

**Darstellung und Untersuchung von
hochglykosilierten β -Peptiden als Oligosaccharid-
Mimetika**

Dissertation

der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Eberhard Karls Universität Tübingen
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Naturwissenschaften
(Dr. rer. nat.)

vorgelegt von
Holger Schäfer

Tübingen
2011

Tag der mündlichen Prüfung:

Dekan:

1. Berichterstatter:

2. Berichterstatter:

19. Oktober 2011

Prof. Dr. Wolfgang Rosenstiel

Prof. Dr. Thomas Ziegler

Prof. Dr. Martin E. Maier

**Meiner Familie in Liebe
und Dankbarkeit gewidmet.**

Mein Dank gilt:

Herrn Prof. Dr. T. Ziegler für die Überlassung des Themas sowie die hervorragende Betreuung und Förderung und die vielen Freiheiten bei der Bearbeitung des Themas.

Herrn Prof. Dr. M. E. Maier für seine Tätigkeit als Mitberichter.

Herrn Dr. G. Lemanski für die stete Diskussionsbereitschaft, das Korrekturlesen und die vielen wertvollen praktischen Ratschläge.

Allen Mitarbeitern des Arbeitskreises Ziegler für die gute Zusammenarbeit. Insbesondere meinen verschiedenen Boxenkollegen.

Den Damen P. Krüger und A. Just für die Durchführung der Elementaranalysen.

Herrn P. Schuler für die Aufnahme der NMR-Spektren am AMX 600.

D. Wistuba, G. Nicholson, H. Bartholomä , R. Müller, B. Kammerer, P. Haiss und C. Krause für die Aufnahme der FT-ICR-, FAB- und MALDI-TOF-Massenspektren.

Marc Bohner für die mikrokalorimetrischen Messungen.

Allen Praktikanten, die in irgendeiner Form am Zustandekommen dieser Arbeit beteiligt waren.

Meiner Familie, die das alles durch ihre Unterstützung erst möglich gemacht hat.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Allgemeiner Teil	4
2.1	Lektine	4
2.1.1	Einteilung der Lektine	5
2.1.1.1	Einfache Lektine	5
2.1.1.2	„Mosaic lectins“ und „macromolecular assemblies“	5
2.1.2	Lektin-Kohlenhydrat-Wechselwirkungen	6
2.1.2.1	Beiträge zur Lektin-Kohlenhydrat-Bindung	7
2.1.2.2	Polyvalente Bindungen	10
2.1.2.3	Spezifität der Lektin-Kohlenhydrat-Bindungen	12
2.1.3	Funktionen von Lektinen	14
2.1.3.1	Pflanzenlektine	16
2.1.3.2	Tierische und bakterielle Lektine	16
2.2	Oligosaccharide und Oligosaccharid-Mimetika	20
2.2.1	Oligosaccharide als biologische Informationsträger	20
2.2.2	Oligosaccharid-Mimetika	22
2.3	Konzept von neo-Glykopeptiden als Oligosaccharid-Mimetika	24
2.3.1	Allgemeiner Aufbau der neo-Glykopeptidbausteine	25
2.3.2	Verwendete Kohlenhydrate	25
2.3.3	Aufbau und Funktion des Spacer-Moleküls	26
2.3.3.1	Alkylische Spacer	27
2.3.3.2	Aromatische Spacer	28
2.3.3.3	Alkylische Spacer mit zusätzlicher funktioneller Gruppe	30
2.3.4	Asparaginsäure als Rückgrat	30
2.4	Darstellung der neo-Glykopeptidbausteine	32
2.4.1	Übersicht über Methoden zur Darstellung von Thioglykosiden	32
2.4.1.1	Radikalische Glykosilierung	32
2.4.1.2	Umsetzung von Glykosyldonoren mit Thiolen	32
2.4.1.3	1-Thioglykopyranoside als Nukleophil	33
2.4.2	Darstellung von Bausteinen mit alkylischen Spacern	34
2.4.2.1	Optimierung der Alkylierung des anomeren Thiols	34
2.4.2.2	Knüpfung der Peptidbindung zwischen Aglykon und Asparaginsäure	38
2.4.2.3	Darstellung weiterer neo-Glukopeptidbausteine mit linearen alkylischen Spacern	40

2.4.2.4	Darstellung von neo-Glukopeptidbausteinen mit verzweigten alkyli- schen Spacern	44
2.4.2.5	Darstellung von Mannose- und Galaktosebausteinen	47
2.4.3	Darstellung von Bausteinen mit aromatischen Spacern	48
2.4.3.1	Darstellung von Bausteinen mit aromatischen Spacern	49
2.4.3.2	Darstellung von Bausteinen mit phenylischen Seitenketten	52
2.4.3.3	Darstellung von Mannose- und Galaktosebausteinen	55
2.4.4	Darstellung von Bausteinen mit heteroaromatischen Spacern	56
2.4.5	Darstellung von Bausteinen mit alkyli- schen Spacern und zusätzlicher funktioneller Gruppe	58
2.5	Darstellung der neo-Glykopeptide	63
2.5.1	Peptidkupplungsmethoden	65
2.5.2	Festphasensynthesen von neo-Glykopeptiden	68
2.5.2.1	Synthesen an einem Rink-Amid-Harz als fester Phase	68
2.5.2.2	Synthesen an einer Zellulosemembran als fester Phase	70
2.5.3	Lösungsmittelsynthesen von neo-Glykopeptiden	72
2.5.3.1	Konvergente Synthesestrategie	72
2.5.3.2	Synthese aus Bausteinen	73
2.5.3.3	Wechselwirkungen des Tetrapeptids 137 mit PHA-E	84
3	Experimenteller Teil	86
3.1	Allgemein	86
3.2	Verwendete Chemikalien und Arbeitsweise	89
3.3	Umsetzungen	90
3.3.1	Allgemeine Arbeitsvorschriften	90
3.3.2	Zu Kapitel 2.4.2	93
3.3.3	Zu Kapitel 2.4.3	129
3.3.4	Zu Kapitel 2.4.4	156
3.3.5	Zu Kapitel 2.4.5	162
3.3.6	Zu Kapitel 2.5.3	171
3.3.7	Zu Kapitel 2.5.2	184
4	Zusammenfassung	188
5	Anhang	193
5.1	Bezifferung der Verbindungen	193
5.2	Abkürzungen	201

5.3 NMR-Spektren wichtiger Verbindungen	204
6 Literaturverzeichnis	257

1 Einleitung

Nachdem die Kohlenhydrate in ihrer biologischen Bedeutung in der Wissenschaft lange Zeit auf ihre Funktion als Gerüstsubstanz und Energiespeicher beschränkt wurden, sind sie, meist als Glykoproteine oder Glykolipide, in den letzten Jahrzehnten als weiterer wichtiger biologischer Informationsspeicher neben den Proteinen und den Nucleinsäuren zunehmend in den Fokus der Wissenschaft gerückt. So ist heute neben der Genomik und der Proteomik auch die Glykomik, oder allgemeiner die Glykobiologie, einer der großen Schwerpunkte biochemischer Forschung^[1]. Da Glykokonjugate häufig weitaus komplexer und strukturell vielfältiger sind als die meisten Proteine oder Nucleinsäuren^[2], haben in den letzten Jahren vor allem verbesserte analytische und theoretische Methoden dazu beigetragen, Strukturen und Funktionen von Glykokonjugaten besser zu verstehen^[3, 4, 5, 6].

Gerade die hohe strukturelle Variabilität der Kohlenhydrate in Glykoproteinen und Glykolipiden macht sie besonders geeignet als biologische Informationsträger. Häufig spricht man in diesem Zusammenhang vom „Zuckercode“, der im Vergleich zur DNA oder zu Proteinen bei vergleichbarem Molekulargewicht eine weit höhere Diversität ermöglicht. So sind mit den vier natürlich vorkommenden Nucleinbasen 4096 verschiedene Hexanucleotide, mit den zwanzig proteinogenen Aminosäuren $6.4 \cdot 10^7$ Hexapeptide, mit zwanzig verschiedenen Monosacchariden aber bis zu $1.44 \cdot 10^{15}$ verschiedene Hexasaccharide möglich^[7]. Auch wenn nicht jede dieser möglichen Strukturen in der Natur Anwendung findet, spiegeln sich in diesen Zahlen dennoch die großen Schwierigkeiten und auch Chancen beim Versuch, diesen Zuckercode zu verstehen.

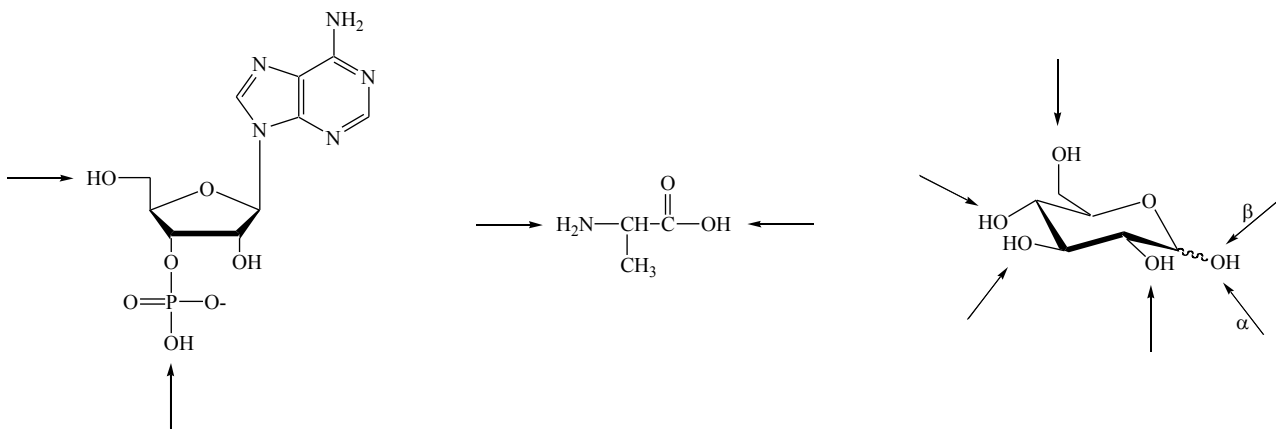


Abbildung 1.1: Variabilität der Bausteine verschiedener Biomoleküle am Beispiel von Deoxyadenosinmonophosphat (DNA), Threonin (Proteine) und Glucose (Saccharide)

Häufig als Glykoprotein oder Glykolipid in die Zellwand eingebettet, werden die Informationen solcher Zuckercodes durch Proteine, in der Regel Lektine, gelesen^[8] und führen zu den verschiedensten biologischen Vorgängen. So sind Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen z.B. an der Zell-Zell-Erkennung, der Zelldifferenzierung, intrazellulärer Kommunikation oder der Entstehung von Entzündungen, Infektionen oder auch von Tumoren beteiligt^[9, 10, 11, 12, 13].

Da viele dieser Mechanismen noch nicht im Detail aufgeklärt sind, viele der beteiligten Oligosaccharide synthetisch nur schwer zugänglich sind und zusätzlich die hohe metabolische Umsatzrate vieler *N*- oder *O*-glykosidisch gebundener Kohlenhydrate häufig zu einer schlechten Bioverfügbarkeit führen, verwundert es nicht, daß trotz der enormen biologischen Relevanz von Glykopeptiden die Zahl kohlenhydratbasierter Arzneistoffe lange Zeit vergleichsweise gering war^[14], mittlerweile aber in vielen Bereichen zunehmend an Bedeutung gewinnen. Neben dem schon seit den 1940er Jahren als Antithrombosemittel erfolgreichen Heparin und der Herstellung bestimmter Impfstoffe^[15, 16], könnten in der Zukunft Glykokonjugate als antivirale und antibakterielle Wirkstoffe oder als Inhibitoren bei der Bekämpfung von Krebserkrankungen^[17] eine immer wichtigere Rolle spielen. Die Untersuchung der dabei auftretenden Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen auf molekularer Ebene ist wichtig für das Verständnis solcher Wirkungsweisen und eine Voraussetzung für die gezielte Verbesserung solcher Wirkstoffe.

Eine Möglichkeit zur Lösung der schwierigen synthetischen Zugänglichkeit von Oligosacchariden sind Neoglykokonjugate. Dabei kommen sowohl Neoglykopeptide, Neoglykolipide als auch Glykopolymere und Glykodendrimere in Betracht. Neoglykokonjugate, die in der Lage sind, natürliche Oligosaccharide zu imitieren, werden als Glykomimetika bezeichnet.

Ein Schwerpunkt unserer Arbeitsgruppe liegt in der Entwicklung und Synthese solcher Glykomimetika, hauptsächlich von Neoglykopeptiden und Glykopolymeren. So entwickelte D. Rösling eine Synthesestrategie, die es ermöglicht, Neoglykopeptide aus Bausteinen auch kombinatorisch aufzubauen^[18]. Diese Bausteine sind aufgebaut aus einem Rückgrat, an welches über Spacer verschiedene Zucker angebracht werden können. Jan Hörzer und Ralf Daiber konnten anschließend anhand einfacher Färbetests nachweisen, daß solche, an fester Phase aufgebaute Neoglykopeptide Affinitäten zu verschiedenen Lektinen zeigen^[19, 20]. Dabei wurde auch deutlich, daß neben dem Kohlenhydrat selbst auch dem Spacer eine große Rolle bei der Bindung zu einem Lektin zukommt. So konnte von Jan Hörzer gezeigt werden, daß aromatische Spacer die Affinitäten deutlich erhöhen.

Ziel der vorliegenden Arbeit war:

- Synthese neuer S-Glykopeptidbausteine und Entwicklung neuer Synthesestrategien.
- Nasschemischer und kombinatorischer Aufbau hochglykosilierter β -Peptide.
- Untersuchungen der Lektinaffinitäten eines hergestellten β -Peptids.

2 Allgemeiner Teil

2.1 Lektine

In natürlichen Glykoproteinen enthaltene Kohlenhydrate sind neben der Einflussnahme auf die intrinsischen Eigenschaften der Proteine auch entscheidend als Bindungspartner für Proteine bei zahlreichen physiologischen und pathologischen Vorgängen. Die dabei beteiligten Kohlenhydrat-erkennenden Proteine lassen sich in drei Kategorien einteilen: Antikörper, Enzyme und Lektine.

Die Geschichte der Lektine als Gegenstand wissenschaftlicher Forschung reicht bereits bis in die Mitte des 19. Jahrhunderts zurück. Im Jahr 1860 beschrieb der Arzt S. W. Mitchell in einer Veröffentlichung eine Beobachtung, wonach bestimmte Schlangengifte zu einer raschen Gerinnung von Taubenblut führen^[21]. Ihm unbekannt war es, daß die Ursache dafür bei bestimmten Proteinen, den sog. Lektinen lag. So hatte er, ohne es selber zu wissen, den ersten wissenschaftlichen Artikel veröffentlicht, in dem Lektine eine zentrale Rolle spielen, denn erst bedeutend später konnte dieser Effekt auf die Wechselwirkung zwischen den Erythrozyten des Taubenblutes und einem in dem Schlangengift enthaltenen C-Typ-Lektin zurückgeführt werden.

Das erste isolierte Pflanzenlektin schließlich war Ricin, ein hochgiftiges Hämagglutinin aus dem Wunderbaum (*Ricinus communis*), welches 1888 von Peter Hermann Stillmark im Rahmen seiner Doktorarbeit an der Universität Dorpat beschrieben wurde^[22]. Die Entdeckung der Zuckerselektivität von Lektinen geht auf Karl Landsteiner^[23] und die Arbeiten von J. B. Sumner und S. F. Howell zurück, welche zeigen konnten, daß die Hämagglutination von Concanavalin A mit Saccharose inhibiert werden kann^[24] und so entscheidend zur Aufklärung der molekularen Unterschiede der einzelnen Blutgruppen beitragen^[25, 26]. Die Möglichkeit, mittels bestimmter Pflanzenagglutinine die Erythrozyten verschiedener Blutgruppen unterscheiden zu können, führte schließlich auch zur Namensgebung Lektin^[27]. Der Name leitet sich von lateinisch *legere* – *auswählen* ab. 1972 führten Sharon und Lis die heute geltenden Definition der Lektine ein^[28], nach der mit Lektinen Proteine bezeichnet werden, die spezifisch Kohlenhydratstrukturen erkennen können, aber weder eine enzymatische Wirkung haben, noch ein Produkt immunologischer Prozesse sind^[29].

2.1.1 Einteilung der Lektine

Eine früher gängige Einteilung der Lektine ordnet diese bezüglich ihrer Selektivität gegenüber Monosacchariden in fünf Gruppen ein: D-Mannose, D-Galaktose / *N*-Acetyl-D-galaktosamin, *N*-Acetyl-D-glucosamin, L-Fucose und *N*-Acetyl-D-neuraminsäure. Da aber immer mehr Lektine entdeckt werden, die gar keine oder nur sehr geringe Affinitäten gegenüber Monosacchariden zeigen, verwendet man heute für die Einteilung von Lektinen in der Regel strukturelle Eigenschaften. Hier lassen sich drei Hauptgruppen unterscheiden: einfache Lektine, „mosaic lectins“ und „macromolecular assemblies“^[30].

2.1.1.1 Einfache Lektine

Einfache Lektine bestehen aus einer geringen Anzahl von Untereinheiten, zumeist zwei oder vier, die nicht identisch sein müssen und meist ein Molgewicht unter 40 kDa besitzen. Dabei besitzt jede der monomeren Untereinheiten eine Bindungsstelle für Kohlenhydrate. Die meisten der Pflanzenlektine gehören zu dieser Gruppe, z.B. Lektine aus Hülsenfrüchten, wie Concanavalin A und Phytohämagglutinin (PHA) oder Lektine aus Getreide, wie etwa Weizenkeimagglutinin (WGA), ebenso wie die früher als S-Lektine bezeichneten Galektine, eine Lektinfamilie, die vor allem bei Säugetieren zu finden ist und selektiv an Laktose und *N*-Acetyllaktosamin bindet.

Aufgrund der guten Verfügbarkeit wurden in dieser Arbeit ausschließlich Lektine aus Hülsenfrüchten (überwiegend Concanavalin A (Con A) und Phytohämagglutinin-E (PHA-E)) zur Untersuchung von Glykopeptid-Lektin-Wechselwirkungen verwendet. Die Monomere dieser Lektine bestehen jeweils aus einer einzigen Polypeptidkette und benötigen zur Ausbildung der Bindungsstelle Ca^{2+} - und Mn^{2+} -Ionen.

2.1.1.2 „Mosaic lectins“ und „macromolecular assemblies“

„Mosaic lectins“ setzen sich aus verschiedenen Proteinen mit unterschiedlichen Molgewichten zusammen, von denen jeweils nur eines eine Kohlenhydrat-Bindungsstelle trägt. Zu dieser Gruppe gehören sowohl virale Hämagglutinine als auch tierische Lektine des C-, P- und I-Typs.

„Macromolecular assemblies“ findet man ausschließlich in Bakterien. Sie sind Teil der Fimbrien und tragen so zur Anheftung des Bakteriums an tierische Zellen bei.

2.1.2 Lektin-Kohlenhydrat-Wechselwirkungen

Lektine können Kohlenhydrate als Liganden in den verschiedenen Formen binden. So sind Bindungen zu einfachen Monosacchariden genauso möglich wie zu Polysacchariden oder Glykokonjugaten.

Alle auftretenden Lektin-Kohlenhydrat-Wechselwirkungen mit reinen Kohlenhydraten haben eine hohe Spezifität, sind aber vergleichsweise schwach (Dissoziationskonstanten im millimolaren Bereich) und somit reversibel^[31]. In der Regel stellt dabei jedes Lektin zwei oder mehr Bindungsstellen für Kohlenhydrate (CRD) zur Verfügung. Dies wiederum ermöglicht multivalente Bindungen von Oligosacchariden oder Glykonjugaten mit mehreren CRDs, was zu einer deutlich erhöhten Affinität führt. Weiterhin besteht so die Möglichkeit eines „cross-linking“ von Zellen, wie z. B. schon von Mitchell bei der Agglutinierung von Erythrozyten durch Schlangengift beobachtet. Zusätzlich zur eigentlichen Kohlenhydrat-Bindungstasche haben einige Pflanzenlektine auch spezielle hydrophobe Bindungsstellen, an die beispielsweise Phytohormone wie Indol-3-essigsäure oder Adenin anbinden können^[32].

Im Gegensatz zu den zumeist spalten- und rillenförmigen CRDs von anderen kohlenhydratspezifischen Proteinen^[33] wie z. B. Enzymen sind die CRDs von Lektinen im allgemeinen nur flache Vertiefungen auf der Proteinoberfläche, so daß nur ein kleiner Ausschnitt eines Oligo- oder Polysaccharids tatsächlich gebunden wird^[31]. So ist auch die geringere Selektivität und Affinität gegenüber Monosacchariden im Vergleich zu Enzymen erklärbar. Zwar wird selektiv zwischen den in Abschnitt 2.1.1 aufgeführten Monosacchariden unterschieden, aber es kann gewisse Toleranzen bezüglich einzelner Positionen im Pyranosering und α - / β -Anomerie geben. Beispielsweise können Lektine, die selektiv Galaktose erkennen, normalerweise auch an *N*-Acetylgalaktose binden und umgekehrt. Die Derivatisierung der 2-Position spielt bei Galaktose bindenden Lektinen also anscheinend nur eine untergeordnete Rolle.

Ein weiterer Unterschied zu Enzymen besteht darin, daß die CRDs von Lektinen in der Mehrzahl der Fälle aus einer einzigen Polypeptidkette gebildet werden, die nur wenige Konformationsänderungen beim Bindungsprozess zeigen. Bei Pflanzenlektinen sind zur Bildung der Bindungstasche zusätzlich sowohl Ca^{2+} als auch ein zweiwertiges Übergangsmetall, in der Regel Mn^{2+} , nötig^[34]. Diese Metallionen können auch direkt an der Bindung zwischen Kohlenhydrat und Lektin beteiligt sein (C-Typ Lektine, s. Abbildung 2.3)^[35]. Des Weiteren haben Lektine in der Nähe ihrer CRDs ausgeprägte hydrophobe Bereiche („hydrophobic ridge“), die durch Bindungen mit dem Aglykon großen Einfluss auf die Bindungsstärke nehmen können^[20, 36, 37]. Gewöhnlich haben die CRDs nur innerhalb einer Lektin-Familie dieselbe Struktur, Lektine unterschiedlicher

Familien mit gleicher Selektivität haben dagegen trotzdem meist strukturell sehr unterschiedliche CRDs^[38].

2.1.2.1 Beiträge zur Lektin-Kohlenhydrat-Bindung

Für gewöhnlich setzen sich die Bindungen von Lektinen zu Glykokonjugaten aus mehreren Teilen zusammen:

- Wasserstoffbrücken, sowohl einfach als auch kooperativ.^[33, 39]
- Über Wasser als Brückenmoleküle vermittelte Wasserstoffbrückenbindungen.^[40, 41]
- Hydrophobe Wechselwirkungen, sowohl innerhalb der Bindungstasche mit aromatischen Seitenketten der Aminosäuren des Lektins^[42, 43], als auch außerhalb der Bindungstasche zwischen Aglykon und Lektin.^[36, 37]
- Van der Waals-Kräfte.
- Selten sind auch ionische Wechselwirkungen zu finden.

Aufgrund der Vielzahl von Hydroxy-Gruppen bei Kohlenhydraten kommen Wasserstoffbrückenbindungen bei der Bindung zu Lektinen in grosser Zahl vor. Sie sind gerichtete Bindungen und somit hauptsächlich für die Selektivität der Lektin-Kohlenhydrat-Bindung verantwortlich. Dabei werden Bindungen sowohl zu den Aminosäuren des Peptidrückgrats gebildet, als auch zu funktionellen Gruppen in deren Seitenketten. Häufig werden auch Wasserstoffbrückenbindungen zwischen Kohlenhydraten und Lektinen nicht direkt, sondern indirekt über Wasserbrücken gebildet^[44].

Die Wasserstoffbrückenbindungen bei Protein-Kohlenhydrat-Wechselwirkungen können in drei Kategorien eingeteilt werden: Normale, mehrzählige und kooperative Wasserstoffbrückenbindungen (s. Abbildung 2.1).

Mehrzählige Wasserstoffbrücken liegen vor, wenn benachbarte Hydroxy-Gruppen von Monosacchariden Bindungen mit verschiedenen Atomen einer Aminosäureseitenkette ausbilden, z. B. bei Wasserstoffbrückenbindungen zu Glutamin- oder Asparaginsäure.

Als kooperativ bezeichnet man Wasserstoffbrückenbindungen, bei denen die Hydroxy-Funktion sowohl als Donor wie auch als Akzeptor fungiert.

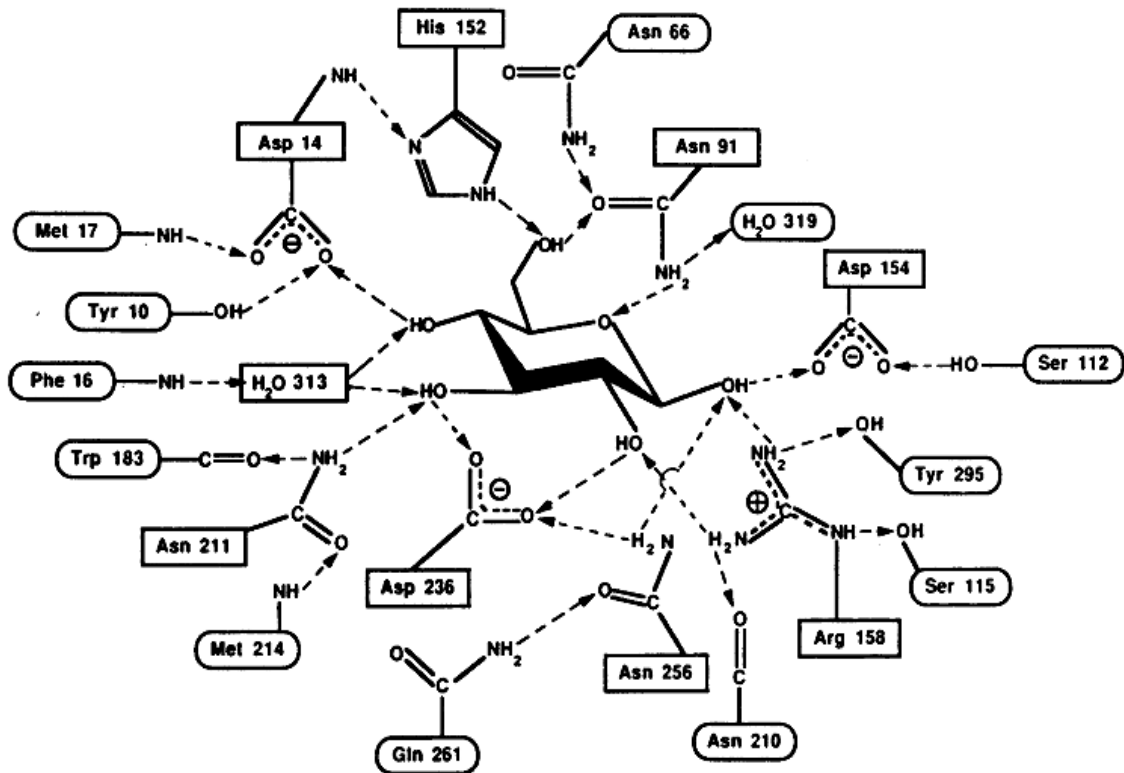


Abbildung 2.1: Wasserstoffbrückenbindungen bei der Bindung von D-Glucose an das E-Coli D-Galactose Binding Protein^[45]

Häufig kommen daher Asparaginsäure, Asparagin, Glutaminsäure, Histidin und Arginin in den Bindungsstellen von kohlenhydratspezifischen Proteinen vor, da nur diese in der Lage sind, alle drei Formen von Wasserstoffbrückenbindungen auszubilden. Die Bindungsenergie einer einzelnen Wasserstoffbrückenbindungen liegt bei etwa 20 kJ/mol, der Anteil von Wasserstoffbrücken an der Gesamtenergie der Bindung von Kohlenhydraten zu Lektinen ist mit 20-40 kJ/mol aber deutlich geringer als die Summe der Einzelbindungsenergien. Das liegt daran, daß zunächst die Wasserstoffbrückenbindungen zu den Lösungsmittelmolekülen (in der Regel Wasser) aufgebrochen werden müssen, bevor sich neue Ligand-Protein-Bindungen ausbilden können.

Weiterhin wichtig sind auch hydrophobe Wechselwirkungen und van der Waals-Kräfte:

Van der Waals-Kräfte beruhen auf induzierten Dipolen bei leicht polarisierbaren Verbindungen, und führen häufig zu Stapel-effekten zwischen den hydrophoben Seiten von Monosacchariden und aromatischen Aminosäuren. Van der Waals-Kräfte tragen so zu einer Unterscheidung der verschiedenen Monosaccharid-Epimere bei.

Als hydrophobe Wechselwirkungen bezeichnet man die Anlagerung mehrerer hydrophober Verbindungen aneinander in polaren Lösungsmitteln. Es handelt sich dabei um einen entropischen

Effekt^[46], der darauf beruht, daß sich bei der Anlagerung zweier hydrophober Bereiche die Oberfläche der unpolaren Verbindungen verkleinert. Dies führt zu einer Erhöhung der Bewegungsfreiheit der Lösungsmittelmoleküle und somit einer Zunahme der Entropie. Dieser Effekt tritt bei Faltungsprozessen von Proteinen^[46], wie auch bei der Bindung von Glykokonjugaten mit Lektinen auf^[47]. In diesem Fall zum einen durch Wechselwirkungen der hydrophoben Seiten von Monosacchariden mit den Seitenketten aromatischer Aminosäuren wie Phenylalanin, Tryptophan und Tyrosin und aliphatischer Aminosäuren wie Valin oder Leucin innerhalb, als auch des Aglykons mit hydrophoben Bereichen inner- und außerhalb der eigentlichen Bindungsstelle. Bei den hydrophoben Bereichen außerhalb der Bindungsstelle spricht man häufig auch vom „hydrophobic ridge“.

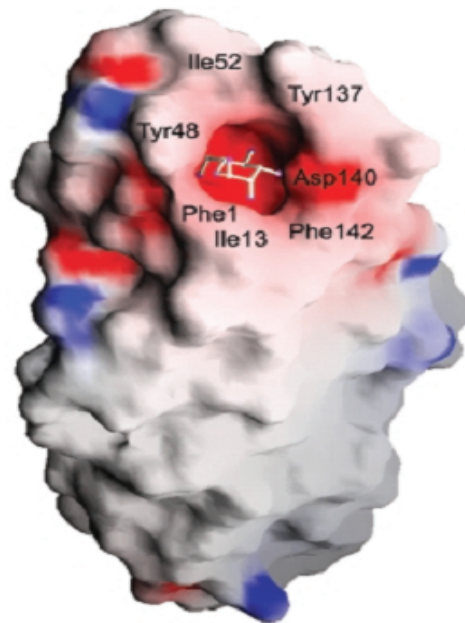


Abbildung 2.2: Potentialoberfläche der Rezeptorregion von FimH. Positiv geladene Bereiche sind blau, negativ geladene Bereiche rot dargestellt. Der Bereich um die Bindungstasche ist hydrophob („hydrophobic ridge“), und wird aus den Resten Ile13, Tyr48, Ile52 und Phe142 gebildet^[48].

Hydrophobe Wechselwirkungen sind ungerichtete Kräfte, tragen aber dennoch einen Teil zu der Selektivität der Bindung eines Kohlenhydrats an den Lektin-Rezeptor bei und können einen großen Einfluss auf die Bindungsstärke haben.

Ionische Wechselwirkungen dagegen haben nur bei wenigen Protein-Kohlenhydrat-Bindungen Bedeutung, so z.B. bei Heparin-Antithrombin III-Komplexen^[49] oder im Bezug auf Lektine bei der Anbindung von Sialyl-Lewis^x-Strukturen an sekundäre Bindungsstellen von Selektinen (Abb. 2.3).

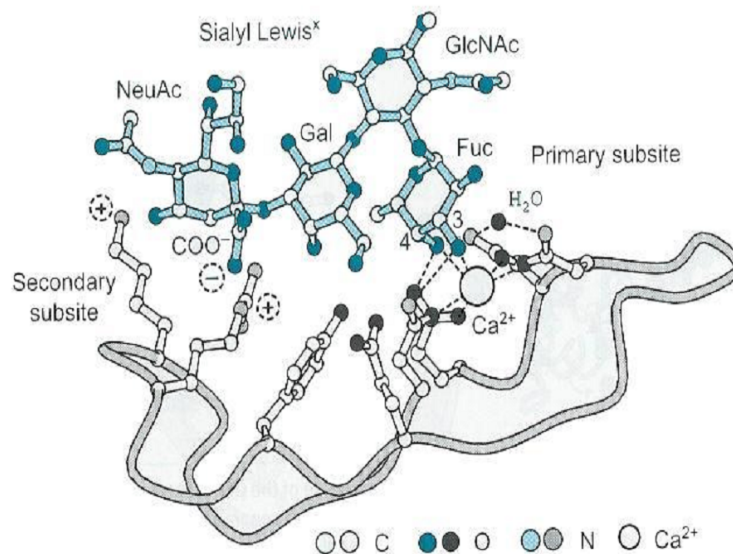


Abbildung 2.3: Ionische Wechselwirkungen und Beteiligung von Ca^{2+} -Ionen bei der Bindung einer Sialyl-Lewis^x-Struktur an ein Selektin^[50]

2.1.2.2 Polyvalente Bindungen

Im Vergleich zu Enzymen haben Lektine gegenüber Monosacchariden eine geringere Selektivität und Affinität. So sind einige Lektine in der Lage verschiedene Monosaccharide zu binden, bei denen nur die Orientierung einiger Hydroxylgruppen festgelegt sein muss. Ursächlich dafür sind die, im Vergleich zu den tiefen Bindungstaschen der Enzyme, nur flachen Bindungsstellen der Lektine, die nur eine geringe Anzahl direkter Kontakte mit den Liganden ermöglichen. Die Dissoziationskonstanten bewegen sich bei einer solchen Bindung üblicherweise nur im millimolaren Bereich, z. B. $K=2.1 \cdot 10^{-3} \text{ M}^{-1}$ bei der Bindung von D-Mannose an Concanavalin A^[51] oder $K=1.3 \cdot 10^{-3} \text{ M}^{-1}$ bei der Bindung von N-Acetylgalaktosamin an EcorL (Erythrina corallo-dendron lectin)^[52]. Dennoch zeigen die meisten Lektine eine überproportional hohe Selektivität und Affinität gegenüber bestimmten multivalenten Kohlenhydrat-Liganden (z.B. Oligosaccharide, Glykopeptide, Glykodendrimere und Glykolipide) im Vergleich zu monovalenten Kohlenhydrat-Liganden. Dieses Phänomen wird allgemein als Multivalenz bezeichnet, im Bezug auf Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen spricht man auch vom Glyko-Cluster-Effekt^[53, 54].

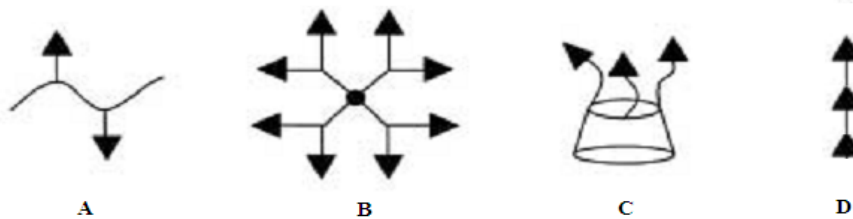


Abbildung 2.4: Schematische Darstellung verschiedenartiger Glykokonjugate, die polyvalente Bindungen eingehen können (A: Glykopeptide, B: Dendrimere, C: Cyclodextrine, D: Oligosaccharide)^[55]

So konnte beispielsweise gezeigt werden, daß Polymere mit zahlreichen Mannose-Resten eine um ca. 10000-fach gesteigerte Affinität zu Concanavalin A entwickeln können als monovalente Methyl- α -D-mannose. Zusätzlich zur Affinität wird auch die Selektivität einer solchen Bindung deutlich erhöht. Besitzt Concanavalin A eine viermal höhere Affinität zu Methyl- α -D-mannose als zu Methyl- α -D-glucose, so steigert sich dieser Wert auf das 1500-fache bei einem Vergleich ihrer polyvalenten Analoga^[56].

Polyvalente Bindungen können auf mehrere Arten erhalten werden:

- Polyvalente Liganden (s. Abbildung 2.4).
- Rezeptoren mit mehreren identischen Bindungsstellen (z. B. Antikörper oder Pflanzenlektine wie Concanavalin A, welches zweidimensionale Gitter mit Oligosacchariden bilden kann).
- Lektine mit erweiterten Bindungsstellen, die mehr als nur einen Kohlenhydratrest eines Oligosaccharids binden können.

Die erhöhten Affinitäten von Lektinen zu polyvalenten Kohlenhydrat-Liganden können dabei mehrere Gründe haben:

- Chelateffekte mit zwei primären als auch mit einer primären und einer sekundären Bindungsstelle.
- Sterische Stabilisierung durch verringerte Zugänglichkeit des Rezeptors durch andere Liganden.
- Statistische Effekte durch erhöhte lokale Konzentration von Liganden und Rezeptoren.

Zusätzlich trägt auch die Verknüpfung der einzelnen Liganden durch ein entsprechendes Rückgrat zu der Stärke einer polyvalenten Bindung bei. Zu große Abstände zwischen den einzelnen Bindungsstellen können so je nach Starrheit des Liganden-Rückgrats zu einer erhöhten Spannung im polyvalenten Liganden führen. Dennoch steigert auch in solchen Fällen der Chelateffekt die Anbindung beträchtlich^[57], sofern der Abstand noch überbrückt werden kann. In Fällen, in denen ein Ligand den Abstand zwischen zwei Bindungsstellen des Rezeptors nicht überbrücken kann, spielen nur statistische Effekte eine Rolle. In beiden Fällen kann es aber zusätzlich auch zur Ausbildung von linearen Ketten^[58, 59] und zweidimensionalen Gittern kommen^[60]. Es wird vermutet, daß solche Gitter auch biologische Bedeutung haben, beispielsweise beim Zelltod von T-Zellen^[61].

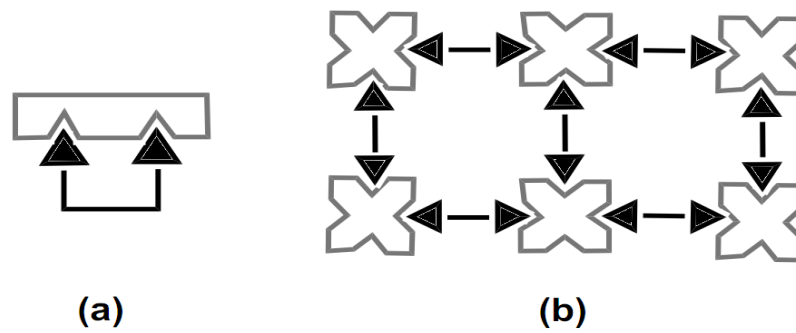


Abbildung 2.5: Chelateffekt (a) und Ausbildung eines zweidimensionalen Gitters (b)^[62]

Abgesehen von der Steigerung der Affinität zwischen Rezeptor und Ligand, werden in den meisten biologischen Systemen polyvalente Wechselwirkungen monovalenten starken Bindungen auch deshalb vorgezogen, da auf diese Weise ein besserer Kontakt zwischen zwei biologischen Oberflächen geschaffen werden kann, unterschiedlich starke Bindungen mit nur einem einzigen Liganden geschaffen werden können und schließlich polyvalente Bindungen die Selektivität eines Rezeptor-Ligand-Systems beträchtlich erhöhen können^[63].

2.1.2.3 Spezifität der Lektin-Kohlenhydrat-Bindungen

Wie in 2.1.1 beschrieben lassen sich Lektine im Wesentlichen nach ihrer Kohlenhydrat-Selektivität bezüglich der Monosaccharide D-Mannose, D-Galaktose/D-N-Acetylgalaktosamin, D-N-Acetylglukosamin, D-N-Acetylneuraminsäure und L-Fukose einteilen. Trotz der zahllosen natürlich vorkommenden Kohlenhydrate sind ausschließlich diese sechs bisher als Teil der Zelloberfläche eukaryotischer Zellen bekannt, und nur in Ausnahmefällen haben Lektine eine Affinität zu anderen Monosacchariden entwickelt, beispielsweise zu Mannose-6-phosphat oder zu N-Acetylgalaktose-6-

sulfat.

Einige Lektine tolerieren allerdings Derivatisierungen bestimmter Positionen des Pyranoserings. Häufig weisen Lektine mit einer Affinität zu Galaktose auch eine Affinität zu *N*-Acetylgalaktosamin auf. So bindet z. B. ECorL beide Monosaccharide etwa gleich stark. Diese Lektine werden deshalb in einer Gruppe zusammengefasst. Bezüglich der Selektivität auf α -/ β -Glykoside gibt es sowohl Lektine, die beide Anomere binden, als auch Lektine, die selektiv ein Anomer erkennen können.

Wichtig für die Selektivität und die Affinität ist auch das jeweilige Aglykon. Allgemein lässt sich sagen, daß aromatische Aglykone zu einer besonders hohen Affinität führen, was sich mit hydrophoben Bereichen nahe der Bindungsstellen („hydrophobic ridge“, s. Abbildung 2.2) und der Möglichkeit zur Ausbildung von π - π -Stapeleffekten erklären lässt. Beispielsweise zeigt Concanavalin A deutlich höhere Affinitäten zu den aromatischen als zu den entsprechenden aliphatischen Glykosiden^[64]. Diese Effekte können so groß werden, daß es zu einer Veränderung der Selektivität kommt. So zeigen Lektine mit einer deutlich höheren Selektivität für Methyl- α -Glykoside gegenüber Methyl- β -Glykosiden eine umgekehrte Selektivität bei den entsprechenden *p*-Nitrophenylglykosiden^[65].

Daneben gibt es auch Lektine, die keine Monosaccharide binden können sondern ausschließlich gegenüber Oligosacchariden Selektivitäten zeigen. Dazu zählt beispielsweise PHA-E, ein Lektin der Gartenbohne. Allerdings können als polyvalente Liganden miteinander verknüpfte Monosaccharide durchaus Bindungen zu PHA-E aufbauen.

2.1.3 Funktionen von Lektinen

Lektine sind in der Natur ubiquitär verbreitet (in Pflanzen, Pilzen, Viren, Bakterien, Invertebraten und Vertebraten) und haben die verschiedensten biologischen Funktionen (s. Tabelle 2.1), wobei es bei zahlreichen Lektinen nur Hypothesen, aber noch keine gesicherten wissenschaftlichen Erkenntnisse gibt.

Vorkommen der Lektine		Funktion
Pflanzen:	verschiedene Pflanzen	Abwehr von Fressfeinden
	Hülsenfrüchte	Symbiose mit Bakterien
Mikroorganismen:	Amöben	Infektion
	Bakterien	Infektion
	Viren	Infektion
Tiere:	Calnexin, Calreticulin	Kontrolle bei der Biosynthese von Glykoproteinen
	Collektine	Teil des angeborenen Immunsystems
	Galektine	Regulierung des Zellwachstums und der Apoptose
	L-Selektine	Bindung von Lymphozyten an Endothelzellen
	E-/P-Selektine	Ermöglichen Anbindung von Leukozyten an entzündetes Gewebe
	Siglecs	Zell-Zell-Interaktion im Immun- und Nervensystem
	Spermadhesin	Wechselwirkung zwischen Eizellen und Spermien

Tabelle 2.1: Beispiele für Lektine und ihre Funktionen^[66]

Allen Lektinen gemein ist die Fähigkeit, Kohlenhydrate selektiv zu binden und somit an verschiedenen Bindungsprozessen beteiligt zu sein. Deshalb ist anzunehmen, daß diese Fähigkeit in den meisten Fällen die Kerneigenschaft der biologischen Funktionen der Lektine ist.

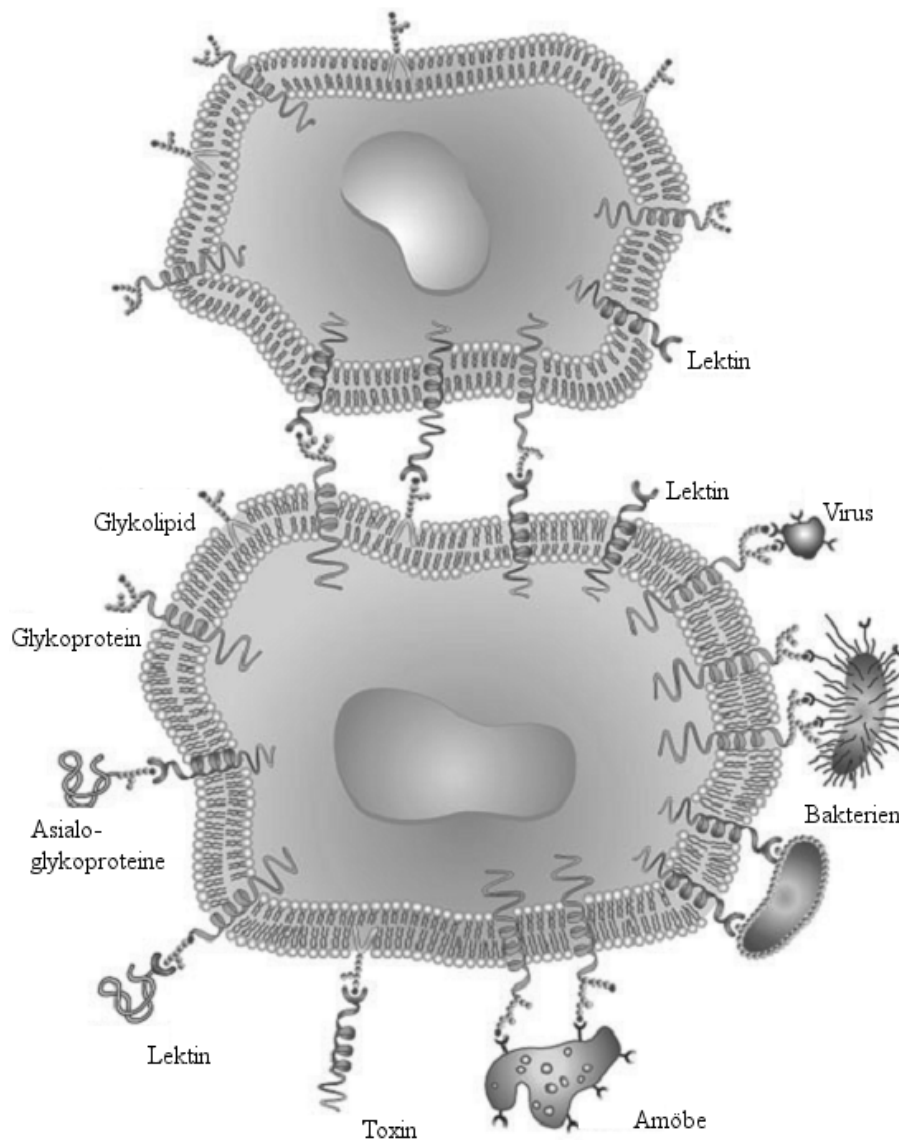


Abbildung 2.6: Schematische Darstellung von möglichen Lektin-Kohlenhydrat-Wechselwirkungen an der Zelloberfläche (Abbildung von BioCarb AB, Lund, Schweden)

Allerdings weisen einige Lektine zusätzliche Eigenschaften auf, die nicht notwendigerweise sekundär sind und hinter der Kohlenhydrat-Selektivität zurückstehen müssen, sondern im Gegenteil möglicherweise sogar die Hauptfunktion darstellen könnten. Als Beispiel kann hier der Aufbau einiger Hülsenfrüchtelektine dienen, die neben denen für Kohlenhydrate auch separate Bindungstaschen für Cytokinine ausbilden^[32, 67, 68]. Bei einigen dieser Lektine hat sich Cytokinin-Affinität im Laufe der Evolution erhalten, während sich die Kohlenhydrat-Selektivität gleichzeitig geändert hat. Das deutet darauf hin, daß in diesen Fällen die Kohlenhydrat-Selektivität nur einen lenkenden und regulierenden Effekt hat, die Affinität zu den Pflanzenhormonen aber tatsächlich die Hauptfunktion des Proteins darstellt^[69].

2.1.3.1 Pflanzenlektine

Durch ihre vergleichsweise einfache Zugänglichkeit sind Pflanzenlektine in der Vergangenheit zu wichtigen Werkzeugen bei der Aufklärung der Funktion von Glykokonjugaten im Tierreich geworden. Über die genaue eigene biologische Funktion vieler Pflanzenlektine gibt es immer noch nur wenige gesicherte Erkenntnisse.

Nach einer Theorie dienen Lektine den Pflanzen vornehmlich als Abwehrgifte gegen Pathogene, Insekten und andere Fressfeinde^[70, 71]. So konnte bereits 1978 gezeigt werden, daß die Lektine WGA (wheat germ agglutinin) und PNA (peanut agglutinin) das Wachstum verschiedener Pilze wie *Trichoderma viride*, *Aspergillus niger* oder *Penicillium notatum* inhibieren können^[72, 73]. Auch konnten die insektiziden Eigenschaften von Lektinen schon mehrfach nachgewiesen werden^[74, 75, 76]. Grundvoraussetzung für ein Abwehrgift gegen Pathogene ist die Fähigkeit, diese selektiv erkennen zu können, wie es bei der Anbindung von Lektinen an die Oberflächenglykoproteine und -lipide gegeben ist. In diesem Sinne kann man Lektine auch als pflanzliche Antikörper auffassen^[77, 78, 79]. So wurde nachgewiesen, daß sich die Konzentration bestimmter Lektine in verwundeten Pflanzenteilen erhöht.

Allerdings gibt es neben der Abwehr von Pathogenen und Feinden und der Beteiligung im Bereich der Pflanzenhormone auch Hinweise auf weitere Funktionen von Lektinen in Pflanzen, z. B. bei der Symbiose verschiedener Pflanzen mit stickstofffixierenden Bakterien aus der Familie der Rhizobien^[80, 81].

2.1.3.2 Tierische und bakterielle Lektine

In tierischen Organismen spielen Lektine hauptsächlich eine Rolle bei der Zell-Zell-Erkennung^[82] ähnlich der Schlüssel-und-Schloss-Theorie Emil Fischers^[83] mit Oligosacchariden als biologischen Informationsträgern und Lektinen als biologisches Werkzeug, diesen Glykocode zu entschlüsseln (s. Tabelle 2.2). So sind bereits zahlreiche biologische Prozesse bekannt, bei denen Lektine eine wichtige Rolle spielen, beispielsweise Infektionen, Entzündungen oder Krebserkrankungen^[30].

Biologischer Prozess	Kohlenhydrat	Lektin
Infektion	Wirtszelle	Pathogen
Pathogenabwehr	Phagozyt	Pathogen
	Pathogen	Phagozyt
Befruchtung	Eizelle	Spermium
Entzündungsreaktion	Leukozyten	Endothelzellen
	Endothelzellen	Leukozyten
Metastase	Zielorgan	Tumorzelle
	Tumorzelle	Zielorgan

Tabelle 2.2: Kohlenhydrate und Lektine in der Zell-Zell-Erkennung

Bevor es bei einer Infektion zur Verschmelzung der Virus- und der Zellmembran und der anschließenden Verteilung des viralen Genoms im Zytoplasma der Zelle kommen kann, ist zunächst die Adhäsion des Virus an die entsprechende Wirtszelle Grundvoraussetzung. Diese Adhäsion erfolgt über Anbindung viraler oder bakterieller Oberflächenlektine an bestimmte Oligosaccharidstrukturen in der Glykokalyx der Wirtszelle. Es ist beispielsweise bekannt, daß das Influenza Virus Hämagglutinin spezifisch *N*-Acetylneuraminsäure bindet. Entfernt man diese Kohlenhydrate mittels Sialidasen von der Zelloberfläche findet keine Infektion mehr statt. Ebenso ist es möglich eine Infektion durch Inhibition des entsprechenden viralen oder bakteriellen Lektins mit dem korrespondierenden Kohlenhydrat zu verhindern.

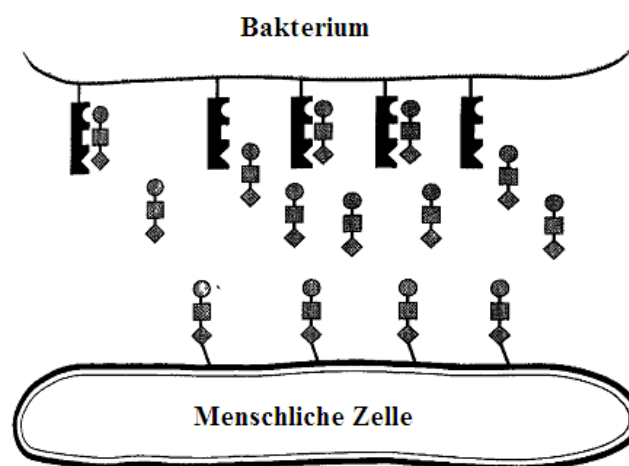


Abbildung 2.7: Schematische Darstellung der Inhibition des Oberflächenlektins eines Bakteriums durch Oligosaccharide^[84]

So kann man eine Infektion durch das Bakterium *Pseudomonas aeruginosa*, einem häufig in Krankenhäusern vorkommenden, multiresistenten und für eine Vielzahl schwerer Infektionskrankheiten wie Otitis externa oder Meningitis verantwortlichen Keim durch Gabe einer Mischung von Galaktose, Mannose und *N*-Acetylneuraminsäure behandeln^[84]. Weitere Beispiele sind die Inhibition der Adhäsion der Caco-2-Zelllinie durch *Echerichia Coli*, *Vibrio cholerae* und *Salmonella fytis*^[85] oder die Inhibition der Erreger *Streptococcus pneumoniae* und *Haemophilus influenzae* durch in Muttermilch vorkommende Oligosaccharide^[86].

Wie bereits im Kapitel 2.1.2 beschrieben, eignen sich in diesem Fall polyvalente neo-Glykokonjugate häufig besser zur Inhibition von Pathogenen als natürlich vorkommende Mono- oder Oligosaccharide. Allerdings muss in diesem Fall beachtet werden, daß diese neo-Glykokonjugate toxisch oder immunogen wirken können.

Bei Entzündungsprozessen sind Selektine (ein C-Typ Lektin) in der Adhäsionskaskade der Leukozyten (Extravasation) von Bedeutung.

Selektine können Sialyl-Lewis X Strukturen binden und werden durch aktivierte Endothelzellen auf der Oberfläche präsentiert und sorgen so dafür, daß in den Blutgefäßen frei bewegliche Leukozyten zunächst verlangsamt werden und schließlich an der Gewebeoberfläche entlang rollen^[87], bevor sie über Chemokine aktiviert werden und in das entzündete Gewebe eindringen.

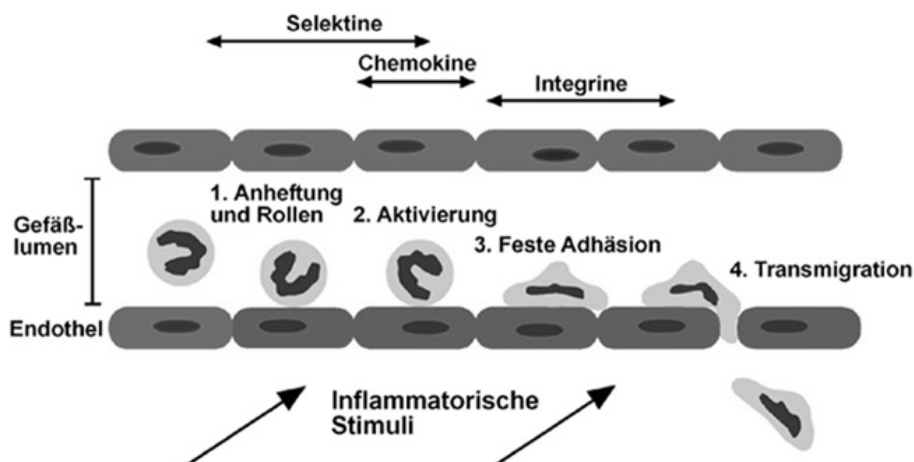


Abbildung 2.8: Adhäsion von Leukozyten an das Endothelgewebe bei Entzündungen durch sLe^x-Selektin-Wechselwirkungen^[88]

Darüber hinaus stehen Selektine neben den Galektinen im Verdacht, an der Metastase von Krebszellen im menschlichen Körper beteiligt zu sein. Auf Krebszellen lässt sich eine hohe Konzentration von Galektinen nachweisen, welche für die Adhäsion an die verschiedenen Organe verantwortlich scheinen^[89, 90, 91, 92]. Wie schon bei der Behandlung von Infektionen kann auch in diesem Fall durch gezielte Inhibition der Galektine die Metastasierung verringert oder ganz vermieden werden^[93, 94, 95].

Neben den oben beschriebenen pathogenen Adhäsionsprozessen sind Lektine auch beim Aufbau bestimmter Proteine beteiligt. So findet man im endoplasmatischen Retikulum nahezu aller eukaryotischen Zellen Calnexin und Calreticulin. Diese binden an bestimmte N-Glykoproteine und halten sie so lange im endoplasmatischen Retikulum zurück bis Foldasen die Proteine in die gewünschte Tertiärstruktur gebracht haben.^[96, 97, 98]

2.2 Oligosaccharide und Oligosaccharid-Mimetika

2.2.1 Oligosaccharide als biologische Informationsträger

Alle Zellen sind bedeckt mit einer Vielzahl verschiedener Kohlenhydrate, die kovalent an Membranproteine oder -lipide gebunden sind. Die Gesamtheit dieser Glykoproteine und Glykolipide nennt man Glykokalyx (von lat. *calyx* – *Kelch*). Diese Kohlenhydrate vermitteln oder beeinflussen zahlreiche zelluläre Interaktionen, da sie durch ihre strukturelle Vielfalt besonders als biologischer Code geeignet sind^[99, 100].

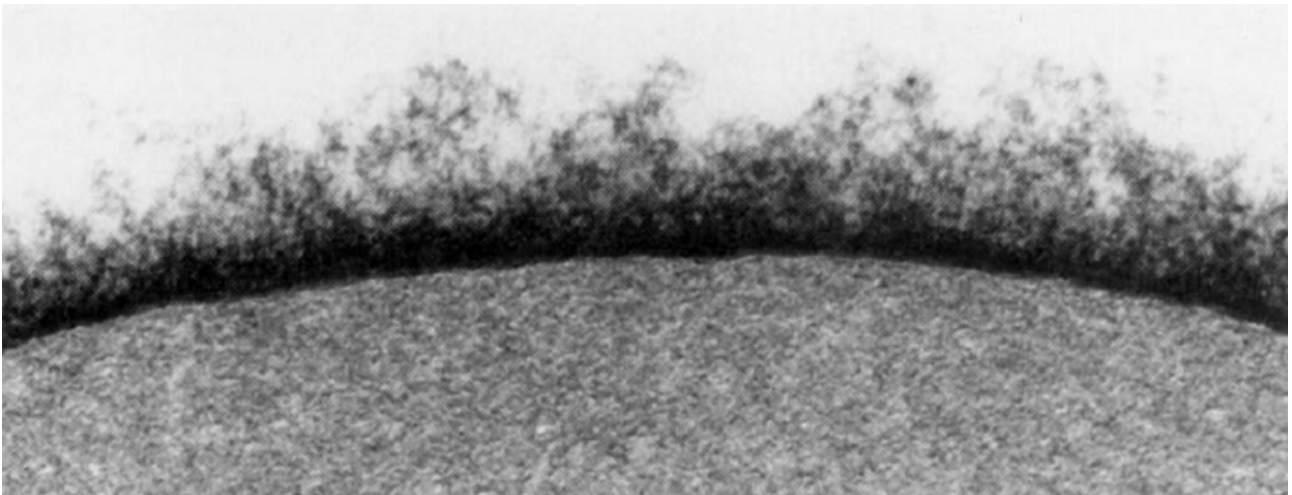


Abbildung 2.9: Elektronenmikroskopische Aufnahme der Glykokalyx eines Erythrozyten^[101]

Darüber hinaus beeinflussen Kohlenhydrate die Faltung von Proteinen und damit deren Funktion und biologische Aktivität oder dienen als Markierungen, mittels derer Proteine im Golgi-Apparat einer Zelle sortiert und schließlich an den entsprechenden Bestimmungsort gebracht werden können.

Untersuchungen haben gezeigt, daß etwa ein Prozent aller offenen Leserahmen eines tierischen Genoms mit dem Aufbau von Oligo- und Polysacchariden in Verbindung gebracht werden können^[102]. Im Unterschied zu Proteinen und Nukleinsäuren ist die Reihenfolge von Monosacchariden beim Aufbau komplizierterer Kohlenhydrate aber nicht direkt in der DNA festgelegt. Für die Biosynthese von Oligosacchariden und Glykoproteinen steht der Natur vielmehr eine Vielzahl von Enzymen zur Verfügung, mit denen Proteine in komplexen Prozessen co- und posttranslational glykosiliert werden können. Einige Enzyme sind in der Lage Kohlenhydrate an bestimmten Stellen eines Proteins anzubringen, andere können neue Kohlenhydrat-Kohlenhydrat-Bindungen knüpfen (Glykosyl-Transferasen) oder bereits vorhandene Kohlenhydrate wieder

entfernen (Glykosidasen), wobei in menschlichen Zellen in der Regel als letztes Kohlenhydrat Sialinsäure angefügt wird^[103]. Dies führt insgesamt zu einer heterogenen Mischung von Glykopeptiden mit gleichem Peptid-Rückgrat aber unterschiedlichen Oligosaccharid-Resten, den sog. „Glycoforms“, die anschließend häufig in der Zellmembran verankert werden (s. Abbildung 2.10).

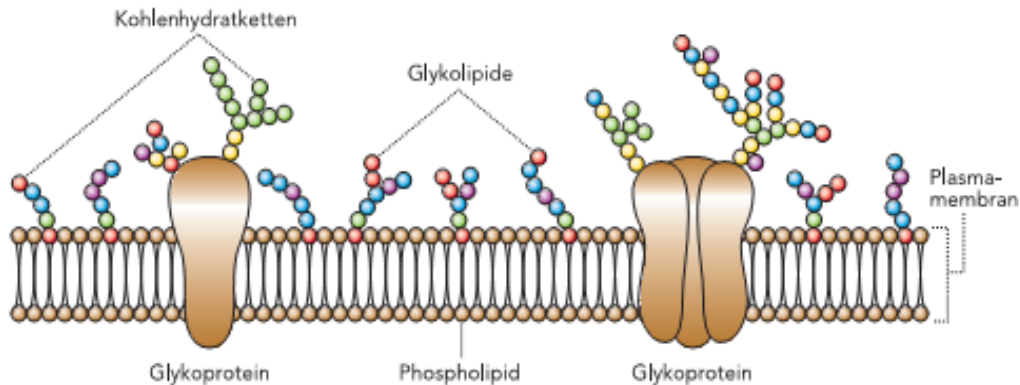


Abbildung 2.10: Schematischer Aufbau einer Zelloberfläche^[104]

Der schrittweise Aufbau der Kohlenhydrate und die Bildung von N- und O-Glykoproteinen findet dabei überwiegend intrazellulär im Endoplasmatischen Retikulum und im Golgi-Apparat statt^[105, 106].

Bei N-Glykoproteinen sind die Oligosaccharide über die Seitenkette einer Asparaginsäure mit dem Protein verknüpft^[107, 108, 109]. Bei tierischen Zellen findet diese Verknüpfung nahezu ausschließlich über β -N-Acetylglukosamin statt.

Allgemein besitzen alle N-Glykane eine gemeinsame Core-Region, können sich darüber hinaus aber stark unterscheiden^[110]. So sind Mannose-reiche, komplexe und hybride Typen bekannt^[50]. N-Glykoproteine kommen häufig und mit unterschiedlichsten

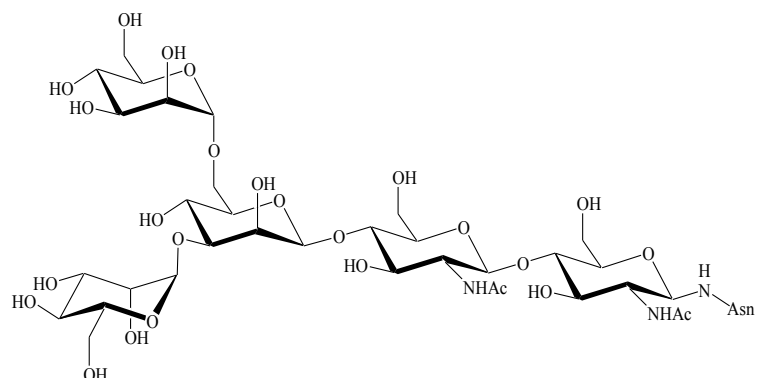


Abbildung 2.11: Core-Region von N-Glykoproteinen

Funktionen vor, etwa als Hormone^[111], Enzyme^[112], im angeborenen Immunsystem oder als Liganden für eine grosse Zahl von Rezeptoren auf der Zelloberfläche.

Bei O-Glykoproteinen sind mehr Verknüpfungsarten bekannt, zumeist erfolgt sie über N-Acetylgalaktosamin mit den Seitenketten von Serin oder Threonin (Mucin-Typ). Es sind aber

ebenso O-Glykoproteine mit Verknüpfungen von Fukose, Glukosamin oder Mannose mit den Seitenketten von Hydroxyprolin oder Tyrosin möglich^[113, 114, 115]. Auch O-glykosidisch verknüpfte Kohlenhydrate sind als Ligandmoleküle auf vielen Zelloberflächen von Bedeutung. Daneben kommen sie auch bei Plasmaproteinen wie z.B. Erythropoietin (neben weiteren N-glykosidisch verknüpften Kohlenhydraten) oder als elementarer Bestandteil von Frostschutz-Proteinen in arktischen Fischarten vor^[116].

Ein Sonderfall natürlicher Glykoproteine sind Glykosylphosphatidylinosit-Anker (GPI-Anker), die eine Mischform aus Glykolipid und -protein darstellen. Bei GPI-Ankern ist der Kohlenhydrat-Rest über Ethanolamin mit dem C-Terminus des Proteins verknüpft und bildet eine Brücke zwischen Protein und Lipid. GPI-Anker kommen häufig in den Membranen eukaryotischer Zellen vor und dienen diesen dazu, Proteine auf der Oberfläche zu verankern^[117].

2.2.2 Oligosaccharid-Mimetika

Die Einflussnahme auf die durch Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen gesteuerten biologischen Prozesse durch Verstärkung oder Inhibierung eröffnen ein großes Feld an Möglichkeiten neuer pharmazeutischer Wirkstoffe. Natürlich vorkommende Oligosaccharide sind allerdings nur schwer direkt als Therapeutika einsetzbar. Zum einen reduziert der schnelle Abbau durch Glykosidasen die Halbwertszeit von natürlichen Oligosacchariden enorm, zum anderen stellen die schwachen monovalenten Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen ein Problem dar^[14, 104]. Ein zusätzlicher Nachteil natürlicher Oligosaccharide ist ihre oftmals schwierige synthetische Zugänglichkeit, v. a. beim Aufbau der gewünschten glykosidischen Bindungen. Zwar werden die klassischen Glykosilierungsmethoden als auch neue Ansätze wie die vollautomatisierte Oligosaccharidsynthese^[118], Eintopfreaktionen^[119] oder (chemo-)enzymatische Methoden^[120, 121] ständig weiterentwickelt, dennoch stellen komplizierte Oligosaccharide noch immer eine nur mit großem Aufwand zu überwindende synthetische Hürde dar^[122, 123].

Aus den oben beschriebenen Nachteilen natürlich vorkommender Oligosaccharide, lassen sich folgende Bedingungen für Oligosaccharid-Mimetika ableiten:

- hohe Affinität und Selektivität gegenüber dem entsprechenden Rezeptor durch weitere funktionelle Gruppen, Einbeziehung des Aglykons in die Bindung und Multivalenz
- einfache synthetische Zugänglichkeit
- ausreichende Stabilität gegenüber enzymatischen Abbauprozessen
- gute Bioverfügbarkeit

Für den strukturellen Aufbau von Oligosaccharid-Mimetika sind grundsätzlich zwei verschiedene Ansätze denkbar:

Zum einen durch gezielte punktuelle Veränderungen natürlich vorkommender Kohlenhydrate, beispielsweise durch das Einfügen zusätzlicher oder das Entfernen für die Wechselwirkung nicht benötigter funktioneller Gruppen. Dadurch kann bei steigender Affinität gegenüber dem Rezeptor die Konformation des Kohlenhydrats in der Regel erhalten werden. Der synthetische Aufwand wird allerdings bei diesem Ansatz im allgemeinen nur geringfügig verringert, so daß weiterhin zahlreiche Schutzgruppenmanipulationen und Glykosilierungsschritte bis zur Erhaltung des gewünschten Produkts notwendig sind. Ebenso ist mit diesem Ansatz nur der gezielte Aufbau eines Oligosaccharid-Mimetikums für einen bestimmten Rezeptor möglich.

Da eine strukturelle Verwandtschaft zwischen Oligosaccharid und Mimetikum aber nicht notwendigerweise gegeben sein muss^[47], ist als zweite Möglichkeit ein komplett anderer Aufbau des Mimetikums denkbar. Dieser Ansatz ermöglicht neben besseren Affinitäten den Einsatz synthetisch einfacher herzustellender Substanzen, beispielsweise über Peptidkupplungen (s. auch Abbildung 2.12) oder Polymerisierungen. So können neo-Glykopeptide, Glykopolymere oder Glykodendrimere als Mimetika von Oligosacchariden bzw. den entsprechenden Glykoproteinen eingesetzt werden^[124, 125, 126, 127].

Da die Aufklärung der dreidimensionalen Struktur eines Kohlenhydrat-Lektin-Komplexes in vielen Fällen aufwendig und nicht ohne weiteres möglich ist, liegen nur in wenigen Fällen genaue Erkenntnisse über die tatsächliche Bindungssituation vor, was das rationale Design von Oligosaccharid-Mimetika erschwert. Dieses Problem lässt sich aber durch einen kombinatorischen Ansatz umgehen. Durch den Aufbau großer Substanzbibliotheken können auch ohne die Kenntnis genauer Bindungsverhältnisse geeignete Zielstrukturen gefunden werden^[128, 129].

Für den Aufbau solcher Bibliotheken eignet sich aufgrund der bereits vorhandenen großen Auswahl an Harzen, Linkern und Kupplungsmethoden besonders die Festphasensynthese von glykosilierten Aminosäuren. Die so erhaltenen neo-Glykopeptide können durch geeignete Spacer in ihrer Flexibilität angepasst werden und sind zu multivalenten Bindungen in der Lage.

2.3 Konzept von neo-Glykopeptiden als Oligosaccharid-Mimetika

Wie bereits in Abschnitt 2.2.2 erläutert, lassen sich durch Aufbau von Substanzbibliotheken an der festen Phase neo-Glykopeptide identifizieren, die als Oligosaccharid-Mimetika geeignet sind.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden an der α -Position glykosilierte Asparaginsäuren als Bausteine für solche neo-Glykopeptide dargestellt. Diese Bausteine erlauben den Einsatz bereits bewährter Methoden der klassischen Peptid-Synthesen und eignen sich sowohl zur nasschemischen Synthese von neo-Glykopeptiden als auch bedingt zur Festphasensynthese von neo-Glykoproteinen^[130]. Die so aus Asparaginsäure aufgebauten β -Peptide neigen bereits bei kurzen Kettenlängen zur Helixbildung^[131]. Dadurch kann im Gegensatz zu einer „random-coil“-Sekundärstruktur eine feste Anordnung der Kohlenhydratreste im Raum erreicht werden.

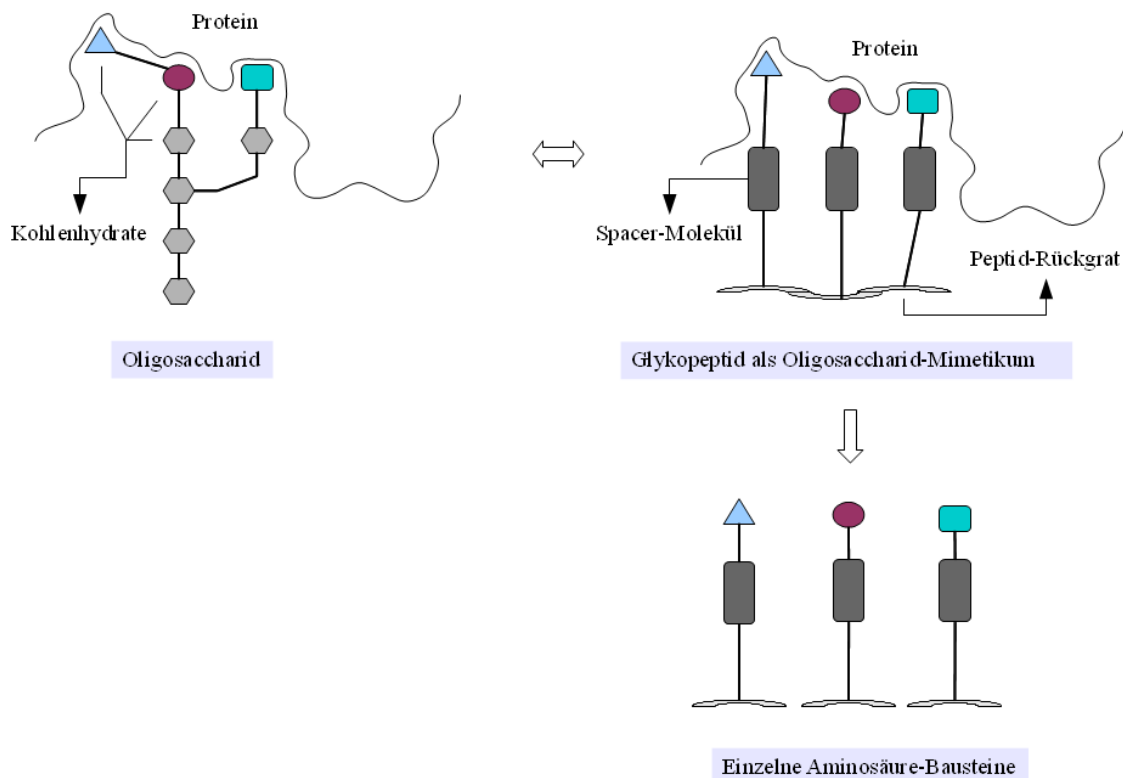


Abbildung 2.12: Aufbau von neo-Glykopeptiden als Oligosaccharid-Mimetika aus einzelnen Bausteinen

2.3.1 Allgemeiner Aufbau der neo-Glykopeptidbausteine

Die zum Aufbau der neo-Glykopeptide verwendeten Bausteine bestehen allgemein aus Kohlenhydraten, welche thioglykosidisch über ein Spacer-Molekül mit der α -Carboxylfunktion der Asparaginsäure verbunden sind.

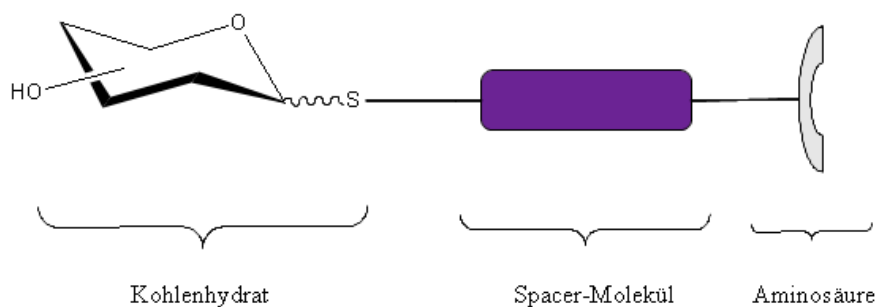


Abbildung 2.13: Schematischer Aufbau eines neo-Glykopeptid-Bausteins

Um den schnellen Abbau der Oligosaccharid-Mimetika im menschlichen Körper zu verhindern, wurden S-Glykoproteine statt O- oder N-Glykane verwendet. Die Einführung des Schwefels am anomeren Zentrum führt zu einer deutlich erhöhten Stabilität gegenüber säure-, basen- und enzymbedingter Hydrolyse^[132, 133]. So ist Myrosinase, ein in Kreuzblütengewächsen vorkommendes Enzym, die einzige bisher bekannte, natürliche S-Glykosidase^[134]. Sie dient diesen Pflanzen zur Abwehr von Fressfeinden durch den Abbau von Senfölen zu Glukose und Isothiocyanaten^[135, 136]. Des Weiteren besitzen S-Glykoproteine häufig eine bessere Wasserlöslichkeit als die entsprechenden O-Glykoproteine, was zusätzlich zu einer höheren Bioverfügbarkeit führt^[137, 138].

2.3.2 Verwendete Kohlenhydrate

Für die Bausteine wurden als Kohlenhydrate acetylierte 1-Thio-Verbindungen wie 1-Thio- β -D-glukose, 1-Thio- β -D-galaktose oder 1-Thio- α -D-mannose verwendet. Diese sind synthetisch gut zugänglich und als die entsprechenden O-Glykoside in der Natur weit verbreitet.

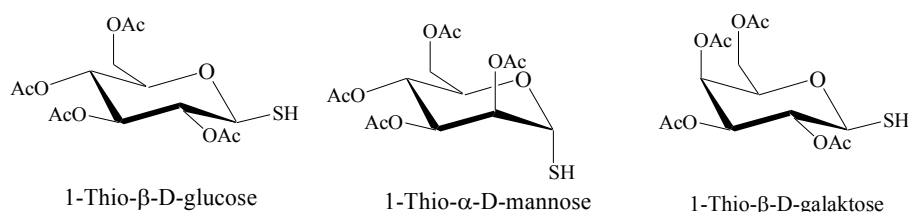


Abbildung 2.14: Verwendete Kohlenhydrate

Durch die hohe Polarisierbarkeit des Schwefels lassen sich 1-Thio-Kohlenhydrate gut als Nukleophile einsetzen^[139] oder auch radikalisch^[140] mit dem Spacer verknüpfen.

Ein anderer Zugang zu Thioglykosiden ist die Umsetzung von Thioalkoholen mit den entsprechenden Acetobromzuckern über eine nukleophile Substitution.

Zum Schutz der Hydroxy-Funktionen der Kohlenhydrate wurden Acetyl-Gruppen verwendet. Diese sind orthogonal zu allen folgenden Glykosilierungen und Peptidknüpfungen und lassen sich auch von einem Tetrapeptid einfach und quantitativ abspalten.

2.3.3 Aufbau und Funktion des Spacer-Moleküls

Der Spacer dient als Abstandhalter zwischen Protein und Kohlenhydrat, hat daneben aber auch Einfluss auf die Konformation des Proteins (Helix, Faltblatt oder „random coil“) und die Bindungsaffinität zu Rezeptoren. Dabei spielt sowohl die Länge als auch die chemische Beschaffenheit der Spacer eine wichtige Rolle.

Die Länge des Spacers hat Auswirkungen auf die Flexibilität des entsprechenden Epitops und damit Einfluss auf die Fähigkeit zur Chelatbildung, dem wichtigsten Faktor bei der Ausbildung multivalenter Bindungen. Bei zu kurzen Spacern kann die Strecke zwischen zwei Bindungsstellen nicht mehr überbrückt werden. Durch statistische Effekte sind die Affinitäten zwar dennoch erhöht, ein großer Teil des Cluster-Effekts geht so aber verloren. So konnten Wittmann et al. an den Wechselwirkungen zwischen einem zyklischen Glykopeptid und WGA zeigen, daß bei sehr kurzen Spacerlängen die Bindungsaffinität drastisch sinkt^[141]. Ebenso können zu kurze Abstände zwischen den Kohlenhydraten zur Ausbildung von eventuell unerwünschten, schwerlöslichen Gitterstrukturen führen^[142] (s. Abbildung 2.5).

In mehreren Untersuchungen zur optimalen Länge der Bindung zwischen Rückgrat und Epitop hat sich in den letzten Jahren eine optimale Spacerlänge von vier bis sechs Atomen herauskristallisiert^[143, 144, 145, 146]. Da der Spacer das Kohlenhydrat über die α -Carboxylfunktion von Asparaginsäure mit dem Peptidrückgrat verbindet, wurden im Rahmen dieser Arbeit Spacerlängen von zwei bis fünf Atomen verwendet.

Neben dem indirekten Einfluss auf die Chelatbildungsfähigkeit, können die Spacer auch direkt an der Bindung zwischen neo-Glykopeptid und Lektin beteiligt sein. Deshalb ist neben ihrer Länge auch ihre chemische Struktur von außerordentlicher Bedeutung für die Bindungsaffinität. So konnte in unserer Arbeitsgruppe gezeigt werden, daß Spacer mit aromatischer Struktur im Gegensatz zu rein alkyllischen Spacern eine deutlich gesteigerte Bindungsaffinität zu Lektinen zeigen^[20].

Bei einem aus Asparaginsäure aufgebauten Peptidrückgrat konnte mittels empirischer Kraftfeldrechnungen gezeigt werden, daß alkyllische Spacer zu einer eher helikalen Konformation führen und somit die Kohlenhydratepitope weit voneinander entfernt sind, während aromatische Spacer Stapel effekte zeigen, die zu einer größeren räumlichen Nähe der Zuckerreste führen können^[18].

Besonderer Wert wurde in dieser Arbeit deshalb auf den Einsatz und die Untersuchung von verschiedenartigen Spacern gelegt.

2.3.3.1 Alkyllische Spacer

Als rein alkyllische Spacer wurden sowohl lineare, als auch verzweigte Kohlenwasserstoffe eingesetzt. Bei den verzweigten alkyllischen Spacern wurde ausschließlich die jeweilige S-Konfiguration verwendet, da diese aus den entsprechenden L-Aminosäuren gewonnen werden können.

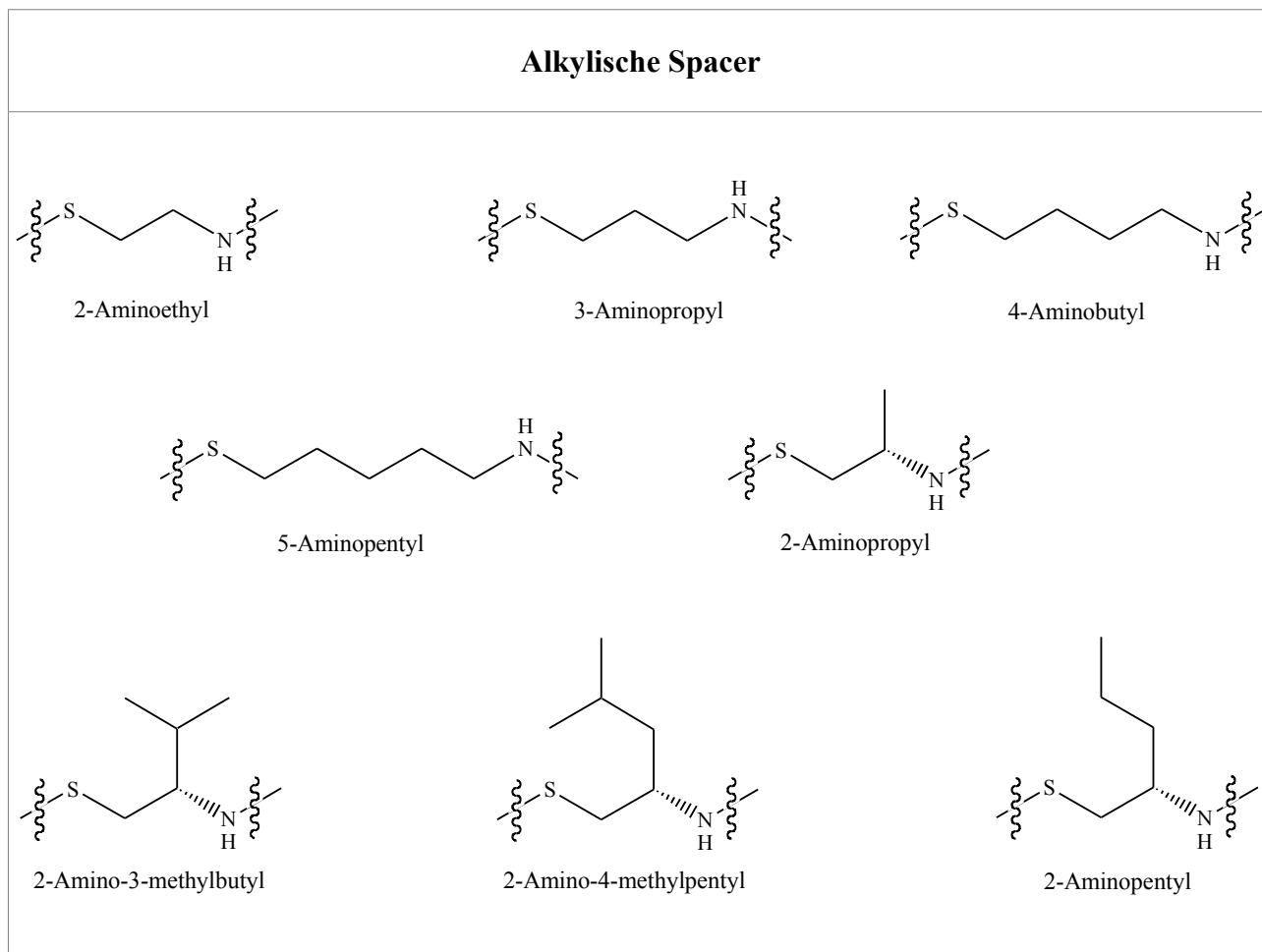


Abbildung 2.15: Übersicht der verwendeten alkylischen Spacer-Moleküle

2.3.3.2 Aromatische Spacer

Eine weitere Kategorie sind auf Benzol beruhende aromatische Spacer. Dabei wurden die aromatischen Strukturelemente sowohl in den eigentlichen Spacer integriert, wie auch als Seitenkette angefügt. Von einem auf Phenylglycin basierenden, verzweigten Spacer wurden sowohl die S- als auch die R-Konfiguration dargestellt, um Rückschlüsse der Bedeutung dieses Chiralitätszentrums für die Bindung zu Lektinen ziehen zu können. Neben auf Benzol basierenden Systemen wurden auch Bausteine mit heterozyklischen Aromaten dargestellt.

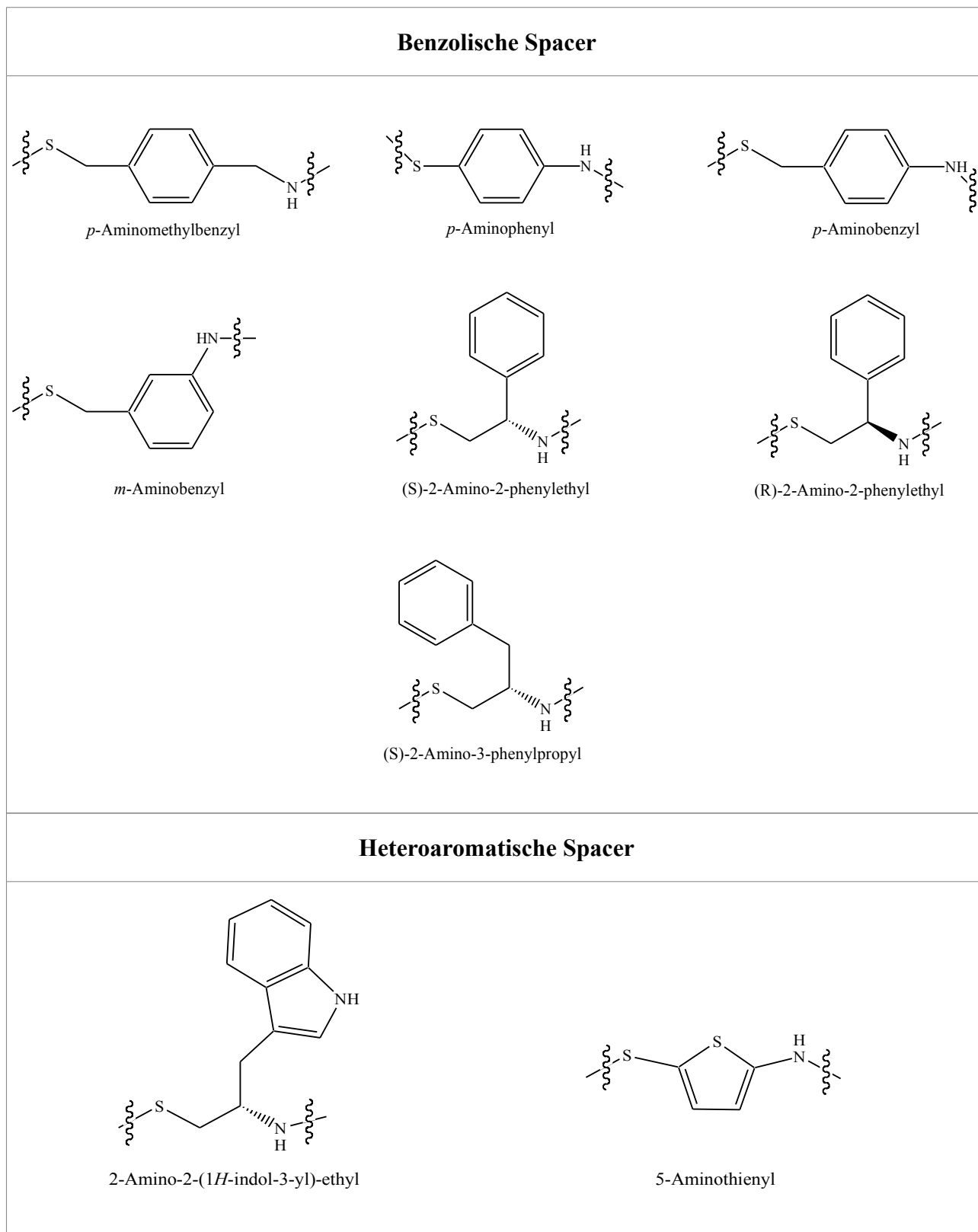


Abbildung 2.16: Übersicht über die verwendeten aromatischen Spacer

2.3.3.3 Alkyliche Spacer mit zusätzlicher funktioneller Gruppe

Um den Einfluss der Heteroatome dabei besser untersuchen zu können, wurden ebenfalls nichtaromatische Bausteine mit Heteratomen in den Seitenketten synthetisiert, die auf der Struktur von Methionin oder Guanidin beruhen.

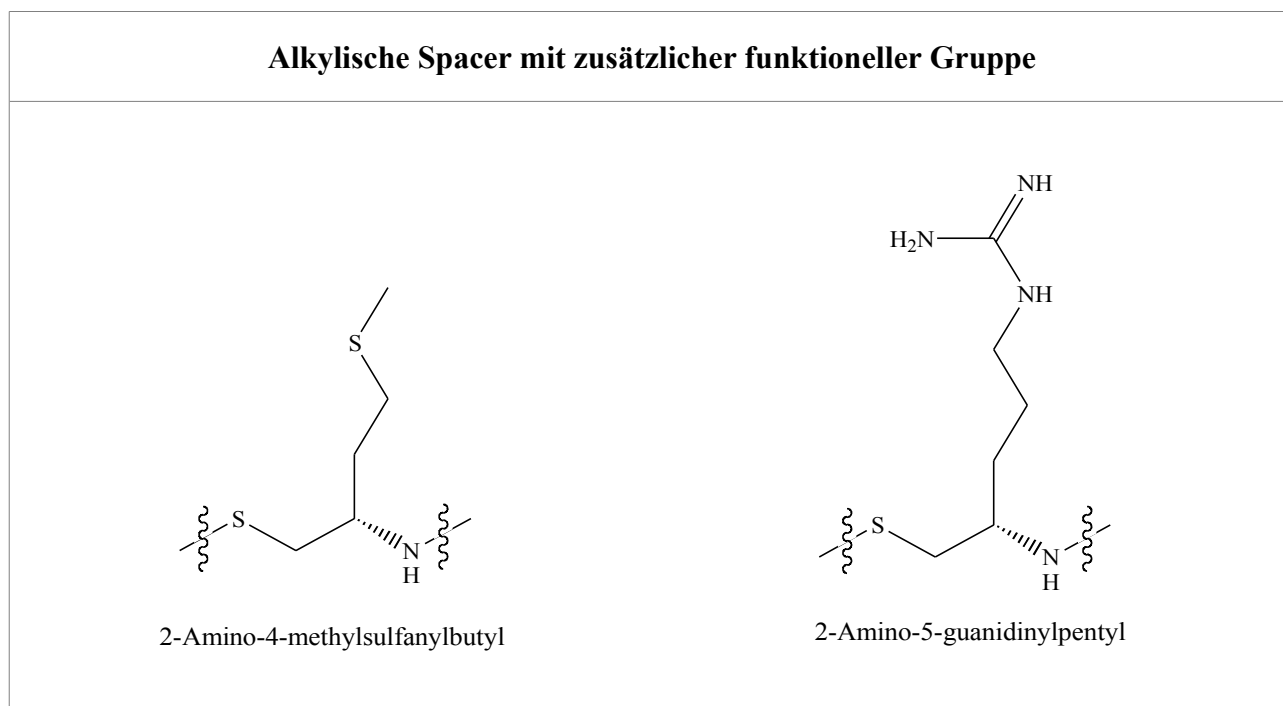


Abbildung 2.17: Übersicht über verwendete alkyliche Spacer mit funktioneller Gruppe

2.3.4 Asparaginsäure als Rückgrat

Grundsätzlich kommen für die in dieser Arbeit verwendeten Bausteine nur trifunktionelle Aminosäuren in Betracht. Besonders geeignet erscheint ein Rückgrat aus β -Peptiden, da diese eine große Stabilität gegenüber Peptidasen und Proteasen zeigen^[147] und seit den Arbeiten von Gellmann^[148] und Seebach^[149] Mitte der 1990iger-Jahre die am häufigsten untersuchten Pseudopeptide sind.

Ein weiterer Vorteile von β -Peptiden ist, daß sie auch in kurzen Sequenzen zu Faltungsprozessen neigen^[150] und bereits mit sechs Aminosäuren relativ stabile, teils neuartige Helices bilden^[151, 152]. Dies macht β -Peptide allgemein zu geeigneten Trägern räumlich in bestimmter Weise angeordneter, bioaktiver Moleküle, da durch solch eine rigide Sekundärstruktur die Affinität beispielsweise von Oligosacchariden zu bestimmten Rezeptoren besser untersucht werden kann als bei flexibleren,

multivalenten Liganden^[153, 154, 155, 156]. Mit steigendem Glykosilierungsgrad nimmt allerdings der Einfluss der Kohlenhydrate auf die Sekundärstruktur des Aminosäurerückgrats erheblich zu^[157, 158, 159], so daß bei hochglykosilierten β -Peptiden die Tendenz zu einer geordneten Faltung wieder abnimmt. Verstärkt werden kann die Tendenz zur Helixbildung durch den Einbau starrer β -Aminosäuren wie beispielsweise 2-Aminocyclohexancarbonsäure^[19, 20]. Dies führt aber zu einem geringeren maximalen Glykosilierungsgrad und wurde daher in dieser Arbeit nicht weiter verfolgt. Statt dessen wurde ausschließlich Asparaginsäure zum Aufbau des Rückgrats verwendet.

Die Schutzgruppen der Asparaginsäure müssen in diesem Fall orthogonal zu den Acetyl-Schutzgruppen des Kohlenhydrats sein. Üblicherweise wird in so einem Fall entweder eine Boc/Benzyl- oder eine Fmoc/*t*Bu-Strategie angewendet. Dabei eignet sich die Boc/Benzyl-Strategie besonders für Lösungsmittelsynthesen, da hier bei der Abspaltung der Schutzgruppen nur die flüchtigen Stoffe Toluol, CO₂ und Isobuten entstehen, was eine spätere Aufreinigung des neo-Glykopeptids vereinfacht.

Die Fmoc/*t*Bu-Strategie dagegen eignet sich gut für Festphasensynthesen mit Asparaginsäure^[160], da das bei der Abspaltung der Fmoc-Gruppe entstehende, schwer flüchtige 9-Methylen-9*H*-fluoren einerseits leicht durch Waschen der festen Phase entfernt werden kann, andererseits durch die Beobachtung von dessen Absorptionsbanden im UV-Spektrum Hinweise auf den Umsatz der Reaktion gewonnen werden können.

Da der Schwerpunkt dieser Arbeit auf den Lösungsmittelsynthesen liegt, wurden in allen Fällen die Bausteine mit Boc/Benzyl-Schutzgruppen synthetisiert, für diejenigen neo-Glykopeptide, für die auch eine Festphasensynthese durchgeführt werden sollte zusätzlich auch die Bausteine mit Fmoc/*t*Bu-Schutzgruppen.

2.4 Darstellung der neo-Glykopeptidbausteine

2.4.1 Übersicht über Methoden zur Darstellung von Thioglykosiden

Zur Darstellung von Thioglykosiden sind mehrere Verfahren etabliert, von denen drei im Rahmen dieser Arbeit verwendet wurden. Durch die gute Polarisierbarkeit des Schwefels sind sowohl radikalische Glykosilierungen möglich, als auch eine den klassischen O-Glykosilierungen analoge Vorgehensweise, bei der entweder ein Glykosyldonor mit einem Thiol oder ein Thiozucker mit einem aktivierten Alkohol in einer nukleophilen Substitution umgesetzt wird.

2.4.1.1 Radikalische Glykosilierung

Die radikalische Addition von Thiolen an Doppelbindungen ist eine bereits seit Anfang des 20. Jahrhunderts bekannte Reaktion^[161, 162]. Für die Glykosilierung von 1-Thioglykosiden wurde sie zum ersten Mal 1988 von Lacombe et al. beschrieben^[140]. Dabei wird zunächst mittels eines Radikalstarters oder UV-Licht aus dem Thioglykosid das entsprechende Thio-Radikal gebildet, welches im nächsten Schritt an eine Doppelbindung addiert werden kann.



R = Alkyl, Aryl
SG = Acetyl, Benzoyl, Benzyl

Abbildung 2.18: Radikalische Glykosilierung von 1-Thioglykosiden

Nachteile der radikalischen Glykosilierung sind die Notwendigkeit einer Doppelbindung im Glykosylakzeptor und eine mögliche Polymerisierung des Aglykons während der Reaktion.

2.4.1.2 Umsetzung von Glykosyldonoren mit Thiolen

Eine weitere Möglichkeit ist die Umsetzung geeigneter Glykosyldonoren mit Thiol-Verbindungen in einer nukleophilen Substitution. Dabei kommen vor allem Halogenosen^[163, 164], aber auch peracetylierte Kohlenhydrate^[165, 166], 1-O-Trimethylsilylglykoside^[167] Trichloracetimidate^[168] und sogar 1-OH-freie Glycopyranoside^[169] in Frage. Peracetylierte Kohlenhydrate, 1-O-Trimethylsilylglykoside und Trichloracetimidate benötigen dabei eine Lewis-Säure zur Aktivierung^[170], Acetobromzucker können im Basischen direkt mit dem entsprechenden Thiol

umgesetzt werden.

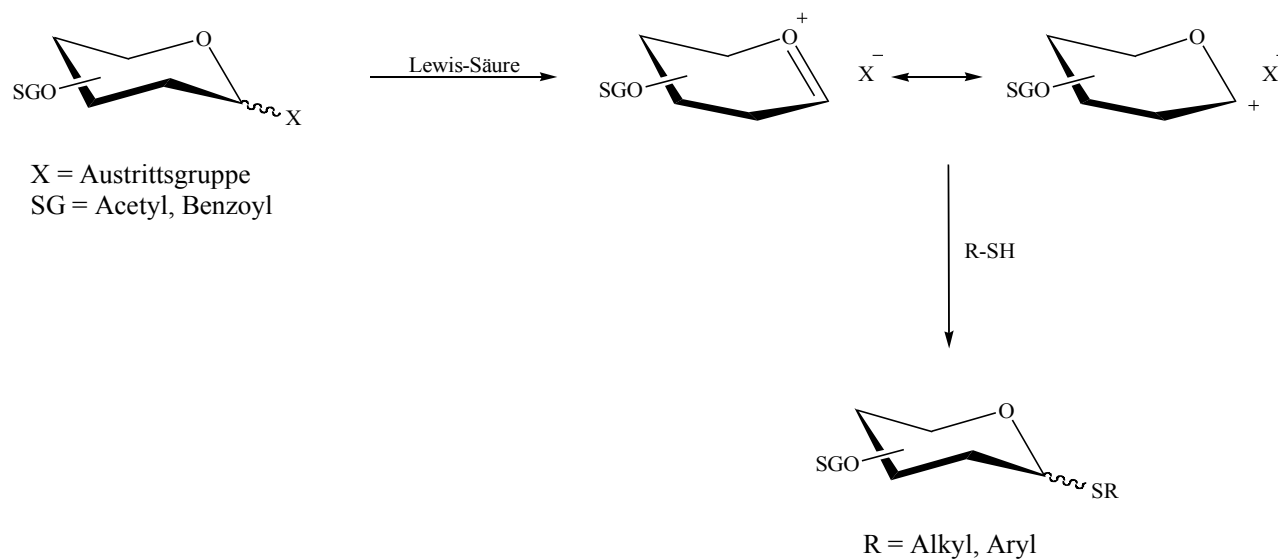


Abbildung 2.19: Aufbau von 1-Thioglykosiden mit Glykosyldonoren und Thiolen (X = Acetyl, Halogen, Trichloracetimidat)

2.4.1.3 1-Thioglykopyranoside als Nukleophil

Der variabelste Zugang zu Thioglykosiden ist die Umsetzung von 1-Thiozuckern in einer nukleophilen Substitution mit Sulfonsäureestern, Halogenalkanen^[171] oder unter Mitsunobu-Bedingungen auch direkt mit den entsprechenden Alkoholen^[172, 173, 174, 175].

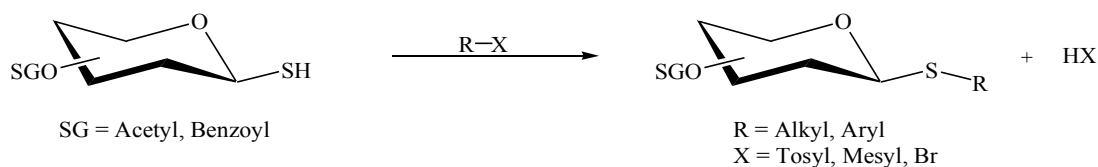


Abbildung 2.20: 1-Thioglykoside als Nukleophile

Vorteile dieser Methode sind die gute Zugänglichkeit und Stabilität der 1-Thioglykopyranoside und die hohe Verfügbarkeit und Zugänglichkeit von als Spacern geeigneter Alkohole. Zusätzlich sind hier keine Anomerisierungen zu erwarten, so daß diese Form der Alkylierung am anomeren Zentrum in den meisten Baustein-Synthesen dieser Arbeit angewendet werden konnte.

2.4.2 Darstellung von Bausteinen mit alkylichen Spacern

2.4.2.1 Optimierung der Alkylierung des anomeren Thiols

Da im Rahmen dieser Arbeit eine größere Zahl an neuen Bausteinen synthetisiert werden sollte, wurden zunächst Versuche zur Ermittlung der optimalen Reaktionsbedingungen bei der Darstellung des einfachen Thioglykosids *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-2-amino-ethyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosid (**5**) unternommen. Verbindung **5** und die zu seiner Darstellung verwendeten, optimierten Reaktionsbedingungen dienten dann im Folgenden als Modellverbindung bei der Darstellung weiterer Bausteine.

Zunächst wurde die Mitsunobu-Reaktion verwendet, um Verbindung **5** aus dem Thioglukosid **2** zu erhalten^[176]. Ausgehend den literaturbekannten Verbindungen Acetobromglucose (**1**)^[177] und 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranose (**2**)^[178], erhält man mit *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-2-aminoethanol (**3**) Verbindung **5**. C. Schips und T. Ziegler konnten zeigen, daß die Standardreagenzien DEAD und Triphenylphosphin in diesem Fall für eine Mitsunobu-Reaktion nicht verwendet werden können. Statt dessen werden unter Schutzgasbedingungen bei 0°C die Verbindungen **2** und **3** mit ADDP und Trimethylphosphin in THF umgesetzt. Auf diese Weise konnte eine Ausbeute von 28 % an Verbindung **5** erzielt werden. Den an der Aminofunktion geschützten Alkohol **3** erhält man durch die Umsetzung von Aminoethanol mit DIPEA und Di-*tert*-butyldicarbonat in THF bei 0°C mit einer Ausbeute von 97 %.

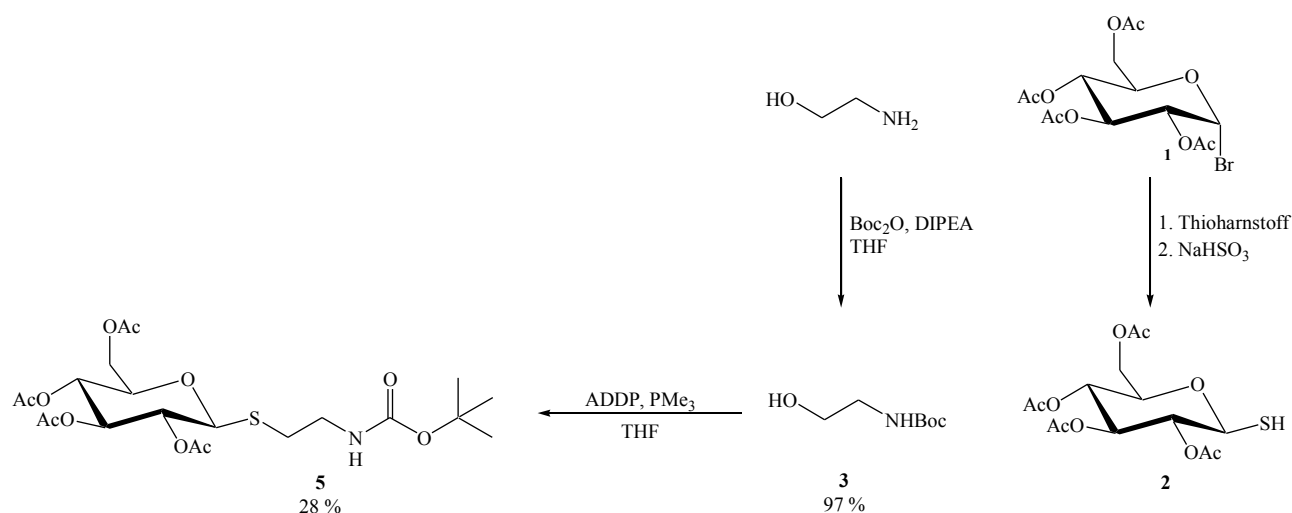


Abbildung 2.21: Darstellung von Verbindung **5** durch eine Mitsunobu-Reaktion

Bei der Durchführung der Mitsunobu-Reaktion kann auch auf die Einführung einer Schutzgruppe für die Aminofunktion verzichtet werden, so daß es auch möglich ist, einen kompletten Baustein

aus 1-Thioglykosid, Spacer und Aminosäure in einer Eintopfreaktion darzustellen^[172]. Trotzdem wurde auf Grund der geringen Ausbeuten auf diese Methode der anomeren Alkylierung im Folgenden nur noch in einzelnen Fällen zurückgegriffen.

Statt dessen wurde Verbindung **5** zusätzlich durch die Umsetzung der Thioglukose **2** mit als *p*-Toluolsulfonsäureester (**4**), Methansulfonsäureester (**6**) oder Bromid (**7**) aktivierten Aminoethanolen dargestellt.

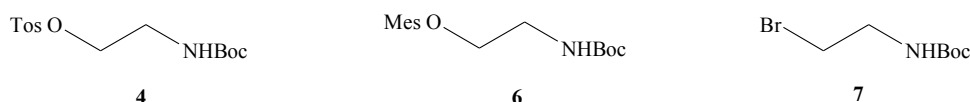


Abbildung 2.22: Übersicht über verschieden aktivierte Aminoethanole

Die Sulfonsäureester **4** und **6** konnten unter basischen Bedingungen mit *p*-Toluolsulfonsäurechlorid bzw. Methansulfonsäurechlorid aus Verbindung **3** in DCM als Lösemittel dargestellt werden (Ausbeuten: 63 % für Verbindung **4** und 95 % für Verbindung **6**).

Verbindung **7** konnte über eine Appel-Reaktion aus Verbindung **3** durch Umsetzung mit Triphenylphosphin und Tetrabromkohlenstoff in einer Ausbeute von 77% dargestellt werden.

Durch Reaktion einer Lösung von Verbindung **2** in DMF mit *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-2-aminoethyltosylat (**4**) und einem Überschuss an Kaliumcarbonat als Base wurde nach säulenchromatographischer Aufreinigung in 66%iger Ausbeute Verbindung **5** erhalten. Durch Verwendung von Triethylamin und DIPEA anstatt Kaliumcarbonat als Base konnte die Ausbeute auf 76 % bzw. 78 %, durch den Wechsel auf DBU sogar auf 85 % gesteigert werden. Die Verwendung von Natriumhydrid in THF ließ die Ausbeute dagegen auf 55 % sinken. Ebenso konnte durch die Variation des Lösungsmittels keine Steigerung der Ausbeute erzielt werden. Durch Umsetzung in DCM konnte mit DBU als Base nur noch eine Ausbeute von 61 %, mit DIPEA 43 % und mit Triethylamin 66 % erreicht werden. Durch Verwendung von DIPEA in Acetonitril als Lösungsmittel wurde Verbindung **5** in einer Ausbeute von 73 % erhalten.

Aufgrund dieser Ergebnisse wurde im Folgenden bei den auf diese Weise durchgeführten Alkylierungsreaktionen nur noch DMF als Lösungsmittel verwendet. Weiterhin brachte DBU als Base insgesamt die besten Ausbeuten, allerdings kam es bei der Verwendung von DBU im späteren Verlauf der Arbeit häufiger zu Nebenreaktionen oder zur Bildung von α -/ β -Gemischen. In diesen Fällen wurde auf DIPEA bzw. Triethylamin als Base zurückgegriffen.

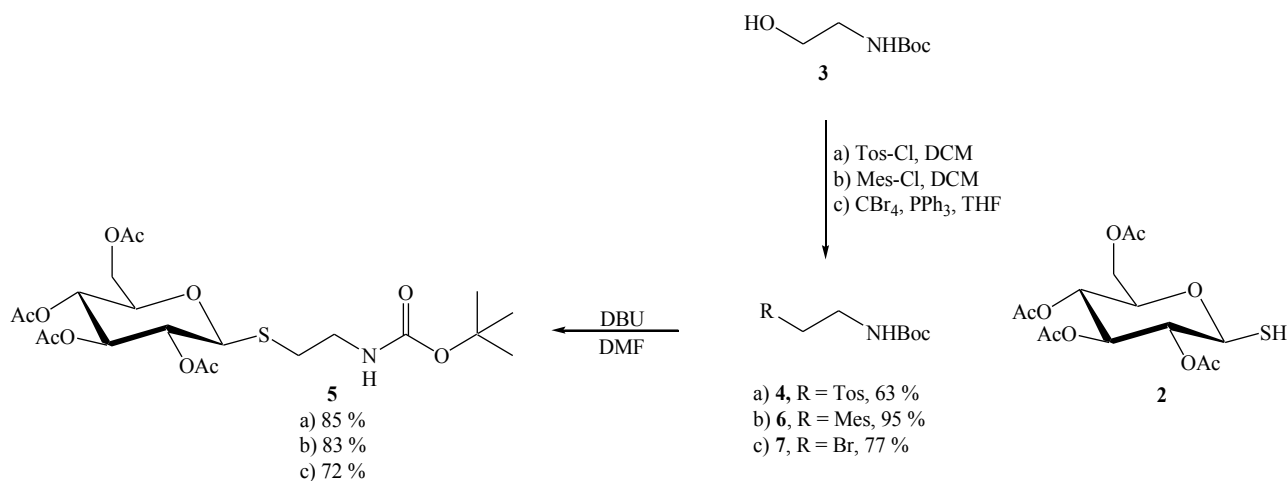


Abbildung 2.23: Darstellung von Verbindung 5

Neben Verbindung 4 können auch die Verbindungen 6 und 7 als Substrate eingesetzt werden. Nach Umsetzung mit Verbindung 2 in DMF mit DBU als Base erhält man 5 in Ausbeuten von 83 % für Verbindung 6 bzw. 72 % für Verbindung 7. Diese Ergebnisse lassen darauf schließen, daß es keine Unterschiede bei der Verwendung der Sulfonsäureester gibt, die Ausbeute mit dem entsprechenden Bromid allerdings niedriger liegt. Die jeweils erhaltenen Ausbeuten der hier beschriebenen Optimierungsversuche sind in Tabelle 2.3 zusammengefasst.

Aktivierter Alkohol	Base	Lösungsmittel	Reaktionszeit	Ausbeute
4	DBU	DMF	20 h	85 %
		DCM	16 h	61 %
	Triethylamin	DMF	24 h	76 %
		DCM	16 h	66 %
	DIPEA	DMF	15 h	78 %
		DCM	12 h	43 %
		Acetonitril	48 h	73 %
	NaH	THF	6 h	55 %
	K ₂ CO ₃	DMF	16 h	66 %
6	DBU	DMF	16 h	83 %
7	DBU	DMF	24 h	72 %

Tabelle 2.3: Ausbeuten bei der Darstellung von Verbindung 5 mit aktivierten Alkoholen

Obwohl auf diesem Weg im Gegensatz zu der Mitsunobu-Reaktion ein zusätzlicher Syntheseschritt notwendig ist, konnte mit den Verbindungen 4 und 6 insgesamt die bessere Gesamtausbeute erzielt werden.

Zusammenfassend lässt sich sagen, daß Verbindung 5 durch eine nukleophile Substitution von

Verbindung **4** oder **6** mit 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranose effizient darstellbar ist. Die höchsten Ausbeuten wurden in DMF als Lösungsmittel mit DBU als Base erzielt.

Allerdings können allgemein Moleküle mit derselben Struktur wie die Verbindungen **4** und **6** leicht zu einem 1,3-Oxazolidin-2-on-Ring zyklisieren, und neigen deshalb zu einer raschen Zersetzung^[179], was zu einer Verringerung der Ausbeute bei der Alkylierung des anomeren Schwefels führen kann.

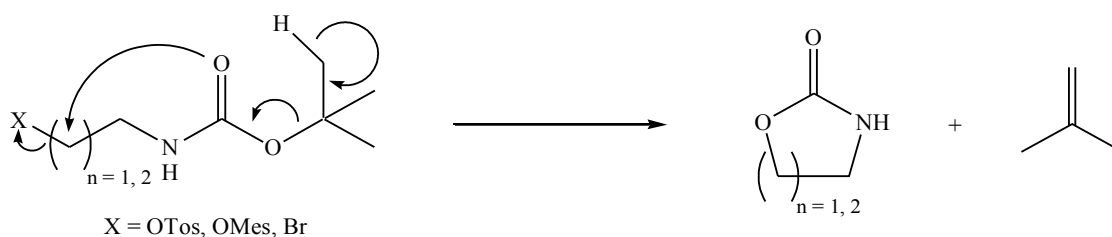


Abbildung 2.24: Zyklisierungsreaktion bei Boc-geschützten Aminoalkoholen

Aus diesem Grund wurde die Alkylierung ebenfalls mit den *Z*-geschützten Verbindungen **9**^[180] und **10**^[181] durchgeführt, bei denen diese Nebenreaktion nicht auftreten kann, da diese kein β -ständiges Wasserstoffatom zur Carbamatgruppe besitzen.

Das Vorhandensein einer schwefelhaltigen Verbindung führte allerdings zu einer erschwerten hydrolytischen Abspaltung der Amino-Schutzgruppe,

da es zur Vergiftung des Palladium-Katalysators durch den Schwefel des Thioglykosids kommen kann (s. Kapitel 2.4.2.2). Die Umsetzung zu Verbindung **11** erfolgte entsprechend den ermittelten optimalen Bedingungen für Verbindung **5** in DMF und mit DBU als Base in sehr guten Ausbeuten von 94 % für den Methansulfonsäureester und 89 % für den *p*-Toluolsulfonsäureester.

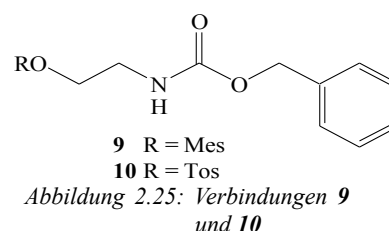


Abbildung 2.25: Verbindungen **9** und **10**

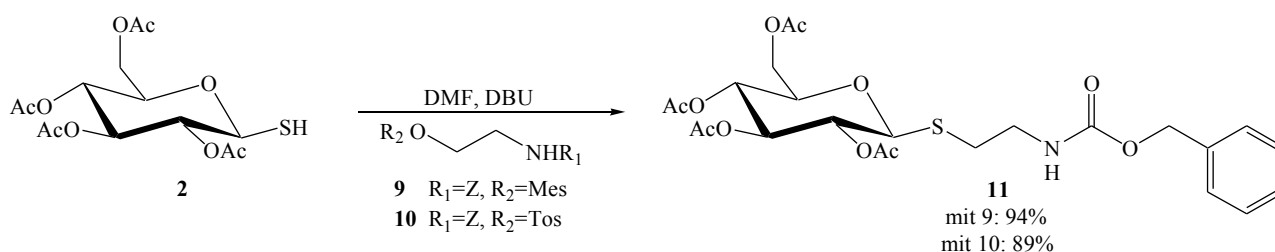


Abbildung 2.26: Darstellung von Verbindung **11**

2.4.2.2 Knüpfung der Peptidbindung zwischen Aglykon und Asparaginsäure

Die Kupplung zwischen Aglykon und Asparaginsäure wurde analog den Arbeiten von D. Röseling durchgeführt. Dazu wurde die α -Position einer entsprechend geschützten Asparaginsäure mittels DCC und Pentafluorphenol in einen Pentafluorphenylester überführt. Dabei konnte für die Aminosäure Boc-Asp(OBn)-OH eine Ausbeute von 96 % Boc-Asp(OBn)-OPfp (**12**), für die Aminosäure Fmoc-Asp(OtBu)-OH eine Ausbeute von 99 % Fmoc-Asp(OtBu)-OPfp (**13**) erzielt werden.

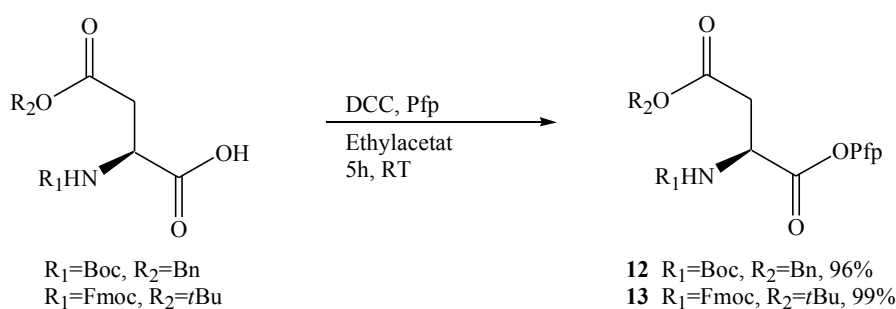
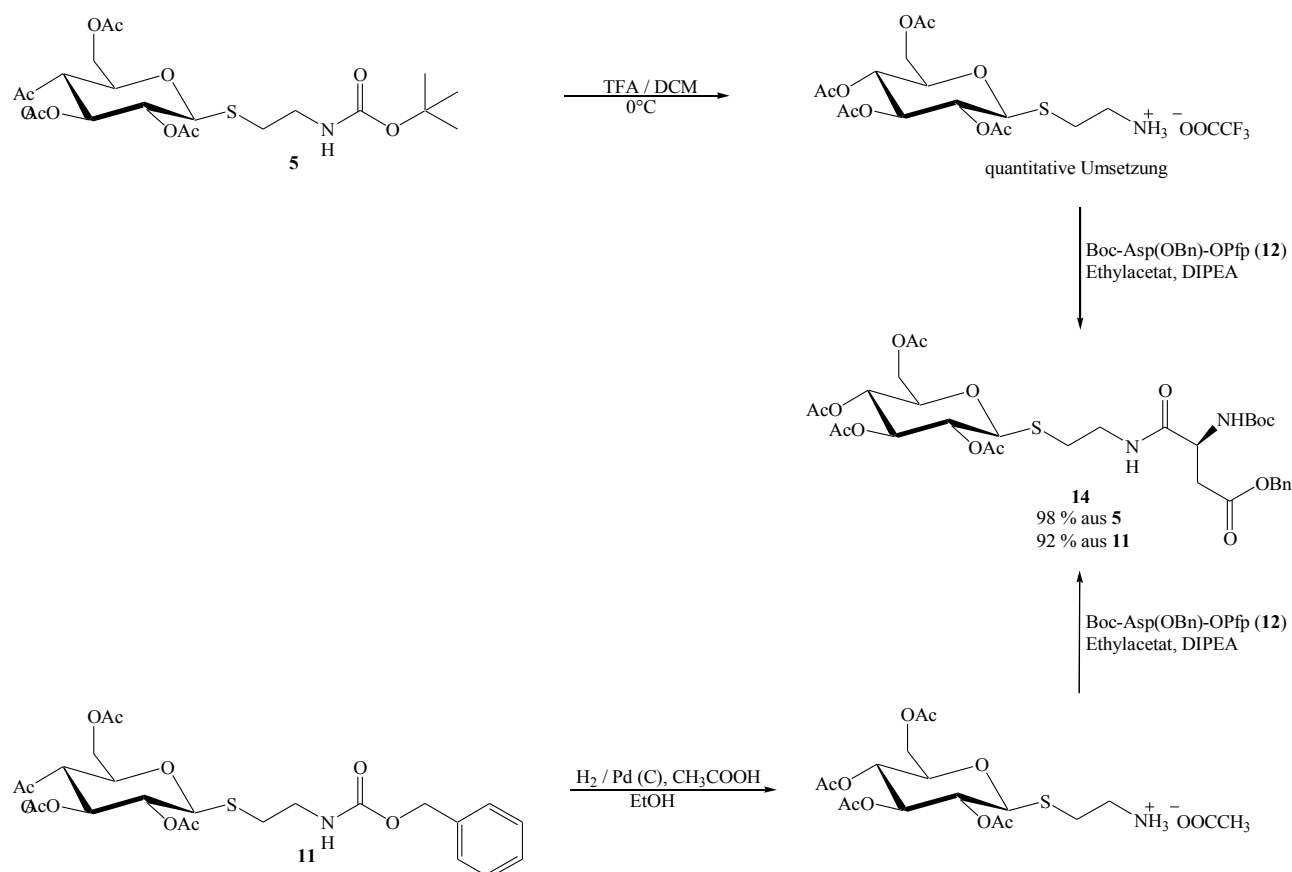


Abbildung 2.27: Synthese der Pentafluorphenol-Aktivester

Die Entschützung der Amino-Funktion von Verbindung **5** mit einer 25%igen Lösung von Trifluoressigsäure in Dichlormethan bei 0°C verlief quantitativ, so daß das erhaltene Trifluoroacetat ohne Aufreinigung direkt weiter umgesetzt werden konnte. Dazu wurde es analog den Arbeiten von D. Röseling in Ethylacetat gelöst und zunächst mit DIPEA deprotoniert. Anschließend wurde bei RT mit dem entsprechendem Pentafluorphenol-Aktivester die Amidbindung geknüpft. Für die Reaktion mit Verbindung **12** konnte so nach einer chromatographischen Aufreinigung eine Ausbeute von 98 % an Baustein **14** erzielt werden.

Abbildung 2.28: Darstellung von Verbindung **14**

Ebenfalls in sehr hohen Ausbeuten verlief die Entschützung von Verbindung **11** durch Hydrierung bei 1 bar Wasserstoffdruck mit Palladium auf Aktivkohle als Katalysator. Dazu wurde **11** zunächst in einem Gemisch aus Ethanol und Aceton gelöst und mit einem leichten Überschuss an Essigsäure versetzt, um eine mögliche Wanderung von Acetyl-Schutzgruppen während der Hydrierung zu verhindern. Problematisch an dieser Reaktion ist der große Bedarf an Palladium-Katalysator, da dieser zum Teil durch den im Molekül vorhandenen Schwefel vergiftet wird. In der Literatur sind verschiedene Verfahren zur Hydrierung in Gegenwart von Schwefel bekannt, etwa durch Zugabe einer Mischung aus Mg / Ammoniumformiat als Reduktionsmittel^[182] oder über eine homogene Katalyse mit Tris(triphenylphosphine)rhodium(I)chlorid (Wilkinson-Katalysator) und Wasserstoff^[183]. Mit beiden Methoden konnte aber im Fall von Verbindung **11** keine vollständige Umsetzung erreicht werden, so daß der hohe Einsatz an Palladium in Kauf genommen wurde. Andere Verfahren zur Abspaltung der Z-Schutzgruppe, beispielsweise durch Zugabe bestimmter Lewis-Säuren wie von Hofmann oder Meienhofer beschrieben in Anwesenheit von Bariumsulfat^[184, 185], durch Zugabe von Trimethylsilyliodid^[186] oder wie von Yajima berichtet durch Zusatz von Bortrifluorid^[187] wurden nicht weiter untersucht, da in diesem Fall Glykosilierungen mit den alkoholischen Lösungsmitteln als Nebenreaktionen stattfinden können. Eine von Meienhofer und Kuromizu beschriebene Abspaltung der Schutzgruppe in flüssigem Ammoniak als Lösungsmittel^[188]

kommt aufgrund der Acetyl-Schutzgruppen am Kohlenhydrat nicht in Frage.

Die weitere Umsetzung zu Verbindung **14** verlief ausgehend von Verbindung **11** analog der Vorgehensweise bei Verbindung **5** durch Umsetzung mit Verbindung **12** und DIPEA als Base in einer Ausbeute von 92 %. Die geringere Ausbeute gegenüber der Synthese ausgehend von Verbindung **5** liegt wahrscheinlich an der großen Menge der verwendeten Aktivkohle, die beim Abfiltrieren des Katalysators trotz ausgiebigem Waschens mit Ethanol einen gewissen Teil des entstandenen Salzes als Adsorbat zurückhält.

Im Bezug auf die Ausbeuten der Alkylierung des Thiols hat sich so die Boc-Schutzgruppe der Z-Schutzgruppe als leicht überlegen erwiesen. Im Folgenden wurde deshalb der Einsatz der Boc-Schutzgruppe dem Einsatz der Z-Schutzgruppe vorgezogen, sofern nicht von einer Zyklisierungsreaktion ausgegangen werden musste.

2.4.2.3 Darstellung weiterer neo-Glukopeptidbausteine mit linearen alkylichen Spacern

Um die Flexibilität bezüglich der räumlichen Positionierung des Kohlenhydrats in einem neo-Glykopeptid zu erhöhen, wurden zunächst neben dem Ethyl- auch Propyl-, Butyl- und Pentylspacer eingeführt.

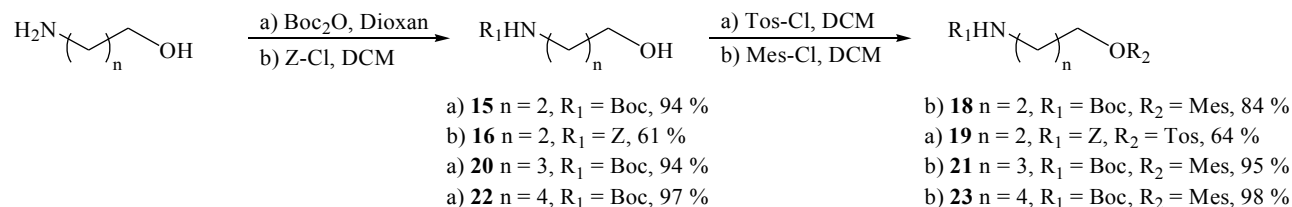


Abbildung 2.29: Darstellung der Verbindungen **15** bis **23**

Dazu wurden wie in Kap. 2.4.2.1 beschrieben zunächst bei den entsprechenden Aminoalkoholen die Aminofunktionen durch Umsetzung mit Boc₂O oder Chlorameisensäurebenzylester in Dioxan oder DCM als Lösungsmittel geschützt und anschließend die Alkoholfunktionen mit Methansulfonsäurechlorid in den Methansulfonsäureester bzw. mit *p*-Toluolsulfonsäurechlorid in den *p*-Toluolsulfonsäureester überführt.

n	Aminoalkohol	Einführung R ₁		Einführung R ₂	
2	3-Aminopropan-1-ol	Boc (15)	94 %	Tos (17)	Zersetzung
				Mes (18)	84 %
		Z (16)	61 %	Tos (19)	64 %
3	4-Aminobutan-1-ol	Boc (20)	94 %	Mes (21)	95 %
4	5-Aminopentan-1-ol	Boc (22)	97 %	Mes (23)	98 %

Tabelle 2.4: Ausbeuten bei der Darstellung der Verbindungen 15 bis 23

Bei der Darstellung von *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-3-aminopropyltosylat (17) kam es zu einer sofortigen Zersetzung der Verbindung durch Zyklisierung zu 1,3-Oxazin-2-on, so daß Verbindung 17 nicht isoliert werden konnte. Allgemein lässt sich aber feststellen, daß die Ausbeuten bei der Einführung der Boc-Schutzgruppen etwas besser als bei der Einführung der Z-Schutzgruppe waren. Ebenso konnten deutlich bessere Ausbeuten bei der Synthese der Methansulfonsäureester im Vergleich zu den *p*-Toluolsulfonsäureestern erzielt werden.

Die Alkylierung von Verbindung 2 mit den Verbindungen 17 bis 23 im nächsten Schritt erfolgte analog den Durchführungen für die Verbindungen 5 und 11 in DMF mit DBU als Base (Kap.2.4.2.1) und lieferte Ausbeuten von 82 % für Verbindung 24, 90 % für Verbindung 25, 86 % für Verbindung 26 und 80 % für Verbindung 27.

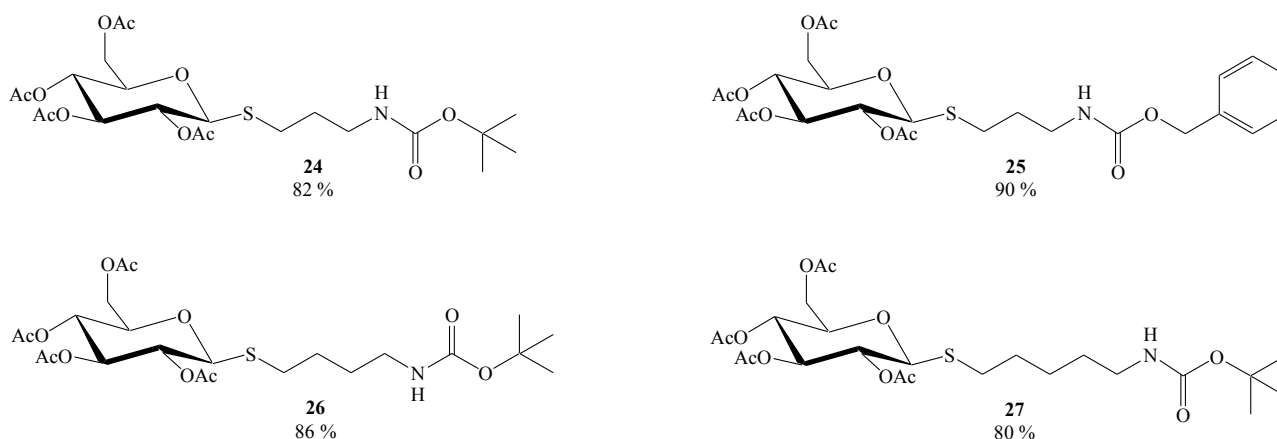


Abbildung 2.30: Verbindungen 24, 25, 26 und 27

Verbindung 24 wurde ebenfalls durch eine radikalische Addition des Thioglukosids 2 an *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-allylamin dargestellt. Dazu wurden das Thioglukosid und das Allylamin in absolutem Dioxan gelöst und bei einer Temperatur von 80°C mehrfach mit katalytischen Mengen an AIBN versetzt. Auf diese Weise konnte allerdings nur eine Ausbeute von 47 % erzielt werden, obwohl mit Hilfe von Dünnschichtchromatographie ein vollständiges Abreagieren des Allylamins

beobachtet werden konnte. Da *N-tert*-Butyloxycarbonyl-allylamin kommerziell erwerblich ist, stellt dieser Reaktionsweg trotz der unbefriedigenden Ausbeute eine gute Alternative dar. Hervorzuheben ist v.a. der problemlose Einsatz der Boc-Schutzgruppe und die Einsparung eines Syntheseschritts verglichen mit der Alkylierung über Sulfonsäureester.

