auch von der Zellsorte, dem Gewebetyp und vom Entwicklungsstadium des Organismus abhängig⁵.

Sialinsäuren spielen außerdem eine wichtige Rolle bei der Degradation von Glycoproteinen und Glycoprotein - tragenden Zellen in den Körperflüssigkeiten. Durch den Alterungsprozess, der mit dem Abbau terminaler Sialinsäuren einhergeht, werden

¹ a) T. Angata, A. Varki, *Chem. Rev.*, **2002**, 102, 439-469; b) M. J. Kiefel, M. von Itzstein, *Chem. Rev.*, **2002**, 102, 471-490.

² a) J. C. Paulson, *Trends Biochem. Sci.*, **1989**, 14, 272-276; b) P. R. Crocker, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **2002**, 12, 609-615; c) E. Saxon, C. R. Bertozzi, *Science*, **2000**, 287, 2007-2010; d) L. A. Lasky, *Science*, **1992**, 258, 964-969; e) R. Schauer, *Cell Biology Monographs*, Vol. 10, Springer, Wien, New York, **1982**.

³ a) M. Bomsel, A. Alfse, *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, **2003**, 4, 57-68; b) M. L. Allende, R. L. Proia, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **2002**, 12, 609-615; c) M. Mühlenhoff, M. Eckhardt, R. Gerardy-Schahn, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **1998**, 8, 558-564.

⁴ a) R. Schauer, *J. Glycoconjugate*, **2000**, 17, 485-499; b) R. Schauer; Plenum Press, New York, **1995**.

⁵ a) M. J. Parsons, J. R. Andrade, P. V. Patel, J. A. Cole, J. A. Smith, *Microb. Pathog.*, **1989**, 7, 63-72; b) H. P. Wirth, M. Yang, M. Karita, M. J. Blaser, *Inject. Immun.*, **1996**, 64, 4598-4605; c) F. Troy, *Glycobiol.*, **1992**, 2, 5-23.

z. B. Galaktosen demaskiert. Die desialylierten Proteine binden dann in der Leber an den Asialoglycoproteinrezeptor, der speziell terminale Galaktosen erkennt. Daraufhin werden die Proteine per Endozytose von den Hepatozyten aufgenommen und degradiert. Nach dem gleichen Prinzip funktioniert die Entfernung von alten Erythrozyten aus dem Blut. Auch das Ausbreiten von Bakterien im infizierten Gewebe wird aufgrund der Resistenz der Glycoproteine gegenüber Protease verhindert⁶.

Sialinsäuren beeinflussen die Konformation von Glykokonjugaten^{1c}. Dadurch erhöhen sie die thermische und strukturelle Stabilität von Glycoproteinen in der Zellmembran und vermindern die Gefahr einer proteolytischen Spaltung. So sind z. B. die Glycoproteine der Magenschleimhaut von Vertebraten aufgrund ihrer zahlreichen wasser- und ionenbindenden Sialinsäuren in der Lage, ein hochviskoses Gel auszubilden, das die Haut vor den niedrigen pH - Werten im Magenlumen schützt⁴. Zelloberflächen, die terminale Sialinsäuren enthalten, wechselwirken mit Rezeptoren, Hormonen, Enzymen, Toxinen, Viren und anderen pathogenen Organismen. Dadurch können sich die Viren an der Zelloberfläche lokalisieren und sie infizieren⁷.

Die am häufigsten in der Natur vorkommenden Derivate lassen sich von 5 - Acetamido-3,5 - didesoxy - D - glycerio - D - galacto - nonulosonsäure, Neu5Ac (**1**), ableiten (Abbildung 1.1). Sie kommen meistens in Deuterostomen sowie in bestimmten Bakterien und Viren vor.

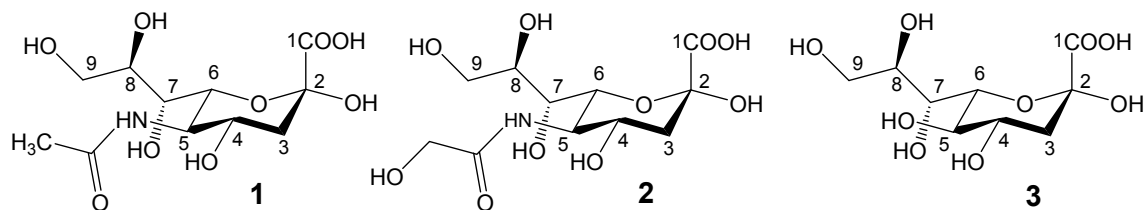


Abbildung 1.1: Strukturen von häufig vorkommenden Neuraminsäuren.

Weitere, ebenfalls in biologischen Systemen vorkommende, jedoch weniger allgemein bekannte Neuraminsäuren sind *N* - Glycolylneuraminsäure, Neu5Gc (**2**), die an C - 5

⁶ R. Schauer, *Trends Biochem. Sci.*, **1985**, 10, 357-360.

⁷ a) T. Kolter, K. Sandhoff, *Angew. Chemie*, **1999**, 111, 1632-1670; b) R. Schauer, J. P. Kammerling, *Glycoproteins II*, (Hrsg. J. Montreuil, J. F. G. Vliegenhart, H. Schachter) Elsevier, Amsterdam, **1997**, 243-402.

einen Glycolrest aufweist, und die Ketodesoxynonulosonsäure⁸, KDN (**3**), die deaminierte Form der Sialinsäure⁹.

Die natürliche Vielfalt der Sialinsäuren wird durch Acetylierung, Lactylierung und Phosphat - Bildung, meistens an C - 9, und Methylierung oder Sulfat - Bildung an C - 8 enorm erhöht. Manchmal können sogar mehrere Hydroxylgruppen in einem Molekül substituiert werden¹⁰.

Wie oben schon erwähnt, kommen Sialinsäuren in Glycoproteinen und Glycolipiden als terminale Zucker vor. Während in O - gebundenen Glycoproteinen häufig α - 2,6 - glycosidische Bindungen an N - Acetylgalaktosamin gefunden werden, sind die Sialinsäuren in N - gebundenen Glycoproteinen gewöhnlich über α - 2,3 - oder α - 2,6 - glycosidische Bindungen an Galaktose oder über α - 2,6 - glycosidische Bindungen an N - Acetylgalaktosamin gebunden. Auch disialylierte Strukturen, die untereinander α - 2,8 - oder α - 2,9 - glycosidische Verknüpfungen eingehen, sind als Bestandteile von Glycoproteinen und Glycolipiden gefunden worden¹¹.

Darüber hinaus gibt es einige oligomere und polymere Formen der Sialinsäure. Obwohl die Strukturdiversität bei den Monomeren sehr groß ist, sind die Hauptbestandteile der Polysialinsäuren (PSA) Neu5Ac (**1**), Neu5Gc (**2**) und KDN (**3**), welche durch α - 2,8 - oder α - 2,9 - glycosidische Bindungen zu Oligomeren und Polymeren verknüpft sind¹². Solche Polymere können aus mehr als 200 Monomeren bestehen und liegen in helikaler Form mit ca. neun Monomeren pro Windung vor¹³. Essentiell für diese

⁸ a) H. Yu, X. Chen, *Org. Lett.*, **2006**, 8, 2393-2396; b) A. S. Schashkov, L. N. Kosmachewskaja, G. M. Streshinskaja, L. I. Evtushenko, I. B. Naumova, E. Stackebrandt, *Carbohydr. Res.*, **2002**, 337, 2255-2261; c) A. S. Schashkov, L. N. Kosmachewskaja, G. M. Streshinskaja, L. I. Evtushenko, I. B. Naumova, *Mendeleev Commun.*, **2000**, 5, 167-168.

⁹ E. A. Voight, C. Rein, S. D. Burke, *J. Org. Chem.*, **2002**, 67, 8489-8499.

¹⁰ C. Taverning, R. Schauer, *Cell Mol. Life Sci.*, **1998**, 54, 1330-1349.

¹¹ a) M. Fukuda, *Molecular Glycobiology*, O. Hingual, Oxford University Press, Oxford, **1994**, 1-52; b) E. F. Hounsell, *Glycoprot. Analysis in Biomed.*, Humana Press, Totowa, **1993**, 1-15.

¹² H. J. Jennings, *In Carbohydrate-based Drug Discovery*, Wiley-VCH, Weinheim, **2003**, 357-380.

¹³ a) M. Mühlhoff, M. Eckhardt, R. Gerardy-Schahn, *Current Opinion in Structural Biology*, **1998**, 8, 558-564; b) H. Baumann, J. R. Brisson, F. Michon, R. Pon, H. J. Jennings, *Biochemistry*, **1993**, 32, 4007-4013; c) J. Häyrinen, H. J. Jennings, H. V. Raff, G. Rougon, N. Hanai, R. Gerardy-Schahn, J. Finne, *J. Infect Dis.*, **1995**, 171, 1481-1490.

Konformation ist dabei die Carboxygruppe¹⁴. Ab einer Anzahl von 11 Monomeren können die PSA intermolekulare, filamentöse Aggregate ausbilden¹⁵. Die am häufigsten vertretende Struktur ist das Homopolymer, das aus α -2,8-verknüpften Neu5Ac-Monomeren besteht. Diese PSA ist sowohl bei den Eukaryonten, ausschließlich als posttranslationale Glycanmodifikation des Neuralen Zelladhäsionsmoleküls (NCAM)^{16,17}, als auch in den prokaryontischen Polysaccharid- oder Lipopolysaccharidkapseln einiger pathogener Bakterien¹⁸, wie *E. coli*, *Pasteurella haemolytica A 2* und *Neisseria meningitidis* der Serogruppe B (NmB), weit verbreitet.

1.2 Biosynthese der Neuraminsäure

Die Biosynthese der Sialinsäure wurde in den 60er Jahren größtenteils von Roseman und Warren entschlüsselt und gehört zu den komplexesten Biosynthesen der Carbohydratkomponenten von Glycoproteinen und Glycolipiden.

Die Biosynthese^{1,19,20} der Neuraminsäure in den Eukaryonten ist in der Abbildung 1.2 dargestellt und startet im Cytosol mit der bereits aktivierten UDP-GlcNAc, die in einer durch das bifunktionelle Enzym UDP-GlcNAc-2-Epimerase/ManNAc-Kinase katalysierten Reaktion über ManNAc in das ManNAc-6-Phosphat (ManNAc-6-P) umgewandelt wird. Das unter ATP-Verbrauch gebildete ManNAc-6-P wird in einer Kondensationsreaktion mit Phosphoenolpyruvat (PEP) zu N-Acetylneuraminsäure-9-phosphat umgesetzt und anschließend zu N-Acetylneuraminsäure dephosphoryliert. Der Transfer der N-Acetylneuraminsäure auf die Glycokonjugate kann erst

¹⁴ H. J. Jennings, *J. Infect Dis.*, **1997**, 1, 158-164.

¹⁵ J. Toikka, J. Aalto, J. Yrinen, J. Finne, *J. Biol. Chem.*, **1998**, 273, 28557-28559.

¹⁶ C. Gorridis, H. Deagostini-Bazin, U. Finne, J. Finne, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **1983**, 112, 482-487.

¹⁷ J. Häyrynen, S. Haseley, P. Talaga, M. Mühlenhoff, J. Finne, J. Vliegenthart, *Molecular Immunology*, **2002**, 39, 399-411.

¹⁸ L. Kasper, R. Roy, F. Michon, C. Lugowski, H. J. Jennings, *Pure Appl. Chem.*, **1984**, 2, 5-23.

¹⁹ a) W. Zhao, T.-L. L. Chen, B. M. Vertel, K. J. Colley, *J. Biol. Chem.*, **2006**, 281, 31106-31118; b) I. C. Schoenhofen, D. J. McNally, J.-R. Brisson, S. M. Logan, *Glycobiol. Adv. Access*, **2006**, 16, 8-14; c) E. L. Kean, A. K. Münster-Kühbel, R. G. Gerardy-Schahn, *Biochem. Biophys. Acta*, **2004**, 1673, 56-65; d) M. A. Ringenberg, S. M. Steenbergen, E. Vimr, *Molec. Microbiol.*, **2003**, 50, 961-975.

²⁰ C. L. Jacobs, K. J. Yarema, L. K. Mahal, D. A. Nauman, *Methods in Enzymology*, **2000**, 327, 260-275.

nach der Aktivierung der Neuraminsäure erfolgen. Dies geschieht im Zellkern in einer von der CMP - Neu5Ac - Synthetase katalysierten Reaktion aus CTP und Neu5Ac. Anschließend wird die aktivierte Sialinsäure aus dem Zellkern in das Lumen des Golgi - Apparates transportiert, wo mit Hilfe der Sialyltransferase ein Transfer der Sialinsäure aus dem aktivierten Nukleotid CMP - Neu5Ac an einen Akzeptor - Zucker erfolgt. Die dabei gebildeten Glycoside der Sialinsäure sind an einer Vielfalt von Zell - Zell - Wechselwirkungen, einschließlich Maskierung von trypanosomaler Immunogenität, viraler Infektion und Replikation, sowie Zelladhäsion beteiligt²¹.

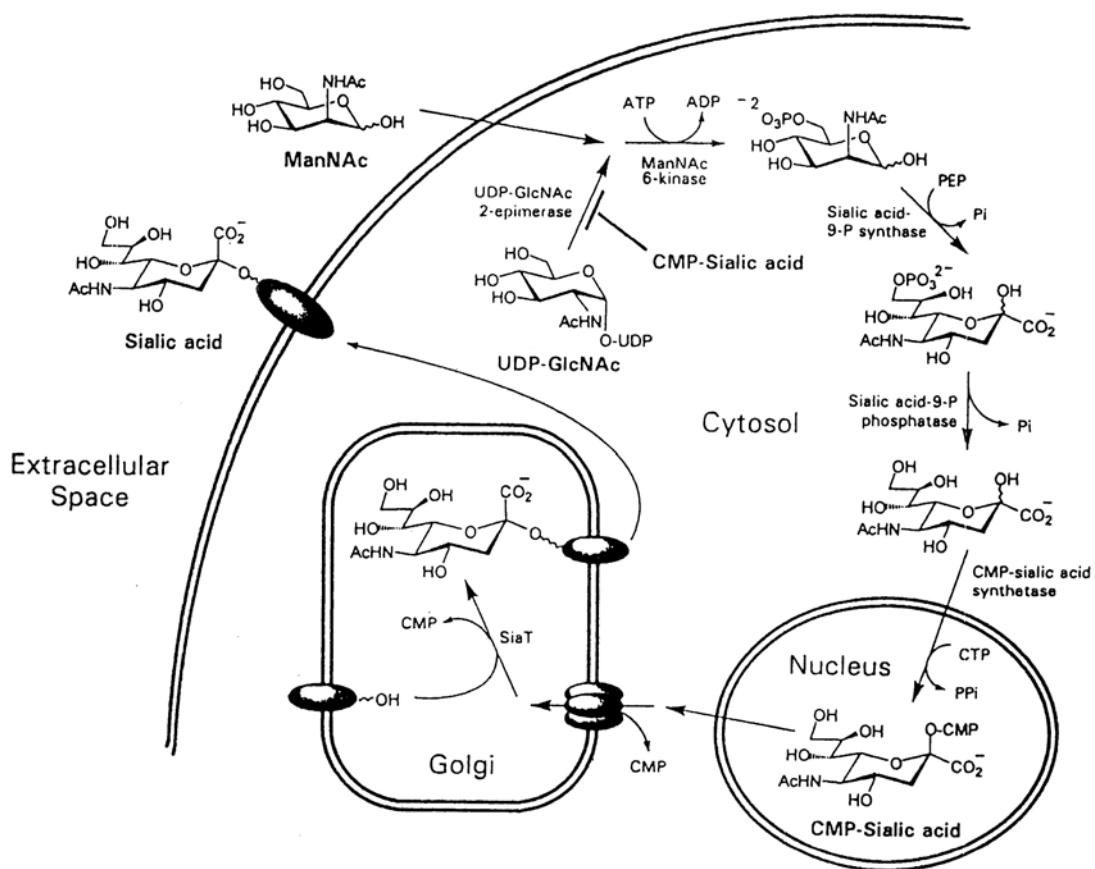


Abbildung 1.2: Biosynthese von Neu5Ac (1) in den Vertebraten, Abbildung übernommen von Naumann *et al*¹⁹.

Die Biosynthese der einzigen in Bakterien vorkommenden *N* - Acetylneuraminsäure weicht in Prokaryonten nur geringfügig von der in Eukaryonten ab. Die Neuraminsäure wird hier direkt aus ManNAc^{19d} und Phosphoenolpyruvat gebildet und ebenfalls durch eine Neu5Ac - Synthetase katalysiert. Anschließend wird die freie Sialinsäure mit Hilfe

²¹ B. A. Horenstein, M. Bruner, *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, 118, 10371-10379.

der CMP - Synthetase in die aktivierte CMP - Neu5Ac - Form überführt und auf einen Akzeptor übertragen. Aufgrund des Fehlens von intrazellulären Organellen ist hierbei kein Transportmechanismus erforderlich.

1.3 Chemische und chemoenzymatische Synthese von Neuraminsäuren

Die erste chemische Synthese von Neu5Ac (**1**) wurde 1958 von Gottschalk und Gornforth²² beschrieben. Sie beinhaltet die Umsetzung von *N* - Acetylglucosamin mit Oxalacetat in Gegenwart einer Base in gerade 1 % Ausbeute. Weitere synthetische Zugänge zur strukturell variierten *N* - Acetylneuraminsäure folgten dieser Route²³.

Y. Wu *et al.*²⁴ beschrieben 2000 eine Totalsynthese zur Darstellung einer komplett geschützten Sialinsäure, deren Schlüsselschritt eine Co(II) - katalysierte hetero - Diels - Alder - Reaktion zwischen Ethylgluoxylat und dem Dien **4** ist, welches in 5 Stufen ausgehend von der D - Glucose erhalten wird. Das in 62 % Ausbeute isolierte Diels - Alder - Produkt **5** wird in mehreren Schritten über die Verbindung **6** zu dem entsprechenden Sialinsäurederivat **7** umgesetzt.

²² A. Gottschalk, M. E. Firth, J. W. Gornforth, *J. Biol. Chem.*, **1958**, 68, 57-61.

²³ a) M. J. Kiefel, M. von Itzstein, *In Drug Design*, Z. J. Witczak, K. A. Nieforthm, Eds.; Elsevier: M. Dekker Inc.: New York, **1997**, 39-82; b) T. H. Chan, M. C. Lee, *J. Org. Chem.*, **1995**, 60, 4228-4232; c) P. Merino, A. Marra, A. Dondoni, *J. Am. Chem. Soc.*, **1994**, 116, 3324-3336; d) S. H. Chen, M. P. DeNinno, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, 110, 3929-3940.

²⁴ L.-S. Li, Y.-L. Wu, Y. Wu, *Org. Lett.*, **2000**, 2, 891-894.

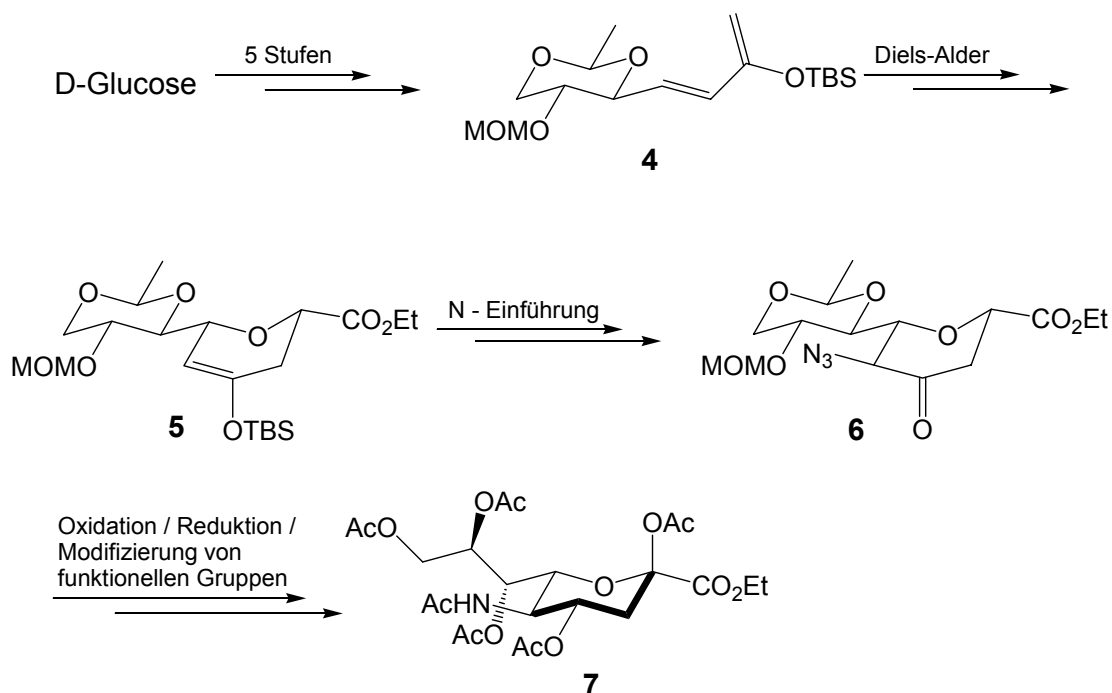


Abbildung 1.3: Chemische Synthese von Sialinsäure **7** ausgehend von D-Glucose, Methode nach Wu *et al.*²⁴.

Die meisten Synthesen zur Darstellung von Neu5Ac - Derivaten starten jedoch von der Sialinsäure selbst²⁵. Besonders die Gruppe von Erich Zbiral²⁶ befasste sich mit diesem Thema und stellte viele synthetische Vorschläge zur Darstellung von an Positionen 2, 4, 7, 8 und 9 modifizierten Sialinsäuren vor.

Die am häufigsten, nicht zuletzt aus Kostengründen benutzte Alternative zur Darstellung von Neu5Ac - Analoga ist die chemische Modifizierung von N - Acetylmannosamin (**8**) und ihre Umwandlung zu den entsprechenden Sialinsäure - Derivaten. Am einfachsten können die Aminogruppe und die Position 9 des C - 9 -Zuckers auf diesem Wege modifiziert werden. Die finale Umsetzung der N - Acetylmannosamin - Derivate zu den entsprechenden Sialinsäuren wurde chemisch durch Esterkondensation mit dem Kaliumsalz des Di - *tert* - Butyloxal-

²⁵ T. Honda, T. Masuda, S. Yoshida, M. Arai, S. Kaneko, M. Yamashita, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2002**, 12, 1925-1928.

²⁶ a) H. Brandstetter, E. Schreiner, E. Zbiral, *Monatshefte für Chemie*, **1988**, 119, 127-141; b) H. Brandstetter, R. Christian, R. Schauer, E. Zbiral, *Liebigs Ann. Chem.*, **1987**, 781-786; c) H. Brandstetter, E. Zbiral, *Monatshefte für Chemie*, **1985**, 116, 87-98; d) E. Schreiner, R. Christian, R. Schauer, E. Zbiral, *Liebigs Ann. Chem.*, **1989**, 151-165; e) S. Phadtare, W. Schmid, E. Zbiral, *Liebigs Ann. Chem.*, **1987**, 39-43; f) W. Schmid, R. Christian, G. Schulz, E. Zbiral, *Liebigs Ann. Chem.*, **1986**, 2104-2111; g) H. Brandstetter, E. Zbiral, *Liebigs Ann. Chem.*, **1983**, 2055-2065.

acetats²⁷ oder enzymatisch²⁸ durchgeführt. Für die enzymatische Umsetzung außerhalb der Zellmembran kommen im Hinblick auf die Biosynthese von Neu5Ac (**1**) drei Möglichkeiten in Frage. Die erste Möglichkeit ist die von der Neu5Ac - Aldolase katalysierte Umwandlung von *N* - Acetylmannosamin (**8**) mit dem Pyruvat (**9**). Die zweite beinhaltet eine enzymkatalysierte Kondensation von *N* - Acetylmannosamin (**8**) mit dem Phosphoenolpyruvat (**10**). Die letzte Methode ist die durch eine Neu5Ac - 9 - phosphat - Synthetase katalysierte Umsetzung von *N* - Acetylmannosamin - 6 - phosphat (**11**) zu dem entsprechenden Neu5Ac - 9 - phosphat (**12**), welches durch ein weiteres Enzym infolge der Phosphat - Spaltung in Neu5Ac (**1**) umgewandelt wird (Abbildung 1.4).

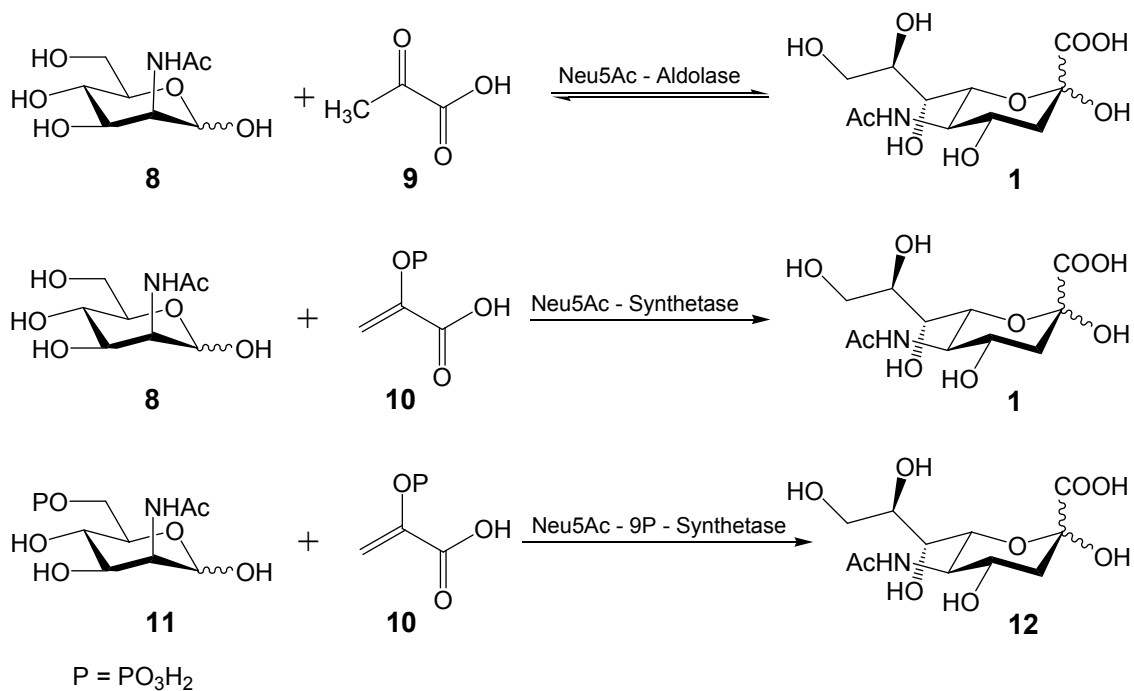


Abbildung 1.4: Enzymatische Darstellung von Neu5Ac (**1**) ausgehend von ManNAc (**8**) bzw. ManNAc - Phosphat (**11**).

Eine breite Anwendung fand jedoch aufgrund der besseren Enzymzugänglichkeit nur die erste Methode. Die aus *Escherichia coli* gewonnene Sialinsäure - Aldolase ist flexibel gegenüber einer Vielzahl von Hexosen, Pentosen und ihren Derivaten.

²⁷ a) R. Kuhn, G. Baschang, *Liebigs Ann. Chem.*, **1962**, 659, 156-163; b) I. A. Kozlov, S. Mao, Y. Xu, X. Huang, K. D. Janda, C.-H. Wong, *ChemBioChem.*, **2001**, 2, 741-746.

²⁸ M.-J. Kim, W. J. Hennen, H. M. Sweers, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, 110, 6481-6486.

Toleriert werden C - 2, C - 4, C - 5 und/oder C - 6 substituierte ManAc - sowie Stickstoffmodifikationen²⁹. Chen *et al.*³⁰ klonierten vor kurzem aus *E. coli* K - 12 (Unterstamm MG 1655) eine Wildtyp - Sialinsäure - Aldolase. Dieses Enzym katalysiert die Synthese von Disacchariden, welche ein Sialinsäurerest an dem reduzierenden Ende enthalten (Abbildung 1.5).

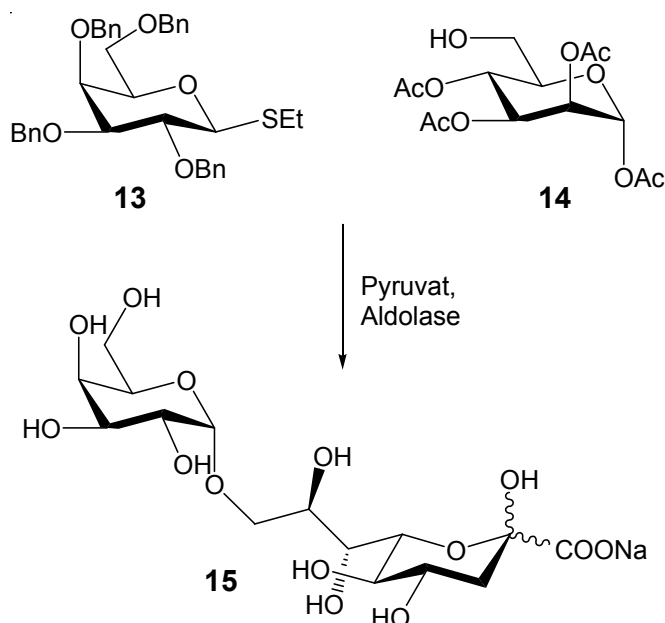


Abbildung 1.5: Enzymkatalysierte Synthese von Disacchariden.

Die Neu5Ac - Aldolase [E. C. 4.1.3.3] kommt in Bakterien und tierischen Geweben vor und katalysiert *in vivo* die Spaltung von Neu5Ac (1) in ManNAc (8) und Pyruvat (9). Um das Gleichgewicht *in vitro* auf die Seite des Produktes zu verschieben, muss das Pyruvat in einem sieben - bis zehnfachen Überschuss eingesetzt werden³¹.

²⁹ a) H. Yu, S. Huang, H. Chokhawala, M. Sun, H. Zheng, X. Chen, *Angew. Chem.*, **2006**, 118, 4042-4048; b) H. Yu, H. Chokhawala, R. Karpel, B. Wu, J. Zhang, Y. Zhang, Q. Jia, X. Chen, *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, 127, 17618-17619; c) H. Yu, R. Karpel, X. Chen, *Boorg. Med. Chem.*, **2004**, 12, 6427-6435; d) T. D. Machajewski, C.-H. Wong, *Angew. Chem.*, **2000**, 112, 1406-1430; e) Y. Pan, T. Ayani, J. Nadas, S. Wen, Z. Guo, *Carbohydr. Res.*, **2004**, 339, 2091-2100; f) G. M. Kong, M. Campbell, B. L. Mackey, M. von Itzstein, *Carbohydr. Res.*, **2001**, 332, 133-139; g) C. C. Lin, C.-H. Lin, C.-H. Wong, *Tetrahedr. Lett.*, **1997**, 38, 2649-2652; h) G. M. Kong, M. von Itzstein, *Carbohydr. Res.*, **1997**, 305, 323-329; i) T. Woodhall, G. Williams, A. Berry, A. Nelson, *Angew. Chem.*, **2005**, 44, 2109-2112; j) C. C. Hsu, Z. Hong, M. Wada, D. Franke, C. H. Wong, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2005**, 102, 9122-9126.

³⁰ S. Huang, H. Yu, X. Chen, *Angew. Chem.*, **2007**, 119, 2299-2303.

³¹ a) Y. Pan, T. Ayani, J. Nadas, S. Wen, Z. Guo, *Carbohydr. Res.*, **2004**, 339, 2091-2100;

Auch *N*-Acetylglucosamin (**16**) und chemisch modifizierte *N*-Acetylglucosamine können zu den entsprechenden Sialinsäure - Derivaten umgewandelt werden³². Da das *N*-Acetylglucosamin nicht von der Aldolase toleriert wird, kommt ein weiteres Enzym, die GlcNAc - 2 - Epimerase [E. C. 5.1.3.8], zum Einsatz, die *N*-Acetylglucosamin (**16**) zu dem C - 2 - Epimer **8** umsetzt. Die Problematik dieser Eintopf - Reaktion besteht darin, dass sowohl die enzymatische Epimerisation als auch die enzymkatalysierte Aldolkondensation reversible Prozesse darstellen. Das im Überschuss eingesetzte Pyruvat inhibiert überdies die GlcNAc - 2 - Epimerase. Dadurch ist die Produktion von *N*-Acetylmannosamin (**8**) auf diesem Weg oft wenig effizient.

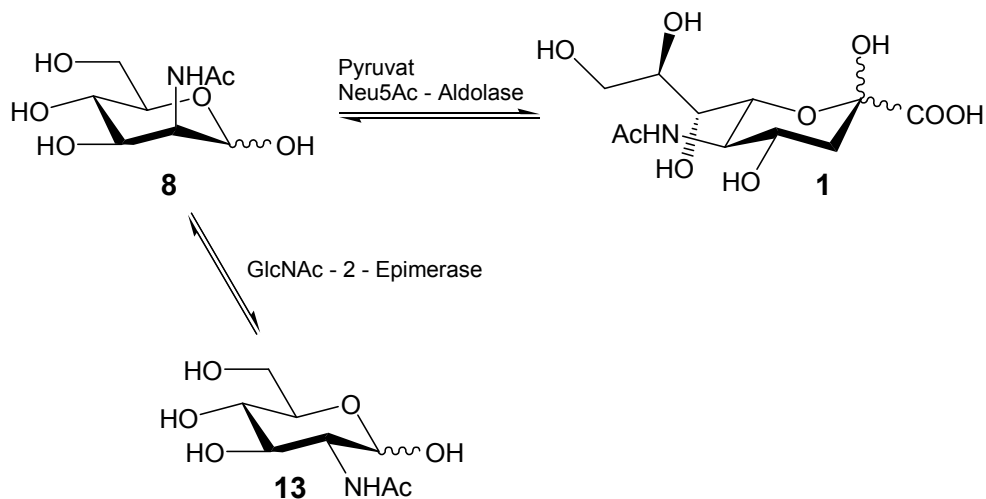


Abbildung 1.6: Enzymatische Synthese von Neu5Ac (**1**) ausgehend von *N*-Acetylglucosamin (**16**).

1.4 Enzymatische Synthese von CMP - Neuraminsäure

Während alle Monosaccharide in den Vertebraten als Uridin - oder Guanidin - Verbindung aktiviert sind, bildet die Sialinsäure als einzige das Cytidinmonophosphat - Nukleotid. Die erste präparative Synthese von CMP - Neu5Ac (**17**) wurde von Kean *et al.*³³ dargestellt und inzwischen verbessert. Die CMP - Aktivierung von Neu5Ac (**1**) erfolgt in Gegenwart von CMP - Neu5Ac - Synthetase [EC 2.7.7.43]. Das

b) R. J. Lins, S. L. Flitsch, N. J. Turner, E. Irving, S. A. Brown, *Angew. Chem.*, **2002**, 114, 3555-3557.

³² a) J.-O. Lee, J.-K. Yi, S.-G. Lee, S. Takahashi, B.-G. Kim, *Enzym. Microb. Technol.*, **2004**, 35, 121-125; b) I. Maru, *Carbohydr. Res.*, **1998**, 306, 575-578, c) B. U. Kragl, D. Gyax, O. Ghisalpa, C. Wandrey, *Angew. Chem., Int. Ed. Eng.*, **1991**, 30, 827-828.

³³ S. Roseman, L. Kean, *J. Biol. Chem.*, **1966**, 241, 5643-5650.

Enzym katalysiert dabei den nucleophilen Angriff des anomeren Sauerstoffs von β -Neu5Ac auf das α -Phosphat von CTP und erfordert den Zusatz von Mg^{2+} - oder Mn^{2+} -Kationen³⁴.

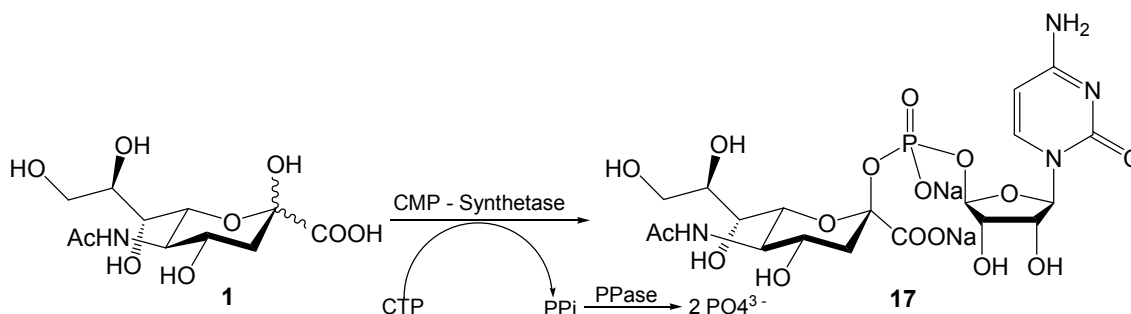


Abbildung 1.7: Enzymatische Synthese von CMP - Neu5Ac (**17**).

Während die enzymatische Aktivierung von Neu5Ac (**1**) zu CMP - Neu5Ac (**17**) in den letzten Jahren intensiv studiert und zu einem Routineprozess³⁵ etabliert wurde, ist ihre Übertragung auf die Sialinsäurederivate oder Strukturanaloga der Neu5Ac (**1**) nicht selbstverständlich³⁶. Der Grund hierfür liegt zum einen an der hohen Substratspezifität der bekannten CMP - Neu5Ac - Synthetasen, zum anderen aber auch am schlechten Zugang zu einer großen Proteinmenge³⁷.

Als mögliche Quellen für die CMP - Neu5Ac - Synthetase kommen sowohl Eukaryonten als auch Prokaryonten in Frage. Die aus dem Gewebe von Vertebraten stammende CMP - Neu5Ac - Synthetase ist oft instabil und weist nur eine geringe

³⁴ a) J. C. Feo-Manga, L. B. Rodriguez-Aparicio, M. A. Ferrero, A. Reglero, *Analyt. Chim. Acta*, **2006**, 564, 141-150; b) H. Yu, W. Ryan, H. Yu, X. Chen, *Biotech. Lett.*, **2005**, 28, 107-113; c) S.-G. Lee, J.-O. Lee, J.-K. Kim, *Biotech. & Bioeng.*, **2002**, 80, 516-524; d) M. Knorst, W. D. Fessner, *Adv. Synth. Catal.*, **2001**, 343, 698-710.

³⁵ a) J. Haverkamp, J. M. Beau, R. Schauer, *Hope Seylers Z. Physiol. Chem.*, **1979**, 360, 159-166; b) C. Auge, C. Gautheron, *Tetrahedron Lett.*, **1988**, 29, 789-790; c) E. S. Simon, M. D. Bednarski, G. M. Whitesides, *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, 110, 7159-7163; d) J. Thiem, P. Stangier, *Liebigs Ann. Chem.*, **1990**, 11, 1101-1105; e) S. L. Shames, E. S. Simon, C. W. Christopher, W. Schmid, G. M. Whitesides, L. L. Yang, *Glycobiology*, **1991**, 1, 187-191; f) G. J. Shen, J. L. Liu, C. H. Wong, *Biocatalyst*, **1992**, 6, 31-42; g) M. Kittelmann, T. Klein, U. Kragl, C. Wandrey, O. Ghisalba, *Appl. Mikrobiol. Biotechnol.*, **1995**, 44, 59-67; h) U. Kragl, T. Klein, D. Vasic-Racki, M. Kittelmann, O. Ghisalba, C. Wandrey, *Ann. New York Acad. Sci.*, **1996**, 799, 577-583.

³⁶ H. Yu, H. Yu, R. Karpel, X. Chen, *Biorg. & Medic. Chem.*, **2004**, 12, 6427-6435.

³⁷ J. L. Liu, G. J. Shen, Y. Ichikawa, J. F. Rutan, G. Zapata, W. F. Vann, C. H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, 114, 3901-39103.

spezifische Aktivität auf. Dadurch wird der Gebrauch der so isolierten Enzyme für präparative Zwecke signifikant eingeschränkt. Da hochsialylierte Mikroorganismen in der Regel pathogen sind, sind sie für eine direkte Enzymisolierung wenig geeignet³⁸. Die CMP - Neu5Ac - Synthetase wird daher kloniert und expremiert in nicht pathogenen Wirten. Kommerzialisiert wurde bis jetzt nur das rekombinante Enzym aus *E. coli* K1.

1.5 Chemische Synthese von CMP - Neuraminsäure

Wie bereits im Abschnitt 1.4 erwähnt, ist der enzymatische Prozess zur Bildung von CMP - Neu5Ac aufgrund der relativ hohen Substratspezifität der CMP - Synthetase nicht für alle Derivate der Sialinsäure und ihre Analoga geeignet. 1995 entwickelten Kajihara *et al.*³⁹ einen chemischen Syntheseweg zur CMP - Aktivierung, der verspricht, die Aktivierung von fast allen Sialinsäure - Derivaten zu den entsprechenden CMP - Sialinsäuren zu ermöglichen. Zwei Jahre später schlugen auch Halcomb *et al.*⁴⁰ einen analogen Weg vor, der am Beispiel von C - 5 - Derivaten der Neu5Ac getestet wurde. Sowohl Kajihara als auch Halcomb berichten von einer guten Reproduzierbarkeit ihrer Methoden. Beide Synthesen starten vom Cytidin (**18**) und unterscheiden sich nur in der Auswahl des zur Aktivierung benötigten Phosphoramidits **19**, welches, ausgehend von **18**, in vier Stufen dargestellt wird. Die Kupplung der penta - acetylierten Neu5Ac **20** mit dem Amidit **19** ergibt das Phosphit **21**, welches nach Oxidation und Entschützung in das Endprodukt **17** überführt wird.

³⁸ a) R. Brossmer, U. Rose, D. Kasper, T. L. Smith, H. Grasmuk, F. M. Unger, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **1980**, 96, 1282-1289; b) R. F. Haft, M. R. Wessels, M. F. Mebane, N. Conaty, C. E. Rubens, *Mol. Microbiol.*, **1996**, 19, 555-563; c) J. A. Wasylnka, M. J. Simmer, M. M. Moore, *Microbiology*, **2001**, 147, 869-877.

³⁹ T. Ebata, K. Koseki, Y. Kajihara, *J. Org. Chem.*, **1995**, 60, 5732-5735.

⁴⁰ M. D. Chappell, R. Halcomb, *Tetrahedron*, **1997**, 53, 11109-11120.

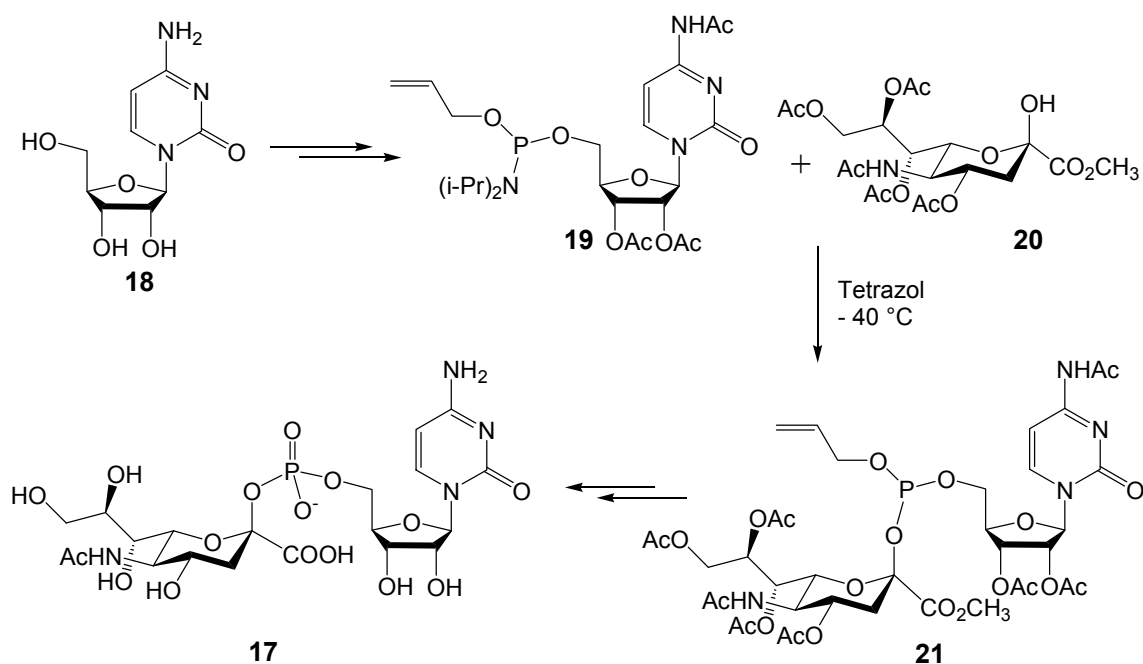


Abbildung 1.8: Chemische Synthese von CMP - Neu5Ac (**17**), Methode nach Halcomb *et al.*⁴⁰.

2005 wurde von Hashimoto *et al.*⁴¹ ein neuer synthetischer Weg zur Darstellung von CMP - Neu5Ac (**17**), CMP - Neu5Ac - Analoga und analogem Bisubstrat vorgestellt, das neben dem Donor - Substrat (CMP - Neu5Ac) ein Akzeptor - Substrat (Galactose) aufweist.

⁴¹ M. Izumi, K. Wada, H. Yuasa, H. Hashimoto, *J. Org. Chem.*, **2005**, 70, 8817-8824.

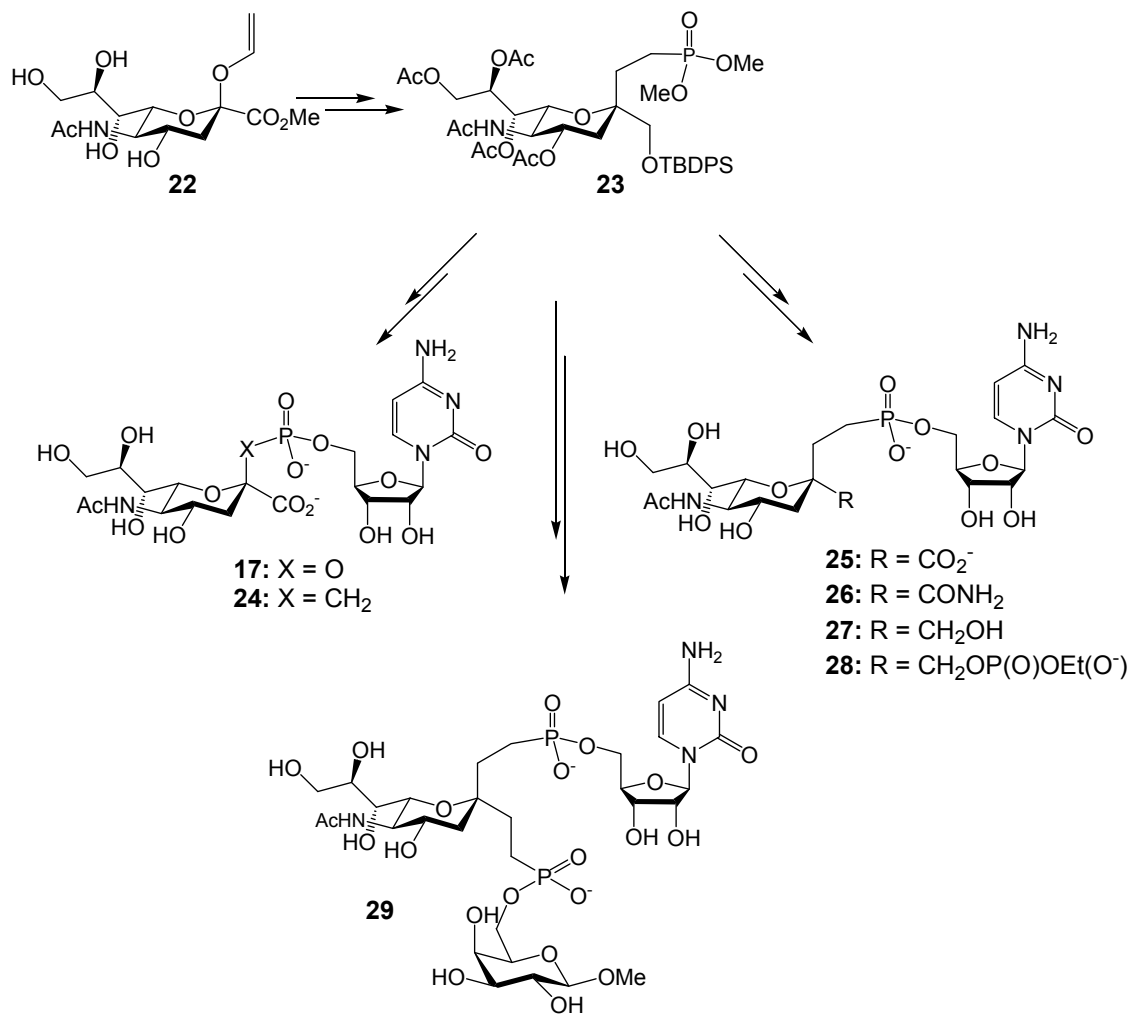


Abbildung 1.9: Chemische Synthese von CMP - Neu5Ac (17) und CMP - Neu5Ac - Analoga.

1.6 Chemische Synthese von O - Sialosiden

Während die Sialinsäure in der Natur ausschließlich α - glycosidisch als terminale Komponente an Glycoproteine und Glycolipide gebunden ist, ist die stereoselektive Bildung entsprechender Glycoside, auch Sialoside genannt, durch chemische Methoden viel komplizierter und stellt eine der größten Herausforderungen auf dem Gebiet der Sialinsäure dar. Generell werden die interglycosidischen Bindungen in einer Kondensationsreaktion zwischen dem vollständig geschützten Glycosyl - Donor, welcher eine Abgangsgruppe am anomeren Zentrum aufweist, und einem passend geschützten Glycosyl - Akzeptor gebildet⁴². In den einfachen Hexosen ist hauptsächlich die Gruppe an C - 2 des Glycosyl - Donors aufgrund ihres Nachbargruppeneffektes für die Stereokontrolle der Reaktion verantwortlich. Mit Neu5Ac als Glycosyl - Donor kann

⁴² A. Demchenko, G.-J. Boons, *Chem. Rev.*, **2000**, 100, 4539-4565.

dagegen das stereochemische Ergebnis der Glycosylierung wegen der fehlenden Funktionalität an C - 3 nur schwer beeinflusst werden. Weitere Faktoren, wie sterische Hinderung des anomeren Zentrums sowie der elektronenziehende Effekt der Carboxylatgruppe und die damit verbundene Neigung der Sialinsäure zu einer 2,3 - Eliminierung bzw. Glycalbildung während der Glycosylierung, erschweren den chemischen Prozess erheblich. Die häufig erfolgreich verwendeten Glycosyl - Donoren der Sialinsäure enthalten eine aktivierende Fluchgruppe an C - 2. Typisch sind Sialolyl - Halogenide, - Phosphite, - Xanthane und C - 2 - Thioderivate⁴³.

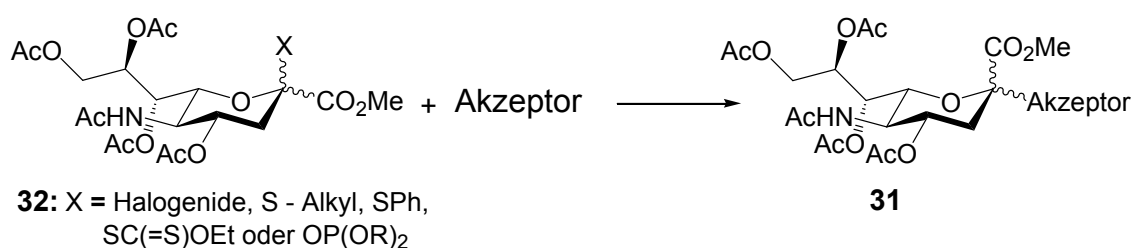


Abbildung 1.10: Übersicht zur Darstellung der Sialoside ausgehend von C - 2 - aktivierten Glycosyl - Donoren.

Die Glycosidsynthese mit Sialolyl - Halogeniden ist besonders schwierig, da eine außerordentlich leichte Eliminierung zum Glycal eintritt.

Bekannt sind auch Glycosyl - Donoren mit einer Hydroxy - Gruppe an C - 2, welche mit Hilfe eines in situ generierten Diarylsulfoxid(bis)triflat - Intermediats schnell zur C - 2 aktivierten Spezies **33** umgesetzt werden. Anschließende Reaktion mit einem geeigneten nukleophilen Akzeptor führt zu Bildung des O - Sialosids **35** in exzellenter α - Selektivität (10:1)⁴⁴.

⁴³ a) Z. Zang, I. R. Ollmann, X. Ye, R. Wischnat, T. Baasov, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, 121, 734-735; b) T. J. Martin, R. R. Schmidt, *Tetrahedron Lett.*, **1992**, 111, 8508-8510; c) H. Kondo, Y. Ichikawa, C. H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, 114, 8748-8750; d) A. Marra, P. Sinay, *Carbohydr. Res.*, **1989**, 187, 35-42; e) K. Okamoto, T. Kondo, T. Goto, *Tetrahedron Lett.*, **1986**, 27, 5229-5232; f) Y. Ito, M. Numata, M. Sugimoto, T. Ogawa, *J. Am. Chem.*, **1989**, 111, 8508-8510; g) J. C. Castro-Palomino, Y. E. Tsvetkov, R. R. Schmidt, *J. Am. Chem.*, **1998**, 120, 5434-5440.

⁴⁴ J. M. Habermann, D. Y. Gin, *Org. Lett.*, **2003**, 5, 2539-2541.

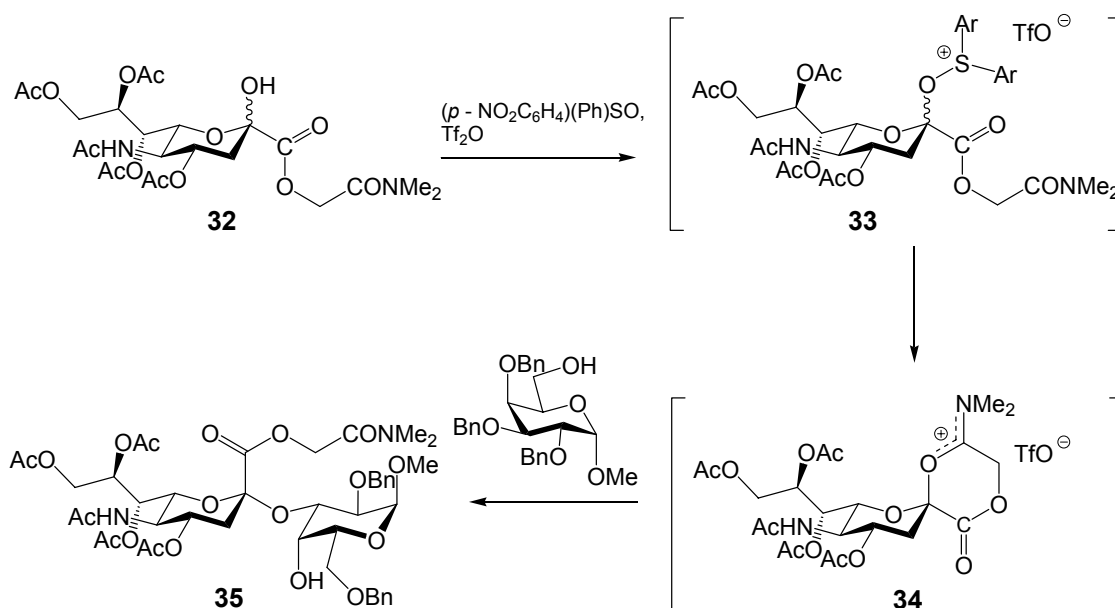


Abbildung 1.11: Darstellung von O - Sialosiden, Methode nach Gin *et al.*⁴⁴.

Die Umwandlung der C - 5 - Acetamido - Gruppe des Sialyldonors in Stickstoff - Derivate kann effektiv zur α - selektiven Sialylierung angewendet werden⁴⁵. Die direkte Kupplung der *N,N*-Diacetyl-, *N*-TFA- und *N*-Troc-sialyl - Donoren und Akzeptoren liefert α - 2,8 - Disialoside in mäßigen Ausbeuten und mit guter Selektivität⁴⁶. Die Synthese von α - 2,9 - Oligosialinsäuren mittels C - 5 geschützter Phosphitsialyl - Donor wurde von Lin *et al.*⁴⁷ beschrieben und liefert nur eine mäßige Selektivität ($\alpha/\beta = 1:1.3$). Takahashi *et al.*⁴⁸ entwickelten eine Methode zur effektiven, α - selektiven Sialylierung 5-*N*-4-*O* - carbonylgeschützter Sialyl - Donor zur Darstellung der α - 2,8 - Tetrasialoside.

⁴⁵ a) K. Tanaka, T. Goi, K. Fukase, *Synlett*, **2005**, 2958-2962; b) H. Tanaka, M. Adachi, T. Takahashi, *Chem. Eur. J.*, **2005**, 11, 849-862; c) M. Adachi, H. Tanaka, T. Takahashi, *Synlett*, **2004**, 609-614; d) H. Ando, Y. Koike, H. Ishida, M. Kiso, *Tetrahedron Lett.*, **2003**, 44, 6883-6886; e) C.-S. Yu, K. Niikura, C.-C. Lin, C.-H. Wong, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2001**, 40, 2900-2903; f) D. Meo, A. V. Demchenko, G.-J. Boons, *J. Org. Chem.*, **2001**, 66, 5490-5497.

⁴⁶ H. Tanaka, Y. Nishiura, M. Adachi, T. Takahashi, *Heterocycles.*, **2006**, 67, 107-112.

⁴⁷ C.-C. Lin, K.-T. Huang, C.-C. Lin, *Org. Lett.*, **2005**, 7, 4169-4172.

⁴⁸ H. Tanaka, Y. Nishiura, T. Takahashi, *J Am. Chem. Soc.*, **2006**, 118, 7124-7125.

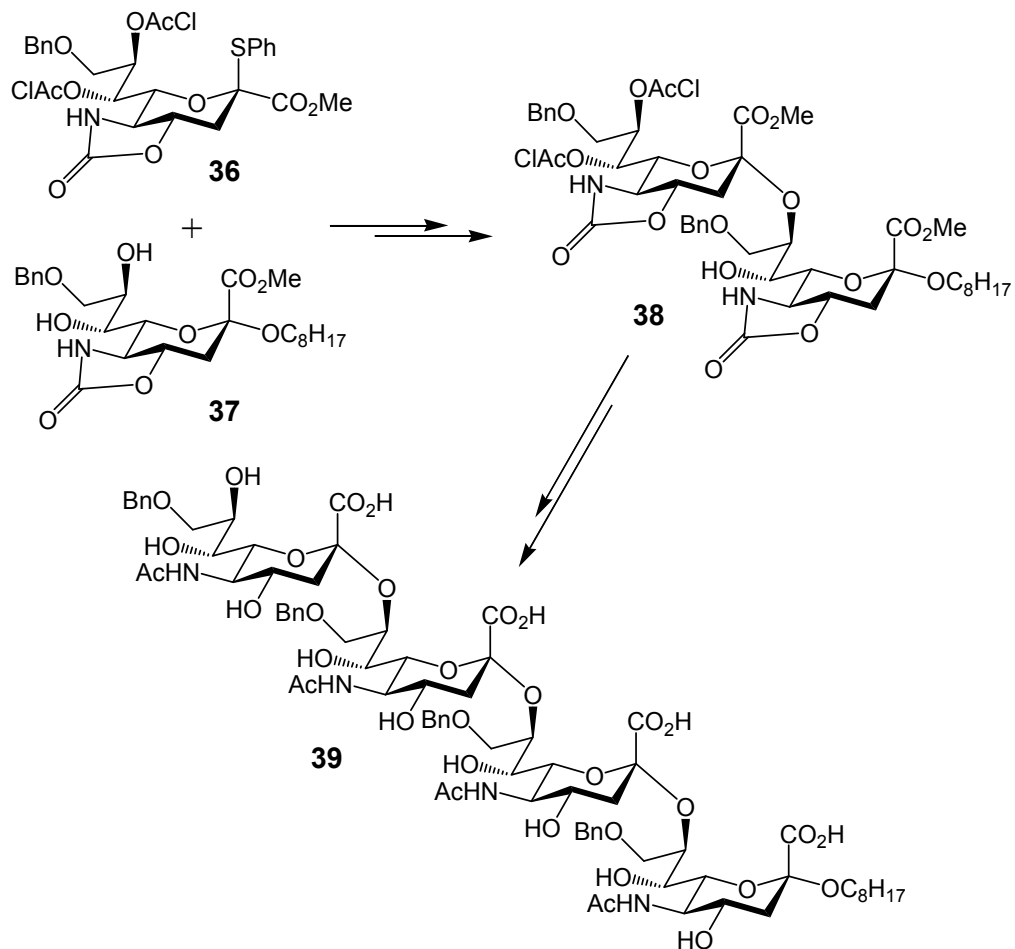


Abbildung 1.12: Darstellung des α - 2,8 - Tetrasialosids **39**, Methode nach Takahashi *et al.*⁴⁸.

Eine andere Methode beinhaltet die Einführung von C - 3 - Auxiliaren. Diese kontrollieren zum einen die Stereoselektivität der Glycosylierungsreaktion aufgrund von Nachbargruppeneffekten, zum anderen reduzieren sie die als Nebenreaktion auftretende 2,3 - Eliminierung. Während die equatorial stehenden Auxiliare die Bildung von α - Glycosiden begünstigen, werden die Glycosyl - Donoren mit axial stehenden Auxiliaren bevorzugt in die β - Glycoside überführt. Es werden mit dieser Methode oft gute anomere Stereoselektivitäten erzielt. Allerdings erweist sich die stereoselektive Einführung von C - 3 - Auxiliaren in vielen Fällen als sehr problematisch und führt oft zu Diastereomergemischen. Ein Beispiel für die Einführung von C - 3 - Auxiliaren und chemische Umsetzung der entsprechenden Verbindung ist in der Abbildung 1.13 dargestellt⁴².

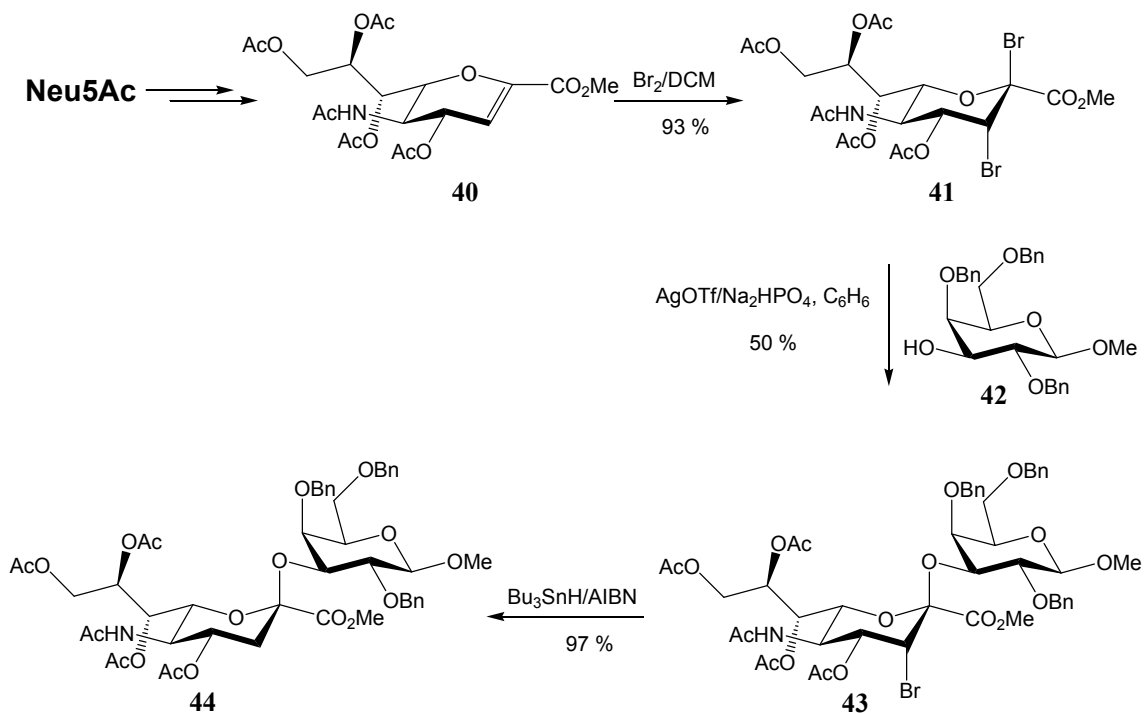


Abbildung 1.13: Stereoselektive Synthese von O - Sialosiden mit Hilfe von C - 3 - Auxiliaren.

Anwendung zur stereoselektiven Glycosylierung finden auch 3 - Oxo -, 3 - Thio - und 3 - Seleno - Auxiliare⁴².

1.7 Enzymatische Synthese von O - Sialosiden

Der enzymatische Prozess zur Darstellung von O - Sialosiden wird durch eine Sialyltransferase katalysiert und bietet einige Vorteile gegenüber den traditionellen chemischen Methoden. Dazu gehören z. B. regiospezifischer und stereospezifischer Verlauf der Glycosylierung sowie der Verzicht auf zahlreiche, mit Ausbeuteverlusten verbundenen Schutzgruppenmanipulationen. Auch komplexere Biomoleküle können mittels dieser Methode effizient als Substrate eingesetzt werden. Das Enzym katalysiert dabei den Transfer der CMP - aktivierten β - Form der Sialinsäure, die häufig als ein Sialyl - Donor fungiert, an den Akzeptor unter Inversion der Konfiguration des anomeren Zentrum und führt somit ausschließlich zur Bildung von α - gebundenen Glycosiden⁴⁹.

⁴⁹ a) X. Zeng, H. Uzawa, *Carbohydr. Res.*, **2005**, 340, 2469-2475; b) S. M. Steenbergen, C. A. Lichtensteiger, R. Caughlan, J. Garfinke, T. E. Fuller, E. Vimr, *Inf. & Immun.*, **2005**, 73, 1284-1294; c) X. Zeng, R. Yoshino, T. Murata, K. Ajsaka, T. Usui, *Carbohydr. Res.*, **2000**, 325, 120-131; d) X. Zeng, T. Murata, T. Usui, *Carbohydr. Res.*, **2003**, 23, 309-316.

Abhängig von der Natur der Transferase können, wie in der Abbildung 1.14 dargestellt, α - 2,3 - oder α - 2,6 - verknüpfte Sialoside gebildet werden⁵⁰.

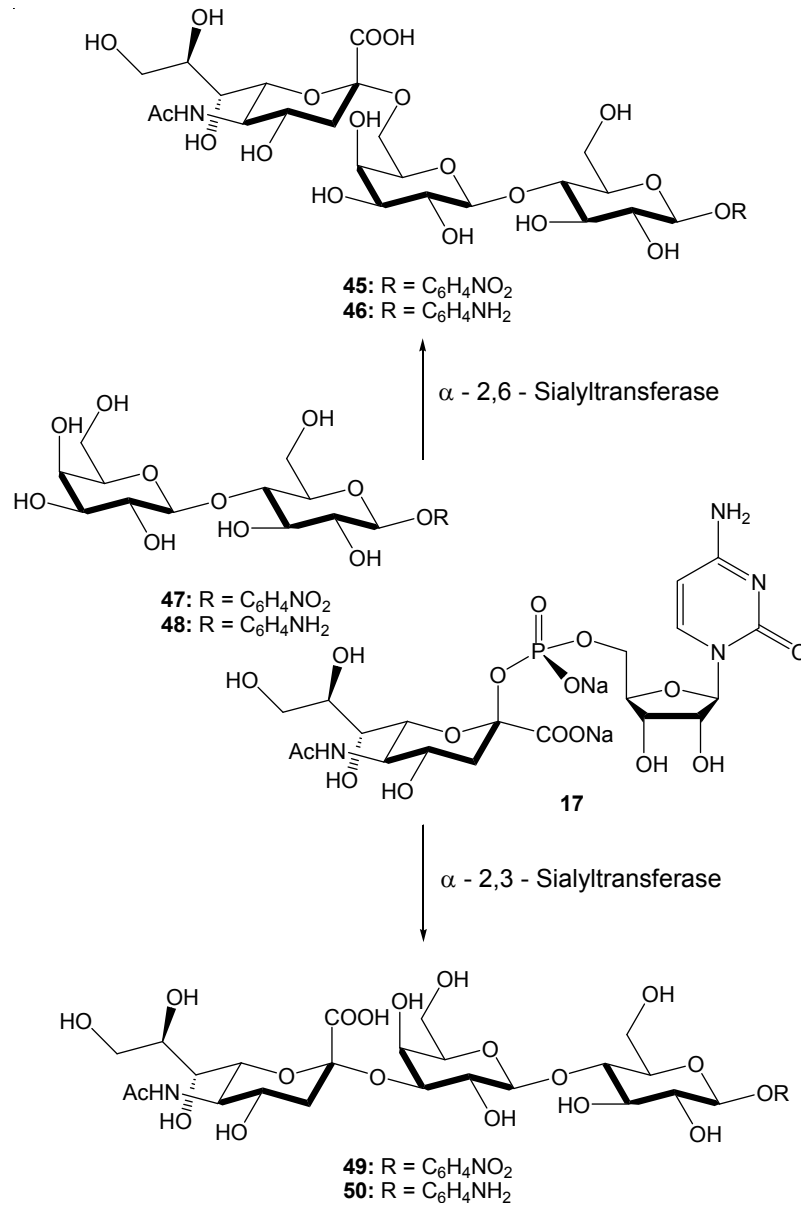


Abbildung 1.14: Enzymatische Synthese von O - Sialosiden mit Hilfe von Sialyltransferasen, Methode nach Uzawa *et al.*⁵⁰.

Chen *et al.*⁵¹ verwendeten die aus *Photobakterium damsela* stammende α - 2,6 - Sialyltransferase (Pd2, 6ST) und aus *Pasteurella multocida* isolierte

⁵⁰ a) X. Zeng, Y. Sun, H. Ye, J. Liu, X. Xiang, B. Zhou, H. Uzawa, *Carbohydr. Res.*, **2007**, 342, 1244-1248; b) X. Zeng, Y. Sun, H. Uzawa, *Biotechnol. Lett.*, **2005**, 27, 141-145.

⁵¹ H. Yu, X. Chen, *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, 8, 2393-2396.

α - 2,3 - Sialyltransferase (PmST1) in zwei nacheinander folgenden Eintopf - zwei Enzyme- Verfahren zur Darstellung eines ungewöhnlichen Tetrasacharids **53** mit drei Sialinsäure - Resten.

