

INAUGURAL-DISSERTATION
Zur Erlangung der Doktorwürde
der
Naturwissenschaftlich-Mathematischen Gesamtfakultät
der Ruprecht-Karls-Universität
Heidelberg

vorgelegt von
Dipl.-Chem. Bettina Meister
aus Frankfurt am Main

Tag der mündlichen Prüfung 12. 02. 2004

Modellverbindungen zum Studium Sialinsäure-vermittelter

Erkennungsprozesse:

Synthese neuer Saccharide auf Basis von Carotinoiden und Furanen

Gutachter: Prof. Dr. Manfred Wießler
Prof. Dr. Gert Fricker

Aus der Abteilung für Molekulare Toxikologie
(Leiter Prof. Dr. Manfred Wießler)
am Deutschen Krebsforschungszentrum in Heidelberg

Die dieser Dissertation zugrundeliegenden experimentellen Arbeiten wurden in der Zeit von Oktober 2000 bis November 2003 durchgeführt.

*La raison fait l'homme,
mais c'est le sentiment qui le conduit
(Jean-Jacques Rousseau)*

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Manfred Wießler für die interessante Aufgabenstellung, den großen Freiraum bei der Bearbeitung der Arbeit, die stetige Hilfs- und Diskussionsbereitschaft sowie die Möglichkeit, die Ergebnisse international zu präsentieren.

Herrn Prof. Dr. Gert Fricker danke ich für die Übernahme des Zweitgutachtens.

Bei Herrn Dr. Christian Kliem bedanke ich mich für die nette Betreuung und die außerordentliche Hilfsbereitschaft, von technischen Problemen bis zu konzeptionellen Fragen.

Frau Dr. Evi Frei und Herrn Claas Gronewold danke ich für die angenehme und interessante Zusammenarbeit.

Ich danke ihnen und Frau Regine Garcia-Boy für ihre schnelle und gründliche Durchsicht der Arbeit.

Bei Herrn Dr. W. Hull, Frau G. Schwebel-Schilling und Herrn G. Erben möchte ich mich für die Aufnahme zahlreicher NMR- und Massen-Spektren bedanken.

Herrn Dr. C.-W. von der Lieth danke ich für die Durchführung der Molecular Modelling Berechnungen und Herrn Dr. M. Pawlita für die Unterstützung im Rahmen des Virus-Projektes.

Bei Ed Müller und Peter Lorenz bedanke ich mich für die spontane Hilfe bei labortechnischen Problemen.

Mein Dank gilt weiterhin allen Mitgliedern der Abteilung, mit denen ich beruflich und privat viele gesellige Stunden verbracht und zahlreiche Aktivitäten unternommen habe, besonders Erwin, Sonja, Regine, Claas, Bernd, Volker, Dirk, Michael, Dana und Malis.

Schließlich gilt mein besonderer Dank meiner Familie, in erster Linie meinen Eltern, die mir meine Ausbildung ermöglicht und mich während meines Studiums meiner Dissertation in jeder Hinsicht unterstützt haben.

Summary

In the first part of the thesis inhibitors for the sialic acid receptors of the polyoma virus were synthesised. To reach a high affinity for the adhesion sites of the virus, multivalent inhibitors were designed to bind to the carbohydrate recognition domains resolved in the crystal structure of the capsid protein pV1. The multivalent inhibitors should consist of long and rigid linkers of about 30 Å separating the sialic acids. Three different strategies to synthesise multivalent inhibitors with carotinoids as linkers were elaborated. The necessary building blocks were synthesised but the conjugation of carotinoids with saccharides was neither achieved by direct glycosylation nor by an amid binding nor by a Wittig-Horner-reaction.

In the second part of the thesis a library of highly diverse oligosaccharide mimics was synthesised to analyse and inhibit cell-ECM-interactions of tumour cells. The mimics consisted of a core of substituted furanes, which were glycosylated with a variety of saccharides. Mono- and disaccharides of fucose, galactose and lactose, as well as combinations of these saccharides were obtained by glycosylation of 3,4-bishydroxymethylfuran. Analogous saccharides of 2,5-substituted furanes were available by glycosylation of 5-hydroxymethylfurfural (HMF). sLe^x- and sulfated-Le^x play a major role in recognition processes of tumour cells. Molecular modelling calculations predicted a high structural similarity between the saccharide mimic and sLewis^x. Four different sialosides and various sulfated glycosides were therefore synthesised. A protecting group strategy was elaborated to synthesise complex sLewis^x mimics and different fucosyl donors were evaluated for the synthesis of α -fucosides.

One of the sulphated saccharide mimics, 3- β -D-Galactopyranosyl-oxymethyl-4-sulfato-oxymethyl-furan (GSF), has an inhibitory potential on the adhesion of melanoma cells to ECM proteins, as was shown in another thesis. GSF was then conjugated to biotin and fluorescein in a Diels-Alder-reaction. The fluorescein-GSF adduct is presently used as staining tool to localise and visualise lectins on cell surfaces.

The synthetic strategy developed allow the generation of highly diverse saccharide mimics which are not only useful tools to study the role of carbohydrates in biological processes such as cell adhesion and migration, but are also powerful diagnostic tools to detect lectins on cell surfaces.

Zusammenfassung

Im ersten Teil dieser Arbeit wurden Inhibitoren zuckerbindender Oberflächenproteine des Polyomavirus synthetisiert. Anhand der Kristallstruktur des Kapsidproteins pV1 und der darauf lokalisierten Lektindomänen konnten optimierte multivalente Inhibitoren modelliert werden. Durch Verwendung langer, rigider Ketten (ca. 30Å) auf Basis von Carotinoiden sollten Inhibitoren über Sialinsäuren gleichzeitig mehrere Bindungsstellen blockieren können. Drei gänzlich verschiedene Synthesestrategien wurden ausgearbeitet und die hierzu nötigen Synthesebausteine dargestellt. Die Kopplungen zwischen den jeweiligen Sacchariden und Carotinoiden erwiesen sich als problematisch: Weder durch direkte Glycosilierung noch durch eine Amidbildung oder eine Wittig-Horner-Reaktion konnten entsprechende Konjugate aus Carotinoiden und Sacchariden erhalten werden.

Im zweiten Teil der Arbeit wurden Glycosidmimetika auf Basis von Furanen synthetisiert, um die Adhäsion von metastasierenden Zellen untersuchen und inhibieren zu können.

Mono- und Diglycoside mit Fucose, Galactose und Lactose, sowie Kombinationen dieser Saccharide konnten durch direkte Glycosilierung von 3,4-Bishydroxymethylfuran dargestellt werden. Glycoside 2,5-substituierter Furane waren ausgehend von 5-Hydroxymethylfuran (HMF) zugänglich. Als tumorassoziierte Saccharidmimetika konnten vier verschiedene Sialoside, sowie verschiedene sulfatierte Glycoside dargestellt werden. 3-β-D-Galactopyranosyl-oxymethyl-4-sulfato-oxymethyl-furan (GSF) konnte für biologische Untersuchungen via Diels-Alder-Reaktion mit Biotin und Fluorescein markiert werden. Weiterhin konnten durch geeignete Schutzgruppenstrategien strukturell komplexere Mimetika dargestellt und verschiedene Fucosyldonoren zur Synthese von α-Fucosiden evaluiert werden. Per Molecular Modelling konnte gezeigt werden, daß die Struktur der Saccharidmimetika der des Tetrasaccharides sLewis^x entspricht.

GSF zeigte im Rahmen einer weiteren Arbeit in verschiedenen Assays eine erfolgreiche Inhibition der Adhäsion von Melanomzellen. Zur genaueren Untersuchung der Zell-ECM-Wechselwirkungen wird das Fluorescein-gekoppelte Derivat derzeit eingesetzt.

Durch eine bausteinartige Synthese konnten relativ einfach Mimetika mit einer hohen Diversität dargestellt werden. Ferner konnte gezeigt werden, daß diese Mimetika nicht nur gute Inhibitoren der Zelladhäsion sind, sondern auch als wirksames diagnostisches Werkzeug eingesetzt werden können.

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | Einleitung | 5 |
| 1.1 | Krebs: Allgemeines | 5 |
| 1.2 | Glycokonjugate: Mediatoren der zellulären Erkennung | 6 |
| 1.2.1 | Sialinsäure: Ein Schlüssel der Zell-Zell-Erkennung | 8 |
| 1.2.2 | Bedeutung sialinsäurebindender Lektine | 9 |
| 1.3 | Glycopathologie von Tumoren | 11 |
| 1.3.1 | Mechanismen der Tumormetastasierung | 13 |
| 1.4 | Saccharidmimetika als potentielle Wirkstoffe | 14 |
| 1.4.1 | Multivalente Saccharidmimetika | 15 |
| 1.4.2 | Mimetika der Sialinsäure | 18 |
| 1.4.3 | Sialyl Lewis x Mimetika | 18 |
| 1.5 | Besonderheiten der Kohlenhydratchemie | 21 |
| 1.5.1 | Stereokontrolle der anomeren O-Glycosilierung | 23 |
| 1.5.2 | Besonderheiten der Glycosilierung der Sialinsäure | 23 |
| 1.5.3 | Analytik komplexer Saccharidstrukturen | 26 |
| 2 | Aufgabenstellung | 27 |
| 3 | Ergebnisse | 29 |
| 3.1 | Glycosidmimetika zur Inhibition von Virus-Zell-Wechselwirkungen | 29 |
| 3.1.1 | Polyoma - ein Tumorstoff | 30 |
| 3.1.2 | Multivalente Glycomimetika mit rigiden Linkern | 31 |
| 3.1.3 | Syntheseansätze | 32 |

| | | |
|----------|---|------------|
| 3.2 | Glycosidmimetika zur Inhibition der Zell-Zell- bzw. Zell-ECM-Wechselwirkungen von metastasierenden Zellen | 40 |
| 3.2.1 | Glycoside des 3,4-Bishydroxymethylfurans | 42 |
| 3.2.2 | Gemischte Glycoside des 3,4-Bishydroxymethylfurans | 44 |
| 3.2.3 | Glycoside des 2,5-Bishydroxymethylfurans | 46 |
| 3.2.4 | Synthese von Furansialosiden | 49 |
| 3.2.5 | Carbonsäure Mimetika von sLewis ^x | 53 |
| 3.2.6 | Sulfatierte Glycosidmimetika | 56 |
| 3.2.7 | Synthese komplexer sLewis ^x -Mimetika | 59 |
| 3.2.8 | Glycosidmimetika als diagnostische Tools | 64 |
| 3.2.9 | Bewertung von Donoren zur Synthese von α -Fucosiden | 67 |
| 3.2.10 | Strukturvergleiche mittels Molecular Modelling | 70 |
| 4 | Diskussion und Ausblick | 75 |
| 5 | Experimenteller Teil | 88 |
| 5.1 | Allgemeines | 88 |
| 5.2 | Beschreibung der Versuche | 89 |
| 5.2.1 | Synthesvorschriften der Carotinoide-saccharidkonjugate | 89 |
| 5.2.2 | Synthesvorschriften der Furansaccharide | 93 |
| 5.3 | Abbildung der NMR-Spektren | 132 |
| 6 | Bibliographie | 150 |
| 6.1 | Literaturverzeichnis | 150 |
| 6.2 | Verzeichnis der dargestellten Verbindungen | 160 |

Abkürzungen

| | |
|-------------------|--|
| Ac | Acetyl |
| Ac ₂ O | Acetanhydrid |
| AcCN | Acetonitril |
| All | Allyl |
| Bz | Benzoyl |
| DANA | 2-Deoxyneuraminsäure |
| DC | Dünnschichtchromatographie |
| DCM | Dichlormethan |
| DiBAIH | Diisopropylbutylaluminiumhydrid |
| DIC | Diisopropylcarbodiimid |
| DIEA | N,N-Diisopropyl-N-ethylamin |
| DMAP | N,N-Dimethylaminopyridin |
| DMF | N,N-Dimethylformamid |
| DMTST | Dimethyl(methylthio)sulfoniumtrifluoromethansulfonat |
| EDC | Ethyldiisopropylcarbodiimid |
| EE | Ethylacetat |
| eq. | äquivalent |
| ESI | Elektrostray Ionisation |
| Et | Ethyl |
| Et ₂ O | Diethylether |
| FITC | Fluorescein Isothiocyanat |
| Fuc | Fucose |
| Gal | Galactose |
| GPI-Anker | Glycosylphosphatidylinositol-Anker |
| HOBT | 1-Hydroxybenzotriazol |
| HPLC | „high performance liquid chromatography“ |
| HP | human papilloma |
| KOtBu | Kalium <i>tert.</i> -Butylat |
| Lac | Lactose |
| Me | Methyl |
| MeOH | Methanol |
| MPM | <i>p</i> -Methoxyphenylmethyl |

| | |
|---------------------|--|
| MS | Massenspektrometrie |
| NaBH ₄ | Natriumborhydrid |
| NaOMe | Natriummethanolat |
| Neu5Ac | N-Acetylneuraminsäure |
| NIS | N-Iodsuccinimid |
| NK | natural killer cells |
| NMR | Kernresonanz-Spektroskopie |
| p.a. | Pro analysis |
| Pd/C | Palladium auf Aktivkohle |
| PE | Petrolether |
| PPh ₃ | Triphenylphosphin |
| Pyr | Pyridin |
| Pyr·SO ₃ | Pyridiniumsulfoxid |
| R _f | Retentionsfaktor |
| RP18 | „reversed phase“ Chromatographiematerial |
| RT | Raumtemperatur |
| TBAF | Tetrabutylammoniumfluorid |
| TBAI | Tetrabutylammoniumiodid |
| TBDMS-Cl | <i>t</i> -Butyldimethylsilyl chlorid |
| TBDPS-Cl | <i>t</i> -Butyldiphenylsilyl chlorid |
| TFA | Trifluoressigsäure |
| THF | Tetrahydrofuran |
| TMS | Trimethylsilyl- |
| TmsOTf | Trimethylsilyltrifluormethansulfonat |

1 **Einleitung**

1.1 **Krebs: Allgemeines**

Pro Jahr erkranken in der BRD ca. 450.000 Menschen an Krebs; etwa 220.000 sterben daran. Damit stellt diese Erkrankungsgruppe nach den Herz-Kreislaufkrankungen die zweithäufigste Todesursache dar. Dank der modernen Medizin konnte die Sterblichkeitsrate allein in den letzten zehn Jahren um mehr als zehn Prozent gesenkt werden. Hauptverantwortlich hierfür ist neben der insgesamt raschen Entwicklung in der Medizin ein konzeptionelles Umdenken: weg von solitärer Therapie hin zu interdisziplinären, multimodalen Therapieansätzen. Strahlentherapeutische Maßnahmen und medikamentöse Therapien haben neben operativen Eingriffen stark an Bedeutung gewonnen.

Chemotherapien, die in essentielle molekularbiologische Prozesse wie die DNA-Replikation und den Zellzyklus eingreifen, werden eingesetzt, um Tumore zu zerstören oder das unkontrollierte Zellwachstum zu stoppen. Da sie vorwiegend unspezifisch wirken, sind sie meist mit einem hohen Maß an Nebenwirkungen verbunden. Kombitherapien mehrerer Zytostatika dienen dazu, die Einzeltoxizität der Substanzen herabzusetzen und dennoch eine effiziente Zellabtötungsrate zu erzielen. Ein optimaler Erfolg wird meist durch eine individuelle Abstimmung der eingesetzten Therapien erlangt.

Die Suche nach neuen und selektiveren Ansatzpunkten, sowohl für eine verbesserte Diagnostik als auch für die Entwicklung neuer Therapien, steht folglich im Mittelpunkt der Krebsforschung. Entwicklungen im Bereich der Hormon- oder Immuntherapie zeigen, daß nicht nur essentielle Schritte der Zellteilung mögliche Angriffspunkte darstellen. Molekulare Veränderungen der Zelloberflächen erweisen sich als interessantes Target, da die Membranbestandteile (Lipide, Proteine und Glycokonjugate) wesentlich an der Adhäsion von Zellen, aber auch bei der Zellkommunikation und Signaltransduktion beteiligt sind.

1.2 Glycokonjugate: Mediatoren der zellulären Erkennung

Kohlenhydrate spielen eine wesentliche Rolle in vielen biologischen Prozessen^{1,2}. Klassischerweise werden Kohlenhydrate vor allem mit dem Transport und der Speicherung von Energie verbunden. Dies ist jedoch nur ein kleiner Bereich einer großen Fülle verschiedener Funktionen³. Biologisch relevante Kohlenhydrate bestehen aus kovalent gebundenen Monosacchariden, die als Oligosaccharide oder Proteoglycane bezeichnet werden. In Säugetieren findet man neun verschiedene Monosaccharide, die zusätzlich modifiziert (z.B. acetyliert oder sulfatiert) sein können (Abbildung 1). Oligosaccharide verfügen über ein enormes Potential struktureller Variabilität, insbesondere wenn man die hohe Zahl möglicher Konstitutionsisomere betrachtet. Oligosaccharide können daher auf kleinstem Raum verschiedenste Strukturen einnehmen und sind prädestinierte Träger von Informationen⁴.

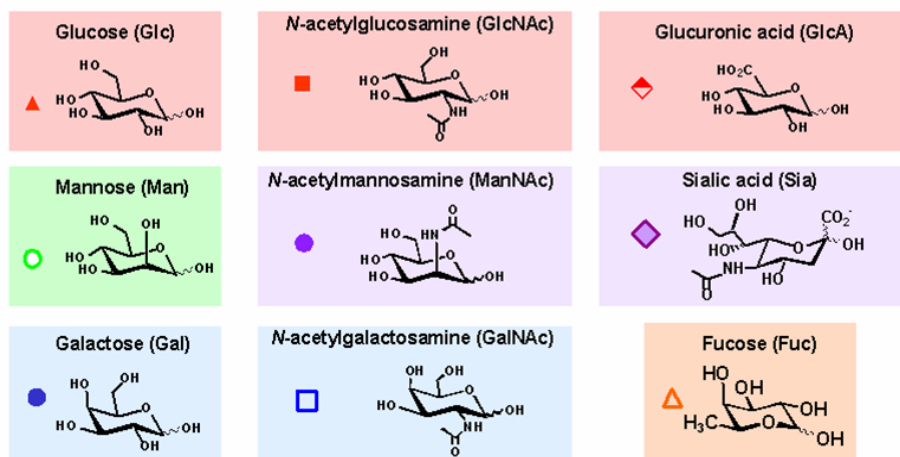


Abbildung 1: Monosaccharide humaner Oligosaccharide

In fein abgestimmter Weise können Oligosaccharide mit entsprechenden Lektinen⁵ Signale übertragen und dienen als Rezeptoren für bakterielle Toxine, Hormone und Antikörper (Abbildung 2). Desweiteren sind Glycokonjugate maßgeblich an interzellulären Prozessen und an der Zellregulation beteiligt⁶. Involviert sind sie weiterhin bei Adhäsions- und Infektionsprozessen durch Viren und Bakterien sowie bei der Metastasierung von Krebszellen.

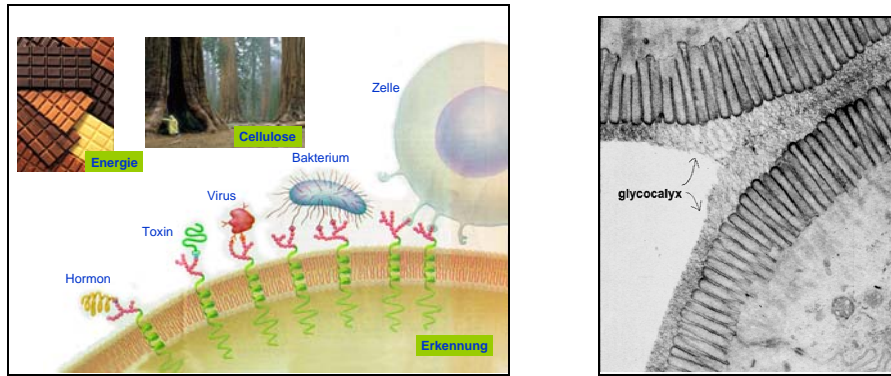


Abbildung 2: Schematische Darstellung der Funktionen von Oligosacchariden in der Natur: als Energielieferanten im Stoffwechsel, aber auch als Liganden in Form von Glycolipiden und Glycoproteinen auf der Zelloberfläche (links), wo sie die Glycocalyx bilden (rechts: mikroskopische Aufnahme der Glycocalyx⁷).

Oligosaccharide sind in den meisten Fällen an Lipide oder Proteine gebunden und werden als Glykokonjugate bezeichnet. Glycoproteine sind am komplexesten: Sie treten als N- oder O-Glycane auf und sind an Asparagin oder Threonin verknüpft. Alle N-Glycoproteine haben eine gemeinsame verzweigte pentasaccharidische Kernregion der Struktur $\text{Man}(\alpha 1,6)[\text{Man}(\alpha 1,3)]\text{Man}(\beta 1,4)\text{-GlcNAc}(\beta 1,4)\text{GlcNAc}$ (Abbildung 3).

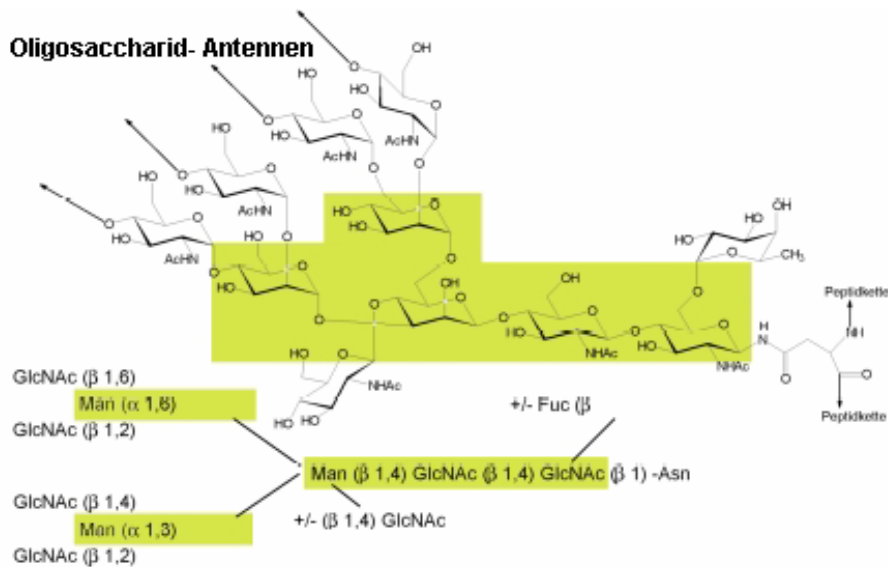


Abbildung 3: Darstellung eines N-Glycoproteins: Grün unterlegt ist die Corestruktur; die maßgeblich an der Bindung zu Lektinen beteiligten Saccharide sind multiantennär an den Enden des Glycoproteins angeordnet.²

Die Kernregion hat in der Regel keine besondere Erkennungsfunktion, sondern fungiert lediglich als Gerüst des Oligosaccharides und wird daher oft als Core bezeichnet. Von da

aus verzweigen sich die Oligosaccharidketten weiter, so daß man von oligoantennären Verbindungen spricht. Diese Oligoantennarität stellt das wesentliche Strukturmerkmal bei der Wechselwirkung von Oligosacchariden dar.

Glycolipide bestehen aus einem Oligosaccharidteil, der kovalent über Inositol oder Sphingosin an eine Fettsäure gebunden ist. Das Zusammenspiel des unpolaren membrangebundenen Anteils mit dem extrazellulären Saccharidteil befähigt Glycolipide zu wesentlichen Funktionen der Zelladhäsion: GPI-Anker binden Proteine an die Zellmembran, Ganglioside spielen bei der Entwicklung der Nervenbahnen eine entscheidende Rolle, und auch auf Tumorzellen werden spezielle Glycolipide exprimiert.

Lektin-Oligosaccharid-Interaktionen wurden oftmals unterschätzt, da die Wechselwirkungen meist nur sehr schwach sind und die Saccharide schwer zu analysieren waren. Die Verbesserung der Nachweismethoden hat dazu beigetragen, daß Lektin-Oligosaccharid-Interaktionen aus der Mikrobiologie, der Immunologie⁸ und der Tumorbologie nicht mehr wegzudenken sind.

1.2.1 Sialinsäure: Ein Schlüssel der Zell-Zell-Erkennung

Eine besondere Bedeutung als Ligand bei zellulären Wechselwirkungen kommt den Sialinsäuren zu. Man versteht hierunter die etwa 40 verschiedenen natürlichen Derivate der Neuraminsäure, die sich im wesentlichen nur durch ihre unterschiedliche N- und O-Substitution unterscheiden (Abbildung 4). Sie werden in höheren Konzentrationen auf Membranen von Vertebraten gefunden, wo sie die terminalen Positionen der Glycokonjugate besetzen⁹.

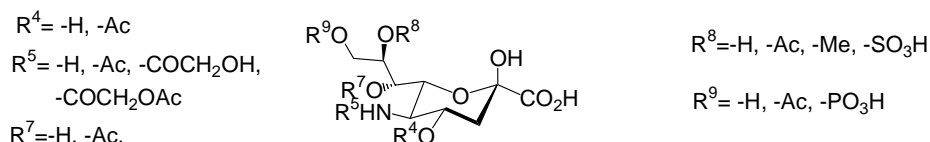


Abbildung 4: Natürliche Sialinsäurederivate

Mit ihrer herausragenden Funktion als terminale Saccharide haben Sialinsäuren eine Schlüsselfunktion bei Infektionen, bei der Krebserkrankung und in der Immunologie.

Viren und Bakterien haben sich die Erkennung von Sialinsäuren zu eigen gemacht, um an humane Wirtszellen zu binden^{10,11}. Prominente Beispiele sind das Influenza Virus, das Rotavirus, HP-Viren, *Vibrio cholerae* sowie *Helicobacter pylori*.

Im eigenen Organismus maskieren Sialinsäuren Glycoproteine und schützen sie vor dem Abbau durch das Immunsystem. Zellen können den Gehalt an Sialinsäure auf der Zelloberfläche regulieren. So werden rote Blutkörperchen mit einem um 10-20% verringerten Gehalt an Sialinsäuren vom Immunsystem abgebaut. Im Gegenzug findet man auf metastasierenden Zellen eine Überexpression an Sialinsäure. Eine reversible Sialylierung könnte also einen wichtigen Faktor bei der Regulierung der Zelladhäsion und dem bösartigen Wachstum darstellen¹². Die Mechanismen einer solchen Regulierung sind bislang jedoch nicht aufgeklärt. Es konnte gezeigt werden, daß Insulin eine Sialylierung stimuliert, während Ethanol die Sialylierung von Gangliosiden herabsetzt. Die besondere Bedeutung der verschiedenen Sialinsäurederivate ist noch unklar, Neu5Gc (5-Glycolyl-Neuraminsäure) konnte erstmalig vermehrt auf Tumorzellen nachgewiesen werden^{13,14}. Die hohe Konzentration an Sialinsäuren in Milch bzw. vor allem in Colostrum läßt weiterhin auf eine essentielle Funktion in der Entwicklung schließen.

1.2.2 Bedeutung sialinsäurebindender Lektine

Einige Viren und andere Mikroorganismen besitzen sialinsäurespezifische Lektine, mit denen sie an die Wirtszelle binden können. Der bekannteste Fall ist das Influenza Virus, das selektiv über Hämagglutinin und eine Neuraminidase an Sialinsäure humaner Glycokonjugate bindet. Die bei infektiösen Prozessen beteiligten viralen und bakteriellen Lektine sind in vielen Fällen seit geraumer Zeit bekannt¹⁰. Einige humane Lektine, die ebenso spezifisch an Sialinsäure binden, konnten zudem identifiziert werden. Man unterteilt sie in zwei Gruppen, die Siglecs und die Selektine.

Als **Siglecs** werden sialinsäurebindende immunoglobulin (Ig)-artige Lektine, Adhäsionsmoleküle, die Zell-Zell-Interaktionen durch Erkennung sialylierter Glycokonjugate vermitteln, bezeichnet¹⁵⁻¹⁷. Sie werden auf Zellen des hämatopoietischen

Systems exprimiert. Man kennt inzwischen 10 verschiedene Siglecs, die bekanntesten sind: Sialoadhesin, CD22, CD33 und MAG^{18,19}.

Siglecs binden oftmals an zelleigene Glycokonjugate. Damit stellt ihre Bindung an Sialinsäure eine Maskierung zelleigener Glycokonjugate an der Zelloberfläche dar, die zu einer Unterdrückung bestimmter Zell-Zell-Wechselwirkungen führt. Es wird vermutet, daß die „Demaskierung“ der Siglecs durch zelleigene Sialidasen aktiviert wird. Sofern diese Maskierung und Demaskierung einen dynamischen Prozeß darstellt, könnte den Siglecs eine Signalwirkung zukommen. Sie könnten für die Regulierung des Immunsystems eine ebenso große Rolle spielen wie Phosphorylierungen und ähnliche Mechanismen²⁰.

Als **Selektine** („selective lectin-dependent Adhäsion molecules“) bezeichnet man die drei eng miteinander verwandten Zelladhäsionsmoleküle, E-, P- und L- Selektin²¹:

P-Selektin befindet sich in den intrazellulären Räumen der Thrombozyten und Endothelzellen und kann innerhalb einiger Minuten nach Aktivierung durch Histamin, Peroxidradikale oder Thrombin auf der Zelloberfläche exprimiert werden.

E-Selektin findet man nach Aktivierung durch Interleukin-1 (IL-1) oder durch TNF α auf den Endothelzellen. Es wird erst Stunden nach der Aktivierung auf den Zellen exprimiert.

L-Selektin wird auf den Leukozyten exprimiert und bindet an O-Glycane der Endothelzellen.

Selektine sind Transmembranproteine, die an die Tetrasaccharide sialyl-Lewis^x und sialyl-Lewis^a binden und so Zell-Zell-Interaktionen zwischen Leukozyten, Thrombozyten und Endothelzellen bei Prozessen wie der Entzündung, der Metastasierung und der Angiogenese²² vermitteln.

Am bekanntesten ist die Wechselwirkung der E-Selektine mit Oligosacchariden der Leukozyten in Entzündungsprozessen²³⁻²⁵. E-Selektin erlaubt zirkulierenden Leukozyten die kurzzeitige Anheftung und das Entlangrollen („Rolling“) an den Gefäßwänden. Durch diese niedrig-affinen Kontakte zur Gefäßwand werden Leukozyten durch die dort sezernierten Chemokine und exprimierten Adhäsionsmoleküle stimuliert. Über die so aktivierten Integrine adhärieren die Leukozyten hochaffin an Ig-Familienmitglieder auf dem Endothel und wandern Integrin-vermittelt an den Ort der Entzündung. Durch Signaltransduktionsprozesse, die von den Integrinen ausgelöst werden, wird die

Reorganisation des Zytoskeletts der Leukozyten eingeleitet, so daß ein Abflachen der Zellen ihren anschließenden Durchtritt durch die Gefäßwände erleichtert.

1.3 Glycopathologie von Tumoren

Die Glycobiologie fand in der Krebsforschung lange Zeit keine Beachtung. Dafür sind heute drastische Modifikationen der Expression von Glykokonjugaten auf Tumorzellen ebenso bekannt wie die damit verbundenen biochemischen Veränderungen in der Zelle²⁶. Ausgehend von Patientendaten konnte eine Korrelation zwischen der Aberration der Glykokonjugate und dem Tumorgrad, sowie der Tendenz zur Invasion und Metastasierung erhoben werden (Tabelle 1)²⁷. Diese geht mit der Überlebensprognose einher: Eine hohe Expression bestimmter Oligosaccharidepitope konnte einer postoperativen Überlebenswahrscheinlichkeit von nur fünf bis zehn Jahren zugeordnet werden.

| Strukturelle Veränderungen | Biosynthetische Veränderungen | Strukturelle Konsequenzen | Endogene Lektine | Prognose |
|---|--|---|--|--|
| Erhöhte β 1-6 Verknüpfung | Erhöhte GNT-V Gen Expression | Vergößerung und höhere Verzweigung der Saccharidstrukturen | Galektin, Selektin | Verschlimmerung von Tumorgrad, Invasion und Metastasierung |
| Verminderte Expression an Lewis x und y | Veränderte Expression der Fucosyl Transferasen | Erhöhte Expression an sLewis x / a | Selektin | Korreliert mit einer schlechten Prognose |
| Erhöhte Sialylierung | Unbekannt | Erhöhung der negativen Aufladung der Zelloberfläche Maskierungsfunktion | E-, P-, L- Selektin, Siglecs, Sialoadhesin | Verschlimmerung von Tumorgrad, Invasion und Metastasierung |
| Erhöhte sialyl Tn Antigen Expression | Erhöhte Expression der ST6Gal I | | CD 22, Siglecs, Selektine | Korreliert mit einer schlechten Prognose |
| Erhöhte Tn Antigen Expression | Veränderte Golgi Aktivität | Erhöhter Abbau von O-Glycosiden? Verlust an Ladung | Galektin | unbekannt |
| Verminderte Saccharid-sulfatierung | Unbekannt | unbekannt | E-Selektin | Korreliert mit einer schlechten Prognose |

Tabelle 1: *Veränderte Glycosilierung von Tumorzellen: biochemische und diagnostische Relevanz*²⁷

Oligosaccharide von Tumorzellen weisen insbesondere eine erhöhte Verzweigung auf²⁸, da viele β 1-6GlcNAc verknüpfte N-Glykane auftreten. Dies hat eine Umstrukturierung der Oberfläche zur Folge, die eine vermehrte Sialylierung ermöglicht. Zu den tumorassoziierten Antigenen zählen insbesondere Glycosphingolipide, wie GM2 und GD3, das sialyl-Tn-Antigen als O-Glycan und gewisse terminale Saccharidstrukturen wie: Lewis^y, sialyl-Lewis^x und sialyl-Lewis^a, sowie 2,8- oder 2,9-verknüpfte Polysialinsäuren²⁹ (Abbildung 5).

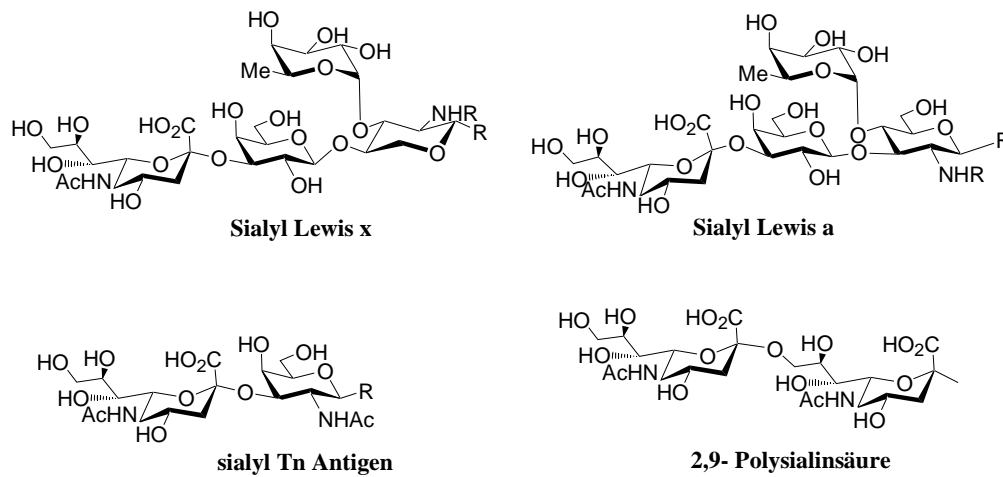


Abbildung 5: Wesentliche tumorassoziierte Antigene

In der Diagnostik ermöglichen diese Erkenntnisse bessere histologische Gewebepanalysen^{30,31}. Außerdem werden diese pathologischen Veränderungen für die Entwicklung von Tumormarkern ausgenutzt. So handelt es sich bei den meisten aktuell verwendeten Tumormarkern um spezielle Glycoproteine oder Glycolipide³²⁻³⁴. Die prominentesten Beispiele sind^{35,36} CEA, CA 125, CA 19-9, CA72-4 und CA15-3.

Die Schwierigkeiten bei der Verwendung von Glykokonjugaten als Tumormarker liegen vor allem darin, daß diese Epitope bei chronischen Entzündungen meist ebenfalls exprimiert werden und es zu Fehldiagnosen kommt. Die Frage, inwiefern die pathologische Glycosylierung eine Folge oder vielmehr ein Grund für die Krebserkrankung ist, ist noch zu klären. Die veränderte Glycosylierung ist jedoch sicher ein Schlüsselschritt in der Induktion von Invasion und Metastasierung^{37,38}.

1.3.1 Mechanismen der Tumormetastasierung

Unter Metastasierung (griech. „metastasis“= Wegzug) versteht man die Verschleppung neoplastischer Zellen auf dem Blut- oder Lymphweg von einer Körperstelle an eine andere und ihr dortiges Heranwachsen. Von mehreren tausend verschleppten Zellen siedelt sich zwar meist nur eine einzelne an, diese Fähigkeit der Metastasenbildung macht die vollständige Ausrottung eines Tumors durch Operationen, lokale Bestrahlung oder Chemotherapie aber schwierig und ist in der Regel für das Schicksal der Tumorpatienten entscheidend.

In der metastatischen Kaskade lösen sich Tumorzellen eines Primärtumors aus ihrem Verband, wandern durch das umliegende Stroma und treten dann in das vaskuläre oder lymphatische System über. Um eine Metastase in einem entfernten Gewebe bilden zu können, müssen die disseminierten Zellen im Blutgefäßsystem zunächst überleben, bevor sie nach Adhäsion an das dortige Endothel in das Organ eindringen. Viele dieser Schritte sind mit der Extravasation von Leukozyten in entzündete Gewebe vergleichbar oder auch mit der Gewebsneubildung bei der Wundheilung³⁹.

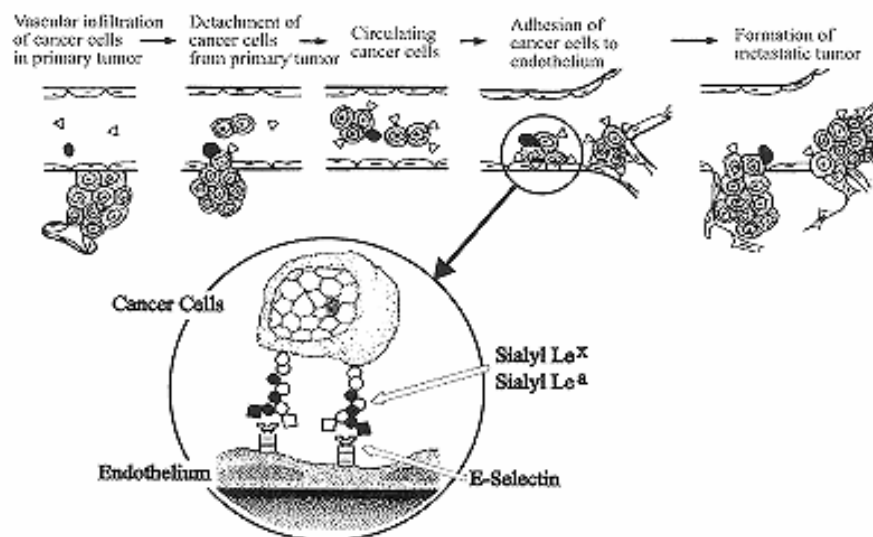


Abbildung 6: Mechanismus der sLewis^x vermittelten Metastasierung

Im frühen Stadium der malignen Progression korreliert der Verlust des Zusammenhalts einzelner Zellen im Gewebe (Epithel) mit einer erhöhten Produktion proteolytischer Enzyme. Insbesondere Matrixmetalloproteinasen führen zum Abbau der Bindung zur

extrazellulären Matrix (ECM). Für die Adhäsion metastatischer Zellen an das Endothel im zu besiedelnden Organ wird ein ähnlicher Mechanismus wie der der Leukozytenadhäsion an aktivierte Endothelien postuliert²⁴. So kommt es über sLewis^x zunächst zu einer Adhäsion an Selektine und im folgenden Schritt zur Aktivierung und Bindung an Integrine. Während des Prozesses kommt es zu einer Ausschüttung von Zytokinen, die wiederum wesentlich am Tumorwachstum und der Tumorprogression beteiligt sind.

1.4 Saccharidmimetika als potentielle Wirkstoffe

Einleitend wurde die vielfältige Bedeutung von Oligosaccharidstrukturen in biologischen Prozessen dargelegt. Obwohl sich daraus eine Vielzahl therapeutischer Anwendungen ergibt, ist die Entwicklung von Pharmazeutika auf Basis von Kohlenhydraten deutlich langsamer verlaufen als zunächst erwartet wurde. Dies liegt zum einen an pharmakologischen Schwierigkeiten: Ihre Affinität zu Proteinrezeptoren ist meist gering, bei oraler Einnahme sind sie inaktiv und ihre *in vivo* Halbwertszeit ist erfahrungsgemäß aufgrund ihrer Labilität gegenüber dem enzymatischen Abbau durch Glycosidasen begrenzt.

Aber auch die schlechte großtechnische Zugänglichkeit zu Oligosacchariden hat letztlich die Entwicklung saccharidhaltiger Pharmaka beeinträchtigt. Oligosaccharidstrukturen erweisen sich immer noch als seltene und äußerst kostspielige Substanzen. Die gentechnische Synthese von Glycoproteinen scheitert an der Heterogenität der Saccharidstruktur nach der posttranslationalen Modifikation. Die Isolierung von Glycokonjugaten ist aufgrund der komplexen Struktur der Oligosaccharide mit umfangreichen analytischen Schwierigkeiten verbunden und die Totalsynthese von Glycokonjugaten ist durch die funktionelle Homologie der Saccharide ohne eine aufwendige Schutzgruppenchemie nicht zu bewältigen. Automatisierte Verfahren⁴⁰ zur Synthese von Oligosacchariden an der Festphase^{41,42} werden zur Zeit entwickelt, ihr Durchsatz kann bislang allerdings mit dem Erfolg einer automatisierten Peptidsynthese nicht konkurrieren.

Es liegt daher nahe, Saccharidstrukturen zu vereinfachen und zu variieren, so daß die Spezifität und Wirksamkeit zu Enzymen und Lektinen im Vergleich zu den natürlichen

Sacchariden erhöht ist. Diese dem natürlichen Vorbild abgeleiteten synthetischen Kohlenhydratanaloga nennt man auch Glycosid- oder Saccharidmimetika.

Bei der Entwicklung von Saccharidmimetika ist die Struktur des Mimetikums von entscheidender Bedeutung, dennoch muß zwischen der als Vorbild dienenden Verbindung und dem entsprechenden Mimetikum nicht notwendigerweise eine strukturelle Ähnlichkeit bestehen. Entscheidend ist vielmehr eine enge Funktionsverwandtschaft.

Die genaue Kenntnis der Struktur des zu imitierenden Liganden und des angesprochenen Rezeptors ist bei der Konzeption eines Saccharidmimetikums von Bedeutung. Sind die Kohlenhydrat-Rezeptor-Wechselwirkungen bereits hinreichend bekannt, so hat sich als bevorzugter Ansatz das rationale Design von Mimetika bewährt. Dabei werden neue Strukturen ausgehend von der natürlichen Vorbildstruktur durch gezielte Modifikationen und Vereinfachungen erhalten. Nach Untersuchung der Struktur-Wirkungs-Beziehungen können dann weitere Strukturoptimierungen vorgenommen werden.

Als Alternative haben sich kombinatorische Ansätze bei der Entwicklung von Glycomimetika als sinnvoll erwiesen. Vor allem in den Fällen, in denen die Kohlenhydrat-Rezeptor-Wechselwirkungen bislang nicht vollständig aufgeklärt wurden, konnten durch entsprechende Substanzbibliotheken biologisch aktive Glycomimetika entwickelt werden.

1.4.1 Multivalente Saccharidmimetika

In biologischen Systemen werden vielfach polyvalente Bindungen beobachtet, bei denen Rezeptoren mit mehreren Liganden wechselwirken und so hochaffine Bindungen ermöglichen. Schön kann dies bei der Adhäsion von Viren oder Bakterien an humane Zellen beobachtet werden (Abbildung 7). Ebenso bilden natürliche Glycane mit ihren komplexen multiantennären Strukturen Cluster-artige Bindung zu ihren Rezeptoren aus. Durch diese Anordnung wird insbesondere die Affinität zu ihrem Rezeptor gesteigert und die Bindung verstärkt. Man spricht auch von einem Cluster-Effekt⁴³.

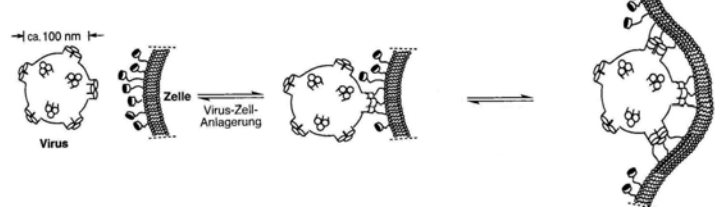
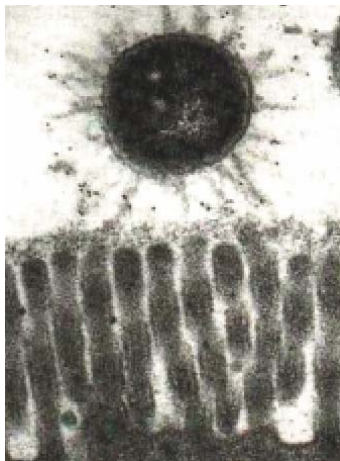


Abbildung 7: Links: Elektronenmikroskopische Aufnahme eines fimbrierten *E. coli*-Bakteriums, das an die Oberfläche einer potentiellen Wirtszelle durch Wechselwirkung seiner fimbriären Lektine mit den Kohlenhydraten der Glycocalix-Schicht der Zelloberfläche adhärirt². Oben: Schematische Darstellung der multivalenten Adhäsion eines Virus an die Wirtszelle⁴⁴.

Mit Hinblick auf den multiantennären Charakter natürlicher Oligosaccharide wurden multivalente Saccharidstrukturen entwickelt, die möglichst korrekt die natürlichen, multiantennären Glycokonjugate nachahmen, um ebenfalls eine gesteigerte Affinität zu den Zielrezeptoren zu erlangen⁴⁵. Die Vorzüge solcher polyvalenten Verbindungen sind eine erhöhte Spezifität, eine größere Stabilität des Lektin-Saccharid-Komplexes und eine Abschirmung des aktiven Zentrums, wodurch die Konkurrenz durch andere Substrate verschlechtert wird (Abbildung 8)⁴⁶. Vielfach konnte ein logarithmischer Anstieg der Bindungsaffinität an entsprechende Rezeptoren bei linearer Vergrößerung der Zuckerdichte in Glycokonjugaten beobachtet werden³. Obwohl die Inhibitionskonstanten der einzelnen Liganden des polyvalenten Inhibitors zum Teil schlechter sind als die monovalenter Inhibitoren, weisen polyvalente Inhibitoren eine deutlich erhöhte Bindungsstärke auf⁴⁴.

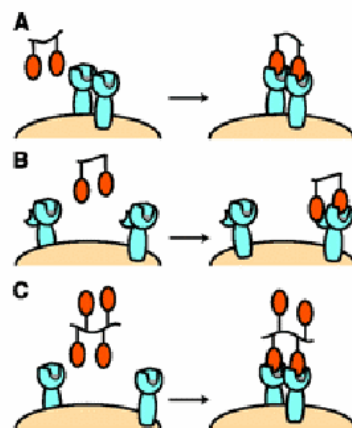


Abbildung 8: Darstellung der Bindung polyvalenter Inhibitoren an Rezeptoren: Zwei Liganden binden entweder an benachbarte Rezeptoren (A) oder an zwei verschiedene Bindungsstellen eines Rezeptors (B) und führen durch ihre Struktur zu einer Abschirmung (C)⁴⁷

Ohne genaue Kenntnis der Rezeptorstrukturen ist es schwierig, die Stereochemie multivalenter Liganden genau vorherzusagen und die einzelnen Liganden in dem Polymer strukturell optimal zu organisieren. Verschiedene Formen polyvalenter Inhibitoren wurden ausgearbeitet, wobei versucht wurde, durch Variationen der Längen von Spacern und der Anzahl Saccharide möglichst potente Verbindungen zu erhalten.

Multivalente Inhibitoren unterschiedlicher Struktur sind ausgearbeitet worden^{46,48-53} (Abbildung 9). Am bekanntesten sind wohl die ball-artig aufgebauten Dendrimere, aber auch lineare und verzweigte Strukturen konnten zum Teil durch einfache Polymerisationsreaktionen hergestellt werden. So haben sich z.B. die Saccharid und Biotin beladenen Polyacrylamidgele⁵³ von Bovin et al. als Referenzsubstanzen für ELLA-Tests (Enzyme Linked Lectin Assay) durchgesetzt. Die biologische Verwendung von multivalenten Glycokonjugaten beläuft sich bislang allerdings nur auf *in vitro* Experimente⁵⁴.

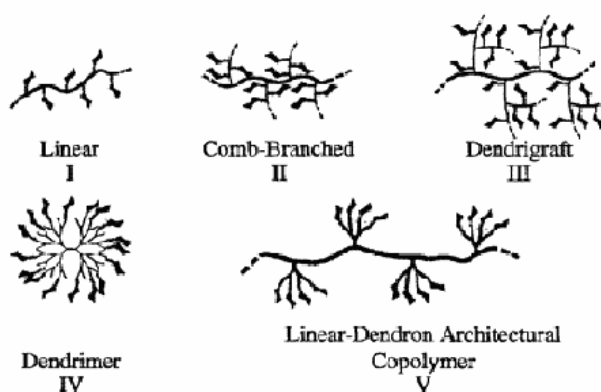


Abbildung 9: verschiedene lineare und verzweigte Polymere mit unterschiedlichen Gerüststrukturen sind entwickelt worden, oftmals werden entsprechende Monomere einfach polymerisiert. Unter den Polymeren haben sich die Dendrimere besonders hervorgetan, da sie sich generationsweise höher verzweigen lassen und die Funktionaitätenzahl vergrößern⁵².

Im Hinblick auf die besondere Bedeutung von Sialinsäure in Erkennungsprozessen und die erhöhte Expression von Sialinsäure auf Tumorzellen, sind Mimetika auf Basis von Sialinsäure besonders interessant. Sie werden benötigt um die biologischen Wechselwirkungen besser verstehen zu können und bieten eine Möglichkeit, sie zu modulieren. Zwei Leitstrukturen haben sich dabei hervorgetan: die Sialinsäure selbst und das Tetrasaccharid sLewis^x.

1.4.2 Mimetika der Sialinsäure

Zur gezielten Inhibition von Enzymen, wie den Glycosidasen, haben sich Mimetika einzelner Monosaccharide besonders bewährt. Die wirkungsvollsten kompetitiven Inhibitoren imitieren den Übergangszustand der katalysierten Reaktion, da die Bindung an das Enzym in dem Moment am stärksten ist. Prominente Beispiele hierfür sind Sialinsäuremimetika^{55,56}, die z.B. zur Bekämpfung von Infektionen durch das Influenza Virus entwickelt wurden.

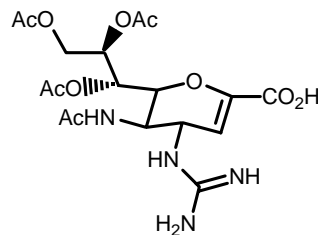


Abbildung 10: Struktur von Zanamivir, einem bei Influenza eingesetzten Wirkstoff

Das virale Adhäsionsprotein Hämagglutinin und die Sialidase erkennen Sialinsäuren der Wirtszelle und nutzen sie zur Bindung. Sialidaseinhibitoren können so durch eine affine Bindung an die Sialidase, die Bindung des Influenzavirus an die Wirtszelle unterbinden. In klinischen Tests hat sich Zanamivir⁵⁷ (GlaxoSmithCline) als Wirkstoff durchgesetzt und ist seit 3 Jahren auf dem Markt (Abbildung 10).

1.4.3 Sialyl Lewis x Mimetika

Mimetika von Oligosaccharidstrukturen sollen die Bindung von Lektinen an Glycoproteine und Glycolipide unterbinden. Da Lektine im Vergleich zu Enzymen keine Reaktionen katalysieren, sondern lediglich eine Erkennungs- und Bindungsfunktion innehaben, können Mimetika hier keinen Übergangszustand imitieren. Man versucht, die Struktur der Oligosaccharide vereinfacht und verbessert darzustellen und so bei der Bindung mit dem natürlichen Substrat zu konkurrieren.

Aufgrund der großen Bedeutung des Tetrasaccharides sLewis^x bei Infektionskrankheiten und bei der Metastasierung sind Mimetika dieser Saccharidstruktur als mögliche

Therapeutika sehr gefragt. Mitte der 80er Jahre wurden die Struktur und die Totalsynthese von sLewis^x erstmals publiziert⁵⁸.

Durch Cokristallisation von E-Selektin und sLewis^x konnten Shaw et al. die Wechselwirkungen auf molekularer Ebene belegen⁵⁹: sLewis^x wird Calcium-abhängig an die Proteine koordiniert, die restlichen Wechselwirkungen stellen Wasserstoffbrücken und van der Waals-Wechselwirkungen zwischen dem Saccharid und dem Lektin dar. Die Hyperfläche der Wechselwirkungen ist im Vergleich zum gesamten Volumen des Saccharids gering (Abbildung 11).

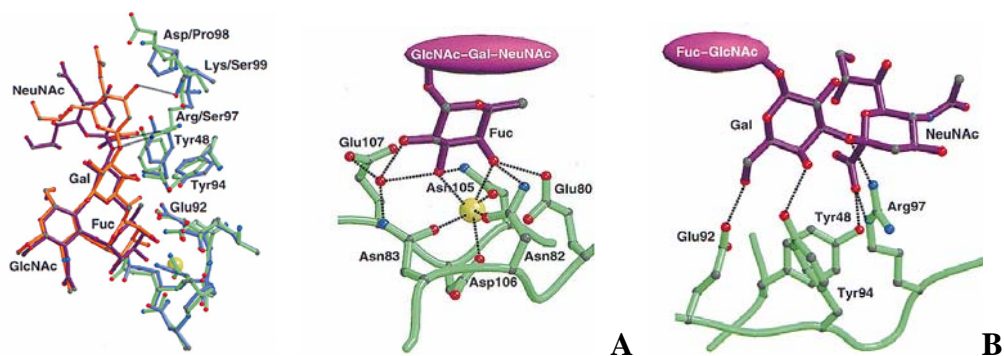


Abbildung 11: Wechselwirkung von E-Selektin an sLewis^x⁵⁹

Die Hauptwechselwirkung stellt die Calcium-abhängige Bindung der Hydroxylgruppen an C3 und C4 der Fucose dar (A), die Hydroxylgruppe an C2 der Fucose bindet an Glutamin, die Galactose des Tetrasaccharides bindet an Tyrosin und Glutamin, die Carbonsäure der Sialinsäure bindet schließlich an Tyrosin und Arginin (B). Einige dieser Erkenntnisse waren vorher durch empirische Variation der Saccharidmimetika bekannt. Die kristallographischen Aufnahmen verdeutlichen aber, warum strukturell vereinfachte Saccharidmimetika durchaus auch eine gute Inhibition erreichen können. In Abbildung 12 sind die an der Bindung von sLewis^x beteiligten funktionellen Gruppen noch mal dargestellt.

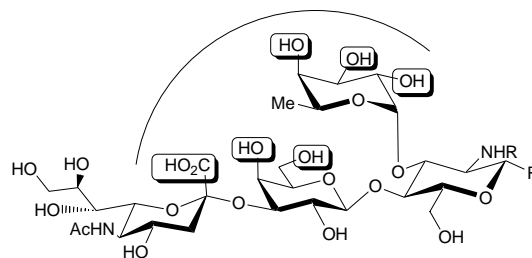


Abbildung 12: Schematische Darstellung der wechselwirkenden Gruppen von sLewis^x

Verschiedene sLewis^x-Mimetika sind synthetisiert worden, die dabei verfolgten Ansätze sind vielfältig⁶⁰⁻⁶⁴. Syntheseoptimierungen werden bis zum heutigen Tage noch durchgeführt⁶⁵. Ein Durchbruch dahin gehend, daß ein Mimetikum als Wirkstoff auf den Markt gebracht werden konnte, ist noch nicht erreicht, die Firma Revotar befindet sich derzeit mit einem Antiasthmatikum auf sLewis^x-Basis in der Klinischen Stufe II.

Einige spezielle Mimetika sind als Beispiele in Abbildung 13 dargestellt. An fast allen funktionellen Gruppen wurden Modifikationen durchgeführt, wozu das Weglassen ganzer Monosaccharide und der Austausch der Hexosen durch andere zyklische oder gar lineare Systeme gehört.

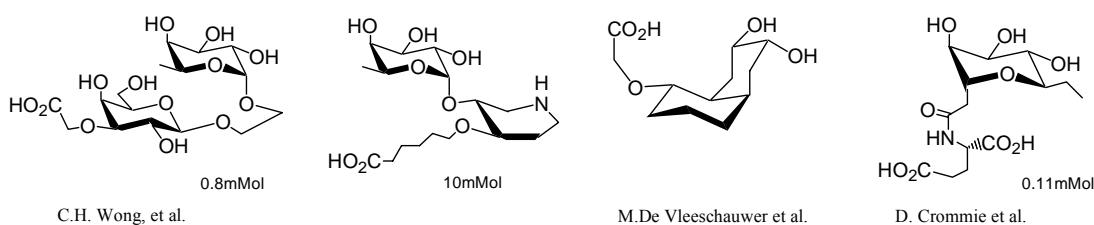


Abbildung 13: Einige Beispiele für sLewis^x Mimetika^{62,66}

Das zentrale Glucosamin, das Core des Tetrasaccharides, ist nur begrenzt für die Struktur wichtig, da E-Selektin sowohl sLewis^x als auch das Diastereomer sLewis^a erkennt. Demgemäß wurde dieses Saccharid bei vielen Mimetika durch andere Corestrukturen, durch billigere und weniger funktionalisierte Gruppen, wie z.B. Bishydroxycyclohexan, Glycale oder lineare Strukturen, ausgetauscht. Auch die Galactose wurde entweder gestrichen oder durch Linker ersetzt.

Da sich die Fucose als essentiell für die Bindung an die Selektine erwiesen hat, wird sie in der Regel nicht ersetzt. Die Sialinsäure hingegen ist ein sehr teures Saccharid und wird oft durch andere, wesentlich günstigere funktionelle Gruppen ausgewechselt⁶⁷, die meist nur die Carbonsäure der Sialinsäure⁶⁸ oder sogar nur ihre negative Ladung imitieren.

1.5 Besonderheiten der Kohlenhydratchemie

Die synthetische Kohlenhydratchemie hat in den letzten 20 Jahren einen exponentiellen Zuwachs erlebt, um Oligosaccharide für bestimmte biologische Fragestellungen bereitzustellen. Die wesentliche Herausforderung der Kohlenhydratchemie ist die Ausbildung der glycosidischen Bindung unter hoher Regio- und Stereoselektivität, um der natürlichen Selektivität nahe zu kommen. Die chemische Synthese der Oligosaccharide basiert auf der Glycosilierungsreaktion, bei der zwei verschiedene Bausteine durch eine Glycosidbindung verknüpft werden. Bei der Glycosilierung reagiert ein aktivierter Donor am anomeren Zentrum mit einer Hydroxylgruppe eines vollständig oder teilweise geschützten Akzeptors (Abbildung 14).

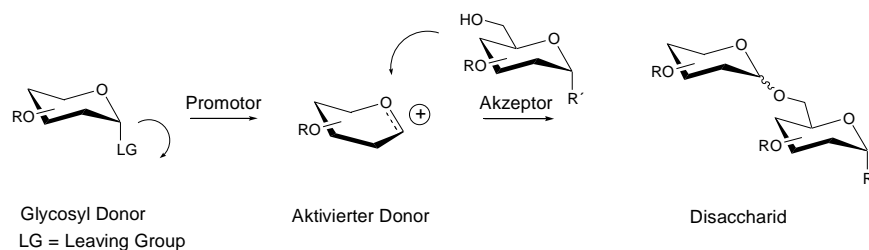


Abbildung 14: Die Glycosilierungsreaktion

Erhält man ein α/β -Gemisch, so müssen die Diastereoisomere über verschiedene Aufreinigungsmethoden (wie Chromatographie, Kristallisation...) getrennt werden. Erfolgreiche Glycosilierungen zeichnen sich allerdings durch eine hohe Stereoselektivität aus.

Die älteste Glycosilierungsmethode wurde von *König* und *Knorr* 1901 veröffentlicht⁴³ und wird als *Königs-Knorr-Methode* bezeichnet. Sie ist vielfach variiert worden und stellt eine noch immer gebräuchliche Methode dar. Als Glycosyldonoren werden hier Halogenide der Kohlenhydrate mit verschiedenen Silbersalzen aktiviert (Abbildung 15). Vornehmlich werden Chloride und Bromide, neuerdings allerdings auch vermehrt Fluoride als Glycosyldonoren eingesetzt.

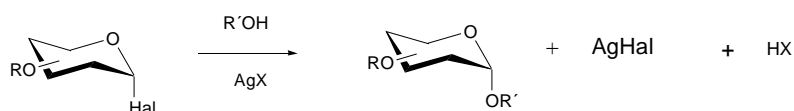


Abbildung 15: Königs-Knorr-Glycosilierung

Um eine Stereokontrolle dieser S_N2 -Reaktion zu erzielen, wird bei der Königs-Knorr-Methode bei tiefen Temperaturen und mit Lösungsmitteln mit geringer Nukleophilie (CH_2Cl_2 , Cyclohexan, Petrolether) glycosiliert. Diese Methode hat in vielen Fällen zu ausgezeichneten Ergebnissen geführt, so konnten u. a. die Blutgruppenderminaten A, B, Le^a synthetisiert werden. Der Hauptnachteil dieser Methode besteht allerdings darin, daß mindestens stöchiometrische Mengen an Silbersalzen eingesetzt werden müssen und daß die Kohlenhydrathalogenide relativ instabil sind.

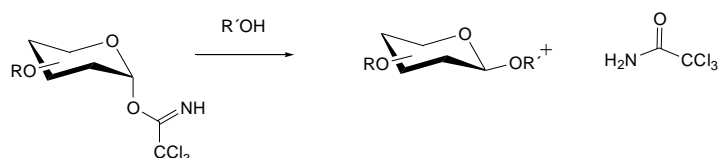


Abbildung 16: Trichlorimidat-Methode

Eine universelle Methode stellt die *Schmidt'sche Trichloracetimidat-Methode* dar⁶⁹. Hier wird ein anomeres Imidat mittels katalytischen Mengen an Lewis-Säuren, wie BF_3 -Etherat und TMSOTf , aktiviert (Abbildung 16). Trichloracetimide werden leicht aus den anomeren Alkoholen durch Umsetzung mit Trichloracetonitril unter basischen Bedingungen (wie NaH , DBU oder K_2CO_3) erhalten. Diese Methode ist wesentlich milder und selektiver als die Königs-Knorr-Methode, so daß sie heute oft zur Synthese komplexer Oligosaccharide eingesetzt wird.

Als weitere aktivierbare Abgangsgruppe werden Thioglycoside⁴³ eingesetzt (Abbildung 17). Sie können relativ einfach aus den peracetylierten Verbindungen hergestellt und mittels milder thiophiler Reagenzien aktiviert werden. Hierzu zählen z.B. DMTST , NIS , IDCP (Iod dicollidinperchlorat) in Verbindung mit Triflaten.



Abbildung 17: Thioglycosid-Methode

1.5.1 Stereokontrolle der anomeren O-Glycosilierung

Die Stereoselektivität der Glycosilierung hängt von verschiedenen Effekten ab, dazu gehören rein enthalpische, aber auch Einflüsse des Lösungsmittels und der verwendeten Schutzgruppen.

Anomerer Effekt⁷⁰: Als anomeren Effekt bezeichnet man den energetischen Unterschied zwischen α - und β -Glycosid durch die Wechselwirkung der Bindung mit dem Sauerstoff-orbital. Das α -Glycosid ist das kinetisch kontrollierte und wird bei tieferen Temperaturen als erstes gebildet, während das β -Derivat das thermodynamisch stabilere Produkt darstellt und daher bei höheren Temperaturen nach längerer Reaktionszeit vermehrt erhalten wird.

Nachbargruppen Effekt⁷⁰: Werden als Schutzgruppen in 2-Position Acylschutzgruppen verwendet, so wird eine *trans*-Glycosilierung in Bezug auf die 2-Position bevorzugt. Der Acylsauerstoff bildet im Übergangszustand ein Acyloxoniumion aus, so daß der Angriff des Alkohols im Sinne einer S_N2 -Reaktion von der Gegenseite erfolgt.

Ether und Nitrileffekt⁷¹: Die Auswahl des Lösungsmittels spielt bei der Stereokontrolle der Glycosilierung ebenfalls eine wesentliche Rolle. Normalerweise verläuft die Glycosilierung in unpolaren Lösungsmitteln nach S_N2 -Bedingungen. Verwendet man allerdings Diethylether, so verläuft die Reaktion unter S_N1 -Bedingungen. Dabei wird aufgrund eines reversen anomeren Effektes ein äquatoriales Oxoniumion erzeugt, welches dann die Bildung von α -Glycosiden bevorzugt. Etwas komplizierter, aber auf demselben Prinzip beruhend wird dieser Effekt auch bei Nitrilen beobachtet.

1.5.2 Besonderheiten der Glycosilierung der Sialinsäure

Zur Synthese von sialinsäurehaltigen Oligosacchariden, wie sLewis^x oder verschiedenen Polysialosiden, sind Glycosilierungsmethoden erforderlich, mit denen sich Neuraminsäure und ihre Derivate in hoher Regio- und Stereoselektivität an Saccharide anknüpfen lassen.

Glycoside der Neuraminsäure können nur bedingt mit denselben Glycosilierungsmethoden wie Hexosen dargestellt werden, da die Glycosilierung an einem sterisch gehinderten tertiären Oxocarbeniumion stattfindet und mit der Carboxylgruppe an C1 einer zum Teil bevorzugten 2,3-Eliminierung zum Glycal gegenübersteht. Die Stereoselektivität ist des

weiteren beeinträchtigt, da aufgrund der Deoxyfunktion an C3 kein Nachbargruppeneffekt ausgenutzt werden kann.

Die erfolgreichsten Sialinsäuredonoren sind daher bei Hexosen eher ungewöhnliche Aktivierungen, während sonst bei Hexosen gut etablierte Glycosilierungsmethoden, wie die Imidatmethode, bei der Glycosilierung der Sialinsäure keine signifikante Rolle spielen. Als „direkte O-Sialylierung“ bezeichnet man die Methoden, bei denen in einem synthetischen Schritt ein Glycosylakzeptor mit einem Sialinsäuredonor umgesetzt wird (Abbildung 18).



Abbildung 18: direkte Sialinsäureglycosilierung

Die erste erfolgreiche Glycosilierung wurde analog zur Königs-Knorr-Methode mit der 2-Chloro-Verbindung der Sialinsäure durchgeführt. Sie stellte von 1960 bis 1980 die meist verwendete Methode dar und wird auch heute noch zur Umsetzung mit einfachen Alkoholen verwendet. Bromide und Fluoride hingegen liefern nur enttäuschende Ergebnisse.

Die Chloride sind relativ leicht aus der Acetylverbindung durch Umsetzung mit HCl/AcCl, TiCl₄ oder AcCl/MeOH erhältlich, allerdings sind sie nur begrenzt stabil. Die Aktivierung der Chloride erfolgt klassisch nach Königs-Knorr mit Ag₂CO₃ oder mit Quecksilbersalzen wie Hg(CN)₂ oder HgBr₂, viele andere Aktivatoren vor allem milde Lewis Säuren haben sich ebenfalls als erfolgreich erwiesen (ZnBr₂, SnCl₂, Sn(OTf)₂, ZnI₂, u.a.)⁷².

Für komplexere Glycosilierungen haben sich 2-Thioalkyle⁷³, Xanthogenate⁷⁴ und Phosphite⁷⁵ durchgesetzt (Abbildung 19).

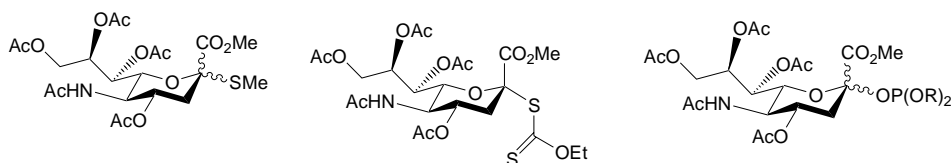


Abbildung 19: Sialinsäuredonoren

Gerade Thioalkyle und Thioaryle sind inzwischen die am meisten eingesetzten Donoren für die Synthese von sialinsäurehaltigen Oligosacchariden. Sie können unter milden Bedingungen durch thiophile Aktivatoren, wie Trifluormethansulfonsäure (MeOTf), Dimethyl(methylthio)sulfoniumtrifluormethansulfonat (DMTST), N-Jodsuccinimid/Trifluormethansulfonsäure (NIS/TfOH) aktiviert werden⁵⁸. Das 2-Thiomethylderivat ist vor allem aufgrund seiner leichten Zugänglichkeit, einer guten Stabilität und einer breiten Einsetzbarkeit ein vielfach verwendeter Donor. Es kann aus der 2-O-Acetylverbindungen mit Methylthiotrimethylsilan (TMSSMe) quantitativ als 1/1 α/β -Mischung erhalten werden.

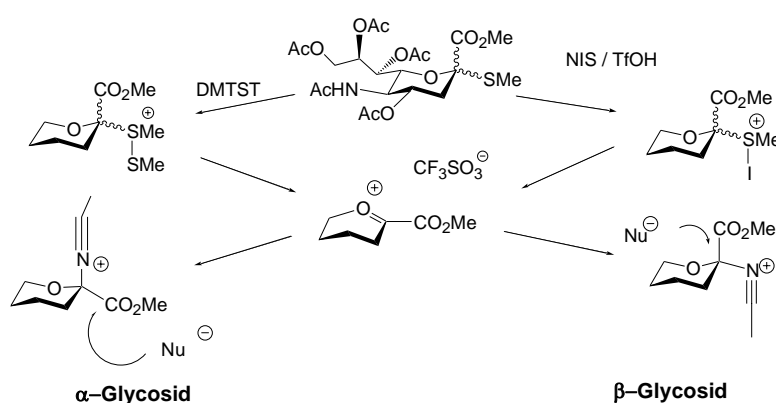


Abbildung 20: Aktivierung von Thiomethylendonoren mit NIS oder DMTST⁷⁶

Die beste α -Selektivität erhält man in diesem Fall bei der Umsetzung einer 2,3,4-ungeschützten Galactose mit DMTST in Acetonitril bei tiefen Temperaturen. Acetonitril wirkt dann im Sinne eines Nitrileffektes dirigierend (Abbildung 20).

Indirekte Methoden erzielen eine O-Sialylierung über mehrere Stufen und beinhalten meist eine Modifizierung des Sialinsäuredonors an C3^{77,78} oder der Aminofunktion⁵⁰ der Sialinsäure, um die Reaktivität zu erhöhen (Abbildung 21).

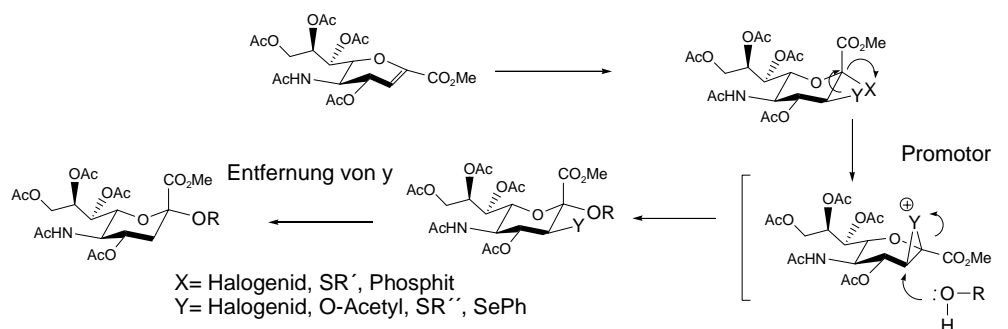


Abbildung 21: Indirekte Sialylierung durch Aktivierung von C3⁷⁶

Die indirekte Glycosilierung liefert je nach System sehr unterschiedliche Ergebnisse, und die Ausbeuten sind über alle Stufen gezählt bislang nicht wesentlich besser als bei der direkten Glycosilierung.