Der weitere Aufbau der Bausteine **28**, **29** und **30** aus den Verbindungen **25** bis **27** erfolgte nach dem in Kapitel 2.4.2.2 beschriebenen Vorgehen für Baustein **14**. Zunächst wurden bei den Verbindungen **26** und **27** die Boc-Schutzgruppen mit einer 40%igen Lösung von TFA in DCM und im Fall von Verbindung **25** die Z-Schutzgruppe mittels einer Hydrierung entfernt, anschließend erfolgte die Knüpfung der Amidbindung mit Boc-Asp(OBn)-OPfp (**12**) in Ethylacetat mit DIPEA als Base. Es wurden hierbei Ausbeuten von 90 % für Baustein **28**, 83 % für Baustein **29** und 92 % für Baustein **30** erzielt.

Um für diese Bausteine auch die mögliche Verwendung in einer Festphasensynthese zu gewährleisten, wurden aus den Verbindungen **26** und **27** ebenfalls Bausteine mit einem Fmoc/*t*Bu-Schutzgruppensystem am Asparaginsäure-Rückgrat dargestellt (Verbindungen **31** und **32**). Die Synthese entspricht dem Vorgehen bei der Darstellung der Verbindungen **29** und **30** mit Fmoc-Asp(O*t*Bu)-OPfp an Stelle von Boc-Asp(OBn)-OPfp. Die Ausbeuten betragen in diesem Fall 64 % für Verbindung **31** und 74 % für Verbindung **32** und sind somit deutlich geringer im Vergleich zu den Bausteinen mit Boc/Benzyl-Schutzgruppensystem.

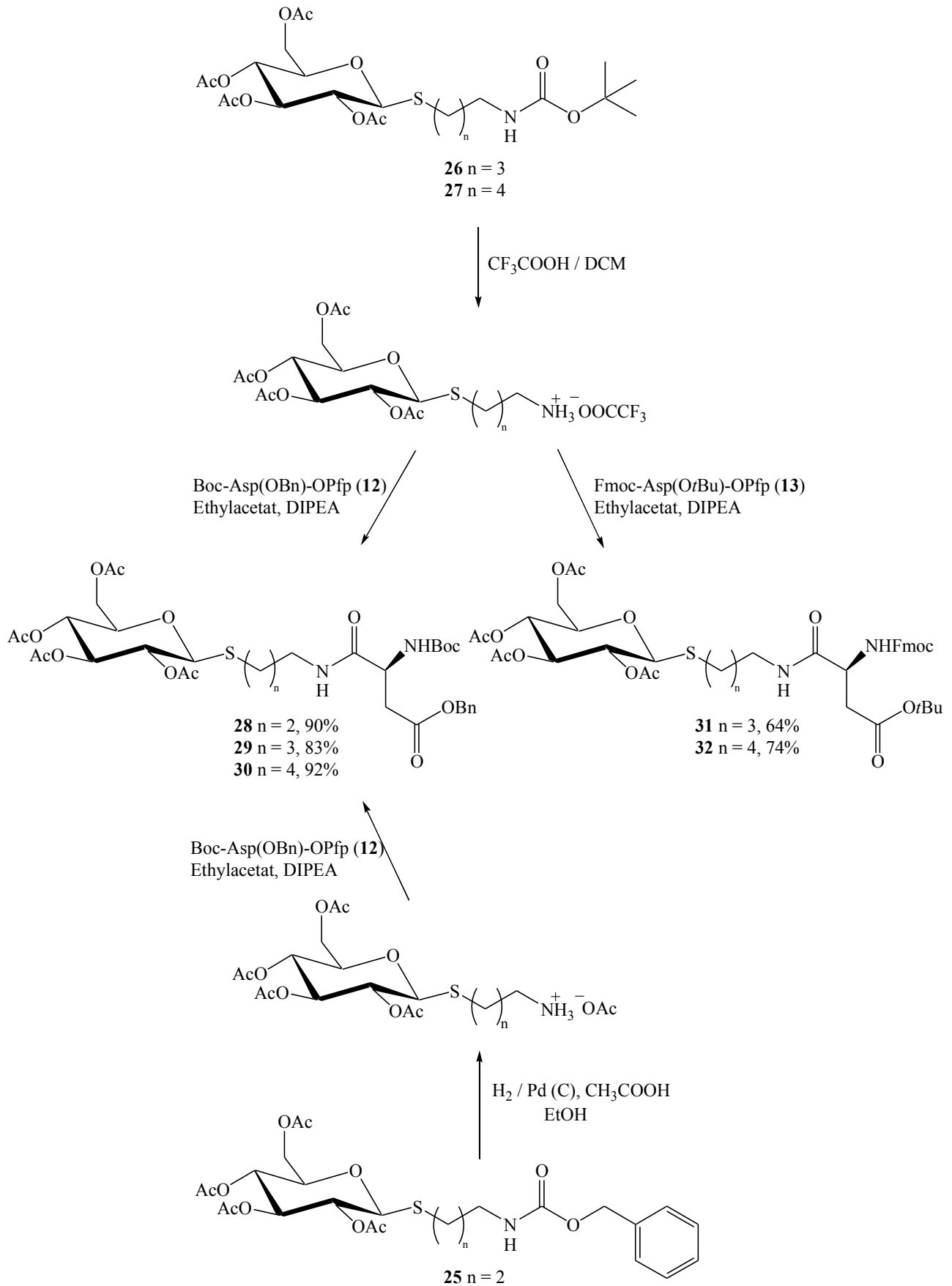


Abbildung 2.31: Darstellung der Verbindungen 28 bis 32

2.4.2.4 Darstellung von neo-Glukopeptidbausteinen mit verzweigten alkyliischen Spacern

Da neben der unterschiedlichen Flexibilität bezüglich der räumlichen Positionierung des Kohlenhydrats in einem neo-Glykopeptid durch die Veränderung der Spacer-Länge auch die Veränderungen der sterischen Abschirmung des Zuckerrestes und der hydrophoben Wechselwirkungen eine Möglichkeit zur Veränderung der Wechselwirkungen zwischen neo-Glykopeptid und Lektin bieten, wurden neben den Einfachen auch verzweigte alkyliische Spacer eingesetzt.

Für die Synthese dieser Bausteine wurde von den Aminosäuren L-Alanin, L-Valin, L-Leucin und L-Norvalin ausgegangen.

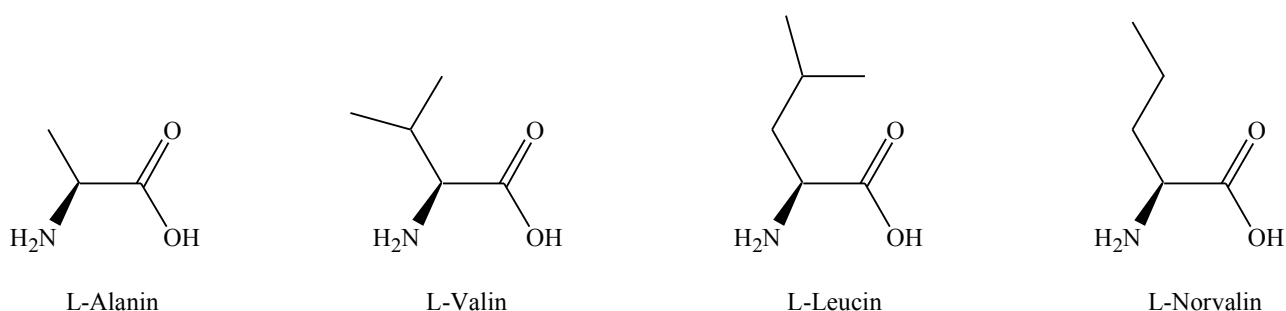


Abbildung 2.32: Verwendete Aminosäuren für die Darstellung von Bausteinen mit verzweigten Alkylspacern

Diese wurden zunächst nach literaturbekannten Methoden zu den entsprechenden Aminoalkoholen **33**, **34**, **35** und **36** reduziert^[189, 190]. Die erhaltenen 2-Aminoalkohole wurden im nächsten Schritt mit einer Z-Schutzgruppe an der Aminofunktion geschützt, um eine mögliche Zyklisierung nach der Überführung in die entsprechenden Sulfonsäureester zu verhindern. Dazu wurden die Verbindungen **33** bis **36** in DCM mit Chlorameisensäurebenzylester und NaHCO₃-Lösung als Base umgesetzt. Es konnten Ausbeuten von bis 98 % für das Alaninderivat (**37**), 90 % für das Valinderivat (**38**), 86 % für das Leucinderivat (**39**) und 73 % für das Norvalinderivat (**40**) erhalten werden.

Die nun geschützten Verbindungen wurden anschließend mit Methansulfonsäurechlorid in DCM mit Triethylamin als Base zu den entsprechenden Methansulfonsäureestern **41**, **42**, **43** und **44** umgesetzt.

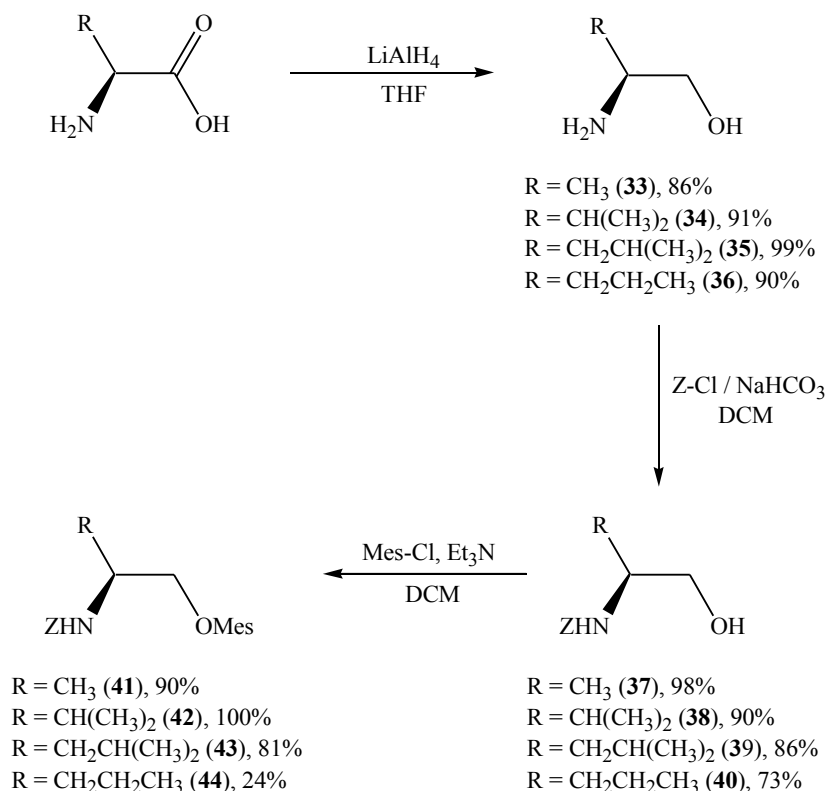


Abbildung 2.33: Reduktion von Aminosäuren zu Aminoalkoholen

Als Ausbeuten erhielt man für Verbindung **41** 90 %, 81 % für Verbindung **43** und eine quantitative Umsetzung für Verbindung **42**. Dagegen betrug die Ausbeute des Norvalinderivats **44** nur 24 %, so daß in diesem Fall ausgehend von L-Norvalin nur eine Gesamtausbeute von 16 % erreicht werden konnte.

Die darauf folgende anomere Alkylierung des Thioglukosids **2** erfolgte bei 0°C in DMF als Lösungsmittel und mit DBU als Base. Die erhaltenen Glukoside **45** (Ausbeute: 69 %), **46** (Ausbeute: 64 %), **47** (Ausbeute: 37 %) und **48** (Ausbeute: 46 %) wurden dann mit Wasserstoff und Palladium als Katalysator an den Aminofunktionen entschützt und anschließend direkt mit Verbindung **12** in Ethylacetat und mit DIPEA als Base zu den entsprechenden Bausteinen **49** (Ausbeute: 90 %), **50** (Ausbeute: 35 %), **51** (Ausbeute: 80 %) und **52** (Ausbeute: 47 %) umgesetzt.

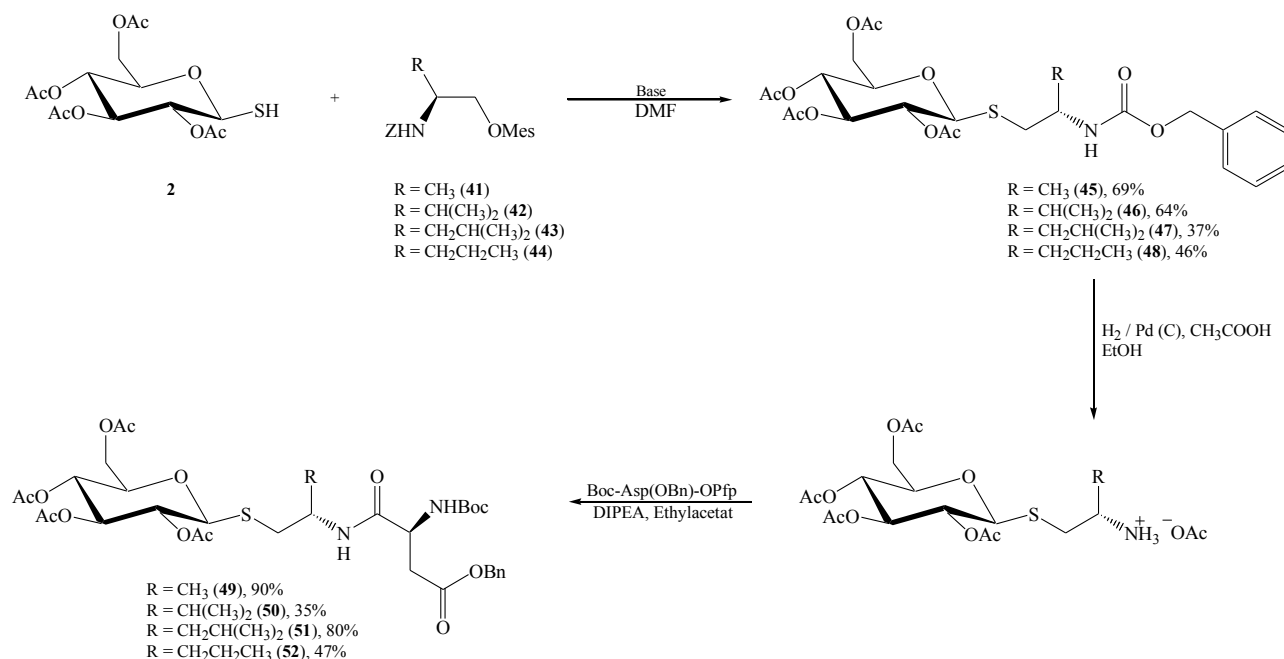


Abbildung 2.34: Darstellung von Bausteinen mit verzweigten alkyliischen Spacern

Im Vergleich zu den linearen alkyliischen Spacern erhielt man bei der Alkylierung von Verbindung **2** mit den verzweigten alkyliischen Spacern deutlich schlechtere Ausbeuten, was mit der größeren sterischen Abschirmung des Methansulfonsäureesters zusammenhängt. Im Fall der Verbindungen **47** und **48** waren die Ausbeuten bei der Alkylierung zudem auffallend schlechter als bei den Verbindungen **45** und **46**. Hier konnte auch durch eine Umsetzung mit NaH als stärkerer Base bei erhöhter Temperatur von 35°C keine wesentliche Steigerung der Ausbeute erzielt werden.

Glykosid	Aglykon	Base	Produkt 1	Aminosäure	Produkt 2
2	41	DBU	45 (69 %)	Boc-Asp(OBn)-OPfp	49 (90 %)
	42	DBU	46 (64 %)	Boc-Asp(OBn)-OPfp	50 (35 %)
	43	DBU	47 (37 %)	Boc-Asp(OBn)-OPfp	51 (80 %)
	44	NaH	48 (27 %)	Boc-Asp(OBn)-OPfp	52 (47 %)
	44	DBU	48 (46 %)		

Tabelle 2.5: Ausbeuten bei der Darstellung von Bausteinen mit verzweigten alkyliischen Spacern

Baustein **49** wurde ebenfalls über eine Reaktion von Verbindung **2** mit *N-tert*-Butyloxycarbonyl-2-aminopropyltosylat (**53**) in DMF mit DBU zu Verbindung **54** in 88%iger Ausbeute dargestellt. Dabei ist darauf zu achten, daß Verbindung **53** unmittelbar nach der Darstellung weiter umgesetzt wird, da es sonst durch ungewollte Zyklisierung zu Ausbeuteverlusten kommt. Nach anschließender Entschützung von **54** mit Trifluoressigsäure in DCM und Umsetzung mit Verbindung **12** in Ethylacetat mit DIPEA als Base wird Verbindung **49** mit einer Ausbeute von 89 % erhalten.

2.4.2.5 Darstellung von Mannose- und Galaktosebausteinen

Nachdem die oben beschriebenen Synthesen mit Glukose als Kohlenhydrat erfolgreich durchgeführt werden konnten, sollte das Baustein-Konzept in ausgewählten Fällen auch auf Mannose und Galaktose ausgeweitet werden.

Da bei der Mannose der Substituent an der 2-Position axial angeordnet ist, führen Nachbargruppeneffekte der Acetylschutzgruppe im Gegensatz zur Glukose und zur Galaktose zum entsprechenden α -Produkt bei der Darstellung von 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-1-thio- α -D-mannopyranose (**55**). Ebenso wurden alle, durch nukleophile Substitution von Verbindung **55** dargestellten Mannosid-Bausteine, in der α -Konfiguration erhalten.

Zunächst wurden Alkylierungen von Verbindung **55** mit den Verbindungen **10** und **41** in absolutem DMF und mit DBU als Base durchgeführt. Das Thiomannosid **56** konnte so in einer Ausbeute von 22 % erhalten werden. Bei der Darstellung des Thiomannosids **57** konnte auch nach säulenchromatographischer Aufreinigung und anschließender mehrfacher Kristallisation das gewünschte Produkt nicht vollständig rein erhalten werden. Die Rohausbeute beträgt in diesem Fall 70 %. Auf eine weitere Umsetzung wurde verzichtet.

Aus Verbindung **56** wurde nach der mit Palladium katalysierten Hydrierung der Schutzgruppe das erhaltene Acetat durch Umsetzung mit Boc-Asp(OBn)-OPfp (**12**) in Ethylacetat mit DIPEA der Baustein **58** mit einer Ausbeute von 59 % gewonnen.

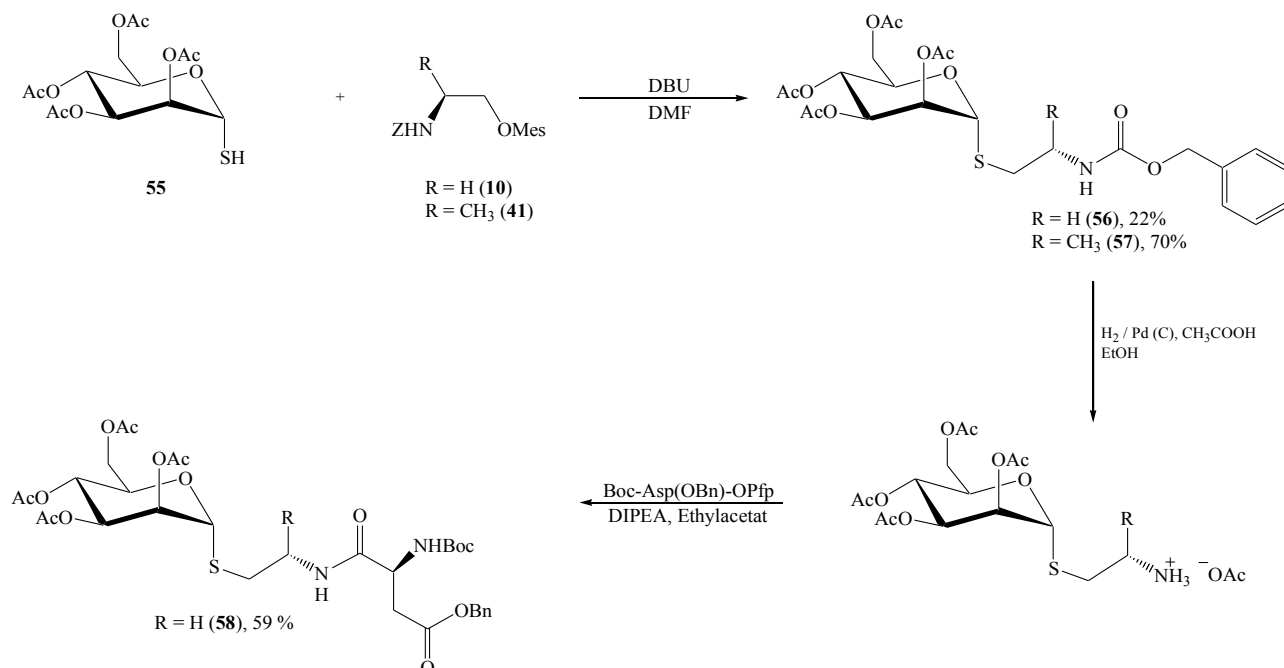


Abbildung 2.35: Darstellung des Bausteins **58**

Im Falle der Galaktose erfolgte die Alkylierung der literaturbekannten Verbindung **60**^[191, 192] mit den Verbindungen **10** und **41** und DBU als Base in *N,N'*-Dimethylformamid als Lösungsmittel. Auf diesem Weg erhielt man die Galaktoside **61** und **62** in Ausbeuten von 81 % bzw. 82 %.

Bei Verbindung **62** wurde anschließend unter Wasserstoff-Atmosphäre mit Palladium als Katalysator und Ethanol als Lösungsmittel die Aminofunktion entschützt (Ausbeute: 96 %) und mit Boc-Asp(OBn)-OPfp (**12**) und DIPEA in Ethylacetat zu Verbindung **63** in einer Ausbeute von 84 % umgesetzt.

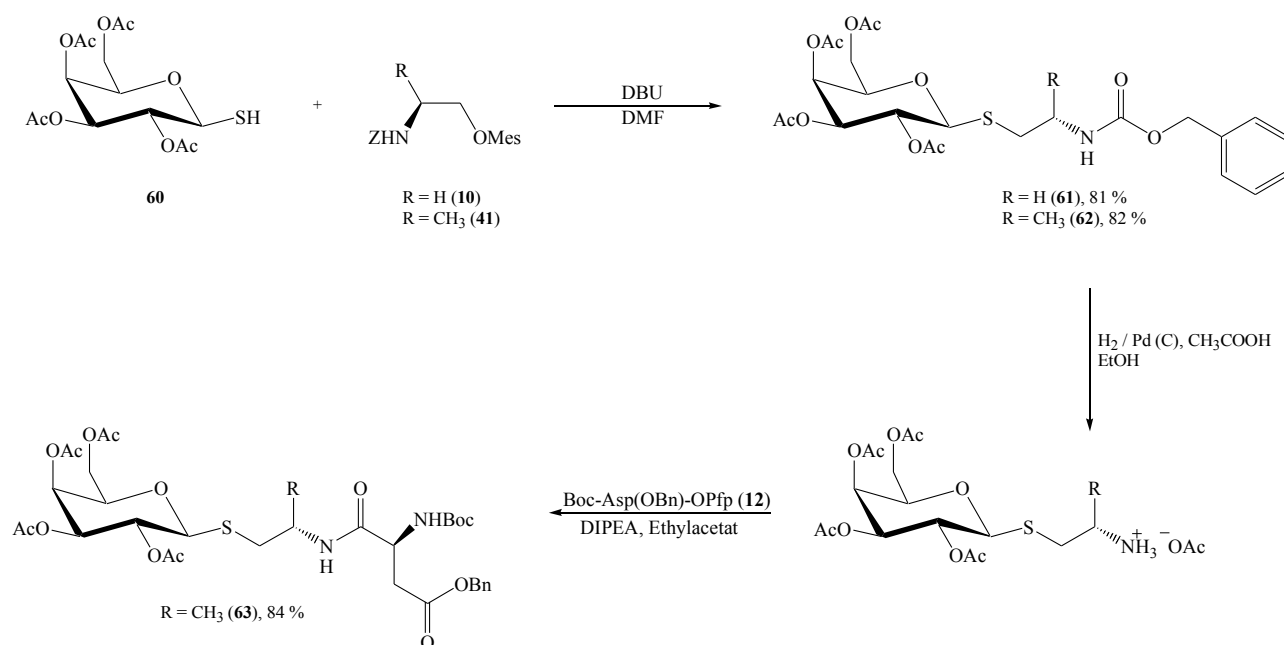


Abbildung 2.36: Darstellung des Bausteins **63**

2.4.3 Darstellung von Bausteinen mit aromatischen Spacern

In vorangegangenen Arbeiten über glykosilierte β -Peptide in der Arbeitsgruppe von T. Ziegler konnte bei mehreren Lektinen eine deutliche Steigerung der Affinität nachgewiesen werden, wenn der Spacer aromatische Strukturen enthielt. Diese können entweder in den eigentlichen Spacer integriert sein^[20], sich aber auch in einer Seitenkette befinden^[172]. Darüber hinaus sind neben benzolischen Strukturen auch Heteroaromaten möglich, beispielsweise als einfach einzuführendes Triazol^[193, 194].

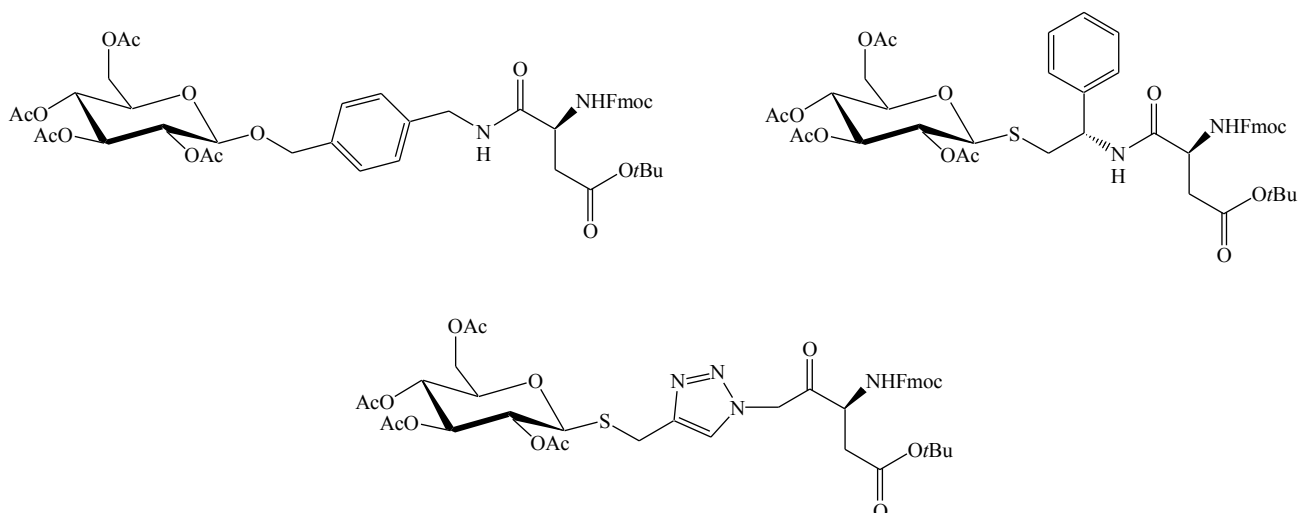


Abbildung 2.37: Beispiele für in der Arbeitsgruppe von T. Ziegler dargestellten Bausteine mit aromatischen Spacern

In der vorliegenden Arbeit sollte diese Konzept durch den Aufbau weiterer neuartiger Bausteine mit aromatischen und heteroaromatischen Spacern ausgebaut werden.

2.4.3.1 Darstellung von Bausteinen mit aromatischen Spacern

Aufbauend auf der Arbeit von Jan Hörzer^[20] wurden als Erstes Bausteine mit in den Spacer integrierten Aromaten dargestellt.

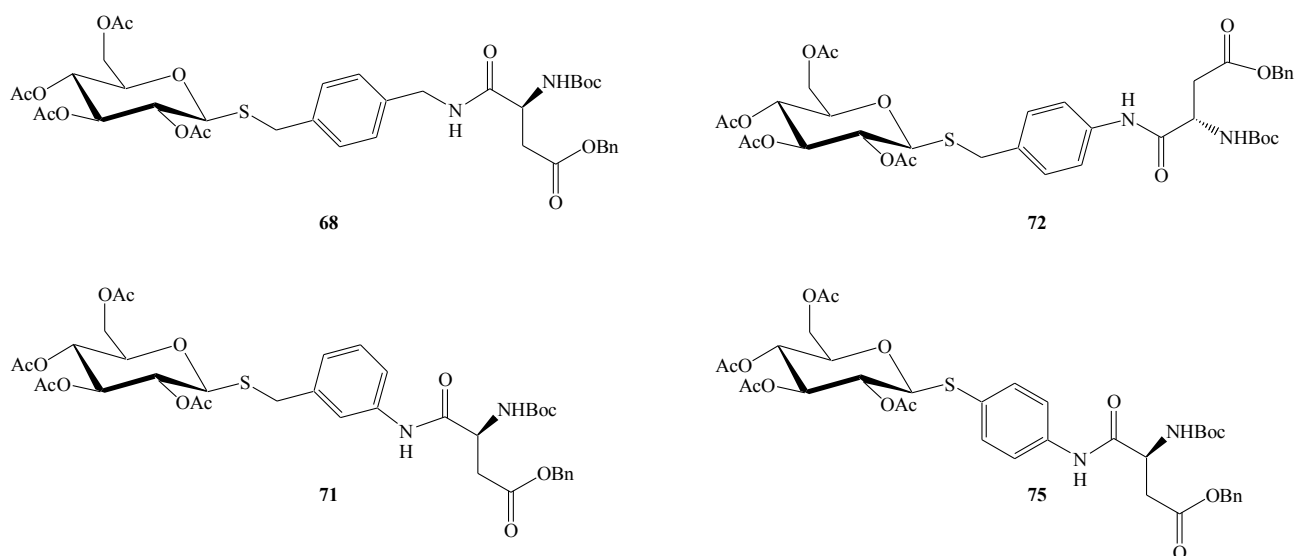


Abbildung 2.38: Dargestellte Bausteine mit integrierten arylischen Spacern

Beginnend mit einem *p*-Aminomethylbenzyl-Spacer wird zunächst aus 4-Cyanobenzaldehyd nach der Methode von Jan Hörzer durch Reduktion mit Wasserstoff 4-Aminomethylbenzylalkohol (**64**) in einer Ausbeute von 91 % gewonnen.

Der Alkohol **64** wurde im nächsten Schritt zunächst durch die Einführung einer Boc-Schutzgruppe mit Di-*tert*-butyldicarbonat unter basischen Bedingungen an der Aminofunktion in 91%iger

Ausbeute zum Alkohol **65** umgesetzt, welcher anschließend mit Methansulfonsäurechlorid und Triethylamin in das Mesylat **66** überführt wurde (Ausbeute: 49 %).

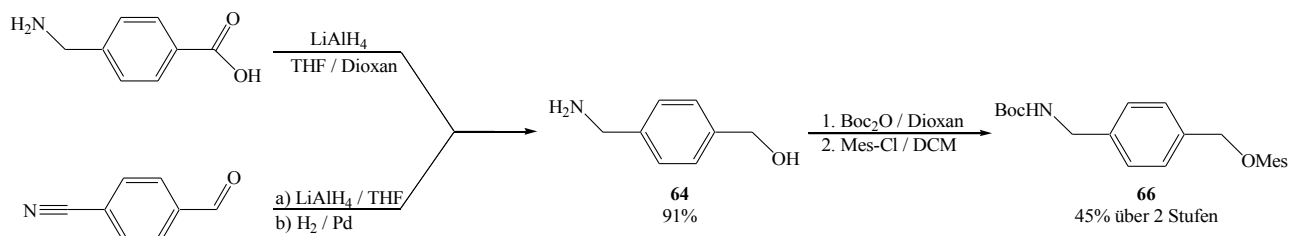


Abbildung 2.39: Darstellung von Verbindung **66**

Die weitere Umsetzung von Verbindung **66** in 92%iger Ausbeute zum Glukosid **67** verlief über eine nukleophile Substitution in DMF mit DBU als Base. Verbindung **67** wurde schließlich nach vorigem Entfernen der Boc-Gruppe mit dem Aktivester **12** in Ethylacetat in 93%iger Ausbeute zum Baustein **68** umgesetzt.

Die Bausteine **71** und **72** wurden durch die Umsetzung von Verbindung **2** mit 3-Nitrobenzylbromid bzw. 4-Nitrobenzylbromid erhalten. Im Falle von 3-Nitrobenzylbromid wurden das Thioglykosid **2** und 3-Nitrobenzylbromid in Ethylacetat mit 0.5 M Natriumhydrogencarbonat-Lösung und Tetrabutylammoniumhydrogensulfat als Phasentransferkatalysator zum aromatischen Glukosid **69** in einer Ausbeute von 91 % umgesetzt.

Im Fall von 4-Nitrobenzylbromid wurde Natriumhydrid als Base verwendet und die Reaktion in DMF durchgeführt. Hier konnte für Verbindung **70** eine Ausbeute von 74 % erreicht werden.

Nach einer gut verlaufenden palladiumkatalysierten Reduktion der Nitrogruppen mit Wasserstoff in Ethanol, konnten die Glykoside **69** und **70** mit Boc-Asp(OBn)-OPfp (**12**) und DIPEA in Ethylacetat in die Bausteine **71** und **72** überführt werden. Da es sich hierbei um eine nukleophile Substitution mit aromatischen Aminen handelt, verlief die Reaktion auch bei 80°C nur langsam. Bei Raumtemperatur war dagegen mittels Dünnschichtchromatographie keine Umsetzung zu beobachten.

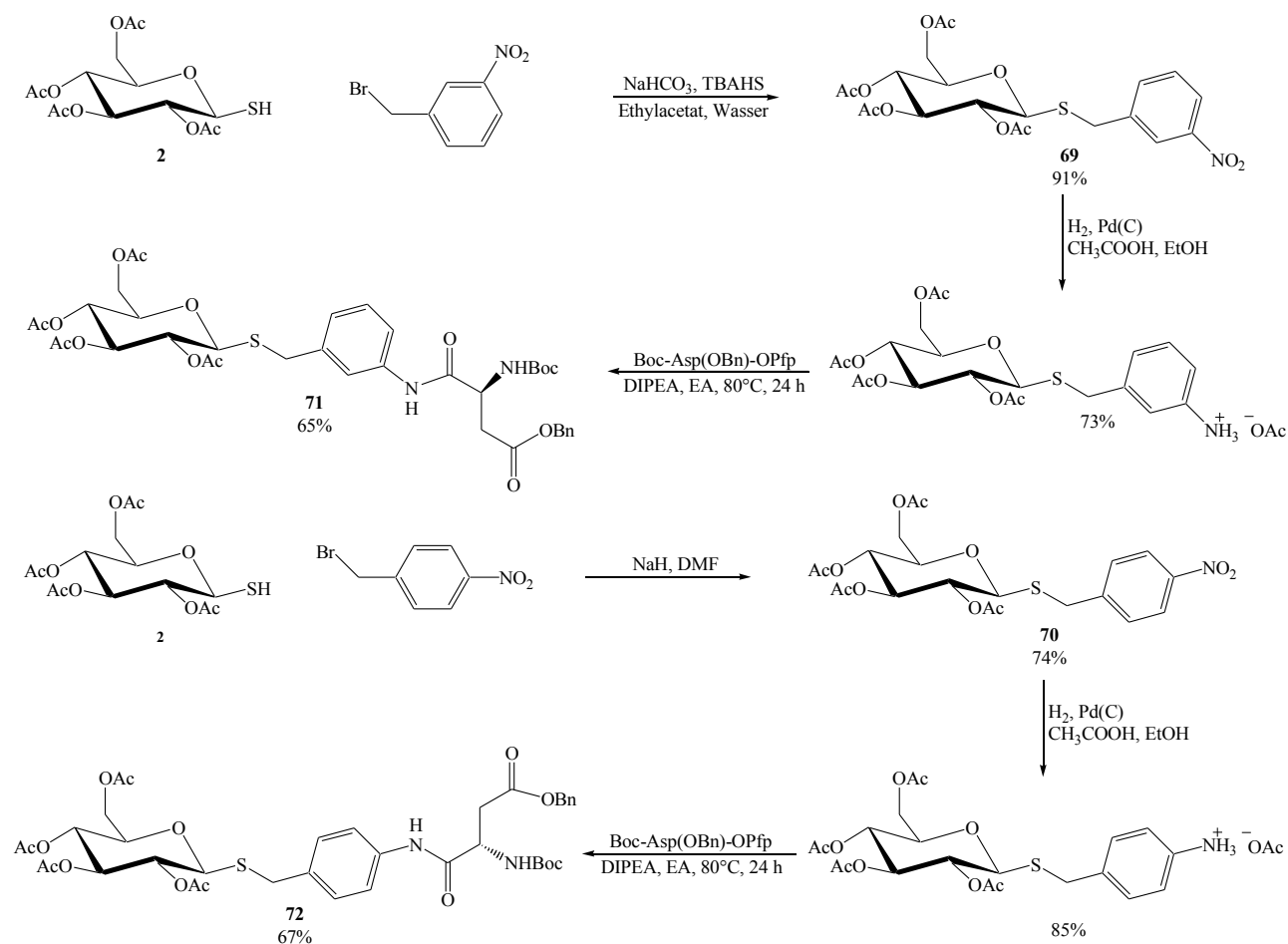


Abbildung 2.40: Darstellung der Bausteine 71 und 72

Als letzter Baustein dieser Reihe wurde Verbindung **75** dargestellt. Der Versuch, das Glukosid **74** über eine nukleophile Substitution am Aromaten mit Verbindung **2** und 1-Chlor-4-Nitrobenzol darzustellen, war nicht erfolgreich. Es konnte auch bei erhöhter Temperatur keine Umsetzung festgestellt werden. Deshalb wurde zunächst nach der Methode von Charles C. Price 1-Chlor-4-Nitrobenzol zu 4-Nitrothiophenol (**73**) umgesetzt^[195]. Da 4-Nitrothiophenol bedingt durch mesomere Effekte kein gutes S-Nukleophil darstellt^[196], musste es zunächst mit Na_2CO_3 in das 4-Nitrothiophenolat-Anion überführt werden, welches dann in einer Phasentransferkatalyse über 18 h mit Acetobromglucose zum gewünschten Produkt **74** in einer Ausbeute von 85 % glykosiliert werden konnte^[197, 198]. Die darauf folgende Reduktion der Nitrogruppe wurde zunächst palladiumkatalysiert unter Wasserstoffatmosphäre durchgeführt. Hierbei kam es aber zu einer teilweisen Zersetzung des Produkts. Bei permanenter Kontrolle des Reaktionsverlaufs mittels DC und rechtzeitigem Abbruch der Reaktion dennoch eine hohe Ausbeute erzielt werden. Alternativ wurde die Reduktion mit Zinn(II)chlorid als Reduktionsmittel durchgeführt. In diesem Fall betrug die Ausbeute 83 %. Die anschließende Kupplung des phenylischen Amins mit dem Asparaginsäurederivat **12** in Ethylacetat erfolgte nur bei Siedetemperatur und Reaktionszeiten von über 40 Stunden. Man erhält auf diesem Weg eine Ausbeute von 55 % für Verbindung **75**.

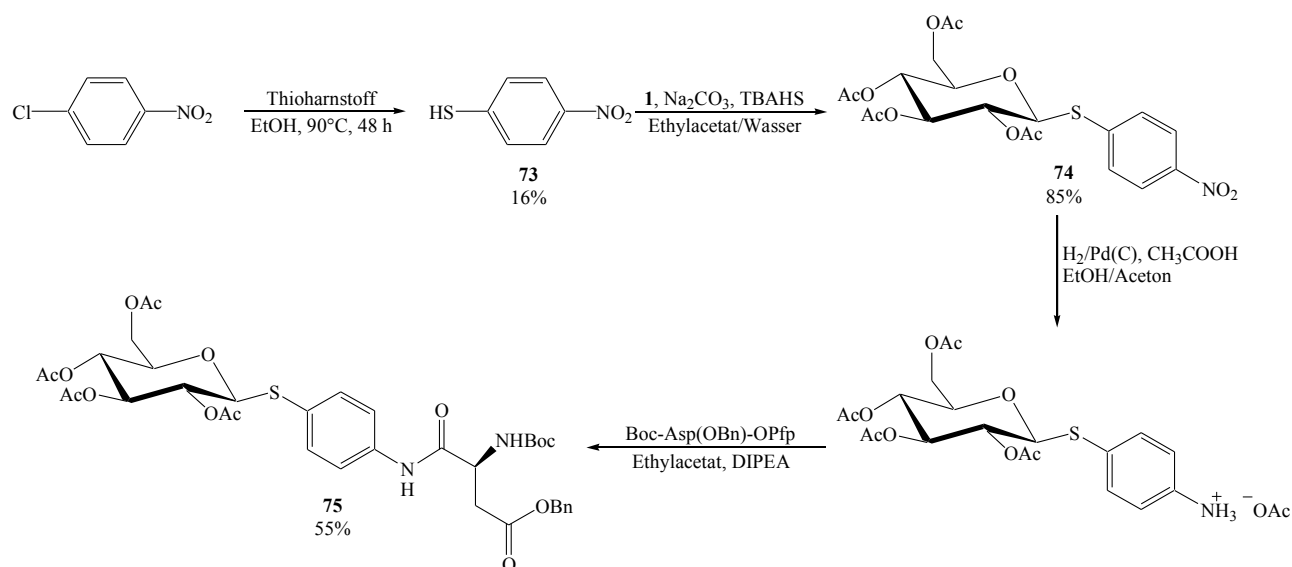


Abbildung 2.41: Darstellung von Verbindung 75

2.4.3.2 Darstellung von Bausteinen mit phenylischen Seitenketten

Eine weitere interessante Klasse von neo-Glykopeptidbausteinen enthält aromatische Strukturen in einer Seitenkette des Spacers. Dadurch erhält der Aromat eine höhere Beweglichkeit und ermöglicht so bessere hydrophobe Wechselwirkungen mit den aromatischen Aminosäuren des Lektins^[199]. Für diesen Ansatz wurden Bausteine synthetisiert, deren Spacer auf den Aminosäuren D- und L-Phenylglycin und L-Phenylalanin aufbauen.

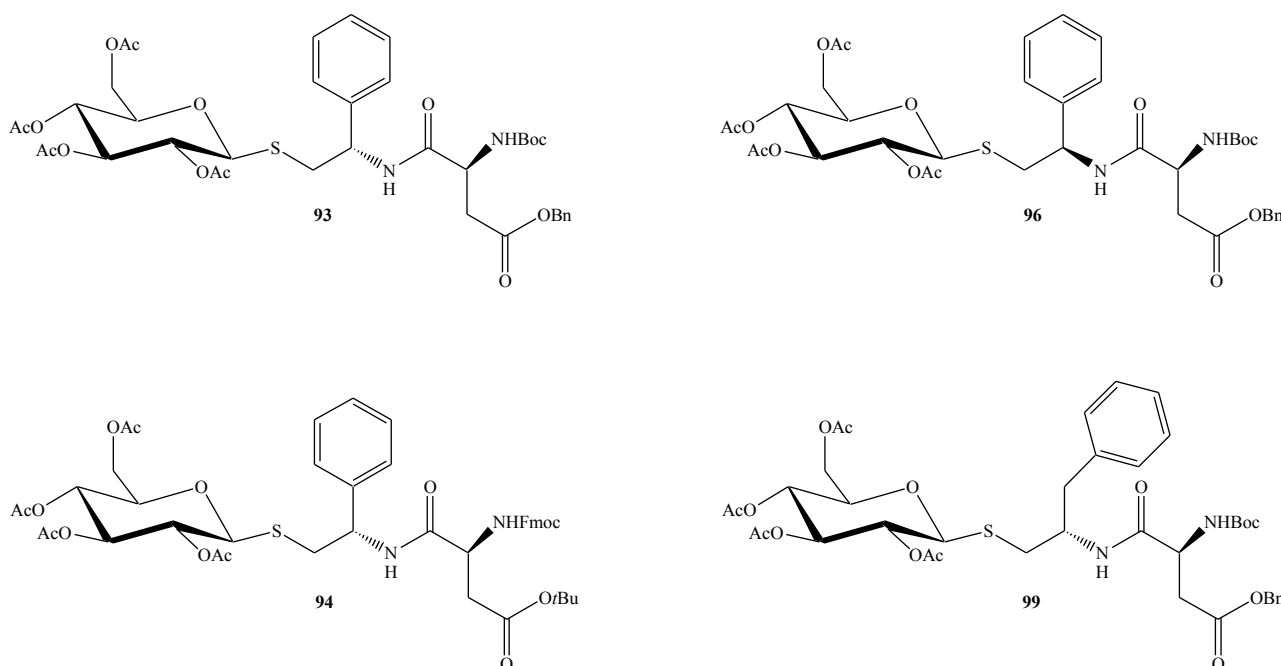


Abbildung 2.42: Dargestellte Bausteine mit phenylischen Spacern

Zunächst wurden die Aminosäuren nach bekannten Literaturvorschriften mit

Lithiumaluminiumhydrid zu den entsprechenden Alkoholen **76**, **77** und **78** reduziert^[200], welche dann an der Aminofunktion mit Chlorameisensäurebenzylester oder Di-*tert*-butyldicarbonat zu den *Z*- bzw. Boc-geschützten Verbindungen **79**, **80**, **81**, **82**, **83** und **84** umgesetzt wurden.

Die Boc-geschützten Aminoalkohole **79**, **81** und **83** wurden im nächsten Schritt mit *p*-Toluolsulfonsäurechlorid und Triethylamin in DCM in die *p*-Toluolsulfonsäureester **85**, **87** und **89**, die *Z*-geschützten Aminoalkohole mit Methansulfonsäurechlorid und Triethylamin in die entsprechenden Methansulfonsäureester **86**, **88** und **90** überführt. Die Ausbeuten bei der Darstellung der Verbindungen **76** bis **90** sind in Tabelle 2.6 zusammengefasst.

Aminosäure	Reduktion mit LAH	Schutz der Aminofunktion		Sulfonsäureester	
(S)-Phenylglycin	76 , 81 %	Boc	79 , 93 %	Tos	85 , 82 %
		<i>Z</i>	80 , 86 %	Mes	86 , 98 %
(R)-Phenylglycin	77 , 84 %	Boc	81 , 91 %	Tos	87 , 28 %
		<i>Z</i>	82 , 59 %	Mes	88 , 66 %
(S)-Phenylalanin	78 , 96 %	Boc	83 , 99 %	Tos	89 , 54 %
		<i>Z</i>	84 , 86 %	Mes	90 , 93 %

Tabelle 2.6: Übersicht über die Ausbeuten bei der Darstellung der Verbindungen **76** bis **90**

Auch in diesem Fall sind die Boc-geschützten Sulfonsäureester nur in der Kälte über einen längeren Zeitraum stabil, und wurden deshalb unmittelbar nach ihrer Darstellung weiter umgesetzt.

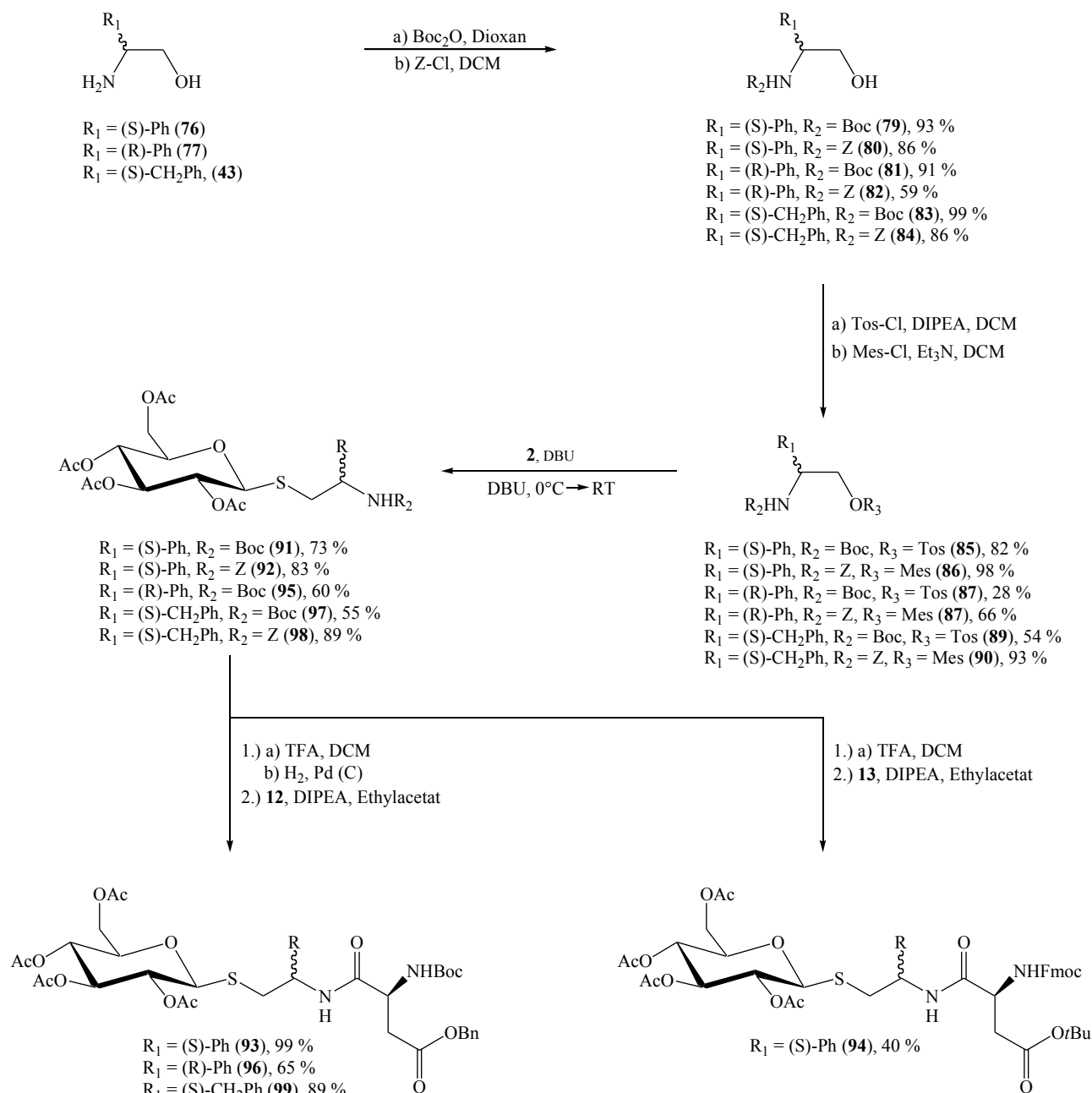


Abbildung 2.43: Darstellung der Bausteine 93, 94, 96 und 99

Das weitere Vorgehen zum Aufbau der Bausteine erfolgte nach der bereits für den Baustein 5 beschriebenen Methode. Verbindung 2 wurde dafür zunächst mit den Verbindungen 85 bis 90 in einer nukleophilen Substitution in DMF mit DBU als Base am Schwefel alkyliert. Anschließend wurden die Boc-geschützten Verbindungen 91, 95 und 97 mit Trifluoressigsäure in DCM und die Z-geschützten Verbindungen 92 und 98 hydrogenolytisch entschützt, und schließlich mit Boc-Asp(OBn)-OPfp (12) bzw. Fmoc-Asp(OtBu)-OPfp (13) zu den in Abbildung 2.43 aufgeführten Bausteinen 93 (Ausbeute: 99 %), 94 (Ausbeute: 40 %), 96 (Ausbeute: 65 %) und 99 (Ausbeute: 89 %) umgesetzt. Die Resultate der jeweiligen Reaktionen sind in Tabelle 2.7 zusammengefasst.

Thioglykosid	Umsetzung mit	Glykosid	Umsetzung mit	Baustein
2	85	91, 73 %	Boc-Asp(OBn)-OPfp	93, 99 %
			Fmoc-Asp(OtBu)-OPfp	94, 40 %
	86	92, 83 %	Boc-Asp(OBn)-OPfp	93, 87 %
	87	95, 60 %	Boc-Asp(OBn)-OPfp	96, 65 %
	89	97, 55 %	Boc-Asp(OBn)-OPfp	99, 89 %
	90	98, 89 %	Boc-Asp(OBn)-OPfp	99, 80 %
55	86	100, 53 %	Boc-Asp(OBn)-OPfp	101, 81 %
60	86	102, 81 %	Boc-Asp(OBn)-OPfp	103, 62 %

Tabelle 2.7: Ausbeuten beim Aufbau von Bausteinen mit phenylischen Spacern

2.4.3.3 Darstellung von Mannose- und Galaktosebausteinen

Da im späteren Verlauf der Arbeit zunächst neo-Glykopeptide mit Phenylglycin-Spacern auf ihre Wechselwirkungen mit Lektinen untersucht werden sollten, wurden für diesen Spacer ebenfalls Bausteine mit Mannose und Galaktose als Kohlenhydrat synthetisiert.

Dazu wurden die Kohlenhydrate **55** und **60** durch Verbindung **86** am anomeren Schwefel zum Mannosid **100** (Ausbeute: 53 %) bzw. Galaktosid **102** (Ausbeute: 81 %) alkyliert. Als Lösungsmittel wurde erneut DMF, als Base DBU verwendet. Die Verbindungen **100** und **102** wurden dann in Methanol hydrogenolytisch an der Aminofunktion entschützt und schließlich mit DIPEA und Verbindung **12** in Ethylacetat zu den Bausteinen **101** (Ausbeute: 81 %) und **103** (Ausbeute: 62 %) verknüpft. Die erhaltenen Ausbeuten sind ebenfalls aus Tabelle 2.7 ersichtlich.

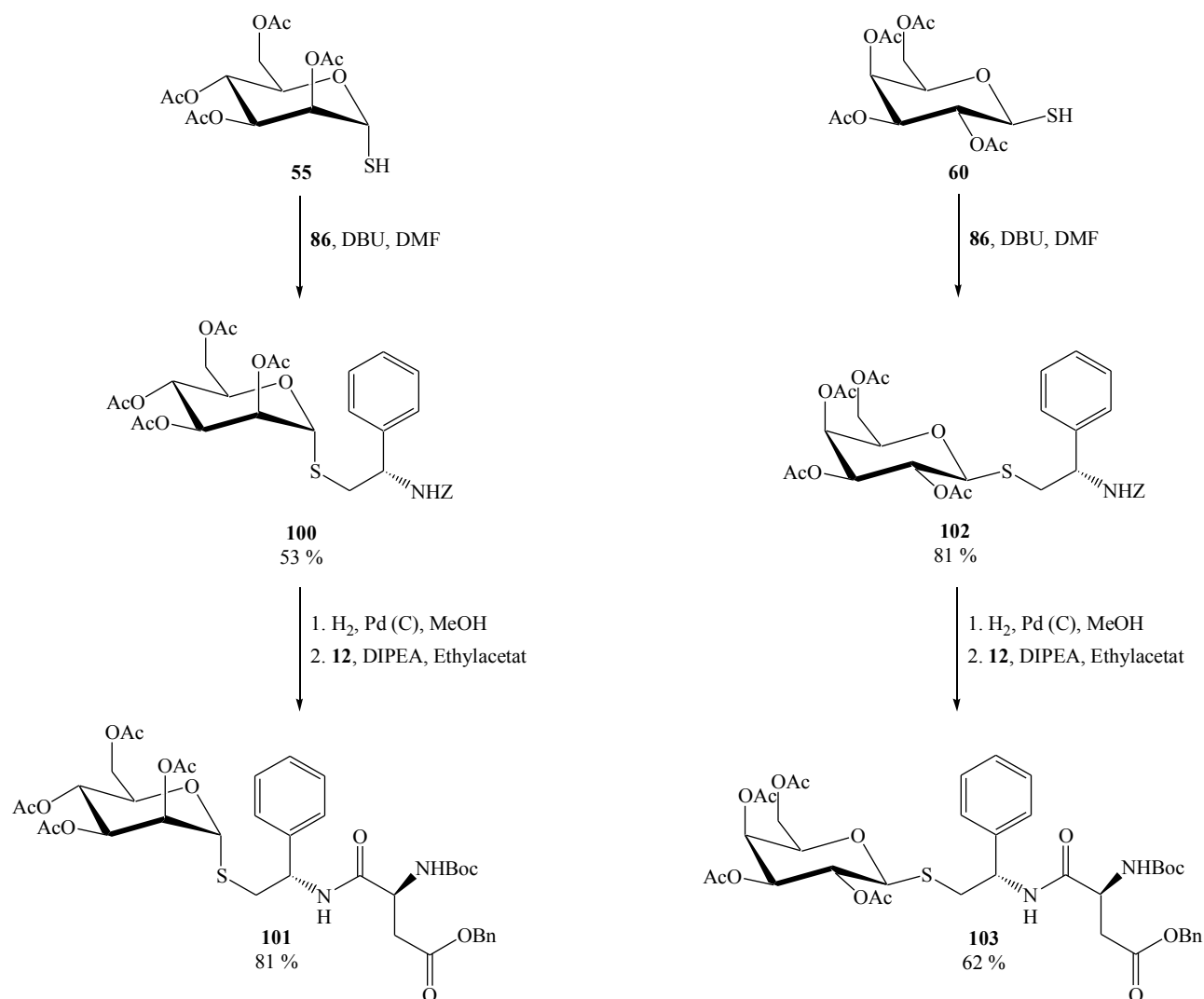


Abbildung 2.44: Die Synthese der Bausteine **101** und **103**

2.4.4 Darstellung von Bausteinen mit heteroaromatischen Spacern

Es ist bekannt, daß Heteroaromaten bei den hydrophoben Wechselwirkungen zwischen Proteinen und Liganden eine wichtige Rolle spielen. Oft befindet sich in den Bindungstaschen Tryptophan^[201], welches über seinen Indol-Rest besonders gut hydrophobe Wechselwirkungen eingehen kann, so z.B. bei der Bindung von Galektinen an Kohlenhydrate^[202]. In einigen Fällen beruht auf dieser Eigenschaft des Tryptophans sogar die gesamte Wirkungsweise von Proteinen und Toxinen, etwa bei dem Gift von Steinfischen^[203]. Es lässt sich auch beobachten, daß die hydrophoben Wechselwirkungen nicht ausschließlich in der eigentlichen Bindungstasche vorkommen, sondern oft auch außerhalb derselben einen orientierenden Effekt haben^[204].

Da bei dem hier verwendeten Konzept der neo-Glykopeptide die verwendeten Spacer für die hydrophoben Wechselwirkungen große Bedeutung haben, liegt es nahe in diese auch heteroaromatische Strukturen einzubauen.

Aus den oben beschriebenen Gründen wurde zunächst ein Baustein auf der Basis von L-Tryptophan synthetisiert. Ausgehend von *N*-Benzyloxycarbonyl-L-tryptophan wurde zunächst über eine Fischer-Veresterung in Methanol mit konzentrierter Salzsäure als Katalysator Z-Trp-OMe (**104**) in quantitativer Ausbeute hergestellt. Der Methylester **104** lässt sich in Methanol mit Natriumborhydrid zum Tryptophanol **105** (Ausbeute: 49 %) reduzieren, und kann anschließend mit Methansulfonsäurechlorid und Triethylamin in DCM in das Mesylat **106** mit einer Ausbeute von 76 % überführt werden.

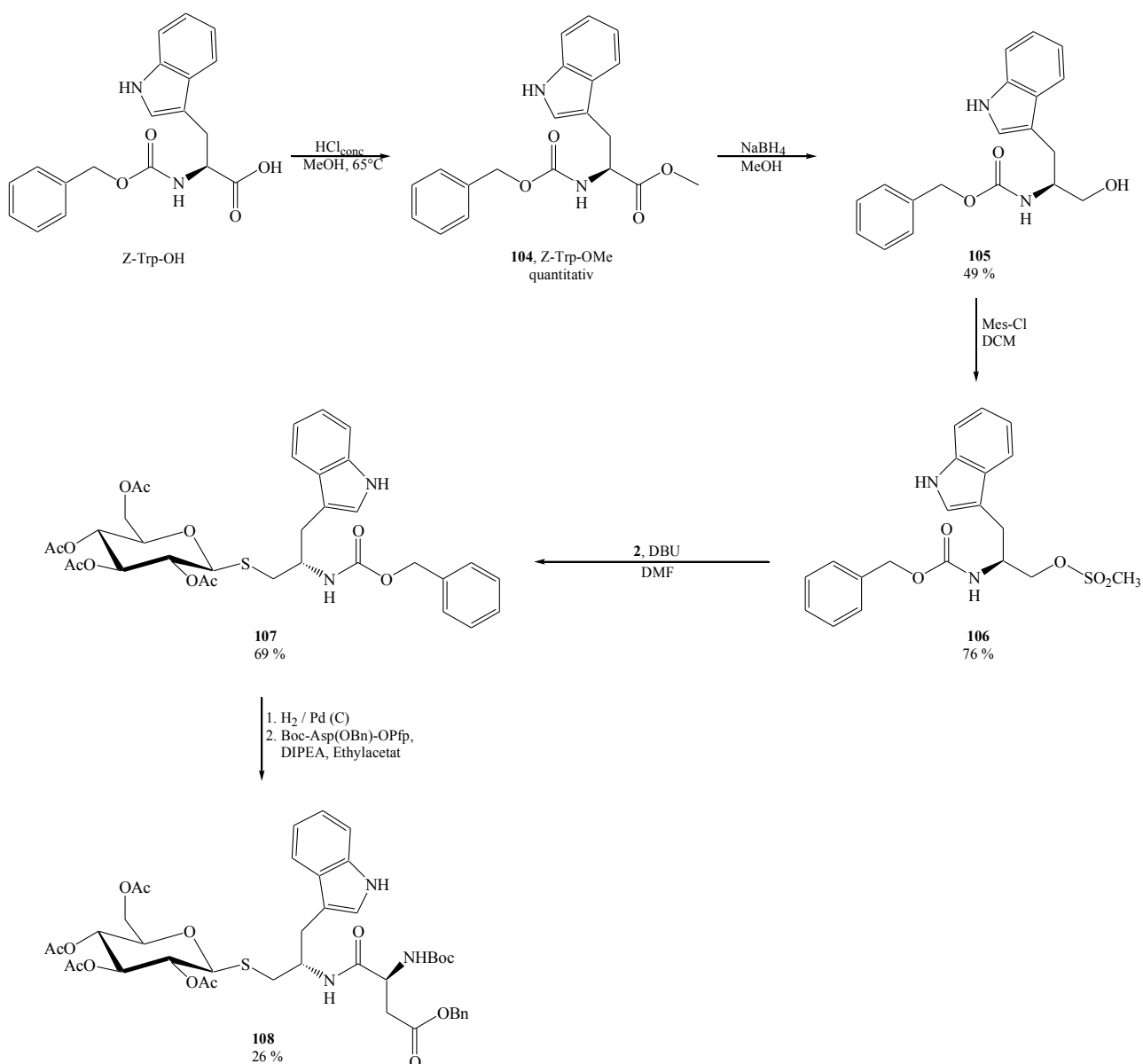


Abbildung 2.45: Darstellung von Verbindung **108**

Nach nukleophiler Substitution der so aktivierten Alkoholfunktion mit Verbindung **2** erhält man zunächst in 69 %iger Ausbeute das Glukosid **107**, welches nach hydrogenolytischer Entschützung der Aminofunktion im darauffolgenden Schritt mit Boc-Asp(OBn)-OPfp (**12**) zum Baustein **108**

umgesetzt werden kann (Ausbeute: 63 %).

Zusätzlich zu dem Baustein auf Tryptophan-Basis wurde noch ein Baustein mit einem in den Spacer integrierten Thiophen synthetisiert. Dafür wurde 2-Brom-5-Nitrothiophen (**109**)^[205, 206] zunächst mit Verbindung **2** und in einer phasentransferkatalysierten nukleophilen Substitution zu (5-Nitro-2-thienyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosid (**110**) umgesetzt (Ausbeute: 75 %), und anschließend die Nitrogruppe unter Wasserstoffatmosphäre mit Palladium als Katalysator in einer quantitativen Ausbeute zum Amin (**111**) reduziert. Die Umsetzung diesesamins mit Verbindung **12** und DIPEA zum Baustein **112** bei 45°C war nur in einem Versuch in einer geringen Ausbeuten von 46 % erfolgreich. Die geringe Ausbeute hängt vermutlich mit der geringen Nukleophilie der Aminogruppe zusammen. Um in diesem Fall die Ausbeuten zu steigern wurde Verbindung **112** ebenfalls durch Umsetzung von Verbindung **111** mit Boc-Asp(OBn)-OH und den Kupplungsreagenzien HATU und HOAt in DMF mit einer Ausbeute von 77 % durchgeführt (s. auch Kapitel 2.5.1).

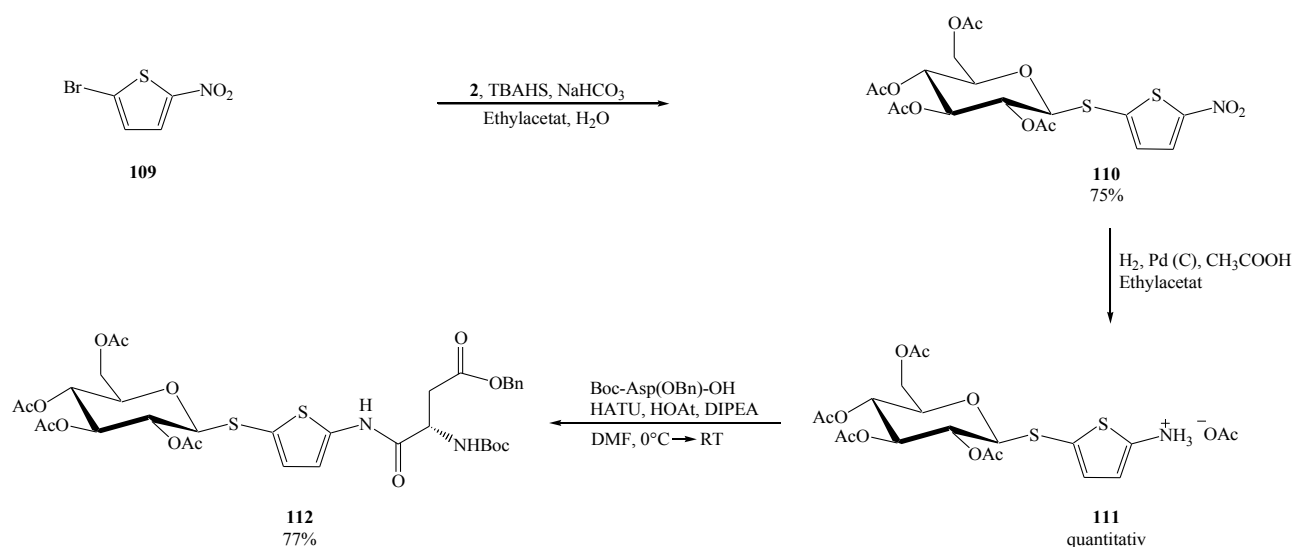


Abbildung 2.46: Darstellung von Verbindung **112**

2.4.5 Darstellung von Bausteinen mit alkyliischen Spacern und zusätzlicher funktioneller Gruppe

Neben den Bausteinen mit reinen alkyliischen Spacern sollten auch solche mit funktionalisierten Spacern dargestellt werden. Um das bewährte Konzept der Verwendung von Aminosäurederivaten beibehalten zu können, wurden für diesen Fall Arginin und Methionin ausgewählt.

Im Fall des Methionins wurde zunächst der Methylester *Z*-Met-OMe (**113**) über eine Fischer-Veresterung in Methanol mit konzentrierter Salzsäure als Katalysator in einer Ausbeute von 99 % dargestellt. Dieser Ester kann im darauffolgenden Schritt mit Natriumborhydrid zum Alkohol **114**

reduziert (Ausbeute: 96 %), und anschließend mit Methansulfonsäurechlorid und Triethylamin in 94%iger Ausbeute in den Methansulfonsäureester **115** überführt werden. Die Alkylierung des Thiozuckers **2** mit Verbindung **115** in DMF mit DBU als Base führte zum Thioglukosid **116** mit einer Ausbeute von 74 %. Verbindung **116** wurde dann nach Entfernen der Amino-Schutzgruppe unter Wasserstoffatmosphäre mit DIPEA und Boc-Asp(OBn)-OPfp (**12**) in Ethylacetat zum Baustein **117** in 70 %iger Ausbeute und mit Fmoc-Asp(O*t*Bu)-OPfp (**13**) zu Baustein **118** in 77 %iger Ausbeute umgesetzt.

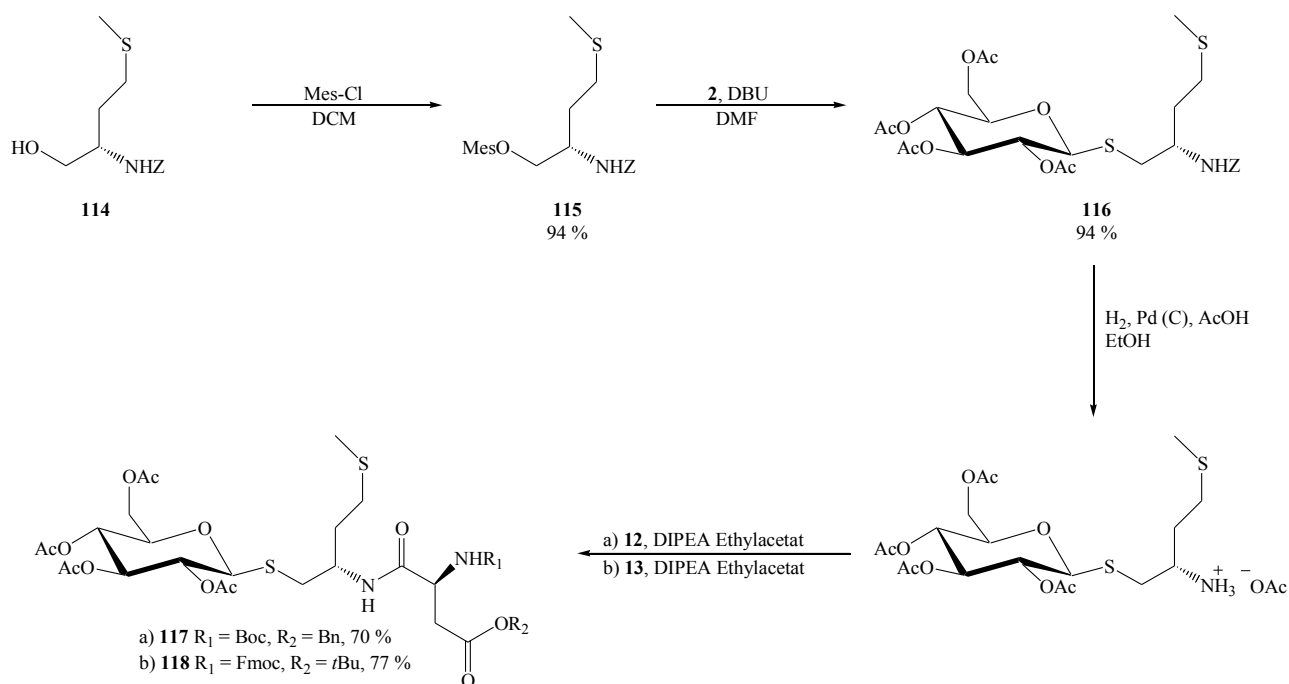


Abbildung 2.47: Synthese der Bausteine **117** und **118**

Bei dem auf Arginin basierenden Baustein **126** ergibt sich das Problem, daß die nukleophile Guanidin-Gruppe passend geschützt werden muss, um Nebenreaktionen zu vermeiden. Streng genommen sollten dabei alle drei Stickstoffe der Guanidin-Funktion einzeln geschützt sein, in der Praxis hat es sich aber in den meisten Fällen als ausreichend erwiesen, nur den ω -Stickstoff zu schützen. Dabei muss darauf geachtet werden, daß die verwendete Schutzgruppe orthogonal zu der Amino-Schutzgruppe des Spacers, den Schutzgruppen des Aminosäurerückgrats und den Schutzgruppen des Kohlenhydrats ist, um eine problemlose Synthese von neo-Glykopeptiden zu ermöglichen.

Die Überführung in Hydrochloride oder Hydrobromide sind die historisch frühesten und einfachsten Methoden, die Guanidinfunktion zu schützen. So berichten schon 1953 G. W. Anderson von der Verwendung von *Z*-Arg-OH · HBr zu Darstellung von L-Arginyl-L-Leucin-acetat^[207] und D. T. Gish von der Verwendung von *N* ^{α} -*p*-Nitrocarboboxy-argininchlorid-hydrochlorid zur

Darstellung bestimmter arginin-haltiger Peptide^[208]. Diese Schutzgruppenstrategie ist aber bei, wie im Fall dieser Arbeit verwendeten, nukleophilen Substitutionen unter basischen Bedingungen ungeeignet. Eine ebenfalls lange bekannte und sehr gängige Methode ist die Schützung der Guanidinfunktion mit Hilfe einer Nitro-Gruppe. Allerdings erniedrigt das in der Regel die Löslichkeit des Arginins in DMF drastisch^[209]. Dieser Umstand kann gerade beim Aufbau der neo-Glykopeptide zu Problemen führen, da hier die Löslichkeit der Moleküle mit steigender Zahl der gekuppelten Bausteine in DMF ebenfalls stark abnimmt, und sich DMF als am besten geeignetes Lösungsmittel für die hier verwendeten Peptidkupplungsmethoden erwiesen hat. Die Verwendung von Nitro-Schutzgruppen könnte diesen Effekt verstärken und wurde deshalb nicht in Betracht gezogen.

Eine dritte große Gruppe von häufig verwendeten Schutzgruppen für die ω -Position von Argininen sind Arensulfonylschutzgruppen. Daher wurde versucht, die Synthese des entsprechenden Bausteins einmal mit einer Tosyl-Schutzgruppe und einmal mit einer Pmc-Schutzgruppe durchzuführen.

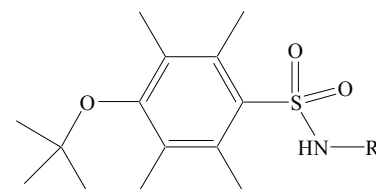


Abbildung 2.48: Pmc-Schutzgruppe

Heutzutage wird sehr häufig die von Ramage et al. entwickelte Pmc-Schutzgruppe^[210] verwendet, die zwar säurelabil ist, sich aber mittels geeigneter Reaktionsführung zumindest teilweise orthogonal zur Boc-Schutzgruppe des Aminosäurerückgrats verhält.

Ausgehend vom kommerziell erhältlichen Fmoc-Arg(Pmc)-OH konnte durch Veresterung mit Methanol in Ethylacetat und mit DCC als Kupplungsreagenz Fmoc-Arg(Pmc)-OMe (**119**) in einer Ausbeute von 56 % erhalten werden. Der Wechsel von DCC auf HOBt als Co-Reagenz ergab eine Steigerung der Ausbeute auf 83 %. Der Methylester **119** kann mit Natriumborhydrid zum Alkohol (**120**) reduziert (Ausbeute: 59 %) und anschließend mit Methansulfonsäurechlorid in das Mesylat (**121**) überführt werden (Ausbeute: 63 %). Allerdings konnte bei der Alkylierung von Verbindung **2** mit dem Mesylat **121** zum Glukosid **122** nur eine Ausbeute von 8 % an Rohprodukt erzielt werden.

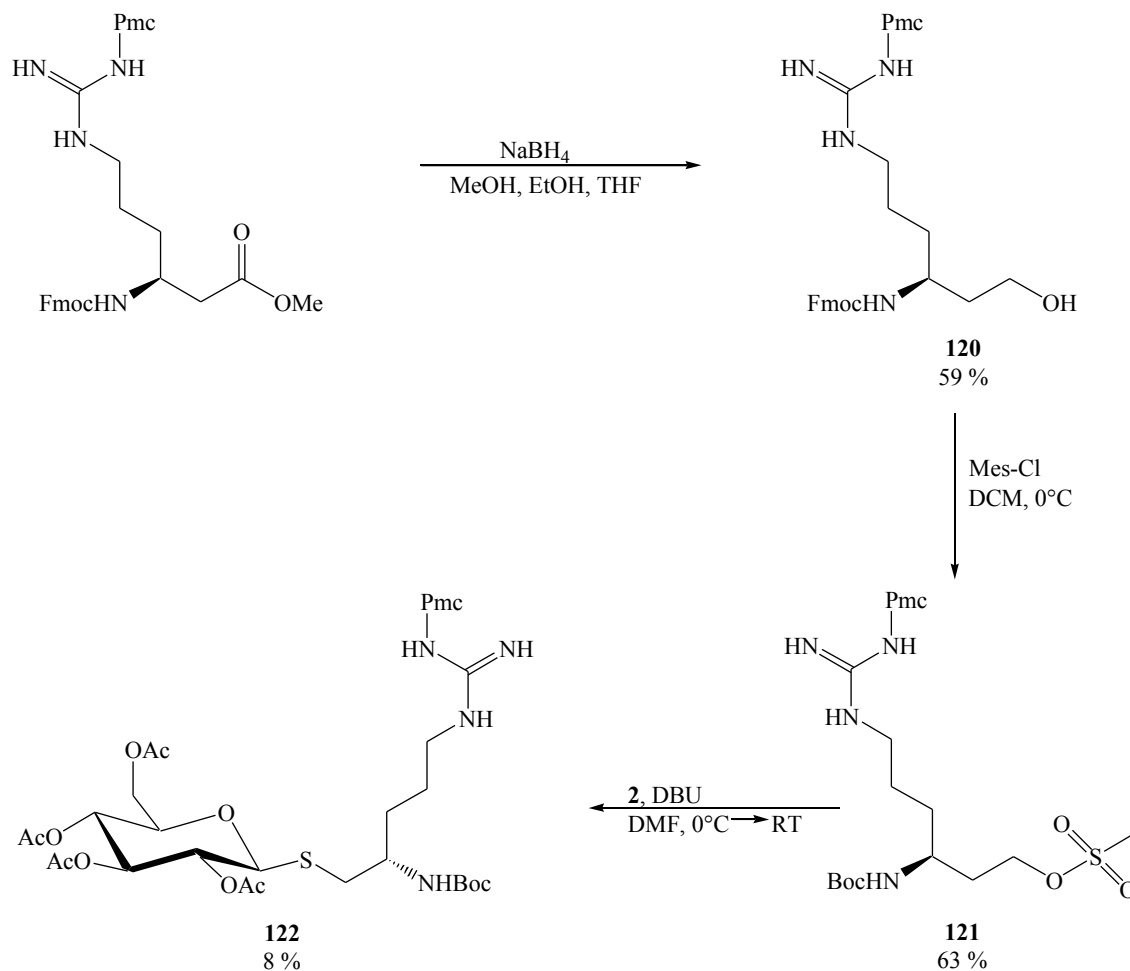


Abbildung 2.49: Darstellung des Glukosids **122**

Auch wenn die nukleophile Substitution an einem primären Alkohol stattfindet, verhindert der große sterische Anspruch der Pmc-Gruppe eine gute Zugänglichkeit des Thioglykosids. Zudem bereitet die Aufreinigung der Pmc-geschützten Arginin-Derivate aufgrund der schlechten Löslichkeiten Probleme, da nicht mehr ohne weiteres chromatographiert und charakterisiert werden kann. Von einer weiteren Verwendung der Pmc-Gruppe wurde deshalb abgesehen und statt dessen auf die Tosyl-Schutzgruppe zurückgegriffen.

Die Tosyl-Schutzgruppe zeichnet sich durch eine hohe Stabilität aus, ist aber dementsprechend nur unter sehr harschen Bedingungen wieder abspaltbar, etwa nach längerer Reaktionszeit mit Fluorwasserstoff und Anisol^[211] oder Natrium in flüssigem Ammoniak. Etwas mildere Bedingungen können durch die Verwendung von Trifluormethansulfonsäure und Thioanisol erreicht werden^[212, 213].

Um den Baustein **126** zu erhalten, wurde von dem kommerziell erhältlichen Aminosäurederivat Boc-Arg(Tos)-OH ausgegangen. Um die Säurefunktion zum Alkohol zu reduzieren wurde zunächst versucht, die Carboxylfunktion zu methylieren und anschließend mit Natriumborhydrid zum Alkohol zu reduzieren. Allerdings war in diesem Fall die Reduktion des Esters mit

Natriumborhydrid nicht erfolgreich. Eine von Mark E. Blaskovich et al. entwickelte Methode zur in-situ-Aktivierung der Säurefunktion von Aminosäuren mit 1,1'-Carbonyldiimidazol und anschließender Reduktion mit NaBH_4 ^[214] erbrachte schließlich den gewünschten Alkohol **123** in einer Ausbeute von 95 %. Die anschließende Überführung von Verbindung **123** mit Methansulfonsäurechlorid in DCM zum entsprechenden Mesylat (**124**) verläuft in guten Ausbeuten von 86 %. Die Alkylierung der Thioglukose **2** mit Verbindung **124** in DMF zum Glukosid **125** und die anschließende Kupplung mit Verbindung **12** in Ethylacetat mit DIPEA nach Entfernen der Boc-Schutzgruppe mit TFA in DCM zum Baustein **126** verlaufen in Ausbeuten von 46 % bzw. 68 %.

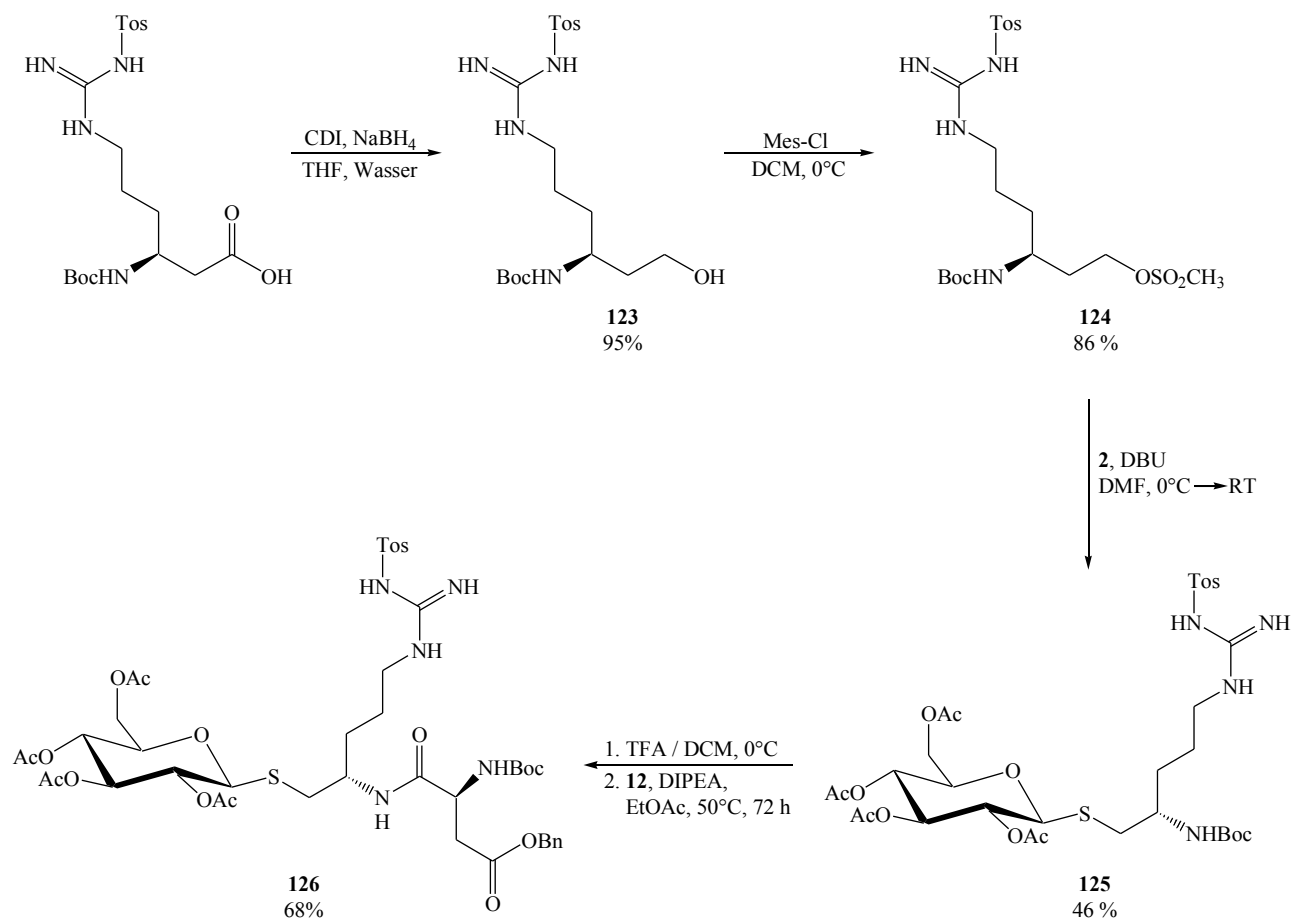


Abbildung 2.50: Darstellung von Verbindung **126**

2.5 Darstellung der neo-Glykopeptide

Auch wenn die Synthese von Peptiden nach Jahrzehnten intensiver Forschung sehr große Fortschritte gemacht hat, können Racemisierungen^[215], Löslichkeitsprobleme bei zunehmender Größe^[216], Schutzgruppenstrategien oder auch die Aufreinigung und Analytik der erhaltenen Peptide immer noch große Schwierigkeiten verursachen.

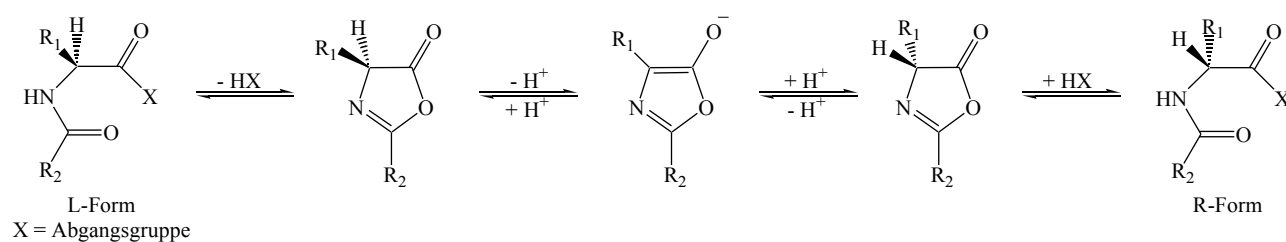
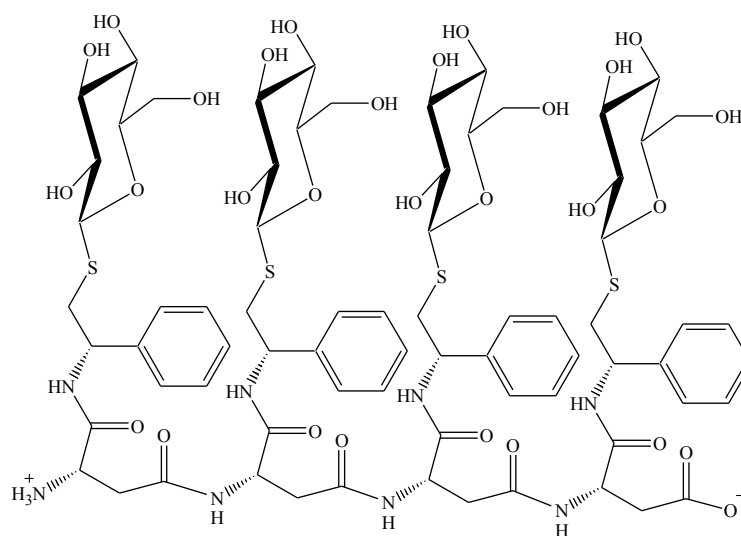


Abbildung 2.51: Racemisierung bei α -Aminosäuren

In vielen Fällen konnten die oben geschilderten Probleme durch zahlreiche zur Verfügung stehenden Kupplungsmethoden^[217, 218], neue Schutzgruppen, verbesserte Analysemethoden^[219] oder v.a. auch durch die von Merrifield 1963 eingeführten Festphasensynthesen^[220, 221] zwar gelöst werden, jedoch stellt jede neue Peptidsynthese wieder eine ganz eigene Herausforderung dar^[222].

Im Rahmen dieser Arbeit sollte zunächst ein bereits bekanntes neo-Glykopeptid (s. Abb. 2.52) dargestellt werden, welches in einfachen Färbetests eine erhöhte Anbindung gegenüber dem Lektin PHA-E gezeigt hat. Dieses wurde bisher allerdings nur mittels Festphasensynthese in geringen Mengen und synthesebedingter, unzureichender Reinheit für nähere Untersuchungen erhalten^[223].



140

Abbildung 2.52: Neo-Glykopeptid **140** mit aromatischen Spacern und erhöhter Affinität zu PHA-E

Neben dem in Abbildung 2.52 gezeigten Tetrapeptid wurden noch weitere Di- und Tripeptide synthetisiert, wobei bei allen Probleme mit der Löslichkeit auftraten.

Für den Aufbau der neo-Glykopeptide sind drei mögliche Strategien denkbar:

- Aus Bausteinen mittels einer Lösungsmittelsynthese.
- Aus Bausteinen mittels einer Festphasensynthese.
- Zunächst Aufbau des Peptidrückgrats, anschließend Verknüpfung mit einem Glykosid (konvergente Glykopeptidsynthese).

Festphasensynthesen sind heute in der Regel das Mittel der Wahl bei allen Peptidsynthesen. Auch der in dieser Arbeit verwendete Ansatz des Aufbaus von neo-Glykopeptiden aus Bausteinen zielt letztlich auf die Möglichkeit des Aufbaus großer Bibliotheken mittel SPPS. Es hat sich aber im Rahmen dieser Arbeit gezeigt, daß bei den einzelnen Kupplungsschritten nur Ausbeuten von knapp über 90 % erreicht werden konnten, so daß bei einem Tetrapeptid nur eine Gesamtausbeute von 66 % ergab. Dies bedeutet gleichzeitig, daß ein Drittel der an der festen Phase synthetisierten Substanzen eine Mischung aus verschiedenen Abbruchglykopeptiden sind, die häufig nur schwer von dem eigentlichen Zielmolekül zu trennen sind und sowohl die Analytik als auch genaue Untersuchungen von Affinitäten schwer machen.

Um neo-Glykopeptide mittels einer Lösungsmittelsynthese darzustellen, sind sowohl Änderungen an der Schutzgruppenstrategie gegenüber der Festphasensynthese als auch eine ausreichend große Menge der verwendeten Bausteine notwendig. Als große Schwierigkeit bei der Darstellung der neo-Glykopeptide hat sich die unzureichende Löslichkeit der geschützten Glykopeptide herausgestellt, die im Fall des in Abbildung 2.52 dargestellten Tetrapeptids bereits auf der Stufe des entsprechenden Tripeptids auftrat, aber durch eine konvergente Synthese aus zwei Dipeptiden umgangen werden konnte. Andere im Rahmen dieser Arbeit synthetisierte Glykopeptide waren schon auf der Stufe des Dipeptids nur noch schwer löslich.

Ein dritte Möglichkeit stellt die konvergente Synthese von neo-Glykopeptiden dar. In diesem Fall wird zunächst das Peptidrückgrat synthetisiert und erst im letzten Schritt mit dem gewünschten Glykosid verknüpft. Da aber mit zunehmender Zahl an Kohlenhydraten die Gefahr von Fehlstellen ansteigt, wird diese Methode zumeist nur bei niedrig glykosilierten Peptiden verwendet^[224], oder in Fällen, in denen die Verknüpfung von Rückgrat und Kohlenhydrat nicht über eine Reaktionen mit gewöhnlich sehr hohen Ausbeuten verläuft, z.B. der „Click“-Reaktion (Cu(I)-katalysierte, 1,3-dipolare Cycloaddition nach Huisgen)^[225]. Ein weiterer Nachteil ist die Beschränkung auf nur ein

Kohlenhydrat, da es sonst zu einer Vielzahl von Produkten mit einer statistischen Verteilung der verschiedenen Zuckerreste kommt.

Bereits J. Hörzer und R. Daiber beschreiben in ihren Arbeiten die Schwierigkeiten, die sich beim Aufbau selbst weniger hoch glykosilierter neo-Glykopeptide aus β -Asparaginsäureeinheiten durch diverse Nebenreaktionen ergeben^[19, 20, 226]. So ist nicht weiter verwunderlich, daß unabhängig davon, welcher der oben beschriebenen Wege zum Aufbau von neo-Glykopeptiden verwendet wurde, jeder Kupplungsschritt zahlreiche Vorversuche zur Ermittlung der optimalen Reaktionsbedingungen notwendig gemacht hat.

2.5.1 Peptidkupplungsmethoden

Zur Knüpfung der Peptid-Bindung zwischen den einzelnen Bausteinen ist zunächst eine Aktivierung der Carboxylfunktion notwendig, welche sowohl über eine isolierte Verbindung als auch in-situ vorgenommen werden kann. Neben der Effizienz der Peptidkupplung ist für die dabei verwendeten Kupplungsreagenzien auch eine möglichst vollständige Unterdrückung von Nebenreaktionen wie der Racemisierung (s. Abbildung 2.51) oder der speziell im Fall der Asparaginsäure vorkommenden Imid-Bildung.

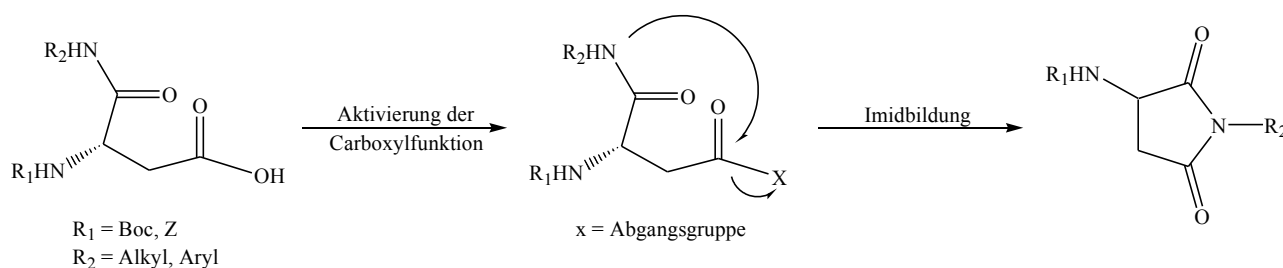


Abbildung 2.53: Imidbildung als Nebenreaktion bei der Aktivierung der β -Carboxylfunktion von Asparaginsäure

In der Literatur sind eine Vielzahl von häufig verwendeten Kupplungsreagenzien beschrieben, von denen im Folgenden nur einige exemplarisch besprochen werden.

Säurehalogenide

Die Darstellung von Säurehalogeniden ist eine der ältesten Methoden zur Ausbildung von Ester- oder Amidbindungen. Säurechloride von Aminosäuren sind sehr reaktionsfähig gegenüber Aminen und zeigen nur eine geringe Neigung zur Racemisierung. Allerdings sind die Darstellungsbedingungen nicht verträglich mit Boc-Schutzgruppen, daher wurde diese Methode in dieser Arbeit nicht angewandt^[227].

Neben den bereits seit langem verwendeten Chloriden werden heutzutage zunehmend Säurefluoride in der Peptid-Synthese eingesetzt. Man erhält sie durch Umsetzung mit Cyanurfluorid oder Diethylaminoschwefeltrifluorid (DAST)^[228].

Imidazolide

Imidazolide erhält man durch Reaktion der Aminosäure mit CDI. Bei der anschließenden Peptid-Kupplung kann auf den Zusatz einer Base verzichtet werden^[229, 230]. Die Aktivierung einer Carboxylgruppe auf diese Weise wurde beispielsweise bei Verbindung **123** eingesetzt.

Carbodiimide, Aktivester und Anhydride

Carbodiimide sind die wohl am häufigsten verwendeten in-situ-Aktivierungsreagenzien in der Peptid-Chemie. Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) wurde zum ersten Mal 1955 von Sheehan beschrieben^[231] und in dieser Arbeit bei der Synthese der Verbindungen **12** und **13** eingesetzt. Der bei der Reaktion entstehende und in DCM und Ethylacetat unlösliche Dicyclohexylharnstoff kann einfach aus der Reaktionslösung entfernt werden, stellt aber bei Festphasensynthesen ein Problem dar. Weitere häufig verwendete Carbodiimide sind Diisopropylcarbodiimid (DIC) und das wasserlösliche 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimidhydrochlorid (EDC·HCl).

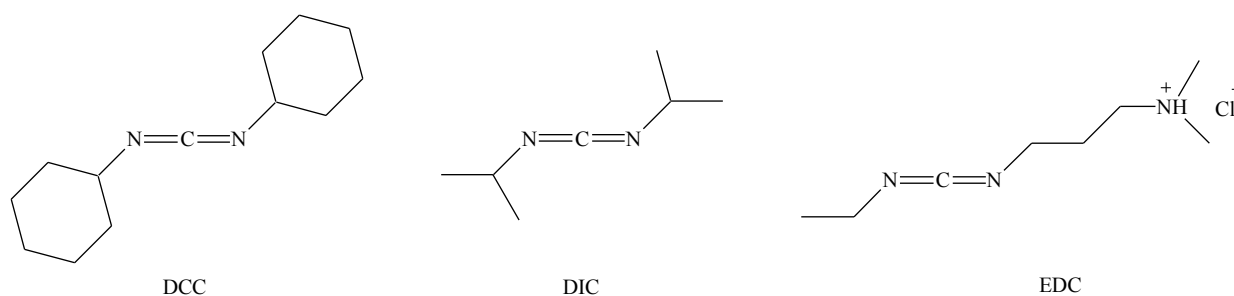


Abbildung 2.54: Ausgewählte Carbodiimid-Kupplungsreagenzien

Nachteile der Aktivierung mit Carbodiimiden sind eine hohe Tendenz zur Racemisierung und die Umlagerung des reaktiven Acylisoharnstoff-Intermediats zu einem unreaktiven Acylharnstoffderivat. Um diese unerwünschten Nebenreaktionen zu vermeiden werden die Acylisoharnstoffderivate häufig mit 1-Hydroxybenzotriazol^[232] oder 1-Hydroxy-7-azabenzotriazol^[233] in die entsprechenden Aktivester überführt. HOAt ist HOBt dabei v.a. bei der Kupplung von sterisch anspruchsvollen Aminosäuren deutlich überlegen^[234].

Ebenso können mit der Carbodiimid-Methode die lagerfähigen und in der Regel gut kristallisierbaren Pentafluorphenol- und *N*-Hydroxysuccinimidester dargestellt werden.

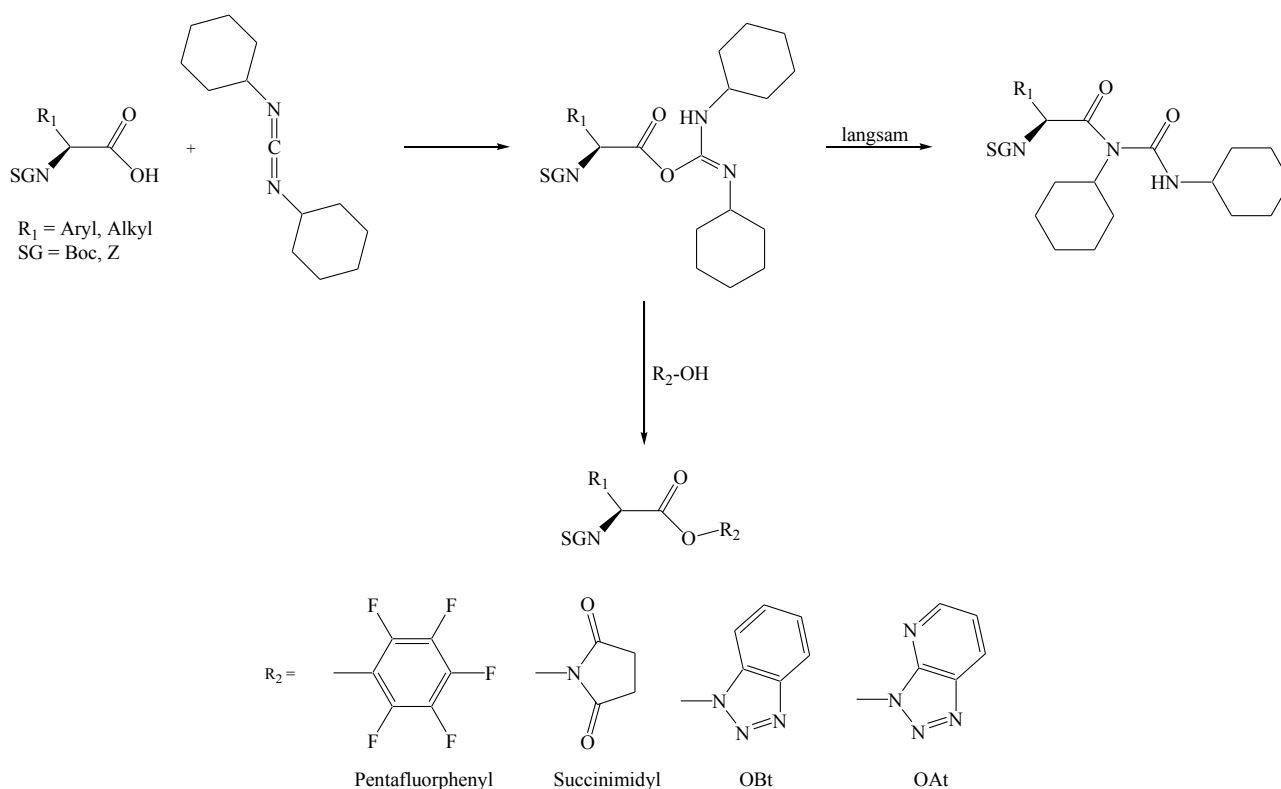


Abbildung 2.55: Reaktionen eines Acylisoharnstoffs

Phosphoniumsalze

Eine weitere wichtige Klasse von Kupplungsreagenzien sind Benzotriazol-1-yloxy-tris(dimethylamino)phosphoniumhexafluorophosphat (BOP)^[235] und Benzotriazol-1-yloxy-trispyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat (PyBOP)^[236]. Da das bei der Reaktion mit BOP entstehende Hexamethylphosphorsäuretriamid krebserregend ist, wird heute ausschließlich mit PyBOP gearbeitet.

Uroniumsalze

Als den Phosphoniumsalzen in ihrer Effektivität noch überlegen haben sich die Uroniumsalze HBTU und HATU gezeigt^[237]. Wie auch bei den oben genannten Phosphoniumsalzen wird hier zunächst die Carboxyl-Funktion der Aminosäure in den Hydroxybenzotriazolyl- bzw 1-Hydroxy-7-Azabenzotriazolylester überführt, die dann mit einer Aminofunktion zum Peptid reagieren können. HATU ist dabei gegenüber HBTU durch einen orientierenden Effekt des Pyridin-Stickstoffs das deutlich effizientere Kupplungsreagenz^[238].

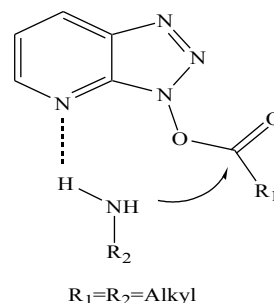


Abbildung 2.56: Orientierender Effekt

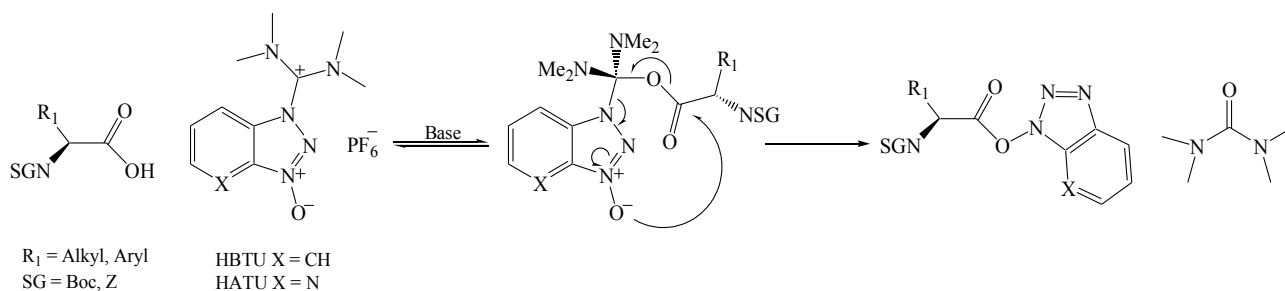


Abbildung 2.57: Funktionsweise von Uroniumsalzen bei der Peptidsynthese

Da es sich bei den in dieser Arbeit synthetisierten Glykopeptiden um Asparaginsäurederivate mit voluminösen Seitenkettenresten handelt, wurde bei den Peptidkupplungen überwiegend HATU eingesetzt, welches sich in den meisten Fällen allen anderen Kupplungsreagenzien als überlegen erwiesen hat.

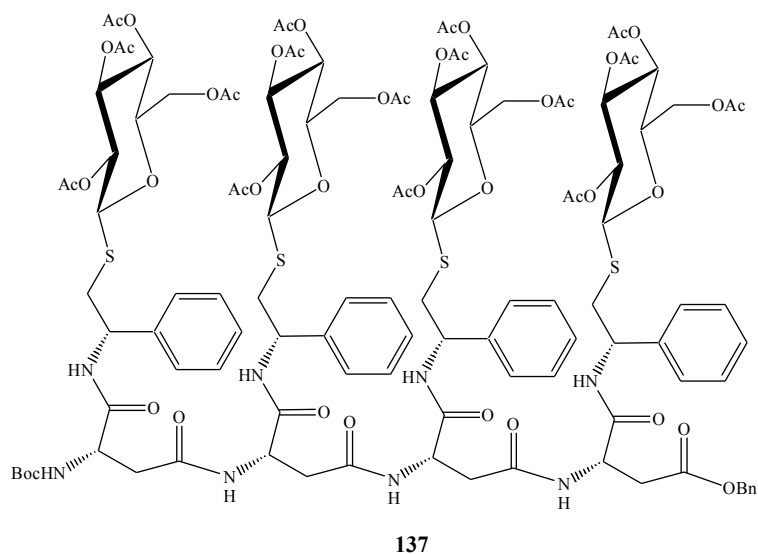
2.5.2 Festphasensynthesen von neo-Glykopeptiden

In der Peptidforschung und der pharmazeutischen Entwicklung sind heutzutage Festphasensynthesen an Harzen (SPPS) zum Aufbau komplizierter Peptide üblich. SPPS bietet den Vorteil, daß die bei der Synthese verwendeten Reagenzien und eventuell anfallenden Nebenprodukte sehr einfach durch mehrfaches Spülen der festen Phase entfernt werden können. Die ausgeprägte Forschung auf diesem Gebiet hat in den letzten Jahrzehnten zu einer Vielzahl geeigneter Kupplungsreagenzien und Schutzgruppen speziell für den Gebrauch in der SPPS geführt. So können heute in den meisten Fällen Peptidbindungen mit Ausbeuten von über 98 % und einem geringen Grad an Racemisierungen erreicht werden.

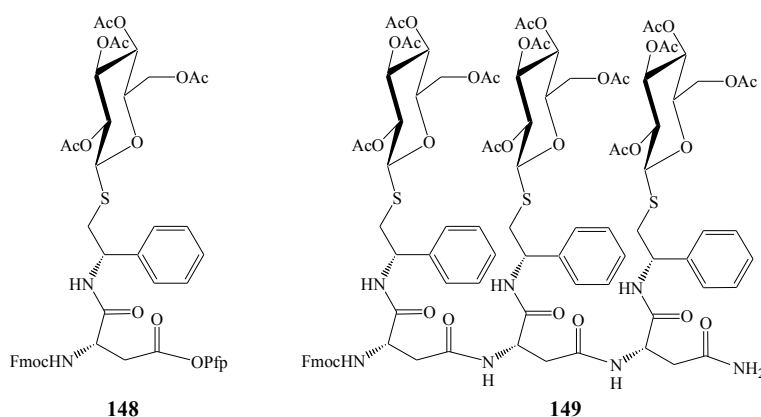
In den meisten Fällen wird in der Festphasensynthese der Aufbau der Peptide über das N-terminale Ende gewählt. Für alle in dieser Arbeit durchgeführten Festphasensynthesen wurde das dafür in der SPPS übliche Fmoc-/tBu-Schutzgruppensystem verwendet. Die unter milden basischen Bedingungen abspaltbare Fmoc-Gruppe kann durch UV-Messungen so gleichzeitig als ein Maß für die Belegung der festen Phase verwendet werden. Dazu wird bei einer Wellenlänge von 300.1 nm die Absorption des bei der Abspaltung entstandenen Dibenzofulvens gemessen und mit einer Eichkurve verglichen.

2.5.2.1 Synthesen an einem Rink-Amid-Harz als fester Phase

Um zu überprüfen, ob die in dieser Arbeit verwendeten neo-Glykopeptide auf Asparaginsäurebasis auch in ausreichender Menge und Reinheit für weitergehende Untersuchungen mittels einer Festphasensynthese hergestellt werden können, sollte das Tetramer **137** an einem Rink-Amid-MBHA-Harz als fester Phase synthetisiert werden.

Abbildung 2.58: Zielverbindung **137**

Die Synthese folgt dabei den gängigen Methoden der SPPS. Nach Quellen des Harzes in destilliertem DMF wird zunächst die Fmoc-Gruppe des Rink-Amid-Linkers mit einer 20%igen Lösung von Piperidin in DMF abgespalten. Durch die UV-spektroskopische Vermessung des dabei anfallenden Dibenzofulven-Derivats konnte ein Beladungsgrad von 1.07 mmol an freien Aminogruppen pro Gramm eingesetztes Harz ermittelt werden.

Abbildung 2.59: Baustein **148** und das daraus synthetisierte Tripeptid **149**

Das Harz wird anschließend in 2 Reaktionszyklen mit jeweils 100 mg des literaturbekannten, Pfp-aktivierten Bausteins **148** umgesetzt^[223]. Die dabei nicht umgesetzten Aminogruppen werden im Anschluß mit Essigsäureanhydrid acetyliert. Diese Vorgehensweise wird für jeden weiteren Kupplungsschritt wiederholt und erbrachte nach Spaltung des Rink-Amid-Linkers schließlich das Tripeptid **149** in einer Ausbeute von 36 % über alle drei Kupplungsschritte. Die Ausbeuten der einzelnen Reaktionszyklen sind in Tabelle 2.8 zusammengefasst.

	Zyklen mit 148	Beladung	Ausbeute	Gesamtausbeute
Entschützung Rink-Amid-Linker		$1.07 \frac{\text{mmol}}{\text{g}}$		
1. Kupplung	1.) 100 mg	$1.01 \frac{\text{mmol}}{\text{g}}$	94 %	94 %
	2.) 100 mg			
2. Kupplung	1.) 100 mg	$0.6 \frac{\text{mmol}}{\text{g}}$	59 %	55 %
	2.) 100 mg			
3. Kupplung	1.) 100 mg	$0.39 \frac{\text{mmol}}{\text{g}}$	65 %	36 %
	2.) 50 mg			

Tabelle 2.8: Synthese von **149** an einem Rink-Amid-MBHA-Harz

Schon die Ausbeute von 94 % im ersten Kupplungsschritt an den Rink-Amid-Linker ist im Vergleich zu den Ausbeute einer üblichen Festphasenpeptidsynthese gering. Zwar sind Kupplungen von Asparaginsäure im allgemeinen eher schwierig, in diesem Fall scheint jedoch der große sterische Anspruch der Seitenkette das eigentliche Hemmnis zu sein. So lässt sich auch erklären, daß bei den darauffolgenden Kupplungen zwischen zwei Bausteinen die Ausbeute auf 59 % bzw. 65 % sinkt. Somit lässt sich schon auf der Stufe des Tripeptids nur eine Gesamtausbeute von 36 % erzielen. Angesichts dessen muss für diesen Fall diese Art der Glykopeptidsynthese als ungeeignet angesehen werden, zumal das entstandene Produktgemisch aus Mono-, Di- und Tripeptid nach Abspaltung vom Harz schwierig aufzureinigen ist.

2.5.2.2 Synthesen an einer Zellulosemembran als fester Phase

Im Fall der Zellulosemembran als fester Phase (SPOT-Synthese) kann auf die vorangegangene Arbeit von C. Schips^[223] aufgebaut und das dort ausgearbeitete Protokoll zur Vorbereitung der Membranen und Kupplungen mit den Glykopeptidbausteinen verwendet werden. An die zunächst mit Epibromhydrin vorbehandelten Membranen wird 4,7,10-Trioxa-1,13-tridecandiamin (Safety-Catch-Linker^[239]) als Abstandshalter und ein Rink-Amid-Linker mit HATU als Kupplungsreagenz eingeführt. Das weitere Vorgehen erfolgt analog der Synthese am Rink-Amid-MBHA-Harz unter Verwendung der Pfp-Ester und HODhBt als Kupplungszusatz.

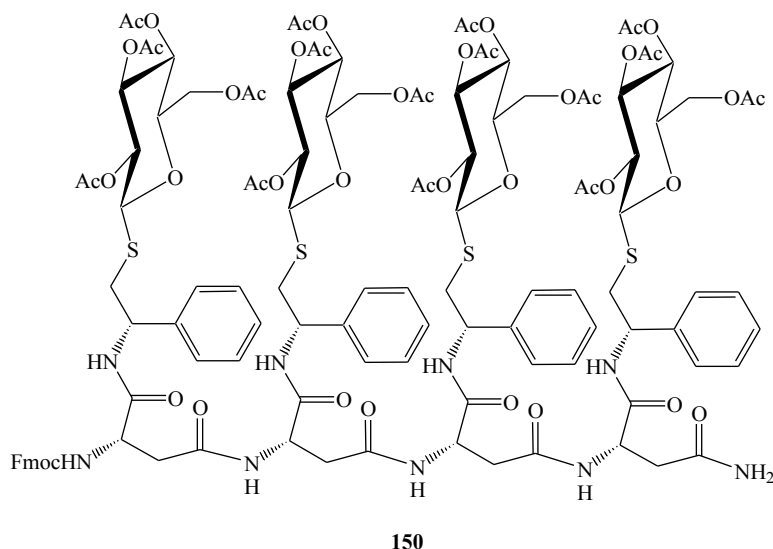


Abbildung 2.60: Das an einer Zellulosemembran dargestellte Tetrapeptid **150**

Die bei der Synthese des Tetrapeptids **150** in den einzelnen Kupplungsschritten erreichten Ausbeuten sind in Tabelle 2.9 zusammengefasst.

	148	Beladung	Ausbeute	Gesamtausbeute
Entschützung Rink-Amid-Linker		$0.413 \frac{\mu\text{mol}}{\text{cm}^2}$		
1. Kupplung	11.8 mg (12 μmol)	$0.37 \frac{\mu\text{mol}}{\text{cm}^2}$	90 %	90 %
2. Kupplung	11.8 mg (12 μmol)	$0.31 \frac{\mu\text{mol}}{\text{cm}^2}$	84 %	76 %
3. Kupplung	11.8 mg (12 μmol)	$0.27 \frac{\mu\text{mol}}{\text{cm}^2}$	87 %	66 %
4. Kupplung	11.8 mg (12 μmol)	$0.234 \frac{\mu\text{mol}}{\text{cm}^2}$	87 %	57 %

Tabelle 2.9: Synthese von **150** an einer Zellulosemembran

Zwar bewegten sich hier die Ausbeuten der einzelnen Schritte im Gegensatz zu der Synthese am Harz auf einem konstanten Niveau zwischen 84 % und 90 %. Das Grundproblem der kleinen erhaltenen Produktmengen und mangelnden Reinheit derselben blieb aber auch in diesem Fall bestehen. Die an der festen Phase hergestellten Glykopeptide sind infolgedessen nur zu qualitativen, nicht aber zu quantitativen Untersuchungen der Affinitäten zu Lektinen zu verwenden. Um dennoch Aufschluß über die Art und Stärke von Wechselwirkungen der vorgestellten neo-Glykopeptide mit Lektinen zu erhalten, ist es notwendig, diese auch in einer klassischen Lösungsmittelsynthese darzustellen.

2.5.3 Lösungsmittelsynthesen von neo-Glykopeptiden

2.5.3.1 Konvergente Synthesestrategie

Mit einer konvergenten Synthese von neo-Glykopeptiden ist die Glykosilierung eines Peptids nach dessen vollständiger Darstellung gemeint. Es gibt vergleichsweise wenige Veröffentlichungen zu dieser Form der Glykopeptiddarstellung. Beispielsweise konnten Schmidt et al. auf diese Weise durch den Einbau von β -Brom-Alaninen über eine Substitutionsreaktion mit 1-Thioglykosiden einfach glykosilierte Tetrapeptide darstellen^[224]. Barra et al. gelangten durch den Aufbau von Alkynyl-funktionalisierten bzw. Azido-funktionalisierten Aminosäurederivaten zu hochglykosilierten Hexapeptiden durch „Click“-Reaktion^[225].

In dieser Arbeit wurde zunächst ein β -Asparaginsäurepeptid aufgebaut und versucht, dieses anschließend mit Verbindung **91** zum entsprechenden neo-Glykopeptid umzusetzen. Ausgehend von Boc-Asp-OBn wird die β -Carboxylfunktion mit 2,2,2-Trichlorethanol in das literaturbekannte Asparaginsäurederivat **127** überführt, aus welchem mit EDC/HOBt als Kupplungsreagenz die ebenfalls literaturbekannten Peptide **128** und **129** erhältlich sind^[240]. Die von Woodward eingeführte 2,2,2-Trichlorethylschutzgruppe^[241] ist unter milden, reduktiven Bedingungen mit Zink leicht wieder abspaltbar^[242] und damit orthogonal zu den ansonsten verwendeten Schutzgruppen. Die Benzyl-Schutzgruppen an den α -Positionen des Tripeptids **129** werden anschließend unter Wasserstoff-Atmosphäre entfernt. Die erhaltenen Säurefunktionen sollten schließlich mit HBTU/HOBt als Kupplungsreagenz mit der an der Aminofunktion entschützten Verbindung **91** dreifach glykosiliert werden.

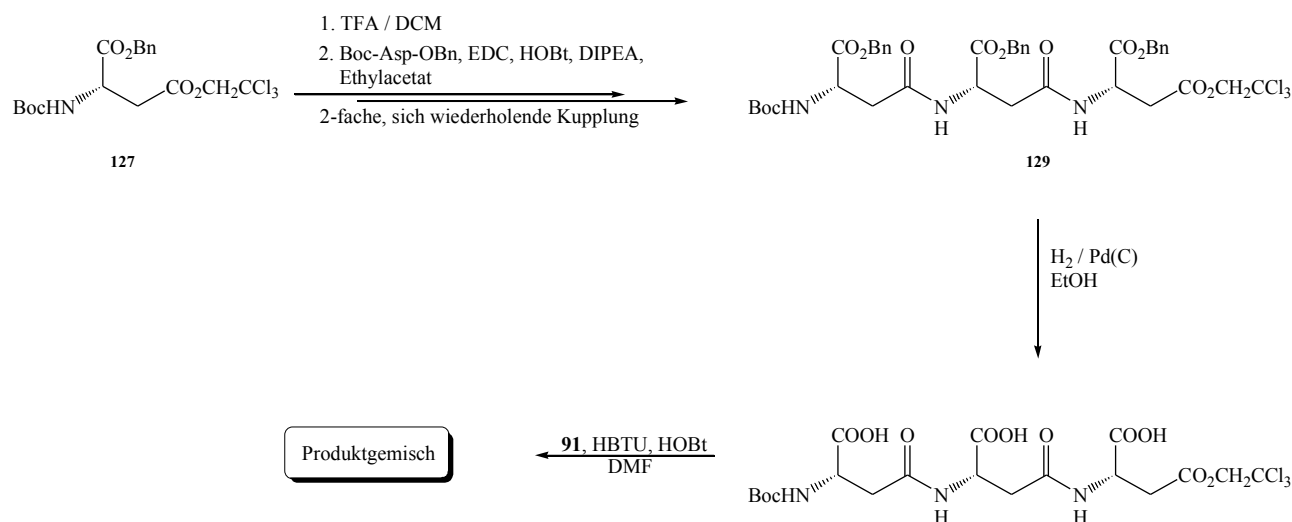


Abbildung 2.61: Konvergente Synthese eines hochglykosilierten β -Tripeptids

Allerdings konnte auf diesem Weg nur ein Produktgemisch erhalten werden, welches aus verschiedenen ein- und mehrfach glykosilierten Tripeptiden besteht, die nicht voneinander getrennt werden konnten. Die unvollständige und unselektive Glykosilierung der α -Carboxylfunktionen der Asparaginsäure hat vermutlich sterische Gründe. Hochglykosilierte β -Peptide sind auf diesem Weg deshalb nur schwierig darstellbar. Deshalb wurde dieser Ansatz zur Darstellung von neo-Glykopeptiden nicht weiter verfolgt.

2.5.3.2 Synthese aus Bausteinen

Gebräuchlicher als die konvergente Synthesemethode ist der Aufbau definierter Glykopeptide aus Bausteinen, also aus an der α -Carboxylfunktion bereits glykosilierten Asparaginsäurederivaten. Für alle diese Lösungsmittelsynthesen von neo-Glykopeptiden wurde ein Boc-/Benzyl-Schutzgruppensystem für das Asparaginsäurerückgrat verwendet. Das bietet den Vorteil, daß alle bei den Abspaltungen der Schutzgruppen entstehenden Nebenprodukte leicht flüchtig sind, und deshalb ohne aufwendige Reinigungsprozeduren aus der Reaktionslösung entfernt werden können. Für die anschließenden Peptidkupplungen gibt es prinzipiell zwei Möglichkeiten: den Aufbau über das C-terminale oder das N-terminale Ende. Im Falle der hier verwendeten, schwefelhaltigen Bausteine bietet die sukzessive Synthese über das N-terminale Ende den Vorteil, daß die aufgrund der Vergiftung des Katalysators durch den anomeren Schwefel schwerer durchzuführende hydrogenolytische Entfernung der Benzyl-Schutzgruppe weniger oft angewendet werden muss.

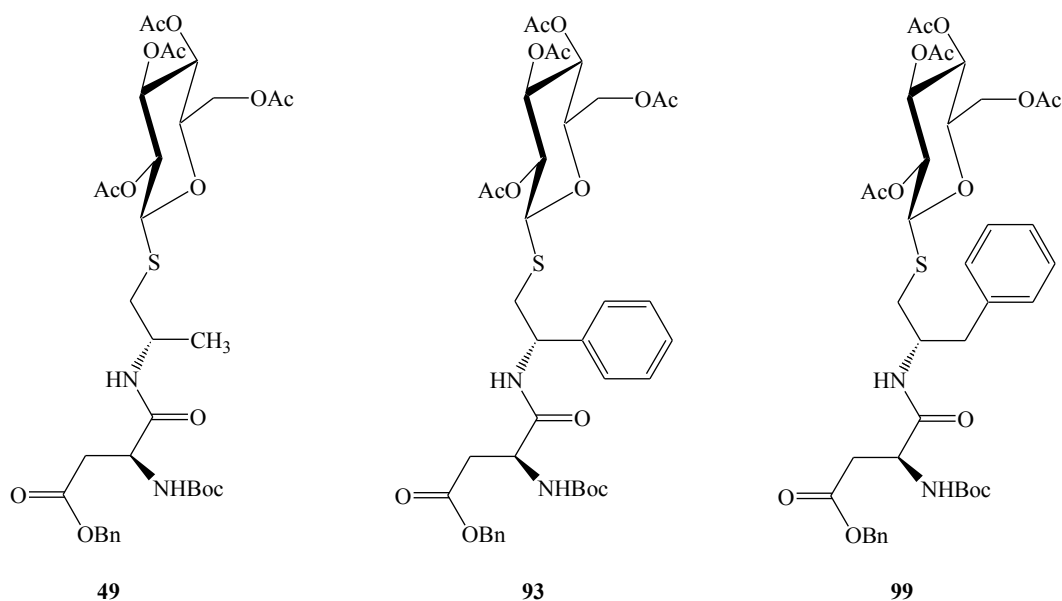


Abbildung 2.62: Die bei den Lösungsmittelsynthesen verwendeten Bausteine

Da zunächst der Einfluß von aromatischen Spacern auf die Affinität zu Lektinen untersucht werden

sollte, wurde für die hier vorgestellten neo-Glykopeptidsynthesen die Bausteine **93**, **99** und **49** untersucht.

Glykopeptide auf der Basis von Verbindung **93**

Im Fall des in Abbildung 2.52 gezeigten Tetrapeptids **140** werden aus Verbindung **93** in einem ersten Schritt das freie Amin (**130**) und die freie Säure (**131**) durch Entfernen der Boc-Schutzgruppe mit TFA bzw. der Benzyl-Schutzgruppe unter Wasserstoffatmosphäre in jeweils quantitativer Ausbeute dargestellt. Das Amin **130** und die Säure **131** können dann mit Hilfe eines geeigneten Kupplungsreagenz zum Dipeptid **132** umgesetzt werden. Dazu wird die Säure **131** zunächst in situ in einen Aktivester umgewandelt und anschließend mit dem Amin **130** unter Zugabe von HOAt bzw. HOBt als Co-Reagenzien und einer Base zu dem entsprechenden Dipeptid **132** umgesetzt. Durch die Zugabe von HOAt bzw. HOBt wird eine mögliche Epimerisierung der Asparaginsäure durch eine schnellere Reaktion des in Abbildung 2.57 gezeigten Acyluroniumderivats zum OAt-/OBt-Aktivester weitestgehend unterdrückt.

Bei den zunächst durchgeführten Kupplungen mit Carbodiimiden und HOBt waren alle Resultate unbefriedigend. Mit DCC und DIC konnte in DMF mit DIPEA als Base nur eine geringe (12 % für DCC bzw. 16 % für DIC), im Fall von EDC·HCl unter den gleichen Bedingungen keine Umsetzung erzielt werden. In allen drei Fällen wurde überwiegend das Edukt **130** reisoliert. Überraschenderweise brachte im Fall der DCC-Kupplung auch der Einsatz von HOAt als Co-Reagenz keine Verbesserung. Statt dessen fiel die Ausbeute auf unter 5 %.

Auch eine Veränderung der Reaktionsbedingungen brachte keine Verbesserung der Ergebnisse. Sowohl bei der Umsetzung in DMF mit DBU als Base als auch bei der Umsetzung in DCM mit DIPEA als Base konnte mit DCC und HOBt als Kupplungsreagenzien keine Ausbeute erzielt werden.

Die allgemein geringen Ausbeuten bei der Verwendung der Carbodiimide lassen sich auf den sterischen Anspruch der Seitenketten zurückführen. Dadurch kann es bevorzugt zu einer Umlagerung des Aktivesters in das entsprechende unreaktive Acylharnstoffderivat kommen.

Eine Möglichkeit, diese ungewollte Nebenreaktion zu umgehen, ist die Verwendung von Phosphonium- bzw. Uroniumsalzen als Kupplungsreagenzien in Verbindung mit den Co-Reagenzien HOBt bzw. HOAt.

So kann durch die Verwendung einer Kombination von HBTU und HOBt in DCM mit DIPEA als Base die Ausbeute der Kupplung bis auf 66 % gesteigert werden. Die Verwendung von DBU statt DIPEA als Base führte zu einer Verkleinerung der Ausbeute auf 59 %. Eine deutliche Steigerung kann in diesem Fall durch die Verwendung von DMF als Lösungsmittel erzielt werden. Im Fall von

DBU als Base erhält man eine Ausbeute von 71 %, bei der Verwendung von DIPEA eine Ausbeute von 75 %.

Eine weitere Verbesserung der Ausbeuten kann durch die Verwendung von HATU an Stelle von HBTU erzielt werden. Bei der Verwendung von HOBt als Co-Reagenz und DIPEA als Base in DMF als Lösungsmittel wurde Verbindung **132** in einer Ausbeute von 80 % erhalten. Diese bereits gute Ausbeute kann durch den Wechsel von HOBt zu HOAt als Co-Reagenz in DMF mit DIPEA als Base sogar bis auf 91 % gesteigert werden. Auch durch Variationen des Lösungsmittels oder der Base kann dieser Wert nicht übertroffen werden. So fällt die Ausbeute der Kupplung bei der Verwendung von Triethylamin geringfügig auf 88 %, bei der Verwendung von DBU auf 76 %. Bei der Umsetzung mit K_2CO_3 in DMF konnte dagegen bei Raumtemperatur mittels DC keine Abnahme des Edukts detektiert werden. Eine langsame Steigerung der Temperatur von Raumtemperatur auf 55°C führte schließlich zur Zersetzung der Edukte.

Ebenso führt der Wechsel zu Acetonitril als Lösungsmittel bei der Verwendung von DIPEA als Base zu einer deutlichen Abnahme der Ausbeute auf 55 %.

Neben der Verwendung der Uroniumsalze wurde auch das Phosphoniumsalz PyBOP als Kupplungsreagenz eingesetzt. Hier konnte in DMF mit DIPEA als Base eine Ausbeute von 77 % erzielt werden.

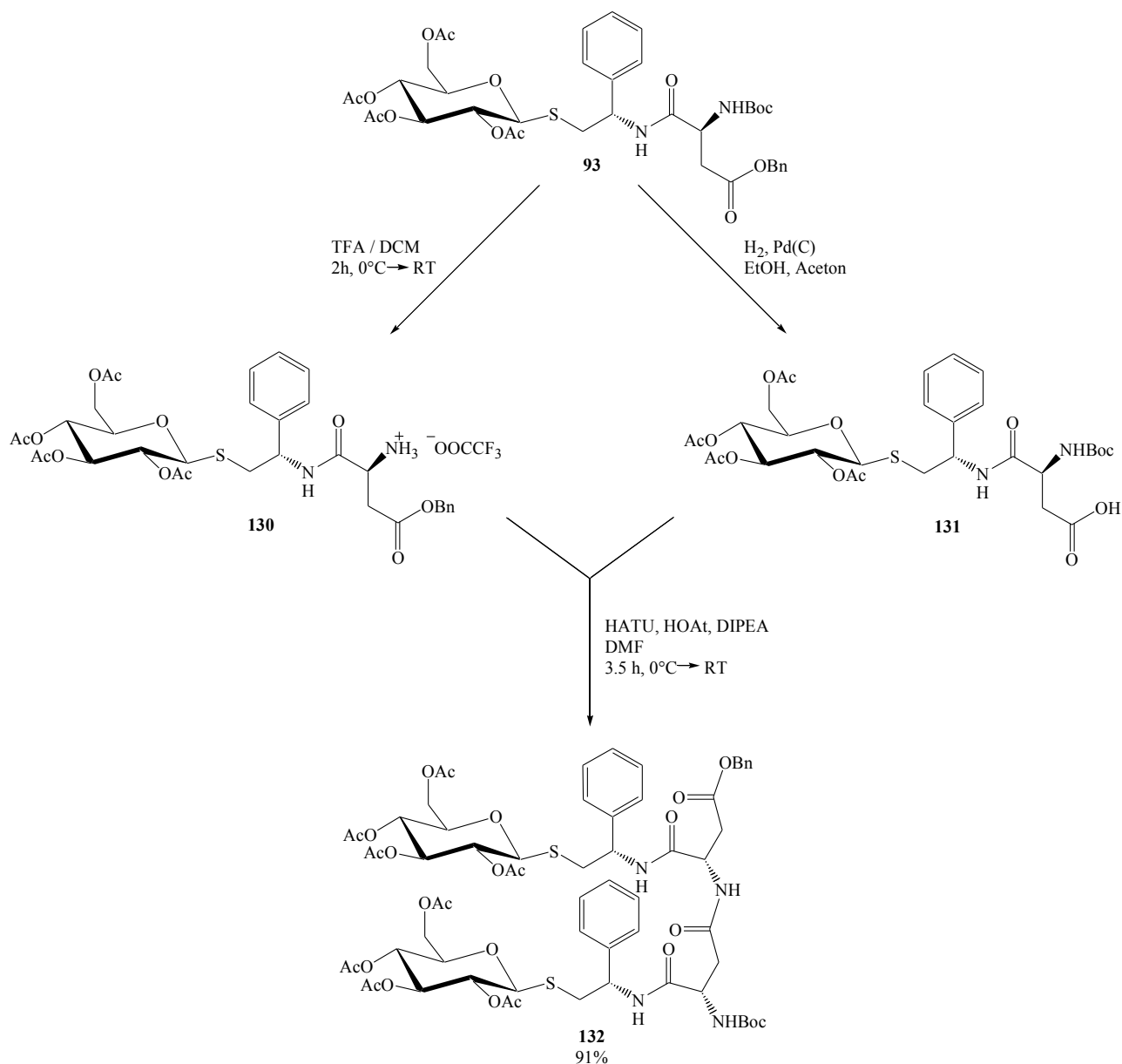


Abbildung 2.63: Darstellung des Dipeptids **132**

Eine weitere Methode zur Darstellung von neo-Glykopeptiden, die auch im Arbeitskreis Ziegler sowohl in Lösungsmittel- als auch Festphasensynthesen bereits mit Erfolg angewendet wurde, ist die Verwendung von Pfp-Estern an Stelle der in-situ-Aktivierung der Säurefunktion. Ein Vorteil dieser Methode ist, daß man den dargestellten Pfp-Aktivester gut reinigen und bei unter 0°C problemlos mehrere Wochen lagern kann. Der Nachteil der Methode liegt in Ausbeuteverlusten durch den zusätzlichen Synthese- und Reinigungsschritt. Die Umsetzung von Verbindung **133** mit Verbindung **130** in DMF mit DIPEA als Base brachte das Dipeptid **132** in einer Ausbeute von 56 % (48 % über beide Syntheseschritte).