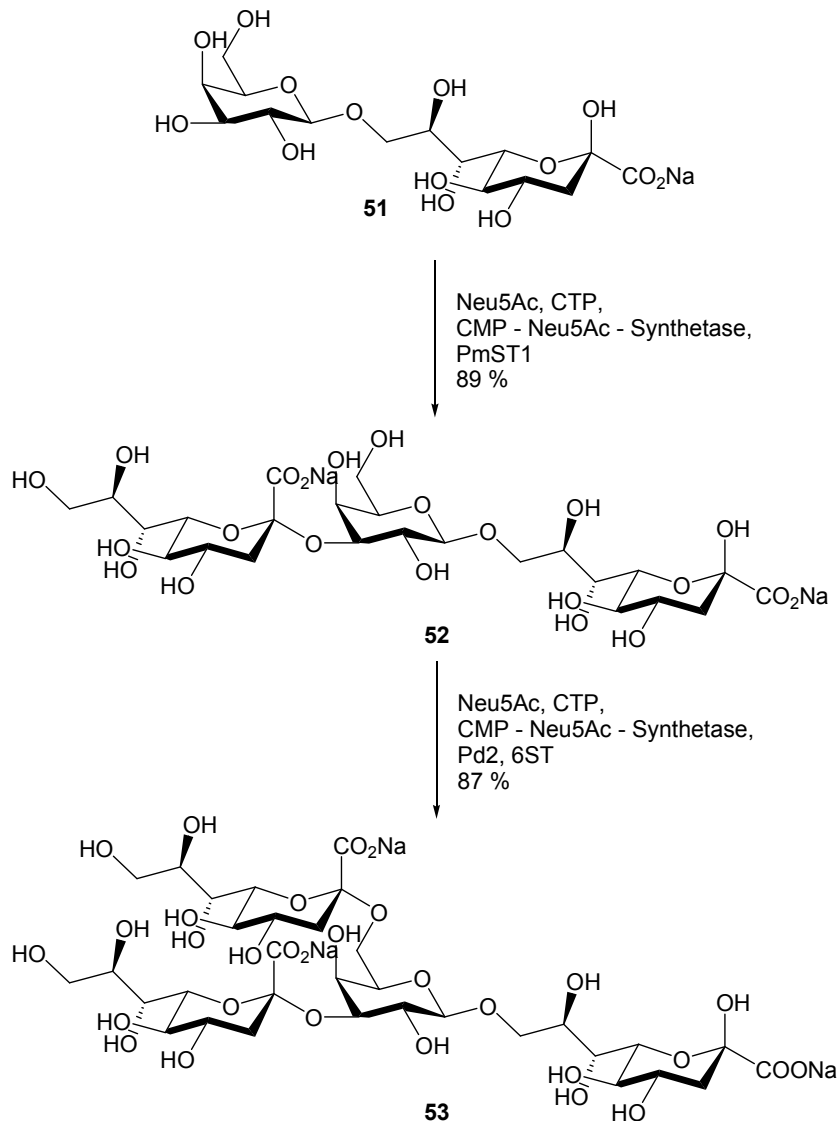


Abbildung 1.15: Darstellung des Tetrasacharids **53**, Methode nach Chen *et al.*⁵¹.

Die Einzigartigkeit dieser Enzyme besteht darin, dass sie in der Lage sind nicht nur strukturell modifizierte Akzeptoren⁵², sondern auch CMP - Derivate mit funktionalisierten Neu5Ac - Resten⁵³ umzusetzen.

⁵² a) S. Mehta, M. Gilbert, W. W. Wakartchyk, D. M. Whitfield, *Org. Lett.*, **2000**, 2, 751-753; b) G. Baisch, R. Ohrlie, *Bioorg. Med. Chem.*, **1998**, 6, 1673-1682; c) E. C. Rodrigues, L. A. Marcaurelle, C. R. Bertozzi, *J. Org. Chem.*, **1998**, 63, 7134-7135.

⁵³ M. D. Chappell, R. Halcomb, *J. Am Chem. Soc.*, **1997**, 119, 3393-3394.

Viele Transferasen wurden inzwischen isoliert, identifiziert und auf ihre Substratspezifität untersucht. Während die aus den Säugetieren stammenden Enzyme oft nur ein geringes Substratspektrum aufweisen und somit die Nützlichkeit dieser Katalysatoren für synthetische Zwecke stark limitieren, zeigen die aus den Bakterien isolierten Sialyltransferasen ein deutlich breiteres Spektrum an Substratspezifität⁵⁴. Die Donor- und Akzeptorspezifität nur einer Sialyltransferase, der von *N. meningitidis*, wurde ausreichend untersucht und auf ihre Nützlichkeit überprüft.

Die Bildung von O-Sialosiden kann auch mit Hilfe von Sialidasen realisiert werden. Sialidasen sind Glycohydrolasen und katalysieren die Freisetzung von den an Glycolipide, -proteine und Polysaccharide gebundenen Sialinsäuren. Mit Hilfe von Sialidasen werden die Glycoside der Sialinsäure infolge einer *trans*-Glycosidierung dargestellt. Die erste Transformation dieser Art wurde von Thiem *et al.*⁵⁵ beschrieben. Sie benutzten eine immobilisierte Sialidase und *para*-Nitrophenyl-Neu5Ac (**54**) als Glycosyl-Donor. Als Akzeptor wurden mehrere Galaktoside eingesetzt. Auch hier ist die Wahl des Enzyms für die Natur der glycosidischen Bindung entscheidend. Aus *Clostridium perfringens*, *Arthrobacter ureafaciens* und *Vibrio cholerae* gewonnenen Sialidasen ergeben hauptsächlich α -2,6-gebundene Glycoside **57**. Die aus *Newcastle disease* isolierten Enzyme bilden dagegen bevorzugt α -2,3-verknüpfte Sialoside **56**.

⁵⁴ M. Cieslewicz, S. Steenbergen, E. R. Vimr, *J. Ind. Microbiol.*, **1995**, 15, 352-360.

⁵⁵ a) D. Schmidt, B. Sauerbrei, J. Thiem, *J. Org. Chem.*, **2000**, 65, 8518-8526, a) B. Sauerbrei, J. Thiem, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **1991**, 30, 1503-1505.

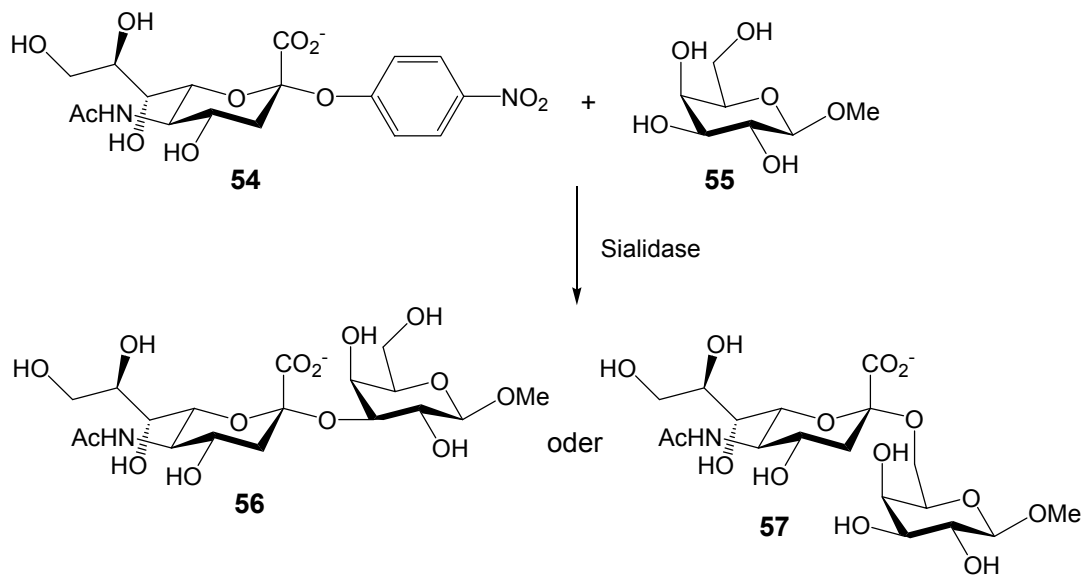


Abbildung 1.16: Enzymatische Synthese von O - Sialosiden mit Hilfe von Sialidasen.

2 Zielsetzung

Polymere Kohlenhydrate gehören zu einer Klasse von Verbindungen, aus denen prinzipiell Biomaterialien für das tissue engineering hergestellt werden können. Als Bestandteil des Neuronalen Zell - Adhäsions - Molekül ist die Polysialinsäure (PolySia) besonders gut zu diesem Zweck geeignet, weil die daraus hergestellten Implantate möglicherweise nur eine schwache Immunabwehr im Körpers verursachen. Aufgrund der hohen Wasserlöslichkeit der Polysialinsäure können auf der Basis dieses Polysaccharids hergestellten Biomaterialien in dieser Form nicht als künstliches Gewebe eingesetzt werden. Modifizierung der PolySia kann zu einer signifikanten Reduzierung der Wasserlöslichkeit und zur Verbesserung der mechanischen Eigenschaften führen. Diese Derivate können in der Zukunft als Gerüstmaterialien für künstliche Gewebe eingesetzt werden.

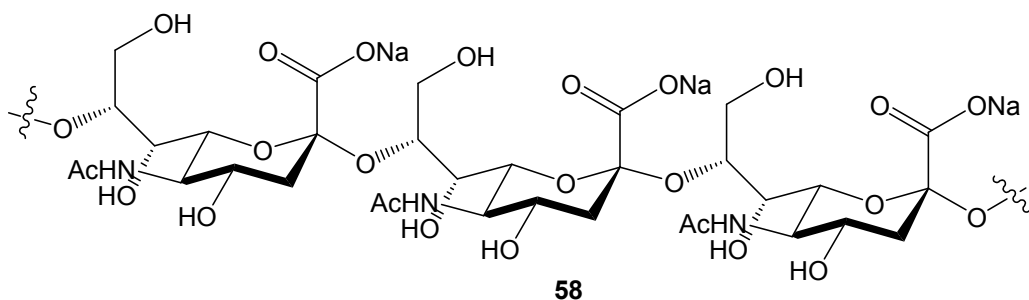


Abbildung 2.1: α - 2,8 - Polysialinsäure (58)

Die Synthese der Polysialinsäure - Derivate kann über eine direkte chemische Modifizierung der Polysialinsäure⁵⁶ oder durch Modifizierung monomerer Bausteine und deren anschließende enzymkatalysierte Verknüpfung zum Polymer erfolgen. Zur Verknüpfung muss die Sialinsäure in aktivierter Form des CMP - Esters vorliegen und kann erst dann durch eine Polysialyl - Transferase übertragen werden. Die modifizierten Sialinsäure - Monomere können ihrerseits sowohl chemisch, ausgehend von der freien Sialinsäure, als auch chemoenzymatisch, ausgehend von *N* - Acetylmannosamin, dargestellt werden.

⁵⁶ Dissertation in Vorbereitung, Dipl.- Chem. Silke Berski, Institut für Organische Chemie, Hannover.

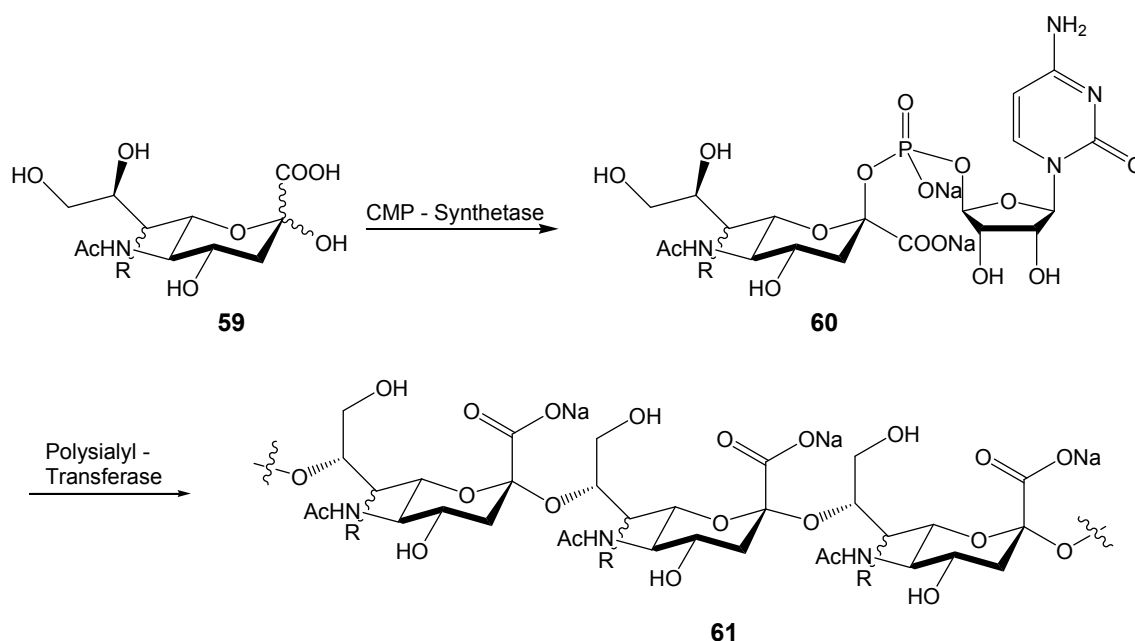


Abbildung 2.2: Mögliche Darstellung von α -2,8-Polysialinsäure-Derivaten am Beispiel von an Position 7 derivatisierter Sialinsäure.

Im Rahmen dieses Teilprojektes soll ein flexibler chemoenzymatischer Zugang zu einer Sammlung von modifizierten Sialinsäure-Monomeren ausgehend von einem preisgünstigen Startmaterial etabliert werden. Der erarbeitete Syntheseweg soll eine äquivalente bzw. bessere Alternative zu den bereits bestehenden Synthesen darstellen und die Bildung von neuen Derivaten ermöglichen. Die Arbeit soll sich hauptsächlich auf die Synthese der schwer zugänglichen Positionen 7 und 8 konzentrieren. Während die literaturbekannte Darstellung von C-8 modifizierten Sialinsäuren ausschließlich von der freien Sialinsäure (1) ausgeht⁵⁷, ist die Derivatisierung der Position 7 ausgehend von Neu5Ac (1) besonders schwierig⁵⁸. Aus diesem Grund werden die C-7-Derivate aus an Position 4 verändertem *N*-Acetylmannosamin (8) chemoenzymatisch hergestellt^{59,60}.

⁵⁷ a) H. Brandstetter, E. Zbiral, *Liebigs Ann. Chem.*, **1983**, 12, 2055-2274; b) T. Mijazaki, H. Sakakibara, Y. Kajihara, *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, 122, 5678-5694.

⁵⁸ a) D. Kong, M. von Itzstein, *Tetrahedron Letters*, **1995**, 36, 957-960; b) M. Hartmann, R. Christian, E. Zbiral, *Liebigs Ann. Chem.*, **1990**, 83-91; c) E. Schreiner, R. Christian, E. Zbiral, *Liebigs Ann. Chem.*, **1990**, 93.

⁵⁹ a) R. Thomson, M. von Itzstein, *Carbohydr. Res.*, **1995**, 274, 29-44; b) T. Honda, T. Masuda, S. Yoshida, M. Arai, Y. Kobayashi, M. Yamashita, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2002**, 12, 1921-1924.

⁶⁰ R. L. Halcomb, W. Fitz, C.-H. Wong, *Tetrahedron: Asymmetry*, 5 (12), **1994**, 2437-2432.

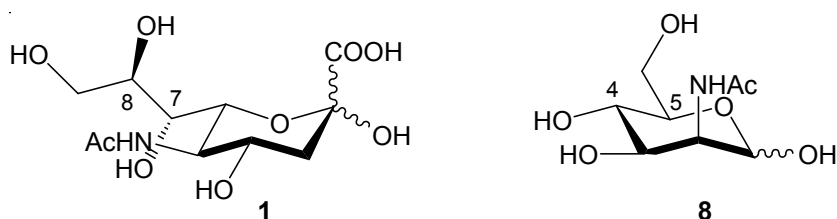


Abbildung 2.3: Neu5Ac (1) und *N*-Acetylmannosamin (8)

Die gebildeten Sialinsäure - Derivate sollen anschließend enzymatisch zu den entsprechenden CMP - Estern umgesetzt werden. Hierfür sollen die von der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. R. Gerardy - Schahn⁶¹ zur Verfügung gestellte CMP - Sialinsäure - Synthetasen auf ihre Substratbreite getestet werden.

Die C - 8 modifizierte Sialinsäuren sind besonders interessant, da ihre Nucleotide nicht mehr in der Lage sind die 2,8 - verknüpfte Polysialinsäure zu bilden. Die Inhibitorwirkung dieser Substanzen gegenüber von α - 2,8 - Polysialyltransferasen könnte zur Klärung des Wirkungsmechanismus dieser Enzyme in weiteren Projekten untersucht werden. Weiterhin könnten C - 8 derivatisierte Sialinsäuren zur gezielten Steuerung der Polymerkettenlänge bei der biotechnologischen Herstellung von α - 2,8 - Polysialinsäuren eingesetzt werden.

⁶¹ Institut für Zelluläre Chemie, Medizinische Hochschule Hannover.

3 Beschreibung und Diskussion der Ergebnisse

3.1 Synthesepfad zu C - 8 modifizierten Sialinsäure - Derivaten ausgehend von N - Acetylglucosamin 13

3.1.1 Strategie zur Synthese von C - 8 modifizierten Sialinsäuren ausgehend von N - Acetylglucosamin 13

Als Startpunkt zur Synthese von C - 8 modifizierten Sialinsäuren dient N - Acetylglucosamin **13**, das nach per-O-Benzilylierung zu **63** und durch Thioacetalbildung in den sekundären Alkohol **64** transformiert werden soll. Die Darstellung von Verbindung **64** ist ebenfalls durch einen Umweg über die Pyranose **65** denkbar, welche durch selektive Entschützung des Benzylethers **63** dargestellt werden können.

Zur Bildung von Verbindung **64** könnten nun ausgehend von Pyranose **65** zwei Wege beschritten werden. Zum einen kann sie direkt aus **63** über Dithioacetale durch eine saure Umacetalisierung gebildet werden, zum anderen kann das benzylierte Halbacetal **65** auch durch Natriumborhydrid - Reduktion in ein Diol überführt werden, dessen Hydroxygruppen sich z. B. als Silylether differenzieren lassen sollten. Derivatisierung, Entschützung des Dithioacetals bzw. Esterpaltung/Oxidation der über **67** zugänglichen Verbindungen und nachfolgende katalytische Hydrierung sollte dann das derivatisierte N - Acetylglucosamin ergeben, welches entweder enzymatisch über Neuraminsäurealdolasen mit Pyruvat über eine vorgeschaltete basische Epimerisierung⁶² zur *manno* - konfigurierten Verbindung oder, falls die Derivate nicht als Substrat akzeptiert werden, chemisch mit dem Kaliumsalz von Di - *tert* - butyloxalacetat zu den entsprechenden N - Acetylneuraminsäure - Derivaten umgesetzt werden sollte^{63,64}. Diese Strategie bietet den Vorteil, die gewünschten Produkte in wenigen Stufen ausgehend von dem preisgünstigen N - Acetylglucosamin herstellen zu können. Überdies sind die aufwendigen mehrstufigen Schutzgruppenmanipulationen, die notwendig sind, um die Sialinsäure in Position 8 zu selektieren,

⁶² W. Blayer, L. Dawson, *Biotechnol. Bioeng.*, **1999**, 66, 131-136.

⁶³ R. Kuhn, G. Baschang, *Liebigs Ann. Chem.*, **1962**, 659, 156-163.

⁶⁴ M. P. DeNinno, *Synthesis*, **1991**, 583-593.

deutlich vereinfacht. Ein Nachteil dieses Zugangs besteht darin, dass die Derivatisierung - und somit die Aufspaltung der Synthese in Einzelsynthesen der gewünschten Produkte - auf einer relativ frühen Stufe und vor der aufwendigen Verlängerung zur 2 - Nonulosonsäure erfolgt.

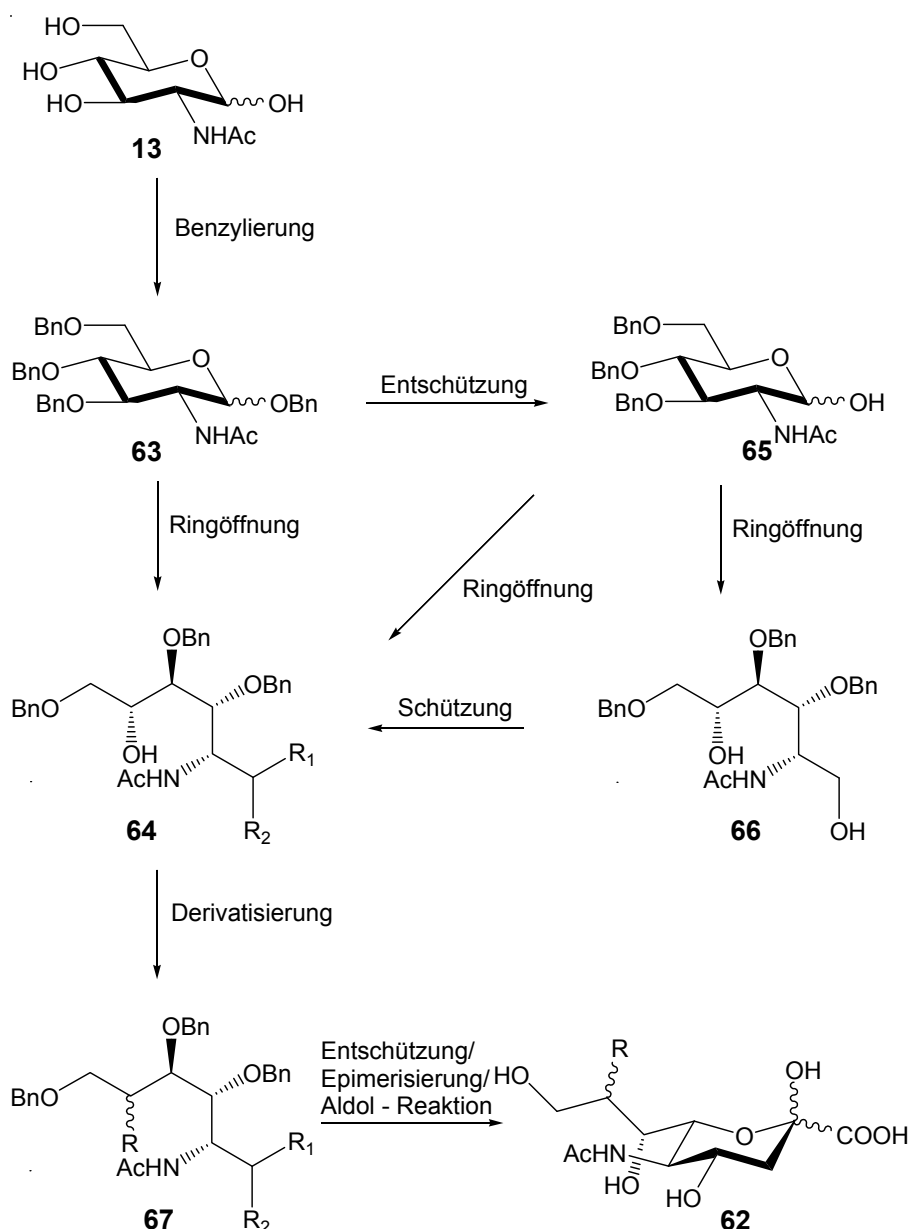
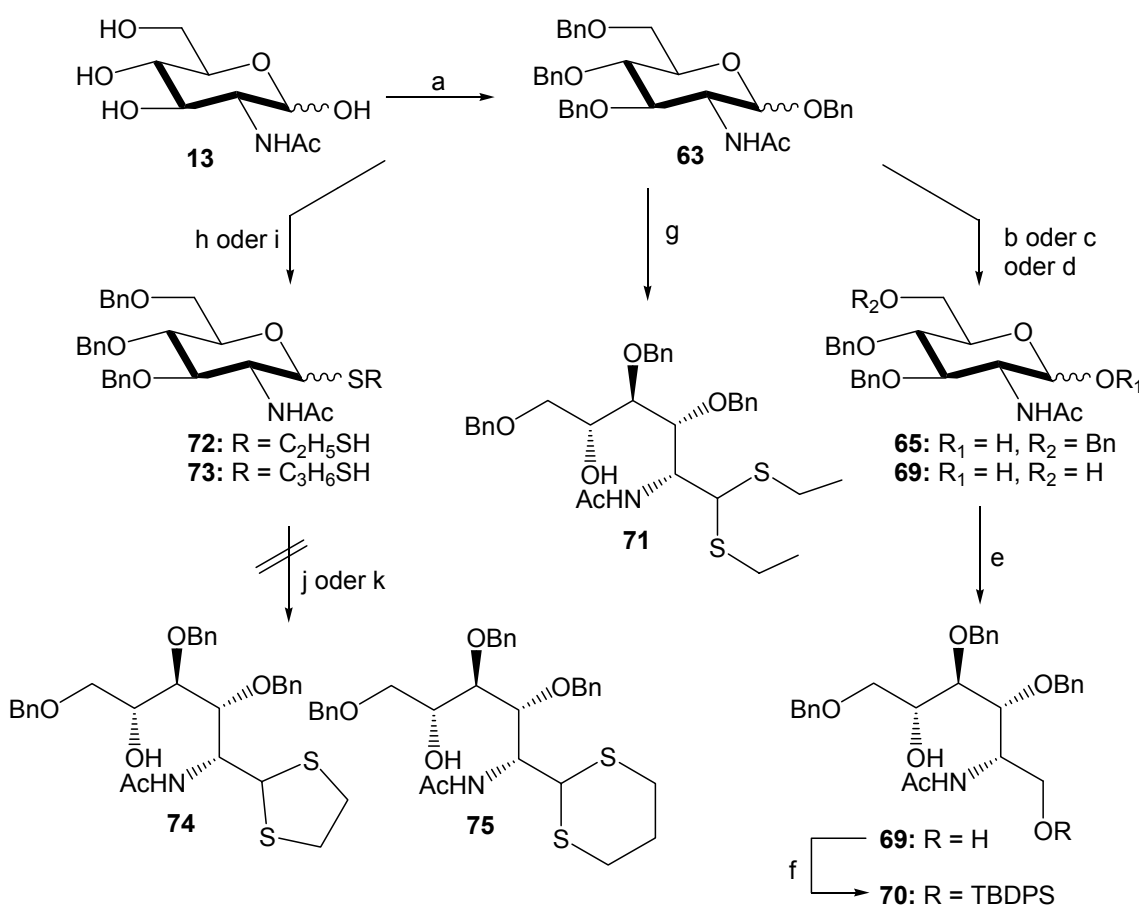


Abbildung 3.1: Synthesepfad zur Darstellung von an C - 8 modifizierten Sialinsäuren.

Im nächsten Abschnitt werden Arbeiten vorgestellt, die der in der Abbildung 3.1 aufgezeichneten Synthesestrategie folgen.

3.1.2 Synthese des Silyl - geschützten Alkohols 70

Der erste Schritt dieser Synthese begann mit der von Demailly *et al.*⁶⁵ beschriebenen per-O-Benzylierung von *N*-Acetylglucosamin **13** mit Benzylbromid unter Zuhilfenahme von Bariumhydroxid und Bariumoxid. Die Reaktion startete unter Eiskühlung und wurde nur sehr langsam auf RT gebracht. Die Zugabe der Base erfolgte portionsweise. Das durch Umkristallisation aus Methanol in 64 % Ausbeute isolierte Produkt lag als Anomerengemisch in einem α/β - Verhältnis von 1:3 vor.



Schema 3.1: Reagenzien und Bedingungen: a) BnBr, BaO, BaOH · 8 H₂O, abs. DMF, 48 h, 64 %; b) HCOONH₄, Pd/C, MeOH, Rückfluss, 20 min, 28 %; c) Cyclohexen, Pd/C, 70°C, 24 h, 25 %; d) BF₃·Et₂O, abs. DCM, - 50°C → - 20°C, 2 H, 32 %. e) NaBH₄, THF:EtOH (1:2), 40°C, über Nacht, 94 %; f) TBDPS, Imidazol, DMAP, abs. DCM, Rückfluss, 4 h, 79 %; g) C₂H₅SH, *p* - TSA, DCM, Rückfluss, in Spuren; h) C₂H₆S₂, konz. HCl, DCM, 75°C, **63:72** 1:3; i) C₃H₈S₂, konz. HCl, DCM, 75°C, **63:73** 1:4.8; j) C₂H₆S₂, *p* - TSA, 80°C, 0 %; k) C₂H₈S₂, *p* - TSA, 80°C, 0 %.

⁶⁵ A. Mbongo, C. Frechou, D. Beaupere, R. Uzan, G. Demailly, *Carbohydr. Res.*, **1993**, 246, 361-370.

In einer weiteren Reaktion wurde die Verbindung **63** selektiv durch eine Transferhydrierung mit Palladium auf Aktivkohle (10 %) und Ammoniumformiat in Methanol zu **65** umgesetzt. Reaktionsparameter wie Temperatur, eingesetzte Katalysator -/ Transfermittelmenge und Reaktionsdauer wurden dabei variiert (Tabelle 3.1). Trotz intensiver Optimierungsstudien konnte die Literaturausbeute⁶⁵ von 74 % nicht reproduziert werden. Die mangelnde Selektivität in Bezug auf die vier spaltbaren Benzylether, eine unvollständige Umsetzung des Eduktes sowie scale up Schwierigkeiten erklären die niedrigen Umsätze dieser Versuchsreihe. Entsprechend dieser Methode konnte **65** in einer Ausbeute von 25 % bis 29 % dargestellt werden. Das Edukt wurde meistens in einer Ausbeute von 20 % bis 25 % reisoliert. Auch der Ersatz des Transfermittels Ammoniumformiat gegen Cyclohexen, das gleichzeitig auch als Lösungsmittel diente, brachte keine Verbesserung hinsichtlich des Umsatzes. Mit dem BF₃ - Etherat wurde bevorzugt das doppelt debenzylierte Produkt **69** erhalten, das in 32 % Ausbeute anfiel.

Rkt.	Transfermittel	Lösungsmittel	R. B.	Pd/C [m%]	Ausbeute
1	HCOONH ₄ (0.5 Äq, 1.25 Äq, 2x1.5 Äq, 2.5 Äq)	MeOH	65 °C, 20 min, 1h, 3 h	5 - 30	16 % bis 29 %
2	Cyclohexen	Cyclohexen	70°C, 24 h	10	Edukt
3	Cyclohexen	Cyclohexen/MeOH (2:1, 1:1)	70°C, 52°C, 40°C, 24 h	5 - 10	Edukt
4	Cyclohexen	Cyclohexen/MeOH (1:3)	45°C, 24 h	5 - 10	22 %

Tabelle 3.1: Optimierung der Reaktionsbedingungen zur Darstellung von Verbindung **65**.

Auch die anomere Entschützung des Benzylethers **63** durch Säure in DCM wurde durchgeführt. Aber weder die Variation der eingesetzten Säure bzw. Säuremenge, noch die der Reaktionszeit und der Temperatur führten zum gewünschten Ergebnis. Weil diese Ansätze keinen Erfolg zeigten, wird auf eine ausführliche Darstellung der Reaktionsbedingungen in Form eines Schema oder einer Tabelle verzichtet. Der Wechsel des Lösungsmittels zu THF lieferte überwiegend das Glucal, auf dessen Isolierung jedoch verzichtet wurde.

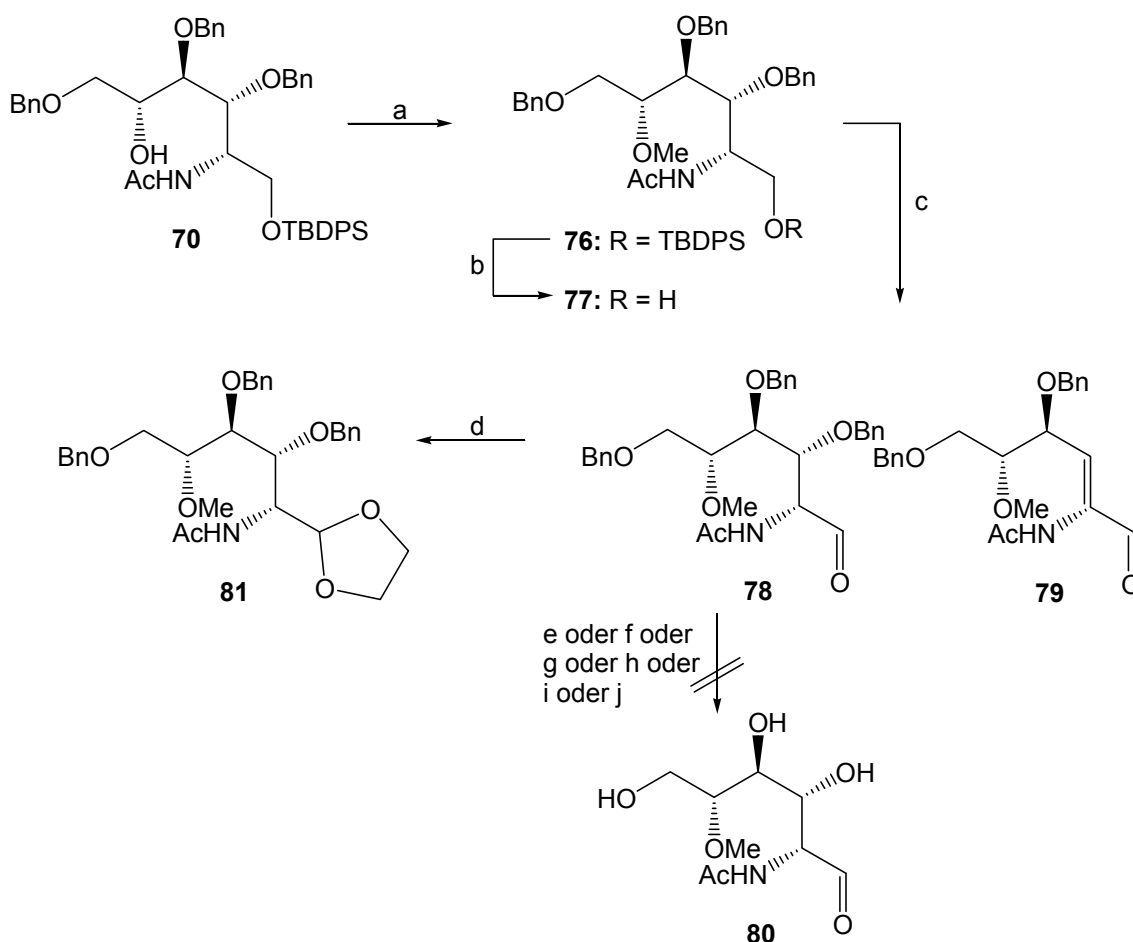
Die anschließende Überführung der Verbindung **65** in das Diol **66** bedurfte einiger Optimierungsarbeiten, konnte jedoch nach einigen Experimenten von 53 % auf 94 %

gesteigert werden. Aufgrund des gleichen Laufverhaltens von Edukt und Produkt in verschiedenen Lösungsmitteln bzw. Lösungsmittelgemischen, wurde die Reaktionskontrolle mittels Massenspektrometrie (LC - MS) durchgeführt. Die selektive Schützungs der primären OH - Gruppe mit TBDPSCI in Gegenwart von Imidazol lieferte schließlich das Produkt **70** in 79 % Ausbeute.

Eine bessere Alternative zur Synthese von **70**, die die unselektive Entschützung von **63** vermeiden und den dreistufigen Prozess umgehen sollte, besteht - entsprechend dem in Abbildung 3.1 dargestellten Synthesepfad - in der direkten Umsetzung von **63** mit Hilfe von Thiolen. Experimente mit drei verschiedenen Thiolen bzw. Dithiolen und verschiedenen Säuren wurden durchgeführt. Während die entropisch ungünstige Umsetzung von **63** mit Ethanthiol so gut wie keinen Umsatz zeigte und die Verbindung **71** sich nur in Spuren per Massenspektrometrie nachweisen ließ, lieferten Ethandithiol und Propandithiol die Thioglycoside **72** und **73**. Aufgrund des gleichen Laufverhaltens von Edukt und Produkt in verschiedenen Lösungsmitteln bzw. Lösungsmittelgemischen, konnten die beiden Verbindungen **72** und **73** nicht als reine Substanzen isoliert werden. Der Umsatz wurde mittels NMR - Spektroskopie bestimmt. Auch höhere Temperaturen und erneute Umsetzung der bereits gebildeten Thioglycoside führten nicht zur vollständigen Umsetzung des Eduktes bzw. Ringöffnung zu **74** oder **75**.

3.1.3 Versuche zur Darstellung der Methyl - Verbindung **80**

Die Methylierung von **70** wurde mit Methyljodid in DCM unter Zuhilfenahme von frisch hergestelltem Silberoxid unter Lichtausschluss durchgeführt. Die Reaktion verlief sehr langsam und dauerte vier bis sechs Tage. Um Ausbeuten von über 90 % zu erreichen, mussten Methyljodid und Silberoxid täglich frisch zugegeben werden, anderenfalls wurden nur ca. 50 % des Startmaterials umgesetzt. Anschließende Entschützung der Silylschutzgruppe mit TBAF in THF lieferte die Verbindung **77** in 95 % Ausbeute. Hierfür wurde das Reagenz in dem verwendeten Lösungsmittel gelöst und tropfenweise zur Reaktionsmischung unter Eiskühlung zugegeben. Dadurch wurde eine milde Reaktionsführung erreicht.



Schema 3.2: Reagenzien und Bedingungen: a) MeI, Ag₂O, abs. DCM, Rückfluss, 4 d, 92 %; b) TBAF, THF, 0 °C → RT, über Nacht, 95 %; c) DMP, abs. DCM, 0 °C, 8 h; quantitativ; d) kat. *p*-TSA, Ethylenglycol, MgSO₄, Toluol, 110 °C, 16 h, in Spuren; e) Pd/C, H₂, MeOH, 6 h; f) HCOONH₄, Pd/C, MeOH, Rückfluss, 4 h, 0 %; g) Pd/C, Cyclohexen, Rückfluss, 4 h; 0 %; h) BF₃·Et₂O, abs. DCM, - 50 °C, 2 h, 0 %; i) (CH₃)₃SiI, abs. DCM, 0 °C → RT, 0 %; j) O₃, DCM, 0 °C, 1 h, 0 %.

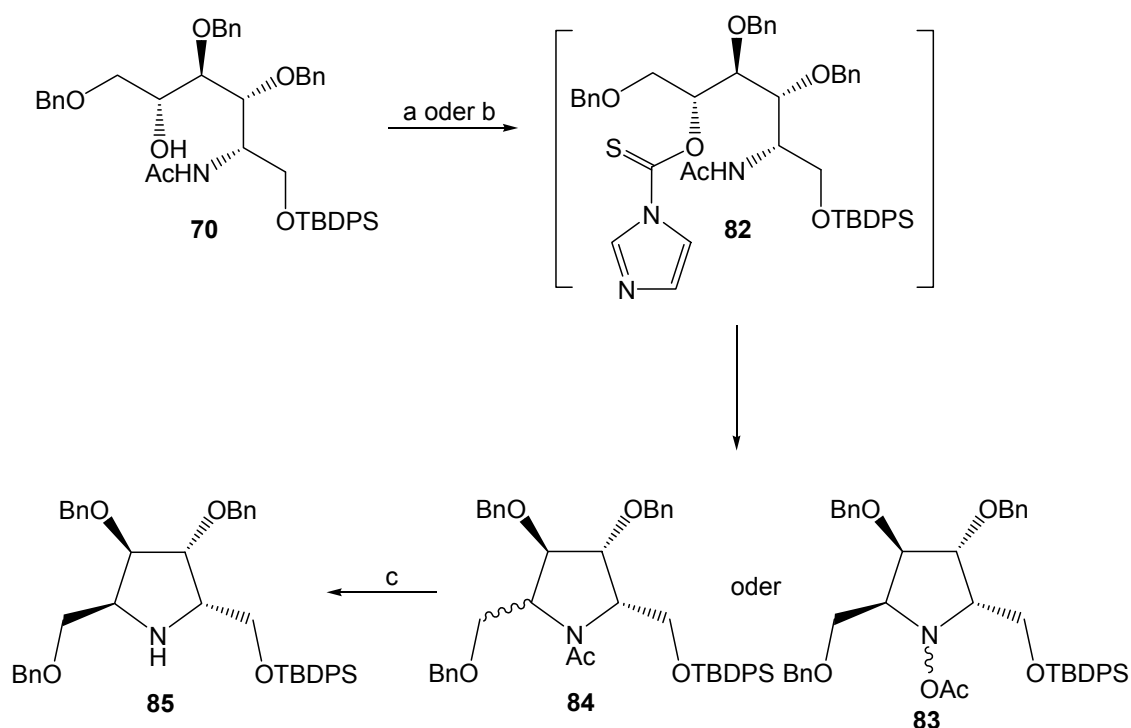
Die Ausbeute der nachfolgenden Oxidation der primären OH - Gruppe unter Dess - Martin - Bedingungen war sowohl von der Reaktionstemperatur als auch von der Qualität des Dess - Martin - Periodinans abhängig. Nach zahlreichen Optimierungsversuchen war es jedoch gelungen, den entsprechenden Aldehyd **78** in quantitativer Ausbeute zu isolieren. Hierzu wurde die Verbindung **77** bei 0 °C umgesetzt. Bei Temperaturen oberhalb von 0 °C eliminierte das erzeugte Produkt **78** zu **79**. Bei den Temperaturen etwas über 0 °C wurde ein Gemisch der beiden Verbindungen erhalten. Bei RT konnte das Eliminierungsprodukt **79** in 94 % Ausbeute isoliert werden. Beide Produkte **78** und **79** konnten nicht säulenchromatographisch abgetrennt werden. Zum einen lag dieses am gleichen Laufverhalten von **78** und **79** in verschiedenen Lösungsmitteln bzw. Lösungsmittelgemischen, zum anderen daran, dass das Produkt **78**

während des Aufreinigungsprozesses weiter zu **79** umgesetzt wurde. Auch die säulenchromatographische Reinigung unter basischen Bedingungen brachte keine Verbesserung hinsichtlich der Produktisolierung.

Die darauf folgende Debenzylierung der Verbindung **78** blieb ohne den gewünschten Erfolg. Der Einsatz von BF_3 , BCl_3 und $(\text{CH}_3)_3\text{Si}$ führte in sämtlichen Reaktionen sogar bei tiefen Temperaturen zur Zersetzung des Startmaterials. Direkte Hydrierung von **78** führte zur Reduktion des Aldehyds. Die Säure - katalysierte Umsetzung von **78** zum Acetal **81** lieferte aufgrund der Eliminierung des Benzylethers an Position 3 nur einen sehr geringen Umsatz.

3.1.4 Versuche zur Darstellung der Desoxy - Verbindung **90**

Um zum 5 - Desoxy - Glycosamin - Derivat zu gelangen, muss die Verbindung **70** zuerst unter Barton - McCombie - Bedingungen desoxygeniert werden. Hierzu wurde **70** zunächst mit dem 1,1' - Thiocarbonyldiimidazol in Gegenwart von DMAP umgesetzt. Das gewünschte Produkt **82** konnte jedoch nicht isoliert werden. Stattdessen kam es zur Bildung eines Fünfringes in 87 % Ausbeute infolge der Substitution des Thioesters durch das freie Elektronenpaar des Stickstoffs. Im ^1H - NMR - Spektrum konnten zwei Produkte beobachtet werden, die im Verhältnis 1:1.2 vorlagen und gleiche Molekülmasse besaßen.

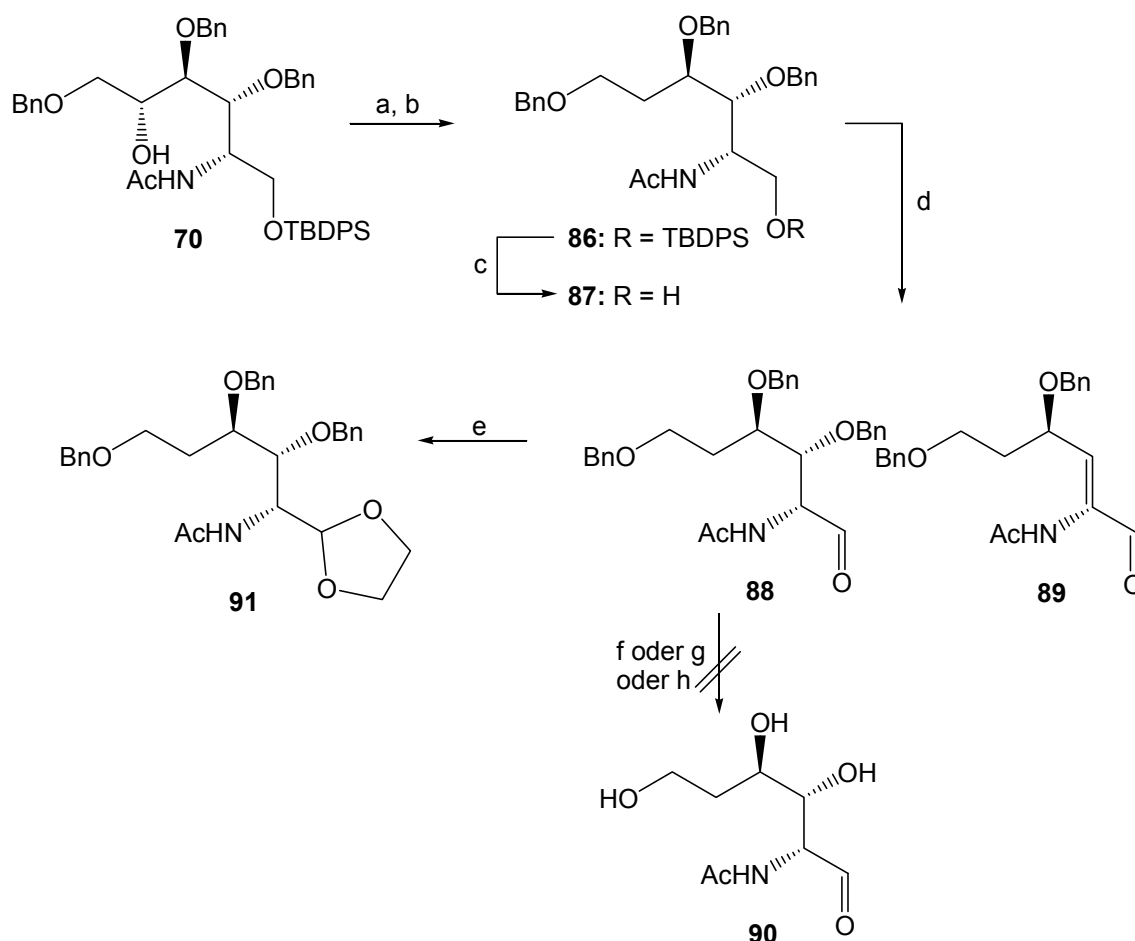


Schema 3.3: Reagenzien und Bedingungen: a) 1,1'-Thiocarbonyldiimidazol, DMAP, abs. Toluol, Rückfluss, über Nacht, 87 %; b) Tf_2O , abs. Pyridin, abs. DCM, $-60^\circ\text{C} \rightarrow -25^\circ\text{C}$, 3 h, 75 %; c) 1 M NaOH/EtOH, Rückfluss, 24 h; 83 %.

Als mögliche Isomerisationsprodukte kommen zum einen die Isomere des Pyrrolidins **84**, die durch eine $\text{S}_{\text{N}}1$ -Reaktion gebildet werden, in Frage. Zum anderen könnten auch die Isomere des Pyrrolidins **83** durch eine $\text{S}_{\text{N}}2$ -Reaktion entstanden sein. Diese wären durch eine gehemmte Inversion der Acetyl-Gruppe am Stickstoff im NMR zu erkennen. Um die Struktur von **83** nachzuweisen bzw. auszuschließen und somit auch den Substitutionsmechanismus dieser Reaktion zu klären, wurde das Gemisch der beiden Verbindungen in einer 1 M NaOH/Ethanol-Lösung deacetyliert. Das Pyrrolidin **85** wurde in 83 % Ausbeute erhalten.

Eine weitere Möglichkeit zur Bildung eines Thioesters, besteht in der Umsetzung von Alkohol **70** mit dem Chlorthioameisensäure-O-phenylester in Gegenwart von DMAP bei RT innerhalb von 8 h. Alkohol **70** war nach dieser Reaktionszeit zwar nicht vollständig umgesetzt, bei einer längeren Reaktionszeit wurde jedoch auch hier die Bildung des Pyrrolidins **83** beobachtet. Die nachfolgende radikalische Reaktion mit Bu_3SnH und AIBN als Radikalstarter lieferte das 5-Desoxyprodukt **86** in 73 % Ausbeute über zwei Stufen. Im 100 mg Maßstab war diese zweistufige Reaktion gut reproduzierbar. Im größeren Maßstab wurden dagegen Ausbeuten um 40 % erhalten. Die Entschützung der Silyl-Schutzgruppe mit TBAF zu dem primären Alkohol **87** und

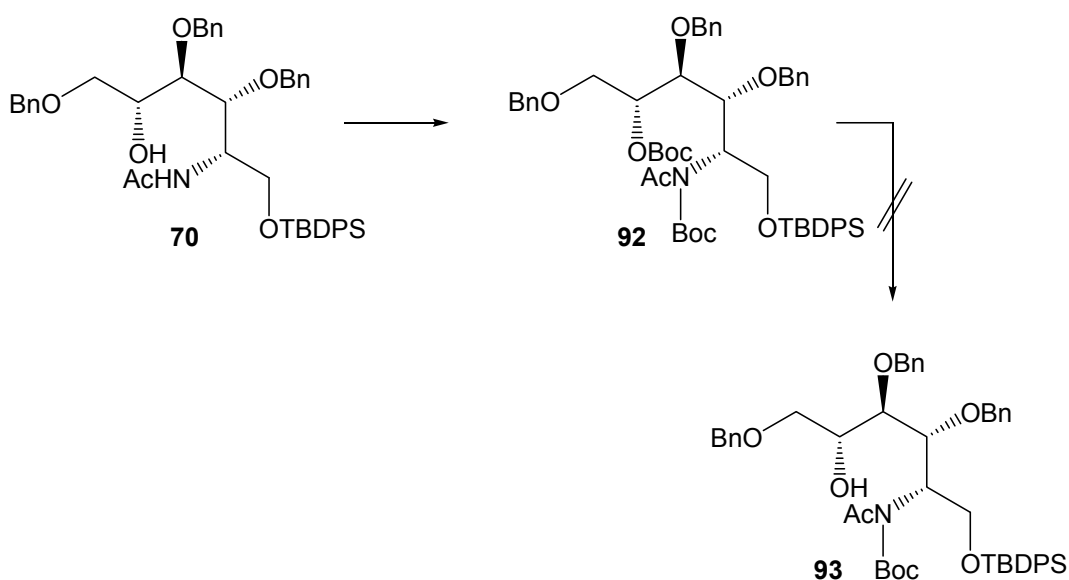
anschließende Oxidation der primären OH-Gruppe unter den im Abschnitt 3.1.3 beschriebenen Reaktionsbedingungen lieferten die Verbindungen **88** und **89** im Verhältnis 3:1. Der geschützte Aldehyd **91** konnte nur in Spuren nachgewiesen werden. Die erforderliche Entschützung zu **90** konnte auch hier aufgrund der Zersetzung des Startmaterials nicht abgeschlossen werden.



Schema 3.4: Reagenzien und Bedingungen: a) Chlorthioameisensäure - O - phenylester, DMAP, abs. Pyridin, abs. DCM, RT, 8 h; b) AIBN, Bu₃SnH, abs. Toluol, Rückfluss, über Nacht, 73 %; c) TBAF, THF, 0°C → RT, über Nacht, 85 %; d) DMP, abs. DCM, 0°C, **88:89** 3:1; e) kat. *p*-TSA, Ethylenglycol, MgSO₄, Toluol, 110°C, 16 h, in Spuren; f) Pd/C, Cyclohexen, Rückfluss, 4 h; 0 %; g) BF₃·Et₂O, abs. DCM, - 50°C, 2 h, 0 %; h) BCl₃/Hexan, abs. DCM, - 50°C, 2 h, 0 %.

3.1.5 Versuche zur Darstellung von weiteren Derivaten von **70**

Die im Abschnitt 3.1.4 beschriebene Bildung des Fünfrings **83** wurde auch bei der Umsetzung des Alkohols **70** mit Trifluormethansulfonsäureanhydrid bei tiefen Temperaturen (Schema 3.3) beobachtet. Dadurch wurde die Anzahl der Derivatisierungsmöglichkeiten von **70** beträchtlich eingeschränkt. Um die Bildung des Fünfrings **84** zu vermeiden, wurde der bereits acetylierte Stickstoff zusätzlich mit Boc₂O geschützt. Der anschließende Versuch, die ebenfalls Boc-geschützte OH-Gruppe von **92** selektiv zu entschützen, scheiterte wegen der Labilität der Acetylgruppe. Weil alle Ansätze nicht zum Erfolg führten, wird auf eine ausführliche Darstellung der Reaktionsbedingungen verzichtet.



Schema 3.5: Reagenzien und Bedingungen: Boc₂O, DMAP, abs. Pyridin, 100°C, 38 h, 82 %.

Dieser Syntheseweg stellte keinesfalls eine äquivalente bzw. bessere Alternative zu der literaturbekannten Methode zur Darstellung der an Position 8 modifizierten Sialinsäuren dar. Die Route wurde aus diesem Grund nicht weiter verfolgt.

3.2 Darstellung von C - 8 modifizierten Sialinsäuren ausgehend von Glucosamin - Hydrochlorid **94**

3.2.1 Synthesestrategie zur Darstellung von C - 8 modifizierten Sialinsäuren ausgehend von Glucosamin - Hydrochlorid **94**

Nachdem sich die Schwachpunkte der ersten Methode offenbarten, wurde nach einem alternativen Weg gesucht, der die schon bekannten Probleme von Anfang an ausschloss bzw. beseitigte.

Die neue Synthesemethode sollte zunächst ausgehend vom kommerziell erhältlichen Hydrochlorid des Glycosamins **94** zum per-O-acetylierten Phthalimid **95** führen. Der Stickstoff wäre in diesem Fall geschützt und könnte keine weiteren Reaktionen mehr eingehen. Um die mit dem Aldehyd verbundenen Eliminierung zu vermeiden, sollte der Ring infolge einer Acetalbildung zu **96** geöffnet werden. Aufgrund der Säure-/Basenlabilität der Acetylgruppen sollte diese Reaktion unter milden Reaktionsbedingungen ablaufen. Der anschließenden Modifizierung der freien OH-Gruppe sollte die finale Entschützung und nachfolgende Acetylierung des Amins folgen (Verbindung **98**). Enzym-katalysierte Aldolreaktion über eine vorgeschaltete basische Epimerisierung zur *manno*-Verbindung sollte die entsprechenden *N*-Acetylneuraminsäure-Derivate **99** ergeben.

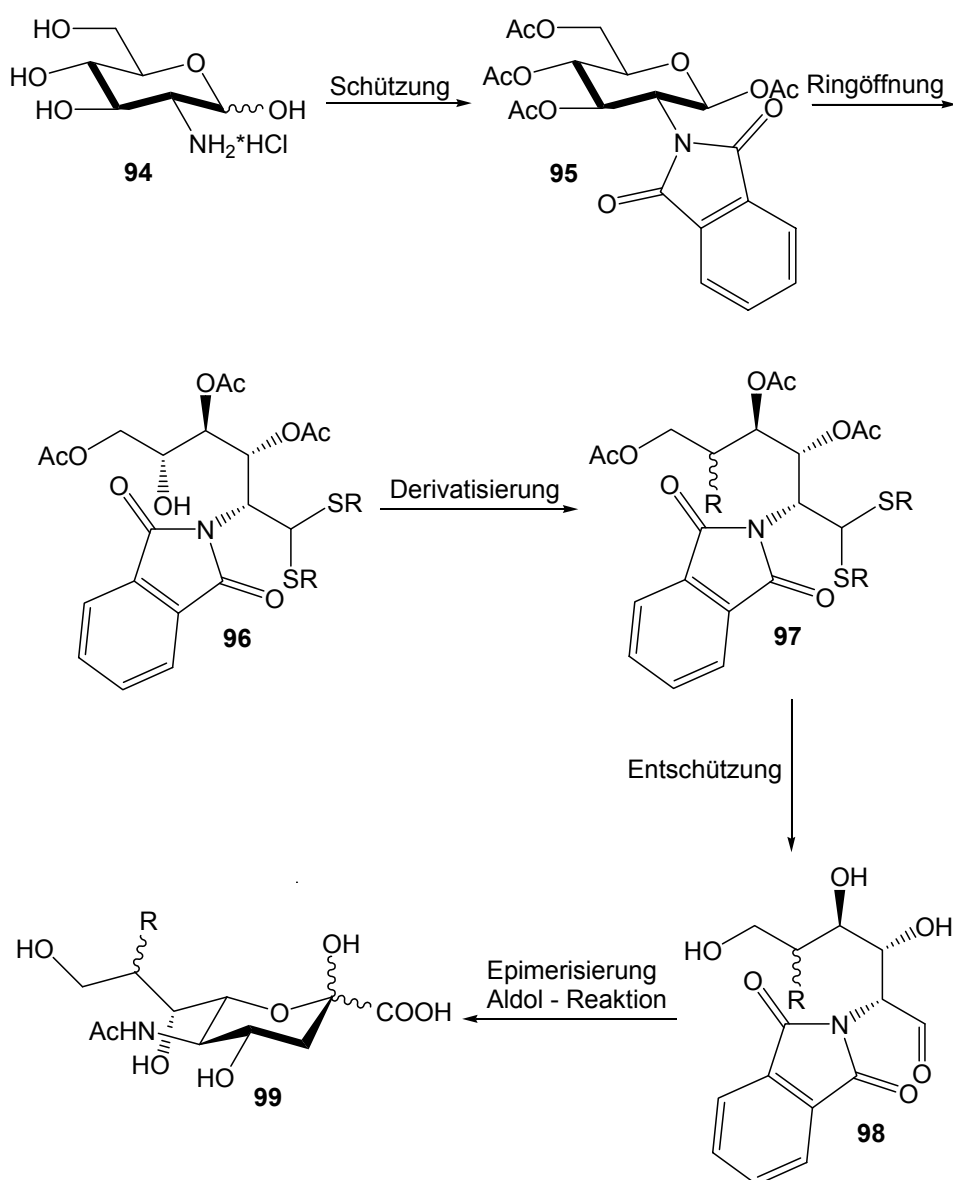


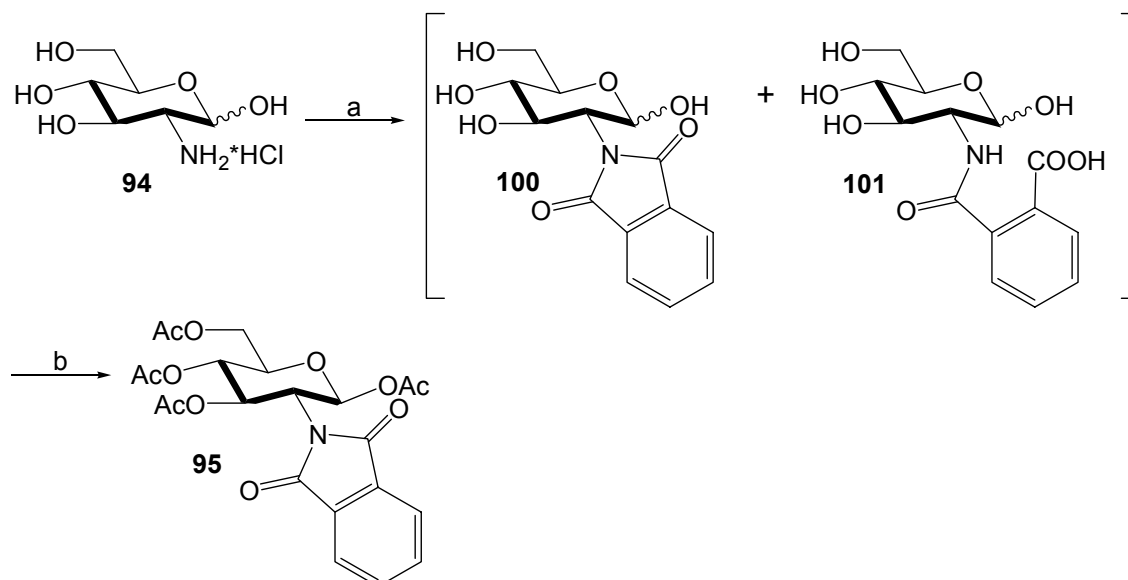
Abbildung 3.2: Synthesestrategie ausgehend von Glucosamin Hydrochlorid **94**.

3.2.2 Darstellung des per-O-acetylierten Phthalamids **95**

Um die geänderte Strategie zu verfolgen, wurde das Glucosamin **94** entsprechend einer literaturbekannt⁶⁶ Methode in das per-O-acetylierte Phthalamid **95** überführt. Hierzu wurde die Ausgangsverbindung mit Phthalsäureanhydrid unter Zuhilfenahme von NaHCO_3 in Wasser umgesetzt. Bei der analytischen Charakterisierung stellte sich heraus, dass zwei Verbindungen im Verhältnis 10:1 entstanden sind. Per nachfolgender massenspektrometrischer Untersuchung wurden diese als Verbindungen **100** und **101** identifiziert. Die Peracetylierung des entstandenen Gemisches mit Acetan-

⁶⁶ N. K. Kochetkov, M. E. Byramova, Y. E. Backinowsky, *Tetrahedron*, **1985**, 41, 3363-3375.

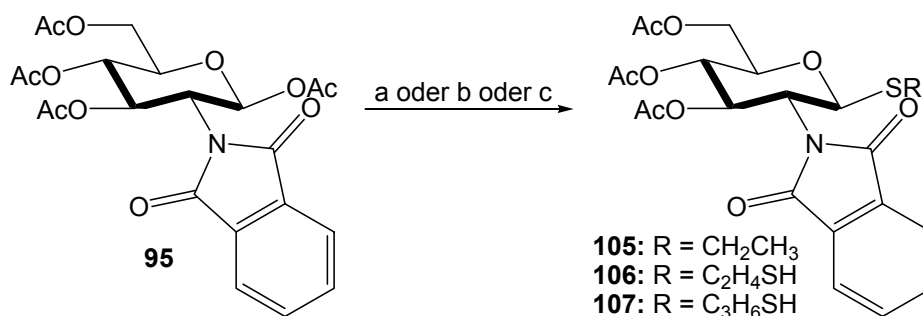
hydrid und Pyridin bei RT lieferte die Verbindung **95** in 70 % Ausbeute über zwei Stufen.



Schema 3.6: Reagenzien und Bedingungen: a) NaHCO_3 , Phthalsäureanhydrid, H_2O , RT, über Nacht; b) Ac_2O , Pyridin, DMAP, RT, über Nacht, 70 %.

3.2.3 Studien zur Ringöffnung von **95**

Anschließend wurden Versuche zur Ringöffnung von Phthalimid **95** unter sauren Reaktionsbedingungen unternommen, die entweder zu den Thioglycosiden **105**, **106** und **107** oder zum Reisolieren des Eduktes führten. Sämtliche Versuche wurden in Gegenwart von Molsieb 5 Å durchgeführt und sind in der Tabelle 3.2 zusammengefasst.



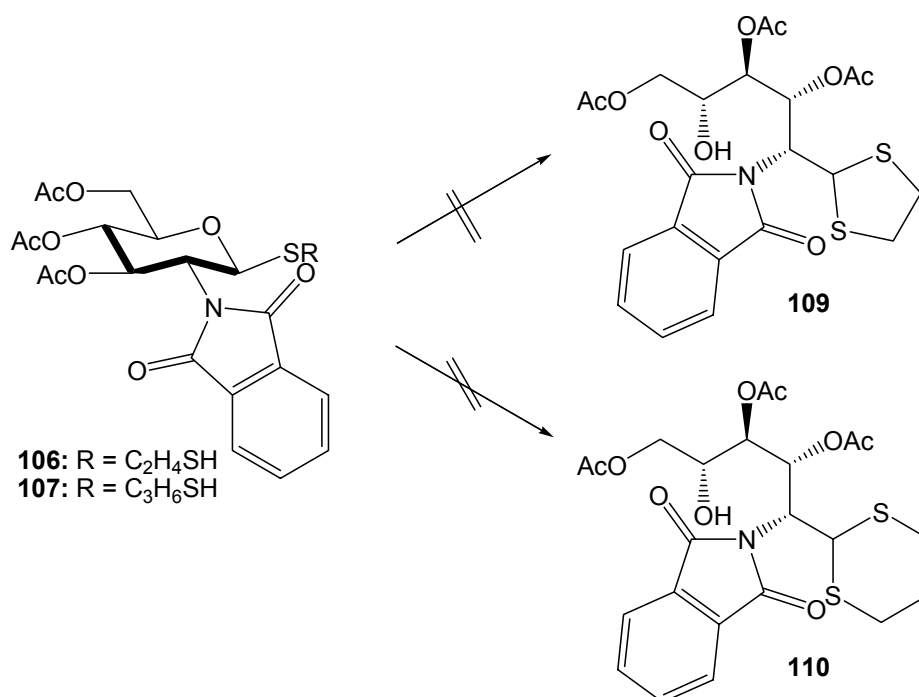
Schema 3.7: Reagenzien und Bedingungen: a) $\text{C}_2\text{H}_5\text{SH}$, $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, Molsieb 5 Å, abs. DCM, Rückfluss, 24 h, **105** 22 %; b) $\text{C}_2\text{H}_6\text{S}_2$, $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, Molsieb 5 Å, abs. DCM, Rückfluss, 24 h, **106** 71 %; c) $\text{C}_3\text{H}_8\text{S}_2$, $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, Molsieb 5 Å, abs. DCM, Rückfluss, 24 h, **107** 67 %.

Rkt.	Thiol	Säure	R. B.	Produkt	Lösungsmittel
1	Ethanthiol	<i>p</i> - TSA, kat.	24 h, Δ	95	abs. DCM
2	Ethanthiol	HCl, kat.	24 h, Δ	95	Ethanthiol
3	Ethanthiol	<i>p</i> - TSA, kat.	24 h, Δ	95	Ethanthiol
4	Ethanthiol	$\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$	24 h, Δ	105 (22 %)	abs. DCM
5	Ethandithiol	$\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$	24 h, Δ	106 (71 %)	abs. DCM
6	Ethandithiol	HCl, kat.	15 h, Δ	95	abs. DCM
7	Ethandithiol	<i>p</i> - TSA, kat.	24 h, Δ	95	abs. DCM
8	Ethandithiol	$\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}/$ <i>p</i> - TSA, kat.	15 h, Δ	95	abs. THF
9	Ethandithiol	ZnCl_2	15 h, Δ	106 (67 %)	abs. DCM
10	Ethandithiol	ZnCl_2	15 h, Δ	106 (28 %)	abs. Acetonitril
11	Ethandithiol	AlCl_3	15 h, Δ	95	abs. DCM
12	Propandithiol	$\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$	24 h, Δ	107 (68 %)	abs. DCM

Tabelle 3.2: Versuche zur Ringöffnung von **95**.

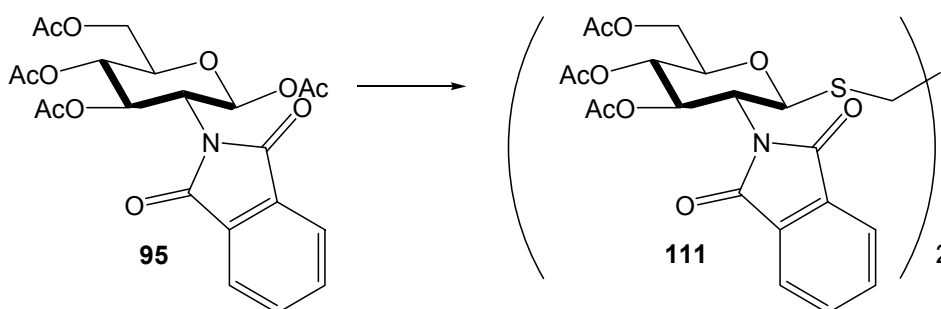
Bei den Experimenten mit $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ erwies es sich als vorteilhaft, das Edukt zuerst durch die Zugabe von Lewis - Säure zu aktivieren. Hierzu wurde das BF_3 - Etherat im verwendeten Lösungsmittel verdünnt und bei 0°C tropfenweise zu dem ebenfalls gelösten Edukt zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 30 min bei RT gerührt und erst dann mit dem Thiol versetzt. Erfolgte die Säurezugabe erst nach der Zugabe des Thiols, dann kam es zu Ausbeuteeinbußen von ca. 10 %.

Es wurde anschließend versucht, die erzeugten Thioglucoside **106** und **107** in die entsprechenden Thioacetale **109** und **110** zu überführen. Aber auch dies blieb ohne den gewünschten Erfolg.



Schema 3.8: Reagenzien und Bedingungen: kat. *p* - TSA, abs. DCM, Rückfluss, 24 h, 0 %.

Wurde das Reaktionsgemisch nach der vollständigen Umsetzung des per-O-acetylierten Phthalimids **95** mit dem BF₃-Etherat zum Thioglucosid **106** während der Reaktion mit katalytischer Menge *para*-Toluosulfonsäure versetzt und anschließend weiter erhitzt, bildete sich in 17 % Ausbeute das Dimer **111**. Das Thioglucosid **106** wurde in 60 % Ausbeute isoliert. Vergleichbare Ausbeuten wurden auch erzielt, wenn beide Säuren schon bei Reaktionsbeginn gleichzeitig zum Einsatz kamen.



Schema 3.9: Reagenzien und Bedingungen: C₂H₆S₂, BF₃·Et₂O, *p* - TSA, Molsieb 5 Å, abs. DCM, Rückfluss, 32 h, **111** 17 %, **106** 60 %.

Weil auch diese Methode an der Ringöffnung gescheitert war, musste der Syntheseweg erneut überdacht werden. Die überarbeitete Strategie wird im nächsten Kapitel vorgestellt.

3.3 Darstellung von C - 8 modifizierten Sialinsäuren ausgehend von D - Glucose **112**

3.3.1 Strategie zur Darstellung von C - 8 modifizierten Sialinsäuren ausgehend von D - Glucose **112**

Saure Ringöffnungsreaktionen von Zuckern gehören in der Literatur zu einer häufig beschriebenen Methode. Sowohl Brønstedt - als auch Lewis - Säuren finden eine breite Anwendung für diese Reaktion. Auffallend ist, dass die meisten Ausgangsverbindungen entweder eine OH - Gruppe oder eine Desoxy - Funktion an dem zum anomeren Zentrum benachbarten Kohlenstoff aufweisen. Die Reaktionsdauer beträgt bei 0°C in den meisten Fällen nur wenige Minuten. Die Ringöffnung von *N* - Acetyl - D - glucosamin⁶⁷ in freier Form erfolgt dagegen bei den gleichen Reaktionsbedingungen innerhalb von 24 h.

Anhand dieser und in den Kapiteln 3.1 und 3.2 gemachten Erkenntnisse, wurde die Synthese erneut umgestellt und sollte, ausgehend von der kommerziell erhältlichen und sehr preiswerten D - Glucose **112**, neu begonnen werden. Die D - Glucose soll zuerst in mehreren Schritten in das per - O - acetylierte Azid **113** überführt werden. Das Reaktionsverhalten der Azid - Verbindungen sollte dem der D - Glucose sehr ähnlich sein. Aus diesem Grund wurde angenommen, dass die Ringöffnung an den Verbindungen mit einer Azid - Gruppe an C - 2 deutlich einfacher verlaufen sollte als an den entsprechenden *N* - acetylierten Verbindungen. Auch der Stickstoff wäre in diesem Fall geschützt und könnte somit keine Substitutionsreaktionen eingehen. Der weitere Syntheseweg sollte analog zu der im Abschnitt 3.1.1 beschriebenen Synthese verlaufen und wird daher hier nicht weiter beschrieben (Abbildung 3.3).

