

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades  
der Fakultät für Chemie und Pharmazie  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

**Synthese von fluorierten *Streptococcus pneumoniae* Typ 14  
Antigendeterminanten und synthetische Studien zur rationalen  
Entwicklung eines universellen Impfstoffträgermoleküls**

von

**Maximilian Georg Reindl**

aus

München

**2017**



# ERKLÄRUNG

Diese Dissertation wurde im Sinne von § 7 der Promotionsordnung vom 28. November 2011 von Frau Prof. Dr. Anja Hoffmann-Röder betreut.

## **Eidesstattliche Versicherung:**

Diese Dissertation wurde eigenständig und ohne unerlaubte Hilfe erarbeitet.

München, den .....

.....

Maximilian Reindl

Dissertation eingereicht am:	17.01.2017
1. Gutachterin:	Prof. Dr. Anja Hoffmann-Röder
2. Gutachter:	Prof. Dr. Thomas Carell
Mündliche Prüfung:	22.02.2017



Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit  
von Dezember 2012 bis Dezember 2016  
an der Fakultät für Chemie und Pharmazie  
im Department Chemie  
der Ludwig-Maximilians-Universität München angefertigt.



*„Mehr als die Vergangenheit interessiert mich die Zukunft, denn in ihr gedenke ich zu leben.“*

*Albert Einstein*



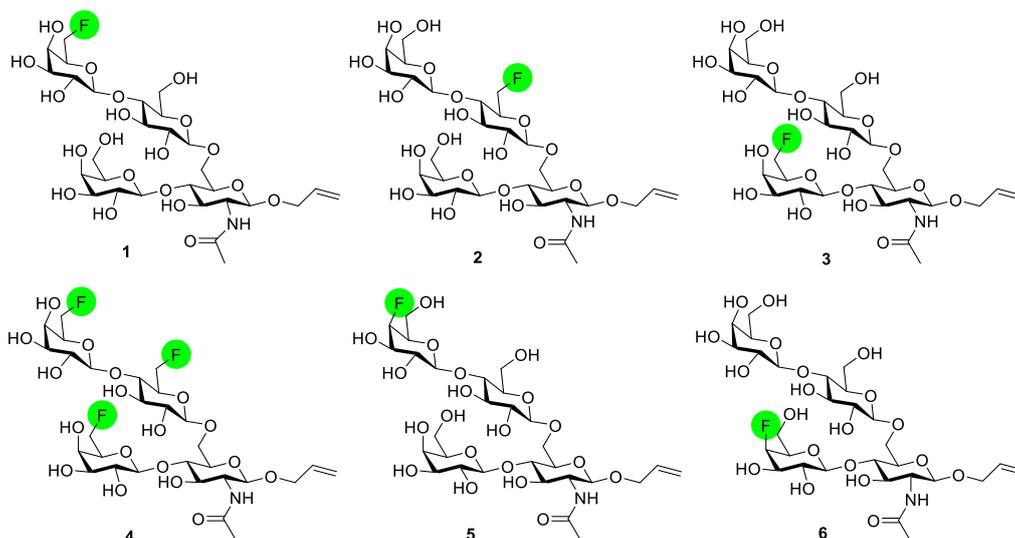
**Für meine Familie**



## ABSTRACT

Prophylaktische Impfstoffe (*Vakzine*) auf Basis von pathogen-assoziierten Kohlenhydratantigenen, welche das adaptive Immunsystem in die Lage versetzen sollen invasive Organismen selektiv zu identifizieren und letztlich zu bekämpfen, stellt einen vielversprechenden Ansatz zur Behandlung bakterieller Infektionskrankheiten dar. Dabei dient die Glycocalyx dieser Fremdorganismen, bestehend aus artspezifischen extrazellulären Glycanen, als primäre Zielstruktur einer Antikörper-vermittelten komplementären Immunantwort. Allerdings sind solche (*nicht-zwitterionischen*) Kohlenhydratantigene *T-Zell-unabhängige* Antigene, weshalb die nötigen Chemokin und Cytokin vermittelten Stimuli fehlen, um sowohl ein *B-Zell-vermitteltes* immunologisches Gedächtnis, wie auch einen IgM zu IgG-Antikörper Klassenwechsel (*class switch*) der humoralen Immunantwort zu induzieren. In jüngsten Studien zur Entwicklung von modernen vollsynthetischen Impfstoffkandidaten konnten Prinzipien und essentielle Grundvoraussetzungen für eine erfolgreiche Immunisierung identifiziert werden. So werden für das rationale Impfstoffdesign drei zentrale immunologische Untereinheiten, welche das Kohlenhydrat-basierte B-Zellepitop, das peptidoide T<sub>H</sub>-Epitop sowie einen lipidierten TLR-Agonisten umfassen, benötigt. Diese drei Schlüsselkomponenten müssen zudem kovalent und in einer nicht-linearen Geometrie in einem einzigen Makromolekül verknüpft vorliegen, um eine maximale protektive Wirkung zu entfalten. Ferner ist es von entscheidender Bedeutung, solche hochkomplexen biomimetischen Moleküle möglichst universell, orthogonal und modular aufbauen zu können, um den präparativen Aufwand auf ein wirtschaftliches Maß zu senken, und im selben Atemzug die anwendungsbezogene Flexibilität hinsichtlich möglicher Zielstrukturen massiv zu erhöhen. Trotz der Erkenntnis, dass bereits kleine Oligosaccharidfragmente eines hoch-repetitiven kapsulären Polysaccharids in der Lage sind protektive Antikörper zu generieren, ist deren inhärente unzureichende Immunogenität und eine eingeschränkte metabolische Stabilität als limitierende Faktoren bekannt. Um diese unerwünschten Eigenschaften des kohlenhydrat-basierten B-Zellepitops zu kompensieren, rücken Kohlenhydrat-mimetika in den Fokus der Betrachtung. Eine vielversprechende Strategie stellt hier die chemische Modifikation dieser Saccharidantigene durch gezielte Einführung von Fluorsubstituenten dar.

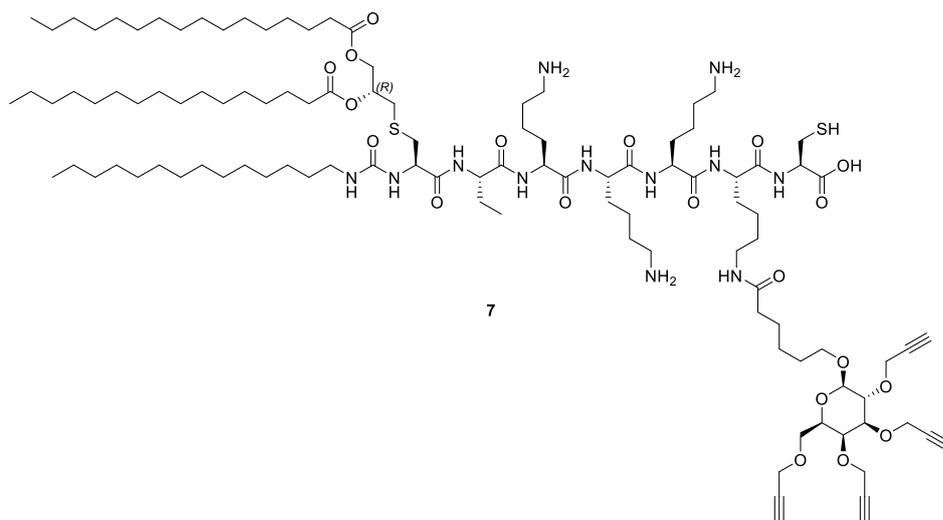
Vor diesem Hintergrund befasst sich die vorliegende Arbeit mit der Synthese zweier zentraler molekularer Subdomänen eines neuartigen modularen Ansatzes zur Entwicklung vollsynthetischer Impfstoffe am Beispiel des gram-positiven bakteriellen Pathogens *Streptococcus pneumoniae* Typ 14 (*SPn14*).



**Abbildung A** Schematische Darstellung der *Streptococcus pneumoniae* Typ 14 Antigenanaloge.

Im Vordergrund stand dabei die Entwicklung eines präparativen Zugangs, der die chemoselektive Einführung von strategisch positionierten Fluorsubstituenten ermöglicht, welche als Hydroxylbioisostere und als elegante Strategie zur Erhöhung der intrinsischen Immunogenität, sowie der Erhöhung der metabolischen Stabilität des betrachteten Epitops, gesehen werden können. Zu diesem Zweck wurden geeignete Schutzgruppenstrategien, literaturbekannte *Schmidt*-Glycosylierungsreaktionen sowie Desoxyfluorierungsreaktionen bei der Etablierung eines effizienten Syntheseprotokolls genutzt. Dabei gelang es erstmals sechs strategisch desoxyfluorierte SPn14 Analoga zur Verfügung zu stellen, welche in zukünftigen Arbeiten durch entsprechende Funktionalisierung des Allylankers immunologische Anwendung finden können.

Ein weiterer Meilenstein stellt die erfolgreiche Synthese eines neuartigen modular konzipierten universellen Impfstoffträgermoleküls dar, welches als zentraler Baustein zum rationalen Aufbau eines vollsynthetischen Impfstoffkandidaten in Zukunft dient. Im Zuge dieser grundlegenden synthetischen Studien wurde ein Heptapeptid TLR Ligand entworfen, welcher die grundlegende verzweigte Geometrie durch *Staudinger-Reduktion* der artifiziellen Aminosäure  $\epsilon$ -Azido-Norleucin an der festen Phase gewährleistet. Anschließende Einführung eines alkin-funktionalisierten Pyranosegerüsts ermöglicht eine multivalente Präsentation des entsprechenden B-Zellepitops mittels bioorthogonaler Kupfer-katalysierter *Click-Chemie*. Zusätzlich bietet ein C-terminaler Cysteinrest eine weitere Anknüpfungsposition für T<sub>H</sub>-Epitope an, welche über Sulfhydryl-Maleimid Konjugationsprotokolle angebunden werden können.



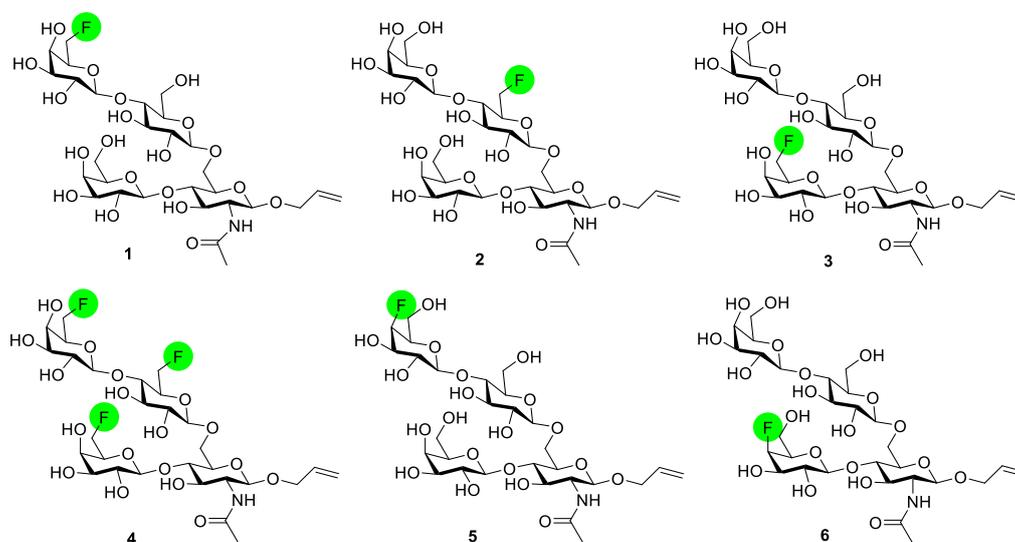
**Abbildung B** Schematische Darstellung des modular konzipierten universellen Impfstoffträgermoleküls.

Diese Vorarbeiten ebnet so den Weg für den nachgelagerten Aufbau einer neuen Klasse von vollsynthetischen, modularen, multivalenten und universellen Vakzinkandidaten, welche auf ein breites Spektrum von pathogenen Organismen abzielt, und so neue Wege für die antiinfektiöse Therapie beschritten werden könnten.

## ABSTRACT

Prophylactic vaccines based on pathogen-associated carbohydrate antigens, which enable the adaptive immune system to selectively identify and eradicate invasive intruder organisms, represent a promising approach for antibacterial therapy. Thereby, the intruder organism's glycocalyx, consisting of species-specific extracellular glycans, serves as primary target structure of an immunoglobine-mediated complementray host's immune response. However, those (*non-zwitterionic*) carbohydrate-based antigens are T-cell independent antigens, thus leading to a lack of chemokine and cytokine stimuli, which are an essential prerequisite to the induction of a B-cell mediated immunological memory and additionally fail to induce an IgM to high-affinity IgG antibody class switch of the respective humoral immune response. However, recent studies dealing with the development of modern fully-synthetic vaccine candidates, revealed several principles and essential requirements for a successful immunization, which need to be met. Accordingly, three pivotal immunological subunits, comprising the carbohydrate-based B-cell epitope, the peptidoic helper-T sequence as well as the lipidated TLR agonist, are required for rational vaccine design. These three key components further have to be covalently linked in a non-linear manner within a single macromolecule, to take full protective effect. Moreover, it is of vital importance, that those extremely sophisticated biomimetic molecules are preferably assembled in an universal, orthogonal and modular fashion, to cut preparative efforts to an economic reasonable expense, and in the same breath to massively increase the applied flexibility regarding potential target structures. Despite the realization that, already small oligosaccharide fragments of highly-repetitive capsular polysaccharides evoke protective antibodies, they still suffer from an inherent lack of intrinsic immunogenicity as well as from a limited metabolic stability. Consequently, to compensate and overcome those undesired properties of carbohydrate-based B-cell epitopes, carbohydrate mimetics increasingly become the focus of attention. In this regard, the chemical modification of these saccharide antigens by specific incorporation of fluorine substituents represents a promising strategy.

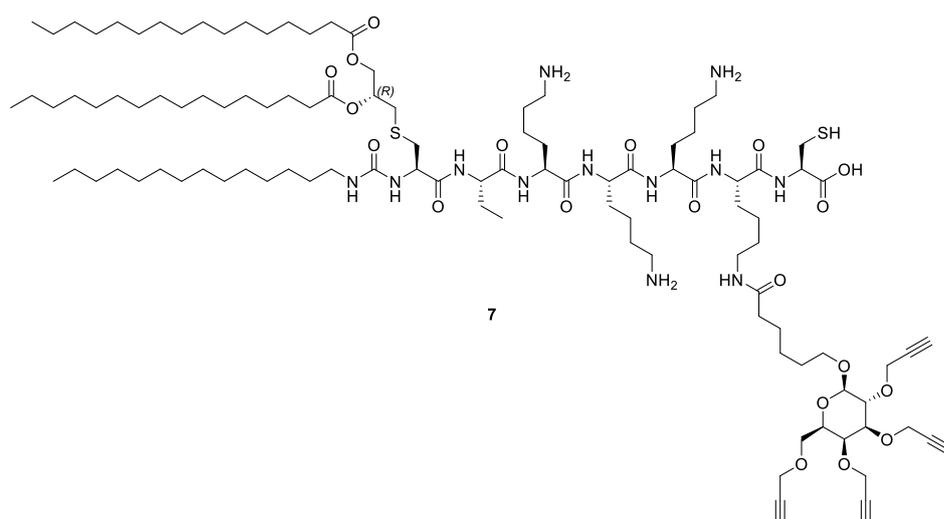
With this in mind, the work in hand deals with the synthesis of two pivotal molecular subdomains of a novel modular approach for the development of a fully-synthetic vaccine candidate by taking the example of the gram-positive bacterial pathogen *Streptococcus pneumoniae* type 14 (*SPn14*).



**Figure A** Schematic depiction of the *Streptococcus pneumoniae* type 14 antigen analogs.

Special emphasis was placed on the development of a preparative access, which provided the chemoselective incorporation of strategically-located fluorine substituents, which could be seen as hydroxylbioisosters, thus representing an elegant strategy to increase intrinsic immunogenicity, as well as enhancing metabolic stability of the respective epitope. For that purpose, suitable protecting group patterns, literature-known *Schmidt-glycosylation* reactions and deoxyfluorination reaction were applied to establish an efficient synthetic protocol. In the course of these studies, six novel deoxyfluorinated SPn14 analogs could successfully be provided, which serve after further functionalization of the allylic handle as probes in downstream immunological evaluations.

Another milestone constitutes the successful synthesis of a novel modular conceptualized universal vaccine carrier molecule, which embodies the essential building block for the rational assembly of universal and fully synthetic vaccine candidates in future. In the course of these fundamental synthetic studies, a heptapeptide TLR ligand was designed, which provides a basically branched geometry by on-resin *Staudinger-reduction* of the incorporated artificial aminoacid  $\epsilon$ -L-azido-norleucin. Subsequent installation of an alkyne bearing pyranose scaffold, enables a multivalent presentation of the respective B-cell epitopes by means of bioorthogonal copper-catalyzed click-chemistry. Additionally, a C-terminal cysteine residue further provides an attachment site for T<sub>H</sub>-Epitopes via sulfhydryl-maleimide conjugation protocols.



**Figure B** Schematic depiction of the universal vaccine carrier molecule.

These preliminary synthetic studies pave the way for further downstream assembly of a novel class of fully synthetic modular multivalent universal vaccine candidates, which hold the promise to target a broad array of different pathogenic organisms, and thus might open new avenues for anti-infective therapy.

## DANKSAGUNG

Allen voran danke ich meiner Doktormutter Prof. Dr. Anja Hoffmann-Röder, für Ihre herzliche Aufnahme in Ihren Arbeitskreis. Dieser Dank begründet sich in der sehr spannenden und komplexen Themenstellung, den von ihr zur Verfügung gestellten ausgezeichneten Arbeitsbedingungen, den Freiheiten in der Bearbeitung meiner Projekte und der hervorragenden wissenschaftlichen Betreuung während meiner gesamten Promotionszeit.

Herrn Prof. Dr. Thomas Carell danke ich für die Bereitschaft die Zweitkorrektur meiner Dissertation zu übernehmen. Weiterhin danke ich allen Mitgliedern meiner Promotionskommission für Ihre Teilnahme an meiner Prüfung.

Zudem bedanke ich mich bei Dr. Markus Daum, Andreas Baumann und Stefan Marchner für das sorgfältige, konstruktive und kritische Korrekturlesen meiner Dissertation.

Außerdem möchte ich mich herzlichst beim gesamten Arbeitskreis Hoffmann-Röder bedanken. Es war für mich eine inspirierende, lehrreiche und passionierte Zeit, auf die ich sehr gerne zurückblicke. Danke an Swetlana Wunder, Dr. Markus Daum, Tom Podewin, Andreas Baumann, Corinna Jansen, Dr. Florian Karch, Amrei Deutsch, Daniel Gast, Manuel Gailer, Stefan Marchner, Ulla Hülsmann, Thomas Wloka und Elen Baumann.

Insbesondere möchte ich mich bei den Mitgliedern meines Labors Tom Podewin und Dr. Markus Daum für die hervorragende Arbeitsatmosphäre der letzten Jahre bedanken.

Ich möchte mich ebenfalls für die exzellente Ausbildung im Zuge meiner Bachelorarbeit in der Trauner Gruppe bedanken. In dieser Zeit habe ich all das präparative Rüstzeug für den Erfolg meiner Dissertation gelernt. Vielen Dank an Dr. Dominik Hager, Dr. Vilius Franckevicius und Prof. Dr. Dirk Trauner.

Auch möchte ich mich für die exzellente Ausbildung während meines Forschungspraktikums in der Carell Gruppe bedanken. Vielen Dank an Dr. Korbinian Heil und Prof. Dr. Thomas Carell.

Ich möchte mich weiterhin bei Andreas Baumann, Daniel Gast, Swetlana Wunder, Reece Hugill, Stefanie Heimsch, Sebastian Thallmair und Ralf Walczak für ihren engagierten Beitrag im Rahmen von Forschungspraktika und Abschlussarbeiten bedanken.

Letztlich bedanke ich mich bei allen meinen Freunden, die mich in den letzten Jahren auf diesem langen Weg begleitet haben. Euch alle namentlich aufzuzählen würde hier wohl leider den Rahmen sprengen. Nichtsdestotrotz möchte ich mich in aller Deutlichkeit bei Tom, Sweti, Steffi, Conny und Luka bedanken.

Ganz besonderer Dank gilt meiner Familie. Ihr habt mich während meiner gesamten Studienzzeit, vom ersten bis zum letzten Semester, über meine Promotion hinweg, unterstützt und mir stets Rückhalt gegeben. Ihr hattet nicht nur immer ein offenes Ohr für mich, sondern habt auch, vor allem in der Schlussphase meiner Dissertation, immer aufbauende Worte gefunden. Ihr habt einen enormen Anteil am Gelingen meines Studiums und dieser Arbeit. Vielen vielen herzlichen Dank!



## ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

abs.	absolutiert
Ac <sub>2</sub> O	Essigsäureanhydrid
AcOH	Essigsäure
AgOTf	Silbertrifluormethansulfonat
AlCl <sub>3</sub>	Aluminium(III)chlorid
APC	Antigen-präsentierende Zelle
Äquiv.	Äquivalent
AS	Aminosäure
BCR	B-Zellrezeptor
ber.	berechnet
BgaA	β-Glucosidase
br s	breites Singulett
BSA	Rinderserumalbumin ( <i>bovine serum albumin</i> )
<i>c</i>	Konzentration
Cbp	choline-binding-protein
CD	cluster of differentiation
CD <sub>3</sub> OD	deuteriertes Methanol
CDCl <sub>3</sub>	deuteriertes Chloroform
CFA	Complete Freund's Adjuvant
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	Dichlormethan
<sup>6</sup> Hex	Cyclohexan
CIES	carrier induced epitope suppression
COSY	correlation spectroscopy
CPS	capsular polysaccharide/Kapselpolysaccharid
CRM <sub>197</sub>	inaktiviertes Diphtheria-Toxin
CTL	cytotoxische T-Zelle
CuAAC	copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition
Cys	L-Cystein
d	Dublett
DABCO	1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octan
DAG	Diacylglycerol
DAST	Diethylaminoschwefeltrifluorid

DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DC	dendritische Zelle
Deoxofluor <sup>®</sup>	Bis(2-methoxyethyl)aminoschwefeltrifluorid
DIPEA	<i>N,N</i> -Diisopropylethylamin
DMAP	4- <i>N,N</i> -Dimethylaminopyridin
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EI	electron ionization
ER	Endoplasmatisches Reticulum
ESI	electrospray ionization
Et <sub>3</sub> SiH	Triethylsilan
EtOAc	Ethylacetat
EtOH	Ethanol
FeCl <sub>3</sub>	Eisen(III)chlorid
Fluolead <sup>™</sup>	4- <i>tert</i> -Butyl-2,6-dimethylphenylschwefeltrifluorid
Fmoc	9 <i>H</i> -Fluorenyl-methoxycarbonyl-
g	Gramm
Gal	D-Galactose
Glc	D-Glucose
GlcA	D-Glucuronsäure
GlcNAc	<i>N</i> -Acetylglucosamin
Gly	L-Glycin
GNP	Goldglyconanopartikel
h	Stunden
HIV	human immunodeficiency virus
HMBC	heteronuclear multiple bond correlation
HOBt	<i>N</i> -Hydroxybenzotriazol
HPLC	high performance liquid chromatography
HSQC	heteronuclear single quantum coherence
Hz	Hertz
IFN	Interferon
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
<i>J</i>	Kopplungskonstante

KLH	Schlitzschnecken-Hämocyanin ( <i>keyhole limpet hemocyanin</i> )
Lac	Lactosyl-
LCP	lipid core peptide
LiOH	Lithiumhydroxid
LLCP	lysine lipid core peptide
LPS	Lipopolysaccharid
Lys	L-Lysin
M	molar
m	Multipllett
MAG	multiple antigen glycopeptide
ManNAc	<i>N</i> -Acetylmannosamin
MAP	multiple antigen peptide
MeCN	Acetonitril
Men	<i>Neisseriae meningitidis</i>
MeNH <sub>2</sub>	Methylamin
MeOH	Methanol
mg	Milligramm
MHC	major histocompatibility complex
MHz	Megahertz
min	Minuten
mL	Milliliter
mM	millimolar
mmol	Millimol
MS	Massenspektroskopie
MS	Molekularsieb
MUC	Mucin
MurNAc	<i>N</i> -Acetylmuraminsäure
NaCNBH <sub>3</sub>	Natriumcyanoborhydrid
NAG	<i>N</i> -Acetylglucosamin
NaH	Natriumhydrid
NAM	<i>N</i> -Acetylmuraminsäure
NanA	Neuramidase
NaOAc	Natriumacetat
NaOEt	Natriumethanolat

NaOMe	Natriummethanolat
NBS	<i>N</i> -Bromsuccinimid
<i>n</i> -BuNH <sub>2</sub>	<i>n</i> -Butylamin
NEt <sub>3</sub>	Triethylamin
NIS	<i>N</i> -Iodsuccinimid
Nle	L-Norleucin
nm	Nanometer
NMR	nuclear magnetic resonance
NOESY	nuclear overhauser enhancement and exchange spectroscopy
OVA	Ovalbumin
Pam	Palmitoyl-
PAMP	pathogen-associated molecular pattern
PCV	pneumococcal conjugate vaccine
Pd(Ph <sub>3</sub> P) <sub>4</sub>	Tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0)
PdCl <sub>2</sub>	Palladium(II)chlorid
PGN	Peptidoglycan
Pht	Phthalimid
PMe <sub>3</sub>	Trimethylphosphin
ppm	parts per million
Pro	L-Prolin
PRR	pattern recognition receptor
PspA	pneumococcal surface protein
<i>p</i> -TsOH	<i>para</i> -Toluolsulfonsäure
PV	Poliovirus
PyBOP	Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat
RAFT	regioselective addressable functionalized templates
R <sub>f</sub>	retention factor
RhCl <sub>3</sub>	Ruthenium(III)chlorid
ROS	radical oxygen species
RP	reversed-phase
RT	Raumtemperatur
R <sub>t</sub>	retention time
s	Singulett
Ser	L-Serin

SnCl <sub>4</sub>	Zinn(IV)chlorid
SPn	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
SPPS	solid phase peptide synthesis
SPR	surface plasmon resonance
SrH	$\beta$ -N-Glucosaminidase
t	Triplet
TACA	<i>tumor-associated cancer antigen</i>
TASF	(Tris(dimethylamino)sulfoniumdifluorotrimethylsilicate
TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
TBAI	Tetrabutylammoniumiodid
TBS	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl-
TBSCl	<i>tert</i> -Butyldimethylsilylchlorid
TCR	T-cell receptor
TES	Triethylsilan
Tf <sub>2</sub> O	Trifluormethansulfonsäureanhydrid
TFA	Trifluoressigsäure
TfN <sub>3</sub>	Triflylazid
T <sub>H</sub>	Helfer-T-Zelle
THF	Tetrahydrofuran
TIPS	Triisopropylsilan
TLR	<i>toll-like</i> Rezeptor
TMSOTf	Trimethylsilyltrifluormethansulfonat
TrtCl	Tritylchlorid
TTox	Tetanus-Toxoid
UDP	Uridindiphosphat
XtalFluor-E	(Diethylamino)difluorsulfoniumtetrafluoroborat



# ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1.1	Schematische Darstellung der Zellen des angeborenen (links) und des adaptiven Immunsystems (rechts) nach <i>Dranoff</i> .....	2
Abbildung 1.2	Schematische Darstellung der Immunantwort nach <i>Morelli et al.</i> ....	4
Abbildung 1.3	Strukturelle Charakteristika von gram-positiven und gram-negativen Bakterien nach <i>Lolis und Bucala</i> . ....	6
Abbildung 1.4	Schematische Darstellung der Peptidoglykanschicht der bakteriellen Zellwand (links), Lipid A von gram-negativen Bakterien (rechts).....	7
Abbildung 1.5	Exemplarische Darstellung ausgewählter gram-negativer <i>Neisseriae meningitidis</i> Serotypen. ....	8
Abbildung 1.6	Exemplarische Darstellung ausgewählter gram-positiver <i>Streptococcus pneumoniae</i> Serotypen. ....	9
Abbildung 1.7	Schematische Darstellung der CPS-Wiederholungseinheiten der Serogruppe 9 des Bakteriums <i>Streptococcus pneumoniae</i> .....	9
Abbildung 1.8	Darstellung des Wzx/Wzy-abhängigen Biosyntheseweges der CPS von SPn9A nach <i>Bentley</i> .....	10
Abbildung 1.9	Ausgewählte Beispiele der Immunisierungsstudien zur Evaluierung der kritischen antigenen Determinante des Bakteriums <i>Streptococcus pneumoniae</i> Typ 14 nach <i>Snippe und Mitarbeitern</i> . ....	13
Abbildung 1.10	Schematische Darstellung des kleinsten protektiven Epitops der Kapselpolysaccharidstruktur des Bakterium <i>Streptococcus pneumoniae</i> Typ 14 nach <i>Snippe und Mitarbeitern</i> .....	14
Abbildung 1.11	Strukturen der einzelnen Komponenten des Liposom-basierten SPn14 Vakzinkandidaten nach <i>Savage und Mitarbeitern</i> . ....	14
Abbildung 1.12	Schematische Darstellung eines SPn14 Konjugatvakzins auf Gold-Nanopartikel-Basis nach <i>Snippe und Mitarbeitern</i> . ....	15
Abbildung 1.13	Mechanismus der T-Zell Aktivierung von Glykokonjugat-Impfstoffen nach <i>Avci et al.</i> ...	18
Abbildung 1.14	Drei-Komponenten Tumor-Impfstoffkandidat nach <i>Boons und Mitarbeitern</i> . ....	19
Abbildung 1.15	Vakzinprototyp auf Basis des MAG nach <i>Lo-Man et al.</i> ....	20
Abbildung 1.16	RAFT-basiertes lineares (links) und verzweigtes Glyoclustervakzin (rechts) nach <i>Renaudet et al.</i> .....	21
Abbildung 1.17	HIV-Vakzin Prototyp nach <i>Wang</i> . ....	22
Abbildung 1.18	Synthetischer Impfstoffkandidat auf LCP-Glycoscaffold Basis nach <i>Simerska et al.</i> .....	23
Abbildung 1.19	Synthetischer Gruppe A Streptococcus Impfstoffkandidat auf LLCP-Glycoscaffold Basis nach <i>Simerska und Mitarbeitern</i> . ....	23
Abbildung 1.20	Schematische Darstellung von synthetischen Thioglycosid-Antigenanaloga nach <i>Bundle</i> .....	24
Abbildung 1.21	Fluorierte MUC1-Glycopeptidvakzine nach <i>Hoffmann-Röder et al.</i> ....	24
Abbildung 1.22	Erhöhung der intrinsischen Immunogenität durch strategische Fluorierung unter Erhalt der Spezifität nach <i>Yang et al.</i> .....	25
Abbildung 2.1	Zielstrukturen der partiell fluorierten Antigen determinanten des Bakteriums <i>Streptococcus pneumoniae</i> Typ 14.....	26

Abbildung 2.2	Schematische Darstellung der Retrosynthese der fluorierten <i>Streptococcus pneumoniae</i> Typ 14 Analoga.....	27
Abbildung 2.3	Schematische Darstellung des hochpotenten UPam-TLR2-Agonisten nach <i>Filipov und Mitarbeitern</i> . ....	27
Abbildung 2.4	Schematischer Aufbau der Kernstruktur eines universellen Impfstoffträgermoleküls. ....	28
Abbildung 2.5	Schematische Darstellung eines neuartigen modularen und universellen Impfstoffträgermoleküls.....	28
Abbildung 3.1	Schematische Übersicht der in der vorliegenden Arbeit verwendeten Glycosyldonorbausteine für den vollsynthetischen Aufbau des SPn14-Antigenanalogons. ....	32
Abbildung 3.2	Ausgewählte nucleophile Fluorierungsreagenzien. ....	34
Abbildung 3.3	Schematische Übersicht der in der vorliegenden Arbeit verwendeten Glycosylakzeptorbausteine zum Aufbau des SPn14 Antigenanalogons. ....	39
Abbildung 3.4	Überblick der Retrosynthese der Trichloracetamidyl-disaccharid-Donoren. ....	42
Abbildung 3.5	Ausschnitt aus dem HMBC-Spektrum des Disaccharidbausteins <b>44</b> . ....	44
Abbildung 3.6	Ausschnitt aus dem HMBC-Spektrum des Disaccharidbausteins <b>46</b> . ....	45
Abbildung 3.7	Überblick der Retrosynthese der Lactosaminosylakzeptor-Fragmente. ....	48
Abbildung 3.8	Ausschnitt des HMBC-Spektrums des Akzeptorbausteins <b>13</b> .....	49
Abbildung 3.9	Ausschnitt des HMBC-Spektrums des Akzeptorbausteins <b>14</b> (links); <b>15</b> (rechts). ....	49
Abbildung 3.10	Retrosynthese der SPn14-spezifischen Antigenmimetika. ....	51
Abbildung 3.11	Strategie zur Aufklärung der molekularen Struktur und Geometrie der Tetrasaccharide über COSY & HMBC-Experimente.....	53
Abbildung 3.12	Ausschnitt des HMBC Spektrums des SPn14 Tetrasaccharids <b>52a</b> . ....	53
Abbildung 3.13	Ausschnitt des HMBC- (links) und des <sup>19</sup> F-Spektrums (rechts) des 6'F-SPn14 Tetrasaccharids <b>53a</b> .....	53
Abbildung 3.14	Ausschnitt des HMBC- (links) und des <sup>19</sup> F-Spektrums (rechts) des N-Phthaloyl-Tetrasaccharids <b>54a</b> . ....	54
Abbildung 3.15	Ausschnitt des HMBC- (links) und des <sup>19</sup> F-Spektrums (rechts) des N-Phthaloyl-Tetrasaccharids <b>56a</b> . ....	56
Abbildung 3.16	Ausschnitt des HMBC- (links) und des <sup>19</sup> F-Spektrums (rechts) des N-Phthaloyl-Tetrasaccharids <b>55a</b> . ....	56
Abbildung 3.17	Ausschnitt des HMBC- (links) und des <sup>19</sup> F-Spektrums (rechts) des N-Phthaloyl-Tetrasaccharids <b>57a</b> . ....	56
Abbildung 3.18	Ausschnitt des HMBC- (links) und des <sup>19</sup> F-Spektrums (rechts) des Trifluor-N-Phthaloyl-Tetrasaccharids <b>58a</b> . ....	57
Abbildung 3.19	Übersicht der Peptidfestphasenbausteine für das universelle Impfstoffträgermolekül.....	61
Abbildung 3.20	Übersicht der gängigen Diazotransferreagenzien. ....	61
Abbildung 4.1	Übersicht der erfolgreich synthetisierten fluorierten SPn14-Antigenmimetika. ....	70

## SCHEMATAVERZEICHNIS

Schema 1.1	Totalsynthese des SPn14 Tetrasaccharidgrundgerüsts nach <i>Sinaj und Mitarbeitern</i> . ....	11
Schema 1.2	Totalsynthese eines SPn14 spezifischen Hexasaccharidfragments nach <i>Koeman et al.</i> .....	12
Schema 1.3	Ausgewählte Beispiele der chemo-enzymatischen Synthese von Pentasaccharidfragmenten der SPn14-CPS nach <i>Vliegthardt, Kamerling und Mitarbeitern</i> .....	13
Schema 1.4	Synthese des lipidgebundenen SPn14-Antigens nach <i>Savage und Mitarbeitern</i> .....	14
Schema 3.1	Die Retrosynthese der fluorierten Antigendeterminanten von <i>Streptococcus pneumoniae</i> Typ 14.....	30
Schema 3.2	Schematische Darstellung der Synthese des unmodifizierten Galactosyltrichloracetimidats <b>17</b> . .....	32
Schema 3.3	Schematische Darstellung der Synthese des unmodifizierten Lactosyltrichloracetimidats <b>16</b> . .....	33
Schema 3.4	Schematischer Mechanismus der Trichloracetimidat-Bildung. ....	33
Schema 3.5	Schematische Darstellung der Synthese des 6-Desoxy-6-fluorgalactosyltrichloracetimidats <b>18</b> . .....	33
Schema 3.6	Schematische Darstellung der DAST-vermittelten Desoxyfluorierung.....	34
Schema 3.7	Schematische Darstellung der Synthese des 4-Fluorgalactosyl-Bausteins <b>19</b> . ....	35
Schema 3.8	Schematische Darstellung der stereoselektiven C1→C4 Migration anomerer Gruppen durch DAST-vermittelte Aktivierung nach <i>Lin und Mitarbeitern</i> . ....	36
Schema 3.9	Schematische Darstellung der <sup>4</sup> C <sub>1</sub> und der <sup>4</sup> C <sup>1</sup> Sesselkonformationen während der nucleophilen Substitutionsreaktion des 4-O-Triflylglucosylbausteins. ....	37
Schema 3.10	Schematische Darstellung der Iodonium-vermittelten Aktivierung von Thioglycosiden unter sauren Bedingungen. ....	37
Schema 3.11	Schematische Darstellung der Synthese des Monosaccharidakzeptorbausteins <b>20</b> . ....	39
Schema 3.12	Schematische Darstellung der Synthese des Glycosaminosylakzeptors <b>21</b> . ....	40
Schema 3.13	Schematische Darstellung der Phthalimidschätzung an D-Glucosamin. ....	40
Schema 3.14	Schematische Darstellung des Mechanismus der TMSOTf-vermittelten Aktivierung eines Trichloracetimidatdonors.....	43
Schema 3.15	Schematische Darstellung der Synthese des 6F-Lac Bausteins <b>10</b> . ....	43
Schema 3.16	Schematische Erläuterung der DAST-vermittelten Desoxyfluorierung am Beispiel eines Lactosederivats. ....	44
Schema 3.17	Schematische Darstellung der Synthese des 6'F-Lac Bausteins <b>9</b> und des difluorierten 6,6'F <sub>2</sub> -Lac Bausteins <b>11</b> . ....	45
Schema 3.18	Schematische Darstellung der Synthese des 4'F-Lac Bausteins <b>12</b> . ....	46
Schema 3.19	Möglicher Mechanismus der <i>Tsuji-Trost</i> Deallylierung in Essigsäure.....	46
Schema 3.20	Schematische Darstellung der chemoselektiven Entschätzung des anomeren Zentrums und anschließende Überführung in die korrespondierenden α-konfigurierten Lactosyltrichloracetimide.....	47
Schema 3.21	Synthese des Lactosaminosyldisaccharid-Bausteins <b>13</b> . ....	48
Schema 3.22	Synthese der Akzeptorbausteine <b>14</b> und <b>15</b> . ....	49

Schema 3.23	Synthese der <i>N</i> -Phthaloyl-Tetrasaccharide <b>52a</b> , <b>53a</b> und <b>54a</b> .....	52
Schema 3.24	Synthese der <i>N</i> -Phthaloyl-Tetrasaccharide <b>55a</b> , <b>56a</b> , <b>57a</b> und <b>58a</b> .....	55
Schema 3.25	Versuch zur Entschützung des <i>N</i> -Phthaloylbausteins <b>56a</b> .....	58
Schema 3.26	Schematische Darstellung der Diiminbildung und Diimin/Alkenreduktion.....	58
Schema 3.27	Erfolgreiche <i>N</i> -Phthaloyl-Entschützung und Einführung des Acetamids in das Tetrasacchridgerüst.....	59
Schema 3.28	Globale Entschützung der SPn14-spezifischen Antigenmimetika.....	59
Schema 3.29	Allgemeines Protokoll der Festphasenpeptidsynthese nach der Fmoc-Strategie.....	60
Schema 3.30	Synthese des Diazotransferreagenzes <b>62</b> .....	62
Schema 3.31	Synthese des $\epsilon$ -Azido-Norleucins <b>59</b> .....	62
Schema 3.32	Möglicher Mechanismus für die Übergangsmetall-katalysierte Diazotransferreaktion nach <i>Wong und Mitarbeitern</i> .....	63
Schema 3.33	Synthese des Tetrapropargylgalactose SPPS Bausteins <b>60</b> in Anlehnung an Arbeiten von <i>Simerska und Mitarbeitern</i> .....	63
Schema 3.34	Synthese des Fmoc-Pam <sub>2</sub> Cys-OH Festphasenbausteins <b>61</b> in Anlehnung an Arbeiten von <i>Hida et al., Boons und Mitarbeitern</i> sowie <i>Payne und Mitarbeitern</i> .....	64
Schema 3.35	Mechanismus der PyBOP vermittelten Carboxylaktivierung.....	65
Schema 3.36	Festphasenglycopeptidsynthese des UPam-Trägerfragments <b>7</b> .....	66
Schema 3.37	Synthese des <i>N</i> -Maleimido-P2 Epitops <b>71</b> .....	67
Schema 4.1	Synthesen der Saccharidonorbausteine.....	70
Schema 4.2	Synthesen der Monosaccharidakzeptor-Bausteine.....	71
Schema 4.3	Synthese des 6-Fluorlactosyltrichloracetimidats.....	71
Schema 4.4	Synthese der fluorierten $\alpha$ -Lactosyltrichloracetimide.....	72
Schema 4.5	Synthese der südlichen Disaccharidakzeptor-Fragmente.....	72
Schema 4.6	Synthese der partiell fluorierten SPn14-spezifischen Antigen determinanten.....	73
Schema 4.7	Synthesen der Peptidfestphasenbausteine.....	74
Schema 4.8	Synthese des universellen Impfstoffträgermoleküls <b>7</b> .....	75

# **INHALTSVERZEICHNIS**



# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG</b> .....	1
1.1	Grundlagen des Immunsystems .....	1
1.2	Struktur, Biosynthese und biologische Funktion der bakteriellen Glycokalyx .....	6
1.3	Das kleinste protektive <i>Streptococcus pneumoniae</i> Typ 14 spezifische Epitop .....	11
1.4	Prinzipien und Aufbau von Impfstoffen und deren moderne Entwicklungen .....	16
<b>2</b>	<b>ZIELSETZUNG</b> .....	26
<b>3</b>	<b>ALLGEMEINER TEIL</b> .....	30
3.1	Synthesestrategie zum Aufbau der <i>S. pneumoniae</i> Typ 14 Mimetika .....	30
3.2	Synthesen der Monosaccharid-Bausteine .....	32
3.2.1	Synthesen der Monosaccharid-Donorbausteine .....	32
3.2.2	Synthesen der Monosaccharidakzeptor-Bausteine .....	39
3.3	Synthesen der Disaccharidfragmente .....	42
3.3.1	Synthesen der nördlichen Donorfragmente .....	42
3.3.2	Synthesen der südlichen Akzeptorfragmente .....	48
3.4	Synthese der SPn14-spezifischen Antigenendetermine .....	51
3.4.1	Synthesen der <i>N</i> -Phthaloyl-Tetrasaccharide unter Verwendung nicht-fluorierter Lactosyltrichloracetimidate .....	52
3.4.2	Synthesen der <i>N</i> -Phthaloyl-Tetrasaccharide unter Verwendung fluorierter Lactosyltrichloracetimidate .....	55
3.4.3	Globale Entschützung der SPn14 Antigenmimetika .....	58
3.5	Synthese des universellen Impfstoffträgermoleküls .....	60
3.5.1	Synthese der Festphasen-Aminosäurebausteine .....	61
3.5.2	Festphasenpeptidsynthese des Trägermoleküls .....	65
<b>4</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b> .....	69
<b>5</b>	<b>EXPERIMENTELLER TEIL</b> .....	77
5.1	Allgemeines und Messgeräte .....	77
5.2	Analytische Daten .....	80
5.3	Synthesen der Monosaccharidbausteine .....	80
5.3.1	Synthese der natürlichen Glycosyldonorbausteine .....	80
5.3.2	Synthese des 4-Fluorgalactosyldonorbausteins .....	84
5.3.3	Synthese des 6-Fluorgalactosyldonorbausteins .....	92
5.3.4	Synthese des Glucosylakzeptorbausteins .....	96
5.3.5	Synthese des Glucosaminosylakzeptorbausteins .....	100
5.4	Synthesen der Disaccharidfragmente .....	106
5.5	Synthesen der <i>Streptococcus pneumoniae</i> Typ14 Antigenmimetika .....	128
5.6	Synthesen des Impfstoffträgermoleküls .....	158

5.6.1	Das allgemeine Protokoll der Festphasenpeptidsynthese.....	158
5.6.2	Synthesen der Festphasen Monomere.....	158
5.6.3	Festphasenpeptid Synthese des universellen Impfstoffträgermoleküls.....	168
<b>6</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b> .....	171
<b>7</b>	<b>ANHANG</b> .....	I
7.1	Spektroskopischer Anhang .....	I
7.2	Übersicht aller synthetisierten Literatur-unbekannten Moleküle.....	LV

# **Theoretischer Teil**

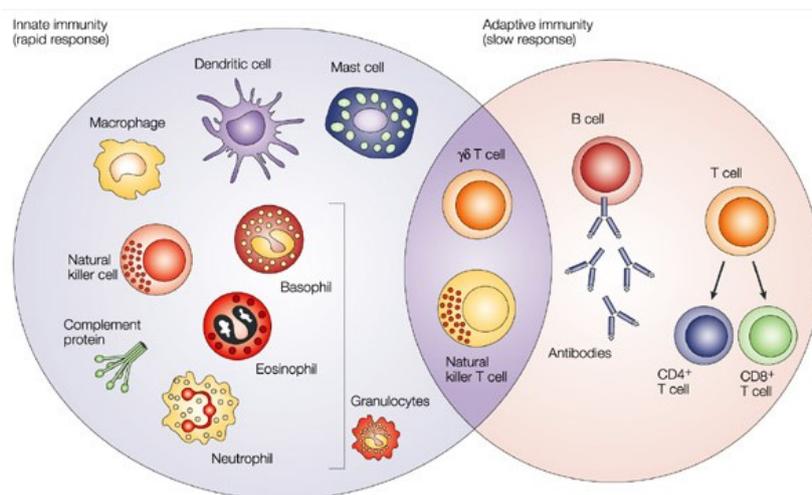


# 1 EINLEITUNG

## 1.1 Grundlagen des Immunsystems

Höhere Organismen entwickelten im Laufe der Evolution das Immunsystem, welches ein hocheffizientes System von mehreren sich ergänzenden Selbstverteidigungsmechanismen darstellt, um sich vor körperfremden, invasiven oder potentiell gefährlichen Pathogenen zu schützen.<sup>1</sup> Zur Abwehr stehen zum einen das unspezifische Abwehrsystem, sowie das adaptive Immunsystem zur Verfügung. Die unspezifische, oder auch nicht-adaptive Immunantwort schützt den Wirt unter anderem durch physikalische und chemische Barrieren wie das Epithel, welches einen sauren pH-Wert von ca. 4-6 aufweist, wodurch das Wachstum von Mikroorganismen gehemmt wird. Auch schützt das Enzym Lysozym (*Muramidase*), welches als angeborener Abwehrmechanismus in Tränenflüssigkeit, Speichel und Sekreten der Schleimhäute anzufinden ist.<sup>2</sup> Der Wirkmechanismus basiert auf der hydrolytischen Spaltung von  $\beta(1\rightarrow4)$  glycosidischen Bindungen zwischen *N*-Acetylmuraminsäure- (*NAM*) und *N*-Acetylglucosaminresten (*NAG*), welche sich überwiegend in Peptidoglykanschichten mikrobieller Zelloberflächenstrukturen befinden. Dahingegen basiert die adaptive Immunantwort auf der Fähigkeit des Immunsystems auf neuartige Bedrohungen zu reagieren, in dem diese erst identifiziert und in einem nachgelagerten Schritt spezifisch eliminiert werden können. Die Wirkungsweise des Immunsystems ist allgemein gesprochen strikt destruktiver Natur, weshalb es von höchster Notwendigkeit für den Wirt ist, hochgradig selektive Immunreaktionen auszulösen, welche stets den fremden Organismus, jedoch niemals Moleküle des eigenen Körpers attackieren dürfen. Daher stellt die Fähigkeit fremde von körpereigenen Molekülen zu unterscheiden eine Grundvoraussetzung des Immunsystems dar, welches bei Versagen zu *Auto-Immunerkrankungen*,<sup>1</sup> wie beispielsweise dem *Guillain-Barré-Syndrom*,<sup>3</sup> *Morbus Basedow*,<sup>4</sup> *Morbus Crohn*,<sup>5</sup> *Multipler Sklerose*<sup>6</sup> oder *Narkolepsie*,<sup>7</sup> führen kann. Fast jedes Makromolekül, sofern es vom Wirt als körperfremd eingestuft wurde, ist in der Lage eine Immunantwort zu induzieren, weshalb man solche Makromoleküle definitionsgemäß Antigene (*Antikörper-Generatoren*) nennt.<sup>8</sup> Diese von Antigenen ausgelöste Immunreaktion wird nun in zwei große Klassen eingeteilt, welche zum einen durch Ausschüttung löslicher Immunglobuline beziehungsweise Antikörper (*humorale Immunantwort*) oder andererseits als zellvermittelte Immunantwort gekennzeichnet sind. Bei der humoralen Immunantwort werden die Blutbahn und weitere Körperflüssigkeiten von Antikörpern geflutet, welche nun spezifisch das fremde Antigen binden und dieses neutralisieren. Durch diese nicht-kovalente Antigen/Antikörper-Bindung können Toxine, wie beispielsweise Tetanus-Toxin oder Botulinus-Toxin inaktiviert werden,<sup>8</sup> oder aber Pathogene für Fresszellen markiert werden (*Opsonierung*),<sup>9</sup> die letztlich den Eindringling durch Phagozytoseprozesse abbauen. Jeder Antikörper besteht aus zwei identischen schweren Ketten (*heavy chains, H-Ketten*) und zwei identischen leichten Ketten (*light chains, L-Ketten*), welche durch kovalente Disulfidbrücken zu einer Ypsilon-förmigen Struktur miteinander verknüpft sind.<sup>10</sup> Die L-Ketten bestehen jeweils aus einer variablen ( $V_L$ ) und einer konstanten ( $C_L$ ) Domäne. Die H-Ketten hingegen besitzen eine variable ( $V_H$ ) und drei konstante ( $C_{H1}$ ,  $C_{H2}$ ,  $C_{H3}$ ) Domänen.<sup>11</sup> Man unterscheidet hier fünf Klassen von Antikörpern IgA, IgD, IgE, IgG und IgM, die sich jeweils in ihrer strukturgebenden Klasse von H-Ketten unterscheiden.<sup>10</sup> Während die pentameren IgM-Antikörper hauptsächlich in den frühen Stadien der primären Immunantwort ins Blut abgegeben werden, kommt es im Zuge der sekundären Immunantwort zu einer Massenproduktion von hochaffinen IgG-Antikörpern (*class switch*).<sup>12</sup> Des Weiteren kann durch Antikörperbindung über die  $C_{H2}$ -Domäne zusätzlich das sogenannte Komplementsystem (*Komplementkaskade*)

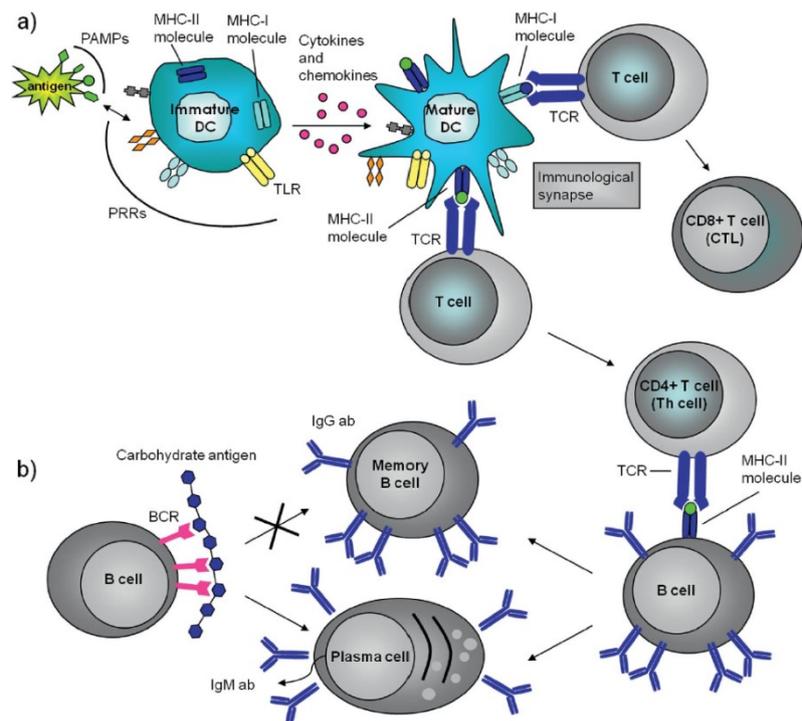
aktiviert werden, welches unterstützend bei der Abwehr von Mikroorganismen wirkt und aus einer Reihe löslicher lytischer Proteine besteht.<sup>13</sup> Man unterscheidet dabei den *Lektin-vermittelten*, den *alternativen* und den *klassischen Weg* der Aktivierung. Um all diese komplexen Erkennungs- und Verteidigungsmechanismen zu steuern und aufrechtzuerhalten, umfasst das Immunsystem Milliarden von spezialisierten Immunzellen, die sich wie alle Zellen des Blutes (*Erythrocyten*, *Leukozyten*) aus pluripotenten hämatopoetischen Stammzellen entwickeln. Als Beispiele sollen hier *eosinophile*, *basophile*, *neutrophile* Leukozyten und *Mastzellen*, sowie *Makrophagen* und *dendritische Zellen* (*dendritic cell/DC*) als Bestandteile der angeborenen Immunabwehr genannt werden (Abbildung 1.1).<sup>14-15</sup> Das Rückgrat der adaptiven Immunabwehr jedoch wird von den sogenannten Lymphozyten gebildet. Aufgrund deren Abstammung von lymphatischen Stammzellen bezeichnet man folglich den Thymus, wie auch das Knochenmark als primäre (zentrale) lymphoide Organe, da beide in der Lage sind diese gewebespezifischen Lymphozyten zu bilden.<sup>16</sup> Von diesen primären Organen wandern die jeweiligen naiven Lymphozyten schließlich in die sekundären (peripheren) Lymphorgane, wie beispielsweise die Milz oder die Lymphknoten, wo sie schließlich durch Kontakt mit fremden Antigenen geprägt werden.<sup>17</sup>



**Abbildung 1.1** Schematische Darstellung der Zellen des angeborenen (links) und des adaptiven Immunsystems (rechts) nach *Dranoff*.<sup>14</sup>

Gemäß der *Klon-Selektionstheorie* geschieht die Festlegung der Spezifität der naiven oder auch immunkompetenten Lymphozyten bereits vor dem Erstkontakt mit eben jenem Antigen, welches spezifisch deren Maturierung zu Effektorzellen stimuliert.<sup>18-21</sup> Entsprechend des Bildungsortes im Körper werden zwei grundsätzlich unterschiedliche Leukozytentypen unterschieden. Zum einen B-Zellen, welche im Knochenmark (*bone marrow*) produziert werden und zum anderen T-Zellen, welche im Thymus gebildet werden und sich weiter in zwei Subklassen, den *cytotoxischen T-Zellen* (*CTL*,  $CD8^+$ )<sup>22</sup> und den *Helfer-T-Zellen* ( $T_H$ ,  $CD4^+$ ),<sup>23</sup> aufteilen.<sup>15</sup> Beide Zelltypen unterscheiden sich ferner in grundsätzlichen Aspekten ihrer Wirkungsweise und Funktion. B-Zellen können über große Entfernungen im Körper wirken, denn sie sind auf die Sekretion von Antikörpern spezialisiert. Dahingegen üben T-Zellen allgemein nur Einfluss auf ihre direkte Umgebung aus und sind strikt auf Zell-Zell-Kontakte angewiesen, welche die direkte Vernichtung infizierter Zellen (*CTL*) umfasst und in der Regulation beziehungsweise Unterstützung von Effektorzellen ( $T_H$ ) besteht. Während  $T_H1$ -Zellen durch Ausschüttung von Chemokinen und Cytokinen Makrophagen (*Fresszellen*) rekrutieren und aktivieren können, stimulieren  $T_H2$ -Zellen indes durch direkten Kontakt die Proliferation von B-Zellen und deren Sezernierung von Antikörpern.<sup>23-24</sup> Bevor allerdings  $T_H$ -Zellen andere Zellen im Zuge einer Immunantwort

kostimulieren können, müssen sie zunächst selbst selektiv rekrutiert und aktiviert werden. Diese Aktivierung wird jedoch erst dann gewährleistet, sobald ein fremdartiges Antigen auf der Zelloberfläche einer spezialisierten Antigen-präsentierenden Zelle (APC) über ein sogenanntes MHC-Molekül (*major histocompatibility complex*) präsentiert wird (*MHC-Restriktion*).<sup>25-26</sup> Solche Antigen-präsentierende Zellen, die stets Zielzellen der T<sub>H</sub>-Zellen sind, stammen wie auch B-Zellen aus dem Knochenmark und umfassen eine heterogene Auswahl an unterschiedlichen Zelltypen, wie beispielsweise die oben genannten *dendritischen Zellen* der lymphoiden Organe, die *Langerhans-Zellen* der Haut, aber auch B-Zellen oder im Organismus zirkulierende *Makrophagen*.<sup>17</sup> Diese Antigenpräsentation wird durch exogene Stimuli („*Gefahrensignale*“), wie beispielsweise durch Alum,<sup>27</sup> Freundes Adjuvanz<sup>28</sup> oder Monophosphoryl Lipid A<sup>29</sup>, die in der gängigen Routinevakzinierung Verwendung finden, initiiert. Letzteres repräsentiert einen wichtigen Vertreter der sogenannten *toll-like-Agonisten*. *Toll-like-Rezeptoren (TLR)* sind eine Familie von konservierten Transmembranproteinen (*Mustererkennungsrezeptoren/pattern recognition receptors/PRR*),<sup>30</sup> die pathogen-assoziierte Muster (*pathogen-associated molecular pattern/PAMP*) erkennen können und das angeborene Immunsystem durch Induktion spezifischer Effektormechanismen mobilisieren, weshalb Stimuli dieses Arms des Immunsystems das angeborene und das adaptive Immunsystem verbindet.<sup>31</sup> Das menschliche Genom codiert für 10 TLRs, die hochkonservierte mikrobielle Zellfragmentmoleküle,<sup>32-33</sup> wie beispielsweise Lipopolysaccharide (*TLR4*),<sup>29, 34-40</sup> Lipopeptide (*TLR2/TLR1*-, *TLR2/TLR6-Heterodimere*),<sup>41-47</sup> Flagellin (*TLR5*),<sup>48-50</sup> einzelsträngige RNA (*TLR7* und *TLR8*)<sup>31</sup> oder doppelsträngige RNA (*TLR3*),<sup>51</sup> erkennen können.<sup>32</sup> TLR1, TLR2, TLR4, TLR5 und TLR6 reagieren auf extrazelluläre Stimuli, während TLR3, TLR7, TLR8 und TLR9 auf intrazytoplasmatische PAMPs reagieren.<sup>52-53</sup> Mit dieser kurzen Einführung in die Prinzipien des Immunsystems kann nun die erfolgreich eingeleitete Immunantwort als Ganzes wie folgt verstanden werden (Abbildung 1.2): Ein PAMP wird von einer im Wirtskörper zirkulierenden naiven APC (*immature DC*) über ihre PRRs erkannt und durch Endocytose und proteolytischen Abbau prozessiert,<sup>15</sup> bevor es schließlich auf der Zelloberfläche ausschließlich über ein Klasse II MHC-Molekül präsentiert wird.<sup>54-55</sup> Weiterhin wird durch die Konfrontation mit dem fremdartigen Antigen ein Reifungsprozess der naiven APC (*immature DC*) induziert und es liegt nun eine gereifte APC (*mature DC*) vor, die nun, wie bereits oben erwähnt, zu den sekundären Lymphorganen wandert und durch die Ausschüttung von kostimulierenden Cytokinen und Chemokinen nun zusätzlich naive T-Zellen rekrutiert.<sup>17, 54</sup> Bindet eine passende spezifisch komplementäre naive T-Zelle mit ihrem T-Zell-Rezeptor (*T-cell receptor/TCR*) den MHCII/Antigen-Komplex der APC, kommt es simultan zu einer gleichgeschalteten Co-Rezeptorbindung zwischen dem CD4-Protein (*cluster of differentiation*) der T-Zelle und einer invarianten konservierten Domäne des MHCII Moleküls, der die Festigkeit der Zell-Zell-Adhäsion verstärkt, und die Ausschüttung von stimulierenden Interleukinen (IL-1, IL-2) bewirkt. Das kombinierte Einwirken induziert nun die Proliferation und die Bildung einer Vielzahl identischer CD4<sup>+</sup>-T-Zellklone, die ihrerseits nun in der Lage sind spezifisch komplementäre naive B-Zellen zu rekrutieren. Die CD4<sup>+</sup>-Zellen aktivieren jedoch nur solche B-Zellen, die dasselbe Antigen erkennen wie sie selbst. Darüber hinaus exprimiert die aktivierte CD4<sup>+</sup>-Helfer-T-Zelle den CD40-Liganden, ein membrangebundenes Signalmolekül, auf ihrer Zelloberfläche, der in Folge den B-Lymphozyten über eine spezifische Bindung des CD40-Transmembranproteins aktiviert. Ohne dieses Zusammenspiel von CD40-Ligand und CD40 können Helfer-T-Zellen keine B-Zellen aktivieren.<sup>56</sup> Anders gesprochen wird so die Proliferation und die Reifung von B-Zellen in Gedächtnis-B-Zellen und in Antikörper sezernierende Plasma-B-Zellen initiiert und ferner die weitere Ausschüttung co-stimulierender Mediatoren, wie IL-4, IL-5 und IL-6 induziert, und so die volle antigen-spezifische adaptive Immunantwort letztlich eingeleitet.<sup>23</sup>



**Abbildung 1.2** Schematische Darstellung der Immunantwort nach Morelli et al.<sup>57</sup>

Die Umwandlung von der B-Lymphozyten in Plasmazellen befähigt diese nun spezifisch gegen das Antigen gerichtete Immunglobuline beziehungsweise Antikörper massenhaft zu sezernieren und in die Blutbahn abzugeben, um die Infektion so lange zu bekämpfen, wie die Infektionsherde bestehen.<sup>56</sup> Anschließend gehen Plasmazellen den programmierten Zelltod (*Apoptose*) ein, während Gedächtniszellen sehr lange Zeit im Körper überleben. Diese Gedächtnis-B-Zellen stellen das Rückgrat der sekundären Immunantwort dar, da sie bei einer zweiten Konfrontation des Wirts mit demselben Antigen schnell, effizient und massiv eine adäquate Immunantwort generieren können, was die Grundlage der erworbenen Immunität bildet.<sup>56</sup>

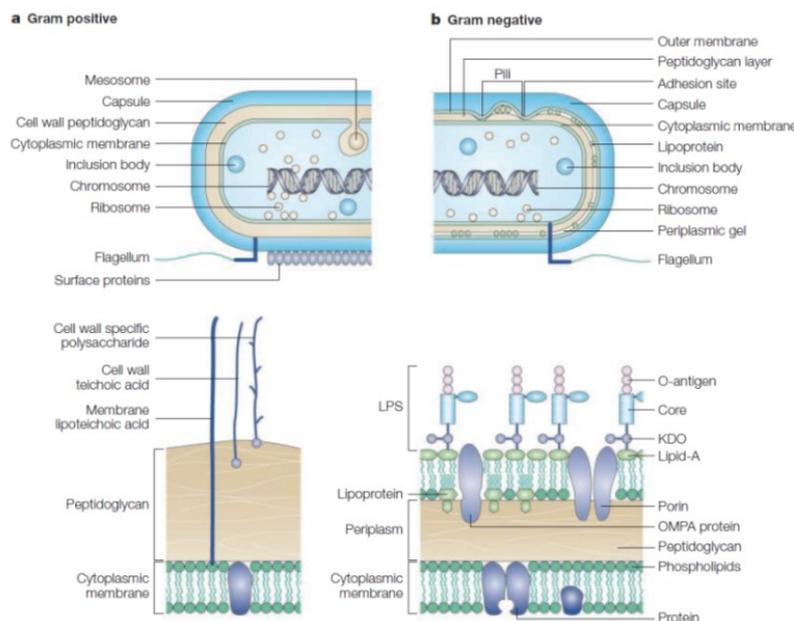
An dieser Stelle muss letztlich die prominente Rolle der MHC-Moleküle, welche die Antigene den jeweiligen T-Zellen präsentieren, als zentrale Schnittstelle der adaptiven Immunantwort spezifiziert werden. Man unterscheidet MHC-I und MHC-II,<sup>54</sup> welche ausschließlich zwitterionische, meist peptidische, Strukturen binden und präsentieren können. Während MHC-I-Moleküle spezifisch „Selbst-Antigene“ aus dem Zellinneren der jeweiligen Wirtszelle präsentieren, binden MHC-II-Moleküle, wie bereits oben geschildert, stetsprozessierte exogene Strukturen. Die MHC-I Präsentation spielt daher vor allem bei intrazellulären Pathogenen eine wichtige Rolle. Diese von der infizierten Zelle intrazellulär gebildeten fremdartigen pathogen-assoziierten Proteinfragmente werden kontinuierlich auf der Wirtszelloberfläche über MHC-I präsentiert und können so von cytotoxischen CD8<sup>+</sup>-Zellen als potentiell pathogen erkannt und vernichtet werden, was prinzipiell den Arm der zellvermittelten Immunantwort ergänzt.<sup>22</sup> Weiterhin gilt, dass reine Kohlenhydratantigene, wie sie weit verbreitet auf vielen Zelloberflächenstrukturen pathogener Organismen vorkommen, zwar durch Bindung an membranständige B-Zell-Rezeptoren die komplementäre B-Zelle aktivieren können, jedoch aufgrund der fehlenden zwitterionischen Struktur der meisten Saccharidantigene, nicht in der Lage sind, MHC-II vermittelte T-Zell-Hilfe zu generieren, weshalb die nötigen Chemokin- und Cytokin-vermittelten Stimuli fehlen, um sowohl ein immunologisches Gedächtnis, als auch einen IgM zu IgG Antikörper-Klassenwechsel (*class-switch*) zu induzieren. Da jedoch Kohlenhydratantigene als Hauptbestandteil der äußeren Zellwand von Pathogenen eine

zentrale immunologische Zielstruktur einnehmen, stellt dies große Herausforderungen für die Impfstoffentwicklung dar. Ansätze zur Überwindung dieser intrinsischen Einschränkung der adaptiven Immunantwort im Bezug auf reine Kohlenhydratantigene werden in den folgenden Kapiteln dieser Arbeit präsentiert.

## 1.2 Struktur, Biosynthese und biologische Funktion der bakteriellen Glycokalyx

Um mit den im vorigen Kapitel erarbeiteten Grundlagen und Prinzipien des Immunsystems in der Lage sein zu können, geeignete prophylaktische oder therapeutische Behandlungsstrategien zu entwickeln, ist es weiterhin notwendig, sich ein vertieftes Wissen über die Struktur und Funktion potentieller exogener Zielstrukturen zu den jeweiligen Krankheitsbildern anzueignen. Prinzipiell ist das Immunsystem in der Lage, gegen nahezu jedes Makromolekül durch entsprechenden Stimulus spezifisch zu reagieren. Bei der Frage nach den Zielstrukturen, welche das Immunsystem „erlernen“ beziehungsweise bekämpfen soll, rücken Zelloberflächenstrukturen als primäre Ziele in den Fokus der Betrachtung. Dabei ist es prinzipiell unerheblich, ob es sich um pathogene Organismen, wie beispielsweise Bakterien, Viren, Pilze, Parasiten oder aber um körpereigene entartete Zellen im Krebsfall handelt. Sofern sich die Zelloberflächenzielstruktur, auch bekannt als antigene Determinante oder sogenanntes B-Zellepitop, der invasiven oder malignen Zelle klar und definiert von gesunden Zellverbänden des Wirtsorganismus unterscheidet, kann das Immunsystem schützend eingreifen.<sup>58</sup>

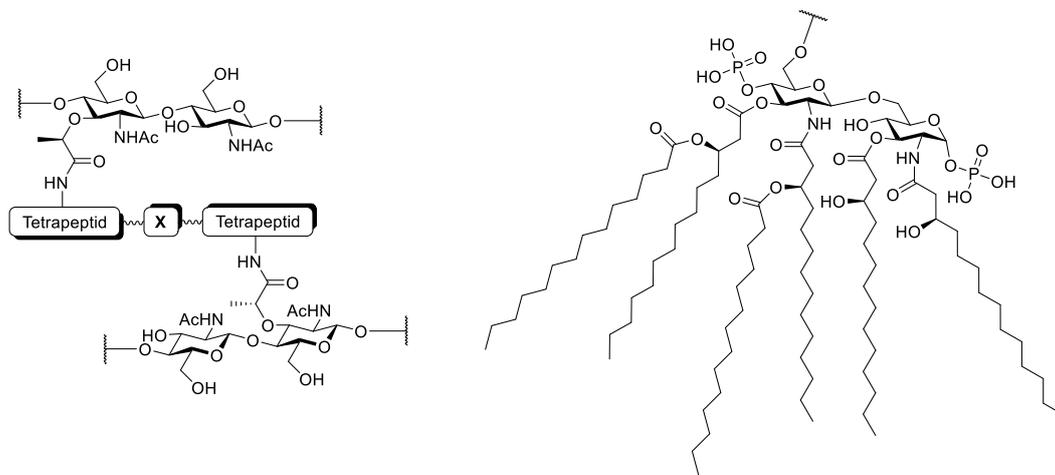
Nahezu alle lebenden Zellen präsentieren auf ihrer äußeren Membran Glycane, welche eine spezifische *Glycokalyx* bilden.<sup>59-61</sup> Diese dient als spezifitätgebendes Merkmal, welches das Immunsystem selektiv erkennen, und gezielt angreifen sollte. So soll im Folgenden auf die spezifischen Charakteristika des bakteriellen Organismus und deren äußerer Zellmembran eingegangen werden. Allgemein handelt es sich bei Bakterien um prokaryotische Zellen, die auf zellulärer Ebene keinen abgegrenzten Zellkern besitzen (Abbildung 1.3).<sup>62</sup> Die DNA dieser Organismen ist als ein dicht strukturiertes ringförmiges doppelsträngiges Molekül (*Bakterienchromosom, Kernäquivalent, Nukleoid*) organisiert und liegt frei im Zytoplasma ohne Membranbegrenzung vor.<sup>63-64</sup>



**Abbildung 1.3** Strukturelle Charakteristika von gram-positiven und gram-negativen Bakterien nach *Lolis* und *Bucala*.<sup>52</sup>

Des Weiteren finden sich fundamentale strukturelle Unterschiede im Aufbau der Zelle im Vergleich zu eukaryotischen Zellen. So besitzen Prokaryoten keine abgegrenzten Zellorganellen, wie die *Mitochondrien*, das *Endoplasmatische Reticulum (ER)* oder den *Golgi-Apparat*, sondern es liegt ausschließlich das Cytoplasma vor, das in der Summe 75-95% der Zellmasse ausmacht, und alle für die Translation benötigten Komponenten

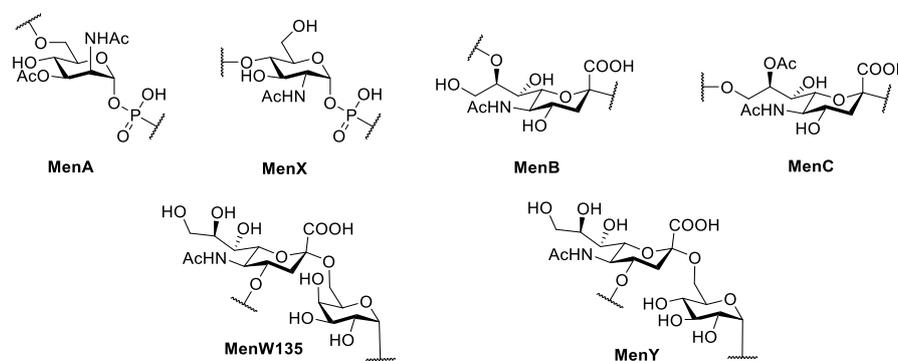
(*Plasmid, RNA, Ribosomen*) enthält.<sup>62, 65-66</sup> Es wird von der Cytoplasmamembran eingeschlossen, die aus einer Doppelschicht von amphiphilen Phospholipiden besteht, deren hydrophobe Anteile sich zusammenlagern, während die hydrophilen Kopfgruppen in den periplasmatischen beziehungsweise in den cytoplasmatischen Bereich ragen.<sup>52</sup> Diese Zellmembran ist von einer weiteren Struktur, der sogenannten Zellwand umschlossen, die hauptsächlich aus mehreren Lagen eines netzartigen Makromoleküls, dem sogenannten Murein (Lat. *murus* = Mauer) oder auch Peptidoglycan (*PGN*) besteht, das der prokaryotischen Zelle ihre Rigidität verleiht und Schutz bietet.<sup>67-70</sup> Das PGN besteht aus vielen Wiederholungseinheiten des  $\beta(1\rightarrow4)$ -verknüpften Disaccharids aus *N*-Acetylglucosamin (*GlcNAc*) und *N*-Acetylmuraminsäure (*MurNAc*),<sup>71</sup> die das lineare Rückgrat bilden (Abbildung 1.4 links). Von jeder Lactylgruppe einer MurNAc-Einheit aus vernetzt nun eine variable art-spezifische Oligopeptidkette schließlich zwei benachbarte Zuckerstränge quer.



**Abbildung 1.4** Schematische Darstellung der Peptidoglykanschicht der bakteriellen Zellwand (links),<sup>71</sup> Lipid A von gram-negativen Bakterien (rechts).<sup>72</sup>

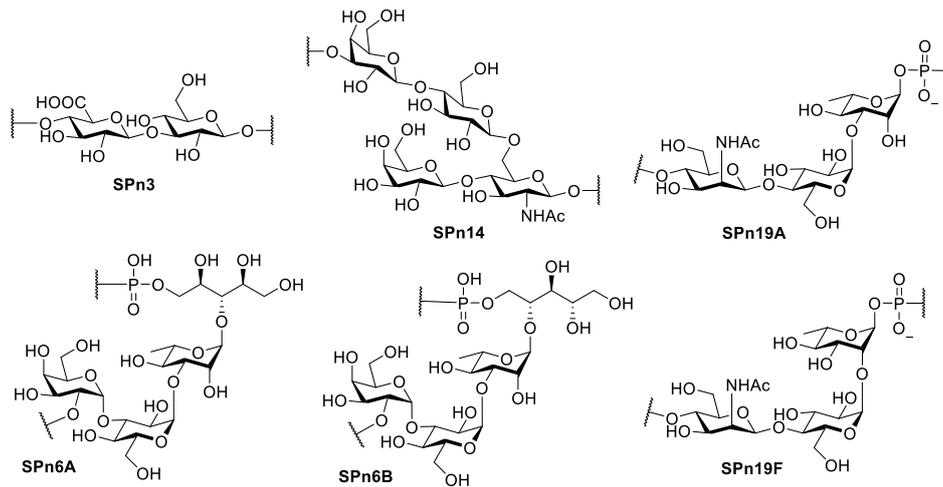
Man unterscheidet ab diesem Punkt zwei Hauptklassen von Bakterien, die strukturell differenzierte Zellwandarchitekturen aufweisen und sich durch ein Färbeverfahren nach *Gram* taxonomisch klassifizieren lassen.<sup>73-75</sup> So unterscheidet man je nach Färbeverhalten gram-positive und gram-negative Bakterienstämme. Letztere besitzen eine vergleichsweise dünne PGN-Zellwand, die allerdings von einer weiteren äußeren, unsymmetrischen Doppelmembran umgeben ist.<sup>52</sup> Auf der periplasmatischen Seite besteht sie aus Phospholipiden, während die extrazelluläre Seite aus Lipopolysacchariden (*LPS*) aufgebaut ist.<sup>72</sup> Bei *LPS* Strukturen handelt es sich um amphiphile Makromoleküle, welche unverzichtbar für die Funktionsfähigkeit und das Überleben von gram-negativen Bakterien sind, da sie massiv zur strukturellen Integrität der Zelloberfläche beitragen.<sup>76</sup> Diese *LPS* bestehen wiederum aus drei Domänen, die sich aus dem Lipid A, der Kernstruktur (*Core*) und der O-Kette zusammensetzen. Das Lipid A fungiert als lipophiler Membrananker, der die Kernstruktur in der Zellmembran fixiert (Abbildung 1.4 rechts). Dabei interkaliert die hochgeordnete Lipid A Struktur über hydrophobe Wechselwirkungen in die Phospholipiddoppelmembran dieser Bakterien.<sup>77</sup> Darüber hinaus stabilisieren elektrostatische Wechselwirkungen zwischen divalenten Kationen, wie beispielsweise  $\text{Ca}^{2+}$  und  $\text{Mg}^{2+}$ , und den negativ geladenen Phosphat-Gruppen auf dem *LPS* Molekül die äußere Zellmembran, so dass gram-negative Bakterien sich robust gegen externe Stressfaktoren schützen können.<sup>76</sup> Das Lipid A gehört selbst zur Gruppe der Endotoxine,<sup>52, 72</sup> welche aufgrund ihrer potenten immunstimulierenden Wirkung als Adjuvantien in den Fokus der gegenwärtigen Impfstoffentwicklung gerückt sind, jedoch bei zu starker Exposition einen anaphylaktischen Schock (*Toxisches Schocksyndrom/toxic shock syndrome*) auslösen können.<sup>34, 78-82</sup> Der Term Endotoxin leitet sich vom griechischen

„endo“, zu Deutsch, „innen“ ab, was die Fähigkeit andeuten soll, von „innen heraus“ eine starke Immunantwort auslösen zu können und das konkrete Beispiel Lipid A gehört weiterhin zur Gruppe der sogenannten *toll-like* Rezeptoragonisten (*TLR4*).<sup>32, 36, 53, 72, 83</sup> Daneben repräsentiert die Kernstruktur ein Polysaccharid, welches den mittleren Teil der LPS bildet und wichtige Funktionen für die Struktur der äußeren Zellmembran übernimmt. Die O-Kette, auch O-Antigen genannt, ist eine je nach Bakterienart spezifische repetitive Polysaccharidstruktur und definiert die, für das Immunsystem zugängliche, antigene Determinante.<sup>76</sup> In der bakteriologischen Diagnostik dient das O-Antigen zudem als Unterscheidungs-merkmal der jeweiligen Bakterienstämme (*Serotypen*) und bildet so die chemisch-strukturelle Grundlage ihrer serologischen Klassifikation. Im Folgenden werden ausgewählte Beispiele von gram-negativen O-Antigenen kurz skizziert. Ein prominentes Beispiel stellt das Bakterium *Neisseria meningitidis* (*Men*) dar, welches ein intrazellulär-lebendes, fakultativ anaerob wachsendes Bakterium ist und durch Tröpfcheninfektion von Mensch zu Mensch übertragen wird.<sup>57, 84-86</sup> Mehr als 90% der Meningokokken-Infektionen werden durch die Serotypen *MenA*, *MenB*, *MenC*, *MenW135* und *MenY*, die unter anderem Hirnhautentzündungen (*Meningitis*) und Blutvergiftungen (*Sepsis*) auslösen, hervorgerufen.<sup>86-87</sup>



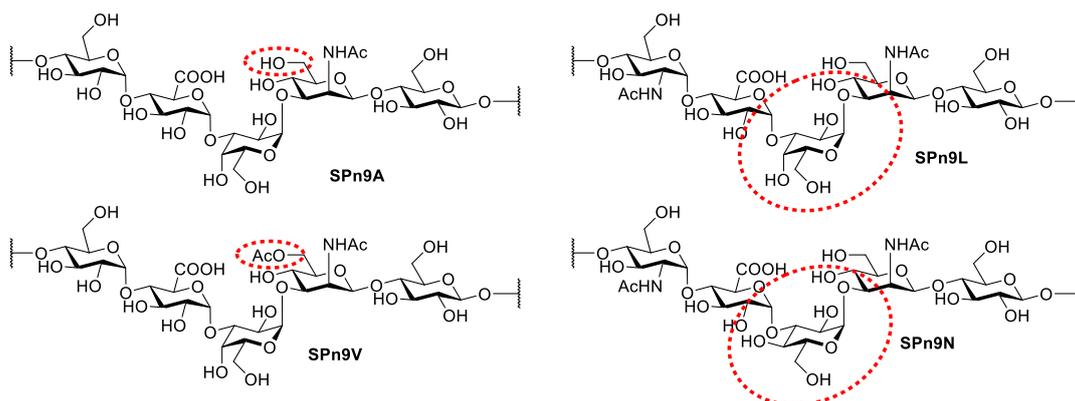
**Abbildung 1.5** Exemplarische Darstellung ausgewählter gram-negativer *Neisseriae meningitidis* Serotypen.<sup>88</sup>

Gram-positive Bakterien hingegen besitzen eine 15-80 nm dicke Zellwand, die bis zu 40 Lagen der oben beschriebenen PGN-Schicht aufweisen.<sup>52</sup> Diese Zellwand wird zusätzlich von Lipoteichonsäuren durchzogen,<sup>89-91</sup> die in der Außenseite der Cytoplasmamembran verankert sind, und aus der Bakterienzellwand hinausragen und in bakteriellen Adhärenzprozessen eine wichtige Rolle spielen.<sup>67</sup> Daneben sind gram-positive Bakterien zusätzlich mit einer sogenannten Kapselpolysaccharidstruktur (*capsular polysaccharide/CPS*) umgeben.<sup>92-93</sup> Dabei handelt es sich um eine kovalent mit der PGN-Schicht verbundene hochviskose Polymerkapsel auf Kohlenhydratbasis, die Bakterien vor Fresszellen schützen und so das Überleben im Blutstrom sichern soll.<sup>61</sup> Analog zu den zuvor besprochenen O-Antigenen, ist die CPS serotyp-spezifisch für den jeweiligen Bakterienstamm. In der folgenden Abbildung werden exemplarisch einige prominente CPS-Strukturen des gram-positiven Bakteriums *Streptococcus pneumoniae* (*SPn*) gezeigt (Abbildung 1.6), welches schwere Infektionen, wie Lungen-entzündung (*Pneumonie*), Hirnhautentzündung (*Meningitis*), sowie Mittelohrentzündungen (*Otitis media*) auslösen kann.<sup>94-95</sup> Pneumokokken können ebenfalls durch Tröpfchen-Infektion übertragen werden und besiedeln klassischerweise die Schleimhäute des Nasenrachenraums (*Nasopharynx*). Bei einem Übergang in die Blutbahn jedoch droht eine Sepsis (*Blutvergiftung*). Bis zum heutigen Tag wurden mehr als 90 verschiedene Serotypen identifiziert,<sup>96</sup> von denen jedoch nur 23 als akut invasiv gelten und 85-90% aller invasiven Infektionen bedingen.<sup>95</sup>



**Abbildung 1.6** Exemplarische Darstellung ausgewählter gram-positiver *Streptococcus pneumoniae* Serotypen.

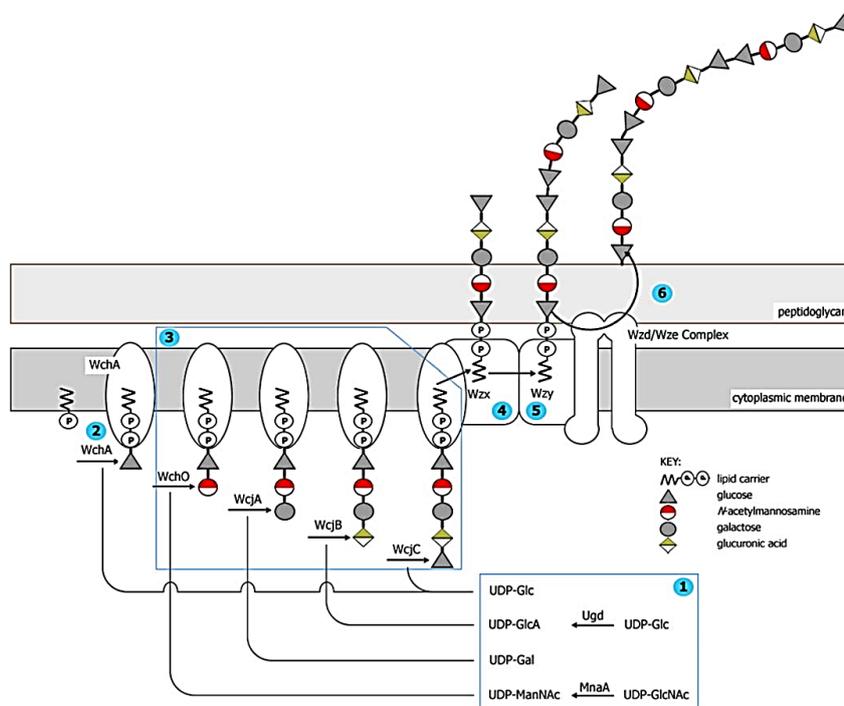
Im Allgemeinen gilt, dass alle Kohlenhydratstrukturen genetisch nicht codiert sind, das heißt sie sind Metaboliten deren Biosynthese ausschließlich durch die Aktivität von Glycosyltransferasen gesteuert wird, was sich phänotypisch in einem hohen Grad an Diversität und Heterogenität äußert.<sup>93, 96</sup> Es bestehen also in biologischen Systemen hochkomplexe Glycoformen eines bestimmten Organismus. Im Falle gemeinsamer struktureller Ähnlichkeit in Bezug auf die entsprechende CPS-Struktur werden solche Serotypen in übergeordnete Serogruppen klassifiziert. So bilden beispielsweise die Serotypen SPn9A, SPn9L, SPn9N und SPn9V eine Serogruppe, da sie zwar unterschiedliche Ausprägungen ihrer Polysaccharidhülle aufweisen und so einen serologisch differenzierbaren Organismus bilden, aber dennoch strukturelle Ähnlichkeiten besitzen (Abbildung 1.7). So weisen SPn9A und SPn9V dieselbe Wiederholungseinheit auf, welche sich lediglich in einer an 6-Position lokalisierten Modifikation des *N*-Acetyl-Mannosaminfragments unterscheiden.<sup>97</sup> Auch die Serotypen SPn9L und SPn9N sind sehr ähnlich zueinander und unterscheiden sich lediglich in der Sequenzfolge eines Zuckers der Wiederholungseinheit (Glc↔Gal).



**Abbildung 1.7** Schematische Darstellung der CPS-Wiederholungseinheiten der Serogruppe 9 des Bakteriums *Streptococcus pneumoniae*.<sup>96-97</sup>

In der vorliegenden Arbeit soll an dieser Stelle die Biosynthese einer prokaryotischen gram-positiven bakteriellen CPS am Beispiel des Bakteriums *Streptococcus pneumoniae* Typ 9A (SPn9A) exemplarisch skizziert werden (Abbildung 1.8).<sup>96</sup> Dieser allgemeine Biosyntheseweg ist für nahezu alle Pneumokokken-CPS-Strukturen repräsentativ. Zunächst werden alle nicht-organisatorischen (*non-housekeeping*) Nukleotidzucker-Donorbausteine in vorgelagerten Biosynthesepfaden vom Bakterium bereitgestellt und in ausreichender Menge

im Cytosol angereichert **(1)**. So wird UDP-*N*-Acetylglucosamin (*UDP-GlcNAc*) in UDP-*N*-Acetylmannosamin (*UDP-ManNAc*) durch das Isomeraseenzym *MnaA* und UDP-Glucose (*UDP-Glc*) entsprechend durch das Enzym *Ugd* in das entsprechende UDP-Glucuronsäurederivat (*UDP-GlcA*) überführt. Anschließend wird in einem initialen Schritt von der Glycosyltransferase *WchA* der erste UDP-Glc Zuckerbaustein auf das membrangebundene Undecaprenylphosphat übertragen **(2)**. Die Zuckerkette wird durch Glycosyltransferasen (*WchO*, *WcjA*, *WcjB*, *WcjC*) nun sukzessive mit den entsprechenden Substraten UDP-ManNAc, UDP-Gal und UDP-GlcA um jeweils ein Saccharidfragment, bis zur Tetrasaccharid-CPS-Wiederholungseinheit verlängert **(3)**. Anschließend transportiert das *Wzx*-Flippase-Enzym die vollständige, vier Zuckereinheiten umfassende, cytoplasmatische Wiederholungseinheit über die Grenzen der Cytoplasmamembran in den extrazellulären Raum **(4)**, wo die jeweiligen Wiederholungseinheiten durch die *Wzy*-Polymerase blockweise aneinander gereiht werden und so ein lipidgebundenes unreifes CPS-Molekül **(5)** bilden. Letztlich transferiert der *Wzd/Wze* Enzymkomplex die reife CPS auf die Zelloberfläche und bindet sie kovalent an die PGN-Schicht **(6)**.

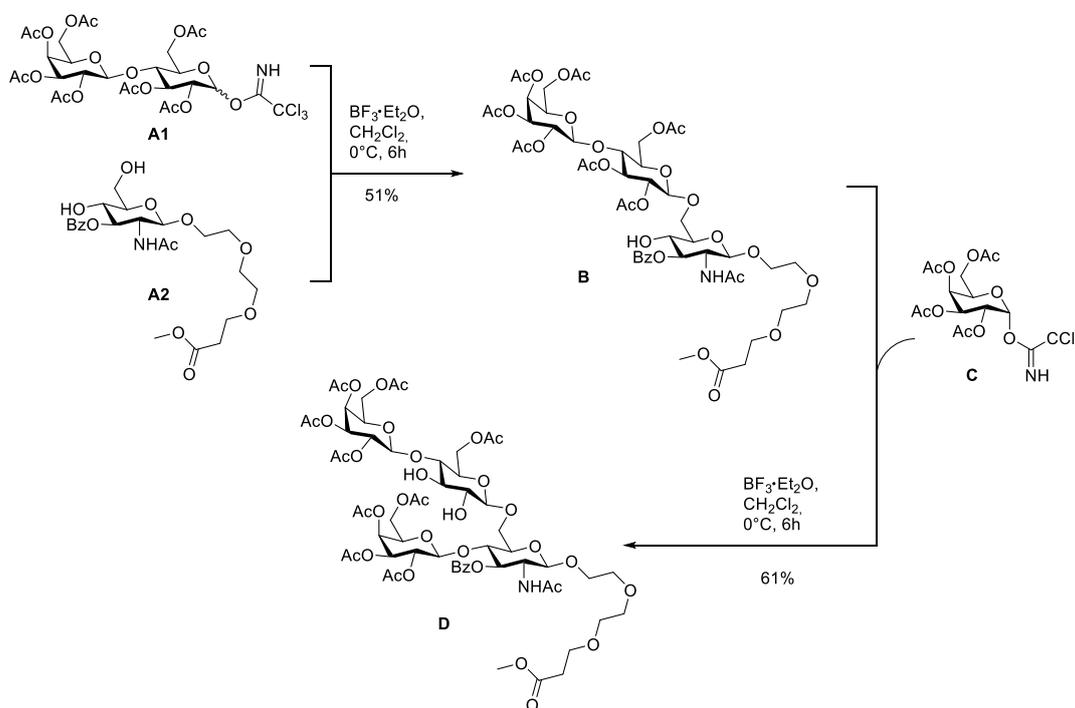


**Abbildung 1.8** Darstellung des *Wzx/Wzy*-abhängigen Biosyntheseweges der CPS von SPn9A nach Bentley.<sup>96</sup>

### 1.3 Das kleinste protektive *Streptococcus pneumoniae* Typ 14 spezifische Epitop

*Streptococcus pneumoniae* (SPn) ist ein pathogenes gram-positives Bakterium, das immer noch einen signifikanten Beitrag zur weltweiten Morbidität und Mortalität beiträgt.<sup>98</sup> Infektionen mit SPn resultieren meist in schweren Lungenentzündungen (*Pneumonie*), Mittelohrentzündungen (*Otitis media*) oder Hirnhautentzündungen (*Meningitis*), welche vor allem für Hochrisikogruppen, wie (Kleinst-) Kinder und die ältere Bevölkerung sowie immunkompromittierten Patienten (*Chemotherapie, HIV-Infektion*), zu gefährlichen bis lebensbedrohenden Krankheitsverläufen führen kann.<sup>94-95, 99-100</sup> Der erfolgreiche routinemäßige Einsatz von Antibiotika ist jedoch im Hinblick auf die in den letzten Jahrzehnten wachsenden Antibiotikaresistenzen als kritisch zu beurteilen.<sup>101</sup> Aufgrund der epidemiologischen Relevanz und um ein besseres Verständnis über die immunologischen Zusammenhänge zwischen der formalen Zelloberflächenwiederholungseinheit und dem kleinsten protektiven Epitop zu gewinnen, wurde die *Streptococcus pneumoniae* Typ 14-Wiederholungseinheit in den letzten Jahrzehnten intensiver Gegenstand der Forschung.

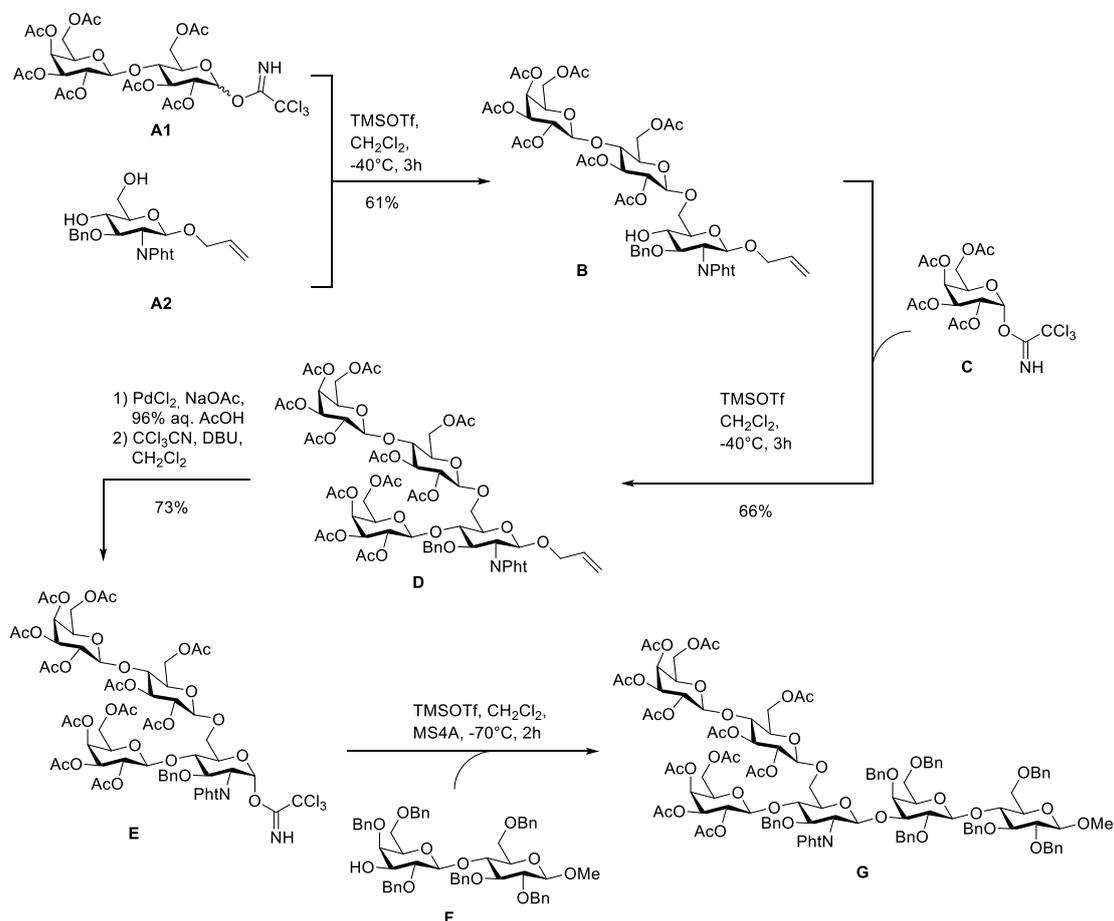
Als Beispiel ist die von *Sinay und Mitarbeitern* im Jahr 1986 beschriebene Totalsynthese der SPn14-spezifischen verzweigten Tetrasaccharid Wiederholungseinheit, deren Schlüsselschritte im folgenden kurz skizziert werden, zu nennen (Schema 1.1).<sup>102</sup> Ihrer Synthesestrategie zufolge wurde das  $\alpha/\beta$ -Lactosyltrichloracetimidat **A1** mit einem 4,6-deblockierten-Acetamidyl-donor **A2** regio- und stereoselektiv zum Trisaccharid **B** in einer Ausbeute von 51% glycosyliert. Anschließend wurde Galactosylbaustein **C** an die verbleibende freie Hydroxylgruppe von Trisaccharid **B** glycosyliert und schließlich Tetrasaccharid **D** in 61% Ausbeute erhalten.



**Schema 1.1** Totalsynthese des SPn14 Tetrasaccharidgrundgerüsts nach *Sinay und Mitarbeitern*.<sup>102</sup>

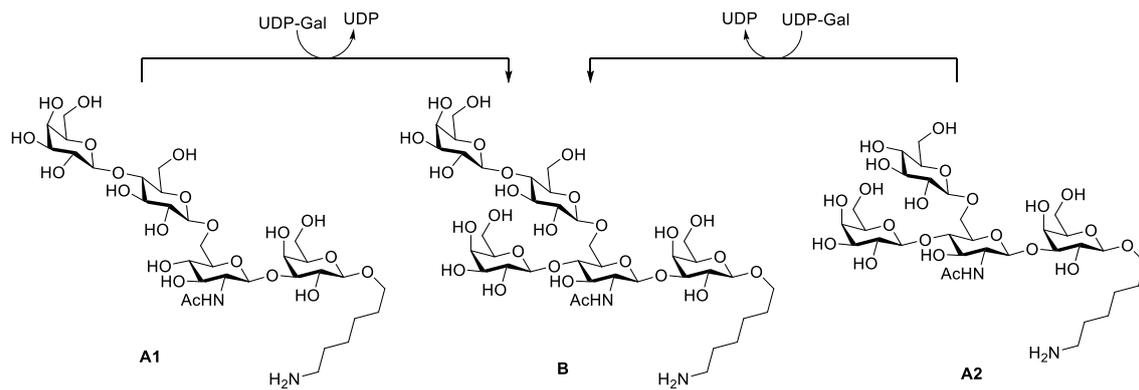
Nachfolgende Arbeiten von *Koeman et al.* im Jahr 1994 erweiterten die oben genannte Syntheseroute, um ein Hexasaccharidfragment der SPn14-Wiederholungseinheit (Schema 1.2).<sup>103</sup> Auch hier wurde in einem ersten Schritt eine regio- und stereoselektive  $\beta(1\rightarrow6)$ -Glycosylierung von **A1** und dem orthogonal geschützten *N*-Phthaloylallylglycosid **A2** zu Trisaccharid **B** in 61% Ausbeute durchgeführt. In einem nachgelagerten Schritt

wurde, in Anlehnung an die Vorarbeiten von *Sinay und Mitarbeitern*<sup>102</sup>, die verbleibende nicht-reduzierende Hydroxylgruppe des Trisaccharids mit dem Galactosyldonor **C** in 66% Ausbeute verknüpft. Anschließende Deblockierung des anomeren Zentrums und Trichloracetimidateinführung lieferte schließlich Baustein **E** in 73%, der zusammen mit dem passend funktionalisierten Methylglycosidakzeptor **F** in 53% Ausbeute zum Hexasaccharid **G** umgesetzt wurde.



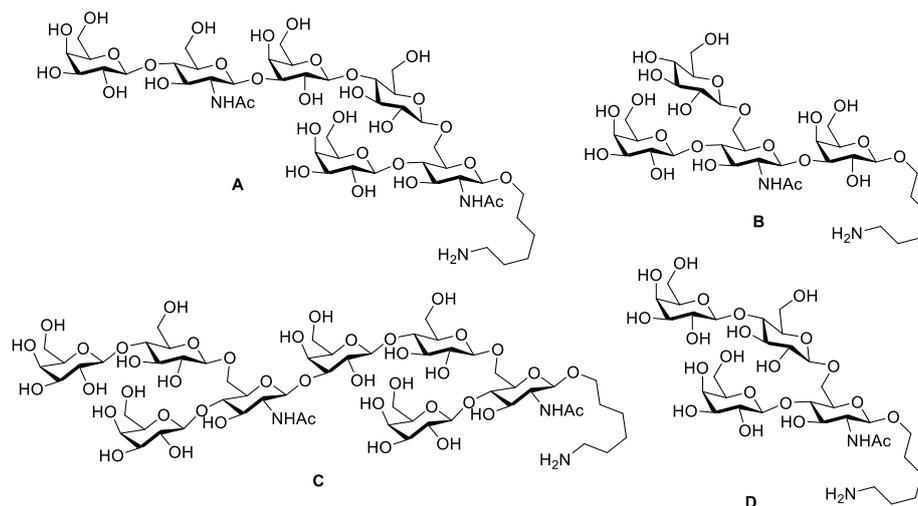
**Schema 1.2** Totalsynthese eines SPn14 spezifischen Hexasaccharidfragments nach *Koeman et al.*<sup>103</sup>

Weiterhin wurde von *Vliegthart, Kamerling und Mitarbeitern* die chemoenzymatische Synthese von Tetra-, Penta-, Hexa- und Octasaccharid-Fragmenten der SPn14-CPS beschrieben.<sup>98, 104-105</sup> Deren Ansatz beruhte auf der Strategie, synthetische Akzeptorsubstrate für das Enzym  $\beta$ -1,4-Galactosyltransferase bereitzustellen und in Gegenwart geeigneter UDP-Galactosylbausteine zu inkubieren. Somit werden von der Transferase jeweils Galactosylfragmente an das nicht-reduzierende Ende des jeweiligen Oligosaccharidakzeptorsubstrats angebunden (Schema 1.3). Durch die enzymatische Synthese ist die Darstellung von komplexen Oligosacchariden stereo- und regioselektiv gewährleistet, jedoch kann vielfach nur der Zugang zu geringen Substanzmengen ermöglicht werden, da sowohl Enzymaktivität, Substratspezifität, aber auch die Darstellung der Substrate **A1** und **A2**, die einer regulären vielstufigen chemischen Synthese bedürfen, als limitierende Faktoren gelten.



**Schema 1.3** Ausgewählte Beispiele der chemo-enzymatischen Synthese von Pentasaccharidfragmenten der SPn14-CPS nach *Vliegthardt, Kamerling und Mitarbeitern*.<sup>98, 104</sup>

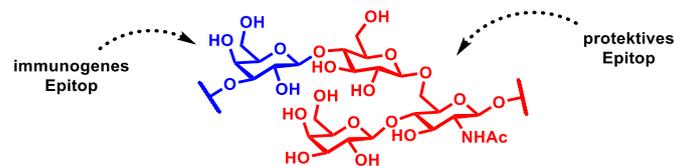
In einer weiteren Studie wurde von *Snippe und Mitarbeitern* die Frage untersucht, wie klein die minimale Struktur der SPn14-Wiederholungseinheit sein darf, um dennoch spezifische Antikörperantworten *in vivo* zu generieren.<sup>106</sup> Dafür wurden 16 synthetisch sich überlappende Oligosaccharidfragmente<sup>98, 104-107</sup> der CPS des Bakteriums SPn14 jeweils an die Trägerproteine CRM<sub>197</sub> und BSA konjugiert und als immunogene Einheiten im Mausmodell evaluiert (Abbildung 1.9).<sup>106</sup>



**Abbildung 1.9** Ausgewählte Beispiele der Immunisierungsstudien zur Evaluierung der kritischen antigenen Determinante des Bakteriums *Streptococcus pneumoniae* Typ 14 nach *Snippe und Mitarbeitern*.<sup>106</sup>

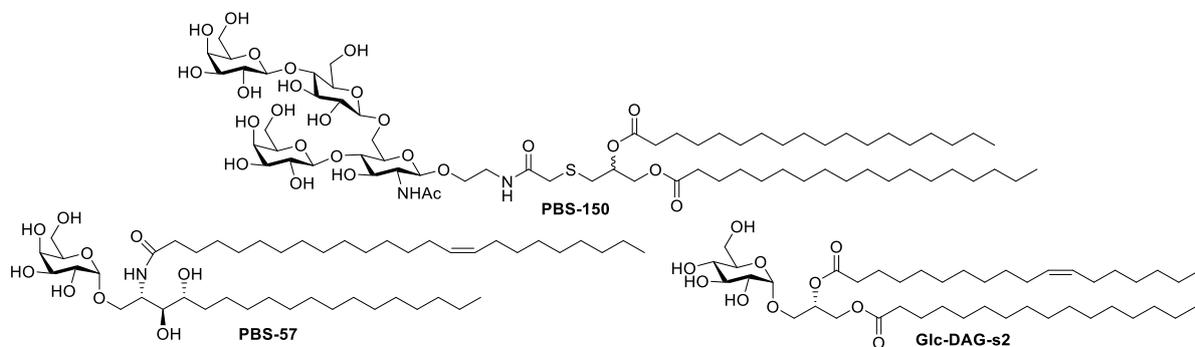
Die resultierenden Antikörper wurden anschließend hinsichtlich ihrer Spezifität und ihrer Fähigkeit die Phagozytose der Bakterien zu initiieren untersucht. Nicht alle in der Studie eingesetzten Oligosaccharidfragmente waren in der Lage, SPn14-spezifische Antikörper zu induzieren. So generierten beispielsweise **A** und **B** Antikörper, welche nicht in der Lage waren das Bakterium zu opsonieren beziehungsweise spezifisch zu binden. Das Tetrasaccharidfragment **D** und Octasaccharidfragment **C** hingegen induzierten hochaffine Antikörper gegen das Pathogen, und wurden somit als aussichtsreiche Kandidaten identifiziert. Es konnten weder qualitativ noch quantitativ signifikante Unterschiede zwischen den Konjugaten mit Fragmenten **D**, **C** oder sogar einer drei Wiederholungseinheiten (*Docesaccharid*) umfassenden Oligosaccharidstruktur beobachtet werden. Folglich wurde Struktur **D** als das kleinste protektive Epitop identifiziert. Weiterhin zeigt die Studie, dass das in **D** liegende verzweigte Trisaccharidfragment essentiell für die Induktion von SPn14-spezifischen

Antikörpern ist, während die benachbarte, am nicht-reduzierenden Ende des Fragments lokalisierte, Galactoseeinheit ausschließlich zur erhöhten Immunogenität des Epitops beiträgt (Abbildung 1.10).



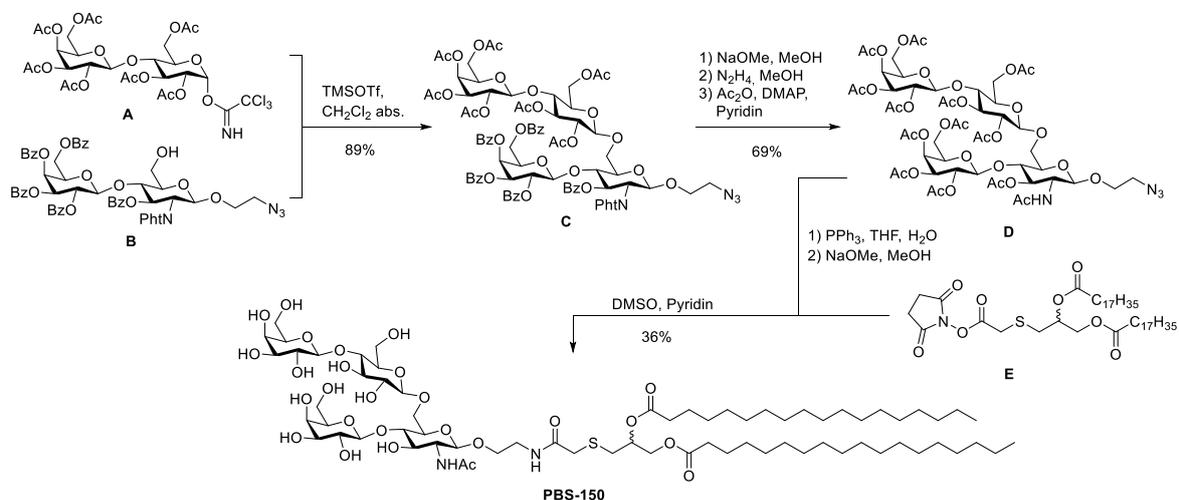
**Abbildung 1.10** Schematische Darstellung des kleinsten protektiven Epitops der Kapselpolysaccharidstruktur des Bakterium *Streptococcus pneumoniae* Typ 14 nach Snippe und Mitarbeitern.<sup>106</sup>

Somit stellt diese Tetrasaccharidstruktur ein attraktives und klar definiertes Ziel für neue potentielle Therapieansätze zur Bekämpfung von Infektionen mit dem Bakterium *Streptococcus pneumoniae* Typ 14 dar. Basierend auf den Vorarbeiten zur Evaluierung des kleinsten protektiven Epitops berichteten Savage und Mitarbeiter von der Entwicklung eines Liposom-basierten, selbst-adjuvierenden Impfstoffs, welcher *in vivo* robuste IgM-Antikörperantworten generieren kann (Abbildung 1.11).<sup>108</sup>



**Abbildung 1.11** Strukturen der einzelnen Komponenten des Liposom-basierten SPn14 Vakzinkandidaten nach Savage und Mitarbeitern.<sup>108</sup>

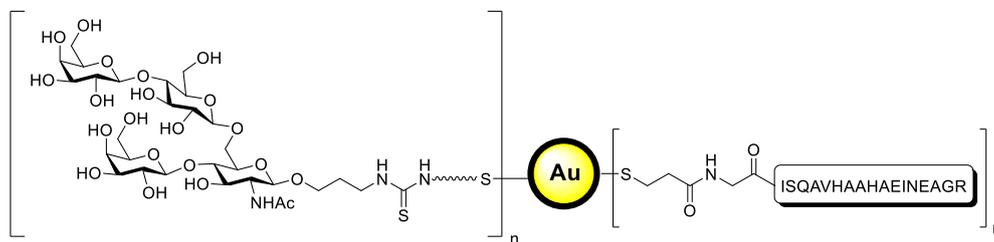
Dafür wurden die drei Komponenten, welche das lipidgebundene **PBS-150**, das Galactosylceramid **PBS-57** sowie das Glucosyldiacylglycerol **Glc-DAG-s2** umfassen, in einem stabilen immunogenen Liposom zusammengeführt (Schema 1.4). Die beiden letzteren Komponenten stellen zudem potente Aktivatoren von natürlichen Killerzellen (*NKT-Zellen*) dar, wodurch Immunantworten induziert werden, die aber überwiegend nur zur Produktion von spezifischen IgM-Antikörpern führten.<sup>108</sup>



**Schema 1.4** Synthese des lipidgebundenen SPn14-Antigens nach Savage und Mitarbeitern.<sup>108</sup>

So wurde das Lactosyltrichloracetimidat **A** mit Akzeptor **B** in 89% Ausbeute zu Tetrasaccharidstruktur **C** unter Verwendung eines Standardprotokolls nach *Schmidt*<sup>109</sup> glycosyliert. Anschließende Schutzgruppenmanipulationen lieferten Baustein **D**, welcher unter *Staudinger*-Bedingungen reduziert, und unter *Zemplén*-Bedingungen<sup>110</sup> global entschützt wurde, bevor die Lipiddomäne **E** mittels *N*-Hydroxysuccinimid Konjugation installiert wurde. Das lipidgebundene SPn14-Antigen **PBS-150** konnte auf diese Weise in 36% über drei Stufen zur Verfügung gestellt werden.

Ein weiteres Beispiel für die Bereitstellung von synthetischen SPn14-Antigenstrukturen für immunologisch-therapeutische Anwendungen, stellt die von *Snippe und Mitarbeitern* berichtete Konjugation auf Goldnanopartikel als Impfstoffträger dar.<sup>111</sup> Metallische Nanopartikel (5-10 nm) sind in der Lage Makrophagen *in vitro* zu aktivieren und bieten eine Möglichkeit, zellvermittelte Immunantworten zu modulieren.<sup>111</sup> So wurden in dieser Studie Goldglyconanopartikel (*gold glyconanoparticles/GNP*) mit verschiedenen molaren Verhältnissen des verzweigten SPn14-Tetrasaccharids und einem zusätzlichen OVA<sub>323-339</sub> T<sub>H</sub>-Epitop, biologisch evaluiert.



**Abbildung 1.12** Schematische Darstellung eines SPn14 Konjugatvazins auf Gold-Nanopartikel-Basis nach *Snippe und Mitarbeitern*.<sup>111</sup>

Es stellte sich heraus, dass ein molares Verhältnis von 9:1 zwischen dem SPn14-Tetrasaccharid und der OVA-Peptiddomäne kritisch für die optimale Immunogenität ist. Obwohl durch den Einsatz dieser GNP-Trägerplattformen SPn14-spezifische Antikörperantworten generiert werden konnten, bedarf dieser Ansatz aufgrund der geringen generierten Antikörpertiter einer weiteren Optimierung, da diese weit unter denjenigen liegen, welche mit klassischen semisynthetischen Trägerprotein-basierten SPn14-CRM<sub>197</sub> Konjugaten erreicht werden.<sup>111</sup>

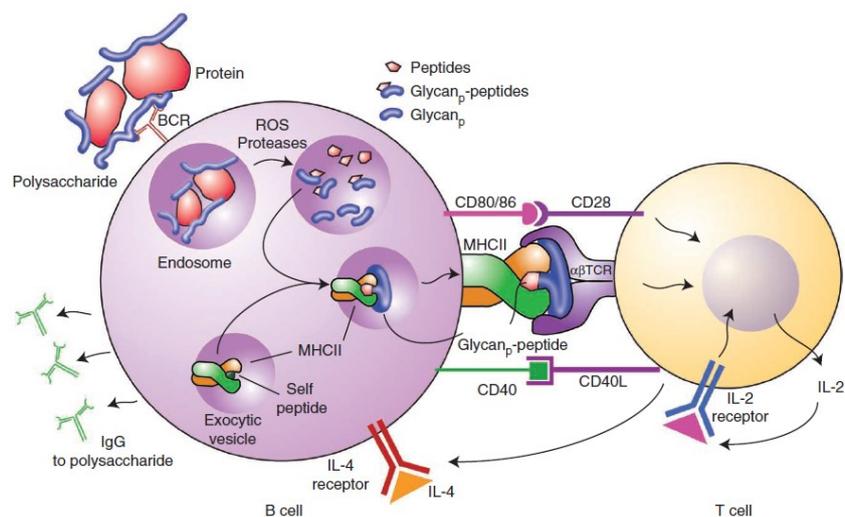
## 1.4 Prinzipien und Aufbau von Impfstoffen und deren moderne Entwicklungen

Wie bereits in Kapitel 1.2 skizziert wurde, sind sowohl eukaryotische, als auch prokaryotische Zellen von der Glycokalyx, einer dicken Schicht von komplexen Kohlenhydraten, umhüllt. Diese auf der Zelloberfläche präsentierten Strukturen (*antigene Determinanten*) stellen zentrale und attraktive Angriffspunkte für die Entwicklung von Impfstoffen (*Vakzine*) dar. Man verabreicht also diese spezifischen Kohlenhydratstrukturen, um Immunantworten gegen das Pathogen, und damit eine Immunität in Menschen, zu induzieren. Bereits 1983 wurde der erste, aus natürlichen Quellen isolierte Pneumokokken-Polysaccharidimpfstoff *PneumoVax*<sup>®</sup> (*Merck & Co.*) entwickelt und zugelassen.<sup>57, 112</sup> Er umfasste in der Summe 14 von mehr als 90 bekannten Serotypen des Bakteriums *Streptococcus pneumoniae*. Weitere Beispiele sind der Vi-Polysaccharidimpfstoff gegen *Salmonella typhi*,<sup>88</sup> den Erreger von Typhus, und auch der Vier-Komponenten-Menigokokken-Impfstoff, welcher die Serogruppen A, C, Y und W135 des Bakteriums *Neisseria meningitidis* beinhaltet.<sup>57, 88</sup> In gesunden Menschen bieten solche Impfstoffe einen guten Schutz, jedoch sind sie in der älteren Bevölkerung, Kindern und immunkompromittierten Menschen nahezu unwirksam.<sup>112-113</sup> Limitierend für die klinische Praxis ist zudem, dass selbst in immunkompetenten Menschen lediglich kurzzeitiger Schutz besteht, da bakterielle CPS-Strukturen *T-Zell-unabhängige* Antigene darstellen und deshalb Immunantworten ohne Beteiligung von T<sub>H</sub>-Zellen ablaufen, da sie nicht in der Lage sind an das zentrale MHCII-Molekül zu binden (*vide supra*).<sup>114-115</sup> Folglich werden weder ein *B-Zell-vermitteltes* immunologisches Gedächtnis, noch hochaffine IgG-Antikörperantworten generiert, was zum einen die Effizienz des Impfschutzes massiv einschränkt, und zum Anderen auch eine regelmäßige Auffrischung der Impfung notwendig macht. Im Hinblick auf die Produktion eines solchen „klassischen“ Impfstoffs stellen sich darüber hinaus einige verfahrenstechnische Probleme, da diese Kohlenhydratantigene aus natürlichen Quellen, das heißt mit Hilfe von Bakterienkulturen gewonnen werden.<sup>57</sup> Insbesondere sind hier die aufwändige Isolierung und Reinigung, die heterogene Zusammensetzung isolierten Partialstrukturen sowie gegebenenfalls potentielle biologische Kontaminationen, wie beispielsweise toxische Lipopolysaccharide (*LPS*) problematisch.<sup>57</sup> Zudem können auf diesem Weg nicht beliebig große Mengen von Antigenen zur Verfügung gestellt werden, was sich in den Produktionskosten und der Verfügbarkeit von Impfstoffen dieser ersten Generation niederschlägt. Die geringe intrinsische Immunogenität von isolierten Polysaccharidstrukturen kann durch die kovalente Konjugation an sogenannte Trägerproteine (*Carrierproteine*) enorm gesteigert werden und stellt die Grundlage der zweiten Generation von Impfstoffen, den sogenannten Konjugatimpfstoffen, dar.<sup>116-119</sup> Als Carrierproteine dienen beispielsweise Rinderserumalbumin (*bovine serum albumin/BSA*), das Schlitzschnecken-Hämocyanin (*keyhole limpet cyanin/KLH*), das inaktivierte Diphtheria-Toxin (*CRM<sub>197</sub>*) oder das Tetanus-Toxoid (*TTox*), um nur einige zu nennen.<sup>120</sup> Diese Glykokonjugatantigene sind in der Lage durch die zwitterionische Struktur der Peptidkomponente über das MHCII-Molekül der APCs gebunden und präsentiert zu werden, so dass komplementäre T-Zellen spezifisch rekrutiert werden können. Auf diese Weise wird eine *T-Zell-abhängige* Immunantwort eingeleitet, an deren Ende schließlich die Bildung eines immunologischen B-Zell Gedächtnisses gegen das jeweilige konjugierte Polysaccharidepitop steht.<sup>115</sup> Beispiele erfolgreicher Konjugatimpfstoffe, die eine große Errungenschaft der heutigen Routinevakzinierungen darstellen, sind lizenzierte Impfstoffe gegen das Bakterium *Haemophilus influenzae* Typ b (*QuimiHib*<sup>®</sup>, *Cuba*),<sup>121</sup> gegen *Neisseria meningitidis* Typ A, C, Y und W135 (*Menactra*<sup>®</sup>)<sup>122</sup> und gegen *Streptococcus pneumoniae* (PCV7, *Prevnar*<sup>®</sup>),<sup>100, 123</sup> welcher sieben strukturell verschiedene Serotypen SPn4, SPn6B, SPn9V, SPn14, SPn18c, SPn19F und SPn23F an CRM<sub>197</sub> konjugiert umfasst. Die zur Immunisierung benötigte Dosis beträgt dabei 2-4 µg

des Polysaccharidkonjugats, während die eines regulären Polysaccharidimpfstoffs vergleichsweise hohe 25 µg beträgt.<sup>123</sup> Eine Weiterentwicklung stellt der PCV10 (*Synflorix<sup>TM</sup>/GlaxoSmithKline Biologicals*) Impfstoff dar,<sup>88</sup> der zusätzlich die Serotypen SPn1, SPn5 und SPn7F umfasst, sowie die PCV13 Prevnar-Weiterentwicklung (*Pfizer, USA*), der zudem SPn3, SPn6A und SPn19A beinhaltet.<sup>112</sup> Die Produktion solcher Glycoconjugatimpfstoffe basiert auf der chemischen Konjugation der Polysaccharidketten an Aminosäureseitenketten der jeweiligen Carrierproteine. Dafür werden beispielsweise *N*-Hydroxysuccinimidester Reaktionen, die reduktive Aminierung, die Thiol-Bromoacetat oder die Thiol-Maleimid-Konjugation eingesetzt.<sup>124</sup> Diese randomisierte kovalente Anknüpfung bedingt jedoch eine hohe Variabilität bezüglich der Zusammensetzung und Struktur dieser Konjugate, die sich in einer wechselnden Beladungsdichte (*Epitop-Carrier Verhältnis*) und der Bildung hochkomplexer Produktgemische äußern, die nur schwer zu charakterisieren sind und je nach Produktionscharge große strukturelle Unterschiede aufweisen können (*batch-to-batch variability*).<sup>125</sup> Auch können im Falle zu geringer Beladungsdichte negative Effekte, wie das CIES-Phänomen (*carrier induced epitope suppression*) eintreten, bei dem die induzierte Immunantwort fast ausschließlich gegen das Carrierprotein, nicht aber gegen die pathogen-assoziierte Kohlenhydratstruktur gerichtet sein kann.<sup>120, 126</sup> Dennoch spiegelt diese Technologie den neusten Stand der Technik wider und wird in vielen kommerziellen Impfstoffen erfolgreich vermarktet (*vide supra*). Klassische Adjuvantien bei der Formulierung solcher Vakzine stellen dabei beispielsweise Freund's Adjuvant, die MF59 Emulsion, das Saponin QS-21 und Alum dar.<sup>57, 127-130</sup>

*Avcı et al.* klärten einen neuartigen Mechanismus der Wirkungsweise von Konjugatimpfstoffen am Beispiel des Gruppe B *Streptococcus (GBSIII)* auf und zeigten, dass auch B-Zellen einen geeigneten Apparat zur Prozessierung und Präsentation von konjugierten Kohlenhydratepitopen besitzen, was die spezifische Rolle des Carrierproteins als MHCII-Ankerdomäne in diesem Kontext neu zu definiert.<sup>131</sup> Ihre Ergebnisse liefern eine rationale Erklärung, wie solche Konjugate *in vivo* wirken und intrazellulär prozessiert werden, und bieten dadurch einen vielversprechenden Ansatz zur Weiterentwicklung von Impfstoffen. So aktiviert die Kohlenhydratdomäne des Impfstoffes nach Applikation durch das nicht-kovalente Binden oder Quervernetzens (*cross-link*) der membranständigen IgM-B-Zellrezeptoren (*BCR*) die entsprechende B-Zelle, was einen Internalisierungsprozess des Konjugats in das zelluläre Endosom induziert (Abbildung 1.13).<sup>120, 131</sup> Dort wird nun das gesamte Glykokonjugat durch zwei voneinander differenzierte Mechanismen schließlich in kleinere Molekülfragmente prozessiert. Während die Peptidomäne durch saure Protease-vermittelte Hydrolyse depolymerisiert wird, werden die Kohlenhydratkomponenten durch ROS (*radical oxygen species*) in kleinere Teilfragmente, der zuvor sehr großen CPS-Wiederholungseinheit, abgebaut. Darüber hinaus sehen die Autoren die artifizielle kovalente Bindung zwischen Kohlenhydratepitop und Trägerpeptid unter den im Endolysosom gegebenen Bedingungen als chemisch stabil an, sodass lediglich ein kleines prozessiertes Glycanpeptidfragment des zuvor applizierten Vakzins bestehen bleibt.<sup>131</sup> Dieses Glycanpeptidfragment ist nun in der Lage mit seiner Peptidomäne das intrazelluläre MHCII-Molekül zu binden und anschließend an die Zelloberfläche transportiert zu werden, um so schließlich präsentiert zu werden.<sup>120</sup> Die hydrophile Kohlenhydratdomäne orientiert sich dabei in Richtung des extrazellulären Raums und kann schließlich durch einen komplementären  $\alpha/\beta$ -TCR einer CD4<sup>+</sup>-Helfer-T-Zelle erkannt werden, der so spezifisch komplementär auf das Glycanfragment im Kontext einer T-Zell-abhängigen Immunantwort reagieren kann. Diese T-Zellaktivierung führt anschließend zur Produktion und Ausschüttung von kostimulatorischen Cytokinen (*IL-4, IL-2*), welche ihrerseits die Reifung und Proliferation der Antigen-präsentierenden B-Zelle einerseits in Plasma- und andererseits Gedächtniszellen einleiten.<sup>131</sup> Daraus lässt sich ableiten, dass lediglich kurze Peptidsequenzen als zentraler MHCII-Anker, sowie

definierte pathogen-assoziierte Oligosaccharidfragmente für die Entwicklung eines Impfstoffs benötigt werden, um eine spezifische Immunantwort zu generieren. Im Zuge dieser Studie stellten die Autoren zudem ein archetypisches Glycopeptidvakzin (*GBSIII-OVA<sub>p</sub>*), welches lediglich eine kurze T-Helfer-Peptidsequenz (*OVA<sub>323-339</sub>*) beinhaltet, und ein Trägerprotein-basiertes Glycoproteinvakzin (*GBSIII-OVA*) hinsichtlich der immunologischen Eigenschaften gegenüber.<sup>131</sup> So konnten *Avci et al.* zeigen, dass ein Impfstoff, der auf einem kurzen T-Helferepitop basiert, dem gängigen Carrierprotein-Ansatz überlegen ist, da die Kohlenhydrat-spezifischen B-Zellepitope maximal präsentiert werden können, und das Verhältnis von Kohlenhydrat-epitop pro molekularer Vakzineinheit zugunsten der spezifitätgebenden Oligosaccharidomäne verschoben wird.<sup>120</sup> Die evaluierte IgG-vermittelte humorale Immunantwort im neonatalen Mausmodell fiel signifikant potenter und substanziell protektiver, verglichen mit dem Trägerprotein-basierten Ansatz, aus, was folglich den Grundstein für die Entwicklung moderner vollsynthetischer Impfstoffe legte.<sup>131</sup>

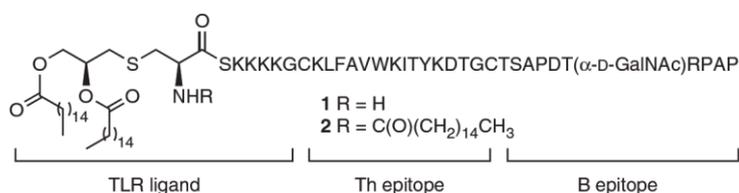


**Abbildung 1.13** Mechanismus der T-Zell Aktivierung von Glycokonjugat-Impfstoffen nach *Avci et al.*<sup>131</sup>

Die Entwicklung vollsynthetischer Impfstoffkandidaten stellt ein komplexes Forschungsgebiet mit vielen unterschiedlichen Ansätzen dar und wurde vor allem im Bereich der Krebsimmuntherapie vorangetrieben. Daher sollen an dieser Stelle ausgewählte Beispiele einen Einblick in die Thematik der Krebsimmuntherapie geben, um so die wichtigsten Ansätze anhand ihrer Konzeption einzuordnen. Auf die sogenannten semisynthetischen Impfstoffe, die auf der Konjugation eines synthetischen B-Zellepitops an ein geeignetes Carrierprotein (*BSA*, *TTox*, *KLH*) soll an dieser Stelle nicht eingegangen werden, dennoch wird auf die sehr ausführliche Literatur zu dieser Thematik verwiesen.<sup>112, 119, 125, 132-135</sup> In diesem Abschnitt der vorliegenden Arbeit sollen ausschließlich vollsynthetische Vakzinkandidaten diskutiert werden.

Erschwerend für die Entwicklung von Krebsimpfstoffkandidaten ist die Tatsache, dass es nicht möglich ist, homogene krebsassoziierte Antigene aus biologischen Quellen zu isolieren, so dass nur die chemische Synthese die Möglichkeit darstellt, solche Glycokonjugate homogen und definiert bereitzustellen. Dabei stehen vor allem die sogenannten Tumor-assoziierten Krebsantigene (*tumor-associated cancer antigens, TACA*), wie das Tn-, TF-, STn- und ST-Antigen, sowie die Glycolipide GM2, Globo-H, Gb3, Le<sup>y</sup> und GM3 weitgehend als Zielstrukturen im Fokus.<sup>57, 136-139</sup> Da diese Antigene zwar auf Krebszellen überexprimiert vorliegen, treten sie dennoch zu einem geringen Teil auch auf gesundem Gewebe auf, weshalb sie einer Immuntoleranz unterliegen und als „Selbstantigene“ erkannt werden. Um diese Immuntoleranz zu brechen, ist es nötig, die Immunogenität

des jeweiligen Antigens zu steigern, um effiziente und robuste Immunantworten zu generieren. Eine Möglichkeit stellt beispielsweise die kovalente Anbindung von TLR-Liganden dar, welche als „built-in“ Adjuvantien in der Lage sind, die Immunogenität des jeweiligen Antigens zu verbessern.<sup>140-143</sup> Für die Entwicklung eines Impfstoffes werden mehrere Untereinheiten in einem Makromolekül benötigt, die ihrerseits ganz spezifische immunologische Aufgaben besitzen.<sup>125</sup> So wird zum einen ein B-Zellepitop benötigt, welches die Spezifität der Immunantwort definiert und die Domäne des Vakzins widerspiegelt, auf welche das Immunsystem komplementär antworten soll.<sup>125</sup> Zum anderen benötigt man ein T-Helferepitop, welches als Anker, wie oben beschrieben, für eine solide Bindung an das MHC-II-Molekül gewährleistet, so dass eine *T-Zell-abhängige* Immunantwort stattfinden kann und die Immunogenität des jeweiligen Kohlenhydrat-basierten Antigens gesteigert wird. Ein eindrucksvolles Beispiel stellt der im Jahre 2007 von *Boons und Mitarbeitern* entwickelte Drei-Komponenten-Impfstoffkandidat (Abbildung 1.14) dar.<sup>140</sup> Dieser kombiniert ein tumor-spezifisches B-Zellepitop, welches den immundominanten Ausschnitt des epithelialen MUC1 darstellt und ein, vom Poliovirus abgeleitetes, T-Helferepitop, zusätzlich mit einem bakteriellen Lipopeptid als TLR-Ligand (*Pam<sub>3</sub>CysSerLys<sub>4</sub>*), um die starke Immuntoleranz der Selbstantigene zu brechen. Im Mausmodell war es so möglich, die Bildung hoher Titer von IgG-Antikörpern hervorzurufen, die in der Lage sind Krebszellen, die TACAs exprimieren, zu erkennen. Die kovalente Anbindung des TLR-Liganden führte zu einer lokalen Produktion von Cytokinen, einer Hochregulierung von kostimulatorischen Proteinen, sowie einer erhöhten Aufnahmerate von Makrophagen und dendritischen Zellen. Dieses Beispiel zeigt, dass es möglich ist, hochkomplexe Moleküle zu entwickeln, welche in der Lage sind das Immunsystem spezifisch zu modulieren und eine Immunantwort gegen Krebszellen zu initiieren.

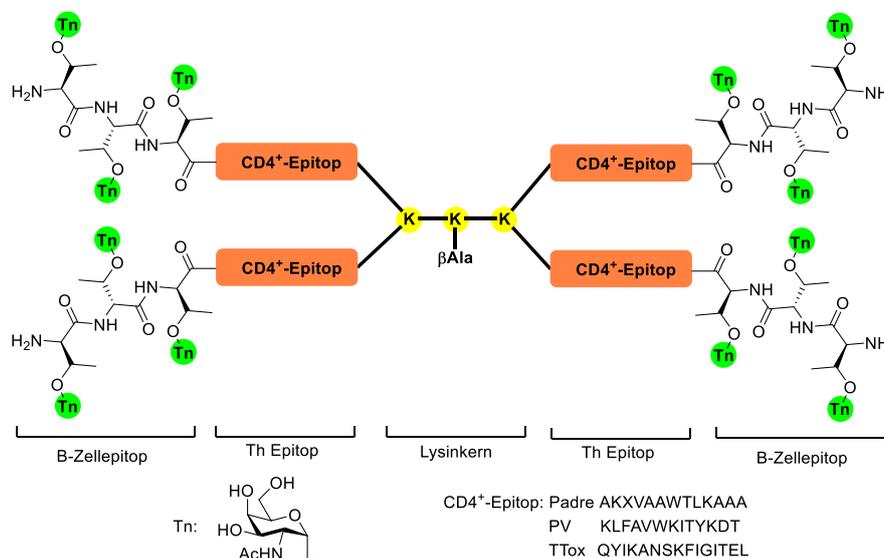


**Abbildung 1.14** Drei-Komponenten Tumor-Impfstoffkandidat nach *Boons und Mitarbeitern*.<sup>140</sup>

Die Strategie mehrere Untereinheiten, die unterschiedliche Prozesse zur Aktivierung des Immunsystems initiieren, in einem Impfstoffmolekül zu kombinieren, wird darüber hinaus von dem vielversprechenden Ansatz der multivalenten Präsentation von Antigenen ergänzt. Im Allgemeinen handelt es sich bei Protein-Kohlenhydrat Interaktionen, wie sie auch bei der Aktivierung von B-Zellen durch quervernetzte Bindung an den BCR vorkommen, um schwache Wechselwirkungen.<sup>125</sup> Dissoziationskonstanten von Mono- und Oligosacchariden bewegen sich in einem millimolaren (*mM*) Bereich, während die multivalente Präsentation von Glycanen (*Glycocluster*) oft in nanomolaren Dissoziationskonstanten resultiert.<sup>125, 144</sup> Dieser sogenannte „cluster glycoside effect“ wird folglich auf die Entwicklung von molekular definierten Impfstoffen übertragen, um unter anderem, die hochkomplexen Glycanstrukturen auf pathogenen Zelloberflächen bestmöglich zu imitieren.<sup>125</sup> Strukturell gesprochen versteht man darunter, dass mehrere Kopien von Oligosaccharid B-Zellepitopen räumlich gehäuft in einem einzigen Vakzinmolekül vorliegen, in der Hoffnung dadurch die Immuneffizienz zu steigern.

Basierend auf einem nach *Tam* eingeführten Ansatzes des sogenannten *Multiple Antigen Peptide (MAP)*, welches auf einer verzweigten Lysin-Peptidkernstruktur beruht, wurde von *Lo-Man und Mitarbeitern* ein vollsynthetischer Antitumor-Glycopeptidvakzinkandidat (*multiple antigen glycopeptide, MAG*) entwickelt

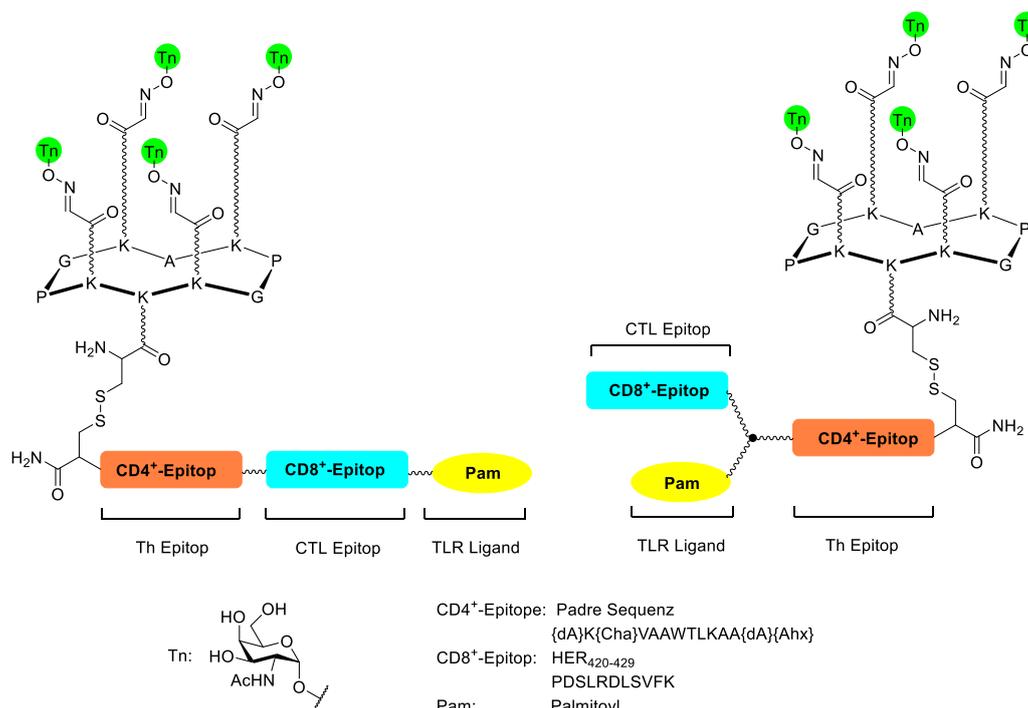
(Abbildung 1.15).<sup>145</sup> Beginnend mit  $\beta$ -Alanin, welches sukzessive an der festen Phase mit drei weiteren Lysin Aminosäurebausteinen verlängert wird, entsteht so eine vierarmige dendrimere Kernstruktur, deren vier freie Aminogruppen als Ankerpunkte für eine weitere Elongation der Peptidkette dienen. In diesem Fall wurde jeder der vier Arme mit einem  $CD4^+$ -T-Zelleptop, welches sich vom Polio Virus Typ 1 ableitet verlängert und letztlich an den jeweiligen *N*-Terminus der wachsenden Peptidkette mit dem Tn-Antigen kovalent verknüpft. Dieses tetramere MAG-(PV-Tn)<sub>4</sub>-Konstrukt war in der Lage, hohe anti-Tn-Antikörpertiter, gegen die TA3/Ha-Adenokarzinomzelllinie in Mäusen zu generieren. Um einen Einsatz in Menschen zu gewährleisten wurde dieser Ansatz zudem weiterentwickelt und ein universelles  $CD4^+$ -T-Zelleptop (*Padre-Sequenz*) eingeführt,<sup>146</sup> welches in der Lage ist, im Menschen T-Helfer-Immunantworten zu induzieren. Diese weiterentwickelten MAGs wurden schließlich in nicht-humanen Primaten evaluiert und waren in der Lage effektiv anti-Tn-Antikörper *in vivo* zu generieren. Außerdem waren diese Antikörper fähig Antikörper-vermittelte Zytotoxizität gegen humane Tn-positive Tumorzellen zu vermitteln.<sup>145</sup>



**Abbildung 1.15** Vakzinprototyp auf Basis des MAG nach *Lo-Man et al.*<sup>145</sup>

Ein alternativer Ansatz von *Mutter und Mitarbeitern* bereite den Weg zur Verwendung synthetischer zyklischer Peptide als universelle molekulare Gerüste zur Konstruktion biomimetischer Moleküle.<sup>147-150</sup> Diese sogenannten RAFTs (*regioselective addressable functionalized templates*) bieten eine größere Vielfalt hinsichtlich strukturell definierter dreidimensionaler Strukturen auf molekularer Ebene und wurden erstmals von *Dumy und Renaudet* als rigide Ankerstruktur für die kovalente Befestigung von Kohlenhydratantigenen in Vakzinprototypen eingesetzt.<sup>151-158</sup> Es handelt sich dabei um Rückgrat-zyklisierte Decapeptide, die zwei Prolin-Glycin-Motive beinhalten, die  $\beta$ -turns induzieren und so eine zyklische Struktur in Lösung stabilisieren können. Ein Vorteil von zyklischen Strukturen stellt die Differenzierung zweier funktioneller Flächen, oberhalb und unterhalb der Ringebene dar. Während die Oberseite beispielsweise durch kovalente Bindung von Glykanstrukturen modifiziert werden kann, stellt die Unterseite eine chemoselektiv differenzierbare Bindungsstelle für T-Helferepitope dar. Das erste prototypische RAFT präsentierte vier Kopien des Tn-Antigens auf der einen und zwei Kopien des *Polio-Virus* (PV)-T-Zellpeptids auf der anderen Seite der Molekülebene.<sup>125,</sup><sup>159</sup> Dieses PV-Tn<sub>4</sub>-RAFT war in der Lage im Mausmodell Tn-spezifische IgG-Antikörper zu induzieren, die ihrerseits in der Lage waren, an menschliche Tumorzelllinien, welche das Tn-Antigen exprimieren, zu binden.<sup>159</sup> Überraschenderweise werden dabei lediglich 0.1-1% der, im Zuge der ausgelösten Immunantwort, generierten

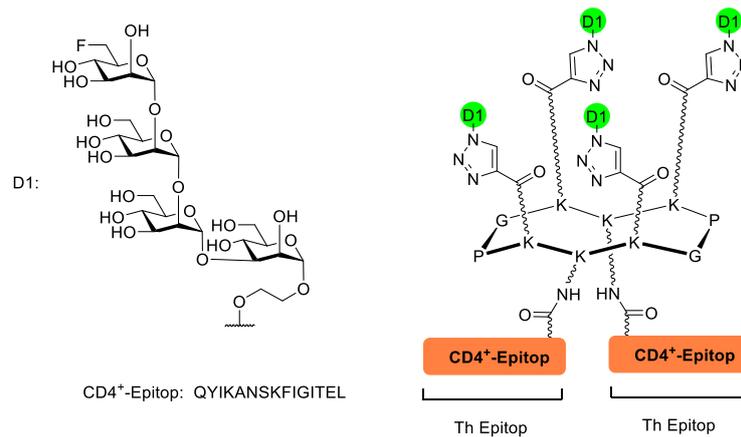
Antikörper gegen das zyklische Peptid induziert, was entsprechend auf eine sehr wünschenswerte geringe Immunogenität, dieser zyklischen Anker-Untereinheit des Vakzins hindeutet.<sup>159</sup> Dies ist von Vorteil, da so prinzipiell die Immunantwort gezielt gegen die multivalent präsentierten Kohlenhydratepitope gerichtet werden kann. Eine Weiterentwicklung dieses Konzepts stellt der Vier-Komponenten Impfstoff nach *Dumy* dar, welcher ein geclustertes Tn-Kohlenhydratepitop, ein CD8<sup>+</sup>-T-Zellepitop OVA<sub>257-264</sub>, ein universelles CD4<sup>+</sup>-PADRE-T-Helferepitop und einen Palmitoylrest als lipid-basiertes internes Adjuvans beinhaltet.<sup>146, 157</sup> Mäuse, die mit diesem Multikomponenten-Vakzin geimpft wurden und denen anschließend B16-Melanomazellen transplantiert wurden, entwickelten lediglich in einem von zehn Fällen einen nachweisbaren Tumor, was auf eine prophylaktische Wirkung dieses synthetischen Vakzins im Hinblick auf das Entstehen von Tumoren im Tierversuch hindeutet.<sup>157</sup>



**Abbildung 1.16** RAFT-basiertes lineares (links) und verzweigtes Glycoclustervakzin (rechts) nach *Renaudet et al.*<sup>160</sup>

In einer weiteren Studie wurden die Wirkweise von zwei unterschiedlichen molekularen Geometrien der RAFT-basierten Impfstoffe untersucht (Abbildung 1.16).<sup>160</sup> Zu einem wurden die lineare, bei der der Palmitoylrest *N*-terminal angeknüpft ist, und eine verzweigte Geometrie, bei der Adjuvansdomäne zwischen den beiden T-Zellepitopen (*HER*, *PADRE*) lokalisiert ist, gegenübergestellt.<sup>160</sup> Beide Konstrukte sind in der Lage IgG-Antikörperantworten zu generieren, welche MCF7-Tumorzelllinien binden, wobei sie sich in der Ausprägung der generierten Immunantwort unterscheiden. Während die Immunisierung von Mäusen des linearen HER-GLP-1 eine stärkere und längerlebige IFN- $\gamma$  vermittelte CD8<sup>+</sup>-T-Zellantwort induziert, fällt beim verzweigten HER-GLP-2 einer intensivere tumorspezifische humorale IgG Antwort an.<sup>160</sup>

Neben der Anwendung von RAFT-Gerüsten in der Krebsimmuntherapie wurde dieses Konzept zudem auf die Entwicklung eines potentiellen HIV-Impfstoffkandidaten (*human immunodeficiency virus*) übertragen.<sup>161</sup> Mit der Entdeckung des menschlichen 2G12-Antikörpers, der in der Lage ist, das Oligomannose-Epitop D1 des HIV-1 gp120 zu neutralisieren, wurde ein attraktives Ziel zur Therapie einer HI-Virusinfektion identifiziert (Abbildung 1.17).<sup>162-163</sup>

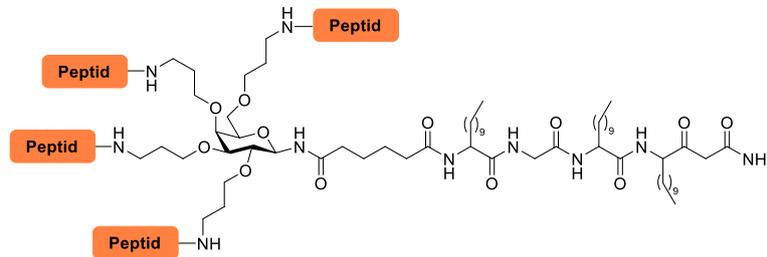


**Abbildung 1.17** HIV-Vakzin Prototyp nach Wang.<sup>161</sup>

Dieses Konstrukt basiert folglich auf der vierfachen Präsentation des D1-Fragments dieses *Oligo-Mannose N-Glycans*, welches über eine flexible Linkerdomäne mithilfe der Cu(I)-katalysierten 1,3-dipolaren Cycloaddition eingeführt wurde.<sup>164</sup> Als Ankereinheit diente abermals das RAFT-Decapeptid, welches an seiner Unterseite zwei Kopien eines TTox (*aa830-844*) T-Helferepitops besitzt und darüber hinaus einen Fluorsubstituenten an der 6-Position der endständigen nicht-reduzierenden Oligomannose-Einheit trägt.<sup>161</sup> Immunisierungsstudien wurden bis zum heutigen Stand nicht durchgeführt, jedoch deuten Oberflächenplasmonresonanz-Experimente (*Surface Plasmon Resonance/SPR*), durch effiziente Bindung des 2G12-Antikörpers bei multivalenter Präsentation auf einen vielversprechenden Impfstoffkandidaten hin.