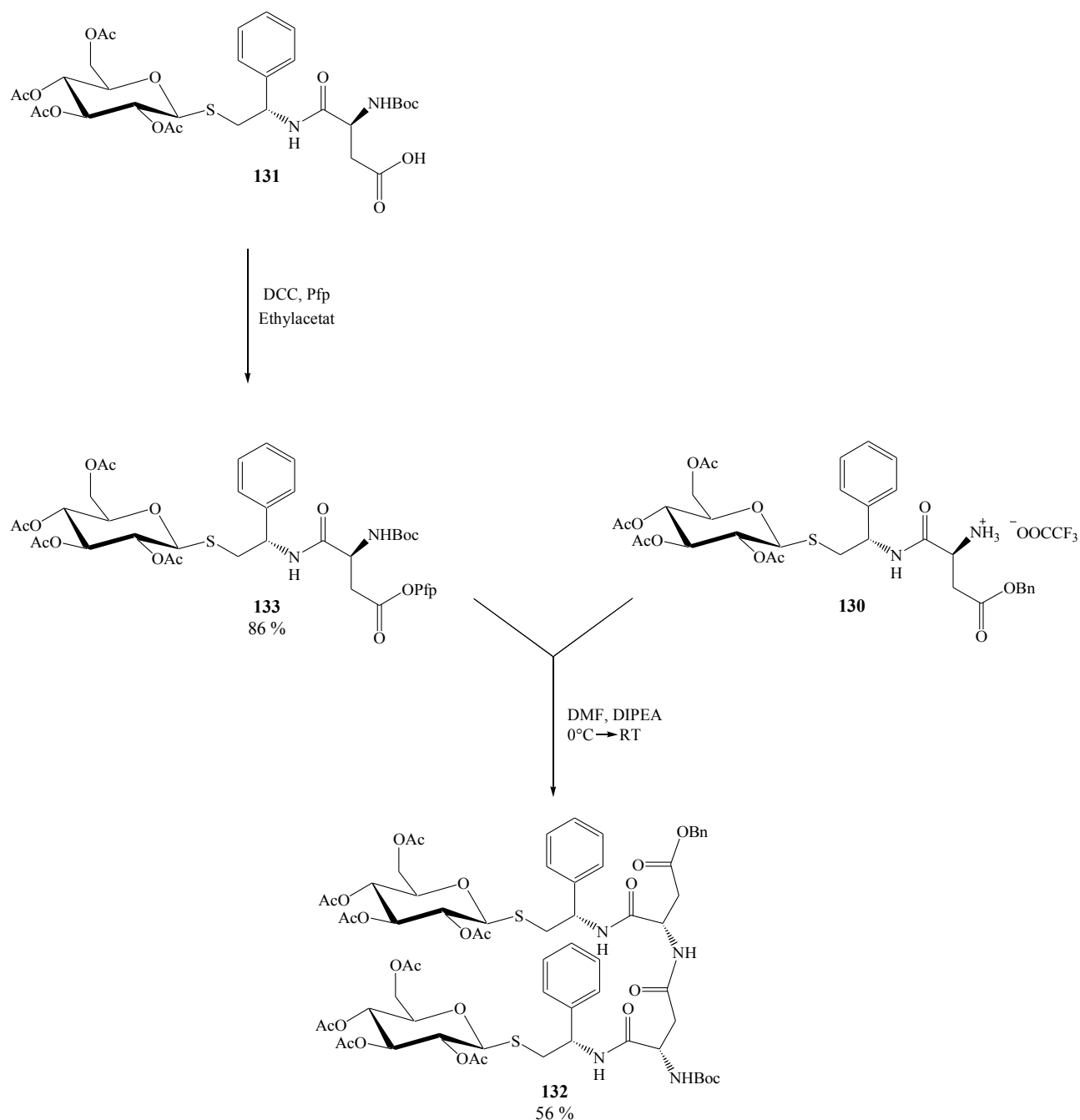


Abbildung 2.64: Darstellung von Verbindung 132 über den Pfp-Aktivester 133

Zusammenfassend lässt sich sagen, daß mit DIPEA als Base und DMF als Lösungsmittel die besten Ergebnisse erreicht werden konnten.

Die Umsetzungen in DCM als Lösungsmittel lieferten im Durchschnitt etwas geringere, die Umsetzung in Acetonitril signifikant niedrigere Ausbeuten als die Reaktionen in DMF.

Bei den Kupplungsreagenzien konnte mit einer Kombination aus HATU und HOAt die besten Ausbeuten bei der kürzesten Reaktionsdauer erzielt werden. So war in diesem Fall die Reaktion bereits nach drei Stunden beendet, bei HBTU und PyBOP als Kupplungsreagenzien waren die Ausbeuten trotz Reaktionszeiten bis zu 16 h im Fall von HBTU/HOBt teils deutlich schlechter. Die

Ausbeuten aller zur Darstellung von Verbindung **132** durchgeführten Reaktionen sind in Tabelle 2.10 zusammengefasst.

Kupplungsreagenz	Lösungsmittel	Base	Ausbeute
HATU / HOAt	DMF	DIPEA	91 %
		DBU	76 %
		Triethylamin	88 %
		K ₂ CO ₃	Zersetzung
	DCM	DIPEA	83 %
		DBU	69 %
Acetonitril	DIPEA	44 %	
HATU / HOBt	DMF	DIPEA	80 %
HBTU / HOBt	DMF	DIPEA	75 %
		DBU	71 %
	DCM	DIPEA	66 %
		DBU	59 %
PyBOP / HOAt	DMF	DIPEA	77 %
DCC / HOBt	DMF	DIPEA	12 %
		DBU	keine Umsetzung
	DCM	DIPEA	keine Umsetzung
DCC / HOAt	DMF	DIPEA	<5 %
DIC / HOBt	DMF	DIPEA	16 %
EDC·HCl / HOBt	DMF	DIPEA	keine Umsetzung
133	DMF	DIPEA	56 % (48 % über 2 Schritte)

Tabelle 2.10: Verwendete Kupplungsbedingungen bei der Darstellung von Verbindung **132**

Zur Darstellung des Tripeptids **135** wird bei Verbindung **132** zunächst mit einer Lösung von TFA in DCM die Boc-Schutzgruppe an der Aminofunktion entfernt. Diese Reaktion verläuft quantitativ und das erhaltene Trifluoracetat-Salz **134** kann direkt mit Verbindung **131** und HATU/HOAt als Kupplungsreagenzien zum Tripeptid **135** umgesetzt werden. Als Ausbeute konnten 90 % erreicht werden.

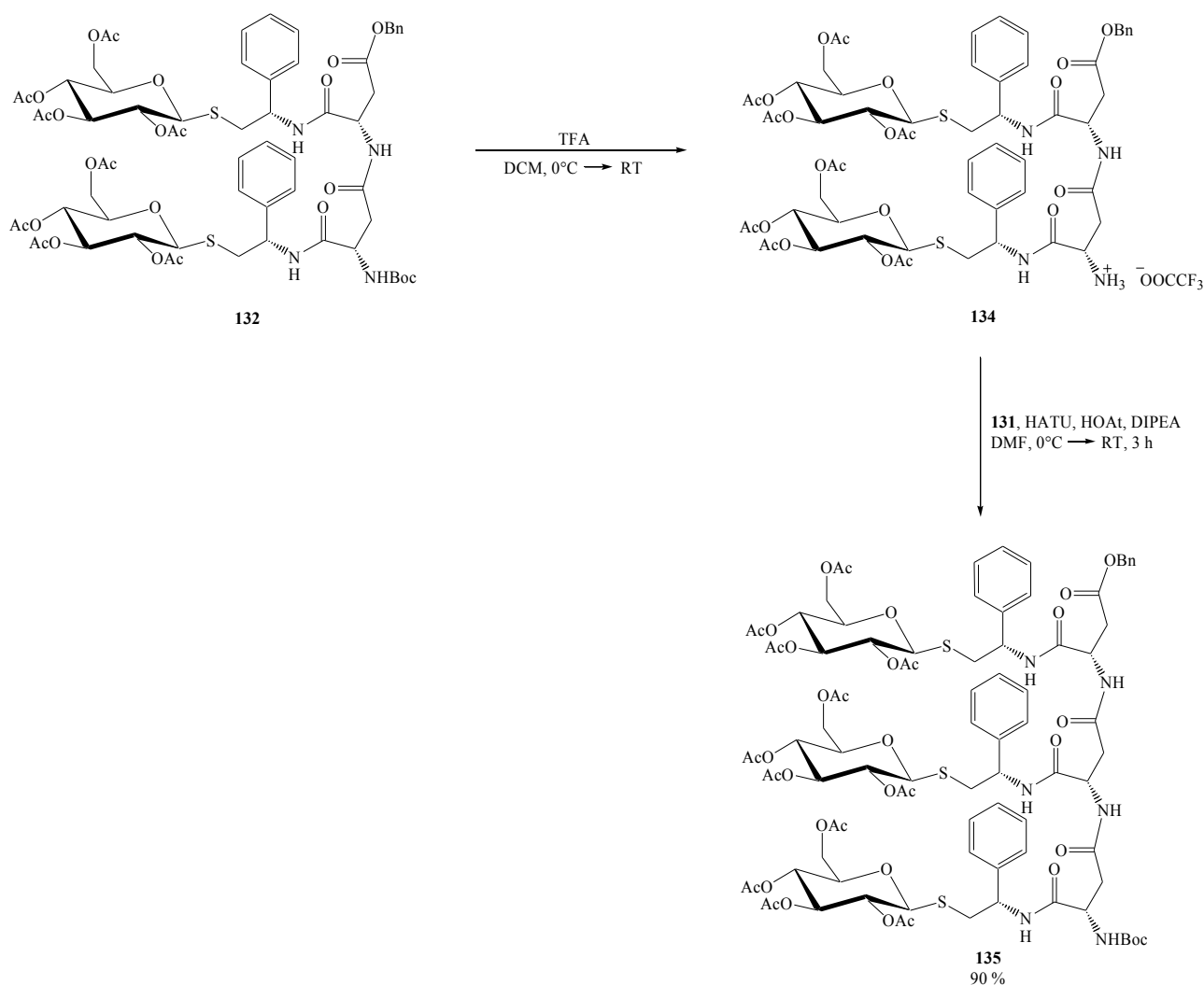
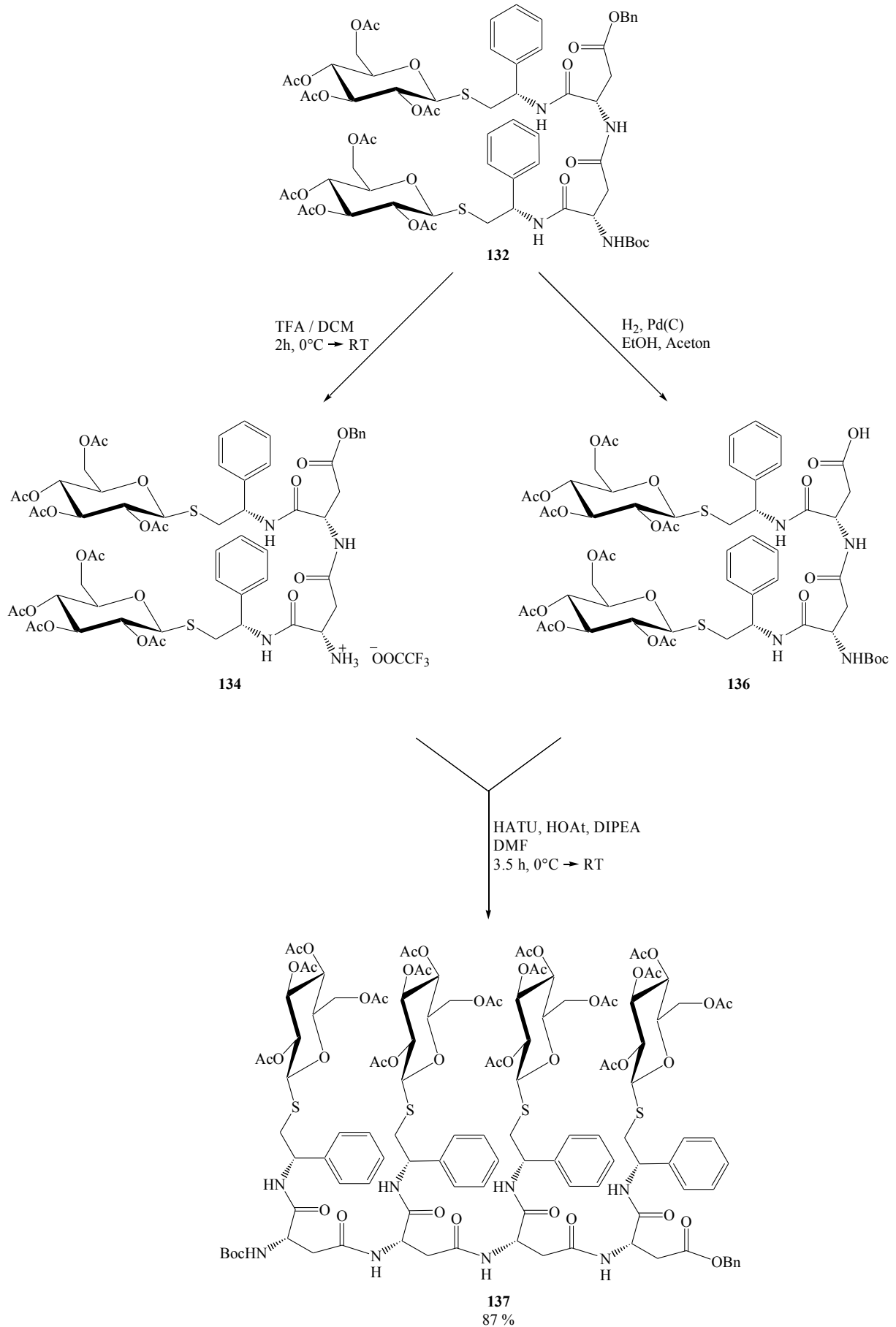


Abbildung 2.65: Darstellung des Tripeptids **135**

Aus Verbindung **135** könnte man erneut nach Entschützung mit TFA in DCM durch die Kupplung mit einer weiteren Säure **131** das Tetrapeptid **137** aufbauen. Allerdings würde sich diese Reaktion aufgrund der schlechten Löslichkeiten nur bei niedrigen Konzentrationen durchführen lassen, was zu einer längeren Reaktionsdauer und niedrigeren Ausbeuten führen kann. Geeigneter schien deshalb in diesem Fall eine konvergente Vorgehensweise. Dazu wird Verbindung **132** unter Wasserstoffatmosphäre auch an der Säurefunktion entschützt (**136**). Zusammen mit Verbindung **134** kann mit HATU/HOAt als Kupplungsreagenzien und DMF als Lösungsmittel Verbindung **137** mit einer Ausbeute von 87 % erhalten werden.

Abbildung 2.66: Konvergente Synthese des Tripeptids **137**

Glykopeptide auf der Basis von Verbindung 99

Um die Bedeutung der Flexibilität des Phenyl-Rings im Spacer bezüglich der Wechselwirkungen mit Lektinen näher untersuchen zu können, wurden ebenfalls Glykopeptide auf der Basis von Verbindung **99** dargestellt, bei denen sich der Spacer von Phenylalanin ableitet. Der Phenyl-Ring sollte in diesem Fall durch die zusätzliche Methylengruppe an räumlicher Flexibilität gewinnen und sich so besser an die hydrophoben Bindungsstellen von Lektinen anpassen können und zu einer höheren Affinität führen.

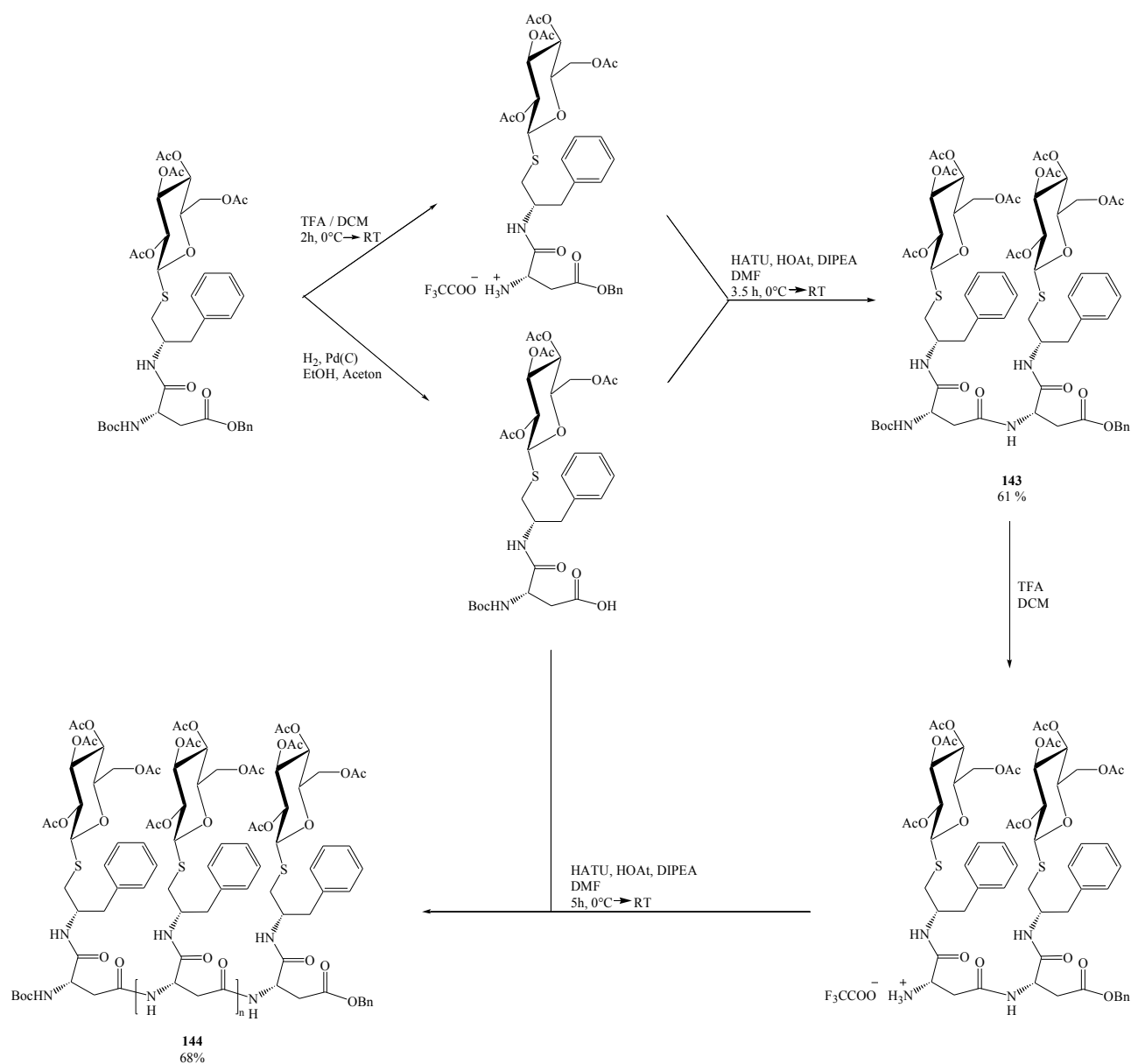


Abbildung 2.67: Darstellung des Bausteins **144**

Die Durchführungen der Synthesen erfolgen analog den für Verbindung **132** beschriebenen Vorgehensweisen ausgehend von Verbindung **99**. Zunächst wird Baustein **99** jeweils am N-

terminalen mit TFA in DCM bzw. am C-terminalen Ende mit Wasserstoff entschützt. Für die anschließenden Peptid-Kupplungen wurde HATU/HOAt als Kupplungsreagenz, DIPEA als Base und DMF als Lösungsmittel verwendet. Auf diese Weise konnte zunächst das Dimer **143** zu 61 % und nach erneuter Entschützung desselben mit TFA in DCM das entsprechende Trimer **144** zu 68 % erhalten werden.

Glykopeptide auf der Basis von Verbindung **49**

Um die Bedeutung der Phenyl-Ringe des Spacer-Moleküls auf die Anbindung der neo-Glykopeptide an Lektine ermitteln zu können, sollten zu den bereits dargestellten ein weiteres neo-Glykopeptid ohne aromatischen Rest synthetisiert werden. Hier bietet sich zum direkten Vergleich Baustein **49** mit einem auf Alanin basierenden Spacer an.

Die Synthese erfolgt analog dem Vorgehen bei der Darstellung von Verbindung **132**. Zunächst wird Baustein **49** sowohl am C-terminalen Ende als auch am N-terminalen Ende der Asparaginsäure entschützt. Die anschließende Kupplung in DMF mit DIPEA als Base und HATU/HOAt als Kupplungsreagenz ergibt das Dipeptid **147** in 85%iger Ausbeute. Da bereits Verbindung **147** nur eine geringe Löslichkeit in DMF aufwies, war es im Rahmen dieser Arbeit leider nicht mehr möglich, das entsprechende Tripeptid aufzubauen.

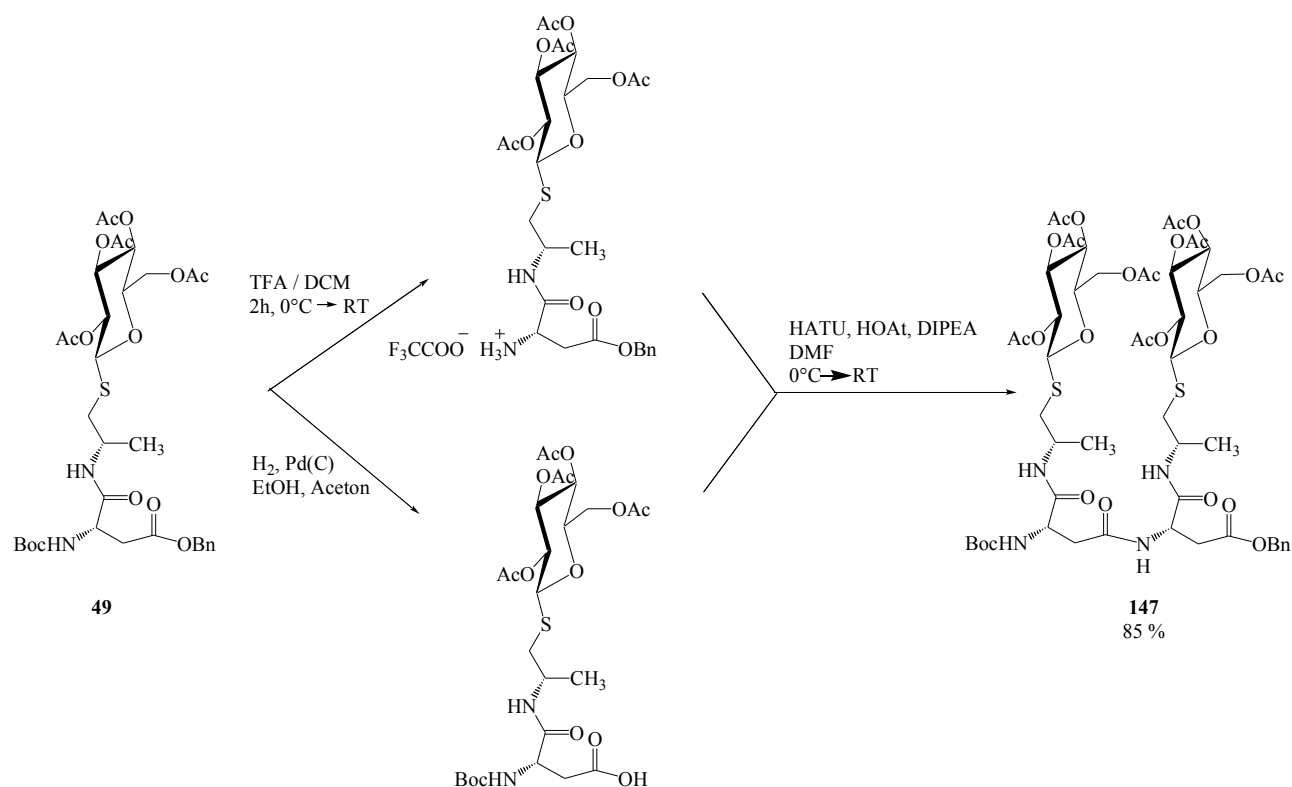


Abbildung 2.68: Verbindung **147** als Dipeptid auf Basis von L-Alanin

Vollständige Entschützung der Glykopeptide **132**, **135** und **137**

Zur Untersuchung der Wechselwirkungen des Dipeptids **132**, des Tripeptids **135** und des Tetrapeptids **137** mit Lektinen ist die Entfernung der Acetyl-Schutzgruppen notwendig. Zur Steigerung der Löslichkeit in Wasser wurden die Schutzgruppen am N- und am C-terminalen Ende des Asparaginsäurerückgrats ebenfalls entfernt. Um dabei unnötige Ausbeuteverluste zu vermeiden, wurde auf eine Reinigung der Produkte zwischen den einzelnen Entschützungsschritten verzichtet.

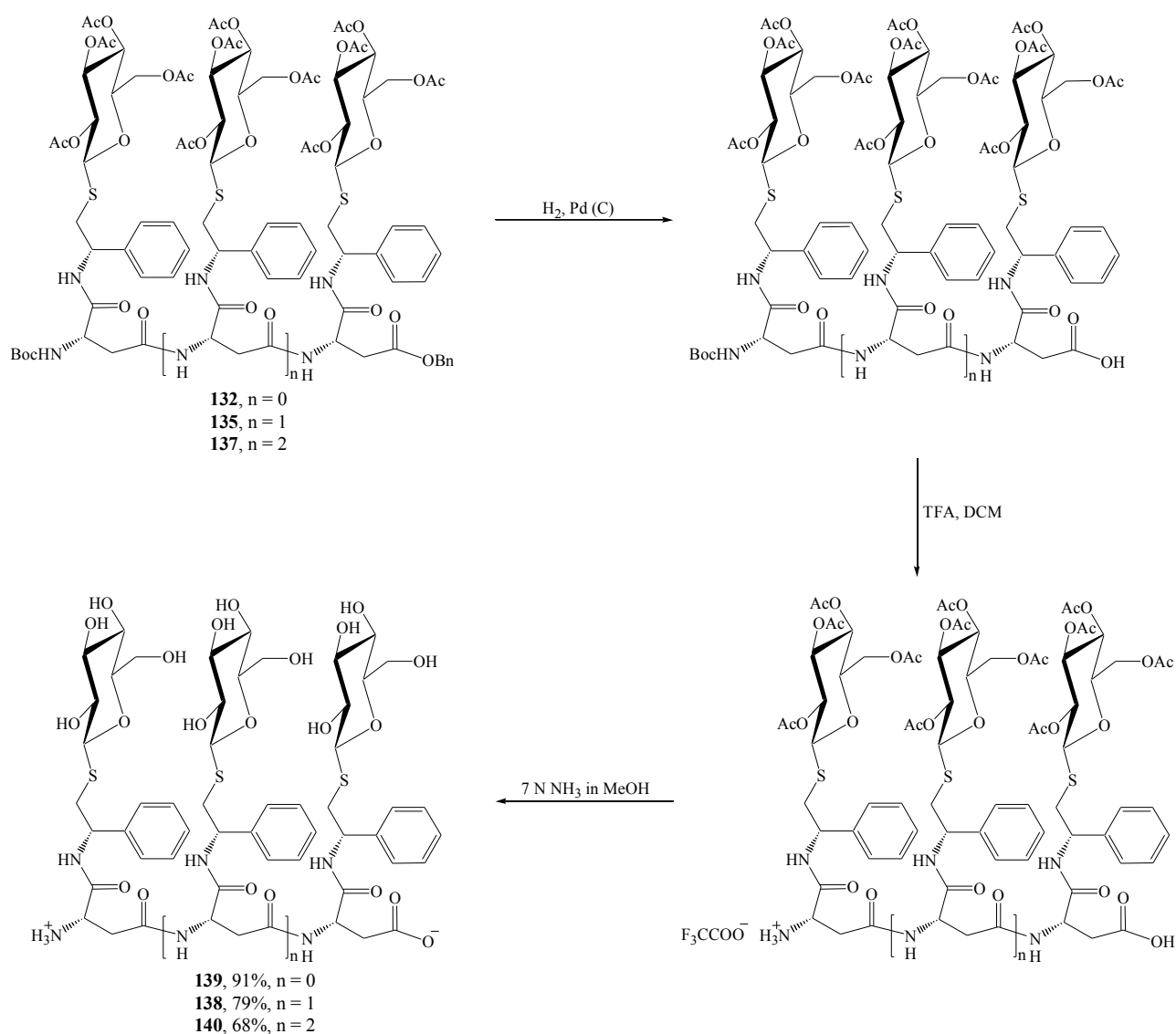


Abbildung 2.69: Schritte zur kompletten Entschützung der Glykopeptide **132**, **135** und **137**

Ausgehend von Verbindung **132** wird zunächst unter Wasserstoffatmosphäre die Benzylschutzgruppe der Asparaginsäure-Carboxyl-Funktion entfernt. Anschließend wird der erhaltene Feststoff in DCM aufgenommen und die Boc-Schutzgruppe mit Trifluoressigsäure entfernt. Im letzten Schritt werden schließlich die Acetyl-Schutzgruppen der Kohlenhydrate mit einer Lösung von Ammoniak in Methanol abgespalten. Nach der Aufreinigung mittels Biogelsäule

und RP-HPLC konnte Verbindung **139** mit einer Ausbeute von 91 % erhalten werden.

Durch die gleiche Vorgehensweise konnte aus den Verbindungen **135** und **137** nach Entfernen der Benzylschutzgruppe unter Wasserstoffatmosphäre, Entfernen der Boc-Schutzgruppe mit TFA und Entfernen der Acetyl-Schutzgruppe mit Ammoniak in Methanol die entsprechenden entschützten Glykopeptide **138** (79 %) und **140** (68 %) erhalten werden. Zu erkennen ist dabei eine deutlich abnehmende Tendenz der Ausbeute der komplett entschützten Glykopeptide mit zunehmender Zahl an Bausteineinheiten.

2.5.3.3 Wechselwirkungen des Tetrapeptids **137** mit PHA-E

Zur Bestimmung von Wechselwirkungen zwischen biologisch relevanten Molekülen steht eine Vielzahl an Techniken und Methoden zu Verfügung, z.B. Mikroarrays^[4], AFM^[243], NMR-Titrations^[244], Oberflächenplasmonenresonanzspektroskopie (SPR), Fluoreszenztitrations, Fluoreszenzpolarisationsmessungen, Affinitätschromatographie, QCM-Verfahren und kalorimetrische Methoden.

Nachdem durch Färbetests mit Peroxidase gelabelten Lektinen an auf Zellulosemembranen synthetisierten Glykopeptiden eine hohe Affinität von Verbindung **137** zu PHA-E zu erwarten war, sollte die genaue Wechselwirkung mittels isothermaler Titrationskalorimetrie bestimmt werden.

Die isothermale Titrationskalorimetrie bietet den Vorteil einer markierungsfreien Bestimmung der Bindungskonstanten in Lösung. Nachteilig ist allerdings der vergleichsweise hohe Bedarf an Probenmengen bei schwachen Wechselwirkungen wie im Fall von Glykopeptid-Lektin-Wechselwirkungen.

Zur Durchführung der ITC im Fall von Verbindung **137** wurden zu jeweils 0.5 ml einer Lösung von 3.84 mg PHA-E pro ml Pufferlösung jeweils 0.5 ml einer 0.51 μ M Glykopeptid-Lösung getropft. Die erhaltenen Messkurven sind in Abbildung 2.70 wiedergegeben. Obwohl der Anbindungsprozess zu erkennen ist, konnte leider auf Grundlage dieser Daten aufgrund der geringen freiwerdenden Wärmeenergie keine thermodynamischen Konstanten ermittelt werden.



Abbildung 2.70: ITC-Messungen von Verbindung 137 mit PHA-E

Begründet auf diese Ergebnisse wurde auf Messungen bei den Verbindungen **144** und **147** verzichtet. Hier muss gegebenenfalls im Rahmen zukünftiger Arbeiten auf empfindlichere Methoden, beispielsweise Nanokalorimetrie, ausgewichen werden.

3 Experimenteller Teil

3.1 Allgemein

Zur Durchführung der Versuche sowie zur Isolierung und Charakterisierung der hergestellten Verbindungen wurden folgende Geräte verwendet:

NMR-Spektroskopie

Die ^1H -NMR-Spektren wurden auf einem Bruker AC 250 (250 MHz), einem Bruker Avance 400 (400 MHz) oder einem Bruker AMX 600 (600 MHz) aufgenommen.

Die ^{13}C -NMR-Spektren wurden auf einem Bruker AC 250 (250 MHz), einem Bruker Avance 400 (400 MHz) oder einem Bruker AMX 600 (600 MHz) aufgenommen

Als interner Standard diente Tetramethylsilan (TMS) oder das deuterierte Lösungsmittel selber. Die chemischen Verschiebungen δ werden in ppm, die Kopplungskonstanten in Hz angegeben. Die ^{13}C -NMR-Spektren sind ^1H -breitbandentkoppelt.

Die Auswertung erfolgt erster Ordnung. Die Zuordnung der Signale erfolgt durch Aufnahme von DEPT-Spektren sowie Korrelationsexperimenten (^1H - ^1H - und ^{13}C ^1H -COSY). Weitere zweidimensionale Experimente (HMQC, NOESY) wurden bei Bedarf durchgeführt. Bei geminalen, magnetisch nicht äquivalenten Wasserstoffatomen wird dasjenige bei niedrigerer Verschiebung mit dem Index a, dasjenige bei höherer Verschiebung mit dem Index b gekennzeichnet. Bei der Beschreibung der Kopplungsmuster werden folgende Abkürzungen verwendet:

s	Singulett
d	Dublett
t	Triplett
q	Quartett
quint	Quintett
dd	Dublett von Dubletts
m	Multiplett
b	breites Signal

Bei NMR-Spektren von neo-Glykopeptiden mit wiederkehrendem Motiv wurden die einzelnen Signale mit *, **, ... gekennzeichnet, ausgehend von N-terminalen Ende des Glykopeptids. Bei den

neo-Glykopeptiden wurde bei stark überlagerten Signalen auf eine genaue Zuordnung verzichtet.

Massenspektrometrie

FAB-Spektren wurden mit einem Finnigan MAT TSQ 70 aufgenommen. Zur Ionisierung wurden Xenon-Atome verwendet, als Matrix diente 3-Nitrobenzylalkohol.

Hochauflösende Massenspektren wurden mit einem Bruker Daltronic Apex II FT-ICR-MS ermittelt. MALDI-TOF-Spektren wurden mit einem Bruker Autoflex aufgenommen. Als Matrix diente 2'-(4-Hydroxyphenylazo)benzoesäure.

UV-Spektren

Shimadzu UV 2102 PC. Die Spektren wurden in Lösung in 1 cm oder 0.1 cm Quarzglasküvetten aufgenommen.

Elementaranalyse

Für Elementaranalysen wurde ein Euro EA 3000 der Firma HEKAtech GmbH verwendet.

Drehwert

Für die Bestimmung der Drehwerte wurde ein Perkin Elmer Polarimeter Modell 341 verwendet. Die Messungen erfolgten in einer 10 cm langen Glasküvette bei 20°C. Falls nicht anders angegeben wurde eine Wellenlänge von 589 nm verwendet (Na-D-Linie).

Schmelzpunktbestimmung

Für die Bestimmung der Schmelzpunkte wurde eine Büchi B-540 oder ein Büchi M-560 verwendet. Alle Schmelzpunkte sind unkorrigiert.

Analytische Dünnschichtchromatographie (DC)

Für die Dünnschichtchromatographie wurden POLYGRAM[®] SIL G/UV₂₅₄-Fertigfolien der Firma Macherey & Nagel verwendet.

Für RP-DC wurden TLC Silica gel 60 RP-18 F₂₅₄S-Fertigfolien der Firma Merck verwendet.

Die Detektion erfolgte durch UV-Licht (254 nm), durch Verkohlung nach Besprühung mit 5%iger ethanolischer Schwefelsäurelösung oder bei Aminen durch Anfärbung mit einer 2%igen Lösung von Ninhydrin in Ethanol.

Präparative Säulenchromatographie

Es wurden Glassäulen verschiedener Größen, gepackt mit Kieselgel der Firma Macherey & Nagel (0,032–0,063 mm) verwendet. Die verwendeten Laufmittel sind in den Arbeitsvorschriften angegeben. Sämtliche Lösungsmittel wurden vor der Verwendung destilliert.

HPLC

Präparative HPLC S1122 der Firma Sykam mit einer Normalphasensäule (Saphir 65 Si, 5µm, 250 × 20 mm) der Firma Grom. Als Laufmittel dienten n-Heptan und Ethylacetat. Für RP-HPLC wurde eine Grom SIL 120 ODS-4HE, 10 µm, 250 × 20 mm mit den Laufmitteln Wasser, Methanol und Acetonitril verwendet.

3.2 Verwendete Chemikalien und Arbeitsweise

Die verwendeten Lösungsmittel und Reagenzien wurden, sofern notwendig, nach literaturbekannten Verfahren gereinigt und getrocknet. Sämtliche Lösungsmittel wurden vor der Verwendung destilliert. Alle feuchtigkeits- und luftempfindlichen Reaktionen wurden in ausgeheizten und mit Argon oder Stickstoff belüfteten Apparaturen durchgeführt.

Verwendete Chemikalien und Hilfsmittel:

Acetonitril puriss (Fluka), 4-(Aminomethyl)-benzoesäure (Aldrich), 4-Amino-1-butanol (Aldrich), 6-Amino-1-hexanol (Fluka), 5-Amino-1-pentanol (Aldrich), *S*-(+)-2-Amino-1-propanol (Aldrich), *R*-(-)-2-Amino-1-propanol (Aldrich), 3-Amino-1-propanol (Aldrich), Aminosäuren und ihre Derivate (Novabiochem, Alfa Aesar), Ammoniak 7N in Methanol (Acros), Ammoniumformiat (Fluka), *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluroniumhexafluorphosphat (Fluka, Alfa Aesar), (Benzotriazol-1-yloxy)tripyrrolidinophosphoniumhexafluorphosphat (Aldrich), *O*-(1H-Benzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluroniumhexafluorphosphat (Fluka), Biogel P2 (Bio-Rad), Bromwasserstoff in Eisessig (33%, Fluka), Calciumchloriddihydrat (Sigma Aldrich), Celite® 503 (Fluka), Chlorameisensäurebenzylester (Sigma Aldrich), 4-Cyanobenzaldehyd (Fluka), DBU (Merck), *tert*-Dibutyldicarbonat (Fluka), *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimid (Fluka), *N,N'*-Diisopropylcarbodiimid (Fluka), Diisopropylethylamin (Merck), 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimidhydrochlorid (Fluka), 4-Dimethylaminopyridin (Fluka), Ethanolamin (Fluka), 9H-Fluorenyl-methoxycarbonylsuccinimid (Fluka), D-Galactose (Fluka), D-Glucose (Roth), Lektine (Sigma Aldrich, EY Laboratories), 1-Hydroxybenzotriazol (Fluka), Lithiumaluminiumhydrid (Merck), Mangan(II)chlorid-tetrahydrat (Sigma Aldrich), D-Mannose (Glycon), 4-Methylmorpholin (Fluka), Molekularsieb 3 Å und 4 Å (Roth), Natriumborhydrid (Merck), Natriumhydrid (Aldrich), Natriummethanolat 7N in Methanol (Fluka), Palladium auf Aktivkohle (Merck, Fluka), Pentafluorphenol (Merck), L-Phenylalanin (Alfa Aesar), D-Phenylalaninol (Alfa Aesar), *R*-2-Phenylglycinol (Sigma Aldrich), *S*-2-Phenylglycinol (Sigma Aldrich), Phosphorpentoxid (Fluka), Piperidin (Fluka), Pyridin (Acros), *p*-Toluolsulfonsäurechlorid (Fluka), 3H-1,2,3-Triazolo[4,5-*b*]pyridin-3-ol (TCI), 2,2,2-Trichlorethanol (Fluka), Triethylamin (Fluka), Trifluoressigsäure (Sigma Aldrich), Trifluormethansulfonsäure (Fluka), Triisobutylsilan (Aldrich), Trimethylphosphin 1M in THF (Aldrich), Tris-(hydroxy-methyl)-aminoethan (Aldrich), L-Tryptophan (TCI), L-Valin (Fluka). Alle übrigen Chemikalien wurden von der Chemikalienausgabe der Universität Tübingen bezogen.

3.3 Umsetzungen

3.3.1 Allgemeine Arbeitsvorschriften

AAV 1: Peracetylierung von Sacchariden

Eine Suspension von Natriumacetat (1.3 mmol) in Acetanhydrid (1.6 ml) wird auf 125 °C erhitzt. Anschließend werden das zu schützende Saccharid (1 mmol) spatelweise so zugegeben, daß die entstehende Lösung selbstständig weitersiedet. Nach 30 min weiterem Erhitzen wird die Lösung auf RT gekühlt und anschließend auf Eiswasser gegeben und 3 h gerührt. Bereits ausgefallenes Rohprodukt wird abfiltriert, mit Wasser gewaschen und anschließend umkristallisiert. Das restliche Eiswasser wird mit DCM extrahiert, die organische Phase mit gesättigter NaHCO₃-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, im Vakuum eingengt und anschließend aus dem entsprechenden Lösungsmittel kristallisiert.

AAV 2: Bromierung peracetylierter Saccharide

Das peracetylierte Saccharid (1 mmol) wird in 3 ml DCM gelöst und auf 0°C gekühlt. Anschließend wird eine 33%ige Lösung von Bromwasserstoff in Eisessig (0.5 ml, 3.25 mmol) langsam zugetropft, auf RT erwärmt und 2 h gerührt. Die Lösung wird auf Eiswasser gegossen und die organische Phase anschließend mit gesättigter NaHCO₃-Lösung und nochmals mit Wasser gewaschen. Nach Trocknen über Na₂SO₄ wird im Vakuum eingengt und das Rohprodukt direkt weiter verarbeitet oder ggf. umkristallisiert.

AAV 3: Darstellung der 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-1-thio-glykoside

Zu einer Lösung des nach AAV 2 dargestellten peracetylierten Glycosylbromids (1 mmol) in 3 ml trockenem Aceton wird Thioharnstoff (1.1 mmol) gegeben und für 7 h am Rückfluss gerührt. Nach dem Abkühlen wird die Lösung eingengt und der verbleibende Rückstand in DCM suspendiert. Eine wässrige Lösung von K₂S₂O₅ (1.1 mmol) wird zugegeben und unter kräftigem Rühren 12 h zum Rückfluß erhitzt. Nach Beendigung der Reaktion wird die DCM-Phase abgetrennt und die wässrige Phase zweimal mit DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet, im Vakuum eingengt und anschließend säulenchromatographisch gereinigt.

AAV 4: Umsetzung von Carbonsäuren zu Pentafluorphenolestern

Die Carbonsäure (1.0 mmol) wird in 10 ml Essigsäureethylester gelöst und auf 0°C gekühlt. Dann gibt man zunächst das Pentafluorphenol (1.05 mmol), anschließend das DCC (1.05 mmol) dazu. Es wird eine Stunde bei 0°C und eine weitere Stunde bei RT gerührt. Nach beendeter Reaktion filtriert man den ausgefallenen Feststoff ab und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Der erhaltene Rückstand wird gegebenenfalls durch Umkristallisation gereinigt.

AAV 5: Einführen der Boc-Schutzgruppe

Boc_2O (1 mmol) wird in Dioxan, Dioxan/Wasser oder THF gelöst und auf 0°C gekühlt. Anschließend tropft man das in dem entsprechenden Lösungsmittel gelöste Amin (1 mmol) langsam zu und lässt für weitere 12 h rühren. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wird die Rohsubstanz säulenchromatographisch oder durch Kristallisation gereinigt.

AAV 6: Einführen der Z-Schutzgruppe^[245]

Eine Lösung des Amins (1 mmol) in 1.5 ml DCM wird mit 5%iger NaHCO_3 -Lösung (2.5 ml) versetzt. Anschließend wird Chlorameisensäurebenzylester (1.1 mmol) über einen Zeitraum von 30 min zugetropft. Nach Erwärmen auf RT wird für weitere 16 h gerührt. Nach Beendigung der Reaktion werden die Phasen getrennt und die wässrige Phase mit DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO_4 getrocknet und das DCM im Vakuum entfernt. Anschließend wird durch Kristallisation gereinigt.

AAV 7: Entfernen der Boc-Schutzgruppe und des *tert*-Butylesters

Eine Lösung der *tert*-Butyloxycarbonyl- bzw. der *tert*-Butylester-Komponente (1 mmol) in DCM (3 ml) wird auf 0°C gekühlt. Anschließend wird Trifluoressigsäure (2 ml) zugegeben und eine Stunde bei 0°C gerührt. Nach einer weiteren Stunde bei RT wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird dreimal mit Toluol coevaporiert, am Hochvakuum getrocknet und in der Regel ohne Reinigung weiter umgesetzt.

AAV 8: Entfernen der Z-Schutzgruppe und des Benzylesters

Zu einer Lösung der Benzyloxycarbonyl- bzw. Benzylester-Komponente (1 mmol) und Essigsäure (1.2 mmol) in 20 ml Ethanol gibt man im Argongegenstrom 20 mg Pd auf Aktivkohle. Der Kolben wird anschließend mehrmals evakuiert und mit Wasserstoff geflutet. Der Verlauf der Reaktion wird mittels DC kontrolliert. Gegebenenfalls muss bei schwefelhaltigen Verbindungen weiterer

Katalysator zugegeben werden. Nach Beendigung der Reaktion wird der Katalysator über Celite abfiltriert und das Filtrat im Vakuum eingengt. Der erhaltene Rückstand kann ohne weitere Aufreinigung weiterverwendet werden.

AAV 9: Entfernen der Fmoc-Schutzgruppe

Die Fmoc-Komponente (1 mmol) wird zu 2 ml einer 20%igen Lösung von Piperidin in DMF gegeben. Nach 8 h Reaktionszeit wird so oft mit Toluol coevaporiert, bis alles Piperidin und DMF entfernt ist. Nach Trocknung im Vakuum wird die Substanz säulenchromatographisch gereinigt oder direkt weiter umgesetzt.

AAV 10: Aktivierung von Alkoholen als *p*-Toluolsulfonsäureester

Zu einer Lösung des Alkohols (1 mmol) in 1.5 ml trockenem DCM werden bei 0°C nacheinander Triethylamin (1.3 mmol), DMAP (0.05 mmol) und Tos-Cl (1.2 mmol) gegeben. Nach 18 h wird mit 1M KHSO₄-Lösung, gesättigter NaHCO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Die Reinigung erfolgt säulenchromatographisch oder durch Kristallisation.

AAV 11: Aktivierung von Alkoholen als *p*-Methansulfonsäureester^[245]

Der Alkohol (1 mmol) wird in 15 ml trockenem DCM gelöst und mit Triethylamin (1.15 mmol) versetzt. Anschließend wird bei 0°C tropfenweise Methansulfonsäurechlorid (1.1 mmol) über einen Zeitraum von 10 min zugegeben. Nach weiteren 30 min bei RT wird mit 1M HCl, ges. NaHCO₃-Lösung und ges. NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der erhaltene Rückstand wird kristallisiert oder chromatographiert.

AAV 12: Kupplung der 1-Thioglykoside mit aktivierten Aminoalkoholen

Zu einer Lösung des 1-Thioglykosids (5 mmol) in 50 ml absolutem DMF wird bei 0°C zuerst die angegebene Base (12 mmol) und nach weiteren zehn Minuten der aktivierte Aminoalkohol (5 mmol) zugegeben. Es wird zunächst für 2 h bei 0°C, anschließend bei RT weiter gerührt. Nach Beendigung der Reaktion wird mit 150 ml Ethylacetat verdünnt und die organische Phase zwei mal mit destilliertem Wasser und je einmal mit 1M HCl_{aq.}, gesättigter NaHCO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknen über Na₂SO₄ wird das verbliebene DMF mit Toluol coevaporiert, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der erhaltene Rückstand an Kieselgel gereinigt.

AAV13: Reduktion einer Säuregruppe zum Alkohol mit Lithiumaluminiumhydrid

Zu einer Suspension von LAH (26.3 mmol) in 50 ml absolutem THF gibt man bei 0°C portionsweise die angegebene Säure (20 mmol). Es wird für 2 h bei 0°C, 2 h bei RT und für weitere 16 h unter Rückfluß gerührt. Anschließend wird die Lösung erneut auf 0°C abgekühlt und nacheinander langsam mit 35 ml Diethylether, 1.5 ml Wasser, 1.5 ml einer 15%iger NaOH-Lösung und erneut mit 4 ml Wasser versetzt. Der entstandene Feststoff wird über Celite abfiltriert und der Filterkuchen gründlich mit Diethylether gewaschen. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt und der erhaltene Rückstand destillativ oder säulenchromatographisch gereinigt.

3.3.2 Zu Kapitel 2.4.2***N*-tert-Butyloxycarbonyl-2-aminoethanol^[246] (3)**

Zu einer auf 0°C gekühlten Lösung von 4.37 g Di-*tert*-Butyl-dicarbonat (20 mmol) in 20 ml THF wird langsam eine Lösung von 1204 µl 2-Amino-ethanol (20 mmol) in 10 ml THF zugetropft. Die Lösung wird anschließend bei RT für weitere 12 h gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wird der Rückstand über eine Flash-Säule chromatographisch gereinigt (Petrolether:Ethylacetat 1:3). Man erhält ein farbloses Öl.

Ausbeute: 3.16 g (98 %, 19.6 mmol)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.44 (s, 9H, -C(CH₃)₃), 3.19 (bs, 1H, OH), 3.27 (d, 2H, NH-CH₂), 3.67 (bs, 2H, CH₂-OH), 5.17 (bs, 1H, NH).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 28.3 (-C(CH₃)₃), 43.0(NH-CH₂), 62.2 (CH₂-OH), 79.5 (-C(CH₃)₃), 156.7 (CO).

***N*-tert-Butyloxycarbonyl-2-aminoethyltosylat^[247] (4)**

3.22 g *N*-tert-Butyloxycarbonyl-2-amino-1-ethanol (20 mmol) und 6.27 ml Triethylamin (45 mmol) werden in 30 ml trockenem DCM gelöst und auf 0°C gekühlt. Anschließend wird eine Lösung von 4.24 g *p*-Toluolsulfonsäurechlorid (22.3 mmol) in 30 ml trockenem DCM langsam zugetropft. Nach Erwärmen auf RT wird für weitere 24 h gerührt. Die Lösung wird mit 10%iger Zitronensäurelösung (3x) und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das DCM im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgt säulenchromatographisch (PE:EA 3:1 → PE:EA 2:1).

Ausbeute: 3.99 g (63 %, 12.7 mmol)

Schmelzpunkt: 66 °C (Petrolether/Ethylacetat)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.41$ (s, 9H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 2.45 (s, 3H, Tosyl- CH_3), 3.38 (q, 2H, NH- CH_2), 4.07 (t, 2H, $J=4.7$ Hz, $\text{SO}_2\text{-O-CH}_2$), 4.85 (bs, 1H, NH), 7.35 (d, 2H, $J=8.1$ Hz, Aryl), 7.79 (d, 2H, Aryl).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 21.6$ (Tosyl- CH_3), 28.2 ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 39.7 (NH- CH_2), 69.4 ($\text{SO}_2\text{-O-CH}_2$), 79.81 ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 127.9, 129.9, 132.6, 145.0 (Aryl), 155.6 (CO).

(*N-tert*-Butyloxycarbonyl-2-aminoethyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosid (5)

a) Umsetzung in DMF mit DBU als Base

Eine Lösung von 1.09 g 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranose (3 mmol) und 1.37 ml DBU (9 mmol) in 30 ml DMF_{abs} wird auf 0°C gekühlt. Anschließend werden 946 mg von Verbindung 4 (3 mmol) in 10 ml DMF_{abs} gelöst und langsam zutropft. Nach 2h bei 0°C wird für weitere 20h bei RT gerührt. Die Lösung wird mit 80 ml DCM verdünnt und zweimal mit 10%iger Zitronensäure-Lösung und je einmal mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Anschließend wird mit Na_2SO_4 getrocknet, das DCM im Vakuum entfernt und verbleibendes DMF mit Toluol coevaporiert. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung (Petrolether:Ethylacetat 1:1) erhält man einen weißen Feststoff.

Ausbeute: 1.3 g (2.56 mmol, 85 %)

Schmelzpunkt: 77°C (Petrolether/Ethylacetat)

$[\alpha]_{\text{D}} = -3.5$ ($c = 1$, CHCl_3)

FAB-MS: $m/z = 452.1$ $[\text{M-C}(\text{CH}_3)]^+$; $m/z = 408.1$ $[\text{M-Boc}]^+$

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.44$ (s, 9H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 2.01 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.03 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.06 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.09 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.68-2.75 (m, 1H, S- CH_2a), 2.86-2.93 (m, 1H, S- CH_2b), 3.33-3.38 (m, 2H, NH- CH_2), 3.73 (ddd, 1H, H-5), 4.18 (dd, 1H, $J_{6\text{a}-6\text{b}}=2.4$ Hz, $J_{5-6\text{a}}=2.7$ Hz, H-6a), 4.23 (dd, 1H, $J_{5-6\text{b}}=4.8$ Hz, H-6b), 4.51 (d, 1H, $J_{1-2}=10.1$ Hz, H-1), 5.03 (t, 1H, $J=9.8$ Hz, H-2), 5.08 (t, 1H, $J=9.7$ Hz, H-4), 5.19 (bs, 1H, NH), 5.22 (t, 1H, $J=9.5$ Hz, H-3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 20.5$, 20.7 (CO- CH_3), 28.4 ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 31.4 (S- CH_2), 40.8 (NH- CH_2), 62.0 (C-6), 68.1 (C-4), 69.6 (C-2), 73.7 (C-3), 75.9 (C-5), 79.5 ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 84.0 (C-1), 155.9, 169.3, 169.4, 170.1, 170.6 (CO).

b) Umsetzung in DCM mit DBU als Base

Nach AAV 12 werden 729 mg der 1-Thioglucose 2 (2 mmol) mit 631 mg der Verbindung 4 (2 mmol) und 673 μl DBU (4.5 mmol) als Base und 15 ml Dichlormethan als Lösungsmittel umgesetzt.

Ausbeute: 0.62 g (61 %, 1.22 mmol)

c) Umsetzung in DMF mit Triethylamin als Base

Nach AAV 12 werden 437 mg der 1-Thioglukose **2** (1.2 mmol) mit 378 mg der Verbindung **4** (1.2 mmol) und 418 μ l Triethylamin (3 mmol) als Base und 10 ml DMF als Lösungsmittel umgesetzt.

Ausbeute: 0.46 g (76 %, 0.91 mmol)

d) Umsetzung in DCM mit Triethylamin als Base

Nach AAV 12 werden 437 mg der 1-Thioglukose **2** (1.2 mmol) mit 378 mg der Verbindung **4** (1.2 mmol) und 418 μ l Triethylamin (3 mmol) als Base und 10 ml Dichlormethan als Lösungsmittel umgesetzt.

Ausbeute: 0.40 g (66 %, 0.79 mmol)

e) Umsetzung in DMF mit DIPEA als Base

Nach AAV 12 werden 364 mg der 1-Thioglukose **2** (1 mmol) mit 315 mg der Verbindung **4** (1 mmol) und 427 μ l DIPEA (2.5 mmol) als Base und 10 ml DMF als Lösungsmittel umgesetzt.

Ausbeute: 0.40 g (78 %, 0.78 mmol)

f) Umsetzung in DCM mit DIPEA als Base

Nach AAV 12 werden 364 mg der 1-Thioglukose **2** (1 mmol) mit 315 mg der Verbindung **4** (1 mmol) und 427 μ l DIPEA (2.5 mmol) als Base und 10 ml DCM als Lösungsmittel umgesetzt.

Ausbeute: 0.22 g (43 %, 0.43 mmol)

g) Umsetzung in Acetonitril mit DIPEA als Base

Nach AAV 12 werden 364 mg der 1-Thioglukose **2** (1 mmol) mit 315 mg der Verbindung **4** (1 mmol) und 427 μ l DIPEA (2.5 mmol) als Base und 10 ml Acetonitril als Lösungsmittel umgesetzt.

Ausbeute: 0.37 g (73 %, 0.73 mmol)

h) Umsetzung in THF mit NaH als Base

Zu einer Lösung von 0.55 g der Verbindung **2** (1.5 mmol) in 20 ml trockenem THF gibt man bei 0°C 120 mg einer 60%igen Suspension von Natriumhydrid in Mineralöl (3 mmol). Nach 10 min wird der Alkohol **4** portionsweise zugegeben. Der Ansatz wird auf RT erwärmt, für weitere 6 h gerührt und anschließend mit 2 ml Essigsäure versetzt. Nach weiteren 20 min wird mit 100 ml Ethylacetat verdünnt und nacheinander mit jeweils 50 ml einer 1M KHSO₄-Lösung, ges. NaHCO₃-Lösung und destilliertem Wasser gewaschen. Die organische Phase wird über MgSO₄ getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Der erhaltene Rückstand wird chromatographisch an

Kieselgel gereinigt (Petrolether : Ethylacetat 1:1).

Ausbeute: 0.42 g (55%, 0.83 mmol)

i) Umsetzung in DMF mit K_2CO_3 als Base

Zu einer Lösung von 0.73 g des Kohlenhydrats **2** (2 mmol) und 0.63 g des Alkohols **4** (2 mmol) in 25 ml trockenem DMF gibt man 1.38 g K_2CO_3 (10 mmol). Nach 16 h wird die Reaktion mit 100 ml destilliertem Wasser versetzt und dreimal mit jeweils 25 ml Dichlormethan gewaschen. Anschließend werden die vereinigten organischen Phasen zweimal mit je 25 ml dest. Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingeeengt. Der erhaltene Rückstand wird säulenchromatographisch getrennt (Petrolether : Ethylacetat 1:1).

Ausbeute: 0.67 g (66 %, 1.32 mmol)

j) Umsetzung nach Mitsunobu

Zu einer Lösung von 0.51 g ADDP (2 mmol) in 35 ml trockenem THF werden 2 ml einer 1 M Lösung von Trimethylphosphin in THF langsam zugetropft. Man lässt so lange rühren, bis die entstandene gelbe Färbung annähernd verschwunden ist und gibt anschließend 0.44 g des Kohlenhydrats **2** (1.2 mmol) und 161 mg der Verbindung **3** (1 mmol) dazu. Nach 4 h wird der entstandene Niederschlag abfiltriert und das THF entfernt. Der Rückstand wird in 40 ml Dichlormethan aufgenommen und mit jeweils 10 ml Wasser und ges. $NaHCO_3$ -Lösung gewaschen. Die weitere Aufreinigung erfolgt analog den vorangegangenen Vorschriften.

Ausbeute: 0.14 g (28 %, 0.28 mmol)

***N*-tert-Butyloxycarbonyl-2-aminoethylmesylat (6)**

Nach AAV 11 werden 1.05 g des Alkohols **3** (6.5 mmol) mit 604 μ l Methansulfonsäurechlorid (7.8 mmol) und 906 μ l Triethylamin umgesetzt.

Man erhält ein farbloses Öl.

Ausbeute: 1.46 g (95 %, 6.11 mmol)

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein^[248].

***N*-tert-Butyloxycarbonyl-2-aminoethylbromid (7)**

Zu einer Lösung von 1.61 g des Alkohols **3** (10 mmol) und 5.3 g Triphenylphosphan (20 mmol) in 100 ml THF werden spatelweise 6.63 g Tetrabromkohlenstoff gegeben. Nach 5 h wird über Celite abfiltriert, der Rückstand im Vakuum eingeeengt und anschließend säulenchromatographisch aufgereinigt (Petrolether : Ethylacetat 2:1). Man erhält einen amorphen Feststoff.

Ausbeute: 1.73 g (77 %, 7.7 mmol)

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein^[249].

***N*-Benzyloxycarbonyl-2-amino-1-ethanol (8)**

Durchführung nach AAV 6 mit 5.99 ml 2-Aminoethanol (100 mmol) und 15.48 ml Chlorameisensäurebenzylester (110 mmol). Nach Aufarbeitung wird das Produkt aus PE 30/60 : EA 2:1 kristallisiert.

Ausbeute: 17.15 g (88 %, 88 mmol)

Schmelzpunkt: 63°C (62-63°C)^[180]

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 3.21-3.25 (m, 3H, NH-CH₂, OH), 3.56-3.58 (m, 2H, CH₂-OH), 5.01 (bs, 2H, Phenyl-CH₂), 5.51 (bs, 1H, NH), 7.25-7.26 (m, 5H, Phenyl).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 43.4 (NH-CH₂), 61.8 (CH₂-OH), 66.8 (Phenyl-CH₂), 128.1, 128.1, 128.5, 136.4 (Phenyl), 157.2 (CO).

***N*-Benzyloxycarbonyl-2-aminoethylmesylat (9)**

Durchführung nach AAV 11 mit 6.83 g *N*-Benzyloxycarbonyl-2-amino-1-ethanol (35 mmol), 5.61 ml Triethylamin (40.3 mmol) und 3.12 ml Methansulfonsäurechlorid (40.3 mmol). Die Aufreinigung erfolgt mittels Flash-Chromatographie mit PE:EA 1:2. Man erhält weisse Nadeln.

Ausbeute: 9.21 g (96 %, 33.6 mmol)

Schmelzpunkt: 60°C (62°C)^[180]

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 2.93 (s, 3H, SO₂-CH₃), 3.46-3.50 (m, 2H, NH-CH₂), 4.24 (t, 2H, CH₂-O-SO₂), 5.08 (s, 2H, Phenyl-CH₂), 5.46 (bs, 1H, NH), 7.31-7.33 (m, 5H, Phenyl).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 37.2 (SO₂-CH₃), 40.3 (NH-CH₂), 66.8 (Phenyl-CH₂), 68.6 (CH₂-O-SO₂), 128.1, 128.2, 128.5, 136.2 (Phenyl), 156.4 (CO).

***N*-Benzyloxycarbonyl-2-aminoethyltosylat (10)**

Durchführung nach AAV 10. Zu einer Lösung von 6.83 g *N*-Benzyloxycarbonyl-2-amino-1-ethanol (35 mmol), 100 mg DMAP und 6.61 ml Triethylamin (40.3 mmol) in trockenem DCM werden spatelweise 7.67 g *p*-Toluolsulfonsäurechlorid (40.3 mmol) gegeben. Anschließend wird das DCM im Vakuum entfernt, der Rückstand in Ethylacetat aufgenommen und mit Wasser und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknen über MgSO₄ wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand mittels Flash-Chromatographie gereinigt (PE:EA 1:1). Man erhält einen weißen Feststoff.

Ausbeute: 8.86 g (25.4 mmol, 72 %)

Schmelzpunkt: 53°C (51-52°C)^[181]

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 2.41 (s, 3H, Tos-CH₃), 3.41 (q, 2H, NH-CH₂), 4.07 (t, 2H, J=5.1 Hz, CH₂-O-SO₂), 5.04 (s, 2H, Phenyl-CH₂), 5.31 (t, 1H, J=5.1 Hz, NH), 7.29-7.36 (m, 7H, Phenyl), 7.75 (d, 2H, J=8.1 Hz, Tosyl).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 21.6 (Tos-CH₃), 40.1 (NH-CH₂), 66.8 (CH₂-O-SO₂), 69.0 (Phenyl-CH₂), 127.9, 127.9, 128.1, 128.5, 129.9, 132.5, 136.2, 145.0 (Phenyl), 156.2 (CO).

(*N*-Benzyloxycarbonyl-2-aminoethyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosid (11)

a) Umsetzung mit Verbindung **9** und DBU

Unter Schutzgas werden 0.91 g 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranose (2.5 mmol) in 20 ml DMF_{abs} gelöst und auf 0°C gekühlt. Anschließend werden nacheinander 486 µl DBU (3.25 mmol) und 0.68 g des Mesylats **9** (2.5 mmol) zugegeben. Nach 2 h wird auf RT erwärmt und für weitere 20 h gerührt. Nach Verdünnung mit 100 ml EA wird zweimal mit Wasser und je einmal mit 1M KHSO₄-Lösung, gesättigter NaHCO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknung über Na₂SO₄ wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand an Kieselgel chromatographiert (PE:EA 2:3). Man erhält einen amorphen, weißen Feststoff.

Ausbeute: 1.27 g (2.35 mmol, 94 %)

Elementaranalyse: C₂₄H₃₁NO₁₁S (541.57)

berechnet:	C 53.23	H 5.77	N 2.59	S 5.92
gefunden:	C 53.17	H 5.64	N 2.60	S 5.62

[α]_D = -4.7 (c = 1, CHCl₃)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 2.00 (s, 3H, -COCH₃), 2.01 (s, 3H, -COCH₃), 2.02 (s, 3H, -COCH₃), 2.04 (s, 3H, -COCH₃), 2.71-2.78 (m, 1H, S-CH₂a), 2.86-2.93 (m, 1H, S-CH₂b), 3.38-3.48 (m, 2H, NH-CH₂), 3.63-3.66 (m, 1H, H-5), 4.13-4.14 (m, 2H, H-6), 4.46 (d, 1H, J_{1,2} = 10.0 Hz, H-1), 4.99 (t, 1H, J=9.4 Hz, H-2), 5.04 (t, 1H, J=9.7 Hz, H-4), 5.11 (q, 2H, Phenyl-CH₂), 5.18 (t, 1H, J=9.3 Hz, H-3), 5.45 (t, 1H, J=5.9 Hz, NH).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 20.6, 20.7, 20.7, 20.8 (CO-CH₃), 31.5 (S-CH₂), 41.4 (NH-CH₂), 62.0 (C-6), 66.8 (Phenyl-CH₂), 68.2 (C-4), 69.8 (C-2), 73.7 (C-3), 76.0 (C-5), 84.2 (C-1), 128.3, 128.6, 136.6 (Phenyl), 155.3, 169.4, 169.5, 170.2, 170.7 (CO).

b) Umsetzung mit Verbindung **10** und DBU

Entsprechend Vorschrift a) werden unter Schutzgas 0.91 g 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranose (2.5 mmol) in 20 ml DMF_{abs} gelöst und bei 0°C mit 486 μ l DBU (3.25 mmol) und 0.87 g des Tosylats **10** (2.5 mmol) umgesetzt. Nach chromatographischer Aufreinigung an Kieselgel (PE:EA 1:1) erhält man einen weißen Feststoff.

Ausbeute: 1.2 g (2.22 mmol, 89 %)

***N*-tert-Butyloxycarbonyl-*N'*-2-[1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-ethyl]-L-asparaginsäureamid- β -benzylester (**14**)**

a) 1.25 g von Verbindung **5** (2.46 mmol) werden nach AAV 7 zunächst zum entsprechenden Trifluoracetat umgesetzt. Dieses wird anschließend in 20 ml Ethylacetat gelöst und mit 1.20 g Boc-Asp(OBn)-OPfp (2.46 mmol) und 854 μ l DIPEA (5 mmol) versetzt. Nach 5 h wird das Lösemittel im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (PE:EA 1:1). Man erhält einen weißen Feststoff.

Ausbeute: 1.72 g (2.41 mmol, 98 %)

Schmelzpunkt: 56 °C (Ethylacetat/Petrolether)

FT-ICR-MS: [M+H]⁺

berechnet:	m/z	735.24055	
gefunden:	m/z	735.24040	relative Massenabweichung: 0.2 ppm

Elementaranalyse: C₃₂H₄₄N₂O₁₄S (712.25)

berechnet:	C 53.92	H 6.22	N 3.93	S 4.50
gefunden:	C 54.22	H 6.28	N 3.98	S 4.29

$[\alpha]_D = +3.0$ (c = 1.5, CHCl₃)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.46 (s, 9H, -C(CH₃)₃), 2.01 (s, 3H, -COCH₃), 2.01 (s, 3H, -COCH₃), 2.07 (s, 3H, -COCH₃), 2.08 (s, 3H, -COCH₃), 2.69-2.77 (m, 2H, S-CH_{2a}, NH-CH-CH_{2a}-COO), 2.85 (dt, 1H, S-CH_{2b}), 3.08 (dd, 1H, ²J=17.2 Hz, ³J=4.3 Hz, NH-CH-CH_{2b}-COO), 3.35-3.42 (m, 1H, NH-CH_{2a}), 3.53-3.61 (m, 1H, NH-CH_{2b}), 3.73-3.77 (m, 1H, H-5), 4.19 (m, 2H, H-6), 4.52 (bs, 1H, NH-CH), 4.57 (d, 1H, J₁₋₂ = 10.1 Hz, H-1), 5.02 (t, 1H, J₂₋₃=9.7 Hz, H-2), 5.07 (t, 1H, H-4), 5.14 (dd, 2H, Phenyl-CH₂), 5.28 (t, 1H, J₃₋₄=9.4 Hz, H-3), 5.62 (bd, 1H, J=8.0 Hz, NH-CH), 6.88 (t, 1H, J=5.9 Hz, NH-CH₂), 7.34-7.37 (m, 5H, Phenyl).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 20.5, 20.6, 20.7 (CO-CH₃), 28.3 (-C(CH₃)₃), 30.2 (S-CH₂), 36.1 (NH-CH-CH₂-COO), 39.6 (NH-CH₂), 50.6 (NH-CH-CH₂-COO), 62.0 (C-6), 66.8 (Phenyl-CH₂), 68.2 (C-4),

69.8 (C-2), 73.6 (C-3), 75.9 (C-5), 77.2 (-C(CH₃)₃), 83.8 (C-1), 128.2, 128.4, 128.6, 135.3 (Phenyl), 169.4, 169.4, 170.1, 170.8 (CO).

b) Nach AAV 8 wird zunächst bei 0.81 g von Verbindung **11** (1.5 mmol) die Z-Schutzgruppe mittels Hydrierung entfernt. Die weitere Umsetzung erfolgt dann wie in a) beschrieben.

Ausbeute: 0.98 g (1.38 mmol, 92 %)

***N*-tert-Butyloxycarbonyl-3-aminopropan-1-ol (15)**

Nach AAV 5 werden 6.57 g Boc₂O (30.1 mmol) in 80 ml Dioxan mit 2.28 ml 3-Amino-propan-1-ol (30 mmol) umgesetzt. Anschließend wird in 100 ml DCM aufgenommen und mit 1 M Salzsäure, ges. NaHCO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknung über Na₂SO₄ und Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum erhält man einen weißen Feststoff.

Ausbeute: 5.11 g (97 %, 29.1 mmol)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.41 (s, 9H, -C(CH₃)₃), 1.63 (quint, 2H, NH-CH₂-CH₂), 2.85 (bs, 1H, OH), 3.24 (t, 2H, NH-CH₂), 3.62 (t, 2H, CH₂-OH), 4.80 (bs, 1H, NH).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 28.3 (-C(CH₃)₃), 32.8 (NH-CH₂-CH₂), 36.9 (NH-CH₂), 59.2 (CH₂-OH), 79.5 (-C(CH₃)₃).

***N*-Benzyloxycarbonyl-3-aminopropan-1-ol (16)^[250]**

Analog AAV 6 werden 2.66 ml 3-Aminopropan-1-ol (35 mmol) in 50 ml DCM gelöst und zu einer Lösung von 7.42 g Na₂CO₃ (70 mmol) in 50 ml Wasser gegeben. Nach 18 h werden die Phasen getrennt und die wässrige Phase noch zweimal mit DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit ges. NaHCO₃-Lösung und dest. Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und im Vakuum eingeengt. Nach Umkristallisation aus Diethylether/Petrolether 30/60 erhält man einen weißen Feststoff.

Ausbeute: 4.48 g (61 %, 21.4 mmol)

Schmelzpunkt: 46°C (46-48°C)^[252]

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.70 (quint, 2H, NH-CH₂-CH₂), 2.40 (bs, 1H, OH), 3.35 (t, 2H, J=6.3 Hz, NH-CH₂), 3.66 (t, 2H, J=6.0 Hz, CH₂-OH), 5.05 (bs, 1H, NH), 5.11 (s, 2H, Phenyl-CH₂), 7.31-7.38 (m, 5H, Phenyl).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 32.7 (NH-CH₂-CH₂), 37.9 (NH-CH₂), 59.7 (CH₂-OH), 67.0 (Phenyl-CH₂), 128.2, 128.3, 128.6 (Phenyl), 136.5 (CO).

***N*-Benzyloxycarbonyl-3-aminopropyltosylat (19)**

Zu einer Lösung von 1.99 g *N*-Benzyloxycarbonyl-3-aminopropan-1-ol (9.51 mmol) in trockenem DCM werden bei 0°C nacheinander 1.98 ml Triethylamin (14.3 mmol), 100 mg DMAP und 2.18 g *p*-Toluolsulfonsäurechlorid (11.4 mmol) gegeben. Nach einer Reaktionsdauer von 24 h wird mit 1M KHSO₄-Lösung, ges. NaHCO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wird säulenchromatographisch (PE:EA 3:2) gereinigt. Man erhält ein farbloses Harz.

Ausbeute: 2.21 g (64 %, 6.09 mmol)^[251]

FAB-MS: *m/z* = 364.1 [M+H]⁺; 193.1 [M-Tos]⁺

Elementaranalyse: C₁₈H₂₁NO₅S (363.11)

berechnet:	C 59.49	H 5.82	N 3.85	S 8.82
gefunden:	C 59.25	H 5.80	N 3.86	S 8.63

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.86 (t, 2H, NH-CH₂-CH₂), 2.43 (s, 3H, Tosyl-CH₃), 3.24 (d, 2H, NH-CH₂), 4.06-4.11 (m, 2H, SO₂-O-CH₂), 4.92 (bs, 1H, NH), 5.06 (s, 2H, Phenyl-CH₂), 7.32-7.36 (m, 7H, Aryl), 7.77 (d, 2H, Aryl).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 21.7 (Tosyl-CH₃), 29.1 (NH-CH₂-CH₂), 37.3 (NH-CH₂), 66.8 (Phenyl-CH₂), 67.9 (SO₂-O-CH₂), 127.9, 128.1, 128.2, 128.6, 130.0, 132.9, 136.5, 145.0 (Aryl), 156.4 (CO).

***N*-tert-Butyloxycarbonyl-4-aminobutylmesylat (21)**

Unter Schutzgas werden 8.8 g von Verbindung **20**^[257, 258] (46.5 mmol) in 125 ml DCM_{abs} nach AAV 11 mit 7,45 ml Triethylamin (53.5 mmol) und 4.14 ml Methansulfonsäurechlorid (53.5 mmol) umgesetzt. Nach der wässrigen Aufarbeitung wird der Rückstand über Flash-Chromatographie aufgereinigt (PE:EA 1:2). Man erhält einen weißen Feststoff.

Ausbeute: 11.75 g (95 %, 44.2 mmol)^[252]

Schmelzpunkt: 35°C (34-36°C)^[253]

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.42 (s, 9H, -C(CH₃)₃), 1.59 (quint, 2H, J=6.9 Hz, NH-CH₂-CH₂), 1.78 (quint, 2H, J=6.2 Hz, SO₂-O-CH₂-CH₂), 2.99 (s, 3H, SO₂-CH₃), 3.12-3.17 (m, 2H, NH-CH₂), 4.23 (t, 2H, J=6.5 Hz, SO₂-O-CH₂), 4.60 (bs, 1H, NH).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 26.3 (NH-CH₂-CH₂), 26.5 (SO₂-O-CH₂-CH₂), 28.5 (-C(CH₃)₃), 37.4 (SO₂-CH₃), 39.8 (NH-CH₂), 69.7 (SO₂-O-CH₂), 79.4 (-C(CH₃)₃), 156.1 (CO).

***N*-tert-Butyloxycarbonyl-5-aminopentylmesylat (23)^[254]**

Nach AAV 11 werden 9.98 g von Verbindung **22**^[258] (50 mmol) in DCM_{abs} gelöst und bei 0°C mit

8.01 ml Triethylamin (57.5 mmol) und 4.45 ml Methansulfonsäurechlorid (57.5 mmol) umgesetzt. Nach Aufarbeitung wird im Vakuum eingeengt und an Kieselgel chromatographisch gereinigt (PE:EA 1:1).

Ausbeute: 13.81 g (98 %, 49 mmol)

Schmelzpunkt: 56°C (Petrolether / Ethylacetat)

FAB-MS: $m/z = 282.1 [M+H]^+$; $226.1 [M-C(CH_3)+H]^+$; $182.1 [M-Boc+H]^+$

1H -NMR ($CDCl_3$): $\delta = 1.37$ - 1.45 (m, 2H, NH- CH_2 - CH_2 - CH_2), 1.43 (s, 9H, $-C(CH_3)_3$), 1.45 - 1.50 (m, 2H, NH- CH_2 - CH_2), 1.74 (quint, 2H, SO_2 -O- CH_2 - CH_2), 2.96 (s, 3H, SO_2 - CH_3), 3.08 (q, 2H, $J=6.6$ Hz, NH- CH_2), 4.18 (t, 2H, $J=6.5$ Hz, SO_2 -O- CH_2), 4.61 (bs, 1H, NH).

^{13}C -NMR ($CDCl_3$): $\delta = 22.7$ (NH- CH_2 - CH_2 - CH_2), 28.4 ($-C(CH_3)_3$), 28.7 (SO_2 -O- CH_2 - CH_2), 29.5 (NH- CH_2 - CH_2), 37.3 (SO_2 - CH_3), 40.2 (NH- CH_2), 69.9 (SO_2 -O- CH_2), 79.1 ($-C(CH_3)_3$), 156.0 (CO).

(*N*-tert-Butyloxycarbonyl-3-aminopropyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucoopyranosid (24)

a) Darstellung durch nukleophile Substitution

Zu einer Lösung von 0.73 g 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucoopyranose (2 mmol) und 0.91 ml DBU (6 mmol) in 25 ml DMF_{abs} wird bei 0°C eine Lösung von 0.59 g von Verbindung **18**^[253, 254] (2 mmol) in 10 ml DMF_{abs} gelöst und langsam zugetropft. Nach 2h bei 0°C wird für weitere 20h bei RT gerührt. Die Lösung wird mit 100 ml DCM verdünnt und zweimal mit destilliertem Wasser und je einmal mit 10%iger Zitronensäure-Lösung, gesättigter $NaHCO_3$ -Lösung und gesättigter $NaCl$ -Lösung gewaschen. Anschließend wird mit Na_2SO_4 getrocknet, das Ethylacetat im Vakuum entfernt und verbleibendes DMF mit Toluol coevaporiert. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung (Petrolether:Ethylacetat 1:1) erhält man einen weißen Feststoff.

Ausbeute: 0.85 g (1.63 mmol, 82 %)

Schmelzpunkt: 85°C (Petrolether/Ethylacetat)

$[\alpha]_D = -7.2$ ($c = 1$, $CHCl_3$)

1H -NMR ($CDCl_3$): $\delta = 1.41$ (s, 9H, $-C(CH_3)_3$), 1.75 - 1.82 (m, 2H, S- CH_2 - CH_2), 1.99 (s, 3H, $-COCH_3$), 2.02 (s, 3H, $-COCH_3$), 2.04 (s, 3H, $-COCH_3$), 2.08 (s, 3H, $-COCH_3$), 2.65 - 2.71 (m, 1H, S- CH_2a), 2.83 - 2.91 (m, 1H, S- CH_2b), 3.33 (m, 2H, NH- CH_2), 3.71 (ddd, 1H, H-5), 4.12 (dd, 1H, H-6a), 4.19 (dd, 1H, H-6b), 4.46 (d, 1H, $J_{1-2} = 10.1$ Hz, H-1), 5.03 (t, 1H, $J_{2-3} = 9.8$ Hz, H-2), 5.11 (t, 1H, $J_{4-5} = 9.5$ Hz, H-4), 5.05 (bs, 1H, NH), 5.22 (t, 1H, H-3).

^{13}C -NMR ($CDCl_3$): $\delta = 20.6$, 20.6 , 20.6 ($CO-CH_3$), 28.3 ($-C(CH_3)_3$), 30.4 (S- CH_2 - CH_2), 31.4 (S- CH_2), 40.8 (NH- CH_2), 62.1 (C-6), 68.0 (C-4), 69.7 (C-2), 73.6 (C-3), 76.2 (C-5), 79.5 ($-C(CH_3)_3$),

84.1 (C-1), 155.9, 169.1, 169.4, 170.1, 170.8 (CO).

b) Darstellung durch radikalische Addition

Zu einer Lösung von 0.91 g 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranose (2.5 mmol) in 10 ml absolutem Dioxan gibt man 236 mg *N*-*tert*-Butyloxycarbonylallylamin (1.5 mmol) und 20 mg AIBN. Anschließend wird auf 80°C erhitzt und für 2 h gerührt. Nach Zugabe von weiteren 20 mg AIBN wird erneut für 2h gerührt. Nach Abkühlen auf RT wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der erhaltene Rückstand säulenchromatographisch aufgereinigt (Petrolether:Ethylacetat 1:1).

Ausbeute: 0.37 g (0.71 mmol, 47 %)

(*N*-Benzyloxycarbonyl-3-aminopropyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosid (25)

Eine Lösung von 2.15 g 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranose (5.9 mmol) und 2.65 ml DBU (17.7 mmol) in 60 ml DMF_{abs} wird auf 0°C gekühlt. Anschließend werden 2.16 g *N*-Benzyloxycarbonyl-3-aminopropyltosylat (3 mmol) in 10 ml DMF_{abs} gelöst und langsam zugetropft. Nach 2h bei 0°C wird für weitere 20h bei RT gerührt. Die Lösung wird mit 210 ml DCM verdünnt und zunächst mit 250 ml destilliertem Wasser und anschließend mit jeweils 75 ml 1M Salzsäure, gesättigter NaHCO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Anschließend wird über Na₂SO₄ getrocknet, das DCM im Vakuum entfernt und restliches DMF mit Toluol coevaporiert. Das so erhaltene braune Öl wird säulenchromatographisch gereinigt (Petrolether:Ethylacetat 1:1). Man erhält ein farbloses Öl.

Ausbeute: 2.94 g (5.31 mmol, 90 %)

FT-ICR-MS: [M+Na]⁺

berechnet:	m/z	578.16665	
gefunden:	m/z	578.16643	relative Massenabweichung: 0.38 ppm

FAB-MS: m/z = 556.1 [M+H]⁺

Elementaranalyse: C₂₅H₃₃NO₁₁S (555.18)

berechnet:	C 54.04	H 5.99	N 2.52	S 5.77
gefunden:	C 53.58	H 5.92	N 2.48	S 5.60

[α]_D = -15.0 (c = 1, CHCl₃)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.77-1.86 (m, 2H, S-CH₂-CH₂), 2.00 (s, 3H, -COCH₃), 2.02 (s, 3H, -COCH₃), 2.04 (s, 3H, -COCH₃), 2.05 (s, 3H, -COCH₃), 2.69 (m, 1H, S-CH₂a), 2.74 (m, 1H, S-CH₂b), 3.29 (m, 2H, NH-CH₂), 3.67-3.71 (m, 1H, H-5), 4.14 (dd, 1H, J_{6a-6b}=12.4 Hz, J_{5-6a}=2.5 Hz, H-6a), 4.22 (dd, 1H, J_{5-6b}=5.0 Hz, H-6b), 4.45 (d, 1H, J₁₋₂=9.8 Hz, H-1), 5.01-5.09 (m, 5H, H-2, Phenyl-CH₂, H-4, NH), 5.21 (t, 1H, J₂₋₃=9.3 Hz, H-3), 7.31-7.33 (m, 5H, Phenyl).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 20.7, 20.7, 20.8 (CO-CH₃), 26.9 (S-CH₂), 29.5 (S-CH₂-CH₂), 39.5 (NH-CH₂), 62.1 (C-6), 66.8 (Phenyl-CH₂), 68.3 (C-4), 69.7 (C-2), 73.9 (C-3), 76.1 (C-5), 83.4 (C-1), 127.6, 128.2, 128.3, 128.6, 136.7 (Phenyl), 156.5, 169.5, 169.6, 170.2, 170.5 (CO).

(*N*-tert-Butyloxycarbonyl-4-aminobutyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosid (26)

3.64 g 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranose (10 mmol) werden in 130 ml absolutem DMF gelöst und auf 0°C gekühlt. Dann werden zunächst 4486 µl DBU (30 mmol) zugegeben und anschließend eine Lösung von 2.68 g von Verbindung **21** in 30 ml absolutem DMF langsam zugetropft. Zunächst wird 2 h bei 0°C, dann für weitere 2 h bei RT gerührt. Nach Beendigung der Reaktion wird mit 250 ml Ethylacetat verdünnt, zweimal mit jeweils 150 ml destilliertem Wasser und je einmal mit 100 ml 1M KHSO₄-Lösung, gesättigter NaHCO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknen über Na₂SO₄ wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand an Kieselgel chromatographiert (PE:EA 1:1). Man erhält einen weißen, amorphen Feststoff.

Ausbeute: 4.62 g (8.6 mmol, 86 %)

FT-ICR-MS: [M+Na]⁺

berechnet:	m/z	558.19795	
gefunden:	m/z	558.197783	relative Massenabweichung: 0.3 ppm

Elementaranalyse: C₂₄H₃₉NO₁₁S (549.63)

berechnet:	C 51.58	H 6.96	N 2.62	S 5.99
gefunden:	C 51.29	H 7.13	N 2.75	S 5.70

[α]_D = - 4.3 (c = 4, CHCl₃)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.40 (s, 9H, -C(CH₃)₃), 1.52-1.62 (m, 4H, NH-CH₂-CH₂, NH-CH₂-CH₂-CH₂), 1.97, 1.99, 2.02, 2.05 (s, 3H, -COCH₃), 2.59-2.72 (m, 2H, S-CH₂), 3.09 (m, 2H, NH-CH₂), 3.67-3.70 (m, 1H, H-5), 4.10 (dd, 1H, J_{6a-6b}=12.4 Hz, J_{5-6a}=2.3 Hz, H-6a), 4.21 (dd, 1H, J_{5-6b}=4.9 Hz, H-6b), 4.45 (d, 1H, J₁₋₂= 10.0 Hz, H-1), 4.61 (s, 1H, NH), 4.99 (t, 1H, J₂₋₃=9.7 Hz, H-2), 5.04 (t, 1H, J₄₋₅=9.8 Hz, H-4), 5.18 (t, 1H, H-3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 20.6, 20.6, 20.7, 20.8$ (CO-CH_3), 26.9 ($\text{NH-CH}_2\text{-CH}_2$), 28.4 ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 29.7 ($\text{NH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 29.6 (S-CH_2), 40.0 (NH-CH_2), 62.1 (C-6), 68.3 (C-4), 69.8 (C-2), 73.9 (C-3), 75.9 (C-5), 79.2 ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 83.6 (C-1), $156.0, 169.4, 170.2, 170.6$ (CO).

(*N-tert-Butyloxycarbonyl-5-aminopentyl*)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosid (27)

Nach AAV 12 werden 1.82 g 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranose (5 mmol) in 65 ml DMF_{abs} gelöst und bei 0°C mit 2243 μl DBU (15 mmol) und einer Lösung von 1.41 g von Verbindung **23** (5 mmol) in 15 ml DMF_{abs} umgesetzt. Nach säulenchromatographischer Reinigung (Petrolether : Ethylacetat 1:1 \rightarrow 2:3) erhält man einen farblosen Feststoff.

Ausbeute: 2.2 g (4 mmol, 80 %)

Schmelzpunkt: 88°C (Ethylacetat/Petrolether)

FT-ICR-MS: $[\text{M}+\text{Na}]^+$

berechnet:	m/z	572.21360	
gefunden:	m/z	572.213234	relative Massenabweichung: 0.64 ppm

Elementaranalyse: $\text{C}_{24}\text{H}_{39}\text{NO}_{11}\text{S}$ (549.63)

berechnet:	C 52.45	H 7.15	N 2.55	S 5.83
gefunden:	C 52.54	H 7.54	N 2.79	S 5.97

$[\alpha]_{\text{D}} = -11.9$ ($c = 2, \text{CHCl}_3$)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.38$ (s, 9H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.26-1.39 (m, 4H, $\text{NH-CH}_2\text{-CH}_2$, $\text{NH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 1.46-1.54 (m, 2H, $\text{S-CH}_2\text{-CH}_2$), 1.89, 1.91, 1.94, 1.97 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.50-2.62 (m, 2H, S-CH_2), 2.97 (m, 2H, NH-CH_2), 3.58-3.63 (m, 1H, H-5), 4.02 (dd, 1H, $J_{6a-6b}=12.2$ Hz, $J_{5-6a}=2.3$ Hz, H-6a), 4.13 (dd, 1H, $J_{5-6b}=4.9$ Hz, H-6b), 4.37 (d, 1H, $J_{1-2} = 10.0$ Hz, H-1), 4.53 (s, 1H, *NH*), 4.91 (t, 1H, $J_{2-3}=9.8$ Hz, H-2), 4.96 (t, 1H, $J_{4-5}=9.9$ Hz, H-4), 5.11 (t, 1H, H-3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 20.6, 20.6, 20.7, 20.7$ (CO-CH_3), 25.8 ($\text{NH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 28.4 ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 29.2 ($\text{S-CH}_2\text{-CH}_2$), 29.5 (S-CH_2), 29.7 ($\text{NH-CH}_2\text{-CH}_2$), 40.3 (NH-CH_2), 62.1 (C-6), 68.3 (C-4), 69.8 (C-2), 73.9 (C-3), 75.8 (C-5), 79.0 ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 83.5 (C-1), $156.0, 169.4, 170.1, 170.6$ (CO).

***N-tert-Butyloxycarbonyl-N'*-3-[1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-propyl]-L-asparaginsäureamid- β -benzylester (28)**

1.) Entfernen der Benzylschutzgruppe

Nach AAV 8 werden 2.94 g **25** (5.29 mmol) in 75 ml MeOH gelöst und mit 363 μl Essigsäure (6.35

mmol) versetzt. Im Schutzgasgegenstrom werden 200 mg Pd/C zugegeben und anschließend der Kolben mit Wasserstoff belüftet. Nach 9h wird der Katalysator über Celite abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

Ausbeute: 2.55 g (5.29 mmol, 100 %)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.88\text{-}1.92$ (m, 2H, S- $\text{CH}_2\text{-CH}_2$), 1.98 (s, 3H, $\text{H}_3\text{C-COO}^-$), 2.00 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.02 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.05 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.08 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.74 (td, 1H, S- CH_2a), 2.81 (td, 1H, S- CH_2b), 2.95 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-NH}_3^+$), 3.71-3.75 (m, 1H, H-5), 4.18 (dd, 1H, H-6a), 4.23 (dd, 1H, H-6b), 4.51 (d, 1H, $J_{1-2} = 10.1$ Hz, H-1), 5.03 (t, 1H, H-2), 5.09 (t, 1H, H-4), 5.22 (t, 1H, H-3), 6.74 (bs, 3H, NH_3^+).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 20.7, 20.7, 20.8, 20.9$ (CO- CH_3), 22.8 ($\text{H}_3\text{C-COO}^-$), 26.9 (S- CH_2), 29.4 (S- $\text{CH}_2\text{-CH}_2$), 38.8 (NH- CH_2), 62.0 (C-6), 68.3 (C-4), 69.7 (C-2), 73.9 (C-3), 76.1 (C-5), 83.5 (C-1), 169.5, 169.6, 170.2, 170.9 (CO).

2.) Kupplung mit Verbindung **12**

Zu einer Lösung von 2.55 g des aus 1.) erhaltenen Feststoffes (5.29 mmol) in 15 ml Aceton und 50 ml Ethylacetat gibt man 1.71 ml DIPEA (10 mmol) und 2.59 g Boc-Asp(OBn)-OPfp (5.29 mmol). Nach 5 h wird mit 1M Salzsäure, ges. NaHCO_3 -Lösung und ges. NaCl -Lösung gewaschen. Anschließend trocknet man über Na_2SO_4 , entfernt das Lösungsmittel im Vakuum und reinigt den Rückstand säulenchromatographisch auf (PE:EA 2:3). Man erhält einen weißen Feststoff.

Ausbeute: 3.45 g (4.75 mmol, 90 %)

Schmelzpunkt: 65°C (Ethylacetat/Petrolether)

FT-ICR-MS: $[\text{M}+\text{Na}]^+$

berechnet:	m/z	749.25620	
gefunden:	m/z	749.25649	relative Massenabweichung: 0.39 ppm

Elementaranalyse: $\text{C}_{33}\text{H}_{46}\text{N}_2\text{O}_{14}\text{S}$ (726.27)

berechnet:	C 54.53	H 6.38	N 3.85	S 4.41
gefunden:	C 54.46	H 6.31	N 3.82	S 4.06

$[\alpha]_{\text{D}} = -7.7$ (c = 2, CHCl_3); $[\alpha]_{365} = -35.2$ (c = 2, CHCl_3)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.44$ (s, 9H, $-\text{CCH}_3$), 1.78 (quint, 2H, S- $\text{CH}_2\text{-CH}_2$), 1.99 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.02 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.05 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.07 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.60-2.65 (m, 2H, S- CH_2), 2.73 (dd, 1H, NH- $\text{CH-CH}_2a\text{-COO}$), 3.04 (dd, 1H, $^2J=16.1$ Hz, $^3J=4.2$ Hz, NH- $\text{CH-CH}_2b\text{-COO}$), 3.32 (q, 2H, NH- CH_2), 3.69-3.73 (m, 1H, H-5), 4.15 (dd, 1H, $J_{6a-6b}=12.4$ Hz, $J_{5-6a}=2.1$ Hz, H-6a), 4.25 (dd,

^1H , $J_{5-6b}=4.9$ Hz, H-6b), 4.46 (bd, 2H, $J_{1-2}=10.1$ Hz, H-1, NH-CH-CH₂-COO), 5.04 (t, 1H, $J_{2-3}=9.7$ Hz, H-2), 5.08 (t, 1H, $J_{4-5}=9.8$ Hz, H-4), 5.13 (q, 2H, Phenyl-CH₂), 5.22 (t, 1H, H-3), 5.64 (d, 1H, NH-CH), 6.70 (t, 1H, NH-CH₂), 7.32-7.34 (m, 5H, Phenyl).

^{13}C -NMR (CDCl₃): δ = 20.7, 20.8, 20.8 (CO-CH₃), 27.1 (S-CH₂), 28.4 (-C(CH₃)₃), 29.3 (S-CH₂-CH₂), 36.2 (NH-CH-CH₂-COO), 38.2 (NH-CH₂), 62.1 (C-6), 66.9 (Phenyl-CH₂), 68.4 (C-4), 69.7 (C-2), 73.9 (C-3), 76.1 (C-5), 80.6 (-C(CH₃)₃), 83.6 (C-1), 128.3, 128.5, 128.7, 135.5 (Phenyl), 155.6, 169.5, 169.6, 170.2, 170.7, 170.8, 171.8 (CO).

***N*-tert-Butyloxycarbonyl-*N'*-4-[1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-butyl]-L-asparaginsäureamid- β -benzylester (29)**

1.) Entfernen der Boc-Schutzgruppe

4.44 g von Verbindung **26** (8.29 mmol) werden nach AAV 7 zunächst mit einer Lösung von 16 ml TFA in 28 ml DCM zum entsprechenden Trifluoracetat umgesetzt.

2.) Kupplung mit Verbindung **12**

2.03 g des so aus 1.) erhaltenen Salzes (4.15 mmol) werden anschließend in 50 ml Ethylacetat gelöst und mit 2.03 g Boc-Asp(OBn)-OPfp (4.15 mmol) und 1559 μl DIPEA (9.13 mmol) versetzt. Nach 5 h wird mit jeweils 15 ml 1 M KHSO₄-Lösung, gesättigter NaHCO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Danach wird über Na₂SO₄ getrocknet, das Lösemittel im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (PE:EA 1:3). Man erhält einen weissen Feststoff.

Ausbeute: 2.57 g (3.44 mmol, 83 %)

Schmelzpunkt: 36°C (Ethylacetat/Petrolether)

FT-ICR-MS: [M+Na]⁺

berechnet:	m/z	763.27185	
gefunden:	m/z	763.271796	relative Massenabweichung: 0.07 ppm

Elementaranalyse: C₃₄H₄₈N₂O₁₄S (740.82)

berechnet:	C 55.12	H 6.53	N 3.78	S 4.33
gefunden:	C 55.20	H 6.70	N 3.49	S 3.97

$[\alpha]_{\text{D}} = -0.5$ (c = 2, CHCl₃)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.42 (s, 9H, -C(CH₃)₃), 1.53-1.59 (m, 4H, NH-CH₂-CH₂, S-CH₂-CH₂), 1.98, 1.99, 2.03, 2.05 (s, 3H, -COCH₃), 2.58-2.70 (m, 2H, S-CH₂), 2.71 (dd, 1H, NH-CH-CH₂a), 3.02 (dd, 1H, ²J=17.1 Hz, ³J=4.6 Hz, NH-CH-CH₂b), 3.15-3.30 (m, 2H, NH-CH₂), 3.68-3.72 (m, 1H, H-5), 4.12 (dd, 1H, J_{6a-6b}=12.5 Hz, J₅₋₆=2.4 Hz, H-6a), 4.23 (dd, 1H, J_{5-6b}=4.7 Hz, H-6b), 4.46 (m, 1H, NH-CH), 4.48 (d, 1H, J₁₋₂= 10.0 Hz, H-1), 5.00 (t, 1H, J₂₋₃= 9.6 Hz, H-2), 5.04 (t, 1H, J₄₋₅= 9.7 Hz, H-4), 5.11 (q, 2H, Ph-CH₂), 5.21 (t, 1H, H-3), 5.64 (m, 1H, NH-CH), 6.55 (t, 1H, J=5.8 Hz, NH-CH₂), 7.30-7.35 (m, 5H, Phenyl).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 20.6, 20.6, 20.8, 20.8 (CO-CH₃), 26.7 (S-CH₂-CH₂), 28.3 (-C(CH₃)₃), 28.5 (NH-CH₂-CH₂), 29.4 (S-CH₂), 36.1 (NH-CH-CH₂), 39.9 (NH-CH₂), 50.7 (NH-CH) 62.1 (C-6), 66.9 (Phenyl-CH₂), 68.3 (C-4), 69.8 (C-2), 73.9 (C-3), 75.9 (C-5), 80.5 (-C(CH₃)₃), 83.4 (C-1), 128.3, 128.4, 128.6, 135.4 (Phenyl), 169.5, 170.2, 170.6, 170.7, 171.8 (CO).

***N*-tert-Butyloxycarbonyl-*N'*-5-[1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-pentyl]-L-asparaginsäureamid- β -benzylester (30)**

1.) Entfernen der Boc-Schutzgruppe

Nach AAV 7 werden zunächst 2.1 g von Verbindung **27** (3.82 mmol) in 14 ml DCM gelöst und mit 8 ml TFA versetzt.

2.) Kupplung mit Verbindung **12**

1.08 g des nach der Aufarbeitung in 1.) erhaltenen Feststoffs (1.91 mmol) wird in 20 ml Ethylacetat suspendiert und nach Zugabe von 0.94 g Boc-Asp(OBn)-OPfp (1.91 mmol) und 717 μ l DIPEA (4.2 mmol) 5 h lang gerührt. Anschließend wird die nun klare Lösung nacheinander mit jeweils 10 ml 1 M KHSO₄-Lösung, gesättigter NaHCO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknen über Na₂SO₄ wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (Petrolether:Ethylacetat 2:3).

Ausbeute: 1.32 g (1.76 mmol, 92 %)

Schmelzpunkt: 52°C (Ethylacetat/Petrolether)

FT-ICR-MS: [M+Na]⁺

berechnet:	m/z	777.28750	
gefunden:	m/z	777.286788	relative Massenabweichung: 0.92 ppm

Elementaranalyse: C₃₅H₅₀N₂O₁₄S (754.84)

berechnet:	C 55.69	H 6.68	N 3.71	S 4.25
gefunden:	C 55.41	H 6.70	N 4.01	S 3.83

$[\alpha]_D = -10.4$ ($c = 2$, CHCl_3)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.34\text{-}1.39$ (m, 2H, $\text{NH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 1.46 (s, 9H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.46-1.48 (m, 2H, $\text{NH-CH}_2\text{-CH}_2$), 1.54-1.62 (m, 2H, $\text{S-CH}_2\text{-CH}_2$), 2.00 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.02 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.03 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.05 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.57-2.70 (m, 2H, S-CH_2), 2.71 (dd, 1H, NH-CH-CH_2a), 3.01 (dd, 1H, $^2J=4.4$ Hz, $^3J=17.0$ Hz, NH-CH-CH_2b) 3.14-3.26 (m, 2H, NH-CH_2), 3.66-3.71 (m, 1H, H-5), 4.11 (dd, 1H, $J_{6a-6b}=12.5$ Hz, $J_{5-6a}=2.3$ Hz, H-6a), 4.22 (dd, 1H, $J_{5-6b}=4.8$ Hz, H-6b), 4.46 (d, 1H, $J_{1-2} = 10.0$ Hz, H-1), 4.46 (m, 1H, NH-CH), 5.00 (t, 1H, $J_{2-3}=9.5$ Hz, H-2), 5.06 (t, 1H, $J_{3-4}=9.5$ Hz, H-4), 5.11 (dd, 2H, Ph-CH_2), 5.20 (t, 1H, H-3), 5.64 (m, 1H, CH-NH), 6.49 (t, 1H, $J=5.4$ Hz, $\text{CH}_2\text{-NH}$), 7.30-7.35 (m, 5H, Phenyl).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 20.6$, 20.7, 20.8, 20.8 (CO-CH_3), 25.8 ($\text{NH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 28.3 ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 29.0 ($\text{NH-CH}_2\text{-CH}_2$), 29.1 ($\text{S-CH}_2\text{-CH}_2$), 29.7 (S-CH_2), 36.2 (NH-CH-CH_2), 39.4 (NH-CH_2), 50.7 (NH-CH) 62.2 (C-6), 66.8 (Phenyl- CH_2), 68.3 (C-4), 69.9 (C-2), 73.9 (C-3), 75.6 (C-5), 70.5 ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 83.5 (C-1), 128.3, 128.4, 128.7, 135.4 (Phenyl), 169.4, 169.5, 170.0, 170.2, 170.6, 170.7, 171.8 (CO).

***N*-Fluorenylmethoxycarbonyl-*N'*-4-[1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-butyl]-L-asparaginsäureamid- β -*tert*-butylester (31)**

Zu einer Lösung von 2.03 g des aus Syntheseschritt 1.) für Verbindung **29** erhaltenen Salzes (4.15 mmol) in 50 ml Ethylacetat gibt man nacheinander 2.40 g Fmoc-Asp(*O**t*Bu)-OPfp (4.15 mmol) und 1559 μl DIPEA (9.13 mmol). Nach 5 h bei RT ist die Reaktion beendet, und die organische Phase wird mit jeweils 15 ml 1 M KHSO_4 -Lösung, gesättigter NaHCO_3 -Lösung und gesättigter NaCl -Lösung gewaschen. Nach Trocknen über Na_2SO_4 wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (Petrolether:Ethylacetat 1:2).

Ausbeute: 2.20 g (2.66 mmol, 64 %)

Schmelzpunkt: 60-61°C (Ethylacetat/Petrolether)

FT-ICR-MS: $[\text{M}+\text{Na}]^+$

berechnet:	m/z	851.30315	
gefunden:	m/z	851.303451	relative Massenabweichung: 0.35 ppm

Elementaranalyse: $\text{C}_{41}\text{H}_{52}\text{N}_2\text{O}_{14}\text{S}$ (828,31)

berechnet:	C 59.41	H 6.32	N 3.38	S 3.87
gefunden:	C 59.07	H 6.47	N 3.14	S 3.63

$[\alpha]_D = +4.2$ ($c = 1.5$, CHCl_3)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.43 (s, 9H, -C(CH₃)₃), 1.57-1.58 (m, 4H, NH-CH₂-CH₂, S-CH₂-CH₂), 1.98 (s, 3H, -COCH₃), 2.00 (s, 3H, -COCH₃), 2.03 (s, 3H, -COCH₃), 2.05 (s, 3H, -COCH₃), 2.56-2.70 (m, 3H, S-CH₂, NH-CH-CH₂a), 2.88 (dd, 1H, NH-CH-CH₂b), 3.24 (d, 2H, NH-CH₂), 3.66-3.70 (m, 1H, H-5), 4.13-4.24 (m, 3H, H-6a, H-6b, Fmoc-CH), 4.41-4.45 (m, 4H, Fmoc-CH₂, H-1, NH-CH), 5.00 (t, 1H, J₁₋₂=J₂₋₃=9.8 Hz, H-2), 5.06 (t, 1H, J₄₋₅=J₃₋₄=9.8 Hz, H-4), 5.20 (t, 1H, H-3), 5.96 (d, 1H, J=8.1 Hz, NH-CH), 6.53 (t, 1H, J=5.5 Hz, NH-CH₂), 7.30 (t, 2H, J=7.4 Hz, Fmoc), 7.39 (t, 2H, J=7.5 Hz, Fmoc), 7.57 (d, 2H, J=7.5 Hz, Fmoc), 7.75 (d, 2H, J=7.6 Hz, Fmoc).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 20.6, 20.6, 20.7, 20.8 (CO-CH₃), 26.8 (S-CH₂-CH₂), 28.1 (-C(CH₃)₃), 28.5 (NH-CH₂-CH₂), 29.4 (S-CH₂), 37.5 (NH-CH-CH₂), 39.0 (NH-CH₂), 47.2 (Fmoc-CH), 51.2 (NH-CH), 62.1 (C-6), 67.1 (Fmoc-CH₂), 68.3 (C-4), 69.8 (C-2), 73.9 (C-3), 75.9 (C-5), 81.9 (-C(CH₃)₃), 83.5 (C-1), 120.1, 125.0, 127.1, 127.8, 141.4, 143.7 (Fmoc), 156.1, 169.5, 170.2, 170.4, 170.6, 170.7, 171.3 (CO).

***N*-Fluorenylmethoxycarbonyl-*N'*-5-[1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-*D*-glucopyranosyl)-pentyl]-*L*-asparaginsäureamid-β-*tert*-butylester (32)**

Zu einer Suspension von 1.08 g des aus Syntheseschritt 1.) für Verbindung **30** erhaltenen Salzes (1.91 mmol) in 20 ml Ethylacetat gibt man nacheinander 1.10 g Fmoc-Asp(O*t*Bu)-OPfp (1.91 mmol) und 717 µl DIPEA (4.2 mmol). Nach 5 h bei RT ist die Reaktion beendet und die nun klare Lösung wird mit jeweils 10 ml 1 M KHSO₄-Lösung, gesättigter NaHCO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknen über Na₂SO₄ wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (Petrolether:Ethylacetat 1:2).

Ausbeute: 1.19 g (1.41 mmol, 74 %)

Schmelzpunkt: 60°C (Ethylacetat/Petrolether)

FT-ICR-MS: [M+Na]⁺

berechnet:	m/z	865.31880	
gefunden:	m/z	865.319421	relative Massenabweichung: 0.72 ppm

Elementaranalyse: C₄₂H₅₄N₂O₁₄S (842,33)

berechnet:	C 59.84	H 6.46	N 3.32	S 3.80
gefunden:	C 59.70	H 6.47	N 3.38	S 3.45

[α]_D = -2.6 (c = 2.5, CHCl₃)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.35\text{-}1.40$ (m, 2H, $\text{NH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 1.43 (s, 9H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.46-1.54 (m, 2H, $\text{NH-CH}_2\text{-CH}_2$), 1.56-1.62 (m, 2H, $\text{S-CH}_2\text{-CH}_2$), 1.99 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.01 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.03 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.05 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.56-2.70 (m, 3H, $\text{S-CH}_2\text{NH-CH-CH}_a$), 2.89 (dd, 1H, NH-CH-CH_b) 3.19-3.24 (q, 2H, NH-CH_2), 3.65-3.69 (m, 1H, H-5), 4.11 (dd, 1H, $J_{6a-6b}=11.8$ Hz, $J_{5-6}=2.3$ Hz, H-6a), 4.19-4.24 (m, 2H, H-6b, Fmoc-CH), 4.41-4.45 (m, 4H, Fmoc- CH_2 , H-1, NH-CH), 5.01 (t, 1H, $J_{2-3}=J_{1-2}=9.5$ Hz, H-2), 5.06 (t, 1H, $J_{3-4}=9.8$ Hz, H-4), 5.20 (t, 1H, H-3), 5.95 (d, 1H, $J=8.0$ Hz, CH-NH), 6.49 (t, 1H, $J=5.7$ Hz, $\text{CH}_2\text{-NH}$), 7.30 (t, 2H, $J=7.0$ Hz, Fmoc), 7.39 (t, 2H, $J=7.6$ Hz, Fmoc), 7.57 (d, 2H, $J=7.0$ Hz, Fmoc), 7.75 (d, 2H, $J=7.7$ Hz, Fmoc).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 20.6, 20.7, 20.8, 20.8$ (CO- CH_3), 25.9 ($\text{NH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 28.1 ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 29.0 ($\text{NH-CH}_2\text{-CH}_2$), 29.1 ($\text{S-CH}_2\text{-CH}_2$), 29.7 (S-CH_2), 37.6 (NH-CH-CH_2), 39.4 (NH-CH_2), 47.2 (Fmoc-CH), 51.2 (NH-CH), 62.1 (C-6), 67.2 (Fmoc- CH_2), 68.3 (C-4), 69.9 (C-2), 73.9 (C-3), 75.9 (C-5), 81.9 ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 83.5 (C-1), 120.1, 125.1, 127.1, 127.8, 141.4, 143.7 (Fmoc), 156.1, 169.5, 170.2, 170.3, 170.7, 171.3 (CO).

N-tert-Butyloxycarbonyl-2-aminopropan-1-ol

Bei 0°C werden 5.48 g Boc_2O (25.1 mmol) in 40 ml Dioxan gelöst und nach AAV 5 mit 1.95 ml 2-Amino-propan-1-ol (25 mmol) umgesetzt. Nach Kristallisation aus EA:Hexan erhält man einen weißen Feststoff.

Ausbeute: 3.99 g (91 %, 22.8 mmol)

Schmelzpunkt: 58°C ($59\text{-}61^\circ\text{C}$)^[255]

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.14$ (d, 3H, CH-CH_3), 1.45 (s, 9H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 2.81 (bs, 1H, OH), 3.47-3.52 (m, 1H, CH-CH_2a), 3.61-3.66 (m, 1H, CH-CH_2b), 3.68-3.81 (m, 1H, NH-CH), 4.71 (d, 1H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 17.3$ (CH-CH_3), 28.3 ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 48.6 (NH-CH), 67.4 (CH-CH_2), 79.7 ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 156.3 (CO).

(S)-*N*-Benzyloxycarbonyl-2-aminopropan-1-ol (37)

Nach AAV 8 werden 3.99 ml 2-Amino-propan-1-ol (51.3 mmol) mit 7.88 ml Chlorameisensäurebenzylester (56 mmol) umgesetzt. Nach Aufarbeitung wird aus Diethylether : Petrolether 30/60 im Verhältnis 6:5 umkristallisiert. Man erhält farblose Nadeln.

Ausbeute: 8.02 g (98 %, 50.1 mmol)

Schmelzpunkt: 80°C ($79\text{-}82^\circ\text{C}$)

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein^[256].

(S)-N-Benzyloxycarbonyl-2-amino-3-methylbutan-1-ol (38)

5.17 g L-Valinol (50.1 mmol) werden nach AAV 8 in 85 ml DCM gelöst und mit 7.76 ml Chlorameisensäurebenzylester (55.1 mmol) und 100 ml einer 5%igen NaHCO₃-Lösung umgesetzt.

Man erhält einen weißen Feststoff.

Ausbeute: 10.68 g (90 %, 45 mmol)

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein^[257].

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 0.89-0.94 (m, 6H, CH-(CH₃)₂), 1.83 (m, 1H, H₃C-CH), 2.71 (bs, 1H, OH), 3.48 (bs, 1H, NH-CH), 3.59 (dd, 1H, CH_{2a}-OH), 3.66 (dd, 1H, CH_{2b}-OH), 5.11 (s, 3H, Phenyl-CH₂, NH), 7.33-7.37 (m, 5H, Phenyl).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 18.5 (CH-(CH₃)₂), 19.5 (CH-(CH₃)₂), 29.2 (CH-(CH₃)₂), 58.6 (NH-CH), 63.7 (CH₂-OH), 66.9 (Phenyl-CH₂), 128.1, 128.2, 128.6, 136.5 (Phenyl), 157.2 (CO).

(S)-N-Benzyloxycarbonyl-2-amino-4-methylpentanol (39)

Nach AAV 8 werden 6.45 g L-Leucinol (55 mmol) mit 8.4 ml Chlorameisensäurebenzylester (60 mmol) und 5%iger NaHCO₃-Lösung umgesetzt. Man erhält einen weißen Feststoff.

Ausbeute: 11.85 g (86 %, 47.3 mmol)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 0.92 (s, 3H, CH-CH₃), 0.93 (s, 3H, CH-CH₃), 1.31-1.36 (m, 2H, H₃C-CH-CH₂), 1.62-1.69 (m, 1H, H₃C-CH), 2.37 (bs, 1H, OH), 3.52 (dd, 1H, ²J=11.3 Hz, ³J=5.7 Hz, CH_{2a}-OH), 3.68 (dd, 1H, ³J=2.3 Hz, CH_{2b}-OH), 3.79 (bs, 1H, NH-CH), 5.09 (s, 2H, Phenyl-CH₂), 7.33-7.37 (m, 5H, Phenyl).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 22.2 (CH-CH₃), 23.1 (CH-CH₃), 24.8 (H₃C-CH), 40.5 (H₃C-CH-CH₂), 51.5 (NH-CH), 66.2 (CH₂-OH), 66.9 (Phenyl-CH₂), 128.2, 128.2, 128.6, 136.5 (Phenyl), 156.9 (CO).

(S)-N-Benzyloxycarbonyl-2-aminopentan-1-ol (40)

Nach AAV 8 werden 5.1 g L-Norvalinol (49.4 mmol) in DCM gelöst und mit 7.65 ml Chlorameisensäurebenzylester (54.3 mmol) und 100 ml einer 5%igen NaHCO₃-Lösung umgesetzt.

Man erhält einen weißen, amorphen Feststoff.

Ausbeute: 8.56 g (73 %, 36 mmol)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 0.93 (t, 3H, J=6.8 Hz, CH₂-CH₃), 1.31-1.58 (m, 4H, H₃C-CH₂-CH₂, H₃C-CH₂-CH₂), 2.42 (bs, 1H, OH), 3.52-3.56 (m, 1H, NH-CH), 3.65-3.68 (m, 2H, CH₂-OH), 4.96 (d, 1H, J=7.5 Hz, NH), 5.14 (s, 2H, Phenyl-CH₂), 7.34 (bs, 5H, Phenyl).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 14.0 (CH₂-CH₃), 19.2 (H₃C-CH₂), 33.6 (H₃C-CH₂-CH₂), 53.1 (NH-CH), 65.6 (CH₂-OH), 66.9 (Phenyl-CH₂), 128.2, 128.2, 128.6, 136.5 (Phenyl), 156.9 (CO).

(S)-*N*-Benzyloxycarbonyl-2-aminopropylmesylat (41)

Durchführung nach AAV 11 mit 6.27 g *N*-Benzyloxycarbonyl-2-aminopropan-1-ol (30 mmol), 4.88 ml Triethylamin (35 mmol) und 2.71 ml Methansulfonsäurechlorid (35 mmol). Nach Aufarbeitung wird aus PE:EA 3:2 kristallisiert.

Ausbeute: 7.76 g (90 %, 27mmol)

Schmelzpunkt: 103°C (101-103°C)^[245]

FAB-MS: $m/z = 288.1$ $[M+H]^+$

¹H-NMR (CDCl₃): $\delta = 1.25$ (d, 3H, CH-CH₃), 2.97 (s, 3H, SO₂-CH₃), 4.05-4.24 (m, 3H, NH-CH, NH-CH-CH₂), 4.91 (s, 1H, NH), 5.10 (s, 2H, Phenyl-CH₂), 7.35 (s, 5H, Phenyl).

¹³C-NMR (CDCl₃): $\delta = 17.2$ (CH-CH₃), 37.4 (SO₂-CH₃), 46.2 (NH-CH), 67.0 (Phenyl-CH₂), 71.8 (NH-CH-CH₂), 128.3, 128.4, 128.6, 136.3 (Phenyl), 155.6 (CO).

(S)-*N*-Benzyloxycarbonyl-2-amino-3-methylbutylmesylat (42)

Nach AAV 11 werden 10.68 g von Verbindung **38** (45 mmol) in 150 ml trockenem DCM gelöst und mit 3.62 ml Methansulfonsäurechlorid (46.8 mmol) und 6.9 ml Triethylamin (49.5 mmol) umgesetzt. Nach Kristallisation aus Petrolether:Ethylacetat 2:1 erhält man einen weißen Feststoff.

Ausbeute: 14.1 g (100 %, 45 mmol)

Schmelzpunkt: 63°C (Petrolether/Ethylacetat)

FAB-MS: $m/z = 316.1$ $[M+H]^+$, 272.1 $[(M-C(CH_3)_2)^+]$

¹H-NMR (CDCl₃): $\delta = 0.96$ (d, 3H, J=6.9 Hz, CH-CH₃), 0.99 (d, 3H, J=6.7 Hz, CH-CH₃), 1.84-1.92 (m, 1H, H₃C-CH), 2.95 (s, 3H, SO₂-CH₃), 3.68-3.74 (m, 1H, NH-CH), 4.27 (d, 2H, J=4.4 Hz, NH-CH-CH₂), 4.93 (d, 1H, J=8.6 Hz, NH), 5.11 (q, 2H, Phenyl-CH₂), 7.31-7.37 (m, 5H, Phenyl).

¹³C-NMR (CDCl₃): $\delta = 18.6$ (CH-CH₃), 19.4 (CH-CH₃), 29.1 (H₃C-CH), 37.4 (SO₂-CH₃), 55.6 (NH-CH), 67.0 (Phenyl-CH₂), 79.5 (SO₂-O-CH₂), 128.2, 128.3, 128.6, 136.4 (Phenyl), 156.2 (CO).

(S)-*N*-Benzyloxycarbonyl-2-amino-4-methylpentylmesylat (43)

Nach AAV 11 werden 13.82 g von Verbindung **39** (55 mmol) in 150 ml trockenem DCM gelöst und mit 4.43 ml Methansulfonsäurechlorid (57.2 mmol) und 8.43 ml Triethylamin (60.5 mmol) umgesetzt. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung erhält man ein leicht gelbliches Öl.

Ausbeute: 14.69 g (81 %, 44.6 mmol)

¹H-NMR (CDCl₃): $\delta = 0.92$ (s, 3H, CH-CH₃), 0.94 (s, 3H, CH-CH₃), 1.31-1.38 (m, 1H, H₃C-CH-CH_{2a}), 1.42-1.50 (m, 1H, H₃C-CH-CH_{2b}), 1.63-1.73 (m, 1H, H₃C-CH), 2.94 (s, 3H, SO₂-CH₃), 3.95-4.02 (m, 1H, NH-CH), 4.15 (dd, 1H, ²J=10.5 Hz, ³J=4.1 Hz, SO₂-O-CH_{2a}), 4.27 (dd, 1H,

$^3J=3.8$ Hz, SO₂-O-CH₂a), 4.88 (d, 1H, $J=8.4$ Hz, NH), 5.10 (q, 2H, Phenyl-CH₂), 7.30-7.40 (m, 5H, Phenyl).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl₃): $\delta = 22.0$ (CH-CH₃), 23.0 (CH-CH₃), 24.6 (H₃C-CH), 37.3 (SO₂-CH₃), 40.1 (H₃C-CH-CH₂), 48.6 (NH-CH), 67.0 (Phenyl-CH₂), 71.4 (SO₂-O-CH₂), 128.2, 128.3, 128.6, 136.3 (Phenyl), 155.9 (CO).

(S)-N-Benzyloxycarbonyl-2-amino-pentylmesylat (44)

Durchführung nach AAV 11 mit 11.94 g von Verbindung **40** (50.32 mmol), 4.05 ml Methansulfonsäurechlorid (52.3 mmol) und 7.67 ml Triethylamin (55 mmol). Die Aufreinigung erfolgt chromatographisch über eine kurze Säule (PE:EA 1:1) und anschließender Kristallisation aus Diethylether.

Ausbeute: 3.88 g (12.3 mmol, 24 %)

Schmelzpunkt: 72°C (Diethylether)

$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -27.6 \text{ (c = 2, CHCl}_3\text{)}$$

FAB-MS: $m/z = 316.1$ [M+H]⁺

Elementaranalyse: C₁₄H₂₁NO₅S (315,39)

berechnet:	C 53.32	H 6.71	N 4.44	S 10.17
gefunden:	C 53.53	H 6.71	N 4.38	S 10.12

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃): $\delta = 0.92$ (t, 3H, $J=7.1$ Hz, CH₂-CH₃), 1.33-1.48 (m, 4H, H₃C-CH₂-CH₂, H₃C-CH₂-CH₂), 2.95 (s, 3H, SO₂-CH₃), 3.90-3.92 (m, 1H, NH-CH), 4.18 (dd, 1H, $^2J=10.3$ Hz, $^3J=4.3$ Hz, SO₂-O-CH₂a), 4.27 (dd, 1H, $^3J=3.7$ Hz, SO₂-O-CH₂b), 4.93 (d, 1H, $J=8.2$ Hz, NH), 5.10 (s, 2H, Phenyl-CH₂), 7.33-7.41 (m, 5H, Phenyl).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl₃): $\delta = 13.8$ (CH₂-CH₃), 19.0 (H₃C-CH₂), 33.2 (H₃C-CH₂-CH₂), 37.4 (SO₂-CH₃), 50.1 (NH-CH), 67.0 (Phenyl-CH₂), 70.9 (SO₂-O-CH₂), 128.2, 128.3, 128.6, 136.3 (Phenyl), 156.0 (CO).

(S)-(N-Benzyloxycarbonyl-2-aminopropyl)-2,3,4,6-tetra-O-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosid (45)

Zu einer Lösung von 3.64 g 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranose (10 mmol) in 110 ml DMF_{abs} gibt man bei 0°C 4.49 ml DBU (30 mmol). Anschließend werden 2.87 g (S)-N-Benzyloxycarbonyl-2-aminopropylmesylat in 15 ml DMF_{abs} gelöst und zugetropft. Zunächst wird 2 h bei 0°C, anschließend weitere 14 h bei RT gerührt. Nach Beendigung der Reaktion wird mit 250 ml Ethylacetat verdünnt und zweimal mit destilliertem Wasser, 1 M Salzsäure, gesättigter NaHCO₃-

Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknen über Na₂SO₄ und entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wird der erhaltene Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (PE:EA 3:2 → PE:EA 1:1).

Ausbeute: 3.85 g (6.93 mmol, 69 %)

FAB-MS: m/z = 556.1 [M+H]⁺

[α]_D = +12.2 (c = 2, CHCl₃)

Elementaranalyse: C₂₅H₃₃NO₁₁S (555.18)

berechnet:	C 54.04	H 5.99	N 2.52	S 5.77
gefunden:	C 53.80	H 6.19	N 2.39	S 5.49

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.22 (d, 3H, J=6.7 Hz, CH-CH₃), 2.01 (s, 3H, -COCH₃), 2.03 (s, 6H, -COCH₃), 2.06 (s, 3H, -COCH₃), 2.81-2.85 (m, 2H, S-CH₂), 3.54-3.58 (m, 1H, H-5), 3.95-3.97 (m, 1H, NH-CH), 4.06 (dd, 1H, J_{6a-6b}=12.3 Hz, J_{5-6a}=4.2 Hz, H-6a), 4.17 (bd, 1H, H-6b), 4.40 (d, 1H, J₁₋₂ = 9.9 Hz, H-1), 4.96 (t, 1H, J₂₋₃=9.6 Hz, H-2), 5.04 (t, 1H, J₄₋₅=9.6 Hz, H-4), 5.11 (dd, 2H, Phenyl-CH₂), 5.13 (t, 1H, H-3), 5.40 (d, 1H, J=5.4 Hz, NH), 7.36 (bs, 5H, Phenyl).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 19.4 (CH-CH₃), 20.6 (CO-CH₃), 20.7 (CO-CH₃), 20.7 (CO-CH₃), 20.8 (CO-CH₃), 38.2 (NH-CH-CH₂), 46.6 (NH-CH), 61.7 (C-6), 66.7 (Phenyl-CH₂), 68.0 (C-4), 70.1 (C-2), 73.7 (C-3), 75.8 (C-5), 84.8 (C-1), 128.4, 128.5, 128.7, 136.5 (Phenyl), 155.6, 169.4, 169.5, 170.2, 170.6 (CO).

(S)-(N-Benzylloxycarbonyl-2-amino-3-methylbutyl)-2,3,4,6-tetra-O-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosid (46)

Nach AAV 12 werden 1.82 g 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranose (5 mmol) in 35 ml absolutem DMF gelöst und mit 1.58 g von Verbindung **42** (5 mmol) und 973 μl DBU (6.5 mmol) umgesetzt.

Nach Aufreinigung erfolgt säulenchromatographisch zunächst an Kieselgel (Petrolether : Ethylacetat 5:4) und anschließend an neutralem Aluminiumoxid (Toluol:Aceton 15:1).

Ausbeute: 1.88 g (3.22 mmol, 64 %)

FAB-MS: m/z = 584.2 [M+H]⁺, 450.1 [M-Z+H]⁺, 331.1 [Glykosylkation]

FT-ICR-MS: [M+Na]⁺

berechnet:	m/z	606.19795	
gefunden:	m/z	606.197963	relative Massenabweichung: 0.02 ppm

[α]_D = +15.7 (c = 1.5, CHCl₃)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 0.90 (d, 3H, J=6.9 Hz, CH-CH₃'), 0.94 (d, 3H, J=6.9 Hz, CH-CH₃''), 1.86-1.95 (m, 1H, CH-CH-(CH₃)₂), 2.00 (s, 3H, -COCH₃), 2.01 (s, 3H, -COCH₃), 2.02 (s, 3H, -COCH₃), 2.05 (s, 3H, -COCH₃), 2.80 (dd, 1H, ²J=14.1 Hz, ³J=4.2 Hz, S-CH₂a), 2.92 (dd, 1H, ³J=5.6 Hz, S-CH₂b), 3.49-3.53 (m, 1H, H-5), 3.56-3.63 (m, 1H, NH-CH), 4.00 (dd, 1H, J_{6a-6b}=13.0 Hz, J_{5-6a}=4.7 Hz, H-6a), 4.18 (dd, 1H, J_{5-6b}=1.8 Hz, H-6b), 4.36 (d, 1H, J₁₋₂ = 10.1 Hz, H-1), 4.95 (t, 1H, J₂₋₃=9.42 Hz, H-2), 5.02 (t, 1H, J₄₋₅=J₃₋₄=10.5 Hz, H-4), 5.11 (s, 2H, Phenyl-CH₂), 5.17 (t, 1H, H-3), 5.33 (d, 1H, NH), 7.37 (bs, 5H, Phenyl).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 18.5 (CH-CH₃'), 19.3 (CH-CH₃''), 20.6 (CO-CH₃), 20.7 (CO-CH₃), 20.8 (CO-CH₃), 30.3 (CH-CH-(CH₃)₂), 34.4 (NH-CH-CH₂), 56.4 (NH-CH), 61.8 (C-6), 66.8 (Phenyl-CH₂), 68.0 (C-4), 70.0 (C-2), 73.7 (C-3), 75.8 (C-5), 84.6 (C-1), 128.1, 128.2, 128.5, 128.7, 136.6 (Phenyl), 155.2, 169.4, 169.5, 170.2, 170.6 (CO).

(S)-(N-Benzoyloxycarbonyl-2-amino-4-methylpentyl)-2,3,4,6-tetra-O-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosid (47)

Nach AAV 12 werden 1.82 g 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranose (5 mmol) in 35 ml absolutem DMF gelöst und mit 1.65 g von Verbindung **43** (5 mmol) und 973 µl DBU (6.5 mmol) umgesetzt.

Nach säulenchromatographischer Aufreinigung (Petrolether:Ethylacetat 6:5) erhält man Verbindung **47** als amorphen, weißen Feststoff.

Ausbeute: 1.11 g (1.85 mmol, 37 %)

FT-ICR-MS: [M+Na]⁺

berechnet:	m/z	620.21360	
gefunden:	m/z	620.213257	relative Massenabweichung: 0.55 ppm

[α]_D = +7.9 (c = 1, CHCl₃)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 0.90 (bd, 6H, CH-(CH₃)₂), 1.57- 1.69 (m, 1H, CH₂-CH-(CH₃)₂), 1.31-1.48 (m, 2H, CH₂-CH-(CH₃)₂), 1.98 (s, 3H, -COCH₃), 2.00 (s, 3H, -COCH₃), 2.01 (s, 3H, -COCH₃), 2.04 (s, 3H, -COCH₃), 2.83 (bs, 2H, S-CH₂), 3.47-3.50 (m, 1H, H-5), 3.56-3.60 (m, 1H, NH-CH), 3.97 (dd, 1H, H-6a), 4.17 (dd, 1H, H-6b), 4.36 (d, 1H, J₁₋₂ = 10.1 Hz, H-1), 4.93 (t, 1H, J₂₋₃=10.2 Hz, H-2), 5.01 (t, 1H, J₄₋₅=10.2 Hz, H-4), 5.09 (s, 2H, Phenyl-CH₂), 5.15 (t, 1H, H-3), 5.31 (d, 1H, NH), 7.34-7.36 (m, 5H, Phenyl).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 20.6 (CO-CH₃), 21.0 (CO-CH₃), 21.0 (CO-CH₃), 21.1 (CO-CH₃), 22.7 (CH-

(CH₃)₂), 23.1 (CH₂-CH-(CH₃)₂), 37.7 (NH-CH-CH₂), 42.5 (CH₂-CH-(CH₃)₂), 49.2 (NH-CH), 62.0 (C-6), 67.0 (Phenyl-CH₂), 68.3 (C-4), 70.4 (C-2), 74.0 (C-3), 76.0 (C-5), 85.4 (C-1), 128.4, 128.76, 128.8, 129.0, 129.4, 136.9 (Phenyl), 156.1, 169.7, 169.7, 170.4, 170.9 (CO).

(S)-(N-Benzoyloxycarbonyl-2-aminopentyl)-2,3,4,6-tetra-O-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosid (48)

a) Darstellung mit NaH als Base

117 mg 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranose (0.32 mmol) werden in 3 ml absolutem DMF gelöst und auf 0°C gekühlt. Anschließend werden 100 mg von Verbindung **44** und 10 mg einer 60%igen Dispersion von Natriumhydrid in Mineralöl (0.42 mmol) zugegeben. Nach 2.5 h bei 0°C wird die Reaktion abgebrochen, mit 1 ml einer gesättigten Ammoniumchlorid-Lösung versetzt und nach Abklingen der Wasserstoffbildung mit 10 ml Ethylacetat und 5 ml destilliertem Wasser verdünnt. Die organische Phase wird abgetrennt und mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknen über Na₂SO₄ wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (Petrolether:Ethylacetat 1:1).

Ausbeute: 50 mg (0.09 mmol, 27 %)

b) Darstellung mit DBU als Base

Nach AAV 12 werden 546 mg 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranose (1.5 mmol) in 25 ml absolutem DMF gelöst und mit 292 µl DBU (1.95 mmol) und 473 mg von Verbindung **44** (1.5 mmol) umgesetzt. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung erhält man Verbindung **48** als weißen, amorphen Feststoff.