⁶⁷ a) M. L. Wolfrom, A. Thomson, *Meth. Carbohydr. Chem.*, **1962**, 1, 209-213; b) M. L. Wolfrom, K. Anno, *J. Am. Chem. Soc.*, **1952**, 74, 6150-6151.

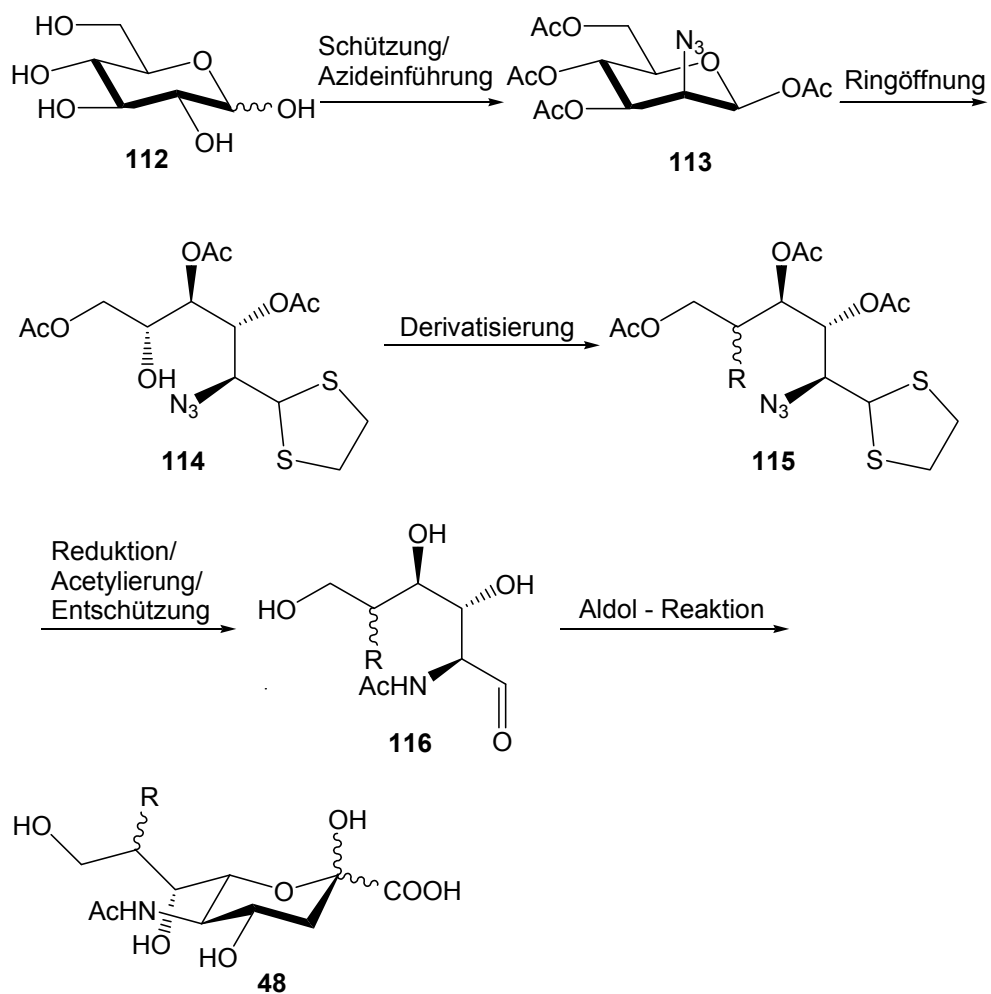
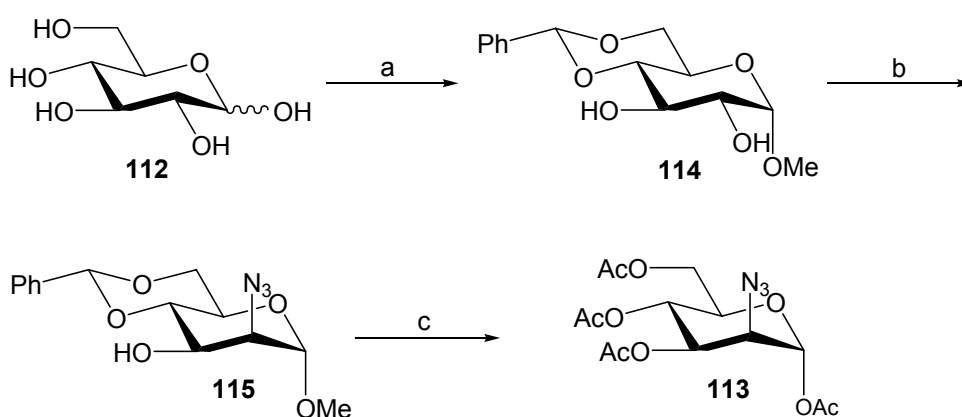


Abbildung 3.3: Überarbeitete Synthesestrategie zur Darstellung der an Position 8 modifizierten Sialinsäurederivate ausgehend von der D - Glucose **112**.

3.3.2 Synthese des *manno* - konfigurierten Azids **113**

Um die überarbeitete Synthesestrategie zu verfolgen, wurde die D - Glucose **112** zunächst in das per - O - acetylierte Azid **113** überführt (Schema 3.10). Hierzu wurde das anomere Zentrum zuerst unter saurer Katalyse methyliert. Nachfolgende Acetal-schützung der OH - Gruppen an Positionen 4 und 6 lieferte die Verbindung **114** als ein α/β - Gemisch von 3:1 in 59 % Ausbeute.



Schema 3.10: Reagenzien und Bedingungen: a) *p* - TSA, abs. MeOH, Rückfluss, 24 h; Benzaldehyd, ZnCl₂, 30°C, 2 h, α/β 3:1 59 %; b) Tf₂O, abs. Pyridin, abs. DCM, - 20°C, 2 h; NaN₃, 15 - Krone - 5, abs. DMF, 50°C, 24 h, 93 %; c) Ac₂O/H₂SO₄ (3 v%) 0°C, 2 h, 73 %.

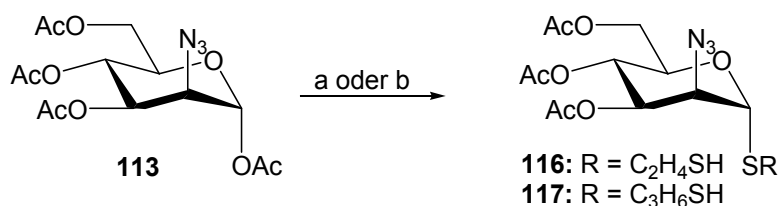
In der nächsten Stufe wurde die OH - Gruppe an C - 2 regioselektiv mit Trifluormethansulfonsäureanhydrid entsprechend einer literaturbekannten Methode^{68,69} in eine gute Abgangsgruppe überführt und anschließend mit Natriumazid in einer S_N2 - Reaktion zu einer *manno* - Verbindung **115** umgesetzt. Bei der Azid - Einführung konnten weder die Ausbeuten von Moravcova *et al.*⁶⁸ noch von Pipik *et al.*⁶⁹ bei den jeweiligen Reaktionsbedingungen reproduziert werden. Es erwies sich jedoch als vorteilhaft, zusätzlich den 15 - Krone - 5 - Ether einzusetzen. Dadurch konnten sowohl die Reaktionsbedingungen gemildert als auch die eingesetzte Natriumazid - Menge reduziert werden. Die Ausbeute stieg durch diese Maßnahme von 53 % auf 93 % über zwei Stufen. Anschließende Umsetzung der so erzeugten Verbindung **115** in Acetanhydrid unter Zuhilfenahme von Schwefelsäure lieferte das per-*O*-acetylierte Azid **113** in 73 % Ausbeute.

3.3.3 Ringöffnung von **113**

Die im Abschnitt 3.2.2 optimierten Reaktionsbedingungen in Gegenwart von BF₃ - Etherat wurden auf das Azid **113** übertragen, führten allerdings auch hier nicht zur gewünschten Ringöffnung, sondern nur zu den entsprechenden Thio-glycosiden **116** und **117**.

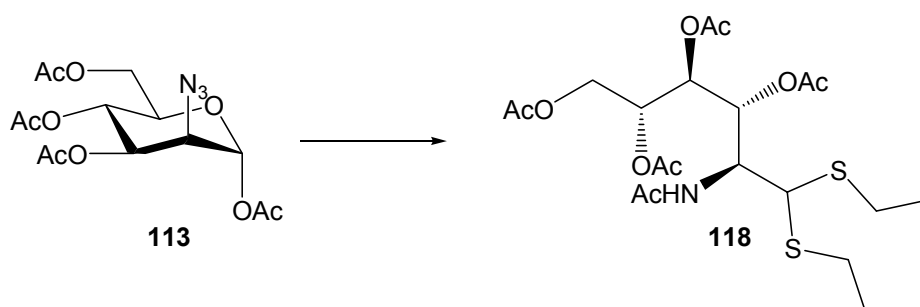
⁶⁸ A. Popelova, K. Kefurt, M. Hlavackova, J. Moravcova, *Carbohydr. Res.*, **2005**, 340, 161-166.

⁶⁹ S. Knapp, A. B. Naughton, C. Jaramillo, B. Pipik, *J. Org. Chem.*, **1992**, 57, 7328-7334.



Schema 3.11: Reagenzien und Bedingungen: a) $\text{C}_2\text{H}_6\text{S}_2$, $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, Molsieb 5 Å, abs. DCM, Rückfluss, 24 h; b) Propandithiol, $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, Molsieb 5 Å, abs. DCM, Rückfluss, 24 h.

Eine andere, allerdings aufgrund der gewählten Schutzgruppen für diese Synthesestrategie nicht geeignete Ringöffnungsmethode, ist die Umsetzung von **113** unter stark sauren Reaktionsbedingungen. Hierfür wurde das Azid **113** mit Ethanthiol in Gegenwart von konz. Salzsäure bei 0°C umgesetzt. Zur besseren Reinigung der entstandenen Verbindung wurde das Rohprodukt über Nacht mit Acetanhydrid in Pyridin acetyliert. Anschließende säulenchromatographische Reinigung lieferte das Dithioacetal **118** in 73 % Ausbeute. Neben der gewünschten Ringöffnung fand unter den gewählten Bedingungen auch die Azid-Reduktion statt. Weil das Azid entsprechend der in der Abbildung 3.3 dargestellten Strategie zum Schluss in das *N*-Acetylamino umgewandelt werden sollte, stellt auch die Reduktion des Azids zum Amin an dieser Stelle kein Problem dar.



Schema 3.12: Reagenzien und Bedingungen: Ethanthiol/HCl 2:1, $0^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, über Nacht; $\text{Ac}_2\text{O}/\text{Pyridin}$ 1:2, RT, über Nacht, 73 %.

Aufgrund der Tatsache, dass sich das Azid **113** nur in Gegenwart von konz. Salzsäure spalten ließ, sollte nun die Wahl der Schutzgruppen überdacht werden. Die überarbeitete Strategie wird im nächsten Kapitel vorgestellt.

3.4 Synthese von modifizierten Sialinsäuren ausgehend von D - Glucose

3.4.1 Überarbeitete Synthesestrategie zur Darstellung von modifizierten Sialinsäuren ausgehend von D - Glucose

Ausgehend von der kommerziell erhältlichen und billigen Glucose **112** oder ebenfalls kommerziell erhältlichem Benzylidenacetal **114** kann anhand der von Moravcova *et al.*⁶⁸ bzw. Pipik *et al.*⁶⁹ publizierten und im Abschnitt 3.3.2 beschriebenen vierstufigen Synthese das Azid **115** dargestellt werden. Um die spätere Analytik zu vereinfachen, wurde nur das α - Anomer von **114** weiter umgesetzt bzw. kommerziell erworben. Das erzeugte *manno* - konfigurierte Azid **115** ist das Schlüsselintermediat dieser Synthese und bietet einen schnellen Zugang zu den an Position 6, 7 und 8 modifizierten Sialinsäuren.

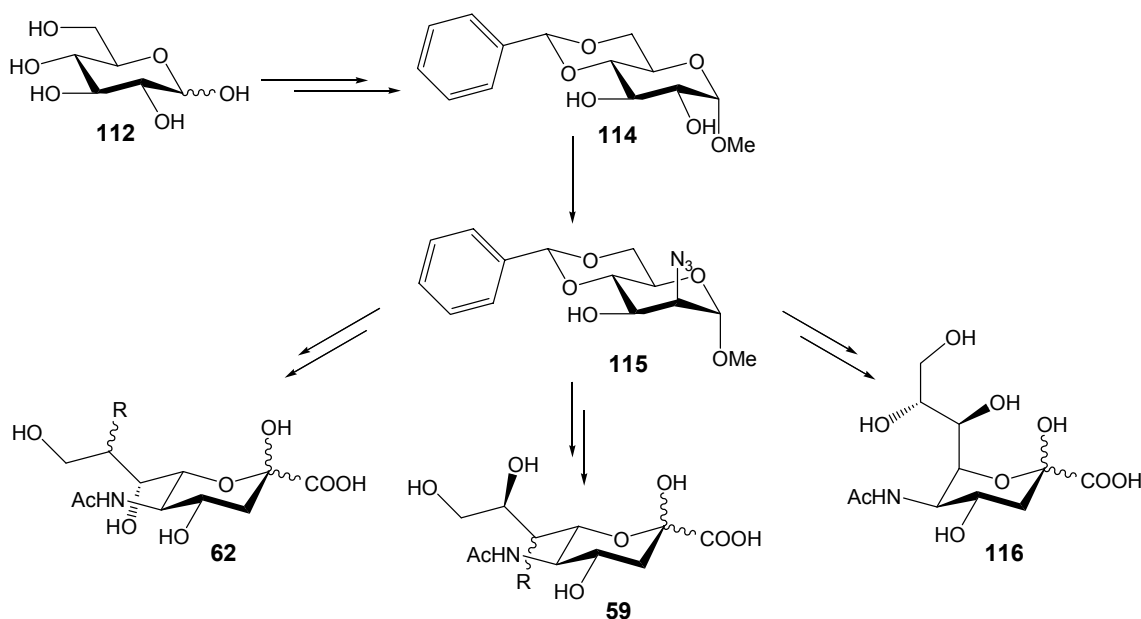


Abbildung 3.4: Übersicht des Synthesepfades zur Darstellung verschiedener *N* - Acetyl - neuraminsäure - Modifikationen.

Oxidation/Reduktion des *manno* - konfigurierten Azids **115** und anschließende Acetylierung sollte die peracetylierte Verbindung **117** ergeben. Nachfolgende Entschützung und Enzym - katalysierte Aldolreaktion sollte zur 6 - *epi* - Neuraminsäure **116** führen.

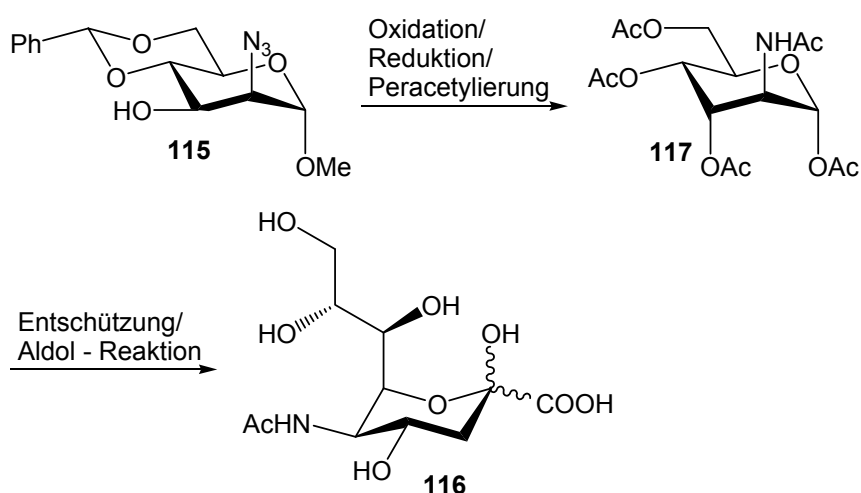


Abbildung 3.5: Synthesepfad zur Darstellung der 6 - *epi* - Sialinsäure **116**.

Derivatisierung an Position 7 könnte durch Schützung der freien OH - Gruppe und selektive Entschützung von Benzylidenacetal zu **118** eingeführt werden. Anschließende Derivatisierung, Azid - Reduktion und finale Entschützung sollten *N* - Acetyl - mannosamin - Derivate **120** liefern. Enzymatische Umsetzung der erzeugten Verbindungen sollte zu den entsprechenden Sialinsäure - Derivate **59** führen.

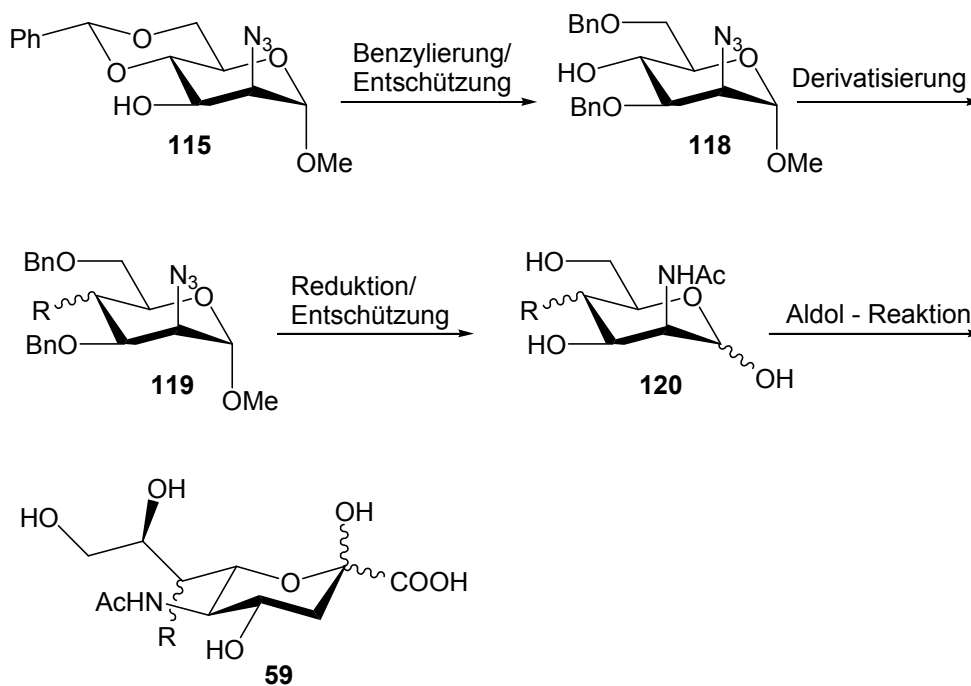


Abbildung 3.6: Synthesepfad zur Darstellung von C - 7 modifizierten Sialinsäuren **59**.

Die Entschützung des Benzylidenacetals, per-O-Benzylierung und anschließende Umacetalisierung sollte zum Thioacetal **122** führen. Anschließende Derivatisierung, nachfolgende katalytische Hydrierung und Entschützung des Dithioacetals sollten dann das modifizierte *N*-Acetylmannosamin **124** ergeben, welches enzymatisch über die Neuraminsäurealdolase zu den an Position 8 derivatisierten *N*-Acetylneuraminsäuren umgesetzt werden sollte.

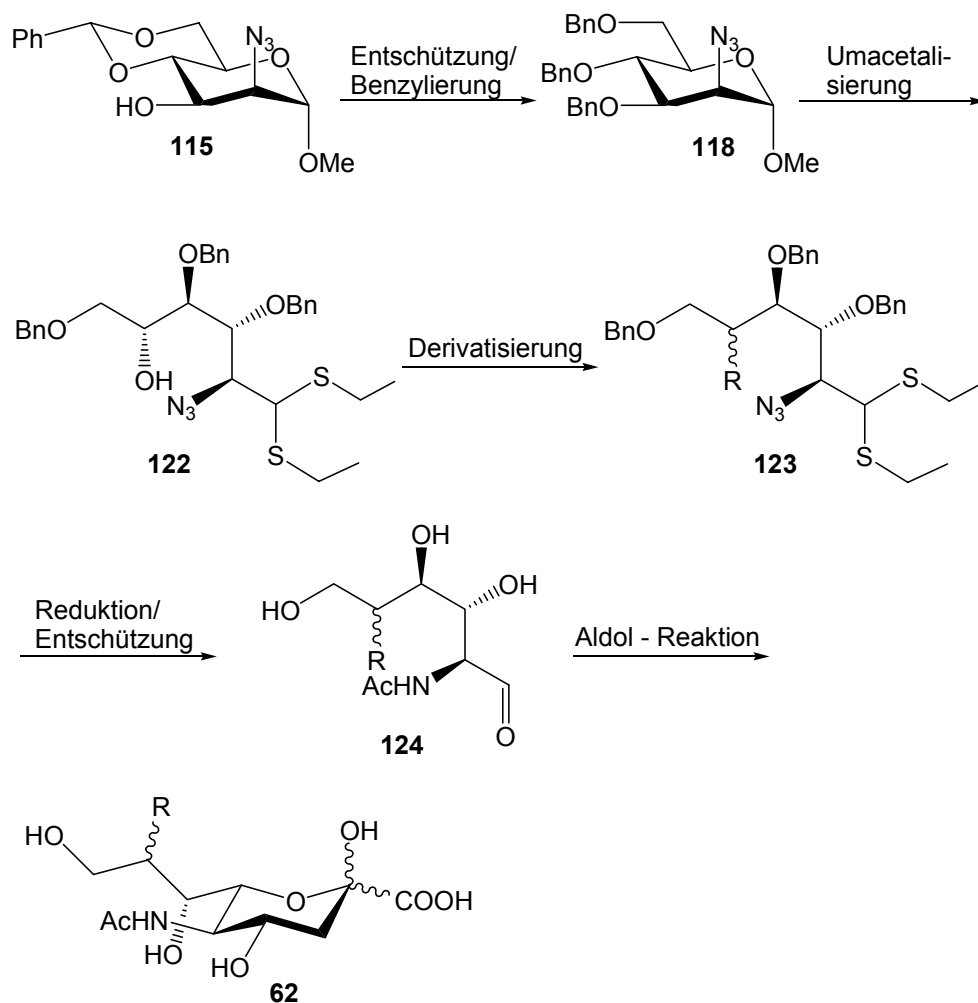
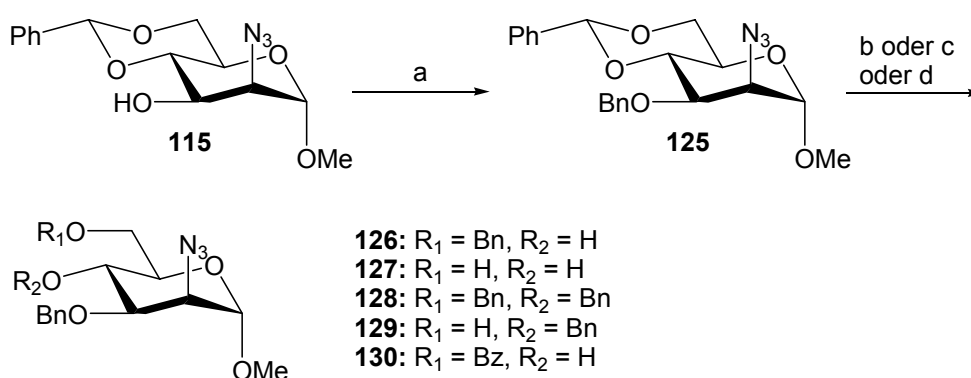


Abbildung 3.7: Synthesepfad zur Darstellung von C - 8 modifizierten Sialinsäuren **62**.

3.4.2 Synthese der an Position 7 modifizierten Neuraminsäure - Derivate

3.4.2.1 Synthese der Verbindung 126 bzw. 130 ausgehend vom Schlüsselintermediat 115

Zunächst wurde die freie OH - Gruppe der Verbindung **115** mit Benzylbromid unter Zuhilfenahme von Natriumhydrid und einer katalytischen Menge von TBAI benzyliert. Das Benzylidenacetal der so erzeugten Verbindung **125** konnte dann mit Natriumcyanoborhydrid unter nicht optimierten Reaktionsbedingungen in 87 % Ausbeute selektiv zum Produkt **126** geöffnet werden. Als Nebenprodukt dieser Reaktion entstand die hochgiftige Blausäure. Um die Bildung von Blausäure zu umgehen, wurde die Verbindung **126** in einem zweistufigen Prozess hergestellt. Dabei wurde zunächst das Benzylidenacetal der Verbindung **125** vollständig mit einer katalytischen Menge *para* - Toluolsulfonsäure bei RT in Methanol entschützt. Mit Trifluoressigsäure konnte dagegen nur eine minimale Acetalspaltung beobachtet werden. Das erhaltene Produkt wurde ohne säulenchromatographische Reinigung mit 1 Äq Benzylbromid weiter umgesetzt. Die primäre OH - Gruppe konnte sowohl mit als auch ohne Zugabe von katalytischen Mengen TBAI nicht selektiv geschützt werden. Die Produktverteilung ist in der Tabelle 3.3 dargestellt. Mit Benzoylchlorid in Gegenwart von 2,6 - Lutidin konnte die primäre OH - Gruppe schließlich selektiv in 99 % Ausbeute geschützt werden.



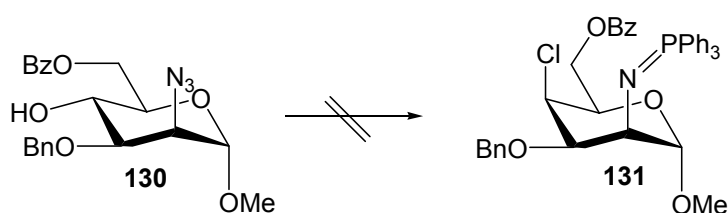
Schema 3.13: Reagenzien und Bedingungen: a) BnBr, TBAI, NaH, abs. DMF, 0°C → RT, über Nacht, 93 %; b) NaCNBH₃, HCl, abs. Et₂O, RT, **126** in 87 %; c) *p* - TSA, MeOH, RT, 3 h; BnBr, TBAI, NaH, abs. DMF, 0°C → RT, über Nacht, **126** in 22 %, **127** in 21 %, **128** in 14 %, **129** in 34 %; d) *p* - TSA, MeOH, RT, 3 h; BnBr, NaH, abs. DMF, 0°C → RT, über Nacht, **126** in 27 %, **127** in 34 %, **129** in 30 %; e) *p* - TSA, MeOH, RT, 3 h; BzCl, 2,6 - Lutidin, abs. DCM, 0°C, 2 h, **130** in 99 %.

Rkt.	Reaktionsbedingungen	Substanzen (Ausbeute)
b	NaCNBH ₃ , HCl, abs. Et ₂ O, RT	126 (87 %)
c	<i>p</i> -TSA, MeOH, RT, 3 h; BnBr, TBAI, NaH, abs. DMF, 0°C → RT, 15 h	126 (22 %), 127 (21 %), 128 (14 %), 129 (34 %)
d	<i>p</i> -TSA, MeOH, RT, 3 h; BnBr, NaH, abs. DMF, 0°C → RT, 15 h	126 (27 %), 127 (34 %), 129 (30 %)
e	<i>p</i> -TSA, MeOH, RT, 3 h; BzCl, 2,6-Lutidin, abs. DCM, 0°C, 2 h	130 (99 %)

Tabelle 3.3: Zusammenfassung der im Schema 3.13 dargestellten Ergebnisse.

3.4.2.2 Synthese des 4 - Chlor - Derivats 138

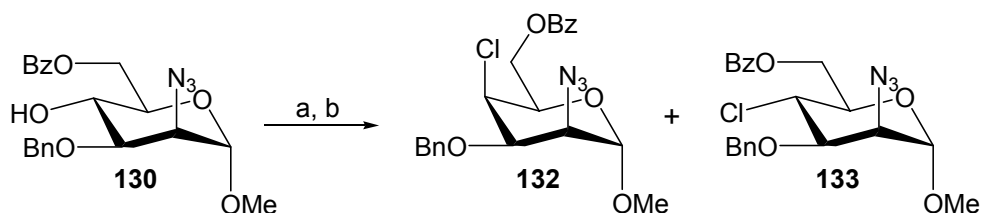
Zur Darstellung von Chlor - Derivaten wurden in dieser Arbeit zwei Wege verfolgt: der direkte Weg über die Appel - Reaktion und der zweistufige Prozess über die S_N2 - Reaktion.



Schema 3.14: Reagenzien und Bedingungen: PPh₃, abs. CCl₄, Rückfluss, 24 h, 0 %.

Für die Appel - Reaktion wurde das Azid **130** mit Triphenylphosphin in Tetrachlormethan 24 h unter Rückfluss erhitzt. Obwohl die DC - Kontrolle vor der Aufreinigung eine vollständige Umsetzung von **130** anzeigte, wurde nach der säulenchromatographischen Reinigung nur das Edukt in 96 % Ausbeute reisoliert. Auch die erwartete Staudinger - Reaktion fand nicht statt.

In der zweiten zweistufigen Methode konnte gegenüber der ersten Methode auf die Verwendung des toxischen, chlorierten Lösungsmittels verzichtet werden. Das Azid **130** wurde zuerst in das Triflat **131** überführt, welches dann direkt in der nächsten Stufe mit verschiedenen chlorhaltigen Reagenzien weiter umgesetzt wurde.



Schema 3.15: Reagenzien und Bedingungen: a) Tf_2O , abs. Pyridin, abs. DCM, $-20^\circ\text{C} \rightarrow -8^\circ\text{C}$, 2 h; KCl, 18 - Krone - 6, abs. DMF, 40°C , 48 h, **132** in 58 %, **133** in 3 %, **134** in 32 %.

Diese unter relativ milden Bedingungen durchgeführten Reaktionen wurden von zahlreichen Nebenreaktionen und demzufolge geringer Ausbeute begleitet. Der Einfluss des Lösungsmittels ist anschaulich in der Tabelle 3.4 dargestellt.

Rkt.	Reagenz	Lösungs- mittel	T	132	133	Nebenprodukt
1	NaCl (3 Äq)	DMF	40°C	-	-	10 % 131 , 74 % 134
2	TBACl (3 Äq)	DMF	40°C	4 %	-	15 % 131 , 70 % 134
3	KCl (3 Äq)	DMF	40°C	47 %	-	49 % 134
4	KCl (3 Äq)	DMSO	50°C	-	-	76 % 130 , 8 % 135
5	KCl (3 Äq)	CH_3CN	50°C	38 %	9 %	35 % 136
6	KCl (6 Äq)	DMF	40°C	58 %	3 %	32 % 134

Tabelle 3.4: Optimierung der Reaktionsbedingungen zur Darstellung von **132**.

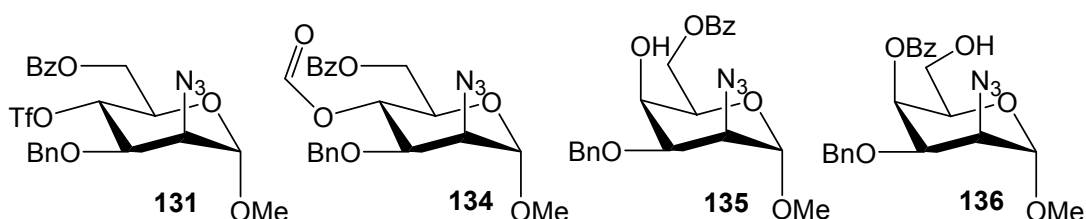
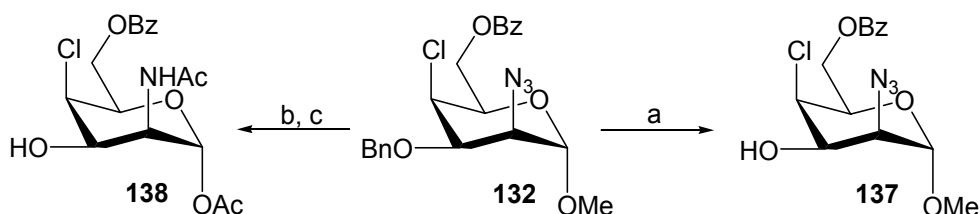


Abbildung 3.8: Isolierte Nebenprodukte.

Das Lösungsmittel DMF begünstigte die Bildung von Formiat **134**, welche durch eine höhere Chlorid - Konzentration unterdrückt werden konnte. In Acetonitril kam es neben der Produktbildung zur Inversion der OH - Gruppe an C - 4 und gleichzeitiger Benzoyl - Wanderung (**136**). DMSO begünstigte dagegen die $\text{S}_{\text{N}}1$ - Reaktion von **130** mit dem in Spuren vorhandenen Wasser. Auch die Bildung des Retentionsproduktes **133** als

Ergebnis der Chlorid - Einführung infolge der S_N1 - Reaktion wurde bei einigen Reaktionsbedingungen in geringen Ausbeuten beobachtet.

In einer weiteren Reaktion wurde anschließend versucht, die Methylgruppe am anomeren Zentrum und die Benzylgruppe gleichzeitig zu entschützen. Hierzu wurde zunächst nur das Chlor - Derivat **132** bei 0°C mit Bortrichlorid in DCM umgesetzt. Es wurde jedoch nur die Benzylgruppe abgespalten. Die Methylgruppe am anomeren Zentrum war bei diesen Reaktionsbedingungen stabil. Das Produkt **137** wurde in 54 % Ausbeute erhalten. Bei tieferen Temperaturen (-78°C , -50°C und -40°C) fand die Umsetzung nicht statt.

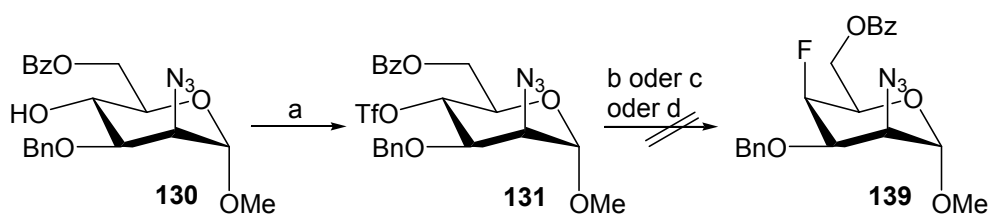


Schema 3.16: Reagenzien und Bedingungen: a) BCl_3 , abs. DCM, 0°C , 3 h, 54 %; b) $\text{Ac}_2\text{O}/\text{H}_2\text{SO}_4$ (3 v%), 0°C , 1 h; c) $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, H_2 , EE, Ac_2O , RT, 5.6 bar, über Nacht, 88 %.

In einer anderen Strategie wurde das anomere Zentrum vom Derivat **132** zuerst unter milden Reaktionsbedingungen im Acetanhydrid/Schwefelsäure - Gemisch vollständig umacetyliert. Die so erzeugte Verbindung wurde ohne säulenchromatographische Reinigung in der nächsten Stufe mit Palladiumacetat in Gegenwart von Acetanhydrid unter Wasserstoffatmosphäre unter Druck hydriert. Das Produkt **138** wurde in 88 % Ausbeute über zwei Stufen isoliert.

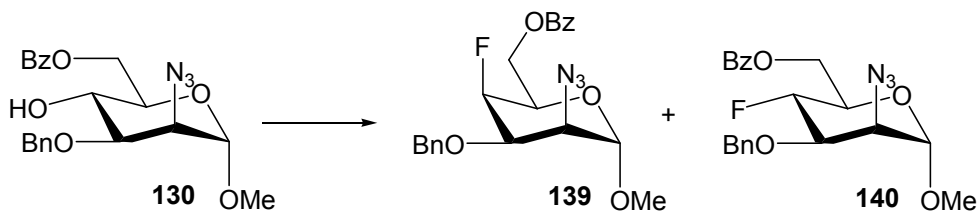
3.4.2.3 Synthese der 4 - Fluor - Derivate **142** und **144**

Der zweistufige Prozess der Fluor - Einführung über das Triflat **131** lieferte kein positives Resultat. Trotz Variation der Reaktionsparameter wie Reagenz, Temperatur und Lösungsmittel konnte nur die Verbindung **131** reisoliert werden.



Schema 3.17: Reagenzien und Bedingungen: a) Tf_2O , abs. Pyridin, abs. DCM, $-20^\circ\text{C} \rightarrow -8^\circ\text{C}$, 3 h; b) TASF, abs. DCM, -30°C , 0°C , RT, 0 %; c) TBAF, abs. DMF, RT, 0 %; d) TBAF, abs. CH_3CN , RT, 0 %.

Die zweite Möglichkeit zur Fluorierung erfolgte durch Zutropfen einer DCM - Lösung des Azids **130** zu in einem Teflonkolben in DCM gelöstem DAST bei -78°C . Die Reaktion verlief sehr langsam. Nach der wässrigen extraktiven Trennung und säulenchromatographischer Aufreinigung wurden die Produkte **139** und **140** in einer optimierten Gesamtausbeute von 76 % isoliert.

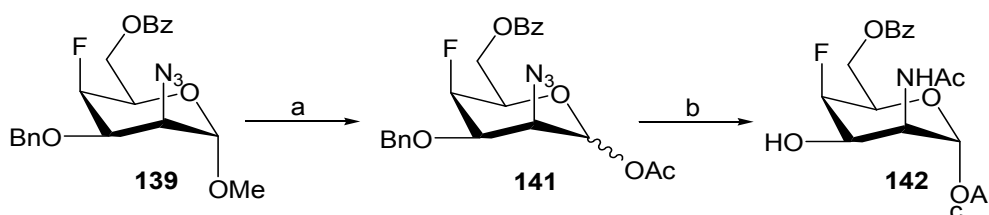


Schema 3.18: Reagenzien und Bedingungen: DAST, abs. DCM, $-78^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 4 d, **139** in 63 %, **140** in 13 %, **130** in 11 %.

Entsprechend Kisilevsky *et al.*⁷⁰ sollte es möglich sein, die Reaktionsmischung nach Aufarbeitung mit Methanol säulenchromatographisch zu reinigen. Beim Auftragen des gelösten Produktes auf die Säule kam es allerdings zu einer heftigen Reaktion der Reaktionsmischung mit dem Kieselgel. Dies führte zur Zersetzung der zuvor gebildeten Produkte **139** und **140**.

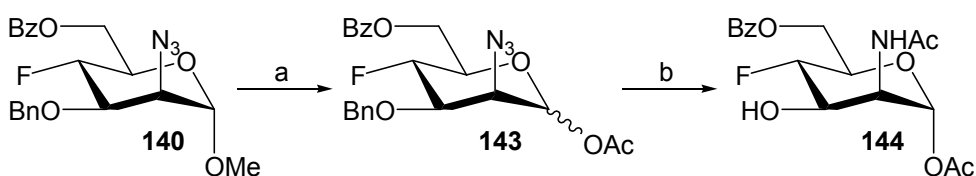
Die anschließende Umacetalisierung des anomeren Zentrums zu **141** (α - Anomer 63 %, β - Anomer 26 %) und nachfolgende Hydrierung unter Druck unter den im Abschnitt 3.4.2.2 beschriebenen Reaktionsbedingungen ergab die Verbindung **142** in 79 % Ausbeute. Im Vergleich zum 4 - Chlor - Derivat verlief die Hydrierung allerdings deutlich langsamer und musste bis zu vier Mal unter erneuter Zugabe von Palladiumacetat wiederholt werden.

⁷⁰ A. Berkin, W. A. Szarek, R. Kisilevsky, *Carbohydr. Res.*, **2000**, 326, 250-263.



Schema 3.19: Reagenzien und Bedingungen: a) $\text{Ac}_2\text{O}/\text{H}_2\text{SO}_4$ (3 v%), 0°C , 1 h, α - Anomer 63 %, β - Anomer 26 %; b) $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, EE, Ac_2O , RT, 5.6 bar, 4x24 h, 79 %.

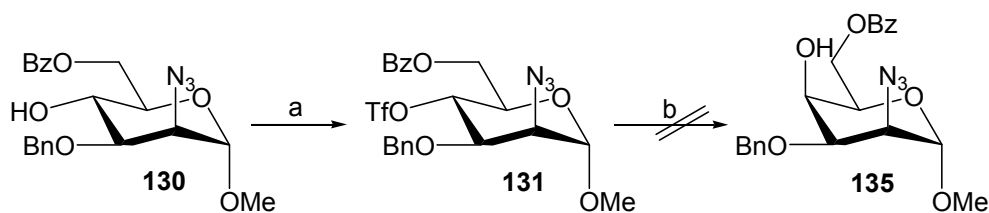
Die gleichen Reaktionsbedingungen konnten auch in der Synthese des epimeren F - Derivats **140** angewendet werden. Insgesamt verlief die Sequenz mit verringerten Ausbeuten. Die beiden anomere Acetate der 4 - Fluor - Verbindung **143** konnten nicht voneinander getrennt werden.



Schema 3.20: Reagenzien und Bedingungen: a) $\text{Ac}_2\text{O}/\text{H}_2\text{SO}_4$ (3 v%), 0°C , 1 h, (α/β 1:1.5) 66 %; b) $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, EE, Ac_2O , RT, 5.6 bar, 4x 24 h, 56 %.

3.4.2.4 Synthese der 4 - *tal*o - Derivate **150** und **151**

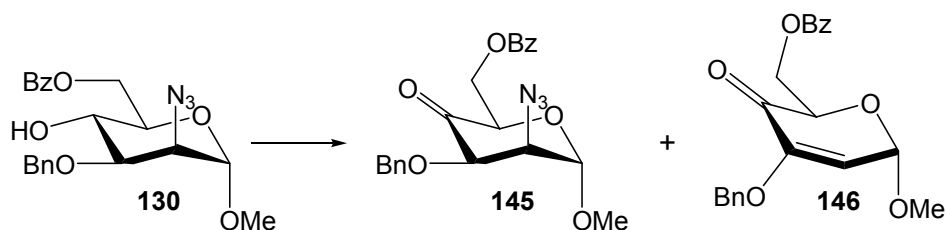
Wie schon im Abschnitt 3.4.2.2 beschrieben, wurde während den Optimierung der Chlorsubstitution die Bildung der Nebenprodukte **135** und **136** beobachtet. Eine Übertragung und gleichzeitige Optimierung dieser Reaktionsbedingungen auf die Inversionsreaktion war das Ziel der folgenden Umsetzung. Basierend auf den im Abschnitt 3.4.2.2 beobachteten Ergebnissen wurde zuerst versucht, **130** über das Triflat **131** in das Inversionsprodukt **135** zu überführen.



Schema 3.21: Reagenzien und Bedingungen: a) Tf_2O , abs. Pyridin, abs. DCM, $-20^\circ\text{C} \rightarrow -8^\circ\text{C}$, 3 h, b) H_2O , abs. DMF, 70°C , 100°C , 0 %, c) H_2O , abs. CH_3CN , 40°C , 0 %.

Hierzu wurde das Triflat **131** als Rohsubstanz in absolutem DMF gelöst, mit wenigen Äquivalenten Wasser versetzt und bei 70°C bzw. 100°C zur Reaktion gebracht. Das isolierte Produkt konnte in beiden Fällen eindeutig als das Edukt **130** identifiziert werden. In einem weiteren Versuch wurde Acetonitril als Lösungsmittel eingesetzt. Die Reaktionsmischung wurde ebenfalls mit einem bis drei Äquivalenten Wasser versetzt und auf 40 °C gebracht. Diesmal wurde allerdings laut DC - Kontrolle eine Zersetzung der Reaktanden beobachtet.

Eine andere Methode zur OH - Inversion ist die Oxidations -/Reduktions - Reaktion. Wie schon aus früheren Arbeiten bekannt, stabilisieren sich die Carbonylverbindungen durch Eliminierung unter Bildung von α/β - ungesättigten Aldehyden/Ketonen. So wurde auch hier während der unter milden Bedingungen verlaufenden Dess - Martin - Oxidation das Azid eliminiert und Enulose **146** gebildet.



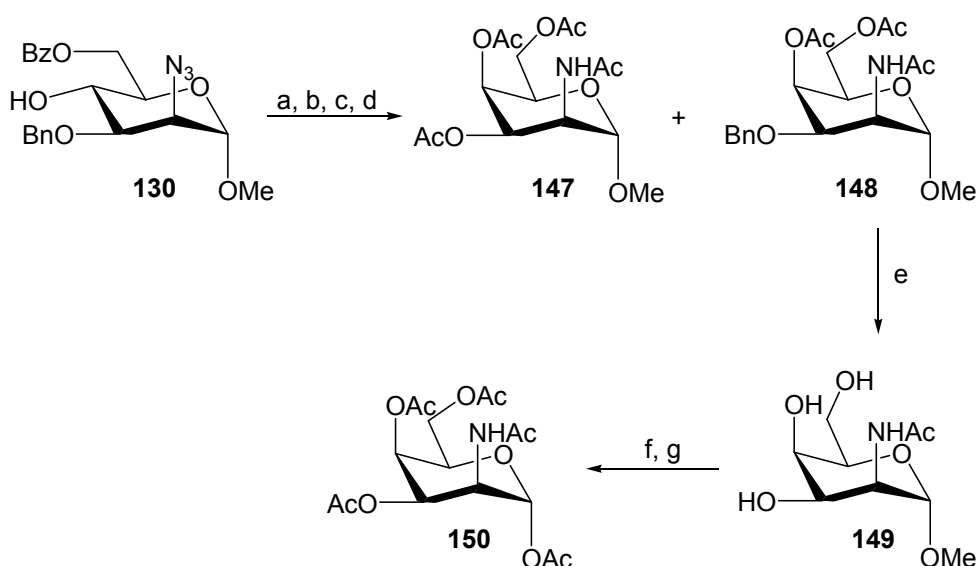
Schema 3.22: Reagenzien und Bedingungen: DMP, abs. DCM, - 4°C → 0°C, 34 h, **145:146** 2:1.

Das Eliminierungsprodukt **146** wurde per LC - MS - Hochauflösung und NMR - Spektroskopie identifiziert. Die Bildung des Nebenprodukts **146** war dabei temperaturabhängig. Der Einfluss der Temperatur ist in der Tabelle 3.5 gezeigt. Das Verhältnis der einzelnen Verbindungen zueinander wurde per ¹NMR - Spektroskopie ermittelt.

Reaktion	Reaktionsdauer	Temperatur	Verhältnis 130:145:146
1	- 30°C	24 h	18:1:0
2	- 8°C	24 h	1:1:0
3	- 4°C	24 h	2.5:10:1
4	0°C	24 h	1:1.5:2
5	- 4°C → 0°C	24 h bei - 4°C, 15 h bei 0°C	0:2:1
6	0°C → RT	15 h	0:1:1

Tabelle 3.5: Optimierung der Reaktionsbedingungen zur Darstellung von **145**.

Laut dünnschichtchromatographischer Untersuchung wiesen die erzeugten Produkte **145** und **146** die gleiche Polarität auf und konnten aus diesem Grund nicht getrennt werden. Sie mussten also als Gemisch weiter umgesetzt werden.

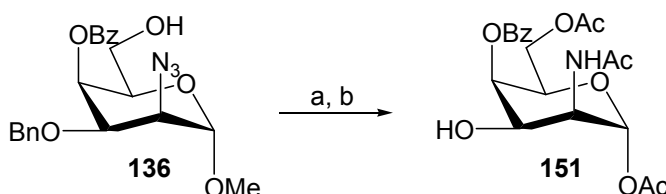


Schema 3.23: Reagenzien und Bedingungen: a) DMP, abs. DCM, - 4°C → 0°C, 34 h, **145:146** 2:1; b) NaBH₄, EtOH/THF, 0°C → RT, über Nacht; c) Pd(OAc)₂, H₂, MeOH, HOAc, RT, 24 h; d) Ac₂O/Pyridin (1:2), RT, über Nacht, **147** in 7 %; **148** in 43 %; e) Pd(OAc)₂, H₂, MeOH, HOAc, RT, 24 h, quantitativ; f) 6 M HCl, 100°C, 24 h; g) Ac₂O/Pyridin (1:2), RT, über Nacht, 42 %.

Das Reaktionsgemisch wurde zuerst mit Natriumborhydrid in EtOH/THF behandelt. Unter den gewählten Reaktionsbedingungen wurde neben der Carbonylgruppe auch

das Azid teilweise reduziert. Demzufolge bot es sich an, das Reaktionsgemisch ohne säulenchromatographische Reinigung weiter umzusetzen. Hierzu wurde die Rohmischung in Methanol gelöst, mit wenigen Äquivalenten Essigsäure versetzt und mit Palladiumacetat als Katalysator unter Wasserstoffatmosphäre nachhydriert. Dieser Prozess sollte zum einen das Azid vollständig in das Amin überführen, zum anderen sollte die Benzylgruppe an C - 3 entschützt werden. Die nachfolgende Acetylierung der Reaktionsmischung lieferte nach der säulenchromatographischen Reinigung das gewünschte Produkt **147** in 7 % Ausbeute über vier Stufen. Als Nebenprodukt wurde die benzylierte Verbindung **148** in 43 % Ausbeute erhalten. Diese konnte nach der erneuten Hydrierung und Acetat -Spaltung infolge der pH - Schwankung quantitativ in das Produkt **149** überführt werden. Die nachfolgende Entschützung des anomeren Zentrums und abschließende Acetylierung ergab die Verbindung **150** in 42 % Ausbeute über zwei Stufen.

Das im Abschnitt 3.4.2.2 bei den Optimierungsversuchen zur Chlor - Substitution beschriebene Nebenprodukt **136** konnte ebenfalls nach Umacetalisierung und nachfolgender Reduktion/Acetylierung zur entsprechenden 4 - *talo* - Pyranose **151** in 56 % Ausbeute über zwei Stufen umgesetzt werden.

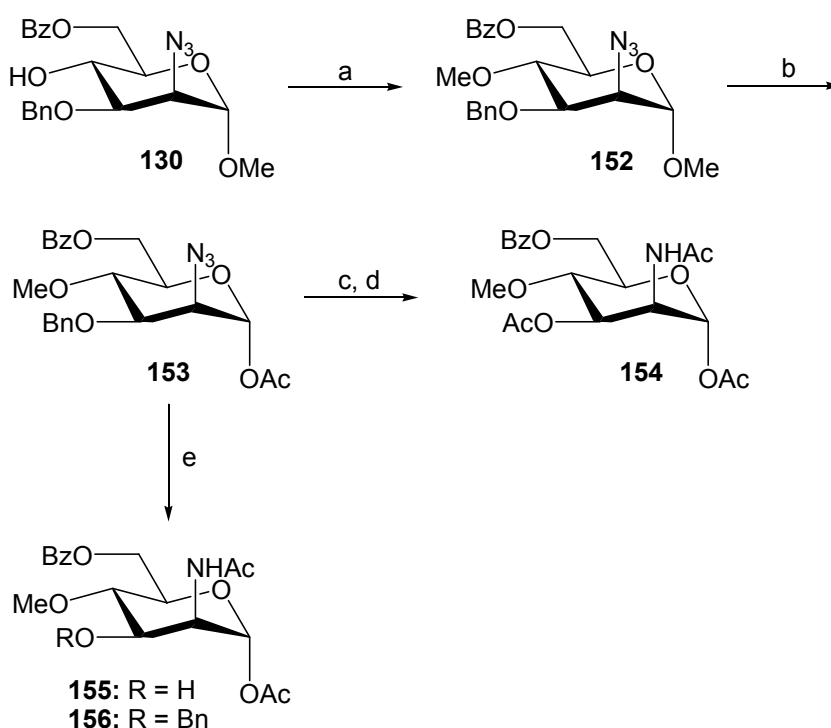


Schema 3.24: Reagenzien und Bedingungen: a) H₂SO₄/Ac₂O, 0°C, 1 h, 94 %; b) H₂, Pd(OAc)₂, Ac₂O, EE, 5.3 bar, 24 h, 56 %.

3.4.2.5 Synthese des Methoxy - Derivats **154** ausgehend von **130**

Zur Synthese des Methoxy - Derivats **152** wurde die Ausgangsverbindung **130** zunächst mit Methyljodid in DCM unter Zuhilfenahme von frisch hergestelltem Silberoxid in einem mit Alufolie umwickelten Kolben umgesetzt. Die Reaktion verlief sehr langsam und dauerte bis zu sechs Tage. Das Methylglycosid **152** wurde in 92 % isoliert. Um die Ausbeuten von über 90 % zu erreichen, mussten Methyljodid und Silberoxid täglich frisch zugegeben werden. In einer weiteren Reaktion wurde das anomere Zentrum von **152** unter milden Reaktionsbedingungen bei 0°C in einer Ac₂O/H₂SO₄ - Lösung vollständig umacetyliert. Die so erzeugte Pyranose **153** wurde in 94 % Ausbeute isoliert, konnte aber auch ohne säulenchromatographische Reinigung

in der nächsten Stufe umgesetzt werden. Hierzu wurde die Substanz in Methanol gelöst, mit wenigen Äquivalenten Eisessig versetzt und mit $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ als Katalysator unter Wasserstoffatmosphäre bei RT gerührt. Die nachfolgende Acetylierung des Amins mit Acetanhydrid in Pyridin ergab die Verbindung **154** in 67 % Ausbeute. Die für das Chlor - Derivat **132** erfolgreich angewendete Hydrierungsmethode in Essigsäure-ethylester und Acetanhydrid bei einem Druck von 5.6 bar versagte überraschenderweise beim Methylether **153**. Das gewünschte Produkt **155** wurde in einer geringen Ausbeute von 8 % isoliert. Als Hauptkomponente wurde der Benzylether **156** (63 %) erhalten.

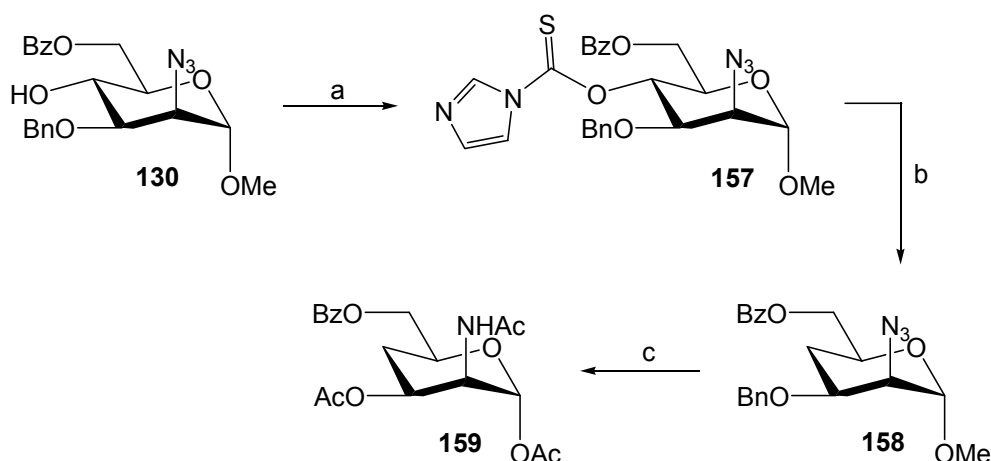


Schema 3.25: Reagenzien und Bedingungen: a) MeI, Ag_2O , abs. DCM, Rückfluss, 4 d, 92 %; b) $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{Ac}_2\text{O}$, 0°C , 1 h, 94 %; c) H_2 , $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, AcOH, CH_3OH , 24 h; d) Ac_2O , Pyridin, RT, 15 h, 67 %; e) H_2 , $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, Ac_2O , EE, 5 bar, 24 h, **155** in 8 %, **156** in 63 %.

3.4.2.6 Synthese des Desoxy - Derivats **159** ausgehend von **130**

Die Desoxygenierung von **130** verlief unter den Barton - McCombie - Bedingungen und lieferte in der ersten Stufe bei der Umsetzung mit dem 1,1'-Thiocarbonyldiimidazol unter Zuhilfenahme von DMAP in Toluol den Thioester **157** in 87 % Ausbeute. Die nachfolgende radikalische Desoxygenierung mit Tributylzinnhydrid und dem Radikalstarter AIBN ergab 61 % des *lyxo* - Pyranosids **158**. Mit Benzoylperoxid als

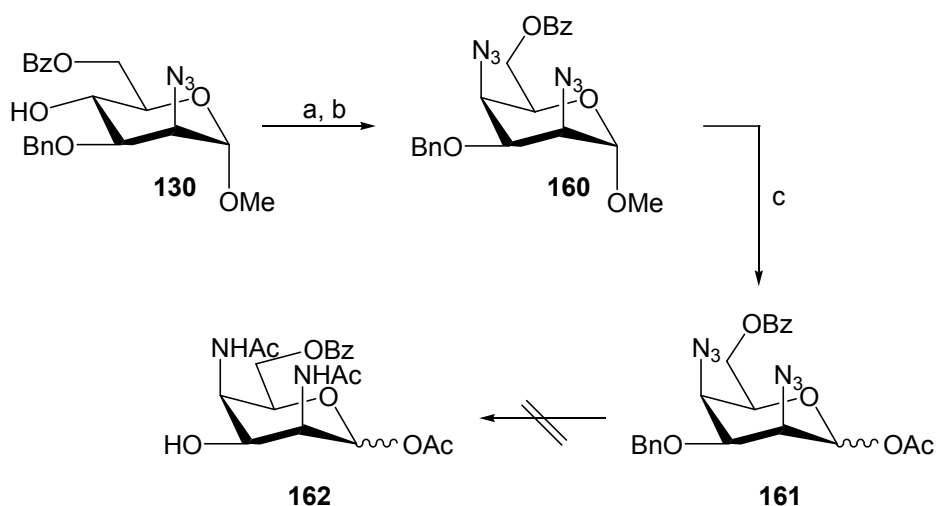
Radikalstarter und Triethylsilan als Hydriddonor kam es dagegen zur Zersetzung des Startmaterials. In einer weiteren Reaktion wurde die zuvor erzeugte Verbindung **158** mit $\text{Ac}_2\text{O}/\text{H}_2\text{SO}_4$ -Lösung umgesetzt. Die Umacetylierung verlief allerdings im Vergleich zu den anderen Derivaten langsamer und erforderte deutlich niedrigeren pH-Wert. Unter diesen Reaktionsbedingungen kam es zur Reduktion des Azids und Benzylether-Spaltung, wodurch die Pyranose **159** in 45 % Ausbeute dargestellt wurde.



Schema 3.26: Reagenzien und Bedingungen: a) 1,1'-Thiocarbonyldiimidazol, DMAP, abs. Toluol, Rückfluss, 2 h, 87 %; b) AIBN, Bu_3SnH , Toluol, Rückfluss, 6 h, 61 %; c) $\text{Ac}_2\text{O}/\text{H}_2\text{SO}_4$, RT°C , 72 h, 45 %.

3.4.2.7 Studien zur Darstellung des 4 - Acetamids **162** ausgehend von **130**

Die Synthese der Pyranose **162** begann bei der zentralen Zwischenstufe **130**. Hierzu wurde die freie OH-Gruppe von **130** mit Trifluormethansulfonsäureanhydrid in das Triflat **131** überführt, das ohne weitere Reinigung mit Natriumazid in Gegenwart von 15-Krone-5 zum Diazid **160** weiter umgesetzt wurde. Das in 89 % Ausbeute über zwei Stufen isolierte Bisazid **160** wurde anschließend zu **161** umacetalisiert und ohne Reinigung weiter umgesetzt.



Schema 3.27: Reagenzien und Bedingungen: a) Tf_2O , abs. Pyridin, abs. DCM, $-20^\circ\text{C} \rightarrow -8^\circ\text{C}$, 3 h; b) NaN_3 , 15 - Krone - 5, abs. DMF, 40°C , 2 d, 89 %, c) $\text{Ac}_2\text{O}/\text{H}_2\text{SO}_4$, 0°C , 1 h, **161** α/β 9:1.

Die nachfolgenden Versuche sowohl die Azide als auch den Benzyl - Ether zu reduzieren, scheiterten daran, dass sich das Startmaterial bei den gewählten Reaktionsbedingungen zersetzte.

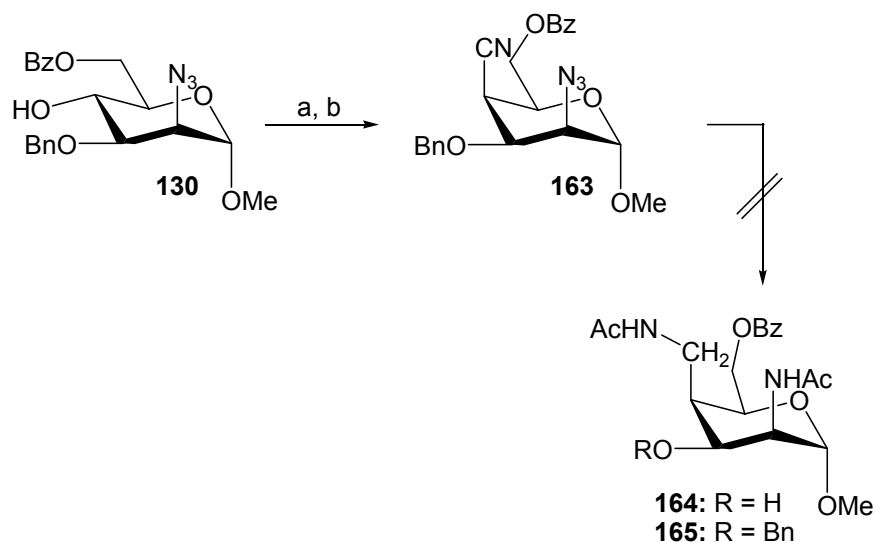
Rkt.	Reagenz	Katalysator	Lösungsmittel	Reaktionsbedingungen	Ergebnis
1	-	Pd/C	MeOH	24 h	Zersetzung
2	Essigsäure	Pd/C	MeOH	24 h	Zersetzung
3	Acetanhydrid	Pd/C	Essigester	24 h, 5 bar	Zersetzung
4	Essigsäure	$\text{Pd}(\text{CO}_3)_2$	MeOH	24 h	Zersetzung
5	Acetanhydrid	$\text{Pd}(\text{CO}_3)_2$	Essigester	24 h	Zersetzung
6	Acetanhydrid	$\text{Pd}(\text{OAc})_2$	Essigester	24 h, 5 bar	Zersetzung
7	Acetanhydrid	$\text{Pd}(\text{OAc})_2$	Acetanhydrid	24 h, 5 bar	Zersetzung

Tabelle 3.6: Versuche zur Hydrierung von **161**.

3.4.2.8 Studien zur Darstellung von 4 - Aminomethyl - Pyranosen **164** bzw. **165** ausgehend von **130**

Zur Synthese des Nitrils **163** wurde die freie OH - Gruppe von **130** zunächst in das Triflat **131** überführt und ohne weitere Reinigung weiter umgesetzt. Die anschließende Umsetzung von **131** mit Natriumcyanid in Gegenwart von 15 -Krone - 5 lieferte das

Nitril **163** in 91 % Ausbeute. Die anschließende Reduktion des 4 - Cyano - Pyranosids **163** erbrachte, wie in Tabelle 3.7 aufgeführt, auch unter verschiedenen Reaktionsbedingungen keine weiteren Umsätze.



Schema 3.28: Reagenzien und Bedingungen: a) Tf_2O , Pyridin, abs. DCM, $-20^\circ\text{C} \rightarrow -8^\circ\text{C}$, 3 h; b) NaCN, 15 - Krone - 5, abs. DMF, 40°C , über Nacht, 91 %.

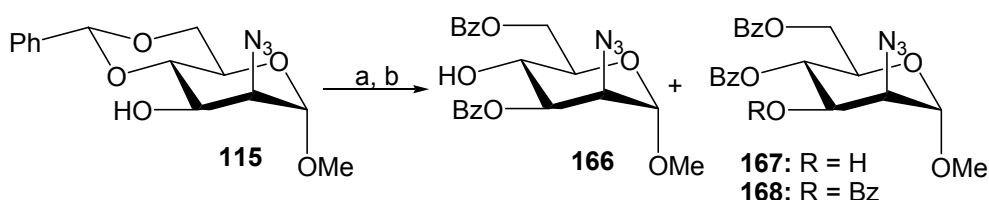
Rkt.	Reagenz	Katalysator	Lösungsmittel	Reaktionsbedingungen	Ergebnis
1	-	Pd/C	MeOH	24 h	Zersetzung
2	Essigsäure	Pd/C	MeOH	24 h	Zersetzung
3	Essigsäure	Pd/C	EtOH:EE (2:1)	24 h	Zersetzung
4	Acetanhydrid	Pd/C	Essigester	24 h, 5 bar	Zersetzung
5	Essigsäure	$\text{Pd}(\text{CO}_3)_2$	MeOH	24 h	Zersetzung
6	Acetanhydrid	$\text{Pd}(\text{CO}_3)_2$	Essigester	24 h	Zersetzung
7	Acetanhydrid	$\text{Pd}(\text{OAc})_2$	Essigester	24 h, 5 bar	Zersetzung
8	LiAlH_4	-	THF	2 h	Zersetzung
9	Essigsäure	PtO_2	MeOH	24 h	Zersetzung
10	Essigsäure	PtO_2	THF	24 h	Zersetzung

Tabelle 3.7: Versuche zur Reduktion von **163**.

3.4.3 Geänderte Synthesestrategie zur Darstellung der Cyano - und Amino - Derivate

3.4.3.1 Synthese des 2 - Azido - mannosids **166**

Aufgrund der aufgetretenen Schwierigkeiten bei der Debenzylierung der Glycoside **161** und **163**, musste die Schutzgruppenstrategie überdacht werden. Hierzu wurde das Benzylidenacetal des Schlüsselintermediats **115** katalytisch gespalten. Das erzeugte Produkt wurde ohne weitere Reinigung mit Benzoylchlorid in Gegenwart von Pyridin umgesetzt. Idealerweise sollten dann die OH - Gruppen an C - 6 und C - 3 benzyliert werden.



Schema 3.29: Reagenzien und Bedingungen: a) *p* - TSA, MeOH, RT, 1 h; b) BzCl, abs. Pyridin, abs. DCM, 0°C, 1 h, **166** in 77 %, **168** in 18 %.

Im ^1H - NMR - Spektrum ließen sich zwei Verbindungen erkennen, die anhand der ^1H - Kopplungskonstanten $J_{3,4}$ den Glycosiden **166** und **167** zugeordnet werden konnten. Das gewünschte Pyranosid **166** wurde dabei als Hauptprodukt erhalten. Um die Auswirkung des Lösungsmittel/Base - Verhältnisses auf die Produktverteilung zu untersuchen, wurden verschiedene Testreaktionen durchgeführt. Das Verhältnis der beiden Verbindungen zueinander wurde per NMR - Spektroskopie bestimmt. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 3.8 zusammengefasst.

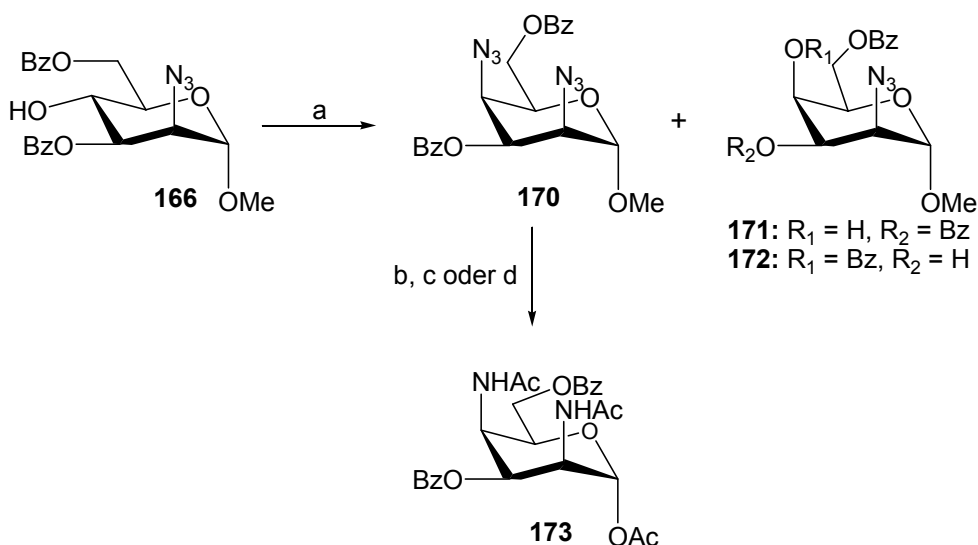
Verhältnis Pyridin:DCM	Verhältnis 166:167
1:1	3.5:1
1:2	3.8:1
1:4	3.6:1
1:6	4.3:1
2:1	3.1:1

Tabelle 3.8: Optimierung der Reaktionsbedingungen zur Darstellung von **166**.

Die erzeugten Glycoside **166** und **167** besitzen die gleiche Polarität. Aus diesem Grund war die Auftrennung der beiden Verbindungen nicht möglich. Bei Einsetzung des Benzoylchlorids im leichten Überschuss, wurde die freie OH - Gruppe von **167** bevorzugter substituiert. Die gebildeten Verbindungen **166** und **168** konnten dann ohne Aufwand voneinander getrennt werden. Das gewünschte Produkt **166** wurde als Hauptprodukt in 77 % Ausbeute isoliert.

3.4.3.2 Synthese des Acetamids **173** ausgehend von **166**

Analog zur im Abschnitt 3.4.2.7 dargestellten Methode wurde auch hier für die folgende Azid - Einführung zunächst der Alkohol **166** in das Triflat **169** überführt und ohne weitere Reinigung umgesetzt. Die anschließende Reaktion mit Natriumazid in Gegenwart von 15 - Krone - 5 lieferte ein Produktgemisch. Neben dem Pyranosid **170** (18 %) wurden zwei weitere Verbindungen **171** (21 %) und **172** (26 %) erhalten. Verwendete man die doppelte Menge von Natriumazid, ließ sich die Bildung der Nebenprodukte (8 % für **171**, 10 % für **172**) zugunsten des Azids **170** (49 %) unterdrücken.



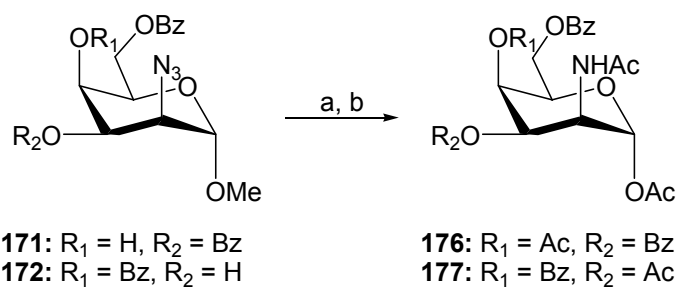
Schema 3.30: Reagenzien und Bedingungen: a) Tf₂O, Pyridin, abs. DCM, - 20°C, 1 h; NaN₃, 15 - Krone - 5, abs. DMF, RT, 15 h, **170** in 49 %, **171** in 8 %, **172** in 10 %; b) Ac₂O/H₂SO₄, 0°C, 1 h; c) Pd(OAc)₂, H₂, Ac₂O, 2 d, 61 %; d) Pd(OAc)₂, Ac₂O, H₂, EE, 24 h, **170** in 8 %.

Die Bis - azido - Verbindung **170** konnte weiter zum Acetamid **173** umgesetzt werden. Hierzu wurde das anomere Zentrum des Methylglycosids **170** zuerst unter Zuhilfenahme von Schwefelsäure in Acetanhydrid vollständig als Acetat umgeschützt. Die

erzeugte Verbindung wurde direkt in der nächsten Reaktion eingesetzt. Die nachfolgende Reduktion/Stickstoff - Acetylierung in Acetanhydrid als Lösungsmittel unter Verwendung von $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ als Katalysator unter Wasserstoffatmosphäre lieferte das gewünschte *talo* - Pyranose **173** in 61 % über 2 Stufen. Mit Essigsäureethylester als Lösungsmittel in Gegenwart von wenigen Äquivalenten Acetanhydrid kam es dagegen überwiegend zur Zersetzung.