1.5.3 Analytik komplexer Saccharidstrukturen

Zur Analytik komplexer Saccharidstrukturen hat sich vor allem die NMR-Spektroskopie durchgesetzt, da die Protonen der Kohlenhydrate durch die Verschiebungen, die Intensitäten und die Kopplungskonstanten Aussagen über die Struktur liefern. Neben den eindimensionalen ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren wird vermehrt die zweidimensionale Spektroskopie eingesetzt. Dabei unterscheidet man vor allem zwischen H,H-COSY-, C,H-COSY - und ^1H -NOESY-Spektren.

Bei der H,H-COSY (correlated spectroscopy) -Spektroskopie werden chemischen Verschiebungen der Protonen in zwei Dimensionen korreliert. So können überlagerte Signale besser aufgetrennt und Nachbarschaftsbeziehungen verschiedener Protonen leichter abgelesen werden.

Bei der C,H-COSY-Spektroskopie werden die Verschiebungen der Protonen mit denen der Kohlenstoffatome in zwei Dimensionen korreliert, was eine Zuordnung Position der Protonen erleichtert.

Die ^1H -NOESY- Spektroskopie basiert auf dem „nuclear Overhauser effect“. Diese spektroskopische Methode mißt Dipol-Dipol-Wechselwirkungen zwischen den im Raum verteilten Protonen. Wechselwirkungen werden dabei nur gemessen, wenn der Abstand zwischen zwei Protonen weniger als 3Å beträgt. Über die Intensität der Wechselwirkung kann eine Aussage über den Abstand zweier Protonen getroffen werden. Diese Methode wird vor allem zur Analyse der Konfiguration und Konformation der Verbindungen verwendet.

2 Aufgabenstellung

Wie eingangs dargelegt, spielen Lektin-Saccharid-Interaktionen eine entscheidende Rolle bei der Adhäsion von Zellen. Sie liefern einen enormen Pool an fein abgestimmten Wechselwirkungen und sind deshalb maßgeblich an regulatorischen Prozessen beteiligt⁷⁹. Einige Lektin-Saccharid-Interaktionen sind ausführlich charakterisiert worden, von vielen endogenen Lektinen kennt man die natürlichen Bindungspartner jedoch nicht. Oligosaccharidmimetika als einfache zugängliche synthetische Liganden liefern eine Möglichkeit, diese Wechselwirkungen zu untersuchen und gegebenenfalls zu inhibieren.

Im ersten Teil dieser Arbeit sollten Glycosidmimetika zur Inhibition von Virus-Zell-Wechselwirkungen dargestellt werden.

Viren haben im Gegensatz zu humanen Zellen eine sehr definierte Oberfläche und weisen keine eigene Glycosilierung auf. Sie binden über ihre Oberflächenlektine an sialylierte Glycolipide oder Glycoproteine des Wirts. Damit eignen sie sich besonders gut, um Lektin-Saccharid-Interaktionen zu analysieren. Am Beispiel des Polyomavirus sollten als Modellstudie verschiedene Inhibitoren synthetisiert und deren Bindungseigenschaften getestet werden. Es ist bekannt, daß multivalente Inhibitoren zu einer Verstärkung der sonst schwachen Lektin-Saccharid-Interaktion führen. Allerdings ist oftmals unklar welche strukturellen Eigenschaften solch ein multivalenter Inhibitor aufweisen muß, um tatsächlich zu einer Bindungsverstärkung zu führen. Unter Berücksichtigung der Kristallstruktur des Kapsidproteins pv1 sollten daher unter dem Aspekt eines rationalen Designs „optimierte“ multivalente Liganden entwickelt werden. Da zwischen einzelnen viralen Lektindomänen auf dem Kapsid große Abstände liegen, sollten Saccharidmimetika mit langkettigen, rigiden Linkern auf Basis von Carotinoiden synthetisiert werden.

Im zweiten Teil der Arbeit sollten Glycosidmimetika synthetisiert werden, die die Untersuchung und die Inhibition der Adhäsion von metastasierenden Zellen ermöglichen.

Saccharidmimetika in Form einer Substanzdatenbank gestatten eine systematische Untersuchung von Lektin-Saccharid-Interaktionen.

Daher sollten Saccharidmimetika aus leicht handhabbaren und gut zugänglichen Bausteinen synthetisiert werden. Als Gerüst der Mimetika sollte Furane dienen. Durch eine Variation der Substitutionsmuster am Furan-Core und die Verwendung unterschiedlicher

Saccharide sowie weiterer Modifikationen sollten einfache Saccharidmimetika mit einer möglichst großen Diversität dargestellt werden. Ein spezieller Schwerpunkt sollte auf sialinsäurehaltige Glycosidmimetika und von sLewis^x abgeleiteten Strukturen gelegt werden, um tumorassoziierte Saccharidmimetika darzustellen.

Durch Einführung von Biotin oder Fluoreszenzmarkern sollten desweiteren Saccharidmimetika zur Verfügung gestellt werden, die eine Visualisierung und Quantifizierung von Lektin-Saccharid-Wechselwirkungen ermöglichen.

3 Ergebnisse

3.1 Glycosidmimetika zur Inhibition von Virus-Zell-Wechselwirkungen

Wie einleitend dargestellt, sind polyvalente Glycosidmimetika befähigt, die relativ schwachen Wechselwirkungen der Protein-Saccharid-Interaktion zu potenzieren und so zu hoch affinen Inhibitoren zu werden. Allerdings erreichen multivalente Inhibitoren ausschließlich dann eine hohe Bindungsaffinität, wenn sie tatsächlich auch an mehrere Bindungsstellen des Proteins binden können. Dendrimere und beladene Polyacrylamidgele haben sich als multivalente Inhibitoren bewährt, da sie eine Vielzahl an Sacchariden mit einer möglichst großen konformationellen Freiheit zur Bindung anbieten. Allerdings stellt diese willkürliche Bereitstellung von Sacchariden eine „Verschwendung“ an Bindungspartnern dar, zumal meist nur ein Bruchteil der Saccharide an den Bindungen beteiligt sind und eine Bestimmung der tatsächlichen bindenden Saccharide nicht definierbar ist. Zur Synthese effizienter multivalenter Saccharidmimetika bietet sich der Ansatz des „**rationalen Designs**“ an, d.h. daß Liganden passend zu den entsprechenden Rezeptoren konzipiert werden. Dieser Ansatz ist gerade bei Viren besonders vielversprechend, da Viren weit weniger komplex sind als Bakterien oder gar humane Zellen. Dies betrifft nicht nur ihre genetische Information und die intrazellulären Vorgänge, sondern vor allem auch den extrazellulären Aufbau. Viren bestehen aus einem definierten Kapsid und enthalten nur wenige definierte Bindungsproteine. Oftmals sind die Kristallstrukturen der viralen Kapside aufgeklärt, so daß Bindungsstellen für Saccharide genau lokalisiert werden können. Dies bietet die Möglichkeit, Inhibitoren so zu synthetisieren, daß sie sich genau in die Bindungsstellen einpassen. Anhand des Kapsids von HPV1 sollte ein Ansatz des rationalen Designs für neuartige multivalente Saccharide getestet werden.

3.1.1 Polyoma - ein Tumorigen

Polyomaviren sind kleine nicht maligne DNA-Tumorigen, die bei Tieren und Menschen auftreten. Das Polyomavirus besteht aus 72 identischen Kapsomeren (VP1-Protein-Pentameren)²⁵, die jeweils fünf Bindungstaschen für Sialinsäurereste enthalten und deren Röntgenstruktur aufgeklärt ist (PDB-Code: (PyV) 1VPS, 1VPN). Das Virus enthält etwa 360 Bindungsstellen für Sialinsäure (Abbildung 23). Da die genauen Abstände und Anordnungen der Sialinsäuren durch die Kristallstruktur bekannt sind, lassen sich die Eigenschaften von potenten Inhibitoren anhand von Berechnungen gut vorhersagen. Desweiteren ist das Kapsid in Milligramm Mengen für Bindungstests zugänglich.

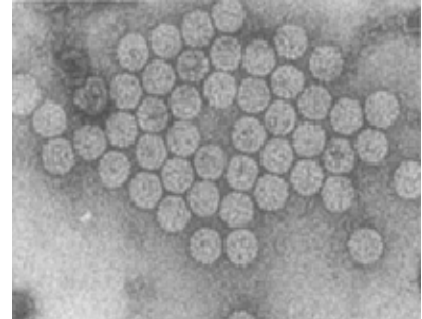


Abbildung 22: Polyomaviren

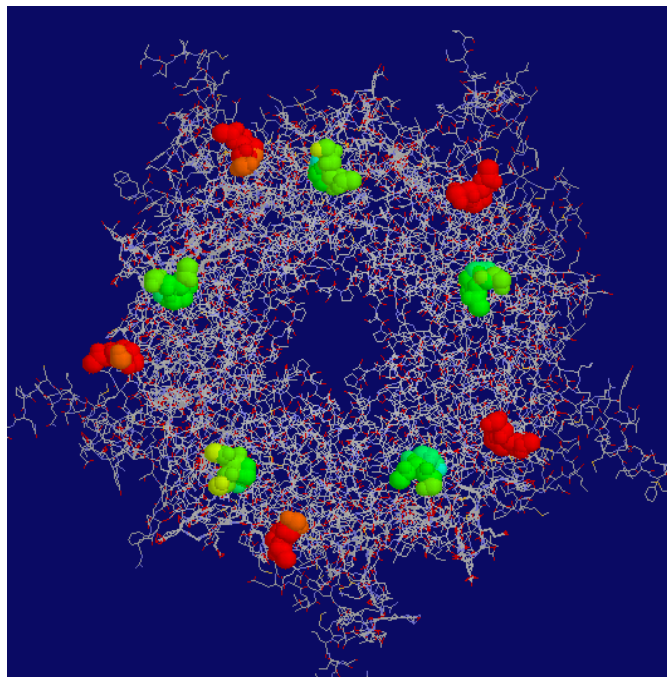


Abbildung 23: Kristallstruktur des Polyoma Kapsidproteins PV1. Grün und rot sind die Bindungsstellen von Sialinsäure auf einem Protein.

3.1.2 Multivalente Glycomimetika mit rigiden Linker

Das Kapsidprotein PV1, ein Pentamer, weist fünf Bindungsstellen für Sialinsäure mit einer Entfernung von 30Å zueinander auf. Auf molekularer Ebene betrachtet ist diese Distanz für einen Inhibitor beachtlich. Sollen die Bindungsstellen abgedeckt werden, so muß beachtet werden, daß sich Linker mit großer Flexibilität zusammenknäueln, um den Zustand der minimalen Enthalpie und größten Entropie einzunehmen. Als Linker müssen daher entweder wesentlich längere Polymere oder rigide Linker verwendet werden, die diese Distanz tatsächlich überbrücken.

Betrachtet man sich hierzu zunächst einmal die Strukturen der Naturprodukte, so stellt sich die Verwendung von Carotinoiden als interessanter Ansatzpunkt zur Synthese von langkettiger Saccharidmimetika heraus.

Carotinoide sind Naturprodukte, deren Grundgerüst aus acht Isopren-Einheiten besteht⁸⁰. Die Farbigkeit der Carotinoide (zumeist gelb, orange oder rot) beruht auf ihrer Polyen-Struktur mit (meist) 11–12 konjugierten Doppelbindungen. Im pflanzlichen Organismus dienen Carotinoide als Lichtfilter und sind an der Energieübertragung bei der Photosynthese beteiligt. In Blütenblättern und Früchten haben Carotinoide als Lockfarben für Tiere Bedeutung. Wichtig ist ihre Funktion als Provitamine für den tierischen Organismus, so sind Carotinoide Vorstufen des Retinals und damit von Bedeutung für den Sehprozeß. Viele Riechstoffe können desweiteren als Abbauprodukte von Carotinoiden angesehen werden. Wegen ihrer physiologischen Unbedenklichkeit sind zahlreiche Carotinoide als Nahrungsmittelfarbstoffe⁸¹, in der Kosmetik und als Futtermittelzusatz in Gebrauch. Die Antioxidans-Wirkung der Carotinoide wird außerdem für Prophylaxe und Therapie bestimmter Krebserkrankungen genutzt^{82,83}.

Obwohl durchaus auch andere Substanzklassen als rigide Linker denkbar sind, stellen Carotinoide für die Synthese von multivalenten Linkern ideale Ausgangsmaterialien dar. Sie sind in der Regel nicht zytotoxisch, werden in vielfältiger Form bereits großtechnisch synthetisiert, und weisen aufgrund ihres Systems an konjugierten Doppelbindungen eine große Rigidität auf. Chemisch gesehen bietet gerade das konjugierte System die Möglichkeit, die Carotinoide via Wittig-Reaktion⁸⁴ vielfältig zu derivatisieren.

Angepaßte multivalente Inhibitoren für Polyomaviren auf Basis von Carotinoiden sollten eine Länge von etwa 30Å einnehmen und an beiden Enden Sialinsäuren tragen. Dies entspricht einer Carotinoidkette von etwa 15 konjugierten Doppelbindungen (d.h. aus etwa 40 Kohlenstoffatomen). Strukturen analog zu den Verbindungen **A** oder **B** sind denkbar (Abbildung 24).

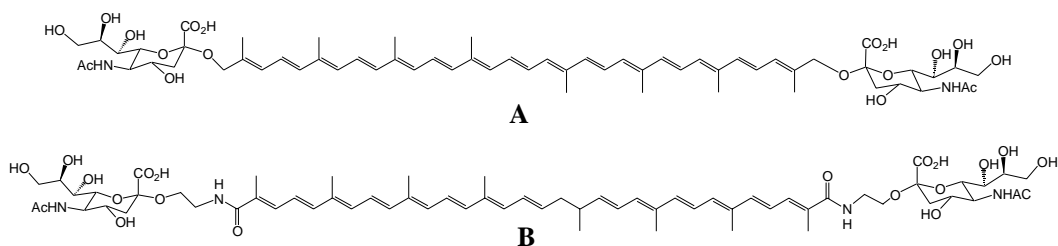


Abbildung 24: Mögliche Zielstrukturen für rigide multivalente Saccharidmimetika

Unterschiedliche Anbindungen für Sialinsäure, wie die direkte Glycosilierung oder die Bildung von Amidbindungen, sind mögliche Ansatzpunkte für die Synthese. Die Verknüpfung von Sialinsäure über die freie Säure eines Carotinoids liefert die Möglichkeit, bewegliche Linker unterschiedlicher Längen einzufügen, die den Inhibitoren (Molekül **B** entsprechend) eine geringfügige Flexibilität gewähren.

3.1.3 Syntheseansätze

Im Vordergrund für den Aufbau langkettiger Saccharidmimetika stand zunächst die Synthese entsprechend langer Carotinoide. Hierzu wurden vier Chemikalien von der Firma BASF zur Verfügung gestellt: Crocindial **1** und Crocetindial **2**, sowie das Wittig-Reagenz **3** und das Wittig-Horner-Reagenz **4** (Abbildung 25).

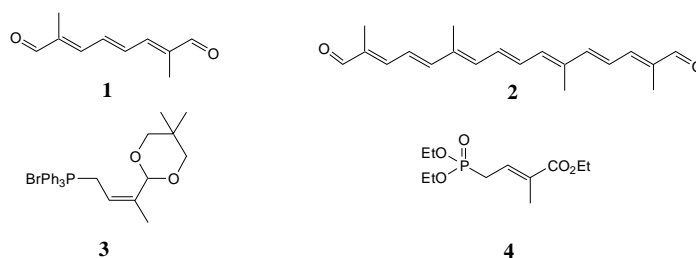


Abbildung 25: Ausgangsmaterialien für die Linkersynthese

Die Umsetzung von Crocetindial **2** mit Phosphonat **3** im Sinne einer Wittig-Reaktion lieferte 86% C30-Dialdehyd **5**. Die weitere Reaktion lieferte C40-Dialdehyd **9** zu 76% (Abbildung 26). Neben den all-trans Verbindungen entstehen die beiden cis-trans Isomere als Nebenprodukte, die jedoch chromatographisch abgetrennt werden können. Die Chromatographien verlaufen am Besten mit reinem Chloroform, da die Produkte in anderen Lösungsmitteln auskristallisieren.

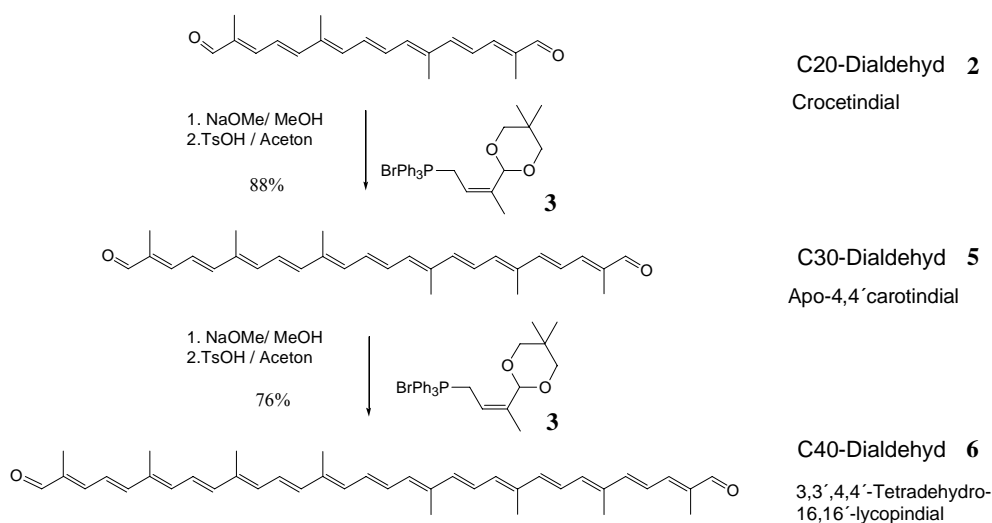


Abbildung 26: Aufbau der Carotinoideketten per Wittig-Reaktion

Mit zunehmender Kettenlänge wurde die Aufreinigung schwieriger, da die Dialdehyde ein ähnliches Chromatographieverhalten aufweisen. Die Farbverschiebung wird mit zunehmender Kettenlänge geringer, so daß eine visuelle Unterscheidung der längeren Ketten nicht mehr möglich ist. Crocindial **1** ist in Chloroform hell gelb, Crocetindial **2** rot, Apo-4,4'-carotindial **5** ist violett und 3,3',4,4'-Tetrahydro-16,16'-lycopindial **6** lila.

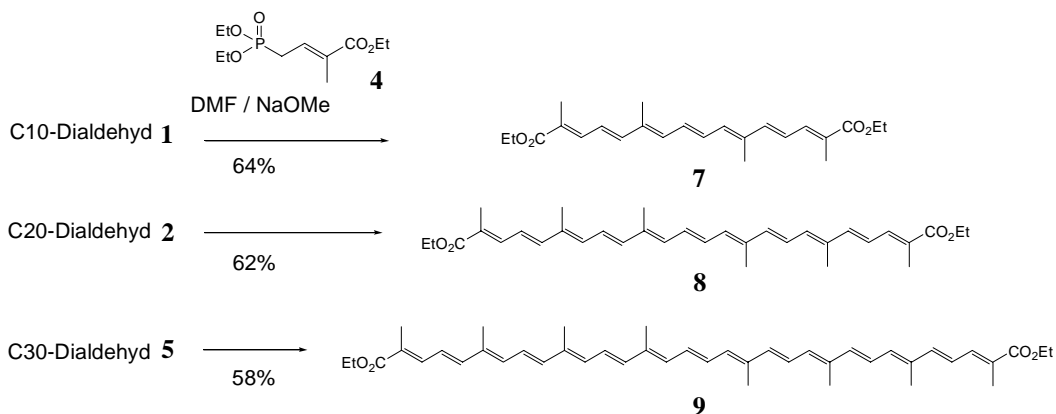


Abbildung 27: Synthese der Diester **7**, **8** und **9** per Wittig-Horner-Reaktion

Setzt man Crocindial **1**, Crocetindial **2** und Apo-4,4'-carotindial **5** im Sinne einer Wittig-Horner-Reaktion mit dem Phosphonat **4** in DMF bei 0°C mit NaOMe um⁸⁵, so erhält man die Verbindungen **7**, **8** und **9** mit 64%, 62% und 58% Ausbeute (Abbildung 27).

Nach vollständiger Reaktion (24h bei RT) wird die DMF-haltige Reaktionslösung mit Methanol versetzt und angesäuert, wobei das Produkt auskristallisiert. Aufgrund des Natriummethanolates kann es als Nebenreaktion zu einer Umesterung zum Dimethylester kommen. Allgemein verlaufen die Reaktionen wie in der Literatur⁸⁶ beschrieben gut, mit zunehmender Kettenlänge wird die Abtrennung des Phosphinoxides schwieriger.

Damit konnten in einem ersten Schritt Carotinoide unterschiedlicher Länge und Funktionalität aufgebaut werden. Um die erhaltenen Carotinoide im nächsten Schritt mit Sacchariden konjugieren zu können, wurden sie umfunktionalisiert. Die Dialdehyde wurden hierfür zunächst zu Dialkoholen reduziert, um sie als Akzeptoren in einer Glycosilierung zu verwenden.

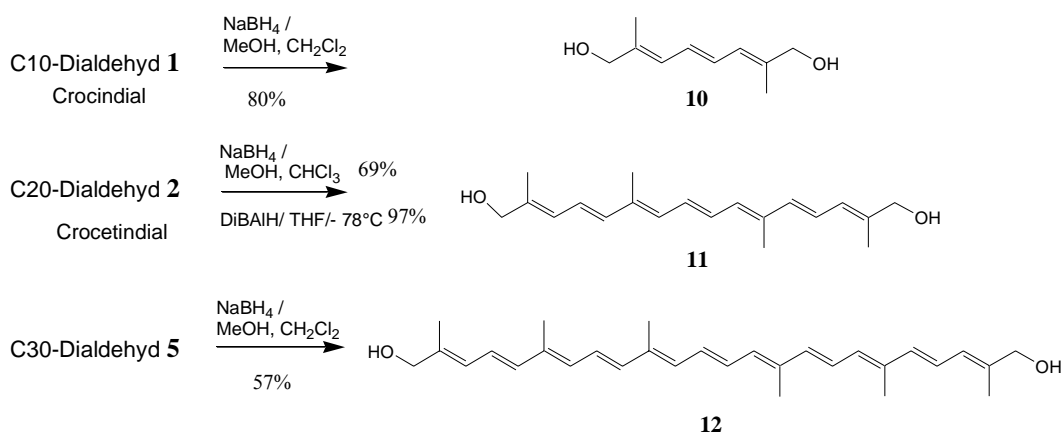


Abbildung 28: Reduktion der Aldehyde zu Diolen

Setzt man Crocindial **1** mit NaBH₄ in MeOH und CH₂Cl₂ bei 0°C um, so erhält man das gewünschte Diol **10** mit 80% Ausbeute. Analog erhält man durch Reduktion von Crocetindial **2** mit NaBH₄ das Diol **11** mit 69% Ausbeute (Abbildung 28). Diese Ausbeute konnte durch Reduktion mit DiBAIH in THF bei -78°C auf 97% Ausbeute verbessert werden.

Die Reduktion der C30- und C40- Dialdehyde **5** und **6** erwies sich sowohl mit NaBH₄ als auch mit DiBAIH als schwierig. Vermutlich wirkten sich Reste an Triphenylphosphinoxid, die sich schlecht vollständig Abtrennen ließen, als störend aus.

Da die Glycosilierung der Sialinsäure kompliziert ist, wurde Crocetindiol **11** zunächst einer Glycosilierung mit Glucose unterworfen. Die Umsetzung von Diol **11** mit Pentaacetylglucoseimidat in CH_2Cl_2 bei 0°C führte nach Zugabe an TMSOTf sofort zu einem Farbumschlag von rot nach tief blau. Eine Glycosilierung der Hydroxylgruppen wurde nicht erhalten, statt dessen wurden Diglucoside und Hydrolyseprodukte des Glucoseimidates isoliert (Abbildung 29). Die vinylischen Hydroxylgruppen waren entweder nicht reaktiv genug, oder es hat durch die zugegebene Säure eine Umlagerung stattgefunden. Nach der Reaktion konnten weder das Diol noch Umlagerungs- oder Zerfallsprodukte identifiziert werden.

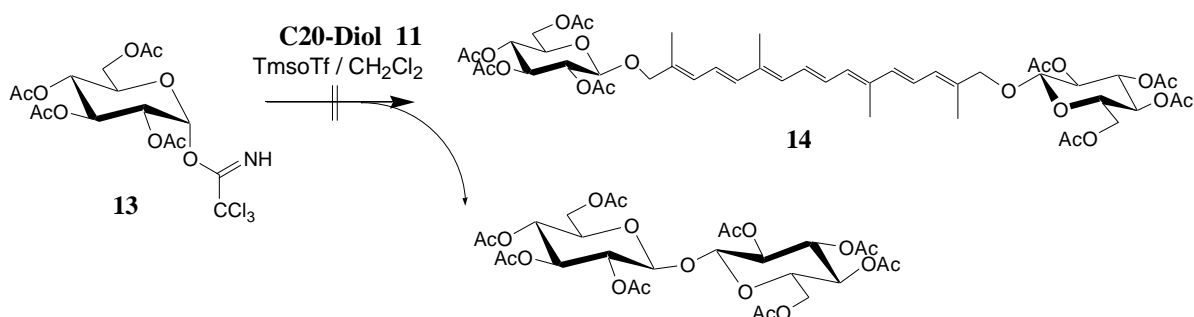


Abbildung 29: Glycosilierung an Crocetindiol

Da sich die direkte Glycosilierung zur Anbindung von Sacchariden an Carotinoide nicht als brauchbare Methode herausgestellt hat, wurde versucht, Saccharide über Linker zu verknüpfen. Nach einer Verseifung der Diester sollte es z.B. möglich sein, die entsprechenden Säuren einer Amidbildung zu unterziehen.

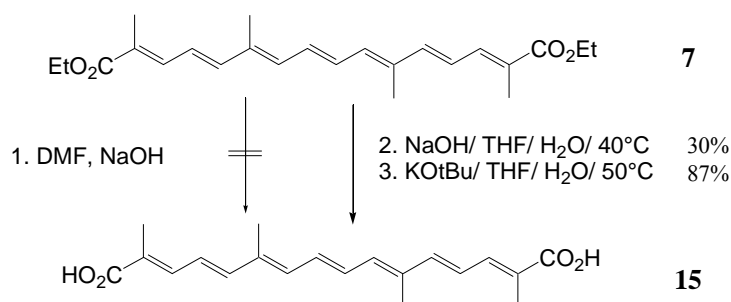


Abbildung 30: Verseifung von Diester **7**

Crocetindiethylester **7** wurde in DMF gelöst und mit 10%iger-NaOH Lösung versetzt. Dabei bildete sich eine zweite Phase, so daß der Diethylester nicht abreagierte. In einem Wasser/THF-Gemisch (1:4) konnte dies umgangen werden, man erhielt die entsprechende

Säure mit 30% Ausbeute. Durch Umsetzung des Diesters **7** mit KO t Bu in THF/H $_2$ O (1:1) bei 50°C konnte die Disäure **15** nach 24h mit 87% Ausbeute erhalten werden. Das Produkt kristallisierte nach Extraktion mit CHCl $_3$ aus der angesäuerten wässrigen Phase (pH 4) mit hoher Reinheit aus (Abbildung 30). Die Disäure **15** löste sich nur in wenigen Lösungsmitteln, wie THF und DMSO, jedoch nicht in Wasser, Methanol oder Dichlormethan.

Die Verseifung der längeren Diester war problematisch, da deren Löslichkeit in polaren Lösungsmitteln drastisch reduziert ist. Der Diester **7** wurde in THF/Wasser suspendiert und löste sich im Laufe der Reaktion. Die Diester **8** und **9** reagierten weder in DMF noch in THF/Wasser-Gemischen mit NaOH oder LiOH. Auch mit KO t Bu in THF/Wasser bei 80°C wurde über 48h kein Umsatz zu den Disäuren **16** und **17** erhalten (Abbildung 31).

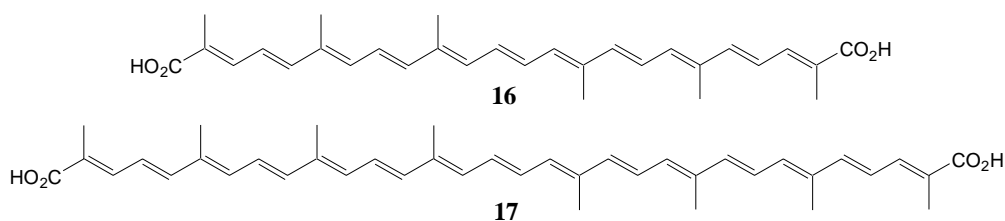


Abbildung 31: Darstellung der C30- und C40-Disäuren **16** und **17**

Um eine Peptidkopplung mit den Carotinoiden durchzuführen, wurde weiterhin ein Glucosederivat mit einem Aminolinker synthetisiert. Ungeschützte primäre Amine lassen sich schlecht glycosilieren, da sie die zur Reaktion nötige Lewis-Säure abfangen. Daher wurde ein Azidolinker synthetisiert, der sich einfach durch Hydrierung in ein primäres Amin umwandeln läßt.

3-Brompropanol wurde mit Natriumazid in DMF bei 80°C nahezu quantitativ zu 3-Azidopropanol **18** umgesetzt. Die weitere Glycosilierung mit Imidat **13** lieferte zu Azidopropylglycosid **19** mit 65% Ausbeute (Abbildung 32). Da Acetylgruppen eine hohe Affinität zu Aminen haben, wurden diese zunächst quantitativ mit NaOMe in Methanol entfernt, um eine Acetylgruppenwanderung während der Hydrierung zu verhindern. Die Hydrierung des Azides mit Wasserstoff und Pd/C in Methanol lieferte quantitativ Verbindung **20**.

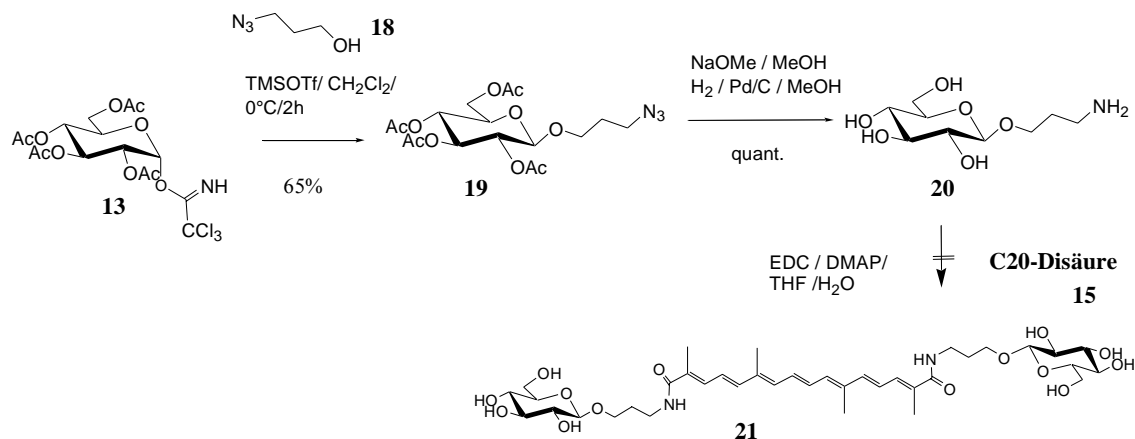


Abbildung 32: Synthese von Glucosederivat **22** und Kopplungsversuch Nr. 1

Im folgenden Schritt konnte das Derivat **20** mit der C20-Disäure **15** in THF/H₂O mit EDC und DMAP umgesetzt werden. Nach 24h bei RT konnte kein Edukt mehr detektiert werden, allerdings wurde nicht das gewünschte Amid isoliert, sondern das EDC-Intermediat, das bei der Aktivierung der Säure entsteht (Abbildung 32).

Die Kopplung von Aminen und Säuren mit EDC und DMAP ist eine in der Peptidchemie gängige Methode, allerdings gibt es vielfältige andere Kopplungsreagenzien, um wenig reaktive Säuren besser zu aktivieren. Daher wurde eine weitere Kopplung mit HOBT als Aktivierung durchgeführt.

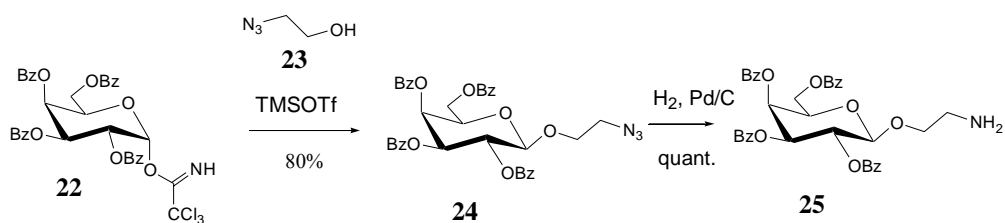


Abbildung 33: Synthese von Aminoethyltetrabenzoylgalactosid **25**

Um in reinen organischen Lösungsmitteln arbeiten zu können und Schwierigkeiten bei der Löslichkeit der Komponenten zu verhindern, wurde ein anderes, geschütztes Aminoglycosid eingesetzt. Die Verwendung von Benzoylgruppen anstelle von Acetylschutzgruppen ermöglicht es, eine Acetylgruppenwanderung zu verhindern. 2-Azidoethanol **23** wurde daher mit dem im Arbeitskreis vorhandenen Galactoseimidat **22** umgesetzt und das Azid **24** erhalten. Nach Hydrierung mit Pd/C in Methanol wurde das Amin **25** quantitativ erhalten (Abbildung 33).

Die Umsetzung von Derivat **25** und Crocetin **15** in THF mit HOBT, DIC und DIEA bei RT lieferte keine Peptidkopplung zum gewünschten Produkt **26**. Es wurde ebenfalls lediglich das Diisopropylcarbodiimid-Intermediat erhalten.

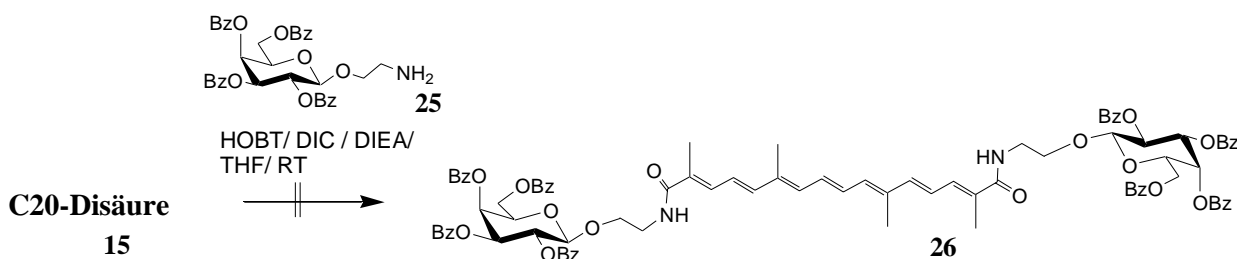


Abbildung 34: Peptidkopplung Variante Nr.2

Im folgenden wurde versucht, Saccharide im Sinne einer Wittig-Horner-Reaktion mit Aldehyden umzusetzen. Dazu wurde zunächst ein saccharidhaltiges Phosphonat synthetisiert. Bromethanol-galactosid **27** reagierte in reinem P(OEt)₃ nach 5h in der Siedehitze mit 83% Ausbeute zu dem Phosphonat **28** (Abbildung 35). Durch Vakuumdestillation wurde zunächst restliches P(OEt)₃ abdestilliert und der Rückstand per Flashchromatographie (CHCl₃ auf Kieselgel) aufgereinigt, so daß Verbindung **28** sauber erhalten wurde.

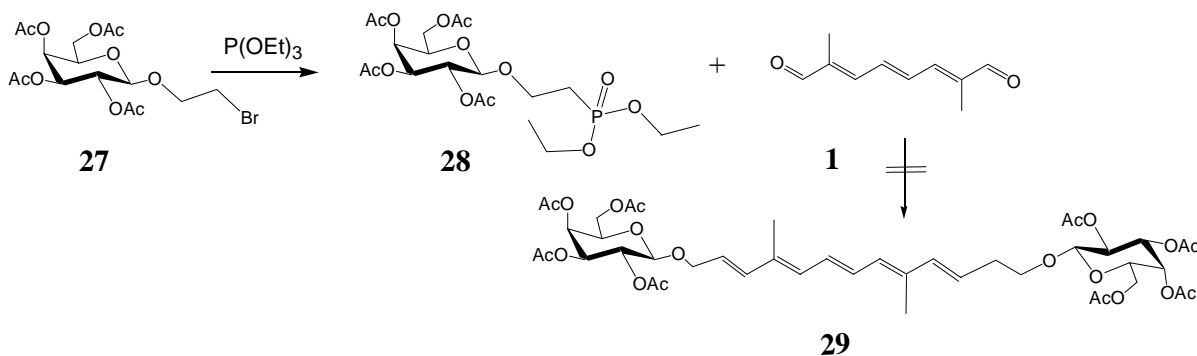


Abbildung 35: Kopplung von Sacchariden über Wittig-Horner-Reaktionen

Phosphonat **28** wurde mit Dialdehyd **1** mit NaOMe in DMF bei RT umgesetzt. Das Rohprodukt wurde aufgrund partieller Entschützung des Glycosides in Ac₂O/Pyridin aufgenommen, allerdings führte dies nicht zu dem gewünschten Produkt **29**. Es wurden ausschließlich die Edukte zurückgewonnen (Abbildung 35).

An diesem Punkt stellt sich die Frage, warum die Wittig-Horner-Reaktion in diesem Fall nicht erfolgreich war, wenn sie zum Aufbau der Carotinoidketten so oft eingesetzt wird.

Der wesentliche Unterschied zwischen den Phosphonaten der Wittig-Horner-Reaktionen und den Phosphoniumbromidsalzen der Wittig-Reaktionen besteht in der Elektronendichte beider Komponenten. Wittig-Horner-Reaktionen verlaufen mit elektronenreichen Substituenten wie dem Ester **4** besonders gut, desweiteren wird bei den beschriebenen Reaktionen zu Anfang des Kapitels das konjugierte System verlängert, wodurch eine Stabilisierung der entstehenden Produkte eintritt.

Im Falle der Wittig-Horner-Reaktion mit Glycosid **28** scheint das Phosphonat nicht reaktiv genug zu sein, um eine Reaktion einzugehen. Ich habe daher ebenfalls versucht Bromid **27** mit PPh_3 zu einem Phosphoniumbromid umzusetzen, allerdings konnte selbst bei 100°C in reinem PPh_3 das gewünschte Produkt nicht erhalten werden.

Mit diesen Ansätzen wurde die Arbeit an Carotinoid-Saccharid-Konjugaten beendet.

Zu ihrer Darstellung wurden drei gänzlich verschiedene Ansätze gewählt, um Saccharide mit Carotinoiden zu verbinden: die Glycosilierung von Hydroxylgruppen, die Amidbindung mit Säuren und die Wittig-Reaktion mit Aldehyden. Keiner der Ansätze lieferte Saccharidkonjugate. Andere Varianten sind denkbar, allerdings ist zu beachten, daß die Reaktionsfähigkeit der Carotinoide mit zunehmender Kettenlänge abnimmt. Um Carotinoide einer Länge von 30\AA umzusetzen, sollte eine sehr wirksame Methode vorliegen. Die deutlich schlechtere Löslichkeit der längeren Carotinoide erschwert jedoch die chemische Umsetzung in polaren Lösungsmitteln drastisch und schränkt damit die Synthesemöglichkeiten stark ein.

3.2 Glycosidmimetika zur Inhibition der Zell-Zell- bzw. Zell-ECM-Wechselwirkungen von metastasierenden Zellen

Wie einleitend dargestellt werden konnte, spielen Saccharid-Interaktionen neben den Wechselwirkungen anderer Zelladhäsions-Molekülen bei der Metastasierung eine große Rolle. Bei der Metastasierung sind sie maßgeblich bei der Adhäsion metastasierender Zellen an neues Epithel beteiligt. Die zum Teil stark veränderte Glycosilierung von Tumorzellen läßt aber darauf schließen, daß Sacchariden auch in anderen Prozessen eine wichtige Bedeutung zukommt. In Zusammenhang mit Integrinen haben sie einen Einfluß auf die Signaltransduktion und damit auf die Regulation der Zellen. Saccharide sind ebenfalls in Prozesse der Apoptose und der Angiogenese involviert.

Die Veränderungen der Oberflächenglycosilierung von Tumorzellen werden derzeit aktiv erforscht, neue tumorassoziierte Epitope werden dabei entdeckt. Aber auch auf der Seite der Rezeptoren, der Lektine, besteht noch reichlich Aufklärungsbedarf. Von vielen endogenen Lektinen kennt man die Bindungspartner noch nicht. Weiterhin werden immer mehr Lektinbindungsstellen an Proteinen entdeckt, die eigentlich nicht mit Sacchariden in Verbindung gebracht wurden. Die allosterische Wirkung von Sacchariden auf Proteine ist ebenfalls noch nicht hinreichend bekannt.

Zur Analyse dieser Prozesse sind vielfältige Saccharidmimetika nötig. Eine hohe Diversität ermöglicht es, die Struktur-Wirkungs-Beziehungen zu untersuchen. Um möglichst einfach Mimetika mit einer großen Diversität zu erhalten, wurden die Mimetika aus Kombinationen unterschiedlicher Bausteine dargestellt.

Als Grundgerüst, sozusagen als Core des Mimetikums sollten unterschiedlich derivatisierte Furane dienen, die mit Sacchariden und weiteren Modifikationen kombiniert werden. Ein Gerüst aus Furanen erweist sich von besonderem Vorteil, da Furane in vielfältigsten Substitutionen leicht und günstig zugänglich sind. Desweiteren entsprechen Furane von ihrer Struktur derjenigen eines Monosaccharids. Furane sind jedoch im Vergleich zu Sacchariden wenig funktionalisiert und können Glycosilierungen ohne aufwendige Schutzgruppenstrategien eingehen. Ferner lassen sich Furane nach vollständiger Entschützung der Saccharide via Diels-Alder-Reaktion⁸⁴ vielfältig funktionalisieren. Dies

hat sich besonders zur Einführung von Biotin oder Fluoreszenzmarkern zur Untersuchung von Lektin-Saccharid-Wechselwirkungen bewährt (Abbildung 36)⁸⁷.

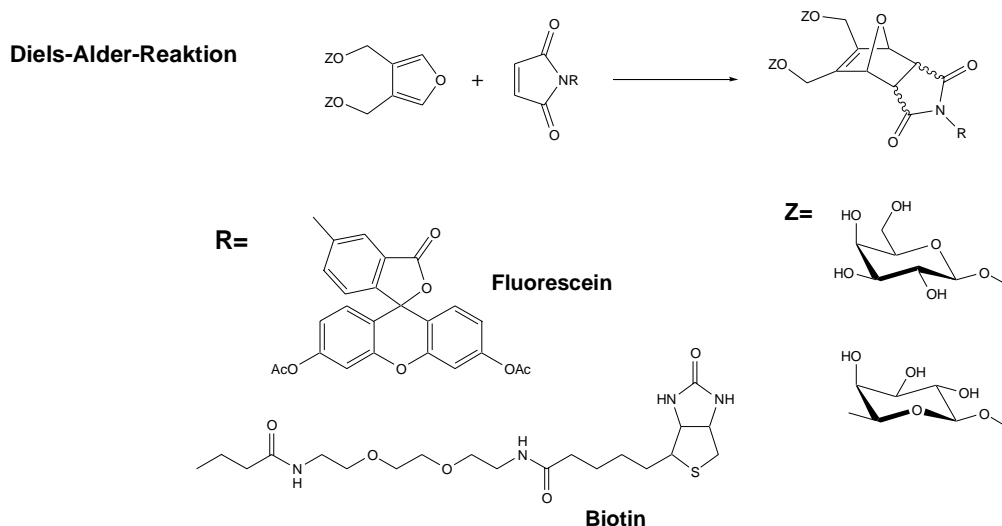


Abbildung 36: Funktionalisierung der Furanglycoside via Diels-Alder-Reaktion

Zur Glycosilierung sind insbesondere Alkohole der Furane von Interesse. Ein- bis vierfach substituierte Hydroxymethylfurane lassen sich leicht durch Reduktion entsprechender Carbonsäureester darstellen (Abbildung 37).

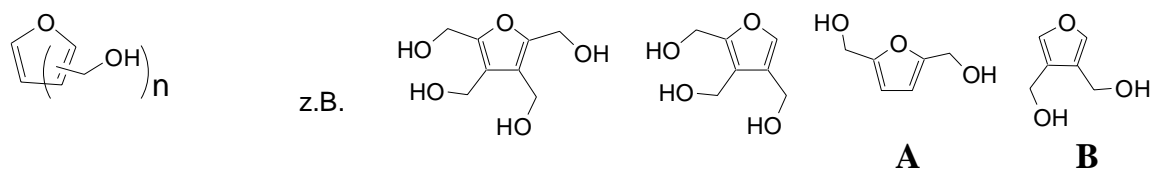


Abbildung 37: Hydroxymethylderivate des Furans

Insbesondere die symmetrischen Bishydroxymethylfurane (**A** und **B**) eignen sich als Ausgangsmaterialien zum Aufbau von Oligosaccharidmimetika. Sie können mit zwei verschiedenen Sacchariden substituiert werden und so die verzweigte Struktur vieler Oligosaccharide nachahmen. Die Symmetrie vereinfacht ferner die Synthese und die Analytik der erhaltenen Strukturen.

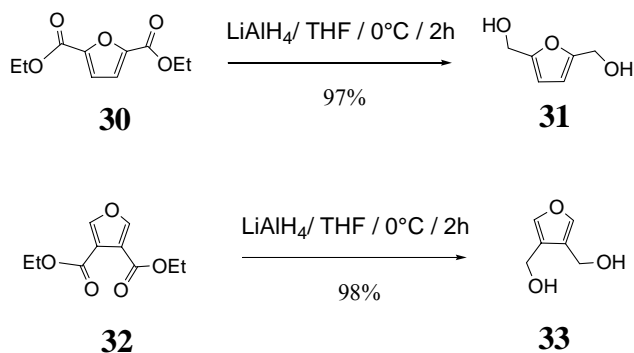


Abbildung 38: Synthese der symmetrischen Bishydroxymethylfurane

Durch Reduktion des Diethylesters **30** mit LiAlH₄ in THF bei 0°C erhält man 2,5-Bishydroxymethylfuran **31** mit 97% Ausbeute (Abbildung 38). Die analoge Umsetzung des Diethylesters **32** mit LiAlH₄ in THF bei 0°C liefert 3,4-Bishydroxymethylfuran **33** mit 98% Ausbeute.

3.2.1 Glycoside des 3,4-Bishydroxymethylfurans

Erste Glycosilierungen von Bishydroxymethylfuranen sind von Kim⁸⁷ bereits bekannt. Besonders interessant ist die Synthese von Monosacchariden auf Basis von Bishydroxymethylfuranen, da sie einfache Ausgangsverbindungen für weitere Funktionalisierungen darstellen.

Die Umsetzung des Fucoseimidates **34** mit Bishydroxymethylfuran **33** und TMSOTf bei 0°C in CH₂Cl₂ lieferte zu 74% Monofucosid **35** und zu 6% Disaccharid **36** als feine Nadeln. Die erhaltenen Fucoside **35** und **36** konnten durch Umsetzung mit Natriummethanolat in Methanol bei RT in nahezu quantitativen Ausbeuten zum Monofucosid **37** und zum Difucosid **38** entschützt werden (Abbildung 39).

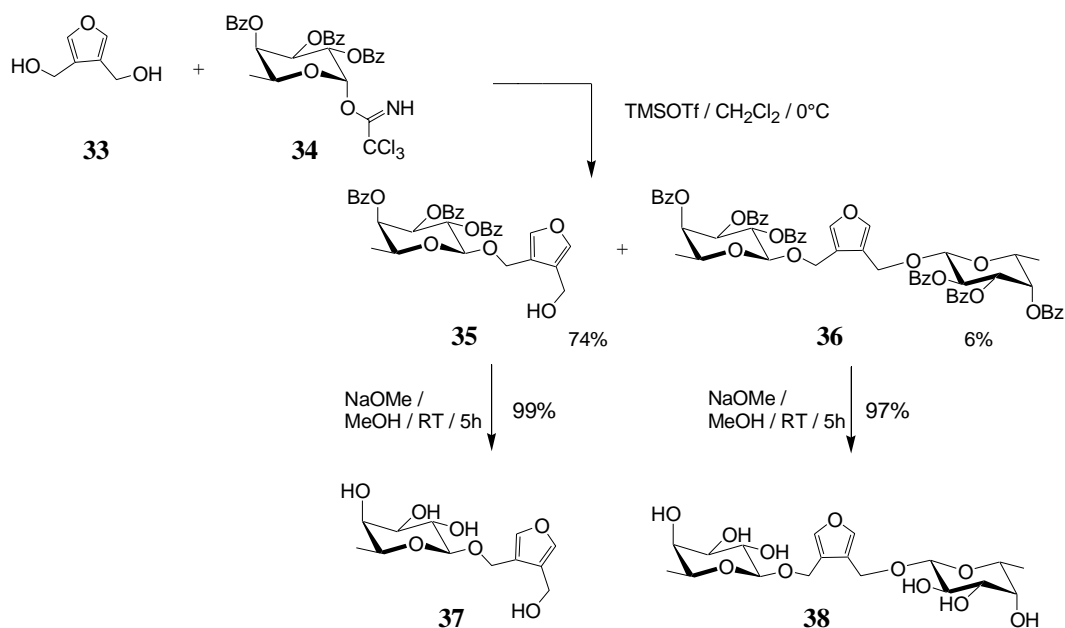


Abbildung 39: Synthese der Fucoside von Furan **33**

Analog wurde Furan **33** mit Galactoseimidat und Lactoseimidat umgesetzt. Die Umsetzung von 1.0 eq. Galactoseimidat **39** mit 1.0 eq. Furan **2** lieferte 54% Monogalactosid **40** und 7% Digalactosid **41** (Abbildung 40). Durch Entschützung mit Natriummethanolat in Methanol wurden Monogalactosid **42** und Digalactosid **43** in nahezu quantitativen Ausbeuten erhalten.

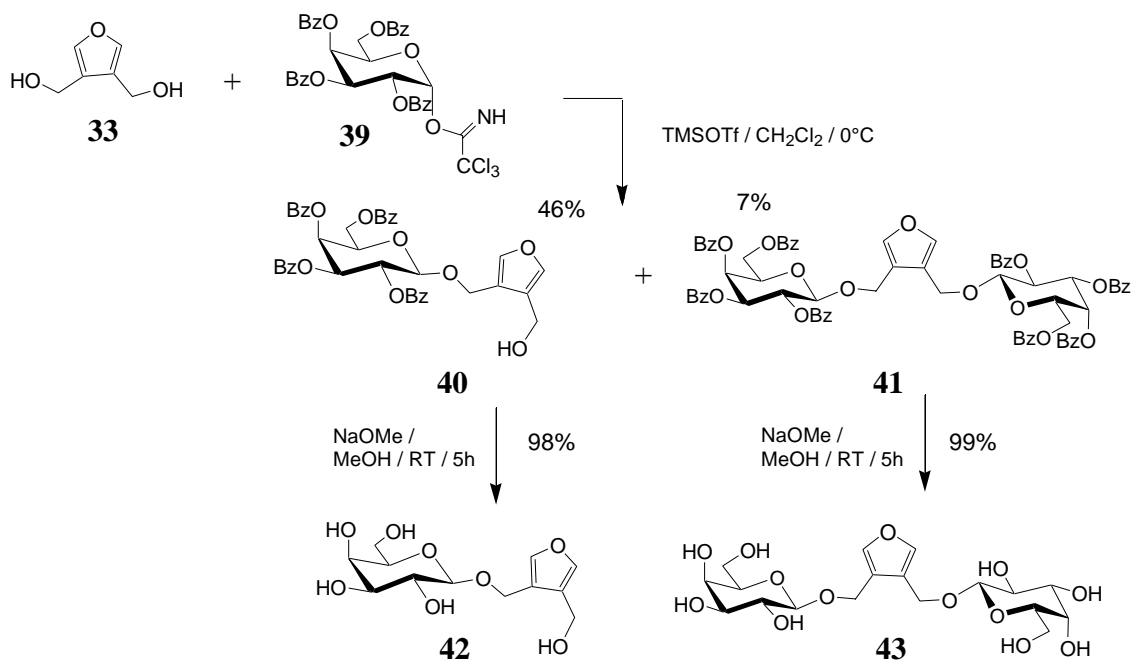


Abbildung 40: Synthese der Galactoside des 3,4-Furans

Die Umsetzung von 1.0 eq. Lactoseimidat **44** mit 1.0 eq. Furan **33** in CH₂Cl₂ bei 0°C lieferte Monolactosid **45** mit 52% Ausbeute. Als Nebenprodukt wurde die Hydrolyse des Imidates beobachtet, es entstand jedoch kein Dilactosid. Das Monolactosid **45** ließ sich durch Umsetzung mit Natriummethanolat in Methanol bei RT quantitativ zu Verbindung **46** entschützen.

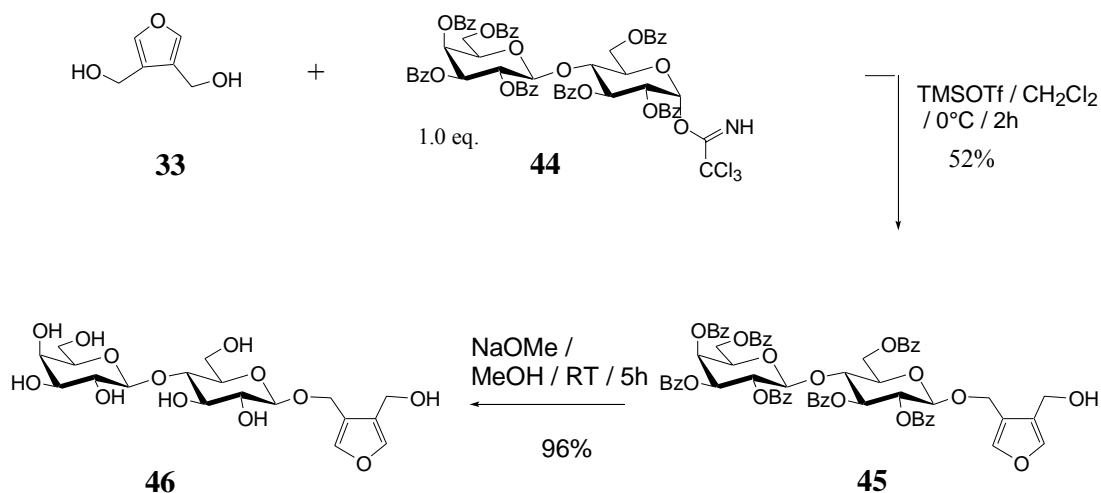


Abbildung 41: Umsetzung des Furans **33** mit Lactoseimidat **44**

Die Umsetzung des Furans **33** mit 2.5 eq. Imidat **44** lieferte 34% Dilactosid **47** neben 42% Monolactosid **45**. Die Umsetzungen des Furans **33** mit 2-3 eq. Galactose- und Fucoseimidat lieferten die jeweiligen Disaccharide mit 60-70% Ausbeute.

3.2.2 Gemischte Glycoside des 3,4-Bishydroxymethylfurans

Ausgehend von den erhaltenen Monosacchariden können durch weitere Glycosylierung gemischte Saccharide synthetisiert werden. Die Umsetzung des Furans **35** mit Galactoseimidat **39** in Dichlormethan bei 0°C und TMSOTf liefert Verbindung **49** mit 54% Ausbeute. Nach weiterer Umsetzung mit Natriummethanolat in Methanol bei RT über 6h wird das Saccharid **50** mit 98% Ausbeute erhalten (Abbildung 42). Dieses Saccharid kann als Mimetikum eines Tetrasaccharides betrachtet werden.

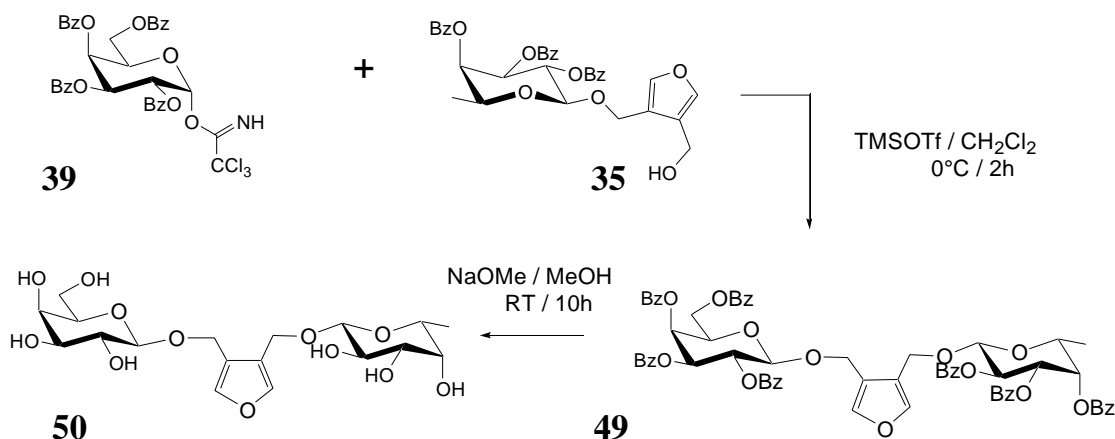


Abbildung 42: Synthese des 3,4-Trisaccharidmimetikums **50**

Durch Glycosilierung des Fucosides **35** mit 1.5 eq. Acetylactoseimidat **51** und 0.1 eq. TMSOTf in Dichlormethan bei 0°C wurde Verbindung **52** mit 20% Ausbeute erhalten. Die Entschützung mit Natriummetholat in Methanol bei RT lieferte zu 86% Verbindung **53** (Abbildung 43). Vergleicht man auch hier das Furan mit einem Saccharid, so kann diese Verbindung als Tetrasaccharidmimetikum angesehen werden.

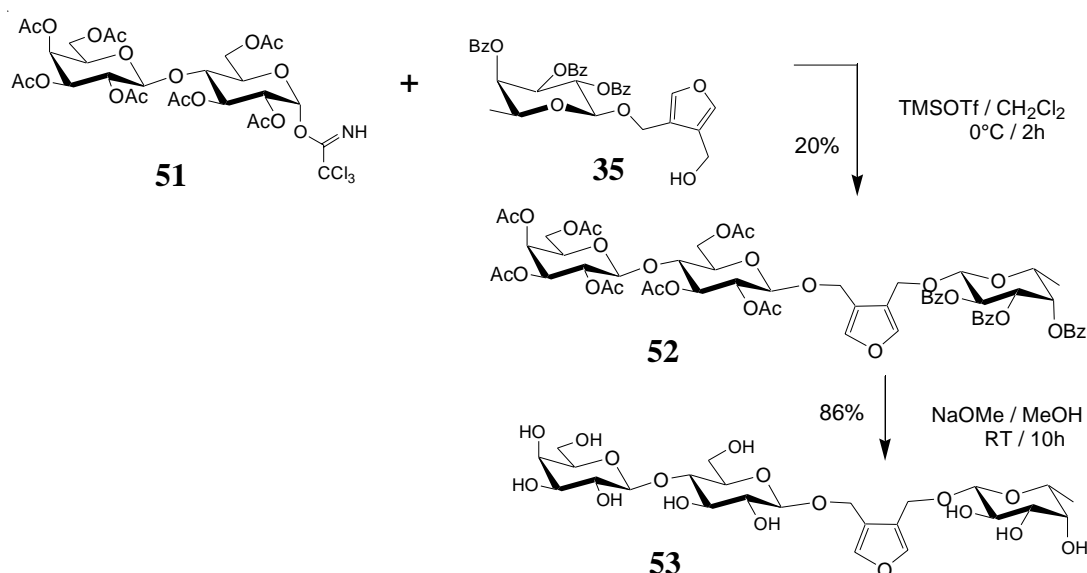


Abbildung 43: Synthese des Tetrasaccharidmimetikums **53**

3.2.3 Glycoside des 2,5-Bishydroxymethylfurans

Um eine strukturelle Diversität der dargestellten Saccharidmimetika zu erhalten, wurden Saccharidmimetika auf Basis des 2,5-Bishydroxymethylfurans synthetisiert. Saccharide dieses Furans sollten eine andere Raumauffüllung und damit ein völlig anderes Verhalten gegenüber Lektinen aufweisen als die Saccharide der 3,4-Bishydroxymethylfurane, die in den vorangegangenen Kapiteln beschrieben wurden.

Erstaunlicherweise verliefen die Glycosylierung des 2,5-Bishydroxymethylfurans **31** deutlich schlechter als die des 3,4-Derivates **33**. Die Ausbeuten bei der Glycosylierung des 2,5-Furans waren gering und die Reaktionslösung wurde schwarz. Dieses ungleichmäßige Verhalten bei der Glycosylierung ist durch ein unterschiedliches Löslichkeitsverhalten beider Furanderivate bedingt. Das 2,5-Isomer **31** liegt bei Raumtemperatur als Feststoff vor und ist in allen zur Glycosylierung geeigneten Lösungsmitteln (CH_2Cl_2 , AcCN, THF und Et_2O) schlecht löslich. Das 3,4-Bishydroxymethylfuran **33** liegt als Flüssigkeit vor, so daß es zur Reaktion mit Lösungsmitteln gut gemischt werden kann.

Um Saccharidmimetika auf Basis der 2,5-substituierten Furane darstellen zu können und diese Löslichkeitsprobleme zu umgehen, wurden andere Furanderivate mit einer 2,5-Substitution herangezogen. Dabei eigneten sich alle Monoalkohole, die in 5-Position eine funktionelle Gruppe besitzen, die leicht zu einer weiteren Hydroxylgruppe transformiert werden kann. Ein solches Furanderivat stellt 5-Hydroxymethylfurfural **54** (HMF) dar. Das Furfural kann nach Umsetzung des mit entsprechenden Imidaten in einem weiteren Schritt selektiv zum Alkohol reduziert werden (Abbildung 44).

Die Umsetzung von HMF **54** mit den Imidaten **34**, **39** und **44** mit TMSOTf in Dichlormethan bei 0°C lieferte die Verbindungen **55**, **57** und **59** mit 27%, 5% und 3% Ausbeute. Die geringen Ausbeuten sind auf die Labilität des Aldehyds unter den sauren Bedingungen der Glycosylierung sowie der Chromatographie auf Kieselgel zurückzuführen. Die Reduktion der Aldehyde **55** und **57** mit NaBH_4 in THF bei 0°C lieferte die Verbindungen **56** und **58** mit jeweils 90% Ausbeute. In zwei Schritten konnte ein Monosaccharid auf Basis eines 2,5-substituierten Furans generiert werden, das neben einem Saccharid noch eine Hydroxylgruppe trägt. Die Ausbeuten waren jedoch gering, so daß die Synthesebedingungen einer Optimierung bedurften.

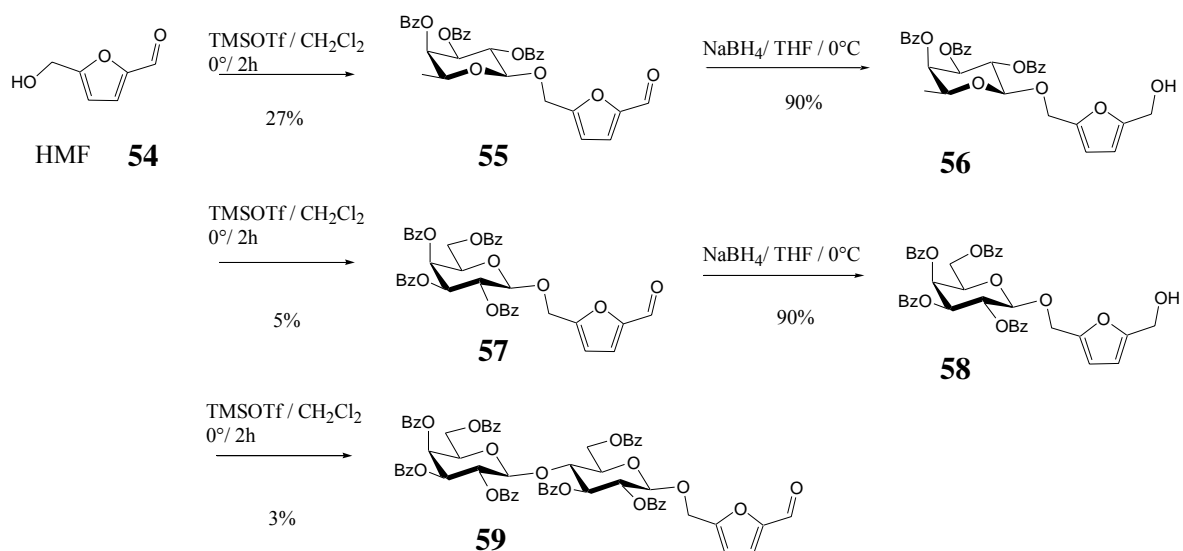


Abbildung 44: Glycosilierung von HMF **54**

Der Umweg über die Einführung einer lipophilen temporären Schutzgruppe an HMF lieferte bessere Bedingungen (Abbildung 45). HMF konnte mit TBDPSCI (einer relativ säurestabilen und sehr unpolaren Schutzgruppe) und Imidazol in DMF umgesetzt. Dabei konnte Furan **60** zu 91% erhalten und anschließend mit NaBH_4 in THF bei 0°C in das Hydroxyd **61** überführt werden.

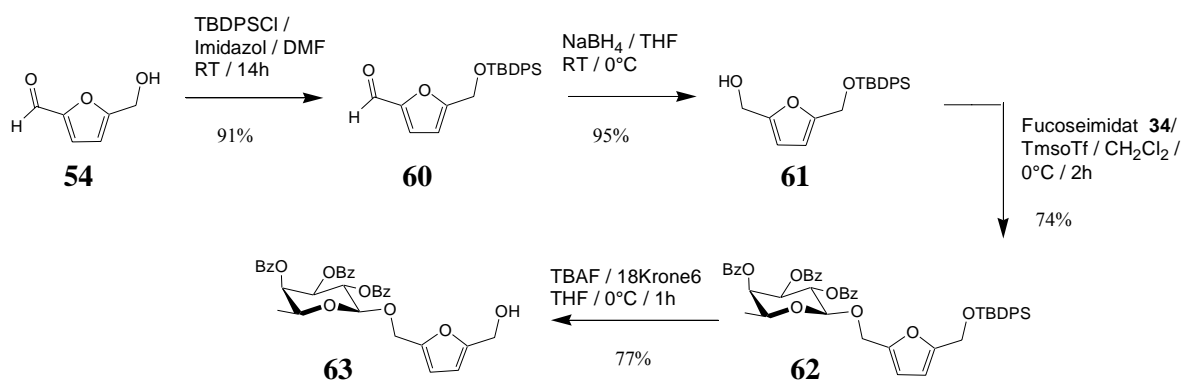


Abbildung 45: Synthese der 2,5-Glycoside über Verbindung **61**

Die Glycosilierung von **61** mit Imidat **34** in Dichlormethan bei 0°C lieferte zu 74% Verbindung **62**. Die darauf folgende Abspaltung der Silylschutzgruppe mit TBAF in THF bei 0°C ergab nach 30min das Monofucosid **63** mit einer Ausbeute von 77%. In vier

Stufen konnte so das 2,5-Monofucosid **63** mit einer Gesamtausbeute von 50% erhalten werden. In Analogie zu den erhaltenen Strukturen der 3,4-Furansaccharidmimetika stellt dieses Monofucosid **63** eine Ausgangsverbindung für eine Vielzahl weiterer Saccharidmimetika dar.

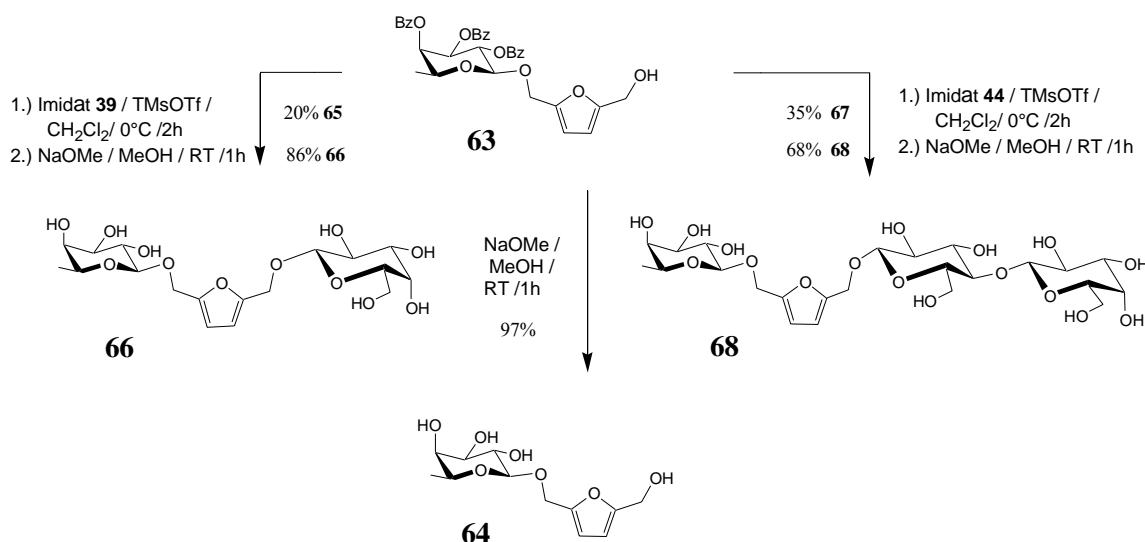


Abbildung 46: Umsetzung von **63** zu entschützten Saccharidmimetika

Durch Umsetzung des Monofucosids **63** mit NaOMe in Methanol bei RT wurde das entschützte Monosaccharid **64** mit 97% Ausbeute erhalten. Ferner wurde das Monofucosid **63** mit weiteren Imidaten umgesetzt und gemischte Saccharidmimetika auf Basis von 2,5-substituierten Furanen erhalten. Die Umsetzung des Fucosides **63** mit Galactoseimidat **39** in Dichlormethan mit TMSOTf bei 0°C lieferte Verbindung **65** in 20% Ausbeute, nach Entschützung mit NaOMe in Methanol wurde das Disaccharid **66** mit 86% Ausbeute erhalten.

Die Umsetzung des Fucosids **63** mit Lactoseimidat **44** in Dichlormethan mit TMSOTf bei 0°C lieferte das Trisaccharid **67** mit 35% Ausbeute. Durch weitere Entschützung mit NaOMe in Methanol konnte das Saccharid **68** mit 68% Ausbeute erhalten werden.

Durch die Einführung einer temporären Schutzgruppe an HMF gelang es so, analog zu den Tri- und Tetrasaccharidmimetika auf der Basis von 3,4-substituierten Furanen verschiedene Saccharidmimetika auf der Basis von 2,5-substituierten Hydroxymethylfuranen zugänglich zu machen.

3.2.4 Synthese von Furansialosiden

Bislang wurden verschiedene Saccharidmimetika gängiger Saccharide dargestellt. Um eine besondere Spezifität gegenüber Tumorzellen zu erhalten, ist es sinnvoll, die Struktur tumorassoziierter Antigene zu imitieren, um so eventuell „tumorassozierte“ Mimetika darzustellen. Da insbesondere die Sialylierung von Tumorzellen bei der Metastasierung eine wesentliche Rolle spielt, wurden verschiedene Sialoside der Furane dargestellt.

Zur Glycosilierung der Sialinsäure hat sich bislang keine universelle Methode durchgesetzt, und die Ausbeuten und Stereoselektivitäten sind sehr vom jeweiligen Donor- und Akzeptor- System abhängig (siehe Kapitel 1.5.2).

Daher wurden zunächst verschiedene Glycosilierungen untersucht. Es wurden zwei verschiedene Sialinsäuredonoren dargestellt. Das Sialinsäurechlorid **71** ist in zwei Stufen durch Veresterung der Carbonsäure und anschließende Acetylierung mit Acetylchlorid aus Neuraminsäure **69** erhältlich (Abbildung 47)⁵¹.

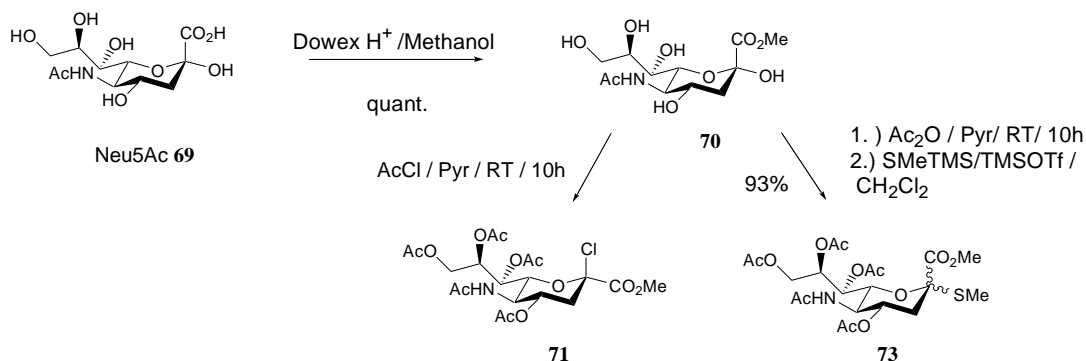


Abbildung 47: Synthese der Sialinsäuredonoren

Das Thiomethylglycosid **73** (SMeSA) ist in drei Stufen aus Neuraminsäure **69** zugänglich. SMeSA **73** wird nach Veresterung der Carbonsäure mit Pyridin/Acetanhydrid nach Zemlén peracetyliert. Durch die Umsetzung mit Trimethylsilylmethylthian wird SMeSa **73** mit 98% Ausbeute als 1:1 α/β -Gemisch aus der hexaacetylierten Verbindung **72** erhalten⁸⁸. Dieses α/β -Gemisch ist per Flashchromatographie nicht trennbar, so daß Glycosilierungen mit dem α/β -Gemisch durchgeführt werden.

Die verfügbaren NMR-Daten verschiedener Sialinsäurederivate sind sehr spärlich, ferner werden die NMR-Spektren der Sialoside meist in Form charakteristischer Merkmale dargestellt. Daher wurden die α/β -Isomere von SMeSA per HPLC (Si80-Säule, Tol/Ac=75/25 isokratisch) getrennt und NMR-Spektren beider Verbindungen aufgenommen. Die Verschiebungen der Protonen an C-3, -4, -8 und -9, sowie die Kopplungen der beiden Protonen an C9 variieren in der α - oder β -Form stark (Abbildung 48).

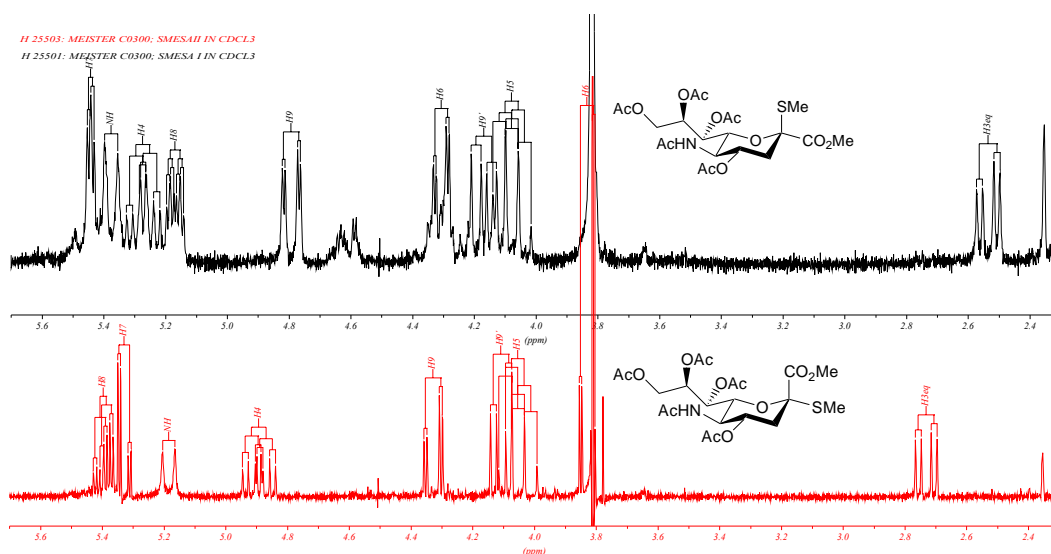


Abbildung 48: Vergleich der NMR-Spektren der α/β -Form von SMeSA

Die Glycosilierung der Sialinsäure an Hydroxymethylfurane wurde an Akzeptor **35** getestet, da das Monofucosid nur einfach glycosiliert werden kann und mit den Benzoylgruppen der Fucose gut detektierbar ist.

Es wurden vier gängige Glycosilierungsmethoden untersucht: die Glycosilierung mit Sialinsäuredonor **73** unter Aktivierungen mit DMTST (Abbildung 49) oder mit NIS, sowie die Glycosilierung des Sialinsäurechlorids **71** mit den Promotoren $\text{Hg}(\text{CN})_2/\text{HgBr}$ und AgO_2 (Abbildung 50). DMTST **74**, ein thiophiles Agens, wird durch Umsetzung von Dimethyldisulfid mit MeSTf in Dichlormethan bei RT und Kristallisation aus Diethylether erhalten.

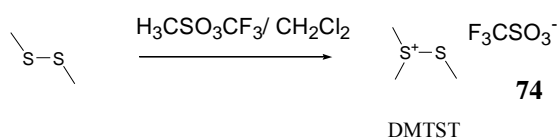


Abbildung 49: Synthese von DMTST

Die Glycosilierungen wurden bei -40°C in 20M-Lösungen Propionitril mit gepulvertem Molsieb 3\AA durchgeführt, um die Eliminierung des Donors zur Deoxyverbindung **79** möglichst gering zu halten. Die Glycosilierungen des Chlorides **71** mit Silberoxid sowie die Glycosilierung mit $\text{Hg}(\text{CN})_2$ und HgBr lieferten keinen Umsatz zu Produkt **75**, nach Zusatz von Methanol entstand die Verbindung **76** sowie das Methylglycosid **77** (Abbildung 51). Dies zeigt, daß das Sialinsäurechlorid mit zugegebenem Methanol abreagiert, das labile Sialinsäurechlorid also aktiv war, allerdings für die Glycosilierung der Furane keine geeignete Methode darstellt.

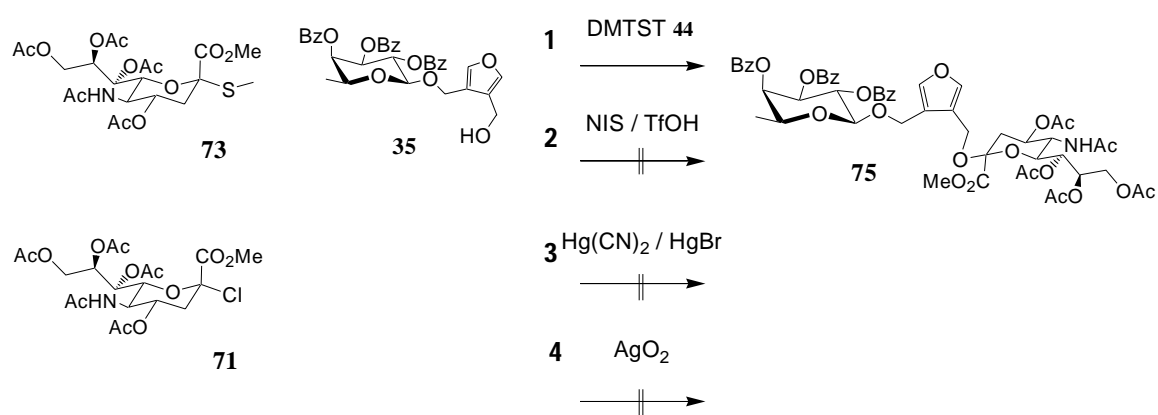


Abbildung 50: Sialylierungen an Furan **35**

Bei der mit NIS katalysierten Reaktion **2** wurde zwar eine deutliche Abnahme des Fucosids beobachtet, massenspektrometrisch konnte jedoch kein Produkt nachgewiesen werden. Hauptbestandteile des Reaktionsgemisches stellten die eliminierten Fragmente **78** und **79** der Sialinsäure dar (Abbildung 51).

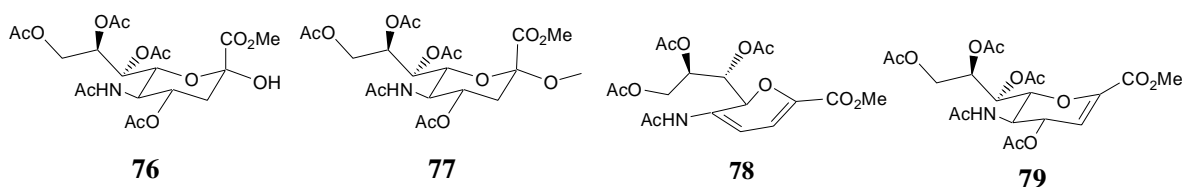


Abbildung 51: Fragmente der Sialylierungen

Von diesen vier Sialylierungen wurde lediglich in der mit DMTST katalysierten Reaktion **1** ein Umsatz zu Produkt **75** erhalten, welches mittels präparativer HPLC (auf einer Si80-Säule mit Tol/Ac) isoliert werden konnte.

Die Glycosilierungen von SMeSA **73** an Fucosid **35** wurden sowohl mit DMTST als auch mit NIS mehrfach wiederholt. Das Sialosid **75** konnte mit beiden Aktivierungen erhalten werden, allerdings mit geringer Reproduzierbarkeit und maximalen Ausbeuten von etwa 20%.

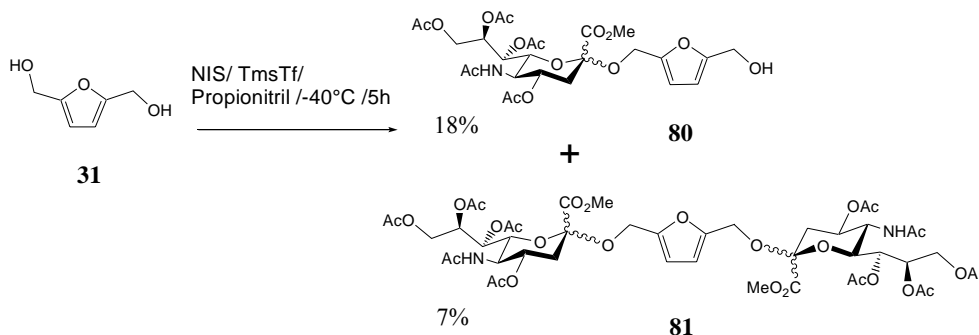


Abbildung 52: Sialylierung von 2,5-Dihydroxymethylfuran

Die Bishydroxymethylfurane **31** und **33** wurden ebenfalls mit Sialinsäure umgesetzt. Bei der Glycosilierung mit NIS in Propionitril bei -40°C konnte 2,5-Bishydroxymethylfuran **31** mit dem Donor **73** umgesetzt werden, wobei per Säulenchromatographie (Tol/Ac=3:1→2:1) die Deoxyverbindung **79**, das Monosialosid **80** und das Disialosid **81** isoliert wurden. Das Monosialosid **80** wurde mit 18% Ausbeute und das Disialosid **81** mit 7% Ausbeute als α/β -Gemisch erhalten (Abbildung 52).

Die Sialylierung des 3,4-Bishydroxymethylfurans **33** mit NIS lieferte das Monosialosid **82** mit 12% Ausbeute als α/β -Gemisch (Abbildung 53).

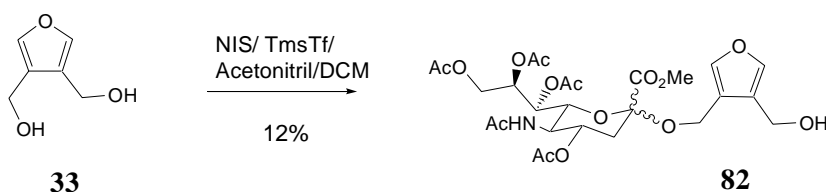


Abbildung 53: Sialylierung von 3,4-Dihydroxymethylfuran

Geringe Mengen der erhaltenen aufgereinigten Sialoside **80**, **81** und **82** konnten mit NaOMe in MeOH zu den entsprechenden entschützten Verbindungen **83**, **84**, **85** umgesetzt werden (Abbildung 54).

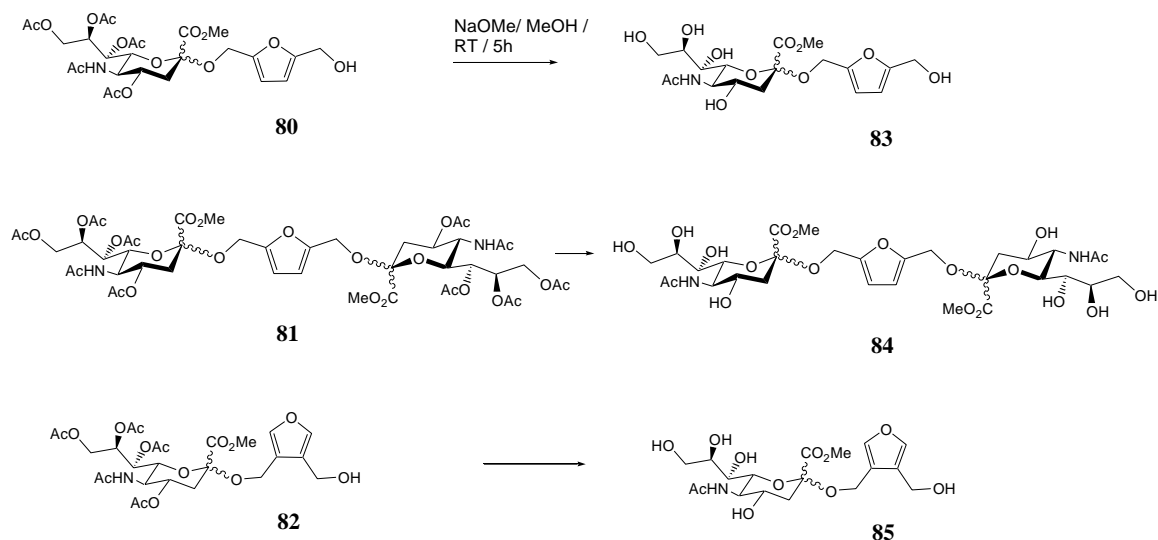


Abbildung 54: Entschützung der Sialoside

Im allgemeinen sind die Sialylierungen der Furane schlecht verlaufen. Die Aktivierung mit NIS stellt die angenehmere, geruchsärmere und sauberere Methode dar, da sich freiwerdendes Jod und Succinimid mit Natriumthiosulfatlösungen gut extrahieren lassen. Schwierigkeiten erweisen sich bei der Sialylierung insbesondere bei der Detektion und Aufreinigung der Produkte. Donor **73**, Eliminierungsprodukt **79** und Fucosesialosid **75** weisen etwa dasselbe Laufverhalten in verschiedenen Elutionsmitteln auf, so daß sich das Produkt bei maximalen Ausbeuten von etwa 10-20% mittels DC nicht immer leicht detektieren ließ. Die Sialylierung der Bishydroxymethylfurane weisen den Vorteil auf, daß überschüssiges Furan bei der Extraktion in die wäßrige Phase übergeht, und sie dann die polarsten Bestandteile des Reaktionsgemisches darstellen. Dabei wird zuerst das Monosialosid, dann das Disialosid von einer Kieselgel-Säule eluiert.

3.2.5 Carbonsäure Mimetika von sLewis x

Die stärkste Wechselwirkung sialylierter Oligosaccharide zu entsprechenden Lektinen verläuft nachweislich über die Wasserstoffbrückenbildung der Carboxylgruppe⁵⁹ (siehe Kapitel 1.4.3). Aufgrund der Schwierigkeiten bei der Sialylierung und den hohen Kosten

für Neuraminsäure bietet es sich daher an, die Wechselwirkungen von Sialinsäure lediglich durch eine Carboxylgruppe darzustellen.

Um an die Furane auf möglichst einfache Weise Carbonsäuren einzuführen, bietet es sich an, sie mit Ω -Halogencarbonsäureester umzusetzen. Bromessigsäureethylester ist ein gängiges und günstiges Ausgangsprodukt, das hierzu verwendet werden kann. Bromessigsäureethylester sollte außerdem mit einer einfachen Methylengruppe als Alkylkette in etwa der Struktur und Position der Carboxylgruppe in einem Sialosid entsprechen.

Die Veretherung von Bromessigsäureethylester und Furan **35** mit NaH als Base in THF bei 0°C führte zu einem Gemisch an Produkten, da Bromessigsäureethylester unter diesen Bedingungen im Sinne einer Claisen-Esterkondensation mit sich selbst reagierte.

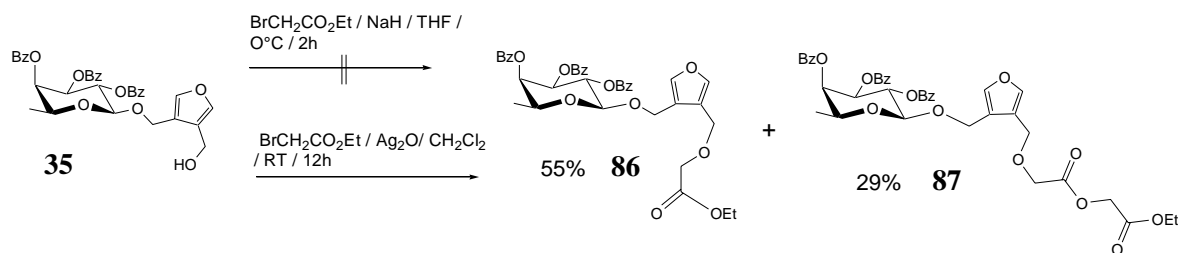


Abbildung 55: Veretherung des Monofucosides **35** mit Bromessigsäureester

Silberoxid wird in der Literatur⁸⁹ als selektiver Promotor für die Substitution dargestellt, ohne eine Deprotonierung der CH-aziden Protonen zu erzeugen. Die Umsetzung von 1 eq. Fucosid **35** mit 3 eq. Bromessigsäureethylester und 3 eq. Ag₂O in CH₂Cl₂ bei RT lieferte das gewünschte Produkt **86** (Abbildung 55). Allerdings stellte sich heraus, daß die Reaktion die beschriebene Selektivität nicht aufweist. Es wurden verschiedene Produkte erhalten, desweiteren ergab sich bei der Aufreinigung die Schwierigkeit, daß Derivate des Essigsäureesters sich unter den chromatographischen Bedingungen etwa gleich verhielten wie das Produkt und somit als Verunreinigung mitgeschleppt wurden.

Neben dem gewünschten Produkt wurde ein zweifach konjugiertes Produkt isoliert, dem zunächst anhand der Masse, ¹H- und ¹³C-NMR Untersuchungen die Struktur **87** zugeteilt wurde.

Ähnliche Ergebnisse lieferte auch die Umsetzung des Galactosederivates **40** mit Bromessigsäure (Abbildung 56). Hier wurde Produkt **88** zu 26% und Nebenprodukt **89** mit 16% Ausbeute erhalten.

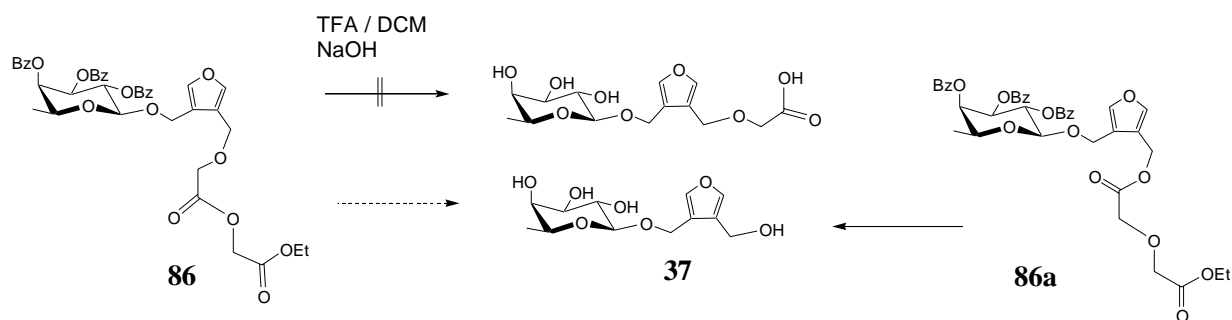


Abbildung 56: Synthese der Carbonsäurederivate

Im Folgenden wurde nun versucht, die erhaltenen Verbindungen zu entschützen und die Ester zu verseifen. Dazu wurde das Produkt **86** erst mit 10%iger TFA-Lösung und dann mit 1N-NaOH versetzt, um den Ester sauer zu spalten und anschließend die Schutzgruppen zu entfernen. Dabei wurden zwar die Benzoylschutzgruppen abgetrennt, nicht aber der Ester verseift. Daher wurde weiterhin versucht, eine Verseifung im Basischen zu erlangen. Verbindung **86** wurde mit Dowex OH⁻, LiOH und KO^tBu in THF/Wasser bei unterschiedlichen Temperaturen umgesetzt, wobei jeweils lediglich eine Spaltung der Benzoylschutzgruppen erhalten wurde.

Bei der Umsetzung des Nebenprodukts **87** in 10%iger TFA-Lösung und anschließender Umsetzung mit 1N-NaOH wurde das Fucosid **37** erhalten (Abbildung 57). Daß bei einer Umsetzung mit 10% TFA eine Etherbindung gespalten worden sein soll, ohne daß die glycosidische Bindung des Saccharids hydrolysiert, ist nicht einleuchtend. Dieses Ergebnis ist nur zu verstehen, wenn statt dem postulierten Nebenprodukt **86** eigentlich das Nebenprodukt **86a** vorgelegen hat. Dieses Isomer kann nach einer Hydrolyse des reaktiven α -Bromessigsäureethylesters zum α -Hydroxycarbonsäureethylester ebenfalls auftreten.

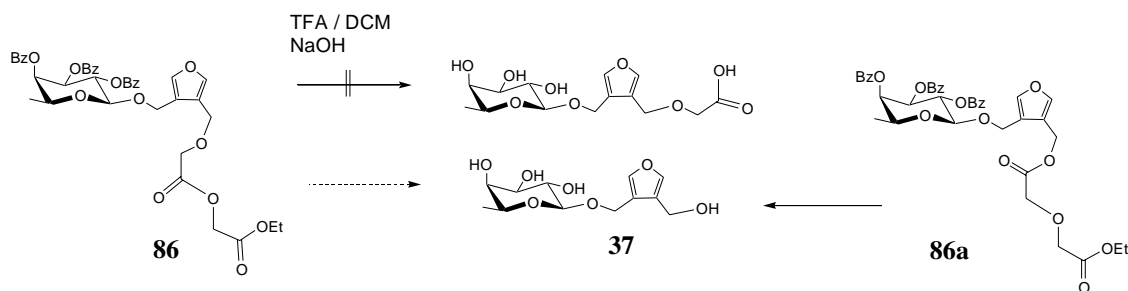


Abbildung 57: Entschützung der Carbonsäurederivate

Aufgrund der schlechten Selektivität und der geringen Ausbeute bei der Umsetzung mit Bromessigsäure sowie der schwierigen Trennung der Produkte wurden keine weiteren Entschützungsversuche unternommen.

3.2.6 Sulfatierte Glycosidmimetika

Neben einer erhöhten Expression sialylierter Oligosaccharide wurde eine Überexpression an sulfatierten Sacchariden, wie z.B. Heparansulfat⁹⁰ oder Sulfato-Lewis x⁹¹, auf Tumorzellen nachgewiesen. Diese unter physiologischen Bedingungen als Natriumsalze auftretenden Sulfate scheinen durch ihre negative Ladung in vielen Erkennungsprozessen ebenfalls eine entscheidende Rolle zu spielen. Aufgrund der schlechten Verfügbarkeit von Neuraminsäure und der schwierigen Glycosilierung der Sialinsäurederivate sind Sulfate von Lewis^x bereits synthetisiert^{92,93} und als Mimetika von sLewis^x in ELISA-Tests an E-Selektin eingesetzt worden⁹⁴. Dabei wurden relativ gute Bindungskonstanten erhalten, so daß Sulfate tatsächlich als Mimetika für Sialinsäure verwendet werden können.

Eine Transformation von Hydroxylgruppen zu Sulfaten erfolgt z.B. durch Umsetzung mit Pyridinsulfoxid in aprotischem Lösungsmittel.

So reagierte das Monogalactosid **40** mit 1.5 eq. Pyridinsulfoxid in DMF bei RT zu dem Sulfat **90**, das nach 10h mit 97% Ausbeute erhalten wurde (Abbildung 58). Die Aufreinigung des benzoylgeschützten Sulfates erfolgte entweder per Chromatographie auf RP18-Säulenmaterial (Acetonitril/Wasser=2:1) oder auf einer Kieselgelsäule (Chloroform/Methanol=4:1). Die Entschützung des Sulfates **90** mit NaOMe in Methanol bei RT lieferte nach 3h zu 85% das Sulfat **91** (GSF).

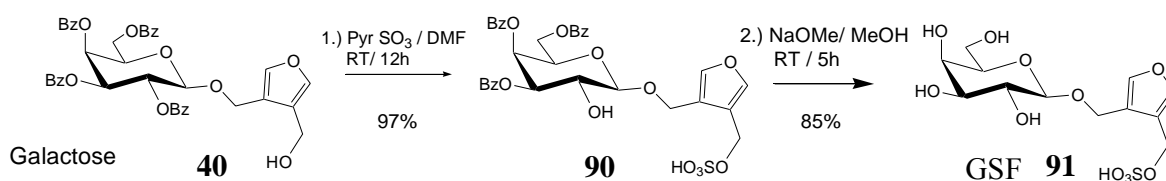


Abbildung 58: Synthese von GSF **91**

Bei der Entschützung muß berücksichtigt werden, daß mindestens 1.1 eq. Natriummethanolat verwendet werden, da zunächst nur das Natriumsalz der Verbindung gebildet wird. Ferner wurde die Reaktion nicht wie gewohnt mit H^+ -Ionenaustauscher neutralisiert, da das Sulfat unter sauren Bedingungen nicht stabil ist. Bei einer Verwendung von 5 eq. NaOMe ließ sich der entstehende Benzoessäuremethylester größtenteils durch Extraktion mit Dichlormethan entfernen.

Die weitere Aufreinigung erfolgte entweder auf einer Kieselgelsäule mit Acetonitril/Wasser=19/1 oder per HPLC auf einer RP18-Säule ($H_2O/AcCN = 98:2$). Auf der HPLC wird das Produkt nahezu mit der Startfront von der Säule eluiert, so daß sich überschüssige Benzoessäure der abgespaltenen Schutzgruppen so schlecht abtrennen läßt. Die HPLC mit Diol- und Aminophasen lieferte keine zufriedenstellende Auftrennung. Die Diolphase hat den Nachteil, daß sehr polare Materialien mit einem hohen Acetonitril- oder Methanolgehalt eluiert werden müssen, in dem das Sulfat **91** schlecht löslich ist. Außerdem ist auch hier die Wechselwirkung mit der festen Phase zu gering, um eine gute Auftrennung zu erhalten.

Analog zu der Synthese von GSF **91** wurden auch die Sulfate der Fucose- und Lactose-Furane ausgehend von Monofucosid **35** und Monolactosid **45** hergestellt.

Das Fucosid **35** wurde mit Pyridiniumsulfoxid in DMF bei RT umgesetzt, um das benzoylgeschützte Sulfat **92** zu erhalten. Dieses konnte mit Natriummethanolat in Methanol bei RT nach Zemplén entschützt werden. Das Sulfat **93** konnte so mit 43% Ausbeute in zwei Stufen erhalten werden. Das Lactosesulfat **95** wurde ebenfalls in zwei Stufen aus dem Lactosid **45** mit 83% Ausbeute erhalten (Abbildung 59).

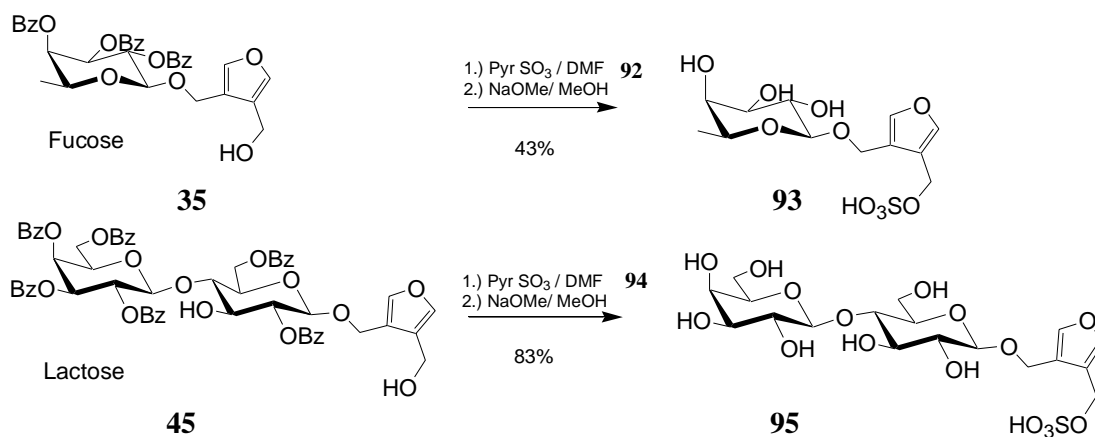


Abbildung 59: Synthese der Saccharidsulfate

Die erhaltenen Sulfatverbindungen stellen gute Saccharidmimetika dar, um die Inhibition der Zell-Zell-Wechselwirkungen von metastasierenden Zellen zu untersuchen. Sie sind in größeren Mengen leicht synthetisierbar und liefern mit der Sulfatgruppe eine interessante Funktionalität, die die Wirkung der Saccharidmimetika wesentlich beeinflussen kann. Die antimetastatische Wirkung von GSF **91** auf humane und Maus- Melanomzelllinien ist in verschiedenen Assays in einer Kooperation mit Gronewold (DKFZ) getestet worden. Auf die dabei erzielten Ergebnisse wird in der Diskussion näher eingegangen.

Um die Rolle der Saccharide bei der Adhäsion bzw. Inhibition nachzuweisen, sind Verbindungen notwendig, die als Kontrollen eingesetzt werden können. Solche Kontrollen bestehen jeweils aus den Grundgerüsten der Mimetika. Im Falle der Sulfatmimetika sollte als Kontrolle ein Monofuransulfat, wie z.B. das Sulfat **98**, dargestellt werden (Abbildung 60).

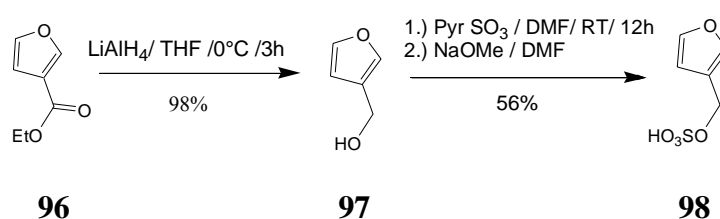


Abbildung 60: Synthese des Sulfates **98**

3-Hydroxymethylfuran **97** wurde aus dem entsprechenden Ester **96** durch Reduktion mit LiAlH_4 mit 97% Ausbeute erhalten und anschließend in DMF bei Raumtemperatur mit Pyr-SO_3 umgesetzt. Im Gegensatz zu der Sulfatierung der saccharidhaltigen Furane erwies sich diese Verbindung als labil. Beim Einengen organischer Lösungsmittel ebenso wie bei dem Lyophilisieren aus wässriger Lösung wurde ein unlöslicher schwarzer Rückstand erhalten. Da das Produkt unter sauren Bedingungen besonders instabil ist, wurde die Reaktionslösung mit 1.5 eq. NaOMe versetzt, direkt auf eine Kieselgelsäule aufgetragen und mit Chloroform/Methanol 4:1 chromatographiert. Wird das Lösungsmittel abgezogen, so erhält man ein weißes Produkt, das bei Aufnahme in Wasser sehr gut löslich ist, bei Lyophilisierung aus wässriger Lösung allerdings direkt wieder polymerisiert. Das weiße Produkt verfärbt sich bei längerer Lagerung bei -15°C ebenfalls grau.

Die Sulfatierung des 3,4-Bishydroxymethylfurans erwies sich als ähnlich kompliziert. Das Disulfat konnte massenspektrometrisch in der Reaktionslösung nachgewiesen werden,

nach einer Aufarbeitung wurde aber ausschließlich als amorpher, schwarzer Rückstand erhalten.

3.2.7 Synthese komplexer sLewis^x-Mimetika

Bislang wurde der Schwerpunkt auf einfache Mimetika gelegt, die möglichst schnell und einfach zu synthetisieren sind. Daher wurden Derivatisierungen direkt an den Hydroxymethylgruppen des Furans durchgeführt. Wechselwirkungen von sLewis^x erfolgen indes nicht nur über zwei Saccharide, sondern zum Teil über Hydroxylgruppen der Galactose. Um komplexere aber eventuell wirksamere Mimetika zu erzeugen, wurde daher im folgenden versucht, einen synthetischen Zugang zu solchen umfassenderen Mimetika zu schaffen. Zur Imitation natürlicher Saccharide ist insbesondere die Derivatisierung der Hydroxylgruppen an C6 und C3 der Galactose von besonderer Bedeutung. Auch hier stehen Derivatisierungen zu Sulfaten, Carbonsäuren u.a. im Vordergrund (schematisch in Abbildung 61 dargestellt).

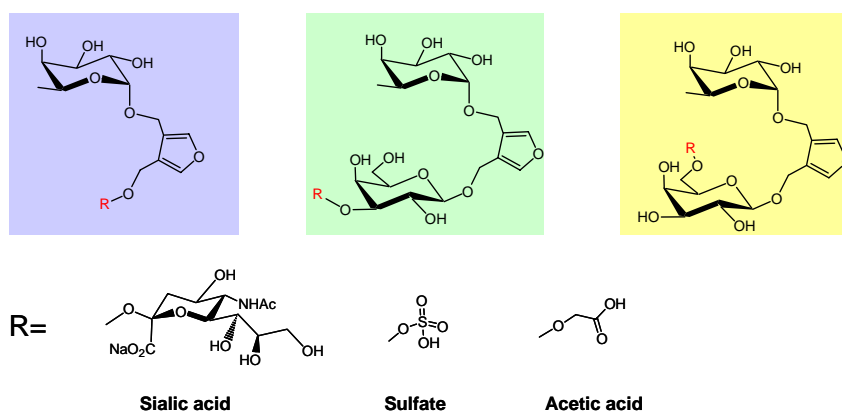


Abbildung 61: Strukturvorschläge für komplexere Saccharidmimetika

Die Synthese solcher komplexer Verbindungen ist im wesentlichen von der richtigen Synthesestrategie und der Auswahl der Schutzgruppen abhängig. Mögliche Synthesansätze für eine Derivatisierung an C3 und an C6 der Galactose unterscheiden sich dabei bedeutsam. Die selektive Derivatisierung der einzigen primären Hydroxylgruppe C6 ist einfacher, da die sterischen und energetischen Eigenschaften für die Schutzgruppenstrategie ausgenutzt werden können.

So wurde zunächst versucht, an 1,2;3,4-Diisopropylgalactose **99** eine Carboxylgruppe einzufügen. Durch Umsetzung mit Bromessigsäureethylester, Ag_2O und TBAI in CH_2Cl_2 bei RT konnten Verbindung **100a** mit 30% Ausbeute und das zweifach konjugierte Produkt **101b** mit 16% Ausbeute erhalten werden (Abbildung 62). Durch Umsetzung mit 10% TFA in MeOH konnten die Isopropylidengruppen nicht abgespalten werden, es wurde lediglich eine Verseifung des Ethylester erhalten.

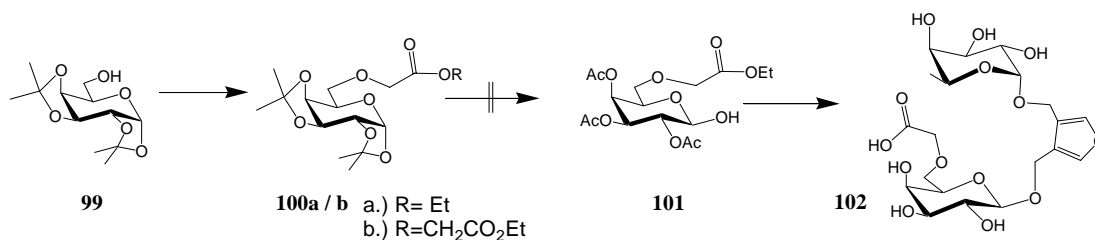


Abbildung 62: Syntheseansatz zu Verbindung **102**

Um verschiedene funktionelle Gruppen an die jeweiligen Positionen einführen zu können, habe ich versucht, eine allgemeine Schutzgruppenstrategie zu entwickeln. Um dabei auch die jeweiligen Sulfate synthetisieren zu können, muß die Labilität der Sulfate gegenüber Säuren berücksichtigt werden. In Anwesenheit von Sulfaten kann keine sauer spaltbare Schutzgruppe verwendet werden, außerdem sind Sulfate unter Glycosilierungsbedingungen nicht stabil. Eine temporäre, orthogonale Schutzgruppe, die am Ende selektiv entfernt werden kann, ermöglicht es, gezielt eine Sulfatgruppe einzuführen.

Verschiedene Bedingungen sind für die Auswahl der Schutzgruppen bestimmend:

- Die Schutzgruppen müssen unter Glycosilierungsbedingungen stabil sein
- Es darf sich nicht um hydrogenolytisch spaltbare Schutzgruppen handeln, da der Furanring ebenfalls hydriert wird
- Die Schutzgruppe C6 muß zu der Schutzgruppe an C1, sowie zu den Schutzgruppen an C2, C3, C4 und C5 orthogonal sein
- Die Schutzgruppe an C1 muß unabhängig von den anderen Schutzgruppen in einen geeigneten Donor überführt werden
- Die Schutzgruppen an C2, C3, C4 und C5 müssen basisch spaltbare Schutzgruppen sein, die in Anwesenheit des Sulfates abgespalten werden können. Mögliche Schutzgruppen sind alle Acylschutzgruppen

Zunächst wurde ein Ansatz mit Galactose **103** getestet, da dieses Derivat im Arbeitskreis vorhanden war⁹⁵. Der Thioaromat stellt eine Schutzgruppe für das anomere Zentrum und eine Abgangsgruppe für die Glycosilierung dar. Durch Benzoylierung entsteht das Galactosederivat **104**, dessen Acetylschutzgruppe selektiv unter pH-Kontrolle basisch gespalten werden kann (Abbildung 63). Die Glycosilierung von Derivat **104** mit Furan **35** mit NIS, TmsOTf bei 0°C in Dichlormethan lieferte allerdings kein Produkt **107**, sondern führte lediglich zur Eliminierung zum Glycal.

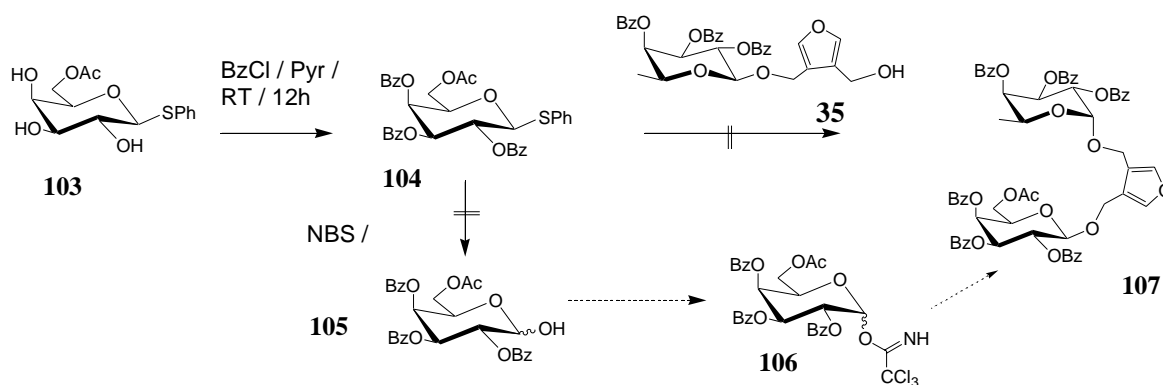


Abbildung 63: Synthese von Galactosemonomer **104**

Der Versuch, das Thiol zu hydrolysieren und im folgenden über das Imidat zu Verbindung **107** zu gelangen, scheiterte ebenfalls, da die Umsetzung mit NBS in Aceton/Wasser, die bei Alkylthiolen quantitativ zu einer Hydrolyse führt, in diesem Falle lediglich einer Isomerisierung zur Folge hatte.

Durch die Synthese von Imidat **110** konnte schließlich eine erfolgreiche, neue Synthesestrategie erhalten werden, die den aufgeführten Bedingungen entspricht.

Setzt man Galactose bei RT in Pyridin mit equimolaren Mengen TBDPSCI und anschließend nach Zemplén mit $\text{Ac}_2\text{O}/\text{Pyridin}$ um, so erhält man selektiv Verbindung **108**. Die anomere Acetylschutzgruppe konnte mit Hydrazin in Dichlormethan abgespalten und Verbindung **109** in drei Schritten mit 70% Ausbeute erhalten werden (Abbildung 64). Die Umsetzung zum Imidat **110** mit Trichloracetonitril und DBU bei 0°C in DCM verläuft standardmäßig.

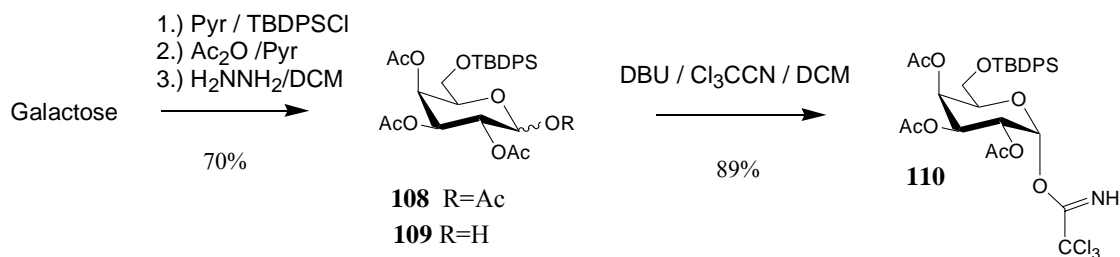


Abbildung 64: Synthese von Imidat **110**

Durch Glycosilierung des Fucosids **35** mit Imidat **110** bei 0°C in Dichlormethan wurde das Produkt **111** mit 45% Ausbeute erhalten. Die weitere Umsetzung mit TBAF und 18-Krone-6 bei 0°C führte zu einer Abspaltung der Silylschutzgruppe, wobei das Produkt **112** mit 18% Ausbeute erhalten wurde (Abbildung 65). Unter den stark basischen Reaktionsbedingungen während der Entschützung tendieren die Acetylgruppen zu Wanderung oder Abspaltung, was die geringen Ausbeuten bedingt. Unter Verwendung katalytischer Mengen an TBAF und dem Einsatz von Kronenether in wasserfreiem Lösungsmittel läßt sich die Nebenreaktion abmildern. Die Verwendung von Benzoylgruppen, die dies besser aushalten würden, ist nicht möglich, da sich diese wiederum basisch nicht selektiv in 1 Position abspalten lassen.

Mit der entstandenen Verbindung **112** ergibt sich aber die Möglichkeit, verschiedene funktionelle Gruppen an der 6-Position der Galactose einzuführen. Eine Umsetzung mit Pyridinsulfoxid in DMF und anschließende Entschützung mit NaOMe liefert Verbindung **113**. Auch Carbonsäurederivate könnten so in 6-Position eingeführt werden. Aufgrund mangelnder Zeit wurde diese Synthese allerdings nicht mehr durchgeführt.

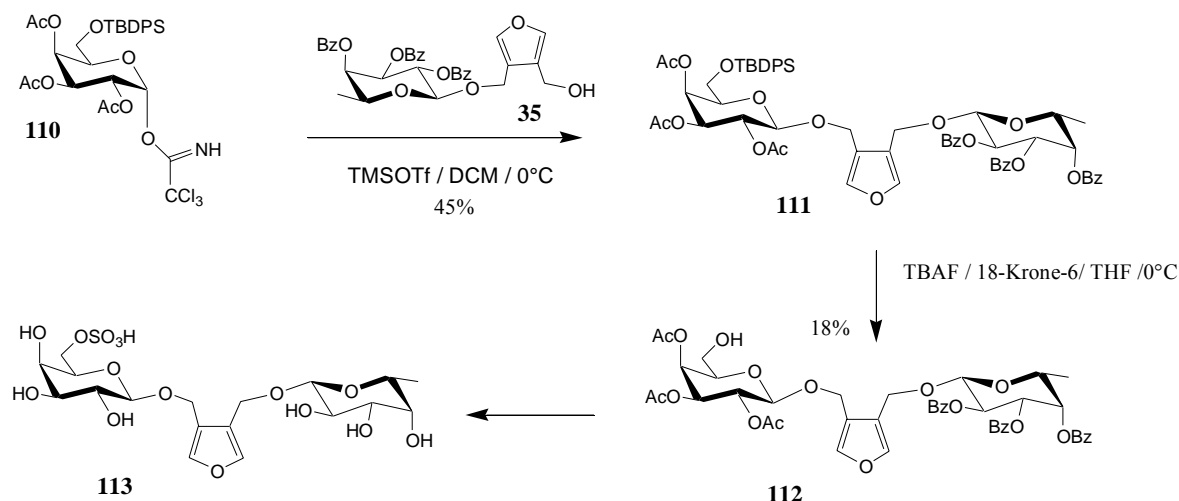


Abbildung 65: Synthese von Endverbindung **113**

Eine Derivatisierung der 3-Position der Galactose ist entsprechend schwerer, da es sich nach der Hydroxylgruppe an C4 um die unreaktivste handelt. Schutzgruppenstrategien versuchen die Schutzgruppen für Diole auszunutzen, um selektiv die gewünschte Hydroxylgruppe derivatisieren zu können. Ein interessantes Beispiel für eine solche Strategie ist die Verwendung von Bu_2SnO mit Galactose. Ist die 1-Position geschützt, so erhält man nach etwa 60h selektiv das Intermediat **115**. Dieses kann nach Hasegawa⁹⁶ mit MPMCl geöffnet werden, wobei aufgrund des Reaktivitätsunterschiedes zwischen C4 und C3 ausschließlich Verbindung **116** entsteht. Damit ist eine Möglichkeit gegeben, eine orthogonale Schutzgruppe in 3-Position einzufügen.

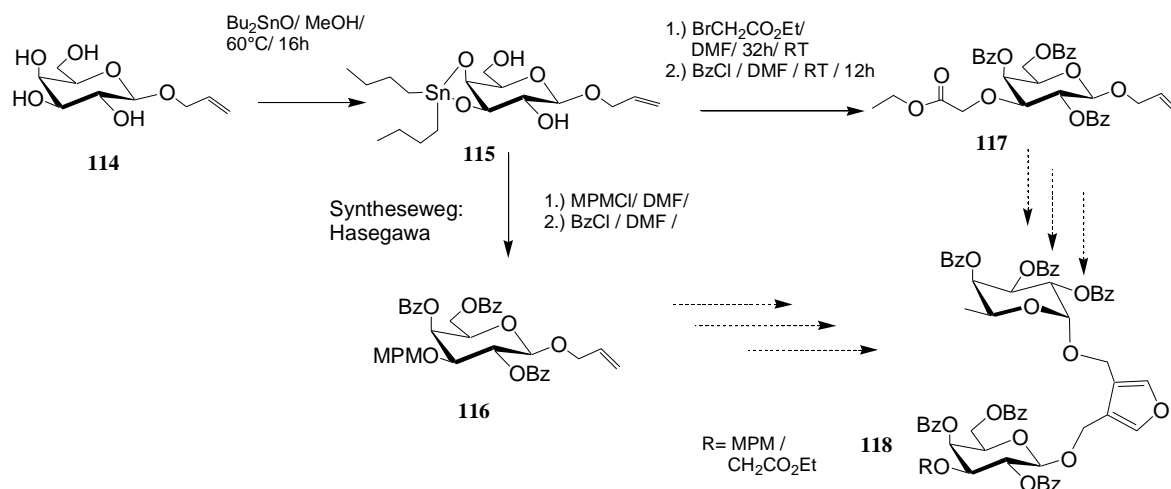


Abbildung 66: Syntheseansätze zur Derivatisierung in 3-Position der Galactose

Die Verbindung **115** konnte mit Bromessigsäureethylester in DMF bei RT zu Verbindung **117** umgesetzt werden. Allerdings wurde diese Verbindung aufgrund mangelnder Zeit nicht weiter zu Endverbindung **118** umgesetzt.

Verschiedene Wege zur Funktionalisierung der Galactose an C3 oder C6 konnten aufgezeigt werden, genauere Synthesebedingungen müssen an dieser Stelle allerdings noch ausgearbeitet werden.

3.2.8 Glycosidmimetika als diagnostische Tools

In den vorhergehenden Kapiteln wurden verschiedene Synthesen von Saccharidmimetika dargelegt. Insbesondere mit dem Sulfat GSF wurden von Gronewold verschiedene biologische Assays durchgeführt, um das inhibitorische Potential des Mimetikums in Bezug auf Zell-Zell-Wechselwirkungen zu testen. Die Ergebnisse dieser Assays sind zum Teil sehr vielversprechend und lassen darauf schließen, daß das Mimetikum tatsächlich an Zellen bindet und eine inhibitorische Wirkung auf die Zell-ECM-Wechselwirkung von Melanomen hat. Allerdings werfen diese Ergebnisse die Frage nach den Mechanismen auf: An welche Rezeptoren bindet das Mimetikum? Wo sind die Rezeptoren lokalisiert? Ist die Bindung spezifisch für Melanome oder findet sie an den Bindungsproteinen der extrazellulären Matrix (ECM) statt? ...

Zur Beantwortung dieser Fragen steht die genaue Analyse der Saccharid-Lektin-Interaktionen im Vordergrund. Die Untersuchung von Saccharid-Lektin-Wechselwirkungen kann über isolierte *ex-vivo* Bindungsassays (ELISA-Tests) mit jeweiligen Zelloberflächenrezeptoren erfolgen. Alternativ kann man aber auch versuchen, das Saccharidmimetikum zu markieren, um *in vivo* Aussagen über die entsprechenden Rezeptoren und ihre Lokalisierung treffen zu können.

Die Furansaccharidmimetika lassen sich via Diels-Alder-Reaktion vielfältig funktionalisieren. Zur Untersuchung von Lektin-Saccharid-Wechselwirkungen bietet sich die Einführung von Biotin oder Fluoreszenzmarkern an. Die Umsetzung der Furansaccharidkonjugate mit Fluoresceinmaleinimid hat sich bereits in Vorarbeiten bewährt⁸⁷.

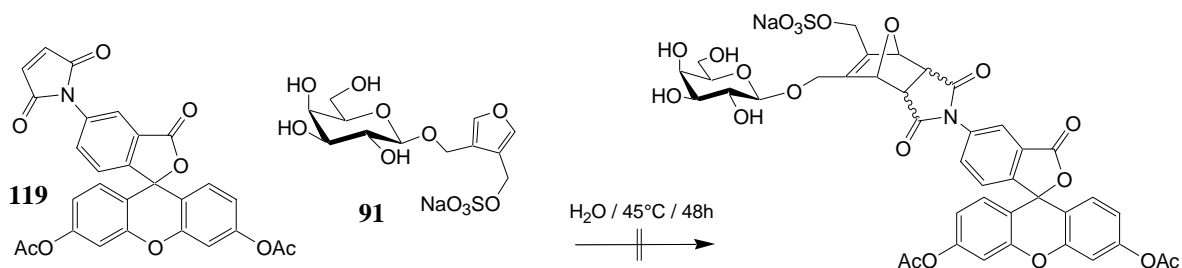


Abbildung 67: Diels-Alder-Reaktion von GSF-Natriumsalz **61** mit Maleinimidofluorescein

Eine Umsetzung des Natriumsalzes des GSFs **91** mit einem Überschuß am Maleinimid führte in Wasser bei 45°C nicht zu dem gewünschten Produkt, sondern zu einer Übertragung der Acetylschutzgruppen auf die Galactose (Abbildung 67), wobei sich die Entschützung des Fluoresceins durch einen starken Farbumschlag von farblos nach tief rot sofort zeigte. GSF mit bis zu drei Acetylschutzgruppen konnte massenspektrometrisch nachgewiesen werden.

Um eine Acetylschutzgruppenwanderung zu umgehen, wurde zunächst versucht, Fluorescein zu entschützen und das entschützte Produkt in einer Diels-Alder-Reaktion einzusetzen. Bei der Entschützung von Fluoresceinmaleinimid **119** mit Natriummethanolat wurde das Maleinimid geöffnet, so daß sich der Methyl ester des Fluoresceins und der Maleinsäure bildeten (Abbildung 68). Die Umsetzung mit 20%iger Ammoniak-Lösung in Methanol führte zwar auch zu einer vollständigen Entschützung des Fluoresceins, aber ebenfalls zu einer Öffnung des Maleinimides. Die Basenlabilität des Maleinimides macht also die Abspaltung der Acetylgruppen ohne gleichzeitige Ringöffnung des Maleinimides schwer.

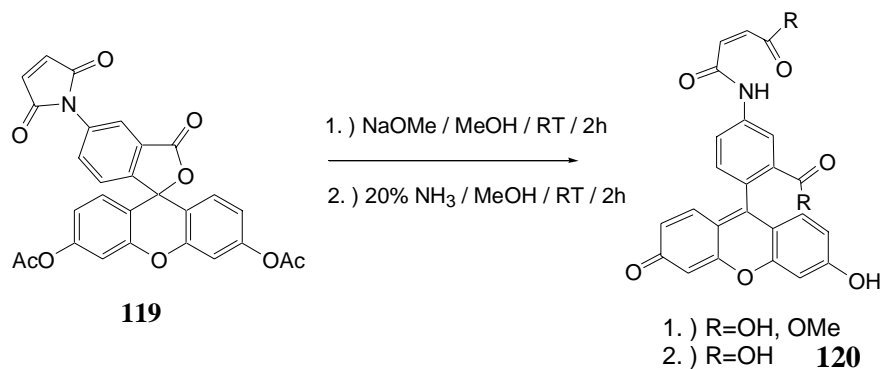


Abbildung 68: Entschützungsversuche von Acetyl-maleinimidofluorescein **70**

Der Versuch, das Fluoresceinderivat **120** in Wasser mit GSF **91** bei 45°C umzusetzen, scheiterte. Es konnte kein Diels-Alder-Addukt nachgewiesen werden. Die Reaktivität des Fluoresceins in Bezug auf die pericyclische [2+4]-Reaktion wird durch die Ringöffnung des Maleinimides und der damit verbundenen Bildung einer elektronenreichen Säuregruppe drastisch herabgesetzt.

Eine erfolgreiche Umsetzung konnte schließlich durch die Verwendung von „saurem GSF“ erhalten werden. GSF **91**, das zuvor über Kieselgel mit Acetonitril/Wasser = 19:1 chromatographiert wurde, liegt als freie Säure vor und ist stark sauer. Die Umsetzung dieses „sauren“ GSF **91** mit Acetylfluoresceinmaleinimid in wasserfreiem DMF lieferte nach 56h bei 45°C das Produkt **121** mit 38% Ausbeute.

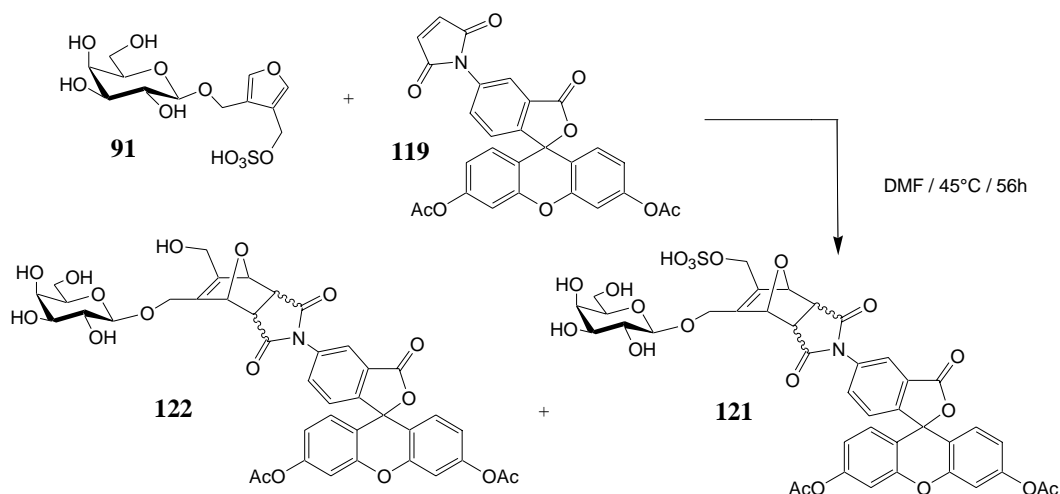


Abbildung 69: Diels-Alder-Reaktion von GSF **91** mit Maleinimidofluorescein **119**

Per HPLC auf einer RP18-Säule konnte das Reaktionsgemisch getrennt und das Produkt als Endo-Exo-Gemisch sauber erhalten werden. Das Hydrolyseprodukt **122** wurde zu 10% als Nebenprodukt ebenfalls isoliert.

Beide Diels-Alder-Addukte **121** und **122** wurden im folgenden entschützt. Dabei wiesen beide Addukte ebenfalls eine starke Tendenz zu einer Ringöffnung am Amid auf. Durch Umsetzung in Methanol mit 20% Ammoniak wurden quantitativ die Produkte **123** und **124** erhalten. Die erhaltenen fluoreszierenden Bicyklen **123** und **124** stellen jedoch ebenfalls brauchbare Produkte für biologische Untersuchungen dar, da das offene Amid nach ersten HPLC Untersuchungen relativ stabil ist.

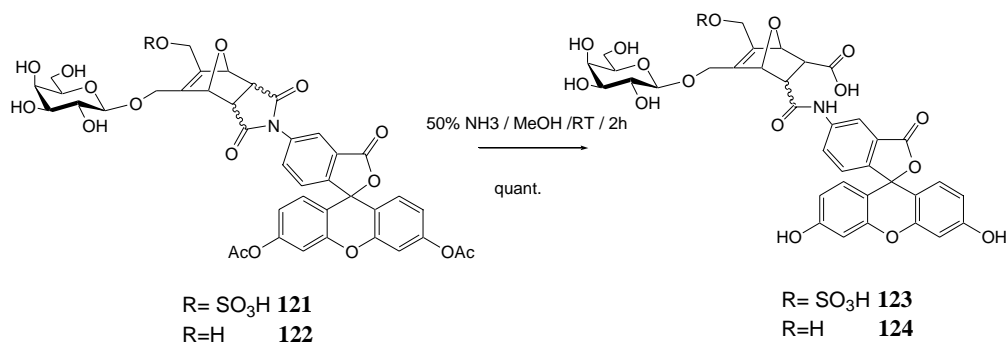


Abbildung 70: Entschützung der Verbindungen **121** und **122**

Zur weiteren Markierung des Saccharidmimetikums GSF wurde versucht, Biotin einzuführen, das in gängigen Assays mit Streptavidin-FITC verwendet wird. Maleinimidobiotin **125** ist ein gängiges, kommerziell erhältliches Kopplungsreagenz für Proteine, das mit freien Cysteinen reagiert. Die Umsetzung von GSF **91** mit Maleinimidobiotin **125** in Wasser bei 45°C liefert in 48h das Diels-Alder-Addukt **126** (Abbildung 71). Nach Aufreinigung per HPLC konnte das Produkt **126** mit 45% Ausbeute als Endo-Exo-Gemisch erhalten werden.

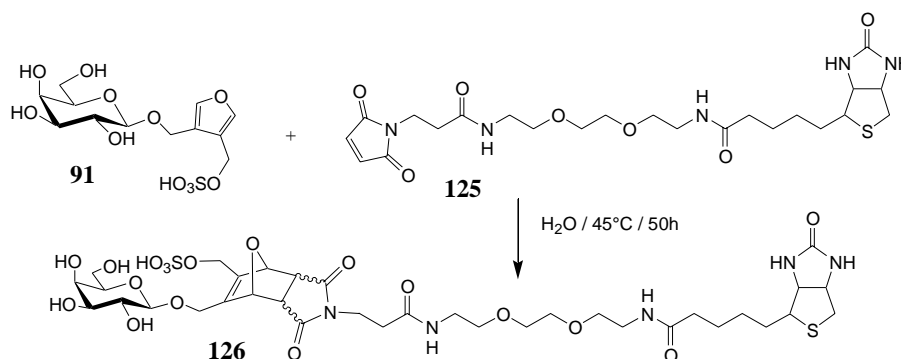


Abbildung 71: Diels-Alder-Reaktion von GSF **91** mit Maleinimidobiotin **126**

3.2.9 Bewertung von Donoren zur Synthese von α -Fucosiden

Ein Grundbestandteil von Oligosacchariden neben Galactose, Glucosamin und Mannose stellt die Fucose dar. Sie hat insbesondere bei den Blutgruppenantigenen, sowie bei sLewis^x eine wichtige Erkennungsfunktion und ist wesentlich bei der Bindung an entsprechende Lektine beteiligt. Im Gegensatz zu vielen anderen Monosacchariden

kommen Fucoside in der Natur ausschließlich als L-konfigurierte und α -verknüpfte Saccharide vor, so daß Saccharidmimetika meist ebenso als α -Fucoside dargestellt werden. Wie in Kapitel 1.5.1 erörtert, hat das Auswirkungen auf die Synthesebedingungen, da die Stereoselektivität der Glycosilierung neben rein enthalpischen Effekten durch die Auswahl der Schutzgruppen beeinflusst wird (sog. Nachbargruppeneffekt). Bei Acylschutzgruppen in 2-Position stabilisiert die Carbonylgruppe das entstehende Carbokation und favorisiert eine *trans*-Glycosilierung. Bei Fucosendonoren bedeutet dies, daß eine β -Glycosilierung favorisiert ist (Abbildung 72). α -Fucoside können daher besser erhalten werden, wenn man Schutzgruppen in 2-Position verwendet, die keine stabilisierende Wirkung haben.

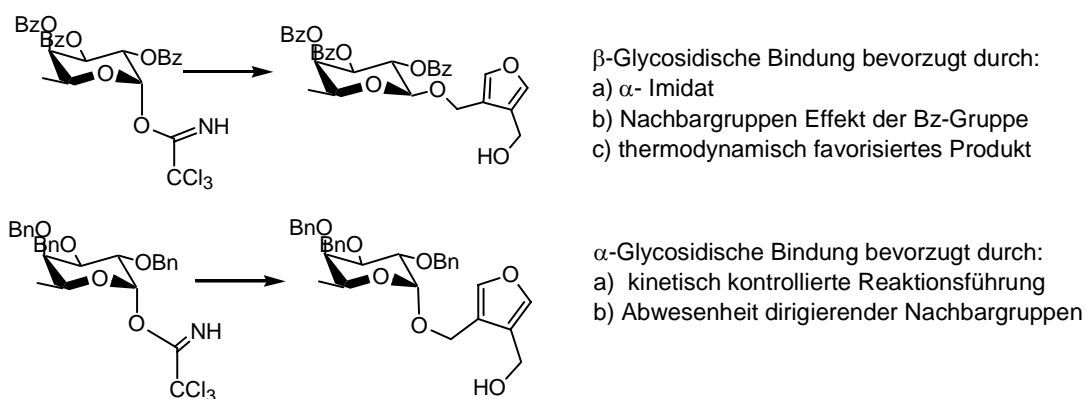


Abbildung 72: Reaktionskontrolle der Stereoselektivität

Verschiedene Fucosyldonoren mit benzylicchen Schutzgruppen zur Synthese von α -Fucosiden sind etabliert, einige sind in Abbildung 73 dargestellt. Der einfachste Donor zur α -Fucosilierung ist Tribenzylimidat **127**. In 4 Stufen wird das Imidat aus Fucose erhalten und daher häufig eingesetzt. Durch die elektronenreichen Benzylschutzgruppen ist das Imidat **127** wesentlich aktiver, aber leider auch labiler als das analoge Benzoylimidat **34**. Donoren, die lediglich in 2-Position eine benzylicche Schutzgruppe enthalten, erweisen sich als wesentlich stabiler. Ihre Synthese ist allerdings auch mit einem höheren Aufwand verbunden.

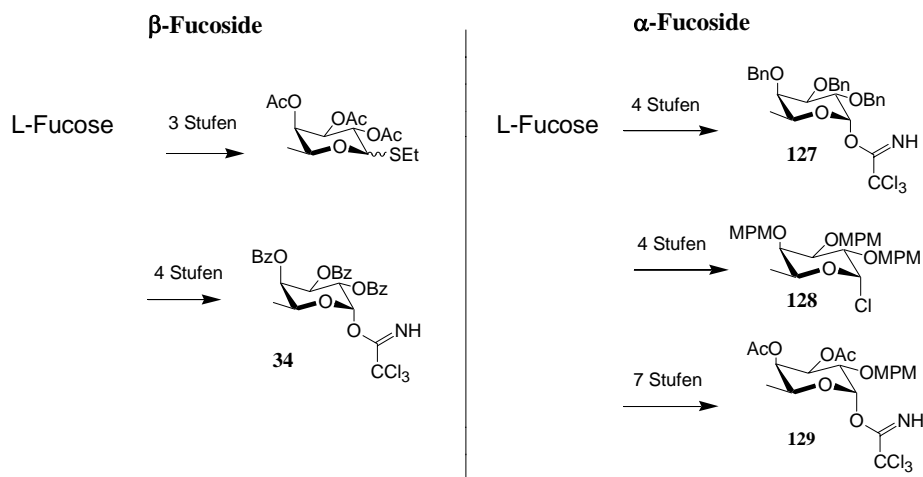


Abbildung 73: Beispiele bekannter Fucosendonoren

Verschiedene dieser literaturbekannten Donoren wurden für Umsetzungen im Rahmen dieser Arbeit herangezogen. Im Vordergrund standen Donoren mit der *p*-Methoxybenzylschutzgruppe (MPM=Methoxyphenylmethyl), da sich diese benzyliche Schutzgruppe sowohl oxidativ als auch hydrogenolytisch abgespalten läßt. Da das aromatische Gerüst der Furane mit H₂ und Pd/C hydriert wird, können normale Benzylschutzgruppen zwar verwendet werden, sie können aber nicht abgespalten werden, ohne daß der Furanring dabei auch hydriert wird. Die MPM-Gruppe ist noch elektronenreicher als die Benzylgruppe, so daß ein Imidat mit drei MPM-Gruppen nicht stabil ist.

Das Chlorid **128**⁹⁷ und das Imidat **129**⁹⁸ wurden zur Synthese von Furan- α -fucosiden hergestellt. Die Schwierigkeit bei Synthese und Handhabung dieser Donoren liegt in der Säurelabilität der MPM-Gruppe. Sowohl das Chlorid **128** als auch das Imidat **129** werden über eine 1-O-Allylfucose dargestellt. Diese Allylgruppe wird abgespalten, indem sie isomerisiert und dann sauer hydrolysiert wird. Dabei können die MPM-Gruppen ebenfalls abgespalten werden. Bei dem Chlorid **128** von Unverzagt⁹⁷ ist es nahezu unmöglich die Allylgruppe zu entfernen, ohne daß es zu einer Hydrolyse der MPM-Gruppen kommt. Bei dem Donor **129** stellt die 1-O-Entschützung zwar einen kritischen Schritt dar, die einzelne MPM-Gruppe ist jedoch weniger säureempfindlich, so daß das Imidat **129** erhalten werden kann.

Zur Synthese von Furan- α -fucosiden wurden die Verbindungen **127** und **129** eingesetzt. So wurde Imidat **127** mit 3,4-Bishydroxymethylfuran **33** bei -20°C in Dichlormethan umgesetzt und das Monofucosid **130** mit 52% Ausbeute als etwa 3:1 α/β -Gemisch erhalten

(Abbildung 74). Die Umsetzung von Imidat **129** mit Monogalactosid **40** in Dichlormethan bei 0°C lieferte das Produkt **131** mit 24% Ausbeute in einem α/β -Verhältnis von etwa 2:1. Dieses Gemisch konnte per Flashchromatographie oder MPLC nicht getrennt werden.

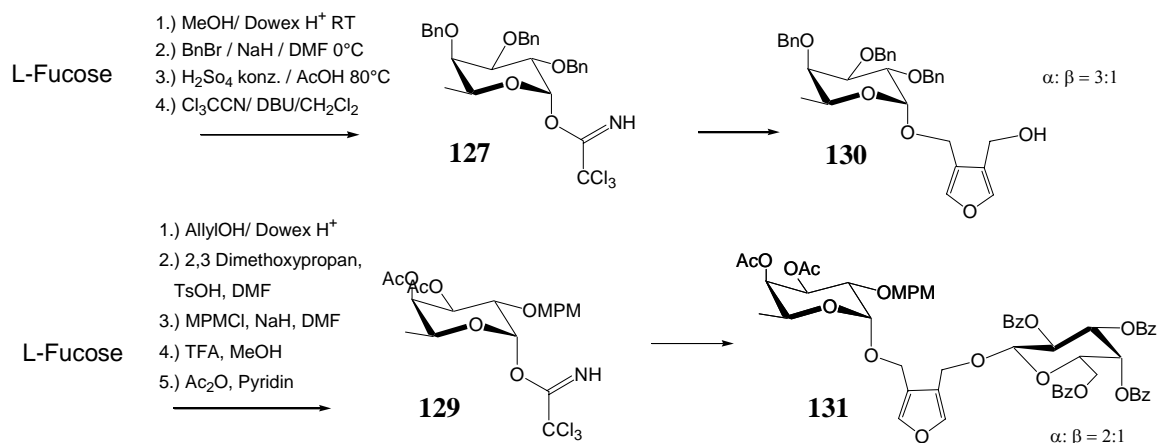


Abbildung 74: Synthese verschiedener α -Fucoside auf Basis von Furanen

3.2.10 Strukturvergleiche mittels Molecular Modelling

Gerade die Schwierigkeiten, die bei der α -Fucosilierung auftreten, werfen die Frage nach der genauen Struktur der Furansaccharidmimetika auf. Können diese Furane prinzipiell mit Sacchariden verglichen werden? Sind die Abstände und Winkel mit denen der Saccharide vergleichbar? Inwiefern spielt die α/β -Verknüpfung tatsächlich eine Rolle? Lohnt es sich, die synthetische Herausforderung einzugehen?

Um derartige Fragen zu beantworten, wurden einige Molecular Dynamics Simulation-Studien⁹⁹ durchgeführt. Bei diesen Studien wird die zu untersuchende Verbindung in das Zentrum einer Wasserbox der Größe 25x25x25 Å plaziert. Das Molekül bewegt sich dort über 1 ns bei einer Temperatur von 400 K frei. Die eingenommenen Konformationen werden gespeichert, und die Aufenthalte der Atome, ihre Winkel und Abstände bestimmt. Um einen einfachen, visuellen Vergleich anstellen zu können, werden die Schwerpunkte der einzelnen Saccharide in den jeweils eingenommenen Konformationen bestimmt, als Punkte dargestellt und im 3D-Raum überlagert. Damit zeigen sie die Positionen an, die die Saccharide im Laufe der simulierten Nanosekunde eingenommen haben.

sLewis x, sowie das α -Furanfucosid **A** und das β -Furanfucosid **B** (Abbildung 75) wurden im Rahmen dieser Arbeit von von der Lieth modelliert und die Längen und Winkel zwischen den einzelnen Sacchariden, von gewichteten Schwerpunkten der Saccharide ausgehend, berechnet. Die jeweiligen Minimal- und Maximalwerte sowie die statistischen Mittelwerte wurden festgehalten und im Anhang in Tabelle 2 und Tabelle 3 auf Seite 130 aufgeführt.

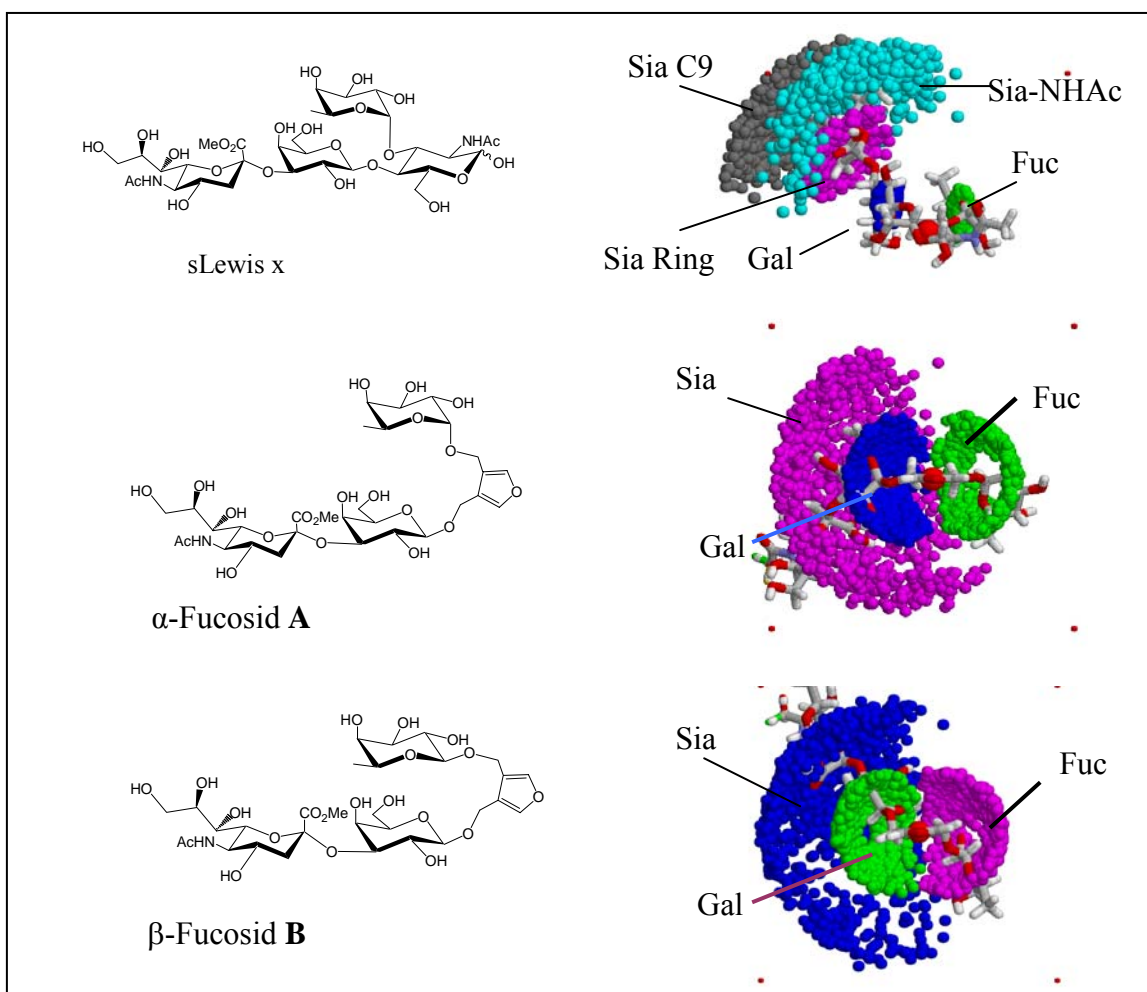


Abbildung 75: Links: Strukturformel der berechneten per Molecular Modelling Moleküle. Rechts: Darstellung der innerhalb einer ns eingenommenen Positionen der berechneten Moleküle (RasMol-Darstellungen). Jeder Punkt entspricht der Position des Schwerpunktes eines Saccharids der im Laufe der Simulation eingenommenen Konfigurationen. Die unterschiedliche Verteilung der Punkte stellt auch die unterschiedliche Flexibilität und Bewegungsfreiheit der Verbindungen dar.

Die RasMol-Moleküldarstellungen (Abbildung 75 rechts) veranschaulichen die Ergebnisse der Berechnungen in einer 3D-Darstellung. Man kann gut erkennen, daß das Tetrasaccharid sLewis^x relativ rigide ist. Die eingenommenen Positionen der Galactose

und Fucose sind relativ klein (grün und blau). Lediglich die Seitenkette der Sialinsäure (grau und türkis) hat eine gewisse Bewegungsfreiheit. Die Furansaccharidmimetika **A** und **B** hingegen weisen eine deutlich größere Beweglichkeit auf, was an der größeren Verteilung der Punkte im Raum zu sehen ist (grün, blau und pink). Strukturell ist dies auf die zwei CH_2 -Gruppen des Furans zurückzuführen.

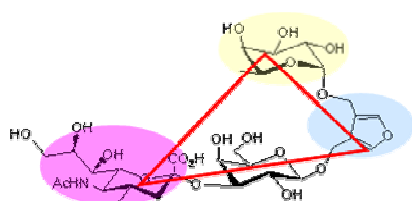


Abbildung 76

Dieser Vergleich der 3D-Darstellung stellt zunächst jedoch nur eine rein visuelle, subjektive Gegenüberstellung dar. Erst die genaue Analyse der einzelnen Daten liefert eine Möglichkeit, die Strukturen wirklich zu vergleichen und den Unterschied zu quantifizieren.

Um eine greifbarere Vorstellung der Struktur der Verbindungen zu bekommen, wurden die Strukturparameter zwischen der Sialinsäure, der Fucose und dem zentralen Core (GalNAc bzw. Furan) genauer betrachtet (Abbildung 76). Dazu wurden die mittleren Längen und Winkel zwischen den Sacchariden (genauer zwischen den Schwerpunkten der Saccharide) als Dreieck dargestellt und zum Vergleich überlagert.

In Abbildung 77 ist links der Strukturvergleich für sLewis^x und α -Fucosid **A** und rechts für α -Fucosid **A** und β -Fucosid **B** dargestellt. Die Dreiecke (gelb und blau) aus Sialinsäure, Fucose und dem Core sind für jeweils zwei Verbindungen überlagert worden. Diese aus den Mittelwerten gewonnenen Dreiecke repräsentieren die wahrscheinlichste Konfiguration der Moleküle.

Die Beweglichkeit der Mimetika ergibt sich aus den Fehlerwerten der einzelnen Längen und Winkel. Graphisch wurden sie berücksichtigt, indem die Dreiecke mit den Minimal- und Maximalwerten der Längen und Winkel (gepunktet und gestrichelt) ebenfalls dargestellt wurden. Sie veranschaulichen die Minimal- und Maximalauslenkungen der Sialinsäure und der Fucose vom Core ausgehend. Die Fläche zwischen diesen Minimal- und Maximalauslenkungen stellt den Bereich dar, den die Mimetika einnehmen können. Sie ist für die Beweglichkeit der Sialinsäure gelb und für die Fucose blau abgebildet. Die halbtransparente Darstellung verdeutlicht die Überschneidungen der möglichen eingenommenen Konformationen.

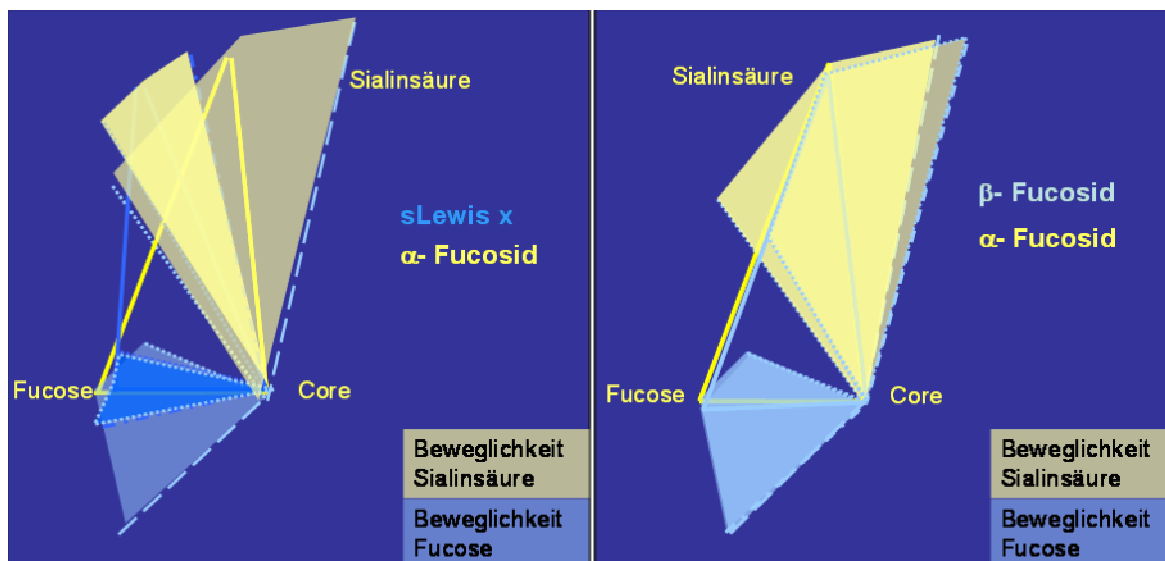


Abbildung 77: 2D-Darstellung der Beweglichkeit der berechneten Saccharidstrukturen: Links¹⁰⁰ sLewis x im Vergleich zu dem α -Fucosesaccharidmimetikum **A**, rechts ein Vergleich zwischen dem α - und β - Saccharidmimetikum **A** und **B**. Gelb stellt die Beweglichkeit der Sialinsäure ausgehend vom Zentrum dar, blau die mögliche Auslenkung der Fucose. Die Bereiche, die von den Sacchariden eingenommen werden können, sind halbtransparent dargestellt, so daß die dunkleren Gebiete die „Schnittmenge“ der Konformationen darstellen.

Bei dem Vergleich des Mimetikums mit sLewis x (links) ist gut zu erkennen, daß die Abstände vom Core (Furan bzw. GalNAc) zu der Fucose bzw. der Sialinsäure in etwa gleich lang sind wie die entsprechenden Abstände bei dem Tetrasaccharid sLewis x. Lediglich der Winkel zwischen Fucose und Sialinsäure scheint bei den Furankonjugaten etwas größer zu sein als bei sLewis x. Desweiteren ist der gelbe Bereich, indem sich das Molekül bewegt, bei dem Mimetikum deutlich größer. Die erhöhte Bewegungsfreiheit des Mimetikums gegenüber dem Tetrasaccharid sLewis^x, die in der 3D-Darstellungen in Abbildung 75 bereits angedeutet wurde, somit klar zu erkennen. Bemerkenswert ist jedoch, daß das Mimetikum nahezu alle möglichen Konformationen des Tetrasaccharides ebenfalls abdeckt.

In der rechten Darstellung, in der die Mimetika **A** und **B** abgebildet wurden, kann man erkennen, daß α - und β -Fucoside eine nahezu identische Struktur aufweisen. Es scheint strukturell keine Rolle zu spielen, ob es sich bei dem Furanimimetikum, um eine α - oder β -verknüpfte Fucose handelt. Damit scheint sich der Aufwand für eine α -Fucosilierung nicht zu rechtfertigen. Es bleibt jedoch die Frage, welche Bereiche der Fucose selbst Lektine genau erkennen, um zu wissen, ob die Stereochemie letztlich eine Rolle spielt oder nicht.

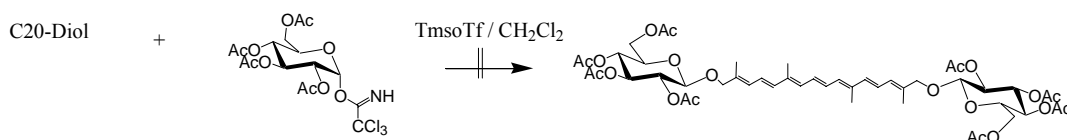
Bei dem Vergleich der Furanmimetika und sLewis^x konnte mit diesen Berechnungen weiterhin gezeigt werden, daß die Saccharidmimetika mit Struktur von sLewis^x übereinstimmen. Die Mimetika nehmen im Großen und Ganzen dieselben Konformationen ein, die das Tetrasaccharid auch einnehmen kann. Durch ihre zusätzliche erhöhte Flexibilität können sich die Mimetika besonders gut an Lektinbindungsstellen anpassen.

4 Diskussion und Ausblick

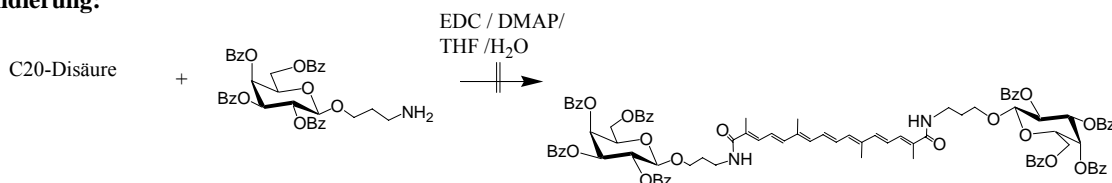
Im ersten Teil der Arbeit sollte die Synthese langkettiger, multivalenter Glycokonjugate untersucht werden. Durch die Verwendung langer, rigider Ketten (ca. 30Å) sollte die Möglichkeit gegeben werden, multivalente Liganden für Polyomaviren zu synthetisieren. Anhand der Kristallstruktur des Kapsidproteins pV1 konnten verschiedene Strukturvorschläge multivalenter Mimetika auf Basis von Carotinoiden ausgearbeitet werden.

Es wurden drei gänzlich verschiedene Ansätze gewählt, um Saccharide mit Carotinoiden zu verbinden. Zunächst wurde direkt an Carotinoide glycosiliert, dann wurde versucht die Carboxylgruppen der Carotinoide durch eine Amidbildung mit Saccharidkonjugaten zu koppeln. Als letztes wurde ein Saccharidphosphonat im Sinne einer Wittig-Horner-Reaktion mit Crocetindial umgesetzt (Abbildung 78).

Glycosilierung:



Amidierung:



Wittig-Reaktion

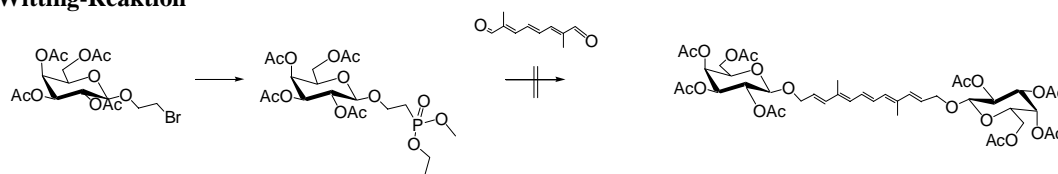


Abbildung 78: Beispiele der durchgeführten Kopplungen zwischen Sacchariden und Carotinoiden

Keiner dieser Ansätze führte zu den gewünschten Saccharidkonjugaten. Bei der Umsetzung von Crocetindiol mit überschüssigem Imidat konnte keine Glycosilierung festgestellt werden. Es wurden lediglich Zerfallsprodukte des Imidates isoliert. Vermutlich ist die Labilität der Hydroxylgruppen der Carotinoide für die Schwierigkeiten bei der

Glycosilierung verantwortlich. Unter den Glycosilierungsbedingungen könnte es zu Umlagerungen der Doppelbindungen kommen.

In Bezug auf die Glycosilierung ist zu überlegen, ob man nicht ganz andere Carotinoide als Edukte hinzuzieht oder andere Glycosilierungsmethoden einsetzt. So wäre es z.B. möglich, pflanzliche, natürlich glucosidierte Carotinoide⁸⁰ zu verwenden und mit einer Sialinsäuretransferase enzymatisch zu sialylieren. Damit könnten die Schwierigkeiten bei der Glycosilierung eventuell umgangen und mildere Bedingungen eingesetzt werden.

Bei der Amidbildung zwischen den Säuren der Carotinoide und Saccharidbausteinen mit Aminolinkern wurde stets nur das Carbodiimid-Intermediat isoliert, obwohl zwei verschiedene Aktivierungen durchgeführt wurden, die sich bei anderen Reaktionen oft bewährt haben. Das spricht dafür, daß diese Carbonsäuren besonders reaktionsträge sind. Unter härteren Reaktionsbedingungen sollte es dennoch eventuell möglich sein, eine Kopplung zu erzielen.

Bei der Wittig-Horner-Reaktion scheint das saccharidhaltige Phosphonat, nicht elektronenreich genug gewesen zu sein. Ein anderes saccharidhaltiges Phosphonat mit einem elektronenreicheren Linker müßte zu einer Kopplung führen.

Vielfältige andere Varianten zum Aufbau von Saccharid-Carotinoid-Konjugaten sind denkbar, allerdings ist dabei zu beachten, daß die Reaktionsfähigkeit der Carotinoide mit zunehmender Kettenlänge abnimmt. Die deutlich schlechtere Löslichkeit der längeren Carotinoide erschwert die chemische Umsetzung in polaren Lösungsmitteln und schränkt die Synthesemöglichkeiten damit drastisch ein. Um Carotinoide einer Länge von 30Å umzusetzen, muß daher eine sehr gut funktionierende Methode vorliegen. Ausgehend von den durchgeführten Versuchen gehe ich davon aus, daß eine einfache Variation der Reaktionsbedingungen hierzu nicht ausreicht, sondern auf andere Synthesewege ausgewichen werden muß.

Prinzipiell stellt sich die Verwendung solcher Carotinoidkonjugate als Inhibitoren von Viren an ihre Wirtszellen in Frage. Mit zunehmender Kettenlänge werden Carotinoide sehr unpolar. Es ist folglich anzunehmen, daß sich lange Carotinoid-Saccharid-Konjugate schlecht in wäßrigem Medium lösen, was die Durchführung der Bindungsassays erschweren würde. Es wäre zu erwarten, daß sich derart lange hydrophobe Carotinoide mit extrem polaren saccharidhaltigen Enden wie Seifen anordnen und clustern.

Carotinoide stellen dennoch eine sehr interessante und vielseitige Stoffgruppe dar. Erste Erkenntnisse zeigen, daß verschiedene natürliche Carotinoide eine präventive anticancerogene Aktivität aufweisen^{80,83}. Dazu zählen alpha-Carotene, Lutein, Zeaxanthin, Lycopene, beta-Cryptoxanthin, Fucoxanthin, Astaxanthin, Capsanthin, Crocetin und Phytoen¹⁰⁰. Daher sind Glycokonjugate auf Basis von Carotinoiden vielleicht auch im Hinblick auf andere Anwendungen sehr interessant.

Für die optimierte Synthese multivalenter Inhibitoren muß jedoch ein anderer Weg eingeschlagen werden. Denkbare rigide Linkermaterialien könnten auch aus Polysacchariden, wie Stärke, oder Polypeptiden und ähnlichen Strukturen bestehen.

Bei einem derart hohen synthetischen Anspruch ist jedoch prinzipiell diskutierbar, inwiefern die Synthese eines „perfekten“ Inhibitors für einen spezifischen Virustyp sinnvoll ist, zumal das Target womöglich leicht mutieren kann. Als Modellstudie zum besseren Verständnis der multivalenten Saccharid-Protein-Interaktionen ist sie vom chemischen Standpunkt aus gesehen sehr interessant.

David R. Bundle konnte mit seinem „Starfish“-Molekül¹⁰¹ (Abbildung 80) kürzlich zeigen, daß die Bindung an Shiga-like Toxine eine Bindungskonstante im Bereich von 10^{-9} M erreicht, während die Bindungskonstante von Dendrimeren bei $9-10 \cdot 10^{-3}$ M und die Bindung von reinen Monomeren bei $3.6 \cdot 10^{-3}$ M liegt (Abbildung 79). Das „Anfitten“ des „optimalen“ Inhibitors hat folglich eine Steigerung der Bindungsaffinität um eine Million bewirkt¹⁰² und erweist sich damit als deutlich besser als die Bindung von Dendrimeren und einfachen Polymeren.

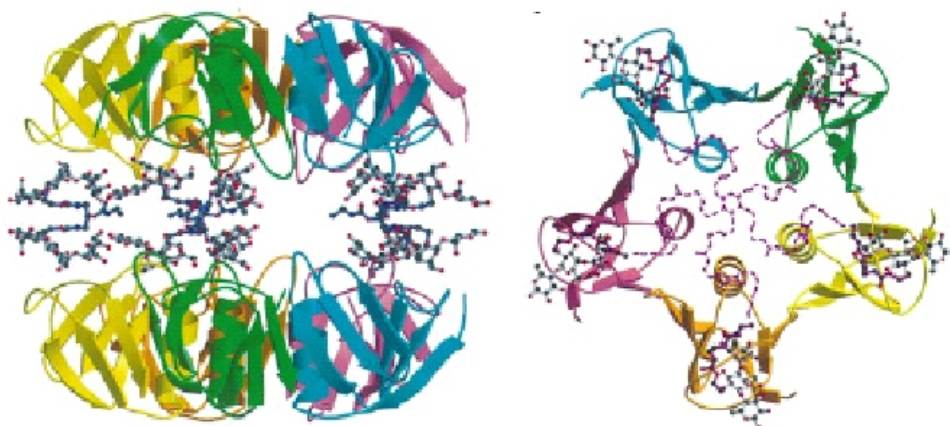


Abbildung 79: Darstellung des Starfish-Inhibitors im Toxin¹⁰², seitliche Sicht auf den Toxin-Ligand-Komplex links, Sicht von oben rechts

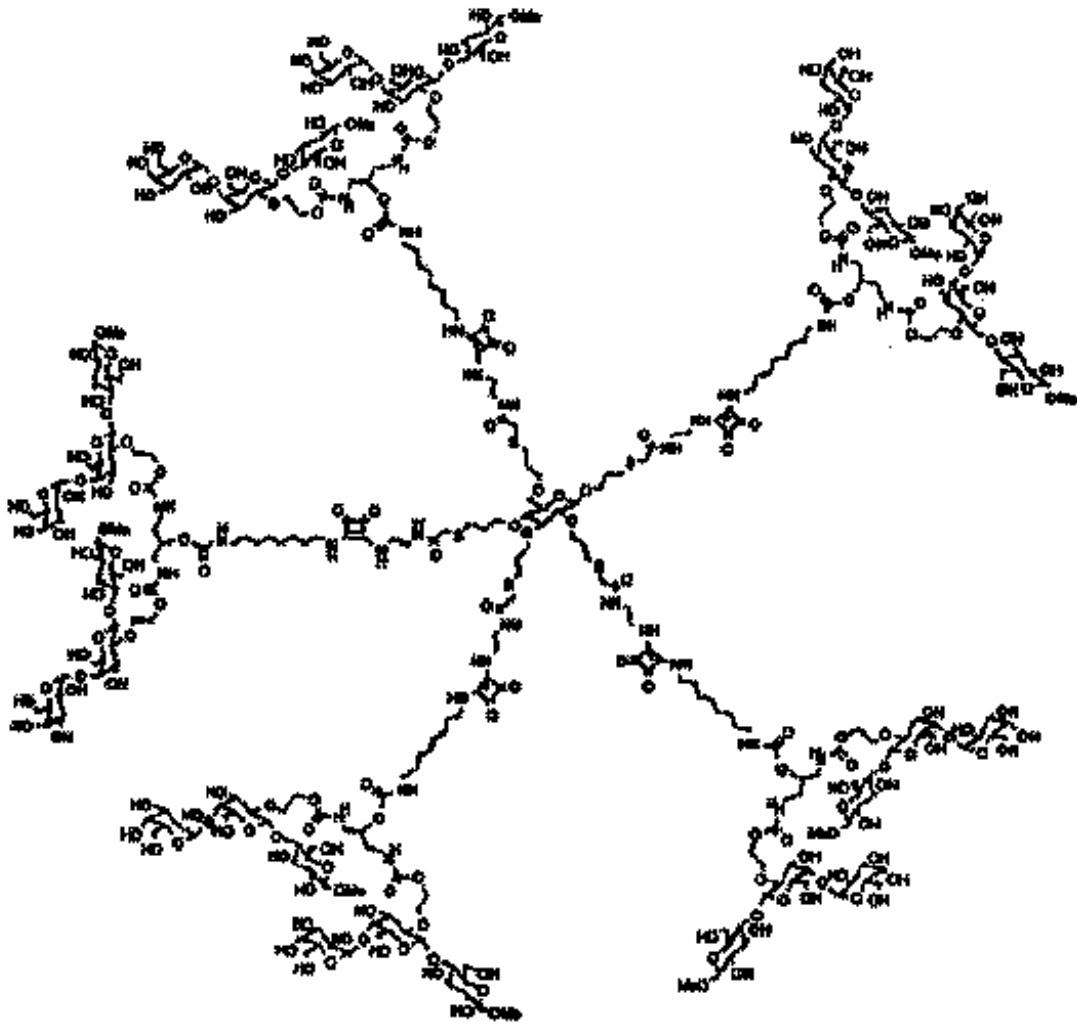


Abbildung 80: Starfish-Molekül¹⁰¹

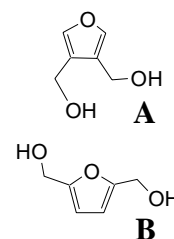
In einem zweiten Teil dieser Arbeit wurden Saccharidmimetika auf Basis von Furanen synthetisiert, um sie zur Inhibition von Lektinen-Saccharid-Interaktion und deren Analytik einsetzen zu können. Da die Synthese natürlicher Saccharide sehr kostspielig und aufwendig ist, besteht ein großes Interesse an einfach zugänglichen Modellsubstanzen.

Von besonderer Bedeutung bei der Entwicklung von Saccharidmimetika sind geeignete geometrische Anordnungen, eine einfache Derivatisierbarkeit, sowie die Möglichkeit multiantennäre Bindungen auszubilden. Die Variation der einzelnen Strukturparameter, z.B. durch Einführung von Spacern mit geeigneter Flexibilität, erlaubt eine Optimierung der Bindung an einen Rezeptor. Potente Saccharidmimetika eignen sich als Inhibitoren für verschiedenste Funktionen und stellen damit potentielle Pharmaka¹⁰³ dar.

Um eine schnelle und einfache Variation der Strukturparameter der Mimetika zu ermöglichen, wurde versucht die Glycosidmimetika aus vielfältigen und einfach handhabbaren Bausteinen darzustellen. Als Core und damit als zentrales Grundgerüst des Mimetikums sollten unterschiedlich derivatisierte Furane dienen, die mit Sacchariden und weiteren Modifikationen umgesetzt werden können. Dieser Ansatz ermöglicht es durch die Kombination der verschiedenen Bausteine, eine hohe Diversität zu erzielen und relativ einfach eine Substanzbibliothek aufzubauen.

Es konnten verschiedene Saccharidmimetika auf Basis der symmetrischen Bishydroxymethylfurane **A** und **B** (Abbildung 81) synthetisiert werden.

Hydroxymethylfurane ließen sich mühelos durch Reduktion aus den entsprechenden Carbonsäureestern herstellen und gingen mit Imidaten Glycosilierungen ein. Die zweifach substituierten Furane bieten den Vorteil,

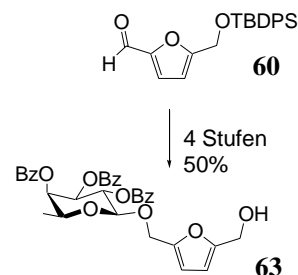


daß sie sich leicht ein- bis zweifach derivatisieren lassen, und damit die Struktur vieler verzweigter Oligosaccharide ausreichend nachahmen.

Abbildung 81

Mono- und Disaccharide mit Fucose, Galactose und Lactose, sowie Kombinationen dieser Saccharide konnten hergestellt werden (siehe Kapitel 3.2.1 bis 3.2.3). Die Glycosilierungen des 3,4-Bishydroxymethylfurans **A** mit entsprechenden Imidaten verliefen gut. Die benzoylgeschützten Imidate sind einfach herzustellen, die Reaktionen verlaufen unter Standardbedingungen erfolgreich. Die Ausbeuten von 45 bis 80% entsprechen den Angaben anderer Glycosilierungen¹⁰⁴.

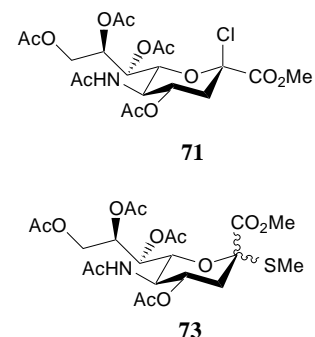
Als problematischer stellte sich die Glycosilierung des 2,5-Bishydroxymethylfurans **6** dar, da das 2,5-Furan im Gegensatz zu seinem 3,4-Isomer bei RT in festem Zustand vorliegt und sich in den zur Glycosilierung geeigneten Lösungsmitteln mangelhaft löst. Durch Einführung einer Schutzgruppe konnten die Schwierigkeiten umgangen und Glycoside selektiv gebildet werden (siehe Kapitel 3.2.3). Als Schutzgruppe wurde die *tert.*-Butyldiphenylsilylschutzgruppe (TBDPS) eingesetzt, die sich als gute orthogonale Schutzgruppe erwies: In ihrer Anwesenheit konnte sowohl reduziert als auch glycosiliert werden, desweiteren konnte sie unter Erhalt der Benzoyl-Schutzgruppen der Saccharide abgespalten werden. Das Monofucosid **63** wurde in vier Stufen mit einer Ausbeute von 50% erhalten und konnte für die Synthese gemischter Saccharide weiter glycosiliert werden.



Einige Saccharidmimetika konnten sowohl als 3,4-substituierte Furane, als auch auf Basis von 2,5-substituierten Furanen zugänglich gemacht werden.

Sialylierte Oligosaccharide werden, wie einleitend hervorgehoben wurde, auf einigen Tumorzellen übermäßig exprimiert und sind stark in den Prozeß der Metastasierung involviert (siehe Kapitel 1.2.1-1.3). Entsprechend sind auch sialinsäure-bindenden Lektine, wie E- und P-Selektin auf Tumoren überexprimiert.

Um Saccharidmimetika mit einer besonderen Affinität zu sialinsäurebindenden Lektinen darzustellen und so eventuell tumorzellenspezifische Saccharidmimetika zu generieren, wurden verschiedene Sialoside synthetisiert. Leider konnte für die Glycosilierung der Sialinsäure bislang keine universelle Methode entwickelt werden, da die Sialylierungen in Abhängigkeit der verwendeten Donoren und Akzeptoren sehr unterschiedlich ausfallen (siehe Kapitel 1.5.2). Im Rahmen dieser Arbeit wurden vier verschiedene Sialylierungen getestet (siehe Kapitel 3.2.4). Ausgehend vom Thiomethylderivat **73** konnten fünf verschiedene Sialoside auf Basis von 3,4- und 2,5-substituierten Furanen dargestellt werden. Zwei verschiedene Aktivierungen (1. mit NIS, 2. mit DMTST) wurden angewandt, beide erwiesen sich als brauchbar. Die Aktivierung mit NIS stellte sich jedoch als die angenehmere Methode zur Sialylierung heraus, da sich freiwerdendes Jod und Succinimid mit Natriumthiosulfatlösungen gut extrahieren lassen und die Reaktion deutlich



geruchsärmer ist. Sialylierungen mit Sialinsäurechlorid **71**, das meist zur Umsetzung primärer Alkohole verwendet wird⁷⁶, lieferten keine gewünschten Produkte.

Die Sialylierungen der Furane verliefen insgesamt jedoch enttäuschend. Die Umsetzungen waren charakterisiert durch:

- eine schlechte α/β -Selektivität
- eine geringe Ausbeute (10-20%)
- einen hohen Zerfall des Donors
- eine schwierige Aufreinigung und Analytik
- eine schlechte Reproduzierbarkeit.

Diese Beobachtungen entsprechen den allgemein beobachteten Schwierigkeiten der Sialylierung (siehe Abschnitt 1.5.2). Häufig wird bei der Sialylierung von einer erhöhten Stereoselektivität durch stabilisierende Wechselwirkungen benachbarter Hydroxylgruppen berichtet⁷⁶. Mit solch einer erhöhten Stereoselektivität konnte im Falle der Furane nicht gerechnet werden, leider konnte aber auch keine erhöhte Ausbeute durch die einfache Struktur der primären Alkohole festgestellt werden.

Die Schwierigkeiten der Sialylierungen, sowie die Tatsache, daß Sialinsäure ein sehr teures Monosaccharid ist, legen nahe, daß die erhaltenen Sialoside von der Struktur her interessant sein mögen, sie jedoch nicht dem Wunschziel günstiger und leicht zugänglicher Saccharidmimetika entsprechen.

Für das Tetrasaccharid sLewis^x und seine Bindung an E- und P-Selektin wurde die Bedeutung jeder einzelnen Wechselwirkung genau analysiert¹⁰⁵, um möglichst spezifische Inhibitoren synthetisieren zu können. Die Untersuchungen lieferten die Erkenntnis, daß die ionische Wechselwirkung der Carboxylgruppe die stärkste Wechselwirkung darstellt und daher die Sialinsäure durch einfache funktionelle Gruppen ersetzt werden kann. Ich habe daher versucht, weitere interessante Mimetika durch die Einführung einer Carbonsäure oder Sulfatgruppe zu synthetisieren.

Carboxymethylether lassen sich nach Literatur leicht aus α -Halogencarbonsäuren und Alkoholen herstellen⁸⁹. Die Umsetzung von α -Bromessigsäureethylester mit Silberoxid wird als selektive

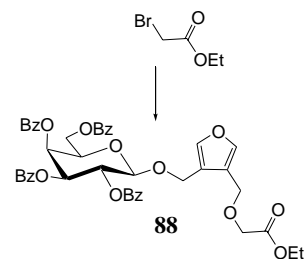


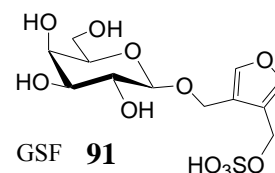
Abbildung 82

Aktivierung zur Veretherung gegenüber einer Umesterung oder einer möglichen Claisen-Kondensation beschrieben (siehe Kapitel 3.2.5). Bei der Umsetzung der Monosaccharide

des 3,4-Furans mit α -Bromessigsäureethylester (Abbildung 82) konnte diese Selektivität nicht beobachtet werden, da die Ausbeuten gering waren und verschiedene Nebenprodukte erhalten wurden.

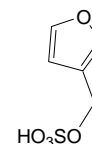
Andere Reaktionsbedingungen zur Generierung von Carboxylsaccharidmimetika sind denkbar. Ω -Halogencarbonsäuren mit längeren aliphatischen Ketten sollten weniger labil sein und nicht so leicht im Sinne einer Claisen-Reaktion reagieren. An Stelle von Substitutionen wären auch milde Oxidationen zur Generierung der Carboxylfunktion denkbar, so z.B. die Oxidation von glycosiliertem Furfural (GMF), wie von Lichtenthaler¹⁰⁶ beschrieben.

Verschiedene Sulfate konnten durch Umsetzung mit Pyridin/Sulfoxid ausgehend von Furanmonosacchariden in guten Ausbeuten dargestellt werden. Neben einem Fucosid und Lactosid konnte ein sulfatiertes Galactosid (GSF) **91** in größeren



Mengen hergestellt werden. Je nach Aufreinigung konnten die Sulfate als Natriumsalze oder als freie Säuren erhalten werden.

Unerwartete Schwierigkeiten ergaben sich bei der Synthese eines „saccharidfreien“ Sulfates (Verbindung **98**) als Referenz für biologische Experimente. Das synthetisierte Sulfat erwies sich als äußerst labil und alkylierend. Bei der Isolierung aus DMF-haltigen oder neutral bis basisch wässrigen Lösungen konnte nur schwarzes amorphes Polymer erhalten werden. Lediglich aus Chloroform konnte nach Kieselgelchromatographie ein weißer Feststoff erhalten werden. Im

**98**

Gegensatz zu sulfatierten Sacchariden, wie Heparin, liegt hier ein Allylsulfat anstelle eines Alkylsulfates vor. Damit ist das Sulfat verständlicherweise wesentlich reaktiver und instabiler. Diese Labilität wurde jedoch bei den saccharidhaltigen Konjugaten, die ebenfalls Allylsulfate darstellen, nie beobachtet. Die Saccharide müssen sich daher (insbesondere in ihrer benzylierten Form) elektronenziehend auf den Furanring auswirken und das alkylierende Potential der Verbindungen herabsetzen.

Um α -Fucoside und komplexere sLewis^x-Mimetika auf Basis von Furanen synthetisieren zu können, habe ich mich mit verschiedenen Schutzgruppenstrategien befaßt (siehe Abschnitt 3.2.7). Dabei stellte sich der Furanring als etwas hinderlich heraus, da in Anwesenheit von Furanen keine hydrogenolytisch spaltbaren Schutzgruppen verwendet werden können, sofern der Furanring nicht hydriert werden soll. Benzyl- und

Acylschutzgruppen sind aber in der Saccharidsynthese mit die wichtigsten Schutzgruppen, da sie gut orthogonal verwendet werden können. Dies erschwerte insbesondere die Synthese von α -Fucosiden, da Benzylschutzgruppen als Nachbargruppen bei der Glycosilierung einen Einfluß auf die Stereoselektivität haben (siehe Kapitel 3.2.9). Die oxidativ spaltbare Methoxyphenylmethyl-Gruppe kann statt dessen verwendet werden, allerdings ist sie etwas labil und die Synthese entsprechender Fucosyldonoren aufwendig und in manchen Schritten etwas heikel.

Glycosidmimetika als diagnostische Werkzeuge

Assays zur Untersuchung von Saccharid-Lektin-Interaktionen können recht unterschiedlich aufgebaut sein. Erste Microarrays^{107,108} auf Basis von Oligosacchariden wurden kürzlich präsentiert, gängige Assays sind ELISA-Tests¹⁰⁹ und Shear-Flow-Tests¹¹⁰. Die Auswertung und Quantifizierung dieser Assays erfolgt meist indirekt durch Antikörperfärbung oder durch Zellzahlbestimmungen. Für manche Fragestellungen ist es jedoch wichtig, die Saccharide direkt nachweisen zu können. Zur Untersuchung von Zelloberflächen eignet sich eine visualisierbare Markierung, z.B. mit Fluorescein oder Biotin in Verbindung mit Streptavidin-FITC.

GSF konnte in seiner sauren Form via Diels-Alder-Reaktion in Wasser bzw. in DMF mit Fluoresceinmaleinimid und biotinyliertem Maleinimid umgesetzt werden (Abbildung 83). Dabei konnten die Konjugate nach zwei Tagen mit 40% Ausbeute erhalten werden (siehe Abschnitt 3.2.8).

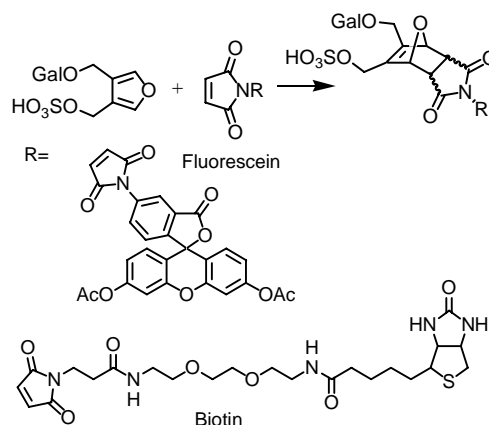


Abbildung 83

Dies ist eine einfache Methode, Saccharidmimetika nach Belieben zu derivatisieren. Allerdings ist dabei zu beachten, daß eigentlich zwei bis vier Diastereomere entstehen, da es bei der Diels-Alder-Reaktion zu Endo- und Exo-Verknüpfung kommt. Desweiteren stellt die Diels-Alder-Reaktion eine reversible Reaktion dar, es kann also je nach Verbindung zu einer Retro-Diels-Alder-Reaktion kommen. Bei dem synthetisierten Fluorescein-GSF Addukt konnte jedoch nach einer Woche bei RT in Acetonitril kein Zerfall beobachtet werden.

Faßt man die erfolgten Synthesen zusammen, so konnten relativ einfach unterschiedlich substituierte Saccharidmimetika dargestellt werden. Betrachtet man die Donoren der

Saccharide als Bausteine, so konnten durch die Kombination verschiedener Bausteine mehrere Tri- und Tetrasaccharidmimetika gängiger humaner Monosaccharide (siehe Seite 6) auf Basis von 3,4- und 2,5-substituierten Furanen dargestellt werden (Abbildung 84). Die Synthesen verliefen abgesehen von den Sialylierungen und der Synthese der Carbonsäuremimetika mit guten Ausbeuten. Die so synthetisierten Verbindungen lassen sich einfach in größerem Maßstab für biologische Untersuchungen herstellen. Im Gegensatz zu anderen Saccharidmimetika, die auf Lactose^{111,112}, Glycalen¹¹³ oder anderen Sacchariden aufgebaut werden, konnten die verschiedenen Furanmimetika ohne größere Schutzgruppenstrategie synthetisiert werden.

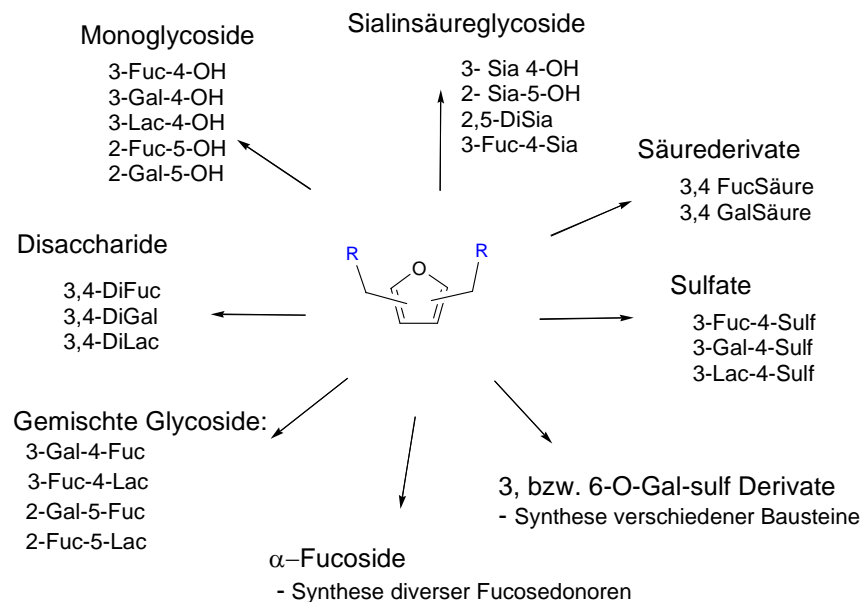


Abbildung 84: Schematische Darstellung der erfolgten Synthesen

Im Vergleich zu anderen zyklischen oder linearen Saccharidmimetika, wie sie in Abschnitt 1.4.3 dargestellt sind, lassen sich Furane leicht via Diels-Alder-Reaktion weiter derivatisieren. So konnte an einer relevanten Verbindung gezeigt werden, daß sich die Mimetika gut für bestimmte Untersuchungen mit Fluorescein und Biotin markieren lassen.

Um die Frage zu beantworten, inwieweit sich diese Saccharidmimetika von der Struktur her tatsächlich mit natürlichen Oligosacchariden vergleichen lassen, wurden einige Molecular Modelling Berechnungen durchgeführt. Auf Molecular-Dynamics-Simulation-Studien basierend, konnten Strukturvergleiche zwischen sLewis^x und zwei Furanmimetika

gezogen werden. Dabei konnte belegt werden, daß ein Tetrasaccharid des 3,4-Bishydroxymethylfurans mit der Struktur des natürlichen Saccharids sLewis^x übereinstimmt (siehe Abschnitt 3.2.10). Die berechneten Mimetika wiesen dieselben Längen vom Core zur Sialinsäure bzw. zur Fucose auf und einen vergleichbaren Winkel. Es konnte daher gezeigt werden, daß die Mimetika im Großen und Ganzen dieselben Konformationen einnehmen wie das Tetrasaccharid sLewis^x. Damit konnte gezeigt werden, daß insbesondere das 3,4-substituierte Furan einem Monosaccharide mit einer 4,6-Verzweigung gut entspricht.

Von Kim⁸⁷ konnte gezeigt werden, daß Saccharide des 2,5-substituierten Furans einen etwas größeren Abstand und einen anderen Winkel zueinander haben als Oligosaccharide mit einer klassischen 4,6-Verzweigung. Die unterschiedliche Substitution des Furans ist gleichwohl interessant, um Saccharide mit mehr oder weniger großem Abstand generieren zu können und so verschiedene Strukturen von Oligosacchariden darzustellen. Als ein großer struktureller Vorteil dieser Verbindungen erweisen sich sicherlich die CH₂-Gruppen der Hydroxymethylfurane. Sie verschaffen den Saccharidmimetika eine große Bewegungsfreiheit (siehe Seite 73), was sie dazu befähigt, viele verschiedene Konformationen einnehmen und sich so gut der Bindung an Lektinen anpassen zu können.

Biologische Relevanz

GSF **91** und Digalactosid **43** wurden in verschiedenen Adhäsionsassays mit humanen und Maus-Melanomzelllinien (WM-115 und B16) verwendet. Dabei konnte nachgewiesen werden, daß GSF eine deutliche Inhibition der Zellbindung an ECM-Proteine, wie Fibronectin und Fibrinogen, bewirkt und die Zellmigration unterbindet. Ferner konnte eine inhibierende Wirkung von GSF auf die Metalloprotease MMP-2, die für die Ablösung von Zellen aus dem Gewebsverband mitverantwortlich ist, belegt werden (unpublizierte Ergebnisse, Gronewold, DKFZ).

Diese Ergebnisse weisen in eine interessante Richtung, da hier auch Wechselwirkungen inhibiert werden konnten, die eigentlich nicht auf Lektinen beruhen, sondern Integrinen zugeschrieben werden. Das mit Fluorescein gekoppelte GSF wird vielleicht zu Klärung der Prozesse beitragen. Es unterstreicht jedoch die oftmals verkannte Bedeutung von Sacchariden. Verschiedene Untersuchungen betonen eine besondere Bedeutung sulfatierter Saccharide^{114,115}. So weiß man u.a. von niedermolekularem Heparin, daß es in vielfältiger Weise Prozesse der Metastasierung hemmt¹¹⁶⁻¹¹⁹.

Ausblick

Die Glycobiologie hat in den letzten Jahren einen großen Aufschwung erlebt und dabei viele interessante Fragestellungen hervorgebracht. Ohne genauer darauf einzugehen, verdeutlichen Darstellungen, wie Abbildung 86, die Komplexität und Vielfalt der Glycobiologie im Zusammenhang mit Tumoren. Saccharide beeinflussen nicht nur die Metastasierung, sondern spielen auch in bei der Angiogenese und Apoptose eine wichtige Rolle.

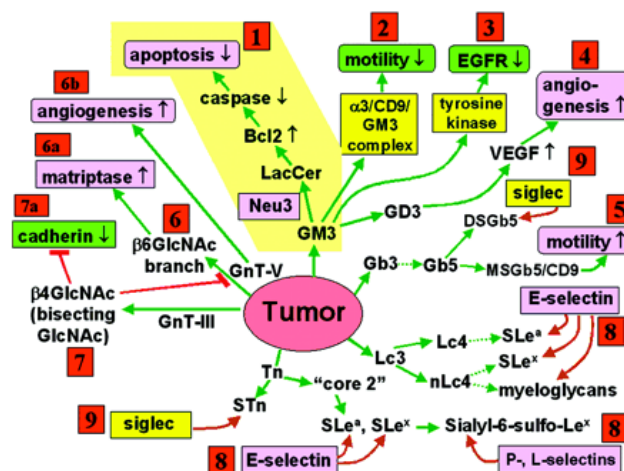


Abbildung 85: Kaskaden tumorassoziierter Glykokonjugate²⁶: Die Bösartigkeit eines Tumors geht einher mit Apoptose (1), Angiogenese (4 und 6b), hohe Matriptase Aktivität (6a), Cadherin-vermittelte Selbstadhäsion (7a), Adhäsion an die ECM (über Integrine), Adhäsion an Epithelzellen (über E- oder P-Selectin) (8), Adhäsion an Leukozyten (über Siglecs) (9). Jeder dieser Phänotypen wird durch unterschiedliche Glycosilierung reguliert. Grün dargestellte Zusammenhänge deuten auf eine Inhibierung der Tumorinvasion, pink auf eine Verstärkung. Gelb dargestellte Liganden haben einen bislang ungeklärten Effekt.

Intelligente Saccharidmimetika eröffnen daher viele neue Ansätze für eine erfolgreiche und gezielte Bekämpfung bisher nur unzureichend therapierbarer Krankheiten. Darüber hinaus können sie durch Modulation oder Inhibition spezifischer biologischer Vorgänge dazu beitragen, die oftmals unverstandenen molekularen Grundlagen vieler Oligosaccharid-vermittelter Prozesse, aufzuklären. Saccharidmimetika zur Therapie von Rheuma, Asthma, viralen und bakteriellen Infektionen sowie von Parkinson werden derzeit entwickelt^{9,120}.

Speziell für die Tumorthherapie sind verschiedene Ansätze auf Basis von Saccharid-Interaktionen denkbar. Neben adhäsionshemmenden Substanzen werden Transferase-inhibitoren als Wirkstoffe entwickelt, um die Expression tumorassoziierter Saccharide

kontrollieren zu können¹²¹⁻¹²³. Die Stimulierung des Immunsystems¹²⁴, z.B. um den körpereigenen Abbau von Tumorzellen durch NK-Zellen¹²⁵ zu erzielen, stellt ebenfalls eine große Herausforderung dar. So versucht Bertozzi et al.^{126,127} mittels modifizierten Monosacchariden Oligosaccharid-Epitope nachzuempfinden und somit eine Immunantwort hervorzurufen. Auch die Suche nach Antikörpern zur Vakzinierung und die damit verbundene Synthese von Sacchariden zur Generierung geeigneter Antikörper hat einen großen Stellenwert¹¹³.

Abschließend ist sicherlich zu hoffen, daß das bessere Verständnis von Lektin-Saccharid-Interaktionen dazu führt, daß selektivere Tumormarker gefunden werden und sich neue Tumorthapien zum Wohle der Patienten entwickeln lassen.

5 Experimenteller Teil

5.1 Allgemeines

Alle Lösungsmittel wurden nach den üblichen Methoden gereinigt bzw. getrocknet oder als getrocknete Lösungsmittel unter Septum und über Molsieb von den Firmen Merck, Fluka und Roth bezogen. HPLC-Chromatographie wurde mit „HPLC grade“ Lösungsmitteln durchgeführt.

Zur **analytischen Dünnschichtchromatographie** wurden Aluminiumfolien „Kieselgel 60 F₂₅₄“ der Firma Merck oder „Polygram Sil G/UV₂₅₄“-Platten der Firma Macherey&Nagel verwendet. Die Detektion erfolgte durch Fluoreszenzlöschung im UV, durch Entwicklung in einer Iodkammer oder durch Eintauchen in eines der folgenden Färbereagenzien und teilweise anschließender Wärmebehandlung bei 150-160°C:

Cer-Molybdän-Sprühreagenz „MOSTAIN“: Ammoniummolybdat (20 g) und Cer(IV)sulfat (0.4 g) in 10%iger Schwefelsäure (400 ml)

Vanillin-Schwefelsäure-Sprühreagenz: 1% Vanillin in 15% iger Schwefelsäure

Kaliumpermanganat-Sprühreagenz: 2% Kaliumpermanganat und 1% Natriumhydrogencarbonat in Wasser

Die **präparative Chromatographie** wurde entweder bei Luftdruck mit Kieselgel 60 (63-200µm, 230-400mesh) der Firma Macherey&Nagel durchgeführt oder als **Flashchromatographie** bei einem Überdruck von 0.2-0.3 bar mit Kieselgel 60 (40-63µm, 230-400 mesh) der Firma Macherey&Nagel durchgeführt.

Die HPLC-Chromatographie wurde auf einer Anlage von Gilson-Abimed durchgeführt. Als analytische und präparative Säulen wurden die PuroSphere Säulen der Firma Merck verwendet. Als Detektor wurde ein Lichtstreuendetektor der Firma Sedex (Modell 55) eingesetzt.

Kernresonanzspektren wurden an einem der folgenden Geräte aufgenommen:

Bruker AC 250 (250 MHz)

Bruker DRX 500 (500 MHz)

Als Standard dienten die Resonanzsignale der nicht vollständig deuterierten Lösungsmittelmoleküle.

Die chemischen Verschiebungen sind in ppm (δ -Skala) angegeben. Dabei bedeuten: s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, q = Quartett, m = Multiplett, bs = breites Singulett, bd = breites Dublett, dd = Dublett von einem Dublett, usw.

ESI-Massenspektren wurden an einem Gerät der Firma Finnigan (MAT TSQ 7000) gemessen.

5.2 Beschreibung der Versuche

5.2.1 Synthesevorschriften der Carotinoïdsaccharidkonjugate

Crocindial (Apo-!2,12'-carotindial) (1)

wurde von der Firma BASF zur Verfügung gestellt.

Crocetindial (Apo-8,8'-carotindial) (2)

wurde von der Firma BASF zur Verfügung gestellt.

3-(2,2-Dimethylpropyl)acetal-but-2-enyl-triphenyl-phosponiumbromid (3)

wurde von der Firma BASF als 1M Lösung in Methanol zur Verfügung gestellt.

3-Ethoxycarbonyl-but-2-enphosphonsäurediethylester (4)

wurde von der Firma BASF als 1M Lösung in Methanol zur Verfügung gestellt.

Apo-4,4'Carotindial (5)

Verbindung **5** wird nach einer Vorschrift von Broszeit⁸⁶ synthetisiert, die Absorptionsmaxima stimmen mit denen in der Literatur¹⁰⁰ überein.

3,3',4,4'-Tetrahydro-16,16'-lycopindial (6)

Verbindung **6** wird nach einer Vorschrift von Broszeit⁸⁶ synthetisiert.

Crocetin-diethylester (Apo-8,8'-carotindisäurediethylester) (7)

Verbindung **7** wird nach Vorschrift⁸⁶ synthetisiert, die Absorptionsmaxima stimmen mit denen in der Literatur¹⁰⁰ überein.

Apo-4,4'-carotindisäurediethylester (8)

Verbindung **8** wird nach Vorschrift⁸⁶ synthetisiert. Die Absorptionsmaxima stimmen mit denen in der Literatur¹⁰⁰ überein.

3,3',4,4'-Tetradehydro-16,16'-lycopindisäurediethylester (9)

Verbindung **9** wird analog zu Verbindung **8** aus dem C₃₀-Dialdehyd synthetisiert.

Crocindiol (10)

Verbindung **10** wird nach Vorschrift¹²⁸ synthetisiert.

Crocetindiol (Apo-8,8'-carotindiol) (11)

Crocetindiol (200mg, 0.67mmol) wird in THF abs. gelöst und auf -78°C gekühlt. Dazu wird langsam eine 1M-Lösung DiBALH in THF (5ml, 5mmol) zugespritzt. Die Reaktion wird 2h bei -78°C gehalten und dann auf RT erwärmt und 10h bei RT gerührt. Es wird mit etwas Wasser gequenscht, dabei wird die Lösung gelartig. THF wird evaporiert, der Rückstand mit Dichlormethan aufgenommen und gegen 1M-HCl und Wasser extrahiert. Die org. Phase wird evaporiert und der Rückstand mittels Chromatographie (THF:Hexan= 1:1) aufgereinigt. Dabei wird Verbindung **11** (195 mg, 0.65 mmol) als gelber Feststoff mit 97% Ausbeute erhalten.

- ◆ Masse (ESI): m/z %= 301.3 [M+H]⁺; M=300
- ◆ ¹H-NMR (250 MHz, CD₃OD): δ=1.79 (s, 6H, CH₃), 1.91 (s, 6H, CH₃), 3.98 (s, 4H, CH₂OH), 6.10-6.64 (m, 10H, CH)

O-(2,3,4,6-Tetra-O-acetylglucopyranosyl)trichloracetimidat (13)

wird nach Vorschrift von R. R. Schmidt¹²⁹ synthetisiert.

Crocetin (Apo-8,8'-carotindisäure) (15)

Verbindung **7** (50mg, 1.3 10⁻⁴mol) wird in einem 2:1 Gemisch aus THF und Wasser gelöst, K-*t*Butylat (61mg, 5.0 10⁻⁴mmol) zugegeben und 24h auf 50°C erwärmt. Das Reaktionsgemisch wird einrotiert, der Rückstand mit Wasser aufgenommen und mit 1%iger HCl -

Lösung bis pH4 angesäuert. Der Niederschlag wird abfiltriert, mit THF gelöst und einrotiert. Man erhält Produkt **15** (37 mg, $1.1 \cdot 10^{-4}$ mol) mit 87% Ausbeute.

- ◆ Masse (ESI): m/z %= 327.2 [M-H]⁻, M=328
- ◆ ¹H-NMR (250MHz, DMSO): δ =1.91, 1.96 (s, 12H, CH₃), 6.46-6.85 (m, 10H, CH)
- ◆ Absorptionsmaxima(C): 260, 328, 434, 461

Apo-4,4'-carotindisäure (16)

Verbindung **8** (20mg, $4.3 \cdot 10^{-5}$ mol) wird in einem 2:1 Gemisch aus THF und Wasser gelöst und K-*t*Butylat (20mg, $1.6 \cdot 10^{-4}$ mol) zugegeben und für 24h auf 80°C erwärmt. Das Reaktionsgemisch wird einrotiert, der Rückstand mit Wasser aufgenommen und mit 1%iger HCl -Lösung bis pH4 angesäuert. Der Niederschlag wird abfiltriert, mit THF wieder gelöst und eingengt. Chromatographie: THF/Hexan = 1:1.

3,3',4,4'-Tetrahydro-16,16'-lycopindisäure (17)

Verbindung **9** (10mg, $1.5 \cdot 10^{-5}$ mol) wird in einem 2:1 Gemisch aus THF und Wasser gelöst und K_t-Butylat (20 mg, $1.6 \cdot 10^{-4}$ mol) zugegeben und für 48h auf 80°C erwärmt. Das Reaktionsgemisch wird einrotiert, der Rückstand mit Wasser aufgenommen und mit 1%iger HCl -Lösung bis pH4 angesäuert. Der Niederschlag wird abfiltriert, in THF gelöst und eingengt.

3-Azidopropanol (18)

wird nach Vorschrift von B. Müller¹³⁰ synthetisiert.

1-O-(3-Azidopropyl)-2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-glucoopyranosid (19)

wird nach Vorschrift von B. Müller¹³⁰ synthetisiert.

1-O-(3-Azidopropyl)- β -D-glucoopyranosid (20)

Verbindung **19** (100mg, $3.0 \cdot 10^{-4}$ mmol) wird in 20ml Methanol gelöst und mit NaOMe-Lösung (5M, 0.1ml, $5.0 \cdot 10^{-4}$ mol) versetzt. Nach 4h wird mit Dowex H⁺ neutralisiert und das Lösungsmittel evaporiert. Das Produkt wird in abs. Methanol aufgenommen, Pd/C zugegeben und mit Wasserstoff begast. Nach 2h bei RT ist die Reaktion abgeschlossen (DC-Kontrolle). Es wird über einen HPLC-Filter abfiltriert und das Lösungsmittel evaporiert. Das Produkt **20** (70 mg, $2.9 \cdot 10^{-4}$ mol) wird mit 98% Ausbeute erhalten. R_f: (MeOH: EE=1:1) 0.1 [AZID R_f= 0.35]

2-Azidoethanol (23)

wird nach Vorschrift von B. Müller¹³⁰ synthetisiert.

1-O-(2-Azidoethyl)-2,3,4,6-tetra-O-benzoyl-β-D-galactopyranosid (24)

wird nach Vorschrift von N. K. Kochetkov¹³¹ synthetisiert.

1-O-(2-Aminoethyl)-2,3,4,6-tetra-O-benzoyl-β-D-galactopyranosid (25)

wird nach Vorschrift von N. K. Kochetkov¹³¹ synthetisiert.

1-O-(2-Bromoethyl)-2,3,4,6-tetra-O-acetyl-β-D-galactopyranosid (27)

wird nach Vorschrift von J. Reinhardt¹³² synthetisiert.

Diethyl (2,3,4,6-tetra-O-acetyl-β-D-galactopyranosyl)- ethylphosphonat (28)

Verbindung **27** (244mg, 0.54 mmol) wird in 6ml P(OEt)₃ unter Argon zum Sieden erhitzt. Nach 5h wird das Reaktionsgemisch abgekühlt und überschüssiges P(OEt)₃ abdestilliert. Der Rückstand wird mit CHCl₃ aufgenommen und säulenchromatographisch mit reinem CHCl₃ aufgereinigt. Dabei wird das Produkt **28** (230mg, 4.5 · 10⁻⁴mol) mit 83% Ausbeute als farbloses Öl erhalten.

- ◆ R_f = 0.25 (PE/EE=1:2)
- ◆ Masse (ESI): m/z= 535.3 [M+Na]⁺; M=512
- ◆ ¹H-NMR (400MHz, CDCl₃): δ=1.24 (t, 6H, Me), 1.97-2.12 (m, 16H, OAc, OCH₂), 3.73 (m, 1H, H5), 3.97 (dd, 1H, J(H6',H6)= 11.18Hz, J(H6',H5)=6.30Hz, H6'), 3.99-4.09 (m, 4H, CH₂OP), 4.70 (dd, 1H, (H6,H6')= 11.39Hz, J(H6,H5)= 6.51Hz, H6), 4.17 (d, 1H, J(H1,H2)=7.93, H1) 4.86 (dd, 1H, J(H3,H2)= 10.37Hz, J(H3,H4)=3.66Hz, H3), 4.96 (dd, 1H, J(H2,H3)=10.37Hz, J(H2,H1)=7.93Hz, H2), 5.05 (dd, 1H, J(H4,H3)=3.66Hz, H4)
- ◆ ¹³C-NMR (250MHz, CDCl₃): δ= 16.20, 16.28 (2 x Me), 20.4-20.6 (4 x Ac), 25.9, 27.8 (CH₂O/P), 61.1, 61.5 (CH₂OP), 69.82, 71.15, 71.4, 76.49, (C2-, C3-, C4-, C5-Gal), 100.7 (C1-Gal), 169.7-170.4 (4 x CAc)
- ◆ ³¹P-NMR (400MHz, CDCl₃): δ= 27.42 (PO(OEt)₂)

5.2.2 Synthesevorschriften der Furansaccharide

2,5-Bishydroxymethylfuran (31)

wird nach Vorschrift von E. Kim⁸⁷ synthetisiert.

3,4-Bishydroxymethylfuran (33)

wird nach Vorschrift von E. Kim⁸⁷ synthetisiert.

2,3,4-Tri-O-benzoyl- α -L-fucopyranosyltrichloracetimidat (34)

wird nach Vorschrift von R.R.Schmidt¹²⁹ synthetisiert.

3-(2,3,4-Tri-O-benzoyl- β -L-fucopyranosyl-oxymethyl)-4-hydroxymethylfuran (35)

3,4 Bis-(2,3,4-tri-O-benzoyl- β -L-fucopyranosyloxymethyl)furan (36)

Furanderivat **33** (200mg, 1.5mmol) und Imidat **34** (1.0g, 1.75mmol) werden in CH₂Cl₂ (20ml) gelöst, auf 0°C gekühlt und TMSOTf (20 μ l) zugegeben. Es wird 1h bei 0°C und weitere 2h bei RT gerührt. (DC-Kontrolle). Die Reaktion wird durch die Zugabe einiger Tropfen Triethylamin abgebrochen und die Lösung mehrmals gegen gesättigte NaHCO₃-Lösung und Wasser extrahiert. Die organische Phase wird über NaSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel evaporiert. Nach Säulenchromatographie (PE:EE=4:1→1:1) erhält man Monosaccharid **35** (1.05g, 1.4mmol) mit 74% Ausbeute als weißen Schaum, und Disaccharid **36** (90mg, 8.6 10⁻⁵ mol) mit 6% Ausbeute als weiße Nadeln.

Monosaccharid 35:

- ◆ R_f = 0.3 (PE/EE=2:1)
- ◆ HPLC: Analytik (AcCN/H₂O 0:100→100:0 in 60') 49'
- ◆ Masse (ESI): m/z = 609.3 [M+Na]⁺; 1195.5 [2M+Na]⁺; M=586
- ◆ ¹H-NMR (250MHz, CDCl₃): δ =1.36 (d, 3H, J(CH₃,H5)=6.42Hz, CH₃), 4.09 (dq, 1H, J(H5,CH₃)= 6.42Hz, J(H5,H4)=1.20Hz, H5), 4.39 (s, 2H, CH₂OH), 4.66 (d, 1H, J(CH,H')=12.44Hz, CH'₂Furan), 4.87 (d, 1H, J(H1,H2)=8.03Hz, H1), 4.89 (d, 1H, J(CH,H')=12.44Hz, CH'₂Furan), 5.54 (dd, 1H, (H3,H2)=10.23Hz, J(H3,H4)= 3.41Hz, H3), 5.71 (dd, 1H, J(H4,H5)=3.41Hz, J(H4,H5)=1.00Hz, H4), 5.77 (dd, 1H, J(H2,H3)=10.44Hz, J(H2,H1)=8.03Hz,H2), 7.41-8.1 (m, 17H, OBz, H2-Furan, H5-Furan)
- ◆ ¹³C-NMR (63MHz, CDCl₃): δ =16.14 (CH₃), 55.06 (CH₂OH), 61.54 (CH₂OFuc), 69.7, 69.97, 70.97, 72.11 (C2-, C3-, C4-, C5-Fuc), 99.7 (C1-Fuc), 120.26 (C3-Furan), 124.77

(C4-Furan), 128.1-133.6 (15x CBz), 142.0, 142.4 (C2-, C5-Furan), 164.7-166.1 (3x CBz)

Disaccharid (**36**)

- ◆ $R_f = 0.5$ (PE/EE=2:1)
- ◆ Masse (ESI): $m/z = 1067.4$ $[M+Na]^+$; $M=1044$
- ◆ 1H -NMR (250MHz, $CDCl_3$): $\delta=1.27$ (d, 6H, $J(CH_3,H_5)=6.51$ Hz, CH_3), 3.69 (dq, 2H, $J(H_5,CH_3)=6.30$ Hz, $J(H_5,H_4)=0.71$ Hz, H5), 4.24 (dd, 2H, $J(H_1,H_2)=7.73$ Hz, H1), 4.27 (d, 2H, $J(CH,H')=12.20$ Hz, CH'_2 Furan), 4.67 (d, 1H, $J(CH,H')=12.20$ Hz, CH_2 Furan), 5.39 (dd, 2H, $J(H_3,H_2)=10.57$ Hz, $J(H_3,H_4)=3.66$ Hz, H3), 5.60 (dd, 2H, $J(H_4,H_3)=3.66$ Hz, $J(H_4,H_5)=0.81$ Hz, H4), 5.65 (dd, 2H, $J(H_2,H_3)=10.57$ Hz, $J(H_2,H_1)=7.73$ Hz, H2), 7.2-8.1 (m, 32H, Bz, H2-, H4-Furan)
- ◆ ^{13}C -NMR (63MHz, $CDCl_3$): $\delta=16.14$ (CH_3), 61.49 (2x CH_2 Furan), 69.47, 69.78, 70.98, 71.84, (C2-, C3-, C4-, C5-Fuc), 99.5 (C1-Fuc), 120.5 (C3-, C4-Furan), 128.1-133.6 (30x CBz), 142.0, (C2-, C5-Furan), 164.7-166.1 (6x CBz)

3- β -L-Fucopyranosyloxymethyl-4-hydroxymethylfuran (**37**)

Verbindung **35** (19mg, $3.2 \cdot 10^{-5}$ mol) wird in Methanol (5ml) gelöst, NaOMe (40 μ l, 1M-Lsg.) zugegeben und 5h bei RT gerührt (DC-Kontrolle). Es wird mit Dowex H^+ Ionenaustauscher neutralisiert, filtriert und das Lösungsmittel evaporiert. Nach Aufreinigung mittels präparativer HPLC (Lichrospher RP18) mit AcCN und Wasser (AcCN/ H_2O 0:100 \rightarrow 100:0 in 40') erhält man Verbindung **37** (9mg, $3.1 \cdot 10^{-5}$ mmol) mit 99% Ausbeute als weißen Feststoff.

- ◆ Masse (ESI): m/z (%)=283.7 $[M+Na]^+$ (100), $M=260$
- ◆ 1H -NMR: (250MHz, $CDCl_3$): $\delta=1.27$ (d, 3H, $J(CH_3, H_5) = 7.0$ Hz, CH_3 -Fuc), 3.48 (dd, 1H, $J(H_2,H_3)=9.7$ Hz, $J(H_2,H_1)=7.8$ Hz, H2-Fuc), 3.62 (dd, 1H, $J(H_3,H_2)=9.7$ Hz, $J(H_3,H_4)=3.7$ Hz, H3-Fuc), 3.75 (dd, 1H, $J(H_4,H_3)=3.7$ Hz, $J(H_4,H_5)=1.1$ Hz, H4-Fuc), 3.79 (m, 1H, $J(H_5,CH_3)=7.0$ Hz, $J(H_5, H_4)=1.1$ Hz, H5-Fuc), 4.44 (d, 1H, $J(H_1, H_2)=7.8$ Hz, H1-Fuc), 4.59 (s, 2H, CH_2 -Furan), 4.66 (d, 1H, $J(CH,H')=12.2$ Hz, CH' -Furan), 4.85 (d, 1H, $J(CH,H')= 12.2$ Hz, CH'_2 -Furan), 7.57 (d, 1H, $J(H_5,H_2)=1.4$ Hz, 5H-Furan), 7.60 (d, 1H, $J(H_2,H_5)=1.6$ Hz, 2H-Furan)
- ◆ ^{13}C -NMR (63 MHz, $CDCl_3$): $\delta=19.95$ (CH_3), 55.7 (CH_2OH), 65.9 (CH_2OFuc), 75.02, 75.46, 75.91, 77.54, (C2-, C3-, C4-, C5-Fuc), 104.3 (C1-Fuc), 122.1, 123.2 (C3-, C4-Furan), 145.7, 146.3 (C2-, C5-Furan)

3,4 Bis- β -L-fucopyranosyl-oxymethylfuran (38)

Verbindung **36** (180mg, $1.73 \cdot 10^{-4}$ mol) wird in Methanol (5ml) gelöst, NaOMe (40 μ l, 1M-Lsg.) zugegeben und 5h bei RT gerührt (DC-Kontrolle). Es wird mit Dowex H⁺ Ionenaustauscher neutralisiert, filtriert und das Lösungsmittel evaporiert. Nach präparativer HPLC auf einer Lichrospher RP18-Säule mit AcCN / Wasser (AcCN/H₂O 0:100 \rightarrow 100:0 in 40') erhält man Verbindung **38** (70mg, $1.68 \cdot 10^{-4}$ mol) mit 97% Ausbeute als weißen Feststoff.

- ◆ Masse (ESI): m/z (%) = 443.0 [M+Na]⁺ (100); 863.4 [2M+ Na]⁺ (60)
- ◆ ¹H-NMR (250MHz, CDCl₃): δ =1.28 (d, 6H, CH₃) 3.4 (dd, 2H, J(H1,H2)= 7.8 Hz, J(H2,H3)=9.92 Hz, H2), 3.63 (dd, 2H, J(H2,H3)=9.92 Hz, J3,4= 3.5 Hz, H3), 3.75 (dd, 1H, J(H3,H4)= 3.5 Hz, H4), 3.7 (ddd, 1H, J(H5,H6)= 6.52 Hz, H5), 4.45 (d, 2H, J(H1,H2)= 7.8 Hz, H1), 4.67 (d, 2H, CH₂Furan), 4.87 (d, 2H, CH₂Furan), 7.62 (s, 2H, H2-, H5-Furan)
- ◆ ¹³C-NMR (63MHz, CDCl₃): δ =19.95 (CH₃), 65.9 (2x CH₂Furan), 75.02, 75.46, 75.91, 77.54, (C2-, C3-, C4-, C5-Fuc), 104.3 (C1-Fuc) 123.2 (C3-, C4-Furan) 146.3 (C2-, C5-Furan)

2,3,4,6-Tetra-O-benzoyl- α -D-galactopyranosyl-trichloracetimidat (39)

wird nach einer Vorschrift von R. R. Schmidt synthetisiert.

3-(2,3,4,6-Tetra-O-benzoyl- β -D-galactopyranosyl-oxymethyl)-4-hydroxymethyl-furan (40),3,4-Bis-(2,3,4,6-Tetra-O-benzoyl- β -D-galactopyranosyl-oxymethyl)-furan (41)

Furan **33** (170mg, 1.3mmol) und Imidat **39** (1.0g, 1.3mmol) werden in CH₂Cl₂ gelöst, auf 0°C gekühlt und mit TMSOTf (30 μ l) versetzt. Es wird zunächst bei 0°C und dann 1h bei RT gerührt (DC-Kontrolle). Die Reaktion wird durch die Zugabe einiger Tropfen Triethylamin abgebrochen und das Lösungsmittel evaporiert. Per Säulenchromatographie (PE:EE=7:3 \rightarrow 1:1) wird aufgereinigt, wobei das Monoglycosid **40** (419mg, $5.9 \cdot 10^{-4}$ mol) mit 46% Ausbeute als weißen Schaum neben Diglycosid **41** (100mg, $9.8 \cdot 10^{-5}$ mol, 7%) erhalten wird.