Ausbeute: 0.40 g (0.69 mmol, 46 %)

FT-ICR-MS: [M+Na]⁺

berechnet:	m/z	606.19795	
gefunden:	m/z	606.198185	relative Massenabweichung: 0.39 ppm

FAB-MS: m/z = 584.2 [M+H]⁺, 450.1 [M-Z+H]⁺, 331.1 [Glykosylkation]

Elementaranalyse: C₂₇H₃₇NO₁₁S (583.65)

berechnet:	C 55.56	H 6.39	N 2.40	S 5.49
gefunden:	C 55.60	H 6.78	N 2.66	S 5.51

[α]_D = +22.3 (c = 4, CHCl₃)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 0.89-0.94 (m, 3H, CH₂-CH₃), 1.22-1.40 (m, 2H, CH₂-CH₃), 1.40-1.54 (m, 2H, CH₂-CH₂-CH₃), 1.98 (s, 3H, -COCH₃), 2.01 (s, 3H, -COCH₃), 2.02 (s, 3H, -COCH₃), 2.04 (s, 3H, -COCH₃), 2.84 (t, 2H, J=5.5 Hz, S-CH₂), 3.49-3.51 (m, 1H, H-5), 3.84 (bs, 1H, NH-CH), 4.00 (dd, 1H, J_{6a-6b}=12.7 Hz, J₅₋₆=5.0 Hz, H-6a), 4.18 (bd, 1H, H-6b), 4.37 (d, 1H, J₁₋₂ = 10.1 Hz, H-1), 4.93 (t, 1H, J₂₋₃=9.7 Hz, H-2), 5.02 (t, 1H, J₄₋₅=J₃₋₄=9.7 Hz, H-4), 5.09 (s, 2H, Phenyl-CH₂), 5.14 (t, 1H, H-3), 5.34 (d, 1H, NH), 7.30-7.40 (m, 5H, Phenyl).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 14.1 (CH₂-CH₃), 19.4 (CH₂-CH₃), 20.9 (CO-CH₃), 21.0 (CO-CH₃), 21.0 (CO-CH₃), 21.0 (CO-CH₃), 35.5 (CH₂-CH₂-CH₃), 37.6 (S-CH₂), 50.7 (NH-CH), 62.0 (C-6), 67.0 (Phenyl-CH₂), 68.3 (C-4), 70.4 (C-2), 74.0 (C-3), 76.0 (C-5), 85.3 (C-1), 128.4, 128.7, 128.8, 129.0, 136.9 (Phenyl), 156.2, 169.7, 169.7, 170.3, 170.9 (CO).

***N*-tert-Butyloxycarbonyl-*N'*-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-*D*-glucopyranosyl)-propyl]-*L*-asparaginsäureamid-β-benzylester (49)**

a) Darstellung ausgehend von Verbindung **45**

1.) Entfernen der *Z*-Schutzgruppe

Nach AAV 8 werden 3.78 g von Verbindung **45** (6.81 mmol) in 115 ml EtOH gelöst und mit 467 µl Essigsäure (8.17 mmol) versetzt. Im Schutzgasgegenstrom werden 250 mg Pd/C zugegeben und anschließend der Kolben mit Wasserstoff geflutet. Nach 5 h wird der Katalysator über Celite abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der erhaltene weiße Feststoff kann ohne weitere Aufreinigung direkt weiter umgesetzt werden.

2.) Kupplung mit Verbindung **12**

Der aus a) 1.) erhaltene Feststoff wird in 100 ml Ethylacetat gelöst und mit 2.31 ml DIPEA (13.5 mmol) versetzt. Anschließend wird 3.15 g Boc-Asp-(OBn)-OPfp (6.44 mmol) zugegeben und für 5 h gerührt. Die Lösung wird mit 20 ml Wasser versetzt und für weitere zwei Minuten gerührt. Die organische Phase wird abgetrennt und nacheinander mit je 20 ml einer 1 M Salzsäure, gesättigter NaHCO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknen über Na₂SO₄ wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der erhaltene Rückstand säulenchromatographisch getrennt (Petrolether:Ethylacetat 1:1). Man erhält einen weißen Feststoff.

Ausbeute: 4.21 g (5.79 mmol, 90 %)

b) Darstellung ausgehend von Verbindung **54**

1.) Entfernen der Boc-Schutzgruppe

Zu einer Lösung von 4.3 g von Verbindung **54** (8.24 mmol) in 30 ml DCM gibt man bei 0°C 17 ml TFA. Es wird 1h bei 0°C und eine weitere Stunde bei RT gerührt. Nach Ende der Reaktion wird das DCM im Vakuum entfernt und verbleibende TFA mit Toluol coevaporiert. Anschließend wird am Hochvakuum getrocknet. Der erhaltene bräunliche Feststoff wird direkt weiter umgesetzt.

2.) Kupplung mit Verbindung **12**

Zu einer Lösung von 4.41 g des aus b) 1.) erhaltenen Salzes (8.24 mmol) in 50 ml Ethylacetat werden 2.73 ml DIPEA (16 mmol) und 4.03 g Boc-Asp(OBn)-OPfp (8.24 mmol) gegeben. Nach 6 h wird mit 1 M Salzsäure, gesättigter NaHCO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknen über Na₂SO₄ wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (PE:EA 1:1).

Ausbeute: 5.33 g (7.33 mmol, 89 %)

Schmelzpunkt: 57°C (Ethylacetat/Petrolether)

FT-ICR-MS: [M+Na]⁺

berechnet:	m/z	749.25620	
gefunden:	m/z	749.25631	relative Massenabweichung: 0.15 ppm

FAB-MS: m/z = 727.3 [M+H]⁺, 627.1 [M-Boc+H]⁺

Elementaranalyse: C₃₃H₄₆N₂O₁₄S (726.27)

berechnet:	C 54.53	H 6.38	N 3.85	S 4.41
gefunden:	C 54.61	H 6.39	N 3.87	S 4.36

$[\alpha]_D = -6.9$ (c = 2, CHCl₃)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.20 (d, 3H, J=6.8 Hz, CH-CH₃), 1.44 (s, 9H, -C(CH₃)₃), 2.00 (s, 3H, -COCH₃), 2.02 (s, 3H, -COCH₃), 2.05 (s, 3H, -COCH₃), 2.07 (s, 3H, -COCH₃), 2.61 (dd, 1H, ²J=13.6 Hz, ³J=6.7 Hz, S-CH₂a), 2.75 (dd, 1H, ²J=17.0 Hz, ³J=6.3 Hz, NH-CH-CH₂a-COO), 2.85 (dd, 1H, ³J=5.2 Hz, S-CH₂b), 2.98 (dd, 1H, ³J=4.5 Hz, NH-CH-CH₂b-COO), 3.74-3.77 (m, 1H, H-5), 4.03-4.12 (m, 1H, S-CH₂-CH), 4.16 (bd, 1H, J_{6a-6b}=12.7 Hz, H-6a), 4.24 (dd, 1H, J_{5-6b}=4.6 Hz, H-6b), 4.46 (bs, NH-CH-CH₂-COO), 4.58 (d, 1H, J₁₋₂=10.1 Hz, H-1), 4.99 (t, 1H, J₂₋₃=9.4 Hz, H-2), 5.08 (t, 1H, J₃₋₄=J₄₋₅=9.7 Hz, H-4), 5.15 (dd, 2H, Phenyl-CH₂), 5.24 (t, 1H, H-3), 5.61 (bd, 1H, NH-CH-CH₂-COO), 6.57 (d, 1H, J=7.2 Hz, NH-CH-CH₃), 7.32-7.36 (m, 5H, Phenyl).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 19.3 (CH-CH₃), 20.7, 20.7, 20.8 (CO-CH₃), 28.4 (-C(CH₃)₃), 35.9 (S-CH₂),

36.2 (NH-CH-CH₂-COO), 45.6 (NH-CH-CH₃), 50.8 (NH-CH-CH₂-COO), 62.1 (C-6), 67.0 (Phenyl-CH₂), 68.3 (C-4), 70.1 (C-2), 73.9 (C-3), 75.9 (C-5), 80.6 (-C(CH₃)₃), 83.3 (C-1), 128.4, 128.4, 128.5, 128.7, 135.5 (Phenyl), 169.5, 169.5, 170.2, 170.2, 170.8 (CO).

***N*-tert-Butyloxycarbonyl-*N'*-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-*D*-glucopyranosyl)-3-methylbutyl]-*L*-asparaginsäureamid-β-benzylester (50)**

1.) Entfernen der Z-Schutzgruppe

Nach AAV 8 werden 1.5 g von Verbindung **46** (2.57 mmol) in 50 ml EtOH gelöst und mit 176 µl Essigsäure (3.1 mmol) und 40 mg Ammoniumacetat (0.51 mmol) versetzt. Im Schutzgasgegenstrom werden 50 mg Pd/C zugegeben und anschließend der Kolben mit Wasserstoff geflutet. Nach 3 h wird der Katalysator über Celite abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der erhaltene weiße Feststoff kann ohne weitere Aufreinigung direkt weiter umgesetzt werden.

2.) Kupplung mit Verbindung **12**

Der aus 1.) erhaltene Feststoff wird in 35 ml Ethylacetat gelöst und mit 1.25 g Boc-Asp(OBn)-OPfp (2.55 mmol) und 499 µl DIPEA (5.1 mmol) versetzt. Nach 5 h wird mit jeweils 10 ml einer 1 M KHSO₄-Lösung, gesättigten NaHCO₃-Lösung und gesättigten NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknen über Na₂SO₄ wird das Lösemittel im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Petrolether:Ethylacetat 1:1). Man erhält einen weißen, amorphen Feststoff.

Ausbeute: 0.67 g (0.89 mmol, 35 %)

FT-ICR-MS: [M+Na]⁺

berechnet:	m/z	777.28750	
gefunden:	m/z	777.287146	relative Massenabweichung: 0.46 ppm

[α]_D = -17.5 (c = 2, CHCl₃)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 0.88 (d, 3H, J=6.9 Hz, CH-CH₃'), 0.91 (d, 3H, J=6.8 Hz, CH-CH₃''), 1.46 (s, 9H, -C(CH₃)₃), 1.87-1.95 (m, 1H, H₃C-CH), 2.00, 2.02, 2.05, 2.07 (s, 3H, -COCH₃), 2.73-2.83 (m, 3H, S-CH₂, NH-CH-CH₂*a*-COO), 2.97 (dd, 1H, ²J=16.9 Hz, ³J=4.9 Hz, NH-CH-CH₂*b*-COO), 3.74-3.78 (m, 1H, H-5), 3.83-3.90 (m, 1H, S-CH₂-CH), 4.17 (dd, 1H, J_{6a-6b}=12.6 Hz, J_{5-6a}=2.0 Hz, H-6a), 4.22 (dd, 1H, J_{5-6b}=4.3 Hz, H-6b), 4.48 (bs, 1H, NH-CH-CH₂-COO), 4.56 (d, 1H, J₁₋₂ = 10.1 Hz, H-1), 4.98 (t, 1H, J₂₋₃ = 10.0 Hz, H-2), 5.07 (t, 1H, J₄₋₅=9.6 Hz, H-4), 5.14 (dd, 2H, Phenyl-CH₂), 5.24 (t, 1H, H-3), 5.69 (d, 1H, J=8.3 Hz, NH-CH-CH₂-COO), 6.60 (d, 1H, J=8.9 Hz, S-CH₂-CH-NH), 7.34-7.37 (m, 5H, Phenyl).

^{13}C -NMR (CDCl_3): $\delta = 19.5$ (CH-CH_3), 20.7, 20.7, 20.8, 20.8 (CO-CH_3), 28.4 ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 30.4 (S-CH_2), 36.0 ($\text{NH-CH-CH}_2\text{-COO}$), 50.8 ($\text{NH-CH-CH}_2\text{-COO}$), 54.4 ($\text{S-CH}_2\text{-CH}$), 62.1 (C-6), 66.9 (Phenyl-CH_2), 68.3 (C-4), 70.0 (C-2), 73.9 (C-3), 75.9 (C-5), 80.6 ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 128.3, 128.4, 128.7, 135.5 (Phenyl), 155.7, 169.5, 169.5, 170.2, 170.5, 170.8, 171.9 (CO).

N-tert-Butyloxycarbonyl-N'-2-[(S)-1-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-4-methylpentyl]-L-asparaginsäureamid- β -benzylester (51)

1.) Entfernen der Z-Schutzgruppe

Nach AAV 8 werden 2.9 g von Verbindung **47** (4.85 mmol) in 90 ml EtOH gelöst und mit 153 μl Essigsäure (5.82 mmol) und 77 mg Ammoniumacetat (1 mmol) versetzt. Im Schutzgasgegenstrom werden 50 mg Pd/C zugegeben und anschließend der Kolben unter Wasserstoffatmosphäre gesetzt. Nachdem auch nach 24 h mittels Dünnschichtchromatographie keine vollständige Entschützung festgestellt werden konnte, wurde der Katalysator über Celite abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Eine säulenchromatographische Aufreinigung lieferte 0.96 g eines weißen Feststoffs (1.83 mmol, 38%).

2.) Kupplung mit Verbindung **12**

Der aus 1.) erhaltene Feststoff wird in 35 ml Ethylacetat gelöst und mit 0.90 g Boc-Asp(OBn)-OPfp (1.83 mmol) und 626 μl DIPEA (3.67 mmol) versetzt. Nach 5.5 h wird mit jeweils 10 ml einer 1 M HCl-Lösung, gesättigter NaHCO_3 -Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknen über Na_2SO_4 wird das Lösemittel im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Petrolether:Ethylacetat 1:1). Man erhält einen weißen Feststoff.

Ausbeute: 1.13 g (1.47 mmol, 80 %)

Schmelzpunkt: 45 °C (Ethylacetat/Petrolether)

FT-ICR-MS: $[\text{M}+\text{Na}]^+$

berechnet: m/z 791.30315

gefunden: m/z 791.302920 relative Massenabweichung: 0.29 ppm

$[\alpha]_{\text{D}} = -9.8$ ($c = 2.5$, CHCl_3)

^1H -NMR (CDCl_3): $\delta = 0.87$ (d, 3H, $J=6.6$ Hz, $\text{CH-CH}_3'$), 0.91 (d, 3H, $J=6.6$ Hz, $\text{CH-CH}_3''$), 1.34-1.41 (m, 2H, $\text{CH}_3\text{-CH-CH}_2$), 1.44 (s, 9H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.59-1.64 (m, 1H, $\text{CH}_3\text{-CH}$), 2.01 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.04 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.05 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.07 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.64 (dd, 1H, $^2J=13.6$ Hz, $^3J=6.5$ Hz, S-CH_2a), 2.78 (dd, 1H, $^2J=17.3$ Hz, $^3J=6.8$ Hz, $\text{NH-CH-CH}_2a\text{-COO}$), 2.83

(dd, 1H, $^3J=4.9$ Hz, S-CH₂b), 2.97 (dd, 1H, $^3J=4.6$ Hz, NH-CH-CH₂b-COO), 3.76-3.79 (m, 1H, H-5), 4.03-4.10 (m, 1H, S-CH₂-CH), 4.14 (dd, 1H, $J_{6a-6b}=12.7$ Hz, $J_{5-6a}=2.0$ Hz, H-6a), 4.23 (dd, 1H, $J_{5-6b}=5.1$ Hz, H-6b), 4.46 (bs, 1H, NH-CH-CH₂-COO) 4.61 (d, 1H, $J_{H1-H2} = 10.1$ Hz, H-1), 5.02 (t, 1H, $J_{2-3}=9.5$ Hz, H-2), 5.08 (t, 1H, $J_{3-4}=J_{4-5}=9.6$ Hz, H-4), 5.15 (s, 2H, Ph-CH₂), 5.23 (t, 1H, H-3), 5.62-5.65 (m, 1H, NH-CH-CH₂-COO), 6.44-6.51 (m, 1H, S-CH₂-CH-NH), 7.34-7.37 (m, 5H, Phenyl).

¹³C-NMR (CDCl₃): $\delta = 20.7, 20.7, 20.8, 20.8$ (CO-CH₃), 21.9 (CH-CH₃'), 23.3 (CH-CH₃''), 24.9 (CH₃-CH), 28.3 (-C(CH₃)₃), 35.0 (S-CH₂), 36.1 (NH-CH-CH₂-COO), 42.6 (CH₃-CH-CH₂), 47.8 (S-CH₂-CH), 50.8 (NH-CH-CH₂-COO), 62.1 (C-6), 66.9 (Phenyl-CH₂), 68.3 (C-4), 70.1 (C-2), 73.9 (C-3), 75.8 (C-5), 80.6 (-C(CH₃)₃), 83.3 (C-1), 128.3, 128.4, 128.5, 135.5 (Phenyl), 169.4, 169.5, 170.0, 170.2, 170.3, 170.8, 171.8 (CO).

N-tert-Butyloxycarbonyl-N'-2-[(S)-1-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-pentyl]-L-asparaginsäureamid- β -benzylester (52)

1.) Entfernen der Z-Schutzgruppe

Nach AAV 8 werden 0.3 g von Verbindung **48** (0.51 mmol) in 20 ml EtOH gelöst und mit 31 μ l Essigsäure (0.62 mmol) versetzt. Im Schutzgasgegenstrom werden 25 mg Pd/C zugegeben und anschließend der Kolben mit Wasserstoff geflutet. Nach 3 h wird der Katalysator abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das erhaltene farblose Öl kann ohne weitere Aufreinigung direkt weiter umgesetzt werden.

2.) Kupplung mit Verbindung **12**

Das aus 1.) erhaltene Öl wird in 25 ml Ethylacetat gelöst und mit 250 mg Boc-Asp(OBn)-OPfp (0.51 mmol) und 188 μ l DIPEA (1.1 mmol) versetzt. Nach 16 h wird mit jeweils 5 ml einer 1 M KHSO₄-Lösung, gesättigten NaHCO₃-Lösung und gesättigten NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknen über Na₂SO₄ wird das Lösemittel im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Petrolether:Ethylacetat 1:1). Man erhält einen weißen, amorphen Feststoff.

Ausbeute: 0.18 g (0.24 mmol, 47 %)

FT-ICR-MS: [M+Na]⁺

berechnet: m/z 777.28750

gefunden: m/z 777.287227

relative Massenabweichung: 0.35 ppm

Elementaranalyse: C₃₅H₅₀N₂O₁₄S (754.84)

berechnet:	C 55.69	H 6.68	N 3.71
gefunden:	C 55.31	H 6.73	N 3.61

$[\alpha]_D = +24.3$ (c = 1.5, CHCl₃)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 0.88 (t, 3H, J=7.1 Hz, CH₂-CH₃), 1.22-1.36 (m, 2H, CH₂-CH₃), 1.43 (s, 9H, -C(CH₃)₃), 1.49-1.64 (m, 2H, CH₂-CH₂-CH₃), 1.98 (s, 3H, -COCH₃), 2.00 (s, 3H, -COCH₃), 2.04 (s, 3H, -COCH₃), 2.06 (s, 3H, -COCH₃), 2.53 (dd, 1H, ²J=13.1 Hz, ³J=6.7 Hz, S-CH₂a), 2.66 (m, 1H, NH-CH-CH₂a-COO), 2.82 (dd, 1H, ³J=5.5 Hz, S-CH₂b), 2.95 (dd, 1H, ²J=16.8 Hz, ³J=4.6 Hz, NH-CH-CH₂b-COO), 3.73-3.77 (m, 1H, H-5), 3.95-4.02 (m, 1H, S-CH₂-CH), 4.06 (bd, 1H, J_{6a-6b}=12.7 Hz, H-6a), 4.23 (dd, 1H, J_{5-6b}=4.6 Hz, H-6b), 4.46 (bs, 1H, NH-CH-CH₂-COO) 4.58 (d, 1H, J_{H1-H2}=10.1 Hz, H-1), 4.97 (t, 1H, J₂₋₃=9.6 Hz, H-2), 5.07 (t, 1H, J₄₋₅=J₃₋₄=9.6 Hz, H-4), 5.13-5.15 (m, 2H, Ph-CH₂), 5.23 (t, 1H, H-3), 5.70 (bd, 1H, NH-CH-CH₂-COO), 6.55 (d, 1H, S-CH₂-CH-NH), 7.29-7.38 (m, 5H, Phenyl).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 14.1 (CH₂-CH₃), 19.3 (CH₂-CH₃), 20.9, 20.9, 21.0, 21.0 (CO-CH₃), 28.6 (-C(CH₃)₃), 34.8 (CH₂-CH₂-CH₃), 35.8 (S-CH₂), 36.4 (NH-CH-CH₂-COO), 48.6 (S-CH₂-CH), 49.6 (NH-CH-CH₂-COO), 62.3 (C-6), 67.2 (Phenyl-CH₂), 68.5 (C-4), 70.4 (C-2), 74.1 (C-3), 76.1 (C-5), 80.9 (-C(CH₃)₃), 83.5 (C-1), 128.6, 128.6, 128.9, 135.8 (Phenyl), 169.7, 169.8, 179.9, 170.3, 170.5, 170.7, 171.0 (CO).

***N*-tert-Butyloxycarbonyl-2-aminopropyltosylat (53)**

Nach AAV 10 werden unter Schutzgas 3.50 g *N*-tert-Butyloxycarbonyl-2-amino-1-propanol (20 mmol) und 6.27 ml Triethylamin (45 mmol) in 30 ml DCM_{abs} gelöst und bei 0°C 4.24 g *p*-Toluolsulfonsäurechlorid (22.2 mmol) in 30 ml DCM_{abs} zugetropft. Nach chromatographischer Aufreinigung (PE:EA 3:1) erhält man einen gelblichen Feststoff.

Ausbeute: 2.43 g (7.4 mmol, 37 %)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.15 (d, 3H, J=6.9 Hz, CH-CH₃), 1.40 (s, 9H, -C(CH₃)₃), 2.45 (s, 3H, Tosyl-CH₃), 3.89 (bs, 1H, CH-CH₂a), 3.94 (dd, 1H, NH-CH), 4.01 (bs, 1H, CH-CH₂b), 4.58 (bs, 1H, NH), 7.34 (d, 2H, J=8.0 Hz, Phenyl), 7.78 (d, 2H, Phenyl).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 17.2 (CH-CH₃), 21.6 (Tosyl-CH₃), 28.3 (-C(CH₃)₃), 45.3 (NH-CH), 72.5 (CH-CH₂), 79.3 (-C(CH₃)₃), 127.9, 129.9, 132.6, 144.9 (Tosyl), 154.8 (CO).

(S)-(N-tert-Butyloxycarbonyl-2-aminopropyl)-2,3,4,6-tetra-O-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosid (54)

Zu einer auf 0°C gekühlten Lösung von 3.64 g 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranose (10 mmol) in 80 ml DMF_{abs} gibt man 4.49 ml DBU (30 mmol). Anschließend werden 3.29 g N-tert-Butyloxycarbonyl-2-aminopropyltosylat (10 mmol) in 20 ml DMF_{abs} gelöst und langsam zugetropft. Nach 2 h bei 0°C wird für weitere 18 h bei RT gerührt. Nach Beendigung der Reaktion wird mit 200 ml DCM verdünnt und zweimal mit 20%iger Zitronensäure und je einmal mit gesättigter NaHCO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknen über Na₂SO₄ wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie (PE:EA 2:1) an Kieselgel.

Ausbeute: 4.61 g (8.8 mmol, 88 %)

Schmelzpunkt: 115°C (Ethylacetat/Petrolether)

FT-ICR-MS: [M+Na]⁺

berechnet:	m/z	544.18230	
gefunden:	m/z	544.18252	relative Massenabweichung: 0.4 ppm

FAB-MS: m/z = 522.2 [M+H]⁺, 466.1 [M-C(CH₃)+H]⁺, 422.1 [M-Boc+H]⁺

Elementaranalyse: C₂₂H₃₅NO₁₁S (521.19)

berechnet:	C 50.66	H 6.76	N 2.69	S 6.15
gefunden:	C 50.85	H 6.77	N 2.42	S 6.02

[α]_D = -4.5 (c = 2, CHCl₃)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.18 (d, 3H, J=6.8 Hz, CH-CH₃), 1.42 (s, 9H, -C(CH₃)₃), 1.99 (s, 3H, -COCH₃), 2.01 (s, 3H, -COCH₃), 2.04 (s, 3H, -COCH₃), 2.07 (s, 3H, -COCH₃), 2.70 (dd, 1H, ²J=14.0 Hz, ³J=5.5 Hz, S-CH₂a), 2.85 (dd, 1H, ³J=4.9 Hz, S-CH₂b), 3.71-3.75 (m, 1H, H-5), 3.85 (bs, 1H, NH-CH), 4.22 (d, 2H, H-6), 4.49 (d, 1H, J₁₋₂ = 10.1 Hz, H-1), 4.99 (t, 1H, J₂₋₃=9.6 Hz, H-2), 5.09 (t, 1H, J₃₋₄=J₄₋₅=10.0 Hz, H-4), 5.20 (t, 1H, H-3).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 19.5 (CH-CH₃), 20.6, 20.7, 20.8 (CO-CH₃), 28.5 (-C(CH₃)₃), 38.0 (S-CH₂), 46.2 (NH-CH), 61.9 (C-6), 68.1 (C-4), 70.1 (C-2), 73.8 (C-3), 75.9 (C-5), 79.5 (-C(CH₃)₃), 155.1, 169.4, 169.5, 170.2, 170.6 (CO).

2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-1-thio-α-D-mannopyranose (55)

Umsetzung nach AAV 3. Mit 20.7 g 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-α-D-mannopyranosylbromid (50 mmol)

erhält man nach säulenchromatographischer Aufreinigung ein farbloses Öl.

Ausbeute: 14.1 g (38.7 mmol, 77 %)

¹H- und ¹³C-Daten stimmen mit der Literatur überein^[258].

(*N*-Benzyloxycarbonyl-2-aminoethyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- α -D-mannopyranosid (56)

Nach AAV12 werden unter Schutzgas 546 mg 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-1-thio- α -D-mannopyranose (1.5 mmol) in 10 ml DMF_{abs} gelöst und auf 0°C gekühlt und anschließend mit 292 μ l DBU (1.55 mmol) und 524 mg von Verbindung **10** (1.5 mmol) umgesetzt. Nach wässriger Aufarbeitung wird der Rückstand an Kieselgel chromatographiert (Petrolether:Ethylacetat 1:1). Man erhält ein farbloses Öl.

Ausbeute: 180 mg (0.33 mmol, 22 %)

FT-ICR-MS: [M+Na]⁺

berechnet:	m/z	564.15100	
gefunden:	m/z	564.151293	relative Massenabweichung: 0.52 ppm

$[\alpha]_D = -51.3$ (c = 4.5, CHCl₃)

¹H-NMR (CDCl₃): $\delta = 1.90$ (s, 3H, COCH₃), 1.97 (s, 6H, COCH₃), 2.07 (s, 3H, COCH₃), 2.64-2.71 (m, 1H, S-CH₂a), 2.74-2.81 (m, 1H, S-CH₂b), 3.35 (q, 2H, J=6.44 Hz, NH-CH₂), 4.01 (dd, 2H, J_{5-6a} = 1.7 Hz, J_{6a-6b} = 12.2 Hz, H-6a), 4.20 (dd, 2H, J_{5-6b} = 5.8 Hz, J_{6a-6b} = 12.2 Hz, H-6b), 4.28-4.32 (m, 1H, H-5), 5.01 (q, 2H, Phenyl-CH₂), 5.12-5.28 (m, 4H, H-2, H-3, H-4, H-1), 5.41 (t, 1H, J=6.0 Hz, NH).

¹³C-NMR (CDCl₃): $\delta = 20.4, 20.5, 20.5, 20.7$ (CO-CH₃), 32.1 (S-CH₂), 40.4 (NH-CH₂), 62.4 (C-6), 66.1 (C-3), 66.6 (Phenyl-CH₂), 69.1 (C-2), 69.2 (C-4), 70.9 (C-5), 82.8 (C-1), 128.0, 128.0, 128.4, 136.3 (Phenyl), 155.2, 169.6, 169.6, 169.8, 170.4 (CO).

(*S*)-(N-Benzyloxycarbonyl-2-aminopropyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- α -D-mannopyranosid (57)

Zu einer Lösung von 2.19 g 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-1-thio- α -D-mannopyranose (6 mmol) und 2.69 ml DBU (18 mmol) in 65 ml DMF_{abs} werden bei 0°C tropfenweise in 10 ml DMF_{abs} gelöste 1.72 g (*S*)-*N*-Benzyloxycarbonyl-2-amino-propylmesylat (6 mmol) zugegeben. Nach 21 h wird mit 250 ml DCM verdünnt und mit destilliertem Wasser, 1M Salzsäure, gesättigter NaHCO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknung über Na₂SO₄ wird das DCM im Vakuum entfernt. Noch vorhandenes DMF wird mit Toluol coevaporiert und der Rückstand mittels

Säulenchromatographie an Kieselgel vorgereinigt (Petrolether:Ethylacetat 1:1) und schließlich aus n-Hexan/Ethylacetat kristallisiert. Trotz mehrfacher, aufeinanderfolgender Kristallisation konnte kein vollständig sauberes Produkt erhalten werden.

Rohausbeute: 2.34 g (4.90 mmol, 70 %)

***N*-tert-Butyloxycarbonyl-*N'*-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- α -*D*-mannopyranosyl)-propyl]-*L*-asparaginsäureamid- β -benzylester (58)**

1.) Entfernen der *Z*-Schutzgruppe

Nach AAV 8 werden 2.46 g von Verbindung **57** (4.43 mmol) in 100 ml EtOH gelöst und mit 305 μ l Essigsäure (5.32 mmol) versetzt. Im Schutzgasgegenstrom werden 200 mg Pd/C zugegeben und anschließend der Kolben mit Wasserstoff geflutet. Nach 24 h wird der Katalysator über Celite abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der erhaltene weiße Feststoff kann ohne weitere Aufreinigung direkt weiter umgesetzt werden.

Rohausbeute: 1.95 g (4.05 mmol, 91 %)

2.) Kupplung mit Verbindung **12**

Zu einer Lösung von 2.13 g des aus Schritt 1.) erhaltenen Acetats (4.43 mmol) in 75 ml Ethylacetat gibt man nacheinander 1.71 ml DIPEA (10 mmol) und 2.17 g Boc-Asp(OBn)-OPfp (4.43 mmol). Nach 25 h wird mit 1 M Salzsäure, gesättigter NaHCO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

Aubeute: 1.89 g (2.6 mmol, 59 %)

FT-ICR-MS: [M+Na]⁺

berechnet:	m/z	749.25620	
gefunden:	m/z	749.255993	relative Massenabweichung: 0.28 ppm

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.21-1.25 (m, 3H, CH-CH₃), 1.45 (s, 9H, -C(CH₃)₃), 1.99 (s, 3H, COCH₃), 2.03 (s, 6H, COCH₃), 2.06 (s, 3H, COCH₃), 2.10 (s, 3H, COCH₃), 2.91 (m, 2H, S-CH₂), 2.99 (m, 2H, NH-CH-CH₂-COO), 4.06-4.29 (m, 4H, H-5, H-6, NH-CH), 5.00-5.25 (m, 6H, H-2, H-4, Phenyl-CH₂, H-3, NH), 6.09 (d, 1H, J₁₋₂ = 1.7 Hz, H-1), 7.29-7.35 (m, 5H, Phenyl).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 17.1 (CH-CH₃), 20.7 (CO-CH₃), 20.7 (CO-CH₃), 20.8 (CO-CH₃), 20.9 (CO-CH₃), 27.9 (-C(CH₃)₃), 35.4 (NH-CH-CH₂-COO), 37.3 (NH-CH-CH₂), 46.1 (NH-CH), 51.4 (NH-CH-CH₂-COO), 62.2 (C-6), 65.6 (C-3), 66.1 (Phenyl-CH₂), 68.3 (C-2), 68.1 (C-4), 70.2 (C-5), 80.1 (-C(CH₃)₃), 89.6 (C-1), 128.2, 128.5, 128.6, 128.9, 136.3 (Phenyl), 155.3, 167.1, 169.5, 169.6,

170.1 (CO).

(*N*-Benzyloxycarbonyl-2-aminoethyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-galactopyranosid (61)

Entsprechend der AAV 12 werden 546 mg 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-galactopyranose (1.5 mmol) in 10 ml absolutem DMF gelöst und mit 292 μ l DBU (1.95 mmol) und 524 mg von Verbindung **10** (1.5 mmol) umgesetzt. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung (Petrolether : Ethylacetat 1:1) erhält man **61** als weißen, amorphen Feststoff.

Ausbeute: 660 mg (1.22 mmol, 81 %)

FT-ICR-MS: $[M+Na]^+$

berechnet:	m/z	564.15100	
gefunden:	m/z	564.151240	relative Massenabweichung: 0.43 ppm

Elementaranalyse: C₂₄H₃₁NO₁₁S (541.57)

berechnet:	C 53.23	H 5.77	N 2.59
gefunden:	C 53.21	H 5.79	N 2.23

$[\alpha]_{365} = +2.3$ (c = 2.5, CHCl₃)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.97 (s, 3H, -COCH₃), 1.99 (s, 3H, -COCH₃), 2.05 (s, 3H, -COCH₃), 2.12 (s, 3H, -COCH₃), 2.73-2.79 (m, 1H, S-CH_{2a}), 2.88-2.94 (m, 1H, S-CH_{2b}), 3.41-3.46 (q, 2H, NH-CH₂), 3.86 (t, 1H, J_{5,6}=6.5 Hz, H-5), 4.08-4.11 (m, 2H, H-6), 4.43 (d, 1H, J_{1,2}=9.97 Hz, H-1), 4.99 (dd, 1H, J_{2,3}=9.9 Hz, J_{3,4}=3.4 Hz, H-3), 5.06 (d, 2H, J_{a,b}=12.1 Hz, Phenyl-CH_{2a}), 5.12 (d, 2H, Phenyl-CH_{2b}), 5.20 (t, 1H, J_{2,3}=10.2 Hz, H-2), 5.38 (d, 1H, J=3.0 Hz, H-4), 5.46 (t, 1H, NH).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 20.6, 20.7, 20.7, 20.8 (CO-CH₃), 31.4 (S-CH₂), 41.2 (NH-CH₂), 61.6 (C-6), 66.8 (Phenyl-CH₂), 67.0 (C-2), 67.3 (C-4), 71.8 (C-3), 74.7 (C-5), 84.5 (C-1), 128.3, 128.3, 128.6, 136.5 (Phenyl), 156.3, 169.7, 170.0, 170.2, 170.4 (CO).

(*S*)-(N-Benzyloxycarbonyl-2-aminopropyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-galactopyranosid (62)

Zu einer Lösung von 2.19 g 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-galactopyranose (6 mmol) und 2.69 ml DBU (18 mmol) in 65 ml DMF_{abs} werden nach AAV 12 bei 0°C tropfenweise in 10 ml DMF_{abs} gelöste 1.72 g (*S*)-*N*-Benzyloxycarbonyl-2-aminopropylmesylat (6 mmol) zugegeben. Nach 20 h wird mit 250 ml DCM verdünnt und mit destilliertem Wasser, 1M Salzsäure, gesättigter NaHCO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknung über Na₂SO₄ wird das DCM im Vakuum entfernt. Noch vorhandenes DMF wird mit Toluol coevaporiert und der Rückstand

säulenchromatographisch gereinigt (PE:EA 1:1). Man erhält einen weißen, amorphen Feststoff.

Ausbeute: 2.72 g (4.90 mmol, 82 %)

FT-ICR-MS: $[M+Na]^+$

berechnet:	m/z	578.16665	
gefunden:	m/z	578.166536	relative Massenabweichung: 0.20 ppm

$[\alpha]_D = +16.9$ (c = 1.8, $CHCl_3$)

1H -NMR ($CDCl_3$): $\delta = 1.23$ (d, 3H, J = 6.59 Hz, CH- CH_3), 1.97 (s, 3H, - $COCH_3$), 1.99 (s, 3H, - $COCH_3$), 2.06 (s, 3H, - $COCH_3$), 2.13 (s, 3H, - $COCH_3$), 2.81 (dd, 1H, $^2J=14.1$ Hz, $^3J=4.8$ Hz, S- CH_2a), 2.89 (dd, 1H, $^3J=4.3$ Hz, S- CH_2b), 3.77 (t, 1H, $J_{4-5}=J_{5-6}=6.7$ Hz, H-5), 3.95-4.01 (m, 1H, NH- CH), 4.03-4.14 (m, 2H, H-6), 4.38 (d, 1H, $J_{1-2}=10.0$ Hz, H-1), 4.94 (dd, 1H, $J_{2-3}=10.1$ Hz, $J_{3-4}=3.3$ Hz, H-3), 5.04-5.21 (m, 4H, H-2, Phenyl- CH_2 , NH), 5.34 (m, 1H, H-4), 7.36 (bs, 5H, Phenyl).

^{13}C -NMR ($CDCl_3$): $\delta = 19.7$ (CH- CH_3), 20.9 (CO- CH_3), 20.9 (CO- CH_3), 21.0 (CO- CH_3), 21.2 (CO- CH_3), 38.6 (NH-CH- CH_2), 46.9 (NH-CH), 61.7 (C-6), 67.1 (Phenyl- CH_2), 67.5 (C-4), 67.7 (C-2), 72.0 (C-3), 74.7 (C-5), 85.7 (C-1), 128.7, 128.8, 129.0, 136.8 (Phenyl), 155.9, 169.9, 170.3, 170.5, 170.6 (CO).

***N*-tert-Butyloxycarbonyl-*N'*-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -*D*-galactopyranosyl)-propyl]-*L*-asparaginsäureamid- β -benzylester (63)**

1.) Entfernen der Z-Schutzgruppe

Nach AAV 8 werden 2.72 g von Verbindung **62** (4.91 mmol) in 100 ml EtOH gelöst und mit 337 μ l Essigsäure (5.9 mmol) versetzt. Im Schutzgasgegenstrom werden 200 mg Pd/C zugegeben und anschließend unter Wasserstoffatmosphäre gerührt. Nach 16 h wird der Katalysator über Celite abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der erhaltene weiße Feststoff kann ohne weitere Aufreinigung direkt weiter umgesetzt werden.

Ausbeute: 2.27 g (4.71 mmol, 96 %)

2.) Kupplung mit Verbindung **12**

Zu einer Lösung von 2.27 g der aus 1.) gewonnenen Verbindung (4.71 mmol) in 75 ml Ethylacetat gibt man nacheinander 1.71 ml DIPEA (10 mmol) und 2.4 g Boc-Asp(OBn)-OPfp (4.91 mmol). Nach 5 h wird mit 1 M Salzsäure, gesättigter $NaHCO_3$ -Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird säulenchromatographisch gereinigt (PE:EA 1:1). Man erhält einen amorphen Feststoff.

Ausbeute: 3 g (4.13 mmol, 84 %)

Schmelzpunkt: 55°C (Ethylacetat/n-Pentan)

FT-ICR-MS: $[M+Na]^+$

berechnet:	m/z	749.25620	
gefunden:	m/z	749.256325	relative Massenabweichung: 0.17 ppm

Elementaranalyse: $C_{33}H_{46}N_2O_{14}S$ (726.79)

berechnet:	C 54.53	H 6.38	N 3.85	S 4.41
gefunden:	C 54.73	H 6.36	N 3.76	S 4.09

$[\alpha]_D = +16.3$ (c = 3.2, $CHCl_3$)

1H -NMR ($CDCl_3$): $\delta = 1.21$ (d, 3H, $J=8.7$ Hz, CH- CH_3), 1.44 (s, 9H, $-C(CH_3)_3$), 1.97 (s, 3H, $-COCH_3$), 2.03 (s, 3H, $-COCH_3$), 2.06 (s, 3H, $-COCH_3$), 2.13 (s, 3H, $-COCH_3$), 2.62 (dd, 1H, $^2J=14.0$ Hz, $^3J=7.2$ Hz, S- CH_2a), 2.75 (dd, 1H, $^2J=17.0$ Hz, $^3J=6.4$ Hz, NH-CH- CH_2a -COO), 2.90 (dd, 1H, $^3J=5.7$ Hz, S- CH_2b), 2.98 (dd, 1H, $^3J=4.5$ Hz, NH-CH- CH_2b -COO), 3.98 (t, 1H, $J_{4,5}=J_{5,6}=6.6$ Hz, H-5), 4.08-4.18 (m, 3H, H-6, S- CH_2 -CH), 4.45 (bs, NH-CH- CH_2 -COO), 4.57 (d, 1H, $J_{1,2} = 10.0$ Hz, H-1), 5.07 (dd, 1H, $J_{2,3}=10.1$ Hz, $J_{3,4}=3.4$ Hz, H-3), 5.14 (m, 2H, Phenyl- CH_2), 5.21 (t, 1H, H-2), 5.42 (dd, 1H, H-4), 5.61 (bd, 1H, $J=7.9$ Hz, NH-CH- CH_2 -COO), 6.56 (d, 1H, $J=7.0$ Hz, NH-CH- CH_3), 7.32-7.36 (m, 5H, Phenyl).

^{13}C -NMR ($CDCl_3$): $\delta = 19.3$ (CH- CH_3), 20.7 (CO- CH_3), 20.7 (CO- CH_3), 20.9 (CO- CH_3), 28.4 ($-C(CH_3)_3$), 36.0 (S- CH_2), 36.3 (NH-CH- CH_2 -COO), 45.7 (NH-CH- CH_3), 50.8 (NH-CH- CH_2 -COO), 61.6 (C-6), 67.0 (Phenyl- CH_2), 67.4 (C-4), 67.9 (C-2), 71.9 (C-3), 74.5 (C-5), 80.6 ($-C(CH_3)_3$), 83.9 (C-1), 128.4, 128.5, 128.7, 135.5 (Phenyl), 155.7, 169.7, 170.1, 170.1, 170.4, 170.5, 171.9 (CO).

3.3.3 Zu Kapitel 2.4.3

4-Aminomethylbenzylalkohol (64)

a) Darstellung durch Reduktion von 4-Aminomethylbenzoesäure mit $LiAlH_4$

Zu einer Suspension von 1.9 g $LiAlH_4$ (50 mmol) in einer Mischung von 50 ml absolutem Dioxan und 50 ml absolutem THF werden portionsweise 2.27 g 4-Aminomethylbenzoesäure (15 mmol) so zugegeben, daß die Suspension ohne Wärmezufuhr gelinde siedet. Anschließend wird für weitere 16 h zum Sieden erhitzt. Nach Abkühlen auf RT werden nacheinander 6 ml Ethylacetat, 2ml Wasser, 5 ml einer 15%igen NaOH-Lösung und erneut 2 ml Wasser langsam zugetropft. Der entstandene

Feststoff wird abfiltriert und mehrfach mit siedendem THF extrahiert. Nach Entfernen des Lösungsmittels erhält man einen weißen Feststoff, der nicht weiter aufgereinigt wird.

Ausbeute: 1.01 g (7.4 mmol, 49 %)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.80$ (bs, 3H, OH, NH₂), 3.83 (s, 2H, H₂N-CH₂), 4.66 (s, 2H, HO-CH₂), 7.27 (d, 2H, Aryl), 7.32 (d, 2H, Aryl)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 46.14$ (H₂N-CH₂), 64.90 (HO-CH₂), 127.24, 127.28, 139.74, 142.45 (Aryl)

b) Darstellung durch Reduktion von 4-Cyanobenzaldehyd mit LiAlH₄

Durchführung wie unter a) beschrieben in 180 ml trockenem THF mit 2.62 g 4-Cyanobenzaldehyd (20 mmol) und 2.28 g LiAlH₄ (60 mmol). Man erhält ein gelbliches Öl, welches als Rohprodukt direkt weiter umgesetzt werden kann.

Rohausbeute: 1.47 g (10.7 mmol, 54 %)

c) Darstellung durch Reduktion von 4-Cyanobenzaldehyd mit Wasserstoff

Zu einer Lösung von 2.62 g 4-Cyanobenzaldehyd (20 mmol) in 35 ml Methanol gibt man im Argongegenstrom 30 mg Palladium auf Aktivkohle. Anschließend wird für 6 h unter Wasserstoffatmosphäre gerührt und nach Beendigung der Reaktion der Katalysator über Celite abfiltriert. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum erhält man einen weißen Feststoff, der direkt weiter umgesetzt wird.

Ausbeute: 2.5 g (18.2 mmol, 91 %)

N-tert-Butyloxycarbonyl-4-aminomethylbenzylalkohol (65)

Zu einer Lösung von 2.74 g von Verbindung **65** (20 mmol) in einer Mischung aus 20 ml Dioxan und 20 ml Wasser gibt man bei 0°C 4.41 g Boc₂O (20.2 mmol). Nach 5 min wird auf RT erwärmt und für weitere 24 h gerührt. Anschließend wird das Dioxan im Vakuum entfernt und die wässrige Phase zweimal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 5%iger NaHCO₃-Lösung, 5%iger Zitronensäure-Lösung und destilliertem Wasser gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Schließlich wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der erhaltene Rückstand aus Ethylacetat:n-Hexan 1:5 umkristallisiert.

Ausbeute: 4.37 g (18.4 mmol, 92 %)

Schmelzpunkt: 98°C (97-98°C)^[259]

FAB-MS: $m/z = 238.2$ [M+H]⁺

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.46$ (s, 9H, -C(CH₃)₃), 1.92 (bs, 1H, OH), 4.29 (d, 2H, NH-CH₂-Ph), 4.67 (s, 2H, Ph-CH₂-OH), 4.87 (bs, 1H, NH), 7.27 (d, 2H, Aryl), 7.32 (d, 2H, Aryl).

^{13}C -NMR (CDCl_3): $\delta = 28.4$ ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 44.4 ($\text{NH}-\text{CH}_2\text{-Ph}$), 65.0 ($\text{Ph}-\text{CH}_2\text{-OH}$), 79.5 ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 127.2 , 127.6 , 138.3 , 140.0 (Aryl), 155.9 (CO).

***N*-tert-Butyloxycarbonyl-4-aminomethylbenzylmesylat (66)**

Nach AAV 11 werden 8.31 g von Verbindung **65** (35 mmol) in 125 ml absolutem DCM gelöst und bei 0°C mit 5.61 ml Triethylamin (40.25 mmol) und 2.98 ml Methansulfonsäurechlorid (38.5 mmol) umgesetzt. Nach Kristallisation aus Ethylacetat/n-Hexan 2:5 erhält man weiße Kristalle.

Ausbeute: 5.46 g (17.2 mmol, 49 %)

Schmelzpunkt: 72°C (Ethylacetat/n-Hexan)

FAB-MS: $m/z = 259.2$ [$\text{M}-\text{C}(\text{CH}_3)+\text{H}$] $^+$; 215.2 [$\text{M}-\text{Boc}+\text{H}$] $^+$

Elementaranalyse: $\text{C}_{14}\text{H}_{21}\text{NO}_5\text{S}$ (315,11)

berechnet:	C 53.32	H 6.71	N 4.44	S 10.17
gefunden:	C 53.19	H 6.89	N 4.46	S 9.68

^1H -NMR (CDCl_3): $\delta = 1.46$ (s, 9H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 2.91 (s, 3H, SO_2-CH_3), 4.33 (s, 2H, $\text{NH}-\text{CH}_2\text{-Ph}$), 4.90 (bs, 1H, NH), 5.22 (s, 2H, $\text{SO}-\text{CH}_2\text{-Ph}$), 7.32 (d, 2H, $J=8.2$ Hz, Aryl), 7.38 (d, 2H, Aryl).

^{13}C -NMR (CDCl_3): $\delta = 28.5$ ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 38.5 (SO_2-CH_3), 44.3 ($\text{NH}-\text{CH}_2\text{-Ph}$), 71.3 ($\text{SO}-\text{CH}_2\text{-Ph}$), 79.8 ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 127.9 , 129.3 , 132.5 , 140.6 (Aryl), 156.0 (CO).

***(N*-Butyloxycarbonyl-4-aminomethylbenzyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosid (67)**

Zu einer Lösung von 2.19 g 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranose (6 mmol) in 65 ml DMF_{abs} gibt man bei 0°C 2.69 ml DBU (18 mmol). Anschließend werden 1.89 g *N*-tert-Butyloxycarbonyl-4-aminomethylbenzylmesylat in 15 ml DMF_{abs} gelöst und zugetropft. Zunächst wird 2 h bei 0°C , anschließend weitere 18 h bei RT gerührt. Nach Beendigung der Reaktion wird mit 250 ml DCM verdünnt und mit destilliertem Wasser, 1M Salzsäure, gesättigter NaHCO_3 -Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknen über Na_2SO_4 und entfernen des DCM im Vakuum wird verbleibendes DMF mit Toluol coevaporiert. Der erhaltene Rückstand wird säulenchromatographisch gereinigt (PE:EA 1:1).

Ausbeute: 3.23 g (5.53 mmol, 92 %)

Schmelzpunkt: 130°C (Ethylacetat/Petrolether)

FAB-MS: $m/z = 584.3$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$; 528.2 [$\text{M}-\text{C}(\text{CH}_3)+\text{H}$] $^+$; 484.1 [$\text{M}-\text{Boc}+\text{H}$] $^+$

Elementaranalyse: C₂₇H₃₇NO₁₁S (583.21)

berechnet:	C 55.56	H 6.39	N 2.40	S 5.49
gefunden:	C 55.75	H 6.34	N 2.45	S 4.99

$[\alpha]_D = -63.6$ (c = 3, CHCl₃)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.46 (s, 9H, -C(CH₃)₃), 1.99 (s, 3H, -COCH₃), 2.01 (s, 6H, -COCH₃), 2.11 (s, 3H, -COCH₃), 3.57-3.61 (m, 1H, H-5), 3.81 (d, 1H, J=12.9 Hz, S-CH₂a), 3.92 (d, 1H, S-CH₂b), 4.12 (dd, 1H, J_{6a-6b}=12.2 Hz, J_{5-6a}=2.3 Hz, H-6a), 4.22 (dd, 1H, J_{5-6b}=5.1 Hz, H-6b), 4.28 (d, 1H, J_{H1-H2}=9.8 Hz, H-1), 4.30 (d, 2H, J=5.1 Hz, NH-CH₂), 4.90 (bs, 1H, NH), 5.04 (t, 1H, J₂₋₃=9.3 Hz, H-2), 5.04 (t, 1H, J₃₋₄=J₄₋₅=9.0 Hz, H-4), 5.14 (t, 1H, H-3), 7.22-7.27 (m, 4H, Aryl).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 20.6, 20.7, 20.7, 20.8 (CO-CH₃), 28.5 (-C(CH₃)₃), 33.5 (S-CH₂), 44.5 (NH-CH₂), 62.3 (C-6), 68.5 (C-2), 69.8 (C-4), 73.9 (C-3), 75.9 (C-5), 79.7 (-C(CH₃)₃), 81.9 (C-1), 127.8, 129.4, 136.0, 138.3 (Aryl), 156.0, 169.5, 170.2, 170.7 (CO).

***N*-tert-Butyloxycarbonyl-*N'*-[4-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)methylbenzyl]-L-asparaginsäureamid-β-benzylester (68)**

1.) Entfernen der Boc-Schutzgruppe

Nach AAV 7 werden 3.22 g von Verbindung **67** (5.52 mmol) in 20 ml DCM gelöst und mit 11.5 ml TFA (149 mmol) umgesetzt. Man erhält einen bräunlichen Feststoff, der ohne weitere Aufarbeitung weiter umgesetzt wird.

2.) Kupplung mit Verbindung **12**

Zu einer Lösung von 3.3 g von der aus 1.) erhaltenen Verbindung (5.52 mmol) in 50 ml Ethylacetat gibt man nacheinander 2.05 ml DIPEA (12 mmol) und 2.7 g Boc-Asp(OBn)-OPfp (5.52 mmol). Nach 6 h wird mit 1 M Salzsäure, gesättigter NaHCO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird säulenchromatographisch gereinigt (PE:EA 1:1).

Ausbeute: 4.04 g (5.12 mmol, 93 %)

Schmelzpunkt: 56°C (Ethylacetat/Petrolether)

Elementaranalyse: C₃₈H₄₈N₂O₁₄S (788.86)

berechnet:	C 57.86	H 6.13	N 3.55	S 4.06
gefunden:	C 57.82	H 6.01	N 3.53	S 3.84

$[\alpha]_D = -38.5$ (c = 1, CHCl₃)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.42 (s, 9H, -C(CH₃)₃), 1.99, 2.01, 2.02, 2.10 (s, 3H, -COCH₃), 2.77 (dd, 1H, ²J=17.1 Hz, ³J=6.0 Hz, NH-CH-CH_{2a}-COO), 3.10 (dd, 1H, ³J=4.6 Hz, NH-CH-CH_{2b}-COO), 3.57-3.62 (m, 1H, H-5), 3.81 (d, 1H, J=13.0 Hz, S-CH_{2a}), 3.91 (d, 1H, S-CH_{2b}), 4.11 (dd, 1H, J_{6a-6b}=12.3 Hz, J_{5-6a}=2.4 Hz, H-6a), 4.21 (dd, 1H, J_{5-6b}=5.0 Hz, H-6b), 4.30 (d, 1H, J_{H1-H2}=9.85 Hz, H-1), 4.35 (dd, 1H, NH-CH_{2a}), 4.48 (dd, 1H, NH-CH_{2b}), 4.56 (bs, 1H, NH-CH), 5.04 (t, 1H, J₂₋₃=9.4 Hz, H-2), 5.05 (t, 1H, J₃₋₄=J₄₋₅=10.0 Hz, H-4), 5.09 (s, 2H, Ph-CH₂), 5.15 (t, 1H, H-3), 5.68 (d, 1H, J=7.2 Hz, NH-CH), 6.86 (s, 1H, NH-CH₂), 7.18-7.36 (m, 9H, Phenyl).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 20.7, 20.7, 20.8, 20.9 (CO-CH₃), 28.4 (-C(CH₃)₃), 33.5 (S-CH₂) 36.1 (NH-CH-CH₂-COO), 43.3 (NH-CH₂), 50.9 (NH-CH-CH₂-COO), 62.3 (C-6), 67.0 (Phenyl-CH₂), 68.5 (C-2), 69.8 (C-4), 73.9 (C-3), 75.8 (C-5), 80.6 (-C(CH₃)₃), 82.1 (C-1), 127.9, 128.3, 128.5, 128.7, 129.4, 135.4, 136.2, 137.3 (Phenyl), 169.5, 170.2, 170.7 (CO).

(3-Nitrobenzyl)-2,3,4,6-tetra-O-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosid (69)

Zu einer Lösung von 1.09 g 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranose (3 mmol) und 648 mg 3-Nitrobenzylbromid in 60 ml Ethylacetat gibt man unter starkem Rühren 50 ml einer 0.5 M NaHCO₃-Lösung und 3.4 g TBAHS (10 mmol). Nach 45 Minuten wird die organische Phase abgetrennt und nacheinander mit jeweils 20 ml gesättigter NaHCO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Anschließend wird der Essigsäureethylester im Vakuum entfernt und das erhaltene Rohprodukt über eine kurze Säule an Kieselgel gereinigt (PE:EA 1:1). Man erhält einen weißen Feststoff.

Ausbeute: 1.36 g (2.72 mmol, 91 %)

Schmelzpunkt: 98°C (Petrolether/Ethylacetat)

Elementaranalyse: C₂₁H₂₅NO₁₁S (499.49)

berechnet:	C 50.50	H 5.04	N 2.80	S 6.42
gefunden:	C 50.79	H 5.02	N 2.81	S 6.24

FT-ICR-MS: [M+Na]⁺

berechnet:	m/z	522.10405	
gefunden:	m/z	522.103720	relative Massenabweichung: 0.63 ppm

[α]_D = -83.0 (c = 2, CHCl₃)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.98 (s, 3H, -COCH₃), 2.01 (s, 3H, -COCH₃), 2.03 (s, 3H, -COCH₃), 2.09 (s, 3H, -COCH₃), 3.62-3.66 (m, 1H, H-5), 3.89 (d, 1H, J_{CH2a-CH2b}=13.3 Hz, S-CH_{2a}), 4.03 (d, 1H, S-CH_{2b}), 4.14 (dd, 1H, J_{6a-6b}=12.4 Hz, J_{5-6a}=2.6 Hz, H-6a), 4.22 (dd, 1H, J_{5-6b}=5.3 Hz, H-6b), 4.32 (d,

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.94$ (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 1.96 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 1.98 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.04 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 3.57 - 3.61 (m, 1H, H-5), 3.84 (d, 1H, $J_{\text{CH}_2\text{a}-\text{CH}_2\text{b}}=13.1$ Hz, S- CH_2a), 3.96 (d, 1H, S- CH_2b), 4.07 (dd, 1H, $J_{6\text{a}-6\text{b}}=12.8$ Hz, $J_{5-6\text{a}}=2.3$ Hz, H-6a), 4.17 (dd, 1H, $J_{5-6\text{b}}=5.1$ Hz, H-6b), 4.27 (d, 1H, $J_{1-2}=9.9$ Hz, H-1), 5.00 (t, 1H, $J_{4-5}=9.5$ Hz, H-4), 5.03 (t, 1H, $J_{2-3}=9.9$ Hz, H-2), 5.12 (t, 1H, $J_{3-4}=9.9$ Hz, H-3), 7.42 (d, 1H, $J=8.7$ Hz, Aryl), 8.12 (d, 1H, Aryl).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 20.6$, 20.6 , 20.7 , 20.8 (CO- CH_3), 32.8 (S- CH_2), 62.2 (C-6), 68.3 (C-2), 69.7 (C-3), 73.7 (C-4), 76.2 (C-5), 81.8 (C-1), 123.9 , 130.0 , 144.8 , 147.3 (Aryl), 169.5 , 169.5 , 170.1 , 170.7 (CO).

(4-Nitrobenzyl)-2,3,4,6-tetra-O-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosid (70)

Zu einer Lösung von 0.91 g 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranose (2.5 mmol) und 519 mg 4-Nitrobenzylbromid (2.4 mmol) in 25 ml DMF gibt man bei 0°C 106 mg einer 60%igen Suspension von Natriumhydrid in Mineralöl (2.7 mmol). Nach 10 min wird auf Raumtemperatur erwärmt und für eine weitere Stunde gerührt. Anschließend werden 2.5 ml Essigsäure zugegeben und weitere 30 min gerührt. Die erhaltene Lösung wird mit 175 ml Ethylacetat verdünnt und je einmal mit 100 ml Wasser und 50 ml Wasser gewaschen. Nach Trocknen über Na_2SO_4 wird das Lösemittel im Vakuum entfernt und verbleibendes DMF mit Toluol coevaporiert. Der so erhaltene Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (PE:EA 1:1) und man erhält einen gelben, amorphen Feststoff.

Ausbeute: 0.92 g (1.84 mmol, 74 %)

Elementaranalyse: $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{NO}_{11}\text{S}$ (499,49)

berechnet:	C 50.50	H 5.04	N 2.80	S 6.42
gefunden:	C 50.56	H 5.01	N 2.83	S 6.15

FT-ICR-MS: $[\text{M}+\text{Na}]^+$

berechnet:	m/z	522.10405	
gefunden:	m/z	522.103720	relative Massenabweichung: 0.63 ppm

$[\alpha]_{\text{D}} = -83.4$ (c = 2, CHCl_3)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.94$ (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 1.96 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 1.98 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.04 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 3.57 - 3.61 (m, 1H, H-5), 3.84 (d, 1H, $J_{\text{CH}_2\text{a}-\text{CH}_2\text{b}}=13.1$ Hz, S- CH_2a), 3.96 (d, 1H, S- CH_2b), 4.07 (dd, 1H, $J_{6\text{a}-6\text{b}}=12.8$ Hz, $J_{5-6\text{a}}=2.3$ Hz, H-6a), 4.17 (dd, 1H, $J_{5-6\text{b}}=5.1$ Hz, H-6b), 4.27 (d, 1H, $J_{1-2}=9.9$ Hz, H-1), 5.00 (t, 1H, $J_{4-5}=9.5$ Hz, H-4), 5.03 (t, 1H, $J_{2-3}=9.9$ Hz, H-2), 5.12 (t, 1H, $J_{3-4}=9.9$ Hz, H-3), 7.42 (d, 1H, $J=8.7$ Hz, Aryl), 8.12 (d, 1H, Aryl).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 20.6$, 20.6 , 20.7 , 20.8 (CO- CH_3), 32.8 (S- CH_2), 62.2 (C-6), 68.3 (C-2), 69.7 (C-3), 73.7 (C-4), 76.2 (C-5), 81.8 (C-1), 123.9 , 130.0 , 144.8 , 147.3 (Aryl), 169.5 , 169.5 , 170.1 ,

170.6 (CO).

***N*-tert-Butyloxycarbonyl-*N'*-[3-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)methylphenyl]-L-asparaginsäureamid- β -benzylester (71)**

1.) Reduktion der Nitro-Gruppe mit Wasserstoff

Eine Lösung von 1.27 g der Verbindung **69** (2.4 mmol) und 166 μ l Essigsäure (2.9 mmol) in 100 ml EtOH wird unter Wasserstoffatmosphäre mit Palladium auf Aktivkohle als Katalysator umgesetzt. Nach drei Stunden wird die Reaktion beendet und der erhaltene Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (PE:EA:CH₃COOH 1:1:0.01).

Ausbeute: 0.93 g (1.76 mmol, 73 %)

2.) Kupplung mit Verbindung **12**

0.93 g des aus 1.) gewonnenen Feststoffes (1.76 mmol) werden in 100 ml Ethylacetat gelöst und mit 683 μ l DIPEA (4 mmol) versetzt. Anschließend werden 0.98 g Boc-Asp(OBn)-OPfp (2 mmol) zugegeben und 6 h bei 50°C und weitere 18 h bei 80°C gerührt. Nach Abkühlen wird die organische Phase mit jeweils 40 ml 1M KHSO₄-Lösung, gesättigter NaHCO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und schließlich das Lösemittel im Vakuum entfernt. Der erhaltene Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE:EA 1:1). Man erhält einen farblosen, amorphen Feststoff.

Ausbeute: 0.89 g (1.15 mmol, 65 %)

FT-ICR-MS: [M+Na]⁺

berechnet: m/z 797.25620

gefunden: m/z 797.256304 relative Massenabweichung: 0.13 ppm

$[\alpha]_D = -59.7$ (c = 1.5, CHCl₃)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.47 (s, 9H, -C(CH₃)₃), 1.98 (s, 3H, -COCH₃), 1.99 (s, 3H, -COCH₃), 2.01 (s, 3H, -COCH₃), 2.09 (s, 3H, -COCH₃), 2.80 (dd, 1H, ²J=17.1 Hz, ³J=6.2 Hz, NH-CH-CH_{2a}), 3.06 (dd, 1H, ³J=4.6 Hz, NH-CH-CH_{2b}), 3.64-3.68 (m, 1H, H-5), 3.78 (d, 1H, J_{CH_{2a}-CH_{2b}}=12.9 Hz, S-CH_{2a}), 3.91 (d, 1H, S-CH_{2b}), 4.16 (dd, 1H, J_{6a-6b}=12.4 Hz, J_{5-6a}=2.3 Hz, H-6a), 4.26 (dd, 1H, J_{5-6b}=4.8 Hz, H-6b), 4.34 (d, 1H, J₁₋₂=9.8 Hz, H-1), 4.65 (bs, 1H, NH-CH), 5.05 (t, 1H, J₂₋₃=9.2 Hz, H-2), 5.08 (t, 1H, J₃₋₄=J₄₋₅=9.2 Hz, H-4), 5.10-5.19 (m, 3H, Ph-CH₂, H-3), 5.81 (bd, 1H, J=7.5 Hz, CH-NH), 7.04 (d, 1H, J=7.6 Hz, Aryl), 7.25 (t, 1H, J=7.9 Hz, Aryl), 7.31-7.34 (m, 6H, Aryl), 7.53 (s, 1H, Aryl), 8.60 (bs, 1H, Ph-NH).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 20.6, 20.7, 20.7, 20.9 (CO-CH₃), 28.4 (-C(CH₃)₃), 33.8 (S-CH₂), 35.9 (NH-

CH-CH₂), 51.4 (NH-CH), 62.2 (C-6), 67.1 (Phenyl-CH₂), 68.5 (C-2), 69.9 (C-3), 73.9 (C-3), 75.7 (C-5), 81.0 (-C(CH₃)₃), 81.9 (C-1), 118.9, 120.6, 125.1, 128.3, 128.5, 128.7, 129.3, 135.3, 137.9, 138.0 (Aryl), 168.9, 169.5, 169.5, 170.2, 170.8, 170.9 171.8 (CO).

***N*-tert-Butyloxycarbonyl-*N'*-[4-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)methylphenyl]-L-asparaginsäureamid-β-benzylester (72)**

1.) Reduktion der Nitro-Gruppe mit Wasserstoff

0.81 g von Verbindung **70** (1.62 mmol) und 112 µl Essigsäure (1.95 mmol) werden in 50 ml Ethanol gelöst und mit Wasserstoff umgesetzt. Nach drei Stunden wird der Katalysator über Celite abfiltriert und das Ethanol im Vakuum entfernt. Der verbleibende Rückstand wird ohne weitere Aufarbeitung direkt weiter umgesetzt.

Ausbeute: 0.73 g (1.38 mmol, 85 %)

2.) Kupplung mit Verbindung **12**

Zu einer gerührten Lösung von 0.73 g des aus 1.) gewonnenen Feststoffes (1.38 mmol) in 75 ml Ethylacetat werden nacheinander 0.68 g Boc-Asp(OBn)-OPfp (1.38 mmol) und 471 µl DIPEA (2.76 mmol) gegeben. Nach 6 h bei RT wird mit jeweils 20 ml 1 M KHSO₄-Lösung, gesättigter NaHCO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der verbleibende Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (PE:EA 1:1 → 2:3). Man erhält einen amorphen, farblosen Feststoff.

Ausbeute: 0.72 g (0.93 mmol, 67 %)

Elementaranalyse: C₃₇H₄₆N₂O₁₄S (774.83)

berechnet:	C 57.35	H 5.98	N 3.62	S 4.14
gefunden:	C 57.63	H 6.20	N 3.26	S 3.71

FT-ICR-MS: [M+Na]⁺

berechnet:	m/z	797.25620	
gefunden:	m/z	797.256691	relative Massenabweichung: 0.62 ppm

[α]_D = -65.1 (c = 2, CHCl₃)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.48 (s, 9H, -C(CH₃)₃), 1.99 (s, 3H, -COCH₃), 2.01 (s, 6H, -COCH₃), 2.11 (s, 3H, -COCH₃), 2.80 (dd, 1H, ²J=17.5 Hz, ³J=6.6 Hz, NH-CH-CH_{2a}), 3.10 (dd, 1H, ³J=4.3 Hz, NH-CH-CH_{2b}), 3.58-3.62 (m, 1H, H-5), 3.79 (d, 1H, J_{CH_{2a}-CH_{2b}}=12.9 Hz, S-CH_{2a}), 3.91 (d, 1H, S-CH_{2b}), 4.14 (dd, 1H, J_{6a-6b}=12.4 Hz, J_{5-6a}=2.5 Hz, H-6a), 4.24 (dd, 1H, J_{5-6b}=5.2 Hz, H-6b), 4.26 (d, 1H, J₁₋₂=

9.9 Hz, H-1), 4.66 (bs, 1H, NH-CH), 5.07 (t, 1H, $J_{2-3}=9.2$ Hz, H-2), 5.09-5.20 (m, 4H, H-4, Phenyl-CH₂, H-3), 5.83 (bd, 1H, CH-NH), 7.24 (d, 2H, $J=8.8$ Hz, Aryl), 7.34-7.35 (m, 5H, Phenyl), 7.45 (d, 2H, $J=8.6$ Hz, Aryl), 8.58 (bs, 1H, Ph-NH).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 20.7, 20.8, 20.9 (CO-CH₃), 28.4 (-C(CH₃)₃), 33.3 (S-CH₂), 35.8 (NH-CH-CH₂), 51.8 (NH-CH), 62.3 (C-6), 67.2 (Phenyl-CH₂), 68.5 (C-4), 69.9 (C-2), 73.9 (C-3), 75.9 (C-5), 81.2 (-C(CH₃)₃), 81.8 (C-1), 120.1, 128.4, 128.6, 128.7, 129.8 (Aryl), 168.9, 169.5, 170.2, 170.7, 177.9 (CO).

4-Nitrothiophenol (73)

Eine Suspension von 7.6 g Thioharnstoff (100 mmol) und 15.7 g 1-Chlor-4-Nitrobenzol (100 mmol) in 100 ml Ethanol wird für 6 h zum Sieden erhitzt. Anschließend wird eine Lösung von 12 g NaOH (300 mmol) in 50 ml Wasser zugegeben und eine weitere Stunde zum Sieden erhitzt. Nach Abkühlen auf RT wird mit 200 ml Wasser verdünnt und der Niederschlag abfiltriert. Nach Ansäuern mit halbkonzentrierter Salzsäure wird das entstandene 4-Nitrothiophenol abfiltriert und kann ohne weitere Aufreinigung direkt weiter umgesetzt werden.

Ausbeute: 2.48 g (16 mmol, 16 %)

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein^[195, 260].

(*p*-Nitrophenyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosid (74)

Zu einer Lösung von 5 g 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- α -D-glucopyranosylbromid (12.2 mmol) in 50 ml Ethylacetat gibt man nacheinander 6.15 g TBAHS (18.3 mmol), 3.2 g von Verbindung **73** (24.4 mmol) und 50 ml 1 M Natriumcarbonat-Lösung. Die entstandene tiefrote Lösung wird bei Raumtemperatur für 18 h gerührt. Anschließend wird mit 100 ml Ethylacetat verdünnt und die organische Phase mit gesättigter NaHCO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wird der Rückstand zunächst an Kieselgel chromatographiert (Chloroform:Aceton 20:1) und anschließend aus Ethylacetat / Petrolether 3:7 kristallisiert. Man erhält einen weißen Feststoff.

Ausbeute: 5 g (10.3 mmol, 85 %)

Schmelzpunkt: 184°C (Ethylacetat/Petrolether)^[261]

FAB-MS: $m/z = 486.0$ [M]⁺

Elementaranalyse: C₂₀H₂₃NO₁₁S (485,46)

berechnet:	C 49.48	H 4.78	N 2.89	S 6.61
gefunden:	C 50.04	H 4.81	N 2.55	S 6.12

FT-ICR-MS: $[M+Na]^+$

berechnet: m/z 508.08840

gefunden: m/z 508.088250 relative Massenabweichung: 0.3 ppm

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.99$ (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.03 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.06 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.09 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 3.80-3.84 (m, 1H, H-5), 4.18 (dd, 1H, $J_{6a-6b}=12.4$ Hz, $J_{5-6a}=2.4$ Hz, H-6a), 4.24 (dd, 1H, $J_{5-6b}=5.3$ Hz, H-6b), 4.86 (d, 1H, $J_{1-2}=10.1$ Hz, H-1), 5.04 (t, 1H, $J_{2-3}=9.4$ Hz, H-2), 5.07 (t, 1H, $J_{3-4}=J_{4-5}=9.4$ Hz, H-4), 5.26 (t, 1H, H-3), 7.58 (dt, 2H, Aryl), 8.15 (dt, 2H, Aryl).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 20.6, 20.7, 20.8$ (CO- CH_3), 62.1 (C-6), 68.1 (C-4), 69.6 (C-2), 73.7 (C-3), 76.2 (C-5), 84.4 (C-1), 123.9, 131.1, 141.8, 147.1 (Aryl), 169.3, 169.4, 170.1, 170.5 (CO).

N-tert-Butyloxycarbonyl-N'-[4-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl-1-thio- β -D-glucoopyranosyl)phenyl]-L-asparaginsäureamid- β -benzylester (75)

1.) Reduktion der Nitro-Gruppe

a) Mit Wasserstoff als Reduktionsmittel

Zu einer Lösung von 0.49 g von Verbindung **74** (1 mmol) und 160 μl Essigsäure (2.8 mmol) in 40 ml Ethylacetat gibt man im Schutzgasgegenstrom 50 mg Palladium auf Aktivkohle. Anschließend wird der Kolben an die Hydrierburette angeschlossen und mit Wasserstoff geflutet. Der Reaktionsverlauf wird mittels Dünnschichtchromatographie verfolgt und der Ansatz unmittelbar nach Beendigung der Reaktion aufgearbeitet. Der Katalysator wird über Celite abfiltriert und das Filtrat im Vakuum eingeeengt. Verbleibende Reste von Essigsäure werden am Hochvakuum entfernt. Das so erhaltene bräunliche Öl kann ohne weitere Aufreinigung direkt weiterverwendet werden.

Ausbeute: 0.52 g (1 mmol, 100 %)

b) Mit Zinn(II)chlorid als Reduktionsmittel

Eine Lösung von 0.49 g von Verbindung **74** (1 mmol) und 1.13 g $\text{Sn(II)Cl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ (5 mmol) in 10 ml Ethanol wird für 3 h zum Sieden erhitzt. Nach Abkühlen der Lösung wird mit 25 ml Ethylacetat verdünnt und 150 mg NaHCO_3 zugegeben. Die organische Phase wird mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung und gesättigter NaCl -Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Das erhaltene bräunliche Öl wird ohne Reinigung weiter umgesetzt.

Ausbeute: 0.38 g (0.83 mmol, 83 %)

2.) Kupplung mit Verbindung **12**

Zu einer Lösung von 0.52 g des aus 1.) gewonnenen Öls (1 mmol) in 20 ml Ethylacetat werden 0.49 g Boc-Asp(OBn)-OPfp (1 mmol) und 0.53 ml DIPEA (3.1 mmol) gegeben. Anschließend wird die Lösung für 48 h zum Sieden erhitzt. Nach Abkühlen wird mit 20 ml Ethylacetat verdünnt und die organische Phase mit 1 M KHSO₄-Lösung, gesättigter NaHCO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wird der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (PE:EA 2:3). Man erhält einen weißen Feststoff.

Ausbeute: 0.42 g (0.55 mmol, 55 %)

Schmelzpunkt: 53°C (Ethylacetat/Petrolether)

FT-ICR-MS: [M+Na]⁺

berechnet: m/z 783.24055

gefunden: m/z 783.240781 relative Massenabweichung: 0.3 ppm

[α]_D = -27.4 (c = 2, CHCl₃)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.47 (s, 9H, -C(CH₃)₃), 1.98 (s, 3H, -COCH₃), 2.01 (s, 3H, -COCH₃), 2.03 (s, 3H, -COCH₃), 2.08 (s, 3H, -COCH₃), 2.80 (dd, 1H, ²J=17.4 Hz, ³J=6.5 Hz, NH-CH-CH₂a), 3.07 (dd, 1H, ³J=4.6 Hz, NH-CH-CH₂b), 3.66-3.70 (m, 1H, H-5), 4.14 (dd, 1H, J_{6a-6b}=12.4 Hz, J_{5-6a}=2.3 Hz, H-6a), 4.22 (dd, 1H, J_{5-6b}=4.9 Hz, H-6b), 4.61 (d, 1H, J_{1,2} = 10.0 Hz, H-1), 4.64 (bs, 1H, NH-CH), 4.92 (t, 1H, H-2), 5.01 (t, 1H, H-4), 5.15 (dd, 2H, Ph-CH₂), 5.20 (t, 1H, H-3), 5.83 (m, 1H, CH-NH), 7.33 (bs, 5H, Phenyl), 7.45 (bs, 4H, Phenyl).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 20.6, 20.7, 20.8 (CO-CH₃), 28.3 (-C(CH₃)₃), 35.7 (NH-CH-CH₂), 50.7 (NH-CH), 62.1 (C-6), 67.2 (Phenyl-CH₂), 68.2 (C-4), 70.0 (C-2), 74.0 (C-3), 75.9 (C-5), 81.2 (-C(CH₃)₃), 85.9 (C-1), 120.2, 126.2, 128.4, 128.5, 128.7, 134.9, 135.3, 138.3 (Phenyl), 169.0, 169.4, 169.5, 170.3, 170.7, 171.9 (CO).

(S)-N-tert-Butyloxycarbonyl-2-amino-2-phenylethanol (79)

Nach AAV 5 werden 2.5 g von Verbindung **76**^[247] (18.2 mmol) in einer Mischung aus 20 ml Dioxan und 10 ml Wasser gelöst und mit 4.37 g Boc₂O (20 mmol) umgesetzt. Nach Beendigung der Reaktion kann Verbindung **76** mit Wasser direkt gefällt werden und ohne weitere Aufarbeitung weiterverwendet werden.

Ausbeute: 4 g (16.9 mmol, 93 %)

FAB-MS: m/z = 238.1 [M+H]⁺, 182.1 [M-C(CH₃)₃]⁺

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.43 (s, 9H, -C(CH₃)₃), 2.61 (s, 1H, OH), 3.82 (s, 2H, CH₂-OH), 4.77 (s, 1H, NH-CH), 5.32 (s, 1H, NH), 7.28-7.37 (m, 5H, Phenyl).

^{13}C -NMR (CDCl_3): $\delta = 28.3$ ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 56.8 ($\text{NH}-\text{CH}$), 66.8 (CH_2-OH), 79.9 ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 126.5 , 127.7 , 128.7 , 139.4 (Phenyl), 156.1 (CO).

(S)-N-Benzoyloxycarbonyl-2-amino-2-phenylethanol (80)

Nach AAV 6 werden 7.5 g von Verbindung **76** (54.8 mmol) mit 8.4 ml Chlorameisensäurebenzylester (60 mmol) umgesetzt. Nach Kristallisation aus Ethylacetat/n-Hexan 1:3 erhält man einen weißen Feststoff.

Ausbeute: 12.8 g (47.1 mmol, 86 %)

Schmelzpunkt: 102°C (Ethylacetat/n-Hexan)

^1H -NMR (CDCl_3): $\delta = 2.02$ (bs, 1H, *OH*), 3.85 (bs, 2H, *CH*₂-*OH*), 4.85 (s, 1H, *NH-CH*), 5.10 (d, 2H, Phenyl-*CH*₂), 5.57 (s, 1H, *NH*), 7.28 - 7.35 (m, 10H, Phenyl).

^{13}C -NMR (CDCl_3): $\delta = 57.5$ (*NH-CH*), 66.8 (Phenyl-*CH*₂), 67.4 (*CH*₂-*OH*), 126.9 , 128.2 , 128.5 , 128.9 , 129.2 , 136.6 (Phenyl), 156.8 (CO).

(R)-N-tert-Butyloxycarbonyl-2-amino-2-phenylethanol (81)

Die Synthese von Verbindung **81** erfolgt analog der Darstellung von Verbindung **79**.

Nach AAV 5 werden 2.5 g von Verbindung **77**^[264] (18.2 mmol) mit 4.27 g Boc_2O (19.6 mmol) in einem Gemisch aus Dioxan: H_2O 2:1 umgesetzt. Nach Ende der Reaktion wird das Produkt mit Wasser gefällt und über Phosphorpentoxid getrocknet.

Ausbeute: 3.95 g (16.7 mmol, 91 %)

Schmelzpunkt: 137°C (Dioxan/Wasser)

$[\alpha]_{\text{D}} = -39.2$ ($c = 1$, CHCl_3 , Lit.: -42 ^[262])

Die NMR-Daten stimmen mit der Literatur überein^[220].

(S)-N-tert-Butyloxycarbonyl-2-amino-3-phenylpropanol (83)

Nach AAV 5 werden 2.72 g von Verbindung **78** (18 mmol) in einer Mischung aus 35 ml Dioxan und 5 ml Wasser gelöst und mit 4.37 g Boc_2O (20 mmol) umgesetzt. Nach 16 h wird mit 50 ml DCM verdünnt und mit 10 ml 1 M Salzsäure, gesättigter NaHCO_3 -Lösung und Wasser gewaschen. Nach Trocknen über Na_2SO_4 wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der erhaltene weiße Feststoff kann direkt weiter umgesetzt werden.

FAB-MS: $m/z = 252.1$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 196.1 $(\text{M}-\text{C}(\text{CH}_3)_3)^+$, 152.1 $[\text{M}-\text{Boc}]^+$

^1H -NMR (CDCl_3): $\delta = 1.41$ (s, 9H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 2.64 (bs, 1H, *OH*), 2.83 (d, 1H, $J=7.1$ Hz, Phenyl-*CH*₂), 3.54 (dd, 1H, $^2J=11.2$ Hz, $^3J=5.2$ Hz, *CH*₂*a-OH*), 3.66 (dd, 1H, $^3J=3.5$ Hz, *CH*₂*b-OH*), 3.87

(bs, 1H, NH-CH), 4.83 (bs, 1H, NH), 7.20-7.31 (m, 5H, Phenyl).

^{13}C -NMR (CDCl_3): $\delta = 28.3$ ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 37.4 (Phenyl- CH_2), 53.7 (NH-CH), 64.2 ($\text{CH}_2\text{-OH}$), 79.7 ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 126.5, 128.5, 129.3, 137.8 (Phenyl), 156.1 (CO).

(S)-*N*-Benzyloxycarbonyl-2-amino-3-phenylpropanol (84)

Nach AAV 6 werden 4.67 g von Verbindung **78**^[265] (30.9 mmol) mit 4.79 ml Chlorameisensäurebenzylester (34 mmol) umgesetzt. Nach Kristallisation aus Ethylacetat / Petrolether 1:4 erhält man einen weißen Feststoff.

Ausbeute: 7.56 g (26.6 mmol, 86 %)

FAB-MS: $m/z = 286.1$ $[\text{M}+\text{H}]^+$

^1H -NMR (CDCl_3): $\delta = 2.05$ (s, 1H, OH), 2.85 (d, 2H, $J=7.1$ Hz, Phenyl- $\text{CH}_2\text{-CH}$), 3.57 (dd, 1H, $^2J=11.1$ Hz, $^3J=4.9$ Hz, $\text{CH}_2a\text{-OH}$), 3.67 (dd, 1H, $^3J=3.1$ Hz, $\text{CH}_2b\text{-OH}$), 3.95 (s, 1H, NH-CH), 5.01 (d, 1H, $J=5.1$ Hz, NH), 5.07 (s, 2H, Phenyl- CH_2), 7.18-7.37 (m, 10H, Phenyl).

^{13}C -NMR (CDCl_3): $\delta = 37.4$ (Phenyl- $\text{CH}_2\text{-CH}$), 54.2 (NH-CH), 64.1 ($\text{CH}_2\text{-OH}$), 66.9 (Phenyl- CH_2), 126.7, 128.2, 128.3, 128.6, 128.7, 129.4, 136.4, 137.6 (Phenyl), 156.6 (CO).

(S)-*N*-tert-Butyloxycarbonyl-2-amino-2-phenylethyltosylat (85)

Nach AAV10 gibt man zu einer Lösung von 0.95 g (S)-*N*-tert-Butyloxycarbonyl-2-amino-2-phenylethanol (4 mmol) in 20 ml DCM_{abs} bei 0°C 836 μl Triethylamin (16 mmol) und anschließend 0.8 g *p*-Toluolsulfonsäurechlorid (4.2 mmol). Nach 30 min lässt man auf RT erwärmen und rührt für weitere 15 h. Nach Beenden der Reaktion gibt man 20 ml H_2O zu und trennt die organische Phase ab. Die wässrige Phase wird noch zweimal mit DCM gewaschen und die vereinigten organischen Phasen anschließend mit 20%iger Zitronensäurelösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach trocknen über MgSO_4 und entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wird mittels Flash-Chromatographie aufgereinigt (PE:EA 6:1 \rightarrow PE:EA 1:1)

Ausbeute: 1.29 g (3.28 mmol, 82 %)

Schmelzpunkt: 111°C (Petrolether / Ethylacetat)

$[\alpha]_{\text{D}} = +6.0$ ($c = 1$, CHCl_3)

FAB-MS: $m/z = 336.0$ ($\text{M}-\text{C}(\text{CH}_3)_3+\text{H}]^+$, 292.1 $[\text{M}-\text{Boc}+\text{H}]^+$

^1H -NMR (CDCl_3): $\delta = 1.42$ (s, 9H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 2.45 (s, 3H, Tosyl- CH_3), 4.20-4.28 (m, 2H, $\text{SO}_2\text{-O-CH}_2$), 4.93 (bs, 1H, NH-CH), 5.18 (bd, 1H, NH), 7.21 (d, 2H, Phenyl), 7.22-7.31 (m, 5H, Phenyl), 7.67 (d, 2H, Phenyl).

^{13}C -NMR (CDCl_3): $\delta = 21.9$ (Tosyl- CH_3), 28.5 ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 53.7 (NH-CH), 71.8 ($\text{SO}_2\text{-O-CH}_2$), 80.4

(-C(CH₃)₃), 126.9, 128.1, 128.3, 129.0, 130.2, 132.7, 138.0, 145.2 (Aryl), 155.2 (CO).

(S)-*N*-Benzyloxycarbonyl-2-amino-2-phenylethylmesylat (86)

Durchführung nach AAV 6 mit 10 g von Verbindung **80** (36.9 mmol), 3.14 ml Methansulfonsäurechlorid (40.6 mmol) und 5.92 ml Triethylamin (42.4 mmol). Nach Kristallisation aus Ethylacetat / n-Hexan 3:7 erhält man einen weißen Feststoff.

Ausbeute: 12.61 g (36.2 mmol, 98 %)

Schmelzpunkt: 131°C (n-Hexan/Ethylacetat)

$[\alpha]_D = +21.2$ (c = 1, CHCl₃)

FAB-MS: m/z = 350.1 [M+H]⁺

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 2.86 (s, 3H, SO₂-CH₃), 4.44-4.48 (m, 2H, SO₂-O-CH₂), 5.09-5.17 (m, 3H, NH-CH, Phenyl-CH₂), 5.51 (d, 1H, NH), 7.32-7.39 (m, 10H, Phenyl).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 37.5 (SO₂-CH₃), 54.2 (NH-CH), 67.3 (Phenyl-CH₂), 70.9 (SO₂-O-CH₂), 126.8, 128.3, 128.4, 128.6, 128.6, 129.1, 136.2, 137.3 (Phenyl), 155.8 (CO).

(R)-*N-tert*-Butyloxycarbonyl-2-amino-2-phenylethyltosylat (87)

Nach AAV 10 werden 3.95 g (*R*)-*N-tert*-Butyloxycarbonyl-2-amino-2-phenylethanol (16.7 mmol) mit 3.48 g *p*-Toluolsulfonsäurechlorid (17.5 mmol) und 2.44 ml DIPEA (17.5 mmol) bei RT umgesetzt. Nach 48 h wird die Reaktion abgebrochen und mit Wasser, 20%iger Zitronensäure-Lösung und erneut Wasser gewaschen. Nach Trocknen über MgSO₄ wird aus Petrolether / Ethylacetat 5:2 kristallisiert.

Ausbeute: 1.79 g (4.6 mmol, 28 %)

Schmelzpunkt: 107°C (Petrolether/Ethylacetat)

$[\alpha]_D = -16.4$ (c = 1, CHCl₃)

FAB-MS: m/z = 392.0 [M+H]⁺, 336.0 (M-C(CH₃)₃)⁺, 292.0 [M-Boc+H]⁺, 275.0 [M-Boc-NH₂]⁺

Die NMR-Daten stimmen mit der Literatur überein^[220].

(R)-*N*-Benzyloxycarbonyl-2-amino-2-phenylethylmesylat (88)

Nach AAV 11 werden 6.78 g von Verbindung **82**^[247] (25 mmol) mit 2.01 ml Methansulfonsäurechlorid (26 mmol) und 3.83 ml Triethylamin (27.5 mmol) in 100ml absolutem DCM umgesetzt. Nach Kristallisation aus Petrolether/Ethylacetat 8:5 erhält man weiße Kristalle.

Ausbeute: 5.77 g (16.5 mmol, 66 %)

Schmelzpunkt: 139°C (Petrolether / Ethylacetat)

Die NMR-Daten entsprechen der Verbindung **86**.

(S)-N-tert-Butyloxycarbonyl-2-amino-3-phenylpropyltosylat (**89**)

Nach AAV 10 werden 1.26 g von Verbindung **83** (5 mmol) in 25 ml trockenem DCM gelöst und mit 1.05 ml Triethylamin (7.5 mmol) und 1 g *p*-Toluolsulfonsäurechlorid (5 mmol) umgesetzt. Nach Kristallisation aus Petrolether:Ethylacetat 5:1 erhält man weiße Kristalle.

Ausbeute: 1.1 g (2.7 mmol, 54 %)

Schmelzpunkt: 113°C (Petrolether/Ethylacetat)

$[\alpha]_D = -12.7$ (c = 0.4, CHCl₃)

FAB-MS: m/z = 406.1 [M+H]⁺, 350.0 [M-C(CH₃)₃+H]⁺, 306.0 [M-Boc+H]⁺

Elementaranalyse: C₂₁H₂₇NO₅S (405,16)

berechnet:	C 62.20	H 6.71	N 3.45	S 7.91
gefunden:	C 62.26	H 6.70	N 3.33	S 7.74

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.39 (s, 9H, -C(CH₃)₃), 2.46 (s, 3H, Tosyl-CH₃), 2.77 (dd, 1H, ²J=14.0 Hz, ³J=8.2 Hz, Phenyl-CH₂a), 2.86 (dd, 1H, ³J=6.0 Hz, Phenyl-CH₂b), 3.88-3.90 (m, 2H, SO₂-O-CH₂), 4.01 (bs, 1H, NH-CH), 4.72 (d, 1H, J=7.0 Hz, NH), 7.07 (d, 2H, Phenyl), 7.08-7.24 (m, 3H, Phenyl), 7.34 (d, 2H, Tosyl), 7.78 (d, 2H, Tosyl).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 21.6 (Tosyl-CH₃), 28.2 (-C(CH₃)₃), 37.1 (Phenyl-CH₂), 50.8 (NH-CH), 67.0 (SO₂-O-CH₂), 80.0 (-C(CH₃)₃), 126.7, 128.0, 128.6, 129.2, 129.9, 132.5 (Aryl), 145.0 (CO).

(S)-N-Benzoyloxycarbonyl-2-amino-3-phenylpropylmesylat (**90**)

Durchführung nach AAV 11 mit 7.56 g von Verbindung **84** (26.5 mmol), 2.14 ml Methansulfonsäurechlorid (27.6 mmol) und 4.07 ml Triethylamin (29.2 mmol). Nach Kristallisation aus n-Hexan/Ethylacetat 5:2 erhält man weiße Kristalle.

Ausbeute: 8.96 g (24.6 mmol, 93 %)

Schmelzpunkt: 108°C (109-110°C)^[263]

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 2.86-2.92 (m, 2H, Phenyl-CH₂-CH), 2.96 (s, 3H, SO₂-CH₃), 4.10-4.26 (m, 3H, NH-CH, SO₂-O-CH₂), 5.02 (d, 1H, NH), 5.08 (s, 2H, Phenyl-CH₂), 7.19-7.37 (m, 10H, Phenyl).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 37.1 (Phenyl-CH₂-CH), 37.3 (SO₂-CH₃), 51.5 (NH-CH), 67.0 (Phenyl-CH₂), 69.6 (SO₂-O-CH₂), 127.1, 128.2, 128.3, 128.6, 128.9, 129.3, 1236.3, 136.4 (Phenyl), 155.7 (CO).

(S)-(N-tert-Butyloxycarbonyl-2-amino-2-phenylethyl)-2,3,4,6-tetra-O-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosid (91)

a) Umsetzung in DMF mit K₂CO₃ als Base

Zu einer Lösung von 1.09 g 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranose (3 mmol) und 1.17 g (S)-N-tert-Butyloxycarbonyl-2-amino-2-phenylethyltosylat (3 mmol) in 50 ml trockenem DMF gibt man 2.49 g Kaliumcarbonat (18 mmol). Nach 18 h bei RT wird mit 100 ml DCM verdünnt und mit 100 ml H₂O gewaschen. Die organische Phase wird über Na₂SO₄ getrocknet und das DCM im Vakuum entfernt. Die reine Verbindung wird durch Kristallisation aus Petrolether:Ethylacetat 2:1 gewonnen. Man erhält einen weißen Feststoff.

Ausbeute: 1.2 g (2.06 mmol, 69 %)

b) Umsetzung in Acetonitril mit DIPEA als Base

Zu einer Lösung von 1.09 g 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranose (3 mmol) und 1.17 g (S)-N-tert-Butyloxycarbonyl-2-amino-2-phenylethyltosylat (3 mmol) in 45 ml trockenem Acetonitril gibt man 2.56 ml DIPEA (15 mmol). Nach 24 h wird die Reaktion abgebrochen und das Acetonitril im Vakuum entfernt. Man nimmt den Rückstand in 100 ml DCM auf und wäscht mit 1M HCl-Lösung, gesättigter NaHCO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung. Nach Trocknen über MgSO₄ wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand durch Kristallisation aus Petrolether : Ethylacetat 2:1 aufgereinigt. Man erhält einen weißen Feststoff.

Ausbeute: 1.25 g (2.19 mmol, 73 %)

c) Darstellung nach Mitsunobu

Zu einer Lösung von 1.51 g ADDP (6 mmol) in 75 ml trockenem THF gibt man bei 0°C tropfenweise 6 ml einer 1 M Lösung von Trimethylphosphin. Nachdem sich die Reaktionslösung entfärbt hat, gibt man langsam eine Lösung von 0.95 g von Verbindung **79** (4 mmol) in 15 ml absolutem THF dazu und rührt für 15 min. Nachdem sich ein weißer Niederschlag gebildet hat, wird auf RT erwärmt und 1.46 g 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranose (4 mmol) zugegeben. Nach 1 h wird die Reaktion abgebrochen und das THF im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird bei 55°C in Ethylacetat aufgenommen und mit Petrolether versetzt. Der sich bildende Niederschlag von Trimethylphosphinoxid wird abfiltriert und verworfen und die Prozedur dann noch weitere zweimal wiederholt. Anschließend wird das Ethylacetat im Vakuum entfernt und das erhaltene gelbliche Öl säulenchromatographisch gereinigt (PE:EA 1:1). Man erhält einen weißen Feststoff.

Ausbeute: 0.86 g (1.48 mmol, 37 %)

Schmelzpunkt: 151°C (n-Hexan/Ethylacetat)

FAB-MS: $m/z = 584.2 [M+H]^+$, $528.1 [M-C(CH_3)_3+H]^+$, $484.1 [M-Boc+H]^+$, 331.1
[Glykosylkation]

$[\alpha]_D = +2.2$ ($c = 4$, $CHCl_3$)

1H -NMR ($CDCl_3$): $\delta = 1.42$ (s, 9H, $-C(CH_3)_3$), 1.99 (s, 3H, $-COCH_3$), 2.03 (s, 6H, $-COCH_3$), 2.12 (s, 3H, $-COCH_3$), 2.98 (dd, 1H, $^2J=13.5$ Hz, $^3J=4.5$ Hz, S- CH_2a), 3.14 (dd, 1H, $^3J=5.9$ Hz, S- CH_2b), 3.66 - 3.70 (m, 1H, H-5), 4.22 (dd, 1H, $J_{6a-6b}=12.4$ Hz, $J_{5-6a}=2.0$ Hz, H-6a), 4.31 (dd, 1H, $J_{5-6b}=4.3$ Hz, H-6b), 4.38 (d, 1H, $J_{1-2}=10.1$ Hz, H-1), 4.87 (bs, 1H, NH-CH), 4.99 (t, 1H, $J_{2-3}=9.3$ Hz, H-2), 5.11 (t, 1H, $J_{3-4}=J_{4-5}=9.6$ Hz, H-4), 5.17 (t, 1H, H-3), 5.61 (bs, 1H, NH), 7.29 - 7.36 (m, 5H, Phenyl).

^{13}C -NMR ($CDCl_3$): $\delta = 20.5$, 20.6 , 20.7 (CO- CH_3), 28.3 ($-C(CH_3)_3$), 36.7 (S- CH_2), 54.1 (NH-CH), 61.7 (C-6), 67.9 (C-4), 69.7 (C-2), 73.6 (C-3), 75.9 (C-5), 79.7 ($-C(CH_3)_3$), 83.3 (C-1), 126.3 , 127.6 , 128.6 (Phenyl), 155.1 , 169.3 , 170.1 , 170.6 (CO).

(S)-(N-Benzyloxycarbonyl-2-amino-2-phenylethyl)-2,3,4,6-tetra-O-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosid (92)

Zu einer Lösung von 2.91 g 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranose (8 mmol) in 100 ml DMF_{abs} gibt man bei 0°C 3.59 ml DBU (24 mmol). Anschließend werden 2.80 g (S)-N-Benzyloxycarbonyl-2-amino-2-phenylethylmesylat in 15 ml DMF_{abs} gelöst und zugetropft. Zunächst wird 2 h bei 0°C, anschließend weitere 18 h bei RT gerührt. Nach Beendigung der Reaktion wird mit 250 ml DCM verdünnt, und mit destilliertem Wasser, 1M Salzsäure, gesättigter $NaHCO_3$ -Lösung und gesättigter $NaCl$ -Lösung gewaschen. Nach Trocknen über Na_2SO_4 und entfernen des DCM im Vakuum wird verbleibendes DMF mit Toluol coevaporiert. Der erhaltene Rückstand wird säulenchromatographisch gereinigt (PE:EA 1:1). Man erhält einen weißen Feststoff.

Ausbeute: 4.08 g (6.61 mmol, 83 %)

Schmelzpunkt: 54°C (Petrolether/Ethylacetat)

FAB-MS: $m/z = 618.2 [M+H]^+$, 331.1 [Glykosylkation]

$[\alpha]_D = -8.6$ ($c = 1$, $CHCl_3$)

1H -NMR ($CDCl_3$): $\delta = 1.98$ (s, 3H, $-COCH_3$), 2.02 (s, 6H, $-COCH_3$), 2.04 (s, 3H, $-COCH_3$), 2.99 (dd, 1H, $^2J=14.4$ Hz, $^3J=5.3$ Hz, S- CH_2a), 3.14 (dd, 1H, $^3J=6.1$ Hz, S- CH_2b), 3.58 - 3.63 (m, 1H, H-5), 4.17 (bs, 2H, H-6), 4.35 (d, 1H, $J_{1-2} = 10.1$ Hz, H-1), 4.97 (t, 1H, $J_{2-3}=9.4$ Hz, H-2), 4.93 - 5.00 (m, 1H, NH-CH), 5.06 (t, 1H, $J_{3-4}=J_{4-5}=9.3$ Hz, H-4), 5.09 (s, 2H, Phenyl- CH_2), 5.10 (t, 1H, H-3), 5.95 (d, 1H, $J=6.0$ Hz, NH), 7.28 - 7.34 (m, 10H, Phenyl).

^{13}C -NMR (CDCl_3): $\delta = 20.6, 20.6, 20.7, 21.1$ (CO- CH_3), 36.8 (S- CH_2), 54.6 (NH-CH), 62.0 (C-6), 67.2 (Phenyl- CH_2), 67.9 (C-4), 69.7 (C-2), 73.6 (C-3), 76.0 (C-5), 83.4 (C-1), $126.4, 127.8, 128.3, 128.4, 128.6, 128.9, 129.0, 136.4$ (Phenyl), $155.7, 169.4, 170.1, 170.6$ (CO).

***N*-tert-Butyloxycarbonyl-*N'*-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparaginsäureamid- β -benzylester (93)**

1.) Entfernen der Boc-Schutzgruppe

Bei 0°C werden nach AAV 7 zu einer Lösung von 1.75 g von Verbindung **91** (3 mmol) in 9 ml DCM 6 ml TFA gegeben. Nach 1 h bei 0°C wird für eine weitere Stunde bei RT gerührt. Anschließend wird das DCM im Vakuum entfernt und so oft mit Toluol coevaporiert, bis alle TFA entfernt ist. Man erhält einen bräunlichen Feststoff, der direkt weiter umgesetzt wird.

2.) Kupplung mit Verbindung **12**

1.49 g der aus 1.) erhaltenen Verbindung (2.5 mmol) werden in 20 ml Ethylacetat gelöst. Anschließend gibt man 1.22 g Boc-Asp(OBn)-OPfp (2.5 mmol) und 854 μl DIPEA (5 mmol) hinzu. Nach 2.5 h wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand aus Ethanol kristallisiert.

Ausbeute: 1.94 g (2.46 mmol, 99 %)

$R_f = 0.26$ (PE:EA 1:1)

Schmelzpunkt: 62°C (Ethanol)

Elementaranalyse: $\text{C}_{38}\text{H}_{48}\text{N}_2\text{O}_{14}\text{S}$ (788.28)

berechnet:	C 57.86	H 6.13	N 3.55	S 4.06
gefunden:	C 58.16	H 6.28	N 3.41	S 3.78

$[\alpha]_D = -20.2$ ($c = 1, \text{CH}_2\text{Cl}_2$)

^1H -NMR (CDCl_3): $\delta = 1.42$ (s, 9H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.99 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.02 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.04 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.09 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.79 (dd, 1H, $^2J=17.1$ Hz, $^3J=6.6$ Hz, NH-CH- CH_2a -COO), 2.94 - 3.01 (m, 2H, S- CH_2a , NH-CH- CH_2b -COO), 3.16 (dd, 1H, $^2J=14.0$ Hz, $^3J=6.5$ Hz, S- CH_2b), 3.59 (bd, 1H, H-5), 4.16 - 4.25 (m, 2H, H-6), 4.31 (d, 1H, $J_{1-2} = 9.8$ Hz, H-1), 4.55 (bs, 1H, NH-CH- CH_2 -COO), 4.96 (t, 1H, $J_{2-3}=9.5$ Hz, H-2), 5.05 (t, 1H, $J_{3-4}=J_{4-5}=9.5$ Hz, H-4), 5.11 - 5.18 (m, 4H, Phenyl-CH, H-3, Phenyl- CH_2), 5.68 (bd, 1H, NH-CH- CH_2 -COO), 7.22 (d, 1H, NH-CH-Phenyl), 7.27 - 7.28 (m, 10H, Phenyl).

^{13}C -NMR (CDCl_3): $\delta = 20.5, 20.6, 20.6, 20.7$ (CO- CH_3), 28.2 ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 35.1 (S- CH_2), 35.9 (NH-CH- CH_2 -COO), 50.6 (NH-CH- CH_2 -COO), 53.0 (S- CH_2 -CH), 61.8 (C-6), 66.9 (Phenyl- CH_2), 68.0

(C-4), 69.8 (C-2), 73.7 (C-3), 75.9 (C-5), 80.5 ($-C(CH_3)_3$), 82.5 (C-1), 126.4 127.9, 128.2, 128.4, 128.6, 128.7, 135.4, 139.9 (Phenyl), 155.6, 169.3, 169.4, 170.0, 170.1, 170.7, 171.7 (CO).

***N*-Fluorenylmethoxycarbonyl-*N'*-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparaginsäureamid- β -*tert*-butylester (94)**

Zu einer Lösung von 1.2 g des aus 1.) Verbindung **93** gewonnenen Salzes (2 mmol) in 10 ml Ethylacetat gibt man 683 μ l DIPEA (4 mmol) und 1.16 g Fmoc-Asp(O*t*Bu)-OPfp (2 mmol). Nach 30 min wird das entstandene weiße Produkt abfiltriert.

Ausbeute: 0.71 g (0.8 mmol, 40 %)

FAB-MS: $m/z = 877.3 [M+H]^+$, $821.2 [M-C(CH_3)_3+H]^+$

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein^[172].

(*R*)-(*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-2-amino-2-phenylethyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosid (95)

Unter Schutzgas werden 1.53 g 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranose (4.2 mmol) in 50 ml trockenem Acetonitril gelöst. Anschließend gibt man 3.56 ml DIPEA (21 mmol) und 1.66 g (*R*)-*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-2-amino-2-phenylethyltosylat (4.2 mmol) zu und lässt 18 h rühren. Nach Beendigung der Reaktion wird das Acetonitril im Vakuum entfernt, der Rückstand in DCM aufgenommen und mit 0.5 M Salzsäure, gesättigter $NaHCO_3$ -Lösung und destilliertem Wasser gewaschen. Nach Trocknen über $MgSO_4$ wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (PE:EA 2:1) gereinigt.

Ausbeute: 1.46 g (2.5 mmol, 60 %)

Schmelzpunkt: 136°C (Ethylacetat/Petrolether)

FAB-MS: $m/z = 584.1 [M+H]^+$, $528.1 [M-C(CH_3)+H]^+$, $484.1 [M-Boc+H]^+$

FT-ICR-MS: $[M+Na]^+$

berechnet:	m/z	606.19795	
gefunden:	m/z	606.198264	relative Massenabweichung: 0.52 ppm

Elementaranalyse: $C_{27}H_{37}NO_{11}S$ (583.21)

berechnet:	C 55.56	H 6.39	N 2.40	S 5.49
gefunden:	C 55.31	H 6.41	N 2.27	S 5.19

$[\alpha]_D = -47.6$ ($c = 0.5$, $CHCl_3$)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.42$ (s, 9H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 2.00 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.03 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.06 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.09 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.97 (dd, 1H, $^2J=13.9$ Hz, $^3J=8.0$ Hz, S- CH_2a), 3.13 (dd, 1H, $^3J=5.6$ Hz, S- CH_2b), 3.68-3.72 (m, 1H, H-5), 4.18 (dd, 1H, $J_{6a-6b}=12.4$ Hz, $J_{5-6a}=2.3$ Hz, H-6a), 4.24 (dd, 1H, $J_{5-6b}=5.2$ Hz, H-6b), 4.40 (d, 1H, $J_{1-2} = 10.1$ Hz, H-1), 4.86 (bs, 1H, NH-CH), 5.03 (t, 1H, $J_{2-3}=9.5$ Hz, H-2), 5.06 (t, 1H, $J_{3-4}=J_{4-5}=9.5$ Hz, H-4), 5.19 (t, 1H, H-3), 5.41 (bs, 1H, NH), 7.27-7.36 (m, 5H, Phenyl).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 20.5$, 20.7, 20.7 (CO- CH_3), 28.3 ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 36.6 (S- CH_2), 54.1 (NH-CH), 62.2 (C-6), 68.3 (C-4), 69.6 (C-2), 73.6 (C-3), 76.1 (C-5), 79.6 ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 83.1 (C-1), 126.3, 127.7, 128.6 (Phenyl), 155.1, 169.4, 169.6, 170.1, 170.6 (CO).

N-tert-Butyloxycarbonyl-N'-2-[(R)-1-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparaginsäureamid- β -benzylester (96)

1.) Entfernen der Boc-Schutzgruppe

Nach AVV 7 werden 1.46 g von Verbindung **95** (2.5 mmol) in 7.5 ml DCM gelöst und auf 0°C gekühlt. Nach Zugabe von 5 ml TFA wird zunächst eine Stunde bei 0°C , anschließend weitere 1.5 h bei RT gerührt. Das DCM wird im Vakuum entfernt und verbleibende TFA mit Toluol coevaporiert. Nach Trocknen am Hochvakuum wird der bräunliche Feststoff direkt weiter umgesetzt.

Ausbeute: 1.49 g (2.5 mmol, 100 %)

2.) Kupplung mit Verbindung **12**

Zu einer Lösung von 1.49 g des aus 1.) gewonnen Salzes (2.5 mmol) in 10 ml trockenem Ethylacetat werden unter Schutzgas 1.22 g Boc-Asp(OBn)-OPfp (2.5 mmol) und 0.85 ml DIPEA (5 mmol) gegeben. Nach 24 h wird das Lösemittel im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (PE:EA 2:1).

Ausbeute: 1.28 g (1.62 mmol, 65 %)

Schmelzpunkt: 132°C (Ethylacetat/Petrolether)

FT-ICR-MS: $[\text{M}+\text{Na}]^+$

berechnet:	m/z	811.27185	
gefunden:	m/z	811.27171	relative Massenabweichung: 0.17 ppm

FAB-MS: $m/z = 689.1$ $[\text{M}-\text{Boc}+\text{H}]^+$

Elementaranalyse: $\text{C}_{38}\text{H}_{48}\text{N}_2\text{O}_{14}\text{S}$ (788.28)

berechnet:	C 57.86	H 6.13	N 3.55	S 4.06
gefunden:	C 58.06	H 6.09	N 3.59	S 3.83

$[\alpha]_D = -36.5$ ($c = 1$, CHCl_3)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.45$ (s, 9H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.99 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.00 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.06 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.07 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.72 (dd, 1H, $^2J=17.6$ Hz, $^3J=6.3$ Hz, $\text{NH-CH-CH}_2\text{a-COO}$), 3.01-3.07 (m, 2H, $\text{NH-CH-CH}_2\text{b-COO}$, $\text{S-CH}_2\text{a}$), 3.11 (dd, 1H, $^2J=13.5$ Hz, $^3J=6.3$ Hz, $\text{S-CH}_2\text{b}$), 3.70-3.71 (m, 1H, H-5), 4.18 (dd, 1H, $J_{6\text{a-6b}}=12.4$ Hz, $J_{5-6\text{a}}=2.0$ Hz, H-6a), 4.23 (dd, 1H, $J_{5-6\text{b}}=4.8$ Hz, H-6b), 4.48 (d, 1H, $J_{1-2}=9.8$ Hz, H-1), 4.54 (bs, 1H, $\text{NH-CH-CH}_2\text{-COO}$), 5.00 (t, 1H, $J_{2-3}=9.6$ Hz, H-2), 5.05 (t, 1H, $J_{3-4}=J_{4-5}=9.9$ Hz, H-4), 5.07 (d, 2H, $J_{\text{a-b}}=12.3$ Hz, $\text{Phenyl-CH}_2\text{a}$), 5.13 (d, 2H, $\text{Phenyl-CH}_2\text{b}$), 5.12 (bs, 1H, NH-CH-Phenyl), 5.22 (t, 1H, H-3), 5.68 (d, 1H, $\text{NH-CH-CH}_2\text{-COO}$), 7.11 (d, 1H, NH-CH-Ph), 7.28-7.34 (m, 10H, Phenyl).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 20.5$, 20.6, 20.7 (CO-CH_3), 28.2 ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 35.6 ($\text{NH-CH-CH}_2\text{-COO}$), 36.1 (S-CH_2), 50.7 ($\text{NH-CH-CH}_2\text{-COO}$), 52.9 (Ph-CH), 62.0 (C-6), 66.9 (Phenyl-CH_2), 68.3 (C-4), 69.9 (C-2), 73.6 (C-3), 76.0 (C-5), 80.5 ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 83.2 (C-1), 126.5, 127.9, 128.2, 128.4, 128.6, 128.8, 135.3, 140.0 (Phenyl), 169.4, 169.6, 170.1, 170.1, 170.6, 171.7 (CO).

(S)-(N-tert-Butyloxycarbonyl-2-amino-3-phenylpropyl)-2,3,4,6-tetra-O-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosid (97)

Zu einer Lösung von 988 mg 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranose (2.71 mmol) in DMF_{abs} gibt man unter Inertbedingungen zunächst 2.22 ml DIPEA (13 mmol) und nach 5 min 1.1 g (S)-N-tert-Butyloxycarbonyl-2-amino-3-phenylpropyltosylat (2.71 mmol). Nach 20 h wird die Lösung mit 100 ml destilliertem Wasser verdünnt und dreimal mit insgesamt 100 ml DCM gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 0.5 M Salzsäure, gesättigter NaHCO_3 -Lösung und gesättigter NaCl -Lösung gewaschen. Anschließend wird über MgSO_4 getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und noch vorhandenes DMF mit Toluol coevaporiert. Die Reinigung erfolgt säulenchromatographisch (PE:EA 2:1 \rightarrow PE:EA 1:1). Man erhält einen weißen Feststoff.

Ausbeute: 0.9 g (1.49 mmol, 55 %)

Schmelzpunkt: 54°C (Ethylacetat/Petrolether)

FAB-MS: $m/z = 598.0$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 542.0 $[\text{M}-\text{C}(\text{CH}_3)_3]^+$, 498.0 $[\text{M}-\text{Boc}+\text{H}]^+$, 406.0 $[\text{M}-\text{Boc}-\text{Benzyl}]^+$

FT-ICR-MS: $[\text{M}+\text{Na}]^+$

berechnet: m/z 620.21360

gefunden: m/z 620.213317

relative Massenabweichung: 0.46 ppm

$[\alpha]_D = +13.0$ ($c = 0.5$, CHCl_3)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.43 (s, 9H, -C(CH₃)₃), 2.01 (s, 3H, -COCH₃), 2.03 (s, 3H, -COCH₃), 2.05 (s, 3H, -COCH₃), 2.06 (s, 3H, -COCH₃), 2.72-2.94 (m, 4H, S-CH₂, Phenyl-CH₂), 3.73-3.75 (m, 1H, H-5), 4.06 (bs, 1H, NH-CH), 4.24-4.28 (m, 2H, H-6), 4.49 (d, 1H, J₁₋₂=10.1 Hz, H-1), 5.02 (t, 1H, J₂₋₃=9.4 Hz, H-2), 5.12 (t, 1H, J₃₋₄=J₄₋₅=9.5 Hz, H-4), 5.21 (t, 1H, H-3), 5.30 (d, 1H, NH), 7.19-7.23 (m, 5H, Phenyl).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 20.5, 20.6, 20.6, 20.7 (CO-CH₃), 28.3 (-C(CH₃)₃), 35.8 (S-CH₂), 38.8 (Phenyl-CH₂), 51.4 (NH-CH), 61.8 (C-6), 67.9 (C-4), 70.1 (C-2), 73.7 (C-3), 75.8 (C-5), 79.5 (-C(CH₃)₃), 85.2 (C-1), 126.5, 128.5, 129.3, 137.6 (Phenyl), 155.1, 169.3, 169.4, 170.1, 170.5 (CO).

(S)-(N-Benzyloxycarbonyl-2-amino-3-phenylpropyl)-2,3,4,6-tetra-O-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosid (98)

Zu einer Lösung von 5.47 g 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranose (15 mmol) in 100 ml DMF_{abs} gibt man bei 0°C 2.99 ml DBU (20 mmol) und anschließend spatelweise 5.45 g (S)-N-Benzyloxycarbonyl-2-amino-3-phenylpropylmesylat (15 mmol). Es wird auf RT erwärmt und 20 h gerührt. Nach Beendigung der Reaktion wird mit 250 ml Ethylacetat verdünnt und zweimal mit destilliertem Wasser, 1M Salzsäure, gesättigter NaHCO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknen über Na₂SO₄ und entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wird der erhaltene Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (PE:EA 1:1).

Ausbeute: 8.39 g (13.28 mmol, 89 %)

FAB-MS: m/z = 632.3 [M+H]⁺, 331.1 [Glykosylkation]

FT-ICR-MS: [M+Na]⁺

berechnet:	m/z	654.19850	
gefunden:	m/z	620.198749	relative Massenabweichung: 0.38 ppm

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.96 (s, 3H, -COCH₃), 2.00 (s, 3H, -COCH₃), 2.02 (s, 3H, -COCH₃), 2.04 (s, 3H, -COCH₃), 2.06 (s, 3H, -COCH₃), 2.80 (d, 2H, J=4.1 Hz, NH-CH-CH₂), 2.87 (dd, 1H, ²J=14.1 Hz, ³J=8.6 Hz, S-CH₂a), 2.96 (d, 1H, S-CH₂b), 3.50-3.53 (m, 1H, H-5), 4.00 (dd, 1H, J_{6a-6b}=12.5 Hz, J_{5-6a}=4.6 Hz, H-6a), 4.09-4.21 (m, 2H, NH-CH, H-6b), 4.37 (d, 1H, J₁₋₂=10.1 Hz, H-1), 4.97 (t, 1H, J₂₋₃=9.5 Hz, H-2), 5.01-5.08 (m, 3H, H-4, Phenyl-CH₂), 5.14 (t, 1H, H-3), 5.62 (d, 1H, NH), 7.18-7.38 (m, 10H, Phenyl).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 20.6, 20.7, 20.7, 20.8 (CO-CH₃), 36.0 (NH-CH-CH₂), 38.8 (S-CH₂), 52.0 (NH-CH), 61.7 (C-6), 66.8 (Phenyl-CH₂), 68.0 (C-4), 70.1 (C-2), 73.7 (C-3), 75.8 (C-5), 85.4 (C-1), 126.7, 128.5, 128.6, 128.6, 128.7, 128.7, 129.3, 129.4, 136.5, 137.5 (Phenyl), 155.7, 169.4, 169.4, 170.2, 170.6 (CO).

***N*-tert-Butyloxycarbonyl-*N'*-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -*D*-glucopyranosyl)-3-phenylpropyl]-*L*-asparaginsäureamid- β -benzylester (**99**)**

1.) Entfernen der Amino-Schutzgruppe

a) Entfernen der Boc-Schutzgruppe

Nach AAV 7 werden 0.85 g von Verbindung **97** (1.42 mmol) in 5 ml DCM gelöst und auf 0°C gekühlt. Nach Zugabe von 3 ml TFA wird zunächst eine Stunde bei 0°C, anschließend weitere 1.5 h bei RT gerührt. Das DCM wird im Vakuum entfernt und verbleibende TFA mit Toluol coevaporiert. Nach Trocknen am Hochvakuum wird der bräunliche Feststoff direkt weiter umgesetzt.

b) Entfernen der Z-Schutzgruppe

Nach AAV 8 werden 8.39 g von Verbindung **98** (13.3 mmol) in 100 ml EtOH gelöst und mit 915 μ l Essigsäure (16 mmol) versetzt. Im Schutzgasgegenstrom werden 250 mg Pd/C zugegeben und anschließend unter Wasserstoffatmosphäre gerührt. Nach 5 h wird der Katalysator über Celite abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der erhaltene weiße Feststoff kann ohne weitere Aufreinigung direkt weiter umgesetzt werden.

Ausbeute: 6.91 g (12.4 mmol, 93 %)

2.) Kupplung mit Verbindung **12**

Zu einer Lösung von 0.87 g des aus 1.) a) gewonnen Salzes (1.42 mmol) in 10 ml Ethylacetat werden 0.69 g Boc-Asp(OBn)-OPfp (**12**, 1.42 mmol) und 0.51 ml DIPEA (3 mmol) gegeben. Nach 4 h wird das Lösemittel im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (PE:EA 3:2 \rightarrow PE:EA 1:1).

Ausbeute: 1.01 g (1.26 mmol, 89 %)

Schmelzpunkt: 63°C (Ethylacetat/Petrolether)

FT-ICR-MS: [M+Na]⁺

berechnet:	m/z	825.28750	
gefunden:	m/z	825.28661	relative Massenabweichung: 1.1 ppm

Elementaranalyse: C₃₉H₅₀N₂O₁₄S (802.30)

berechnet:	C 58.34	H 6.28	N 3.49	S 3.99
gefunden:	C 58.35	H 6.27	N 3.52	S 3.52

$[\alpha]_D = -2.8$ (c = 0.5, CHCl₃)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.43 (s, 9H, -C(CH₃)₃), 2.00 (s, 3H, -COCH₃), 2.02 (s, 3H, -COCH₃), 2.03 (s, 3H, -COCH₃), 2.05 (s, 3H, -COCH₃), 2.67-3.00 (m, 6H, NH-CH-CH₂-COO, S-CH₂, NH-CH-CH₂-Ph), 3.73-3.76 (m, 1H, H-5), 4.15 (dd, 1H, J_{6a-6b}=12.4 Hz, J_{5-6a}=2.0 Hz, H-6a), 4.23 (dd, 1H, J_{5-6b}=4.9 Hz, H-6b), 4.23-4.29 (m, 1H, NH-CH-CH₂-Ph), 4.45 (bs, 1H, NH-CH-CH₂-COO), 4.59 (d, 1H, J₁₋₂=9.8 Hz, H-1), 4.99 (t, 1H, J₂₋₃=9.2 Hz, H-2), 5.07 (t, 1H, J₃₋₄=J₄₋₅=9.7 Hz, H-4), 5.13 (s, 2H, Phenyl-CH₂-O), 5.25 (t, 1H, H-3), 5.52 (bd, 1H, NH-CH-CH₂-COO), 6.62 (d, 1H, J=8.2 Hz, NH-CH-CH₂-S), 7.18-7.25 (m, 10H, Phenyl).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 20.5, 20.6, 20.6, 20.7 (CO-CH₃), 28.3 (-C(CH₃)₃), 33.4 (NH-CH-CH₂-COO), 36.2 (S-CH₂), 38.6 (Ph-CH₂-CH), 50.6 (NH-CH-CH₂-COO, NH-CH-CH₂-S), 62.0 (C-6), 66.8 (Phenyl-CH₂), 68.2 (C-4), 70.1 (C-2), 73.8 (C-3), 75.8 (C-5), 80.4 (-C(CH₃)₃), 83.4 (C-1), 126.8, 128.2, 128.3, 128.4, 128.6, 128.6, 129.3, 135.4, 137.0 (Phenyl), 169.3, 169.4, 170.1, 170.1, 170.6, 171.7 (CO).

(S)-(N-Benzyloxycarbonyl-2-amino-2-phenylethyl)-2,3,4,6-tetra-O-acetyl-1-thio-α-D-mannopyranosid (100)

3.64 g 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-1-thio-α-D-mannopyranose (10 mmol) und 4.49 ml DBU (30 mmol) werden in 90 ml DMF_{abs} gelöst und auf 0°C gekühlt. Anschließend gibt man tropfenweise in 10 ml DMF_{abs} gelöste 3.49 g (S)-N-Benzyloxycarbonyl-2-amino-2-phenylethylmesylat (10 mmol) hinzu. Nach 20 h wird mit 200 ml DCM verdünnt und mit destilliertem Wasser, 1M Salzsäure, gesättigter NaHCO₃-Lösung und NaCl-Lösung gewaschen. Im nächsten Schritt trocknet man über Na₂SO₄ und entfernt das DCM im Vakuum. Noch vorhandene Reste von DMF werden mit Toluol coevaporiert und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (PE:EA 3:2).

Ausbeute: 3.28 g (5.31 mmol, 53 %)

FAB-MS: m/z = 618.2 [M+H]⁺, 331.1 [Glykosylkation]

Elementaranalyse: C₃₀H₃₅NO₁₁S (617.67)

berechnet:	C 58.34	H 5.71	N 2.27	S 5.19
gefunden:	C 58.51	H 5.64	N 2.13	S 4.80

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.95 (s, 3H, -COCH₃), 1.97 (s, 3H, -COCH₃), 2.04 (s, 3H, -COCH₃), 2.13 (s, 3H, -COCH₃), 3.09 (dd, 1H, ²J=13.5 Hz, ³J=6.2 Hz, S-CH₂a), 3.23 (bd, 1H, S-CH₂b), 3.41-3.43 (m, 1H, H-5), 4.05-4.31 (m, 1H, H-6), 4.83 (db, 2H, J=9.4 Hz, Phenyl-CH₂), 4.92 (bs, 1H, NH-CH), 5.04-5.38 (m, 4H, H-2, H-3, H-4, H-1), 5.90 (bd, 1H, J=6.8 Hz, NH), 7.29-7.33 (m, 5H, Phenyl).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 20.7, 20.7, 20.8, 20.9 (CO-CH₃), 38.6 (S-CH₂), 54.4 (Ph-CH), 62.6 (C-6), 65.5 (Phenyl-CH₂), 69.3 (C-4), 70.7 (C-2), 71.8 (C-3), 76.6 (C-5), 82.8 (C-1), 128.0, 128.6, 128.9,

129.1, 136.4 (Phenyl), 155.8, 169.6, 169.9, 170.1, 170.7 (CO).

N-tert-Butyloxycarbonyl-N'-2-[(S)-1-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl-1-thio- α -D-mannopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparaginsäureamid- β -benzylester (101)

1.) Entfernen der Z-Schutzgruppe

Nach AAV 8 werden 3.28 g von Verbindung **100** (5.31 mmol) in 75 ml MeOH gelöst und mit 364 μ l Essigsäure (6.37 mmol) versetzt. Im Schutzgasgegenstrom werden 200 mg Pd auf Aktivkohle zugegeben und anschließend der Kolben mit Wasserstoff geflutet. Nach 9 h wird der Katalysator über Celite abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der erhaltene weiße Feststoff wird ohne Aufreinigung weiter umgesetzt.

Ausbeute: 2.54 g (4.67 mmol, 88 %)

2.) Kupplung mit Verbindung **12**

Zu einer Lösung von 2.55 g des aus 1.) gewonnenen Feststoffes (4.69 mmol) in 50 ml Ethylacetat gibt man 1.71 ml DIPEA (10 mmol) und 2.30 g Boc-Asp(OBn)-OPfp (4.69 mmol). Nach 6 h wird mit 1M Salzsäure, ges. NaHCO₃-Lösung und ges. NaCl-Lösung gewaschen. Anschließend trocknet man über Na₂SO₄, entfernt das Lösungsmittel im Vakuum und reinigt den Rückstand säulenchromatographisch auf (PE:EA 1:1).

Ausbeute: 2.99 g (3.79, 81 %)

FAB-MS: m/z = 789.3 [M+H]⁺, 689.1 [M-Boc+H]⁺, 331.1 [Glykosylkation]

FT-ICR-MS: [M+Na]⁺

berechnet:	m/z	811.27185	
gefunden:	m/z	811.27136	relative Massenabweichung: 0.33 ppm

Elementaranalyse: C₃₈H₄₈N₂O₁₄S (788.86)

berechnet:	C 57.86	H 6.13	N 3.55	S 4.06
gefunden:	C 57.70	H 6.17	N 3.55	S 3.87

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.41 (s, 9H, -C(CH₃)₃), 1.93 (s, 3H, -COCH₃), 2.00 (s, 3H, -COCH₃), 2.06 (s, 3H, -COCH₃), 2.10 (s, 3H, -COCH₃), 2.81 (dd, 1H, ²J=13.2 Hz, ³J=7.8 Hz, NH-CH-CH_{2a}-COO), 2.96-3.04 (m, 2H, NH-CH-CH_{2b}-COO, S-CH_{2a}), 3.22 (dd, 1H, ²J=14.2 Hz, ³J=5.2 Hz, S-CH_{2b}), 3.44-3.48 (m, 1H, H-5), 4.06-4.15 (m, 1H, H-6a), 4.23-4.32 (m, 1H, H-6b), 4.56 (bs, 1H, NH-CH-CH₂-COO), 4.87 (d, 2H, J=3.6 Hz, Phenyl-CH_{2a}), 4.89 (d, 2H, Phenyl-CH_{2b}), 5.14-5.34 (m, 4H, H-2, H-3, H-4, H-1), 5.70 (bs, 1H, NH), 7.27-7.36 (m, 10H, Phenyl).

^{13}C -NMR (CDCl_3): $\delta = 20.6, 20.7, 20.8, 20.9$ (CO- CH_3), 28.3 ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 32.3 (NH-CH- CH_2 -COO), 36.1 (S- CH_2), 52.6 (NH-CH- CH_2 -COO), 53.5 (Ph-CH), 62.9 (C-6), 67.3 (Phenyl- CH_2), 69.8 (C-4), 70.4 (C-2), 72.2 (C-3), 76.8 (C-5), 80.5 ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 83.2 (C-1), $126.8, 126.9, 128.4, 128.7, 128.7, 129.0, 135.5, 139.9$ (Phenyl), $169.6, 169.8, 170.0, 170.2, 170.3, 170.8, 172.0$ (CO).

(S)-(N-Benzyloxycarbonyl-2-amino-2-phenylethyl)-2,3,4,6-tetra-O-acetyl-1-thio- β -D-galactopyranosid (102)

3.64 g 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-1-thio- β -D-galactopyranose (10 mmol) und 4.49 ml DBU (30 mmol) werden in 90 ml DMF_{abs} gelöst und auf 0°C gekühlt. Anschließend gibt man tropfenweise in 10 ml DMF_{abs} gelöste 3.49 g (S)-N-Benzyloxycarbonyl-2-amino-2-phenylethylmesylat (10 mmol) hinzu. Nach 20 h wird mit 210 ml DCM verdünnt und mit destilliertem Wasser, 1M Salzsäure, gesättigter NaHCO_3 -Lösung und gesättigter NaCl -Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und das DCM im Vakuum entfernt. Noch vorhandene Reste von DMF werden mit Toluol coevaporiert und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (PE:EA 3:2). Man erhält einen weißen amorphen Feststoff.

Ausbeute: 5.02 g (8.13 mmol, 81 %)

FT-ICR-MS: $[\text{M}+\text{Na}]^+$

berechnet:	m/z	640.18320	
gefunden:	m/z	640.18262	relative Massenabweichung: 0.5 ppm

FAB-MS: $m/z = 618.2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$

Elementaranalyse: $\text{C}_{30}\text{H}_{35}\text{NO}_{11}\text{S}$ (617.19)

berechnet:	C 58.34	H 5.71	N 2.27	S 5.19
gefunden:	C 58.02	H 5.59	N 2.31	S 4.90

$[\alpha]_{\text{D}} = +27.7$ ($c = 2.5$, CHCl_3)

^1H -NMR (CDCl_3): $\delta = 1.97$ (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.03 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.13 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.14 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 3.04 (dd, 1H, $^2\text{J}=14.2$ Hz, $^3\text{J}=5.0$ Hz, S- CH_2a), 3.22 (dd, 1H, $^3\text{J}=4.5$ Hz, S- CH_2b), 3.83 (t, 1H, $\text{J}_{4,5}=\text{J}_{5,6}=6.3$ Hz, H-5), 4.15 (d, 2H, H-6), 4.32 (d, 1H, $\text{J}_{1,2}=9.8$ Hz, H-1), 4.97 (t, 1H, H-3), 5.01 (bs, 1H, NH-CH), 5.00 - 5.13 (m, 3H, Phenyl- CH_2 , H-2), 5.40 (s, 1H, H-4), 5.92 (bs, 1H, NH), 7.28 - 7.34 (m, 10H, Phenyl).

^{13}C -NMR (CDCl_3): $\delta = 20.7, 20.7, 20.9$ (CO- CH_3), 37.2 (S- CH_2), 54.6 (NH-CH), 61.3 (C-6), 67.0 (Phenyl- CH_2), 67.2 (C-4), 67.2 (C-2), 71.8 (C-3), 74.7 (C-5), 84.1 (C-1), $126.5, 127.9, 128.3, 128.5, 128.6, 128.8, 129.0, 136.5$ (Phenyl), $155.7, 169.6, 170.1, 170.2, 170.4$ (CO).

***N*-tert-Butyloxycarbonyl-*N'*-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-galactopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparaginsäureamid- β -benzylester (103)**

1.) Entfernen der Z-Schutzgruppe

Nach AAV 8 werden 3.08 g von Verbindung **102** (5 mmol) in 100 ml MeOH gelöst und mit 343 μ l Essigsäure (6 mmol) versetzt. Im Schutzgasgegenstrom werden 200 mg Pd/C zugegeben und anschließend unter Wasserstoffatmosphäre gerührt. Nach 19 h wird der Katalysator über Celite abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

Ausbeute: 2.68 g (4.93 mmol, 99 %)

2.) Kupplung mit Verbindung **12**

Zu einer Lösung von 2.68 g des aus 1.) erhaltenen Feststoffes (4.93 mmol) in 75 ml Ethylacetat gibt man 1.71 ml DIPEA (10 mmol) und 2.41 g Boc-Asp(OBn)-OPfp (4.93 mmol). Nach 7 h wird mit 1 M Salzsäure, gesättigter NaHCO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Anschließend trocknet man über Na₂SO₄, entfernt das Lösungsmittel im Vakuum und reinigt den Rückstand säulenchromatographisch auf (PE:EA 1:1).

Ausbeute: 2.42 g (3.07 mmol, 62 %)

Schmelzpunkt: 69°C (Ethylacetat/Petrolether)

FT-ICR-MS: [M+Na]⁺

berechnet:	m/z	811.27185	
gefunden:	m/z	811.27282	relative Massenabweichung: 1.2 ppm

[M+K]⁺

berechnet:	m/z	827.24578	
gefunden:	m/z	827.24621	relative Massenabweichung: 0.52 ppm

FAB-MS: m/z = 789.2 [M+H]⁺, 733.2 [M-C(CH₃)+H]⁺, 689.2 [M-Boc+H]⁺

Elementaranalyse: C₃₈H₄₈N₂O₁₄S (788.28)

berechnet:	C 57.86	H 6.13	N 3.55	S 4.06
gefunden:	C 58.02	H 6.17	N 3.57	S 3.83

$[\alpha]_D = +8.2$ (c = 1, CHCl₃)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.42 (s, 9H, -CCH₃)₃, 1.96 (s, 3H, -COCH₃), 2.04 (s, 3H, -COCH₃), 2.05 (s, 3H, -COCH₃), 2.12 (s, 3H, -COCH₃), 2.78 (dd, 1H, ²J=17.4 Hz, ³J=6.4 Hz, NH-CH-CH_{2a}-COO), 2.94-3.01 (m, 2H, NH-CH-CH_{2b}-COO, S-CH_{2a}), 3.20 (dd, 1H, ²J=13.9 Hz, ³J=6.4 Hz, S-CH_{2b}),

3.79 (t, 1H, H-5), 4.08-4.15 (m, 2H, H-6), 4.25 (d, 1H, $J_{H1-H2}=9.9$ Hz, H-1), 4.54 (bs, 1H, NH-CH-CH₂-COO), 4.94 (dd, 1H, $J_{2-3}=9.9$ Hz, $J_{3-4}=3.6$ Hz, H-3), 5.09-5.20 (m, 4H, H-2, Ph-CH₂, Ph-CH), 5.40 (d, 1H, $J_{4-5}=2.7$ Hz, H-4), 5.61 (d, 1H, NH-CH-Ph), 5.66 (d, 1H, $J=7.3$ Hz, NH-CH-CH₂-COO), 7.27-7.34 (m, 10H, Phenyl).

¹³C-NMR (CDCl₃): $\delta = 20.7, 20.7, 20.8, 20.9$ (CO-CH₃), 28.3 (-C(CH₃)₃), 35.2 (S-CH₂), 35.8 (NH-CH-CH₂-COO), 50.8 (NH-CH-CH₂-COO), 53.2 (Ph-CH), 61.6 (C-6), 67.0 (Phenyl-CH₂), 67.3 (C-4), 67.4 (C-2), 71.8 (C-3), 74.6 (C-5), 80.5 (-C(CH₃)₃), 83.1 (C-1), 126.6, 128.0, 128.4, 128.4, 128.5, 128.7, 128.8, 135.5, 140.0 (Phenyl), 169.7, 170.1, 170.1, 170.3, 170.5, 171.8 (CO).