3.4.3.3 Weitere Umsetzung der Nebenprodukte **171** und **172**

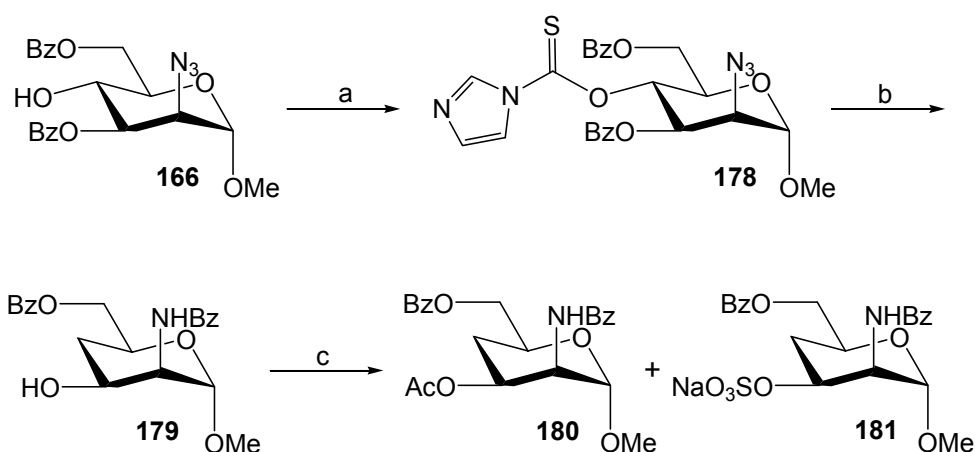
Auch die im Abschnitt 3.4.3.2 dargestellten Nebenprodukte **171** und **172** konnten nach Umacetalisierung und nachfolgender Reduktion/Acetylierung zu **176** bzw. **177** zur Darstellung der Sialinsäure - Derivate verwendet werden.



Schema 3.31: a) $\text{Ac}_2\text{O}/\text{H}_2\text{SO}_4$, 0°C , 1 h; b) $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, H_2 , EE, über Nacht, **176** in 59 %, **177** in 68 %.

3.4.3.4 Versuche zur Synthese des Desoxy - Derivats **182** ausgehend von **166**

Für die Barton - McCombie - Reaktion wurde die Verbindung **166** mit 1,1'-Thiocarbonyldiimidazol unter Zuhilfenahme von DMAP in den Thioester **178** in 96 % Ausbeute überführt. Die nachfolgende radikalische Desoxygenierung mit Tributylzinnhydrid und dem Radikalstarter AIBN lieferte das 4 - Desoxyprodukt **179** in 77 % Ausbeute.

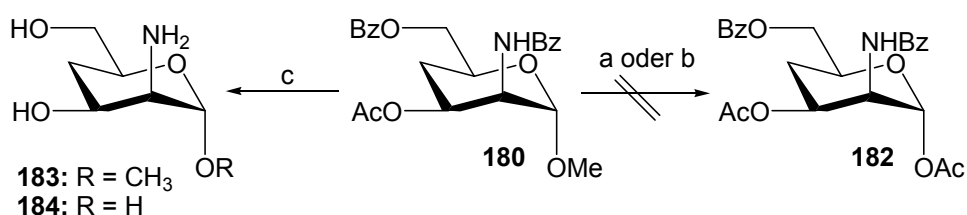


Schema 3.32: Reagenzien und Bedingungen: a) 1,1'-Thiocarbonyldiimidazol, DMAP, abs. Toluol, Rückfluss, 2 h, 96 %; b) AIBN, Bu_3SnH , Toluol, Rückfluss, 6 h, 77 %; c) $\text{Ac}_2\text{O}/\text{H}_2\text{SO}_4$, 0°C , 2h, **181** 69 %, **180** 10 %.

Im Gegensatz zur im Abschnitt 3.4.2.6 beschriebenen Desoxygenierung gelang hier die Reduktion des Azids bei gleichzeitiger Benzoyl - Wanderung vom Sauerstoff auf den Stickstoff. Die Desoxygenierung verlief zwar in guter Ausbeute, die Reduktion des Azids erwies sich aber bei der nachfolgenden anomeren Entschützung als ein Nachteil dieser Reaktionssequenz. Wie die in den vorherigen Abschnitten beschriebenen Versuche zeigten, konnte die Methylgruppe am anomeren Zentrum in guten Ausbeuten unter sehr milden Reaktionsbedingungen mit einem Acetanhydrid/Schwefelsäure - Gemisch in eine deutlich aktivere Acetyl - Gruppe überführt werden. Voraussetzung dafür ist die Präsenz des Azids an C - 2. Ist an dieser Position eine Amino - Gruppe, sind zur Entschützung des anomeren Zentrums stärker saure Reaktionsbedingungen erforderlich. Die Reaktion verläuft langsamer und liefert schlechtere Ausbeuten.

Bei der Reaktion der zuvor erzeugten Verbindung **179** mit dem Acetanhydrid/Schwefelsäure - Gemisch bei 0°C , kam es zu einer Acetylierung (Verbindung **180**, 10 %) bzw. Sulfatierung (Verbindung **181**, 69 %) der freien OH - Gruppe. Das anomere Zentrum blieb bei den gewählten Reaktionsbedingungen intakt.

Auch der Versuch zur Umacetylierung der bereits an C - 3 acetylierten Verbindung **180** lieferte weder mit dem Acetanhydrid/Schwefelsäure - noch mit dem Acetanhydrid/Salzsäure - Gemisch das gewünschte Produkt **182**.

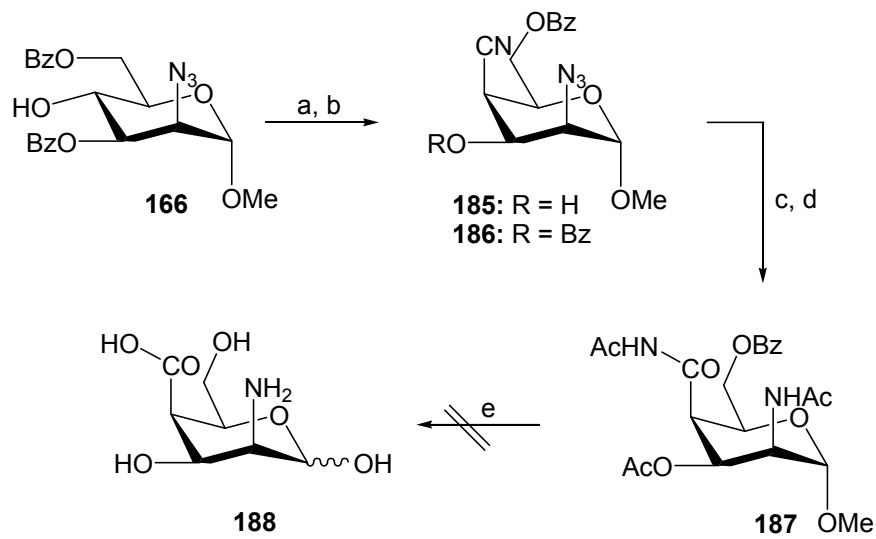


Schema 3.33: Reagenzien und Bedingungen: a) $\text{Ac}_2\text{O}/\text{H}_2\text{SO}_4$, RT, 48 h, kein Umsatz;
 b) $\text{Ac}_2\text{O}/\text{HCl}$, RT, 48 h, kein Umsatz; c) 6 M HCl, Rückfluss, 24 h;
183:184 (4:1).

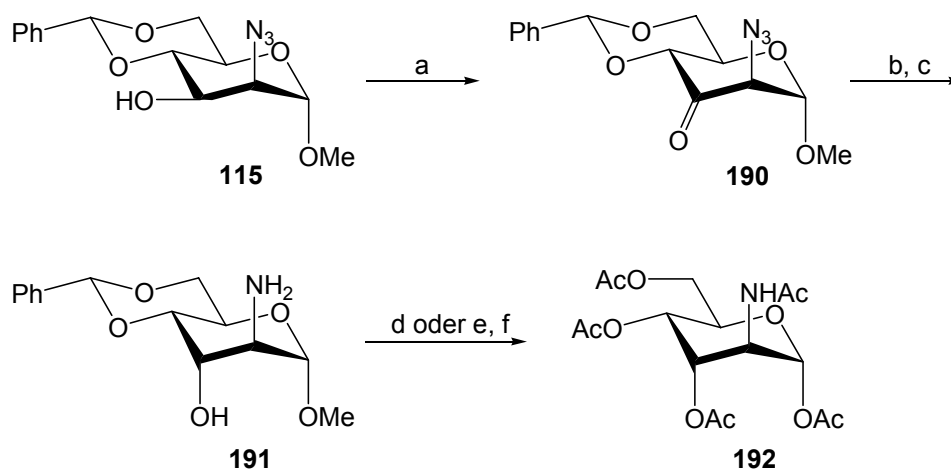
Weitere Versuche zur Entschützung des anomeren Zentrums in Gegenwart von 6 N Salzsäure blieben ebenfalls erfolglos. Der Umsatz von **180** zum gewünschten Aminozucker **184** war trotz drastischer Reaktionsbedingungen sehr gering.

3.4.3.5 Versuche zur Synthese der 2 - Aminopyranose **188** ausgehend von Azid **166**

Analog zur im Abschnitt 3.4.2.8 dargestellten Methode wurde auch hier für die folgende Nitril - Einführung die freie OH - Gruppe der Verbindung **166** in das Triflat **169** überführt und ohne weitere Reinigung umgesetzt. Die anschließende Reaktion mit Natriumcyanid in Gegenwart von 15 - Krone - 5 lieferte die gewünschten Nitrile **185** und **186** in einer Gesamtausbeute von 69 %. Die anschließende Hydrierung der Verbindung **185** in Gegenwart von Platin(IV)oxid und nachfolgende Acetylierung des erhaltenen Produktes lieferte das Amid **187** in 52 % Ausbeute. Die abschließende Entschützung von **187** in Gegenwart von 4 M HCl führte zur Zersetzung des Startmaterials und konnte somit nicht erfolgreich abgeschlossen werden.



Schema 3.34: Reagenzien und Bedingungen: a) Tf_2O , Pyridin, abs. DCM, $-20^\circ\text{C} \rightarrow -8^\circ\text{C}$, 1 h; b) NaCN, 15 - Krone - 5, abs. DMF, 40°C , 15 h, **185** in 26 %, **186** in 43 %; c) PtO_2 , HOAc, MeOH, 24 h; d) Ac_2O /Pyridin (1:2), 15 h, 52 %; e) 4 M HCl, Rückfluss, 24 h, 0 %.

3.4.4 Synthese von *altro* - Pyranose **192**

Schema 3.35: Reagenzien und Bedingungen: a) DMP, DCM, 0°C → RT, über Nacht, quantitativ; b) NaBH₄, EtOH/THF, 0°C → RT, über Nacht; c) Pd/C, MeOH, RT, 8 h, quantitativ; d) Ac₂O/H₂SO₄, 0°C → RT, 24 h, 53 %; e) 6 M HCl, 100°C, 8 h, f) Ac₂O/Pyridin (1:2), RT, über Nacht, 57 %.

Die Synthese von *altro* - Pyranose **192** begann mit dem *manno* - Azid **115**, welches mittels Dess - Martin - Periodinan zum Ulonpyranosid **190** oxidiert wurde. Das Produkt wurde in quantitativer Ausbeute erhalten und bedurfte keiner weiteren Aufarbeitung. In einigen Fällen ließ sich allerdings im ¹H - NMR - Spektrum des Rohprodukts die Bildung einer weiteren Komponente im Verhältnis 2:1 bis 1:1 beobachten. Mit Hilfe der Massenspektrometrie ließ sich jedoch nur die Produktmasse für das Keton **190** nachweisen. Auch die DC - Kontrolle lieferte nur einen Spot. Nach der säulenchromatographischen Reinigung wurde das Produkt in ca. 89 % isoliert. Aufgrund der hohen Ausbeute handelte es sich bei dem im NMR - Spektrum beobachteten Phänomen möglicherweise um die Bildung eines Hydrates und nicht um ein Nebenprodukt. Die auf diese Weise erzeugte Verbindung **190** wurde mit Natriumborhydrid in EtOH/THF reduziert, wobei es zu einer Inversion der OH - Gruppe an C - 3 kam. Gleichzeitig wurde auch das Azid teilweise reduziert. Zur vollständigen Reduktion des Azids wurde das Gemisch mit Pd/C unter Wasserstoffatmosphäre zur Altrose **191** in wenigen Stunden umgesetzt. Auch dieses Produkt bedurfte keiner weiteren Aufarbeitung und wurde in quantitativer Ausbeute über zwei Stufen erhalten. Die finale Umacetalisierung/ Acetylierung auf zwei Wegen lieferte die Verbindung **192** in 53 % bzw. 57 % Ausbeute.

3.4.5 Studien zur Darstellung von 6 - *epi* - Sialinsäure - Derivaten

3.4.5.1 Synthesestrategie zur Bildung von Sialinsäure - Derivaten der 6 - *epi* - Sialinsäure

Die Synthese der Vorläufer für die an Position 7 modifizierte 6 - *epi* - Sialinsäure beginnt wie in Abschnitt 3.4.4 beschrieben mit der Darstellung des *altro*-Pyranosids **191** ausgehend vom Schlüssel-intermediat **115**. Der nachfolgende Teil verläuft analog zur Synthese von **120**. Deshalb wird hier an manchen Stellen auf eine genaue Beschreibung der Synthese verzichtet.

Die Synthese soll, ausgehend vom Schlüsselintermediat **115**, zunächst zum Amin **191** führen. Dieses soll dann durch zahlreiche Schutzgruppenmanipulationen in **193** überführt werden, welches weiteren Derivatisierungen zur Verfügung steht. Entschützung und nachfolgende enzymkatalysierte Aldolreaktion sollen die an Position 7 modifizierte 6 - *epi* - Sialinsäure **195** ergeben.

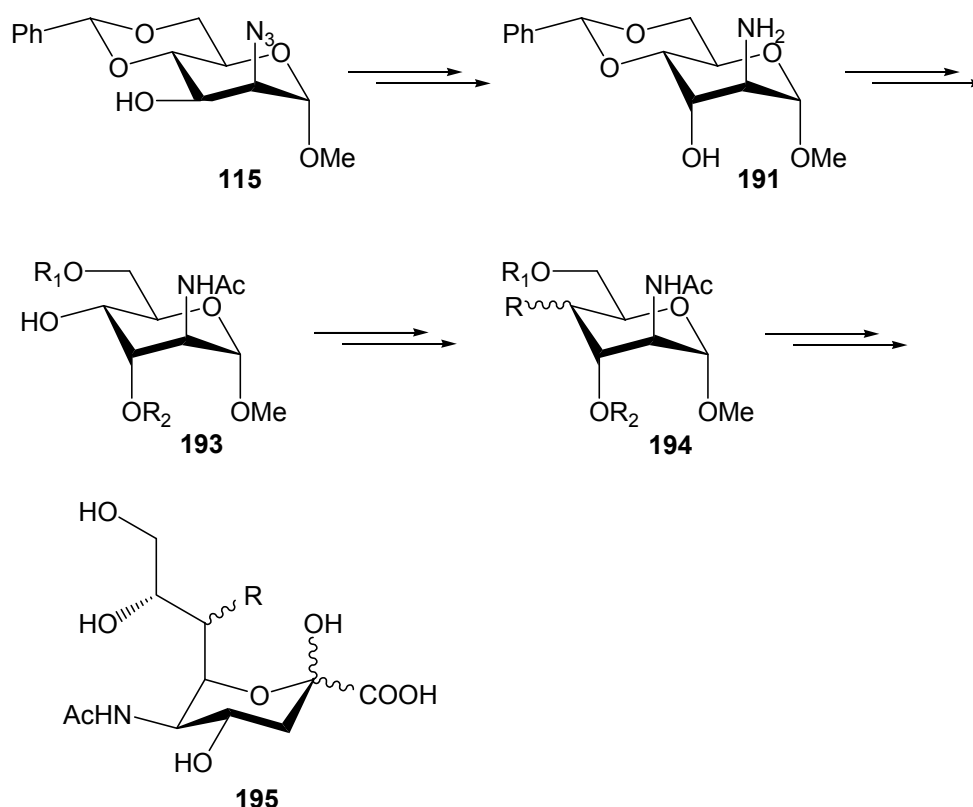
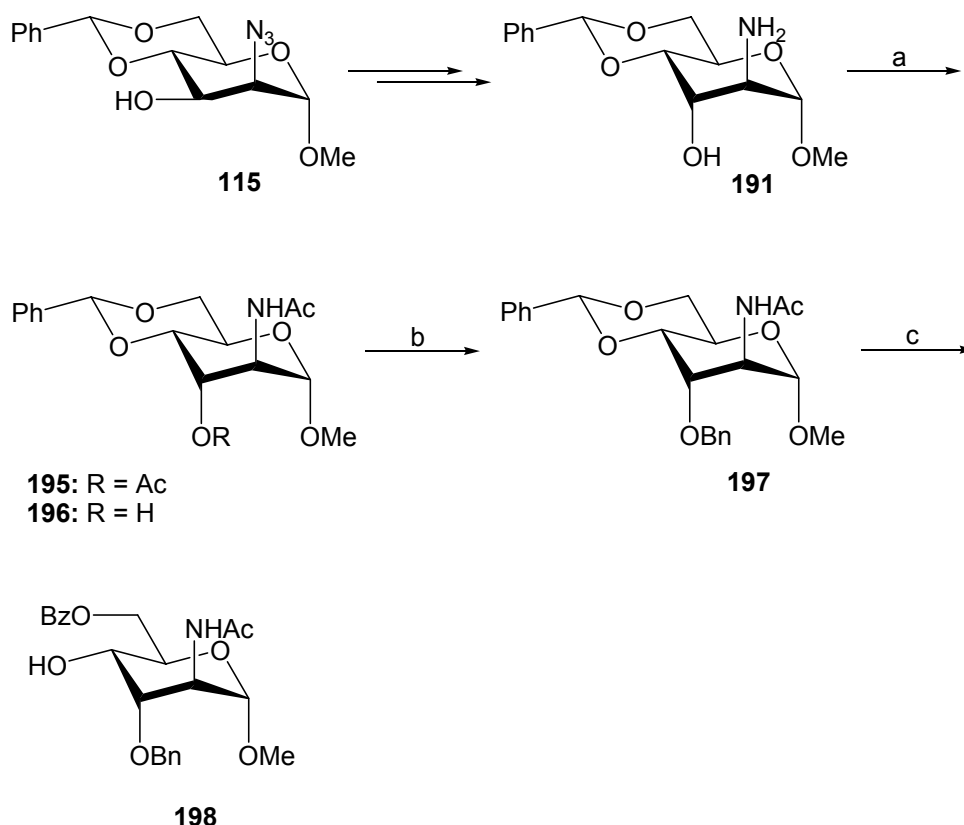


Abbildung 3.9: Synthesepfad zur Darstellung von an Position 7 modifizierter 6 - *epi* - Sialinsäure.

3.4.5.2 Synthese der Verbindung 198

Die Darstellung der Verbindung **198** begann mit der schon im Abschnitt 3.4.4 beschriebenen Oxidation/Reduktion - Sequenz des *manno* - Azids **115** unter Inversion der OH - Gruppe an C - 3. Die Bildung von **191** gelang in quantitativer Ausbeute über drei Stufen.

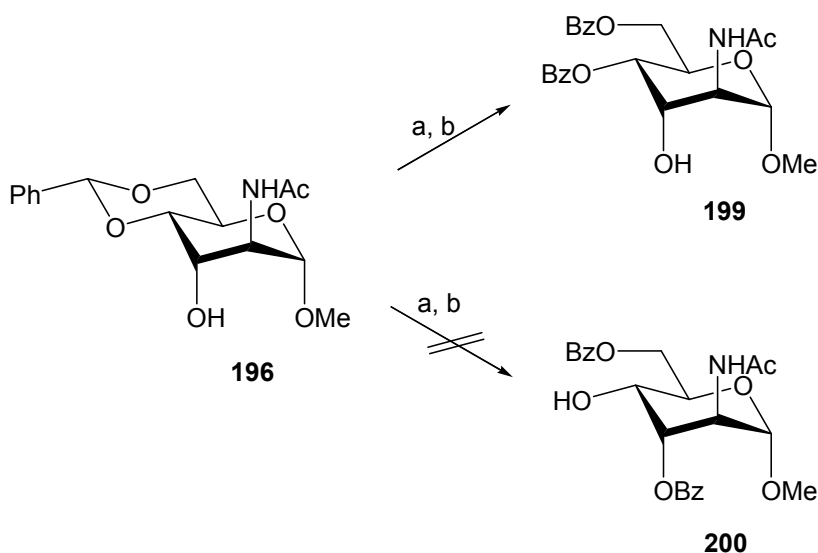


Schema 3.36: Reagenzien und Bedingungen: a) Ac_2O /Pyridin (1:2), über Nacht; NaBH_4 , EtOH/THF, $0^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 15 h; 81 %; b) BnBr, TBAI, NaH, abs. DMF, $0^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 15 h; 87 %; c) *p*-TSA, MeOH, RT, 1 h; BzCl, 2,6 - Lutidin, abs. DCM, 0°C , 3 h, 89 %.

Anschließende Acetylierung des Methylpyranosids **191** in einem Acetanhydrid/Pyridin - Gemisch lieferte nach Säulenfiltration ein Produktgemisch bestehend aus Verbindungen **195** und **196** in einem Verhältnis von 1:1.7. Das erhaltene Gemisch wurde hydrolytisch verseift. Die säulenchromatographische Reinigung lieferte das *altro* - Pyranosid **196** in 81 % Ausbeute. Dieses wurde dann, analog zur im Abschnitt 3.4.2.1 beschriebenen Synthese von **130**, zum Methylpyranosid **197** benzyliert (87 %). Nach Spaltung des Benzylidenacetals mit *para*-Toluolsulfonsäure und Benzoylierung der primären OH - Gruppe, ließ sich das 2 - Amino - altrosid **198** in

89 % Ausbeute über zwei Stufen darstellen. Die freie OH - Gruppe in **198** stand nun für weitere Modifizierungen zur Verfügung.

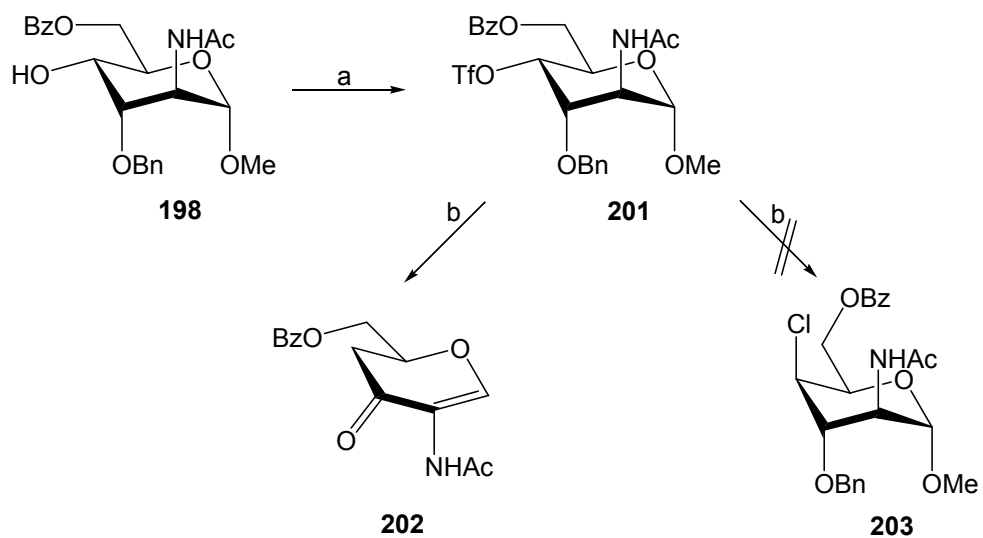
Um die Reaktivitäten der freien 3 - OH - Gruppe in Pyranosid **196** zu überprüfen, wurde diese Verbindung analog zu der im Abschnitt 3.4.3.1 beschriebenen direkten Synthese von **166** mit *p* - Toluolsulfonsäure und anschließend mit Benzoylchlorid umgesetzt. Entsprechend der Erwartung wurde die äquatorial stehende OH - Gruppe an C - 4 gegenüber der axialen OH - Gruppe an C - 3 bevorzugter benzyliert. Das Dibenzoat **200** wurde somit nicht gebildet. Das Produkt **199** wurde in 79 % Ausbeute über zwei Stufen erhalten.



Schema 3.37: Reagenzien und Bedingungen: a) *p* - TSA, MeOH, RT, 1 h; b) BzCl, abs. Pyridin, abs. DCM, 0°C, 4 h, 79 %.

3.4.5.3 Versuchte Modifizierung von **198**

Entsprechend der im Abschnitt 3.4.2.2 beschriebenen Methode wurde hier der Versuch unternommen, die OH - Gruppe durch Chlor zu substituieren. Dazu wurde die freie Hydroxy - Gruppe zunächst unter milden Reaktionsbedingungen mit Trifluormethansulfonsäureanhydrid in das Triflat **201** überführt, welches entweder isoliert oder ohne säulenchromatographische Reinigung weiter umgesetzt werden konnte. Anschließende Übertragung der Reaktionsbedingungen für die Chlorid - Einführung führte jedoch nicht zum gewünschten Chlorid **203**. Als Resultat einer doppelten Eliminierung wurde die 3 - Enulose **202** in 73 % Ausbeute erhalten.

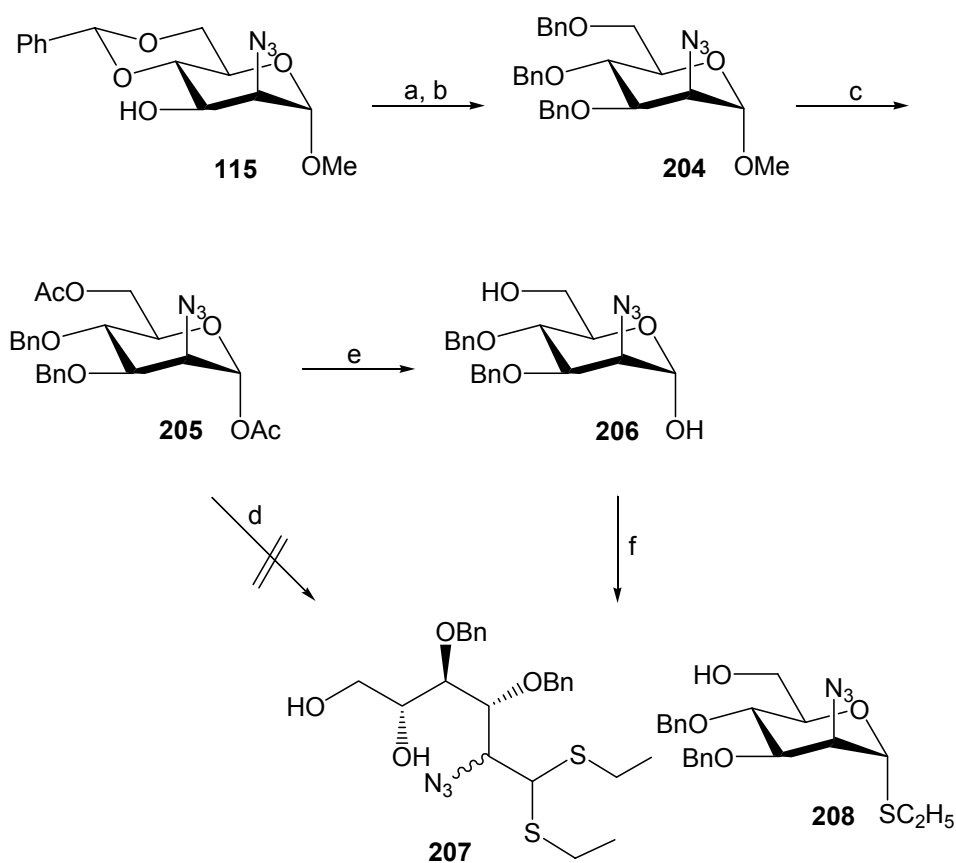


Schema 3.38: Reagenzien und Bedingungen: a) Tf_2O , Pyridin, abs. DCM, $-20^\circ\text{C} \rightarrow -8^\circ\text{C}$, 3 h; b) KCl, 18 - Krone - 6, abs. DMF, RT, 15 h, 73 %.

3.4.6 Synthese der an Position 8 modifizierten Neuraminsäure

3.4.6.1 Darstellung der Verbindung 217 ausgehend vom Schlüsselintermediat 115

Zur Darstellung der an Position 8 modifizierten Sialinsäure wurde das Schlüsselintermediat **115** mit einer katalytischen Menge *para*-Toluolsulfonsäure gespalten und perbenzyliert. Das in 98 % Ausbeute isolierte Azid **204** wurde anschließend unter Zuhilfenahme von Schwefelsäure in Acetanhydrid umacetalisiert (93 %).



Schema 3.39: Reagenzien und Bedingungen: a) *p*-TSA, MeOH, RT; 5 h; b) BnBr, TBAI, NaH, DMF, 0°C → RT, 15 h, 98 %; c) Ac₂O/H₂SO₄, 0°C, 20 min, 93 %, d) C₂H₅SH, HCl, 0°C → RT, 24 h, e) 0.3 M NaOH/MeOH, RT, 2 h, 80 %; f) C₂H₅SH, HCl, 0°C → RT, 24 h, **207** in 32 %, **208** in 14 %, **206** in 7 %.

Der Versuch, die Verbindung **207** direkt aus **205** in konz. Salzsäure in Gegenwart von Ethanethiol darzustellen, scheiterte und führte nur zur Zurückgewinnung von **205** in 81 % als einer einzigen Verbindung. Dieses Experiment wurde zwei Mal unter den im Schema 3.39 aufgeführten Reaktionsbedingungen mit dem gleichen Resultat

wiederholt. Auch längere Reaktionszeiten (48 h) führten nicht zum Erfolg. Anschließende Verseifung der Verbindung **205** (**206** in 80%) und Ringspaltung mit konz. Salzsäure in Gegenwart von Ethanthiol lieferte das Ringöffnungprodukt **207** (32 %) und das Thioglycosid **208** (14 %) als Nebenprodukt. Das Edukt **206** konnte ebenfalls reisoliert werden (7 %). Bei dem Dithioacetal **207** handelte es sich allerdings um ein Diastereomergemisch im Verhältnis 1.2:1, die Diastereomere konnten aufgrund identischer R_f - Werte nicht voneinander getrennt werden. Da die Zuordnung der Stereochemie bei offenkettigen Verbindungen nicht leicht ist, lässt sich vermuten, dass es sich dabei um die Epimere **210** und **213** handelte. Der vorgeschlagene Mechanismus ist in der Abbildung 3.10 gezeigt. Es wird angenommen, dass die *manno* - Verbindung **210** im Überschuss vorlag.

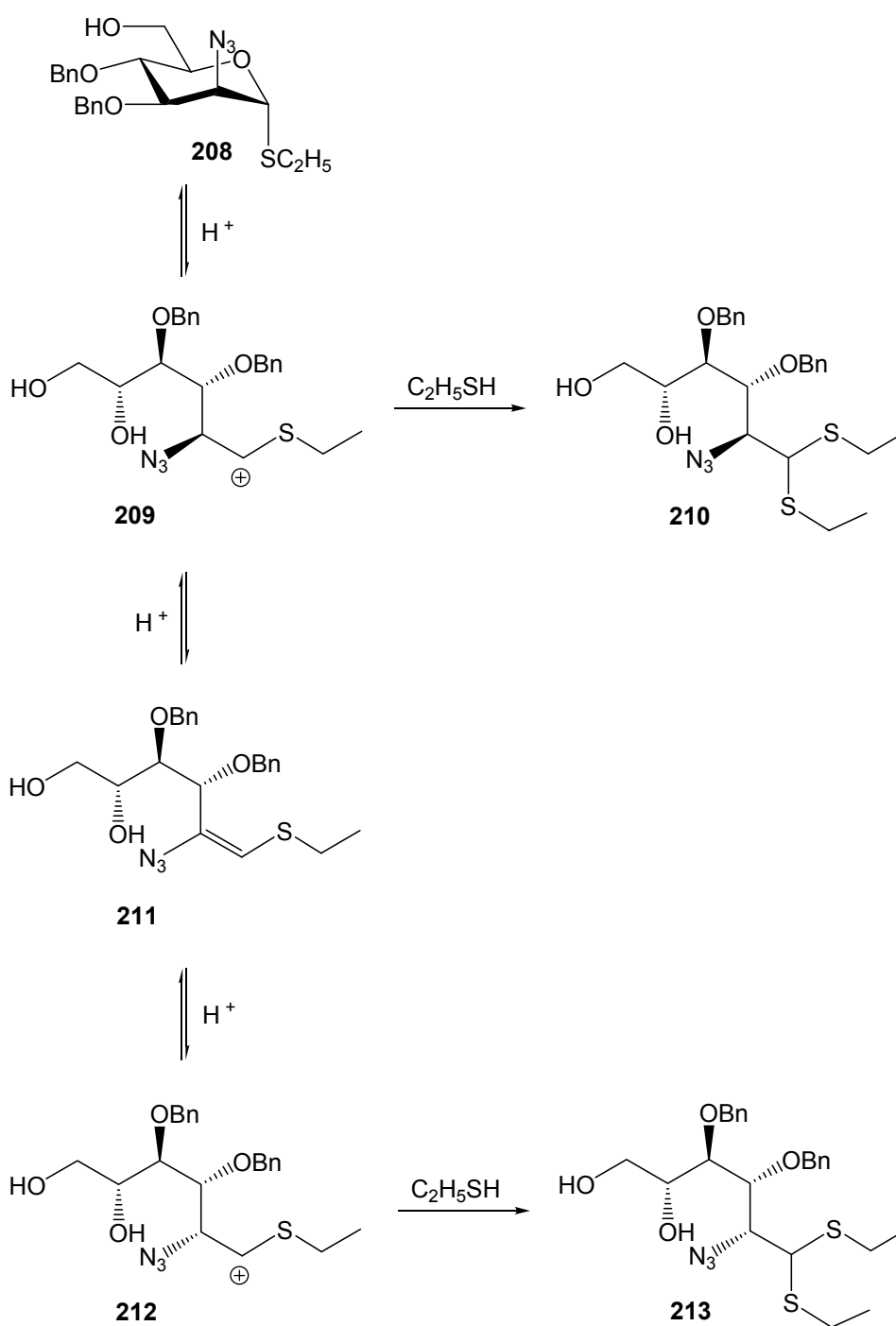
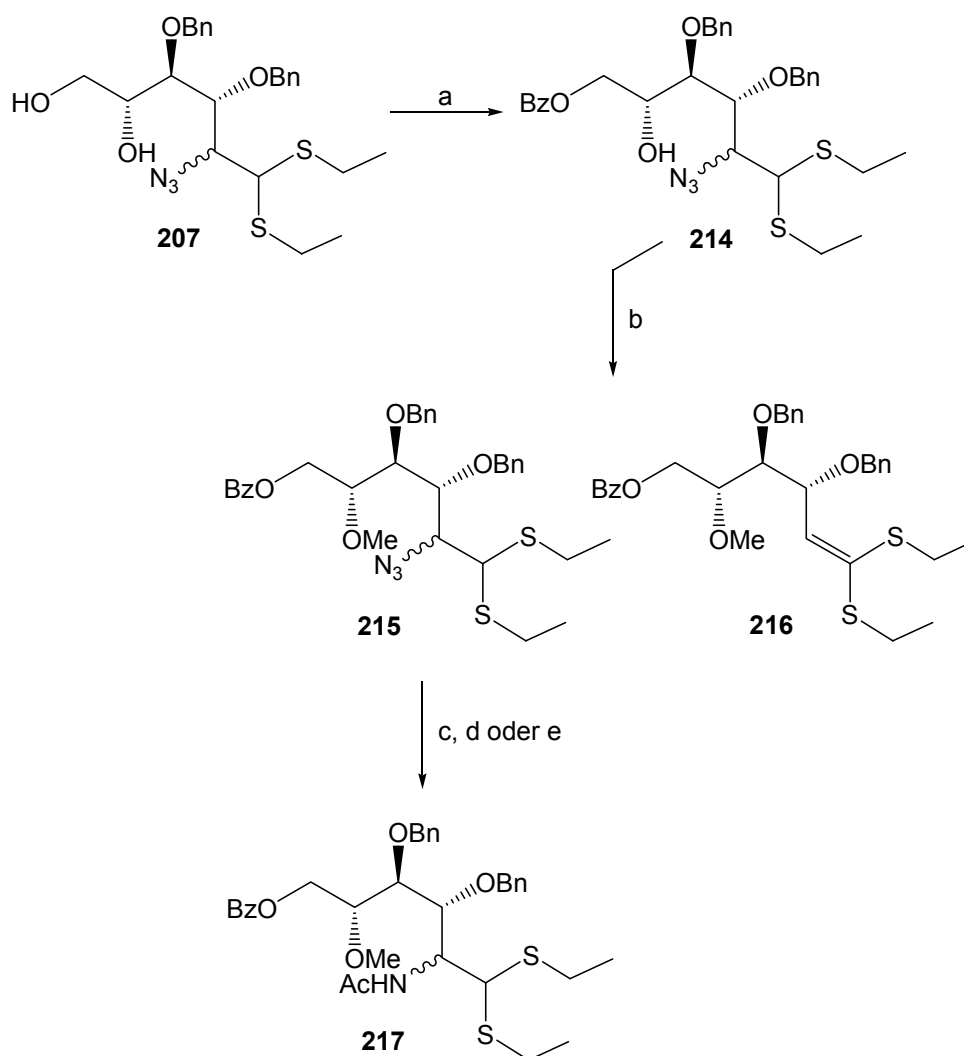


Abbildung 3.10: Mechanismus zur Darstellung der Epimere **210** und **213**.

Der weitere Weg zur Darstellung der Sialinsäure - Derivate erforderte nun die selektive Schützung der primären OH - Gruppe. Hierfür wurde die Mischung **207** mit Benzoylchlorid in ebenfalls nicht abtrennbare Epimere **214** (68 %) überführt. Zur Darstellung des Methoxy - Derivats **215** wurden die Verbindungen **214** mit Methyljodid in Gegenwart von Silberoxid umgesetzt. Neben der Bildung des zu erwartenden Produktgemisches wurde allerdings auch die Bildung des Ketendithioacetals **216**

infolge der Azid-Eliminierung im Verhältnis von **4:1 (215:216)** beobachtet. Die Rf-Werte der beiden Epimere unterscheiden sich nur geringfügig voneinander. Der Rf-Wert des Alkens **216** fällt mit dem Rf-Wert eines der beiden Produkte zusammen. Die drei Verbindungen konnten nicht vollständig voneinander abgetrennt werden. Es konnten 4 % eines Epimers in reiner Form gewonnen werden. Die Hydrierung dieser Verbindung in Methanol in Gegenwart von Pd auf Aktivkohle bei Normaldruck und nachfolgende Acetylierung lieferte Verbindung **217**. Das gleiche Ergebnis wurde auch in Essigsäureethylester in Gegenwart von Palladiumacetat und Acetanhydrid bei 5.2 bar erzielt.



Schema 3.40: a) BzCl, 2,6 - Lutidin, abs. DCM, 0°C, 6 h, 65 %; b) MeI, Ag₂O, abs. DCM, Rückfluss, 7 h, **215:216** (4:1) in 82 % Gesamtausbeute; c) H₂, Pd/C, MeOH, 24 h; d) Ac₂O/Pyridin, RT, 24 h, 63 %; e) H₂, Pd(OAc)₂, Ac₂O, EE, 24 h, 5.2 bar, **217** 70 %.

Um sich auf die Darstellung weiterer Derivate zu konzentrieren, wurde diese Route nicht weiter verfolgt.

3.5 Enzymatische Umsetzung von *N* - Acetylmannosamin - Derivaten zu den entsprechenden Sialinsäuren und ihre Aktivierung

In dem finalen Schritt wurden die zuvor dargestellten noch vollständig *O* - acylierten *N* - Acetylmannosamin - Derivate mit katalytischen Mengen Natriummethanolat in absolutem Methanol verseift und ohne weitere Reinigung enzymatisch zu den entsprechenden Sialinsäuren bzw. ihren CMP - Estern umgesetzt. Die Umsetzung der Mannosamin - Derivate zur Sialinsäure wurde durch die bei FLUKA und JÜLICH Fine Chemicals kommerziell erworbenen Aldolasen in Gegenwart von Pyruvat angestrebt. Zusätzlich wurde die von Vann *et al.*⁷¹ beschriebene Sialinsäure - Synthetase NeuB über das Plasmid pWVCjSAS dargestellt und für die Phosphoenolpyruvat (PEP) - vermittelte Sialinsäure - Darstellung verwendet. Die nachfolgende CMP - Aktivierung erfolgte mittels der von Prof. Dr. R. Gerardy - Schahn⁶¹ zur Verfügung gestellten CMP - Neu5Ac - Synthetasen. Eingesetzt wurden hierbei die aus *Neisseria meningitidis* Serogruppe B (NmB)⁷², der Maus^{73,74} und der Regenbogenforelle^{75,76} klonierten Enzyme.

⁷¹ A. K. Sundaram, L. Pitts, K. Muhammad, J. Wu, M. Betenbaugh, R. W. Woodard, W. Vann, *Biochem. J.*, **2004**, 383, 83-89.

⁷² kodierende Sequenz der CMP-NANA-Synthetase aus *Neisseria meningitidis* der Serogruppe B mit *N*-terminalem Strep-Tag und *C*-terminalem His-Tag in pET 22b.

⁷³ A. K. Münster, M. Eckhardt, B. Potvin, M. Mühlenhoff, P. Stanley, R. Gerardy-Schahn, *Proc Natl. Acad. Sci.*, **1998**, 95, 9140-9145.

⁷⁴ Aminosäuren 39-267 der murinen CMP-Neu5Ac-Synthetase mit *N*-terminal NusA-StrepII-Thrombin-Tag im prokaryontischen Expressionsvektor pET43.Strep mit NusA-StrepII.

⁷⁵ a) D. Nakata, A. K. Münster, R. Gerardy-Schahn, N. Aoki, T. Matsuda, K. Kitaima, *Glycobiology*, **2001**, 11, 685-692; b) A. K. Münster, B. Weinhold, B. Gotza, M. Mühlenhoff, M. Frosch, R. Gerardy-Schahn, *J. Biol. Chem.*, **2002**, 277, 19688-19696.

⁷⁶ Aminosäuren 28-255 der Regenbogenforelle CMP-Kdn-Synthetase mit *N*-terminal NusA-StrepII-Thrombin-Tag im prokaryontischen Expressionsvektor pET43.Strep mit NusA-StrepII.

3.5.1 Optimierung der Reaktionsbedingungen zur direkten Umsetzung von *N* - Acetylmannosamin zu CMP - Sialinsäure

Die Neu5Ac - Aldolase ist ein katabolisch sialinsäureabbauendes Enzym. Demzufolge ist die Umsetzung von *N* - Acetylmannosamin zur Sialinsäure oft ein mit geringen Ausbeuten verbundener Prozess. Aus diesem Grund wurde zunächst versucht, in einer Eintopf - zwei Enzyme - Reaktion die CMP - Sialinsäure direkt darzustellen, um das bei der Bildung der Sialinsäure sich einstellende Gleichgewicht auf die Produktseite zu ziehen. Die hierfür benötigten Reaktionsbedingungen wurden am natürlichen Substrat untersucht. Variiert wurden dabei Parameter wie Zugabe von DTT und Benutzung von Argon zur Minderung oxidativer Prozesse. Der Zusatz von Pyrophosphatase diente zum Abbau des infolge der Reaktion entstehenden Enzymhemmers Pyrophosphat zum Monophosphat. Weil das pH - Optimum der beiden Enzyme bei unterschiedlichen pH - Werten liegt (pH = 7.5 für die Aldolase, pH = 8.8 für die CMP - Synthetase), wurde ebenfalls der Einfluss des pH - Wertes auf den Verlauf dieser Reaktion untersucht. Die verwendete Aldolase wurde bei FLUKA erworben. Bei der eingesetzten CMP - Synthetase handelte es sich um die aus *Neisseria meningitidis* Serogruppe B (NmB) isolierte CMP - Neu5Ac - Synthetase. Die Reaktionskontrolle erfolgte nach 24 h und 72 h mittels LC - MS. Der Umsatz wurde durch den Vergleich der Massenintensitäten bestimmt. Die erhaltenen Ergebnisse sind in den Abbildungen 3.10 bis 3.14 dargestellt. Im ersten Versuch (V 1) wurde DTT zugesetzt, im zweiten (V 2) DTT in Kombination mit Pyrophosphatase. Der dritte Versuch (V 3) wurde unter Argonatmosphäre in einer sauerstofffreien Lösung durchgeführt, im vierten Versuch (V 4) wurde zusätzlich die Pyrophosphatase eingesetzt.

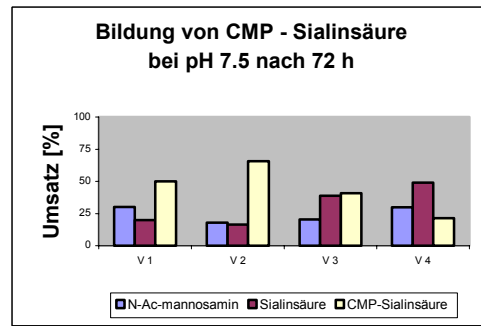
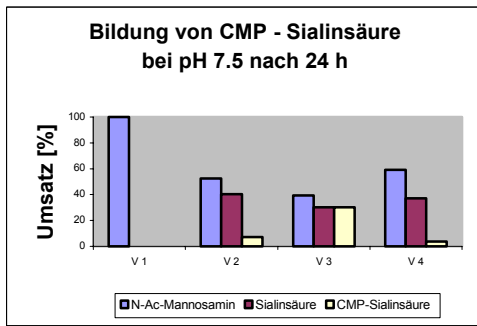


Abbildung 3.11: Bildung von CMP - Sialinsäure ausgehend von N - Acetylmannosamin bei pH = 7.5 nach 24 h und 72 h.

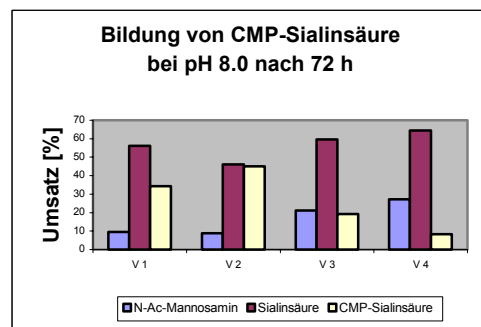
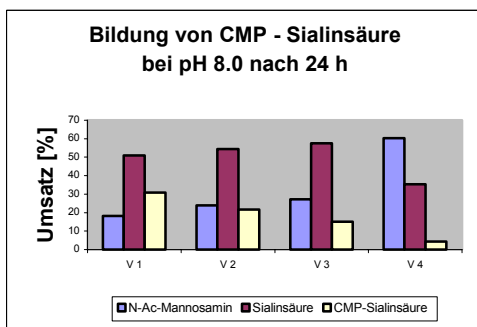


Abbildung 3.12: Bildung von CMP - Sialinsäure ausgehend von N - Acetylmannosamin bei pH = 8.0 nach 24 h und 72 h.

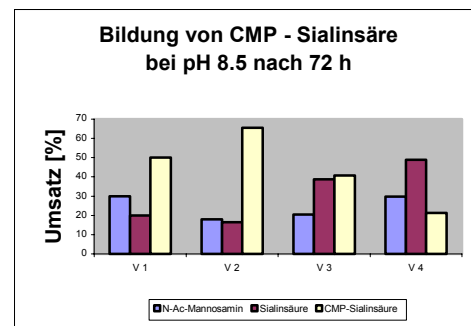
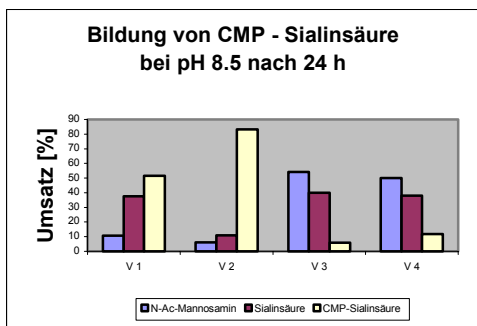


Abbildung 3.13: Bildung von CMP - Sialinsäure ausgehend von N - Acetylmannosamin bei pH = 8.5 nach 24 h und 72 h.

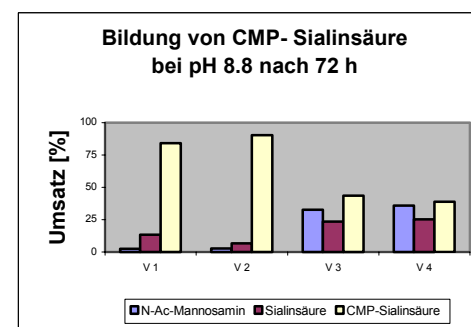
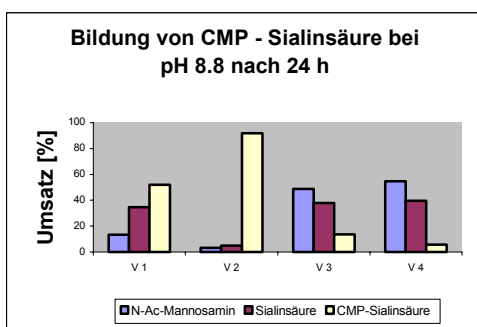


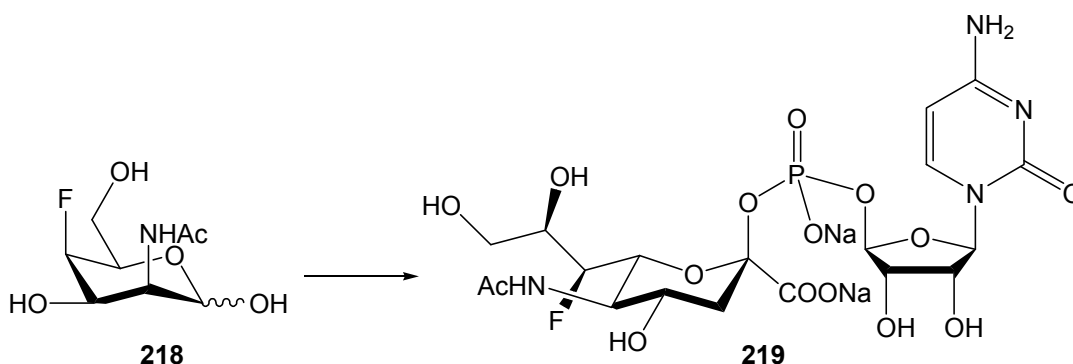
Abbildung 3.14: Bildung von CMP - Sialinsäure ausgehend von N - Acetylmannosamin bei pH = 8.8 nach 24 h und 72 h.

V 1: DTT V 3: Argon
 V 2: DTT, Pyrophosphatase V 4: Argon, Pyrophosphatase

Die NmB - CMP - Synthetase zeigte die größte Aktivität bei pH = 8.8 in Gegenwart von DTT und Pyrophosphatase (V 2). Ohne den Zusatz von Pyrophosphatase (V 1) verlief die Reaktion bei dem gleichen pH - Wert deutlich langsamer, erreichte aber nach drei Tagen einen vergleichbaren Umsatz. Weil die Umsetzung von nicht natürlichen Derivaten im Allgemeinen deutlich schwieriger verläuft, durfte auf den Zusatz von Pyrophosphatase nicht verzichtet werden.

3.5.2 Enzymatische Umsetzung von Fluor - Mannosamin 218 zu Fluor - Sialinsäure 220 und CMP - Fluor - Sialinsäure 219

Die im Abschnitt 3.5.1 optimierten Reaktionsbedingungen für die Eintopf - zwei Enzyme - Reaktion wurden zunächst auf die Umsetzung von Fluor - Mannosamin **218** zur entsprechenden CMP - Fluor - Sialinsäure **219** übertragen. Zusätzlich wurden zwei weitere CMP - Neu5Ac - Synthetasen zur Aktivierung herangezogen. Alle Reaktionen wurden mit der bei FLUKA erworbenen Aldolase durchgeführt.



Schema 3.41: Reagenzien und Bedingungen: Pyruvat, DTT, CTP, Pyrophosphatase, MgCl₂, Neu5Ac - Aldolase (FLUKA), CMP - Sialinsäure - Synthetase, Tris - HCl -Puffer (pH = 8.8), 37 °C, 72 h.

Die ebenfalls mittels LC - MS detektierten Umsätze sind in der Abbildung 3.15 dargestellt und fielen erwartungsgemäß niedriger aus als mit dem natürlichen Substrat. Im Vergleich zu den aus der Maus und aus dem Fisch gewonnenen CMP - Neu5Ac - Synthetasen zeigte das NmB - Enzym in Gegenwart von Pyrophosphatase einen besseren Umsatz. Ohne Zusatz von Pyrophosphatase fand die Aktivierung nicht statt.

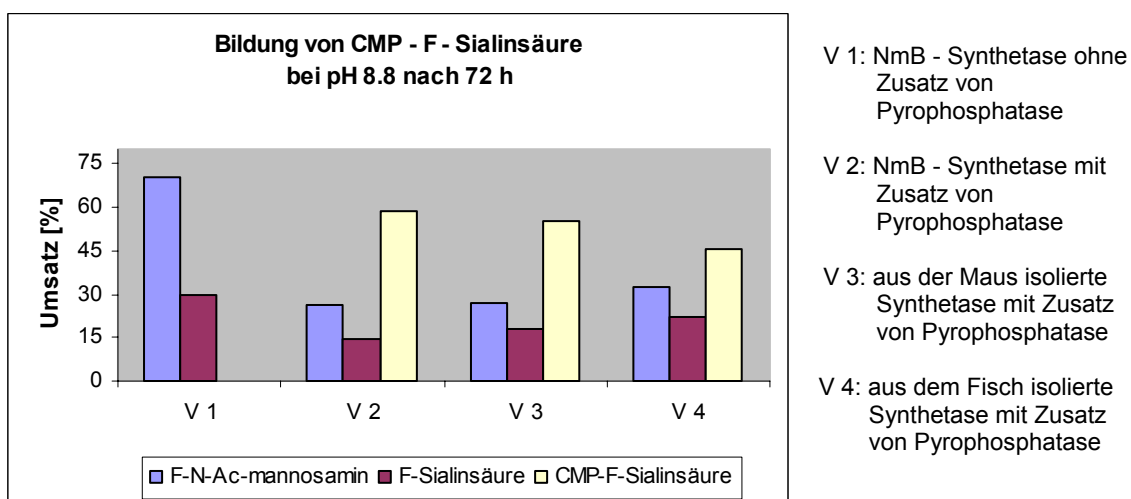
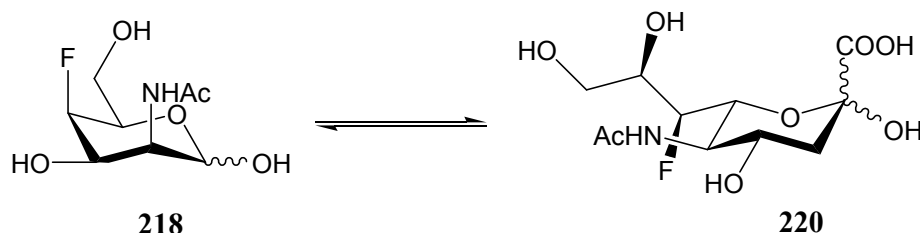


Abbildung 3.15: Bildung von F - CMP - Sialinsäure **219** ausgehend von F - N - Acetylmannosamin **218** bei pH = 8.8 nach 72 h.

Am Beispiel der Umsetzung von F - N - Acetylmannosamin **218** zur F - Sialinsäure **220** wurde der Einfluss der Konzentration von F - N - Acetylmannosamin **218** auf den Umsatz untersucht. Die Aldolreaktion wurde durch eine bei FLUKA erworbene Aldolase katalysiert. Das gebildete Produkt wurde mittels HPLC an einer Aminopropyl - Phase isoliert.



Schema 3.42: Reagenzien und Bedingungen: Neu5Ac - Aldolase (FLUKA), Pyruvat, DTT, Phosphat - Puffer (pH = 7.5), 32 °C, 48 h.

Die größte Ausbeute wurde bei einer Konzentration von 0.044 mmol/ml erhalten. Der Einfluss der Substratkonzentration auf die Bildung von F - Sialinsäure **220** ist in der Abbildung 3.16 dargestellt.

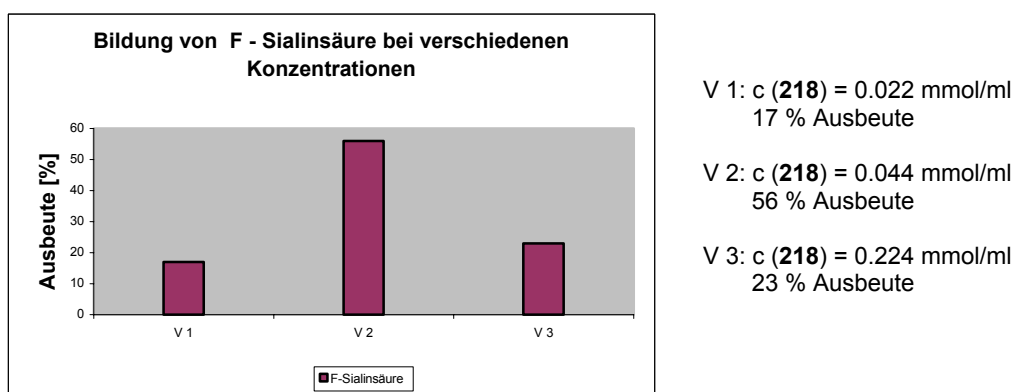
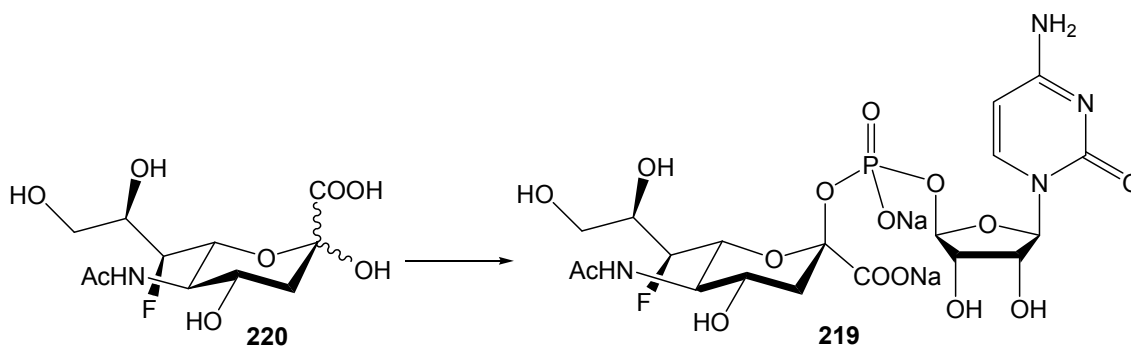


Abbildung 3.16: Einfluss der Substratkonzentration auf die Bildung von F - Sialinsäure **220** ausgehend von F - N - Acetylmannosamin **218**

Die isolierte 7 - Fluoro - Sialinsäure **220** wurde mit der NmB - CMP - Synthetase in Gegenwart von CTP, DTT und Pyrophosphatase im Tris - HCl - Puffer (pH = 8.8) umgesetzt. Im Vergleich zum Eintopf - zwei Enzyme - Verfahren konnte nach Reaktionsablauf kein Startmaterial mittels LC - MS nachgewiesen werden. Die F - Sialinsäure **220** wurde vollständig zur CMP - 7 - Fluor - Neu5Ac **219** aktiviert.



Schema 3.43: Reagenzien und Bedingungen: CTP, DTT, CMP - Sialinsäure - Synthetase, Pyrophosphatase, MgCl₂, Tris - HCl - Puffer (pH = 8.8), 37 °C, 48 h.

3.5.3 Enzymatische Umsetzung der *N*-Acetylmannosamin - Derivate zu den entsprechenden Sialinsäuren mittels Sialinsäure - Synthetase NeuB

Die aus *E. coli* K1 klonierte Sialinsäure - Synthetase NeuB produziert die Sialinsäure in einem irreversiblen Prozess. Das Enzym ist spezifisch für *N*-Acetylmannosamin und Phosphoenolpyruvat und erfordert den Zusatz von Mn^{2+} - oder Mg^{2+} -Kationen⁷⁷. Das Plasmid pWVCjSAS wurde in *E. coli* BL 21 Star (DE3)⁸³ transformiert und gemäß Originalliteratur⁷¹ expremiert. Das Lysat wurde an einer Ni - NTA - spin - Säule gereinigt. Die Bestimmung der Enzymreinheit erfolgte mittels denaturierender Polyacrylamid - Gelelektrophorese (SDS - Page). Das Molekulargewicht des aufgereinigten Enzyms wurde durch Vergleich mit den Proteinen des Größenmarkers⁷⁸ geschätzt und entspricht mit einer Größe von ca. 43 kDa dem erwarteten Protein.

Am Beispiel der Umsetzung von F - *N*-Acetylmannosamin **218** zur F - Sialinsäure **220** wurde der Einfluss der Substratkonzentration und der Puffermolarität auf den Umsatz untersucht. Das gebildete Produkt wurde mittels HPLC an einer Aminopropyl - Phase isoliert. Die Ergebnisse sind in der Abbildung 3.17 dargestellt.

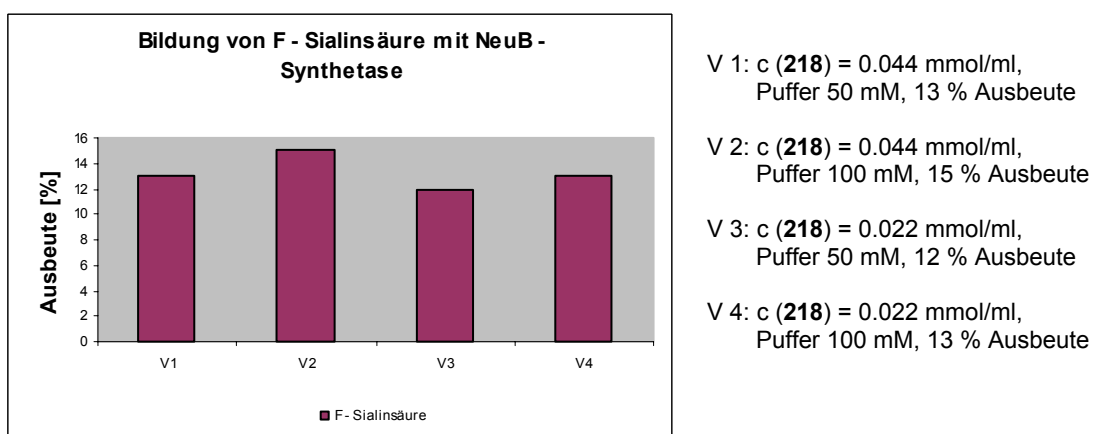


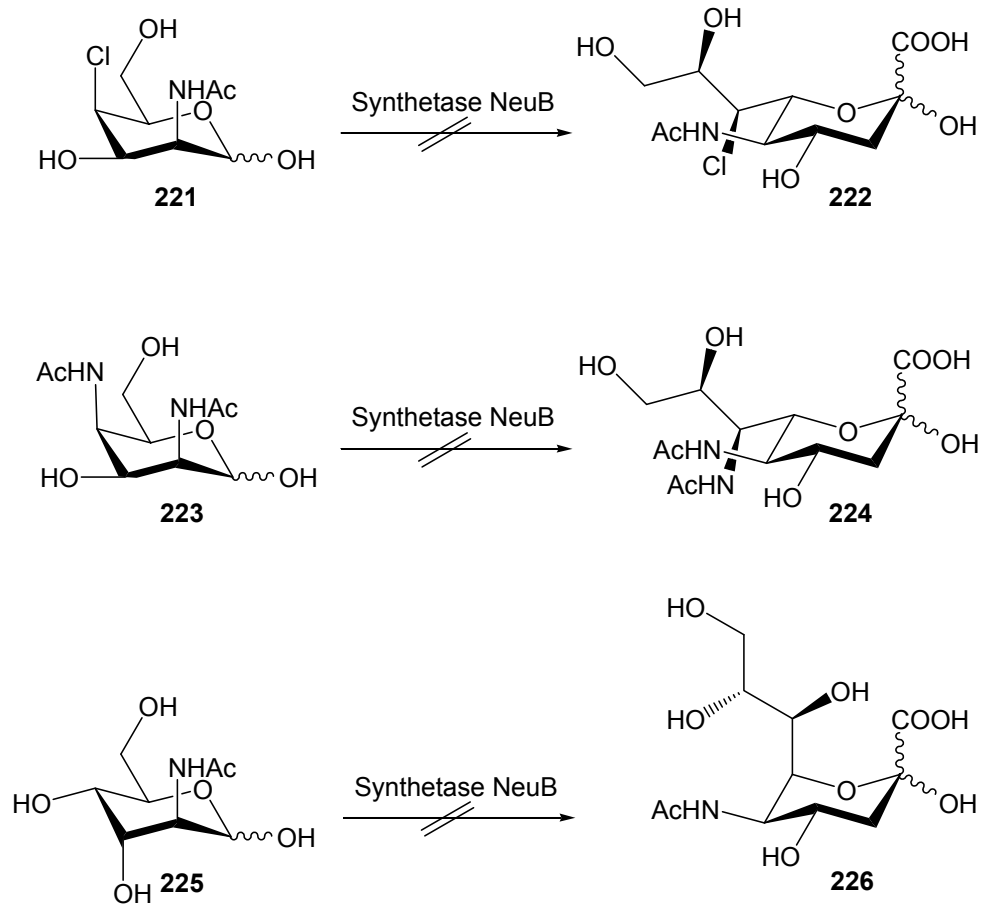
Abbildung 3.17: Einfluss der Substratkonzentration und Puffermolarität auf die Bildung von F - Sialinsäure **220** ausgehend von F - *N*-Acetylmannosamin **218**.

Es zeigte sich, dass die untersuchten Faktoren keinen signifikanten Einfluss auf den Umsatz aufweisen. Die Aktivität der NeuB - Synthetase liegt bei den gewählten Reaktionsbedingungen unter der Aktivität der bei FLUKA erworbenen Aldolase. Drei

⁷⁷ W. Vann, J. J. Tavarez, J. Crowley, E. Vimr, R. P. Silver, *Glycobiology*, **1997**, 7, 697-701.

⁷⁸ Als Größenmarker wurde verwendet: Page Ruler™ Prestained Protein Ladder, Hersteller Fermentas.

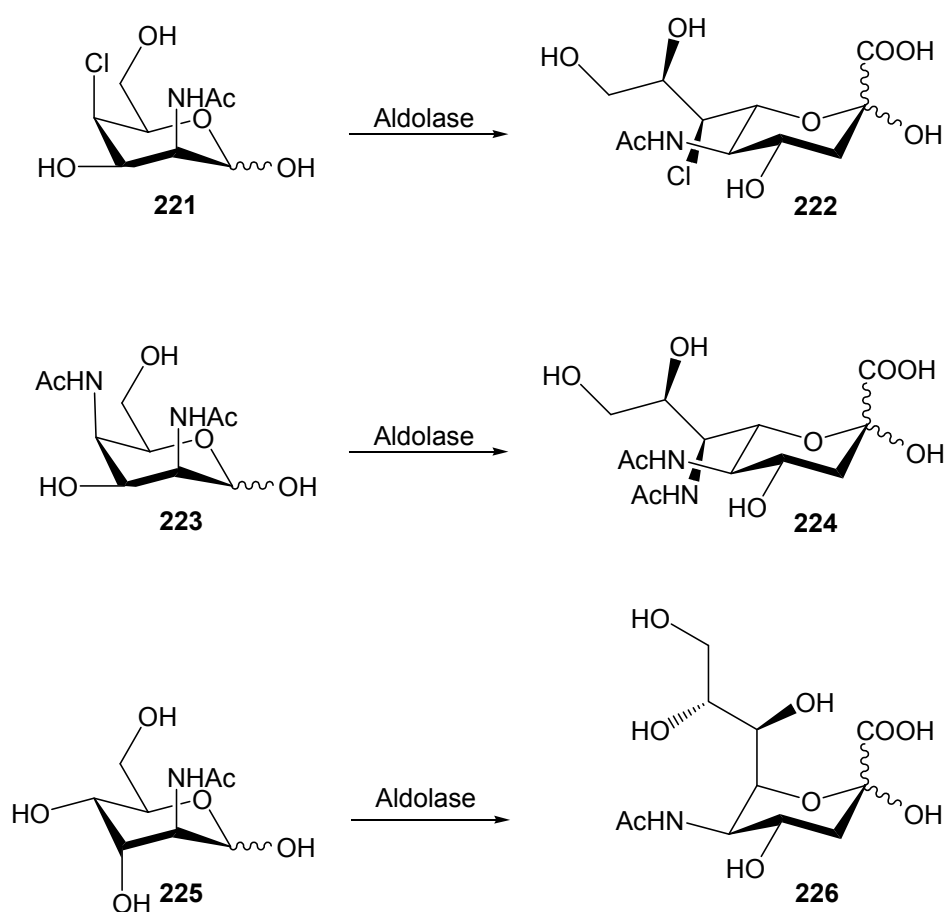
weitere getestete Substrate **221**, **223** und **225** wurden von dem NeuB - Enzym nicht umgesetzt.



Schema 3.44: Reagenzien und Bedingungen: NeuB - Sialinsäure - Synthetase, PEP, DTT, MgCl₂, Bicin - Puffer (pH = 8.5), 45 °C, 24 h - 48 h.

3.5.4 Enzymatische Umsetzung der *N*-Acetylmannosamin - Derivate zu den entsprechenden Sialinsäuren mittels Aldolase

Die im Abschnitt 3.5.2 erfolgreich optimierten Reaktionsbedingungen zur Darstellung der Fluor - Neu5Ac **220** wurden zunächst auf drei weitere *N*-Acetylmannosamin - Derivate übertragen. Die Reaktion wurde durch eine bei FLUKA erworbene Aldolase katalysiert. Die entsprechenden Sialinsäure - Derivate wurden mittels HPLC an der Aminopropyl - Phase isoliert. Die Ausbeute war so gering, dass die isolierten Verbindungen nur per LC - MS nachgewiesen werden konnten.



Schema 3.45: Reagenzien und Bedingungen: Neu5Ac - Aldolase (FLUKA), Pyruvat, DTT, Phosphat - Puffer (pH = 7.5), 37 °C, 48 h.

Es wurde anschließend versucht, in einer Eintopf - zwei Enzyme - Reaktion die CMP - Ester der Sialinsäuren **222**, **224** und **226** direkt darzustellen, um das sich einstellende Gleichgewicht der vorgeschalteten Aldolase auf die Produktseite zu ziehen. Es konnte jedoch per LC - MS keine Aktivierung nachgewiesen werden.

Eine weitere Aldolase wurde bei JÜLICH Fine Chemicals kommerziell erworben und ebenfalls für die Umsetzung der Derivate **221**, **223** und **225** zur Sialinsäure eingesetzt. Der Vergleich der Edukt/Produkt Massenintensitäten per LC - MS zeigt, dass die JÜLICH - Aldolase bei allen drei Reaktionen eine bis zu drei Mal höhere Aktivität im Vergleich zu der bei FLUKA erworbenen Aldolase aufweist. Die erzeugten Produkte **222**, **224** und **226** konnten aus zeitlichen Gründen im Rahmen dieser Arbeit nicht mehr isoliert werden.