Monoglycosid **40**

- ◆ R_f=0.27 (HE: EE=7:3)
- ◆ HPLC: Analytik (AcCN/H₂O 0:100 \rightarrow 100:0 in 60') 53'
- ◆ Masse (ESI): m/z (%) = 729.4 [M+Na]⁺ (100), M=706

- ◆ ¹H-NMR (250MHz, CDCl₃): δ=4.36 (m, 3H, CH₂-Furan, H5), 4.46 (dd, 1H, J(H6',H6)= 11.18Hz, J(H6',H5)=6.30Hz, H6'), 4.67 (d, J(H,H')=12.20Hz, CH'-Furan), 4.70 (dd, 1H, J(H6,H6')=11.39Hz, J(H6,H5)=6.51Hz, H6), 4.88 (d, 1H, J(CH,H')=12.20Hz, CH'₂-Furan), 4.94 (d, 1H, J(H1,H2)=7.93, H1) 5.61 (dd, 1H, J(H3,H2)=10.37Hz, J(H3,H4)=3.66Hz, H3), 5.84 (dd, 1H, J(H2,H3)=10.37Hz, J(H2,H1)=7.93Hz, H2), 6.00 (dd, 1H, J(H4,H3)=3.66Hz, H4), 7.4-8.12 (m, 22H, Bz, H2-, H5-Furan)
- ◆ ¹³C-NMR (63 MHz, CDCl₃): δ=55.62 (CH₂OH), 62.21 (CH₂OGal), 69.72, 71.15, 71.2, 76.38, (C2-, C3-, C4-, C5-Gal), 99.7 (C-1), 120.26 (C3-Furan) 124.2 (C4-Furan); 128.1-133.6 (20x CBz), 142.4 (C2-, C5-Furan), 164.7-166.1 (4x CBz)

3,4-Bis-(2,3,4,6-tetra-O-benzoyl-β-D-galactopyranosyl-oxymethyl)-furan (41)

- ◆ R_f=0.49 (HE:EE= 7 : 3)
- ◆ Masse (ESI): m/z (%)= 1307.4 [M+Na]⁺ (100), M=1284
- ◆ ¹H-NMR (250MHz, CDCl₃): δ=3.80 (ddd, 2H, J(H5,H4)=0.20Hz, J(H5,H6')= 6.51Hz, J(H5,H6)=6.51Hz, H5), 4.11 (d, 2H, J(H1,H2)=7.93Hz, H1), 4.21 (d, 4H, J(CH,H')= 11.39Hz, CH₂Furan), 4.33 (dd, 2H, J(H6',H5)=6.51Hz, J(H6',H6)=11.39Hz, H6'), 4.57 (dd, 2H, J(H6,H6')=11.39Hz, J(H6,H5)=6.51Hz, H6), 4.63 (dd, 4H, J(H,H')= 11.39Hz, CH'₂Furan), 5.41 (dd, 2H, J(H3,H2)=10.37Hz, J(H3,H4)= 3.45Hz, H3), 5.66 (dd, 2H, J(H2,H3)=10.37Hz, J(H2,H1)=7.93Hz, H2), 5.84 (dd, 2H, J(H4,H5)=2.44Hz, J(H3,H4)=3.45Hz, H4), 7.2-8.12 (m, 42H, Bz, H2-, H5-Furan);
- ◆ ¹³C-NMR (63MHz, CDCl₃): δ=61.62, 62.0 (CH₂Furan), 69.82, 71.15, 71.4, 76.49, (C2-C3-, C4-, C5-Gal), 99.7 (C1-Gal), 120.3 (C3/4-Furan), 128.1-133.6 (20xCBz), 142.4 (C2/5-Furan), 164.7-166.1 (4x CBz)

3-β-D-Galactopyranosyl-oxymethyl-4-hydroxymethyl-furan (42)

Verbindung **40** (200mg, 2.8 · 10⁻⁴mol) wird in Methanol (20ml) suspendiert, NaOMe (50μl, 1M-Lsg.) zugegeben und 5h bei RT gerührt (DC-Kontrolle). Es wird mit Dowex H⁺ Ionenaustauscher neutralisiert, filtriert und das Lösungsmittel evaporiert. Nach präparativer HPLC (Lichrospher RP18) mit AcCN und Wasser (AcCN/H₂O 0:100→100:0 in 40') wird Verbindung **42** (79mg, 2.7 · 10⁻⁴mmol) in 98%iger Ausbeute als weißen Feststoff sauber erhalten.

- ◆ R_f=0.60 (AcCN:H₂O=9:1) Sowohl auf Macherey&Nagel als auch auf Merck Si80
- ◆ HPLC: Analytik (AcCN/H₂O 2:98) 12'

- ◆ Masse (ESI): $m/z = 313.7$ $[M+Na]^+$, $M=290$
- ◆ 1H -NMR: (250MHz, D_2O): $\delta=3.52$ (dd, 1H, $J(H_2,H_3)=9.76\text{Hz}$, $J(H_2,H_1)=7.73\text{Hz}$, H2), 3.63 (dd, 1H, $J(H_3,H_2)=9.76\text{Hz}$, $J(H_3,H_4)=3.45\text{Hz}$, H3), 3.70 (ddd, 1H, $J(H_5,H_6)=7.93\text{Hz}$, $J(H_5,H_4)=0.4\text{Hz}$, $J(H_5,H_6')=4.47\text{Hz}$, H5), 3.80 (dd, 1H, $J(H_6',H_6)=10.17\text{Hz}$, $J(H_6',H_5)=4.47\text{Hz}$, H6'), 3.82 (dd, 1H, $J(H_6,H_6')=10.17\text{Hz}$, $J(H_6,H_5)=7.93\text{Hz}$, H6), 3.93 (dd, 1H, $J(H_4,H_5)=0.40\text{Hz}$, $J(H_4,H_3)=3.45\text{Hz}$, H4), 4.46 (d, 1H, $J(H_1,H_2)=7.73\text{Hz}$, H1), 4.59 (s, 2H, $CH_2\text{Furan}$), 4.69 (d, 1H, $J(CH,H')=12.20\text{Hz}$, $CH_2\text{Furan}$), 4.89 (d, 1H, $J(CH,H')=12.20\text{Hz}$, $CH_2\text{Furan}$), 7.61 (s, 2H, H2-, H5-Furan)
- ◆ ^{13}C -NMR (63MHz, D_2O): $\delta=58.2$ (CH_2OH), 65.5 (CH_2OGal), 65.8 (C6-Gal), 73.2, 75.2, 77.3, 79.7 (C2-, C3-, C4-, C5-Gal), 105.9 (C1-Gal), 124.8 (C3-Furan), 128.3 (C3-Furan), 146.8, 147.8 (C2-, C5-Furan)

3,4-Bis- β -D-galactopyranosyl-oxymethyl-furan (43)

Verbindung **41** (500mg, $3.8 \cdot 10^{-4}$ mol) wird in Methanol (20ml) suspendiert, NaOMe (50 μ l, 1M-Lsg.) zugegeben und 5h bei RT gerührt (DC-Kontrolle). Es wird mit Dowex H^+ Ionenaustauscher neutralisiert, filtriert und das Lösungsmittel evaporiert. Nach präparativer HPLC (Lichrospher RP18) mit AcCN und Wasser (AcCN/ H_2O 0:100 \rightarrow 100:0 in 40') wird das Produkt **43** (167mg, $3.7 \cdot 10^{-4}$ mol) mit 99% Ausbeute erhalten.

- ◆ Masse (ESI): m/z (%)=475.0 $[M+Na]^+$ (100), $M=452$
- ◆ 1H -NMR (250MHz, D_2O): $\delta=3.52$ (dd, $J(H_6',H_6)=7.62\text{Hz}$, H6'), 3.63 (dd, 1H, $J(H_6',H_6)=9.86\text{Hz}$, $J(H_6',H_5)=3.35\text{Hz}$, H6), 3.69 (ddd, 1H, $J(H_5,H_6)=7.77\text{Hz}$, $J(H_5,H_6')=3.35\text{Hz}$, $J(H_4,H_5)=0.98\text{Hz}$, H5), 3.76 (dd, 1H, $J(H_2,H_3)=11.54\text{Hz}$, H3), 3.93 (dd, 1H, $J(H_4,H_5)=0.40\text{Hz}$, $J(H_4,H_3)=3.45\text{Hz}$, H4), 4.47 (d, 1H, $J(H_1,H_2)=7.82\text{Hz}$, H1), 4.71 (d, 2H, $J(CH,H')=12.20\text{Hz}$, $CH_2\text{Furan}$), 4.91 (d, 2H, d, 1H, $J(CH,H')=12.20\text{Hz}$, $CH_2\text{Furan}$), 7.64 (s, 2H, H2-, H5-Furan)
- ◆ ^{13}C -NMR (63 MHz, $CDCl_3$): $\delta=65.5$ (CH_2OGal), 65.8 (C6-Gal), 73.2, 75.2, 77.3, 79.7 (C2-, C3-, C4-, C5-Gal), 105.9 (C1-Gal), 124.8 (C3-, C4-Furan), 148.1 (C2-, C5-Furan)

2,3,4,6-Tetra-O-benzoyl- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-tri-O-benzoyl-D-glucopyranosyl trichloracetimidat (44)

wird nach einer Vorschrift von R. R. Schmidt¹²⁹ synthetisiert.

3-(2,3,4,6-Tetra-O-benzoyl- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-tri-O-benzoyl- β -D-glucopyranosyl-oxymethyl)-4-hydroxymethyl-furan (**45**)

Furan **33** (100mg, $8.2 \cdot 10^{-4}$ mmol) und Imidat **44** (1.0g, $8.2 \cdot 10^{-4}$ mmol) werden in CH_2Cl_2 gelöst, auf 0°C gekühlt und TMSOTf (30 μ l) zugegeben. Es wird 1h bei 0°C und dann weitere 2h bei RT gerührt (DC-Kontrolle). Die Reaktion wird durch die Zugabe einiger Tropfen Triethylamin abgebrochen und das Lösungsmittel evaporiert. Nach Säulenchromatographie (PE:EE=4:1 \rightarrow 1:1) wird das Produkt **45** (500mg, $4.2 \cdot 10^{-4}$ mmol) mit 52% Ausbeute als weißer Schaum sauber erhalten.

- ◆ $R_f=0.45$ (HE:EE=1:1)
- ◆ HPLC: Analytik (AcCN/ H_2O 0:100 \rightarrow 100:0 in 60') 60'
- ◆ Masse (ESI): m/z (%)= 1180.4 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (60), 1203.4 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (100), $M=1180$
- ◆ $^1\text{H-NMR}$ (250MHz, CDCl_3): $\delta=3.71$ (ddd, 1H, $J(\text{H5Glu}, \text{H6}'\text{Glu})=1.14\text{Hz}$, $J(\text{H5Glu}, \text{H4Glu})=9.40\text{Hz}$, $J(\text{H6Glu}, \text{H5})=6.88\text{Hz}$, H5Glu), 3.85 (dd, 1H, $J(\text{H6}'\text{Glu}, \text{H5Glu})=10.55\text{Hz}$, $J(\text{H6}'\text{Glu}, \text{H6Glu})=12.84\text{Hz}$, H6'Glu), 3.89 (dd, 1H, $J(\text{H6Glu}, \text{H6}'\text{Glu})=12.84\text{Hz}$, $J(\text{H6Glu}, \text{H5})=6.88\text{Hz}$, H6Glu), 4.25 (dd, 1H, $J(\text{H4Glu}, \text{H5Glu})=9.40\text{Hz}$, $J(\text{H4Glu}, \text{H3Glu})=9.40\text{Hz}$, H4Glu), 4.39 (s, 2H, CH_2OH), 4.49 (dd, 1H, $J(\text{H6Gal}, \text{H5Gal})=6.88\text{Hz}$, $J(\text{H6Gal}, \text{H6}'\text{Gal})=5.50\text{Hz}$, H6Gal), 4.50 (ddd, 1H, $J(\text{H5Gal}, \text{H6Gal})=6.88\text{Hz}$, $J(\text{H5Gal}, \text{H4Gal})=3.44\text{Hz}$, H5Gal), 4.57 (d, 1H, $J(\text{CH}, \text{H}')=14.22\text{Hz}$, $\text{CH}'_2\text{Furan}$), 4.66 (dd, 1H, $J(\text{H6}'\text{Gal}, \text{H5Gal})=4.58\text{Hz}$, $J(\text{H6}'\text{Gal}, \text{H6Gal})=5.50\text{Hz}$, H6'Gal), 4.75 (d, 1H, $J(\text{CH}, \text{H}')=12.39\text{Hz}$, CH_2Furan), 4.79 (d, 1H, $J(\text{H1Gal}, \text{H2Gal})=8.26\text{Hz}$, H1Gal), 4.88 (d, 1H, $J(\text{H1Glu}, \text{H2Glu})=7.80\text{Hz}$, H1Glu), 5.38 (dd, 1H, $J(\text{H3Gal}, \text{H2Gal})=10.32\text{Hz}$, $J(\text{H3Gal}, \text{H4Gal})=3.44\text{Hz}$, H3Gal), 5.46 (dd, 1H, $J(\text{H3Glu}, \text{H4Glu})=9.63\text{Hz}$, $J(\text{H3Glu}, \text{H2Glu})=7.80\text{Hz}$, H3Glu), 5.72 (dd, 1H, $J(\text{H2Gal}, \text{H3Gal})=10.78\text{Hz}$, $J(\text{H2Gal}, \text{H1Gal})=7.57\text{Hz}$, H2Gal), 5.73 (dd, 1H, $J(\text{H4Gal}, \text{H3Gal})=3.90\text{Hz}$, $J(\text{H4Gal}, \text{H5Gal})=0.22\text{Hz}$, H4Gal) 5.79 (d, 1H, $J(\text{H2Glu}, \text{H1Glu})=9.40\text{Hz}$, $J(\text{H2Glu}, \text{H3Glu})=9.40\text{Hz}$, H2Glu), 7.05-8.1 (m, 37H, 35Bz, H2-, H5-Furan)
- ◆ $^{13}\text{C-NMR}$ (63MHz, CDCl_3): $\delta=54.7$ (CH_2OH), 60.9, 61.4, 62.1, 67.4, 69.8, 71.2, 71.6, 72.7, 73.1, 75.8 (C2-, C3-, C4-, C5-, C6-Glu, C2-, C3-, C4-, C5-, C6-Gal), 98.9, 100.8 (C1-Glu, C1-Gal), 119.9, 124.6 (C3-, C4-Furan), 128.1-133.6 (35x CBz), (141.7, 141.8 (C2-, C5-Furan), 164.7-166.1 (7x CBz)

3-β-D-Galactopyranosyl(1→4)-β-D-glucopyranosyl-oxymethyl-4-hydroxymethyl-furan
(46)

Verbindung **45** (650mg, $5.5 \cdot 10^{-4}$ mol) wird in Methanol (20ml) suspendiert, NaOMe (250mg, 1M-Lsg.) zugegeben und 5h bei RT gerührt (DC-Kontrolle). Es wird mit Dowex H^+ Ionenaustauscher neutralisiert, filtriert und das Lösungsmittel evaporiert. Nach präparativer HPLC (Lichrospher RP18) mit AcCN und Wasser (AcCN/H₂O=0:100→100:0 in 40') wird das Produkt **46** (238mg, $5.2 \cdot 10^{-4}$ mol) mit 96 % Ausbeute als weißer Feststoff erhalten.

- ◆ HPLC: Analytik (AcCN/H₂O 2:98) 21'
- ◆ Masse (ESI): m/z(%)=453.1 [M+H]⁺ (30), [M+Na]⁺=475.1 (100), [2M+Na]⁺=927.2 (30), M=452
- ◆ ¹H-NMR (250MHz, D₂O): δ=3.33 (ddd, 1H, J(H5,H6)'=8.10Hz, J(H5Glu,H6Glu)=7.46Hz, J(H5Glu,H6'Glu)=1.06Hz, H5Glu), 3.54 (dd, 1H, J(H2Glu,H3Glu)=9.81Hz, J(H2Glu, H1Glu)=7.46Hz, H2Glu), 3.6-4.1 (m, 12H, (H3Glu, H4Glu, H6Glu, H6'Glu, H2Gal, H3Gal, H4Gal, H5Gal, H6Gal, H6'Gal) 4.45 (d, 1H, J(H1Glu,H2Glu)=7.68Hz, H1Glu), 4.54 (d, 1H, J(H1Gal,H2Gal)=7.68Hz, H1), 4.59 (s, 2H, CH₂Furan), 4.69 (d, 1H, J(CH,H')=11.95Hz, CH₂Furan), 4.88 (d, 1H, J(CH,H')=11.95Hz, CH'₂Furan), 7.60Hz (s, 1H, H2-Furan), 7.56Hz (s, 1H, H5-Furan);
- ◆ ¹³C-NMR (63MHz, D₂O): δ=54.5 (CH₂OH), 60.9 (CH₂OGal), 61.8, 62.2, (C6-Glu, C6-Gal) 69.4, 71.8, 73.4, 73.6, 75.2, 75.6, 76.1, 79.2 (C2-, C3-, C4-, C5-Glu, C2-, C3-, C4-, C5-Gal), 101.4, 103.7 (C1-Glu, C1-Gal) 120.6 (C4-Furan), 124.6 (C3-Furan), 143.1, 144.1 (C2-, C5-Furan).

2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-β-D-galactopyranosyl-(1→4)-(2,3,6)-tri-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl-trichloracetimidat (51)

wird nach einer Vorschrift von R.R. Schmidt⁶⁹ synthetisiert.

3-(2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-β-D-galactopyranosyl-(1→4)-(2,3,6)-tri-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl-oxymethyl)-4-(2,3,4-tri-O-benzoyl-β-L-fucopyranosyl-oxymethyl)-furan
(52)

Furan **35** (300mg, $5.1 \cdot 10^{-4}$ mol) und Imidat **51** (500mg, $6.4 \cdot 10^{-4}$ mol) werden in CH₂Cl₂ (10ml) gelöst, auf 0°C gekühlt und TMSOTf (30μl) zugegeben. Es wird 2h bei 0°C gerührt (DC-Kontrolle). Die Reaktion wird durch die Zugabe halbkonzentrierter NaHCO₃-Lösung abgebrochen und anschließend gegen Wasser extrahiert. Die organische Phase

wird über NaSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel evaporiert. Nach Aufreinigung mittels Säulenchromatographie (PE:EE=5:1→1:2) wird das Produkt **52** (120mg, 1.3 · 10⁻⁴ mol) mit 20% Ausbeute als weißer Schaum erhalten.

- ◆ R_f = 0.28 (PE:EE=2:1)
- ◆ Masse (ESI): m/z (%)=1227.5 [M+Na]⁺ (70), M=1204
- ◆ ¹H-NMR (500MHz, CD₃OD): δ=1.35 (d, 3H, J(CH₃,H₅)=6.37Hz, CH₃), 2.0 – 2.1 (m, 21H, OAc), 3.87 (qd, 1H, J(CH₃,H₅)=6.37Hz, H₅Fuc), 4.03 (dd, 1H, J(H₆'Glu,H₆)=12.32Hz, J(H₆'Glu,H₅)=4.61Hz, H₆'Glu), 4.06- 4.15 (m, 4H, H₅Glu, H₆'Gal, H₆Gal, H₅Gal), 4.26 (d, 1H, J(CH,H)'=12.07Hz, CH₂Furan), 4.43 (d, 1H, J(CH,H)'=12.24Hz, CH₂Furan), 4.45 (d, 1H, J(CH,H)'=11.94Hz, CH₂Furan), 4.55 (d, 1H, J(CH,H)' = 12.24Hz, CH₂Furan), 4.75 (d, 1H, J(H₁Fuc,H₂Fuc)= 7.88Hz, H₁Fuc), 4.81 (d, 1H, J(H₁Gal,H₂Glu)=8.04Hz, H₁Gal), 4.83 (d,1H, J(H₁Glu,H₂Glu)=8.04Hz, H₁Glu), 4.95 (dd,1H, J(H₃Gal,H₂Gal)=10.39Hz, J(H₃Gal,H₄Gal)=3.52Hz, H₃Gal), 5.00 (dd, 1H, J(H₃Glu,H₂Glu)=10.22Hz, J(H₃Glu, H₄Glu)=3.68Hz, H₃Glu), 5.06 (dd, 1H, J(H₄Glu,H₃Glu)=9.30Hz, J(H₄Glu,H₅Glu)=9.30Hz, H₄Glu), 5.10 (dd, 1H, J(H₂Glu, H₃Glu)=10.22Hz, J(H₂Glu,H₁Glu)=7.88Hz, H₂Glu), 5.12 (dd, 1H, J(H₂Gal,H₃Gal)=10.56Hz, J(H₂Gal,H₁Gal)=8.04Hz, H₂Gal), 5.35 (dd, 1H, J(H₄Gal,H₅Gal)=1.00Hz, J(H₄Gal,H₃Gal)=3.43Hz, H₄Gal), 5.53 (dd, 1H, J(H₃Fuc,H₂Fuc)=10.39Hz, J(H₃Fuc, H₄Fuc)=3.52Hz, H₃Fuc), 5.69 (dd, 1H, J(H₄Fuc, H₅Fuc)=0.92Hz, J(H₄Fuc,H₃Fuc)=3.60Hz, H₄Fuc), 5.75 (dd, 1H, J(H₂Fuc,H₃Fuc)=10.39Hz, J(H₂Fuc,H₁Fuc)=7.88Hz, H₂Fuc), 7.4-7.9 (m, 15H, OBz)
- ◆ ¹³C-NMR (63 MHz, CHCl₃): δ= 16.1 (CH₃-Fuc), 26.5 (OAc), 60.1, 62.2, 62.6, 62.7 (C₆-Glu, C₆-Gal, CH₂OFuc, CH₂OGal) 69.4, 69.7, 70.8, 71.3, 71.5, 71.9, 72.0, 72.7 (C₂-, C₃-, C₄-, C₅-Fuc, C₂-, C₃-, C₄-, C₅-Gal, C₂-, C₃-, C₄-, C₅-Glu), 99.2, 99.5, 100.8 (C₁-Fuc, C₁-Gal, C₁-Glu), 110.3, 110.4 (C₃-, C₄-Furan) 128-133.4 (50 x CBz), 150.5, 151.1 (C₂-, C₅-Furan), 164.6-165.8 (10x CBz)

3-β-D-galactopyranosyl-(1→4)-β-D-glucopyranosyl-oxymethyl-4-β-L-fucopyranosyl-oxymethyl-furan (53)

Verbindung **52** (70mg, 5.8 · 10⁻⁵ mol) wird in Methanol (5ml) gelöst, NaOMe (30μl, 1M-Lsg.) zugegeben und 5h bei RT gerührt (DC-Kontrolle). Es wird mit Dowex H⁺ Ionenaustauscher neutralisiert, filtriert und das Lösungsmittel evaporiert. Nach Aufreinigung per präparativer HPLC (Lichrospher RP18) mit AcCN und Wasser

(AcCN/H₂O=0:100→100:0 in 40') wird das Produkt **53** (30mg, 5.0 10⁻⁵ mmol) mit 86% Ausbeute erhalten.

- ◆ R_f = 0.05 (MeOH:EE=2:8)
- ◆ Masse (ESI): m/z (%)=621.3 [M+Na] (100), [2M+Na]⁺=1219.6, M=598
- ◆ ¹H-NMR (500MHz, CD₃OD): δ=1.289 (d, 3H, J(CH₃,H₅)=6.46Hz, CH₃-Fuc), 3.284 (dd, 1H, J(H₂,H₁)=7.88Hz, J(H₂,H₃)=8.99Hz, H₂Glc), (ddd, 1H, J(H₄,H₅)=9.42Hz, J(H₅,H_{6a})=2.52Hz, J(H₅,H_{6b})=4.50Hz, H₅Glc), 3.458 (dd, 1H, J(H₂,H₃)=9.68Hz, J(H₃,H₄)=3.27Hz, H₃Fuc), 3.486 (dd, 1H, J(H₂, H₃)=9.72Hz, J(H₃,H₄)=3.30Hz, H₃Gal), 3.499 (dd, 1H, J(H₂, H₁)=7.30Hz, J(H₂,H₃)=9.73Hz, H₂Fuc), 3.523 (dd, 1H, J(H₃, H₂)=8.92Hz, J(H₃,H₄)=8.78Hz, H₃Glc), 3.550 (dd, 1H, J(H₂,H₁)=7.60Hz, J(H₂,H₃)=9.76Hz, H₂Gal), 3.575 (dd, 1H, J(H₃, H₄)=8.71Hz, J(H₄,H₅)=9.46Hz, H₄Glc), 3.589 (ddd, 1H, J(H₄, H₅)=1.05Hz, J(H₅,H_{6a})=7.43Hz, J(H₅,H_{6b})=4.70Hz, H₅Gal), 3.635 (dq, 1H, J(H₅, H₆)=6.46Hz, J(H₄,H₅)=1.08Hz, H₅Fuc), 3.635 (dd, 1H, J(H₅, CH₃)=6.46Hz, J(H₅,H₄)=1.08Hz, H₅Fuc), 3.701 (dd, 1H, J(H₅,H_{6b})=4.67Hz, J(H_{6a},H_{6b})=-11.43Hz, H_{6b}Gal), 3.778 (dd, 1H, J(H₅,H_{6a})=7.44Hz, J(H_{6a},H_{6b})=-11.43Hz, H_{6a}Gal), 3.818 (dd, 1H, J(H₃,H₄)=3.29Hz, J(H₄,H₅)=0.99Hz, H₄Gal), 3.848 (dd, 1H, J(H₅,H_{6b})=4.54Hz, J(H_{6a},H_{6b})=-12.14Hz, H_{6b}Glc), 3.940 (dd, 1H, J(H₅,H_{6b})=2.56Hz, J(H_{6a},H_{6b})=-12.14Hz, H_{6b}Glc), 4.296 (d, 1H, J(H₁,H₂)=7.35Hz, H₁Fuc), 4.363 (d, 1H, J(H₁,H₂)=7.62Hz, H₁Gal), 4.392 (d, 1H, J(H₁,H₂)=7.85Hz, H₁Glc), 4.601 (dd, 1H, J(H_{6a},H_{6b})=-11.96Hz, J(H_{6a}, H₂)=0.6Hz, H_{6a}-Furan), 4.636 (dd, 1H, J(H_{7a},H_{7b})=-11.96Hz, J(H_{7a}, H₅)=0.5Hz, H_{7a}-Furan), 4.814 (dd, 1H, J(H_{6a},H_{6b})=-11.96Hz, J(H_{6a}, H₅)=0.82Hz, H_{6b}-Furan), 4.872 (dd, 1H, J(H_{7a},H_{7b})=-11.96Hz, J(H_{7a}, H₅)=0.88Hz, H_{7b}-Furan), 7.506 (ddd, 1H, J(H₂,H_{6b})=0.6Hz, J(H₂,H_{6a})=0.8Hz, J(H₂, H₅)=1.7Hz, H₂-Furan), 7.519 (ddd, 1H, J(H₅,H_{7b})=0.5Hz, J(H₅,H_{7a})=0.8Hz, J(H₂, H₅)=1.7Hz, H₅-Furan).
- ◆ ¹³C-NMR (500MHz, CD₃OD): δ=16.825 (CH₃-Fuc), 62.080 (Glc-6), 62.268 (Fur-6), 62.346 (Fur-7), 62.539 (Gal-6), 70.358 (Gal-4), 72.032 (Fuc-5), 72.353 (Fuc-2), 72.611 (Gal-2), 73.115 (Fuc-4), 74.769 (Glc-2), 74.898 (Gal-3), 75.152 (Fuc-3), 76.468 (Glc-3), 76.596 (Glc-5), 77.140 (Gal-5), 80.811 (Glc-4), 102.871 (Glc-1), 103.575 (Fuc-1), 105.163 (Gal-1), 122.836 (Fur-3), 122.960 (Fur-4), 143.638 (Fur-2), 143.732 (Fur-5).

5-Hydroxymethylfurfural (HMF) (54)

wurde von der Firma Aldrich bezogen.

2,3,4-Tri-O-benzoyl- β -L-fucopyranosyl-oxymethyl-furfural (55)

HMF **54** (70mg, $5.5 \cdot 10^{-4}$ mol) und Imidat **34** (520mg, $8.3 \cdot 10^{-4}$ mol) werden in CH_2Cl_2 (10ml) gelöst, auf 0°C gekühlt und TMSOTf (20 μ l) zugegeben. Es wird 1h bei 0°C gerührt. (DC-Kontrolle). Die Reaktion wird durch Extraktion gegen gesättigte NaHCO_3 -Lösung und Wasser abgebrochen. Die organische Phase wird über NaSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel evaporiert. Nach Säulenchromatographie (PE:EE=7:3) wird das Produkt **55** (80mg, $1.5 \cdot 10^{-4}$ mol) mit 27% Ausbeute sauber erhalten.

- ◆ $R_f=0.41$ (PE:EE=2:1)
- ◆ Masse (ESI): m/z (%)=607.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100), $M=584$
- ◆ $^1\text{H-NMR}$ (250MHz, CDCl_3): $\delta=1.36$ (d, 3H, $J(\text{CH}_3, \text{H}_5)=6.08\text{Hz}$, CH_3Fuc), 4.06 (dd, 1H, $J(\text{H}_5, \text{H}_4)=6.27\text{Hz}$, $J(\text{H}_5, \text{CH}_3)=6.08\text{Hz}$, H5), 4.78 (d, 1H, $J(\text{CH}, \text{H}')=13.76\text{Hz}$, $\text{CH}, \text{H}'\text{OFuc}$), 4.87 (d, 1H, $J(\text{CH}, \text{H}')=13.76\text{Hz}$, $\text{CH}, \text{H}'\text{OFuc}$), 4.94 (d, 1H, $J(\text{H}_1, \text{H}_2)=8.20\text{Hz}$, H1), 5.59 (dd, 1H, $J(\text{H}_3, \text{H}_2)=10.32\text{Hz}$, $J(\text{H}_3, \text{H}_4)=3.44\text{Hz}$, H3) 5.73 (dd, 1H, $J(\text{H}_4, \text{H}_3)=3.21\text{Hz}$, $J(\text{H}_5, \text{H}_4)=6.27\text{Hz}$, H4), 5.78 (dd, 1H, $J(\text{H}_2, \text{H}_3)=10.32\text{Hz}$, $J(\text{H}_2, \text{H}_1)=8.20\text{Hz}$, H2), 6.44 (d, 1H, $J(\text{H}_3-, \text{H}_4\text{-Furan})=3.21\text{Hz}$, H4-Furan), 7.07 (d, 1H, $J(\text{H}_3-, \text{H}_4\text{-Furan})=3.21\text{Hz}$, H3-Furan), 7.42-8.11 (m, 15H, Ph), 9.42 (s, 1H, Aldehyd)

2-(2,3,4-Tri-O-benzoyl- β -L-fucopyranosyl-oxymethyl)-5-hydroxymethyl-furan (56)

Verbindung **55** (19mg, $1.7 \cdot 10^{-5}$ mol) wird in abs. THF (1ml) gelöst und auf 0°C gekühlt. Es wird NaBH_4 (1.0mg, $3.0 \cdot 10^{-5}$ mol) zugegeben und 1h bei 0°C gerührt. Wenn die Reaktion vollständig abgelaufen ist, (DC-Kontrolle) wird die Reaktionslösung mit CHCl_3 aufgenommen und mit 1N HCl-Lösung und Wasser extrahiert. Die organische Phase wird über NaSO_4 getrocknet, das Lösungsmittel evaporiert und das Produkt **56** (9mg, $1.5 \cdot 10^{-5}$ mol) mit 90% Ausbeute sauber erhalten.

- ◆ $R_f=0.70$ (PE:EE=1:1)
- ◆ Masse (ESI): m/z (%)=609.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (70), 1195.5 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (100), $M=586$
- ◆ $^1\text{H-NMR}$ (250MHz, CDCl_3): $\delta=1.34$ (d, 3H, $J(\text{CH}_3, \text{H}_5)=6.08\text{Hz}$, CH_3), 4.06 (dd, 1H, $J(\text{H}_5, \text{H}_4)=6.27\text{Hz}$, $J(\text{H}_5, \text{CH}_3)=6.08\text{Hz}$, H5), 4.32 (s, 2H, CH_2OH), 4.68 (d, 1H, $J(\text{CH}, \text{H}')=13.76\text{Hz}$, $\text{CH}, \text{H}'\text{OFuc}$), 4.78 (d, 1H, $J(\text{CH}, \text{H}')=13.76\text{Hz}$, $\text{CH}, \text{H}'\text{OFuc}$), 4.85 (d, 1H, $J(\text{H}_1, \text{H}_2)=7.80\text{Hz}$, H1), 5.62 (dd, 1H, $J(\text{H}_3, \text{H}_2)=10.55\text{Hz}$, $J(\text{H}_3, \text{H}_4)=3.44\text{Hz}$, H3) 5.73 (dd, 1H, $J(\text{H}_4, \text{H}_3)=3.21\text{Hz}$, $J(\text{H}_5, \text{H}_4)=6.27\text{Hz}$, H4), 5.78 (dd, 1H, $J(\text{H}_2, \text{H}_3)=10.55\text{Hz}$, $J(\text{H}_2, \text{H}_1)=7.80\text{Hz}$, H2), 6.18 (d, 1H, $J(\text{H}_3-, \text{H}_4\text{-Furan})=3.21\text{Hz}$, 3H-Furan), 6.21 (d, 1H, $J(\text{H}_3-, \text{H}_4\text{-Furan})=3.21\text{Hz}$, H4-Furan), 7.42-8.11 (m, 15H, Ph);

- ◆ ^{13}C -NMR (63MHz, CDCl_3): δ =16.14 (CH_3), 57.3 (CH_2OH), 62.9(CH_2OFuc), 69.6, 69.8, 71.0, 72.1 ($\text{C}2$ -, $\text{C}3$ -, $\text{C}4$ -, $\text{C}5$ -Fuc), 99.6 ($\text{C}1$ -Fuc), 102.6, 108.2 ($\text{C}3$ -, $\text{C}4$ -Furan), 127.6- 135.7 (18 x C-Phenyl), 150.4 ($\text{C}5$ -Furan), 154.7 ($\text{C}2$ -Furan), 165.2, 165.6, 165.9 (3 x OC-Ph).

5-(2,3,4,6-Tetra-O-benzoyl- β -D-galactopyranosyl)-oxymethyl-furfural (57)

HMF **54** (378mg, 3.0mmol) und Imidat **39** (3.0g, 4.05mmol) werden in CH_2Cl_2 (10ml) gelöst, auf 0°C gekühlt und mit TMSOTf (20 μl) versetzt. Es wird 2h bei 0°C gerührt (DC-Kontrolle). Die Reaktion wird durch Extraktion gegen gesättigte NaHCO_3 -Lösung und Wasser abgebrochen. Die organische Phase wird über NaSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel evaporiert. Nach Säulenchromatographie (PE:EE=2:1) wird das Produkt **57** (100mg, $1.42 \cdot 10^{-4}$ mol) mit 5% Ausbeute erhalten.

- ◆ R_f =0.23 (PE:EE=2:1)
- ◆ Masse (ESI): m/z (%)=727.1 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ (100), M =704.1
- ◆ ^1H -NMR (250MHz, CDCl_3): δ =4.36 (ddd, 1H, H5), 4.46 (dd, 1H, $J(\text{H}6',\text{H}6)$ =11.18Hz, $J(\text{H}6',\text{H}5)$ =6.30Hz, H6'), 4.67 (d, $J(\text{H},\text{H}')$ =12.20Hz, CH'-Furan), 4.70 (dd, 1H, $J(\text{H}6,\text{H}6')$ =11.39Hz, $J(\text{H}6,\text{H}5)$ =6.51Hz, H6), 4.88 (d, 1H, $J(\text{CH},\text{H}')$ =12.20Hz, CH_2 -Furan), 4.94 (d, 1H, $J(\text{H}1,\text{H}2)$ =7.93, H1) 5.61 (dd, 1H, $J(\text{H}3,\text{H}2)$ = 10.37Hz, $J(\text{H}3,\text{H}4)$ =3.66Hz, H3), 5.84 (dd, 1H, $J(\text{H}2,\text{H}3)$ =10.37Hz, $J(\text{H}2,\text{H}1)$ =7.93Hz, H2), 6.00 (dd, 1H, $J(\text{H}4,\text{H}3)$ =3.66Hz, H4), 6.44 (d, 1H, $J(\text{H}3$ -, $\text{H}4$ -Furan)=3.21Hz, H4-Furan), 7.07 (d, 1H, $J(\text{H}3$ -, $\text{H}4$ -Furan)=3.21Hz, H3-Furan), 7.4-8.12 (m, 20H, Bz), 9.42 (s, 1H, Aldehyd)

2-(2,3,4,6-Tetra-O-benzoyl- β -D-galactopyranosyl)-oxymethyl)-5-hydroxymethyl-furan (58)

Verbindung **57** (50mg, $7.1 \cdot 10^{-5}$ mol) wird in THF (5ml) abs. gelöst und auf 0°C gekühlt. Es wird NaBH_4 (20mg, $3.0 \cdot 10^{-5}$ mol) zugegeben und 1h bei 0°C gerührt. Nach Ablauf der Reaktion (DC-Kontrolle) wird die Reaktionslösung mit CHCl_3 aufgenommen und gegen 1N HCl und H_2O extrahiert. Die organische Phase wird über NaSO_4 getrocknet, das Lösungsmittel evaporiert und das Produkt **58** (38mg, $5.4 \cdot 10^{-5}$ mol) mit 90% Ausbeute sauber erhalten.

- ◆ R_f =0.58 (PE:EE=1:1)
- ◆ Masse (ESI): m/z (%)= 729.2[$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ (100); M =706
- ◆ ^1H -NMR (250MHz, CDCl_3): δ =4.36 (ddd, 1H, H5), 4.40 (s, 2H, CH_2OH), 4.46 (dd, 1H, $J(\text{H}6',\text{H}6)$ =11.18Hz, $J(\text{H}6',\text{H}5)$ =6.30Hz, H6'), 4.67 (d, $J(\text{H},\text{H}')$ =12.20Hz, CH'-

Furan), 4.70 (dd, 1H, $J(\text{H}_6, \text{H}_6')=11.39\text{Hz}$, $J(\text{H}_6, \text{H}_5)=6.51\text{Hz}$, H6), 4.88 (d, 1H, $J(\text{CH}, \text{H}')=12.20\text{Hz}$, CH'_2 -Furan), 4.94 (d, 1H, $J(\text{H}_1, \text{H}_2)=7.93$, H1) 5.61 (dd, 1H, $J(\text{H}_3, \text{H}_2)=10.37\text{Hz}$, $J(\text{H}_3, \text{H}_4)=3.66\text{Hz}$, H3), 5.84 (dd, 1H, $J(\text{H}_2, \text{H}_3)=10.37\text{Hz}$, $J(\text{H}_2, \text{H}_1)=7.93\text{Hz}$, H2), 6.17 (dd, 1H, $J(\text{H}_4, \text{H}_3)=3.66\text{Hz}$, H4), 6.44 (d, 1H, $J(\text{H}_3\text{-}, \text{H}_4\text{-Furan})=3.21\text{Hz}$, H4-Furan), 6.28 (d, 1H, $J(\text{H}_3\text{-}, \text{H}_4\text{-Furan})=3.21\text{Hz}$, H3-Furan), 7.4-8.12 (m, 15H, Bz)

5-(2,3,4,6-Tetra-O-benzoyl- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-(2,3,6)-tri-O-benzoyl- β -D-glucopyranosyl-oxymethyl)-furfural (59)

HMF **54** (445g, 3.5mmol) und Imidat **44** (6.0g, 4.9mmol) werden in CH_2Cl_2 (20ml) gelöst, auf 0°C gekühlt, TMSOTf (20 μ l) zugegeben und 2h bei 0°C gerührt (DC-Kontrolle). Die Reaktion wird durch Extraktion gegen gesättigte NaHCO_3 -Lösung und Wasser abgebrochen. Die organische Phase wird über NaSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel evaporiert. Nach Aufreinigung (PE:EE=2:1) wird das Produkt **59** (120mg, $1.0 \cdot 10^{-4}$ mol) mit 3% Ausbeute erhalten.

- ◆ $R_f=0.11$ (PE:EE=2:1)
- ◆ Masse (ESI): m/z (%)=1202.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (80), $M=1179$;
- ◆ $^1\text{H-NMR}$ (250MHz, CDCl_3): $\delta=3.71$ (ddd, 1H, $J(\text{H}_5\text{Glu}, \text{H}_6'\text{Glu})=1.14\text{Hz}$, $J(\text{H}_5\text{Glu}, \text{H}_4\text{Glu})=9.40\text{Hz}$, $J(\text{H}_6\text{Glu}, \text{H}_5)=6.88\text{Hz}$, H5Glu), 3.85 (dd, 1H, $J(\text{H}_6'\text{Glu}, \text{H}_5\text{Glu})=10.55\text{Hz}$, $J(\text{H}_6'\text{Glu}, \text{H}_6\text{Glu})=12.84\text{Hz}$, H6'Glu), 3.89 (dd, 1H, $J(\text{H}_6\text{Glu}, \text{H}_6'\text{Glu})=12.84\text{Hz}$, $J(\text{H}_6\text{Glu}, \text{H}_5)=6.88\text{Hz}$, H6Glu), 4.25 (dd, 1H, $J(\text{H}_4\text{Glu}, \text{H}_5\text{Glu})=9.40\text{Hz}$, $J(\text{H}_4\text{Glu}, \text{H}_3\text{Glu})=9.40\text{Hz}$, H4Glu), 4.49 (dd, 1H, $J(\text{H}_6\text{Gal}, \text{H}_5\text{Gal})=6.88\text{Hz}$, $J(\text{H}_6\text{Gal}, \text{H}_6'\text{Gal})=5.50\text{Hz}$, H6Gal), 4.50 (ddd, 1H, $J(\text{H}_5\text{Gal}, \text{H}_6\text{Gal})=6.88\text{Hz}$, $J(\text{H}_5\text{Gal}, \text{H}_4\text{Gal})=3.44\text{Hz}$, H5Gal), 4.57 (d, 1H, $J(\text{CH}, \text{H}')=14.22\text{Hz}$, CH'_2 Furan), 4.66 (dd, 1H, $J(\text{H}_6'\text{Gal}, \text{H}_5\text{Gal})=4.58\text{Hz}$, $J(\text{H}_6'\text{Gal}, \text{H}_6\text{Gal})=5.50\text{Hz}$, H6'Gal), 4.75 (d, 1H, $J(\text{CH}, \text{H}')=12.39\text{Hz}$, CH'_2 Furan), 4.79 (d, 1H, $J(\text{H}_1\text{Gal}, \text{H}_2\text{Gal})=8.26\text{Hz}$, H1Gal), 4.88 (d, 1H, $J(\text{H}_1\text{Glu}, \text{H}_2\text{Glu})=7.80\text{Hz}$, H1Glu), 5.38 (dd, 1H, $J(\text{H}_3\text{Gal}, \text{H}_2\text{Gal})=10.32\text{Hz}$, $J(\text{H}_3\text{Gal}, \text{H}_4\text{Gal})=3.44\text{Hz}$, H3Gal), 5.46 (dd, 1H, $J(\text{H}_3\text{Glu}, \text{H}_4\text{Glu})=9.63\text{Hz}$, $J(\text{H}_3\text{Glu}, \text{H}_2\text{Glu})=7.80\text{Hz}$, H3Glu), 5.72 (dd, 1H, $J(\text{H}_2\text{Gal}, \text{H}_3\text{Gal})=10.78\text{Hz}$, $J(\text{H}_2\text{Gal}, \text{H}_1\text{Gal})=7.57\text{Hz}$, H2Gal), 5.73 (dd, 1H, $J(\text{H}_4\text{Gal}, \text{H}_3\text{Gal})=3.90\text{Hz}$, $J(\text{H}_4\text{Gal}, \text{H}_5\text{Gal})=0.22\text{Hz}$, H4Gal), 5.79 (d, 1H, $J(\text{H}_2\text{Glu}, \text{H}_1\text{Glu})=9.40\text{Hz}$, $J(\text{H}_2\text{Glu}, \text{H}_3\text{Glu})=9.40\text{Hz}$, H2Glu), 6.44 (d, 1H, $J(\text{H}_3\text{-}, \text{H}_4\text{-Furan})=3.21\text{Hz}$, H4-Furan), 7.07 (d, 1H, $J(\text{H}_3\text{-}, \text{H}_4\text{-Furan})=3.21\text{Hz}$, H3-Furan), 7.05-8.10 (m, 35H, Bz), 9.42 (s, 1H, Aldehyd)

5-t-Butyldiphenylsilyl-oxymethyl-furfural (60)

HMF **54** (309mg, 2.38mmol) wird in DMF (5ml) gelöst, Imidazol (200mg, 2.85mmol) und TBDPSCI (730 μ l, 782mg, 2.85mmol) zugegeben und bei RT 14h gerührt. DMF wird am Hochvakuum abgezogen, der Rückstand in Dichlormethan aufgenommen und mit Wasser extrahiert. Die organische Phase wird über NaSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel evaporiert. Nach Säulenchromatographie (PE:EE=3:1) wird das Produkt **60** (805mg, 2.2mmol) mit 91% Ausbeute erhalten.

- ◆ R_f = 0.69 (PE:EE=2:1)
- ◆ Masse (FAB): m/z = 365 [M+H]⁺, 387 [M+Na]⁺, M = 364
- ◆ ¹H-NMR (250MHz, CDCl₃): δ = 1.11 (s, 9H, SiCCH₃) 4.75 (s, 2H, CH₂OSi), 6.48 (d, 1H, J(H₃,H₄) = 1.4Hz, H₃-Furan), 7.15 (d, 1H, J(H₃,H₄) = 1.4Hz, 4H-Furan), 7.60 (d, 1H, J(H₂,H₅) = 1.6Hz, 2H-Furan), 7.42-7.81 (m, 10H, SiPh), 9.58 (s, 1H, Aldehyd)
- ◆ ¹³C-NMR (63 MHz, CDCl₃): δ = 19.2 (SiCCH₃), 26.7 (SiCCH₃), 59.2 (CH₂OSi), 109.5 (C₃), 127.6, 129.9, 132.6, 134.7, 135.5 (C-Phenyl), 152.2 (C₅), 160.8 (C₂), 177.5 (C-Aldehyd)

2-t-Butyldiphenylsilyl-oxymethyl-5-hydroxymethyl-furan (61)

Verbindung **60** (459mg, 1.23mmol) wird in THF (10ml) gelöst und auf 0°C gekühlt. NaBH₄ (75mg, 2mmol) wird langsam zugegeben und bei RT 3h gerührt (DC-Kontrolle). Die Reaktion wird durch Zugabe von EtOH und Wasser vorsichtig abgebrochen und mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über NaSO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel evaporiert. Nach Säulenchromatographie (PE:EE=2:1) wird das Produkt **61** (430mg, 1.18mmol) mit 95% Ausbeute erhalten.

- ◆ R_f = 0.58 (PE:EE=2:1)
- ◆ Masse (FAB): m/z = 367.1 [M+H]⁺, 389.2 [M+Na]⁺, M = 366;
- ◆ ¹H-NMR (250MHz, CDCl₃): δ = 1.11 (s, 9H, SiCCH₃) 4.55 (s, 2H, CH₂OH), 4.75 (s, 2H, CH₂OSi), 6.13 (d, 1H, J(H₃,H₄) = 1.4Hz, 4H-Furan), 6.21 (d, 1H, J(H₃,H₄) = 1.4Hz, H₃-Furan), 7.42-7.81 (m, 10H, SiPh);
- ◆ ¹³C-NMR (63MHz, CDCl₃): δ = 19.2 (SiCCH₃), 26.7 (SiCCH₃), 57.4 (CH₂OH), 58.8 (CH₂OSi), 108.2, 108.1 (C₃, C₄), 127.6, 129.9, 132.6, 134.7, 135.5 (C-Phenyl), 153.4 (C₅), 153.8 (C₂).

2-(2,3,4-Tri-O-benzoyl- β -L-fucopyranosyl-oxymethyl)-5-t-butylidiphenylsilyloxymethyl-furan (62)

Furanderivat **61** (170mg, $4.6 \cdot 10^{-4}$ mol) und Imidat **34** (430mg, $6.9 \cdot 10^{-4}$ mol) werden in CH_2Cl_2 (5ml) gelöst, auf 0°C gekühlt und TMSOTf (8 μ l) zugegeben. Es wird 1h bei 0°C gerührt (DC-Kontrolle) und die Reaktion dann durch Extraktion gegen gesättigte NaHCO_3 -Lösung und Wasser abgebrochen. Die organische Phase wird über NaSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel evaporiert. Nach Säulenchromatographie (PE:EE=4:1 \rightarrow 1:1) wird das Produkt **62** (284mg, $3.4 \cdot 10^{-4}$ mol) mit 74% Ausbeute sauber erhalten.

- ◆ $R_f=0.62$ (PE:EE=2:1)
- ◆ Masse (FAB) $m/z=847.3$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (100); $M=824$
- ◆ $^1\text{H-NMR}$ (250MHz, CDCl_3): $\delta=1.09$ (s, 9H, SiCCH_3), 1.34 (d, 3H, $J(\text{CH}_3, \text{H}_5)=6.08\text{Hz}$, CH_3Fuc), 4.06 (dd, 1H, $J(\text{H}_5, \text{H}_4)=6.27\text{Hz}$, $J(\text{H}_5, \text{CH}_3)=6.08\text{Hz}$, H5), 4.32 (d, 2H, CH_2OSi), 4.68 (d, 1H, $J(\text{CH}, \text{H}')=13.76\text{Hz}$, $\text{CH}'_2\text{OFuc}$), 4.78 (d, 1H, $J(\text{CH}, \text{H}')=13.76\text{Hz}$, $\text{CH}'_2\text{OFuc}$), 4.85 (d, 1H, $J(\text{H}_1, \text{H}_2)=7.80\text{Hz}$, H1), 5.62 (dd, 1H, $J(\text{H}_3, \text{H}_2)=10.55\text{Hz}$, $J(\text{H}_3, \text{H}_4)=3.44\text{Hz}$, H3) 5.73 (dd, 1H, $J(\text{H}_4, \text{H}_3)=3.21\text{Hz}$, $J(\text{H}_5, \text{H}_4)=6.27\text{Hz}$, H4), 5.78 (dd, 1H, $J(\text{H}_2, \text{H}_3)=10.55\text{Hz}$, $J(\text{H}_2, \text{H}_1)=7.80\text{Hz}$, H2), 6.18 (d, 1H, $J(\text{H}_3-, \text{H}_4-\text{Furan})=3.21\text{Hz}$, 3H-Furan), 6.21 (d, 1H, $J(\text{H}_3-, \text{H}_4-\text{Furan})=3.21\text{Hz}$, H4-Furan), 7.42-8.11 (m, 25H, Ph)
- ◆ $^{13}\text{C-NMR}$ (63 MHz, CDCl_3): $\delta=16.14$ (CH_3), 18.9 (SiCCH_3), 26.5 (SiCCH_3), 57.2 (CH_2OFuc), 60.3 (CH_2OSi), 69.6, 69.8, 71.0, 72.1 (C2-, C3-, C4-, C5-Fuc), 99.5 (C1-Fuc), 108.2, 110.7 (C3-, C4-Fur), 127.6- 135.7 (30 x C-Phenyl), 150.4 (C5-Furan), 154.8 (C2-Furan), 165.2, 165.6, 165.9 (3 x OC-Ph).

2-(2,3,4-Tri-O-benzoyl- β -L-fucopyranosyl-oxymethyl)-5-hydroxymethyl-furan (63)

Fucose **62** (1.0g, 1.2mmol), 18-Krone-6 (300mg, 1.2mmol) und TBAF (420mg, 1.3mmol) werden bei 0°C in THF (20ml) gelöst und 1h gerührt (DC-Kontrolle). Das Reaktionsgemisch wird in CHCl_3 aufgenommen und mit 1N-HCl und Wasser ausgeschüttelt. Die organische Phase wird über NaSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel evaporiert. Per Säulenchromatographie (PE/EE=2:1) wird das Produkt **63** (550mg, 0.94mmol) mit 77% Ausbeute sauber erhalten.

- ◆ $R_f=0.12$ (PE:EE=2:1)
- ◆ Masse (ESI): m/z (%)=609.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (60), 1195.5 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (100), $M=586$
- ◆ $^1\text{H-NMR}$ (250MHz, CDCl_3): $\delta=1.34$ (d, 3H, $J(\text{CH}_3, \text{H}_5)=6.08\text{Hz}$, CH_3Fuc), 4.06 (dd, 1H, $J(\text{H}_5, \text{H}_4)=6.27\text{Hz}$, $J(\text{H}_5, \text{CH}_3)=6.08\text{Hz}$, H5), 4.32 (s, 2H, CH_2OH), 4.68 (d, 1H,

- J(CH,H')=13.76Hz, CH,H'OFuc), 4.78 (d, 1H, J(CH,H')=13.76Hz, CH,H'OFuc), 4.85 (d, 1H, J(H1,H2)=7.80Hz, H1), 5.62 (dd, 1H, J(H3,H2)=10.55Hz, J(H3,H4)=3.44Hz, H3) 5.73 (dd, 1H, J(H4,H3)=3.21Hz, J(H5,H4)=6.27Hz, H4), 5.78 (dd, 1H, J(H2,H3)=10.55Hz, J(H2,H1)=7.80Hz, H2), 6.18 (d, 1H, J(H3-,H4-Furan)=3.21Hz, 3H-Furan), 6.21 (d, 1H, J(H3-,H4-Furan)=3.21Hz, H4-Furan), 7.42-8.11 (m, 15H, Ph)
- ◆ ¹³C-NMR (63 MHz, CDCl₃): δ=16.14 (CH₃), 57.3 (CH₂OH), 62.9 (CH₂OFuc), 69.6, 69.8, 71.0, 72.1 (C2-, C3-, C4-, C5-Fuc), 99.6 (C1-Fuc), 102.6, 108.2 (C3-, C4-Fur), 127.6- 135.7 (18 x C-Phenyl), 150.4 (C5), 154.7 (C2), 165.2, 165.6, 165.9 (3 x OC-Ph)

2-β-L-Fucopyranosyl-oxymethyl-5-hydroxymethyl-furan (64)

Verbindung **63** (9mg, 1.5 · 10⁻⁵ mol) wird in Methanol (5ml) gelöst, NaOMe (10μl, 1M-Lsg.) zugegeben und 5h bei RT gerührt (DC-Kontrolle). Es wird mit Dowex H⁺ Ionenaustauscher neutralisiert, der Ionenaustauscher abfiltriert und das Lösungsmittel evaporiert. Der Rückstand wird mit Wasser aufgenommen und gegen CH₂Cl₂ extrahiert. Die wässrige Phase wird lyophilisiert und das Produkt **64** (4mg, 1.45 · 10⁻⁵mmol) mit 97% Ausbeute sauber erhalten.

- ◆ Masse (ESI): m/z =281.1 [M+Li]⁺, 313.0[M+K]⁺; =571.0 [2M+Na]⁺; M=274
- ◆ ¹H-NMR (250MHz, D₂O): δ=1.30 (d, 1H, J(CH₃,H5)=6.22Hz, CH₃), 3.52 (dd, 1H, J(H2,H3)=9.72Hz, J(H2,H1)=7.77Hz, H2) 3.67 (dd, 1H, J(H3,H2)=9.72Hz, J(H3,H4)=3.48Hz, H3), 3.79 (dd, 1H, J(H4,H5)=0.77Hz, J(H4,H3)=3.48Hz, H4), 3.82 (qd, 1H, J(H5,CH3)=6.22Hz, J(H5,H4)=0.77Hz, H5), 4.49 (d, 1H, J(H1,H2)=7.77Hz, H1) 4.62 (s, 2H, CH₂OH), 4.75 (d, 1H, J(CH,H'OFuc)=12.82Hz, CH,H'OFuc), 4.86 (d, 1H, J(CH,H'OFuc)=12.82Hz, CH,H'OFuc), 6.53 (d, 1H, J(H2-Furan,H4-Furan) =3.11Hz, H2-Furan), 6.44 (d, 1H, J(H4-Furan,H2-Furan)=3.11Hz, H4-Furan);

2-(2,3,4,6-Tetra-O-benzoyl-β-D-galactopyranosyl-oxymethyl)-5-(2,3,4-tri-O-benzoyl-β-L-fucopyranosyl-oxymethyl)-furan (65)

Verbindung **63** (200mg, 3.4 · 10⁻⁴mol) und Imidat **39** (377mg, 5.1 · 10⁻⁵mol) werden in CH₂Cl₂ (10ml) gelöst, auf 0°C gekühlt und TMSOTf (5μl) zugegeben. Es wird 1h bei 0°C gerührt (DC-Kontrolle). Die Reaktion wird durch Zugabe von NaHCO₃-Lösung abgebrochen und gegen Wasser extrahiert. Die organische Phase wird über NaSO₄ getrocknet, filtriert, das Lösungsmittel evaporiert und der Rückstand per Säulenchromatographie (PE:EE=3:1) aufgereinigt. Das Produkt **65** (76mg, 6.5 · 10⁻⁵mol) wird mit 20% Ausbeute erhalten.

- ◆ $R_f = 0.37$ (PE:EE=2:1)
- ◆ Masse (ESI): m/z (%) = 1187.5 $[M+Na]^+$ (100), $M = 1164$
- ◆ 1H -NMR (250MHz, $CDCl_3$): $\delta = 1.35$ (d, 1H, $J(CH_3, H_5) = 6.42$ Hz, CH_3Fuc), 4.03 (dq, 1H, $J(H_5, H_4) = 0.22$ Hz, $J(H_5, CH_3) = 6.27$ Hz, H5), 4.30 (dd, 1H, $J(H_5, H_6) = 6.65$ Hz, $J(H_5, H_6') = 6.65$ Hz, H5-Gal), 4.42 (d, 1H, $J(CH, H') = 13.76$ Hz, CH_2Furan), 4.43 (dd, 1H, $J(H_6', H_5) = 5.50$ Hz, $J(H_6', H_6) = 11.93$ Hz, H6'Gal), 4.60 (d, 1H, $J(CH, H') = 13.30$ Hz, CH_2Furan), 4.61 (d, 1H, $J(CH, H') = 13.30$ Hz, CH_2Furan), 4.70 (dd, 1H, $J(H_6, H_6') = 10.78$ Hz, $J(H_6, H_5) = 6.19$ Hz, H6-Gal), 4.75 (d, 1H, $J(H_1, H_2) = 7.80$ Hz, H1-Fuc), 4.80 (d, 1H, $J(H_1, H_2) = 7.80$ Hz, H1-Gal), 5.52 (dd, 1H, $J(H_3, H_4) = 3.44$ Hz, $J(H_3, H_2) = 10.32$ Hz, H3-Fuc), 5.58 (dd, 1H, $J(H_3, H_2) = 10.32$ Hz, $J(H_3, H_4) = 3.44$ Hz, H3-Gal), 5.71 (dd, 1H, $J(H_4, H_5) = 0.68$ Hz, $J(H_4, H_3) = 1.60$ Hz, H4-Fuc), 5.74 (dd, 1H, $J(H_2, H_3) = 10.78$ Hz, $J(H_2, H_1) = 8.03$ Hz, H2-Fuc), 5.80 (dd, 1H, $J(H_2, H_3) = 10.55$ Hz, $J(H_2, H_1) = 7.80$ Hz, H2-Gal), 6.01 (dd, 1H, $J(H_4, H_3) = 2.75$ Hz, H4-Gal), 6.12 (s, 2H, H3-, H4-Furan), 6.81-7.2 (m, 35H, Bz)
- ◆ ^{13}C -NMR (63MHz, $CDCl_3$): $\delta = 16.2$ (CH_3), 60.2, 61.9, (CH_2OFuc , CH_2OGal) 62.7 ($C6Gal$), 67.9, 69.5, 69.7, 69.6, 69.8, 71.0, 72.1 ($C2-$, $C3-$, $C4-$, $C5-Fuc$, $C2-$, $C3-$, $C4-$, $C5-Gal$), 99.6, 99.7 ($C1-Fuc$, $C1-Gal$), 110.3, 110.7 ($C3-$, $C4-Fur$), 127.6- 135.7 (35 x CBz), 150.6 ($C5$), 151.2 ($C2$), 165.1, 165.14, 165.39, 165.43, 165.50, 165.87, 165.92 (7 x OC-Ph)

2- β -D-Galactopyranosyl-oxymethyl-5- β -L-fucopyranosyl-oxymethyl-furan (66)

Verbindung **65** (47mg, $4.0 \cdot 10^{-5}$ mol) wird in Methanol (5ml) suspendiert, NaOMe (30 μ l, 1M-Lsg.) zugegeben und 3h bei RT gerührt (DC-Kontrolle). Es wird mit Dowex H^+ Ionenaustauscher neutralisiert, filtriert und das Lösungsmittel evaporiert. Der Rückstand wird mit Wasser aufgenommen und gegen $CHCl_3$ ausgeschüttelt. Die wässrige Phase wird eingengt und der Rückstand mittels präparativer HPLC (Lichrospher RP18) mit AcCN und Wasser aufgereinigt und das Produkt **66** (15mg, $3.4 \cdot 10^{-5}$ mol) mit 86% Ausbeute als weißer Feststoff erhalten.

- ◆ Masse (ESI) m/z (%) = 437.1 $[M+H]^+$ (10), 459.1 $[M+Na]^+$ (100); $M = 436$
- ◆ 1H -NMR (250MHz, $CDCl_3$): $\delta = 1.26$ (d, 3H, $J(CH_3Fuc, H_5Fuc) = 6.40$ Hz, CH_3Fuc), 3.48 (dd, 1H, $J(H_2Gal, H_3Gal) = 11.09$ Hz, $J(H_2Gal, H_1Gal) = 7.68$ Hz, H2Gal), 3.52 (dd, 1H, $J(H_2Fuc, H_3Fuc) = 11.09$ Hz, $J(H_2Fuc, H_1Fuc) = 7.68$ Hz, H2Fuc), 3.62 (dd, 1H, $J(H_3Gal, H_2Gal) = 11.09$ Hz, $J(H_3Gal, H_4Gal) = 3.41$ Hz, H3Gal), 3.63 (dd, 1H, $J(H_3Fuc, H_2Fuc) = 11.09$ Hz, $J(H_3Fuc, H_4Fuc) = 3.20$ Hz, H3Fuc), 3.69 (dd, 1H,

J(H5Gal,H6Gal)=4.26Hz, J(H5Gal,H4Gal)=0.42Hz, H5Gal), 3.75 - 3.77 (m, 3H, H4Fuc, H6Gal, H6'Gal), 3.81 (dq, 1H, J(H5Fuc,CH₃Fuc)=6.40Hz, J(H5Fuc,H4Fuc)=1.38Hz, H5Fuc), 3.93 (dd, 1H, J(H4Gal,H3Gal)=3.41Hz, J(H4Gal,H5)=0.42Hz, H4Gal), 4.44 (d, 1H, J(H1Gal,H2Gal)=7.68Hz, H1Gal), 4.47 (d, 1H, J(H1Fuc,H2Fuc)=7.68Hz, H1-Fuc), 4.71 (d, 1H, J(CH'',H''')=13.2Hz, CH''''Furan), 4.75 (d, 1H, J(CH''',H'''')=13.23Hz, CH''''Furan), 4.82 (d, 1H, J(CH'',H')=9.39Hz, CH''Furan), 4.87 (d, 1H, J(H',H'')=9.39Hz, CH'Furan), 6.51 (s, 2H, H3, H4-Furan)

- ◆ ¹³C-NMR (63 MHz, D₂O): δ=19.8 (CH₃), 65.4, 67.6, (CH₂OFuc, CH₂OGal) 67.6, (C6-Gal), 73.1, 74.9, 75.2, 75.5, 75.8, 77.3, 77.4, 79.7 (C2-, C3-, C4-, C5-Fuc, C2-, C3-, C4-, C5-Gal), 106.0, 106.1 (C1-Fuc, C1-Gal), 116.0, 116.1 (C3-, C4-Furan), 155.6, 155.7 (C2-, C5-Furan)

2-(2,3,4,6-Tetra-O-benzoyl-β-D-galactopyranosyl-(1→4)-2,3,6-tri-O-benzoyl-β-D-glucopyranosyl-oxymethyl)-5-(2,3,4-tri-O-benzoyl-β-L-fucopyranosyl-oxymethyl)-furan
(67)

Furanderivat **63** (200mg, 3.4 · 10⁻⁴mol) und Imidat **34** (620mg, 5.1 · 10⁻⁴mol) werden in CH₂Cl₂ (10ml) gelöst, auf 0°C gekühlt und TMSOTf (5μl) zugegeben. Es wird 1h bei 0°C gerührt (DC-Kontrolle). Die Reaktion wird durch Zugabe von NaHCO₃-Lösung abgebrochen und gegen Wasser extrahiert. Die organische Phase wird über NaSO₄ getrocknet, filtriert, das Lösungsmittel evaporiert und der Rückstand mittels Säulenchromatographie aufgereinigt (PE:EE=2:1→1:1). Das Produkt **67** (200mg, 1.2 · 10⁻⁴mol) wird mit 35% Ausbeute sauber erhalten.

- ◆ R_f = 0.21 (PE:EE=2:1)
- ◆ Masse (ESI): m/z (%)=1661.5 [M+Na]⁺ (100); M=1638.4
- ◆ ¹H-NMR (250MHz, CDCl₃): δ=1.27 (d, 3H, J(CH₃, H5) =7.0Hz, CH₃-Fuc), 3.68- 3.77 (m, 3H, H6Glu, H6'Glu, H5Glu), 3.92 (dq, 1H, J(H5Fuc,CH₃)=6.31Hz, H5Fuc), 4.30 (dd, 1H, J(H4Glu,H5Glu) =13.30Hz, J(H4Glu,H3Glu)=12.62Hz, H4Glu), 4.41-4.43 (m, 2H, H5Gal, H6Gal), 4.50 (d, 1H, J(CH, H')=11.70Hz, CH₂Furan), 4.56 (dd, 1H, J(H6'Gal,H6'Gal) =11.01Hz, J(H6'Gal,H5Gal)= 3.44Hz, H6'Gal), 4.57 (d, 1H, J(CH,H')=13.30Hz, CH₂Furan), 4.62 (d, 1H, J(CH,H')=13.07Hz, CH₂Furan), 4.70 (d, 1H, J(H1Glc,H2Glc)= 8.26Hz, H1Glc), 4.70 (d, 1H, J(CH',H) =11.47Hz, CH₂Furan), 4.87 (d, 1H, J(H1Fuc,H2Fuc)=8.03Hz, H1Fuc), 4.90 (d, 1H, J(H1Gal,H2Gal)=7.80Hz, H1Gal), 5.40 (dd, 1H, J(H3Gal,H2Gal)=10.09Hz, J(H3Gal,H4Gal)= 3.21Hz, H3Gal), 5.46 (dd, 1H, J(H3Glu,H2Glu)=9.86Hz, J(H3Glu,H4Glu)=9.17Hz, H3Glu), 5.54 (dd,

- 1H, J(H3Fuc,H2Fuc)=9.86Hz, J(H3Fuc,H4Fuc)=3.44Hz, H3Fuc), 5.69- 5.76 (m, 5H, H4Fuc, H2Glu, H2Gal, H4Gal, H2Fuc), 6.04 (s, 1H, H2-Furan), 6.07(s, 1H, H3Furan)
- ◆ ¹³C-NMR (63 MHz, CHCl₃): δ= 16.1 (CH₃-Fuc), 60.1, 62.2, 62.6, 62.7 (C6-Glu, C6-Gal, CH₂OFuc, CH₂OGal) 69.4, 69.7, 70.8, 71.3, 71.5, 71.9, 72.0, 72.7 (C2-, C3-, C4-, C5-Fuc, C2-, C3-, C4-, C5-Gal, C2-, C3-, C4-, C5-Glu), 99.2, 99.5, 100.8 (C1-Fuc, C1-Gal, C1-Glu), 110.3, 110.4 (C3-, C4-Furan) 128-133.4 (50 x CBz), 150.5, 151.1 (C2-, C5-Furan), 164.6-165.8 (10x CBz)

2-(β-D-galactopyranosyl(1→4)-β-D-glucopyranosyl-oxymethyl)-5-β-L-fucopyranosyl-oxymethyl-furan (68)

Verbindung **67** (181mg, 1.1 10⁻⁴mol) wird in Methanol (5ml) suspendiert, NaOMe (30μl, 1M-Lsg.) zugegeben und 3h bei RT gerührt (DC-Kontrolle). Es wird mit Dowex H⁺ Ionenaustauscher neutralisiert, filtriert und das Lösungsmittel evaporiert. Der Rückstand wird mit Wasser aufgenommen und gegen CHCl₃ ausgeschüttelt. Die wässrige Phase wird eingengt. Nach präparativer HPLC (Lichrospher RP18) mit AcCN und Wasser wird das Produkt **67** (45mg, 7.5 10⁻⁵mol) mit 68% Ausbeute erhalten.

- ◆ Masse (ESI): m/z=599.2 [M+H]⁺, 621.2 [M+Na]⁺; M=598
- ◆ ¹H-NMR: (250MHz, D₂O): δ=1.25 (d, 1H, J(CH₃,H5)=6.61Hz, CH₃), 3.33 (dd, 1H, J(H2Glu,H3)=9.17Hz, J(H2Glu,H1)=7.89Hz, H2Glu), 3.47 (dd, 1H, J(H5Glu,H6Glu)=0.53Hz, J(H5Glu,H4Glu)=9.92Hz, J(H5Glu,H6')=7.57Hz, H5Glu), 3.56 (dd, 1H, J(H3Fuc,H2Fuc)=10.35Hz, J(H3Fuc,H4Fuc)=4.80Hz, H3Fuc), 3.60-3.64 (m, 6H, H2Fuc, H3Gal, H2Gal, H3Glu, H4Glu, H4Fuc), 3.65 (dd, 1H, J(H4Fuc,H3Fuc)=4.80Hz, J(H4Fuc, H5Fuc)=1.17Hz, H4Fuc) 3.65 (m, 1H, H5Gal), 3.69- 3.75 (m, 2H, H6Gal, H5Fuc), 3.76 (dd, 1H, J(H6'Gal,H6Gal)=11.20Hz, J(H6'Gal,H5Gal)=2.88Hz, H6'Gal), 3.76-3.93 (m, 3H, H4Gal, H6'Glu, H6Glu), 4.44 (d, 1H, J(H1Fuc,H2Fuc)=7.68Hz, H1Fuc), 4.45 (d, 1H, J(H1Gal,H2Fuc)=7.68Hz, H1Gal), 4.56 (d, 1H, J(H1Glu,H1Glu) =7.89Hz, H1Glu), 4.70 (d, 1H, J(CH,H')=13.01Hz, CH₂-Furan), 4.70 (d, 1H, J(CH,H')=13.01Hz, CH₂-Furan), 4.82 (d, 1H, J(CH,H')=13.01Hz, CH₂-Furan), 4.85 (d, 1H, J(CH,H')=13.01Hz, CH₂-Furan), 6.38 (s, 1H, H2/5-Furan), 6.39 (s, 1H, H2/5-Furan)
- ◆ ¹³C-NMR (63MHz, D₂O): δ=19.9 (CH₃), 64.6, 65.5, (C6-Gal, C6-Glu), 67.6, 67.7 (CH₂OFuc, CH₂OGlu) 73.1, 74.9, 75.5, 75.8, 77.1, 77.3, 77.5, 78.9, 79.3, 79.9, 82.9 (C2-, C3-, C4-, C5-Fuc, C2-, C3-, C4-, C5-Glu, C2-, C3-, C4-, C5-Gal), 105.4, 106.0,

106.1 (C1-Fuc, C1-Glu, C1-Gal), 116.0, 116.2 (C3-, C4-Furan), 155.5, 155.9 (C2-, C5-Furan)

N-Acetyl-neuraminsäure (69)

wird von der Firma Senn bezogen.

Methyl(5-acetamido-3,5-dideoxy-D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosid) (70)

wird nach Vorschrift von Laferriere et al. synthetisiert.

Methyl(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosylchlorid) (71)

wird nach Vorschrift von Laferriere¹³³ synthetisiert. Die physikalischen Daten stimmen mit der Literatur überein.

Methyl(5-acetamido-2,4,7,8,9-penta-O-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosid) (72)

wird nach Vorschrift von Meindl und Tuppy¹³⁴ synthetisiert. Die physikalischen Daten stimmen mit der Literatur überein.

- ◆ Masse (ESI): m/z (%)=556.0 [M+Na]⁺ (100), 1089.4 [2M+Na]⁺ (15), M=533
- ◆ ¹H-NMR (250MHz, CDCl₃): δ=2.38 (dd, 1H, J(H3a,H3b)=13.40Hz, J(H3a,H4)=4.93Hz,H3a), 3.62 (s, 3H, OMe), 3.97 (m, 3H, H9, H5, H6), 4.35 (dd, 1H, J(H9',H9)=12.34Hz, J(H9',H8)=2.46Hz, H9'), 4.90 (ddd, 1H, J(H8,H7)=5.20Hz, J(H8,H9)=6.08Hz, J(H8,H9')=2.46Hz, H8), 5.08 (ddd, 1H, J(H4,H3b)=10.49Hz, J(H4,H5)=10.49Hz, J(H4,H3a)=4.49Hz, H4), 5.24 (dd, 1H, J(H7,H8)=5.20Hz, J(H7,H6)=1.05Hz, H7), 6.17 (d, 1H, J(NH,H5)=8.46Hz, NH)

Methyl(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-2,3,5-trideoxy-2-thiomethyl-D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosid) (SMeSA)(73)

wird nach Vorschrift von Hasegawa⁷³ synthetisiert.

- ◆ Masse (ESI): m/z (%)=522.0 [M+H]⁺ (60), 544.0 [M+Na]⁺ (100), 1065.3 [2M+Na]⁺ (60), M=521
- ◆ NMR-Spektrum α-Verbindung:
- ◆ ¹H-NMR (250MHz, CDCl₃): δ=1.91-2.18 (m, 19H, SMe, OAc, NHAc, H3ax), 2.53 (dd, 1H, J(H3eq,H3ax)=14.1Hz, J(H3eq,H4)= 4.8Hz, H3eq), 3.45 (s, 3H, OMe), 4.08 (ddd, 1H, J(H5,NH)=10.5Hz, J(H5,H6)=10.2Hz, J(H5,H4)=10.7Hz, H5), 4.17 (dd,1H,

$J(\text{H9}',\text{H8})= 8.0\text{Hz}$, $J(\text{H9}',\text{H9})=12.5\text{Hz}$, $\text{H9}'$), 4.31 (dd, 1H, $J(\text{H6},\text{H5})=10.2\text{Hz}$, $J(\text{H6},\text{H7})=2.3\text{Hz}$, H6) 4.79 (dd, 1H, $J(\text{H9},\text{H8})= 2.5\text{Hz}$, $J(\text{H9},\text{H9}')=12.5\text{Hz}$, H9), 5.17 (ddd, 1H, $J(\text{H8},\text{H7})=3.1\text{Hz}$, $J(\text{H8},\text{H9})= 2.5\text{Hz}$, $J(\text{H8},\text{H9}')=8.0\text{Hz}$, H8) 5.27 (ddd, 1H, $J(\text{H4},\text{H3ax})=11.3\text{Hz}$, $J(\text{H4},\text{H5})=10.7\text{Hz}$, $J(\text{H4},\text{H3eq})=4.8\text{Hz}$, H4), 5.37 (d, 1H, $J(\text{NH},\text{H5})=10.5\text{Hz}$, NH), 5.44 (dd, 1H, $J(\text{H7},\text{H6})=2.3\text{Hz}$, $J(\text{H7},\text{H8})=3.1\text{Hz}$, H7).

NMR-Spektrum β -Verbindung:

- ◆ $^1\text{H-NMR}$ (250MHz, CDCl_3): $\delta=1.91\text{-}2.10$ (m, 18H, SMe, OAc, NHAc), 1.99 (dd, 1H, $J(\text{H3ax},\text{H3eq})=12.7\text{Hz}$, $J(\text{H3ax},\text{H4})=11.8\text{Hz}$, H3ax), 2.73 (dd, 1H, $J(\text{H3eq},\text{H3ax})=12.7\text{Hz}$, $J(\text{H3eq},\text{H4})=4.7\text{Hz}$, H3eq), 3.83 (dd, 1H, $J(\text{H6},\text{H5})=10.7\text{Hz}$, $J(\text{H6},\text{H7})=2.2\text{Hz}$, H6), 4.05 (ddd, 1H, $J(\text{H5},\text{H4})=10.3\text{Hz}$, $J(\text{H5},\text{NH})=10.2\text{Hz}$, $J(\text{H5},\text{H6})=10.7\text{Hz}$, H5), 4.11 (dd, 1H, $J(\text{H9}',\text{H8})=5.1\text{Hz}$, $J(\text{H9}',\text{H9})=12.4\text{Hz}$, $\text{H9}'$), 4.33 (dd, 1H, $J(\text{H9},\text{H8})=12.5\text{Hz}$, $J(\text{H9},\text{H9}')= 12.4\text{Hz}$, H9), 4.89 (ddd, 1H, $J(\text{H4},\text{H3ax})=11.8\text{Hz}$, $J(\text{H4},\text{H3eq})=4.7\text{Hz}$, $J(\text{H4},\text{H5})=10.3\text{Hz}$, H4), 5.18 (d, 1H, $J(\text{NH},\text{H5})=10.2\text{Hz}$, NH), 5.33 (dd, 1H, $J(\text{H7},\text{H6})=2.2\text{Hz}$, $J(\text{H7},\text{H8})=8.3$, H7), 5.39 (ddd, 1H, $J(\text{H8},\text{H7})=8.3\text{Hz}$, $J(\text{H8},\text{H9}')=5.1\text{Hz}$, $J(\text{H8},\text{H9})=12.5\text{Hz}$, H8).

DMTST (74)

wird nach Vorschrift von Ravenscroft¹³⁵ synthetisiert.

Allgemeine Glycosilierungsvorschrift I mit DMTST⁸⁸:

SMeSA ($1.5 \cdot 10^{-4}\text{mol}$) wird in Acetonitril (10ml, abs.) gelöst, mit Trockenpulver 4\AA versetzt und 1h bei RT gerührt. Dann wird auf -40°C gekühlt und Furanderivat (0.1mmol) und DMTST (100mg, $4.0 \cdot 10^{-4}\text{mol}$) zugegeben. Es wird 5h bei -40°C gerührt, dann auf RT gebracht. Es wird mit CH_2Cl_2 (10ml) verdünnt, über Celite filtriert und das Lösungsmittel evaporiert.

Allgemeine Glycosilierungsvorschrift II mit NIS^{136,137}:

SMeSA ($5.0 \cdot 10^{-4}\text{mol}$) und Donor ($2.5 \cdot 10^{-4}\text{mol}$) werden in abs. Acetonitril (10ml) gelöst, Trockenpulver 4\AA zugegeben und 3h bei RT gerührt. Dann wird auf -40°C gekühlt, NIS ($8.0 \cdot 10^{-4}\text{mol}$) und TMSOTf (20 μl) zugegeben. Nach 3h ist das Furanderivat nahezu vollständig abreagiert. (DC-Kontrolle). Es wird CH_2Cl_2 zugegeben und mit NaHCO_3 -, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ - und NaCl - Lösung extrahiert, die organische Phase über NaSO_4 getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel evaporiert.

3-{(Methyl(5-acetamido-4,7,8,9,-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero-D-galacto-non-2-
ulopyranosyl)at]oxymethyl}-4-(2,3,4-tri-O-benzoyl-β-L-fucopyranosyl-oxymethyl)furan
(75)

- ◆ ¹H-NMR (250MHz, CDCl₃): δ=1.36 (d, 1H, J(CH₃,H5Fuc)=6.33Hz, CH₃) 1.9- 2.1 (m, 17H, H3a-, H3e-Sia OAc, NHAc), 3.80 (s, 3H, OMe), 4.07 (dq, 1H, J(H5Fuc,CH₃Fuc)= 6.33Hz, H5Fuc), 4.10 (dd, 1H, J(H9,H9')=11.51Hz, J(H9,H8H)=5.37Hz, H9), 4.19 (dd, 1H, J(H5Sia,H6Sia)=12.28Hz, J(H5Sia,H4Sia)=6.90Hz, H5Sia), 4.30 (dd, 1H, J(H9'Sia, H9Sia)=11.51Hz, J(H9'Sia,H8Sia)=1.91Hz, H9'Sia), 4.37 (d, 1H, J(CH,H')=12.28Hz, CH₂Furan), 4.56 (d, 1H, J(CH,H')=12.28Hz, CH₂Furan), 4.58 (d, 1H, J(CH,H')=12.28Hz, CH₂Furan), 4.84 (d, 1H, J(H1Fuc,H2Fuc)=7.86Hz, H1Fuc), 5.36- 5.40 (m, 2H, H4Sia, H8Sia), 5.48 (d, 1H, NHSia), 5.51 (dd, 1H, J(H7Sia,H8Sia)=3.74Hz, J(H7Sia,H6Sia)= 1.43Hz, H7Sia), 5.59 (dd, 1H, J(H3Fuc,H2Fuc)=10.36Hz, J(H3Fuc,H4Fuc)=3.35Hz, H3Fuc), 5.70 (dd, 1H, J(H4Fuc,H3Fuc)=3.45Hz, J(H4Fuc, H5Fuc)=1.34Hz, H4Fuc) 5.76 (dd, 1H, J(H2Fuc,H3Fuc)=10.36Hz, J(H2Fuc,H1Fuc)=8.06Hz, H2Fuc), 7.2-8.1 (m, 17H, OBz, H2-, H5-Furan)

Methyl(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-2-O-methyl-D-glycero-D-galacto-
2-nonulopyranosyl)at) (76)¹³⁴

- ◆ Masse (ESI): m/z (%)=506.1 [M+H]⁺ (50), 528.1 [M+Na]⁺ (100), 1033.3 [2M+Na]⁺ (100), M=505
- ◆ ¹H-NMR (250MHz, CDCl₃): δ=1.9-2.1 (m, 15H, NHAc, OAc), 2.16 (dd, 1H, J(H3e,H3a)=8.50Hz, J(H3e,H4)=1.08Hz, H3e), 3.78 (s, 3H, OMe), 3.98 (ddd, 1H, J(H5,H)=12.42Hz, J(NH,H5)=11.33Hz, J(H5,H4)=10.04Hz, H5), 4.09 (dd, 1H, J(H9,H9')=12.20Hz, J(H9',H8)=9.15Hz, H9'), 4.22 (dd, 1H, J(H6,H5)=10.89Hz, J(H6,H7)=2.17Hz, H6), 4.54 (dd, 1H, J(H9,H9')=12.20Hz, J(H9,H8)=2.61Hz, H9), 4.95 (s, 3H, 2-OMe), 5.1-5.2 (m, 2H, H8, H4), 5.34 (dd, 1H, J(H7,H8)=4.57Hz, J(H7,H6)=2.17 Hz, H7), 6.22 (d, 1H, J(NH,H5)=11.33Hz, NH)

Methyl(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero-D-galacto-2-
nonulopyranoson)at) (77)^{133,138}

- ◆ Masse (ESI): m/z (%)=514.1 [M+Na]⁺ (50), 1005.3 [2M+Na]⁺ (100), M=491
- ◆ ¹H-NMR (250MHz, CDCl₃): δ=1.92-2.13 (m,15H, 4xOAc, NHAc), 2.11 (dd, H, J(H3b,H3a)= 3.51Hz, J(H3b,H4)=11.33Hz, H3b), 2.66 (dd, 1H, J(H3a,H3b)=13.73Hz,

J(H3a,H4)=4.57Hz, H3a), 3.97 (dd, 1H, J(H9',H9)=12.42Hz, J(H9',H8)=6.32Hz, H9'), 4.10 (ddd, 1H, J(H5,H4)=6.32Hz, J(H5,NH)=9.59Hz, J(H5,H6)=10.46Hz, H5), 4.30 (dd, 1H, J(H6,H5)=10.46Hz, J(H6,H7)=2.39Hz, H6), 4.34 (dd, 1H, J(H9,H9')=12.42Hz, J(H9,H8)=2.47Hz, H9), 5.06 (ddd, 1H, J(H8,H9)=2.47Hz, J(H8,H7)=6.32Hz, J(H8,H9')=6.32Hz, H8), 5.26 (ddd, 1H, J(H4,H3a)=4.57Hz, J(H4,H3b)=11.33Hz, J(H4,H5)=6.32Hz, H4), 5.37 (dd, 1H, J(H7,H8)=6.32Hz, J(H7,H6)=2.39Hz, H7), 6.64 (bd, 1H, J(NH,H5)=9.59Hz, NH)

Methyl(5-acetamido-7,8,9-tri-O-acetyl-2,3,4,5-tetra-deoxy-2,4-dien-D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosonat (78)

- ◆ Masse (ESI): m/z (%)=414.0 [M+H]⁺ (80), 436.0 [M+Na]⁺ (100), 849.2 [2M+Na]⁺ (60), M=413
- ◆ ¹H-NMR (250MHz, CDCl₃): δ=1.96-2.15 (m, 12H, 3x OAc, 1x NHAc), 3.43 (dd, 1H, J(H9',H9)=10.03Hz, J(H9',H8)=2.66Hz, H9'), 3.81 (s, 3H, OMe), 3.95 (ddd, 1H, J(H5,H6)=9.21Hz, J(H5,H4)=9.01Hz, J(H5,NH)=0.40Hz, H5), 4.22 (dd, 1H, J(H9,H9')=12.49Hz, J(H9,H8)=6.34Hz, H9), 4.59 (dd, 1H, J(H6,H5)=12.49Hz, J(H6,H7)=2.45Hz, H6), 4.81 (dd, 1H, J(H4,H5)=8.60Hz, J(H4,H3)=4.09Hz, H4), 5.44 (ddd, 1H, J(H8,H7)=6.04Hz, J(H8,H9)=6.04Hz, J(H8,H9')=2.56Hz, H8), 5.62 (dd, 1H, J(H7,H8)=5.93Hz, J(H7,H6)=2.66Hz, H7), 6.37 (d, 1H, J(H3,H4)=4.09Hz, H3)

Methyl(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-2,3,5-tri-deoxy-2-en-D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosonat (79)^{139,140}

- ◆ Masse (ESI): m/z (%)=496.0 [M+Na]⁺ (80), 969.3 [2M+Na]⁺ (100), M=473
- ◆ ¹H-NMR (250MHz, CDCl₃): δ=1.92-2.13 (m, 15H, 4xOAc, NHAc), 3.78 (s, 3H, CO₂Me), 4.15 (dd, 1H, J(H5,H6)=12.28Hz, J(H5,H4)=7.37Hz, H5), 4.36 (m, 2H, H9, H9'), 4.60 (dd, 1H, J(H6,H5)=12.28Hz, J(H6,H7)=2.86Hz, H6), 5.30 (ddd, 1H, H8), 5.46 (m, 2H, H7,H4), 5.94 (d, 1H, J(H3,H4)=2.86Hz, H3)
- ◆ ¹³C-NMR (63MHz, CDCl₃): δ=20.05 (4xOAc), 22.9 (NHAc), 46.5 (OMe), 52.4 (C5), 61.9 (C9), 67.6, 67.9 (C8, C7), 70.7 (C6), 107.8, 112.5 (C3, C4), 145.0 (C2), 161.5 (C1), 170.0- 170.5 (4xOAc, NHAc)

2-*[Methyl(5-acetamido-4,7,8,9,tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero-D-galacto-2-non-2-uloypyranosyl)at]-oxymethyl*}-5-hydroxymethyl-furan (80)

Bis-2,5-*[Methyl(5-acetamido-4,7,8,9,tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero-D-galacto-2-non-2-uloypyranosyl)at]-oxymethyl*}-furan (81)

Nach Vorschrift I wurde SMeSA (80mg, $1.5 \cdot 10^{-4}$ mol) mit Furan **31** (30mg, $1.0 \cdot 10^{-4}$ mol) und DMTST (100mg, $4.0 \cdot 10^{-4}$ mol) umgesetzt. Hierbei wurde hauptsächlich Zerfall des Donors zum Glycal und 2fache Eliminierung beobachtet.

SMeSA (205mg, $3.9 \cdot 10^{-4}$ mol) und Furan **31** (54mg, $2.0 \cdot 10^{-4}$ mol) werden mit NIS (180mg, $8.0 \cdot 10^{-4}$ mol) und TMSOTf (20 μ l) nach Vorschrift II umgesetzt. Per Säulenchromatographie (Toluol:Aceton 3:1 \rightarrow 2:1) werden das Monosialosid **80** und das Disialosid **81** isoliert. Die erzielten Ausbeuten liegen bei 18% für Verbindung **80** und 7% für das Disialosid **81**.

Monosialosid (**80**):

- ◆ Ausbeute: 11mg ($1.8 \cdot 10^{-5}$ mol, 18%)
- ◆ $R_f=0.25$ (CHCl₃ : MeOH =95:5)
- ◆ Masse (ESI): m/z (%)=624.0 [M+Na]⁺ (100), M=601
- ◆ ¹H-NMR (250MHz, CDCl₃): $\delta=1.9-2.15$ (m, 15H, OAc, NHAc), 2.52 (dd, 1H, H3e), 3.74 (s, 3H, OMe), 4.0-4.2 m, 3H, H5, H9, H9'), 4.4 (d, 1H, J(CH,H')=12.28Hz, CH₂OSia), 4.54 (s, 2H, CH₂OH), 4.66 (d, 1H, J(CH,H')=12.28Hz, CH₂OSia), 4.70 (dd, 1H, H6), 5.1-5.5 (m, 3H, H4, H7, H8), 6.22 (s, 1H, H4-Furan), 6.28 (s, 1H, H3-Furan)

Disialosid (**81**):

- ◆ Ausbeute: 8mg ($7.2 \cdot 10^{-6}$ mol, 7%)
- ◆ $R_f=0.05$ (CHCl₃ : MeOH =95:5)
- ◆ Masse (ESI): m/z (%)=1075.4 [M+H]⁺ (20), 1097.4 [M+Na]⁺ (100), M=1097.4
- ◆ ¹H-NMR (250MHz, CDCl₃): $\delta=1.85-2.15$ (m, 30H, OAc, NHAc), 2.61 (dd, 2H, J(H3e,H3a)= 12.81Hz, J(H3e,H4)= 4.67Hz, H3e), 4.10 - 4.27 (m, 6H, H9', H9, H5), 3.74 (s, 6H, OMe), 4.32 (dd, 2H, J(H6,H5)=12.20 Hz, J(H6,H7)=2.44Hz, H6), 4.43 (d, 2H, J(CH',H)=13.02Hz, CH₂OSia), 4.69 (d, 2H, J(CH',H)= 13.02Hz, CH₂OSia), 4.85 (ddd, 2H, J(H4,H5) =8.03Hz, J(H4,H3a)=10.27Hz, J(H4, H3e)=4.67Hz, H4), 5.19 (d, 1H, J(NH,H5)= 9.76Hz, NH), 5.33-5.47 (m, 4H, H8, H7), 6.30 (s, 2H, H3-, H4-Furan)

3-{[Methyl(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero-D-galacto-2-non-2-
ulopyranosyl)at]-oxymethyl}-4-hydroxymethylfuran (82)

SMeSA **73** (170mg, $3.2 \cdot 10^{-4}$ mol) und Furan **33** (44mg, $3.5 \cdot 10^{-4}$ mol) werden in Acetonitril/CH₂Cl₂ (2:1, 3ml, abs.) gelöst, Trockenpulver 4Å zugegeben und 3h bei RT gerührt. Dann wird auf -40°C gekühlt und NIS (180mg, 0.8mmol) und TMSOTf (20µl) zugegeben. Nach 4h ist der Donor nahezu vollständig abreagiert (DC-Kontrolle). Es wird CH₂Cl₂ zugegeben, mit NaHCO₃-, Na₂O₃- und NaCl- Lösung extrahiert, die organische Phase über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel evaporiert. Per Säulenchromatographie (Tol:Ac=3:1) werden 5 Fraktionen isoliert, Fraktion 5 lieferte das Monosialosid **82**.

- ◆ Ausbeute: 23mg ($3.8 \cdot 10^{-5}$ mol, 12%)
- ◆ R_f=0.08 (CHCl₃ : MeOH =95:5)
- ◆ Masse (ESI): m/z (%)=624.0 : [M+Na]⁺ (100), M=601.
- ◆ ¹H-NMR (250MHz, CDCl₃): δ=1.85-2.15 (m, 15H, OAc, NHAc), 2.48 (dd, 1H, J(H3α,H3'α)=12.81Hz, J(H3α,H4α)=5.08Hz, H3α), 2.61 (dd, 1H, J(H3β,H3'β)=12.61Hz, J(H3β,H4β)= 4.47Hz, H3β), 3.74 (s, 3H, OMe), 4.0-4.2 m, 3H, H5, H9, H9'), 4.41 (d, 1H, J(CH',H)= 11.80Hz, CH₂OSia), 4.53 (d, 2H, CH₂OH), 4.56 (dd, 1H, J(H6,H7)= 4.27Hz, J(H6,H5)=11.18Hz, H6), 4.76 (d, 1H, J(CH',H)=11.80Hz, CH₂OSia), 4.89 (m, 1H, H4β), 5.20 (d, 1H, J(NHβ,H5)= 9.76Hz, NHβ), 5.31 (ddd, 1H, J(H8,H7)= 8.34Hz, J(H8,H9)= 7.32Hz, J(H8,9')=2.3 Hz, H8), 5.45-5.5 (m, 2H, H4, H7), 5.58 (d, 1H, J(NHα,H5)= 9.76Hz, NHα), 7.45 (s, 1H, H5-Furan), 7.49 (s, 1H, H2-Furan).

3-Ethoxycarbonylmethyl-oxymethyl-4-(2,3,4-tri-O-benzoyl-β-L-fucopyranosyl-oxymethyl)-
furan (86), (87)

Verbindung **35** (200mg, $3.4 \cdot 10^{-4}$ mol) wird in CH₂Cl₂ (10ml) gelöst, Ag₂O (220mg, $1.0 \cdot 10^{-3}$ mol), Bromessigsäureethylester (770mg, $1.0 \cdot 10^{-3}$ mol) und TBAI (110mg, $3.4 \cdot 10^{-4}$ mol) zugegeben und 14h bei RT gerührt (DC-Kontrolle). Der Niederschlag wird abfiltriert und das Lösungsmittel anschließend evaporiert. Per Säulenchromatographie (PE:EE=2:1) wird aufgereinigt und das Produkt **86** (52mg, $7.7 \cdot 10^{-5}$ mol) mit 55% Ausbeute sowie ein zweifach reagiertes Produkt **87** (30mg, $4.1 \cdot 10^{-5}$ mol) mit 29%Ausbeute erhalten.

- ◆ R_f=0.3 (PE:EE=3:2)

- ◆ Masse (ESI): m/z (%)=695.0 $[M+Na]^+$ (100), $M=672$
- ◆ 1H -NMR (250 MHz, $CDCl_3$): $\delta=1.28$ (t, 3H, $J(CH_2CH_3,CH_2Me)=7.11Hz$, CH_2CH_3), 1.36 (d, 3H, $J(CH_3,H_5)=6.42Hz$, CH_3) 4.08 (dq, 1H, $J(H_5,CH_3)=6.42Hz$, H_5), 4.20 (q, 2H, $J(CH_2Me,CH_2CH_3)=6.88Hz$, CH_2Me), 4.25 (s, 2H, CH_2Furan), 4.65Hz (d, 1H, $J(CH,H')=12.39Hz$, CH'_2Furan), 4.83 (d, 1H, $J(H_1,H_2)=7.80Hz$, H_1), 4.90 (d, 1H, $J(CH,H')=12.84Hz$, CH'_2Furan), 5.53 (dd, 1H, $J(H_3,H_2)=10.32Hz$, $J(H_3,H_4)=3.44Hz$, H_3), 5.70 (dd, 1H, $J(H_4,H_3)=2.75Hz$, $J(H_4,0)=0.45Hz$, H_4), 5.75 (dd, 1H, $J(H_2,H_3)=10.55Hz$, $J(H_2,H_1)=7.80Hz$, H_2), 7.41-8.1 (m, 17H, OBz, H_2 -Furan, H_5 -Furan),
- ◆ ^{13}C -NMR (68 MHz, $CDCl_3$): $\delta=14.1$ (OCH_2CH_3), 16.3 (CH_3 -Fuc), 60.7, 61.5, 63.3, (OCH_2CH_3 , CH_2OFuc , $CH_2OSäure$), 67.0, 69.7, 71.1, 72.1 (C_2 -, C_3 , C_4 -, C_5 -Fuc), 99.5 (C_1 -Fuc), 120.6, 122.3 (C_3 -, C_4 -Furan), 128.2-133.3 (15x CBz), 142.1 (C_2 -, C_5 -Furan), 165.1, 165.6, 165.9 (3xCBz), 170.1 (CO_2Et).

3-(Ethoxycarbonyl)methyloxycarbonylmethyl-oxymethyl-4-(2,3,4-tri-O-benzoyl- β -L-fucopyranosyl-oxymethyl)-furan (87)

- ◆ $R_f=0.25$ (PE:EE=2:1)
- ◆ Masse (ESI): m/z (%)=731.1 $[M+H]^+$ (40), $[M+Na]^+=753.0$ (40), $M=730$
- ◆ 1H -NMR (250MHz, $CDCl_3$): $\delta=1.27$ (t, 3H, $J(CH_2CH_3,CH_2CH_3)=7.11Hz$, CH_2CH_3), 1.37 (d, 3H, $J(CH_3,H_5)=6.42Hz$, CH_3 -Fuc), 4.09 (dq, 1H, $J(H_5,CH_3)=6.42Hz$, $J(H_5,H_4)=0.41Hz$, H_5), 4.12 (s, 2H, CH_2CO_2Et), 4.16 (s, 2H, CH_2CO_2R), 4.20 (q, 2H, $J(CH_2CH_3,CH_2CH_3)=7.11Hz$, CH_2CH_3), 4.60 (d, 1H, $J(CH',H'')=12.39Hz$, CH'_2Furan), 4.83 (d, 1H, $J(H_1,H_2)=7.80$, H_1), 4.84 (s, 2H, CH_2Furan), 4.87 (d, 1H, $J(CH,H')=12.39Hz$, CH'_2Furan), 5.53 (dd, 1H, $J(H_3,H_2)=10.32Hz$, $J(H_3,H_4)=3.44Hz$, H_3), 5.71 (dd, 1H, $J(H_4,H_3)=3.44Hz$, $H_4,H_5)=0.41Hz$, H_4), 5.75 (dd, 1H, $J(H_2,H_1)=7.80Hz$, $J(H_2,H_3)=10.32Hz$, H_2), 7.41-8.1 (m, 17H, OBz, H_2 -Furan, H_5 -Furan)
- ◆ ^{13}C -NMR (68 MHz, $CDCl_3$): $\delta=14.1$ (OCH_2CH_3), 16.3 (CH_3 -Fuc), 56.7, 61.0, 61.3, (OCH_2CH_3 , CH_2OFuc , $CH_2OSäure$), 67.9, 68.1 (2x CH_2CO_2R), 69.7, 69.7, 71.1, 72.1 (C_2 -, C_3 , C_4 -, C_5 -Fuc), 99.7 (C_1 -Fuc), 119.6, 120.5 (C_3 -, C_4 -Furan), 128.2-133.4 (15x CBz), 142.1, 143.1 (C_2 -, C_5 -Furan), 165.1, 165.6, 165.9 (3xCBz), 169.2, 169.6 (2x CO_2R)

3-(Ethoxycarbonyl)methyl-oxymethyl-4-(2,3,4,6-tetra-O-benzoyl-β-D-galactopyranosyl-oxymethyl)-furan (88)

Verbindung **40** (100mg, $1.4 \cdot 10^{-4}$ mol) wird in CH_2Cl_2 (2ml) gelöst, Ag_2O (80mg, $4.0 \cdot 10^{-4}$ mol), Bromessigsäureethylester (200μl, $4.0 \cdot 10^{-4}$ mol) und TBAI (70mg, $2.0 \cdot 10^{-4}$ mol) zugegeben und 14h bei RT gerührt (DC-Kontrolle). Der Niederschlag wird abfiltriert und das Lösungsmittel evaporiert. Aufreinigung mittels Säulenchromatographie (PE:EE=2:1→1:1) liefert 26% an Produkt **88** (29mg, $3.6 \cdot 10^{-5}$ mmol) und 16% an Nebenprodukt **89** (19mg, $2.2 \cdot 10^{-5}$ mol).

- ◆ $R_f = 0.64$ (PE:EE=3:2)
- ◆ Masse (ESI): m/z (%)=815.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, $M=792$
- ◆ $^1\text{H-NMR}$ (250MHz, CDCl_3): $\delta=1.29$ (t, 3H, $J=6.96\text{Hz}$, OCH_2CH_3), 4.14 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{R}$), 4.36 (dd, 1H, $J(\text{H}_6,\text{H}_6')=12.90\text{Hz}$, $J(\text{H}_6,\text{H}_5)=6.75\text{Hz}$, H6), 4.47 (ddd, 1H, $J(\text{H}_5,\text{H}_6)=6.55\text{Hz}$, $J(\text{H}_5,\text{H}_6')=6.55\text{Hz}$, $J(\text{H}_5,\text{H}_4)=0.55\text{Hz}$, H5), 4.66 (d, 2H, $J(\text{CH},\text{H}')=12.28\text{Hz}$, CH_2Furan), 4.74 (dd, 1H, $J(\text{H}_6',\text{H}_6)=12.09\text{Hz}$, $J(\text{H}_6',\text{H}_5)=6.55\text{Hz}$, H6'), 4.85 (s, 2H, CH_2Furan), 4.90 (d, 1H, $J(\text{H},\text{H}')=12.28\text{Hz}$, CH_2Furan), 4.93 (dd, 1H, $J(\text{H}_1,\text{H}_2)=7.78\text{Hz}$, H1), 5.62 (dd, 1H, $J(\text{H}_3,\text{H}_2)=10.44\text{Hz}$, $J(\text{H}_3,\text{H}_4)=3.48\text{Hz}$, H3), 5.84 (dd, 1H, $J(\text{H}_2,\text{H}_3)=10.44\text{Hz}$, $J(\text{H}_2,\text{H}_1)=7.78\text{Hz}$, H2), 6.02 (dd, 1H, $J(\text{H}_4,\text{H}_3)=3.48\text{Hz}$, $J(\text{H}_4,\text{H}_5)=0.55\text{Hz}$, H4), 7.4-8.12 (m, 22H, Bz, H2-, H5-Furan)

3-(Ethoxycarbonyl)methyl-oxycarbonylmethyl-oxymethyl-4-(2,3,4,6-tetra-O-benzoyl-β-D-galactopyranosyl-oxymethyl)-furan (89)

- ◆ $R_f = 0.52$ (PE:EE=3:2)
- ◆ Masse (ESI): m/z (%)=873.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (100), $M=850$
- ◆ $^1\text{H-NMR}$ (250MHz, CDCl_3): $\delta=1.29$ (t, 3H, $J=6.96\text{Hz}$, OCH_2CH_3), 4.14 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{R}$), 4.18 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{R}$), 4.36 (dd, 1H, $J(\text{H}_6,\text{H}_6')=12.90\text{Hz}$, $J(\text{H}_6,\text{H}_5)=6.75\text{Hz}$, H6), 4.47 (ddd, 1H, $J(\text{H}_5,\text{H}_6)=6.55\text{Hz}$, $J(\text{H}_5,\text{H}_6')=6.55\text{Hz}$, $J(\text{H}_5,\text{H}_4)=0.55\text{Hz}$, H5), 4.66 (d, 2H, $J(\text{CH},\text{H}')=12.28\text{Hz}$, CH_2Furan), 4.74 (dd, 1H, $J(\text{H}_6',\text{H}_6)=12.09\text{Hz}$, $J(\text{H}_6',\text{H}_5)=6.55\text{Hz}$, H6'), 4.85 (s, 2H, CH_2Furan), 4.90 (d, 1H, $J(\text{H},\text{H}')=12.28\text{Hz}$, CH_2Furan), 4.93 (dd, 1H, $J(\text{H}_1,\text{H}_2)=7.78\text{Hz}$, H1), 5.62 (dd, 1H, $J(\text{H}_3,\text{H}_2)=10.44\text{Hz}$, $J(\text{H}_3,\text{H}_4)=3.48\text{Hz}$, H3), 5.84 (dd, 1H, $J(\text{H}_2,\text{H}_3)=10.44\text{Hz}$, $J(\text{H}_2,\text{H}_1)=7.78\text{Hz}$, H2), 6.02 (dd, 1H, $J(\text{H}_4,\text{H}_3)=3.48\text{Hz}$, $J(\text{H}_4,\text{H}_5)=0.55\text{Hz}$, H4), 7.4-8.12 (m, 22H, Bz, H2-, H5-Furan)

3-(2,3,4,6-Tetra-O-benzoyl- β -D-galactopyranosyl-oxymethyl)-4-sulfato-oxymethyl-furan (90)

Verbindung **40** (5.0g, $7.08 \cdot 10^{-3}$ mol) wird in DMF (15ml) gelöst, Pyr-SO₃ (1.5g, $9.5 \cdot 10^{-3}$ mol) zugegeben und 10h bei RT gerührt (DC-Kontrolle). Das Lösungsmittel wird evaporiert und der Rückstand mit AcCN/Wasser= 1:3 auf einer RP18-Säule oder mit CHCl₃/MeOH= 5:1 auf einer Silicasäule chromatographiert, dabei wird das Produkt **90** (5.4g, $6.8 \cdot 10^{-3}$ mol) mit 97% Ausbeute sauber erhalten.

- ◆ R_f=0.5 (AcCN/H₂O =1:1); 0.1 (CHCl₃/MeOH=5:1)
- ◆ Masse (ESI): m/z (%)=785.2 [M-H]⁻ (100), M=786
- ◆ HPLC: Analytik (AcCN/H₂O 0:100→100:0 in 60') 34'
- ◆ ¹H-NMR (250MHz, CDCl₃): δ =4.31 (dd, 1H, J(H5,H6)=10.09Hz, J(H5,H6')= 6.88Hz, H5), 4.38 (dd, 1H, J(H6',H6)=12.16Hz, J(H6',H5)=6.88Hz, H6'), 4.48 (d, 1H, J(CH,H')=12.84Hz, CH,H'OGal), 4.63 (dd, 1H, J(H6,H6')=12.16Hz, J(H6,H5)=10.09Hz, H6), 4.65 (d, 1H, J(H,H')=12.84Hz, CH,H'-OGal), 4.77 (s, 2H, CH₂Sulfat), 4.96 (d, 1H, J(H1,H2)= 7.11Hz, H1), 5.64 (dd, 1H, J(H3,H2)=11.01Hz, J(H3,H4)=2.75Hz, H3), 5.69 (dd, 1H, J(H2,H1)=7.11Hz, J(H2,H3)=11.01Hz, H2), 5.93 (dd, 1H, J(H4,H5)= 1.37Hz, J(H4,H3)=2.75Hz, H4), 7.6-8.0 (m, 22H, Bz, H2-, H5-Furan)
- ◆ ¹³C-NMR (63 MHz, CDCl₃): δ =55.06 (CH₂Sulfat), 61.48 (C6-Gal), 62.07 (C-CH₂OGal), 68.11, 69.08, 70.08, 71.51, (C2-, C3-, C4-, C5-Gal), 100.01 (C1-Gal), 119.23, 120.78 (C3/4-Furan), 128.1-133.5 (20xCBz), 142.1, 143.06 (C2/5-Furan), 165.50, 165.60, 165.68, 166.64 (4x CBz)

3- β -D-Galactopyranosyl-oxymethyl-4-sulfato-oxymethyl-furan (GSF) (91)

Verbindung **90** (1.0g, $1.27 \cdot 10^{-3}$ mol) wird in Methanol (20ml) gelöst, NaOMe (170mg, $3.15 \cdot 10^{-3}$ mol) zugegeben und 5h bei RT gerührt (DC-Kontrolle) und das Lösungsmittel evaporiert und der Rückstand in H₂O aufgenommen und mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die wässrige Phase wird lyophilisiert und das Produkt entweder mittels AcCN/H₂O = 19:1 auf einer Silica-Chromatographiesäule oder mittels preparativer HPLC (Lichrospher RP18) mit AcCN/H₂O=2:98 aufgereinigt und Verbindung **91** (400mg $1.08 \cdot 10^{-3}$ mol) mit 85% Ausbeute als weißes Pulver erhalten.

- ◆ R_f=0.7 auf Merck Si80-Alufolien, 0.57 auf Macherey&Nagel Polygram sil (AcCN/H₂O = 9:1)
- ◆ HPLC: Analytik (AcCN/H₂O = 2:98) 5'
- ◆ Masse: (ESI): m/z (%)=369.0 [M-H]⁻ (100), M=370

- ◆ $^1\text{H-NMR}$: (250MHz, D_2O): $\delta=3.53$ (dd, 1H, $J(\text{H}_2,\text{H}_3)=9.81\text{Hz}$, $J(\text{H}_2,\text{H}_1)=7.68\text{Hz}$, H2), 3.64 (dd, 1H, $J(\text{H}_3,\text{H}_2)=9.81\text{Hz}$, (dd, 1H, $J(\text{H}_3,\text{H}_4)=3.20\text{Hz}$, H3), 3.73 (ddd, 1H, $J(\text{H}_5,\text{H}_6)=5.86\text{Hz}$, $J(\text{H}_5,\text{H}_6')=6.29\text{ Hz}$, $J(\text{H}_5,\text{H}_4)=1.60\text{Hz}$, H5), 3.81 (dd, 1H, $J(\text{H}_6,\text{H}_6')=12.37\text{Hz}$, $J(\text{H}_6,\text{H}_5)=5.86\text{Hz}$, H6), 3.83 (dd, 1H, $J(\text{H}_6',\text{H}_6)=12.37\text{Hz}$, $J(\text{H}_6',\text{H}_5)=5.86\text{Hz}$, H6'), 3.94 (dd, 1H, $J(\text{H}_4,\text{H}_3)=3.41\text{Hz}$, $J(\text{H}_4,\text{H}_5)=1.60\text{Hz}$, H4), 4.48 (d, 1H, $J(\text{H}_1,\text{H}_2)=7.68\text{Hz}$, H1), 4.68 (d, 1H, $J(\text{CH},\text{CH}')=11.52\text{Hz}$, $\text{CH}'_2\text{Furan}$), 4.90 (d, 1H, $J(\text{CH},\text{H}')=11.52\text{Hz}$, $\text{CH}'_2\text{Furan}$), 5.07 (s, 2H, CH_2Sulfat), 7.65 (s, 1H, H5-Furan), 7.68 (s, 1H, H2-Furan)
- ◆ $^{13}\text{C-NMR}$ (63 MHz, CDCl_3): $\delta=65.5$, 65.6 , 65.7 (CH_2Sulfat , CH_2OGal , C6-Gal), 73.2 , 75.3 , 77.3 , 79.6 (C2-, C3-, C4-, C5-Gal), 105.9 (C1-Gal), 123.9 , 124.7 (C3-, C4-Furan), 148.0 , 148.1 (C2-, C5-Furan)

3-(2,3,4-Tri-O-benzoyl- β -L-fucopyranosyl-oxymethyl-4-sulfato-oxymethyl-furan (92)

Verbindung **35** (500mg, $8.5 \cdot 10^{-4}\text{mol}$) wird in DMF (10ml) gelöst, $\text{Pyr}\cdot\text{SO}_3$ (165mg, $1.0 \cdot 10^{-3}\text{mol}$) zugegeben und 10h bei RT gerührt (DC-Kontrolle). Das Lösungsmittel wird evaporiert und der Rückstand mit $\text{AcCN}/\text{Wasser}=1:3$ auf einer RP18-Säule oder mit $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}=5:1$ auf einer Silicasäule chromatographiert und das Produkt **92** (270mg, $4.2 \cdot 10^{-4}\text{mmol}$) mit 50% Ausbeute erhalten.

- ◆ $R_f = 0.05$ ($\text{AcCN}/\text{H}_2\text{O} = 1:1$)
- ◆ Masse (ESI): m/z (%) = 665.2 [M-H] $^-$ (100), $M=666$
- ◆ HPLC: Analytik ($\text{AcCN}/\text{H}_2\text{O}$ 0:100 \rightarrow 100:0 in 60') 29'
- ◆ $^1\text{H-NMR}$ (250MHz, DMSO-D_6): $\delta=1.21$ (d, 3H, $J(\text{CH}_3,\text{H}_5)=6.55\text{Hz}$, CH_3), 4.32 (dq, 1H, $J(\text{H}_5,\text{CH}_3)=6.55\text{Hz}$, H5), 4.52 (s, 2H, CH_2Sulfat), 4.55 (d, 2H, $J(\text{CH},\text{H}')=12.69\text{Hz}$, CH_2Furan), 4.72 (d, 1H, $J(\text{CH},\text{H}')=12.69\text{Hz}$, $\text{CH}'_2\text{Furan}$), 5.10 (d, 1H, $J(\text{H}_1,\text{H}_2)=7.78\text{Hz}$, H1), 5.44 (dd, 1H, $J(\text{H}_2,\text{H}_3)=10.24\text{Hz}$, $J(\text{H}_2,\text{H}_1)=7.78\text{ Hz}$, H2), 5.55 (dd, 1H, $J(\text{H}_4,\text{H}_5)=0.81\text{Hz}$, $J(\text{H}_4,\text{H}_3)=3.48\text{Hz}$, H4), 5.63 (dd, 1H, $J(\text{H}_3,\text{H}_2)=10.24\text{Hz}$, $J(\text{H}_3,\text{H}_4)=3.48\text{Hz}$, H3), $7.41-8.1$ (m, 17H, OBz, H2-Furan, H5-Furan)
- ◆ $^{13}\text{C-NMR}$ (63MHz, CDCl_3): $\delta=^{13}\text{C-NMR}$ (63MHz, CDCl_3): $\delta=16.14$ (CH_3), 55.06 (CH_2OFuc), 61.54 ($\text{CH}_2\text{OSulfat}$), 69.7 , 69.97 , 70.97 , 72.11 (C2-, C3-, C4-, C5-Fuc), 99.7 (C1-Fuc), 120.26 (C3-Furan), 124.77 (C4-Furan), $128.1-133.6$ (15x CBz), 142.0 , 142.4 (C2-, C5-Furan). $164.7-166.1$ (3x CBz)

3- β -L-Fucopyranosyl-oxymethyl-4-sulfato-oxymethyl-furan (93)

Verbindung **92** (70mg, $5.8 \cdot 10^{-5}$ mol) wird in Methanol (5ml) gelöst, NaOMe (30 μ l, 1M-Lsg.) zugegeben und 5h bei RT gerührt (DC-Kontrolle). Mit Dowex H⁺-Ionenaustauscher wird neutralisiert, filtriert und das Lösungsmittel evaporiert. Mittels präparativer HPLC (Lichrospher RP18) mit AcCN/Wasser (AcCN/H₂O 0:100→100:0 in 40') wird aufgereinigt und das Produkt (30mg, $5.0 \cdot 10^{-5}$ mol) mit 86% Ausbeute erhalten.

- ◆ R_f = 0.8 (AcCN/H₂O=9:1)
- ◆ Masse (ESI): m/z (%)=375.3 [M-H] (100), M=376
- ◆ ¹H-NMR (63MHz, D₂O): δ =1.28 (d, 3H, J(CH₃, H5)=6.82Hz, CH₃), 3.48 (dd, 1H, J(H2,H1)=7.68Hz, J(H2,H3)=9.81Hz, H2), 3.62 (dd, 1H, J(H3,H2)=9.81Hz, J(H3,H4)=3.41Hz, H3), 3.74 (dd, 1H, J(H4,H3)=3.41Hz, H4), 3.79 (dq, 1H, J(H5,CH₃)=6.54Hz, H5), 4.44 (d, 1H, J(H1,H2)=7.68Hz, H1), 4.69 (d, 1H, J(CH,H')=12.37Hz, CH'₂OFuc), 4.85 (d, 1H, J(CH,H')=12.37Hz, CH₂OFuc), 5.06 (s, 2H, CH₂Sulfat), 7.64 (s, 1H, H5-Furan), 7.67 (s, 1H, H2-Furan)
- ◆ ¹³C-NMR (63 MHz, D₂O): δ =19.9 (CH₃), 65.6, 65.7 (2x CH₂Furan), 75.1, 75.4, 75.9, 77.5 (C2-, C3-, C4-, C5-Fuc), 105.9 (C1-Fuc), 123.9, 124.8 (C3-, C4-Furan), 148.0, 148.1 (C2-, C5-Furan).

3-(2,3,4,6-)Tetra-O-benzoyl- β -D-galactopyranosyl-(1→4)-(2,3,6)-tri-O-benzoyl- β -D-glucopyranosyl-oxymethyl-4-sulfato-oxymethyl-furan (94)

Verbindung **45** (250mg, $2.1 \cdot 10^{-4}$ mol) wird in DMF (5ml) gelöst, Pyr·SO₃ (70mg, $4.3 \cdot 10^{-4}$ mol) zugegeben und 10h bei RT gerührt (DC-Kontrolle). Das Lösungsmittel wird evaporiert und per RP18-Chromatographie auf einer MPLC-Anlage mit AcCN/Wasser = 1:3 chromatographiert. Verbindung **94** (270mg $2.0 \cdot 10^{-4}$ mol) wird mit 97% Ausbeute als weißer Schaum erhalten.

- ◆ R_f = 0.4 (AcCN/H₂O =1:1)
- ◆ Masse (ESI): m/z (%)=1259.4 [M-H] (60), M=1260
- ◆ HPLC: Analytik (AcCN/H₂O 0:100→100:0 in 60') 40'
- ◆ ¹H-NMR (250MHz, CDCl₃): δ =3.71 (ddd, 1H, J(H5Glu,H6'Glu)=1.14Hz, J(H5Glu, H4Glu)=9.40Hz, J(H6Glu,H5)=6.88Hz, H5Glu), 3.85 (dd, 1H, J(H6'Glu,H5Glu)=10.55Hz, J(H6'Glu,H6Glu)=12.84Hz, H6'Glu), 3.89 (dd, 1H, J(H6Glu,H6'Glu)=12.84Hz, J(H6Glu,H5)=6.88Hz, H6Glu), 4.25 (dd, 1H, J(H4Glu,H5Glu)=9.40Hz, J(H4Glu, H3Glu)=9.40Hz, H4Glu), 4.49 (dd, 1H, J(H6Gal,H5Gal)=6.88Hz, J(H6Gal, H6'Gal)=5.50Hz, H6Gal), 4.50 (ddd, 1H, J(H5Gal,H6Gal)=6.88Hz, J(H5Gal, H4Gal)=

3.44Hz, H5Gal), 4.57 (d, 1H, $J(\text{H},\text{H}')=14.22\text{Hz}$, CH_2Furan), 4.66 (dd, 1H, $J(\text{H6}'\text{Gal}, \text{H5Gal})=4.58\text{Hz}$, $J(\text{H6}'\text{Gal},\text{H6Gal})=5.50\text{Hz}$, H6'Gal), 4.75 (d, 1H, $J(\text{H},\text{H}')=12.39\text{Hz}$, CH_2Furan), 4.77 (s, 2H, CH_2Sulfat), 4.79 (d, 1H, $J(\text{H1Gal}, \text{H2Gal})=8.26\text{Hz}$, H1Gal), 4.88 (d, 1H, $J(\text{H1Glu}, \text{H2Glu})=7.80\text{Hz}$, H1Glu), 5.38 (dd, 1H, $J(\text{H3Gal},\text{H2Gal})=10.32\text{Hz}$, $J(\text{H3Gal}, \text{H4Gal})=3.44\text{Hz}$, H3Gal), 5.46 (dd, 1H, $J(\text{H3Glu},\text{H4Glu})=9.63\text{Hz}$, $J(\text{H3Glu}, \text{H2Glu})=7.80\text{Hz}$, H3Glu), 5.72 (dd, 1H, $J(\text{H2Gal}, \text{H3Gal})=10.78\text{Hz}$, $J(\text{H2Gal}, \text{H1Gal})=7.57\text{Hz}$, H2Gal), 5.73 (dd, 1H, $J(\text{H4Gal}, \text{H3Gal})=3.90\text{Hz}$, $J(\text{H4Gal}, \text{H5Gal})=0.22\text{Hz}$, H4Gal) 5.79 (d, 1H, $J(\text{H2Glu}, \text{H1Glu})=9.40\text{Hz}$, $J(\text{H2Glu}, \text{H3Glu})=9.40\text{Hz}$, H2Glu), 7.05-8.1 (m, 37H, 35Bz, H2-, H5-Furan)

- ◆ ^{13}C -NMR (63MHz, CDCl_3): $\delta=54.9$ (CH_2Sulfat), 60.9, 61.5, 62.1, (C6-Glu, C6-Gal, $\text{CH}_2\text{-OGal}$), 67.5, 69.9, 70.6, 71.3, 71.7, 72.8, 72.9 (C2-, C3-, C4-, C5-Gal, C2-, C3-, C4-, C5-Glu), 98.9, 100.8 (C1-Glu, C1-Gal), 119.9, 120.3 (C3-, C4-Furan), 128.1-133.4 (35x CBz), (141.3, 141.8 (C2-, C5-Furan), 164.7-166.1 (7x CBz)

3- β -D-Galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-oxymethyl-4-sulfato-oxymethyl-furan

(95)

Verbindung **94** (100mg, $7.9 \cdot 10^{-6}\text{mol}$) wird in Methanol (20ml) gelöst, NaOMe (30 μ l, 1M-Lsg.) zugegeben und 5h bei RT gerührt (DC-Kontrolle). Es wird mit Dowex H^+ Ionenaustauscher neutralisiert, filtriert, das Lösungsmittel evaporiert und mittels präparativer HPLC (Lichrospher RP18) mit AcCN/Wasser aufgereinigt (AcCN/ H_2O 0:100 \rightarrow 100:0 in 40'). Das Produkt **95** (30mg, $5.0 \cdot 10^{-5}\text{mmol}$) wird mit 86% Ausbeute erhalten.

- ◆ HPLC: Analytik (AcCN/ $\text{H}_2\text{O}=2:98$) 4'
- ◆ Masse (ESI): m/z (%)=531.3 [M-H^-] (50), $M=532.4$
- ◆ ^1H -NMR (250MHz, D_2O): $\delta=3.33$ (ddd, 1H, $J(\text{H5},\text{H6}')=8.10\text{Hz}$, $J(\text{H5Glu},\text{H6Glu})=7.46\text{Hz}$, $J(\text{H5Glu},\text{H6}'\text{Glu})=1.06\text{Hz}$, H5Glu), 3.54 (dd, 1H, $J(\text{H2Glu},\text{H3Glu})=9.81\text{Hz}$, $J(\text{H2Glu}, \text{H1Glu})=7.46\text{Hz}$, H2Glu), 3.6-4.1 (m, 12H, (H3Glu, H4Glu, H6Glu, H6'Glu, H2Gal, H3Gal, H4Gal, H5Gal, H6Gal, H6'Gal) 4.45 (d, 1H, $J(\text{H1Glu},\text{H2Glu})=7.68\text{Hz}$, H1Glu), 4.54 (d, 1H, $J(\text{H1Gal},\text{H2Gal})=7.68\text{Hz}$, H1), 4.69 (d, 1H, $J(\text{CH},\text{H}')=11.95\text{Hz}$, CH_2Furan), 4.88 (d, 1H, $J(\text{CH},\text{H}')=11.95\text{Hz}$, CH_2Furan), 5.07 (s, 2H, CH_2Sulfat), 7.60Hz (s, 1H, H2-Furan), 7.56Hz (s, 1H, H5-Furan)

3-Furancarbonsäureethylester (96)

wird von der Firma Fluka bezogen.

3-Hydroxymethylfuran (97)

Ester **96** (10g, $7.0 \cdot 10^{-2}$ mol) wird in THF, abs. (50ml) gelöst und auf 0°C gekühlt. Es wird langsam LiAlH_4 (4g, 0.1mol) zugegeben und 5h gerührt. Nach vollständiger Umsetzung wird die Reaktion durch Zugabe von EtOH abgebrochen, über Celite filtriert und das Lösungsmittel evaporiert. Aufreinigung mittels Säulenchromatographie (PE/EE = 3:1 → 1:1) liefert Produkt **97** (6.70g, $6.8 \cdot 10^{-2}$ mol) mit 97% Ausbeute.

- ◆ $R_f = 0.5$ (PE/EE = 1:1)
- ◆ $^1\text{H-NMR}$ (250MHz, D_2O): $\delta=4.51$ (s, 2H, CH_2Furan), 6.52 (dd, 1H, $J(\text{H}_4,\text{H}_5)=1.92\text{Hz}$, $J(\text{H}_4,\text{H}_2)=1.06\text{Hz}$, H4), 7.51 (dd, 1H, $J(\text{H}_2,\text{H}_5)=1.70\text{Hz}$, $J(\text{H}_2,\text{H}_4)=1.07\text{Hz}$, H2), 7.53 (dd, 1H, $J(\text{H}_5,\text{H}_4)=1.92\text{Hz}$, $J(\text{H}_5,\text{H}_2)=1.70\text{Hz}$, H5)
- ◆ $^{13}\text{C-NMR}$ (63 MHz, CDCl_3): $\delta=58.6$ (CH_2OH), 113.6 (C4), 127.9 (C3), 144.2, 147.5 (C2, C5)

3-Sulfato-oxymethyl-furan (98)

Verbindung **97** (200mg, $2.04 \cdot 10^{-3}$ mol) wird in DMF (5ml) gelöst, Pyr-SO_3 (324mg, $2.04 \cdot 10^{-3}$ mol) und NaOMe (110mg, $2.04 \cdot 10^{-3}$ mol) zugegeben und bei RT 10h gerührt (DC-Kontrolle). Die gesamte Reaktionslösung wird per Kieselgelchromatographie mit CHCl_3 / MeOH =4:1 aufgereinigt. Nach Evaporieren des Lösungsmittels wird das Produkt **98** (202mg, $1.14 \cdot 10^{-3}$ mol) mit 56% Ausbeute erhalten.

- ◆ $R_f = 0.05$ ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH} = 5:1$)
- ◆ Masse (esi) m/z (%)=177.1 [M-H] (100), $M=178$
- ◆ $^1\text{H-NMR}$ (250MHz, D_2O): $\delta=35.00$ (s, 2H, $\text{CH}_2\text{OSO}_3\text{H}$), 6.60 (s, 1H, H4), 7.55 (s, 1H, H5), 7.67 (s, 1H, H2)

(1,2;3,4)-Di-O-isopropyliden-6-O-ethoxycarbonylmethyl- β -D-galactopyranosid (100a)

Verbindung **99** (550mg, $2.1 \cdot 10^{-4}$ mol) wird in CH_2Cl_2 (5ml) gelöst und mit Ag_2O (1.45g, $6.3 \cdot 10^{-3}$ mol), Bromessigsäureethylester (3.5ml, $6.3 \cdot 10^{-3}$ mol) und TBAI (730mg, $2.1 \cdot 10^{-3}$ mol) versetzt und 48h bei RT gerührt (DC-Kontrolle). Der Niederschlag wird abfiltriert und das Lösungsmittel evaporiert. Nach Aufreinigung per Säulenchromatographie (PE:EE=2:1 → 1:1) wird das Produkt **100a** (214mg, $6.2 \cdot 10^{-4}$ mmol) mit 30% Ausbeute neben **100b** sauber erhalten.

- ◆ $R_f = 0.28$ (PE:EE=3:1)
- ◆ Masse (ESI): m/z (%)=369.0 [M+Na]⁺ (100), $M=346$

- ◆ $^1\text{H-NMR}$ (250MHz, CDCl_3): $\delta=1.10$ (t, 3H, $J=7.09\text{Hz}$, CH_3), 1.14 (s, 3H, CCH_3), 1.25 (s, 3H, CCH_3), 1.31 (s, 3H, CCH_3), 3.85 (m, 1H, H5), 4.03 (q, 1H, $J=6.94\text{Hz}$, CH_2Me), 4.04- 4.14 (m, 2H, H6, H6'), 4.07-4.28 (s, 4H, CH_2COOR , H4, H3), 4.44 (dd, 1H, $J(\text{H}_2,\text{H}_3)=7.89\text{Hz}$, $J(\text{H}_2,\text{H}_1)=2.51\text{Hz}$, H2), 5.33 (d, 1H, $J(\text{H}_2,\text{H}_1)=2.51\text{Hz}$, H1)
- ◆ $^{13}\text{C-NMR}$ (68 MHz, CDCl_3): $\delta=16.3$ (OCH_2CH_3), 24.1, 24.6, 25.7, 25.8 (4x Me), 60.4 (OCH_2CH_3), 66.8, 68.6, 70.2, 70.3, 70.4, 70.9 (C2, C3, C4, C5, C6, $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{R}$), 96.0 (C1), 108.3, 109.1 (CMe_2), 170.1 (CO_2R)

(1,2;3,4)-Di-O-isopropyliden-6-O-ethoxycarbonylmethyl-oxycarbonylmethyl- β -D-galactopyranosid (100b)

- ◆ Ausbeute: 19mg ($2.2 \cdot 10^{-5}$ mmol, 16%)
- ◆ $R_f=0.20$ (PE:EE=3:1)
- ◆ Masse (ESI): m/z (%)=405 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 427.0 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (100), $M=404$
- ◆ $^1\text{H-NMR}$ (250MHz, CDCl_3): $\delta=1.10$ (t, 3H, $J=7.09\text{Hz}$, CH_3), 1.14 (s, 3H, CCH_3), 1.25 (s, 3H, CCH_3), 1.31 (s, 3H, CCH_3), 3.85 (m, 1H, H5), 4.03 (q, 1H, $J=6.94\text{Hz}$, CH_2Me), 4.04- 4.14 (m, 2H, H6, H6'), 4.07-4.30 (s, 6H, $2x\text{CH}_2\text{COOR}$, H4, H3), 4.44 (dd, 1H, $J(\text{H}_2,\text{H}_3)=7.89\text{Hz}$, $J(\text{H}_2,\text{H}_1)=2.51\text{Hz}$, H2), 5.33 (d, 1H, $J(\text{H}_2,\text{H}_1)=2.51\text{Hz}$, H1)
- ◆ $^{13}\text{C-NMR}$ (68 MHz, CDCl_3): $\delta=13.9$ (OCH_2CH_3), 24.2, 24.7, 25.7, 25.8 (4x Me), 60.7 (OCH_2CH_3), 63.6, 65.6, 67.7, 67.9, 70.2, 70.5, 70.7 (C2, C3, C4, C5, C6, $2x\text{CH}_2\text{CO}_2\text{R}$), 96.0 (C1), 108.5, 109.4 (CMe_2), 169.4 ($2x\text{CO}_2\text{R}$)

Phenyl 6-O-acetyl-1-deoxy-1-thio- β -D-galactopyranosid (103)

Wurde nach Literatur von S.Menzler⁹⁵ synthetisiert.

Phenyl 6-O-acetyl-2,3,4-O-benzoyl-1-deoxy-1-thio- β -D-galactopyranosid

Galactose **103** (2.0g, 6.3mmol) wird in Pyridin (20ml) gelöst und Benzoylchlorid (3.7ml, 31.5mmol) zugegeben und 12h bei RT gerührt, wobei ein weißer Niederschlag entsteht. Das Gemisch wird eingeeengt und per Säulenchromatographie (PE/EE=7:3) aufgereinigt. Das Produkt **104** (3.91g, 6.2 mmol) wird mit 98% Ausbeute erhalten

- ◆ $R_f=0.45$ (PE:EE=7:3)
- ◆ Masse (ESI): m/z (%)=649.3 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (100), $M=626$
- ◆ $^1\text{H-NMR}$ (250MHz, CDCl_3): $\delta=1.99$ (s, 3H, OAc), 4.28 (dd, 1H, $J(\text{H}_6',\text{H}_6)=10.09\text{Hz}$, $J(\text{H}_6',\text{H}_5)=4.58\text{Hz}$, H6'), 4.34 (dd, 1H, $J(\text{H}_6,\text{H}_5)=8.26\text{Hz}$, $J(\text{H}_6',\text{H}_6)=10.09\text{Hz}$, H6),

4.41 (ddd, 1H, $J(\text{H}5,\text{H}6)=8.26$, $J(\text{H}5,\text{H}6)'\text{=}4.58\text{Hz}$, H5), 5.07 (d, 1H, $J(\text{H}1,\text{H}2)=9.63\text{Hz}$, H1), 5.62 (dd, 1H, $J(\text{H}3,\text{H}2)=10.09\text{Hz}$, $J(\text{H}3,\text{H}4)=3.21\text{Hz}$, H3), 5.79 (dd, 1H, $J(\text{H}2,\text{H}3)=9.86\text{Hz}$, $J(\text{H}2,\text{H}1)=9.86$, H2) 5.97 (dd, 1H, $J(\text{H}4,\text{H}3)=3.21\text{Hz}$, H4)

2,3,4-Tri-O-acetyl-6-O-t-butylidiphenylsilyl-galactose (108)

Galactose (3.3g, $1.8 \cdot 10^{-2}\text{mol}$) wird in Pyridin (10ml) suspendiert, TBDPS-Cl (5.1ml, $2.0 \cdot 10^{-2}\text{mol}$) zugegeben und 12h bei RT gerührt. Nach vollständiger Umsetzung wird Pyridin evaporiert, der Rückstand in CH_2Cl_2 aufgenommen und mehrfach mit Wasser extrahiert. Die org. Phase wird eingengt und mit einem 1:1 Gemisch Pyridin/ Ac_2O (20ml) wieder aufgenommen und erneut 12h bei RT gerührt. Das Gemisch wird eingengt, mit CH_2Cl_2 (10ml) wieder aufgenommen, Hydrazin (2ml) zugegeben und weitere 12h bei RT gerührt. Nach vollständiger Umsetzung wird weiteres CH_2Cl_2 (30ml) zugegeben und die organische Phase mit 20%iger Citronensäure und Wasser extrahiert. Die organische Phase wird über NaSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel evaporiert. Per Säulenchromatographie (PE/EE=7:3) wird das Produkt **108** (6.85g, $12.6 \cdot 10^{-3}\text{mol}$) mit 70% Ausbeute sauber erhalten.

- ◆ $R_f=0.5$ (PE:EE=2:1)
- ◆ Masse (ESI) m/z (%)=567.1 [$\text{M}+\text{Na}$]⁺ (100), $M=544$
- ◆ ¹H-NMR (250MHz, CDCl_3): $\delta=1.5$ (s, 9H, CH_3), 1.99 (s, 3H, OAc), 2.80 (d, 1H, $J(\text{H}1\alpha,\text{H}2\alpha)=3.21\text{Hz}$, H1 α), 3.39 (dd, 1H, $J(\text{H}1\beta,\text{H}2\beta)=8.83\text{Hz}$, H1 β), 3.61 (dd, 1H, $J(\text{H}6,\text{H}6)'\text{=}9.03\text{Hz}$, $J(\text{H}6,\text{H}5)=7.02\text{Hz}$, H6), 3.68 (dd, 1H, $J(\text{H}5,\text{H}6)'\text{=}5.62\text{Hz}$, $J(\text{H}5,\text{H}6)=4.41\text{Hz}$, H5), 3.73 (dd, 1H, $J(\text{H}6',\text{H}6)=10.84\text{Hz}$, $J(\text{H}6',\text{H}5)=5.62\text{Hz}$, H6'), 4.33 (ddd, 1H, $J(\text{H}4,\text{H}6)=7.32$, $J(\text{H}5,\text{H}6)'\text{=}6.52\text{Hz}$, $J(\text{H}4,\text{H}5)=0.90\text{Hz}$, H5 β), 4.60 (ddd, 1H, $J(\text{H}5,\text{H}6)'\text{=}8.63\text{Hz}$, $J(\text{H}5,\text{H}6)=7.42\text{Hz}$, H5 α), 5.05 (dd, 1H, $J(\text{H}2,\text{H}3)=12.44\text{Hz}$, $J(\text{H}2,\text{H}1)=7.22\text{Hz}$, H2 β), 5.11 (dd, 1H, $J(\text{H}2,\text{H}3)=11.34\text{Hz}$, $J(\text{H}2,\text{H}1)=3.91\text{Hz}$, H2 α), 5.40 (dd, 1H, $J(\text{H}3,\text{H}4)=3.21\text{Hz}$, H3 β), 5.43 (dd, 1H, $J(\text{H}3,\text{H}4)=3.21\text{Hz}$, $J(\text{H}3,\text{H}2)=11.34\text{Hz}$, H3 α), 5.59 (dd, 1H, $J(\text{H}4,\text{H}3)=3.61\text{Hz}$, H4 β), 5.63 (dd, 1H, $J(\text{H}4,\text{H}3)=3.41\text{Hz}$, $J(\text{H}4,\text{H}5)=1.40\text{Hz}$, H4 α), 7.3-7.7 (m, 15H, Ph)
- ◆ ¹³C-NMR (63MHz, CDCl_3): $\delta=19.0$, 20.5, 20.6, 20.7 (tBuSi), 26.7 (OAc), 61.3, 67.5, 68.0, 68.6, 71.4 (C2, C3, C4, C5, C6), 90.6 (C1), 127.7, 129.7, 129.8, 133.0, 135.5, (Ph), 170.0, 170.3 (CO_2R)

1-Trichloracetimido-2,3,4-Tri-O-acetyl-6-O-tert-butyl-diphenylsilyl-galactopyranosid (109)

Galactose **108** (2.0g, $3.68 \cdot 10^{-3}$ mol) wird in CH_2Cl_2 (10ml) gelöst, Trichloracetonitril (1.1ml, $1.0 \cdot 10^{-2}$ mol) und DBU (20 μ l) zugegeben und 1-2h bei 0°C gerührt. Das Lösungsmittel wird evaporiert und der Rückstand über eine kurze Flashchromatographiesäule aufgereinigt.

3-(2,3,4-Tri-O-acetyl-6-O-tert-butyl-diphenylsilyl- β -D-galactopyranosyl-oxymethyl)-4-(2,3,4-tri-O-benzoyl- β -L-fucopyranosyl-oxymethyl)-furan (110)

Furanderivat **35** (213mg, $3.6 \cdot 10^{-4}$ mol) und Imidat **109** (300mg, $4.4 \cdot 10^{-5}$ mol) werden in CH_2Cl_2 (10ml) gelöst, auf 0°C gekühlt und TMSOTf (5 μ l) zugegeben. Es wird 1h bei 0°C gerührt (DC-Kontrolle). Die Reaktion wird durch die Zugabe von NaHCO_3 -Lösung abgebrochen und anschließend gegen Wasser extrahiert. Die organische Phase wird über NaSO_4 getrocknet, das Lösungsmittel evaporiert und der Rückstand mittels Säulenchromatographie (PE:EE=2:1) aufgereinigt und das Produkt **110** (180mg, $1.6 \cdot 10^{-4}$ mol) mit 45% Ausbeute als durchsichtiges Öl sauber erhalten.

- ◆ $R_f = 0.29$ (PE:EE=2:1)
- ◆ Masse (ESI): m/z (%) = 1135.4 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ (100), $M = 112$
- ◆ $^1\text{H-NMR}$ (250MHz, CDCl_3): $\delta = 1.02$ (s, 9H, tBu), 1.33 (d, 3H, $J(\text{CH}_3\text{Fuc}, \text{H}_5) = 6.66\text{Hz}$, CH_3Fuc), 1.98-2.08 (m, 9H, OAc), 3.60-3.72 (m, 2H, H_6Gal , $\text{H}_6'\text{Gal}$), 4.05 (dq, 1H, $J(\text{CH}_3\text{Fuc}, \text{H}_5) = 6.66\text{Hz}$, H_5Fuc), 4.21 (d, 2H, $J(\text{CH}, \text{H}') = 11.60\text{Hz}$, CH_2Furan), 4.44 (d, 2H, $J(\text{CH}, \text{H}') = 11.60\text{Hz}$, CH_2Furan), 4.59 (dd, 1H, H_5Gal), 4.75 (d, 1H, $J(\text{H}_1, \text{H}_2) = 7.09\text{Hz}$, H_1Gal), 4.85 (d, 1H, $J(\text{H}_1, \text{H}_2) = 7.95\text{Hz}$, H_1Fuc), 5.12 (dd, 1H, $J(\text{H}_2, \text{H}_3) = 10.31\text{Hz}$, $J(\text{H}_2, \text{H}_1) = 7.73\text{Hz}$, H_2Gal), 5.52 (dd, 1H, $J(\text{H}_3, \text{H}_2) = 10.96\text{Hz}$, $J(\text{H}_3, \text{H}_4) = 3.22\text{Hz}$, H_3Gal), 5.55 (dd, 1H, $J(\text{H}_3, \text{H}_2) = 10.42\text{Hz}$, $J(\text{H}_3, \text{H}_4) = 3.54\text{Hz}$, H_3Fuc), 5.67 (dd, 1H, $J(\text{H}_4, \text{H}_3) = 3.22\text{Hz}$, $J(\text{H}_4, \text{H}_5) = 1.07\text{Hz}$, H_4Gal), 5.76 (dd, 1H, $J(\text{H}_1, \text{H}_2) = 7.95\text{Hz}$, H_1Fuc), $J(\text{H}_2, \text{H}_3) = 10.10\text{Hz}$, H_2Fuc), 5.79 (dd, 1H, $J(\text{H}_4, \text{H}_3) = 3.51\text{Hz}$, $J(\text{H}_4, \text{H}_5) = 1.71$, H_4Fuc), 7.0-8.4 (m, 17H, H_2 -, H_5 -Furan, OBz)
- ◆ $^{13}\text{C-NMR}$ (63 MHz, CDCl_3): $\delta = 16.2$ (CH_3), 18.8, 20.3, 20.4, 20.5 (tBu), 26.5 (OAc), 56.1, 60.0 (CH_2OR), 61.1, 66.8, 67.5, 68.0, 68.6, 69.5, 70.9, 71.9, 72.9 (C_2 -, C_3 -, C_4 -, C_5 -, C_6 -Gal, C_2 -, C_3 -, C_4 -, C_5 -Fuc), 98.8, 99.6 (C_1Gal , C_1Fuc), 120.1, 120.3 (C_3, C_4 -Furan) 127.7-135.5 (Ph), 142.0, 142.6 (C_2 -, C_5 -Furan), 164.9-170.3 (CO_2R)

3-(2,3,4-Tri-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl-oxymethyl)-4-(2,3,4-tri-O-benzoyl- β -L-fucopyranosyl-oxymethyl)-furan (**111**)

Verbindung **110** (171mg, $1.53 \cdot 10^{-4}$ mol), 18-Krone-6 (20mg) und TBAF (535mg, 1.7mmol) werden bei 0°C in THF (20ml) gelöst und 1h gerührt (DC-Kontrolle). Das Reaktionsgemisch wird in CHCl_3 aufgenommen und mit 1N-HCl und Wasser ausgeschüttelt. Die organische Phase wird über NaSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel abgezogen. Per Säulenchromatographie (PE/EE=2:1) wird das Produkt **111** (25mg, $2.8 \cdot 10^{-5}$ mol) mit 18% Ausbeute sauber erhalten.

- ◆ $R_f = 0.29$ (PE:EE=2:1)
- ◆ Masse (ESI): m/z (%)=1135.4 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (100), $M=874$
- ◆ $^1\text{H-NMR}$ (250MHz, CDCl_3): $\delta=1.33$ (d, 3H, $J(\text{CH}_3\text{Fuc},\text{H}_5)=6.66\text{Hz}$, CH_3Fuc), 1.98-2.08 (m, 9H, OAc), 4.05 (dq, 1H, $J(\text{CH}_3\text{Fuc},\text{H}_5)=6.66\text{Hz}$, H_5Fuc), 4.10-4.18 (m, 2H, H_6Gal , $\text{H}_6'\text{Gal}$), 4.21 (d, 2H, $J(\text{CH}, \text{H}')=11.60\text{Hz}$, CH_2Furan), 4.44 (d, 2H, $J(\text{CH},\text{H}')=11.60\text{Hz}$, CH_2Furan), 4.59 (dd, 1H, H_5Gal), 4.75 (d, 1H, $J(\text{H}_1,\text{H}_2)=7.09\text{Hz}$, H_1Gal), 4.85 (d, 1H, $J(\text{H}_1,\text{H}_2)=7.95\text{Hz}$, H_1Fuc), 5.12 (dd, 1H, $J(\text{H}_2,\text{H}_3)=10.31\text{Hz}$, $J(\text{H}_2,\text{H}_1)=7.73\text{Hz}$, H_2Gal), 5.52 (dd, 1H, $J(\text{H}_3,\text{H}_2)=10.96\text{Hz}$, $J(\text{H}_3,\text{H}_4)=3.22\text{Hz}$, H_3Gal), 5.55 (dd, 1H, $J(\text{H}_3,\text{H}_2)=10.42\text{Hz}$, $J(\text{H}_3,\text{H}_4)=3.54\text{Hz}$, H_3Fuc), 5.67 (dd, 1H, $J(\text{H}_4,\text{H}_3)=3.22\text{Hz}$, $J(\text{H}_4,\text{H}_5)=1.07\text{Hz}$, H_4Gal), 5.76 (dd, 1H, $J(\text{H}_1,\text{H}_2)=7.95\text{Hz}$, H_1Fuc), $J(\text{H}_2,\text{H}_3)=10.10\text{Hz}$, H_2Fuc), 5.79 (dd, 1H, $J(\text{H}_4,\text{H}_3)=3.51\text{Hz}$, $J(\text{H}_4,\text{H}_5)=1.71$, H_4Fuc), 7.0-8.4 (m, 17H, H_2 -, H_5 -Furan, OBz)
- ◆ $^{13}\text{C-NMR}$ (63 MHz, CDCl_3): $\delta=16.3$ (CH_3), 26.5 (OAc), 61.1, 61.5, 62.0 (CH_2OR , C6-Gal), 67.0, 67.5, 68.0, 68.6, 69.5, 70.9, 71.9, 72.9 (C2-, C3-, C4-, C5-Gal, C2-, C3-, C4-, C5-Fuc), 99.2, 99.8 (C1Gal, C1Fuc), 120.1, 120.3 (C3,C4-Furan) 127.7-135.5 (Ph), 142.0, 142.6 (C2-, C5-Furan), 164.9-170.3 (CO_2R)

Allyl 2,4,6-O-acetyl-3-methoxycarbonylmethyl- β -D-galactopyranosid (**117**)

Verbindung **115** (500mg, $2.4 \cdot 10^{-3}$ mol) wird in Methanol (10ml) suspendiert, Bu_2SnO (660mg, $2.7 \cdot 10^{-3}$ mol) wird zugegeben und 16h auf 70°C erhitzt. Methanol wird evaporiert und der Rückstand in DMF (10ml) wieder aufgenommen und Bromessigsäureethylester (130 μl , $2.7 \cdot 10^{-3}$ mol) zugegeben. Es wird weitere 14h bei RT gerührt (DC-Kontrolle). Der Niederschlag wird abfiltriert und das Lösungsmittel evaporiert. Der Rückstand wird in Pyridin Acetanhydrid aufgenommen und 10h gerührt. Dann wird das Lösungsmittel wieder abgezogen und der Rückstand erfolgt mittels Säulenchromatographie aufgereinigt (PE:EE

= 7:3 →EE). Dabei wird das Produkt **117** (298mg, $7.1 \cdot 10^{-4}$ mol) mit 30 % Ausbeute erhalten

- ◆ $R_f=0.20$ (PE:EE=3:1)
- ◆ Masse (ESI): m/z (%)=441.0 $[M+Na]^+$ (100), $M=418$
- ◆ 1H -NMR (250MHz, $CDCl_3$): $\delta=1.9$ -2.2 (m, 9H, OAc), 3.67 (s, 3H, OMe), 3.90 (dd, 1H, $J=9.63$, $J=3.67$, CHAllyl), 3.95 (dd, 1H, $J=6.88$ Hz, $J=1.37$ Hz, CHAllyl), 3.99-4.27 (m, 7H, 2xCHCOOR, H6, H6', H5), 5.16 (m, 1H, H-Allyl), 5.23 (m, 1H, H-Allyl), 5.50 (d, 1H, $J(H1a,H2)=3.21$ Hz, H1a), 5.82 (m, 1H, $J=5.73$ Hz, $J=11.01$ Hz, $J=22.25$ Hz, Allyl)
- ◆ ^{13}C -NMR (68MHz, $CDCl_3$): $\delta=20.5$, 20.6, 20.7 (OAc), 51.6 (OMe), 62.1, 66.6, 67.2, 67.4, 68.6, 69.9, 74.4, (C2, C3, C4, C5, C6, CH_2 Allyl, CH_2CO_2R), 95.3 (C1), 112.6, 117.8 (C=C-Allyl), 170.0, 170.2, 170.3 (OAc)

Di-O-acetyl-5-maleimidofluorescein (119)

wird von der Firma Fluka bezogen.

4-[5-(di-O-acetyl-fluorescein)]-8-β-D-galactopyranosyloxymethyl-9-sulfatooxymethyl-10-oxa-4-aza-tricyclo[5.2.1.0^{2,6}]dec-8-ene-3,5-dion (121)

GSF **91** (73mg, $1.97 \cdot 10^{-4}$ mol) und Maleinimid **119** (102mg, $2.0 \cdot 10^{-4}$ mol) werden in DMF (4ml) gelöst, auf 45°C erwärmt und 48h gerührt (HPLC-Kontrolle). Das Lösungsmittel wird am Hochvakuum evaporiert, mit Wasser aufgenommen und einlyophyllisiert. Der Rückstand wird dann per preparativer HPLC (RP18 Säule mit $H_2O/AcCN$ 90%→30% in 40') aufgereinigt. Das Produkt (69mg, $7.6 \cdot 10^{-5}$ mol) wird als weißer Feststoff mit 38% Ausbeute sauber erhalten.

- ◆ HPLC (RP18, $H_2O/AcCN$, 100% H_2O →0% in 30') = 9', (GSF=5', Biotin=14')
- ◆ Masse (ESI): m/z (%)=880.1 $[M-H]^-$ (100), $M=881$

5-β-D-galactopyranosyloxymethyl-6-sulfatooxymethyl-3-[5-fluorescein]-carbamoyl-7-oxa-bicyclo[2.2.1]hept-5-ene-2-carbonsäure (123)

Verbindung **121** (102mg, $2.0 \cdot 10^{-4}$ mol) wird in einem Gemisch aus Methanol/ $NH_3=1:1$ (4ml) gelöst, 2h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wird evaporiert, der Rückstand mit Wasser aufgenommen und einlyophyllisiert. Per preparativer HPLC (RP18 Säule mit $H_2O/AcCN$ 100%→20% in 40') wird aufgereinigt. Das Produkt **123** (69mg, $7.6 \cdot 10^{-5}$ mol) wird als weißer Feststoff mit 38% Ausbeute sauber erhalten.

- ◆ HPLC (RP18, H₂O/AcCN, 100%H₂O→0% in 30') = 4'
- ◆ Masse (ESI): m/z (%)=814.1 [M-H]⁻ (30), 406.7 [M-2H]²⁻ (100), 270.9 [M-3H]³⁻ (30), M=815

[2-(2-{2-[3-maleinimidopropylamido]-ethoxy}-ethoxy)-ethyl]-biotinamide (125)

Biotinmaleinimid wird von der Firma Price bezogen.

8-β-D-galactopyranosyloxymethyl-4-[2-(2-{2-[propylamido]-ethoxy}-ethoxy)-ethyl]-biotinamide]-9-sulfatooxymethyl-10-oxa-4-aza-tricyclo[5.2.1.0^{2,6}]dec-8-ene-3,5-dion (126)

GSF **91** (14.0mg, 3.8 10⁻⁵mol) und Maleinimid **125** (20mg, 3.8 10⁻⁵mol) werden in H₂O (2ml) gelöst, auf 45°C erwärmt und 48h gerührt (HPLC-Kontrolle). Das Lösungsmittel wird einlyophyllisiert. Der Rückstand wird dann per preparativer HPLC (RP18 Säule mit H₂O/AcCN 100%→60% in 30') aufgereinigt. Das Produkt **126** (69mg, 7.6 10⁻⁵mol) wird als weißer Feststoff mit 38% Ausbeute sauber erhalten.

- ◆ HPLC (RP18, H₂O/AcCN, 100%H₂O→0% in 30') = 9', (GSF=5', Biotin=14')
- ◆ Masse (ESI): m/z (%)=894.3 [M-H]⁻ (100), M=895

2,3,4-Tri-O-benzyl-α-L-fucopyranosyltrichloracetimidat (127)

Verbindung **127** wird nach Vorschrift von B. Wegemann synthetisiert.

1-O-Allyl-2,3,4-tri-O-(4-methoxybenzyl)-β-L-fucopyranosid (128)

Verbindung wird nach einer Vorschrift von C. Unverzagt⁹⁷ synthetisiert.

3,4-Di-O-acetyl-2-O-(4-methoxybenzyl)-α-L-fucopyranosyl-trichloracetimidat (129)

Verbindung **34** wird nach Vorschrift von T. Eisele⁹⁸ synthetisiert.

(2,3,4-Tri-O-benzyl-α-L-fucopyranosyl)-(1→3) oxymethyl-4-hydroxymethyl-furan (b93)

Furanderivat (650mg, 5mmol) und Imidat (1.77g, 2.8mmol) werden in CH₂Cl₂ gelöst, auf 0°C gekühlt und TMSOTf (20μl) zugegeben. Es wird 3h bei 0°C gerührt (DC-Kontrolle). Die Reaktion wird durch die Zugabe halbkonzentrierter Na₂CO₃-Lösung abgebrochen und anschließend gegen Wasser extrahiert. Die organische Phase wird über NaSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel evaporiert. Es wird mittels Säulenchromatographie aufgereinigt (PE:EE=7:1→1:1) und das Produkt (602mg, 1.1mmol) mit 73% Ausbeute mit α/β-Verhältnis von 4:1 erhalten. R_f = (PE:EE=2:1)

- ◆ Masse: M=544

| sLewis x: Abstände | | | | | |
|-------------------------------------|---------|---------|------|----------|---------|
| Statistic | Minimum | Maximum | Mean | Variance | Std_Dev |
| DIST_GALN_FUC | 4,7 | 5,4 | 5,0 | 0,0 | 0,1 |
| DIST_GALN_GAL | 5,1 | 5,8 | 5,5 | 0,0 | 0,1 |
| DIST_GALN_SIA | 10,4 | 11,8 | 11,3 | 0,1 | 0,2 |
| DIST_GALN_09 | 2,8 | 3,5 | 3,1 | 0,0 | 0,1 |
| DIST_GALN_N5ME | 13,9 | 16,1 | 15,4 | 0,1 | 0,3 |
| DIST_FUC_GAL | 4,3 | 6,1 | 5,0 | 0,1 | 0,3 |
| DIST_FUC_SIA | 8,7 | 12,2 | 10,5 | 0,3 | 0,6 |
| DIST_FUC_09 | 2,2 | 3,2 | 2,6 | 0,0 | 0,1 |
| DIST_FUC_N5ME | 12,0 | 16,2 | 14,5 | 0,5 | 0,7 |
| DIST_GAL_SIA | 6,0 | 6,7 | 6,3 | 0,0 | 0,1 |
| DIST_GAL_09 | 2,8 | 3,7 | 3,2 | 0,0 | 0,1 |
| DIST_GAL_N5ME | 9,7 | 11,0 | 10,4 | 0,0 | 0,2 |
| DIST_SIA_09 | 8,5 | 9,9 | 9,3 | 0,1 | 0,2 |
| DIST_SIA_N5ME | 3,8 | 4,3 | 4,2 | 0,0 | 0,1 |
| DIST_09_N5ME | 12,3 | 14,1 | 13,4 | 0,1 | 0,3 |
| Furan- α -Fucoside: Abstände | | | | | |
| Statistic | Minimum | Maximum | Mean | Variance | Std_Dev |
| DIST_X_FUC | 4,4 | 6,4 | 5,6 | 0,1 | 0,3 |
| DIST_X_GAL | 4,8 | 6,6 | 6,1 | 0,1 | 0,3 |
| DIST_X_SIA | 6,7 | 12,6 | 11,2 | 1,3 | 1,1 |
| DIST_X_09 | 3,5 | 15,5 | 11,7 | 6,2 | 2,5 |
| DIST_X_NAC | 8,5 | 16,8 | 14,9 | 2,5 | 1,6 |
| DIST_FUC_GAL | 4,7 | 11,1 | 7,5 | 2,2 | 1,5 |
| DIST_FUC_SIA | 7,3 | 16,9 | 12,1 | 4,7 | 2,2 |
| DIST_FUC_09 | 4,5 | 18,2 | 11,6 | 12,0 | 3,5 |
| DIST_FUC_NAC | 8,8 | 21,1 | 15,6 | 6,0 | 2,4 |
| DIST_GAL_SIA | 5,4 | 6,7 | 6,3 | 0,0 | 0,2 |
| DIST_GAL_09 | 5,8 | 10,5 | 8,6 | 1,1 | 1,1 |
| DIST_GAL_NAC | 9,1 | 11,0 | 10,4 | 0,1 | 0,3 |
| DIST_SIA_09 | 5,0 | 6,8 | 5,9 | 0,2 | 0,4 |
| DIST_SIA_NAC | 3,9 | 4,4 | 4,2 | 0,0 | 0,1 |
| DIST_09_NAC | 4,7 | 9,4 | 7,3 | 0,8 | 0,9 |
| Furan- β -Fucoside: Abstände | | | | | |
| Statistic | Minimum | Maximum | Mean | Variance | Std_Dev |
| DIST_FURA_GAL | 4,9 | 6,6 | 6,1 | 0,1 | 0,3 |
| DIST_FURA_SIA | 8,5 | 12,6 | 11,5 | 0,6 | 0,8 |
| DIST_FURA_FUC | 4,3 | 6,5 | 6,0 | 0,1 | 0,4 |
| DIST_GAL_SIA | 5,3 | 6,7 | 6,3 | 0,0 | 0,2 |
| DIST_GAL_FUC | 4,5 | 10,8 | 7,5 | 1,7 | 1,3 |
| DIST_SIA_FUC | 7,1 | 16,5 | 12,3 | 3,7 | 1,9 |

Tabelle 2: Abstände der per Molecular Modeling gerechneten Verbindungen

| sLewis x: Winkel Statistic | Minimum | Maximum | Mean | Variance | Std Dev |
|---|---------|---------|-------|----------|---------|
| ANGLE_GALN_FUC_GAL | 56,9 | 73,0 | 65,9 | 6,1 | 2,5 |
| ANGLE_GALN_FUC_SIA | 63,5 | 108,9 | 86,0 | 59,0 | 7,7 |
| ANGLE_GALN_GAL_SIA | 123,2 | 174,4 | 149,3 | 64,6 | 8,0 |
| ANGLE_FUC_GAL_SIA | 102,1 | 174,1 | 138,0 | 130,2 | 11,4 |
| ANGLE_FUC_SIA_GALN | 23,7 | 28,9 | 26,1 | 0,5 | 0,7 |
| ANGLE_SIA_GALN_FUC | 46,6 | 90,7 | 67,9 | 57,7 | 7,6 |
| ANGLE_SIA_GALN_GAL | 3,0 | 31,2 | 16,6 | 19,1 | 4,4 |
| ANGLE_GAL_SIA_FUC | 2,8 | 31,9 | 18,2 | 21,3 | 4,6 |
| Furan- β -Fucosid: Winkel Statistic | Minimum | Maximum | Mean | Variance | Std Dev |
| ANGLE_FURA_GAL_SIA | 88,9 | 175,6 | 136,2 | 248,9 | 15,8 |
| ANGLE_FURA_SIA_FUC | 12,7 | 39,2 | 27,6 | 17,8 | 4,2 |
| ANGLE_FURA_FUC_SIA | 20,8 | 122,1 | 68,1 | 315,8 | 17,8 |
| ANGLE_FURA_SIA_GAL | 2,4 | 45,7 | 21,6 | 58,9 | 7,7 |
| ANGLE_FURA_GAL_FUC | 24,3 | 73,8 | 50,3 | 70,3 | 8,4 |
| ANGLE_FURA_FUC_GAL | 22,8 | 81,7 | 52,6 | 89,4 | 9,5 |
| ANGLE_GAL_FURA_SIA | 2,1 | 49,1 | 22,3 | 66,9 | 8,2 |
| ANGLE_GAL_SIA_FURA | 2,4 | 45,7 | 21,6 | 58,9 | 7,7 |
| ANGLE_GAL_SIA_FUC | 0,9 | 59,6 | 26,6 | 183,2 | 13,5 |
| ANGLE_GAL_FUC_SIA | 0,9 | 63,1 | 22,9 | 158,0 | 12,6 |
| ANGLE_GAL_FURA_FUC | 43,6 | 132,9 | 77,0 | 287,9 | 17,0 |
| ANGLE_GAL_FUC_FURA | 22,8 | 81,7 | 52,6 | 89,4 | 9,5 |
| ANGLE_SIA_FURA_FUC | 31,1 | 146,4 | 84,2 | 429,8 | 20,7 |
| ANGLE_SIA_FUC_FURA | 20,8 | 122,1 | 68,1 | 315,8 | 17,8 |
| ANGLE_SIA_GAL_FUC | 70,5 | 178,2 | 130,5 | 645,6 | 25,4 |
| ANGLE_SIA_FUC_GAL | 0,9 | 63,1 | 22,9 | 158,0 | 12,6 |
| ANGLE_SIA_GAL_FURA | 88,9 | 175,6 | 136,2 | 248,9 | 15,8 |
| ANGLE_FUC_FURA_GAL | 43,6 | 132,9 | 77,0 | 287,9 | 17,0 |
| ANGLE_FUC_GAL_FURA | 24,3 | 73,8 | 50,3 | 70,3 | 8,4 |
| ANGLE_FUC_SIA_GAL | 0,9 | 59,6 | 26,6 | 183,2 | 13,5 |
| ANGLE_FUC_GAL_SIA | 70,5 | 178,2 | 130,5 | 645,6 | 25,4 |
| ANGLE_FUC_FURA_SIA | 31,1 | 146,4 | 84,2 | 429,8 | 20,7 |
| ANGLE_FUC_SIA_FURA | 12,7 | 39,2 | 27,6 | 17,8 | 4,2 |
| Furan- α -Fucosid: Winkel Statistic | Minimum | Maximum | Mean | Variance | Std Dev |
| ANGLE_X_FUC_GAL | 16,2 | 80,2 | 52,0 | 115,1 | 10,7 |
| ANGLE_X_GAL_SIA | 72,2 | 173,7 | 130,8 | 347,1 | 18,6 |
| ANGLE_X_FUC_SIA | 20,1 | 117,7 | 66,8 | 396,9 | 19,9 |
| ANGLE_FUC_X_GAL | 44,2 | 147,4 | 81,3 | 395,7 | 19,9 |
| ANGLE_FUC_GAL_SIA | 70,6 | 177,6 | 124,5 | 568,7 | 23,8 |
| ANGLE_FUC_X_SIA | 38,3 | 148,4 | 86,8 | 565,6 | 23,8 |
| ANGLE_GAL_X_SIA | 3,0 | 60,9 | 25,2 | 107,6 | 10,4 |
| ANGLE_GAL_FUC_SIA | 1,1 | 57,9 | 25,8 | 150,6 | 12,3 |
| ANGLE_GAL_X_FUC | 44,2 | 147,4 | 81,3 | 395,7 | 19,9 |
| ANGLE_SIA_X_FUC | 38,3 | 148,4 | 86,8 | 565,6 | 23,8 |
| ANGLE_SIA_FUC_GAL | 1,1 | 57,9 | 25,8 | 150,6 | 12,3 |
| ANGLE_SIA_GAL_X | 72,2 | 173,7 | 130,8 | 347,1 | 18,6 |

Tabelle 3: Winkel der per Molecular Modeling gerechneten Verbindungen

5.3 Abbildung der NMR-Spektren

3-(2,3,4-Tri-O-benzoyl- β -L-fucopyranosyloxymethyl)-4-hydroxymethyl-furan (35)

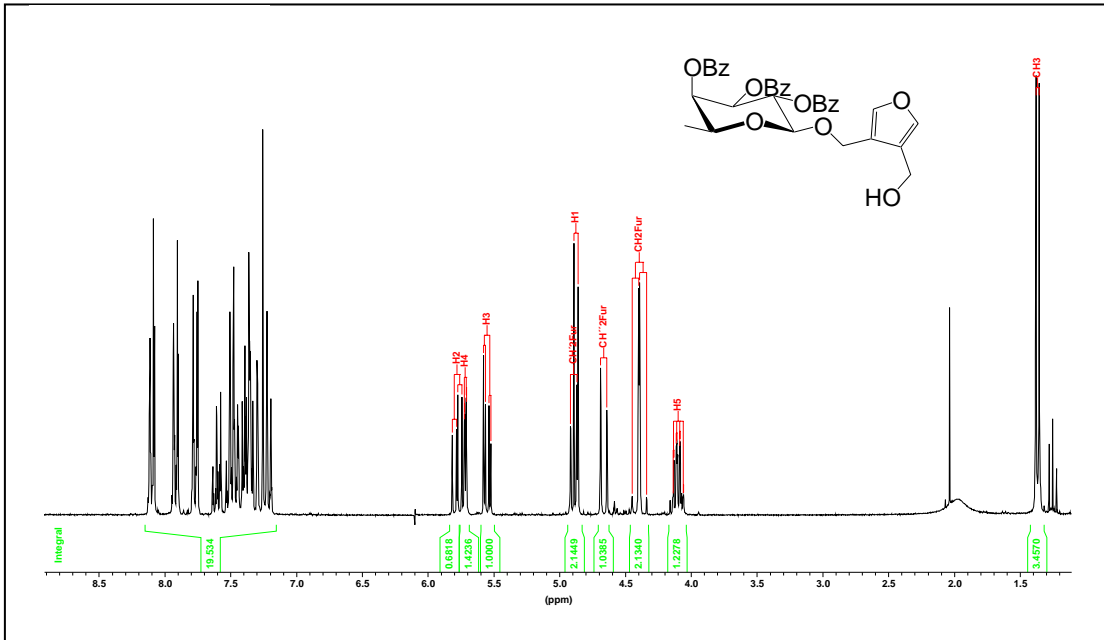


Abbildung 86

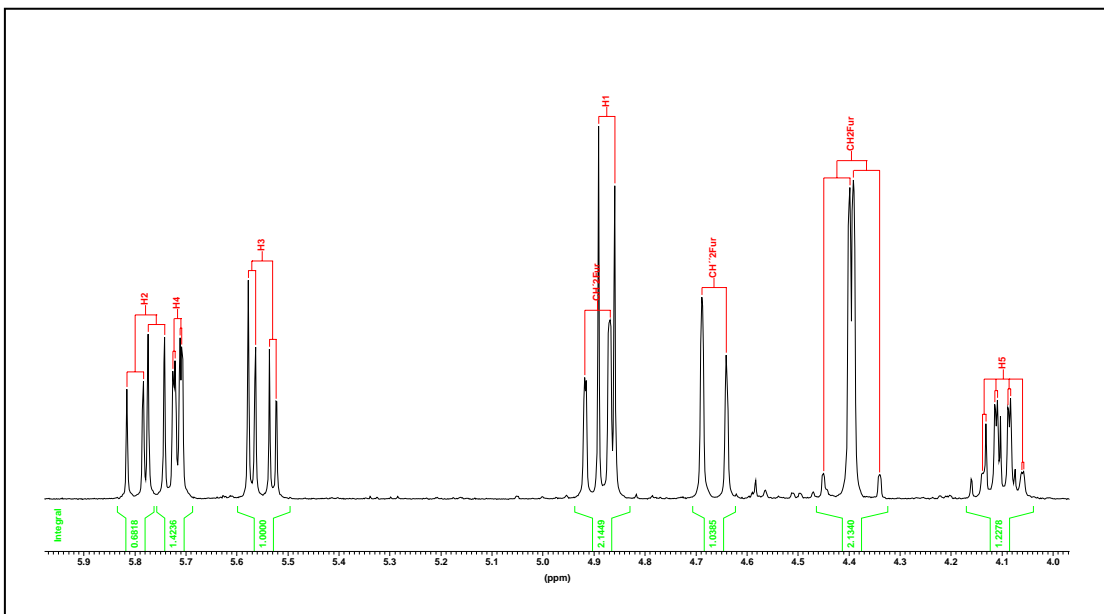


Abbildung 87

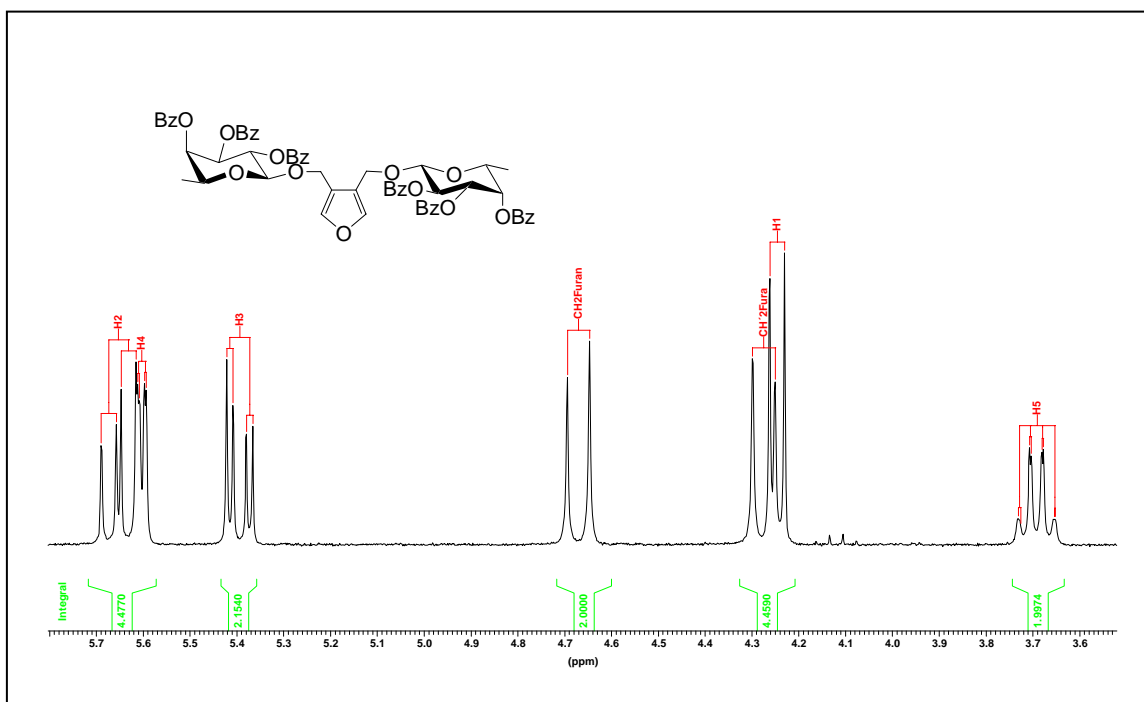
3,4-Bis-(2,3,4-tri-O-benzoyl- β -L-fucopyranosyloxymethyl)-furan (36)

Abbildung 88

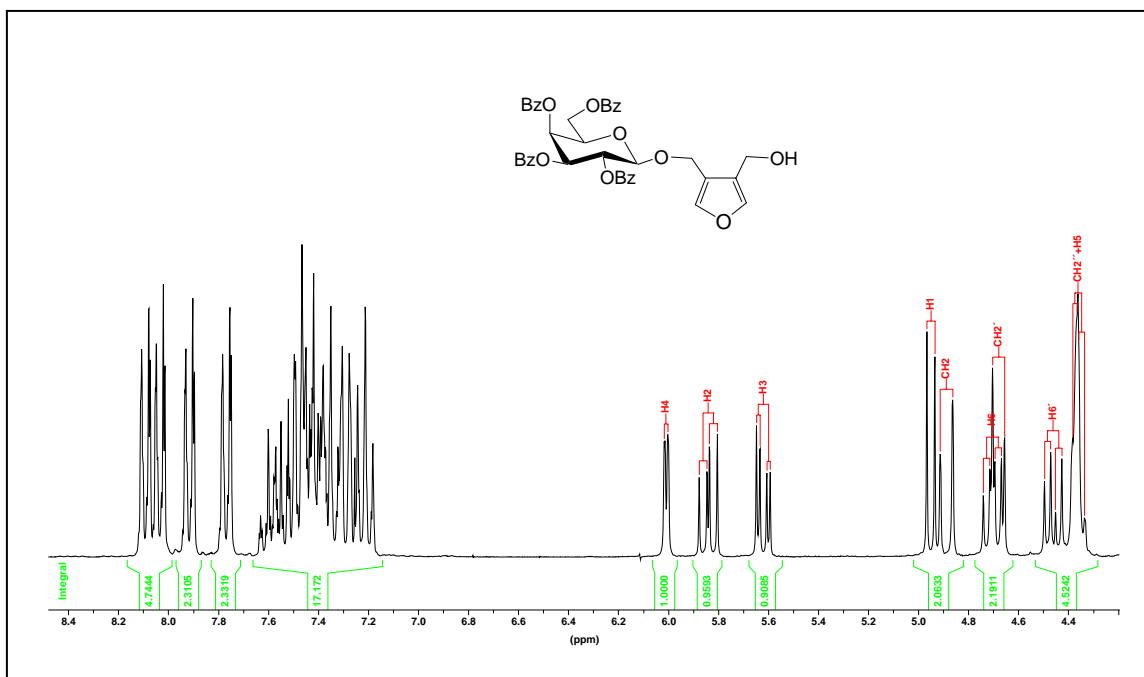
3-(2,3,4,6-Tetra-O-benzoyl- β -D-galactopyranosyloxymethyl)-4-hydroxymethyl-furan (40)

Abbildung 89

3,4-Bis-(2,3,4,6-tetra-O-benzoyl- β -D-galactopyranosyloxymethyl)-furan (41)

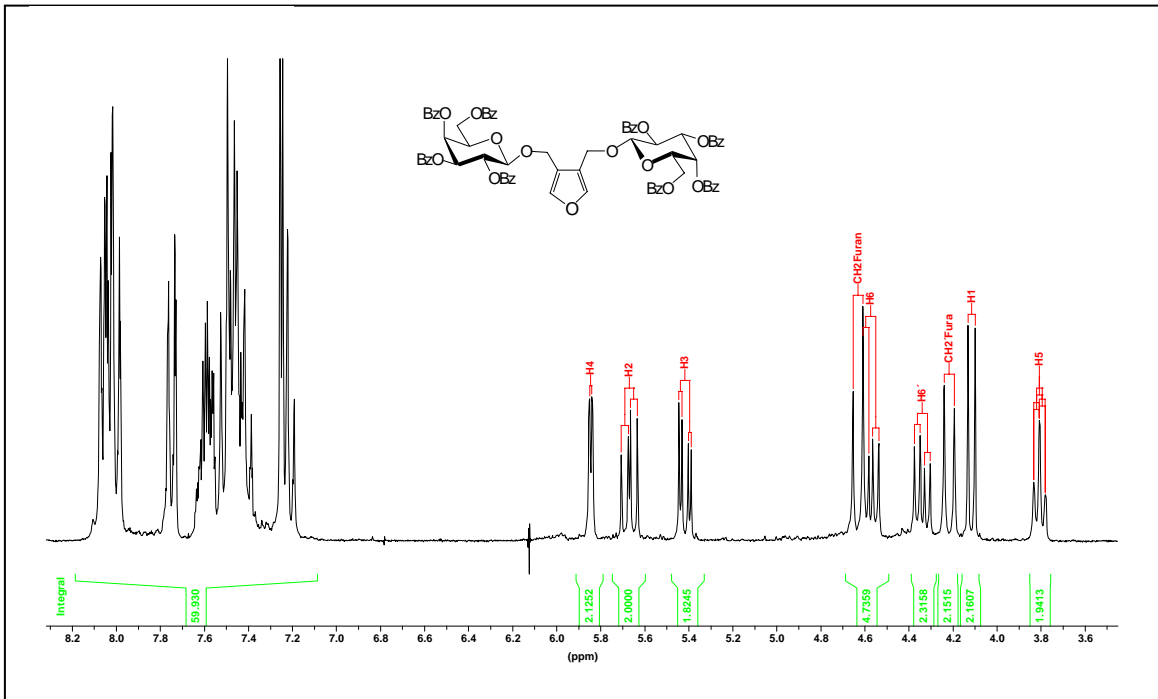


Abbildung 90

3- β -D-Galactopyranosyloxymethyl-4-hydroxymethyl-furan (42)

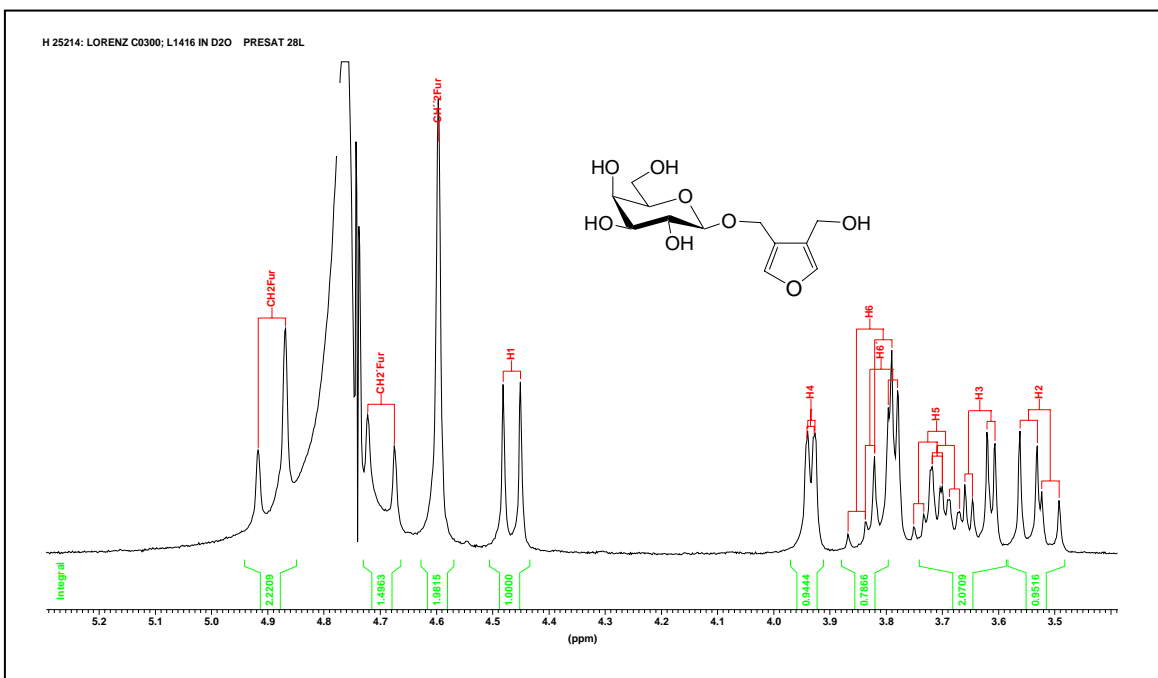


Abbildung 91

3-(2,3,4,6-Tetra-O-benzoyl- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-2,3,6-tri-O-benzoyl- β -D-glucopyranosyloxymethyl)-4-hydroxymethyl-furan (45)

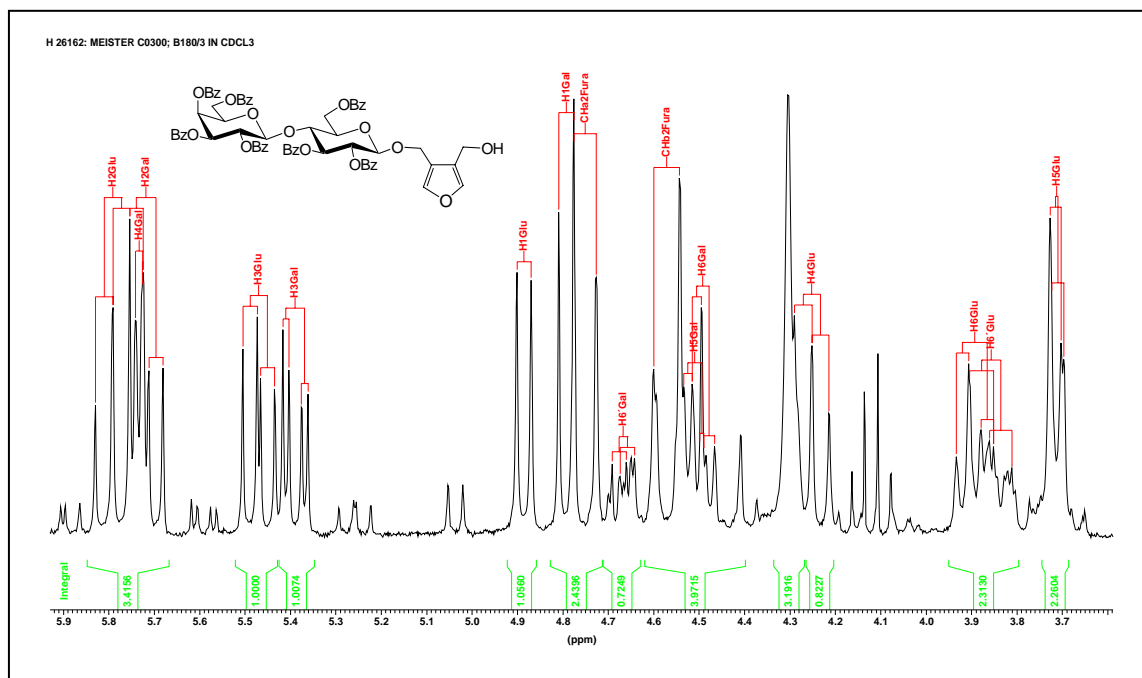


Abbildung 92

3-(2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-(2,3,6)-tri-O-acetyl- β -D-glucopyranosyl-oxymethyl)-4-(2,3,4-tri-O-benzoyl- β -L-fucopyranosyloxymethyl)-furan (52)

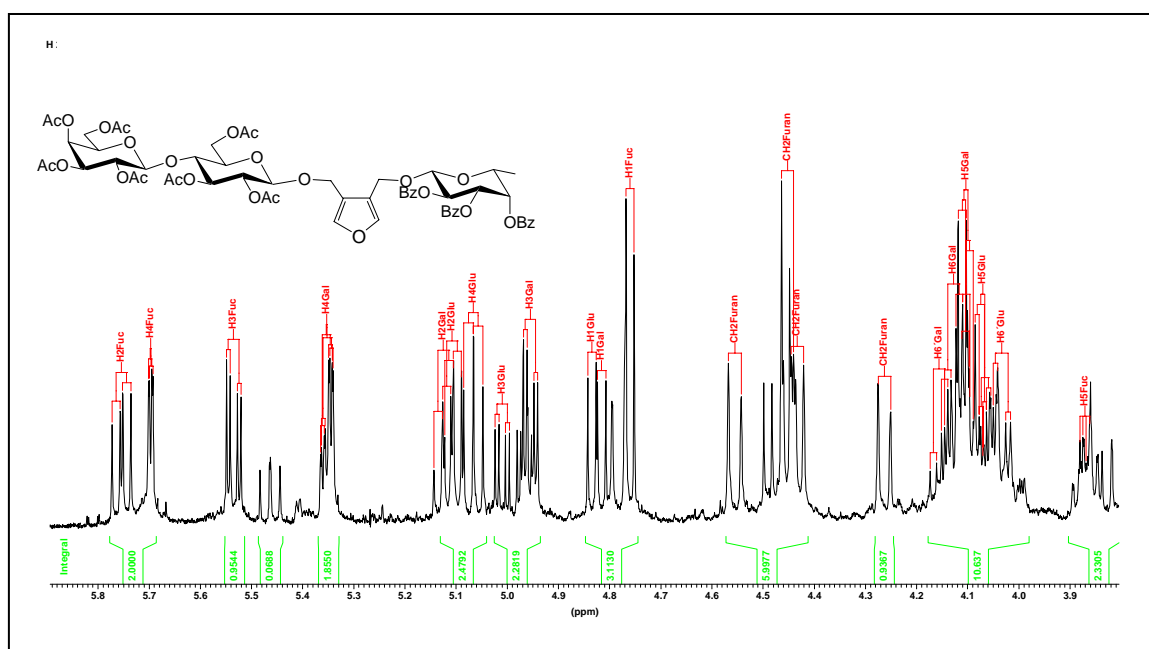


Abbildung 93

3-β-D-Galactopyranosyl(1→4)-β-D-glucopyranosyloxymethyl-4-β-L-fucopyranosyl-oxymethyl-furan (53)

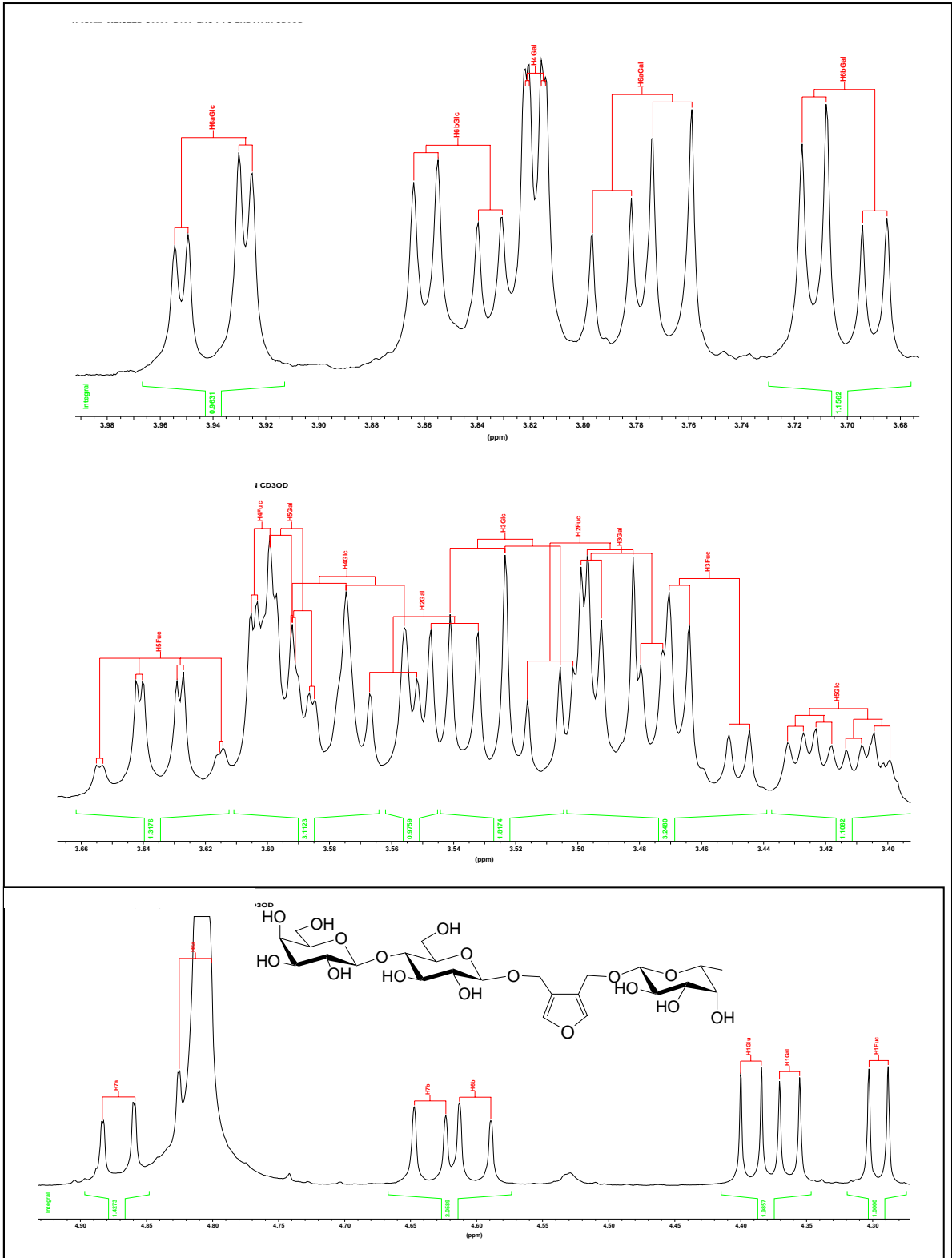


Abbildung 94

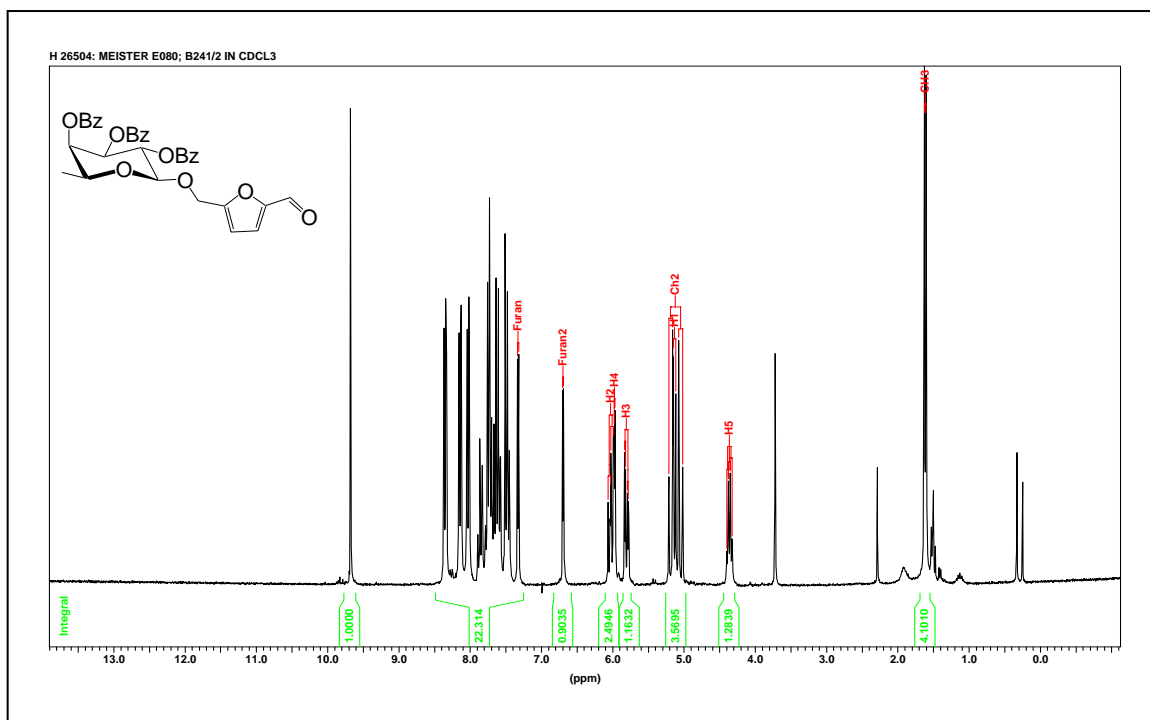
2,3,4-Tri-O-benzoyl- β -L-fucopyranosyl-oxymethyl-furfural (55)

Abbildung 95

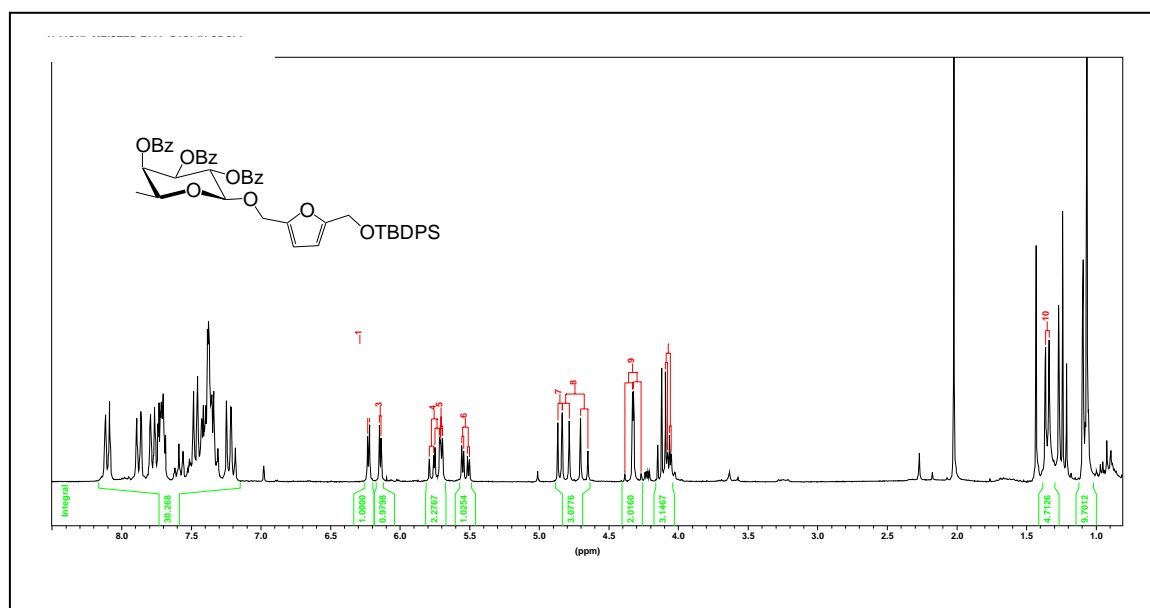
2-(2,3,4-Tri-O-benzoyl- β -L-fucopyranosyl-oxymethyl)-5-*t*-butyldiphenylsilyloxymethyl-furan (62)

Abbildung 96

2-β-L-Fucopyranosyl-oxymethyl-5-hydroxymethyl-furan (64)

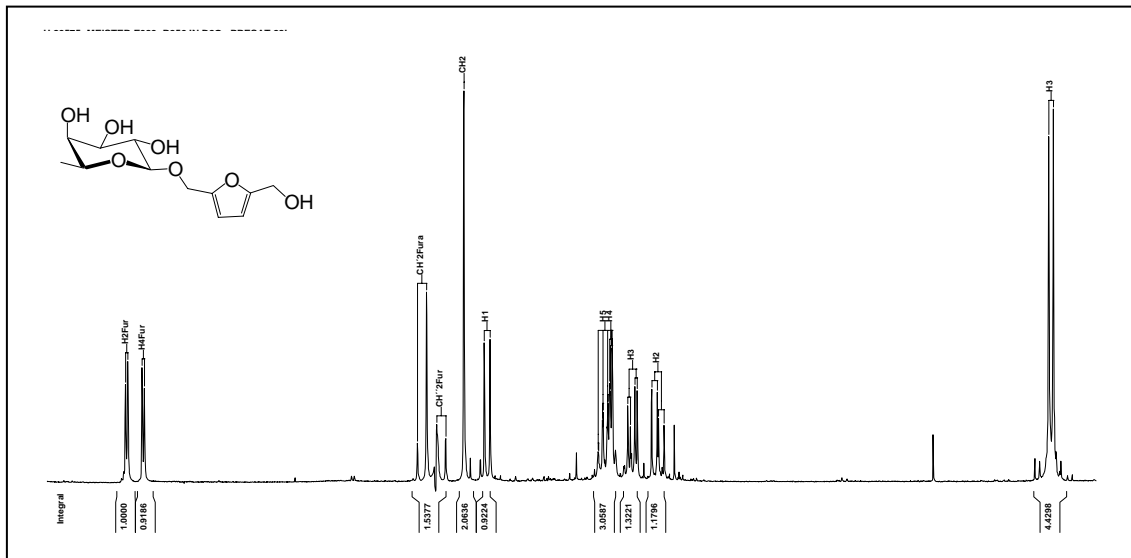


Abbildung 97

2-(2,3,4,6-Tetra-O-benzoyl-β-D-galactopyranosyloxymethyl)-5-(2,3,4-tri-O-benzoyl-β-L-fucopyranosyloxymethyl)-furan (65)

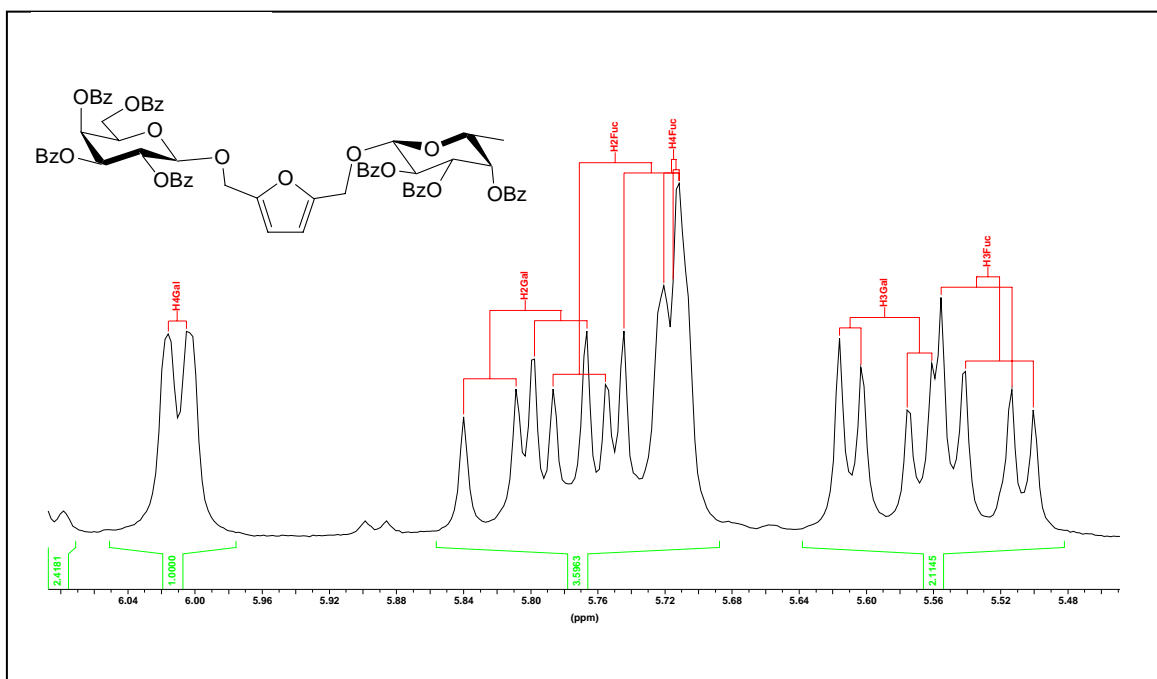


Abbildung 98

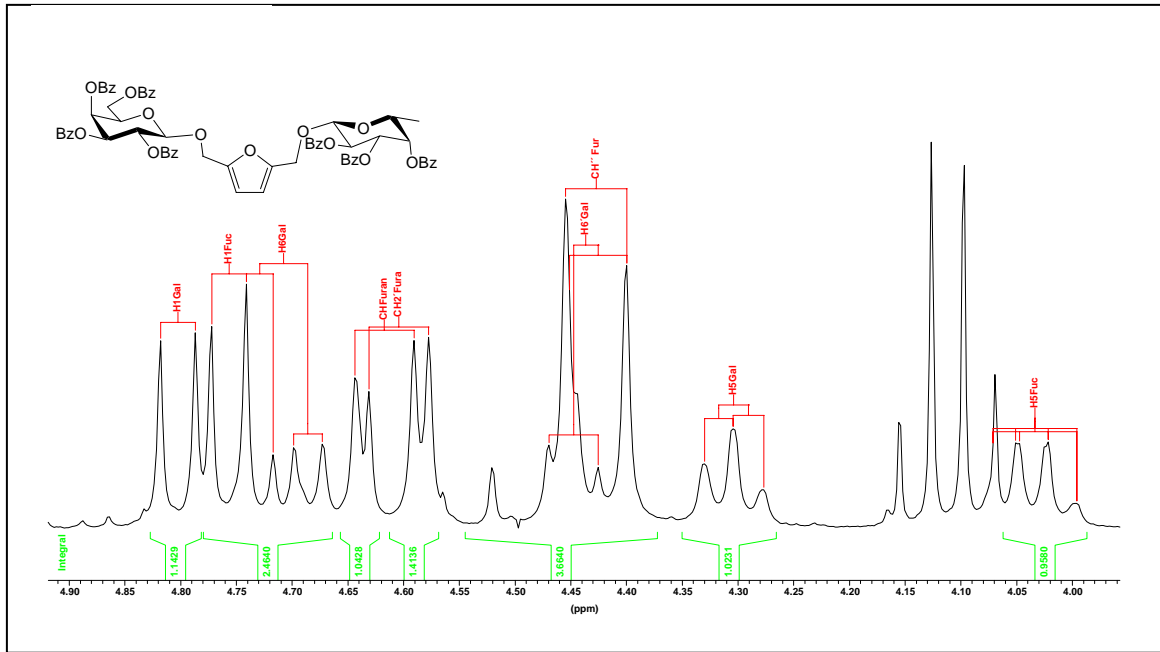


Abbildung 99

2-β-D-Galactopyranosyloxymethyl-5-β-L-fucopyranosyloxymethyl-furan (66)

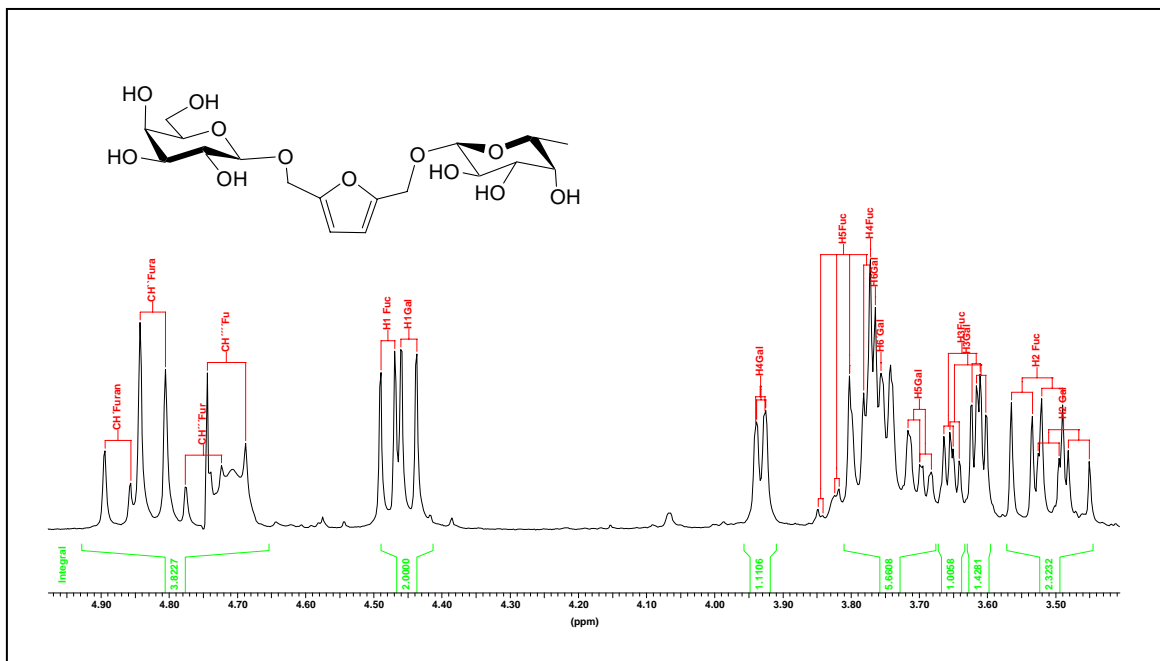


Abbildung 100

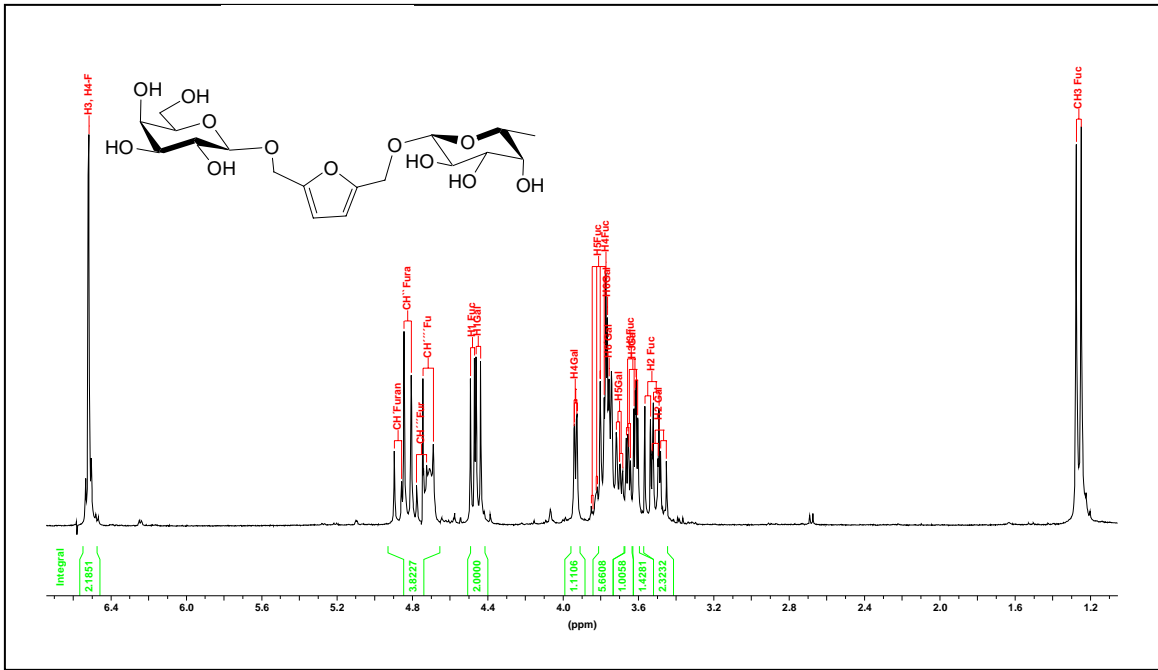


Abbildung 101

2-(β -D-galactopyranosyl(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl-oxymethyl)-5- β -L-fucopyranosyl-oxymethyl-furan (68)

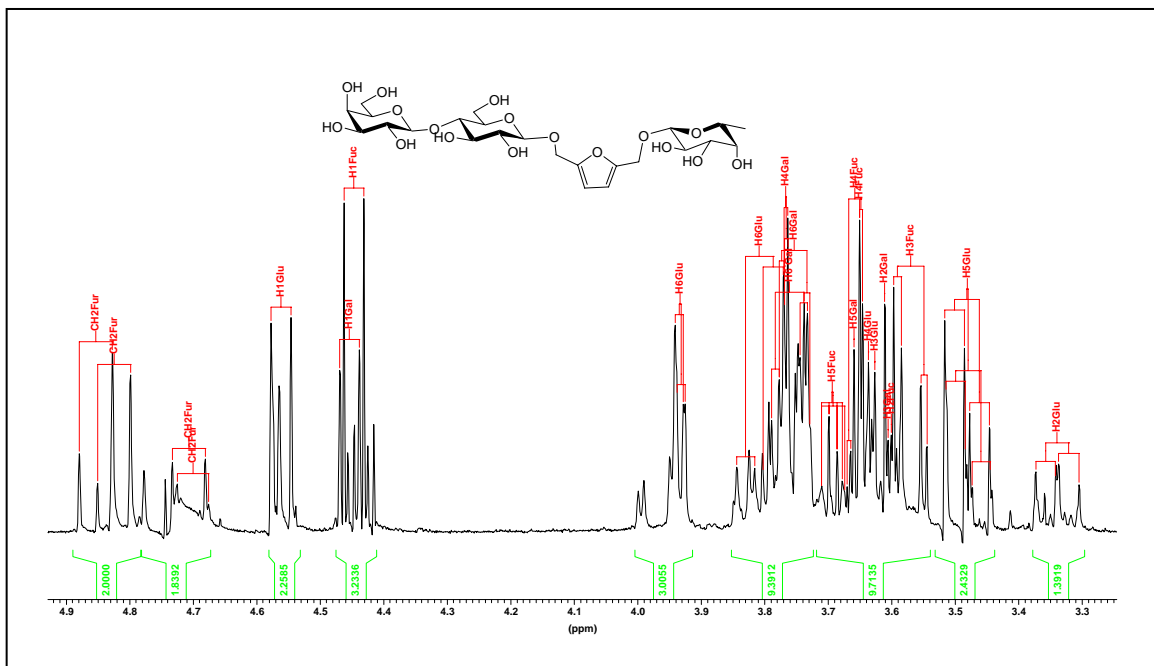


Abbildung 102

Methyl(5-acetamido-2,4,7,8,9-penta-O-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosyl)at (72)

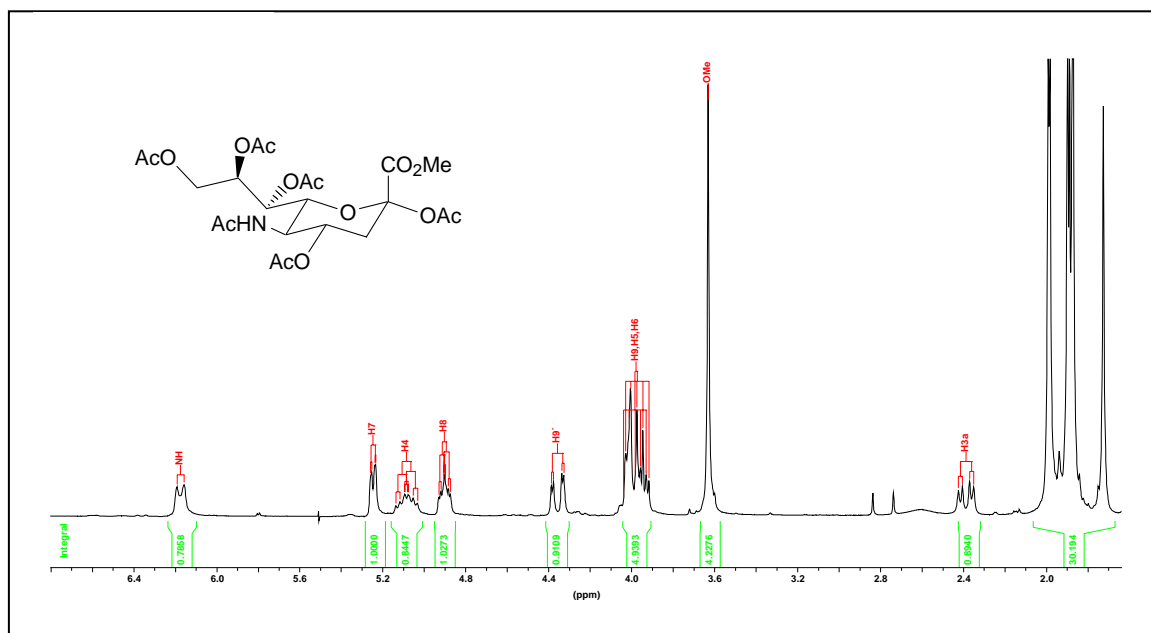


Abbildung 103

3-{[Methyl(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosyl)at]-oxymethyl}-4-(2,3,4-tri-O-benzoyl-β-L-fucopyranosyloxymethyl)-furan (75)

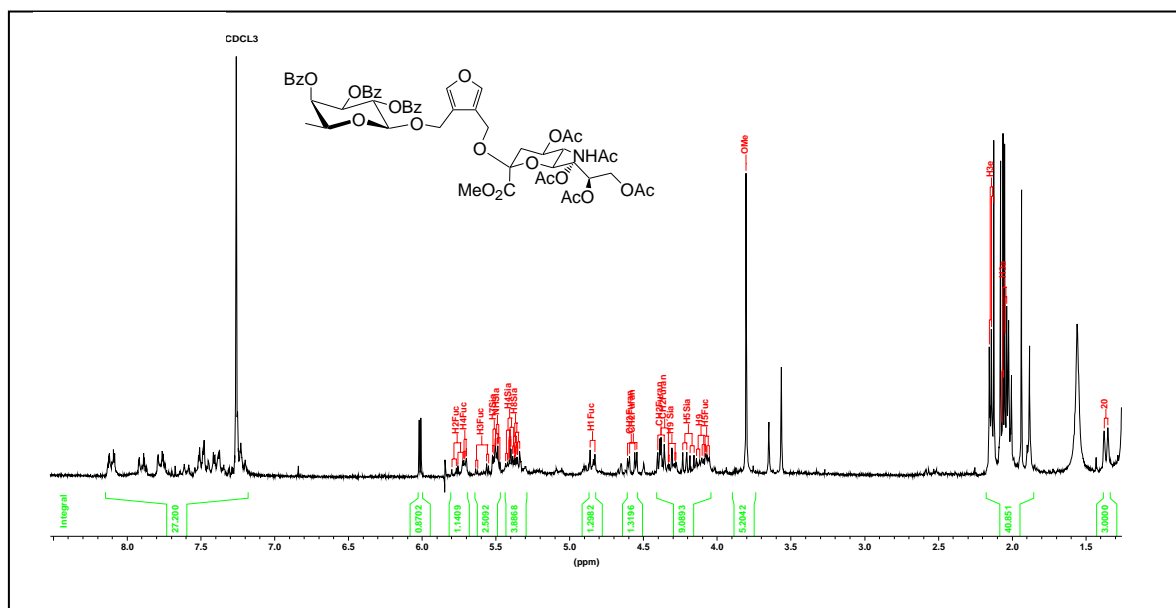


Abbildung 104

Methyl(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-2-O-methyl-D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosyl)onat (76)

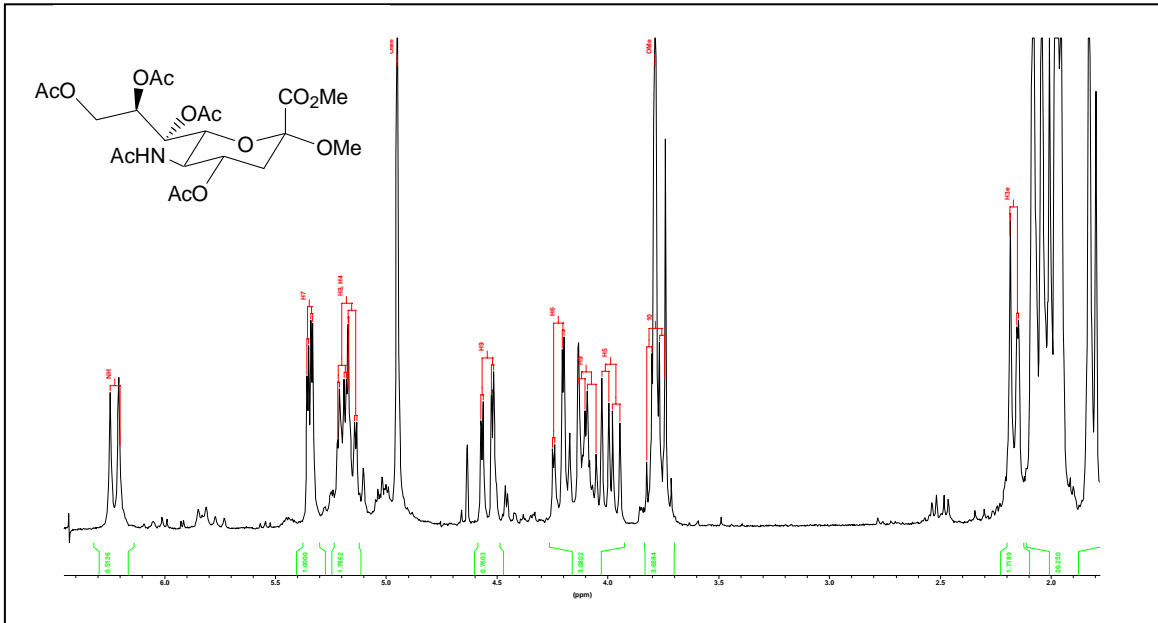


Abbildung 105

Methyl(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosyl)onat (77)

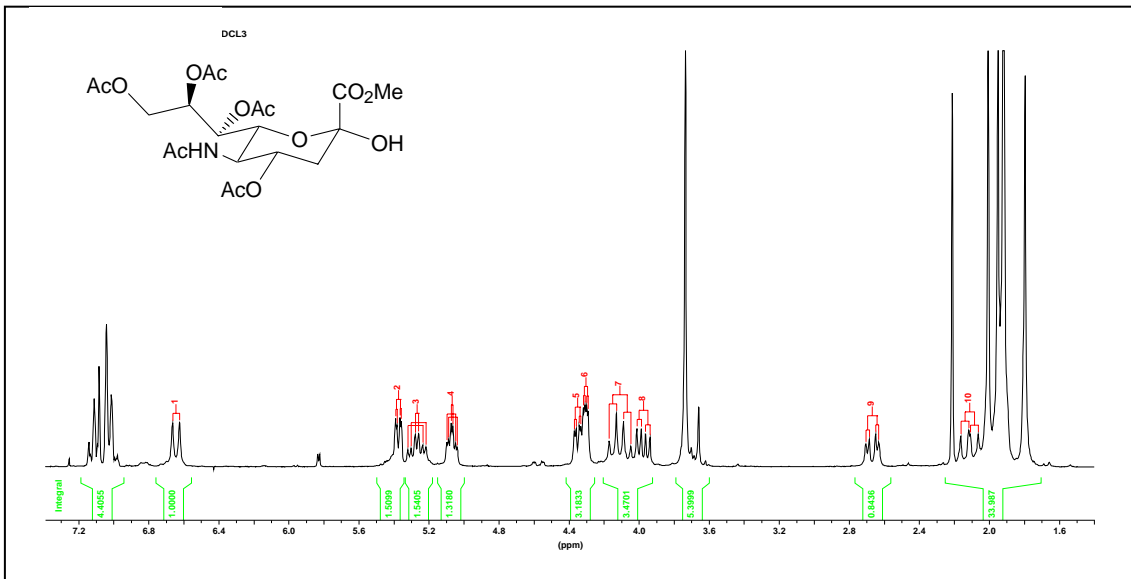


Abbildung 106

Methyl(5-acetamido-7,8,9-tri-O-acetyl-2,3,4,5-tetra-deoxy-2,4-dien-D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosonat (78)

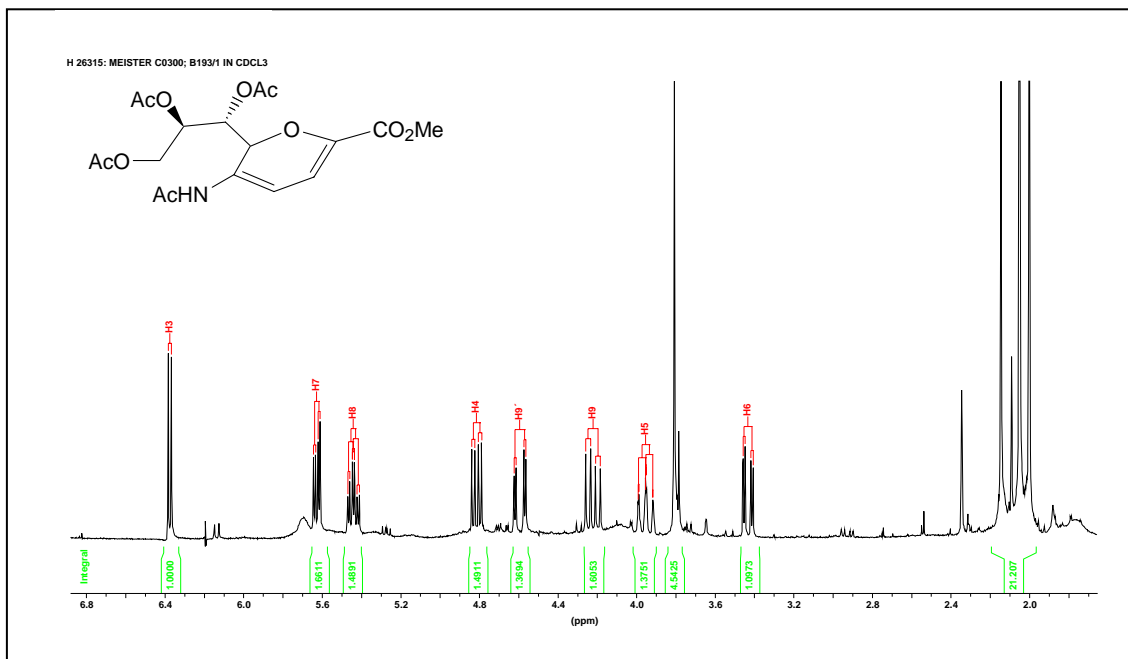


Abbildung 107

Methyl(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero-D-galacto-2-non-2-enulopyranosonat (79)

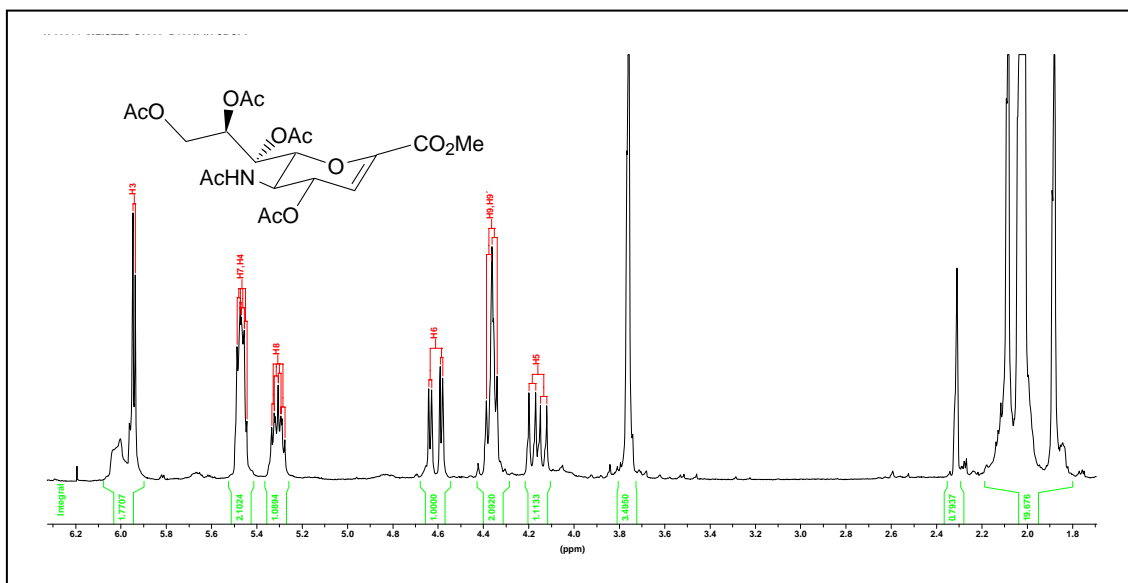


Abbildung 108

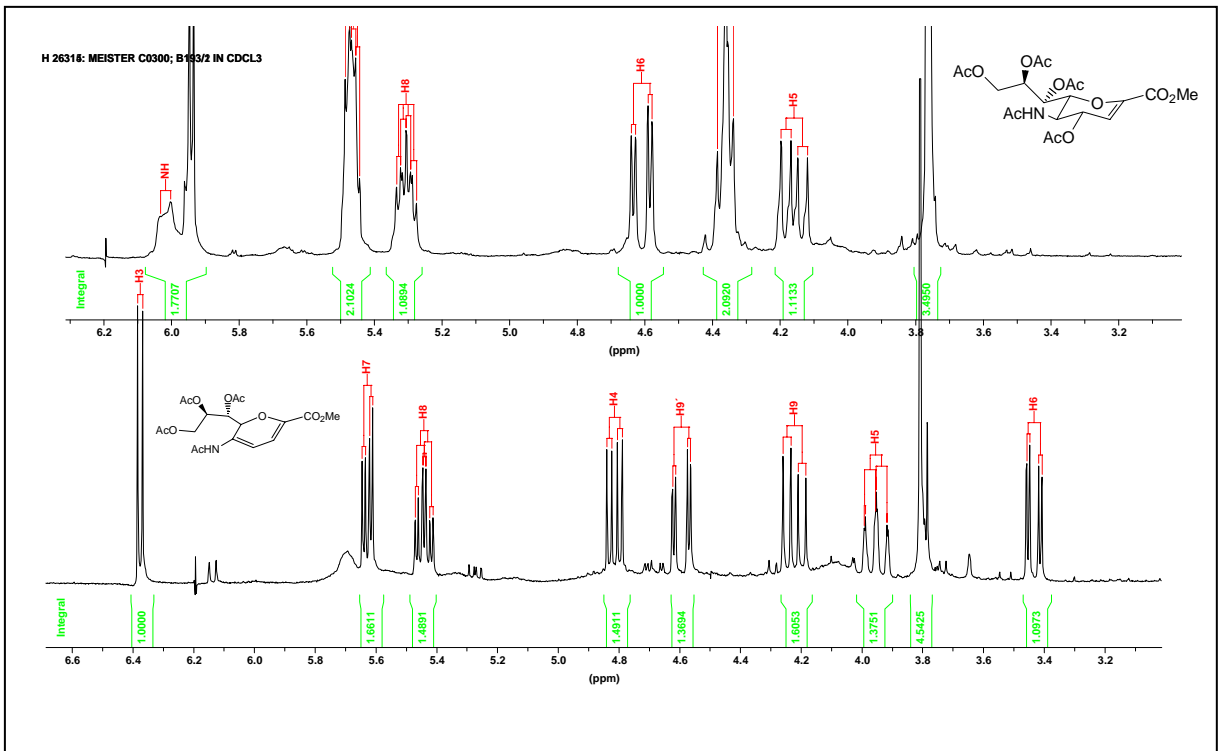


Abbildung 109

2-*[Methyl(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero-D-galacto-2-non-2-ulopyranosyl)at]-oxymethyl*}-5-hydroxymethyl-furan (**80**)

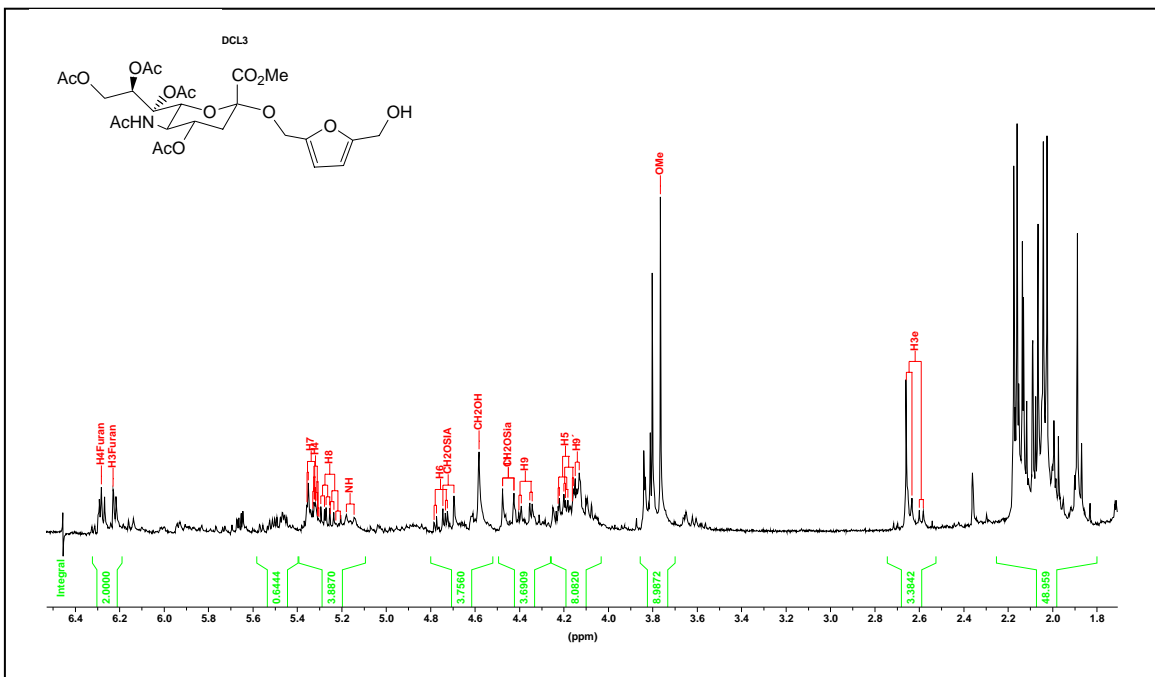


Abbildung 110

Bis-2,5-[Methyl(5-acetamido-4,7,8,9,tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero-D-galacto-2-non-2-ulopyranosyl)at]-oxymethyl-furan (81)

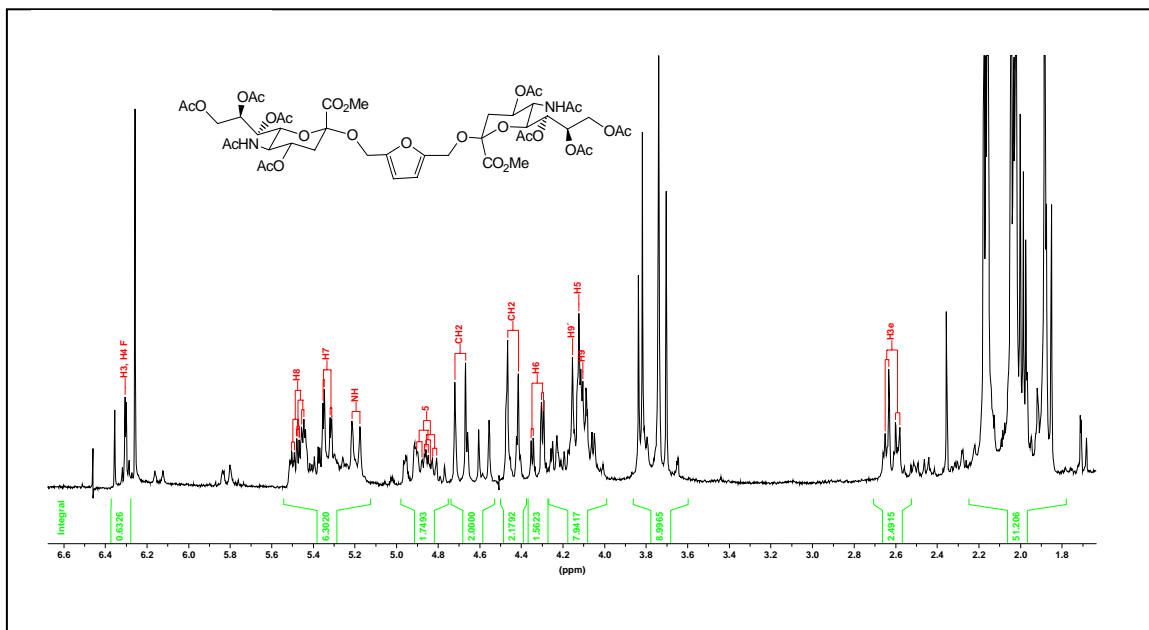


Abbildung 111

3-(Ethoxycarbonyl)-methyloxycarbonylmethyl-oxymethyl-4-(2,3,4-tri-O-benzoyl-β-L-fucopyranosyl-xymethyl)-furan (87)

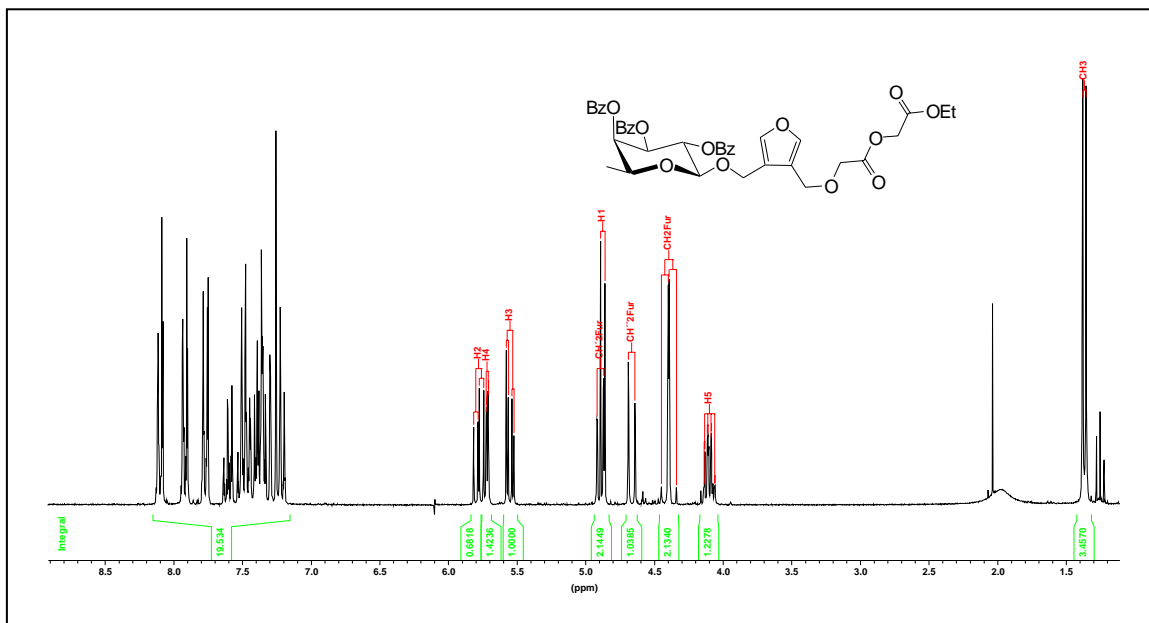


Abbildung 112

3-(Ethoxycarbonyl)methyloxymethyl-4-(2,3,4,6-tetra-O-benzoyl- β -D-galactopyranosyl-oxymethyl)-furan (**88**)

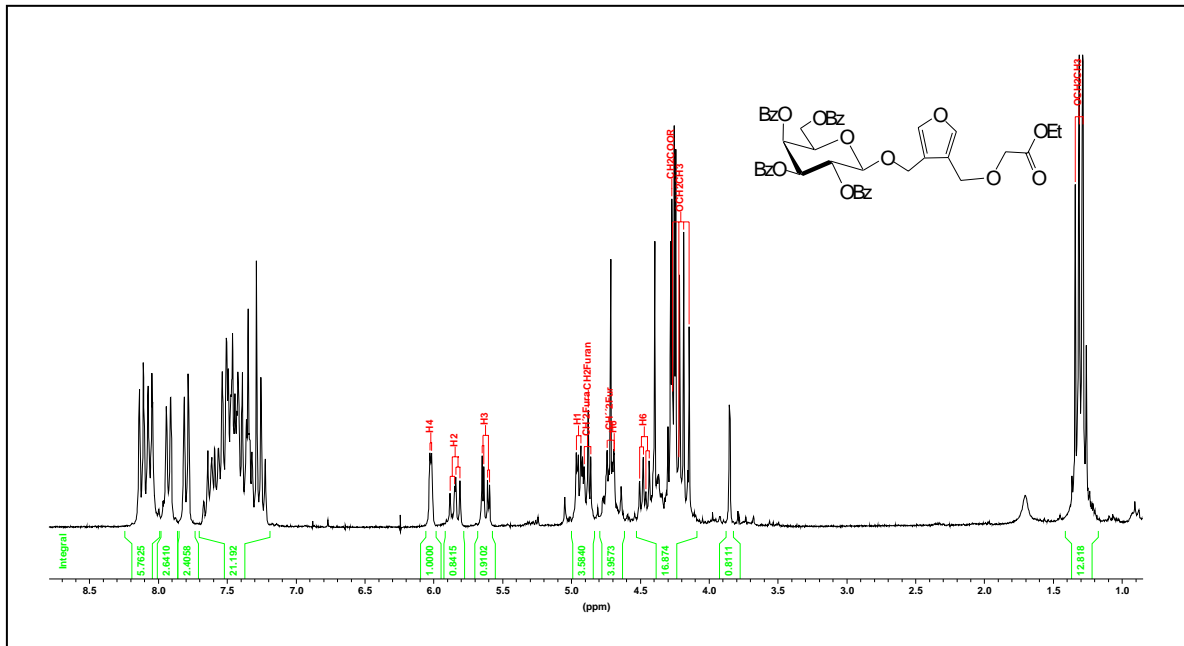


Abbildung 113

3-(Ethoxycarbonyl)methyloxycarbonylmethyl-oxymethyl-4-(2,3,4,6-tetra-O-benzoyl- β -D-galactopyranosyl-oxymethyl)-furan (**89**)

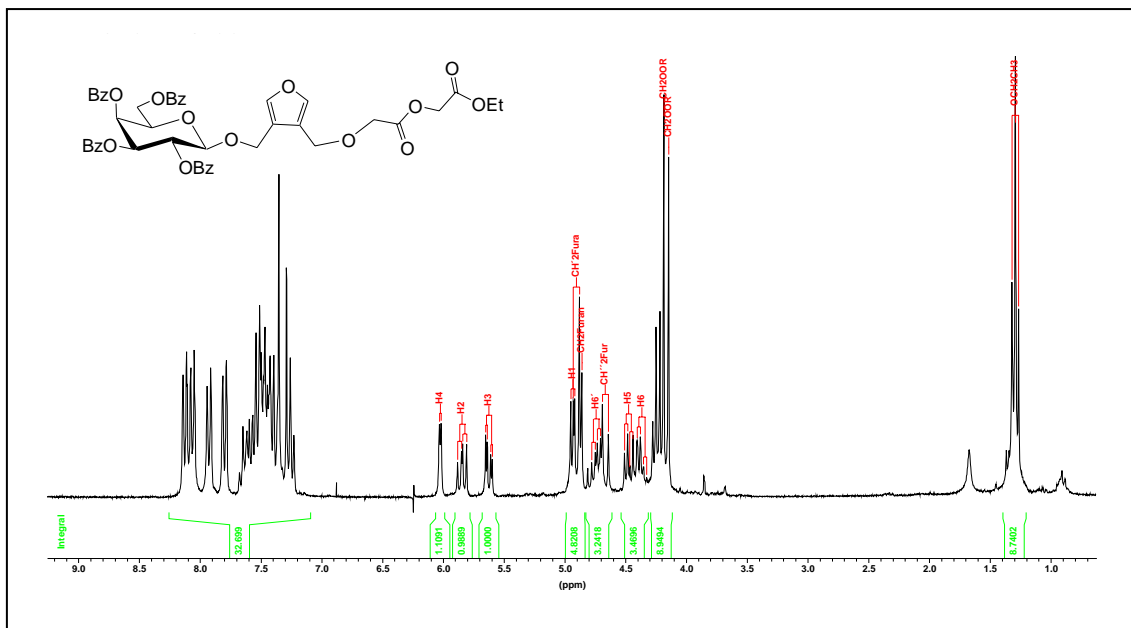


Abbildung 114

3-(2,3,4,6-Tetra-O-benzoyl- β -D-galactopyranosyl-oxymethyl)-4-sulfato-oxymethyl-furan (90)

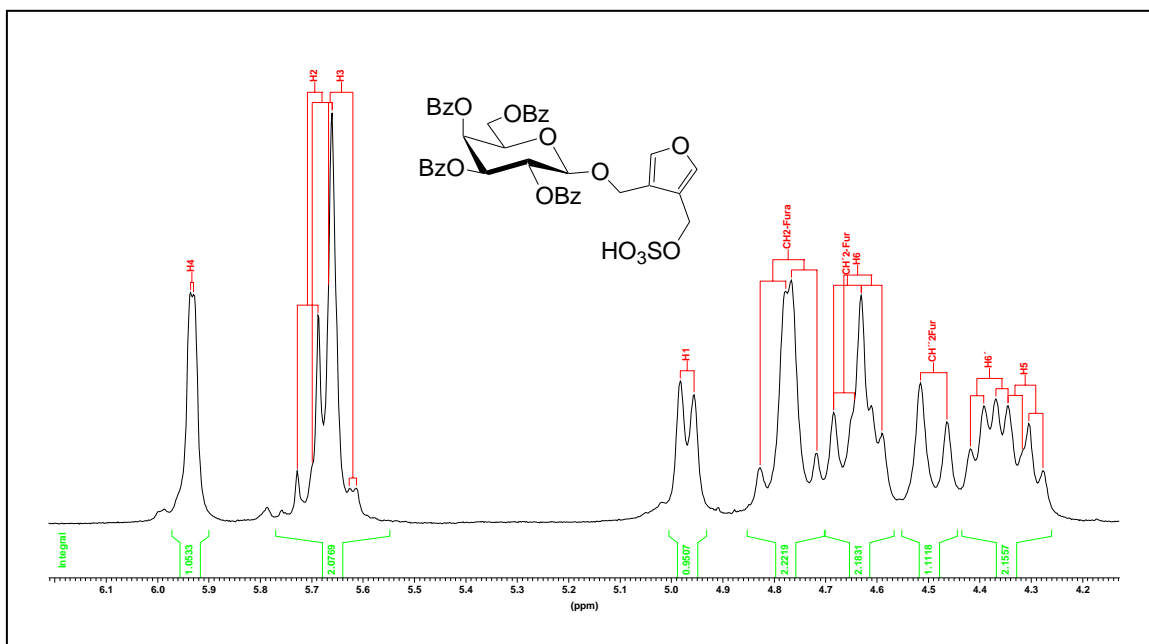


Abbildung 115

3- β -D-Galactopyranosyl-oxymethyl-4-sulfato-oxymethyl-furan (GSF) (91)

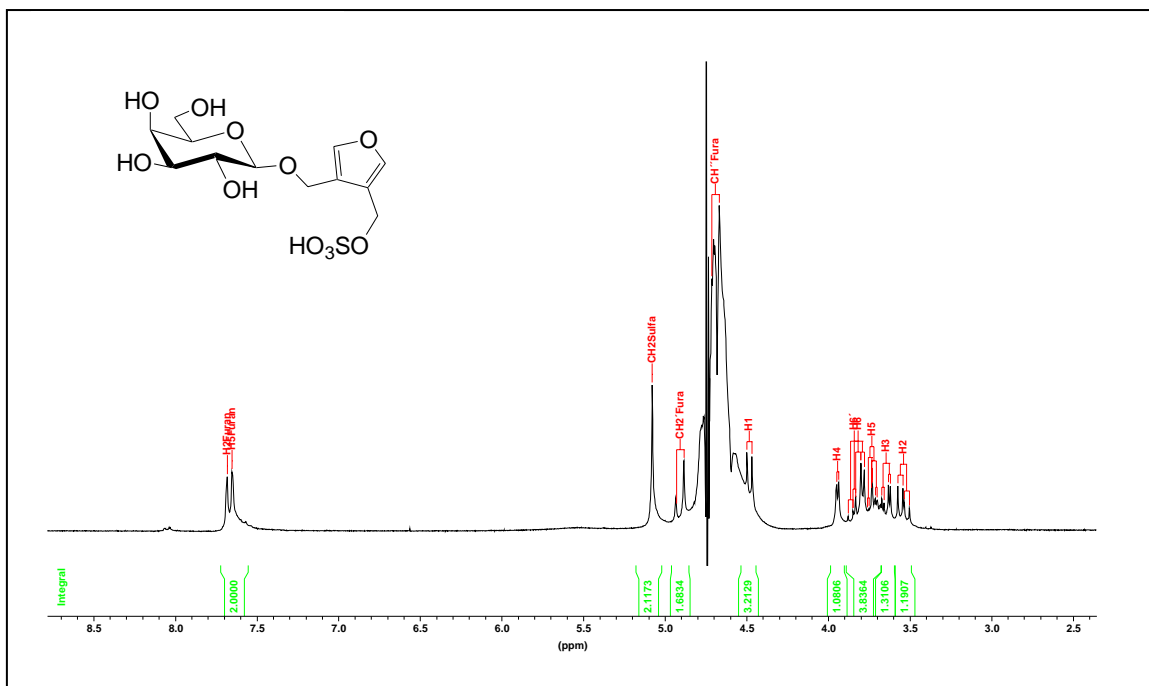


Abbildung 116

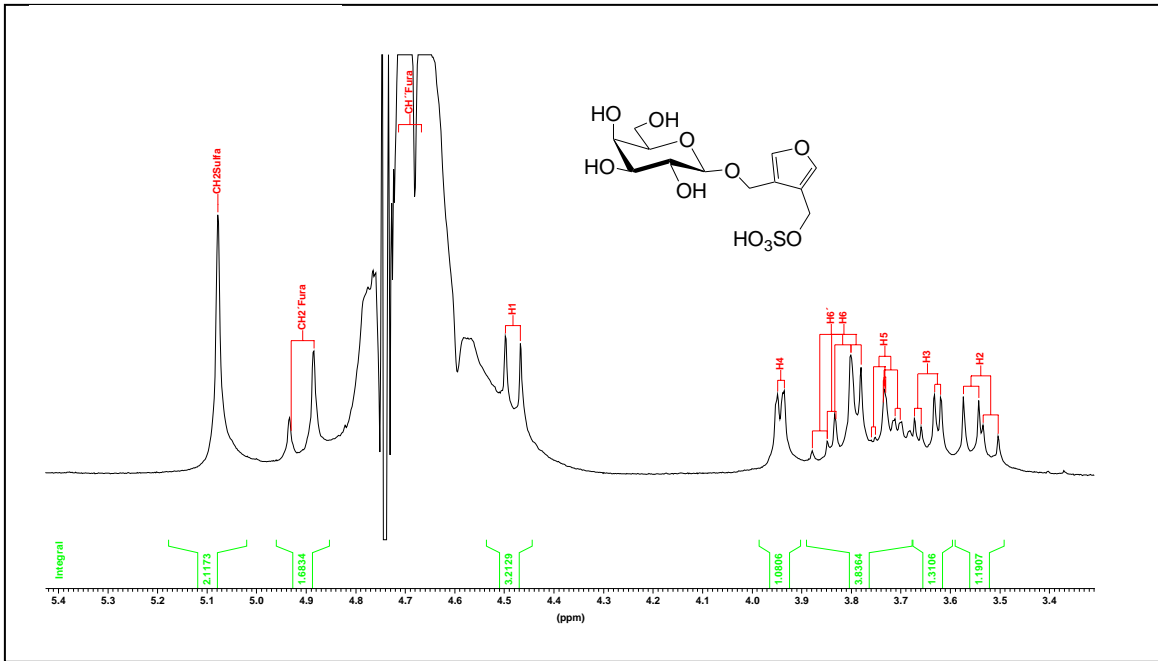


Abbildung 117

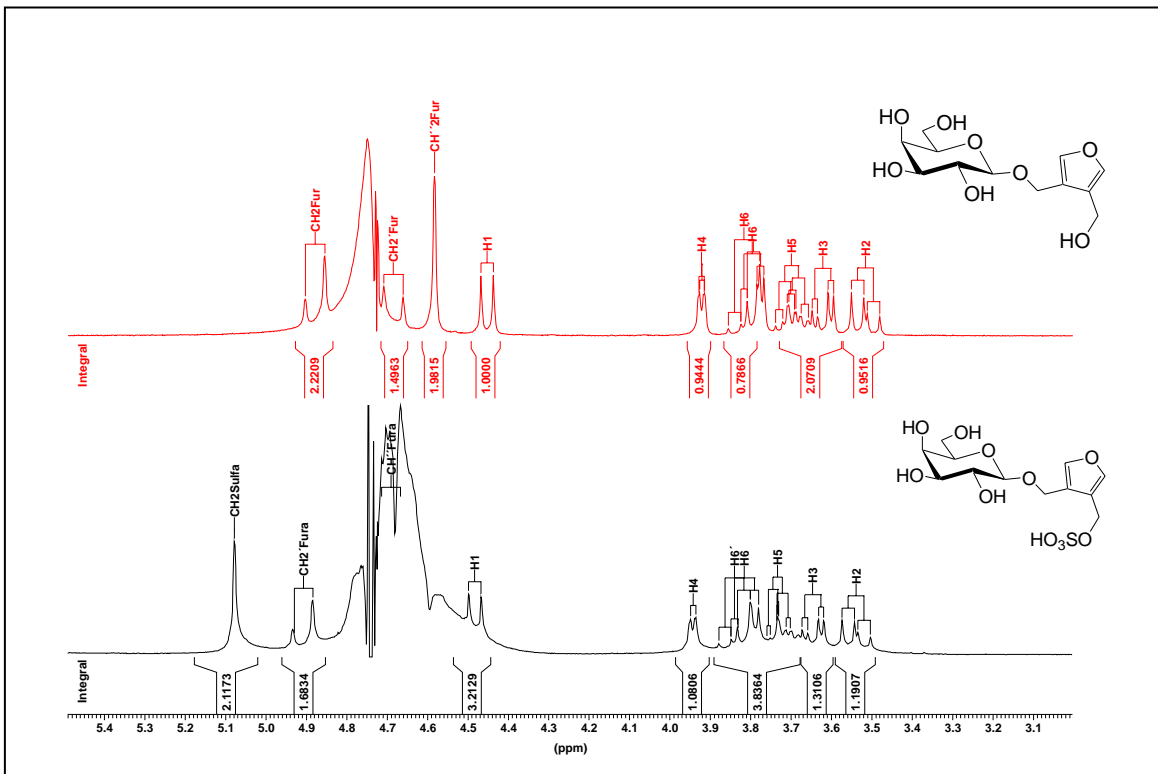


Abbildung 118

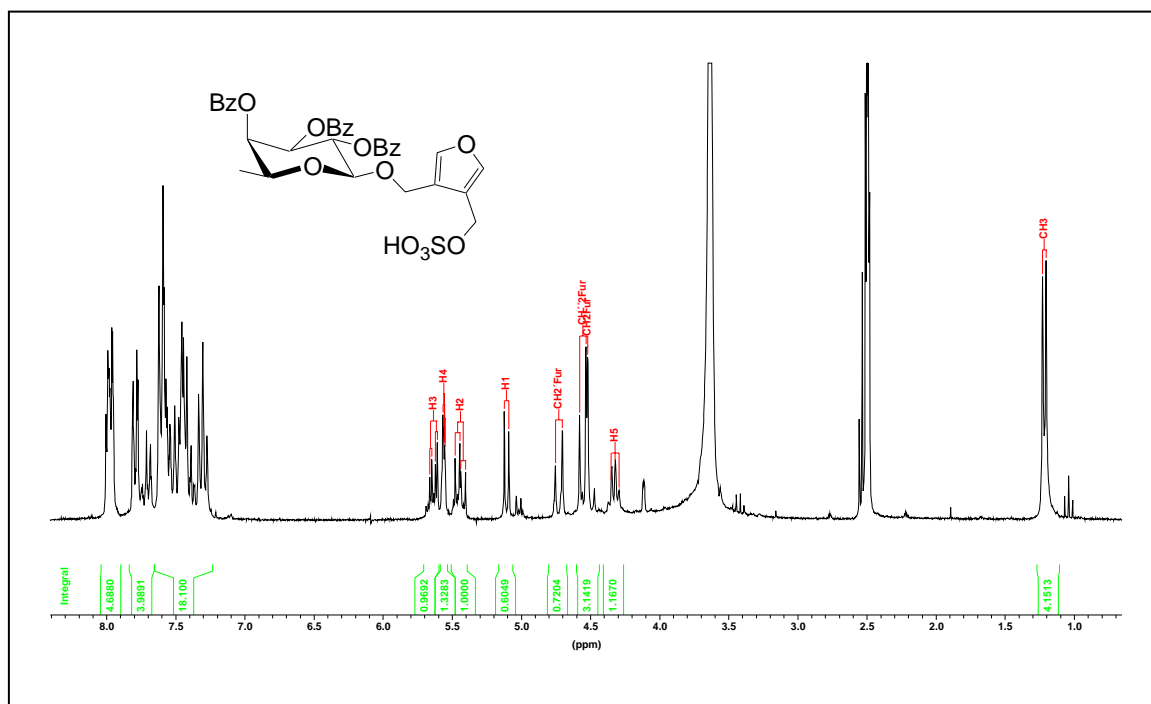
3-(2,3,4-Tri-O-benzoyl- β -L-fucopyranosyloxymethyl)-4-sulfato-oxymethyl-furan (**92**)

Abbildung 119

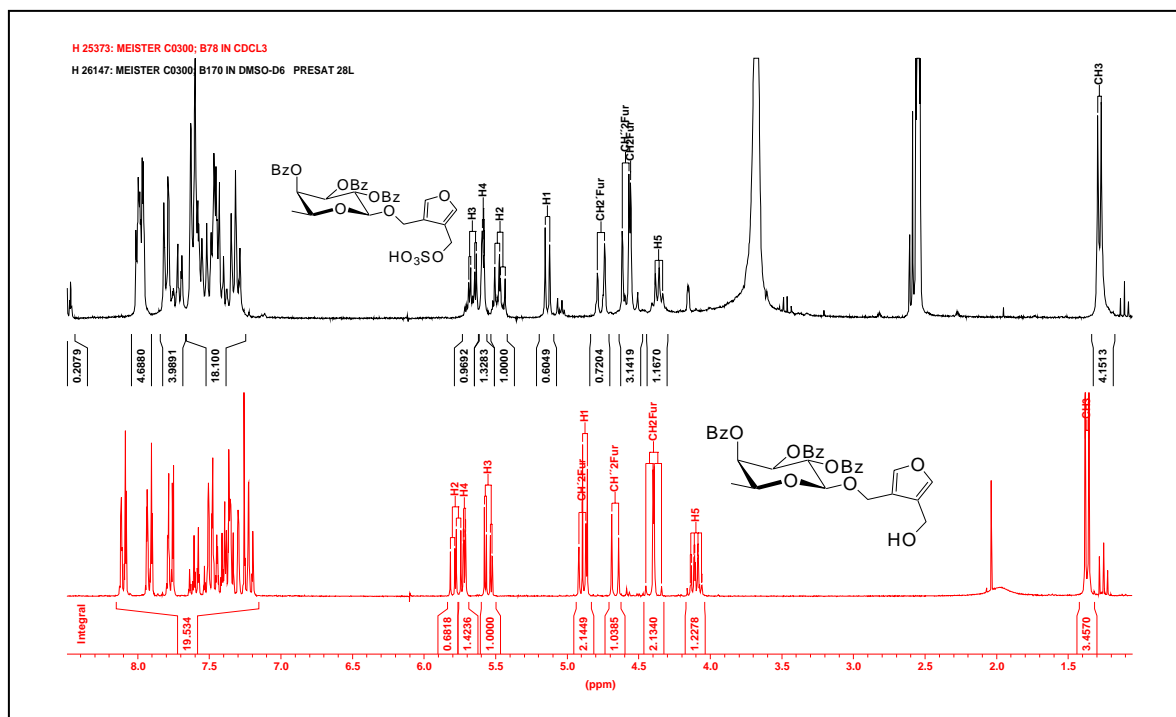


Abbildung 120

6 Bibliographie

6.1 Literaturverzeichnis:

1. Hughes,R.C. So what do your sugars do? *Glycoconjugate Journal* **17**, 567-575 (2000).
2. Lindhorst,T.K. Structure and function of carbohydrates. *Chemie In Unserer Zeit* **34**, 38-52 (2000).
3. Wong,C.H. Carbohydrate-based Drug Discovery. (Wiley-VCH, Weinheim; 2003).
4. Rüdiger,H. & Gabius,H. Zucker: Bausteine des zweiten biologischen Codesystems. *BIOforum* **3/2001**, 144-148 (1 A.D.).
5. Lis,H. & Sharon,N. Carbohydrate-Specific Proteins That Mediate Cellular Recognition.
6. Roseman,S. Reflections on glycobiology. *J. Biol. Chem.* **276**, 41527-41542 (2002).
7. Lehninger,A.L. Prinzipien der Biochemie. (de Gruyter,1987).
8. Rudd,P.M., Elliott T., Crosswell P., Wilson I.A., & Dwek R.A. Glycosylation and the immune system. *Science* **291**, 2370-2376 (200).
9. Angata,T. & Varki,A. Chemical Diversity in the Sialic Acids and Related α -Keto Acids: An evolutionary Perspective. *Chemical Reviews* (2001).
10. Karlsson,K.A. Microbial recognition of target-cell glycoconjugates. *Current Opinion in Structural Biology* **5**, 622-635 (1995).
11. Vimr,E. & Lichtensteiger,C. To sialylate or not to sialylate: that is the question. *Trends in Microbiology* **10**, 254-257 (2002).
12. Schauer,R. Achievements and challenges of sialic acid research. *Glycoconjugate Journal* **17**, 485-499 (2000).
13. Malykh,Y.N., Schauer,R., & Shaw,L. N-Glycolylneuraminic acid in human tumours. *Biochimie* **83**, 623-634 (2001).
14. Varki,A. N-glycolylneuraminic acid deficiency in humans. *Biochimie* **83**, 615-622 (2001).
15. Brinkman-Van der Linden,E.C.M. & Varki,A. New aspects of siglec binding specificities, including the significance of fucosylation and of the sialyl-Tn epitope. *J. Biol. Chem.* **275**, 8625-8632 (2000).
16. Crocker,P.R. & Varki,A. Siglecs, sialic acids and innate immunity. *Trends In Immunology* **22**, 337-342 (2001).

17. Crocker,P.R. Siglecs: sialic-acid-binding immunoglobulin-like lectins in cell-cell interactions and signalling. *Current Opinion in Structural Biology* **12**, 609-615 (2002).
18. Kelm,S., Schauer,R., & Crocker,P.R. The Sialoadhesins: A family of sialic acid-dependent cellular recognition molecules within the immunoglobulin superfamily. *Glycoconjugate Journal* **13**, 913-926 (1996).
19. Crocker,P.R., Hartnell,A., Munday,J., & Nath,D. The potential role of sialoadhesin as a macrophage recognition molecule in health and disease. *Glycoconjugate Journal* **14**, 601-609 (1997).
20. Crocker,P.R. & Varki,A. TI - Siglecs in the immune system.
21. Etzioni,A. Adhesion molecules: Their role in health and disease. *Pediatric Research* **39**, 191-198 (1996).
22. Nangia-Makker,P., Baccarini,S., & Raz,A. Carbohydrate-recognition and angiogenesis. *Cancer And Metastasis Reviews* **19**, 51-57 (2000).
23. Crockett-Torabi,E. Selectins and mechanisms of signal transduction. *Journal Of Leukocyte Biology* **63**, 1-14 (1998).
24. Mcever,R.P. Selectin-carbohydrate interactions during inflammation and metastasis. *Glycoconjugate Journal* **14**, 585-591 (1997).
25. Sanjuan,N., Porras,A., Otero,J., & Perazzo,S. Expression of major capsid protein VP-1 in the absence of viral particles in thymomas induced by murine polyomavirus. *Journal Of Virology* **75**, 2891-2899 (2002).
26. Hakomori,S. Glycosylation defining cancer malignancy: New wine in an old bottle. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America* **99**, 10231-10233 (2002).
27. Kim,Y.J. & Varki,A. Perspectives on the significance of altered glycosylation of glycoproteins in cancer. *Glycoconjugate Journal* **14**, 569-576 (1997).
28. Nakagoe,T., Fukushima,K., Tanaka,K., Sawai,T., Tsuji,T., Jibiki,M., Nanashima,A., Yamaguchi,H., Yasutake,T., Ayabe,H., & Arisawa,K. Evaluation of sialyl Lewis(a), sialyl Lewis(x), and sialyl Tn antigens expression levels as predictors of recurrence after curative surgery in node-negative colorectal cancer patients. *Journal Of Experimental & Clinical Cancer Research* **21**, 107-113 (2002).
29. Bruses,J.L. & Rutishauser,U. Roles, regulation, and mechanism of polysialic acid function during neural development. *Biochimie* **83**, 635-643 (2001).
30. Roth,J. Cellular sialoglycoconjugates: A histochemical perspective. *Histochemical Journal* **25**, 687-710 (1993).
31. Hakomori,S., Numahata,K., Satoh,M., Handa,K., Saito,S., Ohyama,C., Ito,H., & Orikasa,S. Sialosyl-Lex expression defines invasive and metastatic properties of bladder carcinoma. *Cancer* **94**, 673-685 (2002).

-
32. Dabelsteen,E. Cell surface carbohydrates as prognostic markers in human carcinomas. *Journal of Pathology* **179**, 358-369 (1996).
 33. Mulshine,J.L. & Scott,F. Molecular markers in early cancer detection: New screening tools. *Chest* **107**, 280S-286S (1995).
 34. Suresh,M.R. Classification of tumor markers. *Anticancer Research* **16**, 2273-2277 (1996).
 35. Erbar,Dr.P. Onkologie. (Schattauer, Stuttgart; 2000).
 36. Carrilho,C., Cantel,M., Gouveia,P., & David,L. Simple mucin-type carbohydrate antigens (Tn, sialosyl-Tn, T and sialosyl-T) and gp 230 mucin-like glycoprotein are candidate markers for neoplastic transformation of the human cervix. *Virchows Archiv-An International Journal Of Pathology* **437**, 173-179 (2000).
 37. Gorelik,E., Galili,U., & Raz,A. On the role of cell surface carbohydrates and their binding proteins (lectins) in tumor metastasis. *Cancer And Metastasis Reviews* **20**, 245 (2001).
 38. Kannagi,R. Carbohydrate-mediated cell adhesion involved in hematogenous metastasis of cancer. *Glycoconjugate Journal* **14**, 577-584 (1997).
 39. Meyer,T. & Hart,I.R. Mechansims of Tumor Metastasis. *European Journal of Cancer* **34**, 214-221 (1998).
 40. Sears P,W.C. Toward automated synthesis of oligosaccharides and glycoproteins. *Science* **291**, 2344-2350 (2001).
 41. Seeberger,P.H. Solid Support Oligosaccharide Synthesis and Combinatorial Carbohydrate Libraries. (Wiley Interscience, New York; 2001).
 42. Zou,W., Li,J.J., Larocque,S., & Jennings,H.J. Construction of multivalent sialyl Le(x) from the type Ia group B Streptococcus capsular polysaccharide. *Carbohydrate Research* **332**, 249-255 (2001).
 43. Ernst,B., Hart,W.G., & Sinay,P. Carbohydrates in Chemistry and Biology. (Wiley-VCH,2000).
 44. Mammen,M., Choi,S.K., & Whitesides,G.M. Generation and in situ evaluation of libraries of polyacrylicacid presenting sialosides as side shains as polyvalent inhibitors of Influenza-mediated hemagglutination. *Angewandte Chemie-International Edition* **119**, 4103-4111 (1997).
 45. Kissling,L.L., Gestwicki,J.E., & Strong,L.S. Synthetic multivalent ligands in the exploration of cell-surface interactions. *Current Opinion in Chemical Biology* **4**, 696-703 (2000).
 46. Roy,R. Syntheses and some applications of chemically defined multivalent glycoconjugates. *Current Opinion in Structural Biology* **6**, 692-702 (1996).

-
47. M.Mammen,S.K.C.G.M.W. Generation and in situ evaluation of libraries of polyacrylicacid presenting sialosides as side chains as polyvalent inhibitors of Influenza-mediated hemagglutination. *Angewandte Chemie-International Edition* **119**, 4103-4111 (1997).
 48. Mulvey,G., Kitov,P.I., Marcato,P., Bundle,D.R., & Armstrong,G.D. Glycan mimicry as a basis for novel anti-infective drugs. *Biochimie* **83**, 841-847 (2001).
 49. Dubber,M. & Lindhorst,T.K. Synthesis of octopus glycosides: core molecules for the construction of glycoclusters and carbohydrate-centered dendrimers. *Carbohydrate Research* **310**, 35-41 (1998).
 50. De Meo,C., Demchenko,A.V., & Boons,G.J. A Stereoselective approach to the synthesis of α - sialosides. *Journal Of Organic Chemistry* 5490-5497 (2001).
 51. Roy,R. & Laferriere,A. Synthesis of proteinconjugates and analoges od N-acetylneutaminic acid. *Canadian Journal of Chemistry* **68**, 20452054-2054 (1990).
 52. Lundquist JJ,T.J. The cluster glycoside effect. *Chemical Reviews* **102**, 555-578 (2002).
 53. Bovin,N.V. Polyacrylamide-based glycoconjugates as tools in glycobiology. *Glycoconjugate Journal* **15**, 431-446 (1998).
 54. Reuter,J.D., Myc,A., Hayes,M.M., Gan,Z.H., Roy,R., Qin,D.J., Yin,R., Piehler,L.T., Esfand,R., Tomalia,D.A., & Baker,J.R. Inhibition of viral adhesion and infection by sialic-acid-conjugated dendritic polymers. *Bioconjugate Chemistry* **10**, 271-278 (1999).
 55. Fazli,A., Bradley,S.J., Kiefel,M.J., Jolly,C., Holmes,I.H., & Itzstein,M.v. Synthesis and biological Evaluation of Sialylmimetics as Rotavirus Inhibitors . *Journal of Medicinal Chemistry* **44**, 3292-3301 (2001).
 56. Kiefel,M.J. & Itzstein,M.v. Recent advances in the synthesis of sialic acid derivatives and sialylmimetics as biological probes. *Chemical Reviews* (2001).
 57. Dreitlein,W.B., Maratos,J., & Brocavich,J. Zanamivir and oseltamivir: two new options for the treatment and prevention of influenza. *Clinical Therapeutics* **23**, 327-355 (2001).
 58. Hasegawa A, Nagahama T, Ohki H, & Hotta K, Synthetic studies on sialoglycoconjugates 25. *Journal of Carbohydrate Chemistry* **10**, 493-498 (1991).
 59. Somers,W.S., Tang,J., & Shaw,G.D. Insights into the Molecular Basis of Leukocyte tethering and rolling revealed by structures of P- and E-selectin bound to sLex and PSGL-1. *Cell* **103**, 467-479 (2000).
 60. Slee,D.H., Romano,S.J., Yu,J.H., Nguyen,T.N., John,J.K., Raheja,N.K., Axe,F.U., Jones,T.K., & Ripka,W.C. Development of potent non-carbohydrate imidazole-based small molecule selectin inhibitors with antiinflammatory activity. *Journal of Medicinal Chemistry* **44**, 2094-2107 (2001).

-
61. Banteli,R., Herold,P., Bruns,C., Patton,J.T., Magnani,J.L., & Thoma,G. Potent E-selectin antagonists. *Helvetica Chimica Acta* **83**, 2893-2907 (2000).
 62. Kaila,N., Thomas,B.E., Thakker,P., Alvarez,J.C., Camphausen,R.T., & Crommie,D. Design and synthesis of sialyl Lewis x mimics as E-selectin inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **11**, 151-155 (2001).
 63. Thoma,G., Magnani,J.L., & Patton,J.T. Synthesis and biological evaluation of a sialyl Lewis X mimic with significantly improved E-selectin inhibition. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **11**, 923-925 (2001).
 64. Marinier,A., Martel,A., Bachand,C., Plamondon,S., Turmel,B., Daris,J.P., Banville,J., Lapointe,P., Ouellet,C., Dextraze,P., Menard,M., Wright,J.J.K., Alford,J., Lee,D., Stanley,P., Nair,X., Todderud,G., & Tramposch,K.M. Novel mimics of sialyl Lewis X; design, synthesis and biological activity of a series of 2- and 3-malonate substituted galactoconjugates. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **9**, 1395-1427 (2001).
 65. Koeller,K.M. & Wong,C.H. Chemoenzymatic synthesis of sialyl-trimeric-Lewis x. *Chemistry* **6**, 1243-1251 (2000).
 66. Lin,C.C., Shimazaki,M., Heck,M.P., Aoki,S., Wang,R., Kimura,T., Ritzen,H., Takayama,S., Wu,S.H., WeitzSchmidt,G., & Wong,C.H. Synthesis of sialyl Lewis X mimetics and related structures using the glycosyl phosphite methodology and evaluation of E- selectin inhibition. *Journal Of The American Chemical Society* **118**, 6826-6840 (1996).
 67. Thoma,G., Kinzy,W., Bruns,C., Patton,J.T., Magnani,J.L., & Banteli,R. Synthesis and biological evaluation of a potent E-selectin antagonist. *Journal of Medicinal Chemistry* **42**, 4909-4913 (1999).
 68. Wang,R. & Wong,C.H. Synthesis of sialyl Lewis X mimetics: Use of O-alpha-fucosyl- (1R, 2R)-2-aminocyclohexanol as core structure. *Tetrahedron Letters* **37**, 5427-5430 (1996).
 69. Schmidt,R.R. & Kinzy,W. Anomeric-oxygen activation for glycoside synthesis: the trichloroacetimidate method. *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry* **50**, 21-123 (1994).
 70. Ernst,B., Hart G.W., & Sinay,P. Carbohydrates in Chemistry and Biology. (Wiley-VCH,2000).
 71. Schmidt RR, Castro-Palomino,J., & Retz Oliver New aspects on glycoside bond formation. *PURE AND APPLIED CHEMISTRY* **71**, 729-744 (1999).
 72. DeNinno MP The Synthesis and Glycosidation od N-Acetylneuraminic Acid. *Synthesis* 583-593 (1991).
 73. Hasegawa A, Murase T, Kiso M, & Ishida H A facile regio and stereo selective synthesis of α -glycosides od N-Acetylneuraminic acid. *Carbohydrate Research* **184**, c1-c4 (1988).

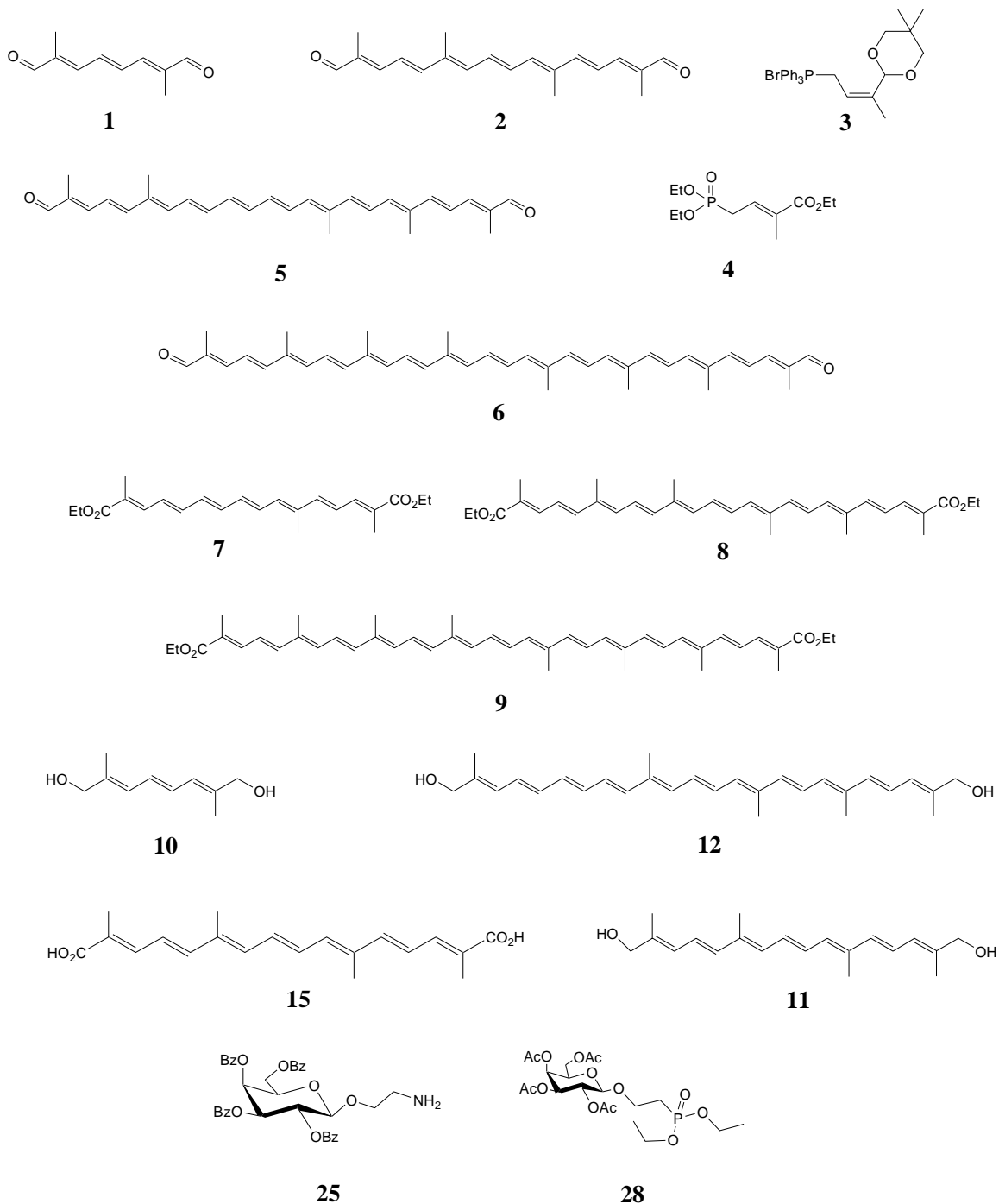
-
74. Sinay,P. & Marra,A. A novel stereoselective synthesis of N-acetyl- α -neuraminosyl-galactose disaccharide derivatives, using anomeric s- glycosyl xantates. *Carbohydrate Research* **195**, 303-308 (1990).
 75. Toepfer,A. & Schmidt,R.R. A convenient synthesis of N-acetyllactosamine derivatives from lactal. *Carbohydr Res* **247**, 159-164 (1993).
 76. Boons,G.J. & Demchenko,A.V. Recent advances in O-sialylation. *Chemical Reviews* **100**, 4539-+ (2000).
 77. Ercegovic,T., Nilsson,U.J., & Magnusson,G. A study of the donor properties of sialyl phosphites having an auxiliary 3-(S)-phenylseleno group. *Carbohydrate Research* **331**, 255-263 (2001).
 78. Wang,Z.G., Zhang,X.F., Ito,Y., Nakahara,Y., & Ogawa,T. A new strategy for stereoselective synthesis of sialic acid- containing glycopeptide fragment. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **4**, 1901-1908 (1996).
 79. Williams,S.J. & Davies,G.J. Protein-Carbohydrate interactions: learning lessons from nature. *TRENDS in Biotechnology* **19**, 356-362 (2001).
 80. Meyer,K. Carotinoide- Bedeutung und technische Synthesen. *Chemie In Unserer Zeit* **36**, 178-192 (2002).
 81. Isler,O., Ruegg,R., & Schwieter,U. Carotenoids as food colourants. *PURE AND APPLIED CHEMISTRY* **14**, 245-263 (1967).
 82. Nishino,H., Murakosh,M., Ii,T., Takemura,M., Kuchide,M., Kanazawa,M., Mou,X.Y., Wada,S., Masuda,M., Ohsaka,Y., Yogosawa,S., Satomi,Y., & Jinno,K. Carotenoids in cancer chemoprevention. *Cancer And Metastasis Reviews* **21**, 257-264 (2002).
 83. Escribano,J., Alonso,G.L., Coca-Prados,M., & Fernandez,J.A. Crocin, safranal and picrocrocin from saffron inhibit the growth of human cancer cells in vitro. *Cancer Letters* **100**, 23-30 (1996).
 84. Laue,T. & Plagens,A. Namen- und Schlagwort-Reaktionen der organischen Chemie. (B.G. Teubner, Stuttgart; 1995).
 85. Isler,O. & ZELLER,P. Total syntheses of carotenoids. *Vitam Horm* **15**, 31-71 (1957).
 86. Schwieter,U., Gutmann, Linglar H, Rugg R, Schaeren S,F., & Isler O Neue Synthesen von Apocarotinoiden. *Helvetica Chimica Acta* **49**, 369-390 (1966).
 87. Kim, E. Dissertation, Heidelberg 2002.
 88. Hasegawa A, Kanie, & Kiso M Glycosylation using methylthioglycosides of N-Acetylneuraminic acid and dimethyl(methylthio)sulfonium triflat. *Journal of Carbohydrate Chemistry* **7**, 501-506 (1988).

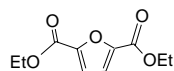
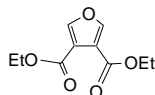
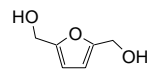
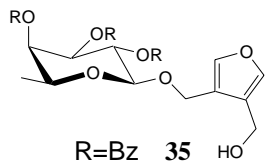
-
89. Rencurosi,A., Poletti,L., Guerrini,M., Russo,G., & Lay,L. an enzymatic protection step simplifies the synthesis of 3'- and 6'-O-sialyllactose and their analogues.
 90. Ford-Perriss,M., Guimond,S.E., Greferath,U., Kita,M., Grobe,K., Habuchi,H., Kimata,K., Esko,J.D., Murphy,M., & Turnbull,J.E. Variant heparan sulfates synthesized in developing mouse brain differentially regulate FGF signaling. *Glycobiology* **12**, 721 (2002).
 91. Muramatsu,T. Protein-bound carbohydrates on cell-surface as targets of recognition: An Odyssey in understanding them. *Glycoconjugate Journal* **17**, 577-595 (2000).
 92. Koenig,A., Jain,R., Vig,R., NorgardSumnicht,K.E., Matta,K.L., & Varki,A. Selectin inhibition: Synthesis and evaluation of novel sialylated, sulfated and fucosylated oligosaccharides, including the major capping group of GlyCAM-1. *Glycobiology* **7**, 79-93 (1997).
 93. Komba,S., Ishida,H., Kiso,M., & Hasegawa,A. Synthesis And Biological Activities of Three Sulfated Sialyl Lex Ganglioside Analogues for Clarifying the Real Carbohydrate Ligand Structure of L-Selectin. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **4**, 1833-1847 (1996).
 94. Zhang,J., Brodzky,A., & Sinay,P. Synthesis of mono-, di-, and trisulfated Lewis x trisaccharides. *Tetrahedron: Asymmetry* 2451-2464 (1998).
 95. Menzler, S. Dissertation, Heidelberg 1997.
 96. Tanahashi,E., Murase,K., Shibuya,M., Igarashi,Y., Ishida,H., Hasegawa,A., & Kiso,M. Synthetic studies on selectin ligands/inhibitors: A systematic synthesis of sulfatide and its higher congeners carrying 2- (tetradecyl)hexadecyl group as a ceramide substitute. *Journal of Carbohydrate Chemistry* **16**, 831-858 (1997).
 97. Kunz,H. & Unverzagt,C. Synthesis of α -Fucosyl Glycosides and Disaccharides Using 4-Methoxybenzyl (Mpm) Protected Fucosyl Donors. *Journal für praktische Chemie* **334**, 579-583 (1992).
 98. Eisele,T., Windmuller,R., & Schmidt,R.R. Synthesis of a thio-linked Lewis A (Lea) epitope. *Carbohydrate Research* **306**, 81-91 (1998).
 99. von der Lieth,C.W., Frank,M., & Lindhorst,T.K. Molecular dynamics simulations of glycoclusters and glycodendrimers. *Reviews in Molecular Biotechnology* **90**, 311-337 (2002).
 100. Stahl,W., Nicolai,S., Briviba,K., Hanusch,M., Broszeit,G., Peters,M., Martin,H.D., & Sies,H. Biological activities of natural and synthetic carotenoids: induction of gap junctional communication and singlet oxygen quenching. *Carcinogenesis* **18**, 89-92 (1997).
 101. Kitova,E.N., Kitov,P.I., Bundle,D.R., & Klassen,J.S. The observation of multivalent complexes of Shiga-like toxin with globotriaoside and the

- determination of their stoichiometry by nanoelectrospray Fourier-transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. *Glycobiology* **11**, 605-611 (2001).
102. Kitov,P.I., Sadowska,J.M., Mulvey,G., Armstrong,G.D., Ling,H., Pannu,N.S., Read,R.J., & Bundle,D.R. Shiga-like toxins are neutralized by tailored multivalent carbohydrate ligands. *Nature* **403**, 669-672 (2000).
103. Simon,P.M. Pharmaceutical oligosaccharides. *Drug Discovery Today* **1**, 522-528 (1996).
104. Schmidt R.R., Castro-Palomino,J.C., & Retz Oliver New aspects on glycoside bond formation. *PURE AND APPLIED CHEMISTRY* **71**, 729-744 (1999).
105. Kiso,M. Chemical and biological studies on the structure and functions of physiologically active sialoglycoconjugates. *Nippon Nogeikagaku Kaishi-Journal of the Japan Society for Bioscience Biotechnology and Agrochemistry* **76**, 1158-1167 (2002).
106. Lichtenthaler,F.W., Kliemesch,R., Müller,V., & Kunz,M. Disaccharide Building Blocks from Isomaltulose: Glucosyl- α (1-5)-D-arabinonic Acid and Ensuing Products. *Liebigs Annalen der Chemie* 975-980 (1993).
107. Dove,A. The bittersweet promise of glycobiology. *Nature Biotechnology* **19**, 913-917 (2001).
108. Fukui,S., Feizi,T., Galustian,C., Lawson,A.M., & Chai,W.G. Oligosaccharide microarrays for high-throughput detection and specificity assignments of carbohydrate-protein interactions. *Nature Biotechnology* **20**, 1011-1017 (2002).
109. Weitz-Schmidt,G., Stokmaier,D., Scheel,G., Nifant'ev,N.E., Tuzikov,A.B., & Bovin,N.V. An E-Selectin Binding Assay Based on a Polyacrylamide-Type Glycoconjugate. *Analytical Biochemistry* **238**, 184-190 (1996).
110. Lawrence,M.B. Selectin-carbohydrate interactions in shear flow. *Current Opinion in Chemical Biology* **3**, 659-664 (1999).
111. Chervin,S.M., Lowe,J.B., & Koreeda,M. Synthesis and biological evaluation of a new sialyl Lewis X mimetic derived from lactose. *Journal Of Organic Chemistry* **67**, 5654-5662 (2002).
112. Dall'Olio,F. The sialyl- α 2,6-lactosaminy-structure: Biosynthesis and functional role. *Glycoconjugate Journal* **17**, 669-676 (2000).
113. Danishefsky,S.J. & Allen,J.R. From the laboratory to the clinic: A retrospective on fully synthetic carbohydrate-based anticancer vaccines. *Angewandte Chemie-International Edition* **39**, 837-863 (2000).
114. Crottet,P., Kim,Y.J., & Varki,A. Subsets of sialylated, sulfated mucins of diverse origins are recognized by L-selectin. Lack of evidence for unique oligosaccharide sequences mediating binding. *Glycobiology* **6**, 191-208 (1996).

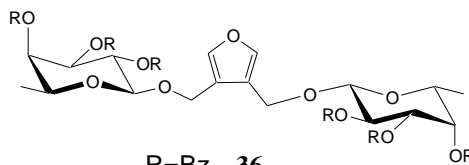
-
115. Johnson,P., Maiti,A., Brown,K.L., & Li,R. A role for the cell adhesion molecule CD44 and sulfation in leukocyte-endothelial cell adhesion during an inflammatory response? *Biochemical Pharmacology* **59**, 455-465 (2000).
 116. Varki,N.M. & Varki,A. Heparin inhibition of selectin-mediated interactions during the hematogenous phase of carcinoma metastasis: rationale for clinical studies in humans. *Semin Thromb Hemost* **28**, 53-66 (2002).
 117. Varki,A. & Varki,N.M. P-selectin, carcinoma metastasis and heparin: novel mechanistic connections with therapeutic implications. *Brazilian Journal of Medicinal Biological Research* **34**, 711-717 (2001).
 118. Engelberg,H. - Actions of heparin that may affect the malignant process. *Cancer* **15**, 257-272 (1999).
 119. Wang,L., Brown,J.R., Varki,A., & Esko,J.D. Heparin's anti-inflammatory effects require glucosamine 6-O-sulfation and are mediated by blockade of L- and P-selectins. *The Journal of Clinical Investigation* **110**, 127-129 (2002).
 120. McAuliffe,J. & Hindsgaul,O. Carbohydrate drugs-an ongoing challenge. *Chemistry & Industry* 170-174 (1997).
 121. Aubert,M., Panicot,L., Crotte,C., Gibier,P., Lombardo,D., Sadoulet,M.O., & Mas,E. Restoration of alpha(1,2) fucosyltransferase activity decreases adhesive and metastatic properties of human pancreatic cancer cells. *Cancer Research* **60**, 1449-1456 (2000).
 122. Chandrasekaran,E.V., Jain,R.K., Larsen,R.D., Wlasichuk,K., & Matta,K.L. Selectin ligands and tumor-associated carbohydrate structures: specificities of alpha 2,3-sialyltransferases in the assembly of 3'-sialyl-6-sialyl/sulfo Lewis a and x, 3'-sialyl-6'-sulfo Lewis x, and 3'-sialyl-6-sialyl/sulfo blood group T-hapten;Cancer and sugar. *Biochemistry* **34**, 2925-2936 (1995).
 123. Sarkar,A.K., Rostand,K.S., Jain,R.K., Matta,K.L., & Esko,J.D. Fucosylation of disaccharide precursors of sialyl LewisX inhibit selectin-mediated cell adhesion. *J. Biol. Chem.* **272**, 25608-25616 (1997).
 124. Monzavi-Karbassi,B., Cunto-Amesty,G., Luo,P., Shamloo,S., Blaszyk,T., & Kieber-Emmons,T. Immunization with a carbohydrate mimicking peptide augments tumor-specific cellular responses. *Int. Immunol.* **13**, 1361 (2001).
 125. Ohyama,C., Kanto,S., Kato,K., Nakano,O., Arai,Y., Kato,T., Chen,S.H., Fukuda,M.N., & Fukuda,M. Natural killer cells attack tumor cells expressing high levels of sialyl Lewis x oligosaccharides. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America* **99**, 13789-13794 (2002).
 126. Yarema,K.J. & Bertozzi,C.R. Chemical approaches to glycobiology and emerging carbohydrate-based therapeutic agents. *Current Opinion in Chemical Biology* **2**, 49-61 (1998).
 127. Mahal,L.K., Yarema,K.J., & Bertozzi,C.R. Engineering chemical reactivity on cell surfaces through oligosaccharide biosynthesis. *Science* **276**, 1125-1128 (1997).

-
128. Liaaen-Jensen S Xonversion of Polyenedials to Monoaldehyde . *Acta Chemica Scandinavica* **302**, 583-584 (1979).
129. Kinzy,W. & Schmidt,R.R. Application of the trichloroacetimidate method to the synthesis of glycopeptides of the mucin type containing a beta-D-Galp-(1----3)-D-GalpNAc unit. *Carbohydrate Research* **164**, 265-276 (1987).
130. Müller, Bernd. Entwicklung, optmierung und enzymatische Untersuchungen von Sialyltransferaseinhibitoren. Dissertation, Konstanz 1999.
131. Kochetkov N.K. 2-Azidoethylglycosides: glycosides potentially useful for the preparation of neoglycoconjgates. *Carbohydrate Research* **223**, 303-309 (1992).
132. Reinhardt, Jost. 2003.
Ref Type: Thesis/Dissertation
133. Ogura,H. & Furuhata,K. Synthesis of 2-o-Glycosyl Derivatives of N-Acetyl_d-neuraminic acid. *Carbohydrate Research* **158**, 37-51 (1986).
134. Meindl P & Tuppy H Über synthetische Ketoside der N-Acetyl-D-neuraminsäure. *Monatshefte der Chemie* **96**, 802-815 (1965).
135. Ravenscroft,M., Roberts,R.M.G., & Tillet,J.G. The Reaction of some cyclic and open-chain disulfides with methyl trifluoromethanesulfonate. *Journal of the Chemical Society, Percin Transactions II* 1569-1572 (1982).
136. Hasegawa A, Nagahama T, Ohki H, & Kiso M Synthetic studies on sialoglycoconjugates 41;A facile total synthesis of ganglioside GM₂. *Journal of Carbohydrate Chemistry* 699-713 (2001).
137. Hasegawa A, Kiso M, Aoyama K, & Prabhanjan H Sythesis of disialoganglioside GD1 α and its positional isomer. *Carbohydrate Research* **233**, 87-99 (1992).
138. Kuhn R, Lutz P, & MacDonald DL Synthese anomerer Sialinsäure-methylketoside. *Chemische Berichte* **99**, 611-617 (1966).
139. Meindl P & Tuppy H Über 2-Deoxy-2,3-dehydro-sialinsäuren. *Monatshefte der Chemie* **100**, 1295-1306 (1969).
140. Baggett,N. & Marsden,B.R. Reinvestigation of The syntehsis of 4-methylcoumarin7-yl-5-acetamido-3,5-dideoxy-a-D-glycero-galacto-2-Nonulopyranosidonic acid, a flurogenic substrate for neuraminidase. *Carbohydrate Research* **110**, 11-18 (1982).

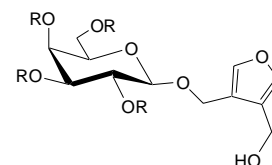
6.2 Verzeichnis der dargestellten Verbindungen:

**30****32****31****33**

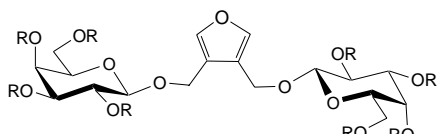
R=Bz **35**
R=H **37**



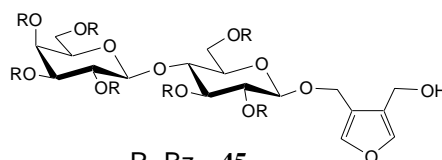
R=Bz **36**
R=H **38**



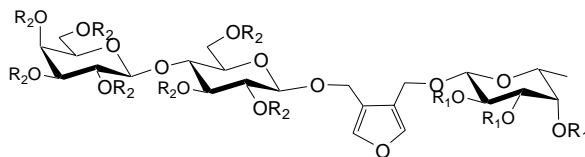
R=Bz **40**
R=H **42**



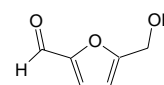
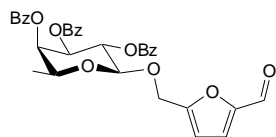
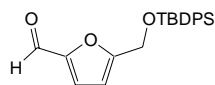
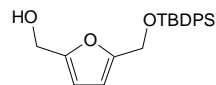
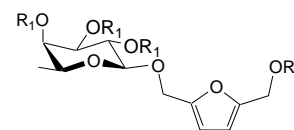
R=Bz **41**
R=H **43**



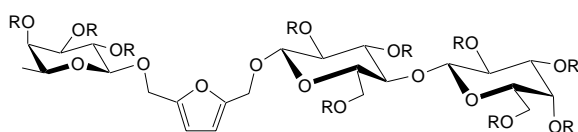
R=Bz **45**
R=H **46**



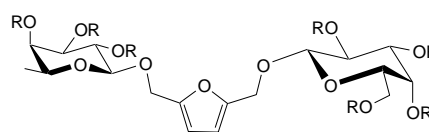
R₁=Bz, R₂=Ac **52**
R=H **53**

**54****55****60****61**

R₂=TBDPS **62**
R₂=H **63**
R₁, R₂=H **64**



R=Bz **67**
R=H **68**



R=Bz **65**
R=H **66**