3.3.4 Zu Kapitel 2.4.4

Z-Trp-OMe (104)

Zu einer Lösung von 6.77 g Z-Trp-OH (20 mmol) in 80 ml Methanol gibt man 0.5 ml konzentrierte Salzsäure und erhitzt für 16 h zum Sieden. Nach Abkühlen auf RT wird das Methanol im Vakuum entfernt, der Rückstand in Ethylacetat aufgenommen und mit gesättigter NaHCO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Anschließend wird über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das erhaltene farblose Öl kann ohne weitere Aufreinigung direkt weiter umgesetzt werden.

Ausbeute: 7.03 g (19.95 mmol, 99.8 %)

¹H-NMR (CDCl₃): $\delta = 3.28$ (d, 2H, $J=5.5$ Hz, NH-CH-CH₂), 3.64 (s, 3H, -COCH₃), 4.68-4.73 (m, 1H, NH-CH), 5.05 (d, 1H, $J=12.3$ Hz, Phenyl-CH₂a), 5.10 (d, 1H, Phenyl-CH₂b), 5.36 (d, 1H, $J=8.1$ Hz, NH-CH), 6.87 (s, 1H, Indol), 7.05 (t, 1H, $J=7.3$ Hz, Indol), 7.08 (t, 1H, $J=7.6$ Hz, Indol), 7.13-7.29 (m, 5H, Aryl), 7.50 (d, 1H, $J=8.0$ Hz, Phenyl), 8.25 (s, 1H, Indol-NH).

¹³C-NMR (CDCl₃): $\delta = 27.9$ (NH-CH-CH₂), 52.4 (CO-CH₃), 54.6 (NH-CH), 67.0 (Phenyl-CH₂), 109.7, 111.3, 118.6, 119.6, 122.2, 123.0, 127.5, 128.1, 128.2, 136.2, 136.3 (Aryl), 172.5 (CO).

(S)-N-Benzoyloxycarbonyl-2-amino-3-(β -indolyl)propan-1-ol (105)

7.03 g von Verbindung **104** (19.95 mmol) werden in 130 ml absolutem Methanol gelöst und auf 0°C gekühlt. Anschließend werden 7.57 g NaBH₄ (200 mmol) portionsweise über einen Zeitraum von 15 min zugegeben. Nach Erwärmen auf RT wird zunächst für 1 h gerührt und anschließend nach Zugabe von 100 ml Wasser weitere 12 h gerührt. Die erhaltene Suspension wird zweimal mit je 100 ml Chloroform extrahiert, das Chloroform im Vakuum entfernt und der erhaltene Rückstand aus CHCl₃:MeOH 20:1 kristallisiert.

Ausbeute: 3.14 g (9.78 mmol, 49 %)

Schmelzpunkt: 106 °C (Chloroform/Methanol)

FAB-MS: $m/z = 324.1 [M+H]^+$, $307.1[M-OH]^+$

Die NMR-Daten stimmen mit der Literatur überein^[264].

(S)-N-Benzoyloxycarbonyl-2-amino-3-(β -indolyl)propylmesylat (106)

Nach AAV 11 werden 4.93 g von Verbindung **105** (15.2 mmol) mit 1223 μ l Methansulfonsäurechlorid (15.8 mmol) und 2328 μ l Triethylamin (16.7 mmol) umgesetzt. Nach 2.5 h wird die Reaktion beendet und entsprechend AAV 11 wässrig aufgearbeitet. Nach säulenchromatographischer Reinigung (PE:EA 2:3) erhält man **106** als gelben, amorphen Feststoff.

Ausbeute: 4.65 g (11.6 mmol, 76 %)

¹H-NMR (CDCl₃): $\delta = 2.84$ (s, 3H, S-CH₃), 2.98-3.07 (m, 2H, Indol-CH₂), 4.10 (dd, 1H, SO₂-O-CH_{2a}), 4.17 (dd, 1H, SO₂-O-CH_{2b}), 4.25 (bs, 1H, NH-CH), 5.08 (s, 2H, Phenyl-CH₂), 5.20 (d, 1H, NH), 6.97 (s, 1H, Indol), 7.09 (t, 1H, Indol), 7.16 (t, 1H, Indol), 7.31-7.33 (m, 6H, Aryl), 7.60 (d, 1H, Phenyl), 8.31 (bs, 1H, Indol-NH).

¹³C-NMR (CDCl₃): $\delta = 26.7$ (Indol-CH₂), 37.1 (SO₂-CH₃), 50.5 (NH-CH), 66.9 (Phenyl-CH₂), 69.7 (SO₂-O-CH₂), 110.1, 111.4, 118.6, 119.7, 122.2, 123.3, 127.3, 128.1, 128.2, 128.6, 136.3 (Aryl), 155.9 (CO).

(S)-[N-Benzoyloxycarbonyl-2-amino-3-(β -indolyl)propyl]-2,3,4,6-tetra-O-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosid (107)

Mit 1.82g 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranose (5 mmol), 2.01g von Verbindung **106** (5mmol) und 2.24ml DBU (15mmol) als Base erhält man nach AAV 12 bei 35°C Verbindung **107** als gelblichen, amorphen Feststoff. Die Aufreinigung erfolgt säulenchromatographisch mit PE:EA 2:3 und anschließend einer weiteren Säule mit PE:Aceton 1:1 als Eluent. Man erhält einen farblosen, amorphen Feststoff.

Ausbeute: 2.3g (3.43 mmol, 69 %)

FT-ICR-MS: $[M+Na]^+$

berechnet: m/z 693.20885

gefunden: m/z 693.209019

relative Massenabweichung: 0.24 ppm

$[\alpha]_D = +27.6$ (c = 2, CHCl₃)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 2.00 (s, 3H, -COCH₃), 2.02 (s, 3H, -COCH₃), 2.03 (s, 3H, -COCH₃), 2.04 (s, 3H, -COCH₃), 2.74-2.88 (m, 2H, S-CH_{2a}, Indol-CH_{2a}), 3.00-3.16 (m, 2H, S-CH_{2b}, Indol-CH_{2b}), 3.49-3.51 (m, 1H, H-5), 4.02 (dd, 1H, J_{6a-6b}=12.9 Hz, J_{5-6a}=1.7 Hz, H-6a), 4.16 (dd, 1H, J_{5-6b}=4.3 Hz, H-6b), 4.26 (m, 1H, NH-CH), 4.40 (d, 1H, J₁₋₂=10.3 Hz, H-1), 4.98 (t, 1H, J₂₋₃=9.5 Hz, H-2), 5.04 (t, 1H, H-4), 5.11 (bs, 2H, Phenyl-CH₂), 5.14 (t, 1H, J₃₋₄=9.2 Hz, H-3), 5.61 (d, 1H, J=8.1 Hz, NH), 7.02 (s, 1H, Indol), 7.11 (t, 1H, J=7.3 Hz, Indol), 7.19 (t, 1H, J=7.3 Hz, Indol), 7.30-7.40 (m, 6H, Aryl), 7.67 (d, 1H, J=7.6 Hz, Phenyl), 8.10 (bs, 1H, Indol-NH).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 20.7, 20.7, 20.8, 20.8 (CO-CH₃), 28.7 (Indol-CH₂), 35.9 (S-CH₂), 50.9 (NH-CH), 61.7 (C-6), 66.8 (Phenyl-CH₂), 68.0 (C-4), 70.2 (C-2), 73.8 (C-3), 75.8 (C-5), 85.3 (C-1), 110.2, 111.5, 119.1, 119.7, 122.3, 123.0, 128.2, 128.4, 128.5, 128.6, 136.3 (Aryl), 155.9, 169.4, 169.5, 170.2, 170.7 (CO).

***N*-tert-Butyloxycarbonyl-*N'*-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-*D*-glucopyranosyl)-3-(β-indolyl)propyl]-*L*-asparaginsäureamid-β-benzylester (108)**

1.) Entfernen der *Z*-Schutzgruppe

Nach AAV 8 werden 2.06 g von Verbindung **107** (3.07 mmol) in 75 ml EtOH gelöst und mit 211 µl Essigsäure (3.69 mmol) versetzt. Da keine vollständige Umsetzung erreicht werden konnte, wurde die Reaktion nach 5 h abgebrochen, der Katalysator über Celite abfiltriert und der erhaltene Rückstand säulenchromatographisch an Kieselgel (Aceton) gereinigt.

Ausbeute: 1.16 g (1.93 mmol, 63 %)

2.) Kupplung mit Verbindung **12**

1.13 g des aus 1.) erhaltenen Feststoffes (1.89 mmol) werden in 40 ml Ethylacetat gelöst und mit 0.93 g Boc-Asp(OBn)-OPfp (1.89 mmol) und 811 µl DIPEA (4.75 mmol) versetzt. Nach 5 h werden weitere 0.1 g Boc-Asp(OBn)-OPfp (0.2 mmol) zugegeben und für weitere 4 h gerührt. Anschließend wird die Lösung mit jeweils 15 ml einer 1 M Salzsäure-Lösung, gesättigter NaHCO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknen über Na₂SO₄ und Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum, wird der erhaltene Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (PE:EA 1:1 → 1:2).

Ausbeute: 0.42 g (0.5 mmol, 26 %)

FT-ICR-MS: [M+Na]⁺

berechnet: m/z 864.29840

gefunden: m/z 664.298279

relative Massenabweichung: 0.14 ppm

Elementaranalyse: C₄₁H₅₁N₃O₁₄S (841.31)

berechnet:	C 58.49	H 6.11	N 4.99	S 3.81
gefunden:	C 58.10	H 6.38	N 4.91	S 3.32

$[\alpha]_D = -2.6$ (c = 3.1, CHCl₃)

¹H-NMR (CDCl₃): $\delta = 1.37$ (s, 9H, -C(CH₃)₃), 1.99 (s, 3H, -COCH₃), 2.00 (s, 3H, -COCH₃), 2.04 (s, 3H, -COCH₃), 2.05 (s, 3H, -COCH₃), 2.55 (dd, 1H, ²J=13.3 Hz, ³J=6.6 Hz, S-CH₂a), 2.67-2.85 (m, 3H, S-CH₂b, Indol-CH₂), 2.95-3.10 (m, 2H, NH-CH-CH₂-COO), 3.64-3.67 (m, 1H, H-5), 4.13 (dd, 1H, J_{6a-6b}=12.2 Hz, J_{5-6a}=2.7 Hz, H-6a), 4.19 (dd, 1H, J_{5-6b}=4.6 Hz, H-6b), 4.37 (q, 1H, J=6.5 Hz, NH-CH-CO), 4.41-4.48 (m, 1H, S-CH₂-CH), 4.99 (t, 1H, J₂₋₃=9.4 Hz, H-2), 5.06 (t, 1H, J₃₋₄=J₄₋₅=9.5 Hz, H-4), 5.12 (bd, 2H, Phenyl-CH₂), 5.23 (t, 1H, H-3), 5.52 (bd, 1H, S-CH₂-CH-NH), 6.67 (bd, 1H, NH-CH-CO), 7.07 (s, 1H, Indol), 7.13 (t, 1H, J=6.9 Hz, Indol), 7.20 (t, 1H, J=7.2 Hz, Indol), 7.30-7.37 (m, 6H, Aryl), 7.65 (d, 1H, 7.9 Hz, Phenyl), 8.20 (bs, 1H, Indol-NH).

¹³C-NMR (CDCl₃): $\delta = 20.5, 20.6, 20.6, 20.7$ (CO-CH₃), 28.2 (-C(CH₃)₃), 28.2 (Indol-CH₂), 33.5 (S-CH₂), 36.2 (NH-CH-CH₂-COO), 48.6 (NH-CH-CH₂-COO), 49.8 (S-CH₂-CH), 61.9 (C-6), 66.8 (Phenyl-CH₂), 68.2 (C-4), 70.5 (C-2), 73.8 (C-3), 75.6 (C-5), 80.4 (-C(CH₃)₃), 83.5 (C-1), 110.7, 111.2, 118.7, 119.7, 122.3, 123.0, 127.6, 128.2, 128.4, 128.6, 135.4, 136.2 (Aryl), 169.4, 169.5, 169.8, 169.9, 170.1, 170.6, 170.7 (CO).

2-Brom-5-nitrothiophen (109)

6.29 ml 2-Bromthiophen (65 mmol) werden in 20 ml Acetanhydrid gelöst und auf -10°C gekühlt. Anschließend wird unter kräftigem Rühren eine Lösung von 6.26 ml Salpetersäure (150 mmol) in 20 ml Acetanhydrid langsam zugetropft, wobei darauf geachtet werden muss, daß die Temperatur 0°C nicht übersteigt. Nach Zugabe der Salpetersäure wird für eine weitere Stunde gerührt und nach Beendigung der Reaktion auf Eiswasser gegossen und für weitere 30 min gerührt. Der entstandene Niederschlag wird abfiltriert, gründlich mit kaltem Wasser gewaschen und im Exsikkator über Phosphorpentoxid getrocknet. Anschließend kann Verbindung **109** aus Ethanol / Petrolether kristallisiert werden. Man erhält leicht gelbliche Nadeln.

Ausbeute: 5.95 g (28.6 mmol, 44 %)

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein^[206].

(5-Nitro-2-thienyl)-2,3,4,6-tetra-O-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosid (110)

Zu einer Lösung von 2.91 g 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranose (8mmol) und 1.66 g 2-Brom-5-nitrothiophen (8 mmol) in 130 ml Ethylacetat gibt man unter starkem Rühren 66 ml einer

0.5 M NaHCO₃-Lösung und 8.49 g Tetrabutylammoniumhydrogensulfat (25 mmol). Nach 1 h werden die Phasen getrennt und die wässrige Phase einmal mit 25 ml Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden nacheinander mit je 45 ml gesättigter NaHCO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Anschließend wird über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Der erhaltene Rückstand wird aus Ethanol kristallisiert. Man erhält gelbe Nadeln.

Ausbeute: 2.97 g (6.04 mmol, 75 %)

Schmelzpunkt: 153°C (Ethanol)

Elementaranalyse: C₁₈H₂₁NO₁₁S₂ (491,06)

berechnet:	C 43.99	H 4.31	N 2.85	S 13.05
gefunden:	C 44.48	H 4.36	N 2.83	S 12.87

FT-ICR-MS: [M+Na]⁺

berechnet:	m/z	514.04482	
gefunden:	m/z	514.044397	relative Massenabweichung: 0.82 ppm

[α]_D = -103.1 (c = 2, CHCl₃)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.97 (s, 3H, -COCH₃), 2.01 (s, 3H, -COCH₃), 2.08 (s, 3H, -COCH₃), 2.13 (s, 3H, -COCH₃), 3.79-3.83 (m, 1H, H-5), 4.23-4.24 (m, 2H, H-6), 4.63 (d, 1H, J₁₋₂=9.88 Hz, H-1), 4.96 (t, 1H, J₂₋₃=9.6 Hz, H-2), 5.04 (t, 1H, J₃₋₄=J₄₋₅=9.9 Hz, H-4), 5.22 (t, 1H, H-3), 7.10 (d, 1H, J=4.2 Hz, Thiophen), 7.79 (d, 1H, Thiophen).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 20.6, 20.7, 20.8 (CO-CH₃), 61.7 (C-6), 67.7 (C-4), 69.4 (C-2), 73.5 (C-3), 76.3 (C-5), 84.3 (C-1), 128.0, 133.9, 137.9, 154.1 (Thiophen), 169.2, 169.3, 170.1, 170.7 (CO).

(5-Ammonium-2-thienyl)-2,3,4,6-tetra-O-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosylacetat (111)

Zu einer Lösung von 1.97 g von Verbindung **110** (4 mmol) in 120 ml Ethylacetat gibt man unter Schutzgas 275 µl Essigsäure (4.8 mmol) und 200 mg 10 % Pd auf Aktivkohle. Der Kolben wird mit Wasserstoff belüftet und die Lösung für 4 h stark gerührt. Anschließend wird der Katalysator über Celite abfiltriert, das Lösemittel im Vakuum entfernt und der erhaltene Feststoff ohne weitere Aufarbeitung umgesetzt.

Ausbeute: 2.09 g (quantitativ)

FAB-MS: m/z = 462.2 [M-Acetat]⁺, 331.2 [Glykosylkation]⁺

***N*-tert-Butyloxycarbonyl-*N'*-[5-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-2-thienyl]-*L*-asparaginsäureamid- β -benzylester (112)**

a) Kupplung mit Verbindung **12**

Zu einer Lösung von 2.09 g von Verbindung **111** (4 mmol) in 150 ml Ethylacetat werden 1.96 g Boc-Asp(OBn)-OPfp (4 mmol) und 1.71 ml DIPEA (10 mmol) gegeben. Anschließend wird die Lösung für 5 h auf 45°C erhitzt. Nach Abkühlen wird die organische Phase mit jeweils 40 ml einer 1 M KHSO₄-Lösung, gesättigter NaHCO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wird der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (Toluol:Aceton 5:1). Man erhält einen amorphen, gelben Feststoff.

Ausbeute: 1.42 g (1.85 mmol, 46 %)

b) Umsetzung mit Boc-Asp(OBn)-OH und HATU als Kupplungsreagenz

0.11 g von Verbindung **111** (0.21 mmol) werden in 5 ml trockenem DMF gelöst und bei 0°C nacheinander mit 68 mg Boc-Asp(OBn)-OH (0.21 mmol), 31 mg 1-Hydroxy-7-Azabenzotriazol (0.23 mmol), 108 μ l DIPEA (0.63 mmol) und 87 mg *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluroniumhexafluorophosphat (0.23 mmol) versetzt. Zunächst wird 1 h bei 0°C und anschließend weitere 5 h bei RT gerührt. Nach Beendigung der Reaktion wird mit 20 ml Ethylacetat verdünnt und mit 1 M KHSO₄-Lösung, gesättigter NaHCO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknen über MgSO₄ wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (Toluol:Aceton 4:1).

Ausbeute: 124 mg (0.16 mmol, 77 %)

FT-ICR-MS: [M+Na]⁺

berechnet: m/z 789.19697

gefunden: m/z 789.196585 relative Massenabweichung: 0.49 ppm

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.45 (s, 9H, -C(CH₃)₃), 1.97 (s, 3H, -COCH₃), 1.99 (s, 3H, -COCH₃), 2.06 (s, 3H, -COCH₃), 2.10 (s, 3H, -COCH₃), 2.82 (dd, 1H, ²J=17.5 Hz, ³J=6.5 Hz, NH-CH-CH₂a), 3.04 (dd, 1H, ³J=4.2 Hz, NH-CH-CH₂b), 3.65-3.68 (m, 1H, H-5), 4.15 (dd, 1H, J_{6a-6b}=12.3 Hz, J_{5-6a}=2.6 Hz, H-6a), 4.20 (dd, 1H, J_{5-6b}=4.4 Hz, H-6b), 4.46 (d, 1H, J₁₋₂=9.96 Hz, H-1), 4.68 (bs, 1H, NH-CH), 4.92 (t, 1H, J₂₋₃=9.6 Hz, H-2), 5.00 (t, 1H, J₃₋₄=J₄₋₅=9.6 Hz, H-4), 5.13 (m, 3H, Ph-CH₂), 5.18 (t, 1H, H-3), 5.80 (bd, 1H, CH-NH), 6.52 (d, 1H, J=3.9 Hz, Thiophen), 6.97 (d, 1H, Thiophen), 7.33 (m, 5H, Phenyl), 9.49 (bs, 1H, Thiophen-NH).

^{13}C -NMR (CDCl_3): $\delta = 20.6, 20.7, 20.8, 20.9$ (CO- CH_3), 28.3 (-C(CH_3) $_3$), 35.6 (NH-CH- CH_2), 50.6 (NH-CH), 62.0 (C-6), 67.2 (Phenyl- CH_2), 68.1 (C-4), 69.7 (C-2), 74.1 (C-3), 75.9 (C-5), 81.3 (-C(CH_3) $_3$), 86.0 (C-1), 112.2, 118.8, 128.3, 128.5, 128.7, 134.64, 135.2, 143.4 (Phenyl, Thiophen), 167.4, 169.3, 169.4, 170.2, 170.9, 171.6 (CO).

3.3.5 Zu Kapitel 2.4.5

Z-Met-OMe (113)

Zu einer Lösung von 5.67 g Z-Met-OH (20 mmol) in 80 ml Methanol gibt man 0.5 ml konzentrierte Salzsäure und erhitzt für 14 h zum Sieden. Nach Abkühlen auf RT wird mit 200 ml Ethylacetat verdünnt und die organische Phase mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung gewaschen. Nach Trocknen über Na_2SO_4 wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das zunächst erhaltene farblose Öl erstarrt nach kurzer Zeit zu einem weißen Feststoff und kann ohne weitere Aufreinigung direkt weiter umgesetzt werden.

Ausbeute: 5.88 g (19.8 mmol, 99 %)

FAB-MS: $m/z = 298.1$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$

^1H -NMR (CDCl_3): $\delta = 1.91\text{-}2.00$ (m, 1H, S- $\text{CH}_2\text{-CH}_2a$), 2.07 (s, 3H, S- CH_3), 2.10-2.19 (m, 1H, S- $\text{CH}_2\text{-CH}_2b$), 2.52 (t, 3H, $J=7.5$ Hz, S- CH_2), 3.73 (s, 3H, CO-O- CH_3), 4.50 (q, 1H, NH-CH), 5.10 (s, 2H, Phenyl- CH_2), 5.56 (bd, 1H, NH), 7.32-7.35 (m, 5H, Phenyl).

^{13}C -NMR (CDCl_3): $\delta = 15.4$ (S- CH_3), 29.8 (S- CH_2), 31.9 (S- $\text{CH}_2\text{-CH}_2$), 37.4 (SO $_2$ - CH_3), 52.5 (COO- CH_3), 53.1 (NH-CH), 67.0 (Phenyl- CH_2), 128.1, 128.2, 128.5, 136.2 (Phenyl), 155.9, 172.5 (CO).

(S)-N-Benzoyloxycarbonyl-2-amino-4-methylsulfanylbutan-1-ol (114)

5.88 g von Verbindung **113** (19.8 mmol) werden in 135 ml absolutem Methanol gelöst und auf 0°C gekühlt. Anschließend werden 7.45 g NaBH_4 (198 mmol) portionsweise über einen Zeitraum von 15 min zugegeben und für weitere 30 min bei 0°C gerührt, bis die Lösung trüb geworden ist. Nach Erwärmen auf RT wird zunächst für eine weitere Stunde und anschließend nach Zugabe von 100 ml Wasser weitere 30 min gerührt. Die erhaltene klare Lösung wird zweimal mit je 100 ml Chloroform extrahiert, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und schließlich aus Petrolether/Ethylacetat umkristallisiert.

Ausbeute: 5.07 g (18.8 mmol, 95 %)

Schmelzpunkt: 68°C (Petrolether/Ethylacetat)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.73\text{-}1.89$ (m, 2H, S- $\text{CH}_2\text{-CH}_2$), 2.09 (s, 3H, S- CH_3), 2.24 (bs, 1H, OH), 2.51 (m, 2H, S- CH_2), 3.61 (dd, 1H, $^2\text{J}=11.3$ Hz, $^3\text{J}=4.9$ Hz, $\text{CH}_2a\text{-OH}$), 3.69 (dd, 1H, $^3\text{J}=3.5$ Hz, $\text{CH}_2b\text{-OH}$), 3.78-3.86 (m, 1H, NH-CH), 5.109 (bs, 3H, Phenyl- CH_2 , NH), 7.26-7.36 (m, 5H, Phenyl).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 15.6$ (S- CH_3), 30.7 (S- CH_2), 30.9 (S- $\text{CH}_2\text{-CH}_2$), 52.5 (NH-CH), 65.0 ($\text{CH}_2\text{-OH}$), 67.0 (Phenyl- CH_2), 128.2, 128.3, 128.6, 136.4 (Phenyl), 156.7 (CO).

(S)-*N*-Benzyloxycarbonyl-2-amino-4-methylsulfanylbutylmesylat (115)

Nach AAV 11 werden 1.35 g von Verbindung **114** (5 mmol) in 75 ml absolutem DCM gelöst und mit 767 μl Triethylamin (5.5 mmol) und 403 μl Methansulfonsäurechlorid (5.2 mmol) umgesetzt. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung (Petrolether:Aceton 1:1) erhält man einen weißen, amorphen Feststoff.

Ausbeute: 1.63 g (4.69 mmol, 94 %)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.85\text{-}1.88$ (m, 2H, S- $\text{CH}_2\text{-CH}_2$), 2.09 (s, 3H, S- CH_3), 2.54-2.58 (m, 2H, S- CH_2), 3.18 (s, 3H, $\text{SO}_2\text{-CH}_3$), 4.04-4.12 (m, 1H, NH-CH), 4.24 (dd, 1H, $^2\text{J}=10.5$ Hz, $^3\text{J}=4.3$ Hz, $\text{SO}_2\text{-O-CH}_2a$), 4.30 (dd, 1H, $^3\text{J}=3.8$ Hz, $\text{SO}_2\text{-O-CH}_2b$), 5.05-5.10 (bs, 3H, NH, Phenyl- CH_2), 7.31-7.35 (m, 5H, Phenyl).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 15.6$ (S- CH_3), 30.3 (S- CH_2), 30.4 (S- $\text{CH}_2\text{-CH}_2$), 37.4 ($\text{SO}_2\text{-CH}_3$), 49.6 (NH-CH), 67.1 (Phenyl- CH_2), 70.7 ($\text{SO}_2\text{-O-CH}_2$), 128.2, 128.3, 128.6, 136.4 (Phenyl), 155.9 (CO).

(S)-(*N*-Benzyloxycarbonyl-2-amino-4-methylsulfanylbutyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosid (116)

Nach AAV 12 werden 1.77 g von Verbindung **2** (4.86 mmol) in 50 ml absolutem DMF gelöst und auf 0°C gekühlt. Nach Zugabe von 1.69 g von Verbindung **115** (4.86 mmol) und 2.18 ml DBU (14.6 mmol) wird 22 h gerührt, mit 150 ml Ethylacetat verdünnt und nacheinander zweimal mit 100 ml destilliertem Wasser und jeweils einmal mit 50 ml 1 M Salzsäure-Lösung, gesättigter NaHCO_3 -Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknen über Na_2SO_4 und Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wird der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (PE:EA 1:1). Man erhält ein leicht gelbliches, zähflüssiges Öl.

Ausbeute: 2.2 g (3.57 mmol, 74 %)

FT-ICR-MS: $[\text{M}+\text{Na}]^+$

berechnet: m/z 638.17002

gefunden: m/z 638.169995

relative Massenabweichung: 0.04 ppm

Elementaranalyse: C₂₇H₃₇NO₁₁S₂ (615.18)

berechnet:	C 52.67	H 6.06	N 2.27	S 10.42
gefunden:	C 52.94	H 6.44	N 2.21	S 10.40

$[\alpha]_D = +11.2$ (c = 2, CHCl₃)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.82-1.88 (m, 2H, H₃C-S-CH₂-CH₂), 1.99, 2.02, 2.03, 2.04 (s, 3H, -CO-CH₃), 2.05 (s, 3H, S-CH₃), 2.51 (t, 2H, J=6.8 Hz, H₃C-S-CH₂), 2.82-2.98 (m, 2H, Glc-S-CH₂), 3.49-3.51 (m, 1H, H-5), 3.96-4.01 (m, 2H, NH-CH), 4.10 (d, 1H, J_{6a-6b}=13.0 Hz, H-6a), 4.20 (d, 1H, H-6b), 4.38 (d, 1H, J₁₋₂=10.0 Hz, H-1), 4.95 (t, 1H, J₂₋₃=9.4 Hz, H-2), 5.02 (t, 1H, J₃₋₄=J₄₋₅=9.4 Hz, H-4), 5.03-5.04 (m, 2H, Phenyl-CH₂), 5.14 (t, 1H, H-3), 5.48 (d, 1H, J=8.5 Hz, NH), 7.32-7.35 (m, 5H, Phenyl).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 15.6 (S-CH₃), 20.6, 20.6, 20.8, 20.8 (CO-CH₃), 30.6 (H₃C-S-CH₂), 32.5 (H₃C-S-CH₂-CH₂), 36.7 (Glc-S-CH₂), 49.9 (NH-CH), 61.6 (C-6), 66.9 (Phenyl-CH₂), 67.9 (C-4), 70.1 (C-2), 73.7 (C-3), 75.8 (C-5), 85.0 (C-1), 128.5, 128.6, 128.6, 136.5 (Phenyl), 155.9, 169.4, 169.5, 170.2, 170.6 (CO).

***N*-tert-Butyloxycarbonyl-*N'*-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-4-methylsulfanylbutyl]-L-asparaginsäureamid- β -benzylester (117)**

1.) Entfernen der Z-Schutzgruppe

2.05 g von Verbindung **116** (3.3 mmol) werden in 50 ml EtOH gelöst und nach AAV 8 umgesetzt. Da keine vollständige Umsetzung erreicht werden kann, wird zunächst über Celite filtriert und die ethanolische Lösung mit 50 ml Wasser verdünnt und dreimal mit je 40 ml Ethylacetat extrahiert. Anschließend wird die wässrige Phase mit 1 M NaOH-Lösung auf einen pH von 9 eingestellt und erneut zweimal mit je 50 ml Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der erhaltene Feststoff wird direkt weiter umgesetzt.

Ausbeute: 1.79 g

2.) Kupplung mit Verbindung **12**

0.17 g des aus 1.) gewonnenen Feststoffs (0.31 mmol) wird in 10 ml Ethylacetat gelöst und mit 152 mg Boc-Asp(OBn)-OPfp (0.31 mmol) und 134 μ l DIPEA (0.78 mmol) versetzt. Nach 4.5 h wird mit 1 M Salzsäure-Lösung, gesättigter NaHCO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknen über MgSO₄ wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der verbleibende Rückstand an Kieselgel chromatographiert (PE:EA 1:1).

Ausbeute: 0.17 g (0.22 mmol, 70 %)

FT-ICR-MS: [M+Na]⁺

berechnet:	m/z	809.25957	
gefunden:	m/z	809.259917	relative Massenabweichung: 0.43 ppm

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.45 (s, 9H, -C(CH₃)₃), 1.76-1.80 (m, 1H, S-CH₂-CH₂a), 1.92-1.95 (m, 1H, S-CH₂-CH₂b), 1.99, 2.01, 2.05, 2.07 (s, 3H, -COCH₃), 2.08 (s, 3H, S-CH₃), 2.45-2.55 (m, 2H, H₃C-S-CH₂), 2.69 (dd, 1H, ²J=14.3 Hz, ³J=6.5 Hz, Glc-S-CH₂a), 2.79 (dd, 1H, ²J=16.6 Hz, ³J=6.4 Hz, NH-CH-CH₂a-COO), 2.89 (dd, 1H, ³J=5.5 Hz, Glc-S-CH₂b), 2.98 (dd, 1H, ³J=5.1 Hz, NH-CH-CH₂b-COO), 3.76-3.80 (m, 1H, H-5), 4.08-4.14 (m, 1H, NH-CH-CH₂-S), 4.17 (d, 1H, J_{6a-6b}=12.3 Hz, H-6a), 4.25 (dd, 1H, J_{5-6b}=4.5 Hz H-6b), 4.47 (bs, 1H, NH-CH-CH₂-COO), 4.61 (d, 1H, J₁₋₂=10.1 Hz, H-1), 4.99 (t, 1H, J₂₋₃=9.7 Hz, H-2), 5.08 (t, 1H, J₃₋₄=J₄₋₅=9.3 Hz, H-4), 5.15 (s, 2H, Phenyl-CH₂), 5.26 (t, 1H, H-3), 5.66 (bs, NH-CH-CH₂-COO), 6.76 (d, 1H, NH-CH-CH₂-S), 7.30-7.38 (m, 5H, Phenyl).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 15.3 (S-CH₃), 20.5, 20.5, 20.6, 20.6 (CO-CH₃), 28.2 (-C(CH₃)₃), 30.2 (H₃C-S-CH₂), 32.4 (H₃C-S-CH₂-CH₂), 33.8 (Glc-S-CH₂), 36.0 (NH-CH-CH₂-COO), 48.8 (S-CH₂-CH), 50.7 (NH-CH-CH₂-COO), 61.9 (C-6), 66.7 (Phenyl-CH₂), 68.1 (C-4), 69.9 (C-2), 73.6 (C-3), 75.7 (C-5), 80.4 (-C(CH₃)₃), 82.9 (C-1), 128.2, 128.3, 128.5, 135.3 (Phenyl), 169.3, 169.3, 170.0, 170.4, 170.5, 170.6, 171.6 (CO).

***N*-Fluorenylmethoxycarbonyl-*N'*-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-*D*-glucopyranosyl)-4-methylsulfanylbutyl]-*L*-asparaginsäureamid-β-*tert*-butylester (118)**

0.17 g des aus 1.) bei Verbindung **117** gewonnenen Feststoffs (0.31 mmol) wird in 10 ml Ethylacetat gelöst und mit 152 mg Boc-Asp(OBn)-OPfp (0.31 mmol) und 134 µl DIPEA (0.78 mmol) versetzt. Nach 4.5 h wird die Reaktion abgebrochen und mit 1 M Salzsäure-Lösung, gesättigter NaHCO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknen über MgSO₄ wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der verbleibende Rückstand an Kieselgel chromatographiert (PE:EA 1:1).

Ausbeute: 0.21 g (0.24 mmol, 77 %)

FT-ICR-MS: [M+Na]⁺

berechnet:	m/z	897.29087	
gefunden:	m/z	897.290247	relative Massenabweichung: 0.74 ppm

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.46$ (s, 9H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.61-1.87 (m, 2H, S- $\text{CH}_2\text{-CH}_2$), 1.99, 2.00, 2.02, 2.04 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.06 (s, 3H, S- CH_3), 2.48-2.53 (m, 2H, $\text{H}_3\text{C-S-CH}_2$), 2.65-2.91 (m, 4H, Glc-S- CH_2 , NH- $\text{CH-CH}_2\text{-COO}$), 3.76-3.78 (m, 1H, H-5), 4.16-4.23 (m, 3H, H-6, S- $\text{CH}_2\text{-CH}$), 4.40-4.49 (m, 3H, Fmoc- CH_2 , NH- $\text{CH-CH}_2\text{-COO}$), 4.60 (d, 1H, $J_{1,2}=10.0$ Hz, H-1), 4.99 (t, 1H, $J_{2,3}=9.6$ Hz, H-2), 5.01 (m, 1H, Fmoc- CH), 5.08 (t, 1H, $J_{3,4}=J_{4,5}=9.6$ Hz, H-4), 5.25 (t, 1H, H-3), 5.99 (d, 1H, $J=8.5$ Hz, NH- $\text{CH-CH}_2\text{-COO}$), 6.76 (d, 1H, $J=8.3$ Hz, NH- $\text{CH-CH}_2\text{-S}$), 7.30 (t, 2H, $J=7.4$ Hz, Fmoc), 7.40 (t, 2H, $J=7.4$ Hz, Fmoc), 7.58 (d, 2H, $J=7.8$ Hz, Fmoc), 7.76 (d, 2H, $J=7.5$ Hz, Fmoc).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 15.3$ (S- CH_3), 20.5, 20.5, 20.6, 20.6 (CO- CH_3), 28.0 ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 30.3 ($\text{H}_3\text{C-S-CH}_2$), 32.4 ($\text{H}_3\text{C-S-CH}_2\text{-CH}_2$), 33.9 (Glc-S- CH_2), 37.4 (NH- $\text{CH-CH}_2\text{-COO}$), 47.0 (S- $\text{CH}_2\text{-CH}$), 48.8 (NH- $\text{CH-CH}_2\text{-COO}$), 61.9 (C-6), 67.1 (Fmoc- CH_2), 68.1 (C-4), 68.8 (C-2), 75.6 (C-5), 81.8 (Fmoc- CH), 82.9 (C-1), 120.0, 124.9, 127.0, 127.7, 141.2, 143.6 (Fmoc), 156.0, 169.3, 169.3, 170.0, 170.2, 170.5, 171.0 (CO).

Fmoc-Arg(Pmc)-OMe (119)

a) Zu einer auf 0°C gekühlten Lösung von 1.33 g Fmoc-Arg(Pmc)-OH (2 mmol) in 50 ml Ethylacetat werden 0.1 ml MeOH (2.4 mmol) und 0.43 g DCC (2.1 mmol) gegeben. Nach einer Stunde bei 0°C wird weitere zwei Stunden bei RT gerührt. Anschließend werden erneut 0.1 g DCC (0.48 mmol) zugegeben und für weitere 72 h gerührt. Der entstandene *N,N'*-Dicyclohexylharnstoff wird abfiltriert und die organische Phase mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung und destilliertem Wasser gewaschen. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wird der erhaltene Rückstand direkt weiter umgesetzt.

Rohausbeute: 0.75 g (1.1 mmol, 56 %)

b) Die Vorschrift entspricht der Vorschrift a) mit 6.63 g Fmoc-Arg(Pmc)-OH (10 mmol), 0.5 ml MeOH (12 mmol), 2.17 g DCC (10.5 mmol) und der zusätzlichen Zugabe von 1.42 g 1-Hydroxybenzotriazol (10.5 mmol).

Rohausbeute: 5.66 g (8.3 mmol, 83 %)

FAB-MS: $m/z = 645.0$ $[\text{M-OMe}]^+$

FT-ICR-MS: $[\text{M+Na}]^+$

berechnet: m/z 699.28229

gefunden: m/z 699.282951

relative Massenabweichung: 0.95 ppm

(S)-N-Fluorenylmethoxycarbonyl-N^G-(2,2',5,7,8-pentamethylchroman-6-sulfonyl)-2-amino-5-guanidinopentan-1-ol (120)

5.62 g von Verbindung **119** (8.3 mmol) werden in einer Mischung aus 80 ml MeOH, 20 ml EtOH und 20 ml THF suspendiert und auf 0°C gekühlt. Anschließend werden 3.14 g NaBH₄ (83 mmol) portionsweise über einen Zeitraum von 15 min zugegeben. Nach Erwärmen auf RT wird 30 min gerührt und die Reaktion dann durch tropfenweise Zugabe von 80 ml destilliertem Wasser abgebrochen. Im nächsten Schritt wird zweimal mit jeweils 100 ml CHCl₃ extrahiert. Nach Entfernen des Lösemittels im Vakuum wird der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (Petrolether:Aceton 1:1).

Ausbeute: 3.47 g (4.90 mmol, 59 %)

Schmelzpunkt: 109 °C (Petrolether/Aceton)

FAB-MS: m/z = 649.1 [M+H]⁺

FT-ICR-MS: [M+Na]⁺

berechnet: m/z 671.28738

gefunden: m/z 671.287390 relative Massenabweichung: 0.02 ppm

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.25 (s, 6H, C(CH₃)₂), 1.51-1.65 (m, 4H, NH-CH-CH₂-CH₂, NH-CH-CH₂), 1.72 (t, 2H, J = 6.7 Hz, Aryl-CH₂-CH₂), 2.06 (s, 3H, Aryl-CH₃), 2.52 (s, 3H, Aryl-CH₃), 2.55 (s, 5H, Aryl-CH₃, Aryl-CH₂-CH₂), 3.20 (bs, 2H, NH-CH₂), 3.53-3.62 (m, 3H, NH-CH, OH, CH₂-OH), 4.09 (t, 1H, J=6.9 Hz, Fmoc-CH), 4.30 (d, 2H, J=6.9 Hz, Fmoc-CH₂), 5.70 (d, 1H, J=8.3 Hz, NH), 6.35 (bs, 2H, Guanidino-NH), 7.21 (t, 2H, J=7.5 Hz, Fmoc), 7.31 (t, 2H, Fmoc), 7.53 (d, 2H, J=7.4 Hz, Fmoc), 7.69 (d, 2H, J=7.5 Hz, Fmoc).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 12.3 (Aryl-CH₃), 17.6 (Aryl-CH₃), 18.7 (Aryl-CH₃), 21.5 (Aryl-CH₂), 25.7 (NH-CH-CH₂-CH₂), 26.8 (C(CH₃)₂), 28.6 (NH-CH-CH₂), 32.8 (Aryl-CH₂-CH₂), 41.1 (NH-CH₂), 47.3 (Fmoc-CH), 52.9 (NH-CH), 64.7 (CH₂-OH), 66.8 (Fmoc-CH₂), 73.9 (C(CH₃)₂), 118.2, 120.0, 124.3, 125.3, 127.2, 127.8, 135.6, 141.3, 143.9, 157.1, 156.9 (Aryl).

(S)-N-Fluorenylmethoxycarbonyl-N^G-(2,2',5,7,8-pentamethylchroman-6-sulfonyl)-2-amino-5-guanidinopentylmesylat (121)

Nach AAV 11 werden 1.21 g von Verbindung **120** (1.86 mmol) in 50 ml absolutem DCM gelöst und mit 286 µl Triethylamin (2.05 mmol) und 152 µl Methansulfonsäurechlorid (1.95 mmol) umgesetzt. Die Reinigung erfolgt säulenchromatographisch (Petrolether:Aceton 1:1).

Ausbeute: 0.85 g (1.17 mmol, 63 %)

Schmelzpunkt: 117°C (Ethylacetat/Petrolether)

FT-ICR-MS: $[M+Na]^+$

berechnet:	m/z	749.26493	
gefunden:	m/z	749.264188	relative Massenabweichung: 0.99 ppm

FAB-MS: $m/z = 727.0 [M+H]^+$

$$[\alpha]_D^{20} = -8.8 \text{ (c = 1, CHCl}_3\text{)}$$

¹H-NMR (CDCl₃): $\delta = 1.26$ (s, 6H, C(CH₃)₂), 1.54-1.65 (m, 4H, NH-CH-CH₂-CH₂, NH-CH-CH₂), 1.74 (t, 2H, J = 6.9 Hz, Aryl-CH₂-CH₂), 2.07 (s, 3H, Aryl-CH₃), 2.54 (s, 3H, Aryl-CH₃), 2.57 (bs, 5H, Aryl-CH₃, Aryl-CH₂), 2.96 (s, 3H, SO₂-CH₃), 3.21 (bs, 2H, NH-CH₂), 3.88 (bs, 1H, NH-CH), 4.10-4.22 (m, 3H, Fmoc-CH, SO₂-O-CH₂), 4.33 (quint, 2H, J=6.6 Hz, Fmoc-CH₂), 5.66 (d, 1H, J=8.6 Hz, NH), 6.10 (bs, 1H, Guanidino-NH), 6.23 (bs, 2H, Guanidino-NH₂), 7.21-7.24 (m, 1H, Fmoc), 7.34 (t, 1H, Fmoc), 7.54 (d, 2H, Fmoc), 7.71 (d, 2H, Fmoc).

¹³C-NMR (CDCl₃): $\delta = 12.1$ (Aryl-CH₃), 17.5 (Aryl-CH₃), 18.6 (Aryl-CH₃), 21.4 (Aryl-CH₂), 25.4 (NH-CH-CH₂-CH₂), 26.7 (C(CH₃)₂), 28.1 (NH-CH-CH₂), 32.7 (Aryl-CH₂-CH₂), 37.2 (SO₂-CH₃), 40.8 (NH-CH₂), 47.1 (Fmoc-CH), 50.1 (NH-CH), 66.9 (Fmoc-CH₂), 71.3 (SO₂-O-CH₂), 118.1, 119.9, 124.2, 125.1, 127.1, 127.7, 135.5, 141.3, 143.8, 156.1, 156.4 (Aryl).

(S)-N-tert-Butyloxycarbonyl-N^G-tosyl-2-amino-5-guanidinopentan-1-ol (123)

Zu einer Lösung von 6.42 g Boc-Arg(Tos)-OH (15 mmol) in 45 ml THF_{abs} gibt man 3.27 g CDI (20.1 mmol) und rührt bei RT bis die Gasentwicklung beendet ist. Anschließend wird auf 0°C gekühlt und eine Lösung von 954 mg NaBH₄ (25.2 mmol) in 27 ml H₂O zugegeben. Nach 1 h verdünnt man mit 150 ml Ethylacetat und wäscht mit jeweils 50 ml einer 1 M HCl-Lösung, gesättigter NaHCO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung. Nach Trocknen über MgSO₄ wird das Lösemittel im Vakuum entfernt und der erhaltene Rückstand an Kieselgel chromatographisch gereinigt (Ethylacetat). Man erhält einen weißen Feststoff.

Ausbeute: 5.92 g (14.28 mmol, 95 %)

FAB-MS: $m/z = 415.2 [M+H]^+$, 359.1 (M-C(CH₃)₃+H)⁺, 315.2 [M-Boc+H]⁺

FT-ICR-MS: $[M+Na]^+$

berechnet:	m/z	437.18291	
gefunden:	m/z	437.182874	relative Massenabweichung: 0.08 ppm

Alle weiteren analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein^[265].

(S)-*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-*N*^G-tosyl-2-amino-5-guanidinopentylmesylat (124)

Nach AAV11 werden 1.24 g von Verbindung **123** (3mmol) mit 589 μ l Triethylamin (3.45 mmol) und 267 μ l Methansulfonsäurechlorid (3.45 mmol) umgesetzt. Nach Beendigung der Reaktion wird mit 1 M KHSO₄-Lösung, 5%iger Na₂CO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wird der Rückstand mittels Flash-Chromatographie (Ethylacetat) gereinigt. Man erhält einen weißen, amorphen Feststoff.

Ausbeute: 1.27 g (2.56 mmol, 86 %)

FT-ICR-MS: [M+Na]⁺

berechnet:	m/z	515.16046	
gefunden:	m/z	515.160160	relative Massenabweichung: 0.58 ppm

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.40 (s, 9H, -C(CH₃)₃), 1.39-1.60 (m, 4H, NH-CH₂-CH₂, NH-CH₂-CH₂-CH₂) 2.39 (s, 3H, Tosyl-CH₃), 3.01 (s, 3H, SO₂-CH₃), 3.21 (bs, 2H, NH-CH₂), 3.79 (bs, 1H, NH-CH), 4.11-4.22 (m, 2H, SO₂-O-CH₂), 5.08 (d, 1H, NH-CH), 6.49 (bs, 3H, NH), 7.23 (d, 2H, J=8.3 Hz, Tosyl), 7.71 (d, 2H, J=8.3 Hz, Tosyl).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 21.6 (Tosyl-CH₃), 24.2 (NH-CH₂-CH₂-CH₂), 28.4 (-C(CH₃)₃), 32.1 (NH-CH₂-CH₂), 37.4 (SO₂-CH₃), 39.7 (NH-CH₂), 49.8 (NH-CH), 71.4 (SO₂-O-CH₂), 80.0 (-C(CH₃)₃), 126.2, 129.6, 156.0, 160.2 (Tosyl).

(S)-(*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl)-*N*^G-tosyl-2-amino-5-guanidinopentyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosid (125)

Zu einer Lösung von 984 mg 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranose (2.7 mmol) in 75 ml Ethylacetat wird 50 ml einer 0.5 M NaHCO₃-Lösung gegeben und bei RT für 10 min gerührt. Anschließend werden 1.23 g von Verbindung **124** (2.5 mmol) und 3.73 g TBAHS (11 mmol) hinzugegeben und zunächst bei 50°C für 1 h und schließlich bei 60 °C für weitere 4.5 h kräftig gerührt. Nach Abkühlen auf RT wird mit gesättigter NaHCO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über NaSO₄ getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Der erhaltene Rückstand wird säulenchromatographisch aufgereinigt (PE:EA 1:2 \rightarrow EA). Man erhält ein farbloses Harz.

Ausbeute: 0.88 g (1.16 mmol, 46 %)

FT-ICR-MS: [M+Na]⁺

berechnet:	m/z	783.25515	
gefunden:	m/z	783.254592	relative Massenabweichung: 0.71 ppm

$[\alpha]_D = -18.4$ ($c = 0.7$, CHCl_3)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.39$ (s, 9H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.41-1.48 (m, 4H, $\text{NH-CH}_2\text{-CH}_2$, $\text{NH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$)
 1.98 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.01 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.03 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.05 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.37 (s, 3H, Aryl- CH_3), 2.68 (dd, 1H, S- CH_2a), 2.80 (dd, 1H, S- CH_2b), 3.70-3.74 (m, 1H, H-5), 4.20 (d, 1H, $J_{6a-6b}=12.0$ Hz, H-6a), 4.27 (m, 1H, H-6b), 4.47 (d, 1H, $J_{1-2}=10.0$ Hz, H-1), 4.96 (t, 1H, $J_{2-3}=9.2$ Hz, H-2), 5.09 (t, 1H, $J_{3-4}=J_{4-5}=9.6$ Hz, H-4), 5.19 (t, 1H, H-3), 5.24 (d, 1H, CH-NH), 6.39 (bs, 2H, $\text{CH}_2\text{-NH}$, C=NH), 7.20 (d, 2H, Tosyl), 7.71 (d, 2H, Tosyl).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 20.6$, 20.8, 20.8 (CO-CH_3), 21.5 (Tosyl- CH_3), 25.5 ($\text{NH-CH}_2\text{-CH}_2$), 28.5 ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 31.3 ($\text{NH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 36.9 (S- CH_2), 41.0 (NH-CH_2), 61.6 (C-6), 67.9 (C-4), 69.9 (C-2), 73.7 (C-3), 75.9 (C-5), 79.9 ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 84.6 (C-1), 126.0, 129.3, 140.9, 142.0 (Tosyl), 156.9 (C=NH), 169.4, 169.5, 170.2, 170.8 (CO).

N-tert-Butyloxycarbonyl-N'-2-[(S)-1-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-2-amino- N^G -tosyl-5-guanidinopentyl]-L-asparaginsäureamid- β -benzylester (126)

1.) Entfernen der Boc-Schutzgruppe

Zu einer Lösung von 0.82 g von Verbindung **125** (1.08 mmol) in 5 ml DCM gibt man bei 0°C 2.5 ml Trifluoressigsäure (32.5 mmol). Nach 1 h bei 0°C wird eine weitere Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird das DCM im Vakuum entfernt und die verbleibende TFA mit Toluol coevaporiert. Der erhaltene bräunliche Rückstand kann direkt weiter umgesetzt werden.

2.) Kupplung mit Verbindung **12**

Zu einer Lösung von 0.84 g des aus 1.) erhaltenen Produkts (1.08 mmol) in 75 ml Ethylacetat gibt man 0.54 g Boc-Asp(OBn)-OPfp (1.1 mmol) und 410 μl DIPEA (2.4 mmol) und rührt 6 h bei RT. Anschließend wird die Temperatur auf 50°C erhöht und für weitere 12h gerührt. Nach Beendigung der Reaktion wird mit jeweils 25 ml einer 1M HCl-Lösung, gesättigter NaHCO_3 -Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und das Lösemittel im Vakuum entfernt. Der erhaltene Rückstand wird an Kieselgel chromatographiert (PE:EA 1:2). Man erhält einen farblosen, amorphen Feststoff.

Ausbeute: 0.71 g (0.73 mmol, 68 %)

FT-ICR-MS: $[\text{M}+\text{Na}]^+$

berechnet:	m/z	988.323904	
gefunden:	m/z	988.328693	relative Massenabweichung: 0.35 ppm

$[\alpha]_D = -26.2$ ($c = 2.5$, CHCl_3)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.41$ (s, 9H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.44-1.59 (m, 4H, $\text{NH-CH}_2\text{-CH}_2$, $\text{NH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$) 1.99 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.01 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.03 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.04 (s, 3H, $-\text{COCH}_3$), 2.36 (s, 3H, Aryl- CH_3), 2.63 (dd, 1H, $^2\text{J}=13.8$ Hz, $^3\text{J}=5.4$ Hz, S- CH_2a), 2.75 (dd, 1H, $^3\text{J}=6.4$ Hz, S- CH_2b), 2.80 (dd, 1H, $^2\text{J}=17.9$ Hz, $^3\text{J}=5.9$ Hz, CO- CH_2a), 2.93 (dd, 1H, $^3\text{J}=4.9$ Hz, CO- CH_2b), 3.71 (td, 1H, H-5), 3.99 (bs, 1H, S- $\text{CH}_2\text{-CH}$), 4.19-4.20 (m, 2H, H-6), 4.48 (bs, 1H, CO- $\text{CH}_2\text{-CH}$), 4.50 (d, 1H, $\text{J}_{1,2}=10.0$ Hz, H-1), 4.96 (t, 1H, $\text{J}_{1,2}=\text{J}_{2,3}=10.0$ Hz, H-2), 5.05 (t, 1H, H-4), 5.10 (m, 2H, Phenyl- CH_2), 5.22 (t, 1H, $\text{J}_{3,4} = 9.5$ Hz, H-3), 5.74 (d, 1H, $\text{J}=8.6$ Hz, CO- $\text{CH}_2\text{-CH-NH}$), 6.30 (bs, 2H, Guanidin), 6.73 (d, 1H, $\text{J}=9.0$ Hz, S- $\text{CH}_2\text{-CH-NH}$), 7.19 (d, 2H, $\text{J}=8.2$ Hz, Tosyl), 7.31-7.36 (m, 5H, Phenyl), 7.73 (d, 2H, $\text{J}=8.2$ Hz, Tosyl).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 20.7$, 20.7, 20.8, 20.8 (CO- CH_3), 21.5 (Tosyl- CH_3), 25.1 (NH- $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$), 28.3 ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 31.5 (NH- $\text{CH}_2\text{-CH}_2$), 34.6 (S- CH_2), 36.5 (CO- CH_2), 41.0 (NH- CH_2), 49.1 (S- $\text{CH}_2\text{-CH}$), 51.0 (CO- $\text{CH}_2\text{-CH}$), 61.9 (C-6), 67.0 (Phenyl- CH_2), 68.2 (C-4), 69.9 (C-2), 73.8 (C-3), 76.0 (C-5), 80.7 ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 83.0 (C-1), 126.0, 128.3, 128.5, 128.7, 129.3, 135.5, 141.1, 141.9 (Aryl), 156.8 (C=NH), 169.5, 169.6, 170.2, 170.9, 171.7, 178.0 (CO).

3.3.6 Zu Kapitel 2.5.3

N-tert-Butyloxycarbonyl- β -(2,2,2-trichlorethylester)-asparaginsäure-benzylester (127)

Eine Lösung von 3.24 g Boc-Asp-OBn (10 mmol) in 60 ml trockenem Acetonitril und 12 ml absolutem DMF wird auf 0°C gekühlt und mit 2.3 g DCC (10.6 mmol) versetzt. Nach 20 min werden 1.06 ml 2,2,2-Trichlorethanol (10.6 mmol) und 150 mg DMAP zugegeben und zunächst weitere 30 min bei 0°C und schließlich 16 h bei RT gerührt. Nach Beendigung der Reaktion wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand in Ethylacetat aufgenommen und über Celite filtriert. Das Ethylacetat wird im Vakuum entfernt und verbleibendes DMF mit Toluol coevaporiert. Nach chromatographischer Aufreinigung (PE:EA 4:1) erhält man einen weißen Feststoff.

Ausbeute: 4.17 g (9.2 mmol, 92 %)

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein^[240].

Boc- β -Asp(α -OBn)- β -Asp(α -OBn)- OCH_2CCl_3 (128)

1.) Nach AAV 7 werden 1.96 g von Verbindung **127** (4.3 mmol) in 8.6 ml DCM gelöst und bei 0°C mit 8.6 ml TFA umgesetzt. Der erhaltene Feststoff wird direkt weiter umgesetzt.

Ausbeute: quantitativ

2.) Der aus 1.) erhaltene Feststoff (4.3 mmol) wird in 22 ml DCM gelöst und bei 0°C nacheinander mit 2.5 ml Triethylamin (17.2 mmol), 0.7 g HOBt (5.16 mmol), 1.39 g Boc-Asp-OBn (4.3 mmol) und 0.99 g EDC·HCl (5.16 mmol) zugesetzt. Zunächst wird 30 min bei 0°C, dann für 16 h bei RT gerührt. Nach Entfernen des DCM im Vakuum wird der Rückstand in Ethylacetat aufgenommen und mit gesättigter NaHCO₃-Lösung, 1 M KHSO₄-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknen über Na₂SO₄ und Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wird der erhaltene Rückstand säulenchromatographisch getrennt (PE:EA 3:1 → 2:1).

Ausbeute: 2.15 g (3.3 mmol, 77 %)

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein^[240].

Boc-β-Asp(α-OBn)-β-Asp(α-OBn)-β-Asp(α-OBn)-OCH₂CCl₃ (129)

Die Synthese erfolgt analog der für Verbindung **128** beschriebenen Methode mit 792 mg von Verbindung **128** (1.2 mmol), 412 mg Boc-Asp-OBn (1.3 mmol), 696 µl Triethylamin (5 mmol), 202 mg HOBt (1.48 mmol) und 285 mg EDC·HCl (1.48 mmol).

Nach chromatographischer Aufreinigung an Kieselgel (PE:EA 2:1 → 1:1) erhält man **129** als weißen Feststoff.

Ausbeute: 768 mg (0.89 mmol, 74 %)

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein^[240].

***N'*-2-[(S)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-gluco-pyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparaginsäureamid-β-benzylesterammoniumtrifluoracetat (130)**

Bei 0°C werden nach AAV 7 zu einer Lösung von 1.58 g von Verbindung **93** (2 mmol) in 8 ml DCM 8 ml TFA gegeben. Nach 1 h bei 0°C wird für eine weitere Stunde bei RT gerührt. Anschließend wird das DCM im Vakuum entfernt und so oft mit Toluol coevaporiert, bis alle TFA entfernt ist. Man erhält einen bräunlichen Feststoff, der direkt weiter umgesetzt wird.

***N*-tert-Butyloxycarbonyl-*N'*-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparaginsäure (131)**

Nach AAV 8 löst man 3.16 g von Verbindung **93** (4 mmol) in 15 ml Aceton und 30 ml Ethanol und gibt im Schutzgasgegenstrom 50 mg Pd/C als Katalysator zu. Der Kolben wird an die Hydrierburette angeschlossen und mehrmals evakuiert und mit H₂ belüftet. Nach 5 h bei RT wird der Katalysator über Celite abfiltriert und das Filtrat im Vakuum eingengt. Der erhaltene weiße Feststoff kann ohne weitere Aufarbeitung direkt umgesetzt werden.

Ausbeute: 2.79 g (3.99 mmol, 100 %)

***N'*-tert-Butyloxycarbonyl-*N'*'-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparagylamid-(CO¹-*N*²)-*N*²'-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparaginsäureamid- β -benzylester (132)**

a) Unter Schutzgas werden 1.61 g von Verbindung **130** (2 mmol) und 1.39 g von Verbindung **131** (2 mmol) in 30 ml DMF_{abs} gelöst und auf 0°C gekühlt. Anschließend fügt man nacheinander 291 mg HOAt (2.13 mmol), 854 μ l DIPEA (5 mmol) und schließlich 812 mg HATU (2.13 mmol) hinzu. Nach 1 h bei 0°C wird für weitere 3 h bei RT gerührt. Nach Beendigung der Reaktion wird mit 100 ml DCM verdünnt und mit 70 ml destilliertem Wasser gewaschen. Die wässrige Phase wird noch zweimal mit je 25 ml DCM extrahiert und die vereinigten organischen Phasen anschließend mit 50 ml 1M KHSO₄-Lösung, 50 ml gesättigter NaHCO₃-Lösung und 50 ml gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknung über Na₂SO₄ wird das DCM im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (PE:EA 1:3). Man erhält einen weißen Feststoff.

Ausbeute: 2.5 g (1.83 mmol, 91 %)

R_f = 0.47 (PE:EA 1:3)

Schmelzpunkt: 163 °C (Ethylacetat/Petrolether)

MALDI-TOF: m/z = 1407.157 [M+K]⁺, 1391.180 [M+Na]⁺, 1307.396 [M-Boc+K]⁺, 1291.176 [M-Boc+Na]⁺

FAB-MS: m/z = 1269.2 [M-Boc+H]⁺

$[\alpha]_D^{20} = +28.3$ (c = 0.6, CHCl₃)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.46 (s, 9H, -C(CH₃)₃), 1.98 (s, 3H, -COCH₃), 2.00 (s, 3H, -COCH₃), 2.01 (s, 3H, -COCH₃), 2.02 (s, 3H, -COCH₃), 2.03 (s, 3H, -COCH₃), 2.04 (s, 3H, -COCH₃), 2.07 (s, 3H, -COCH₃), 2.10 (s, 3H, -COCH₃), 2.60-3.16 (m, 8H, NH-CH-CH₂-COO, NH-CH-CH₂-COO*, S-CH₂, S-CH₂*), 3.60-3.64 (m, 1H, H-5), 3.69-3.73 (m, 1H, H-5*), 4.10-4.27 (m, 4H, H-6, H-6*), 4.31

(d, 1H, $J_{1-2} = 10.0$ Hz, H-1), 4.50-4.57 (m, 1H, NH-CH-CH₂-COO), 4.53 (d, 1H, $J_{1-2}^* = 10.0$ Hz, H-1*), 4.80-4.85 (m, 1H, NH-CH-CH₂-COO*), 4.92 (t, 1H, H-2), 4.97 (t, 1H, H-2*), 5.04-5.16 (m, 7H, Phenyl-CH₂, Phenyl-CH, Phenyl-CH*, H-4, H-4*, H-3), 5.29 (t, 1H, $J_{2-3}^* = J_{3-4}^* = 9.3$ Hz, H-3*), 6.10 (d, 1H, $J = 6.6$ Hz, NH), 6.89 (d, 1H, $J = 7.6$ Hz, NH), 7.20-7.37 (m, 15H, Phenyl), 7.51 (d, 1H, $J = 7.0$ Hz, NH), 7.61 (d, 1H, $J = 8.3$ Hz, NH).

¹³C-NMR (CDCl₃): $\delta = 20.6, 20.6, 20.8, 20.7, 20.7, 20.8$ (CO-CH₃), 28.3 (-C(CH₃)₃), 35.1, 35.7, 38.6, 49.4, 52.6, 54.3, 61.9, 66.8, 68.0, 68.1, 69.9, 73.6, 73.7, 75.6, 75.9, 79.6, 83.20, 90.3, 126.2, 126.6, 127.6, 127.8, 128.3, 128.3, 128.6, 128.7, 129.2, 135.4, 140.4 (Phenyl), 169.3, 169.4, 169.6, 169.6, 170.1, 170.1, 170.7, 170.8, 170.9, 171.7 (CO).

b) Durchführungen wie bei a)

130	131	Base	LM	Temperatur	Dauer	Kupplungsreagenz	Ausbeute
201 mg (0.25 mmol)	201 mg (0.25 mmol)	DBU (94 μ l)	DMF	RT	4h	HATU (103 mg) HOAt (37 mg)	260 mg, 76 %
201 mg (0.25 mmol)	201 mg (0.25 mmol)	Et ₃ N (87 μ l)	DMF	RT	4 h	HATU (103 mg) HOAt (37 mg)	301 mg, 88 %
201 mg (0.25 mmol)	201 mg (0.25 mmol)	K ₂ CO ₃ (345 mg)	DMF	RT \rightarrow 55°C	12 h	HATU (103 mg) HOAt (37 mg)	Zers.
201 mg (0.25 mmol)	201 mg (0.25 mmol)	DIPEA (61 μ l)	DCM	RT	5 h	HATU (103 mg) HOAt (37 mg)	284 mg, 83 %
80 mg (0.1 mmol)	70 mg (0.1 mmol)	DBU (37 μ l)	DCM	RT	4 h	HATU (41 mg) HOAt (15 mg)	94 mg, 69 %
80 mg (0.1 mmol)	70 mg (0.1 mmol)	DIPEA (43 μ l)	CH ₃ CN	RT	8 h	HATU (41 mg) HOAt (15 mg)	60 mg, 44 %
120 mg (0.15 mmol)	105 mg (0.15 mmol)	DIPEA (64 μ l)	DMF	RT	3 h	HATU (61 mg) HOBt (22 mg)	164 mg, 80 %
120 mg (0.15 mmol)	105 mg (0.15 mmol)	DIPEA (64 μ l)	DMF	RT	4 h	HBTU (61 mg) HOBt (22 mg)	154 mg, 75 %
80 mg (0.1 mmol)	70 mg (0.1 mmol)	DBU (37 μ l)	DMF	RT	12 h	HBTU (41 mg) HOBt (14 mg)	97 mg, 71 %
40 mg (0.05 mmol)	35 mg (0.05 mmol)	DIPEA (21 μ l)	DCM	RT	8 h	HBTU (20 mg) HOBt (8 mg)	45 mg, 66 %
40 mg (0.05 mmol)	35 mg (0.05 mmol)	DBU (19 μ l)	DCM	RT	16 h	HBTU (20 mg) HOBt (8 mg)	40 mg, 59 %
40 mg (0.05 mmol)	35 mg (0.05 mmol)	DIPEA (21 μ l)	DMF	RT \rightarrow 50°C	6 h	PyBOP (28 mg) HOAt (7 mg)	53 mg, 77 %

***N*¹'-2-[(S)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparagylamid-(CO¹-N²)-*N*²'-2-[(S)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparaginsäureamid-β-benzylestertammoniumtrifluoracetat (134)**

Bei 0°C werden nach AAV 7 zu einer Lösung von 1.37 g von Verbindung **132** (1 mmol) in 4 ml DCM 4 ml TFA gegeben. Nach 1 h bei 0°C wird für eine weitere Stunde bei RT gerührt. Anschließend wird das DCM im Vakuum entfernt und so oft mit Toluol coevaporiert, bis alle TFA entfernt ist. Man erhält einen bräunlichen Feststoff, der direkt weiter umgesetzt werden kann.

***N*¹-*tert*-Butyloxycarbonyl-*N*¹'-2-[(S)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparagylamid-(CO¹-N²)-*N*²'-2-[(S)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparagylamid-(CO²-N³)-*N*³'-2-[(S)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparaginsäureamid-β-benzylester (135)**

Unter Schutzgas werden 1.38 g der Aminokomponente **134** (1 mmol) und 0.7 g der Säurekomponente **131** (1 mmol) in 15 ml DMF_{abs} gelöst und auf 0°C gekühlt. Anschließend fügt man nacheinander 146 mg HOAt (1.08 mmol), 700 µl DIPEA (4.1 mmol) und schließlich 409 mg HATU (1.08 mmol) hinzu. Zunächst wird 1 h bei 0°C und anschließend bei RT für weitere 2 h gerührt. Nach Beendigung der Reaktion wird mit 100 ml DCM verdünnt und mit 70 ml destilliertem Wasser gewaschen. Die wässrige Phase wird noch zweimal mit je 20 ml DCM extrahiert, und die vereinigten organischen Phasen anschließend mit 30 ml 1M KHSO₄-Lösung, 30 ml gesättigter NaHCO₃-Lösung und 30 ml gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknung über MgSO₄ wird das DCM im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (PE:EA 1:5). Man erhält einen weißen Feststoff.

R_f = 0.35 (PE:EA 1:5)

Schmelzpunkt: 119°C (Ethylacetat/Petrolether)

FT-ICR-MS: [M+2Na]⁺

berechnet: m/z 997.30321

gefunden: m/z 997.30410

relative Massenabweichung: 0.89 ppm

[α]_D = -37.0 (c = 0.5, CHCl₃)

¹H-NMR (Aceton-d₆): δ = 1.49 (s, 9H, -C(CH₃)₃), 1.88-2.08 (m, 36 H, -COCH₃), 2.44 (dd, 1H, ²J=14.1 Hz, ³J=3.9 Hz), 2.53 (dd, 1H, ²J=14.4 Hz, ³J=4.1 Hz), 2.75 (bs, 4H), 2.79 (dd, 1H, ²J=16.7 Hz, ³J=7.1 Hz), 2.94 (dd, 1H, ²J=16.5 Hz, ³J=4.9 Hz), 3.01 (dd, 1H, ²J=14.2 Hz, ³J=6.9 Hz), 3.05 (dd, 1H, ²J=14.4 Hz, ³J=4.5 Hz), 3.15 (m, 1H), 3.18 (dd, 1H, ²J=12.7 Hz, ³J=5.1 Hz), 3.30 (dd, 1H,

$^2J=13.3$ Hz, $^3J=6.9$ Hz), 3.44 (dd, 1H, $^2J=14.8$ Hz, $^3J=9.4$ Hz), 3.89-3.91 (m, 1H), 4.03-4.06 (m, 1H), 4.12-4.14 (m, 1H), 4.17 (dd, 1H, $J=5.8$ Hz, $J=2.8$ Hz), 4.21 (dd, 1H, $J=6.7$ Hz, $J=2.1$ Hz), 4.23 (d, 1H, $J=2.4$ Hz), 4.30 (dd, 1H, $^2J=12.7$ Hz, $^3J=4.9$ Hz), 4.37 (dd, 1H, $^2J=12.7$ Hz, $^3J=4.1$ Hz), 4.52 (dd, 1H, $^2J=12.4$ Hz, $^3J=3.6$ Hz), 4.68 (d, 1H, $J=10.0$ Hz), 4.73 (m, 1H), 4.89 (m, 2H), 4.92-4.97 (m, 2H), 5.05-5.17 (m, 9H), 5.22 (t, 1H), 5.25 (t, 1H, $J=9.7$ Hz), 5.28-5.32 (m, 1H), 5.43 (t, 1H, $J=9.2$ Hz), 5.67 (t, 1H, $J=9.4$ Hz), 6.92 (bd, 1H, $J=7.7$ Hz), 7.15 (t, 2H, $J=7.1$ Hz), 7.23-7.44 (m, 19 H), 7.70 (d, 1H, $J=9.0$ Hz), 7.99 (d, 1H, $J=6.0$ Hz), 8.34 (d, 1H, $J=9.4$ Hz), 8.48 (d, 1H, $J=8.8$ Hz).

$^{13}\text{C-NMR}$ (Aceton- d_6): $\delta = 20.5, 20.6, 20.6, 20.7, 20.7, 20.8, 20.8, 20.9, 28.7, 30.4, 36.4, 36.7, 38.7, 39.0, 50.4, 54.1, 55.7, 56.8, 62.9, 63.0, 66.7, 69.2, 69.3, 70.8, 71.0, 71.3, 74.3, 74.5, 74.7, 76.0, 76.2, 76.5, 80.3, 83.5, 84.3, 84.5, 127.5, 127.8, 127.9, 128.0, 128.2, 128.8, 128.9, 129.2, 129.3, 129.3, 137.3, 142.2, 143.3, 170.0, 170.1, 170.2, 170.2, 170.3, 170.7, 171.0, 171.1, 171.6, 172.1, 172.6, 206.1, 206.4.$

***N*¹-*tert*-Butyloxycarbonyl-*N*^{1'}-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -*D*-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-*L*-asparagylamid-(CO¹-*N*²)-*N*^{2'}-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -*D*-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-*L*-asparaginsäureamid (136)**

Nach AAV 8 gibt man zu einer Lösung von 548 mg **132** (0.4 mmol) in 1.5 ml Aceton und 5 ml Ethanol im Schutzgasgegenstrom 50 mg Pd/C als Katalysator. Der Kolben wird an die Hydrierburette angeschlossen und mehrmals evakuiert und mit H₂ belüftet. Nach 4.5 h bei RT wird der Katalysator über Celite abfiltriert und das Filtrat im Vakuum eingengt. Der erhaltene Rückstand wird ohne Aufarbeitung direkt weiter umgesetzt.

***N*¹-*tert*-Butyloxycarbonyl-*N*^{1'}-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -*D*-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-*L*-asparagylamid-(CO¹-*N*²)-*N*^{2'}-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -*D*-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-*L*-asparagylamid-(CO²-*N*³)-*N*^{3'}-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -*D*-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-*L*-asparagylamid-(CO³-*N*⁴)-*N*^{4'}-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -*D*-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-*L*-asparaginsäureamid- β -benzylester (137)**

Unter Schutzgas werden 553 mg der Aminokomponente **134** (0.4 mmol) und 512 mg der Säurekomponente **136** (0.4 mmol) in 5 ml DMF_{abs} gelöst und auf 0°C gekühlt. Anschließend fügt man nacheinander 59 mg HOAt (0.43 mmol), 280 μ l DIPEA (1.64 mmol) und schließlich 164 mg HATU (0.43 mmol) hinzu. Zunächst wird 1 h bei 0°C gerührt, anschließend auf RT erwärmt und für weitere 16 h gerührt. Nach Beendigung der Reaktion wird mit 100 ml Ethylacetat verdünnt und mit

70 ml destilliertem Wasser gewaschen. Die organische Phase wird anschließend mit 30 ml 1M KHSO_4 -Lösung, 30 ml gesättigter NaHCO_3 -Lösung und 30 ml gesättigter NaCl -Lösung gewaschen. Nach Trocknung über MgSO_4 wird das DCM im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (Toluol:Aceton 3:2). Man erhält einen weißen Feststoff.

Ausbeute: 0.92 g (0.36 mmol, 91 %)

$R_f = 0.38$ (Toluol:Aceton 3:2)

MALDI-TOF: $m/z = 2566.864$ $[\text{M}+\text{K}]^+$, 2550.864 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 2467.911 $[\text{M}-\text{Boc}+\text{K}]^+$

FAB-MS: $m/z = 2532.8$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 2431.9 $[\text{M}-\text{Boc}+\text{H}]^+$

FT-ICR-MS: $[\text{M}+\text{H}+\text{Na}]^{2+}$

berechnet: m/z 1276.39858

gefunden: m/z 1276.39910 relative Massenabweichung: 0.4 ppm

$[\alpha]_D = -16.3$ ($c = 0.8$, Aceton)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.48$ (s, 9H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.96-2.09 (m, 48 H), 2.45-2.64 (m, 7H), 2.81-3.21 (m, 9H), 3.43-3.52 (m, 1H), 3.67 (t, 1H, $J=10.7$ Hz), 3.68 (t, 1H, $J=10.1$ Hz), 3.78 (t, 2H, $J=11.0$ Hz), 4.12-4.33 (m, 11H), 4.50-4.56 (m, 4H), 4.72 (q, 1H, $J=5.1$ Hz), 4.82 (bs, 2H), 4.89-4.98 (m, 5H), 5.05-5.17 (m, 11H), 5.24-5.35 (m, 3H), 6.52 (bs, 1H), 7.02-7.36 (m, 25 H), 7.51 (d, 1H, $J=5.9$ Hz, NH), 7.63-7.68 (m, 2H), 7.99 (bs, 2H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 20.6, 20.7, 20.8, 20.9, 21.1, 21.2, 21.2, 21.5, 24.9, 25.6, 28.4, 33.9, 34.9, 35.1, 35.3, 37.7, 49.1, 49.3, 61.8, 61.9, 62.1, 62.1, 66.8, 66.8, 66.8, 68.0, 68.1, 68.1, 69.7, 69.9, 70.0, 70.1, 73.7, 75.4, 75.5, 75.5, 75.6, 75.7, 75.8, 80.6, 83.2, 125.3, 126.1, 126.6, 126.6, 127.5, 127.6, 127.9, 128.2, 128.3, 128.4, 128.6, 128.7, 128.7, 129.0, 135.5, 140.5, 140.7, 156.8, 169.4, 169.5, 169.5, 169.5, 169.6, 169.6, 169.7, 169.8, 170.0, 170.1, 170.1, 170.2, 170.7, 170.8, 170.9, 170.9, 171.0, 171.1, 171.1, 171.6.$

***N'*-2-[(S)-1-(1-thio- β -D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparagylamid-(CO¹-N²)-N^{2'}-2-[(S)-1-(1-thio- β -D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparagylamid-(CO²-N³)-N^{3'}-2-[(S)-1-(1-thio- β -D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparaginsäureamid (138)**

a) Entfernen der Benzyl-Schutzgruppe:

293 mg von Verbindung **135** (0.15 mmol) werden nach AAV 8 zur freien Säure umgesetzt. Der erhaltene Rückstand wird ohne Aufreinigung weiter eingesetzt.

b) Entfernen der Boc-Schutzgruppe:

Der aus a) erhaltene Rückstand wird nach AAV 7 in 4 ml DCM gelöst und mit 2.4 ml TFA versetzt. Nach 1 h bei 0°C und 1 h bei RT erhält man einen leicht bräunlichen Feststoff, der direkt weiter

umgesetzt wird.

c) Entfernen der Acetyl-Schutzgruppen:

Der aus b) erhaltene Rückstand wird in 9 ml MeOH gelöst und mit 18 ml einer 7 N Lösung von Ammoniak in Methanol versetzt. Nach 24 h wird das Ammoniak im Schutzgasstrom und danach das Methanol im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird zunächst über eine Biogel-Säule und anschließend zusätzlich mittels HPLC (MeOH:H₂O 1:2, RP-18) gereinigt. Das MeOH wird im Vakuum, das restliche H₂O über Lyophilisation entfernt. Man erhält einen weißen, amorphen Feststoff.

Ausbeute: 150 mg (0.12 mmol, 79 %)

R_f = 0.23 (MeOH:H₂O 1:2, RP-18)

MALDI-TOF: m/z = 1276.921 [M+Na]⁺

FT-ICR-MS: [M+Na]⁺

berechnet:	m/z	1277.39105	
gefunden:	m/z	1277.391676	relative Massenabweichung: 0.49 ppm

Elementaranalyse: M+4xH₂O: C₅₄H₈₂N₆O₂₆S₃

berechnet:	C 48.86	H 6.23	N 6.33	S 7.25
gefunden:	C 48.77	H 6.17	N 6.28	S 6.89

[α]_D = -9.7 (c = 0.1, H₂O)

¹H-NMR (D₂O): δ = 2.57 (dd, 1H, ²J=15.9 Hz, ³J=9.6 Hz), 2.73-2.80 (m, 2H), 2.89 (dd, 1H, ²J=16.2 Hz, ³J=5.0 Hz), 2.99 (dd, 1H, ²J=19.7 Hz, ³J=7.5 Hz), 3.07 (d, 2H, J=7.0 Hz), 3.14-3.20 (m, 4H), 3.24-3.32 (m, 3H), 3.34-3.45 (m, 9H), 3.67-3.74 (m, 3H), 3.85-3.92 (m, 3H), 4.34 (t, 2H, J=9.9 Hz), 4.41 (t, 2H, 8.9 Hz), 4.70 (dd, 1H, ²J=9.5 Hz, ³J=4.6 Hz), 5.07-5.13 (m, 3H), 7.34-7.47 (m, 15 H).

¹³C-NMR (D₂O): δ = 25.9, 26.2, 36.1, 36.6, 37.6, 39.5, 50.3, 51.2, 52.5, 54.6, 54.6, 54.9, 61.3, 61.4, 69.8, 69.8, 72.8, 77.6, 80.2, 80.3, 80.4, 86.2, 86.3, 126.9, 126.9, 128.5, 128.5, 128.7, 129.4, 129.4

***N*'-2-[(S)-1-(1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparagylamid-(CO¹-N²)-N²'-2-[(S)-1-(1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparaginsäureamid (139)**

a) Entfernen der Benzyl-Schutzgruppe:

205 mg von Verbindung **132** (0.15 mmol) werden wie bei AAV 8 beschrieben zur freien Säure umgesetzt. Der erhaltene Rückstand wird ohne Aufreinigung weiter umgesetzt.

b) Entfernen der Boc-Schutzgruppe:

Der aus a) erhaltene weiße Feststoff wird nach AAV 7 in 4 ml DCM gelöst und mit 2.4 ml TFA

versetzt. Nach 1 h bei 0°C und 1 h bei RT erhält man einen leicht bräunlichen Feststoff.

c) Entfernen der Acetyl-Schutzgruppen:

Der aus b) erhaltene Rückstand wird in 1.5 ml MeOH gelöst und mit 4.5 ml einer 5 N Lösung von Ammoniak in Methanol versetzt. Nach 24 h wird das Ammoniak mit Schutzgas abgeblasen und das Methanol im Vakuum entfernt. Der grünlich-blaue Rückstand wird zunächst über eine Biogel-Säule und anschließend mittels HPLC (MeOH/H₂O, RP-18) gereinigt. Das MeOH wird im Vakuum, das restliche H₂O über Lyophilisation entfernt. Man erhält einen weißen Feststoff.

Ausbeute: 117 mg (0.14 mmol, 93 %)

R_f = 0.59 (MeOH:H₂O 1:3, RP-18)

MALDI-TOF: m/z = 864.963 [M+Na]⁺

[α]_D = -15.5 (c = 0.6, H₂O)

¹H-NMR (D₂O): δ = 2.61 (dd, 1H, ²J=16.7 Hz, ³J=9.2 Hz, H₂N-CH-CH₂a-CO), 2.80 (dd, 1H, ³J=5.0 Hz, H₂N-CH-CH₂b-CO), 2.96 (dd, 1H, ²J=16.7 Hz, ³J=8.1 Hz, NH-CH-CH₂a-COOH), 3.04-3.09 (m, 3H, NH-CH-CH₂b-COOH, S-CH₂^{*}), 3.19 (d, 1H, J=7.1 Hz, S-CH₂), 3.27 (t, 1H, J=9.0 Hz, H-2), 3.30 (t, 1H, J=9.6 Hz, H-2^{*}), 3.36-3.47 (m, 6H, H-3, H-3^{*}, H-5, H-5^{*}, H-4, H-4^{*}), 3.68-3.74 (m, 2H, H-6a, H-6a^{*}), 3.89 (t, 2H, J=12.3 Hz, H-6b, H-6b^{*}), 4.33 (dd, 1H, J=8.1 Hz, J=5.2 Hz, NH-CH-CH₂-COOH), 4.38 (d, 1H, J_{1,2}=9.92 Hz, H-1^{*}), 4.42 (d, 1H, J_{1,2}=9.75 Hz, H-1), 4.71 (dd, 1H, J=9.4 Hz, J=5.0 Hz, H₂N-CH-CH₂-CO), 5.07-5.15 (m, 2H, S-CH₂-CH, S-CH₂-CH^{*}), 7.36-7.40 (m, 10H, Phenyl).

¹³C-NMR (D₂O): δ = 36.6 (S-CH₂^{*}), 36.7 (S-CH₂), 37.0 (NH-CH-CH₂-COOH), 40.0 (H₂N-CH-CH₂-CO), 50.8 (NH-CH-CH₂-COOH), 52.8 (H₂N-CH-CH₂-CO), 55.0 (S-CH₂-CH^{*}), 55.2 (S-CH₂-CH), 61.7, 61.8 (C-6, C-6^{*}), 70.2, 70.2 (C-4, C-4^{*}), 73.2, 73.2 (C-2, C-2^{*}), 77.9 (C-3, C-3^{*}), 80.7, 80.7 (C-5, C-5^{*}), 86.6, 86.7 (C-1, C-1^{*}), 127.3, 127.3, 128.9, 129.0, 129.8, 129.8, 140.6, 141.0 (Phenyl), 171.0, 173.9, 178.2 (CO), 211.1 (COOH).

***N*^{1'}-2-[(S)-1-(1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparagylamid-(CO¹-N²)-*N*^{2'}-2-[1-(1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparagylamid-(CO²-N³)-*N*^{3'}-2-[(S)-1-(1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparagylamid-(CO³-N⁴)-*N*^{4'}-2-[(S)-1-(1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparaginsäureamid (140)**

a) Entfernen der Benzyl-Schutzgruppe:

141 mg von Verbindung **137** (0.056 mmol) werden in 3.5 ml EtOH, 2.5 ml Aceton und 8 ml Ethylacetat gelöst und nach AAV 8 zur freien Säure umgesetzt. Nach 5 h wird der erhaltene Rückstand ohne Aufreinigung weiter umgesetzt.

b) Entfernen der Boc-Schutzgruppe:

Der aus a) erhaltene Rückstand wird nach AAV 7 in 4 ml DCM gelöst und mit 2.4 ml TFA versetzt. Nach 1 h bei 0°C und 1 h bei RT erhält man einen leicht bräunlichen Feststoff, der direkt weiter umgesetzt wird.

c) Entfernen der Acetyl-Schutzgruppen:

Der aus b) erhaltene Rückstand wird in 12 ml MeOH gelöst und mit 36 ml einer 7 N Lösung von Ammoniak in Methanol versetzt. Nach 24 h wird das Ammoniak mit Schutzgas abgeblasen und das Methanol im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird zunächst über eine Biogel-Säule und anschließend mittels HPLC (MeOH:Acetonitril:H₂O 10:1:1, RP-18) gereinigt. Das MeOH wird im Vakuum, das restliche H₂O über Lyophilisation entfernt. Man erhält einen weißen Feststoff.

Ausbeute: 80 mg (0.048 mmol, 68%)

R_f = 0.32 (MeOH:H₂O 1:2, RP-18)

MALDI-TOF: m/z = 1688.923 [M+Na]⁺

FT-ICR-MS: [M+2Na]²⁺

berechnet: m/z 856.25535

gefunden: m/z 856.255899 relative Massenabweichung: 0.64 ppm

$[\alpha]_{\text{D}}^{40} = +2$ (c = 0.75, H₂O); $[\alpha]_{365}^{40} = +12.4$ (c = 0.75, H₂O)

***N'*-2-[(S)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)-3-phenylpropyl]-L-asparaginsäureamid-β-benzylesterammoniumtrifluoracetat (141)**

Nach AAV 7 werden 2.01 g von Verbindung **99** (2.5 mmol) in 10 ml DCM gelöst und auf 0°C gekühlt. Nach Zugabe von 5 ml TFA wird zunächst eine Stunde bei 0°C, anschließend weitere 1.5 h bei RT gerührt. Das DCM wird im Vakuum entfernt und verbleibende TFA mit Toluol coevaporiert. Nach Trocknen am Hochvakuum wird der bräunliche Feststoff direkt weiter umgesetzt.

***N-tert*-Butyloxycarbonyl-*N'*-2-[(S)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparaginsäure (142)**

Nach AAV 8 gibt man zu einer Lösung von 6.54 g von Verbindung **99** (8.15 mmol) in 50 ml Ethanol im Schutzgasgegenstrom 50 mg Pd/C als Katalysator. Der Kolben wird an die Hydrierbürette angeschlossen und mehrmals evakuiert und mit H₂ geflutet. Nach 4 h bei RT wird der Katalysator über Celite abfiltriert und das Filtrat im Vakuum eingengt. Der erhaltene Feststoff wird direkt weiterverwendet.

Ausbeute: 5.76 g (8.08 mmol, 99 %)

***N*¹-*tert*-Butyloxycarbonyl-*N*^{1'}-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-3-phenylpropyl]-L-asparagylamid-(CO¹-N²)-*N*^{2'}-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-3-phenylpropyl]-L-asparaginsäureamid- β -benzylester (143)**

Unter Schutzgas werden 2.02 g der Aminokomponente **141** (2.47 mmol) und 1.76 g der Säurekomponente **142** (2.47 mmol) in 30 ml DMF_{abs} gelöst und auf 0°C gekühlt. Anschließend fügt man nacheinander 354 mg HOAt (2.6 mmol), 1059 μ l DIPEA (6.2 mmol) und schließlich 989 mg HATU (2.6 mmol) hinzu. Nach 1 h bei 0°C wird für weitere 23 h bei RT gerührt. Nach Beendigung der Reaktion wird mit 130 ml Ethylacetat verdünnt. Die organische Phase wird zweimal mit 50 ml destilliertem Wasser und je einmal mit 50 ml 1M KHSO₄-Lösung, 50 ml gesättigter NaHCO₃-Lösung und 50 ml gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknung über Na₂SO₄ wird das Ethylacetat im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (Chloroform:Methanol 3:1). Man erhält einen weißen Feststoff.

Ausbeute: 2.1 g (1.50 mmol, 61 %)

Schmelzpunkt: 112°C (Ethylacetat/Petrolether)

FT-ICR-MS: [M+2Na]⁺⁺

berechnet:	m/z	721.23252	
gefunden:	m/z	721.23316	relative Massenabweichung: 0.89 ppm

FAB-MS: m/z = 1297.5 [M-Boc]⁺

Elementaranalyse: C₆₆H₈₄N₄O₂₅S₂ (1397.52)

berechnet:	C 56.72	H 6.06	N 4.01	S 4.59
gefunden:	C 56.73	H 6.50	N 4.08	S 4.33

[α]_D = - 6.8 (c = 2, CHCl₃)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.45 (s, 9H, -CCH₃)₃, 2.00 (s, 3H, -COCH₃), 2.01 (s, 3H, -COCH₃), 2.02 (s, 3H, -COCH₃), 2.03 (s, 3H, -COCH₃), 2.04 (s, 3H, -COCH₃), 2.05 (s, 3H, -COCH₃), 2.58-3.03 (m, 12H, NH-CH-CH₂-COO, NH-CH-CH₂-COO*, S-CH₂, S-CH₂*, NH-CH-CH₂-Ph, NH-CH-CH₂-Ph*), 3.74-3.77 (m, 2H, H-5, H-5*), 4.13-4.32 (m, 6H, H-6, H-6*, NH-CH-CH₂-Ph, NH-CH-CH₂-Ph*), 4.38-4.42 (m, 1H, NH-CH-CH₂-COO), 4.58 (d, 1H, J₁₋₂ = 10.1 Hz, H-1), 4.64 (d, 1H, J₁₋₂ = 10.0 Hz, H-1*), 4.72-4.77 (m, 1H, NH-CH-CH₂-COO*), 4.95-5.12 (m, 6H, H-2, H-2*, CO-O-CH₂-Ph, H-4, H-4*), 5.24 (t, 1H, J₂₋₃=J₃₋₄=9.3 Hz, H-3*), 5.31 (t, 1H, J₂₋₃=J₃₋₄=9.5 Hz, H-3), 5.66 (bs, 1H, NH), 5.82 (d, 1H, J=6.2 Hz, NH), 6.83 (d, 1H, J=8.4 Hz, NH), 6.89 (d, 1H, J=8.1 Hz, NH), 7.15-7.36 (m, 15H, Phenyl).

^{13}C -NMR (CDCl_3): $\delta = 20.6, 20.7, 20.7, 20.7, 20.8$ (CO- CH_3), 28.4 ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), $33.4, 33.8, 35.6, 35.7, 37.9, 39.0, 39.2, 49.2, 50.6, 51.7, 62.0$ (C-6, C-6*), 67.0 (CO-O- CH_2 -Ph), $68.2, 68.3$ (C-4, C-4*), 70.2 (C-2, C-2*), $73.8, 73.9$ (C-3, C-3*), $75.6, 75.9$ (C-5, C-5*), 80.7 ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), $83.5, 83.6$ (C-1, C-1*), $126.7, 126.9, 128.4, 128.4, 128.5, 128.6, 128.7, 128.7, 129.3, 129.4, 135.5, 137.1, 137.7$ (Phenyl), $169.5, 169.6, 169.7, 170.2, 170.2, 170.8, 170.9, 171.9$ (CO).

***N*¹-*tert*-Butyloxycarbonyl-*N*^{1'}-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-3-phenylpropyl]-L-asparagylamid-(CO¹-N²)-*N*^{2'}-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-3-phenylpropyl]-L-asparagylamid-(CO²-N³)-*N*^{3'}-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-3-phenylpropyl]-L-asparaginsäureamid- β -benzylester (144)**

1.) Entfernen der Boc-Schutzgruppe

1.19 g von Verbindung 143 (0.85 mmol) werden nach AAV 7 in 10 ml DCM gelöst und mit 5 ml TFA versetzt. Nach 1 h bei 0°C und 1.5 h bei RT erhält man einen bräunlichen Feststoff, der direkt weiter umgesetzt wird.

2.) Kupplung mit Verbindung **142**

1.2 g des aus 1.) erhaltenen Feststoffes (0.85 mmol) wird in 20 ml absolutem DMF gelöst und auf 0°C gekühlt. Anschließend werden nacheinander 606 mg von Verbindung **142** (0.85 mmol), 124 mg HOAt (0.91 mmol), 363 μl DIPEA (2.13 mmol) und 346 mg HATU (0.91 mmol) zugegeben und zunächst für 1 h bei 0°C und schließlich weitere 72 h bei RT gerührt. Nach Beendigung der Reaktion wird mit 125 ml Ethylacetat verdünnt und zweimal mit je 40 ml destilliertem Wasser und jeweils 30 ml einer 1 M KHSO_4 -Lösung, gesättigter NaHCO_3 -Lösung und gesättigter NaCl -Lösung gewaschen. Nach Trocknen über Na_2SO_4 wird das Lösemittel im Vakuum entfernt und der erhaltene Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (PE:EA 1:6). Man erhält einen weißen Feststoff.

Ausbeute: 1.15 g (0.58 mmol, 68 %)

MALDI-TOF: $m/z = 2013.483$ [$\text{M}+\text{Na}$]⁺

Elementaranalyse: $\text{C}_{93}\text{H}_{118}\text{N}_6\text{O}_{36}\text{S}_3$ (1990.67)

berechnet:	C 56.07	H 5.97	N 4.22	S 4.83
gefunden:	C 55.73	H 6.02	N 4.21	S 4.71

^1H -NMR (Aceton- d_6): $\delta = 1.45$ (s, 9H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.99 - 2.04 (m, 36 H, $-\text{COCH}_3$), 2.59 - 2.93 (m, 18H, NH-CH- CH_2 -COO, NH-CH- CH_2 -COO*, NH-CH- CH_2 -COO**, S- CH_2 , S- CH_2^* , S- CH_2^{**} , NH-CH- CH_2 -Ph, NH-CH- CH_2 -Ph*, NH-CH- CH_2 -Ph**), 3.74 - 3.77 (m, 2H), 4.11 - 4.32 (m, 9H), 4.45 (bs, 1H), 4.62 (d, 2H, $J=10.5$ Hz), 4.70 (quint, 2H, $J=5.7$ Hz), 4.95 - 5.09 (m, 8H), 5.21 - 5.31 (m, 3H),

7.16-7.34 (m, 25 H).

***N'*-2-[(S)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)propyl]-L-asparaginsäureamid- β -benzylesterammoniumtrifluoracetat (145)**

Nach AAV 7 werden 1.46 g von Verbindung **49** (2 mmol) in 8 ml DCM gelöst und mit 4 ml TFA umgesetzt.

Der erhaltene bräunliche Rückstand wird ohne Aufarbeitung direkt weiter eingesetzt.

***N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-*N'*-2-[(S)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)propyl]-L-asparaginsäureamid (146)**

2.91 g von Verbindung **49** (4 mmol) werden in 50 ml Ethanol gelöst und nach AAV 8 umgesetzt.

Man erhält einen weißen Feststoff, der direkt weiter umgesetzt wird.

Ausbeute: 2.55 g (4 mmol, 100%)

***N'*-*tert*-Butyloxycarbonyl-*N''*-2-[(S)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)propyl]-L-asparagylamid-(CO¹-N²)-*N''*-2-[(S)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)propyl]-L-asparaginsäureamid- β -benzylester (147)**

Unter Schutzgas werden 1.48 g der Aminokomponente **145** (2 mmol) und 1.27 g der Säurekomponente **146** (2 mmol) in 30 ml DMF_{abs} gelöst und auf 0°C gekühlt. Anschließend fügt man nacheinander 291 mg HOAt (2.14 mmol), 854 μ l DIPEA (5 mmol) und schließlich 814 mg HATU (2.14 mmol) hinzu. Nach 1 h bei 0°C wird für weitere 21 h bei RT gerührt. Nach Beendigung der Reaktion wird mit 100 ml Ethylacetat verdünnt. Die organische Phase wird zweimal mit 50 ml destilliertem Wasser und je einmal mit 25 ml 1M KHSO₄-Lösung, 25 ml gesättigter NaHCO₃-Lösung und 25 ml gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Nach Trocknung über MgSO₄ wird das Ethylacetat im Vakuum entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (Petrolether:Aceton 1:1). Man erhält einen weißen Feststoff.

Ausbeute: 2.11 g (1.7 mmol, 85 %)

FT-ICR-MS: [M+Na]⁺

berechnet: m/z 1267.41323

gefunden: m/z 1267.414174

relative Massenabweichung: 0.74 ppm

Elementaranalyse: C₅₄H₇₆N₄O₂₅S₂ (1244.42)

berechnet:	C 52.08	H 6.15	N 4.50	S 5.15
gefunden:	C 52.72	H 6.24	N 4.41	S 4.89

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.18 (d, 3H, CH-CH₃^{*}), 1.21 (d, 3H, CH-CH₃), 1.43 (s, 9H, -C(CH₃)₃), 1.98 (s, 3H, -COCH₃), 1.98 (s, 3H, -COCH₃), 2.00 (s, 3H, -COCH₃), 2.01 (s, 3H, -COCH₃), 2.03 (s, 3H, -COCH₃), 2.05 (s, 3H, -COCH₃), 2.06 (s, 3H, -COCH₃), 2.08 (s, 3H, -COCH₃), 2.52 (dd, 1H, ²J=14.2 Hz, ³J=7.2 Hz, S-CH₂a^{*}), 2.60-2.89 (m, 6H, S-CH₂, S-CH₂b^{*}, NH-CH-CH₂-COO^{*}, NH-CH-CH₂a-COO), 3.09 (dd, 1H, NH-CH-CH₂b-COO), 3.74-3.79 (m, 2H, H-5, H-5^{*}), 4.00-4.07 (m, 2H, S-CH₂-CH^{*}, S-CH₂-CH), 4.12 (dd, 1H, H-6a^{*}), 4.20-4.24 (m, 3H, H-6b^{*}, H-6), 4.38-4.45 (m, 1H, NH-CH-CH₂-COO^{*}, NH-CH-CH₂-COO), 4.55 (d, 1H, J₁₋₂ = 10.2 Hz, H-1^{*}), 4.63 (d, 1H, J₁₋₂ = 10.1 Hz, H-1), 4.73-4.78 (m, 1H, NH-CH-CH₂-COO), 4.93-4.99 (m, 2H, H-2^{*}, H-2), 5.08 (t, 1H, J₃₋₄=J₄₋₅=9.8 Hz, H-4^{*}), 5.09 (t, 1H, J₃₋₄=J₄₋₅=10.0 Hz, H-4), 5.14 (dd, 2H, ²J=17.6 Hz, ³J=12.0 Hz, Phenyl-CH₂), 5.23 (t, 1H, J₂₋₃=9.5 Hz, H-3^{*}), 5.29 (t, 1H, J₂₋₃=9.3 Hz, H-3), 5.86 (bd, 1H, J=6.7 Hz, NH), 6.82 (bd, 1H, J=7.1 Hz, NH), 6.93 (d, 1H, J=8.3 Hz, NH), 7.12 (d, 1H, J=8.1 Hz, NH), 7.29-7.36 (m, 5H, Phenyl).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 19.3 (CH-CH₃^{*}), 19.5 (CH-CH₃), 20.6, 20.7, 20.8, 20.8, 20.8, 20.8 (CO-CH₃), 28.4 (-C(CH₃)₃), 35.5 (S-CH₂^{*}), 35.7 (S-CH₂), 35.8 (NH-CH-CH₂-COO^{*}), 38.7 (NH-CH-CH₂-COO), 45.3 (NH-CH-CH₃^{*}), 46.2 (NH-CH-CH₃), 49.3 (NH-CH-CH₂-COO^{*}), 51.5 (NH-CH-CH₂-COO), 62.0 (C-6^{*}, C-6), 67.0 (Phenyl-CH₂), 68.2 (C-4^{*}), 68.3 (C-4), 70.1 (C-2^{*}), 70.2 (C-2), 73.8 (C-3^{*}), 73.9 (C-3), 75.6 (C-5^{*}), 75.9 (C-5), 80.6 (-C(CH₃)₃), 83.3 (C-1^{*}), 83.4 (C-1), 128.3, 128.5, 128.7, 135.5 (Phenyl), 169.4, 169.5, 169.5, 169.6, 169.7, 170.2, 170.2, 170.7, 170.8, 170.9, 172.0 (CO).

3.3.7 Zu Kapitel 2.5.2

***N*-Fluorenylmethoxycarbonyl-*N'*-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-*D*-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-*L*-asparaginsäureamid-β-pentafluorphenylester (148)**

1.) Entfernen der Boc-Schutzgruppe

0.7 g von Verbindung **94** (0.8 mmol) wird nach AAV 7 mit einer Lösung von 3.5 ml TFA in 5 ml DCM umgesetzt. Der erhaltene braune Rückstand kann direkt weiter umgesetzt werden.

2.) Veresterung mit Pentafluorphenol

Der aus 1.) erhaltene Feststoff wird nach AAV 4 mit 154 mg Pentafluorphenol (0.84 mmol) und 173 mg DCC (0.84 mmol) umgesetzt. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung erhält man **148** als weißen Feststoff.

Ausbeute: 0.62 g (0.62 mmol, 78 %)

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein^[223].

Synthese von Verbindung 149 an einem Polystyrol-Rink-Amid-MBHA-Harz

1.) Entfernen der Fmoc-Gruppe des Rink-Amid-Linkers

72 mg des Harzes werden zunächst für 1 h in destilliertem DMF gequellt. Das Harz wird abfiltriert und 30 min mit 7 ml einer 20%igen Lösung von Piperidin in DMF geschüttelt. Anschließend wird das Harz erneut abfiltriert und mehrmals gründlich mit DMF gespült.

Beladung: $1.07 \frac{\text{mmol}}{\text{g}}$

2.) Kupplung mit Verbindung 148

Das in 1.) hergestellte Harz wird in DMF suspendiert, mit 100 mg von Verbindung **148** versetzt und 1.5 h geschüttelt. Das Harz wird abfiltriert, zweimal mit DMF gewaschen und erneut mit 100 mg von Verbindung **148** versetzt. Nach weiteren zwei Stunden Schütteln wird das DMF entfernt und das Harz in 6 ml MeOH aufgenommen. Man gibt 600 μl Essigsäureanhydrid und 200 μl DIPEA hinzu und schüttelt weitere 30 min. Anschließend wird das Harz abfiltriert und einmal mit MeOH und fünfmal mit DMF gewaschen.

Die Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe erfolgt wie in 1.) beschrieben.

Beladung: $1.01 \frac{\text{mmol}}{\text{g}}$, Ausbeute: 94 %

3.) Zweite Kupplung mit Verbindung 148

Das Vorgehen erfolgt analog 2.)

Beladung: $0.60 \frac{\text{mmol}}{\text{g}}$, Ausbeute: 56 %

4.) Dritte Kupplung mit Verbindung 148

Die Synthese erfolgt analog dem in 2.) beschriebenen Vorgehen mit der Ausnahme, daß im zweiten Zyklus 50 statt 100 mg von Verbindung **148** verwendet wurden.

Beladung: $0.39 \frac{\text{mmol}}{\text{g}}$, Ausbeute: 65 %

5.) Spaltung des Rink-Amid-Linkers

Zur Spaltung des Rink-Amid-Linkers wird das Harz in 7 ml DCM aufgenommen und mit 2 ml TFA versetzt. Nach einer Stunde Schütteln wird das Harz abfiltriert und zweimal mit DCM gewaschen. Die vereinigten Filtrate werden im Vakuum eingeeengt und verbleibende TFA mit Toluol coevaporiert.

Man erhält ein Produktgemisch aus Verbindung **149** und dem entsprechenden Di- und Mono-peptid.

Synthese von Verbindung **150** an einer Zellulosemembran

1.) Reinigung der Membran und Derivatisieren der Hydroxylgruppen mit Epibromhydrin

Die Membran (Whatman CH 1) wird zunächst je zweimal für jeweils 10 min in 15 ml Dioxan und 15 ml EtOH geschwenkt und anschließend im Luftstrom getrocknet. Zur Aktivierung der Zelluloseoberfläche mit Epibromhydrin wird die Membran mit 5 ml Dioxan benetzt, mit 30 µl einer 60%igen Perchlorsäure und 300 µl einer 10%igen Epibromhydrin-Lösung versetzt und für 2 h geschwenkt. Danach wird erneut mit Dioxan und EtOH gewaschen und getrocknet.

2.) Derivatisierung mit 4,7,10-Trioxa-1,13-tridecandiamin

Die Membran wird zunächst für 2 h in einer 20%igen Lösung von 4,7,10-Trioxa-1,13-tridecandiamin in DMF vorsichtig geschwenkt. Anschließend wird die Reaktionslösung durch eine 5 M Lösung von Natriummethanolat in MeOH ersetzt, für 30 min stehen gelassen und schließlich mehrfach mit MeOH gespült.

3.) Anbringen des Rink-Amid-Linkers und Schützen nicht umgesetzter Aminogruppen

Zu der Membran wird eine Lösung von 135 mg Rink-Amid-Linker (0.25 mmol), 190 mg HATU (0.5 mmol) und 85 µl DIPEA (0.5 mmol) in 20 ml NMP gegeben. Nach 2 h vorsichtigem Schwenken wird das NMP abdekantiert und durch 15 ml einer 5%igen Lösung von Acetanhydrid in DMF ersetzt. Nach 10 min wird die Membran mehrmals gründlich mit DMF und MeOH gewaschen und getrocknet.

4.) Abspalten der Fmoc-Gruppe

Zum Abspalten der Aminoschutzgruppe wird die Membran in 15 ml einer 20%igen Lösung von Piperidin in DMF für 30 min stehen gelassen. Anschließend wird je dreimal mit DMF und MeOH gewaschen und die Membran im Luftstrom gründlich getrocknet.

Beladung mit Rink-Amid-Linker: $0.413 \frac{\mu\text{mol}}{\text{cm}^2}$

5.) Kupplung mit Verbindung **148**

Die Membran wird mit 120 μl einer 0.1 M Lösung von Verbindung **148** in NMP (11.8 mg, 12 μmol), 750 μl NMP und 9.12 mg HODhBt (24 μmol) versetzt. Nach 16 h wird fünfmal mit DMF und einmal mit EtOH gewaschen und getrocknet. Das Schützen der freien Aminogruppen und die anschließende Abspaltung der Fmoc-Gruppe findet wie in 3.) und 4.) beschrieben statt.

$$\text{Beladung: } 0.37 \frac{\mu\text{mol}}{\text{cm}^2}$$

6.) Zweite Kupplung mit Verbindung **148**

Das Vorgehen erfolgt analog 5.).

$$\text{Beladung: } 0.31 \frac{\mu\text{mol}}{\text{cm}^2}$$

7.) Dritte Kupplung mit Verbindung **148**

Das Vorgehen erfolgt analog 5.).

$$\text{Beladung: } 0.27 \frac{\mu\text{mol}}{\text{cm}^2}$$

8.) Vierte Kupplung mit Verbindung **148**

Das Vorgehen erfolgt analog 5.).

$$\text{Beladung: } 0.234 \frac{\mu\text{mol}}{\text{cm}^2}$$

4 Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, das in unserer Arbeitsgruppe entwickelte Konzept zur Darstellung von neo-Glykopeptiden aus glykosilierten Asparaginsäureeinheiten zu erweitern. Dies sollte durch die Synthese neuer Bausteine erfolgen. Darüber hinaus sollten aus diesen Bausteinen ausgewählte neo-Glykopeptide in reiner Form und ausreichender Menge für ihre eingehendere Untersuchung als Oligosaccharid-Mimetika dargestellt werden.

Die Bausteine konnten durch nukleophile Substitution von alkyischen und aromatischen Sulfonsäureestern oder Bromiden mit peracetylierten 1-Thioglukosiden und anschließender Kupplung mit Boc-Asp(OBn)-OPfp (**12**) oder Fmoc-Asp(O*t*Bu)-OPfp (**13**) gewonnen werden.

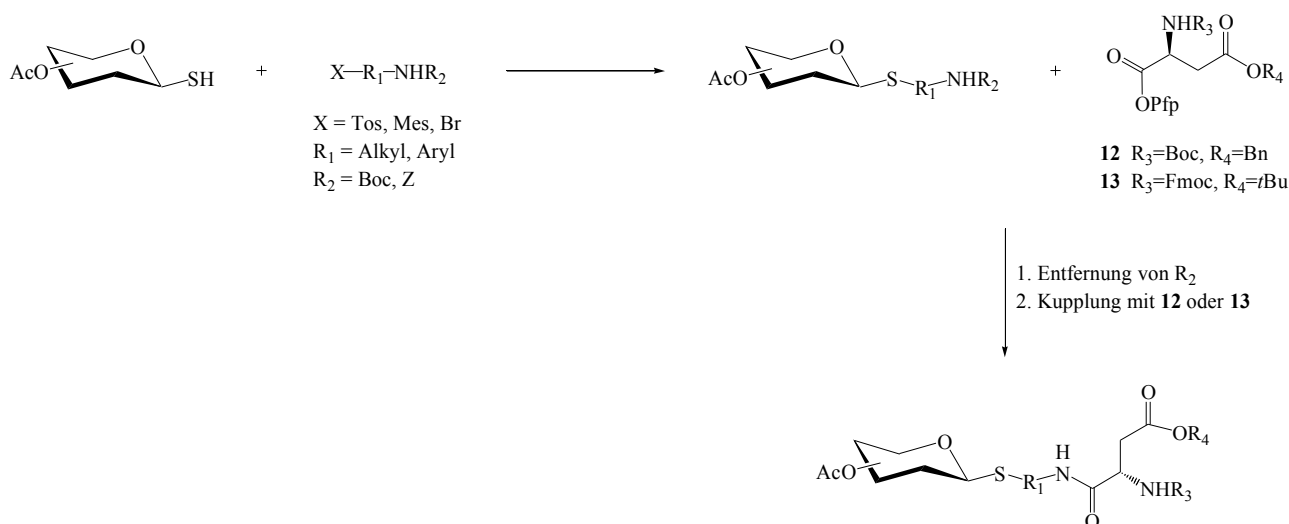


Abbildung 4.1: Schematische Darstellung der Bausteinsynthesen

Auf diese Weise wurden Bausteine mit linearen alkyischen Spacern ($\text{R}_1 = (\text{CH}_2)_n$, $n=2-5$), verzweigten alkyischen Spacern ($\text{R}_1 = \text{CH}_2\text{-CH}(\text{CH}_3)$, $\text{CH}_2\text{-CH}(\text{CH}(\text{CH}_3)_2)$, $\text{CH}_2\text{-CH}(\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2)$, $\text{CH}_2\text{-CH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3)$), alkyischen Spacern mit zusätzlichen funktionellen Gruppen ($\text{R}_1 = \text{CH}_2\text{-CH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-S-CH}_3)$, $\text{CH}_2\text{-CH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHC}(\text{NH})(\text{NH}_2))$), aromatischen Spacern ($\text{R}_1 = p\text{-CH}_2\text{-Ph-CH}_2$, $p\text{-CH}_2\text{-Ph}$, $m\text{-CH}_2\text{-Ph}$, $(S)\text{-CH}_2\text{-CH}(\text{Ph})$, $(R)\text{-CH}_2\text{-CH}(\text{Ph})$, $(S)\text{-CH}_2\text{-CH}(\text{CH}_2\text{Ph})$) und heteroaromatischen Spacern ($\text{R}_1 = \text{Thienyl}$, $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_2\text{Indolyl})$).

Im Falle von Verbindung **75** mit $\text{R}_1 = \text{Phenyl}$ als benzolischem Spacer war eine nukleophile Substitution an 4-Bromnitrobenzol mit einem Thioglukosid nicht möglich. Hier wurde deshalb das entsprechende aromatische Thiolat **73** als Nukleophil mit Acetobromglucose umgesetzt.

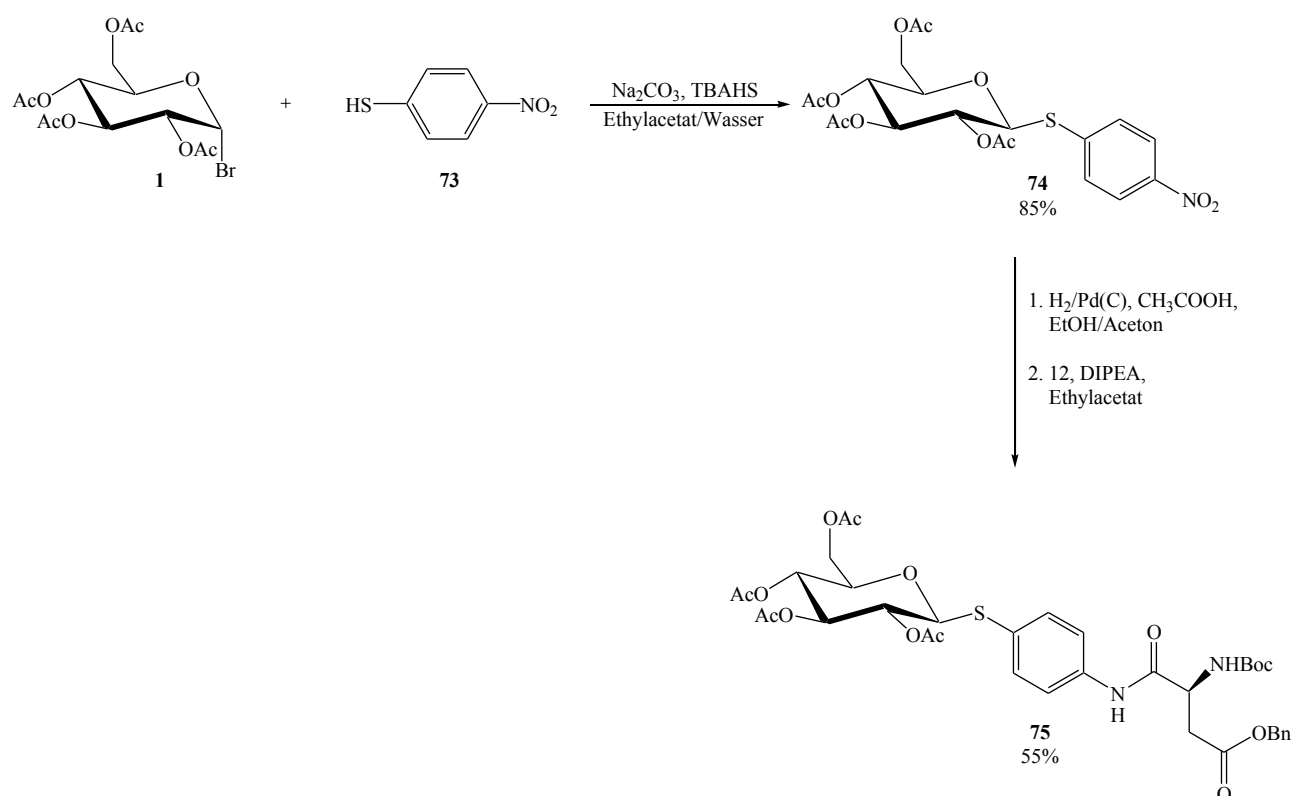


Abbildung 4.2: Darstellung von Verbindung 75

Der zweite Teil der Arbeit befasste sich mit der Synthese von neo-Glykopeptiden aus den zuvor dargestellten Bausteinen. Hierbei sollte v.a. die Untersuchung der Bedeutung von aromatischen Spacern für die Wechselwirkungen der neo-Glykopeptide zu Lektinen im Mittelpunkt stehen.

Zunächst wurde versucht, die dafür vorgesehenen Glykopeptide **132**, **135** und **137** über eine Festphasensynthese sowohl an Harz als auch an Zellulose als Trägermaterial darzustellen. Auf diesem Weg konnte im Falle eines Wang-Harzes mit Rink-Amid-Linker bei Ausbeuten von 59-94 % für die einzelnen Kupplungsschritte eine Gesamtausbeute des Trimers **135** von 36 % erreicht werden. Mit deutlich konstanteren Ausbeuten von 84-90 % verliefen die Kupplungen an Zellulose als fester Phase. Das Tetramer **137** konnte so mit einer Gesamtausbeute von 57 % erhalten werden. In beiden Fällen konnte aber das nach Abspaltung von der festen Phase erhaltene Produktgemisch nicht aufgetrennt werden. Da zudem die so darstellbaren Mengen für ausführliche Untersuchungen nicht ausreichend waren, wurden diese Verbindungen zu Analysezwecken ebenfalls in einer klassischen Lösungsmittelsynthese dargestellt.

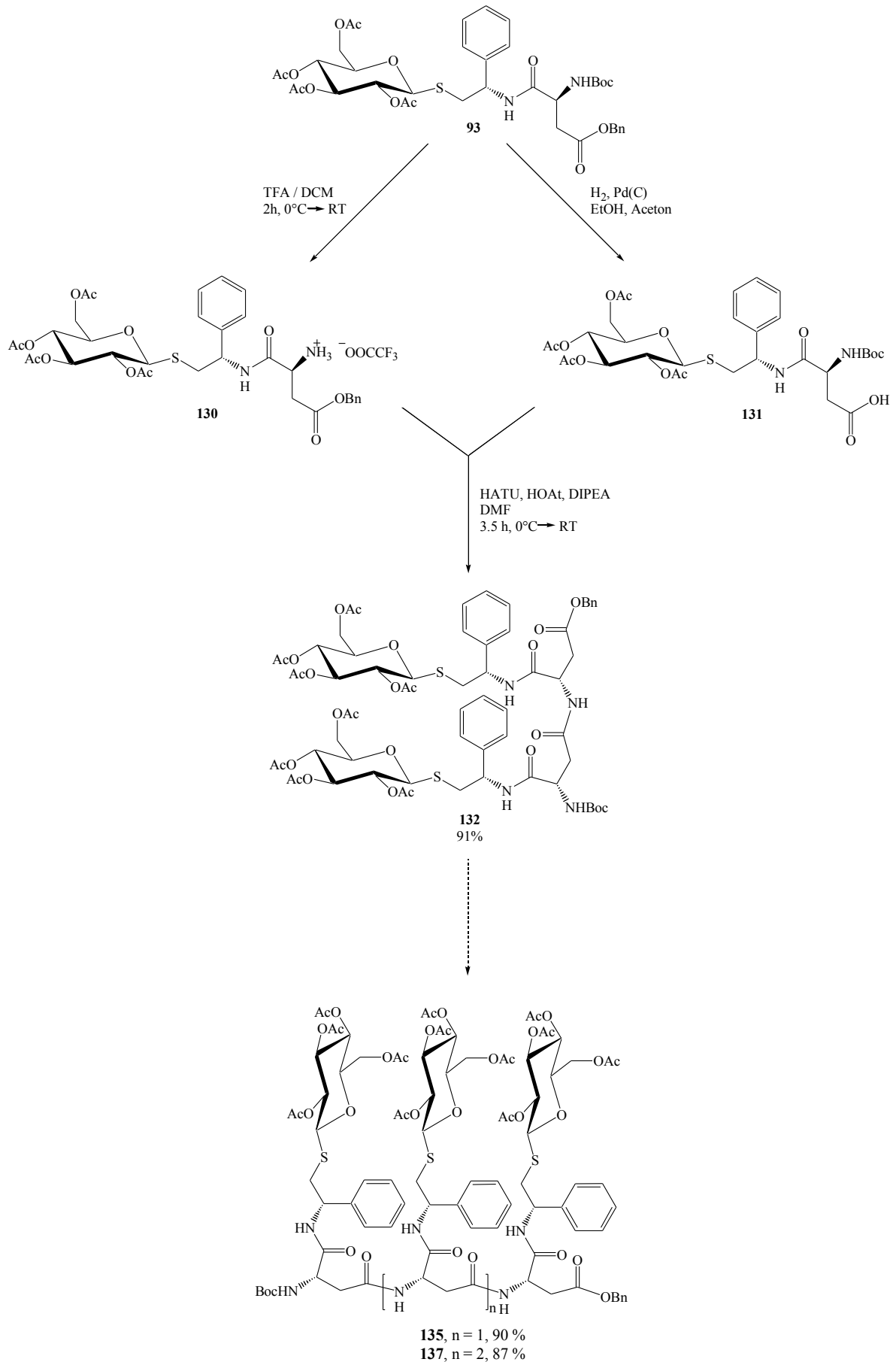


Abbildung 4.3: Darstellung von neo-Glykopeptiden auf Basis von Baustein **93**

Dazu wurden ausgehend von Baustein **93** die entsprechenden Di-, Tri- und Tetramere aufgebaut, indem Baustein **93** zunächst sowohl am N-terminalen Ende als auch am C-terminalen Ende entschützt und anschließend über eine Peptid-Bildung zum Dimer **132** verknüpft wurden. Hier konnte mit HATU/HOAt als Kupplungsreagenz die besten Ausbeute erzielt werden (91 %). Aus dem Dipeptid **132** konnte durch erneute Umsetzung mit Baustein **93** das entsprechende Trimer **135** (90 %) und durch eine konvergente Synthese ebenfalls das Tetramer **137** aufgebaut werden (87 %). Ergänzend wurden auf Basis der Bausteine **49** und **99** ein neo-Glykopeptid ohne aromatischen Spacer, als auch ein Glykopeptid mit einem durch eine zusätzliche CH₂-Gruppe flexibleren Phenyl-Ring im Spacer dargestellt.

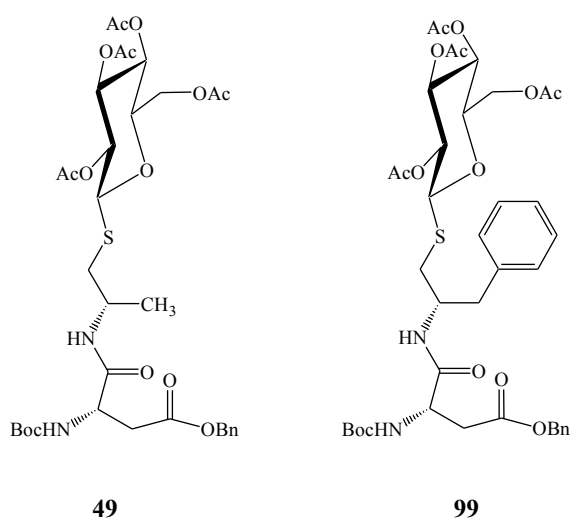


Abbildung 4.4: Die Bausteine **49** und **99**

Um die dargestellten neo-Glykopeptide auf ihre Wechselwirkungen mit Lektinen untersuchen zu können, müssen diese an den Kohlenhydraten entschützt vorliegen. Um für eine bessere Wasserlöslichkeit zu sorgen, wurden ebenfalls die Schutzgruppen am Aminosäurerückgrat entfernt. Dazu wurde bei den Verbindungen **132**, **135** und **137** zunächst hydrogenolytisch die Benzyl-Schutzgruppe des C-Terminus und anschließend im Säuren die Boc-Schutzgruppe des N-Terminus entfernt. Im letzten Schritt konnten dann mit Ammoniak in Methanol die Acetyl-Schutzgruppen des Kohlenhydrats entfernt werden, so daß die komplett entschützten neo-Glykopeptide in Ausbeuten von 68-91 % für die Verbindungen **138**, **139** und **140** erhalten werden konnten.

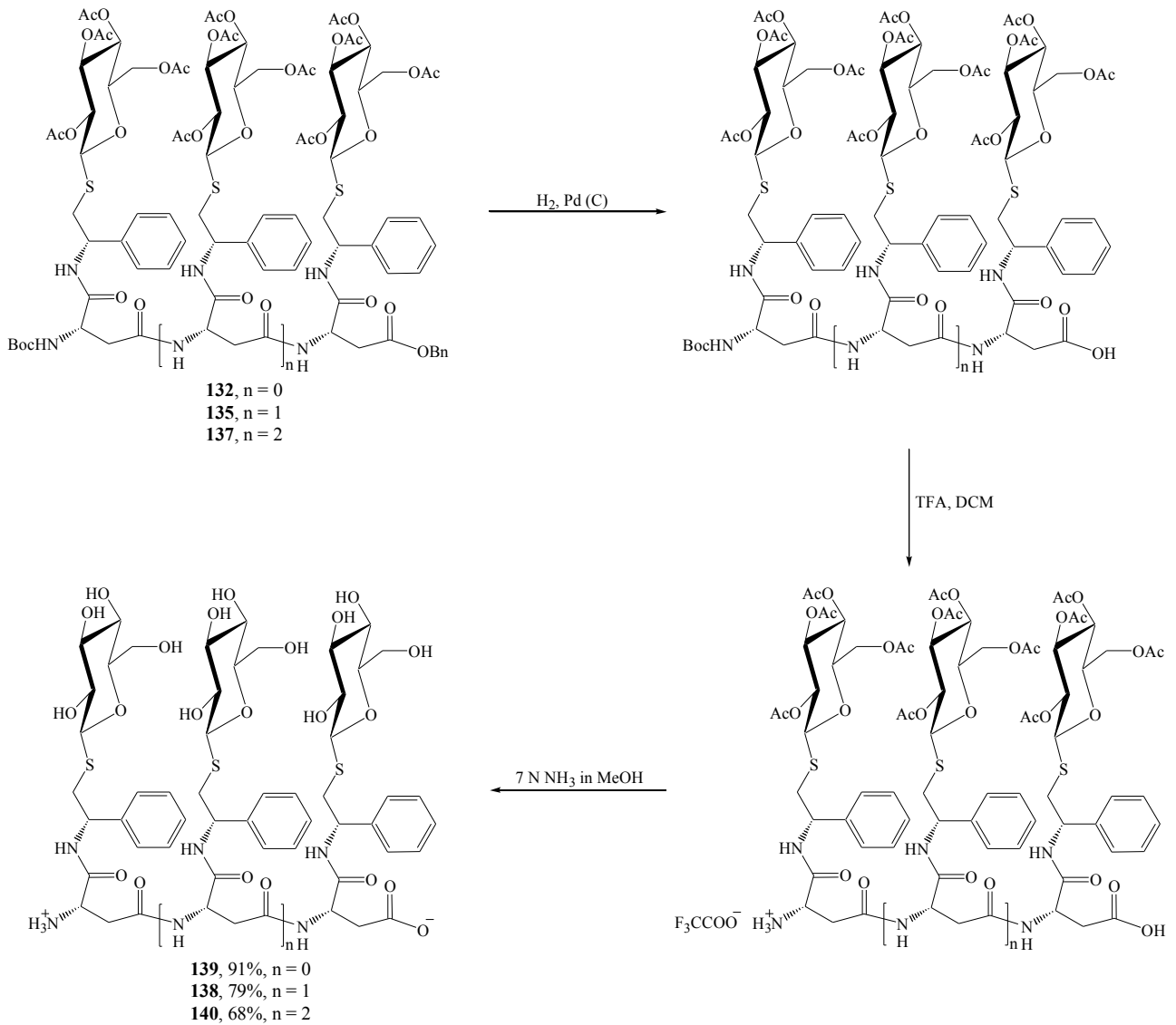


Abbildung 4.5: Darstellung der entschützten neo-Glykopeptide

Die auftretenden Wechselwirkungen des Glykopeptids **140** mit dem Lektin PHA-E wurden abschließend mittels isothermaler Mikrokalorimetrie näher untersucht. Zwar ermöglichten die in diesem Fall schwachen Lektin-Kohlenhydrat-Wechselwirkungen keine genaue Bestimmung der Bindungskonstante, dennoch konnte über die beim Bindungsprozess frei werdende Wärme eine Anbindung des Glykopeptids an das Lektin nachgewiesen werden.

5 Anhang

5.1 Bezifferung der Verbindungen

- 1 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- α -D-glucopyranosylbromid
- 2 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranose
- 3 *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-2-aminoethanol
- 4 *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-2-aminoethyltosylat
- 5 (*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-2-amino-ethyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosid
- 6 *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-2-aminoethylmesylat
- 7 *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-2-aminoethylbromid
- 8 *N*-Benzyloxycarbonyl-2-amino-1-ethanol
- 9 *N*-Benzyloxycarbonyl-2-aminoethylmesylat
- 10 *N*-Benzyloxycarbonyl-2-aminoethyltosylat
- 11 (*N*-Benzyloxycarbonyl-2-aminoethyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosid
- 12 Boc-Asp(OBn)-OPfp
- 13 Fmoc-Asp(O*t*Bu)-OPfp
- 14 *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl- α -{2-[1-(2-amino-ethyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl]}-L-asparaginsäure- β -benzylester
- 15 *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-3-aminopropan-1-ol
- 16 *N*-Benzyloxycarbonyl-3-aminopropan-1-ol
- 17 *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-3-aminopropyltosylat
- 18 *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-3-aminopropylmesylat
- 19 *N*-Benzyloxycarbonyl-3-aminopropyltosylat
- 20 *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-4-aminobutan-1-ol
- 21 *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-4-aminobutylmesylat
- 22 *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-5-aminopentan-1-ol
- 23 *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-5-aminopentylmesylat
- 24 (*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-3-aminopropyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosid
- 25 (*N*-Benzyloxycarbonyl-3-aminopropyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosid
- 26 (*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-3-aminobutyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosid
- 27 (*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-3-aminopentyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosid

- 28 *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-*N'*-3-[1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-propyl]-L-asparaginsäureamid- β -benzylester
- 29 *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-*N'*-4-[1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-butyl]-L-asparaginsäureamid- β -benzylester
- 30 *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-*N'*-5-[1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-pentyl]-L-asparaginsäureamid- β -benzylester
- 31 *N*-Fluorenylmethoxycarbonyl-*N'*-4-[1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-butyl]-L-asparaginsäureamid- β -*tert*-butylester
- 32 *N*-Fluorenylmethoxycarbonyl-*N'*-5-[1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-pentyl]-L-asparaginsäureamid- β -*tert*-butylester
- 33 (S)-2-Aminopropanol
- 34 (S)-2-Amino-3-methylbutanol
- 35 (S)-2-Amino-4-methylpentanol
- 36 (S)-2-Amino-pentanol
- 37 (S)-*N*-Benzyloxycarbonyl-2-aminopropan-1-ol
- 38 (S)-*N*-Benzyloxycarbonyl-2-amino-3-methylbutan-1-ol
- 39 (S)-*N*-Benzyloxycarbonyl-2-amino-4-methylpentan-1-ol
- 40 (S)-*N*-Benzyloxycarbonyl-2-aminopentan-1-ol
- 41 (S)-*N*-Benzyloxycarbonyl-2-aminopropylmesylat
- 42 (S)-*N*-Benzyloxycarbonyl-2-amino-3-methylbutylmesylat
- 43 (S)-*N*-Benzyloxycarbonyl-2-amino-4-methylpentylmesylat
- 44 (S)-*N*-Benzyloxycarbonyl-2-amino-pentylmesylat
- 45 (S)-(N-Benzyloxycarbonyl-2-aminopropyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosid
- 46 (S)-(N-Benzyloxycarbonyl-2-amino-3-methylbutyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosid
- 47 (S)-(N-Benzyloxycarbonyl-2-amino-4-methylpentyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosid
- 48 (S)-(N-Benzyloxycarbonyl-2-aminopentyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosid
- 49 *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-*N'*-2-[(S)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-propyl]-L-asparaginsäureamid- β -benzylester
- 50 *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-*N'*-2-[(S)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-3-

- methylbutyl]-L-asparaginsäureamid- β -benzylester
- 51 *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-*N'*-2-[(S)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-4-methylpentyl]-L-asparaginsäureamid- β -benzylester
- 52 *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-*N'*-2-[(S)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-pentyl]-L-asparaginsäureamid- β -benzylester
- 53 *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-2-aminopropyltosylat
- 54 (S)-(*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-2-aminopropyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosid
- 55 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-1-thio- α -D-mannopyranose
- 56 (*N*-Benzyloxycarbonyl-2-aminoethyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- α -D-mannopyranosid
- 57 (S)-(*N*-Benzyloxycarbonyl-2-aminopropyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- α -D-mannopyranosid
- 58 *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-*N'*-2-[(S)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- α -D-mannopyranosyl)-propyl]-L-asparaginsäureamid- β -benzylester
- 59 *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-*N'*-2-[1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- α -D-mannopyranosyl)-ethyl]-L-asparaginsäureamid- β -benzylester
- 60 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-galactopyranose
- 61 (*N*-Benzyloxycarbonyl-2-aminoethyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-galactopyranosid
- 62 (S)-(*N*-Benzyloxycarbonyl-2-aminopropyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-galactopyranosid
- 63 *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-*N'*-2-[(S)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-galactopyranosyl)-propyl]-L-asparaginsäureamid- β -benzylester
- 64 4-Aminomethylbenzylalkohol
- 65 *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-4-aminomethylbenzylalkohol
- 66 *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-4-aminomethylbenzylmesylat
- 67 (*N*-Butyloxycarbonyl-4-aminomethylbenzyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosid
- 68 *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-*N'*-[4-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)methylbenzyl]-L-asparaginsäureamid- β -benzylester
- 69 (3-Nitrobenzyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosid
- 70 (4-Nitrobenzyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosid
- 71 *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-*N'*-[3-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)methylphenyl]-L-asparaginsäureamid- β -benzylester

- 72 *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-*N'*-[4-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)methylphenyl]-L-asparaginsäureamid- β -benzylester
- 73 4-Nitrothiophenol
- 74 (4-Nitrophenyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosid
- 75 *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-*N'*-[4-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)phenyl]-L-asparaginsäureamid- β -benzylester
- 76 (S)-2-Amino-2-phenylethanol
- 77 (R)-2-Amino-2-phenylethanol
- 78 (S)-2-Amino-3-phenylpropanol
- 79 (S)-*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-2-amino-2-phenylethanol
- 80 (S)-*N*-Benzyloxycarbonyl-2-amino-2-phenylethanol
- 81 (R)-*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-2-amino-2-phenylethanol
- 82 (R)-*N*-Benzyloxycarbonyl-2-amino-2-phenylethanol
- 83 (S)-*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-2-amino-3-phenylpropanol
- 84 (S)-*N*-Benzyloxycarbonyl-2-amino-3-phenylpropanol
- 85 (S)-*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-2-amino-2-phenyltosylat
- 86 (S)-*N*-Benzyloxycarbonyl-2-amino-2-phenylmesylat
- 87 (R)-*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-2-amino-2-phenyltosylat
- 88 (R)-*N*-Benzyloxycarbonyl-2-amino-2-phenylmesylat
- 89 (S)-*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-2-amino-3-phenylpropyltosylat
- 90 (S)-*N*-Benzyloxycarbonyl-2-amino-3-phenylpropylmesylat
- 91 (S)-(*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-2-amino-2-phenylethyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosid
- 92 (S)-(*N*-Benzyloxycarbonyl-2-amino-2-phenylethyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosid
- 93 *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-*N'*-2-[(S)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-2-phenylpropyl]-L-asparaginsäureamid- β -benzylester
- 94 *N*-Fluorenylmethoxycarbonyl-*N'*-2-[(S)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-2-phenylpropyl]-L-asparaginsäureamid- β -*tert*-butylester
- 95 (R)-(*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-2-amino-2-phenylethyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosid
- 96 *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-*N'*-2-[(R)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparaginsäureamid- β -benzylester

- 97 (S)-(N-*tert*-Butyloxycarbonyl-2-amino-3-phenylpropyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosid
- 98 (S)-(N-Benzyloxycarbonyl-2-amino-3-phenylpropyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosid
- 99 *N-tert*-Butyloxycarbonyl-*N'*-2-[(S)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)-3-phenylpropyl]-L-asparaginsäureamid-β-benzylester
- 100 (S)-(N-Benzyloxycarbonyl-2-amino-2-phenylethyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-α-D-mannopyranosid
- 101 *N-tert*-Butyloxycarbonyl-*N'*-2-[(S)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-α-D-mannopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparaginsäureamid-β-benzylester
- 102 (S)-(N-Benzyloxycarbonyl-2-amino-2-phenylethyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-galactopyranosid
- 103 *N-tert*-Butyloxycarbonyl-*N'*-2-[(S)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-galactopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparaginsäureamid-β-benzylester
- 104 Z-Trp-OMe
- 105 (S)-*N*-Benzyloxycarbonyl-2-amino-3-(β-indolyl)propan-1-ol
- 106 (S)-*N*-Benzyloxycarbonyl-2-amino-3-(β-indolyl)propylmesylat
- 107 (S)-[*N*-Benzyloxycarbonyl-2-amino-3-(β-indolyl)propyl]-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosid
- 108 *N-tert*-Butyloxycarbonyl-*N'*-2-[(S)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)-3-(β-indolyl)propyl]-L-asparaginsäureamid-β-benzylester
- 109 2-Brom-5-nitrothiophen
- 110 (5-Nitro-2-thienyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosid
- 111 (5-Ammonium-2-thienyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosylacetat
- 112 *N-tert*-Butyloxycarbonyl-*N'*-[5-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-thienyl]-L-asparaginsäureamid-β-benzylester
- 113 Z-Met-OMe
- 114 (S)-*N*-Benzyloxycarbonyl-2-amino-4-methylsulfanylbutan-1-ol
- 115 (S)-*N*-Benzyloxycarbonyl-2-amino-4-methylsulfanylbutylmesylat
- 116 (S)-(N-Benzyloxycarbonyl-2-amino-4-methylsulfanylbutyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosid
- 117 *N-tert*-Butyloxycarbonyl-*N'*-2-[(S)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)-4-methylsulfanylbutyl]-L-asparaginsäureamid-β-benzylester

- 118 *N*-Fluorenylmethoxycarbonyl-*N'*-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-4-methylsulfanylbutyl]-L-asparaginsäureamid- β -*tert*-butylester
- 119 Fmoc-Arg(Pmc)-OMe
- 120 (*S*)-*N*-Fluorenylmethoxycarbonyl-*N*^G-(2,2',5,7,8-Pentamethylchroman-6-sulfonyl)-2-amino-5-guanidinopentan-1-ol
- 121 (*S*)-*N*-Fluorenylmethoxycarbonyl-*N*^G-(2,2',5,7,8-Pentamethylchroman-6-sulfonyl)-2-amino-5-guanidinopentylmesylat
- 122 (*S*)-(N-*tert*-Butyloxycarbonyl-*N*^G-(2,2',5,7,8-Pentamethylchroman-6-sulfonyl)-2-amino-5-guanidinopentyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosid
- 123 (*S*)-*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-*N*^G-tosyl-2-amino-5-guanidinopentan-1-ol
- 124 (*S*)-*N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-*N*^G-tosyl-2-amino-5-guanidinopentylmesylat
- 125 (*S*)-(N-*tert*-Butyloxycarbonyl-*N*^G-tosyl-2-amino-5-guanidinopentyl)-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosid
- 126 *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-*N'*-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-2-amino-*N*^G-tosyl-5-guanidinopentyl]-L-asparaginsäureamid- β -benzylester
- 127 *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl- β -(2,2,2-trichlorethylester)-asparaginsäure-benzylester
- 128 Boc- β -Asp(α -OBn)- β -Asp(α -OBn)-OCH₂CCl₃
- 129 Boc- β -Asp(α -OBn)- β -Asp(α -OBn)- β -Asp(α -OBn)-OCH₂CCl₃
- 130 *N'*-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparaginsäureamid- β -benzylesterammoniumtrifluoracetat
- 131 *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-*N'*-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparaginsäureamid
- 132 *N*^l-*tert*-Butyloxycarbonyl-*N*^l'-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparagylamid-(CO^l-N²)-*N*²'-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparaginsäureamid- β -benzylester
- 133 *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-*N'*-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparaginsäureamid- β -pentafluorphenylester
- 134 *N*^l'-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparagylamid-(CO^l-N²)-*N*²'-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- β -D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparaginsäureamid- β -benzylesterammoniumtrifluoracetat

- 135 *N*^l-*tert*-Butyloxycarbonyl-*N*^l'-2-[(S)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparagylamid-(CO¹-N²)-*N*²'-2-[(S)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparagylamid-(CO²-N³)-*N*³'-2-[(S)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparaginsäureamid-β-benzylester
- 136 *N*^l-*tert*-Butyloxycarbonyl-*N*^l'-2-[(S)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparagylamid-(CO¹-N²)-*N*²'-2-[(S)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparaginsäureamid
- 137 *N*^l-*tert*-Butyloxycarbonyl-*N*^l'-2-[(S)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparagylamid-(CO¹-N²)-*N*²'-2-[(S)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparagylamid-(CO²-N³)-*N*³'-2-[(S)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparagylamid-(CO³-N⁴)-*N*⁴'-2-[(S)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparaginsäureamid-β-benzylester
- 138 *N*^l'-2-[(S)-1-(1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparagylamid-(CO¹-N²)-*N*²'-2-[(S)-1-(1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparagylamid-(CO²-N³)-*N*³'-2-[(S)-1-(1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparaginsäureamid
- 139 *N*^l'-2-[(S)-1-(1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparagylamid-(CO¹-N²)-*N*²'-2-[(S)-1-(1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparaginsäureamid
- 140 *N*^l'-2-[(S)-1-(1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparagylamid-(CO¹-N²)-*N*²'-2-[(S)-1-(1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparagylamid-(CO²-N³)-*N*³'-2-[(S)-1-(1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparagylamid-(CO³-N⁴)-*N*⁴'-2-[(S)-1-(1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparaginsäureamid
- 141 *N*^l'-2-[(S)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)-3-phenylpropyl]-L-asparaginsäureamid-β-benzylesterammoniumtrifluoracetat
- 142 *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-*N*'-2-[(S)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparaginsäure
- 143 *N*^l-*tert*-Butyloxycarbonyl-*N*^l'-2-[(S)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)-3-phenylpropyl]-L-asparagylamid-(CO¹-N²)-*N*²'-2-[(S)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)-3-phenylpropyl]-L-asparaginsäureamid-β-benzylester

- 144** *N*¹-*tert*-Butyloxycarbonyl-*N*^{1'}-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)-3-phenylpropyl]-L-asparagylamid-(CO¹-N²)-*N*^{2'}-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)-3-phenylpropyl]-L-asparagylamid-(CO²-N³)-*N*^{3'}-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)-3-phenylpropyl]-L-asparaginsäureamid-β-benzylester
- 145** *N*^{1'}-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)propyl]-L-asparaginsäureamid-β-benzylesterammoniumtrifluoracetat
- 146** *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl-*N*^{2'}-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)propyl]-L-asparaginsäureamid
- 147** *N*¹-*tert*-Butyloxycarbonyl-*N*^{1'}-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)propyl]-L-asparagylamid-(CO¹-N²)-*N*^{2'}-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)propyl]-L-asparaginsäureamid-β-benzylester
- 148** *N*-Fluorenylmethoxycarbonyl-*N*^{2'}-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparaginsäureamid-β-pentafluorphenylester
- 149** *N*¹-Fluorenylmethoxyoxycarbonyl-*N*^{1'}-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparagylamid-(CO¹-N²)-*N*^{2'}-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparagylamid-(CO²-N³)-*N*^{3'}-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparaginsäurediamid
- 150** *N*¹-Fluorenyloxycarbonyl-*N*^{1'}-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparagylamid-(CO¹-N²)-*N*^{2'}-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparagylamid-(CO²-N³)-*N*^{3'}-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparagylamid-(CO³-N⁴)-*N*^{4'}-2-[(*S*)-1-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosyl)-2-phenylethyl]-L-asparaginsäurediamid

5.2 Abkürzungen

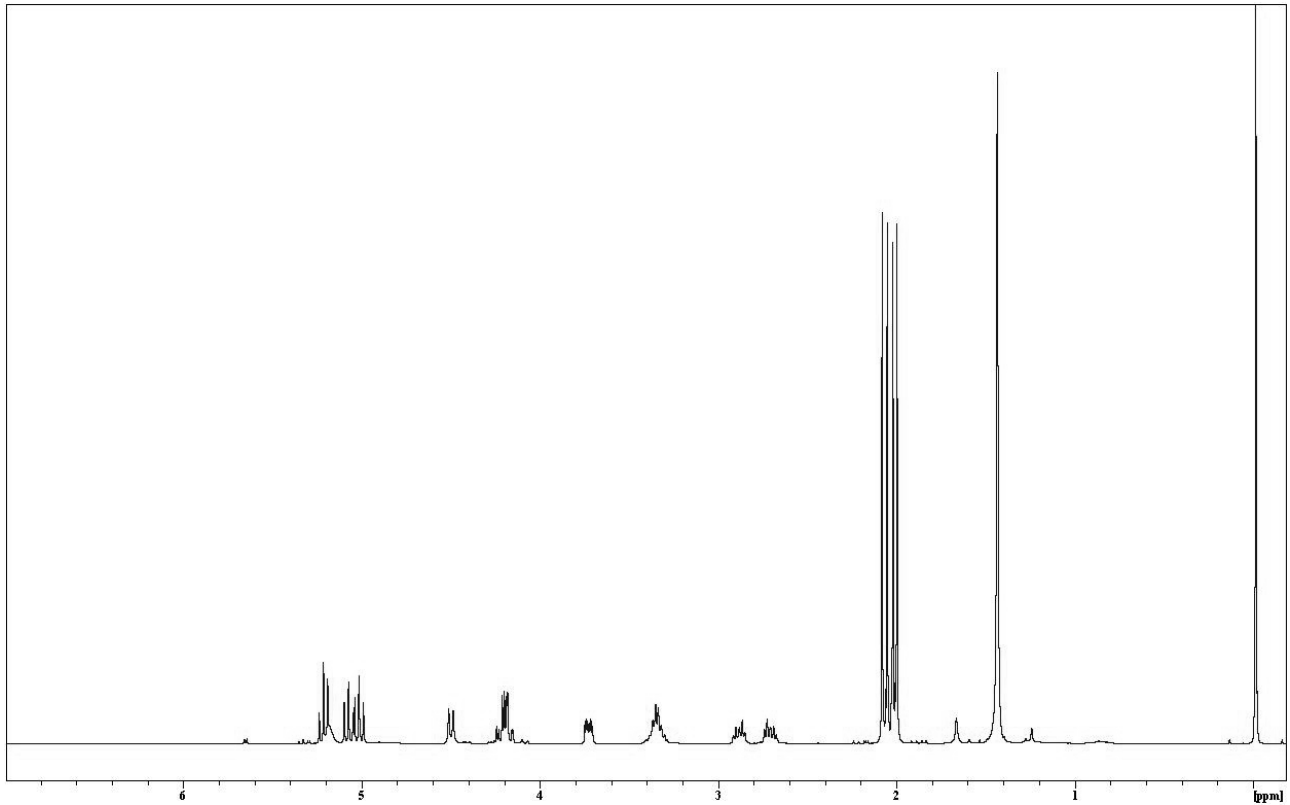
AAV	Allgemeine Arbeitsvorschrift
abs	absolut
Ac	Acetyl
Ac ₂ O	Essigsäureanhydrid
ADDP	1,1'-(Azodicarbonyl)dipiperidin
AFM	Atomic force microscopy
eq	Äquivalente
Asp	L-Asparaginsäure
ber	berechnet
Bn	Benzyl
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl
Boc ₂ O	Di- <i>tert</i> -butyl-dicarbonat
Cbz	Carboxybenzyl
CDI	1,1'-Carbonyldiimidazol
ConA	Concanavalin A
COSY	correlated spectroscopy
CRD	carbohydrate recognition domain
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DC	Dünnschichtchromatogramm bzw. -chromatographie
DCC	<i>N,N'</i> -Dicyclohexylcarbodiimid
DCM	Dichlormethan
DEPT	Distortionless enhancement by polarization transfer
dest	destilliert
DIC	Diisopropylcarbodiimid
DIPEA	Diisopropylethylamin
DMAP	4-(Dimethylamino)pyridin
DMF	<i>N,N'</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
EA	Ethylacetat
ECorL	Erythrina corralloendron lectin
EDC	1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid

ESI	Electron spray ionisation
Et ₂ O	Diethylether
EtOH	Ethanol
FAB	Fast Atom Bombardment
Fmoc	9-Fluorenmethyloxycarbonyl
Gal	Galaktose
gef	gefunden
ges.	gesättigt
Glc	Glukose
h	Stunde
HATU	<i>O</i> -(7-Azabenzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyluronium-hexafluorophosphat
HBTU	<i>O</i> -(Benzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyluronium-hexafluorophosphat
HOAt	1-Hydroxy-7-Azabenzotriazol
HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
HODhBt	3-Hydroxy-3,4-dihydro-4-oxo-1,2,3-benzotriazin
HPLC	High performance liquid chromatography
IR	Infrarotspektroskopie
ITC	Isothermal titration calorimetry
kat.	katalytisch
k. U.	keine Umsetzung
LAH	Lithiumaluminiumhydrid
Lit.	Literatur
LM	Lösungsmittel
Lsg.	Lösung
MALDI	Matrix assisted laser desorption ionization
Man	Mannose
MBHA	4-Methylbenzhydrylamin
Me	Methyl
MeOH	Methanol
Me ₃ P	Trimethylphosphin
Mes	Methansulfonyl
min	Minute

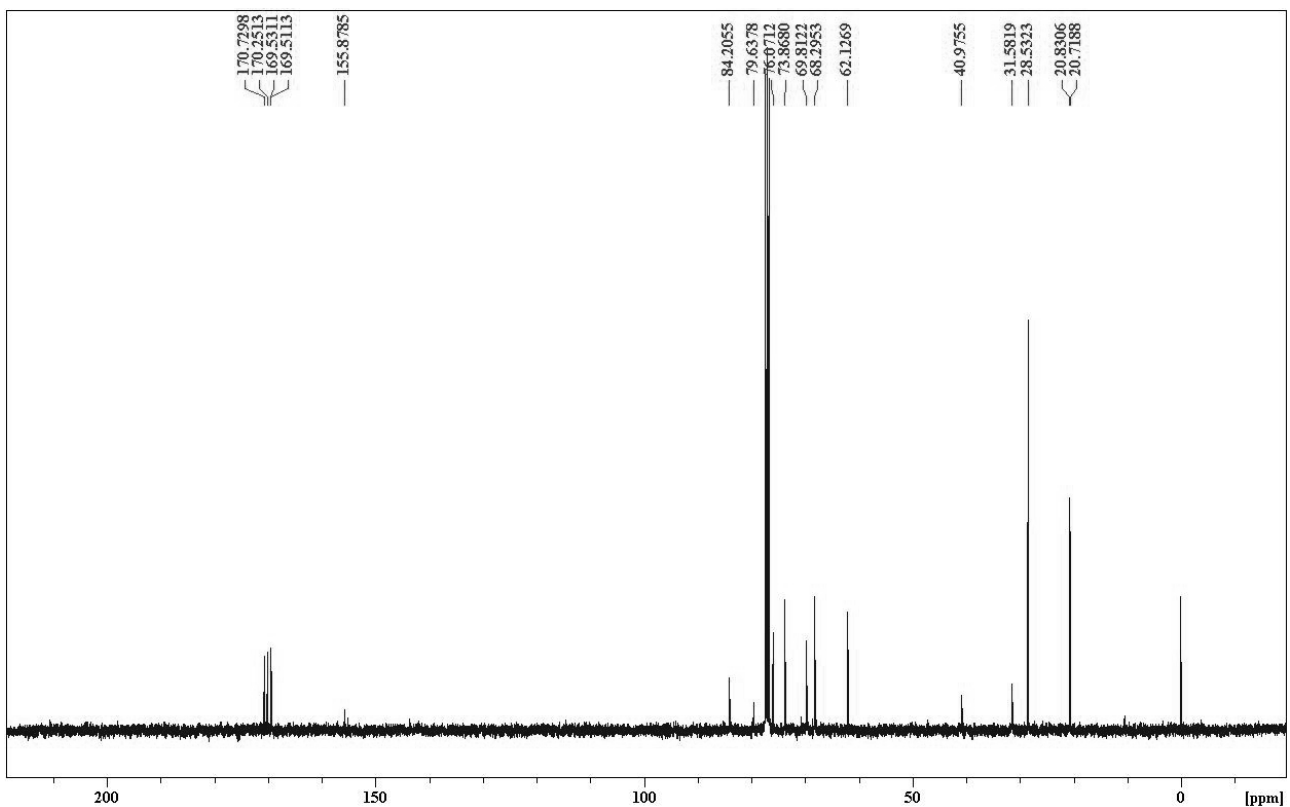
MS	Massenspektrometrie
NMP	<i>N</i> -Methylpyrrolidon
NMR	Kernresonanzspektroskopie
PE	Petrolether 60/90
Pd/C	Palladium auf Aktivkohle
Ph	Phenyl
PHA	Phytohämagglutinin
Pfp	Pentafluorphenol
Ph ₃ P	Triphenylphosphin
Pmc	2,2',5,7,8-Pentamethylchroman-6-sulfonyl
QCM	Quartz crystal microbalance
quant	quantitativ
R _f	Retentionsfaktor
RP	reversed phase
RT	Raumtemperatur
SG	Schutzgruppe
sLe ^x	Sialyl-Lewis X
Smp.	Schmelzpunkt
SPPS	solid phase peptide synthesis
SPR	surface plasmon resonance
TBAHS	Tetrabutylammoniumhydrogensulfat
<i>t</i> Bu	tertiär-Butyl
TEA	Triethylamin
tert	tertiär
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
TOF	Time of flight
Tos	<i>p</i> -Toluolsulfonyl
TMS	Trimethylsilan
Trp	Tryptophan
Z	Benzyloxycarbonyl
Zers.	Zersetzung

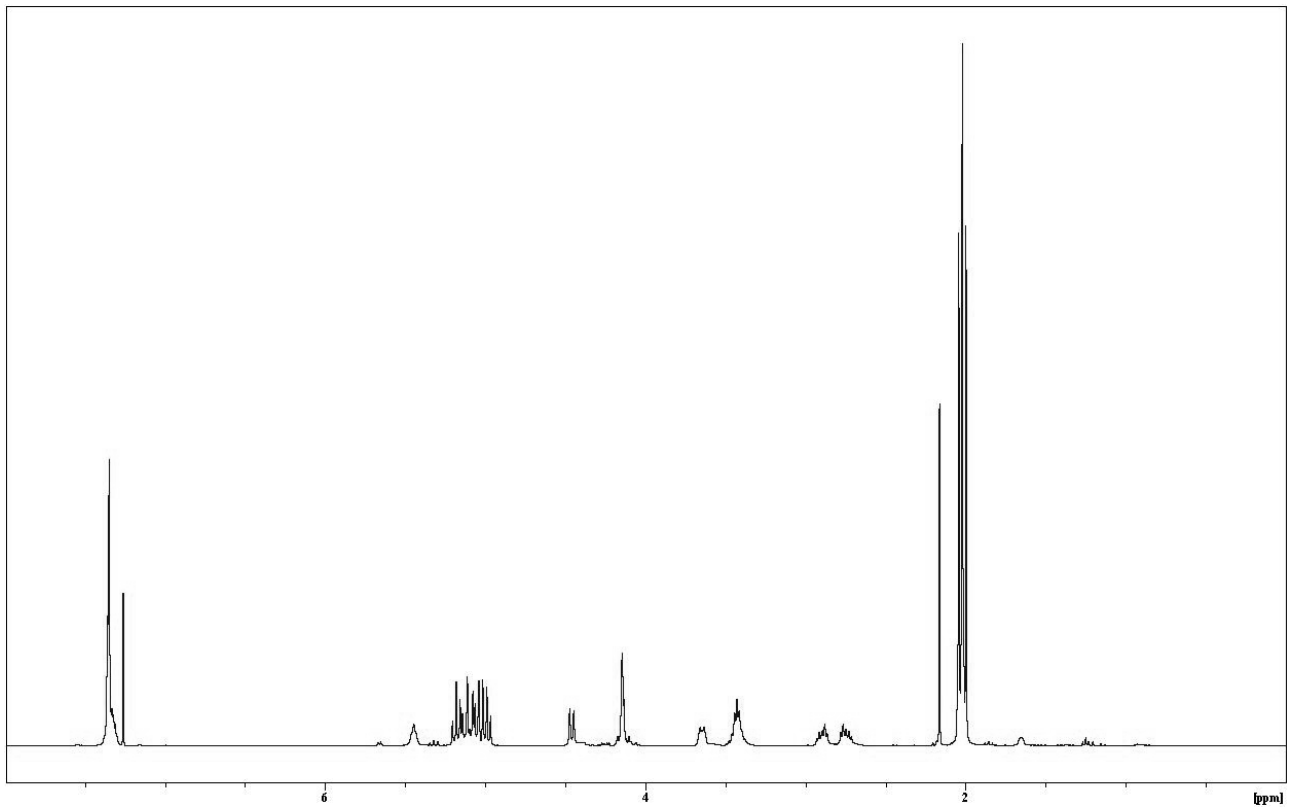
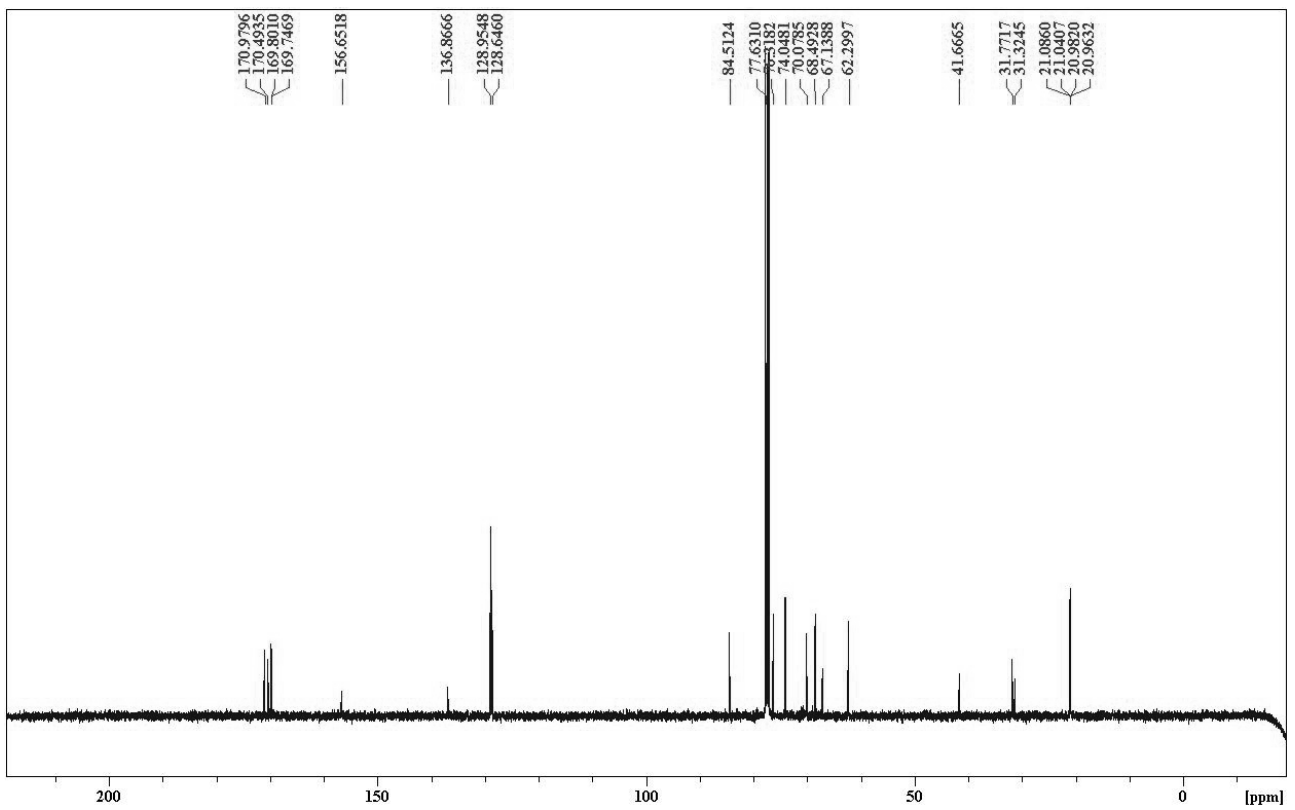
5.3 NMR-Spektren wichtiger Verbindungen

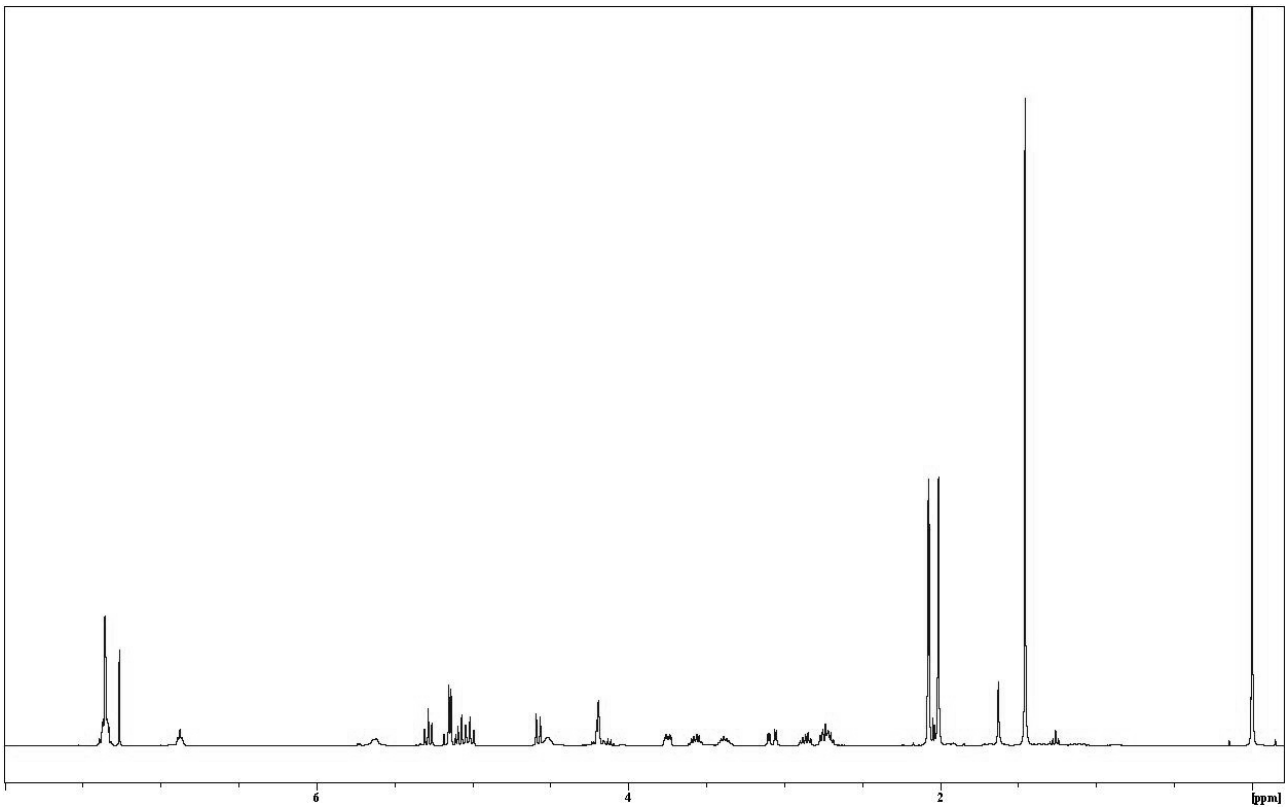
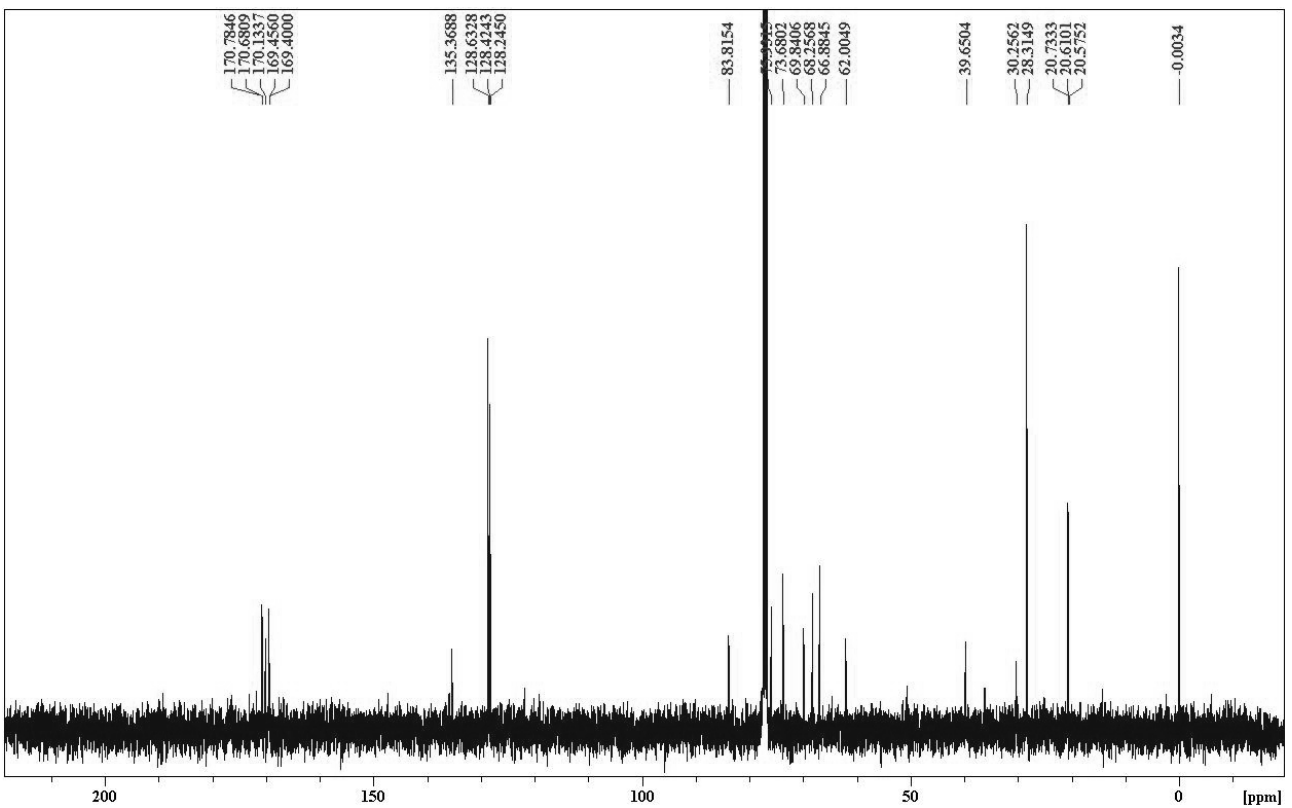
Verbindung 5, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3):

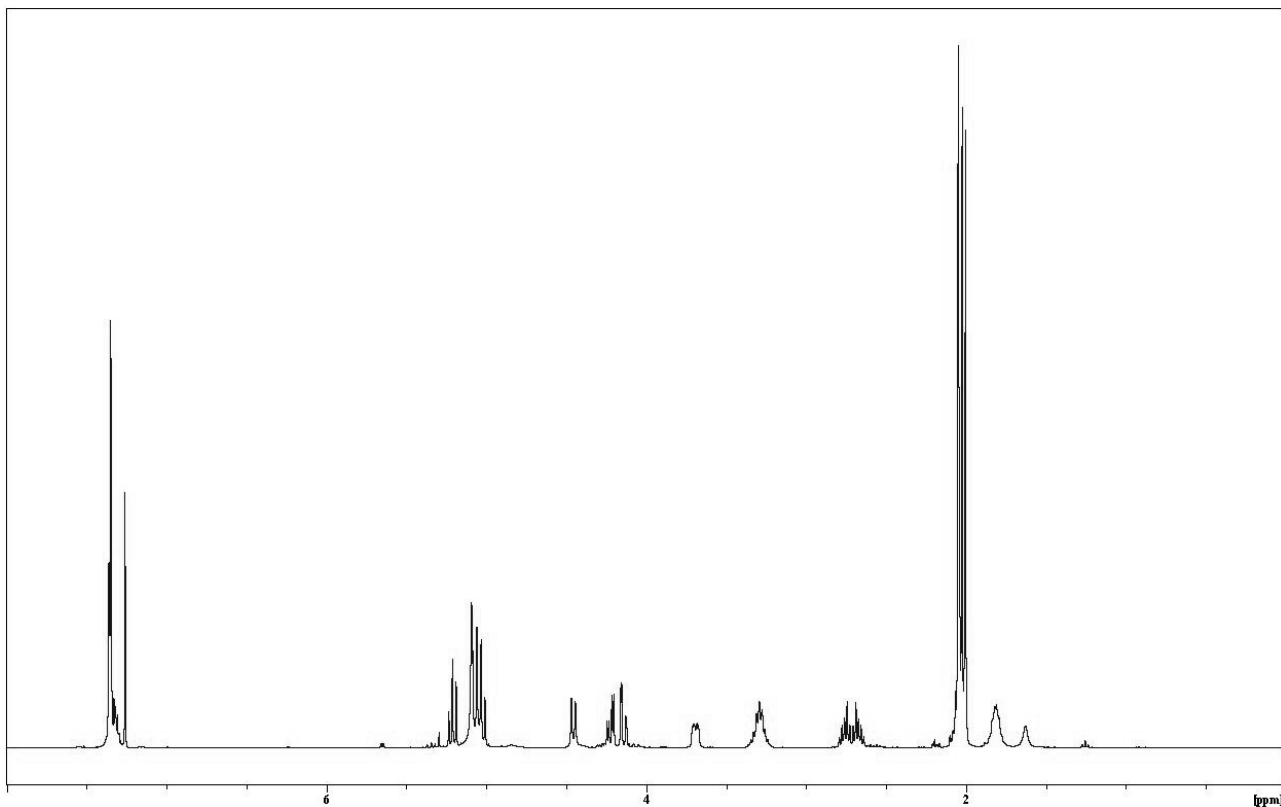
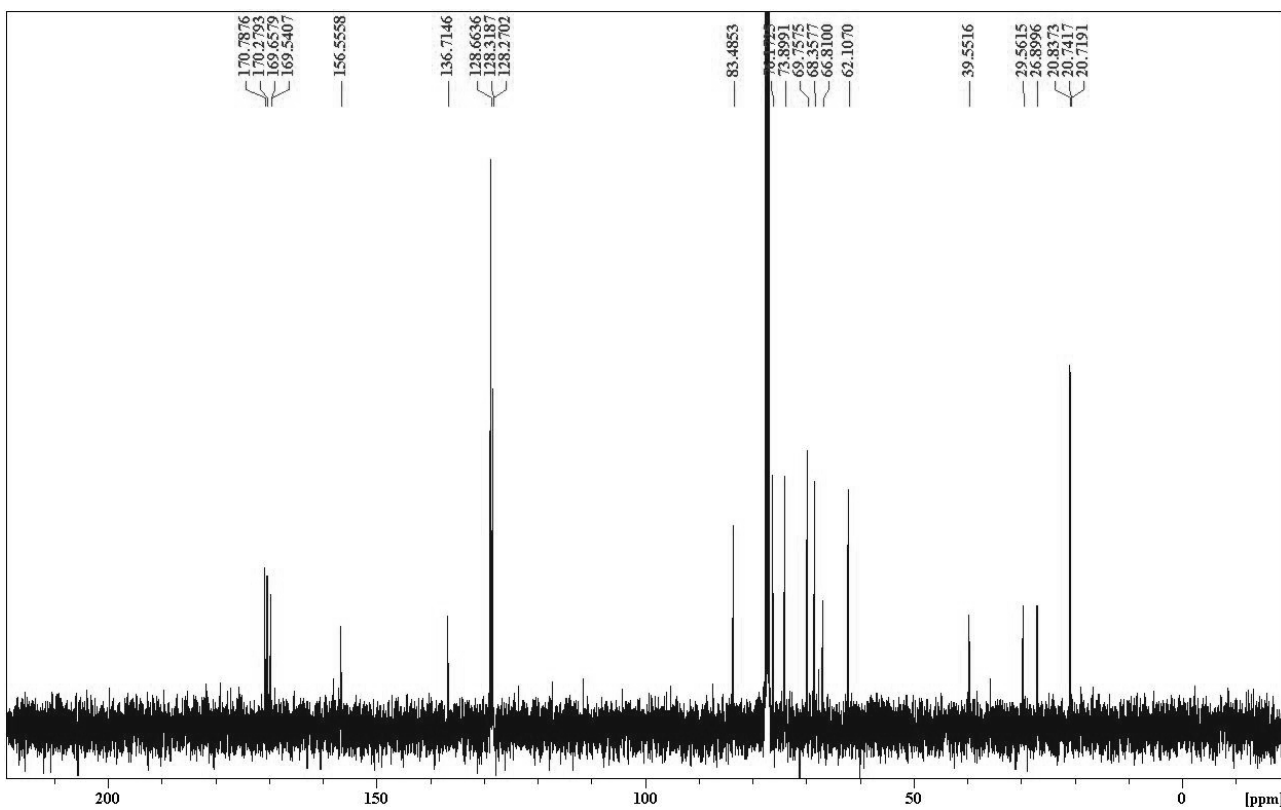


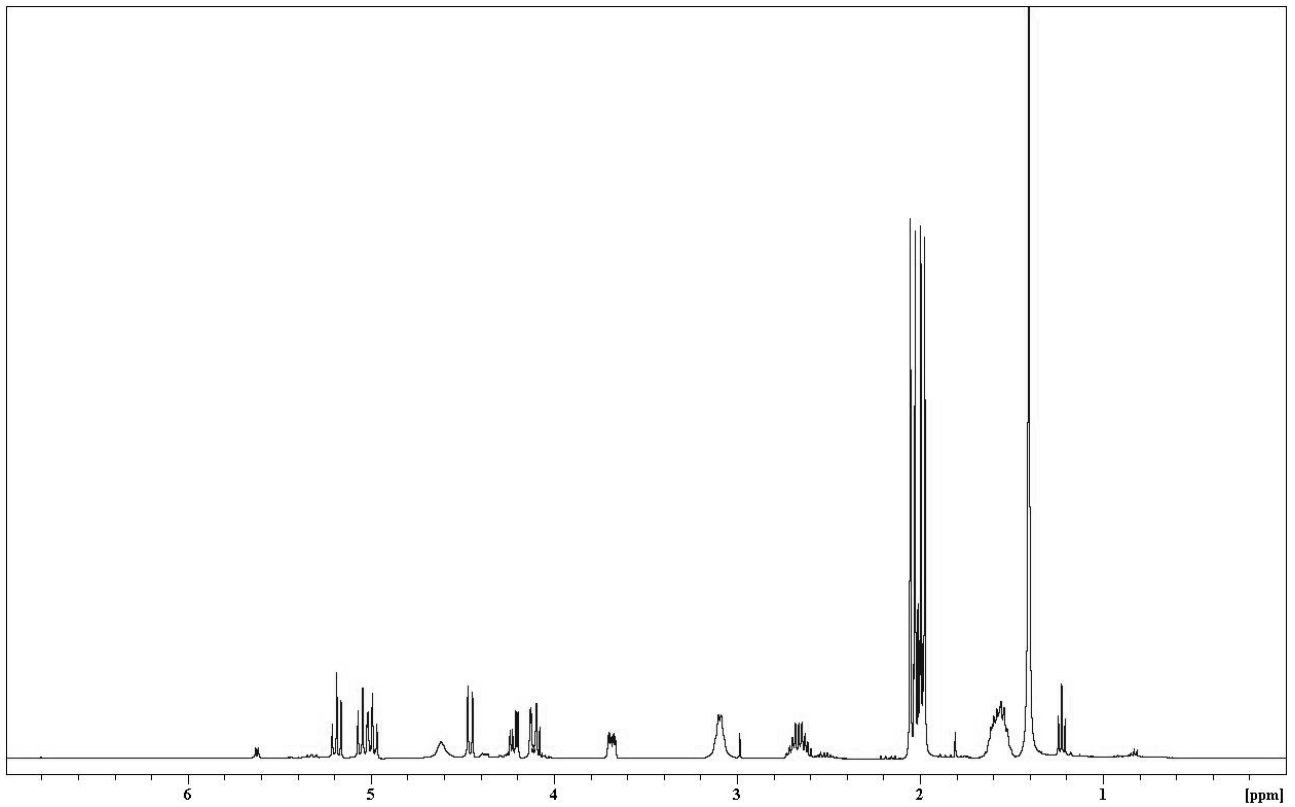
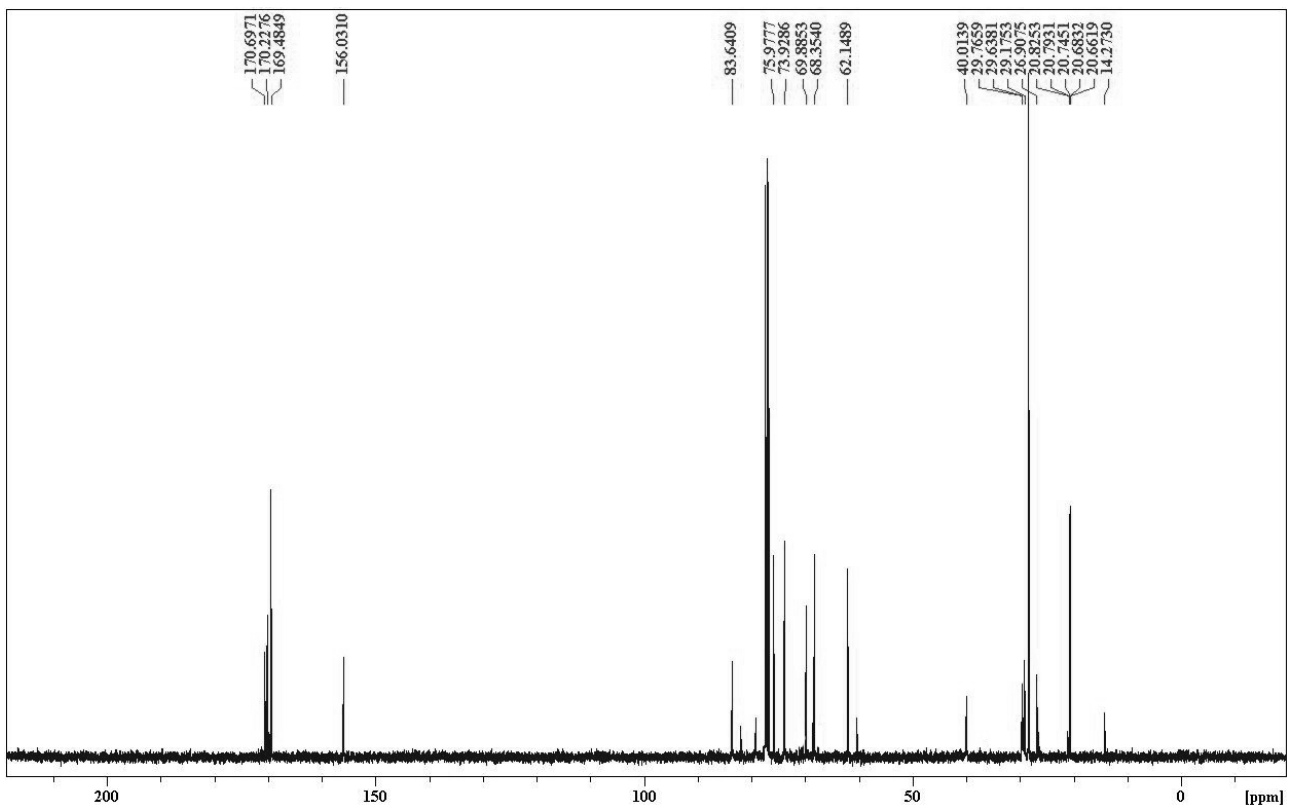
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

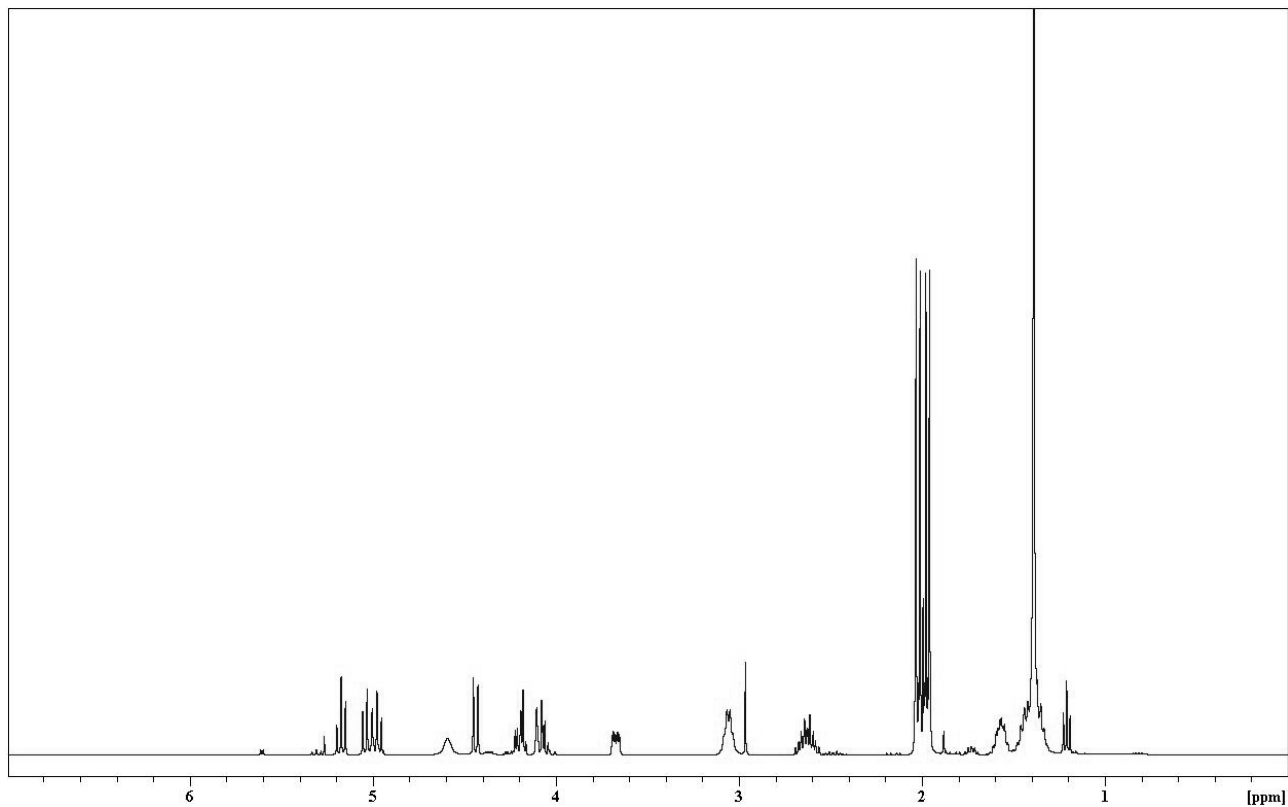
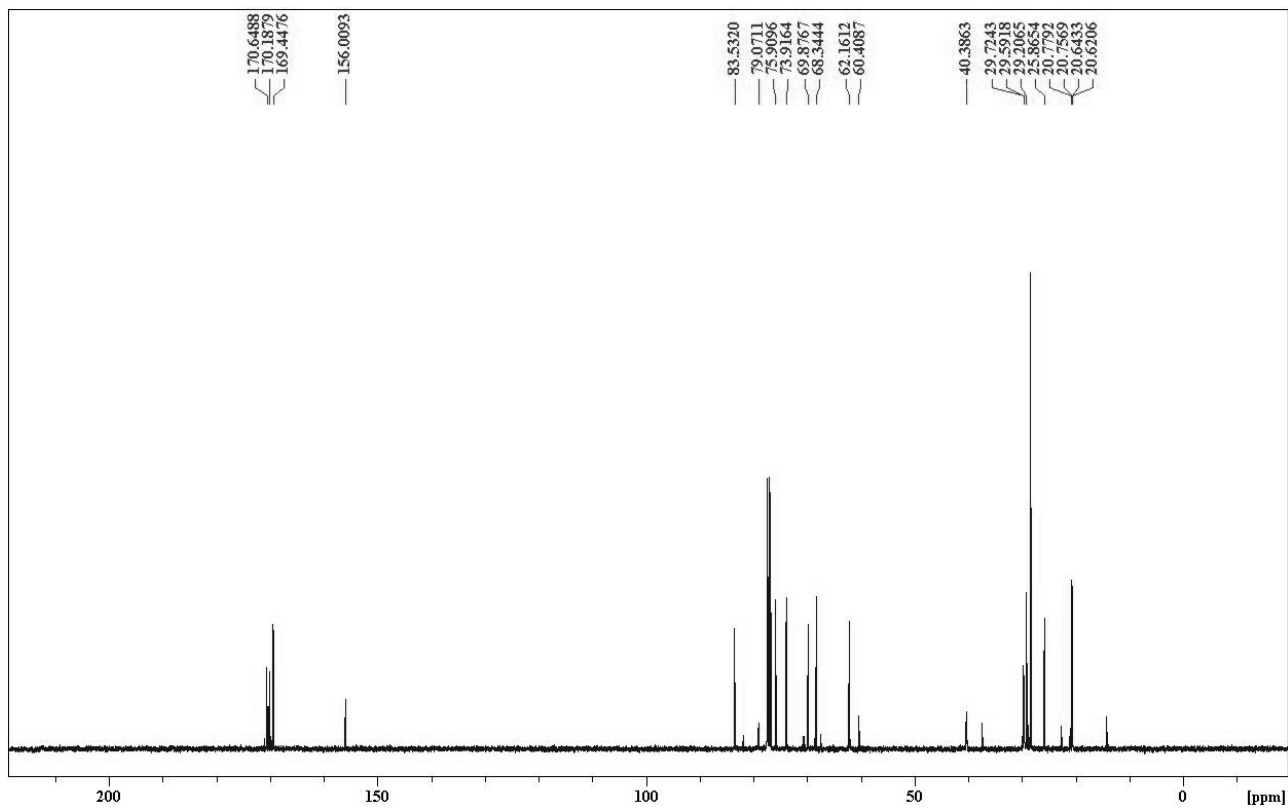


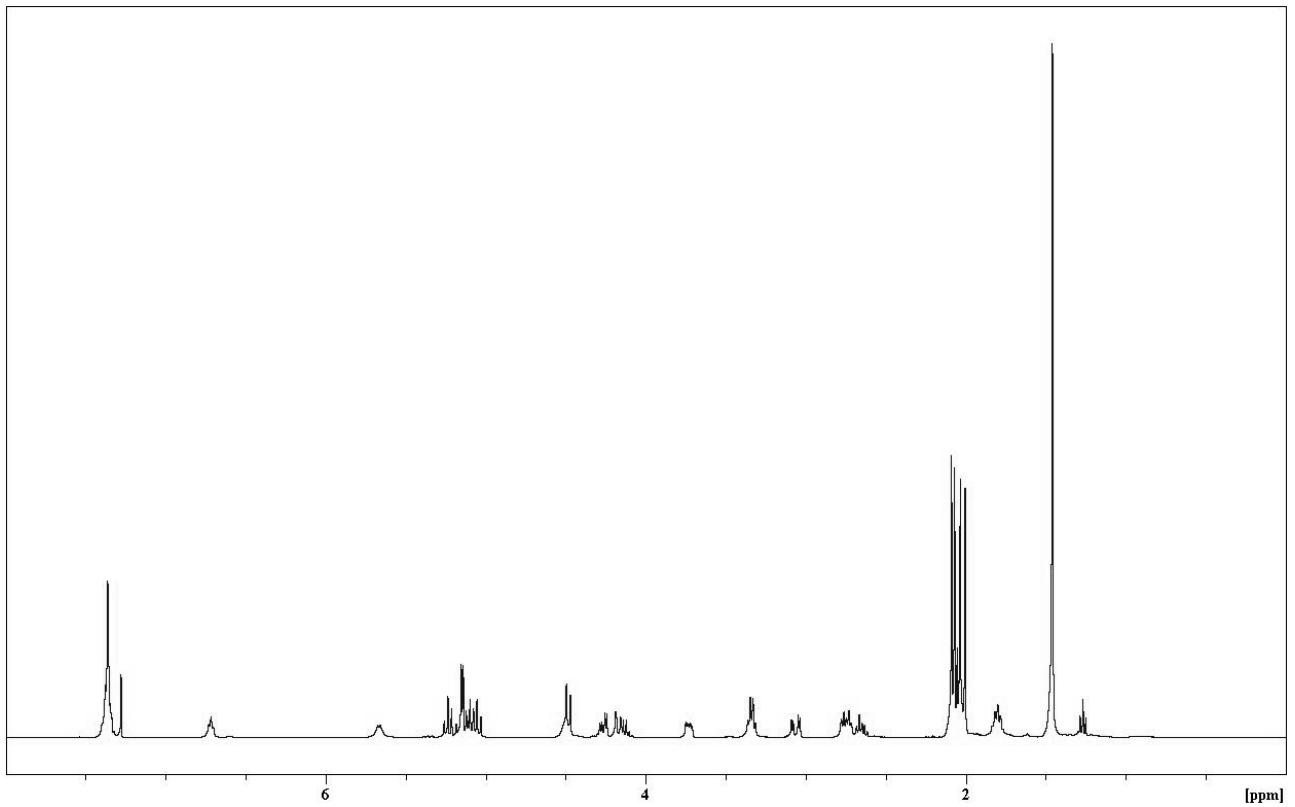
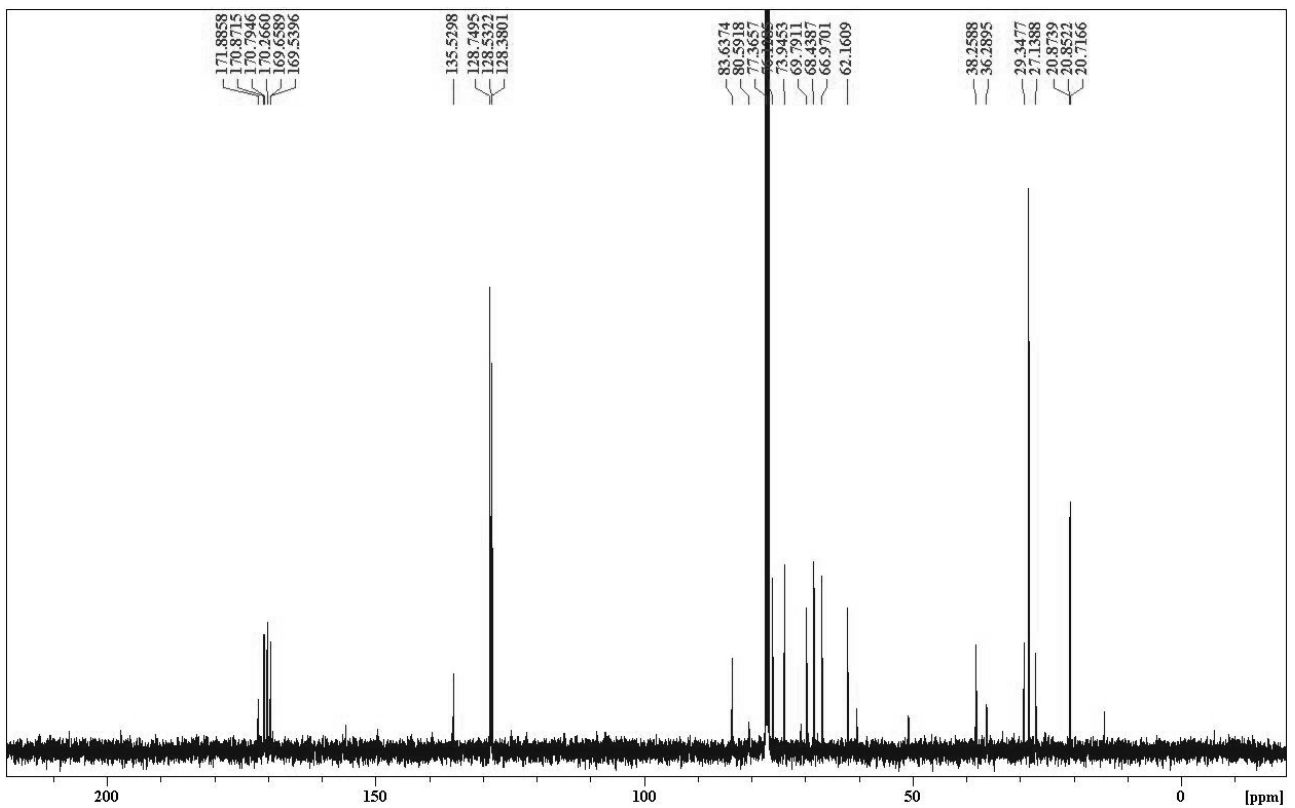
Verbindung 11, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

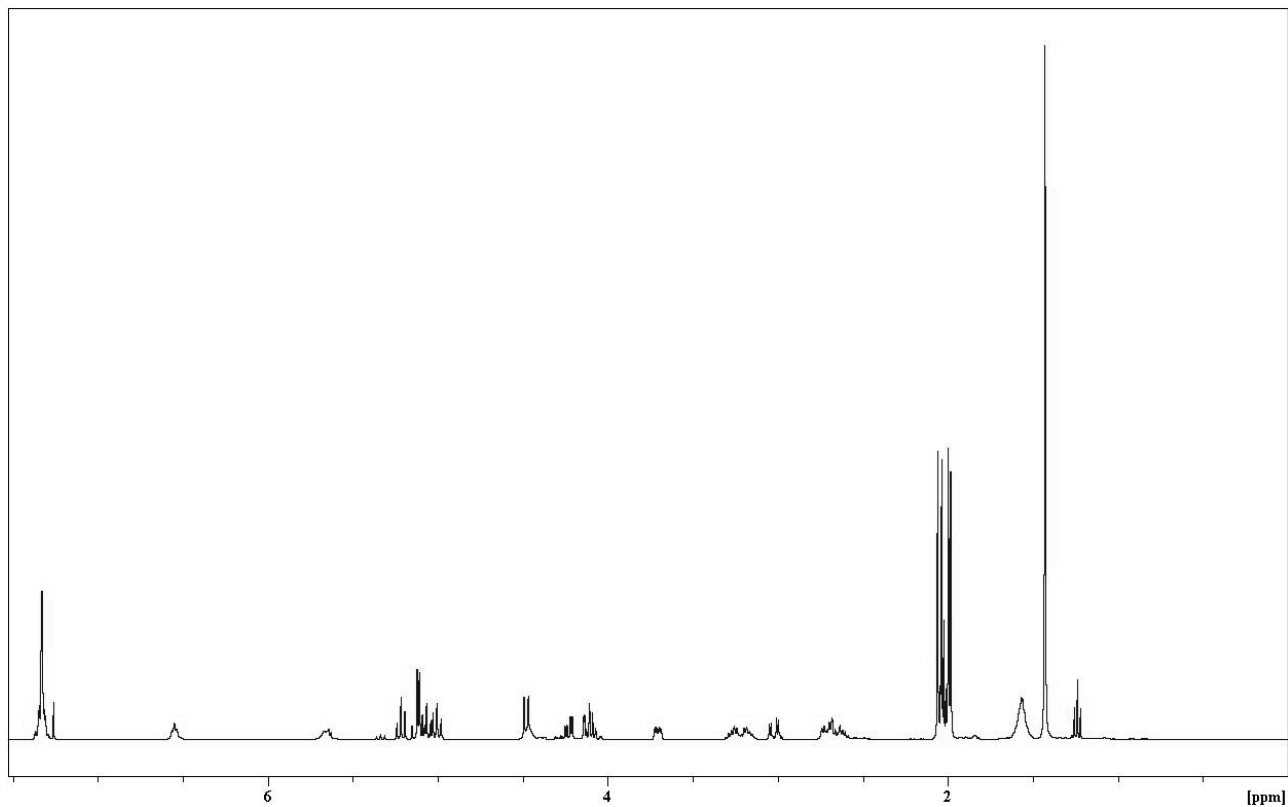
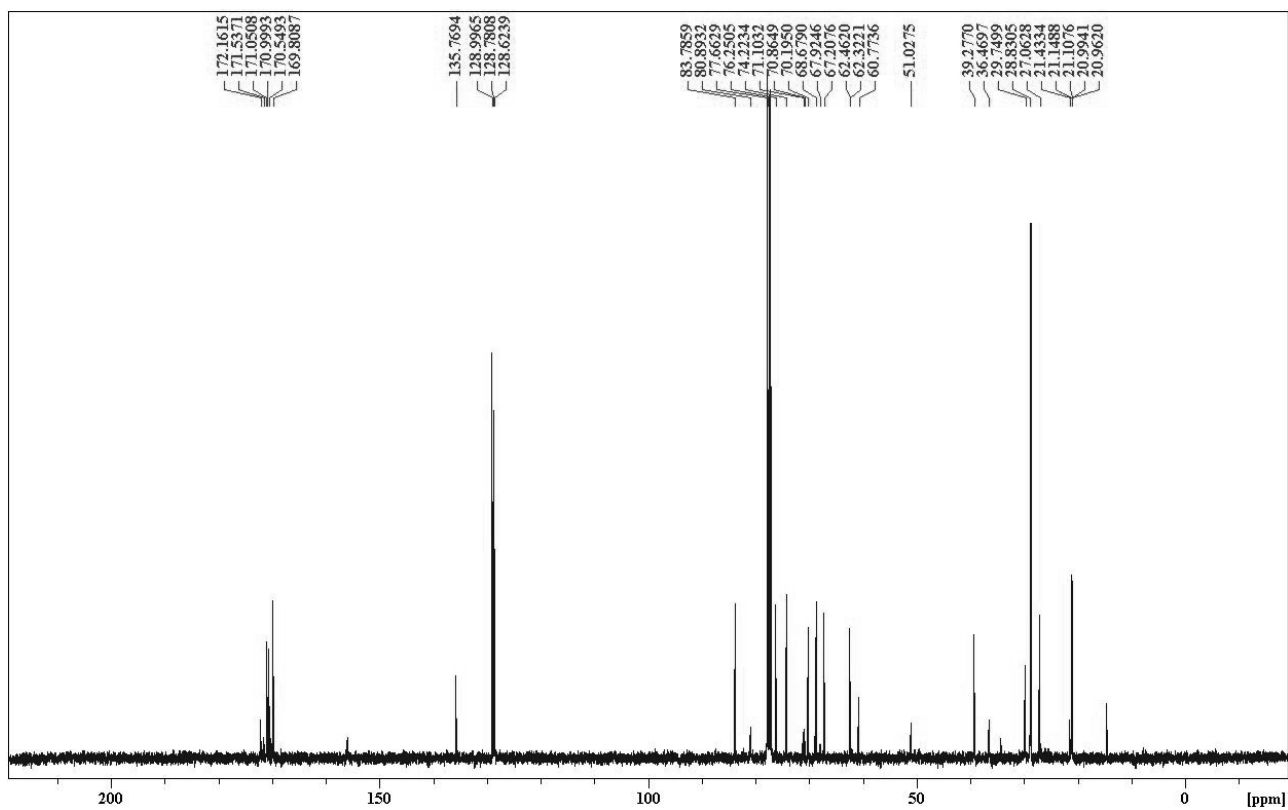
Verbindung 14, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

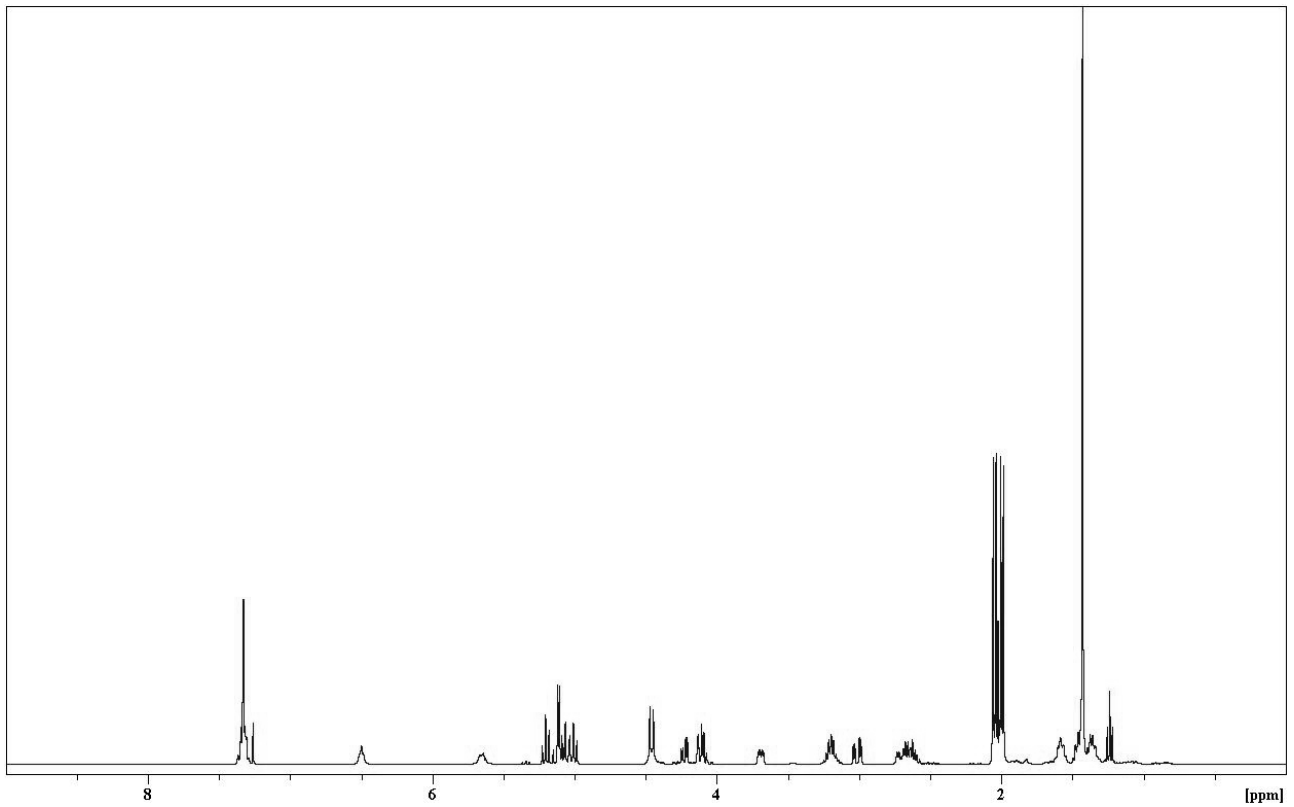
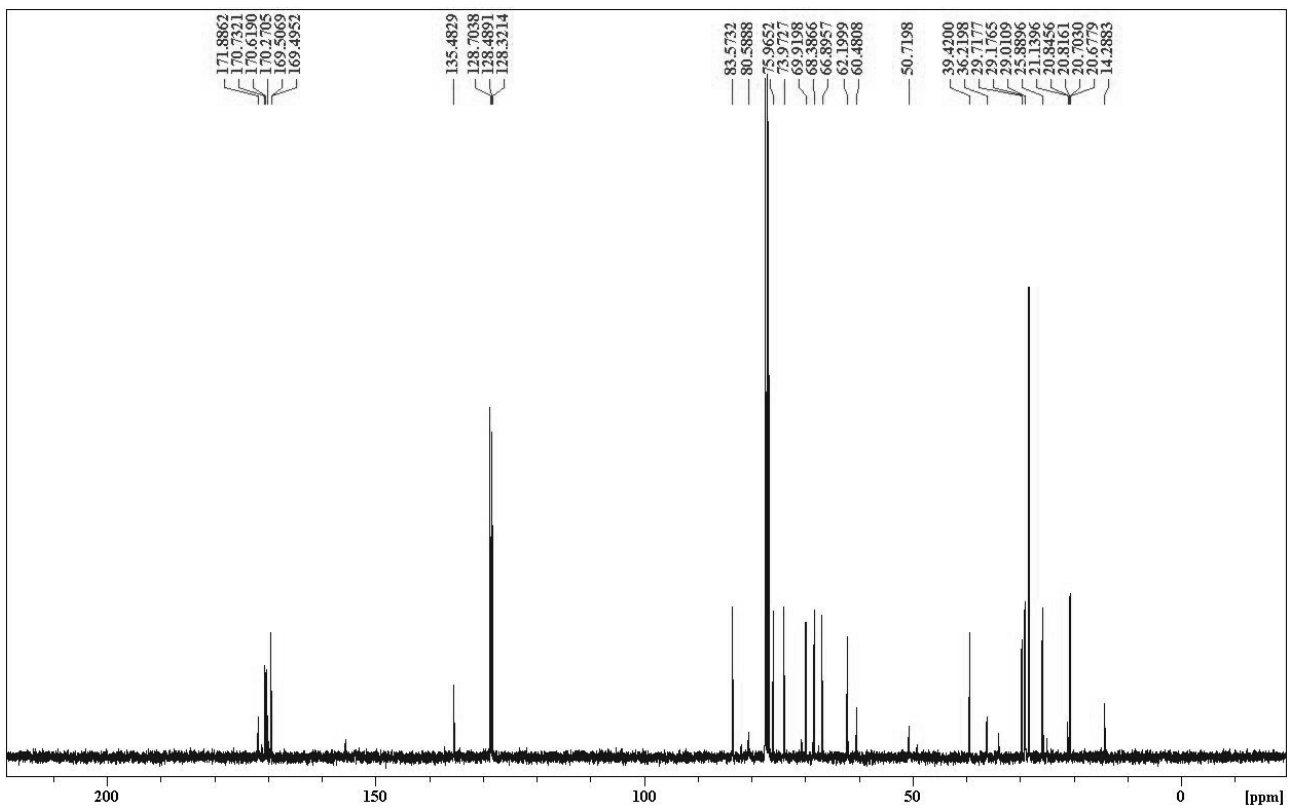
Verbindung **25**, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

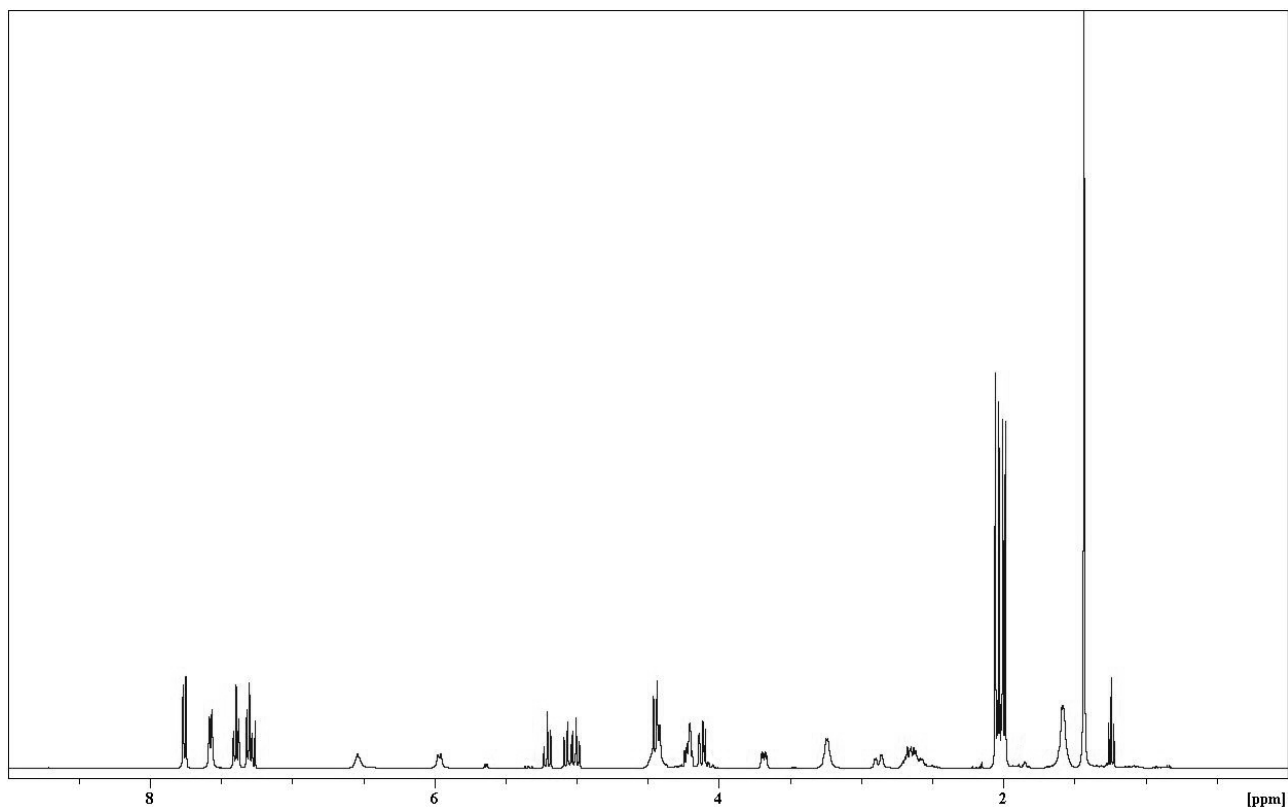
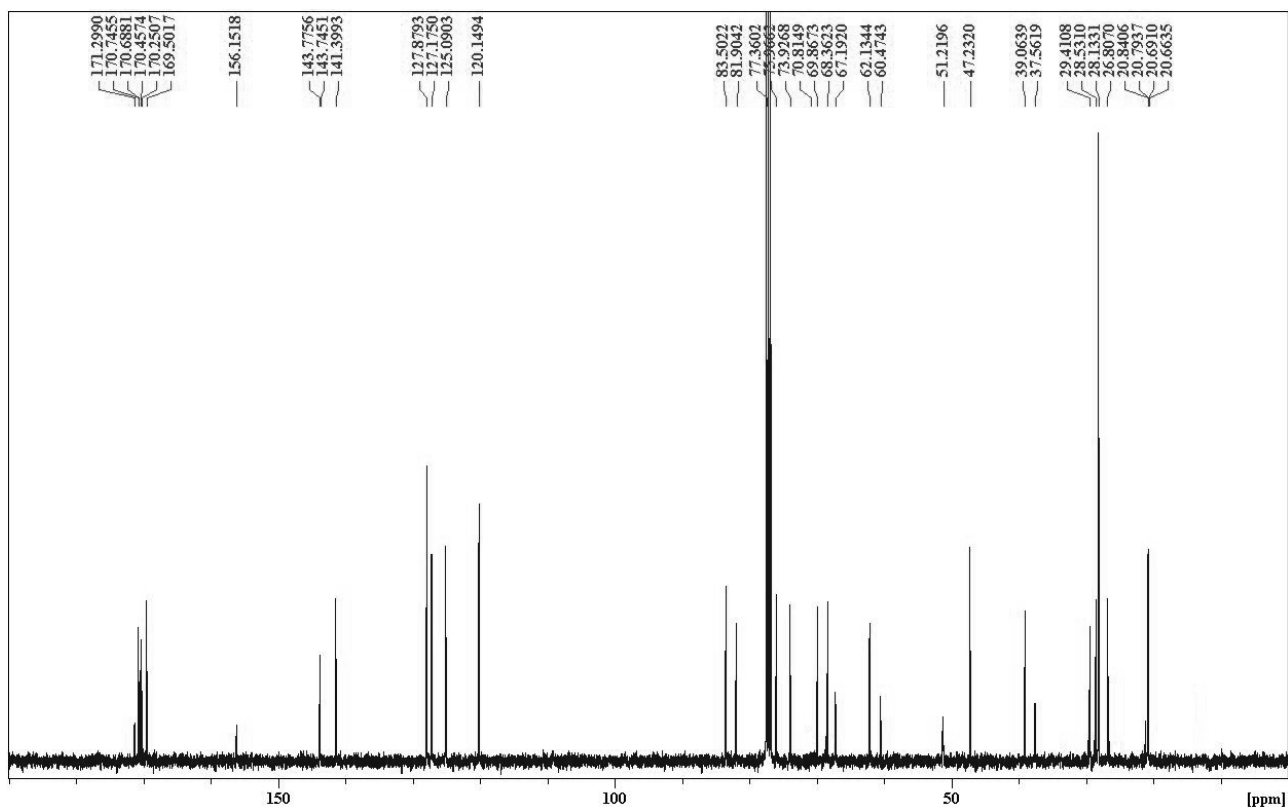
Verbindung **26**, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

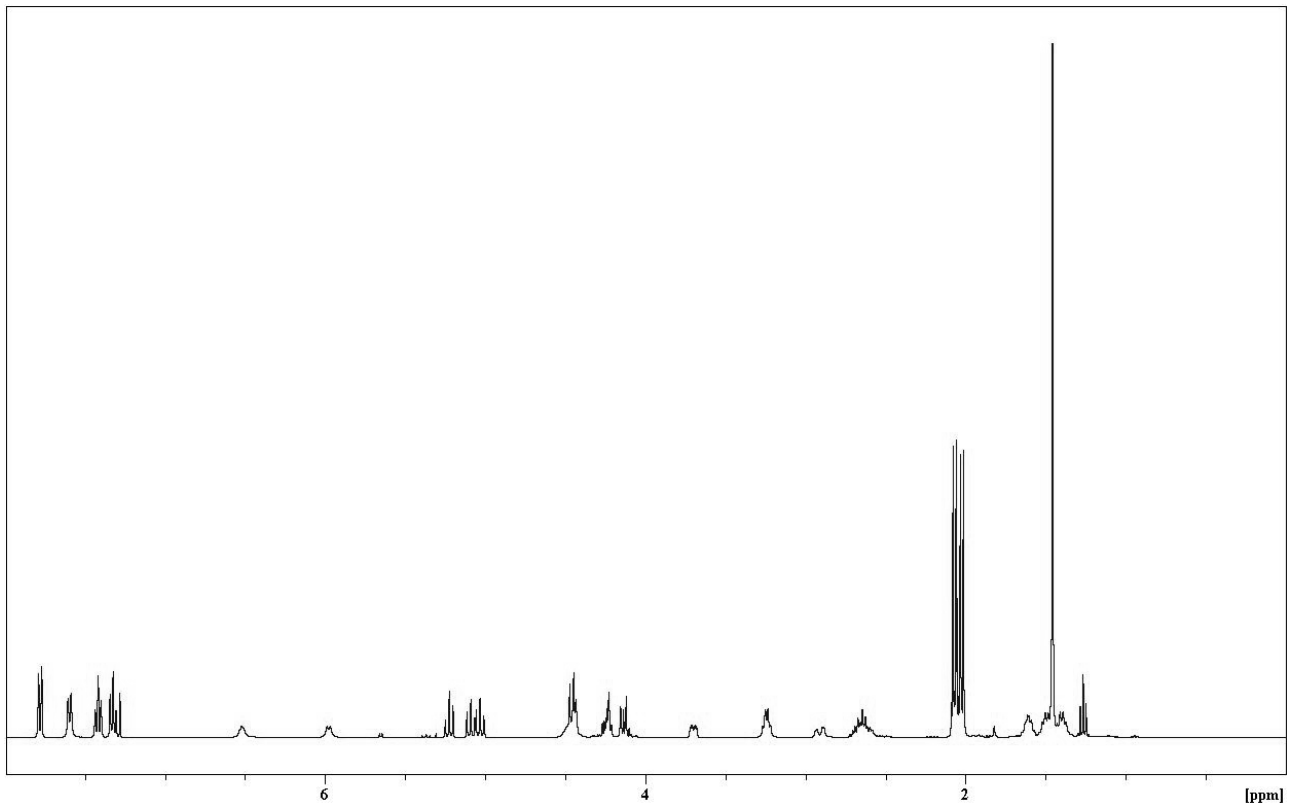
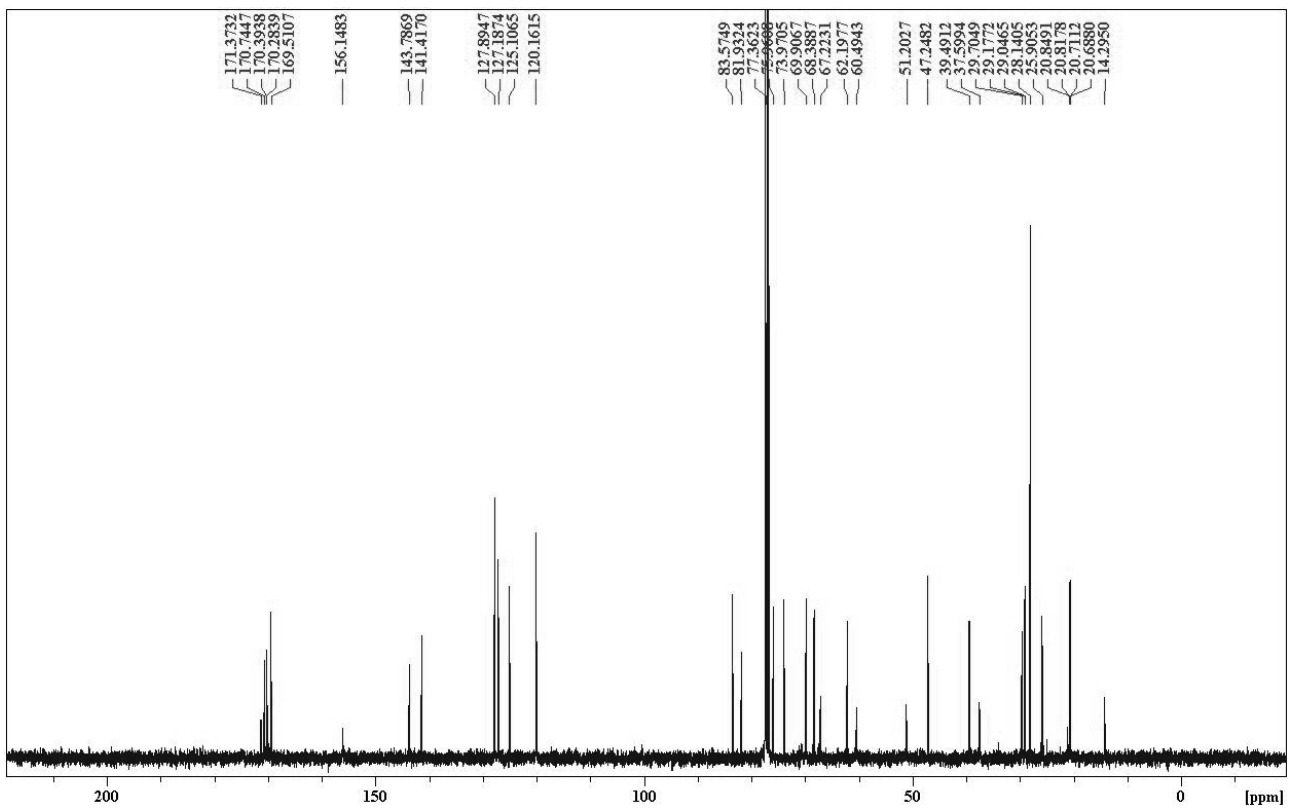
Verbindung 27, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

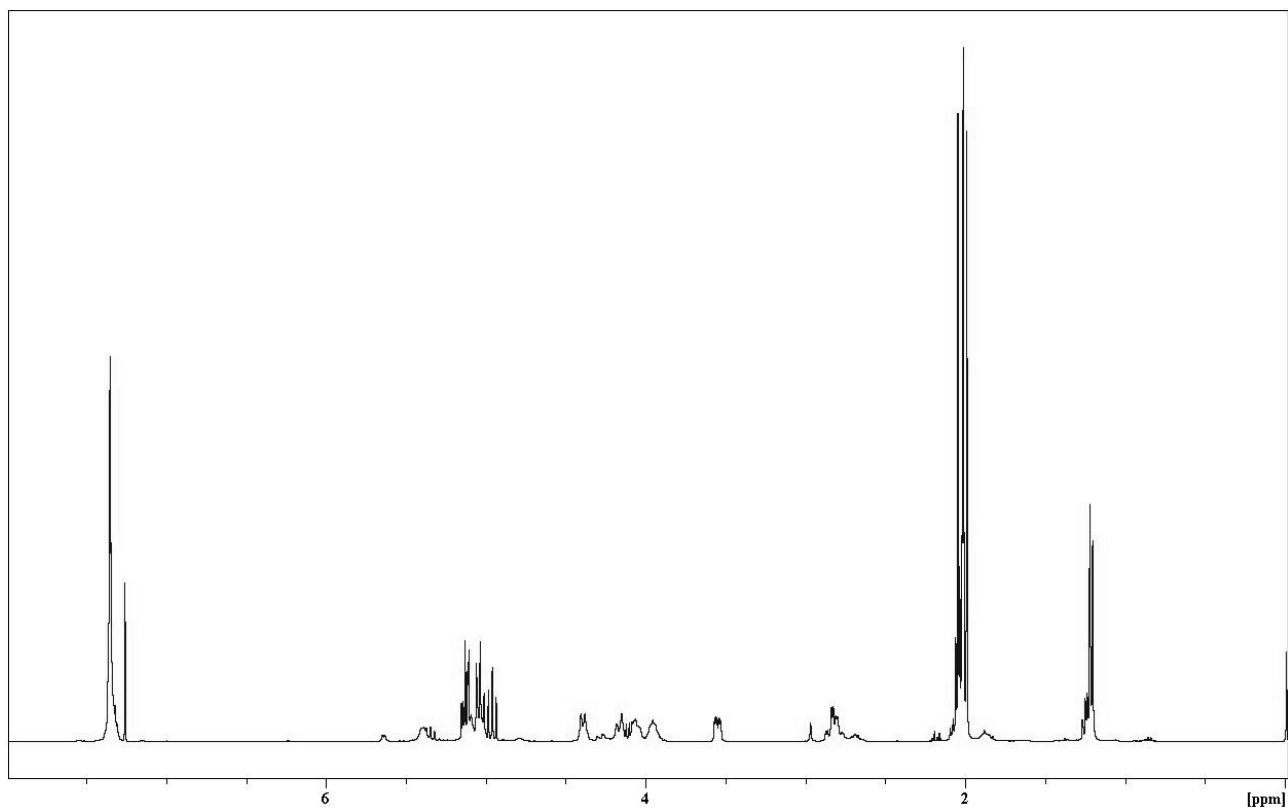
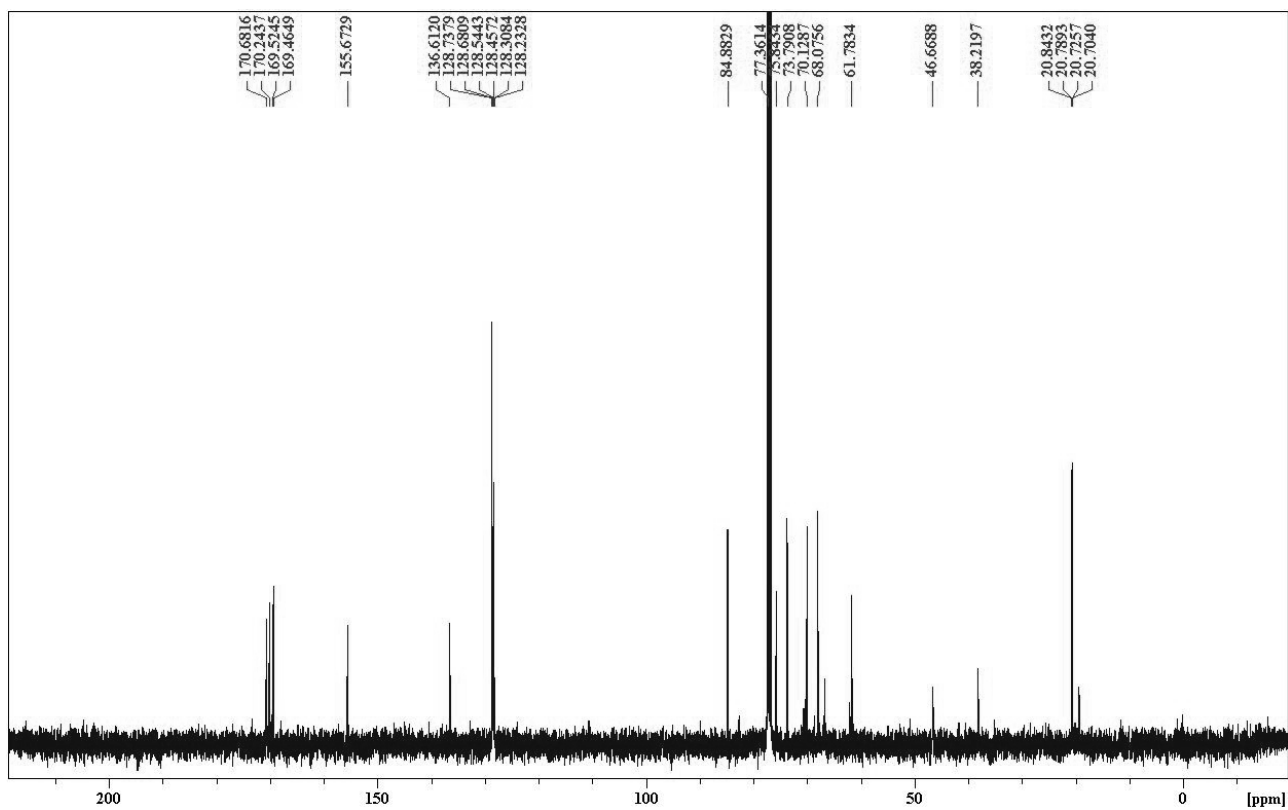
Verbindung **28**, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

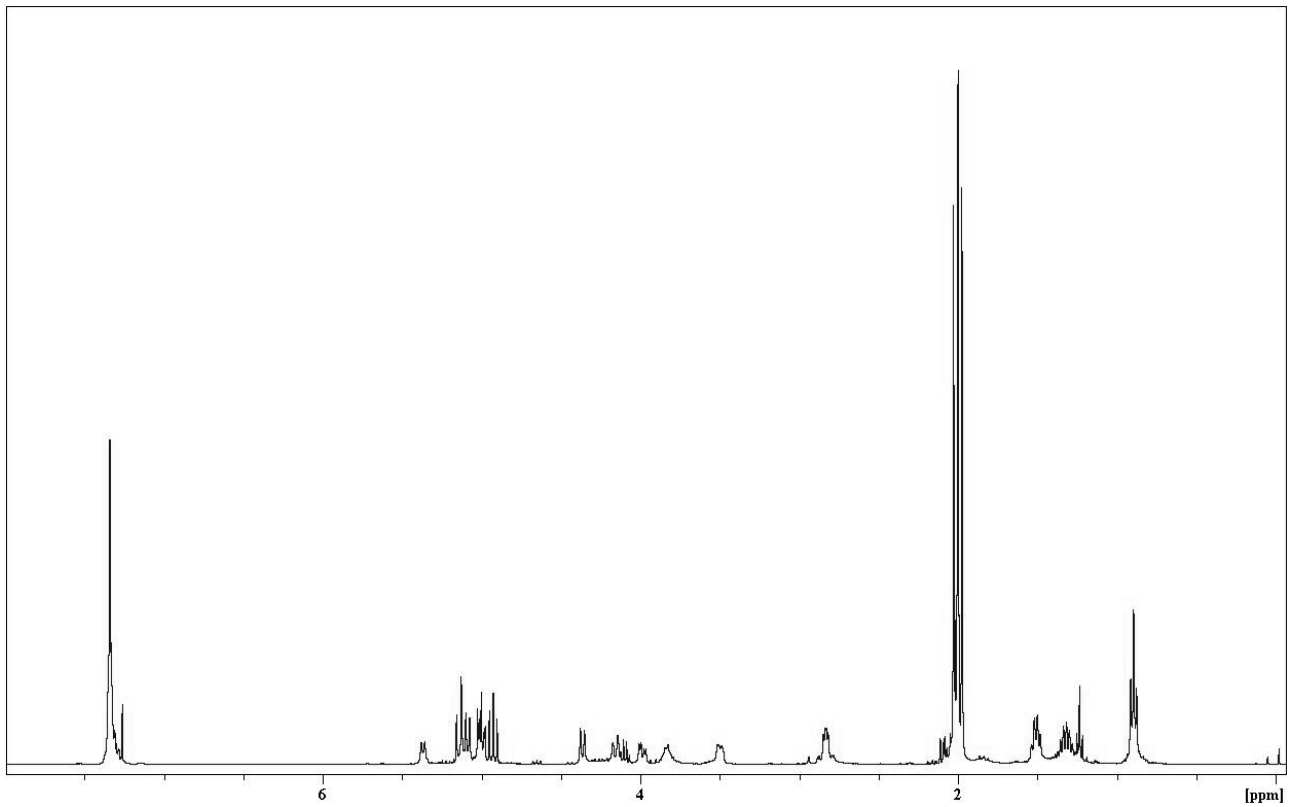
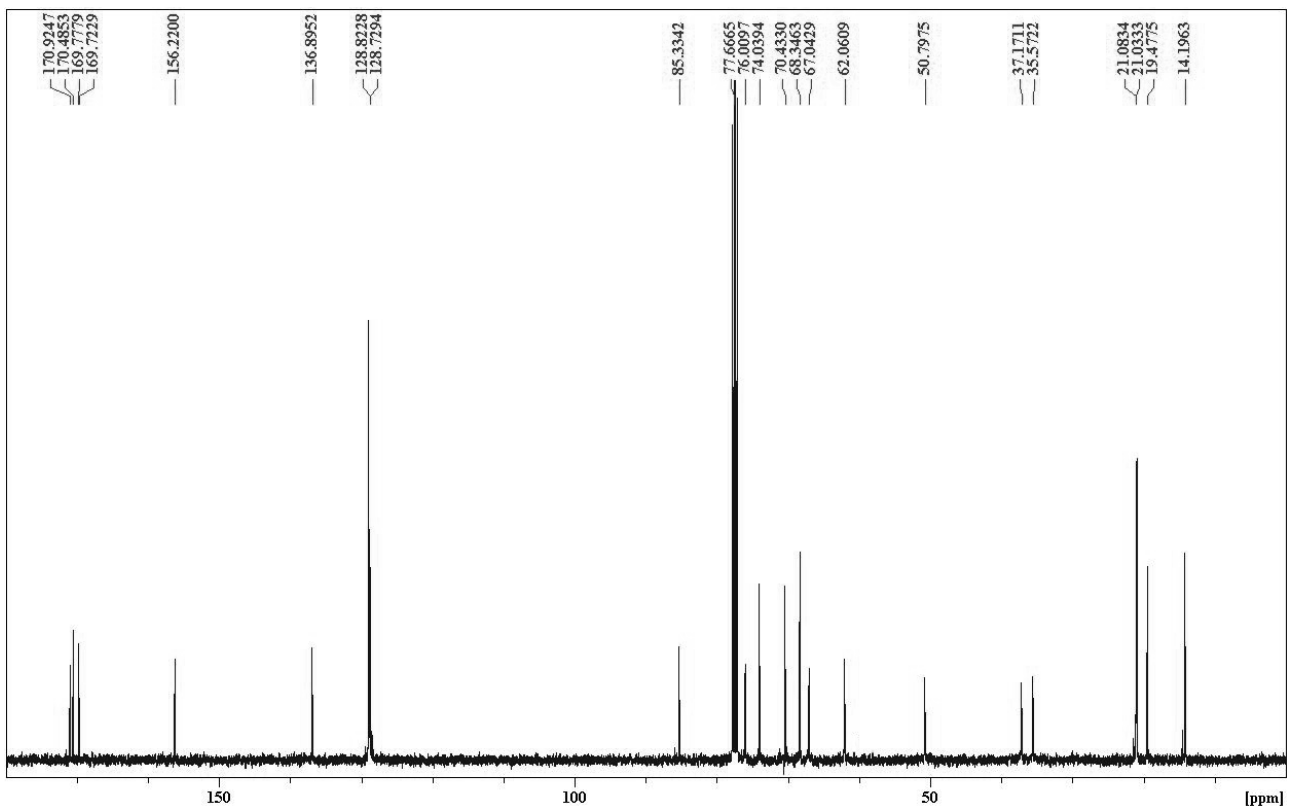
Verbindung **29**, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

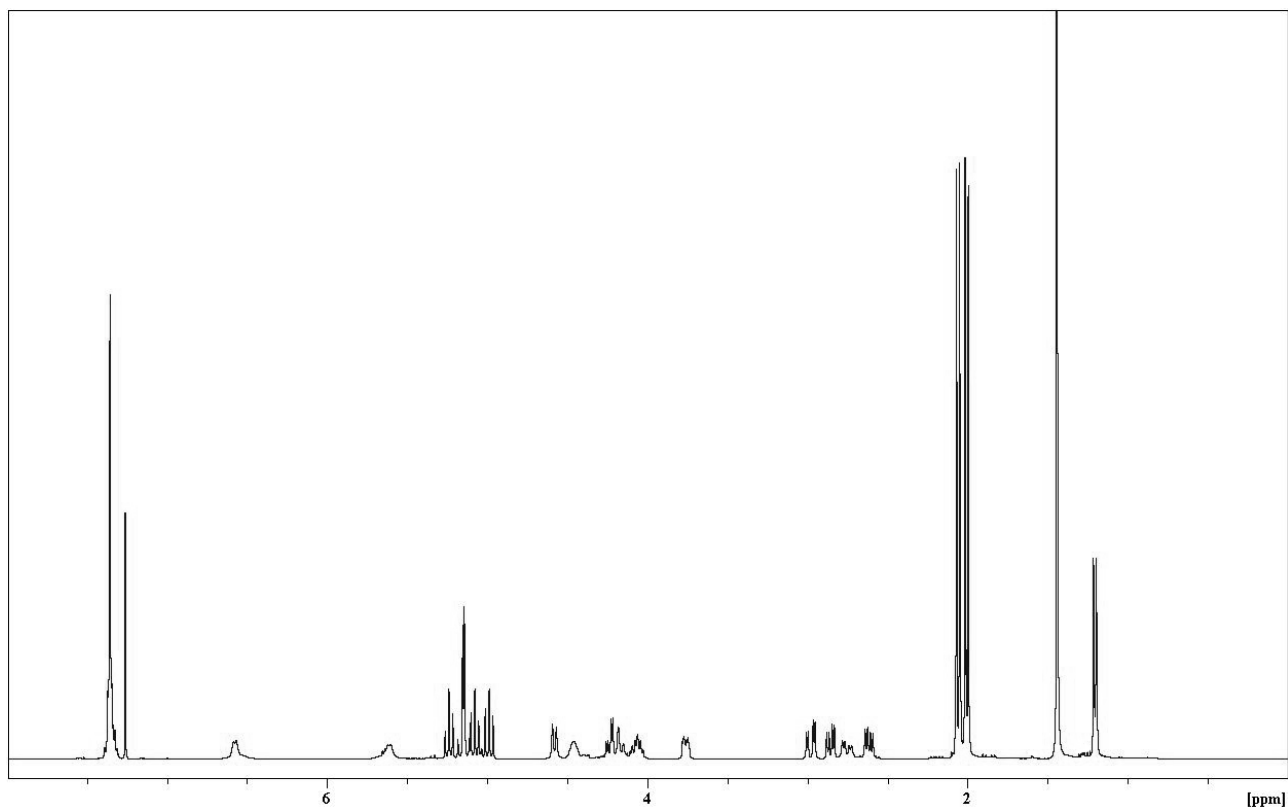
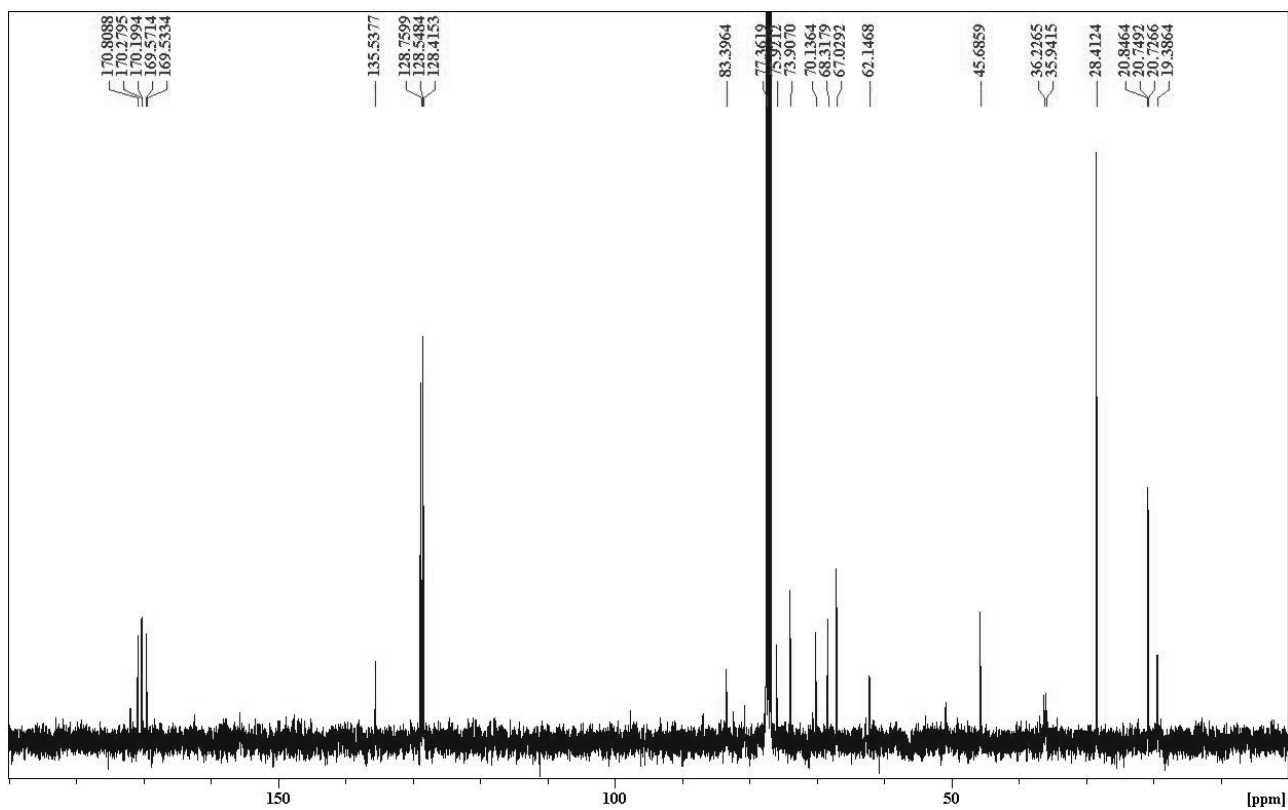
Verbindung **30**, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

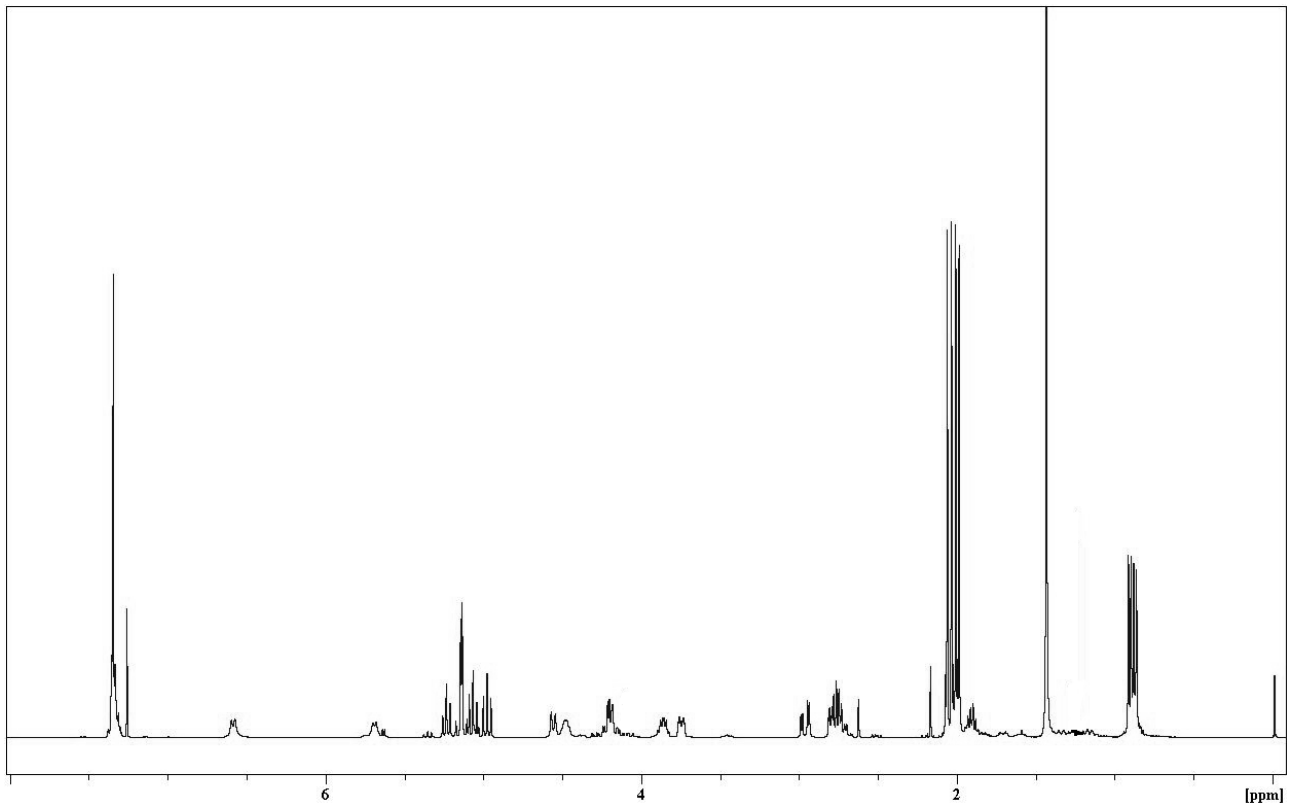
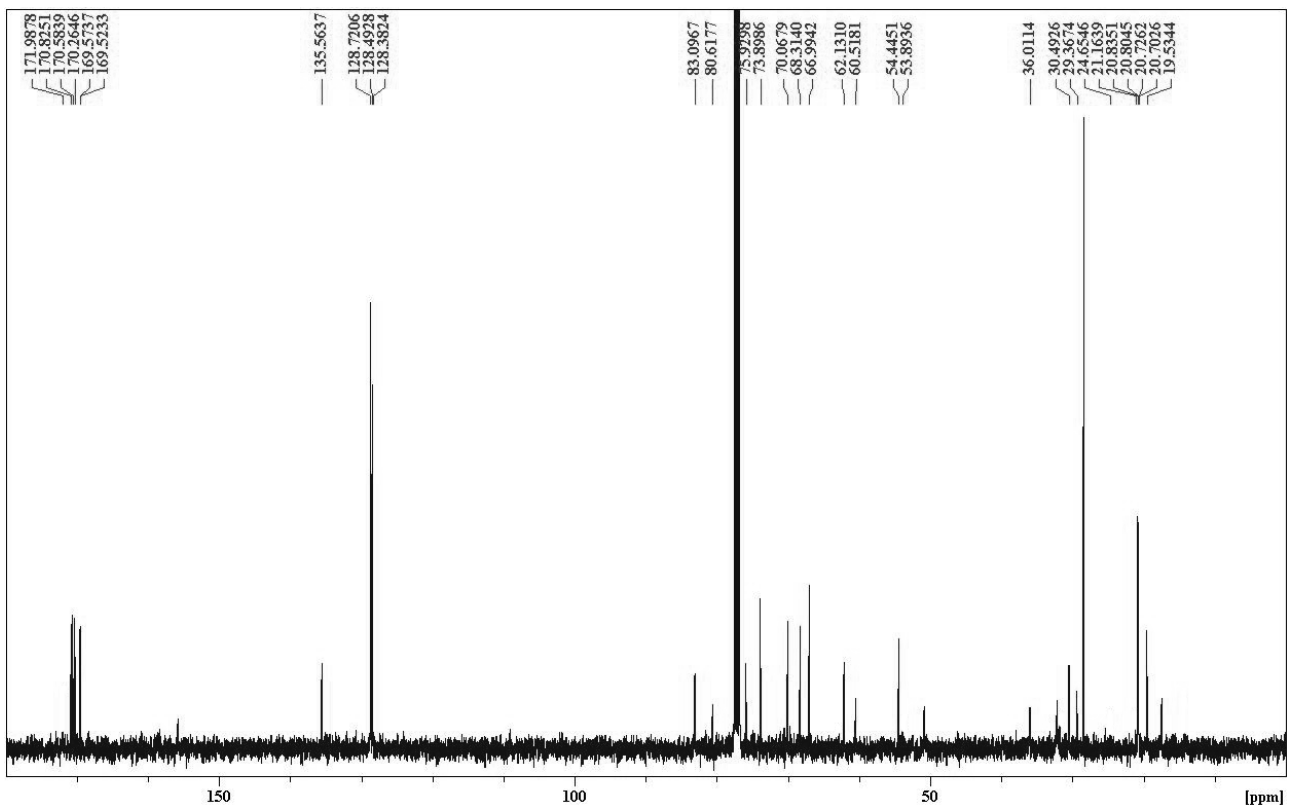
Verbindung **31**, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

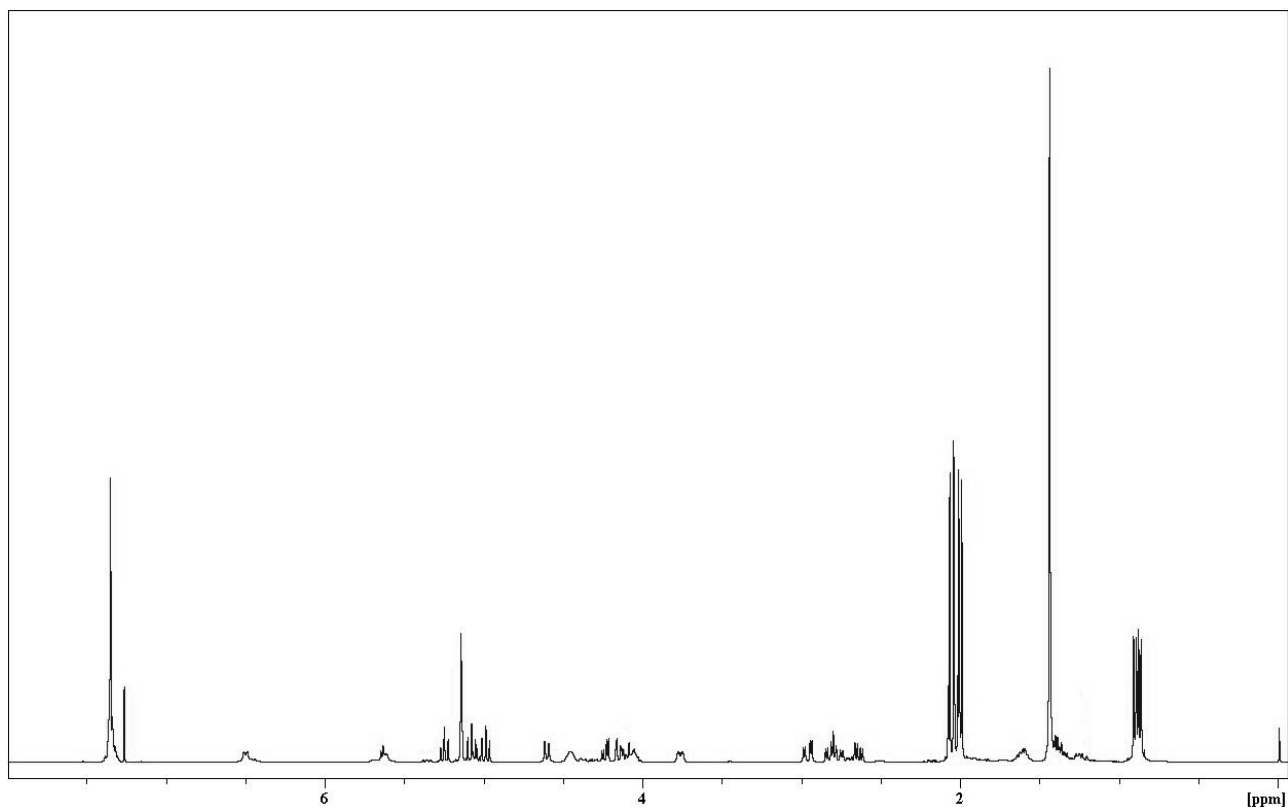
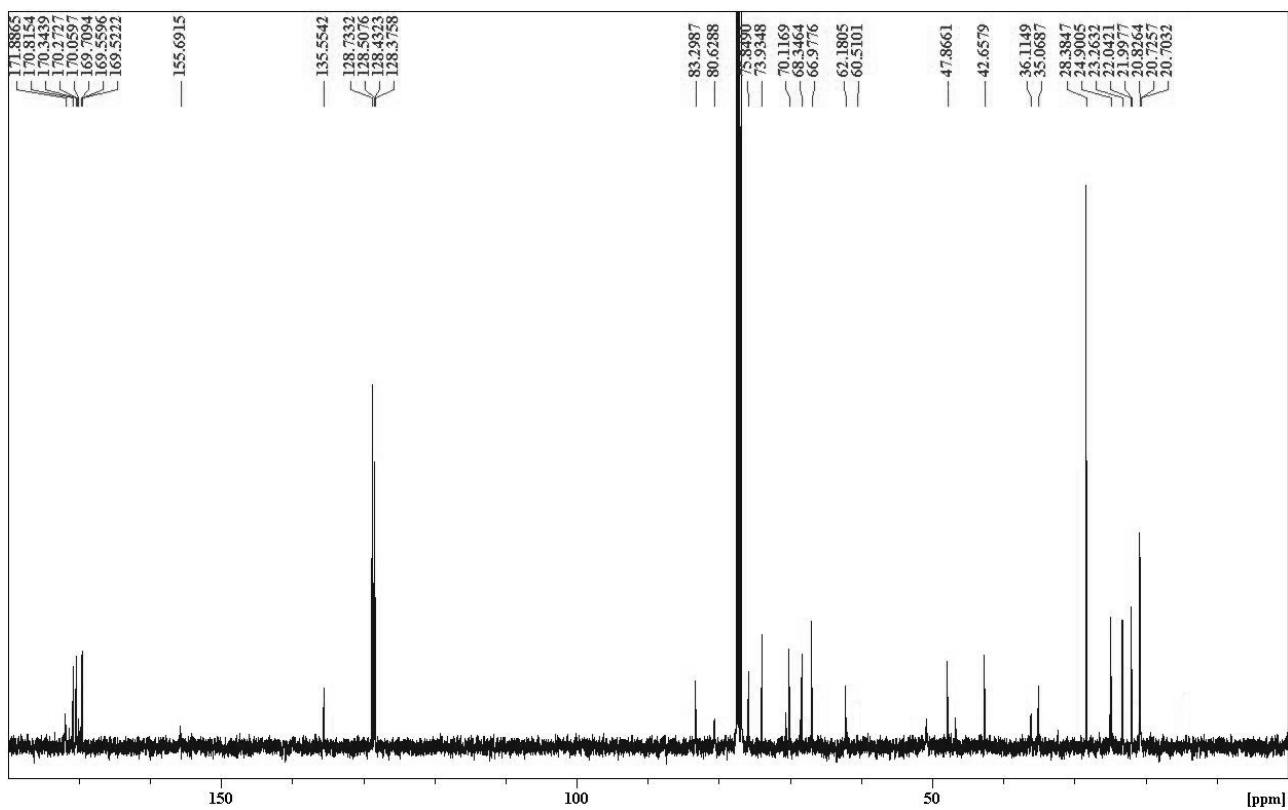
Verbindung **32**, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

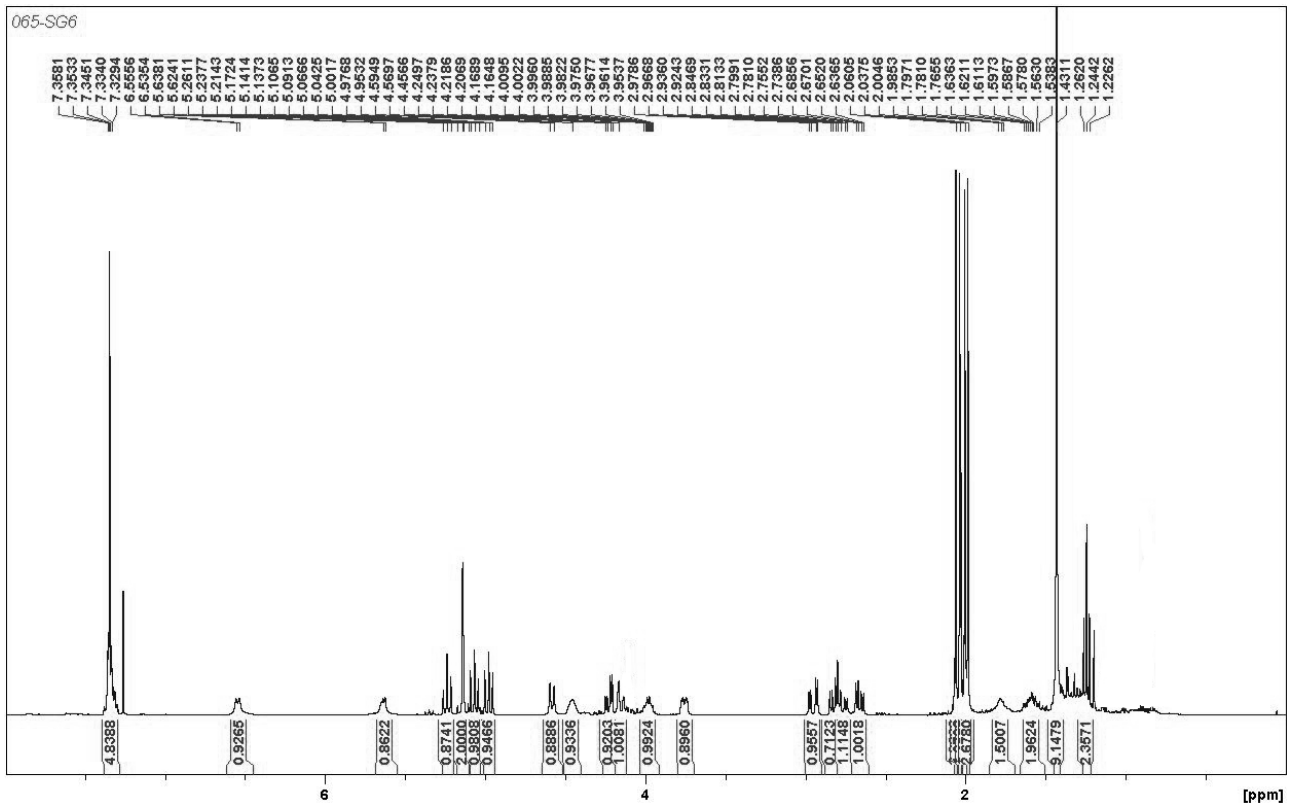
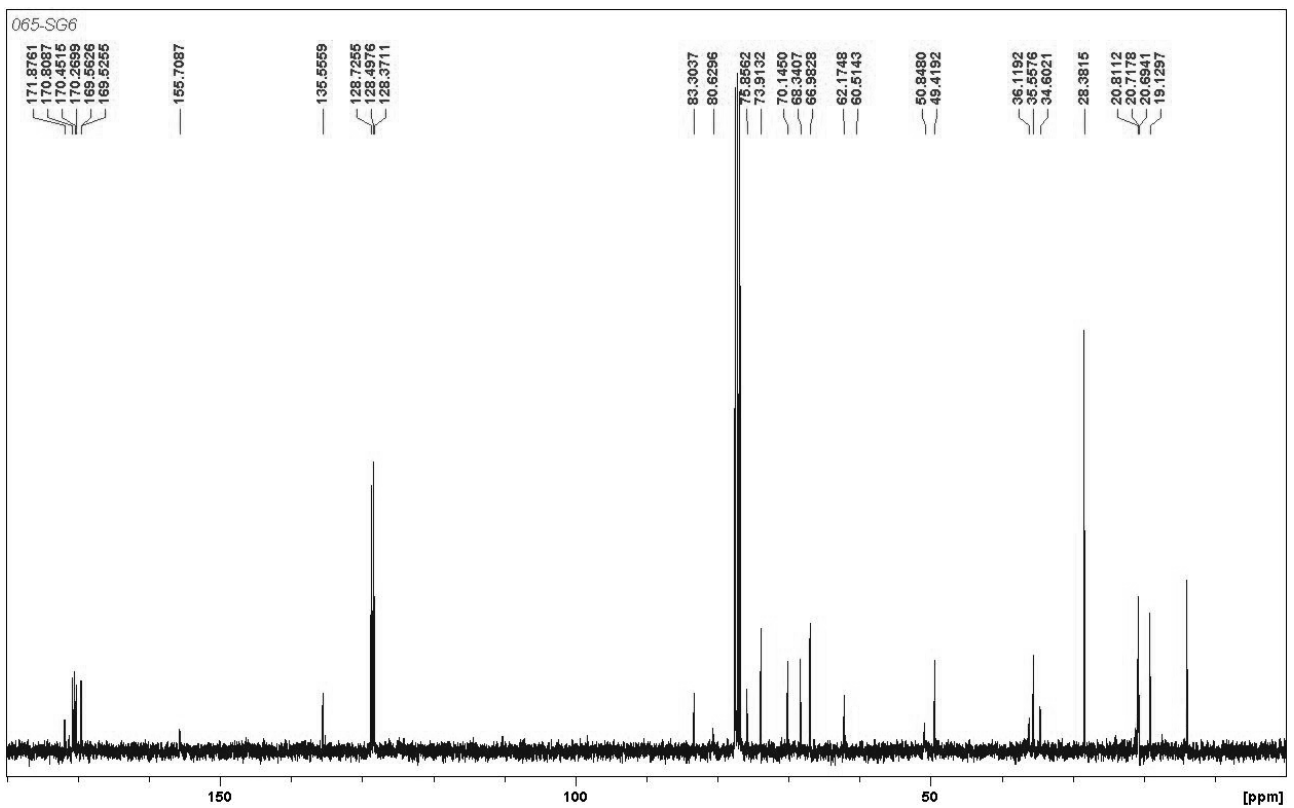
Verbindung 45, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

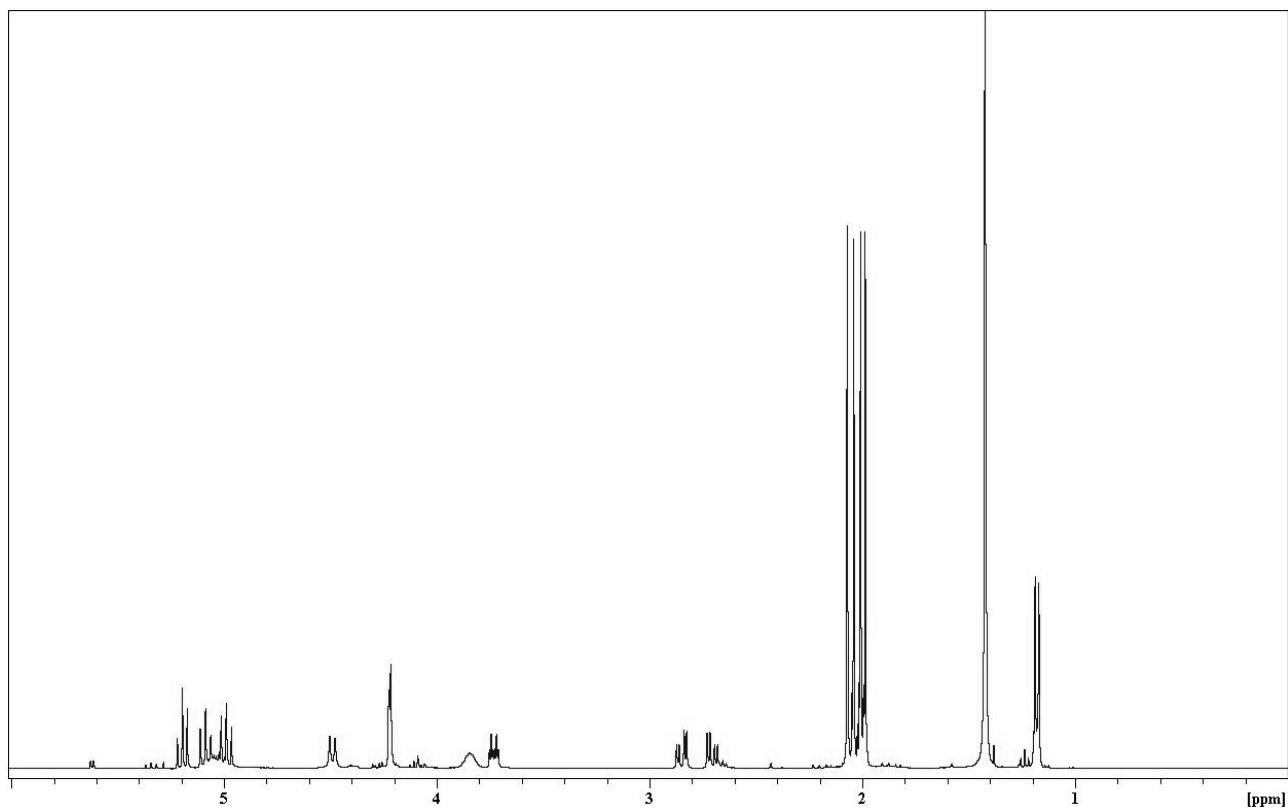
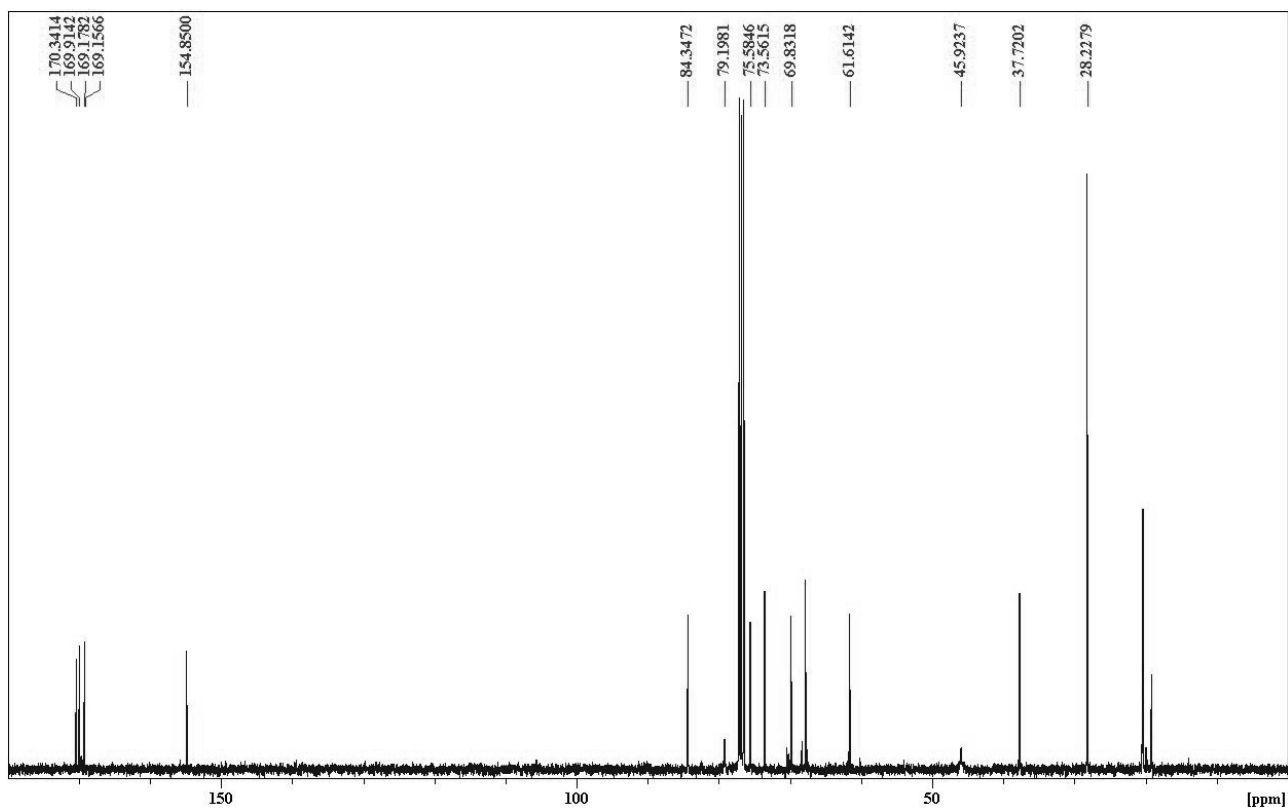
Verbindung 48, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