4 Zusammenfassung und Ausblick

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit ist es gelungen, nach Veränderung der Startstrategie aus Kapitel 3.1, ausgehend von D - Glucose einen neuen, im Vergleich zu den literaturbekannten Synthesen deutlich flexibleren Zugang zu vielen verschiedenen Vorläufern der Sialinsäure zu etablieren. Dieser Syntheseweg verläuft über den zentralen Baustein **115** und wurde besonders intensiv für C - 4 modifizierte Mannosamin - Derivate optimiert. Zur Darstellung des Diacetamids **229** musste die Schutzgruppenstrategie allerdings überarbeitet werden. Sieben C - 4 - Derivate konnten auf diesem Weg erfolgreich in guten Ausbeuten und ausreichender Quantität synthetisiert werden.

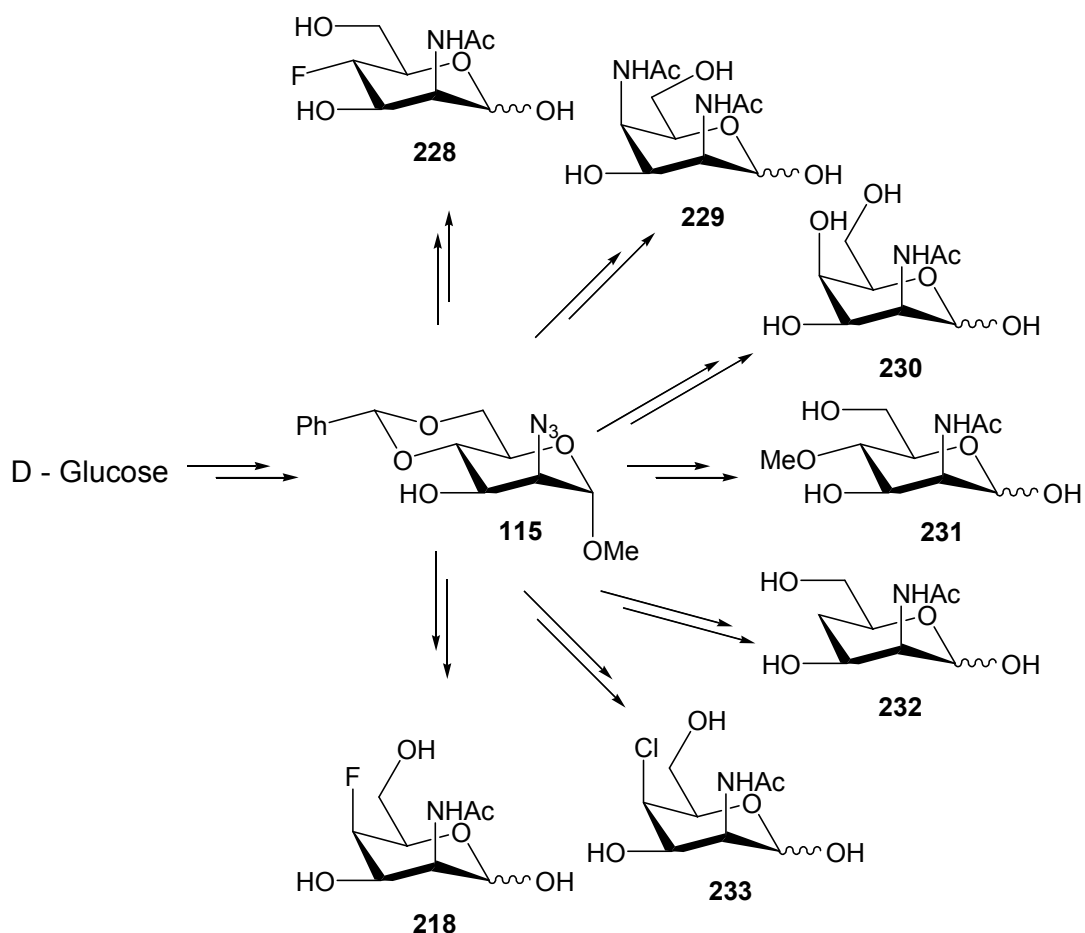


Abbildung 4.1: Übersicht über die synthetisierte C - 4 - Derivate.

Highlight dieser Synthesesequenz ist die Bildung der *altro* - Pyranose **234**, die ausgehend vom Schlüsselintermediat **115** in 4 Stufen mit einer sehr guten Gesamtausbeute von 57 % synthetisiert werden konnte. Auch der synthetische Zugang

zu den an C - 4 modifizierten Altropyranose ist prinzipiell möglich. Die hierfür benötigte Verzweigungsverbindung **198** wurde ebenfalls ausgehend vom zentralen Baustein **115** in sehr guten Ausbeuten synthetisiert und könnte anhand der im Abschnitt 3.4.5.3 gemachten Beobachtungen zur Synthese von Derivaten mit einer geringen Eliminierungstendenz eingesetzt werden.

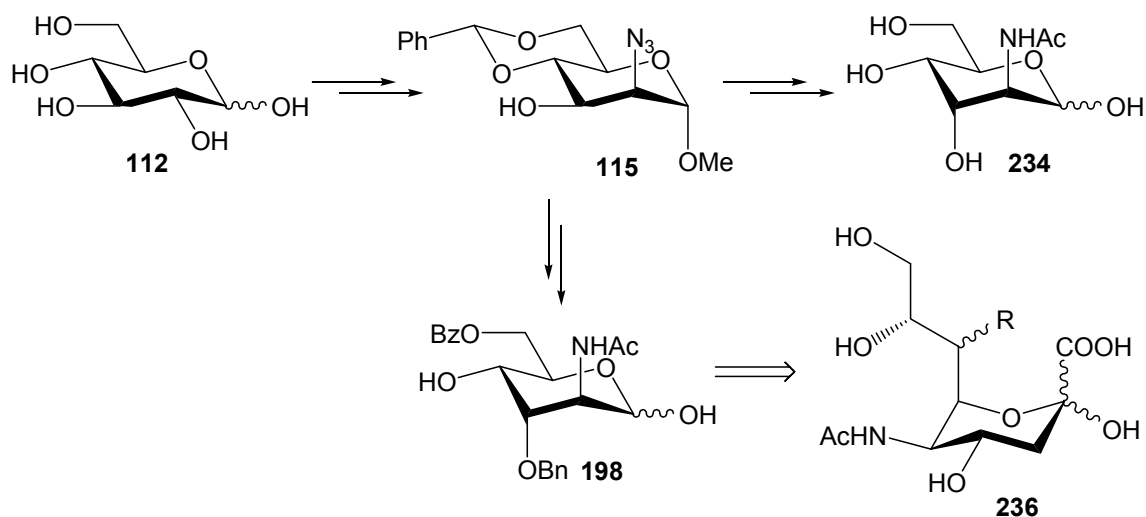


Abbildung 4.2: Mögliche Syntheseroute zur Darstellung von Altrosamin - Derivaten über das Benzylidenacetal **115**.

Die Synthese von C - 8 modifizierten Sialinsäuren scheiterte an der Entschützung der Benzyl - Gruppen und wurde aus zeitlichen Gründen nicht weiter geführt. Weil bis jetzt nicht alle Optionen zur Debenzylierung ausgeschöpft sind, soll die Synthese des Methyl - Derivats **217** fortgesetzt werden. Die nachfolgende Freisetzung des Aldehyds sollte ein Epimerengemisch **236** liefern. Die enzymkatalysierte Umsetzung zur Sialinsäure sollte selektiv mit dem *manno* - konfigurierten Epimer verlaufen. Die hier angestrebte Synthese erfordert jedoch mehr Stufen, als der ausgehend von Sialinsäure publizierter Weg.

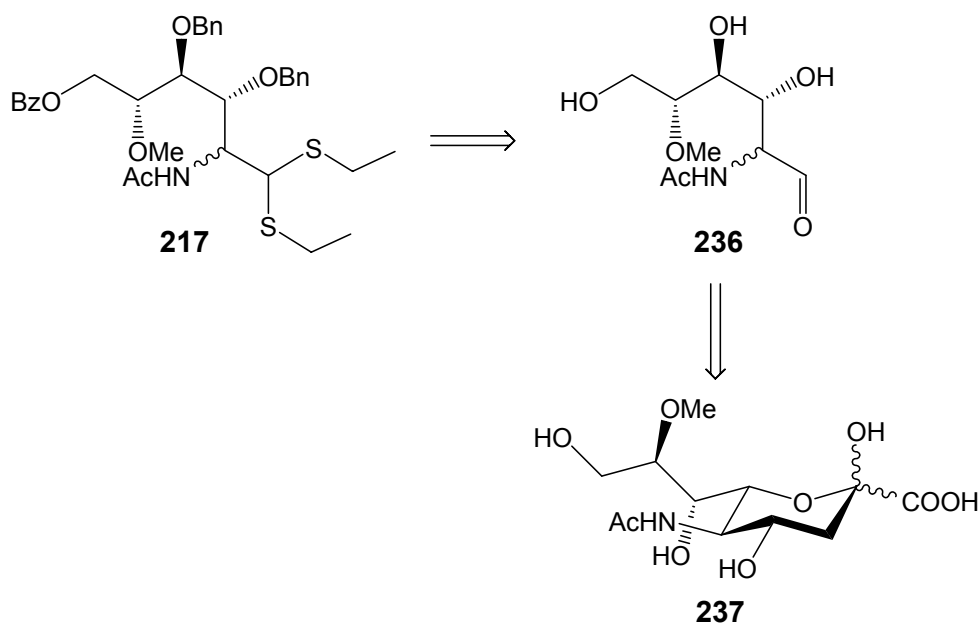


Abbildung 4.3: Fortsetzung der ausgearbeiteten Methode zur Synthese von C - 8 methylierter Sialinsäure.

Für die Darstellung der an Position 8 modifizierten Sialinsäuren ausgehend von *N*-Acetylmannosamin könnten die Schutzgruppen überdacht werden. Die Benzyl-Gruppen könnten durch Allyl-Gruppen ersetzt werden. Diese weisen eine gute pH-Stabilität auf und sollten die finale Entschützung unter Erhalt des Aldehyds ermöglichen.

Die enzymatische Umsetzung der Mannosamin-Derivate zu den entsprechenden aktivierten CMP-Sialinsäureestern kann entweder in zwei getrennten Stufen über die Sialinsäure oder in einem Eintopf-drei Enzyme-Verfahren erfolgen. Die Eintopf-drei Enzyme-Reaktion wurde am Beispiel des natürlichen Substrats etabliert und erfolgreich auf die Fluor-*talo*-Pyranose **218** übertragen. Die Aktivität von drei verschiedenen CMP-Sialinsäure-Synthetasen wurde dabei untersucht und per LC-MS verglichen. Der höchste Umsatz wurde mit der NmB-CMP-Neu5Ac-Synthetase erzielt.

Am Beispiel der Umsetzung von F-*N*-Acetylmannosamin **218** zur F-Sialinsäure **220** wurde der Einfluss der Substratkonzentration auf den Umsatz untersucht. Die Reaktion wurde durch eine bei FLUKA erworbene Aldolase katalysiert. Das gebildete Produkt wurde an der HPLC isoliert. Die Ausbeute konnte von 17 % auf 56 % gesteigert werden.

Diese Reaktionsbedingungen wurden auf drei weitere Derivate **221**, **223** und **225**

übertragen. Die Aktivität der FLUKA - Aldolase war allerdings so gering, dass die Ausbeute der isolierten Verbindungen **222**, **224** und **226** aufgrund der geringen Quantität nicht fehlerfrei bestimmt werden konnte. Das Eintopf - zwei Enzyme - Verfahren zur Darstellung der entsprechenden CMP - Ester wurde ebenfalls angewendet. Drei verschiedene CMP - Sialinsäure - Synthetasen wurden hierfür eingesetzt. Es konnte jedoch keine Aktivierung per LC - MS nachgewiesen werden. Dies könnte sowohl an der gescheiterten Aldoreaktion als auch an der geringen Substratbreite der CMP - Sialinsäure - Synthetasen liegen. Eine weitere Aldolase wurde bei JÜLICH Fine Chemicals erworben und zeigte nach den ersten Untersuchungen eine bis zu drei Mal höhere Aktivität im Vergleich zu der bei FLUKA erworbenen Aldolase. Die entsprechenden Sialinsäure - Derivate **222**, **224** und **226** wurden per LC - MS zweifelsfrei nachgewiesen. Allerdings wurden sie aus zeitlichen Gründen nicht isoliert. Die Substratbreite dieses Enzyms sollte in Fortführung dieser Arbeit an weiteren Derivaten untersucht werden. Hierfür sollte die Aldolase sowohl im direkten Prozess als auch in einem „Eintopf - zwei Enzyme“- Verfahren eingesetzt werden. Auch ist es notwendig, die Sialinsäure - Derivate in größeren Mengen zu isolieren und zu charakterisieren.

Eine weitere Sialinsäure - Synthetase (NeuB - Synthetase), welche die Sialinsäure in einem irreversiblen Prozess aus *N* - Acetylmannosamin und PEP produziert, wurde aus dem Plasmid pWVCjSAS erfolgreich exprimiert und gereinigt. Erste Untersuchungen haben gezeigt, dass bei der Umsetzung des F - Talosamins **218** keine Abhängigkeit zwischen Substratkonzentration, Puffermolarität und Enzymaktivität besteht. Die Sialinsäure - Synthetase NeuB weist jedoch nur eine äußerst geringe Substratbreite auf.

Am Beispiel der Synthese von CMP - F - Sialinsäure wurde weiterhin gezeigt, dass die NmB - CMP - Neu5Ac - Synthetase ihre Aktivität in einem einstufigen Prozess deutlich besser entfalten kann. Die Isolierung der Sialinsäure in aktivierter Form ist aufgrund der Labilität der CMP - Gruppe mit Schwierigkeiten verbunden. Aus diesem Grund würde es sich anbieten, die isolierten Sialinsäure - Derivate in einem Eintopf - zwei Enzyme - Verfahren zu den entsprechenden modifizierten Polysialinsäuren umzusetzen. Die Polymerisierung von Neu5Ac (**1**) wurde im Arbeitskreis von Prof. Dr. Gerardy - Schahn erfolgreich durchgeführt⁷⁹. Die Aktivität und Substratbreite der hierfür benötigter Polysialyl - Transferasen könnte an den verschiedenen Derivaten getestet werden.

⁷⁹ persönliche Mitteilung

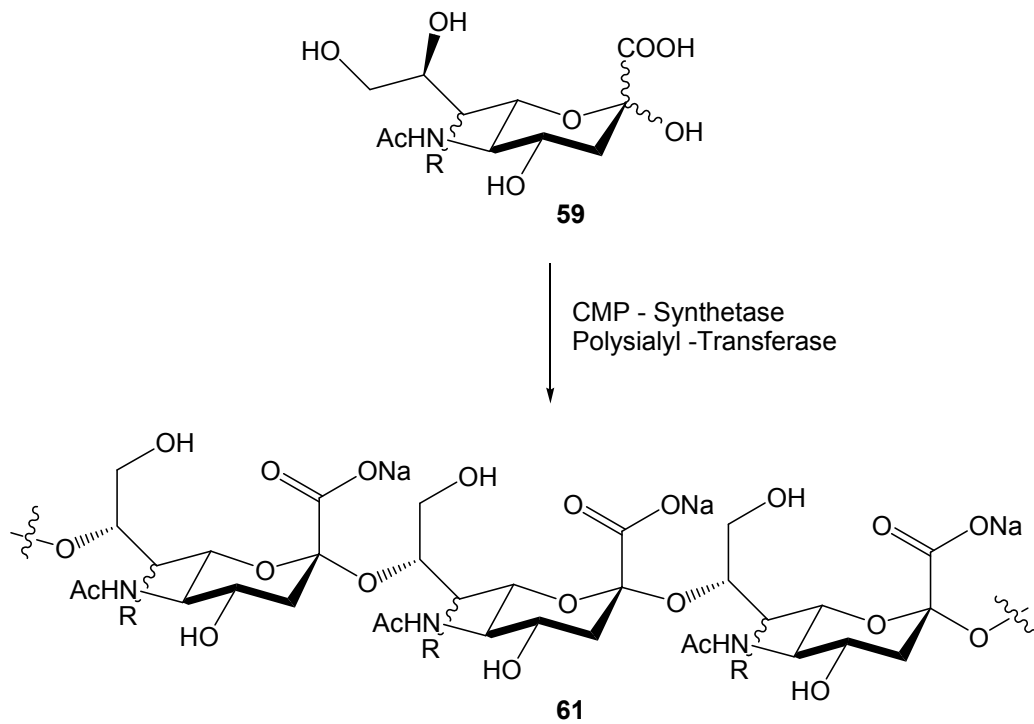


Abbildung 4.4: Mögliche Darstellung von C - 7 modifizierter α - 2,8 - Polysialinsäure ausgehend von an Position 7 derivatisierter Sialinsäure.

5 Experimenteller Teil

5.1 Allgemeines

Reaktionen

Alle Reaktionen mit luft- oder feuchtigkeitsempfindlichen Reagenzien wurden in im Ölpumpenvakuum evakuierten Glasgeräten in einer sauerstofffreien, trockenen Argonatmosphäre durchgeführt. Wenn erforderlich, wurden die Geräte zuvor im Vakuum ausgeheizt. Wenn nicht anders angegeben, wurde mit einem Magnetrührer gerührt.

Lösungsmittel und Reagenzien

Lösungsmittel für den Einsatz in feuchtigkeitsempfindlichen Reaktionen wurden nach Standardverfahren getrocknet⁸⁰ und unter Argonatmosphäre aufbewahrt bzw. frisch destilliert eingesetzt.

Diethylether (Et₂O) und Tetrahydrofuran (THF): Trocknen durch Refluxieren über Natriumdraht, als Feuchtigkeits- und Sauerstoffindikator diente Benzophenon.

Dichlormethan (CH₂Cl₂): Trocknen durch Refluxieren über Calciumhydrid.

Alle weiteren absoluten Lösungsmittel wurden käuflich erworben (FLUKA, ACROS) und wie geliefert ohne weitere Reinigung eingesetzt.

Verwendete Chemikalien, deren Herstellung nicht beschrieben ist, stammen von den Firmen ABCR, ACROS, ALDRICH, FLUKA und MERCK.

Dünnschicht -, Flash - und Größenausschlusschromatographie

Qualitative Dünnschichtchromatogramme erfolgten auf Silicagel - beschichteten Aluminiumfolien vom Typ 60 F254 der Firma Merck. Der Nachweis der Substanzen geschah durch Fluoreszenzdetektion unter UV - Licht der Wellenlänge $\lambda = 254$ nm, mittels Entwicklung durch Eintauchen in eine Lösung aus 1.2 g Thymol, 10 ml konz. Schwefelsäure und 190 ml Ethanol mit anschließender Wärmebehandlung oder mittels Entwicklung durch Eintauchen in eine Lösung aus 10 ml konz. Schwefelsäure, 10 ml

⁸⁰ D. D. Perrin, W. L. F. Armarego, *Purification of Laboratory Chemicals*, 3rd ed., Pergamon Press Oxford 1988.

Eisessig und 80 ml Methanol mit anschließender Wärmebehandlung⁸¹.

Zur Flashchromatographie wurde Kieselgel der Korngröße 40 - 63 μm der Firma J. T. BAKER verwendet. Die eingesetzten Lösungsmittel wurden zuvor destilliert. Das verwendete Eluentenverhältnis ist in den entsprechenden Versuchsvorschriften angegeben.

Größenausschlusschromatographie wurde mit Sephadex LH - 20 bzw. Bio - Gel P - 2 (extra fein) und Wasser als Eluent durchgeführt.

¹H - NMR - Spektroskopie

Die Aufnahme von ¹H - NMR - Spektren erfolgte mit den Geräten DPX - 200 (200 MHz), AM - 400 (400 MHz) und AM - 500 (500 MHz) der Firma Bruker bei Raumtemperatur. Die chemischen Verschiebungen sind in δ - Werten (ppm) angegeben, der Bezug ist bei den jeweiligen Messungen vermerkt⁸². Die Kopplungskonstanten (J) werden in Hertz (Hz) angegeben, die Multiplizitäten wie folgt abgekürzt: s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, q = Quartett, qu = Quintett, se = Sextett, sep = Septett, m = Multipllett. Vor der Multiplizitätsangabe stehende Abkürzungen geben an: d = doppelt, t = dreifach.

¹³C - NMR - Spektroskopie

¹³C - NMR - Spektren wurden mit den Geräten AM - 400 (100 MHz) bzw. AM - 500 (125 MHz) der Firma BRUKER aufgenommen. Die chemischen Verschiebungen sind in δ -Werten (ppm) angegeben, der Bezug ist bei den jeweiligen Messungen vermerkt⁸². Die angegebenen Multiplizitäten entsprechen denen nicht entkoppelter Spektren, wobei folgende Abkürzungen verwendet werden: s = Singulett (entspricht quartärem Kohlenstoff), d = Dublett (tertiär), t = Triplett (sekundär), q = Quartett (primär). Bei den in einigen Verbindungen auftretenden ¹⁹F - ¹³C - Kopplungen handelt es sich ausschließlich um Dubletts ($d_{\text{F-C}}$). Diese werden daher nicht explizit gekennzeichnet, es wird lediglich die Kopplungskonstante $J_{\text{F-C}}$ in Hertz angegeben. Die Anzahl der an den jeweiligen Kernen α -ständigen Wasserstoffatome wurde nach der DEPT 90 –und DEPT 135 - Methode bestimmt. Sofern notwendig wurden für eine vollständige

⁸¹ J. Leonard, B. Lygo, G. Procter, *Praxis der organischen Chemie*, Hrs. der dt. Übersetzung G. Dyker, 2. Aufl., VCH – Verlag, Weinheim **1996**, S. 144.

⁸² Die Kalibrierung erfolgte nach H. E. Gottlieb, V. Kotlyar, A. Nudelman, *J. Org. Chem.*, **1997**, 62, 7512 – 7515.

Interpretation $^1\text{H} - ^1\text{H}$ - Korrelationsspektren, HMBC -, HMQC - oder NOE-Experimente durchgeführt.

Massenspektrometrie

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

Drehwerte

Spezifische optische Rotation $[\alpha]$ wurde mit einem Polarimeter des Typs Perkin - Elmer 341 in einer 10 cm - Küvette bei einer Wellenlänge von 589 nm (Na - D - Linie) gemessen. Die Angabe der Drehwerte erfolgt in $10^{-1}\text{cm}^2\text{g}^{-1}$, wobei die Konzentration c definitionsgemäß in 10 mg/ml Lösung angegeben ist.

pH - Werte

pH - Werte wurden mit dem pH - Meter der Firma HANNA bestimmt.

Infrarotspektroskopie

IR - Spektren wurden mit einem FT - IR - Gerät Vektor der Firma Bruker gemessen, die Aufnahme der Spektren erfolgte über eine ATR - Einheit. Die Lage der Schwingungen wird in cm^{-1} angegeben, charakteristische oder besonders intensive Banden werden mit den Kürzeln b für breit oder s für stark versehen.

HPLC

Als HPLC - Anlage wurde ein System von Merck - Hitachi, bestehend aus folgenden Komponenten verwendet: Pumpe: LaChrom L - 7150; Detektor: Interface L - 7000; Datensystem: Model 7000 Chromatography Data Station Software, Version 4.0; Aufgabenschleifen: 20 μL (analytisch), 500 μL (präparativ); Präparative Säule: Phenomenex, Luna 5u NH_2 , 5 micron, 100 Å, 100 x 21.20 mm. Analytische Säule: Phenomenex, Luna 5u NH_2 , 5 micron, 100 Å, 100 x 4.6 mm.

Gelelektrophorese

Die Polyacrylamidgelelektrophorese wurde mit einer vertikalen Flachgelapparatur der

Firma Roth durchgeführt. Die verwendeten Chemikalien wurden von der Firma Roth und Aldrich bezogen.

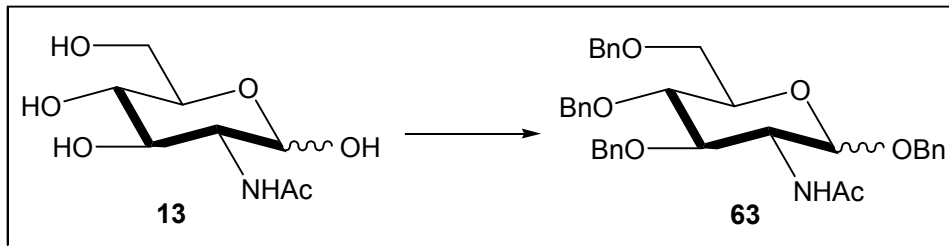
Zellaufschlüsse

Zellaufschlüsse der Expressionsexperimente wurden mit einem Ultraschall Desintegator „Sonifer II“ W - 250 „Classic“ mit konischer Ultraschallspitze der Firma Branson durchgeführt.

5.2 Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3

5.2.1 Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3.1

Benzyl-2-acetamido-3,4,6-tri-*O*-benzyl-2-desoxy- β -D-glycopyranosid (**63**)



10 g (45.2 mmol) *N*-Acetylglucosamin **13** wurden in 200 ml DMF gelöst und bei 0 °C zuerst mit 70 ml (0.589 mol, 13 Äq) Benzylbromid und dann portionsweise mit 65 g (0.424 mol, 9 Äq) Bariumoxid und 25 g (79.2 mmol, 1.8 Äq) Bariumhydroxid versetzt. Der Reaktionsansatz wurde 48 h bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionsmischung mit 200 ml Dichlormethan versetzt und der Feststoff wurde abfiltriert. Die organische Phase wurde mit Wasser gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum konzentriert. Das Reaktionsprodukt wurde aus Methanol umkristallisiert.

Ausbeute: 11.9 g (20.5 mmol) = 64 %, α : β = 1:7

Rf: 0.47 (DCM/MeOH = 19:1)

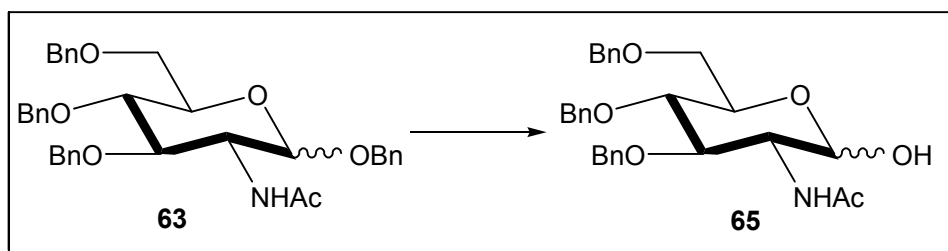
^1H - NMR (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): δ = 7.33-7.16 (m, 20H, 4xPh), 5.58 (d, 8.2 Hz, NHCOCH_3 , 1 H), 4.90-4.53 (m, 9 H, 1-H, 4x CH_2Ph), 4.02 (dd, $J = 9.2$ und 8.5 Hz, 1 H, 3-H), 3.77 (dd, $J = 10.7$ und 2.6 Hz, 1 H, 6-Ha), 3.73 (dd, $J = 10.7$ und 4.4 Hz, 1 H, 6-Hb), 3.66 (dd, $J = 8.8$ und 8.5 Hz, 1 H, 4-H), 3.59 (ddd, $J = 8.8$, 4.4 und 2.6 Hz, 1 H, 5-H), 3.58 (ddd, $J = 8.2$, 8.2 und 9.2 Hz, 1 H, 2-H) ppm.

^{13}C - NMR (100 MHz, CDCl_3 , TMS = 0 ppm) δ : 170.21 (s, NHCOCH_3), 138.45, 138.21, 138.07, 138.02 (4xs, Ph), 128.52-127.59 (10xd, 10xPh), 99.27 (s, C-1), 80.44 (d, C-4), 78.48 (d, C-5), 74.85 (d, C-3), 74.49, 74.42, 73.46, 70.68 (4xt, 4x CH_2Ph), 69.08 (t, C-6), 56.40 (d, C-2), 23.50 (q, CH_3) ppm.

HRMS (ESI): $(M + \text{Na})^+$ berechnet für $\text{C}_{36}\text{H}_{39}\text{N}_1\text{O}_6\text{Na}_1$: 604.2675, gefunden: 604.2672.

Feststoff, weiß, $C_{36}H_{39}N_1O_6$, MG = 581.6980 g/mol.

2-Acetamido-3,4,6-tri-O-benzyl-2-desoxy- β -D-glycopyranose (65)



1 g (1.72 mmol) **63** wurde in 28 ml abs. Methanol gelöst und bei 0 °C mit 625 mg (1.17 mmol, 0.7 Äq) Palladium auf Aktivkohle (10 %) und 26.8 mg (4.25 mmol, 0.25 Äq) Ammoniumformiat versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 30 min unter Rückfluss stark gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Aktivkohle abfiltriert und mehrmals mit heißem Methanol gewaschen. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand wurde säulenchromatographisch (DCM/MeOH = 60:1) aufgereinigt.

Ausbeute: 260 mg (0.529 mmol) = 31 %, α : β = 1:3.

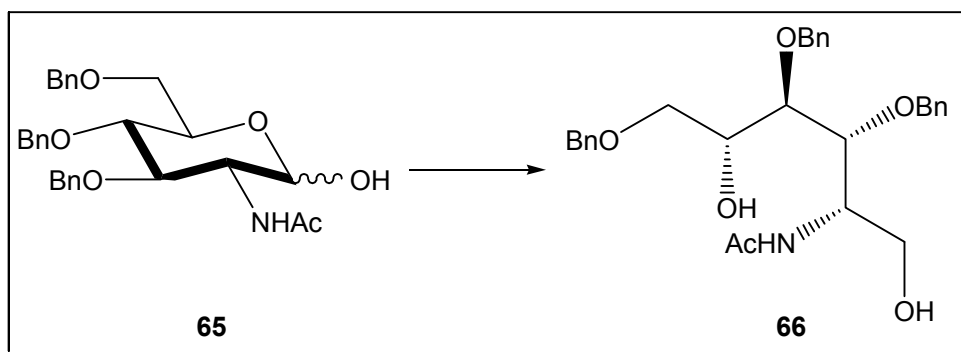
Rf: 0.10 (DCM/MeOH = 19:1)

1H -NMR (400 MHz, C_2D_6SO , TMS = 0 ppm) δ : 7.33-7.16 (m, 20H, 4xPh), 5.58 (d, 8.2 Hz, $NHCOCH_3$, 1 H), 4.90-4.53 (m, 9H, 1-H, 4x CH_2Ph), 4.02 (dd, J = 9.2 und 8.5 Hz, 1 H, 3-H), 3.77 (dd, J = 10.7 und 2.6 Hz, 1 H, 6-Ha), 3.73 (dd, J = 10.7 und 4.4 Hz, 1 H, 6-Hb), 3.66 (dd, J = 8.8 und 8.5 Hz, 1 H, 4-H), 3.59 (ddd, J = 8.8, 4.4 und 2.6 Hz, 1 H, 5-H), 3.58 (ddd, J = 8.2, 8.2 und 9.2 Hz, 1 H, 2-H) ppm.

^{13}C -NMR (100 MHz, C_2D_6SO , TMS = 0 ppm) δ : 169.21 (s, $NHCOCH_3$), 138.73, 138.25, 138.18 (3xs, Ph), 128.16-127.26 (10xd, 10xPh), 90.92 (s, C-1), 79.74 (d, C-3), 78.46 (d, C-4), 73.90, 73.90, 72.90 (3xt, 3x CH_2Ph), 69.63 (d, C-5), 68.98 (t, C-6), 53.14 (d, C-2), 22.51 (q, CH_3) ppm.

HRMS (ESI): ($M + Na$)⁺ berechnet für $C_{29}H_{33}N_1O_6Na_1$: 514.2206, gefunden: 514.2209.

Amorph, weiß, $C_{29}H_{33}N_1O_6$, MG = 491.2308 g/mol.

2-Acetamino-3,4,6-tri-O-benzyl-2-desoxy-D-glucitol (66)

124 mg (0.252 mmol) der Verbindung **65** wurden in 0.9 ml Ethanol/THF (2:1) gelöst und bei RT mit 28.6 mg (0.757 mmol, 3 Äq) NaBH₄ versetzt. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht bei 40°C gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionslösung mit wenigen Tropfen Eisessig versetzt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mit Essigsäureethylester aufgenommen und drei Mal mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (DCM/MeOH = 60:1).

Ausbeute: 118 mg (0.239 mmol) = 95 %.

Rf: 0.10 (DCM/MeOH = 19:1)

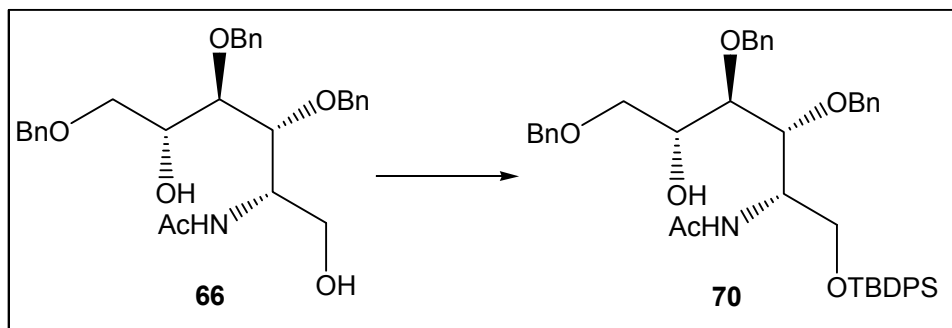
¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD; TMS = 0 ppm) δ: 7.38-7.26 (m, 15H, 3xPh), 4.79 (d, J = 10.9 Hz, 1 H, CH₂Ph-3a), 4.68 (d, J = 11.5 Hz, 1 H, CH₂Ph-4a), 4.65 (d, J = 11.4 Hz, 1 H, CH₂Ph-4b), 4.59 (d, J = 10.9 Hz, 1 H, CH₂Ph-3b), 4.56 (d, J = 10.4 Hz, 1 H, CH₂Ph-6a), 4.52 (d, J = 11.7 Hz, 1 H, CH₂Ph-6a), 4.23 (ddd, J = 6.7, 6.7 und 3.0 Hz, 1 H, 2-H), 4.03 (dd, J = 6.3 und 43.0 Hz, 1 H, 3-H), 4.00 (ddd, J = 5.5, 5.5 und 4.0 Hz, 1 H, 5-H), 3.71 (dd, J = 10.0 und 4.0 Hz, 1 H, 6-Hb), 3.70 (dd, J = 6.3 und 5.5 Hz, 1 H, 4-H), 3.62 (dd, J = 10.0 und 5.5 Hz, 1 H, 6-Ha), 3.53 (dd, J = 10.8 und 6.7 Hz, 1 H, 1-Hb), 3.51 (dd, J = 10.8 und 6.7 Hz, 1 H, 1-Ha), 1.91 (s, NHAc, 3 H) ppm.

¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD; TMS = 0 ppm) δ: 82.5 (d, C-4), 78.9 (d, C-3), 76.3 (t, CH₂Ph-3), 75.4 (t, CH₂Ph-4), 74.4 (t, CH₂Ph-6), 72.3 (t, C-6), 72.2 (d, C-5), 62.7 (t, C-1), 53.9 (d, C-2), 22.8 (q, NHCOCH₃) ppm.

HRMS (ESI): (M + Na)⁺ berechnet für C₂₉H₃₅N₁O₆Na₁: 516.2362, gefunden: 516.2374.

Öl, farblos, C₂₉H₃₅N₁O₆, MG = 493.5913 g/mol.

2-Acetamino-3,4,6-tri-O-benzyl-2-desoxy-D-glucityl-*tert*-butyldiphenylsilyl-ether (70)



6.79 g (13.8 mmol) der Verbindung **66** wurden unter Ausschluss von Luft und Feuchtigkeit in 36 ml abs. DCM gelöst und nacheinander mit 1.03 g (15.1 mmol, 1.1 Äq) Imidazol, 336 mg (2.75 mmol, 0.2 Äq) DMAP und 3.93 ml (15.1 mmol, 1.1 Äq) TBDPSCI versetzt. Die Reaktionslösung wurde 4 h unter Rückfluss gekocht, auf RT abgekühlt und anschließend aufgearbeitet. Hierzu wurde die Reaktionsmischung mit Wasser versetzt und drei Mal mit DCM ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand wurde säulenchromatographisch (PE/EE = 2:1) aufgereinigt.

Ausbeute: 7.9 g (10.8 mmol) = 79 %.

Rf: 0.16 (PE/EE = 2:1)

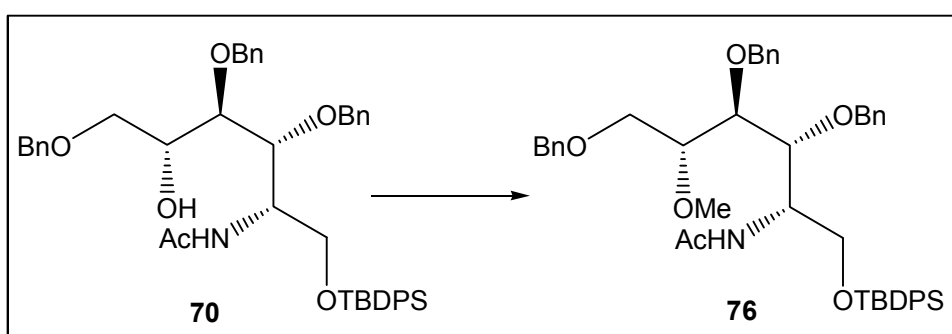
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃; CHCl₃ = 77.26 ppm) δ: 7.71-7.66 (m, 4H, SiPh), 7.48-7.18 (m, 21 H, Ph), 5.85 (d, J = 8.5 Hz, 1 H, NH), 4.81 (d, J = 11.0 Hz, 1 H, CH₂Ph-3a), 4.67 (d, J = 11.4 Hz, 1 H, CH₂Ph-4a), 4.61 (d, J = 11.4 Hz, 1 H, CH₂Ph-4b), 4.60 (d, J = 11.8 Hz, 1 H, CH₂Ph-6a), 4.54 (d, J = 11.8 Hz, 1 H, CH₂Ph-6b), 4.50 (d, J = 11.0 Hz, 1 H, CH₂Ph-3b), 4.42 (m, 1 H, 2-H), 4.23 (dd, J = 6.0 und 1.4 Hz, 1 H, 3-H), 4.05 (ddd, J = 5.9, 5.9 und 4.4 Hz, 1 H, 5-H), 3.76 (dd, J = 9.7 und 5.5 Hz, 1 H, 1-Ha), 3.74-3.70 (m, 3 H, 6-Ha, 6-Hb, 4-H), 3.51 (dd, J = 9.7 und 8.7 Hz, 1 H, 1-Hb), 1.84 (s, NHAc, 3 H), 1.11 (s, SiC(CH₃)₃, 9 H) ppm.

¹³C - NMR (100 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 77.16 ppm): δ = 169.9 (s, NHCOCH₃), 138.4, 138.2, 138.2 (3xs, C-ipso Ph), 129.9 – 127.7 (25xd, Ph), 80.2 (d, C-4), 76.8 (d, C-3), 75.2 (t, CH₂Ph an C-3), 74.4 (t, CH₂Ph an C-4), 73.5 (t, CH₂Ph an C-6), 71.2 (d, C-5), 71.1 (t, C-6), 62.8 (t, C-1), 51.8 (d, C-2), 27.1 (q, SiC(CH₃)₃), 23.4 (q, NHCOCH₃), 19.3 (s, SiC(CH₃)₃) ppm.

HRMS (ESI): $(M + Na)^+$ berechnet für $C_{45}H_{53}N_1O_6Si_1Na_1$: 754.3540,
gefunden: 754.3560.

Öl, farblos, $C_{45}H_{53}N_1O_6Si_1$ MG = 731.9909 g/mol.

2-Acetamino-3,4,6-tri-O-benzyl-5-O-methyl-2-desoxy-D-glucityl-tert-butyl-diphenyl-silylether (76)



Unter Ausschluss von Luft und Feuchtigkeit wurden 32 mg (0.044 mmol) der Verbindung **x** in 2 ml abs. DCM gelöst. Anschließend wurden alle 24 h insgesamt vier Mal 122 mg (0.874 mmol, 20 Äq) Silberoxid und 0.37 ml (0.874 mmol, 20 Äq) Methyljodid hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 4 d unter Rückfluss gekocht. Zur Aufarbeitung wurde das Silberoxid über Kieselgur abfiltriert und mit DCM gewaschen. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EE = 4:1) gereinigt.

Ausbeute: 31 mg (0.042 mmol) = 94 %.

Rf: 0.50 (PE/EE = 2:1).

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = -5.0$ (c = 1, $CHCl_3$).

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$; $CHCl_3 = 77.26$ ppm) δ : 7.71-7.67 (m, 4H, SiPh), 7.48-7.15 (m, 21H, Ph), 5.73 (d, J = 9.0 Hz, 1 H, NH), 4.83 (d, J = 10.7 Hz, 1 H, CH_2Ph -3a), 4.79 (d, J = 11.3 Hz, 1 H, CH_2Ph -4a), 4.66 (d, J = 11.3 Hz, 1 H, CH_2Ph -4b), 4.60 (d, J = 12.4 Hz, 1 H, CH_2Ph -6a), 4.57 (d, J = 12.4 Hz, 1 H, CH_2Ph -6b), 4.87 (d, J = 10.7 Hz, 1 H, CH_2Ph -3a), 4.41 (ddd, J = 9.0, 5.9 und 1.5 Hz, 1 H, 2-H), 4.21 (dd, J = 7.1 und 1.5 Hz, 1 H, 3-H), 3.87-3.82 (m, 2 H, 4-H, 6-Ha), 3.78-3.70 (m, 3 H, 1-Ha, 6-Hb, 5-H), 3.58 (t, J = 9.1 und 9.1 Hz, 1 H, 1-Hb), 3.46 (s, 3 H, OCH_3), 1.83 (s, 3 H,

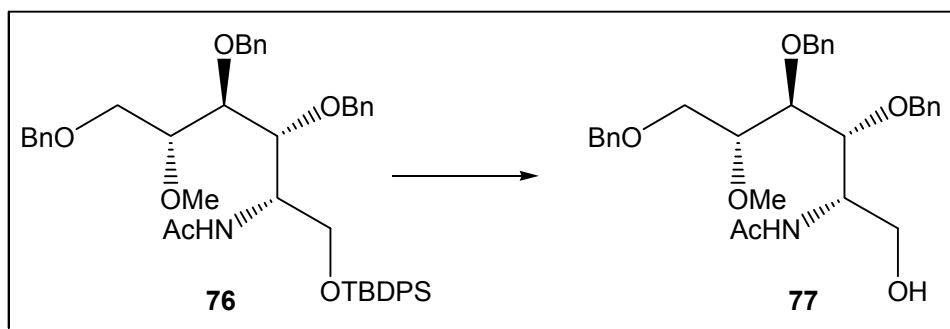
NHAc), 1.10 (s, SiC(CH₃)₃, 9 H) ppm.

¹³C - NMR (100 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 77.16 ppm): δ = 169.9 (s, NHCOCH₃), 139.2 (s, C-ipso Ph an C-4), 138.8 (s, C-ipso Ph an C-3), 138.8 (s, C-ipso Ph an C-6), 129.9 – 127.9 (25xd, Ph), 81.4 (d, C-5), 81.0 (d, C-4), 77.0 (d, C-3), 75.8 (t, CH₂Ph an C-3), 74.8 (t, CH₂Ph an C-4), 73.8 (t, CH₂Ph an C-6), 69.6 (t, C-6), 63.1 (t, C-1), 58.3 (q, OCH₃), 52.2 (d, C-2), 27.3 (q, SiC(CH₃)₃), 23.7 (q, NHCOCH₃), 19.6 (s, SiC(CH₃)₃) ppm.

HRMS (ESI): (M + Na)⁺ berechnet für C₄₅H₅₅N₁O₆Si₁Na₁: 768.3696,
gefunden: 768.3681.

Öl, farblos, C₄₅H₅₅N₁O₆Si₁ MG = 746.0175 g/mol.

2-Acetamino-3,4,6-tri-O-benzyl-5-O-methyl-2-desoxy-D-glucitol (77)



800 mg (1.07 mmol) der Verbindung **76** wurden in 10 ml THF gelöst und unter Eiskühlung mit 440 mg ebenfalls in THF gelöstem TBAF (1.39 mmol, 1.3 Äq) versetzt. Die Reaktionslösung wurde über Nacht auf RT erwärmt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionsmischung in eine mit Kieselgel gepackte Säule überführt und mit Essigsäureethylester eluiert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch (PE/EE = 3:1) aufgereinigt.

Ausbeute: 520 mg (1.02 mmol) = 95 %.

Rf: 0.10 (DCM/MeOH = 40:1)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃; CHCl₃ = 77.26 ppm) δ: 7.43-7.29 (m, 15 H, Ph), 6.23 (d, J = 8.5 Hz, 1 H, NH), 4.85 (d, J = 11.0 Hz, 1 H, CH₂Ph-3a), 4.82 (d, J = 11.4 Hz, 1 H, CH₂Ph-4a), 4.69 (d, J = 11.4 Hz, 1 H, CH₂Ph-4b), 4.63 (d, J = 11.0 Hz, 1 H, CH₂Ph-3b),

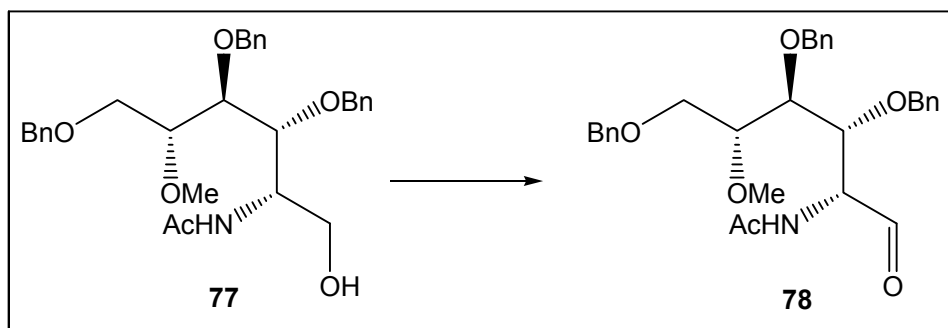
4.62 (d, $J = 12.0$ Hz, 1 H, CH₂Ph-6a), 4.57 (d, $J = 12.0$ Hz, 1 H, CH₂Ph-6b), 4.28 (ddd, $J = 8.5, 6.5$ und 1.7 Hz, 1 H, 2-H), 4.06 (dd, $J = 6.5$ und 1.7 Hz, 1 H, 3-H), 3.91-3.86 (m, 2 H, 4-H, 6-Ha), 3.75-3.69 (m, 2 H, 6-Hb, 5-H), 3.69-3.63 (m, 1 H, 1-Ha), 3.56-3.50 (m, 1 H, 1-Hb), 3.39-3.35 (s, 1 H, OH), 3.45 (s, 3 H, OCH₃), 1.91 (s, 3 H, NHAc) ppm.

¹³C - NMR (100 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 77.16 ppm): $\delta = 172.7$ (s, NHCOCH₃), 140.5 (s, C-ipso Ph an C-4), 140.1 (s, C-ipso Ph an C-3), 140.0 (s, C-ipso Ph an C-6), 130.4 – 129.4 (15xd, Ph), 82.4 (d, C-5), 82.3 (d, C-4), 79.2 (d, C-3), 77.2 (t, CH₂Ph an C-3), 76.3 (t, CH₂Ph an C-4), 75.2 (t, CH₂Ph an C-6), 70.3 (t, C-6), 65.1 (t, C-1), 59.5 (q, OCH₃), 54.6 (d, C-2), 25.1 (q, NHCOCH₃) ppm.

HRMS (ESI): (M + H)⁺ berechnet für C₃₀H₃₈N₁O₆: 508.2699, gefunden: 508.2688.

Öl, farblos, C₃₀H₃₇N₁O₆, MG = 507.6179 g/mol.

***N*-Acetyl-3,4,6-tri-*O*-benzyl-4-*O*-methyl-*D*-glucosamin (78)**



100 mg (0.197 mmol) der Verbindung **77** wurden unter Argonatmosphäre in 3 ml abs. DCM gelöst und unter Eiskühlung mit 167 mg (0.394 mmol, 2 Äq) DMP versetzt. Die Reaktionslösung wurde 6 h bei 0 °C gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionsmischung mit gesättigter NaHCO₃/Na₂S₂O₃-Lösung (1:1) versetzt und 10 min kräftig gerührt. Essigsäureethylester wurde hinzugefügt. Die organische Phase wurde vier Mal mit gesättigter NaHCO₃/Na₂S₂O₃-Lösung (1:1) extrahiert und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde einrotiert. Das Produkt wurde an der Ölpumpe getrocknet.

Ausbeute: 99 mg (0.196 mmol), quantitativ.

Rf: 0.27 (PE/EE = 3.5:1)

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = -7.5$ ($c = 1$, CHCl_3).

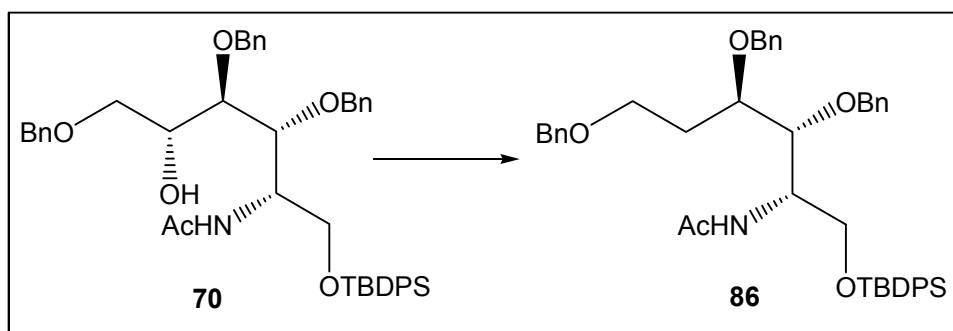
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 ; $\text{CHCl}_3 = 77.26$ ppm) δ : 9.63 (s, 1 H, 1-H), 7.40-7.23 (m, 15H, 3xPh), 6.16 (d, $J = 6.2$ Hz, 1 H, NH), 4.73 (m, 2 H, $\text{CH}_2\text{Ph-3}$), 4.68 (dd, $J = 6.2$ und 3.9 Hz, 1 H, 2-H), 4.60 (d, $J = 11.1$ Hz, 1 H, $\text{CH}_2\text{Ph-4a}$), 4.59 (d, $J = 11.9$ Hz, 1 H, $\text{CH}_2\text{Ph-6a}$), 4.55 (d, $J = 11.9$ Hz, 1 H, $\text{CH}_2\text{Ph-6b}$), 4.42 (dd, $J = 3.9$ und 3.8 Hz, 1 H, 3-H), 4.37 (d, $J = 11.1$ Hz, 1 H, $\text{CH}_2\text{Ph-4b}$), 3.88 (dd, $J = 10.6$ und 3.4 Hz, 1 H, 6-Ha), 3.72 (dd, $J = 6.0$ und 3.8 Hz, 1 H, 4-H), 3.64 (dd, $J = 10.6$ und 3.8 Hz, 1 H, 6-Hb), 3.59 (ddd, $J = 6.0$, 3.8 und 3.4 Hz, 1 H, 5-H), 3.30 (s, OCH_3 , 3 H), 1.99 (s, NHAc , 3 H) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 198.0$ (s, C=O , C-1), 170.6 (s, NHCOCH_3), 138.0 (s, C-ipso Ph an C-6), 137.7 (s, C-ipso Ph an C-3), 137.5 (s, C-ipso Ph an C-4), 128.6 – 127.9 (15xd, Ph), 79.9 (d, C-5), 78.7 (d, C-3), 77.3 (d, C-4), 74.1 (t, CH_2Ph an C-6), 73.6 (t, CH_2Ph an C-3), 73.4 (t, CH_2Ph an C-4), 67.5 (t, C-6), 59.1 (d, C-2), 57.4 (q, OCH_3), 23.2 (q, NHCOCH_3) ppm.

HRMS (ESI): $(M + \text{Na})^+$ berechnet für $\text{C}_{30}\text{H}_{35}\text{N}_1\text{O}_6\text{Na}_1$: 528.2362, gefunden: 528.2361.

Öl, farblos, $\text{C}_{30}\text{H}_{35}\text{N}_1\text{O}_6$, MG = 505.6020 g/mol.

2-Acetamino-3,4,6-tri-O-benzyl-2,5-di-desoxy-D-glucityl-tert-butyl-diphenylsilylether (**86**)



110 mg (0.150 mmol) der Verbindung **70** wurden unter Ausschluss von Luft und Feuchtigkeit in 0.5 ml abs. DCM gelöst und anschließend mit 1.5 ml abs. Pyridin, 18 mg DMAP (0.150 mmol, 1 Äq) und 0.21 ml (1.50 mmol, 10 Äq) Chlorthioameisensäure-O-Phenylester versetzt. Die Reaktionslösung wurde 6 h bei RT gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionsmischung drei Mal mit Wasser

ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde an der Ölpumpe getrocknet und ohne Aufreinigung weiter umgesetzt.

Die Rohsubstanz wurde unter Ausschluss von Luft und Feuchtigkeit in 2 ml abs. Toluol gelöst. Anschließend wurde die Reaktionslösung auf 110 °C erhitzt und mit 32 mg (0.196 mmol, 1.3 Äq) AIBN und 0.8 ml (3.02 mmol, 20 Äq) Tributylzinnhydrid versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 12 h unter Rückfluss gekocht. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch aufgereinigt (DCM).

Ausbeute: 79 mg (0.110 mmol) = 73 %.

Rf: 0.07 (DCM/MeOH = 40:1)

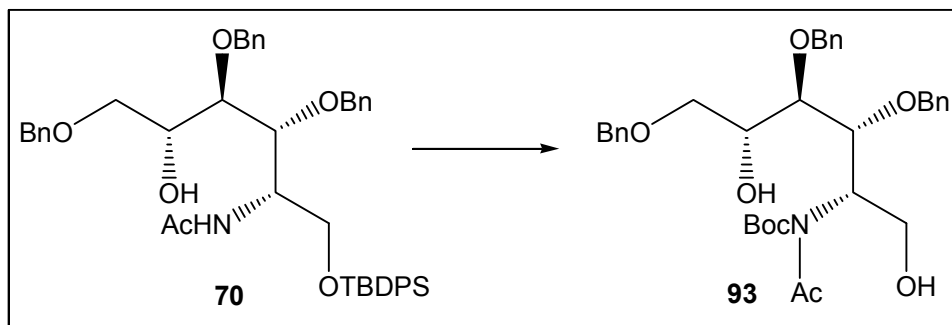
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃; CHCl₃ = 77.26 ppm) δ: 7.75-7.71 (m, 4H, SiPh), 7.50-7.23 (m, 21 H, Ph), 5.77 (d, J = 9.1 Hz, 1 H, NH), 4.88 (d, J = 10.7 Hz, 1 H, CH₂Ph-3a), 4.74 (d, J = 11.3 Hz, 1 H, CH₂Ph-4a), 4.60 (d, J = 11.3 Hz, 1 H, CH₂Ph-4b), 4.56 (d, J = 12.0 Hz, 1 H, CH₂Ph-6a), 4.55 (d, J = 10.7 Hz, 1 H, CH₂Ph-3b), 4.49 (d, J = 12.0 Hz, 1 H, CH₂Ph-6b), 4.47 (ddd, J = 9.1, 3.6 und 1.4 Hz, 1 H, 2-H), 4.11 (dd, J = 7.3 und 1.4 Hz, 1 H, 3-H), 3.84 (ddd, J = 8.5, 7.3 und 3.3 Hz, 1 H, 4-H), 3.77 (dd, J = 9.5 und 5.5 Hz, 1 H, 6-Ha), 3.72-3.62 (m, 3 H, 1-Hb, 1-Ha, 6-Hb), 2.17-2.08 (m, 1 H, 5-Ha), 1.90 (s, 3 H, NHAc), 1.89-1.80 (m, 1 H, 5-Hb), 1.46 (s, SiC(CH₃)₃, 9 H) ppm.

¹³C - NMR (100 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 77.16 ppm): δ = 169.3 (s, NHCOCH₃), 138.6, 138.5, 138.2 (3xs, C-ipso Ph), 135.56, 135.5 (8xs, SiPh, C-2, C-3), 133.3, 133.0 (2xs, C-ipso SiPh), 129.8, 139.7 (2xs, SiPh C-4), 128.4 – 127.4 (15xd, Ph), 78.2 (d, C-3), 77.2 (d, C-4), 74.9 (t, CH₂Ph an C-3), 73.3 (t, CH₂Ph an C-4), 77.6 (t, CH₂Ph an C-6), 66.3 (t, C-6), 62.6 (t, C-1), 50.4 (d, C-2), 30.9 (d, C-5), 26.9 (q, SiC(CH₃)₃), 23.3 (q, NHCOCH₃), 19.2 (s, SiC(CH₃)₃) ppm.

HRMS (ESI): (M + H)⁺ berechnet für C₄₅H₅₄N₁O₅Si₁: 716.3771, gefunden: 716.3780.

Öl, farblos, C₄₅H₅₃N₁O₅Si₁, MG = 715.9915 g/mol.

2-Acetamino-2,5-bis(*tert*-butyl-oxycarbonyl)-3,4,6-tri-*O*-benzyl-2-desoxy-D-glucityl-*tert*-butyldiphenyl-silylether (93)



54 mg (0.074 mmol) der Verbindung **70** wurden unter Ausschluss von Luft und Feuchtigkeit in 1 ml abs. Pyridin gelöst und anschließend mit 10.8 mg (0.088 mmol, 1.2 Äq) DMAP und 0.21 ml (0.737 mmol, 10 Äq) Boc₂O versetzt. Die Reaktionslösung wurde 38 h bei unter Rückfluss gekocht. Zur Aufarbeitung wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch (PE/EE = 6:1) gereinigt.

Ausbeute: 56 mg (0.061 mmol) = 82 %.

Rf: 0.63 (PE/EE = 6:1).

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = + 8.0$ (c = 1, CHCl₃).

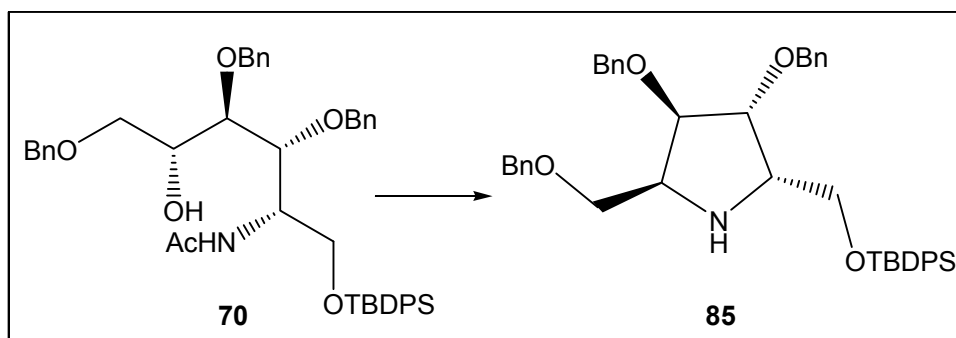
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃; CHCl₃ = 77.26 ppm) δ : 7.75-7.70 (m, 4H, SiPh), 7.50-7.30 (m, 21 H, Ph), 5.32-5.27 (m, 1 H, 5-H), 4.71 (d, J = 11.0 Hz, 1 H, CH₂Ph-3a), 4.71 (d, J = 11.0 Hz, 1 H, CH₂Ph-3b), 4.70 (d, J = 11.3 Hz, 1 H, CH₂Ph-4a), 4.63 (d, J = 11.3 Hz, 1 H, CH₂Ph-4b), 4.60 (d, J = 12.0 Hz, 1 H, CH₂Ph-6a), 4.54 (d, J = 12.0 Hz, 1 H, CH₂Ph-6b), 4.50-4.20 (m, 3 H, 2-H, 3-H, 1-Ha), 4.05 (dd, J = 10.3 und 5.3 Hz, 1 H, 1-Hb), 3.96 (dd, J = 11.2 und 2.6 Hz, 1 H, 6-Ha), 3.90 (dd, J = 6.8 und 2.4 Hz, 1 H, 4-H), 3.82 (dd, J = 11.2 und 5.5 Hz, 1 H, 6-Hb), 2.48 (s, 3 H, NHAc), 1.57 (s, 18 H, COC(CH₃)₃), 1.46 (s, SiC(CH₃)₃, 9 H) ppm.

¹³C - NMR (100 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 77.16 ppm): δ = 153.3 (s, NHCOCH₃), 138.6, 138.5, 138.2 (3xs, C-ipso Ph), 135.56, 135.5 (8xs, SiPh, C-2, C-3), 133.3, 133.0 (2xs, C-ipso SiPh), 129.8, 129.7 (2xs, SiPh C-4), 128.6 – 127.6 (15xd, Ph), 50.4 (d, C-2), 78.1 (d, C-4), 77.2 (d, C-3), 75.7 (d, C-5), 73.9 (t, C-1), 73.5 (3xt, CH₂Ph), 69.2 (t, C-6), 28.4 (q, COC(CH₃)₃), 28.2 (q, NHCOCH₃), 28.2 (q, COC(CH₃)₃), 27.2 (q, SiC(CH₃)₃), 19.5 (s, SiC(CH₃)₃) ppm.

HRMS (ESI): $(M + Na)^+$ berechnet $C_{55}H_{69}N_1O_{10}Si_1Na_1$: 954.4588, gefunden: 954.4579.

Öl, gelb, $C_{55}H_{69}N_1O_{10}Si_1$ MG = 932.2226 g/mol.

(2S,3R,4R,5S)-3,4-Di-O-benzyl-2-(benzyloxymethyl)-5-(tert-butyl-dimethylsilyloxy)methyl)pyrrolidin (85)



242 mg (0.331 mmol) der Verbindung **70** wurden unter Ausschluss von Luft und Feuchtigkeit in 4 ml abs. Toluol gelöst und anschließend mit 40 mg DMAP (0.331 mmol, 1 Äq) und 0.21 ml (1.50 mmol, 10 Äq) 1,1'-Thiocarbonyldiimidazol versetzt. Die Reaktionslösung wurde 15 h unter Rückfluss gekocht. Zur Aufarbeitung wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (PE/EE = 3:1).

Ausbeute: 200 mg (0.287 mmol) = 87 %; Zwei Verbindungen im Verhältnis 1.2:1.

Rf: 0.40 (PE/EE = 4:1).

Das Gemisch der zwei Verbindungen (200 mg, 0.287 mmol) wurde in 10 ml einer 1 M NaOH/EtOH - Lösung gelöst und 24 h unter Rückfluss gekocht. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionslösung neutralisiert und mit Essigsäureethylester versetzt. Die organische Phase wurde drei Mal mit Wasser gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (PE/EE = 2:1).

Ausbeute: 156 mg (0.238 mmol) = 83 %.

Rf: 0.23 (PE/EE = 4:1).

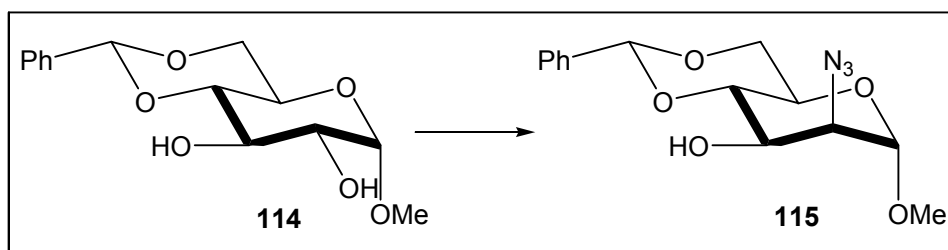
1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$; $CHCl_3$ = 77.26 ppm) δ : 7.75-7.71 (m, 4H, SiPh), 7.50-7.23

(m, 21 H, Ph), 4.58 (d, $J = 11.9$ Hz, 1 H, CH_2Ph), 4.57 (d, $J = 11.6$ Hz, 1 H, CH_2Ph), 4.56 (d, $J = 9.7$ Hz, 1 H, CH_2Ph), 4.55 (d, $J = 9.7$ Hz, 1 H, CH_2Ph), 4.53 (d, $J = 11.9$ Hz, 1 H, CH_2Ph), 4.48 (d, $J = 11.6$ Hz, 1 H, CH_2Ph), 4.08 (dd, $J = 4.9$ und 2.6 Hz, 1 H, 4-H), 4.05 (dd, $J = 5.1$ und 2.6 Hz, 1 H, 3-H), 3.86 (dd, $J = 9.9$ und 6.8 Hz, 1 H, 7-Ha), 3.77 (dd, $J = 10.1$ und 6.8 Hz, 1 H, 7-Hb), 3.73-3.54 (m, 4 H, 6-Ha, 6-Hb, 2-H, 5-H), 1.93 (s, 1 H, NH), 1.12 (s, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$, 9 H) ppm.

^{13}C - NMR (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 138.6, 138.5, 138.4$ (3xs, C-ipso Bn), 135.56, 135.5 (8xs, SiPh, C-2, C-3), 133.8, 133.7 (2xs, C-ipso SiPh), 129.8 (2xs, SiPh C-4), 128.5 – 127.7 (15xd, Ph), 82.7 (2xd, C-3, C-4), 73.5, 72.4 (3xt, CH_2Ph), 73.3 (t, CH_2Ph an C-4), 77.6 (t, CH_2Ph an C-6), 70.2 (t, C-6), 62.9 (t, C-1), 60.4 (d, C-2), 58.2 (d, C-5), 27.0 (q, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$), 19.3 (s, $\text{SiC}(\text{CH}_3)_3$) ppm.

5.2.2 Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3.3

Methyl-2-azido-4,6-O-benzyliden-2-desoxy- α -D-mannopyranosid (115)



5.27 g (18.7 mmol) des Benzylidenacetals **114** wurden unter Ausschluss von Luft und Feuchtigkeit in 60 ml abs. DCM gelöst und anschließend mit 60 ml (37.3 mmol, 2 Äq) abs. Pyridin versetzt. Die Reaktionslösung wurde auf -20 °C abgekühlt und 3.72 ml (22.4 mmol, 1.2 Äq) Trifluormethansulfonsäureanhydrid wurden langsam zugetropft. Die Reaktionsmischung wurde 2 h bei der gleichen Temperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionslösung vier Mal mit kalter, gesättigter Natriumchlorid - Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde durch Codestillation mit Toluol von Wasserrückständen befreit und ohne Aufarbeitung weiter umgesetzt.

Das Rohprodukt wurde unter Ausschluss von Luft und Feuchtigkeit in 50 ml abs. DMF gelöst. Im Anschluss wurden 3.64 g (56.0 mmol, 3 Äq) Natriumazid und 11.2 ml (56.0 mmol, 3 Äq) 15 - Krone - 5 hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 24 h bei 50 °C gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionslösung mit Wasser versetzt

und vier Mal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden drei Mal mit Wasser, ein Mal mit gesättigter Natriumchlorid - Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingengt. Das Produkt wurde mittels Säulenchromatographie gereinigt (PE/EE 10:1 → 3:1).

Ausbeute: 5.3 g (17.3 mmol) = 93 %.

Rf: 0.10 (PE/EE = 3:1).

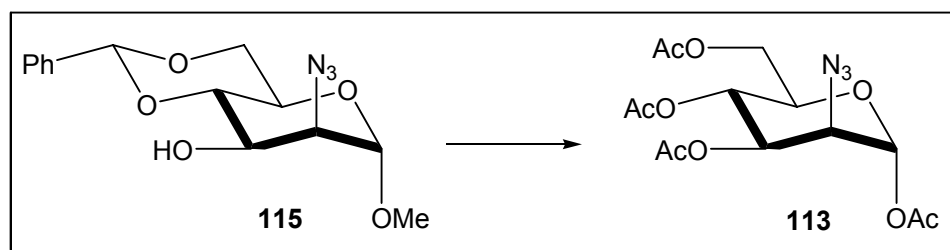
Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = + 59.1$ (c = 1, CHCl₃).

¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 7.52 - 7.47 (m, 2 H, 3-H Ph), 7.42 - 7.35 (m, 2 H, 2-H Ph; 1 H, 4-H Ph), 5.56 (s, 1 H, 7-H), 4.67 (d, J = 1.1 Hz, 1 H, 1-H), 4.27 - 7.23 (dd, 1 H, 6-Ha), 4.22 (ddd, J = 9.6, 4.1 und 3.9 Hz, 1 H, 3-H), 3.91 (dd, J = 3.9 und 1.1 Hz, 1 H, 2-H), 3.88 (dd, J = 9.6 und 9.6 Hz, 1 H, 4-H), 3.82 - 3.72 (m, 2 H, 6-Hb, 5-H), 3.38 (s, 3 H, OCH₃), 2.81 (d, J = 4.1 Hz, 1 H, OH) ppm.

¹³C - NMR (100 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 77.16 ppm): δ = 137.2 (s, C-ipso Ph), 129.4 (d, C-4 Ph), 128.5 (2xd, C-2 Ph), 126.4 (2xd, C-3 Ph), 102.4 (d, C-7, Acetal), 100.2 (d, C-1), 79.1 (d, C-4), 68.9 (d, C-3), 68.8 (t, C-6), 63.7 (d, C-5), 63.4 (d, C-5), 55.3 (q, OCH₃) ppm.

Amorph, weiß, C₁₄H₁₇N₃O₅, MG = 307.3019 g/mol.

1,3,4,6-Tetra-O-acetyl-2-azido-2-deoxy- α -D-mannopyranose (**113**)



100 mg (0.325 mmol) der Verbindung **115** wurden unter Eiskühlung in 1 ml einer Schwefelsäure/Acetanhydrid - Lösung (3 % v/v) gelöst. Die Reaktionslösung wurde 2 h bei 0 °C gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionsmischung mit Phosphatpuffer (pH = 7.0) versetzt und mit Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel

wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde durch Codestillation mit Toluol von Acetanhydrid - Rückständen befreit und mittels Säulenchromatographie (PE/EE = 3:1) gereinigt.

Ausbeute: 91 mg (0.244 mmol) = 73 %.

Rf: 0.11 (PE/EE = 2:1).

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +53.3$ (c = 1, CHCl₃).

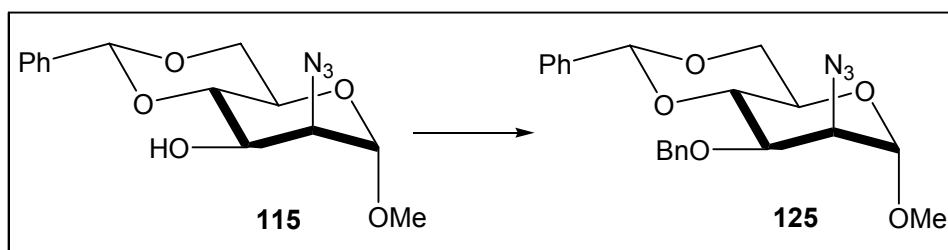
¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 6.08 (d, J = 1.7 Hz, 1 H, 1-H), 5.39 (dd, J = 10.0 und 10.0 Hz, 1 H, 4-H), 5.37 (dd, J = 10.0 und 2.7 Hz, 1 H, 3-H), 4.21 (dd, J = 12.5 und 4.6 Hz, 1 H, 6-Ha), 4.06 (dd, J = 12.5 und 2.2 Hz, 1 H, 6-Hb), 4.03 (dd, J = 2.7 und 1.7 Hz, 1 H, 2-H), 4.01 (ddd, J = 10.0, 4.6 und 2.3 Hz, 1 H, 5-H), 2.13 (s, 3 H, COCH₃ an 1), 2.09 (s, 3 H, COCH₃ an 3), 2.06 (s, 3 H, COCH₃ an 6), 2.02 (s, 3 H, COCH₃ an 4) ppm.