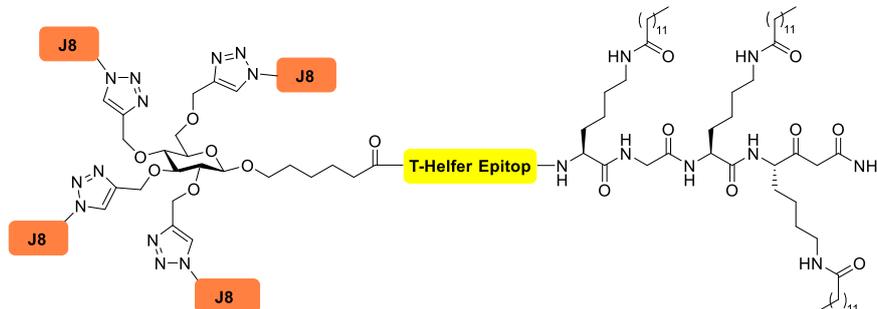
Als eine weitere Möglichkeit, auf molekularer Ebene multivalente Gerüststrukturen für die immunologische Anwendung zur Verfügung zu stellen, wird in der Literatur ebenfalls von sogenannten Glycoclustern berichtet, welche im Folgenden skizziert werden. Dabei handelt es sich um Kohlenhydrat-basierte molekulare Gerüste, die als topologische Plattform (*Template*) zum Aufbau großer dendritischer Strukturen dienen. Eine herausragende Eigenschaft stellt die inhärente Multifunktionalität solcher Template dar, aufgrund der regio- und chemoselektiv leicht adressierbaren strategischen Positionen im Molekül. Etablierte Schutzgruppenmanipulationen aus der Kohlenhydratchemie können so leicht übertragen werden, wodurch prinzipiell jede Hydroxylgruppe, welche als Ankerpunkt für eine entsprechende Konjugation dient, selektiv angesprochen werden. In diesem Zusammenhang stellen grundlegende Arbeiten von *Jensen und Mitarbeitern*, zur Synthese von Carbopeptiden oder Carboeiproteinen, dar.<sup>165-166</sup> Eine Weiterentwicklung stellen Arbeiten von *Wang et al.*, der über das Konzept der galactosylzentrierten Maleimide-Cluster für eine potentiell präventive Bekämpfung des HIV-1 Erregers berichtet.<sup>167</sup> Dabei steht das gp41-Hüllglycoprotein, welches eine zentrale Rolle bei der Fusion des HI-Viruspartikels und der Wirtszellmembran übernimmt und so initial bei einer HIV-Infizierung involviert ist, als zentrale immunologische Zielstruktur im Fokus. Vier Kopien eines artifiziellen gp41-Peptids wurden durch Thiol-Maleimid-Chemie an einen Maleimid-funktionalisierten Galactosylkern gebunden und sollen zukünftig als neuartige Anti-HIV-Immungene, hinsichtlich ihrer Fähigkeit spezifische protektive Antikörper zu generieren, evaluiert werden.<sup>167</sup> Weiterführende Arbeiten von *Simerska et al.* befassen sich mit der Synthese und biologischen Evaluation eines vollsynthetischen tetravalenten *Streptococcus pyogenes* Vakzinkandidaten und ergänzen das Glycoscaffold-Impfstoffkonzept durch Implementierung einer zusätzlich C-terminalen lipophilen Aminosäure-domäne, das sogenannte Lipid Core Peptid (*LCP*).<sup>168-169</sup> Dieses LCP besteht aus einem C<sub>12</sub>GC<sub>12</sub>C<sub>12</sub>G-Motiv, wobei C<sub>12</sub> eine artifizielle racemische 2-Amino-D,L-Dodecan Lipoaminosäure darstellt und als TLR2-Ligand-Mimetikum fungiert (Abbildung 1.18).<sup>168</sup> Die kovalent verknüpfte LCP-Domäne

gewährleistet, damit ähnlich ausgeprägte immunologische Eigenschaften im Mausmodell, wie sie mit konventionellen koadministrierten Adjuvanzen (*CFA*) erzielt werden. Aufgrund der präparativ leichteren Zugänglichkeit stellt dies einen besonders vielversprechenden Ansatz zur konvergenten Synthese eines linearen vollsynthetischen Impfstoffs dar.<sup>169-170</sup>



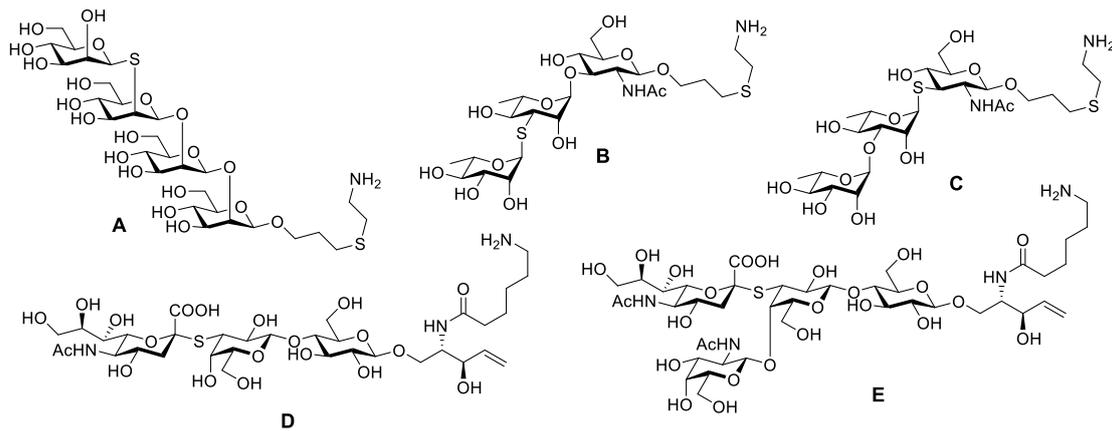
**Abbildung 1.18** Synthetischer Impfstoffkandidat auf LCP-Glycoscaffold Basis nach *Simerska et al.*<sup>168-169</sup>

Dieser oben genannte Ansatz wurde jüngst von *Simerska und Mitarbeitern* weiterentwickelt (Abbildung 1.19).<sup>171</sup> Zum einen wurde das LCP zu einem Lysin-basierten LLCP (*lysine lipid core peptide*) modifiziert, was den Vorteil einer enantiomerenreinen Adjuvanzdomäne mit sich bringt und zum anderen wurde das Glycoscaffold mit Alkylsubstituenten ausgestattet, was hinsichtlich einer bioorthogonalen Kupfer-vermittelten Click-Konjugation (*CuAAC-Click*) die Vielseitigkeit hinsichtlich variabler B-Zellepitope erhöht und so können auf diesen Glycocarrier prinzipiell jede Art von Antigen sehr variabel angebunden werden.<sup>164</sup>



**Abbildung 1.19** Synthetischer Gruppe A Streptococcus Impfstoffkandidat auf LLCP-Glycoscaffold Basis nach *Simerska und Mitarbeitern.*<sup>171</sup>

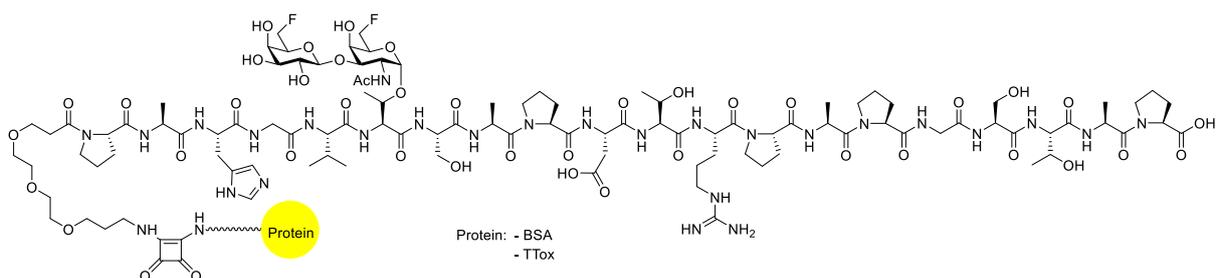
Die biologischen Eigenschaften solcher Konjugate (*vide supra*) können zusätzlich, durch gezielte Einführung chemischer Modifikationen in die jeweiligen B-Zellepitope moduliert werden. Eine Derivatisierung kann so großen Einfluss auf die metabolische Stabilität, die Bioverfügbarkeit und die Immunogenität ausüben. Im Zuge dieser Überlegungen sind die Arbeiten von *Bundle und Mitarbeitern*, die auf der Synthese und biologischen Evaluierung von Thioglycosidanaloga beruhen, zu nennen (Abbildung 1.20).<sup>172</sup> Die Wahl von Schwefelatomen als Sauerstoffanaloga begründet sich in der synthetisch leichten Zugänglichkeit, den gut dokumentierten vergleichbaren konformellen Eigenschaften der thioglycosidischen Bindung und der signifikant geringen Anfälligkeit gegenüber proteolytischen Abbau.<sup>173-175</sup> Allerdings bedingen strukturelle Unterschiede, wie größere Bindungslänge, kleinerer Bindungswinkel und geringere stereoelektronische Effekte, zwischen der Kohlenstoff-Schwefel Bindung auch, dass eine substantiell höhere intrinsische Flexibilität des anomeren Zentrums, verglichen zu *O*-Glycosiden, vorliegt.<sup>174</sup>



**Abbildung 1.20** Schematische Darstellung von synthetischen Thioglycosid-Antigenanaloga nach *Bundle*.<sup>172</sup>

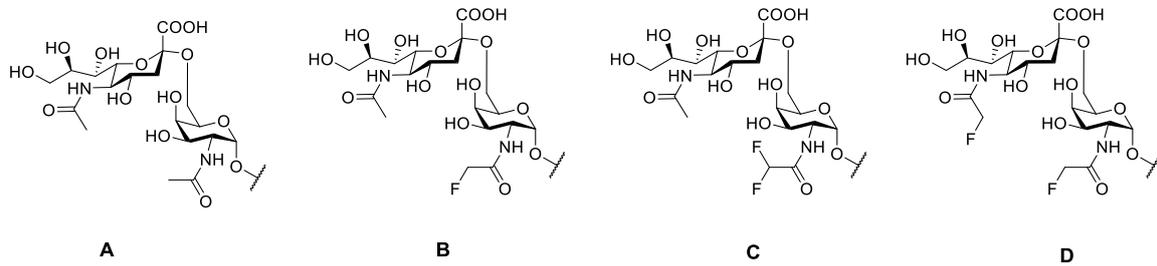
Im Zuge dieser Arbeiten wurden melanom-assoziierte Gangliosid GM2 Thioanaloga **E** sowie ein GM3-Mimetikum **D**, ein *Shigella flexneri* S-Antigenmimetika **C**, sowie das Analogon eines (β1→2)-Mannans des opportunistischen Pilzes *Candida Albicans*<sup>176</sup> **B** synthetisch bereitgestellt und biologisch evaluiert.<sup>172</sup> *Bundle und Mitarbeiter* konnten zeigen, dass semisynthetische Konjugatimpfstoffkandidaten, welche diese thioglycosidischen Antigenanaloga tragen, hohe Titer von Epitop-spezifischen IgG-Antikörpern im Mausmodell generieren konnten, welche zudem eine ausgeprägte Kreuzreaktivität zu den natürlichen O-glycosidischen nativen Epitopen aufweisen und so einen vielversprechenden Ansatz zur Steigerung der intrinsischen Immunogenität darstellen.

Eine weitere attraktive Methode, die immunologischen Eigenschaften von Oligosaccharidantigenen zu modulieren, stellt die sogenannte Deoxyfluorierung, also die Substitution einer Hydroxylgruppe des Kohlenhydratantigens durch einen Fluorsubstituenten, dar. Da Fluoratome in den meisten Organismen abwesend sind, sollte das jeweilige Antigen, trotz der meist nur geringen strukturellen Unterschiede für den Organismus als fremd erkannt werden. Fluoratome können aufgrund eines ähnlichen *van der Waals*-Radius zu Sauerstoff als Bioisostere von C=O und OH-Gruppen angesehen werden.<sup>177-178</sup> Zudem ist das Fluoratom in der Lage, ähnlich den Hydroxylgruppen als Wasserstoffbrückenakzeptor zu agieren. Auch geht es aufgrund der großen Elektronegativität bei gleichzeitig geringem Atomradius, sowie schlechten Polarisierbarkeit, starke Kohlenstoff-Fluor-Bindungen ein.<sup>178-179</sup> Dieses Konzept wurde jüngst von *Hoffmann-Röder und Mitarbeitern* auf eine immunologische Anwendung übertragen, indem eine native Hydroxylgruppe einer immunogenen Glycandomäne durch ein Fluoratom substituiert wurde (Abbildung 1.21).<sup>180-185</sup> In diesen grundlegenden Arbeiten wurden auf Basis synthetischer Glycopeptide des tumorassoziierten epithelialen MUC1 eine Reihe von fluorierten TF-Antigenanaloga bereitgestellt und in Impfstudien evaluiert, wobei unter Erhalt der Antikörperspezifität toleranzbrechende Immunreaktionen generiert werden konnten.<sup>184</sup>



**Abbildung 1.21** Fluorierte MUC1-Glycopeptidvaccine nach *Hoffmann-Röder et al.*<sup>184</sup>

In weiterführenden Arbeiten konnte gezeigt werden, dass solche an 4-Position fluorierten Galactosylfragmente resistent gegen die Aktivität von spezifischen Glycosidasen sind, was zu einer höheren metabolischen Stabilität führt und so die Bioverfügbarkeit der Vakzine verbessern könnte.<sup>183</sup>



**Abbildung 1.22** Erhöhung der intrinsischen Immunogenität durch strategische Fluorierung unter Erhalt der Spezifität nach Yang *et al.*<sup>186</sup>

Ferner wurden von Yang *et al.* die Synthese von modifizierten STn-Analoga, welche fluorierte *N*-Acetamidylreste beinhalten, berichtet.<sup>186</sup> In Immunisierungsstudien konnten sie erstmals eine signifikant höhere Immunogenität in Form von höheren anti-STn IgG-Titern, sowie ein verbessertes anti-STn IgG/IgM-Verhältnis, im Mausmodell nachweisen (Abbildung 1.22). Zudem waren auch hier die resultierenden Antiseren in der Lage, Tumorzellen, welche das native STn Antigen exprimierten, zu erkennen und zu binden.

## 2 ZIELSETZUNG

Fassen wir an dieser Stelle also noch einmal die Erkenntnisse stichpunktartig zusammen, die nun für den rationalen Aufbau eines modernen Impfstoffs von Relevanz sind: 1) Zelloberflächen von Pathogenen oder maligner Zellen werden von Organismus-spezifischen Glykanstrukturen dekoriert, die wiederum ein attraktives Ziel (*B-Zellepitop*) für die Immuntherapie darstellen. Hierzu sollten sie in potentiellen Impfstoffkandidaten multivalent präsentiert werden, um den „*cluster glycoside effect*“ auszunutzen. 2) Diese Glykanstrukturen sind meist hochkomplex, schwach-immunogen und *T-Zell-unabhängige* Antigene, weshalb sie an ein T-Helfer Epitop als MHC-II-Ankerdomäne konjugiert werden müssen. 3) Die Isolierung homogener und ausreichender Mengen an natürlichen Saccharidantigenen stellt eine große Herausforderung dar, weshalb die chemische Synthese stärker in den Fokus tritt. Vor allem bietet nur letztere die Möglichkeit chemische Modifikationen, als elegante Strategie zur Optimierung der immunologischen Effizienz, einzuführen. 4) Das Multikomponentenvakzin sollte auf molekularer Ebene eine verzweigte Geometrie aufweisen, da dies zu stärker ausgeprägten humoralen Immunantworten führt. 5) Die Verwendung von Click-Reaktionen<sup>164</sup> in der modernen Impfstoffentwicklung ermöglicht modulare und flexible Aufbaustrategien für neuartige Vakzinkandidaten. 6) Durch die kovalente Anbindung eines TLR-Agonisten können intrinsische immunologische Toleranzphänomene überwunden werden und das Immunsystem kann so effizient rekrutiert werden.

Mit der Aufklärung des kleinsten protektiven Epitops des gram-positiven invasiven Bakteriums *Streptococcus pneumoniae* Typ 14 steht ein gut charakterisiertes Modellsystem zur Verfügung,<sup>106</sup> an welchem der Einfluss von strategischer Fluorierung auf immunologische Mechanismen studiert werden kann. Folglich sollte im Rahmen dieser Arbeit ein synthetischer Zugang zu fluorierten Analoga dieser Antigen determinante geschaffen werden (Abbildung 2.1).

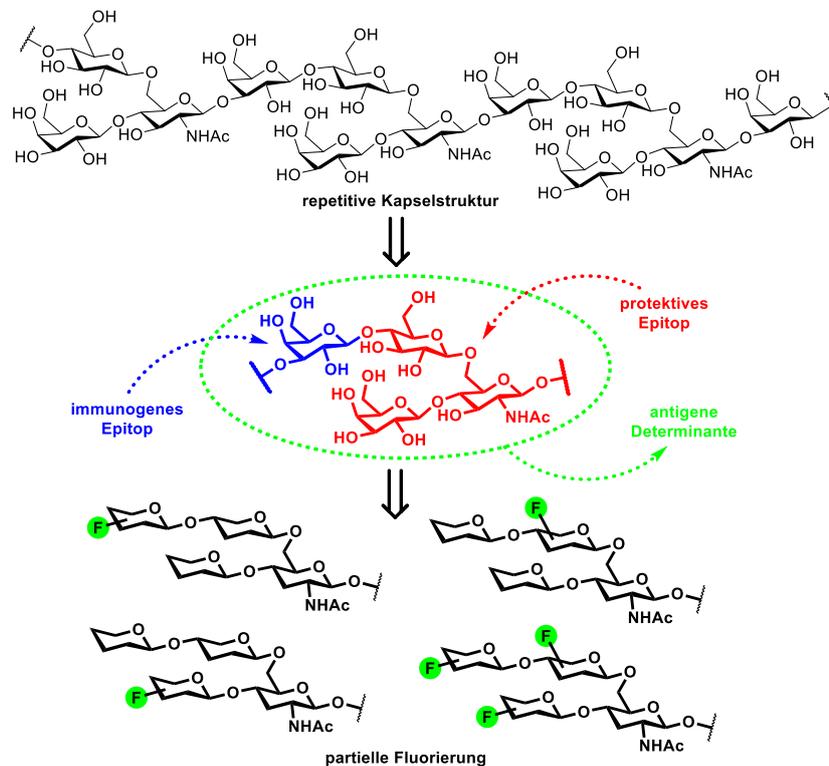
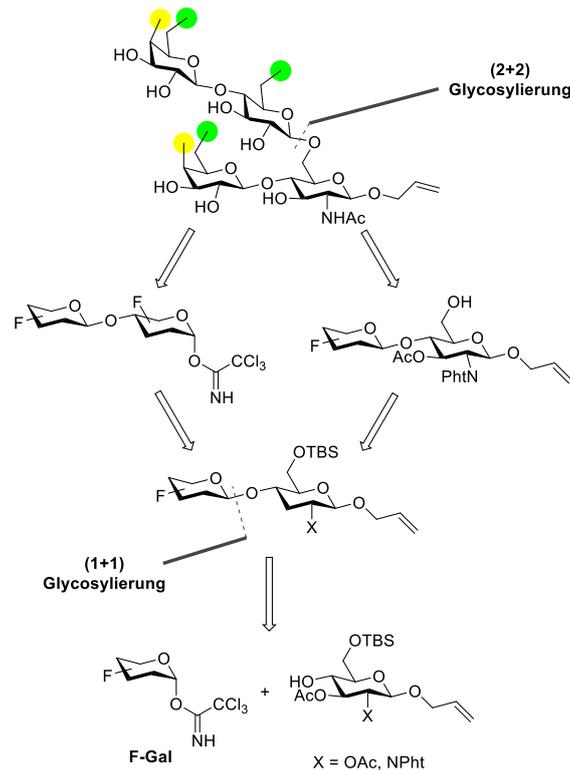


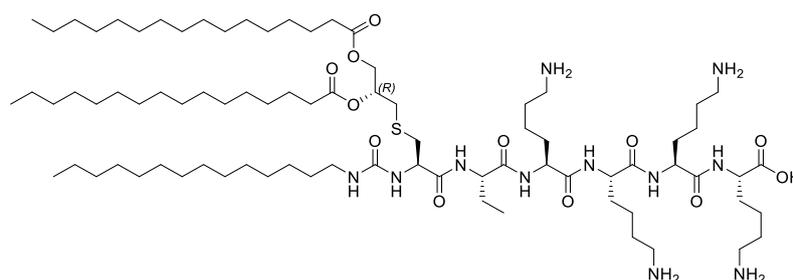
Abbildung 2.1 Zielstrukturen der partiell fluorierten Antigen determinanten des Bakteriums *Streptococcus pneumoniae* Typ 14.

Der Aufbau der fluorierten Antigenmimetika soll dabei nach einem konvergenten modularen Synthesekonzept erfolgen (Abbildung 2.2). Hierbei sollen zunächst unter Verwendung von fluorierten Galactosyldonorbausteinen und geeignet funktionalisierten Monosaccharidakzeptoren die linearen (1→4)-verknüpften Fragmente zugänglich gemacht werden, welche in Folge schließlich in einem (2+2)-Ansatz zu den verzweigten Tetrasaccharidgerüsten umgesetzt werden. In einem globalen Entschützungsprozess, mit vorgelagerter Einführung des *N*-Acetamidrestes, soll die Darstellung einer Bibliothek von strategisch fluorierten *Streptococcus pneumoniae* Typ 14-Mimetika erzielt werden. Vor diesem Hintergrund soll ein geeignetes Schutzgruppenmuster, welches stets im Einklang mit geeigneten Glycosylierungsbedingungen sowie Desoxyfluorierungsbedingungen im Kontext dieses Gesamtkonzepts, erarbeitet werden.



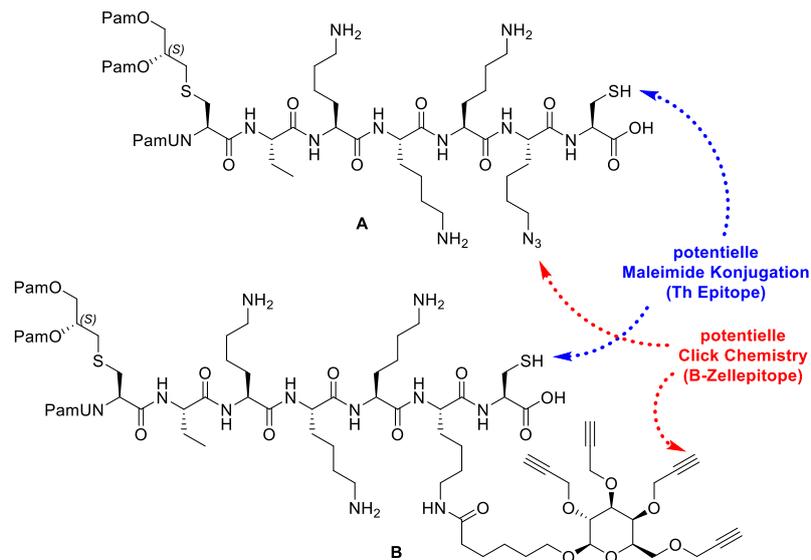
**Abbildung 2.2** Schematische Darstellung der Retrosynthese der fluorierten *Streptococcus pneumoniae* Typ 14 Analoga.

Zum Abschluss der Synthesen der pathogen-assoziierten Bibliothek fluorierter Kohlenhydratantigene sollen darüber hinaus erste synthetische Studien zu einem modular konzipierten universellen Impfstoffträgermolekül durchgeführt werden. In diesem Zusammenhang soll, basierend auf Vorarbeiten von *Filippov und Mitarbeitern*,<sup>42</sup> der hochpotente UPam-TLR2 Agonist auf molekularer Ebene entsprechend modifiziert werden (Abbildung 2.3), so dass er die Funktion einer Untereinheit innerhalb eines vollsynthetischen Multi-komponentenvakzins erfüllen kann.



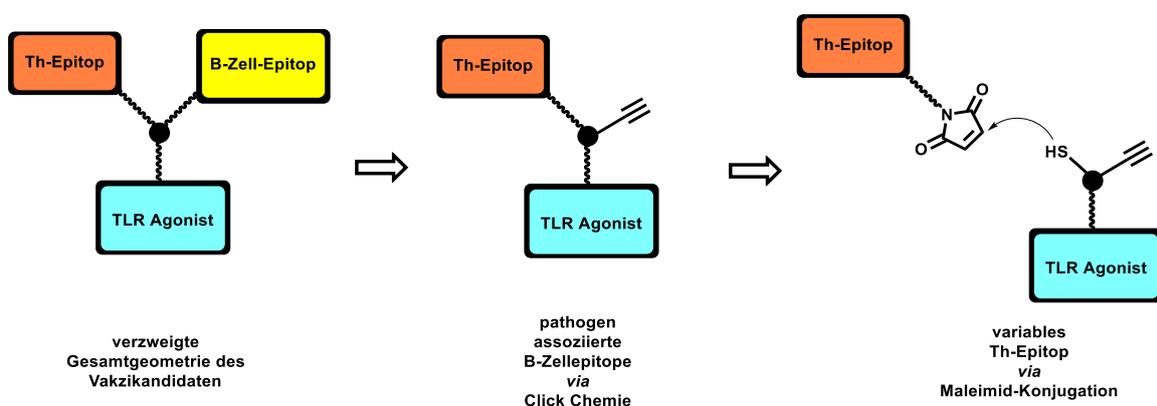
**Abbildung 2.3** Schematische Darstellung des hochpotenten UPam-TLR2-Agonisten nach *Filipov und Mitarbeitern*.<sup>42</sup>

Die Voraussetzung dafür ist die Einführung zweier potentieller Anknüpfungspunkte für etablierte Konjugationsmethoden, um so in zukünftigen Arbeiten den Zugang zu modular und flexibel aufgebauten, universellen vollsynthetischen Impfstoffkandidaten zu legen (Abbildung 2.4). Dazu soll in der Peptidsequenz (*vide supra*) ein L-Lysin-Rest durch einen  $\epsilon$ -Azido-Norleucin-Rest substituiert und das Aminosäurerückgrat C-terminal um ein zusätzliches L-Cystein verlängert werden. Weiterhin soll untersucht werden, inwiefern es möglich ist, an der festen Phase eine Glyccarrierdomäne in die Struktur einzuführen, welche als universeller Ankerpunkt für potentielle B-Zellepitopzielstrukturen dienen kann und eine verzweigte molekulare Geometrie gewährleisten könnte.



**Abbildung 2.4** Schematischer Aufbau der Kernstruktur eines universellen Impfstoffträgermoleküls.

Aufbauend auf diesen synthetischen Studien sollte es zukünftig möglich sein einen Zugang zu einer neuen Klasse von verzweigten Multikomponentenvakzinen zu ermöglichen, welche hinsichtlich der Wahl des  $T_H$ -Epitops (*Maleimid-Konjugation*), wie auch des B-Zellepitops (*Click-Chemie*) höchst flexibel gestaltet werden könnten. (Abbildung 2.5).



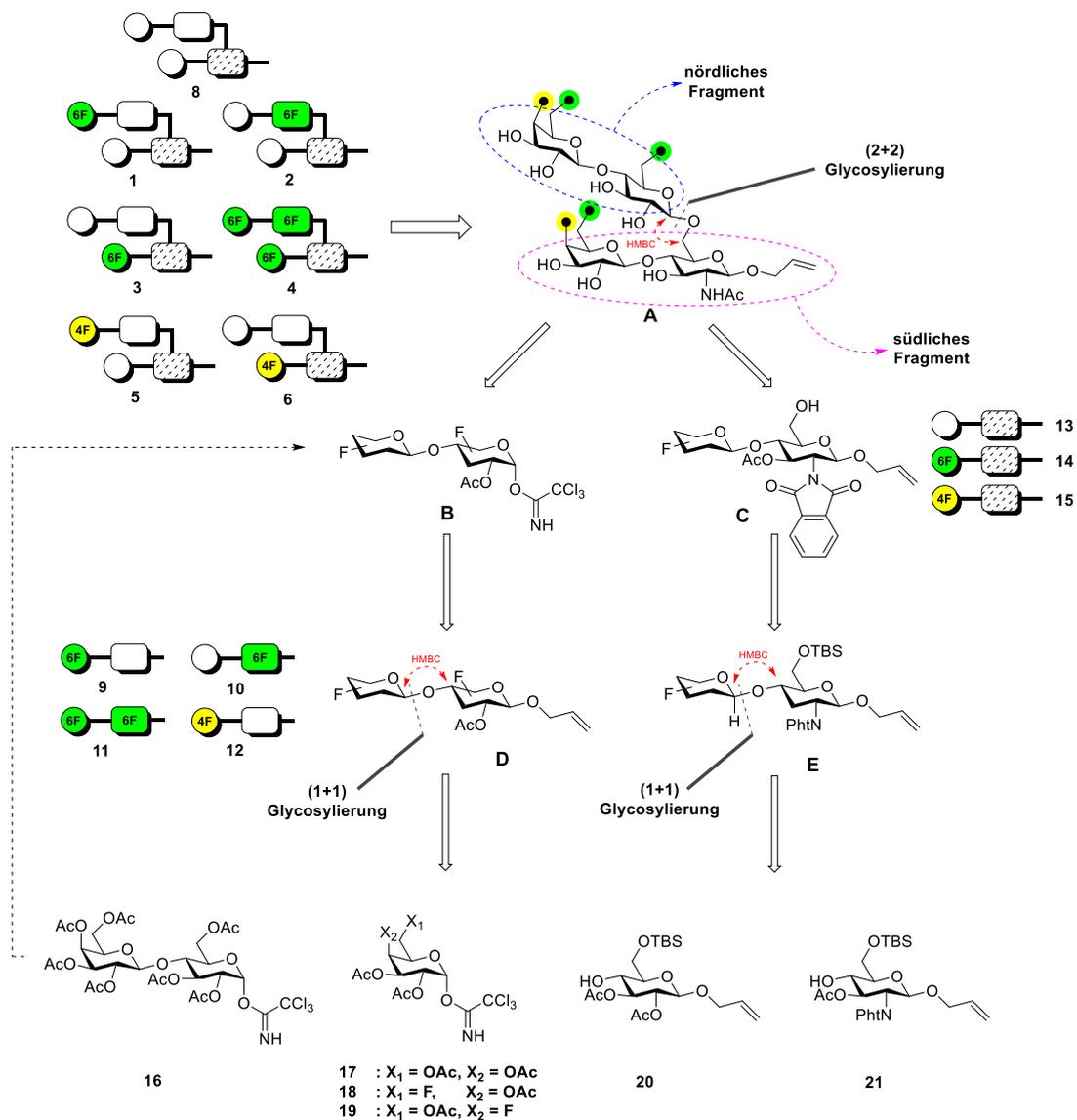
**Abbildung 2.5** Schematische Darstellung eines neuartigen modularen und universellen Impfstoffträgermoleküls.

# **Allgemeiner Teil**

### 3 ALLGEMEINER TEIL

#### 3.1 Synthesestrategie zum Aufbau der *S. pneumoniae* Typ 14 Mimetika

Der Aufbau der komplexen fluorierten SPn14-Oligosaccharid-Antigenmimetika erfolgte, wie bereits in Kapitel 2 grob skizziert, nach einer konvergenten Synthesestrategie unter Verwendung der etablierten und bewährten Trichloracetimidat-Methode nach *Schmidt*.<sup>109</sup> Hierzu wurden sowohl für das native **8**, als auch die sechs partiell fluorierten SPn14-Tetrasaccharidanaloga **1**, **2**, **3**, **4**, **5** und **6**, zunächst die jeweiligen Monosacchridbausteine **17**, **18**, **19**, **20**, **21** sowie der Lactosyldonor **16** unter Verwendung geeigneter Schutzgruppenmuster eingesetzt (Schema 3.1).



**Schema 3.1** Die Retrosynthese der fluorierten Antigen determinanten von *Streptococcus pneumoniae* Typ 14.

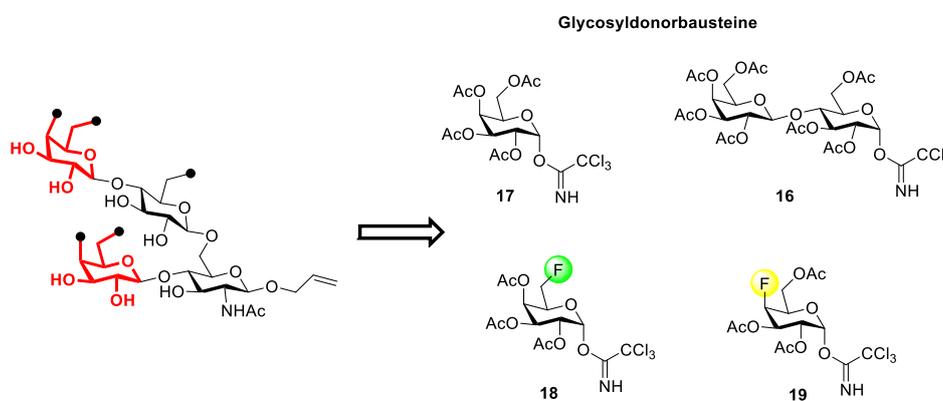
Das Schutzgruppenkonzept des zentralen Glucosaminosylbausteins **21** sah für die Blockierung der Aminogruppe des Glucosamins eine Phthalimidschutzgruppe vor, die einerseits einen ausgeprägten  $\beta$ -dirigierenden Nachbargruppeneffekt bei der Funktionalisierung des anomeren Zentrums aufweist und zudem unter einer Vielzahl von

Reaktionsbedingungen stabil bleibt. Das anomere Zentrum wurde bei beiden Bausteinen **21** und **20**, jeweils in Form eines Allylglycosids blockiert, welches Flexibilität hinsichtlich weiterer chemoselektiver Modifikationen und Stabilität in sich vereint. So bleibt der Allylanker unter Glycosylierungsbedingungen intakt, ermöglicht aber auch Deoxyfluorierungsreaktionen und gewährleistet darüber hinaus die Möglichkeit gängige Konjugationsprotokolle, wie die radikalinduzierte *En-Thiol-Clickreaktion*<sup>187-190</sup> oder die Ruthenium-vermittelte oxidative Spaltung<sup>191</sup> zu einer endständigen Carboxylfunktion, anzuwenden. Indem **21** und **20** an der 6-Position mit einer temporären Silylschutzgruppe blockiert wurden, welche unter wasserfreien lewissauren Glycosylierungsbedingungen intakt bleibt, allerdings unter milden Bedingungen selektiv spaltbar ist, kann sowohl ein lineares  $\beta(1\rightarrow4)$ -, als auch ein verzweigtes  $\beta(1\rightarrow6)$ -Verknüpfungsmotiv zugänglich gemacht werden. Der Aufbau der nördlichen und südlichen Fragmentbausteine **9**, **10**, **11**, **12**, **13**, **14** und **15** erfolgte unter Verwendung der  $\beta$ -dirigierenden Glycosyldonorbausteine **17**, **18**, **19**, welche die endständigen, am nicht-reduzierenden Ende der kritischen antigenen Determinante lokalisierten Galactoseeinheiten darstellen. Letztere wurden in TMSOTf-vermittelten (1+1)-Glycosylierungen zum Aufbau (1 $\rightarrow$ 4)-verknüpfter Disaccharide des Typs **D/E** eingesetzt, welche im weiteren Verlauf der Synthese aufgrund der Esterschutzgruppen eine chemoselektive Modifikation der jeweiligen C6-Hydroxylgruppe ermöglichen konnten. Kohlenhydratbausteine mit Acetylgruppen lassen sich leicht unter Bedingung einer *Zemplén*-Umesterung<sup>110</sup> spalten und führen zu einer erhöhten Säurestabilität von glycosidischen Bindungen. Intrinsisch bedingte Nachteile dieser temporären Schutzgruppen umfassen jedoch eine herabgesetzte Reaktivität, sowie eine erhöhte Anfälligkeit zur Bildung von Orthoesternebenprodukten, wobei letzteres durch die Wahl geeigneter Reaktionsbedingungen meist kompensiert werden kann. Die Disaccharidfragmente **9**, **10**, **11** und **12** des Typs **D** wurden schließlich in Lactosyltrichloracetimidatdonoren des Typs **B** überführt und in einem modularen (2+2)-Ansatz zum Aufbau der jeweiligen Tetrasaccharidgerüste zusammen mit den an 6-Position deblockierten Fragmenten **13**, **14** und **15** des Typs **C** eingesetzt. In einem globalen Deblockierungsschritt sollten die *N*-Phthalamido-Schutzgruppen gespalten und das primäre Amin in der Folge in ein Acetamid überführt werden. In einem finalen Schritt sollten die temporären Acetatgruppen unter *Zemplén*-Bedingungen<sup>110</sup> vollständig zu den *N*-Acetamid-Tetrasaccharidzielstrukturen des Typs **A** deblockiert werden. Extensive zweidimensionale NMR-Experimente (*COSY*, *HSQC*, *HMBC*, *NOESY*) wurden zu jeder Zeit der Syntheseroute herangezogen, um die korrekte glycosidische Verknüpfung der Saccharideinheiten zu verifizieren.

## 3.2 Synthesen der Monosaccharid-Bausteine

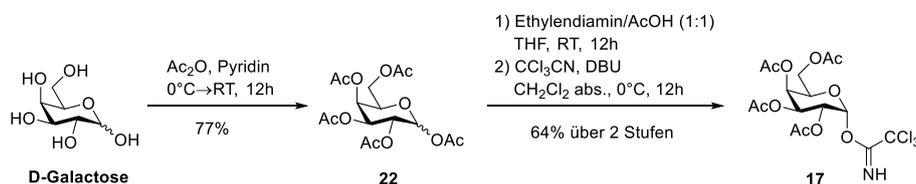
### 3.2.1 Synthesen der Monosaccharid-Donorbausteine

Im folgenden Kapitel wird detailliert auf die Synthese der drei Galactosyldonorbausteine **17**, **18** und **19** eingegangen. Diese Bausteine stellen im Kontext der Gesamtsynthese die endständigen Galactoseeinheiten am nicht-reduzierenden Ende des SPn14-Antigens dar (Abbildung 3.1). Darüber hinaus wird die Darstellung des Lactosyltrichloracetimidats **16** skizziert. Die Synthesen des Galactosyltrichloracetimidats **17** und des Lactosyltrichloracetimidats **16** umfassen jeweils drei Syntheseschritte und beide Bausteine stellen somit gut zugängliche Verbindungen dar. Das 6-Fluorgalactosyltrichloracetimidat **18** hingegen benötigt sechs Syntheseschritte, während die literaturbekannte Synthese des 4-Fluorgalactosyltrichloracetimidats **19** sogar zwölf Synthesestufen bedarf.<sup>183</sup>



**Abbildung 3.1** Schematische Übersicht der in der vorliegenden Arbeit verwendeten Glycosyldonorbausteine für den vollsynthetischen Aufbau des SPn14-Antigenanalogons.

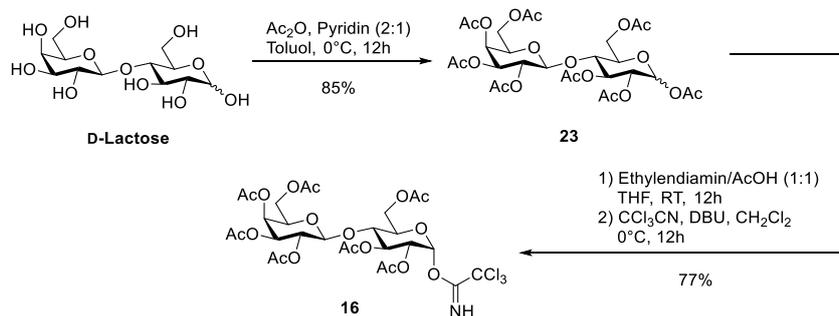
Die Darstellung des unmodifizierten Galactosyltrichloracetimidatdonors **17** startet ausgehend von kommerziell erhältlicher D-Galactose, welche zunächst unter Standardbedingungen in einem Essigsäureanhydrid/Pyridin-Gemisch in einer guten Ausbeute von 77% in die vollständig acetylgeschützte Form (Anomerengemisch) überführt wurde (Schema 3.2). In einem zweiten Schritt wurde das anomere Zentrum chemoselektiv in Gegenwart eines äquimolaren Gemisches von Eisessig und Ethylendiamin in Tetrahydrofuran deblockiert, um schließlich zu dem  $\alpha$ -Trichloracetimidat **17** umgesetzt zu werden.



**Schema 3.2** Schematische Darstellung der Synthese des unmodifizierten Galactosyltrichloracetimidats **17**.

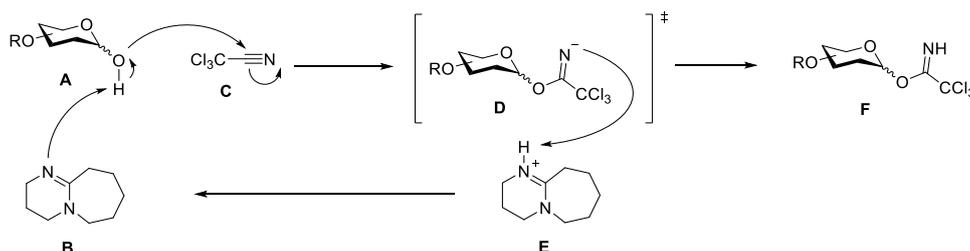
In Analogie zum bereits beschriebenen Galactosyltrichloracetimidat-Baustein (**17**) (*vide supra*) wurde auch der Lactosyltrichloracetimidat-Baustein **16** in drei Stufen bereitgestellt (Schema 3.3). Zunächst wurde kommerziell verfügbares D-Lactose-Monohydrat unter Standardbedingungen in einem Pyridin/Essigsäureanhydrid-Gemisch (2:1) vollständig und in 85% Ausbeute acetyliert. Anschließend wurde **23** anomer in ein intermediäres

Hemiacetal überführt, bevor die Trichloracetimidatgruppe in **16** in sehr guten 77% über zwei Stufen installiert wurde.



**Schema 3.3** Schematische Darstellung der Synthese des unmodifizierten Lactosyltrichloracetimidats **16**.

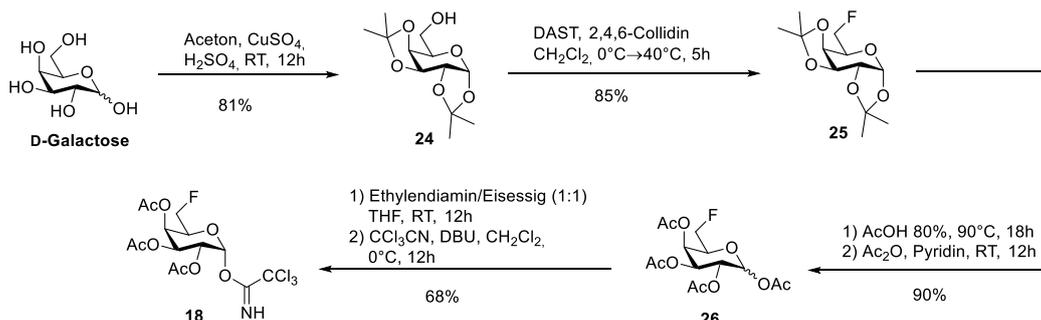
Bei den beiden oben genannten Umsetzungen der jeweiligen Hemiacetale zu den korrespondierenden Trichloracetamidylendonoren **17** und **16** dient 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) als basischer Katalysator (Schema 3.4). In einem ersten Schritt wird intermediär das Proton der 1-OH Gruppe des anomeren deblockierten Zuckers **A** von der Stickstoffbase **B** abgefangen und ermöglicht so den nucleophilen Angriff an die elektronenarme Nitrildreifachbindung **C**. Schließlich abstrahiert das Trichloracetamidylanion **D** das Proton von Intermediat **E**, um das Trichloracetimidat **F** zu bilden, während dabei der Katalysator **B** regeneriert wird.



**Schema 3.4** Schematischer Mechanismus der Trichloracetimidat-Bildung.

Betrachtet man das Verhältnis der beiden gebildeten Anomere, so wird das  $\beta$ -O-alkylierte Imidat bevorzugt (*kinetisches Produkt*) gebildet, da das äquatoriale anomere Sauerstoffatom, aufgrund sterischer und stereo-elektronischer Effekte (*anomerer Effekt*), eine höhere Nucleophilie aufweist. Allerdings anomerisiert dieses  $\beta$ -Produkt in einer reversiblen, langsamen Basen-katalysierten, Reaktion, so dass bei längerer Reaktionszeit nahezu ausschließlich das thermodynamisch stabilere axiale  $\alpha$ -Trichloracetimidat erhalten wird.

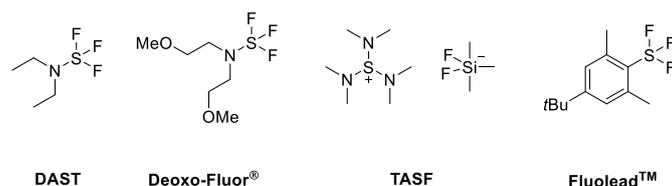
Der 6-Fluorgalactosylldonor **18** ist in sechs Syntheseschritten zugänglich und geht von kommerziell erhältlicher D-Galactose aus (Schema 3.5).



**Schema 3.5** Schematische Darstellung der Synthese des 6-Desoxy-6-fluorgalactosyltrichloracetimidats **18**.

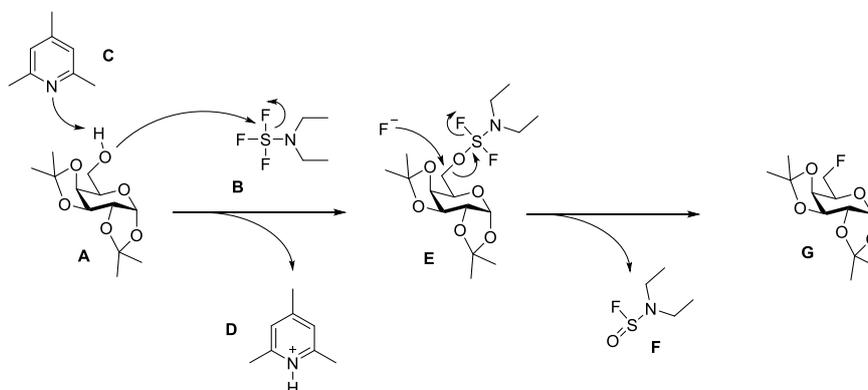
In einem ersten Schritt wird der ungeschützte Zucker in Gegenwart von wasserfreiem Kupfersulfat in Aceton und katalytischer Mengen konzentrierter Schwefelsäure suspendiert und das Isopropylidenacetal **24** in sehr guten 81% Ausbeute erhalten. Das wasserfreie Kupfersulfat wird in dieser Reaktion verwendet, um das im Zuge der Acetalbildung entstehende Wasser der Reaktionslösung durch Komplexierung zu entziehen, um so dafür zu sorgen, dass diese Gleichgewichtsreaktion nahezu vollständig auf die Produktseite verschoben wird.

Zur nucleophilen Einführung von Fluorsubstituenten stehen eine Reihe nucleophiler Reagenzien, wie Diethylaminoschwefeltrifluorid (*DAST*<sup>®</sup>),<sup>192</sup> Bis(2-methoxyethyl)aminoschwefeltrifluorid (*Deoxofluor*<sup>®</sup>),<sup>193</sup> (Tris(dimethylamino)sulfoniumdifluortrimethylsilicat (*TASF*)<sup>194</sup> und 4-*tert*-Butyl-2,6-dimethylphenylschwefeltrifluorid (*Fluolead*<sup>™</sup>)<sup>195</sup> zur Verfügung. (Abbildung 3.2).



**Abbildung 3.2** Ausgewählte nucleophile Fluorierungsreagenzien.

Die Gemeinsamkeit der oben genannten nucleophilen Fluorierungsreagenzien ist die Triebkraft, eine stabile Schwefel-Sauerstoffbindung zu generieren und im Zuge dessen Schwefeldioxid zu bilden, welches aus der Reaktionslösung entweichen kann und somit irreversibel das Gleichgewicht auf die Produktseite schiebt. Im Folgenden wird der Mechanismus des im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Desoxyfluorierungsreagenz *DAST* beschrieben (Schema 3.6).



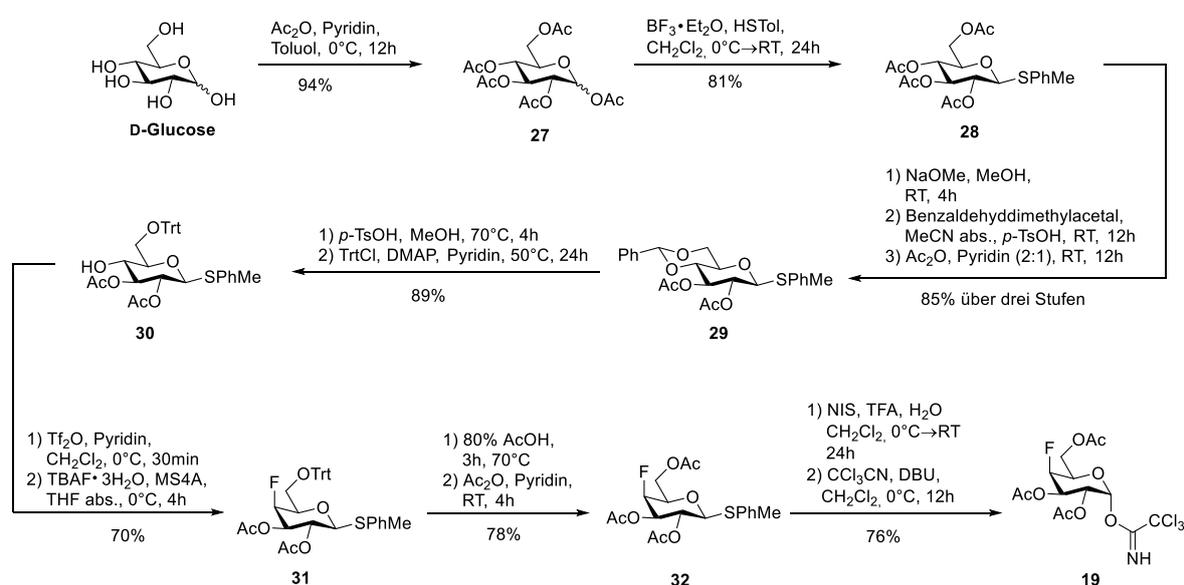
**Schema 3.6** Schematische Darstellung der *DAST*-vermittelten Desoxyfluorierung.

In einem ersten Schritt wird das positiv polarisierte Schwefelatom **B** nucleophil von der freien 6-Hydroxylgruppe von **A** angegriffen, woraufhin ein Fluoridion aus dem Reagenz verdrängt wird und sich das hochreaktive Intermediat **E** bildet. Das im Zuge der Reaktion gebildete freie Proton wird dabei von 2,4,6-Collidin **C** abgefangen. In einem nachgelagerten Schritt greift nun das zuvor freigesetzte Fluoridion das Intermediat **E** nucleophil an und verdrängt Oxospezies **F** aus dem Molekül, wodurch das desoxyfluorierte Zielmolekül **G** resultiert.

Zur weiteren Umsetzung wurde der 6-Fluorgalactosylbaustein **25** in 80%iger wässriger Essigsäure aufgenommen und 18 h auf 70 °C erhitzt, so dass die Isopropylidenacetalgruppen gespalten wurden. Direkt im Anschluss wurde das Rohprodukt schließlich in einem Pyridin/Essigsäureanhydrid-Gemisch (2:1) vollständig zu dem

Anomerengemisch **26** acetyliert. Die finale Freisetzung des anomeren Zentrums und Einführung des Trichloracetimidats unter Standardbedingungen (*vide supra*) lieferte **18** in guten 68% Ausbeute über zwei Stufen.

Der 4-Fluorthiogalactosylbaustein **32** ist über eine bereits literaturbekannte Syntheseroute in zwölf Stufen ausgehend von D-Glucose zugänglich (Schema 3.7).<sup>183</sup> In einem ersten Schritt werden alle Hydroxylgruppen der D-Glucose in exzellenten Ausbeuten unter Standardbedingungen (*vide supra*) vollständig zu **27** acetyliert und das anomere Zentrum im Anschluss in sehr guten 81% Ausbeute in das Thioglycosid **28** überführt. Im Allgemeinen besitzen Thioglycoside<sup>196</sup> eine sehr hohe Tendenz amorphe Feststoffe zu bilden, was besonders im Falle mehrstufiger Syntheserouten den präparativen Aufwand um ein vielfaches mindert, da eine Reinigung durch Umkristallisation zeitsparend durchführbar ist. Nach der Blockierung des anomeren Zentrums wurde **28** unter *Zemplen*-Bedingungen<sup>110</sup> erst vollständig verseift, bevor das 4,6-Benzylidenacetal selektiv unter sauren Bedingungen eingeführt, sowie die verbleibenden 2,3-Hydroxylgruppen acetylgeschützt wurden. Somit konnte der vollgeschützte Glucosylbaustein **29** in ausgezeichneten 85% Ausbeute über weitere drei Stufen bereitgestellt werden.

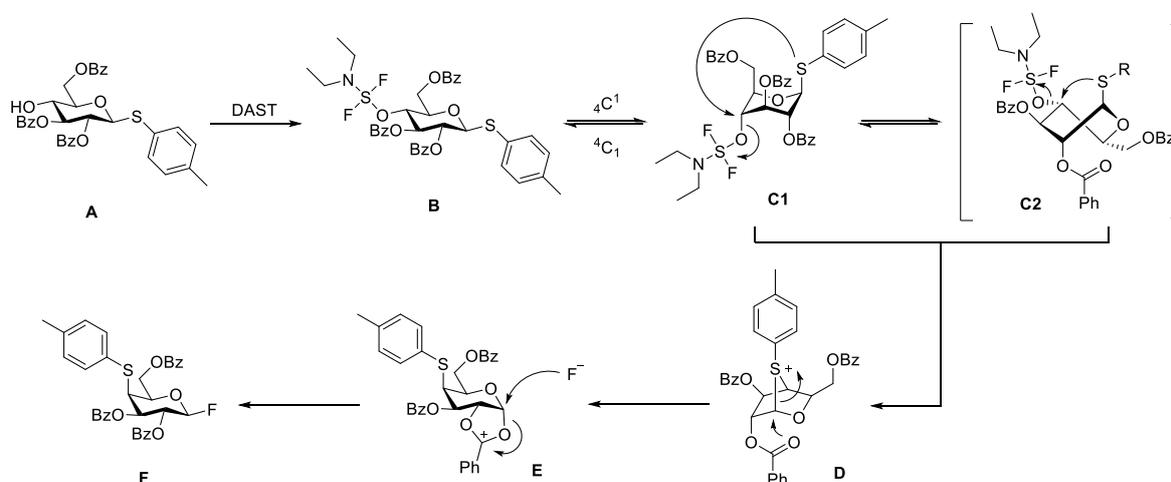


**Schema 3.7** Schematische Darstellung der Synthese des 4-Fluorogalactosyl-Bausteins **19**.

Um die 4-Hydroxyposition chemoselektiv zu adressieren stehen mehrere mögliche Protokolle zur regioselektiven reduktiven Öffnung des Benzylidenacetals zur Verfügung. Als Beispiele sind hier unter anderem die *Garegg*-Methode ( $\text{NaCNBH}_3\text{-HCl-Et}_2\text{O}$ ),<sup>197</sup> die modifizierte *Garegg*-Methode ( $\text{BH}_3\text{:NMe}_3\text{-AlCl}_3\text{-THF}$ )<sup>198</sup> sowie die Silan-basierte Methode ( $\text{Et}_3\text{SiH-TFA}$ )<sup>199-200</sup> zu nennen. Allerdings wurde in der vorliegenden Arbeit ein alternativer Weg über eine zweistufige Schutzgruppenmanipulation bevorzugt, da es mit den oben genannten Reagenzsystemen nicht gelang an diesem spezifischen Baustein die Ausbeuten auf einen akzeptablen Wert zu steigern. Somit wurde auf eine vollständige Deblockierung des 4,6-Acetals mit anschließender 6-*O*-Tritylierung zu **30** ausgewichen. Obwohl dieser Weg zwei zusätzliche Stufen bedingt, konnten erfreulicherweise Ausbeuten von 89% über zwei Stufen erreicht werden.

Die Einführung des Fluorsubstituenten in die 4-Position von **30** stellt eine besondere Herausforderung dar, da klassische nucleophile Fluorierungsreagenzien hier nicht zur Anwendung gebracht werden können. Allgemein muss bei Hexopyranosen mit Nebenreaktion in Form von Umlagerungsreaktionen bei bestimmten

Substitutionsmustern gerechnet werden. Wie von *Lin und Mitarbeitern* berichtet wurde, sind vor allem Hexosen des  $\beta$ -Glucosetyps anfällig für unerwünschte C1 $\rightarrow$ C6 und C1 $\rightarrow$ C4 Migrationsreaktionen.<sup>201</sup> Wesentliches Charakteristikum dieser Gerüstumlagerungen ist, dass ein breites Substratspektrum betroffen ist und es sich um eine allgemeine Tendenz handelt, die nahezu unabhängig des Typs der C1-Bindung ist. Während Seleno- und Thioglycoside vollständig in hohen Ausbeuten und Selektivitäten umlagern, geben *O*-Methyl- und *O*-Allylglycoside Gemische unterschiedlicher Verteilung von Migrations- zu Substitutionsprodukt. Im Gegensatz dazu sind  $\alpha$ -Glucosyl- sowie  $\alpha/\beta$ -Galactosylpyranosen meist kompatibel mit DAST-vermittelten Desoxyfluorierungsreaktionen unabhängig vom Substituenten an C1. Dies geht vor allem mit der Geometrie des Übergangszustandes einher, der die intramolekulare Substitutionstrajektorie effektiv blockiert und so intramolekulare Migrationen verhindert. Der Reaktionsmechanismus einer solchen C1 $\rightarrow$ C4 Migration des  $\beta$ -Glucosetyps ist im Folgenden schematisch dargestellt (Schema 3.8).<sup>201</sup>



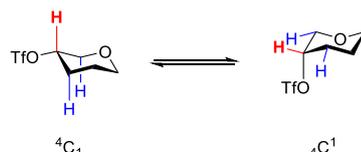
**Schema 3.8** Schematische Darstellung der stereoselektiven C1 $\rightarrow$ C4 Migration anomerer Gruppen durch DAST-vermittelte Aktivierung nach *Lin und Mitarbeitern*.<sup>201</sup>

In einem ersten Schritt greift die freie 4-Hydroxylgruppe, wie bereits für den allgemeinen Mechanismus der DAST-vermittelten Desoxyfluorierungsreaktion skizziert (*vide supra*), von Tribenzoat **A** das DAST Molekül nucleophil an und bildet unter Verdrängung eines Fluoridanions das *N,N*-Diethylaminodifluorsulfan-Intermediat **B**. Es ist dabei nun zu beachten, dass **B** in der  ${}^4C_1$ -Konformation auch mit der  ${}^4C_1$ -Konformation **C1** beziehungsweise der Twistkonformation **C2** im thermischen Gleichgewicht steht. In diesen Konformationen **C1/C2** wiederum ist die Orientierung der aktivierten Hydroxylgruppe in der C4-Position antiperiplanar zum Substituenten in der C1-Position, so dass ein Angriff des freien Elektronenpaares des anomer-gebundenen Schwefels über die C1 $\rightarrow$ C4 Achse möglich ist und sich das bicyclische Intermediat **D** ausbilden kann. Schließlich wird der Bicyclus **D** durch partizipierende Nachbargruppen geöffnet, so dass zuerst Carbeniumion **E** gebildet wird, welches schließlich stereoselektiv von dem zuvor freigesetzten Fluorid anion  $\beta$ -selektiv zum Umlagerungsprodukt **F** abgefangen wird.

Aufgrund dieses Glucose-spezifischen Reaktionsverlaufs musste eine alternative Route zur Desoxyfluorierung von **30** zu **31** beschritten werden. Hierzu wurde die äquatoriale freie 4-Hydroxylgruppe intermediär in eine sehr reaktive Triflatabgangsgruppe überführt, welche schließlich in einer Substitutionsreaktion mit einer nucleophilen Fluoridquelle umgesetzt wurde.<sup>202</sup> Für diese Transformation wurde Tetrabutylammoniumfluorid (TBAF) verwendet, welches kommerziell als Trihydrat erhältlich ist. An dieser Stelle sei anzumerken, dass solvatisierte Fluoridionen eine extrem schwache Nucleophilie aufweisen.<sup>203</sup> Daher muss durch die Zugabe von frisch

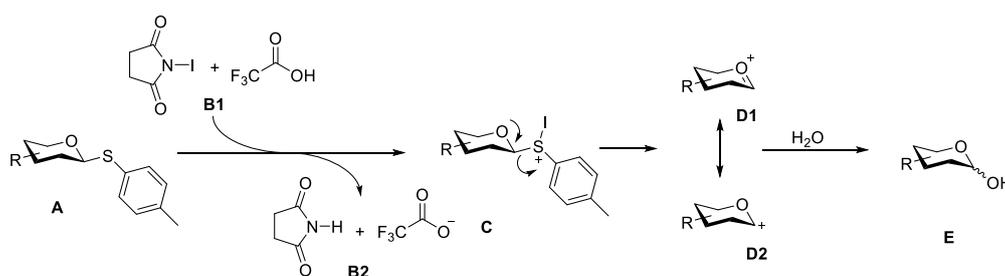
aktiviertem Molekularsieb 4Å sichergestellt werden, dass das inhärente Kristallwasser während der Reaktion abgefangen wird, um so quasi ein „nacktes“ Fluorid zur Verfügung zu stellen. Andererseits reagiert das Fluoridanion zudem basisch und ist in der Lage acide Protonen effizient zu abstrahieren, weshalb unerwünschte Eliminierungsreaktionen in Konkurrenz zu Desoxyfluorierungsreaktionen stehen können, falls die Geometrie des Moleküls beide Reaktionspfade erlaubt.

Im Falle der 4-Triflyl-Glucose **A1** (Schema 3.9) gibt es jedoch glücklicherweise keine Konformationen, welche eine potentielle Eliminierungsreaktion ermöglichen würde, da weder die Triflylabgangsgruppe noch ein benachbartes potentiell acides Proton antiperiplanar zueinander stehen können.



**Schema 3.9** Schematische Darstellung der  ${}^4C_1$  und der  ${}^4C^1$  Sesselkonformationen während der nucleophilen Substitutionsreaktion des 4-O-Triflylglucosylbausteins.

Schließlich wurde in einer zweistufigen Reaktionssequenz **31** in guten 70% Ausbeute erhalten. Nachfolgend wurde **31** durch Spaltung der 6-Tritylgruppe unter sauren Bedingungen und anschließender Acetylierung in sehr guten 78% über zwei Stufen in **32** überführt. Um aus dem Thiodonor **32** den bewährten Trichloracetimidatdonor herzustellen, musste letztlich das anomere Thioglycosid gespalten werden. Für solche Transformationen stehen verschiedene thiophile Promotoren zur Verfügung. Beispielsweise sind hier *N*-Bromsuccinimid (*NBS*) in Aceton/Wasser,<sup>204</sup> Chloramin-T<sup>205</sup> oder *N*-Iodsuccinimid/Silbertriflat (*NIS/AgOTf*)<sup>206</sup> und *N*-Iodsuccinimid/Trifluoressigsäure (*NIS/TFA*)<sup>207</sup> zu nennen. In der vorliegenden Arbeit wurde das *NIS/TFA*-Promotorsystem in Dichlor-methan/Wasser im Verhältnis 10:1 eingesetzt, da es zuverlässig reproduzierbare Ergebnisse lieferte.



**Schema 3.10** Schematische Darstellung der Iodonium-vermittelten Aktivierung von Thioglycosiden unter sauren Bedingungen.

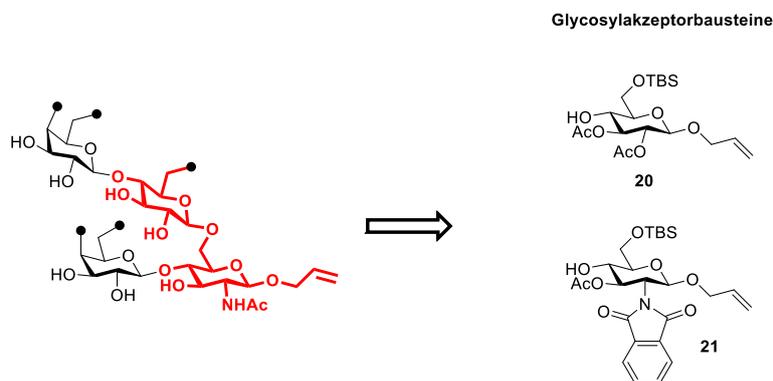
Zunächst wird **A** durch die Reaktion von *NIS/TFA* **B1** *in situ* in ein Iodoniumion **C** überführt, wobei Succinimid und ein Trifluoressigsäureanion **B2** gebildet werden (Schema 3.10). In einem nachgelagerten Schritt zerfällt **C** infolge des stabilisierenden Effekts des Ringsauerstoffs in das Oxocarbeniumion **D1/D2**, welches schließlich durch die Anlagerung von Wasser zu Hemicetal **E** abgefangen wird.

Um die Synthese zu vervollständigen wurde unter Standardbedingungen (*vide supra*) das  $\alpha$ -Trichloracetimidat **19** in guten 76% Ausbeute über zwei Stufen hergestellt. Somit wurden in diesem Abschnitt der vorliegenden Arbeit alle Zielgalactosyldonor-Bausteine **17**, **18** und **19**, sowie der Lactosyldonor **16** erfolgreich bereitgestellt. Im nächsten Kapitel wird nun auf die Synthese der korrespondierenden Glycosylakzeptor-Moleküle

eingegangen, welche dem Aufbau des nördlichen sowie südlichen Fragments der SPn14-spezifischen Antigen-determinante und deren fluorierte Analoga dienen.

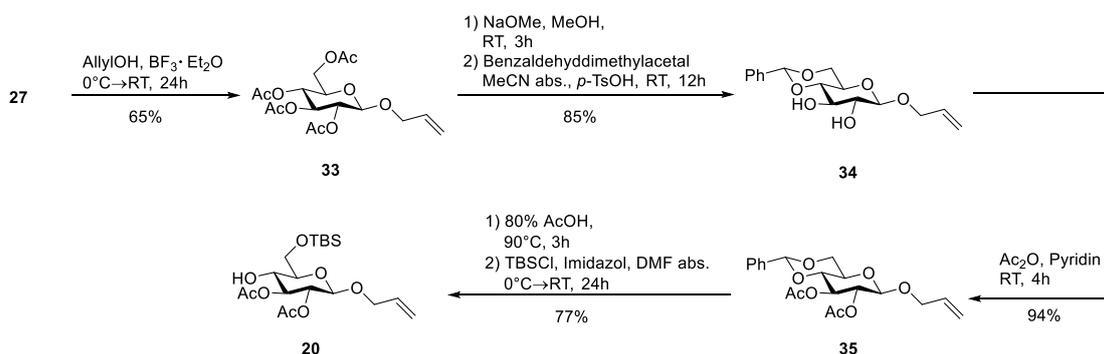
### 3.2.2 Synthesen der Monosaccharidakzeptor-Bausteine

Das folgende Kapitel beschreibt detailliert die Syntheseroute der beiden Glycosylakzeptorbausteine **20** und **21**. Beide Akzeptorbausteine besitzen dasselbe Schutzgruppenmuster und unterscheiden sich nur durch den Substituenten an der C2-Position. So dienen beide Bausteine zum Aufbau (1→4)-verknüpfter Disaccharide, wobei diese im weiteren Verlauf der Synthese chemoselektiven Modifikationen der jeweiligen C6-Hydroxylgruppe unterworfen werden (Abbildung 3.3).



**Abbildung 3.3** Schematische Übersicht der in der vorliegenden Arbeit verwendeten Glycosylakzeptorbausteine zum Aufbau des SPn14 Antigenanalogs.

Die Synthese des Akzeptorbausteins **20** umfasst eine sechsstufige Synthese ausgehend von peracetylierter D-Glucose **27** (Schema 3.11). In einem ersten Schritt wurde das anomere Zentrum unter lewis-sauren Bedingungen in Gegenwart von Bortrifluorid-Diethyletherat in das Allylglycosid **33** in befriedigenden 65% Ausbeute überführt. Versuche zur Steigerung der Ausbeute blieben an dieser Stelle erfolglos, wobei der Einsatz stärkerer Lewis-Säuren, wie beispielsweise Zinn(IV)chlorid ( $\text{SnCl}_4$ ) oder wasserfreies Eisen(III)chlorid ( $\text{FeCl}_3$ ) nur zur erheblichen Bildung von Zersetzungsprodukten führten. Mechanistisch liefert diese Umsetzung ausschließlich das  $\beta$ -Isomer aufgrund des Nachbargruppeneffekts, der an C2-Position lokalisierten partizipierenden Acetylenschutzgruppe.

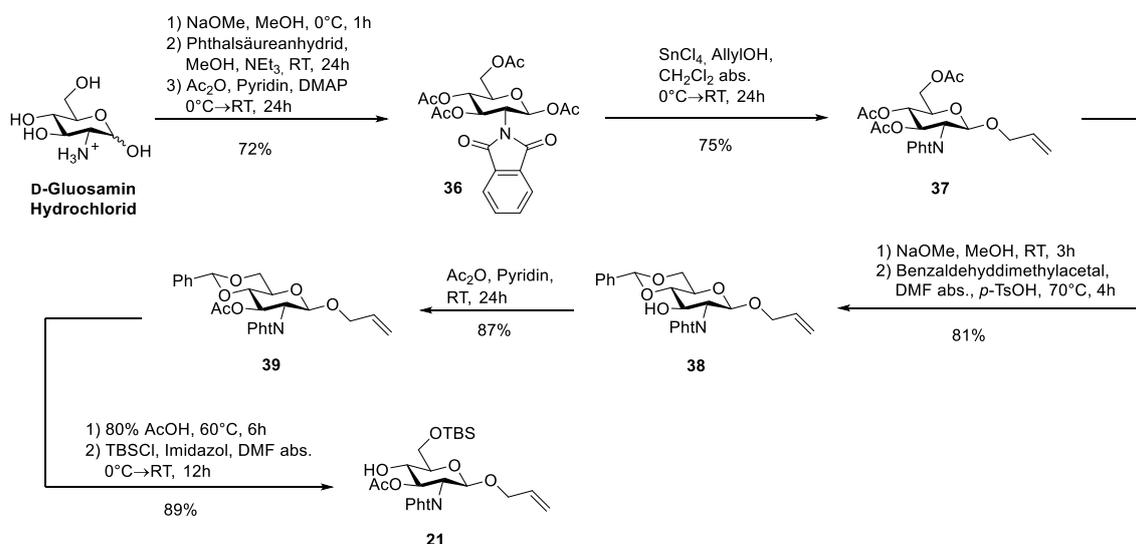


**Schema 3.11** Schematische Darstellung der Synthese des Monosaccharidakzeptorbausteins **20**.

Danach wurden in einer zweistufigen Schutzgruppenmanipulation von **33** zuerst die Acetatschutzgruppen quantitativ unter *Zemplén*-Bedingungen<sup>110</sup> entfernt und anschließend unter Säurekatalyse die 4,6-Hydroxylgruppen chemoselektiv in das Dihydroxybenzylidenacetal **34** mit einer sehr guten Ausbeute von 85% über beide Stufen überführt. Die verbliebenen freien Hydroxylgruppen von **34** wurden schließlich unter Standardbedingungen in Gegenwart eines 2:1 Gemisches aus Pyridin/Essigsäureanhydrid vollständig in den

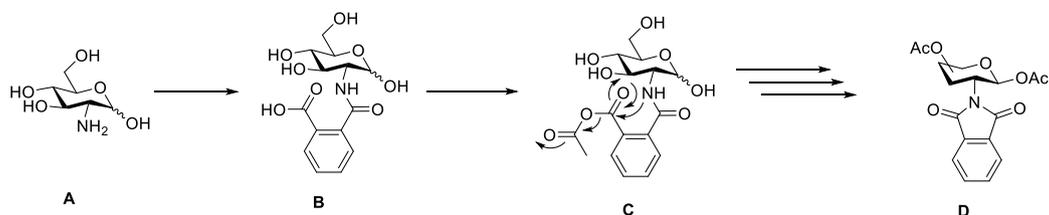
gewünschten Baustein **35** in ausgezeichneten Ausbeuten überführt. Hiernach wurde das Benzylidenacetal von **35** in Gegenwart von 80%iger Essigsäure bei einer Temperatur von 70 °C gespalten und anschließend der 6-*O*-TBS Zielakzeptorbaustein **20** in 77% Ausbeute über zwei Stufen hergestellt. Imidazol erfüllte bei dieser regioselektiven Blockierung der primären C6-Hydroxylgruppe zum einen die Rolle einer Hilfsbase, welche das im Zuge der Reaktion gebildete Proton abfängt und zum anderen dient es als Katalysator.<sup>208</sup> In einem vorgelagerten Schritt greift somit das zweite Äquivalent Imidazol das *tert*-Butyldimethylsilylchlorid-Reagenz nucleophil unter Bildung einer sehr reaktiven Silylimidazoliumspezies, welche schließlich regio- und chemoselektiv mit dem primären Alkohol reagiert.

Die Synthese des Glucosaminosylglycosidbausteins **21** umfasst eine siebenstufige Synthese ausgehend von kommerziell erhältlichem D-Glucosamin-Hydrochlorid (Schema 3.12).



**Schema 3.12** Schematische Darstellung der Synthese des Glycosaminosylakzeptors **21**.

Letzteres wird in einer vorgelagerten Neutralisationsreaktion zuerst durch Zugabe eines Äquivalents Natriummethanolat in das freie Amin **A** überführt, welches im Anschluss mit Phthalsäureanhydrid in Gegenwart von Triethylamin zu Phthalsäuremonoamid **B** reagiert (Schema 3.13). Schließlich erfolgt durch Umsetzung mit Essigsäureanhydrid in Pyridin intermediär die Bildung des gemischten Anhydrids **C**, welches unter Ringschluss und nachgelagerter vollständiger Acetylierung der verbleibenden vier Hydroxylgruppen schließlich den  $\beta$ -konfigurierten Phthaloylbaustein **D** liefert.



**Schema 3.13** Schematische Darstellung der Phthalimidschützung an D-Glucosamin.

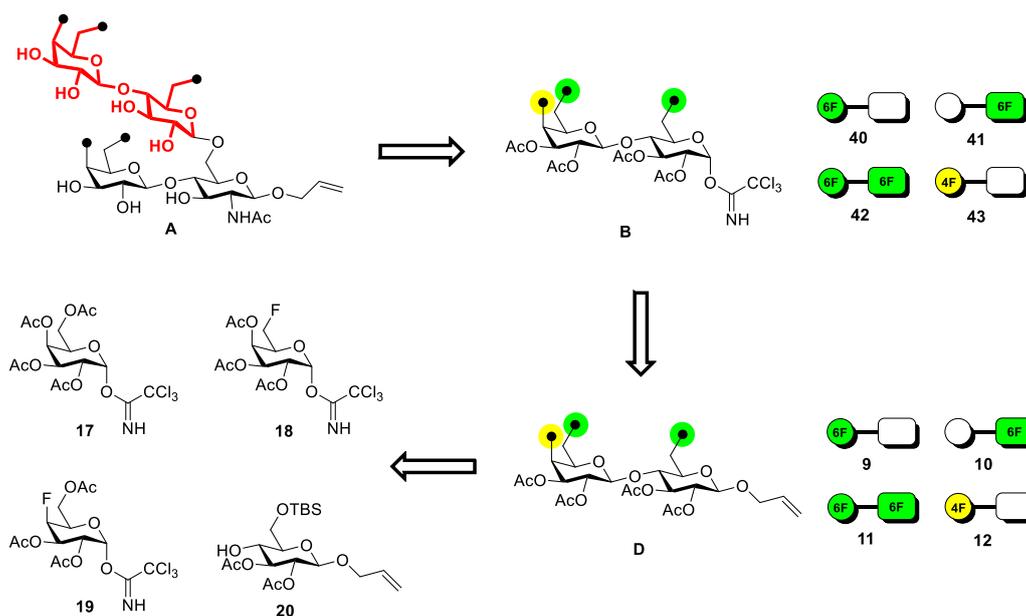
Im weiteren Verlauf der Synthese wird **36** in 72% Ausbeute erhalten und anschließend in das korrespondierende Allylglycosid **37** überführt. Der stark desaktivierende Elektronenzug der Phthalimid-schutzgruppe an C2 führt dazu, dass zur Aktivierung des Anomerenzentrums und Einführung des Allylalkohols starke Lewisäuren benötigt werden. In der vorliegenden Arbeit wurden wasserfreies Eisen(III)-chlorid (FeCl<sub>3</sub>) und Zinn(IV)-chlorid

(SnCl<sub>4</sub>) als Lewissäuren evaluiert, wobei beide Methoden reproduzierbar zu vergleichbar guten Ausbeuten von 71% für FeCl<sub>3</sub>, und 75% für SnCl<sub>4</sub> führten. Schließlich wurde **37** unter *Zemplén*-Bedingungen<sup>110</sup> deblockiert, bevor unter Standardbedingungen (*vide supra*) das 4,6-Benzylidenacetal in **38** über zwei Stufen in sehr guten 81% Ausbeute eingeführt wurde. Die verbleibende 3-Hydroxylgruppe wurde in sehr guten 87% acetyliert, bevor **39** unter sauren Bedingungen 4,6-deblockiert und chemo- und regioselektiv in den finalen 6-*O*-TBS-Glucosaminosylakzeptor **21** überführt wurde. Somit stehen alle Monosacchariddonor- und Akzeptorbausteine zum Aufbau der nördlichen und südlichen Disaccharidfragmente zur Verfügung.

### 3.3 Synthesen der Disaccharidfragmente

#### 3.3.1 Synthesen der nördlichen Donorfragmente

Mit der erfolgreichen Darstellung der drei Galactosyldonoren **17**, **18** und **19**, sowie dem Glucosylakzeptor **20** war ein direkter Zugang zum Aufbau der nördlichen Fragmente **B** des allgemeinen Tetrasaccharidzielmotivs **A** geschaffen worden (Abbildung 3.4). Daher sollten zunächst die jeweiligen endständigen Galactosyldonoren **17**, **18** und **19** mit Akzeptor **20** zu den korrespondierenden fluorierten Allylglycosiden **9**, **10**, **11** und **12** des Typs **D** in einer konvergenten (1+1) Strategie glycosyliert werden, bevor diese in die jeweiligen modifizierten Lactosyltrichloracetimidatdonoren **40**, **41**, **42** und **43** des Typs **B** überführt werden.

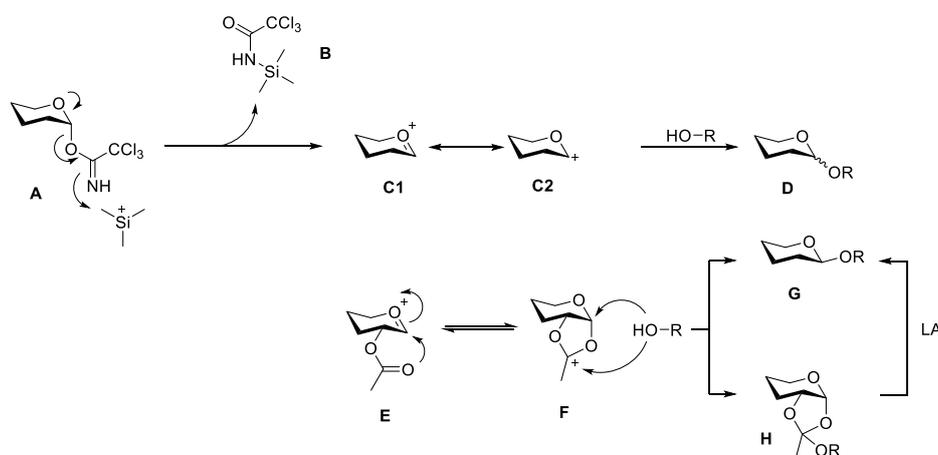


**Abbildung 3.4** Überblick der Retrosynthese der Trichloracetamidyl-disaccharid-Donoren.

In der vorliegenden Arbeit wurde ein allgemeines Glycosylierungsprotokoll verwendet das im Folgenden kurz erläutert werden soll. So wurden Glycosyldonor und Akzeptor in einem molaren Verhältnis 1.5:1 in absolutem Dichlormethan unter strikt wasserfreien Bedingungen in Gegenwart von frisch aktiviertem Molekularsieb 4 Å vorgelegt und die Reaktionslösung mithilfe von einer Trockeneis/Aceton Kältemischung auf  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  unter Argonatmosphäre gekühlt. Anschließend wurden bei tiefer Temperatur, die zur Aktivierung des Donors notwendige katalytische Menge, Trimethylsilyltrifluormethansulfonsäure (TMSOTf) als Promotor zugetropft und 15 min gerührt, um so eine homogene Verteilung des Promotors innerhalb der Reaktionslösung zu gewährleisten. Anschließendes Entfernen des Kältebads und vorsichtiges Auftauen der Reaktionslösung auf Raumtemperatur ließ die Glycosylierung ablaufen, welche zumeist bei Erreichen der Raumtemperatur bereits vollständig abgeschlossen war.

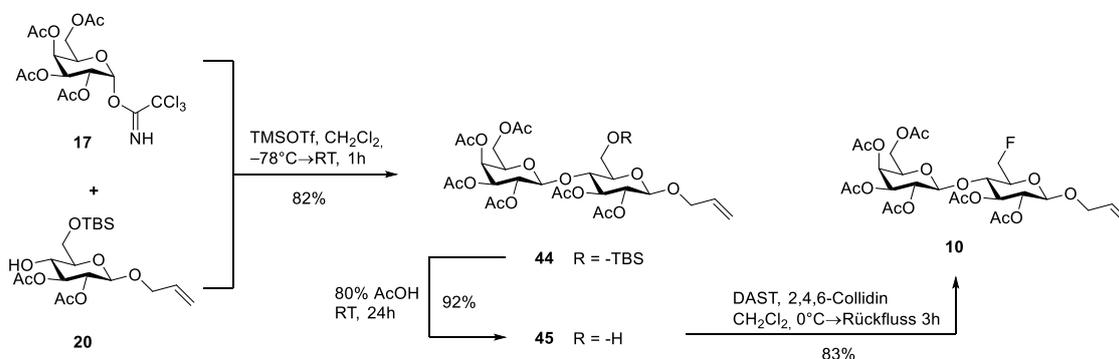
Die Aktivierung eines Trichloracetimidatdonors **A** verläuft im Allgemeinen über die Lewisäure-vermittelte intermediäre Bildung des Oxocarbeniums **C1** beziehungsweise dessen mesomerer Grenzstruktur **C2** durch Austritt der Silyltrichloracetamidspezies **B** (Schema 3.14). Oxocarbeniumion **C1/C2** wird in der Folge nucleophil von einer in der Reaktionslösung vorhandenen freien Hydroxylgruppe abgefangen. Befindet sich wie in Struktur **C1/C2** an 2-Position der Trichloracetimidatpyranose eine nicht-partizipierende Gruppe, so werden stets  $\alpha/\beta$ -Anomerengemische **D** erhalten. Durch geeignete Wahl eines Kosolvens kann diese Anomeren-

verteilung beeinflusst werden. So kann durch Diethylether oder *N,N*-Dimethylformamid die Verteilung zugunsten des  $\alpha$ -Anomers verschoben werden, wohingegen Acetonitril durch den sogenannten „Nitrileffekt“<sup>209</sup> die Bildung von  $\beta$ -Glycosiden begünstigt. Befinden sich jedoch partizipierende Esterschutzgruppen an 2-Position verläuft die Reaktion über einen anderen Reaktionspfad. So stabilisieren beispielsweise Acetyl-, Benzoyl- oder Pivaloylgruppen den Übergangszustand **E** und begünstigen durch den intrinsisch ausgeprägten Nachbargruppeneffekt die Bildung eines cyclischen Intermediats **F**. Dieser dirigierende Effekt führt zur selektiven Bildung eines  $\beta$ -Glycosids **G**, da der Eintritt des Nucleophils sterisch bedingt nur von der Oberseite aus erfolgen kann. Anzumerken sei hier, dass Trichloracetimidatdonoren in Einzelfällen zu einer unerwünschten Orthoesterbildung **H** tendieren können, welche allerdings lewissäurekatalysiert (*LA*) in das entsprechende thermodynamisch stabilere  $\beta$ -Glycosid überführt werden können.



**Schema 3.14** Schematische Darstellung des Mechanismus der TMSOTf-vermittelten Aktivierung eines Trichloracetimidatdonors.

Im Zuge der voranschreitenden Synthese wurde so in einer ersten (1+1)-Glycosylierungsreaktion, in sehr guten 82% Ausbeute, der unmodifizierte Galactosyltrichloracetimidatdonor **17** mit Glucosylakzeptor **20** in Gegenwart von frisch aktiviertem Molsieb 4Å zu **44** in absolutem Dichlormethan umgesetzt (Schema 3.15). Eine potentielle Bildung von Orthoesternebenprodukten konnte erfreulicherweise unter den gewählten Bedingungen nicht beobachtet werden.



**Schema 3.15** Schematische Darstellung der Synthese des 6F-Lac Bausteins **10**.

Die korrekte  $\beta(1\rightarrow4)$ -Verknüpfung in **44** lässt sich eindeutig anhand des NMR-Spektrums belegen. So weist H-1' bei 4.65 ppm ein Dublett mit einer Kopplungskonstante von  $J_{H1',H2'} = 8.0$  Hz auf und ist nach der

Karplus-Beziehung somit axial-konfiguriert.<sup>210-212</sup> Darüber hinaus belegt das HMBC-Experiment eine direkte heteronukleare Kopplung zwischen C4 und H-1'.

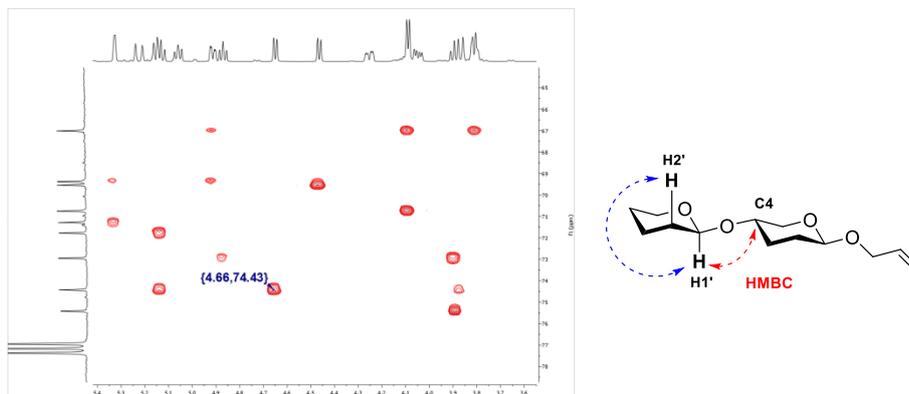
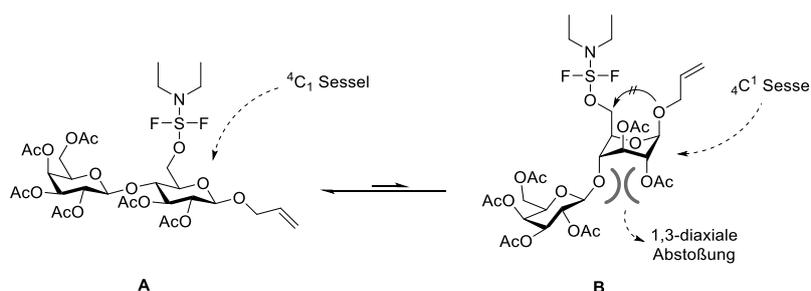


Abbildung 3.5 Ausschnitt aus dem HMBC-Spektrum des Disaccharidbausteins **44**.

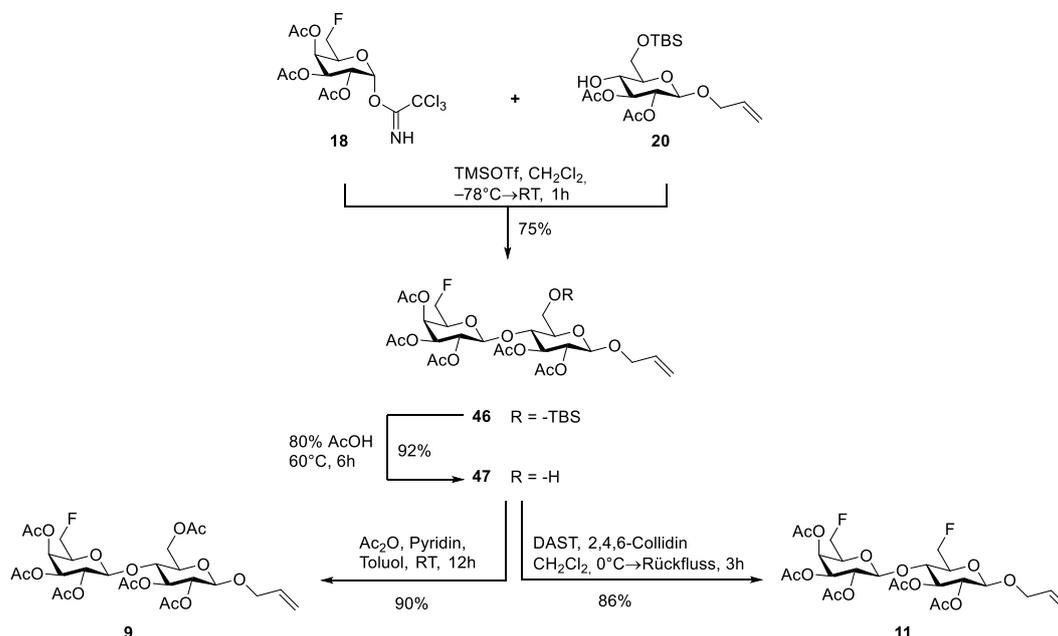
In einem nachgelagerten Schritt wurde die temporäre 6-Silylschutzgruppe von **44** schließlich unter sauren Bedingungen bei Raumtemperatur in exzellenten 92% Ausbeute gespalten. Im darauffolgenden Schritt sollte nun die freie 6-Hydroxylgruppe von Lactosylbaustein **45** gegen ein Fluoratom substituiert werden. Wie bereits im Kapitel 3.2 zur Synthese der monomeren Galactosyldonoren beschrieben wurde, neigen Pyranosen des  $\beta$ -Glucosetyps zu C1 $\rightarrow$ C6-Migrationsreaktionen.<sup>201</sup> Allerdings liegt hier ein Sonderfall vor, da das am nichtreduzierenden Ende lokalisierte  $\beta(1\rightarrow4)$ -verknüpfte Galactosylfragment als intrinsisch wirksamer „konformativer Anker“ dient, der das Gleichgewicht der beiden Konformationen **A** und **B** weit auf die linke Seite verschiebt (Schema 3.16). Es liegt also kein für die Migrationsreaktion notwendiger  ${}^4C_1$  Sessel des Glucosefragments im Übergangszustand vor, weshalb ausschließlich die erwünschte Desoxyfluorierung in sehr guten 83% Ausbeute beobachtet wird.



Schema 3.16 Schematische Erläuterung der DAST-vermittelten Desoxyfluorierung am Beispiel eines Lactosederivats.

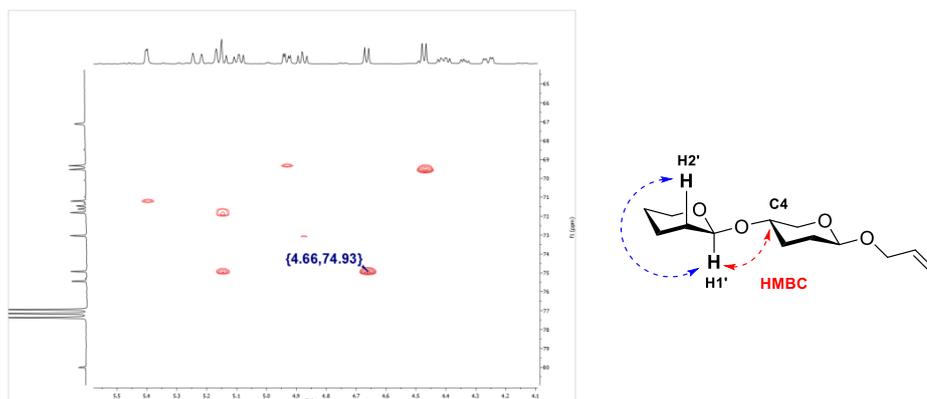
Neben dem 6F-Lac Baustein **10** wurden im weiteren Verlauf der Synthese ebenfalls das 6'F-Lac **9**, sowie das 6,6'F<sub>2</sub>-Lac **11** als Zielmoleküle identifiziert. Beide Verbindungen können ausgehend von dem gemeinsamen Vorläufermolekül **46** zugänglich gemacht werden (Schema 3.17). Die Glycosylierung des 6F-Galactosyldonors **18** mit dem Glycosylakzeptor **20** verläuft analog dem bereits beschriebenen allgemeinen Glycosylierungsprotokoll in einem Donor/Akzeptor-Verhältnis von 1.5:1 und liefert **46** in einer sehr guten Ausbeute von 75%. Schließlich wird wie zuvor, die 6-Silylschutzgruppe des 6'F-Lactosyldisaccharids **46** durch 80%ige wässrige Essigsäure unter erhöhter Temperatur gespalten, so dass **47** nun als Ausgangspunkt für beide Zielmoleküle **9** und **11** dient. Zum einen wurde die freie 6-Hydroxylgruppe von **47** in sehr guten 90% Ausbeute unter Standardbedingungen zu **9** acetyliert. Zum anderen diente **47** als Substrat einer Desoxyfluorierungsreaktion,

welche nach bereits beschriebenen Prinzipien durch die im Übergangszustand vorliegende  ${}^4C_1$ -Konformation der Glucoseeinheit am reduzierenden Ende des Disaccharids (*vide supra*), ausschließlich das difluorierte Lactosylpyranosid **11** in sehr guten 86% Ausbeute lieferte.



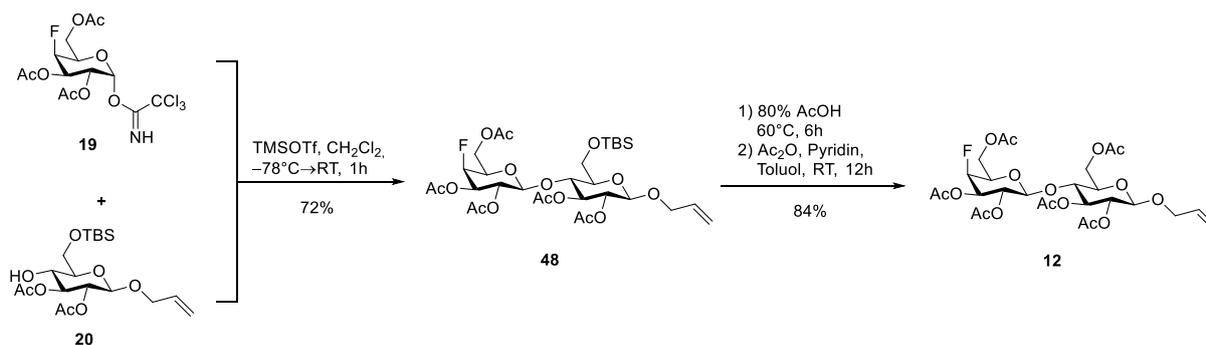
**Schema 3.17** Schematische Darstellung der Synthese des 6'F-Lac Bausteins **9** und des difluorierten 6,6'F<sub>2</sub>-Lac Bausteins **11**.

Auch hier bestätigen sowohl die Kopplungskonstante von  $J_{H1',H2'} = 8.0$  Hz von H-1' bei 4.66 ppm, als auch ein Kreuzpeak im HMBC-Experiment zwischen H-1' und C-4 die korrekte  $\beta(1\rightarrow4)$ -Verknüpfung des Disaccharid-Bausteins **46** (Abbildung 3.6).



**Abbildung 3.6** Ausschnitt aus dem HMBC-Spektrum des Disaccharidbausteins **MR 265**.

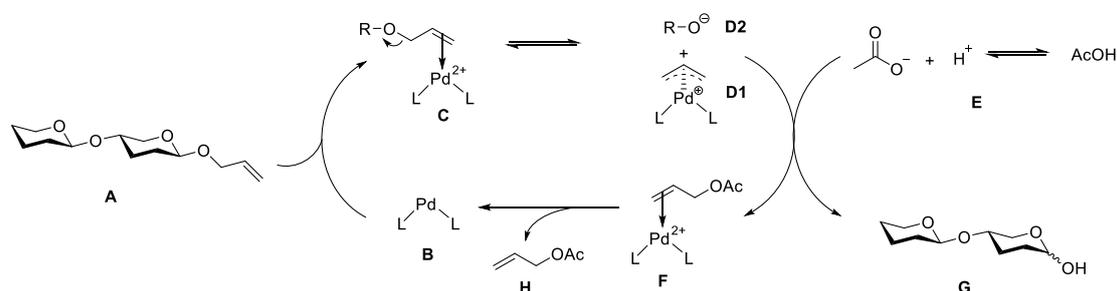
Letztlich wurden, um die geplanten Zielfragmente der nördlichen Fragmentbibliothek zu vervollständigen 4-Fluoronor **19** und Akzeptor **20** in guten 72% Ausbeute nach dem allgemeinen Standardprotokoll zu **48** glycosyliert (Schema 3.18), bevor dieser analog zu den oben bereits beschrieben derivatisierten Lactosylbausteinen, in sehr guten 84% Ausbeute über zwei Stufen zuerst 6-TBS geschützt und schließlich zu **12** acetyliert wurde.



**Schema 3.18** Schematische Darstellung der Synthese des 4'-F-Lac Bausteins **12**.

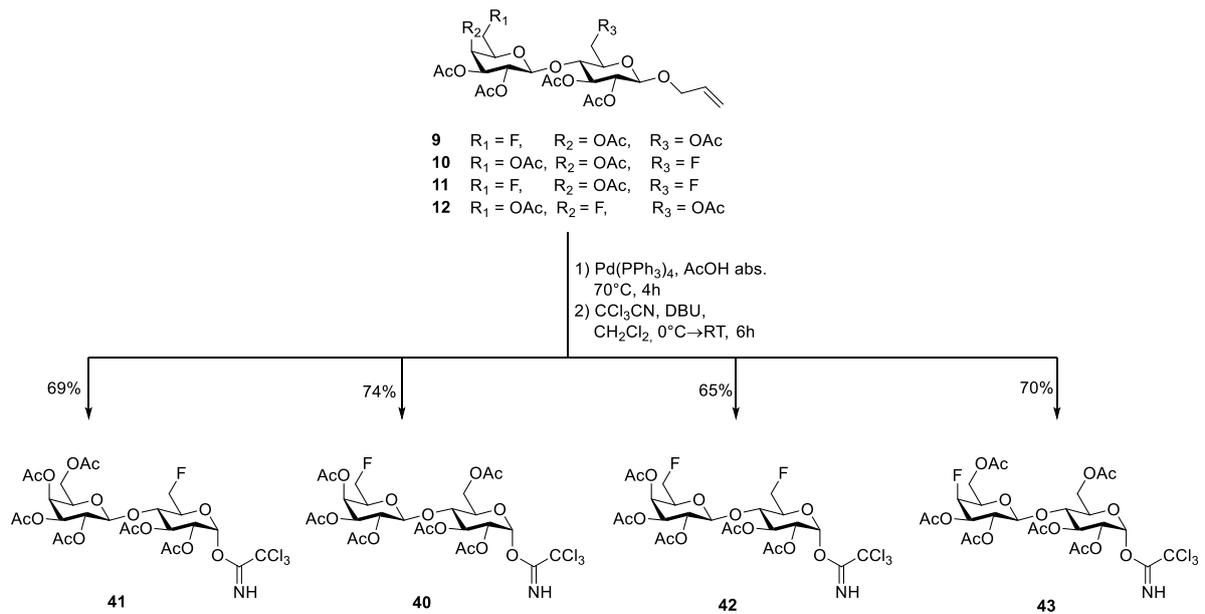
Nachdem nun die vier strategisch fluorierten Disaccharidfragmente **10**, **9**, **11** und **12** erfolgreich bereitgestellt wurden, mussten diese nun anomer deblockiert und in die entsprechenden Trichloracetimidatdonoren überführt werden. Für die Deallylierung stehen prinzipiell zwei etablierte synthetische Methoden zur Verfügung. Prinzipiell wird in einem ersten Schritt, entweder basenkatalysiert oder metall-vermittelt, der entsprechende Allylether in einen Enolether isomerisiert, welcher letztlich in einem zweiten Schritt sauer hydrolysiert und so die jeweilige Hydroxylgruppe freigelegt wird. Eine Auswahl klassischer Reagenziensysteme zur Isomerisierung stellen das Kalium-*tert*-butanolat,<sup>213</sup> der Wilkinson-Katalysator (Ph<sub>3</sub>P)<sub>3</sub>RhCl/DABCO,<sup>214</sup> RhCl<sub>3</sub>/DABCO,<sup>215</sup> der [Ir(COD)(Ph<sub>2</sub>MeP)<sub>2</sub>]<sub>2</sub>PF<sub>6</sub>-Katalysator,<sup>216</sup> PdCl<sub>2</sub>/NaOAc<sup>217</sup> sowie das Pd(Ph<sub>3</sub>P)<sub>4</sub>/AcOH<sup>218</sup> System dar.

In der vorliegenden Arbeit wurde auf das Pd(Ph<sub>3</sub>P)<sub>4</sub>/AcOH Reagenziensystem,<sup>218</sup> eine *Tsuji-Trost*-ähnliche Deallylierungsreaktion<sup>219-220</sup> in absoluter Essigsäure, zurückgegriffen (Schema 3.19). Es handelt sich dabei um eine Modifikation nach *Kusama et al.*<sup>218</sup> bei der in einem ersten Schritt das Allylglycosid **A** in den Katalysezyklus eintritt und es zu einer oxidativen Addition des Palladium(0)-Komplexes **B** kommt, so dass sich der  $\pi$ -Komplex **C** bildet. Durch die Palladiumkomplexierung wird die Bindung zum benachbarten Sauerstoff des Übergangszustands **C** geschwächt, so dass formal ein Alkoxid **D2** austreten kann und sich die Allyl-Palladium-Spezies **D1** bildet. Das Kontaktionenpaar **D1/D2** wird nun in einem nachgelagerten Schritt von einem Acetatanion zu Komplex **F** abgefangen. Weiterhin kommt es zu einem Protonentransfer, bei dem nun das formal vorliegende Alkoxid **D2** protoniert wird, so dass schließlich das Hemiacetal **G** den Katalysezyklus verlassen kann. In einer reduktiven Eliminierung wird letztlich der Katalysator **B** zurückgebildet.



**Schema 3.19** Möglicher Mechanismus der *Tsuji-Trost* Deallylierung in Essigsäure.<sup>218</sup>

Entsprechend dem oben beschriebenen Verfahren nach *Kusama et al.*<sup>218</sup> wurden nun die vier Allylglycoside **10**, **9**, **11** und **12** zu den korrespondierenden  $\alpha/\beta$ -Hemiacetalen entschützt, welche anschließend jeweils in die Trichloracetimidatdonoren **41**, **40**, **42** und **43** überführt wurden. Alle vier Umsetzungen konnten erfolgreich durchgeführt werden und lieferten jeweils selektiv das  $\alpha$ -Anomer in guten Ausbeuten in einem Bereich von 74-65% über zwei Stufen.

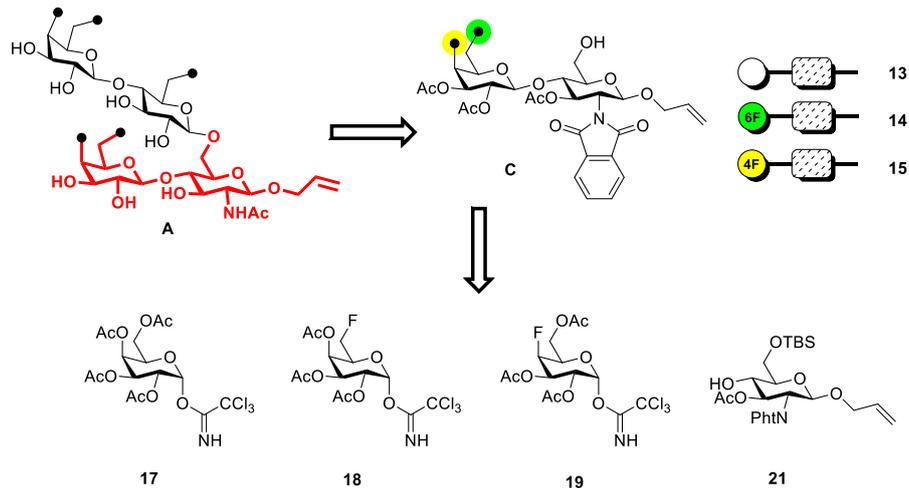


**Schema 3.20** Schematische Darstellung der chemoselektiven Entschützung des anomeren Zentrums und anschließende Überführung in die korrespondierenden  $\alpha$ -konfigurierten Lactosyltrichloracetimide.

Im folgenden Kapitel wird nach der hier beschriebenen erfolgreichen Bereitstellung der vier fluorierten Lactosyldonorbausteine **41**, **40**, **42** und **43** nun die Synthese der, in Kapitel 3.1 skizzierten, Lactosaminosylakzeptorbausteine **13**, **14** und **15** des südlichen Fragments der SPn14-spezifischen Antigenendeterminante vorgestellt.

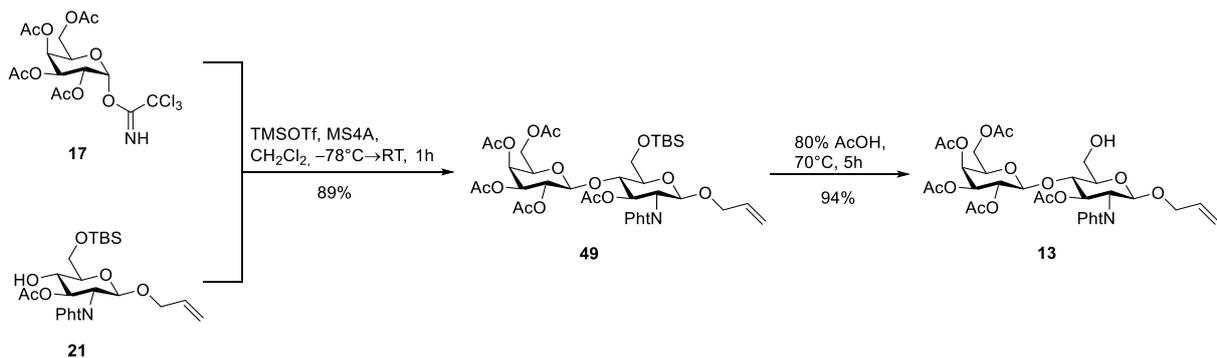
### 3.3.2 Synthesen der südlichen Akzeptorfragmente

Mit der bereits im Kapitel 3.2.1 beschriebenen erfolgreichen Darstellung der drei Galactosyldonoren **17**, **18** und **19**, sowie der in Kapitel 3.2.2 dargelegten Synthese des *N*-Phthaloylakzeptors **21** ist ein direkter synthetischer Zugang zum Aufbau der südlichen Fragmente **13**, **14** und **15** der SPn14-spezifischen Antigen determinante geschaffen worden (Abbildung 3.7). Die allgemeine Syntheseroute hierfür wurde bereits in Kapitel 3.1 dargelegt und folgt einer (1+1)-Strategie.



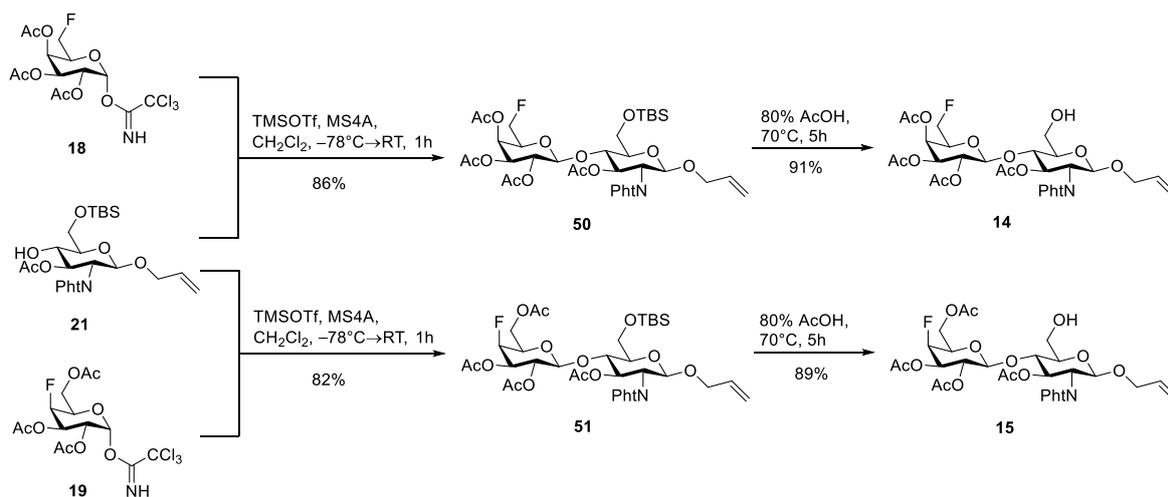
**Abbildung 3.7** Überblick der Retrosynthese der Lactosaminosylakzeptor-Fragmente.

In einer ersten Reaktionssequenz wurden das Galactosyltrichloracetimidat **17** und der Akzeptor **21** in ausgezeichneten 89% Ausbeute zu Disaccharid **49** umgesetzt, welches im Anschluss nahezu quantitativ und unter Standardbedingungen (*vide supra*) desilyliert wurde (Schema 3.21).



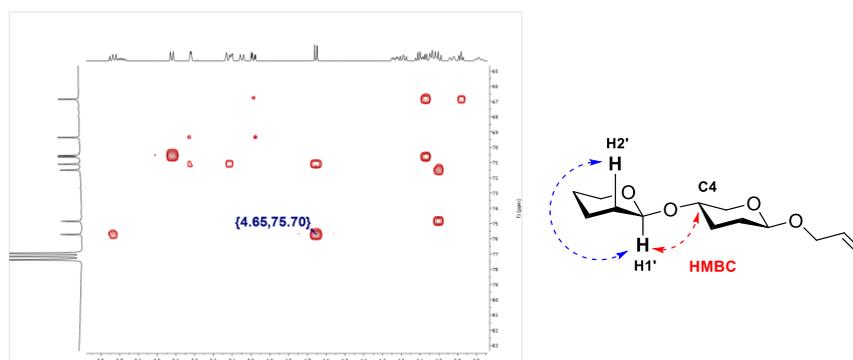
**Schema 3.21** Synthese des Lactosaminosyldisaccharid-Bausteins **13**.

Analog wurde der Akzeptorbaustein **21** jeweils mit dem 6-Fluorgalactosyltrichloracetimidat **18** und dem 4-Fluorgalactosyltrichloracetimidat **19** in sehr guten Ausbeuten von 86% beziehungsweise 82% nach dem bereits beschriebenen Glycosylierungsprotokoll zu **50** und **51** umgesetzt (Schema 3.22), bevor diese ebenfalls unter sauren Bedingungen zu den beiden finalen Glycosylakzeptorbausteinen **14** und **15** in nahezu quantitativer Ausbeute desilyliert wurden.



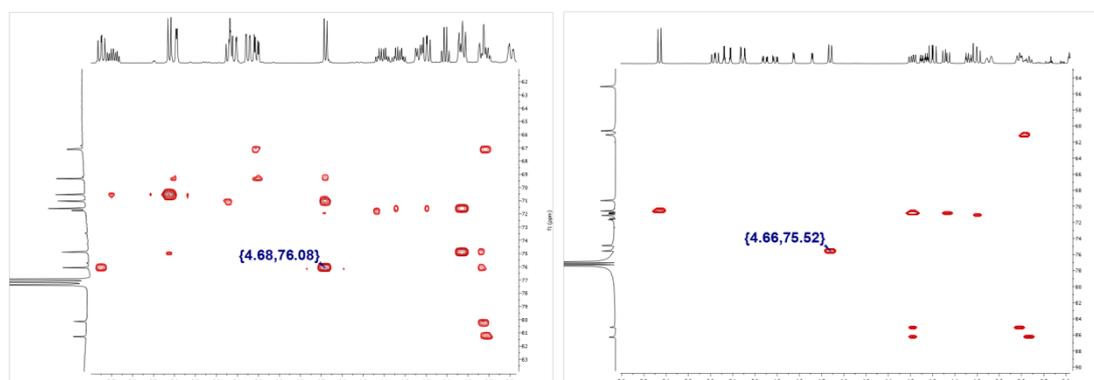
**Scheme 3.22** Synthese der Akzeptorbausteine **14** und **15**.

Auch an diesem Punkt der Synthese wurde mittels NMR-Spektroskopie die korrekte  $\beta(1\rightarrow4)$ -Verknüpfung der drei Disaccharide bestätigt (Abbildung 3.8). So weist **13** einen eindeutigen Kreuzpeak zwischen H1'-C4 auf und H-1' eine Kopplungskonstante  $J_{H1',H2'} = 7.9$  Hz.



**Abbildung 3.8** Ausschnitt des HMBC-Spektrums des Akzeptorbausteins **13**.

Ebenso weist 6'-fluor **14** einen HMBC-Kreuzpeak für H-1' bei 4.68 ppm und C-4 bei 76.1 ppm auf und das Spektrum des 4-Fluorakzeptors **15** koppelt für H-1' bei 4.66 ppm mit C-4 bei 75.5 ppm, womit folglich die korrekte  $\beta(1\rightarrow4)$ -Verknüpfung für alle drei Fragmente **13**, **14** und **15** belegt werden kann (Abbildung 3.9).

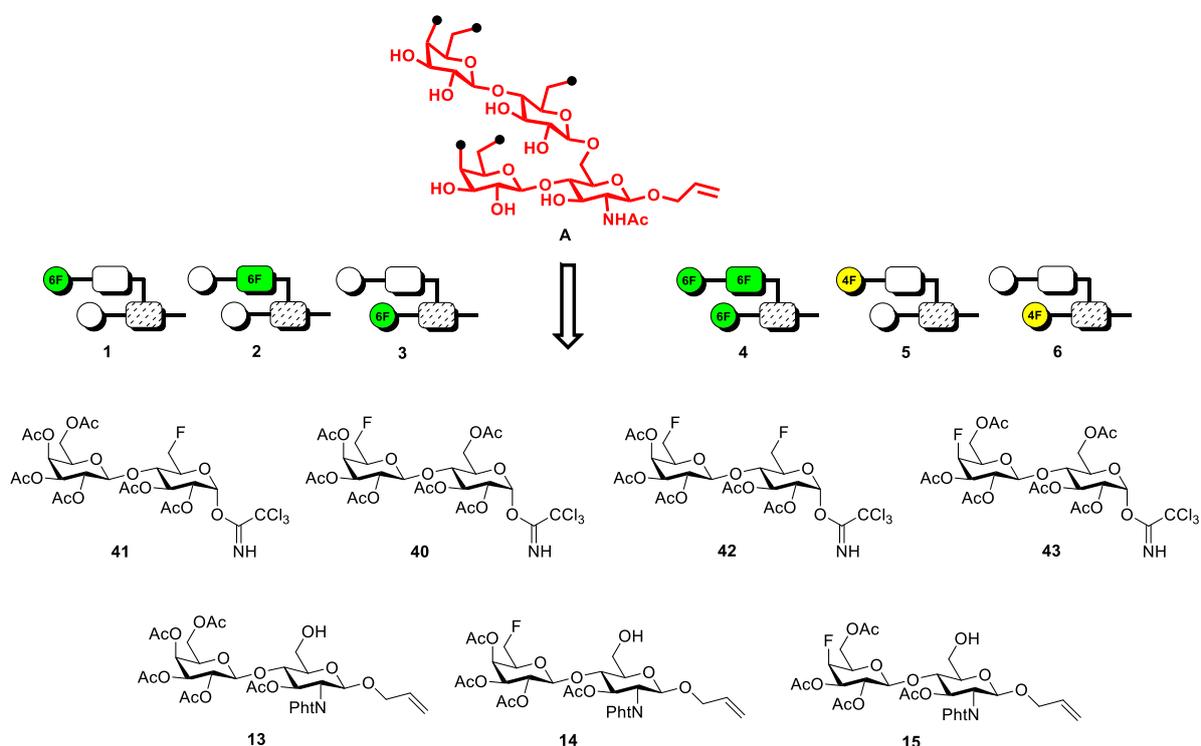


**Abbildung 3.9** Ausschnitt des HMBC-Spektrums des Akzeptorbausteins **14** (links); **15** (rechts).

Bezugnehmend auf die retrosynthetische Analyse von Kapitel 3.1 und der hier beschriebenen erfolgreichen Bereitstellung der südlichen Fragmente **13**, **14** and **15**, wie auch der nördlichen Trichloracetimidatfragmente **40**, **41**, **42** und **43** aus Kapitel 3.3.1, stehen nun alle Bausteine für den Aufbau der SPn14-spezifischen antigenen Determinante zur Verfügung. Im folgenden Kapitel werden nun die finalen Glycosylierungsschritte beschrieben, welche in einer konvergenten modularen (2+2)-Strategie schließlich die finalen  $\beta(1\rightarrow6)$ -verknüpften SPn14 Antigenmimetika zugänglich machen.

### 3.4 Synthese der SPn14-spezifischen Antigenendeterminate

Wie bereits in Kapitel 3.3 beschrieben wurde, stehen nun alle Lactosyldonorbausteine **41**, **40**, **42**, **43** sowie das Lactosyltrichloracetimidat **16** zur Verfügung, um diese nun in einer (2+2)-Glycosylierung mit den jeweiligen Glucosaminosylakzeptoren **13**, **14** und **15** zu kombinieren und eine Bibliothek unterschiedlich strategisch fluorierter SPn14-spezifischer Antigenmimetika zu erzeugen (Abbildung 3.10), welche neben dem 6'-fluor **3**, dem 6''-fluor **2**, dem 6'''-fluor **1** und dem 6',6'',6'''-trifluor **4** auch das 4'-fluor **6** sowie 4'''-fluor-Derivat **5** umfasst. Im Folgenden werden zuerst die drei Glycosylierungsreaktionen unter Verwendung des nicht fluorierten Lactosyltrichloracetimidatdonors **16** besprochen, bevor im zweiten Teil des Kapitels auf die vier Glycosylierungen der fluorierten Donormoleküle **41**, **40**, **42** und **43** eingegangen wird. Im letzten Unterkapitel werden schließlich auf die globalen Deblockierungsschritte präsentiert.

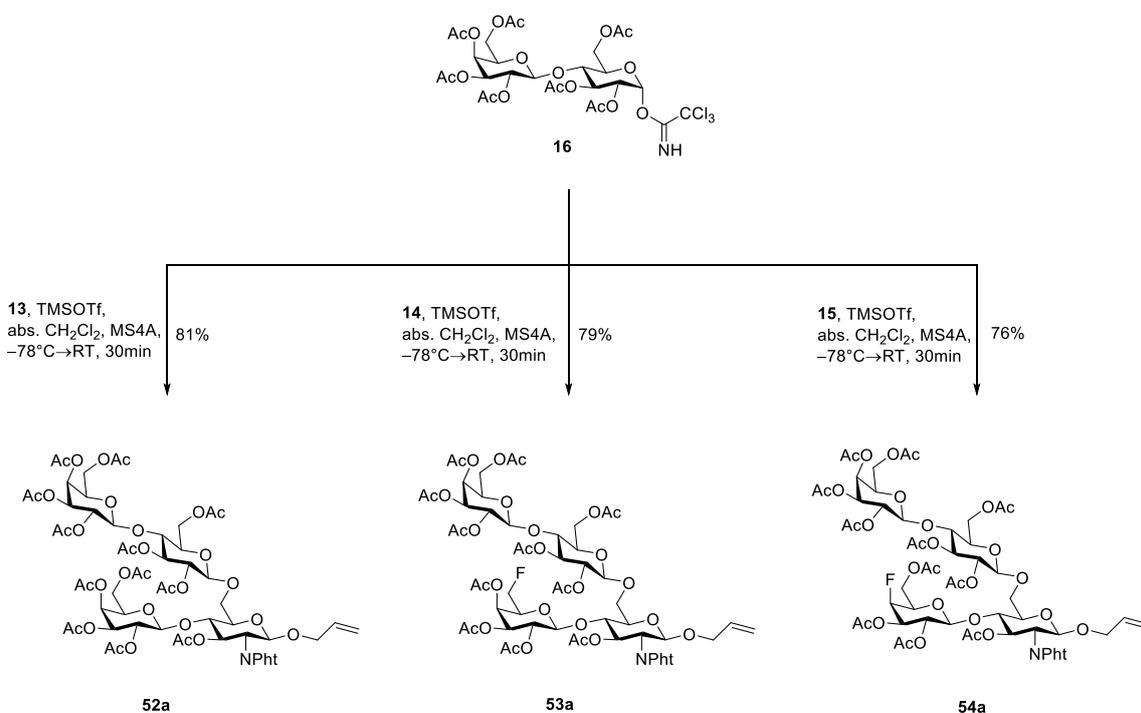


**Abbildung 3.10** Retrosynthese der SPn14-spezifischen Antigenmimetika.

Für den Aufbau der β-verknüpften Tetrasaccharideinheiten wurde erneut auf die bewährte Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (TMSOTf) vermittelte Glycosylierungsmethode nach *Schmidt* zurückgegriffen.<sup>109</sup> Im Allgemeinen wurden sowohl Donor als auch Akzeptor in einem molaren Verhältnis von 1.5:1 in absolutiertem Dichlormethan bei  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  unter Argon in Gegenwart von frisch aktiviertem Molekularsieb vorgelegt (*vide supra*). Schließlich wurde die Reaktion mit katalytischen Mengen TMSOTf versetzt und zur homogenen Durchmischung bei dieser niedrigen Temperatur 15 min gerührt. Anschließend wurde das Kältebad entfernt und die Reaktionsmischung erwärmt, wobei die Umsetzung bei Raumtemperatur in der Regel bereits vollständig beendet war.

### 3.4.1 Synthesen der *N*-Phthaloyl-Tetrasaccharide unter Verwendung nicht-fluorierter Lactosyltrichloracetimide

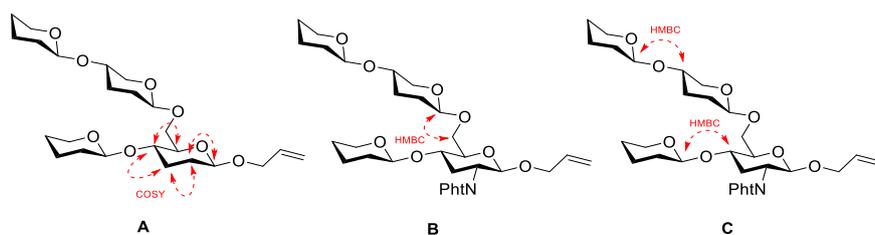
Für die Synthese des nicht-modifizierten Bausteins **52a**, sowie der zwei am südlichen Fragment strategisch fluorierten *N*-Phthaloyl-SPn14-Tetrasaccharidgerüste **53a** und **54a** wurden der Lactosyldonor **16** mit den jeweiligen Glucosaminosylbausteinen **13**, 6-fluor **14** und dem 4-fluor **15** kombiniert (Schema 3.23).



**Schema 3.23** Synthese der *N*-Phthaloyl-Tetrasaccharide **52a**, **53a** und **54a**.

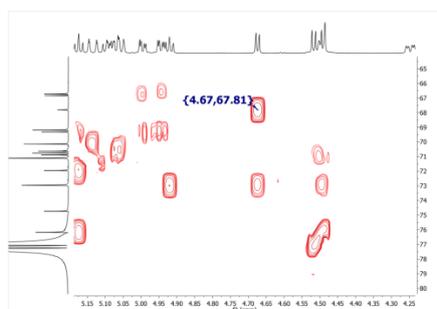
Die oben gezeigten (2+2)-Glycosylierungen zu den Bausteinen **52a**, **53a** und **54a** konnten erfolgreich mit Ausbeuten, die sich in einem sehr guten Bereich zwischen 81-76% bewegten, durchgeführt werden. Aus qualitativer Sicht ist somit festzustellen, dass eine OH→F Substitution an den hier gezeigten Akzeptormolekülen **14** und **15** nur einen sehr geringen Einfluss auf die Reaktivität zeigt, obwohl ein starker desaktivierender Elektronenzug der Fluorsubstituenten vorliegt und damit die Änderung der gesamten elektronischen Struktur zu erwarten gewesen wäre.

Zur Evaluation der korrekten Verknüpfung der anomeren Zentren wurden im Zuge dieser Arbeit NMR-Studien durchgeführt. So lieferten 2D-NMR spektroskopische Methoden wichtige Aufschlüsse über die Struktur der komplexen Tetrasaccharide (Abbildung 3.11). In einem ersten Schritt wird die Zuordnung der am jeweiligen Pyranosering lokalisierten Protonen über COSY/HSQC-Experimente **A** vorgenommen. Ist nun die relative Reihenfolge aller Ringprotonen und deren zugehörige Kohlenstoffe bekannt, können über HMBC-Spektroskopie die (1→6)-Verknüpfung von **B**, wie auch die beiden (1→4)-glycosidischen Bindungen in **C** anhand von heteronuklearen Korrelationen verifiziert werden. Die jeweiligen  $^3J_{H1,H2}$ -Kopplungskonstanten geben zudem Auskunft über die relative Konfiguration des anomeren Zentrums, wobei die Kopplungskonstanten nach der Karplusbeziehung bei einer antiperiplanaren Anordnung beider Protonen zwischen ca. 7-10 Hz liegen sollten.<sup>210-</sup>



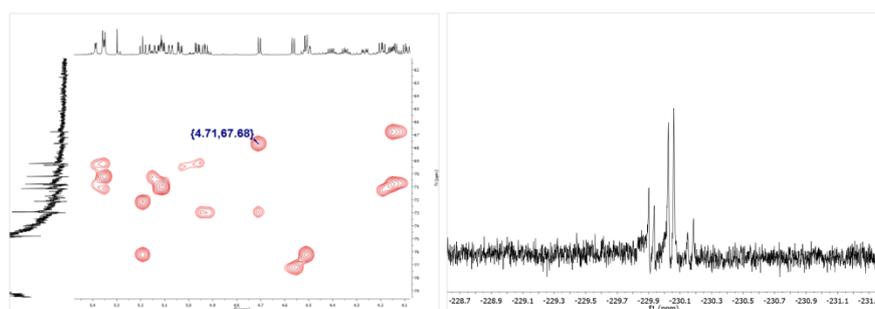
**Abbildung 3.11** Strategie zur Aufklärung der molekularen Struktur und Geometrie der Tetrasaccharide über COSY & HMBC-Experimente.

Hinsichtlich der neu generierten glycosidischen Bindung konnte für **52a** eindeutig durch einen Kreuzpeak zwischen C-6 mit einer Verschiebung von 67.8 ppm und dem H-1'' bei 4.67 ppm eine  $\beta(1\rightarrow6)$ -glycosidische Verknüpfung bestätigt werden. (Abbildung 3.12). Dabei zeigt eben jenes H-1'' zudem eine Kopplungskonstante von  $J_{H1'',H2''} = 7.5$  Hz auf, was entsprechend der oben genannten Karplusbeziehung auf das korrekte gebildete  $\beta$ -Anomer hindeutet.<sup>210-212</sup> Weiterhin weisen die verbleibenden anomeren Zentren ebenfalls die für das gezeigte Verknüpfungsmuster zu erwartenden Kopplungskonstanten von  $J_{H1,H2} = 9.7$  Hz und  $J_{H1',H2'} = 8.0$  Hz,  $J_{H1''',H2'''} = 8.3$  Hz auf.



**Abbildung 3.12** Ausschnitt des HMBC Spektrums des SPn14 Tetrasaccharids **52a**.

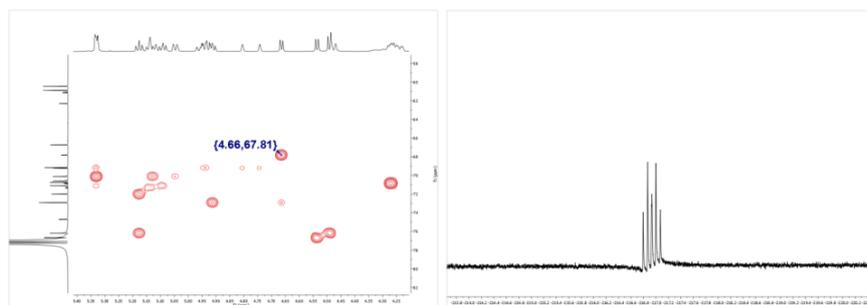
In Analogie dazu besitzt der Baustein **53a** einen charakteristischen Kreuzpeak bei 67.7 ppm für C-6 und 4.71 ppm für H-2'' mit einer Kopplungskonstante von  $J_{H1'',H2''} = 7.2$  Hz auf (Abbildung 3.13). Die weiteren anomeren Zentren sind ebenfalls in Übereinstimmung mit der gezeigten Struktur ausschließlich  $\beta$ -konfiguriert ( $J_{H1,H2} = 8.5$  Hz,  $J_{H1',H2'} = 7.9$  Hz,  $J_{H1''',H2'''} = 8.0$  Hz). Darüber hinaus zeigt das  $^{19}\text{F}$ -Spektrum ein, für eine in der 6-Position fluoridierte Galactoseeinheit typisches, *td*-Aufspaltungsmuster mit den Kopplungskonstanten  $J_{F,H6'} = 47.1$  Hz und  $J_{F,H5'} = 12.9$  Hz bei  $-229.98$  ppm.



**Abbildung 3.13** Ausschnitt des HMBC- (links) und des  $^{19}\text{F}$ -Spektrums (rechts) des 6'F-SPn14 Tetrasaccharids **53a**.

Auch für **54a** konnte durch dieselben Prinzipien eine korrekte  $\beta(1\rightarrow6)$  Verknüpfung verifiziert werden (Abbildung 3.14). So findet sich ein Kreuzpeak zwischen C-6 bei 67.8 ppm und H-2'' bei 4.66 ppm mit der Kopplungskonstante  $J_{H1'',H2''} = 7.5$  Hz. Neben den korrekt konfigurierten verbleibenden anomeren Zentren ( $J_{H1,H2}$

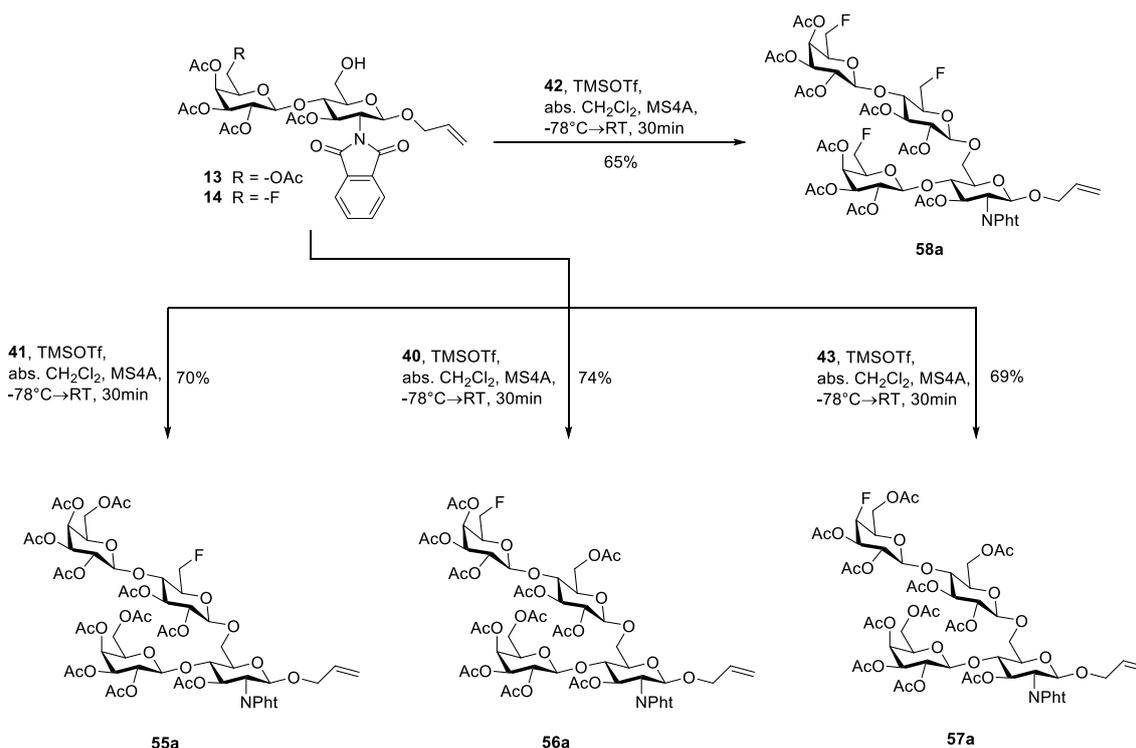
= 8.2 Hz,  $J_{H1',H2'} = 7.9$  Hz,  $J_{H1'',H2''} = 7.9$  Hz) zeigt das  $^{19}\text{F}$ -Spektrum das, für eine an 4-Position fluoridierte Galactosyleinheit charakteristische *dt*-Aufspaltungsmuster mit den Kopplungskonstanten  $J_{F,H4'} = 51.0$  Hz und  $J_{F,H3'} = J_{F,H5'} = 27.1$  Hz bei  $-216.93$  ppm.



**Abbildung 3.14** Ausschnitt des HMBC- (links) und des  $^{19}\text{F}$ -Spektrums (rechts) des *N*-Phthaloyl-Tetrasaccharids **54a**.

### 3.4.2 Synthesen der *N*-Phthaloyl-Tetrasaccharide unter Verwendung fluorierter Lactosyltrichloracetimidate

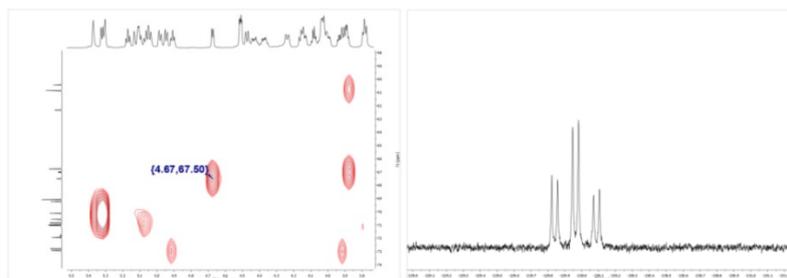
Die Synthese, der am nördlichen Fragment des SPn14-Antigens fluorierten Tetrasaccharidderivate **55a**, **56a** und **57a** wurden durch die Kombination der unterschiedlich strategisch fluorierten Trichloracetamidylendonoren **41**, **40** und **43** mit den Lactosaminosyl-Akzeptoren **13** und **14** nach dem in Kapitel 3.4.1 gezeigten allgemeinen Glycosylierungsprotokoll dargestellt (Schema 3.24).<sup>109</sup>



**Schema 3.24** Synthese der *N*-Phthaloyl-Tetrasaccharide **55a**, **56a**, **57a** und **58a**.

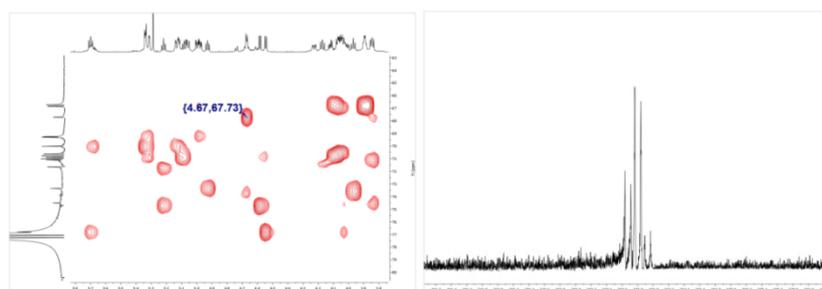
Die Ausbeuten der oben gezeigten (2+2)-Glycosylierungen zu den Bausteinen **55a**, **56a** und **57a** erreichten 74-65% und liegen damit in einem guten Bereich. Verglichen zu den in Kapitel 3.3 diskutierten Disaccharidfragmente, wie auch den in Kapitel 3.4.1 gezeigten Tetrasacchariden **52a**, **53a** und **54a** liegen die Ausbeuten jedoch im Schnitt ca. 10-15% niedriger, was vermutlich auf den deaktivierenden Einfluss der elektronenziehenden Fluorsubstituenten der Trichloracetamidylbausteine **41**, **40**, **43** und **42** zurückzuführen ist. Weiterhin fällt auf, dass die Ausbeuten in einem sehr engen Bereich von 74-69% liegen und sich anhand dieser Reihe keine Abhängigkeit der Reaktivität von der spezifischen Position des Fluoratoms innerhalb der Disaccharidendonoren ableiten lässt. Der Difluor-Lactosylbaustein **42** hingegen weist die am stärksten ausgeprägte Desaktivierung auf, was sich in der geringen Ausbeute von 65% niederschlägt.

Hinsichtlich der neu generierten glycosidischen Bindung konnte für **56a** durch HMBC-Experimente eindeutig eine  $\beta(1\rightarrow6)$ -Verknüpfung bestätigt werden. Der erwartete Kreuzpeak zwischen C-6 mit einer Verschiebung von 67.5 ppm und dem H-1'' bei 4.67 ppm ist eindeutig ersichtlich (Abbildung 3.15) und H-1'' weist darüber hinaus eine  $\beta$ -spezifische Kopplungskonstante von  $J_{H1'',H2''} = 7.5$  Hz auf. Weiterhin stimmen die verbleibenden anomeren Zentren mit den zu erwartenden Kopplungskonstanten ( $J_{H1,H2} = 8.7$  Hz,  $J_{H1',H2'} = 8.0$  Hz,  $J_{H1''',H2'''} = 8.1$  Hz) für dieses Verknüpfungsmuster überein. Das <sup>19</sup>F-Spektrum zeigt zudem ein typisches *td*-Aufspaltungsmuster für an 6-Position fluorierte Galactopyranosen ( $J_{F,H6''} = 46.5$  Hz und  $J_{F,H5''} = 13.1$  Hz).



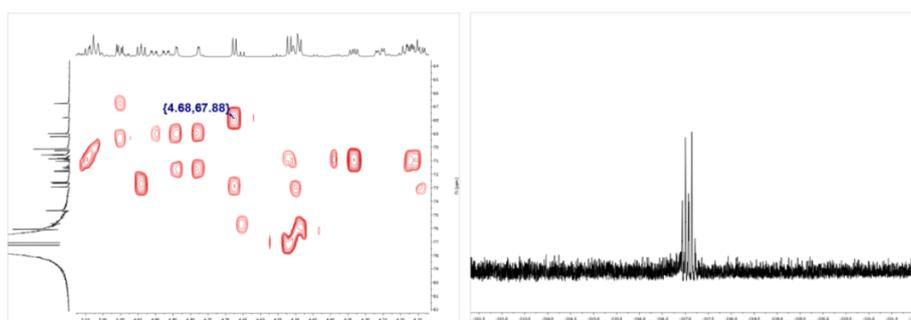
**Abbildung 3.15** Ausschnitt des HMBC- (links) und des  $^{19}\text{F}$ -Spektrums (rechts) des *N*-Phthaloyl-Tetrasaccharids **56a**.

Auch das HMBC-Spektrum des Bausteins **55a** zeigt einen ausgeprägten Kreuzpeak zwischen C-6 bei 67.7 ppm und H-1'' bei 4.67 ppm, mit einer Kopplungskonstante von  $J_{\text{H}1'',\text{H}2''} = 7.7$  Hz (Abbildung 3.16). Zusätzlich erfüllen die verbleibenden anomeren Zentren charakteristisch zu erwartende Werte ( $J_{\text{H}1,\text{H}2} = 8.3$  Hz,  $J_{\text{H}1',\text{H}2'} = 7.9$  Hz,  $J_{\text{H}1''',\text{H}2'''} = 8.0$  Hz), und es zeigt sich die *td*-Aufspaltung des Fluoratoms ( $J_{\text{F},\text{H}6''} = 47.6$  Hz und  $J_{\text{F},\text{H}5''} = 28.6$  Hz bei  $-233.80$  ppm).



**Abbildung 3.16** Ausschnitt des HMBC- (links) und des  $^{19}\text{F}$ -Spektrums (rechts) des *N*-Phthaloyl-Tetrasaccharids **55a**.

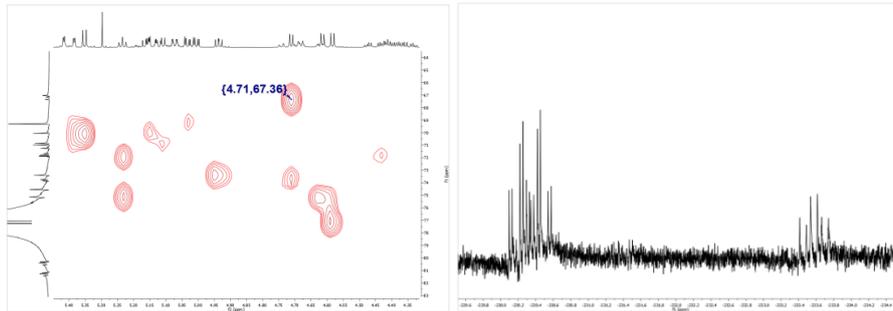
Weiterhin zeigt das 2D-Experiment des Bausteins **57a** sowohl den erwarteten Kreuzpeak zwischen C-6 bei 67.9 ppm und H-1'' bei 4.68 ppm mit  $J_{\text{H}1'',\text{H}2''} = 7.6$  Hz auf, wie auch die charakteristische *dt*- $^{19}\text{F}$ -Aufspaltung für einen an der 4-Position fluorierten endständigen Galactosebaustein mit  $J_{\text{F},\text{H}4''} = 50.8$  Hz,  $J_{\text{F},\text{H}3''} = J_{\text{F},\text{H}5''} = 26.9$  Hz bei  $-217.07$  ppm (Abbildung 3.17). Die Kopplungskonstanten der verbleibenden anomeren Zentren stimmen mit der Karplusbeziehung überein ( $J_{\text{H}1,\text{H}2} = 8.5$  Hz,  $J_{\text{H}1',\text{H}2'} = 8.0$  Hz,  $J_{\text{H}1''',\text{H}2'''} = 7.6$  Hz).<sup>210-212</sup>



**Abbildung 3.17** Ausschnitt des HMBC- (links) und des  $^{19}\text{F}$ -Spektrums (rechts) des *N*-Phthaloyl-Tetrasaccharids **57a**.

Letztlich zeigt auch das Spektrum des trifluorierten Bausteins **58a** den zu erwartenden Kreuzpeak zwischen C-6 bei 67.4 ppm und H-1'' bei 4.71 ppm auf (Abbildung 3.18) und es sind sowohl die neu geknüpfte glycosidische Bindung mit  $J_{\text{H}1'',\text{H}2''} = 7.4$  Hz, als auch alle weiteren anomeren Zentren ( $J_{\text{H}1,\text{H}2} = 8.6$  Hz,  $J_{\text{H}1',\text{H}2'} = 7.9$  Hz,  $J_{\text{H}1''',\text{H}2'''} = 8.0$  Hz)  $\beta$ -konfiguriert. Das  $^{19}\text{F}$ -Spektrum weist dabei die drei erwarteten Signale mit *td*-

6-Fluorglucosyl-Aufspaltungsmuster ( $J_{F'',H6''} = 47.4$  Hz,  $J_{F'',H5''} = 28.6$  Hz) bei  $-233.58$  ppm, beziehungsweise *td* 6-Fluorgalactosyl-Signal ( $2 \times J_{F,H6} = 46.6$  Hz,  $2 \times J_{F,H5} = 12.8$  Hz) bei  $-230.24$  ppm und  $-233.58$  ppm auf.



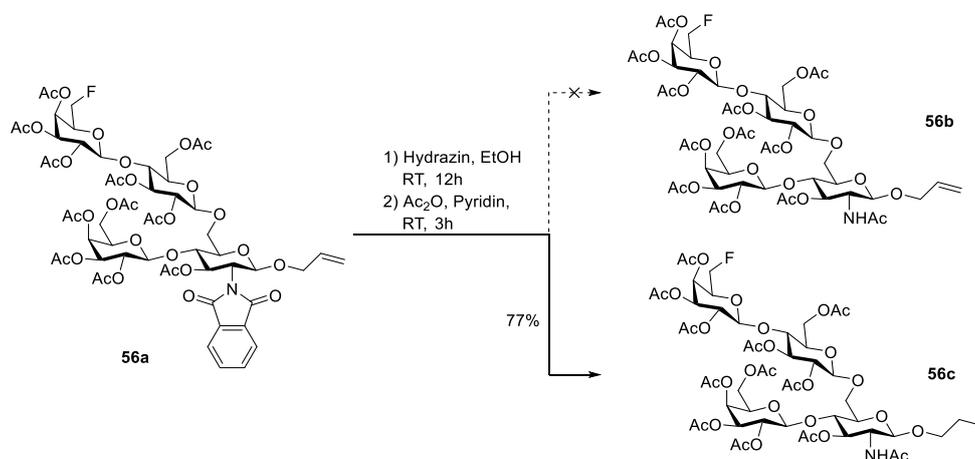
**Abbildung 3.18** Ausschnitt des HMBC- (links) und des  $^{19}\text{F}$ -Spektrums (rechts) des Trifluor-*N*-Phthaloyl-Tetrasaccharids **58a**.

Nach der vorgenommenen eindeutigen Verifizierung der korrekten glycosidischen Verknüpfungen für die gewünschten *N*-Phthaloyl-Tetrasaccharidbausteine, werden im folgenden Kapitel nun die finalen Schutzgruppenmanipulationen präsentiert, welche die vollständige Bibliothek der SPn14-spezifischen Antigenmimetika zugänglich machen.

### 3.4.3 Globale Entschützung der SPn14 Antigenmimetika

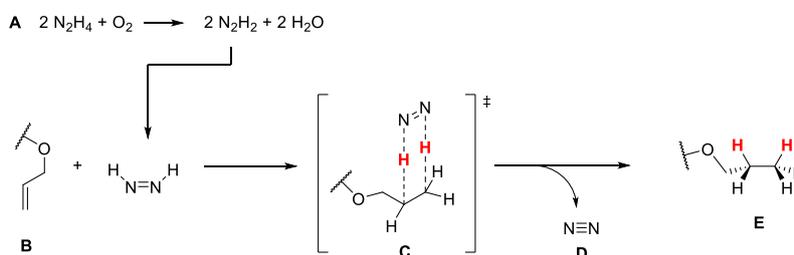
Bezugnehmend auf die retrosynthetische Analyse von Kapitel 3.1 wurden alle fluorierten SPn14-spezifischen *N*-Phthaloyltetrasaccharidgerüste **52a**, **53a**, **54a**, **55a**, **56a**, **57a** und **58a** erfolgreich bereitgestellt. Diese müssen nun in einer zweistufigen Reaktionssequenz zunächst *N*-deblockiert werden, bevor das *N*-Acetamid eingeführt werden kann, um letztlich die *O*-Acetylschutzgruppen final unter *Zemplén*-Bedingungen<sup>110</sup> zu spalten.

Die *N*-Phthalimidenschutzgruppe wird standardmäßig durch Hydrazinolyse<sup>221</sup> gespalten, weshalb **56a** testweise in Ethanol aufgenommen und 12 Stunden bei Raumtemperatur mit Hydrazin-Hydrat behandelt wurde. Anschließende Acetylierung des Rohprodukts sollte dann das *N*-Acetamid liefern. Nach Aufarbeitung und Reinigung konnte jedoch überraschenderweise nicht das gewünschte Produkt **56b** isoliert werden, sondern lediglich das hydrierte Derivat **56c** in 77% Ausbeute (Schema 3.25).



**Schema 3.25** Versuch zur Entschützung des *N*-Phthaloylbausteins **56a**.

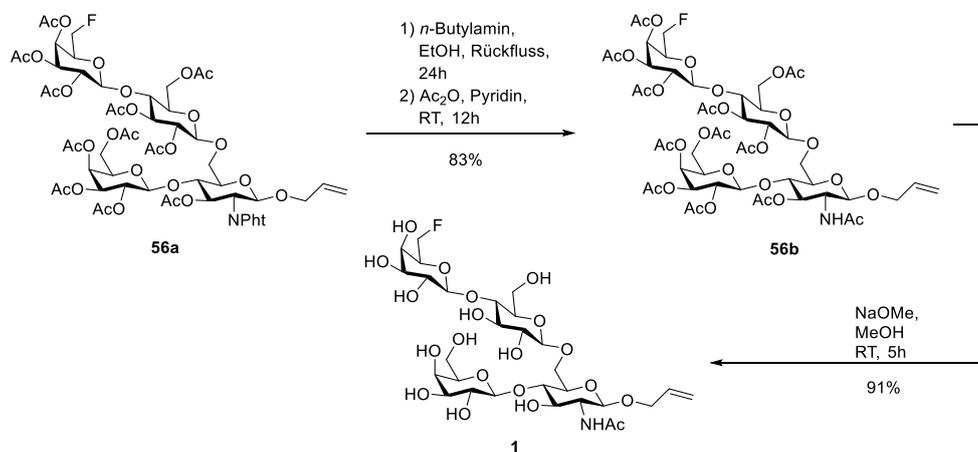
Diese Inkompatibilität von Hydrazin und dem anomeren Allylrest lässt sich nur durch die unerwünschte Oxidation von Hydrazin durch Sauerstoff und der damit einhergehenden *in situ* Bildung von Diimin **A** erklären, welches in der Lage ist Reduktionsprozesse zu vermitteln.<sup>222-225</sup> Diimin selbst ist ein instabiler Wasserstoffdonor, der seinen Wasserstoff formal auf die Alkendoppelbindung **B** überträgt und dabei molekularen Stickstoff **D** freisetzt (Schema 3.26). Die Reaktion verläuft dabei über einen pericyclischen Übergangszustand **C**, bei dem konzertiert und stereospezifisch das *cis*-Additionsprodukt **E** erhalten wird.<sup>222</sup>



**Schema 3.26** Schematische Darstellung der Diiminbildung und Diimin/Alkenreduktion.

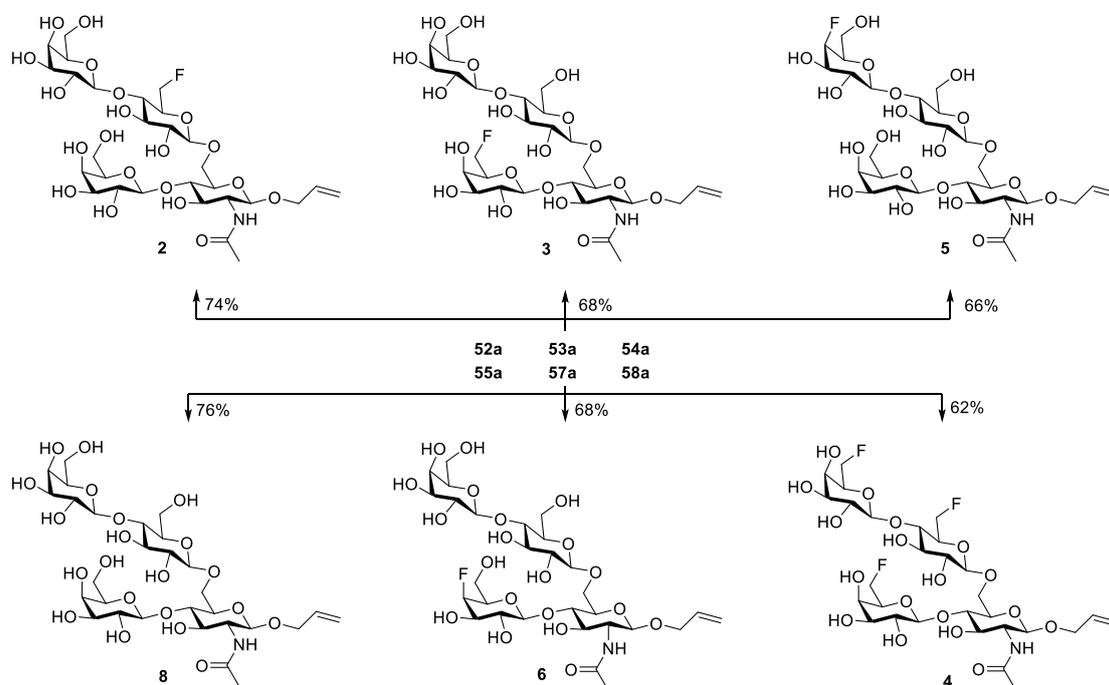
Als Alternative zur oben beschriebenen Hydrazinolyse<sup>221</sup> stehen zudem weitere Methoden zur *N*-Phthalimid-deblockierung auf Basis von primären Alkylaminbasen zur Verfügung, wie beispielsweise der Einsatz von Methylamin,<sup>226</sup> *n*-Butylamin<sup>227</sup> und Ethylendiamin<sup>228</sup>. In einem weiteren Versuch die *N*-Phthaloylschutzgruppe zu spalten wurde **56a** daher mit *n*-Butylamin in siedendem Ethanol umgesetzt,<sup>227</sup> und wie oben beschrieben das

vollentschützte Rohprodukt unverzüglich acetyliert (Schema 3.27). Nach Isolierung und Reinigung konnte erfreulicherweise das erwünschte Produkt **56b** in 83% Ausbeute erhalten werden. Als letzten Schritt wurden schließlich die verbleibenden *O*-Acetylschutzgruppen unter *Zemplén*-Bedingungen chemoselektiv bei Raumtemperatur gespalten und somit das finale in der 6'''-Position fluorierte SPn14-Antigenmimetikum **1** in exzellenten 91% Ausbeute erhalten.



**Schema 3.27** Erfolgreiche *N*-Phthaloyl-Entschützung und Einführung des Acetamids in das Tetrasacchridgerüst.

Die verbleibenden *N*-Phthaloyltetrasaccharide **55a**, **57a**, **52a**, **53a**, **54a** und **58a** wurden analog mit dieser Methode in die gewünschten Zielmoleküle **2**, **3**, **5**, **8**, **6** und **4** in guten 76-62% Ausbeute überführt (Schema 3.29).

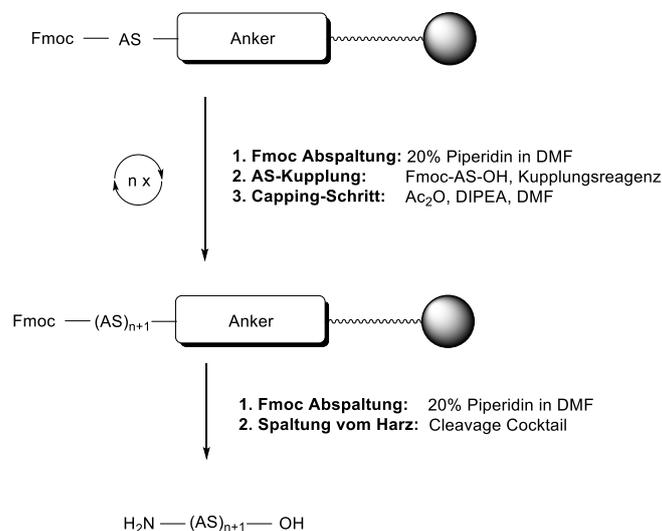


**Schema 3.28** Globale Entschützung der SPn14-spezifischen Antigenmimetika.

Die Reinigung der so erhaltenen Tetrasaccharidendbausteine **1**, **2**, **3**, **4**, **5**, **6** und **8** gelang mithilfe der Sephadex<sup>TM</sup>-Größenausschlusschromatographie unter Verwendung von Methanol als Laufmittel. Trotz massiver Signalüberlagerungen bei NMR-Experimenten konnten die korrekten  $\beta$ -glycosidischen Verknüpfungsmotive, das vorhandene *N*-Acetamid und der intakte Allylrest für alle Zielmoleküle eindeutig belegt werden.

### 3.5 Synthese des universellen Impfstoffträgermoleküls

Peptide können zum einen chemisch in Lösung oder mittels Festphasensynthese (*solid phase peptide synthesis/SPPS*) erhalten werden. Während ersteres jedoch lediglich bei kurzen Di- oder Tripeptiden angewandt wird, erlaubt die Synthese mittels fester Phase auch den schnellen und effizienten den Aufbau längerer Aminosäuresequenzen. Dabei ist der C-Terminus einer beliebigen N-terminal blockierten Startaminosäure an einem nicht-löslichen Polymer verankert. Entgegen der natürlichen Biosynthese erfolgt die Elongation der Peptidkette in Richtung  $C \rightarrow N$  durch sukzessives Anfügen neuer SPPS-Bausteine (Schema 3.29). In der Regel finden am N-Terminus temporär durch basenlabile 9H-Fluorenylmethoxycarbonyl(Fmoc)-Gruppen<sup>229</sup> modifizierte Aminosäurebausteine Anwendung, deren freie Carboxylgruppen durch geeignete Aktivatorreagenzien in einen Aktivester zur Bildung der Amidbindung überführt werden können. Der erste Schritt des typischen Reaktionszyklus dieser *Fmoc-Strategie*<sup>229-230</sup> stellt die Spaltung des Fmoc-Carbamats der harzgebundenen Startaminosäure dar, welche unter milden Bedingungen durch sekundäre Aminbasen, wie Piperidin oder Morpholin vermittelt wird. Nach der Freisetzung des Aminoterminus erfolgt nun die Anknüpfung der darauffolgenden Aminosäure, welche wie oben bereits beschrieben als N-terminal Fmoc-geschützter Aminosäurebaustein vorliegt und durch entsprechende Kupplungsreagenzien C-terminal aktiviert wird. Als dritter Schritt des Reaktionszyklus folgt ein zusätzlicher Cappingsschritt, welcher potentiell nicht abreagierte freie Aminogruppen blockieren soll, um im Zuge weiterer Kupplungsschritte stets die korrekte Aminosäuresequenz zu gewährleisten.



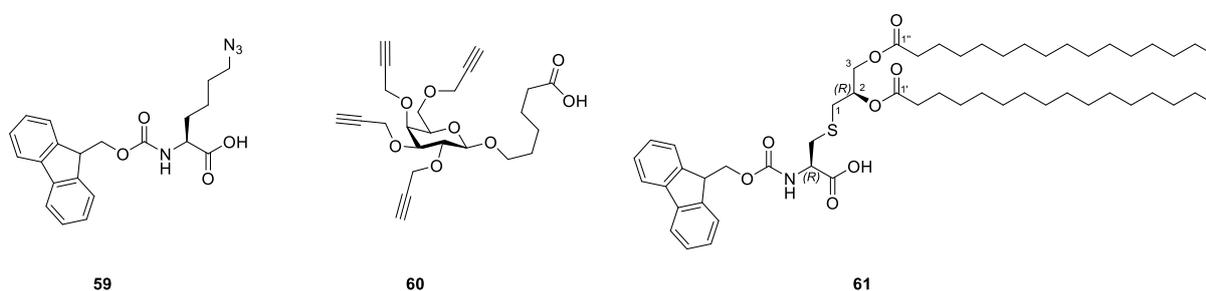
**Schema 3.29** Allgemeines Protokoll der Festphasensynthese nach der Fmoc-Strategie.<sup>230</sup>

Dieser standardisierte Reaktionszyklus wird nun je nach Länge und Komposition des Zielpeptids wiederholt, bis die Zielsequenz als vollgeschütztes harzgebundenes Peptid vorliegt. Final wird das Fmoc-Carbamat entfernt und schließlich das Peptid unter sauren Bedingungen in Gegenwart eines geeigneten Abfangreagenzes (TIPS, TES, Phenol) von der festen Phase gespalten. Ein etabliertes Protokoll zur globalen Deblockierung stellt die Behandlung des Harzes mit einer Mischung von Trifluoressigsäure, Triisopropylsilan und Wasser, typischerweise im Verhältnis 95:2.5:2.5, dar. Anschließend kann das gewünschte Rohpeptid durch Filtration vom Polymer abgetrennt werden und schließlich durch Entfernung des Lösungsmittels mit anschließender Fällung aus eiskaltem Diethylether erhalten werden. Falls ein vollständig geschütztes Peptidfragment erhalten

werden soll, so wird ein säurelabiles Chlorotriethylharz mit einer 1%igen Trifluoressigsäurelösung in absolutem Dichlormethan dreimal für jeweils zwei Minuten in Abwesenheit eines Abfangreagenzes behandelt. Dabei ist zu beachten, dass unmittelbar nach dem Abspalten des Rohpeptids vom Harz die überschüssige Trifluoressigsäure mit einer Lösung von Pyridin/Methanol neutralisiert werden muss.

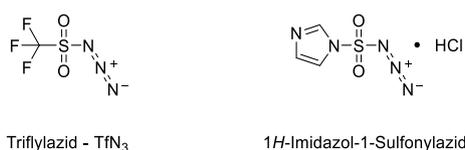
### 3.5.1 Synthese der Festphasen-Aminosäurebausteine

Mit dem bereits im Kapitel 2 skizzierten strukturellen Aufbau des geplanten universellen Impfstoffträgermoleküls beschreibt das folgende Kapitel detailliert die Synthese der benötigten zentralen Peptidfestphasenbausteine **59**, **60** und **61** (Abbildung 3.19).



**Abbildung 3.19** Übersicht der Peptidfestphasenbausteine für das universelle Impfstoffträgermolekül.

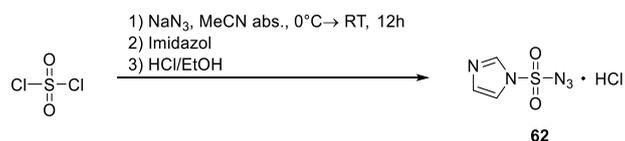
Zur Einführung des Azidosubstituenten in  $\epsilon$ -Azidonorleucin **59** stehen prinzipiell zwei Methoden, mit einer geeigneten nucleophilen Substitution ( $S_N2$ ) beziehungsweise der sogenannten Diazotransferreaktion, zur Verfügung, wobei erstere stets in unerwünschter Konkurrenz mit Eliminierungsprozessen steht und somit nicht für jedes Substrat anwendbar ist. Vielversprechender sind die sogenannten Diazotransferreagenzien, die eine milde und äußerst effektive Methode zur Überführung von Amino- in Azidogruppen darstellen (Abbildung 3.20).<sup>231</sup> Strukturell basieren solche Reagenzien auf einer dem Azid benachbarten Sulfonylgruppe, die einen starken Elektronenzug ausübt und so die N=N=N-Bindung schwächt.<sup>232</sup> Auf diese Weise wird ein nucleophiler Angriff einer freien Aminogruppe ermöglicht und im Zuge dessen formal eine „Diazoeinheit“ auf den Reaktionspartner übertragen. In der Literatur werden vor allem das Triflylazid,<sup>232-234</sup> sowie das 1*H*-Imidazol-1-Sulfonylazid<sup>235-236</sup> als zwei prototypische Diazotransferreagenzien genannt, welche unter basischen Bedingungen, meist im wässrigen Medium unter Metallkatalyse ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ) Anwendung finden.<sup>234</sup>



**Abbildung 3.20** Übersicht der gängigen Diazotransferreagenzien.

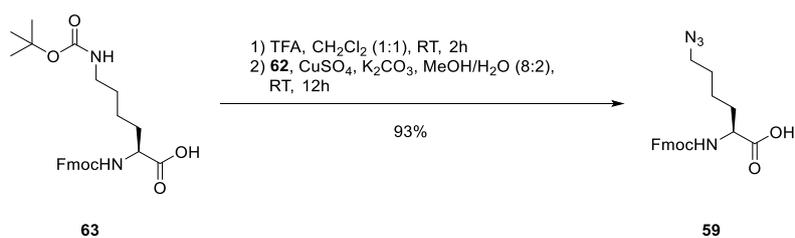
Größter Nachteil des Triflylazidreagenz ist dessen geringe thermische Stabilität und hohe Neigung sich explosionsartig zu zersetzen,<sup>232, 234</sup> während hingegen die Salze des 1*H*-Imidazol-1-Sulfonylazids zum einen eine längere Haltbarkeit, eine weitaus geringe Stoßempfindlichkeit und thermische Stabilität aufweisen und folglich den besten Kompromiss zwischen Sicherheit und Reaktivität in sich vereinen.<sup>235</sup>

Für die von *Stick und Mitarbeitern* berichtete Synthese des 1*H*-Imidazol-1-Sulfonylazid-Hydrochlorids wurde schrittweise Sulfonylchlorid mit einem Äquivalent Natriumazid *in situ* zu einem korrespondierenden Chlorosulfonylazid umgesetzt, welches schließlich mit zwei Äquivalenten Imidazol in das 1*H*-Imidazol-1-Sulfonylazid überführt und schließlich direkt als Hydrochloridsalz **62** in guten 73% Ausbeute gefällt wurde (Schema 3.30). Aufgrund der oben genannten Sicherheitsaspekte empfiehlt es sich das Reagenz bei Bedarf frisch herzustellen und auf eine Lagerung zu verzichten.



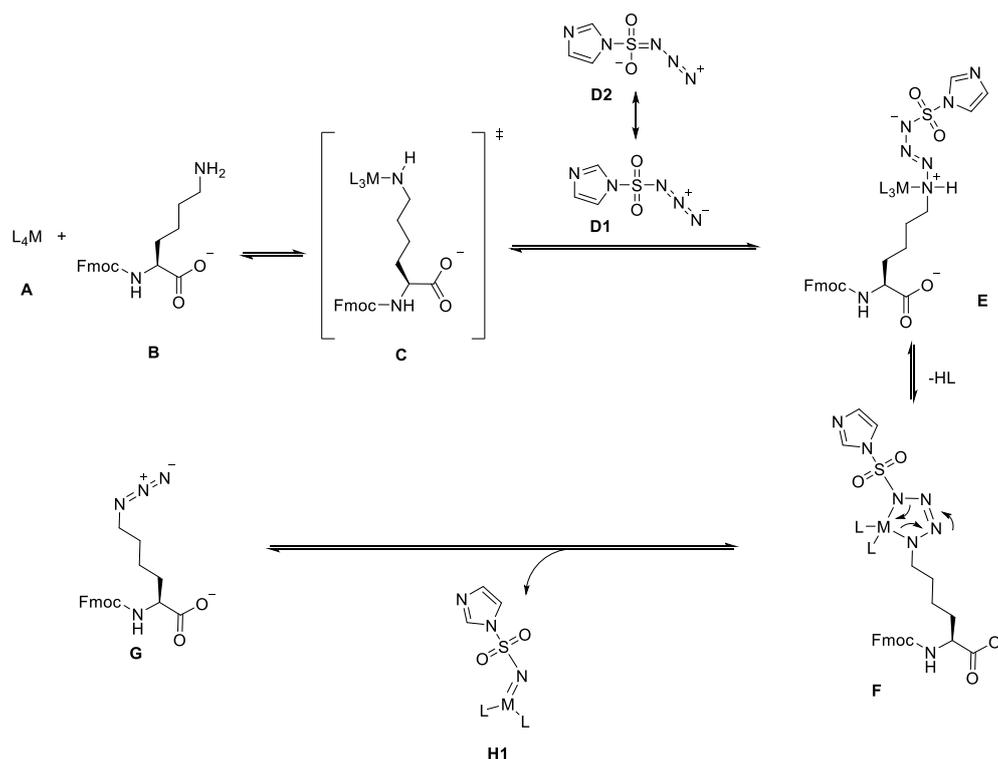
**Schema 3.30** Synthese des Diazotransferreagenzes **62**.

Zur Synthese des  $\epsilon$ -Azidonorleucins **59** wurde zunächst der kommerziell erhältliche  $\epsilon$ -Boc-Lysinbaustein **63** mit einer 1:1 Mischung aus Trifluoressigsäure und Dichlormethan an der Aminosäureseitenkette entschützt, bevor die Diazotransferreaktion in einer alkalischen Mischung aus Methanol/Wasser in Gegenwart von katalytischen Mengen Kupfer(II)sulfat durchgeführt wurde (Schema 3.31). Dabei wurde Azidobaustein **59** in dieser zweistufigen Reaktionssequenz in hervorragenden 93% Ausbeute erhalten.



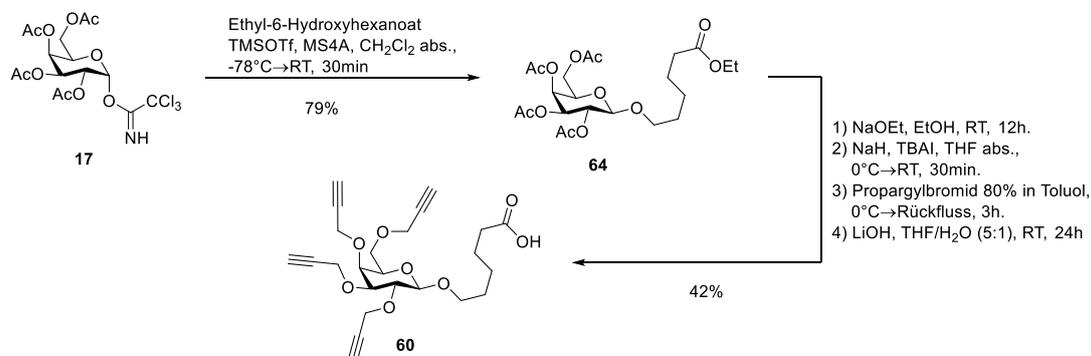
**Schema 3.31** Synthese des  $\epsilon$ -Azido-Norleucins **59**.

Der Mechanismus der Diazotransferreaktion ist gegenwärtig unbekannt, jedoch postulierten *Fischer und Anselme* ein dianionisches Tetrazenintermediat,<sup>231, 237</sup> welches die Grundlage für eine Entwicklung eines Mechanismuskonzepts durch *Wong und Mitarbeitern* darstellt.<sup>238</sup> Letztere verwendeten das Triflylazid-Reagenz, sowie Zinkchlorid ( $\text{ZnCl}_2$ ) als Katalysator, jedoch sollte der Mechanismus, auf das in dieser Arbeit verwendete, Kupfersulfat/1*H*-Imidazol-1-Sulfonylazid-System, formal übertragbar sein (Schema 3.32). So findet wahrscheinlich in einem ersten Schritt unter basischen Bedingungen eine Komplexierung des Metallkatalysators **A** durch Lysin **B** statt, wodurch Lysylintermediat **C** gebildet wird. Aufgrund der hohen Elektrophilie des 1-Sulfonylazids **D1** erfolgt nun der nucleophile Angriff des metallkomplexierten Lysins **C**, entsprechend der Ladungsverteilung der mesomeren Grenzstruktur **D2**, am terminalen Stickstoff. Dieser regioselektive Angriff wurde an anderer Stelle von *Samuelson und Mitarbeitern* durch  $^{15}\text{N}$ -Labellingexperimente aufgeklärt.<sup>239</sup> Es bildet sich das lineare Tetrazenintermediat **E** als primäres Additionsaddukt, welches unter Verlust eines protonierten Liganden die divalente metallstabilisierte zyklische Tetrazenspezies **F** bildet. Diese kann wiederum über eine [3+2]-Cycloreversion zerfallen und so das gewünschte Produkt  $\epsilon$ -Azidolysin **G** generieren.



**Schema 3.32** Möglicher Mechanismus für die Übergangsmetall-katalysierte Diazotransferreaktion nach *Wong und Mitarbeitern*.<sup>238</sup>

Die Synthese der Tetrapropargylgalactose **60** startet von dem bereits in Kapitel 3.2.1 beschriebenen Galactosyltrichloracetimidatdonor **17**, welcher mit dem Ethyl-6-Hydroxyhexanoat in einer *Schmidt-Glycosylierungsreaktion*  $\beta$ -glycosidisch verknüpft wurde,<sup>109</sup> wobei **64** in sehr guten 79% Ausbeute resultierte (Schema 3.33). Im Anschluss folgte zunächst das Verseifen von **64** unter modifizierten *Zemplén*-Bedingungen.<sup>110</sup> So wird das Substrat **64** in Ethanol vorgelegt und in Gegenwart einer frisch zubereiteten Natriummethanolatlösung umgesetzt, wodurch nur die Acetylschutzgruppen unter milden Bedingungen gespalten werden, während der Ethylester der Linkerfunktionalität strukturell unverändert bleibt. Im Anschluss erfolgte die Veretherung der zuvor freigesetzten Hydroxylgruppen der Galactose in Anlehnung an ein von *Simerska und Mitarbeitern* publiziertes Syntheseprotokoll.<sup>171</sup>

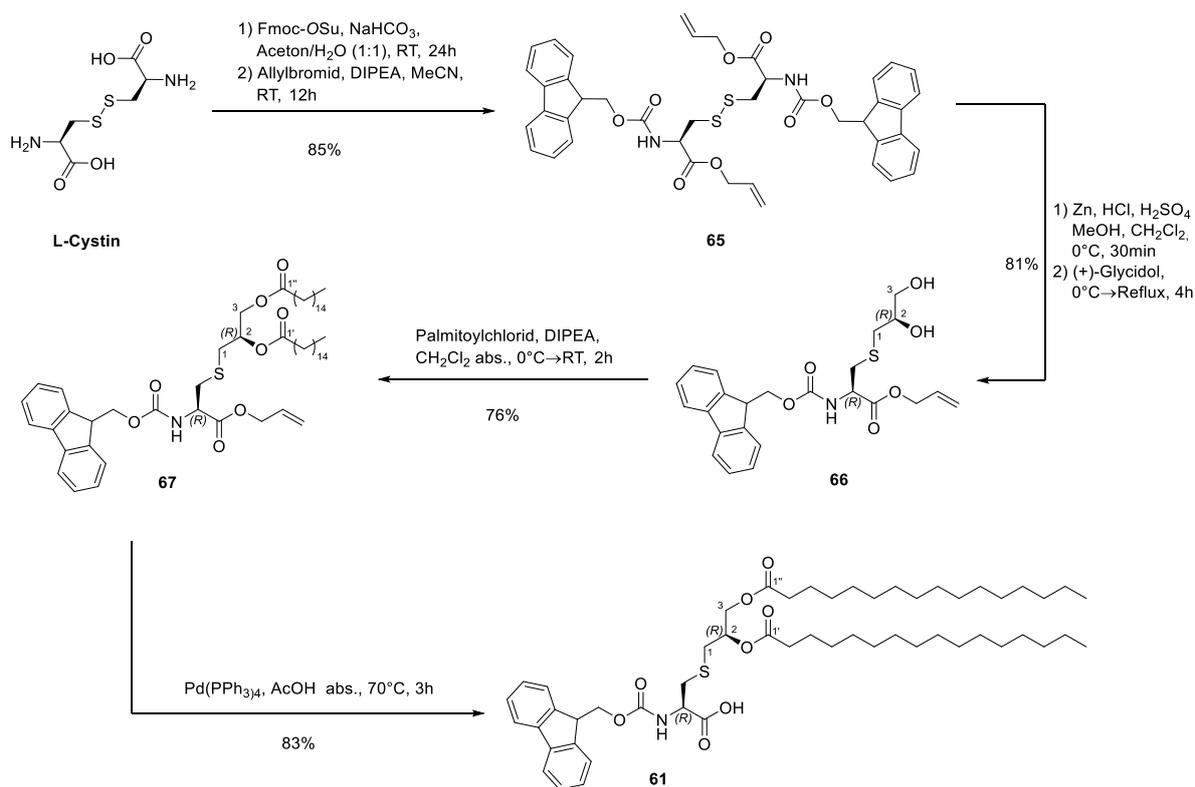


**Schema 3.33** Synthese des Tetrapropargylgalactose SPPS Bausteins **60** in Anlehnung an Arbeiten von *Simerska und Mitarbeitern*.<sup>171</sup>

Dabei wird das Substrat zuerst in absolutem Tetrahydrofuran in Gegenwart von Tetrabutylammoniumiodid, welches als Phasentransferkatalysator dient, aufgenommen und nach Deprotonierung mit Natriumhydrid in der

Kälte vorsichtig mit Propargylbromid versetzt. Die dreistufige Reaktionssequenz wird schließlich durch die Spaltung des verbliebenen Ethylesters mithilfe einer wässrigen Lösung von Dioxan/Lithiumhydroxid beendet. Zielbaustein **60** konnte so in einer Ausbeute von 42% über drei Stufen für die nachfolgende Festphasenpeptidsynthese erhalten werden.

Die Synthese des Fmoc-Pam<sub>2</sub>Cys-OH Festphasenaminosäurebausteins **61** startet ausgehend von kommerziell erhältlichen L-Cystin und lehnt sich an Vorarbeiten von *Hida et al.*<sup>240</sup>, *Boons und Mitarbeitern*<sup>41</sup> und *Payne und Mitarbeitern*<sup>241</sup> an (Schema 3.34). In einem ersten Schritt wurde L-Cystin in wässrigem Aceton zunächst *N*-terminal in ein Fmoc-Carbamat überführt, bevor anschließend der *C*-Terminus als Allylester geschützt und **65** in 85% Ausbeute über zwei Stufen erhalten wurde.



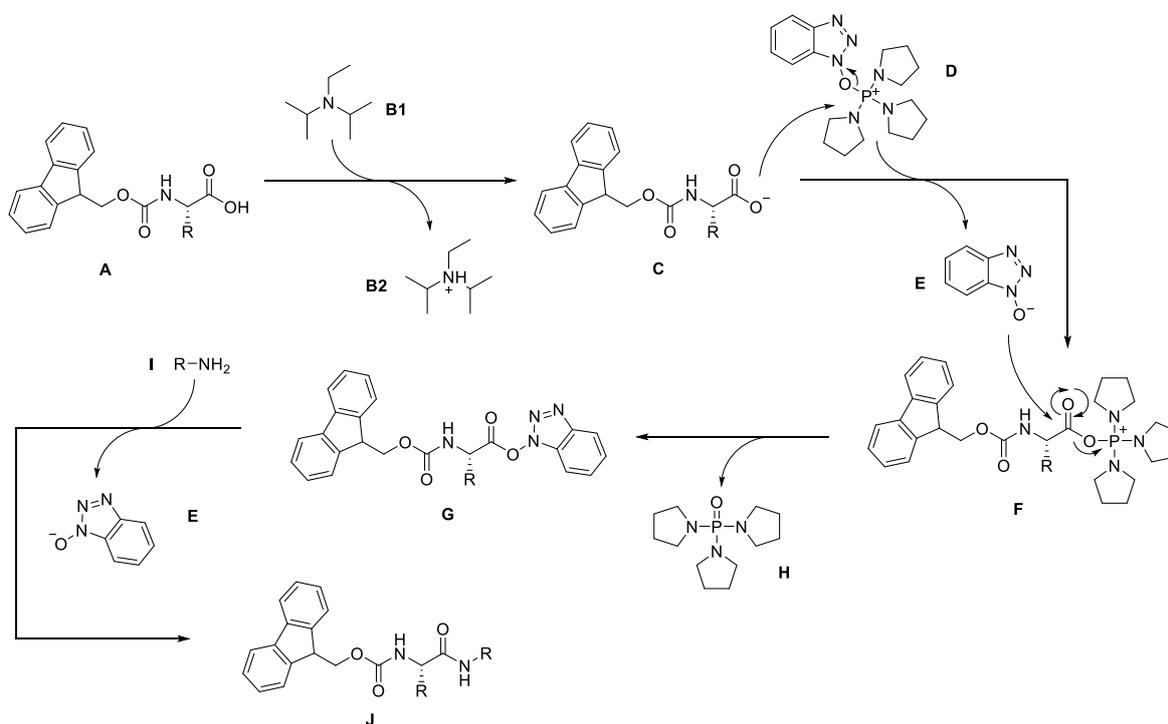
**Schema 3.34** Synthese des Fmoc-Pam<sub>2</sub>Cys-OH Festphasenbausteins **61** in Anlehnung an Arbeiten von *Hida et al.*<sup>240</sup>, *Boons und Mitarbeitern*<sup>41</sup> sowie *Payne und Mitarbeitern*<sup>241</sup>.

Anschließend wurde das vollgeschützte L-Cystinderivat **65** unter protisch-sauren Bedingungen mit elementarem Zinkstaub intermediär zum korrespondierenden L-Cysteinbaustein reduziert und direkt mit kommerziell erhältlichem (*R*)-(+)-Glycidol umgesetzt.<sup>41, 240</sup> Im Zuge dieser Reaktion kommt es ausschließlich zur regioselektiven Öffnung des prochiralen Epoxids durch nucleophilen Angriff der Sulfhydrylgruppe des L-Cysteins, wodurch ausschließlich das (*R,R*)-konfigurierte Produkt **66** erhalten wird. Im nachfolgenden Schritt wurden schließlich die freien Hydroxylgruppen verestert und in das Palmitoylesterderivat **67** in guten 76% Ausbeute überführt. Letztlich wurde der *C*-Terminus unter bewährten *Tsuji-Trost*-Bedingungen freigesetzt, und so der finale Baustein Fmoc-Pam<sub>2</sub>Cys-OH **61** in guten 83% Ausbeute erhalten.<sup>218</sup>

### 3.5.2 Festphasenpeptidsynthese des Trägermoleküls

Der Aufbau des universellen Impfstoffträgermoleküls **7** erfolgte manuell an der festen Phase. Hierzu wurde ein mit der Startaminosäure Cystein vorbeladenes 2Cl-Trityl-Harz verwendet, welches die Spaltung des vollgeschützten Peptidfragments unter milden sauren Bedingungen und unter Erhalt der Aminosäureseitenketten-Schutzgruppen ermöglicht. Neben den beiden artifiziellen Aminosäuren Fmoc-Abu und dem Fmoc- $\epsilon$ -azido-Norleucin **59** wurde zum Aufbau des Trägermoleküls der Baustein Pam<sub>2</sub>Cys **66** verwendet. Es handelt sich bei dem Zielmolekül **7** um eine modifizierte Variante des von *Filippov und Mitarbeitern* beschriebenen äußerst potenten artifiziellen UPam TLR2-Agonisten.<sup>42</sup> Dieses Konzept sollte durch die gezielte Substitution eines der Lysine durch ein  $\epsilon$ -Azido-Norleucin weiterentwickelt werden, welches als Ankerpunkt (Verzweigung) für die Anknüpfung des Glycoträgermoleküls **60** dient (*vide supra*). Weiterhin dient die eingeführte Aminosäure L-Cystein als potentieller Anknüpfungspunkt für variable T<sub>H</sub>-Sequenzen via Sulfhydryl-konjugationsstrategien.

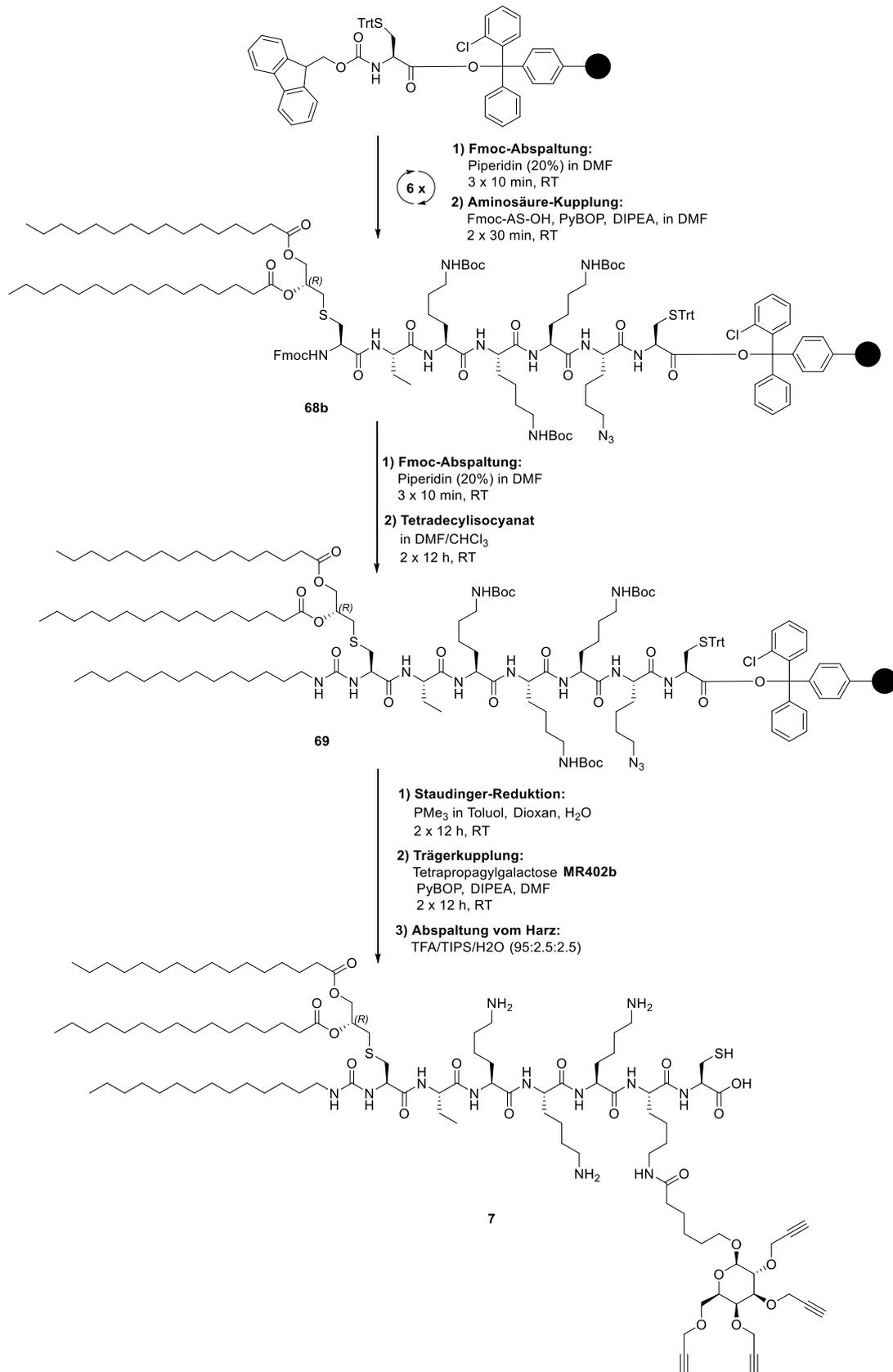
Die Synthese erfolgte manuell in einem *Merrifield*-Reaktor und wurde nach der Fmoc-Strategie durchgeführt. Der Kupplungsschritt wurde durch *in situ* Aktivierung von 1.5 Äquivalenten Überschuss des jeweiligen *N*- $\alpha$ -Fmoc Aminosäurebausteins in Gegenwart von 1.5 Äquivalenten PyBOP,<sup>242-243</sup> bezogen auf die Beladungsdichte des Harzes, vermittelt. Die Verwendung des äußerst reaktiven PyBOP-Reagenzes sollte eine effiziente Kupplung gewährleisten, da die Verwendung eines Chlortritylharzes mit dem Einsatz von Mikrowellenstrahlung nicht kompatibel ist.



**Schema 3.35** Mechanismus der PyBOP vermittelten Carboxylaktivierung.<sup>242</sup>

In einem ersten PyBOP-vermittelten Kupplungsschritt wird der Fmoc-Aminosäure Baustein **A** durch *N,N*-Diisopropylethylamin **B1** zu Carboxylat **C** deprotoniert (Schema 3.35).<sup>242</sup> Dieses Carboxylat **C** greift nun das PyBOP-Reagenz **D** nucleophil an und verdrängt *N*-Hydroxybenzotriazol (**E**) aus dem Molekül. Dabei bildet sich das hochreaktive Phosphoniumsalz **F** das mit **E** zu dem Aktivester **G** reagiert, welcher in einem nachgelagerten Schritt schließlich unter Angriff eines primärenamins **I** in das gewünschte Amid **J** überführt

wird. Die Triebkraft dieser Reaktion ist die Bildung einer sehr stabilen Sauerstoff-Phosphorbindung des freigesetzten Phosphorsäuretriamids **H**.

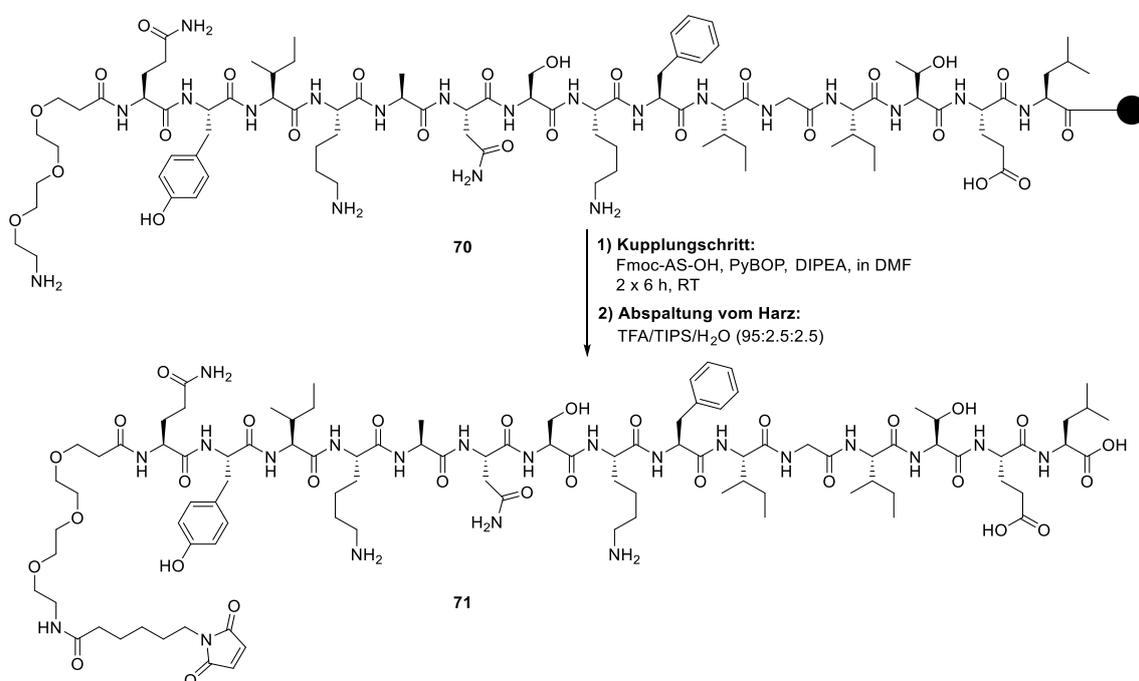


Schema 3.36 Festphasenglycopeptidsynthese des UPam-Trägerfragments **7**.

Jeder Kupplungsschritt wurde sorgfältig doppelt ausgeführt, so dass im Allgemeinen auf einen Cappingsschritt mit dem Essigsäureanhydrid/Diisopropylamin-System verzichtet werden konnte. Nach beendeter Rückgratsynthese wurde der *N*-Terminus des am Harz gebundenen **68b** freigelegt und durch Behandlung mit einem zehnfachen Überschuss von kommerziell erhältlichem Tetradecylisocyanat in das *N*-terminal korrespondierende Harnstoffanalogon **69** überführt (Schema 3.36).

Anschließend wurde die  $\epsilon$ -Azido-Seitenkette an der festen Phase mittels Trimethylphosphin nach *Staudinger* in das entsprechende Lysylderivat reduziert und mit der zuvor bereitgestellten Tetrapropargylgalactose **60** über das PyBOP/DIPEA-Aktivatorsystem gekuppelt. Nach erfolgter vollständiger Synthese an der festen Phase wurde das Harz schließlich drei Stunden mit einer Mischung aus Trifluoressigsäure, Triisopropylsilan und Wasser (95:2.5:2.5) unter leichtem Schwenken behandelt. Das Rohpeptid **7** wurde durch Entfernen des Lösungsmittels mit anschließender Fällung aus kaltem Diethylether und Lyophilisation aus Reinstwasser erhalten und ohne weitere Reinigung verwendet. Da Sulfhydrylgruppen in der Regel oxidationsempfindlich sind und leicht Radikale bilden können, die entweder zur Dimerisierung oder in diesem konkreten Fall zu einer intramolekularen Thiol-Alkin-Reaktion tendieren könnten, wurde das Rohpeptid **7** sowohl unter Argon sowie unter Lichtausschluss bei  $-32\text{ }^{\circ}\text{C}$  gelagert. Eine intramolekulare Reaktion zwischen den vorhandenen Alkinresten und dem Sulfhydrylrest der Aminosäure Cystein konnte erfreulicherweise unter diesen Bedingungen nicht beobachtet werden. Somit steht eine essentielle Komponente zum Aufbau des geplanten universellen Impfstoffträgermoleküls für die Konjugation mit einem passenden  $T_H$ -Epitop bereit.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde als passendes  $T_H$ -Epitop das bereits an anderer Stelle evaluierte P2 Tetanus Toxoidepitop ( $H_2N$ -PEG-*QYIKANSKFIGITEL*) verwendet (Schema 3.37), welches *N*-terminal mit einem Polyethylenglykospacer ausgestattet ist.



**Schema 3.37** Synthese des *N*-Maleimido-P2 Epitops **71**.

Dieses P2-Epitop **70** wurde dankenswerterweise von *Dr. Markus Daum* zur Verfügung gestellt und mittels vollautomatisierter Festphasensynthese unter Einsatz von Mikrowellenstrahlung und dem DIC/Oxyma-Aktivatorsystem synthetisiert. Zur Verwendung dieses Epitops **70** wurde dessen *N*-Terminus um einen

*N*-Maleoyl-6-Aminocapronsäurerest zu Maleimido-P2 **71**, unter Verwendung von PyBOP/DIPEA als Kupplungsreagenzien, verlängert.

Durch die Bereitstellung der beiden Peptidfragmenten **7** und **71** sind nun alle für den Aufbau des universellen vollsynthetischen Impfstoffmoleküls benötigten Komponenten vorhanden und es wurden erste Konjugationsstudien durchgeführt, welche in Tabelle 1 aufgeführt sind. Die ersten beiden Ansätze wurden bei einer konstanten Konzentration von 2 mg/mL und bei einem pH-Wert = 7.4 durchgeführt. Anschließend wurde ein Überschuss des Sulfhydryl-Bausteins **7** eingesetzt, während Ansatz vier im alkalischen Milieu durchgeführt wurde.

**Tabelle 1** Konjugationsstudien zur Synthese des universellen Impfstoffmoleküls.

	<b>7</b>	<b>71</b>	<b>Lösungsmittel</b>	<i>c</i>	<b>T</b>	<i>t</i>	<b>Umsatz</b>
<b>1</b>	2 mg	2 mg	PBS-Puffer /DMSO (5:1)	2 mg/mL	RT	24 h	/
<b>2</b>	2 mg	2 mg	PBS-Puffer /DMSO (5:1)	2 mg/mL	30 °C	3 h	/
<b>3</b>	4 mg	2 mg	PBS-Puffer/DMSO (5:1)	3 mg/mL	RT	24 h	/
<b>4</b>	2 mg	2 mg	H <sub>2</sub> O/DMSO (5:1) + 1% NEt <sub>3</sub>	2 mg/mL	RT	24 h	/

Die oben erläuterten Reaktionsbedingungen führten jedoch in keinem der vier Ansätze zu dem gewünschten Konjugationsprodukt, da *via* HPLC-Analyse ausschließlich die beiden Eduktfragmente **7** und **71** zu identifizieren waren. Es war im Rahmen dieser vorliegenden Arbeit aus Zeitgründen jedoch nicht mehr möglich geeignete Reaktionsbedingungen für diese Konjugation zu identifizieren, wofür neben der Wahl eines alternativen Lösungsmittelsystems (*DMF*, *EtOH*, *NMP*), dem Einsatz von Ultraschall auch eine mikrowellen-gestützte Synthese denkbar wären.

## 4 ZUSAMMENFASSUNG

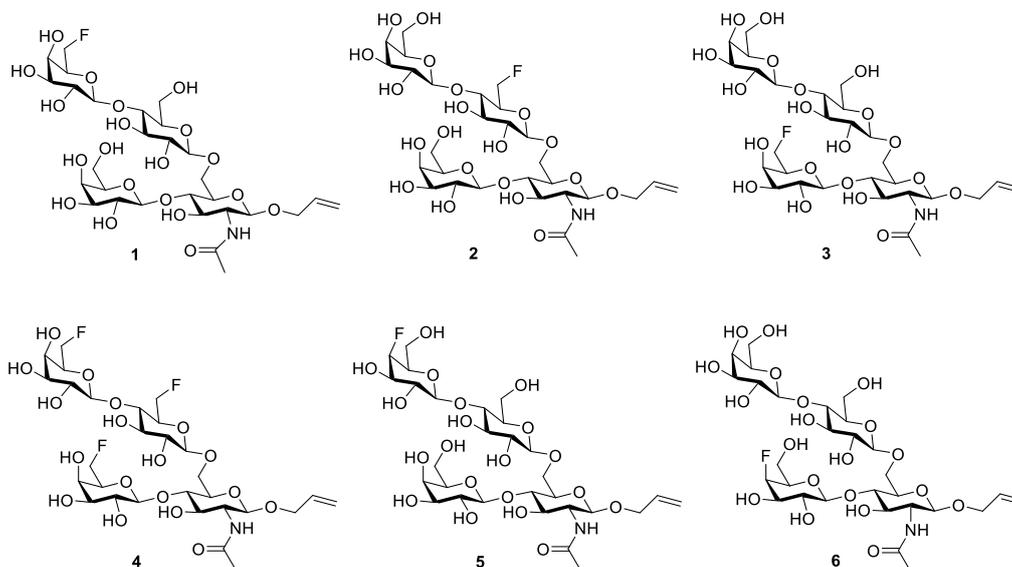
Die Entwicklung prophylaktischer Impfstoffe auf Basis pathogen-assoziiertes Kohlenhydratantigene stellt einen vielversprechenden Ansatz zur Bekämpfung bakterieller Infektionen dar. Die Identifikation von spezifischen Zelloberflächenstrukturen stellt dabei den zentralen Angriffspunkt solcher Immuntherapien dar, wobei deren Erfolg an der Induktion einer IgG-Antikörper-vermittelten humoralen Immunantwort und der Ausbildung eines immunologischen Gedächtnisses bemisst. Das Rückgrat einer solchen adaptiven Immunantwort stellen dabei Gedächtnis-B-Zellen dar, welche bei einer wiederholten Konfrontation mit demselben Antigen schnell, effizient und massiv eine adäquate Immunantwort generieren können. Die Rekrutierung dieser spezifisch-komplementären B-Zellen verläuft strikt unter Beteiligung von T<sub>H</sub>-Zellen, welche die dafür benötigten essentiellen Cytokin- und Chemokin-Stimuli vermitteln.

Trotz der großen Vielfalt von Strategien zur rationalen Entwicklung eines modernen vollsynthetischen Impfstoffs lassen sich gemeinsame Grundcharakteristika und Voraussetzungen für die Induktion einer erfolgreichen Immunantwort identifizieren und zusammenfassen: Es werden drei immunologische Untereinheiten (*B-Zellepitop*, *T<sub>H</sub>-Epitop*, *TLR-Agonist*), die kovalent in einem einzigen Makromolekül miteinander verknüpft vorliegen, benötigt. Weiterhin spielt die molekulare Geometrie dieses Gesamtkonstrukts (*linear* vs. *verzweigt*), wie auch die multivalente Präsentation („*cluster glycoside effect*“) der kohlenhydratbasierten B-Zellepitope eine entscheidende Rolle. Darüber hinaus sollte die neue Generation von Vakzinkandidaten unter Verwendung moderner Konjugationsmethoden modular und flexibel aufgebaut werden, da sie so universell gegen eine Vielzahl pathogener Organismen eingesetzt werden könnte, ohne den grundlegenden Aufbau des Vakzins ändern zu müssen. Hier nimmt vor allem die bioorthogonale CuAAC-Click Chemie eine Sonderrolle ein, da auf diese Weise das spezifitätgebende B-Zellepitop in einem letzten Schritt der Impfstoffsynthese eingeführt wird, was den Fokus und die Breite des Anwendungsspektrums massiv erweitern würde. So könnte mit einem einzigen mehrfach Alkin-funktionalisierten universellen Impfstoffträgermolekül, welches das T<sub>H</sub>-Epitop und den TLR-Agonisten umfassen würde, die Möglichkeit bestehen beliebige Antigene anzubinden, um so ein breites Spektrum pathogener Organismen bekämpfen zu können.

Trotz der Erkenntnis, dass bereits kleinste Oligosaccharidfragmente einer hochrepetitiven Kapselpolysaccharidstruktur in der Lage sind protektive Antikörper gegen den jeweiligen Krankheitserreger zu generieren, ist dennoch deren inhärente unzureichende Immunogenität und die eingeschränkte metabolische Stabilität durch *in vivo* Degradationsprozesse als limitierende Faktoren für eine immunologische Anwendung anzumerken. Um diese unerwünschten Eigenschaften zu kompensieren, rücken zunehmend Kohlenhydratmimetika in den Fokus der Betrachtung. Eine vielversprechende Strategie stellt hier, wie von *Hoffmann-Röder* gezeigt, die strategische Einführung von Fluorsubstituenten in gegebene kohlenhydratbasierte Antigenstrukturen dar.

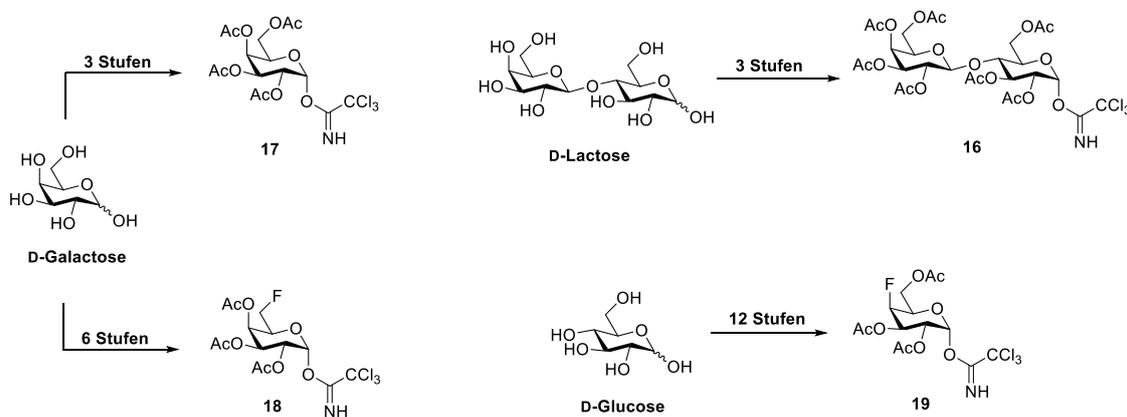
Ziel dieser Arbeit war es daher einen synthetischen Zugang zu strategisch fluorierten Analoga der kritischen Antigenendeterminante des Bakteriums *Streptococcus pneumoniae* Typ 14 zu schaffen (Abbildung 4.1). Das im Rahmen dieser Arbeit verwendete Konzept sah den konvergenten und modularen Aufbau des Tetrasaccharidgerüsts unter Verwendung von fluorierten Galactosyldonorbausteinen und geeignet funktionalisierten Monosaccharidakzeptoren vor. Besondere Bedeutung kam hier der Wahl eines geeigneten orthogonalen Schutzgruppenmusters zu, welches die Kompatibilität aller chemoselektiven Transformationen im Laufe dieser Syntheseroute sicherstellen sollte. Weiterhin sollten zunächst die linearen  $\beta(1\rightarrow4)$ -verknüpften Disaccharid-

fragmente des nördlichen und südlichen Fragments hergestellt werden, welche nach weiterer Funktionalisierung, die verzweigten Antigenmimetika in einem (2+2)-Glycosylierungsschritt zugänglich machen sollten.



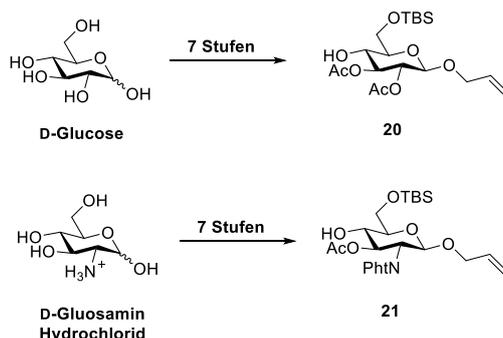
**Abbildung 4.1** Übersicht der erfolgreich synthetisierten fluorierten SPn14-Antigenmimetika.

Einer konvergenten und modularen Synthesestrategie folgend wurden zunächst die fluorierten Galactosyldonor-Bausteine **18** und **19** sowie die nicht-fluorierten Donoren **17** und **16** hergestellt (Schema 4.1). Dabei wurde 6-Fluorgalactosyltrichloracetimidat **18** ausgehend von D-Galactose unter Verwendung des nucleophilen Fluorierungsreagenzes DAST in sechs Stufen aufgebaut, während 4-Fluorgalactosyltrichloracetimidat **19** ausgehend von D-Glucose mittels TBAF-vermittelter nucleophiler Fluorierung in 12 Stufen zugänglich war.



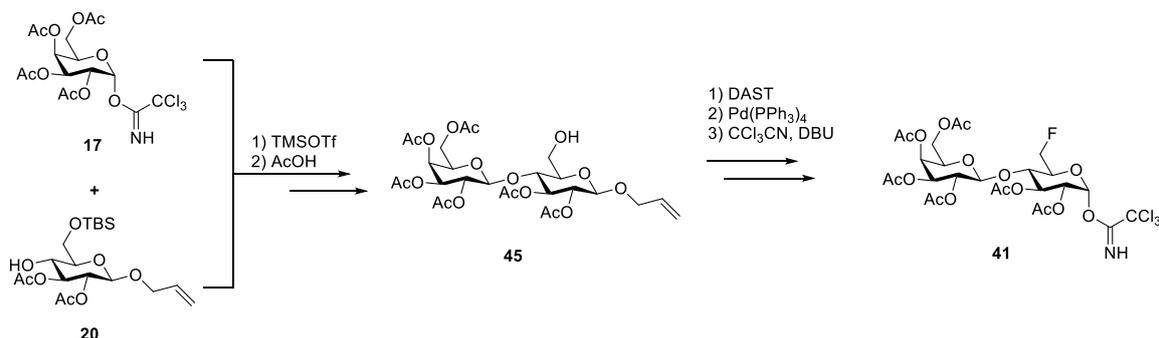
**Schema 4.1** Synthesen der Sacchariddonorbausteine.

Weiterhin wurden die beiden zentralen Monosaccharidakzeptor-Bausteine **20** und **21** jeweils in sieben Syntheseschritten, ausgehend von D-Glucose beziehungsweise D-Glucosamin-Hydrochlorid, erhalten (Schema 4.2). Beide Bausteine sind als Allylglycosid anomer blockiert und weisen darüber hinaus eine an der 6-Position lokalisierte *tert*-Butyldimethylsilyl-Schutzgruppe auf, welche im weiteren Verlauf der Synthese unter milden Bedingungen chemoselektiv gespalten werden kann, jedoch zunächst unter dem in dieser Arbeit verwendeten TMSOTf-vermittelten Glycosylierungsprotokoll nach *Schmidt*<sup>109</sup> intakt bleiben. Die Aminofunktion des Bausteins **21** wurde durch die *N*-Phthaloyl-Schutzgruppe blockiert, welche sich durch ihre Stabilität und einen ausgeprägten  $\beta$ -dirigierenden Nachbargruppeneffekt auszeichnet.



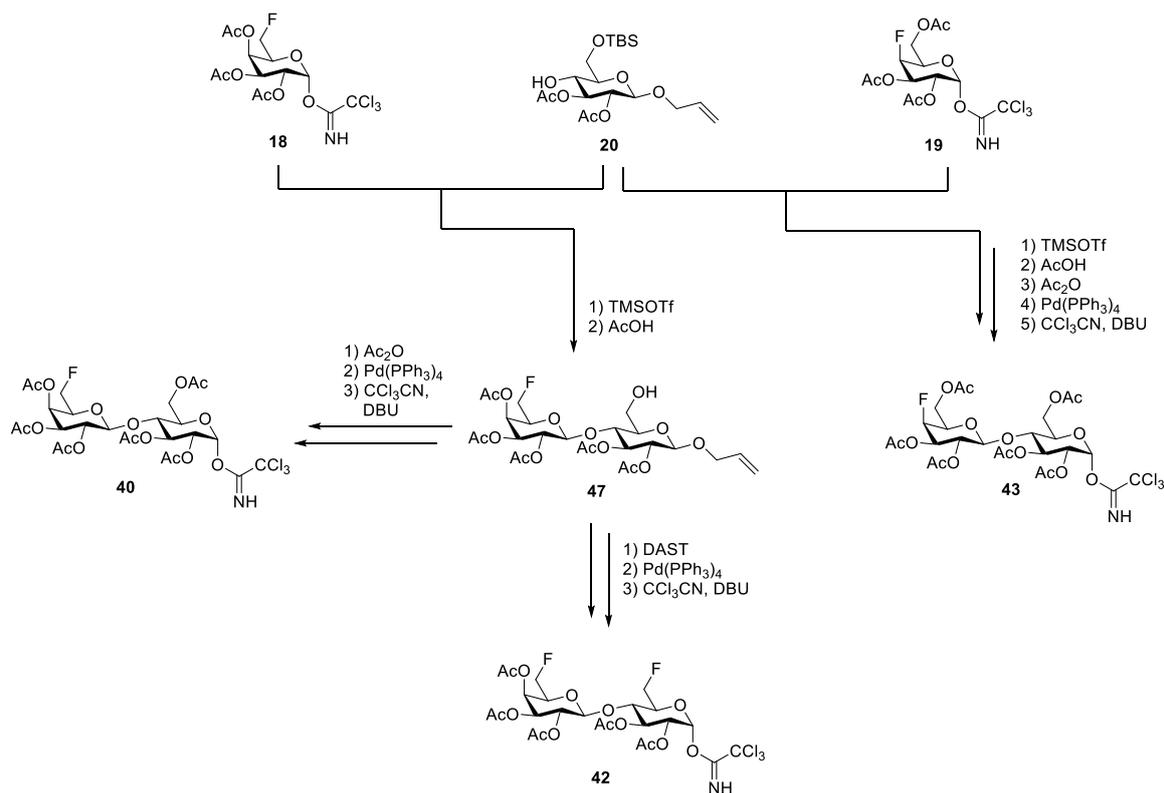
**Schema 4.2** Synthesen der Monosaccharidakzeptor-Bausteine.

In den nachfolgenden Glycosylierungsreaktionen wurden schließlich die beiden linearen  $\beta(1\rightarrow4)$ -verknüpften Disaccharidfragmente unter Verwendung der Galactosyldonor-Bausteine **17**, **18** und **19** und dem Glucosylakzeptorbaustein **20** aufgebaut. Obwohl in der Literatur hinsichtlich DAST-vermittelter Desoxyfluorierungsreaktionen von unerwünschten Gerüstumlagerungen bei Hexopyranosen berichtet wird, war es möglich einen Fluorsubstituenten erfolgreich in den Lactosylbaustein **45** einzuführen (Schema 4.3). Dies ist auf die blockierte intramolekulare Migrationstrajektorie zurückzuführen, wobei die am nicht-reduzierenden Ende lokalisierte Galactoseeinheit als intrinsisch wirksamer konformeller Anker dient. Weitere Funktionalisierungen lieferten schließlich das 6-Fluorlactosyltrichloracetimidat **41**.



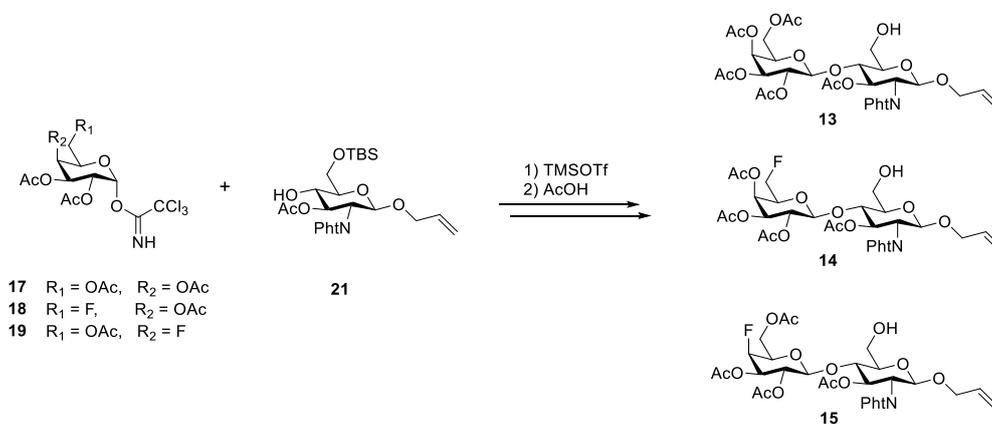
**Schema 4.3** Synthese des 6-Fluorlactosyltrichloracetimidats.

Weiterhin lieferte die Glycosylierung von 6-Fluorgalactosyldonor **18** mit Akzeptor **20** das korrespondierende  $\beta(1\rightarrow4)$ -verknüpfte Intermediat **47**, welches mithilfe bewährter DAST-Fluorierungsprotokolle in das 6,6'-Difluorlactosyltrichloracetimidat **42**, beziehungsweise 6'-Fluorlactosyltrichloracetimidat **40** erfolgreich überführt werden konnte (Schema 4.4). Desweiteren konnte der  $\alpha$ -konfigurierte 4'-Fluorlactosyldonor **43** unter Verwendung der Monosaccharidbausteine **19** und **20** mit anschließender Schutzgruppenmanipulation erfolgreich synthetisiert wurde.



**Schema 4.4** Synthese der fluorierten  $\alpha$ -Lactosyltrichloracetimide.

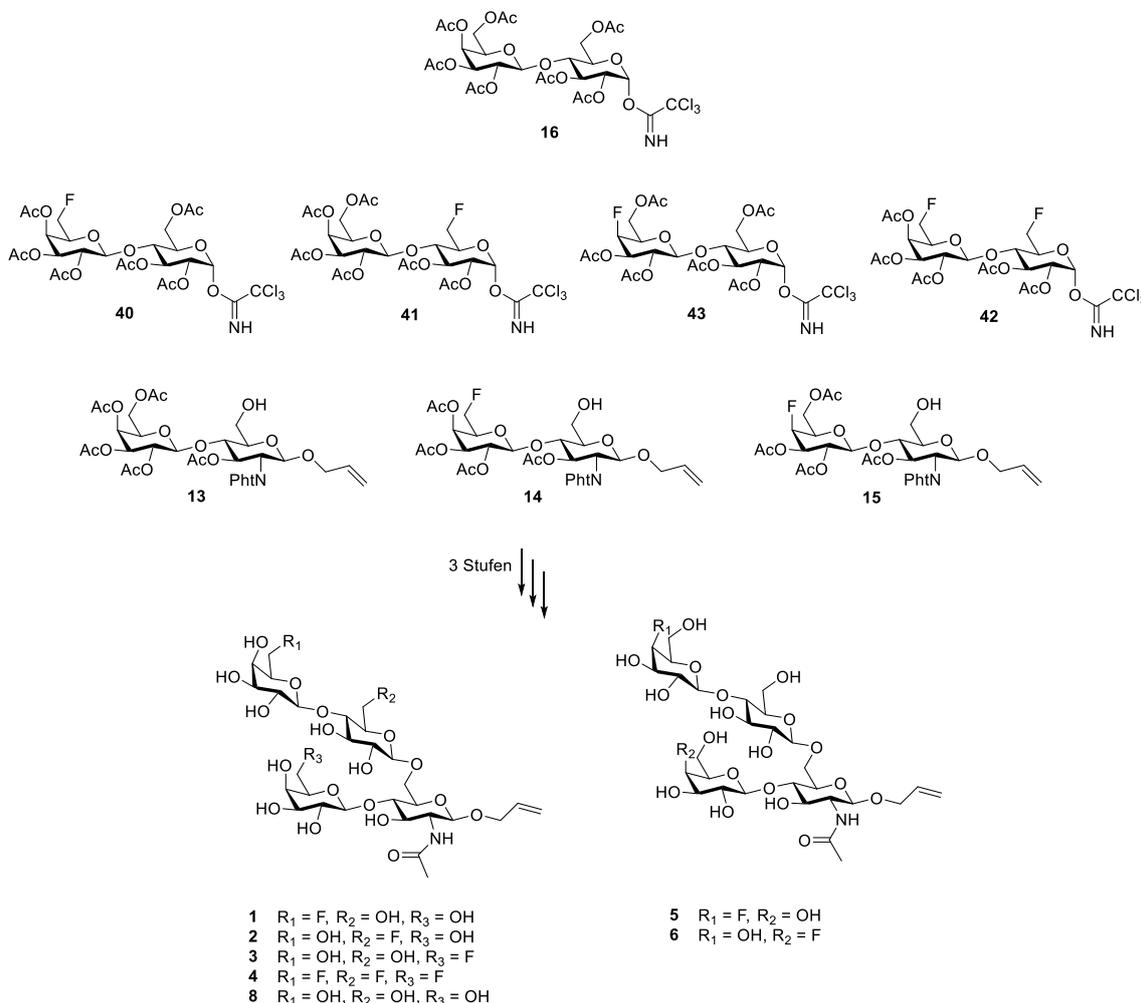
Unter Anwendung des oben erarbeiteten Syntheseprotokolls konnten auch die verbleibenden Disaccharidakzeptormoleküle **13**, **14** und **15** des südlichen Fragments der SPn14-spezifischen Antigen determinante erfolgreich bereitgestellt werden (Schema 4.5).



**Schema 4.5** Synthese der südlichen Disaccharidakzeptor-Fragmente.

Nachdem alle geplanten Zieldisaccharidbausteine in ausreichender Menge zur Verfügung standen, wurden die jeweiligen Lactosyltrichloracetimide mit ihren korrespondierenden Lactosaminosylakzeptoren umgesetzt, um eine erste Bibliothek strategisch fluorierter SPn14-spezifischer Antigenmimetika herzustellen. Unter Verwendung des bewährten TMSOTf-vermittelten Glycosylierungsprotokolls nach *Schmidt* und anschließender Schutzgruppenmanipulation war es möglich die sechs partiell-fluorierten Antigen determinanten **1**, **2**, **3**, **4**, **5** und **6**, sowie die nicht-modifizierte Referenzverbindung **52a** zu isolieren und zu charakterisieren (Schema 4.6). Bemerkenswerterweise lagen die erreichten Glycosylierungsausbeuten bei Verwendung des nicht-fluorierten nativen Lactosyltrichloracetimidats **16**, trotz des sterischen Anspruchs dieses Donors, in einem sehr guten

Bereich zwischen 76-81%. Aufgrund dieser Ergebnisse lässt sich für die beiden hier verwendeten fluorierten Lactosaminosylakzeptoren **14** und **15** nur ein schwach ausgeprägter deaktivierender Effekt des Fluor-Substituenten auf die relative Reaktivität identifizieren. Anders verhalten sich jedoch die partiell-fluorierten Lactosyltrichloracetimidate **40**, **41** und **43**, deren jeweilige Ausbeuten bei der Reaktion mit Akzeptor **13** im Schnitt ca. 10-15% niedriger lagen. Es können sterische Gründe ausgeschlossen werden, weswegen die geringeren Ausbeuten letztlich nur auf die strategische Fluorsubstitution und der damit einhergehenden Desaktivierung durch den starken Elektronenzug zu erklären sind. Überraschenderweise liegen die Ausbeuten bei der Umsetzung von **40**, **41** und **43** jeweils mit **13** in einem sehr engen Bereich von 69-74%, was ebenfalls auf eine geringe Abhängigkeit der relativen Position des jeweiligen Fluorsubstituenten innerhalb des Donors ableiten lässt. Der Difluorlactosyldonor **42** wies in der Reaktion mit 6'-Fluorlactosaminosylakzeptor **14** erwartungsgemäß die niedrigste aller hier gezeigten Ausbeuten von 65% auf, was auf der doppelten Fluorsubstitution beruht.



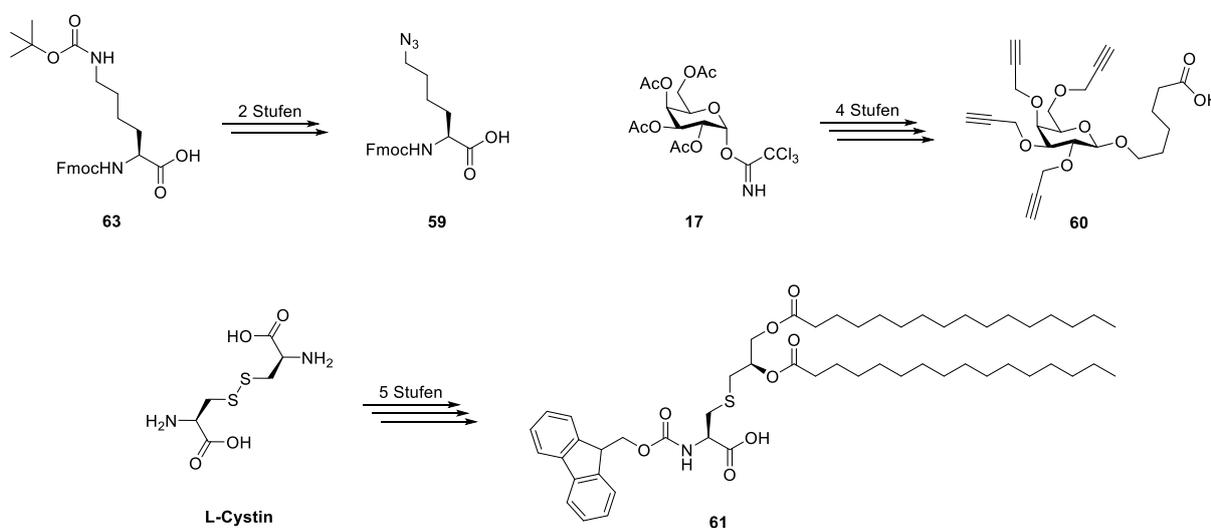
**Schema 4.6** Synthese der partiell fluorierten SPn14-spezifischen Antigen determinanten.

Hinsichtlich der *N*-Phthaloyl-Entschützung ist die Inkompatibilität des Allylglycosids mit dem gängigen Hydrazin-vermittelten Standardprotokoll bemerkenswert. So kann Hydrazin unerwünschterweise *in situ* zu Diimin oxidiert werden, welches selbst als instabiler Wasserstoffdonor wirkt und so in der Lage ist die Alkendidoppelbindung in einem konzertierten Schritt zu hydrieren. Als Alternative zur Hydrazinolyse wurde auf die Verwendung von primären Aminbasen ausgewichen, wodurch es möglich war das *N*-Phthalimid effektiv zu

entfernen und in einem nachgelagerten Schritt sowohl das *N*-Acetamid einzuführen sowie die Acetatschutzgruppen chemoselektiv unter *Zemplén*-Bedingungen global zu spalten. Die erfolgreich bereitgestellten Antigenanaloge **1**, **2**, **3**, **4**, **5**, **6** und **8** stehen nun für weiterführende Studien, wie der kovalenten Konjugation an zukünftige vollsynthetische Vakzinkandidaten zur Verfügung.

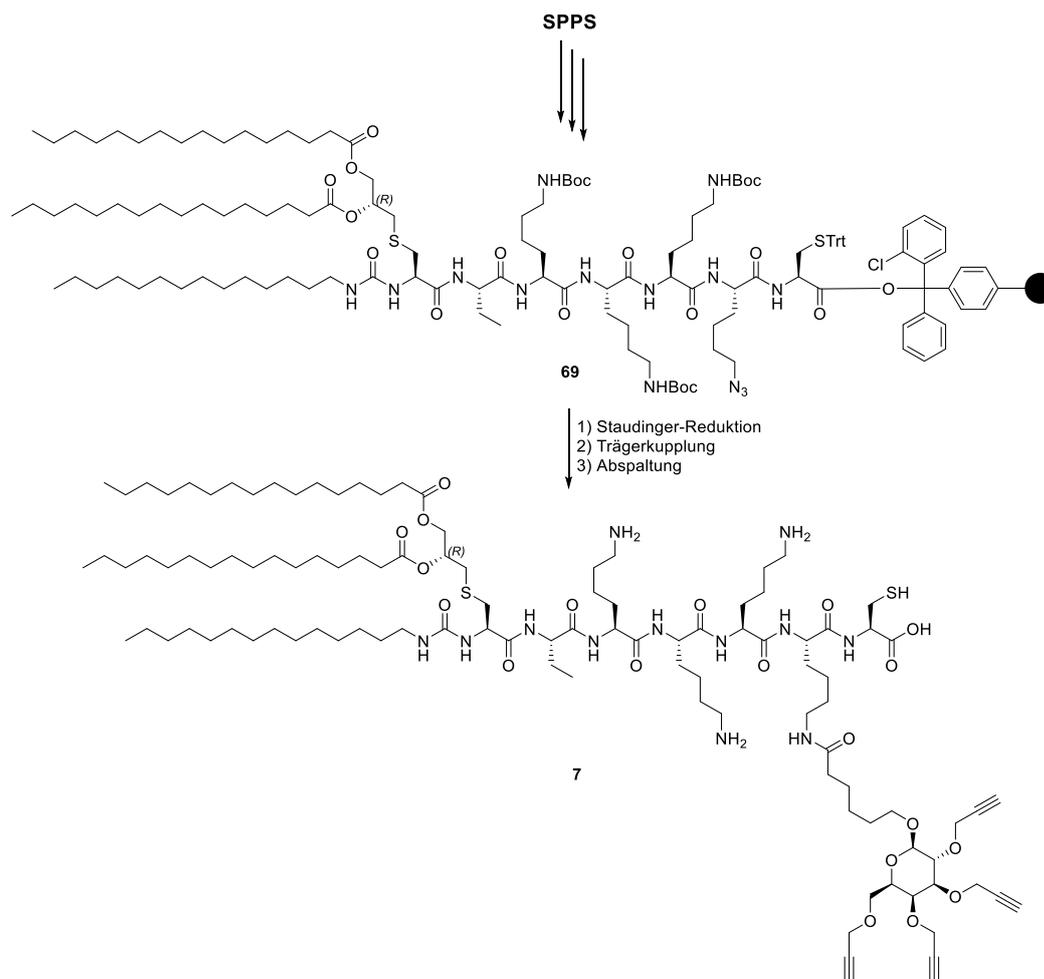
In einem zweiten Projekt der hier vorliegenden Arbeit wurden darüber hinaus synthetische Studien zu einem modular konzipierten universellen Impfstoffträgermolekül durchgeführt. Dabei sollte auf Vorarbeiten von *Filippov und Mitarbeitern* zurückgegriffen werden, welche kürzlich von einem hochpotenten UPam-TLR2 Agonisten berichteten. Auf molekularer Ebene sollten Strategien und Methoden entwickelt werden, welche es ermöglichen diese zentrale UPam-Domäne, als Teil eines vollsynthetischen modular-aufgebauten und verzweigten Konstrukts, in ein Impfstoffmolekül (*T<sub>H</sub>*-*Epitop*, *TLR*-*Agonist*) einzugliedern. Dafür wurde die Aminosäuresequenz *C*-terminal um ein L-Cystein verlängert und ein davon benachbartes L-Lysin durch die artifizielle Aminosäure L- $\epsilon$ -Azidonorleucin substituiert.

Zuerst wurden die für die Peptidfestphasensynthese benötigten artifiziellen Bausteine ausgehend von kommerziell erhältlichen Vorläufern hergestellt. Ausgehend vom  $\epsilon$ -Boc-Lysinbaustein **63** konnte durch Spaltung der Aminosäureseitenkettenschutzgruppe unter sauren Bedingungen mit anschließender Diazotransferreaktion das  $\epsilon$ -Azido-Norleucin **59** synthetisiert werden. Weiterhin wurde in Anlehnung an Arbeiten von *Hida et. al*, *Boons et al.* und *Payne und Mitarbeitern*, ausgehend von Galactosyltrichloracetimidat **17**, der Tetrapropargylfestphasenbaustein **60** in vier Stufen, sowie das Palmitoylamino-säurederivat **61** in fünf Syntheseschritten, erhalten.



**Schema 4.7** Synthesen der Peptidfestphasenbausteine.

Der Aufbau des universellen Impfstoffträgermoleküls konnte nun unter Verwendung der artifiziellen Aminosäurebausteine **59** und **61** sowie der Tetrapropargylgalactose **60** manuell an der festen Phase erfolgen, wobei die Azidreduktion der harzgebundenen Peptidsequenz **69** unter *Staudinger*-Bedingungen mittels Trimethylphosphin den Schlüsselschritt darstellte. Anschließend konnte auf molekularer Ebene durch Einführung des Tetrapropargylgalactose-Bausteins **60** und nachgelagerter Spaltung vom Harz das verzweigte universelle Trägermolekül **7** erhalten werden.



**Schema 4.8**      Synthese des universellen Impfstoffträgermoleküls **7**.

Erste Studien zur kovalenten Anknüpfung eines Maleimid-funktionalisierten P2-T<sub>H</sub>-Epitop blieben leider erfolglos, weshalb in weiterführenden Arbeiten nun geeignete Reaktionsbedingungen evaluiert werden müssen, die es ermöglichen eine T<sub>H</sub>-Epitopdomäne mittels orthogonaler Maleimidkonjugation an das Molekül **7** zu binden.

# **EXPERIMENTELLER TEIL**

## 5 EXPERIMENTELLER TEIL

### 5.1 Allgemeines und Messgeräte

**Reaktionsführung:** Alle hydrolyseempfindlichen Reaktionen wurden unter striktem Wasserausschluss durchgeführt und entweder mit aufgesetztem Calciumdichlorid-Trockenrohr oder sofern angegeben unter einer Argonatmosphäre mit Septentechnik durchgeführt. Alle Reaktanden wurden stets vor Gebrauch mindestens eine Stunde im Hochvakuum getrocknet und anschließend mit Argon beschickt. Für alle Glycosylierungsreaktionen wurde mit Hilfe eines Quarzstrahlers gepulverter Molekularsieb der Porengröße 4 Å mindestens zwei Stunden im Hochvakuum stets vor Gebrauch frisch aktiviert und unter Argonatmosphäre gelagert. Für das Kühlen von Reaktionslösungen wurden zum einen reguläre Eisbäder, sowie Trockeneis/Aceton-Kältebäder verwendet. Das Einengen der Lösungsmittel im Vakuum wurde an einem Rotationsverdampfer der Firma *Heidolph Instruments GmbH & Co.KG*, Schwabach (Deutschland) im Membranpumpenvakuum durchgeführt.

**Chemikalien:** Sofern nicht anders vermerkt, wurden alle Lösungsmittel in der Qualität *pro analysis* (p.a.) bezogen und vor Gebrauch destilliert, beziehungsweise nach literaturbekannten Methoden getrocknet. Dabei handelte es sich um Acetonitril und Dichlormethan, welche vor Gebrauch über Calciumhydrid unter einer Argonatmosphäre jeweils frisch destilliert wurden. Lösungsmittel wie etwa 100%ige Essigsäure (*Eisessig*) wurden über wasserfreiem Kupfersulfat zuerst zwei Stunden unter Argonatmosphäre refluxiert, bevor mittels Destillationsbrücke der absolute *Eisessig* unter Normaldruck in das entsprechende Reaktionsgefäß überführt wurde. Lösungsmittel, wie Tetrahydrofuran, Diethylether und Toluol wurden in Gegenwart von Benzophenon über elementarem Natrium getrocknet und jeweils frisch destilliert. Spezielle Lösungsmittel, wie absolutes *N,N*-Dimethylformamid wurden von der Firma *Acros Organics*, Geel (Belgien) bezogen und über Molekularsieb gelagert. Alle Reagenzien wurden in der höchsten zur Verfügung stehenden Qualität von *Sigma Aldrich*, *Acros Organics*, *Rapp-Polymere*, sowie *Fluka* kommerziell erworben. Deuteriertes Chloroform ( $\text{CDCl}_3$ ) zur Messung der NMR Proben wurde vor Gebrauch durch basisches Aluminiumoxid ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) filtriert.

**Dünnschichtchromatogramme:** Alle Dünnschichtchromatogramme wurden auf Aluminium-Kieselgel-60 F<sub>254</sub>-Platten der Firma *Merck KGaA*, Darmstadt (Deutschland) angefertigt. Die Substanzen wurden durch Betrachtung unter einer UV-Lampe bei 254 nm und bei 366 nm oder durch den Einsatz folgender Färbereagenzien unter Wärmeeinwirkung mittels eines Heißluftföns sichtbar gemacht:

- „Zucker-Reagenz“ (790 mg 4-Methoxyphenol, 27.7 ml konzentrierte Schwefelsäure in 972.3 mL Ethanol).
- „Seebach-Reagenz“ (2.50 g Molybdätophosphorsäure, 1.00 g Cer(IV)-sulfat Tetrahydrat in einer Mischung aus 6.00 mL konzentrierter Schwefelsäure und 94.0 mL Wasser).
- „Ninhydrin-Reagenz“ (1.5 g Ninhydrin in einer Mischung aus 15 mL *Eisessig* und 500 mL Methanol).

**Säulenchromatographie:** Alle chromatographischen Trennungen wurden nach der Flashmethode, mit einem  $\text{N}_2$ -Überdruck von 0.3 bis maximal 1.0 bar, in Gegenwart eines Überdruckventils durchgeführt. Es wurde Kieselgel 60 (Korngröße 35-70 µm) der Firma *Acros Organics* verwendet. Darüberhinaus wurde in einigen

Fällen eine Größenausschlusschromatographie nach der Flashmethode durchgeführt. Als stationäre Phase wurde hierbei Sephadex<sup>TM</sup> LH-20 der Firma *GE Healthcare Bio-Sciences AB* verwendet, welches vor Gebrauch mindestens zwei Stunden bei Raumtemperatur im jeweils angegebenen Lösungsmittel quellen musste und die Chromatographie strikt isokratisch durchzuführen war. Das jeweilige verwendete Lösungsmittelgemisch ist in Volumenanteilen angegeben.

**Spezifische Drehwerte:** Die spezifischen Drehwerte der jeweiligen Verbindungen wurden mit einem Polarimeter *P800-P8100-T* der Firma *Krüss Optronic GmbH*, Hamburg bestimmt und auf die Natrium-D-Linie bei 589.5 nm extrapoliert. Das jeweils verwendete Lösungsmittel, sowie Temperatur und die entsprechende Konzentration in g/mL sind unter den betreffenden Verbindungen vermerkt.

**Reversed-Phase HPLC:** Das verwendete analytische RP-HPLC System wurde mit Flussraten von 1 mL/min betrieben und bestand aus der HPLC-Pumpe *PU-2080 Plus*, der Gradienteneinheit *LG-2080-02*, dem Diodenarraydetektor *MD-2010 Plus* und dem 3 Wege-Entgaser *DG-2080-53* der Firma *Jasco*. Die vorhandenen RP-Säulen *Jupiter* (5  $\mu$ m, C18, 300A, 250  $\times$  4.6 mm) und *Luna* (5  $\mu$ m, C18, 100A, 250  $\times$  4.6 mm) wurden von der Firma *Phenomenex* bezogen. Die jeweils verwendeten Lösungsmittelgradienten sind bei den jeweiligen Synthesvorschriften protokolliert. Das semipräparative RP-HPLC System umfasste zwei Gradientenpumpen *PU-2087 Plus* und einen variablen Wellenlängendetektor *UV 2075 Plus* der Firma *Jasco*. Es wurde zum einen eine *Jupiter*-Säule (10  $\mu$ m, C18, 300A, 250  $\times$  30.0 mm), sowie eine *Luna*-Säule (10  $\mu$ m, C18, 100A, 250  $\times$  30.0 mm) der Firma *Phenomenex* mit einer Flussrate von 20 mL/min betrieben. Die Eluenten beider RP-HPLC Systeme umfassten Acetonitril („HPLC-grade“) und Reinstwasser, welches von einer *Arium<sup>®</sup> ProUV* Reinstwasseranlage der Firma *Sartorius Stedim Biotech S. A.*, Göttingen (Deutschland), bereitgestellt wurde.

**Massenspektren (MS):** Alle Massenspektren wurden mit einem *Thermo Finnigan LTQ-FT* Spektrometer mit ESI-Quelle der Firma *Conquer Scientific* gemessen. Die wichtigsten Signale werden in *m/z*-Einheiten angegeben. Es ist zu beachten, dass zur Vereinfachung der Interpretation der Massenspektren in der Regel der erste Isotopenpeak herangezogen wurde. Dennoch sind abseits der reinen Isotopenkerne <sup>1</sup>H, <sup>12</sup>C, <sup>14</sup>N, <sup>16</sup>O, <sup>19</sup>F, <sup>23</sup>Na, <sup>28</sup>Si, <sup>32</sup>S, <sup>35</sup>Cl, <sup>39</sup>K und <sup>79</sup>Br die zu erwartenden Isotopenmuster der jeweiligen Verbindungen zu beobachten.

**Kernresonanzspektren (NMR):** Die Kernresonanzspektren wurden an den Spektrometern *AMX 600*, *WH 400*, *AC 300* und *ARX 200* der Firma *Varian Deutschland GmbH*, Darmstadt (Deutschland), sowie an den Spektrometern *Avance III HD 400* und *Avance III HD 800*, der Firma *Bruker*, Billerica, (MA, USA), bei Raumtemperatur aufgenommen. Die Messfrequenz, in Megahertz (MHz) angegeben, und das jeweils verwendete Lösungsmittel sind in Klammern vermerkt. Die angegebenen chemischen Verschiebungswerte  $\delta$  der <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-Spektren beziehen sich auf den internen Standard Tetramethylsilan (TMS = 0) und sind in der Einheit *parts per million (ppm)* angegeben. Die Angabe der jeweiligen Kopplungskonstanten *J* erfolgt in Hertz (Hz) und wird entsprechend der Notation *J<sub>n,m</sub>* aufgeführt, wobei *n* und *m* die Kopplungspartner repräsentieren. Die Signalmultiplizitäten wurden mit den Symbolen *s* (Singulett), *brs* (breites Singulett), *d* (Dublett), *t* (Triplet), *q* (Quartett), *p* (Pentett) und *m* (Multipllett), sowie gegebenenfalls deren Kombinationen, wie beispielsweise *dd* (Dublett eines Dubletts) oder *td* (Triplet eines Dubletts), entsprechend gekennzeichnet. Die Kalibrierung der <sup>1</sup>H-Spektren erfolgte über die <sup>1</sup>H-Signale der Lösungsmittel [ $\delta$  (CDCl<sub>3</sub>) = 7.26,  $\delta$  (CD<sub>3</sub>OD) = 3.31]. Analog wurden

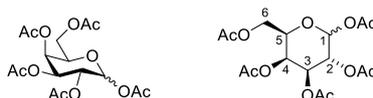
die  $^{13}\text{C}$ -Spektren entsprechend der literaturbekannten Werte kalibriert [ $\delta (\text{CDCl}_3) = 77.16$ ,  $\delta (\text{CD}_3\text{OD}) = 49.00$ ]. Im Falle von Signalüberlagerungen innerhalb eines Multipletts wurde durch Zuhilfenahme von vorliegenden 2D-NMR Experimenten die jeweilige Verschiebung für den zugehörigen Kern in geschweiften Klammern „“ angegeben. Sofern möglich wurde die Multiplizität sowie die Kopplungskonstante in solchen Fällen aufgeführt. Bei der Zuordnung der  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -Signale der jeweiligen monomeren Saccharideinheiten wurde entsprechend der jeweiligen graphischen Kennzeichnung, beginnend beim anomeren Zentrum, definiert als H1/C1-Position, begonnen und im Uhrzeigersinn aufsteigend die jeweiligen Kerne nummeriert. Für größere Saccharidstrukturen wurde eine schematische Kennzeichnung eingeführt. Die jeweilige Struktur ist graphisch abgebildet und die Nomenklatur  $\{1 \rightarrow 1' \rightarrow 1'' \rightarrow 1'''\}$  kennzeichnet den jeweiligen Pyranosering, an welchem der entsprechende Kern innerhalb des Moleküls lokalisiert ist.

## 5.2 Analytische Daten

## 5.3 Synthesen der Monosaccharidbausteine

### 5.3.1 Synthese der natürlichen Glycosyldonorbausteine

#### 5.3.1.1 Penta-*O*-acetyl- $\alpha/\beta$ -D-galactopyranose (22)



##### Variante A:

Es wurden 50.0 g (555 mmol) Natriumacetat in 500 ml Essigsäureanhydrid aufgenommen, unter Rückfluss erhitzt und anschließend portionsweise mit 100 g (555 mmol) D-Galactose in der Siedehitze versetzt. Es wurde 30 min gerührt, bevor nach beendeter Reaktion die Reaktionslösung auf 1 L Eiswasser gegossen und 2 h bei Raumtemperatur gerührt wurde. Das Produkt wurde nach Filtration als farbloser Niederschlag erhalten, mit ausreichend Wasser gewaschen ( $5 \times 100$  mL) und schließlich 24 h an Luft getrocknet. Das Rohprodukt konnte ohne weitere Reinigung in der nächsten Stufe eingesetzt werden.

**Ausbeute:** 167 g (77%, 428 mmol), farbloser amorpher Feststoff. Es wurde ausschließlich das  $\beta$ -Anomer erhalten.

##### Variante B:

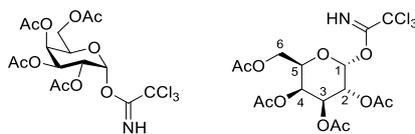
Zu einer Suspension aus 20.0 g (111 mmol) D-Galactose in 100 ml Pyridin wurden unter Eiskühlung 50 mL Essigsäureanhydrid mittels Tropftrichter über einen Zeitraum von 30 min zugegeben und anschließend 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständigem Umsatz wurde die klare Reaktionslösung unter vermindertem Druck bis zur Trockne eingeeengt und anschließend in 100 mL Ethylacetat aufgenommen. Die organische Phase wurde sukzessive mit 1 M Salzsäure ( $2 \times 100$  mL), einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung ( $1 \times 200$  mL) und Wasser ( $2 \times 100$  mL) gewaschen. Schließlich wurde mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt konnte ohne weitere Reinigung in der nächsten Stufe eingesetzt werden.

**Ausbeute:** 37.3 g (95.5 mmol, 86%), farbloses Öl, welches sich unter Stehen zu einem amorphen Feststoff verfestigte. Es wurde ein Anomerengemisch erhalten.

$R_f = 0.35$  ( $^c$ Hex/EtOAc, 1:1).

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 408.1509  $[M+NH_4]^+$ , ber.: 408.1500.

### 5.3.1.1 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-galactopyranosyl Trichloracetimidat (17)



Es wurden 4.00 g (10.2 mmol, 1 Äquiv.) Penta-*O*-acetyl- $\alpha$ / $\beta$ -D-galactopyranose (**22**) in 10 mL Tetrahydrofuran zu einer Suspension aus 0.82 mL (14.2 mmol, 1.4 Äquiv.) Eisessig und 0.81 mL (12.2 mmol, 1.2 Äquiv.) Ethylendiamin in 25 mL Tetrahydrofuran getropft und bei Raumtemperatur 24 h gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde mit 20 mL Wasser verdünnt und gegen Dichlormethan ( $3 \times 15$  mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit 1 M Salzsäure ( $1 \times 30$  mL), gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung ( $1 \times 30$  mL) und Wasser ( $1 \times 30$  mL) gewaschen. Anschließend wurde mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde flashchromatographisch an Kieselgel ( $^{\circ}$ Hex/EtOAc, 1:1) gereinigt.

**Ausbeute:** 3.22 g (9.24 mmol, 91%), farbloser amorpher Feststoff. Das Produkt wurde als Anomerengemisch erhalten.

$R_f = 0.29$  ( $^{\circ}$ Hex/EtOAc = 1:1).

Zu einer auf 0 °C gekühlten Lösung von 3.22 g (9.24 mmol, 1 Äquiv.) des zuvor erhaltenen 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ / $\beta$ -D-galactopyranosids in 50 mL absolutem Dichlormethan wurden 152  $\mu$ L (1.02 mmol, 0.1 Äquiv.) 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) und anschließend 1.85 mL (18.5 mmol, 2 Äquiv.) Trichloracetnitril getropft und 24 h unter einer Argonatmosphäre gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt flashchromatographisch an Kieselgel ( $^{\circ}$ Hex/EtOAc = 3:1) gereinigt.

**Ausbeute:** 2.90 g (6.40 mmol, 70%); charakteristisch leicht gelblicher Feststoff. Das Produkt wurde als reines  $\alpha$ -Anomer erhalten.

$R_f = 0.44$  ( $^{\circ}$ Hex/EtOAc = 1:1).

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 514.004 [ $M+Na$ ]<sup>+</sup>, ber.: 514.004.

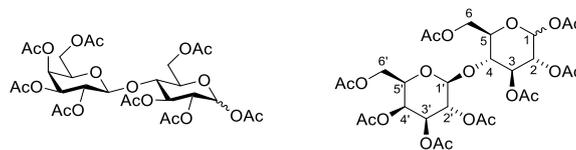
$[\alpha]_D^{20} = +99.8$  ( $c = 1$ , CHCl<sub>3</sub>).

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, HSQC, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  [ppm] = 8.66 (s, 1H, NH), 6.58 (d,  $J_{H1,H2} = 3.4$  Hz, 1H, H-1), 5.54 (d,  $J_{H4,H3} = 3.0$  Hz, 1H, H-4), 5.41 (dd,  $J_{H3,H2} = 10.9$  Hz,  $J_{H3,H4} = 3.0$  Hz, 1H, H-3), 5.34 (dd,  $J_{H2,H3} = 10.8$  Hz,  $J_{H2,H1} = 3.5$  Hz, 1H, H-2), 4.42 (t,  $J_{H5,H6a} = J_{H5,H6b} = 6.6$  Hz, 1H, H-5), 4.15 (dd,  $J_{H6a,H6b} = 11.3$  Hz,  $J_{H6a,H5} = 6.6$  Hz, 1H, H-6<sub>a</sub>), 4.06 (dd,  $J_{H6b,H6a} = 11.3$  Hz,  $J_{H6b,H5} = 6.7$  Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>), 2.15, 2.01, 2.00, 2.00 ( $4 \times$  s, 12H, -OAc).

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  [ppm] = 170.4, 170.2, 170.2, 170.1 ( $4 \times$  C=O-OAc), 161.0 (C=NH(CCl<sub>3</sub>)), 93.6 (C-1), 90.9 (-CCl<sub>3</sub>), 69.1 (C-5), 67.6 (C-3), 67.5 (C-4), 67.0 (C-2), 61.4 (C-6), 20.8, 20.7 ( $4 \times$  CH<sub>3</sub>-OAc).

Weitere analytische Daten siehe Literatur.<sup>244</sup>

### 5.3.1.2 1,2,3,6-Tetra-*O*-acetyl-4-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\alpha/\beta$ -D-glucopyranosid (23)



Es wurden 5.00 g (13.9 mmol, 1 Äquiv.) kommerziell erhältlich D-Lactose Monohydrat unter Eiskühlung in 70 mL Toluol vorgelegt, bevor 30 mL einer 2:1 Mischung aus absolutem Pyridin und Essigsäureanhydrid zu dieser Suspension mittels Tropftrichter zugegeben wurden. Nach beendeter Reaktion wurde die organische Phase sukzessive mit 1 M Salzsäure ( $2 \times 70$  mL), einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung ( $1 \times 100$  mL) und Wasser ( $1 \times 70$  mL) gewaschen und anschließend mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet. Schließlich wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, das Rohprodukt an Luft getrocknet und ohne weitere Reinigung im nächsten Schritt eingesetzt.

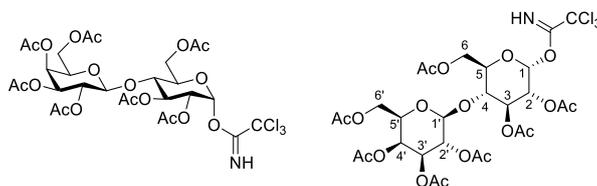
**Ausbeute:** 8.08 g (11.9 mmol, 86%); farbloser amorpher Feststoff. Das Produkt wurde als Anomerengemisch erhalten.

$R_f = 0.19$  ( $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc} = 1:1$ ).

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 696.2353  $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ , ber.: 696.2346.

Weitere analytische Daten siehe Literatur.<sup>245</sup>

### 5.3.1.3 2,3,6-Tri-*O*-acetyl-4-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosyl Trichloracetimidat (16)



Es wurden 4.14 g (6.10 mmol, 1 Äquiv.) 1,2,3,6 Tetra-*O*-acetyl-4-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\alpha/\beta$ -D-glucopyranoside (**23**) bei Raumtemperatur in 50 mL Tetrahydrofuran aufgenommen und mit 418  $\mu\text{L}$  (7.31 mmol, 1.2 Äquiv.) Eisessig und 488  $\mu\text{L}$  (7.32 mmol, 1.2 Äquiv.) Ethylendiamin versetzt. Die resultierende Suspension wurde 12 h bei Raumtemperatur gerührt und nach vollständigem Umsatz unter vermindertem Druck konzentriert. Der Rückstand wurde in 100 mL Ethylacetat aufgenommen und sukzessive mit 1 M Salzsäure ( $2 \times 70$  mL), einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung ( $1 \times 100$  mL) und Wasser ( $1 \times 70$  mL) gewaschen, bevor mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet wurde. Das Rohprodukt wurde flashchromatographisch an Kieselgel ( $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc} = 2:1$ ) gereinigt.

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 654.2241  $[M+NH_4]^+$ , ber.: 654.2240).

Anschließend wurde das zuvor bereitgestellte D-Lactosylhemiacetal unter einer Argonatmosphäre in 50 mL absolutem Dichlormethan aufgenommen und auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurden erst 91.0  $\mu$ L (0.61 mmol, 0.1 Äquiv.) 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU), dann 1.22 mL (12.2 mmol, 2.0 Äquiv.) Trichloracetonitril zugetropft und 12 h gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand flashchromatographisch an Kieselgel ( $^{\circ}$ Hex/EtOAc = 3:1) gereinigt.

**Ausbeute:** 3.48 g (4.45 mmol, 73% über zwei Stufen), charakteristisch leicht gelblicher Feststoff. Das Produkt wurde als reines  $\alpha$ -Anomer erhalten.

$R_f$  = 0.34 ( $^{\circ}$ Hex/EtOAc = 1:1).

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 797.1356  $[M+NH_4]^+$ , ber.: 797.1336.

$[\alpha]_D^{25} = +48.6$  ( $c = 1$ ,  $CHCl_3$ ).

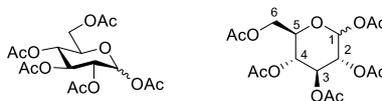
**$^1H$ -NMR** (400 MHz, HSQC, HMBC, COSY,  $CDCl_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 8.65 (s, 1H, NH), 6.48 (d,  $J_{H1,H2} = 3.8$  Hz, 1H, H-1), 5.55 (t,  $J_{H3,H2} = J_{H3,H4} = 9.7$  Hz, 1H, H-3), 5.35 (d,  $J_{H4',H3'} = 3.4$  Hz, 1H, H-4'), 5.12 (dd,  $J_{H2',H3'} = 10.4$  Hz,  $J_{H2',H1'} = 7.9$  Hz, 1H, H-2'), 5.06 (dd,  $J_{H2,H3} = 10.1$  Hz,  $J_{H2,H1} = 3.8$  Hz, 1H, H-2), 4.95 (dd,  $J_{H3',H2'} = 10.4$  Hz,  $J_{H3',H4'} = 3.4$  Hz, 1H, H-3'), 4.51 (d,  $J_{H1',H2'} = 7.9$  Hz, 1H, H-1'), 4.50 – 4.46 (m, 1H, H-6<sub>a</sub>), 4.19 – 4.05 (m, 4H, H-5, H-6<sub>b</sub>, H-6<sub>a/b</sub>'), 3.92 – 3.82 (m, 2H, H-4, H-5'), 2.15, 2.11, 2.06, 2.04, 2.01, 1.96 (7  $\times$  s, 21H, -OAc).

**$^{13}C$ -NMR** (100 MHz,  $CDCl_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 170.5, 170.4, 170.3, 170.2, 169.5, 169.2 (7  $\times$  C=O-OAc), 161.1 (C=NH( $CCl_3$ )), 101.4 (C-1'), 93.0 (C-1), 90.8 (- $CCl_3$ ), 76.1 (C-4), 71.3 (C-3'), 71.1 (C-5), 70.9 (C-5'), 70.1 (C-2), 69.7 (C-3), 69.3 (C-2'), 66.7 (C-4'), 61.7 (C-6), 60.9 (C-6'), 21.0, 20.8, 20.7, 20.6 (7  $\times$   $CH_3$ -OAc).

Weitere analytische Daten siehe Literatur.<sup>246</sup>

### 5.3.2 Synthese des 4-Fluorgalactosyldonorbausteins

#### 5.3.2.1 1,2,3,4,6-Penta-*O*-acetyl- $\alpha/\beta$ -D-glucopyranose (27)



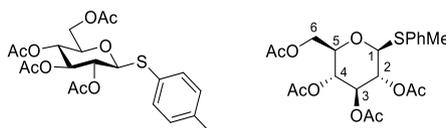
Es wurden 15.0 g (83.2 mmol) kommerziell erhältliche D-Glucose in 80 mL Pyridin suspendiert und unter Eiskühlung 40 mL Essigsäureanhydrid mittels Tropftrichter zugegeben. Es wurde 24 h bei Raumtemperatur gerührt, bevor das Lösungsmittel unter verminderten Druck entfernt wurde, der Rückstand in 100 mL Ethylacetat aufgenommen wurde und die organische Phase sukzessive mit 1 M Salzsäure ( $2 \times 100$  mL), einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung ( $1 \times 80$  mL) und Wasser ( $2 \times 100$  mL) gewaschen wurde. Anschließend wurde mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt konnte ohne weitere Reinigung in der nächsten Stufe eingesetzt werden.

**Ausbeute:** 30.5 g (94%, 78.2 mmol), farbloser Feststoff. Das Produkt wurde als Anomerengemisch erhalten.

$R_f = 0.42$  ( $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc} = 2:1$ ).

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 408.1511  $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ , ber.: 408.1500.

#### 5.3.2.2 *p*-Methylphenyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- $\beta$ -D-glucopyranosid (28)



Unter einer Argonatmosphäre wurden zu einer auf  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  gekühlten Lösung aus 30.0 g (76.8 mmol, 1 Äquiv.) Penta-*O*-acetyl- $\alpha/\beta$ -D-glucopyranose (27) in 300 mL absolutem Dichlormethan 10.5 g (84.5 mmol, 1.1 Äquiv.) *p*-Thiokresol und 14.0 mL (100 mmol, 1.3 Äquiv.) Bortrifluorid-Diethyletherat getropft. Anschließend wurde die Reaktionslösung langsam auf Raumtemperatur erwärmt und 24 h gerührt. Im Falle eines noch nicht vollständigem Umsatzes wurde anschließend noch für eine Stunde auf  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$  erwärmt, bevor nach beendeter Reaktion mit Wasser ( $4 \times 200$  mL), einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung ( $2 \times 100$  mL) und einer gesättigten Natriumchloridlösung ( $1 \times 200$  mL) gewaschen wurde. Schließlich wurde die organische Phase mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt durch Kristallisation ( $^{\circ}\text{Hex}:\text{EtOAc} = 5:1$ ) gereinigt.

**Ausbeute:** 28.3 g (62.2 mmol, 81%), farbloser amorpher Feststoff.

$R_f = 0.32$  ( $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}, 2:1$ ).

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 415.1029  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , ber.: 415.1033).

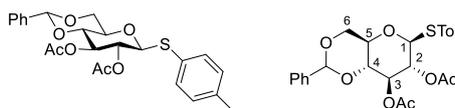
$[\alpha]_D^{25} = -11.0$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz, HSQC,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 7.38 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H,  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 7.12 (d,  $J = 7.8$  Hz, 2H,  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 5.20 (t,  $J_{\text{H3,H2}} = J_{\text{H3,H4}} = 9.4$  Hz, 1H, H-3), 5.02 (dd,  $J_{\text{H4,H5}} = 10.0$  Hz,  $J_{\text{H4,H3}} = 9.6$  Hz, 1H, H-4), 4.93 (dd,  $J_{\text{H2,H1}} = 10.1$  Hz,  $J_{\text{H2,H3}} = 9.3$  Hz, 1H, H-2), 4.63 (d,  $J_{\text{H1,H2}} = 10.1$  Hz, 1H, H-1), 4.25 – 4.13 (m, 2H, H-6<sub>a,b</sub>), 3.69 (ddd,  $J_{\text{H5,H4}} = 10.1$  Hz,  $J_{\text{H5,H6a}} = 4.8$  Hz,  $J_{\text{H5,H6b}} = 2.7$  Hz, 1H, H-5), 2.34 (s, 3H, -SPhMe), 2.08, 2.08, 2.01, 1.98 (4  $\times$  s, 12H, -OAc).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 170.7, 170.3, 169.5, 169.4 (4  $\times$  C=O-OAc), 138.9, 133.9 (2  $\times$   $\text{C}_q\text{Ar}$ ), 130.0, 129.9, 129.8, 127.6 (4  $\times$   $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 85.9 (C-1), 75.8 (C-5), 74.1 (C-3), 70.0 (C-2), 68.3 (C-4), 62.2 (C-6), 21.3 (-SPhMe), 20.9, 20.8, 20.7, 20.6 ( $\text{CH}_3$ -OAc).

Weitere analytische Daten siehe Literatur.<sup>183, 247</sup>

### 5.3.2.3 *p*-Methylphenyl-2,3-di-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzyliden-1-thio- $\beta$ -D-glucopyranosid (29)



Zu einer Lösung von 22.0 g (48.4 mmol, 1 Äquiv.) 4-Methylphenyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- $\beta$ -D-glucopyranosid (**28**) in 300 mL Methanol wurden 800 mg (14.8 mmol, 0.3 Äquiv.) Natriummethanolat gegeben und die Reaktionslösung 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständiger Umsetzung wurde mit 10 mL Eissessig neutralisiert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde mit Toluol (2  $\times$  20 mL) kodestilliert und schließlich an der Lyophylle über Nacht gefriergetrocknet. Das Rohprodukt konnte ohne weitere Reinigung im nächsten Schritt eingesetzt werden.

Das obige Rohprodukt wurde unter Argonatmosphäre bei Raumtemperatur in 200 mL absolutem Acetonitril suspendiert und mit 7.97 mL (53.2 mmol, 1.1 Äquiv.) Benzaldehyddimethylacetal und 400 mg *p*-Toluolsulfonsäure Monohydrat versetzt und 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständigem Umsatz wurde mit 10 mL Triethylamin neutralisiert, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und mit Toluol (2  $\times$  30 mL) kodestilliert. Das so erhaltene Rohprodukt wurde durch Kristallisation ( $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc} = 9:1$ ) gereinigt.

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 397.1083 [ $\text{M}+\text{Na}$ ] $^+$ , ber.: 397.1080.

Zu einer auf 0  $^{\circ}\text{C}$  gekühlten Lösung des zuvor erhaltenen Methylphenyl-4,6-benzyliden-1-thio- $\beta$ -D-glucopyranosids in 100 mL absolutem Pyridin wurden 200 mg 4-(Dimethylamino)-pyridin (DMAP), sowie 30.0 mL Essigsäureanhydrid gegeben. Anschließend wurde auf Raumtemperatur erwärmt und 24 h gerührt, bevor nach beendeter Reaktion das Lösungsmittel im Vakuum entfernt wurde, der Rückstand in 150 mL Ethylacetat aufgenommen wurde und die organische Phase sukzessive mit 1 M Salzsäure (2  $\times$  100 mL), einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung (2  $\times$  70 mL) und einer gesättigten Natriumchloridlösung (1  $\times$  80 mL)

gewaschen wurde. Anschließend wurde mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand flashchromatographisch an Kieselgel ( $^c$ Hex/EtOAc = 2:1) gereinigt.

**Ausbeute:** 18.8 g (41.0 mmol, 85% über drei Stufen), farbloser amorpher Feststoff.

$R_f = 0.61$  ( $^c$ Hex/EtOAc, 2:1).

**EI-MS** (negativ),  $m/z$ : 458.1387  $[M-H]^-$ , ber.: 458.1399.

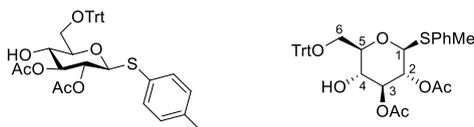
$[\alpha]_D^{22} = -41.6$  ( $c = 1.0$ ,  $CHCl_3$ ).

**$^1H$ -NMR** (400 MHz, COSY, HMBC, HSQC,  $CDCl_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 7.44 – 7.32 (m, 7H,  $H_{Ar}$ ), 7.18 – 7.10 (m, 2H,  $H_{Ar}$ ), 5.48 (s, 1H,  $CH_{Benzyliden}$ ), 5.32 (dd,  $J_{H3,H4} = 9.6$  Hz,  $J_{H3,H2} = 8.9$  Hz, 1H, H-3), 4.97 (dd,  $J_{H2,H1} = 10.0$  Hz,  $J_{H2,H3} = 8.9$  Hz, 1H, H-2), 4.73 (d,  $J_{H1,H2} = 10.0$  Hz, 1H, H-1), 4.38 (dd,  $J = 10.5$  Hz,  $J_H = 4.9$  Hz, 1H, H-6<sub>a</sub>), 3.78 (dd,  $J = 10.6$  Hz,  $J = 9.8$  Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>), 3.64 (t,  $J = 9.5$  Hz, 1H, H-4), 3.55 (td,  $J = 9.6$  Hz,  $J_H = 4.9$  Hz, 1H, H-5), 2.36 (s, 3H, -SPhMe), 2.11, 2.03 ( $2 \times$  s, 6H, -OAc).

**$^{13}C$ -NMR** (100 MHz,  $CDCl_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 170.3, 169.7 ( $2 \times$  C=O-OAc), 139.0, 136.9, 133.8, 129.9, 129.3, 128.4, 127.8, 126.3 ( $12 \times$   $C_{Ar}$ ), 101.6 ( $CH_{Benzyliden}$ ), 86.9 (C-1), 78.2 (C-4), 73.1 (C-3), 70.9 (C-2), 70.8 (C-5), 68.6 (C-6), 21.3 (-SPhMe), 21.0, 20.9 ( $2 \times$   $CH_3$ -OAc).

Weitere analytische Daten siehe Literatur.<sup>183, 248</sup>

#### 5.3.2.4 *p*-Methylphenyl-2,3-di-*O*-acetyl-6-*O*-trityl-1-thio- $\beta$ -D-glucopyranosid (30)



Eine Lösung von 16.9 g (36.9 mmol) 4-Methylphenyl-2,3-di-*O*-acetyl-4,6-*O*-benzyliden-1-thio- $\beta$ -D-glucopyranoside (**29**) in 300 ml Methanol wurde mit 200 mg *p*-Toluolsulfonsäure versetzt und 4 h auf 70 °C erhitzt. Nach vollständigem Umsatz wurde mit 10 mL Triethylamin neutralisiert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, der Rückstand mit Toluol ( $2 \times 50$  mL) kodestilliert und das Rohprodukt schließlich durch Kristallisation ( $^c$ Hex/EtOAc = 5:1) gereinigt.

**Ausbeute:** 12.8 g (34.4 mmol, 93%), farbloser amorpher Feststoff.

$R_f = 0.12$  ( $^c$ Hex/EtOAc, 2:1).

**EI-MS** (positiv),  $m/z$ : 370.1088  $[M]^+$ , ber.: 370.1086.

$[\alpha]_D^{22} = -22.2$  ( $c = 1.00$ ,  $CHCl_3$ ).

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, COSY, HMBC, HSQC, CDCl<sub>3</sub>), δ [ppm] = 7.35 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, H<sub>Ar</sub>), 7.12 (d, *J* = 8.51 Hz, 2H, H<sub>Ar</sub>), 5.05 (t, *J*<sub>H3,H2</sub> = *J*<sub>H3,H4</sub> = 9.3 Hz, 1H, H-3), 4.88 (dd, *J*<sub>H2,H1</sub> = 10.0 Hz, *J*<sub>H2,H3</sub> = 9.3 Hz, 1H, H-2), 4.67 (d, *J*<sub>H1,H2</sub> = 10.0 Hz, 1H, H-1), 3.92 (dd, *J*<sub>H6a,H6b</sub> = 12.1 Hz, *J*<sub>H6a,H5</sub> = 3.3 Hz, 1H, H-6<sub>a</sub>), 3.80 (dd, *J*<sub>H6b,H6a</sub> = 12.1 Hz, *J*<sub>H6b,H5</sub> = 4.6 Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>), 3.69 (t, *J*<sub>H4,H3</sub> = *J*<sub>H4,H5</sub> = 9.5 Hz, 1H, H-4), 3.42 (ddd, *J*<sub>H5,H4</sub> = 9.7 Hz, *J*<sub>H5,H6b</sub> = 4.6 Hz, *J*<sub>H5,H6a</sub> = 3.3 Hz, 1H, H-5), 2.33 (s, 3H, -SPhMe), 2.09, 2.06 (2 × s, 6H, -OAc).

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ [ppm] = 171.6, 169.7 (2 × C=O-OAc), 138.8, 133.4, 129.9, 128.1 (6 × C<sub>Ar</sub>), 86.1 (C-1), 79.7 (C-5), 77.1 (C-3), 70.2 (C-2), 69.2 (C-4), 62.3 (C-6), 21.3 (-SPhMe), 21.0 (2 × CH<sub>3</sub>-OAc).

Es wurden 9.55 g (25.8 mmol, 1 Äquiv.) der zuvor erhaltenen 4-Methylphenyl-2,3-di-*O*-acetyl-1-thio-β-D-glucopyranosids unter einer Argonatmosphäre in 70 mL absolutem Pyridin aufgenommen und 200 mg 4-(Dimethylamino)-pyridin (DMAP), sowie 7.19 g (25.8 mmol, 1 Äquiv.) Triphenylmethylchlorid zugegeben. Die Reaktionslösung wurde 6 h auf 50 °C erhitzt, bevor nach vollständigem Umsatz das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, und der Rückstand erneut in 100 mL Dichlormethan aufgenommen wurde. Die organische Phase wurde sukzessive mit 1 M Salzsäure (1 × 50 mL), einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung (2 × 70 mL) und einer gesättigten Natriumchloridlösung (1 × 100 mL) gewaschen, bevor mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet wurde. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt flashchromatographisch an Kieselgel (c<sup>o</sup>Hex:EtOAc, 1:1) gereinigt.

**Ausbeute:** 14.1 g (22.9 mmol, 89%), farbloser amorpher Feststoff.

**R<sub>f</sub>** = 0.48 (c<sup>o</sup>Hex/EtOAc, 2:1).

**EI-MS** (positiv), *m/z*: 612.2187 [M]<sup>+</sup>, ber.: 612.2182.

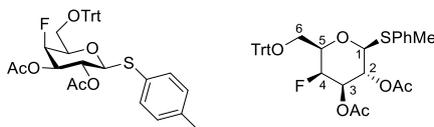
**[α]<sub>D</sub><sup>22</sup>** = -22.8 (*c* = 1.0, CHCl<sub>3</sub>).

**<sup>1</sup>H-NMR** (800 MHz, COSY, HMBC, HSQC, CDCl<sub>3</sub>), δ [ppm] = 7.48 – 7.46 (m, 6H, H<sub>Ar</sub>), 7.33 – 7.28 (m, 8H, H<sub>Ar</sub>), 7.27 – 7.25 (m, 3H, H<sub>Ar</sub>), 7.10 – 7.08 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>), 5.02 (t, *J*<sub>H3,H2</sub> = *J*<sub>H3,H4</sub> = 9.3 Hz, 1H, H-3), 4.91 (dd, *J*<sub>H2,H1</sub> = 9.9 Hz, *J*<sub>H2,H3</sub> = 9.3 Hz, 1H, H-2), 4.62 (d, *J*<sub>H1,H2</sub> = 10.0 Hz, 1H, H-1), 3.73 (t, *J*<sub>H4,H3</sub> = *J*<sub>H4,H5</sub> = 9.2 Hz, 1H, H-4), 3.53 – 3.49 (m, 1H, H-6<sub>a</sub>), 3.43 – 3.39 (m, 2H, H-5, H-6<sub>b</sub>), 2.34 (s, 3H, -SPhMe), 2.10, 2.05 (2 × s, 6H, -OAc).

**<sup>13</sup>C-NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ [ppm] = 171.3, 169.7 (2 × C=O-OAc), 143.7, 138.6, 133.8, 129.8, 128.8, 128.7, 128.1, 128.0, 127.4, 127.3 (24 × C<sub>Ar</sub>), 87.2 (C<sub>q</sub>), 85.8 (C-1), 78.7 (C-5), 77.0 (C-3), 70.1 (C-2, C-4), 63.5 (C-6), 21.3 (-SPhMe), 21.0 (2 × CH<sub>3</sub>-OAc).

Weitere analytische Daten siehe Literatur.<sup>183</sup>

### 5.3.2.5 *p*-Methylphenyl-2,3-di-*O*-acetyl-4-desoxy-4-fluor-6-*O*-trityl-1-thio- $\beta$ -D-galactopyranosid (31)



Zu einer auf 0 °C gekühlten Lösung von 7.23 g (11.8 mmol, 1 Äquiv.) 4-Methylphenyl-2,3-di-*O*-acetyl-6-*O*-trityl-1-thio- $\beta$ -D-glucopyranosid (**30**) unter Argonatmosphäre, gelöst in einem Gemisch aus 100 mL absolutem Dichlormethan und 20 mL absolutem Pyridin, wurden vorsichtig, über einen Zeitraum von 10 min, 2.09 mL (14.2 mmol, 1.2 Äquiv.) Trifluormethansulfonsäureanhydrid (Tf<sub>2</sub>O) gegeben und die Reaktionslösung unter Eiskühlung 2 h gerührt. Nach vollständiger Umsetzung wurde die Reaktionslösung mit 70 mL Dichlormethan verdünnt und die organische Phase mit 1 M Salzsäure (1 × 40 mL), einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung (2 × 60 mL) und Wasser (1 × 50 mL) gewaschen, bevor mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet wurde und das Lösungsmittel im Vakuum bei Raumtemperatur entfernt wurde. Das so erhaltene 4-Methylphenyl-2,3-di-*O*-acetyl-4-*O*-triflyl-6-*O*-trityl-1-thio- $\beta$ -D-glucopyranosid Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung im nächsten Reaktionsschritt eingesetzt.

Währenddessen wurden 4.84 g (15.3 mmol, 1.3 Äquiv.) Tetrabutylammoniumfluorid Trihydrat sukzessive mit absolutem Toluol (2 × 20 mL) und absolutem Tetrahydrofuran (1 × 30 mL) kdestilliert. Anschließend wurde der Rückstand in 50 mL absolutem Tetrahydrofuran in Gegenwart von 4.50 g frisch aktiviertem Molekularsieb 4Å 2 h bei 0 °C gerührt, bevor das zuvor bereitgestellte 4-Methylphenyl-2,3-di-*O*-acetyl-4-*O*-triflyl-6-*O*-trityl-1-thio- $\beta$ -D-glucopyranosid, gelöst in 30 mL absolutem Tetrahydrofuran, über einen Zeitraum von 10 min vorsichtig mittels eines Tropftrichters zugegeben wurde. Die Reaktionslösung wurde langsam auf Raumtemperatur erwärmt und weitere 3 h gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde über Hyflo<sup>®</sup> filtriert, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt flashchromatographisch an Kieselgel (°Hex:EtOAc, 3:1) gereinigt.

**Ausbeute:** 5.06 g (8.23 mmol, 70%), farbloser amorpher Feststoff.

**R<sub>f</sub>** = 0.59 (°Hex/EtOAc, 2:1).

**EI-MS** (positiv), *m/z*: 614.2145 [M+Na]<sup>+</sup>, ber.: 614.2138.

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>22</sup>** = +18.2 (*c* = 1.0, CHCl<sub>3</sub>).

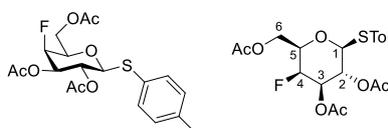
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, COSY, HMBC, HSQC, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  [ppm] = 7.46 – 7.42 (m, 5H, H<sub>Ar</sub>), 7.40 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, H<sub>Ar</sub>), 7.34 – 7.24 (m, 10H, H<sub>Ar</sub>), 7.09 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H, H<sub>Ar</sub>), 5.22 (pd, *J*<sub>H2,H1</sub> = *J*<sub>H2,H3</sub> = 10.0 Hz, 1H, H-2), 4.98 (ddd, *J*<sub>H3,F</sub> = 27.7 Hz, *J*<sub>H3,H2</sub> = 9.9 Hz, *J*<sub>H3,H4</sub> = 2.7 Hz, 1H, H-3), 4.88 (dd, *J*<sub>H4,F</sub> = 50.0 Hz, *J*<sub>H4,H3</sub> = *J*<sub>H4,H5</sub> = 2.7 Hz, 1H, H-4), 4.62 (d, *J*<sub>H1,H2</sub> = 10.0 Hz, 1H, H-1), 3.63 – 3.50 (m, 2H, H-5, H-6<sub>a</sub>), 3.30 (td, *J*<sub>H6b,H6a</sub> = 8.8 Hz, *J*<sub>H6b,H5</sub> = 2.5 Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>), 2.33 (s, 3H, -SPhMe), 2.10, 2.09 (2 × s, 6H, -OAc).

$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 170.4, 169.1 ( $2 \times \text{C}=\text{O}-\text{OAc}$ ), 143.7, 138.4, 133.1, 129.9, 128.8, 128.7, 128.1, 127.3 ( $24 \times \text{C}_{\text{Ar}}$ ), 87.3 ( $\text{C}_q$ ), 86.8 (C-1), 86.7 (d,  $J_{\text{C}_4,\text{F}} = 185.6$  Hz, C-4), 76.4 (d,  $J_{\text{C}_5,\text{F}} = 18.1$  Hz, C-5), 72.7 (d,  $J_{\text{C}_3,\text{F}} = 17.7$  Hz, C-3), 67.6 (C-2), 61.8 (C-6), 21.3 (-SPhMe), 21.0, 20.9 ( $2 \times \text{CH}_3-\text{OAc}$ ).

$^{19}\text{F-NMR}$  (375 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] = -216.21 (dt,  $J_{\text{F},\text{H}_4} = 50.0$  Hz,  $J_{\text{F},\text{H}_3} = J_{\text{F},\text{H}_5} = 28.1$  Hz).

Weitere analytische Daten siehe Literatur.<sup>183</sup>

### 5.3.2.6 *p*-Methylphenyl-2,3,6-tri-*O*-acetyl-4-desoxy-4-fluor-1-thio- $\beta$ -D-glucopyranosid (32)



Eine Lösung von 4.57 g (7.43 mmol) 4-Methylphenyl-2,3-di-*O*-acetyl-4-desoxy-4-fluor-6-*O*-trityl-1-thio- $\beta$ -D-glucopyranosid (**31**) wurden in 200 mL wässriger 80%iger Essigsäure 4 h auf 90 °C erhitzt. Nach beendeter Reaktion wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand mit Toluol ( $2 \times 30$  mL) kodestilliert. Anschließend wurde das erhaltene Rohprodukt bei 0 °C in 80 mL absolutem Pyridin aufgenommen und 20 mL Essigsäureanhydrid zugegeben. Die Reaktionslösung wurde 24 h gerührt, bevor nach beendeter Reaktion mit 100 mL Dichlormethan verdünnt und auf 200 mL Eiswasser gegossen wurde. Die organische Phase wurde mit 1 M Salzsäure ( $2 \times 50$  mL), einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung ( $2 \times 70$  mL), Wasser ( $2 \times 50$  mL) und mit einer gesättigten Natriumchloridlösung ( $1 \times 100$  mL) gewaschen. Anschließend wurde mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt flashchromatographisch an Kieselgel ( $^{\circ}\text{Hex}:\text{EtOAc}$ , 3:1) gereinigt.

**Ausbeute:** 2.40 g (5.79 mmol, 78% über zwei Stufen); farbloser amorpher Feststoff.

$R_f = 0.66$  ( $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc}$ , 1:1).

**EI-MS** (positiv),  $m/z$ : 414.1151 [ $\text{M}$ ]<sup>+</sup>, ber.: 414.1149.

$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +24.6$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

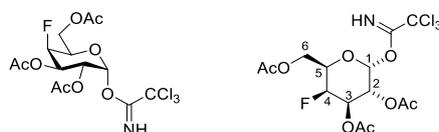
$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, COSY, HMBC, HSQC,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 7.39 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H,  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 7.11 (d,  $J = 7.9$  Hz, 1H,  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 5.24 (pd,  $J_{\text{H}_2,\text{H}_1} = J_{\text{H}_2,\text{H}_3} = 10.0$  Hz, 1H, H-2), 4.98 (ddd,  $J_{\text{H}_3,\text{F}} = 27.7$  Hz,  $J_{\text{H}_3,\text{H}_2} = 10.0$  Hz,  $J_{\text{H}_3,\text{H}_4} = 2.6$  Hz, 1H, H-3), 4.85 (dd,  $J_{\text{H}_4,\text{F}} = 50.3$  Hz,  $J_{\text{H}_4,\text{H}_3} = 2.6$  Hz, 1H, H-4), 4.63 (dd,  $J_{\text{H}_1,\text{H}_2} = 10.0$  Hz, 1H, H-1), 4.36 (ddd,  $J_{\text{H}_6\text{a},\text{H}_6\text{b}} = 11.4$  Hz,  $J_{\text{H}_6\text{a},\text{H}_5} = 6.8$  Hz,  $J_{\text{H}_6\text{a},\text{F}} = 1.1$  Hz, 1H, H-6<sub>a</sub>), 4.21 (dd,  $J_{\text{H}_6\text{b},\text{H}_6\text{a}} = 11.4$  Hz,  $J_{\text{H}_6\text{b},\text{H}_5} = 6.3$  Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>), 3.81 (dt,  $J_{\text{H}_5,\text{F}} = 26.4$  Hz,  $J_{\text{H}_5,\text{H}_6\text{a/b}} = 6.7$  Hz, 1H, H-5), 2.33 (s, 3H, -SPhMe), 2.10, 2.09, 2.07 ( $3 \times$  s, 9H, -OAc).

$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 170.5, 170.4, 169.3 ( $3 \times \text{C=O-OAc}$ ), 138.7, 133.6, 129.8, 128.1 ( $4 \times \text{C}_{\text{Ar}}$ ), 86.6 (C-1), 86.1 (d,  $J_{\text{C4,F}} = 186.0$ , C-4), 74.6 (d,  $J_{\text{C5,F}} = 18.3$  Hz, C-5), 72.6 (d,  $J_{\text{C3,F}} = 17.7$  Hz, C-3), 67.3 (C-2), 61.7 (d,  $J_{\text{C6,F}} = 5.6$  Hz, C-6), 21.3 (-SPhMe), 20.9, 20.8 ( $3 \times \text{CH}_3\text{-OAc}$ ).

$^{19}\text{F-NMR}$  (282 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] = -217.01 (dt,  $J_{\text{F,H4}} = 50.1$  Hz,  $J_{\text{F,H3}} = J_{\text{F,H4}} = 26.9$  Hz).

Weitere analytische Daten siehe Literatur.<sup>183</sup>

### 5.3.2.7 2,3,6-Tri-*O*-acetyl-4-desoxy-4-fluor-1-thio- $\alpha$ -D-galactopyranosyl Trichloracetimidat (19)



Zu einer Lösung von 1.86 g (4.49 mmol, 1.0 Äquiv.) 4-Methylphenyl-2,3,6-tri-*O*-acetyl-4-desoxy-4-fluor-1-thio- $\beta$ -D-galactopyranosid (**32**) in 100 mL Dichlormethan wurden 10 mL Wasser, 1.21 g (5.39 mmol, 1.2 Äquiv.) *N*-Iodsuccinimid und 138  $\mu\text{L}$  (1.80 mmol, 0.4 Äquiv.) Trifluoressigsäure gegeben. Diese zweiphasige Reaktionslösung wurde 24 h bei Raumtemperatur gerührt, bevor nach vollständigem Umsatz mit weiteren 100 mL Dichlormethan verdünnt wurde. Die organische Phase wurde mit einer gesättigten Natriumthiosulfatlösung ( $1 \times 100$  mL), einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung ( $1 \times 100$  mL) und Wasser ( $2 \times 200$  mL) gewaschen und anschließend mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde letztlich im Vakuum entfernt und der Rückstand wurde flashchromatographisch an Kieselgel ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 20:1$ ) gereinigt.

**Ausbeute:** 1.23 g (4.00 mmol, 89%); farbloser amorpher Feststoff. Das Produkt wurde als Anomerengemisch erhalten.

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 331.0799  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , ber.: 331.0800.

Der zuvor bereitgestellte 4-Fluorgalactosylhemiacetalbaustein wurde in 50 mL absolutem Dichlormethan unter einer Argonatmosphäre aufgenommen und unter Eiskühlung mit 40.0  $\mu\text{L}$  (268  $\mu\text{mol}$ , 6.7 mol%) 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) versetzt, bevor nach 10 min 2.00 mL (20.0 mmol, 5 Äquiv.) Trichloracetonitril zugetropft wurden. Diese Reaktionslösung wurde unter langsamen auftauen des Eisbades 24 h gerührt, bevor das Lösungsmittel im Vakuum entfernt wurde und der Rückstand flashchromatographisch an Kieselgel ( $^t\text{Hex}/\text{EtOAc} = 3:1$ ) gereinigt wurde.

**Ausbeute:** 1.54 g (3.40 mmol, 85%, 76% über zwei Stufen); charakteristisch leicht gelblicher amorpher Feststoff. Das Produkt wurde als reines  $\alpha$ -Anomer erhalten.

$R_f = 0.62$  ( $^t\text{Hex}/\text{EtOAc} = 2:1$ ).

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 473.9899  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , ber.: 473.9896.

$[\alpha]_D^{24} = +119.1$  ( $c = 1$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

**$^1\text{H-NMR}$**  (600 MHz, HSQC, COSY,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 8.68 (s, 1H, NH), 6.61 (d,  $J_{\text{H1,H2}} = 3.6$  Hz, 1H, H-1), 5.43 (ddd,  $J_{\text{H2,H3}} = 10.9$  Hz,  $J_{\text{H2,H1}} = 3.6$  Hz,  $J_{\text{H2,F}} = 1.1$  Hz, 1H, H-2), 5.35 (ddd,  $J_{\text{H3,F}} = 26.3$  Hz,  $J_{\text{H3,H2}} = 10.8$  Hz,  $J_{\text{H3,H4}} = 2.5$  Hz, 1H, H-3), 5.04 (dd,  $J_{\text{H4,F}} = 50.1$  Hz,  $J_{\text{H4,H3}} = 2.5$  Hz, 1H, H-4), 4.36 – 4.29 (m, 1H, H-5), 4.30 – 4.23 (m, 2H, H-6<sub>a/b</sub>), 2.14, 2.05, 2.03 ( $3 \times$  s, 9H, -OAc).

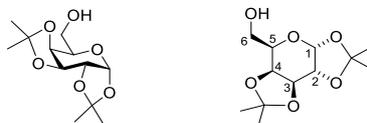
**$^{13}\text{C-NMR}$**  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 170.4, 170.0 ( $3 \times \text{C=O-OAc}$ ), 160.9 ( $\text{C=NH}(\text{CCl}_3)$ ), 93.5 (C-1), 90.9 ( $-\text{CCl}_3$ ), 86.4 (d,  $J_{\text{C4,F}} = 185.5$  Hz, C-4), 69.4 (d,  $J_{\text{C5,F}} = 18.2$  Hz, C-5), 68.2 (d,  $J_{\text{C3,F}} = 17.7$  Hz, C-3), 66.8 (C-2), 61.5 (d,  $J_{\text{C6,F}} = 5.9$  Hz, C-6), 21.0, 20.8, 20.6 ( $\text{CH}_3\text{-OAc}$ ).

**$^{19}\text{F NMR}$**  (282 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  [ppm] =  $-213.74 - -226.47$  (m).

Weitere analytische Daten siehe Literatur.<sup>249</sup>

### 5.3.3 Synthese des 6-Fluorgalactosyldonorbausteins

#### 5.3.3.1 1,2:3,4-Di-*O*-isopropyliden- $\alpha$ -D-galactopyranose (24)



Es wurden 20.0 g (111 mmol, 1.0 Äquiv.) kommerziell erhältliche D-Galactose und 44.3 g (278 mmol, 2.5 Äquiv.) wasserfreies Kupfersulfat in 150 mL absolutem Aceton suspendiert und unter Rühren 2 mL konzentrierte Schwefelsäure zugegeben. Anschließend wurde 12 h bei Raumtemperatur gerührt, bevor nach beendeter Reaktion über Celite filtriert wurde und das Filtrat mit 10 mL Triethylamin neutralisiert wurde. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in 150 mL Ethylacetat aufgenommen. Die organische Phase wurde sukzessive mit einer 1 M Salzsäure ( $2 \times 70$  mL), einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung ( $2 \times 70$  mL) und Wasser ( $1 \times 150$  mL) gewaschen, bevor mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet wurde. Letztlich wurde die Lösung im Vakuum eingengt und flashchromatographisch an Kieselgel ( ${}^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc} = 1:1$ ) gereinigt.

**Ausbeute:** 23.4 g (89.9 mmol, 81%), farbloses Öl.

$R_f = 0.34$  ( ${}^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc} = 1:1$ ).

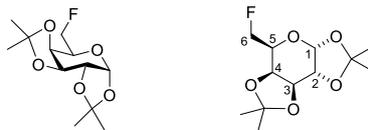
**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 283.1151 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , ber.: 283.1152.

$[\alpha]_D^{22} = -50.5$  ( $c = 1$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

**${}^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz, HSQC,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 5.52 (d,  $J_{\text{H}1,\text{H}2} = 5.0$  Hz, 1H, H-1), 4.57 (dd,  $J_{\text{H}3,\text{H}4} = 7.9$  Hz,  $J_{\text{H}3,\text{H}2} = 2.4$  Hz, 1H, H-3), 4.29 (dd,  $J_{\text{H}2,\text{H}1} = 5.0$  Hz,  $J_{\text{H}2,\text{H}3} = 2.4$  Hz, 1H, H-2), 4.23 (dd,  $J_{\text{H}4,\text{H}3} = 7.9$  Hz,  $J_{\text{H}4,\text{H}5} = 1.8$  Hz, 1H, H-4), 3.87 – 3.77 (m, 2H, H-6<sub>a</sub>, H-5), 3.69 (dd,  $J_{\text{H}6b,\text{H}6a} = 11.4$  Hz,  $J_{\text{H}6b,\text{H}5} = 7.9$  Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>), 1.49, 1.41, 1.30 ( $3 \times s$ , 12H,  $-\text{CH}_3$ ).

**${}^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 109.5, 108.7 ( $2 \times C_q$ ), 96.3 (C-1), 71.6 (C-4), 70.8 (C-3), 70.6 (C-2), 68.3 (C-5), 62.2 (C-6), 26.1, 26.0, 25.0, 24.4 ( $4 \times -\text{CH}_3$ ).

Weitere analytische Daten siehe Literatur.<sup>250</sup>

5.3.3.2 6-Desoxy-6-fluor-1,2:3,4-di-*O*-isopropyliden- $\alpha$ -D-galactopyranosid (25)

Es wurden 9.25 g (35.5 mmol, 1 Äquiv.) 1,2:3,4-Di-*O*-isopropyliden- $\alpha$ -D-galactopyranose (**24**) und 5.60 mL (42.6 mmol, 1.2 Äquiv.) 2,4,6-Collidin unter Argonatmosphäre in 100 mL absolutem Dichlormethan vorgelegt und auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurden 5.60 mL (42.6 mmol, 1.2 Äquiv.) Diethylaminoschwefeltrifluorid (DAST) zugegeben, das Eisbad entfernt und anschließend 5 h unter Rückfluss erhitzt. Nach beendeter Reaktion wurde mit 150 mL Dichlormethan verdünnt und die organische Phase mit einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung (3  $\times$  100 mL) gewaschen, mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde flashchromatographisch an Kieselgel ( $^c$ Hex/EtOAc = 4:1) gereinigt.

**Ausbeute:** 7.91 g (30.2 mmol, 85%); leicht gelbliches Öl.

$R_f$  = 0.61 ( $^c$ Hex/EtOAc = 2:1).

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 280.1561 [ $M+NH_4$ ] $^+$ , ber.: 280.1555.

$[\alpha]_D^{21} = -45.4$  ( $c = 1$ ,  $CHCl_3$ ).

**$^1H$ -NMR** (400 MHz,  $CDCl_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 5.54 (d,  $J_{H1,H2} = 5.1$  Hz, 1H, H-1), 4.66 – 4.59 (m, 2H, H-3, H-6<sub>a</sub>), 4.54 – 4.43 (m, 1H, H-6<sub>b</sub>), 4.34 (dd,  $J_{H2,H1} = 5.0$  Hz,  $J_{H2,H3} = 2.5$  Hz, 1H, H-2), 4.26 (dd,  $J_{H4,H3} = 7.9$  Hz,  $J_{H4,H5} = 2.0$  Hz, 1H, H-4), 4.12 – 4.03 (m, 1H, H-5), 1.54, 1.44, 1.33 (4  $\times$  s, 12H, -CH<sub>3</sub>).

**$^{13}C$ -NMR** (100 MHz,  $CDCl_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 109.8, 108.9 (2  $\times$  C<sub>q</sub>), 96.3 (C-1), 82.2 (d,  $J_{C6,F} = 168.1$  Hz, C-6), 70.9, 70.7, 70.6 (C-4, C-3, C-2), 66.8 (d,  $J_{C5,F} = 22.6$  Hz), 26.2, 26.1, 25.1, 24.6 (4  $\times$  -CH<sub>3</sub>).

**$^{19}F$ -NMR** (376 MHz  $CDCl_3$ ),  $\delta$  [ppm] = -231.23 (dt,  $J_{F,H6} = 46.1$  Hz,  $J_{F,H5} = 13.3$  Hz).

Weitere analytische Daten siehe Literatur.<sup>180</sup>

### 5.3.3.3 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl-6-desoxy-6-fluor- $\alpha/\beta$ -D-galactopyranose (26)



Es wurden 7.91 g (30.2 mmol) 6-Desoxy-6-fluor-1,2:3:4-Di-*O*-isopropyliden- $\alpha$ -D-galactopyranosid (**25**) in 250 mL 80%iger wässriger Essigsäure aufgenommen und 18 h auf 80 °C erhitzt. Nach beendeter Reaktion wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, der Rückstand mit Toluol (2 × 50 mL) kodestilliert und anschließend in 150 mL Pyridin suspendiert. Anschließend wurde auf 0 °C gekühlt, 50 mL Essigsäureanhydrid mittels eines Tropftrichters über einen Zeitraum von 20 min zugegeben und die Reaktionslösung weitere 12 h bei Raumtemperatur gerührt, bevor das Lösungsmittel im Vakuum entfernt wurde. Das Rohprodukt wurde flashchromatographisch an Kieselgel ( $^{\circ}$ Hex/EtOAc = 1:1) gereinigt.

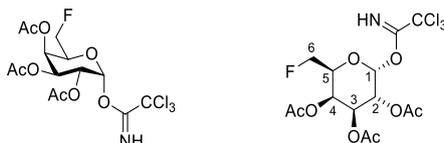
**Ausbeute:** 9.53 g (27.2 mmol, 90%), gelbliches Öl. Das Produkt wurde als Anomerengemisch erhalten.

$R_f$  = 0.38 ( $^{\circ}$ Hex/EtOAc = 1:1).

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 373.0904 [M+Na] $^+$ , ber.: 350.1013.

Weitere analytische Daten siehe Literatur.<sup>251</sup>

### 5.3.3.4 2,3,4-Tetra-*O*-acetyl-6-desoxy-6-fluor- $\alpha$ -D-galactopyranosyl Trichloracetimidat (18)



Es wurden 4.35 g (12.4 mmol, 1 Äquiv.) 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl-6-desoxy-6-fluor- $\alpha/\beta$ -D-galactopyranose (**26**) in 50.0 mL Tetrahydrofuran vorgelegt und bei Raumtemperatur mit 852  $\mu$ L (14.9 mmol, 1.2 Äquiv.) Eisessig und 993  $\mu$ L (14.9 mmol, 1.2 Äquiv.) Ethylendiamin versetzt. Die resultierende Suspension wurde 12 h bei Raumtemperatur gerührt, bevor die Reaktionslösung nach vollständigem Umsatz unter vermindertem Druck konzentriert wurde. Der so erhaltene Rückstand wurde in 100 mL Ethylacetat aufgenommen und die organische Phase wurde sukzessive mit 1 M Salzsäure (2 × 70 mL), einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung (1 × 100 mL) und Wasser (1 × 100 mL) gewaschen. Anschließend wurde mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt ohne weitere Reinigung im nächsten Schritt eingesetzt.

Das zuvor bereitgestellte 2,3,4-Tri-*O*-acetyl-6-desoxy-6-fluor- $\alpha/\beta$ -D-galactopyranosid Hemiacetal wurde bei 0 °C in 50 mL absolutem Dichlormethan unter Argonatmosphäre aufgenommen und mit 65.0  $\mu$ L (436  $\mu$ mol, 3.5 mol%) 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) versetzt, bevor 3.10 mL (31.0 mmol, 2.5 Äquiv.)

Trichloracetonitril zugetropft wurden und 12 h gerührt wurde. Nach vollständigem Umsatz wurde die Reaktionslösung im Vakuum eingeeengt und im Anschluss flashchromatographisch an Kieselgel ( $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc} = 3:1$ ) gereinigt.

**Ausbeute:** 3.82 g (8.43 mmol, 68%, über zwei Stufen); charakteristisch leicht gelblicher Feststoff. Das Produkt wurde als reines  $\alpha$ -Anomer erhalten.

$R_f = 0.44$  ( $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc} = 2:1$ ).

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 473.9897  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , ber.: 473.9896.

$[\alpha]_D^{25} = +108.6$  ( $c = 1$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz, HSQC,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 8.68 (s, 1H, NH), 6.62 (d,  $J_{\text{H1,H2}} = 3.4$  Hz, 1H, H-1), 5.61 (dd,  $J_{\text{H4,H3}} = 3.1$  Hz,  $J_{\text{H4,H5}} = 1.4$  Hz, 1H, H-4), 5.43 (dd,  $J_{\text{H3,H2}} = 10.9$  Hz,  $J_{\text{H3,H4}} = 3.1$  Hz, 1H, H-3), 5.37 (dd,  $J_{\text{H2,H3}} = 10.9$  Hz,  $J_{\text{H2,H1}} = 3.4$  Hz, 1H, H-2), 4.55 – 4.42 (m, 2H, H-5, H-6<sub>a</sub>), 4.41 – 4.31 (m, 1H, H-6<sub>b</sub>), 2.16, 2.02, 2.01 (3  $\times$  s, 9H, -OAc).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 170.2, 170.1, 170.1 (3  $\times$  C=O-OAc), 161.0 (C=NH( $\text{CCl}_3$ )), 93.6 (C-1), 90.8 ( $-\text{CCl}_3$ ), 88.3, 80.8 (d,  $J_{\text{C6,F}} = 172.3$  Hz, C-6), 69.8 (d,  $J_{\text{C5,F}} = 23.7$  Hz, C-5), 67.5 (C-3, C-4 {d,  $J_{\text{C4,F}} = 5.6$  Hz}), 67.0 (C-2), 20.8, 20.7, 20.6 (3  $\times$   $\text{CH}_3$ -OAc).

**$^{19}\text{F-NMR}$**  (376 MHz  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] = -231.05 (td,  $J_{\text{F,H6}} = 46.5$  Hz,  $J_{\text{F,H5}} = 14.7$  Hz).

Weitere analytische Daten siehe Literatur.<sup>252-253</sup>

### 5.3.4 Synthese des Glucosylakzeptorbausteins

#### 5.3.4.1 Allyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranose (**33**)



Es wurden 30.0 g (76.8 mmol, 1 Äquiv.) 1,2,3,4,6-Penta-*O*-acetyl- $\alpha/\beta$ -D-glucose (**27**) und 7.82 mL (115 mmol, 1.5 Äquiv.) Allylalkohol in 200 mL absolutem Dichlormethan vorgelegt und auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurden 14.0 mL (113 mmol, 1.5 Äquiv.) Bortrifluorid-Diethyletherat zugegeben und 24 h bei Raumtemperatur gerührt, bevor mit 100 mL Dichlormethan verdünnt wurde und die organische Phase mit Wasser (2 × 150 mL), mit einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung (1 × 200 mL) und einer gesättigten Natriumchloridlösung (1 × 150 mL) gewaschen wurde. Anschließend wurde die organische Phase mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt flashchromatographisch an Kieselgel ( $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc} = 2:1$ ) gereinigt.

**Ausbeute:** 19.3 g (49.9 mmol, 65%); farbloser amorpher Feststoff.

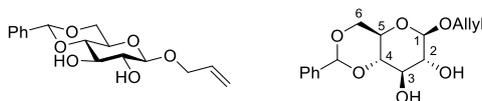
$R_f = 0.27$  ( $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc} = 2:1$ ).

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 411.1260  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , ber.: 411.1261.

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, HSQC, COSY,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 5.81 (dddd,  $^3J = 16.8$  Hz,  $^3J = 10.7$  Hz,  $^3J = 6.1$  Hz,  $^3J = 4.9$  Hz, 1H,  $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5.28 – 5.13 (m, 2H,  $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5.17 (t,  $J_{\text{H}_3,\text{H}_2} = J_{\text{H}_3,\text{H}_4} = 9.5$  Hz, 1H, H-3), 5.05 (t,  $J_{\text{H}_4,\text{H}_3} = J_{\text{H}_4,\text{H}_5} = 9.6$  Hz, 1H, H-4), 4.98 (dd,  $J_{\text{H}_2,\text{H}_3} = 9.6$  Hz,  $J_{\text{H}_2,\text{H}_1} = 8.0$  Hz, 1H, H-2), 4.52 (d,  $J_{\text{H}_1,\text{H}_2} = 7.9$  Hz, 1H, H-1), 4.30 (ddt,  $^2J = 13.2$  Hz,  $^3J = 4.9$  Hz,  $^4J = 1.6$  Hz, 1H,  $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 4.22 (dd,  $J_{\text{H}_6a,\text{H}_6b} = 12.3$  Hz,  $J_{\text{H}_6a,\text{H}_5} = 4.7$  Hz, 1H, H-6<sub>a</sub>), 4.10 (dd,  $J_{\text{H}_6b,\text{H}_6a} = 12.4$  Hz,  $J_{\text{H}_6b,\text{H}_5} = 2.3$  Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>), 4.09 – 4.01 (m, 1H,  $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 3.65 (ddd,  $J_{\text{H}_5,\text{H}_4} = 9.9$  Hz,  $J_{\text{H}_5,\text{H}_6a} = 4.8$  Hz,  $J_{\text{H}_5,\text{H}_6b} = 2.5$  Hz, 1H, H-5), 2.05, 2.00, 1.98, 1.96 ( $4 \times s$ , 12H, -OAc).

$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 170.7, 170.3, 169.4, 169.3 ( $4 \times \text{C}=\text{O}-\text{OAc}$ ), 133.4 ( $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 117.7 ( $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 99.6 (C-1), 72.9 (C-3), 71.8 (C-5), 71.3 (C-2), 70.1 ( $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 68.5 (C-4), 62.0 (C-6), 20.8, 20.7, 20.7, 20.6 ( $4 \times \text{CH}_3-\text{OAc}$ ).

Weitere analytische Daten siehe Literatur.<sup>254</sup>

5.3.4.2 Allyl-4,6-*O*-benzyliden- $\beta$ -D-glucopyranose (**34**)

Es wurden 17.2 g (44.2 mmol, 1.0 Äquiv.) Allyl-2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucose (**33**) in 200 mL Methanol gelöst, 719 mg (13.3 mmol, 0.3 Äquiv.) Natriummethanolat zugegeben und 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde mit Eisessig neutralisiert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mit Toluol ( $2 \times 70$  mL) kodestilliert und über Nacht an der Lyophylle getrocknet. Das Rohprodukt konnte ohne weitere Reinigung im nächsten Schritt eingesetzt werden.

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 243.0838  $[M+Na]^+$ , ber.: 243.0839.

Anschließend wurde das Rohprodukt unter einer Argonatmosphäre in 250 mL absolutem Acetonitril suspendiert und 7.94 mL (53.0 mmol, 1.2 Äquiv.) Benzaldehydimethylacetal, sowie 250 mg *p*-Toluolsulfonsäure Monohydrat zugegeben. Es wurde 5 h auf 70 °C erhitzt, bevor nach beendeter Reaktion mit 10 mL Triethylamin neutralisiert und die Lösung im Vakuum eingengt wurde. Der Rückstand wurde in 150 mL Ethylacetat aufgenommen und die organische Phase wurde mit einer 1 M Salzsäure ( $1 \times 75$  mL), einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung ( $2 \times 75$  mL) und einer gesättigten Natriumchloridlösung ( $1 \times 75$  mL) gewaschen. Anschließend wurde mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt flashchromatographisch an Kieselgel ( $^c$ Hex/EtOAc = 1:1) gereinigt.

**Ausbeute:** 11.6 g (37.6 mmol, 85%), farbloser amorpher Feststoff.

$R_f$  = 0.78 (EtOAc).

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 331.1151  $[M+Na]^+$ , ber.: 331.1152.

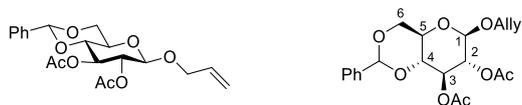
$[\alpha]_D^{24} = -35.0$  ( $c = 1$ ,  $CHCl_3$ ).

**$^1H$ -NMR** (400 MHz, HSQC, COSY,  $CDCl_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 7.52 – 7.47 (m, 2H,  $H_{Ar}$ ), 7.40 – 7.34 (m, 3H,  $H_{Ar}$ ), 5.95 (td,  $^3J = 16.8$  Hz,  $^3J = 5.8$  Hz, 1H,  $-CH_2CH=CH_2$ ), 5.54 (s, 1H,  $CH_{Benzyliden}$ ), 5.34 (dd,  $^3J = 17.2$  Hz,  $^2J = 1.6$  Hz, 1H,  $-CH_2CH=CH_{cis}H_{trans}$ ), 5.28 – 5.22 (m, 1H,  $-CH_2CH=CH_{cis}H_{trans}$ ), 4.46 (d,  $J_{H1,H2} = 7.7$  Hz, 1H, H-1), 4.43 – 4.35 (m, 1H,  $-CH_aH_bCH=CH_2$ ), 4.35 (dd,  $J_{H6a,H6b} = 10.7$  Hz,  $J_{H6a,H5} = 5.1$  Hz, 1H, H-6<sub>a</sub>), 4.16 (ddd,  $^2J = 13.0$  Hz,  $^3J = 6.7$  Hz,  $^4J = 1.6$  Hz, 1H,  $-CH_aH_bCH=CH_2$ ), 3.86 – 3.76 (m, 2H, H-3, H-6<sub>b</sub>), 3.58 (pd,  $J_{H4,H3} = J_{H4,H5} = 9.5$  Hz, 1H, H-4), 3.53 (pd,  $J_{H2,H1} = J_{H2,H3} = 8.4$  Hz, 1H, H-2), 3.46 (td,  $J_{H5,H4} = 9.7$  Hz,  $J_{H5,H6a} = 4.9$  Hz, 1H, H-5), 2.59 (br s, 2H, -OH).

**$^{13}C$ -NMR** (100 MHz,  $CDCl_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 137.1 ( $C_q$ ), 133.5 ( $-CH_2CH=CH_2$ ), 129.5, 128.5, 126.4 ( $5 \times C_{Ar}$ ), 118.6 ( $-CH_2CH=CH_2$ ), 102.3 ( $CH_{Benzyliden}$ ), 102.1 (C-1), 80.7 (C-4), 74.7 (C-2), 73.3 (C-3), 70.8 ( $-CH_2CH=CH_2$ ), 68.8 (C-6), 66.6 (C-5).

Weitere analytische Daten siehe Literatur.<sup>255</sup>

### 5.3.4.3 Allyl-2,3-di-*O*-acetyl-4,6-benzyliden- $\beta$ -D-glucopyranose (35)



Es wurden 9.43 g (30.5 mmol, 1.0 Äquiv.) Allyl-4,6-benzyliden- $\beta$ -D-glucopyranose (**34**) unter Eiskühlung in 70 mL Toluol aufgenommen und mit 30 mL einer 2:1 Mischung aus Pyridin und Essigsäureanhydrid versetzt. Anschließend wurde unter langsamen Aufwärmen auf Raumtemperatur 12 h gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand in 70 mL Ethylacetat aufgenommen und die organische Phase sukzessive mit einer 1 M Salzsäure (1  $\times$  100 mL), einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung (1  $\times$  100 mL) und Wasser (2  $\times$  100 mL) gewaschen. Anschließend wurde mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt flashchromatographisch an Kieselgel ( $^{\circ}$ Hex/EtOAc = 3:1) gereinigt.

**Ausbeute:** 11.3 g (28.7 mmol, 94%); farbloser amorpher Feststoff.

$R_f$  = 0.53 ( $^{\circ}$ Hex/EtOAc = 2:1).

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 415.1362 [M+Na] $^+$ , ber.: 415.1363.

$[\alpha]_D^{23}$  = -47.1 ( $c$  = 1, CHCl<sub>3</sub>).

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz, HSQC, COSY, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  [ppm] = 7.45 – 7.42 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>), 7.38 – 7.33 (m, 3H, H<sub>Ar</sub>), 5.85 (ddd,  $^3J$  = 17.2 Hz,  $^3J$  = 10.5 Hz,  $^3J$  = 6.0 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.50 (s, 1H, CH<sub>Benzyliden</sub>), 5.32 (t,  $J_{\text{H3,H2}} = J_{\text{H3,H4}} = 9.5$  Hz, 1H, H-3), 5.35 – 5.16 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.04 (dd,  $J_{\text{H2,H3}} = 9.3$  Hz,  $J_{\text{H2,H1}} = 7.9$  Hz, 1H, H-2), 4.64 (d,  $J_{\text{H1,H2}} = 7.9$  Hz, 1H, H-1), 4.37 (dd,  $J_{\text{H6a,H6b}} = 10.6$  Hz,  $J_{\text{H6a,H5}} = 5.0$  Hz, 1H, H-6<sub>a</sub>), 4.33 (dt,  $^3J = 4.9$  Hz,  $^4J = 1.5$  Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4.11 (ddt,  $^2J = 13.2$  Hz,  $^3J = 6.1$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 3.84 – 3.77 (m, 1H, H-6<sub>b</sub>), 3.71 (t,  $J_{\text{H4,H3}} = J_{\text{H4,H5}} = 9.6$  Hz, 1H, H-4), 3.52 (td,  $J_{\text{H5,H4}} = 9.9$  Hz,  $J_{\text{H5,H6a}} = 5.0$  Hz, 1H, H-5), 2.07, 2.05 (2  $\times$  s, 6H, CH<sub>3</sub>-OAc).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  [ppm] = 170.3, 169.7 (2  $\times$  C=O-OAc), 137.0 (C<sub>q</sub>), 133.4 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 129.3, 128.4, 126.3 (5  $\times$  C<sub>Ar</sub>), 117.8 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 101.7 (CH<sub>Benzyliden</sub>), 100.4 (H-1), 78.5 (C-4), 72.4 (C-2), 72.0 (C-3), 70.4 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 68.7 (C-6), 66.5 (C-5), 21.0, 20.9 (2  $\times$  CH<sub>3</sub>-OAc).

Weitere analytische Daten siehe Literatur.<sup>256</sup>

5.3.4.4 Allyl-2,3-di-*O*-acetyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- $\beta$ -D-glucopyranose (20)

Es wurden 5.12 g (13.0 mmol, 1.0 Äquiv.) Allyl-2,3-di-*O*-acetyl-4,6-benzyliden- $\beta$ -D-glucopyranose (**35**) in 200 mL 80%iger Essigsäure gelöst und 3 h auf 90 °C erhitzt. Nach beendeter Reaktion wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand mit Toluol (3  $\times$  20 mL) kodestilliert. Das Rohprodukt konnte ohne weitere Reinigung im nächsten Schritt eingesetzt werden.

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 327.1050 [M+Na]<sup>+</sup>, ber.: 327.1050.

Anschließend wurde das zuvor bereitgestellte 4,6-Diolrohprodukt unter einer Argonatmosphäre in 50 mL absolutem *N,N'*-Dimethylformamid aufgenommen und 1.77 g (26.0 mmol, 2.0 Äquiv.) Imidazol zugegeben. Die Reaktionslösung wurde auf 0 °C gekühlt, bevor 2.16 g (14.3 mmol, 1.1 Äquiv.) *tert*-Butyldimethylsilylchlorid (TBSCl) zugegeben und 24 h unter langsamen Erwärmen auf Raumtemperatur gerührt wurde. Nach beendeter Reaktion wurde das Lösungsmittel im Vakuum eingengt, der Rückstand in 100 mL Dichlormethan aufgenommen und die organische Phase sukzessive mit Wasser (2  $\times$  50 mL) und einer gesättigten Natriumchloridlösung (1  $\times$  100 mL) gewaschen. Anschließend wurde die organische Phase mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt flashchromatographisch an Kieselgel (<sup>c</sup>Hex/EtOAc = 2:1) gereinigt.

**Ausbeute:** 4.21 g (10.0 mmol, 77% über zwei Stufen); farbloses Öl.

$R_f$  = 0.58 (<sup>c</sup>Hex/EtOAc = 2:1).

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 441.1916 [M+Na]<sup>+</sup>, ber.: 441.1915.

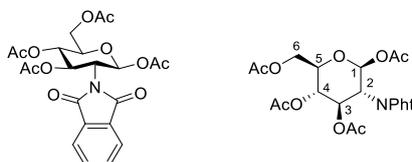
$[\alpha]_D^{20}$  = -47.2 (c = 1, CHCl<sub>3</sub>).

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, HSQC, COSY, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  [ppm] = 5.83 (dddd, <sup>3</sup>*J* = 16.8 Hz, <sup>3</sup>*J* = 10.7 Hz, <sup>3</sup>*J* = 6.0 Hz, <sup>3</sup>*J* = 4.9 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.25 (dd, <sup>3</sup>*J* = 17.3 Hz, <sup>2</sup>*J* = 1.7 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 5.17 (dd, <sup>3</sup>*J* = 10.6 Hz, <sup>2</sup>*J* = 1.5 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 5.07 (t, *J*<sub>H3,H2</sub> = *J*<sub>H3,H4</sub> = 9.5 Hz, 1H, H-3), 4.91 (dd, *J*<sub>H2,H3</sub> = 9.7 Hz, *J*<sub>H2,H1</sub> = 8.0 Hz, 1H, H-2), 4.51 (d, *J*<sub>H1,H2</sub> = 7.9 Hz, 1H, H-1), 4.29 (dd, <sup>2</sup>*J* = 13.2 Hz, <sup>3</sup>*J* = 4.9 Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4.06 (ddd, <sup>2</sup>*J* = 13.3 Hz, <sup>3</sup>*J* = 6.0 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.5 Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 3.94 (dd, *J*<sub>H6a,H6b</sub> = 10.5 Hz, *J*<sub>H6a,H5</sub> = 4.9 Hz, 1H, H-6<sub>a</sub>), 3.84 (dd, *J*<sub>H6b,H6a</sub> = 10.4 Hz, *J*<sub>H6b,H5</sub> = 5.8 Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>), 3.74 (t, *J*<sub>H4,H3</sub> = *J*<sub>H4,H5</sub> = 9.2 Hz, 1H, H-4), 3.41 (ddd, *J*<sub>H5,H4</sub> = 9.6 Hz, *J*<sub>H5,H6b</sub> = 6.0 Hz, *J*<sub>H5,H6a</sub> = 4.9 Hz, 1H, H-5), 2.07, 2.03 (2  $\times$  s, 6H, -OAc), 0.89 (s, 9H, Si-*t*Bu), 0.09, 0.08 (2  $\times$  s, 6H, Si-CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  [ppm] = 171.2, 169.8 (2  $\times$  C=O-OAc), 133.6 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 117.5 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 99.6 (C-1), 75.6 (C-3), 74.3 (C-5), 71.9 (C-4), 71.5 (C-2), 69.9 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 64.7 (C-6), 26.0 (3  $\times$  Si-*t*Bu), 21.0, 20.9 (CH<sub>3</sub>-OAc), 18.4 (C<sub>q</sub> Si-*t*Bu), -5.4 (2  $\times$  Si-CH<sub>3</sub>).

### 5.3.5 Synthese des Glucosaminosylakzeptorbausteins

#### 5.3.5.1 2-Desoxy-2-*N*-phthalimido-1,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranose (36)



Es wurden 1.60 g (69.6 mmol, 1.0 Äquiv.) Natriummetall unter Eiskühlung vorsichtig über einen Zeitraum von einer Stunde in 70 mL Methanol gelöst und diese frisch bereitete 1 M Natriummethanolatlösung anschließend bei 0 °C zu 15.0 g (69.6 mmol, 1.0 Äquiv.) D-Glucosamin Hydrochlorid getropft. Zu dieser Suspension wurden anschließend 6.20 g (41.8 mmol, 0.6 Äquiv.) Phthalsäureanhydrid gegeben und eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt, bevor im Anschluss 10.6 mL (76.6 mmol, 1.1 Äquiv.) Triethylamin, sowie weitere 6.20 g (41.8 mmol, 0.6 Äquiv.) Phthalsäureanhydrid zugegeben wurden. Nach 24 h bei Raumtemperatur wurde der Reaktionskolben 4 h bei -32 °C gelagert und der farblose präzipitierte Feststoff filtriert, der Filterkuchen anschließend mit kaltem Methanol (2 × 100 mL) gewaschen und dieser schließlich an Luft getrocknet. Der erhaltene Feststoff wurde in 300 mL absolutem Pyridin suspendiert, bevor 200 mg 4-*N,N*-Dimethylaminopyridin (DMAP) und 150 mL Essigsäureanhydrid unter Eiskühlung zugegeben wurden. Es wurde weitere 24 h gerührt, bevor überschüssiges Essigsäureanhydrid mit 100 mL Ethanol vernichtet wurde und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt wurde. Der Rückstand wurde in 200 mL Dichlormethan aufgenommen und die organische Phase sukzessive mit einer 1 M Salzsäure (2 × 70 mL), einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung (2 × 100 mL) und Wasser (1 × 150 mL) gewaschen, bevor mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt wurde. Der Rückstand wurde flashchromatographisch an Kieselgel (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH = 100:1→50:1) gereinigt.

**Ausbeute:** 23.9 g (50.1 mmol, 72%), farbloser amorpher Feststoff.

$R_f = 0.54$  (<sup>c</sup>Hex/EtOAc = 1:1).

**ESI-MS** (positiv), *m/z*: 495.1609 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, ber.: 495.1609.

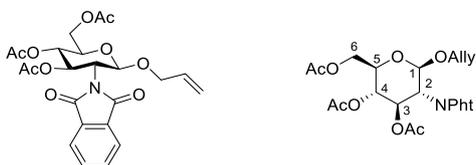
$[\alpha]_D^{21} = +61.5$  (*c* = 1, CHCl<sub>3</sub>).

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, HSQC, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  [ppm] = 7.82 (dd, *J* = 5.6 Hz, *J* = 3.0 Hz, 2H, H<sub>Ar</sub>-Pht), 7.71 (dd, *J* = 5.5 Hz, *J* = 3.0 Hz, 2H, H<sub>Ar</sub>-Pht), 6.46 (d, *J*<sub>H1,H2</sub> = 8.9 Hz, 1H, H-1), 5.83 (dd, *J*<sub>H3,H2</sub> = 10.6 Hz, *J*<sub>H3,H4</sub> = 9.1 Hz, 1H, H-3), 5.16 (dd, *J*<sub>H4,H5</sub> = 10.2 Hz, *J*<sub>H4,H3</sub> = 9.1 Hz, 1H, H-4), 4.41 (dd, *J*<sub>H2,H3</sub> = 10.6 Hz, *J*<sub>H2,H1</sub> = 8.9 Hz, 1H, H-2), 4.32 (dd, *J*<sub>H6a,H6b</sub> = 12.5 Hz, *J*<sub>H6a,H5</sub> = 4.4 Hz, 1H, H-6<sub>a</sub>), 4.09 (dd, *J*<sub>H6b,H6a</sub> = 12.5 Hz, *J*<sub>H6b,H5</sub> = 2.1 Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>), 3.98 (ddd, *J*<sub>H5,H4</sub> = 10.2 Hz, *J*<sub>H5,H6a</sub> = 4.4 Hz, *J*<sub>H5,H6b</sub> = 2.2 Hz, 1H, H-5), 2.06, 1.99, 1.98, 1.94, 1.81 (5 × s, 15H, -OAc).

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  [ppm] = 171.1, 170.6, 170.0, 169.5 (4 × C=O-OAc), 168.6, 167.4 (C=O-Pht), 134.6, 134.5, 134.5, 131.2, 123.8, 123.7 (6 × C<sub>Ar</sub>), 89.8 (C-1), 72.6 (C-5), 70.5 (C-3), 68.3 (C-4), 61.5 (C-6), 53.5 (C-2), 20.8, 20.7, 20.6, 20.4 (4 × CH<sub>3</sub>-OAc).

Weitere analytische Daten siehe Literatur.<sup>257</sup>

### 5.3.5.2 Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3,4,6-tri-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranose (37)



#### Variante A:

Es wurden 21.3 g (44.6 mmol, 1 Äquiv.) 2-Desoxy-2-*N*-phthalimido-1,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranose (**36**) und 12.8 mL (187 mmol, 4.2 Äquiv.) Allylalkohol unter einer Argonatmosphäre in 200 mL absolutem Dichlormethan vorgelegt und auf 0 °C gekühlt. Zu dieser Lösung wurden vorsichtig 12.8 mL (110 mmol, 2.5 Äquiv.) Zinn(IV)-chlorid getropft und 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde mit 100 mL Dichlormethan verdünnt und die organische Phase sukzessive mit Wasser (3  $\times$  200 mL), einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung (2  $\times$  100 mL) und einer gesättigten Natriumchloridlösung (1  $\times$  200 mL) gewaschen, bevor die organische Phase mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt wurde. Das Rohprodukt wurde flashchromatographisch an Kieselgel (<sup>c</sup>Hex/EtOAc = 1:1) gereinigt.

**Ausbeute:** 15.8 g (33.2 mmol, 75%), farbloser amorpher Feststoff.

#### Variante B:<sup>258</sup>

Es wurden 4.46 g (9.34 mmol, 1 Äquiv.) 2-Desoxy-2-*N*-phthalimido-1,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranose und 2.70 mL (39.4 mmol, 4.2 Äquiv.) Allylalkohol unter einer Argonatmosphäre in 100 mL absolutem Dichlormethan vorgelegt und auf 0 °C gekühlt. Zu dieser Lösung wurden 4.00 g frisch aktivierter Molekularsieb 4 Å gegeben und 30 min gerührt, bevor vorsichtig 2.27 g (14.0 mmol, 1.5 Äquiv.) wasserfreies Eisen(III)-chlorid zugegeben wurden und die Reaktionslösung 1.5 h unter langsamen Erwärmen auf Raumtemperatur gerührt wurde. Nach beendeter Reaktion wurde mit 100 mL Dichlormethan verdünnt und die organische Phase sukzessive mit 1 M Salzsäure (4  $\times$  200 mL), Wasser (2  $\times$  100 mL) und einer gesättigten Natriumchloridlösung (1  $\times$  200 mL) gewaschen, bevor mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt wurde. Das Rohprodukt wurde flashchromatographisch an Kieselgel (<sup>c</sup>Hex/EtOAc = 1:1) gereinigt.

**Ausbeute:** 3.15 g (6.63 mmol, 71%), farbloser Feststoff.

$R_f$  = 0.55 (<sup>c</sup>Hex/EtOAc = 1:1).

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 493.1815  $[M+NH_4]^+$ , ber.: 493.1817.

$[\alpha]_D^{21} = +41.2$  ( $c = 0.25$ ,  $CHCl_3$ ).

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, HSQC, CDCl<sub>3</sub>), δ [ppm] = 7.86 – 7.82 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>-Pht), 7.73 (dd, *J* = 5.5 Hz, *J* = 3.1 Hz, 2H, H<sub>Ar</sub>-Pht), 5.78 (dd, *J*<sub>H<sub>3</sub>,H<sub>2</sub></sub> = 10.7 Hz, *J*<sub>H<sub>3</sub>,H<sub>4</sub></sub> = 9.1 Hz, 1H, H-3), 5.70 (dddd, <sup>3</sup>*J* = 17.2 Hz, <sup>3</sup>*J* = 10.3 Hz, <sup>3</sup>*J* = 6.4 Hz, <sup>3</sup>*J* = 5.1 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.39 (d, *J*<sub>H<sub>1</sub>,H<sub>2</sub></sub> = 8.5 Hz, 1H, H-1), 5.16 (dd, *J*<sub>H<sub>4</sub>,H<sub>5</sub></sub> = 10.2 Hz, *J*<sub>H<sub>4</sub>,H<sub>3</sub></sub> = 9.1 Hz, 1H, H-4), 5.12 (dq, <sup>3</sup>*J* = 17.2 Hz, <sup>2</sup>*J* = 1.6 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 5.05 (ddt, <sup>3</sup>*J* = 10.4 Hz, <sup>2</sup>*J* = 1.6 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.2 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 4.33 (dd, *J*<sub>H<sub>2</sub>,H<sub>3</sub></sub> = 10.7 Hz, *J*<sub>H<sub>2</sub>,H<sub>1</sub></sub> = 8.5 Hz, 1H, H-2), 4.33 – 4.29 (m, 1H, H-6<sub>a</sub>), 4.26 (dddd, <sup>2</sup>*J* = 12.9 Hz, <sup>3</sup>*J* = 5.2 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.7 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.4 Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4.16 (dd, *J*<sub>H<sub>6b</sub>,H<sub>6a</sub></sub> = 12.3 Hz, *J*<sub>H<sub>6b</sub>,H<sub>5</sub></sub> = 2.4 Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>), 4.04 (ddt, <sup>2</sup>*J* = 12.9 Hz, <sup>3</sup>*J* = 6.4 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.3 Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 3.85 (ddd, *J*<sub>H<sub>5</sub>,H<sub>4</sub></sub> = 10.2 Hz, *J*<sub>H<sub>5</sub>,H<sub>6a</sub></sub> = 4.7 Hz, *J*<sub>H<sub>5</sub>,H<sub>6b</sub></sub> = 2.4 Hz, 1H, H-5), 2.10, 2.01, 1.84 (3 × s, 9H, -OAc).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ [ppm] = 170.9, 170.3, 169.6 (3 × C=O-OAc, 2 × C=O-Pht), 134.4 (C<sub>Ar</sub>), 133.3 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 131.5, 123.7 (5 × C<sub>Ar</sub>), 118.0 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 97.2 (C-1), 71.9 (C-5), 70.9 (C-3), 70.3 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 69.1 (C-4), 62.1 (C-6), 54.7 (C-2), 20.9, 20.8, 20.6 (3 × CH<sub>3</sub>-OAc).

Weitere analytische Daten siehe Literatur.<sup>258</sup>

### 5.3.5.3 Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-4,6-di-*O*-benzyliden-β-D-glucopyranose (38)



Zu einer Lösung aus 15.8 g (33.2 mmol, 1 Äquiv.) Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-β-D-glucopyranose (**37**) in 200 mL Methanol wurden 359 mg (6.64 mmol, 0.2 Äquiv.) Natriummethanolat gegeben und 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde mit verdünnter Essigsäure neutralisiert, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand mit Toluol (2 × 20 mL) kodestilliert. Letztlich wurde das Rohprodukt eingefroren und über Nacht an der Lyophylle getrocknet.

ESI-MS(positiv), *m/z*: 367.1501 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, ber.: 367.1500.

(negativ), *m/z*: 348.1091 [M-H]<sup>-</sup>, ber.: 348.1089.

Anschließend wurde der Rückstand zusammen mit 6.40 mL (33.2 mmol, 1 Äquiv.) Benzaldehyddimethylacetal in 150 mL absolutem *N,N'*-Dimethylformamid unter Argon aufgenommen, bevor 100 mg *p*-Toluolsulfonsäure Monohydrat zugegeben wurden. Die Reaktionslösung wurde 4 h auf 70 °C erhitzt, bevor nach beendeter Reaktion mit 10 mL Triethylamin neutralisiert, und die Lösung unter verminderten Druck eingeeengt wurde. Das Rohprodukt wurde schließlich in 200 mL Ethylacetat aufgenommen, die organische Phase sukzessive mit 1 M Salzsäure (1 × 70 mL), mit einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung (2 × 70 mL) und einer gesättigten Natriumchloridlösung (1 × 100 mL) gewaschen und mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet wurde. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das Rohprodukt flashchromatographisch an Kieselgel (°Hex/EtOAc = 1:1) gereinigt.

**Ausbeute:** 11.8 g (26.9 mmol, 81%), farbloser amorpher Feststoff.

$R_f = 0.18$  ( $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc} = 4:1$ ).

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 455.1816  $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ , ber.: 455.1813.

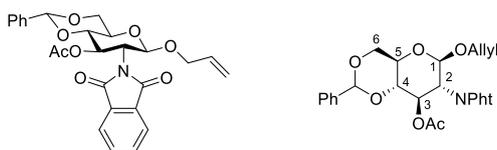
$[\alpha]_D^{20} = -32.4$  ( $c = 0.5$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz, HSQC,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 7.85 (dd,  $J = 5.5$  Hz,  $J = 3.0$  Hz, 2H,  $\text{H}_{\text{Ar-Pht}}$ ), 7.72 (dd,  $J = 5.5$  Hz,  $J = 3.0$  Hz, 2H,  $\text{H}_{\text{Ar-Pht}}$ ), 7.53 – 7.48 (m, 2H,  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 7.43 – 7.34 (m, 3H, H), 5.69 (dddd,  $^3J = 17.2$  Hz,  $^3J = 10.4$  Hz,  $^3J = 6.2$  Hz,  $^3J = 5.0$  Hz, 1H,  $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5.57 (s, 1H,  $\text{CH}_{\text{Benzyliden}}$ ), 5.30 (d,  $J_{\text{H1,H2}} = 8.5$  Hz, 1H, H-1), 5.14 (dq,  $^3J = 17.2$  Hz,  $^2J = 1.6$  Hz, 1H,  $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_{\text{cis}}\text{H}_{\text{trans}}$ ), 5.05 (dq,  $^3J = 10.4$  Hz,  $^2J = 1.4$  Hz, 1H,  $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_{\text{cis}}\text{H}_{\text{trans}}$ ), 4.68 – 4.59 (m, 1H, H-3), 4.39 (dd,  $J_{\text{H6a,H6b}} = 10.5$  Hz,  $J_{\text{H6a,H5}} = 4.4$  Hz, 1H, H-6<sub>a</sub>), 4.33 – 4.23 (m, 1H,  $-\text{CH}_2\text{H}_b\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 4.28 (dd,  $J_{\text{H2,H3}} = 10.6$  Hz,  $J_{\text{H2,H1}} = 8.5$  Hz, 1H, H-2), 4.03 (ddt,  $^2J = 13.0$  Hz,  $^3J = 6.2$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1H,  $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 3.88 – 3.80 (m, 1H, H-6<sub>b</sub>), 3.67 – 3.56 (m, 2H, H-4, H-5), 2.57 (d,  $J_{\text{OH,H3}} = 3.2$  Hz, 1H, -OH).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 168.3, 168.2 ( $2 \times \text{C}=\text{O-Pht}$ ), 137.1 ( $\text{C}_q$ ), 134.3 ( $4 \times \text{C}_{\text{Ar}}$ ), 133.4 ( $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 131.8, 129.5, 128.5, 126.4, 123.6 ( $5 \times \text{C}_{\text{Ar}}$ ), 117.8 ( $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 102.1 ( $\text{CH}_{\text{Benzyliden}}$ ), 98.1 (C-1), 82.4 (C-4), 70.3 ( $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 68.8 (C-6), 68.7 (C-3), 66.2 (C-5), 56.7 (C-2).

Weitere analytische Daten siehe Literatur.<sup>259</sup>

### 5.3.5.4 Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4,6-di-*O*-benzyliden- $\beta$ -D-glucopyranose (39)



Zu einer auf 0 °C gekühlten Lösung von 11.8 g (26.9 mmol, 1 Äquiv.) Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-4,6-di-*O*-benzyliden- $\beta$ -D-glucopyranose (**38**) in 100 mL Pyridin wurden 30 mL Essigsäureanhydrid gegeben und 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt, mit Toluol ( $3 \times 20$  mL) kodestilliert und das Rohprodukt flashchromatographisch an Kieselgel ( $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc} = 1:1$ ) gereinigt.

**Ausbeute:** 11.2 g (23.3 mmol, 87%), farbloser amorpher Feststoff.

$R_f = 0.36$  ( $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc} = 2:1$ ).

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 497.1916  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , ber.: 497.1918.

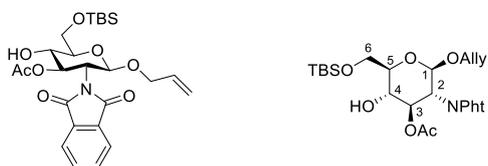
$$[\alpha]_D^{21} = -10.3 \text{ (} c = 1, \text{CHCl}_3\text{)}.$$

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, HSQC, HMBC, COSY, CDCl<sub>3</sub>), δ [ppm] = 7.94 – 7.80 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>-Pht), 7.73 (dd, *J* = 5.6 Hz, *J* = 3.0 Hz, 2H, H<sub>Ar</sub>-Pht), 7.50 – 7.42 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>), 7.40 – 7.31 (m, 3H, H<sub>Ar</sub>), 5.90 (dd, *J*<sub>H3,H2</sub> = 10.3 Hz, *J*<sub>H3,H4</sub> = 8.8 Hz, 1H, H-3), 5.70 (dddd, <sup>3</sup>*J* = 17.3 Hz, <sup>3</sup>*J* = 10.4 Hz, <sup>3</sup>*J* = 6.2 Hz, <sup>3</sup>*J* = 5.1 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.54 (s, 1H, CH<sub>Benzyliden</sub>), 5.48 (d, *J*<sub>H1,H2</sub> = 8.4 Hz, 1H, H-1), 5.14 (dq, <sup>3</sup>*J* = 17.2 Hz, <sup>2</sup>*J* = 1.6 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 5.05 (dq, <sup>3</sup>*J* = 10.4 Hz, <sup>2</sup>*J* = 1.4 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 4.42 (dd, *J*<sub>H6a,H6b</sub> = 10.4 Hz, *J*<sub>H6a,H5</sub> = 4.5 Hz, 1H, H-6<sub>a</sub>), 4.33 (dd, *J*<sub>H2,H3</sub> = 10.3 Hz, *J*<sub>H2,H1</sub> = 8.4 Hz, 1H, H-2), 4.31 – 4.25 (m, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4.05 (ddt, <sup>2</sup>*J* = 13.0 Hz, <sup>3</sup>*J* = 6.2 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.3 Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 3.91 – 3.79 (m, 1H, H-6<sub>b</sub>), 3.79 – 3.71 (m, 2H, H-4, H-5), 1.89 (s, 3H, -OAc).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ [ppm] = 170.3, 168.1, 167.7 (C=O-OAc, 2 × C=O-Pht), 137.0 (C<sub>q</sub>), 134.4 (C<sub>Ar</sub>), 133.3 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 129.3, 128.4, 126.4, 123.7 (8 × C<sub>Ar</sub>), 117.9 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 101.8 (CH<sub>Benzyliden</sub>), 97.9 (C-1), 79.4 (C-5), 70.5 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 69.9 (C-3), 68.8 (C-6), 66.3 (C-4), 55.5 (C-2), 20.7 (CH<sub>3</sub>-OAc).

Weitere analytische Daten siehe Literatur.<sup>260</sup>

### 5.3.5.5 Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-β-D-glucopyranose (21)



Es wurden 7.34 g (15.3 mmol, 1.0 Äquiv.) Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4,6-di-*O*-benzyliden-β-D-glucopyranose (39) in 200 ml 80%iger Essigsäure gelöst und 6 h auf 60 °C erhitzt. Nach vollständigem Umsatz wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand mit Toluol (3 × 20 mL) kodestilliert. Das Rohprodukt konnte ohne weitere Reinigung im nächsten Schritt verwendet werden.

ESI-MS (positiv), *m/z*: 409.1604 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, ber.: 409.1605.

Anschließend wurde das Rohprodukt unter Argonatmosphäre bei 0 °C in 100 ml absolutem *N,N'*-Dimethylformamid aufgenommen und 2.08 g (30.6 mmol, 2.0 Äquiv.) Imidazol, sowie 2.53 g (16.8 mmol, 1.1 Äquiv.) *tert*-Butyldimethylsilylchlorid zugegeben. Die Reaktionslösung wurde unter langsamen Erwärmen auf Raumtemperatur 12 h gerührt, bevor nach vollständigem Umsatz das Lösungsmittel im Vakuum entfernt wurde. Der Rückstand wurde flashchromatographisch an Kieselgel (°Hex/EtOAc = 3:1) gereinigt.

**Ausbeute:** 6.88 g (13.6 mmol, 89%), farbloses Öl.

**R<sub>f</sub>** = 0.45 (°Hex/EtOAc = 2:1).

ESI-MS (positiv),  $m/z$ : 523.2468  $[M+NH_4]^+$ , ber.: 523.2470.

$[\alpha]_D^{20} = -34.0$  ( $c = 1$ ,  $CHCl_3$ ).

$^1H$ -NMR (600 MHz, HSQC, COSY, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$  [ppm] = 7.93 – 7.90 (m, 2H,  $H_{Ar}$ -Pht), 7.89 – 7.86 (m, 2H,  $H_{Ar}$ -Pht), 5.69 (dddd,  $^3J = 17.2$  Hz,  $^3J = 10.7$  Hz,  $^3J = 6.0$  Hz,  $^3J = 4.9$  Hz, 1H,  $-CH_2CH=CH_2$ ), 5.43 (dd,  $J_{H3,H2} = 10.7$  Hz,  $J_{H3,H4} = 8.7$  Hz, 1H, H-3), 5.26 (d,  $J_{H1,H2} = 8.4$  Hz, 1H, H-1), 5.04 (dq,  $^3J = 17.3$  Hz,  $^2J = 1.7$  Hz, 1H,  $-CH_2CH=CH_{cis}H_{trans}$ ), 5.00 (dq,  $^3J = 10.5$  Hz,  $^2J = 1.5$  Hz, 1H,  $-CH_2CH=CH_{cis}H_{trans}$ ), 4.18 (ddt,  $^2J = 13.4$  Hz,  $^3J = 5.0$  Hz,  $^4J = 1.6$  Hz, 1H,  $-CH_aH_bCH=CH_2$ ), 4.00 (ddt,  $^2J = 13.5$  Hz,  $^3J = 6.0$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1H,  $-CH_aH_bCH=CH_2$ ), 3.94 – 3.90 (m, 2H, H-6<sub>a</sub>, H-2), 3.80 (dd,  $J_{H6b,H6a} = 11.4$  Hz,  $J_{H6b,H5} = 5.0$  Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>), 3.50 (dd,  $J_{H4,H5} = 9.7$  Hz,  $J_{H4,H3} = 8.7$  Hz, 1H, H-4), 3.43 (ddd,  $J_{H5,H4} = 9.9$  Hz,  $J_{H5,H6b} = 5.1$  Hz,  $J_{H5,H6a} = 1.9$  Hz, 1H, H-5), 1.83 (s, 3H, -OAc), 0.90 (s, 9H, Si-*t*Bu), 0.09, 0.08 ( $2 \times$  s, 6H, Si- $CH_3$ ).

$^{13}C$ -NMR (150 MHz, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$  [ppm] = 169.9, 167.4, 167.2 ( $2 \times$  C=O-Pht,  $1 \times$  C=O-OAc), 135.1, 134.9 ( $2 \times$   $C_{Ar}$ ), 134.0 ( $-CH_2CH=CH_2$ ), 130.8, 130.5 ( $2 \times$   $C_q$ ), 123.6, 123.4 ( $2 \times$   $C_{Ar}$ ), 116.9 ( $-CH_2CH=CH_2$ ), 96.3 (C-1), 76.5 (C-5), 73.4 (C-3), 68.8 ( $-CH_2CH=CH_2$ ), 67.9 (C-4), 62.2 (C-6), 54.6 (C-2), 25.8 (Si-*t*Bu), 20.4 ( $CH_3$ -OAc), 18.1 ( $C_q$ -*t*Bu), -5.1, -5.2 ( $2 \times$  Si- $CH_3$ ).

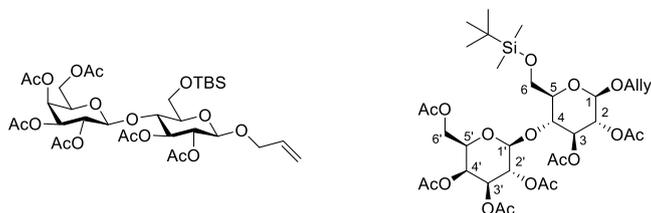
$^1H$ -NMR (400 MHz, HSQC, COSY, HMBC,  $CDCl_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 7.86 – 7.82 (m, 2H,  $H_{Ar}$ -Pht), 7.73 – 7.69 (m, 2H,  $H_{Ar}$ -Pht), 5.71 (dddd,  $^3J = 17.3$  Hz,  $^3J = 10.4$  Hz,  $^3J = 6.2$  Hz,  $^3J = 5.1$  Hz, 1H,  $-CH_2CH=CH_2$ ), 5.26 (d,  $J_{H1,H2} = 8.4$  Hz, 1H, H-1), 5.12 (dq,  $^3J = 17.3$  Hz,  $^2J = 1.6$  Hz, 1H,  $-CH_2CH=CH_{cis}H_{trans}$ ), 5.04 (dq,  $^3J = 10.4$  Hz,  $^2J = 1.4$  Hz, 1H,  $-CH_2CH=CH_{cis}H_{trans}$ ), 4.37 (dd,  $J_{H3,H2} = 10.9$  Hz,  $J_{H3,H4} = 8.5$  Hz, 1H, H-3), 4.24 (ddt,  $^2J = 13.0$  Hz,  $^3J = 5.1$  Hz,  $^4J = 1.6$  Hz, 1H,  $-CH_aH_bCH=CH_2$ ), 4.15 (dd,  $J_{H2,H3} = 10.9$  Hz,  $J_{H2,H1} = 8.4$  Hz, 1H, H-2), 4.05 – 3.98 (m, 2H,  $-CH_aH_bCH=CH_2$ , H-6<sub>a</sub>), 3.88 (dd,  $J_{H6b,H6a} = 10.3$  Hz,  $J_{H6b,H5} = 6.7$  Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>), 3.63 (dd,  $J_{H4,H5} = 9.3$  Hz,  $J_{H4,H3} = 8.5$  Hz, 1H, H-4), 3.53 (ddd,  $J_{H5,H4} = 9.4$  Hz,  $J_{H5,H6b} = 6.7$  Hz,  $J_{H5,H6a} = 4.9$  Hz, 1H, H-5), 1.42 (s, 3H, -OAc), 0.92 (s, 9H, Si-*t*Bu), 0.13, 0.12 ( $2 \times$  s, 6H, Si- $CH_3$ ).

$^{13}C$ -NMR (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  [ppm] = 168.4 ( $2 \times$  C=O-Pht,  $1 \times$  C=O-OAc), 134.2 ( $2 \times$   $C_{Ar}$ ), 133.8 ( $-CH_2CH=CH_2$ ), 131.9 ( $2 \times$   $C_q$ ), 123.6 ( $2 \times$   $C_{Ar}$ ), 117.5 ( $-CH_2CH=CH_2$ ), 97.4 (C-1), 75.6 (C-4), 73.6 (C-5), 71.8 (C-3), 69.9 ( $-CH_2CH=CH_2$ ), 65.3 (C-6), 56.2 (C-2), 27.1 ( $CH_3$ -OAc), 26.0 (Si-*t*Bu), 18.4 ( $C_q$ -*t*Bu), -5.4 ( $2 \times$  Si- $CH_3$ ).

Weitere analytische Daten siehe Literatur.<sup>261</sup>

## 5.4 Synthesen der Disaccharidfragmente

### 5.4.1.1 Allyl-2,3-di-*O*-acetyl-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- $\beta$ -D-glucopyranosid (44)



Es wurden 892 mg (2.13 mmol, 1.0 Äquiv.) Allyl-2,3-di-*O*-acetyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- $\beta$ -D-glucopyranosid (**20**) und 1.57 g (3.19 mmol, 1.5 Äquiv.) 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-galactopyranosyl trichloroacetimidat (**17**) unter einer Argonatmosphäre in 50 mL absolutem Dichlormethan aufgenommen und mit 2.00 g frisch aktiviertem Molekularsieb 4 Å versetzt. Es wurde 1 h bei Raumtemperatur gerührt, bevor mit einer Trockeneis/Aceton Kältemischung auf  $-78$  °C gekühlt wurde. Anschließend wurden 65  $\mu$ L (362  $\mu$ mol, 17 mol%) Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (TMSOTf) in der Kälte zugegeben und die Reaktionslösung langsam über einen Zeitraum von 1 h auf Raumtemperatur erwärmt. Nach vollständigem Umsatz wurde mit 50 mL Dichlormethan verdünnt, über Hyflo<sup>®</sup> filtriert und das Filtrat mit einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung (1  $\times$  50 mL) gewaschen, bevor schließlich mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet wurde. Im Anschluss wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt flashchromatographisch an Kieselgel ( $^{\circ}$ Hex/EtOAc = 2:1) gereinigt.

**Ausbeute:** 2.78 g (3.71 mmol, 82%); farbloser Feststoff.

$R_f$  = 0.21 ( $^{\circ}$ Hex/EtOAc = 2:1).

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 766.3304 [ $M+NH_4$ ]<sup>+</sup>, ber.: 766.3312.

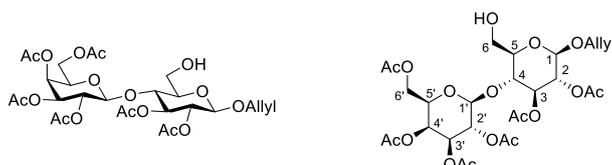
$[\alpha]_D^{21} = -5.8$  ( $c = 1$ ,  $CHCl_3$ ).

**RP-HPLC:**  $R_t = 10.9$  min, Luna C18,  $\lambda = 214$  nm, Gradient: MeCN:H<sub>2</sub>O (70:30)  $\rightarrow$  (100:0) in 15 min.

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, HSQC, HMBC, COSY, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  [ppm] = 5.82 (dddd,  $^3J = 16.6$  Hz,  $^3J = 10.6$  Hz,  $^3J = 6.1$  Hz,  $^3J = 5.0$  Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.33 (dt,  $J_{H4',H3'} = 3.6$  Hz,  $J_{H4',H5'} = 1.2$  Hz, 1H, H-4'), 5.22 (dt,  $^3J = 17.2$  Hz,  $^2J = 1.5$  Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 5.18 – 5.10 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>, H-3), 5.09 – 5.03 (m, 1H, H-2'), 4.91 (dd,  $J_{H3',H2'} = 10.5$  Hz,  $J_{H3',H4'} = 3.5$  Hz, 1H, H-3'), 4.87 (dd,  $J_{H2,H3} = 9.5$  Hz,  $J_{H2,H1} = 8.0$  Hz, 1H, H-2), 4.65 (d,  $J_{H1',H2'} = 8.0$  Hz, 1H, H-1'), 4.47 (d,  $J_{H1,H2} = 8.0$  Hz, 1H, H-1), 4.25 (ddd,  $^2J = 13.3$  Hz,  $^3J = 4.9$  Hz,  $^4J = 1.6$  Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4.11 – 4.07 (m, 2H, H-6<sub>a/b</sub>'), 4.05 (ddd,  $^2J = 13.3$  Hz,  $^3J = 5.4$  Hz,  $^4J = 1.5$  Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 3.93 – 3.84 (m, 2H, H-4, H-6<sub>a</sub>), 3.84 – 3.77 (m, 3H, H-6<sub>b</sub>, H-5'), 3.32 – 3.26 (m, 1H, H-5), 2.13, 2.04, 2.02, 1.95 (4  $\times$  s, 18H, -OAc), 0.91 (s, 9H, Si-*t*Bu), 0.09, 0.08 (2  $\times$  s, 6H, Si-CH<sub>3</sub>).

$^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 170.5, 170.3, 170.2, 169.8, 169.0 ( $6 \times \text{C}=\text{O}-\text{OAc}$ ), 133.8 ( $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 117.3 ( $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 100.5 (C-1'), 99.5 (C-1), 75.4 (H-5), 74.4 (C-4), 73.0 (C-3), 71.8 (C-2), 71.3 (C-3'), 70.8 (C-5'), 69.6 ( $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 69.4 (C-2'), 67.0 (C-4'), 61.2 (C-6'), 61.0 (C-6), 26.0 (Si-*t*Bu), 21.0, 20.9, 20.8, 20.8, 20.7 ( $6 \times \text{CH}_3-\text{OAc}$ ), 18.4 (C-*t*Bu), -4.9, -5.2 ( $2 \times \text{Si}-\text{CH}_3$ ).

#### 5.4.1.2 Allyl-2,3-di-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (45)



Es wurden 2.53 g (3.38 mmol, 1.0 Äquiv.) Allyl-2,3-di-*O*-acetyl-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- $\beta$ -D-glucopyranosid (**44**) in 50 mL 80%iger Essigsäure aufgenommen und 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde im Vakuum eingengt und der Rückstand in 50 mL Dichlormethan aufgenommen und sukzessive mit 1 M Salzsäure ( $1 \times 40$  mL), einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung ( $1 \times 40$  mL) und Wasser ( $1 \times 70$  mL) gewaschen. Die organische Phase wurde mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt flashchromatographisch an Kieselgel ( $^c\text{Hex}/\text{EtOAc} = 2:1$ ) gereinigt.

**Ausbeute:** 1.97 g (3.11 mmol, 92%); farbloser Feststoff.

$R_f = 0.24$  ( $^c\text{Hex}/\text{EtOAc} = 1:1$ ).

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 652.2456 [ $\text{M}+\text{NH}_4$ ] $^+$ , ber.: 652.2447.

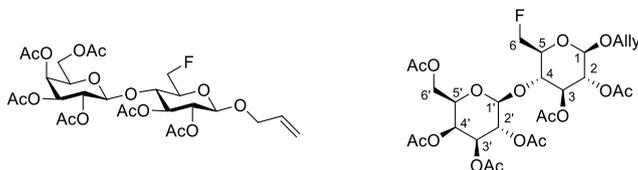
**RP-HPLC:**  $R_t = 4.21$  min, Luna C18,  $\lambda = 214$  nm, Gradient:  $\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}$  (70:30)  $\rightarrow$  (100:0) in 15 min.

$^1\text{H-NMR}$  (800 MHz, HSQC, HMBC, COSY,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 5.83 (dddd,  $^3J = 17.2$  Hz,  $^3J = 10.7$  Hz,  $^3J = 6.0$  Hz,  $^3J = 5.0$  Hz, 1H,  $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5.34 (dd,  $J_{\text{H}4',\text{H}3'} = 3.5$  Hz,  $J_{\text{H}4',\text{H}5'} = 1.2$  Hz, 1H, H-4'), 5.26 (dq,  $^3J = 17.3$  Hz,  $^2J = 1.6$  Hz, 1H,  $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_{\text{cis}}\text{H}_{\text{trans}}$ ), 5.21 – 5.18 (m, 2H,  $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_{\text{cis}}\text{H}_{\text{trans}}$ , H-3), 5.10 (dd,  $J_{\text{H}2',\text{H}3'} = 10.4$  Hz,  $J_{\text{H}2',\text{H}1'} = 7.9$  Hz, 1H, H-2'), 4.98 (dd,  $J_{\text{H}3',\text{H}2'} = 10.4$  Hz,  $J_{\text{H}3',\text{H}4'} = 3.5$  Hz, 1H, H-3'), 4.90 (dd,  $J_{\text{H}2,\text{H}3} = 9.7$  Hz,  $J_{\text{H}2,\text{H}1} = 8.0$  Hz, 1H, H-2), 4.60 (d,  $J_{\text{H}1',\text{H}2'} = 8.0$  Hz, 1H, H-1'), 4.55 (d,  $J_{\text{H}1,\text{H}2} = 8.0$  Hz, 1H, H-1), 4.30 (ddt,  $^2J = 13.2$  Hz,  $^3J = 5.0$  Hz,  $^4J = 1.6$  Hz, 1H,  $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 4.13 – 4.06 (m, 3H, H-6 $_{a/b}$ ',  $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 3.93 (t,  $J_{\text{H}4,\text{H}3} = J_{\text{H}4,\text{H}5} = 9.5$  Hz, 1H, H-4), 3.91 – 3.88 (m, 2H, H-5', H-6 $_a$ ), 3.74 (ddd,  $J_{\text{H}6b,\text{H}6a} = 12.5$  Hz,  $J_{\text{H}6b,\text{H}5} = 3.1$  Hz, 1H, H-6 $_b$ ), 3.39 (ddd,  $J_{\text{H}5,\text{H}4} = 9.8$  Hz,  $J_{\text{H}5,\text{H}6b} = 3.0$  Hz,  $J_{\text{H}5,\text{H}6a} = 2.1$  Hz, 1H, H-5), 2.14, 2.05, 2.05, 2.04, 1.96 ( $5 \times \text{s}$ , 18H, -OAc).

$^{13}\text{C-NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 170.5, 170.3, 170.2, 170.0, 169.8, 169.3 ( $6 \times \text{C}=\text{O}-\text{OAc}$ ), 133.5 ( $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 117.8 ( $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 101.1 (C-1'), 99.8 (C-1), 75.0 (C-4, C-5), 73.1 (C-3), 71.8 (C-2), 71.1

(C-3'), 70.7 (C-5'), 70.4 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 69.4 (C-2'), 66.9 (C-4'), 61.0 (C-6), 60.5 (C-6'), 21.0, 20.9, 20.8, 20.7 (6 × CH<sub>3</sub>-OAc).

#### 5.4.1.3 Allyl-2,3-di-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-6-desoxy-6-fluor-β-D-glucopyranosid (10)



Es wurden zu einer auf 0 °C gekühlten Lösung von 1.24 g (1.95 mmol, 1.0 Äquiv.) Allyl-2,3-di-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-β-D-glucopyranosid (**45**) und 515 μL (3.90 mmol, 2 Äquiv.) 2,4,6-Collidin in 70 mL absolutem Dichlormethan unter Argon, vorsichtig 515 μL (3.90 mmol, 2 Äquiv.) Diethylaminoschwefeltrifluorid (DAST) zugetropft und langsam auf Raumtemperatur erwärmt, bevor für weitere 3 h unter Rückfluss erhitzt wurde. Nach vollständigem Umsatz wurde die organische Phase sukzessive mit einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung (2 × 40 mL), einer gesättigten Natriumchloridlösung (1 × 40 mL) und Wasser (2 × 40 mL) gewaschen, bevor mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet wurde. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt flashchromatographisch an Kieselgel (cHex/EtOAc = 3:1) gereinigt.

**Ausbeute:** 1.03 g (1.62 mmol, 83%); farbloser Feststoff.

**R<sub>f</sub>** = 0.49 (cHex/EtOAc = 1:1).

**ESI-MS** (positiv), *m/z*: 654.2399 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, ber.: 654.2404.

[α]<sub>D</sub><sup>24</sup> = -24.1 (*c* = 1, CHCl<sub>3</sub>).

**RP-HPLC:** R<sub>t</sub> = 20.3 min, Luna C18, λ = 214 nm, Gradient: MeCN:H<sub>2</sub>O (10:90) → (100:0) in 30 min.

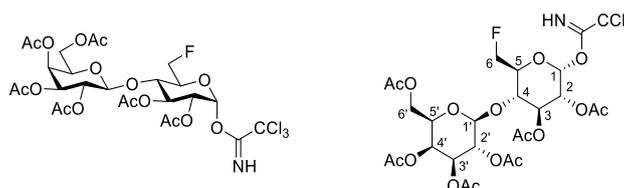
**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, HSQC, HMBC, COSY, CDCl<sub>3</sub>), δ [ppm] = 5.88 – 5.77 (m, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.33 (dd, *J*<sub>H4',H3'</sub> = 3.4 Hz, *J*<sub>H4',H5'</sub> = 1.3 Hz, 1H, H-4'), 5.27 – 5.16 (m, 3H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>, H-3), 5.11 (dd, *J*<sub>H2',H3'</sub> = 10.4 Hz, *J*<sub>H2',H1'</sub> = 7.9 Hz, 1H, H-2'), 4.97 (dd, *J*<sub>H3',H2'</sub> = 10.5 Hz, *J*<sub>H3',H4'</sub> = 3.4 Hz, 1H, H-3'), 4.90 (dd, *J*<sub>H2,H3</sub> = 9.4 Hz, *J*<sub>H2,H1</sub> = 7.8 Hz, 1H, H-2), 4.69 – 4.54 (m, 2H, H-6<sub>a/b</sub>), 4.57 (d, *J*<sub>H1',H2'</sub> = 8.0 Hz, 1H, H-1'), 4.53 (d, *J*<sub>H1,H2</sub> = 7.8 Hz, 1H, H-1), 4.31 (ddt, <sup>2</sup>*J* = 13.2 Hz, <sup>3</sup>*J* = 4.9 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.6 Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4.14 – 4.03 (m, 3H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>, H-6<sub>a/b'</sub>), 3.92 (t, *J*<sub>H4,H3</sub> = *J*<sub>H4,H5</sub> = 9.5 Hz, 1H, H-4), 3.88 (ddd, *J*<sub>H5',H6a'</sub> = 7.6 Hz, *J*<sub>H5',H6b'</sub> = 6.4 Hz, *J*<sub>H5',H4'</sub> = 1.3 Hz, 1H, H-5'), 3.49 (dddd, *J*<sub>H5,F</sub> = 28.6 Hz, *J*<sub>H5,H4</sub> = 10.0 Hz, *J*<sub>H5,H6a</sub> = 2.9 Hz, *J*<sub>H5,H6b</sub> = 1.5 Hz, 1H, H-5), 2.13, 2.04, 2.03, 2.02, 1.95 (5 × s, 18H, -OAc).

**<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ [ppm] = 170.5, 170.2, 170.1, 169.8, 169.7, 169.3 (6 × C=O-OAc), 133.4 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 117.7 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 101.1 (C-1'), 99.5 (C-1), 80.9 (d, *J*<sub>C6,F</sub> = 174.4 Hz, C-6), 74.8 (d, *J*<sub>C4,F</sub> =

6.2 Hz, C-4), 73.6 (d,  $J_{C_5,F} = 18.7$  Hz, C-5), 73.4 (C-3), 71.8 (C-2), 71.0 (C-3'), 70.8 (C-5'), 70.0 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 69.4 (C-2'), 66.8 (C-4'), 60.9 (C-6'), 20.9, 20.8, 20.7, 20.6 (6 × CH<sub>3</sub>-OAc).

<sup>19</sup>F-NMR (282 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  [ppm] = -233.88 (td,  $J_{F,H_6} = 47.3$  Hz,  $J_{F,H_5} = 28.5$  Hz).

#### 5.4.1.4 2,3-Di-*O*-acetyl-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-desoxy-6-fluor- $\beta$ -D-glucopyranosyl Trichloracetimidat (41)



Es wurden 807 mg (1.27 mmol, 1.0 Äquiv.) Allyl-2,3-di-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-desoxy-6-fluor- $\beta$ -D-glucopyranosid (**10**) in 30 mL absoluter Essigsäure aufgenommen und unter Argonatmosphäre 441 mg (381  $\mu$ mol, 0.3 Äquiv.) Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> zugegeben und auf 60 °C für 3 h erhitzt. Anschließend wurde die Reaktion über Hyflo<sup>®</sup> filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in 70 mL Ethylacetat aufgenommen und sukzessive mit einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung (2 × 70 mL) und Wasser (1 × 70 mL) gewaschen, bevor mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet wurde und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt wurde. Das Rohprodukt wurde flashchromatographisch an Kieselgel (<sup>c</sup>Hex/EtOAc = 1:1) gereinigt und als Anomerengemisch erhalten.

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 614.2092 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, ber.: 614.2091.

Das zuvor bereitgestellte Hemiacetal wurde anschließend in 25 mL absolutem Dichlormethan unter einer Argonatmosphäre gelöst, mit 13.0  $\mu$ L (87.1  $\mu$ mol, 6.9 mol%) 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) versetzt und auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurden 500  $\mu$ L (5.00 mmol, 3.94 Äquiv.) Trichloracetonitril zugetropft und die Reaktionslösung 12 h gerührt. Nach vollständigem Umsatz wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand flashchromatographisch an Kieselgel (<sup>c</sup>Hex/EtOAc = 3:1) gereinigt.

**Ausbeute:** 649 mg (876  $\mu$ mol, 69% über zwei Stufen); charakteristisch leicht gelblicher Feststoff. Das Produkt wurde als reines  $\alpha$ -Anomer erhalten.

$R_f = 0.58$  (<sup>c</sup>Hex/EtOAc = 1:1).

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 757.1191 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, ber.: 757.1187.

$[\alpha]_D^{25} = +38.4$  ( $c = 1$ , CHCl<sub>3</sub>).

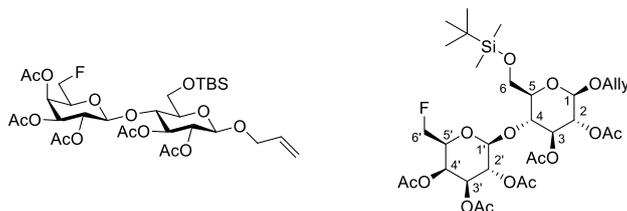
**RP-HPLC:**  $R_t = 9.38$  min, Luna C18,  $\lambda = 214$  nm, Gradient: MeCN:H<sub>2</sub>O (5:95)  $\rightarrow$  (100:0) in 30 min.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, HSQC, HMBC, COSY, CDCl<sub>3</sub>), δ [ppm] = 8.66 (s, 1H, NH), 6.50 (d,  $J_{H1,H2} = 3.7$  Hz, 1H, H-1), 5.59 (t,  $J_{H3,H2} = J_{H3,H4} = 9.6$  Hz, 1H, H-3), 5.33 (dd,  $J_{H4',H3'} = 3.5$  Hz,  $J_{H4',H5'} = 1.2$  Hz, 1H, H-4'), 5.13 (dd,  $J_{H2',H3'} = 10.4$  Hz,  $J_{H2',H1'} = 7.8$  Hz, 1H, H-2'), 5.02 (dd,  $J_{H2,H3} = 10.2$  Hz,  $J_{H2,H1} = 3.7$  Hz, 1H, H-2), 4.98 (dd,  $J_{H3',H2'} = 10.4$ ,  $J_{H3',H4'} = 3.4$  Hz, 1H, H-3'), 4.69 – 4.66 (m, 1H, H-6<sub>a</sub>), 4.63 (d,  $J_{H1',H2'} = 7.9$  Hz, 1H, H-1'), 4.58 – 4.54 (m, 1H, H-6<sub>b</sub>), 4.13 (dd,  $J_{H6a',H6b'} = 13.4$  Hz,  $J_{H6a',H5'} = 6.8$  Hz, 1H, H-6<sub>a</sub>'), 4.10 (dd,  $J_{H6b',H6a'} = 14.7$  Hz,  $J_{H6b',H5'} = 6.8$  Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>'), 4.02 – 3.97 (m, 1H, H-4, H-5), 3.90 (dd,  $J_{H5',H6a'} = J_{H5',H6b'} = 6.4$  Hz,  $J_{H5',H4'} = 1.2$  Hz, 1H, H-5'), 2.14, 2.07, 2.05, 2.02, 1.98, 1.95 (6 × s, 18H, -OAc).

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ [ppm] = 170.5, 170.2, 170.1, 169.4, 169.3 (6 × C=O-OAc), 161.07 (C=NH(CCl<sub>3</sub>)), 101.2 (C-1'), 93.2 (C-1), 90.8 (-CCl<sub>3</sub>), 80.5 (d,  $J_{C6,F} = 174.5$  Hz, C-6), 74.4 (d,  $J_{C4,F} = 6.2$  Hz, C-4), 72.0 (d,  $J_{C5,F} = 18.4$  Hz, C-5), 71.2 (C-3'), 70.9 (C-5'), 70.1 (C-2, C-3), 69.4 (C-2'), 66.8 (C-4'), 60.9 (C-6'), 20.9, 20.8, 20.7, 20.6 (6 × CH<sub>3</sub>-OAc).

**<sup>19</sup>F-NMR** (375 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ [ppm] = -235.08 (td,  $J_{F,H6a} = 47.6$  Hz,  $J_{F,H6b} = 47.1$  Hz,  $J_{F,H5} = 31.7$  Hz).

#### 5.4.1.5 Allyl-2,3-di-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4'-tri-*O*-acetyl-6'-desoxy-6'-fluor-β-D-galactopyranosyl)-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-β-D-glucopyranosid (46)



Es wurden 1.07 g (2.55 mmol, 1 Äquiv.) Allyl-2,3-di-*O*-acetyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-β-D-glucopyranosid (**20**) und 1.73 g (3.82 mmol, 1.5 Äquiv.) 2,3,4-Tri-*O*-acetyl-6-desoxy-6-fluor-α-D-galactopyranosyl trichloroacetimidat (**18**) vorgelegt und anschließend mit absolutem Toluol (2 × 40 mL) sowie absolutem Dichlormethan (2 × 30 mL) kodestilliert. Der Rückstand wurde unter einer Argonatmosphäre in 50 mL absolutem Dichlormethan aufgenommen und mit 2.50 g frisch aktiviertem Molekularsieb 4 Å versetzt. Es wurde 1 h bei Raumtemperatur gerührt, bevor mit einer Trockeneis/Aceton Kältemischung auf -78 °C gekühlt wurde. Anschließend wurden 78.0 μL (432 μmol, 17 mol%) Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (TMSOTf) in der Kälte zugegeben und die Reaktionslösung langsam über einen Zeitraum von 1 h auf Raumtemperatur erwärmt. Nach beendeter Reaktion wurde mit 50 mL Dichlormethan verdünnt, über Hyflo<sup>®</sup> filtriert und das Filtrat mit einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung (1 × 50 mL) gewaschen, bevor schließlich mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet wurde. Im Anschluss wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt flashchromatographisch an Kieselgel (°Hex/EtOAc = 2:1) gereinigt.

**Ausbeute:** 1.36 g (1.91 mmol, 75%); farbloser Feststoff.

**R<sub>f</sub>** = 0.36 (°Hex/EtOAc = 2:1).

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 726.3156  $[M+NH_4]^+$ , ber.: 726.3163.

$[\alpha]_D^{24} = -8.7$  ( $c = 1$ ,  $CHCl_3$ ).

**RP-HPLC**:  $R_f = 9.38$  min, Luna C18,  $\lambda = 214$  nm, Gradient: MeCN:H<sub>2</sub>O (5:95)  $\rightarrow$  (100:0) in 30 min.

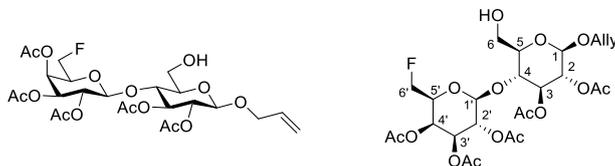
$R_f = 3.90$  min, Luna C18,  $\lambda = 214$  nm, Gradient: MeCN:H<sub>2</sub>O (70:30)  $\rightarrow$  (100:0) in 15 min.

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, HSQC, HMBC, COSY, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  [ppm] = 5.83 (dddd,  $^3J = 17.0$  Hz,  $^3J = 10.8$  Hz,  $^3J = 6.1$  Hz,  $^3J = 4.9$  Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.40 (dd,  $J_{H4',H3'} = 3.6$  Hz,  $J_{H4',H5'} = 1.5$  Hz, 1H, H-4'), 5.23 (dd,  $^3J = 17.3$  Hz,  $^2J = 1.6$ , 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 5.19 – 5.13 (m, 2H, H-3, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 5.12 – 5.06 (m, 1H, H-2'), 4.93 (dd,  $J_{H3',H2'} = 10.4$  Hz,  $J_{H3',H4'} = 3.4$  Hz, 1H, H-3'), 4.88 (dd,  $J_{H2,H3} = 9.7$  Hz,  $J_{H2,H1} = 8.0$  Hz, 1H, H-2), 4.66 (d,  $J_{H1',H2'} = 8.0$  Hz, 1H, H-1'), 4.47 (d,  $J_{H1,H2} = 8.1$  Hz, 1H, H-1), 4.50 – 4.30 (m, 2H, H-6<sub>a/b</sub>'), 4.26 (ddt,  $^2J = 13.3$  Hz,  $^3J = 4.8$  Hz,  $^4J = 1.6$  Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4.05 (ddt,  $^2J = 13.4$  Hz,  $^3J = 6.1$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 3.94 – 3.85 (m, 2H, H-4, H-6<sub>a</sub>), 3.85 – 3.78 (m, 2H, H-5', H-6<sub>b</sub>), 3.30 (ddd,  $J_{H5,H4} = 9.9$  Hz,  $J_{H5,H6a} = 3.2$  Hz,  $J_{H5,H6b} = 1.6$  Hz, 1H, H-5), 2.34, 2.14, 2.02, 2.02, 1.96 (5  $\times$  s, 15H, -OAc), 0.91 (s, 9H, Si-*t*Bu), 0.10, 0.09 (2  $\times$  s, 6H, Si-CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  [ppm] = 170.2, 170.1, 169.8, 169.0 (5  $\times$  C=O-OAc), 133.8 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 117.3 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 100.7 (C-1'), 99.4 (C-1), 80.6 (d,  $J_{C6',F} = 173.0$  Hz, C-6'), 75.5 (C-5), 74.9 (C-4), 73.0 (C-3), 71.8 (C-2), 71.5 (d,  $J_{C5',F} = 23.5$  Hz, C-5'), 71.2 (C-3'), 69.5 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 69.3 (C-2'), 67.1 (d,  $J_{C4',F} = 6.3$  Hz, C-4'), 61.1 (C-6), 26.0 (Si-*t*Bu), 21.6, 20.9, 20.8, 20.7, 20.6 (5  $\times$  CH<sub>3</sub>-OAc), 18.4 (C<sub>q</sub>-*t*Bu), -4.9, -5.2 (2  $\times$  Si-CH<sub>3</sub>).

**<sup>19</sup>F-NMR** (282 MHz CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  [ppm] = -230.9 (td,  $J_{F,H6'} = 46.6$  Hz,  $J_{F,H5'} = 12.5$  Hz).

#### 5.4.1.6 Allyl-2,3-di-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4'-tri-*O*-acetyl-6'-desoxy-6'-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (47)



Es wurden 1.21 g (1.71 mmol, 1.0 Äquiv.) Allyl-2,3-Di-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4'-tri-*O*-acetyl-6'-desoxy-6'-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- $\beta$ -D-glucopyranosid (**46**) in 50 mL wässriger Essigsäure (80%) aufgenommen und 6 h bei 60 °C gerührt. Nach vollständigem Umsatz wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand mit Toluol (2  $\times$  20 mL) kdestilliert. Das Rohprodukt wurde flashchromatographisch an Kieselgel ( $^c$ Hex/EtOAc = 2:1) gereinigt.

**Ausbeute:** 934 mg (1.57 mmol, 92%); farbloser Feststoff.

$R_f = 0.18$  ( $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc} = 1:1$ ).

ESI-MS (positiv),  $m/z$ : 612.2304  $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ , ber.: 612.2298.

$[\alpha]_D^{24} = -19.4$  ( $c = 1$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

RP-HPLC:  $R_t = 9.21$  min, Luna C18,  $\lambda = 214$  nm, Gradient: MeCN:H<sub>2</sub>O (5:95)  $\rightarrow$  (100:0) in 30 min.

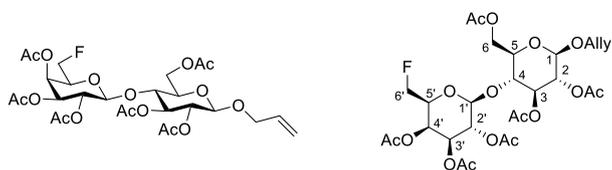
$R_t = 3.91$  min, Luna C18,  $\lambda = 214$  nm, Gradient: MeCN:H<sub>2</sub>O (70:30)  $\rightarrow$  (100:0) in 15 min.

$^1\text{H-NMR}$  (800 MHz, HSQC, HMBC, COSY,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 5.83 (dddd,  $^3J = 17.2$  Hz,  $^3J = 10.7$  Hz,  $^3J = 5.9$  Hz,  $^3J = 5.0$  Hz, 1H,  $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5.40 (dd,  $J_{\text{H}4',\text{H}3'} = 3.5$  Hz,  $J_{\text{H}4',\text{H}5'} = 1.2$  Hz, 1H, H-4'), 5.26 (dq,  $^3J = 17.3$  Hz,  $^2J = 1.7$  Hz, 1H,  $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_{\text{cis}}\text{H}_{\text{trans}}$ ), 5.22 – 5.19 (m, 2H, H-3,  $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_{\text{cis}}\text{H}_{\text{trans}}$ ), 5.12 (dd,  $J_{\text{H}2',\text{H}3'} = 10.4$  Hz,  $J_{\text{H}2',\text{H}1'} = 7.9$  Hz, 1H, H-2'), 5.00 (dd,  $J_{\text{H}3',\text{H}2'} = 10.4$  Hz,  $J_{\text{H}3',\text{H}4'} = 3.5$  Hz, 1H, H-3'), 4.90 (dd,  $J_{\text{H}2,\text{H}3} = 9.7$  Hz,  $J_{\text{H}2,\text{H}1} = 8.0$  Hz, 1H, H-2), 4.62 (d,  $J_{\text{H}1',\text{H}2'} = 8.0$  Hz, 1H, H-1'), 4.55 (d,  $J_{\text{H}1,\text{H}2} = 8.0$  Hz, 1H, H-1), 4.46 (dd,  $J_{\text{H}6a',\text{H}6b'} = 9.7$  Hz,  $J_{\text{H}6a',\text{H}5'} = 6.3$  Hz, 1H, H-6a'), 4.43 – 4.39 (m, 1H), 4.36 (dd,  $J_{\text{H}6b',\text{H}6a'} = 9.7$  Hz,  $J_{\text{H}6b',\text{H}5'} = 5.2$  Hz, 1H, H-6b'), 4.30 (ddt,  $^2J = 13.2$  Hz,  $^3J = 5.0$  Hz,  $^4J = 1.6$  Hz, 1H,  $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 4.08 (ddt,  $^2J = 13.2$  Hz,  $^3J = 6.0$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1H,  $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 3.95 (t,  $J_{\text{H}4,\text{H}3} = J_{\text{H}4,\text{H}5} = 9.5$  Hz, 1H, H-4), 3.94 – 3.89 (m, 2H, H-5', H-6a), 3.77 – 3.73 (m, 1H, H-6b), 3.39 (ddd,  $J_{\text{H}5,\text{H}4} = 9.8$  Hz,  $J_{\text{H}6a,\text{H}5} = 3.1$  Hz,  $J_{\text{H}6b,\text{H}5} = 2.1$  Hz, 1H, H-5), 2.14, 2.05, 2.04, 2.02, 1.97 ( $5 \times \text{s}$ , 15H, -OAc).

$^{13}\text{C-NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 170.3, 170.2, 170.1, 169.8, 169.3 ( $5 \times \text{C}=\text{O}-\text{OAc}$ ), 133.5 ( $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 117.8 ( $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 101.3 (C-1'), 99.7 (C-1), 80.8 (d,  $J_{\text{C}6',\text{F}} = 173.0$  Hz, C-6'), 75.4 (C-4), 75.0 (C-5), 73.1 (C-3), 71.8 (C-2), 71.7 (d,  $J_{\text{C}5',\text{F}} = 23.1$  Hz, C-5'), 71.0 (C-3'), 70.4 ( $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 69.4 (C-2'), 67.1 (d,  $J_{\text{C}4',\text{F}} = 6.8$  Hz, C-4'), 60.5 (C-6), 20.9, 20.8, 20.7 ( $5 \times \text{CH}_3-\text{OAc}$ ).

$^{19}\text{F-NMR}$  (376 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] = -230.41 – -230.75 (m).

#### 5.4.1.7 Allyl-2,3,6-tri-*O*-acetyl-4-*O*-(2,3,4-tri-*O*-acetyl-6-desoxy-6-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (9)



Es wurden 503 mg (846  $\mu\text{mol}$ , 1.0 Äquiv.) Allyl-2,3-di-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4'-tri-*O*-acetyl-6'-desoxy-6'-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (**47**) in 30 mL Toluol aufgenommen und mit 6 mL eines Pyridin/Essigsäureanhydrid Gemisches (2:1) versetzt und weitere 12 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde mit 20 mL Toluol verdünnt und die organische Phase sukzessive mit einer 1 M Salzsäure ( $1 \times 50$  mL), einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung ( $1 \times 50$  mL) und Wasser ( $2 \times 50$  mL) gewaschen. Anschließend wurde mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt flashchromatographisch an Kieselgel ( $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc} = 2:1$ ) gereinigt.

**Ausbeute:** 485 mg (761  $\mu\text{mol}$ , 90%); farbloser Feststoff.

$R_f = 0.55$  ( $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc} = 1:1$ ).

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 654.2399  $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ , ber.: 654.2404.

$[\alpha]_D^{24} = -11.8$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

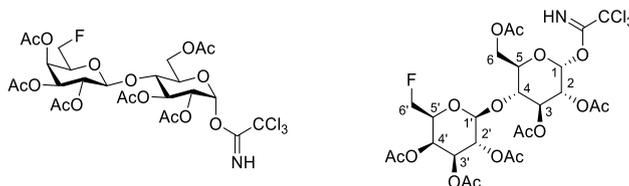
**RP-HPLC:**  $R_t = 20.9$  min, Luna C18,  $\lambda = 214$  nm, Gradient:  $\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}$  (10:90)  $\rightarrow$  (100:0) in 30 min.

**$^1\text{H-NMR}$**  (600 MHz, HSQC, HMBC, COSY,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 5.81 (dddd,  $^3J = 17.3$  Hz,  $^3J = 10.4$  Hz,  $^3J = 6.1$  Hz,  $^3J = 4.9$  Hz, 1H,  $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5.38 (dd,  $J_{\text{H}4',\text{H}3'} = 3.5$  Hz,  $J_{\text{H}4',\text{H}5'} = 1.2$  Hz, 1H, H-4'), 5.23 (dq,  $^3J = 17.3$  Hz,  $^2J = 1.7$  Hz, 1H,  $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_{\text{cis}}\text{H}_{\text{trans}}$ ), 5.18 (t,  $J_{\text{H}3,\text{H}2} = J_{\text{H}3,\text{H}4} = 9.2$  Hz, 1H, H-3), 5.20 – 5.15 (m, 1H,  $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_{\text{cis}}\text{H}_{\text{trans}}$ ), 5.10 (dd,  $J_{\text{H}2',\text{H}3'} = 10.4$  Hz,  $J_{\text{H}2',\text{H}1'} = 7.9$  Hz, 1H, H-2'), 4.95 (dd,  $J_{\text{H}3',\text{H}2'} = 10.4$  Hz,  $J_{\text{H}3',\text{H}4'} = 3.5$  Hz, 1H, H-3'), 4.90 (dd,  $J_{\text{H}2,\text{H}3} = 9.5$  Hz,  $J_{\text{H}2,\text{H}1} = 7.9$  Hz, 1H, H-2), 4.50 (d,  $J_{\text{H}1,\text{H}2} = 7.9$  Hz, 1H, H-1), 4.49 (d,  $J_{\text{H}1',\text{H}2'} = 7.9$  Hz, 1H, H-1'), 4.47 (dd,  $J_{\text{H}6a,\text{H}6b} = 12.0$  Hz,  $J_{\text{H}6a,\text{H}5} = 2.1$  Hz, 1H, H-6<sub>a</sub>), 4.44 (dd,  $J_{\text{H}6a',\text{H}6b'} = 12.1$  Hz,  $J_{\text{H}6a',\text{H}5'} = 5.6$  Hz, 1H, H-6<sub>a'</sub>), 4.36 (dd,  $J_{\text{H}6b',\text{H}6a'} = 11.2$  Hz,  $J_{\text{H}6b',\text{H}5'} = 5.6$  Hz, 1H, H-6<sub>b'</sub>), 4.28 (ddt,  $^2J = 13.2$  Hz,  $^3J = 4.9$  Hz,  $^4J = 1.6$  Hz, 1H,  $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 4.12 – 4.07 (m, 1H, H-6<sub>b</sub>), 4.05 (ddt,  $^2J = 13.3$  Hz,  $^3J = 6.2$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1H,  $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 3.89 (dddd,  $J_{\text{H}5',\text{F}} = 12.8$  Hz,  $J_{\text{H}5',\text{H}6a'} = 6.3$  Hz,  $J_{\text{H}5',\text{H}6b'} = 5.0$  Hz,  $J_{\text{H}5',\text{H}4'} = 1.3$  Hz, 1H, H-5'), 3.81 (dd,  $J_{\text{H}4,\text{H}5} = 9.9$  Hz,  $J_{\text{H}4,\text{H}3} = 9.0$  Hz, 1H, H-4), 3.58 (ddd,  $J_{\text{H}5,\text{H}4} = 9.9$  Hz,  $J_{\text{H}5,\text{H}6b} = 5.1$  Hz,  $J_{\text{H}5,\text{H}6a} = 2.1$  Hz, 1H, H-5), 2.13, 2.10, 2.03, 2.02, 2.01, 1.94 ( $6 \times s$ , 18H,  $\text{CH}_3\text{-OAc}$ ).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 170.5, 170.2, 170.1, 170.0, 169.7, 169.2 ( $6 \times \text{C}=\text{O}-\text{OAc}$ ), 133.5 ( $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 117.7 ( $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 101.3 (C-1'), 99.4 (C-1), 80.8 (d,  $J_{\text{C}6',\text{F}} = 172.9$  Hz, H-6'), 76.8 (C-4), 73.0 (C-3), 72.7 (C-5), 71.9 (d,  $J_{\text{C}5',\text{F}} = 24.5$  Hz, C-5'), 71.8 (C-2), 71.0 (C-3'), 70.1 ( $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ , C-3'), 69.2 (C-2'), 67.0 (C-4'), 62.1 (C-6), 21.0, 20.8, 20.7, 20.6 ( $6 \times \text{CH}_3\text{-OAc}$ ).

**$^{19}\text{F-NMR}$**  (282 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] =  $-230.06$  (td,  $J_{\text{H}6',\text{F}} = 46.6$  Hz,  $J_{\text{H}5',\text{F}} = 12.9$  Hz).

#### 5.4.1.8 2,3,6-Tri-*O*-acetyl-4-*O*-(2,3,4-tri-*O*-acetyl-6-desoxy-6-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\alpha$ -D-glucopyranosyl Trichloracetimidat (40)



Es wurden 463 mg (727  $\mu\text{mol}$ , 1.0 Äquiv.) Allyl-2,3,6-Tri-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4'-tri-*O*-acetyl-6'-desoxy-6'-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (**9**) in 30 mL absoluter Essigsäure aufgenommen und mit 252 mg (218  $\mu\text{mol}$ , 0.3 Äquiv.)  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  versetzt. Anschließend wurde 3 h auf 60  $^{\circ}\text{C}$  erhitzt, bevor nach vollständigem Umsatz über Hyflo<sup>®</sup> filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt wurde. Anschließend wurde der Rückstand in 40 mL Ethylacetat aufgenommen und mit einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung

(2 × 50 mL) und Wasser (1 × 50 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde flashchromatographisch an Kieselgel (<sup>c</sup>Hex/EtOAc = 1:1) gereinigt.

**ESI-MS** (positiv), *m/z*: 614.2092 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, ber.: 614.2090.

Der zuvor bereitgestellte Hemiacetalbaustein wurde in 20 mL absolutem Dichlormethan vorgelegt und 7.26 μL (48.7 μmol, 6.7 mol%) DBU zugegeben. Anschließend wurde auf 0 °C gekühlt und schließlich über einen Zeitraum von 10 min 363 μL (3.63 mmol, 5.0 Äquiv.) Trichloracetonitril zugetropft. Die Reaktion wurde für 6 h bei 0 °C gehalten und schließlich nach vollständigem Umsatz im Vakuum konzentriert. Das Rohprodukt wurde flashchromatographisch an Kieselgel (<sup>c</sup>Hex/EtOAc = 3:1) gereinigt.

**Ausbeute:** 399 mg (538 μmol, 74% über zwei Stufen); charakteristisch leicht gelblicher Feststoff. Das Produkt wurde als reines α-Anomer erhalten.

**R<sub>f</sub>** = 0.51 (<sup>c</sup>Hex/EtOAc = 1:1).

**ESI-MS** (positiv), *m/z*: 757.1193 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, ber.: 757.1187.

**[α]<sub>D</sub><sup>25</sup>** = +56.6 (*c* = 0.5, CHCl<sub>3</sub>).

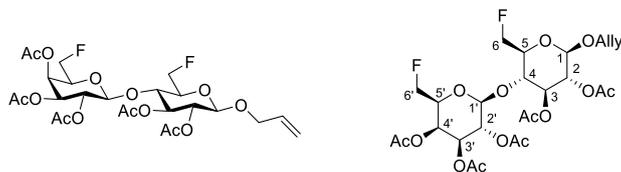
**RP-HPLC:** R<sub>t</sub> = 9.45 min, Luna C18, λ = 214 nm, Gradient: MeCN:H<sub>2</sub>O (5:95) → (100:0) in 30 min.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, HSQC, HMBC, COSY, CDCl<sub>3</sub>), δ [ppm] = 8.65 (s, 1H, NH), 6.48 (d, *J*<sub>H1,H2</sub> = 3.8 Hz, 1H, H-1), 5.57 (dd, *J*<sub>H3,H2</sub> = 10.1 Hz, *J*<sub>H3,H4</sub> = 9.2 Hz, 1H, H-3), 5.39 (dd, *J*<sub>H4',H3'</sub> = 3.5 Hz, *J*<sub>H4',H5'</sub> = 1.2 Hz, 1H, H-4'), 5.15 (dd, *J*<sub>H2',H3'</sub> = 10.4 Hz, *J*<sub>H2',H1'</sub> = 7.9 Hz, 1H, H-2'), 5.06 (dd, *J*<sub>H2,H3</sub> = 10.1 Hz, *J*<sub>H2,H1</sub> = 3.8 Hz, 1H, H-2), 4.96 (dd, *J*<sub>H3',H2'</sub> = 10.4 Hz, *J*<sub>H3',H4'</sub> = 3.5 Hz, 1H, H-3'), 4.54 (d, *J*<sub>H1',H2'</sub> = 7.9 Hz, 1H, H-1'), 4.50 – 4.46 (m, 2H, H-6<sub>a</sub>, H-6<sub>a'</sub>), 4.39 – 4.36 (m, 1H, H-6<sub>b'</sub>), 4.17 – 4.08 (m, 3H, H-5, H-6<sub>b</sub>), 3.96 – 3.89 (m, 1H, H-5'), 3.90 (t, *J*<sub>H4,H3</sub> = *J*<sub>H4,H5</sub> = 9.6 Hz, 1H, H-4), 2.15, 2.11, 2.05, 2.04, 2.00, 1.97 (6 × s, 18H, -OAc).

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ [ppm] = 170.4, 170.2, 169.6, 169.2 (6 × C=O-OAc), 161.1 (C=NH(CCl<sub>3</sub>)), 101.5 (C-1'), 93.0 (C-1), 90.8 (-CCl<sub>3</sub>), 81.0 (d, *J*<sub>C6',F</sub> = 173.3 Hz, C-6'), 76.4 (C-4), 72.1 (d, *J*<sub>C5',F</sub> = 22.7 Hz, C-5'), 71.2 (C-3'), 71.0 (C-5), 70.2 (C-2), 69.7 (C-3), 69.2 (C-2'), 67.1 (d, *J*<sub>C4',F</sub> = 6.2 Hz, C-4'), 61.6 (C-6), 21.0, 20.9, 20.8, 20.6 (6 × CH<sub>3</sub>-OAc).

**<sup>19</sup>F-NMR** (375 MHz CDCl<sub>3</sub>), δ [ppm] = -229.64 (td, *J*<sub>F,H6'</sub> = 46.7 Hz, *J*<sub>F,H5'</sub> = 13.1 Hz).

### 5.4.1.9 Allyl-2,3-di-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4'-tri-*O*-acetyl-6'-desoxy-6'-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-desoxy-6-fluor- $\beta$ -D-glucopyranosid (11)



Es wurden 397 mg (668  $\mu$ mol, 1.00 Äquiv.) Allyl-2,3-di-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4'-tri-*O*-acetyl-6'-desoxy-6'-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (**47**) in 30 mL absolutem Dichlormethan aufgenommen, 177  $\mu$ L (1.34 mmol, 2.0 Äquiv.) 2,4,6-Collidin zugegeben und die Reaktionslösung in einer Argonatmosphäre auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurden vorsichtig 177  $\mu$ L (1.34 mmol, 2.00 Äquiv.) Diethylaminoschwefeltrifluorid (DAST) zugetropft und langsam auf Raumtemperatur erwärmt, bevor für weitere 3 h unter Rückfluss mit aufgesetztem Trockenrohr erhitzt wurde. Nach beendeter Reaktion wurde die organische Phase sukzessive mit einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung (2  $\times$  40 mL), einer gesättigten Natriumchloridlösung (1  $\times$  40 mL) und Wasser (2  $\times$  40 mL) gewaschen, bevor mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet wurde. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt flashchromatographisch an Kieselgel ( $^c$ Hex/EtOAc = 3:1) gereinigt.

**Ausbeute:** 342 mg (574  $\mu$ mol, 86%); farbloser Feststoff.

$R_f$  = 0.49 ( $^c$ Hex/EtOAc = 1:1).

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 614.2250 [ $M+NH_4$ ] $^+$ , ber.: 614.2255.

$[\alpha]_D^{24}$  = -33.2 ( $c$  = 0.25,  $CHCl_3$ ).

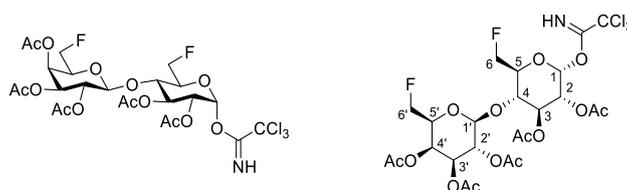
**RP-HPLC:**  $R_t$  = 19.8 min, Luna C18,  $\lambda$  = 214 nm, Gradient: MeCN:H<sub>2</sub>O (5:95)  $\rightarrow$  (100:0).

**$^1H$ -NMR** (600 MHz, HSQC, HMBC, COSY,  $CDCl_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 5.83 (ddt,  $^3J$  = 16.6 Hz,  $^3J$  = 10.8 Hz,  $^3J$  = 5.5 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.40 (d,  $J_{H4',H3'}$  = 3.6 Hz, 1H, H-4'), 5.28 – 5.16 (m, 3H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>, H-3), 5.14 (dd,  $J_{H2',H3'}$  = 10.4 Hz,  $J_{H2',H1'}$  = 7.9 Hz, 1H, H-2'), 4.99 (dd,  $J_{H3',H2'}$  = 10.5 Hz,  $J_{H3',H4'}$  = 3.4 Hz, 1H, H-3'), 4.91 (dd,  $J_{H2,H3}$  = 9.4 Hz,  $J_{H2,H1}$  = 7.8 Hz, 1H, H-2), 4.70 – 4.64 (m, 1H, H-6<sub>a</sub>), 4.59 (d,  $J_{H1',H2'}$  = 7.9 Hz, 1H, H-1'), 4.61 – 4.52 (m, 1H, H-6<sub>b</sub>), 4.54 (d,  $J_{H1,H2}$  = 8.0 Hz, 1H, H-1), 4.48 – 4.34 (m, 2H, H-6<sub>a/b</sub>'), 4.31 (dd,  $^2J$  = 13.4 Hz,  $^3J$  = 5.0 Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4.07 (dd,  $^2J$  = 13.2 Hz,  $^3J$  = 6.2 Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 3.96 – 3.87 (m, 2H, H-4, H-5'), 3.50 (dd,  $J_{H5,F}$  = 28.5 Hz,  $J_{H5,H4}$  = 9.3 Hz, 1H, H-5), 2.14, 2.04, 2.02, 1.96 (4  $\times$  s, 15H, -OAc).

**$^{13}C$ -NMR** (150 MHz,  $CDCl_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 170.2, 170.1, 169.9, 169.7, 169.3 (5  $\times$  C=O-OAc), 133.5 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 117.7 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 101.3 (C-1'), 99.5 (C-1), 80.9 (d,  $J_{C6,F}$  = 174.2 Hz, C-6), 80.7 (d,  $J_{C6,F'}$  = 172.9 Hz, C-6'), 75.3 (d,  $J_{C4,F}$  = 6.3 Hz, C-4), 73.7 (d,  $J_{C5,F}$  = 18.7 Hz, C-5), 73.4 (C-3), 71.9 (C-2), 71.8 (d,  $J_{C5',F}$  = 22.7 Hz, C-5'), 71.0 (C-3'), 70.0 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 69.4 (C-2'), 67.0 (C-4'), 20.8, 20.8, 20.7, 20.6 (5  $\times$  CH<sub>3</sub>-OAc).

$^{19}\text{F}$  NMR (282 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] =  $-230.51$  (td,  $J_{\text{F},\text{H}6'} = 46.6$  Hz,  $J_{\text{F},\text{H}5'} = 12.6$  Hz, F-6'),  $-233.76$  (td,  $J_{\text{F},\text{H}6} = 47.3$  Hz,  $J_{\text{F},\text{H}5} = 28.3$  Hz, F-6).

#### 5.4.1.10 2,3-Di-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4'-tri-*O*-acetyl-6'-desoxy-6'-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-desoxy-6-fluor- $\alpha$ -D-glucopyranosyl Trichloroacetimidat (42)



Zu einer Lösung aus 330 mg (533  $\mu\text{mol}$ , 1.00 Äquiv.) Allyl-2,3-di-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4'-tri-*O*-acetyl-6'-desoxy-6'-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-desoxy-6-fluor- $\beta$ -D-glucopyranosid (**11**) in 20 mL absoluter Essigsäure wurden 185 mg (160  $\mu\text{mol}$ , 0.3 Äquiv.)  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  gegeben und die Reaktionslösung 4 h bei 70 °C gerührt. Anschließend wurde über Hyflo<sup>®</sup> filtriert, und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in 50 mL Ethylacetat aufgenommen und mit einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung (1  $\times$  40 mL) und Wasser (2  $\times$  40 mL) gewaschen. Schließlich wurde die organische Phase mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde flashchromatographisch an Kieselgel ( $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc} = 1:1$ ) gereinigt.

ESI-MS (negativ),  $m/z$ : 601.1590  $[\text{M}+\text{HCOO}]^-$ , ber.: 601.1586.

Das zuvor bereitgestellte Hemiacetal wurde im Anschluss unter einer Argonatmosphäre in 20 mL absolutem Dichlormethan aufgenommen und auf 0 °C gekühlt. Es wurden schließlich sukzessive 7.00  $\mu\text{L}$  (46.9  $\mu\text{mol}$ , 8.8 mol%) 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) und 267  $\mu\text{L}$  (2.67 mmol, 5.0 eq) Trichloroacetonitril zugegeben und weitere 4 h Stunden unter Kühlung gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand flashchromatographisch an Kieselgel ( $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc} = 4:1$ ) gereinigt.

**Ausbeute:** 252 mg (359  $\mu\text{mol}$ , 65% über zwei Stufen), charakteristisch leicht gelblicher Feststoff. Das Produkt wurde als reines  $\alpha$ -Anomer erhalten.

$R_f = 0.64$  ( $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc} = 1:1$ ).

ESI-MS (positiv),  $m/z$ : 717.1045  $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ , ber.: 717.1038.

$[\alpha]_D^{25} = +45.4$  ( $c = 0.5$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

RP-HPLC:  $R_t = 9.43$  min, Luna C18,  $\lambda = 214$  nm, Gradient:  $\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}$  (5:95)  $\rightarrow$  (100:0) in 30 min.

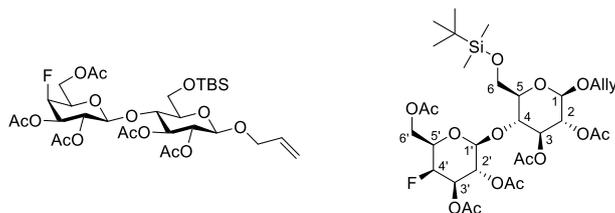
$^1\text{H}$ -NMR (800 MHz, HSQC, HMBC, COSY,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 8.66 (s, 1H, NH), 6.52 (d,  $J_{\text{H}1,\text{H}2} = 3.7$  Hz, 1H, H-1), 5.62 (dd,  $J_{\text{H}3,\text{H}2} = 10.2$  Hz,  $J_{\text{H}3,\text{H}4} = 9.3$  Hz, 1H, H-3), 5.41 (dd,  $J_{\text{H}4',\text{H}3'} = 3.4$  Hz,  $J_{\text{H}4',\text{H}5'} = 1.3$  Hz, 1H, H-4'), 5.18 (dd,  $J_{\text{H}2',\text{H}3'} = 10.4$  Hz,  $J_{\text{H}2',\text{H}1'} = 7.9$  Hz, 1H, H-2'), 5.05 (dd,  $J_{\text{H}2,\text{H}3} = 10.1$  Hz,  $J_{\text{H}2,\text{H}1} = 3.7$  Hz, 1H, H-2), 5.01

(dd,  $J_{H3',H2'} = 10.4$  Hz,  $J_{H3',H4'} = 3.4$  Hz, 1H, H-3'), 4.66 (d,  $J_{H1',H2'} = 7.8$  Hz, 1H, H-1'), 4.70 – 4.58 (m, 2H, H-6<sub>a/b</sub>), 4.45 (ddd,  $J_{H6a',F} = 47.0$  Hz,  $J_{H6a',H6b'} = 9.8$  Hz,  $J_{H6a',H5'} = 6.3$  Hz, 1H, H-6<sub>a'</sub>), 4.42 (ddd,  $J_{H6b',F} = 46.2$  Hz,  $J_{H6b',H6a'} = 9.8$  Hz,  $J_{H6b',H5'} = 5.1$  Hz, 1H, H-6<sub>b'</sub>), 4.06 – 4.00 (m, 1H, H-4), 3.99 – 3.91 (m, 2H, H-5, H-5'), 2.15, 2.06, 2.05, 2.00, 1.98 (5 × s, 15H, -OAc).

<sup>13</sup>C-NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ [ppm] = 170.2, 170.1, 169.5, 169.3 (5 × C=O-OAc), 161.1 (C=NH(CCl<sub>3</sub>)), 101.5 (C-1'), 93.3 (C-1), 90.8 (-CCl<sub>3</sub>), 80.8 (d,  $J_{C6',F} = 173.6$  Hz, C-6'), 80.5 (d,  $J_{C6,F} = 177.5$  Hz, C-6), 74.9 (C-4), 72.1 (d,  $J_{C5,F} = 18.8$  Hz, C-5), 72.0 (d,  $J_{C5',F} = 24.1$  Hz, C-5'), 71.2 (C-3'), 70.2 (C-2), 70.1 (C-3), 69.5 (C-2'), 67.1 (d,  $J_{C4',F} = 6.8$  Hz, C-4'), 26.0, 20.9, 20.8, 20.7, 20.6 (5 × CH<sub>3</sub>-OAc).

<sup>19</sup>F-NMR (375 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ [ppm] = -230.18 (td,  $J_{F,H6'} = 46.6$  Hz,  $J_{F,H5'} = 12.8$  Hz, F-6'), -234.86 – -235.28 (m, F-6).

#### 5.4.1.11 Allyl-2,3-di-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',6'-tri-*O*-acetyl-4'-desoxy-4'-fluor-β-D-galactopyranosyl)-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-β-D-glucopyranosid (**48**)



Eine Lösung aus 1.48 g (3.27 mmol, 1.5 Äquiv) 2,3,6-Tri-*O*-acetyl-4-desoxy-4-fluor-α-D-galactopyranosyl Trichloroacetimidat (**19**) und 912 mg (2.18 mmol, 1.0 Äquiv.) Allyl-2,3-di-*O*-acetyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-β-D-glucopyranosid (**20**) in 20 mL absolutem Dichlormethan wurde in Gegenwart von 2.50 g frisch aktivierten Molsieb 4Å unter Argonatmosphäre auf -78 °C gekühlt und eine Stunde bei dieser Temperatur gerührt. Anschließend wurden 67.0 μL (371 μmol, 17 mol%) Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (TMSOTf) zugetropft, weitere 15 min bei -78 °C gerührt, bevor das Kältebad entfernt wurde und die Reaktionslösung langsam über einen Zeitraum von 30 min auf Raumtemperatur aufgetaut wurde. Nach beendeter Reaktion wurde mit 30 mL Dichlormethan verdünnt, über Hyflo<sup>®</sup> filtriert und die organische Phase mit einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung (1 × 40 mL) gewaschen. Anschließend wurde mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde flashchromatographisch an Kieselgel (°Hex/EtOAc = 3:1) gereinigt.

**Ausbeute:** 1.11 g (1.57 mmol, 72%); farbloser Feststoff.

$R_f = 0.30$  (°Hex/EtOAc = 2:1).

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 726.3164 ([M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, ber.: 726.3163).

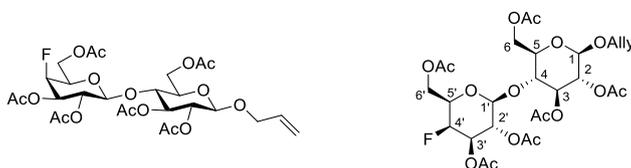
$[\alpha]_D^{24} = -4.6$  (c = 1, CHCl<sub>3</sub>).

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, HSQC, HMBC, COSY, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  [ppm] = 5.87 – 5.77 (m, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.22 (dd, <sup>3</sup>*J* = 17.2 Hz, <sup>2</sup>*J* = 1.7 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 5.18 – 5.09 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>, H-2'), 5.13 (t, *J*<sub>H<sub>3</sub>,H<sub>2</sub></sub> = *J*<sub>H<sub>3</sub>,H<sub>4</sub></sub> = 9.7 Hz, 1H, H-3), 4.90 – 4.84 (m, 2H, H-3', H-2), 4.79 (dd, *J*<sub>H<sub>4</sub>,F</sub> = 50.0 Hz, *J*<sub>H<sub>4</sub>,H<sub>3</sub>'</sub> = *J*<sub>H<sub>4</sub>,H<sub>5</sub>'</sub> = 2.8 Hz, 1H, H-4'), 4.67 (d, *J*<sub>H<sub>1</sub>',H<sub>2</sub>'</sub> = 7.9 Hz, 1H, H-1'), 4.46 (d, *J*<sub>H<sub>1</sub>,H<sub>2</sub></sub> = 8.0 Hz, 1H, H-1), 4.29 (dd, *J*<sub>H<sub>6a</sub>',H<sub>6b</sub>'</sub> = 11.3 Hz, *J*<sub>H<sub>6a</sub>',H<sub>5</sub>'</sub> = 6.7 Hz, 1H, H-6<sub>a</sub>'), 4.27 – 4.20 (m, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4.18 (dd, *J*<sub>H<sub>6b</sub>',H<sub>6a</sub>'</sub> = 11.3 Hz, *J*<sub>H<sub>6b</sub>',H<sub>5</sub>'</sub> = 6.5 Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>'), 4.05 (ddd, *J* = 13.2 Hz, *J* = 6.0 Hz, *J* = 1.6 Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 3.92 – 3.80 (m, 3H, H-4, H-6<sub>a/b</sub>), 3.74 – 3.66 (m, 1H, H-5'), 3.29 (ddd, *J*<sub>H<sub>5</sub>,H<sub>6a</sub></sub> = 9.7 Hz, *J*<sub>H<sub>5</sub>,H<sub>4</sub></sub> = 3.2 Hz, *J*<sub>H<sub>5</sub>,H<sub>6b</sub></sub> = 1.7 Hz, 1H, H-5), 2.10, 2.08, 2.08, 2.07, 2.05, 2.02, 2.01 (7 × s, 15H, -OAc), 0.90 (s, 9H, Si-*t*Bu), 0.09, 0.08 (2 × s, 6H, Si-CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  [ppm] = 170.5, 170.2, 169.8 (5 × C=O-OAc), 133.8 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 117.3 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 100.2 (C-1'), 99.5 (C-1), 85.7 (d, *J*<sub>C<sub>4</sub>',F</sub> = 186.6 Hz, C-4'), 75.4 (C-5), 74.4 (C-4), 72.8 (C-3), 71.8 (d, *J*<sub>C<sub>3</sub>',F</sub> = 18.0 Hz, C-3'), 71.7 (C-2) 71.0 (d, *J*<sub>C<sub>5</sub>',F</sub> = 18.2 Hz, C-5'), 69.6 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 69.3 (C-2'), 61.4 (d, *J*<sub>C<sub>6</sub>',F</sub> = 6.1 Hz, C-6'), 61.0 (C-6), 26.0 (Si-*t*Bu), 20.9, 20.8 (5 × CH<sub>3</sub>-OAc), 18.4 (C<sub>q</sub>-*t*Bu), 15.2, -4.9, -5.2 (2 × Si-CH<sub>3</sub>).

**<sup>19</sup>F-NMR** (375 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  [ppm] = -217.03 (dt, *J*<sub>F,H<sub>4</sub>'</sub> = 50.1 Hz, *J*<sub>F,H<sub>3</sub>'</sub> = *J*<sub>F,H<sub>5</sub>'</sub> = 26.8 Hz).

#### 5.4.1.12 Allyl-2,3,6-tri-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',6'-tri-*O*-acetyl-4'-desoxy-4'-fluor-β-D-galactopyranosyl)-β-D-glucopyranosid (12)



Es wurden 663 mg (935 μmol, 1.0 Äquiv.) Allyl-2,3-di-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',6'-tri-*O*-acetyl-4'-desoxy-4'-fluor-β-D-galactopyranosyl)-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-β-D-glucopyranosid (**48**) in 50 mL 80%iger Essigsäure aufgenommen und 4 h auf 90 °C erhitzt. Nach vollständigem Umsatz wurde die Reaktionslösung im Vakuum konzentriert und der Rückstand mit Toluol kdestilliert (3 × 10 mL).

**ESI-MS** (positiv), *m/z*: 612.2301 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, ber.: 612.2298.

Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung in 30 mL Toluol aufgenommen und mit 6 mL eines Pyridin/Essigsäureanhydrid Gemisches (2:1) versetzt und 12 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde mit 20 mL Toluol verdünnt und die organische Phase sukzessive mit einer 1 M Salzsäure (1 × 50 mL), einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung (1 × 50 mL) und Wasser (2 × 50 mL) gewaschen. Anschließend wurde mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt flashchromatographisch an Kieselgel (Hex/EtOAc = 2:1) gereinigt.

**Ausbeute:** 499 mg (784 μmol, 84%); farbloser Feststoff.

$R_f = 0.20$  ( $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc} = 1:1$ ).

ESI-MS (positiv),  $m/z$ : 654.2405  $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ , ber.: 654.2404.

$[\alpha]_D^{24} = -9.7$  ( $c = 1$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

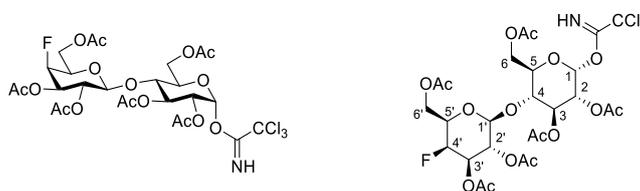
RP-HPLC:  $R_t = 20.5$  min, Luna C18,  $\lambda = 214$  nm, Gradient:  $\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}$  (10:90)  $\rightarrow$  (100:0) in 30 min.

$^1\text{H-NMR}$  (600 MHz, HSQC, HMBC, COSY,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 5.83 (ddt,  $J = 17.2$  Hz,  $J = 11.0$  Hz,  $J = 5.5$  Hz, 2H,  $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5.25 (dq,  $J = 17.3$  Hz,  $J = 1.6$  Hz,  $J = 0.5$  Hz, 1H,  $-\text{CH}_2\text{CHCH}_{\text{cis}}\text{H}_{\text{trans}}$ ), 5.21 – 5.13 (m, 6H, H-3, H-2',  $-\text{CH}_2\text{CHCH}_{\text{cis}}\text{H}_{\text{trans}}$ ), 4.92 (dd,  $J_{\text{H}_2,\text{H}_3} = 9.6$  Hz,  $J_{\text{H}_2,\text{H}_1} = 7.9$  Hz, 1H, H-2), 4.88 (ddd,  $J_{\text{H}_3,\text{F}} = 27.5$  Hz,  $J_{\text{H}_3,\text{H}_2'} = 10.4$  Hz,  $J_{\text{H}_3,\text{H}_4'} = 2.7$  Hz, 1H, H-3'), 4.80 (dd,  $J_{\text{H}_4',\text{F}} = 50.0$  Hz,  $J_{\text{H}_4',\text{H}_3'} = 2.6$  Hz, 3H, H-4'), 4.51 (d,  $J_{\text{H}_1,\text{H}_2} = 7.9$  Hz, 1H, H-1), 4.49 – 4.46 (m, 3H, {4.48 (d,  $J_{\text{H}_1',\text{H}_2'} = 8.3$  Hz, 1H, H-1'), H-6<sub>a</sub>}), 4.35 – 4.29 (m, 1H, H-6<sub>a</sub>'), 4.32 – 4.26 (m, 1H,  $\text{CH}_a\text{H}_b\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 4.17 (dd,  $J_{\text{H}_6b',\text{H}_6a'} = 11.3$  Hz,  $J_{\text{H}_6b',\text{H}_5'} = 7.2$  Hz, 2H, H-6<sub>b</sub>'), 4.10 (dd,  $J_{\text{H}_6b,\text{H}_6a} = 11.9$  Hz,  $J_{\text{H}_6b,\text{H}_5} = 5.3$  Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>), 4.10 – 4.03 (m, 1H,  $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 3.82 – 3.75 (m, 1H, H-4), 3.74 (t,  $J_{\text{H}_5',\text{H}_4'} = J_{\text{H}_5',\text{H}_6b'} = 6.7$  Hz, 1H, H-5'), 3.59 (dd,  $J_{\text{H}_5,\text{H}_4} = J_{\text{H}_5,\text{H}_6a} = 9.9$  Hz,  $J_{\text{H}_5,\text{H}_6b} = 2.1$  Hz, 1H, H-5), 2.11, 2.09, 2.08, 2.04, 2.03 ( $5 \times \text{s}$ , 18H, -OAc).

$^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 170.5, 170.4, 169.9, 169.7, 169.0 ( $6 \times \text{C}=\text{O}-\text{OAc}$ ), 133.5 ( $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 117.8 ( $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 100.9 (C-1'), 99.5 (C-1), 85.5 (d,  $J_{\text{C}_4',\text{F}} = 186.9$  Hz, C-4'), 76.4 (C-4), 72.8 (C-3, C-5), 71.7 (C-2), 71.6 (d,  $J_{\text{C}_3',\text{F}} = 17.6$  Hz, C-3'), 71.0 (d,  $J_{\text{C}_5',\text{F}} = 18.3$  Hz, C-5'), 70.2 ( $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 69.2 (C-2'), 62.2 (C-6), 61.1 (d,  $J_{\text{C}_6',\text{F}} = 7.8$  Hz, C-6'), 21.0, 20.9, 20.8, 20.7 ( $6 \times \text{CH}_3-\text{OAc}$ ).

$^{19}\text{F-NMR}$  (375 MHz  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] = -217.03 (dt,  $J_{\text{F},\text{H}_4'} = 49.8$  Hz,  $J_{\text{F},\text{H}_3'} = J_{\text{F},\text{H}_5'} = 26.6$  Hz).

#### 5.4.1.13 2,3,6-Tri-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',6'-tri-*O*-acetyl-4'-desoxy-4'-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\alpha$ -D-glucopyranosyl Trichloroacetimidat (43)



Es wurden 467 mg (734  $\mu\text{mol}$ , 1.0 Äquiv.) Allyl-2,3,6-tri-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',6'-tri-*O*-acetyl-4'-desoxy-4'-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (**12**) in 25 mL absolutem Eisessig gelöst und mit 254 mg (220  $\mu\text{mol}$ , 0.3 Äquiv.)  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  versetzt und 4 h bei 70  $^{\circ}\text{C}$  gerührt. Nach vollständigem Umsatz wurde über Hyflo<sup>®</sup> filtriert, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand in 40 mL Ethylacetat aufgenommen. Anschließend wurde die organische Phase mit einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung ( $2 \times 30$  mL) gewaschen und mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet. Schließlich wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt flashchromatographisch an Kieselgel ( $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc} = 1:1$ ) gereinigt.

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 614.2096  $[M+NH_4]^+$ , ber.: 614.2091.

(negativ),  $m/z$ : 595.1680  $[M-H]^-$ , ber.: 595.1683.

Das zuvor bereitgestellte Hemiacetal wurde anschließend unter einer Argonatmosphäre in 30 mL absolutem Dichlormethan aufgenommen und mit 11.0  $\mu$ L (73.7  $\mu$ mol, 10 mol%) DBU versetzt. Anschließend wurde auf 0 °C gekühlt und portionsweise 367  $\mu$ L (3.67 mmol, 5 Äquiv.) Trichloracetonitril zugetropft und 6 h bei dieser Temperatur gerührt. Nach vollständigem Umsatz wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand flashchromatographisch an Kieselgel ( $^c$ Hex/EtOAc = 2:1) gereinigt.

**Ausbeute:** 381 mg (514  $\mu$ mol, 70% über zwei Stufen); charakteristisch leicht gelblicher Feststoff. Das Produkt wurde als reines  $\alpha$ -Anomer erhalten.

$R_f$  = 0.64 ( $^c$ Hex/EtOAc = 1:1).

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 757.1199  $[M+NH_4]^+$ , ber.: 757.1187.

$[\alpha]_D^{25}$  = +50.0 ( $c$  = 0.25,  $CHCl_3$ ).

**RP-HPLC:**  $R_t$  = 15.7 min, Luna C18,  $\lambda$  = 214 nm, Gradient: MeCN:H<sub>2</sub>O (5:95)  $\rightarrow$  (100:0) in 30 min.

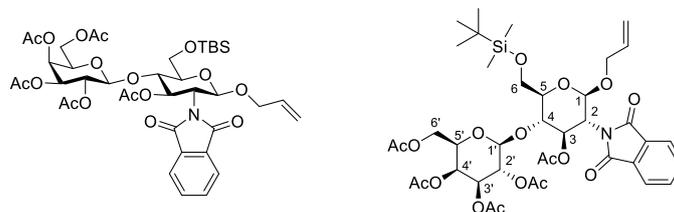
**<sup>1</sup>H-NMR** (800 MHz, HSQC, HMBC, COSY,  $CDCl_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 8.65 (s, 1H, NH), 6.48 (d,  $J_{H1,H2}$  = 3.8 Hz, 1H, H-1), 5.54 (dd,  $J_{H3,H2}$  = 10.2 Hz,  $J_{H3,H4}$  = 9.3 Hz, 1H, H-3), 5.20 – 5.16 (m, 1H, H-2'), 5.06 (dd,  $J_{H2,H3}$  = 10.1 Hz,  $J_{H2,H1}$  = 3.8 Hz, 1H, H-2), 4.90 (ddd,  $J_{H3',F}$  = 27.6 Hz,  $J_{H3',H2'}$  = 10.3 Hz,  $J_{H3',H4'}$  = 2.7 Hz, 1H, H-3'), 4.81 (dd,  $J_{H4',F}$  = 50.1 Hz,  $J_{H4',H3'}$  = 2.7 Hz, 1H, H-4'), 4.52 (d,  $J_{H1',H2'}$  = 7.9 Hz, 1H, H-1'), 4.48 (dd,  $J_{H6a,H6b}$  = 12.0 Hz,  $J_{H6a,H5}$  = 2.0 Hz, 1H, H-6<sub>a</sub>), 4.35 (ddd,  $J_{H6a',H6b'}$  = 11.2 Hz,  $J_{H6a',H5'}$  = 6.1 Hz,  $J_{H6a',F}$  = 1.2 Hz, 1H, H-6<sub>a</sub>'), 4.18 (dd,  $J_{H6b',H6a'}$  = 11.2 Hz,  $J_{H6b',H5'}$  = 7.4 Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>'), 4.15 – 4.09 (m, 3H, H-5, H-6<sub>b</sub>), 3.86 (t,  $J_{H4,H3}$  =  $J_{H4,H5}$  = 9.7 Hz, 1H, H-4), 3.77 (dt,  $J_{H5',F}$  = 25.6 Hz,  $J_{H5',H6a'}$  = 6.6 Hz, 1H, H-5'), 2.11, 2.09, 2.06, 2.05, 2.04, 2.00 (6  $\times$  s, 18H, -OAc).

**<sup>13</sup>C-NMR** (200 MHz,  $CDCl_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 170.5, 170.4, 170.2, 169.6, 169.1 (6  $\times$  C=O-OAc), 161.2 (C=NH( $CCl_3$ )), 101.0 (C-1'), 93.0 (C-1), 90.8 ( $CCl_3$ ), 85.5 (d,  $J_{C4',F}$  = 187.5 Hz, C-4'), 75.9 (C-4), 71.7 (d,  $J_{C3',F}$  = 17.9 Hz, C-3'), 71.1 (C-5), 71.0 (d,  $J_{C5',F}$  = 18.2 Hz, C-5'), 70.1 (C-2), 69.5 (C-3), 69.2 (C-2'), 61.6 (C-6), 61.0 (d,  $J_{C6',F}$  = 6.8 Hz, C-6'), 21.2, 21.0, 20.9, 20.8, 20.7, 20.6 (6  $\times$   $CH_3$ -OAc).

**<sup>19</sup>F NMR** (375 MHz,  $CDCl_3$ ),  $\delta$  [ppm] = -217.01 (dt,  $J_{F,H4'}$  = 50.1,  $J_{F,H3'}$  = 26.5 Hz).

Weitere analytische Daten siehe Literatur.<sup>262</sup>

#### 5.4.1.14 Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- $\beta$ -D-glucopyranosid (49)



Es wurden 1.12 g (2.22 mmol, 1 Äquiv.) Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- $\beta$ -D-glucopyranose (**21**) und 1.64 g (3.33 mmol, 1.5 Äquiv.) 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-galactopyranosyl Trichloracetimidat (**17**) vorgelegt und anschließend mit absolutem Toluol ( $2 \times 40$  mL) sowie absolutem Dichlormethan ( $2 \times 30$  mL) kodestilliert. Der Rückstand wurde unter einer Argonatmosphäre in 50 mL absolutem Dichlormethan aufgenommen und mit 2.50 g frisch aktiviertem Molekularsieb 4 Å versetzt. Es wurde 1 h bei Raumtemperatur gerührt, bevor mit einer Trockeneis/Aceton Kältemischung auf  $-78$  °C gekühlt wurde. Anschließend wurden 68.1  $\mu$ L (377  $\mu$ mol, 17 mol%) Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (TMSOTf) in der Kälte zugegeben und die Reaktionslösung langsam über einen Zeitraum von 1 h auf Raumtemperatur erwärmt. Nach beendeter Reaktion wurde mit 50 mL Dichlormethan verdünnt, über Hyflo<sup>®</sup> filtriert und das Filtrat mit einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung ( $1 \times 50$  mL) gewaschen, bevor schließlich mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet wurde. Im Anschluss wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt flashchromatographisch an Kieselgel ( $^{\circ}$ Hex/EtOAc = 3:1) gereinigt.

**Ausbeute:** 1.66 g (1.98 mmol, 89%); farbloser Feststoff.

$R_f$  = 0.25 ( $^{\circ}$ Hex/EtOAc = 2:1).

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 853.3411 [ $M+NH_4$ ]<sup>+</sup>, ber.: 853.3421.

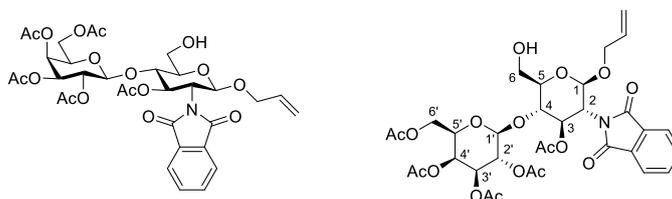
$[\alpha]_D^{24}$  = +25.1 ( $c$  = 1,  $CHCl_3$ ).

**RP-HPLC:**  $R_t$  = 13.0 min, Luna C18,  $\lambda$  = 214 nm, Gradient: MeCN:H<sub>2</sub>O (70:30)  $\rightarrow$  (100:0) in 15 min.

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, HSQC, HMBC, COSY,  $CDCl_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 7.86 – 7.80 (m, 2H,  $H_{Ar}$ -Pht), 7.73 – 7.69 (m, 2H,  $H_{Ar}$ -Pht), 5.76 – 5.67 (m, 1H,  $-CH_2CH=CH_2$ ), 5.69 (dd,  $J_{H_3,H_2}$  = 10.7 Hz,  $J_{H_3,H_4}$  = 8.9 Hz, 1H, H-3), 5.35 (d,  $J_{H_1,H_2}$  = 8.5 Hz, 1H, H-1), 5.33 (d,  $J_{H_4',H_3}$  = 3.6 Hz, 1H, H-4'), 5.13 – 5.02 (m, 3H,  $-CH_2CH=CH_2$ , H-2'), 4.93 (dd,  $J_{H_3',H_2'}$  = 10.4 Hz,  $J_{H_3',H_4'}$  = 3.5 Hz, 1H, H-3'), 4.71 (d,  $J_{H_1',H_2'}$  = 8.0 Hz, 1H, H-1'), 4.21 (ddt,  $^2J$  = 13.0 Hz,  $^3J$  = 5.1 Hz,  $^4J$  = 1.5 Hz, 1H,  $-CH_aH_bCH=CH_2$ ), 4.16 (dd,  $J_{H_2,H_3}$  = 10.7 Hz,  $J_{H_2,H_1}$  = 8.4 Hz, 1H, H-2), 4.11 – 4.04 (m, 2H, H-6<sub>a/b</sub>'), 4.02 (ddt,  $^2J$  = 13.0 Hz,  $^3J$  = 6.3 Hz,  $^4J$  = 1.4 Hz, 1H,  $-CH_aH_bCH=CH_2$ ), 3.96 (dd,  $J_{H_4,H_5}$  = 9.9 Hz,  $J_{H_4,H_3}$  = 9.0 Hz, 1H, H-4), 3.92 (dd,  $J_{H_6a,H_6b}$  = 11.6 Hz,  $J_{H_6a,H_5}$  = 1.6 Hz, 1H, H-6<sub>a</sub>), 3.87 (dd,  $J_{H_6b,H_6a}$  = 11.6 Hz,  $J_{H_6b,H_5}$  = 3.1 Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>), 3.82 (td,  $J_{H_5',H_6a'}$  = 6.8 Hz,  $J_{H_5',H_6b}$  = 1.3 Hz, 1H, H-5'), 3.49 (ddd,  $J_{H_5,H_4}$  = 9.9 Hz,  $J_{H_5,H_6b}$  = 3.1 Hz,  $J_{H_5,H_6a}$  = 1.6 Hz, 1H, H-5), 2.11, 2.05, 2.04, 1.95, 1.88 ( $5 \times s$ , 15H, -OAc), 0.94 (s, 9H, Si-*t*Bu), 0.14, 0.11 ( $2 \times s$ , 6H, Si- $CH_3$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 170.5, 170.3, 170.3, 170.2, 169.0 ( $5 \times \text{C}=\text{O}-\text{OAc}$ ,  $2 \times \text{C}=\text{O}-\text{Pht}$ ), 134.3, 134.2 ( $2 \times \text{C}_{\text{Ar}}$ ), 133.8 ( $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 131.5, 131.7 ( $2 \times \text{C}_q$ ), 123.6 ( $4 \times \text{C}_{\text{Ar}}$ ), 117.5 ( $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 100.5 ( $\text{C}-1'$ ), 96.9 ( $\text{C}-1$ ), 75.3 ( $\text{C}-5$ ), 75.2 ( $\text{C}-4$ ), 71.3 ( $\text{C}-3'$ ), 71.2 ( $\text{C}-3$ ), 70.7 ( $\text{C}-5'$ ), 69.8 ( $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 69.4 ( $\text{C}-2'$ ), 67.0 ( $\text{C}-4'$ ), 61.2 ( $\text{C}-6$ ,  $\text{C}-6'$ ), 55.1 ( $\text{C}-2$ ), 26.0 ( $\text{Si}-t\text{Bu}$ ), 20.9, 20.8, 20.7 ( $5 \times \text{CH}_3-\text{OAc}$ ), 18.5 ( $\text{C}_q-t\text{Bu}$ ), -4.8, -5.1 ( $2 \times \text{Si}-\text{CH}_3$ ).

#### 5.4.1.15 Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (13)



Es wurden 1.31 g (1.57 mmol, 1.0 Äquiv) Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- $\beta$ -D-glucopyranosid (**49**) in 30 mL 80%iger Essigsäure aufgenommen und 5 h bei 70 °C gerührt. Nach vollständigem Umsatz wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand mit Toluol kodestilliert ( $2 \times 30$  mL). Das Rohprodukt wurde anschließend flashchromatographisch an Kieselgel ( $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc} = 1:1$ ) gereinigt.

**Ausbeute:** 1.07 g (1.48 mmol, 94%); farbloser Feststoff.

$R_f = 0.19$  ( $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc} = 1:1$ ).

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 739.2563 [ $\text{M}+\text{NH}_4$ ] $^+$ , ber.: 739.2556.

$[\alpha]_{\text{D}}^{24} = +18.8$  ( $c = 1$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

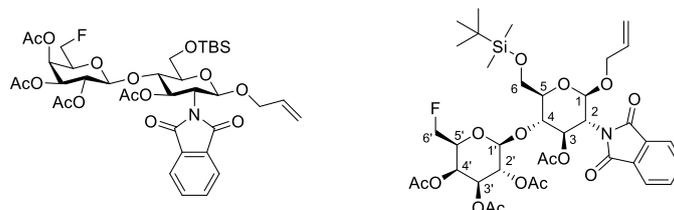
**RP-HPLC:**  $R_t = 20.4$  min, Luna C18,  $\lambda = 214$  nm, Gradient:  $\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}$  (10:90)  $\rightarrow$  (100:0) in 30 min.

$^1\text{H-NMR}$  (600 MHz, HSQC, HMBC, COSY,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 7.84 (d,  $J = 9.1$  Hz, 2H,  $\text{H}_{\text{Ar}}-\text{Pht}$ ), 7.74 – 7.69 (m, 2H,  $\text{H}_{\text{Ar}}-\text{Pht}$ ), 5.77 – 5.70 (m, 1H, H-3), 5.73 – 5.65 (m, 1H,  $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5.42 (d,  $J_{\text{H}1,\text{H}2} = 8.3$  Hz, 1H, H-1), 5.32 (d,  $J_{\text{H}4',\text{H}3'} = 3.2$  Hz, 1H, H-4'), 5.15 – 5.03 (m, 3H,  $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_{\text{cis}}\text{H}_{\text{trans}}$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_{\text{cis}}\text{H}_{\text{trans}}$ , H-2'), 4.99 (dd,  $J_{\text{H}3',\text{H}2'} = 10.4$  Hz,  $J_{\text{H}3',\text{H}4'} = 3.5$  Hz, 1H, H-3'), 4.65 (d,  $J_{\text{H}1',\text{H}2'} = 7.9$  Hz, 1H, H-1'), 4.23 (ddd,  $^2J = 12.9$  Hz,  $^3J = 5.0$  Hz,  $^4J = 1.1$  Hz, 1H,  $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 4.19 (dd,  $J_{\text{H}2,\text{H}3} = 10.8$  Hz,  $J_{\text{H}2,\text{H}1} = 8.5$  Hz, 1H, H-2), 4.13 – 4.06 (m, 1H, H-6<sub>a</sub>'), 4.05 – 3.98 (m, 3H,  $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{CH}=\text{CH}_2$ , H-4, H-6<sub>b</sub>'), 3.93 (dt,  $J_{\text{H}6a,\text{H}6b} = 12.1$  Hz,  $J_{\text{H}6a,\text{H}5} = 2.7$  Hz, 1H, H-6<sub>a</sub>), 3.90 – 3.86 (m, 1H, H-5'), 3.79 (dd,  $J_{\text{H}6b,\text{H}6a} = 12.3$  Hz,  $J_{\text{H}6b,\text{H}5} = 3.1$  Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>), 3.58 (dt,  $J_{\text{H}5,\text{H}4} = 10.0$  Hz,  $J_{\text{H}5,\text{H}6a} = 2.5$  Hz, 1H, H-5), 2.12, 2.07, 2.03, 2.02, 1.95, 1.89 ( $5 \times s$ , 15H, -OAc).

$^{13}\text{C-NMR}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 171.3, 170.5, 170.3, 170.2, 167.0, 169.3, 168.0, 167.7 ( $5 \times \text{C}=\text{O}-\text{OAc}$ ,  $2 \times \text{C}=\text{O}-\text{Pht}$ ), 134.4, 134.3 ( $2 \times \text{C}_{\text{Ar}}$ ), 133.5 ( $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 131.7, 131.5 ( $2 \times \text{C}_q$ ), 123.7 ( $2 \times \text{C}_{\text{Ar}}$ ), 117.9

(-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 101.1 (C-1'), 97.3 (C-1), 75.7 (C-4), 74.9 (C-5), 71.5 (C-3), 71.1 (C-3'), 70.6 (C-5'), 70.5 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 69.4 (C-2'), 66.8 (C-4'), 60.9 (C-6'), 60.6 (C-6), 55.1 (C-2), 21.2, 20.9, 20.8, 20.7 (5 × CH<sub>3</sub>-OAc).

#### 5.4.1.16 Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4'-tri-*O*-acetyl-6'-desoxy-6'-fluor-β-D-galactopyranosyl)-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-β-D-glucopyranosid (50)



Es wurden 916 mg (1.81 mmol, 1.0 Äquiv.) Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-β-D-glucopyranose (**21**) und 1.23 g (2.72 mmol, 1.5 Äquiv.) 2,3,4-Tri-*O*-acetyl-6-desoxy-6-fluor-α-D-galactopyranosyl Trichloroacetimidat (**18**) vorgelegt und anschließend mit absolutem Toluol (2 × 40 mL) kodestilliert. Der Rückstand wurde anschließend unter einer Argonatmosphäre in 50 mL absolutem Dichlormethan aufgenommen und mit 2.00 g frisch aktiviertem Molekularsieb 4 Å versetzt. Es wurde 1 h bei Raumtemperatur gerührt, bevor mit einer Trockeneis/Aceton Kältemischung auf -78 °C gekühlt wurde. Anschließend wurden 56.0 μL (310 μL, 17 mol%) Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (TMSOTf) in der Kälte zugegeben und die Reaktionslösung langsam über einen Zeitraum von 1 h auf Raumtemperatur erwärmt. Nach beendeter Reaktion wurde mit 50 mL Dichlormethan verdünnt, über Hyflo<sup>®</sup> filtriert und das Filtrat mit einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung (1 × 50 mL) gewaschen, bevor schließlich mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet wurde. Im Anschluss wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt flashchromatographisch an Kieselgel (°Hex/EtOAc = 3:1) gereinigt.

**Ausbeute:** 1.24 g (1.56 mmol, 86%); farbloser Feststoff.

**R<sub>f</sub>** = 0.28 (°Hex/EtOAc = 2:1).

**ESI-MS** (positiv), *m/z*: 813.3267 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, ber.: 813.3272.

**RP-HPLC:** R<sub>t</sub> = 13.1 min, Luna C18, λ = 214 nm, Gradient: MeCN:H<sub>2</sub>O (70:30) → (100:0).

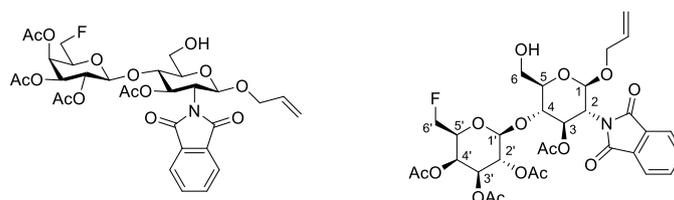
**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, HSQC, HMBC, COSY, CDCl<sub>3</sub>), δ [ppm] = 7.86 – 7.81 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>-Pht), 7.73 – 7.69 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>-Pht), 5.75 – 5.67 (m, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.71 (dd, *J*<sub>H<sub>3</sub>,H<sub>2</sub></sub> = 10.7 Hz, *J*<sub>H<sub>3</sub>,H<sub>4</sub></sub> = 8.9 Hz, 1H, H-3), 5.40 (dd, *J*<sub>H<sub>4</sub>',H<sub>3</sub>'</sub> = 3.5 Hz, *J*<sub>H<sub>4</sub>',H<sub>5</sub>'</sub> = 1.2 Hz, 1H, H-4'), 5.35 (d, *J*<sub>H<sub>1</sub>,H<sub>2</sub></sub> = 8.5 Hz, 1H, H-1), 5.13 – 5.02 (m, 3H, H-2', -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4.94 (dd, *J*<sub>H<sub>3</sub>',H<sub>2</sub>'</sub> = 10.4 Hz, *J*<sub>H<sub>3</sub>',H<sub>4</sub>'</sub> = 3.5 Hz, 1H, H-3'), 4.72 (d, *J*<sub>H<sub>1</sub>',H<sub>2</sub>'</sub> = 8.0 Hz, 1H, H-1'), 4.47 – 4.39 (m, 1H, H-6<sub>a</sub>'), 4.35 (ddd, *J*<sub>H<sub>6b</sub>',F</sub> = 46.1 Hz, *J*<sub>H<sub>6b</sub>',H<sub>6a</sub>'</sub> = 9.1 Hz, *J*<sub>H<sub>6b</sub>',H<sub>5</sub>'</sub> = 5.4 Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>'), 4.23 – 4.19 (m, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4.17 (dd, *J*<sub>H<sub>2</sub>,H<sub>3</sub></sub> = 10.7 Hz, *J*<sub>H<sub>2</sub>,H<sub>1</sub></sub> = 8.6 Hz, 1H, H-2), 4.02 (ddt, *J* = 13.0 Hz, *J* = 6.3 Hz, *J* = 1.4 Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 3.96 (dd, *J*<sub>H<sub>4</sub>,H<sub>5</sub></sub> = 9.8 Hz, *J*<sub>H<sub>4</sub>,H<sub>3</sub></sub> = 8.8 Hz, 1H, H-4), 3.92 (dd, *J*<sub>H<sub>6a</sub>,H<sub>6b</sub></sub>

= 11.6 Hz,  $J_{H6a,H5} = 1.7$  Hz, 1H, H-6<sub>a</sub>), 3.88 (dd,  $J_{H6b,H6a} = 11.6$  Hz,  $J_{H6b,H5} = 3.2$  Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>), 3.83 (dtd,  $J_{H5',F} = 11.8$  Hz,  $J_{H5',H6b'} = 5.8$  Hz,  $J_{H5',H4'} = 1.3$  Hz, 1H, H-5'), 3.50 (ddd,  $J_{H5,H4} = 9.9$  Hz,  $J_{H5,H6b} = 3.3$  Hz,  $J_{H5,H6a} = 1.6$  Hz, 1H, H-5), 2.12, 2.05, 1.96, 1.87 (4 × s, 12H, -OAc), 0.94 (s, 9H, Si-*t*Bu), 0.13, 0.11 (s, 6H, Si-CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ [ppm] = 170.3, 170.2, 169.0 (4 × C=O-OAc, 2 × C=O-Pht), 134.3, 134.2 (2 × C<sub>Ar</sub>), 133.8 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 131.8, 131.6 (2 × C<sub>q</sub>) 123.6 (2 × C<sub>Ar</sub>), 117.5 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 100.8 (C-1'), 96.9 (C-1), 80.57 (d,  $J_{C6',F} = 172.9$  Hz, C-6'), 75.7 (C-4), 75.3 (C-5), 71.5 (d,  $J_{C5',F} = 23.5$  Hz, C-5'), 71.3 (C-3), 71.2 (C-3'), 69.8 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 69.3 (C-2'), 67.1 (C-4'), 61.3 (C-6), 55.1 (C-2), 26.0 (Si-*t*Bu), 20.9, 20.8, 20.7, 20.6 (4 × CH<sub>3</sub>-OAc), 18.5 (C<sub>q</sub>-*t*Bu), -4.8, -5.1 (2 × Si-CH<sub>3</sub>).

<sup>19</sup>F-NMR (282 MHz CDCl<sub>3</sub>), δ [ppm] = -230.84 (td,  $J_{F,H6'} = 46.5$  Hz,  $J_{F,H5'} = 12.3$  Hz).

#### 5.4.1.17 Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4'-tri-*O*-acetyl-6'-desoxy-6'-fluor-β-D-galactopyranosyl)-β-D-glucopyranosid (14)



Es wurden 1.07 g (1.34 mmol, 1.0 Äquiv.) Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4'-tri-*O*-acetyl-6'-desoxy-6'-fluor-β-D-galactopyranosyl)-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl-β-D-glucopyranosid (**50**) in 50 mL 80%iger Essigsäure aufgenommen und 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand flashchromatographisch an Kieselgel (<sup>c</sup>Hex/EtOAc = 2:1) gereinigt.

**Ausbeute:** 832 mg (1.22 mmol, 91%); farbloser Feststoff.

**R<sub>f</sub>** = 0.18 (<sup>c</sup>Hex/EtOAc = 1:1).

**ESI-MS** (positiv), *m/z*: 699.2417 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, ber.: 699.2407.

**[α]<sub>D</sub><sup>24</sup>** = +12.1 (*c* = 1, CHCl<sub>3</sub>).

**RP-HPLC:** R<sub>t</sub> = 20.7 min, Luna C18, λ = 214 nm, Gradient: MeCN:H<sub>2</sub>O (10:90) → (100:0) in 30 min.

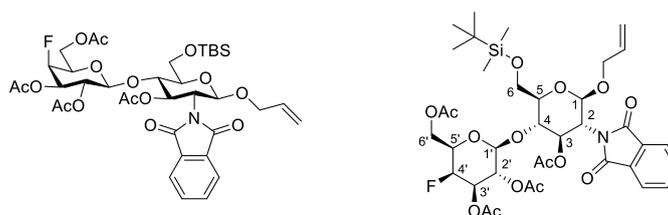
<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, HSQC, HMBC, COSY, CDCl<sub>3</sub>), δ [ppm] = 7.87 – 7.81 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>-Pht), 7.73 – 7.69 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>-Pht), 5.75 (dd,  $J_{H3,H2} = 10.6$  Hz,  $J_{H3,H4} = 8.8$  Hz, 1H, H-3), 5.72 – 5.65 (m, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.42 (d,  $J_{H1,H2} = 8.5$  Hz, 1H, H-1), 5.40 – 5.38 (m, 1H, H-4'), 5.16 – 5.09 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>, H-2'), 5.08 – 5.02 (m, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 5.01 (dd,  $J_{H3',H2'} = 10.4$  Hz,  $J_{H3',H4'} = 3.5$  Hz, 1H, H-3'), 4.68 (d,  $J_{H1',H2'} = 7.9$  Hz, 1H, H-1'), 4.41 (dd,  $J_{H6a',H6b'} = 12.6$  Hz,  $J_{H6a',H5'} = 5.7$  Hz, 1H, H-6<sub>a</sub>'), 4.33 (dd,  $J_{H6b',H6a'} = 11.9$  Hz,  $J_{H6b',H5'} = 5.8$  Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>'), 4.23 (ddt,  $^2J = 13.1$  Hz,  $^3J = 5.5$  Hz,  $^4J = 1.6$  Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4.20 (dd,  $J_{H2,H3} =$

10.7 Hz,  $J_{H2,H1} = 8.6$  Hz, 1H, H-2), 4.06 – 4.01 (m, 2H, H-4,  $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 3.96 – 3.89 (m, 2H, H-6<sub>a</sub>, H-5'), 3.81 – 3.78 (m, 1H, H-6<sub>b</sub>), 3.60 – 3.56 (m, 1H, H-5), 2.12, 2.08, 1.96, 1.87 (4 × s, 12H, -OAc).

<sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  [ppm] = 170.3, 170.1, 170.0, 169.3 (4 × C=O-OAc, 2 × C=O-Ph), 134.4, 134.3 (2 × C<sub>Ar</sub>), 133.5 ( $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 131.7, 131.5 (2 × C<sub>q</sub>), 123.9, 123.7 (2 × C<sub>Ar</sub>), 117.9 ( $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 101.3 (C-1'), 97.3 (C-1), 80.7 (d,  $J_{C6',F} = 172.7$  Hz, C-6'), 76.1 (C-4), 74.9 (C-5), 71.7 (d,  $J_{C5',F} = 24.3$  Hz, C-5'), 71.6 (C-3), 71.0 (C-3'), 70.5 ( $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 69.3 (C-2'), 67.1 (C-4'), 60.6 (C-6), 55.1 (C-2), 20.8, 20.7, 20.6 (4 × CH<sub>3</sub>-OAc).

<sup>19</sup>F NMR (282 MHz, Chloroform-*d*)  $\delta = -230.54$  (td,  $J_{F,H6'} = 46.6$  Hz,  $J_{F,H5'} = 12.5$  Hz).

#### 5.4.1.18 Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',6'-tri-*O*-acetyl-4'-desoxy-4'-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- $\beta$ -D-glucopyranosid (51)



Es wurden 770 mg (1.52 mmol, 1.0 Äquiv.) Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- $\beta$ -D-glucopyranosid (**21**) und 1.03 g (2.28 mmol, 1.5 Äquiv.) 2,3,6-Tri-*O*-acetyl-4-desoxy-4-fluor- $\alpha$ -D-galactopyranosyl Trichloroacetimidat (**19**) vorgelegt und anschließend mit absolutem Toluol (2 × 40 mL) kodestilliert. Der Rückstand wurde unter einer Argonatmosphäre in 50 mL absolutem Dichlormethan aufgenommen und mit 2.00 g frisch aktiviertem Molekularsieb 4 Å versetzt. Es wurde 1 h bei Raumtemperatur gerührt, bevor mit einer Trockeneis/Aceton Kältemischung auf  $-78$  °C gekühlt wurde. Anschließend wurden 46.6  $\mu$ L (258  $\mu$ mol, 17 mol%) Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (TMSOTf) in der Kälte zugegeben und die Reaktionslösung langsam über einen Zeitraum von 1 h auf Raumtemperatur erwärmt. Nach beendeter Reaktion wurde mit 50 mL Dichlormethan verdünnt, über Hyflo<sup>®</sup> filtriert und das Filtrat mit einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung (1 × 50 mL) gewaschen, bevor schließlich mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet wurde. Im Anschluss wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt flashchromatographisch an Kieselgel ( $^c$ Hex/EtOAc = 3:1) gereinigt.

**Ausbeute:** 995 mg (1.25 mmol, 82%), farbloser Feststoff.

$R_f = 0.43$  ( $^c$ Hex/EtOAc = 2:1).

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 813.3276  $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ , ber.: 813.3272.

$[\alpha]_D^{19} = +27.4$  ( $c = 1$ , CHCl<sub>3</sub>).

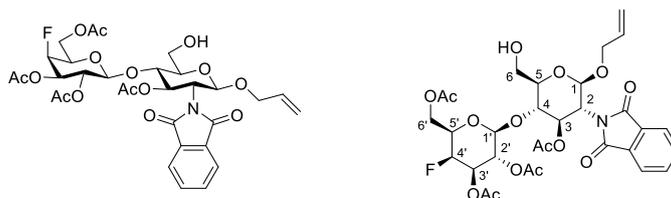
**RP-HPLC:**  $R_f = 12.9$  min, Luna C18,  $\lambda = 214$  nm, Gradient: MeCN:H<sub>2</sub>O (70:30)  $\rightarrow$  (100:0) in 15 min.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, HSQC, HMBC, COSY, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  [ppm] = 7.86 – 7.81 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>-Pht), 7.74 – 7.68 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>-Pht), 5.77 – 5.66 (m, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.69 (dd,  $J_{H_3,H_2} = 10.7$  Hz,  $J_{H_3,H_4} = 9.1$  Hz, 1H, H-3), 5.35 (d,  $J_{H_{11},H_2} = 8.4$  Hz, 1H, H-1), 5.16 (dd,  $J_{H_{2'},H_{3'}} = 10.3$  Hz,  $J_{H_{2'},H_{1'}} = 8.4$  Hz, 1H, H-2'), 5.13 – 5.01 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4.86 (ddd,  $J_{H_{3'},F} = 27.5$  Hz,  $J_{H_{3'},H_{2'}} = 10.3$  Hz,  $J_{H_{3'},H_{4'}} = 2.8$  Hz, 1H, H-3'), 4.79 (dd,  $J_{H_{4'},F} = 50.7$  Hz,  $J_{H_{4'},H_{3'}} = 2.7$  Hz, 1H, H-4'), 4.73 (d,  $J_{H_{1'},H_{2'}} = 7.8$  Hz, 1H, H-1'), 4.29 (ddd,  $J_{H_{6a'},H_{6b'}} = 11.2$  Hz,  $J_{H_{6a'},H_{5'}} = 6.5$  Hz,  $J_{H_{6a'},F} = 1.1$  Hz, 1H, H-6<sub>a</sub>'), 4.24 – 4.13 (m, 2H, H-6<sub>b</sub>', -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4.17 (dd,  $J_{H_2,H_3} = 10.7$  Hz,  $J_{H_2,H_1} = 8.5$  Hz, 1H, H-2), 4.05 – 3.99 (m, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 3.97 (dd,  $J_{H_4,H_5} = 9.9$  Hz,  $J_{H_4,H_3} = 9.1$  Hz, 1H, H-4), 3.92 – 3.86 (m, 2H, H-6<sub>a/b</sub>), 3.72 (dt,  $J_{H_{5'},F} = 25.9$  Hz,  $J_{H_{5'},H_{6a'}} = 6.6$  Hz, 1H, H-5'), 3.49 (dd,  $J_{H_5,H_4} = 9.6$  Hz,  $J_{H_5,H_{6a/b}} = 2.7$  Hz, 1H, H-5), 2.10, 2.08, 2.05, 1.88 (4  $\times$  s, 12H, -OAc), 0.94 (s, 9H, Si-*t*Bu), 0.14, 0.11 (2  $\times$  s, 6H, Si-CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  [ppm] = 170.5, 170.2, 168.8, 168.0, 167.8 (4  $\times$  C=O-OAc, 2  $\times$  C=O-Pht), 134.3, 134.2 (2  $\times$  C<sub>Ar</sub>), 133.8 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 131.8, 131.6 (2  $\times$  C<sub>q</sub>), 123.6 (2  $\times$  C<sub>Ar</sub>), 117.5 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 100.2 (C-1'), 97.0 (C-1), 85.73 (d,  $J_{C_{4'},F} = 186.6$  Hz, C-4'), 75.3 (C-5), 75.1 (C-4), 71.82 (d,  $J_{C_{3'},F} = 17.6$  Hz, C-3'), 70.9 (C-3, {d,  $J_{C_{5'},F} = 18.2$  Hz, C-5'}), 69.8 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 69.3 (C-2'), 61.37 (d,  $J_{C_{6'},F} = 5.6$  Hz, C-6'), 61.2 (C-6), 55.1 (C-2), 26.1 (Si-*t*Bu), 20.8, 20.7 (4  $\times$  CH<sub>3</sub>-OAc), 18.5 (C<sub>q</sub>-*t*Bu), -4.8, -5.2 (2  $\times$  Si-CH<sub>3</sub>).

**<sup>19</sup>F-NMR** (375 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = -216.83$  (dt,  $J_{F,H_{4'}} = 50.2$  Hz,  $J_{F,H_{3'}} = J_{F,H_{5'}} = 26.6$  Hz).

#### 5.4.1.19 Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',6'-tri-*O*-acetyl-4'-desoxy-4'-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (15)



Es wurden 867 mg (1.09 mmol, 1.0 Äquiv.) Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',6'-tri-*O*-acetyl-4'-desoxy-4'-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-*tert*-butyldimethylsilyl- $\beta$ -D-glucopyranosid (**51**) in 50 mL 80%iger Essigsäure aufgenommen und 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand flashchromatographisch an Kieselgel (<sup>c</sup>Hex/EtOAc = 1:1) gereinigt.

**Ausbeute:** 661 mg (970  $\mu$ mol, 89%); farbloser Feststoff.

**R<sub>f</sub>** = 0.18 (<sup>c</sup>Hex/EtOAc = 1:1).

**ESI-MS** (positiv), *m/z*: 699.2411 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, ber.: 699.2407.

$[\alpha]_D^{19} = +52.0$  ( $c = 0.5$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

**RP-HPLC:**  $R_t = 20.8$  min, Luna C18,  $\lambda = 214$  nm, Gradient:  $\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}$  (10:90)  $\rightarrow$  (100:0) in 30 min.

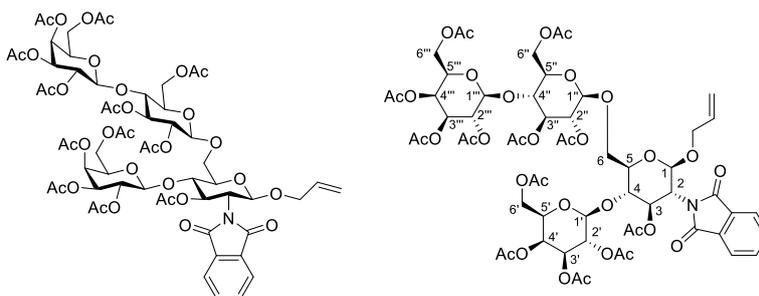
**$^1\text{H}$  NMR** (600 MHz, HSQC, HMBC, COSY,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 7.89 – 7.80 (m, 2H,  $\text{H}_{\text{Ar}}$ -Pht), 7.77 – 7.67 (m, 2H,  $\text{H}_{\text{Ar}}$ -Pht), 5.72 (dd,  $J_{\text{H}_3,\text{H}_2} = 10.7$  Hz,  $J_{\text{H}_3,\text{H}_4} = 9.0$  Hz, 1H, H-3), 5.75 – 5.65 (m, 1H,  $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5.43 (d,  $J_{\text{H}_1,\text{H}_2} = 8.5$  Hz, 1H, H-1), 5.18 (ddd,  $J_{\text{H}_2',\text{H}_3'} = 10.4$  Hz,  $J_{\text{H}_2',\text{H}_1'} = 8.0$  Hz,  $J = 0.8$  Hz, 1H, H-2'), 5.12 (dq,  $^3J = 17.2$  Hz,  $^2J = 1.6$  Hz, 1H,  $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_{\text{cis}}\text{H}_{\text{trans}}$ ), 5.06 (dt,  $^3J = 10.4$  Hz,  $^2J = 1.4$  Hz, 1H,  $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_{\text{cis}}\text{H}_{\text{trans}}$ ), 4.93 (ddd,  $J_{\text{H}_3',\text{F}} = 27.5$  Hz,  $J_{\text{H}_3',\text{H}_2'} = 10.4$  Hz,  $J_{\text{H}_3',\text{H}_4'} = 2.7$  Hz, 1H, H-3'), 4.78 (dd,  $J_{\text{H}_4',\text{F}} = 50.1$  Hz,  $J_{\text{H}_4',\text{H}_3'} = J_{\text{H}_4',\text{H}_5'} = 2.7$ , 1H, H-4'), 4.66 (d,  $J_{\text{H}_1',\text{H}_2'} = 8.0$  Hz, 1H, H-1'), 4.29 (ddd,  $J_{\text{H}_6\text{a}',\text{H}_6\text{b}'} = 11.3$  Hz,  $J_{\text{H}_6\text{a}',\text{H}_5'} = 6.2$  Hz,  $J_{\text{H}_6\text{a}',\text{F}} = 1.2$  Hz, 1H, H-6<sub>a</sub>'), 4.24 (ddt,  $^2J = 13.0$  Hz,  $^3J = 5.4$  Hz,  $^4J = 1.5$  Hz, 1H,  $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 4.20 (dd,  $J_{\text{H}_2,\text{H}_3} = 10.7$  Hz,  $J_{\text{H}_2,\text{H}_1} = 8.5$  Hz, 1H, H-2), 4.14 (dd,  $J_{\text{H}_6\text{b}',\text{H}_6\text{a}'} = 11.2$  Hz,  $J_{\text{H}_6\text{b}',\text{H}_5'} = 7.2$  Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>'), 4.05 – 3.98 (m, 2H, H-4,  $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 3.95 (dd,  $J_{\text{H}_6\text{a},\text{H}_6\text{b}} = 12.2$  Hz,  $J_{\text{H}_6\text{a},\text{H}_5} = 2.0$  Hz, 1H, H-6<sub>a</sub>), 3.84 – 3.75 (m, 2H, H-6<sub>b</sub>, H-5'), 3.58 (ddd,  $J_{\text{H}_5,\text{H}_4} = 10.0$  Hz,  $J_{\text{H}_5,\text{H}_6\text{b}} = 2.9$  Hz,  $J_{\text{H}_5,\text{H}_6\text{a}} = 2.0$  Hz, 1H, H-5), 2.08, 1.88 (2  $\times$  s, 12H, -OAc).

**$^{13}\text{C}$ -NMR** (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 170.5, 170.0, 169.1, 168.0, 167.7 (4  $\times$  C=O-OAc, 2  $\times$  C=O-Pht), 134.4, 134.2 (2  $\times$   $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 133.5 ( $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 131.7, 131.5 (2  $\times$   $\text{C}_q$ ), 123.7 (2  $\times$   $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 117.9 ( $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 100.7 (C-1'), 97.4 (C-1), 85.7 (d,  $J_{\text{C}_4',\text{F}} = 187.1$  Hz, C-4'), 75.6 (C-4), 74.9 (C-5), 71.6 (d,  $J_{\text{C}_3',\text{F}} = 19.0$  Hz, C-3'), 71.1 (C-3), 70.9 (d,  $J_{\text{C}_5',\text{F}} = 19.1$  Hz, C-5'), 70.6 ( $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 69.3 (C-2'), 61.1 (d,  $J_{\text{C}_6',\text{F}} = 8.0$  Hz, C-6'), 60.6 (C-6), 55.1 (C-2), 20.8, 20.6 (4  $\times$   $\text{CH}_3$ -OAc).

**$^{19}\text{F}$ -NMR** (375 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] = -217.02 (dt,  $J_{\text{F},\text{H}_4'} = 50.3$  Hz,  $J_{\text{F},\text{H}_3'} = J_{\text{F},\text{H}_5'} = 26.8$  Hz).

## 5.5 Synthesen der *Streptococcus pneumoniae* Typ14 Antigenmimetika

### 5.5.1.1 Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-(2'',3'',6''-tri-*O*-acetyl-4''-*O*-{2''',3''',4''',6'''-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl}- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (52a)



Eine Lösung aus 183 mg (234  $\mu$ mol, 1.5 Äquiv.) 2,3,6-Tri-*O*-acetyl-4-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosyl Trichloroacetimidat (**16**) und 113 mg (156  $\mu$ mol, 1.0 Äquiv.) Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (**13**) in 15 mL absolutem Dichlormethan wurde in Gegenwart von 2.50 g frisch aktivierten Molsieb 4Å unter einer Argonatmosphäre auf  $-78$  °C gekühlt und eine Stunde bei dieser Temperatur gerührt. Anschließend wurden 15.0  $\mu$ L (83.0  $\mu$ mol, 0.53 Äquiv.) Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (TMSOTf) zugetropft und weitere 15 min bei  $-78$  °C gerührt, bevor das Kältebad entfernt wurde und die Reaktionslösung langsam über einen Zeitraum von 30 min auf Raumtemperatur erwärmt wurde. Nach beendeter Reaktion wurde 30 mL Dichlormethan verdünnt, über Hyflo<sup>®</sup> filtriert und die organische Phase mit einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung (1  $\times$  40 mL) gewaschen. Anschließend wurde mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde flashchromatographisch an Kieselgel (<sup>c</sup>Hex/EtOAc = 2:3) gereinigt.

**Ausbeute:** 169 mg (126  $\mu$ mol, 81%); farbloser Feststoff.

**R<sub>f</sub>** = 0.30 (<sup>c</sup>Hex/EtOAc = 2:3).

**ESI-MS** (positiv), *m/z*: 1357.4328 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, ber.: 1357.4352.

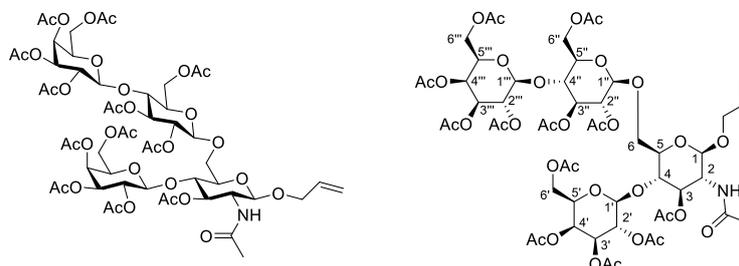
**RP-HPLC:** R<sub>t</sub> = 4.15 min, Luna C18,  $\lambda$  = 214 nm, Gradient: MeCN:H<sub>2</sub>O + 1%TFA (70:30)  $\rightarrow$  (100:0) in 15 min.

**<sup>1</sup>H-NMR** (800 MHz, HSQC, HMBC, COSY, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  [ppm] = 7.86 – 7.78 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>-Pht), 7.71 (d, *J* = 6.0 Hz, 2H, H<sub>Ar</sub>-Pht), 5.70 (t, *J*<sub>H3,H2</sub> = *J*<sub>H3,H4</sub> = 10.3 Hz, 1H, H-3), 5.73 – 5.65 (m, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.34 (d, *J*<sub>H1,H2</sub> = 8.6 Hz, 1H, H-1), 5.35 – 5.30 (m, 2H, H-4', H-4''), 5.17 (t, *J*<sub>H3'',H2''</sub> = *J*<sub>H3'',H4''</sub> = 9.0 Hz, 1H, H-3''), 5.13 (dt, <sup>3</sup>*J* = 17.2 Hz, <sup>2</sup>*J* = 1.6 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 5.09 (dd, *J*<sub>H2'',H3''</sub> = 9.9 Hz, *J*<sub>H2'',H1''</sub> = 7.6 Hz, 1H, H-2''), 5.10 – 5.03 (m, 2H, H-2', -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 4.99 (dd, *J*<sub>H3',H2'</sub> = 10.4 Hz, *J*<sub>H3',H4'</sub> = 3.6 Hz, 1H, H-3'), 4.94 (dd, *J*<sub>H3''',H2'''</sub> = 10.4 Hz, *J*<sub>H3''',H4'''</sub> = 3.6 Hz, 1H, H-3'''), 4.92 (t, *J*<sub>H2'',H1''</sub> = *J*<sub>H2'',H3''</sub> = 8.3 Hz, 1H, H-2''), 4.67 (d,

$J_{H1'',H2''} = 7.5$  Hz, 1H, H-1''), 4.52 (d,  $J_{H1',H2'} = 8.0$  Hz, 1H, H-1'), 4.55 – 4.46 (m, 1H, H-6<sub>a</sub>''), 4.49 (d,  $J_{H1''',H2'''} = 8.3$  Hz, 1H, H-1'''), 4.25 (ddd,  ${}^2J = 13.1$  Hz,  ${}^3J = 5.1$  Hz,  ${}^4J = 1.5$  Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4.17 (dd,  $J_{H2,H3} = 10.4$  Hz,  $J_{H2,H1} = 8.5$  Hz, 1H, H-2), 4.14 – 4.03 (m, 6H, H-6<sub>as</sub>, H-6<sub>bs</sub>'', H-6<sub>ab</sub>', H-6<sub>ab</sub>''), 4.01 (ddd,  ${}^2J = 13.1$  Hz,  ${}^3J = 5.3$  Hz,  ${}^4J = 1.5$  Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 3.91 – 3.84 (m, 3H, H-5', H-5''', H-4''), 3.81 – 3.77 (m, 2H, H-4, H-6<sub>b</sub>), 3.69 (ddd,  $J_{H5,H6a} = 10.1$  Hz,  $J_{H5,H6b} = 4.5$  Hz,  $J_{H5,H4} = 2.9$  Hz, 1H, H-5), 3.64 (ddd,  $J_{H5'',H6a''} = 9.8$  Hz,  $J_{H5'',H6b''} = 5.2$  Hz,  $J_{H5'',H4''} = 2.4$  Hz, 1H, H-5''), 2.13, 2.11, 2.05, 2.05, 2.04, 2.03, 2.02, 1.94, 1.86 (9 × s, 36H, -OAc).

${}^{13}\text{C-NMR}$  (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 170.4, 170.3, 170.2, 170.1, 169.9, 169.8, 169.7, 169.2, 169.1$  (12 × C=O-OAc, 2 × C=O-Pht), 134.4, 134.2 (2 × C<sub>Ar</sub>), 133.4 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 132.2, 132.0 (2 × C<sub>q</sub>), 123.7, 123.6 (2 × C<sub>Ar</sub>), 117.8 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 101.3 (C-1'''), 100.9 (C-1''), 100.8 (C-1'), 97.0 (C-1), 77.0 (C-4), 76.2 (C-4''), 74.7 (C-5), 73.0 (C-5'', C-3''), 72.0 (C-2''), 71.1 (C-3), 70.9 (C-3'), 70.8 (C-5', C-5'''), 70.6 (C-3'''), 70.1 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 69.3 (C-2'''), 69.2 (C-2'), 67.8 (C-6), 66.8 (C-4'''), 66.7 (C-4'), 62.3 (C-6''), 60.9 (C-6'''), 60.5 (C-6'), 55.0 (C-2), 21.0, 20.9, 20.8, 20.7, 20.6 (12 × CH<sub>3</sub>-OAc).

### 5.5.1.2 Allyl-2-desoxy-2-*N*-acetamido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-(2'',3'',6''-tri-*O*-acetyl-4''-*O*-{2''',3''',4''',6'''-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl}- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (52b)



Zu einer Lösung von 112 mg (83.6  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq) Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-(2'',3'',6''-tri-*O*-acetyl-4''-*O*-{2''',3''',4''',6'''-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl}- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (**52a**) in 5 mL Ethanol wurden 2.00 mL (20.2 mmol) *n*-Butylamin gegeben und 24 h unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und mit absolutem Toluol (2 × 10 mL) kodestilliert, bevor der Rückstand in 5 mL Pyridin aufgenommen und mit 2.5 mL Essigsäureanhydrid versetzt wurde. Es wurde 12 h bei Raumtemperatur gerührt und nach vollständigem Umsatz das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde in 20 mL Ethylacetat aufgenommen und mit einer 1 M Salzsäure (1 × 40 mL), einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung (1 × 40 mL) und Wasser (1 × 40 mL) gewaschen. Anschließend wurde die organische Phase mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt flashchromatographisch an Kieselgel (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH = 80:1 → 30:1) gereinigt.

**Ausbeute:** 89.0 mg (71.1  $\mu\text{mol}$ , 85%); farbloser Feststoff.

$R_f = 0.49$  (EtOAc).

ESI-MS (positiv),  $m/z$ : 1269.4395  $[M+NH_4]^+$ , ber.: 1269.4403.

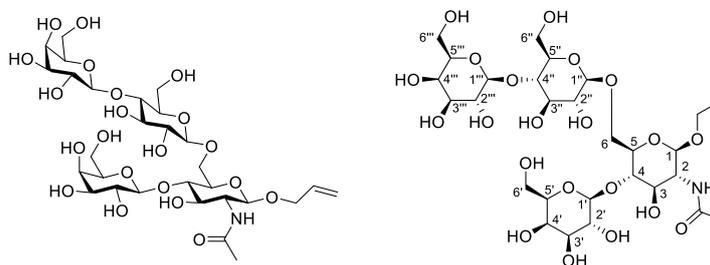
$[\alpha]_D^{22} = -13.2$  ( $c = 0.25$ ,  $CHCl_3$ ).

RP-HPLC:  $R_t = 3.85$  min, Luna C18,  $\lambda = 214$  nm, Gradient: MeCN:H<sub>2</sub>O + 1% TFA (70:30) → (100:0) in 15 min.

<sup>1</sup>H-NMR (800 MHz, HSQC, HMBC, COSY, NOESY, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  [ppm] = 5.84 (dddd, <sup>3</sup> $J = 17.3$  Hz, <sup>3</sup> $J = 10.6$  Hz, <sup>3</sup> $J = 5.9$  Hz, <sup>3</sup> $J = 4.8$  Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.75 (d,  $J_{NH,H2} = 9.4$  Hz, 1H, -NHAc), 5.37 (dd,  $J_{H4',H3'} = 3.3$  Hz,  $J_{H4',H5'} = 1.2$  Hz, 1H, H-4'), 5.35 (dd,  $J_{H4'',H3''} = 3.5$  Hz,  $J_{H4'',H5''} = 1.2$  Hz, 1H, H-4''), 5.28 (dd, <sup>3</sup> $J = 17.2$  Hz, <sup>2</sup> $J = 1.7$  Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 5.20 – 5.17 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>, H-3''), 5.11 – 5.08 (m, 2H, H-2', H-2''), 5.06 (dd,  $J_{H3',H2'} = 10.5$  Hz,  $J_{H3',H4'} = 3.4$  Hz, 1H, H-3'), 5.03 (dd,  $J_{H3,H2} = 8.5$  Hz,  $J_{H3,H4} = 7.4$  Hz, 1H, H-3), 4.96 (dd,  $J_{H3'',H2''} = 10.4$  Hz,  $J_{H3'',H4''} = 3.5$  Hz, 1H, H-3''), 4.89 (dd,  $J_{H2'',H3''} = 9.3$  Hz,  $J_{H2'',H1''} = 7.5$  Hz, 1H, H-2''), 4.59 (d,  $J_{H1'',H2''} = 7.5$  Hz, 1H, H-1''), 4.51 – 4.48 (m, 3H, H-1', H-1'', H-6<sub>a</sub>''), 4.46 (d,  $J_{H1,H2} = 6.8$  Hz, 1H, H-1), 4.29 (ddt, <sup>2</sup> $J = 13.3$  Hz, <sup>3</sup> $J = 4.7$  Hz, <sup>4</sup> $J = 1.7$  Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4.15 – 4.09 (m, 3H, H-6<sub>a</sub>', H-6<sub>b</sub>'', H-6<sub>a</sub>'''), 4.08 – 4.04 (m, 4H, H-2, H-6<sub>a</sub>, H-6<sub>b</sub>', H-6<sub>b</sub>'''), 4.02 (dq, <sup>3</sup> $J = 4.1$  Hz, <sup>4</sup> $J = 1.5$  Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 3.97 (ddd,  $J_{H5',H6a'} = 7.5$  Hz,  $J_{H5',H6b'} = 6.3$  Hz,  $J_{H5',H4'} = 1.3$  Hz, 1H, H-5'), 3.88 (ddd,  $J_{H5'',H6a''} = 7.5$  Hz,  $J_{H5'',H6b''} = 6.1$  Hz,  $J_{H5'',H4''} = 1.3$  Hz, 1H, H-5''), 3.84 (dd,  $J_{H4'',H3''} = 9.9$  Hz,  $J_{H4'',H5''} = 9.0$  Hz, 1H, H-4''), 3.74 (t,  $J_{H4,H3} = J_{H4,H5} = 7.6$  Hz, 1H, H-4), 3.72 (dd,  $J_{H6b,H6a} = 10.8$  Hz,  $J_{H6b,H5} = 4.8$  Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>), 3.63 – 3.61 (m, 1H, H-5''), 3.58 – 3.55 (m, 1H, H-5), 2.15, 2.11, 2.06, 2.05, 2.04, 2.03 (6 × s, 33H, -OAc), 1.97 (s, 3H, -NHAc), 1.96 (s, 3H, -OAc).

<sup>13</sup>C-NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 170.6, 170.5, 170.4, 170.3, 170.2, 170.1, 169.8, 169.7, 169.2$  (12 × C=O-OAc, 1 × C=O-NHAc), 133.7 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 117.5 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 101.3 (C-1'''), 100.8 (C-1''), 100.7 (C-1'), 99.8 (C-1), 76.2 (C-4''), 75.1 (C-4), 74.6 (C-5), 73.0 (C-5''), 72.8 (C-3''), 72.0 (C-2''), 71.7 (C-3), 71.1 (C-3''), 70.8 (C-5', C-5'''), 70.7 (C-3'), 69.5 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 69.3 (C-2'), 69.2 (C-2''), 68.3 (C-6), 67.0 (C-4'), 66.7 (C-4'''), 62.2 (C-6''), 61.0 (C-6'''), 60.9 (C-6'), 52.4 (C-2), 23.4 (CH<sub>3</sub>-NHAc), 21.0, 20.9, 20.8, 20.7, 20.6 (12 × CH<sub>3</sub>-OAc).

### 5.5.1.3 Allyl-2-desoxy-2-*N*-acetamido-4-*O*-( $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-(4''-*O*- $\{\beta$ -D-galactopyranosyl}- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (8)



Es wurden 43.2 mg (34.5  $\mu$ mol) in 5 mL Methanol vorgelegt und bei Raumtemperatur mit einer frisch zubereiteten 1 M Natriummethanolatlösung versetzt. Nach 3 h wurde mit 1 mL Eisessig neutralisiert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels Größenausschlusschromatographie an Sephadex<sup>TM</sup> LH-20 (100% MeOH) gereinigt. Das Produkt wurde anschließend dreimal in Wasser aufgenommen und lyophilisiert.

**Ausbeute:** 22.9 mg (30.7  $\mu$ mol, 89%).

**ESI-MS**(positiv), *m/z*: 765.3141 [ $M+NH_4$ ]<sup>+</sup>, ber.: 765.3135.

(negative), *m/z*: 746.2736 [ $M-H$ ]<sup>-</sup>, ber.: 746.2724.

**<sup>1</sup>H-NMR** (800 MHz, HSQC, HMBC, COSY, Methanol-*d*<sub>4</sub>),  $\delta$  [ppm] = 5.88 (dddd, <sup>3</sup>*J* = 17.3 Hz, <sup>3</sup>*J* = 10.6 Hz, <sup>3</sup>*J* = 5.8 Hz, <sup>3</sup>*J* = 4.9 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.27 (dq, <sup>3</sup>*J* = 17.3 Hz, <sup>2</sup>*J* = 1.8 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 5.14 (dq, <sup>3</sup>*J* = 10.5 Hz, <sup>2</sup>*J* = 1.6 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), {4.54 (d, *J*<sub>H1,H2</sub> = 7.7 Hz, 1H), 4.46 (d, *J*<sub>H1,H2</sub> = 7.8 Hz, 1H), 4.46 (d, *J*<sub>H1,H2</sub> = 8.5 Hz, 1H), 4.37 (d, *J*<sub>H1,H2</sub> = 7.7 Hz, 1H), 4  $\times$  H-1}, 4.31 (ddt, <sup>2</sup>*J* = 13.3 Hz, <sup>3</sup>*J* = 4.9 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.7 Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4.24 (dd, *J*<sub>H6a,H6b</sub> = 11.1 Hz, *J*<sub>H6a,H5</sub> = 1.8 Hz, 1H, H-6<sub>a</sub>), 4.05 (ddt, <sup>2</sup>*J* = 13.4 Hz, <sup>3</sup>*J* = 5.8 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.6 Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 3.96 (dd, *J*<sub>H6b,H6a</sub> = 11.1 Hz, *J*<sub>H6b,H5</sub> = 3.8 Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>), 3.91 (dd, *J* = 12.2 Hz, *J* = 2.5 Hz, 1H), 3.85 (dd, *J* = 12.1 Hz, *J* = 4.3 Hz, 1H), 3.83 – 3.81 (m, 2H), 3.81 – 3.74 (m, 4H), 3.72 – 3.68 (m, 1H), 3.64 – 3.61 (m, 2H), 3.61 – 3.58 (m, 2H), 3.55 – 3.51 (m, 6H), 3.49 (dd, *J* = 9.7 Hz, *J* = 3.3 Hz, 1H), 3.42 (ddd, *J* = 9.7 Hz, *J* = 4.3 Hz, *J* = 2.6 Hz, 1H), 3.33 (dd, *J* = 9.3 Hz, *J* = 7.9 Hz, 1H), 1.96 (s, 3H, -NHAc).

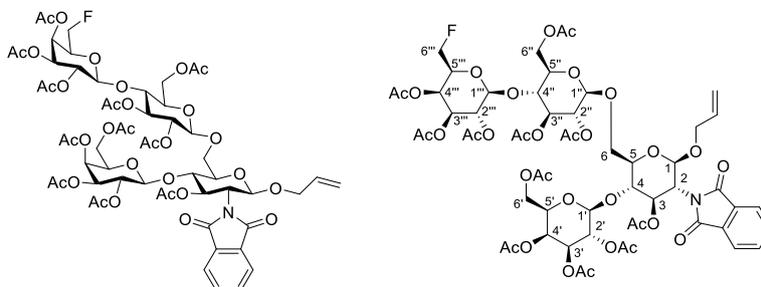
Aufgrund von Signalüberlagerungen konnten nur charakteristische Signale im <sup>1</sup>H-NMR zugeordnet werden.

**<sup>13</sup>C-NMR** (201 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$  = 173.5 (C=O-NHAc), 135.5 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 117.0 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), {105.1, 104.9, 104.5, 102.0, (C-1, C-1', C-1'', C-1''')}, 80.6, 80.4, 77.1, 76.9, 76.5, 76.4, 75.4, 74.8, 74.7, 74.1, 72.7, 72.6, 70.9 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 70.4, 70.3, 68.6 (C-6), 62.5, 61.9, 56.7, 22.9 (CH<sub>3</sub>-NHAc).

Aufgrund von Signalüberlagerungen konnten nur charakteristische Signale im <sup>13</sup>C-NMR zugeordnet werden.

Weitere analytische Daten siehe Literatur.<sup>263</sup>

**5.5.1.4 Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-(2'',3'',6''-tri-*O*-acetyl-4''-*O*-{2''',3''',4'''-tri-*O*-acetyl-6'''-desoxy-6'''-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl}- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (56a)**



Eine Lösung aus 156 mg (211  $\mu$ mol, 1.5 Äquiv.) 2,3,6-Tri-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4'-tri-*O*-acetyl-6'-desoxy-6'-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\alpha$ -D-glucopyranosyl Trichloracetimidat (**40**) und 102 mg (141  $\mu$ mol, 1.0 Äquiv.) Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (**13**) in 15 mL absolutem Dichlormethan wurde in Gegenwart von 2.50 g frisch aktivierten Molsieb 4 $\text{\AA}$  unter Argonatmosphäre auf  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  gekühlt und eine Stunde bei dieser Temperatur gerührt. Anschließend wurden 15.0  $\mu$ L (83.0  $\mu$ mol, 0.53 Äquiv.) Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (TMSOTf) zugetropft und weitere 15 min bei  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  gerührt, bevor das Kältebad entfernt und die Reaktionslösung langsam über einen Zeitraum von 30 min auf Raumtemperatur aufgetaut wurde. Nach beendeter Reaktion wurde mit 30 mL Dichlormethan verdünnt, über Hyflo<sup>®</sup> filtriert und die organische Phase mit einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung (1  $\times$  40 mL) gewaschen. Anschließend wurde mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand flashchromatographisch an Kieselgel ( $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc} = 2:3$ ) gereinigt.

**Ausbeute:** 135 mg (104  $\mu$ mol, 74%); farbloser Feststoff.

$R_f = 0.30$  ( $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc} = 2:3$ ).

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 1317.4181  $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ , ber.: 1317.4203.

$[\alpha]_D^{22} = +0.9$  ( $c = 1$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

**RP-HPLC:**  $R_t = 6.20$  min, Luna C18,  $\lambda = 214$  nm, Gradient:  $\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O} + 1\%$  TFA (70:30)  $\rightarrow$  (100:0) in 15 min.

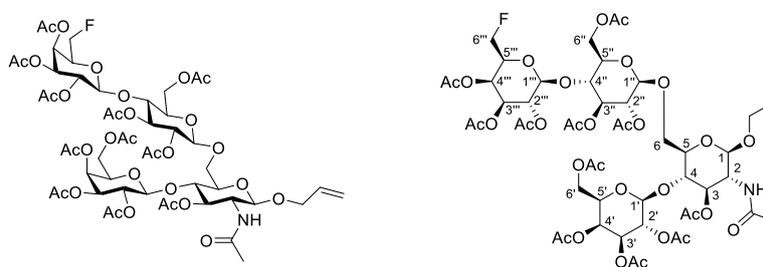
**$^1\text{H-NMR}$**  (800 MHz, HSQC, HMBC, COSY,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 7.83 – 7.80 (m, 2H,  $\text{H}_{\text{Ar}}$ -Pht), 7.71 – 7.69 (m, 2H,  $\text{H}_{\text{Ar}}$ -Pht), 5.70 – 5.65 (m, 2H, H-3,  $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5.37 (d,  $J_{\text{H}4'',\text{H}3'''} = J_{\text{H}4''',\text{H}5'''} = 3.8$  Hz, 1H, H-4'''), 5.32 (d,  $J_{\text{H}1,\text{H}2} = 8.7$  Hz, 1H, H-1), 5.31 (d,  $J_{\text{H}4',\text{H}3'} = J_{\text{H}4',\text{H}5'} = 3.6$  Hz, 1H, H-4'), 5.17 (t,  $J_{\text{H}3'',\text{H}2''} = J_{\text{H}3'',\text{H}4''} = 8.9$  Hz, 1H, H-3''), 5.14 – 5.03 (m, 3H, H-2', H-2''',  $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 4.98 (dd,  $J_{\text{H}3',\text{H}2'} = 10.4$  Hz,  $J_{\text{H}3',\text{H}4'} = 3.5$  Hz, 1H, H-3'), 4.95 (dd,  $J_{\text{H}3''',\text{H}2''} = 10.4$  Hz,  $J_{\text{H}3''',\text{H}4''} = 3.4$  Hz, 1H, H-3'''), 4.91 (t,  $J_{\text{H}2'',\text{H}1''} = J_{\text{H}2'',\text{H}3''} = 8.1$  Hz, 1H, H-2''), 4.68 (d,  $J_{\text{H}1'',\text{H}2''} = 7.5$  Hz, 1H, H-1''), 4.51 (2  $\times$  d,  $J_{\text{H}1''',\text{H}2''} = 8.1$  Hz,  $J_{\text{H}1',\text{H}2'} = 8.0$  Hz, 2H, H-1', H-1'''), 4.49 – 4.46 (m, 1H, H-6<sub>a</sub>''), 4.46 – 4.40 (m, 1H, H-6<sub>a</sub>'''), 4.37 (dd,  $J_{\text{H}6\text{b}'',\text{H}6\text{a}''} = 10.5$  Hz,  $J_{\text{H}6\text{b}'',\text{H}5''} = 5.7$  Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>'''), 4.24

(dd,  $^2J = 13.2$  Hz,  $^3J = 5.1$  Hz, 1H,  $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 4.16 (dd,  $J_{\text{H}_2,\text{H}_3} = 11.7$  Hz,  $J_{\text{H}_2,\text{H}_1} = 9.2$  Hz, 1H, H-2), 4.15 – 4.12 (m, 1H, H-6 $''$ ), 4.11 – 4.06 (m, 1H, H-6 $'$ ), 4.06 – 3.98 (m, 3H, H-6 $_a$ , H-6 $_b$ ,  $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 3.95 – 3.87 (m, 3H, H-4 $''$ , H-5 $''$ , H-5 $'''$ ), 3.80 – 3.77 (m, 2H, H-4, H-6 $_b$ ), 3.70 – 3.64 (m, 2H, H-5, H-5'), 2.11, 2.10, 2.05, 2.02, 2.01, 1.93, 1.85 (7  $\times$  s, 33H, -OAc).

$^{13}\text{C-NMR}$  (201 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 170.5, 170.4, 170.3, 170.2, 170.1, 170.0, 169.9, 169.9, 169.6, 169.2, 169.1$  (11  $\times$  C=O-OAc, 2  $\times$  C=O-Pht), 134.5, 134.2 (2  $\times$  C $_{\text{Ar}}$ ), 133.3 ( $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 131.7, 131.6 (2  $\times$  C $_q$ ), 123.6 (2  $\times$  C $_{\text{Ar}}$ ), 117.9 ( $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 101.3 (C-1 $'''$ ), 100.9 (C-1'), 100.4 (C-1 $''$ ), 96.9 (C-1), 80.9 (d,  $J_{\text{C}_6''',\text{F}} = 172.9$  Hz, C-6 $'''$ ), 76.9 (C-4), 76.5 (C-4 $''$ ), 74.6 (C-5), 72.9 (C-3 $''$ ), 72.8 (C-5'), 72.0 (C-2 $''$ ), 71.8 (d,  $J_{\text{C}_5''',\text{F}} = 22.9$  Hz, C-5 $'''$ ), 71.0 (C-3, C-3 $'''$ ), 70.8 (C-3'), 70.6 (C-5 $''$ ), 70.1 ( $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 69.2 (C-2 $'''$ ), 69.1 (C-2'), 67.5 (C-6), 67.0 (d,  $J_{\text{C}_4''',\text{F}} = 6.9$  Hz, C-4 $'''$ ), 66.8 (C-4'), 62.3 (C-6 $''$ ), 60.9 (C-6'), 54.9 (C-2), 21.1, 21.0, 20.9, 20.8, 20.7, 20.6, 20.6 (11  $\times$  CH $_3$ -OAc).

$^{19}\text{F-NMR}$  (376 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = -229.96$  (td,  $J_{\text{F,H}_6'''} = 46.5$  Hz,  $J_{\text{F,H}_5'''} = 13.1$  Hz).

### 5.5.1.5 Allyl-2-desoxy-2-*N*-acetamido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-(2'',3'',6''-tri-*O*-acetyl-4''-*O*-{2''',3''',4'''-tri-*O*-acetyl-6'''-desoxy-6'''-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl}- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (**56b**)



Zu einer Lösung von 97.2 mg (74.8  $\mu\text{mol}$ , 1.0 Äquiv.) Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-(2'',3'',6''-tri-*O*-acetyl-4''-*O*-{2''',3''',4'''-tri-*O*-acetyl-6'''-desoxy-6'''-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl}- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (**56a**) in 5 mL Ethanol wurden 2.00 mL (20.2 mmol) *n*-Butylamin gegeben und 24 h unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und mit Toluol (2  $\times$  10 mL) kodestilliert, bevor der Rückstand in 5 mL Pyridin aufgenommen und 2.5 mL Essigsäureanhydrid zugegeben wurden. Es wurde 12 h bei Raumtemperatur gerührt, bevor nach vollständigem Umsatz das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt in 20 mL Ethylacetat aufgenommen wurde. Anschließend wurde die organische Phase mit einer 1 M Salzsäure (1  $\times$  40 mL), einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung (1  $\times$  40 mL) und Wasser (1  $\times$  40 mL) gewaschen, mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde schließlich flashchromatographisch an Kieselgel ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 80:1 \rightarrow 30:1$ ) gereinigt.

**Ausbeute:** 75.3 mg (62.1  $\mu\text{mol}$ , 83%); farbloser Feststoff.

$R_f = 0.47$  (EtOAc).

ESI-MS (positiv),  $m/z$ : 1212.3984  $[M+H]^+$ , ber.: 1212.3989.

$[\alpha]_D^{24} = -23.2$  ( $c = 0.25$ ,  $CHCl_3$ ).

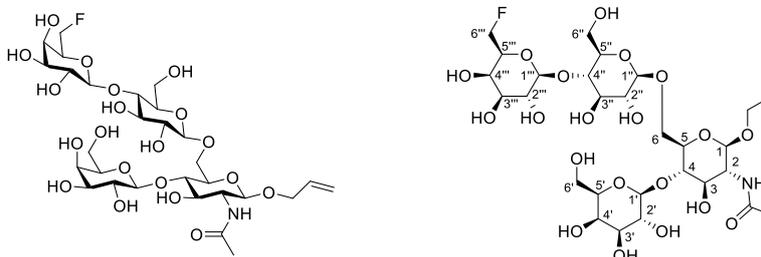
RP-HPLC:  $R_t = 18.8$  min, Luna C18,  $\lambda = 214$  nm, MeCN:H<sub>2</sub>O (5:95)  $\rightarrow$  (100:0) in 30 min.

<sup>1</sup>H-NMR (800 MHz, HSQC, HMBC, COSY, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  [ppm] = 5.87 – 5.81 (m, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.77 (d,  $J = 9.4$  Hz, 1H, -NHAc), 5.40 (dd,  $J_{H4'',H3''} = 3.5$  Hz,  $J_{H4'',H5''} = 1.2$  Hz, 1H, H-4''), 5.37 (dd,  $J_{H4',H3'} = 3.3$  Hz,  $J_{H4',H5'} = 1.2$  Hz, 1H, H-4'), 5.28 (dd,  $^3J = 17.5$  Hz,  $^2J = 1.9$  Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 5.22 – 5.17 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>, H-3''), 5.13 (dd,  $J_{H2'',H3''} = 10.4$  Hz,  $J_{H2'',H1''} = 7.9$  Hz, 1H, H-2''), 5.10 (dd,  $J_{H2',H3'} = 10.5$  Hz,  $J_{H2',H1'} = 7.7$  Hz, 1H, H-2'), 5.07 (dd,  $J_{H3',H2'} = 10.5$  Hz,  $J_{H3',H4'} = 3.4$  Hz, 1H, H-3'), 5.02 (dd,  $J_{H3,H2} = 8.5$  Hz,  $J_{H3,H4} = 7.3$  Hz, 1H, H-3), 4.97 (dd,  $J_{H3'',H2''} = 10.4$  Hz,  $J_{H3'',H4''} = 3.5$  Hz, 1H, H-3''), 4.90 (dd,  $J_{H2'',H3''} = 9.1$  Hz,  $J_{H2'',H1''} = 7.4$  Hz, 1H, H-2''), 4.60 (d,  $J_{H1'',H2''} = 7.4$  Hz, 1H, H-1''), 4.53 (d,  $J_{H1'',H2''} = 7.9$  Hz, 1H, H-1''), 4.51 – 4.48 (m, 1H, H-6<sub>a</sub>''), 4.49 (d,  $J_{H1',H2'} = 7.5$  Hz, 1H, H-1'), 4.48 – 4.41 (m, 1H, H-6<sub>a</sub>'''), 4.45 (d,  $J_{H1,H2} = 7.1$  Hz, 1H, H-1), 4.42 – 4.36 (m, 1H, H-6<sub>b</sub>'''), 4.30 (ddt,  $^2J = 13.3$  Hz,  $^3J = 4.7$  Hz,  $^4J = 1.6$  Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4.15 – 4.10 (m, 3H, H-6<sub>a/b</sub>', H-6<sub>b</sub>''), 4.11 – 4.05 (m, 1H, H-2), 4.05 (dd,  $J_{H6a,H6b} = 10.7$  Hz,  $J_{H6a,H5} = 3.5$  Hz, 1H, H-6<sub>a</sub>), 4.02 (ddt,  $^2J = 13.4$  Hz,  $^3J = 6.0$  Hz,  $^4J = 1.5$  Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 3.98 (ddd,  $J_{H5',H6a'} = 7.5$  Hz,  $J_{H5',H6b'} = 6.2$  Hz,  $J_{H5',H4'} = 1.3$  Hz, 1H, H-5'), 3.94 (ddd,  $J_{H5'',H6a''} = 6.3$  Hz,  $J_{H5'',H6b''} = 4.8$  Hz,  $J_{H5'',H4''} = 1.3$  Hz, 1H, H-5''), 3.89 (dd,  $J_{H4'',H5''} = 9.9$  Hz,  $J_{H4'',H3''} = 8.9$  Hz, 1H, H-4''), 3.76 (t,  $J_{H4,H3} = J_{H4,H5} = 7.4$  Hz, 1H, H-4), 3.73 (dd,  $J_{H6b,H6a} = 10.7$  Hz,  $J_{H6b,H5} = 5.9$  Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>), 3.64 (ddd,  $J_{H5'',H4''} = 10.0$  Hz,  $J_{H5'',H6a''} = 5.1$  Hz,  $J_{H5'',H6b''} = 2.1$  Hz, 1H, H-5''), 3.56 (ddd,  $J_{H5,H4} = 7.4$  Hz,  $J_{H5,H6b} = 5.9$  Hz,  $J_{H5,H6a} = 3.7$  Hz, 1H, H-5), 2.15, 2.12, 2.05, 2.04 (9  $\times$  s, 27H, -OAc) 1.99 (-NHAc), 1.97 (2  $\times$  s, 6H, -OAc).

<sup>13</sup>C-NMR (201 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 170.6, 170.5, 170.3, 170.1, 170.0, 169.7, 169.6, 169.3 (11  $\times$  C=O-OAc, 1  $\times$  C=O-NHAc), 133.6 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 117.5 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 101.4 (C-1'''), 100.6 (C-1', C-1''), 99.8 (C-1), 81.0 (d,  $J_{C6'',F} = 173.0$  Hz, C-6''), 76.5 (C-4''), 75.0 (C-4), 74.6 (C-5), 73.0 (C-5''), 72.8 (C-3''), 72.0 (C-2''), {d,  $J_{C5'',F} = 23.5$  Hz, C-5''}, 71.7 (C-3), 71.1 (C-3'''), 70.8 (C-5'), 70.7 (C-3'), 69.6 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 69.3 (C-2'''), 69.2 (C-2'), 68.1 (C-6), 67.1 (d,  $J_{C4'',F} = 7.0$  Hz, C-4'''), 67.0 (C-4'), 62.2 (C-6''), 61.0 (C-6'), 52.4 (C-2), 23.3 (CH<sub>3</sub>-NHAc), 21.0, 20.9, 20.8, 20.7 (11  $\times$  CH<sub>3</sub>-OAc).

<sup>19</sup>F-NMR (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = -229.86 (td,  $J_{F,H6''} = 46.6$  Hz,  $J_{F,H5''} = 13.2$  Hz).

### 5.5.1.6 Allyl-2-desoxy-2-*N*-acetamido-4-*O*-( $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-(4''-*O*-{6'''-desoxy-6'''-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl};- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (1)



Es wurden 52.7 mg (43.5  $\mu$ mol) Allyl 2-desoxy-2-*N*-acetamido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-(2'',3'',6''-tri-*O*-acetyl-4''-*O*-{2''',3''',4'''-tri-*O*-acetyl-6'''-desoxy-6'''-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl};- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (**56b**) in 5 mL Methanol vorgelegt und bei Raumtemperatur mit einer frisch zubereiteten 1 M Natriummethanolatlösung versetzt. Nach 5 h wurde mit 1 mL Eisessig neutralisiert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels Größenaus-schlusschromatographie an Sephadex™ LH-20 (100% MeOH) gereinigt. Das Produkt wurde anschließend dreimal in Wasser aufgenommen und lyophilisiert.

**Ausbeute:** 29.7 mg (39.6  $\mu$ mol, 91%).

**ESI-MS** (positiv), *m/z*: 767.3091 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, ber.: 767.3092.

750.2827 [M+H]<sup>+</sup>, ber.: 750.2826.

**<sup>1</sup>H-NMR** (800 MHz, HSQC, HMBC, COSY, Methanol-*d*<sub>4</sub>),  $\delta$  [ppm] = 5.88 (dddd, <sup>3</sup>*J* = 17.2 Hz, <sup>3</sup>*J* = 10.6 Hz, <sup>3</sup>*J* = 5.7 Hz, <sup>3</sup>*J* = 4.9 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.27 (dq, <sup>3</sup>*J* = 17.3 Hz, <sup>2</sup>*J* = 1.8 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 5.13 (dq, <sup>3</sup>*J* = 10.5 Hz, <sup>2</sup>*J* = 1.6 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 4.64 – 4.61 (m, 1H, H-6<sub>a</sub>'''), 4.59 – 4.55 (m, 1H, H-6<sub>b</sub>'''), {4.53 (d, *J*<sub>H1,H2</sub> = 7.7 Hz, 1H), 4.46 (d, *J*<sub>H1,H2</sub> = 7.9 Hz, 1H), 4.45 (d, *J*<sub>H1,H2</sub> = 8.5 Hz, 1H), 4.40 (d, *J*<sub>H1,H2</sub> = 7.7 Hz, 1H), 4 × H-1} 4.31 (ddt, <sup>2</sup>*J* = 13.4 Hz, <sup>3</sup>*J* = 4.9 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.7 Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4.23 (dd, *J*<sub>H6a,H6b</sub> = 11.1 Hz, *J*<sub>H6a,H5</sub> = 1.8 Hz, 1H, H-6<sub>a</sub>), 4.05 (ddt, <sup>2</sup>*J* = 13.4 Hz, <sup>3</sup>*J* = 5.8 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.6 Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 3.96 (dd, *J*<sub>H6b,H6a</sub> = 11.1 Hz, *J*<sub>H6b,H5</sub> = 3.8 Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>), 3.94 – 3.90 (m, 2H), 3.87 – 3.83 (m, 2H), 3.82 – 3.79 (m, 2H), 3.78 – 3.74 (m, 2H), 3.68 (dd, *J* = 11.4 Hz, *J* = 4.8 Hz, 1H), 3.63 – 3.60 (m, 2H), 3.58 – 3.51 (m, 7H), 3.43 (ddd, *J* = 9.5 Hz, *J* = 4.3 Hz, *J* = 2.6 Hz, 1H), 3.33 (dd, *J* = 9.0 Hz, *J* = 7.9 Hz, 1H), 1.96 (s, 3H, -NHAc).

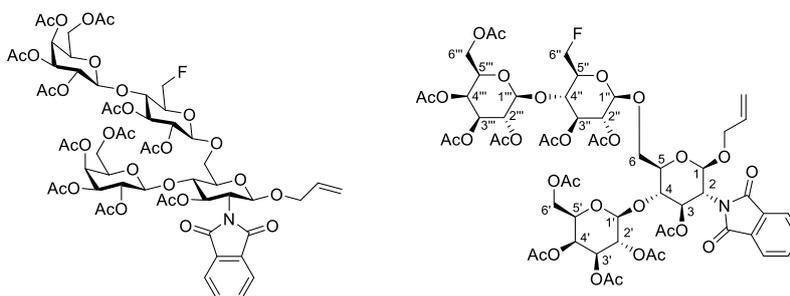
Aufgrund von Signalüberlagerungen konnten nur charakteristische Signale im <sup>1</sup>H-NMR zugeordnet werden.

**<sup>13</sup>C-NMR** (201 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$  = 173.5 (1 × C=O-NHAc), 135.5 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 117.0 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), {(105.2, 104.8, 104.5, 102.0) 4 × C-1}, 83.7 (d, *J*<sub>C6''',F</sub> = 167.8 Hz, C-6'''), 81.3, 80.4, 76.8, 76.3, 75.4, 75.2 (d, *J*<sub>C5''',F</sub> = 21.2 Hz, C-5'''), 74.8, 74.7, 74.5, 74.1, 72.7, 72.3, 70.9 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 70.4, 69.8, 69.7, 68.6 (C-6), 62.5, 61.9, 56.7, 22.9 (-NHAc).

Aufgrund von Signalüberlagerungen konnten nur charakteristische Signale im  $^{13}\text{C}$ -NMR zugeordnet werden.

$^{19}\text{F}$ -NMR (376 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = -232.08$  (td,  $J_{\text{F,H6}''} = 47.8$  Hz,  $J_{\text{F,H5}''} = 13.7$  Hz).

### 5.5.1.7 Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-(2,3-di-*O*-acetyl-4-*O*-{2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl}-6-desoxy-6-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (55a)



Eine Lösung aus 108 mg (146  $\mu\text{mol}$ , 1.5 Äquiv.) 2,3-Di-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-desoxy-6-fluor- $\beta$ -D-glucopyranosyl Trichloracetimidat (**41**) und 70.1 mg (97.1  $\mu\text{mol}$ , 1.0 Äquiv.) Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (**13**) in 15 mL absolutem Dichlormethan wurde in Gegenwart von 2.50 g frisch aktivierten Molsieb 4Å unter einer Argonatmosphäre auf  $-78$  °C gekühlt und eine Stunde bei dieser Temperatur gerührt. Anschließend wurden 15.0  $\mu\text{L}$  (83.0  $\mu\text{mol}$ , 0.85 Äquiv.) Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (TMSOTf) zugetropft und weitere 15 min bei  $-78$  °C gerührt, bevor das Kältebad entfernt und die Reaktionslösung langsam über einen Zeitraum von 30 min auf Raumtemperatur erwärmt wurde. Nach beendeter Reaktion wurde mit 30 mL Dichlormethan verdünnt, über Hyflo<sup>®</sup> filtriert und die organische Phase mit einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung (1  $\times$  40 mL) gewaschen. Anschließend wurde mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde flashchromatographisch an Kieselgel ( $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc} = 2:3$ ) gereinigt.

**Ausbeute:** 88.4 mg (68.0  $\mu\text{mol}$ , 70%); farbloser Feststoff.

$R_f = 0.31$  ( $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc} = 2:3$ ).

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 1317.4176  $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ , ber.: 1317.4203.

$[\alpha]_D^{20} = +1.0$  ( $c = 1$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

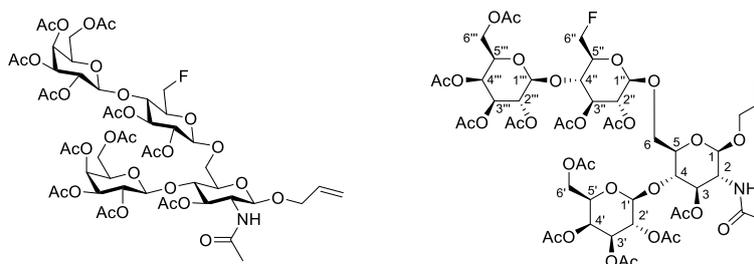
**RP-HPLC:**  $R_t = 6.18$  min, Luna C18,  $\lambda = 214$  nm, Gradient:  $\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O} + 1\% \text{ TFA} (70:30) \rightarrow (100:0)$  in 15 min.

<sup>1</sup>H-NMR (800 MHz, HSQC, HMBC, COSY, CDCl<sub>3</sub>), δ [ppm] = 7.84 – 7.81 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>-Pht), 7.73 – 7.71 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>-Pht), 5.70 (dd,  $J_{H_3,H_2} = 10.7$  Hz,  $J_{H_3,H_4} = 8.9$  Hz, 1H, H-3), 5.71 – 5.66 (m, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.34 (d,  $J_{H_{11},H_2} = 8.3$  Hz, 1H, H-1), 5.35 – 5.31 (m, 2H, H-4', H-4'''), 5.22 (t,  $J_{H_{3''},H_{2''}} = J_{H_{3''},H_{4''}} = 9.1$  Hz, 1H, H-3''), 5.15 – 5.11 (m, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 5.12 (dd,  $J_{H_{2''},H_{3''}} = 10.5$  Hz,  $J_{H_{2''},H_{1''}} = 8.0$  Hz, 1H, H-2''), 5.08 (dd,  $J_{H_{2'},H_{3'}} = 10.4$  Hz,  $J_{H_{2'},H_{1'}} = 8.0$  Hz, 1H, H-2'), 5.07– 5.04 (m, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 5.00 (dd,  $J_{H_{3'},H_{2'}} = 10.5$ ,  $J_{H_{3'},H_{4'}} = 3.6$  Hz, 1H, H-3'), 4.98 (dd,  $J_{H_{3'''},H_{2''}} = 10.4$  Hz,  $J_{H_{3'''},H_{4''}} = 3.5$  Hz, 1H, H-3'''), 4.93 (dd,  $J_{H_{2''},H_{3''}} = 9.2$  Hz,  $J_{H_{2''},H_{1''}} = 7.7$  Hz, 1H, H-2''), 4.75 – 4.59 (m, 2H, H-6<sub>a/b</sub>''), 4.67 (d,  $J_{H_{1''},H_{2''}} = 7.7$  Hz, 1H, H-1''), 4.58 (d,  $J_{H_{1''},H_{2''}} = 8.0$  Hz, 1H, H-1'''), 4.55 (d,  $J_{H_{1'},H_{2'}} = 7.9$  Hz, 1H, H-1'), 4.23 (ddt,  $^2J = 13.0$  Hz,  $^3J = 5.0$  Hz,  $^4J = 1.6$  Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4.17 (dd,  $J_{H_2,H_3} = 10.7$  Hz,  $J_{H_2,H_1} = 8.5$  Hz, 1H, H-2), 4.12 (dd,  $J_{H_{6a''},H_{6b''}} = 11.2$  Hz,  $J_{H_{6a''},H_{5''}} = 6.1$  Hz, 1H, H-6<sub>a''</sub>), 4.09 – 4.02 (m, 4H, H-6<sub>a</sub>, H-6<sub>a/b</sub>', H-6<sub>b''</sub>), 4.02 – 3.99 (m, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 3.97 (t,  $J_{H_{4'},H_{3'}} = J_{H_{4'},H_{5''}} = 9.5$  Hz, 1H, H-4''), 3.91 – 3.88 (m, 2H, H-5', H-5'''), 3.86 – 3.83 (m, 2H, H-6<sub>b</sub>, H-4), 3.69 (ddd,  $J_{H_5,H_4} = 9.9$  Hz,  $J_{H_5,H_{6a}} = 5.5$  Hz,  $J_{H_5,H_{6b}} = 1.8$  Hz, 1H, H-5), 3.54 (ddt,  $J_{H_{5''},F} = 29.2$  Hz,  $J_{H_{5''},H_{4''}} = 9.9$  Hz,  $J_{H_{5''},H_{6a''}} = J_{H_{5''},H_{6b''}} = 2.1$  Hz, 1H, H-5''), 2.14, 2.12, 2.06, 2.05, 2.05, 2.04, 2.03, 2.03, 1.96, 1.95, 1.87 (11 × s, 33H, -OAc).

<sup>13</sup>C-NMR (201 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 170.5, 170.4, 170.3, 170.2, 170.1, 170.0, 169.9, 169.8, 169.7, 169.3, 169.2, 168.0, 167.7 (11 × C=O-OAc, 2 × C=O-Pht), 134.4, 134.2 (2 × C<sub>Ar</sub>), 133.4 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 131.7, 131.4 (2 × C<sub>q</sub>), 123.7, 123.6 (2 × C<sub>Ar</sub>), 117.8 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 101.2 (C-1'''), 101.0 (C-1''), 100.9 (C-1'), 96.8 (C-1), 80.8 (d,  $J_{C_6'',F} = 174.6$  Hz, C-6''), 76.8 (C-4), 74.8 (C-4''), 74.5 (C-5), 73.9 ( $J_{C_5'',F} = 23.0$  Hz, C-5''), 73.4 (C-3''), 71.7 (C-2''), 71.1 (C-3), 71.0 (C-3''', C-3'), 70.9, 70.8 (C-5'''), 70.6 (C-5'), 70.0 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 69.3 (C-2''', C-2'), 67.7 (C-6), 66.9 (C-4'), 66.7 (C-4'''), 61.0 (C-6'), 60.9 (C-6'''), 54.9 (C-2), 29.8, 20.9, 20.8, 20.7, 20.6 (11 × CH<sub>3</sub>-OAc).

<sup>19</sup>F-NMR (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = -233.80 (td,  $J_{F,H_{6''}} = 47.6$  Hz,  $J_{F,H_{5''}} = 28.6$  Hz).

### 5.5.1.8 Allyl-2-desoxy-2-N-acetamido-3-O-acetyl-4-O-(2',3',4',6'-tetra-O-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-6-O-(2'',3''-di-O-acetyl-4''-O-{2''',3''',4''',6'''-tetra-O-acetyl-β-D-galactopyranosyl}-6''-desoxy-6''-fluor-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosid (55b)



Zu einer Lösung von 75.4 mg (58.0 μmol, 1.0 Äquiv.) Allyl-2-desoxy-2-N-phthalimido-3-O-acetyl-4-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-6-O-(2,3-di-O-acetyl-4-O-{2,3,4,6-tetra-O-acetyl-β-D-galactopyranosyl}-6-desoxy-6-fluor-β-D-galactopyranosyl)-β-D-glucopyranose (55a) in 5 mL Ethanol wurden 2.00 mL (20.2 mmol)

*n*-Butylamin gegeben und 24 h unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und mit Toluol (2 × 10 mL) kodestilliert, bevor der Rückstand in 5 mL Pyridin aufgenommen wurde und mit 2.5 mL Essigsäureanhydrid versetzt wurde. Es wurde 12 h bei Raumtemperatur gerührt, bevor nach vollständigem Umsatz das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt in 20 mL Ethylacetat aufgenommen wurde. Anschließend wurde mit einer 1 M Salzsäure (1 × 40 mL), einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung (1 × 40 mL) und Wasser (1 × 40 mL) gewaschen, mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde schließlich flashchromatographisch an Kieselgel (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH = 80:1 → 30:1) gereinigt.

**Ausbeute:** 59.8 mg (49.3 μmol, 85%); farbloser Feststoff.

$R_f = 0.55$  (EtOAc).

**ESI-MS** (positiv), *m/z*: 1229.4253 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, ber.: 1229.4254.

$[\alpha]_D^{24} = -25.4$  (*c* = 0.5, CHCl<sub>3</sub>).

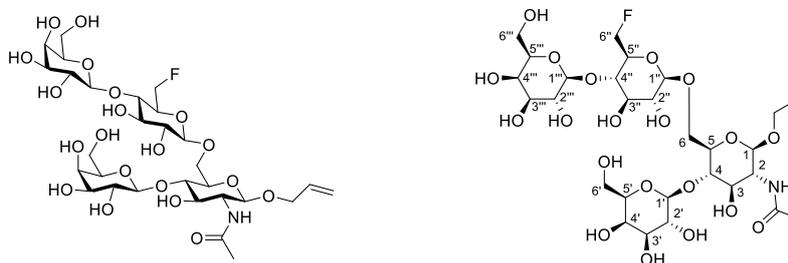
**RP-HPLC:**  $R_t = 3.08$  min, Luna C18,  $\lambda = 214$  nm, Gradient: MeCN:H<sub>2</sub>O + 1% TFA (90:10) → (100:0) in 15 min.

**<sup>1</sup>H-NMR** (800 MHz, HSQC, HMBC, COSY, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  [ppm] = 5.83 (ddt, <sup>3</sup>*J* = 17.0 Hz, <sup>3</sup>*J* = 10.5 Hz, <sup>3</sup>*J* = 5.2 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.70 (d, *J* = 9.5 Hz, 1H, -NHAc), 5.36 (dd, *J*<sub>H4',H3'</sub> = 3.4 Hz, *J*<sub>H4',H5'</sub> = 1.3 Hz, 1H, H-4'), 5.34 (dd, *J*<sub>H4'',H3''</sub> = 3.5 Hz, *J*<sub>H4'',H5''</sub> = 1.2 Hz, 1H, H-4''), 5.27 (dd, <sup>3</sup>*J* = 17.3 Hz, <sup>2</sup>*J* = 1.8 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 5.22 (t, *J*<sub>H3'',H2''</sub> = *J*<sub>H3'',H4''</sub> = 9.2 Hz, 1H, H-3''), 5.18 (dd, <sup>3</sup>*J* = 10.5 Hz, <sup>2</sup>*J* = 1.5 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 5.12 (dd, *J*<sub>H2'',H3''</sub> = 10.4 Hz, *J*<sub>H2'',H1''</sub> = 7.9 Hz, 1H, H-2''), 5.09 (dd, *J*<sub>H2',H3'</sub> = 10.4 Hz, *J*<sub>H2',H1'</sub> = 7.9 Hz, 1H, H-2'), 5.06 – 5.00 (m, 2H, H-3, H-3'), 4.98 (dd, *J*<sub>H3'',H2''</sub> = 10.4 Hz, *J*<sub>H3'',H4''</sub> = 3.6 Hz, 1H, H-3''), 4.89 (dd, *J*<sub>H2'',H3''</sub> = 9.3 Hz, *J*<sub>H2'',H1''</sub> = 7.6 Hz, 1H, H-2''), 4.68 (ddd, *J*<sub>H6a'',F</sub> = 50.3 Hz, *J*<sub>H6a'',H6b''</sub> = 10.7 Hz, *J*<sub>H6a'',H5''</sub> = 2.3 Hz, 1H, H-6<sub>a</sub>''), 4.64 – 4.53 (m, 1H, H-6<sub>b</sub>''), 4.60 (d, *J*<sub>H1'',H2''</sub> = 7.6 Hz, 1H, H-1''), 4.58 (d, *J*<sub>H1'',H2''</sub> = 7.9 Hz, 1H, H-1''), 4.50 (d, *J*<sub>H1',H2'</sub> = 7.9 Hz, 1H, H-1'), 4.43 (d, *J*<sub>H1,H2</sub> = 6.9 Hz, 1H, H-1), 4.28 (ddd, <sup>2</sup>*J* = 13.5 Hz, <sup>3</sup>*J* = 3.0 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.7 Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4.15 – 4.04 (m, 6H, H-6<sub>ab</sub>', H-6<sub>ab</sub>'', H-2, H-6<sub>a</sub>), 4.02 (dd, <sup>2</sup>*J* = 13.3 Hz, <sup>3</sup>*J* = 5.9 Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 3.97 – 3.93 (m, 2H, H-5'', H-4''), 3.89 (ddd, *J*<sub>H5',H6a'</sub> = 7.4 Hz, *J*<sub>H5',H6b'</sub> = 6.1 Hz, *J*<sub>H5',H4'</sub> = 1.2 Hz, 1H, H-5'), 3.80 (t, *J*<sub>H4,H3</sub> = *J*<sub>H4,H5</sub> = 7.6 Hz, 1H, H-4), 3.75 (dd, *J*<sub>H6b,H6a</sub> = 10.9 Hz, *J*<sub>H6b,H5</sub> = 5.6 Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>), 3.57 – 3.52 (m, 2H, H-5, H-5''), 2.17, 2.15, 2.06, 2.05, 2.04 (5 × s, 33H, -OAc), 1.97 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-NHAc).

**<sup>13</sup>C-NMR** (201 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = 170.8, 170.7, 170.5, 170.3, 170.2, 170.1, 169.8, 169.7, 169.3 (11 × C=O-OAc, 1 × C=O-NHAc), 133.7 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 117.5 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 101.2 (C-1'''), 101.0 (C-1''), 100.8 (C-1'), 99.7 (C-1), 80.9 (d, *J*<sub>C6'',F</sub> = 175.3 Hz, C-6''), 75.2 (C-4), 74.7 (d, *J*<sub>C4'',F</sub> = 7.5 Hz, C-4''), 74.4 (C-5), 73.9 (d, *J*<sub>C5'',F</sub> = 19.3 Hz, C-5''), 73.2 (C-3''), 72.0 (C-3), 71.8 (C-2''), 71.1 (C-3'''), 70.8 (C-3', C-5', C-5'''), 69.4 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 69.3 (C-2''), 69.2 (C-2'), 68.2 (C-6), 67.0 (C-4'), 66.8 (C-4'''), 61.0 (C-6'), 60.9 (C-6''), 53.6 (C-2), 23.4 (CH<sub>3</sub>-NHAc), 21.0, 20.9, 20.8, 20.7, 20.6 (11 × CH<sub>3</sub>-OAc).

**<sup>19</sup>F-NMR** (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  = -233.78 (td, *J*<sub>F,H6''</sub> = 47.4 Hz, *J*<sub>F,H5''</sub> = 28.6 Hz).

### 5.5.1.9 Allyl-2-desoxy-2-*N*-acetamido-3-*O*-acetyl-4-*O*-( $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-(4''-*O*- $\{\beta$ -D-galactopyranosyl}-6'''-desoxy-6'''-fluor- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (2)



Es wurden 25.4 mg (21.0  $\mu$ mol) Allyl 2-desoxy-2-*N*-acetamido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-(2'',3''-di-*O*-acetyl-4''-*O*-{2''',3''',4''',6'''-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl}-6'''-desoxy-6'''-fluor- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (**55b**) in 3 mL Methanol vorgelegt und bei Raumtemperatur mit einer frisch zubereiteten 1 M Natriummethanolatlösung versetzt. Nach 3 h wurde mit 1 mL Eisessig neutralisiert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels Größenausschlusschromatographie an Sephadex™ LH-20 (100% MeOH) gereinigt. Das Produkt wurde anschließend dreimal in Wasser aufgenommen und lyophilisiert.

**Ausbeute:** 13.7 mg (18.3  $\mu$ mol, 87%).

**ESI-MS** (positiv), *m/z*: 767.3093 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, ber.: 767.3092.

750.2826 [M+H]<sup>+</sup>, ber.: 750.2826.

**ESI-MS** (negativ), *m/z*: 748.2686 [M-H]<sup>-</sup>, ber.: 748.2680.

**<sup>1</sup>H-NMR** (800 MHz, HSQC, HMBC, COSY, NOESY, Methanol-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$  [ppm] = 5.88 (dddd, <sup>3</sup>*J* = 17.3 Hz, <sup>3</sup>*J* = 10.6 Hz, <sup>3</sup>*J* = 5.8 Hz, <sup>3</sup>*J* = 4.9 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.28 (dq, <sup>3</sup>*J* = 17.3 Hz, <sup>2</sup>*J* = 1.8 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 5.13 (dq, <sup>3</sup>*J* = 10.5 Hz, <sup>2</sup>*J* = 1.6 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 4.75 (d, *J*<sub>H6a'',H6b''</sub> = 10.3 Hz, 1H, H-6''), 4.69 (d, *J*<sub>H6b'',H6a''</sub> = 10.1 Hz, 1H, H-6''), {4.53 (d, *J*<sub>H1,H2</sub> = 7.0 Hz, 1H), 4.50 (d, *J*<sub>H1,H2</sub> = 7.9 Hz, 1H), 4.46 (d, *J*<sub>H1,H2</sub> = 8.5 Hz, 1H), 4.29 (d, *J*<sub>H1,H2</sub> = 7.7 Hz, 1H), 4  $\times$  H-1}, 4.32 (ddt, <sup>2</sup>*J* = 13.4 Hz, <sup>3</sup>*J* = 4.9 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.7 Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4.21 (dd, *J*<sub>H6a,H6b</sub> = 11.2 Hz, *J*<sub>H6a,H5</sub> = 1.9 Hz, 1H, H-6<sub>a</sub>), 4.07 (ddt, <sup>2</sup>*J* = 13.3 Hz, <sup>3</sup>*J* = 5.8 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.5 Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 3.97 (dd, *J*<sub>H6b,H6a</sub> = 11.2 Hz, *J*<sub>H6b,H5</sub> = 3.9 Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>), 3.83 – 3.81 (m, 2H), 3.80 – 3.74 (m, 4H), 3.72 – 3.67 (m, 2H), 3.64 – 3.61 (m, 2H), 3.60 – 3.51 (m, 8H), 3.48 (dd, *J* = 9.7 Hz, *J* = 3.3 Hz, 1H), 3.35 – 3.32 (m, 1H), 1.97 (s, 3H, -NHAc).

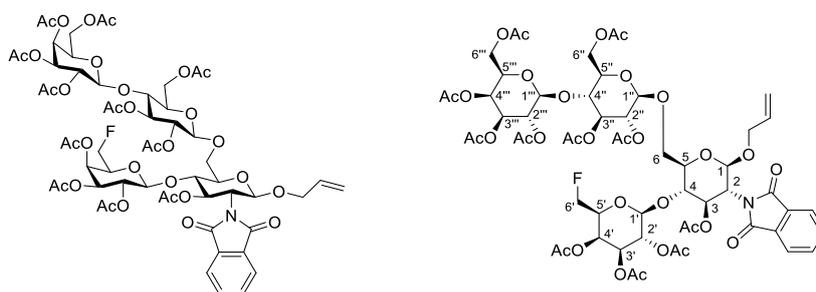
Aufgrund von Signalüberlagerungen konnten nur charakteristische Signale im <sup>1</sup>H-NMR zugeordnet werden.

**<sup>13</sup>C-NMR** (200 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$  = 173.5 (1  $\times$  C=O-NHAc), 135.5 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 117.0 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), {(105.2, 104.8, 104.6, 102.0) 4  $\times$  C-1}, 82.7 (d, *J*<sub>C6'',F</sub> = 169.3 Hz, C-6''), 80.4, 79.5, 77.1, 76.9, 76.3, 75.3, 75.1 (d, *J*<sub>C5'',F</sub> = 18.3 Hz, C-5''), 74.9, 74.8, 74.6, 74.1, 72.6, 72.5, 70.9 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 70.4, 70.3, 68.8 (C-6), 62.5, 56.7, 47.9, 22.9 (-NHAc).

Aufgrund von Signalüberlagerungen konnten nur charakteristische Signale im  $^{13}\text{C}$ -NMR zugeordnet werden.

$^{19}\text{F}$ -NMR (376 MHz, Methanol- $d_4$ )  $\delta = -234.84$  (td,  $J_{\text{F,H6}''} = 47.2$  Hz,  $J_{\text{F,H5}''} = 27.3$  Hz).

#### 5.5.1.10 Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4'-tri-*O*-acetyl-6'-desoxy-6'-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-(2'',3'',6''-tri-*O*-acetyl-4''-*O*-{2''',3''',4''',6'''-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl})- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (53a)



Eine Lösung aus 121 mg (155  $\mu\text{mol}$ , 1.5 Äquiv.) 2,3,6-Tri-*O*-acetyl-4-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosyl Trichloroacetimidat (**16**) und 70.2 mg (103  $\mu\text{mol}$ , 1.0 Äquiv.) Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4'-tri-*O*-acetyl-6'-desoxy-6'-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (**14**) in 15 mL absolutem Dichlormethan wurde in Gegenwart von 2.50 g frisch aktivierten Molsieb 4Å unter Argonatmosphäre auf  $-78$  °C gekühlt und eine Stunde bei dieser Temperatur gerührt. Anschließend wurden 15.0  $\mu\text{L}$  (83.0  $\mu\text{mol}$ , 0.81 Äquiv.) Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (TMSOTf) zugetropft und weitere 15 min bei  $-78$  °C gerührt, bevor das Kältebad entfernt und die Reaktionslösung langsam über einen Zeitraum von 30 min auf Raumtemperatur erwärmt wurde. Nach beendeter Reaktion wurde mit 30 mL Dichlormethan verdünnt, über Hyflo<sup>®</sup> filtriert und die organische Phase mit einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung (1  $\times$  40 mL) gewaschen. Anschließend wurde mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde flash-chromatographisch an Kieselgel ( $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc} = 2:3$ ) gereinigt.

**Ausbeute:** 106 mg (81.5  $\mu\text{mol}$ , 79%); farbloser Feststoff.

$R_f = 0.12$  ( $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc} = 2:3$ ).

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 1317.4202  $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ , ber.: 1317.4203.

$[\alpha]_D^{23} = -1.0$  ( $c = 0.5$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

**RP-HPLC:**  $R_t = 6.13$  min, Luna C18,  $\lambda = 214$  nm, Gradient:  $\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O} + 1\% \text{ TFA}$  (70:30)  $\rightarrow$  (100:0) in 15 min.

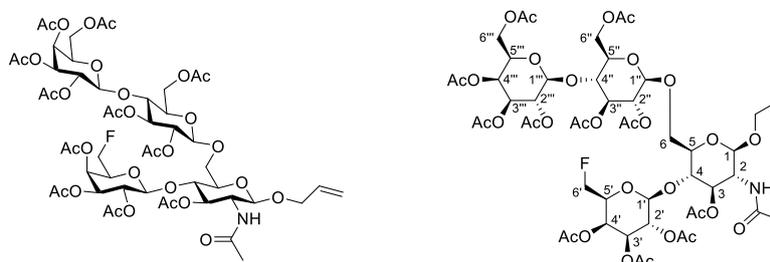
$R_t = 8.61$  min, Luna C18,  $\lambda = 214$  nm, Gradient: MeCN:H<sub>2</sub>O + 1% TFA (10:90) → (100:0) in 20 min.

**<sup>1</sup>H-NMR** (800 MHz, HSQC, HMBC, COSY, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  [ppm] = 7.88 – 7.79 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>-Pht), 7.75 – 7.70 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>-Pht), 5.72 (dd,  $J_{H3,H2} = 10.6$  Hz,  $J_{H3,H4} = 8.6$  Hz, 1H, H-3), 5.76 – 5.67 (m, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.40 – 5.34 (m, 1H, H-4'''), 5.37 (ddd,  $J_{H4',F} = 26.2$  Hz,  $J_{H4',H3'} = 3.5$  Hz,  $J_{H4',H5'} = 1.3$  Hz, 1H, H-4'), 5.35 (d,  $J_{H1,H2} = 8.5$  Hz, 1H, H-1), 5.19 (t,  $J_{H3'',H2''} = J_{H3'',H4''} = 8.9$  Hz, 1H, H-3''), 5.15 (dq,  $^3J = 17.3$  Hz,  $^2J = 1.6$  Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 5.13 – 5.10 (m, 2H, H-2', H-2'''), 5.08 (dq,  $^3J = 10.4$  Hz,  $^2J = 1.4$  Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 5.04 (dd,  $J_{H3'',H2''} = 10.4$  Hz,  $J_{H3'',H4''} = 3.5$  Hz, 1H, H-3'''), 4.96 (dd,  $J_{H3',H2'} = 10.4$  Hz,  $J_{H3',H4'} = 3.5$  Hz, 1H, H-3'), 4.93 (dd,  $J_{H2'',H3''} = 8.9$  Hz,  $J_{H2'',H1''} = 7.2$  Hz, 1H, H-2''), 4.71 (d,  $J_{H1'',H2''} = 7.2$  Hz, 1H, H-1''), 4.56 (d,  $J_{H1',H2'} = 7.9$  Hz, 1H, H-1'), 4.51 (d,  $J_{H1'',H2''} = 8.0$  Hz, 1H, H-1'''), 4.54 – 4.48 (m, 1H, H-6<sub>a</sub>''), 4.41 (dd,  $J_{H6a',H6b'} = 10.4$  Hz,  $J_{H6a',H5'} = 5.7$  Hz, 1H, H-6<sub>a</sub>'), 4.35 (dd,  $J_{H6b',H6a'} = 9.4$  Hz,  $J_{H6b',H5'} = 5.7$  Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>'), 4.27 (ddt,  $^2J = 13.1$  Hz,  $^3J = 5.1$  Hz,  $^4J = 1.6$  Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4.19 (dd,  $J_{H2,H3} = 10.6$  Hz,  $J_{H2,H1} = 8.5$  Hz, 1H, H-2), 4.17 – 4.13 (m, 2H, H-6<sub>b</sub>'', H-6<sub>a</sub>'''), 4.11 – 4.05 (m, 3H, H-6<sub>a</sub>, H-6<sub>b</sub>'''), 4.03 (ddt,  $^2J = 13.0$  Hz,  $^3J = 6.1$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4.00 – 3.94 (m, 1H, H-5'), 3.92 – 3.87 (m, 2H, H-4'', H-5'''), 3.84 (dd,  $J_{H4,H5} = 10.0$  Hz,  $J_{H4,H3} = 8.7$  Hz, 1H, H-4), 3.82 (dd,  $J_{H6b,H6a} = 11.3$  Hz,  $J_{H6b,H5} = 5.6$  Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>), 3.72 – 3.68 (m, 1H, H-5), 3.67 (dd,  $J_{H5'',H6a''} = 9.8$  Hz,  $J_{H5'',H6b''} = 2.1$  Hz, 1H, H-5''), 2.15, 2.13, 2.08, 2.07, 2.05, 1.97, 1.96, 1.87 (8 × s, 33H, -OAc).

**<sup>13</sup>C-NMR** (201 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = 170.5, 170.3, 170.2, 170.1, 169.9, 169.8, 169.3, 169.2$  (11 × C=O-OAc, 2 × C=O-Pht), 133.4 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 131.8, 131.3 (2 × C<sub>q</sub>), 123.7, 123.6 (2 × C<sub>Ar</sub>), 117.9 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 101.4 (C-1'''), 101.1 (C-1'), 100.6 (C-1''), 97.0 (C-1), 80.9 (d,  $J_{C6',F} = 174.4$  Hz, C-6'), 77.2 (C-4), 76.2 (C-4''), 74.8 (C-5), 73.0 (C-3'', C-5''), 72.1 (C-2''), 71.8 (d,  $J_{C5',F} = 22.9$  Hz, C-5'), 71.1 (C-3, C-3'), 70.9 (C-5'''), 70.8 (C-3'''), 70.2 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 69.3 (C-2'''), 69.2 (C-2'), 67.7 (C-6), 66.8 (C-4', C-4'''), 62.6 (C-6''), 60.9 (C-6'''), 55.0 (C-2), 21.0, 20.9, 20.8, 20.7 (11 × CH<sub>3</sub>-OAc).

**<sup>19</sup>F-NMR** (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta = -229.98$  (td,  $J_{F,H6'} = 47.1$  Hz,  $J_{F,H5'} = 12.9$  Hz).

**5.5.1.11 Allyl-2-desoxy-2-*N*-acetamido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4'-tri-*O*-acetyl-6'-desoxy-6'-fluor-β-D-galactopyranosyl)-6-*O*-(2'',3'',6''-tri-*O*-acetyl-4''-*O*-{2''',3''',4''',6'''-tetra-*O*-acetyl-β-D-galactopyranosyl})-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosid (53b)**



Zu einer Lösung von 93.0 mg (71.5 μmol, 1.0 Äquiv.) Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4'-tri-*O*-acetyl-6'-desoxy-6'-fluor-β-D-galactopyranosyl)-6-*O*-(2'',3'',6''-tri-*O*-acetyl-4''-*O*-{2''',3''',4''',6'''-tetra-*O*-acetyl-β-D-galactopyranosyl})-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosid (**53a**) in 5 mL Ethanol wurden 2.00 mL (20.2 mmol) *n*-Butylamin gegeben und 24 h unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und mit Toluol (2 × 10 mL) kodestilliert, bevor der Rückstand in 5 mL Pyridin aufgenommen wurde und mit 2.5 mL Essigsäureanhydrid versetzt wurde. Es wurde 6 h bei Raumtemperatur gerührt, bevor nach vollständigem Umsatz das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt in 25 mL Ethylacetat aufgenommen wurde. Anschließend wurde mit einer 1 M Salzsäure (1 × 40 mL), einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung (1 × 40 mL) und Wasser (1 × 40 mL) gewaschen, mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde schließlich flashchromatographisch an Kieselgel (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH = 80:1 → 30:1) gereinigt.

**Ausbeute:** 66.8 mg (55.1 μmol, 77%); farbloser Feststoff.

$R_f = 0.48$  (EtOAc).

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 1229.4242 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, ber.: 1229.4254.

1212.4041 [M+H]<sup>+</sup>, ber.: 1212.3989.

$[\alpha]_D^{24} = -25.4$  ( $c = 0.5$ , CHCl<sub>3</sub>).

**RP-HPLC:**  $R_t = 3.36$  min, Luna C18,  $\lambda = 214$  nm, Gradient: MeCN:H<sub>2</sub>O + 1% TFA (70:30) → (100:0) in 15 min.

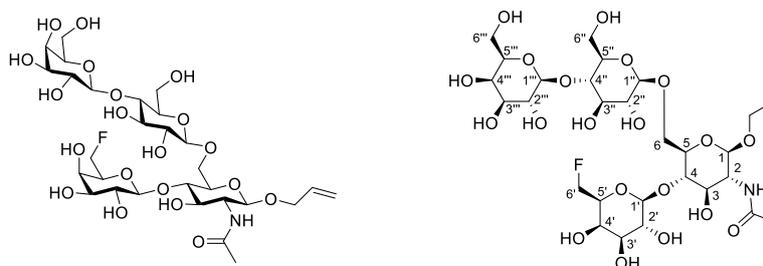
**<sup>1</sup>H-NMR** (800 MHz, HSQC, HMBC, COSY, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  [ppm] = 5.84 (dddd, <sup>3</sup> $J = 17.2$  Hz, <sup>3</sup> $J = 10.5$  Hz, <sup>3</sup> $J = 5.8$  Hz, <sup>3</sup> $J = 4.7$  Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.76 (d,  $J = 9.4$  Hz, 1H, -NHAc), 5.42 (dd,  $J_{H4'',H3'''} = 3.3$  Hz,  $J_{H4''',H5'''} = 1.2$  Hz, 1H, H-4'''), 5.35 (dd,  $J_{H4',H3'} = 3.5$  Hz,  $J_{H4',H5'} = 1.2$  Hz, 1H, H-4'), 5.28 (dd, <sup>3</sup> $J = 17.3$  Hz, <sup>2</sup> $J = 1.7$  Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 5.21 – 5.17 (m, 2H, H-3''), -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 5.14 – 5.08 (m, 3H, H-2', H-2'', H-3'''), 5.05 (dd,  $J_{H3,H2} = 8.3$  Hz,  $J_{H3,H4} = 7.2$  Hz, 1H, H-3), 4.96 (dd,  $J_{H3',H2'} = 10.4$  Hz,  $J_{H3',H4'} = 3.5$  Hz, 1H, H-3'), 4.88 (dd,  $J_{H2'',H3''} = 9.1$  Hz,  $J_{H2'',H1''} = 7.3$  Hz, 1H, H-2''), 4.60 (d,  $J_{H1'',H2''} = 7.3$  Hz, 1H, H-1''), 4.52 (d,

$J_{H1''',H2'''} = 7.6$  Hz, 1H, H-1'''), 4.50 (d,  $J_{H1',H2'} = 7.9$  Hz, 1H, H-1'), 4.53 – 4.46 (m, 2H, H-6<sub>a</sub>', H-6<sub>a</sub>'''), 4.47 (d,  $J_{H2,H1} = 7.6$  Hz, 1H, H-1), 4.38 (dd,  $J_{H6b',H6a'} = 9.8$ ,  $J_{H6b',H5'} = 4.9$  Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>'), 4.30 (ddd,  ${}^2J = 13.2$  Hz,  ${}^3J = 3.2$  Hz,  ${}^4J = 1.6$  Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4.14 (dd,  $J_{H6a''',H6b'''} = 11.2$  Hz,  $J_{H6a''',H5'''} = 6.2$  Hz, 1H, H-6<sub>a</sub>'''), 4.11 (dd,  $J_{H6b'',H6a''} = 12.0$  Hz,  $J_{H6b'',H5''} = 5.1$  Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>'''), 4.09 – 4.04 (m, 4H, H-2, H-6<sub>a</sub>, H-5', H-6<sub>b</sub>'''), 4.02 (ddt,  ${}^2J = 13.4$  Hz,  ${}^3J = 6.0$  Hz,  ${}^4J = 1.5$  Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 3.91 – 3.88 (m, 1H, H-5'''), 3.86 (t,  $J_{H4'',H3''} = J_{H4'',H5''} = 9.4$  Hz, 1H, H-4''), 3.80 (t,  $J_{H4,H3} = J_{H4,H5} = 7.3$  Hz, 1H, H-4), 3.73 (dd,  $J_{H6b,H6a} = 10.2$  Hz,  $J_{H6b,H5} = 4.5$  Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>), 3.65 – 3.63 (m, 1H, H-5''), 3.59 – 3.56 (m, 1H, H-5), 2.16, 2.15, 2.12, 2.06, 2.04, 1.96 (6 × s, 33H, -OAc), 1.98 (CH<sub>3</sub>-NHAc).

<sup>13</sup>C-NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 170.6, 170.5, 170.3, 170.2, 170.1, 169.8, 169.8, 169.7, 169.2 (11 × C=O-OAc, 1 × C=O-NHAc), 133.7 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 117.5 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 101.3 (C-1'''), 100.6 (C-1''), 100.5 (C-1'), 99.8 (C-1), 81.0 (d,  $J_{C6',F} = 173.0$  Hz, C-6'), 76.2 (C-4''), 75.1 (C-4), 74.6 (C-5), 73.0 (C-5''), 72.7 (C-3''), 72.1 (C-2''), 71.8 (d,  $J_{C5',F} = 23.0$  Hz, C-5'), 71.4 (C-3), 71.1 (C-3'), 70.8 (C-3'''), 70.6 (C-5'''), 69.6 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 69.3 (C-2'''), 69.2 (C-2'), 68.1 (C-6), 67.5 (C-4'''), 66.7 (C-4'), 61.9 (C-6''), 60.9 (C-6'''), 52.3 (C-2), 23.4 (CH<sub>3</sub>-NHAc), 21.0, 21.0, 20.9, 20.8, 20.7 (11 × CH<sub>3</sub>-OAc).

<sup>19</sup>F NMR (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = -230.32 (td,  $J_{F,H6'} = 46.6$  Hz,  $J_{F,H5'} = 13.1$  Hz).

### 5.5.1.12 Allyl-2-desoxy-2-*N*-acetamido-4-*O*-(6'-desoxy-6'-fluor-β-D-galactopyranosyl)-6-*O*-(4''-*O*-{β-D-galactopyranosyl}-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosid (3)



Es wurden 15.8 mg (13.0 μmol) Allyl 2-desoxy-2-*N*-acetamido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4'-tri-*O*-acetyl-6'-desoxy-6'-fluor-β-D-galactopyranosyl)-6-*O*-(2'',3'',6''-tri-*O*-acetyl-4''-*O*-{2''',3''',4''',6'''-tetra-*O*-acetyl-β-D-galactopyranosyl}-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosid (**53b**) in 3 mL Methanol vorgelegt und bei Raumtemperatur mit einer frisch zubereiteten 1 M Natriummethanolatlösung versetzt. Nach 3 h wurde mit 1 mL Eisessig neutralisiert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels Größenausschlusschromatographie an Sephadex™ LH-20 (100% MeOH) gereinigt. Das Produkt wurde anschließend dreimal in Wasser aufgenommen und lyophilisiert.

**Ausbeute:** 8.54 mg (11.4 μmol, 88%).

**ESI-MS** (positiv), *m/z*: 767.3094 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, ber.: 767.3092.

750.2832 [M+H]<sup>+</sup>, ber.: 750.2826.

ESI-MS (negativ), *m/z*: 748.2685 [M-H]<sup>-</sup>, ber.: 748.2680.

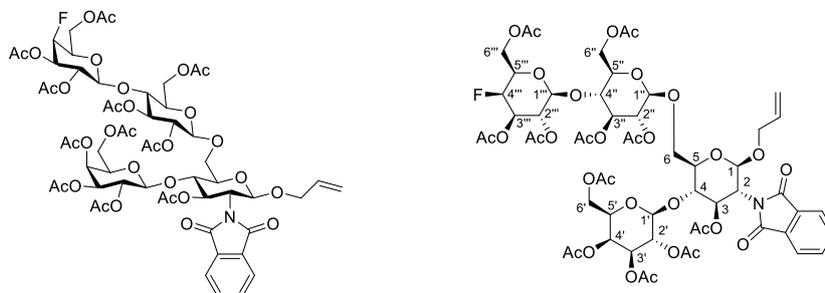
<sup>1</sup>H-NMR (800 MHz, HSQC, HMBC, COSY, Methanol-*d*<sub>4</sub>), δ [ppm] = 5.88 (dddd, <sup>3</sup>*J* = 17.3 Hz, <sup>3</sup>*J* = 10.6 Hz, <sup>3</sup>*J* = 5.7 Hz, <sup>3</sup>*J* = 4.9 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.27 (dq, <sup>3</sup>*J* = 17.3 Hz, <sup>2</sup>*J* = 1.8 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 5.13 (dq, <sup>3</sup>*J* = 10.5 Hz, <sup>2</sup>*J* = 1.6 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 4.63 – 4.53 (m, 2H, H-6<sub>a/b</sub>'), {4.58 (d, *J*<sub>H1,H2</sub> = 7.7 Hz, 1H), 4.47 (d, *J*<sub>H1,H2</sub> = 9.6 Hz, 1H), 4.46 (d, *J*<sub>H1,H2</sub> = 10.2 Hz, 1H), 4.37 (d, *J*<sub>H1,H2</sub> = 7.7 Hz, 1H), 4 × H-1}, 4.31 (ddt, <sup>2</sup>*J* = 13.3 Hz, <sup>3</sup>*J* = 4.9 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.7 Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4.23 (dd, *J*<sub>H6a,H6b</sub> = 11.0 Hz, *J*<sub>H6a,H5</sub> = 1.8 Hz, 1H, H-6<sub>a</sub>), 4.05 (ddt, <sup>2</sup>*J* = 13.4 Hz, <sup>3</sup>*J* = 5.7 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.5 Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 3.98 (dd, *J*<sub>H6b,H6a</sub> = 11.1 Hz, *J*<sub>H6b,H5</sub> = 3.8 Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>), 3.96 – 3.90 (m, 2H), 3.86 (d, *J* = 4.3 Hz, 1H), 3.85 – 3.81 (m, 2H), 3.80 – 3.77 (m, 2H), 3.75 (dd, *J* = 10.4 Hz, *J* = 8.5 Hz, 1H), 3.71 (dd, *J* = 11.5 Hz, *J* = 4.7 Hz, 1H), 3.68 – 3.66 (m, 2H), 3.61 – 3.53 (m, 6H), 3.49 (dd, *J* = 9.7 Hz, *J* = 3.3 Hz, 1H), 3.42 (ddd, *J* = 9.7 Hz, *J* = 4.2 Hz, *J* = 2.5 Hz, 1H), 3.34 – 3.32 (m, 1H), 1.97 (s, 3H, -NHAc).

Aufgrund von Signalüberlagerungen konnten nur charakteristische Signale im <sup>1</sup>H-NMR zugeordnet werden.

<sup>13</sup>C-NMR (200 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ = 173.6 (1 × C=O-NHAc), 135.5 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 117.0 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), {(105.1, 104.5, 102.0) 4 × C-1}, 83.6 (d, *J*<sub>C6',F</sub> = 167.7 Hz, C-6'), 81.3, 80.5, 77.1, 76.5, 75.2, 75.0 (d, *J*<sub>C5',F</sub> = 21.0 Hz, C-5'), 74.8, 74.7, 74.5, 73.9, 73.6, 72.6, 72.4, 71.4, 70.9 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 70.3, 68.6 (C-6), 62.5, 62.1, 56.6, 22.9 (-NHAc).

Aufgrund von Signalüberlagerungen konnten nur charakteristische Signale im <sup>13</sup>C-NMR zugeordnet werden.

### 5.5.1.13 Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-6-*O*-(2'',3'',6''-tri-*O*-acetyl-4''-*O*-{2''',3''',6'''-tri-*O*-acetyl-4'''-desoxy-4'''-fluor-β-D-galactopyranosyl}-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosid (57a)



Eine Lösung aus 93.2 mg (126 μmol, 1.5 Äquiv.) 2,3,6-Tri-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',6'-tri-*O*-acetyl-4'-desoxy-4'-fluor-β-D-galactopyranosyl)-α-D-glucopyranosyl Trichloroacetimidat (**43**) und 60.6 mg (84.0 μmol, 1.0 Äquiv.) Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-β-D-glucopyranosid (**13**) in 15 mL absolutem Dichlormethan wurde in Gegenwart von 2.50 g frisch aktivierten

Molsieb 4Å unter Argonatmosphäre auf  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  gekühlt und eine Stunde bei dieser Temperatur gerührt. Anschließend wurden 15.0  $\mu\text{L}$  (83.0  $\mu\text{mol}$ , 0.98 Äquiv.) Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (TMSOTf) zugegeben und weitere 15 min bei  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  gerührt, bevor das Kältebad entfernt und die Reaktionslösung langsam über einen Zeitraum von 30 min auf Raumtemperatur erwärmt wurde. Nach beendeter Reaktion wurde mit 30 mL Dichlormethan verdünnt, über Hyflo<sup>®</sup> filtriert und die organische Phase mit einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung (1  $\times$  40 mL) gewaschen. Anschließend wurde mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde flashchromatographisch an Kieselgel ( $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc} = 2:3$ ) gereinigt.

**Ausbeute:** 75.7 mg (58.2  $\mu\text{mol}$ , 69%); farbloser Feststoff.

$R_f = 0.21$  ( $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc} = 2:3$ ).

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 1317.4184  $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ , ber.: 1317.4203.

$[\alpha]_D^{20} = +4.2$  ( $c = 0.5$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

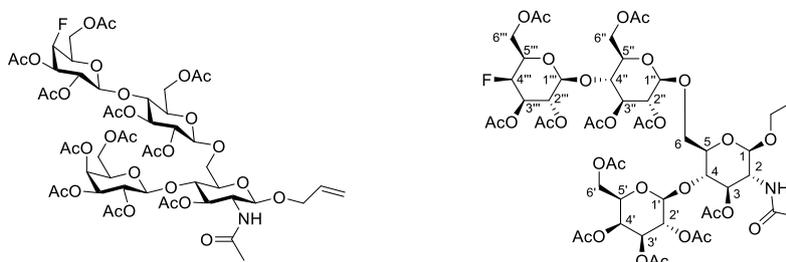
**RP-HPLC:**  $R_t = 6.24$  min, Luna C18,  $\lambda = 214$  nm, Gradient:  $\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O} + 1\%$  TFA (70:30)  $\rightarrow$  (100:0) in 15 min.

**<sup>1</sup>H-NMR** (800 MHz, HSQC, HMBC, COSY,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 7.88 – 7.81 (m, 2H,  $\text{H}_{\text{Ar}}\text{-Pht}$ ), 7.74 – 7.71 (m, 2H,  $\text{H}_{\text{Ar}}\text{-Pht}$ ), 5.77 – 5.66 (m, 1H,  $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5.71 (dd,  $J_{\text{H}_3,\text{H}_2} = 10.8$  Hz,  $J_{\text{H}_3,\text{H}_4} = 8.6$  Hz, 1H, H-3), 5.34 (d,  $J_{\text{H}_1,\text{H}_2} = 8.5$  Hz, 1H, H-1), 5.33 (d,  $J_{\text{H}_4',\text{H}_3'} = 3.5$  Hz, 1H, H-4'), 5.19 – 5.13 (m, 3H, H-3'', H-2''',  $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_{\text{cis}}\text{H}_{\text{trans}}$ ), 5.10 – 5.05 (m, 2H, H-2',  $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_{\text{cis}}\text{H}_{\text{trans}}$ ), 5.00 (dd,  $J_{\text{H}_3',\text{H}_2'} = 10.5$  Hz,  $J_{\text{H}_3',\text{H}_4'} = 3.6$  Hz, 1H, H-3'), 4.94 (dd,  $J_{\text{H}_2'',\text{H}_3''} = 9.4$  Hz,  $J_{\text{H}_2'',\text{H}_1''} = 7.7$  Hz, 1H, H-2''), 4.89 (ddd,  $J_{\text{H}_3''',\text{F}} = 27.6$  Hz,  $J_{\text{H}_3''',\text{H}_2'''} = 10.4$  Hz,  $J_{\text{H}_3''',\text{H}_4'''} = 2.8$  Hz, 1H, H-3'''), 4.81 (dd,  $J_{\text{H}_4''',\text{F}} = 50.1$  Hz,  $J_{\text{H}_4''',\text{H}_3'''} = J_{\text{H}_4''',\text{H}_5'''} = 2.8$  Hz, 1H, H-4'''), 4.67 (d,  $J_{\text{H}_1'',\text{H}_2''} = 7.6$  Hz, 1H, H-1''), 4.53 – 4.48 (m, 1H, H-6a''), 4.52 (d,  $J_{\text{H}_1',\text{H}_2'} = 8.0$  Hz, 1H, H-1'), 4.49 (d,  $J_{\text{H}_1''',\text{H}_2'''} = 7.6$  Hz, 1H, H-1'''), 4.33 (dd,  $J_{\text{H}_6\text{a}',\text{H}_6\text{b}'} = 11.1$  Hz,  $J_{\text{H}_6\text{a}',\text{H}_5'} = 6.2$  Hz, 1H, H-6a'), 4.27 – 4.24 (m, 1H,  $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 4.20 – 4.12 (m, 4H, H-2, H-6ab''', H-6b''), 4.09 – 4.00 (m, 3H, H-6a, H-6b',  $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 3.91 (ddd,  $J_{\text{H}_5',\text{H}_4'} = 7.5$  Hz,  $J_{\text{H}_5',\text{H}_6\text{a}'} = 6.3$  Hz,  $J_{\text{H}_5',\text{H}_6\text{a}'} = 1.3$  Hz, 1H, H-5'), 3.85 (t,  $J_{\text{H}_4'',\text{H}_3''} = J_{\text{H}_4'',\text{H}_5''} = 9.4$  Hz, 1H, H-4''), 3.82 – 3.74 (m, 3H, H-4, H-6b, H-5'''), 3.74 – 3.70 (m, 1H, H-5), 3.64 (ddd,  $J_{\text{H}_5'',\text{H}_4''} = 9.9$  Hz,  $J_{\text{H}_5'',\text{H}_6\text{a}''} = 4.9$  Hz,  $J_{\text{H}_5'',\text{H}_6\text{b}''} = 2.2$  Hz, 1H, H-5''), 2.14, 2.13, 2.10, 2.09, 2.06, 2.05, 2.05, 2.04, 1.96, 1.87 (10  $\times$  s, 33H, -OAc).

**<sup>13</sup>C-NMR** (201 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 170.5, 170.4, 170.2, 167.0, 169.9, 169.7, 169.2, 169.1 (11  $\times$  C=O-OAc, 2  $\times$  C=O-Pht), 134.5, 134.4 (2  $\times$   $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 134.3 ( $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 131.6, 131.4 (2  $\times$   $\text{C}_q$ ), 123.8, 123.7 (2  $\times$   $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 117.9 ( $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 101.1 (C-1'), 100.9 (C-1''), 100.8 (C-1'''), 96.9 (C-1), 85.4 (d,  $J_{\text{C}_4''',\text{F}} = 187.1$  Hz, C-4'''), 76.7 (C-4), 76.1 (C-4''), 74.7 (C-5), 72.9 (C-5''), 72.7 (C-3''), 72.6 (C-2''), 71.7 (C-2'') 71.5 (d,  $J_{\text{C}_3''',\text{F}} = 17.9$  Hz, C-3'''), 71.0 (C-3), 70.9 (C-3'), { d,  $J_{\text{C}_5''',\text{F}} = 18.7$  Hz, C-5'''}}, 70.6 (C-5'), 70.3 ( $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 69.2 (C-2'), 67.8 (C-6), 66.8 (C-4'), 62.2 (C-6''), 61.0 (d,  $J_{\text{C}_6''',\text{F}} = 6.3$  Hz, C-6'''), 60.9 (C-6'), 54.9 (C-2), 21.2, 21.1, 21.0, 20.9, 20.8, 20.7 (11  $\times$   $\text{CH}_3\text{-OAc}$ ).

**<sup>19</sup>F-NMR** (376 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = -217.07 (dt,  $J_{\text{F},\text{H}_4'''} = 50.8$  Hz,  $J_{\text{F},\text{H}_3'''} = J_{\text{F},\text{H}_5'''} = 26.9$  Hz).

**5.5.1.14 Allyl-2-desoxy-2-*N*-acetamido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-(2'',3'',6''-tri-*O*-acetyl-4''-*O*-{2''',3''',6'''-tri-*O*-acetyl-4'''-desoxy-4'''-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl}- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (57b)**



Zu einer Lösung von 70.6 mg (54.3  $\mu$ mol, 1.0 eq) Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-(2'',3'',6''-tri-*O*-acetyl-4''-*O*-{2''',3''',6'''-tri-*O*-acetyl-4'''-desoxy-4'''-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl}- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (**57a**) in 5 mL Ethanol wurden 2.00 mL (20.2 mmol) *n*-Butylamin gegeben und 24 h unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und mit Toluol (1  $\times$  30 mL) kodestilliert, bevor der Rückstand in 5 mL Pyridin aufgenommen und mit 3.0 mL Essigsäureanhydrid versetzt wurde. Es wurde 24 h bei Raumtemperatur gerührt, bevor nach vollständigem Umsatz das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt in 20 mL Ethylacetat aufgenommen wurde. Anschließend wurde mit einer 1 M Salzsäure (1  $\times$  40 mL), einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung (1  $\times$  40 mL) und Wasser (1  $\times$  40 mL) gewaschen, mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde schließlich flashchromatographisch an Kieselgel (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH = 80:1  $\rightarrow$  30:1) gereinigt.

**Ausbeute:** 47.4 mg (39.1  $\mu$ mol, 72%); farbloser Feststoff.

$R_f$  = 0.46 (EtOAc).

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 1229.4247 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, ber.: 1229.4254.

1212.3983 [M+H]<sup>+</sup>, ber.: 1212.3988.

$[\alpha]_D^{23} = -21.2$  ( $c = 0.25$ , CHCl<sub>3</sub>).

**RP-HPLC:**  $R_t = 4.00$  min, Luna C18,  $\lambda = 214$  nm, Gradient: MeCN:H<sub>2</sub>O + 1% TFA (70:30)  $\rightarrow$  (100:0) in 15 min.

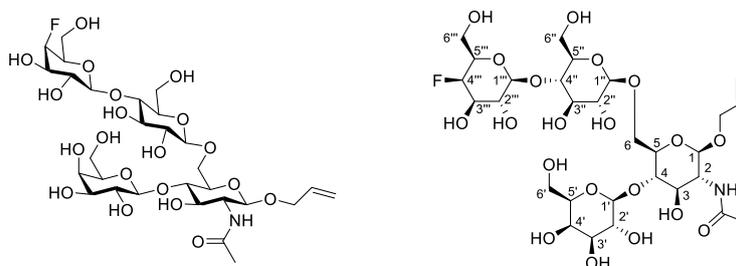
**<sup>1</sup>H-NMR** (800 MHz, HSQC, HMBC, COSY, NOESY, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  [ppm] = 5.84 (dddd, <sup>3</sup> $J = 17.2$  Hz, <sup>3</sup> $J = 10.6$  Hz, <sup>3</sup> $J = 5.9$  Hz, <sup>3</sup> $J = 4.7$  Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.74 (d,  $J = 9.4$  Hz, 1H, -NHAc), 5.37 (dd,  $J_{H4',H3'} = 3.4$  Hz,  $J_{H4',H5'} = 1.2$  Hz, 1H, H-4'), 5.28 (dq, <sup>3</sup> $J = 17.2$  Hz, <sup>2</sup> $J = 1.7$  Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 5.20 – 5.15 (m, 3H, H-3'', H-2''', -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 5.10 (dd,  $J_{H2',H3'} = 10.5$  Hz,  $J_{H2',H1'} = 7.7$  Hz, 1H, H-2'), 5.06 (dd,  $J_{H3',H2'} = 10.5$  Hz,  $J_{H3',H4'} = 3.4$  Hz, 1H, H-3'), 5.03 (dd,  $J_{H3,H4} = 8.4$  Hz,  $J_{H3,H2} = 7.4$  Hz, 1H, H-3), 4.92 – 4.87 (m, 2H, H-2'', H-3'''), 4.81 (dd,  $J_{H4'',F} = 50.1$  Hz,  $J_{H4'',H3''} = 2.8$  Hz, 1H, H-4'''), 4.59 (d,  $J_{H1'',H2''} = 7.5$  Hz, 1H, H-1''),

4.52 – 4.47 (m, 2H, H-6<sub>a</sub>'', H-1'''), 4.49 (d,  $J_{H1',H2'} = 7.9$  Hz, 1H, H-1'), 4.46 (d,  $J_{H1,H2} = 6.7$  Hz, 1H, H-1), 4.34 (dd,  $J_{H6a',H6b'} = 11.0$  Hz,  $J_{H6a',H5'} = 5.9$  Hz, 1H, H-6<sub>a</sub>'), 4.30 (ddt,  ${}^2J = 13.3$  Hz,  ${}^3J = 4.7$  Hz,  ${}^4J = 1.7$  Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4.16 (dd,  $J_{H6b',H6a'} = 11.2$  Hz,  $J_{H6b',H5'} = 7.4$  Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>'), 4.14 – 4.04 (m, 5H, H-2, H-6<sub>a</sub>, H-6<sub>b</sub>'', H-6<sub>a/b</sub>'''), 4.01 (ddt,  ${}^2J = 13.4$  Hz,  ${}^3J = 5.9$  Hz,  ${}^4J = 1.5$  Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4.00 – 3.95 (m, 1H, H-5'), 3.84 (t,  $J_{H4'',H3''} = J_{H4'',H5''} = 9.5$  Hz, 1H, H-4''), 3.81 – 3.75 (m, 2H, H-4, H-5'''), 3.73 (dd,  $J_{H6b,H6a} = 10.7$  Hz,  $J_{H6b,H5} = 6.0$  Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>), 3.62 (ddd,  $J_{H5'',H4''} = 9.9$  Hz,  $J_{H5'',H6a''} = 5.1$  Hz,  $J_{H5'',H6b''} = 2.2$  Hz, 1H, H-5''), 3.57 (ddd,  $J_{H5,H4} = 7.5$  Hz,  $J_{H5,H6b} = 6.0$  Hz,  $J_{H5,H6a} = 3.7$  Hz, 1H, H-5), 2.15, 2.12, 2.10, 2.09, 2.05, 2.04 (6 × s, 33H, -OAc), 1.97 (1 × s, 3H, -NHAc).

<sup>13</sup>C-NMR (201 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 170.6, 170.5, 170.4, 170.3, 170.2, 170.1, 169.9, 169.8, 169.7, 169.1 (11 × C=O-OAc, 1 × C=O-NHAc), 133.7 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 117.1 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 101.0 (C-1'''), 100.8 (C-1''), 100.7 (C-1'), 99.8 (C-1), 85.5 (d,  $J_{C4'',F} = 186.4$  Hz, C-4'''), 76.1 (C-4''), 75.1 (C-4), 74.6 (C-5), 73.1 (C-5''), 72.5 (C-3'''), 71.9 (C-3), 71.7 (C-2''), 71.5 (d,  $J_{C3'',F} = 18.6$  Hz, C-3'''), 70.9 (d,  $J_{C5'',F} = 19.3$  Hz, C-5'''), 70.8 (C-5'), 70.7 (C-3'), 69.5 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 69.3 (C-2'), 69.1 (C-2'''), 68.3 (C-6), 66.9 (C-4'), 62.2 (C-6''), 61.0 (d,  $J_{C6'',F} = 15.5$  Hz, C-6'''), 60.9 (C-6'), 52.4 (C-2), 23.4 (CH<sub>3</sub>-NHAc), 21.0, 20.9, 20.8, 20.7 (11 × CH<sub>3</sub>-OAc).

<sup>19</sup>F-NMR (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = -217.11 (dt,  $J_{F,H4''} = 50.1$  Hz,  $J_{F,H3''} = J_{F,H5''} = 26.8$  Hz).

### 5.5.1.15 Allyl-2-desoxy-2-*N*-acetamido-4-*O*-(β-D-galactopyranosyl)-6-*O*-(4''-*O*-{4'''-desoxy-4'''-fluor-β-D-galactopyranosyl}-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosid (5)



Es wurden 12.4 mg (10.2 μmol) Allyl-2-desoxy-2-*N*-acetamido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-6-*O*-(2'',3'',6''-tri-*O*-acetyl-4''-*O*-{2''',3''',6'''-tri-*O*-acetyl-4'''-desoxy-4'''-fluor-β-D-galactopyranosyl}-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosid (**57b**) in 3 mL Methanol vorgelegt und bei Raumtemperatur mit einer frisch zubereiteten 1 M Natriummethanolatlösung versetzt. Nach 3 h wurde mit 1 mL Eisessig neutralisiert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels Größenausschlusschromatographie an Sephadex™ LH-20 (100% MeOH) gereinigt. Das Produkt wurde anschließend dreimal in Wasser aufgenommen und lyophilisiert.

**Ausbeute:** 7.03 mg (9.38 μmol, 92%).

**ESI-MS** (positiv), *m/z*: 767.3101 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, ber.: 767.3092.

750.2837 [M+H]<sup>+</sup>, ber.: 750.2826.

<sup>1</sup>H-NMR (800 MHz, HSQC, HMBC, COSY, Methanol-*d*<sub>4</sub>), δ [ppm] 5.88 (ddt, <sup>3</sup>*J* = 17.2 Hz, <sup>3</sup>*J* = 10.6 Hz, <sup>3</sup>*J* = 5.3 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.27 (dq, <sup>3</sup>*J* = 17.2 Hz, <sup>2</sup>*J* = 1.8 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 5.14 (dq, <sup>3</sup>*J* = 10.5 Hz, <sup>2</sup>*J* = 1.6 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 4.70 (dd, *J*<sub>H4''',F</sub> = 50.5 Hz, *J*<sub>H4''',H3'''</sub> = 2.8 Hz, 1H, H-4'''), {4.54 (d, *J*<sub>H1,H2</sub> = 7.6 Hz, 1H), 4.47 (d, *J*<sub>H1,H2</sub> = 8.3 Hz, 1H), 4.45 (d, *J*<sub>H1,H2</sub> = 8.9 Hz, 1H), 4.44 (d, *J*<sub>H1,H2</sub> = 8.1 Hz, 1H) 4 × H-1}, 4.31 (ddt, <sup>2</sup>*J* = 13.4 Hz, <sup>3</sup>*J* = 4.9 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.7 Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4.24 (dd, *J*<sub>H6a,H6b</sub> = 11.1 Hz, *J*<sub>H6a,H5</sub> = 1.8 Hz, 1H, H-6<sub>a</sub>), 4.06 (ddt, <sup>2</sup>*J* = 13.3 Hz, <sup>3</sup>*J* = 5.7 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.6 Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 3.97 (dd, *J*<sub>H6b,H6a</sub> = 11.1 Hz, *J*<sub>H6b,H5</sub> = 3.7 Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>), 3.92 (dd, *J* = 12.2 Hz, *J* = 2.5 Hz, 1H), 3.87 (dd, *J* = 12.2 Hz, *J* = 4.2 Hz, 1H), 3.84 – 3.79 (m, 2H), 3.80 – 3.72 (m, 4H), 3.72 – 3.67 (m, 3H), 3.64 – 3.57 (m, 3H), 3.57 – 3.51 (m, 5H), 3.44 (ddd, *J* = 9.7 Hz, *J* = 4.2 Hz, *J* = 2.5 Hz, 1H), 3.33 (dd, *J* = 9.2 Hz, *J* = 7.9 Hz, 1H), 1.97 (s, 3H, -NHAc).

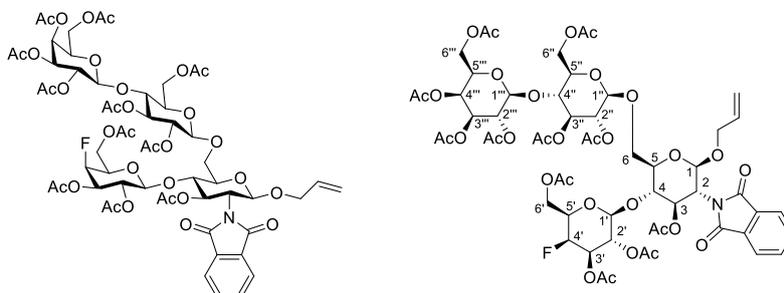
Aufgrund von Signalüberlagerungen konnten nur charakteristische Signale im <sup>1</sup>H-NMR zugeordnet werden.

<sup>13</sup>C-NMR (201 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ = 173.5 (C=O-NHAc), 135.5 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 117.0 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), {(104.9, 104.8, 104.4, 102.0) 4 × C-1}, 90.3 (d, *J*<sub>C4''',F</sub> = 180.6 Hz), 81.0, 80.3, 76.9, 76.4, 76.3, 75.6 (d, *J*<sub>C3''',F</sub> = 18.0 Hz), 75.3, 74.8, 74.1, 73.5 (d, *J*<sub>C5''',F</sub> = 18.7 Hz), 72.6, 72.5, 70.9 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 70.4, 68.5 (C-6), 62.5, 61.8, 61.2 (d, *J*<sub>C6''',F</sub> = 6.6 Hz), 56.6, 22.9 (-NHAc).

Aufgrund von Signalüberlagerungen konnten nur charakteristische Signale im <sup>13</sup>C-NMR zugeordnet werden.

<sup>19</sup>F-NMR (376 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ = -218.94 (dt, *J*<sub>F,H4'''</sub> = 51.6 Hz, *J*<sub>F,H3'''</sub> = *J*<sub>F,H5'''</sub> = 29.4 Hz).

#### 5.5.1.16 Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',6'-tri-*O*-acetyl-4'-desoxy-4'-fluor-β-D-galactopyranosyl)-6-*O*-(2'',3'',6''-tri-*O*-acetyl-4''-*O*-(2''',3''',4''',6'''-tetra-*O*-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranoside (54a)



Eine Lösung aus 132 mg (169 μmol, 1.5 Äquiv.) 2,3,6-Tri-*O*-acetyl-4-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl Trichloroacetimidat (**16**) und 77.0 mg (113 μmol, 1.0 Äquiv.) Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4'-tri-*O*-acetyl-6'-desoxy-6'-fluor-β-D-galactopyranosyl)-β-D-glucopyranosid (**15**) in 15 mL absolutem Dichlormethan wurde in Gegenwart von 2.50 g frisch aktivierten Molsieb 4Å

unter Argonatmosphäre auf  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  gekühlt und eine Stunde bei dieser Temperatur gerührt. Anschließend wurden  $15.0\ \mu\text{L}$  ( $83.0\ \mu\text{mol}$ ,  $0.73$  Äquiv.) Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (TMSOTf) zugetropft und weitere  $25\ \text{min}$  bei  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  gerührt, bevor das Kältebad entfernt und die Reaktionslösung langsam über einen Zeitraum von  $30\ \text{min}$  auf Raumtemperatur erwärmt wurde. Nach beendeter Reaktion wurde mit  $15\ \text{mL}$  Dichlormethan verdünnt, über Hyflo<sup>®</sup> filtriert und die organische Phase mit einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung ( $1 \times 40\ \text{mL}$ ) gewaschen. Anschließend wurde mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde flashchromatographisch an Kieselgel ( $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc} = 2:3$ ) gereinigt.

**Ausbeute:**  $112\ \text{mg}$  ( $86.1\ \mu\text{mol}$ ,  $76\%$ ); farbloser Feststoff.

$R_f = 0.24$  ( $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc} = 2:3$ ).

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ :  $1317.4184$   $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ , ber.:  $1317.4203$ .

$[\alpha]_D^{20} = +1.2$  ( $c = 0.5$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

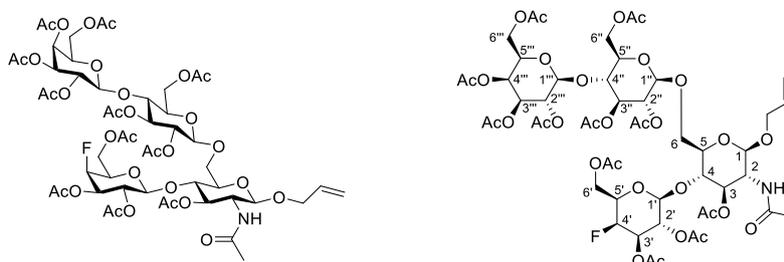
**RP-HPLC:**  $R_t = 6.15\ \text{min}$ , Luna C18,  $\lambda = 214\ \text{nm}$ , Gradient:  $\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O} + 1\% \text{ TFA}$  ( $70:30$ )  $\rightarrow$  ( $100:0$ ) in  $15\ \text{min}$ .

**<sup>1</sup>H-NMR** ( $800\ \text{MHz}$ , HSQC, HMBC, COSY,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] =  $7.81$  (s, 2H,  $\text{H}_{\text{Ar-Pht}}$ ),  $7.73 - 7.67$  (m, 2H,  $\text{H}_{\text{Ar-Pht}}$ ),  $5.72 - 5.65$  (m, 2H, H-3,  $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ),  $5.33$  (d,  $J_{\text{H1},\text{H2}} = 8.2\ \text{Hz}$ , 1H, H-1),  $5.35 - 5.31$  (m, 1H, H-4'''),  $5.18$  (t,  $J_{\text{H3}'',\text{H2}''} = J_{\text{H3}'',\text{H4}''} = 9.1\ \text{Hz}$ , 1H, H-3''),  $5.16 - 5.11$  (m, 2H, H-2',  $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_{\text{cis}}\text{H}_{\text{trans}}$ ),  $5.09$  (dd,  $J_{\text{H2}'',\text{H3}''} = 10.6\ \text{Hz}$ ,  $J_{\text{H2}'',\text{H1}''} = 7.9\ \text{Hz}$ , 1H, H-2''),  $5.05$  (dq,  $^3J = 10.6\ \text{Hz}$ ,  $^2J = 1.4\ \text{Hz}$ , 1H,  $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_{\text{cis}}\text{H}_{\text{trans}}$ ),  $4.97 - 4.90$  (m, 3H, H-3''', H-3', H-2''),  $4.77$  (dd,  $J_{\text{H4}',\text{F}} = 50.0\ \text{Hz}$ ,  $J_{\text{H4}',\text{H3}'} = J_{\text{H4}',\text{H5}'} = 2.7\ \text{Hz}$ , 1H, H-4'),  $4.66$  (d,  $J_{\text{H1}'',\text{H2}''} = 7.5\ \text{Hz}$ , 1H, H-1''),  $4.54$  (d,  $J_{\text{H1}',\text{H2}'} = 7.9\ \text{Hz}$ , 1H, H-1'),  $4.49$  (d,  $J_{\text{H1}'',\text{H2}''} = 7.9\ \text{Hz}$ , 1H, H-1'''),  $4.29 - 4.22$  (m, 2H, H-6<sub>a</sub>',  $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{CH}=\text{CH}_2$ ),  $4.17$  (dd,  $J_{\text{H2},\text{H3}} = 11.2\ \text{Hz}$ ,  $J_{\text{H2},\text{H1}} = 8.5\ \text{Hz}$ , 1H, H-2),  $4.15 - 4.04$  (m, 6H, H-6<sub>a</sub>', H-6<sub>b</sub>', H-6<sub>a</sub>'', H-6<sub>b</sub>''),  $4.01$  (dd,  $^2J = 13.0\ \text{Hz}$ ,  $^3J = 5.7\ \text{Hz}$ , 1H,  $-\text{CH}_a\text{H}_b\text{CH}=\text{CH}_2$ ),  $3.89 - 3.82$  (m, 4H, H-5', H-4'', H-5''', H-6<sub>b</sub>'),  $3.80$  (dd,  $J_{\text{H4},\text{H3}} = 10.4\ \text{Hz}$ ,  $J_{\text{H4},\text{H5}} = 6.7\ \text{Hz}$ , 2H, H-4),  $3.69$  (ddd,  $J_{\text{H5},\text{H6a}} = 9.2\ \text{Hz}$ ,  $J_{\text{H5},\text{H4}} = 5.2\ \text{Hz}$ ,  $J_{\text{H5},\text{H6b}} = 1.8\ \text{Hz}$ , 1H, H-5),  $3.65$  (ddd,  $J_{\text{H5}'',\text{H6a}''} = 10.1\ \text{Hz}$ ,  $J_{\text{H5}'',\text{H4}''} = 5.1\ \text{Hz}$ ,  $J_{\text{H5}'',\text{H6b}''} = 2.6\ \text{Hz}$ , 1H, H-5''),  $2.13$ ,  $2.08$ ,  $2.06$ ,  $2.05$ ,  $2.04$ ,  $2.03$ ,  $1.94$ ,  $1.85$  ( $8 \times$  s, 33H, -OAc).

**<sup>13</sup>C-NMR** ( $201\ \text{MHz}$ ,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  =  $171.2$ ,  $170.5$ ,  $170.4$ ,  $170.3$ ,  $170.2$ ,  $170.1$ ,  $170.1$ ,  $169.9$ ,  $169.8$ ,  $169.7$ ,  $169.2$ ,  $169.0$  ( $11 \times \text{C}=\text{O}-\text{OAc}$ ,  $2 \times \text{C}=\text{O}-\text{Pht}$ ),  $134.4$ ,  $134.2$  ( $2 \times \text{C}_{\text{Ar}}$ ),  $133.4$  ( $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ),  $131.0$ ,  $128.9$  ( $2 \times \text{C}_q$ ),  $123.6$  ( $2 \times \text{C}_{\text{Ar}}$ ),  $117.8$  ( $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ),  $101.2$  (C-1'''),  $100.7$  (C-1''),  $100.2$  (C-1'),  $97.0$  (C-1),  $85.7$  (d,  $J_{\text{C4}',\text{F}} = 186.7\ \text{Hz}$ , C-4'),  $76.7$  (C-4),  $76.2$  (C-4''),  $74.7$  (C-5),  $72.9$  (C-3'', C-5''),  $72.0$  (C-2''),  $71.3$  (d,  $J_{\text{C3}',\text{F}} = 17.9\ \text{Hz}$ , C-3'),  $71.1$  (C-3'''),  $70.8$  (d,  $J_{\text{C5}',\text{F}} = 18.0\ \text{Hz}$ , C-5'),  $70.7$  (C-5''),  $70.6$  (C-3),  $70.1$  ( $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ),  $69.2$  (C-2'''),  $69.1$  (C-2'),  $67.8$  (C-6),  $66.7$  (C-4'''),  $61.1$  (d,  $J_{\text{C6}',\text{F}} = 6.5\ \text{Hz}$ , C-6'),  $60.9$  (C-6''),  $60.5$  (C-6'''),  $55.0$  (C-2),  $21.1$ ,  $21.0$ ,  $20.9$ ,  $20.8$ ,  $20.7$ ,  $20.6$  ( $11 \times \text{CH}_3-\text{OAc}$ ).

**<sup>19</sup>F-NMR** ( $376\ \text{MHz}$ ,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  =  $-216.93$  (dt,  $J_{\text{F},\text{H4}'} = 51.0\ \text{Hz}$ ,  $J_{\text{F},\text{H3}'} = J_{\text{F},\text{H5}'} = 27.1\ \text{Hz}$ ).

**5.5.1.17 Allyl-2-desoxy-2-*N*-acetamido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',6'-tri-*O*-acetyl-4'-desoxy-4'-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-(2'',3'',6''-tri-*O*-acetyl-4''-*O*-{2''',3''',4''',6'''-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl})- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (54b)**



Zu einer Lösung von 93.4 mg (71.8  $\mu$ mol, 1.0 eq) Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',6'-tri-*O*-acetyl-4'-desoxy-4'-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-(2'',3'',6''-tri-*O*-acetyl-4''-*O*-{2''',3''',4''',6'''-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl})- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (**54a**) in 5 mL Ethanol wurden 2.00 mL (20.2 mmol) *n*-Butylamin gegeben und 24 h unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und mit absolutem Toluol (3  $\times$  5 mL) kodestilliert, bevor der Rückstand in 5 mL Pyridin aufgenommen wurde und mit 2.5 mL Essigsäureanhydrid versetzt wurde. Es wurde 24 h bei Raumtemperatur gerührt, bevor nach vollständigem Umsatz das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt in 20 mL Ethylacetat aufgenommen wurde. Anschließend wurde mit einer 1 M Salzsäure (1  $\times$  40 mL), einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung (1  $\times$  40 mL) und Wasser (1  $\times$  40 mL) gewaschen, mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde schließlich flashchromatographisch an Kieselgel (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH = 80:1  $\rightarrow$  30:1) gereinigt.

**Ausbeute:** 67.9 mg (56.0  $\mu$ mol, 78%); farbloser Feststoff.

$R_f$  = 0.51 (EtOAc).

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 1212.3987 [M+H]<sup>+</sup>, ber.: 1212.3989.

1229.4257 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, ber.: 1229.4254.

$[\alpha]_D^{23} = -18.0$  ( $c = 0.25$ , CHCl<sub>3</sub>).

**RP-HPLC:**  $R_t = 3.08$  min, Luna C18,  $\lambda = 214$  nm, Gradient: MeCN:H<sub>2</sub>O + 1% TFA (90:10)  $\rightarrow$  (100:0) in 15 min.

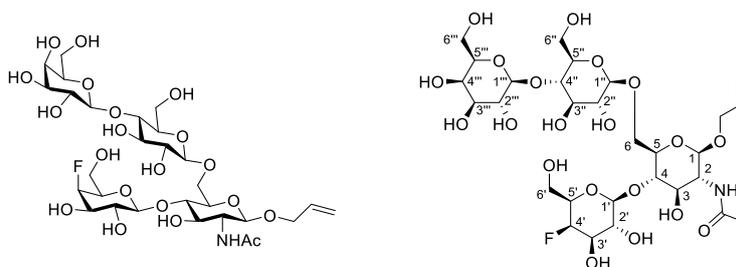
**<sup>1</sup>H-NMR** (800 MHz, HSQC, HMBC, COSY, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  [ppm] = 5.87 – 5.78 (m, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.35 (dd,  $J_{H4''',H3'''} = 3.5$  Hz,  $J_{H4''',H5'''} = 1.2$  Hz, 1H, H-4'''), 5.28 (dq,  $J = 17.2$  Hz,  $J = 1.7$  Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 5.20 – 5.15 (m, 3H, H-2'''), -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>, {5.18 (t,  $J_{H3'',H2''} = J_{H3'',H4''} = 9.2$  Hz, 1H, H-3'')}, 5.10 (dd,  $J_{H2',H3'} = 10.4$  Hz,  $J_{H2',H1'} = 7.9$  Hz, 1H, H-2'), 5.05 – 4.98 (m, 2H, H-3, H-3'), 4.96 (dd,  $J_{H3'',H2''} = 10.4$  Hz,  $J_{H3'',H4''} = 3.4$  Hz, 1H, H-3'''), 4.89 (dd,  $J_{H2'',H3''} = 9.2$  Hz,  $J_{H2'',H1''} = 7.4$  Hz, 1H, H-2''), 4.82 (dd,  $J_{H4',F} = 50.1$  Hz,  $J_{H4',H3'} = J_{H4',H5'} = 2.7$  Hz, 1H, H-4'), 4.59 (d,  $J_{H1'',H2''} = 7.4$  Hz, 1H, H-1''), 4.51 – 4.48 (m, 3H, H-6<sub>a</sub>'') {4.50 (d,  $J_{H1',H2'} =$

8.0 Hz, 1H, H-1', 4.50 (d,  $J_{H1''',H2'''} = 7.9$  Hz, 1H, H-1'''), 4.45 (d,  $J_{H1,H2} = 6.9$  Hz, 1H, H-1), 4.33 (ddd,  $J_{H6a',H6b'} = 11.3$  Hz,  $J_{H6a',H5'} = 6.1$  Hz,  $J_{H6a',F} = 1.2$  Hz, 1H, H-6<sub>a'</sub>), 4.31 – 4.27 (m, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4.18 (dd,  $J_{H6a'',H6b''} = 11.3$  Hz,  $J_{H6a'',H5''} = 7.2$  Hz, 1H, H-6<sub>a''</sub>), 4.14 (dd,  $J_{H6b'',H6a''} = 11.1$  Hz,  $J_{H6b'',H5''} = 6.1$  Hz, 1H, H-6<sub>b''</sub>), 4.13 – 4.10 (m, 1H, H-6<sub>b''</sub>), 4.07 (dd,  $J_{H6b''',H6a'''} = 11.1$  Hz,  $J_{H6b''',H5'''} = 7.7$  Hz, 1H, H-6<sub>b'''</sub>), 4.06 – 4.00 (m, 3H, H-2, H-6<sub>a</sub>, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 3.90 – 3.87 (m, 1H, H-5', H-5'''), 3.85 (t,  $J_{H4'',H3''} = J_{H4'',H5''} = 9.5$  Hz, 1H, H-4''), 3.75 (t,  $J_{H4,H3} = J_{H4,H5} = 7.9$  Hz, 1H, H-4), 3.73 (dd,  $J_{H6b,H6a} = 11.2$  Hz,  $J_{H6b,H5} = 6.2$  Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>), 3.63 (ddd,  $J_{H5'',H4''} = 9.9$  Hz,  $J_{H5'',H6a''} = 5.0$  Hz,  $J_{H5'',H6b''} = 2.2$  Hz, 1H, H-5''), 3.55 (ddd,  $J_{H5,H4} = 7.8$  Hz,  $J_{H5,H6b} = 5.9$  Hz,  $J_{H5,H6a} = 3.4$  Hz, 1H, H-5), 2.17, 2.15, 2.12, 2.10, 2.06, 2.05, 2.04 (7 × s, 30H, -OAc), 1.97 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-NHAc), 1.96 (s, 3H, -OAc).

<sup>13</sup>C-NMR (201 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 170.9, 170.6, 170.5, 170.3, 170.2, 169.9, 169.8, 169.5, 169.3 (11 × C=O-OAc, 1 × C=O-NHAc), 133.5 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 117.5 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 101.1 (C-1'''), 100.7 (C-1''), 100.2 (C-1'), 99.6 (C-1), 85.8 (d,  $J_{C4',F} = 186.6$  Hz, C-4'), 76.0 (C-4''), 75.3 (C-4), 74.4 (C-5), 72.9 (C-5''), 72.7 (C-3''), 71.9 (C-3), 71.0 (C-3'''), {d,  $J_{C3',F} = 18.9$  Hz, C-3'}}, 70.8 (d,  $J_{C5',F} = 17.9$  Hz, C-5'), 70.7 (C-5'''), 69.6 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 69.1 (C-2', C-2''), 68.2 (C-6), 66.7 (C-4'''), 62.1 (C-6''), 61.0 (d,  $J = 6.7$  Hz, C-6'), 60.8 (C-6'''), 52.9 (C-2), 22.9 (CH<sub>3</sub>-NHAc), 20.9, 20.8, 20.7, 20.6 (11 × CH<sub>3</sub>-OAc).

<sup>19</sup>F-NMR (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = -217.12 (dt,  $J_{F,H4'} = 51.7$  Hz,  $J_{F,H3'} = J_{F,H5'} = 26.6$  Hz).

### 5.5.1.18 Allyl-2-desoxy-2-*N*-acetamido-4-*O*-(4'-desoxy-4'-fluor-β-D-galactopyranosyl)-6-*O*-(4''-*O*-{β-D-galactopyranosyl}-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosid (6)



Es wurden 34.6 mg (28.5 μmol) Allyl-2-desoxy-2-*N*-acetamido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',6'-tri-*O*-acetyl-4'-desoxy-4'-fluor-β-D-galactopyranosyl)-6-*O*-(2'',3'',6''-tri-*O*-acetyl-4''-*O*-{2''',3''',4''',6'''-tetra-*O*-acetyl-β-D-galactopyranosyl}-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosid (**54b**) in 3 mL Methanol vorgelegt und bei Raumtemperatur mit einer frisch zubereiteten 1 M Natriummethanolatlösung versetzt. Nach 3 h wurde mit 1 mL Eisessig neutralisiert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels Größenausschlusschromatographie an Sephadex™ LH-20 (100% MeOH) gereinigt. Das Produkt wurde anschließend dreimal in Wasser aufgenommen und lyophilisiert.

**Ausbeute:** 18.6 mg (24.8 μmol, 87%).

**ESI-MS**(positiv), *m/z*: 750.2835 [M+H]<sup>+</sup>, ber.: 750.2827.

767.3104 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, ber.: 767.3092.

(negativ), *m/z*: 748.2680 [M-H]<sup>-</sup>, ber.: 748.2681.

<sup>1</sup>H-NMR (800 MHz, HSQC, HMBC, COSY, Methanol-*d*<sub>4</sub>), δ [ppm] = 5.88 (dddd, <sup>3</sup>*J* = 17.2 Hz, <sup>3</sup>*J* = 10.6 Hz, <sup>3</sup>*J* = 5.8 Hz, <sup>3</sup>*J* = 4.9 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.27 (dq, <sup>3</sup>*J* = 17.2 Hz, <sup>2</sup>*J* = 1.8 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 5.14 (dq, <sup>3</sup>*J* = 10.4 Hz, <sup>2</sup>*J* = 1.5 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 4.69 (dd, *J*<sub>H4',F</sub> = 50.5 Hz, *J*<sub>H4',H3'</sub> = 2.8 Hz, 1H, H-4'), {4.63 (d, *J*<sub>H1,H2</sub> = 7.5 Hz, 1H), 4.47 (d, *J*<sub>H1,H2</sub> = 7.9 Hz, 1H), 4.46 (d, *J*<sub>H1,H2</sub> = 8.5 Hz, 1H), 4.37 (d, *J*<sub>H1,H2</sub> = 7.7 Hz, 1H) 4 × H-1}, 4.31 (ddt, <sup>2</sup>*J* = 13.3 Hz, <sup>3</sup>*J* = 5.0 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.8 Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4.24 (dd, *J*<sub>H6a,H6b</sub> = 11.1 Hz, *J*<sub>H6a,H5</sub> = 1.8 Hz, 1H, H-6<sub>a</sub>), 4.06 (ddt, <sup>2</sup>*J* = 13.3 Hz, <sup>3</sup>*J* = 5.7 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.6 Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 3.99 (dd, *J*<sub>H6b,H6a</sub> = 11.1 Hz, *J*<sub>H6b,H5</sub> = 3.6 Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>), 3.91 (dd, *J* = 12.2 Hz, *J* = 2.5 Hz, 1H), 3.86 (dd, *J* = 12.2 Hz, *J* = 4.2 Hz, 1H), 3.83 – 3.81 (m, 2H), 3.79 – 3.74 (m, 3H), 3.73 – 3.70 (m, 5H), 3.63 – 3.58 (m, 2H), 3.56 – 3.52 (m, 4H), 3.49 (dd, *J* = 9.7 Hz, *J* = 3.3 Hz, 1H), 3.42 (ddd, *J* = 9.8 Hz, *J* = 4.2 Hz, *J* = 2.6 Hz, 1H), 3.33 (dd, *J* = 9.3 Hz, *J* = 7.8 Hz, 1H), 1.97 (s, 3H, -NHAc).

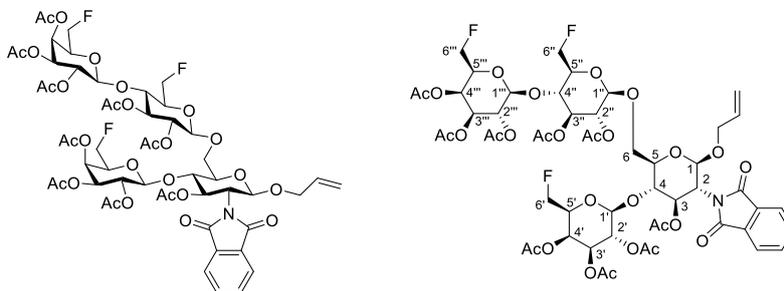
Aufgrund von Signalüberlagerungen konnten nur charakteristische Signale im <sup>1</sup>H-NMR zugeordnet werden.

<sup>13</sup>C-NMR (201 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ = 173.5 (C=O-NHAc), 135.5 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 117.0 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), {(105.1, 104.6, 104.5, 102.0) 4 × C-1}, 90.4 (d, *J*<sub>C4',F</sub> = 180.6 Hz, C-4'), 80.7, 80.5, 77.1, 76.5, 76.4, 75.4 (d, *J*<sub>C3',F</sub> = 18.0 Hz, C-3'), 74.8, 74.7, 74.0, 73.5 (d, *J*<sub>C5',F</sub> = 18.8 Hz, C-5'), 72.6, 70.9 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 70.3, 68.5 (C-6), 62.5, 61.9, 61.2 (d, *J*<sub>C6',F</sub> = 6.6 Hz, C-6'), 56.7, 22.9 (-NHAc).

Aufgrund von Signalüberlagerungen konnten nur charakteristische Signale im <sup>13</sup>C-NMR zugeordnet werden.

<sup>19</sup>F-NMR (376 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>) δ = -217.69 (dt, *J*<sub>F,H4'</sub> = 50.4 Hz, *J*<sub>F,H3'</sub> = *J*<sub>F,H5'</sub> = 29.9 Hz).

**5.5.1.19 Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4'-tri-*O*-acetyl-6'-desoxy-6'-fluor-β-D-galactopyranosyl)-6-*O*-(2'',3''-di-*O*-acetyl-4''-*O*-{2''',3''',4'''-tri-*O*-acetyl-6'''-desoxy-6'''-fluor-β-D-galactopyranosyl}-6'''-desoxy-6'''-fluor-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosid (58a)**



Eine Lösung aus 129 mg (184 μmol, 2.0 Äquiv.) 2,3-Di-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4'-tri-*O*-acetyl-6'-desoxy-6'-fluor-β-D-galactopyranosyl)-6-desoxy-6-fluor-α-D-glucopyranosyl Trichloroacetimidat (**42**) und 59.0 mg (92.0 μmol, 1.0 Äquiv.) Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4'-tri-*O*-acetyl-6'-desoxy-6'-fluor-β-D-galactopyranosyl)-β-D-glucopyranosid (**14**) in 15 mL absolutem Dichlormethan wurde in Gegenwart von 2.50 g frisch aktivierten Molsieb 4Å unter Argonatmosphäre auf  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  gekühlt und eine Stunde bei dieser Temperatur gerührt. Anschließend wurden 15.0 μL (83.0 μmol, 0.90 Äquiv.) Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (TMSOTf) zugetropft und weitere 15 min bei  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  gerührt, bevor das Kältebad entfernt wurde und die Reaktionslösung langsam über einen Zeitraum von 30 min auf Raumtemperatur erwärmt wurde. Nach beendeter Reaktion wurde mit 50 mL Dichlormethan verdünnt, über Hyflo<sup>®</sup> filtriert und die organische Phase mit einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung (1 × 40 mL) gewaschen. Anschließend wurde mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde flashchromatographisch an Kieselgel ( $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc} = 2:3$ ) gereinigt.

**Ausbeute:** 72.9 mg (59.8 μmol, 65%); farbloser Feststoff.

$R_f = 0.14$  ( $^{\circ}\text{Hex}/\text{EtOAc} = 1:1$ ).

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 1237.3897  $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ , ber.: 1237.3905.

$[\alpha]_D^{23} = -2.8$  ( $c = 0.25$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

**RP-HPLC:**  $R_t = 6.40$  min, Luna C18,  $\lambda = 214$  nm, Gradient:  $\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O} + 1\% \text{ TFA} (70:30) \rightarrow (100:0)$  in 15 min.

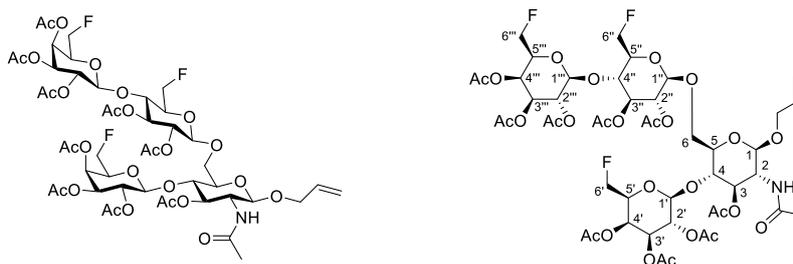
**$^1\text{H-NMR}$**  (800 MHz, HSQC, HMBC, COSY, NOESY,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 7.85 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H,  $\text{H}_{\text{Ar}}-\text{Pht}$ ), 7.74 – 7.71 (m, 2H,  $\text{H}_{\text{Ar}}-\text{Pht}$ ), 5.72 (dd,  $J_{\text{H}_3,\text{H}_2} = 10.7$  Hz,  $J_{\text{H}_3,\text{H}_4} = 8.7$  Hz, 1H, H-3), 5.73 – 5.68 (m, 1H,  $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5.42 (dd,  $J_{\text{H}_4''',\text{H}_3'''} = 3.5$  Hz,  $J_{\text{H}_4''',\text{H}_5'''} = 1.2$  Hz, 1H, H-4'''), 5.38 (dd,  $J_{\text{H}_4',\text{H}_3'} = 3.5$  Hz,  $J_{\text{H}_4',\text{H}_5'} = 1.2$  Hz, 1H, H-4'), 5.35 (d,  $J_{\text{H}_1,\text{H}_2} = 8.6$  Hz, 1H, H-1), 5.24 (t,  $J_{\text{H}_3'',\text{H}_2''} = J_{\text{H}_3'',\text{H}_4''} = 8.8$  Hz, 1H, H-3''), 5.16 (dd,  $J_{\text{H}_2''',\text{H}_3'''} = 10.4$  Hz,  $J_{\text{H}_2''',\text{H}_1'''} = 7.9$  Hz, 1H, H-2'''), 5.17 – 5.12 (m, 1H,  $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_{\text{cis}}\text{H}_{\text{trans}}$ ), 5.12 (dd,  $J_{\text{H}_2',\text{H}_3'} = 10.5$  Hz,  $J_{\text{H}_2',\text{H}_1'} = 7.9$  Hz, 1H, H-2'), 5.07 (dq,  $^3J = 10.5$  Hz,  $^2J = 1.5$  Hz, 1H,  $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_{\text{cis}}\text{H}_{\text{trans}}$ ), 5.03 (dd,  $J_{\text{H}_3',\text{H}_2'} = 10.4$  Hz,  $J_{\text{H}_3',\text{H}_4'} = 3.5$  Hz, 1H, H-3'), 5.01 (dd,  $J_{\text{H}_3'',\text{H}_2''} = 10.4$  Hz,  $J_{\text{H}_3'',\text{H}_4''} = 3.5$  Hz, 1H, H-3''), 4.94

(dd,  $J_{H2'',H3''} = 8.8$  Hz,  $J_{H2'',H1''} = 7.4$  Hz, 1H, H-2''), 4.71 (d,  $J_{H1'',H2''} = 7.4$  Hz, 1H, H-1''), 4.76 – 4.67 (m, 1H, H-6<sub>a</sub>''), 4.61 (d,  $J_{H1''',H2''} = 8.0$  Hz, 1H, H-1'''), 4.58 (d,  $J_{H1',H2'} = 7.9$  Hz, 1H, H-1'), 4.49 – 4.32 (m, 5H, H-6<sub>a/b</sub>', H-6<sub>b</sub>'', H-6<sub>a/b</sub>'''), 4.24 (ddt,  $^2J = 13.0$  Hz,  $^3J = 5.0$  Hz,  $^4J = 1.6$  Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4.19 (dd,  $J_{H2,H3} = 10.7$  Hz,  $J_{H2,H1} = 8.5$  Hz, 1H, H-2), 4.06 (dd,  $J_{H6a,H6b} = 11.3$  Hz,  $J_{H6a,H5} = 1.7$  Hz, 1H, H-6<sub>a</sub>), 4.05 – 4.00 (m, 2H, H-4'', -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 3.97 – 3.92 (m, 2H, H-5', H-5'''), 3.88 (dd,  $J_{H4,H5} = 9.9$  Hz,  $J_{H4,H3} = 8.7$  Hz, 1H, H-4), 3.85 (dd,  $J_{H6b,H6a} = 11.3$  Hz,  $J_{H6b,H5} = 5.2$  Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>), 3.69 (ddd,  $J_{H5,H4} = 10.0$  Hz,  $J_{H5,H6b} = 5.3$  Hz,  $J_{H5,H6a} = 1.7$  Hz, 1H, H-5), 3.59 (ddd,  $J_{H5'',F} = 28.6$  Hz,  $J_{H5'',H4''} = 10.0$  Hz,  $J_{H5'',H6b''} = 2.7$  Hz, 1H, H-5''), 2.15, 2.13, 2.06, 2.05, 2.04, 1.98, 1.97, 1.87 (8 × s, 27H, -OAc).

<sup>13</sup>C-NMR (201 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 171.3, 170.5, 170.4, 170.3, 170.2, 170.1, 169.9, 169.7, 169.3 (9 × C=O-OAc, 2 × C=O-Pht), 134.4, 134.2 (2 × C<sub>Ar</sub>), 133.5 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 131.8, 131.5 (2 × C<sub>q</sub>), 123.7, 123.6 (2 × C<sub>Ar</sub>), 117.9 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 101.4 (C-1'''), 101.1 (C-1'), 100.7 (C-1''), 96.9 (C-1), {81.0 (d,  $J_{C6,F} = 174.4$  Hz), 80.8 (d,  $J_{C6,F} = 172.8$  Hz), 80.7 (d,  $J_{C6,F} = 172.9$  Hz) C-6', C-6'', C-6'''}, 77.1 (C-4), 75.2 (C-4''), 74.6 (C-5), 73.8 (d,  $J_{C5'',F} = 19.0$  Hz, C-5''), 73.4 (C-3''), 71.9 (C-2''), 71.8 (d,  $J_{C5',F} = J_{C5''',F} = 17.5$  Hz, C-5', C-5'''), 71.3 (C-3), 71.0 (C-3'), 70.9 (C-3'''), 70.1 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 69.3 (C-2', C-2'''), 67.4 (C-6), 67.2 (d,  $J_{C4''',F} = 24.9$  Hz, C-4'''), 67.1 (d,  $J_{C4',F} = 25.0$  Hz, C-4'), 55.0 (C-2), 21.2, 20.9, 20.8, 20.7, 20.6 (9 × CH<sub>3</sub>-OAc).

<sup>19</sup>F-NMR (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = {-230.24 (td,  $J_{F,H6} = 46.6$  Hz,  $J_{F,H5} = 12.8$  Hz), -230.44 (td,  $J_{F,H6} = 46.6$  Hz,  $J_{F,H5} = 12.8$  Hz) F-6', F-6''}, -233.58 (td,  $J_{F'',H6''} = 47.4$  Hz,  $J_{F'',H5''} = 28.6$  Hz, F-6'').

### 5.5.1.20 Allyl-2-desoxy-2-*N*-acetamido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4'-tri-*O*-acetyl-6'-desoxy-6'-fluor-β-D-galactopyranosyl)-6-*O*-(2'',3''-di-*O*-acetyl-4''-*O*-{2''',3''',4'''-tri-*O*-acetyl-6'''-desoxy-6'''-fluor-β-D-galactopyranosyl}-6''-desoxy-6''-fluor-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosid (58b)



Zu einer Lösung von 65.3 mg (53.5 μmol, 1.0 Äquiv.) Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4'-tri-*O*-acetyl-6'-desoxy-6'-fluor-β-D-galactopyranosyl)-6-*O*-(2'',3''-di-*O*-acetyl-4''-*O*-{2''',3''',4'''-tri-*O*-acetyl-6'''-desoxy-6'''-fluor-β-D-galactopyranosyl}-6''-desoxy-6''-fluor-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosid (**58a**) in 5 mL Ethanol wurden 2.00 mL (20.2 mmol) *n*-Butylamin gegeben und 24 h unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und mit Toluol (2 × 15 mL) kodestilliert, bevor der Rückstand in 5 mL Pyridin aufgenommen und mit 3.0 mL Essigsäureanhydrid versetzt wurde. Es wurde 12 h bei Raumtemperatur gerührt, bevor nach vollständigem Umsatz das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt in 20 mL Ethylacetat aufgenommen wurde. Anschließend wurde mit einer 1 M Salzsäure

(1 × 40 mL), einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung (1 × 40 mL) und Wasser (1 × 40 mL) gewaschen, mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde schließlich flashchromatographisch an Kieselgel (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH = 80:1 → 30:1) gereinigt.

**Ausbeute:** 42.5 mg (37.5 μmol, 70%); farbloser Feststoff.

**R<sub>f</sub>** = 0.59 (EtOAc).

**ESI-MS** (positiv), *m/z*: 1132.3686 [M+H]<sup>+</sup>, ber.: 1132.3691.

1149.3955 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, ber.: 1149.3956.

**[α]<sub>D</sub><sup>24</sup>** = -26.8 (*c* = 0.25, CHCl<sub>3</sub>).

**RP-HPLC:** R<sub>t</sub> = 19.3 min, Luna C18, λ = 214 nm, Gradient: MeCN:H<sub>2</sub>O (5:95) → (100:0) in 30 min.

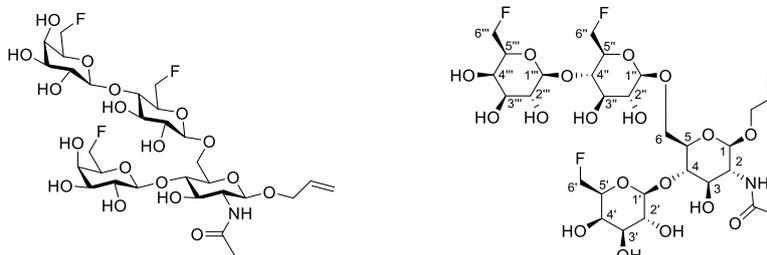
R<sub>t</sub> = 4.00 min, Luna C18, λ = 214 nm, Gradient: MeCN:H<sub>2</sub>O + 1% TFA (70:30) → (100:0) in 15 min.

**<sup>1</sup>H-NMR** (800 MHz, HSQC, HMBC, COSY, NOESY, CDCl<sub>3</sub>), δ [ppm] = 5.83 (dddd, <sup>3</sup>*J* = 17.3 Hz, <sup>3</sup>*J* = 10.6 Hz, <sup>3</sup>*J* = 5.9 Hz, <sup>3</sup>*J* = 4.7 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.67 (d, *J* = 9.5 Hz, 1H, -NHAc), 5.42 (dd, *J*<sub>H4',H3'</sub> = 3.4 Hz, *J*<sub>H4',H5'</sub> = 1.2 Hz, 1H, H-4'), 5.41 (dd, *J*<sub>H4'',H3''</sub> = 3.5 Hz, *J*<sub>H4'',H5''</sub> = 1.2 Hz, 1H, H-4''), 5.27 (dq, <sup>3</sup>*J* = 17.4 Hz, <sup>2</sup>*J* = 1.8 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 5.23 (t, *J*<sub>H3'',H2''</sub> = *J*<sub>H3'',H4''</sub> = 9.2 Hz, 1H, H-3''), 5.19 (dq, <sup>3</sup>*J* = 10.5 Hz, <sup>2</sup>*J* = 1.5 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 5.15 (dd, *J*<sub>H2'',H3''</sub> = 10.4 Hz, *J*<sub>H2'',H1''</sub> = 8.0 Hz, 1H, H-2''), 5.12 (dd, *J*<sub>H2',H3'</sub> = 10.5 Hz, *J*<sub>H2',H1'</sub> = 7.9 Hz, 1H, H-2'), 5.07 (dd, *J*<sub>H3',H2'</sub> = 10.4 Hz, *J*<sub>H3',H4'</sub> = 3.4 Hz, 1H, H-3'), 5.03 (dd, *J*<sub>H3,H2</sub> = 8.7 Hz, *J*<sub>H3,H4</sub> = 7.5 Hz, 1H, H-3), 5.00 (dd, *J*<sub>H3'',H2''</sub> = 10.5 Hz, *J*<sub>H3'',H4''</sub> = 3.5 Hz, 1H, H-3''), 4.89 (dd, *J*<sub>H2'',H3''</sub> = 9.0 Hz, *J*<sub>H2'',H1''</sub> = 7.5 Hz, 1H, H-2''), 4.62 (d, *J*<sub>H1'',H2''</sub> = 7.5 Hz, 1H, H-1''), 4.60 (d, *J*<sub>H1',H2'</sub> = 8.0 Hz, 1H, H-1'), 4.52 (d, *J*<sub>H1',H2'</sub> = 7.9 Hz, 1H, H-1'), 4.68 – 4.35 (m, 6H, H-6<sub>a/b'</sub>, H-6<sub>a/b''</sub>, H-6<sub>a/b'''</sub>), 4.44 (d, *J*<sub>H1,H2</sub> = 7.1 Hz, 1H, H-1), 4.28 (ddt, <sup>2</sup>*J* = 13.3 Hz, <sup>3</sup>*J* = 4.7 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.7 Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4.10 – 4.05 (m, 2H, H-2, H-6<sub>a</sub>), 4.03 (dt, <sup>3</sup>*J* = 5.9 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.5 Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 3.97 (dd, *J*<sub>H4',H5'</sub> = 10.1 Hz, *J*<sub>H4',H3'</sub> = 9.1 Hz, 1H, H-4'), 3.96 – 3.91 (m, 2H, H-5', H-5''), 3.84 (t, *J*<sub>H4,H3</sub> = *J*<sub>H4,H5</sub> = 7.6 Hz, 1H, H-4), 3.75 (dd, *J*<sub>H6b,H6a</sub> = 10.7 Hz, *J*<sub>H6b,H5</sub> = 5.3 Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>), 3.59 – 3.52 (m, 2H, H-5, H-5'), 2.15, 2.05, 1.98, 1.97 (4 × s, 30H, -OAc, CH<sub>3</sub>-NHAc).

**<sup>13</sup>C-NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = 170.8, 170.3, 170.2, 170.1, 169.9, 169.8, 169.3 (9 × C=O-OAc, 1 × C=O-NHAc), 133.7 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 117.5 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 101.3 (C-1'''), 100.8 (C-1'), 100.7 (C-1''), 99.7 (C-1), {80.9 (d, *J*<sub>C6,F</sub> = 173.3 Hz), 80.8 (d, *J*<sub>C6,F</sub> = 173.1 Hz), 80.7 (d, *J*<sub>C6,F</sub> = 172.2 Hz), C-6', C-6'', C-6'''}, 78.9, 75.6 (C-4), 75.1 (C-4''), 73.8 (d, *J*<sub>C5'',F</sub> = 19.0 Hz, C-5''), 74.1 (C-5), 73.1 (C-3''), 71.9 (d, *J*<sub>C5'',F</sub> = 23.8 Hz, C-5'''), 71.8 (d, *J*<sub>C5',F</sub> = 22.9 Hz, C-5'), 71.8 (C-2''), 71.4 (C-3), 71.0 (C-3'''), 70.6 (C-3'), 69.4 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 69.3 (C-2'), 69.2 (C-2'''), 67.9 (C-6), 67.2 (d, *J*<sub>C4',F</sub> = 6.7 Hz, C-4'), 67.1 (d, *J*<sub>C4'',F</sub> = 6.0 Hz, C-4''), 52.5 (C-2), 23.4 (CH<sub>3</sub>-NHAc), 20.9, 20.8, 20.7 (9 × CH<sub>3</sub>-OAc).

**<sup>19</sup>F-NMR** (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ = {-230.36 (td, *J*<sub>F,H6</sub> = 46.7 Hz, *J*<sub>F,H5</sub> = 12.7 Hz), -230.57 (td, *J*<sub>F,H6</sub> = 46.3 Hz, *J*<sub>F,H5</sub> = 12.3 Hz) F-6', F-6''}, -233.08 – -233.78 (m, F-6'').

**5.5.1.21 Allyl-2-desoxy-2-*N*-acetamido-4-*O*-(6'-desoxy-6'-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-(4''-*O*-{6'''-desoxy-6'''-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl}-6'''-desoxy-6'''-fluor- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (4)**



Es wurden 20.1 mg (17.8  $\mu$ mol) Allyl-2-desoxy-2-*N*-acetamido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4'-tri-*O*-acetyl-6'-desoxy-6'-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-(2'',3''-di-*O*-acetyl-4''-*O*-{2''',3''',4'''-tri-*O*-acetyl-6'''-desoxy-6'''-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl}-6'''-desoxy-6'''-fluor- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (**58b**) in 3 mL Methanol vorgelegt und bei Raumtemperatur mit einer frisch zubereiteten 1 M Natriummethanolatlösung versetzt. Nach 3 h wurde mit 1 mL Eisessig neutralisiert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mittels Größenausschlusschromatographie an Sephadex<sup>TM</sup> LH-20 (100% MeOH) gereinigt. Das Produkt wurde anschließend dreimal in Wasser aufgenommen und lyophilisiert.

**Ausbeute:** 11.9 mg (15.8  $\mu$ mol, 89%).

**ESI-MS** (positiv), *m/z*: 754.2737 [M+H]<sup>+</sup>, ber.: 754.2739.

**ESI-MS** (negativ), *m/z*: 752.2599 [M-H]<sup>-</sup>, ber.: 752.2594.

**<sup>1</sup>H-NMR** (800 MHz, HSQC, HMBC, COSY, NOESY, Methanol-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$  [ppm] = 5.88 (ddt, <sup>3</sup>*J* = 17.0 Hz, <sup>3</sup>*J* = 10.6 Hz, <sup>3</sup>*J* = 5.3 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.28 (dq, <sup>3</sup>*J* = 17.3 Hz, <sup>2</sup>*J* = 1.8 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 5.14 (dd, <sup>3</sup>*J* = 10.5 Hz, <sup>2</sup>*J* = 1.7 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 4.81 – 4.68 (m, 2H), 4.65 – 4.54 (m, 5H, {4.57 (d, *J*<sub>H1,H2</sub> = 8.6 Hz, 1H, H-1)}, {4.52 (d, *J*<sub>H1,H2</sub> = 7.9 Hz, 1H), 4.46 (d, *J*<sub>H1,H2</sub> = 8.4 Hz, 1H), 4.34 (d, *J*<sub>H1,H2</sub> = 7.7 Hz, 1H), 3  $\times$  H-1}), 4.33 – 4.30 (m, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4.20 (dd, *J*<sub>H6a,H6b</sub> = 11.2 Hz, *J*<sub>H6a,H5</sub> = 1.8 Hz, 1H, H-6<sub>a</sub>), 4.07 (ddt, <sup>2</sup>*J* = 13.2 Hz, <sup>3</sup>*J* = 5.5 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.5 Hz, 1H, -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 3.99 (dd, *J*<sub>H6b,H6a</sub> = 11.2 Hz, *J*<sub>H6b,H5</sub> = 3.9 Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>), 3.96 – 3.90 (m, 2H), 3.85 – 3.83 (m, 2H), 3.80 – 3.74 (m, 2H), 3.69 – 3.63 (m, 1H), 3.60 – 3.54 (m, 7H), 3.52 (dd, *J* = 9.7 Hz, *J* = 3.4 Hz, 1H), 3.35 – 3.30 (m, 1H), 1.97 (s, 3H, -NHAc).

Aufgrund von Signalüberlagerungen konnten nur charakteristische Signale im <sup>1</sup>H-NMR zugeordnet werden.

**<sup>13</sup>C-NMR** (200 MHz, Methanol-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$  = 173.6, 135.5 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 117.0 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), {105.2, 105.1, 104.6 (C-1', C-1'', C-1''')}, 102.0 (C-1), {83.8 (d, *J*<sub>C6,F</sub> = 167.7 Hz), 83.7 (d, *J*<sub>C6,F</sub> = 167.8 Hz), 83.6 (d, *J*<sub>C6,F</sub> = 167.7 Hz), C-6', C-6'', C-6'''}, 81.3, 80.2, 76.2, {75.2 (d, *J*<sub>C5,F</sub> = 21.2 Hz), 75.0 (d, *J*<sub>C5,F</sub> = 21.0 Hz), 74.9 (d, *J*<sub>C5,F</sub> = 19.1 Hz), C-5', C-5'', C-5'''}, 75.1, 74.6, 74.5, 74.4, 74.0, 72.3, 72.2, 70.9 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), {69.8 (d, *J*<sub>C4,F</sub> = 6.8 Hz), 69.7 (d, *J*<sub>C4,F</sub> = 7.1 Hz), C-4', C-4'''}, 68.9 (C-6), 56.6 (C-2), 23.0 (-NHAc).

Aufgrund von Signalüberlagerungen konnten nur charakteristische Signale im <sup>13</sup>C-NMR zugeordnet werden.

$^{19}\text{F-NMR}$  (376 MHz, Methanol- $d_4$ )  $\delta$  [ppm] = -231.87 – -232.46 (m), -235.07 (td,  $J_{\text{F,H6}}$  = 48.9 Hz,  $J_{\text{F,H6}}$  = 48.5 Hz,  $J_{\text{F,H5}}$  = 24.6 Hz).

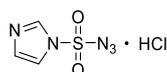
## 5.6 Synthesen des Impfstoffträgermoleküls

### 5.6.1 Das allgemeine Protokoll der Festphasenpeptidsynthese

Die Synthese des Impfstoff-Trägermoleküls **7** erfolgte manuell in einem *Merrifield*-Reaktor und wurde nach der Fmoc-Strategie durchgeführt. Bevor das Harz verwendet wurde, ließ man es 3 h in 15 mL *N,N'*-Dimethylformamid Quellen. Die *N*-terminale Deblockierung der Fmoc-Aminosäurebausteine wurde durch die dreimalige Behandlung des Harzes mit 10 mL einer 20%igen Piperidinlösung in *N,N'*-Dimethylformamid für 10 min bewerkstelligt. Anschließend wurde das Harz dreimal sorgfältig mit 10 mL *N,N'*-Dimethylformamid und zweimal mit 10 mL Dichlormethan gewaschen. Nach diesen Waschschrinen erfolgte der Kupplungsschritt durch *in situ* Aktivierung von 1.5 Äquivalenten des jeweiligen *N*- $\alpha$ -Fmoc Aminosäurebausteins in Gegenwart von 1.5 Äquivalenten PyBOP in 10 mL *N,N'*-Dimethylformamid. Die Kupplungsreaktion wurde anschließend durch die Zugabe von 4 Äquivalenten *N*-Ethyl-diisopropylamin (DIPEA) gestartet und für 1 h zur ausreichenden Durchmischung leicht geschwenkt. Anschließend wurde mit 10 mL Dichlormethan gewaschen, bevor derselbe Kupplungsschritt wiederholt wurde. Als letzter Schritt des Festphasensynthesesyklus wurde das Harz dreimal sorgfältig *N,N'*-Dimethylformamid und zweimal mit 10 mL Dichlormethan gewaschen. Entweder wurde an dieser Stelle ein weiterer Zyklus durch die Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe eingeleitet oder aber das Harz wurde an dieser Stelle sorgfältig in einem Stickstoffstrom getrocknet und mit intakter *N*-terminaler Fmoc-Schutzgruppe im trockenen Zustand im Gefrierer unter einer Argonatmosphäre bei  $-32\text{ }^{\circ}\text{C}$  gelagert. Nach einer solchen Lagerung musste das Harz entsprechend bei erneuter Verwendung in 10 mL *N,N'*-Dimethylformamid für 2 h bei Raumtemperatur gequollen werden. Aufgrund der Doppelkupplung wurde im Allgemeinen auf einen Cappingsschritt ( $\text{Ac}_2\text{O}/\text{DIPEA}/\text{DMF}$ ) verzichtet.

### 5.6.2 Synthesen der Festphasen Monomere

#### 5.6.2.1 1*H*-Imidazol-1-Sulfonylazid Hydrochlorid (**62**)



Es wurden 810  $\mu\text{L}$  (10.0 mmol, 1 Äquiv.) Sulfurylchlorid vorsichtig zu einer eisgekühlten Suspension von 650  $\mu\text{g}$  Natriumazid in 10 mL absolutem Acetonitril getropft und unter langsamen Erwärmen 12 h mit aufgesetztem Trockenrohr gerührt. Anschließend wurde erneut auf  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  gekühlt und 1.36 g (20.0 mmol, 2 Äquiv.) Imidazol zugegeben und die Reaktionslösung weitere 6 h gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde mit 70 mL Ethylacetat und 40 mL Wasser verdünnt. Die organische Phase wurde sukzessive mit Wasser ( $2 \times 50\text{ mL}$ ), einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung ( $2 \times 50\text{ mL}$ ) und einer gesättigten Natriumchloridlösung ( $1 \times 50\text{ mL}$ ) gewaschen, bevor die organische Phase mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und filtriert wurde. Im Anschluss wurde eine HCl/EtOH-Lösung, welche durch tropfenweise Zugabe von 1.07 mL (15.0 mmol, 1.5 Äquiv.) Acetylchlorid zu 4.0 mL trockenem Ethanol gewonnen wurde, über einen Zeitraum von 20 min unter Eiskühlung vollständig zugetropft. Es wurde weitere 30 min unter Eiskühlung gerührt, bevor die resultierende Suspension filtriert und der Filterkuchen mit Ethylacetat ( $2 \times 50\text{ mL}$ ) gewaschen wurde. Das Produkt konnte ohne weitere Reinigung im nächsten Schritt eingesetzt werden.

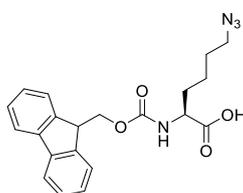
**Ausbeute:** 1.52 g (7.26 mmol, 73%).

Für die mit dem Produkt verbundenen Sicherheitsrisiken wird an dieser Stelle auf die Literatur verwiesen.<sup>235</sup>

Auf die Erfassung von analytischen Daten wurde in diesem Fall verzichtet und das Produkt ohne Lagerung sofort weiter eingesetzt.

Weitere analytische Daten siehe Literatur.<sup>235, 264</sup>

### 5.6.2.2 *N*-(9*H*-fluorenylmethoxycarbonyl)- $\epsilon$ -azido-*L*-Norleucin (59)



Zu einer eisgekühlten Lösung von 2.50 g (5.33 mmol, 1 Äquiv.) *N*-(9-fluorenylmethoxycarbonyl)- $\epsilon$ -*N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-*L*-Lysin gelöst in 15 mL Dichlormethan wurden 15 mL Trifluoressigsäure gegeben und die Reaktionslösung unter langsamen Erwärmen auf Raumtemperatur 2 h gerührt. Nach vollständigem Umsatz wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand mit Toluol (5  $\times$  10 mL) und Dichlormethan (3  $\times$  10 mL) kodestilliert. Anschließend wurde das Rohprodukt schließlich eingefroren und über Nacht an der Lyophylle getrocknet und das so erhaltene viskose Öl wurde anschließend ohne weitere Reinigung im nächsten Schritt eingesetzt.

Das zuvor bereitgestellte Fmoc- $\epsilon$ -Aminolysin wurde in 70 mL eines Methanol/Wasser (8:2) Gemisches bei Raumtemperatur aufgenommen und mit 35.0 mg (224  $\mu$ mol, 4 mol%) Kupfersulfat und 2.58 g (18.7 mmol, 3.5 Äquiv.) Kaliumcarbonat versetzt. Anschließend wurde mit zusätzlichem Kaliumcarbonat, ein konstanter pH-Wert von 8-9 eingestellt, bevor portionsweise 1.52 g (7.26 mmol, 1.4 Äquiv.) 1*H*-Imidazol-1-Sulfonylazid Hydrochlorid **62** über einen Zeitraum von 10 min zugegeben wurde und die resultierende Reaktionslösung 12 h bei Raumtemperatur gerührt wurde. Nach beendeter Reaktion wurde mit 3 M Salzsäure ein pH-Wert von 2 eingestellt und die Reaktionslösung mit Ethylacetat (3  $\times$  70 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit einer gesättigten Natriumchloridlösung (1  $\times$  100 mL) gewaschen. Anschließend wurde mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde flashchromatographisch an Kieselgel ( $^{\circ}$ Hex/EtOAc + 1% AcOH = 3:1) gereinigt. Im Anschluss wurde das gereinigte Produkt mit Toluol (4  $\times$  10 mL) und Dichlormethan (2  $\times$  10 mL) kodestilliert.

**Ausbeute:** 1.96 g (4.98 mmol, 93%).

$R_f$  = 0.17 ( $^{\circ}$ Hex/EtOAc = 2:1 + 1% AcOH).

**ESI-MS**(positiv), *m/z*: 412.1994 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, ber.: 412.1979,

(negativ) 393.1578 [M-H]<sup>-</sup>, ber.: 393.1568.

$$[\alpha]_D^{21} = +12.2 \text{ (} c = 1, \text{CHCl}_3\text{)}.$$

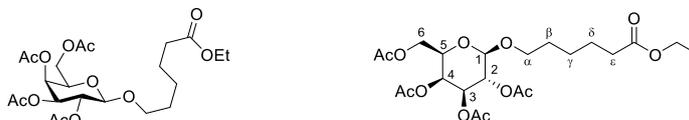
**RP-HPLC:**  $R_t = 22.8$  min, Luna C18,  $\lambda = 214$  nm, Gradient: MeCN:H<sub>2</sub>O + 1% TFA (10:90) → (100:0) in 30 min.

**<sup>1</sup>H-NMR** (800 MHz, HSQC, HMBC, COSY, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  [ppm] = 7.77 (d,  $J = 7.5$  Hz, 2H, H-4<sup>Fmoc</sup>, H-5<sup>Fmoc</sup>), 7.60 (t,  $J = 6.2$  Hz, 2H, H-1<sup>Fmoc</sup>, H-8<sup>Fmoc</sup>), 7.40 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H, H-3<sup>Fmoc</sup>, H-6<sup>Fmoc</sup>), 7.32 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H, H-2<sup>Fmoc</sup>, H-7<sup>Fmoc</sup>), 5.29 (d,  $J_{\text{NH,H}\alpha} = 8.6$  Hz, 1H, NH<sup>Fmoc</sup>), 4.45 – 4.41 (m, 3H, CH<sub>2</sub><sup>Fmoc</sup>, H $\alpha$ ), 4.23 (t,  $J = 7.2$  Hz, 1H, H-9<sup>Fmoc</sup>), 3.29 (pt,  $J = 6.8$  Hz, 2H, H $\epsilon_{a/b}$ ), 1.94 (td,  $J_{\text{H}\beta_a, \text{H}\beta_b} = 9.8$  Hz,  $J_{\text{H}\beta_a, \text{H}\alpha} = 5.4$  Hz, 1H, H $\beta_a$ ), 1.78 – 1.71 (m, 1H, H $\beta_b$ ), 1.67 – 1.59 (m, 2H, H $\delta_{a/b}$ ), 1.48 (p,  $J_{\text{H}\gamma_a, \text{H}\gamma_b} = 12.3$  Hz,  $J_{\text{H}\beta_b} = 6.7$  Hz, 2H, H $\gamma_{a/b}$ ).

**<sup>13</sup>C-NMR** (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  [ppm] = 176.7 (-COOH), 156.2 (C=O-Urethane), 143.9, 143.8 (C-1<sub>a</sub><sup>Fmoc</sup>, C-8<sub>a</sub><sup>Fmoc</sup>), 141.5 (C-4<sub>a</sub><sup>Fmoc</sup>, C-5<sub>a</sub><sup>Fmoc</sup>), 127.9 (C-3<sup>Fmoc</sup>, C-6<sup>Fmoc</sup>), 127.2 (C-2<sup>Fmoc</sup>, C-7<sup>Fmoc</sup>), 125.2 (C-1<sup>Fmoc</sup>, C-8<sup>Fmoc</sup>), 120.2 (C-4<sup>Fmoc</sup>, C-5<sup>Fmoc</sup>), 67.3 (CH<sub>2</sub><sup>Fmoc</sup>), 53.6 (C $\alpha$ ), 51.2 (C $\epsilon$ ), 47.3 (C-9<sup>Fmoc</sup>), 32.0 (C $\beta$ ), 28.5 (C $\delta$ ), 22.6 (C $\gamma$ ).

Weitere analytische Daten siehe Literatur.<sup>265-266</sup>

### 5.6.2.3 5-Ethoxycarbonylpentyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosid (64)



Es wurden zu einer Lösung von 3.60 g (7.31 mmol, 1 Äquiv.) 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-galactopyranosyl Trichloracetimidat (17) in 30 mL absolutem Dichlormethan 1.2 mL (7.31 mmol, 1 Äquiv.) Ethyl-6-Hydroxyhexanoat sowie 4.00 g frisch aktivierten Molsieb (MS4Å) gegeben und 15 min bei Raumtemperatur unter Argonatmosphäre gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung auf  $-78$  °C gekühlt und 30  $\mu$ L TMSOTf zugetropft und weitere 15 min gerührt, bevor das Trockeneis/Aceton Kältebad entfernt wurde und die Reaktionslösung vorsichtig über einen Zeitraum von 30 min auf Raumtemperatur erwärmt wurde. Nach beendeter Reaktion wurde die Lösung mit 80 mL Dichlormethan verdünnt, über Celite filtriert und das Filtrat mit gesättigter Natriumhydrogen-carbonatlösung (1  $\times$  70 mL) gewaschen. Anschließend wurde die organische Phase mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und das Filtrat vom Lösungsmittel, unter vermindertem Druck, befreit. Das Rohprodukt wurde flashchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Hex/EtOAc = 2:1).

**Ausbeute:** 2.85 g (5.80 mmol, 79%).

$R_f = 0.50$  (cHex/EtOAc = 2:1).

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 508.2402 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, ber.: 508.2389.

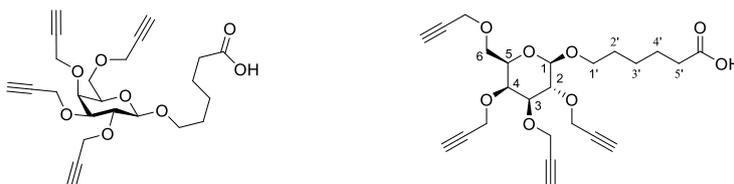
$$[\alpha]_D^{21} = -14.3 \text{ (} c = 1, \text{CHCl}_3\text{)}.$$

**RP-HPLC:**  $R_f = 10.0$  min, Luna C18,  $\lambda = 214$  nm, Gradient: MeCN:H<sub>2</sub>O + 1% TFA (10:90) → (100:0) in 30 min.

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, HSQC, HMBC, COSY, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  [ppm] = 5.37 (dd,  $J_{H_4,H_3} = 3.5$  Hz,  $J_{H_4,H_5} = 1.2$  Hz, 1H, H-4), 5.18 (dd,  $J_{H_2,H_3} = 10.5$  Hz,  $J_{H_2,H_1} = 7.9$  Hz, 1H, H-2), 5.00 (dd,  $J_{H_3,H_2} = 10.5$  Hz,  $J_{H_3,H_4} = 3.5$  Hz, 1H, H-3), 4.44 (d,  $J_{H_1,H_2} = 8.0$  Hz, 1H, H-1), 4.17 (dd,  $J_{H_{6a},H_{6b}} = 11.3$  Hz,  $J_{H_{6a},H_5} = 6.5$  Hz, 1H, H-6<sub>a</sub>), 4.13 – 4.09 (m, 3H, H-6<sub>b</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.90 – 3.85 (m, 2H, H-5,  $\alpha$ -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>), 3.46 (ddd,  $J = 9.6$  Hz,  $J = 7.3$  Hz,  $J = 6.3$  Hz, 1H,  $\alpha$ -CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>), 2.27 (td,  $J = 7.3$  Hz,  $J = 0.8$  Hz, 2H,  $\gamma$ -CH<sub>2</sub>), 2.13, 2.04, 2.03, 1.97 (4 × s, 12H, -OAc), 1.67 – 1.54 (m, 5H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub>,  $\delta$ -CH<sub>2</sub>), 1.39 – 1.32 (m, 2H,  $\epsilon$ -CH<sub>2</sub>), 1.24 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H, -CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  [ppm] = 173.7, 170.5, 170.4, 170.3, 169.5 (4 × (C=O)-OAc, 1 × (C=O)-Ester, 101.5 (C-1), 71.1 (C-3), 70.7 (C-5), 70.0 ( $\alpha$ -CH<sub>2</sub>), 69.0 (C-2), 67.2 (C-4), 61.4 (C-6), 60.4 (-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 34.3 ( $\gamma$ -CH<sub>2</sub>), 29.2 ( $\delta$ -CH<sub>2</sub>), 25.5 ( $\epsilon$ -CH<sub>2</sub>), 24.7 ( $\beta$ -CH<sub>2</sub>), 20.9, 20.8, 20.7 (4 × CH<sub>3</sub>-OAc), 14.4 (-CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

#### 5.6.2.4 5-Ethoxycarbonylpentyl-2,3,4,6-tetra-*O*-propargyl- $\beta$ -D-galactopyranosid (**60**)



Zu einer Lösung von 2.40 g (4.89 mmol) 5-Ethoxycarbonylpentyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosid (**64**) in 40 mL Ethanol wurden 500  $\mu$ L einer Frisch präparierten Natriummethanolatlösung zugetropft und 12 h bei Raumtemperatur gerührt, bevor mit 3 mL Eisessig neutralisiert wurde und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt wurde. Anschließend wurde der Rückstand mit 10 mL Wasser versetzt, mit flüssigem Stickstoff eingefroren und 24 h an der Lyophylle getrocknet.

Der Rückstand wurde daraufhin bei 0 °C in 100 mL absolutem Tetrahydrofuran unter einer Argonatmosphäre aufgeschlämmt und mit 630 mg (2.45 mmol, 0.5 Äquiv.) Tetrabutylammoniumiodid versetzt. Anschließend wurden vorsichtig 1.37 g (34.3 mmol, 7 Äquiv.) Natriumhydrid über einen Zeitraum von 20 min zugegeben, bevor 4.90 mL (44.0 mmol, 9 Äquiv.) Propargylbromid (80% in Toluol), gelöst in 50 mL absolutem Tetrahydrofuran über einen Zeitraum von einer Stunde vorsichtig zugetropft wurden. Nach beendeter Zugabe wurde die Reaktionslösung für 1 h unter Rückfluss erhitzt, bevor das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt wurde. Der Rückstand wurde anschließend in 10 mL Dichlormethan aufgenommen und über 15 cm Silica (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) filtriert.

Das so erhaltene Öl wurde in 100 mL eines Tetrahydrofuran/Wasser (5:1) Gemisches aufgenommen und mit 1.00 g (41.8 mmol, 8.5 Äquiv.) Lithiumhydroxid versetzt und 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständigem Umsatz wurde die Reaktionslösung mit 3 M Salzsäure auf pH = 2 angesäuert und die Reaktionslösung eingeeengt. Der Rückstand wurde mit Dichlormethan (3 × 70 mL) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde flashchromatographisch an Kieselgel (Hex/EtOAc + 1% AcOH) gereinigt. Das gereinigte Produkt wurde letztlich mit Toluol (3 × 10 mL) und Dichlormethan (2 × 10 mL) koevaporiert.

**Ausbeute:** 917 mg (2.06 mmol, 42% über drei Stufen).

$R_f = 0.21$  ( $^6\text{Hex}/\text{EtOAc} = 2:1 + 1\% \text{AcOH}$ ).

**ESI-MS**(positiv),  $m/z$ : 464.2294  $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ , ber.: 464.2279.

(negativ),  $m/z$ : 445.1887  $[\text{M}-\text{H}]^-$ , ber.: 445.1868.

$[\alpha]_D^{21} = -42.2$  ( $c = 0.5$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).

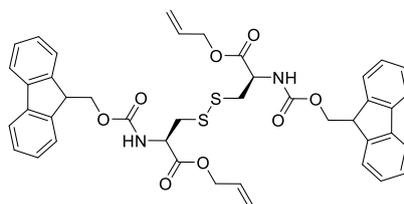
**RP-HPLC:**  $R_t = 3.59$  min, Luna C18,  $\lambda = 214$  nm, Gradient:  $\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O} + 1\% \text{TFA}$  (5:95).

**$^1\text{H-NMR}$**  (600 MHz, HSQC, HMBC, COSY,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 4.51 – 4.43 (m, 2H,  $-\text{CH}_2\text{CCH}$ ), 4.40 (dd,  $J = 11.1$  Hz,  $J = 2.4$  Hz, 2H,  $-\text{CH}_2\text{CCH}$ ), 4.37 – 4.31 (m, 2H,  $-\text{CH}_2\text{CCH}$ ), 4.28 (d,  $J_{\text{H1},\text{H2}} = 7.6$  Hz, 1H, H-1), 4.23 – 4.12 (m, 2H,  $-\text{CH}_2\text{CCH}$ ), 4.01 (d,  $J_{\text{H4},\text{H3}} = 1.3$  Hz, 1H, H-4), 3.89 (dt,  $J_{\text{H1a}^*,\text{H1b}^*} = 9.5$  Hz,  $J_{\text{H1a},\text{H2}^*} = 6.3$  Hz, 1H, H-1<sub>a</sub>\*), 3.78 (dd,  $J_{\text{H6a},\text{H6b}} = 9.8$  Hz,  $J_{\text{H6a},\text{H5}} = 6.0$  Hz, 1H, H-6<sub>a</sub>), 3.69 (dd,  $J_{\text{H6b},\text{H6a}} = 9.8$  Hz,  $J_{\text{H6b},\text{H5}} = 6.1$  Hz, 1H, H-6<sub>b</sub>), 3.59 – 3.54 (m, 3H, H-2, H-3, H-5), 3.48 (dt,  $J_{\text{H1b}^*,\text{H1a}^*} = 9.5$  Hz,  $J_{\text{H1b}^*,\text{H2}^*} = 6.7$  Hz, 1H, H-1<sub>b</sub>\*), 2.45 – 2.41 (m, 4H,  $-\text{CH}_2\text{CCH}$ ), 2.35 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H, H-3\*), 1.69 – 1.58 (m, 4H, H-2\*, H-5\*), 1.47 – 1.38 (m, 2H, H-4\*).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 179.7 ( $-\text{COOH}$ ), 103.4 (C-1), 80.9 (C-2), 80.4, 80.2, 79.6 ( $4 \times -\text{CH}_2\text{CCH}$ ), 79.5 (C-3), 74.8, 74.7, 74.6, 74.1 ( $4 \times -\text{CH}_2\text{CCH}$ ), 73.6 (C-4), 73.3 (C-5), 69.7 (C-1\*), 69.1 (C-6), 60.0, 59.7, 59.2, 58.8 ( $4 \times -\text{CH}_2\text{CCH}$ ), 34.0 (C-3\*), 29.4, 25.7, 24.5 (C-2\*, C-4\*, C-5\*).

In Anlehnung an literaturbekanntes Protokoll dargestellt.<sup>171</sup>

### 5.6.2.5 *N,N'*-Bis(9*H*-fluorenylmethoxycarbonyl)-(*R*)-cystin-bis-Allylester (65) (Fmoc-L-Cys-OAllyl)<sub>2</sub>



Zu einer Lösung von 4.50 g (18.7 mmol, 1 Äquiv.) L-Cystin und 3.95 g (37.4 mmol, 2 Äquiv.) Natriumcarbonat in 100 mL eines Aceton/Wasser (1:1) Gemischs wurden 13.8 g (41.1 mmol, 2.2 Äquiv.) Fmoc-OSu gegeben und 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde mit 3 M Salzsäure auf pH 2 angesäuert, die Lösung mit Ethylacetat ( $3 \times 150$  mL) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt konnte ohne weitere Reinigung im nächsten Schritt eingesetzt werden.

**ESI-MS** (negativ),  $m/z$ : 683.1559  $[\text{M}-\text{H}]^-$ , ber.: 683.1527.

Das zuvor bereitgestellte Cystinderivat wurde anschließend in 150 mL Acetonitril gelöst und sukzessive mit 9.54 mL (56.1 mmol, 3 Äquiv.) Diisopropylethylamin und 3.55 mL (41.1 mmol, 2.2 Äquiv.) Allylbromid versetzt und 12 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach vollständigem Umsatz wurden das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in 200 mL Ethylacetat aufgenommen. Die organische Phase wurde sukzessive mit einer 1 M Salzsäure (1 × 100 mL), einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung (1 × 100 mL) und Wasser (2 × 150 mL) gewaschen, bevor mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet wurde und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt wurde. Das Rohprodukt wurde flashchromatographisch ( $^c$ Hex/EtOAc = 4:1) an Kieselgel gereinigt.

**Ausbeute:** 12.2 g (15.9 mmol, 85%).

$R_f$  = 0.53 ( $^c$ Hex/EtOAc = 2:1).

**ESI-MS** (positiv),  $m/z$ : 782.2576  $[M+NH_4]^+$ , ber.: 782.2564.

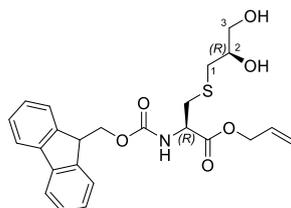
$[\alpha]_D^{21}$  = +20.6 ( $c$  = 0.5,  $CHCl_3$ ).

**$^1H$ -NMR** (600 MHz, HSQC, HMBC, COSY,  $CDCl_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 7.75 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 2H, H-4<sup>Fmoc</sup>, H-5<sup>Fmoc</sup>), 7.59 (dd,  $J$  = 7.7 Hz,  $J$  = 3.9 Hz, 2H, H-1<sup>Fmoc</sup>, H-8<sup>Fmoc</sup>), 7.41 – 7.36 (m, 2H, H-3<sup>Fmoc</sup>, H-6<sup>Fmoc</sup>), 7.33 – 7.27 (m, 2H, H-2<sup>Fmoc</sup>, H-7<sup>Fmoc</sup>), 5.90 (ddt,  $^3J$  = 16.6 Hz,  $^3J$  = 11.1 Hz,  $^3J$  = 5.7 Hz, 1H,  $-CH_2CH=CH_2$ ), 5.72 (d,  $J_{NH,H\alpha}$  = 8.2 Hz, 1H,  $NH^{Fmoc}$ ), 5.37 – 5.31 (m, 1H,  $-CH_2CH=CH_{cis}H_{trans}$ ), 5.26 (d,  $^3J$  = 10.2 Hz, 1H,  $-CH_2CH=CH_{cis}H_{trans}$ ), 4.73 – 4.63 (m, 3H,  $-CH_2CH=CH_2$ , H $\alpha$ ), 4.39 (t,  $J$  = 7.5 Hz, 2H,  $CH_2^{Fmoc}$ ), 4.21 (t,  $J$  = 7.0 Hz, 2H, H-9<sup>Fmoc</sup>), 3.41 (d,  $J_{H\beta,H\alpha}$  = 5.2 Hz, 1H, H $\beta$ ), 3.21 (s, 1H, H $\beta$ ).

**$^{13}C$ -NMR** (150 MHz,  $CDCl_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 170.2 ( $-COOAllyl$ ), 155.8 (C=O-Urethane), 143.9 (C-1<sub>a</sub><sup>Fmoc</sup>, C-8<sub>a</sub><sup>Fmoc</sup>), 141.5 (C-4<sub>a</sub><sup>Fmoc</sup>, C-5<sub>a</sub><sup>Fmoc</sup>), 131.4 ( $-CH_2CH=CH_2$ ), 127.9 (C-3<sup>Fmoc</sup>, C-6<sup>Fmoc</sup>), 127.2 (C-2<sup>Fmoc</sup>, C-7<sup>Fmoc</sup>), 125.3 (C-1<sup>Fmoc</sup>, C-8<sup>Fmoc</sup>), 120.2 (C-4<sup>Fmoc</sup>, C-5<sup>Fmoc</sup>), 119.5 ( $-CH_2CH=CH_2$ ), 67.5 ( $CH_2^{Fmoc}$ ), 66.7 ( $-CH_2CH=CH_2$ ), 53.6 (C $\alpha$ ), 47.2 (C-9<sup>Fmoc</sup>), 41.3 (C $\beta$ ).

Weitere analytische Daten siehe Literatur.<sup>267</sup>

### 5.6.2.6 *N*-(9*H*-fluorenylmethoxycarbonyl)-*S*-[(2*R*)-2,3-dihydroxypropyl]-(*R*)-Cystein Allylester (66)



Zu einer eisgekühlten Lösung von 2.30 g (3.01 mmol, 1 Äquiv.) *N,N'*-Bis(flourenylmethoxycarbonyl)-(*R*)-Cystin-bis-Allylester (65) in 23 mL Dichlormethan wurden sukzessive 1.38 g (21.1 mmol, 7 Äquiv.) Zinkstaub

gegeben und 12.5 mL einer Mischung aus Methanol/konz. Salzsäure/konz. Schwefelsäure (100:7:1) gegeben und 30 min bei 0 °C gerührt. Anschließend wurden 2.23 g (30.1 mmol, 10 Äquiv.) (R)-(+)-Glycidol zugetropft und die resultierende Reaktionslösung 4 h unter Rückfluss erwärmt. Nach beendeter Reaktion wurde über Celite filtriert und der Filterkuchen mit 100 mL Dichlormethan gewaschen. Die organische Phase wurde separiert und die verbleibende wässrige Phase mit Dichlormethan (2 × 50 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde flashchromatographisch an Kieselgel (<sup>c</sup>Hex/EtOAc = 4:1) gereinigt.

**Ausbeute:** 2.23 g (4.87 mmol, 81%).

**R<sub>f</sub>** = 0.58 (EtOAc).

**ESI-MS** (positiv), *m/z*: 475.1911 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, ber.: 475.1897,

458.1645 [M+H]<sup>+</sup>, ber.: 458.1632.

**[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>** = -15.1 (*c* = 0.5, CHCl<sub>3</sub>).

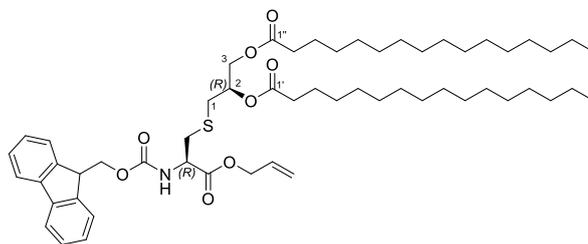
**RP-HPLC:** R<sub>t</sub> = 20.5 min, Luna C18, λ = 214 nm, Gradient: MeCN:H<sub>2</sub>O +1% TFA (10:90) → (100:0) in 30 min.

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, HSQC, HMBC, COSY, CDCl<sub>3</sub>), δ [ppm] = 7.76 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H, H-4<sup>Fmoc</sup>, H-5<sup>Fmoc</sup>), 7.60 (dd, *J* = 7.5 Hz, *J* = 4.5 Hz, 2H, H-1<sup>Fmoc</sup>, H-8<sup>Fmoc</sup>), 7.40 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H, H-3<sup>Fmoc</sup>, H-6<sup>Fmoc</sup>), 7.34 – 7.29 (m, 2H, H-2<sup>Fmoc</sup>, H-7<sup>Fmoc</sup>), 5.96 – 5.87 (m, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.35 (d, <sup>3</sup>*J* = 17.2 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 5.28 (d, <sup>3</sup>*J* = 10.5 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 4.69 – 4.64 (m, 3H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>, H<sub>α</sub>), 4.44 – 4.39 (m, 2H, CH<sub>2</sub><sup>Fmoc</sup>), 4.23 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H, H-9<sup>Fmoc</sup>), 3.80 – 3.75 (m, 1H, H-2), 3.68 (dd, *J*<sub>H3a,H3b</sub> = 11.4 Hz, *J*<sub>H3a,H2</sub> = 3.5 Hz, 1H, H-3<sub>a</sub>), 3.52 (dd, *J*<sub>H3b,H3a</sub> = 11.3 Hz, *J*<sub>H3b,H2</sub> = 6.1 Hz, 1H, H-3<sub>b</sub>), 3.07 (dd, *J*<sub>Hβa,Hβb</sub> = 14.0 Hz, *J*<sub>Hβa,Hα</sub> = 4.6 Hz, 1H, Hβ<sub>a</sub>), 2.99 (dd, *J*<sub>Hβb,Hβa</sub> = 14.0 Hz, *J*<sub>Hβb,Hα</sub> = 6.3 Hz, 1H, Hβ<sub>b</sub>), 2.79 – 2.74 (m, 1H, H-1<sub>a</sub>), 2.62 (dd, *J*<sub>H1b,H1a</sub> = 13.6 Hz, *J*<sub>H1b,H2</sub> = 8.2 Hz, 1H, H-1<sub>b</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR** (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ [ppm] = 170.6 (-COOAllyl), 156.2 (C=O-Urethan), 143.9 (C-1a<sup>Fmoc</sup>, C-8a<sup>Fmoc</sup>), 143.8, 141.4 (C-4a<sup>Fmoc</sup>, C-5a<sup>Fmoc</sup>), 131.3 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 127.9 (C-3<sup>Fmoc</sup>, C-6<sup>Fmoc</sup>), 127.2 (C-2<sup>Fmoc</sup>, C-7<sup>Fmoc</sup>), 125.2 (C-1<sup>Fmoc</sup>, C-8<sup>Fmoc</sup>), 120.1 (C-4<sup>Fmoc</sup>, C-5<sup>Fmoc</sup>), 119.5 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 70.9 (C-2), 67.4 (CH<sub>2</sub><sup>Fmoc</sup>), 66.7 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 65.4 (C-3), 54.2 (C<sub>α</sub>), 47.2 (C-9<sup>Fmoc</sup>), 36.7 (C-1), 35.7 (Cβ).

Weitere analytische Daten siehe Literatur.<sup>241</sup> In Anlehnung an literaturbekanntes Protokoll dargestellt.<sup>240</sup>

### 5.6.2.7 *N*-(9*H*-fluorenylmethoxycarbonyl)-*S*-[(2*R*)-2,3-bis(palmitoyloxy)propyl]-(*R*)-Cystein Allylester (67)



Es wurden 1.38 g (3.01 mmol, 1 Äquiv.) *N*-(9-fluorenylmethoxycarbonyl)-*S*-[(2*R*)-2,3-dihydroxypropyl]-(*R*)-Cystein Allylester (**66**) unter einer Argonatmosphäre in 100 mL absolutem Dichlormethan aufgenommen und 1.02 mL (6.02 mmol, 2 Äquiv.) Diisopropylethylamin bei Raumtemperatur zugegeben. Anschließend wurde die Reaktionslösung auf 0 °C gekühlt und es wurden 1.64 mL (6.02 mmol, 2 Äquiv.) Palmitoylchlorid, gelöst in 30 mL absolutem Dichlormethan, über einen Zeitraum von 30 min zugetropft. Nach beendeter Zugabe wurde das Eisbad entfernt und weitere 2 h bei Raumtemperatur gerührt, bevor die organische Phase mit 1 M Salzsäure (1 × 50 mL), einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung (2 × 50 mL) und Wasser (3 × 70 mL) gewaschen wurde. Anschließend wurde die organische Phase mit wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde flashchromatographisch an Kieselgel (<sup>c</sup>Hex/EtOAc = 9:1 → 5:1) gereinigt.

**Ausbeute:** 2.15 g (2.30 mmol, 76%).

**R<sub>f</sub>** = 0.55 (<sup>c</sup>Hex/EtOAc = 5:1).

**ESI-MS** (positiv), *m/z*: 951.6526 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 951.6491.

[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>21</sup> = -4.8 (*c* = 0.5, CHCl<sub>3</sub>).

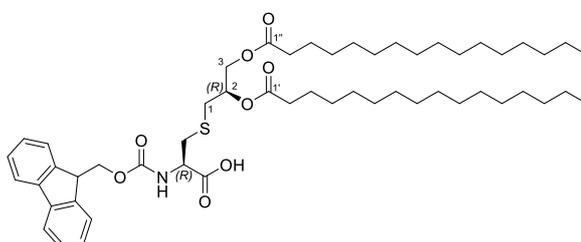
**RP-HPLC:** R<sub>t</sub> = 47.1 min, Luna C18, λ = 214 nm, Gradient: MeCN:H<sub>2</sub>O+1% TFA (5:95) → 100:0) in 30 min.

**<sup>1</sup>H-NMR** (800 MHz, HSQC, HMBC, COSY, CDCl<sub>3</sub>), δ [ppm] = 7.77 (dd, *J* = 7.8 Hz, *J* = 1.2 Hz, 2H, H-4<sup>Fmoc</sup>, H-5<sup>Fmoc</sup>), 7.61 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H, H-1<sup>Fmoc</sup>, H-8<sup>Fmoc</sup>), 7.42 – 7.39 (m, 2H, H-3<sup>Fmoc</sup>, H-6<sup>Fmoc</sup>), 7.32 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H, H-2<sup>Fmoc</sup>, H-7<sup>Fmoc</sup>), 5.92 (ddt, <sup>3</sup>*J* = 16.5 Hz, <sup>3</sup>*J* = 10.6 Hz, <sup>3</sup>*J* = 5.9 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5.69 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, NH<sup>Fmoc</sup>), 5.36 (dd, <sup>3</sup>*J* = 17.2 Hz, <sup>2</sup>*J* = 1.9 Hz, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 5.30 – 5.27 (m, 1H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>cis</sub>H<sub>trans</sub>), 5.15 (qd, *J*<sub>H<sub>2</sub>,H<sub>3b</sub></sub> = 6.3 Hz, *J*<sub>H<sub>2</sub>,H<sub>3a</sub></sub> = 3.3 Hz, 1H, H-2), 4.70 – 4.67 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4.65 (dt, *J*<sub>H $\alpha$ ,NH<sup>Fmoc</sup></sub> = 7.9 Hz, *J*<sub>H $\alpha$ ,H $\beta$ b</sub> = 5.3 Hz, 1H, H $\alpha$ ), 4.41 – 4.39 (m, 2H, CH<sub>2</sub><sup>Fmoc</sup>), 4.33 (dd, *J*<sub>H<sub>3a</sub>,H<sub>3b</sub></sub> = 11.9 Hz, *J*<sub>H<sub>3a</sub>,H<sub>2</sub></sub> = 3.6 Hz, 1H, H-3<sub>a</sub>), 4.24 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H, H-9<sup>Fmoc</sup>), 4.15 (dd, *J*<sub>H<sub>3b</sub>,H<sub>3a</sub></sub> = 11.9 Hz, *J*<sub>H<sub>3b</sub>,H<sub>2</sub></sub> = 6.0 Hz, 1H, H-3<sub>b</sub>), 3.12 (dd, *J*<sub>H $\beta$ a,H $\beta$ b</sub> = 13.9 Hz, *J*<sub>H $\beta$ a,H $\alpha$</sub>  = 4.7 Hz, 1H, H $\beta$ <sub>a</sub>), 3.05 (dd, *J*<sub>H $\beta$ b,H $\beta$ a</sub> = 13.9 Hz, *J*<sub>H $\beta$ b,H $\alpha$</sub>  = 5.8 Hz, 1H, H $\beta$ <sub>b</sub>), 2.79 – 2.71 (m, 2H, H-1), 2.32 – 2.27 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-2', CH<sub>2</sub>-2''), 1.62 – 1.57 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-3', CH<sub>2</sub>-3''), 1.30 – 1.22 (m, 48H, CH<sub>2</sub><sup>alkyl</sup>), 0.88 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H, CH<sub>3</sub><sup>alkyl</sup>).

$^{13}\text{C-NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 173.5 (C-1''), 173.2 (C-1'), 170.4 (-COOAllyl), 155.9 (C=O-Urethan), 143.9 (C-1a<sup>Fmoc</sup>, C-8a<sup>Fmoc</sup>), 141.4 (C-4a<sup>Fmoc</sup>, C-5a<sup>Fmoc</sup>), 131.4 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 127.9 (C-3<sup>Fmoc</sup>, C-6<sup>Fmoc</sup>), 127.2 (C-2<sup>Fmoc</sup>, C-7<sup>Fmoc</sup>), 125.3 (C-1<sup>Fmoc</sup>, C-8<sup>Fmoc</sup>), 120.1 (C-4<sup>Fmoc</sup>, C-5<sup>Fmoc</sup>), 119.5 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 70.3 (C-2), 67.5 (CH<sub>2</sub><sup>Fmoc</sup>), 66.7 (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 63.6 (C-3), 54.0 (C $\alpha$ ), 47.3 (C-9<sup>Fmoc</sup>), 35.2 (C $\beta$ ), 34.4, 34.2 (C-2', C-2''), 33.2 (C-1), 32.1, 29.8, 29.7, 29.5, 29.3 (CH<sub>2</sub><sup>alkyl</sup>), 25.1 (C-3', C-3''), 22.9 (CH<sub>2</sub><sup>alkyl</sup>), 14.3 (2  $\times$  CH<sub>3</sub><sup>alkyl</sup>).

Weitere analytische Daten siehe Literatur.<sup>241</sup>

### 5.6.2.8 *N*-(9*H*-fluorenylmethoxycarbonyl)-*S*-[2,3-bis(palmitoyloxy)-(2*R*)-propyl]-(*R*)-Cystein (61)



Es wurden 1.84 g (1.97 mmol, 1 Äquiv.) *N*-(9*H*-fluorenylmethoxycarbonyl)-*S*-[(2*R*)-2,3bis(palmitoyloxy)propyl]-(*R*)-Cystein Allylester (**67**) bei Raumtemperatur unter einer Argonatmosphäre in 70 mL absolutem Eisessig vorgelegt und mit 683 mg (591  $\mu\text{mol}$ , 0.3 Äquiv.) Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> versetzt. Anschließend wurde drei Stunden auf 70 °C erhitzt, bevor nach vollständigem Umsatz das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt wurde. Das Rohprodukt wurde flashchromatographisch an Kieselgel (<sup>c</sup>Hex/EtOAc = 2:1 + 1% AcOH) gereinigt.

**Ausbeute:** 1.46 g (1.63 mmol, 83%).

**R<sub>f</sub>** = 0.26 (<sup>c</sup>Hex/EtOAc = 1:1 + 1% AcOH).

**ESI-MS** (negativ), *m/z*: 892.5759 [M-H]<sup>-</sup>, ber.: 892.5767.

**[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup>** = +6.5 (*c* = 0.5, CHCl<sub>3</sub>).

**RP-HPLC:** R<sub>t</sub> = 3.18 min, Luna C18,  $\lambda$  = 214 nm, Gradient: MeCN: H<sub>2</sub>O + 1% TFA (70:30) → (100:0) in 15 min.

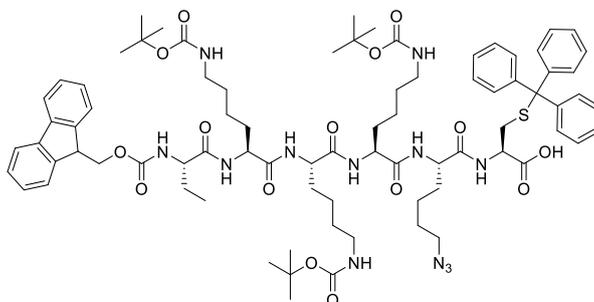
$^1\text{H-NMR}$  (800 MHz, HSQC, HMBC, COSY,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 7.76 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H, H-4<sup>Fmoc</sup>, H-5<sup>Fmoc</sup>), 7.61 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H, H-1<sup>Fmoc</sup>, H-8<sup>Fmoc</sup>), 7.39 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H, H-3<sup>Fmoc</sup>, H-6<sup>Fmoc</sup>), 7.31 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H, H-2<sup>Fmoc</sup>, H-7<sup>Fmoc</sup>), 5.78 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, NH<sup>Fmoc</sup>), 5.18 (brs, 1H, H-2), 4.66 (brs, 1H, H $\alpha$ ), 4.40 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H, CH<sub>2</sub><sup>Fmoc</sup>), 4.35 (dd, *J*<sub>H3a,H3b</sub> = 12.0 Hz, *J*<sub>H3a,H2</sub> = 3.4 Hz, 1H, H-3<sub>a</sub>), 4.24 (t, *J* = 7.1 Hz, 1H, H-9<sup>Fmoc</sup>), 4.16 (dd, *J*<sub>H3b,H3a</sub> = 12.1 Hz, *J*<sub>H3b,H2</sub> = 6.1 Hz, 1H, H-3<sub>b</sub>), 3.20 – 3.14 (m, 1H, H $\beta_a$ ), 3.10 – 3.04 (m, 1H, H $\beta_b$ ), 2.77 (brs, 2H, H-1), 2.33 – 2.28 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-2', CH<sub>2</sub>-2''), 1.62 – 1.58 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-3', CH<sub>2</sub>-3''), 1.31 – 1.22 (m, 48H, CH<sub>2</sub><sup>alkyl</sup>), 0.88 (t, *J* = 7.2 Hz, 6H, CH<sub>3</sub><sup>alkyl</sup>).

$^{13}\text{C-NMR}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  [ppm] = 179.5 (-COOH), 173.6, 173.5 (C-1', C-1''), 156.1 (C=O-Urethan), 143.8 (C-1a<sup>Fmoc</sup>, C-8a<sup>Fmoc</sup>), 141.4 (C-4a<sup>Fmoc</sup>, C-5a<sup>Fmoc</sup>), 127.9 (C-3<sup>Fmoc</sup>, C-6<sup>Fmoc</sup>), 127.2 (C-2<sup>Fmoc</sup>, C-7<sup>Fmoc</sup>), 125.3 (C-1<sup>Fmoc</sup>, C-8<sup>Fmoc</sup>), 120.1 (C-4<sup>Fmoc</sup>, C-5<sup>Fmoc</sup>), 70.4 (C-2), 67.6 ( $\text{CH}_2^{\text{Fmoc}}$ ), 63.7 (C-3), 53.8 (C $\alpha$ ), 47.2 (C-9<sup>Fmoc</sup>), 34.9 (C $\beta$ ), 34.4, 34.2 (C-2', C-2''), 33.1 (C-1), 32.1, 29.9, 29.8, 29.7, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3 ( $\text{CH}_2^{\text{alkyl}}$ ), 25.0 (C-3', C-3''), 22.8 ( $\text{CH}_2^{\text{alkyl}}$ ), 14.3 ( $2 \times \text{CH}_3^{\text{alkyl}}$ ).

Weitere analytische Daten siehe Literatur.<sup>41, 240</sup> Vorschrift nach *Kusama und Mitarbeitern*.<sup>218</sup>

### 5.6.3 Festphasenpeptid Synthese des universellen Impfstoffträgermoleküls

#### 5.6.3.1 *N*-(9*H*-Fluorenylmethoxycarbonyl)-*L*-2-aminobutyryl-*L*-( $\epsilon$ -*N*-*tert*-butoxycarbonyl)-*L*-( $\epsilon$ -*N*-*tert*-butoxycarbonyl)-lysyl-*L*-( $\epsilon$ -*N*-*tert*-butoxycarbonyl)-lysyl-*L*-( $\epsilon$ -*N*-*tert*-butoxycarbonyl)-lysyl- $\epsilon$ -azido-*L*-norleucinyl-*L*-( $\beta$ -*S*-triphenylmethyl)-cystein (68a)

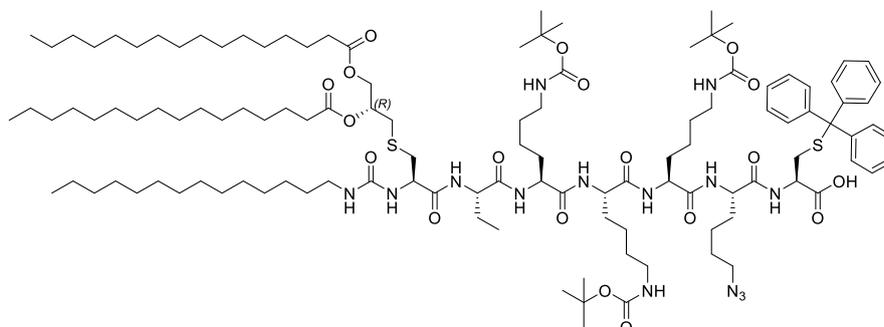


Die Synthese des vollgeschützten Peptids erfolgte manuell in einem *Merrifield*-Reaktor nach der Fmoc-Strategie anhand des in Kapitel 3.5 beschriebenen allgemeinen Syntheseprotokolls. Der Aufbau des vollgeschützten Abu-K-K-K-Nle( $\epsilon$ -N<sub>3</sub>)-C-Peptids beginnt ausgehend von 1.00 g (0.70 mmol, 1 Äquiv.) eines C-terminal Fmoc-Cys(Trt)-OH vorbeladenen säurelabilen 2-Chlorotrityl Harzes {H-Cys(Trt)-2-ClTrt-Harz, Beladung: 0.70 mmol/g} der Firma *Sigma Aldrich*. Nach dem Standardprotokoll wurden zweimal jeweils 1.5 Äquivalente des jeweiligen Fmoc-Aminosäurebausteins gekuppelt. Nach beendeter Synthese wurde das Harz mit *N,N'*-Dimethylformamid (3 × 10 mL) und absolutem Dichlormethan (5 × 10 mL) gewaschen und anschließend im Stickstoffstrom 30 min getrocknet. Schließlich wurde das Harz unter einer Argonstmosphäre bei -32 °C gelagert.

Für analytische Zwecke wurden nach beendeter Reaktion 30.0 mg des zuvor beladenen trockenen Harzes in eine Spritze mit integrierter Fritte überführt und erneut dreimal mit 2 mL einer 20%igen Piperidin in *N,N'*-Dimethylformamid Lösung je 10 min behandelt. Anschließend wurde das *N*-terminal Fmoc deblockierte Peptid solgfältige mit absolutem Dichlormethan (5 × 1.5 mL) gewaschen und schließlich durch die dreimalige Behandlung mit 1.5 mL einer 1%igen Trifluoressigsäure Lösung in absolutem Dichlormethan für jeweils 2 min von der festen Phase gespalten. Die Filtrate wurden direkt in einen 50 mL Rundkolben, gefüllt mit 10 mL eines Pyridin/Methanol Gemisches (2:1), gesammelt und so direkt neutralisiert. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand mit 5 mL Wasser versetzt und schließlich gefriergetrocknet. Das vollgeschützte Rohpeptid wurde im Anschluss Massenspektroskopisch analysiert.

**ESI-MS** (positiv), *m/z*: 1287.7192 [M+H]<sup>+</sup>, ber.: 1287.7170.

**5.6.3.2 *N*-Tetradecylcarbamoyl-L-cysteinyl-((*R*)-2,3-di-(palmitoyloxy)propyl)-L-2-aminobutyryl-L-( $\epsilon$ -*N*-tert-butoxycarbonyl)-lysyl-L-( $\epsilon$ -*N*-tert-butoxycarbonyl)-lysyl-L-( $\epsilon$ -*N*-tert-butoxycarbonyl)-lysyl-L-( $\epsilon$ -*N*-tert-butoxycarbonyl)-lysyl- $\epsilon$ -azido-L-norleucinyl-L-( $\beta$ -*S*-triphenyl-methyl)-cystein (69)**

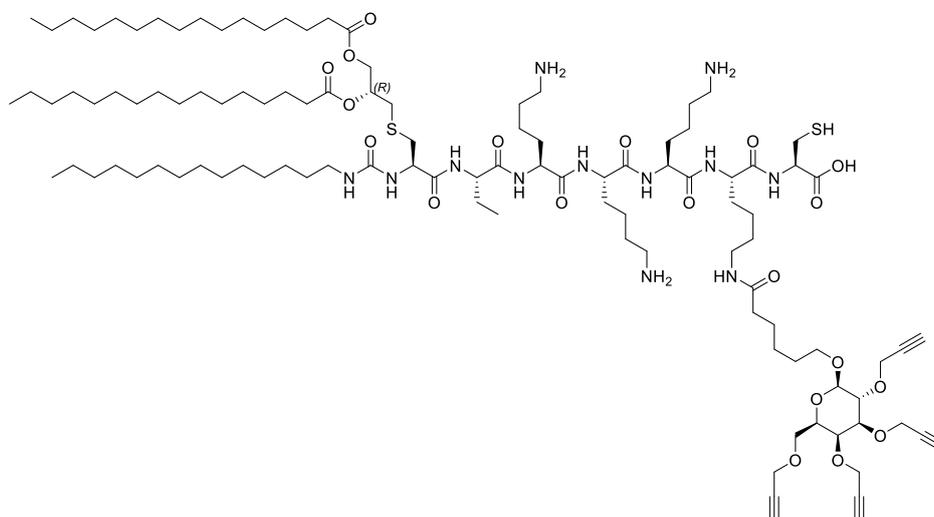


Es wurden 0.35 mmol des mit der Fmoc-Abu-K-K-K-Nle( $\epsilon$ -N<sub>3</sub>)-C-Aminosäuresequenz (**68a**) beladenen Harzes in 10 mL *N,N'*-Dimethylformamid 1 h bei Raumtemperatur in einem *Merrifield*-Reaktor gequollen, bevor es dreimal mit 7 mL einer 20%igen Piperidin in *N,N'*-Dimethylformamid Lösung je 10 min behandelt wurde. Anschließend wurde das *N*-terminal deblockierte Harz sorgfältig mit *N,N'*-Dimethylformamid (4 × 10 mL) und Dichlormethan (2 × 10 mL) gewaschen. Anschließend wurden 313 mg (0.35 mmol, 1 Äquiv.) des Fmoc-Pam<sub>2</sub>Cys-OH Bausteins **61** und 182 mg (0.35 mmol, 1 Äquiv.) PyBOP gelöst in 5 mL *N,N'*-Dimethylformamid zugegeben. Die Reaktion wurde mit 179  $\mu$ L (1.05 mmol, 3 Äquiv.) DIPEA gestartet und 18 h bei Raumtemperatur unter einer Argonatmosphäre leicht geschwenkt. Nach beendter Reaktion wurde sorgfältig mit Dichlormethan (3 × 10 mL) gewaschen, bevor ein zweiter Kupplungsschritt durchgeführt wurde (*vide supra*). Nach vollständiger zweiter Kupplung wurde erneut sorgfältig mit Dichlormethan (3 × 10 mL) gewaschen, bevor der *N*-Terminus durch dreimaliges Einwirken von 7 mL einer 20%igen Piperidin in *N,N'*-Dimethylformamid Lösung je 10 min erneut freigesetzt wurde. Das sorgfältig mit *N,N'*-Dimethylformamid (3 × 10 mL) und Dichlormethan (3 × 10 mL) gewaschene Harz wurde daraufhin in 5 mL *N,N'*-Dimethylformamid suspendiert und mit 964  $\mu$ L (3.50 mmol, 10 Äquiv.) Tetradecylisocyanat versetzt und über 12 h bei Raumtemperatur unter einer Argonatmosphäre leicht geschwenkt. Letztlich wurde mit Dichlormethan (3 × 10 mL) gewaschen und das Harz im Stickstoffstrom getrocknet und unter einer Argonatmosphäre bei -32 °C gelagert.

Für analytische Zwecke wurden nach beendeter Reaktion 30.0 mg des zuvor beladenen trockenen Harzes in eine Spritze mit integrierter Fritte überführt und erneut dreimal mit 2 mL einer 20%igen Piperidin in *N,N'*-Dimethylformamid Lösung je 10 min behandelt. Anschließend wurde das *N*-terminal Fmoc deblockierte Peptid sorgfältig mit absolutem Dichlormethan (5 × 1.5 mL) gewaschen und schließlich durch die dreimalige Behandlung mit 1.5 mL einer 1%igen Trifluoressigsäure Lösung in absolutem Dichlormethan für jeweils 2 min von der festen Phase gespalten. Die Filtrate wurden direkt in einen 50 mL Rundkolben, gefüllt mit 10 mL eines Pyridin/Methanol Gemisches (2:1), gesammelt und so direkt neutralisiert. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand mit 5 mL Wasser versetzt und schließlich gefriergetrocknet. Das vollgeschützte Rohpeptid wurde im Anschluss Massenspektroskopisch analysiert.

**ESI-MS** (positiv), *m/z*: 1108.2576 [M+2NH<sub>4</sub>]<sup>2+</sup>, ber.: 1108.2555.  
1099.7453 [M+H+NH<sub>4</sub>]<sup>2+</sup>, ber.: 1099.7422.

### 5.6.3.1 *N*-Tetradecylcarbamoyl-L-cysteinyl-((*R*)-2,3-di-(palmitoyloxy)propyl)-L-2-aminobutyryl-L-lysyl-L-lysyl-L-lysyl-ε-{5-Amidocarbonylpentyl-2,3,4,6-tetra-*O*-propargyl-β-D-galactopyranosyl}-L-lysyl-L--cystein (7)



Es wurden 0.175 mmol des zuvor mit der UPam-Abu-K-K-K-Nle(ε-N<sub>3</sub>)-C-Aminosäuresequenz (**69**) beladenen Harzes in 10 mL *N,N'*-Dimethylformamid 1 h bei Raumtemperatur in einem *Merrifield*-Reaktor gequollen, und mit einer Dioxan/Wasser (4:1) Lösung gewaschen. Anschließend wurde das Harz zweimal, in separaten Schritten, in 6 mL Dioxan/Wasser (4:1) suspendiert und 12 h unter leichtem Schwenken mit 1.05 mL (1.05 mmol, 6 Äquiv.) Trimethylphosphin (1 M in Toluol) behandelt. Nach beendeter Reduktion wurde das Harz sorgfältig mit *N,N'*-Dimethylformamid (3 × 10 mL) und Dichlormethan (3 × 10 mL) gewaschen. Im Anschluss wurden 117 mg (263 μmol, 1.5 Äquiv.) des Tetrapropargylgalactosids (**60**) und 137 mg (263 μmol, 1.5 Äquiv.) PyBOP gelöst in 6 mL *N,N'*-Dimethylformamid zugegeben. Die Reaktion wurde schließlich mit der Zugabe von 149 μL (875 μmol, 5 Äquiv.) DIPEA gestartet und 18 h bei Raumtemperatur unter einer Argonatmosphäre leicht geschwenkt. Nach beendter Reaktion wurde sorgfältig mit Dichlormethan (3 × 10 mL) gewaschen, bevor ein zweiter Kupplungsschritt mit **60** durchgeführt wurde (*vide supra*). Nach vollständiger zweiter Kupplung wurde sorgfältig mit Dichlormethan (3 × 10 mL) gewaschen, das Harz im Stickstoffstrom getrocknet.

Zur Abspaltung des Glycopeptids (35 μmol) wurde das Harz mit 10 mL einer Mischung aus Trifluoressigsäure, Triisopropylsilan und Wasser (95:2.5:2.5), welche zuvor im Ultraschallbad entgast wurde, 3 h unter einer Argonatmosphäre und leichtem Schwenken behandelt. Das Filtrat wurde aufgefangen und der Vorgang einmal wiederholt. Die vereinigten Filtrate wurden unter vermindertem Druck konzentriert und mit Toluol (3 × 10 mL) kodestilliert, wobei die Belüftung des Rotationsverdampfers jeweils mit Argongas erfolgte. Das Rohpeptid wurde in 1.5 mL Methanol aufgenommen und durch das Eintropfen in kalten Diethylether mit anschließender Lagerung bei -32 °C für 2 h gefällt. Nach vollständiger Fällung wurde das Rohpeptid durch Zentrifugation erhalten und anschließend erneut in 10 mL Reinstwasser unter Lichtausschluss aufgenommen. Das Rohprodukt wurde letztlich gefriergetrocknet und das Lyophilisat als farbloser schaumartiger Feststoff erhalten und konnte im nächsten Syntheseschritt ohne weitere Reinigung eingesetzt werden.

**Ausbeute:** 45.7 mg (22 μmol, 64%).

**ESI-MS** (positiv), *m/z*: 1021.1940 [M+2H]<sup>2+</sup>, ber.: 1021.1920.

## 6 LITERATURVERZEICHNIS

1. Borghans, J. A. M.; Noest, A. J.; De Boer, R. J., *How Specific Should Immunological Memory Be?*, *J. Immunol.* **1999**, *163* (2), 569-575.
2. Hankiewicz, J.; Swierczek, E., *Lysozyme in human body fluids*, *Clin. Chim. Acta* **1974**, *57* (3), 205-209.
3. van den Berg, B.; Walgaard, C.; Drenthen, J.; Fokke, C.; Jacobs, B. C.; van Doorn, P. A., *Guillain-Barre syndrome: pathogenesis, diagnosis, treatment and prognosis*, *Nat. Rev. Neurol.* **2014**, *10* (8), 469-482.
4. Menconi, F.; Marcocci, C.; Marinò, M., *Diagnosis and classification of Graves' disease*, *Autoimmun. Rev.* **2014**, *13* (4-5), 398-402.
5. Baumgart, D. C.; Sandborn, W. J., *Crohn's disease*, *Lancet* **380** (9853), 1590-1605.
6. Compston, A.; Coles, A., *Multiple sclerosis*, *Lancet* **372** (9648), 1502-1517.
7. Kugelberg, E., *Autoimmunity: A new clue to sleepiness*, *Nat. Rev. Immunol.* **2014**, *14* (2), 66-67.
8. Lindenmann, J., *Senior Overviews*, *Scand. J. Immunol.* **1984**, *19* (4), 281-285.
9. Dunkelberger, J. R.; Song, W.-C., *Complement and its role in innate and adaptive immune responses*, *Cell Res.* **2009**, *20* (1), 34-50.
10. Maverakis, E.; Kim, K.; Shimoda, M.; Gershwin, M. E.; Patel, F.; Wilken, R.; Raychaudhuri, S.; Ruhaak, L. R.; Lebrilla, C. B., *Glycans in the immune system and The Altered Glycan Theory of Autoimmunity: A critical review*, *J. Autoimmun.* **2015**, *57*, 1-13.
11. Woof, J. M.; Burton, D. R., *Human antibody-Fc receptor interactions illuminated by crystal structures*, *Nat. Rev. Immunol.* **2004**, *4* (2), 89-99.
12. Market, E.; Papavasiliou, F. N., *V(D)J Recombination and the Evolution of the Adaptive Immune System*, *PLoS Biol.* **2003**, *1* (1), e16.
13. Rus, H.; Cudrici, C.; Niculescu, F., *The role of the complement system in innate immunity*, *Immunol. Res.* **2005**, *33* (2), 103-112.
14. Dranoff, G., *Cytokines in cancer pathogenesis and cancer therapy*, *Nat. Rev. Cancer* **2004**, *4* (1), 11-22.
15. Medzhitov, R., *Recognition of microorganisms and activation of the immune response*, *Nature* **2007**, *449* (7164), 819-826.
16. Miller, J. F. A. P., *The discovery of thymus function and of thymus-derived lymphocytes*, *Immunol. Rev.* **2002**, *185* (1), 7-14.
17. Randolph, G. J.; Angeli, V.; Swartz, M. A., *Dendritic-cell trafficking to lymph nodes through lymphatic vessels*, *Nat. Rev. Immunol.* **2005**, *5* (8), 617-628.
18. Hodgkin, P. D.; Heath, W. R.; Baxter, A. G., *The clonal selection theory: 50 years since the revolution*, *Nat. Immunol.* **2007**, *8* (10), 1019-1026.
19. Rajewsky, K., *Clonal selection and learning in the antibody system*, *Nature* **1996**, *381* (6585), 751-758.
20. Cohn, M.; Av Mitchison, N.; Paul, W. E.; Silverstein, A. M.; Talmage, D. W.; Weigert, M., *Reflections on the clonal-selection theory*, *Nat. Rev. Immunol.* **2007**, *7* (10), 823-830.
21. Burnet, F. M., *A modification of jerne's theory of antibody production using the concept of clonal selection*, *CA-Cancer J. Clin.* **1976**, *26* (2), 119-121.
22. Harty, J. T.; Tvinnereim, A. R.; White, D. W., *CD8<sup>+</sup> T-Cell Effector Mechanisms in Resistance to Infection*, *Annu. Rev. Immunol.* **2000**, *18* (1), 275-308.
23. Abbas, A. K.; Murphy, K. M.; Sher, A., *Functional diversity of helper T lymphocytes*, *Nature* **1996**, *383* (6603), 787-793.
24. Mancini, R. J.; Stutts, L.; Ryu, K. A.; Tom, J. K.; Esser-Kahn, A. P., *Directing the Immune System with Chemical Compounds*, *ACS Chem. Biol.* **2014**, *9* (5), 1075-1085.
25. Zinkernagel, R. M.; Doherty, P. C., *Immunological surveillance against altered self components by sensitised T lymphocytes in lymphocytes choriomeningitis*, *Nature* **1974**, *251* (5475), 547-548.
26. Zinkernagel, R. M.; Doherty, P. C., *Restriction of in vitro T cell-mediated cytotoxicity in lymphocytic choriomeningitis within a syngeneic or semiallogeneic system*, *Nature* **1974**, *248* (5450), 701-702.
27. Temizoz, B.; Kuroda, E.; Ishii, K. J., *Vaccine adjuvants as potential cancer immunotherapeutics*, *Int. Immunol.* **2016**, *28* (7), 329-338.

28. Behr, M. A.; Divangahi, M., *Freund's adjuvant, NOD2 and mycobacteria*, *Curr. Opin. Microbiol.* **2015**, *23*, 126-132.
29. Mata-Haro, V.; Cekic, C.; Martin, M.; Chilton, P. M.; Casella, C. R.; Mitchell, T. C., *The Vaccine Adjuvant Monophosphoryl Lipid A as a TRIF-Biased Agonist of TLR4*, *Science* **2007**, *316* (5831), 1628-1632.
30. Rock, F. L.; Hardiman, G.; Timans, J. C.; Kastelein, R. A.; Bazan, J. F., *A family of human receptors structurally related to Drosophila Toll*, *P. Natl. Acad. Sci.* **1998**, *95* (2), 588-593.
31. Kaisho, T.; Akira, S., *Toll-like receptors as adjuvant receptors*, *BBA - Mol. Cell Res.* **2002**, *1589* (1), 1-13.
32. Warshakoon, H. J.; Hood, J. D.; Kimbrell, M. R.; Malladi, S.; Wu, W. Y.; Shukla, N.; Agnihotri, G.; Sil, D.; David, S. A., *Potential adjuvant properties of innate immune stimuli*, *Hum. Vaccines* **2009**, *5* (6), 381-394.
33. Kabelitz, D., *Expression and function of Toll-like receptors in T lymphocytes*, *Curr. Opin. Immunol.* **2007**, *19* (1), 39-45.
34. Casella, C. R.; Mitchell, T. C., *Putting endotoxin to work for us: Monophosphoryl lipid A as a safe and effective vaccine adjuvant*, *Cell. Mol. Life Sci.* **2008**, *65* (20), 3231-3240.
35. Coler, R. N.; Bertholet, S.; Moutaftsi, M.; Guderian, J. A.; Windish, H. P.; Baldwin, S. L.; Laughlin, E. M.; Duthie, M. S.; Fox, C. B.; Carter, D.; Friede, M.; Vedvick, T. S.; Reed, S. G., *Development and Characterization of Synthetic Glucopyranosyl Lipid Adjuvant System as a Vaccine Adjuvant*, *PLoS ONE* **2011**, *6* (1), e16333.
36. Park, B. S.; Song, D. H.; Kim, H. M.; Choi, B.-S.; Lee, H.; Lee, J.-O., *The structural basis of lipopolysaccharide recognition by the TLR4-MD-2 complex*, *Nature* **2009**, *458* (7242), 1191-1195.
37. Beutler, E.; Gelbart, T.; West, C., *Synergy between TLR2 and TLR4: A safety mechanism*, *Blood Cell. Mol. Dis.* **2001**, *27* (4), 728-730.
38. Peri, F.; Calabrese, V., *Toll-like Receptor 4 (TLR4) Modulation by Synthetic and Natural Compounds: An Update*, *J. Med. Chem.* **2014**, *57* (9), 3612-3622.
39. Huang, L.-D.; Lin, H.-J.; Huang, P.-H.; Hsiao, W.-C.; Raghava Reddy, L. V.; Fu, S.-L.; Lin, C.-C., *Synthesis of serine-based glycolipids as potential TLR4 activators*, *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9* (7), 2492-2504.
40. Calabrese, V.; Cighetti, R.; Peri, F., *Molecular simplification of lipid A structure: TLR4-modulating cationic and anionic amphiphiles*, *Mol. Immunol.* **2015**, *63* (2), 153-161.
41. Reichel, F.; Roelofsen, A. M.; Geurts, H. P. M.; Hämäläinen, T. I.; Feiters, M. C.; Boons, G.-J., *Stereochemical Dependence of the Self-Assembly of the Immunoadjuvants Pam<sub>3</sub>Cys and Pam<sub>3</sub>Cys-Ser*, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121* (35), 7989-7997.
42. Willems, M. M. J. H. P.; Zom, G. G.; Khan, S.; Meeuwenoord, N.; Melief, C. J. M.; van der Stelt, M.; Overkleeft, H. S.; Codée, J. D. C.; van der Marel, G. A.; Ossendorp, F.; Filippov, D. V., *N-Tetradecylcarbonyl Lipopeptides as Novel Agonists for Toll-like Receptor 2*, *J. Med. Chem.* **2014**, *57* (15), 6873-6878.
43. Seyberth, T.; Voss, S.; Brock, R.; Wiesmüller, K.-H.; Jung, G., *Lipolanthionine Peptides Act as Inhibitors of TLR2-Mediated IL-8 Secretion. Synthesis and Structure-Activity Relationships*, *J. Med. Chem.* **2006**, *49* (5), 1754-1765.
44. Wu, W.; Li, R.; Malladi, S. S.; Warshakoon, H. J.; Kimbrell, M. R.; Amolins, M. W.; Ukani, R.; Datta, A.; David, S. A., *Structure-Activity Relationships in Toll-like Receptor-2 agonistic Diacylthioglycerol Lipopeptides*, *J. Med. Chem.* **2010**, *53* (8), 3198-3213.
45. Abdel-Aal, A.-B. M.; Al-Isae, K.; Zaman, M.; Toth, I., *Simple synthetic Toll-like receptor 2 ligands*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21* (19), 5863-5865.
46. Thomann, J.-S.; Monneaux, F.; Creusat, G.; Spanedda, M. V.; Heurtault, B.; Habermacher, C.; Schuber, F.; Bourel-Bonnet, L.; Frisch, B., *Novel glycolipid TLR2 ligands of the type Pam<sub>2</sub>Cys- $\alpha$ -Gal: Synthesis and biological properties*, *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *51* (0), 174-183.
47. De Luca, K.; Frances-Duvert, V.; Asensio, M. J.; Ihsani, R.; Debien, E.; Taillardet, M.; Verhoeyen, E.; Bella, C.; Lantheaume, S.; Genestier, L.; Defrance, T., *The TLR1/2 agonist Pam<sub>3</sub>CSK<sub>4</sub> instructs commitment of human hematopoietic stem cells to a myeloid cell fate*, *Leukemia* **2009**, *23* (11), 2063-2074.

48. Smith, K. D.; Andersen-Nissen, E.; Hayashi, F.; Strobe, K.; Bergman, M. A.; Barrett, S. L. R.; Cookson, B. T.; Aderem, A., *Toll-like receptor 5 recognizes a conserved site on flagellin required for protofilament formation and bacterial motility*, *Nat. Immunol.* **2003**, 4 (12), 1247-1253.
49. Hayashi, F.; Smith, K. D.; Ozinsky, A.; Hawn, T. R.; Yi, E. C.; Goodlett, D. R.; Eng, J. K.; Akira, S.; Underhill, D. M.; Aderem, A., *The innate immune response to bacterial flagellin is mediated by Toll-like receptor 5*, *Nature* **2001**, 410 (6832), 1099-1103.
50. Miao, E. A.; Andersen-Nissen, E.; Warren, S. E.; Aderem, A., *TLR5 and Ipaf: dual sensors of bacterial flagellin in the innate immune system*, *Semin. Immunopathol.* **2007**, 29 (3), 275-288.
51. Alexopoulou, L.; Holt, A. C.; Medzhitov, R.; Flavell, R. A., *Recognition of double-stranded RNA and activation of NF- $\kappa$ B by Toll-like receptor 3*, *Nature* **2001**, 413 (6857), 732-738.
52. Lolis, E.; Bucala, R., *Therapeutic approaches to innate immunity: severe sepsis and septic shock*, *Nat. Rev. Drug Discov.* **2003**, 2 (8), 635-645.
53. Kawai, T.; Akira, S., *TLR signaling*, *Cell Death Differ.* **2006**, 13 (5), 816-825.
54. Guermonprez, P.; Valladeau, J.; Zitvogel, L.; Théry, C.; Amigorena, S., *Antigen presentation and T-cell stimulation by dendritic cells*, *Annu. Rev. Immunol.* **2002**, 20 (1), 621-667.
55. Banchereau, J.; Steinman, R. M., *Dendritic cells and the control of immunity*, *Nature* **1998**, 392 (6673), 245-252.
56. Kurosaki, T.; Kometani, K.; Ise, W., *Memory B cells*, *Nat. Rev. Immunol.* **2015**, 15 (3), 149-159.
57. Morelli, L.; Poletti, L.; Lay, L., *Carbohydrates and Immunology: Synthetic Oligosaccharide Antigens for Vaccine Formulation*, *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 2011 (29), 5723-5777.
58. Matzinger, P., *The Danger Model: A Renewed Sense of Self*, *Science* **2002**, 296 (5566), 301-305.
59. Jefferson, K. K., *What drives bacteria to produce a biofilm? FEMS Microbiol. Lett.* **2004**, 236 (2), 163-173.
60. Reitsma, S.; Slaaf, D. W.; Vink, H.; van Zandvoort, M. A. M. J.; oude Egbrink, M. G. A., *The endothelial glycocalyx: composition, functions, and visualization*, *Pflugers Arch.* **2007**, 454 (3), 345-359.
61. J W Costerton; R T Irvin, a.; Cheng, K. J., *The Bacterial Glycocalyx in Nature and Disease*, *Annu. Rev. Microbiol.* **1981**, 35 (1), 299-324.
62. Murat, D.; Byrne, M.; Komeili, A., *Cell Biology of Prokaryotic Organelles*, *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **2010**, 2 (10).
63. Thanbichler, M.; Wang, S. C.; Shapiro, L., *The bacterial nucleoid: A highly organized and dynamic structure*, *J. Cell. Biochem.* **2005**, 96 (3), 506-521.
64. Toro, E.; Shapiro, L., *Bacterial Chromosome Organization and Segregation*, *Cold Spring Harb. Persp. Biol.* **2010**, 2 (2).
65. Shapiro, L.; McAdams, H. H.; Losick, R., *Generating and Exploiting Polarity in Bacteria*, *Science* **2002**, 298 (5600), 1942-1946.
66. Govindarajan, S.; Amster-Choder, O., *Where are things inside a bacterial cell? Curr. Opin. Microbiol.* **2016**, 33, 83-90.
67. Schade, J.; Weidenmaier, C., *Cell wall glycopolymers of Firmicutes and their role as nonprotein adhesins*, *FEBS Lett.* **2016**.
68. van den Ent, F.; Johnson, C. M.; Persons, L.; de Boer, P.; Löwe, J., *Bacterial actin MreB assembles in complex with cell shape protein RodZ*, *EMBO J.* **2010**, 29 (6), 1081-1090.
69. van den Ent, F.; Amos, L. A.; Lowe, J., *Prokaryotic origin of the actin cytoskeleton*, *Nature* **2001**, 413 (6851), 39-44.
70. Popp, D.; Narita, A.; Maeda, K.; Fujisawa, T.; Ghoshdastider, U.; Iwasa, M.; Maéda, Y.; Robinson, R. C., *Filament Structure, Organization, and Dynamics in MreB Sheets*, *J. Biol. Chem.* **2010**, 285 (21), 15858-15865.
71. Ruiz, N., *Filling holes in peptidoglycan biogenesis of Escherichia coli*, *Curr. Opin. Microbiol.* **2016**, 34, 1-6.
72. Raetz, C. R. H.; Whitfield, C., *Lipopolysaccharide Endotoxins*, *Annu. Rev. Biochem.* **2002**, 71 (1), 635-700.
73. Woese, C. R., *Bacterial evolution*, *Microbiol. Rev.* **1987**, 51 (2), 221-271.
74. Gibbons, N. E.; Murray, R. G. E., *Proposals Concerning the Higher Taxa of Bacteria*, *Int. J. Syst. Evol. Micr.* **1978**, 28 (1), 1-6.

75. Austrian, R., *The gram stain and the etiology of lobar pneumoniae, an historical note*, *Bacteriol. Rev.* **1960**, 24 (3), 261-265.
76. Rietschel, E. T.; Kirikae, T.; Schade, F. U.; Mamat, U.; Schmidt, G.; Loppnow, H.; Ulmer, A. J.; Zähringer, U.; Seydel, U.; Di Padova, F., *Bacterial endotoxin: molecular relationships of structure to activity and function*, *FASEB J.* **1994**, 8 (2), 217-25.
77. Lorenzo, F. D.; Silipo, A.; Lanzetta, R.; Parrilli, M.; Molinaro, A., *Bacterial Lipopolysaccharides: An Overview of Their Structure, Biosynthesis and Immunological Activity*, In *Carbohydrate Chemistry: State of the Art and Challenges for Drug Development*, Imperial College Press: 2015; pp 57-89.
78. Schlievert, P. M.; Kelly, J. A., *Clindamycin-Induced Suppression of Toxic-Shock Syndrome-Associated Exotoxin Production*, *J. Infect. Dis.* **1984**, 149 (3), 471.
79. van Langevelde, P.; van Dissel, J. T.; Meurs, C. J.; Renz, J.; Groeneveld, P. H., *Combination of flucloxacillin and gentamicin inhibits toxic shock syndrome toxin 1 production by Staphylococcus aureus in both logarithmic and stationary phases of growth*, *Antimicrob. Agents Ch.* **1997**, 41 (8), 1682-1685.
80. Todd, J.; Fishaut, M.; Kapral, F.; Welch, T., *Toxic-shock syndrome associated with phage-group-I Staphylococci*, *Lancet* **1978**, 312 (8100), 1116-1118.
81. Weston, W. L.; Todd, J. K., *Toxic-shock syndrome*, *J. Am. Acad. Dermatol.* **1981**, 4 (4), 478-480.
82. Lappin, E.; Ferguson, A. J., *Gram-positive toxic shock syndromes*, *Lancet Infect. Dis.* **2009**, 9 (5), 281-290.
83. Oberg, H.-H.; Juricke, M.; Kabelitz, D.; Wesch, D., *Regulation of T-cell activation by TLR ligands*, *Eur. J. Cell Biol.* **2011**, 90 (6-7), 582-592.
84. Gao, Q.; Zaccaria, C.; Tontini, M.; Poletti, L.; Costantino, P.; Lay, L., *Synthesis and preliminary biological evaluation of carba analogues from Neisseria meningitidis A capsular polysaccharide*, *Org. Biomol. Chem.* **2012**, 10 (33), 6673-6681.
85. McCracken Jr, H. G.; Sáez-Llorens, X., *Bacterial meningitis in children*, *Lancet* **2003**, 361 (9375), 2139-2148.
86. Frasc, C. E., *Production and control of Neisseria meningitidis vaccines*, *Adv. Biotechnol. Process.* **1990**, 13, 123-145.
87. Segal, S.; Pollard, A. J., *Vaccines against bacterial meningitis*, *Brit. Med. Bull.* **2004**, 72 (1), 65-81.
88. Shivatare, S. S.; Wu, C.-Y., *Carbohydrate-Based Antibacterial Vaccines: Current Progress and Future Outlook*, In *Carbohydrate Chemistry: State of the Art and Challenges for Drug Development*, Imperial College Press: 2015; pp 321-356.
89. Schwandner, R.; Dziarski, R.; Wesche, H.; Rothe, M.; Kirschning, C. J., *Peptidoglycan- and Lipoteichoic Acid-induced Cell Activation Is Mediated by Toll-like Receptor 2*, *J. Biol. Chem.* **1999**, 274 (25), 17406-17409.
90. Seo, H. S.; Michalek, S. M.; Nahm, M. H., *Lipoteichoic Acid Is Important in Innate Immune Responses to Gram-Positive Bacteria*, *Infect. Immun.* **2008**, 76 (1), 206-213.
91. Percy, M. G.; Gründling, A., *Lipoteichoic Acid Synthesis and Function in Gram-Positive Bacteria*, *Annu. Rev. Microbiol.* **2014**, 68 (1), 81-100.
92. Whitfield, C., *Biosynthesis and Assembly of Capsular Polysaccharides in Escherichia coli*, *Annu. Rev. Biochem.* **2006**, 75 (1), 39-68.
93. Yother, J., *Capsules of Streptococcus pneumoniae and Other Bacteria: Paradigms for Polysaccharide Biosynthesis and Regulation*, *Annu. Rev. Microbiol.* **2011**, 65 (1), 563-581.
94. Henriques-Normark, B.; Tuomanen, E. I., *The Pneumococcus: Epidemiology, Microbiology, and Pathogenesis*, *Cold Spring Harb. Persp. Med.* **2013**, 3 (7).
95. Hausdorff, W. P.; Bryant, J.; Paradiso, P. R.; Siber, G. R., *Which Pneumococcal Serogroups Cause the Most Invasive Disease: Implications for Conjugate Vaccine Formulation and Use, Part I*, *Clin. Infect. Dis.* **2000**, 30 (1), 100-121.
96. Bentley, S. D.; Aanensen, D. M.; Mavroidi, A.; Saunders, D.; Rabinowitsch, E.; Collins, M.; Donohoe, K.; Harris, D.; Murphy, L.; Quail, M. A.; Samuel, G.; Skovsted, I. C.; Kalltoft, M. S.; Barrell, B.; Reeves, P. R.; Parkhill, J.; Spratt, B. G., *Genetic Analysis of the Capsular Biosynthetic Locus from All 90 Pneumococcal Serotypes*, *PLoS Genet.* **2006**, 2 (3), e31.

97. Calix, J. J.; Saad, J. S.; Brady, A. M.; Nahm, M. H., *Structural Characterization of Streptococcus pneumoniae Serotype 9A Capsule Polysaccharide Reveals Role of Glycosyl 6-O-Acetyltransferase wjE in Serotype 9V Capsule Biosynthesis and Immunogenicity*, *J. Biol. Chem.* **2012**, 287 (17), 13996-14003.
98. Michalik, D.; Vliegenthart, J. F. G.; Kamerling, J. P., *Chemoenzymic synthesis of oligosaccharide fragments of the capsular polysaccharide of Streptococcus pneumoniae type 14*, *J. Chem. Soc., Perk. T. I* **2002**, (17), 1973-1981.
99. Butler, J. C.; Shapiro, E. D.; Carlone, G. M., *Pneumococcal vaccines: history, current status, and future directions*, *Am. J. Med.* **1999**, 107 (1, Supplement 1), 69-76.
100. Bogaert, D.; Hermans, P. W. M.; Adrian, P. V.; Rümke, H. C.; de Groot, R., *Pneumococcal vaccines: an update on current strategies*, *Vaccine* **2004**, 22 (17-18), 2209-2220.
101. Butler, J. C.; Dowell, S. F.; Breiman, R. F., *Epidemiology of emerging pneumococcal drug resistance: implications for treatment and prevention*, *Vaccine* **1998**, 16 (18), 1693-1697.
102. Amvam-Zollo, P.-H.; Sinaÿ, P., *Streptococcus pneumoniae type XIV polysaccharide: synthesis of a repeating branched tetrasaccharide with dioxa-type spacer-arms*, *Carbohydr. Res.* **1986**, 150 (1), 199-212.
103. Koeman, A. W.; Meissner, J. W. G.; van Ritter, H. R. P.; Kamerling, J. P.; Vliegenthart, J. F. G., *Synthesis of Structural Elements of the Capsular Polysaccharide of Streptococcus Pneumoniae Type 14*, *J. Carbohydr. Chem.* **1994**, 13 (1), 1-25.
104. Joosten, J. A. F.; Lazet, B. J.; Kamerling, J. P.; Vliegenthart, J. F. G., *Chemo-enzymatic synthesis of tetra-, penta-, and hexasaccharide fragments of the capsular polysaccharide of Streptococcus pneumoniae type 14*, *Carbohydr. Res.* **2003**, 338 (23), 2629-2651.
105. Joosten, J. A. F.; Kamerling, J. P.; Vliegenthart, J. F. G., *Chemo-enzymatic synthesis of a tetra- and octasaccharide fragment of the capsular polysaccharide of Streptococcus pneumoniae type 14*, *Carbohydr. Res.* **2003**, 338 (23), 2611-2627.
106. Safari, D.; Dekker, H. A. T.; Joosten, J. A. F.; Michalik, D.; de Souza, A. C.; Adamo, R.; Lahmann, M.; Sundgren, A.; Oscarson, S.; Kamerling, J. P.; Snippe, H., *Identification of the Smallest Structure Capable of Evoking Opsonophagocytic Antibodies against Streptococcus pneumoniae Type 14*, *Infect. Immun.* **2008**, 76 (10), 4615-4623.
107. Sundgren, A.; Lahmann, M.; Oscarson, S., *Block Synthesis of Streptococcus pneumoniae Type 14 Capsular Polysaccharide Structures*, *J. Carbohydr. Chem.* **2005**, 24 (4-6), 379-391.
108. Deng, S.; Bai, L.; Reboulet, R.; Matthew, R.; Engler, D. A.; Teyton, L.; Bendelac, A.; Savage, P. B., *A peptide-free, liposome-based oligosaccharide vaccine, adjuvanted with a natural killer T cell antigen, generates robust antibody responses in vivo*, *Chem. Sci.* **2014**, 5 (4), 1437-1441.
109. Schmidt, R. R.; Michel, J., *Facile Synthesis of  $\alpha$ - and  $\beta$ -O-Glycosyl Imidates; Preparation of Glycosides and Disaccharides*, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1980**, 19 (9), 731-732.
110. Zemplén, G.; Kunz, A., *Über die Natriumverbindungen der Glucose und die Verseifung der acylierten Zucker*, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1923**, 56 (7), 1705-1710.
111. Safari, D.; Marradi, M.; Chiodo, F.; Th Dekker, H. A.; Shan, Y.; Adamo, R.; Oscarson, S.; Rijkers, G. T.; Lahmann, M.; Kamerling, J. P.; Penadés, S.; Snippe, H., *Gold nanoparticles as carriers for a synthetic Streptococcus pneumoniae type 14 conjugate vaccine*, *Nanomedicine* **2012**, 7 (5), 651-662.
112. Shapiro, E. D.; Berg, A. T.; Austrian, R.; Schroeder, D.; Parcells, V.; Margolis, A.; Adair, R. K.; Clemens, J. D., *The Protective Efficacy of Polyvalent Pneumococcal Polysaccharide Vaccine*, *New Engl. J. Med.* **1991**, 325 (21), 1453-1460.
113. Melegaro, A.; Edmunds, W. J., *The 23-Valent Pneumococcal Polysaccharide Vaccine. Part I. Efficacy of PPV in the Elderly: A Comparison of Meta-Analyses*, *Eur. J. Epidemiol.* **2004**, 19 (4), 353-363.
114. Cobb, B. A.; Wang, Q.; Tzianabos, A. O.; Kasper, D. L., *Polysaccharide Processing and Presentation by the MHCII Pathway*, *Cell* **117** (5), 677-687.
115. Rappuoli, R.; De Gregorio, E., *A sweet T cell response*, *Nat. Med.* **2011**, 17 (12), 1551-1552.
116. Alexander, J.; Guercio, M.-F. d.; Frame, B.; Maewal, A.; Sette, A.; Nahm, M. H.; Newman, M. J., *Development of experimental carbohydrate-conjugate vaccines composed of Streptococcus pneumoniae capsular polysaccharides and the universal helper T-lymphocyte epitope (PADRE<sup>®</sup>)*, *Vaccine* **2004**, 22 (19), 2362-2367.

117. Pobre, K.; Tashani, M.; Ridda, I.; Rashid, H.; Wong, M.; Booy, R., *Carrier priming or suppression: Understanding carrier priming enhancement of anti-polysaccharide antibody response to conjugate vaccines*, *Vaccine* **2014**, 32 (13), 1423-1430.
118. Tontini, M.; Berti, F.; Romano, M. R.; Proietti, D.; Zambonelli, C.; Bottomley, M. J.; De Gregorio, E.; Del Giudice, G.; Rappuoli, R.; Costantino, P.; Brogioni, G.; Balocchi, C.; Biancucci, M.; Malito, E., *Comparison of CRM<sub>197</sub>, diphtheria toxoid and tetanus toxoid as protein carriers for meningococcal glycoconjugate vaccines*, *Vaccine* **2013**, 31 (42), 4827-4833.
119. Pöllabauer, E. M.; Petermann, R.; Ehrlich, H. J., *The influence of carrier protein on the immunogenicity of simultaneously administered conjugate vaccines in infants*, *Vaccine* **2009**, 27 (11), 1674-1679.
120. Avci, F. Y.; Kasper, D. L., *How Bacterial Carbohydrates Influence the Adaptive Immune System*, *Annu. Rev. Immunol.* **2010**, 28 (1), 107-130.
121. Verez-Bencomo, V.; Fernández-Santana, V.; Hardy, E.; Toledo, M. E.; Rodríguez, M. C.; Heynngnezz, L.; Rodriguez, A.; Baly, A.; Herrera, L.; Izquierdo, M.; Villar, A.; Valdés, Y.; Cosme, K.; Deler, M. L.; Montane, M.; Garcia, E.; Ramos, A.; Aguilar, A.; Medina, E.; Toraño, G.; Sosa, I.; Hernandez, I.; Martínez, R.; Muzachio, A.; Carmenates, A.; Costa, L.; Cardoso, F.; Campa, C.; Diaz, M.; Roy, R., *A Synthetic Conjugate Polysaccharide Vaccine Against Haemophilus influenzae Type b*, *Science* **2004**, 305 (5683), 522-525.
122. Halperin, S. A.; Bettinger, J. A.; Greenwood, B.; Harrison, L. H.; Jelfs, J.; Ladhani, S. N.; McIntyre, P.; Ramsay, M. E.; Sáfadi, M. A. P., *The changing and dynamic epidemiology of meningococcal disease*, *Vaccine* **2012**, 30, Supplement 2, B26-B36.
123. Oosterhuis-Kafeja, F.; Beutels, P.; Van Damme, P., *Immunogenicity, efficacy, safety and effectiveness of pneumococcal conjugate vaccines (1998–2006)*, *Vaccine* **2007**, 25 (12), 2194-2212.
124. Darielys Santana, M.; Dagmar Garcia, R.; Yury Valdes, B.; Vicente Verez, B., *Vaccines against Bacterial Pathogens: A General Overview*, In *Carbohydrate Chemistry: State of the Art and Challenges for Drug Development*, Imperial College Press: 2015; pp 303-319.
125. Peri, F., *Clustered Carbohydrates in Synthetic Vaccines*, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, 42 (11), 4543-4556.
126. Schutze, M. P.; Leclerc, C.; Jolivet, M.; Audibert, F.; Chedid, L., *Carrier-induced epitopic suppression, a major issue for future synthetic vaccines*, *J. Immunol.* **1985**, 135 (4), 2319-22.
127. Reed, S. G.; Bertholet, S.; Coler, R. N.; Friede, M., *New horizons in adjuvants for vaccine development*, *Trends Immunol.* **2009**, 30 (1), 23-32.
128. Aucouturier, J.; Dupuis, L.; Ganne, V., *Adjuvants designed for veterinary and human vaccines*, *Vaccine* **2001**, 19 (17–19), 2666-2672.
129. Petrovsky, N.; Aguilar, J. C., *Vaccine adjuvants: Current state and future trends*, *Immunol. Cell Biol.* **2004**, 82 (5), 488-496.
130. Aguilar, J. C.; Rodríguez, E. G., *Vaccine adjuvants revisited*, *Vaccine* **2007**, 25 (19), 3752-3762.
131. Avci, F. Y.; Li, X.; Tsuji, M.; Kasper, D. L., *A mechanism for glycoconjugate vaccine activation of the adaptive immune system and its implications for vaccine design*, *Nat. Med.* **2011**, 17 (12), 1602-1609.
132. Vliegenthart, J. F. G., *Carbohydrate based vaccines*, *FEBS Lett.* **2006**, 580 (12), 2945-2950.
133. Hecht, M.-L.; Stallforth, P.; Silva, D. V.; Adibekian, A.; Seeberger, P. H., *Recent advances in carbohydrate-based vaccines*, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2009**, 13 (3), 354-359.
134. Astronomo, R. D.; Burton, D. R., *Carbohydrate vaccines: developing sweet solutions to sticky situations?* *Nat. Rev. Drug Discov.* **2010**, 9 (4), 308-324.
135. Dagan, R.; Poolman, J.; Siegrist, C.-A., *Glycoconjugate vaccines and immune interference: A review*, *Vaccine* **2010**, 28 (34), 5513-5523.
136. Slovin, S. F.; Keding, S. J.; Ragupathi, G., *Carbohydrate vaccines as immunotherapy for cancer*, *Immunol. Cell Biol.* **2005**, 83 (4), 418-428.
137. Springer, G. F., *Immunoreactive T and Tn epitopes in cancer diagnosis, prognosis, and immunotherapy*, *J. Mol. Med.* **1997**, 75, 594-602.
138. Taylor-Papadimitriou, J.; Burchell, J.; Miles, D. W.; Dalziel, M., *MUC1 and cancer*, *BBA - Mol. Basis Dis.* **1999**, 1455 (2–3), 301-313.
139. Yin, Z.; Huang, X., *Recent Development in Carbohydrate Based Anticancer Vaccines*, *J. Carbohydr. Chem.* **2012**, 31 (3), 143-186.
140. Ingale, S.; Wolfert, M. A.; Gaekwad, J.; Buskas, T.; Boons, G.-J., *Robust immune responses elicited by a fully synthetic three-component vaccine*, *Nat. Chem. Biol.* **2007**, 3 (10), 663-667.

141. Cai, H.; Sun, Z.-Y.; Huang, Z.-H.; Shi, L.; Zhao, Y.-F.; Kunz, H.; Li, Y.-M., *Fully Synthetic Self-Adjuvanting Thioether-Conjugated Glycopeptide-Lipopeptide Antitumor Vaccines for the Induction of Complement-Dependent Cytotoxicity against Tumor Cells*, *Chem. Eur. J.* **2013**, *19* (6), 1962-1970.
142. Cai, H.; Sun, Z.-Y.; Chen, M.-S.; Zhao, Y.-F.; Kunz, H.; Li, Y.-M., *Synthetic Multivalent Glycopeptide-Lipopeptide Antitumor Vaccines: Impact of the Cluster Effect on the Killing of Tumor Cells*, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53* (6), 1699-1703.
143. Cai, H.; Chen, M.-S.; Sun, Z.-Y.; Zhao, Y.-F.; Kunz, H.; Li, Y.-M., *Self-Adjuvanting Synthetic Antitumor Vaccines from MUC1 Glycopeptides Conjugated to T-Cell Epitopes from Tetanus Toxoid*, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52* (23), 6106-6110.
144. Lee, D. J.; Yang, S.-H.; Williams, G. M.; Brimble, M. A., *Synthesis of Multivalent Neoglyconjugates of MUC1 by the Conjugation of Carbohydrate-Centered, Triazole-Linked Glycoclusters to MUC1 Peptides Using Click Chemistry*, *J. Org. Chem.* **2012**, *77* (17), 7564-7571.
145. Lo-Man, R.; Vichier-Guerre, S.; Perraut, R.; Dériaud, E.; Huteau, V.; BenMohamed, L.; Diop, O. M.; Livingston, P. O.; Bay, S.; Leclerc, C., *A Fully Synthetic Therapeutic Vaccine Candidate Targeting Carcinoma-Associated Tn Carbohydrate Antigen Induces Tumor-Specific Antibodies in Nonhuman Primates*, *Cancer Res.* **2004**, *64* (14), 4987-4994.
146. del Guercio, M.-F.; Alexander, J.; Kubo, R. T.; Arrhenius, T.; Maewal, A.; Appella, E.; Hoffman, S. L.; Jones, T.; Valmori, D.; Sakaguchi, K.; Grey, H. M.; Sette, A., *Potent immunogenic short linear peptide constructs composed of B cell epitopes and Pan DR T Helper Epitopes (PADRE) for antibody responses in vivo*, *Vaccine* **1997**, *15* (4), 441-448.
147. Dumy, P.; Eggleston, I. M.; Cervigni, S.; Sila, U.; Sun, X.; Mutter, M., *A convenient synthesis of cyclic peptides as regioselectively addressable functionalized templates (RAFT)*, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36* (8), 1255-1258.
148. Dumy, P.; Eggleston, I. M.; Esposito, G.; Nicula, S.; Mutter, M., *Solution structure of regioselectively addressable functionalized templates: An NMR and restrained molecular dynamics investigation*, *Biopolymers* **1996**, *39* (3), 297-308.
149. Peluso, S.; Rückle, T.; Lehmann, C.; Mutter, M.; Peggion, C.; Crisma, M., *Crystal Structure of a Synthetic Cyclodecapeptide for Template-Assembled Synthetic Protein Design*, *ChemBioChem* **2001**, *2* (6), 432-437.
150. Nikiforovich, G. V.; Mutter, M.; Lehmann, C., *Molecular modeling and design of regioselectively addressable functionalized templates with rigidified three-dimensional structures*, *Biopolymers* **1999**, *50* (4), 361-372.
151. Galibert, M.; Renaudet, O.; Dumy, P.; Boturyn, D., *Access to Biomolecular Assemblies through One-Pot Triple Orthogonal Chemoselective Ligations*, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50* (8), 1901-1904.
152. Galibert, M.; Dumy, P.; Boturyn, D., *One-Pot Approach to Well-Defined Biomolecular Assemblies by Orthogonal Chemoselective Ligations*, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48* (14), 2576-2579.
153. Galan, M. C.; Dumy, P.; Renaudet, O., *Multivalent glyco(cyclo)peptides*, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42* (11), 4599-4612.
154. Singh, Y.; Dolphin, G. T.; Razkin, J.; Dumy, P., *Synthetic Peptide Templates for Molecular Recognition: Recent Advances and Applications*, *ChemBioChem* **2006**, *7* (9), 1298-1314.
155. Renaudet, O.; Dumy, P., *Synthesis of multitopic neoglycopeptides displaying recognition and detection motifs*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15* (15), 3619-3622.
156. Renaudet, O.; Dumy, P., *Chemoselectively Template-Assembled Glycoconjugates as Mimics for Multivalent Presentation of Carbohydrates*, *Org. Lett.* **2003**, *5* (3), 243-246.
157. Renaudet, O.; BenMohamed, L.; Dasgupta, G.; Bettahi, I.; Dumy, P., *Towards a Self-Adjuvanting Multivalent B and T cell Epitope Containing Synthetic Glycolipopeptide Cancer Vaccine*, *ChemMedChem* **2008**, *3* (5), 737-741.
158. Boturyn, D.; Coll, J.-L.; Garanger, E.; Favrot, M.-C.; Dumy, P., *Template Assembled Cyclopeptides as Multimeric System for Integrin Targeting and Endocytosis*, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126* (18), 5730-5739.
159. Grigalevicius, S.; Chierici, S.; Renaudet, O.; Lo-Man, R.; Dériaud, E.; Leclerc, C.; Dumy, P., *Chemoselective Assembly and Immunological Evaluation of Multiepitopic Glycoconjugates Bearing Clustered Tn Antigen as Synthetic Anticancer Vaccines*, *Bioconjugate Chem.* **2005**, *16* (5), 1149-1159.

160. Renaudet, O.; Dasgupta, G.; Bettahi, I.; Shi, A.; Nesburn, A. B.; Dumy, P.; BenMohamed, L., *Linear and Branched Glyco-Lipopeptide Vaccines Follow Distinct Cross-Presentation Pathways and Generate Different Magnitudes of Antitumor Immunity*, *PLoS ONE* **2010**, 5 (6), e11216.
161. Wang, J.; Li, H.; Zou, G.; Wang, L.-X., *Novel template-assembled oligosaccharide clusters as epitope mimics for HIV-neutralizing antibody 2G12. Design, synthesis, and antibody binding study*, *Org. Biomol. Chem.* **2007**, 5 (10), 1529-1540.
162. Wyatt, R.; Kwong, P. D.; Desjardins, E.; Sweet, R. W.; Robinson, J.; Hendrickson, W. A.; Sodroski, J. G., *The antigenic structure of the HIV gp120 envelope glycoprotein*, *Nature* **1998**, 393 (6686), 705-711.
163. Kwong, P. D.; Wyatt, R.; Robinson, J.; Sweet, R. W.; Sodroski, J.; Hendrickson, W. A., *Structure of an HIV gp120 envelope glycoprotein in complex with the CD4 receptor and a neutralizing human antibody*, *Nature* **1998**, 393 (6686), 648-659.
164. Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B., *Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions*, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40 (11), 2004-2021.
165. Brask, J.; Jensen, K. J., *Carboproteins: A 4- $\alpha$ -helix bundle protein model assembled on a D-galactopyranoside template*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, 11 (5), 697-700.
166. Brask, J.; Jensen, K. J., *Carbopeptides: chemoselective ligation of peptide aldehydes to an aminooxy-functionalized D-galactose template*, *J. Pept. Sci.* **2000**, 6 (6), 290-299.
167. Wang, L.-X.; Ni, J.; Singh, S., *Carbohydrate-centered maleimide cluster as a new type of templates for multivalent peptide assembling: synthesis of multivalent HIV-1 gp41 peptides*, *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, 11 (1), 159-166.
168. Simerska, P.; Lu, H.; Toth, I., *Synthesis of a Streptococcus pyogenes vaccine candidate based on the M protein PL1 epitope*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, 19 (3), 821-824.
169. Simerska, P.; Abdel-Aal, A.-B. M.; Fujita, Y.; Moyle, P. M.; McGeary, R. P.; Batzloff, M. R.; Olive, C.; Good, M. F.; Toth, I., *Development of a Liposaccharide-Based Delivery System and Its Application to the Design of Group A Streptococcal Vaccines*, *J. Med. Chem.* **2008**, 51 (5), 1447-1452.
170. Zhong, W.; Skwarczynski, M.; Simerska, P.; Good, M. F.; Toth, I., *Development of highly pure  $\alpha$ -helical lipoglycopeptides as self-adjuncting vaccines*, *Tetrahedron* **2009**, 65 (17), 3459-3464.
171. Fagan, V.; Toth, I.; Simerska, P., *Convergent synthetic methodology for the construction of self-adjuncting lipopeptide vaccines using a novel carbohydrate scaffold*, *Beilstein J. Org. Chem.* **2014**, 10, 1741-1748.
172. Bundle, D. R.; Rich, J. R.; Jacques, S.; Yu, H. N.; Nitz, M.; Ling, C.-C., *Thiooligosaccharide Conjugate Vaccines Evoke Antibodies Specific for Native Antigens*, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, 44 (47), 7725-7729.
173. Weimar, T.; Kreis, U. C.; Andrews, J. S.; Pinto, B. M., *Conformational analysis of maltoside heteroanalogues using high-quality NOE data and molecular mechanics calculations. Flexibility as a function of the interglycosidic chalcogen atom*, *Carbohydr. Res.* **1999**, 315 (3-4), 222-233.
174. Aguilera, B.; Jiménez-Barbero, J.; Fernández-Mayoralas, A., *Conformational differences between Fuc( $\alpha$ 1-3)GlcNAc and its thioglycoside analogue*, *Carbohydr. Res.* **1998**, 308 (1-2), 19-27.
175. Driguez, H., *Thiooligosaccharides as Tools for Structural Biology*, *ChemBioChem* **2001**, 2 (5), 311-318.
176. Wu, X.; Lipinski, T.; Paszkiewicz, E.; Bundle, D. R., *Synthesis and Immunochemical characterization of S-linked Glycoconjugate Vaccines against Candida albicans*, *Chem. Eur. J.* **2008**, 14 (21), 6474-6482.
177. Reindl, M.; Hoffmann-Roder, A., *Antibody Recognition of Fluorinated Haptens and Antigens*, *Curr. Top. Med. Chem.* **2014**, 14 (7), 840-854.
178. Shah, P.; Westwell, A. D., *The role of fluorine in medicinal chemistry*, *J. Enzym. Inhib. Med. Chem.* **2007**, 22 (5), 527-540.
179. Smart, B. E., *Fluorine substituent effects (on bioactivity)*, *J. Fluorine Chem.* **2001**, 109 (1), 3-11.
180. Wagner, S.; Mersch, C.; Hoffmann-Röder, A., *Fluorinated Glycosyl Amino Acids for Mucin-Like Glycopeptide Antigen Analogues*, *Chem. Eur. J.* **2010**, 16 (24), 7319-7330.
181. Oberbillig, T.; Mersch, C.; Wagner, S.; Hoffmann-Roder, A., *Antibody recognition of fluorinated MUC1 glycopeptide antigens*, *Chem. Commun.* **2012**, 48 (10), 1487-1489.
182. Hoffmann-Roder, A.; Johannes, M., *Synthesis of a MUC1-glycopeptide-BSA conjugate vaccine bearing the 3'-deoxy-3'-fluoro-Thomsen-Friedenreich antigen*, *Chem. Commun.* **2011**, 47 (35), 9903-9905.

183. Johannes, M.; Reindl, M.; Gerlitzki, B.; Schmitt, E.; Hoffmann-Röder, A., *Synthesis and biological evaluation of a novel MUC1 glycopeptide conjugate vaccine candidate comprising a 4'-deoxy-4'-fluoro-Thomsen-Friedenreich epitope*, *Beilstein J. Org. Chem.* **2015**, *11*, 155-161.
184. Hoffmann-Röder, A.; Kaiser, A.; Wagner, S.; Gaidzik, N.; Kowalczyk, D.; Westerlind, U.; Gerlitzki, B.; Schmitt, E.; Kunz, H., *Synthetic Antitumor Vaccines from Tetanus Toxoid Conjugates of MUC1 Glycopeptides with the Thomsen-Friedenreich Antigen and a Fluorine-Substituted Analogue*, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49* (45), 8498-8503.
185. Johannes, M.; Oberbillig, T.; Hoffmann-Röder, A., *Synthesis of fluorinated Thomsen-Friedenreich antigens: direct deoxyfluorination of alpha-GalNAc-threonine tert-butyl esters*, *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9* (15), 5541-5546.
186. Yang, F.; Zheng, X.-J.; Huo, C.-X.; Wang, Y.; Zhang, Y.; Ye, X.-S., *Enhancement of the Immunogenicity of Synthetic Carbohydrate Vaccines by Chemical Modifications of STn Antigen*, *ACS Chem. Biol.* **2010**, *6* (3), 252-259.
187. van Seeventer, P. B.; van Dorst, J. A. L. M.; Siemerink, J. F.; Kamerling, J. P.; Vliegthart, J. F. G., *Thiol addition to protected allyl glycosides: An improved method for the preparation of spacer-arm glycosides*, *Carbohydr. Res.* **1997**, *300* (4), 369-373.
188. Hoyle, C. E.; Bowman, C. N., *Thiol-Ene Click Chemistry*, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49* (9), 1540-1573.
189. Dondoni, A.; Marra, A., *Recent applications of thiol-ene coupling as a click process for glycoconjugation*, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41* (2), 573-586.
190. Hoyle, C. E.; Lowe, A. B.; Bowman, C. N., *Thiol-click chemistry: a multifaceted toolbox for small molecule and polymer synthesis*, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39* (4), 1355-1387.
191. Buskas, T.; Söderberg, E.; Konradsson, P.; Fraser-Reid, B., *Use of n-Pentenyl Glycosides as Precursors to Various Spacer Functionalities*, *J. Org. Chem.* **2000**, *65* (4), 958-963.
192. Middleton, W. J., *New fluorinating reagents. Dialkylaminosulfur fluorides*, *J. Org. Chem.* **1975**, *40* (5), 574-578.
193. Lal, G. S.; Pez, G. P.; Pesaresi, R. J.; Prozonc, F. M.; Cheng, H., *Bis(2-methoxyethyl)aminosulfur Trifluoride: A New Broad-Spectrum Deoxyfluorinating Agent with Enhanced Thermal Stability*, *J. Org. Chem.* **1999**, *64* (19), 7048-7054.
194. Doboszewski, B.; Hay, G. W.; Szarek, W. A., *The rapid synthesis of deoxyfluoro sugars using tris(dimethylamino)sulfonium difluorotrimethylsilicate (TASF)*, *Can. J. Chem.* **1987**, *65* (2), 412-419.
195. Umemoto, T.; Singh, R. P.; Xu, Y.; Saito, N., *Discovery of 4-tert-Butyl-2,6-dimethylphenylsulfur Trifluoride as a Deoxyfluorinating Agent with High Thermal Stability as Well as Unusual Resistance to Aqueous Hydrolysis, and Its Diverse Fluorination Capabilities Including Deoxyfluoro-Arylsulfonylation with High Stereoselectivity*, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132* (51), 18199-18205.
196. Lian, G.; Zhang, X.; Yu, B., *Thioglycosides in Carbohydrate Research*, *Carbohydr. Res.* **2015**, *403*, 13-22.
197. J. Garegg, P.; Hultberg, H.; Wallin, S., *A novel, reductive ring-opening of carbohydrate benzylidene acetals*, *Carbohydr. Res.* **1982**, *108* (1), 97-101.
198. Fügedi, P.; Birberg, W.; Garegg, P. J.; Pilotti, A., *Syntheses of a branched heptasaccharide having phytoalexin-elicitor activity*, *Carbohydr. Res.* **1987**, *164*, 297-312.
199. DeNinno, M. P.; Etienne, J. B.; Duplantier, K. C., *A method for the selective reduction of carbohydrate 4,6-O-benzylidene acetals*, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36* (5), 669-672.
200. Sakagami, M.; Hamana, H., *A selective ring opening reaction of 4,6-O-benzylidene acetals in carbohydrates using trialkylsilane derivatives*, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41* (29), 5547-5551.
201. Lin, P.-C.; Adak, A. K.; Ueng, S.-H.; Huang, L.-D.; Huang, K.-T.; Ho, J.-a. A.; Lin, C.-C., *DAST-Mediated Regioselective Anomeric Group Migration in Saccharides*, *J. Org. Chem.* **2009**, *74* (11), 4041-4048.
202. Johannes, M., *Dissertation: Synthese fluorierter Glycopeptidkonjugate zur Entwicklung von tumorselektiven Vakzinen*. Johannes Gutenberg-Universität, Mainz, 2013.
203. Vlasov, V. M., *Fluoride ion as a nucleophile and a leaving group in aromatic nucleophilic substitution reactions*, *J. Fluorine Chem.* **1993**, *61* (3), 193-216.
204. Motawia, M. S.; Marcussen, J.; Möller, B. L., *A General Method Based on the Use of N-Bromosuccinimide for Removal of the Thiophenyl Group at the Anomeric Position to Generate A*

- Reducing Sugar with the Original Protecting Groups Still Present*, *J. Carbohydr. Chem.* **1995**, 14 (9), 1279-1294.
205. Misra, A. K.; Agnihotri, G., *Chloramine-T-mediated chemoselective hydrolysis of thioglycosides into glycosyl hemiacetals under neutral conditions*, *Carbohydr. Res.* **2004**, 339 (4), 885-890.
206. Callam, C. S.; Lowary, T. L., *Total Synthesis of Both Methyl 4a-Carba-d-arabinofuranosides*, *Org. Lett.* **2000**, 2 (2), 167-169.
207. Pornsuriyasak, P.; Demchenko, A. V., *S-Thiazolanyl (STaz) Glycosides as Versatile Building Blocks for Convergent Selective, Chemoselective, and Orthogonal Oligosaccharide Synthesis*, *Chem. Eur. J.* **2006**, 12 (25), 6630-6646.
208. Corey, E. J.; Venkateswarlu, A., *Protection of hydroxyl groups as tert-butyldimethylsilyl derivatives*, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, 94 (17), 6190-6191.
209. Schmidt, R. R.; Behrendt, M.; Toepfer, A., *Nitriles as Solvents in Glycosylation Reactions: Highly Selective  $\beta$ -Glycoside Synthesis*, *Synlett* **1990**, 1990 (11), 694-696.
210. Minch, M. J., *Orientational dependence of vicinal proton-proton NMR coupling constants: The Karplus relationship*, *Concept. Magnetic Res.* **1994**, 6 (1), 41-56.
211. Karplus, M., *Contact Electron-Spin Coupling of Nuclear Magnetic Moments*, *J. Chem. Phys.* **1959**, 30 (1), 11-15.
212. Karplus, M., *Vicinal Proton Coupling in Nuclear Magnetic Resonance*, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, 85 (18), 2870-2871.
213. Gigg, J.; Gigg, R., *The allyl ether as a protecting group in carbohydrate chemistry*, *J. Chem. Soc. C* **1966**, (0), 82-86.
214. Corey, E. J.; Suggs, J. W., *Selective cleavage of allyl ethers under mild conditions by transition metal reagents*, *J. Org. Chem.* **1973**, 38 (18), 3224-3224.
215. Dufour, M.; Gramain, J.-C.; Husson, H.-P.; Sinibaldi, M.-E.; Troin, Y., *Total synthesis of ( $\pm$ ) aspidofractinine*, *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30 (26), 3429-3432.
216. Boullanger, P.; Chatelard, P.; Descotes, G.; Kloosterman, M.; Van Boom, J. H., *Use of the Allyloxycarbonyl Protective Group in Carbohydrate Chemistry*, *J. Carbohydr. Chem.* **1986**, 5 (4), 541-559.
217. Smith, A. B.; Rivero, R. A.; Hale, K. J.; Vaccaro, H. A., *Phyllanthoside-phyllanthostatin synthetic studies. Total synthesis of (+)-phyllanthoside. Development of the Mitsunobu glycosyl ester protocol*, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113 (6), 2092-2112.
218. Nakayama, K.; Uoto, K.; Higashi, K.; Soga, T.; Kusama, T., *A Useful Method for Deprotection of the Protective Allyl Group at the Anomeric Oxygen of Carbohydrate Moieties Using Tetrakis(triphenylphosphine)palladium*, *Chem. Pharm. Bull.* **1992**, 40 (7), 1718-1720.
219. Tsuji, J.; Takahashi, H.; Morikawa, M., *Organic syntheses by means of noble metal compounds XVII. Reaction of  $\pi$ -allylpalladium chloride with nucleophiles*, *Tetrahedron Lett.* **1965**, 6 (49), 4387-4388.
220. Trost, B. M.; Fullerton, T. J., *New synthetic reactions. Allylic alkylation*, *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, 95 (1), 292-294.
221. Khan, M. N., *Kinetic Evidence for the Occurrence of a Stepwise Mechanism in the Hydrazinolysis of Phthalimide*, *J. Org. Chem.* **1995**, 60 (14), 4536-4541.
222. Spears, L. G.; Hutchinson, J. S., *Classical dynamics of trans-diimide: Intramolecular vibrational relaxation involving an active torsion*, *Journal Chem. Phys.* **1988**, 88 (1), 240-249.
223. Cusack, N. J.; Reese, C. B.; Risius, A. C.; Roozpeikar, B., *2,4,6-Tri-isopropylbenzenesulphonyl hydrazide: A convenient source of di-imide*, *Tetrahedron* **1976**, 32 (17), 2157-2162.
224. Christl, M.; Brüntrup, G., *Reaktionen am Benzvalen: Reduktion mit Diimin und Ozonolyse*, *Chem. Ber.* **1974**, 107 (12), 3908-3914.
225. Nozaki, H.; Noyori, R., *Preparation of cis-Cyclododecene, Cyclododecyne, and Cyclododecanone*, *J. Org. Chem.* **1965**, 30 (5), 1652-1654.
226. Motawia, M. S.; Wengel, J.; Abdel-Megid, A. E. S.; Pedersen, E. B., *A Convenient Route to 3'-Amino-3'-deoxythymidine*, *Synthesis* **1989**, 1989 (05), 384-387.
227. Durette, P. L.; Meitzner, E. P.; Shen, T. Y., *Bacterial cell wall constituents. II.1 synthesis of O-(N-acetyl- $\beta$ -muramyl-L-alanyl-D-isoglutamine)-(1 $\rightarrow$ 4)-N-acetyl-D-glucosamine*, *Tetrahedron Lett.* **1979**, 20 (42), 4013-4016.

228. Kanie, O.; Crawley, S. C.; Palcic, M. M.; Hindsgaul, O., *Acceptor-substrate recognition by N-acetylglucosaminyltransferase-V: Critical role of the 4''-hydroxyl group in  $\beta$ -D-GlcpNAc-(1  $\rightarrow$  2)- $\alpha$ -D-Manp(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-Glcp-OR*. *Carbohydr. Res.* **1993**, 243 (1), 139-164.
229. Carpino, L. A.; Han, G. Y., *9-Fluorenylmethoxycarbonyl function, a new base-sensitive amino-protecting group*, *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, 92 (19), 5748-5749.
230. Pedersen, S. L.; Tofteng, A. P.; Malik, L.; Jensen, K. J., *Microwave heating in solid-phase peptide synthesis*, *Chem.Soc. Rev.* **2012**, 41 (5), 1826-1844.
231. Fischer, W.; Anselme, J. P., *Reaction of amine anions with p-toluenesulfonyl azide. Novel azide synthesis*, *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, 89 (20), 5284-5285.
232. Cavender, C. J.; Shiner, V. J., *Trifluoromethanesulfonyl azide. Its reaction with alkyl amines to form alkyl azides*, *J. Org. Chem.* **1972**, 37 (22), 3567-3569.
233. Titz, A.; Radic, Z.; Schwaradt, O.; Ernst, B., *A safe and convenient method for the preparation of triflyl azide, and its use in diazo transfer reactions to primary amines*, *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47 (14), 2383-2385.
234. Alper, P. B.; Hung, S.-C.; Wong, C.-H., *Metal catalyzed diazo transfer for the synthesis of azides from amines*, *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37 (34), 6029-6032.
235. Fischer, N.; Goddard-Borger, E. D.; Greiner, R.; Klapötke, T. M.; Skelton, B. W.; Stierstorfer, J., *Sensitivities of Some Imidazole-1-sulfonyl Azide Salts*, *J. Org. Chem.* **2012**, 77 (4), 1760-1764.
236. Goddard-Borger, E. D.; Stick, R. V., *An Efficient, Inexpensive, and Shelf-Stable Diazotransfer Reagent: Imidazole-1-sulfonyl Azide Hydrochloride*, *Org. Lett.* **2007**, 9 (19), 3797-3800.
237. Anselme, J. P.; Fischer, W., *The reaction of anions of primary amines and hydrazones with p-toluenesulfonyl azide*, *Tetrahedron* **1969**, 25 (4), 855-859.
238. Nyffeler, P. T.; Liang, C.-H.; Koeller, K. M.; Wong, C.-H., *The Chemistry of Amine-Azide Interconversion: Catalytic Diazotransfer and Regioselective Azide Reduction*, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124 (36), 10773-10778.
239. Pandiakumar, A. K.; Sarma, S. P.; Samuelson, A. G., *Mechanistic studies on the diazo transfer reaction*, *Tetrahedron Lett.* **2014**, 55 (18), 2917-2920.
240. Hida T1, H. K., Yukishige K, Tanida S, Kawamura N, Harada S., *Synthesis and biological activities of TAN-1511 analogues*, *J. Antibiot.* **1995**, 48 (7), 589-603.
241. Wilkinson, B. L.; Malins, L. R.; Chun, C. K. Y.; Payne, R. J., *Synthesis of MUC1-lipopeptide chimeras*, *Chem. Commun.* **2010**, 46 (34), 6249-6251.
242. Frérot, E.; Coste, J.; Pantaloni, A.; Dufour, M.-N.; Jouin, P., *PyBOP<sup>®</sup> and PyBroP: Two reagents for the difficult coupling of the  $\alpha,\alpha$ -dialkyl amino acid, Aib*, *Tetrahedron* **1991**, 47 (2), 259-270.
243. Coste, J.; Le-Nguyen, D.; Castro, B., *PyBOP<sup>®</sup>: A new peptide coupling reagent devoid of toxic by-product*, *Tetrahedron Lett.* **1990**, 31 (2), 205-208.
244. Andersen, S. M.; Heuckendorff, M.; Jensen, H. H., *3-(Dimethylamino)-1-propylamine: A Cheap and Versatile Reagent for Removal of Byproducts in Carbohydrate Chemistry*, *Org. Lett.* **2015**, 17 (4), 944-947.
245. Rajaram, H.; Palanivelu, M. K.; Arumugam, T. V.; Rao, V. M.; Shaw, P. N.; McGeary, R. P.; Ross, B. P., *'Click' assembly of glycoclusters and discovery of a trehalose analogue that retards A $\beta$ 40 aggregation and inhibits A $\beta$ 40-induced neurotoxicity*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, 24 (18), 4523-4528.
246. Su, Y.; Xie, J.; Wang, Y.; Hu, X.; Lin, X., *Synthesis and antitumor activity of new shikonin glycosides*, *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, 45 (7), 2713-2718.
247. Bruneau, A.; Roche, M.; Hamze, A.; Brion, J.-D.; Alami, M.; Messaoudi, S., *Stereoretentive Palladium-Catalyzed Arylation, Alkenylation, and Alkynylation of 1-Thiosugars and Thiols Using Aminobiphenyl Palladacycle Precatalyst at Room Temperature*, *Chem. Eur. J.* **2015**, 21 (23), 8375-8379.
248. Ellervik, U.; Grundberg, H.; Magnusson, G., *Synthesis of Lactam and Acetamido Analogues of Sialyl Lewis x Tetrasaccharide and Lewis x Trisaccharide*, *J. Org. Chem.* **1998**, 63 (25), 9323-9338.
249. Xia, J.; Xue, J.; Locke, R. D.; Chandrasekaran, E. V.; Srikrishnan, T.; Matta, K. L., *Synthesis of Fluorinated Mucin Core 2 Branched Oligosaccharides with the Potential of Novel Substrates and Enzyme Inhibitors for Glycosyltransferases and Sulfotransferases*, *J. Org. Chem.* **2006**, 71 (10), 3696-3706.

250. Doboszewski, B.; Groaz, E.; Herdewijn, P., *Synthesis of Phosphonoglycine Backbone Units for the Development of Phosphono Peptide Nucleic Acids*, *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, 2013 (22), 4804-4815.
251. Schengrund, C.-L.; Kováč, P., *UDP-6-deoxy-6-fluoro- $\alpha$ -D-galactose binds to two different galactosyltransferases, but neither can effectively catalyze transfer of the modified galactose to the appropriate acceptor*, *Carbohydr. Res.* **1999**, 319 (1-4), 24-28.
252. Stahl, W.; Sprengard, U.; Kretzschmar, G.; Kunz, H., *Synthesis of Deoxy Sialyl Lewis X Analogues, Potential Selectin Antagonists*, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1994**, 33 (20), 2096-2098.
253. Oberbillig, T., *Dissertation: Synthese mehrfach fluoriertes MUC1-Glycopeptide für die Entwicklung tumorspezifischer Vakzine und Untersuchung Mikroreaktor-unterstützter Bausteinsynthesen*, Johannes Gutenberg-Universität, Mainz, 2013.
254. Olsen, C. E.; Möller, B. L.; Motawia, M. S., *Synthesis of the allelochemical alliarinoside present in garlic mustard (*Alliaria petiolata*), an invasive plant species in North America*, *Carbohydr. Res.* **2014**, 394, 13-16.
255. Garneau, S.; Qiao, L.; Chen, L.; Walker, S.; Vederas, J. C., *Synthesis of mono- and disaccharide analogs of moenomycin and lipid II for inhibition of transglycosylase activity of penicillin-binding protein 1b*, *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, 12 (24), 6473-6494.
256. Khan, S. H.; Abbas, S. A.; Matta, K. L., *Synthesis of some oligosaccharides containing the O-(2-acetamido-2-deoxy- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 2)-O- $\alpha$ -D-mannopyranosyl unit. Potential substrates for UDP-GlcNAc:  $\alpha$ -D-mannopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminyl-transferase (GnT-V)*, *Carbohydr. Res.* **1989**, 193, 125-139.
257. Bednarczyk, D.; Walczewska, A.; Grzywacz, D.; Sikorski, A.; Liberek, B.; Myszka, H., *Differently N-protected 3,4,6-tri-O-acetyl-2-amino-2-deoxy-D-glucopyranosyl chlorides and their application in the synthesis of diosgenyl 2-amino-2-deoxy- $\beta$ -D-glucopyranoside*, *Carbohydr. Res.* **2013**, 367, 10-17.
258. Kiso, M.; Anderson, L., *Protected glycosides and disaccharides of 2-amino-2-deoxy-D-glucopyranose by ferric chloride-catalyzed coupling*, *Carbohydrate Research* **1985**, 136, 309-323.
259. Pinto, B. M.; Reimer, K. B.; Morissette, D. G.; Bundle, D. R., *Oligosaccharides corresponding to biological repeating units of *Shigella flexneri* variant Y polysaccharide. 2. Synthesis and two-dimensional NMR analysis of a hexasaccharide hapten*, *J. Org. Chem.* **1989**, 54 (11), 2650-2656.
260. Schmid, U.; Waldmann, H., *Synthesis of Fucosyl Saccharides under Neutral Conditions in Solutions of Lithium Perchlorate in Dichloromethane*, *Chem. Eur. J.* **1998**, 4 (3), 494-501.
261. Achkar, J.; Sanchez-Larraz, I.; Johnson, C. A.; Wei, A., *Synthesis and Conformational Analysis of 6-C-Methyl-Substituted 2-Acetamido-2-deoxy- $\beta$ -D-glucopyranosyl Mono- and Disaccharides*, *J. Org. Chem.* **2005**, 70 (1), 214-226.
262. Ekberg, T.; Magnusson, G., *Synthesis of 3'- and 4'-deoxyfluorolactose and its Me<sub>3</sub>SiCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> and ceramide derivatives*, *Carbohydr. Res.* **1993**, 249 (1), 117-125.
263. Niggemann, J.; Kamerling, J. P.; Vliegenthart, J. F. G.,  *$\beta$ -1,4-Galactosyltransferase-catalyzed Synthesis of the Branched Tetrasaccharide Repeating Unit of *Streptococcus pneumoniae* Type 14*, *Bioorg. Med. Chem.* **1998**, 6 (9), 1605-1612.
264. Lv, F.; Li, Z.-f.; Hu, W.; Wu, X., *Small molecules enhance functional O-mannosylation of Alpha-dystroglycan*, *Bioorg. Med. Chem.* **2015**, 23 (24), 7661-7670.
265. Vilà, S.; Badosa, E.; Montesinos, E.; Feliu, L.; Planas, M., *Solid-Phase Synthesis of Peptide Conjugates Derived from the Antimicrobial Cyclic Dcapeptide BPC194*, *Eur. J. Org. Chem.* **2015**, 2015 (5), 1117-1129.
266. Mulder, G. E.; Kruijtzter, J. A. W.; Liskamp, R. M. J., *A combinatorial approach toward smart libraries of discontinuous epitopes of HIV gp120 on a TAC synthetic scaffold*, *Chem. Commun.* **2012**, 48 (80), 10007-10009.
267. Dauty, E.; Remy, J.-S.; Blessing, T.; Behr, J.-P., *Dimerizable Cationic Detergents with a Low cmc Condense Plasmid DNA into Nanometric Particles and Transfect Cells in Culture*, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123 (38), 9227-9234.

## 7 ANHANG

### 7.1 Spektroskopischer Anhang

Allyl-2,3-di-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-desoxy-6-fluor- $\beta$ -D-glucopyranosid  
(10)

$^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{19}\text{F}$ .....V

Allyl-2,3,6-tri-*O*-acetyl-4-*O*-(2,3,4-tri-*O*-acetyl-6-desoxy-6-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (9)

$^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{19}\text{F}$ .....VII

Allyl-2,3-di-*O*-acetyl-4-*O*-(2,3,4-tri-*O*-acetyl-6-desoxy-6-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-desoxy-6-fluor- $\beta$ -D-glucopyranosid (11)

$^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{19}\text{F}$ .....IX

Allyl-2,3,6-tri-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',6'-tri-*O*-acetyl-4'-desoxy-4'-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid  
(12)

$^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{19}\text{F}$ .....XI

Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (13)

$^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ .....XIII

Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4'-tri-*O*-acetyl-6'-desoxy-6'-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (14)

$^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{19}\text{F}$ .....XIV

Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4'-tri-*O*-acetyl-6'-desoxy-6'-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (15)

$^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{19}\text{F}$ .....XVI

Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-(2'',3'',6''-tri-*O*-acetyl-4''-*O*-{2''',3''',4''',6'''-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl})- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (**52a**)

$^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ .....XVIII

Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-(2'',3'',6''-tri-*O*-acetyl-4''-*O*-{2''',3''',4'''-tri-*O*-acetyl-6'''-desoxy-6'''-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl})- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (**56a**)

$^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{19}\text{F}$ .....XIX

Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-(2,3-di-*O*-acetyl-4-*O*-{2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl})-6-desoxy-6-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (**55a**)

$^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{19}\text{F}$ .....XXI

Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4'-tri-*O*-acetyl-6'-desoxy-6'-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-(2'',3'',6''-tri-*O*-acetyl-4''-*O*-{2''',3''',4''',6'''-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl})- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (**53a**)

$^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{19}\text{F}$ .....XXIII

Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-(2'',3'',6''-tri-*O*-acetyl-4''-*O*-{2''',3''',6'''-tri-*O*-acetyl-4'''-desoxy-4'''-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl})- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (**57a**)

$^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{19}\text{F}$ .....XXV

Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',6'-tri-*O*-acetyl-4'-desoxy-4'-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-(2'',3'',6''-tri-*O*-acetyl-4''-*O*-{2''',3''',4''',6'''-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl})- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (**54a**)

$^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{19}\text{F}$ .....XXVII

Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4'-tri-*O*-acetyl-6'-desoxy-6'-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-(2'',3''-di-*O*-acetyl-4''-*O*-{2''',3''',4'''-tri-*O*-acetyl-6'''-desoxy-6'''-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl})-6''-desoxy-6''-fluor- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (**58a**)

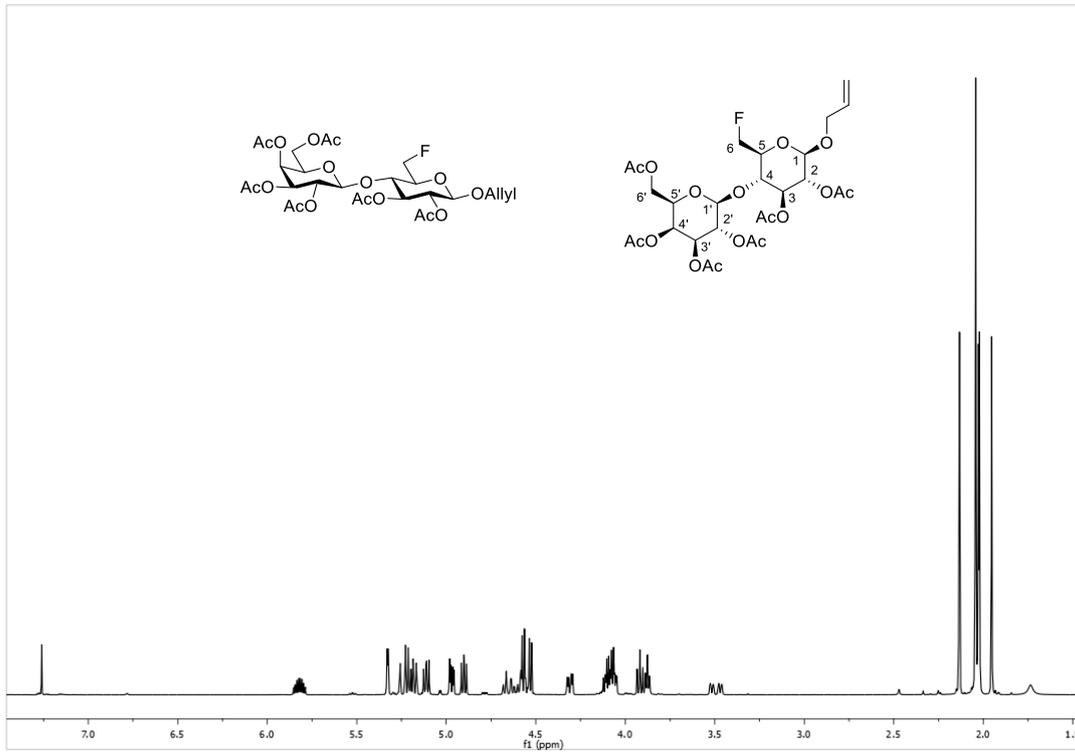
$^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{19}\text{F}$ .....XXIX

Allyl-2-desoxy-2- <i>N</i> -acetamido-4- <i>O</i> -( $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6- <i>O</i> -(4''- <i>O</i> -{ $\beta$ -D-galactopyranosyl})- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid ( <b>8</b> )	
<sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C, COSY, HSQC, HMBC.....	XXXI
Allyl-desoxy-2- <i>N</i> -acetamido-4- <i>O</i> -( $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6- <i>O</i> -(4''- <i>O</i> -{6'''-desoxy-6'''-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl})- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid ( <b>1</b> )	
<sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C, COSY, HSQC, HMBC, <sup>19</sup> F.....	XXXIV
Allyl-2-desoxy-2- <i>N</i> -acetamido-3- <i>O</i> -acetyl-4- <i>O</i> -( $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6- <i>O</i> -(4''- <i>O</i> -{ $\beta$ -D-galactopyranosyl})-6''-desoxy-6''-fluor- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid ( <b>2</b> )	
<sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C, COSY, HSQC, HMBC, <sup>19</sup> F.....	XXXVII
Allyl-2-desoxy-2- <i>N</i> -acetamido-4- <i>O</i> -(6'-desoxy-6'-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6- <i>O</i> -(4''- <i>O</i> -{ $\beta$ -D-galactopyranosyl})- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid ( <b>3</b> )	
<sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C, COSY, HSQC, HMBC.....	XL
Allyl-desoxy-2- <i>N</i> -acetamido-4- <i>O</i> -( $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6- <i>O</i> -(4''- <i>O</i> -{4'''-desoxy-4'''-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl})- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid ( <b>5</b> )	
<sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C, COSY, HSQC, HMBC, <sup>19</sup> F.....	XLIII
Allyl-2-desoxy-2- <i>N</i> -acetamido-4- <i>O</i> -(4'-desoxy-4'-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6- <i>O</i> -(4''- <i>O</i> -{ $\beta$ -D-galactopyranosyl})- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid ( <b>6</b> )	
<sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C, COSY, HSQC, HMBC, <sup>19</sup> F.....	XLVI
Allyl-2-desoxy-2- <i>N</i> -acetamido-4- <i>O</i> -(6'-deoxy-6'-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6- <i>O</i> -(4''- <i>O</i> -{6'''-desoxy-6'''-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl})-6''-desoxy-6''-fluor- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid ( <b>4</b> )	
<sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C, COSY, HSQC, HMBC, <sup>19</sup> F.....	XLIX
<i>N</i> -(9 <i>H</i> -fluorenylmethoxycarbonyl)- $\epsilon$ -azido-L-Norleucin ( <b>59</b> )	
<sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C.....	LII
5-Ethoxycarboxylpentyl-2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -propargyl- $\beta$ -D-galactopyranosid ( <b>60</b> )	
<sup>1</sup> H, <sup>13</sup> C.....	LIII

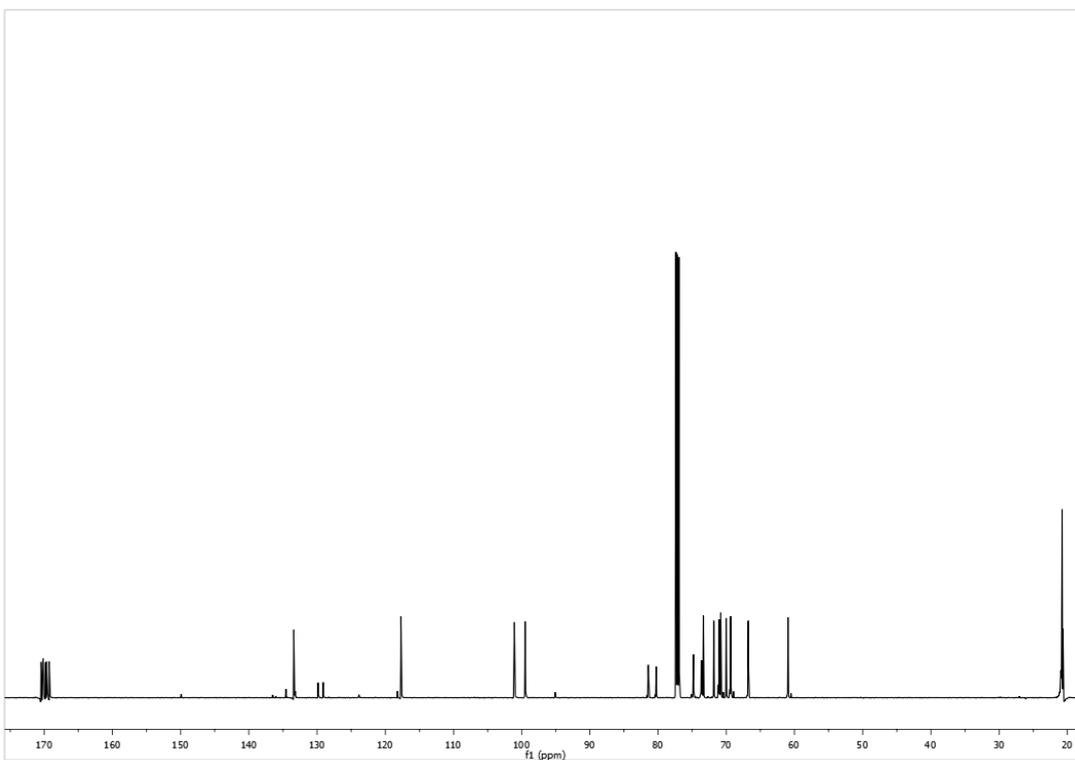
*N*-(9*H*-fluorenylmethoxycarbonyl)-*S*-[2,3-bis(palmitoyloxy)-(2*R*)-propyl]-(*R*)-Cystein (**61**)

<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C.....LIV

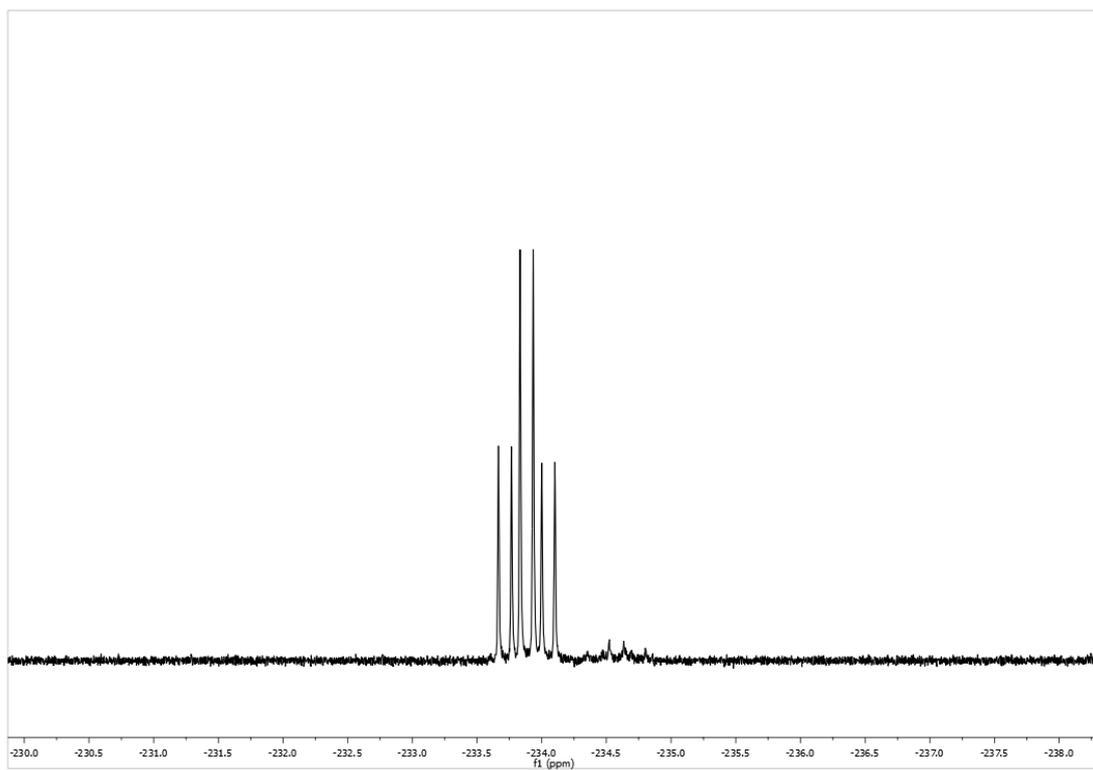
**Allyl-2,3-di-O-acetyl-4-O-(2',3',4',6'-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-deoxy-6-fluor- $\beta$ -D-glucopyranosid (10)**



$^1\text{H-NMR}$  der Verbindung 10 in deuteriertem Chloroform.

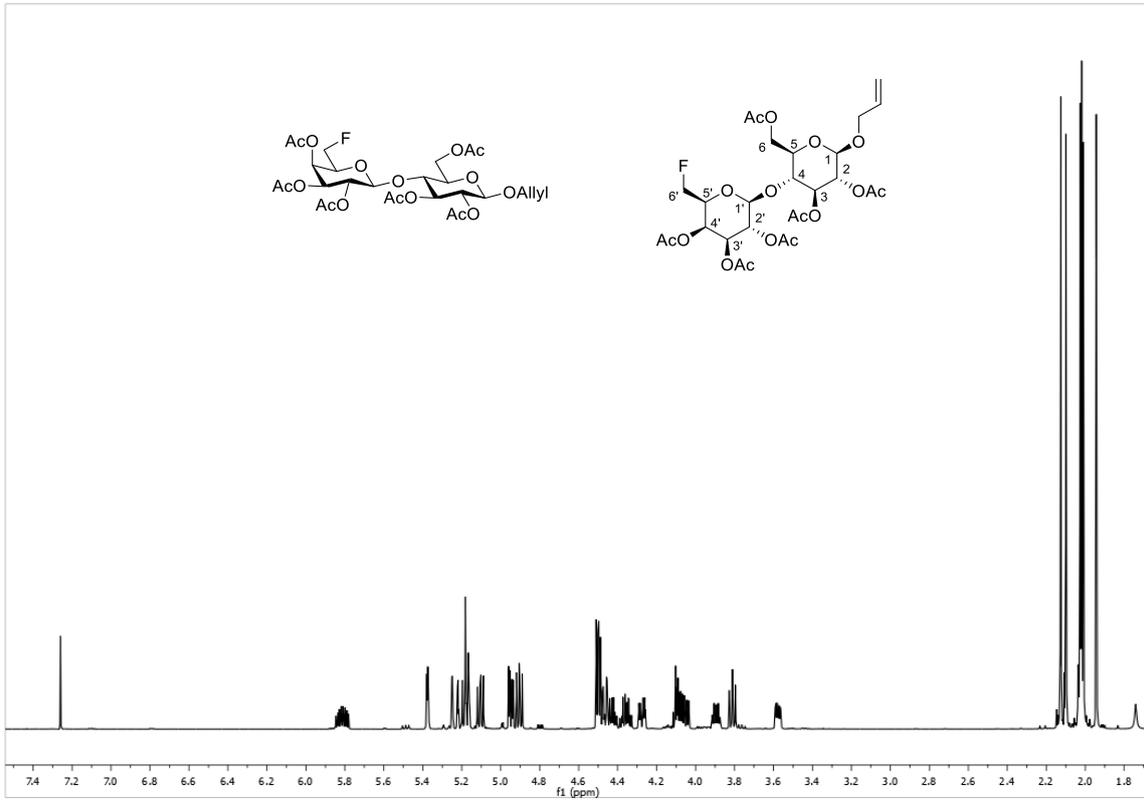


$^{13}\text{C-NMR}$  der Verbindung 10 in deuteriertem Chloroform.

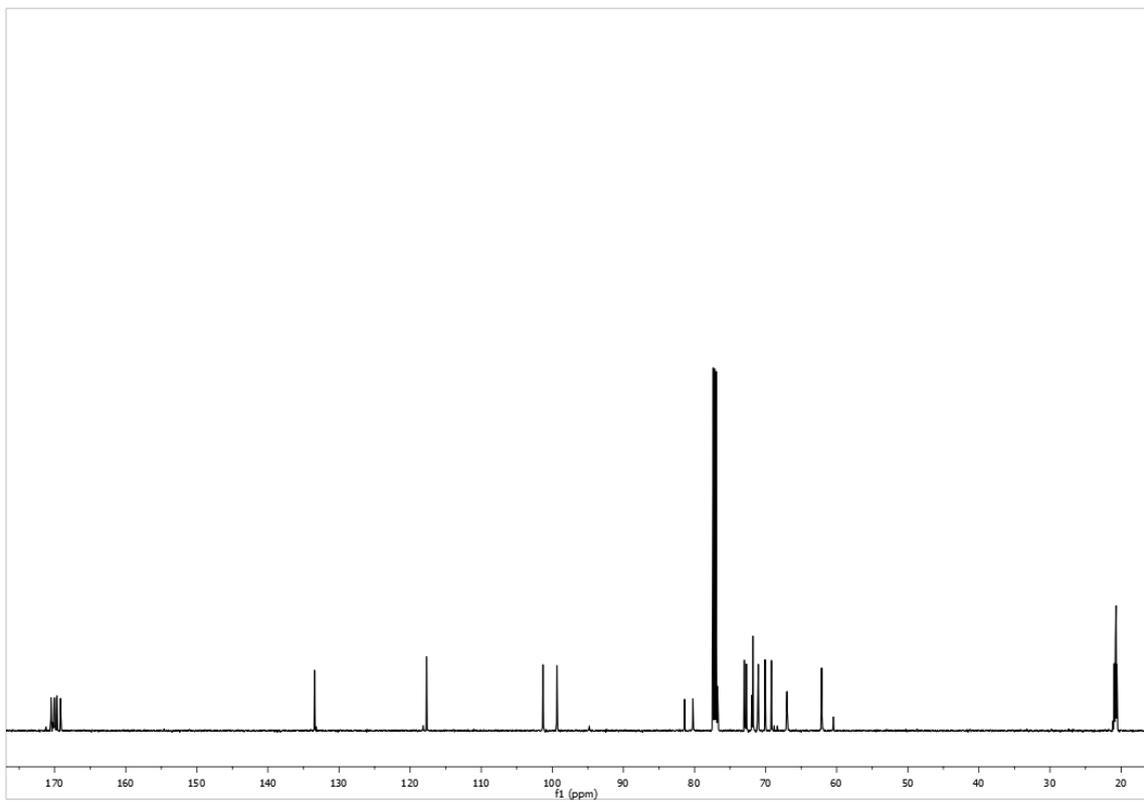


$^{19}\text{F}$ -NMR der Verbindung 10 in deuteriertem Chloroform.

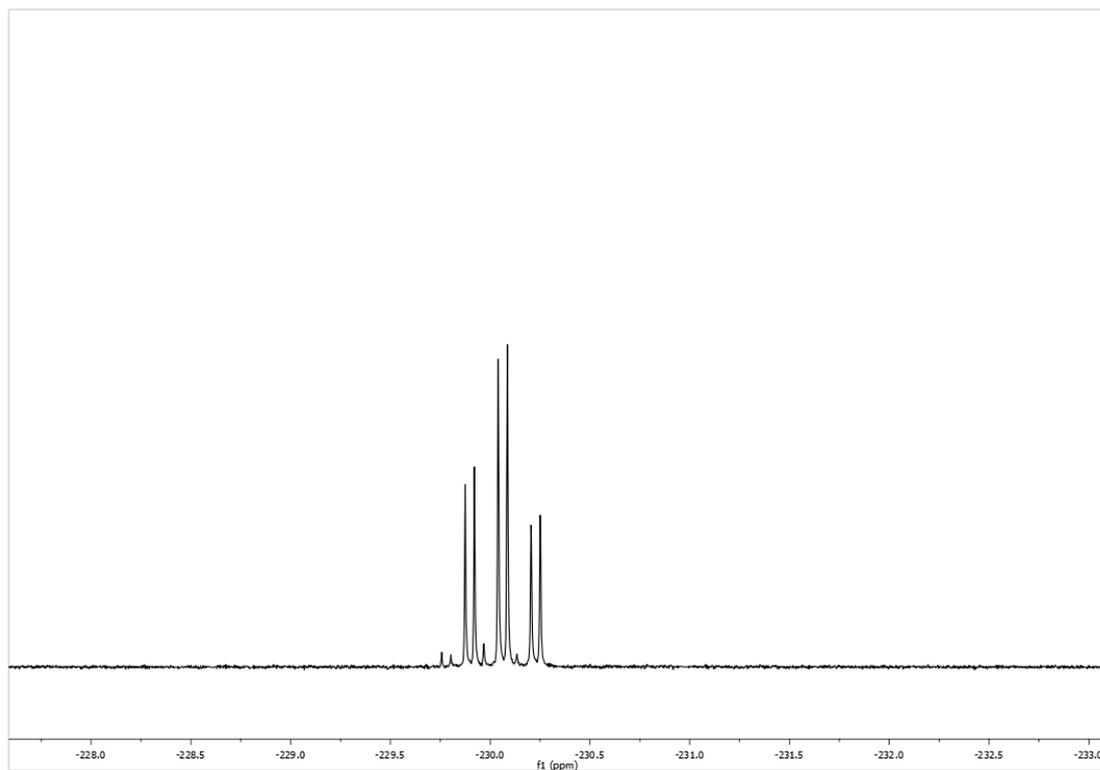
**Allyl-2,3,6-tri-*O*-acetyl-4-*O*-(2,3,4-tri-*O*-acetyl-6-deoxy-6-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (9)**



$^1\text{H-NMR}$  der Verbindung 9 in deuteriertem Chloroform.

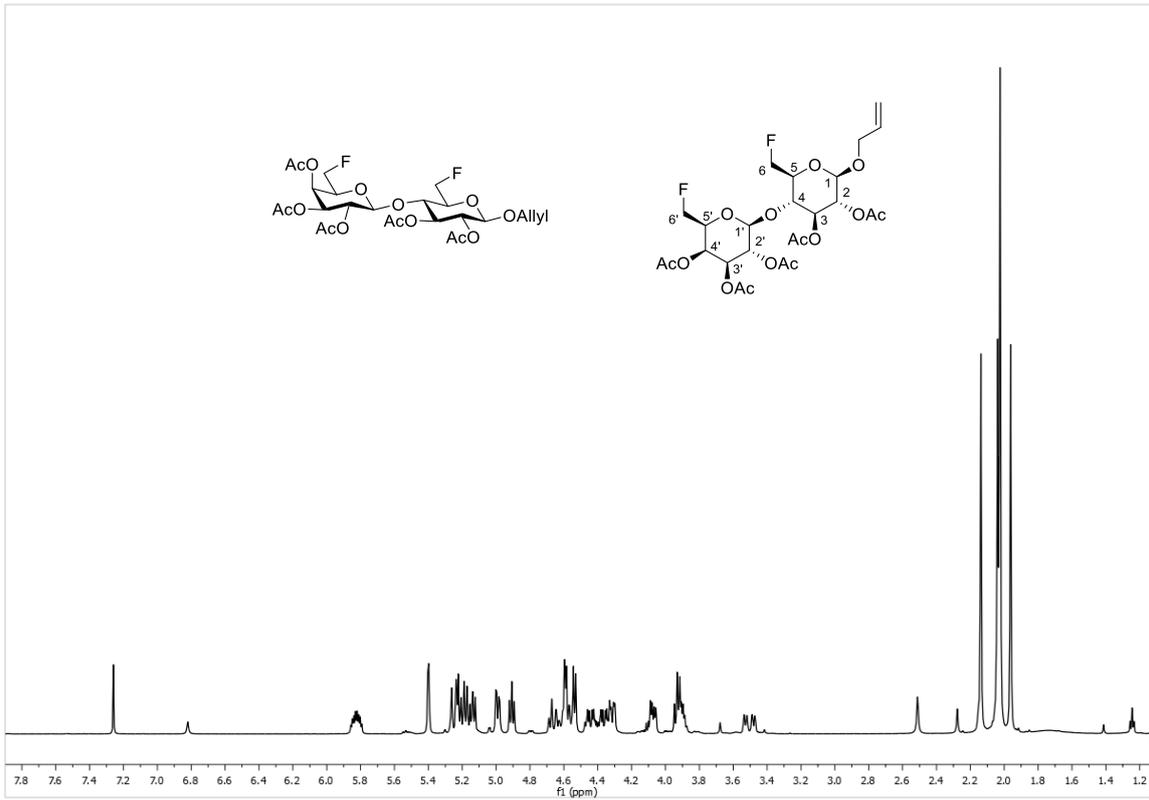


$^{13}\text{C-NMR}$  der Verbindung 9 in deuteriertem Chloroform.

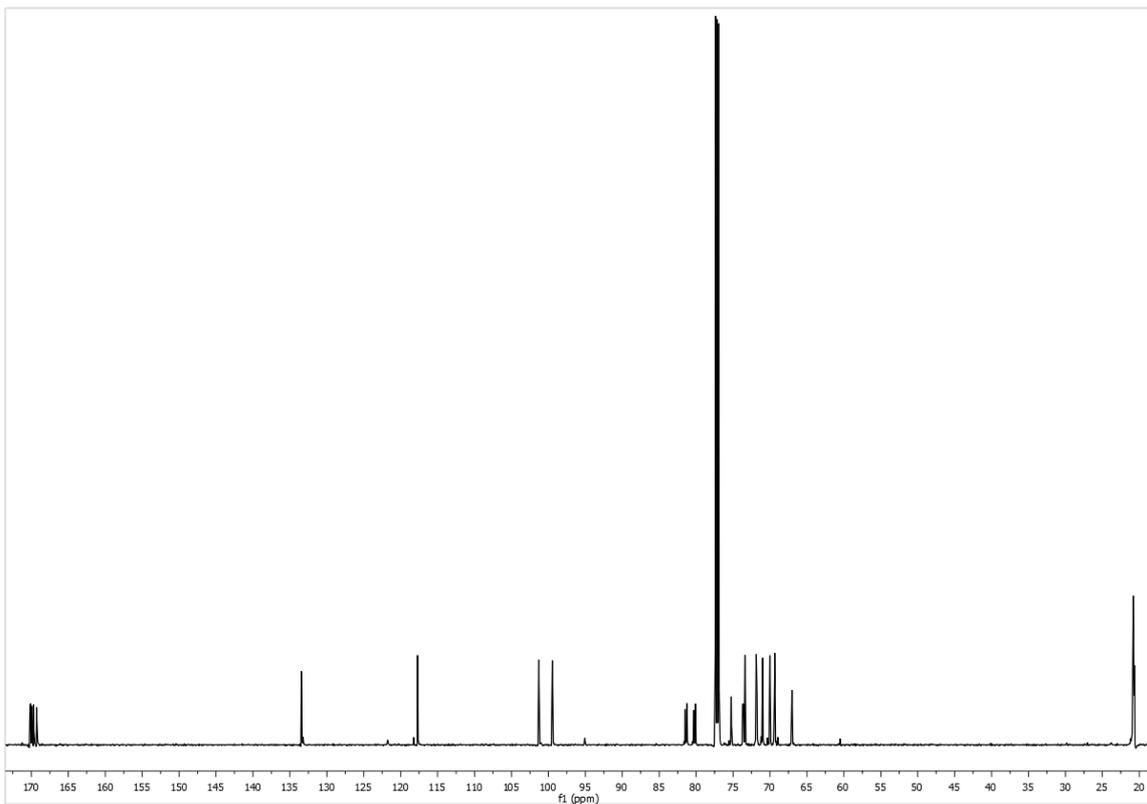


$^{19}\text{F}$ -NMR der Verbindung 9 in deuteriertem Chloroform.

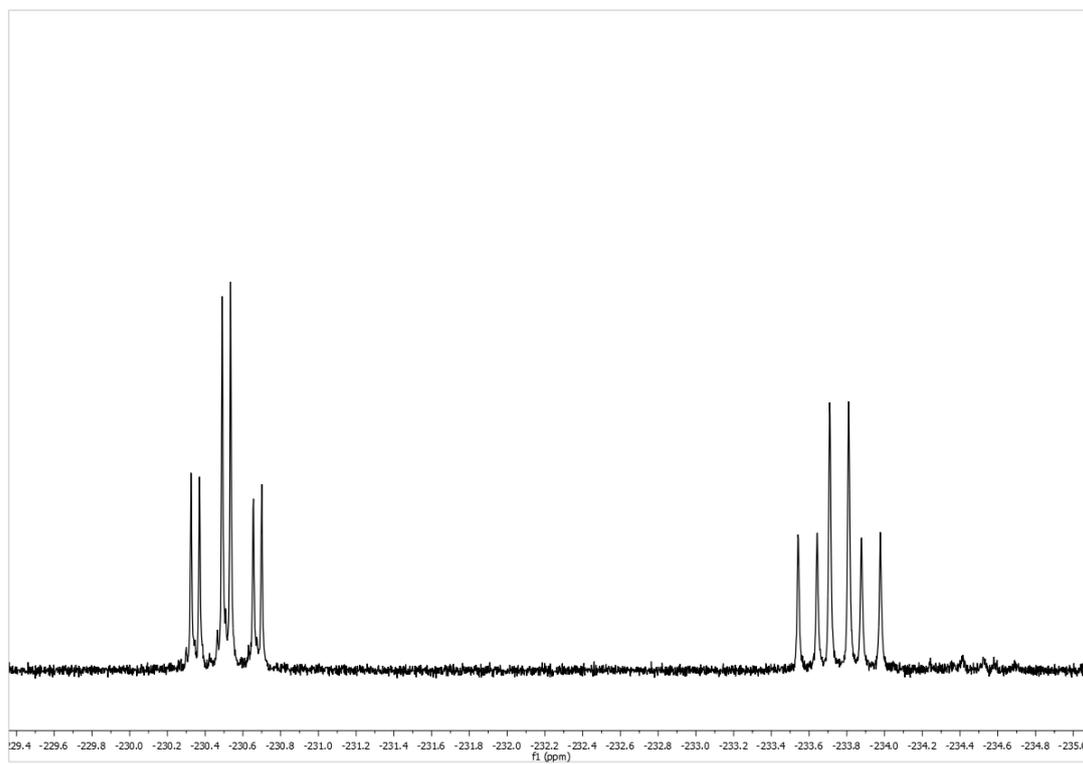
**Allyl-2,3-di-O-acetyl-4-O-(2,3,4-tri-O-acetyl-6-deoxy-6-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-deoxy-6-fluor- $\beta$ -D-glucopyranosid (11)**



$^1\text{H-NMR}$  der Verbindung 11 in deuteriertem Chloroform.

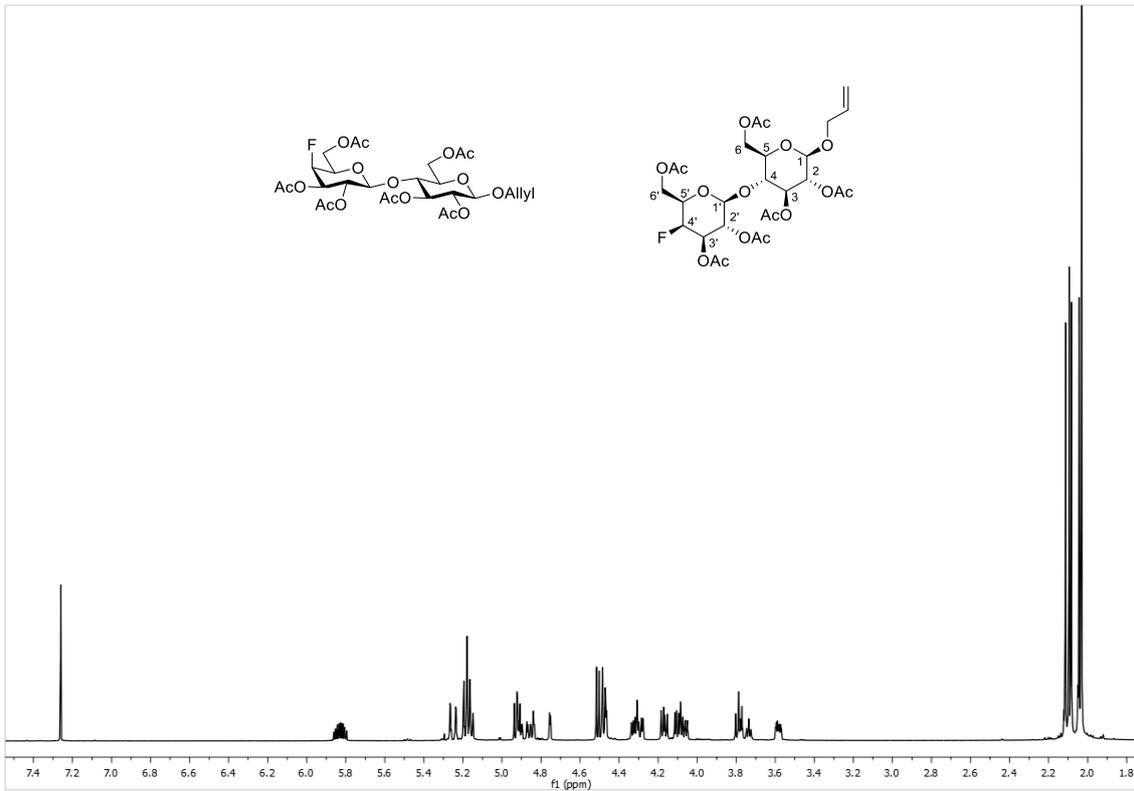


$^{13}\text{C-NMR}$  der Verbindung 11 in deuteriertem Chloroform.

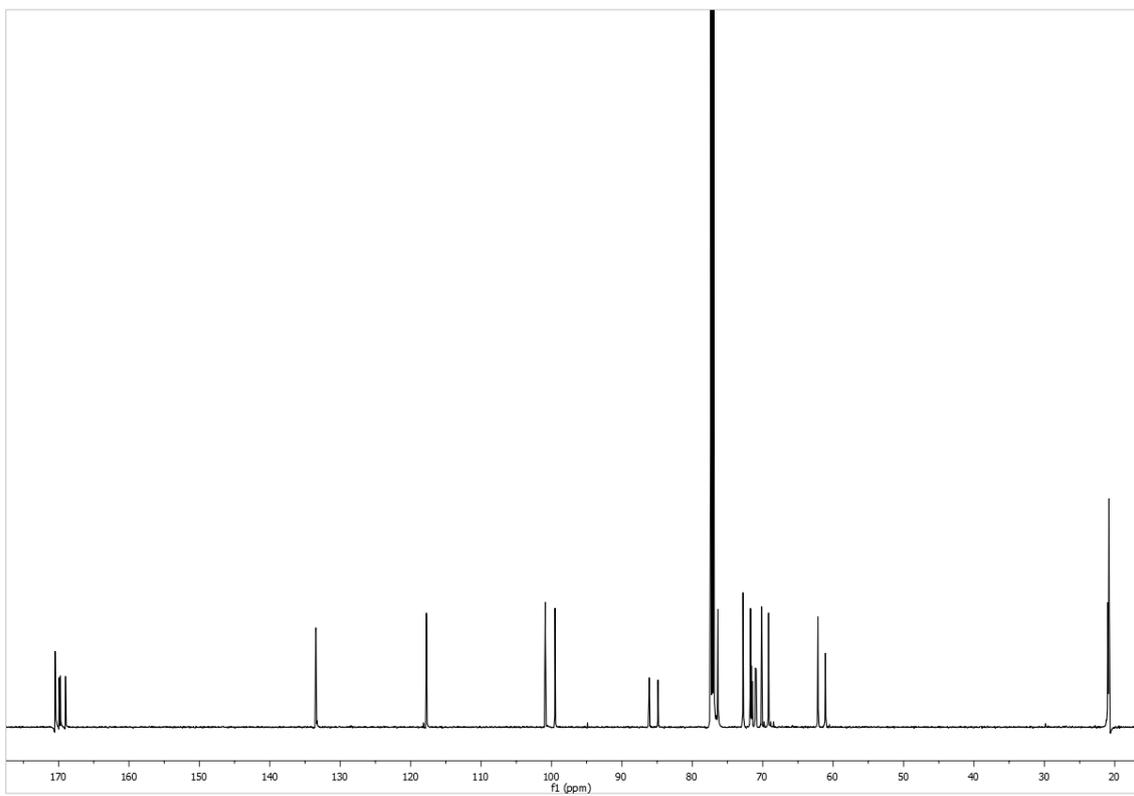


$^{19}\text{F}$ -NMR der Verbindung 11 in deuteriertem Chloroform.

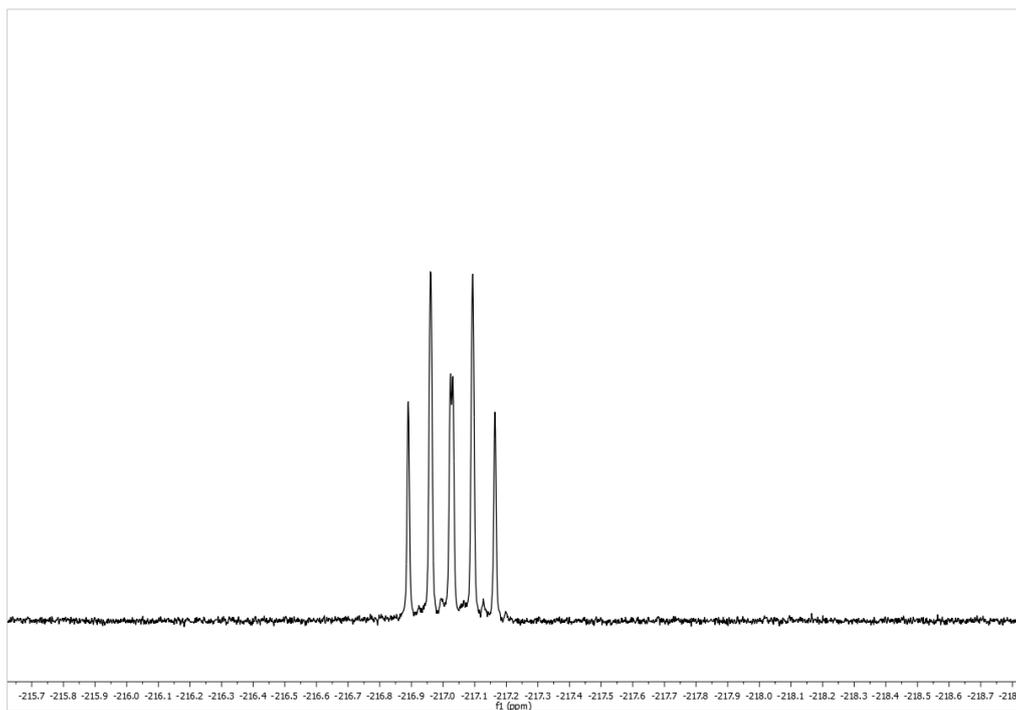
**Allyl-2,3,6-tri-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',6'-tri-*O*-acetyl-4'-desoxy-4'-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (12)**



$^1\text{H-NMR}$  der Verbindung 12 in deuteriertem Chloroform.

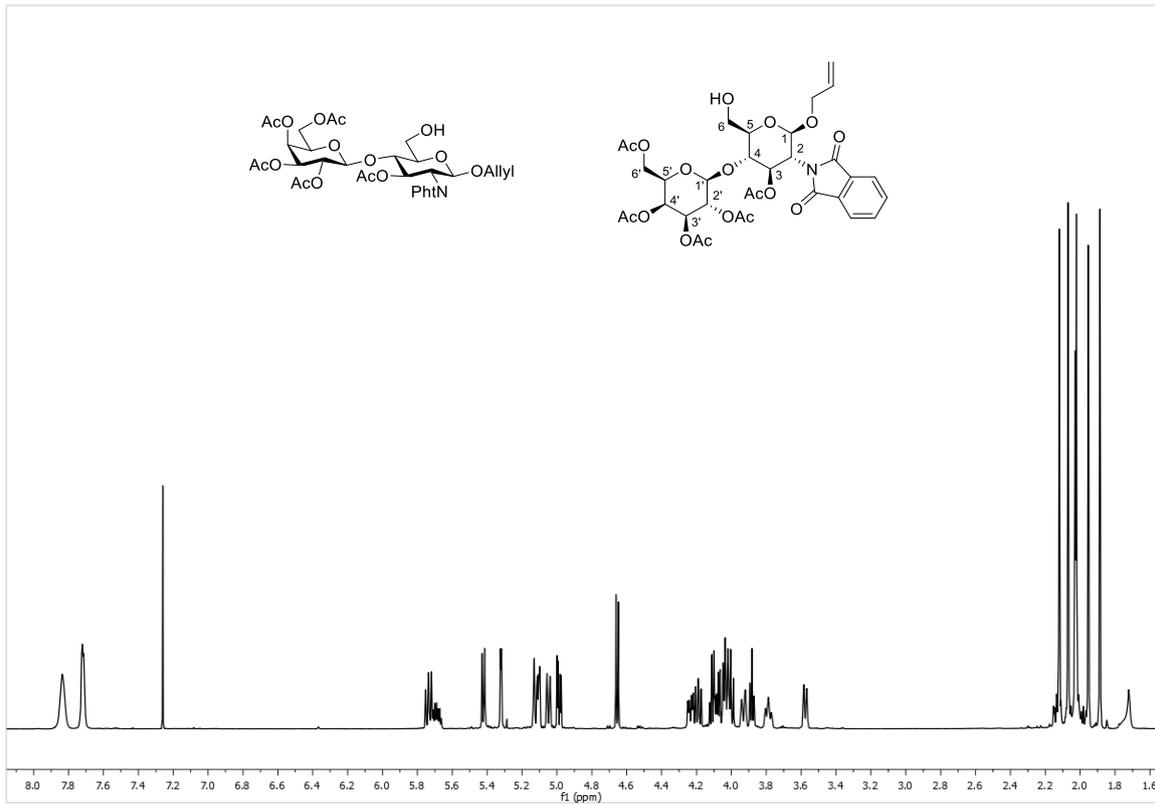


$^{13}\text{C-NMR}$  der Verbindung 12 in deuteriertem Chloroform.

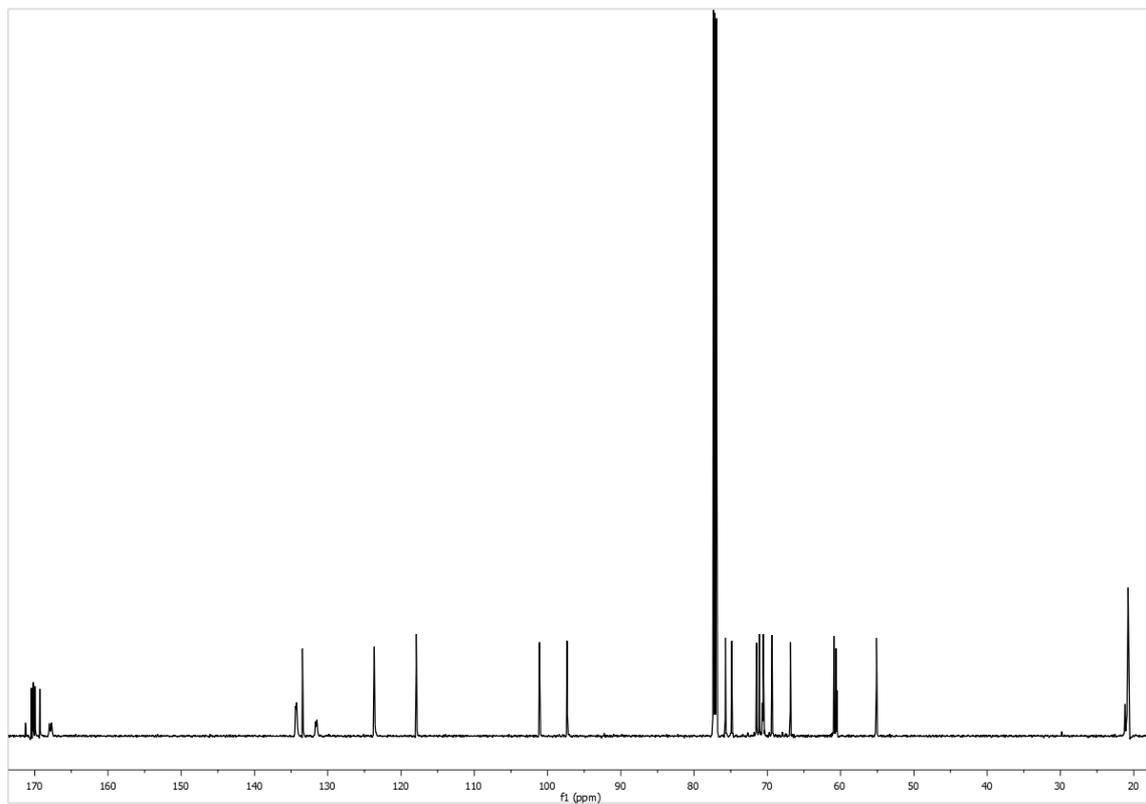


$^{19}\text{F}$ -NMR der Verbindung 9 in deuteriertem Chloroform.

**Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (13)**

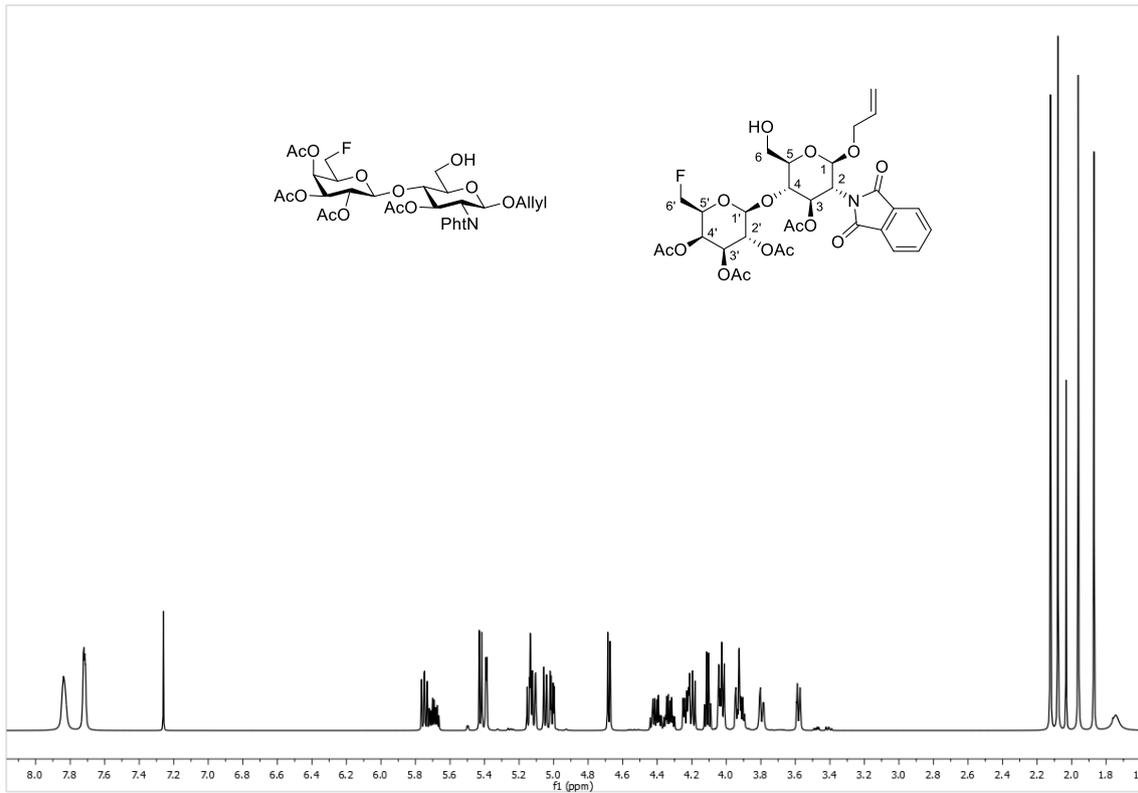


$^1\text{H-NMR}$  der Verbindung 13 in deuteriertem Chloroform.

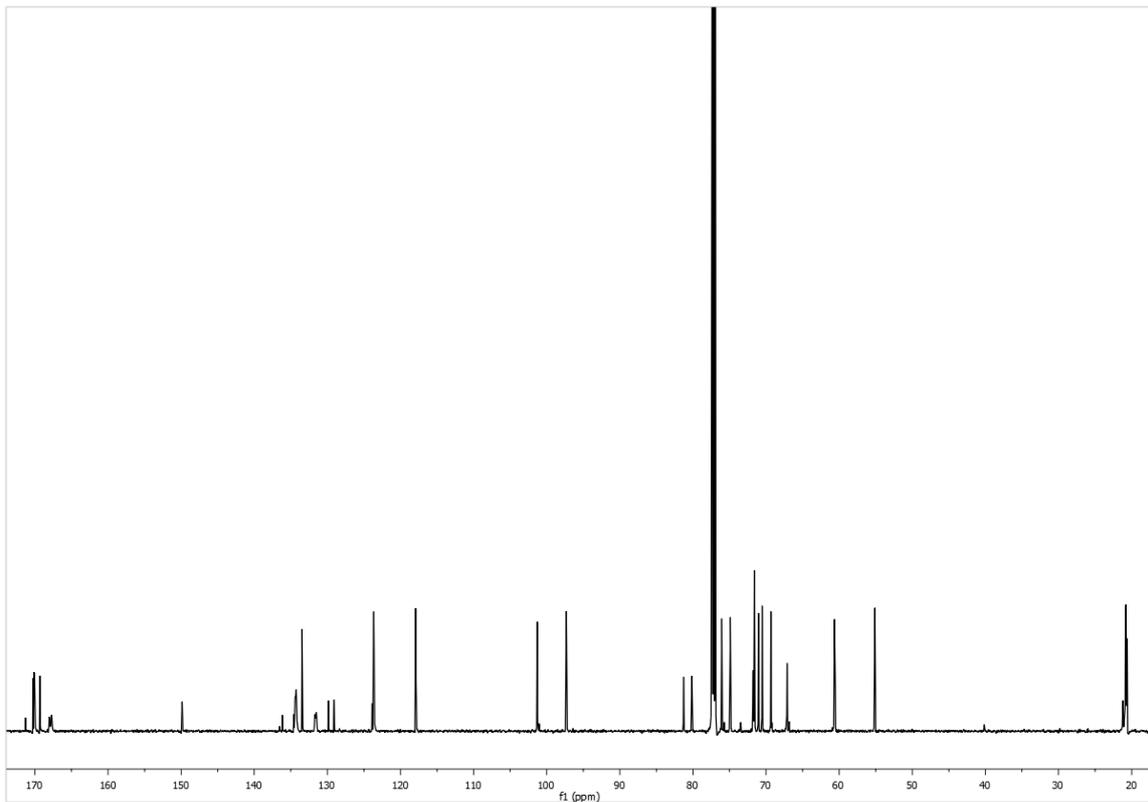


$^{13}\text{C-NMR}$  der Verbindung 13 in deuteriertem Chloroform.

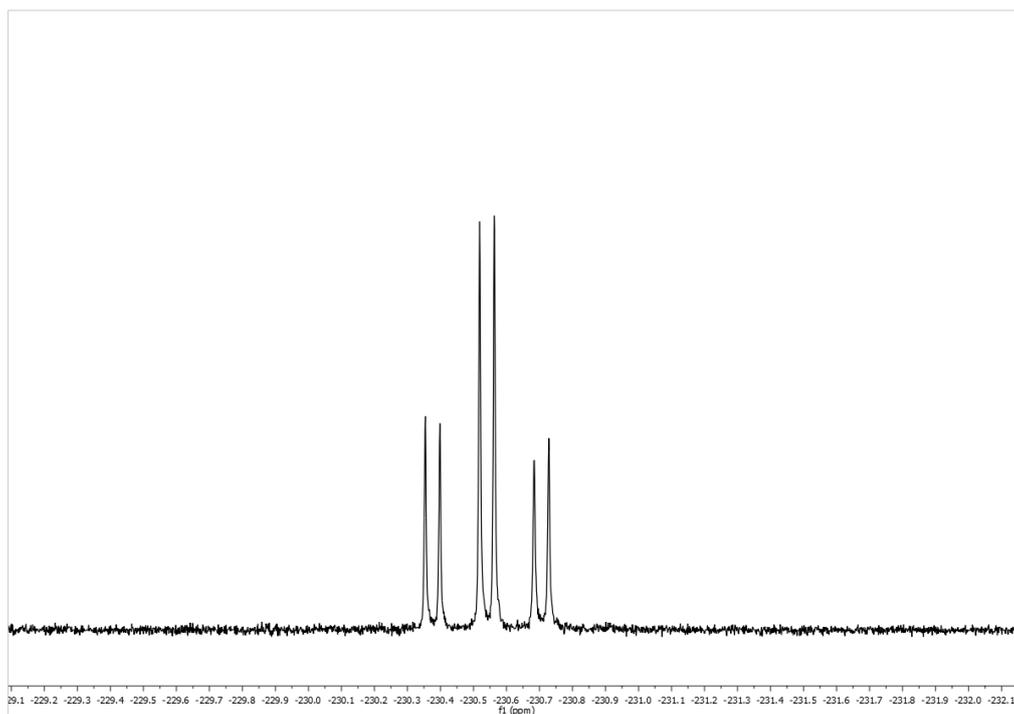
**Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4'-tri-*O*-acetyl-6'-desoxy-6'-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (14)**



$^1\text{H-NMR}$  der Verbindung 14 in deuteriertem Chloroform.

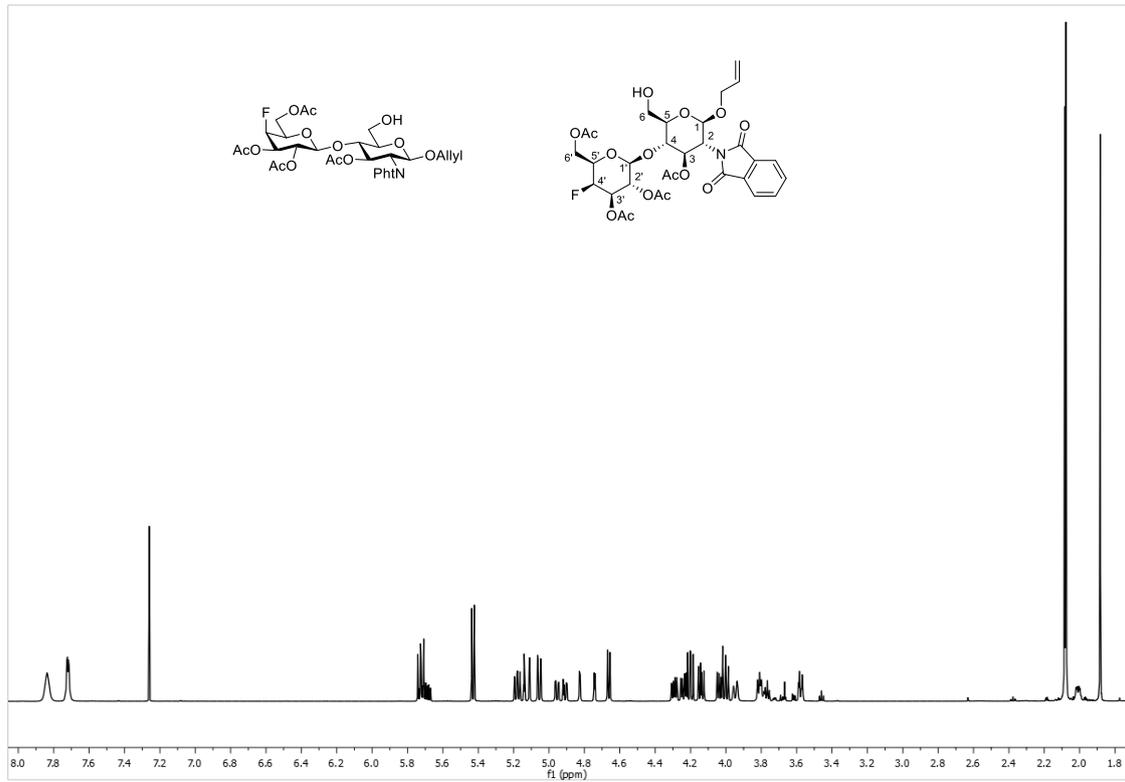


$^{13}\text{C-NMR}$  der Verbindung 14 in deuteriertem Chloroform.

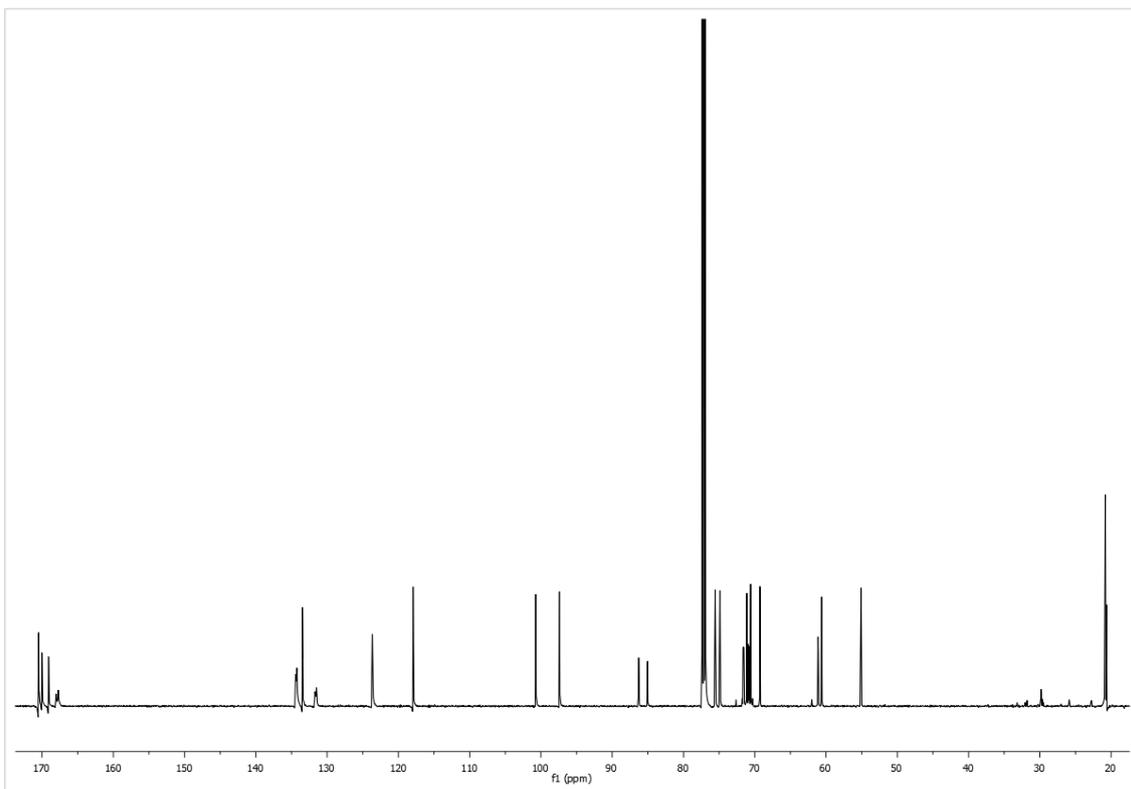


**$^{19}\text{F}$ -NMR der Verbindung 14 in deuteriertem Chloroform.**

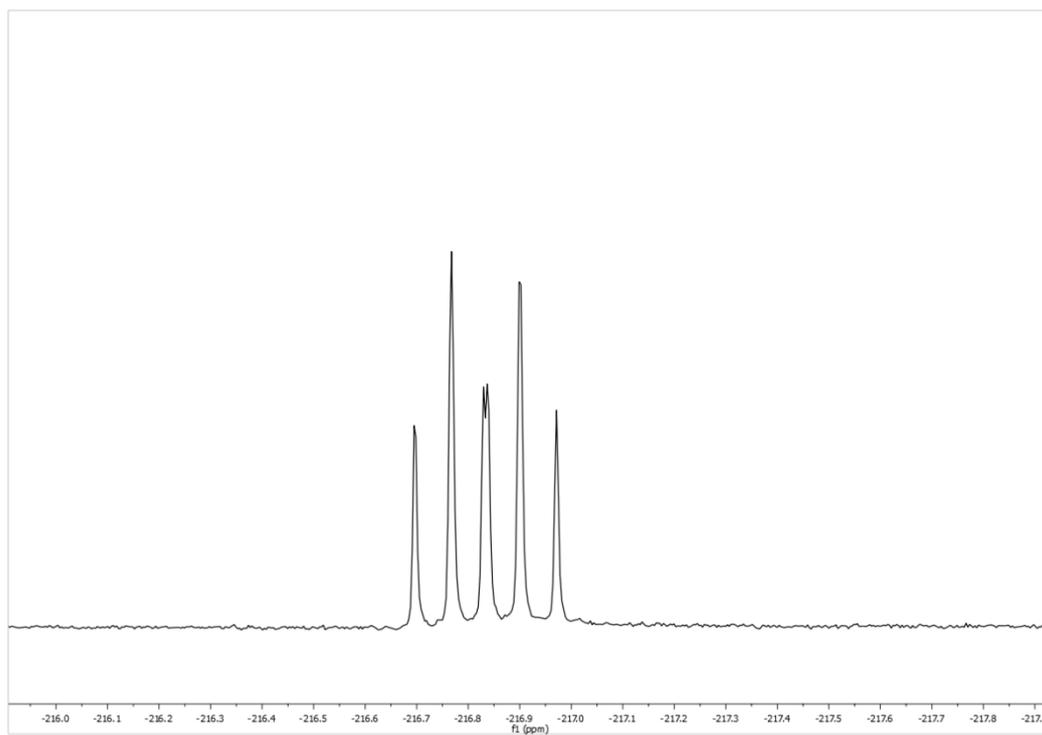
**Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4'-tri-*O*-acetyl-6'-desoxy-6'-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (15)**



$^1\text{H-NMR}$  der Verbindung 15 in deuteriertem Chloroform.

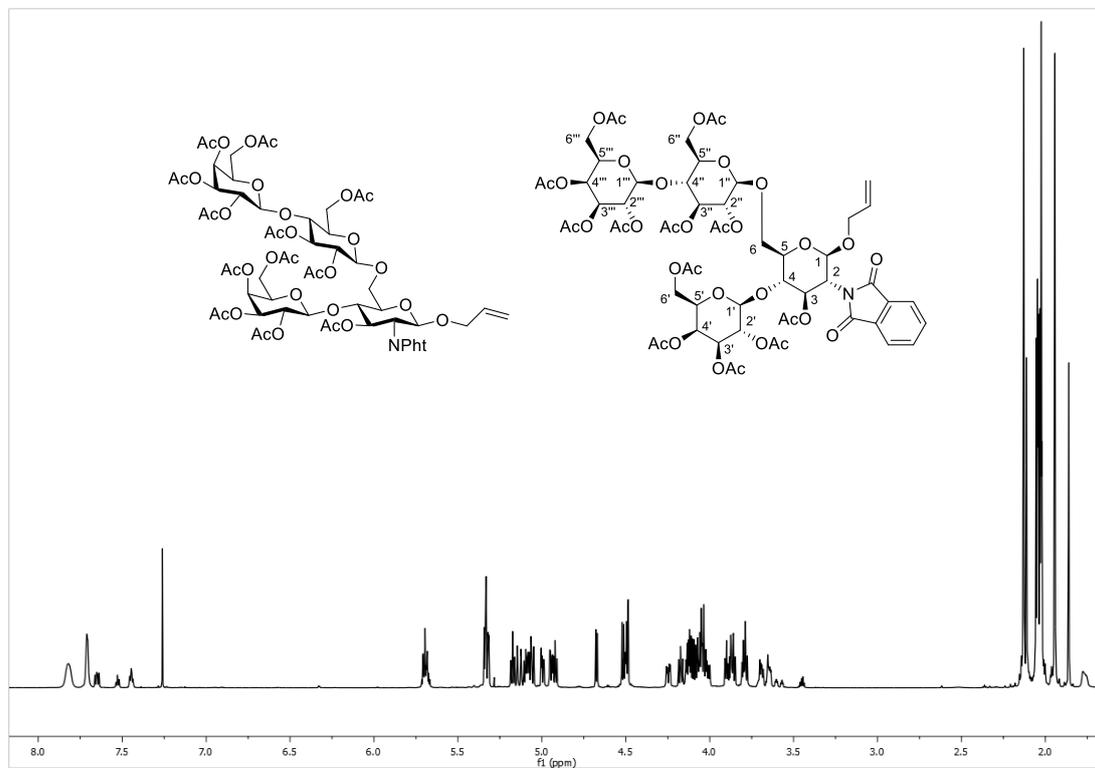


$^{13}\text{C-NMR}$  der Verbindung 15 in deuteriertem Chloroform.

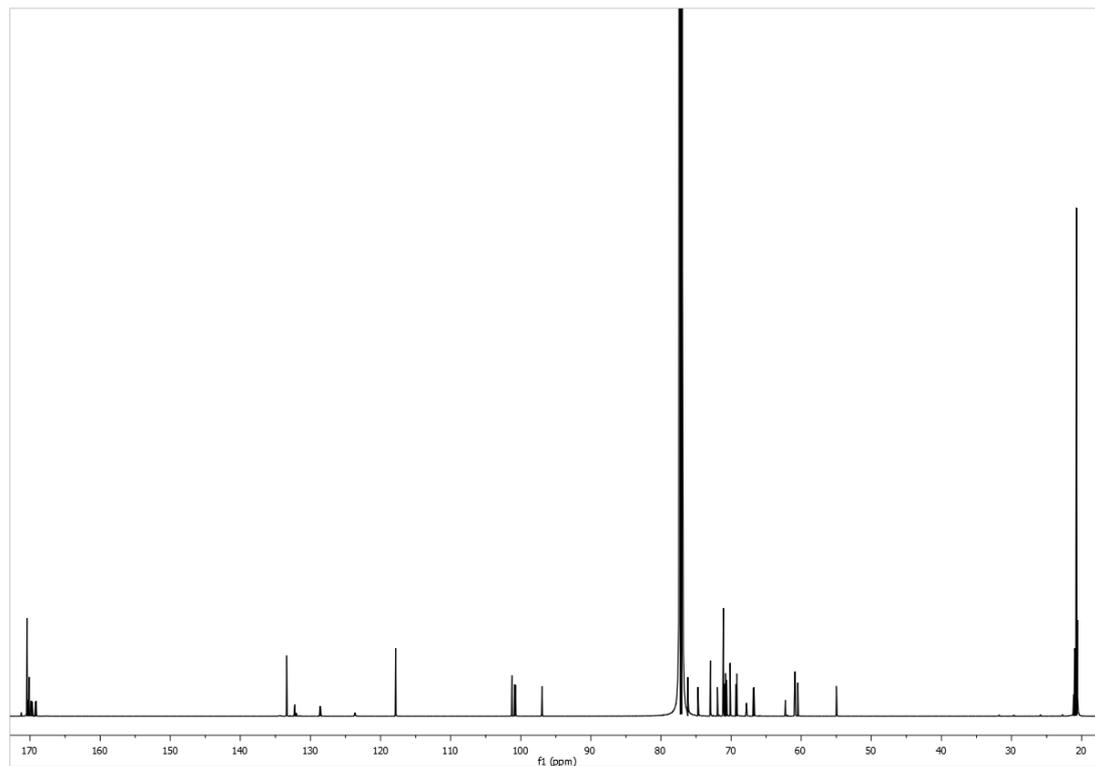


**$^{19}\text{F}$ -NMR der Verbindung 15 in deuteriertem Chloroform.**

**Allyl-2-desoxy-2-N-phthalimido-3-O-acetyl-4-O-(2',3',4',6'-tetra-O-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-6-O-(2'',3'',6''-tri-O-acetyl-4''-O-{2''',3''',4''',6'''-tetra-O-acetyl-β-D-galactopyranosyl}-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosid (52a)**

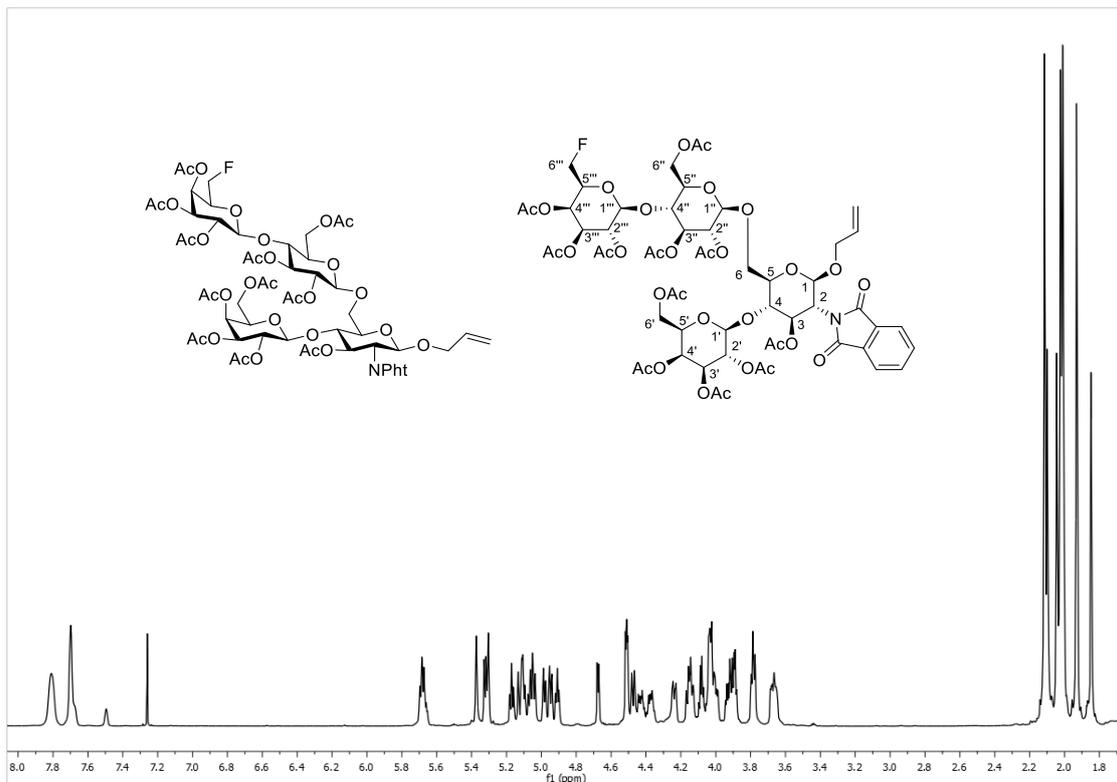


<sup>1</sup>H-NMR der Verbindung 52a in deuteriertem Chloroform.

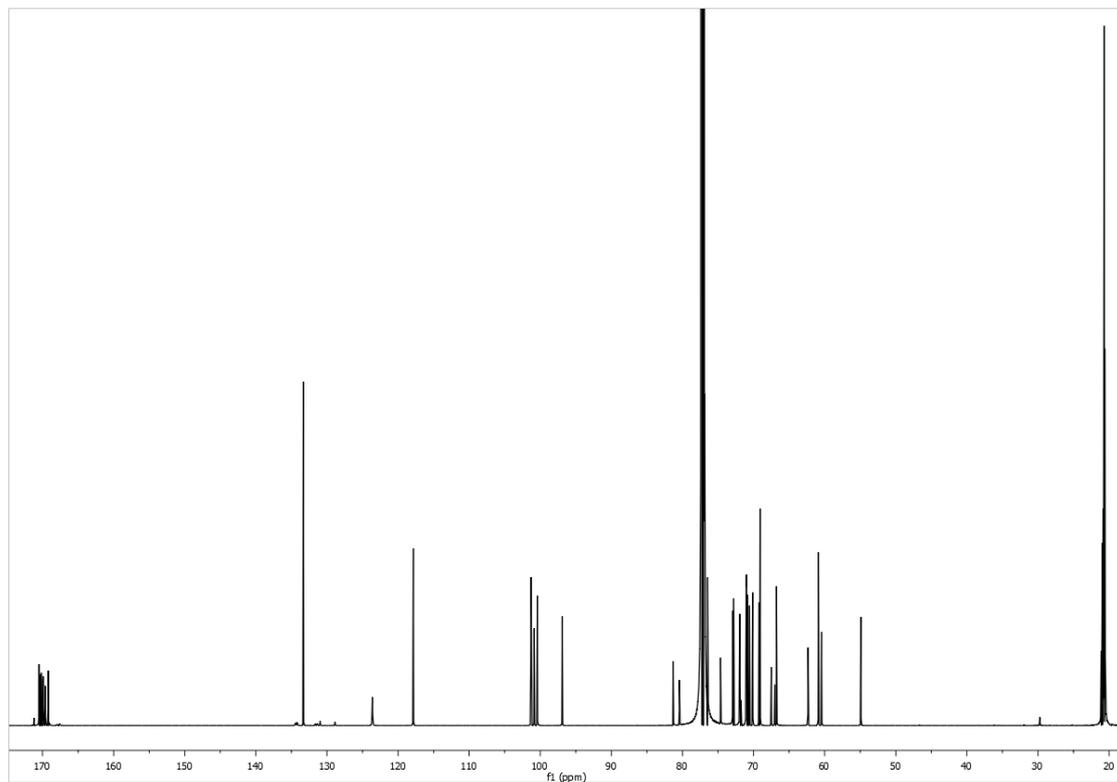


<sup>13</sup>C-NMR der Verbindung 52a in deuteriertem Chloroform.

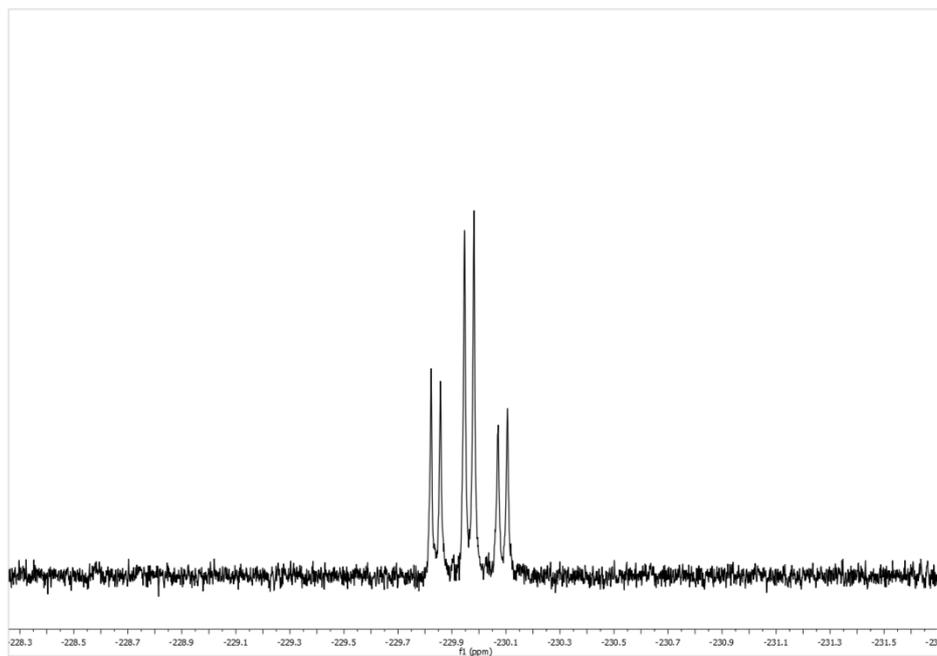
**Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-(2'',3'',6''-tri-*O*-acetyl-4''-*O*-{2''',3''',4'''-tri-*O*-acetyl-6'''-desoxy-6'''-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl}- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (56a)**



$^1\text{H-NMR}$  der Verbindung 56a in deuteriertem Chloroform.

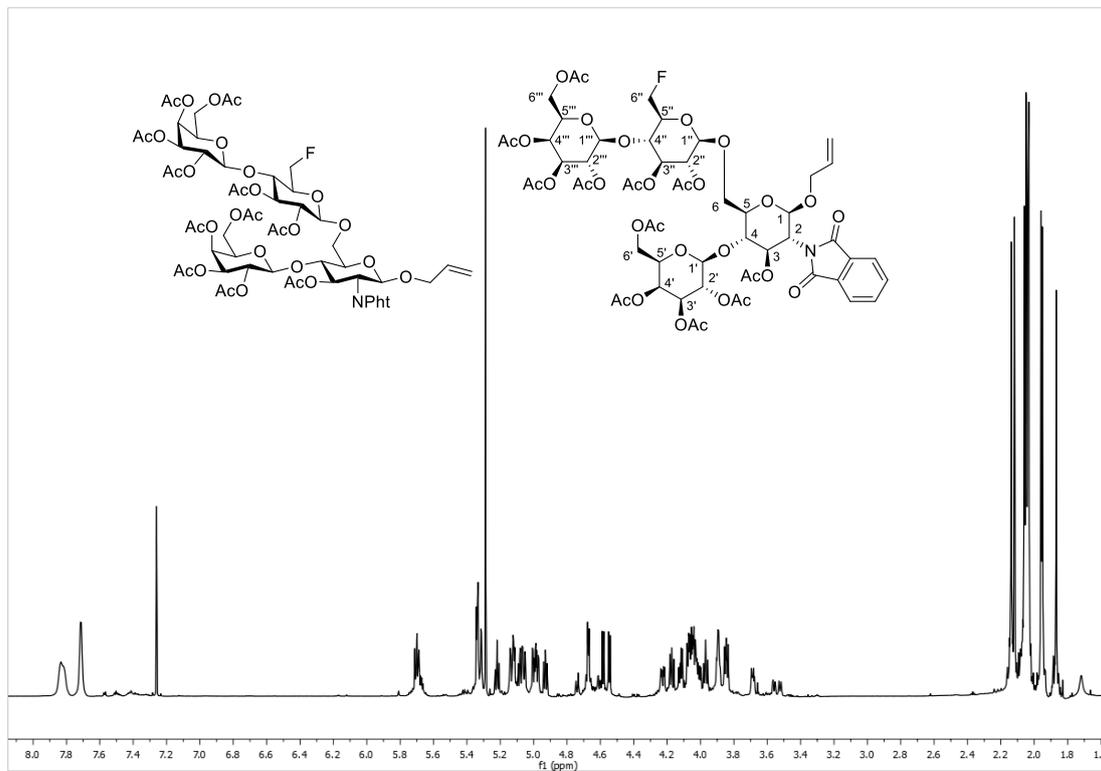


$^{13}\text{C-NMR}$  der Verbindung 56a in deuteriertem Chloroform.

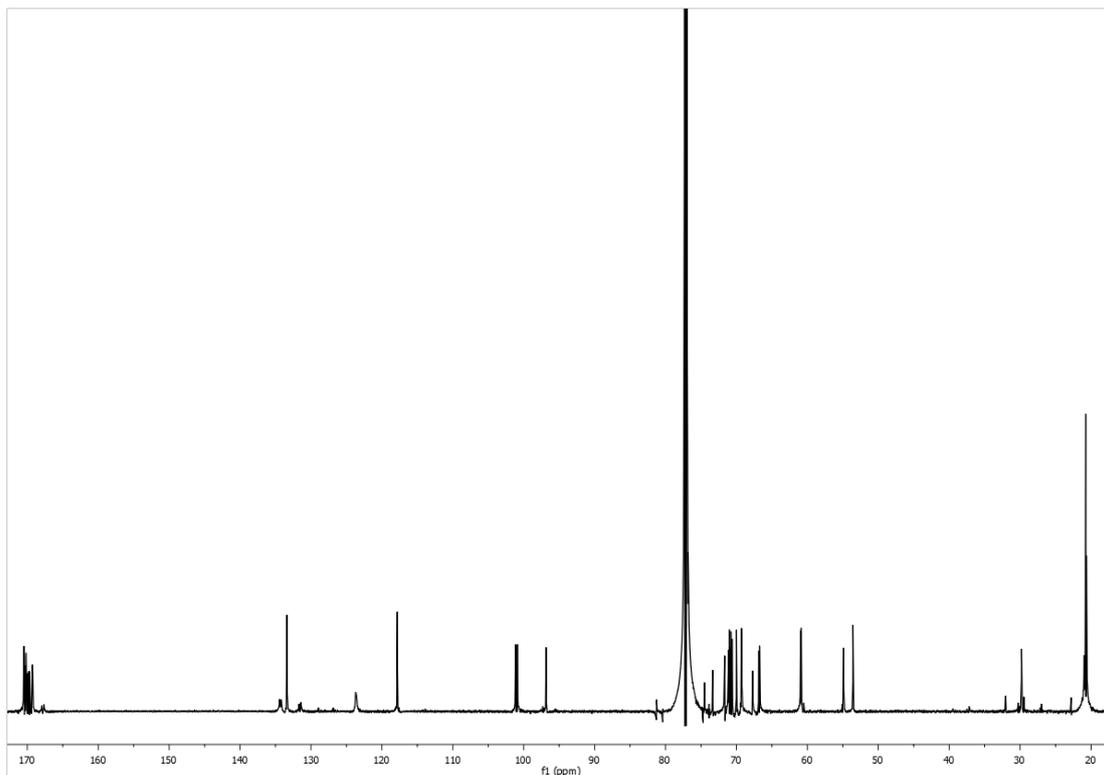


$^{19}\text{F}$ -NMR der Verbindung 56a in deuteriertem Chloroform.

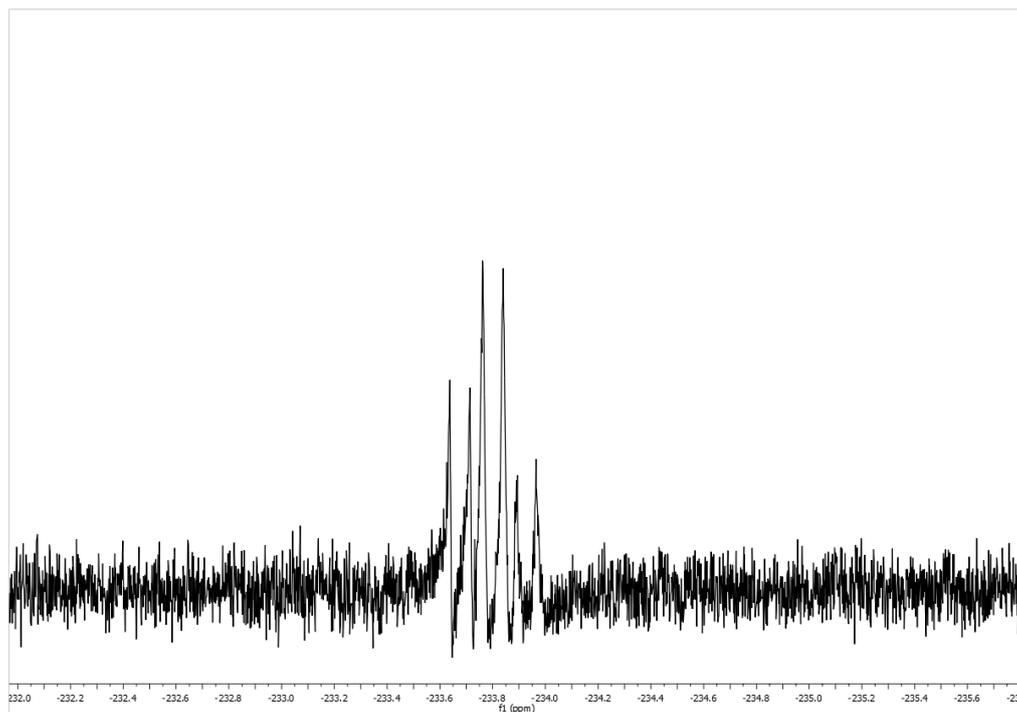
**Allyl-2-deoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-(2,3-di-*O*-acetyl-4-*O*-{2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl}-6-deoxy-6-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (55a)**



**<sup>1</sup>H-NMR der Verbindung 55a in deuteriertem Chloroform.**

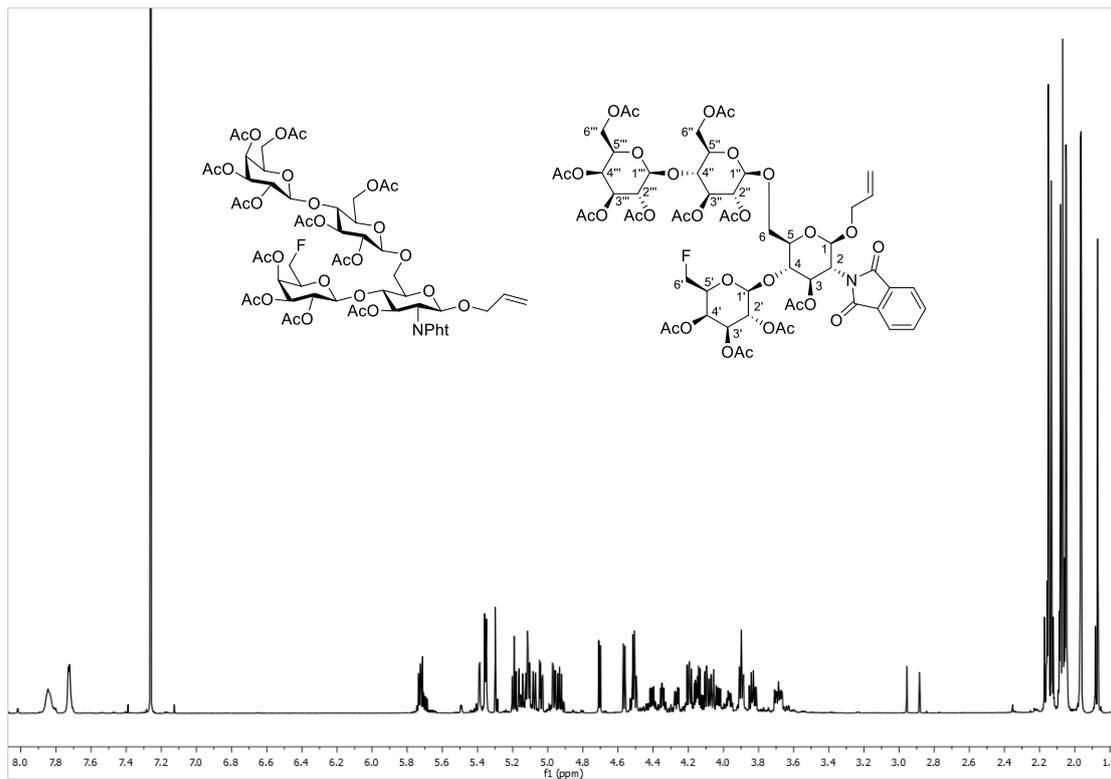


**<sup>13</sup>C-NMR der Verbindung 55a in deuteriertem Chloroform.**

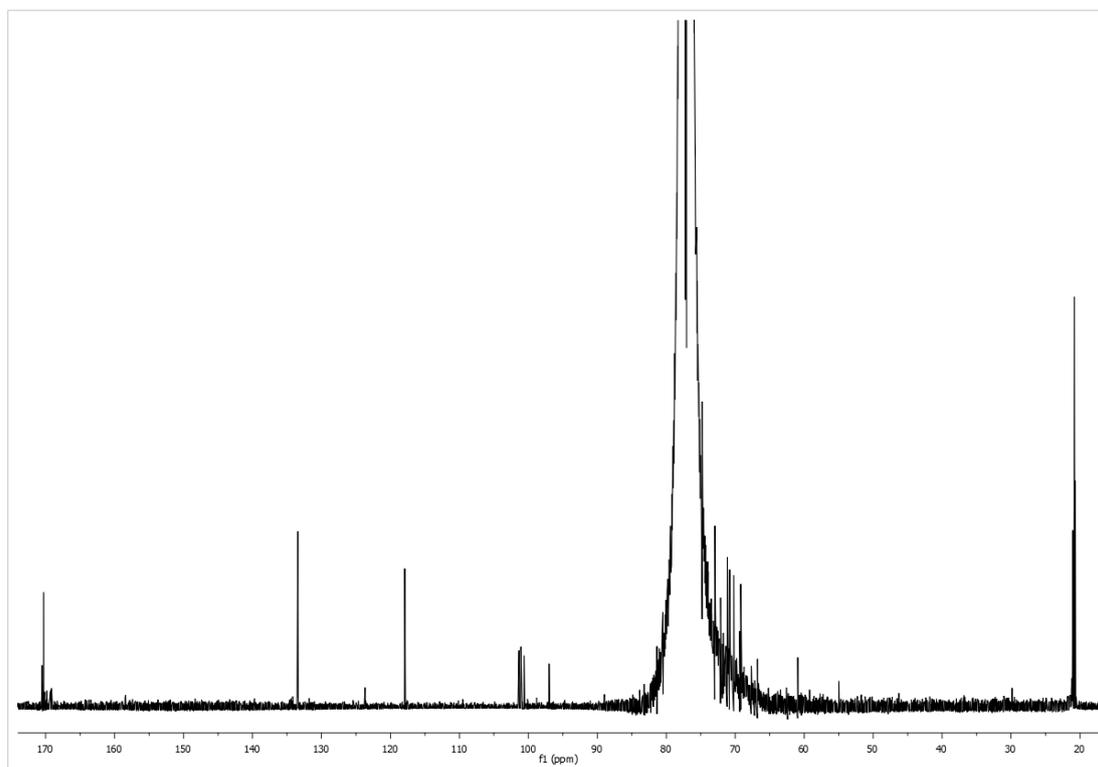


$^{19}\text{F}$ -NMR der Verbindung 52a in deuteriertem Chloroform.

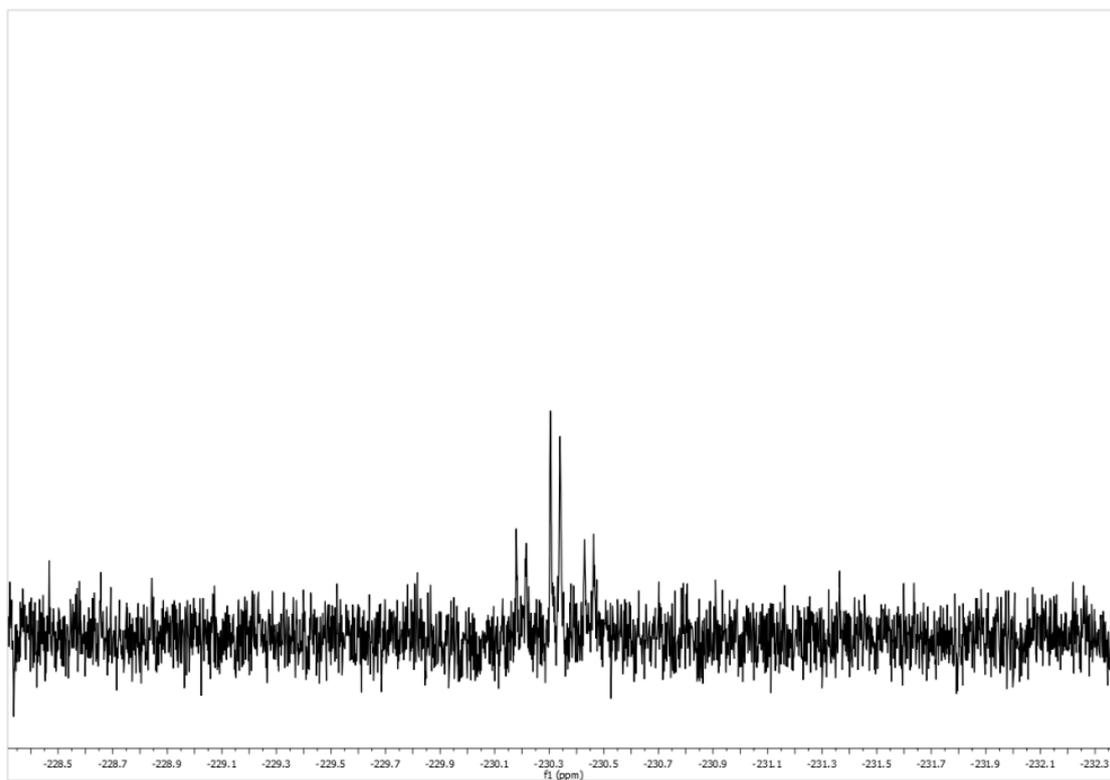
**Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4'-tri-*O*-acetyl-6'-desoxy-6'-fluor-β-D-galactopyranosyl)-6-*O*-(2'',3'',6''-tri-*O*-acetyl-4''-*O*-{2''',3''',4''',6'''-tetra-*O*-acetyl-β-D-galactopyranosyl}-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosid (53a)**



**<sup>1</sup>H-NMR der Verbindung 53a in deuteriertem Chloroform.**

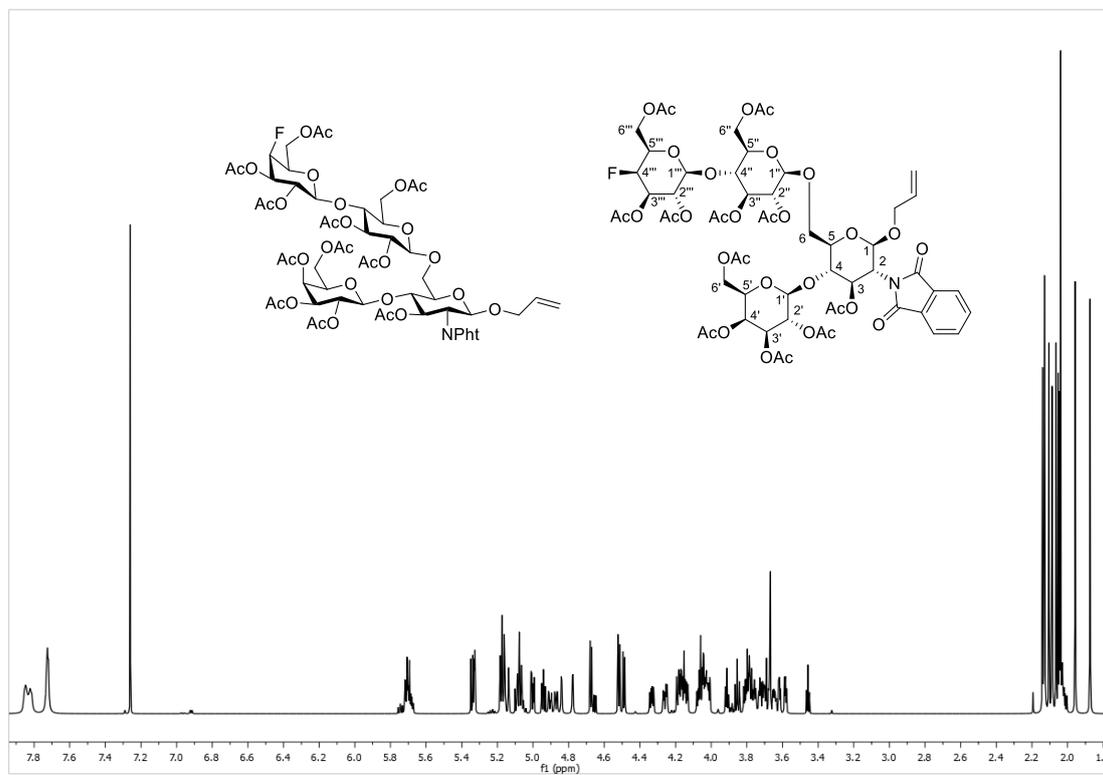


**<sup>13</sup>C-NMR der Verbindung 53a in deuteriertem Chloroform.**

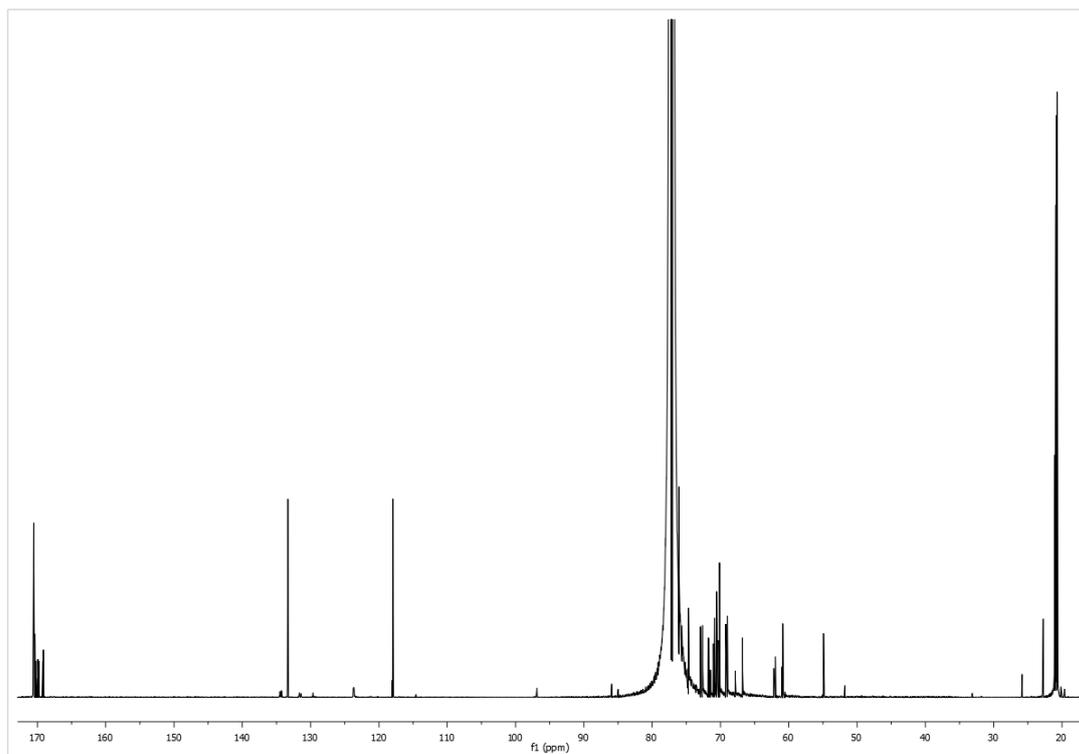


$^{19}\text{F}$ -NMR der Verbindung 52a in deuteriertem Chloroform.

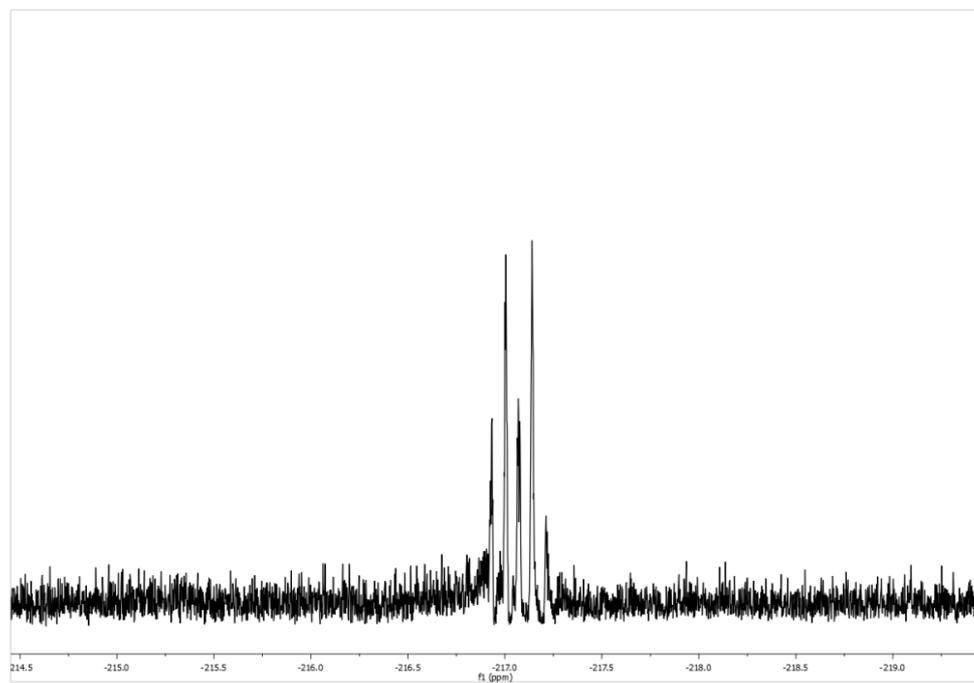
**Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-(2'',3'',6''-tri-*O*-acetyl-4''-*O*-{2''',3''',6'''-tri-*O*-acetyl-4'''-desoxy-4'''-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl}- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (57a)**



**$^1\text{H-NMR}$  der Verbindung 57a in deuteriertem Chloroform.**

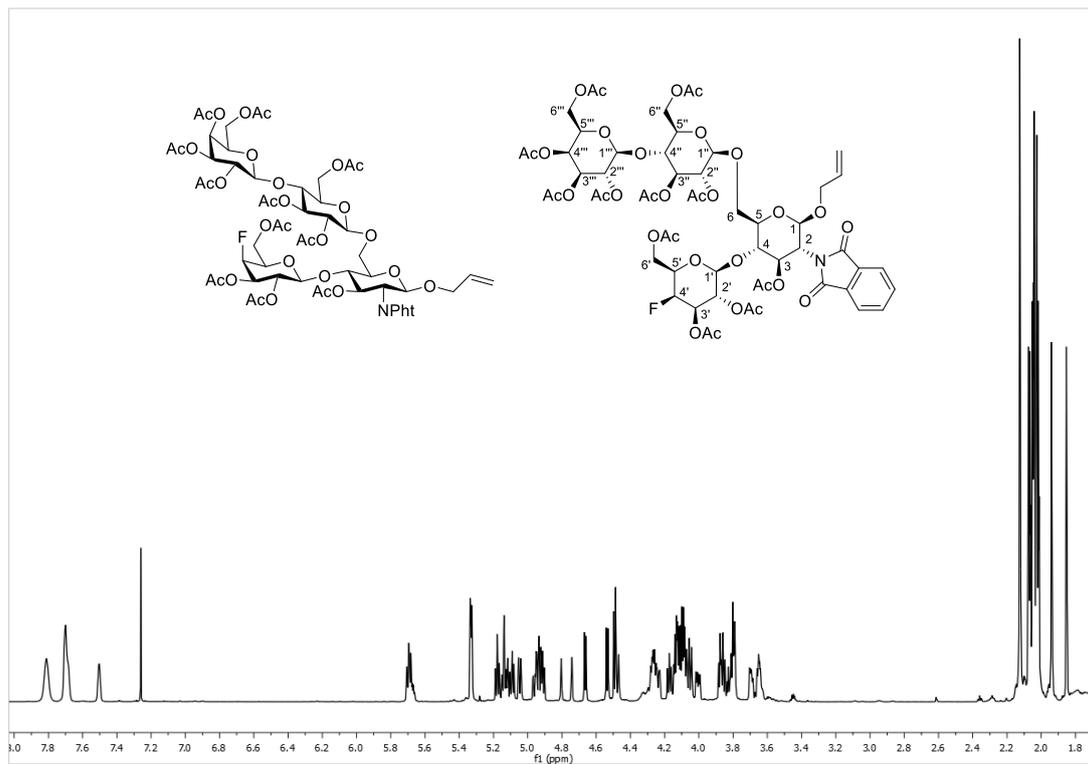


**$^{13}\text{C-NMR}$  der Verbindung 57a in deuteriertem Chloroform.**

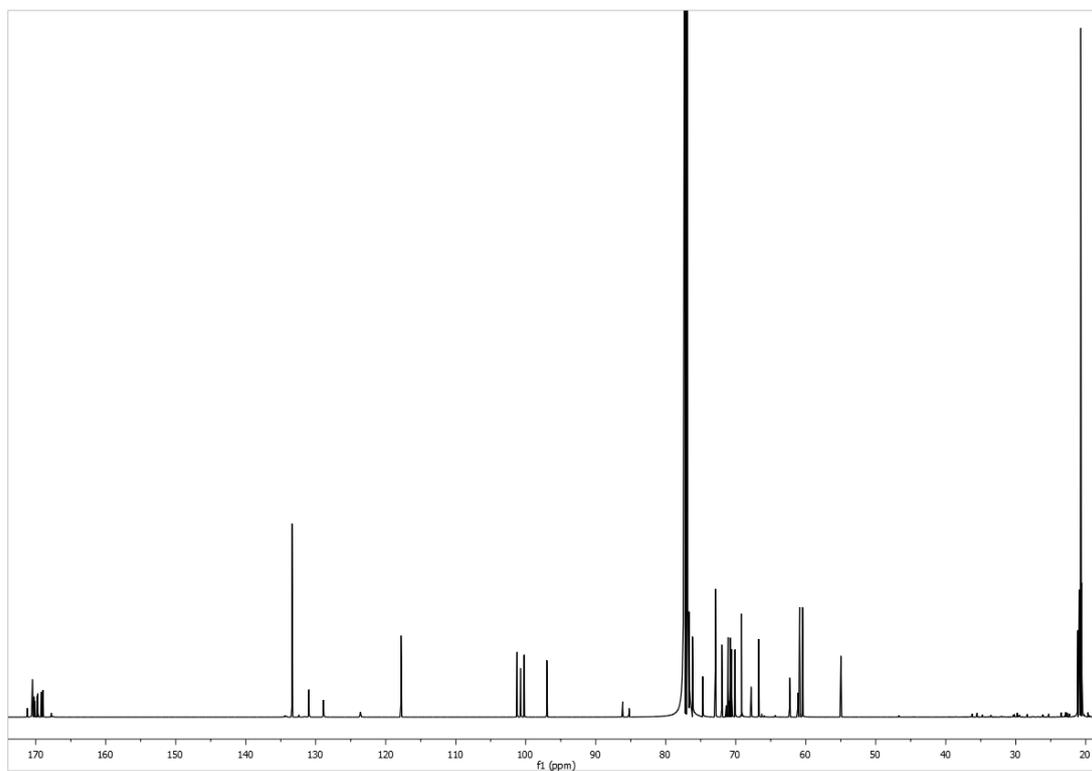


$^{19}\text{F}$ -NMR der Verbindung 57a in deuteriertem Chloroform.

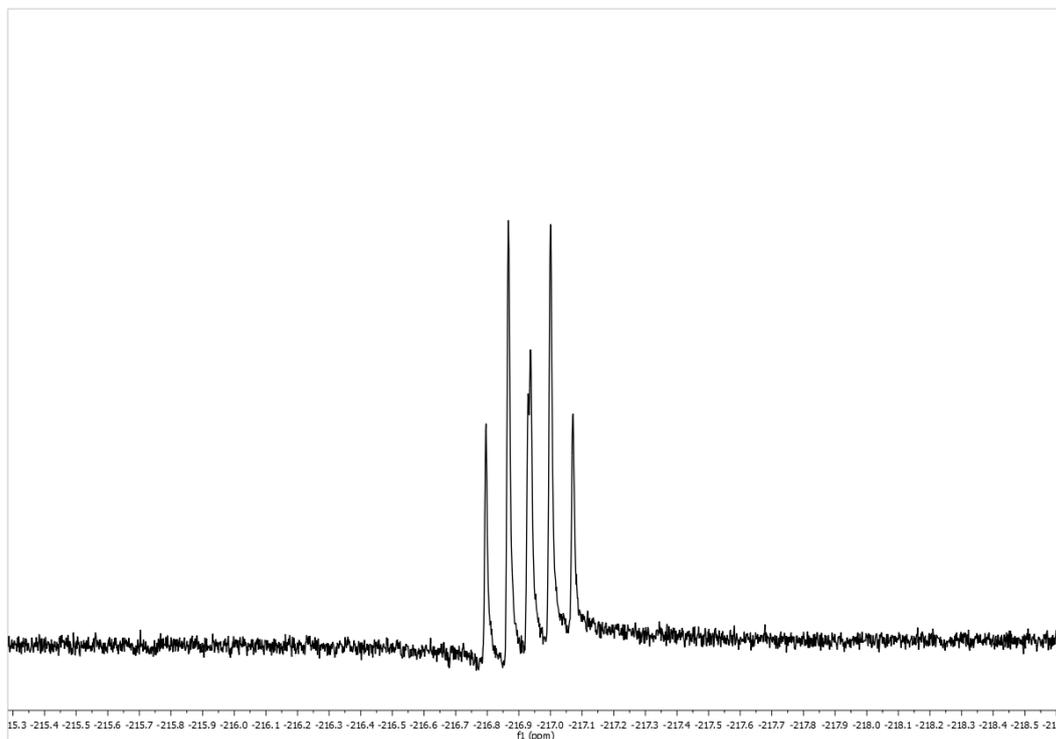
**Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',6'-tri-*O*-acetyl-4'-desoxy-4'-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-(2'',3'',6''-tri-*O*-acetyl-4''-*O*-{2''',3''',4''',6'''-tetra-*O*-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl}- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (54a)**



**$^1\text{H-NMR}$  der Verbindung 54a in deuteriertem Chloroform.**

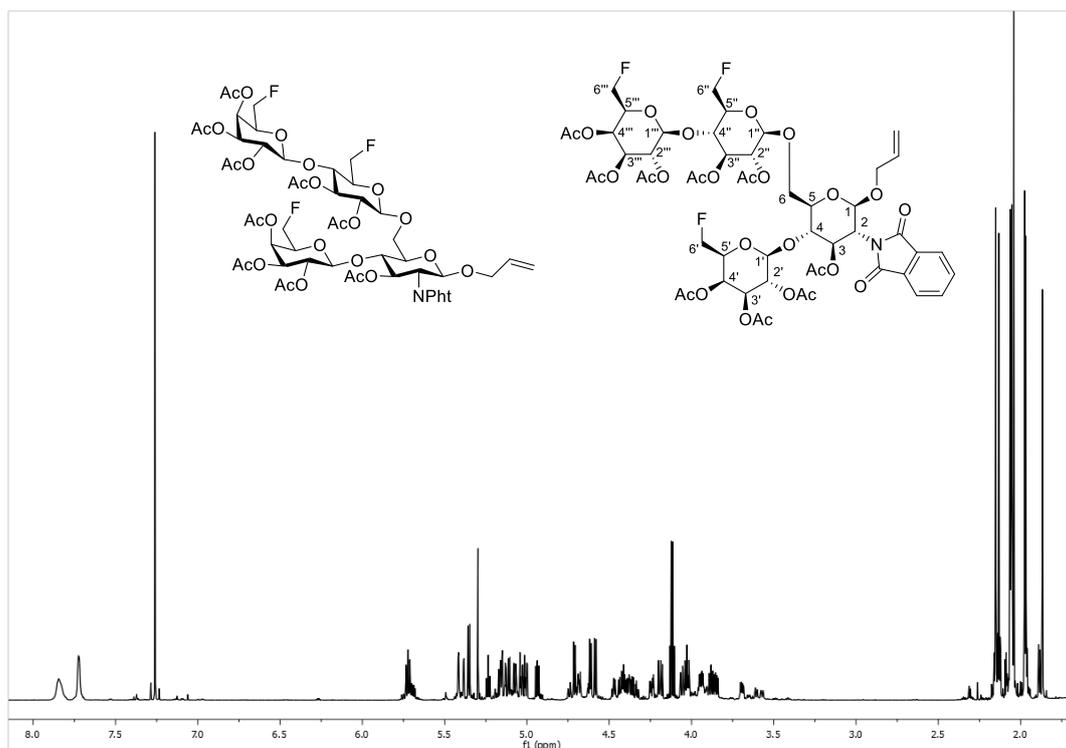


**$^{13}\text{C-NMR}$  der Verbindung 54a in deuteriertem Chloroform.**

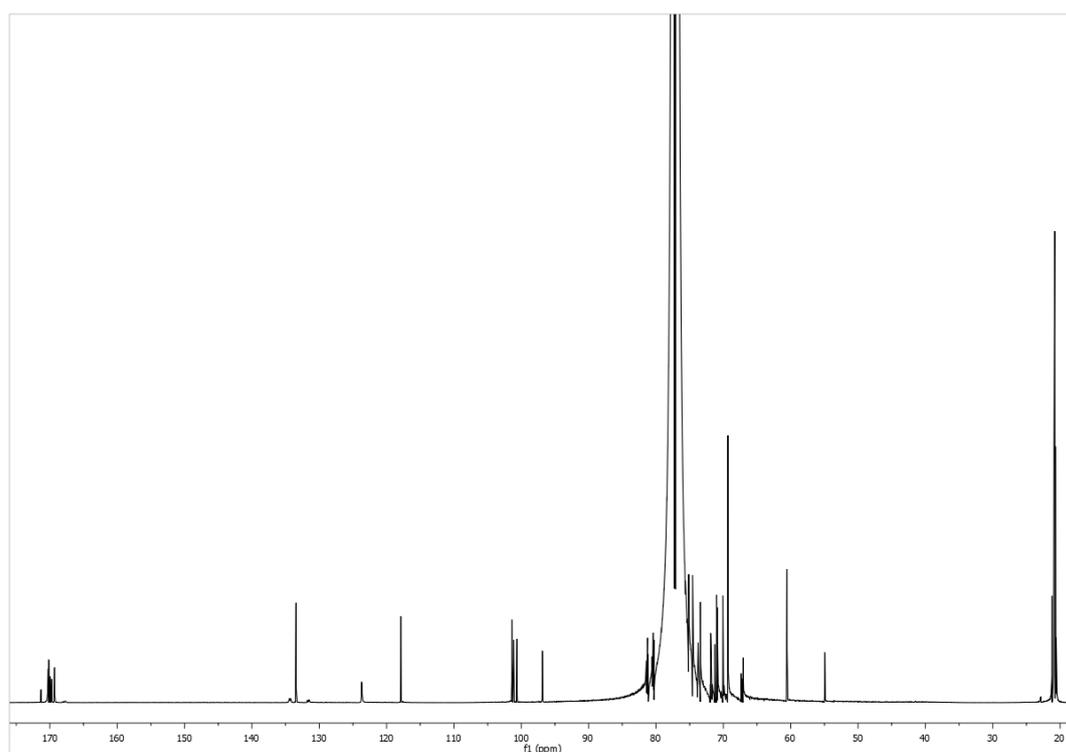


$^{19}\text{F}$ -NMR der Verbindung 54a in deuteriertem Chloroform.

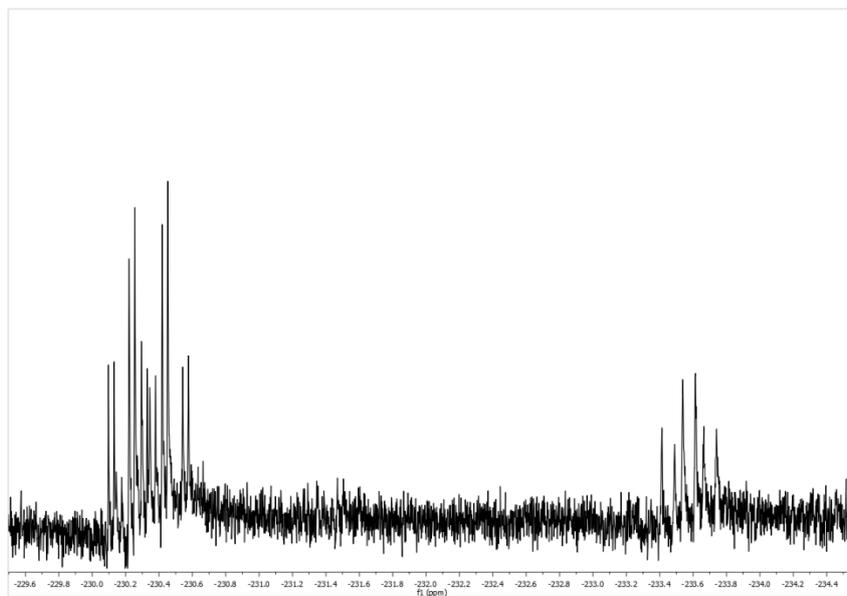
**Allyl-2-desoxy-2-*N*-phthalimido-3-*O*-acetyl-4-*O*-(2',3',4'-tri-*O*-acetyl-6'-desoxy-6'-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-(2'',3''-di-*O*-acetyl-4''-*O*-{2''',3''',4'''-tri-*O*-acetyl-6'''-desoxy-6'''-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl}-6''-desoxy-6''-fluor- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (58a)**



**$^1\text{H-NMR}$  der Verbindung 58a in deuteriertem Chloroform.**

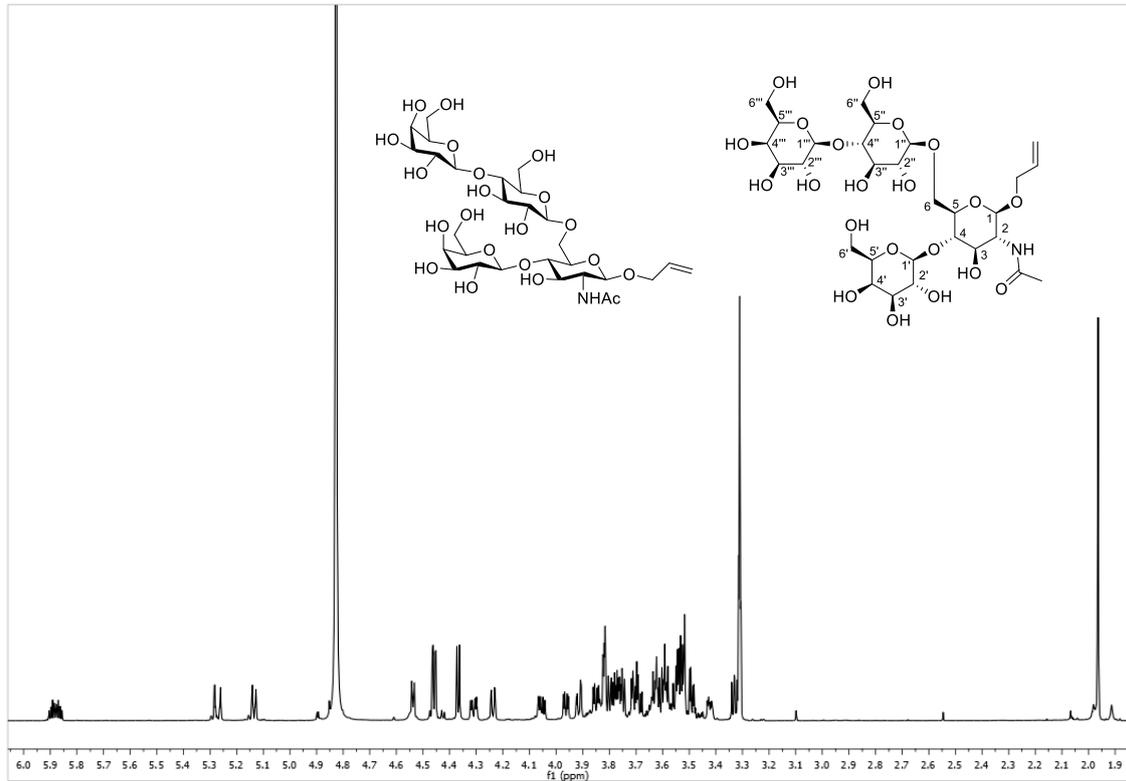


**$^{13}\text{C-NMR}$  der Verbindung 58a in deuteriertem Chloroform.**

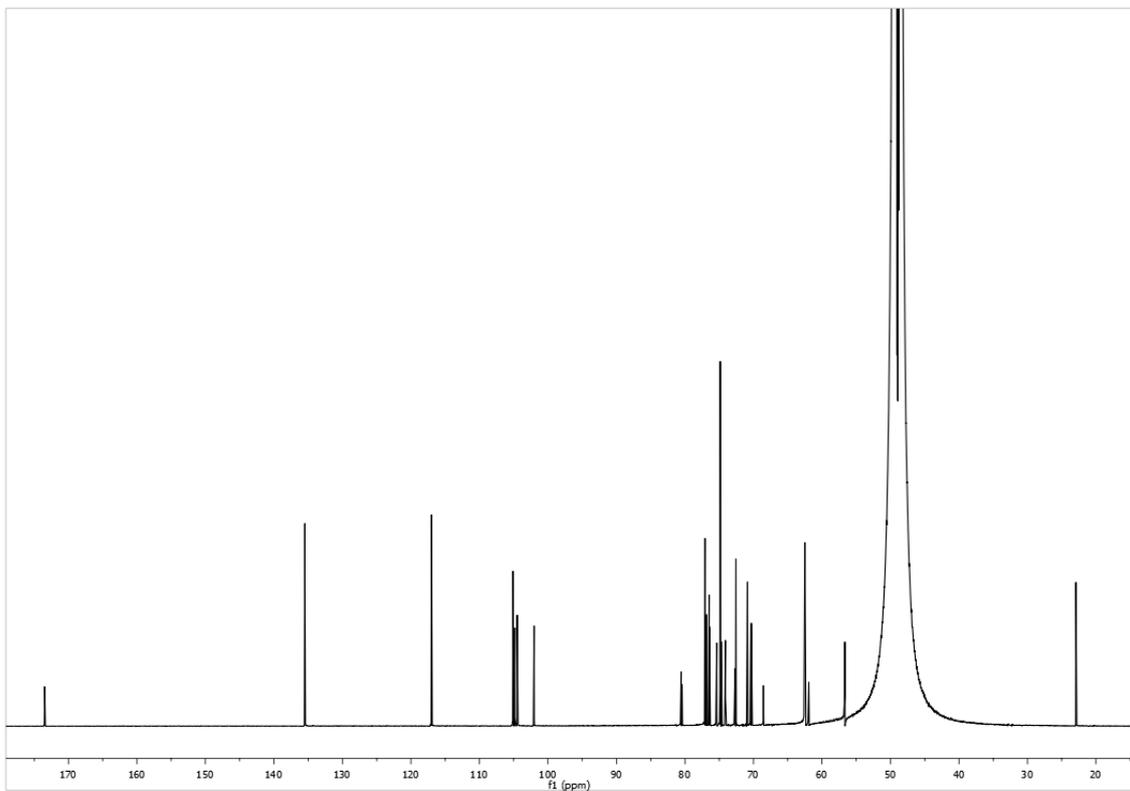


$^{19}\text{F}$ -NMR der Verbindung 58a in deuteriertem Chloroform.

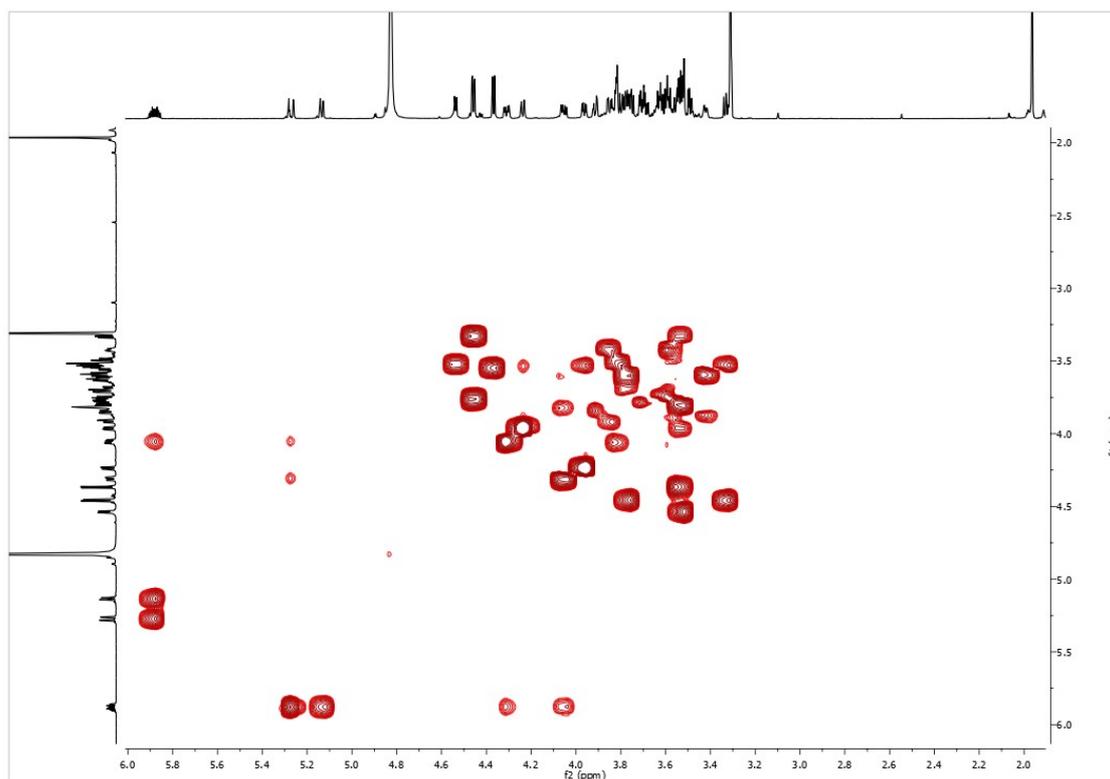
**Allyl-2-desoxy-2-*N*-acetamido-4-*O*-( $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-(4''-*O*-{ $\beta$ -D-galactopyranosyl}- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (8)**



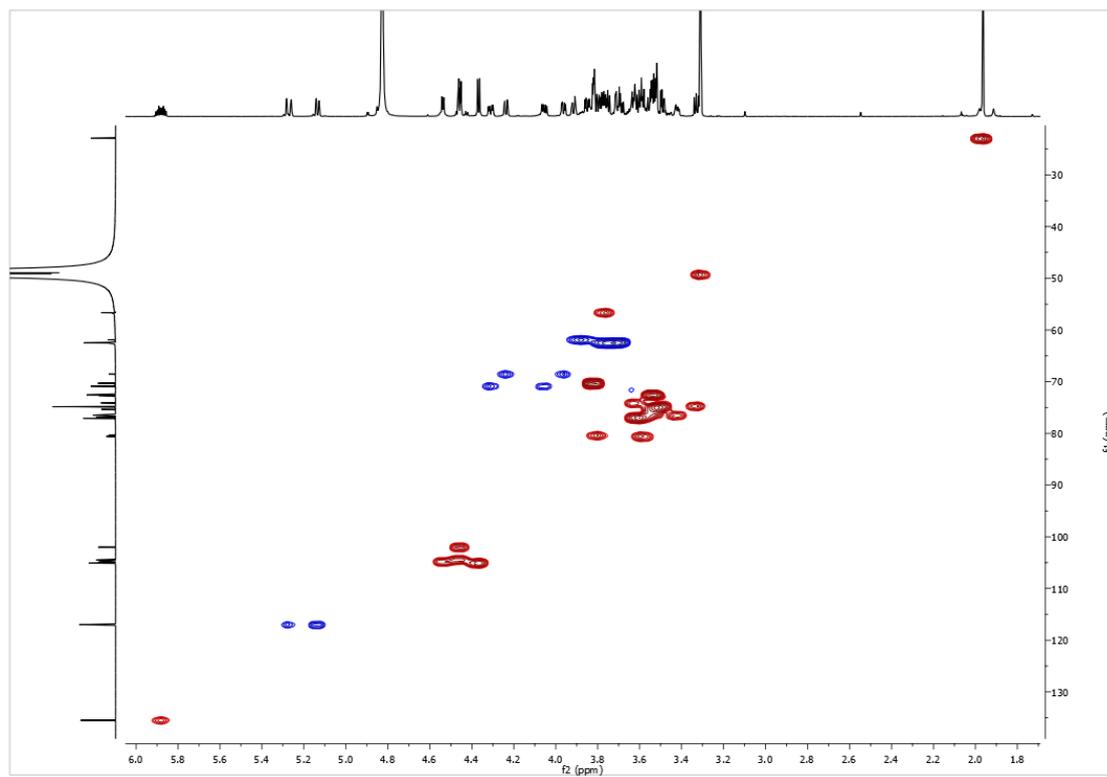
**$^1\text{H-NMR}$  der Verbindung 8 in deuteriertem Methanol.**



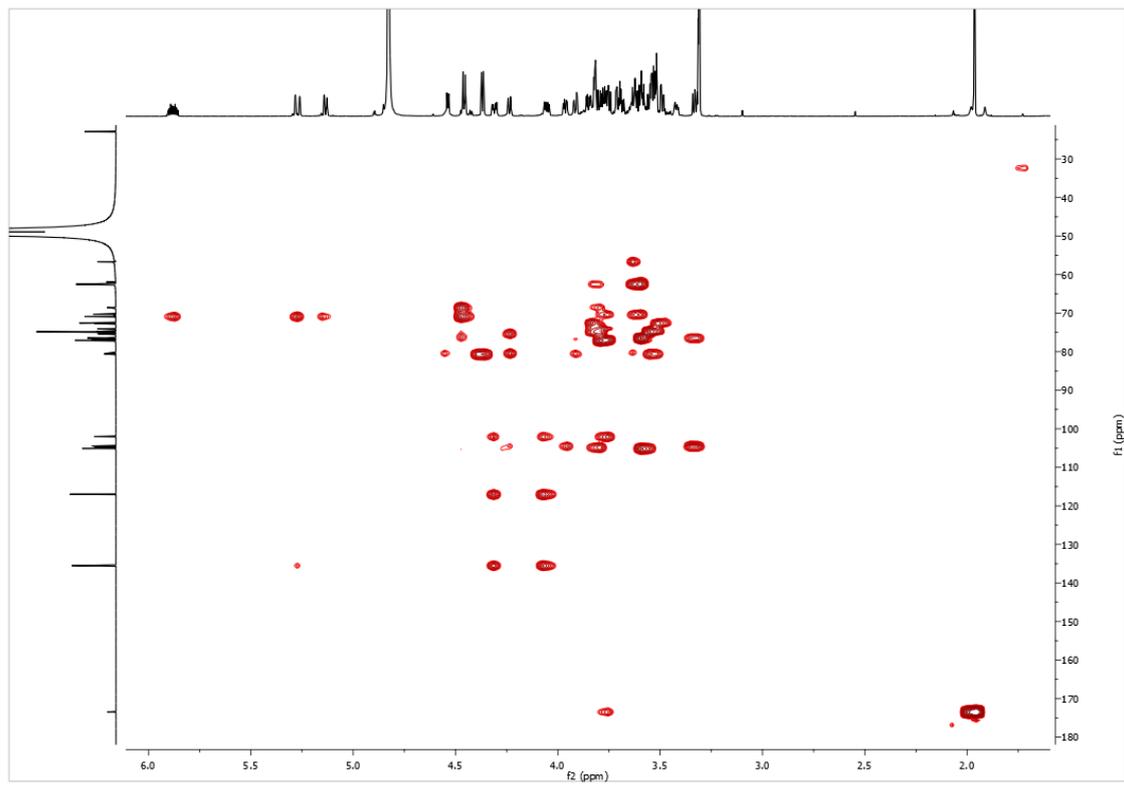
**$^{13}\text{C-NMR}$  der Verbindung 8 in deuteriertem Methanol.**



COSY-NMR der Verbindung 8 in deuteriertem Methanol.

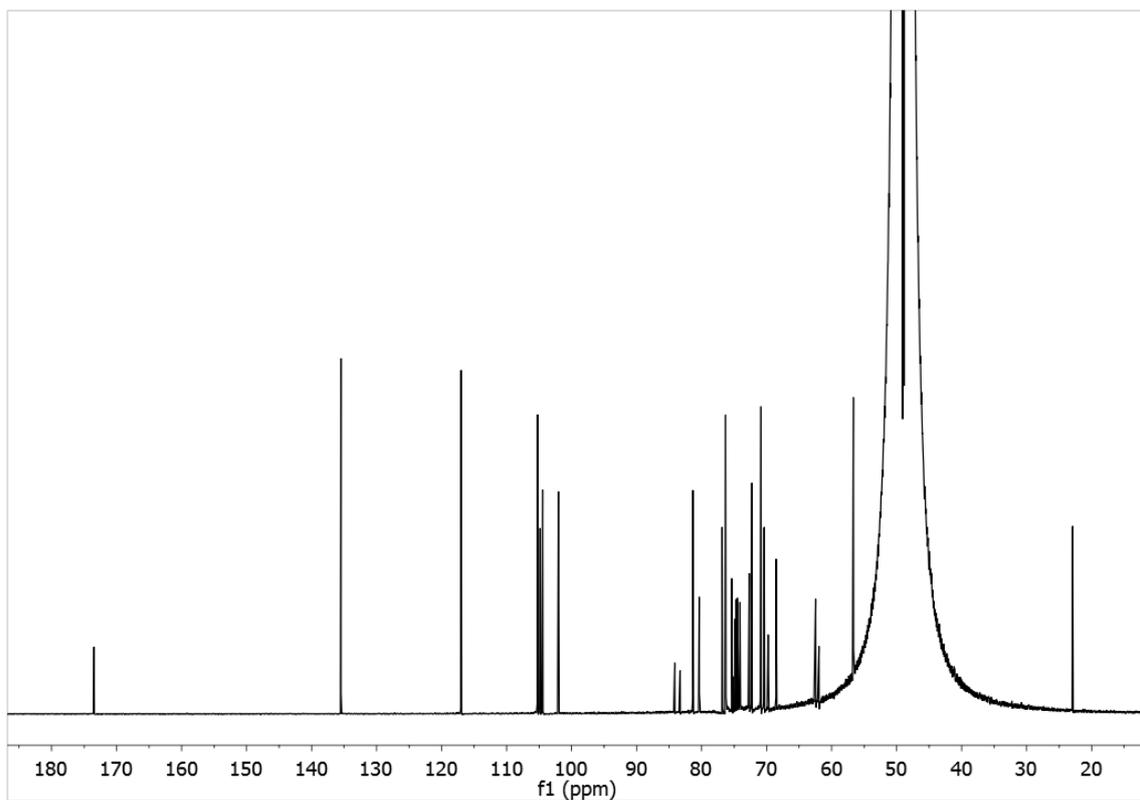
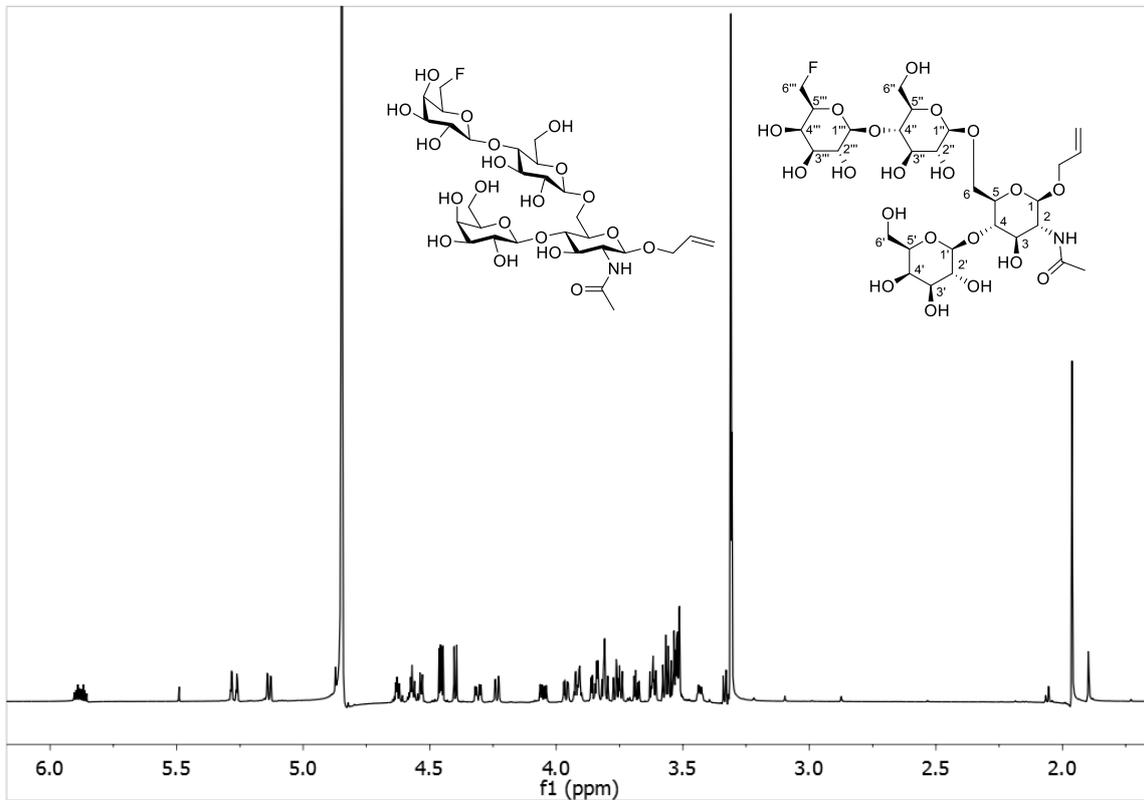


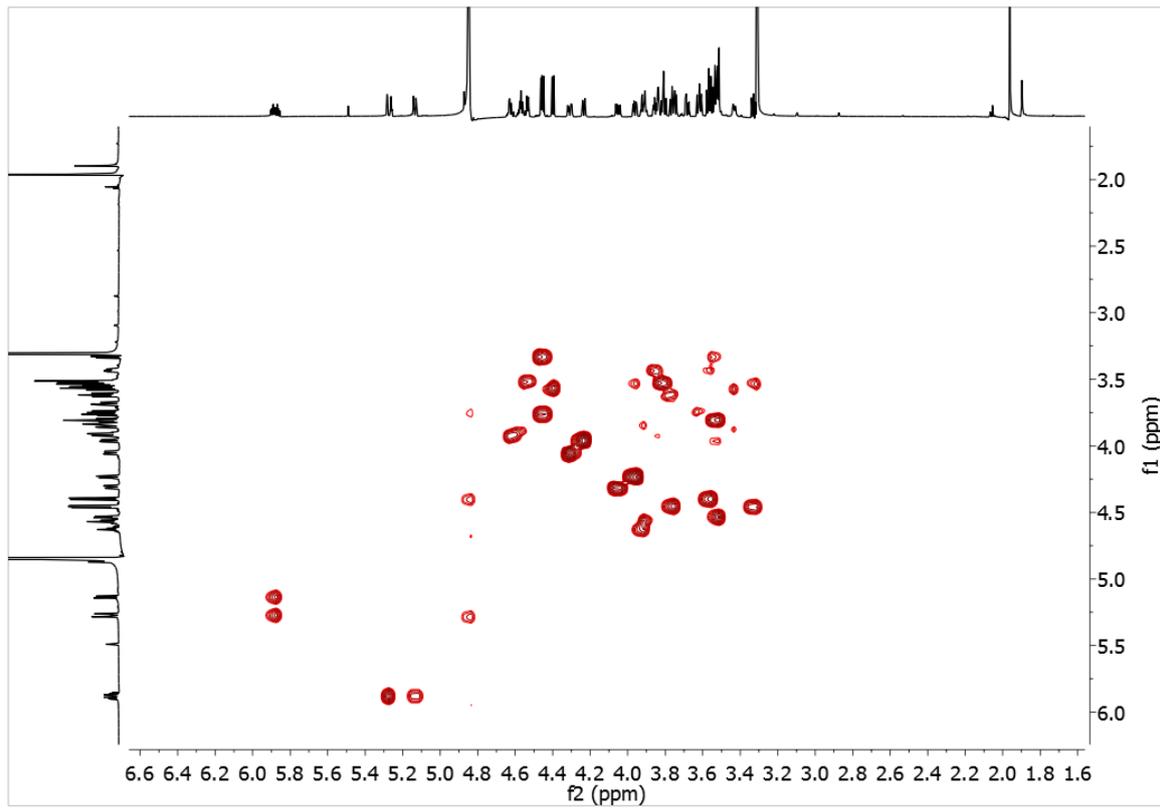
HSQC-NMR der Verbindung 8 in deuteriertem Methanol.



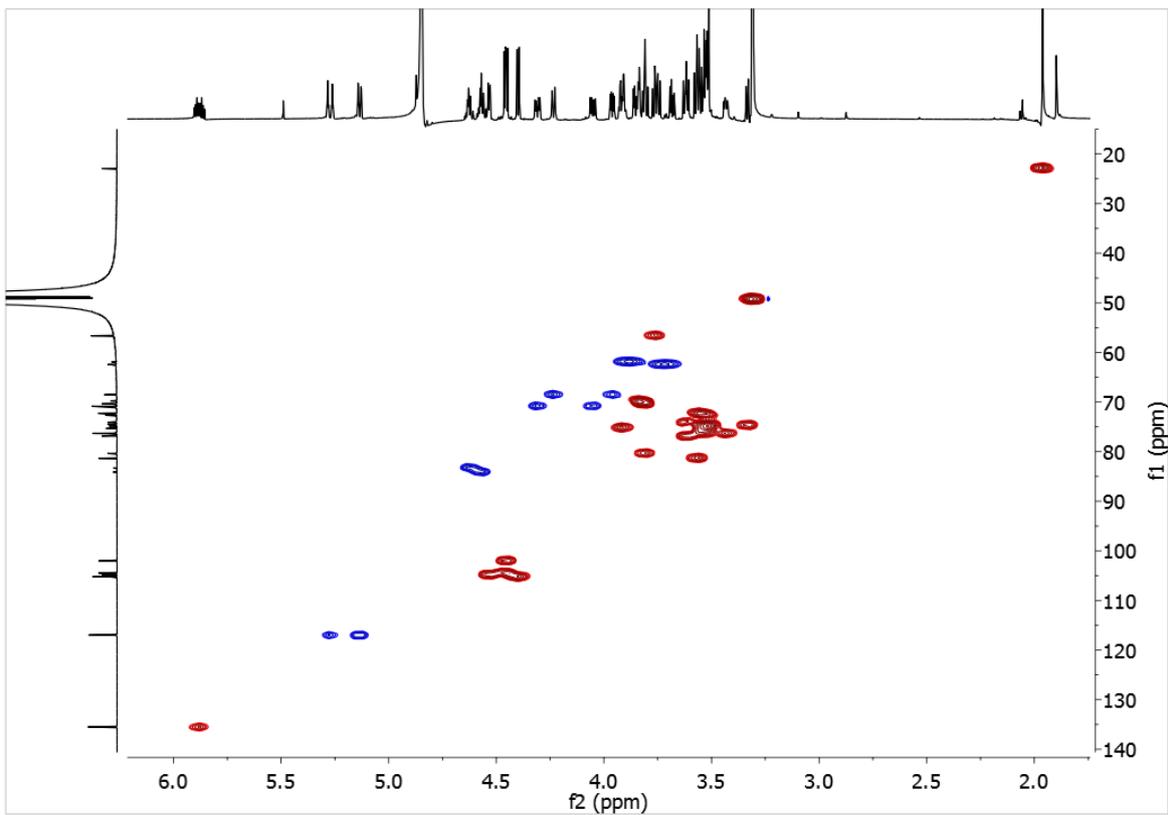
HMBC-NMR der Verbindung 8 in deuteriertem Methanol.

**Allyl-desoxy-2-*N*-acetamido-4-*O*-( $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-(4''-*O*-{6'''-desoxy-6'''-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl}- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (1)**

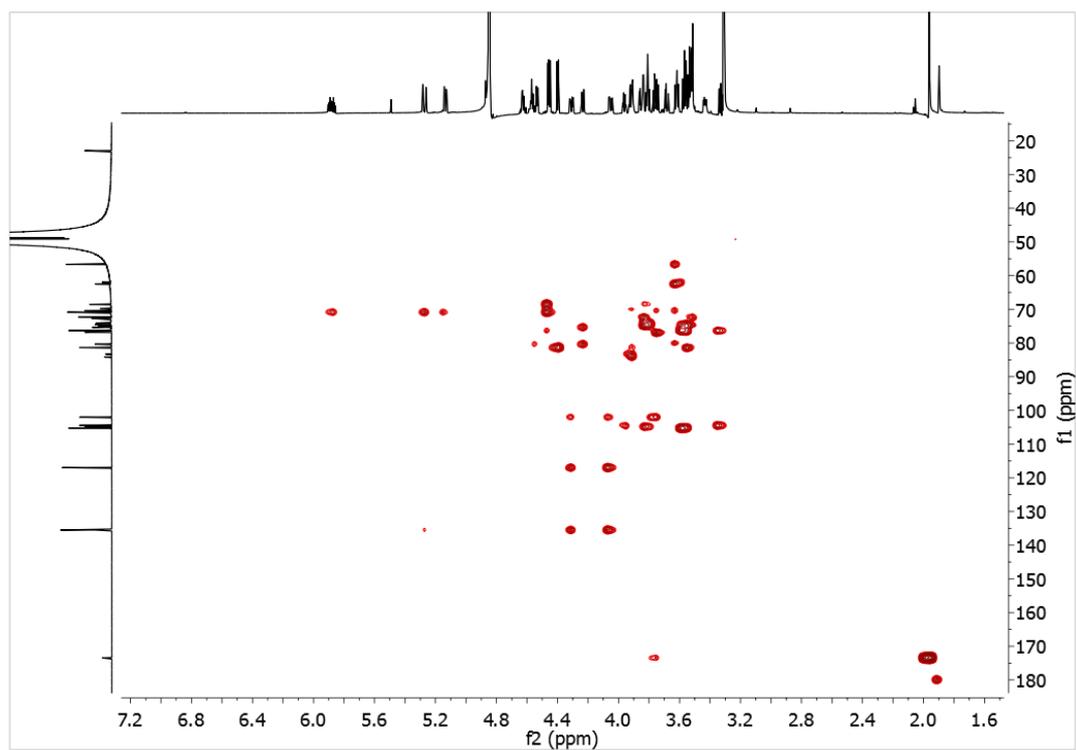




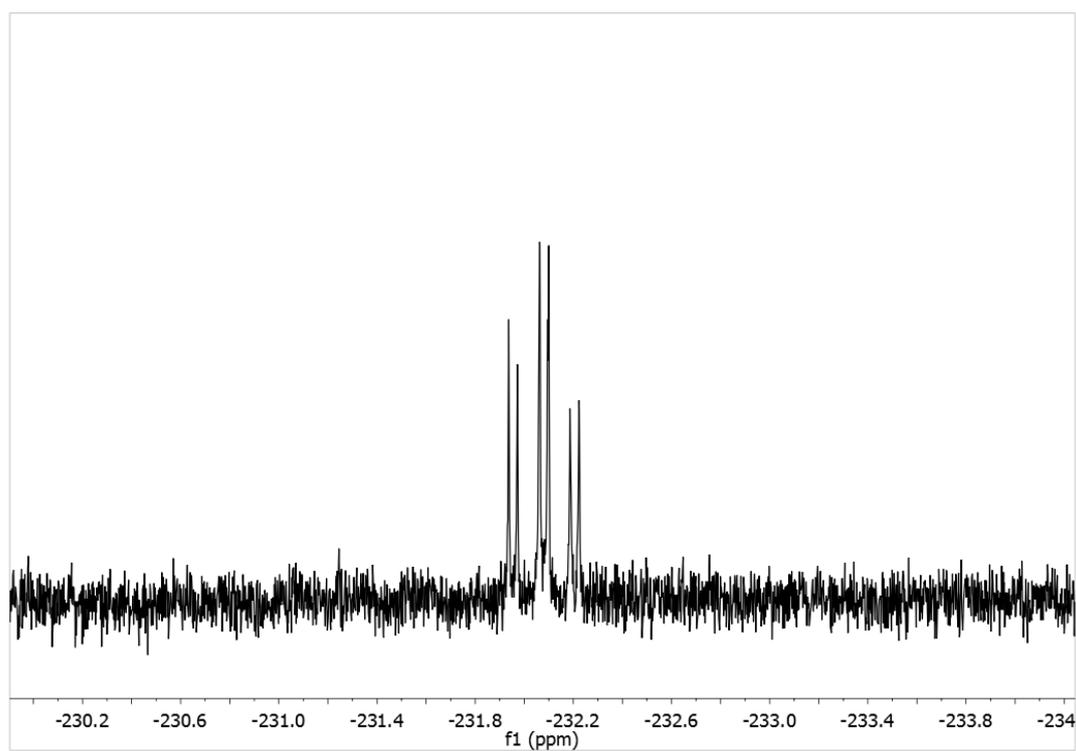
COSY-NMR der Verbindung 1 in deuteriertem Methanol.



HSQC-NMR der Verbindung 1 in deuteriertem Methanol.

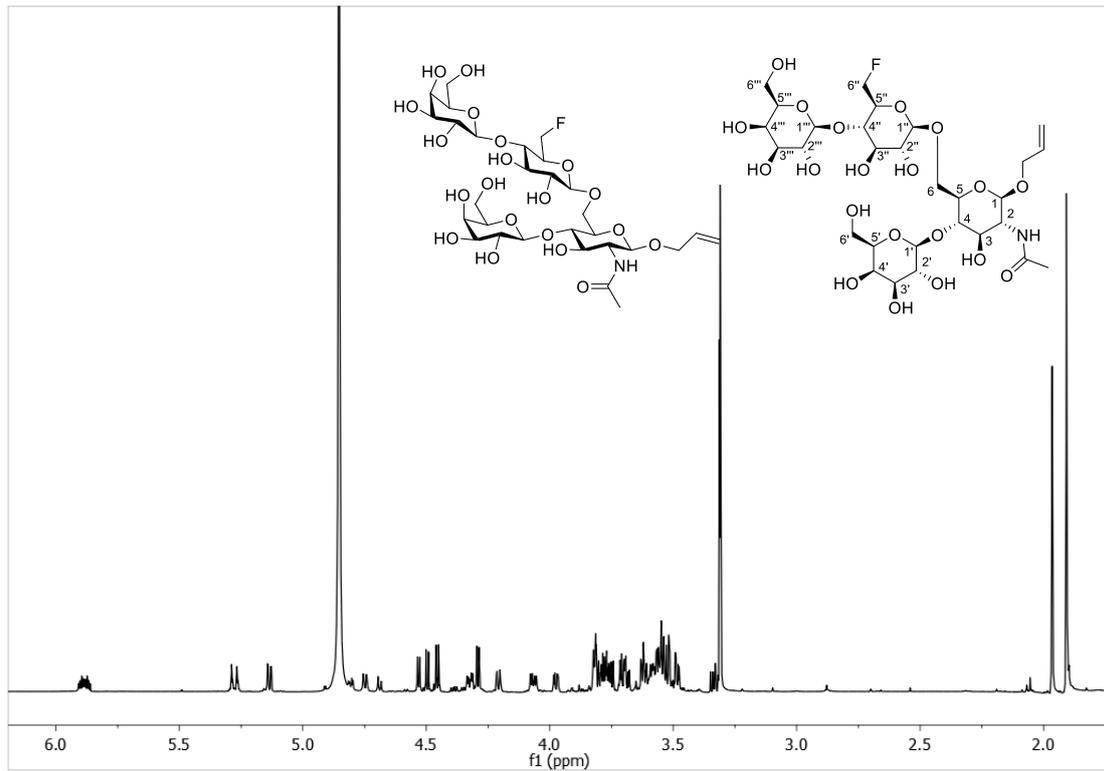


HMBC-NMR der Verbindung 1 in deuteriertem Methanol.

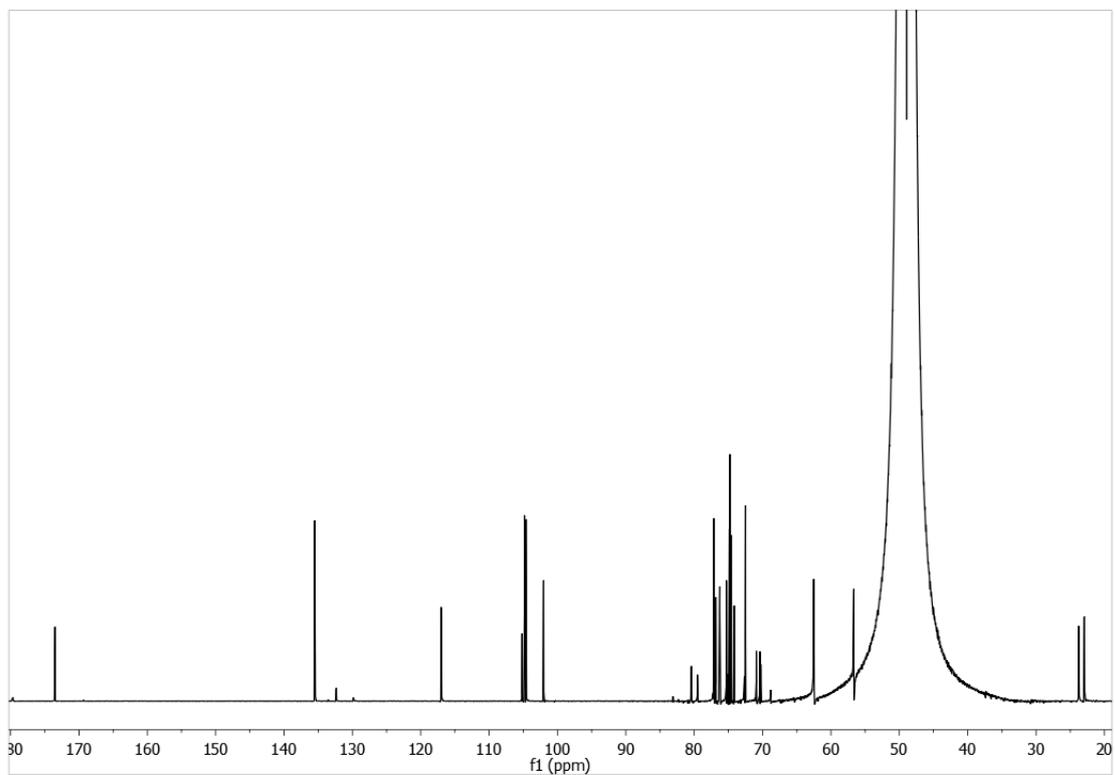


$^{19}\text{F}$ -NMR der Verbindung 1 in deuteriertem Methanol.

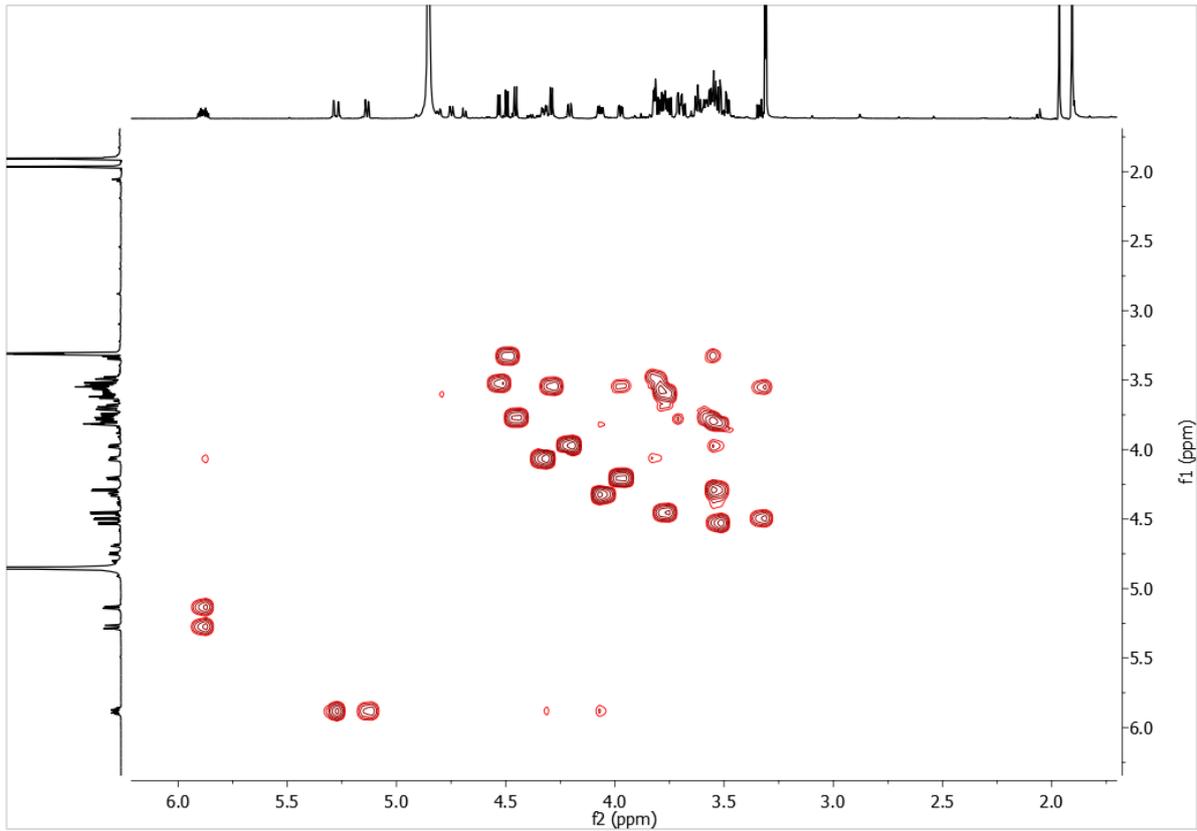
**Allyl-2-desoxy-2-*N*-acetamido-3-*O*-acetyl-4-*O*-( $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-(4''-*O*-{ $\beta$ -D-galactopyranosyl}-6''-desoxy-6''-fluor- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (2)**



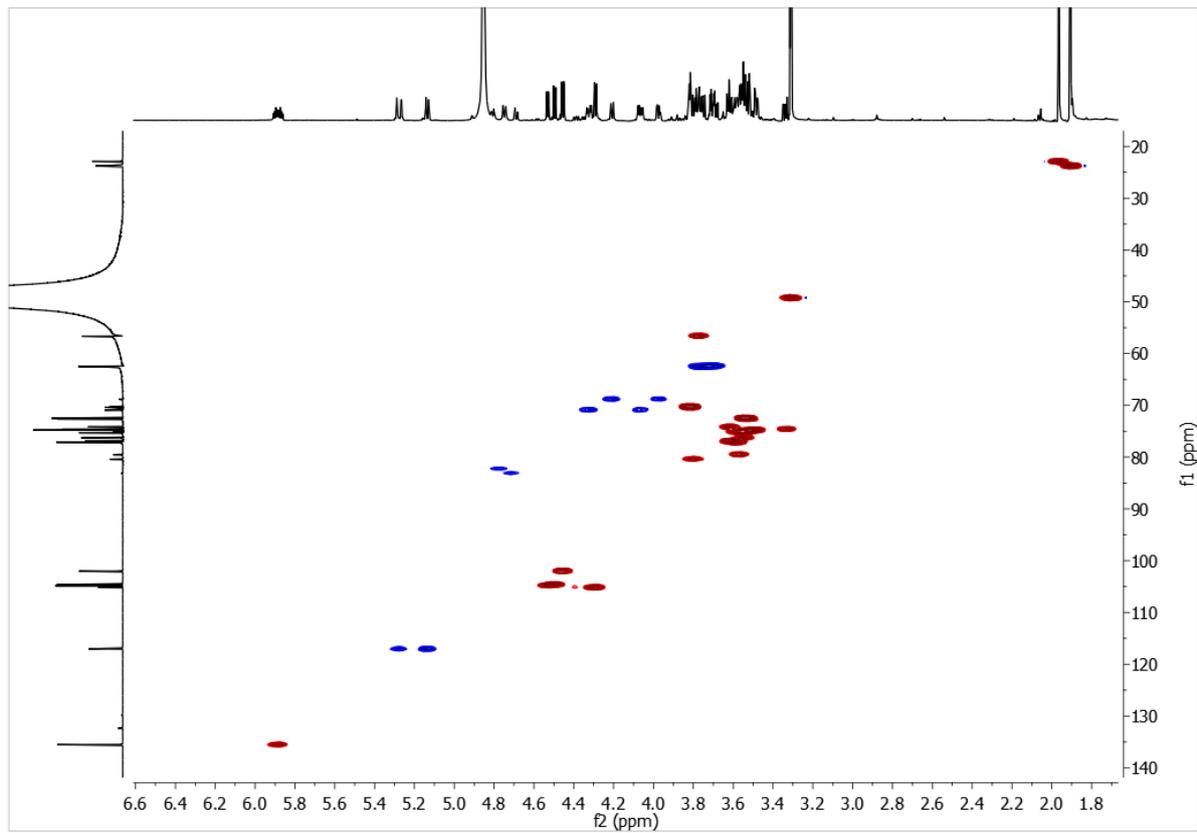
**<sup>1</sup>H-NMR der Verbindung 2 in deuteriertem Methanol.**



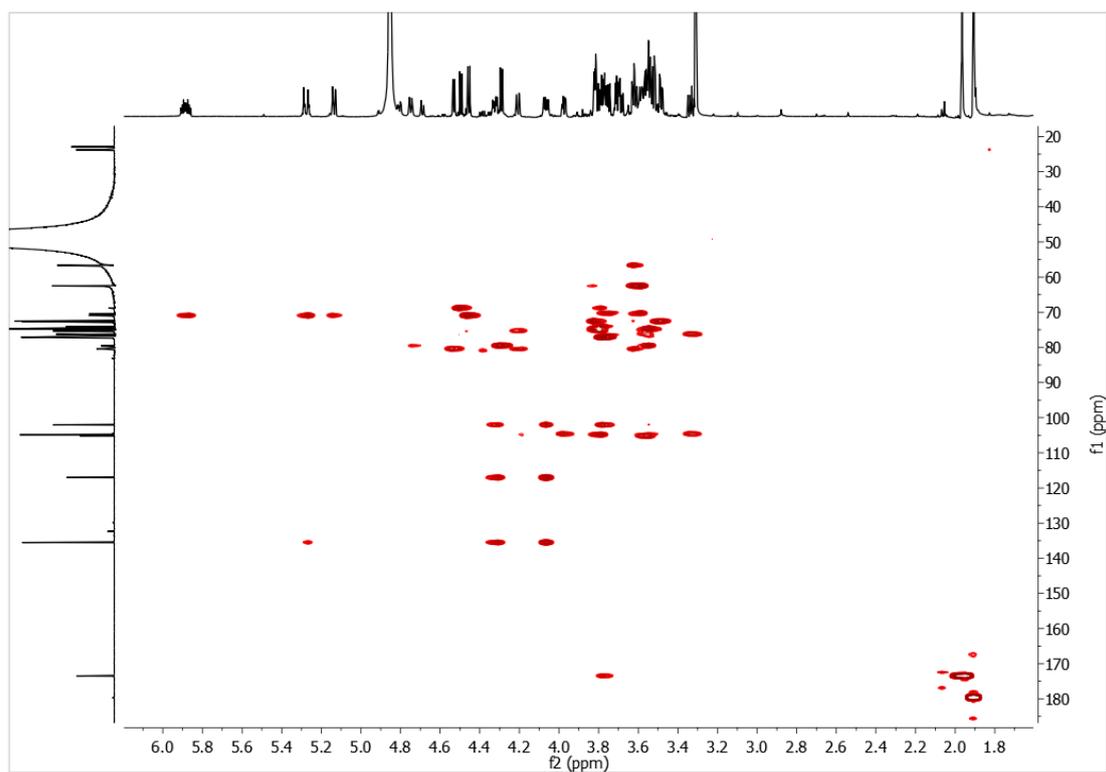
**<sup>13</sup>C-NMR der Verbindung 2 in deuteriertem Methanol.**



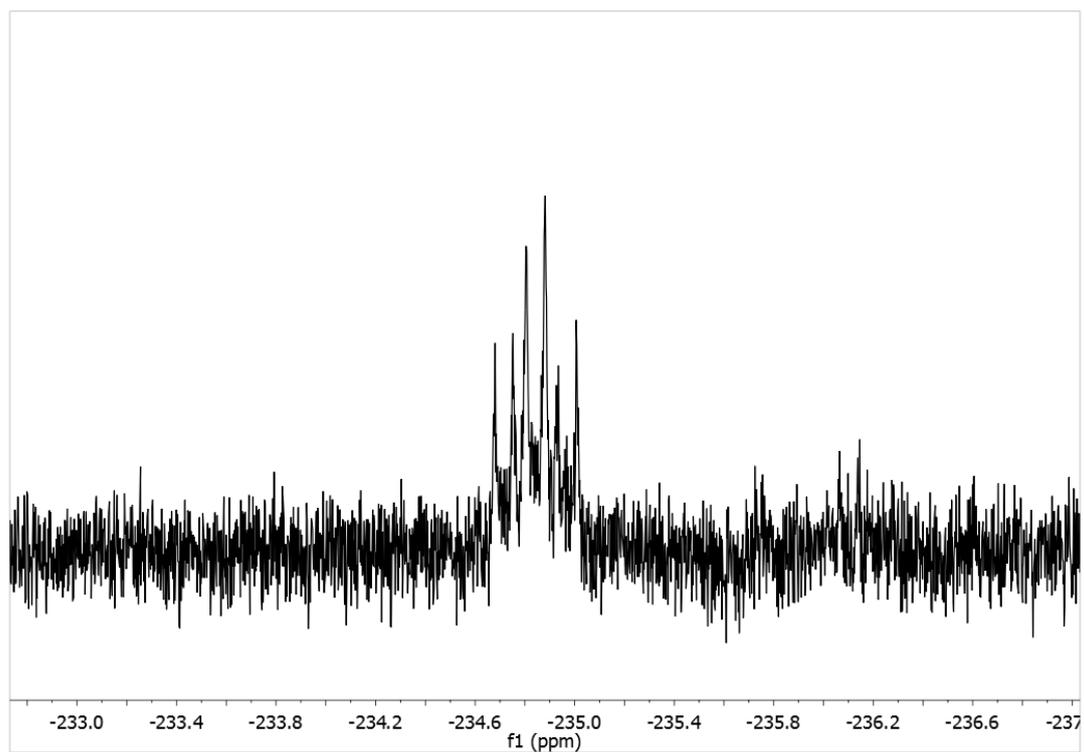
COSY-NMR der Verbindung 2 in deuteriertem Methanol.



HSQC-NMR der Verbindung 2 in deuteriertem Methanol.

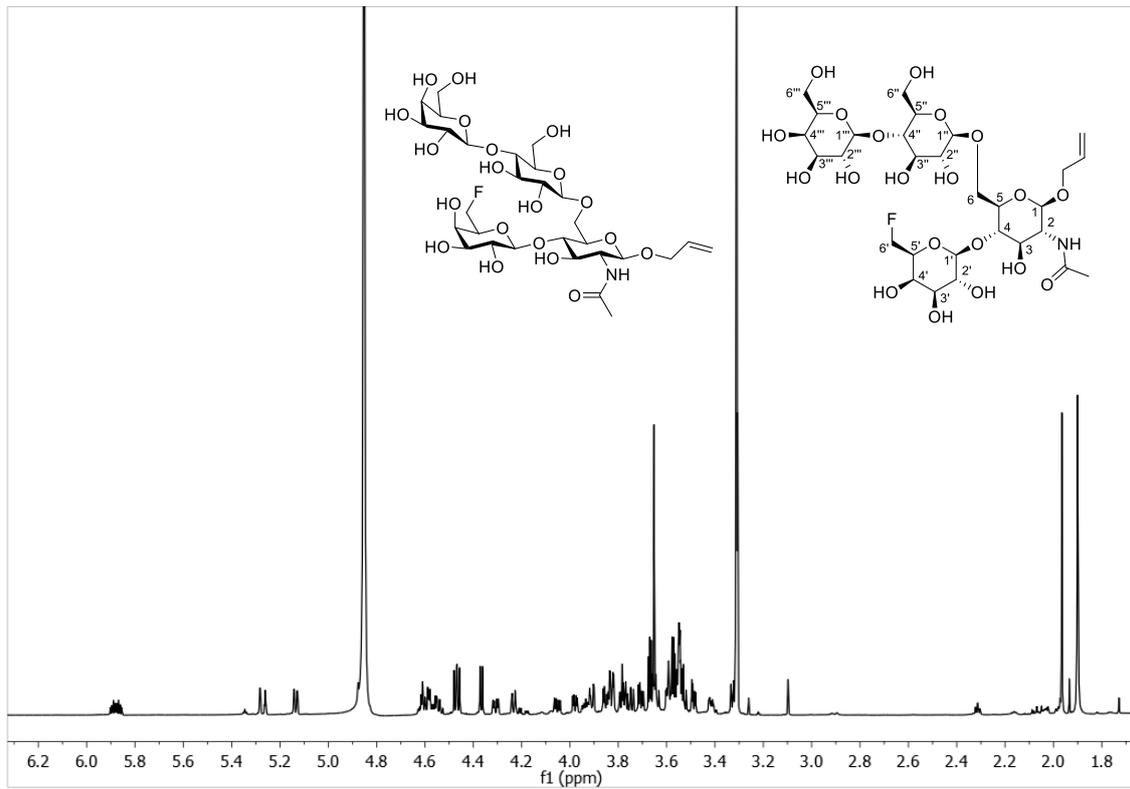


HMBC-NMR der Verbindung 2 in deuteriertem Methanol.

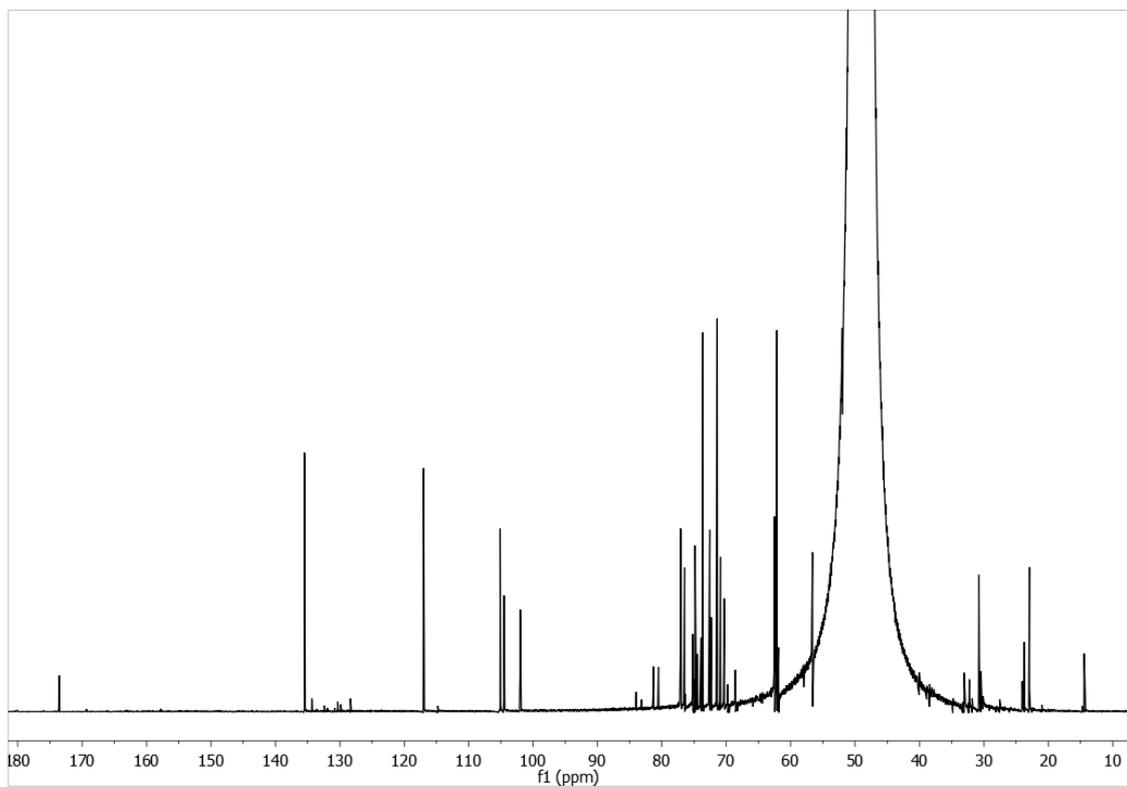


$^{19}\text{F}$ -NMR der Verbindung 2 in deuteriertem Methanol.

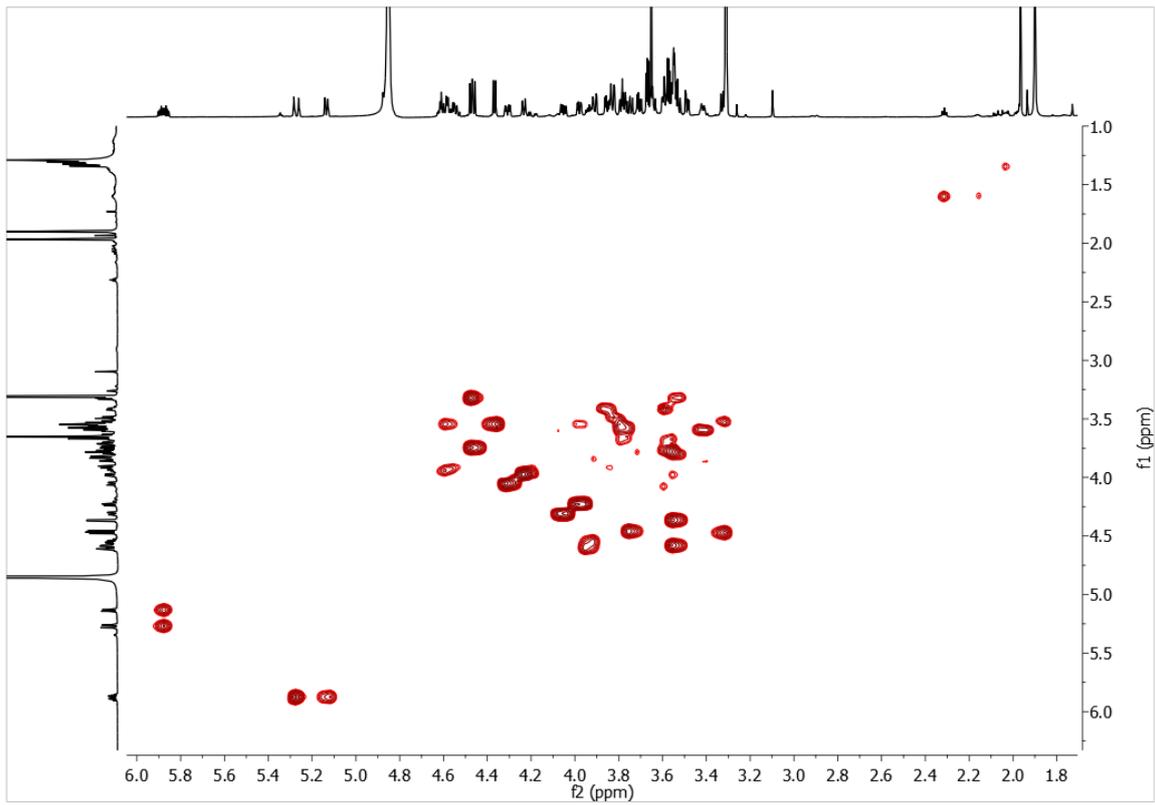
**Allyl-2-desoxy-2-*N*-acetamido-4-*O*-(6'-desoxy-6'-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-(4''-*O*- $\{\beta$ -D-galactopyranosyl}- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (3)**



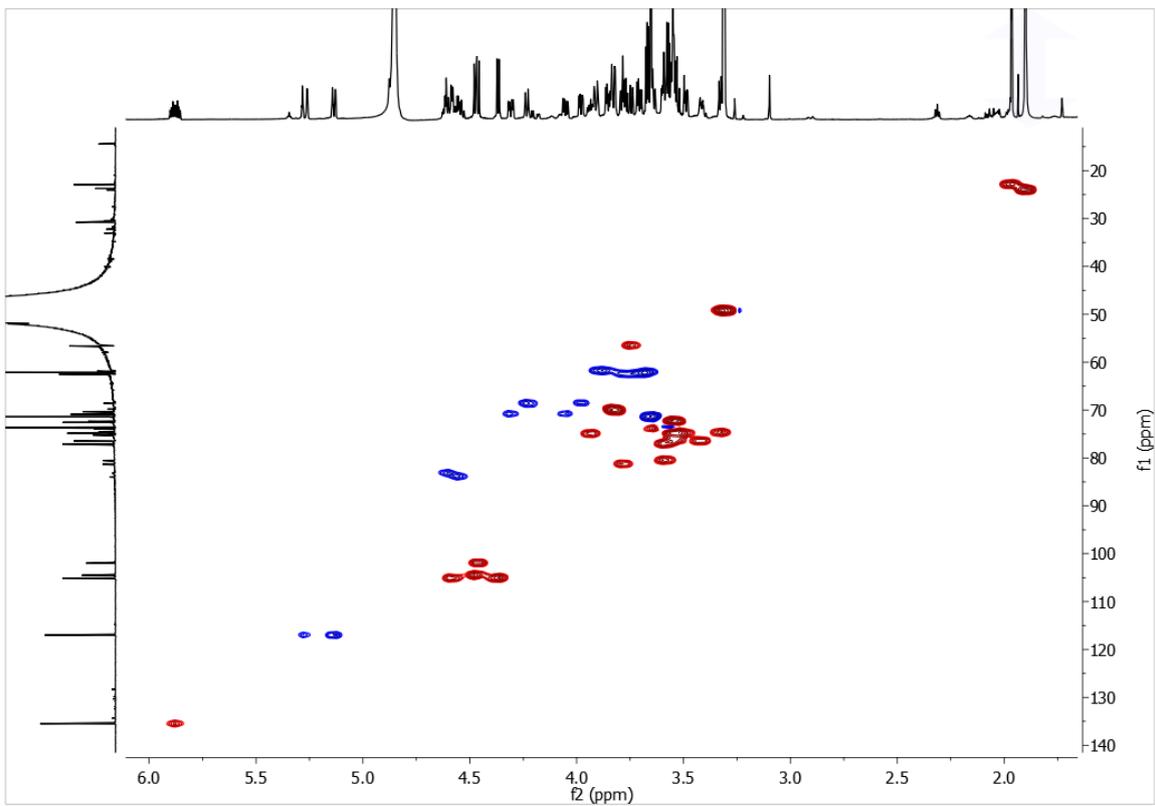
**$^1\text{H-NMR}$  der Verbindung 3 in deuteriertem Methanol.**



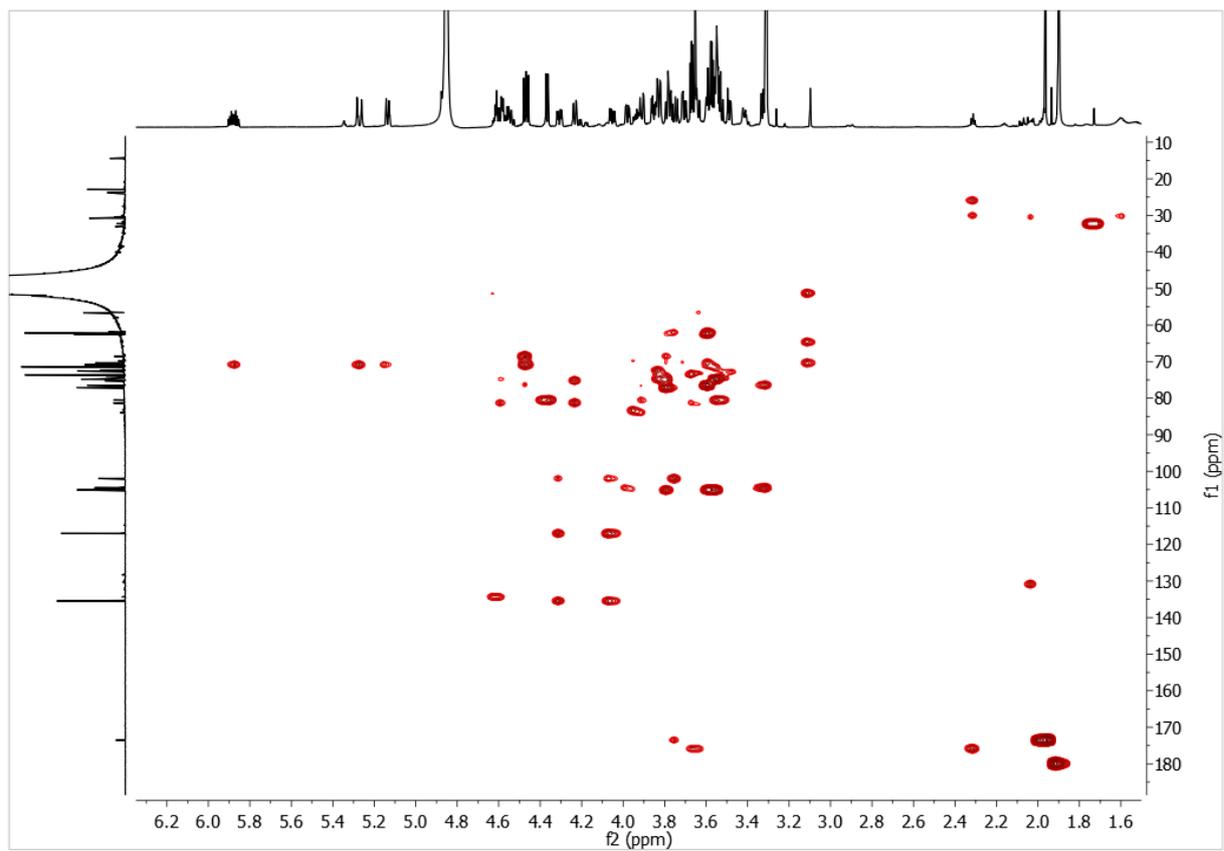
**$^{13}\text{C-NMR}$  der Verbindung 3 in deuteriertem Methanol.**



COSY-NMR der Verbindung 3 in deuteriertem Methanol.

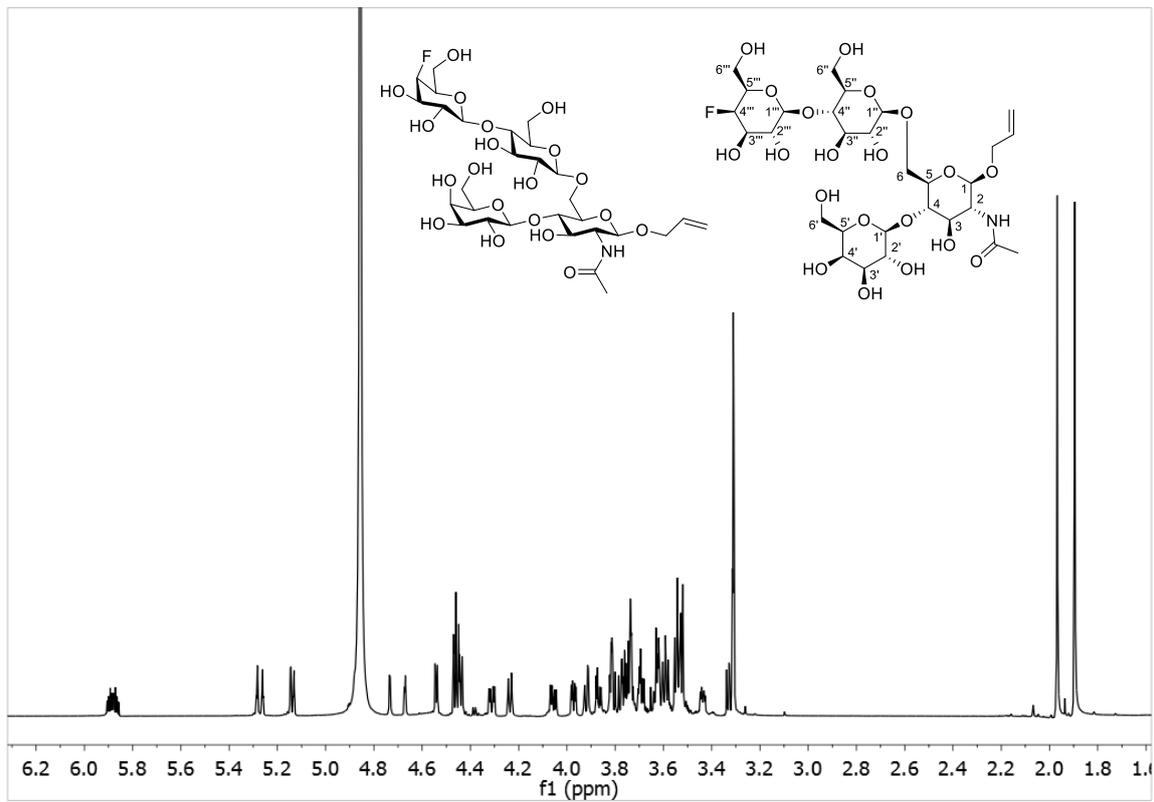


HSQC-NMR der Verbindung 3 in deuteriertem Methanol.

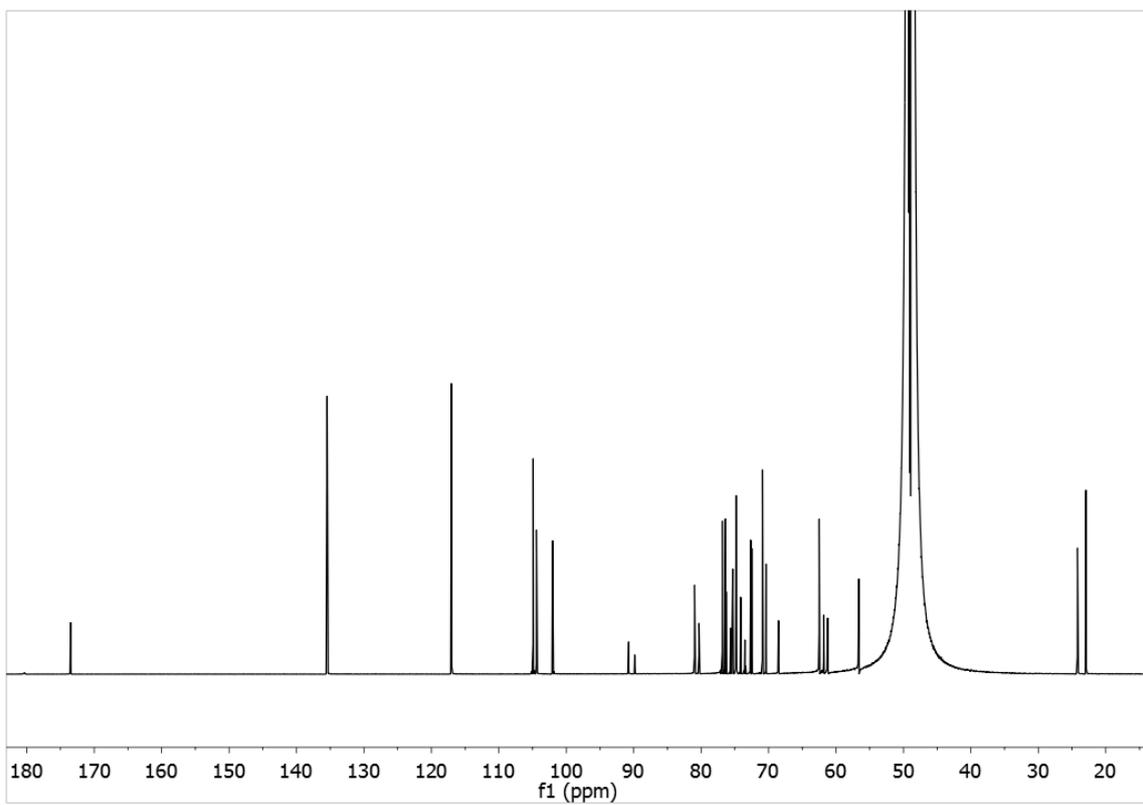


HMBC-NMR der Verbindung 3 in deuteriertem Methanol.

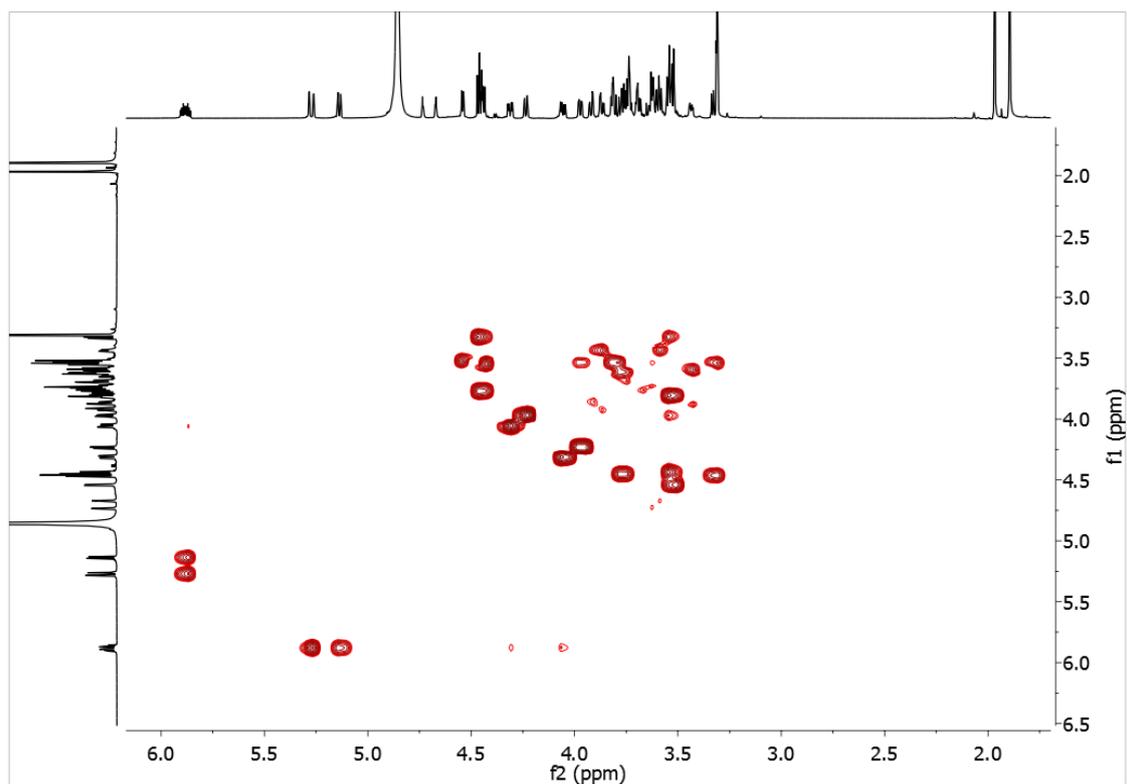
**Allyl-desoxy-2-*N*-acetamido-4-*O*-( $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-(4''-*O*-{4'''-desoxy-4'''}-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl}- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (5)**



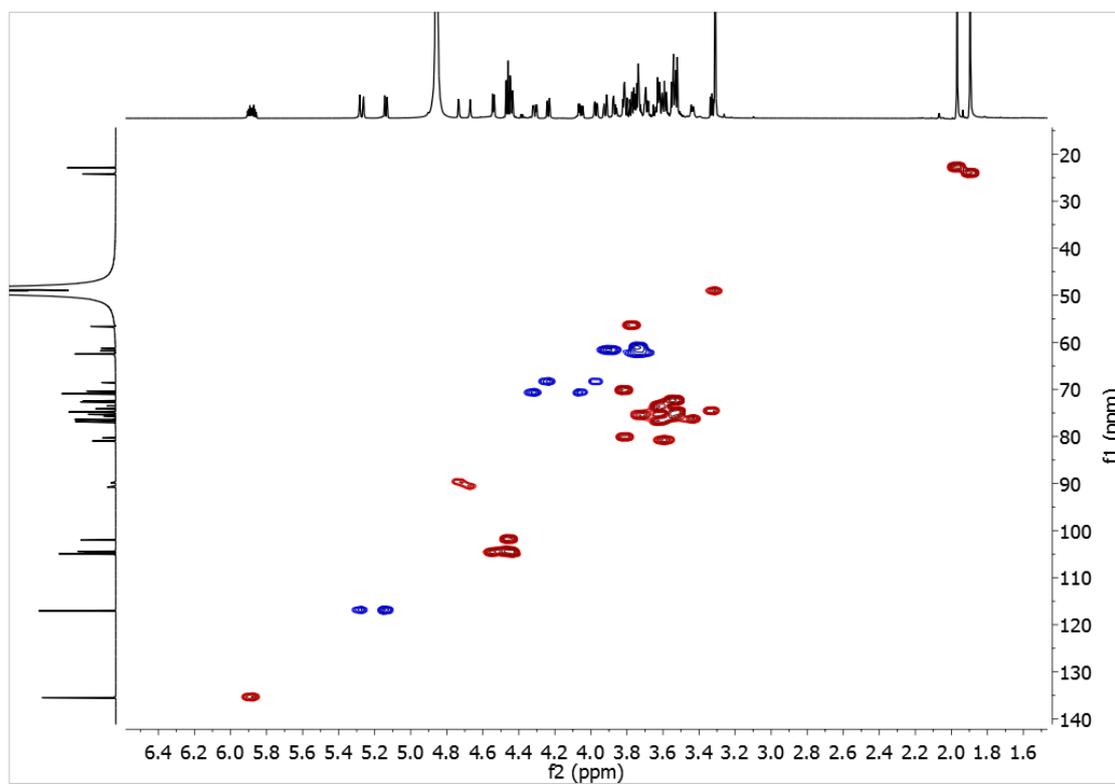
**<sup>1</sup>H-NMR der Verbindung 5 in deuteriertem Methanol.**



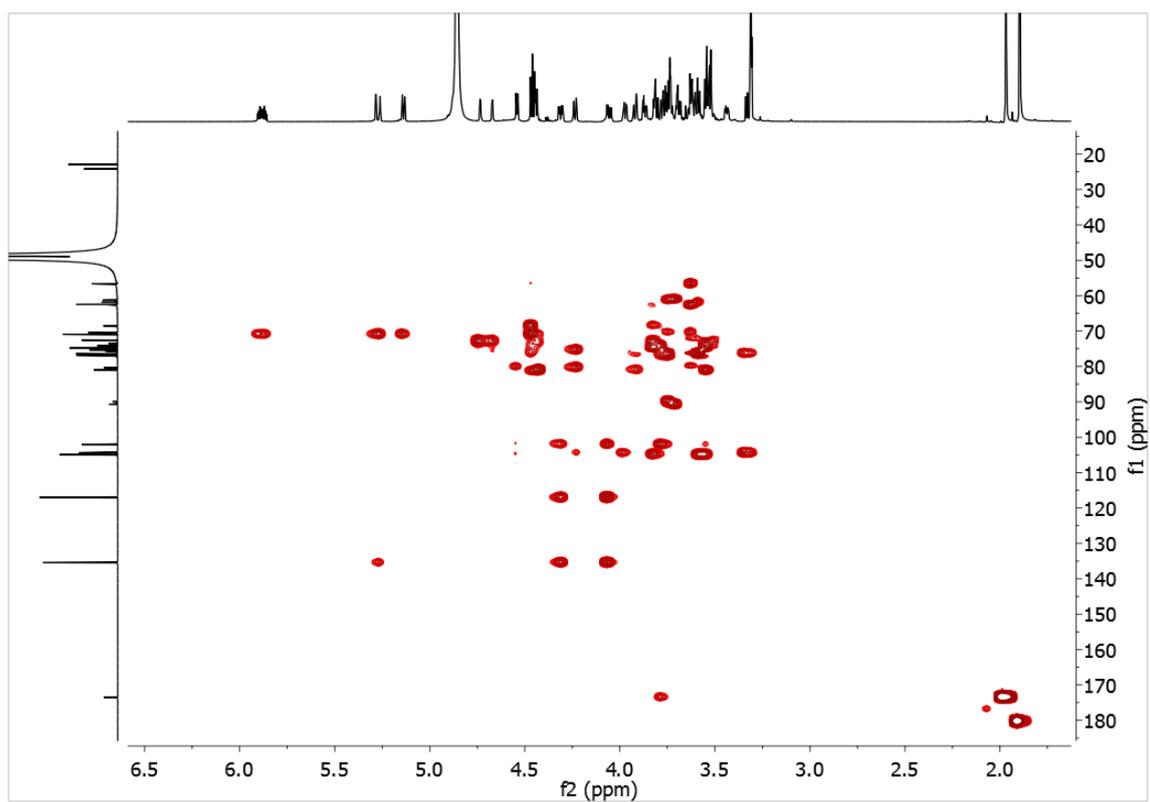
**<sup>13</sup>C-NMR der Verbindung 5 in deuteriertem Methanol.**



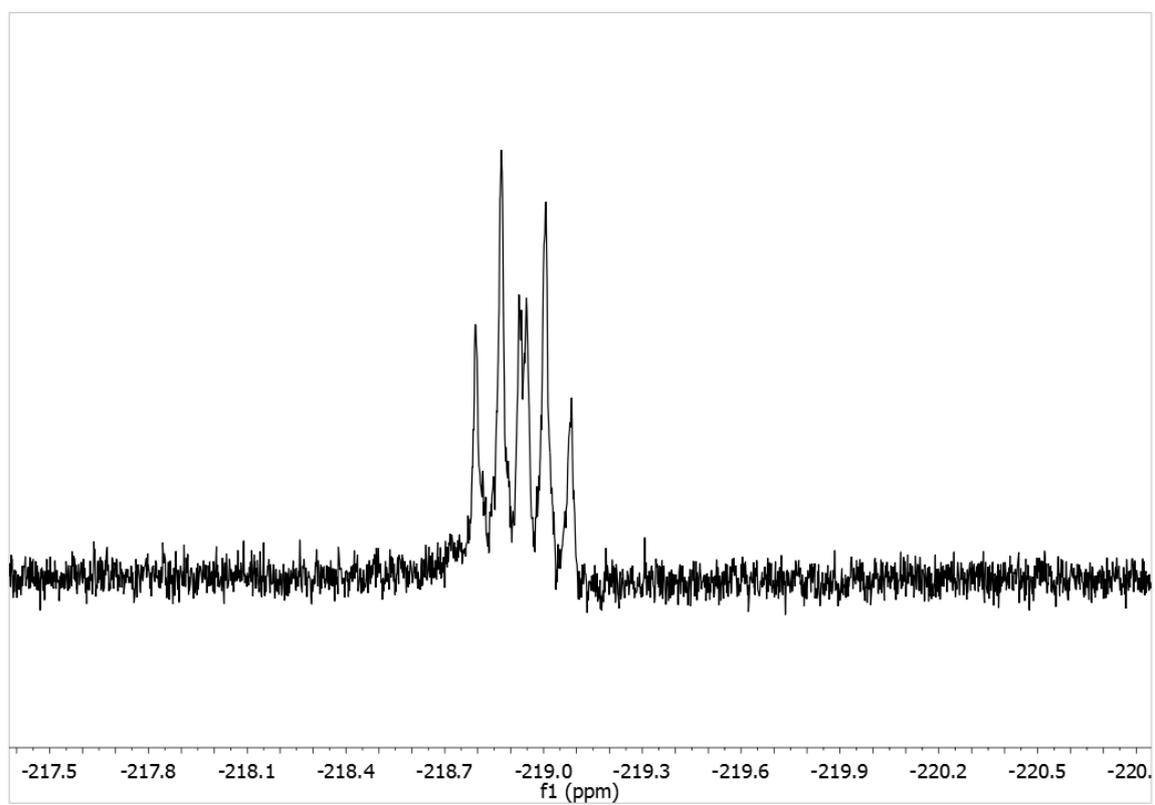
COSY-NMR der Verbindung 5 in deuteriertem Methanol.



HSQC-NMR der Verbindung 5 in deuteriertem Methanol.

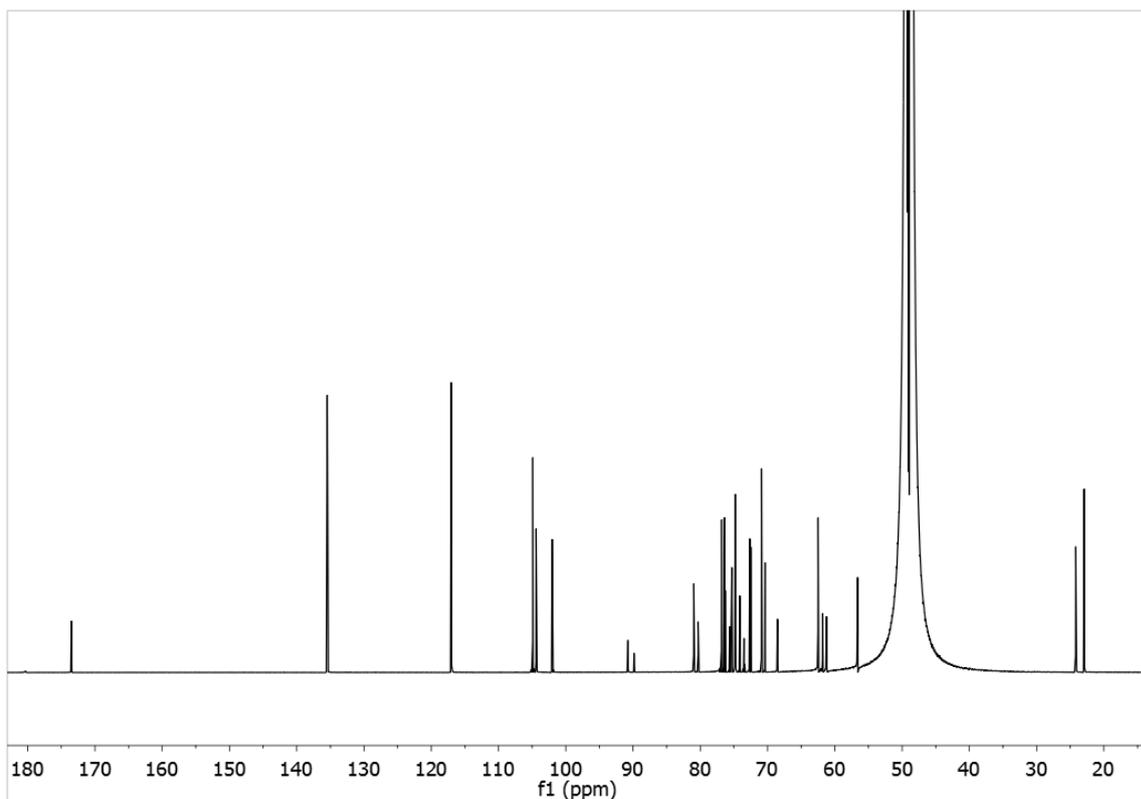
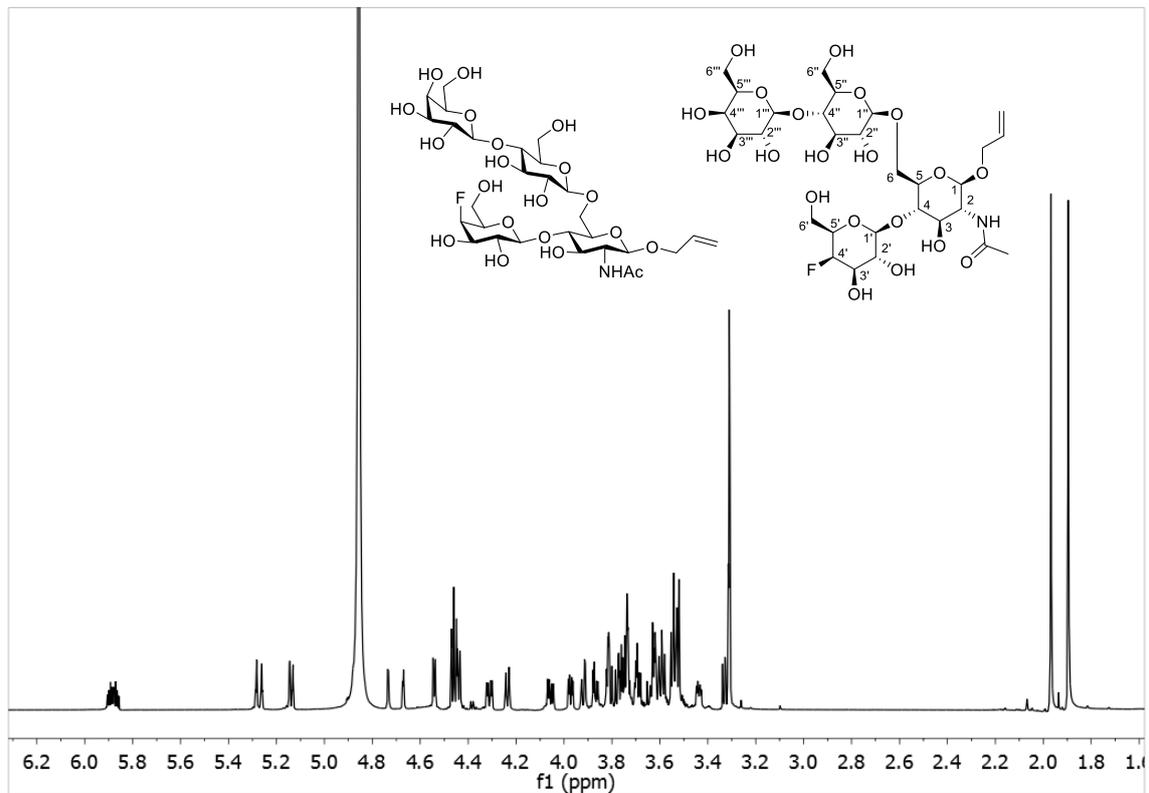


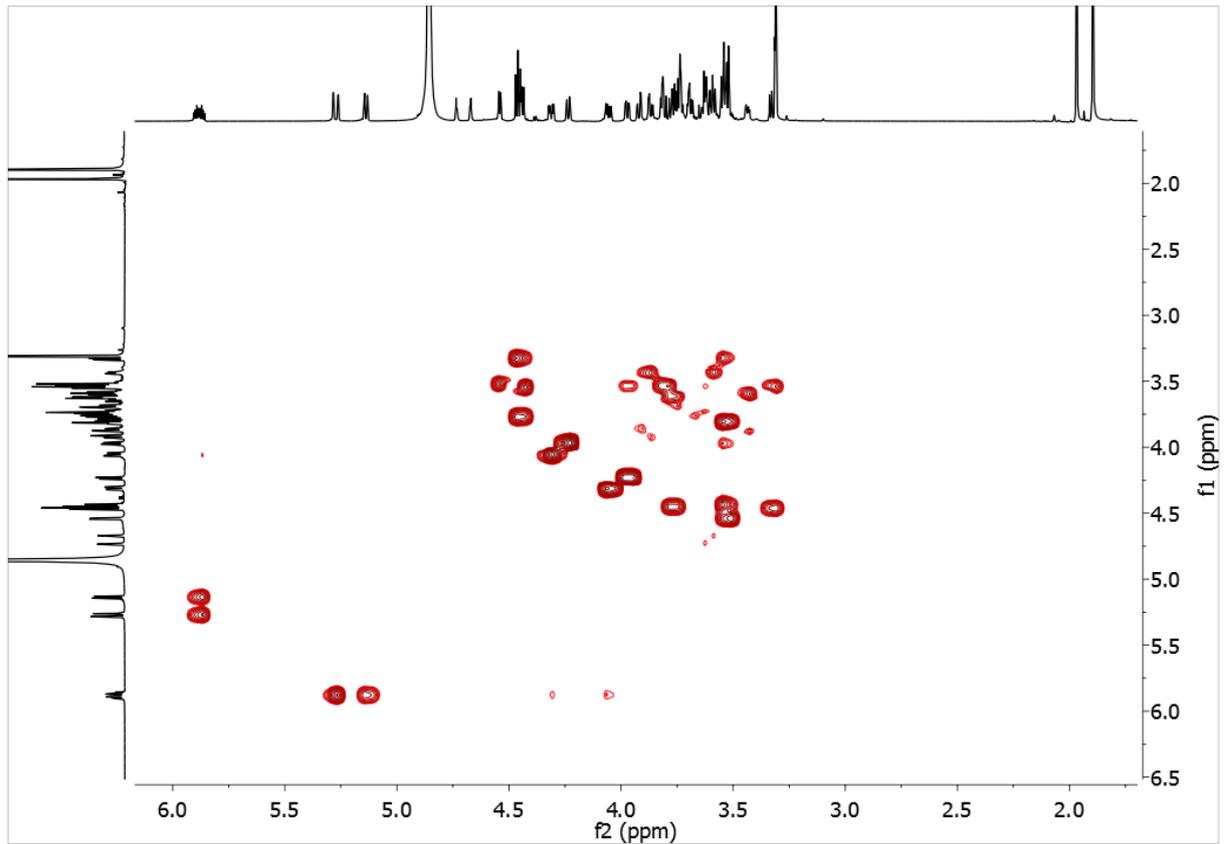
HMBC-NMR der Verbindung 5 in deuteriertem Methanol.



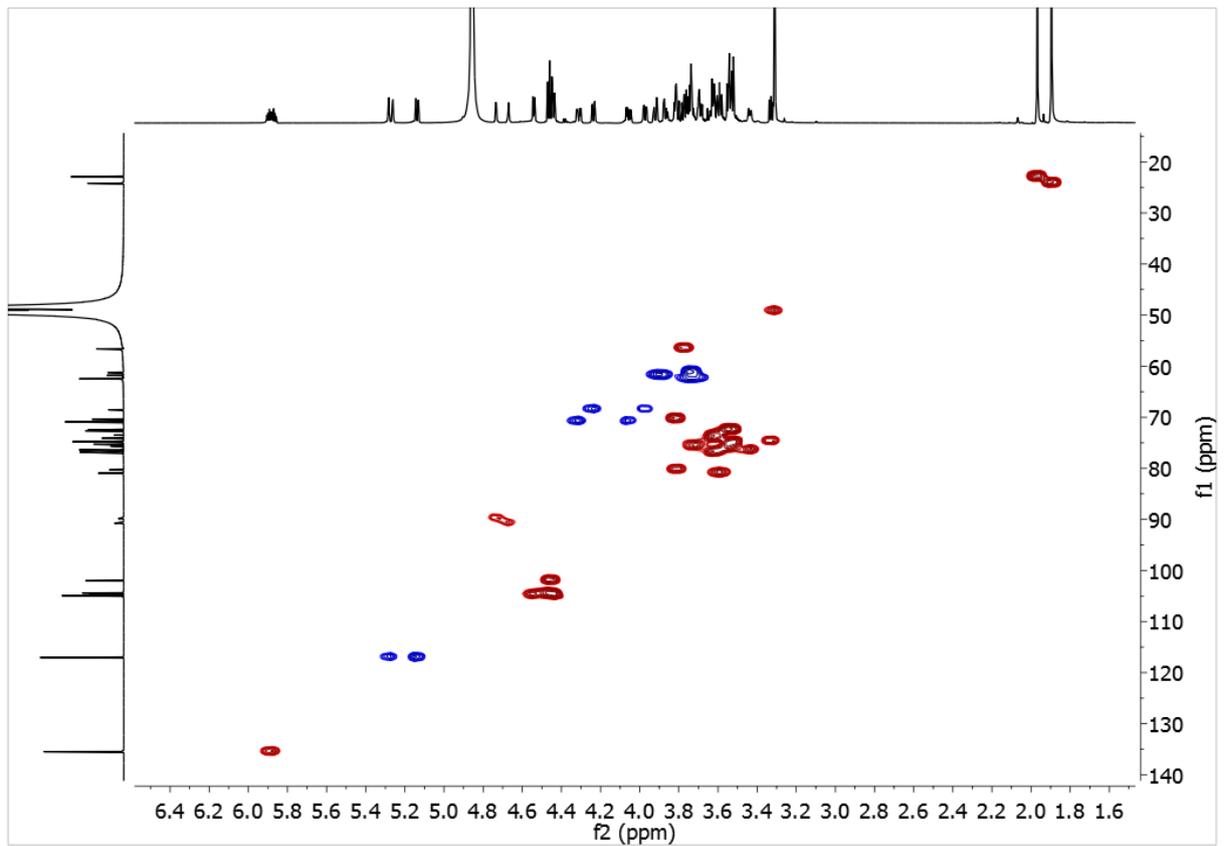
<sup>19</sup>F-NMR der Verbindung 5 in deuteriertem Methanol.

**Allyl-2-desoxy-2-*N*-acetamido-4-*O*-(4'-desoxy-4'-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-(4''-*O*- $\{\beta$ -D-galactopyranosyl}- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (6)**

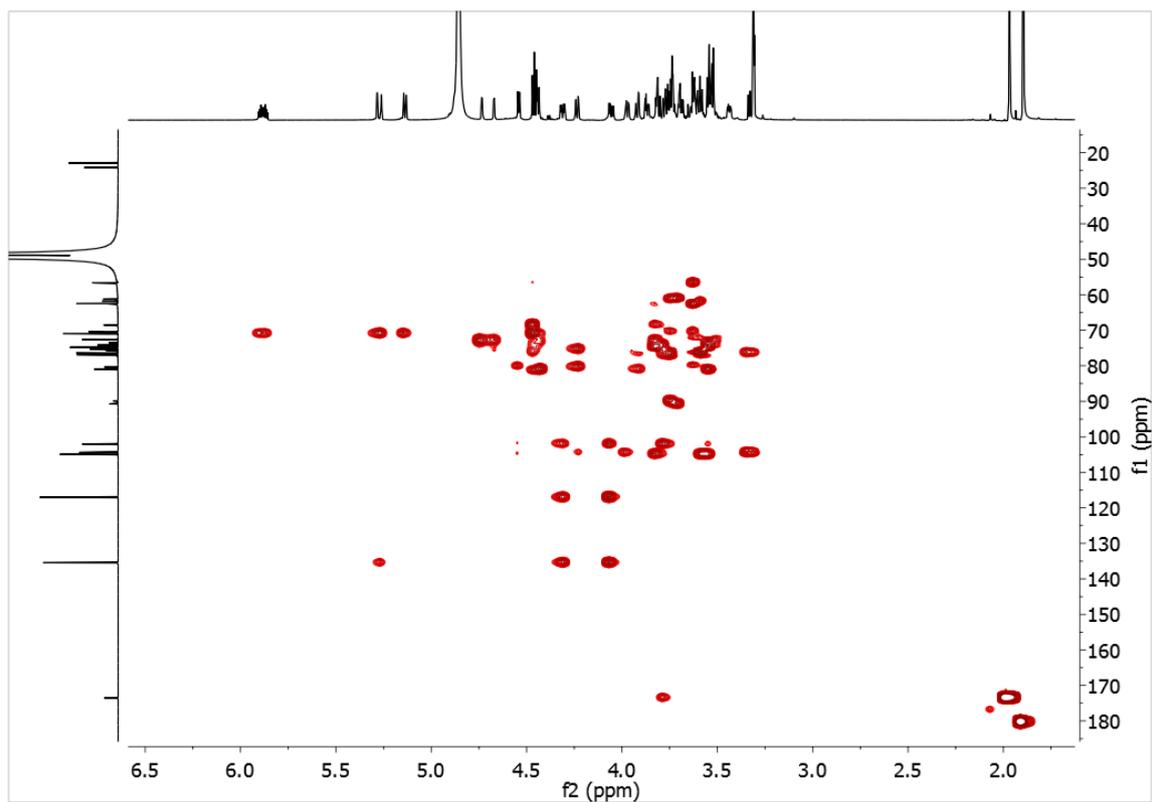




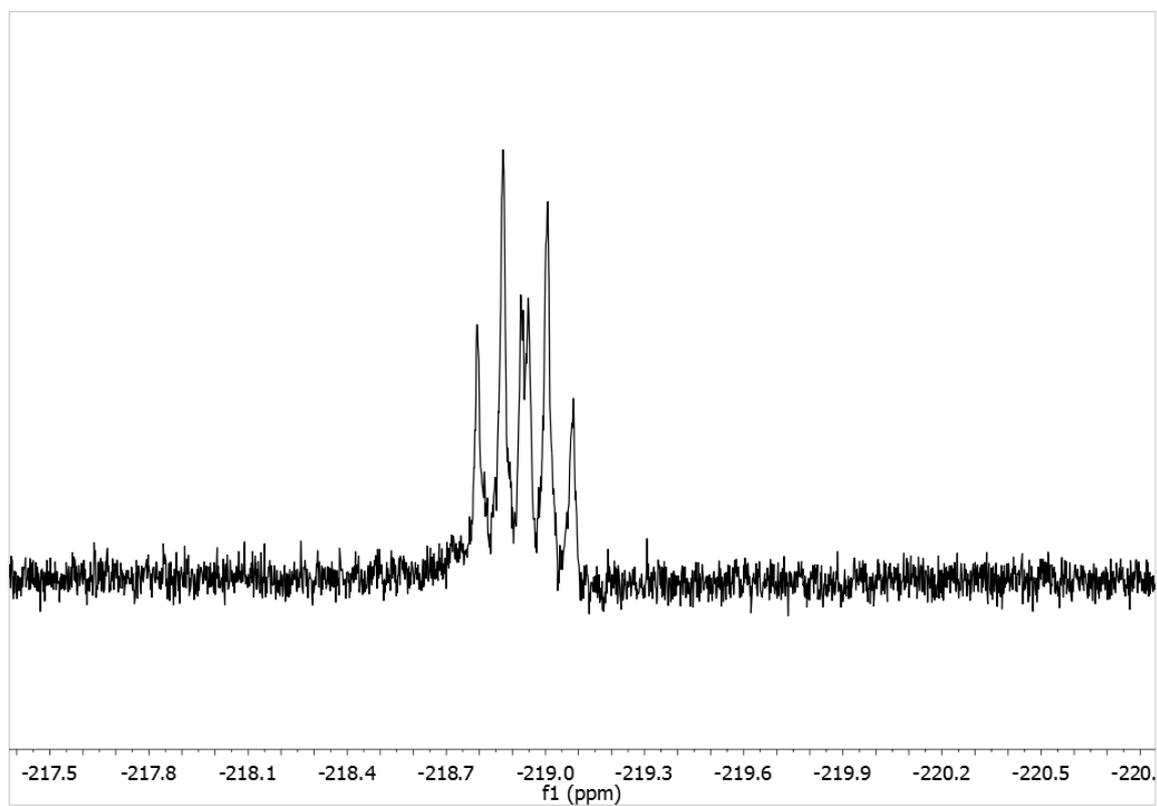
COSY-NMR der Verbindung 6 in deuteriertem Methanol.



HSQC-NMR der Verbindung 6 in deuteriertem Methanol.

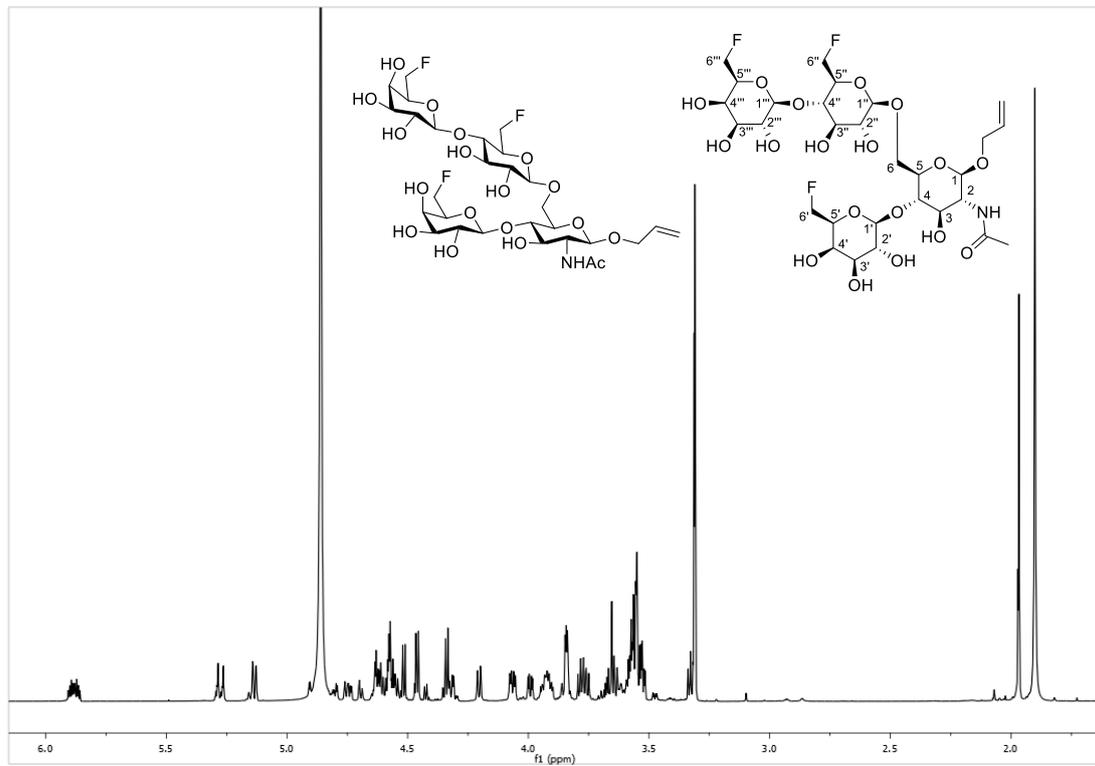


HMBC-NMR der Verbindung 6 in deuteriertem Methanol.

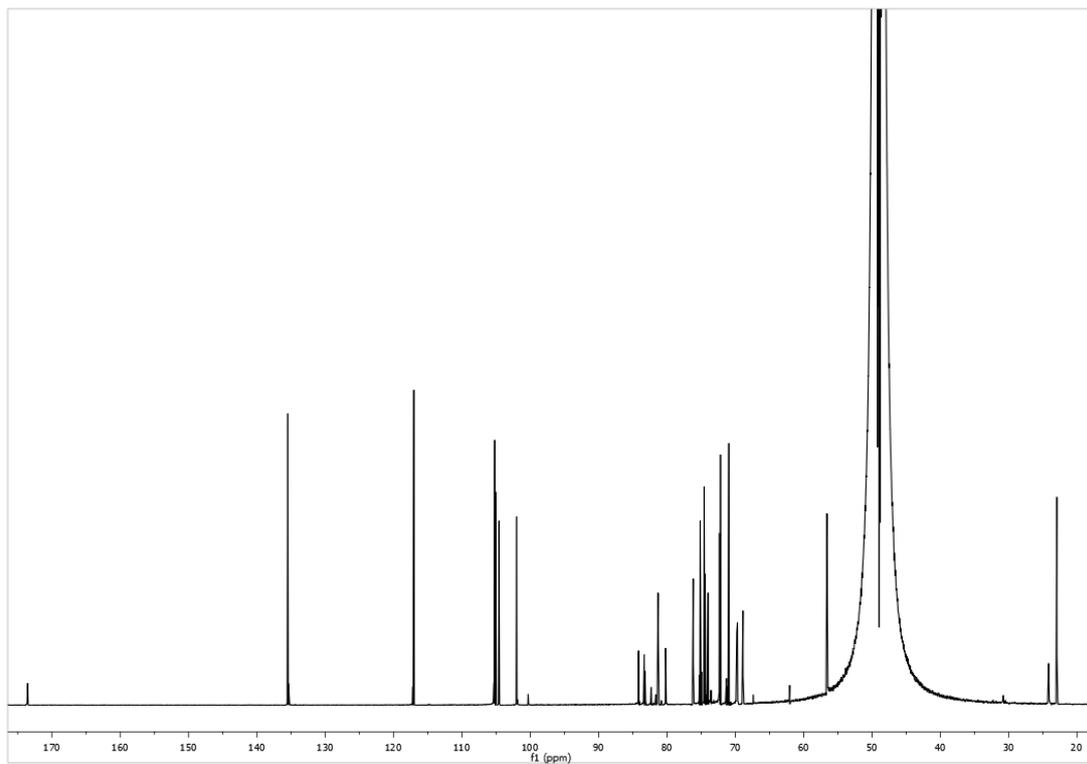


$^{19}\text{F}$ -NMR der Verbindung 6 in deuteriertem Methanol.

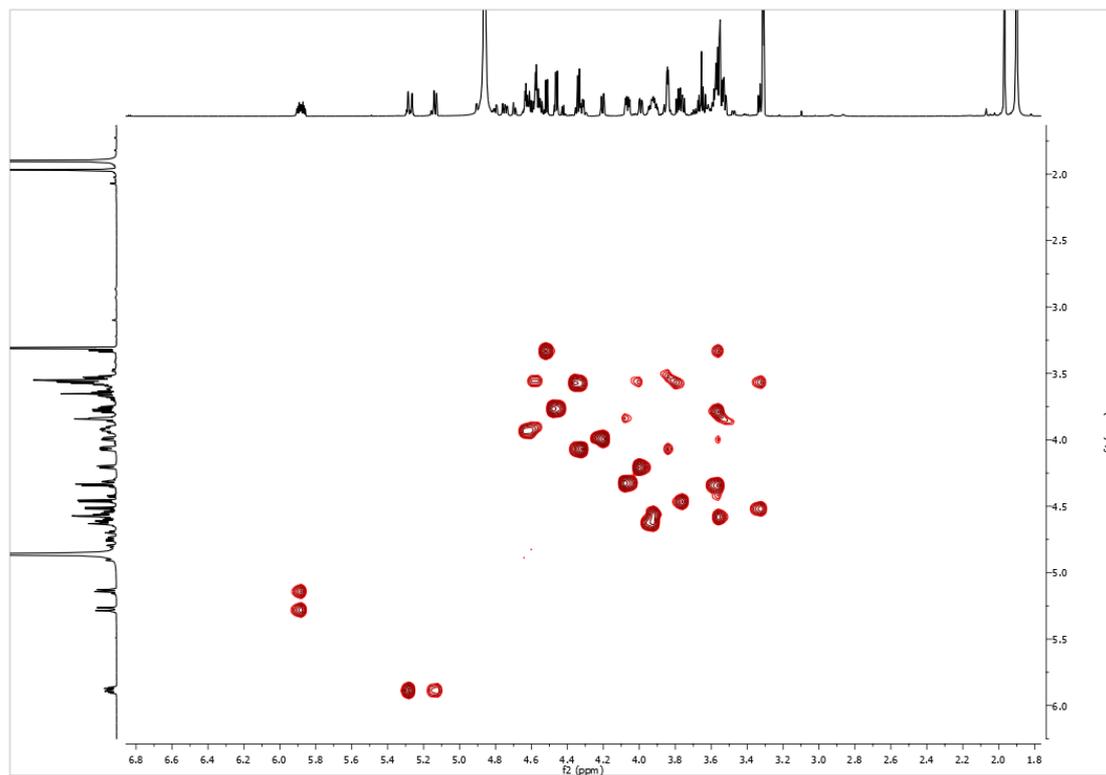
**Allyl-2-desoxy-2-*N*-acetamido-4-*O*-(6'-desoxy-6'-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-6-*O*-(4''-*O*-{6'''-desoxy-6'''-fluor- $\beta$ -D-galactopyranosyl}-6''-desoxy-6''-fluor- $\beta$ -D-glucopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (4)**



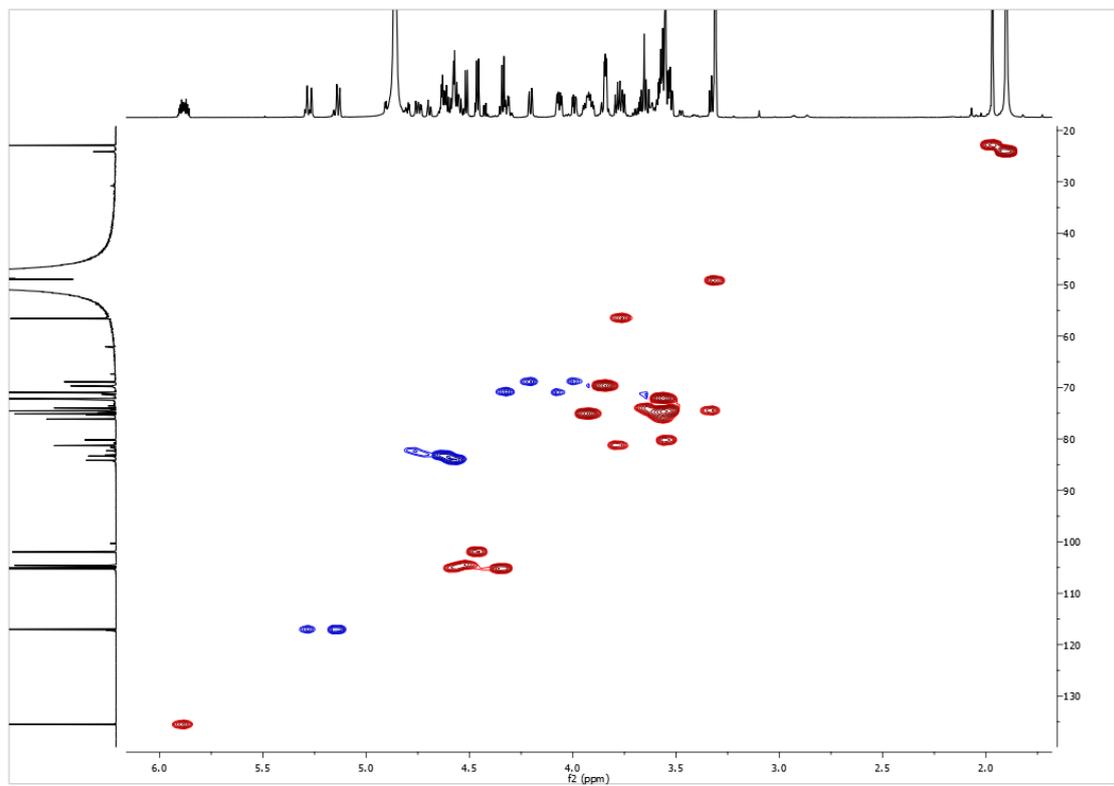
**<sup>1</sup>H-NMR der Verbindung 4 in deuteriertem Methanol.**



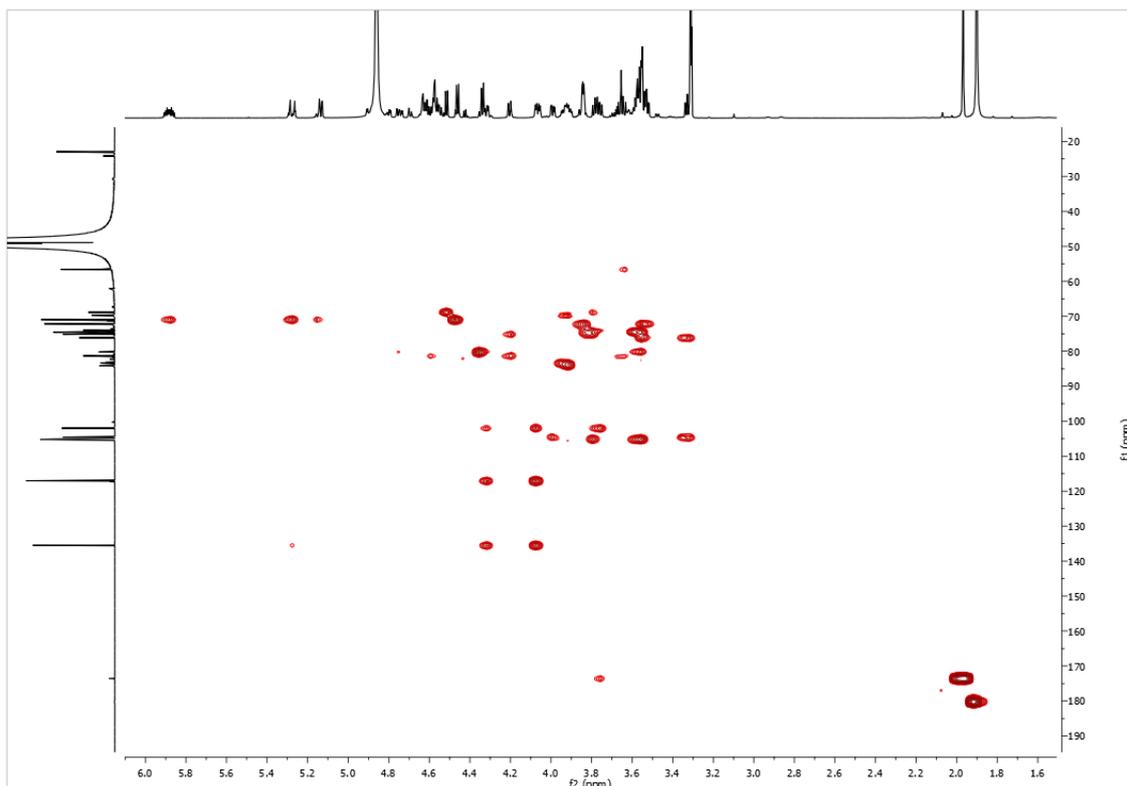
**<sup>13</sup>C-NMR der Verbindung 4 in deuteriertem Methanol.**



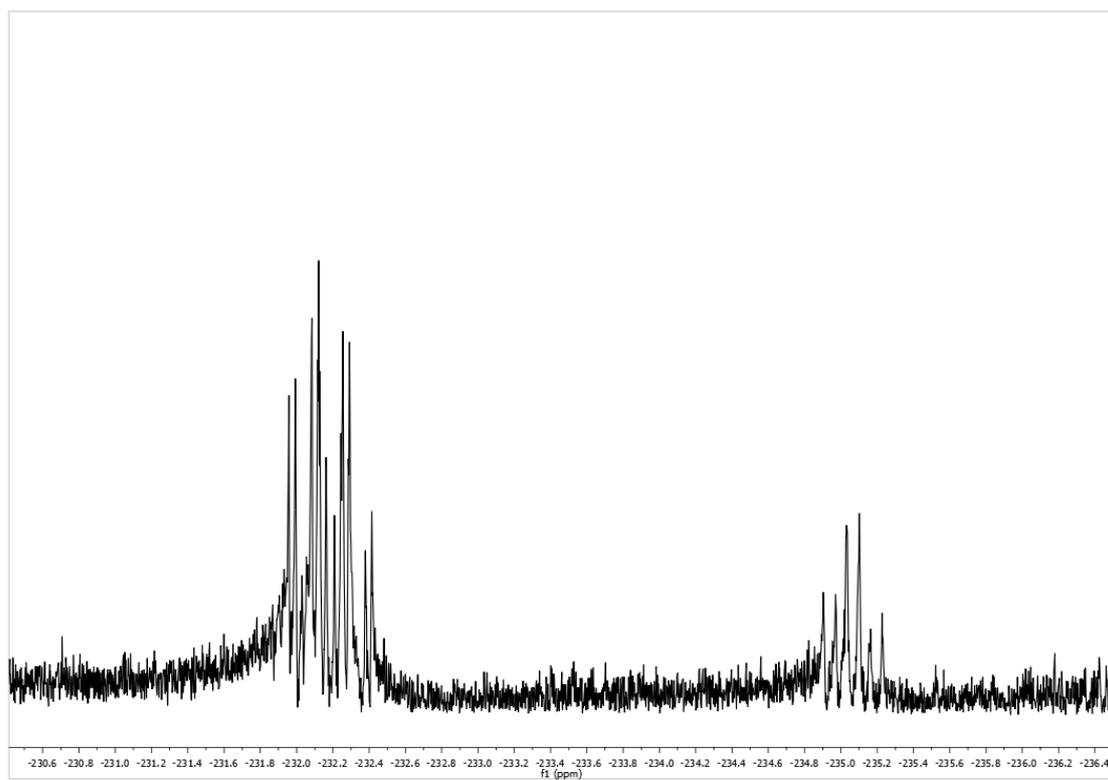
COSY-NMR der Verbindung 4 in deuteriertem Methanol.



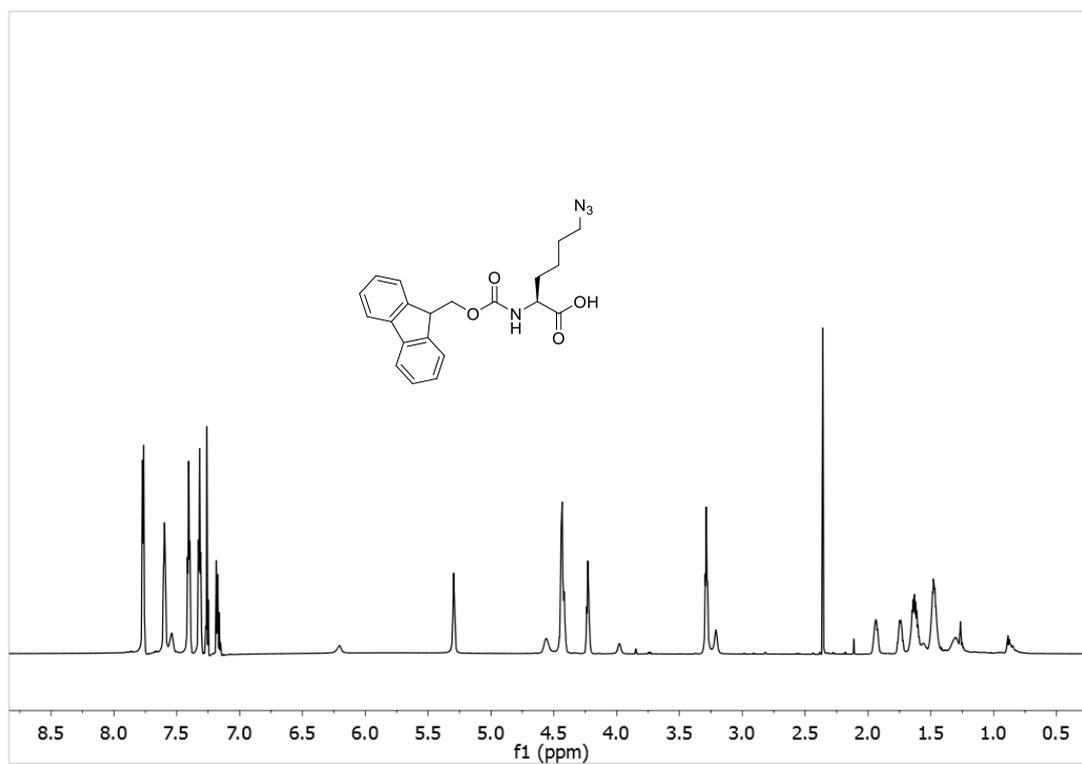
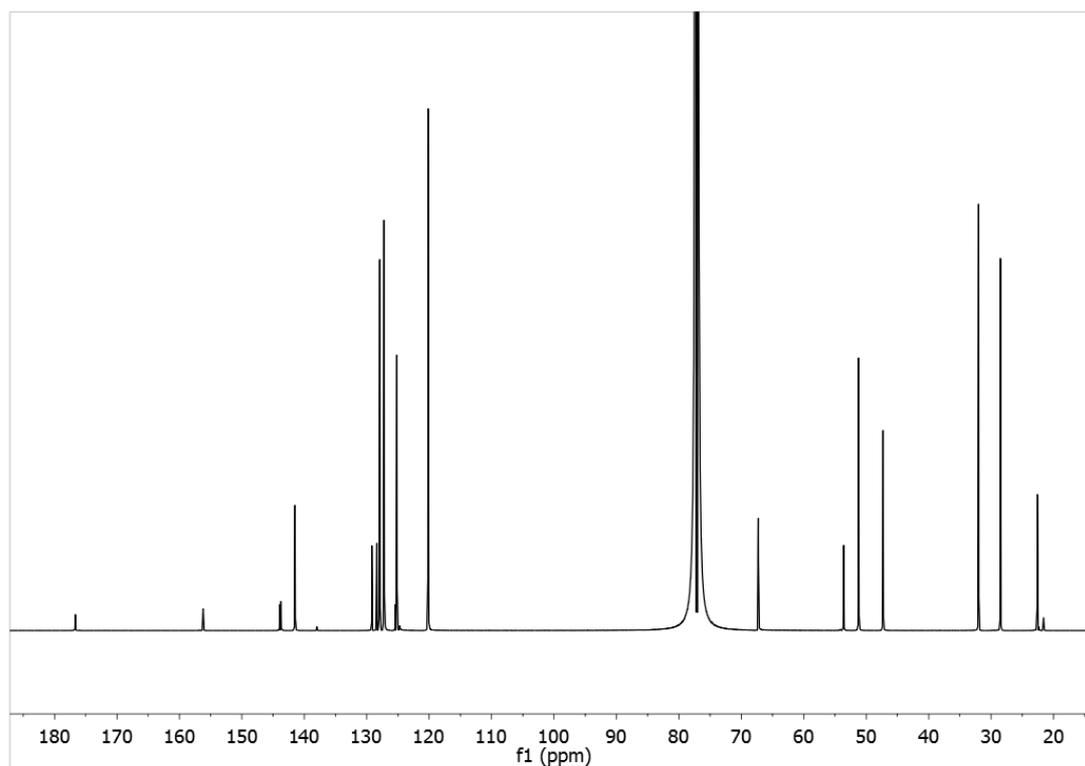
HSQC-NMR der Verbindung 4 in deuteriertem Methanol.

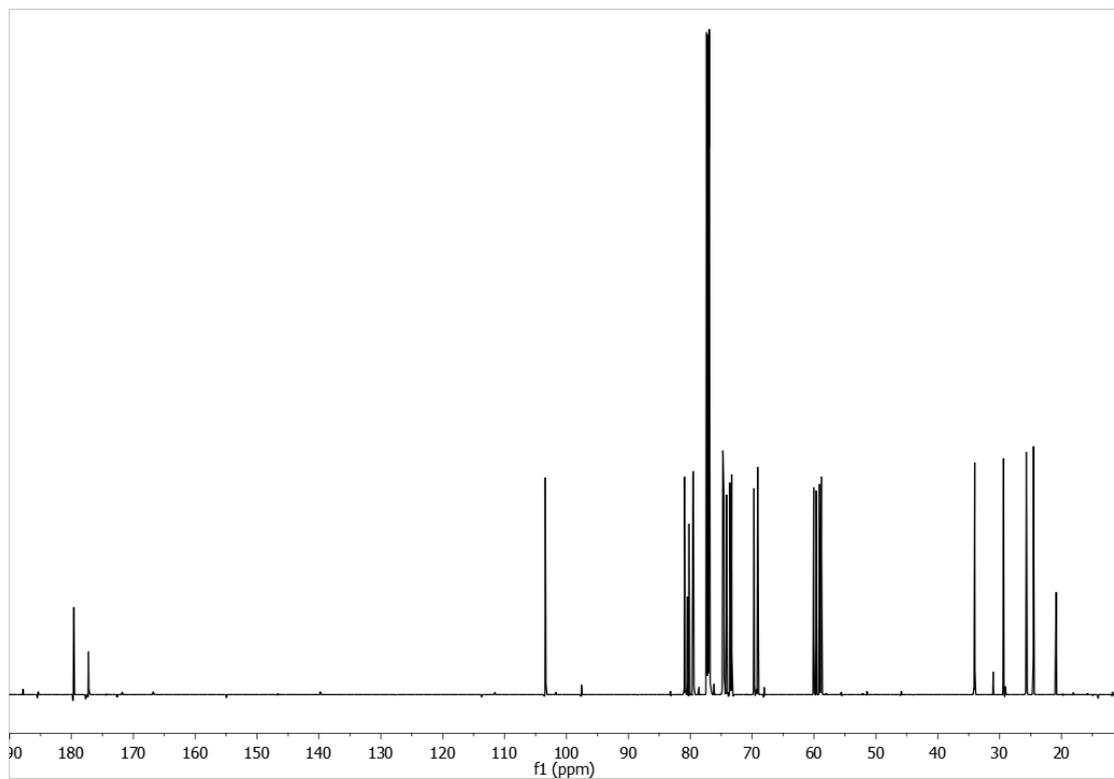
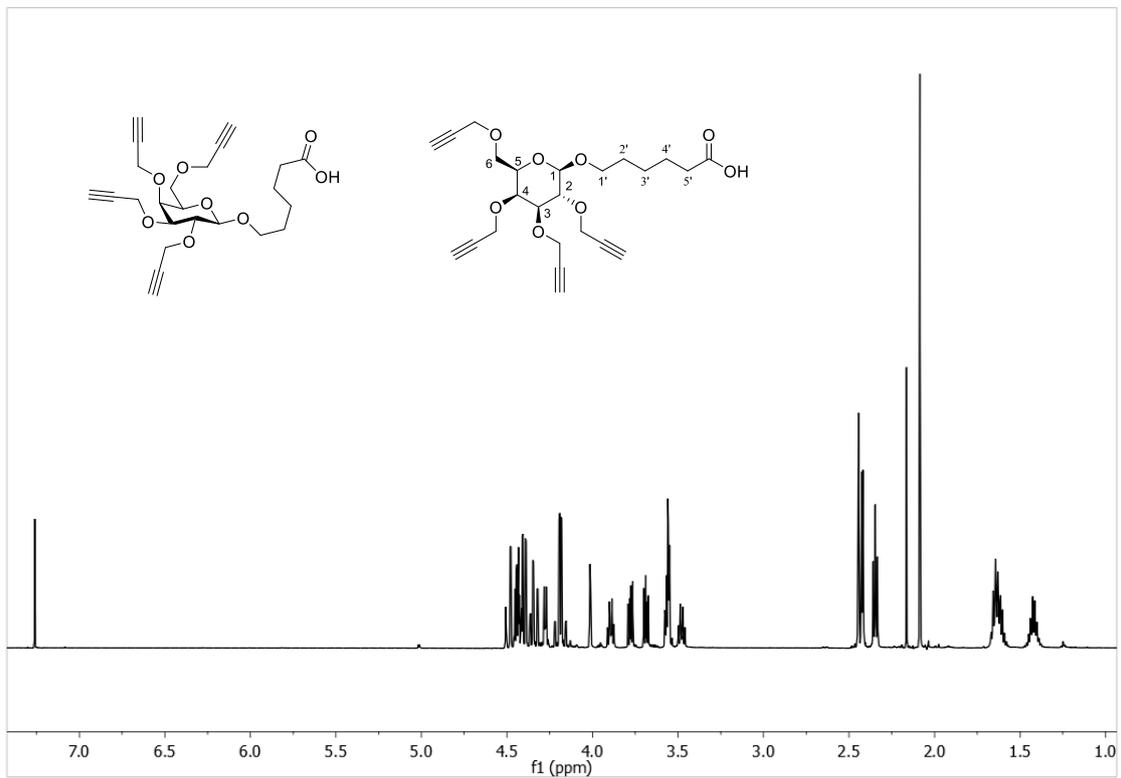


HMBC-NMR der Verbindung 4 in deuteriertem Methanol.

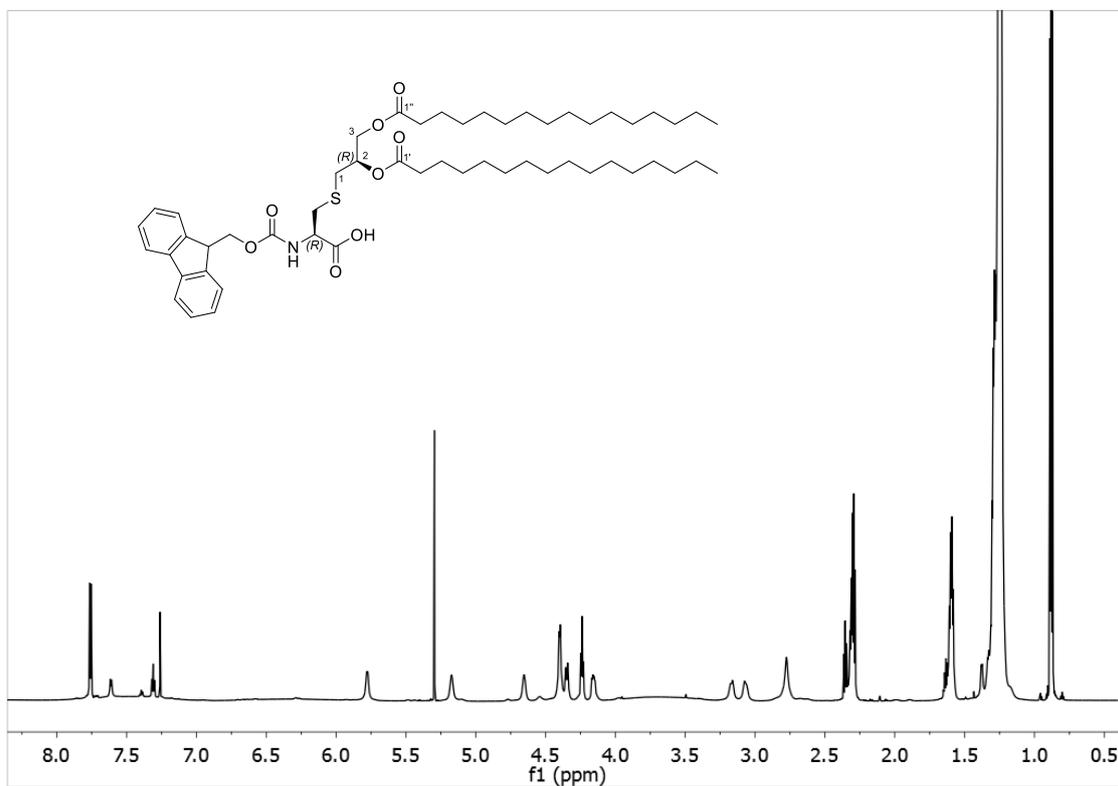


<sup>19</sup>F-NMR der Verbindung 4 in deuteriertem Methanol.

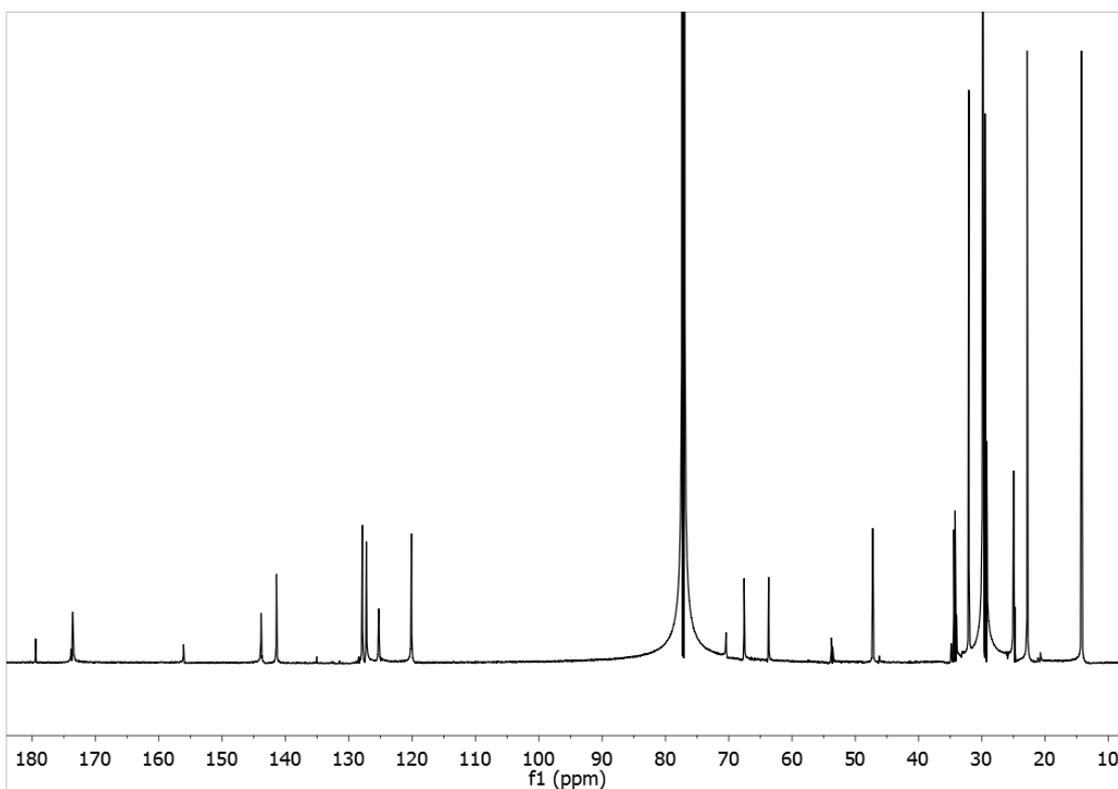
***N*-(9*H*-fluorenylmethoxycarbonyl)- $\epsilon$ -azido-L-Norleucin (59)** **$^1\text{H-NMR}$  der Verbindung 59 in deuteriertem Chloroform.** **$^{13}\text{C-NMR}$  der Verbindung 59 in deuteriertem Chloroform.**

**5-Ethoxycarboxypentyl-2,3,4,6-tetra-*O*-propargyl- $\beta$ -D-galactopyranosid (60)**

***N*-(9*H*-fluorenylmethoxycarbonyl)-*S*-[2,3-bis(palmitoyloxy)-(2*R*)-propyl]-(*R*)-Cystein**  
**(61)**

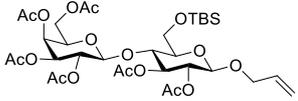
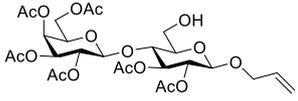
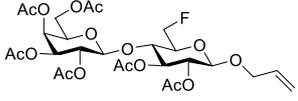
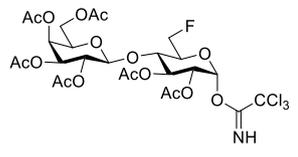
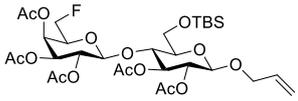
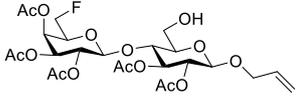
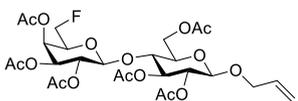
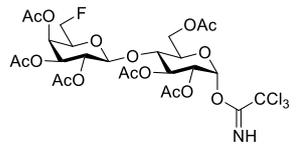
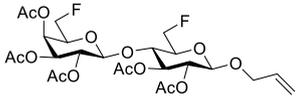
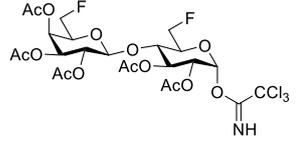
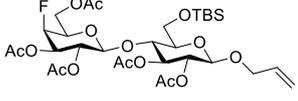


**<sup>1</sup>H-NMR der Verbindung 61 in deuteriertem Chloroform.**

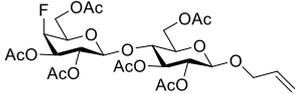
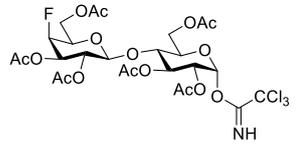
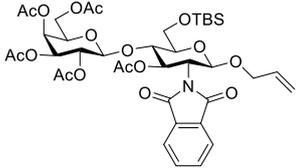
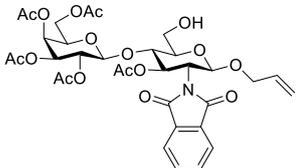
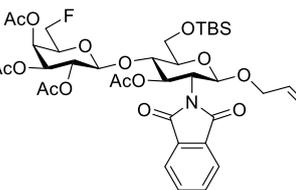
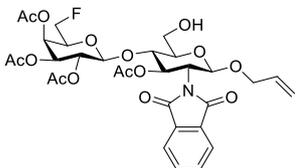
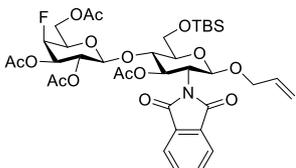
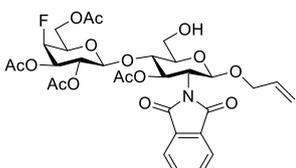


**<sup>13</sup>C-NMR der Verbindung 61 in deuteriertem Chloroform.**

## 7.2 Übersicht aller synthetisierten Literatur-unbekannten Moleküle

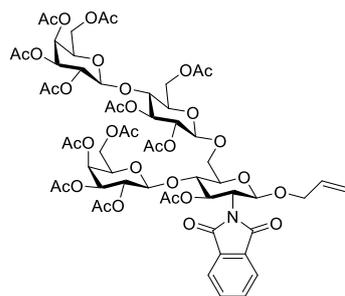
Struktur	Verbindung	Seite
	(44)	106
	(45)	107
	(10)	108
	(41)	109
	(46)	110
	(47)	111
	(9)	112
	(40)	113
	(11)	115
	(42)	116
	(48)	117

---

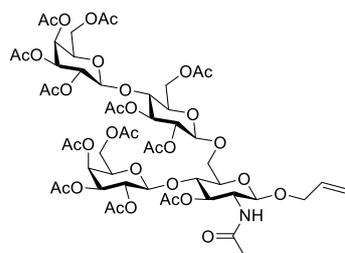
	(12)	118
	(43)	119
	(49)	121
	(13)	122
	(50)	123
	(14)	124
	(51)	125
	(15)	126

---

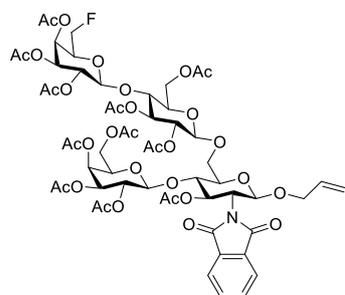
---

**(52a)**

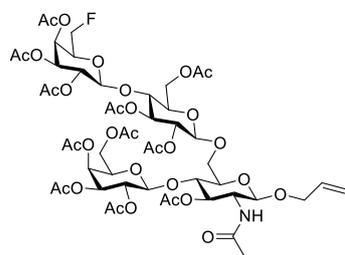
128

**(52b)**

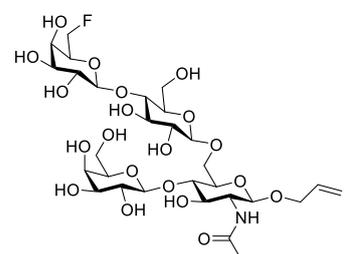
129

**(56a)**

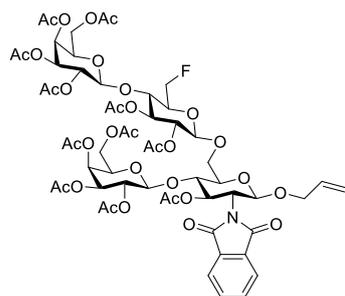
132

**(56b)**

133

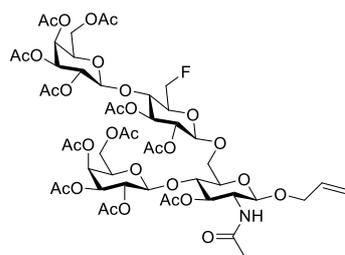
**(1)**

135



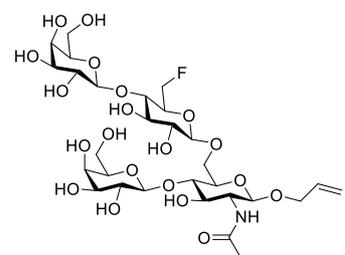
(55a)

136



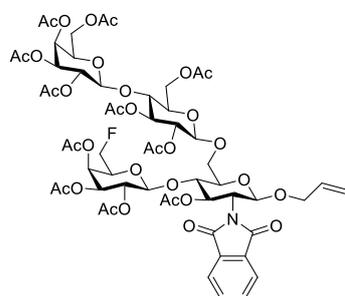
(55b)

137



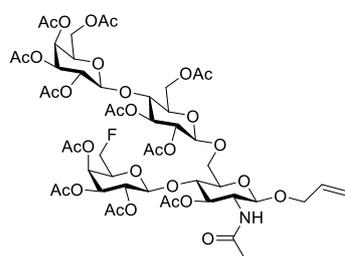
(2)

139



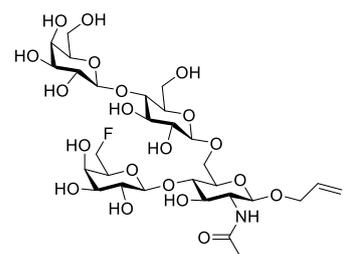
(53a)

140



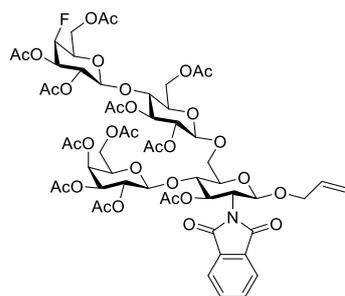
(53b)

142



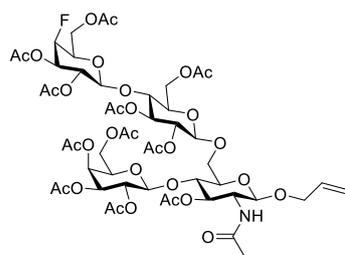
(3)

143



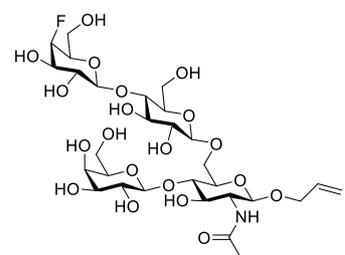
(57a)

144



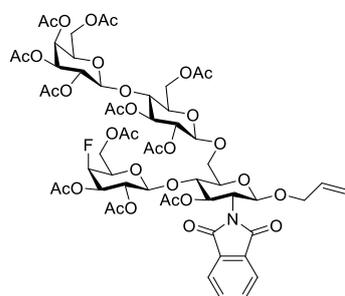
(57b)

146



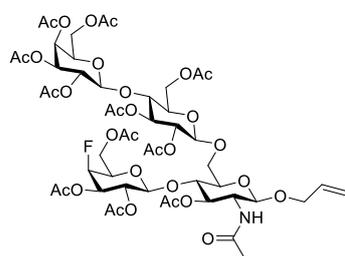
(5)

147



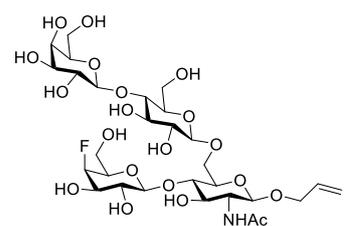
(54a)

148



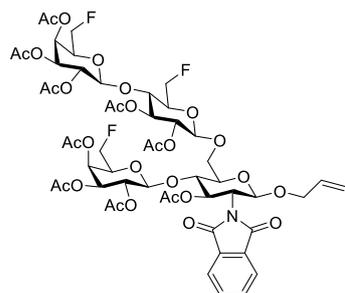
(54b)

150

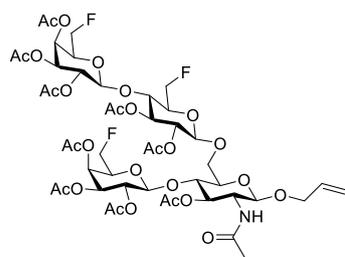


(6)

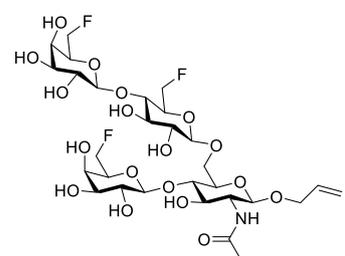
151

**(58a)**

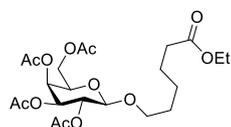
153

**(58b)**

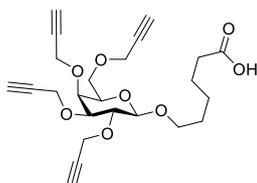
154

**(4)**

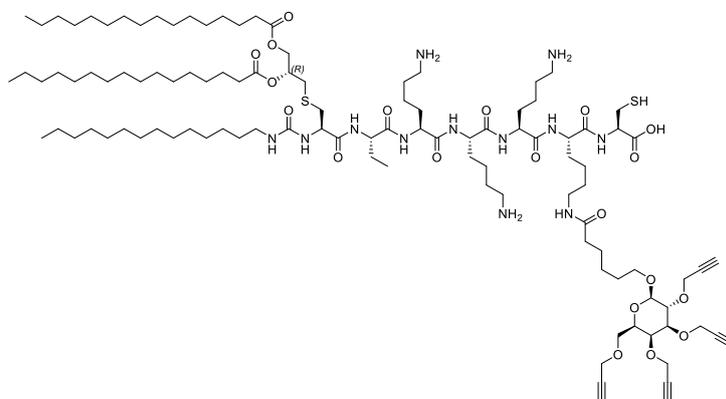
156

**(64)**

160

**(60)**

161

**(7)**

170