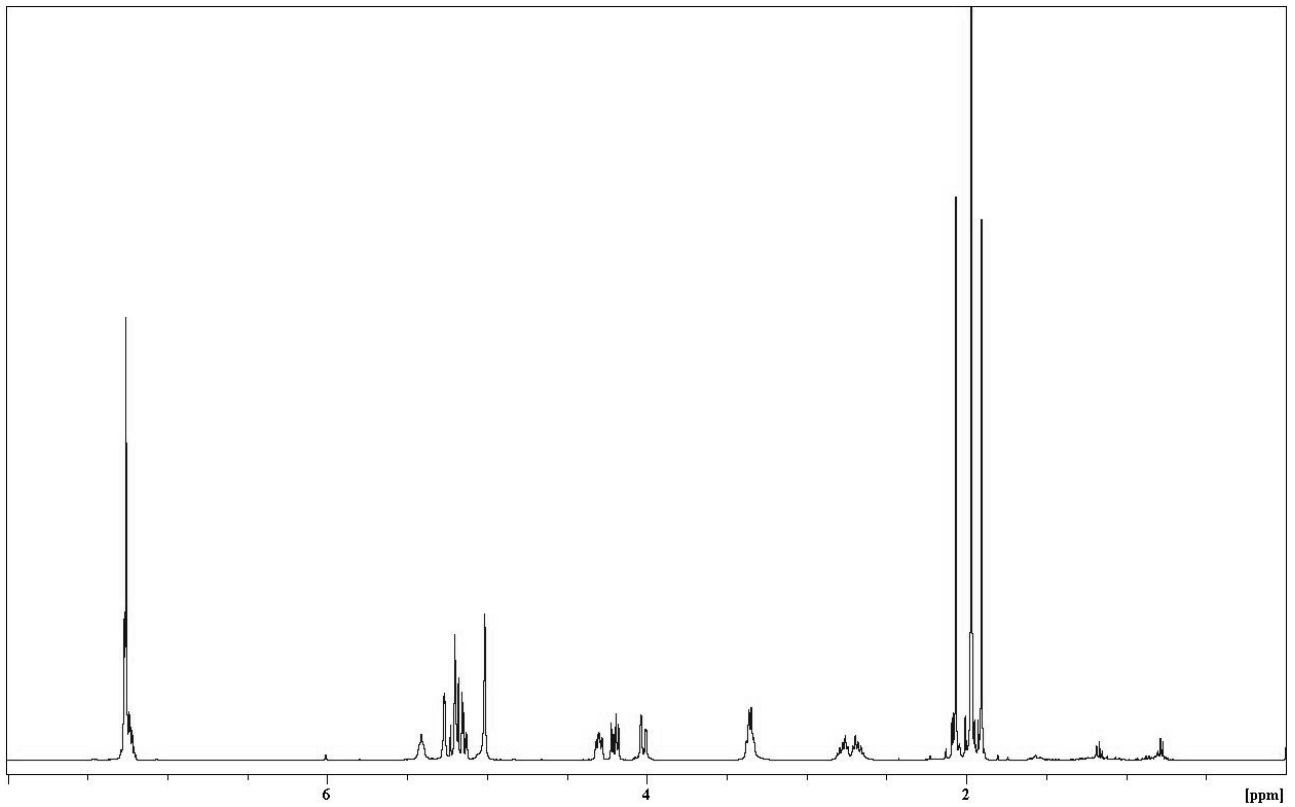
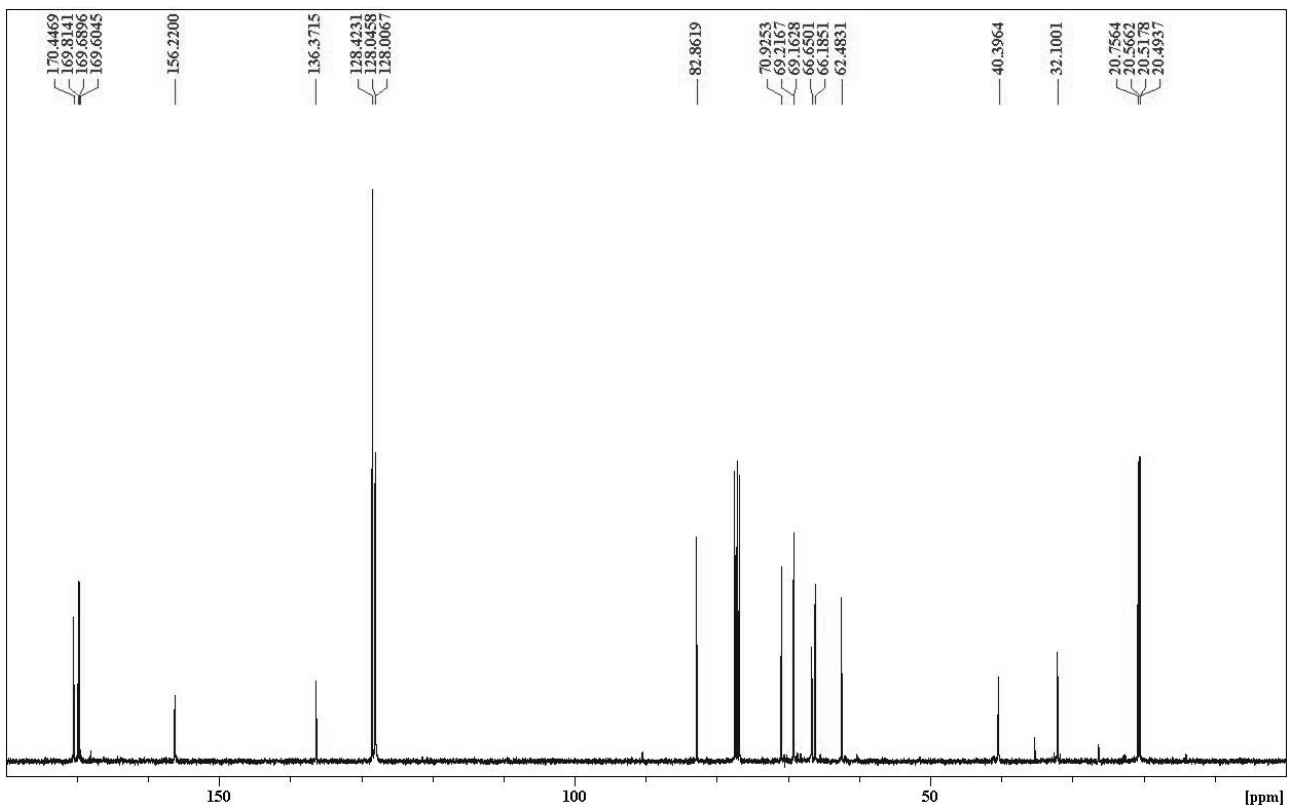
Verbindung 49, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

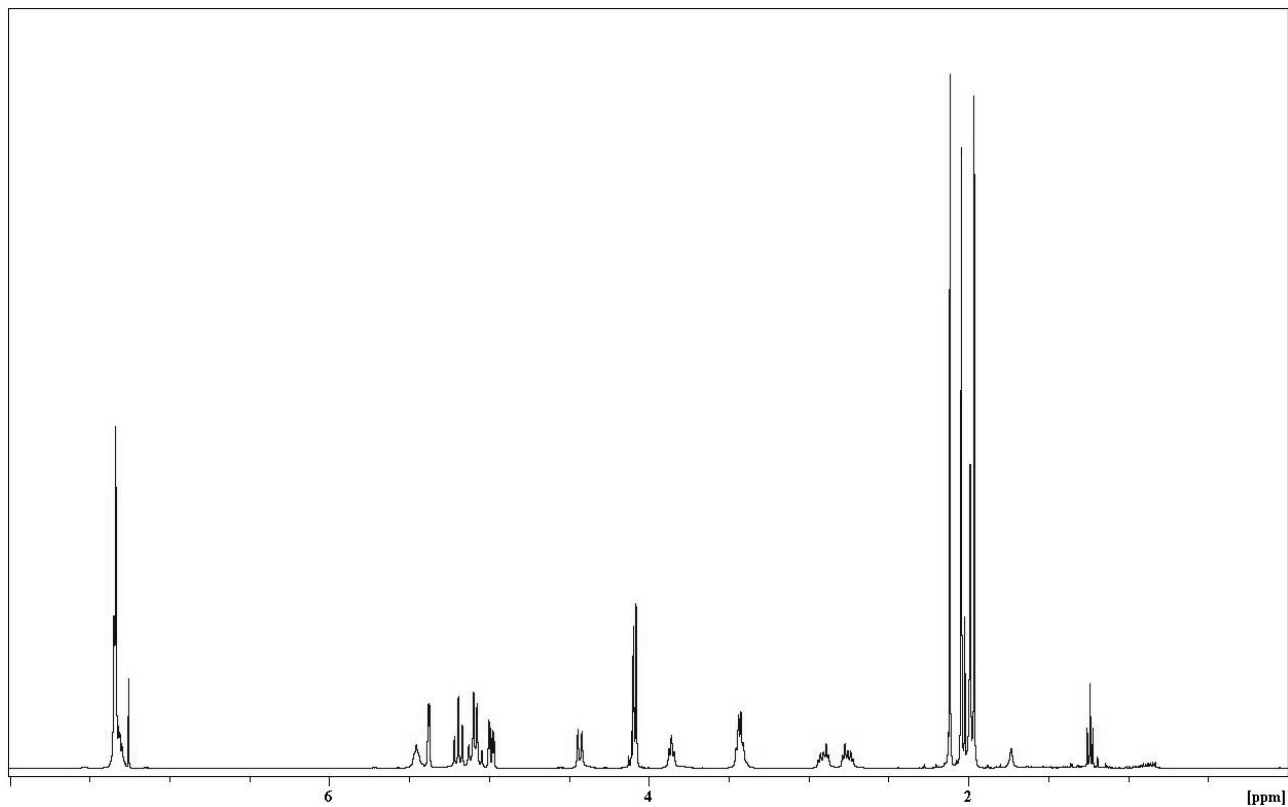
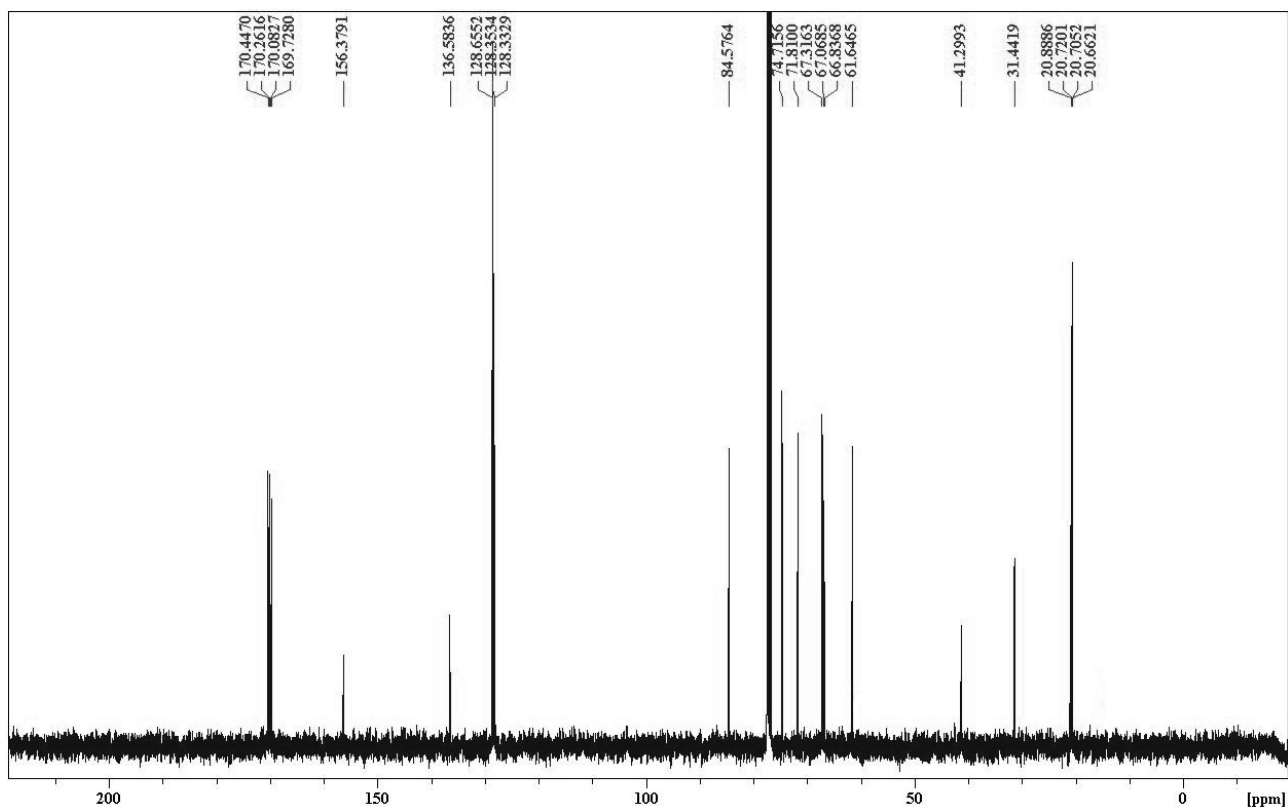
Verbindung **50**, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

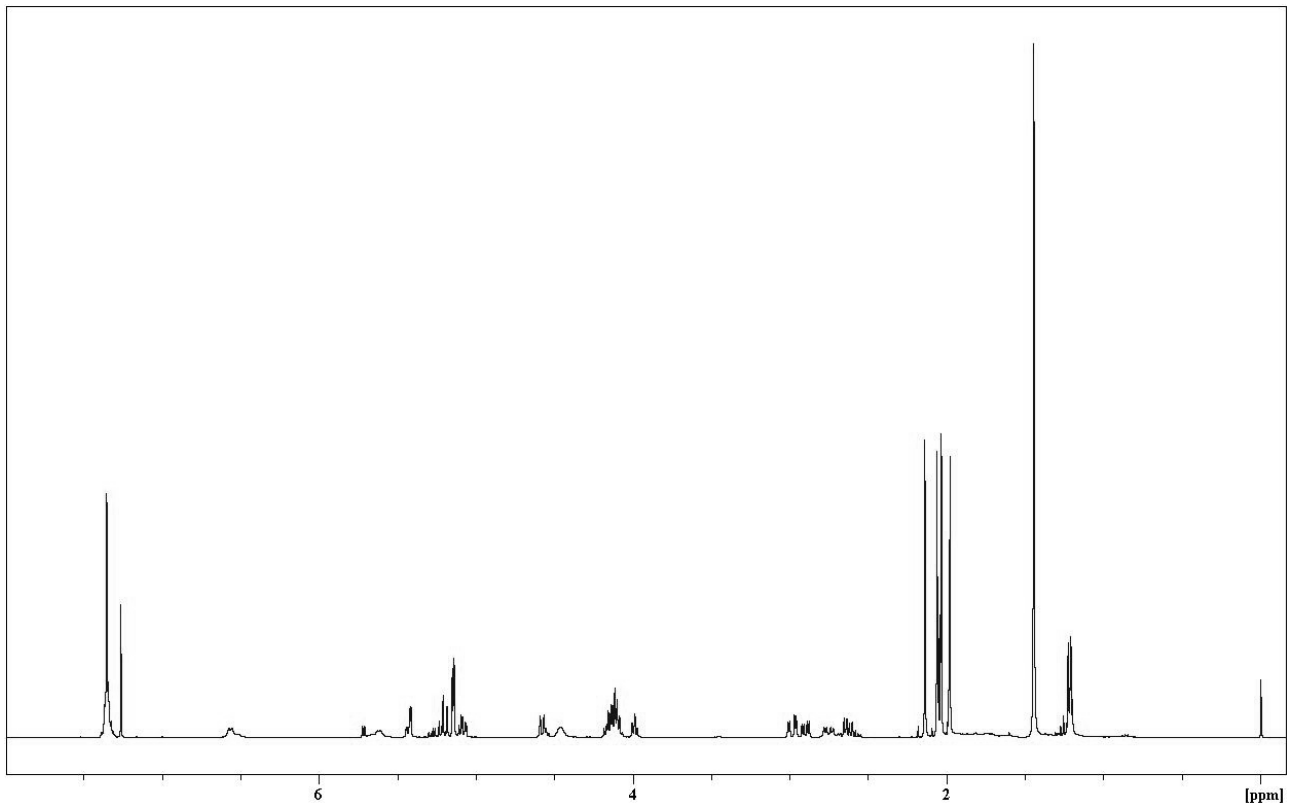
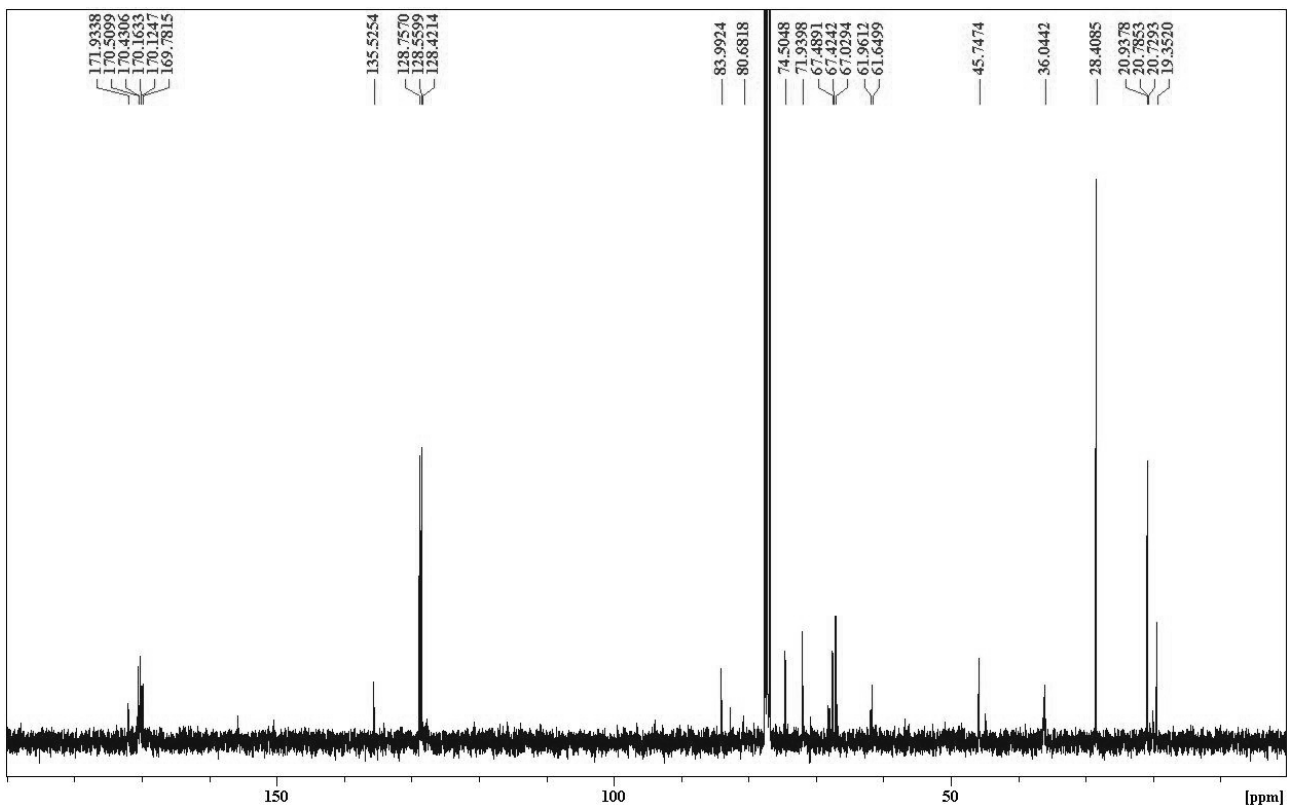
Verbindung **51**, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

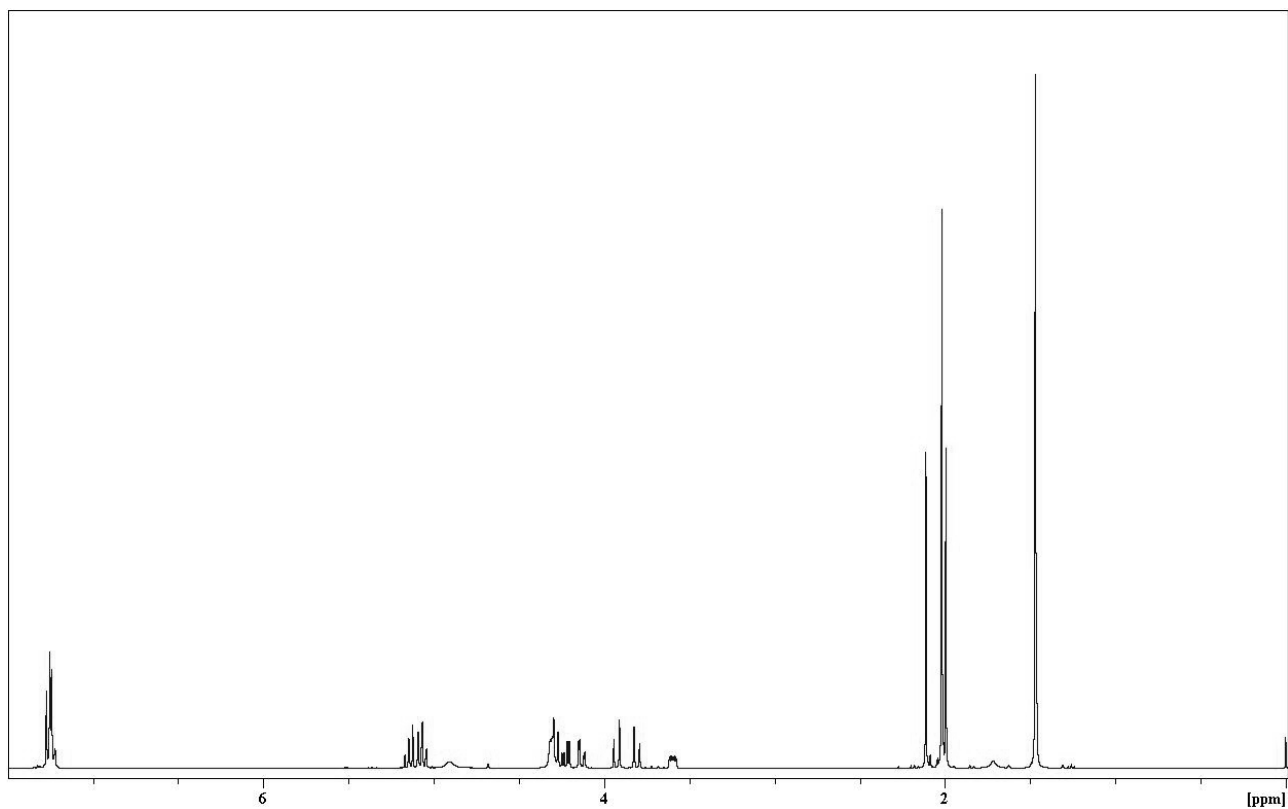
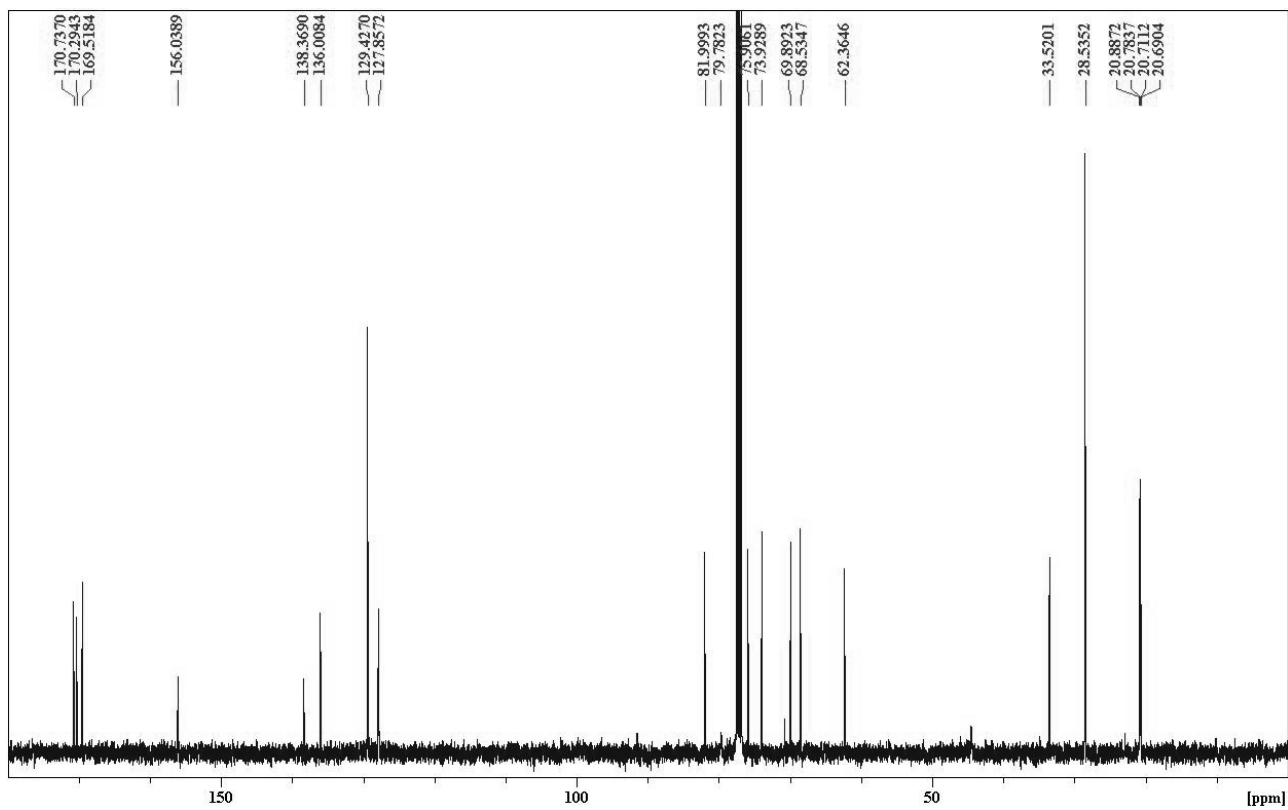
Verbindung 52, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

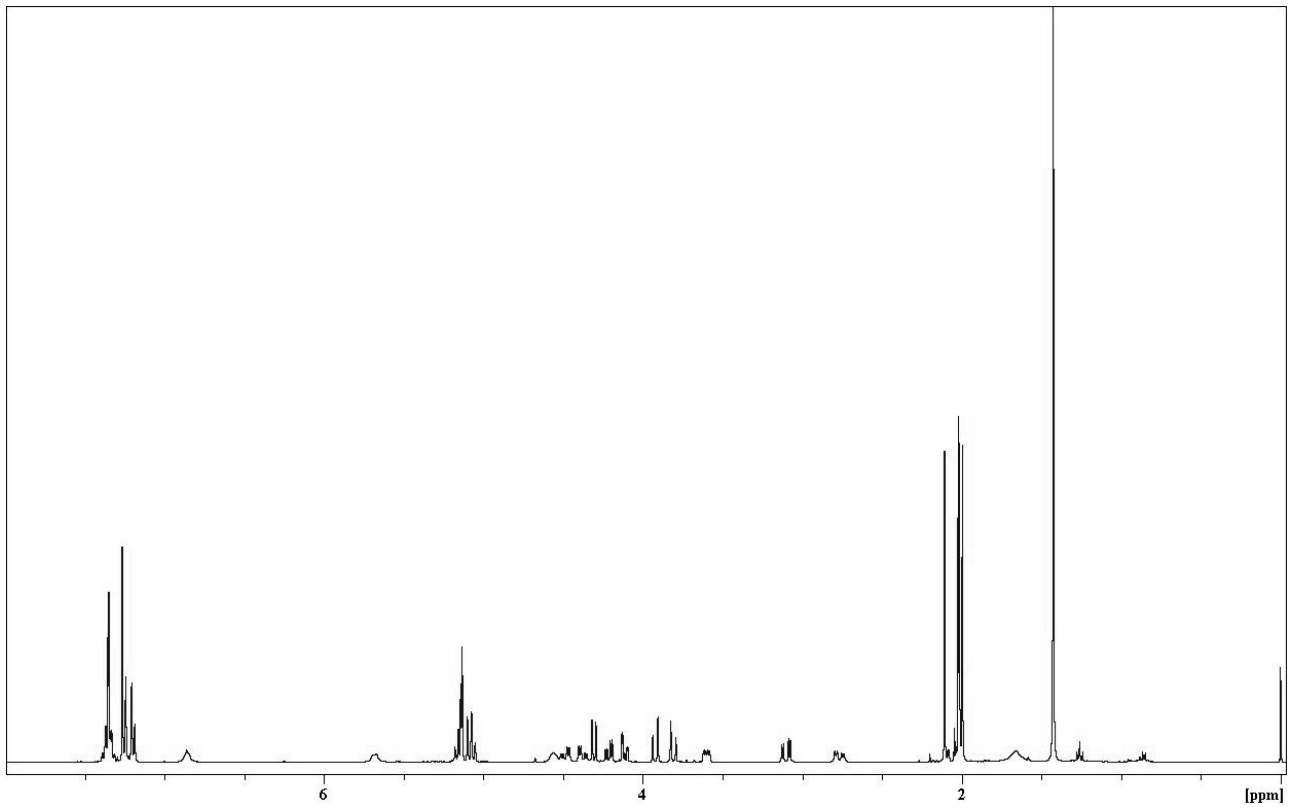
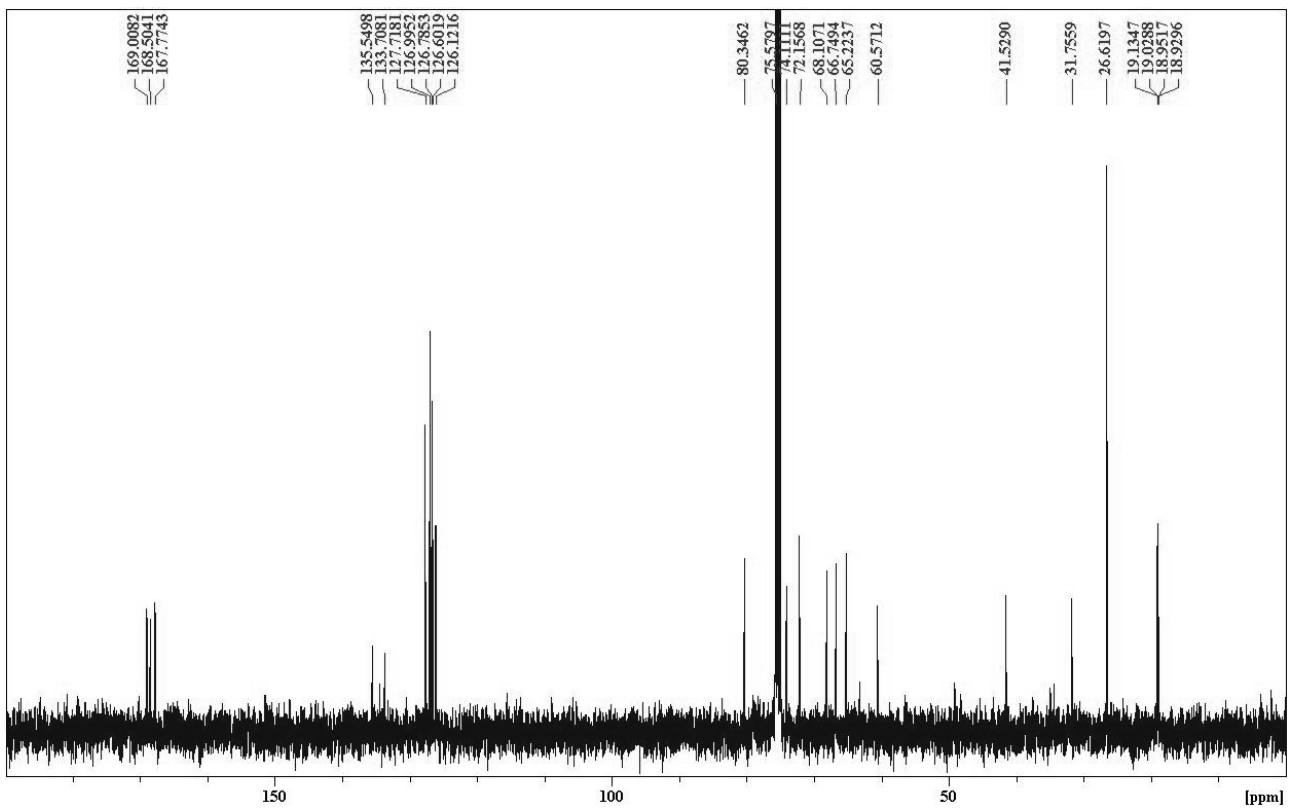
Verbindung **54**, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

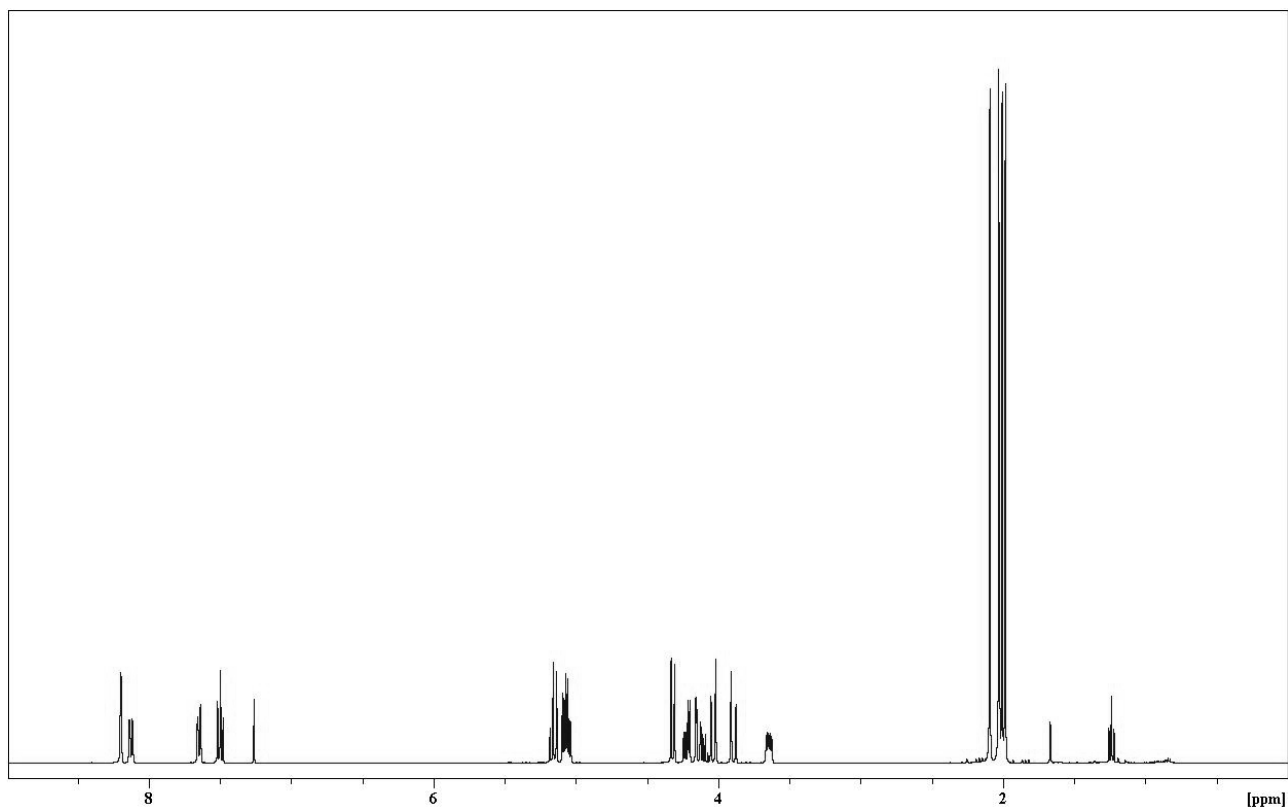
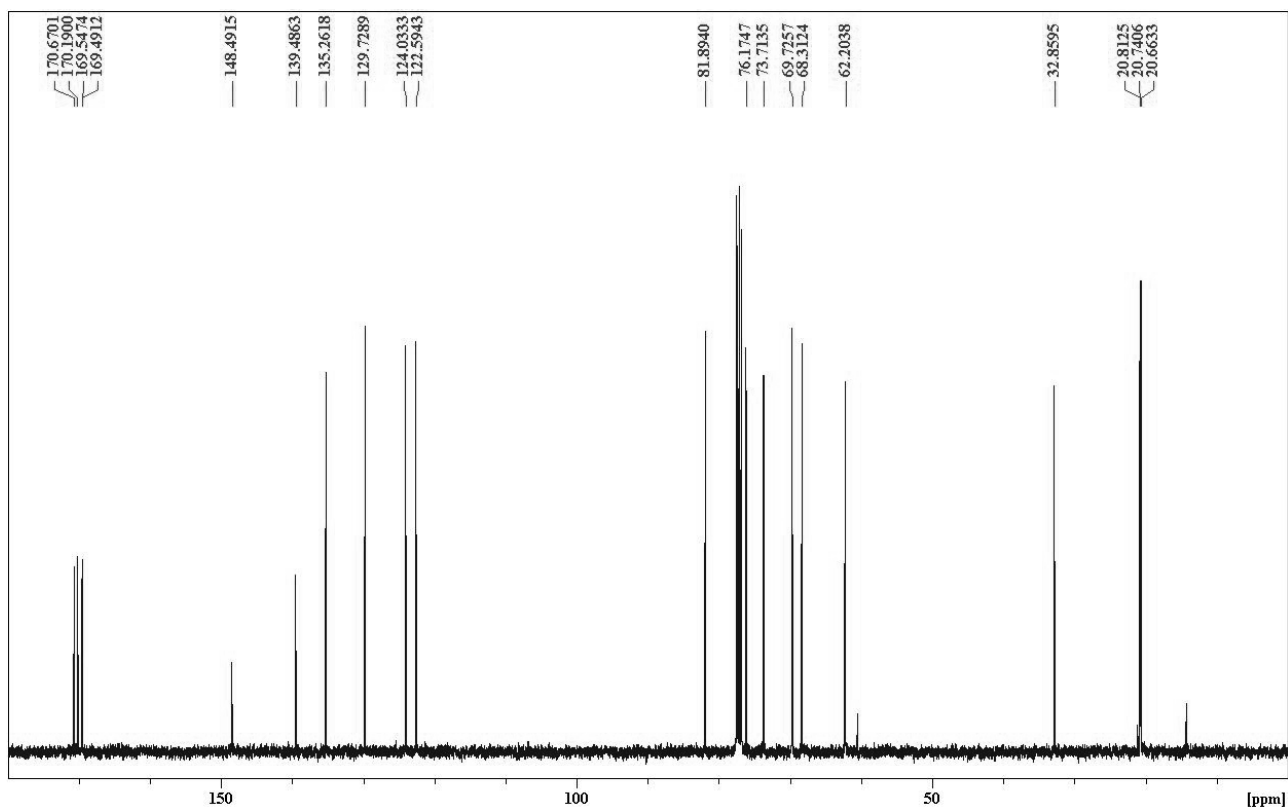
Verbindung **56**, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

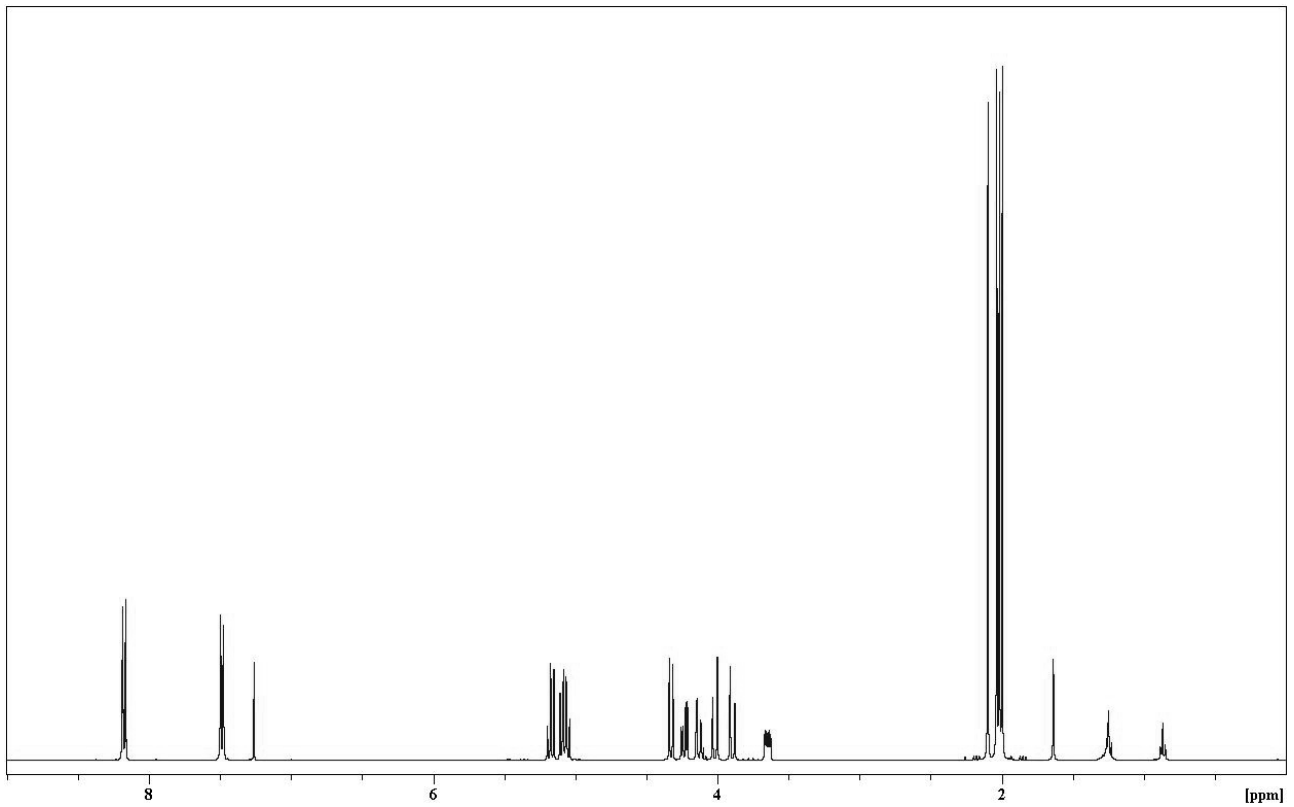
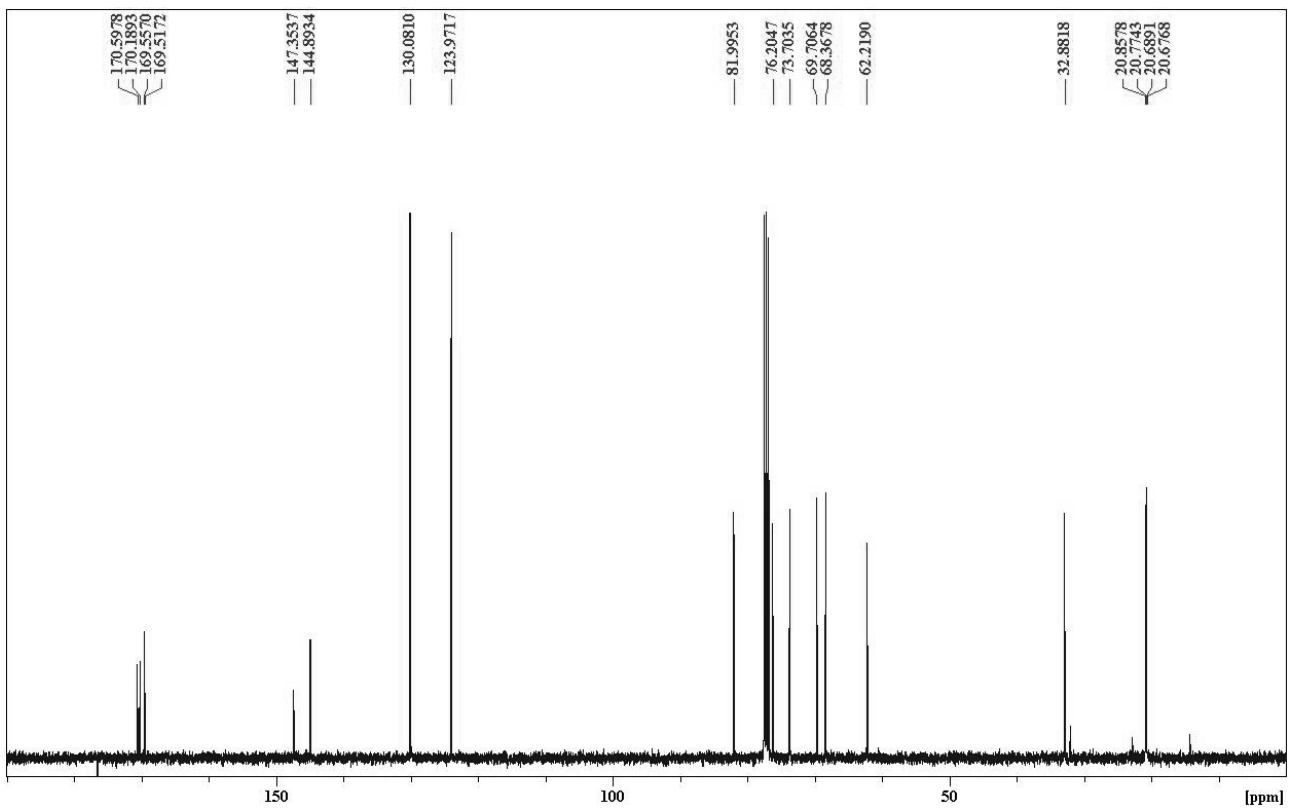
Verbindung **61**, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

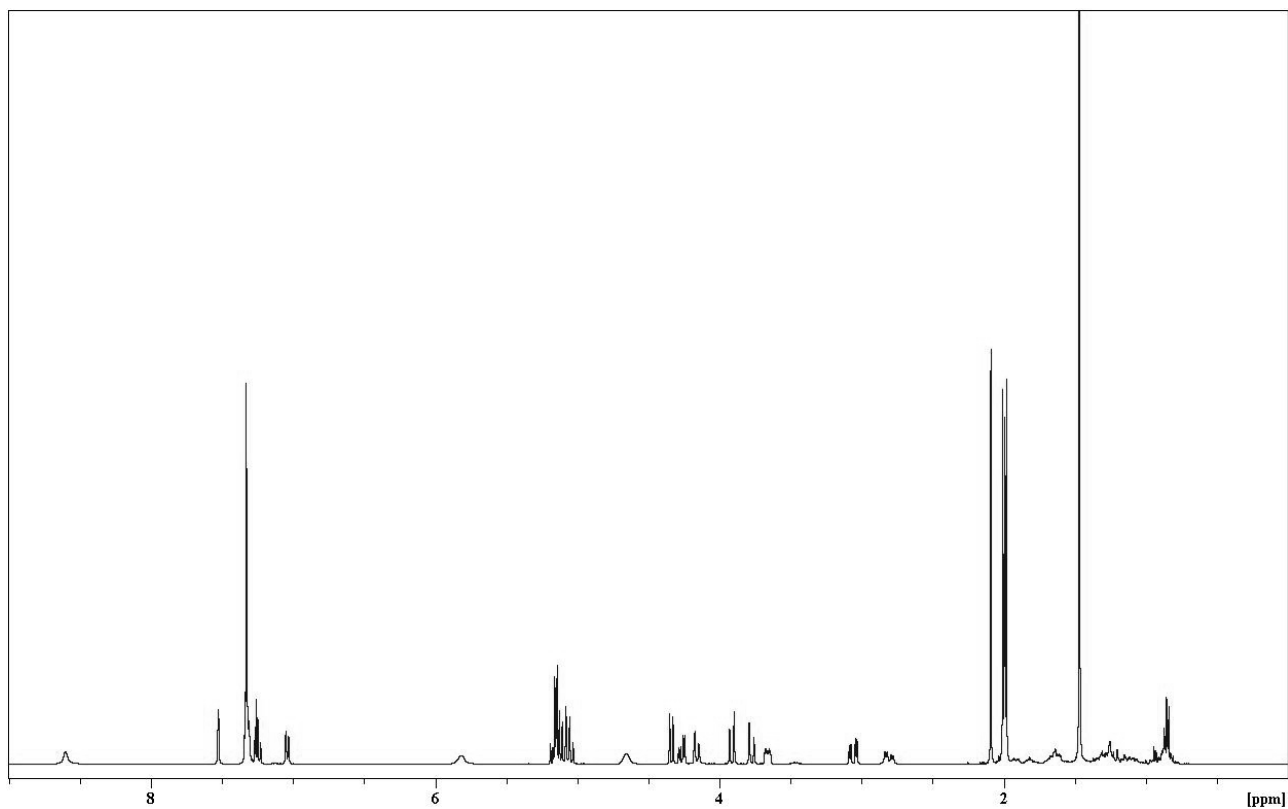
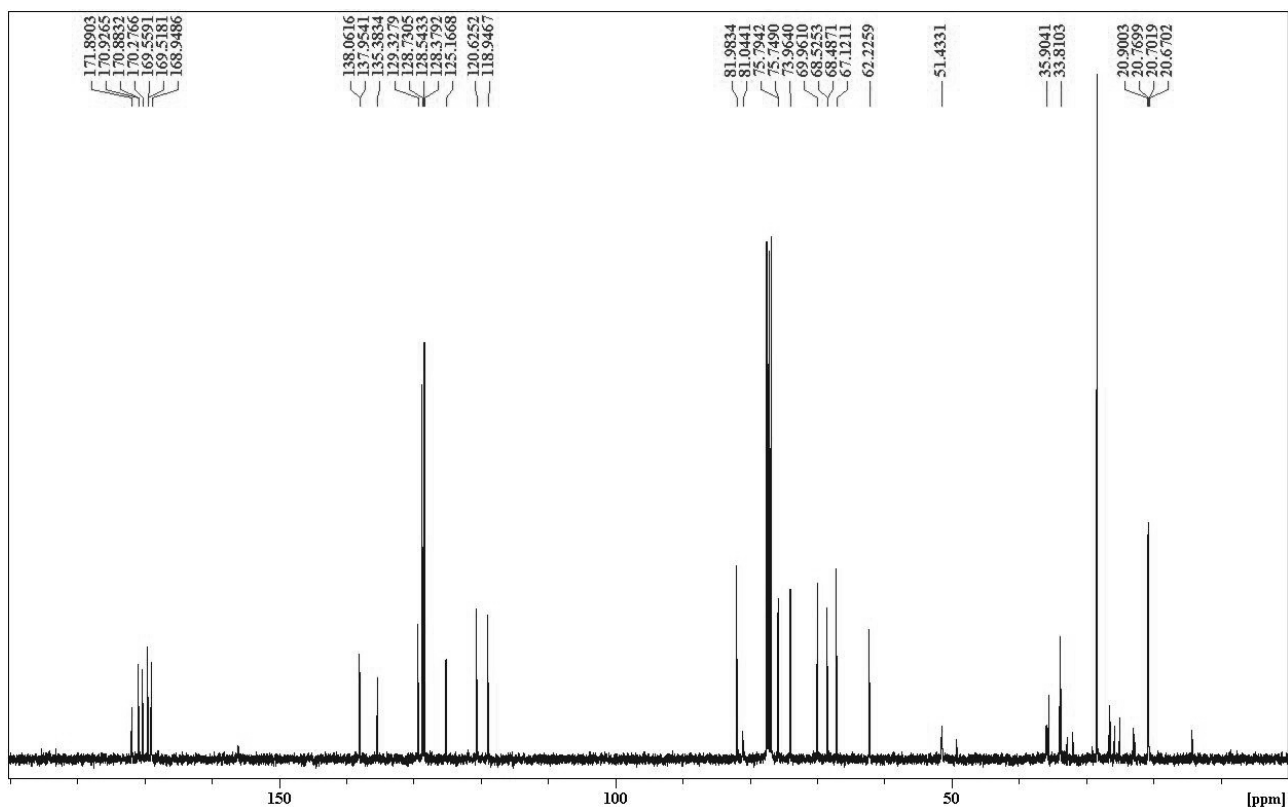
Verbindung **63**, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

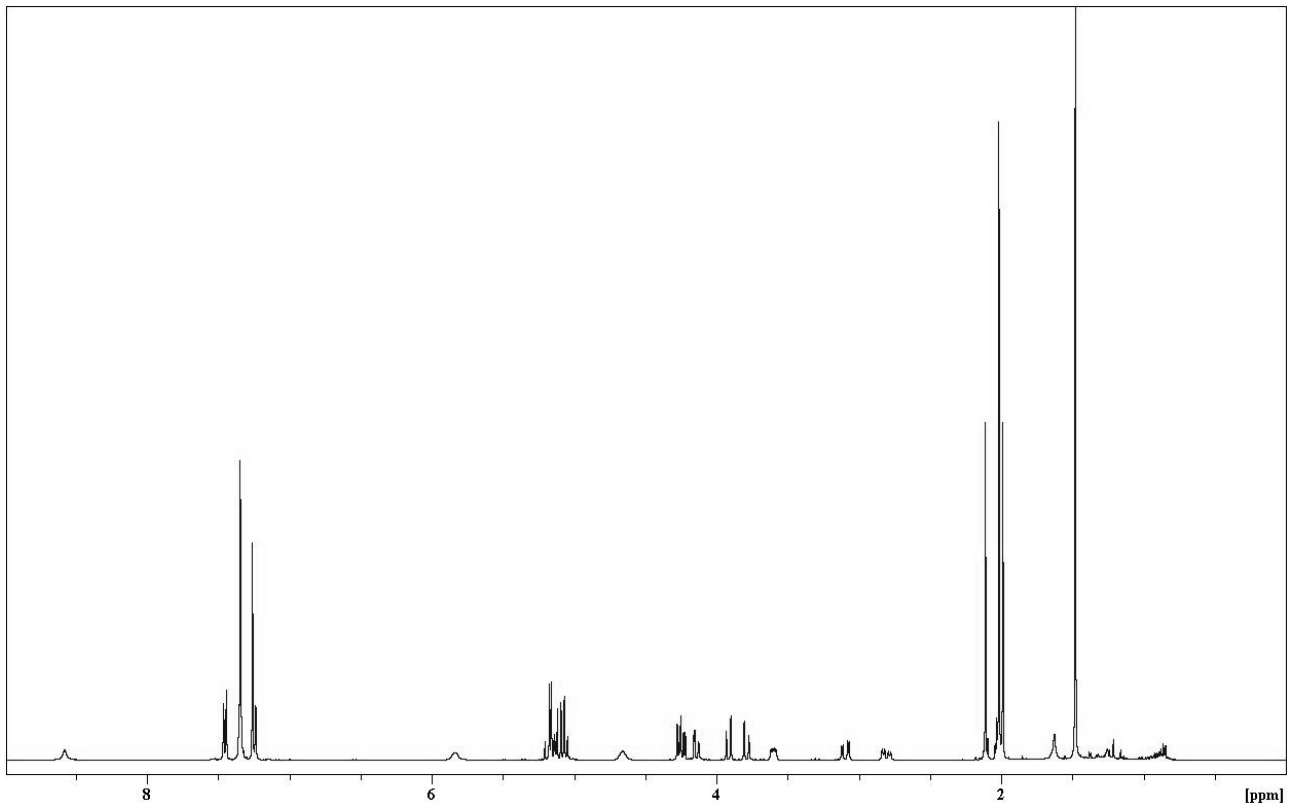
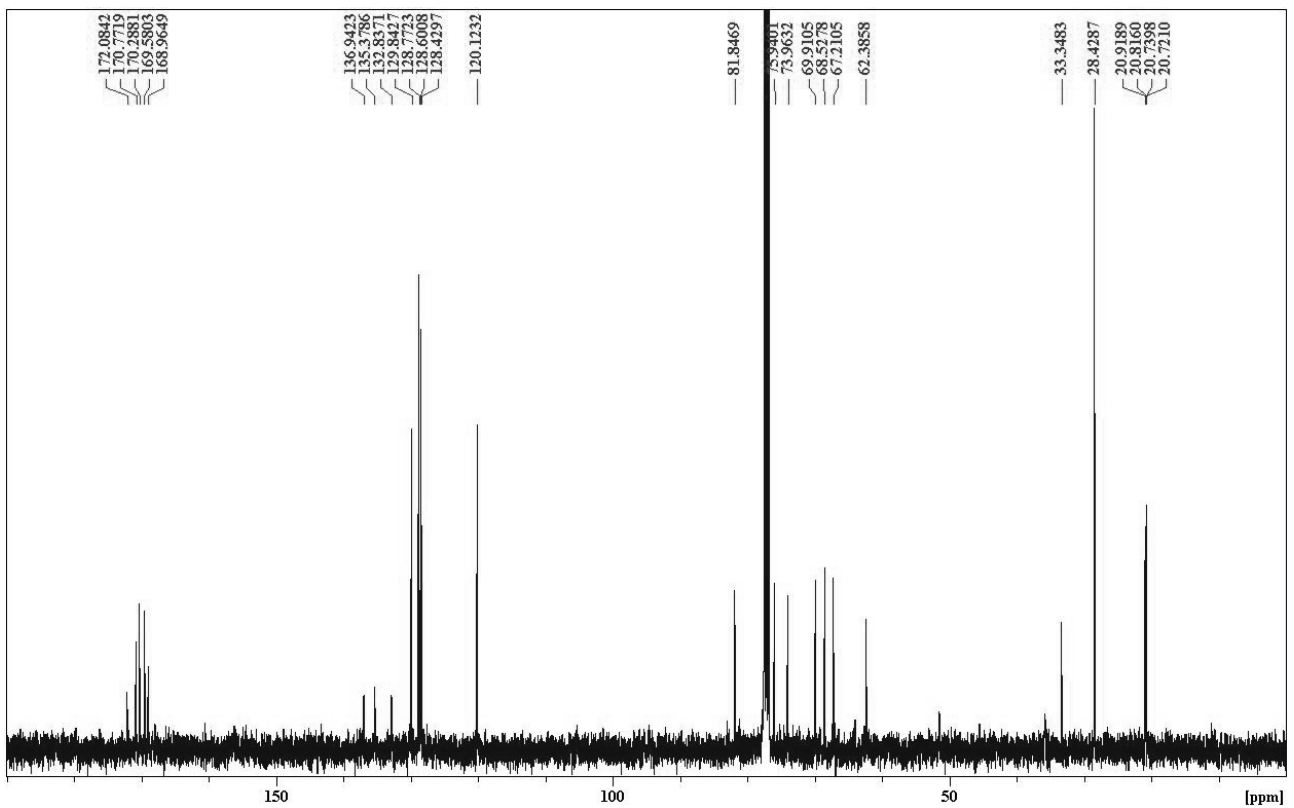
Verbindung **67**, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

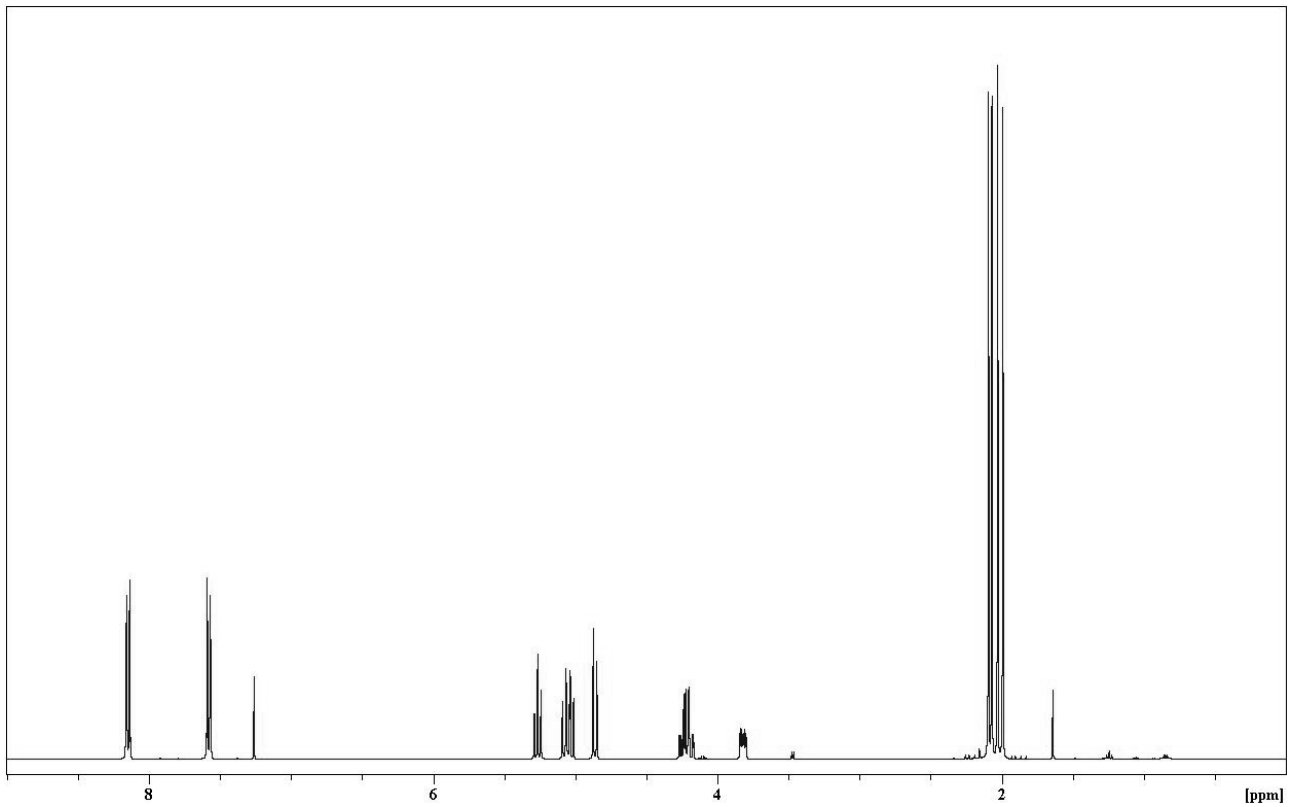
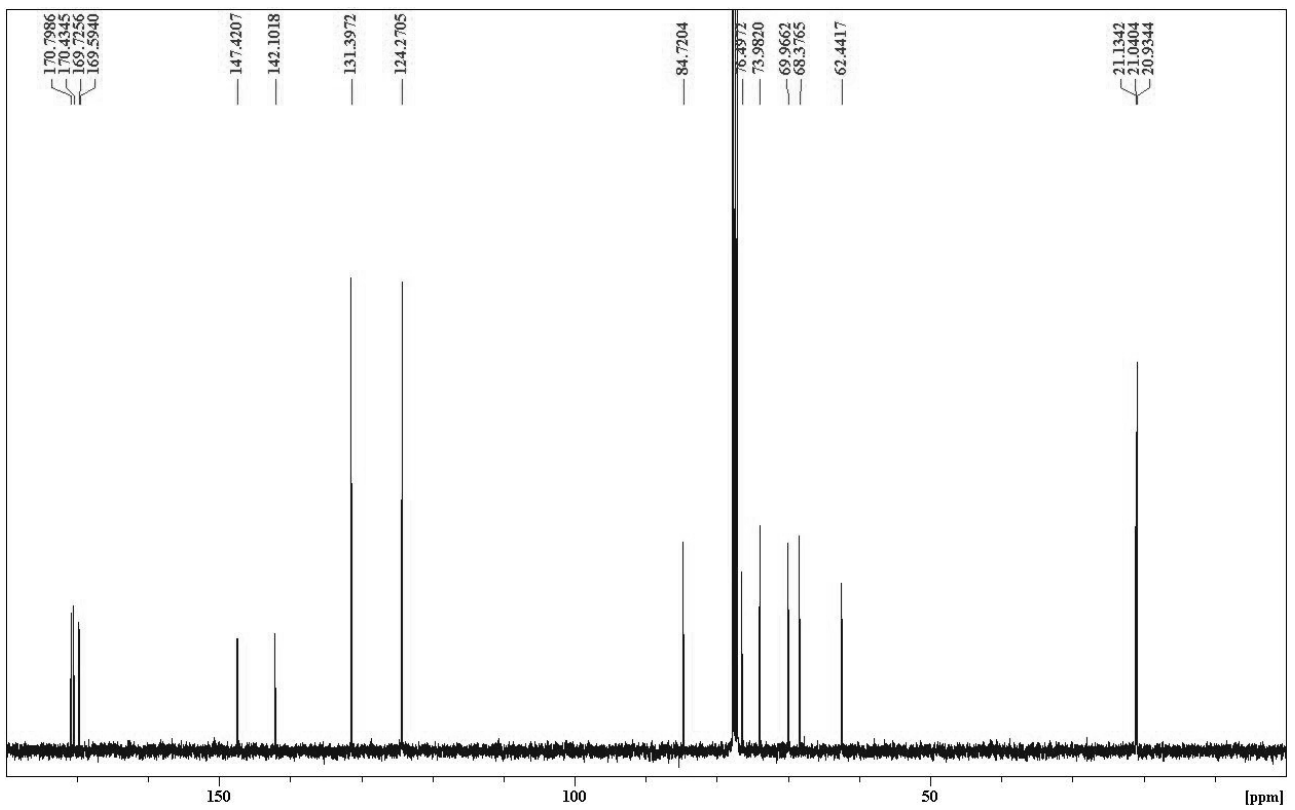
Verbindung **68**, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

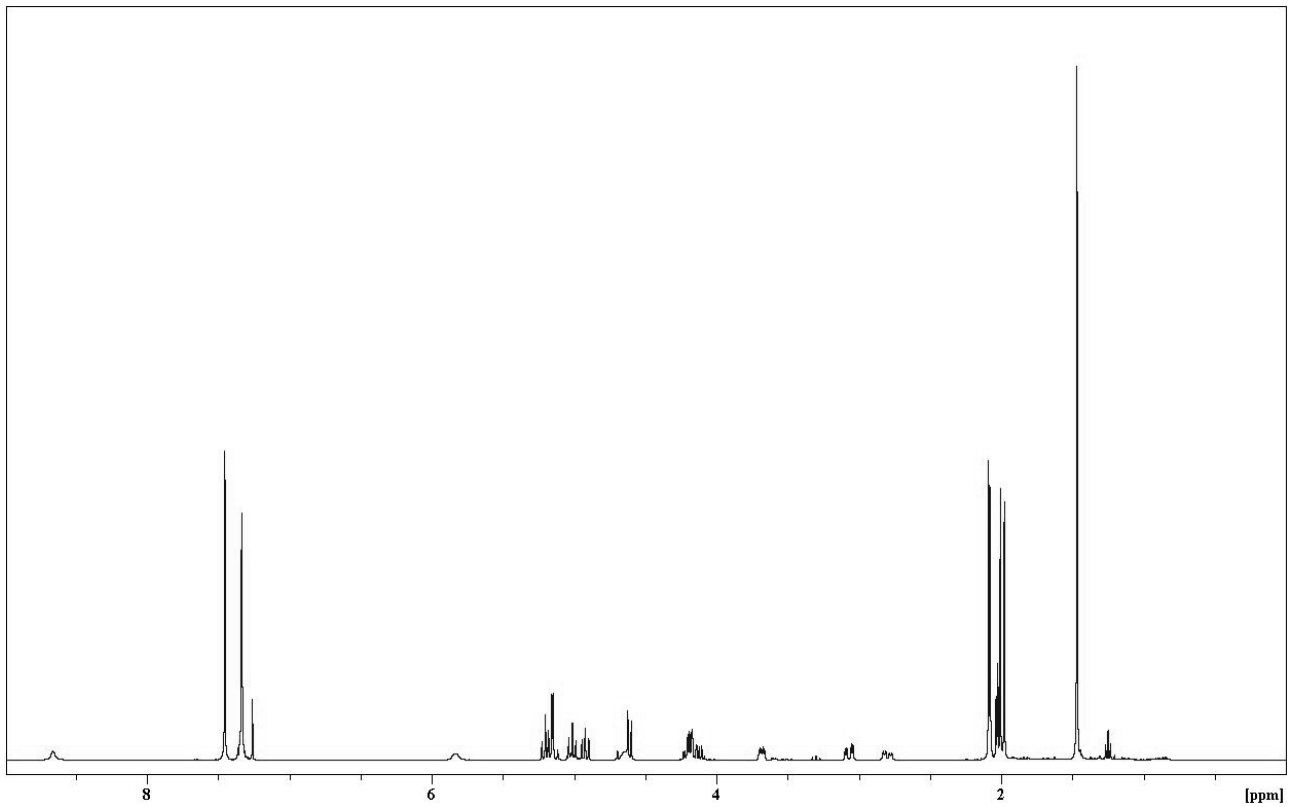
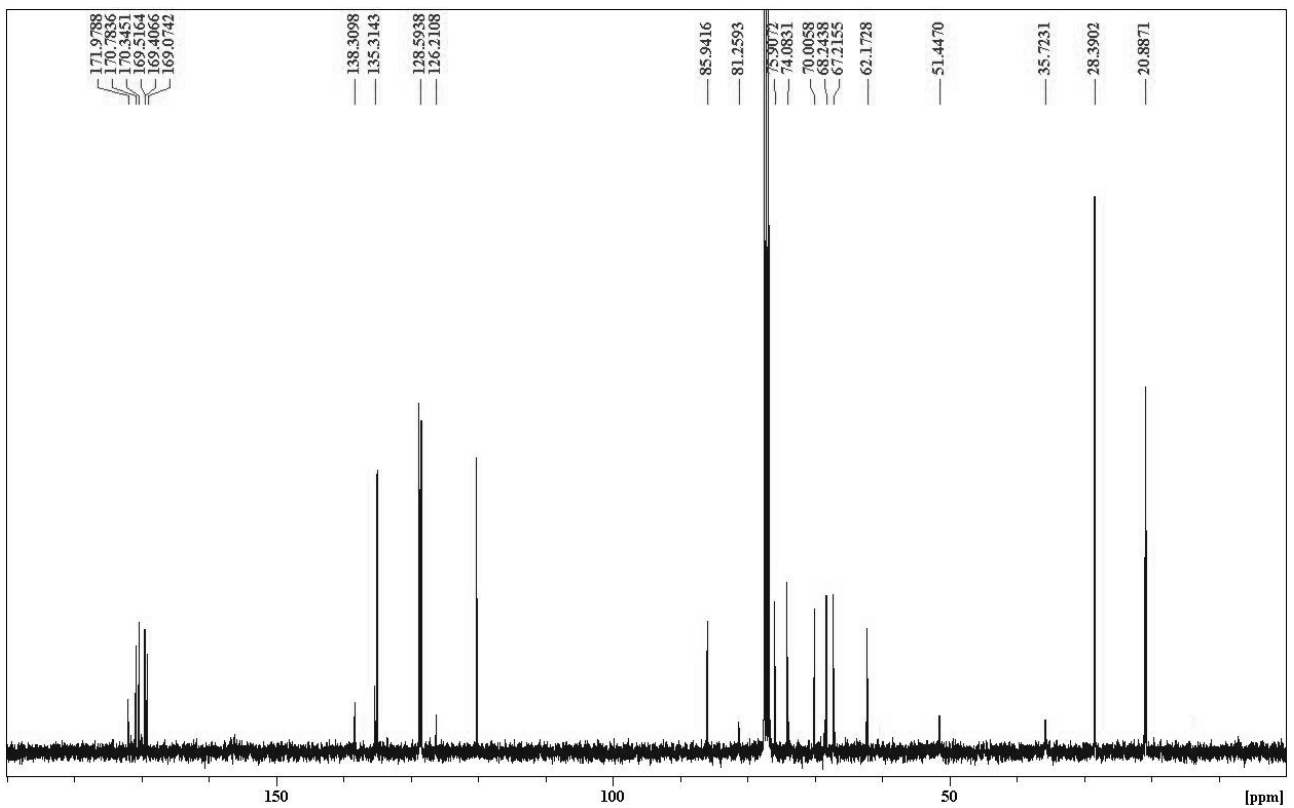
Verbindung **69**, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

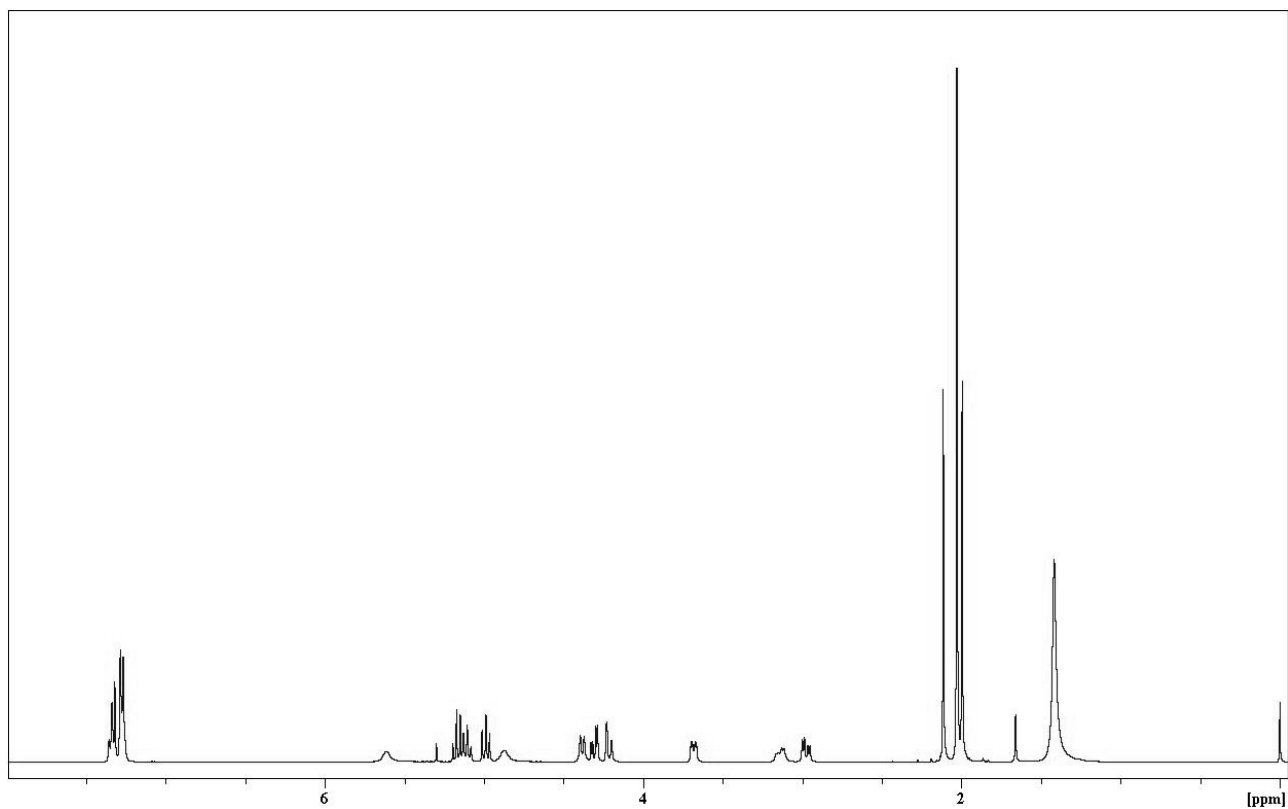
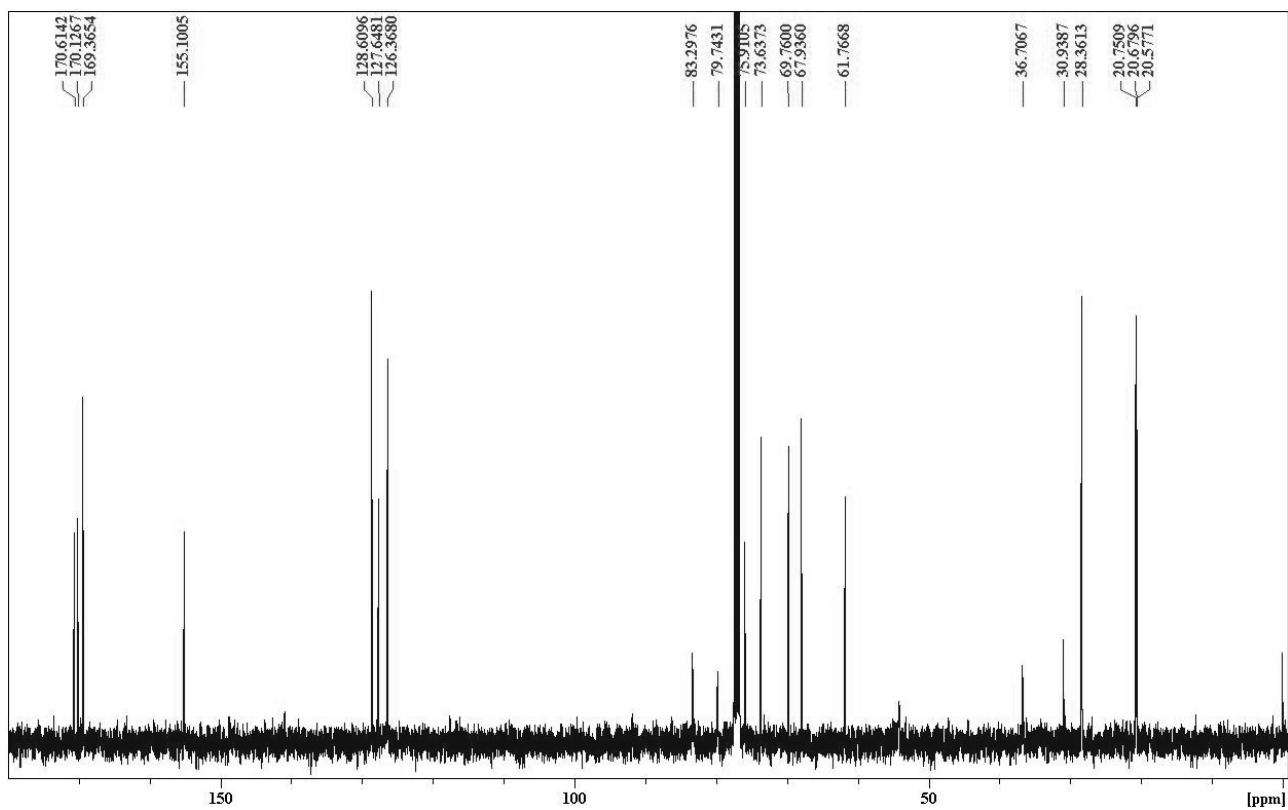
Verbindung **70**, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

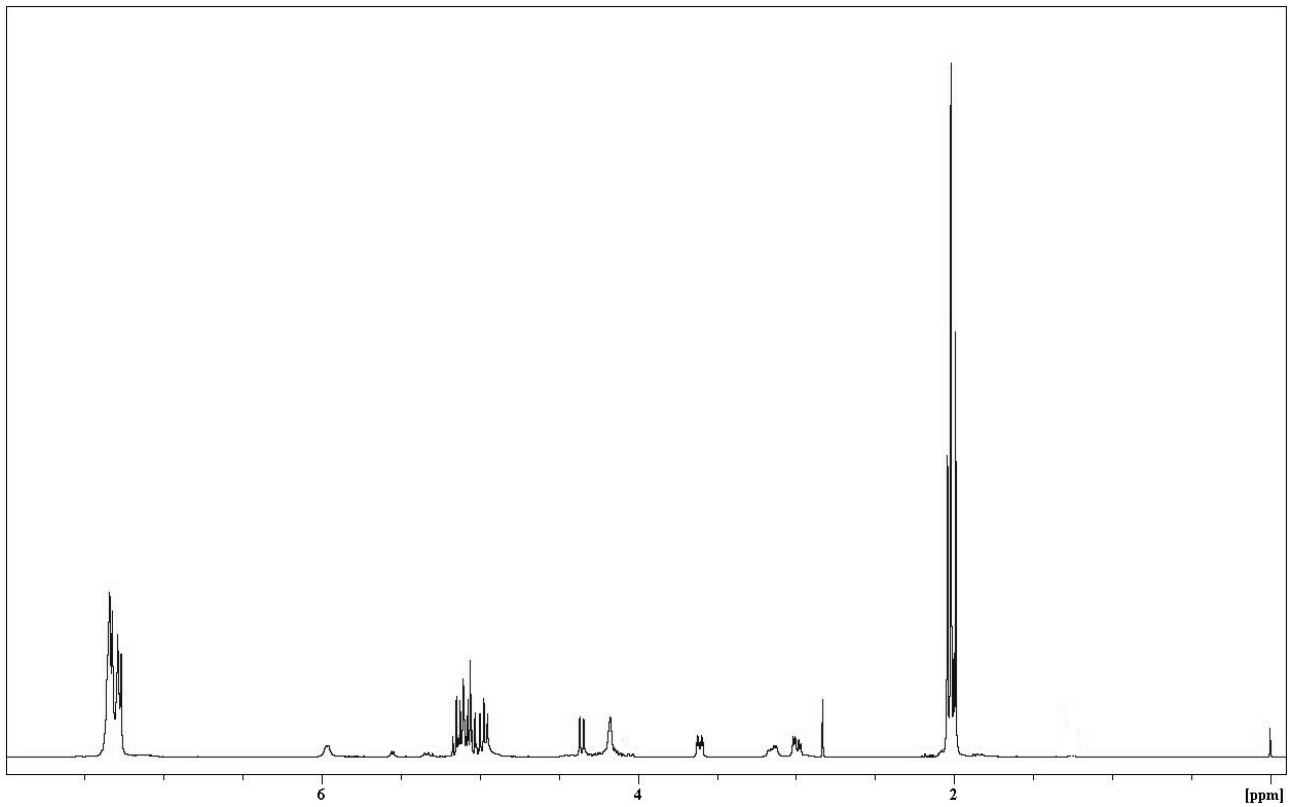
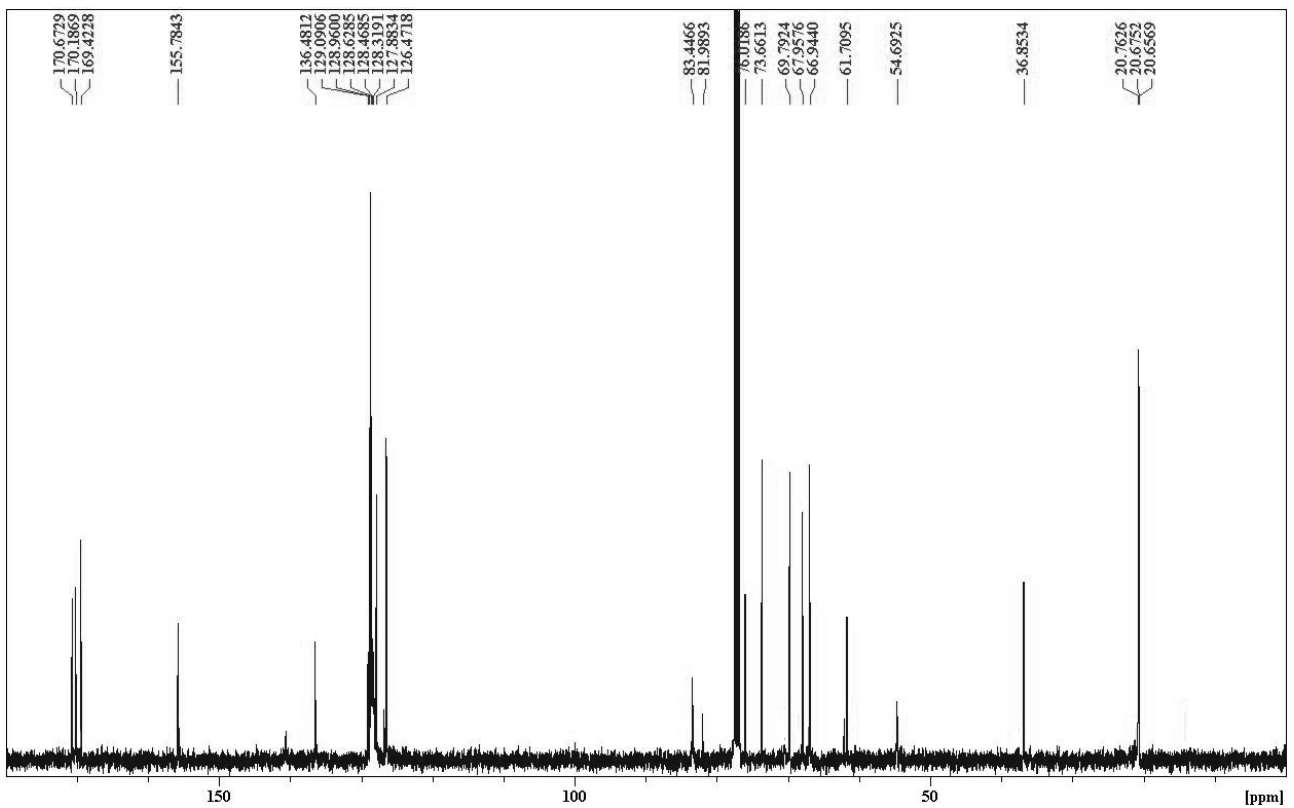
Verbindung **71**, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

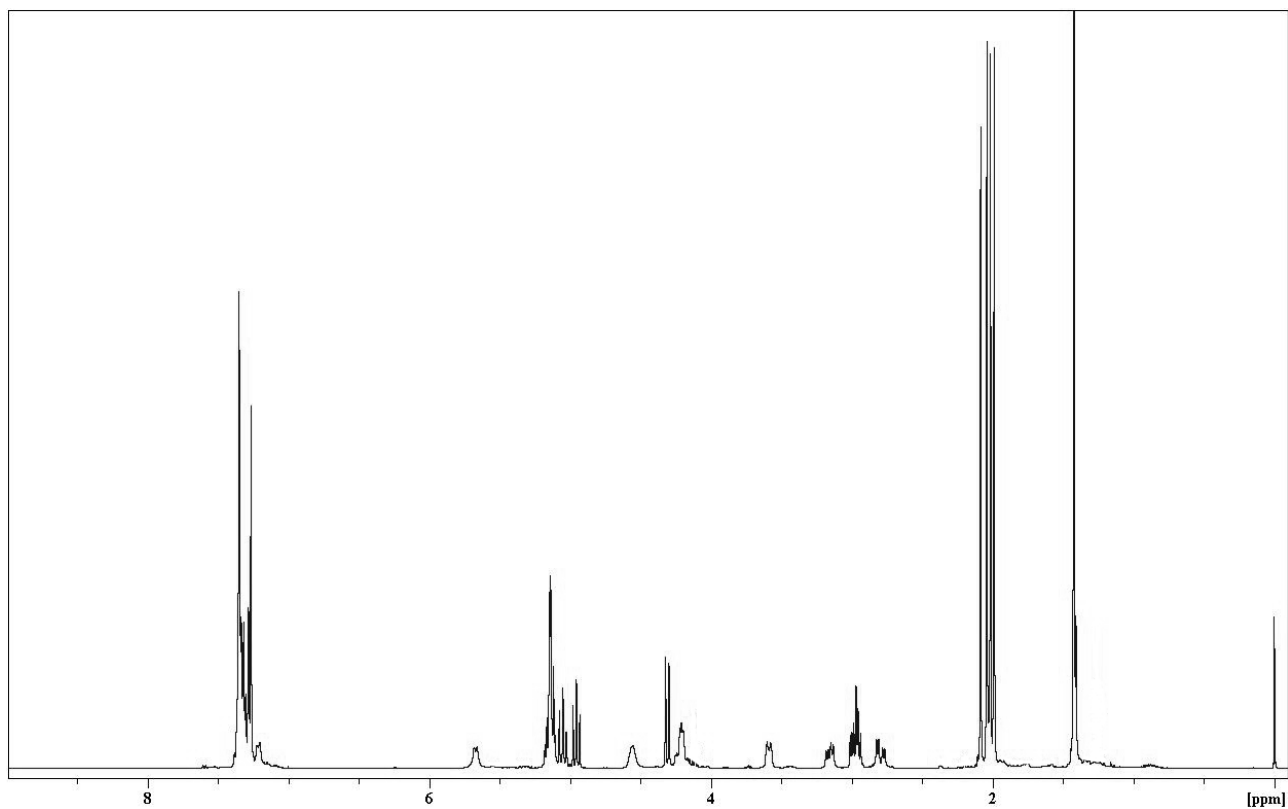
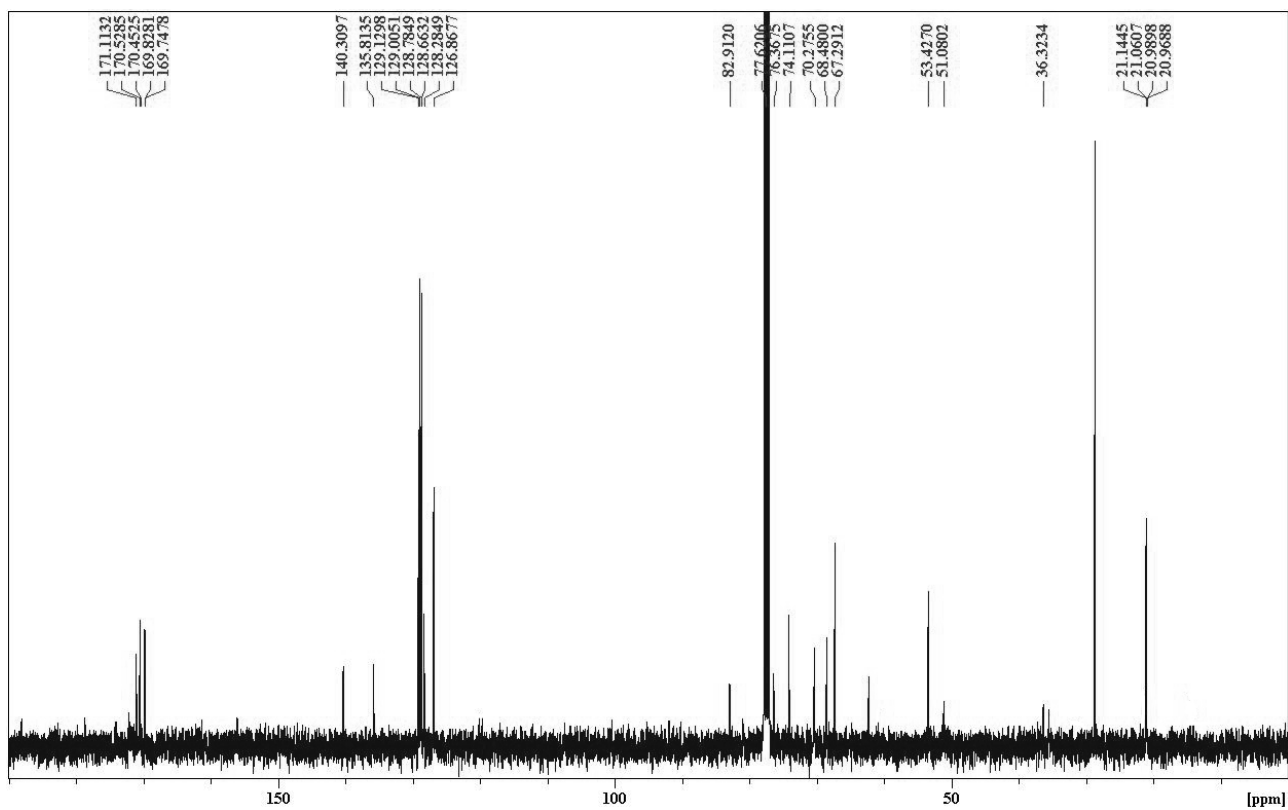
Verbindung 72, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

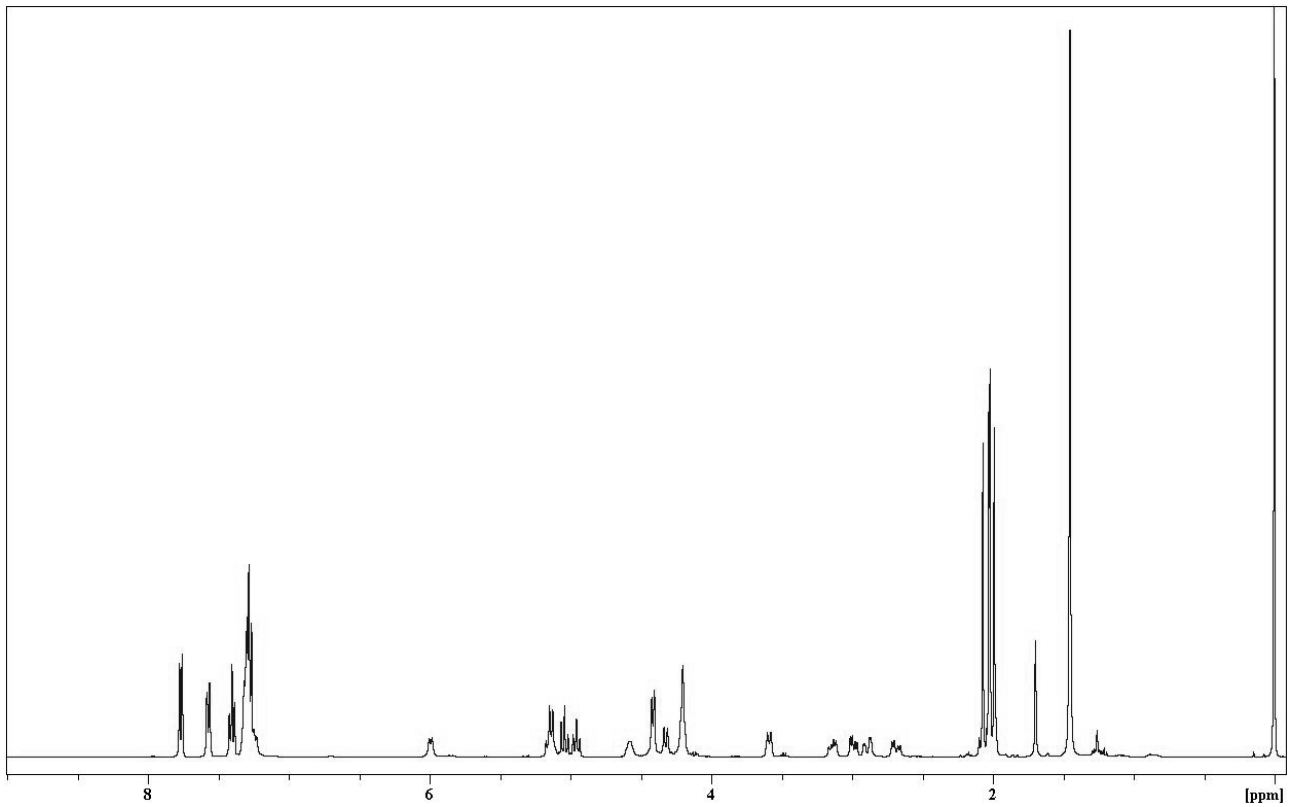
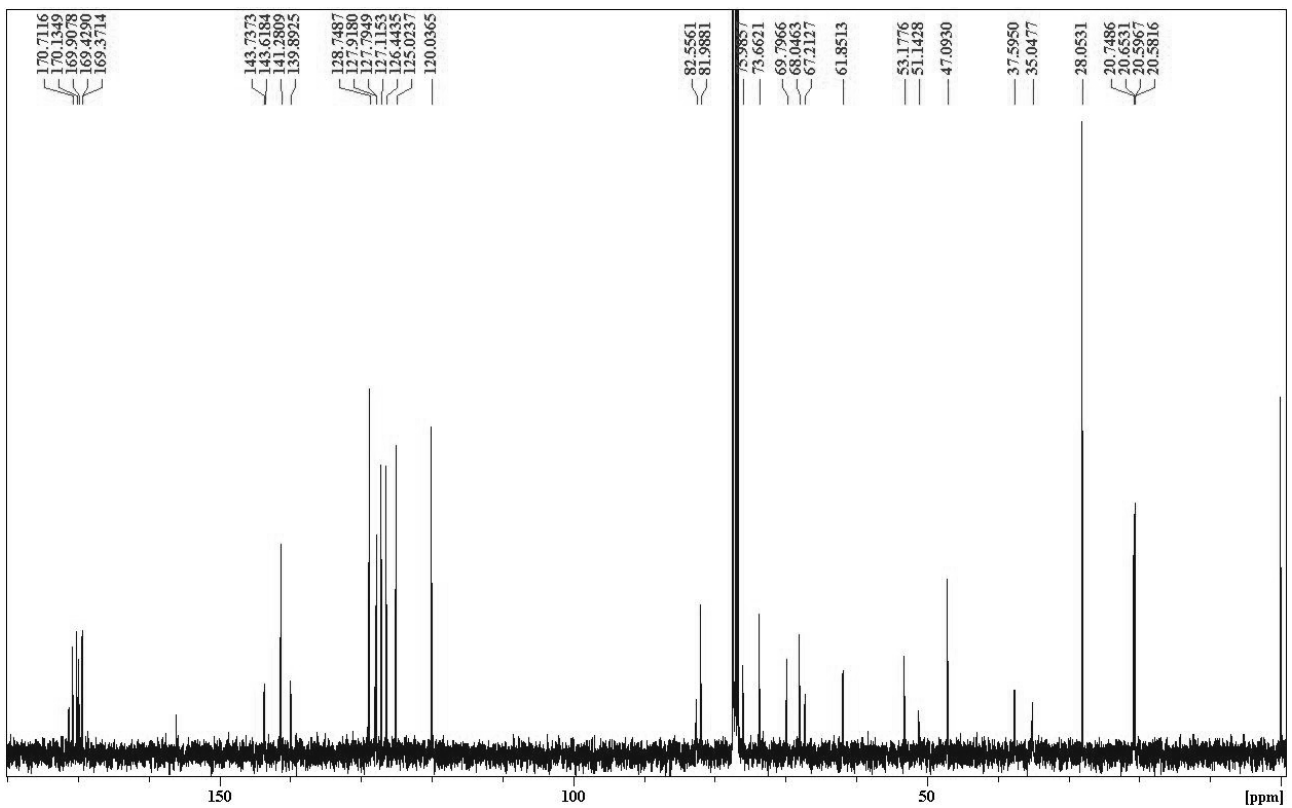
Verbindung 74, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

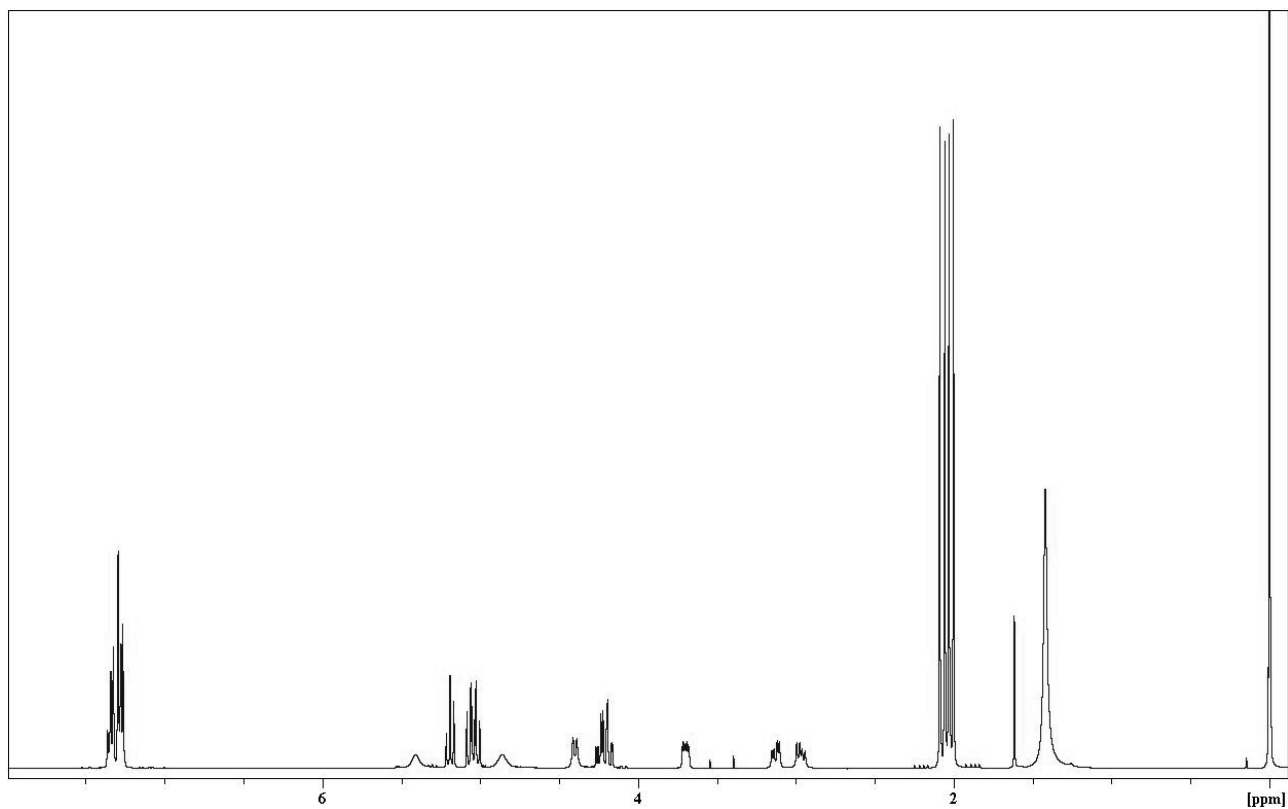
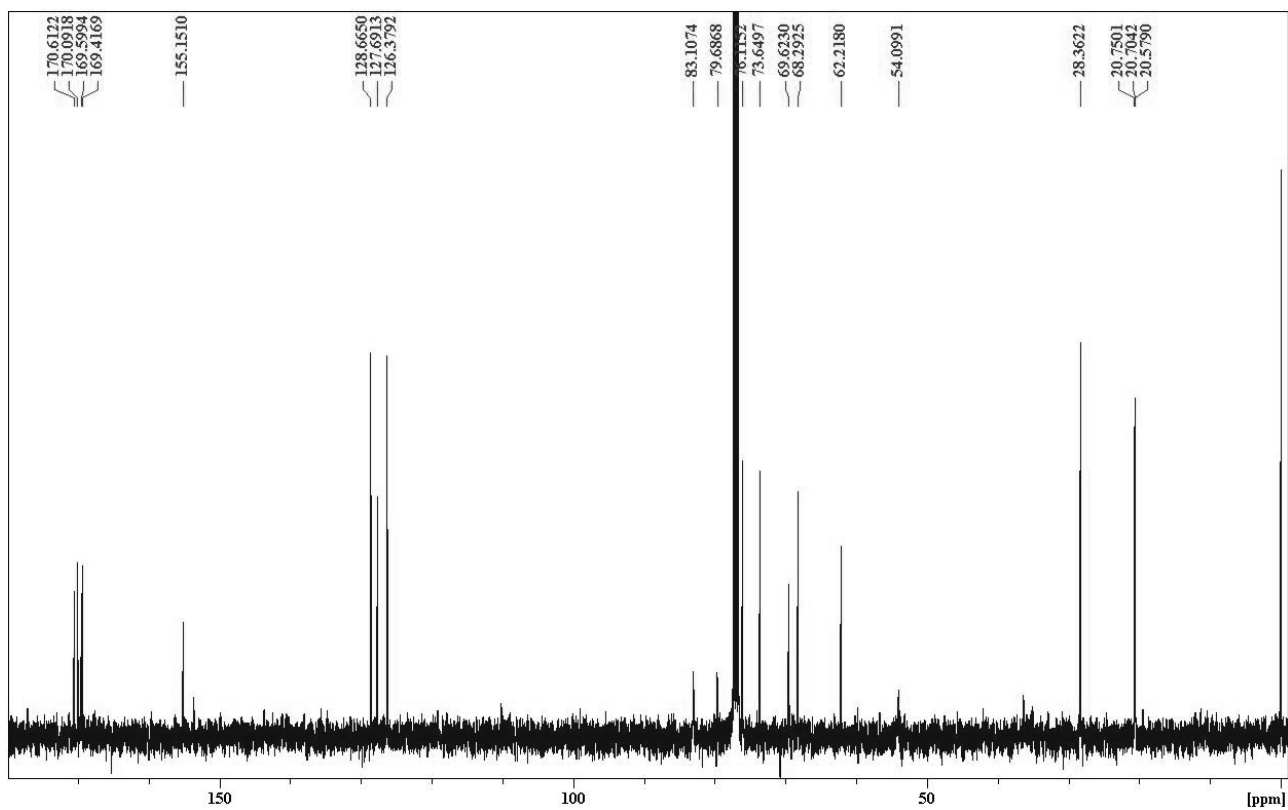
Verbindung **75**, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

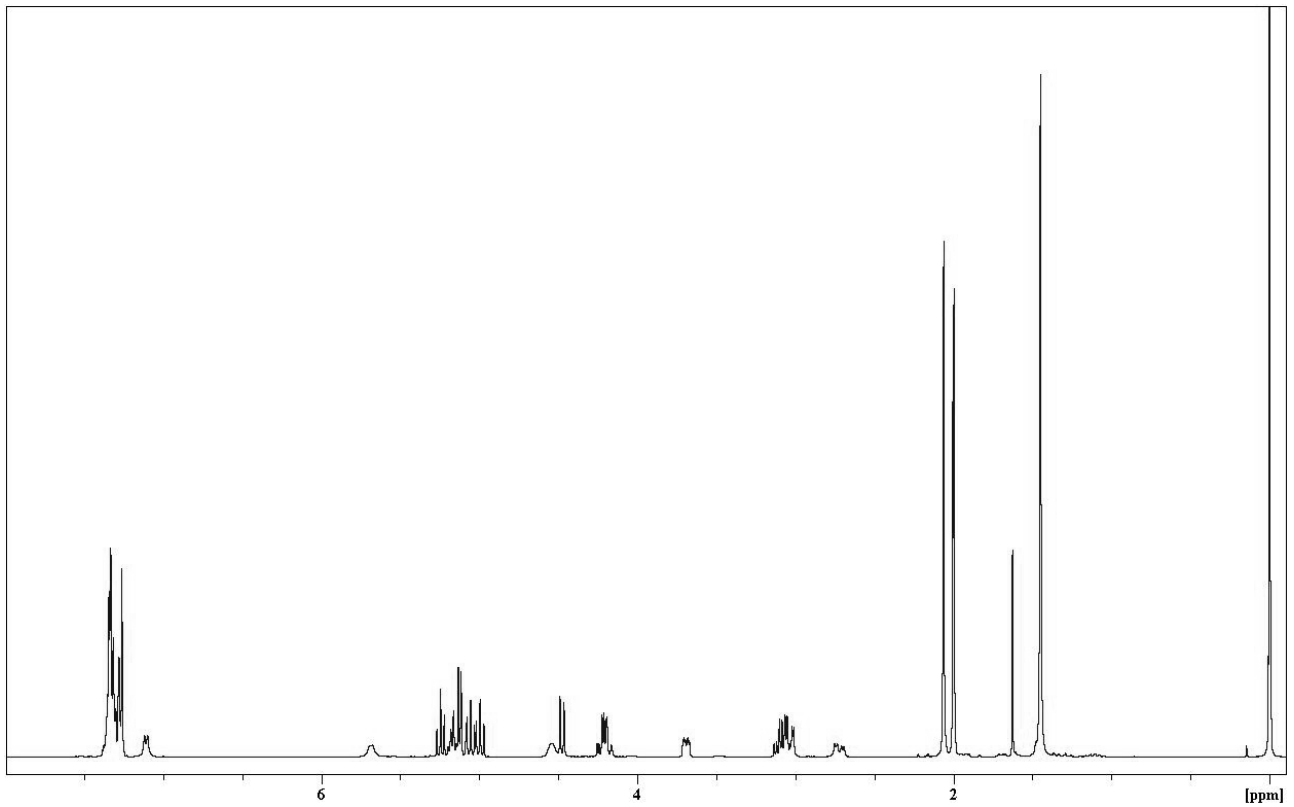
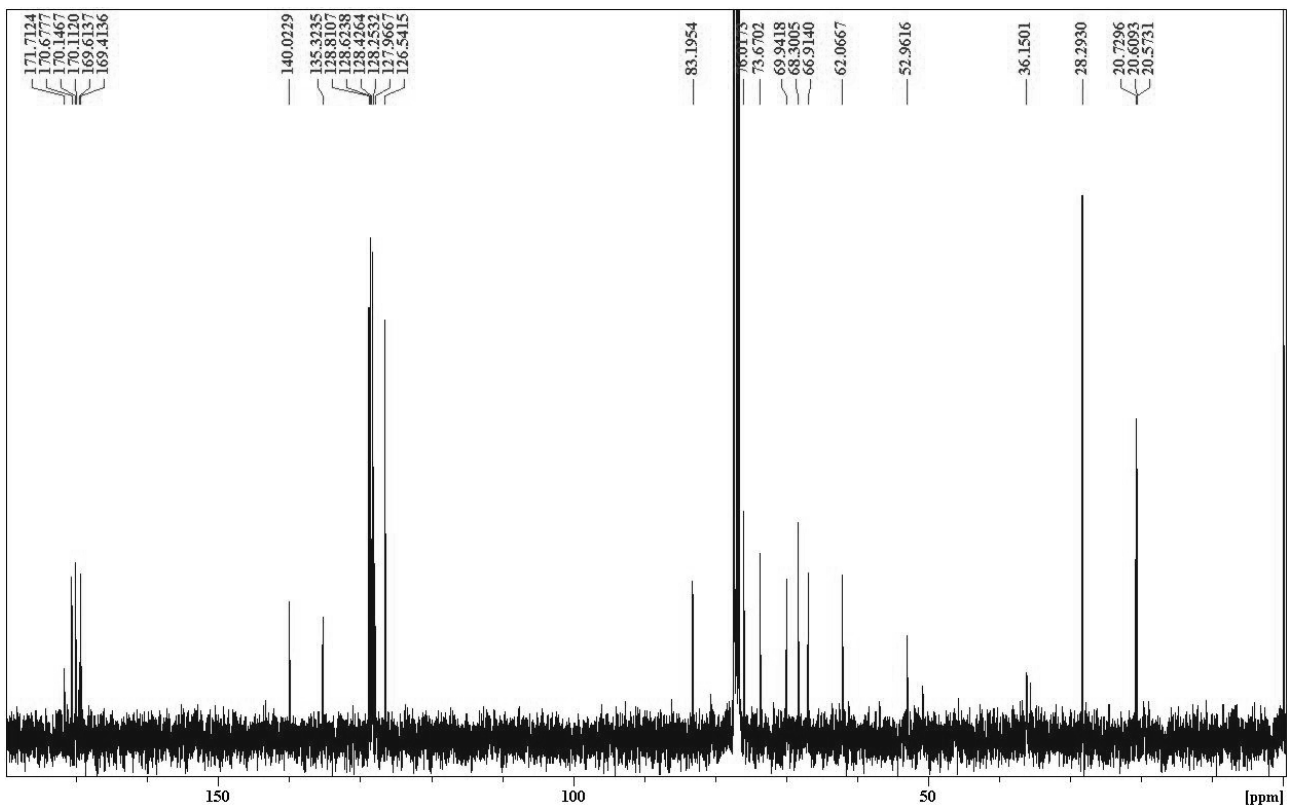
Verbindung **91**, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

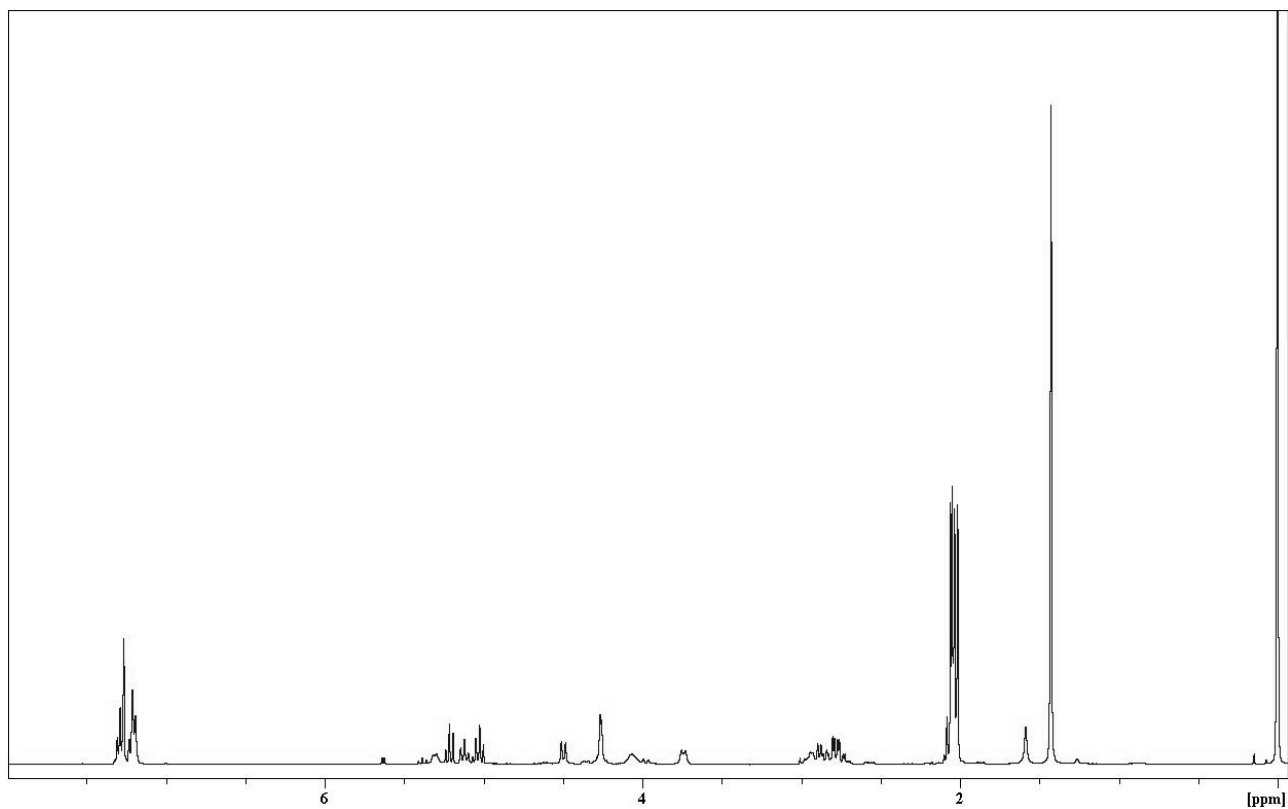
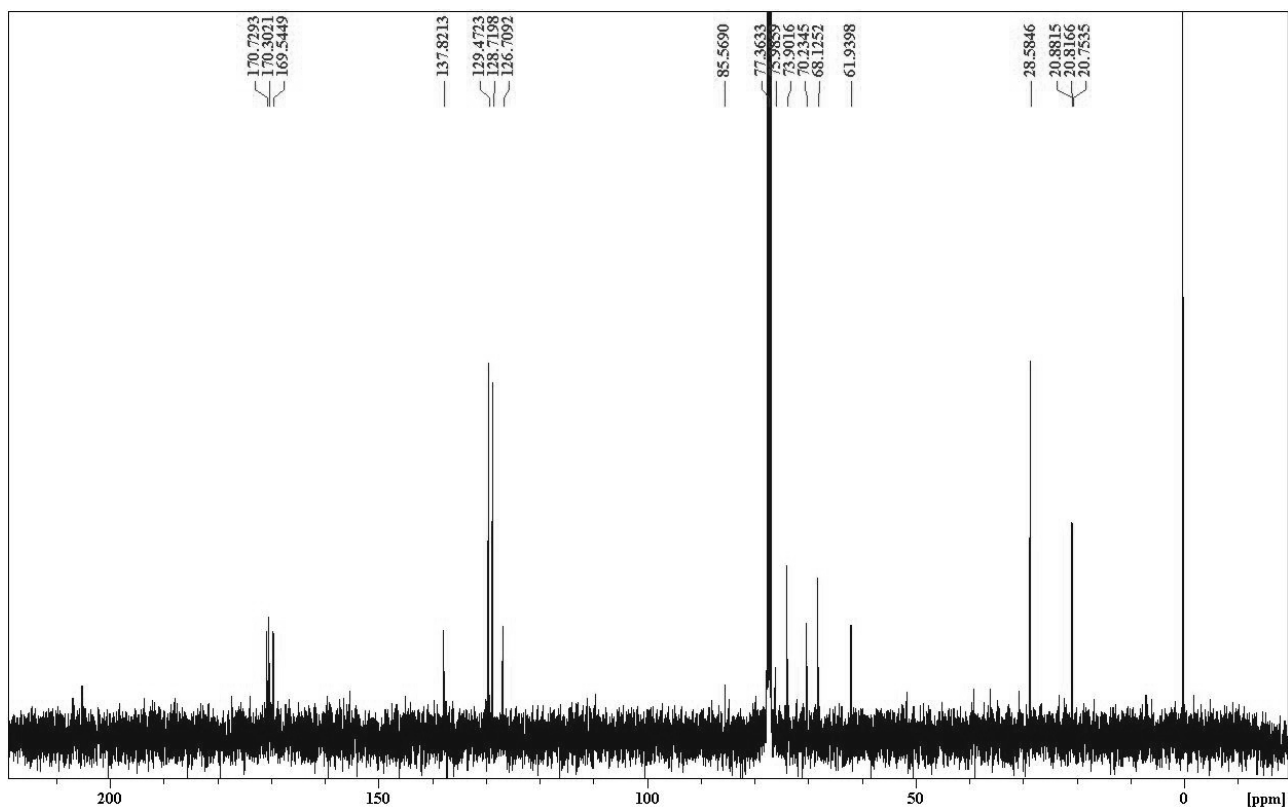
Verbindung **92**, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

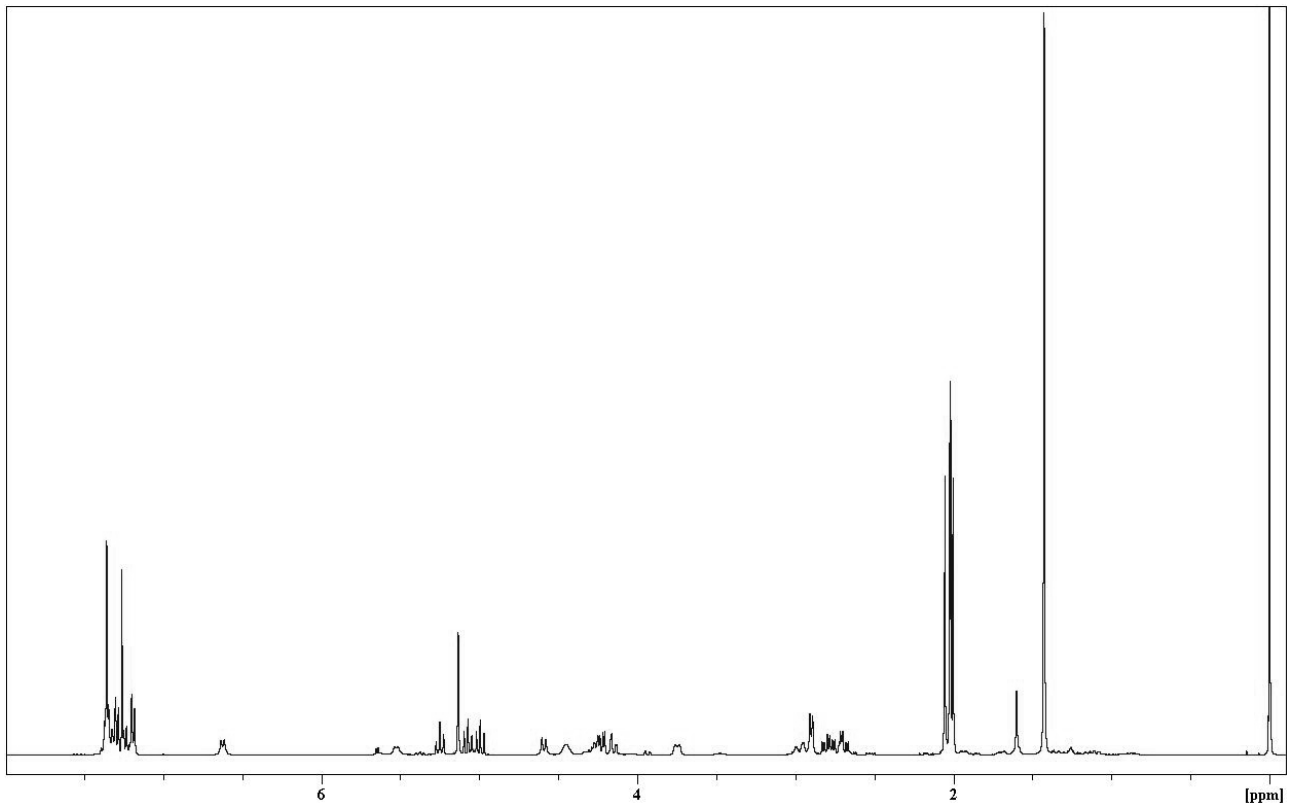
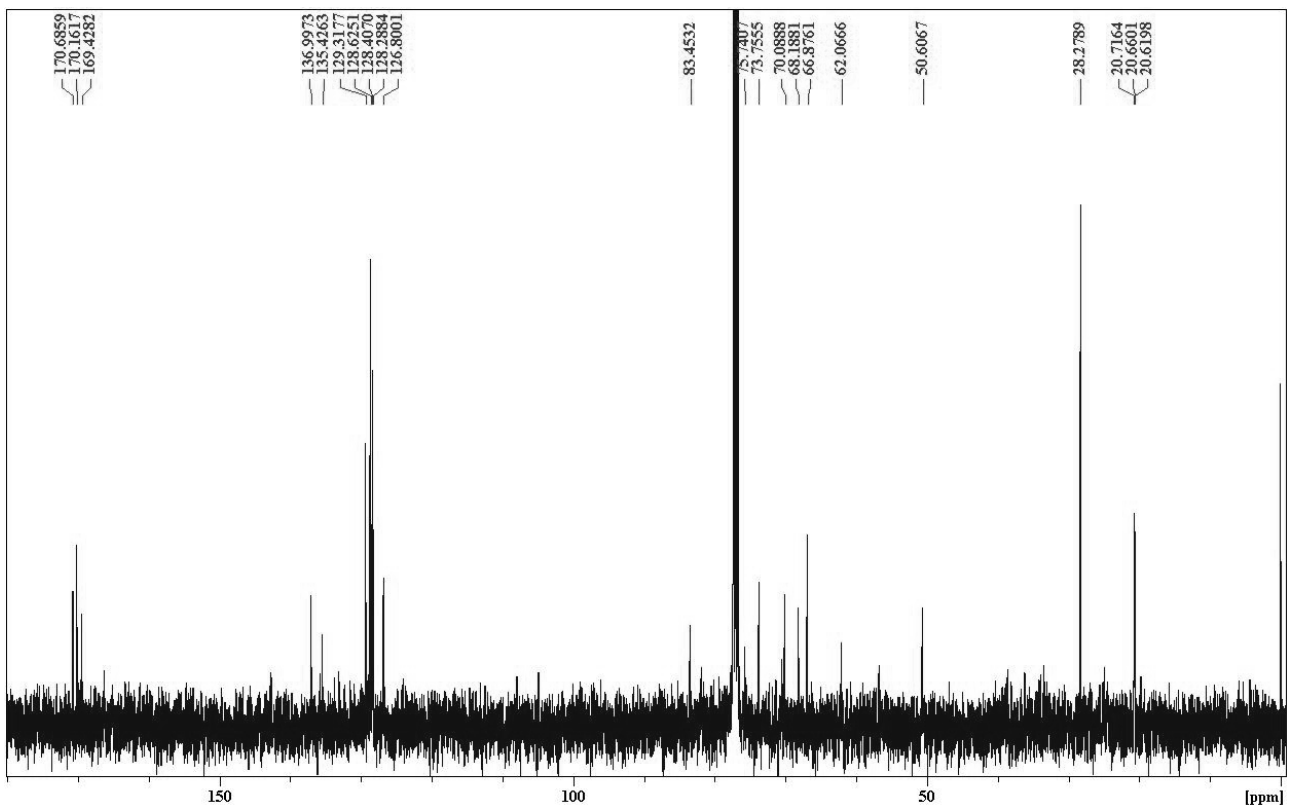
Verbindung **93**, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

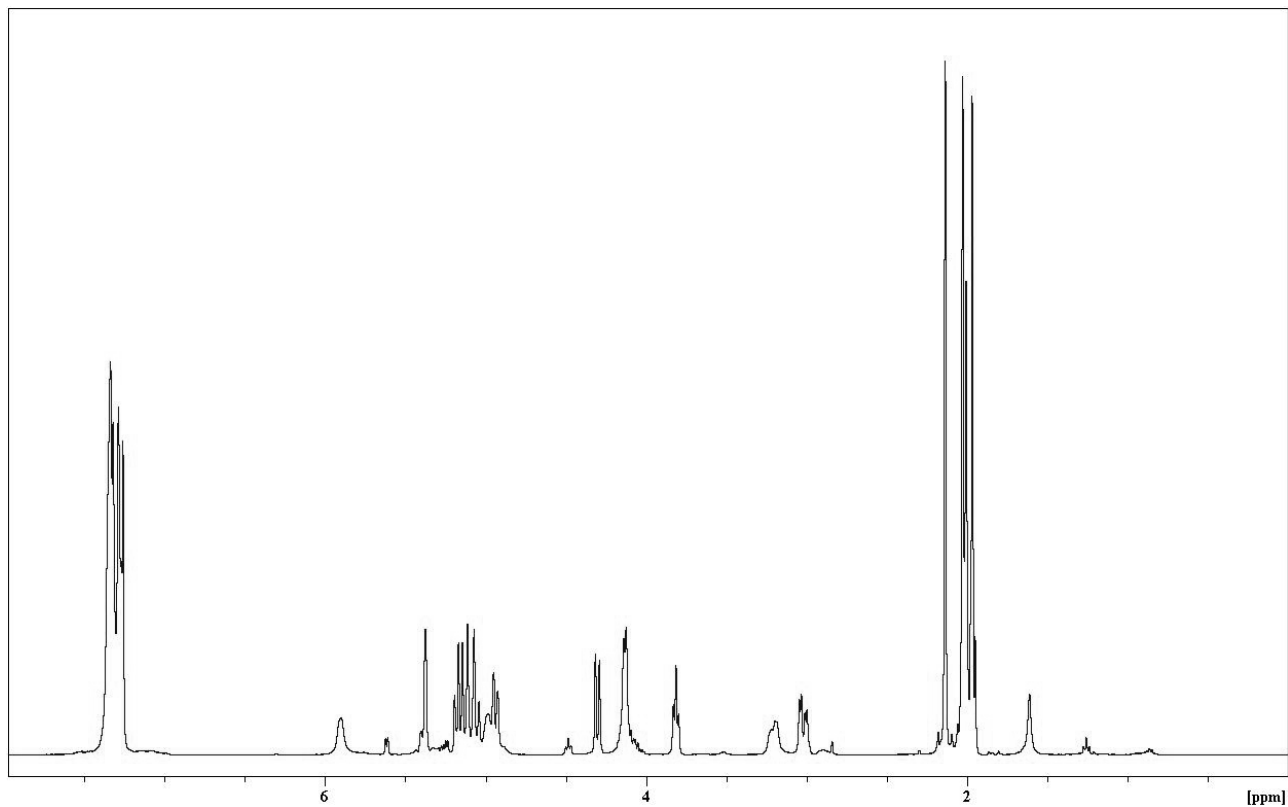
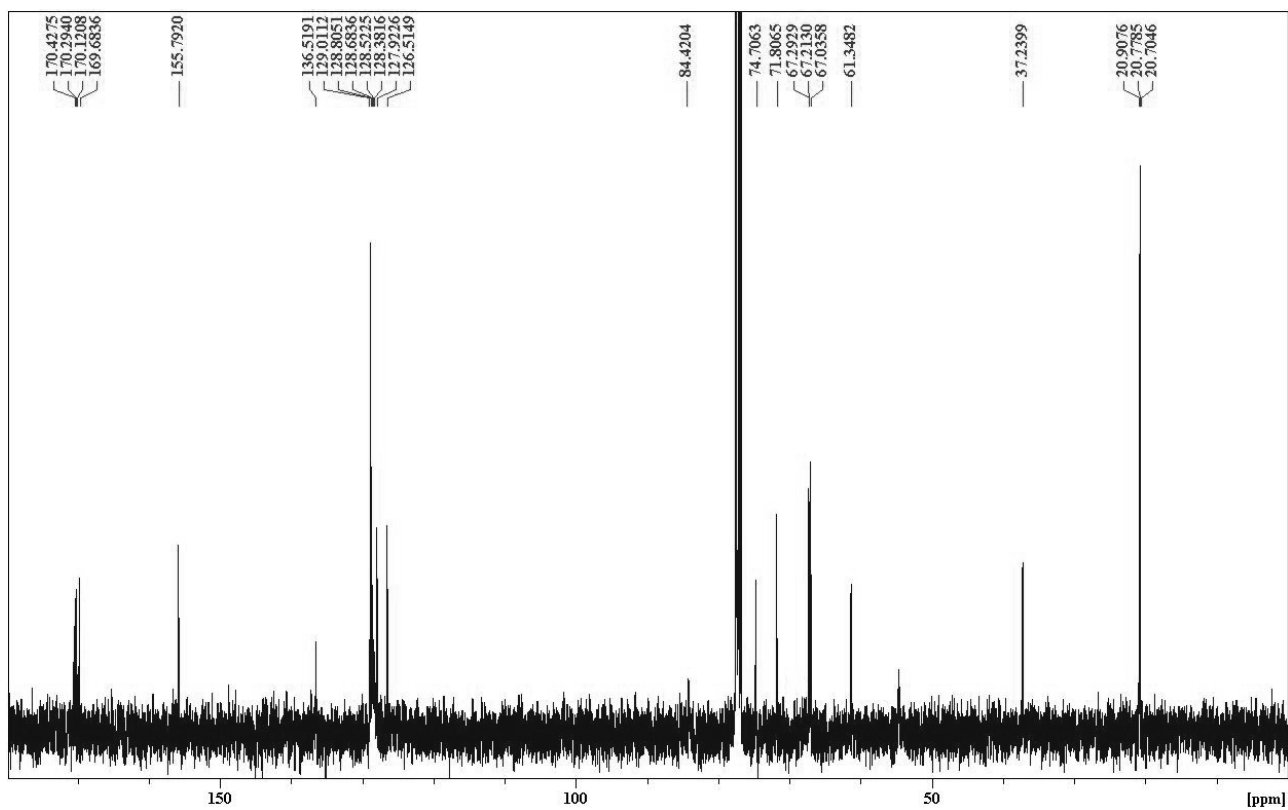
Verbindung **94**, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

Verbindung **95**, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

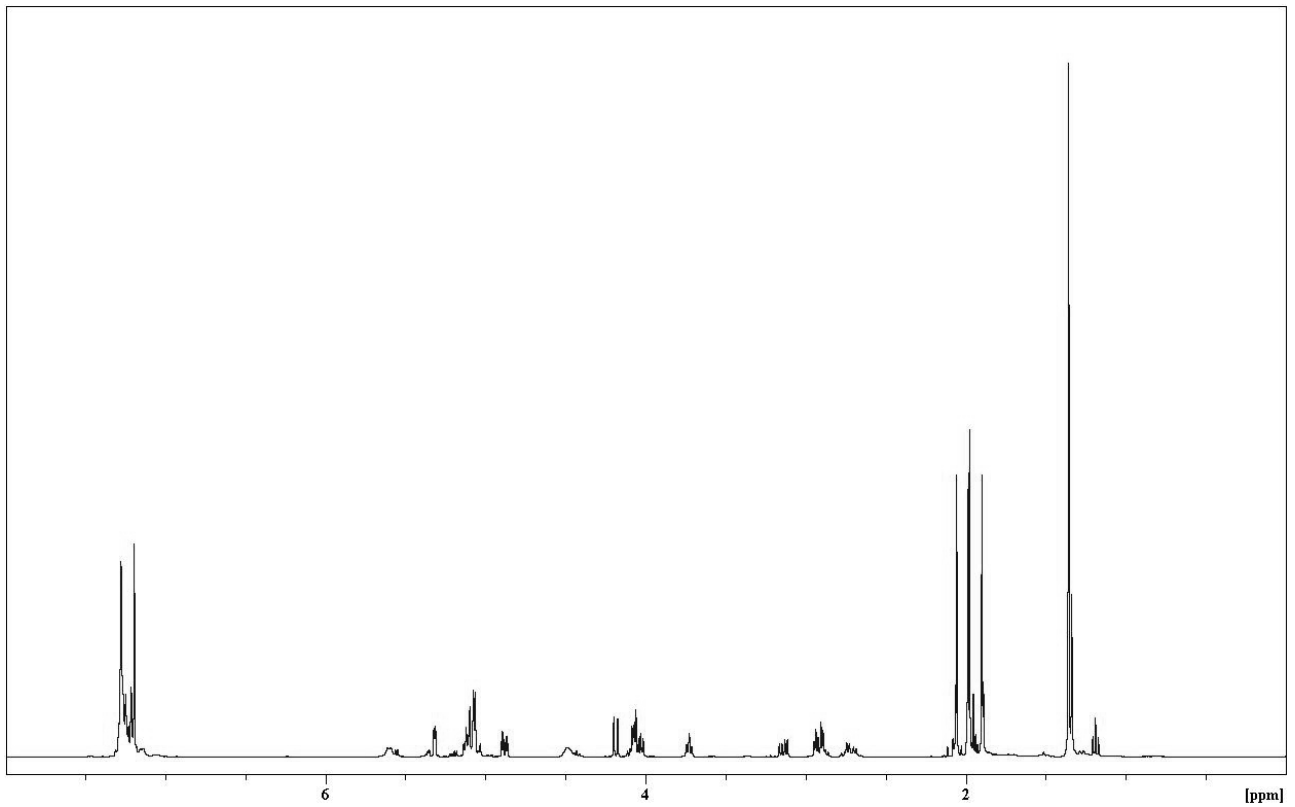
Verbindung **96**, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

Verbindung **97**, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

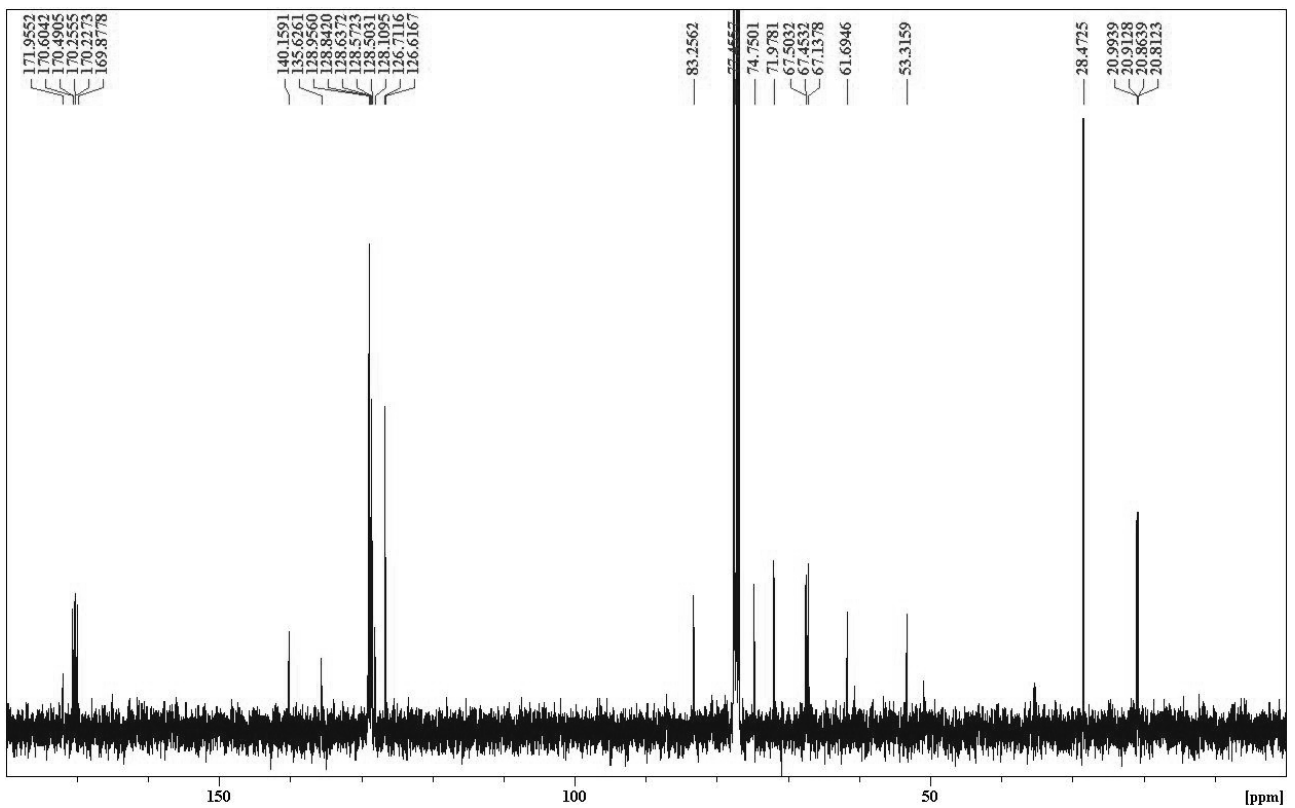
Verbindung **99**, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

Verbindung **102**, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

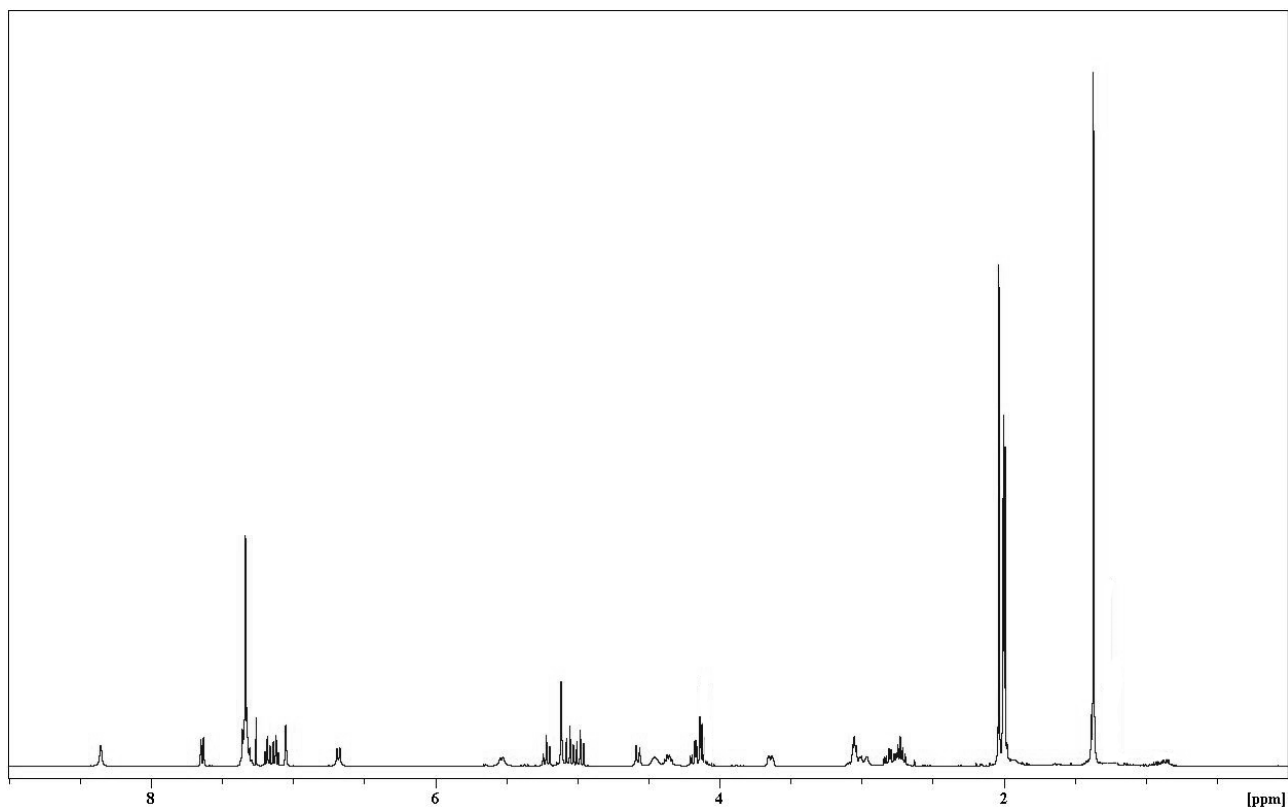
Verbindung **103**, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3):



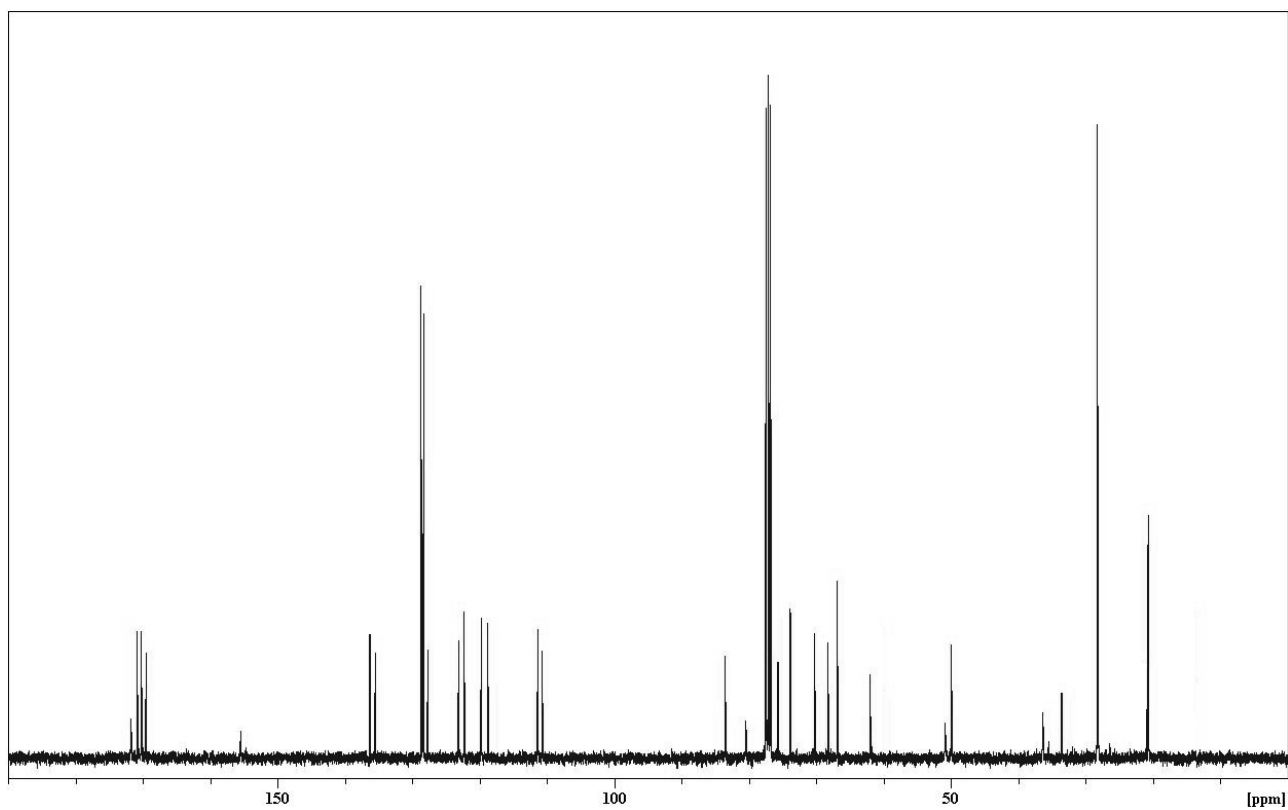
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

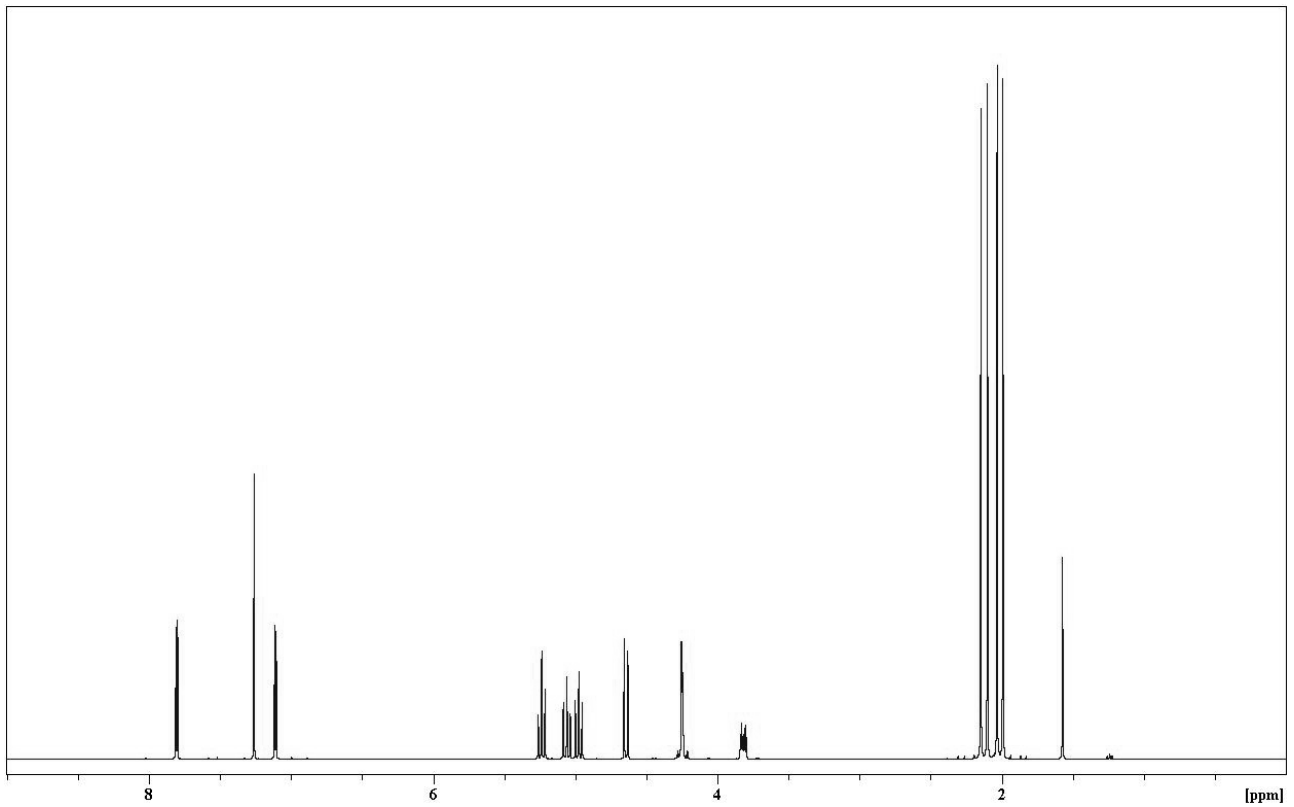
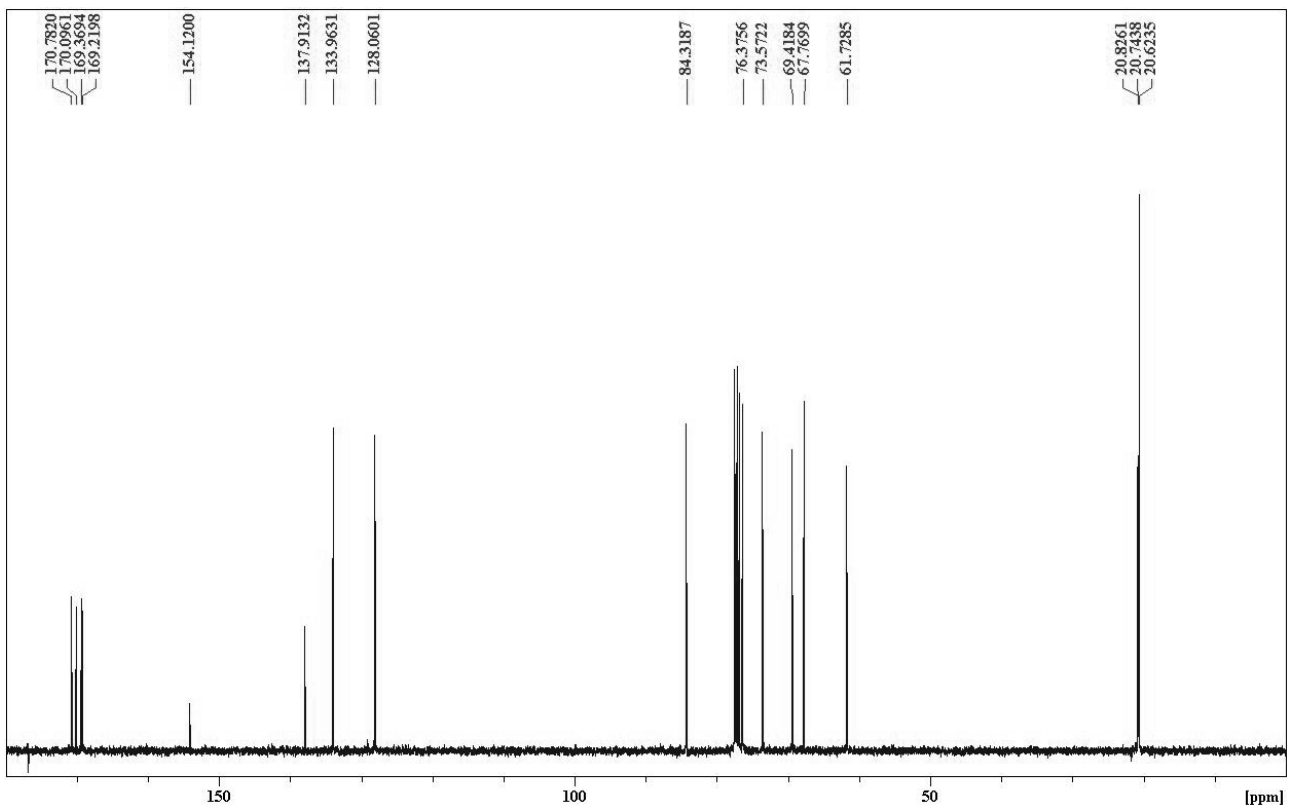


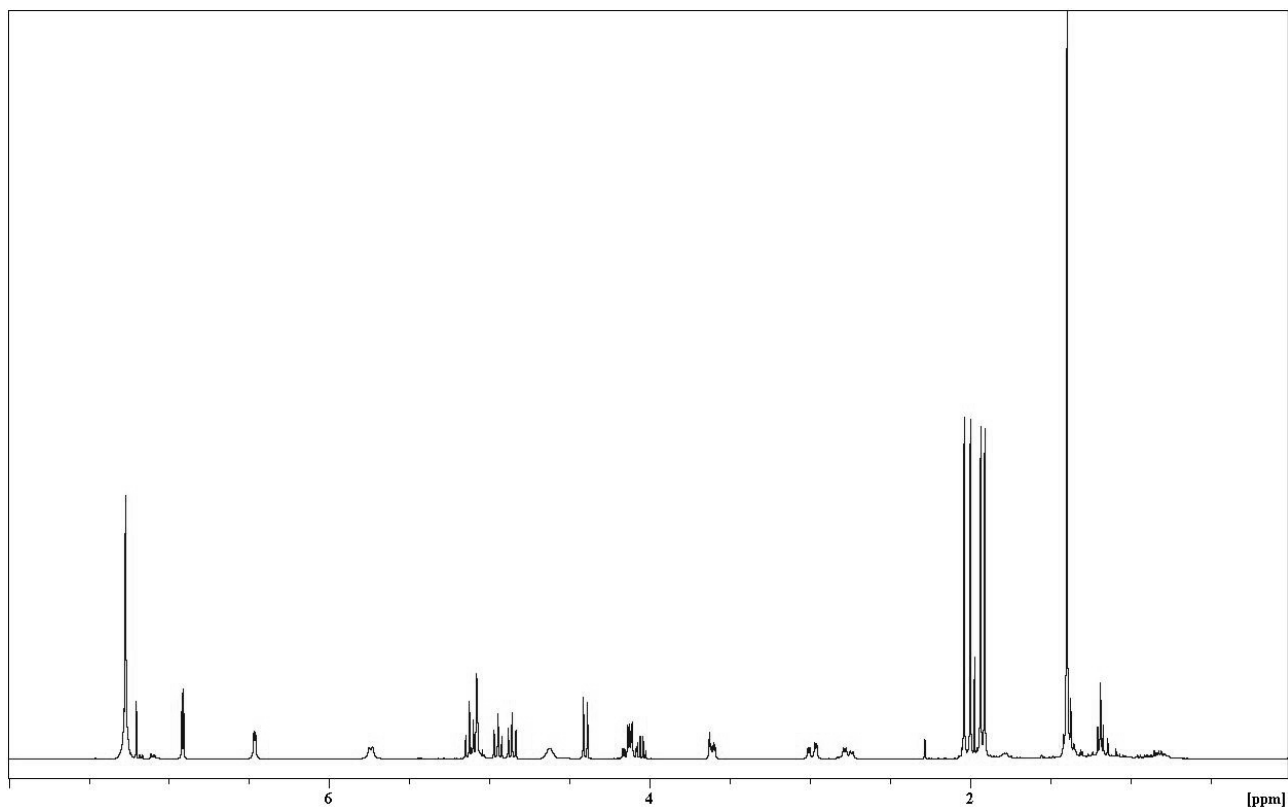
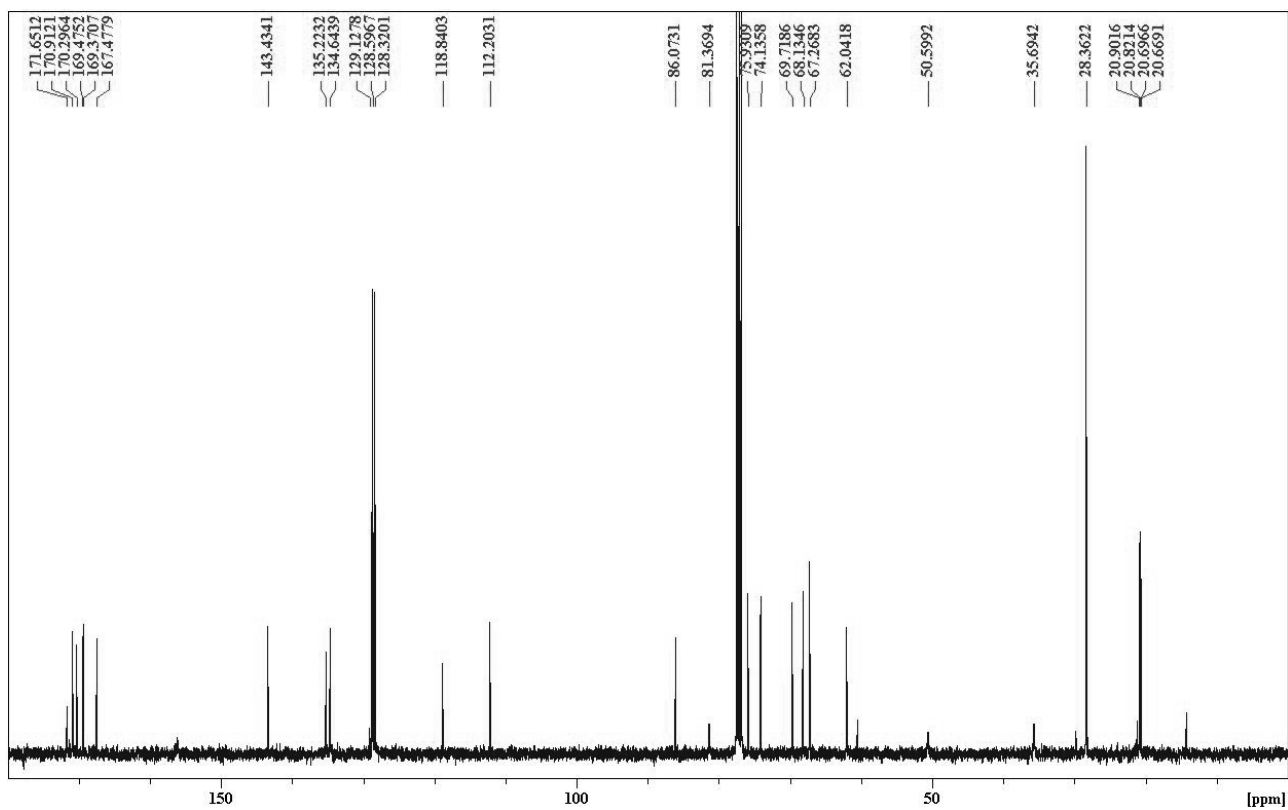
Verbindung **108**, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3):

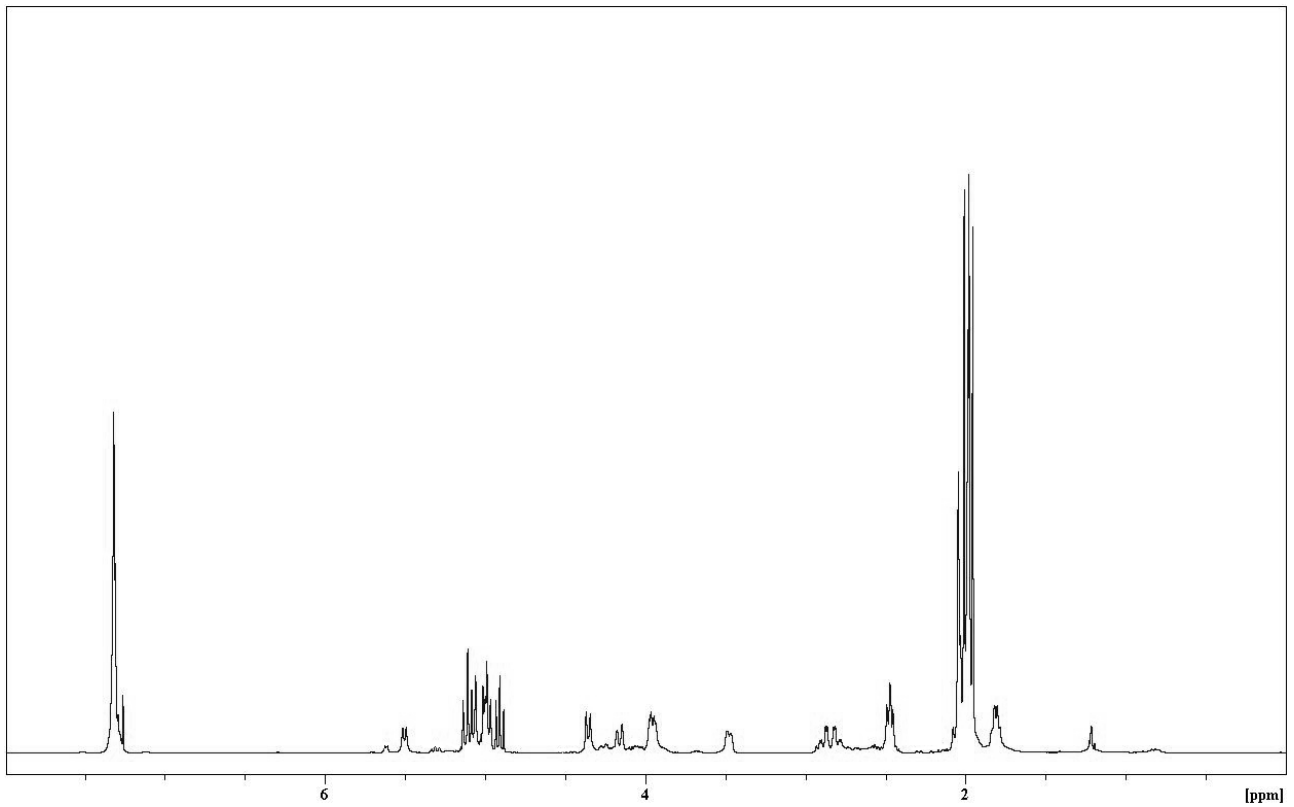
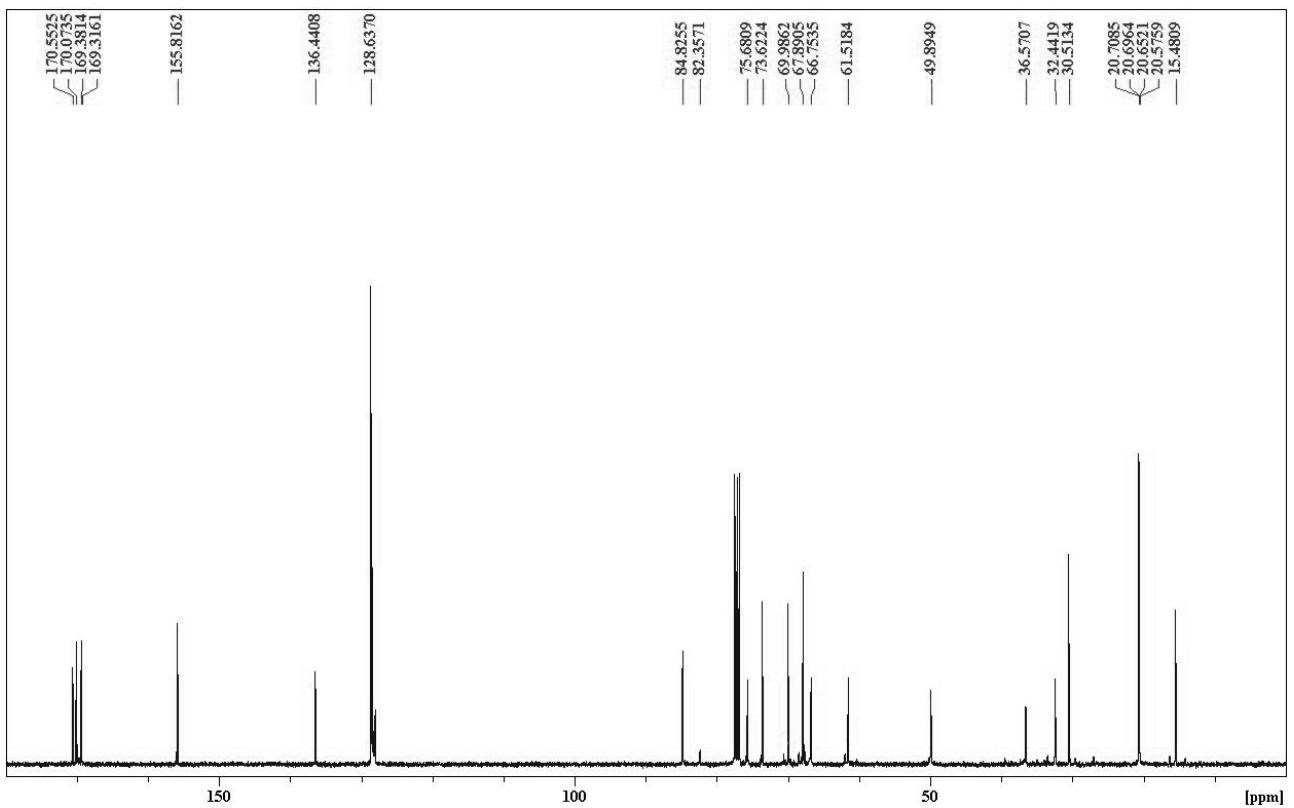


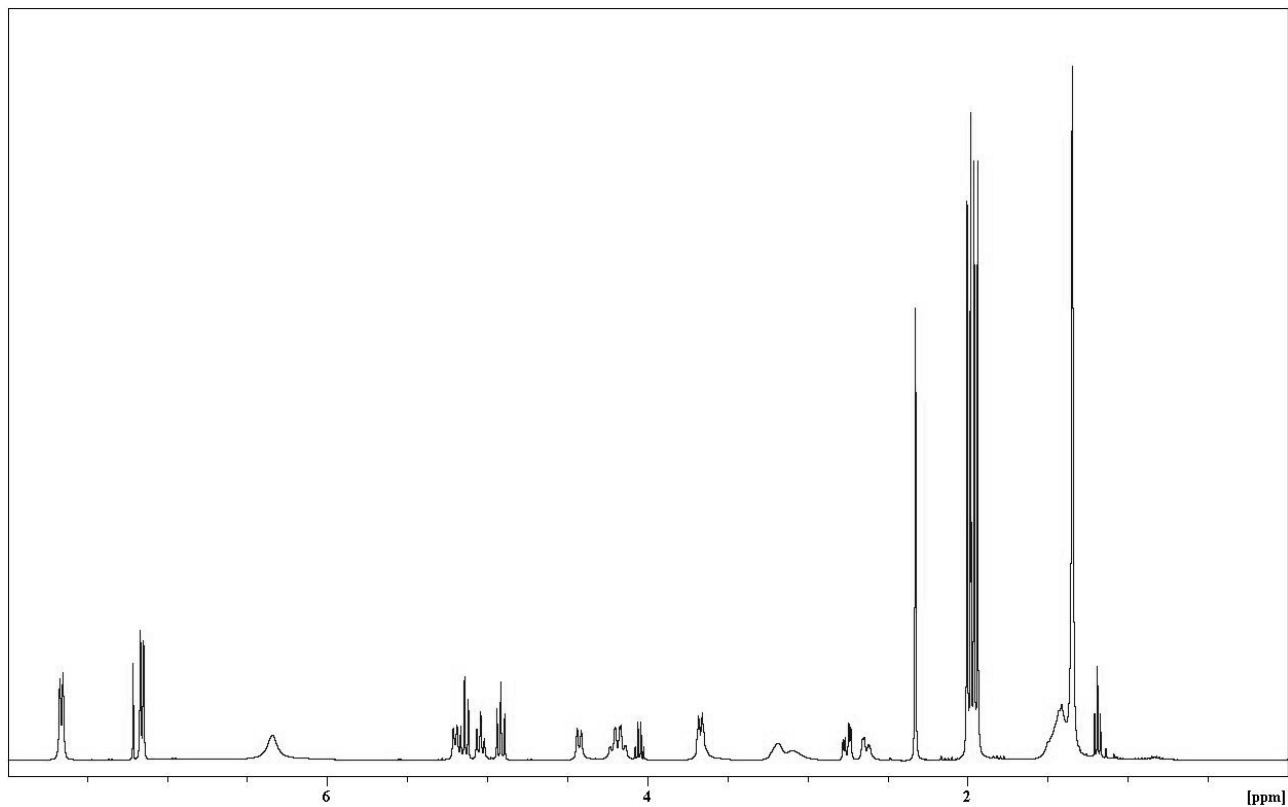
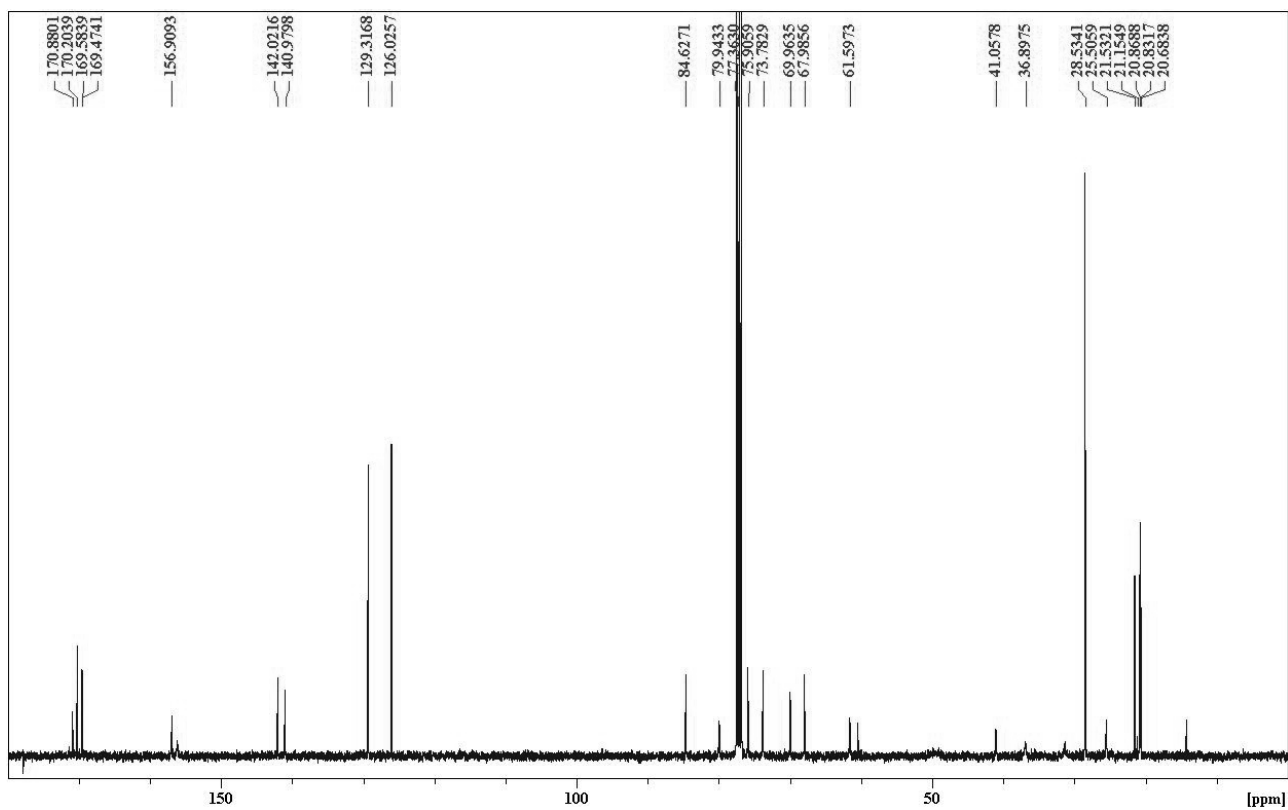
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

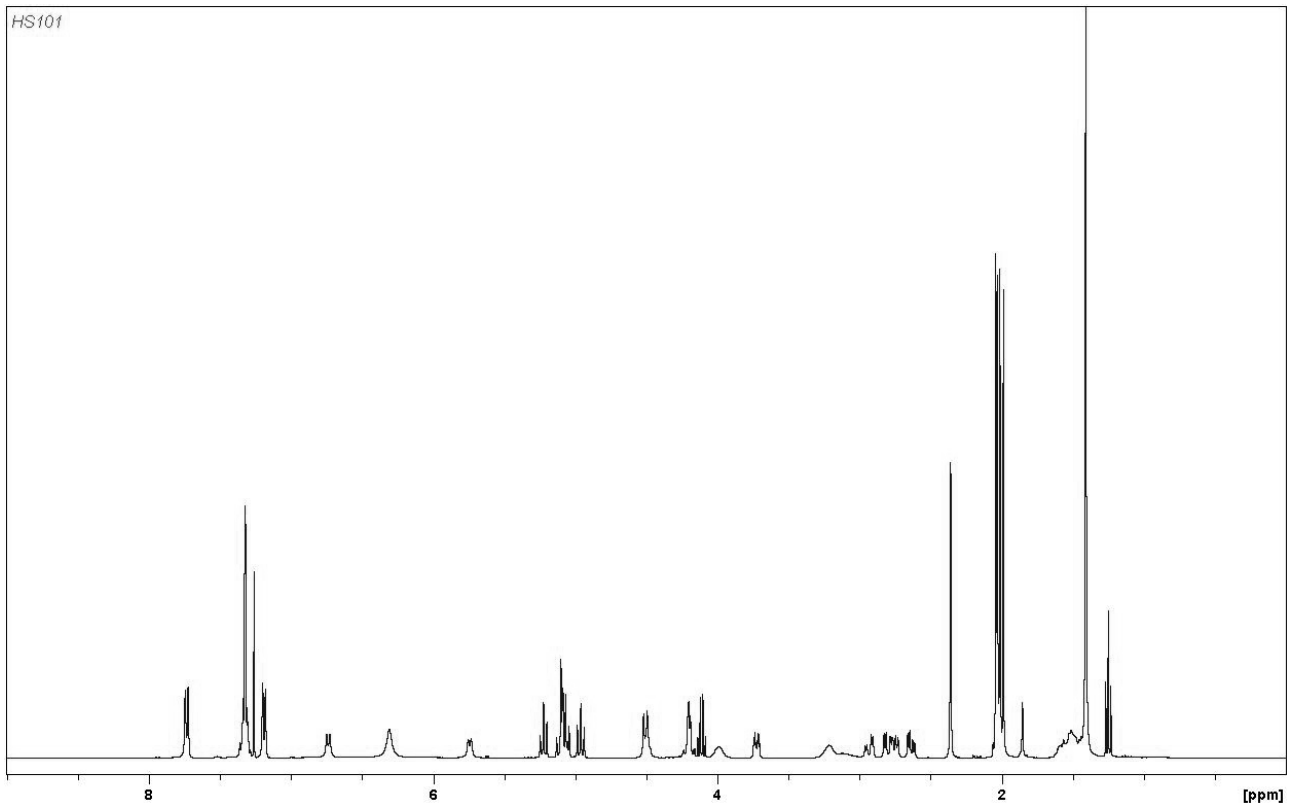
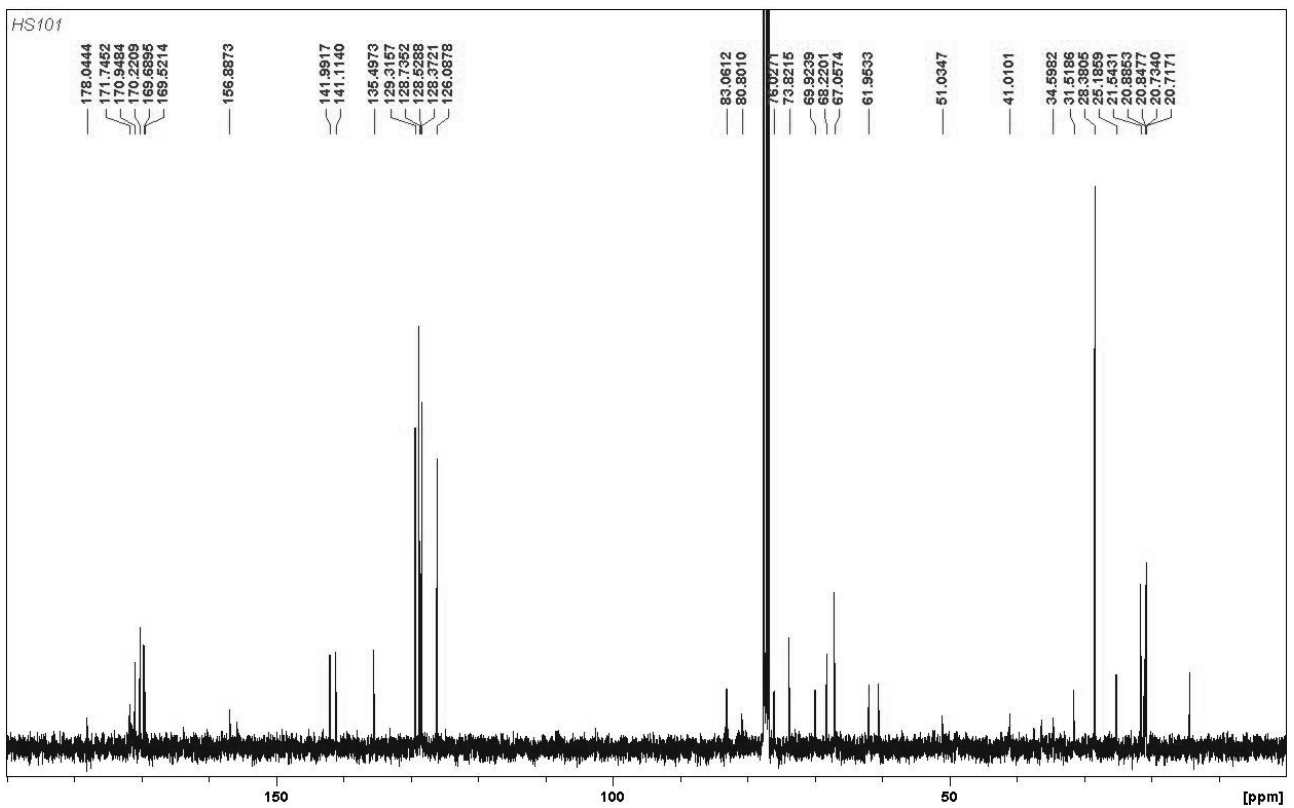


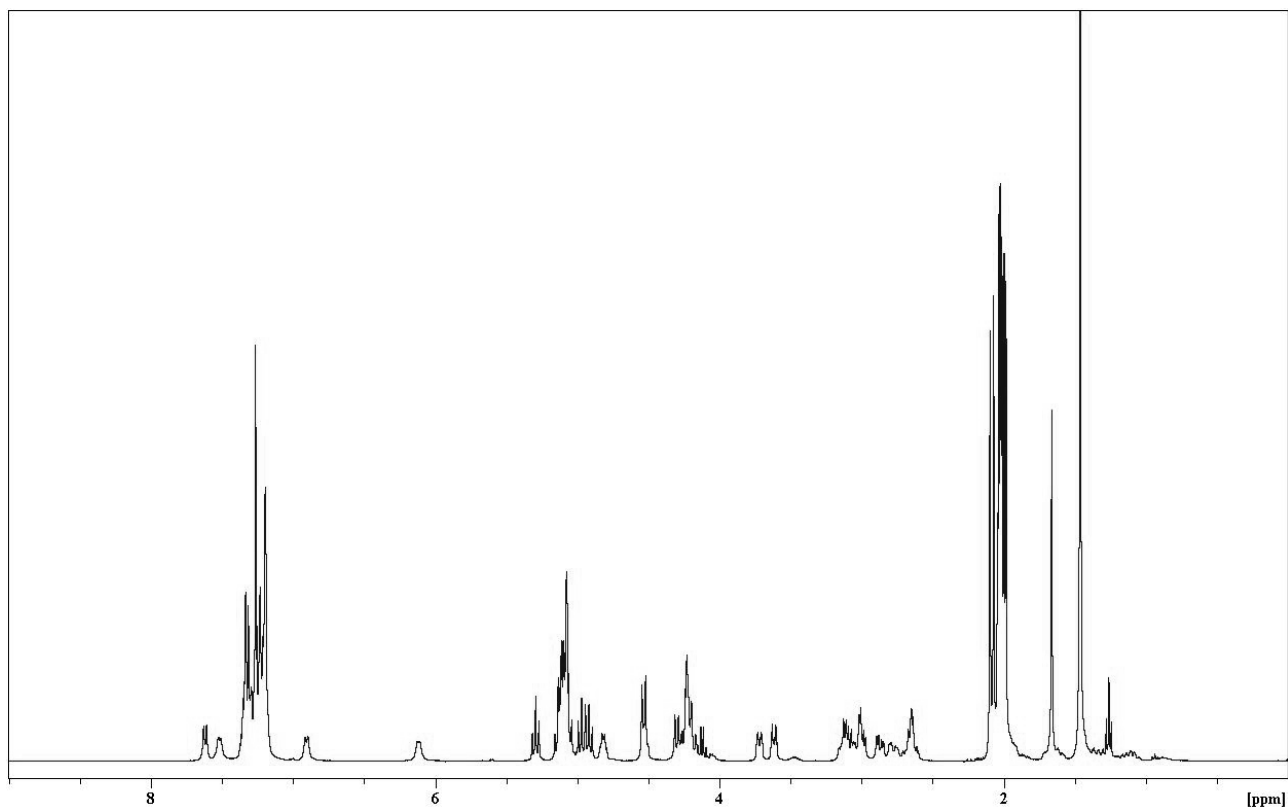
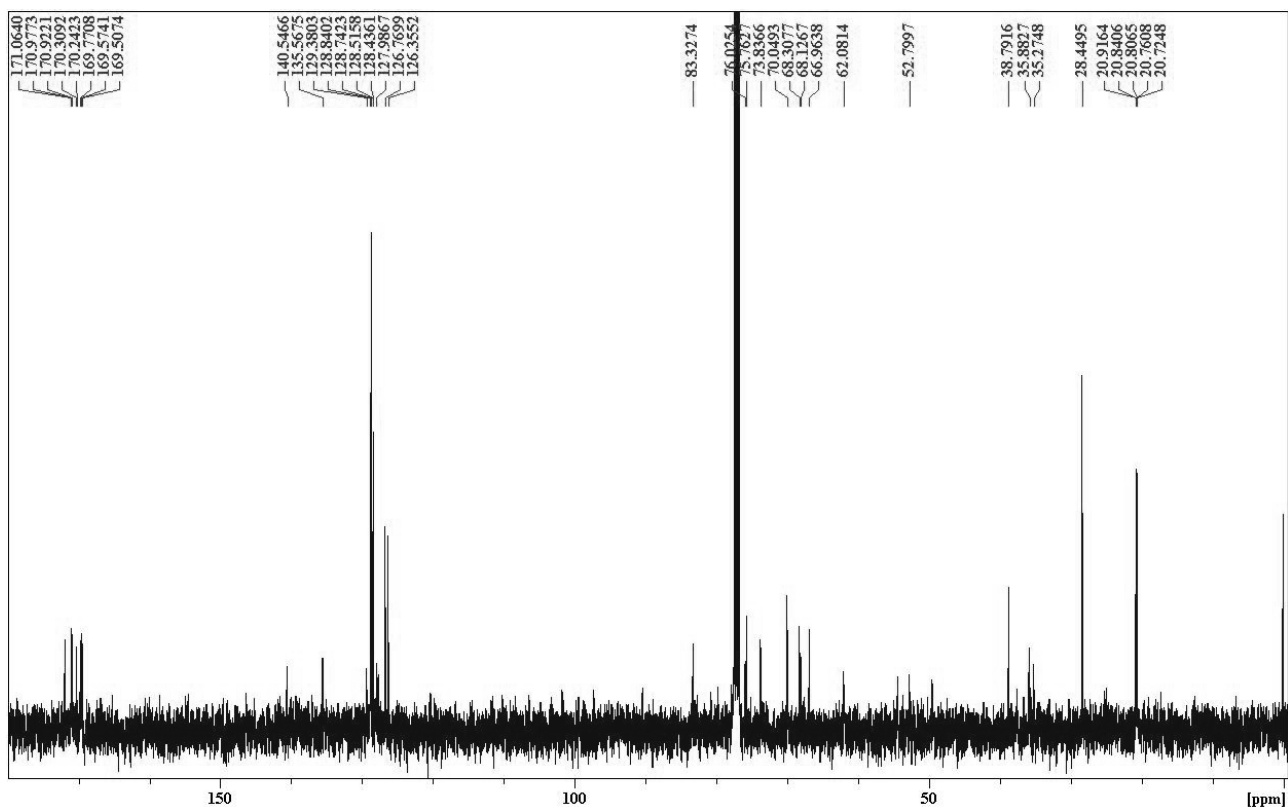
Verbindung **110**, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

Verbindung **112**, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

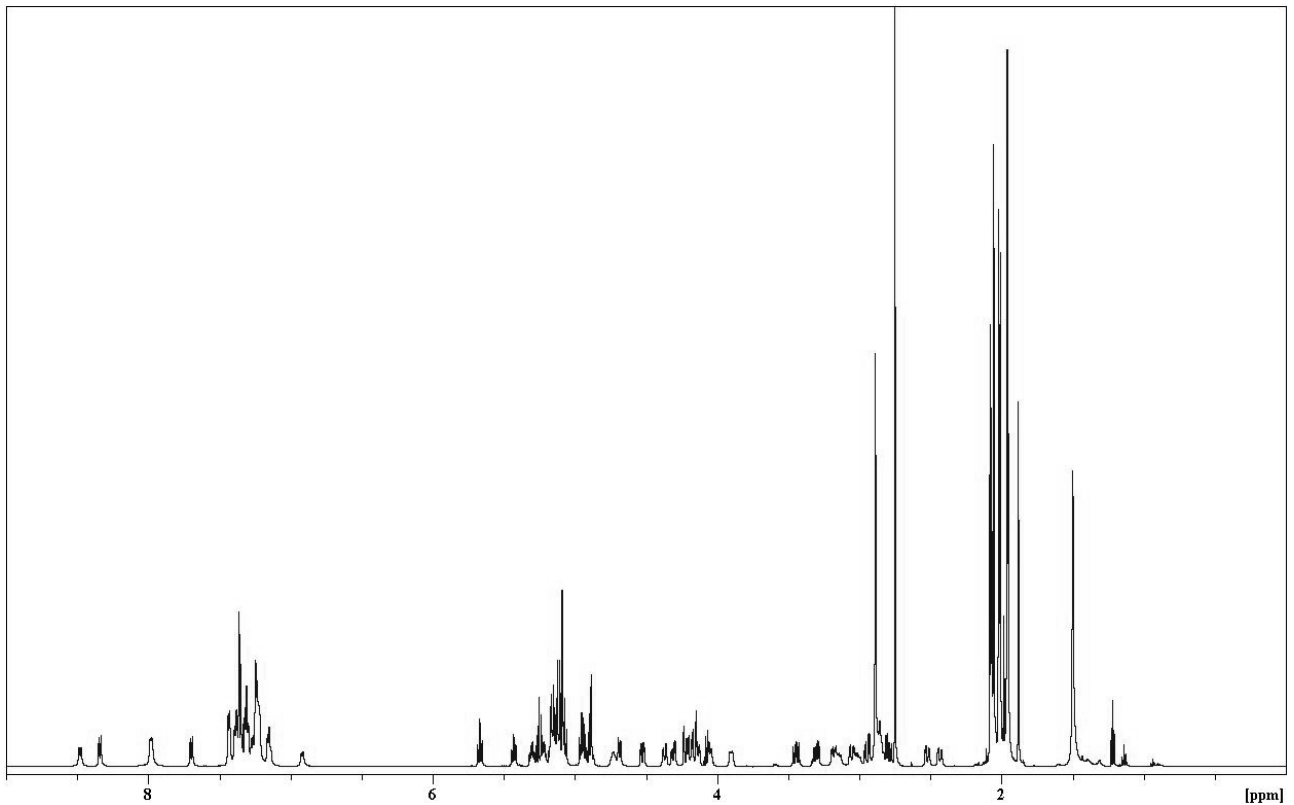
Verbindung **116**, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

Verbindung **125**, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

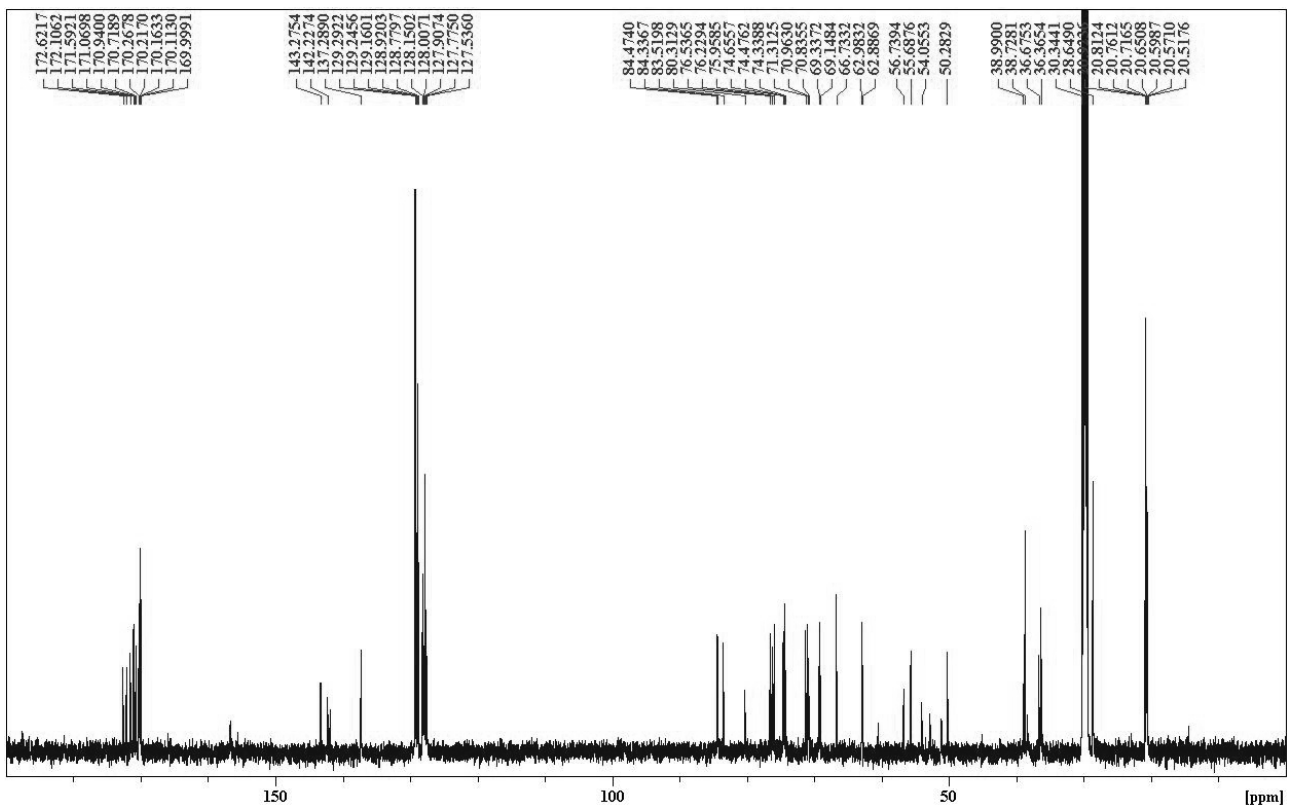
Verbindung 126, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

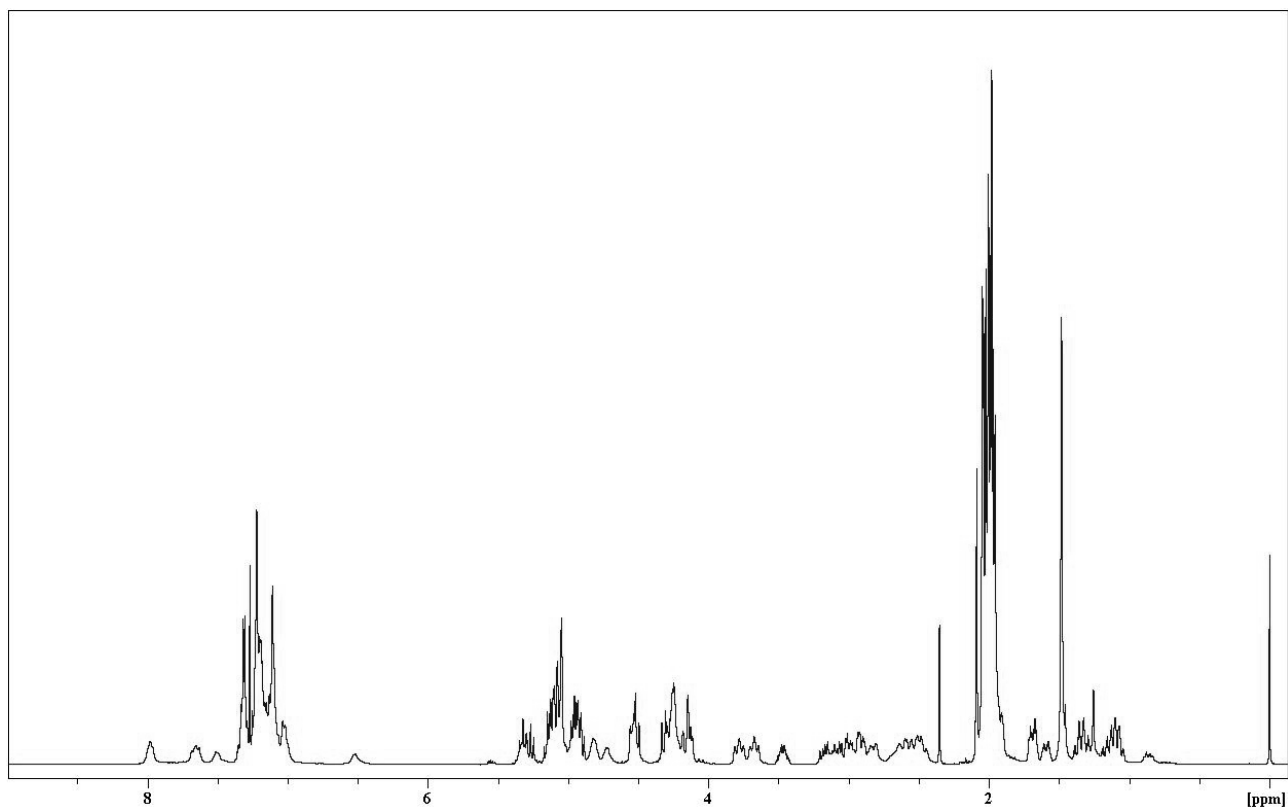
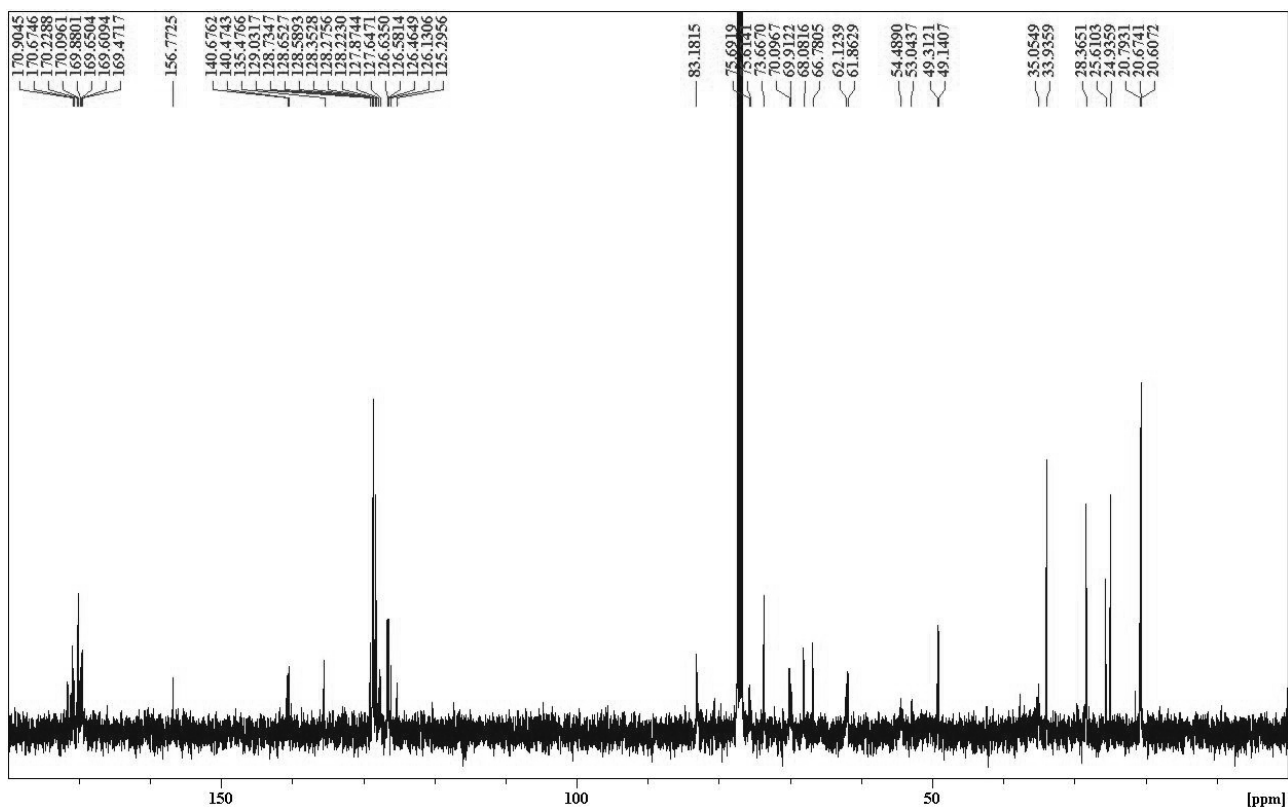
Verbindung **132**, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

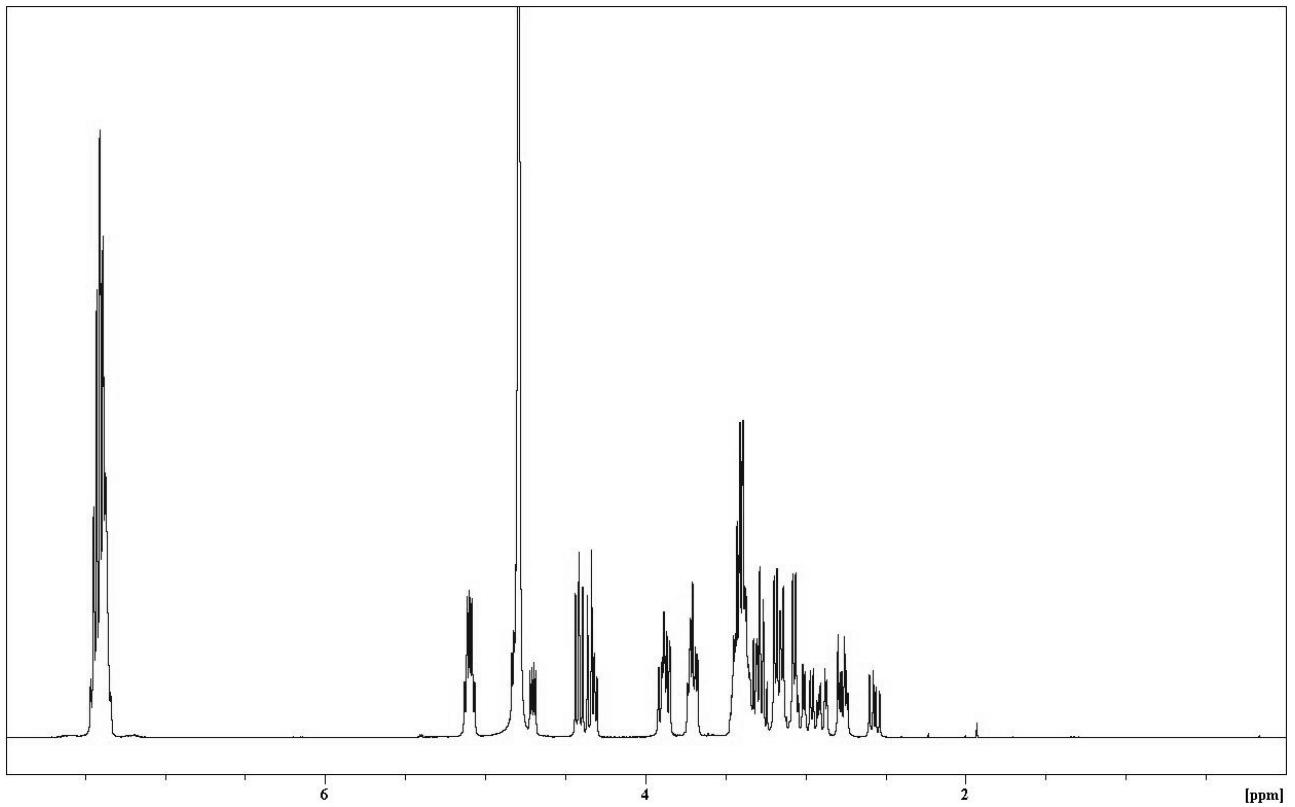
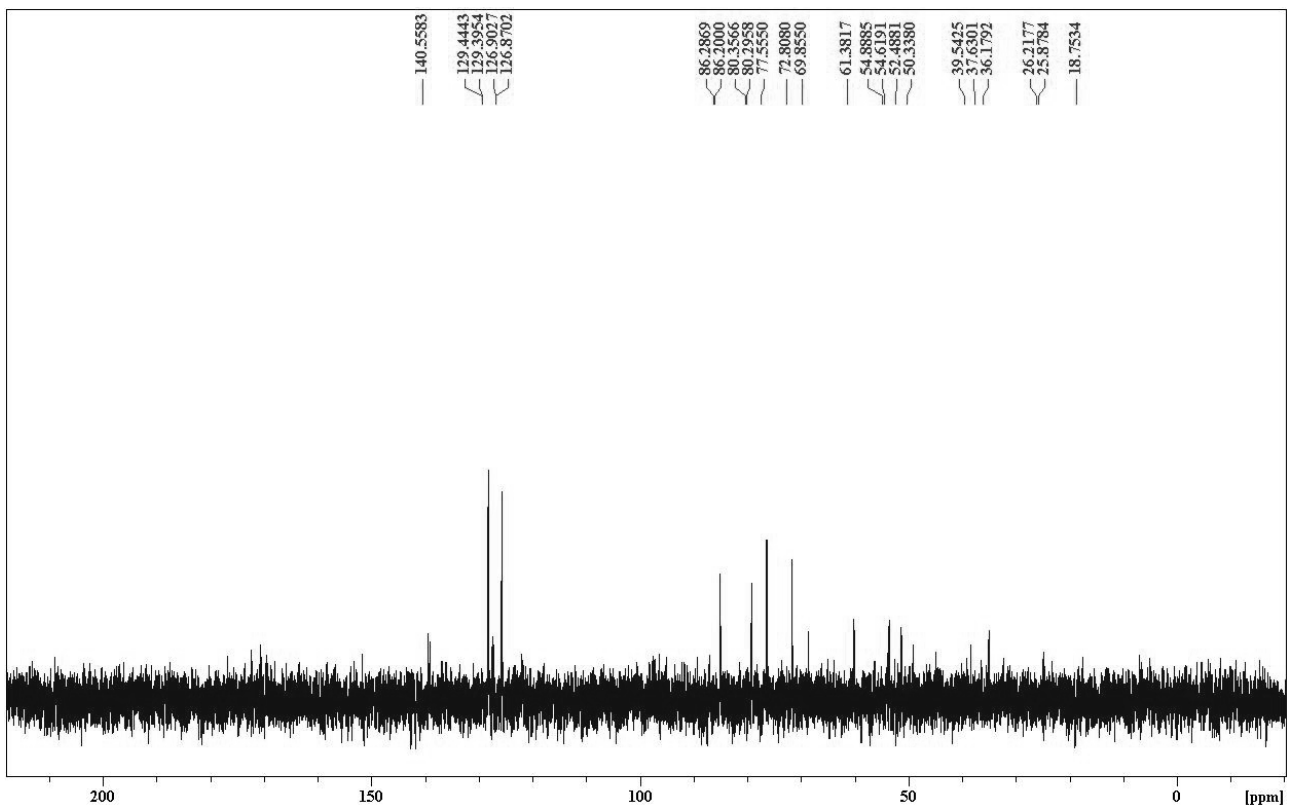
Verbindung **135**, $^1\text{H-NMR}$ (Aceton- d_6):

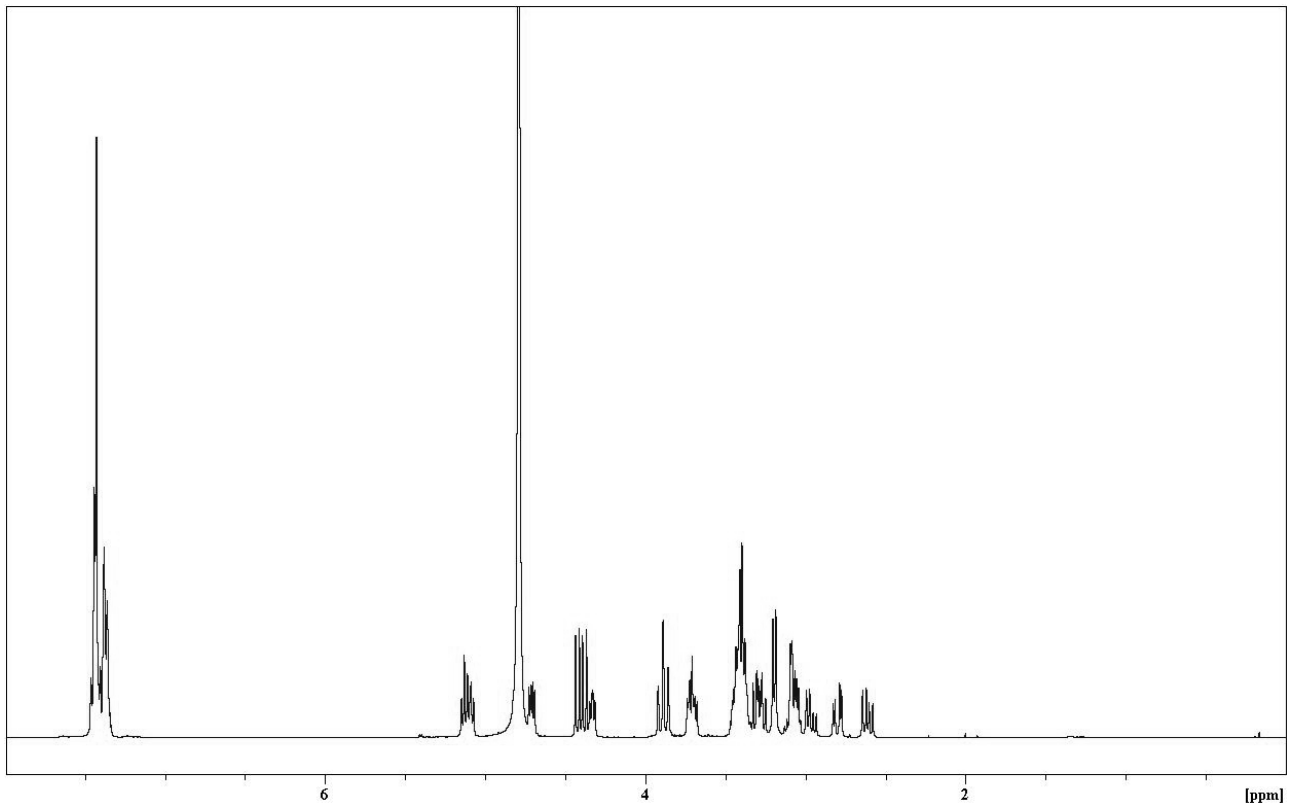
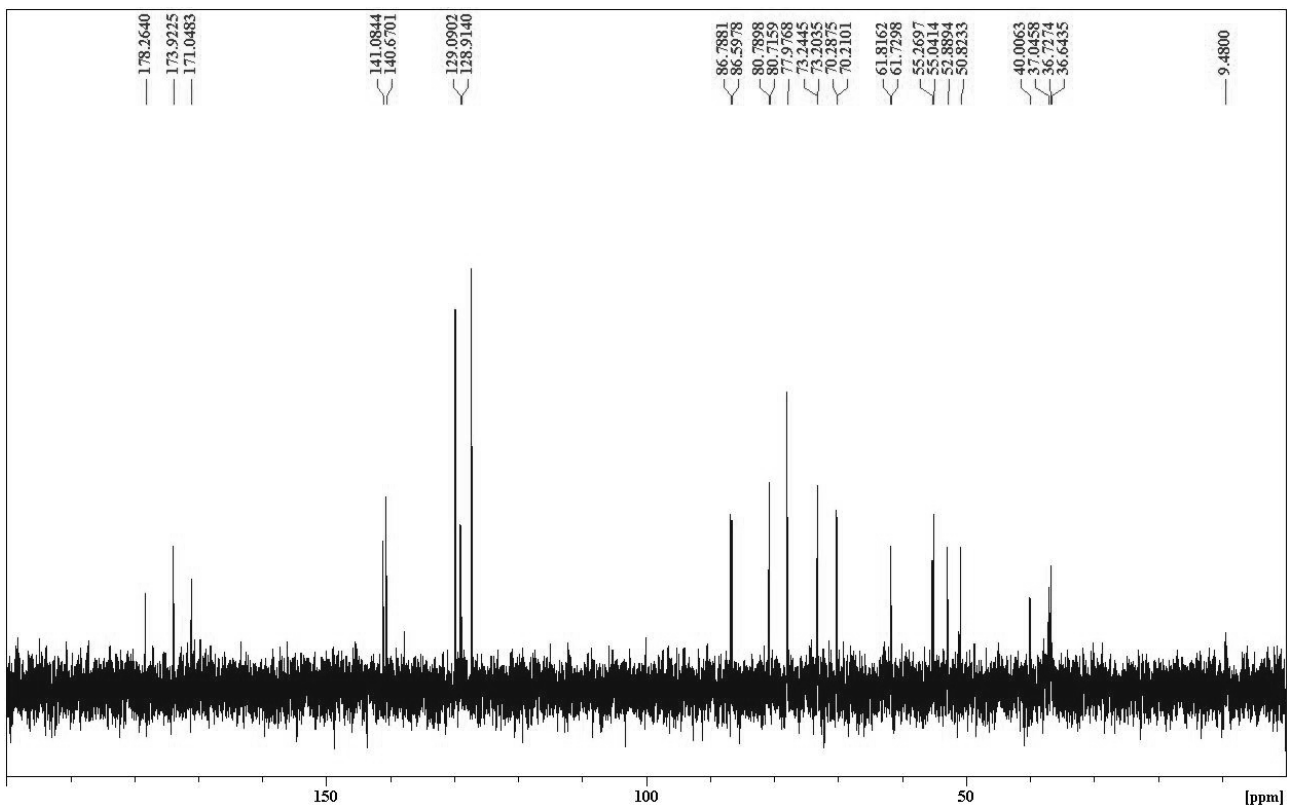


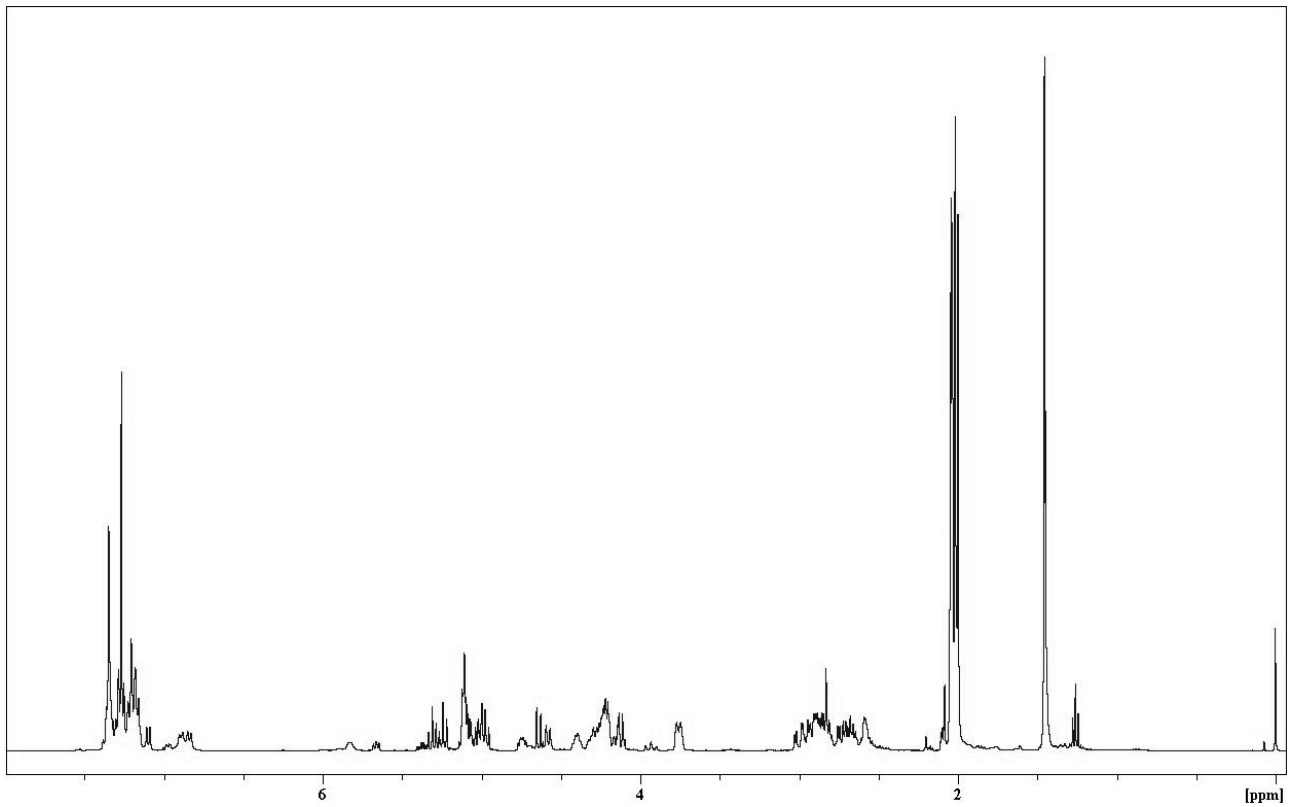
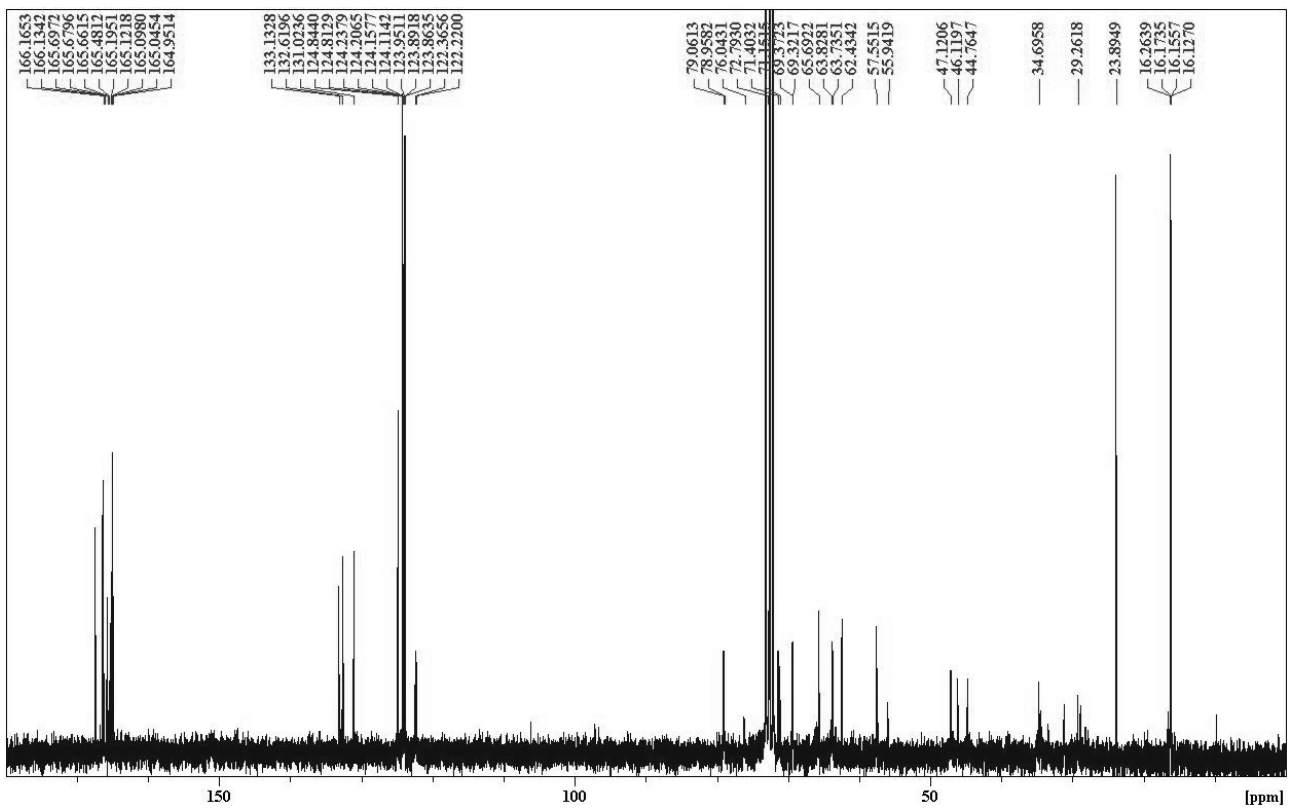
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

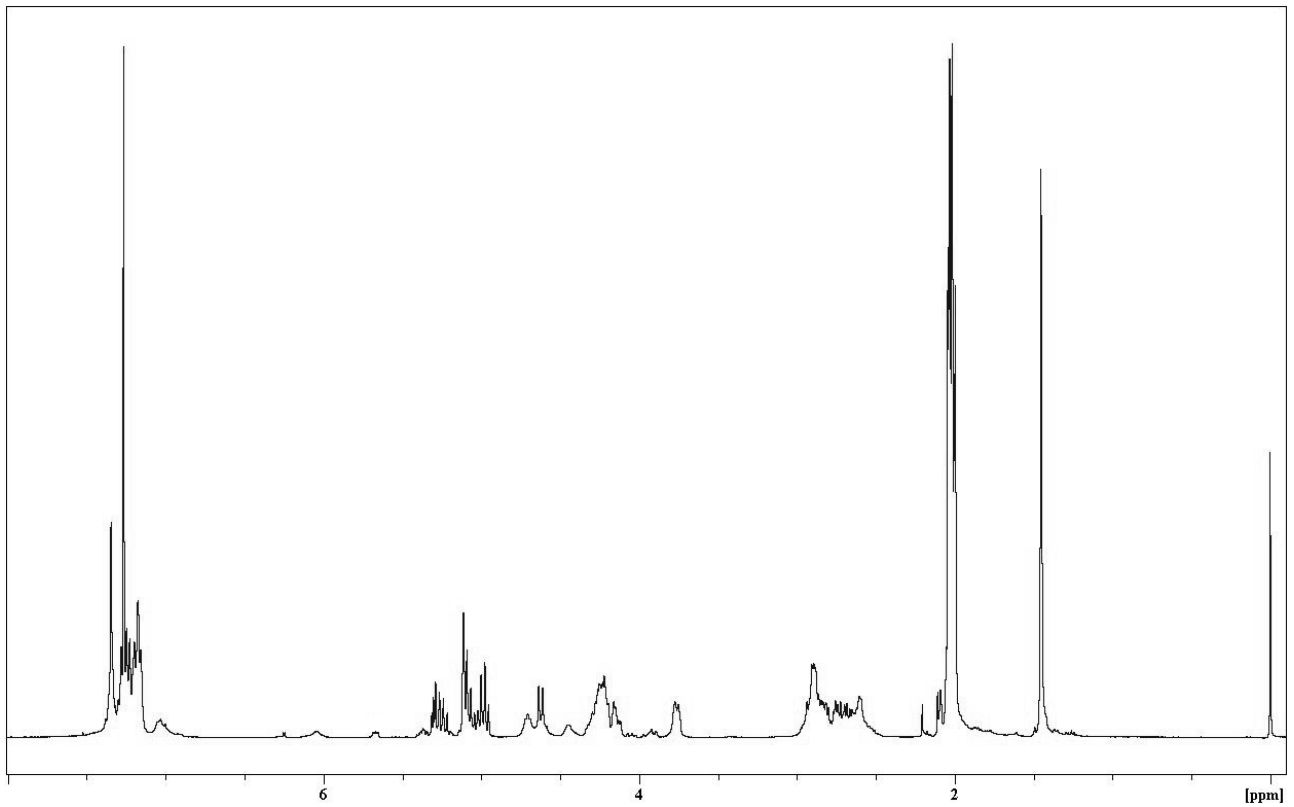
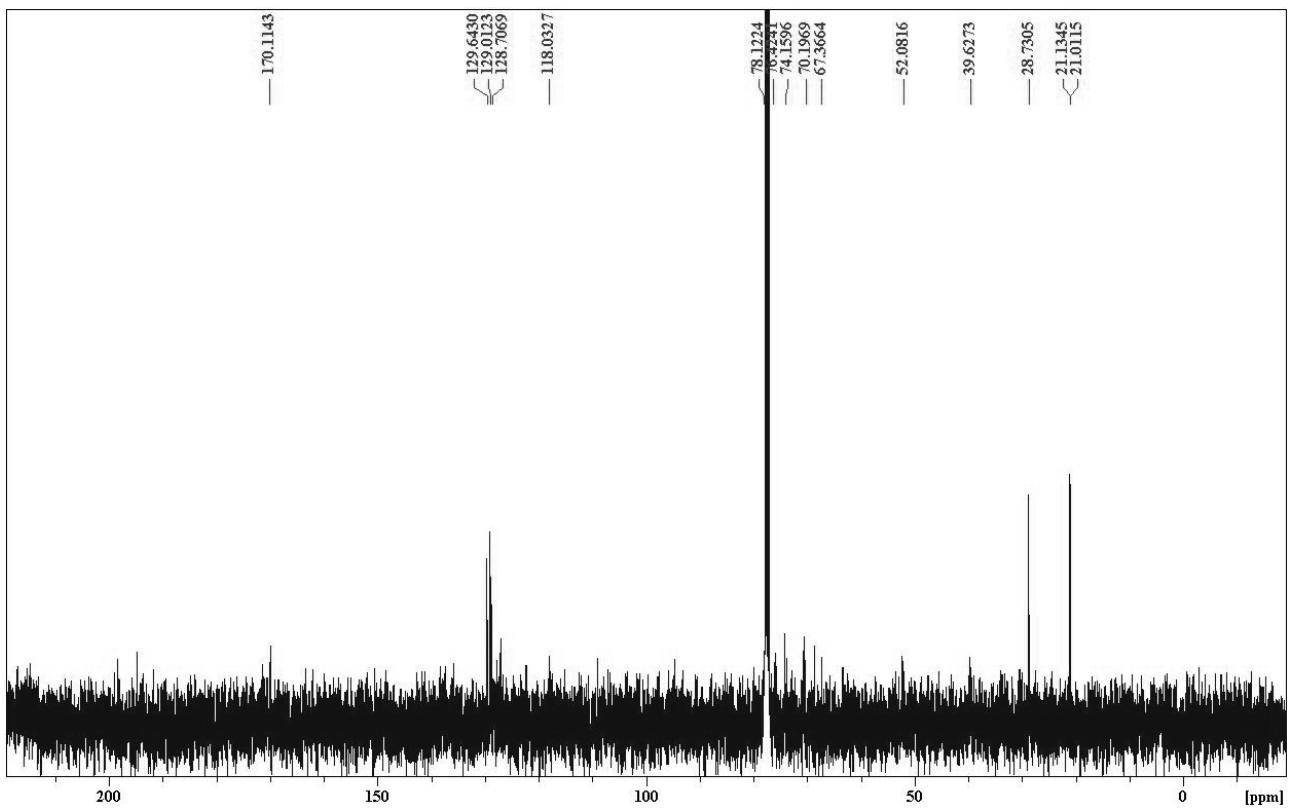


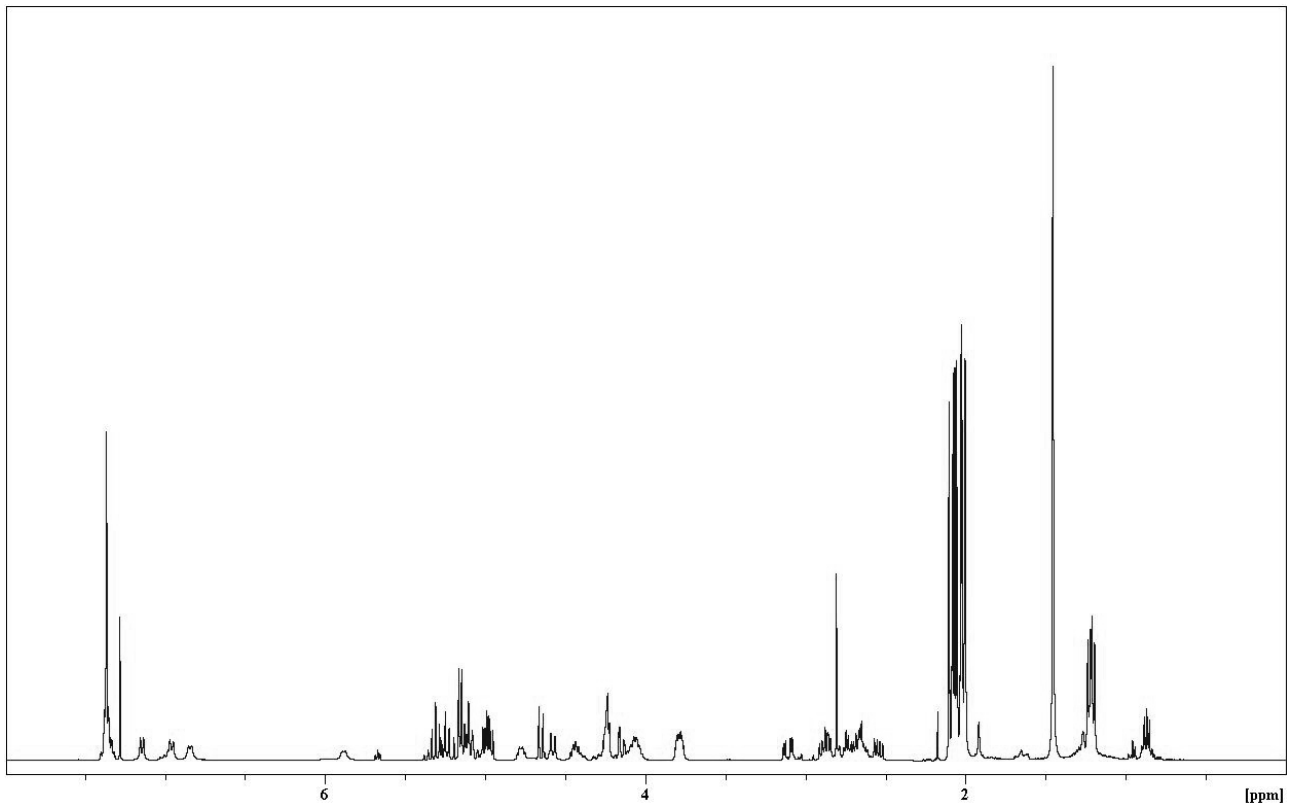
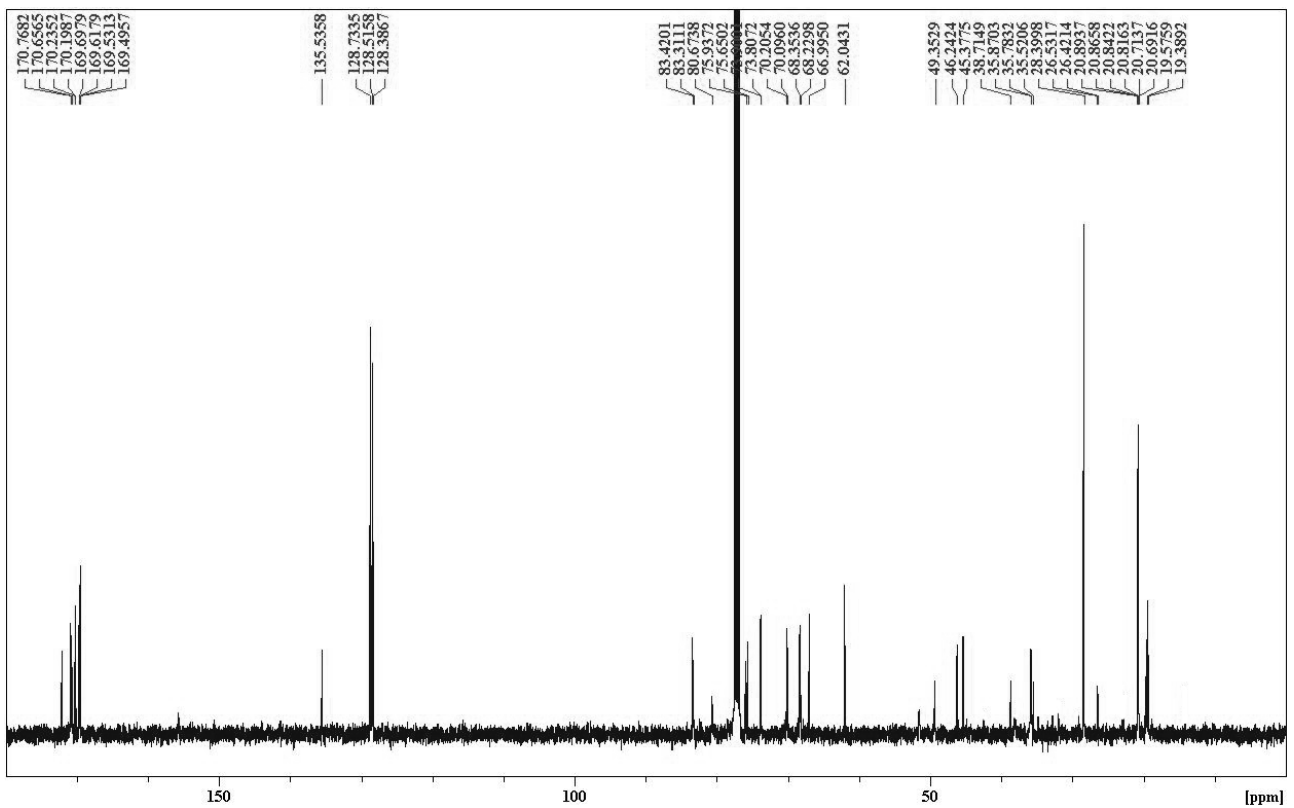
Verbindung **137**, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

Verbindung **138**, $^1\text{H-NMR}$ (D_2O): $^{13}\text{C-NMR}$ (D_2O):

Verbindung **139**, $^1\text{H-NMR}$ (D_2O): $^{13}\text{C-NMR}$ (D_2O):

Verbindung 143, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

Verbindung 144, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

Verbindung 147, $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):

6 Literaturverzeichnis

- [1] A. Varki, R. D. Cummings, J. D. Esko, *Essentials of Glycobiology*, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, **2008**.
- [2] S. Roseman, *J. Biol. Chem.*, **2001**, 276, 41527-41542.
- [3] M. L. DeMarco, R. J. Woods, *Glycobiology*, **2008**, 18, 426-440.
- [4] Y. Liu, A. S. Palma, T. Feizi, *Biol. Chem.*, **2009**, 390, 647-656.
- [5] E. W. Sayers, J. H. Prestegard, *Biophys. J.*, **2002**, 82, 2683-2699.
- [6] M. Bathe, G. C. Rutledge, A. J. Grodzinsky, B. Tidor, *Biophys. J.*, **2005**, 88, 3870-3887.
- [7] R. Laine, *Glycosciences: Status and Perspectives*, Chapman & Hall, **1997**.
- [8] K. Drickamer, M. E. Taylor, *Trends Biochem. Sci.*, **1998**, 23, 321-324.
- [9] G. D. Brown, S. Gordon, *Nature*, **2001**, 413, 36-37.
- [10] B. A. Cobb, D. L. Kasper, *Eur. J. Immunol.*, **2005**, 35, 352-356.
- [11] N. Sharon, H. Lis, *Scientific American*, **1993**, 268, 12.
- [12] H. J. Gabius, *Anatomia Histologia Embryologia-Journal of Veterinary Medicine Series C*, **2001**, 30, 3-31.
- [13] R. S. Haltiwanger, *Encyclopedia of Biological Chemistry*, **2004**, 2, 277-282.
- [14] Z. Witczak, *Carbohydrates in Drug Design*, Marcel Dekker Inc., **1997**.
- [15] A. H. Lucas, M. A. Apicella, C. E. Taylor, *Clinical Infectious Diseases*, **2005**, 41, 705-712.
- [16] V. Verez-Bencomo, V. Fernandez-Santana, E. Hardy, M. E. Toledo, M. C. Rodriguez, L. Heynngnezz, A. Rodriguez, A. Baly, L. Herrera, M. Izquierdo, A. Villar, Y. Valdes, K. Cosme, M. L. Deler, M. Montane, E. Garcia, A. Ramos, A. Aguilar, E. Medina, G. Torano, I. Sosa, I. Hernandez, R. Martinez, A. Muzachio, A. Carmenates, L. Costa, F. Cardoso, C. Campa, M. Diaz, R. Roy, *Science*, **2004**, 305, 522-525.
- [17] D. H. Dube, C. R. Bertozzi, *Nat. Rev. Drug Discovery*, **2005**, 4, 477-488.
- [18] D. Rösling, *Dissertation*, Universität Tübingen, **2001**.
- [19] R. Daiber, *Dissertation*, Universität Tübingen, **2008**.
- [20] J. Hörzer, *Dissertation*, Universität Tübingen, **2007**.
- [21] S. W. Mitchell, *Smithson. Contrib. Knowl.*, **1860**, XII, 89-90.
- [22] P. H. Stillmark, *Dissertation*, Kaiserliche Universität zu Dorpat, **1888**.
- [23] K. Landsteiner, H. Raubitschek, *Zbl. Bakt. I. Abt. Orig.*, **1907**, 45.
- [24] J. B. Sumner, Howell S. F., *J. Bacteriol.*, **1936**, 32, 227-237.

- [25] W. M. Watkins, *British journal of experimental pathology*, **1952**, *33*, 244-257.
- [26] W. M. Watkins, W. T. Morgan, *Nature*, **1952**, *169*, 825-826.
- [27] W. C. Boyd, S. E., *Science*, **1954**, *119*.
- [28] N. Sharon, H. Lis, *Science*, **1972**, *177*, 949-959.
- [29] H. J. Gabius, H. C. Siebert, S. Andre, J. Jimenez-Barbero, H. Rudiger, *ChemBioChem*, **2004**, *5*, 741-764.
- [30] H. Lis, N. Sharon, *Chem. Rev. (Washington, DC, U. S.)*, **1998**, *98*, 637-674.
- [31] H. Lis, N. Sharon, *The Lectins: Properties, Functions and Applications in Biology and Medicine*, Academic Press Inc., Orlando, **1986**.
- [32] C. V. Gegg, D. D. Roberts, I. H. Segel, M. E. Etzler, *Biochemistry*, **1992**, *31*, 6938-6942.
- [33] F. A. Quiocho, *Pure Appl. Chem.*, **1989**, *61*, 1293-1306.
- [34] C. Emmerich, J. R. Helliwell, M. Redshaw, J. H. Naismith, S. J. Harrop, J. Raftery, A. J. Kalb, J. Yariv, Z. Dauter, K. S. Wilson, *Acta Crystallogr D*, **1994**, *50*, 749-756.
- [35] K. Drickamer, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **1999**, *9*, 585-590.
- [36] A. M. Wu, S. Sugii, F. G. Gruezo, E. A. Kabat, *Carbohydr. Res.*, **1988**, *178*, 243-257.
- [37] O. Sperling, A. Fuchs, T. K. Lindhorst, *Org. Biomol. Chem.*, **2006**, *4*, 3913-3922.
- [38] N. Sharon, H. Lis, *Trends Biochem. Sci. (Pers. Ed.)*, **1987**, *12*, 488-491.
- [39] W. I. Weis, K. Drickamer, *Annu. Rev. Biochem.*, **1996**, *65*, 441-473.
- [40] R. Adar, N. Sharon, *Eur. J. Biochem.*, **1996**, *239*, 668-674.
- [41] R. Arango, E. Rodriguezarango, R. Adar, D. Belenky, F. G. Loontjens, S. Rozenblatt, N. Sharon, *FEBS Lett.*, **1993**, *330*, 133-136.
- [42] J. M. Rini, *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, **1995**, *24*, 551-577.
- [43] K. Zhu, R. A. Bressan, P. M. Hasegawa, L. L. Murdock, *FEBS Lett.*, **1996**, *390*, 271-274.
- [44] R. Loris, P. P. G. Stas, L. Wyns, *J. Biol. Chem.*, **1994**, *269*, 26722-26733.
- [45] N. K. Vyas, M. N. Vyas, F. A. Quiocho, *Science (Washington, D. C., 1883-)*, **1988**, *242*, 1290-1295.
- [46] C. N. Pace, B. A. Shirley, M. McNutt, K. Gajiwala, *FASEB J.*, **1996**, *10*, 75-83.
- [47] B. G. Davis, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1999**, 3215-3237.
- [48] C. S. Hung, J. Bouckaert, D. Hung, J. Pinkner, C. Widberg, A. DeFusco, C. G. Auguste, R. Strouse, S. Langermann, G. Waksman, S. J. Hultgren, *Mol. Microbiol.*, **2002**, *44*, 903-915.
- [49] H. Theunissen, R. Dijkema, A. Visser, P. Carati, P. Grootenhuis, W. Olijve, *Thromb. Haemostasis*, **1991**, *65*, 670-670.
- [50] M. E. Taylor, K. Drickamer, *Introduction to glycobiology*, Oxford University Press, **2006**.
- [51] F. P. Schwarz, K. D. Puri, R. G. Bhat, A. Surolia, *J. Biol. Chem.*, **1993**, *268*, 7668-7677.

- [52] A. Surolia, N. Sharon, F. P. Schwarz, *J. Biol. Chem.*, **1996**, *271*, 17697-17703.
- [53] Y. C. Lee, R. T. Lee, *Acc. Chem. Res.*, **1995**, *28*, 321-327.
- [54] J. J. Lundquist, E. J. Toone, *Chem. Rev. (Washington, DC, U. S.)*, **2002**, *102*, 555-578.
- [55] B. T. Houseman, M. Mrksich, *Host-Guest Chemistry*, **2002**, *218*, 1-44.
- [56] K. H. Mortell, R. V. Weatherman, L. L. Kiessling, *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, *118*, 2297-2298.
- [57] J. H. Rao, J. Lahiri, R. M. Weis, G. M. Whitesides, *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, *122*, 2698-2710.
- [58] Y. Bourne, B. Bolgiano, D. I. Liao, G. Strecker, P. Cantau, O. Herzberg, T. Feizi, C. Cambillau, *Nat Struct Biol*, **1994**, *1*, 863-870.
- [59] Y. D. Lobsanov, J. M. Rini, *Trends Glycosci. Glycotechnol.*, **1997**, *9*, 145-154.
- [60] C. F. Brewer, *Chemtracts Biochem. Mol. Biol.*, **1996**, *6*, 165-179.
- [61] C. F. Brewer, M. C. Miceli, L. G. Baum, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **2002**, *12*, 616-623.
- [62] R. J. Pieters, *Trends Glycosci. Glycotechnol.*, **2004**, *16*, 243-254.
- [63] M. Mammen, S. K. Choi, G. M. Whitesides, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **1998**, *37*, 2755-2794.
- [64] R. D. Poretz, I. J. Goldstein, *Biochem. Pharmacol.*, **1971**, *20*, 2727-2739.
- [65] H. Lis, N. Sharon, *Glycoproteins II*, Elsevier Science B.V.: Amsterdam, **1997**.
- [66] N. Sharon, H. Lis, *Glycobiology*, **2004**, *14*, 53-62.
- [67] M. Pathak, B. Singh, A. Sharma, P. Agrawal, S. B. Pasha, H. R. Das, R. H. Das, *Plant Mol. Biol.*, **2006**, *62*, 529-545.
- [68] D. D. Roberts, I. J. Goldstein, *J. Biol. Chem.*, **1983**, *258*, 13820-13824.
- [69] M. E. Etzler, *Trends Glycosci. Glycotechnol.*, **1998**, *10*, 247-255.
- [70] M. V. Ramos, B. S. Cavada, L. R. Bomfim, H. Debray, A.-M. Mazard, J. J. Calvete, T. B. Grangeiro, P. Rouge, *Protein Pept. Lett.*, **1999**, *6*, 213-222.
- [71] H. P. Spaink, J. Bakkers, M. Bladergroen, G. V. Bloemberg, I. Dandal, C. L. Diaz, L. Blok-Tip, A. Gisel, M. Harteveld, I. M. Lopez-Lara, D. Kafetzopoulos, E. Kamst, J. W. Kijne, D. Meijer, B. J. J. Lugtenberg, A. O. Ovtsyna, I. Potrykus, N. E. M. Quaedvlieg, C. Quinto, T. Ritsema, C. Sautter, H. R. M. Schlaman, J. E. Thomas-Oates, J. H. van Boom, K. van der Drift, G. A. van der Marel, S. van Leeuwen, A. Veldhuis, A. H. M. Wijffjes, *Biol. Plant-Microbe Interact.*, **1996**, *1*, 299-306.
- [72] R. Barkai-Golan, D. Mirelman, N. Sharon, *Arch. Microbiol.*, **1978**, *116*, 119-121.
- [73] R. Brambl, W. Gade, *Physiol. Plant.*, **1985**, *64*, 402-408.
- [74] D. H. Janzen, H. B. Juster, I. E. Liener, *Science*, **1976**, *192*, 795-796.
- [75] A. M. R. Gatehouse, K. S. Powell, W. J. Peumans, E. J. M. Van Damme, J. A. Gatehouse, *Lectins Biomed. Perspect.*, **1995**, 35-57.

- [76] H. Rudiger, S. Gabius, H.-J. Gabius, *Dtsch. Apoth. Ztg.*, **2000**, 140, 1963-1976.
- [77] B. D. Kishinevsky, I. J. Law, B. W. Strijdom, *Planta*, **1988**, 176, 10-18.
- [78] R. N. Perry, *Annu. Rev. Phytopathol.*, **1996**, 34, 181-199.
- [79] I. E. Salit, E. C. Gotschlich, *J. Exp. Med.*, **1977**, 146, 1182-1194.
- [80] L. V. Karpunina, U. Y. Mel'nikova, S. A. Konnova, *Curr. Microbiol.*, **2003**, 47, 376-378.
- [81] N. Sharon, *Nova Acta Leopold.*, **1997**, 75, 13-26.
- [82] J. Colceag, *Stud. Cercet. Biochim.*, **1985**, 28, 159-171.
- [83] E. Fischer, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1894**, 27, 2985-2993.
- [84] D. Zopf, S. Roth, *Lancet*, **1996**, 347, 1017-1021.
- [85] G. V. Coppa, L. Zampini, T. Galeazzi, B. Facinelli, L. Ferrante, R. Capretti, G. Orazio, *Pediatr. Res.*, **2006**, 59, 377-382.
- [86] B. Andersson, O. Porras, L. A. Hanson, T. Lagergard, C. Svanborgeden, *J. Infect. Dis.*, **1986**, 153, 232-237.
- [87] T. A. Springer, *Cell*, **1994**, 76, 301-314.
- [88] M. K. Wild, <http://www.mpi-muenster.mpg.de/nvz/wild.shtml>.
- [89] Y. Wang, P. Nangia-Makker, L. Tait, V. Balan, V. Hogan, K. J. Pienta, A. Raz, *Am. J. Pathol.*, **2009**, 174, 1515-1523.
- [90] E. M. Rapoport, O. V. Kurmyshkina, N. V. Bovin, *Biochemistry (Moscow)*, **2008**, 73, 393-405.
- [91] P. Nangia-Makker, V. Balan, A. Raz, *Cancer Microenviron.*, **2008**, 1, 43-51.
- [92] V. Balan, P. Nangia-Makker, A. Raz, *Cancers*, **2010**, 2, 592-610.
- [93] Y. St-Pierre, K. Biron-Pain, C. Champion, G. Lavoie, F. Bouchard, J. Couillard, *Expert Opin. Drug Discovery*, **2009**, 4, 611-620.
- [94] G. A. Rabinovich, F. T. Liu, M. Hirashima, A. Anderson, *Scand. J. Immunol.*, **2007**, 66, 143-158.
- [95] S. S. Hasan, G. M. Ashraf, N. Banu, *Cancer Lett. (Amsterdam, Neth.)*, **2007**, 253, 25-33.
- [96] K. W. Moremen, M. Molinari, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **2006**, 16, 592-599.
- [97] L. W. Ruddock, M. Molinari, *J. Cell Sci.*, **2006**, 119, 4373-4380.
- [98] J. D. Schrag, D. O. Procopio, M. Cygler, D. Y. Thomas, J. J. M. Bergeron, *Trends Biochem. Sci.*, **2003**, 28, 49-57.
- [99] P. Gagneux, A. Varki, *Glycobiology*, **1999**, 9, 747-755.
- [100] A. Varki, *Glycobiology*, **1993**, 3, 97-130.
- [101] D. J. Voet, J. G. Voet, *Biochemistry*, 3 ed., John Wiley & Sons, **2004**.
- [102] P. M. Coutinho, E. Deleury, G. J. Davies, B. Henrissat, *J. Mol. Biol.*, **2003**, 328, 307-317.

- [103] A. Helenius, M. Aebi, *Science*, **2001**, *291*, 2364-2369.
- [104] C. H. Wong, *Carbohydrate-based Drug Discovery*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, **2003**.
- [105] N. Jenkins, R. B. Parekh, D. C. James, *Nat. Biotechnol.*, **1996**, *14*, 975-981.
- [106] M. A. Meledeo, K. J. Yarema, *Wiley Encycl. Chem. Biol.*, **2009**, *2*, 112-127.
- [107] M. Aebi, R. Bernasconi, S. Clerc, M. Molinari, *Trends Biochem. Sci.*, **2010**, *35*, 74-82.
- [108] T. Suzuki, Y. Funakoshi, *Glycoconjugate J.*, **2006**, *23*, 291-302.
- [109] R. B. Trimble, K. W. Moremen, A. Herscovics, *Guideb. Secretory Pathway*, **1994**, 100-101.
- [110] J. Montreuil, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **1980**, *37*, 157-223.
- [111] M. R. Sairam, *FASEB J.*, **1989**, *3*, 1915-1926.
- [112] M. E. Grace, G. A. Grabowski, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **1990**, *168*, 771-777.
- [113] I. Brockhausen, *Compr. Nat. Prod. Chem.*, **1999**, *3*, 69-85.
- [114] T. Endo, *Biochim. Biophys. Acta, Gen. Subj.*, **1999**, *1473*, 237-246.
- [115] J. D. Marth, *Essentials of Glycobiology (2nd Edition)*, **1999**, 101-113.
- [116] P. L. Davies, C. L. Hew, *FASEB J.*, **1990**, *4*, 2460-2468.
- [117] M. A. Ferguson, M. G. Low, G. A. Cross, *J. Biol. Chem.*, **1985**, *260*, 14547-14555.
- [118] O. J. Plante, E. R. Palmacci, P. H. Seeberger, *Science*, **2001**, *291*, 1523-1527.
- [119] Z. Y. Zhang, I. R. Ollmann, X. S. Ye, R. Wischnat, T. Baasov, C. H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, *121*, 734-753.
- [120] N. Shibata, Y. Okawa, *Biol. Pharm. Bull.*, **2010**, *33*, 895-899.
- [121] P. H. Seeberger, N. Finney, D. Rabuka, C. R. Bertozzi, *Essentials of Glycobiology (2nd Edition)*, **2009**, 691-704.
- [122] R. B. Andrade, *Wiley Encycl. Chem. Biol.*, **2009**, *2*, 139-150.
- [123] J. T. Smoot, A. V. Demchenko, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **2009**, *62*, 161-250.
- [124] O. Renaudet, P. Dumy, *Org. Biomol. Chem.*, **2006**, *4*, 2628-2636.
- [125] D. Grande, S. Baskaran, C. Baskaran, Y. Gnanou, E. L. Chaikof, *Macromolecules*, **2000**, *33*, 1123-1125.
- [126] M. J. Cloninger, *Mol. Recognit. Polym.*, **2008**, 335-358.
- [127] A. Imberty, Y. M. Chabre, R. Roy, *Chem.--Eur. J.*, **2008**, *14*, 7490-7499.
- [128] G. Hummel, L. Jobron, O. Hindsgaul, *J. Carbohydr. Chem.*, **2003**, *22*, 781-800.
- [129] P. M. St Hilaire, M. Meldal, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2000**, *39*, 1162-1179.
- [130] T. Ziegler, D. Roseling, L. R. Subramanian, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2002**, *13*, 911-914.
- [131] Y. D. Wu, J. Q. Lin, Y. L. Zhao, *Helv. Chim. Acta*, **2002**, *85*, 3144-3160.
- [132] Z. J. Witzak, J. M. Culhane, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **2005**, *69*, 237-244.

- [133] J. C. Wilson, M. J. Kiefel, D. I. Angus, M. von Itzstein, *Org. Lett.*, **1999**, *1*, 443-446.
- [134] W. P. Burmeister, S. Cottaz, H. Driguez, R. Iori, S. Palmieri, B. Henrissat, *Structure*, **1997**, *5*, 663-675.
- [135] L. G. Josefsson, J. Taipalensuu, A. Falk, M. Jorgensen, J. Meijer, L. Rask, *J. Cell. Biochem.*, **1995**, 501-501.
- [136] J. Taipalensuu, A. Falk, L. Rask, *Plant Physiol.*, **1996**, *110*, 483-491.
- [137] P. M. Dey, Z. J. Witzak, *Mini Rev Med Chem*, **2003**, *3*, 271-280.
- [138] Z. J. Witzak, P. Kaplon, P. M. Dey, *Carbohydr. Res.*, **2003**, *338*, 11-18.
- [139] K. Pachamuthu, R. R. Schmidt, *Chem. Rev. (Washington, DC, U. S.)*, **2006**, *106*, 160-187.
- [140] J. M. Lacombe, N. Rakotomanomana, A. A. Pavia, *Tetrahedron Lett.*, **1988**, *29*, 4293-4296.
- [141] D. Schwefel, C. Maierhofer, J. G. Beck, S. Seeberger, K. Diederichs, H. M. Moeller, W. Welte, V. Wittmann, *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, *132*, 8704-8719.
- [142] C. F. Brewer, M. C. Miceli, L. G. Baum, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **2002**, *12*, 616-623.
- [143] M. G. Baek, R. C. Stevens, D. H. Charych, *Bioconjug Chem*, **2000**, *11*, 777-788.
- [144] J. Haensler, F. Schuber, *Glycoconj J*, **1991**, *8*, 116-124.
- [145] B. D. Polizzotti, K. L. Kiick, *Biomacromolecules*, **2006**, *7*, 483-490.
- [146] R. Roy, J. M. Kim, *Tetrahedron*, **2003**, *59*, 3881-3893.
- [147] R. A. Lew, E. Boulos, K. M. Stewart, P. Perlmutter, M. F. Harte, S. Bond, S. B. Reeve, M. U. Norman, M. J. Lew, M. I. Aguilar, A. I. Smith, *FASEB J.*, **2001**, *15*, 1664-1667.
- [148] G. P. Dado, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.*, **1994**, *116*, 1054-1062.
- [149] D. Seebach, M. Overhand, F. N. M. Kuhnle, B. Martinoni, L. Oberer, U. Hommel, H. Widmer, *Helv. Chim. Acta*, **1996**, *79*, 913-941.
- [150] T. A. Martinek, F. Fulop, *Eur. J. Biochem.*, **2003**, *270*, 3657-3666.
- [151] D. Seebach, J. L. Matthews, *Chem. Commun. (Cambridge, U. K.)*, **1997**, 2015-2022.
- [152] D. Seebach, P. E. Ciceri, M. Overhand, B. Jaun, D. Rigo, L. Oberer, U. Hommel, R. Amstutz, H. Widmer, *Helv. Chim. Acta*, **1996**, *79*, 2043-2066.
- [153] A. M. Bruckner, P. Chakraborty, S. H. Gellman, U. Diederichsen, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2003**, *42*, 4395-4399.
- [154] A. S. Norgren, P. I. Arvidsson, *Org. Biomol. Chem.*, **2005**, *3*, 1359-1361.
- [155] G. L. Simpson, A. H. Gordon, D. M. Lindsay, N. Promsawan, M. P. Crump, K. Mulholland, B. R. Hayter, T. Gallagher, *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, *128*, 10638-10639.
- [156] A. S. Norgren, P. I. Arvidsson, *J. Org. Chem.*, **2008**, *73*, 5272-5278.
- [157] B. Imperiali, K. W. Rickert, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **1995**, *92*, 97-101.
- [158] S. E. OConnor, B. Imperiali, *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, *119*, 2295-2296.

- [159] M. Tagashira, K. Toma, *Trends Glycosci. Glycotechnol.*, **2005**, *17*, 145-157.
- [160] L. Urge, L. Otvos, E. Lang, K. Wroblewski, I. Laczko, M. Hollosi, *Carbohydr. Res.*, **1992**, *235*, 83-93.
- [161] M. S. Kharasch, A. T. Read, F. R. Mayo, *Chem. Ind. (London, U. K.)*, **1938**, 752.
- [162] T. Posner, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **1905**, *38*, 646-657.
- [163] K. L. Matta, R. N. Girotra, J. J. Barlow, *Carbohydr. Res.*, **1975**, *43*, 101-109.
- [164] Y. E. Tsvetkov, N. E. Bairamova, L. V. Bakinovskii, *Carbohydr. Res.*, **1983**, *115*, 254-258.
- [165] R. U. Lemieux, *Can. J. Chem.*, **1951**, *29*, 1079-1091.
- [166] L. Olsson, S. Kelberlau, Z. J. Jia, B. Fraser-Reid, *Carbohydr. Res.*, **1998**, *314*, 273-276.
- [167] Z. Li, P. Liu, Z. Li, D. Qiu, M. Cai, *Synth. Commun.*, **1990**, *20*, 2169-2175.
- [168] R. R. Schmidt, M. Stumpp, *Liebigs Ann. Chem.*, **1983**, 1249-1256.
- [169] P. Li, L. H. Sun, D. W. Landry, K. Zhao, *Carbohydr. Res.*, **1995**, *275*, 179-184.
- [170] E. S. H. El Ashry, L. F. Awad, H. M. A. Hamid, A. I. Atta, *Synth. Commun.*, **2006**, *36*, 2769-2785.
- [171] M. Cerny, J. Pacak, *Chem. Listy Vedu Prum.*, **1958**, *52*, 2090-2093.
- [172] C. Schips, T. Ziegler, *J. Carbohydr. Chem.*, **2005**, *24*, 773-788.
- [173] T. Ziegler, C. Schips, *Nat. Protoc.*, **2006**, *1*, 1987-1994.
- [174] O. Mitsunobu, *Synthesis*, **1981**, 1-28.
- [175] H. Nagasawa, O. Mitsunobu, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1981**, *54*, 2223-2224.
- [176] R. A. Falconer, I. Jablonkai, I. Toth, *Tetrahedron Lett.*, **1999**, *40*, 8663-8666.
- [177] C. E. Redemann, C. Niemann, *Org. Synth.*, **1942**, *22*, 1-2.
- [178] M. Cerny, J. Pacak, *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **1959**, *24*, 2566-2570.
- [179] T. P. Curran, M. P. Pollastri, S. M. Abelleira, R. J. Messier, T. A. Mccollum, C. G. Rowe, *Tetrahedron Lett.*, **1994**, *35*, 5409-5412.
- [180] C. A. Townsend, A. Basak, *Tetrahedron*, **1991**, *47*, 2591-2602.
- [181] D. J. Miller, M. B. U. Surfraz, M. Akhtar, D. Gani, R. K. Allemann, *Org. Biomol. Chem.*, **2004**, *2*, 671-688.
- [182] S. N. N. Babu, G. R. Srinivasa, D. C. Santhosh, D. C. Gowda, *J. Chem. Res.*, **2004**, 66-67.
- [183] A. J. Birch, K. A. M. Walker, *Tetrahedron Lett.*, **1967**, 1935-1936.
- [184] K. Hofmann, A. Johl, A. E. Furlenmeier, H. Kappeler, *J. Am. Chem. Soc.*, **1957**, *79*, 1636-1641.
- [185] C.-H. Li, J. Meienhofer, E. Schnabel, D. Chung, T.-B. Lo, J. Ramachandran, *J. Am. Chem. Soc.*, **1961**, *83*, 4449-4457.
- [186] M. E. Jung, M. A. Lyster, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1978**, 315-316.

- [187] H. Yajima, K. Kawasaki, Y. Kinomura, T. Oshima, S. Kimoto, M. Okamoto, *Chem. Pharm. Bull.*, **1968**, *16*, 1342-1350.
- [188] J. Meienhofer, K. Kuromizu, *Tetrahedron Lett.*, **1974**, 3259-3262.
- [189] O. Vogl, M. Pohm, *Monatsh. Chem.*, **1952**, *83*, 541-543.
- [190] O. Vogl, M. Pohm, *Monatsh. Chem.*, **1953**, *84*, 1097-1102.
- [191] Z. Pei, H. Dong, R. Caraballo, O. Ramstrom, *Eur. J. Org. Chem.*, **2007**, 4927-4934.
- [192] M. L. Wolfrom, W. Groebke, *J. Org. Chem.*, **1963**, *28*, 2986-2988.
- [193] N. Pietrzik, C. Schips, T. Ziegler, *Synthesis*, **2008**, 519-526.
- [194] K. Gunther, C. Schips, T. Ziegler, *J. Carbohydr. Chem.*, **2008**, *27*, 446-463.
- [195] C. C. Price, G. W. Stacy, *J. Am. Chem. Soc.*, **1946**, *68*, 498-500.
- [196] T. R. Kim, D. I. Chung, S. Y. Pyun, *Bull. Korean Chem. Soc.*, **1997**, *18*, 374-379.
- [197] C. Denekamp, Y. Sandler, *J. Mass Spectrom.*, **2005**, *40*, 1055-1063.
- [198] M. A. Jermyn, *Aust. J. Chem.*, **1957**, *10*, 448-454.
- [199] B. H. Lee, T. C. Stelly, W. J. Colucci, J. G. Garcia, R. D. Gandour, D. M. Quinn, *Chem. Res. Toxicol.*, **1992**, *5*, 411-418.
- [200] J. Granander, R. Sott, G. Hilmersson, *Tetrahedron*, **2002**, *58*, 4717-4725.
- [201] B. Xue, B. Ersson, J. Porath, K. Caldwell, *Journal of Chromatography A*, **2006**, *1107*, 46-51.
- [202] C. Meynier, F. Guerlesquin, P. Roche, *J. Biomol. Struct. Dyn.*, **2009**, *27*, 49-57.
- [203] W. S. Yew, H. E. Khoo, *Biochimie*, **2000**, *82*, 251-257.
- [204] J. R. Albani, M. Carpentier, C. Lansiaux, *J. Fluoresc.*, **2008**, *18*, 75-85.
- [205] W. Steinkopf, H. Jacob, H. Penz, *Justus Liebigs Ann. Chem.*, **1934**, *512*, 136-164.
- [206] V. S. Babasinian, *J. Am. Chem. Soc.*, **1935**, *57*, 1763-1764.
- [207] G. W. Anderson, *J. Am. Chem. Soc.*, **1953**, *75*, 6081.
- [208] D. T. Gish, F. H. Carpenter, *J. Am. Chem. Soc.*, **1953**, *75*, 5872-5876.
- [209] H. Gibian, E. Schroeder, *Justus Liebigs Ann. Chem.*, **1961**, *642*, 145-162.
- [210] R. Ramage, J. Green, *Tetrahedron Lett.*, **1987**, *28*, 2287-2290.
- [211] R. H. Mazur, G. Plume, *Experientia*, **1968**, *24*, 661.
- [212] H. Takagi, H. Shiomi, H. Ueda, H. Amano, *Nature (London)*, **1979**, *282*, 410-412.
- [213] H. Takagi, H. Shiomi, H. Ueda, H. Amano, *Eur. J. Pharmacol.*, **1979**, *55*, 109-111.
- [214] S.-H. Hwang, M. A. Blaskovich, H.-O. Kim, *Open Org. Chem. J.*, **2008**, *2*, 107-109.
- [215] H. Determann, T. Wieland, *Justus Liebigs Ann. Chem.*, **1963**, *670*, 136-140.
- [216] K. H. Altmann, M. Mutter, *Chem. Unserer Zeit*, **1993**, *27*, 274-286.
- [217] J. W. Bode, *Curr. Opin. Drug Discovery Dev.*, **2006**, *9*, 765-775.
- [218] X. Han, D. Wang, *Yaoxue Xuebao*, **2007**, *42*, 111-117.

- [219] G. Sabatino, M. Chelli, A. Brandi, A. M. Papini, *Curr. Org. Chem.*, **2004**, *8*, 291-301.
- [220] R. B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.*, **1963**, *85*, 2149-2154.
- [221] R. B. Merrifield, *Endeavour*, **1965**, *24*, 3-7.
- [222] F. Albericio, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **2004**, *8*, 211-221.
- [223] C. Schips, *Dissertation*, Universität Tübingen, **2005**.
- [224] X. M. Zhu, R. R. Schmidt, *Chem.--Eur. J.*, **2004**, *10*, 875-887.
- [225] M. Barra, O. Roy, M. Traikia, C. Taillefumier, *Org. Biomol. Chem.*, **2010**, *8*, 2941-2955.
- [226] M. Bodanszky, J. Martinez, *Synthesis*, **1981**, 333-356.
- [227] L. A. Carpino, M. Beyermann, H. Wenschuh, M. Bienert, *Acc. Chem. Res.*, **1996**, *29*, 268-274.
- [228] D. Granitza, M. Beyermann, H. Wenschuh, H. Haber, L. A. Carpino, G. A. Truran, M. Bienert, *J Chem Soc Chem Comm*, **1995**, 2223-2224.
- [229] H. A. Staab, *Angew. Chem.*, **1956**, *68*, 754.
- [230] R. Paul, G. W. Anderson, *J. Am. Chem. Soc.*, **1960**, *82*, 4596-4600.
- [231] J. C. Sheehan, G. P. Hess, *J. Am. Chem. Soc.*, **1955**, *77*, 1067-1068.
- [232] W. Koenig, R. Geiger, *Chem. Ber.*, **1970**, *103*, 788-798.
- [233] L. A. Carpino, *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, *115*, 4397-4398.
- [234] L. A. Carpino, A. Elfaham, F. Albericio, *J. Org. Chem.*, **1995**, *60*, 3561-3564.
- [235] B. Castro, J. R. Dormoy, G. Evin, C. Selve, *Pept., Proc. Eur. Pept. Symp., 14th*, **1976**, 79-84.
- [236] J. Coste, D. Lenguyen, B. Castro, *Tetrahedron Lett.*, **1990**, *31*, 205-208.
- [237] F. Albericio, R. Chinchilla, D. J. Dodsworth, C. Najera, *Org. Prep. Proced. Int.*, **2001**, *33*, 205-303.
- [238] F. Albericio, J. M. Bofill, A. El-Faham, S. A. Kates, *J. Org. Chem.*, **1998**, *63*, 9678-9683.
- [239] T. Ast, N. Heine, L. Germeroth, J. Schneider-Mergener, H. Wenschuh, *Tetrahedron Lett.*, **1999**, *40*, 4317-4318.
- [240] J. L. Matthews, K. Gademann, B. Jaun, D. Seebach, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1998**, 3331-3340.
- [241] R. B. Woodward, K. Heusler, J. Gosteli, P. Naegeli, W. Oppolzer, R. Ramage, S. Ranganathan, H. Vorbrueggen, *J. Am. Chem. Soc.*, **1966**, *88*, 852-853.
- [242] G. Just, K. Grozinger, *Synthesis*, **1976**, 457-458.
- [243] C. Tromas, R. Garcia, *Host-Guest Chemistry*, **2002**, *218*, 115-132.
- [244] J. JimenezBarbero, J. L. Asensio, J. F. Espinosa, F. J. Canada, M. MartinPastor, A. Poveda, *Eur. J. Cell Biol.*, **1997**, *74*, 42-42.
- [245] Y. Hsiao, L. S. Hegedus, *J. Org. Chem.*, **1997**, *62*, 3586-3591.

- [246] M. Mayor, R. Scheffold, L. Walder, *Helv. Chim. Acta*, **1997**, *80*, 1183-1189.
- [247] L. E. Canne, R. L. Winston, S. B. H. Kent, *Tetrahedron Lett.*, **1997**, *38*, 3361-3364.
- [248] M. Clagett-Dame, R. Schoenleber, C. Chung, J. F. McKelvy, *Biochim. Biophys. Acta*, **1989**, *986*, 271-280.
- [249] S. Ciccotosto, M. J. Kiefel, S. Abo, W. Stewart, K. Quelch, M. von Itzstein, *Glycoconjugate J.*, **1998**, *15*, 663-669.
- [250] F. Schneider, K. Bernauer, A. Guggisberg, P. Van den Broek, M. Hesse, H. Schmid, *Helv. Chim. Acta*, **1974**, *57*, 434-440.
- [251] E. Hochuli, *Helv. Chim. Acta*, **1983**, *66*, 489-493.
- [252] N. Kaur, J. G. Delcros, N. Martin, O. Phanstiel, *J. Med. Chem.*, **2005**, *48*, 3832-3839.
- [253] M. Achmatowicz, J. Jurczak, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2001**, *12*, 111-119.
- [254] P. G. Mattingly, *Synthesis*, **1990**, 366-368.
- [255] R. Caputo, E. Cassano, L. Longobardo, G. Palumbo, *Tetrahedron*, **1995**, *51*, 12337-12350.
- [256] R. H. Schlessinger, E. J. Iwanowicz, *Tetrahedron Lett.*, **1987**, *28*, 2083-2086.
- [257] C. Kashima, K. Harada, Y. Fujioka, T. Maruyama, Y. Omote, *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 1*, **1988**, 535-539.
- [258] M. B. Haque, B. P. Roberts, D. A. Tocher, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1998**, 2881-2890.
- [259] C. X. Yu, J. W. Taylor, *Bioorg. Med. Chem.*, **1999**, *7*, 161-175.
- [260] L. Gattermann, *Justus Liebigs Ann. Chem.*, **1913**, *393*, 215-233.
- [261] C. Mukherjee, A. K. Misra, *J. Carbohydr. Chem.*, **2007**, *26*, 213-221.
- [262] G. G. Cox, L. M. Harwood, *Tetrahedron: Asymmetry*, **1994**, *5*, 1669-1672.
- [263] K. Higashiura, K. Ienaga, *J. Org. Chem.*, **1992**, *57*, 764-766.
- [264] T. Mukai, N. Suganuma, K. Soejima, J. Sasaki, F. Yamamoto, M. Maeda, *Chem. Pharm. Bull.*, **2008**, *56*, 260-265.
- [265] M. Soucek, J. Urban, D. Saman, *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **1990**, *55*, 761-765.

Kurzzusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden neue Oligosaccharid-Mimetika in Form von hochglykosilierten β -Peptiden dargestellt. Diese neigen schon bei einer kleinen Zahl von Aminosäureeinheiten zur Bildung von geordneten Strukturen.

Die Darstellung der Peptide erfolgte über glykosilierte Asparaginsäureeinheiten. Dazu wurden 1-Thioglukoside über verschiedene Spacer-Moleküle an die α -Carboxyl-Funktion von Asparaginsäure gebunden.

Durch die Verwendung der so erhaltenen Bausteine beim Aufbau der β -Peptide ergibt sich die Möglichkeit einer hohen Flexibilität bezüglich der Kohlenhydratsequenz. Der Aufbau von Bibliotheken über Festphasensynthesen war möglich, allerdings ergaben sich hier schlechtere Ausbeuten im Vergleich zu Festphasensynthesen reiner Peptide.

Bei den ebenfalls durchgeführten Lösungsmittelsynthesen wurden drei verschiedene Bausteine zu verschiedenen Di-, Tri- und Tetrapeptiden zusammengefügt. Im Fall der Lösungsmittelsynthesen wurde für das Aminosäurerückgrat ein Boc-/Benzyl-Schutzgruppensystem verwendet, die Kohlenhydrate lagen jeweils acetyliert vor. Für die Durchführung der Peptid-Knüpfungen wurden verschiedene Bedingungen getestet. Erwartungsgemäß konnte in DMF als Lösungsmittel und mit HATU/HOAt als Kupplungsreagenz die besten Ausbeuten erzielt werden.

Nach ihrer vollständigen Entschützung können diese Peptide auf ihre Affinität zu bestimmten Lektinen untersucht werden, was exemplarisch mittels Mikrokalorimetrie an einem Tetrapeptid und dem Lektin PHA-E durchgeführt wurde. Dabei konnte eine Anbindung des Glykopeptids an das Lektin nachgewiesen werden, wenn auch eine genaue Bestimmung thermodynamischer Konstanten aufgrund der geringen Wechselwirkungen nicht möglich war.

Meine akademischen Lehrer waren:

K. Albert, K. W. Bock, D. Christen, H. Eckstein, H.-J. Egelhaaf, G. Gauglitz, F. Gönnenwein, G. Häfelinger, M. Hanack, D. Hoffmann, V. Hoffmann, W. Jäger, G. Jung, D. Krug, N. Kuhn, E. Lindner, M. E. Maier, H. A. Mayer, H.-J. Meyer, U. Nagel, H. Oberhammer, C. Ochsenfeld, D. Oelkrug, H. Pommer, G. Reinhardt, V. Schurig, M. Schwarz, E. Schweda, F.F. Seelig, B. Speiser, J. Strähle, U. Weimar, L. Wesemann, K. P. Zeller, T. Ziegler.

Lebenslauf

Name: Holger Schäfer

Geburtsdatum: 26. Juli 1977

Geburtsort: Tübingen

Staatsangehörigkeit: deutsch

Schulen: September 1983 bis Juli 1987 Bästenhardt-Grundschule, Mössingen
September 1987 bis Juni 1996 Quenstedt-Gymnasium, Mössingen,
Allgemeine Hochschulreife

Zivildienst: September 1996- September 1997 Rettungsdienst und Krankentransport,
Arbeiter-Samariter-Bund, Tübingen

Studium: Wintersemester 1997/1998 Beginn des Chemiestudiums,
Eberhard Karls Universität, Tübingen
August 1999 Vordiplom
Juni 2005 Diplom und Diplomarbeit bei Prof. Dr.
T. Ziegler, Institut für Organische
Chemie, Universität Tübingen
Dezember 2005 Beginn der Doktorarbeit bei Prof. Dr. T.
Ziegler, Institut für Organische Chemie,
Universität Tübingen