¹³C - NMR (100 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 77.16 ppm): δ = 170.7 (s, COCH₃ an 6), 170.1 (s, COCH₃ an 3), 169.4 (s, COCH₃ an 4), 168.2 (s, COCH₃ an 1), 91.4 (d, C-1), 70.8 (d, C-5), 70.6 (d, C-3), 65.4 (d, C-4), 61.8 (t, C-6), 60.6 (d, C-2), 20.9, 20.8, 20.7, 20.6 (4xq, COCH₃) ppm.

Amorph, weiß, C₁₄H₁₉N₃O₉, MG = 373.3154 g/mol.

5.2.3 Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3.4.2

Methyl-2-azido-3-O-benzyl-4,6-O-benzyliden-2-desoxy- α -D-mannopyranosid (125)



100 mg (0.325 mmol) der Verbindung **115** wurden unter Ausschluss von Feuchtigkeit und Luft in 1 ml abs. DMF gelöst. Unter Eiskühlung wurden portionsweise 19.6 mg (0.488 mmol, 1.5 Äq) Natriumhydrid, 12.0 mg (0.033 mmol, 0.1 Äq) TBAI und 77 μ l

(0.651 mmol, 2 Äq) Benzylbromid hinzugegeben. Die Reaktionslösung wurde über Nacht auf RT erwärmt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionsmischung vorsichtig zuerst mit Methanol, dann mit Wasser versetzt und vier Mal mit Diethylether extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, drei Mal mit Wasser, ein Mal mit gesättigter Natriumchlorid - Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand wurde säulenchromatographisch (PE/EE = 10:1 → 5:1) aufgereinigt.

Ausbeute: 128 mg (0.322 mmol) = 99 %.

Rf: 0.40 (PE/EE = 5:1).

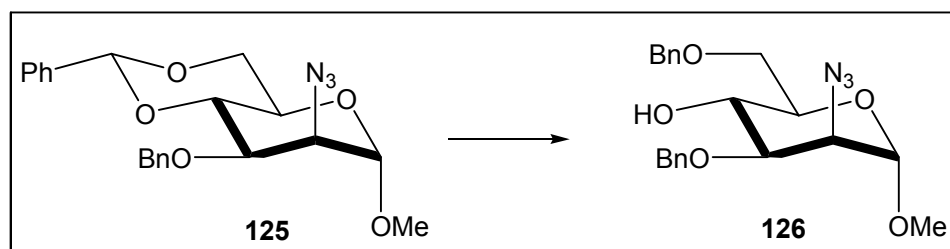
Drehwert: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = + 57.2$ (c = 1, CHCl₃).

¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 7.53 - 7.29 (m, 10 H, Ph), 5.65 (s, 1 H, 7-H), 4.91 (d, J = 12.1 Hz, 1 H, CH₂Ph), 4.76 (d, J = 12.1 Hz, 1 H, CH₂Ph), 4.68 (d, J = 1.7 Hz, 1 H, 1-H), 4.30 (dd, J = 10.0 und 4.1 Hz, 1 H, 6-Ha), 4.016 - 4.12 (m, 2 H, 4-H, 3-H), 4.02 - 4.00 (m, 1 H, 2-H), 3.90 - 3.77 (m, 2 H, 6-Hb, 5-H), 3.37 (s, 3 H, OCH₃) ppm.

¹³C - NMR (100 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 77.16 ppm) : δ = 138.1 (s, C-ipso, Acetal), 137.5 (s, C-ipso, Bn), 129.0-126.1 (10xd, Ph), 101.7 (d, C-7, Acetal), 100.2 (d, C-1), 79.2 (d, C-4), 75.8 (d, C-3), 73.3 (t, CH₂Ph), 68.8 (t, C-6), 63.8 (d, C-5), 62.7 (d, C-2), 55.1 (q, OCH₃) ppm.

Amorph, weiß, C₂₁H₂₃N₃O₅, MG = 397.4244 g/mol.

Methyl-2-azido-3,6-di-O-benzyl-2-desoxy-α-D-mannopyranosid (126)



100 mg (0.325 mmol) der Verbindung **125** wurden in 1 ml abs. THF gelöst und mit einer Spatelspitze 3 Å Molsieb und 102 mg (1.63 mmol, 5 Äq) Natriumcyanoborhydrid

versetzt. Parallel dazu wurde ein trockenes HCl - Gas hergestellt und in abs. Diethylether eingeleitet. Die Reaktionsmischung wurde so lange tropfenweise mit dem salzsäurehaltigen Diethylether versetzt, bis die Gasentwicklung beendet war (ca. 5 min). Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionslösung mit DCM versetzt und drei Mal mit Wasser, ein Mal mit gesättigter Natriumchlorid - Lösung extrahiert. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde einrotiert. Der Rückstand wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EE = 5:1) gereinigt.

Ausbeute: 112 mg (0.283 mmol) = 87 %.

Rf: 0.30 (PE/EE = 3:1).

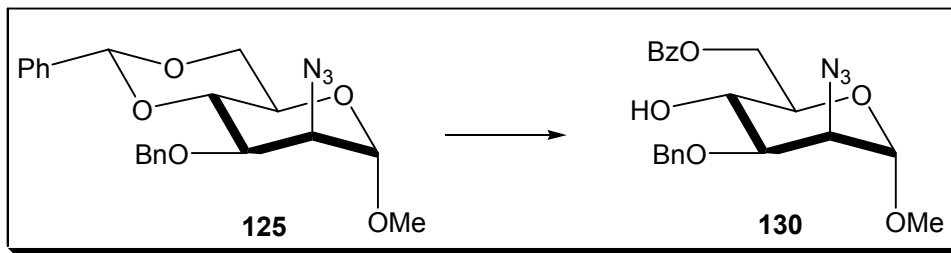
Drehwert : $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = + 13.7$ (c = 1, CHCl₃).

¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): $\delta = 7.42 - 7.28$ (m, 10 H, Ph), 4.78 (d, $J = 11.6$ Hz, 1 H, CH₂Ph an 3), 4.73 (d, $J = 1.4$ Hz, 1 H, 1-H), 4.68 (d, $J = 11.6$ Hz, 1 H, CH₂Ph an 3), 4.66 (d, $J = 12.1$ Hz, 1 H, CH₂Ph an 6), 4.61 (d, $J = 12.1$ Hz, 1 H, CH₂Ph an 6), 4.09 (ddd, $J = 9.0, 9.0$ und 2.0 Hz, 1 H, 4-H), 3.96 (dd, $J = 3.7$ und 1.4 Hz, 1 H, 2-H), 3.90 (dd, $J = 9.0$ und 3.7 Hz, 1 H, 3-H), 3.76 (dd, $J = 10.6$ und 5.5 Hz, 1 H, 6-Ha), 4.74 (dd, $J = 10.6$ und 3.8 Hz, 1 H, 6-Hb), 3.73 (ddd, $J = 9.0, 5.5$ und 3.7 Hz, 1 H, 3-H), 3.37 (s, 3 H, OCH₃), 2.64 (d, $J = 2.0$ Hz, 1 H, OH) ppm.

¹³C - NMR (100 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 77.16 ppm) : $\delta = 138.1$ (s, C-ipso Bn an 6), 137.7 (s, C-ipso Bn an 3), 128.7 – 127.7 (10xd, Ph), 99.4 (d, C-1), 79.4 (d, C-3), 73.7 (t, CH₂Ph an 6), 72.6 (t, CH₂Ph an 3), 71.1 (d, C-5), 70.2 (t, C-6), 68.0 (d, C-4), 60.5 (d, C-2), 55.1 (q, OCH₃) ppm.

HRMS (ESI): (M + Na)⁺ berechnet für C₂₁H₂₅N₃O₅Na₁: 422.1692; gefunden: 422.1691.

Amorph, weiß, C₂₁H₂₅N₃O₅, MG = 399.4403 g/mol.

Methyl-2-azido-6-O-benzoyl-3-O-benzyl-2-desoxy- α -D-mannopyranosid (130)

12.39 g (31.19 mmol) der Verbindung **125** wurden in 150 ml Methanol gelöst und mit 1.778 g (9.358 mmol, 0.3 Äq) *para*-Toluolsulfonsäure bei RT versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 3 h bei RT gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionslösung mit festem Natriumhydrogencarbonat neutralisiert und einrotiert. Der Rückstand wurde durch Codestillation mit Toluol von Wasserrückständen befreit. Das Produkt wurde ohne säulenchromatographische Aufarbeitung weiter umgesetzt.

Das Rohprodukt wurde unter Argonatmosphäre in 150 ml abs. DCM gelöst und bei 0 °C zuerst mit 5.43 ml (46.79 mmol, 1.5 Äq) 2,6-Lutidin und anschließend mit 4.35 ml (37.42 mmol, 1.2 Äq) Benzoylchlorid versetzt. Die Reaktionslösung wurde 2 h bei 0 °C gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionsmischung drei Mal mit Wasser und ein Mal mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung extrahiert. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde einrotiert. Der Rückstand wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EE = 10:1 \rightarrow 5:1) gereinigt.

Ausbeute: 12.71 g (30.75 mmol) = 99 %.

Rf: 0.34 (PE/EE = 2:1).

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +20.5$ (c = 1, CHCl₃).

¹H - NMR (400 MHz, C₆D₆, C₆H₆ = 7.16 ppm): δ = 8.32 - 8.28 (m, 2 H, 3-H Bz), 7.42 - 7.39 (m, 2 H, 3-H Bn), 7.31 - 7.13 (m, 1 H, 4-H Bn und 2 H, 2-H Bn), 7.17 (m, 1 H, 4-H Bz und 2 H, 2-H Bz), 4.78 (dd, *J* = 11.2 und 5.3 Hz, 1 H, 6-Ha), 4.71 (dd, *J* = 11.9 und 2.3 Hz, 1 H, 6-Hb), 4.55 (d, *J* = 11.7 Hz, 1 H, CH₂Ph), 4.47 (d, *J* = 11.7 Hz, 1 H, CH₂Ph), 4.46 (d, *J* = 1.4 Hz, 1 H, 1-H), 4.09 (dd, *J* = 9.7 und 9.4 Hz, 1 H, 4-H), 3.92 (dd, *J* = 9.4 und 3.7 Hz, 1 H, 3-H), 3.88 (ddd, *J* = 9.7, 5.3 und 2.3 Hz, 1 H, 5-H), 3.63 (dd, *J* = 3.7 und 1.4 Hz, 1 H, 2-H), 3.03 (s, 3 H, OCH₃) ppm.

^{13}C - NMR (100 MHz, C_6D_6 , C_6H_6 = 128.06 ppm): δ = 166.7 (s, $\underline{\text{C}}\text{OPh}$), 138.3 (s, C-*ipso* Bn), 133.0 (d, C-4 Bz), 130.7 (s, C-*ipso* Bz), 130.1 (2xd, C-3 Bz), 128.8 (2xd, C-2 Bz), 128.6 – 127.8 (5xd, Bn), 99.5 (d, C-1), 79.7 (d, C-3), 72.6 (t, CH_2Ph), 71.1 (d, C-5), 67.4 (d, C-4), 64.1 (t, C-6), 60.9 (d, C-2), 54.5 (q, $\text{O}\underline{\text{C}}\text{H}_3$) ppm.

HRMS (ESI): ($\text{M} + \text{Na}$) $^+$ berechnet für $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_6\text{Na}_1$: 436.1490, gefunden: 436.1485.

Amorph, weiß, $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_6$, MG = 413.4238 g/mol.

Methyl-2-azido-6-O-benzoyl-3-O-benzyl-4-O-methyl-2-desoxy- α -D-mannopyranosid (152)



Unter Ausschluss von Luft und Feuchtigkeit wurden 385 mg (0.931 mmol) der Verbindung **130** in 20 ml abs. DCM gelöst. Anschließend wurden alle 24 h insgesamt fünf Mal 500 mg (2.14 mmol, 2.3 Äq) Silberoxid und 0.48 ml (1.86 mmol, 7.4 Äq) Methyljodid hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 5 d unter Rückfluss gekocht. Zur Aufarbeitung wurde das Silberoxid über Kieselgur abfiltriert und mit DCM gewaschen. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EE = 7:1) gereinigt.

Ausbeute: 365 mg (0.856 mmol) = 92 %.

Rf: 0.34 (PE/EE = 3:1).

Drehwert: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = + 57.5$ (c = 1, CHCl_3).

^1H - NMR (400 MHz, C_6D_6 , C_6H_6 = 7.16 ppm): δ = 8.10 - 8.05 (m, 2 H, 3-H Bz), 7.60 - 7.52 (m, 1 H, 4-H Bz), 7.48 - 7.29 (m, 2 H, 2-H Bz und 5 H, Bn), 4.75 (d, J = 11.9 Hz, 1 H, CH_2Ph), 4.74 (d, J = 11.7 Hz, 1 H, CH_2Ph), 4.70 (d, J = 1.4 Hz, 1 H, 1-H), 4.59 (dd, J = 11.9 und 2.2 Hz, 1 H, 6-Ha), 4.51 (dd, J = 11.9 und 5.1 Hz, 1 H, 6-Hb), 3.98 (dd, J = 8.9 und 3.7 Hz, 1 H, 3-H), 3.91 (dd, J = 3.7 und 1.4 Hz, 1 H, 2-H), 3.81 (ddd,

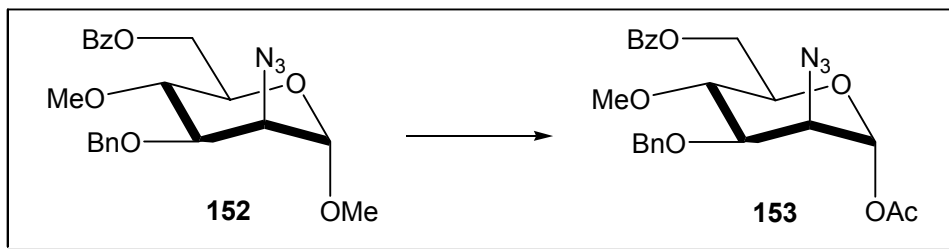
$J = 9.7, 5.1$ und 2.2 Hz, 1 H, 5-H), 3.61 (dd, $J = 9.7$ und 8.9 Hz, 1 H, 4-H), 3.56 (s, 3 H, OCH₃ an 4), 3.36 (s, 3 H, OCH₃ an 1) ppm.

¹³C - NMR (100 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 77.16 ppm): $\delta = 166.5$ (s, C=O_{Ph}), 137.9 (s, C-ips_o Bn), 133.2 (s, C-ips_o Bz), 130.1 – 127.9 (10xd, Ph), 99.2 (d, C-1), 79.5 (d, C-3), 76.6 (d, C-4), 72.8 (t, CH₂Ph), 70.1 (d, C-5), 63.8 (t, C-6), 61.3 (d, C-2), 61.3 (q, OCH₃ an 4), 55.1 (q, OCH₃ an 1) ppm.

HRMS (ESI): (M + Na)⁺ berechnet für C₂₂H₂₅N₃O₆Na₁: 450.1641, gefunden: 450.1655.

Amorph, weiß, C₂₂H₂₅N₃O₆, MG = 427.4504 g/mol.

1-O-Acetyl-2-azido-6-O-benzoyl-3-O-benzyl-4-O-methyl-2-desoxy- α -D-mannopyranose (**153**)



285 mg (0.667 mmol) der Verbindung **152** wurden unter Eiskühlung in 3.5 ml einer Schwefelsäure/Acetanhydrid - Lösung (1 % v/v) gelöst. Die Reaktionslösung wurde 1 h bei 0°C gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionsmischung mit Phosphatpuffer (pH = 7.0) versetzt und mit Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde durch Codestillation mit Toluol von Acetanhydrid - Rückständen befreit und mittels Säulenchromatographie (PE/EE = 6:1) gereinigt.

Ausbeute: 286 mg (0.626 mmol) = 94 %.

Rf: 0.60 (PE/EE = 2:1).

Drehwert: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = + 61.3$ (c = 1, CHCl₃).

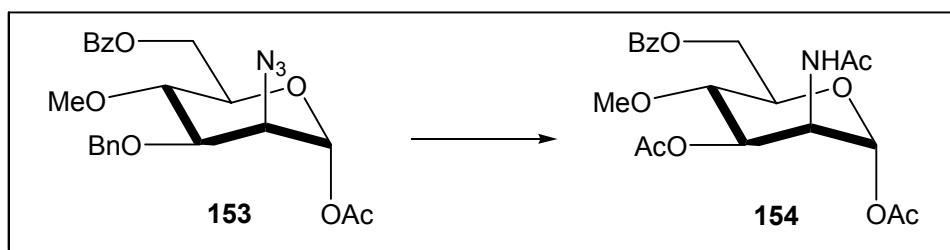
^1H - NMR (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 8.12 - 8.09$ (m, 2 H, 3-H Bz), 7.61 -7.59 (m, 1 H, 4-H Bz), 7.49 - 7.43 (m, 7 H, Ph), 6.09 (d, $J = 2.0$ Hz, 1 H, 1-H), 4.79 (d, $J = 11.7$ Hz, 1 H, CH_2Ph), 4.58 (d, $J = 11.7$ Hz, 1 H, CH_2Ph), 4.58 (dd, $J = 12.1$ und 2.6 Hz, 1 H, 6-Ha), 4.53 (dd, $J = 12.1$ und 3.5 Hz, 1 H, 6-Hb), 4.00 (dd, $J = 9.2$ und 3.4 Hz, 1 H, 3-H), 3.92 (ddd, $J = 9.8$, 3.5 und 2.6 Hz, 1 H, 5-H), 3.89 (dd, $J = 3.4$ und 2.0 Hz, 1 H, 2-H), 3.75 (dd, $J = 9.8$ und 9.2 Hz, 1 H, 4-H), 3.60 (s, 3 H, OCH_3), 2.10 (s, 3 H, COCH_3) ppm.

^{13}C - NMR (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 168.5$ (s, COCH_3), 166.3 (s, COPh), 137.5 (s, C-ipso Bn), 133.2 (d, C-4 Bz), 129.9 (s, C-ipso Bz), 129.8 (2xd, C-3 Bz), 128.7 (2xd, C-2 Bz), 128.5 – 128.0 (5xd, Ph), 92.0 (d, C-1), 78.8 (d, C-3), 75.9 (d, C-4), 73.0 (t, CH_2Ph), 72.4 (d, C-5), 63.2 (t, C-6), 61.4 (q, OCH_3), 60.4 (d, C-2), 20.9 (q, COCH_3) ppm.

HRMS (ESI): $(\text{M} + \text{Na})^+$ berechnet für $\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_7\text{Na}_1$: 478.1590, gefunden: 478.1597.

Amorph, weiß $\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_7$, MG = 455.4605 g/mol.

2-Acetamido-1-di-O-acetyl-6-O-benzoyl-3-O-benzyl-4-O-methyl-2-desoxy- α -D-mannopyranose (**154**)



135 mg (0.296 mmol) der Verbindung **153** wurden in 3 ml Methanol gelöst. Unter Eiskühlung wurden 60.7 mg Palladiumacetat und 50.9 μl (0.889 mmol, 3 Äq) Essigsäure hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 24 h unter Wasserstoffatmosphäre gerührt. Zur Aufarbeitung wurde das Palladium über Kieselgur abfiltriert und mit heißem Methanol gewaschen. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde an der Ölpumpe getrocknet und ohne Aufreinigung weiter umgesetzt.

Das Rohprodukt wurde in 3 ml Acetanhydrid/Pyridin (1:2) gelöst und über Nacht bei RT gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionslösung mit Wasser versetzt und drei Mal mit Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde durch Codestillation mit Toluol von Acetanhydrid - und Pyridinresten befreit und mittels Säulenchromatographie (PE/EE = 1:1) gereinigt.

Ausbeute: 84 mg (0.198 mmol) = 67 %, Gesamtausbeute über 2 Stufen.

Rf: 0.08 (PE/EE = 1:1).

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = + 60.3$ (c = 1, CHCl₃).

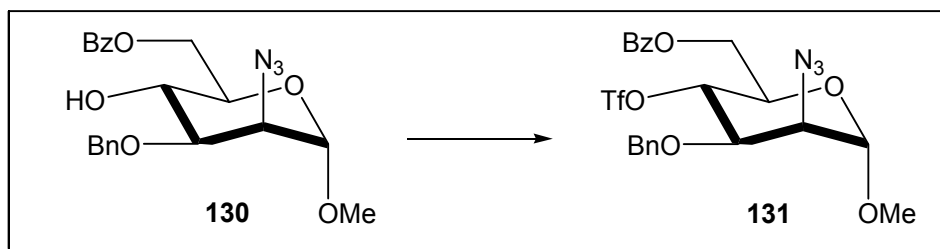
¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 8.05 - 8.02 (m, 2 H, 3-H Bz), 7.62 - 7.57 (m, 1 H, 4-H Bz), 7.49 - 7.45 (m, 2 H, 2-H Bz), 6.00 (d, J = 2.3 Hz, 1 H, 1-H), 5.69 (d, J = 9.2 Hz, 1 H, NH), 5.28 (dd, J = 9.2 und 4.1 Hz, 1 H, 3-H), 4.64 (ddd, J = 9.2, 4.1 und 2.3 Hz, 1 H, 2-H), 4.56 (m, 2 H, 6-Ha, 6-Hb), 4.03 (ddd, J = 9.8, 3.4 und 3.4 Hz, 1 H, 5-H), 3.49 (s, 3 H, OCH₃), 3.48 (dd, J = 9.8 und 9.2 Hz, 1 H, 4-H), 2.14 (s, 3 H, COCH₃ an 1), 2.07 (s, 3 H, COCH₃ an 3), 2.00 (s, 3 H, NHCOCH₃) ppm.

¹³C - NMR (100 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 77.16 ppm): δ = 170.1 (s, COCH₃ an 3), 169.9 (s, NHCOCH₃), 168.7 (s, COCH₃ an 1), 166.1 (s, COPh), 133.5 (d, C-4 Bz), 129.9 (s, C-ipso Bz), 129.6 (2xd, C-3 Bz), 128.7 (2xd, C-2 Bz), 91.9 (d, C-1), 74.6 (d, C-6), 71.8 (d, C-3), 71.7 (d, C-5), 63.2 (t, C-6), 60.8 (q, OCH₃), 49.2 (d, C-2), 23.4 (q, NHCOCH₃ an 1), 21.2 (q, COCH₃ an 3), 21.0 (q, COCH₃ an 1) ppm.

HRMS (ESI): (M + Na)⁺ berechnet für C₂₀H₂₅N₁O₉Na₁: 446.1427, gefunden: 446.1435.

Amorph, weiß, C₂₀H₂₅N₁O₉, MG = 423.4158 g/mol.

Methyl-2-azido-6-O-benzoyl-3-O-benzyl-4-O-trifluormethansulfonyl-2-desoxy- α -D-mannopyranosid (131)



Unter Ausschluss von Luft und Feuchtigkeit wurden 100 mg (0.242 mmol) der Verbindung **130** in 1.5 ml abs. DCM gelöst und mit 48.5 μ l (0.605 mmol, 2.5 Äq) abs. Pyridin versetzt. Die Reaktionslösung wurde auf $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ abgekühlt und 56 μ l (0.339 mmol, 1.4 Äq) Trifluormethansulfonsäureanhydrid wurden langsam zugetropft. Die Reaktionsmischung wurde innerhalb von 3 h von $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ auf $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ erwärmt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionslösung vier Mal mit kalter, gesättigter Natriumchlorid - Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde durch Codestillation mit Toluol von Pyridinresten befreit und mittels Säulenchromatographie (PE/EE = 5:1) aufgereinigt.

Ausbeute: 128 mg (0.235 mmol) = 97 %;

Rf: 0.44 (PE/EE = 3:1).

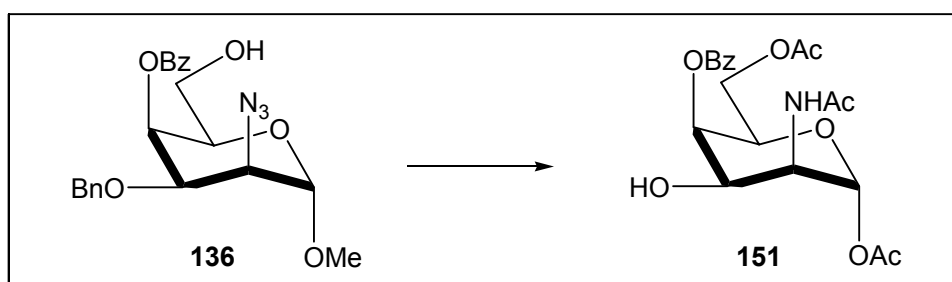
Drehwert: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +64.7$ (c = 1, CHCl_3).

^1H - NMR (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 8.10 - 8.08$ (m, 2 H, 3-H Bz), 7.60 - 7.59 (m, 1 H, 4-H Bz), 7.50 - 7.36 (m, 7 H, Ph), 5.29 (dd, $J = 9.9$ und 9.4 Hz, 1 H, 4-H), 4.82 (d, $J = 11.3$ Hz, 1 H, CH_2Ph), 4.74 (dd, $J = 12.5$ und 2.0 Hz, 1 H, 6-Ha), 4.71 (d, $J = 1.4$ Hz, 1 H, 1-H), 4.65 (d, $J = 11.3$ Hz, 1 H, CH_2Ph), 4.40 (dd, $J = 12.5$ und 4.3 Hz, 1 H, 6-Hb), 4.17 (dd, $J = 9.4$ und 3.6 Hz, 1 H, 3-H), 4.13 (ddd, $J = 9.9$, 4.3 und 2.0 Hz, 1 H, 5-H), 3.84 (dd, $J = 3.6$ und 1.4 Hz, 1 H, 2-H), 3.37 (s, 3 H, OCH_3) ppm.

^{13}C - NMR (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 166.1$ (s, $\underline{\text{C}}\text{OPh}$), 136.5 (s, C- ipso Bn), 133.4 (d, C-4 Bz), 129.9 (2xd, C-3 Bz), 129.6 (s, C- ipso Bz), 128.8 (2xd, C-2 Bz), 128.7 – 128.6 (5xd, Bn), 118.5 (q, CF_3 , $J = 319.1$), 99.2 (d, C-1), 80.2 (d, C-4), 76.2 (d, C-3), 73.4 (t, CH_2Ph), 68.0 (d, C-5), 62.2 (t, C-6), 61.6 (d, C-2), 55.6 (q, $\text{O}\underline{\text{C}}\text{H}_3$) ppm.

Öl, farblos, $C_{22}H_{22}N_3O_8S_1F_3$, MG = 545.4856 g/mol.

2-Acetamido-1,6-di-O-acetyl-4-O-benzoyl-2-desoxy- α -D-talopyranose (151)



163 mg (0.394 mmol) der Verbindung **136** wurden unter Eiskühlung in 2 ml einer Schwefelsäure/Acetanhydrid - Lösung (1 % v/v) gelöst. Die Reaktionsmischung wurde 1 h bei 0°C gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionslösung mit Phosphatpuffer (pH = 7.0) versetzt und vier Mal mit Essigsäureethylester extrahiert. Die organische Phase wurde anschließend mit gesättigter Natriumchlorid - Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum einrotiert. Der Rückstand wurde durch Codestillation mit Toluol von Acetanhydrid - Resten befreit und als Rohprodukt weiter umgesetzt.

Das Rohprodukt wurde in 3 ml Essigsäureethylester gelöst. Im Anschluss wurden 65 mg Palladiumacetat und 370.3 μ l (3.94 mmol, 10 Äq) Acetanhydrid hinzu- gegeben. Die Reaktionsmischung wurde 24 h unter Wasserstoffatmosphäre bei 5.3 bar und RT gerührt. Zur Aufarbeitung wurde der Katalysator über Kieselgur filtriert und mit heißem Essigsäureethylester gewaschen. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EE = 1:1) gereinigt.

Ausbeute: 90 mg (0.221 mmol) = 56 %, Gesamtausbeute über 2 Stufen.

Rf: 0.11 (PE/EE = 1:2).

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = + 10.0$ (c = 0.7, CHCl₃).

¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 8.04 - 8.02 (m, 2 H, 3-H Bz), 7.64 - 7.61 (m, 1 H, 4-H Bz), 7.51 - 7.47 (m, 2 H, 2-H Bz), 6.39 (d, J = 8.5 Hz, 1 H, NH), 6.16 (d, J = 1.1 Hz, 1 H, 1-H), 5.67 (dd, J = 3.7 und 1.6 Hz, 1 H, 4-H), 4.09 (dd, J = 3.7 und 3.7 Hz, 1 H, 3-H), 4.37 (ddd, J = 8.5, 3.7 und 1.1 Hz, 1 H, 2-H), 4.33 (ddd, J = 6.5,

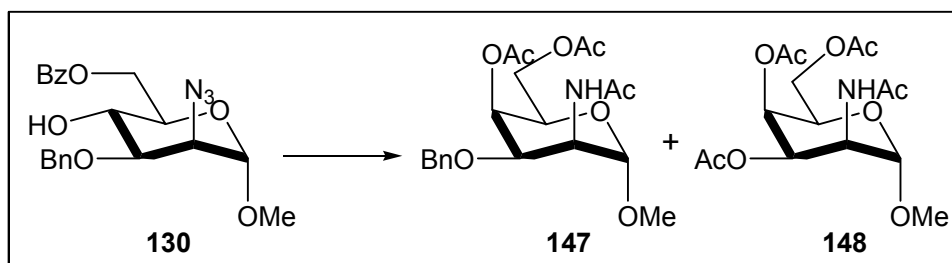
6.5 und 1.1 Hz, 1 H, 5-H), 4.20 (dd, $J = 11.5$ und 6.5 Hz, 1 H, 6-Ha), 4.16 (dd, $J = 11.5$ und 6.5 Hz, 1 H, 6-Hb), 2.14 (s, 3 H, COCH_3 an 1), 1.99 (s, 3 H, COCH_3 an 6), 1.87 (s, 3 H, NHCOCH_3) ppm.

^{13}C - NMR (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 171.2$ (s, NHCOCH_3), 170.7 (s, COCH_3 an 6), 168.5 (s, COCH_3 an 1), 165.6 (s, COPh), 134.0 (d, C-4 Bz), 129.6 (2xd, C-3 Bz), 129.4 (s, C-ipso Bz), 129.0 (2xd, C-2 Bz), 92.8 (d, C-1), 69.8 (d, C-4), 69.0 (d, C-5), 64.2 (d, C-2), 62.3 (t, C-6), 50.0 (d, C-3), 23.3, 21.0, 20.8 (3xq, COCH_3 , NHCOCH_3) ppm.

HRMS (ESI): ($M + \text{Na}$) $^+$ berechnet für $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{N}_1\text{O}_9\text{Na}_1$: 432.1271, gefunden: 432.1272.

Öl, farblos, $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{N}_1\text{O}_9$, MG = 409.3872 g/mol.

Methyl-2-acetamido-4,6-di-O-acetyl-3-O-benzyl-2-desoxy- α -D-talopyranosid (147)
und Methyl-2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy- α -D-talopyranosid (148)



260 mg (0.629 mmol) der Verbindung **130** wurden unter Argonatmosphäre in 5 ml abs. DCM gelöst und unter Eiskühlung mit 800 mg (1.887 mmol, 3 Äq) DMP versetzt. Die Reaktionslösung wurde 25 h bei -4°C bis 0°C gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionsmischung mit gesättigter $\text{NaHCO}_3/\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -Lösung (1:1) versetzt und 10 min kräftig gerührt. Essigsäureethylester wurde hinzugefügt. Die organische Phase wurde vier Mal mit gesättigter $\text{NaHCO}_3/\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -Lösung (1:1) extrahiert und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde einrotiert. Das Rohprodukt wurde an der Ölpumpe getrocknet und ohne Aufreinigung weiter umgesetzt.

Das Rohprodukt wurde in 4 ml Ethanol/THF (2:1) gelöst und bei 0°C mit 143 mg (3.773 mmol, 6 Äq) Natriumborhydrid versetzt. Die Reaktionslösung wurde über Nacht auf RT erwärmt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionsmischung mit wenigen Tropfen Essigsäure und anschließend mit Methanol versetzt. Das Lösungsmittel wurde

einrotiert. Der Rückstand wurde mit Essigsäureethylester aufgenommen und drei Mal mit Wasser, ein Mal mit gesättigter Natriumchlorid - Lösung ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde ohne Aufreinigung weiter umgesetzt.

Das Rohprodukt wurde in 4 ml Methanol gelöst. Unter Eiskühlung wurden 117 mg Palladiumacetat und 108 μ l (1.887 mmol, 3 Äq) Essigsäure hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 2 Tage unter Wasserstoffatmosphäre bei 5 bar und Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wurde das Palladium über Kieselgur abfiltriert und mit heißem Methanol gewaschen. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde an der Ölpumpe getrocknet und ohne Aufreinigung weiter umgesetzt.

Das Rohprodukt wurde in 3 ml Acetanhydrid/Pyridin (1:2) gelöst und über Nacht bei RT gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionslösung mit Wasser versetzt und drei Mal mit Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde durch Codestillation mit Toluol von Acetanhydrid - und Pyridinresten befreit und mittels Säulenchromatographie (PE/EE = 1:1 \rightarrow 1:3) gereinigt.

Ausbeute: **147**: 110 mg (0.269 mmol) = 43 %, Gesamtausbeute über 4 Stufen;

148: 16 mg (0.043 mmol) = 7 %, Gesamtausbeute über 4 Stufen.

Analytische Daten von Verbindung 147

Rf: 0.23 (PE/EE = 1:2).

^1H - NMR (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 7.28 - 7.21$ (m, 5 H, Bn), 6.34 (d, $J = 8.9$ Hz, 1 H, NH), 5.67 (s, 1 H, 4-H), 4.7 (s, 1 H, 1-H), 4.51 (d, $J = 11.9$ Hz, 1 H, CH_2Ph), 4.45 (d, $J = 11.9$ Hz, 1 H, CH_2Ph), 4.44 - 4.39 (m, 1 H, 2-H), 4.13 - 4.00 (m, 3 H, 6-Ha, 6-Hb, 3-H), 3.85 - 3.80 (m, 1 H, 5-H), 3.27 (s, 3 H, OCH_3), 2.10 (s, 3 H, COCH_3 an 4), 2.00 (s, 3 H, COCH_3 an 6), 1.95 (s, 3 H, NHCOCH_3) ppm.

^{13}C - NMR (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 170.3$ (s, $\underline{\text{C}}\text{OCH}_3$ an 6), 169.8 (s, $\text{NH}\underline{\text{C}}\text{OCH}_3$), 169.0 (s, $\underline{\text{C}}\text{OCH}_3$ an 4), 137.4 (s, C-ipso Bn), 128.3 (2xd, Bn), 127.6 (d, C-4 Bn), 127.3 (2xd, Bn), 100.7 (d, C-1), 69.9 (t, CH_2Ph), 69.0 (d, C-5), 67.7 (d, C-4), 66.4 (d, C-3), 62.2 (t, C-6), 55.0 (q, $\text{O}\underline{\text{C}}\text{H}_3$), 48.4 (d, C-2), 23.4 (q, $\text{CO}\underline{\text{C}}\text{H}_3$ an 4), 20.72 (q, $\text{CO}\underline{\text{C}}\text{H}_3$ an 6), 20.53 (q, $\text{NH}\underline{\text{C}}\text{O}\underline{\text{C}}\text{H}_3$) ppm.

HRMS (ESI): (M + Na)⁺ berechnet für C₂₀H₂₇N₁O₈Na₁: 432.1634, gefunden: 432.1647.

Amorph, weiß, C₂₀H₂₇N₁O₈, MG = 409.4303 g/mol.

Analytische Daten von Verbindung 148

Rf: 0.15 (PE/EE = 1:2).

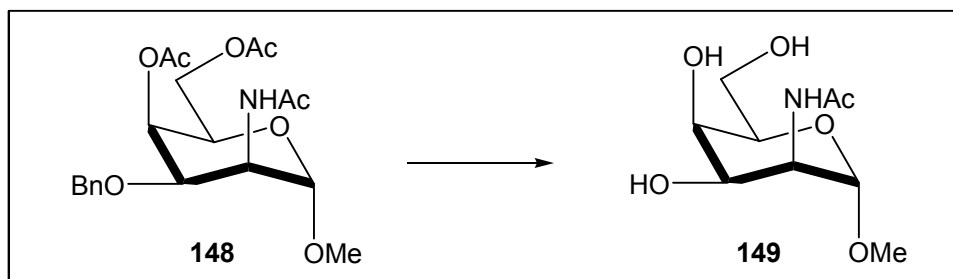
¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 7.28 - 7.21 (m, 5 H, Bn), 6.34 (d, J = 9.6 Hz, 1 H, NH), 5.39 (dd, J = 3.6 und 1.0 Hz, 1 H, 4-H), 5.28 (dd, J = 4.7 und 3.6 Hz, 1 H, 3-H), 4.69 (d, J = 1.1 Hz, 1 H, 1-H), 4.41 (ddd, J = 9.6, 4.7 und 1.1 Hz, 1 H, 2-H), 4.19 (ddd, J = 6.9, 5.9 und 1.0 Hz, 1 H, 5-H), 4.16 - 4.13 (m, 2 H, 6-Ha, 6-Hb), 3.40 (s, 3 H, OCH₃), 2.18 (s, 3 H, COCH₃ an 4), 2.06 (s, 3 H, COCH₃ an 6), 2.04 (s, 3 H, COCH₃ an 3), 2.00 (s, 3 H, NHCOCH₃) ppm.

¹³C - NMR (100 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 77.16 ppm): δ = 170.3 (s, COCH₃ an 6), 169.8 (s, NHCOCH₃), 169.0 (s, COCH₃ an 4), 137.4 (s, C-ipso Bn), 128.3 (2xd, Bn), 127.6 (d, C-4 Bn), 127.3 (2xd, Bn), 100.7 (d, C-1), 69.9 (t, CH₂Ph), 69.0 (d, C-5), 67.7 (d, C-4), 66.4 (d, C-3), 62.2 (t, C-6), 55.0 (q, OCH₃), 48.4 (d, C-2), 23.4 (q, COCH₃ an 4), 20.7 (q, COCH₃ an 6), 20.5 (q, NHCOCH₃) ppm.

HRMS (ESI): (M + Na)⁺ berechnet für C₁₅H₂₃N₁O₉Na₁: 384.1271, gefunden: 384.1269.

Amorph, weiß, C₁₅H₂₃N₁O₉, MG = 361.3444 g/mol.

Methyl-2-acetamido-2-desoxy- α -D-talopyranosid (149)



110 mg (0.269 mmol) der Verbindung **148** wurden in 2 ml Methanol gelöst und unter Eiskühlung mit 33 mg Palladiumacetat versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 2 Tage

unter Wasserstoffatmosphäre bei 5 bar und Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wurde das Palladium über Kieselgur abfiltriert und mit heißem Methanol gewaschen. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde an der Ölpumpe getrocknet.

Ausbeute: 63 mg (0.268 mmol), quantitativ.

Rf: 0.20 (EE/MeOH = 15:1).

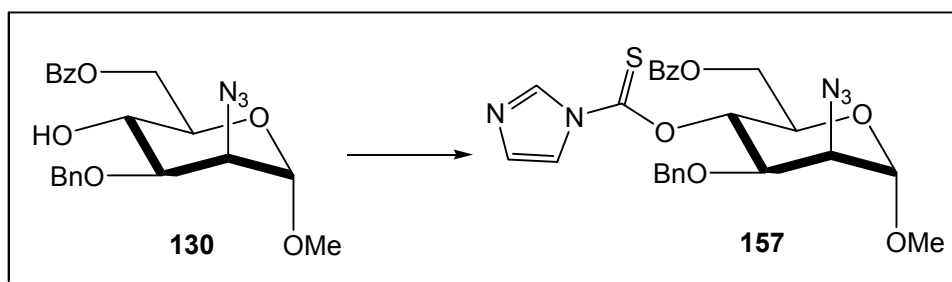
^1H - NMR (400 MHz, CD_3OD , $\text{CH}_3\text{OH} = 3.31$ ppm): $\delta = 5.39$ (s, 1 H, 1-H), 4.07 - 4.04 (m, 1 H, 2-H), 3.88 - 3.85 (d, 2 H, 3-H, 4-H), 3.77 - 3.67 (m, 3 H, 5-H, 6-Ha, 6-Hb), 3.33 (s, 3 H, OCH_3), 1.95 (s, 3 H, NHCOCH_3) ppm.

^{13}C - NMR (100 MHz, CD_3OD , $\text{CH}_3\text{OH} = 49.00$ ppm): $\delta = 173.2$ (s, NHCOCH_3), 101.8 (d, C-1), 72.4 (d, C-5), 70.4 (d, C-4), 65.3 (d, C-3), 62.9 (t, C-6), 55.3 (q, OCH_3), 53.5 (d, C-2), 23.2 (q, NHCOCH_3) ppm.

HRMS (ESI): (M - H)⁺ berechnet für $\text{C}_9\text{H}_{16}\text{N}_1\text{O}_6$: 234.0978, gefunden: 234.0983

Amorph, weiß, $\text{C}_9\text{H}_{17}\text{N}_1\text{O}_6$, MG = 235.2344 g/mol.

Methyl-2-azido-6-O-benzoyl-3-O-benzyl-4-O-((1-imidazolido)-thiocarbonyl)-2-desoxy- α -D-mannopyranosid (**157**)



1 g (2.419 mmol) der Verbindung **130** wurde unter Ausschluss von Luft und Feuchtigkeit in 15 ml abs. Toluol gelöst und anschließend mit 296 mg DMAP (2,419 mmol, 1 Äq) und 862 mg (4.834 mmol, 2 Äq) 1,1'-Thiocarbonyldiimidazol versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 6 h unter Rückfluss gekocht. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch aufgereinigt (PE/EE = 6:1 → 3:1).

Ausbeute: 1.106 g (2.113 mmol) = 87 %.

Rf: 0.15 (PE/EE = 1:1).

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +76.7$ (c = 1, CHCl₃).

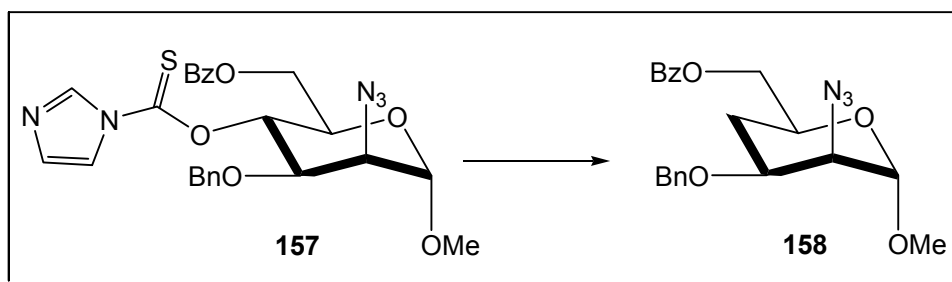
¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 8.12 (s, 1 H, 2-H Im), 8.02 - 8.00 (m, 2 H, 3-H Bz), 7.58 - 7.54 (m, 1 H, 4-H Bz), 7.50 (s, 1 H, 3-H Im), 7.41 - 7.38 (m, 2 H, 2-H Bz), 7.30 - 7.22 (m, 5 H, Bn), 7.00 (s, 1 H, 1-H Im), 6.25 (dd, J = 9.6 und 9.6 Hz, 1 H, 4-H), 4.82 (d, J = 1.4 Hz, 1 H, 1-H), 4.71 (d, J = 12.3 Hz, 1 H, CH₂Ph), 4.52 (dd, J = 12.3 und 4.1 Hz, 1 H, 6-Ha), 4.48 (d, J = 12.3 Hz, 1 H, CH₂Ph), 4.39 (dd, J = 12.3 und 5.2 Hz, 1 H, 6-Hb), 4.18 (dd, J = 9.6 und 3.6 Hz, 1 H, 3-H), 4.14 (ddd, J = 9.6, 5.2 und 4.1 Hz, 1 H, 5-H), 4.07 (dd, J = 3.6 und 1.4 Hz, 1 H, 2-H), 3.43 (s, 3 H, OCH₃) ppm.

¹³C - NMR (100 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 77.16 ppm): δ = 183.1 (s, OCSN), 166.2 (s, C=OPh), 136.8 (s, C-ipso Bn), 136.7 (d, C-2 Im), 133.3 (d, C-4 Bz) 131.0 (d, C-1 Im), 129.7 (2xd, C-3 Bz), 129.6 (s, C-ipso Bz), 128.6 (2xd, C-2 Bz), 128.6 – 128.0 (5xd, Ph), 118.2 (d, C-3 Im), 99.2 (d, C-1), 76.6 (d, C-4), 75.8 (d, C-3), 72.0 (t, CH₂Ph), 68.2 (d, C-5), 63.2 (t, C-6), 60.8 (d, C-2), 55.6 (q, OCH₃) ppm.

HRMS (ESI): (M + H)⁺ berechnet für C₂₅H₂₆N₅O₆S₁: 524.1604, gefunden: 524.1619

Amorph, weiß, C₂₅H₂₅N₅O₆S₁, MG = 523.5609 g/mol.

Methyl-2-azido-6-O-benzoyl-3-O-benzyl-2,4-di-desoxy-α-D-lyxopyranosid (**158**)



728 mg (1.39 mmol) der Verbindung **157** wurden unter Ausschluss von Luft und Feuchtigkeit in 10 ml abs. Toluol gelöst. Anschließend wurde die Reaktionslösung auf 110 °C erhitzt und mit 228 mg (1.39 mmol, 1 Äq) AIBN und 7.4 ml (27.81 mmol, 20 Äq)

Tributylzinnhydrid versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 6 h unter Rückfluss gekocht. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch aufgereinigt (PE/EE = 2:1 → 1:1).

Ausbeute: 338 mg (8.51 mmol) = 61 %.

Rf: 0.10 (PE/EE = 1:1).

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = + 81.5$ (c = 0.9, CHCl₃).

¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 8.06 - 8.03 (m, 2 H, 3-H Bz), 7.58 - 7.54 (m, 1 H, 4-H Bz), 7.46 - 7.42 (m, 2 H, 2-H Bz), 7.37 - 7.28 (m, 5 H, Bn), 4.79 (d, J = 1.1 Hz, 1 H, 1-H), 4.61 (d, J = 11.3 Hz, 1 H, CH₂Ph), 4.57 (d, J = 11.3 Hz, 1 H, CH₂Ph), 4.41 (dd, J = 11.2 und 4.8 Hz, 1 H, 6-Ha), 4.40 (dd, J = 11.9 und 3.0 Hz, 1 H, 6-Hb), 4.09 (dddd, J = 11.8, 4.8, 3.0 und 2.8 Hz, 1 H, 5-H), 3.92 (ddd, J = 11.0, 4.8 und 3.8 Hz, 1 H, 3-H), 3.23 (dd, J = 3.8 und 1.1 Hz, 1 H, 2-H), 3.36 (s, 3 H, OCH₃), 1.85 (ddd, J = 12.8, 4.8 und 2.8 Hz, 1 H, 4-Ha), 1.76 (ddd, J = 12.8, 11.8 und 11.0 Hz, 1 H, 4-Hb) ppm.

¹³C - NMR (100 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 77.16 ppm): δ = 166.4 (s, C=O_{Ph}), 138.4 (s, C-ipso Bn), 133.2 (d, C-4 Bz), 130.1 (s, C-ipso Bz), 129.7 (2xd, C-3 Bz), 128.6 (2xd, C-2 Bz), 128.5 (2xd, Bn), 127.9 (d, C-4 Bn), 127.7 (2xd, Bn), 102.8 (d, C-1), 73.0 (d, C-3), 70.2 (t, CH₂Ph), 67.0 (t, C-6), 66.3 (d, C-5), 55.0 (q, OCH₃), 50.5 (d, C-2), 27.8 (t, C-4) ppm.

HRMS (ESI): (M + Na)⁺ berechnet für C₂₁H₂₃N₃O₅Na₁: 420.1535, gefunden: 420.1545.

Öl, farblos, C₂₁H₂₃N₃O₅, MG = 397.4244 g/mol.

2-Acetamido-1,3-di-O-acetyl-6-O-benzoyl-2,4-di-desoxy- α -D-lyxopyranose (159)

139 mg (0.350 mmol) der Verbindung **158** wurden unter Eiskühlung in 2 ml einer Schwefelsäure/Acetanhydrid - Lösung (6 % v/v) gelöst. Die Reaktionslösung wurde über Wochenende bei RT gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionsmischung mit Phosphatpuffer (pH = 7.0) versetzt und mit Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde durch Codestillation mit Toluol von Acetanhydrid - Rückständen befreit und mittels Säulenchromatographie (PE/EE = 1:1) gereinigt.

Ausbeute: 62 mg (0.157 mmol) = 45 %.

Rf: 0.07 (PE/EE = 1:2).

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = + 81.5$ (c = 0.9, CHCl₃).

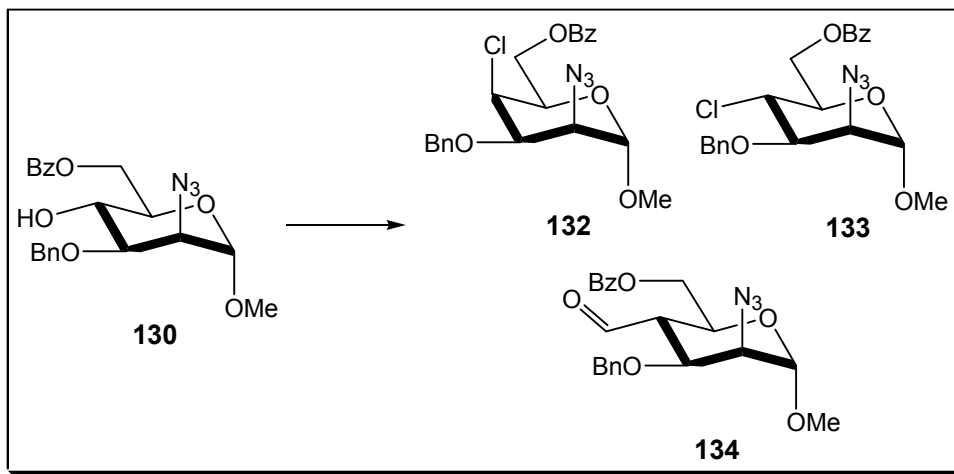
¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 8.05 - 8.03 (m, 2 H, 3-H Bz), 7.60 - 7.56 (m, 1 H, 4-H Bz), 7.48 - 7.44 (m, 2 H, 2-H Bz), 5.80 (d, J = 9.1 Hz, 1 H, NH), 5.77 (d, J = 1.6 Hz, 1 H, 1-H), 5.07 (ddd, J = 11.9, 5.1 und 3.7 Hz, 1 H, 3-H), 4.65 (ddd, J = 9.1, 3.7 und 1.6 Hz, 1 H, 2-H), 4.43 (m, 2 H, 6-Ha, 6-Hb), 4.04 (dddd, J = 11.9, 5.3, 4.7 und 2.6 Hz, 1 H, 5-H), 1.94 (ddd, J = 12.8, 5.1 und 2.6 Hz, 1 H, 4-Ha), 1.73 (ddd, J = 12.8, 11.9 und 11.9 Hz, 1 H, 4-Hb) ppm.

¹³C - NMR (100 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 77.16 ppm): δ = 170.6 (s, NHCOCH₃), 170.3 (s, CO CH₃ an 3), 168.6 (s, COCH₃ an 1), 166.3 (s, C=OPh), 133.5 (d, C-4 Bz), 129.8 (2xd, C-3 Bz), 129.7 (s, C-ipso Bz), 128.6 (2xd, C-2 Bz), 91.4 (d, C-1), 71.3 (d, C-5), 68.6 (d, C-3), 65.7 (t, C-6), 48.6 (d, C-2), 27.7 (t, C-4), 23.5 (q, NHCOCH₃), 21.1 (q, NHCOCH₃ an 3), 21.0 (q, COCH₃ an 1) ppm.

HRMS (ESI): (M + Na)⁺ berechnet für C₁₉H₂₃N₁O₈Na₁: 416.1321, gefunden: 416.1325.

Öl, farblos, $C_{19}H_{23}N_1O_8$, MG = 393.3878 g/mol.

Methyl-2-azido-6-O-benzoyl-3-O-benzyl-4-chloro-2,4-di-desoxy- α -D-talopyranosid (132), Methyl-2-azido-6-O-benzoyl-3-O-benzyl-4-chloro-2,4-di-desoxy- α -D-mannopyranosid (133) und Methyl-2-azido-6-O-benzoyl-3-O-benzyl-4-O-formyl-2-desoxy- α -D-mannopyranosid (134)



Unter Ausschluss von Luft und Feuchtigkeit wurden 2.043 g (4.94 mmol) der Verbindung **130** in 30 ml abs. DCM gelöst und mit 1 ml (12.35 mmol, 2.5 Äq) abs. Pyridin versetzt. Die Reaktionslösung wurde auf $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ abgekühlt und 1.15 ml (6.92 mmol, 1.4 Äq) Trifluormethansulfonsäureanhydrid wurden langsam zugetropft. Die Reaktionsmischung wurde innerhalb von 2 h von $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ auf $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ erwärmt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionslösung vier Mal mit kalter gesättigter Natriumchlorid - Lösung ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde durch Codestillation mit Toluol von Wasserrückständen befreit und ohne Aufarbeitung weiter umgesetzt.

Das Rohprodukt wurde unter Ausschluss von Luft und Feuchtigkeit in 20 ml abs. DMF gelöst. Im Anschluss wurden 2.21 g (29.6 mmol, 6 Äq) Kaliumchlorid und 7.84 g (29.6 mmol, 6 Äq) 18 - Krone - 6 hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 24 h bei $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt, erneut mit 2.21 g (29.6 mmol, 6 Äq) Kaliumchlorid und 7.84 g (29.6 mmol, 6 Äq) 18 - Krone - 6 versetzt und weitere 24 h bei $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionslösung mit Wasser versetzt und vier Mal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden drei Mal mit

Wasser, ein Mal mit gesättigter Natriumchlorid - Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EE = 13:1 → 5:1) gereinigt.

Ausbeute: Verbindung **132**: 1.2 g (2.78 mmol) = 58 %;

Verbindung **133**: 64 mg (0.148 mmol) = 3 %;

Verbindung **134**: 0.697 mg (1.58 mmol) = 32 %.

Analytische Daten von Verbindung **132**

Rf: 0.60 (PE/EE = 2:1).

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = + 101.4$ (c = 1, CHCl₃).

¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): $\delta = 8.04 - 8.02$ (m, 2 H, 3-H Bz), 7.61 -7.56 (m, 1 H, 4-H Bz), 7.47 - 7.30 (m, 7 H, Bz, Bn), 4.86 (d, *J* = 11.5 Hz, 1 H, CH₂Ph), 4.71 (d, *J* = 1.4 Hz, 1 H, 1-H), 4.68 (d, *J* = 11.5 Hz, 1 H, CH₂Ph), 4.44 (dd, *J* = 11.9 und 4.0 Hz, 1 H, 6-Ha), 4.39 (dd, *J* = 11.9 und 3.5 Hz, 1 H, 6-Hb), 3.92 (ddd, *J* = 9.8, 3.5 und 2.6 Hz, 1 H, 5-H), 4.07 (dd, *J* = 8.3 und 6.7 Hz, 1 H, 3-H), 3.84 (dd, *J* = 6.7 und 4.2 Hz, 1 H, 4-H), 3.54 (dd, *J* = 8.3 und 5.3 Hz, 1 H, 2-H), 3.43 (s, 3 H, OCH₃) ppm.

¹³C - NMR (100 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 77.16 ppm): $\delta = 166.3$ (s, COPh), 137.0 (s, C- ipso Bn), 133.4 (d, C-4 Bz), 129.8 (2xd, C-3 Bz), 129.7 (s, C- ipso Bz), 128.7 (2xd, C-2 Bz), 128.6 – 127.7 (5xd, Bn), 99.9 (d, C-1), 73.3 (d, C-3), 70.7 (t, CH₂Ph), 67.5 (d, C-5), 64.8 (t, C-6), 58.7 (d, C-2), 55.5 (d, C-4), 55.4 (q, OCH₃) ppm.

HRMS (ESI): (M + Na)⁺ berechnet für C₂₁H₂₂N₃O₅Cl₁Na₁: 454.1146,
gefunden: 454.1155.

Amorph, weiß, C₂₁H₂₂N₃O₅Cl₁, MG = 431.8695 g/mol.

Analytische Daten von Verbindung 133

Rf: 0.70 (PE/EE = 3:1).

Drehwert: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = + 20.6$ (c = 0.45, CHCl₃).

¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): $\delta = 8.00 - 8.00$ (m, 2 H, 3-H Bz), 7.60 - 7.56 (m, 1 H, 4-H Bz), 7.47 - 7.43 (m, 2 H, 2-H Bz), 7.38 - 7.28 (m, 5 H Bn), 4.86 (d, $J = 11.5$ Hz, 1 H, CH₂Ph), 4.71 (d, $J = 5.4$ Hz, 1 H, 1-H), 4.67 (d, $J = 11.5$ Hz, 1 H, CH₂Ph), 4.65 (dd, $J = 11.8$ und 7.9 Hz, 1 H, 6-Ha), 4.44 (dd, $J = 11.8$ und 4.1 Hz, 1 H, 6-Hb), 4.39 (ddd, $J = 8.1, 7.9$ und 4.1 Hz, 1 H, 5-H), 4.07 (dd, $J = 8.2$ und 6.7 Hz, 1 H, 4-H), 3.84 (dd, $J = 6.7$ und 4.2 Hz, 1 H, 3-H), 3.54 (dd, $J = 5.4$ und 4.2 Hz, 1 H, 2-H), 3.43 (s, 3 H, OCH₃) ppm.

¹³C - NMR (100 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 77.16 ppm): $\delta = 166.3$ (s, C=O), 136.9 (s, C-ips_o Bn), 133.4 (d, C-4 Bz), 129.8 (2xd, C-3 Bz), 129.7 (s, C-ips_o Bz), 128.8 (2xd, C-2 Bz), 128.6 – 128.5 (5xd, Bn), 100.0 (d, C-1), 77.6 (d, C-3), 73.9 (t, CH₂Ph), 69.0 (d, C-5), 64.7 (d, C-2), 62.3 (t, C-6), 58.3 (d, C-4), 56.4 (q, OCH₃) ppm.

HRMS (ESI): (M + Na)⁺ berechnet für C₂₁H₂₂N₃O₅Cl₁Na₁: 454.1146,
gefunden: 454.1143

Amorph, weiß, C₂₁H₂₂N₃O₅Cl₁, MG = 431.8695 g/mol.

Analytische Daten von Verbindung 134

Rf: 0.36 (PE/EE = 3:1).

Drehwert : $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = + 73.3$ (c = 1, CHCl₃).

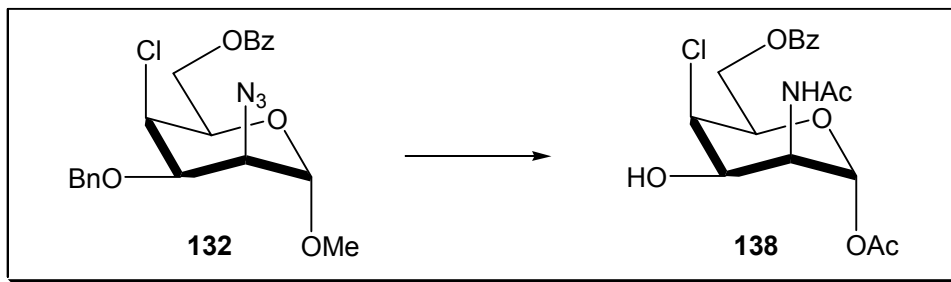
¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): $\delta = 8.08 - 8.05$ (m, 3 H, 3-H Bz und OCOH), 7.57 - 7.55 (m, 1 H, 4-H Bz), 7.43 - 7.40 (m, 2 H, 2-H), 7.39 - 7.30 (m, 5 H, Bn), 5.40 (dd, $J = 9.7$ und 9.4 Hz, 1 H, 4-H), 4.76 (d, $J = 1.6$ Hz, 1 H, 1-H), 4.72 (d, $J = 11.8$ Hz, 1 H, CH₂Ph), 4.62 (d, $J = 11.8$ Hz, 1 H, CH₂Ph), 4.53 (dd, $J = 12.2$ und 2.5 Hz, 1 H, 6-Ha), 4.38 (dd, $J = 12.2$ und 5.2 Hz, 1 H, 6-Hb), 4.06 (dd, $J = 9.4$ und 3.7 Hz, 1 H, 3-H), 4.13 (ddd, $J = 9.7, 5.2$ und 2.5 Hz, 1 H, 5-H), 3.84 (dd, $J = 3.7$ und 1.6 Hz, 1 H, 2-H), 3.37 (s, 3 H, OCH₃) ppm.

^{13}C - NMR (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 166.4$ (s, $\underline{\text{C}}\text{OPh}$), 160.1 (s, $\underline{\text{C}}\text{OH}$), 137.3 (s, C-ipso Bn), 133.3 (d, C-4 Bz), 129.9 (2xd, C-3 Bz), 129.8 (s, C-ipso Bz), 128.7 (2xd, C-2 Bz), 128.6 – 128.1 (5xd, Bn), 99.3 (d, C-1), 76.6 (d, C-3), 72.7 (t, CH_2Ph), 68.5 (d, C-5), 68.2 (d, C-4), 63.1 (t, C-6), 61.0 (d, C-2), 55.4 (q, OCH_3), ppm.

HRMS (ESI): ($\text{M} + \text{Na} + \text{CH}_3\text{CN}$)⁺ berechnet für $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_7\text{Na}_1$: 505.1699,
gefunden: 505.1694.

Amorph, weiß, $\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_7$, MG = 441.4339 g/mol.

2-Acetamido1-O-Acetyl-6-O-benzoyl-4-chloro-2,4-di-desoxy- α -D-talopyranosid (138)



845 mg (1.957 mmol) des Cl - Derivates **132** wurden unter Eiskühlung in 10.2 ml einer Schwefelsäure/Acetanhydrid - Lösung (3 % v/v) gelöst. Die Reaktionsmischung wurde 1 h bei 0 °C gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionslösung mit Phosphatpuffer (pH = 7.0) versetzt und vier Mal mit Essigsäureethylester extrahiert. Die organische Phase wurde anschließend mit gesättigter Natriumchlorid - Lösung ausgeschüttelt und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum einrotiert. Der Rückstand wurde durch Codestillation mit Toluol von Acetanhydrid - Resten befreit und ohne Aufreinigung weiter umgesetzt.

Das Rohprodukt wurde in 10 ml Essigsäureethylester gelöst. Im Anschluss wurden 338 mg Palladiumacetat und 1.84 ml (19.57 mmol, 10 Äq) Acetanhydrid hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht unter Wasserstoffatmosphäre bei 5.6 bar und RT gerührt. Zur Aufarbeitung wurde der Katalysator über Kieselgur filtriert und mit heißem Essigsäureethylester gewaschen. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde mittels Säulenchromatographie (EE) gereinigt.

Ausbeute: 665 mg (1.724 mmol) = 88 %, Gesamtausbeute über zwei Stufen.

Rf: 0.39 (EE).

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = + 53.7$ (c = 1, CHCl₃).

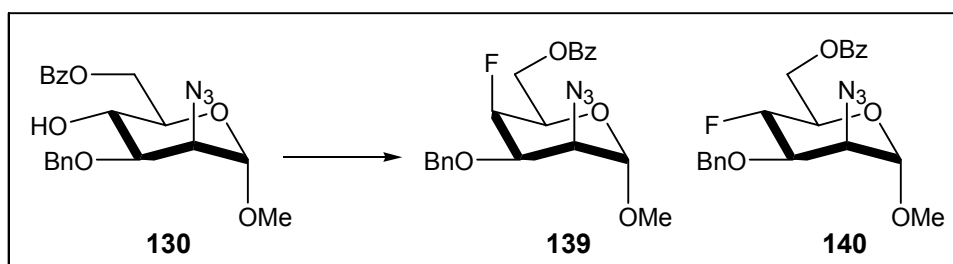
¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 8.0 - 7.99 (m, 2 H, 3-H Bz), 7.60 - 7.56 (m, 1 H, 4-H Bz), 7.47 - 7.43 (m, 2 H, Bz), 6.46 (d, *J* = 9.6 Hz, 1 H, NH), 6.08 (d, *J* = 1.0 Hz, 1 H, 1-H), 4.58 (dd, *J* = 10.8 und 6.3 Hz, 1 H, 6-Ha), 4.51 (dd, *J* = 10.8 und 5.1 Hz, 1 H, 6-Hb), 4.53 - 4.45 (m, 3 H, 4-H, 5-H, 2-H), 4.41 - 3.37 (m, 1 H, 3-H), 3.74 (d, *J* = 6.5 Hz, 1 H, OH), 2.09 (s, 3 H, COCH₃), 2.06 (s, 3 H, NHCOCH₃) ppm.

¹³C - NMR (100 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 77.16 ppm): δ = 171.5 (s, NHCOCH₃), 168.2 (s, COCH₃), 166.2 (s, C₆OPh), 133.6 (d, C-4 Bz), 129.8 (2xd, C-3 Bz), 129.5 (s, C-ipso Bz), 128.7 (2xd, C-2 Bz), 99.0 (d, C-1), 69.3 (d, C-5), 64.6 (d, C-3), 63.8 (t, C-6), 61.0 (d, C-4), 50.4 (d, C-2), 23.6 (q, NHCOCH₃), 20.9 (q, COCH₃) ppm.

HRMS (ESI): (M + Na)⁺ berechnet für C₁₇H₂₀N₁O₇Cl₁Na₁ 408.0828;
gefunden: 408.0826.

Amorph, weiß, C₁₇H₂₀N₁O₇Cl₁, MG = 385.7962 g/mol.

Methyl-2-azido-6-O-benzoyl-3-O-benzyl-4-fluoro-2,4-di-desoxy- α -D-talopyranosid (139) und Methyl-2-azido-6-O-benzoyl-3-O-benzyl-4-fluoro-2,4-di-desoxy- α -D-mannopyranosid (140)



0.28 ml (2.322 mmol, 8 Äq) DAST wurden in 1.5 ml abs. DCM in einem Teflonkolben vorgelegt. 120 mg (0.290 mmol) der Verbindung **130** wurden in 2 ml abs. DCM gelöst und bei -78 °C zur DAST - Lsg. zugetropft. Die Reaktionsmischung wurde langsam auf RT gebracht und vier Tage bei dieser Temperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionslösung auf -20 °C abgekühlt, mit Methanol hydrolysiert und langsam auf RT erwärmt. Anschließend wurde das Lösungsmittel bei RT einrotiert. Der Rückstand

wurde mit DCM aufgenommen und drei Mal mit Wasser extrahiert. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde einrotiert. Der Rückstand wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EE = 15:1 für **139**, PE/EE = 10:1 für **140**) gereinigt.

Ausbeute: **139**: 76 mg (0.183 mmol) = 63 %;

140: 16 mg (0.038 mmol) = 13 %;

130: 13 mg (0.032 mmol) = 11 %.

Analytische Daten von Verbindung **139**

Rf: 0.54 (PE/EE = 2:1).

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = + 51.7$ (c = 1.1, CHCl₃).

¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 8.07 - 8:05 (m, 2 H, 3-H Bz), 7.59 - 7:52 (m, 1 H, 4-H Bz), 7.45 - 7:41 (m, 2 H, 2-H Bz), 7.33 - 7:29 (m, 5 H Bn), 4.86 (ddd, J = 51.0, 9.6 und 9.1 Hz, 1 H, 4-H), 4.83 (d, J = 11.8 Hz, 1 H, CH₂Ph), 4.73 (d, J = 11.8 Hz, 1 H, CH₂Ph), 4.72 (dd, J = 1.7 und 1.7 Hz, 1 H, 1-H), 4.66 (ddd, J = 12.2, 2.2 und 2.2 Hz, 1 H, 6-Ha), 4.49 (dd, J = 12.2 und 5.1 Hz, 1 H, 6-Hb), 4.10 (ddd, J = 13.4, 9.1 und 4.0 Hz, 1 H, 3-H), 4.00 (dddd, J = 10.2, 5.1, 5.1 und 2.2 Hz, 1 H, 5-H), 3.96 (m, 1 H, 2-H), 3.38 (s, 3 H, OCH₃) ppm.

¹³C - NMR (100 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 77.16 ppm): δ = 166.4 (s, C=O), 137.6 (s, C-ips_o Bn), 133.3 (d, C-4 Bz), 129.9 (2xd, C-3 Bz), 129.8 (s, C-ips_o Bz), 128.7 (2xd, C-2 Bz), 128.6 – 127.8 (5xd, Bn), 99.3 (d, J_{F-C} = 1.2, C-1), 88.3 (d, J_{F-C} = 181.2, C-4), 76.7 (d, J_{F-C} = 17.4, C-3), 73.3 (t, J_{F-C} = 1.7, CH₂Ph), 68.3 (d, J_{F-C} = 24.3, C-5), 63.1 (t, C-6), 62.2 (d, J_{F-C} = 8.8, C-2), 55.4 (q, OCH₃) ppm.

HRMS (ESI): (M + Na + CH₃CN)⁺ berechnet für C₂₃H₂₅N₄O₅F₁Na₁: 479.1707,
gefunden: 479.1715.

Amorph, weiß, C₂₁H₂₂N₃O₅F₁, MG = 415.4149 g/mol.

Analytische Daten von Verbindung 140

Rf: 0.69 (PE/EE = 2:1).

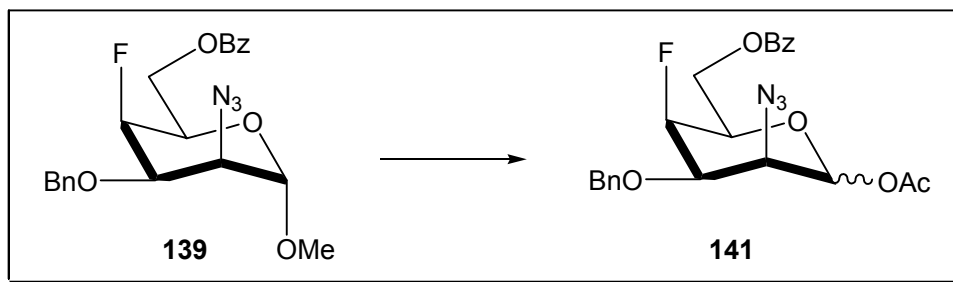
Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = + 2.6$ (c = 0.4, CHCl₃).

¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): $\delta = 8.07 - 8.05$ (m, 2 H, 3-H Bz), 7.59 - 7.52 (m, 1 H, 4-H Bz), 7.45 - 7.41 (m, 2 H, 2-H Bz), 7.33 - 7.29 (m, 5 H Bn), 4.83 (d, $J = 12.0$ Hz, 1 H, CH₂Ph), 4.81 (s, 1 H, 1-H), 4.74 (ddd, $J = 50.0, 8.6$ und 5.5 Hz, 1 H, 4-H), 4.62 (d, $J = 12.0$ Hz, 1 H, CH₂Ph), 4.66 (dd, $J = 11.9$ und 8.2 Hz, 1 H, 6-Ha), 4.47 (dd, $J = 11.9$ und 4.0 Hz, 1 H, 6-Hb), 4.38 (ddd, $J = 8.6, 8.2$ und 4.0 Hz, 1 H, 5-H), 3.86 (ddd, $J = 16.5, 5.5$ und 5.0 Hz, 1 H, 3-H), 3.59 (ddd, $J = 13.2, 8.1$ und 5.0 Hz, 1 H, 2-H), 3.42 (s, 3 H, OCH₃) ppm.

¹³C - NMR (100 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 77.16 ppm): $\delta = 166.3$ (s, C=O), 137.1 (s, C-*ipso* Bn), 133.4 (2xd, C-4 Bz), 129.8 (s, C-*ipso* Bz), 129.7 (2xd, C-3 Bz), 128.7 (2xd, C-2 Bz), 128.6 – 128.3 (5xd, Bn), 99.7 (d, $J_{F-C} = 7.1$, C-1), 92.1 (d, $J_{F-C} = 184.2$, C-4), 75.2 (d, $J_{F-C} = 20.9$, C-3), 73.1 (t, $J_{F-C} = 0.7$, CH₂Ph), 68.9 (d, $J_{F-C} = 6.3$, C-5), 62.6 (t, C-6), 62.2 (d, $J_{F-C} = 20.1$, C-2), 56.2 (q, OCH₃) ppm.

HRMS (ESI): (M + Na + CH₃CN)⁺ berechnet für C₂₃H₂₅N₄O₅F₁Na₁: 479.1707, gefunden: 479.1715.

Amorph, weiß, C₂₁H₂₂N₃O₅F₁, MG = 415.4149 g/mol.

1-O-Acetyl-2-azido-6-O-benzoyl-3-O-benzyl-4-fluoro-2,4-di-desoxy- α,β -D-talopyranose (141)

750 mg des Fluor - Derivates **139** wurden unter Eiskühlung in 10 ml einer Schwefelsäure/Acetanhydrid - Lösung (1 % v/v) gelöst. Die Reaktionsmischung wurde

1 h bei 0 °C gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionslösung mit Phosphatpuffer (pH = 7.0) versetzt und vier Mal mit Essigsäureethylester extrahiert. Die organische Phase wurde anschließend mit gesättigter Natriumchlorid - Lösung ausgeschüttelt und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum einrotiert. Der Rückstand wurde durch Codestillation mit Toluol von Acetanhydrid - Resten befreit und über Kieselgel säulenchromatographisch (PE/EE = 20:1 für α - Anomer, PE/EE = 10:1 für β - Anomer) gereinigt.

Ausbeute: 504 mg (1.137 mmol) = 63 %, α - Anomer;

210 mg (0.474 mmol) = 26 %, β - Anomer.

Analytische Daten von α - Anomer

Rf: 0.37 (PE/EE = 2:1).

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +44.8$ (c = 1.1, CHCl₃).

¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 8.07 - 8.05 (m, 2 H, 3-H Bz), 7.59 - 7.55 (m, 1 H, 4-H Bz), 7.47 - 7.41 (m, 2 H, 2-H Bz), 7.43 - 7.41 (m, 5 H, Bn), 6.07 (dd, J = 2.2 und 2.2 Hz, 1 H, 1-H), 4.97 (ddd, J = 51.1, 9.5 und 9.5 Hz, 1 H, 4-H), 4.89 (d, J = 11.8 Hz, 1 H, CH₂Ph), 4.75 (d, J = 11.8 Hz, 1 H, CH₂Ph), 4.63 (ddd, J = 12.2, 1.9 und 1.9 Hz, 1 H, 6-Ha), 4.49 (ddd, J = 12.2, 4.5 und 1.1 Hz, 1 H, 6-Hb), 4.14 - 4.07 (m, 2 H, 5-H, 3-H), 3.94 - 3.92 (m, 1 H, 2-H), 2.11 (s, 3 H, COCH₃) ppm.

¹³C - NMR (100 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 77.16 ppm): δ = 168.3 (s, COCH₃), 166.3 (s, COPh), 137.3 (s, C-ipso Bn), 133.3 (s, C-4 Bz), 129.9 - 127.9 (s, 9xd, Ph), 91.8 (d, J_{F-C} = 1.2, C-1), 87.8 (d, J_{F-C} = 181.3, C-4), 76.1 (d, J_{F-C} = 18.0, C-3), 73.5 (t, J_{F-C} = 1.9, CH₂Ph), 70.7 (d, J_{F-C} = 24.9, C-5), 62.6 (t, C-6), 61.3 (d, J_{F-C} = 8.6, C-2), 21.0 (q, COCH₃) ppm.

HRMS (ESI): (M + Na)⁺ berechnet für C₂₂H₂₂N₃O₆F₁Na₁: 466.1390,
gefunden: 466.1390.

Amorph, weiß, C₂₂H₂₂N₃O₆F₁, MG = 443.4250 g/mol.

Analytische Daten von β - Anomer

Rf: 0.60 (PE/EE = 2:1).

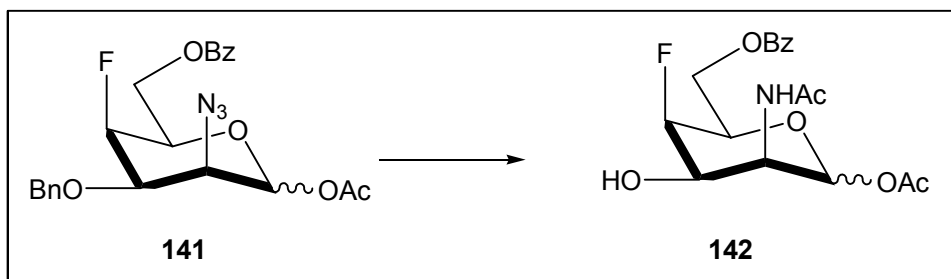
Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = -33.0$ (c = 1, CHCl₃).

¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): $\delta = 8.07 - 8.04$ (m, 2 H, 3-H Bz), 7.59 - 7.55 (m, 1 H, 4-H Bz), 7.47 - 7.43 (m, 2 H, 2-H Bz), 7.40 - 7.31 (m, 5 H, Bn), 5.75 (d, $J = 1.7$ Hz, 1 H, 1-H), 4.86 (d, $J = 11.9$ Hz, 1 H, CH₂Ph), 4.85 (ddd, $J = 50.6, 9.1$ und 9.1 Hz, 1 H, 4-H), 4.74 (d, $J = 11.9$ Hz, 1 H, CH₂Ph), 4.65 (ddd, $J = 12.2, 1.9$ und 1.9 Hz, 1 H, 6-Ha), 4.48 (ddd, $J = 12.2, 5.3$ und 1.4 Hz, 1 H, 6-Hb), 4.02 - 3.99 (m, 1 H, 2-H), 3.87 - 3.80 (m, 2 H, 5-H, 3-H), 2.17 (s, 3 H, COCH₃) ppm.

¹³C - NMR (100 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 77.16 ppm): $\delta = 168.7$ (s, COCH₃), 166.3 (s, COPh), 137.1 (s, C-ipso Bn), 133.4 (d, C-4 Bz), 130.0 (2xd, C-3 Bz), 129.8 (s, C-ipso Bz), 128.8 (2xd, C-2 Bz), 128.6 – 128.0 (5xd, Bn), 91.6 (d, $J_{F-C} = 1.3$, C-1), 87.6 (d, $J_{F-C} = 182.3$, C-4), 77.5 (d, $J_{F-C} = 18.0$, C-3), 73.2 (t, $J_{F-C} = 1.9$, CH₂Ph), 73.0 (d, $J_{F-C} = 25.4$, C-5), 62.7 (t, C-6), 62.0 (d, $J_{F-C} = 8.8$, C-2), 20.9 (q, COCH₃) ppm.

HRMS (ESI): (M + Na)⁺ berechnet für C₂₂H₂₂N₃O₆F₁Na₁: 466.1390,
gefunden: 466.1398;

Amorph, weiß, C₂₂H₂₂N₃O₆F₁, MG = 443.4250 g/mol.

2-Acetamido-1-O-acetyl-6-O-benzoyl-3-O-benzyl-4-fluoro-2,4-di-desoxy- α -D-talopyranose (142)

465 mg (1.049 mmol) der Verbindung **141** wurden in 5 ml Essigsäureethylester gelöst. Im Anschluss wurden 186 mg Palladiumacetat und 985 μ l (10.49 mmol, 10 Äq) Acetanhydrid hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 22 h unter Wasserstoff-

atmosphäre bei 5 - 5.6 bar und RT gerührt. Zur Aufarbeitung wurde der Katalysator über Kieselgur filtriert und mit heißem Essigsäureethylester gewaschen. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde insgesamt vier Mal unter den gleichen Reaktionsbedingungen umgesetzt. Das Produkt wurde mittels Säulenchromatographie (EE) gereinigt.

Ausbeute: 305 mg (0.826 mmol) = 79 %.

Rf: 0.38 (EE).

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = + 34.3$ (c = 1, CHCl₃).

¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 8.01 - 7.99 (m, 2 H, 3-H Bz), 7.59 - 7.58 (m, 1 H, 4-H Bz), 7.45 - 7.41 (m, 2 H, 2-H Bz), 6.27 (d, J = 7.9 Hz, 1 H, NH), 6.07 (dd, J = 2.3 Hz und 2.2 Hz, 1 H, 1-H), 4.66 (ddd, J = 50.4, 9.5 und 9.5 Hz, 1 H, 4-H), 4.44 (dd, J = 12.3 und 2.0 Hz, 1 H, 6-Ha), 4.54 (dd, J = 12.3 und 5.5 Hz, 1 H, 6-Hb), 4.49 (ddd, J = 7.9, 4.8 und 2.3 Hz, 1 H, 2-H), 4.38 (ddd, J = 14.5, 9.5 und 4.8 Hz, 1 H, 3-H), 3.92 (dddd, J = 15.01, 9.5, 5.5 und 2.0 Hz, 1 H, 5-H), 2.13 (s, 3 H, COCH₃), 2.01 (s, 3 H, NHCOCH₃) ppm.

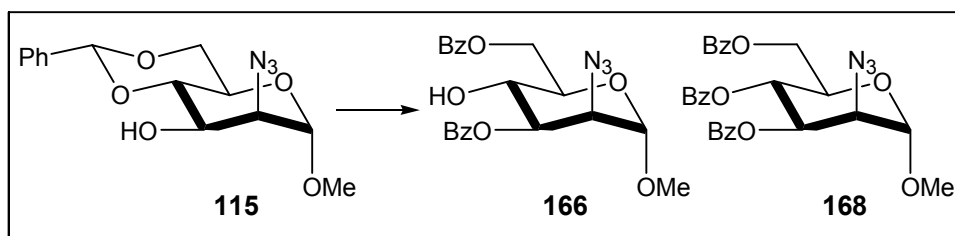
¹³C - NMR (100 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 77.16 ppm): δ = 172.4 (s, NHCOCH₃), 168.5 (s, COCH₃), 166.3 (s, C=O_{Ph}), 133.5 (d, C-4, Ph), 129.8 (2xd, C-3, Ph), 129.7 (s, C-ipso, Ph), 128.6 (2xd, C-2, Ph), 91.7 (d, J_{F-C} = 1.0, C-1), 88.3 (d, J_{F-C} = 181.2, C-4), 70.1 (d, J_{F-C} = 24.7, C-5), 68.4 (d, J_{F-C} = 18.6, C-3), 62.8 (t, C-6), 52.9 (d, J_{F-C} = 8.4, C-2), 23.1 (q, NHCOCH₃), 20.9 (q, COCH₃) ppm.

HRMS (ESI): (M + Na)⁺ berechnet für C₁₇H₂₀N₁O₇F₁Na₁: 392.1122,
gefunden: 392.1138.

Amorph, weiß, C₁₇H₂₀N₁O₇F₁, MG = 369.3416 g/mol.

5.2.4 Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3.4.3

Methyl-2-azido-3,6-di-O-benzoyl-2-desoxy- α -D-mannopyranosid (**166**) und Methyl-2-azido-3,4,6-tri-O-benzoyl-2-desoxy- α -D-mannopyranosid (**168**)



40 mg (0.130 mmol) der Verbindung **115** wurden in 1 ml Methanol gelöst und mit 7.4 mg (0.039 mmol, 0.3 Äq) *para*-Toluolsulfonsäure bei RT versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 1 h bei RT gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionslösung mit festem Natriumhydrogencarbonat neutralisiert und einrotiert. Der Rückstand wurde durch Codestillation mit Toluol von Wasserrückständen befreit. Das Produkt wurde ohne säulenchromatographische Aufarbeitung weiter umgesetzt.

Das Rohprodukt wurde unter Argonatmosphäre in 0.6 ml abs. DCM gelöst und unter Eiskühlung mit 0.1 ml Pyridin und 34.7 μ l (0.299 mmol, 2.3 Äq) Benzoylchlorid versetzt. Die Reaktionslösung wurde 1 h bei 0 °C gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionsmischung drei Mal mit Wasser und ein Mal mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung extrahiert. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde einrotiert. Der Rückstand wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EE = 5:1 \rightarrow 2.5:1) gereinigt.

Ausbeute: **166**: 43 mg (0.101 mmol) = 77 %;

168: 13 mg (0.024 mmol) = 18 %.

Analytische Daten von Verbindung **166**

Rf: 0.17 (PE/EE = 5:1).

Drehwert: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +100.3$ (c = 1, CHCl₃).

¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 8.12 - 8.09 (m, 4 H, 3-H Bz), 7.61 - 7.58 (m, 2 H, 4-H Bz), 7.48 - 7.43 (m, 4 H, 2-H Bz), 5.57 (dd, J = 9.9 und 3.7 Hz, 1 H, 3-H), 4.80 (d, J = 1.3 Hz, 1 H, 1-H), 4.75 (dd, J = 12.1 und 4.5 Hz, 1 H, 6-Ha), 4.71 (dd, J = 12.1 und 2.2 Hz, 1 H, 6-Hb), 4.12 (dd, J = 3.7 und 1.3 Hz, 1 H, 2-H), 4.11 (dd,

$J = 9.9$ und 9.8 Hz, 1 H, 4-H), 3.98 (ddd, $J = 9.8$, 4.5 und 2.2 Hz, 1 H, 3-H), 3.43 (s, 3 H, OCH₃) ppm.

¹³C - NMR (100 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 77.16 ppm): $\delta = 167.2$ (s, C=OPh an 6), 166.7 (s, C=OPh an 3), 133.8, 133.4 (2xd, C-4 Bz), 130.2, 130.0 (4xd, C-3 Bz), 129.8, 129.2 (2xs, C-ipso Bz), 128.7, 128.6 (4xd, C-2 Bz), 99.3 (d, C-1), 74.1 (d, C-3), 71.3 (d, C-5), 66.2 (d, C-4),), 63.8 (t, C-6), 62.1 (d, C-2), 55.3 (q, OCH₃) ppm.

HRMS (ESI): (M + H)⁺ berechnet für C₂₁H₂₂N₃O₇: 428.1458, gefunden: 428.1460.

Amorph, weiß, C₂₁H₂₁N₃O₇, MG = 427.4073 g/mol.

Analytische Daten von Verbindung 168

Rf: 0.40 (PE/EE = 3:1).

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +98.3$ (c = 1, CHCl₃).

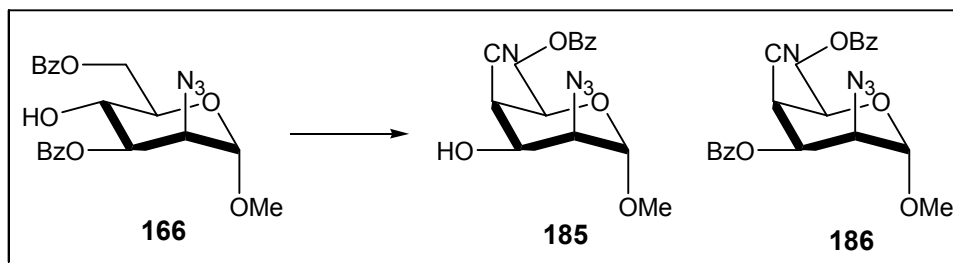
¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): $\delta = 8.04 - 7.93$ (m, 6 H, 3-H Ph), 7.54 - 7.33 (m, 9 H, Ph), 5.90 (dd, $J = 9.8$ und 9.8 Hz, 1 H, 4-H), 5.84 (dd, $J = 9.9$ und 3.6 Hz, 1 H, 3-H), 4.80 (d, $J = 1.6$ Hz, 1 H, 1-H), 4.58 (dd, $J = 12.1$ und 2.9 Hz, 1 H, 6-Ha), 4.47 (dd, $J = 12.1$ und 5.3 Hz, 1 H, 6-Hb), 4.31 (ddd, $J = 9.8$, 5.3 und 2.9 Hz, 1 H, 5-H), 4.27 (dd, $J = 3.6$ und 1.6 Hz, 1 H, 2-H), 3.50 (s, 3 H, OCH₃) ppm.

¹³C - NMR (100 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 77.16 ppm) : $\delta = 166.3$ (s, C=OPh an 6), 165.7 (s, C=OPh an 3), 165.4 (s, C=OPh an 4), 133.8, 133.4, 133.2 (3xd, C-4 Ph), 130.1 – 128.5 (15xd, Ph), 99.3 (d, C-1), 71.6 (d, C-3), 68.9 (d, C-5), 67.1 (d, C-4),), 63.4 (t, C-6), 62.0 (d, C-2), 55.5 (q, OCH₃) ppm.

HRMS (ESI): (M + H)⁺ berechnet für C₂₈H₂₆N₃O₈: 532.1716, gefunden: 532.1720.

Amorph, weiß, C₂₈H₂₅N₃O₈, MG = 531.5134 g/mol.

Methyl-2-azido-3,6-di-O-benzoyl-4-cyano-2,4-di-desoxy- α -D-talopyranosid (186)
und Methyl-2-azido-6-O-benzoyl-4-cyano-2,4-di-desoxy- α -D-talopyranosid (185)



Unter Ausschluss von Luft und Feuchtigkeit wurden 2.779 g (6.50 mmol) der Verbindung **166** in 30 ml abs. DCM gelöst und mit 1.05 ml (13.0 mmol, 2 Äq) abs. Pyridin versetzt. Die Reaktionslösung wurde auf $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ abgekühlt und 1.62 ml (9.75 mmol, 1.5 Äq) Trifluormethansulfonsäureanhydrid wurden langsam zugetropft. Die Reaktionsmischung wurde innerhalb von 1 h von $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ auf $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ erwärmt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionslösung vier Mal mit kalter, gesättigter Natriumchlorid - Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde durch Codestillation mit Toluol von Wasserrückständen befreit und ohne Aufarbeitung weiter umgesetzt.

Das Rohprodukt der 1. Stufe wurde unter Ausschluss von Luft und Feuchtigkeit in 40 ml abs. DMF gelöst. Im Anschluss wurden 961 mg (19.51 mmol, 3 Äq) Natriumcyanid und 3.8 ml (19.51 mmol, 3 Äq) 15 - Krone - 5 hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht bei $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionslösung mit Wasser versetzt und vier Mal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden drei Mal mit Wasser, ein Mal mit gesättigter Natriumchlorid - Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EE = 2:1 für **186**, PE/EE = 1:1 für **185**) gereinigt.

Ausbeute: **186**: 1.25 g (2.86 mmol) = 43 %, Gesamtausbeute über 2 Stufen;

185: 560 mg (1.68 mmol) = 26 %, Gesamtausbeute über 2 Stufen.

Analytische Daten von Verbindung 186

Rf: 0.54 (PE/EE = 2:1).

Drehwert: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -94.7$ (c = 1, CHCl₃).

¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): $\delta = 8.05 - 8.03$ (m, 2 H, 3-H, Bz an 6), 7.98 - 7.96 (m, 2 H, 3-H, Bz an 3), 7.64 - 7.57 (m, 2 H, 4-H Bz), 7.48 - 7.44 (m, 4 H, 2-H Bz), 5.94 (s, 1 H, 3-H), 4.95 (d, $J = 2.4$ Hz, 1-H), 4.95 (s, 1 H, 4-H), 4.74 (d, 1 H, $J = 2.4$ Hz, 2-H), 4.60 (dd, $J = 14.0$ und 8.5 Hz, 1 H, 6-Ha), 4.50 (dd, $J = 14.0$ und 2.2 Hz, 1 H, 6-Hb), 4.50 (m, 1 H, 5-H), 3.44 (s, 3 H, OCH₃) ppm.

¹³C - NMR (100 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 77.16 ppm): $\delta = 165.9$ (s, COPh an 6), 165.4 (s, COPh an 3), 134.4, 133.7 (2xd, C-4 Bz), 130.1, 129.9 (4xd, C-3 Bz), 129.2, 128.1 (2xs, C-ipso Bz), 128.8, 128.7 (4xd, C-2 Bz), 113.1 (s, CN), 96.6 (d, C-1), 80.5 (d, C-4), 75.5 (d, C-3), 74.5 (d, C-2), 67.3 (d, C-5), 61.7 (t, C-6), 56.8 (q, OCH₃) ppm.

HRMS (ESI): (M + H)⁺ berechnet für C₂₂H₂₁N₄O₆: 437.1463, gefunden: 437.1461.

Amorph, gelblich, C₂₂H₂₀N₄O₆, MG = 436.4174 g/mol.

Analytische Daten von Verbindung 185

Rf: 0.22 (PE/EE = 1:1).

Drehwert: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -129.7$ (c = 1, CHCl₃).

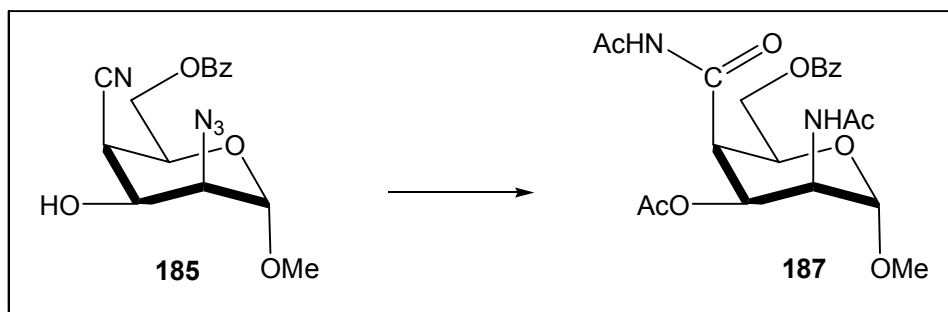
¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): $\delta = 8.03 - 8.00$ (m, 2 H, 3-H Bz), 7.60 - 7.56 (m, 1 H, 4-H Bz), 7.47 - 7.43 (m, 2 H, 2-H Bz), 4.86 (s, 1 H, 3-H), 4.83 (d, $J = 2.5$ Hz, 1-H), 4.76 (s, 1 H, 4-H), 4.74 (d, 1 H, $J = 2.5$ Hz, 2-H), 4.52 (dd, $J = 11.6$ und 6.5 Hz, 1 H, 6-Ha), 4.43 (dd, $J = 11.6$ und 6.5 Hz, 1 H, 6-Hb), 4.26 (dd, $J = 6.5$ und 6.5 Hz, 1 H, 5-H), 3.44 (s, 3 H, OCH₃) ppm.

¹³C - NMR (100 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 77.16 ppm): $\delta = 166.1$ (s, COPh), 133.6 (d, C-4 Bz), 129.7 (2xd, C-3 Bz), 129.1 (s, C-ipso Bz), 128.6 (2xd, C-2 Bz), 113.6 (s, CN), 96.4 (d, C-1), 82.7 (d, C-4), 77.2 (d, C-2), 73.7 (d, C-3), 67.0 (d, C-5), 62.0 (t, C-6), 56.5 (q, OCH₃) ppm.

HRMS (ESI): (M + H)⁺ berechnet für C₁₅H₁₇N₄O₅: 333.1199, gefunden: 333.1190.

Öl, gelb, C₁₅H₁₆N₄O₅, MG = 332.3113 g/mol.

Methyl-2-acetamido-3-O-acetyl-4-(acetylcarbamoyl)-6-O-benzoyl-2,4-di-desoxy- α -D-talopyranosid (187)



32 mg (0.096 mmol) der Verbindung **185** wurden in 3 ml Methanol gelöst. Im Anschluss wurden 16 mg Platin(IV)oxid und 27.6 μ l (0.482 mmol, 5 Äq) Eisessig hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 24 h unter Wasserstoffatmosphäre gerührt. Zur Aufarbeitung wurde der Katalysator über Kieselgur filtriert und mit heißem Methanol gewaschen. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das erhaltene Produkt wurde in 1.5 ml Acetanhydrid/Pyridin (1:2) gelöst und über Nacht bei RT gerührt. Zur Aufarbeitung wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde durch Codestillation mit Toluol von Acetanhydrid- und Pyridinrückständen befreit. Das Produkt wurde mittels Säulenchromatographie (EE) gereinigt.

Ausbeute: 22 mg (0.500 mmol) = 52 %, Gesamtausbeute über 2 Stufen.

Rf: 0.09 (PE/EE = 1:2).

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = + 3.08$ (c = 0.35, CHCl₃).

¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 9.07 (s, 1 H, CONHAc), 8.07 - 8.05 (m, 2 H, 3-H Bz), 7.60 - 7.56 (m, 1 H, 4-H Bz), 7.47 - 7.43 (m, 2 H, 2-H Bz), 6.20 (d, J = 9.1 Hz, NHAc), 5.52 (d, J = 5.7 Hz, 1-H), 4.86 (t, J = 4.6 Hz und 4.6 Hz, 1 H, 3-H), 4.77 (dd, J = 11.4 und 7.5 Hz, 1 H, 6-Ha), 4.71 (ddd, 1 H, J = 9.1 Hz, 5.7 Hz und 4.6 Hz, 2-H), 4.67 (dd, J = 5.4 Hz und 4.6 Hz, 1 H, 4-H), 4.57 (dd, J = 11.4 und 4.5 Hz, 1 H, 6-Hb), 4.52 (ddd, J = 7.5 Hz, 5.4 Hz und 4.5 Hz, 1 H, 5-H), 3.37 (s, 3 H, OCH₃), 2.44 (s, 3 H, COCH₃ an 4), 2.05 (s, 3 H, COCH₃ an 2), 1.94 (s, 3 H, COCH₃ an 3) ppm.

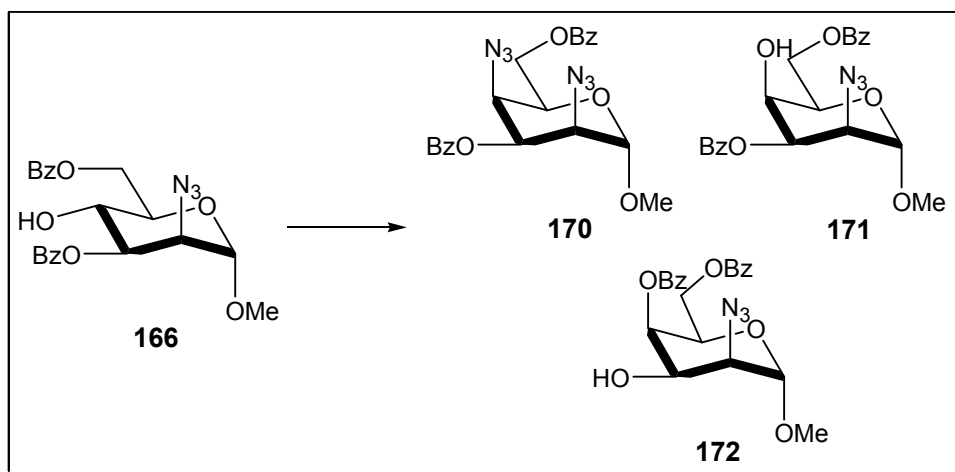
¹³C - NMR (100 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 77.16 ppm): δ = 171.5 (s, CONHAc), 171.5 (s, COCH₃ an 3), 170.9 (s, COCH₃ an 2), 167.6 (s, COPh), 164.6 (s, COCH₃ an 4), 164.6 (s, COCH₃ an), 134.5 (d, C-4 Bz), 130.8 (2xd, C-3 Bz), 130.7 (s, C-ipso Bz), 129.7 (2xd, C-2 Bz), 96.8 (d, C-1), 71.6 (d, C-5), 70.7 (d, C-3), 63.8 (t, C-6), 57.0 (q, OCH₃),

55.3 (d, C-4), 47.6 (d, C-2), 24.9 (s, COCH₃ an 4), 24.3 (s, COCH₃ an 3), 22.1 (s, COCH₃ an 2) ppm.

HRMS (ESI): (M + Na)⁺ berechnet für C₂₁H₂₆N₂O₉Na₁: 473.1536, gefunden: 473.1536.

Amorph, weiß, C₂₁H₂₆N₂O₉, MG = 450.4391 g/mol.

**Methyl-2,4-di-azido-3,6-di-O-benzoyl-2,4-di-desoxy- α -D-talopyranosid (170),
Methyl-2-azido-3,6-di-O-benzoyl-2-desoxy- α -D-talopyranosid (171) und
Methyl-2-azido-4,6-di-O-benzoyl-2-desoxy- α -D-talopyranosid (172)**



Unter Ausschluss von Luft und Feuchtigkeit wurden 207 mg (0.484 mmol) der Verbindung **166** in 2 ml abs. DCM gelöst und mit 80 μ l (0.969 mmol, 2 Äq) abs. Pyridin versetzt. Die Reaktionslösung wurde auf -20 °C abgekühlt und 120 μ l (0.727 mmol, 1.5 Äq) Trifluormethansulfonsäureanhydrid wurden langsam zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde innerhalb von 1 h von -20 °C auf -8 °C erwärmt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionslösung vier Mal mit kalter, gesättigter Natriumchlorid - Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde durch Codestillation mit Toluol von Wasserrückständen befreit und ohne Aufarbeitung weiter umgesetzt.

Das Rohprodukt wurde unter Ausschluss von Luft und Feuchtigkeit in 3 ml abs. DMF gelöst. Im Anschluss wurden 94 mg (1.453 mmol, 3 Äq) Natriumazid und 0.29 ml (1.453 mmol, 3 Äq) 15 - Krone - 5 hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht bei RT gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionslösung mit Wasser versetzt

und vier Mal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden drei Mal mit Wasser, ein Mal mit gesättigter Natriumchlorid - Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EE = 12:1 → 5:1) gereinigt.

Ausbeute: **170**: 108 mg (0.239 mmol) = 49 %, Gesamtausbeute über 2 Stufen;

171: 16 mg (0.038 mmol) = 8 %, Gesamtausbeute über 2 Stufen;

172: 21 mg (0.048 mmol) = 10 %, Gesamtausbeute über 2 Stufen.

Analytische Daten von Verbindung 170

Rf: 0.58 (PE/EE = 5:1).

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = -7.7$ (c = 1, CHCl₃).

¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): $\delta = 8.16 - 8.14$ (m, 2 H, 3-H, Bz an 3), 8.05 - 8.03 (m, 2 H, 3-H, Bz an 6), 7.54 - 7.56 (m, 2 H, 4-H Bz), 7.51 - 7.43 (m, 4 H, 2-H Bz), 5.76 (dd, $J = 3.9$ und 3.9 Hz, 1 H, 3-H), 4.83 (d, $J = 1.0$ Hz, 1 H, 1-H), 4.61 (dd, $J = 11.4$ und 7.0 Hz, 1 H, 6-Ha), 4.55 (dd, $J = 11.4$ und 5.6 Hz, 1 H, 6-Hb), 4.31 (ddd, $J = 7.0$, 5.6 und 1.0 Hz, 1 H, 5-H), 4.22 - 4.20 (dd, $J = 3.9$ und 1.0 Hz, 1 H, 4-H), 4.11 (dd, $J = 3.9$ und 1.0 Hz, 1 H, 4-H), 3.41 (s, 3 H, OCH₃) ppm.

¹³C - NMR (100 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 77.16 ppm): $\delta = 166.2$ (s, COPh an 6), 165.4 (s, COPh an 3), 134.1 (d, C-4 Ph an 3), 133.5 (d, C-4 Ph an 6), 130.4 (2xd, C-3 Ph an 3), 129.8 (2xd, C-3 Ph an 6), 129.6 (s, C-ipso Ph), 128.9, 128.6 (4xd, C-2 Ph), 128.4 (s, C-ipso Ph), 99.8 (d, C-1), 70.4 (d, C-3), 66.8 (d, C-5), 63.8 (t, C-6), 59.1 (d, C-2), 58.2 (d, C-4), 55.5 (q, OCH₃) ppm.

HRMS (ESI): (M + Na + CH₃CN)⁺ berechnet für C₂₃H₂₃N₇O₆Na₁: 516.1608,
gefunden: 516.1614

Amorph, weiß, C₂₁H₂₀N₆O₆, MG = 452.4201 g/mol.

Analytische Daten von Verbindung 171

Rf: 0.47 (PE/EE = 5:1).

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = + 113.0$ (c = 1, CHCl₃).

¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 8.15 - 8.12 (m, 2 H, 3-H Bz an 6), 8.05 - 8.03 (m, 2 H, 3-H Bz an 3), 7.59 - 7.54 (m, 2 H, 4-H Bz), 7.49 - 7.42 (m, 4 H, 2-H Bz), 5.47 (dd, *J* = 3.7 und 3.7 Hz, 1 H, 3-H), 4.92 (d, *J* = 1.5 Hz, 1 H, 1-H), 4.64 (dd, *J* = 11.4 und 7.2 Hz, 1 H, 6-Ha), 4.59 (dd, *J* = 11.4 und 5.0 Hz, 1 H, 6-Hb), 4.21 (ddd, *J* = 7.2, 5.0 und 1.3 Hz, 1 H, 5-H), 4.19 (dd, *J* = 3.7 und 1.3 Hz, 1 H, 4-H), 4.09 (dd, *J* = 3.7 und 1.5 Hz, 1 H, 2-H), 3.41 (s, 3 H, OCH₃) ppm.

¹³C - NMR (100 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 77.16 ppm): δ = 166.4 (s, C=O an 6), 165.6 (s, C=O an 3), 133.8, 133.3 (2xd, C-4 Bz), 130.2 (2xd, C-3 Bz), 129.9 (s, C-ipso Bz), 129.8 (2xd, C-3 Bz), 129.2 (s, C-ipso Bz), 128.7, 128.6 (4xd, C-2 Bz), 99.6 (d, C-1), 69.3 (d, C-3), 69.1 (d, C-5), 67.8 (d, C-4), , 63.9 (t, C-6), 60.9 (d, C-2), 55.4 (q, OCH₃) ppm.

HRMS (ESI): (M + Na)⁺ berechnet für C₂₁H₂₁N₃O₇Na₁: 450.1277, gefunden: 450.1282.

Amorph, weiß, C₂₁H₂₁N₃O₇, MG = 427.4073g/mol.

Analytische Daten von Verbindung 172

Rf: 0.26 (PE/EE = 5:1).

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = + x$ (c = x, CHCl₃).

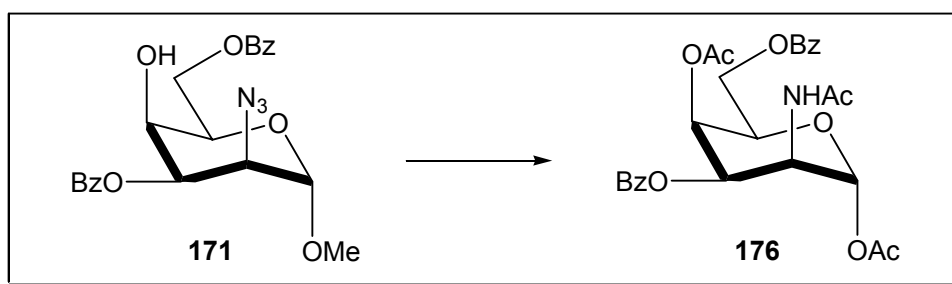
¹H - NMR (400 MHz, C₆D₆, C₆H₆ = 7.16 ppm): δ = 8.34 - 8.32 (m, 2 H, 3-H Bz an 4), 8.17 - 7.13 - 7.00 (m, 6 H, 3-H Bz an 6), 7.13 - 7.00 (m, 6 H, Bz), 5.52 (dd, *J* = 1.8 und 0.9 Hz, 1 H, 4-H), 4.72 (dd, *J* = 11.4 und 7.3 Hz, 1 H, 6-Ha), 4.60 (d, *J* = 1.4 Hz, 1 H, 1-H), 4.47 (dd, *J* = 11.4 und 5.5 Hz, 1 H, 6-Hb), 4.06 (ddd, *J* = 7.3, 5.5 und 1.8 Hz, 1 H, 5-H), 3.94 (ddd, *J* = 4.3, 0.9 und 0.8 Hz, 1 H, 2-H), 3.55 (ddd, *J* = 4.3, 1.4 und 0.8 Hz, 1 H, 2-H), 2.91 (s, 3 H, OCH₃), 2.69 (dd, *J* = 4.3 und 4.3 Hz, 1 H, OH) ppm.

^{13}C - NMR (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 167.3$ (s, $\underline{\text{C}}\text{OPh}$ an 4), 166.2 (s, $\underline{\text{C}}\text{OPh}$ an 6), 133.8 (s, C-ipso Bz an 4), 133.3 (s, C-ipso Bz an 6), $130.2 - 128.5$ (10xd, Ph), 99.6 (d, C-1), 69.6 (d, C-4), 67.1 (d, C-5), 66.6 (d, C-3), 63.2 (t, C-6), 60.5 (d, C-2), 55.5 (q, OCH_3) ppm.

HRMS (ESI): $(\text{M} + \text{Na})^+$ berechnet für $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_7\text{Na}_1$: 450.1277, gefunden: 450.1282.

Amorph, weiß, $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_7$, MG = 427.4073g/mol.

2-Acetamido-1,4-di-O-Acetyl-3,6-di-O-benzoyl-2-desoxy- α -D-talopyranose (176)



369 mg (0.863 mmol) der Verbindung **171** wurden unter Eiskühlung in 4.6 ml einer Schwefelsäure/Acetanhydrid - Lösung (1 % v/v) gelöst. Die Reaktionsmischung wurde 1 h bei 0 °C gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionslösung mit Phosphatpuffer (pH = 7.0) versetzt und vier Mal mit Essigsäureethylester extrahiert. Die organische Phase wurde anschließend mit gesättigter Natriumchlorid - Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum einrotiert. Der Rückstand wurde durch Codestillation mit Toluol von Acetanhydrid - Resten befreit und als Rohprodukt weiter umgesetzt.

Das Rohprodukt wurde in 3 ml Essigsäureethylester gelöst. Im Anschluss wurden 74 mg Palladiumacetat und 243 μl (2.59 mmol, 3 Äq) Acetanhydrid hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht unter Wasserstoffatmosphäre gerührt. Zur Aufarbeitung wurde der Katalysator über Kieselgur filtriert und mit heißem Essigsäureethylester gewaschen. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EE = 1:1) gereinigt.

Ausbeute: 260 mg (0.506 mmol) = 59 %, Gesamtausbeute über 2 Stufen.

Rf: 0.34 (PE/EE = 1:2).

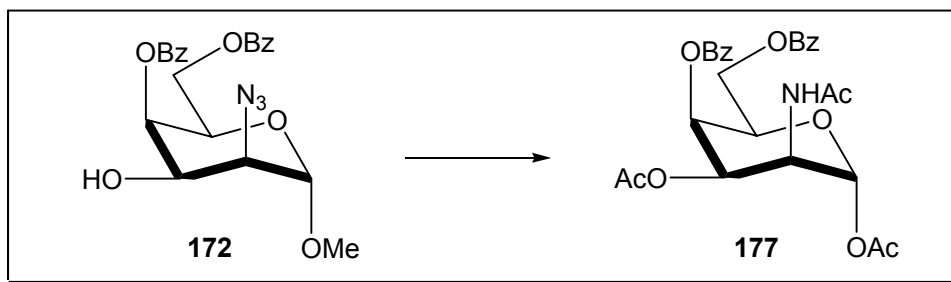
^1H - NMR (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 7.99 - 7.97$ (m, 2 H, 3-H Bz an 6), 7.89 - 7.88 (m, 2 H, 3-H Bz an 3), 7.58 - 7.54 (m, 2 H, 4-H Bz), 7.45 - 7.40 (m, 4 H, 2-H Bz), 6.47 (d, $J = 9.9$ Hz, 1 H, NH), 6.18 (d, $J = 1.0$ Hz, 1 H, 1-H), 5.75 (dd, $J = 3.6$ und 1.4 Hz, 1 H, 4-H), 5.60 (dd, $J = 4.6$ und 3.6 Hz, 1 H, 3-H), 4.67 (ddd, $J = 9.9$, 4.6 und 1.0 Hz, 1 H, 2-H), 4.53 (ddd, $J = 6.5$, 6.5 und 1.4 Hz, 1 H, 5-H), 4.49 (dd, $J = 10.9$ und 6.5 Hz, 1 H, 6-Ha), 4.35 (dd, $J = 10.9$ und 6.5 Hz, 1 H, 6-Hb), 2.19 (s, 3 H, COCH_3 an 1), 2.17 (s, 3 H, COCH_3 an 4), 2.08 (s, 3 H, NHCOCH_3) ppm.

^{13}C - NMR (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 169.6$ (s, NHCOCH_3), 168.7 (s, COCH_3 an 1), 168.3 (s, COCH_3 an 4), 166.0 (s, COPh an 6), 165.6 (s, COPh an 3), 133.6 (d, C-4, Bz an 6), 133.5 (d, C-4, Bz an 4), 129.8, 129.7 (4xd, C-3 Bz), 129.3, 129.1 (2xs, C-ipso Bz), 128.7, 128.6 (4xd, C-2 Bz), 92.9 (d, C-1), 68.7 (d, C-5), 67.4 (d, C-4), 65.4 (d, C-3), , 61.6 (t, C-6), 47.9 (d, C-2), 23.5 (q, NHCOCH_3), 21.0 (q, COCH_3 an 1), 20.7 (q, COCH_3 an 4) ppm.

HRMS (ESI): $(\text{M} + \text{Na})^+$ berechnet für $\text{C}_{26}\text{H}_{27}\text{N}_1\text{O}_{10}\text{Na}_1$: 536.1533, gefunden: 536.1535.

Amorph, weiß, $\text{C}_{26}\text{H}_{27}\text{N}_1\text{O}_{10}$, MG = 513.4933 g/mol.

2-Acetamido-1,3-di-O-Acetyl-4,6-di-O-benzoyl-2-desoxy- α -D-talopyranose (**177**)



278 mg (0.650 mmol) der Verbindung **172** wurden unter Eiskühlung in 3.47 ml einer Schwefelsäure/Acetanhydrid - Lösung (1 % v/v) gelöst. Die Reaktionsmischung wurde 1 h bei 0°C gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionslösung mit Phosphatpuffer ($\text{pH} = 7.0$) versetzt und vier Mal mit Essigsäureethylester extrahiert. Die organische Phase wurde anschließend mit gesättigter Natriumchlorid - Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde und im Vakuum einrotiert. Der Rückstand wurde durch Codestillation mit Toluol von Acetanhydrid - Resten befreit und als Rohprodukt weiter umgesetzt.

Das Rohprodukt wurde in 3 ml Essigsäureethylester gelöst. Im Anschluss wurden 56 mg Palladiumacetat und 183 μ l (1.95 mmol, 3 Äq) Acetanhydrid hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht unter Wasserstoffatmosphäre gerührt. Zur Aufarbeitung wurde der Katalysator über Kieselgur filtriert und mit heißem Essigsäureethylester gewaschen. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EE = 1:1) gereinigt.

Ausbeute: 227 mg (0.442 mmol) = 68 %, Gesamtausbeute über 2 Stufen.

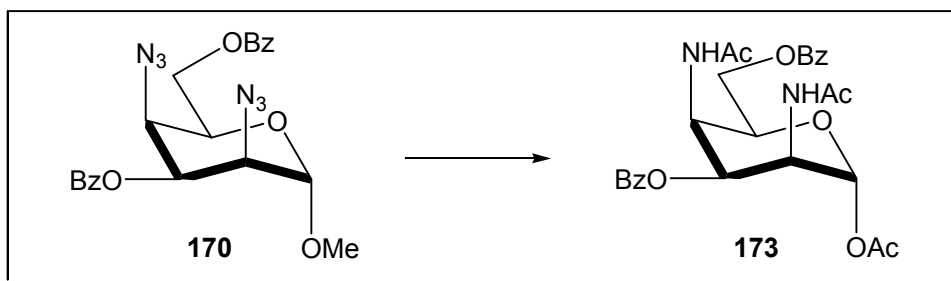
Rf: 0.38 (PE/EE = 1:2).

^1H - NMR (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 8.09 - 8.07$ (m, 2 H, 3-H Bz an 4), 7.97 - 7.94 (m, 2 H, 3-H Bz an 6), 7.67 - 7.66 (m, 1 H, 4-H Bz an 4), 7.58 - 7.53 (m, 3 H, 4-H Bz an 6, 2-H Bz an 3), 7.44 - 7.41 (m, 2 H, 2-H Bz an 6), 6.41 (d, $J = 9.2$ Hz, 1 H, NH), 6.19 (d, $J = 1.3$ Hz, 1 H, 1-H), 5.83 (dd, $J = 3.2$ und 0.4 Hz, 1 H, 4-H), 5.50 (dd, $J = 4.8$ und 3.2 Hz, 1 H, 3-H), 4.60 (dd, $J = 7.7$, und 1.5 Hz, 1 H, 6-Ha), 4.56 (ddd, $J = 6.6$, 1.5 und 0.4 Hz, 1 H, 5-H), 4.50 (ddd, $J = 9.2$, 4.8 und 1.3 Hz, 1 H, 2-H), 4.35 (dd, $J = 7.7$ und 3.6 Hz, 1 H, 6-Hb), 2.17 (s, 3 H, COCH_3 an 1), 2.01 (s, 3 H, COCH_3 an 3), 1.88 (s, 3 H, NHCOCH_3) ppm.

^{13}C - NMR (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 169.8$ (s, NHCOCH_3), 168.8 (s, COCH_3 an 3), 168.3 (s, COCH_3 an 1), 166.1 (s, COPh an 6), 164.9 (s, COPh an 4), 134.3 (d, C-4, Bz an 4), 133.5 (d, C-4, Bz an 6), 129.9 - 128.6 (8xd, 2xs, Ph), 92.9 (d, C-1), 68.8 (d, C-5), 67.8 (d, C-4), 64.7 (d, C-3), , 61.9 (t, C-6), 48.0 (d, C-2), 23.3 (q, COCH_3 an 4), 21.0 (q, NHCOCH_3), 20.8 (q, COCH_3 an 1) ppm.

HRMS (ESI): ($\text{M} + \text{Na}$)⁺ berechnet für $\text{C}_{26}\text{H}_{27}\text{N}_1\text{O}_{10}\text{Na}_1$: 536.1533, gefunden: 536.1534.

Amorph, weiß, $\text{C}_{26}\text{H}_{27}\text{N}_1\text{O}_{10}$, MG = 513.4933 g/mol.

2,4-Di-acetamido-1-O-Acetyl-3,6-di-O-benzoyl-2,4-di-desoxy- α -D-talopyranose (173)

1.167 g (2.58 mmol) der Verbindung **170** wurden unter Eiskühlung in 13.7 ml einer Acetanhydrid/konz. Schwefelsäure - Lösung. (1 v/v %) gelöst. Die Reaktionsmischung wurde 1 h bei 0 °C gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionslösung mit Phosphatpuffer (pH = 7.0) versetzt und vier Mal mit Essigsäureethylester extrahiert. Die organische Phase wurde anschließend mit gesättigter Natriumchlorid - Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum einrotiert. Der Rückstand wurde durch Codestillation mit Toluol von Acetanhydrid - Resten befreit und ohne Aufarbeitung weiter umgesetzt.

Das Rohprodukt wurde in 11 ml Acetanhydrid gelöst. Im Anschluss wurden bei RT 700 mg Palladiumacetat hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 2 Tage unter Wasserstoffatmosphäre bei 5 - 5.6 bar und RT gerührt. Zur Aufarbeitung wurde der Katalysator über Kieselgur filtriert und mit heißem Essigsäureethylester gewaschen. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde durch Codestillation mit Toluol von Acetanhydrid - Resten befreit und mittels Säulenchromatographie (PE/EE = 1:2) aufgereinigt.

Ausbeute: 803 mg (1.57 mmol) = 61 %, Gesamtausbeute über 2 Stufen.

Rf: 0.14 (PE/EE = 1:2).

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = + 3.43$ (c = 1, CHCl₃).

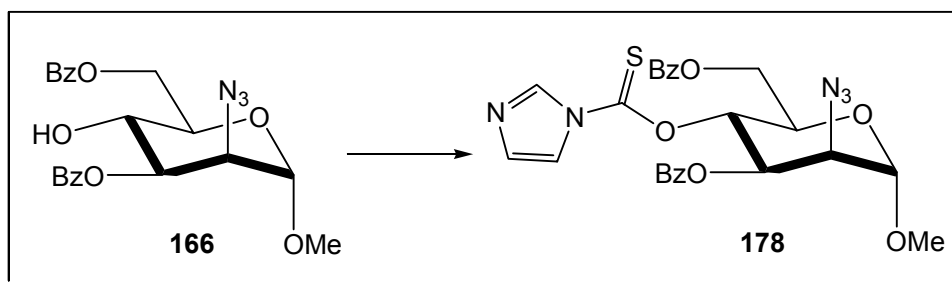
¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 7.95 - 7.90 (m, 4 H, 3-H Bz), 7.56 - 7.51 (m, 2 H, 4-H Bz), 7.42 - 7.38 (m, 4 H, 2-H Bz), 6.98 (d, *J* = 8.2 Hz, 1 H, NH an 2), 6.94 (d, *J* = 9.6 Hz, 1 H, NH an 4), 6.1 (d, *J* = 1.1 Hz, 1 H, 1-H), 5.55 (dd, *J* = 4.8 und 4.8 Hz, 1 H, 3-H), 4.92 - 4.85 (dd, *J* = 4.6 und 3.6 Hz, 1 H, 4-H), 4.61 - 4.51 (m, 3 H, 2-H, 5-H, 6-Ha), 4.25 - 4.18 (m, 1 H, 6-Hb), 2.11 (s, 3 H, COCH₃), 2.01 (s, 3 H, NHCOCH₃), 1.91 (s, 3 H, NHCOCH₃) ppm.

^{13}C - NMR (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 170.9, 170.9$ (2xs, NHCOCH_3), 168.9 (s, COCH_3), 166.5 (s, COPh an 6), 165.5 (s, COPh an 3), 133.6, 133.5 (2xs, C- ipso Bz), 129.8 – 128.6 (10xd, Ph), 92.9 (d, C-1), 69.6 (d, C-5), 66.9 (d, C-3), 62.7 (t, C-6), 48.4 (d, C-2), 46.6 (d, C-4), 23.1 (q, NHCOCH_3), 23.0 (q, COCH_3), 21.0 (q, NHCOCH_3) ppm.

HRMS (ESI): $(\text{M} + \text{Na})^+$ berechnet für $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_9\text{Na}_1$: 535.1693, gefunden: 535.1672.

Amorph, weiß, $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_9$, MG = 512.5085 g/mol.

Methyl-2-azido-3,6-di-O-benzoyl-4-O-((1-imidazolido)-thiocarbonyl)-2-desoxy- α -D-mannopyranosid (178)



987 mg (2.419 mmol) der Verbindung **166** wurden unter Ausschluss von Luft und Feuchtigkeit in 15 ml abs. Toluol gelöst und anschließend mit 282 mg DMAP (2.419 mmol, 1 Äq) und 823 mg (4.619 mmol, 2 Äq) 1,1'-Thiocarbonyldiimidazol versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 2 h unter Rückfluss gekocht. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulen-chromatographisch aufgereinigt (PE/EE = 2:1).

Ausbeute: 1.19 g (2.113 mmol) = 96 %.

Rf: 0.20 (PE/EE = 2:1).

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +143.4$ ($c = 1, \text{CHCl}_3$).

^1H - NMR (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 8.21$ (s, 1 H, 2-H Im), 8.02 - 7.98 (m, 4 H, 3-H Bz), 7.58 - 7.54 (m, 2 H, 4-H Bz), 7.49-7.48 (s, 1 H, 3-H Im), 7.44 - 7.39 (m, 4 H, 2-H Bz), 7.93 (s, 1 H, 1-H Im), 6.48 (dd, $J = 9.8$ und 9.8 Hz, 1 H, 4-H), 5.92 (dd, $J = 9.8$ und 3.9 Hz, 1 H, 3-H), 4.88 (d, $J = 1.4$ Hz, 1 H, 1-H), 4.58 (dd, $J = 11.9$ und

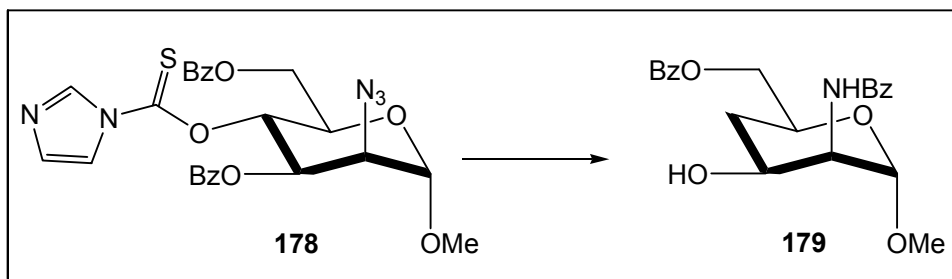
3.4 Hz, 1 H, 6-Ha), 4.46 (dd, $J = 11.9$ und 4.9 Hz, 1 H, 6-Hb), 4.36 (ddd, $J = 9.8$, 4.9 und 3.4 Hz, 1 H, 5-H), 4.26 (dd, $J = 3.9$ und 1.4 Hz, 1 H, 2-H), 3.50 (s, 3 H, OCH₃) ppm.

¹³C - NMR (100 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 77.16 ppm): $\delta = 183.1$ (s, OCSN), 166.1 (s, C=OPh an 6), 165.4 (s, C=OPh an 3), 137.2 (d, C-2 Im), 134.0 (s, C-4 Bz an 3), 133.4 (s, C-4 Bz an 6), 131.1 (d, C-1 Im), 130.1 – 128.3 (10xd, Ph), 118.0 (d, C-3 Im), 99.1 (d, C-1), 75.3 (d, C-4), 71.1 (d, C-3), 68.2 (d, C-5), 63.0 (t, C-6), 62.1 (d, C-2), 55.7 (q, OCH₃) ppm.

HRMS (ESI): (M + H)⁺ berechnet für C₂₅H₂₄N₅O₇S₁: 538.1372, gefunden: 538.1382.

Amorph, weiß, C₂₅H₂₃N₅O₇S₁, MG = 537.5444 g/mol.

Methyl-2-benzoylamino-6-O-benzoyl-2,4-di-desoxy- α -D-lyxopyranosid (179)



1.067 g (1.99 mmol) der Verbindung **178** wurden unter Ausschluss von Luft und Feuchtigkeit in 10 ml abs. Toluol gelöst. Anschließend wurde die Reaktionslösung auf 110 °C erhitzt und mit 326 mg (1.99 mmol, 1 Äq) AIBN und 1.58 ml (5.96 mmol, 3 Äq) Tributylzinnhydrid versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 6 h unter Rückfluss gekocht. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch aufgereinigt (PE/EE = 2:1 → 1:1).

Ausbeute: 591 mg (8.51 mmol) = 77 %

Rf: 0.45 (PE/EE = 1:2).

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +41.4$ (c = 0.8, CHCl₃).

^1H - NMR (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 8.05 - 8.03$ (m, 2 H, 3-H Bz an 6), 7.55 - 7.53 (m, 2 H, 3-H NHBz), 7.59 - 7.50 (m, 2 H, 4-H Bz), 7.43 - 7.38 (m, 4 H, 2-H Bz), 6.46 (d, $J = 7.8$ Hz, 1 H, NH), 4.84 (s, 1 H, 1-H), 4.51 (dd, $J = 7.8$ und 3.7 Hz, 1 H, 2-H), 4.46 (dd, $J = 11.8$ und 3.6 Hz, 1 H, 6-Ha), 4.39 (m, 2 H, 6-Hb, 3-H), 4.09 (dddd, $J = 11.9, 4.2, 3.0$ und 2.8 Hz, 1 H, 5-H), 3.41 (s, 3 H, OCH_3), 1.94 (ddd, $J = 12.7, 4.2$ und 2.1 Hz, 1 H, 4-Ha), 1.75 (ddd, $J = 12.7, 11.9$ und 11.9 Hz, 1 H, 4-Hb) ppm.

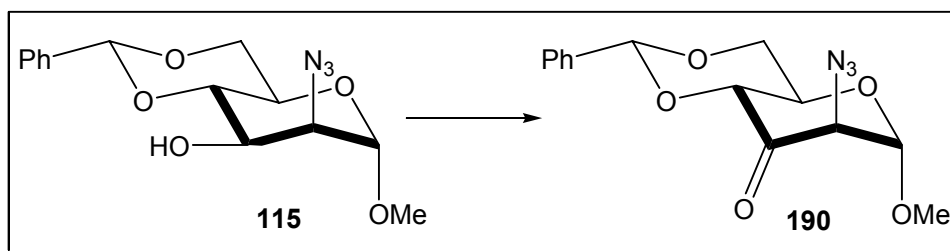
^{13}C - NMR (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 169.4$ (s, NHCOPh), 166.4 (s, OCOPh), 133.3 (s, C-*ipso* Bz an), 132.2 (s, C-*ipso* Bz an), 133.7 – 127.2 (10xd, Ph), 100.7 (d, C-1), 66.5 (t, C-6), 66.4 (d, C-5), 65.6 (d, C-3), 55.3 (q, OCH_3), 52.3 (d, C-2), 31.0 (t, C-4) ppm.

HRMS (ESI): ($\text{M} + \text{Na}$)⁺ berechnet für $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{N}_1\text{O}_6\text{Na}_1$: 408.1423, gefunden: 408.1440.

Amorph, weiß $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{N}_1\text{O}_6$, MG = 385.4104 g/mol.

5.2.5 Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3.4.4

Methyl-2-azido-4,6-O-benzyliden-2-desoxy- α -D-arabino-hex-3-en-ulopyranosid (190)



323 mg (1.051 mmol) der Verbindung **115** wurden unter Argonatmosphäre in 10 ml abs. DCM gelöst und unter Eiskühlung mit 891 mg (2.102 mmol, 2 Äq) DMP versetzt. Die Reaktionslösung wurde über Nacht auf RT erwärmt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionsmischung mit gesättigter $\text{NaHCO}_3/\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -Lösung (1:1) versetzt und 10 min kräftig gerührt. Essigsäureethylester wurde hinzugefügt. Die organische Phase wurde vier Mal mit gesättigter $\text{NaHCO}_3/\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -Lösung (1:1) gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde einrotiert. Das Produkt wurde an der Ölpumpe getrocknet.

Ausbeute: 330 mg (1.081 mmol), quantitativ.

Rf: 0.42 (PE/EE = 3:1).

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = + 267.2$ (c = 1, CHCl₃).

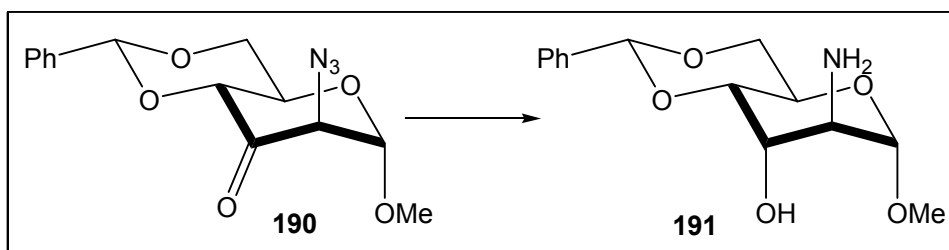
¹H - NMR (400 MHz, CD₃OD CH₃OH = 3.31 ppm): $\delta = 7.53 - 7.37$ (m, 5 H, Ph), 5.56 (s, 1 H, 7-H), 5.22 (d, J = 3.8 Hz, 1 H, 1-H), 4.42 (dd, J = 10.4 und 4.6 Hz, 1 H, 6-Ha), 4.31 (dd, J = 9.9 und 1.0. Hz, 1 H, 4-H), 4.18 (ddd, J = 10.2, 9.9 und 4.6 Hz, 1 H, 5-H), 3.95 (dd, J = 10.4 und 10.2 Hz, 1 H, 6-Hb), 3.8 (d, J = 3.9 Hz, 1 H, 2-H), 3.43 (s, 3 H, OCH₃) ppm.

¹³C - NMR (100 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 77.16 ppm): $\delta = 194.0$ (s, CO), 136.3 (s, C-ipso Ph), 129.56 (d, Ph, C-4), 128.5, 126.5 (4xd, Ph, C-2 und C-3), 103.6 (d, C-1), 102.1 (d, C-7, Acetal), 82.3 (d, C-4), 69.4 (t, C-6), 65.8 (d, C-5), 65.5 (d, C-2), 55.8 (q, OCH₃) ppm.

HRMS (ESI): (M + H)⁺ berechnet für C₁₄H₁₆N₃O₅: 306.1098, gefunden: 306.1090.

Amorph, weiß, C₁₄H₁₅N₃O₅, MG = 305.2860 g/mol.

Methyl-2-amino-4,6-O-benzyliden-2-desoxy- α -D-altropyranosid (191)



295 mg (0.966 mmol) der Verbindung **190** wurden in 6 ml Ethanol/THF (2:1) gelöst und bei 0 °C mit 219 mg (5.798 mmol, 6 Äq) Natriumborhydrid versetzt. Die Reaktionslösung wurde über Nacht auf RT erwärmt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionsmischung mit wenigen Tropfen Essigsäure und anschließend mit Methanol versetzt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mit Essigsäureethylester aufgenommen und drei Mal mit Wasser, ein Mal mit gesättigter Natriumchlorid - Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde ohne Aufreinigung weiter umgesetzt.

Das Rohprodukt wurde in 10 ml kaltem Methanol gelöst. Unter Eiskühlung wurden 90 mg Palladium auf Aktivkohle (10 % Pd) hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 8 h unter Wasserstoffatmosphäre bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionslösung mit Aktivkohle versetzt und 10 min kräftig gerührt. Anschließend wurde das Palladium über Kieselgur abfiltriert und mit heißem Methanol gewaschen. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Produkt bedarf keiner Aufreinigung.

Ausbeute: 270 mg (0.960 mmol), quantitativ.

Rf: 0.09 (EE/Me = 10:1).

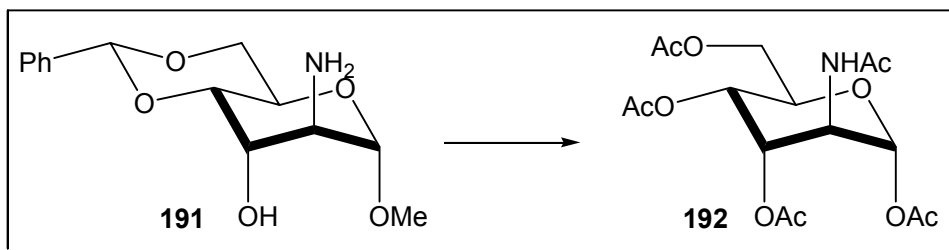
Drehwert: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = + 26.3$ (c = 0.9, MeOH).

¹H - NMR (400 MHz, CD₃OD CH₃OH = 3.31 ppm): $\delta = 7.55 - 7.33$ (m, 5 H, Ph), 5.67 (s, 1 H, 7-H), 4.75 (d, $J = 4.3$ Hz, 1 H, 1-H), 4.31 (dd, $J = 10.2$ und 5.3 Hz, 1 H, 6-Ha), 4.19 (dd, $J = 3.8$ und 2.8 Hz, 1 H, 3-H), 4.14 (ddd, $J = 10.0$, 9.7 und 5.2 Hz, 1 H, 5-H), 3.78 (dd, $J = 10.2$ und 10.0 Hz, 1 H, 6-Hb), 3.67 (dd, $J = 9.7$ und 2.8 Hz, 1 H, 4-H), 3.26 (dd, $J = 4.3$ und 3.8 Hz, 1 H, 2-H), 3.43 (s, 3 H, OCH₃) ppm.

¹³C - NMR (100 MHz, CD₃OD, CH₃OH = 49.00 ppm): $\delta = 139.2$ (s, C-ipso Ph), 129.9 (d, Ph, C-4), 129.03, 127.5 (4xd, Ph, C-2 und C-3), 103.1 (d, C-7, Acetal), 100.4 (d, C-1), 79.9 (d, C-4), 70.1 (t, C-6), 68.5 (d, C-3), 58.5 (d, C-5), 56.2 (q, OCH₃), 52.4 (d, C-2) ppm.

HRMS (ESI): (M + Na + CH₃CN)⁺ berechnet für C₁₆H₂₂N₂O₅Na₁: 345.1426,
gefunden: 345.1421.

Amorph, weiß, C₁₄H₁₉N₁O₅, MG = 281.3044 g/mol.

2-Acetamido-1,3,4,6-tetra-O-Acetyl-2-desoxy- α -D-altropyranose (192)

100 mg (0.355 mmol) der Verbindung **191** wurden unter Eiskühlung in 2 ml einer Schwefelsäure/Acetanhydrid - Lösung (7 % v/v) gelöst. Die Reaktionslösung wurde 24 h bei RT gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionsmischung mit Phosphatpuffer (pH = 7.0) versetzt und mit Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde durch Codestillation mit Toluol von Acetanhydrid - Rückständen befreit und mittels Säulenchromatographie (DCM/MeOH = 40:1) gereinigt.

Ausbeute: 73 mg (0.188 mmol) = 53 %.

Rf: 0.13 (EE).

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = + 13.4$ (c = 0.8, CHCl₃).

¹H - NMR (400 MHz, CD₃OD CH₃OH = 3.31 ppm): δ = 6.10 (d, *J* = 4.1 Hz, 1 H, 1-H), 5.63 (d, *J* = 9.6 Hz, 1 H, 1-H), 5.51 (dd, *J* = 3.1 und 3.0 Hz, 1 H, 3-H), 5.0 (dd, *J* = 10.2 und 3.1. Hz, 1 H, 4-H), 3.26 (ddd, *J* = 9.6, 4.1 und 3.1 Hz, 1 H, 2-H), 4.26 (dd, *J* = 10.6 und 4.4 Hz, 1 H, 6-Ha), 4.20 (ddd, *J* = 10.2, 4.4 und 2.6 Hz, 1 H, 5-H), 4.12 (dd, *J* = 10.6 und 2.6 Hz, 1 H, 6-Hb), 2.18 (s, 3 H, COCH₃ an 3), 2.17 (s, 3 H, COCH₃ an 1), 2.05 (s, 3 H, COCH₃ an), 1.98 (s, 3 H, NHCOCH₃) ppm.

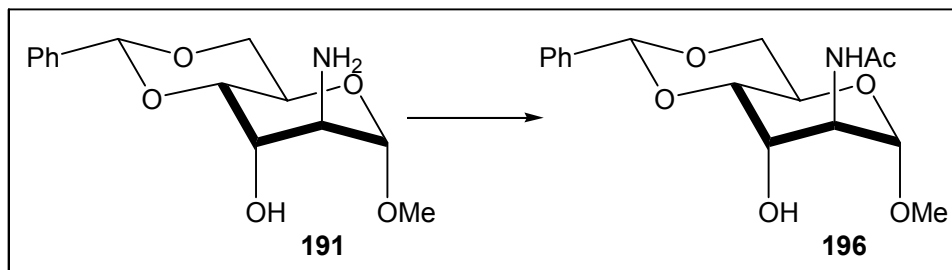
¹³C - NMR (100 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.16 ppm): δ = 170.8 (s, COCH₃ an 6), 170.3 (s, COCH₃ an 3), 169.4 (s, NHCOCH₃), 169.2 (s, COCH₃ an 1), 169.1 (s, COCH₃ an 4), 89.8 (d, C-1), 68.5 (d, C-3), 65.9 (d, C-4), 65.2 (d, C-5), 61.8 (t, C-6), 46.6 (d, C-2), 23.1 (q, COCH₃ an 1), 21.1, 21.0, 20.8 (4xq, NHCOCH₃, COCH₃ an 4, 6 und 3) ppm.

HRMS (ESI): (M + Na)⁺ berechnet für C₁₆H₂₃N₁O₁₀Na₁: 412.1220, gefunden: 412.1229.

Amorph, weiß, C₁₆H₂₁N₁O₁₀, MG = 389.3545 g/mol.

5.2.6 Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3.4.5

Methyl-2-acetamido-4,6-O-benzyliden-2-desoxy- α -D-altropyranosid (196)



500 mg (1.778 mmol) der Verbindung **191** wurden in 6 ml Acetanhydrid/Pyridin (1:2) gelöst und über Nacht bei RT gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionslösung mit Wasser versetzt und drei Mal mit Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde durch Codestillation mit Toluol von Acetanhydrid - und Pyridinresten befreit. Das Rohprodukt wurde mittels einer kurzen Filtrationssäule grob aufgereinigt und weiter umgesetzt.

Das Produkt wurde in 6 ml Ethanol/THF (2:1) gelöst, unter Eiskühlung mit 197 mg (5.33 mmol, 3 Äq) Natriumborhydrid versetzt und über Nacht auf RT erwärmt. Die Reaktionsmischung wurde mit wenigen Tropfen Essigsäure und anschließend mit Methanol versetzt. Das Lösungsmittel wurde einrotiert. Der Rückstand wurde mit Essigsäureethylester aufgenommen und drei Mal mit Wasser, ein Mal mit gesättigter Natriumchlorid - Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EE = 1:3) gereinigt.

Ausbeute: 465 mg (1.438 mmol) = 81 %, Gesamtausbeute über 2 Stufen.

Rf: 0.10 (PE/EE = 1:3).

Drehwert: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +75.4$ (c = 1, CHCl_3).

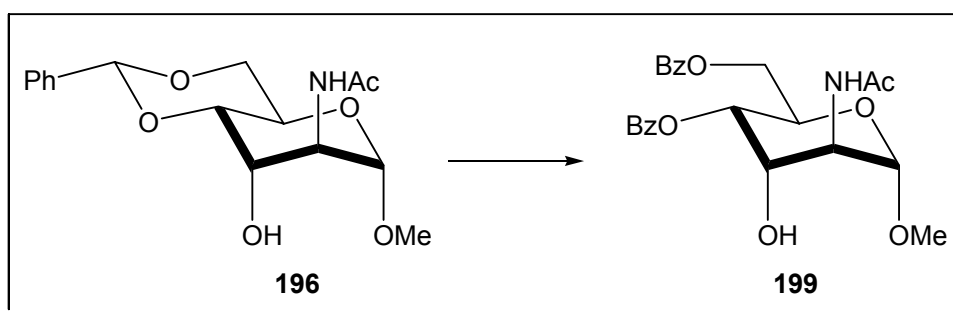
^1H - NMR (400 MHz, CD_3OD CH_3OH = 3.31 ppm): δ = 7.52 - 7.35 (m, 5 H, Ph), 6.36 (d, J = 8.9 Hz, 1 H, NHAc), 5.61 (s, 1 H, 7-H), 4.75 (d, J = 4.1 Hz, 1 H, 1-H), 4.38 (dd, J = 10.2 und 5.1 Hz, 1 H, 6-Ha), 4.30 (ddd, J = 8.9, 4.1 und 3.7 Hz, 1 H, 2-H), 4.19 (ddd, J = 5.8, 3.7 und 2.7 Hz, 1 H, 3-H), 4.14 (ddd, J = 10.0, 9.6 und 5.1 Hz, 1 H, 5-H), 3.79 (dd, J = 10.2 und 10.0 Hz, 1 H, 6-Hb), 3.67 (dd, J = 9.6 und 2.7 Hz, 1 H, 4-H), 3.43 (s, 3 H, OCH_3), 2.87 (d, J = 5.8 Hz, 1 H, OH), 2.03 (s, 3 H, COCH_3) ppm.

^{13}C - NMR (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 169.9$ (s, NHCOCH_3), 137.2 (s, C-*ipso* Ph), 129.3 – 126.3 (5xd, Ph), 102.0 (d, C-7, Acetal), 99.2 (d, C-1), 78.6 (d, C-4), 69.2 (t, C-6), 68.2 (d, C-3), 57.5 (d, C-5), 56.2 (q, OCH_3), 49.5 (d, C-2), 23.3 (q, NHCOCH_3) ppm.

HRMS (ESI): ($\text{M} + \text{Na} + \text{CH}_3\text{CN}$) $^+$ berechnet für $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_6\text{Na}_1$: 387.1532, gefunden: 387.1548.

Amorph, weiß, $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{N}_1\text{O}_6$, MG = 323.3410 g/mol.

Methyl-2-acetamido-4,6-di-O-benzoyl-2-desoxy- α -D-altropyranosid (**199**)



100 mg (0.309 mmol) der Verbindung **196** wurden in 2 ml Methanol gelöst und mit 17.6 mg (0.093 mmol, 0.3 Äq) *para*-Toluolsulfonsäure bei RT versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 1 h bei RT gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionslösung mit festem Natriumhydrogencarbonat neutralisiert und einrotiert. Der Rückstand wurde durch Codestillation mit Toluol von Wasserrückständen befreit. Das Produkt wurde ohne säulenchromatographische Aufarbeitung weiter umgesetzt.

Das Rohprodukt der 1. Stufe wurde unter Ausschluss von Luft und Feuchtigkeit in 0.5 ml abs. DCM gelöst. Anschließend wurden 0.5 ml abs. Pyridin hinzugegeben. Die Reaktionslösung wurde auf 0 °C abgekühlt, mit 79 μl Benzoylchlorid (0.619 mmol, 2 Äq) versetzt und 4 h bei 0 °C gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionsmischung mit Wasser versetzt und drei Mal mit DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und einrotiert. Der Rückstand wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EE = 1:2) gereinigt.

Ausbeute: 108 mg (2.435 mmol) = 79 %, Gesamtausbeute über 2 Stufen.

Rf: 0.17 (PE/EE = 1:3).

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +88.7$ (c = 1, CHCl₃).

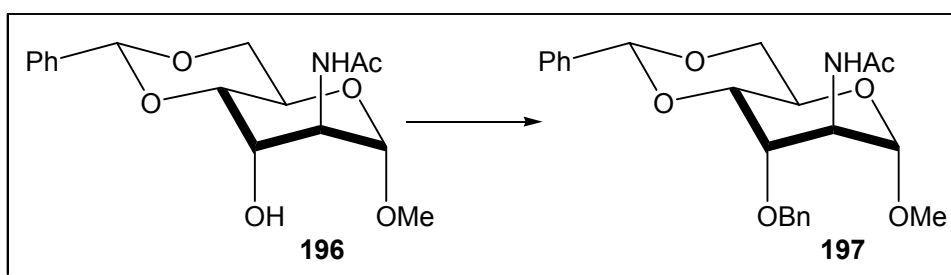
¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 8.03 - 8.00 (m, 4 H, 3-H Bz), 7.55 - 7.52 (m, 2 H, 4-H Bz), 7.42 - 7.41 (m, 4 H, 2-H Bz), 6.34 (d, J = 8.1 Hz, 1 H, NH), 5.17 (dd, J = 9.4 und 1.5 Hz, 1 H, 4-H), 4.82 (d, J = 3.4 Hz, 1 H, 1-H), 4.64 (dd, J = 14.1 und 4.9 Hz, 1 H, 6-Ha), 4.44 (dd, J = 14.1 und 4.6 Hz, 2 H, 6-Hb, 5-H), 4.31 (m, 2 H, 2-H, 3-H), 3.44 (s, 3 H, OCH₃), 1.98 (s, 3 H, NHCOCH₃) ppm.

¹³C - NMR (100 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 77.16 ppm): δ = 169.9 (s, NHCOCH₃), 166.3 (s, C=O an 6), 165.1 (s, C=O an 4), 133.5 (s, C-ipso Bz an 4), 133.2 (s, C-ipso Bz an 6), 129.9 – 128.5 (10xd, Ph), 99.1 (d, C-1), 69.4 (d, C-4), 68.7 (d, C-3), 63.5 (t, C-6), 63.2 (d, C-5), 56.2 (q, OCH₃), 49.2 (d, C-2), 23.2 (q, NHCOCH₃) ppm.

HRMS (ESI): (M + Na)⁺ berechnet für C₂₃H₂₅N₁O₈Na₁: 466.1478, gefunden: 466.1473.

Amorph, weiß C₂₃H₂₅N₁O₈, MG = 443.4465 g/mol.

Methyl-2-acetamido-3-O-benzyl-4,6-O-benzyliden-2-desoxy-α-D-altropyranosid (197)



3.28 g (10.14 mmol) der Verbindung **196** wurden unter Ausschluss von Feuchtigkeit und Luft in 30 ml abs. DMF gelöst. Unter Eiskühlung wurden portionsweise 527 mg (13.19 mmol, 1.3 Äq) Natriumhydrid, 375 mg (1.014 mmol, 0.1 Äq) TBAI und 1.57 ml (13.19 mmol, 1.3 Äq) Benzylbromid hinzugegeben. Die Reaktionslösung wurde über Nacht auf RT erwärmt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionsmischung vorsichtig zuerst mit Methanol, dann mit Wasser versetzt und vier Mal mit Diethylether extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, drei Mal mit Wasser, ein Mal mit gesättigter Natriumchlorid - Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das

Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (PE/EE = 1:1).

Ausbeute: 3.65 g (8.83 mmol) = 87 %.

Rf: 0.34 (PE/EE = 1:3).

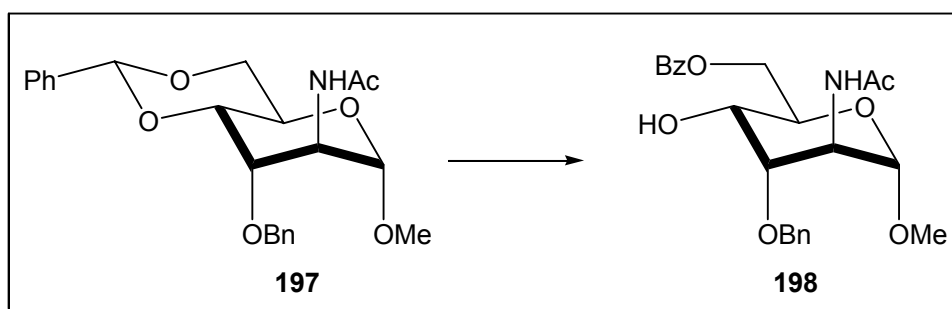
Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = -13.5$ (c = 1, CHCl₃).

¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 7.50 - 7.29 (m, 10 H, Ph), 6.00 (d, J = 9.6 Hz, 1 H, NHAc), 5.55 (s, 1 H, 7-H), 5.00 (d, J = 12.3 Hz, 1 H, CH₂Ph), 4.60 (d, J = 4.4 Hz, 1 H, 1-H), 4.56 (d, J = 12.3 Hz, 1 H, CH₂Ph), 4.25 (dd, J = 9.5 und 4.2 Hz, 1 H, 6-Ha), 4.27 (ddd, J = 9.2, 4.2 und 2.7 Hz, 1 H, 5-H), 4.25 (ddd, J = 9.6, 4.4 und 3.1 Hz, 1 H, 2-H), 4.04 (dd, J = 3.1 und 3.1 Hz, 1 H, 3-H), 4.09 (ddd, J = 9.2 und 3.1 Hz, 1 H, 4-H), 3.71 (dd, J = 9.5 und 2.7 Hz, 1 H, 6-Hb), 3.40 (s, 3 H, OCH₃), 1.81 (s, 3 H, NHCOCH₃) ppm.

¹³C - NMR (100 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 77.16 ppm): δ = 169.5 (s, NHCOCH₃), 138.7 (s, C-ipso, Acetal), 137.7 (s, C-ipso, Bn), 129.3 – 126.3 (10xd, Ph), 102.2 (d, C-7, Acetal), 98.5 (d, C-1), 79.9 (d, C-4), 74.6 (t, CH₂Ph), 73.9 (d, C-3), 69.5 (t, C-6), 57.8 (d, C-5), 56.2 (q, OCH₃), 49.1 (d, C-2), 23.2 (q, NHCOCH₃) ppm.

HRMS (ESI): (M + Na)⁺ berechnet für C₂₃H₂₇N₁O₆Na₁: 436.1736, gefunden: 436.1732.

Amorph, weiß, C₂₃H₂₇N₁O₆, MG = 413.4636 g/mol.

Methyl-2-acetamido-6-O-benzoyl-3-O-benzyl-2-desoxy- α -D-altropyranosid (198)

2.607 g (6.30 mmol) der Verbindung **197** wurden in 20 ml Methanol gelöst und mit 359 mg (1.89 mmol, 0.3 Äq) *para*-Toluolsulfonsäure bei RT versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 1 h bei RT gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionslösung mit festem Natriumhydrogencarbonat neutralisiert und einrotiert. Der Rückstand wurde durch Codestillation mit Toluol von Wasserrückständen befreit. Das Produkt wurde ohne säulenchromatographische Aufarbeitung weiter umgesetzt.

Das Rohprodukt wurde unter Argonatmosphäre in 20 ml abs. DCM gelöst und unter Eiskühlung mit 1.46 ml (12.6 mmol, 2 Äq) 2,6-Lutidin und 0.88 ml (7.57 mmol, 1.2 Äq) Benzoylchlorid versetzt. Die Reaktionslösung wurde 3 h bei 0 °C gerührt und erneut mit 0.22 ml (1.89 mmol, 0.3 Äq) Benzoylchlorid versetzt. Die Reaktionslösung wurde weitere 60 min bei 0 °C gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionsmischung drei Mal mit Wasser und ein Mal mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung extrahiert. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde einrotiert. Der Rückstand wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EE = 1:4) gereinigt.

Ausbeute: 2.416 g (5.626 mmol) = 89 %, Gesamtausbeute über 2 Stufen.

Rf: 0.40 (PE/EE = 1:4).

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = + 5.4$ (c = 1, CHCl₃).

¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 8.07- 8.04 (m, 2 H, C-3, Bz), 7.59 -7.31 (m, 8 H, Ph), 5.85 (d, *J* = 9.1 Hz, 1 H, NH), 4.86 (d, *J* = 12.3 Hz, 1 H, CH₂Ph), 4.69 (dd, *J* = 12.0 und 4.8 Hz, 1 H, 6-Ha), 4.67 (d, *J* = 12.3 Hz, 1 H, CH₂Ph), 4.59 (d, *J* = 4.2 Hz, 1 H, 1-H), 4.57 (dd, *J* = 12.0 und 2.3 Hz, 1 H, 6-Hb), 4.19 (ddd, *J* = 9.1, 4.2. und 3.5 Hz, 1 H, 2-H), 4.12 (ddd, *J* = 9.3, 4.8 und 2.3 Hz, 1 H, 5-H), 4.04 (dd, *J* = 3.5 und 3.3 Hz, 1 H, 3-H), 3.66 (ddd, *J* = 9.3, 9.0 und 3.3 Hz, 1 H, 4-H), 3.41

(s, 3 H, OCH₃), 2.75 (d, *J* = 9.0 Hz, 1 H, OH), 1.77 (s, 3 H, NHCOCH₃) ppm.

¹³C - NMR (100 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 169.6 (s, NHCOCH₃), 167.2 (s, C=O), 138.5 (s, C-ipso Bn), 133.4 (s, C-ipso Bz), 129.9 – 128.0 (10xd, Ph), 98.0 (d, C-1), 77.6 (d, C-3), 76.1 (t, CH₂Ph), 67.3 (d, C-4), 66.4 (d, C-5), 64.2 (t, C-6), 56.0 (q, OCH₃), 49.4 (d, C-2), 23.2 (q, NHCOCH₃) ppm.

HRMS (ESI): (M + Na)⁺ berechnet für C₂₃H₂₇N₁O₇Na₁: 452, 1658, gefunden: 452.1692.

Amorph, weiß, C₂₃H₂₇N₁O₇, MG = 429.4630 g/mol.

Methyl-2-acetamido-6-O-benzoyl-3-O-benzyl-4-O-trifluoromethansulfonyl-2-desoxy-α-D-altropyranosid (201)



Unter Ausschluss von Luft und Feuchtigkeit wurden 70 mg (0.163 mmol) der Verbindung **198** in 3 ml abs. DCM gelöst und mit 32 µl (0.407 mmol, 2.5 Äq) abs. Pyridin versetzt. Die Reaktionslösung wurde auf -20 °C abgekühlt und 40 µl (0.244 mmol, 1.5 Äq) Trifluormethansulfonsäureanhydrid wurden langsam zutropft. Die Reaktionsmischung wurde innerhalb von 3 h von -20 °C auf -8 °C erwärmt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionslösung vier Mal mit kalter gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde durch Codestillation mit Toluol von Pyridin befreit und mittels Säulenchromatographie (PE/EE = 1:1) aufgereinigt.

Ausbeute: 90 mg (0.160 mmol) = 98 %.

Rf: 0.42 (PE/EE = 1:4).

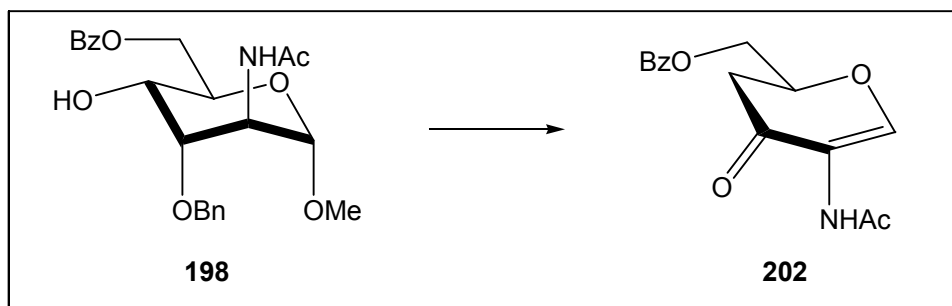
Drehwert: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +25.2$ (c = 1, CHCl₃).

^1H - NMR (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 8.07 - 8.05$ (m, 2 H, 3-H Bz), 7.61 -7.32 (m, 8 H, Ph), 5.76 (d, $J = 8.9$ Hz, 1 H, NH), 5.14 (dd, $J = 10.1$ und 2.6 Hz, 1 H, 4-H), 5.02 (d, $J = 12.2$ Hz, 1 H, CH_2Ph), 4.74 (dd, $J = 12.4$ und 2.3 Hz, 1 H, 6-Ha), 4.61 (d, $J = 4.2$ Hz, 1 H, 1-H), 4.60 (ddd, $J = 10.1$, 3.9 und 2.3 Hz, 1 H, 5-H), 4.49 (d, $J = 12.2$ Hz, 1 H, CH_2Ph), 4.45 (dd, $J = 12.4$ und 3.9 Hz, 1 H, 6-Hb), 4.32 (ddd, $J = 8.9$, 4.2 und 3.6 Hz, 1 H, 2-H), 4.31 (dd, $J = 3.6$ und 2.6 Hz, 1 H, 3-H), 3.40 (s, 3 H, OCH_3), 1.69 (s, 3 H, NHCOCH_3) ppm.

^{13}C - NMR (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 169.6$ (s, NHCOCH_3), 166.2 (s, COPh), 137.9 (s, C-ipso Bn), 133.4 (s, C-ipso Bz), 129.8 – 128.0 (10xd, Ph), 118.4 (q, CF_3 , $J = 319.6$), 98.0 (d, C-1), 81.0 (d, C-4), 76.9 (d, C-3), 76.2 (t, CH_2Ph), 62.5 (d, C-5), 62.2 (t, C-6), 56.4 (q, OCH_3), 49.3 (d, C-2), 23.0 (q, NHCOCH_3) ppm.

Amorph, weiß, $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{N}_1\text{O}_9\text{S}_1\text{F}_3$ MG = 561.5247 g/mol.

2-Acetamido-6-O-benzoyl-1,5-anhydro-2,4-di-desoxy-hex-1-en-3-ulose (202)



Unter Ausschluss von Luft und Feuchtigkeit wurden 35 mg (0.081 mmol) der Verbindung **198** in 2 ml abs. DCM gelöst und mit 16 μl (0.204 mmol, 2.5 Äq) abs. Pyridin versetzt. Die Reaktionslösung wurde auf $-20\text{ }^\circ\text{C}$ abgekühlt und 20 μl (0.122 mmol, 1.5 Äq) Trifluormethansulfonsäureanhydrid wurden langsam zutropft. Die Reaktionsmischung wurde innerhalb von 3 h von $-20\text{ }^\circ\text{C}$ auf $-8\text{ }^\circ\text{C}$ erwärmt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionslösung vier Mal mit kalter, gesättigter Natriumchlorid -Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde durch Codestillation mit Toluol von Wasserrückständen befreit und ohne Aufarbeitung weiter umgesetzt.

Das Rohprodukt wurde unter Ausschluss von Luft und Feuchtigkeit in 2 ml abs. DMF gelöst. Im Anschluss wurden 18.2 mg (0.245 mmol, 3 Äq) Kaliumchlorid und 64.6 mg (0.245 mmol, 3 Äq) 18 - Krone - 6 hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht bei RT gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionslösung mit Wasser versetzt und vier Mal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden drei Mal mit Wasser, ein Mal mit gesättigter Natriumchlorid - Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EE = 1:1) gereinigt.

Ausbeute: 17.7 mg (595 μ mol) = 73 %, Gesamtausbeute über 2 Stufen.

Rf: 0.67 (PE/EE = 1:4).

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = + 19.4$ (c = 1, CHCl₃).

¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 8.68 (s, 1 H, H-1), 8.08 - 8.03 (m, 2 H, 3-H Bz), 7.64 -7.30 (m, 4 H, Ph, NH), 4.60 (dddd, J = 14.1, 5.5, 3.8 und 2.3 Hz, 1 H, 5-H), 4.74 (dd, J = 12.5 und 2.3 Hz, 1 H, 6-Ha), 4.45 (dd, J = 12.5 und 5.5 Hz, 1 H, 6-Hb), 2.86 (dd, J = 17.1 und 14.1 Hz, 1 H, 4-Ha), 2.64 (dd, J = 17.1 und 3.8 Hz, 1 H, 4-Hb), 2.21 (s, 3 H, NHCOCH₃) ppm.

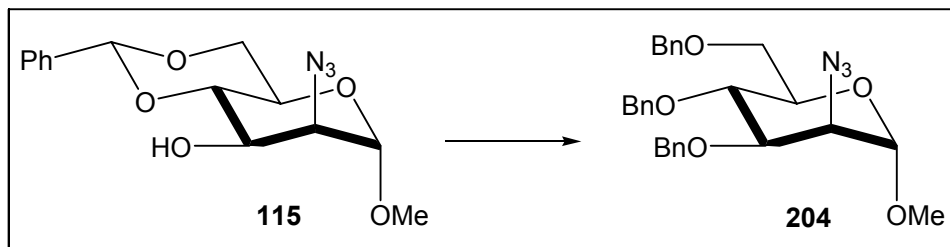
¹³C - NMR (100 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 77.16 ppm): δ = 186.1 (s, C-3), 168.3 (s, NHCOCH₃), 166.2 (s, C=O Ph), 153.9 (d, C-1), 133.6 (s, C-ipso Bz), 129.9 – 128.6 (5xd, Ph), 119.4 (d, C-2), 76.1 (d, C-5), 64.8 (t, C-6), 37.1 (t, C-4), 24.0 (q, NHCOCH₃) ppm.

HRMS (ESI): (M + H)⁺ berechnet für C₁₅H₁₆N₁O₅: 290.1028, gefunden: 290.1029.

Amorph, weiß, C₁₅H₁₅N₁O₅, MG = 289.2833 g/mol.

5.2.7 Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3.4.6

Methyl-2-azido-3,4,6-tri-O-benzyl-2-desoxy- α -D-mannopyranosid (204)



3.68 g (12.0 mmol) der Verbindung **115** wurden in 100 ml Methanol gelöst. Im Anschluss wurden 682 mg (3.59 mmol, 0.3 Äq) *para*-Toluolsulfonsäure bei RT hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 2 h bei RT gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionslösung mit festem Natriumhydrogencarbonat neutralisiert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde durch Codestillation mit Toluol von Wasserrückständen befreit. Das Produkt wurde ohne säulenchromatographische Aufarbeitung weiter umgesetzt.

Das Rohprodukt der 1. Stufe wurde unter Ausschluss von Feuchtigkeit und Luft in 100 ml abs. DMF gelöst. Unter Eiskühlung wurden portionsweise 2.39 g (59.8 mmol, 5 Äq) Natriumhydrid, 1.77 g (4.78 mmol, 0.4 Äq) TBAI und 11 ml (96.0 mmol, 8 Äq) Benzylbromid hinzugegeben. Die Reaktionslösung wurde über Nacht auf RT erwärmt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionsmischung vorsichtig zuerst mit Methanol, dann mit Wasser versetzt und vier Mal mit Diethylether extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, drei Mal mit Wasser, ein Mal mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand wurde säulenchromatographisch (PE/EE = 7:1) gereinigt.

Ausbeute: 5.59 g (11.4 mmol) = 96 %, Gesamtausbeute über 2 Stufen.

Rf: 0.56 (PE/EE = 3:1).

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = +55.5$ (c = 1, CHCl₃).

¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 7.49 - 7.23 (m, 15 H, Ph), 4.93 (d, *J* = 10.8 Hz, 1 H, CH₂Ph an 4), 4.82 (d, *J* = 11.2 Hz, 1 H, CH₂Ph an 3), 4.79 (d, *J* = 1.6 Hz, 1 H, 1-H), 4.77 (d, *J* = 11.2 Hz, 1 H, CH₂Ph an 3), 4.75 (d, *J* = 12.3 Hz, 1 H, CH₂Ph an 6), 4.62 (d, *J* = 12.3 Hz, 1 H, CH₂Ph an 6), 4.59 (d, *J* = 10.8 Hz, 1 H, CH₂Ph

an 4), 4.14 (dd, $J = 9.0$ und 3.6 Hz, 1 H, 3-H), 4.01 (dd, $J = 3.6$ und 1.6 Hz, 1 H, 2-H), 3.98 (dd, $J = 9.2$ und 9.0 Hz, 1 H, 4-H), 3.82 (dd, $J = 10.6$ und 5.6 Hz, 1 H, 6-Ha), 3.81 (dd, $J = 10.6$ und 3.6 Hz, 1 H, 6-Hb), 3.80 (ddd, $J = 9.2$, 5.6 und 3.6 Hz, 1 H, 5-H), 3.42 (s, 3 H, OCH₃) ppm.

¹³C - NMR (100 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 77.16 ppm) : $\delta = 138.2$ (s, C-ipso Bn an 6), 138.2 (s, C-ipso Bn an 4), 137.8 (s, C-ipso Bn an 3), 128.5 – 127.6 (15xd, Ph), 99.1 (d, C-1), 79.8 (d, C-3), 77.5 (t, CH₂Ph an 4), 74.5 (d, C-4), 73.5 (t, CH₂Ph an 6), 72.5 (t, CH₂Ph an 3), 71.5 (d, C-5), 68.8 (t, C-6), 61.2 (d, C-2), 54.9 (q, OCH₃) ppm.

HRMS (ESI): (M + Na)⁺ berechnet für C₂₈H₃₁N₃O₅Na₁: 512.2161, gefunden: 512.2174.

Amorph, weiß, C₂₈H₃₁N₃O₅, MG = 489.5628 g/mol.

1,6-Di-O-acetyl-2-azido-3,4-di-O-benzyl-2-deoxy- α -D-mannopyranose (205)



184.5 mg (0.377 mmol) der Verbindung **204** wurden unter Eiskühlung in 2 ml einer Schwefelsäure/Acetanhydrid - Lösung (1 % v/v) gelöst. Die Reaktionslösung wurde 15 min bei 0 °C gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionsmischung mit Phosphatpuffer (pH = 7.0) versetzt und mit Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EE = 10:1) gereinigt.

Ausbeute: 143 mg (0.305 mmol) = 81 %.

Rf: 0.77 (PE/EE = 1:2).

Drehwert: $[\alpha]_D^{20} = + 49.2$ (c = 1, CHCl₃).

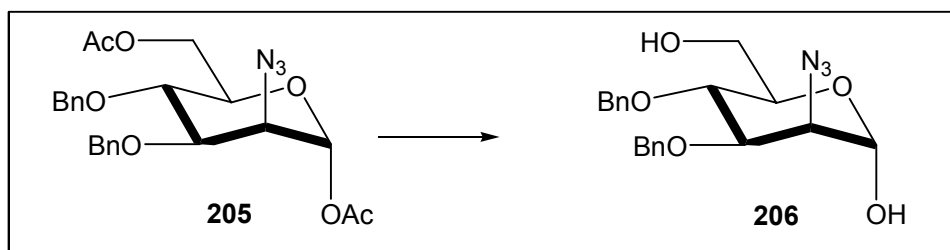
^1H - NMR (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 7.41 - 7.29$ (m, 10 H, Ph), 6.07 (d, $J = 2.0$ Hz, 1 H, 1-H), 4.93 (d, $J = 10.6$ Hz, 1 H, CH_2Ph an 4), 4.80 (d, $J = 11.6$ Hz, 1 H, CH_2Ph an 3), 4.77 (d, $J = 11.6$ Hz, 1 H, CH_2Ph an 3), 4.63 (d, $J = 10.6$ Hz, 1 H, CH_2Ph an 4), 4.79 - 4.72 (m, 2 H, 6-H), 4.07 - 4.03 (m, 1 H, 3-H), 3.91 (m, 3 H, 4-H, 5-H, 2-H), 2.07 (s, 3 H, COCH_3 an 1), 2.05 (s, 3 H, COCH_3 an 6) ppm.

^{13}C - NMR (100 MHz, C_6D_6 , x = x ppm): $\delta = 170.9$ (s, $\underline{\text{C}}\text{OCH}_3$ an 6), 168.5 (s, $\underline{\text{C}}\text{OCH}_3$ an 1), 137.7 (s, C-ipso Bn an 4), 137.4 (s, C-ipso Bn an 3), 128.8 – 128.2 (10xd, Ph), 92.1 (d, C-1), 79.2 (d, C-3), 75.6 (t, CH_2Ph an), 73.5 (d, C-4), 72.9 (t, CH_2Ph an), 72.3 (d, C-5), 62.8 (t, C-6), 61.2 (d, C-2), 21.0 (2xq, COCH_3) ppm.

HRMS (ESI): $(\text{M} + \text{Na})^+$ berechnet für $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_7\text{Na}_1$: 492.1747, gefunden: 493.1763.

Öl, farblos, $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_7$, MG = 469.4871 g/mol.

2-Azido-3,4-di-O-benzyl-2-deoxy- α -D-mannopyranose (**206**)



380 mg (0.809 mmol) der Verbindung **205** wurden in 4 ml einer 0.3 M NaOH /Methanol-Lösung 2 h bei RT gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionsmischung mit Phosphatpuffer (pH = 7.0) versetzt und mit Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EE = 6:1) gereinigt.

Ausbeute: 250 mg (0.647 mmol) = 80 %.

Rf: 0.32 (PE/EE = 1:2).

^1H - NMR (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 7.44 - 7.31$ (m, 10 H, Ph), 4.94 (d, $J = 10.9$ Hz, 1 H, CH_2Ph an 4), 4.78 (d, $J = 11.6$ Hz, 1 H, CH_2Ph an 3), 4.74 (d, $J = 11.6$ Hz, 1 H, CH_2Ph an 3), 4.71 (d, $J = 10.2$ Hz, 1 H, CH_2Ph an 4), 4.70 (d,

$J = 1.5$ Hz, 1 H, 1-H), 4.11 (dd, $J = 9.6$ und 3.6 Hz, 1 H, 3-H), 3.97 (dd, $J = 3.6$ und 1.4 Hz, 1 H, 2-H), 3.93 (dd, $J = 9.6$ und 9.2 Hz, 1 H, 4-H), 3.87 (dd, $J = 11.9$ und 2.0 Hz, 1 H, 6-Ha), 3.80 (dd, $J = 11.9$ und 4.1 Hz, 1 H, 6-Hb), 3.65 (ddd, $J = 9.2$, 4.1 und 2.0 Hz, 1 H, 5-H), 3.57 (s, 3 H, OCH₃) ppm.

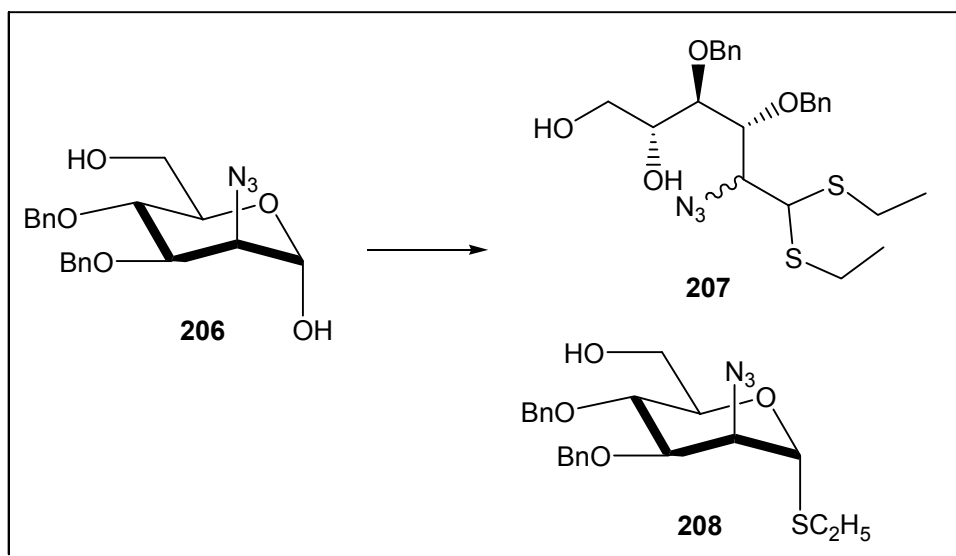
¹³C - NMR (100 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 77.16 ppm) : $\delta = 138.2$ (s, C-ipso Bn an 4), 137.8 (s, C-ipso Bn an 3), 128.5 - 127.8 (10xd, Ph), 99.2 (d, C-1), 79.7 (d, C-3), 75.3 (t, CH₂Ph an 4), 74.2 (d, C-4), 72.5 (t, CH₂Ph an 3), 72.0 (d, C-5), 61.8 (t, C-6), 61.2 (d, C-2), 54.9 (q, OCH₃) ppm.

HRMS (ESI): (M + Na + CH₃CN)⁺ berechnet für C₂₂H₂₆N₄O₅Na₁: 449.1801, gefunden: 449.1812.

Amorph, weiß, C₂₀H₂₃N₃O₅, MG = 385.4137 g/mol.

2-Azido-3,4-di-O-benzyl-2-desoxy-D-glucose-di-S-ethyl-di-thio-acetal (207)

Ethyl-2-Azido-3,4-di-O-benzyl-2-desoxy-1-thio- α -D-mannopyranosid (208)



250 mg (0.531 mmol) der Verbindung **206** wurden in 2 ml Ethanthiol gelöst und bei 0 °C mit 1 ml konz. HCl versetzt. Die Reaktionslösung wurde 24 h bei RT gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionsmischung neutralisiert, mit Essigsäureethylester versetzt und mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EE = 8:1 → 3:1) gereinigt.

Ausbeute: **207**: 83 mg (0.170 mmol) = 32 %;

208: 32 mg (0.074 mmol) = 14 %;

206: 14 mg (0.037 mmol) = 7 %.

Analytische Daten von Verbindung 207

Rf: 0.26 (PE/EE = 2:1).

¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 7.40 - 7.28 (m, 10 H, Ph), 4.83-4.57 (d, 8 H, CH₂Ph), 4.41 (t, *J* = 4.4 und 4.4 Hz, 1 H, 3'-H), 4.28 (d, *J* = 2.4 Hz, 1 H, 1-H), 4.13 (dd, *J* = 9.2 und 2.7 Hz, 1 H, 2-H), 4.08 (dd, *J* = 9.1 und 2.2 Hz, 1 H, 3-H), 4.04 (d, *J* = 7.5 Hz, 1 H, 1'-H), 3.95-3.89 (m, 2 H, 5-H, 5'-H), 3.85-3.72 (m, 6 H, 4-H, 4'-H, 6-Ha, 6'-Ha, 6'-Hb 2'-H), 3.72 (dd, *J* = 11.6 und 4.4 Hz, 1 H, 6-Hb), 2.79 – 2.50 (m, 8 H, SCH₂CH₃), 1.26 – 1.16 (m, 12 H, SCH₂CH₃) ppm.

¹³C - NMR (100 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 77.16 ppm) : δ = 137.8 (s, C-ipso Bn an 3), 137.4 (s, C-ipso Bn an 4), 128.8 – 127.9 (10xd, Ph), 79.0 (d, C-3), 76.3 (d, C-4), 74.5 (t, CH₂Ph an 3), 73.8 (t, CH₂Ph an 4), 72.1 (d, C-5), 63.7 (t, C-6), 63.6 (d, C-2), 53.1 (d, C-1), 25.1, 24.4 (2xt, SCH₂CH₃), 14.3 (2xq, SCH₂CH₃, 1) ppm.

¹³C - NMR (100 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 77.16 ppm) : δ = 137.8 (s, C-ipso Bn an 3), 137.3 (s, C-ipso Bn an 4), 128.8 – 127.9 (10xd, Ph), 78.1 (d, C-3), 78.1 (d, C-4), 74.5 (t, CH₂Ph an 3), 74.0 (t, CH₂Ph an 4), 71.3 (d, C-5), 67.1 (d, C-2), 65.0 (t, C-6), 54.1 (d, C-1), 26.1, 25.6 (2xt, SCH₂CH₃), 14.7, 14.4 (2xq, SCH₂CH₃, 1) ppm.

HRMS (ESI): (M + Na)⁺ berechnet für C₂₄H₃₃N₃O₄S₂Na₁: 514.1810,
gefunden: 514.1813.

Öl, gelb, C₂₄H₃₃N₃O₄S₂, MG = 491.6665 g/mol.

Analytische Daten von Verbindung 208

Rf: 0.20 (EE/Me = 2:1).

Drehwert: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -19.4$ (c = 0.9, CHCl₃).

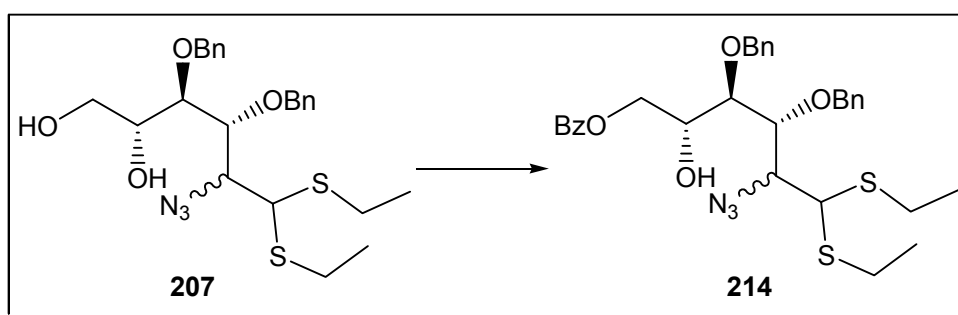
^1H - NMR (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 7.46 - 7.30$ (m, 10 H, Ph), 4.93 (d, $J = 10.9$ Hz, 1 H, CH_2Ph an 3), 4.80 (d, $J = 11.6$ Hz, 1 H, CH_2Ph an 4), 4.73 (d, $J = 11.6$ Hz, 1 H, CH_2Ph an 4), 4.67 (d, $J = 10.9$ Hz, 1 H, CH_2Ph an 3), 4.61 (d, $J = 1.0$ Hz, 1 H, 1-H), 4.06 (dd, $J = 3.6$ und 1.0 Hz, 1 H, 2-H), 3.92 (dd, $J = 9.2$ und 9.2 Hz, 1 H, 4-H), 3.90 (dd, $J = 12.3$ und 2.7 Hz, 1 H, 6-Ha), 3.85 (dd, $J = 9.2$ und 3.6 Hz, 1 H, 3-H), 3.74 (dd, $J = 12.3$ und 4.9 Hz, 1 H, 6-Hb), 3.35 (ddd, $J = 9.2$, 4.9 und 2.7 Hz, 1 H, 5-H), 2.74 (dd, $J = 15.0$ und 7.5 Hz, 2 H, SCH_2CH_3), 1.31 (dd, $J = 7.5$ und 7.5 Hz, 3 H, SCH_2CH_3) ppm.

^{13}C - NMR (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 77.16$ ppm) : $\delta = 137.9$ (s, C-ipso Bn an 3), 137.3 (s, C-ipso Bn an 4), 128.5 – 127.8 (10xd, Ph), 82.9 (d, C-3), 82.6 (d, C-1), 79.0 (d, C-5), 75.3 (t, CH_2Ph an 3), 74.0 (d, C-4), 72.3 (t, CH_2Ph an 4), 63.4 (d, C-2), 61.9 (t, C-6), 25.8 (t, SCH_2CH_3), 15.1 (q, SCH_2CH_3) ppm.

HRMS (ESI): $(\text{M} + \text{Na} + \text{CH}_3\text{CN})^+$ berechnet für $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{N}_4\text{O}_4\text{S}_1\text{Na}_1$: 493.1885, gefunden: 493.1890.

Öl, gelb, $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}_1$, MG = 429.5325 g/mol.

2-Azido-6-O-benzoyl-3,4-di-O-benzyl-2-desoxy-D-glucose-di-S-ethyl-di-thio-acetal (214)



100 mg (0.203 mmol) der Verbindung **207** wurden unter Argonatmosphäre in 2 ml abs. DCM gelöst und bei 0°C zuerst mit $35.5\ \mu\text{l}$ (0.305 mmol, 1.5 Äq) 2,6 - Lutidin und anschließend mit $30.7\ \mu\text{l}$ (0.264 mmol, 1.3 Äq) Benzoylchlorid versetzt. Die Reaktionslösung wurde 6 h bei 0°C gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionsmischung drei Mal mit Wasser und ein Mal mit gesättigter Natriumchlorid - Lösung extrahiert. Die organische Phase wurde über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde einrotiert. Der Rückstand wurde mittels Säulenchromatographie

(PE/EE = 8:1) gereinigt.

Ausbeute: 78 mg (0.132 mmol) = 65 %.

Rf: 0.75 (PE/EE = 2:1).

¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 7.26 ppm): δ = 8.10 - 8.03 (m, 2 H, 3-H Bz), 7.65 - 7.59 (m, 1 H, 4-H Bz), 7.52 - 7.49 (m, 2 H, 2-H Bz), 7.41 - 7.28 (m, 10 H, Ph), 4.94 - 4.68 (m, 8 H, 2x CH₂Ph an 4, 2xCH₂Ph an 3), 4.64-4.58 (m, 2 H, 6-Ha, 6`-Ha), 4.52 (dd, *J* = 11.9 und 2.5 Hz, 1 H, 6-Hb), 4.49-4.44 (m, 2 H, 6`-Hb, 3`-H), 4.31 (d, *J* = 2.0 Hz, 1 H, 1-H), 4.28-4.21 (m, 2 H, 5-H, 5`-H), 4.20 (dd, *J* = 9.4 und 2.0 Hz, 1 H, 2-H), 4.16 (dd, *J* = 9.4 und 1.9 Hz, 1 H, 3-H), 4.09 (d, *J* = 7.5 Hz, 1 H, 1`-H), 3.93 (dd, *J* = 8.0 und 1.9 Hz, 1 H, 4-H), 3.85 (dd, *J* = 6.8 und 3.8 Hz, 1 H, 4`-H), 2.80 - 2.51 (m, 8 H, SCH₂CH₃), 1.33-1.30 (m, 12 H, SCH₂CH₃) ppm.

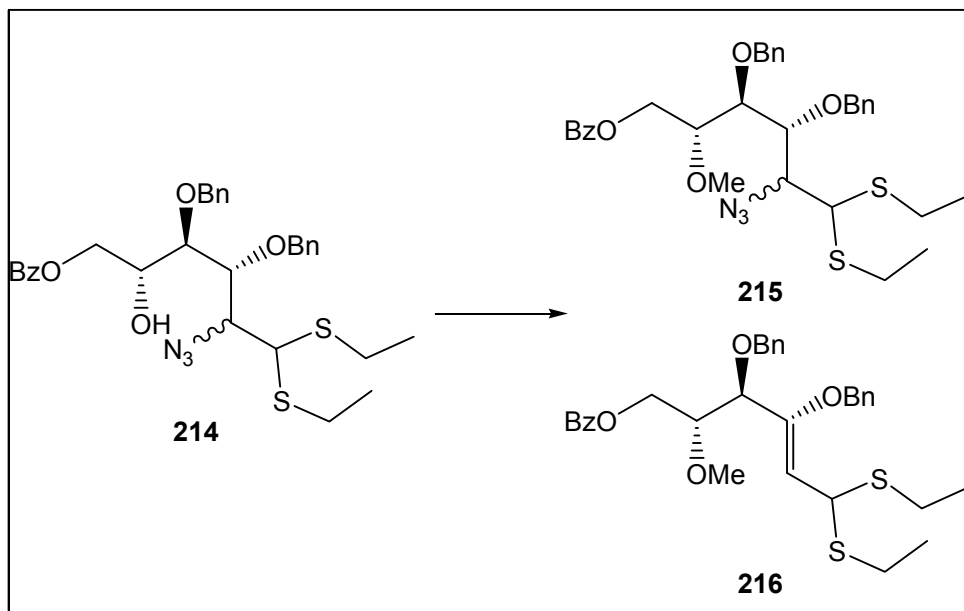
¹³C - NMR (100 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 77.16 ppm) : δ = 166.9 (s, C=OPh), 137.5 (s, C- ipso Bn an 4), 137.3 (s, C-ipso Bn an 3), 133.3 (s, C-4 Bz), 129.8 (s, C-ipso Bz), 128.7 – 127.8 (14xd, Ph), 79.3 (d, C-3), 77.0 (d, C-4), 74.9 (t, CH₂Ph an 3), 73.7 (t, CH₂Ph an 4), 70.9 (d, C-5), 66.4 (t, C-6), 65.5 (d, C-2), 52.9 (d, C-1), 25.0, 24.4 (2xt, SCH₂CH₃), 14.3 (2xq, SCH₂CH₃, 1) ppm.

¹³C - NMR (100 MHz, CDCl₃, CHCl₃ = 77.16 ppm) : δ = 167.2 (s, C=OPh), 137.9 (s, C- ipso Bn an 4), 137.7 (s, C-ipso Bn an 3), 133.5 (s, C-4 Bz), 129.9 (s, C-ipso Bz), 128.7 – 127.8 (14xd, Ph), 78.4 (d, C-4), 78.1 (d, C-3), 74.7 (t, CH₂Ph an 3), 74.1 (t, CH₂Ph an 4), 70.2 (d, C-5), 67.0 (t, C-2), 66.8 (d, C-6), 54.1 (d, C-1), 25.6, 24.4 (2xt, SCH₂CH₃), 14.7, 14.4 (2xq, SCH₂CH₃, 1) ppm.

HRMS (ESI): (M + Na)⁺ berechnet für C₃₁H₃₇N₃O₅S₂Na₁: 618.2072,
gefunden: 618.2075.

Öl, gelb, C₃₁H₃₇N₃O₅S₂, MG = 595.7726 g/mol.

2-Azido-6-O-benzoyl-3,4-di-O-benzyl-5-O-methoxy-2-desoxy-D-glucose-di-S-ethyl-di-thio-acetal (215) und Eliminierungsprodukt (216)



Unter Ausschluss von Luft und Feuchtigkeit wurden 91 mg (0.150 mmol) der Verbindung **214** in 3 ml abs. DCM gelöst. Anschließend wurden 40 mg (0.173 mmol, 1.1 Äq) Silberoxid und 186 μ l (2.99 mmol, 20 Äq) Methyljodid hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 8 h unter Rückfluss gekocht. Zur Aufarbeitung wurde das Silberoxid über Kieselgur abfiltriert und mit DCM gewaschen. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EE = 15:1) gereinigt.

Ausbeute: 75 mg (0.124 mmol) = 83 %, Gesamtausbeute, (**215/216** = 4:1).

Analytische Daten von Verbindung 215

Rf: 0.67 (PE/EE = 20:3).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 8.05 - 8.03$ (m, 2 H, 3-H Bz), 7.60 - 7.56 (m, 1 H, 4-H Bz), 7.47 - 7.43 (m, 2 H, 2-H Bz), 7.34 - 7.24 (m, 10 H, Ph), 4.95 (d, $J = 10.9$ Hz, 1 H, CH_2Ph an 4), 4.84 - 4.76 (m, 4 H, CH_2Ph an 4, $2 \times \text{CH}_2\text{Ph}$ an 3, 6-Ha), 4.41 (dd, $J = 12.3$ und 5.5 Hz, 1 H, 6-Hb), 4.36 (dd, $J = 6.4$ und 3.6 Hz, 1 H, 4-H), 4.13 (d, $J = 8.3$ Hz, 1 H, 1-H), 4.00 (t, $J = 3.6$ und 3.6 Hz, 1 H, 3-H), 3.68 (ddd, $J = 6.4$, 5.5 und 2.7 Hz, 1 H, 5-H), 3.62 (dd, $J = 8.3$ und 3.6 Hz, 1 H, 2-H), 3.47 (s, 3 H, OCH_3), 2.77 - 2.53 (m, 4 H, SCH_2CH_3), 1.26 (t, $J = 7.3$ und 7.3 Hz, 3 H, SCH_2CH_3), 1.26 (t, $J = 7.5$ und 7.5 Hz, 3 H, SCH_2CH_3) ppm.

^{13}C - NMR (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 166.5$ (s, $\underline{\text{COPh}}$), 138.4 (s, C- ipso Bn an 4), 137.9 (s, C- ipso Bn an 3), 133.2 (s, C-4 Bz), 130.1 (s, C- ipso Bz), 129.8 (s, C-3 Bz), 128.5 (6xd, Ph), 128.3 (s, C-2 Bz), 128.0 – 127.6 (4xd, Ph), 81.0 (d, C-5), 80.7 (d, C-4), 78.7 (d, C-3), 75.5 (t, CH_2Ph an 4), 74.5 (t, CH_2Ph an 3), 66.4 (d, C-2), 63.4 (t, C-6), 58.3 (q, OCH_3), 52.7 (d, C-1), 24.8, 24.0 (2xt, SCH_2CH_3), 14.4, 14.3 (2xq, SCH_2CH_3) ppm.

HRMS (ESI): (M + Na)⁺ berechnet für $\text{C}_{32}\text{H}_{39}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}_2\text{Na}_1$: 632.2229,
gefunden: 632.2239.

Öl, farblos, $\text{C}_{32}\text{H}_{39}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}_2$, MG = 609.7992 g/mol.

Analytische Daten von Verbindungen 215 und 216

Rf: 0.61 (PE/EE = 20:3).

^1H - NMR (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 8.11 - 8.02$ (m, 4 H, 3-H Bz), 7.61 -7.54 (m, 2 H, 4-H Bz), 7.49 - 7.40 (m, 4 H, 2-H Bz), 7.38 - 7.27 (m, 20 H, Ph), 6.19 (d, $J = 8.5$ Hz, 1 H, 1-H, B), 4.99 (dd, $J = 12.4$ und 2.2 Hz, 1 H, 6-Ha, A), 4.95 (dd, $J = 8.8$ und 3.4 Hz, 1 H, 3-H, B), 4.84 (d, $J = 11.6$ Hz, 1 H, CH_2Ph an, B), 4.83 (m, 1 H, 6-Ha, B), 4.82 (d, $J = 11.8$ Hz, 1 H, CH_2Ph an, A), 4.78 (d, $J = 11.8$ Hz, 1 H, CH_2Ph an, A), 4.73 (d, $J = 11.2$ Hz, 1 H, CH_2Ph an, A), 4.72 (d, $J = 11.2$ Hz, 1 H, CH_2Ph an, A), 4.67 (d, $J = 11.6$ Hz, 1 H, CH_2Ph an, B), 4.66 (d, $J = 11.9$ Hz, 1 H, CH_2Ph an, B), 4.45 (d, $J = 11.9$ Hz, 1 H, CH_2Ph an, B), 4.41 (dd, $J = 12.4$ und 4.3 Hz, 1 H, 6-Hb, A), 4.42 (m, 1 H, 6-Ha, B), 4.29 (d, $J = 2.2$ Hz, 1 H, 1-H, A), 4.20 (dd, $J = 9.2$ und 2.2 Hz, 1 H, 2-H, A), 4.07 (m, 2 H, 3-H, 4-H, A), 3.79 (ddd, $J = 6.9$, 4.1 und 2.7 Hz, 1 H, 5-H, A), 3.74 (m, 2 H, 4-H, 5-H, B), 3.45 (s, 3 H, OCH_3 , A), 3.32 (s, 3 H, OCH_3 , B), 2.96 - 2.54 (m, 8 H, SCH_2CH_3), 2.58 (dd, $J = 15.0$ und 7.5 Hz, 2 H, SCH_2CH_3), 1.29 - 1.19 (m, 12 H, SCH_2CH_3) ppm.

^{13}C - NMR (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 166.5$ (s, $\underline{\text{COPh}}$), 138.2 (s, C- ipso Bn an 3), 137.9 (s, C- ipso Bn an 4), 133.3 (s, C-4 Bz), 130.2 (s, C- ipso Bz), 129.8 (s, C-3 Bz), 128.6 – 127.5 (s, C-2 Bz; 10xd, Ph), 79.0 (d, C-5), 78.7 (d, C-4), 78.3 (d, C-3), 74.7 (t, CH_2Ph an), 74.5 (t, CH_2Ph an), 67.0 (d, C-2), 62.2 (t, C-6), 57.4 (q, OCH_3), 54.1 (d, C-1), 26.2, 25.6 (2xt, SCH_2CH_3), 14.8, 14.4 (2xq, SCH_2CH_3) ppm.

HRMS (ESI): $(M + Na)^+$ berechnet für $C_{32}H_{39}N_3O_5S_2Na_1$: 632.2229,
gefunden: 632.2239.

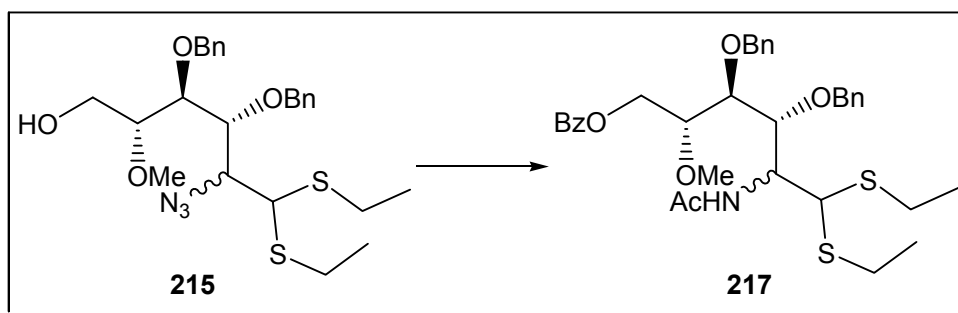
Öl, farblos, $C_{32}H_{39}N_3O_5S_2$, MG = 609.7992 g/mol.

^{13}C - NMR (100 MHz, $CDCl_3$, $CHCl_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 166.5$ (s, $\underline{C}OPh$), 138.5 (s, C-
ipso Bn an 3), 138.1 (s, C-ipso Bn an 4), 134.9 (d, C-1), 134.0 (d, C-2), 133.0 (s, C-4
Bz), 130.4 (s, C-ipso Bz), 129.8 (s, C-3 Bz), 128.5 – 127.7 (s, C-2 Bz; 10xd, Ph), 81.2
(d, C-4), 79.2 (d, C-5), 76.8 (d, C-3), 75.2 (t, CH_2Ph an), 71.0 (t, CH_2Ph an), 63.4 (t,
C-6), 58.0 (q, $O\underline{C}H_3$), 26.5, 27.1 (2xt, $S\underline{C}H_2CH_3$), 15.4, 14.4 (2xq, $SCH_2\underline{C}H_3$) ppm.

HRMS (ESI): $(M + Na)^+$ berechnet für $C_{32}H_{38}O_5S_2Na_1$: 589.2058, gefunden: 589.2084.

Öl, farblos, $C_{32}H_{38}O_5S_2$, MG = 566.7711 g/mol.

2-Acetamino-6-O-benzoyl-3,4-di-O-benzyl-5-O-methoxy-2-desoxy-D-glucose-di-S-ethyl-di-thio-acetal (**217**)



400 mg (0.656 mmol) der Verbindung **215** wurden in 12 ml Methanol gelöst und 240 mg Palladium auf Aktivkohle (10 %Pd) wurden hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 24 h unter Wasserstoffatmosphäre gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionslösung mit Aktivkohle versetzt, aufgeköcht und über Kieselgur filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EE = 12:1) gereinigt.

Ausbeute: 258 mg (0.413 mmol) = 63 % über zwei Stufen.

100 mg (0.164 mmol) der Verbindung **x** wurden in 3 ml Essigsäureethylester gelöst. Im Anschluss wurden 60 mg Palladiumacetat und 46 μ l (0.492 mmol, 3 Äq) Acetanhydrid hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 24 h unter Wasserstoffatmosphäre bei 5 bar gerührt. Zur Aufarbeitung wurde der Katalysator über Kieselgur filtriert und mit heißem Essigsäureethylester gewaschen. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde mittels Säulenchromatographie (PE/EE = 12:1) gereinigt.

Ausbeute: 71 mg (0.114 mmol) = 70 %.

Rf: 0.33 (PE/EE = 20:3).

^1H - NMR (400 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 7.26$ ppm): $\delta = 8.09 - 8.06$ (m, 2 H, 3-H Bz), 7.62 - 7.59 (m, 1 H, 4-H Bz), 7.50 - 7.46 (m, 2 H, 2-H Bz), 7.42 - 7.27 (m, 10 H, Ph), 6.49 (d, $J = 9.3$ Hz, 1 H, NH), 5.00 (dd, $J = 12.3$ und 2.1 Hz, 1 H, 6-Ha), 4.82 (d, $J = 10.9$ Hz, 1 H, CH_2Ph an 4), 4.78 (ddd, $J = 9.3$, 6.5 und 6.4 Hz, 1 H, 2-H), 4.76 (d, $J = 10.9$ Hz, 1 H, CH_2Ph an 4), 4.71 (d, $J = 11.4$ Hz, 1 H, CH_2Ph an 3), 4.59 (d, $J = 11.4$ Hz, 1 H, CH_2Ph an 3), 4.43 (dd, $J = 12.3$ und 5.4 Hz, 1 H, 6-Hb), 4.14 (dd, $J = 5.3$ und 2.8 Hz, 1 H, 4-H), 4.08 (t, $J = 6.4$ und 2.8 Hz, 1 H, 3-H), 4.01 (d, $J = 6.5$ Hz, 1 H, 1-H), 3.67 (ddd, $J = 5.4$, 5.3 und 2.1 Hz, 1 H, 5-H), 3.48 (s, 3 H, OCH_3), 2.75 - 2.59 (m, 4 H, SCH_2CH_3), 1.25 (t, $J = 7.5$ und 7.5 Hz, 6 H, SCH_2CH_3) ppm.

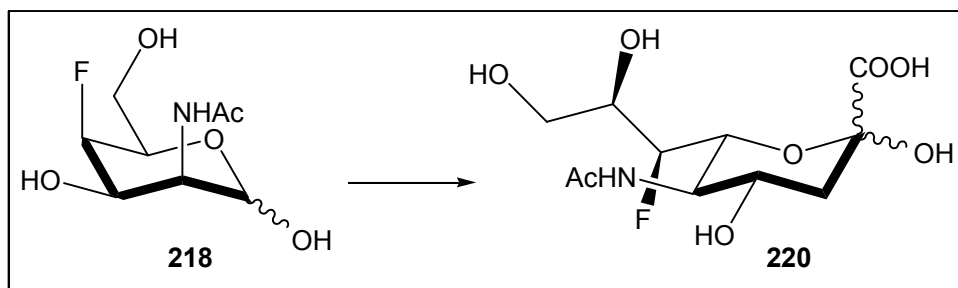
^{13}C - NMR (100 MHz, CDCl_3 , $\text{CHCl}_3 = 77.16$ ppm): $\delta = 170.4$ (s, NHCOAc), 166.4 (s, COPh), 137.8 (s, C-*ipso* Bn an 3), 136.7 (s, C-*ipso* Bn an 4), 132.2 (s, C-4 Bz), 129.2 (s, C-*ipso* Bz), 128.7 (s, C-3 Bz), 127.7 (2xd, Ph), 127.6 (s, C-2 Bz), 127.5 – 126.9 (8xd, Ph), 81.7 (d, C-5), 78.2 (d, C-4), 76.8 (d, C-3), 74.2 (t, CH_2Ph an 4), 72.6 (t, CH_2Ph an 3), 63.8 (t, C-6), 58.3 (q, OCH_3), 53.2 (d, C-1), 52.4 (d, C-2), 25.6, 25.1 (2xt, SCH_2CH_3), 23.4 (q, NHCOCH_3), 14.5, 14.4 (2xq, SCH_2CH_3) ppm.

HRMS (ESI): ($\text{M} + \text{Na}$)⁺ berechnet für $\text{C}_{34}\text{H}_{43}\text{N}_1\text{O}_6\text{S}_2\text{Na}_1$: 648.2429,
gefunden: 648.2430.

Öl, farblos, $\text{C}_{34}\text{H}_{43}\text{N}_1\text{O}_6\text{S}_2$, MG = 625.8383 g/mol.

5.2.8 Darstellung der Verbindungen aus Kapitel 3.5

5-Acetamido-7-fluoro-3,5-di-desoxy-D-galakto-2-nonulopyranosidonsäure (**220**)



5 mg (0.022 mol) der Verbindung **218** wurden in 0.5 ml 0.1 M Phosphatpuffer (pH = 7.5) gelöst und anschließend mit 24.7 mg (0.224 mmol, 10 Äq) Pyruvat, 3.5 mg (0.022 mmol, 1 Äq) DTT und Aldolase (20 U) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 24 h bei 32 °C inkubiert, erneut mit 10 Äq Pyruvat versetzt und weitere 24 h bei der gleichen Temperatur stehen gelassen. Zur Aufarbeitung wurde die Reaktionslösung gefriergetrocknet. Das Produkt wurde in 0.1 % Ameisensäure gelöst. Das Protein wurde ausgefällt. Die Sialinsäure wurde mittels HPLC an der Aminopropyl - Phase (0.1 % Ameisensäure, isokratisch) gereinigt.

Ausbeute: 3.9 mg (0.012 mmol) = 56 %.

¹H - NMR (500 MHz, D₂O): δ = 4.36 (dd, J = 45.7, und 8.5 Hz, 1H, 7-H), 3.96-3.83 (m, 3H, 4-H, 6-H, 8-H), 3.77 (dd, J = 10.3 und 10.3 Hz, 1H, 5-H), 3.67 (dd, J = 12.2 und 2.5 Hz, 1 H, 9-Hb), 3.52 (dd, J = 12.2 und 5.5 Hz, 1H, 9-Ha), 1.85 (s, NHCOCH₃, 3H), 2.26 (dd, J = 12.3 und 4.7 Hz, 1H, 3-Heq), 1.74 (t, J = 12.3 und 12.3 Hz, 1H, 3-Hax) ppm.

¹³C - NMR (100 MHz, D₂O): 178.2 (s, COOH), 174.5 (s, NHCOCH₃), 96.1 (s, C-2), 88.8 (d, J = 178.9, C-7), (d, J = 17.3, C-6), 67.5 (d, J = 26.6, C-8), 67.1 (d, C-4), 62.1 (t, C-9), 51.7 (d, C-5), 38.9 (t, C-3), 21.8 (q, NHCOCH₃) ppm.

HRMS (ESI): (M - H)⁻ berechnet für C₁₁H₁₇N₁O₈F₁: 310.0938, gefunden: 310.0945.

Amorph, weiß, C₁₁H₁₈N₁O₈F₁, MG = 311.2609 g/mol.

Transformation

Nach Herstellerangaben⁸³ wurden 50 µl des *E. coli* BL21 Star (DE3) one shot[®] chemisch kompetente Zellen auf Eis aufgetaut und mit 1 µl Plasmid pWVCjSAS versetzt. Der Transformationsansatz wurde zuerst für 30 min auf Eis, dann für exakt 30 s bei 42°C im warmen Wasserbad inkubiert und erneut für 1 min auf Eis gehalten. Anschließend wurden 250 µl SOC - Nährmedium hinzugegeben und bei 37°C 1 h bei 225 rpm inkubiert. Die transformierten Zellen wurden auf Agarplatten (LB - Medium, 50 µg/ml Kanamycin) ausgestrichen und bei 37°C über Nacht inkubiert.

Expression

Die gut bewachsenen Agarplatten wurden mit 2 ml LB - Medium versetzt und die Zellen wurden suspendiert. Mit jeweils 1 ml dieser Kultur wurden zwei 250 ml Kolben mit jeweils 100 ml LB - Medium (50 µg/ml Kanamycin) angeimpft und bei 30°C und 150 rpm für 1 h inkubiert. Nach Zugabe von IPTG (1 mM Endkonzentration) wurde für weitere 1.5 h inkubiert und die Zellen wurden danach geerntet. Dazu wurden die Zellen auf Eis gekühlt und abzentrifugiert (4°C, 5000 rpm, 10 min). Die Pellets wurden in 1 ml Puffer (50 mmol Bicin, 10 mmol MgCl₂, pH = 8.0) resuspendiert und sonifiziert (4x25 s, 0°C). Das Lysat wurde abzentrifugiert (20 min, 4°C, 14 000 rpm) und der Überstand wurde gesammelt.

Proteinaufreinigung

Die Ni - NTA - spin - Säule wurde mit 600 µl Lysis - Puffer (50 mmol NaH₂PO₄ · H₂O, 300 mmol Natriumchlorid, 10 mmol Imidazol, pH = 8.0) equilibriert und mit offenem Deckel zentrifugiert (2 min, 4°C, 2 000 rpm). Das Lysat wurde auf die prä -equilibrierte Säule gegeben und mit geschlossenem Deckel zentrifugiert (3 min, 4°C, 2 000 rpm). Die Säule wurde zwei Mal mit dem Wasch - Puffer (50 mmol NaH₂PO₄ · H₂O, 300 mmol Natriumchlorid, 20 mmol Imidazol, pH = 8.0) gewaschen (2 min, 4°C, 2 000 rpm). Anschließend wurde das Protein drei Mal mit dem Elution -Puffer (50 mmol NaH₂PO₄ · H₂O, 300 mmol Natriumchlorid, 250 mmol Imidazol, pH = 8.0) eluiert (2 min, 4°C, 2 000 rpm). Das Eluat wurde gesammelt und vier Mal mit je 1.5 ml Puffer (50 mmol Bicin, 10 mmol MgCl₂, pH = 8.0) auf 250 µl ultrafiltriert (4°C, 5 000 rpm) und schockgefroren.

⁸³ Invitrogen life technologies, Catalog nos. C6020-03, Version D.

Bestimmung der Enzymreinheit durch denaturierende Polyacrylamid - Gelelektrophorese (SDS - Page)

Das Polyacrylamid - Gel wurde entsprechend der unten angegebenen Zusammensetzung angesetzt. Das Trenngel wurde in den vertikalen Gelträger gegossen und nach Auspolymerisierung mit dem Sammelgel überschichtet. Der Kamm wurde eingesetzt. Gelöste Proben und 10 µl des Markers wurden mit 10 µl Lauf -Puffer versetzt. Anschließend wurden alle Proben vor dem Auftragen auf das Gel 5 min bei 100°C denaturiert. Die Proteinauftrennung erfolgte mit Hilfe einer Mini - Vertikal - Doppel - Elektrophorese - Kammer (Carl Roth, Karlsruhe) über 3 h bei 125 V. Nach dem Gellauf wurde das Sammelgel entfernt und das Trenngel wurde für 60 min in der Fixierlösung inkubiert. Anschließend wurde das Gel mit der vorbereiteten Roti - Blue - Lösung 15 h gefärbt, in eine saubere Färbeschale überführt, in einer Waschlösung für 10 min inkubiert und über Wochenende in einer Stabilisierungslösung aufbewahrt. Die gefärbten Gele wurden für 30 min in Trocknerlösung gelegt, die nach 15 min gewechselt wurde. Alle Schritte dieser Durchführung erfolgen unter Schütteln bei Raumtemperatur. Das fertige Gel wurde zwischen Celophanfolie an der Luft getrocknet.

Folgende Puffer und Lösungen wurden zur Herstellung des Proteingels verwendet:

Sammelgel (5 %)

1.46 ml Wasser (bidest), 250 µl Tris - HCl - Puffer (8x, pH = 6.8), 20 µl 10xSDS - Lsg, 20 µl 10xAPS - Lsg, 250 µl 40 % Acrylamid, 2 µl TMEDA

Trenngel (10 %)

3.6 ml Wasser (bidest), 1.875 ml Tris - HCl - Puffer (4x, pH = 8.8), 75 µl 10xSDS - Lsg, 75 µl 10xAPS - Lsg, 1.875 ml 40 % Acrylamid, 3 µl TMEDA

Marker

125 mM Tris - HCl - Puffer, 5 % (w/v) SDS, 25 % (v/v) Glycerol, 0.25 % (w/v) Bromthymolblau, pH - 6.8

Fixierlösung

79 ml Wasser, 1 ml Phosphorsäure (85 %), 20 ml Methanol

Färbelösung

60 ml Wasser und 20 ml Methanol mischen, unter Rühren 20 ml Roti - Blue (5xkonz.) dazugeben

Waschlösung

75 ml Wasser, 25 ml Methanol (99.8 %)

Stabilisierungslösung

20 g Ammoniumsulfat in Gesamtvolumen 100 ml lösen

Trocknerlösung

10 ml Glycerin (99.5 %), 20 ml Ethanol, 70 ml Wasser

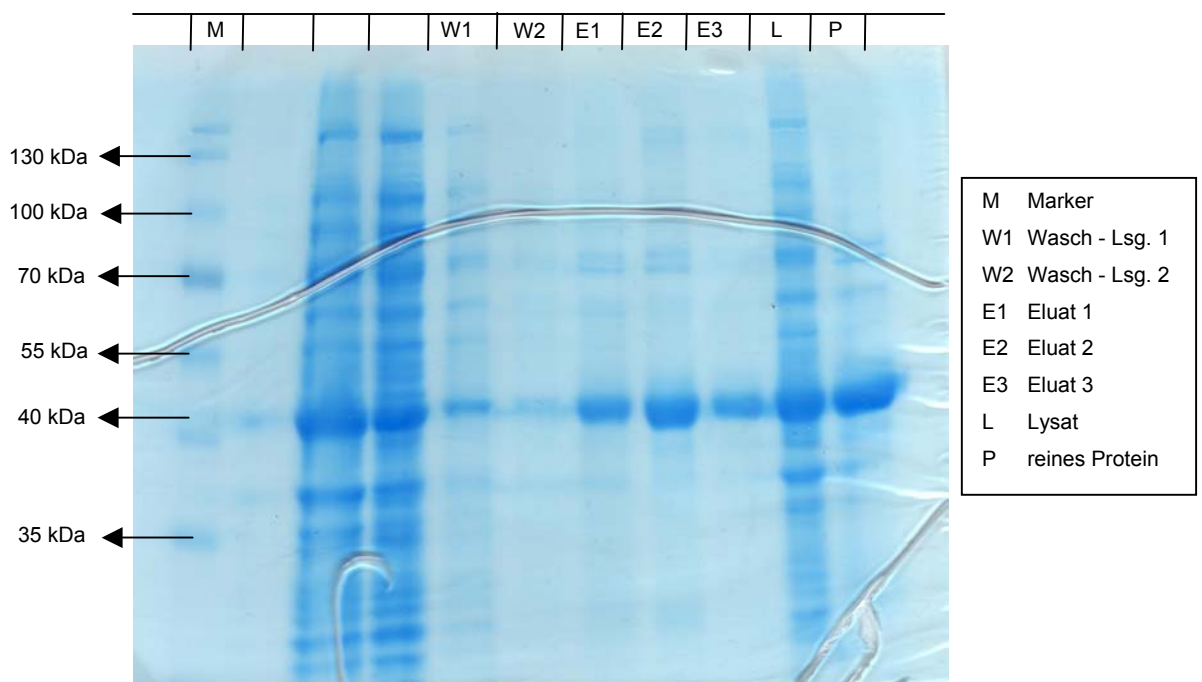


Abbildung 5.1: SDS - Page der Expression

Danksagung

Ich danke Herrn Professor Dr. A. Kirschning für die freundliche Aufnahme in seinen Arbeitskreis und Ermöglichung dieser Arbeit.

Herrn Dr. G. Dräger danke ich für die interessante Themenstellung und Betreuung dieses Projektes.

Herrn Professor Dr. Mike Boysen danke ich für die Übernahme des Koreferats.

Weiterhin bedanke ich mich bei allen Mitgliedern des Arbeitskreises Kirschning für das tolle Klima, die gute Zusammenarbeit und ständige Hilfsbereitschaft.

Bei meinen ehemaligen und jetzigen Labor - Kollegen und Mitgliedern des AK Dräger Dipl. - Chem. Silke Berski und Dr. Csilla Kiss bedanke ich mich für die angenehme Arbeitsatmosphäre. Mein ganz besonderer Dank geht dabei an Silke Berski, für viel Spass (Käfer) und Humor an guten wie an weniger guten Tagen.

Dipl. - Biochem. Almut Günzel und Dipl. - Biochem. Melanie Oshlies danke ich für das Zurverfügungstellen der Enzyme.

Dipl. - Chem. Silke Berski, Dipl. - Chem. Kai Bechstein und Dipl. - Chem. Öznur Kökpınar danke ich für die kritische Durchsicht dieser Arbeit.

Für experimentelle Arbeiten im Rahmen der Fortgeschrittenenpraktika danke ich den Studenten Ulrike Assmann, Viktoria Ankerstein, Ilir Mehmeti, Inga Degenhardt, Nicola Rautzenberg und Wiebke Prilop.

Den Mitarbeitern der spektroskopischen Abteilung Dr. Dieter Albert und Dr. Edgar Hofer, aber ganz besonders herzlich Dagmar Körtje und Monika Rettstadt danke ich für die Hilfsbereitschaft und das Aufnehmen der NMR - Spektren.

Dank auch an Rainer Nöthel für die prompte massenspektrometrischen Analyse.

Meinen Eltern danke ich in jeglicher Hinsicht für die fortwährende Unterstützung in den letzten Jahren.

Ganz besonderer Dank gilt meinem Freund Alexander, der mir mit seiner Unterstützung und seinem Verständnis immer zur Seite stand und somit wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat.