

**Effiziente Methoden zur
chemo-enzymatischen Synthese von
komplexen *N*-Glycanen des bisecting-Typs**

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Naturwissenschaften

(Dr. rer. nat.)

der Fakultät für Biologie, Chemie und Geowissenschaften

der Universität Bayreuth

vorgelegt von

Steffen Eller

aus Großheirath

Bayreuth 2008

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Biologie, Chemie und Geowissenschaften der Universität Bayreuth genehmigten Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.).

Die Arbeiten zur vorliegenden Dissertation wurden in der Zeit von Januar 2005 bis Juli 2008 am Lehrstuhl für Bioorganische Chemie der Universität Bayreuth unter der Leitung von Prof. Dr. Carlo Unverzagt durchgeführt.

Die Arbeiten zur enzymatischen Elongation der synthetisierten *N*-Glycane durch Glycosyltransferasen wurden in der Zeit von April 2008 bis Juni 2008 im Core D (Glycan Array Synthesis) des Consortium for Functional Glycomics (CFG) am Scripps Research Institute, Department of Chemical Physiology and Molecular Biology in La Jolla, Kalifornien, USA unter Leitung von Prof. James C. Paulson durchgeführt.

Einreichung der Dissertation: 29.10.2008

Annahme der Dissertation: 11.11.2008

Tag des wissenschaftlichen Kolloquiums: 02.03.2009

Prüfungsausschuss:

Erstgutachter: Prof. Dr. C. Unverzagt

Zweitgutachter: Prof. Dr. R. Schobert

Vorsitzender: Prof. Dr. H. G. Alt

Prof. Dr. F. X. Schmid

Inhalt

Abkürzungsverzeichnis	6
1. Einführung	10
1.1 Allgemeines.....	10
1.2 Biosynthese von <i>N</i> -Glycanen	11
1.3 Funktion der Core-Modifikationen: bisecting-GlcNAc und Core-Fucose.....	17
1.4 Chemische Herstellung von <i>N</i> -Glycanen	19
2. Themenstellung und Syntheseplanung	22
3. Chemische Synthese von <i>N</i> -Glycanen.....	24
3.1 Synthese von pentaantennären <i>N</i> -Glycanen des bisecting-Typs mit Core-Fucose	24
3.1.1 Synthese der Thioglycosiddonoren 2 und 12	26
3.1.2 Synthese von pentaantennären <i>N</i> -Glycanen mit bisecting-GlcNAc.....	28
3.1.3 Modifizierung der 2,4,6-verzweigten Antennenbausteine	30
3.1.4 Glycosylierungen mit trifluoracetamidgeschützten Tetrasacchariddonoren.....	32
3.1.5 Einführung der Core-Fucose	34
3.2 Verwendung von trifluoracetamidgeschützten Donoren zur Synthese von biantennären <i>N</i> -Glycanen des bisecting-Typs	36
3.2.1 Synthese eines trifluoracetamidgeschützten GlcNAc-Man-Donors	37
3.2.2 Einführung des α -1,3-Arms	39
3.2.3 Einführung des α -1,6-Arms	43
3.2.4 Nachträgliche Einführung eines bisecting-GlcNAc-Rests in biantennäre <i>N</i> -Glycane.	46
3.3 Synthese von verzweigten trifluoracetamidgeschützten Donoren	47
3.3.1 Synthese des 2,6-verzweigten Donors 55	49
3.3.2 Synthese des 2,4-verzweigten Donors 64	50
3.3.3 Synthese von 2,4,6-verzweigten Donoren.....	53
3.4 Synthesen der höher verzweigten komplexen <i>N</i> -Glycane des bisecting-Typs	54
3.4.1 Synthese eines 2,6-verzweigten triantennären <i>N</i> -Glycans des bisecting-Typs	55
3.4.2 Synthese eines 2,4-verzweigten <i>N</i> -Glycans des bisecting-Typs	56
3.4.3 Synthese des tetraantennären <i>N</i> -Glycans des bisecting-Typs	59
3.5 Sequentielle Einführung von α -1,6-Arm und bisecting-GlcNAc in regio- und stereoselektiven Eintopfreaktionen	60
3.6 Vergleich der unterschiedlichen Synthesestrategien für bisected <i>N</i> -Glycane.....	65

3.7	Synthese von <i>N</i> -Glycanen des Hybridtyps.....	67
3.8	Untersuchungen zur Regioselektivität an einer ungeschützten β -Mannose des Core-Trisaccharids	69
4.	Entschützung und Funktionalisierung der synthetischen <i>N</i> -Glycane.....	71
4.1	Vollständige Entschützung.....	71
4.2	Derivatisierung der <i>N</i> -Glycane für die Anknüpfung an Glycochips.....	75
5.	Enzymatische Glycosylierungen	78
5.1	Enzymatische Galactosylierungen	78
5.2	Enzymatische Sialylierungen	82
5.2.1	Enzymatische α -2,3-Sialylierungen.....	82
5.2.2	Enzymatische α -2,6-Sialylierungen.....	84
6.	Synthese von Glycosylaminosäuren.....	87
6.1	Synthese von Core-Trisaccharid-Asparaginkonjugaten.....	87
6.2	Synthese von Glycosylaminosäuren durch decarboxylative Kondensation.....	89
7.	Zusammenfassung	91
8.	Summary.....	94
9.	Experimenteller Teil.....	97
9.1	Allgemeine Arbeitstechniken und Lösungsmittel	97
9.2	Versuche zu Kapitel 3.1.1	100
9.3	Versuche zu Kapitel 3.1.2	106
9.4	Versuche zu Kapitel 3.1.3	110
9.5	Versuche zu Kapitel 3.1.4	114
9.6	Versuche zu Kapitel 3.1.5	120
9.7	Versuche zu Kapitel 3.2.1	125
9.8	Versuche zu Kapitel 3.2.2	130
9.9	Versuche zu Kapitel 3.2.3	140
9.10	Versuche zu Kapitel 3.2.4	149
9.11	Versuche zu Kapitel 3.3	152
9.12	Versuche zu Kapitel 3.3.1	157
9.13	Versuche zu Kapitel 3.3.2	161
9.14	Versuche zu Kapitel 3.3.3	171
9.15	Versuche zu Kapitel 3.4.1	177
9.16	Versuche zu Kapitel 3.4.2	182
9.17	Versuche zu Kapitel 3.4.3	192

9.18	Versuche zu Kapitel 3.5	199
9.19	Versuche zu Kapitel 3.7	204
9.20	Versuche zu Kapitel 3.8	208
9.21	Versuche zu Kapitel 4.1	210
9.22	Versuche zu Kapitel 4.2	230
9.23	Versuche zu Kapitel 5.1	236
9.24	Versuche zu Kapitel 5.2.1	244
9.25	Versuche zu Kapitel 5.2.2	252
9.26	Versuche zu Kapitel 6.1	260
9.27	Versuche zu Kapitel 6.2	267
10.	Danksagung	269
11.	Literatur	271

Abkürzungsverzeichnis

[α] _D	spezifischer Drehwert bei einer Wellenlänge von 589 nm
Å	Angström
Ac	Acetyl
Ac ₂ O	Essigsäureanhydrid
AcOH	Essigsäure
All	Allyl
Ar	Aromat
Asn	L-Asparagin
Asp	L-Asparaginsäure
ATP	Adenosintriphosphat
ax	axial
Bda	Butandiacetal
Boc	<i>tert.</i> Butyloxycarbonyl
br	<i>broad</i> , breit (NMR)
BSA	<i>bovine serum albumin</i> , Rinderserumalbumin
Bu	Butyl
Bz	Benzoyl
Bzdn	Benzyliden
Bzl	Benzyl
C=O	Carbonyl-Kohlenstoffatom
CAN	Cer(IV)-ammoniumnitrat
CIAP	<i>calf intestinal alkaline phosphatase</i>
COSY	<i>correlated spectroscopy</i>
CSA	Camphersulfonsäure
CTP	Cytidintriphosphat
CV	Säulenvolumen
d	Dublett (NMR) bzw. Tag(e)
Da	Dalton
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DC	Dünnschichtchromatographie, Dünnschichtchromatogramm
dd	doppeltes Dublett (NMR)
ddd	Dublett eines doppelten Dubletts (NMR)

δ	chemische Verschiebung (NMR)
DEPBT	3-(Diethoxyphosphoryloxy)-1,2,3-benzotriazin-4(3H)-on
DIPEA	<i>N</i> -Ethyl-diisopropylamin
DMAP	4-(<i>N,N</i> -Dimethylamino)-pyridin
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
E. C.	<i>enzyme commission</i>
eq	äquatorial (NMR), Äquivalent(e)
ER	endoplasmatisches Retikulum
ERAD	<i>endoplasmatic reticulum associated degradation</i>
ESI-MS	<i>electrospray ionisation mass spectrometry</i>
Et	Ethyl
Fmoc	9-Fluorenylmethoxycarbonyl
Fuc	L-Fucose
FucT	α -1,6-Fucosyltransferase
G I	α -1,2-Glucosidase I
G II	α -1,3-Glucosidase II
Gal	D-Galactose
GalT	β -1,3/ β -1,4-Galactosyltransferase
GDP	Guanosindiphosphat
gem	geminal
Glc	D-Glucose
GlcNAc	<i>N</i> -Acetyl-D-glucosamin
GlcNAcT I-VI	<i>N</i> -Acetylglucosaminyltransferasen I-VI
GT	α -1,3-Glucosyltransferase
h	Stunde
HMBC	<i>heteronuclear multiple bond correlation</i>
HMQC	<i>heteronuclear multiple quantum coherence</i>
HPLC	<i>high performance liquid chromatography</i>
HSQC	<i>heteronuclear single quantum coherence</i>
hST6Gal I	humane α -2,6-Sialyltransferase (rekombinant)
Hz	Hertz
IR	Infrarotspektroskopie
<i>J</i>	skalare Kopplung (NMR)

Abkürzungsverzeichnis

JMOD	<i>J-modulation experiment</i>
L	Liter
LC-MS	<i>liquid chromatography-mass spectrometry</i>
M	molar
m	Multipllett (NMR)
M I	α -1,2-Mannosidase I
M II	α -1,3- α -1,6-Mannosidase II
MALDI-TOF	<i>matrix assisted laser desorption ionisation - time of flight</i>
Man	D-Mannose
M _{ber}	berechnete Masse
Me	Methyl
MeNH ₂	Methylamin
MeOH	Methanol
M _{gef}	gefundenene Masse
min	Minute(n)
Mp	<i>para</i> -Methoxyphenyl
Mpm	<i>para</i> -Methoxybenzyl
<i>n</i>	<i>normal</i>
NeuAc	5- <i>N</i> -Acetylneuraminsäure
NHS	<i>N</i> -Hydroxysuccinimid
NIS	<i>N</i> -Iodsuccinimid
NMR	<i>nuclear magnetic resonance</i>
NOESY	<i>nuclear overhauser effect spectroscopy</i>
OST	Oligosaccharyltransferase
<i>p</i>	<i>para</i>
PfpOTFAc	Trifluoressigsäurepentafluorphenylester
Ph	Phenyl
Pht	Phthalimido
ppm	<i>parts per million</i>
<i>p</i> TosOH	<i>para</i> -Toluolsulfonsäure
q	Quartett
qC	quartärer Kohlenstoff
quant.	quantitativ
rel. Abs.	relative Absorption

Abkürzungsverzeichnis

R_f	Retentionsfaktor
RP	<i>reversed phase</i>
rST3Gal III	rekombinante α -2,3-Sialyltransferase (Ratte)
RT	Zimmertemperatur
s	Singulett (NMR)
Ser	L-Serin
SialT	α -2,3/ α -2,6-Sialyltransferase
<i>t, tert.</i>	<i>tertiär</i>
TBAB	Tetrabutylammoniumbromid
TCAI	Trichloracetimidat
TFA	Trifluoressigsäure
TFAc	Trifluoracetyl
(TFAc) ₂ O	Trifluoressigsäureanhydrid
TfOH	Trifluormethansulfonsäure
THF	Tetrahydrofuran
Thr	L-Threonin
TMSOTf	Trifluormethansulfonsäuretrimethylsilylester
TOCSY	<i>total correlation spectroscopy</i>
t_R	Retentionszeit
Tris·HCl	2-Amino-2-(hydroxymethyl)-1,3-propandiol-Hydrochlorid
UDP	Uridindiphosphat
U	Unit (Enzymaktivität)
vic	vicinal
Xaa	beliebige Aminosäure

1. Einführung

1.1 Allgemeines

In eukaryotischen Zellen werden membrangebundene und sezernierte Proteine posttranslational durch Kohlenhydrateinheiten modifiziert. Diese Oligosaccharide haben verschiedene Funktionen.^[1] Sie spielen bei Prozessen der Zelldifferenzierung, des Zellwachstums oder bei der Immunantwort eine wichtige Rolle. Des Weiteren beeinflussen sie die Stabilität, Löslichkeit und Ladung von Proteinen und deren Weiterleitung an ihren Bestimmungsort. Bei der Verschmelzung von Ei- und Spermazelle tragen Zucker beispielsweise zur Zell-Zell-Erkennung bei. Kohlenhydrate vermitteln zwischen Zellen und deren Umgebung innerhalb einer Art, wie bei der Wanderung von Leukocyten in verletztes Gewebe. Zwischen unterschiedlichen Arten, wie bei der Symbiose zwischen wurzelknöllchenbildenden Bakterien und deren Wirten, haben Oligosaccharide ebenfalls eine wichtige Erkennungsfunktion.

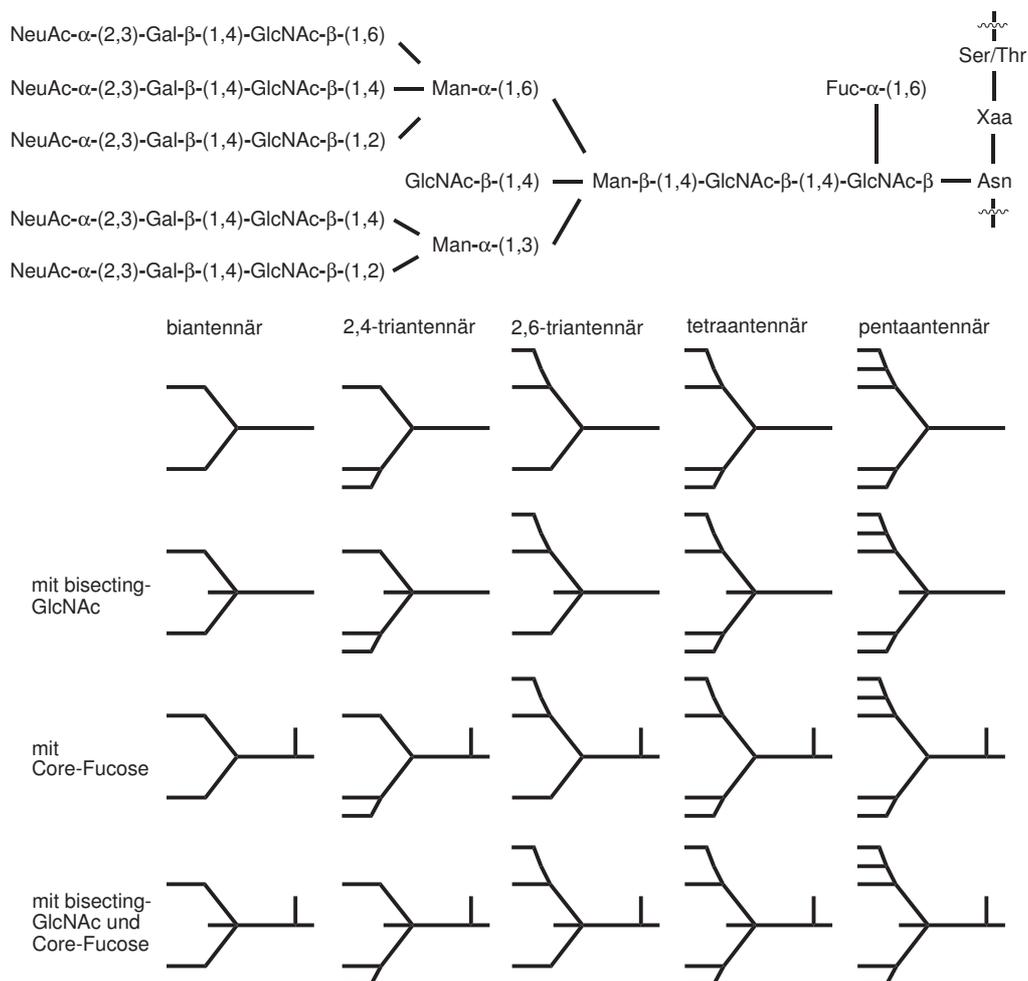


Abbildung 1. Unterschiedliche Strukturen komplexer N-Glycane

Bei den in Glycoproteinen auftauchenden *O*-Glycanen sind Kohlenhydratreste über den Sauerstoff in der Seitenkette von Serin oder Threonin *O*-glycosidisch an das Peptid gebunden. Bei den *N*-Glycanen, die in 90 % aller Glycoproteine vorkommen,^[2] wird der Zuckerteil an der Seitenkette des Asparagins *N*-glycosidisch mit dem Protein verknüpft. Die hierfür nötige Erkennungssequenz ist ein Sequon aus Asn-Xaa-Ser/Thr, wobei Xaa jede beliebige Aminosäure außer Prolin sein kann (s. Abbildung 1).^[3] Im Durchschnitt trägt jede Peptidkette 1.9 *N*-Glycane.^[2]

Alle *N*-Glycane enthalten ein gemeinsames Core-Pentasaccharid, das aus zwei *N*-Acetylglucosaminresten, einer β -Mannose und zwei α -Mannosen aufgebaut ist. Bei komplexen *N*-Glycanen tragen die beiden α -Mannosen als weitere Kohlenhydratreste *N*-Acetylglucosamin, Galactose, Sialinsäure und Fucose, die auf verschiedene Weisen miteinander verknüpft sein können. In mannosereichen *N*-Glycanen bestehen die Antennen ausschließlich aus Mannoseeinheiten, während im Hybridtyp mannosereiche und komplexe Antennen vorkommen.^[3] Außerdem kann das Core-Pentasaccharid an der β -Mannose durch einen bisecting-Rest oder am reduzierenden GlcNAc mit Core-Fucose substituiert sein. Durch die verschiedenen Verknüpfungen der peripheren Antennen und durch unterschiedliche Core-Substituierung entsteht eine Vielzahl an komplexen *N*-Glycanen.

Um Aussagen über die Wirkung der *N*-Glycane treffen zu können, werden Glycoproteine in Reinform benötigt. Auf Grund der Mikroheterogenität des Kohlenhydratanteils^[4] ist jedoch die Isolierung von reinen Glycoformen nur selten möglich. Deshalb müssen Synthesemethoden für uniforme Glycoproteine und deren *N*-Glycane entwickelt werden, um ausreichende Mengen für biologische Wirkungsuntersuchungen bereit zu stellen.^[5] Der Peptidteil, der die Kohlenhydrateinheit trägt, lässt sich mit Hilfe der Peptidfestphasensynthese gewinnen. Dabei können zum Beispiel *N*-Glycosylasparagine^[6] eingesetzt werden, um *N*-Glycane gezielt in eine Peptidsequenz einzubringen. Eine kohlenhydrattragende Aminosäuresequenz kann zum Beispiel als *C*-terminaler Thioester durch native chemische Ligation mit molekularbiologisch gewonnenen Proteinfragmenten zum vollständigen Protein verknüpft werden.^[7]

1.2 Biosynthese von *N*-Glycanen

In der Biosynthese von *N*-Glycanen wird zunächst ein Tetradecamer, das durch einen Dolicholpyrophosphat-Carrier an der Membran des ER gebunden ist, aufgebaut (s. Abbildung

2).^[8] Die Anzahl der Isopentenyleinheiten des Carriers ist artspezifisch. Das entweder *de novo* synthetisierte oder aus dem ER wiederverwertete Dolichol wird anfangs auf der cytoplasmatischen Seite der ER-Membran durch eine CTP-abhängige Dolicholkinase phosphoryliert.

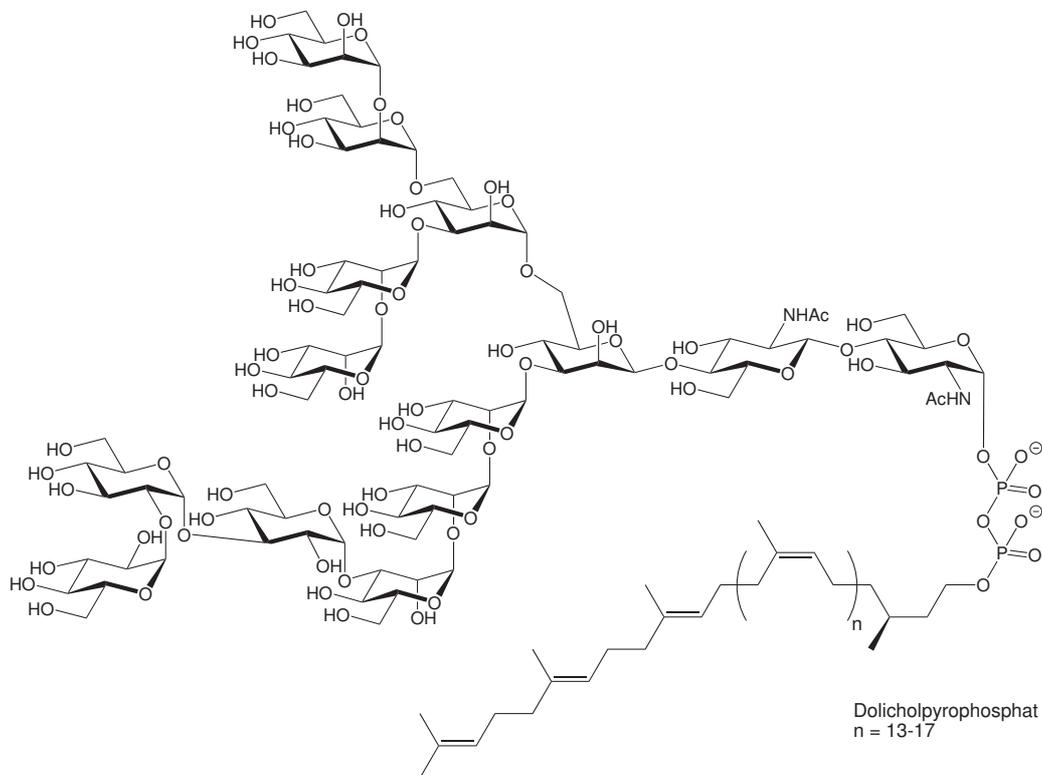


Abbildung 2. Dolicholpyrophosphat-Tetradecamer

Glycosyltransferasen synthetisieren auf der cytoplasmatischen Seite des ERs das dolicholpyrophosphatgebundene GlcNAc₂Man₅-Heptamer mit Hilfe der nucleotidaktivierten Donoren UDP-GlcNAc und GDP-Man (s. Abbildung 3). Danach wird das Heptasaccharid in das Innere des ERs transloziert. Da dieser Vorgang bei dolicholphosphatgebundenen Kohlenhydraten nicht spontan stattfindet, wird angenommen, dass dieser Transport durch ATP-abhängige Flippasen proteinkatalysiert abläuft.^[9] Im Lumen des ERs erfolgt die weitere Synthese des Tetradecamers. Als Donor fungieren hier dolicholphosphatgebundene Mannose und Glucose. Das fertige Tetradecamer wird durch die Oligosaccharyltransferase cotranslational auf die Seitenkette des Asparagins in der Erkennungssequenz übertragen.^[10] Die terminale Glucose sorgt hierbei für eine effiziente Erkennung durch den Oligosaccharyltransferasekomplex. Das Oligosaccharid wird übertragen, wenn sich das Sequon mit zwölf bis vierzehn weiteren Aminosäureresten im ER befindet und das Peptid noch ungefalted ist. Die Übertragungseffizienz variiert von Sequon zu Sequon: einige werden vollständig, andere teilweise oder gar nicht glycosyliert. Der Oligosaccharyltransferasekomplex besteht aus mehreren Untereinheiten und

konnte aus mehreren Quellen, wie Hundepankreas, Hefen, Hühneroviduct sowie Leber isoliert werden.^[11] Die Zusammensetzung der Untereinheiten und die Proteinsequenzen deuten auf eine hohe Konservierung im Laufe der Evolution hin.

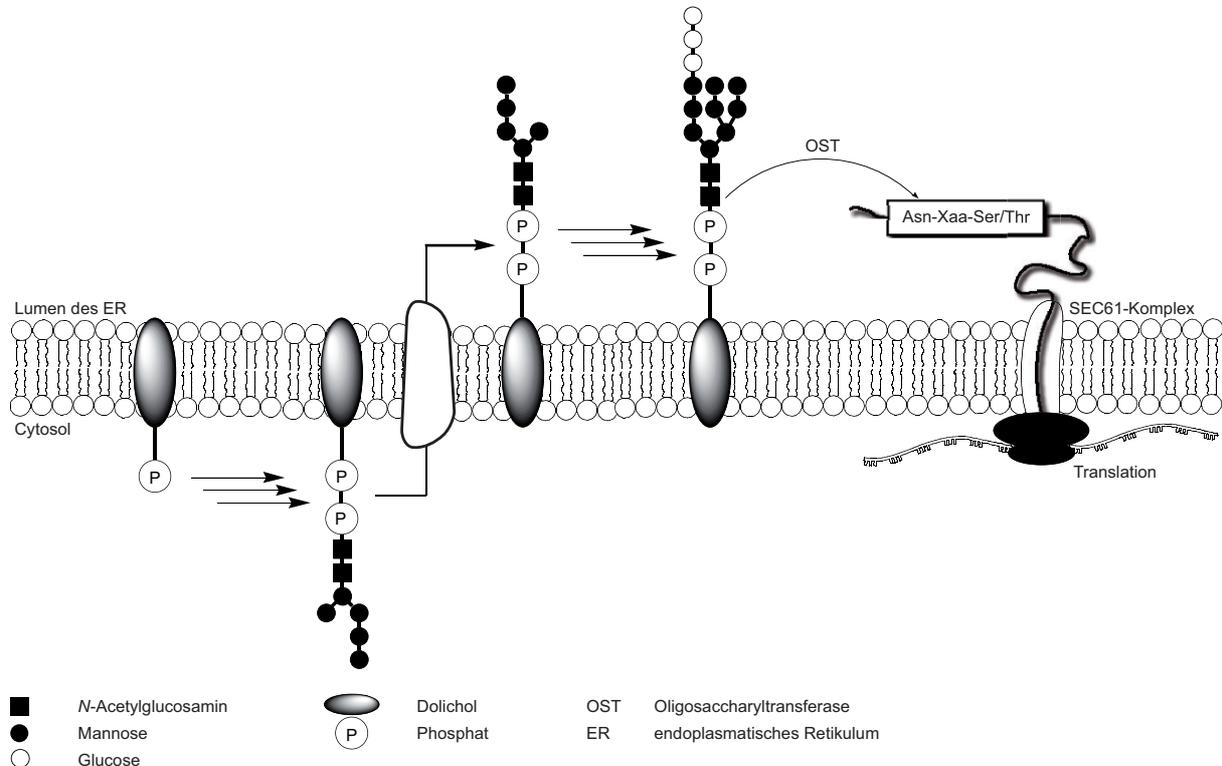


Abbildung 3. *Synthese des Dolicholpyrophosphat-Tetradecamers und cotranslationale Übertragung auf das Protein*

Für die Übertragung des Tetradecamers auf die naszierende Peptidkette gibt es mehrere mechanistische Theorien, die auf einer Erhöhung der Nucleophilie der Carboxamidgruppe des Asparagins beruhen.^[12] Nach *Marshall*^[13] erhöht eine Wasserstoffbrücke zwischen dem Carbonylsauerstoff der Asparagin-Seitenkette und der Hydroxylgruppe von Serin oder Threonin die Acidität der Carboxamidprotonen. Die Komplexbildung der Amidgruppe durch einen basischen Enzymrest erhöht die Nucleophilie in der Glycosylierungsreaktion (s. Abbildung 4a). Da die Oligosaccharyltransferase nicht basisch genug ist, um Carboxamidprotonen zu entfernen, schlagen *Bause et al.*^[14] vor, dass die Nucleophilie durch eine Wasserstoffbrücke zwischen dem Carboxamidproton und dem Sauerstoff der Hydroxylgruppe erhöht wird (s. Abbildung 4b). Ein basischer Enzymteil entfernt dann das Proton der Hydroxylgruppe. *Imperiali et al.*^[15] konnten zeigen, dass im aktiven Zentrum der Oligosaccharyltransferase keine negativen Ladungen toleriert werden und dass durch den Asx-Turn^[16] ein Imidosäuretautomer begünstigt wird. Das so erhaltene neutrale N-Nucleophil substituiert im Folgenden das Dolicholpyrophosphat des Glycosyldonors (s. Abbildung 4c).

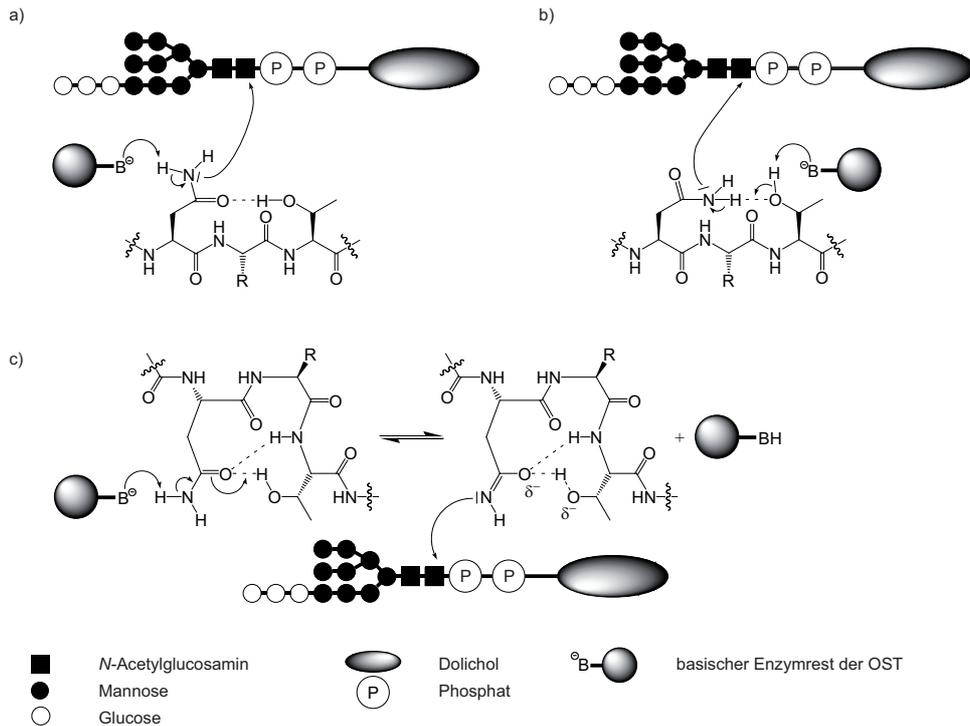


Abbildung 4. Mögliche Übertragungsmechanismen durch die Oligosaccharyltransferase nach Marshall^[13] (a), Bause^[14] (b) und Imperiali^[15] (c)

Nach der Übertragung dient die N-Glycaneinheit als Erkennungssequenz für die Qualitätskontrolle der Peptidfaltung und für den Transport des Proteins aus dem ER.^[10,17] Zunächst wird die terminale Glucose cotranslational durch die membrangebundene Glucosidase I entfernt (s. Abbildung 5). Nach der Entfernung einer zweiten Glucose durch die lösliche Glucosidase II kann das noch unvollständig gefaltete Glycopeptid an die Chaperone^[18] Calnexin und Calretikulin binden.^[19] Hierbei werden zwischen der 2-Hydroxylgruppe der im Glycan verbliebenen Glucose und Calretikulin Wasserstoffbrückenbindungen ausgebildet. Des Weiteren sind die prolinreichen P-Domänen im Lectinteil der Chaperone für die Bindung der Glycane verantwortlich. Für den Faltungsvorgang bilden Calnexin und Calretikulin einen Komplex mit der Oxidoreduktase ERp57, die falsche Disulfidbrücken löst und dadurch die native Faltung des Glycoproteins ermöglicht. Nach der Entfernung der dritten Glucose durch Glucosidase II kann das Glycoprotein nicht mehr an Calnexin und Calretikulin binden, was jedoch durch eine Reglucosylierung durch eine Glucosyltransferase^[20] rückgängig gemacht werden kann. Dieses Enzym überträgt einen Glucosylrest auf die terminale Mannose der A-Verzweigung. Da diese Reglucosylierung nur bei unvollständig gefalteten Glycoproteinen stattfindet, stellt dieser Schritt eine Qualitätskontrolle für die Peptidfaltung dar. Als generelle Erkennungsmerkmale für unvollständig gefaltete Proteine können hier die Exposition von hydrophoben Peptidteilen nach außen oder die hohe Moleküldynamik genannt werden. Der genaue Erken-

nungsmechanismus der Glucosyltransferase ist noch unklar. Durch die Reglucosylierung werden ungefaltete Glycoproteine im Calnexin-Calretikulin-Zyklus gehalten. Da von Glucosidase II sowohl die Herstellung des Eingangs- als auch des Ausgangsprodukts des Zyklus katalysiert wird, kann es nicht zu einer Übersättigung kommen.

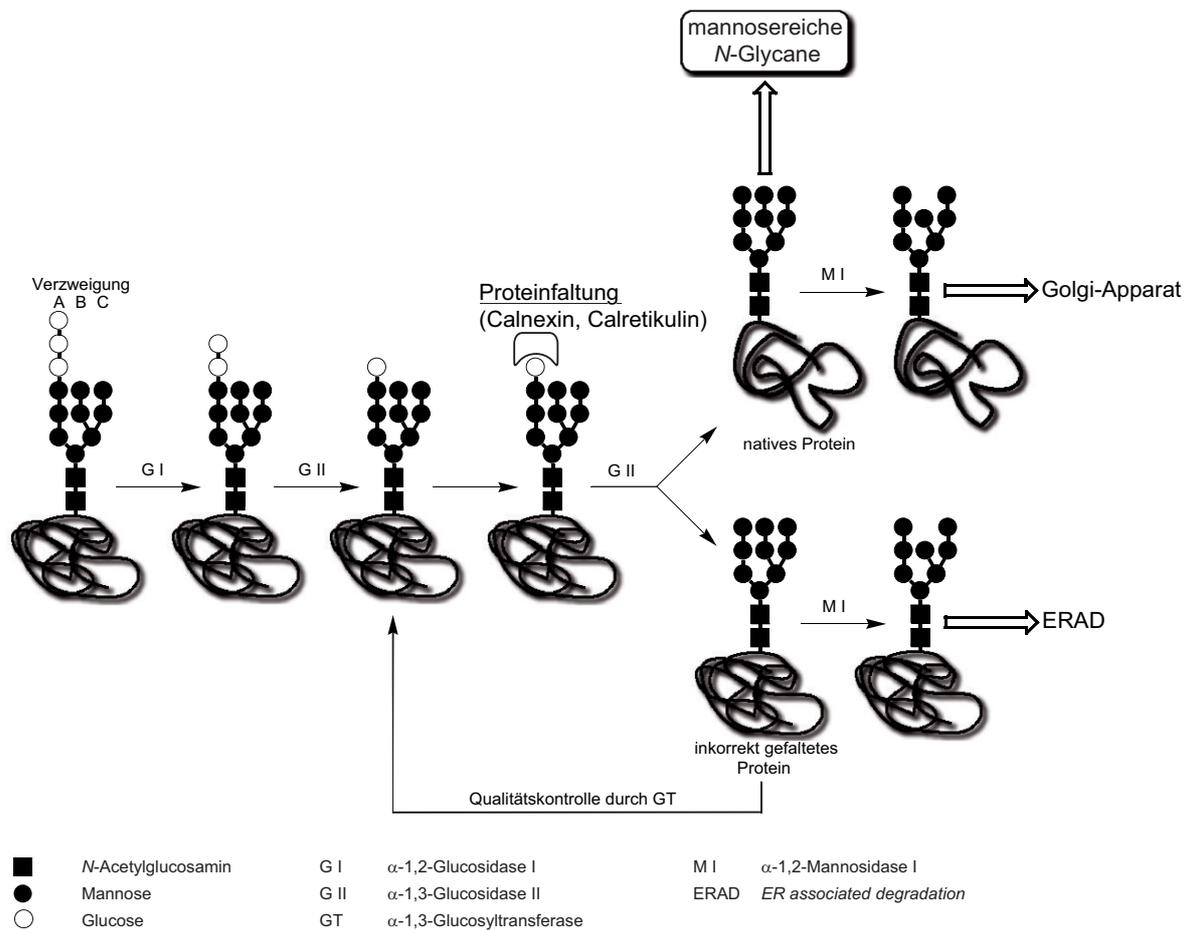


Abbildung 5. Proteinfaltung und Qualitätskontrolle im ER

Die Verweildauer der unvollständig gefalteten Glycoproteine im ER wird durch die terminalen Mannose in den Verzweigungen B und C gesteuert. Während in Hefen nur die terminale Mannose in Verzweigung B hydrolysiert wird, können bei Säugetieren beide Verzweigungen durch die Mannosidasen I und II verkürzt werden. Durch den Verlust der terminalen Mannosen können diese Glycoproteine nicht mehr durch Glucosyltransferase umgesetzt werden und unvollständig gefaltete Proteine werden damit der Qualitätskontrolle entzogen. Unter Beteiligung von mannosidaseanalogen Lectinen ohne Mannosidaseaktivität werden die nativen Glycoproteine aus dem ER geschleust. Diese Lectine sind zum Beispiel ERGIC-53 oder VIP36, die spezifisch für mannosereiche N-Glycane sind. Proteine mit der falschen Tertiär- und Quartärstruktur werden durch andere Lectine, wie Htm1 und Mnl1 in

Hefen oder EDEM bei Säugetieren für den ER-assoziierten Abbau erkannt und durch den SEC61-Komplex ins Cytosol retrotransloziert.^[21] Das *N*-Glycan wird wahrscheinlich dabei durch eine *N*-Glycanase auf der cytosolischen Seite entfernt. Durch eine endo- β -*N*-Acetylglucosaminidase wird anschließend das reduzierende GlcNAc entfernt. Mannosidasen des Cytosols bauen die terminalen Mannosen ab, woraus eine Man₅GlcNAc-Struktur resultiert, die in den Lysosomen vollständig hydrolysiert werden kann. Das deglycosylierte, ungefaltete Protein wird mit Ubiquitin für den Abbau in den Proteasomen markiert.^[22]

Die weitere Prozessierung der nativen Glycoproteine findet im Golgi-Apparat durch verschiedene *N*-Acetylglucosaminyltransferasen statt (s. Abbildung 6).^[23]

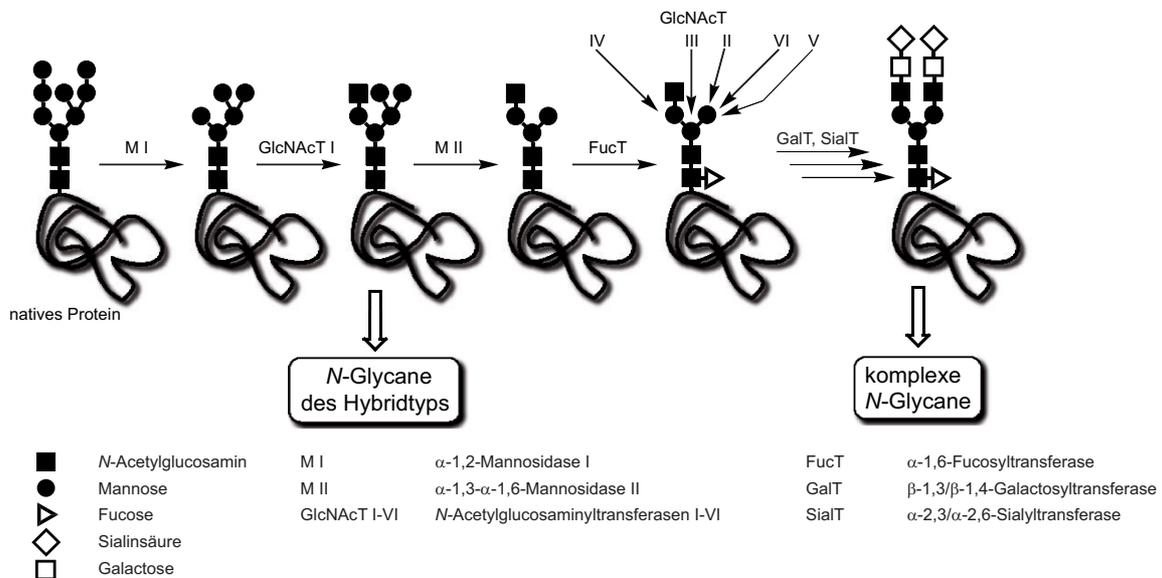


Abbildung 6. Prozessierung der *N*-Glycane im Golgi-Apparat

Falls korrekt gefaltete Glycoproteine in den Golgi-Apparat gelangen und noch Glucose in der Verzweigung A tragen, wird diese Antenne durch eine Endomannosidase entfernt. Bestimmte Glycoproteine werden an zwei Mannosen phosphoryliert und anschließend in die Lysosomen transportiert.^[3] Die weiteren Prozessierungsschritte finden nur bei Vielzellern statt, da somit die Kommunikation der Zellen durch Kohlenhydrate auf der Zelloberfläche gewährleistet wird. Zuerst werden die α -1,2-glycosidisch gebundenen Mannosen in Verzweigung A durch die Mannosidase I entfernt. Im Anschluss wird durch die *N*-Acetylglucosaminyltransferase I ein *N*-Acetylglucosaminylrest von UDP-GlcNAc auf die α -1,3-gebundene Mannose übertragen. Um das neu entstandene Oligosaccharid konkurrieren Mannosidase II und

GlcNAc-Transferase III. Wird das *N*-Glycan mit einem so genannten bisecting-Rest (GlcNAcT III) versehen, so kann es nicht mehr von Mannosidase II umgesetzt werden und bleibt auf der Hybridstufe stehen. Dies ist der Grund dafür, dass viele *N*-Glycane des Hybridtyps einen bisecting-Rest tragen. Werden die α -1,2- und α -1,3-gebundenen Mannosen des α -1,6-Arms entfernt, kann das reduzierende Ende Core-fucosyliert werden. Infolge dessen wird der α -1,6-Arm durch GlcNAc-Transferase II verlängert. Das biantennäre *N*-Glycan kann weiter durch die GlcNAc-Transferasen III bis V verzweigt werden, wobei durch Einführung eines bisecting-Rests jede weitere Verzweigung mit GlcNAc verhindert wird. Zusätzlich kann im α -1,6-Arm durch GlcNAc-Transferase VI noch eine β -1,4-glycosidische Verzweigung eingeführt werden. Allerdings muss der α -1,6-Arm bereits β -1,2- und β -1,6-verzweigt sein.^[24] Im trans-Golgi-Apparat können die *N*-Glycane durch Galactosyltransferasen weiter verlängert werden. Hier können zum Beispiel Lactosamineinheiten angefügt werden. Beendet wird die Biosynthese von *N*-Glycoproteinen mit Capping-Reaktionen durch Sialylierung, Fucosylierung oder Sulfatierung. Bei Wirbellosen oder Pflanzen können die *N*-Glycane durch α -1,3-Core-Fucosylierungen oder durch Anbringen von Xylose modifiziert sein.

1.3 Funktion der Core-Modifikationen: bisecting-GlcNAc und Core-Fucose

Ein bisecting-GlcNAc-Rest wird durch GlcNAc-Transferase III eingeführt. Ist dieser GlcNAc-Rest an das zentrale β -Mannosid eines *N*-Glycans gebunden, wird eine weitere Modifikation durch die GlcNAc-Transferasen II, IV und V verhindert.^[25] Da *N*-Glycane des bisecting-Typs kein Substrat für Mannosidase II darstellen, führt diese Variation zur Synthese von bisected *N*-Glycanen des Hybrid-Typs. Eine GlcNAcT III-Aktivität wurde im Eileiter von Hennen entdeckt^[26] und ist bei Säugetieren in Nieren und Gehirn sehr hoch. In der Leber ist die Aktivität von GlcNAcT III besonders bei der Entstehung von Krebs erhöht^[27] und wird oft in Verbindung mit krebsassoziierten Veränderungen im Glycosylierungsmuster gebracht. Die β -1,2-glycosidische Bindung von GlcNAc an die α -Mannose des α -1,3-Arms ist für GlcNAc-Transferase III ein notwendiges Erkennungssignal und somit kann dieses Enzym einen bisecting-Rest nicht in mannosereiche *N*-Glycane einführen. Die β -1,4-Galactosylierung im α -1,3-Arm inhibiert die Einführung von bisecting-GlcNAc, während die Core-Fucosylierung keinen Einfluss auf die GlcNAc-Transferase III ausübt.

Die Überexpression der GlcNAc-Transferase III und das damit verbundene Auftreten von *N*-Glycanen des bisecting-Typs hat je nach Gewebe unterschiedliche Auswirkungen auf Zell-Zell-Interaktion, Zell-Wachstum und die Bindung von Lectinen.^[28] So sind zum Beispiel LEC10-Zellen, die im Gegensatz zu den Wild-typ *chinese hamster ovary*-Zellen (CHO) die GlcNAc-Transferase III exprimieren, resistent gegenüber Ricin, das nicht mehr an die bisected *N*-Glycane auf der Oberfläche der mutierten Zellen binden kann.

Der bisecting-GlcNAc-Rest beeinflusst durch konformationelle Veränderungen den α -1,6-Arm und verhindert dort eine β -1,6-Verzweigung durch GlcNAc-Transferase V, die stark mit dem metastatischen Potential korreliert.^[25,28,29] So sind zum Beispiel B16 Melanomzellen durch die erhöhte Aktivität der GlcNAc-Transferase V hoch metastatisch. Die Einführung des bisecting-Rests in die *N*-Glycane an E-Cadherin durch Transfektion des GlcNAc-Transferase III-Gens in diesen Zellen reduziert die β -1,6-Verzweigung und sorgt für eine verstärkte Zell-Zell-Adhäsion und somit für die Suppression der Metastasenbildung in der Lunge von Mäusen.^[30]

Die Wechselwirkung zwischen der extrazellulären Matrix und Integrinen ist mit vielen biologischen Funktionen, wie Zellentwicklung, Zellausbreitung, Kontrolle der Zellproliferation, Schutz gegen Apoptose oder bösartigen Zellveränderungen verbunden. Die Bindungsstärke des Integrins $\alpha_5\beta_1$ an eine bestimmte Peptidsequenz des Fibronektins ist unter anderem vom Glycosylierungsmuster der α_5 - und β_1 -Untereinheiten abhängig. Wird dort ein bisecting-GlcNAc eingeführt, so wird die Ausbreitung der Zellen stark vermindert, was durch die verringerte Bindungsaffinität zu Fibronektin erklärt werden kann.^[31]

Des Weiteren beeinflusst bisecting-GlcNAc die Funktion der Rezeptoren für Wachstumsfaktoren. Bei epidermalen Wachstumsfaktorrezeptoren wird die mitogenaktivierte Protein-kinaseaktivität erhöht, was zu Veränderungen bei Prozessen wie Zellwachstum und Apoptose führt.^[32] Außerdem supprimiert die Transfektion des GlcNAc-Transferase III-Gens in Hela-Zellen die wasserstoffperoxidinduzierte Aktivierung des PKC δ -JNK-Weges und verhindert somit Apoptose.^[33]

Studien mit GlcNAc-Transferase III-transfizierten K562-Zellen zeigten eine Resistenz gegenüber natürlichen Killerzellen, was darauf schließen lässt, dass bisecting-GlcNAc eine wichtige Rolle bei der killerzellenvermittelten Cytotoxizität spielt.^[29b]

Bei der antikörperabhängigen zellulären Cytotoxizität werden Antigene, die sich zum Beispiel auf den Zelloberflächen von Tumorzellen befinden, durch IgG-Antikörper erkannt. Binden T-Zellen mit ihren Rezeptoren an die Fc-Domänen dieser Immunglobuline, wird eine Immunantwort durch diese Zellen ausgelöst. Die Affinität der Antigen-Antikörper-Bindung wird

durch die Einführung von bisecting-GlcNAc in die *N*-Glycane der Antikörper und durch das Fehlen von Core-Fucose erhöht.^[34]

Core-fucosylierte *N*-Glycane kommen bei Säugetieren, Schnecken und Insekten, nicht aber bei Pflanzen vor.^[35] Durch diese Core-Substitution wird die enzymatische Abspaltung der *N*-Glycane von der Seitenkette des Asparagins in Glycoproteinen verhindert.^[36] Ein Core-Fucosylrest kann durch die Fucosyltransferase 8 nur eingeführt werden, wenn das β -1,2-gebundene *N*-Acetylglucosamin im α -1,3-Arm unsubstituiert ist und das *N*-Glycan keinen bisecting-Rest enthält.^[35a]

Mäuse mit Nullmutationen für Fuc-Transferase 8 sterben entweder bereits während der postnatalen Entwicklung oder weisen später Lungenemphyseme und geringeres Wachstum auf.^[37] Außerdem ist die α -1,6-Fucosyltransferaseaktivität sehr häufig bei chronischen Leberleiden, Leberkrebs, Bauchspeicheldrüsenkrebs und Drüsenkrebs in menschlichen Ovarien erhöht.^[38]

1.4 Chemische Herstellung von *N*-Glycanen

Für die chemische Synthese von komplexen^[39], mannosereichen^[40] oder Hybrid-Typ-*N*-Glycanen^[41] gibt es viele unterschiedliche Ansätze. Die Herstellung von *N*-Glycanen des bisecting-Typs erweist sich als besonders schwierig und stellt große Ansprüche an die Schutzgruppenchemie. Oft wird der bisecting-Rest bereits vor den Antennen eingeführt.^[42] Diese Strategie führt zu einer frühen Trennung der Synthese von *N*-Glycanen mit oder ohne bisecting-Rest. Die nachträgliche Einführung von bisecting-GlcNAc ist durch die sterische Abschirmung der Akzeptorhydroxylgruppe erschwert. *Schmidt et al.* zeigten, dass bei der Glycosylierung von biantennären *N*-Glycanen kleine Schutzgruppen im GlcNAc-Baustein nötig sind.^[43] Die Verwendung der Azidschutzgruppe führte allerdings durch die fehlende Nachbargruppenbeteiligung zu einer Mischung von Anomeren.

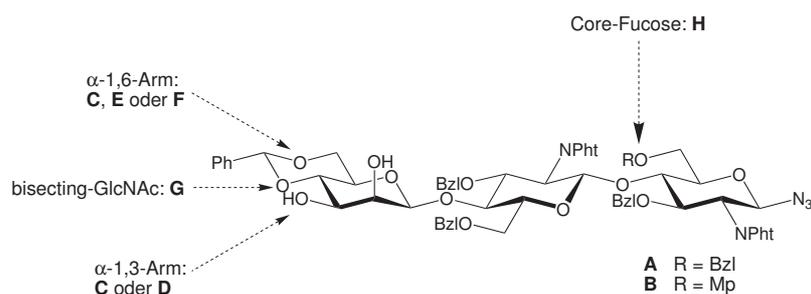


Abbildung 7. Core-Trisaccharide **A** und **B**

Unverzagt et. al entwickelten für die Synthese von *N*-Glycanen ein System aus modularen Bausteinen. Dieses besteht aus einem funktionalisierten Core-Trisaccharid **A**, an dem *N*-Glycane aufgebaut werden können (s. Abbildung 7).^[44,45]

Für die Anknüpfung der Antennen dienen die unterschiedlich substituierten Trichloracetimidatdonoren **C**, **D**, **E** und **F** (s. Abbildung 8).^[46]

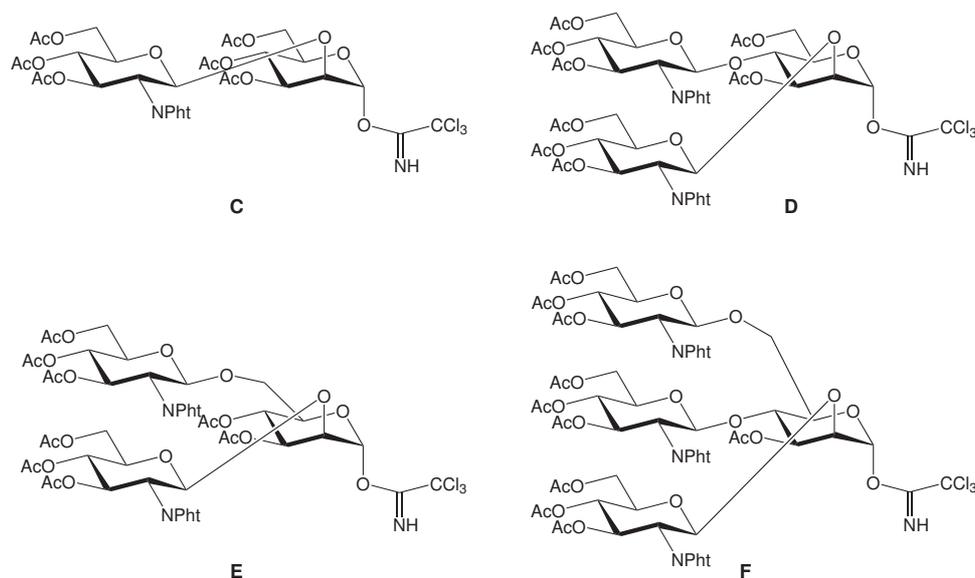


Abbildung 8. Unterschiedlich substituierte Antennentrichloracetimidate **C**, **D**, **E** und **F**

Mit Hilfe dieses Bausteinsystems konnten durch regio- und stereoselektive Glycosylierungen komplexe *N*-Glycane, die bis zu fünf Antennen tragen,^[46] sowie ein *N*-Glycan des Hybrid-typs^[47] hergestellt werden. Diese wurden durch Glycosyltransferasen an den terminalen *N*-Acetylglucosaminylresten galactosyliert und sialyliert.^[46c,46d,48] Durch die selektiv entfernbare *p*-Methoxyphenyl-Schutzgruppe am reduzierenden Zucker des Core-Trisaccharids **B** konnte *J. Seifert* mit dem Fucosylthioglycosid **H** (s. Abbildung 9) eine Core-Fucose^[46c,49] einführen und auch diese *N*-Glycane enzymatisch verlängern.^[46c,50]

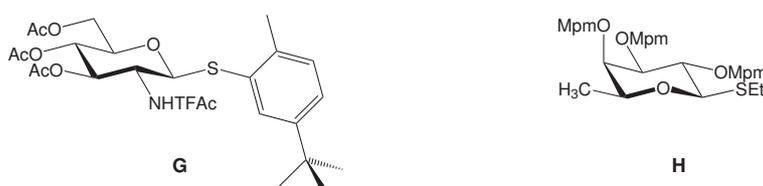


Abbildung 9. Donoren **G** und **H** für die Einführung des bisecting-GlcNAcs und der Core-Fucose

Da die Einführung des bisecting-Rests nur bei biantennären *N*-Glycanen^[45,46c,51] im Nachhinein gelang, wurde von *H. Weiß* der GlcNAc-Donor **G**^[52] (s. Abbildung 9) entwickelt, der be-

reits vor dem α -1,6-Arm an die zentrale β -Mannose geknüpft wird. Nach der Entfernung einer temporären Chloracetatschutzgruppe konnte zum vollständigen *N*-Glycan glycosyliert werden. *R. Schuberth* konnte mit dieser Strategie mehrere unterschiedlich verzweigte *N*-Glycane mit bisecting-Rest und Core-Fucose herstellen und enzymatisch elongieren.^[53] Diese *N*-Glycane wurden mit einem 6-Aminohexansäurespacer versehen und zu Glycokonjugaten mit BSA umgesetzt.^[54]

2. Themenstellung und Syntheseplanung

N-Glycane lassen sich in größeren Mengen nur mühsam aus natürlichen Quellen isolieren.^[55] Um diese Kohlenhydratstrukturen in ausreichenden Mengen und in der nötigen Reinheit zugänglich zu machen, ist die chemische Synthese meist unverzichtbar. Das pentaantennäre *N*-Glycan mit bisecting-Rest und Core-Fucose stellt den am höchsten verzweigten Vertreter mit den meisten Core-Substitutionen dar (s. Abbildung 10). Mit der Herstellung dieser Verbindung sollte eine universelle Einsetzbarkeit der modularen Bausteine bewiesen werden, mit denen sich dann auch alle weniger substituierten *N*-Glycane herstellen lassen sollten.

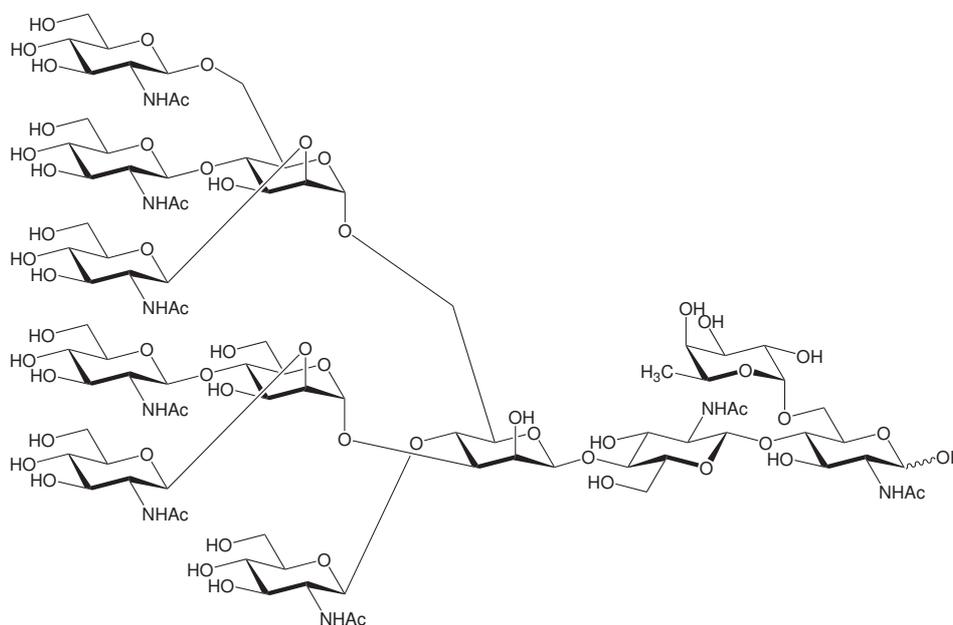


Abbildung 10. Pentaantennäres *N*-Glycan mit bisecting-GlcNAc und Core-Fucose

Ein weiteres Ziel dieser Arbeit war die modulare Synthese von bi-, tri- und tetraantennären *N*-Glycanen mit bisecting-GlcNAc, die nach Entfernung der Schutzgruppen mit Glycosyltransferasen verlängert werden sollten. Vor oder nach der enzymatischen Elongation sollten die bisected *N*-Glycane mit einem bifunktionalen Spacer^[56] versehen werden, um diese später auf Oberflächen zu immobilisieren. Auf diese Weise sollten neue Verbindungen zur Erzeugung von *N*-Glycanchips gewonnen werden (s. Abbildung 11).^[57,58]

Mit Hilfe dieser Glycchips lassen sich in kürzester Zeit Wechselwirkungen vieler verschiedener Oligosacchariden mit Antikörpern, Lectinen und Seren untersuchen. Hierfür sind nur sehr kleine Mengen an Substanz nötig.

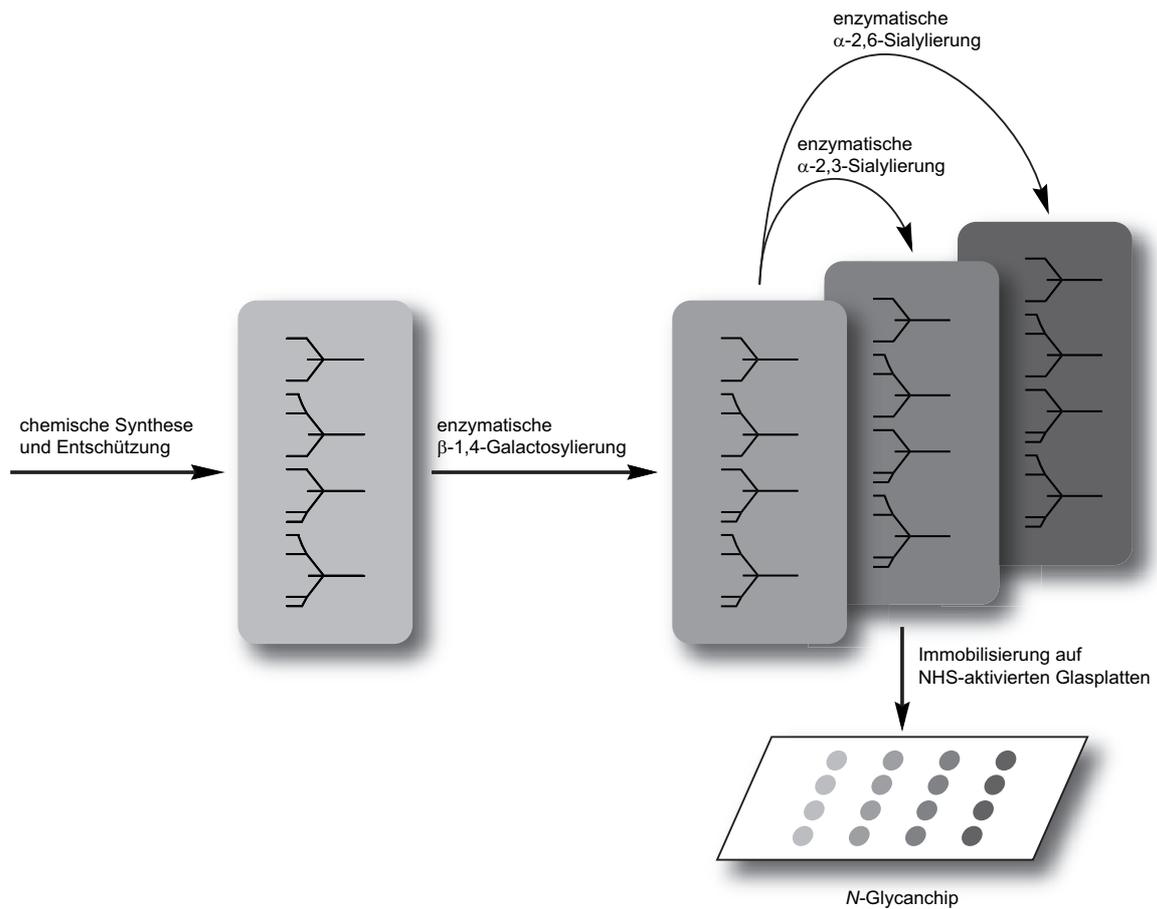


Abbildung 11. Chemische und enzymatische Synthese verschiedener N-Glycane des bisecting-Typs und Immobilisierung auf N-Glycanchips

3. Chemische Synthese von *N*-Glycanen

3.1 Synthese von pentaantennären *N*-Glycanen des bisecting-Typs mit Core-Fucose

Durch die Synthese eines pentaantennären *N*-Glycans mit zwei Core-Substitutionen sollte die universelle Einsetzbarkeit des modularen Bausteinsystems gezeigt werden. Hierfür standen das methoxyphenylgeschützte Core-Trisaccharid **B**,^[49] die 2,4- und 2,4,6-verzweigten Donoren **D**^[46] und **F**^[46], der GlcNAc-Donor **G**^[51] und das Fucosylthioglycosid **H**^[49] zur Verfügung (s. Abbildung 12).

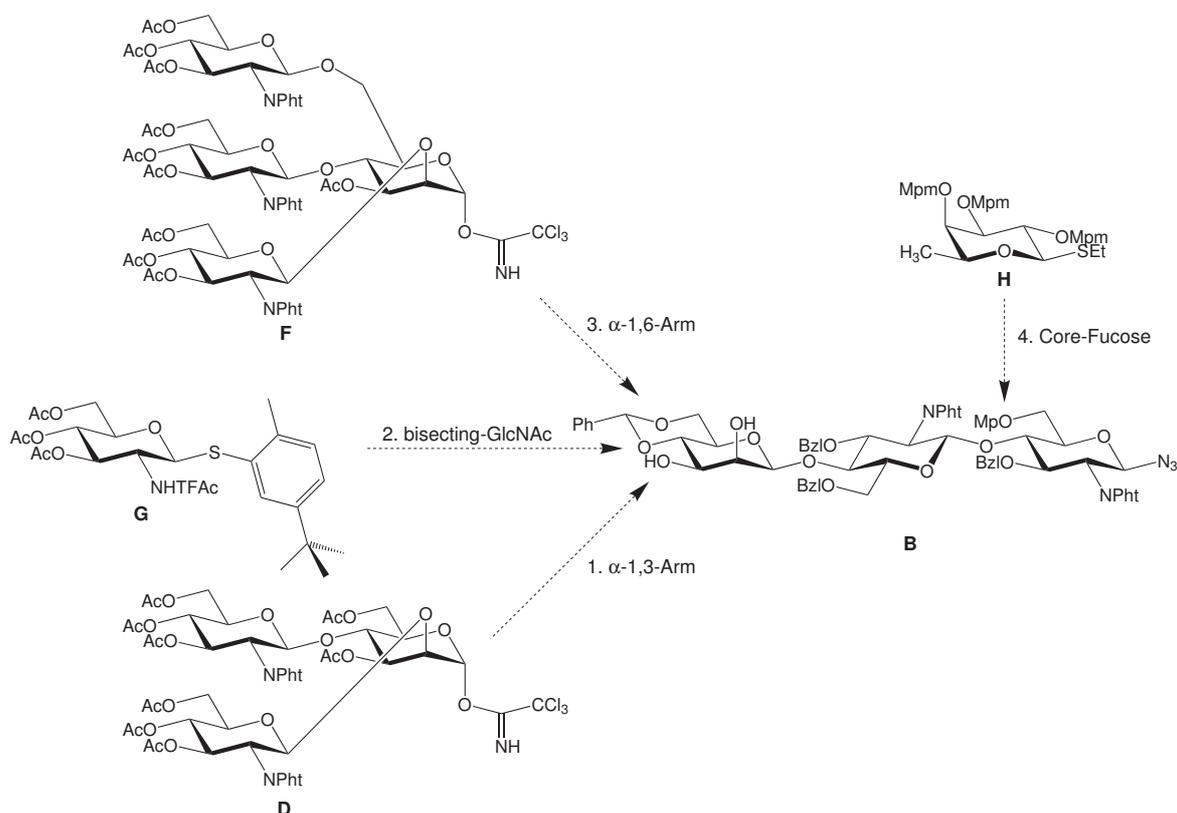


Abbildung 12. Geplantes Bausteinsystem für die Synthese pentaantennärer *N*-Glycanen des bisecting-Typs mit zusätzlicher Core-Fucose

Der Heptasaccharid-Akzeptor **1** wurde von *R. Schubert* synthetisiert und mit dem 2,4,6-verzweigten Trichloracetimidat **F** umgesetzt (s. Abbildung 13, Reaktion a).^[53b] Auf Grund der geringen Ausbeute von nur 9 % an Undecasaccharid **3** wurde das Imidat **F** in das Thioglycosid **2** umgewandelt um auf eine weitere Aktivierungsmethode für die sterisch anspruchsvolle Glycosylierungsreaktion zurückgreifen zu können. Mit dem Donor **2** konnte das Undeca-

saccharid von *R. Schubert* in 16 %iger Ausbeute erhalten werden. Die genauere Analyse des Produkts mittels LC-MS zeigte allerdings, dass es sich hierbei um zwei verschiedene Produkte mit einer Massendifferenz von 42 Da handelte. Dies deutete auf das Fehlen einer Acetatschutzgruppe hin, was sich durch Nebenprodukte bei der Synthese der 2,4,6-substituierten Donorbausteine **F** und **2** erklären ließ.^[46d,53b] Hierbei waren nur ca. 90 % der Donoren an der OH-3-Funktion der Mannose acetyliert. Interessanterweise zeigte die LC-MS-Analyse des Produktgemisches, dass dieses aus ungefähr gleichen Teilen an den beiden Undecasacchariden **3** und **4** bestand. Der unvollständig geschützte Donorbaustein reagierte bevorzugt mit dem Akzeptor **1**, so dass dieser zu 50 % im Produktgemisch angereichert wurde.

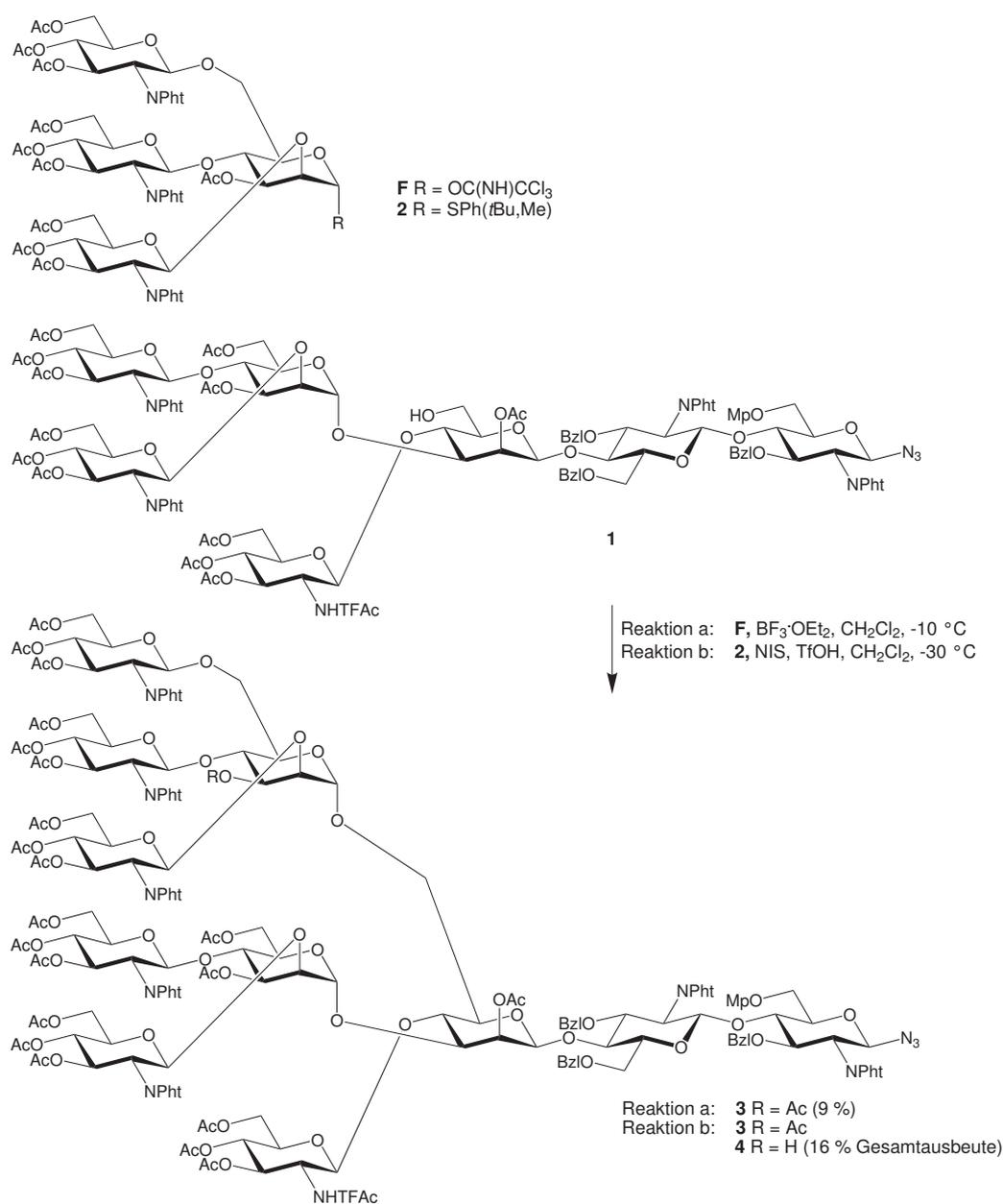


Abbildung 13. Synthese von pentaantennären *N*-Glycanen mit bisecting-Rest nach *R. Schubert*^[53b]

Um die Reaktivität der beiden Donorbausteine in Abhängigkeit der Acetatschutzgruppe genauer untersuchen zu können, mussten diese zunächst in Reinform hergestellt werden.

3.1.1 Synthese der Thioglycosidendonoren **2** und **12**

Zur Synthese der 2,4,6-verzweigten Donoren **2** und **12** wurde zunächst die Reaktionssequenz von *G. Gundel*^[46d] zur Gewinnung des Akzeptors **6** verbessert, indem die OH-3-Funktion des Benzylmannosids **5** direkt allyliert wurde (s. Abbildung 14). Dies geschah in einem Eintopfverfahren durch Stannyleneacetalbildung mit einem Äquivalent Dibutylzinnoxid.^[59] Die folgende selektive Allylierung mit Allylbromid wurde durch die Zugabe von Cäsiumfluorid beschleunigt.^[60] Ohne CsF konnte auch nach drei Tagen kaum Umsatz des Stannyleneacetals festgestellt werden. Der Akzeptor **6** wurde in 69 %iger Ausbeute erhalten. Als Nebenprodukt konnten geringe Mengen an 3,6-*O*-Diallylierungsprodukt (2.3 %) und weiteren Diallylierungsprodukten (2.6 %) isoliert werden. Durch die hohe Regioselektivität bei der Umsetzung des Stannyleneacetals konnte auf die Verwendung einer Tritylschutzgruppe an Position 6 verzichtet werden.

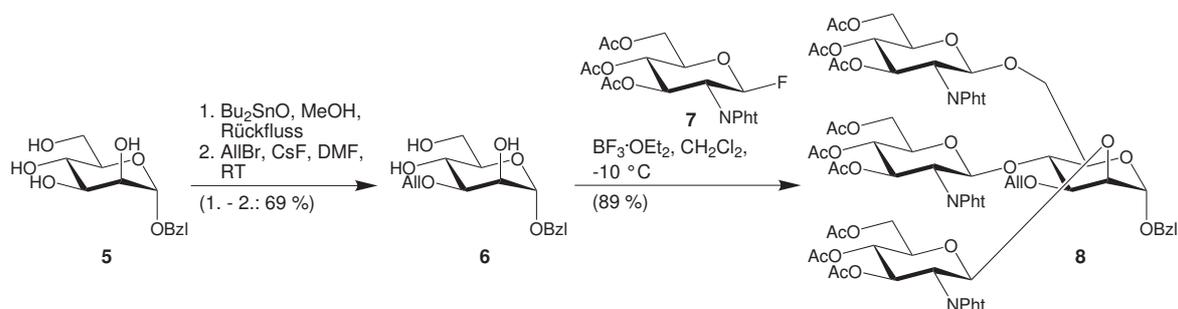


Abbildung 14. Selektive Allylierung des Benzylmannosids **5** zu **6** und dreifache Glycosylierung zum Tetrasaccharid **8**

Im nächsten Schritt wurde das Tetrasaccharid **8**^[46d] aus dem Fluorid **7**^[61] und dem Triol **6** aufgebaut (s. Abbildung 14).^[62] Durch die Absenkung der Reaktionstemperatur auf -10 °C konnte die Ausbeute der dreifachen Glycosylierungsreaktion auf 89 % verbessert werden.

Die Allylgruppe des Tetrasaccharids **8** wurde mit Palladium(II)-chlorid^[63] in Methanol bei Zimmertemperatur abgespalten. Anschließend konnte durch hydrogenolytische Debenzylierung^[45] über Palladium(II)-oxid-Hydrat das Halbacetal **10** gewonnen werden (s. Abbildung 15). Um die Reaktionszeit von vier Tagen zu verkürzen, wurde versucht, die Benzylgruppe

oxidativ mit Eisen(III)-chlorid^[63c,64] zu entfernen (s. Abbildung 15). Diese Reaktion lieferte jedoch geringe Ausbeuten, die auch durch Temperaturabsenkung auf 0 °C nicht verbessert werden konnten. Bei der Umsetzung des Halbacetals **10** zum Trichloracetimidat **11** mit DBU^[65] wurde beim Einengen des Reaktionsgemisches auch die freie 3-Hydroxylgruppe der Mannose umgesetzt.^[66] Deswegen wurde die Trichloracetimidatbildung mit Kaliumcarbonat^[63d,65,67] durchgeführt (s. Abbildung 15). Diese Base ließ sich vor dem Einengen des Lösungsmittels durch Filtration entfernen, wodurch die 3-OH-Funktion unverändert blieb. Weitere Versuche zur Umsetzung des Halbacetals **10** zum gewünschten Produkt **11** mit immobilisierten DBU^[68] verliefen nur sehr langsam. Allerdings wurde nach der erfolgreichen Umsetzung mit Kaliumcarbonat auf weitere Optimierungsversuche mit der immobilisierten Base DBU verzichtet.

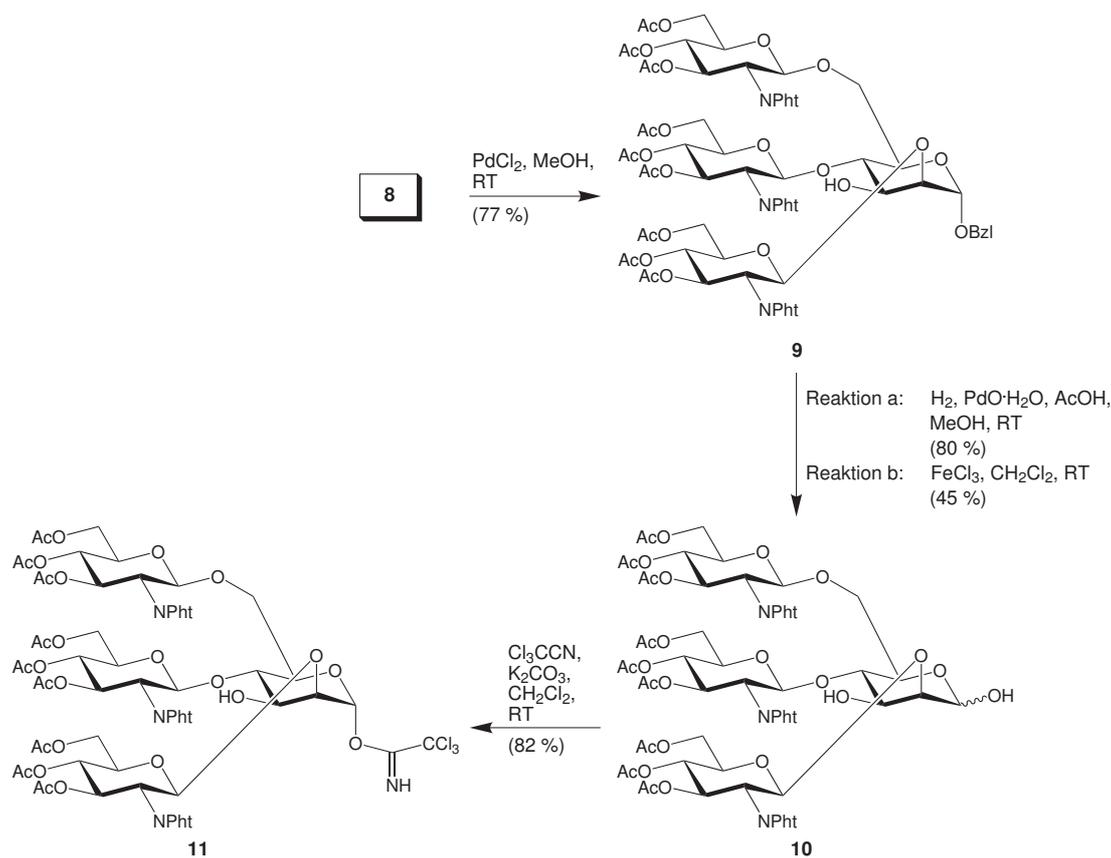


Abbildung 15. Synthese des 2,4,6-verzweigten Trichloracetimidats **11** mit freier 3-Hydroxylgruppe

Das Trichloracetimidat **11** wurde unter Bortrifluorid-Diethyletherat-Katalyse^[65,67b,69] in das Thioglycosid **12** umgewandelt (s. Abbildung 16). Als Akzeptor diente das ungiftige und geruchsneutrale 5-*tert*.Butyl-2-methyl-thiophenol, das sich bereits als Abgangsgruppe des GlcNAc-Donors **G** bewährt hatte. Durch diesen Syntheseweg konnte Donor **12** mit einer un-

geschützten 3-Hydroxylgruppe in Reinform erhalten werden. Für die Synthese des vollständig acetylierten Donors **2** musste das Tetrasaccharid **12** mit Essigsäureanhydrid, Pyridin^[70] und 4-(*N,N*-Dimethylamino)-pyridin^[71] umgesetzt werden (s. Abbildung 16). Da die beiden Thioglycoside **2** und **12** sehr ähnliche R_f -Werte haben, wurde der Fortschritt der Reaktion mittels LC-MS kontrolliert. Erst nach 3 d Reaktionszeit konnte Donor **2** mit 58 %iger Ausbeute erhalten werden.

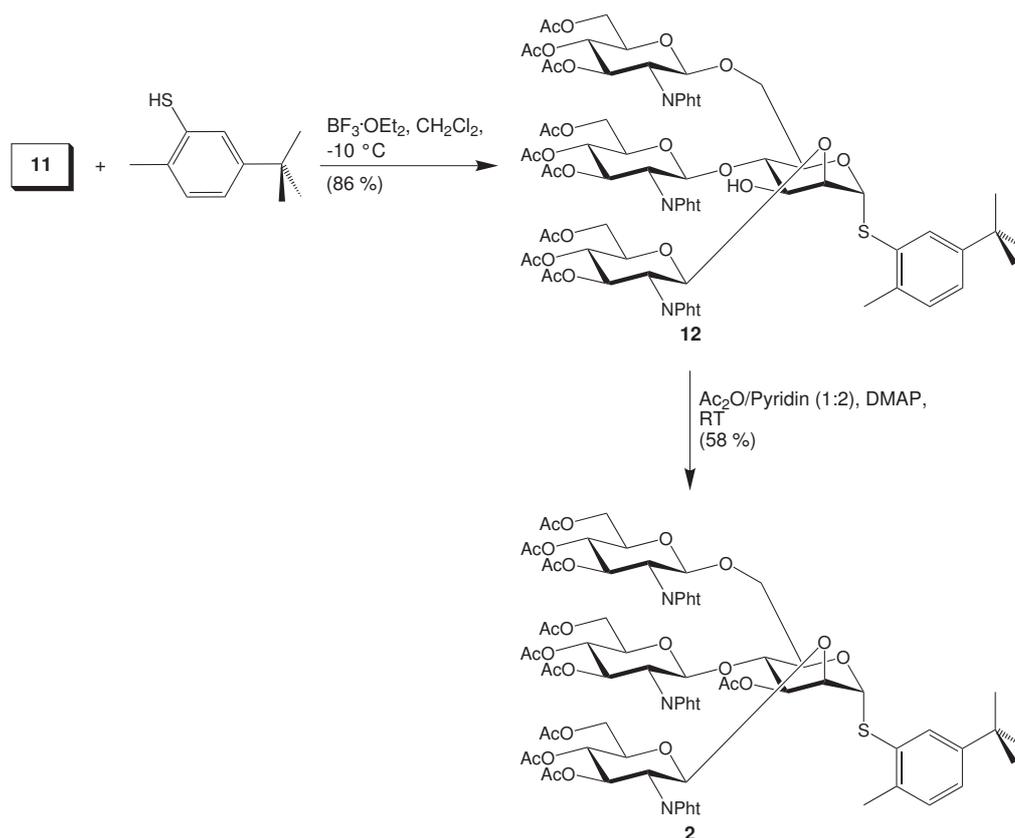


Abbildung 16. Synthese der Thioglycosiddonoren **2** und **12**

3.1.2 Synthese von pentaantennären *N*-Glycanen mit bisecting-GlcNAc

Zum Aufbau von pentaantennären *N*-Glycanen wurde der Heptasaccharidakzeptor **1**^[53b] mit den Thioglycosiden **2** und **12** umgesetzt (s. Abbildung 17). Es wurde ein Donorüberschuss von 3.3 Äquivalenten und eine Akzeptorkonzentration von 12.3 mM gewählt und bei -30 °C mit *N*-Iodsuccinimid und Trifluormethansulfonsäure aktiviert.^[72] Hierbei erwies sich die Einführung des stark verzweigten α -1,6-Arms an die primäre Hydroxylgruppe der zentralen β -Mannose als sehr schwierig. Bei beiden Reaktionen bildeten sich neben den Zielverbin-

dungen auch die Kopf-Kopf-verknüpften Oktasaccharide **13** und **14** (s. Abbildung 17), die durch Flashchromatographie nicht abgetrennt werden konnten.

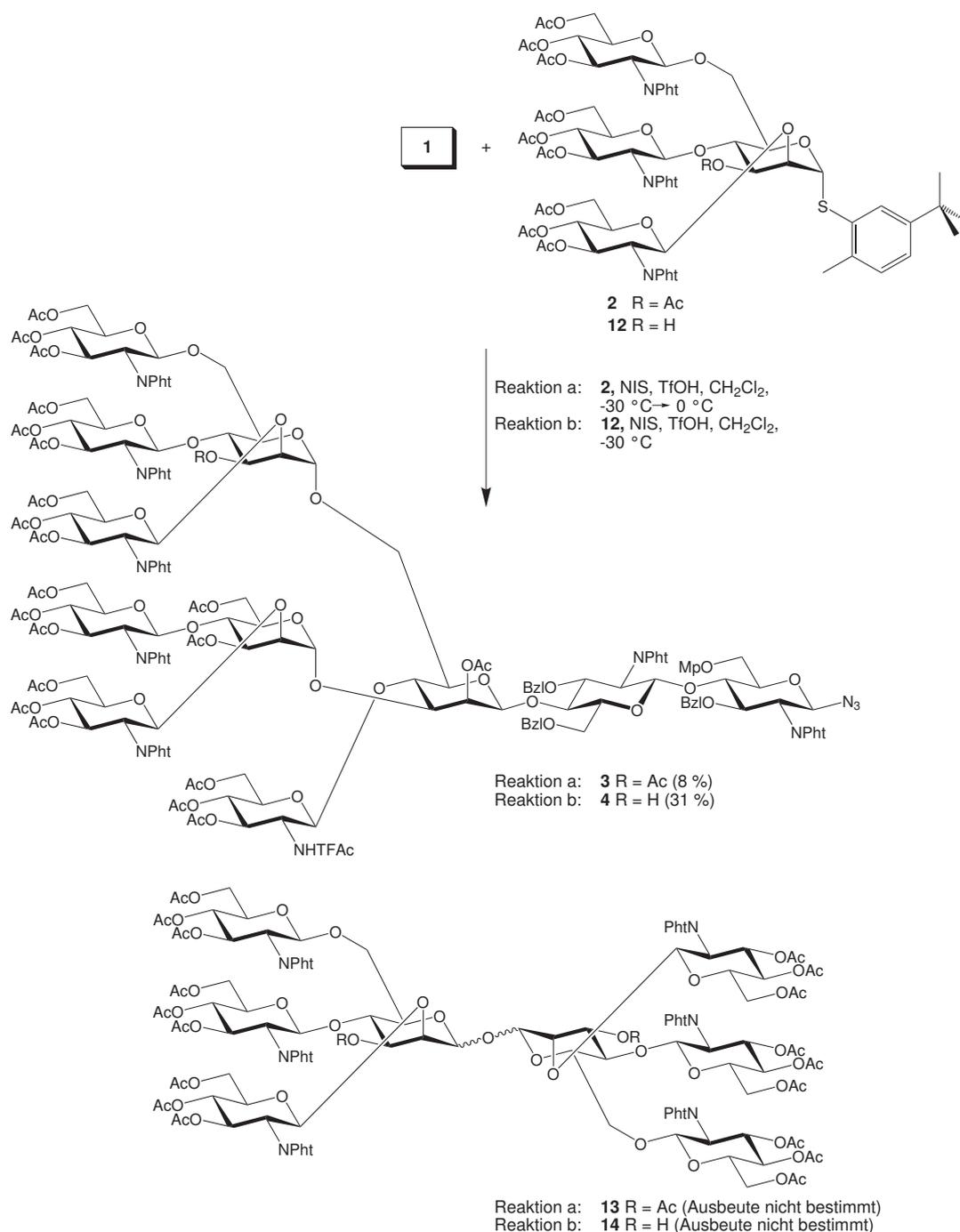


Abbildung 17. Synthese der Undecasaccharide **3** und **4**

Deshalb mussten die Undecasaccharide **3** und **4** zusätzlich per RP-HPLC gereinigt werden. Bei den Glycosylierungen zeigte sich ein Reaktivitätsunterschied der Donoren. Die LC-MS-Analyse der Reaktionsmischungen ergab, dass bei Verwendung des acetylierten Donors **2** nach 6.5 h Reaktionszeit noch große Mengen an Akzeptor **1** unumgesetzt blieben.

Dieser Anteil war bei dem Thioglycosid **12** geringer. Zudem wurde mit Donor **12** eine deutlich bessere Ausbeute (31 %) erhalten, während der acetylierte Donor **2** nur 8 % des gewünschten Undecasaccharids lieferte.

Die höhere Reaktivität des Thioglycosids **12** kann zum einen durch elektronische Effekte nach dem *armed/disarmed*-Konzept nach *B. Fraser-Reid*^[72a,73] und zum anderen durch sterische Effekte erklärt werden. Im Gegensatz zu den Thioglycosiddonoren war allerdings der 3-acetylierte Trichloracetimidatbaustein **F** reaktiver als das entsprechende nicht acetylierte Trichloracetimidat.^[46d] Erste Modelling-Versuche ergaben Hinweise auf einen sterischen Einfluss der 3-Acetatgruppe. Hier zeigten die mit Chem3D generierten Strukturen, dass das reduzierende Ende des Donors **12** besser zugänglich sein sollte als beim acetylierten Thioglycosid **2**.

3.1.3 Modifizierung der 2,4,6-verzweigten Antennenbausteine

Um eine bessere Reaktivität der 2,4,6-verzweigten Donoren **2** und **12** in der sterisch anspruchsvollen Glycosylierung mit dem Heptasaccharid **1** zu erhalten, sollte die Zugänglichkeit der Donoren erhöht werden. Dies wurde mit einer kleineren Aminoschutzgruppe an den terminalen Glucosaminyresten versucht. Die Phthalimide sollten gegen Trifluoracetamide ausgetauscht werden, da sich diese Schutzgruppe bereits im Donor **G** für sterisch anspruchsvolle Glycosylierungen mit Glucosamin bewährt hatte. Hierzu wurde das Thioglycosid **12** mit Ethylendiamin in *n*-Butanol entschützt (s. Abbildung 18).^[74] Nach einer Festphasenextraktion wurde das Triamin **15** mit 68 % Ausbeute erhalten. Die drei Aminogruppen wurden mit Hilfe von Trifluoressigsäurepentafluorphenylester^[75] und Triethylamin selektiv in das Trifluoracetamid überführt. Es konnte keine Überreaktion an den Hydroxylgruppen beobachtet werden, die anschließend durch Zugabe von Essigsäureanhydrid und Pyridin acetyliert wurden.^[70] Auf Grund der Basenlabilität der Trifluoracetamidfunktion wurde der Anteil an Pyridin in dieser Reaktion reduziert.^[52b] Nach rechtzeitigem Abbruch der Reaktion durch die Zugabe von Methanol konnte das Thioglycosid **16** mit einer freien Hydroxylgruppe an der Mannose in Reinform erhalten werden (s. Abbildung 18).

Die Acetylierung der verbliebenen freien Hydroxylgruppe gelang mit Essigsäureanhydrid und Pyridin^[52b,70] ohne Zugabe von 4-(*N,N*-Dimethylamino)-pyridin (s. Abbildung 18). Bereits bei dieser Reaktion war eine verbesserte Zugänglichkeit der freien Hydroxylgruppe in Gegenwart der kleineren Trifluoracetamidschutzgruppen ersichtlich.

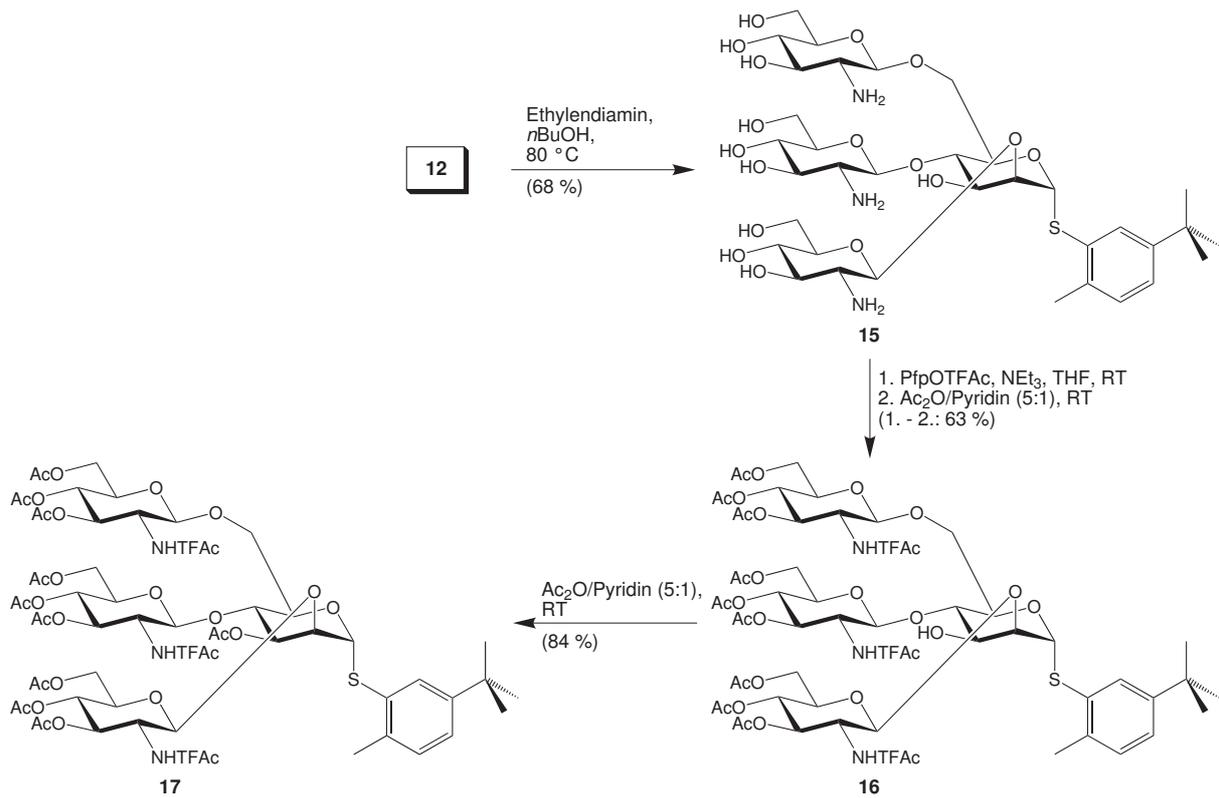


Abbildung 18. Austausch der Phthalimidoschutzgruppen durch Trifluoroacetamide

3.1.4 Glycosylierungen mit trifluoracetamidgeschützten Tetrasacchariddonoren

Zur Überprüfung der Reaktivität der trifluoracetamidgeschützten Donoren wurde das Thioglycosid **16** mit dem Pentasaccharidakzeptor **18**^[48a] umgesetzt (s. Abbildung 19).

In dieser Testreaktion zeigte sich an der 45 %igen Ausbeute eine gute Reaktivität des Donors **16**. Bereits bei der Flashchromatographie ließ sich das aus dem Donor entstandene Kopf-Kopf-verknüpfte Oktasaccharid fast vollständig abtrennen. Für die Synthese des Nonasaccharids **19** konnte daher auf die Reinigung durch HPLC verzichtet werden.

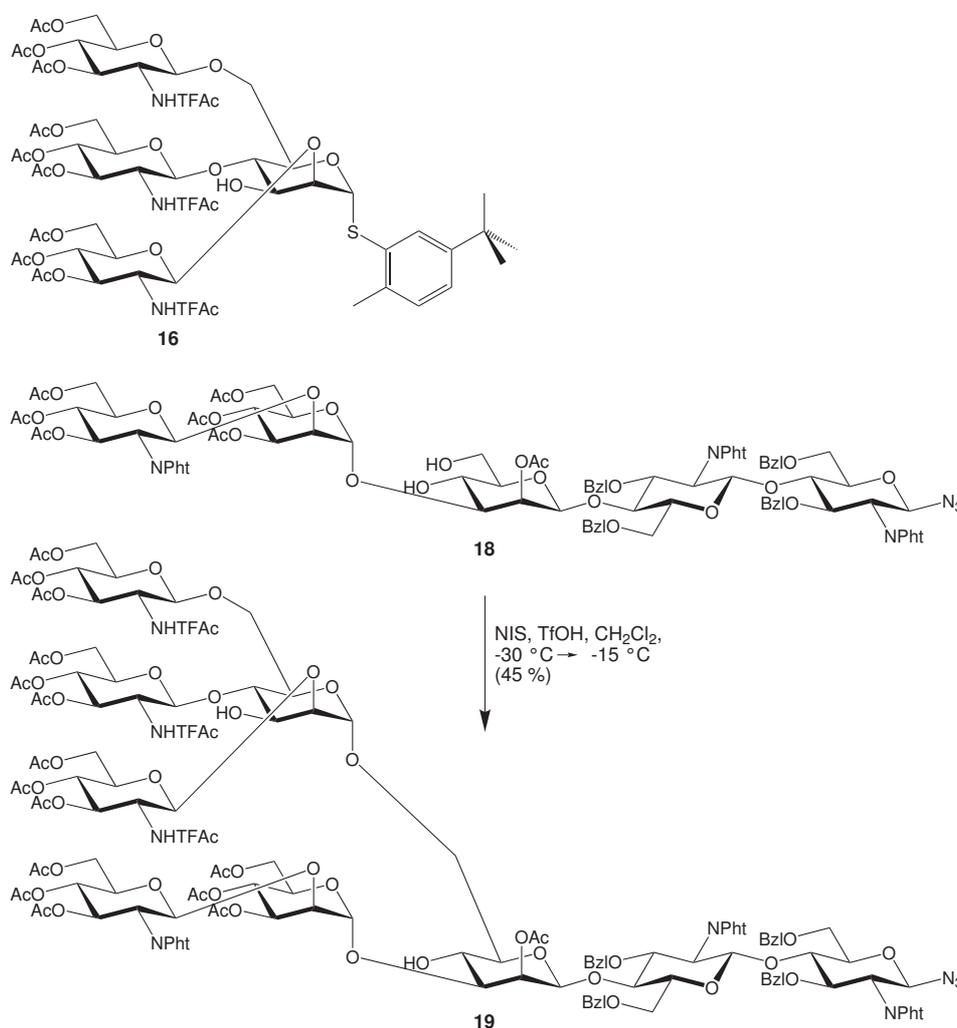


Abbildung 19. Synthese des Nonasaccharids **19** mit Donor **16**

Für die Umsetzung mit dem Akzeptor **1** wurden auf Grund besserer Vergleichbarkeit 3.3 Äquivalente Donor, eine Akzeptorkonzentration von 12.8 mM und eine NIS/TfOH-Aktivierung bei -30 °C gewählt (s. Abbildung 20).^[72]

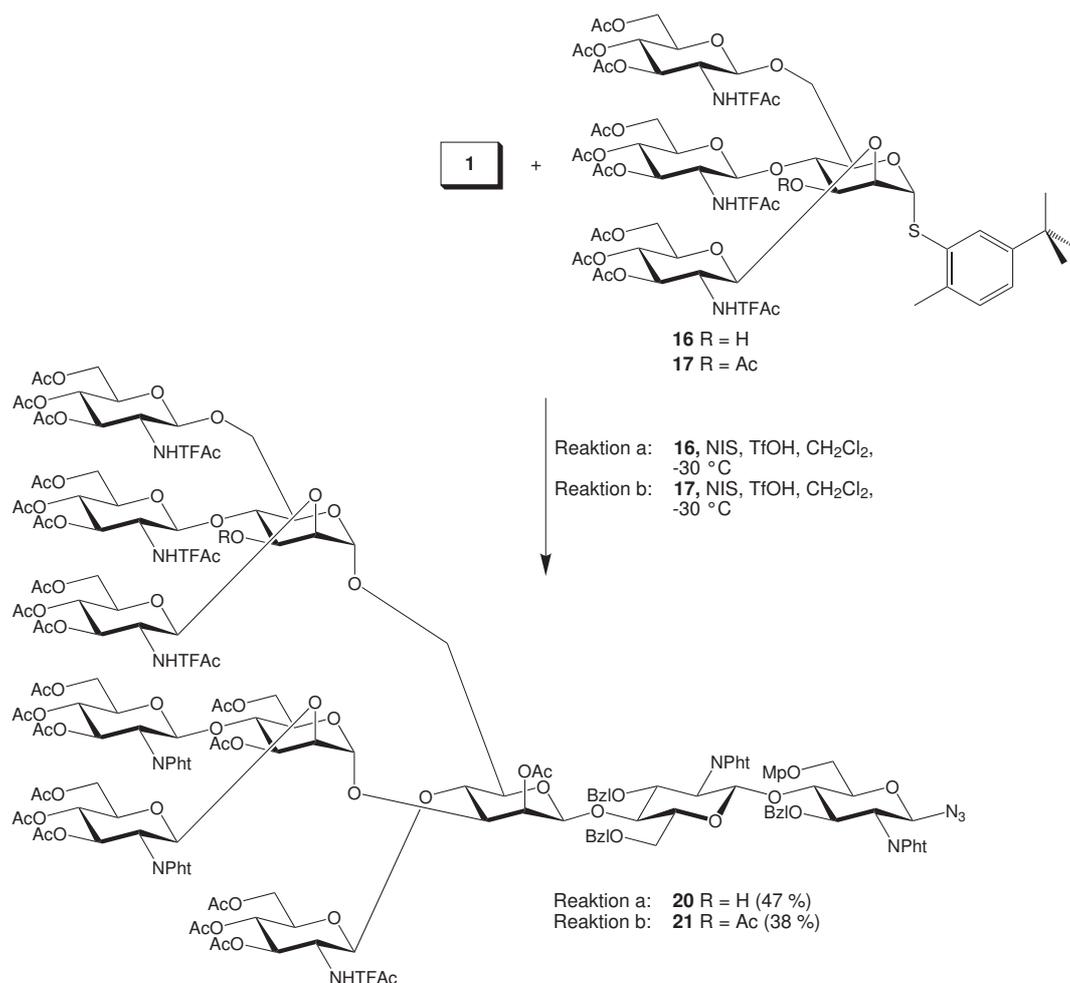


Abbildung 20. Synthese der Undecasaccharide **20** und **21**

Durch die Verwendung der sterisch weniger anspruchsvollen Donoren **16** und **17** konnte die Ausbeute in beiden Reaktionen relativ zu den Donoren **2** und **12** gesteigert werden. Die entsprechenden Kopf-Kopf-verknüpften Oktasaccharide konnten bei der Synthese der Undecasaccharide **20** und **21** bereits durch Flashchromatographie vollständig entfernt werden. Die Ausbeuten von 47 % (**20**) bzw. 38 % (**21**) wurden auf Grund der Vergleichbarkeit mit den Ausbeuten der phthalimidogeschützten Verbindungen **3** und **4** nach RP-HPLC bestimmt (s. Tabelle 1).

Tabelle 1. Ausbeuten bei der Glycosylierung von **1** mit verschiedenen Schutzgruppen im Donor

Donor	Position 3 α -1,6-Mannose	Schutzgruppe der Aminogruppen	Ausbeute
2	OAc	Pht	8 % 3
12	OH	Pht	31 % 4
16	OH	TFAc	47 % 20
17	OAc	TFAc	38 % 21

Der Vergleich der vier Donoren **2**, **12**, **16** und **17** zeigte, dass sich die großen Phthalimidoschutzgruppen in den peripheren *N*-Acetylglucosaminyleinheiten auf die Reaktivität der Donoren auswirken. Durch die Verkleinerung dieser Schutzgruppen wurden die Donoren **16** und **17** erhalten, die bei der Glycosylierung von **1** zu guten Umsätzen führten. Durch das Weglassen der 3-Acetatschutzgruppe (Donor **16**) konnten die Ausbeuten relativ zu **17** erhöht werden.

Für die weitere Synthese wurde das Undecasaccharid **20** eingesetzt, da es mit den höchsten Ausbeuten hergestellt werden konnte.

3.1.5 Einführung der Core-Fucose

Zur Einführung der Core-Fucose wurde die *p*-Methoxyphenylschutzgruppe des Undecasaccharids **20** selektiv durch Oxidation mit Cer(IV)-ammoniumnitrat entfernt (s. Abbildung 21).^[46c,49,76] Der Akzeptor **22** wurde in sehr guten Ausbeuten (88 %) erhalten.

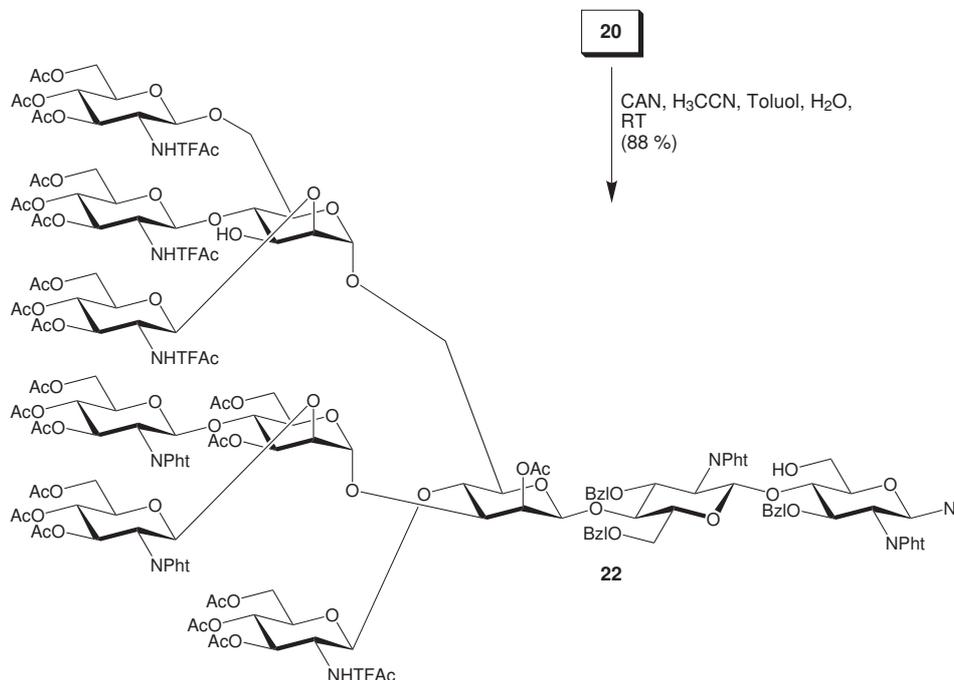


Abbildung 21. Oxidative Entfernung der *p*-Methoxyphenylschutzgruppe

Die Synthese des Dodecasaccharids **23** erfolgte durch *in-situ*-Anomerisierung mit dem Fucosylthioglycosid **H** (s. Abbildung 22).^[46c,49,77] Per LC-MS-Analyse konnte im Reaktionsrohprodukt ein geringer Anteil an doppelt fucosylierten Produkt nachgewiesen werden. Außer-

dem wurde eine zweite Verbindung mit der Masse der Zielverbindung **23** gefunden, was darauf schließen lässt, dass die Fucose auch direkt mit der sterisch abgeschirmten 3-OH-Gruppe der Mannose im α -1,6-Arm reagieren konnte. Diese Nebenreaktion sollte sich durch eine Acetylierung der Verbindung **20** umgehen lassen. Dass es sich beim Hauptprodukt um die richtig verknüpfte Core-fucosylierte Verbindung **23** handelte, konnte durch den NMR-Tiefenfeldshift der H-6a/b¹- und C-6¹-Signale eindeutig bewiesen werden. Die richtigen Konfigurationen aller glycosidischen Bindungen wurden durch gekoppelte HSQC-Experimente bestätigt.^[78]

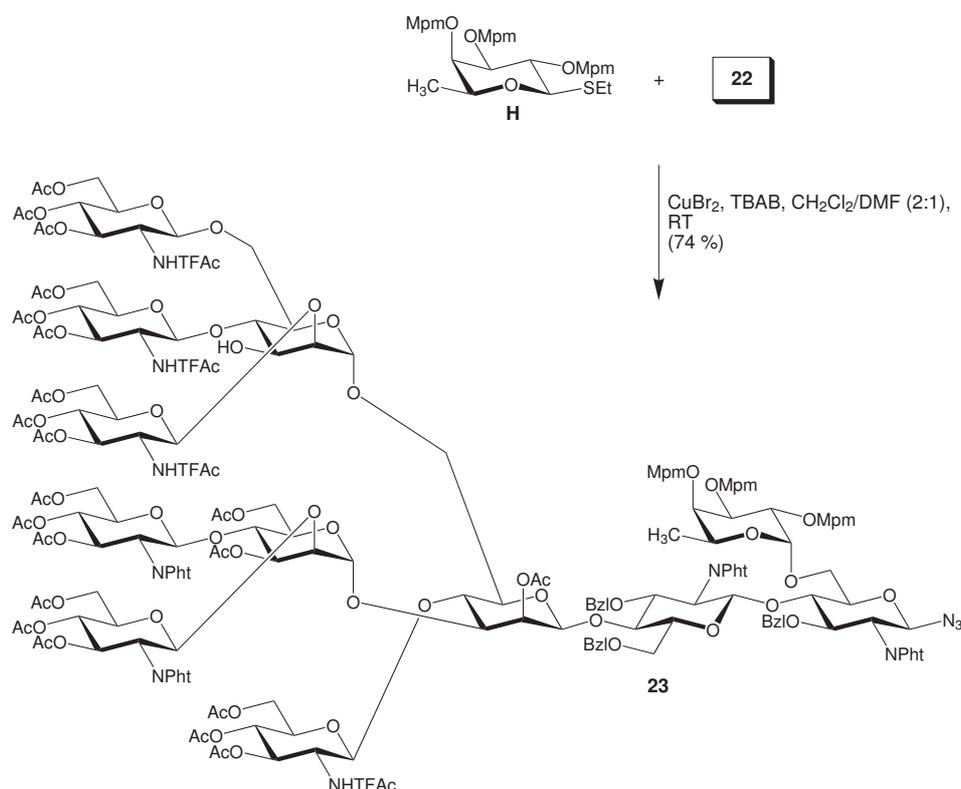


Abbildung 22. Synthese des Dodecasaccharids **23**

Um zu zeigen, dass sich die Trifluoracetamidenschutzgruppen problemlos entfernen lassen, wurden alle basenlabilen Schutzgruppen des Dodecasaccharids **23** in einer dreistufigen Eintopfreaktion entfernt und die nativen Acetamidogruppen eingeführt (s. Abbildung 23).^[70,74,79]

Das Azid am reduzierenden Ende von Verbindung **24** könnte im Folgenden reduziert und zum Halbacetal hydrolysiert werden. Das freie pentaantennäre *N*-Glycan mit bisecting-GlcNAc und Core-Fucose sollte nach hydrogenolytischer Abspaltung der Benzyl- und *p*-Methoxybenzyl-Schutzgruppe zugänglich sein. Mit der hier beschriebenen Synthesestrategie wurde erstmals ein komplexes *N*-Glycan mit der maximalen Anzahl an Verzweigungen und Core-Substitutionen auf chemischem Weg hergestellt. Auf Grund dieser Synthese kann angenommen

werden, dass sich auch bisected *N*-Glycane mit Core-Fucosylierung und geringerer Verzweigung nach diesem modularen Bausteinsystem herstellen lassen, was dessen universelle Einsetzbarkeit andeutet.

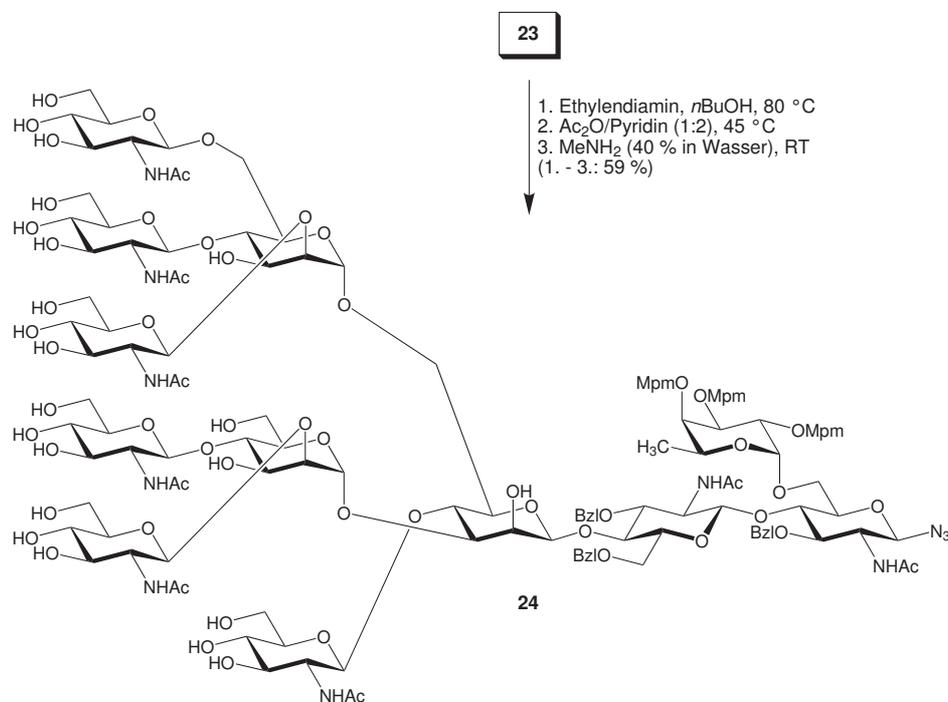


Abbildung 23. Entfernung der Amid-, Ester- und Imid-Schutzgruppen

3.2 Verwendung von trifluoracetamidgeschützten Donoren zur Synthese von biantennären *N*-Glycanen des bisecting-Typs

Die nachträgliche Einführung von bisecting-GlcNAc an die sterisch abgeschirmte 4-Hydroxylgruppe der zentralen β -Mannose von komplexen *N*-Glycanen ist generell schwierig. Die nachträgliche Einführung eines bisecting-Rests an *N*-Glycane mit peripheren Phthalimidenschutzgruppen war bis jetzt nur bei biantennären Verbindungen möglich.^[43,46,51] Für höher verzweigte *N*-Glycane wurde von *H. Weiß* eine Synthesestrategie entwickelt, bei der der α -1,6-Arm erst nach dem bisecting-Rest in das *N*-Glycan eingeführt wird.^[42,52] Dies hat den Nachteil, dass die Synthese von *N*-Glycanen mit oder ohne bisecting-Rest über zwei unterschiedliche Synthesewege verläuft. Aus diesen Gründen wurde untersucht, ob sich die günstigen Eigenschaften der trifluoracetamidgeschützten Donoren auch auf eine verkürzte Synthese von *N*-Glycanen des bisecting-Typs übertragen lassen. Das *N*-Glycan sollte aus dem

Core-Trisaccharid **A** und dem Thioglycosid **28** in zwei regio- und stereoselektiven Glycosylierungsreaktionen aufgebaut und der bisecting-Rest mit dem bewährten Donor **G** nachträglich eingeführt werden (s. Abbildung 24).

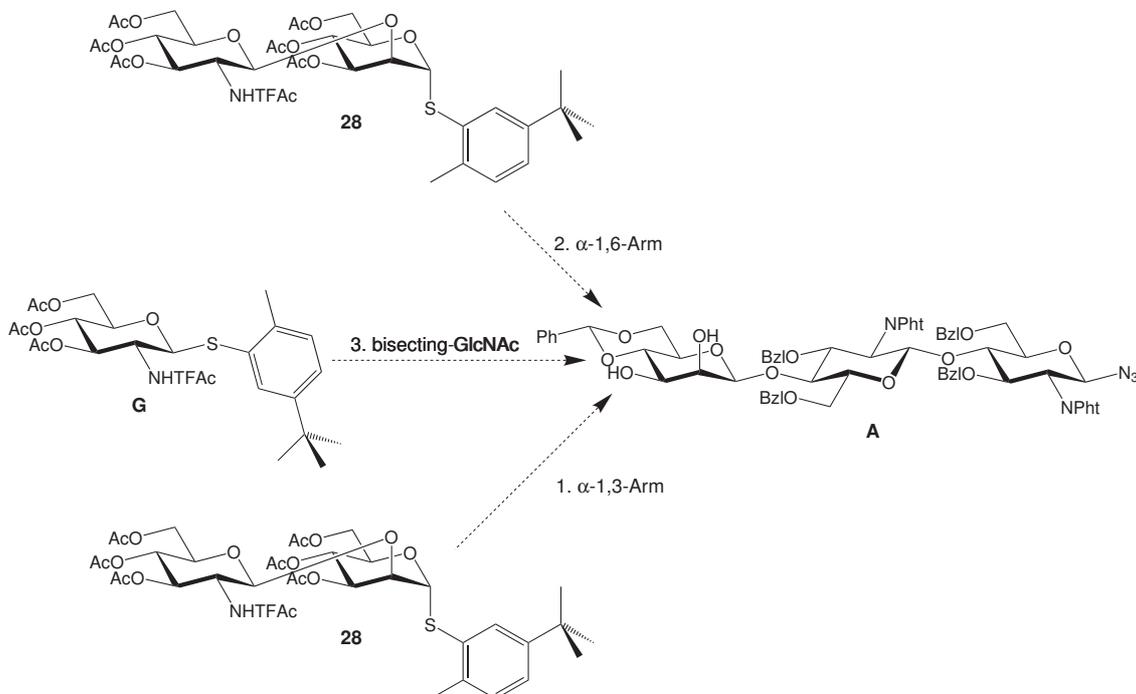
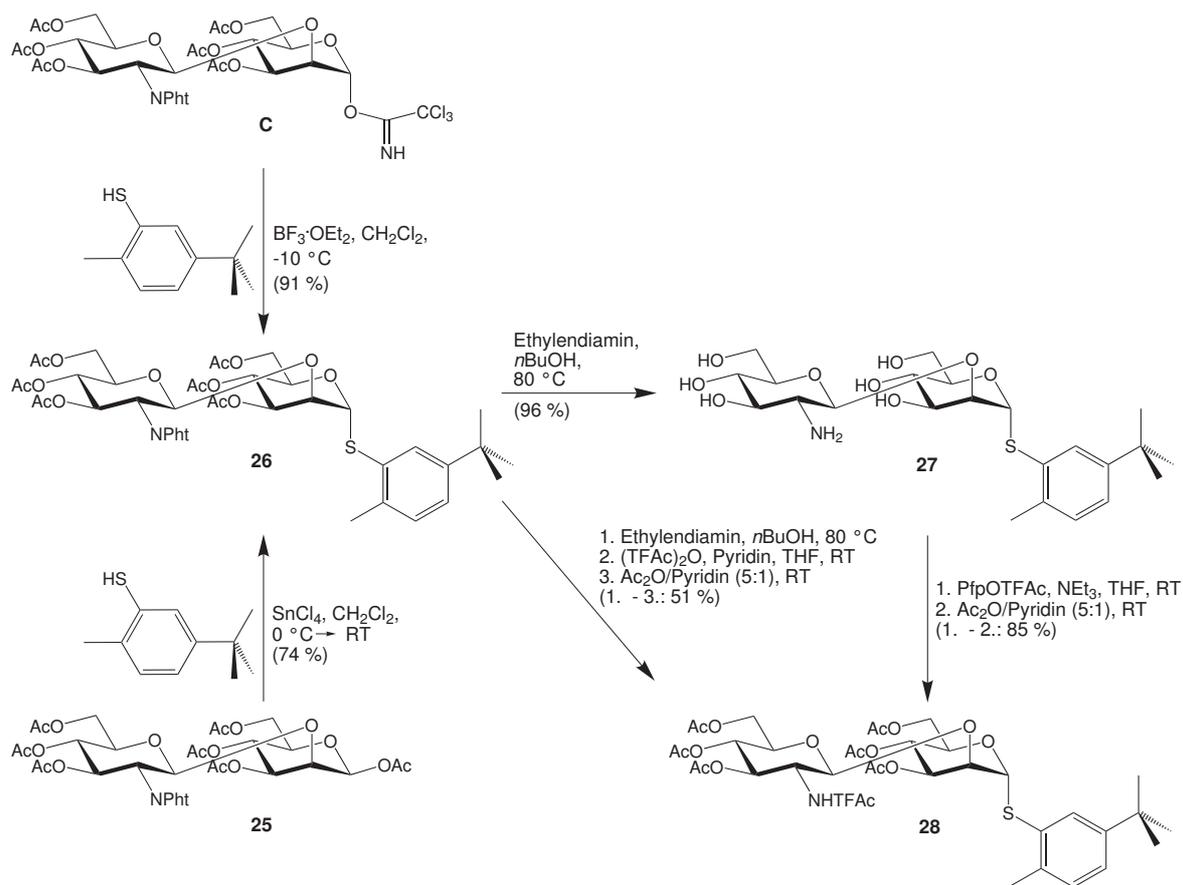


Abbildung 24. Modulares Bausteinsystem für die Synthese eines biantennären *N*-Glycans des bisecting-Typs mit trifluoracetamidgeschützten Donoren

3.2.1 Synthese eines trifluoracetamidgeschützten GlcNAc-Man-Donors

Für die Synthese eines biantennären *N*-Glycans mit Trifluoracetamidenschutzgruppen in den terminalen *N*-Acetylglucosaminyleinheiten sollte zunächst der Donor **28** hergestellt werden. Dabei wurden verschiedene Wege untersucht (s. Abbildung 25). Aus dem Trichloracetimidat **C**^[46a] konnte unter Bortrifluorid-Katalyse^[65,67b,69] das Thioglycosid **26** erhalten werden. Alternativ gelang dies mit dem Acetat **25**^[45] und Zinn(IV)-chlorid.^[80] Das Thioglycosid **26** wurde mit Ethylendiamin vollständig entschützt.^[74] Da es bei der *N*-Trifluoracetylierung zur Überreaktion an den Hydroxylgruppen kam, wurden die unerwünschten *O*-Trifluoracetate durch Zugabe von Methanol hydrolysiert.^[81] Nach der Entfernung von restlicher Trifluoressigsäure durch Gefriertrocknung mit 10 %iger Essigsäure wurden die Hydroxylgruppen mit Essigsäureanhydrid und Pyridin^[52b,70] acetyliert und nach chromatographischer Reinigung das trifluoracetamidgeschützte Thioglycosid **28** erhalten (s. Abbildung 25).


 Abbildung 25. Synthese des Donors **28**

Zur Vereinfachung der Synthese von Verbindung **28** wurde versucht, alle Reaktionsschritte in einer Eintopfreaktion durchzuführen und auf die Reinigung der entschützten Verbindung **27** durch Festphasenextraktion zu verzichten. Hierzu wurde das Zwischenprodukt **27** direkt mit Trifluoressigsäureanhydrid und Pyridin umgesetzt.^[82] Die Trifluoracylierung an den Hydroxylgruppen wurde mit Methanol rückgängig gemacht.^[81] Nach Austausch der Trifluoressigsäure durch Gefriertrocknung mit 10 %iger Essigsäure wurden die freien Hydroxylgruppen mit Essigsäureanhydrid/Pyridin acetyliert (s. Abbildung 25).^[52b,70]

Bei der Synthese mit dem zusätzlichen Reinigungsschritt des Amins **27** wurde jedoch eine bessere Gesamtausbeute erhalten. Bei größeren Reaktionsansätzen der Eintopfsynthese kam es zu der Bildung von Nebenprodukten, die nicht vom gewünschten Thioglycosid **28** abgetrennt werden konnten.

3.2.2 Einführung des α -1,3-Arms

Für die Synthese eines biantennären *N*-Glycans sollte zunächst der Donor **28** in einer regio- und stereoselektiven Glycosylierungsreaktion mit der 3-Hydroxylgruppe der β -Mannose des Core-Trisaccharids **A** umgesetzt werden. Das Disaccharid **28** wurde mit *N*-Iodsuccinimid und Trifluormethansulfonsäure bei $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ und einer Akzeptorkonzentration von 26.8 mM aktiviert (s. Abbildung 26).^[72]

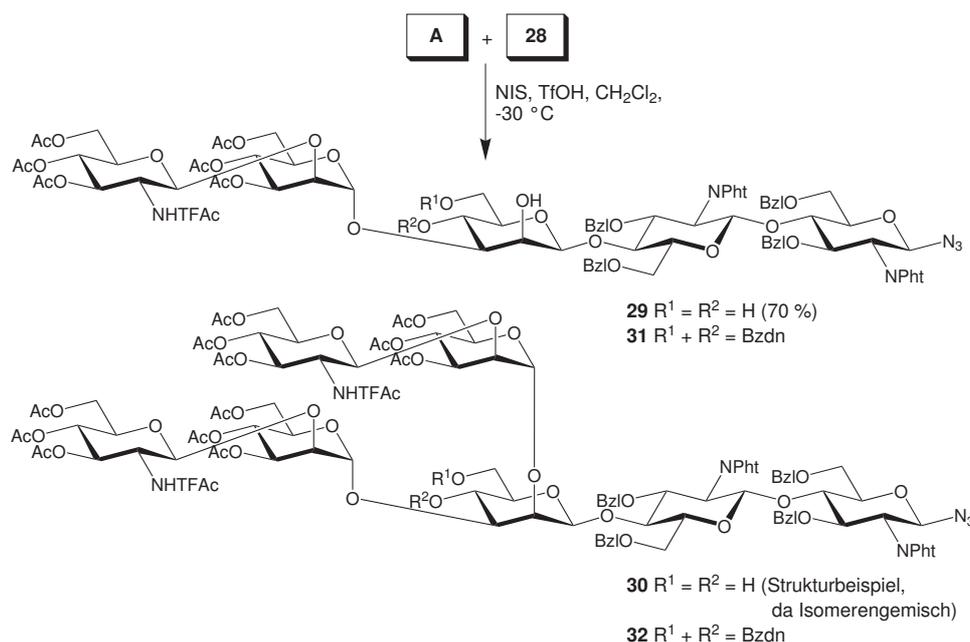


Abbildung 26. Synthese der Pentasaccharide **29** und **31**

Unter Verwendung von zwei Äquivalenten Donor konnte das gewünschte Pentasaccharid **31** nicht erhalten werden. Grund hierfür war die Entschützung zum debenzylidenierten Pentasaccharid **29**, das durch Massenspektrometrie und NMR-Spektroskopie nachgewiesen werden konnte. Die Verbindungen ohne Benzylidenacetal eignen sich nicht zur Einführung des bisecting-Rests. Bei den Glycosylierungen bildeten sich auch zwei Heptasaccharide, die laut LC-MS-Analyse gleiches Molekulgewicht hatten (s. Abbildung 27, Reaktion a). Es konnte zunächst keine Aussage darüber getroffen werden, ob sich diese Nebenprodukte während der Reaktion oder während der Aufarbeitung bildeten. Die Zugabe von Pyridin zur Neutralisation^[83] der Trifluormethansulfonsäure vor der wässrigen Extraktion verringerte den Verlust des Benzylidenacetals wesentlich, was darauf schließen ließ, dass die Nebenreaktion zu **30** während der Extraktion stattfand. Auf diese Weise konnte das Pentasaccharid **31** mit einer Ausbeute von 70 % isoliert werden (s. Abbildung 28 und Abbildung 27, Reaktion b).

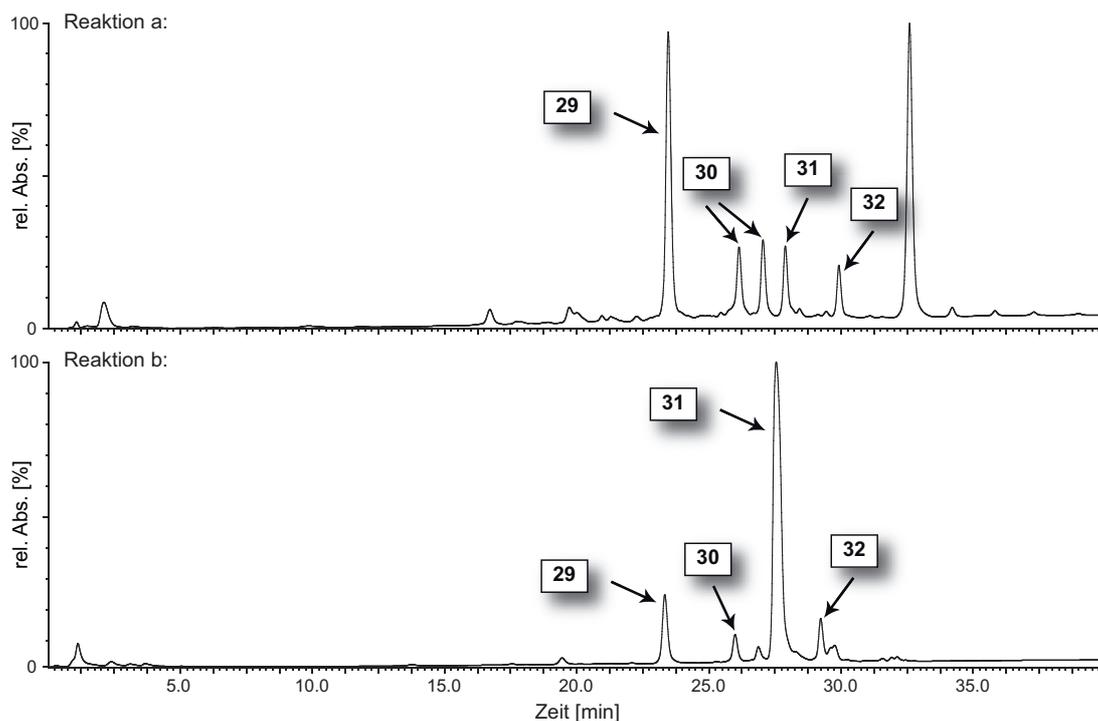


Abbildung 27. Chromatogramm der Rohprodukte zur Synthese des Pentasaccharids **31** mit (Reaktion a) und ohne (Reaktion b) Neutralisation durch Pyridin

Die doppelte Glycosylierung zum Heptasaccharid **32** konnte auch durch die Verwendung von weniger Donor (1.5 eq), größerer Verdünnung (4.6 mM **A**) und niedrigerer Reaktions-temperatur nicht vollständig verhindert werden. Die Struktur des Pentasaccharids **31** wurde durch NMR-Spektroskopie, die den Verbleib der 2-OH-Gruppe zeigte, bestätigt. Die mit dem trifluoracetylierten Donor **28** erzielte Ausbeute lag zwischen denen der *N*-acetylierten und der phthalimidogeschützten Donoren.^[45,84] Es zeigte sich, dass der trifluoracetylierte Donor **28** weniger selektiv war als Verbindung **C**.

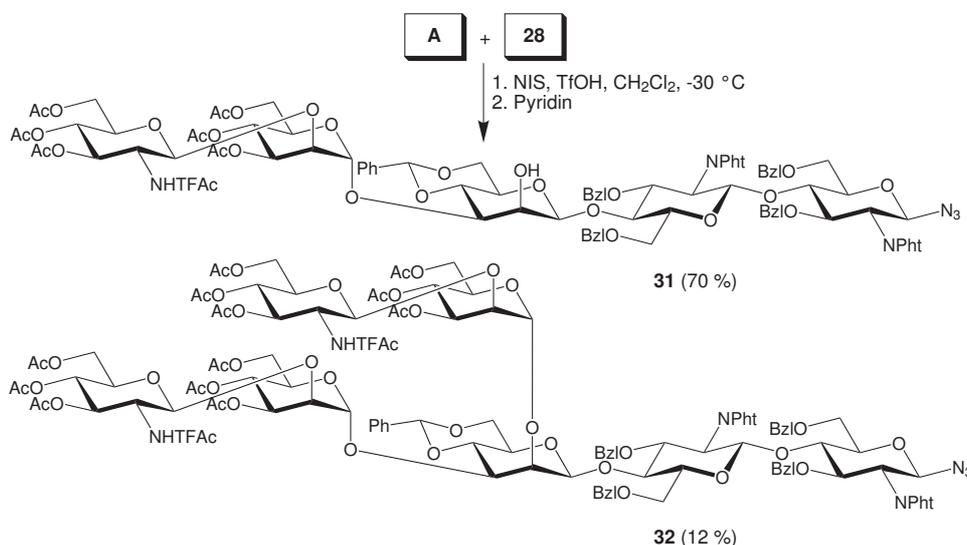


Abbildung 28. Synthese des Pentasaccharids **31**

Da der Verlust des Benzylidenacetals bei der NIS/TfOH-Aktivierung nicht ganz verhindert werden konnte, wurde der Einsatz des Disaccharids als Trichloracetimidat untersucht. Dieser Donorbaustein sollte bereits mit der milden Lewis-Säure Bortrifluorid-Diethyletherat aktivierbar sein. Aus dem Thioglycosid **28** wurde zunächst das Halbacetal **33** freigesetzt (s. Abbildung 29). Dies geschah durch *N*-Iodsuccinimid/Trifluormethansulfonsäure-Aktivierung in wässrigem Dichlormethan.^[83,85] Zur Synthese des Trichloracetimidats **34** wurde Kaliumcarbonat^[63d,65,67] als Base verwendet, da sich die Trifluoracetamidenschutzgruppe unter den Reaktionsbedingungen in absolutem Dichlormethan als stabil herausstellte und keine Entschützung, wie in wässrigem Methanol, eintrat.^[86] Bei Testumsetzungen von trifluoracetamidgeschützten Verbindungen mit 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en traten bereits nach kurzen Reaktionszeiten Nebenreaktionen auf, die auf die Basenlabilität der Trifluoracetamide zurückgeführt wurden.

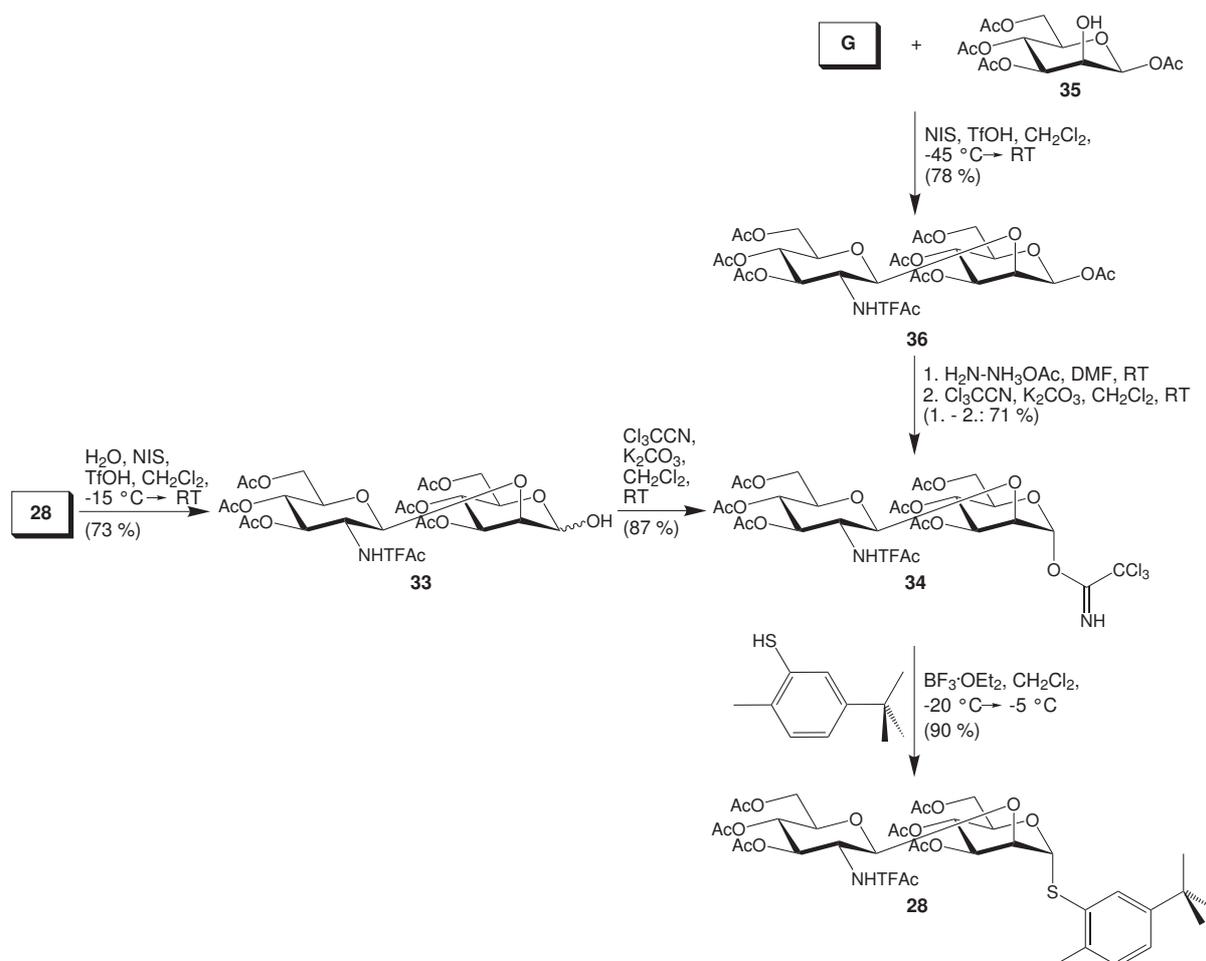


Abbildung 29. Synthese des Trichloracetimidats **34** und des Thioglycosids **28**

Alternativ konnte das Disaccharid **36** aus Tetraacetylmannose **35**^[87] und dem bisecting-GlcNAc-Donor **G** aufgebaut werden (s. Abbildung 29).^[72] Hier erwies sich der Thio-

glycosiddonor **G** als reaktiver (Ausbeute: 78 %) als das entsprechende Trichloracetimidat **44** (Ausbeute: 44 %). Teilweise wurde bei diesen Reaktionen ein Anomerengemisch am reduzierenden Ende erhalten. Das Disaccharid **36** wurde mit Hydrazinacetat in *N,N*-Dimethylformamid^[88] selektiv desacetyliert und in das Trichloracetimidat **34** umgewandelt.^[63d,65,67] Durch diese Syntheseroute konnte auf die Umschüttung und die dadurch erschwerte Reinigung verzichtet werden. Das Thioglycosid **28** konnte aus dem Imidat **34** in sehr guten Ausbeuten (90 %) erhalten werden (s. Abbildung 29).

Die Umsetzung des Disaccharidimidats **34** mit dem Core-Trisaccharid **A** unter Bortrifluorid-Diethyletherat-Katalyse^[65,67b,69] ergab das gewünschte Pentasaccharid **31** (s. Abbildung 30). Mittels LC-MS-Analytik konnten geringe Mengen an Überreaktionsprodukt **32** nachgewiesen werden, das bei allen getesteten Akzeptorkonzentrationen (27.5 mM, 10.8 mM, 3.2 mM **A**) entstand. Es konnten auch Reste des Akzeptors **A** nachgewiesen werden, weshalb die zwei Äquivalente des Donors **34** nicht reduziert wurden. Die besten Ergebnisse wurden bei einer Akzeptorkonzentration von 10.8 mM und einem Temperaturfenster zwischen -40 °C und -30 °C erzielt. Der Verlust des Benzylidenacetals wurde in diesen Glycosylierungsreaktionen nicht beobachtet.

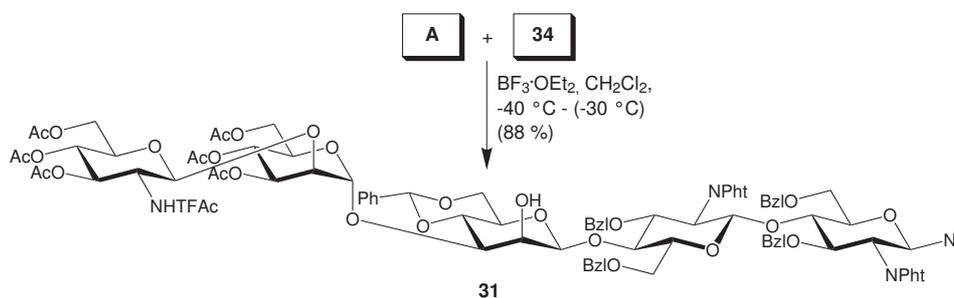


Abbildung 30. Synthese des Pentasaccharids **31** mit dem Trichloracetimidat **34**

Zum direkten Vergleich der Reaktivität der beiden unterschiedlich geschützten Donoren **C** und **34** wurde ein kompetitives Glycosylierungsexperiment durchgeführt (s. Abbildung 31). Hierzu wurde das Core-Trisaccharid **A** (12.1 mM) mit je 1.1 Äquivalenten der beiden Donoren unter Bortrifluorid-Diethyletherat-Katalyse umgesetzt.^[65,67b,69] Das Verhältnis der beiden Pentasaccharide **31** und **37** lag ungefähr bei 1:1 (LC-MS). Die gleichzeitige Überreaktion zu Verbindung **32** konnte im Fall des trifluoracetamidgeschützten Heptasaccharids **32** beobachtet werden. Zusätzlich konnte durch LC-MS auch die Entstehung eines Heptasaccharids, das eine Trifluoracetamid- und eine Phthalimidenschutzgruppe trägt, nachgewiesen werden. Dieses Experiment zeigt, dass die Reaktivität der beiden Donoren nahezu gleich ist. Die Tendenz des Donors **34** zur doppelten Glycosylierung des Diols **A** wird vor allem durch die

kleinere Trifluoracetamidenschutzgruppe in der peripheren *N*-Acetylglucosaminyleinheit bestimmt. Im Gegensatz dazu führt eine periphere Phthalimidogruppe zu keiner Überreaktion, was auf einen selektivitätserhöhenden Effekt der sterisch anspruchsvollen Schutzgruppe zurückzuführen ist.

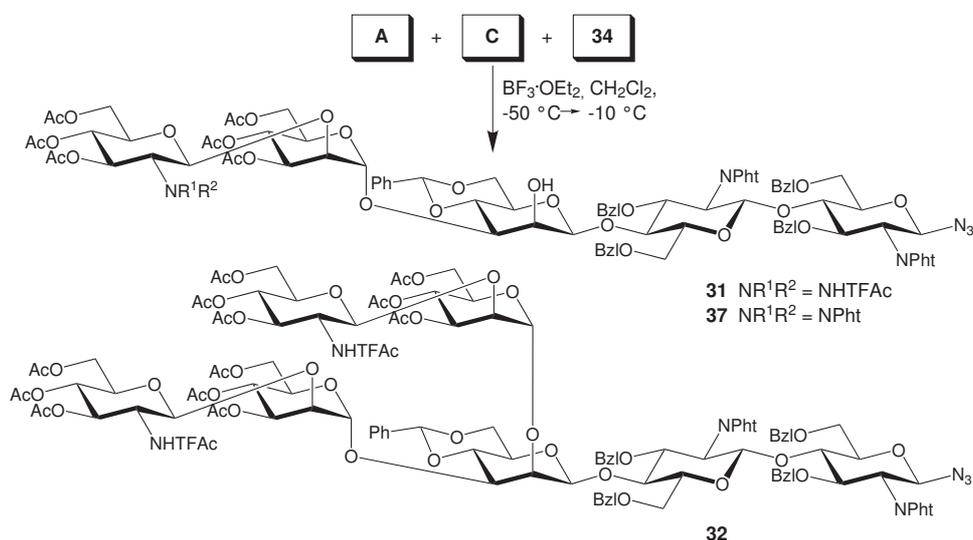


Abbildung 31. Kompetitive Glycosylierung mit den Donoren **C** und **34**

3.2.3 Einführung des α -1,6-Arms

Um weitere Informationen über die Reaktivität der trifluoracetamidgeschützten Bausteine **28** und **34** zu erhalten, wurde zunächst das Pentasaccharidtriol **29** mit dem Thioglycosid **28** umgesetzt (s. Abbildung 32). Es wurden zwei Äquivalente Donor bei einer Akzeptorkonzentration von 14.0 mM eingesetzt.

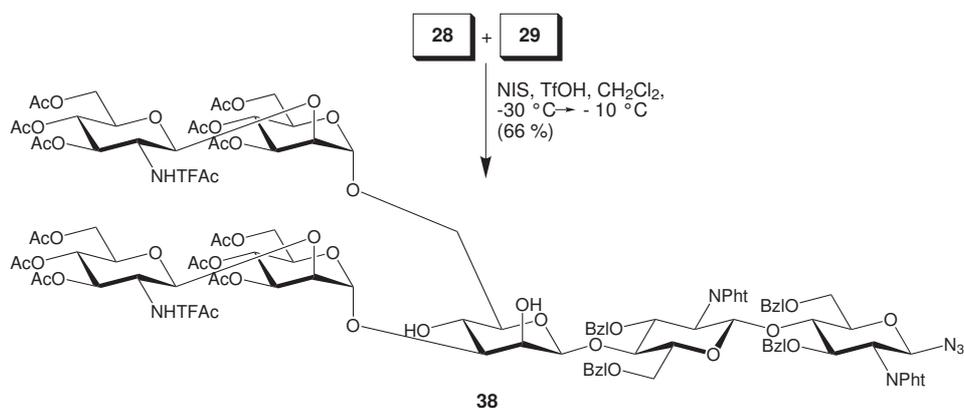


Abbildung 32. Synthese des Heptasaccharids **38**

Nach vier Stunden Reaktionszeit war das Triol **29** vollständig umgesetzt. Neben dem erwarteten biantennären Heptasaccharid **38** entstanden zusätzlich zwei Nonasaccharide durch Überreaktion des Donors mit den sekundären Hydroxylgruppen. Um die Reaktivität des Triols **29** unter weniger selektiven Bedingungen zu untersuchen, wurde dieses mit vier Äquivalenten Donor **28** umgesetzt. Hierbei bildete sich ein Gemisch aus verschiedenen Nonasacchariden. Das Undecasaccharid, das durch die Reaktion an allen drei Hydroxylgruppen entstehen könnte, wurde jedoch nicht erhalten. Diese Experimente zeigten, dass der Akzeptor **29** eine hohe Reaktivität gegenüber dem trifluoracetamidgeschützten Donor **28** aufwies und dass die hohe Regioselektivität des phthalimidgeschützten Donors **C** verloren ging.^[84]

Um die nachträgliche Einführung des bisecting-Rests zu untersuchen, wurde das Pentasaccharid **31** zunächst an der 2-Hydroxylgruppe acetyliert und anschließend debenzylideniert (s. Abbildung 33).^[52b,70,89]

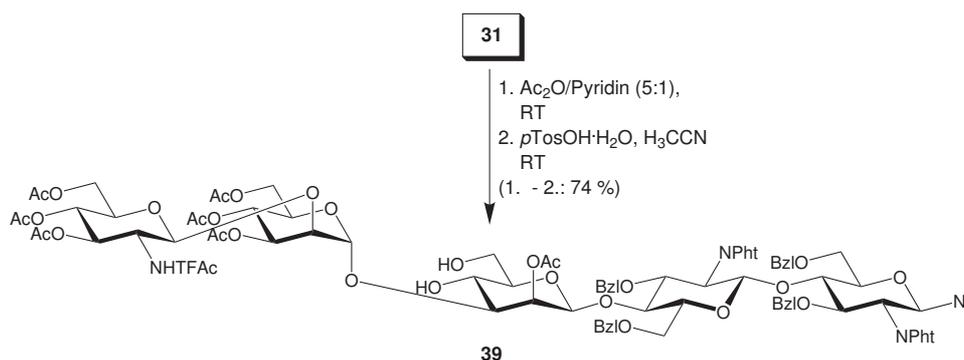


Abbildung 33. Acetylierung und Abspaltung des Benzylidenacetals

Das resultierende Diol **39** sollte durch regio- und stereoselektive Glycosylierung an der primären OH-Gruppe zum Heptasaccharid umgesetzt werden. Zum Vergleich wurde zusätzlich der phthalimidgeschützte Akzeptor **18** verwendet. Zunächst wurde das Diol **39** (Konzentration: 4.4 mM) mit 1.5 Äquivalenten Thioglycosid **28** umgesetzt (s. Abbildung 34, Reaktion a). Da unter diesen Bedingungen der Akzeptor **39** nicht vollständig umgesetzt werden konnte, wurde die Donormenge auf 2.5 Äquivalente erhöht, was neben **40** auch 15 % Überreaktionsprodukt **41** lieferte. Nach der Optimierung der Reaktionsbedingungen zeigte sich, dass zwei Äquivalente Donor **28**, eine Akzeptorkonzentration von 4.5 mM und ein Reaktionstemperaturfenster zwischen -50 °C und -40 °C die besten Ausbeuten lieferten (76 % **40**) und die Überreaktion zu **41** weitgehend unterdrückten. Das Dublett bei 5.64 ppm konnte dem Hydroxylproton an Position 4 zugeordnet werden, was die erwartete Regioselektivität der Glycosylierungsreaktion bestätigte.

Im Anschluss wurde der Akzeptor **18** unter analogen Bedingungen umgesetzt (s. Abbildung 34, Reaktion b), was eine Ausbeute von 53 % ergab. In einer Nebenreaktion bildete sich aus **18** und Acetonrückständen der Flashchromatographie ein Isopropylidenketal. Diese Reaktion wurde durch Trifluormethansulfonsäure katalysiert und durch die Wasserentfernung aus dem Reaktionsgleichgewicht durch das Molekularsieb weiter begünstigt.^[90] Dieses Nebenprodukt wurde durch LC-MS-Analyse sowie durch Acetalhydrolyse mit *para*-Toluolsulfonsäure-Hydrat^[89] nachgewiesen. Die Reinigung des Heptasaccharids **42** durch Flashchromatographie wurde durch das Kopf-Kopf-verknüpfte Donortetrasaccharid erschwert.

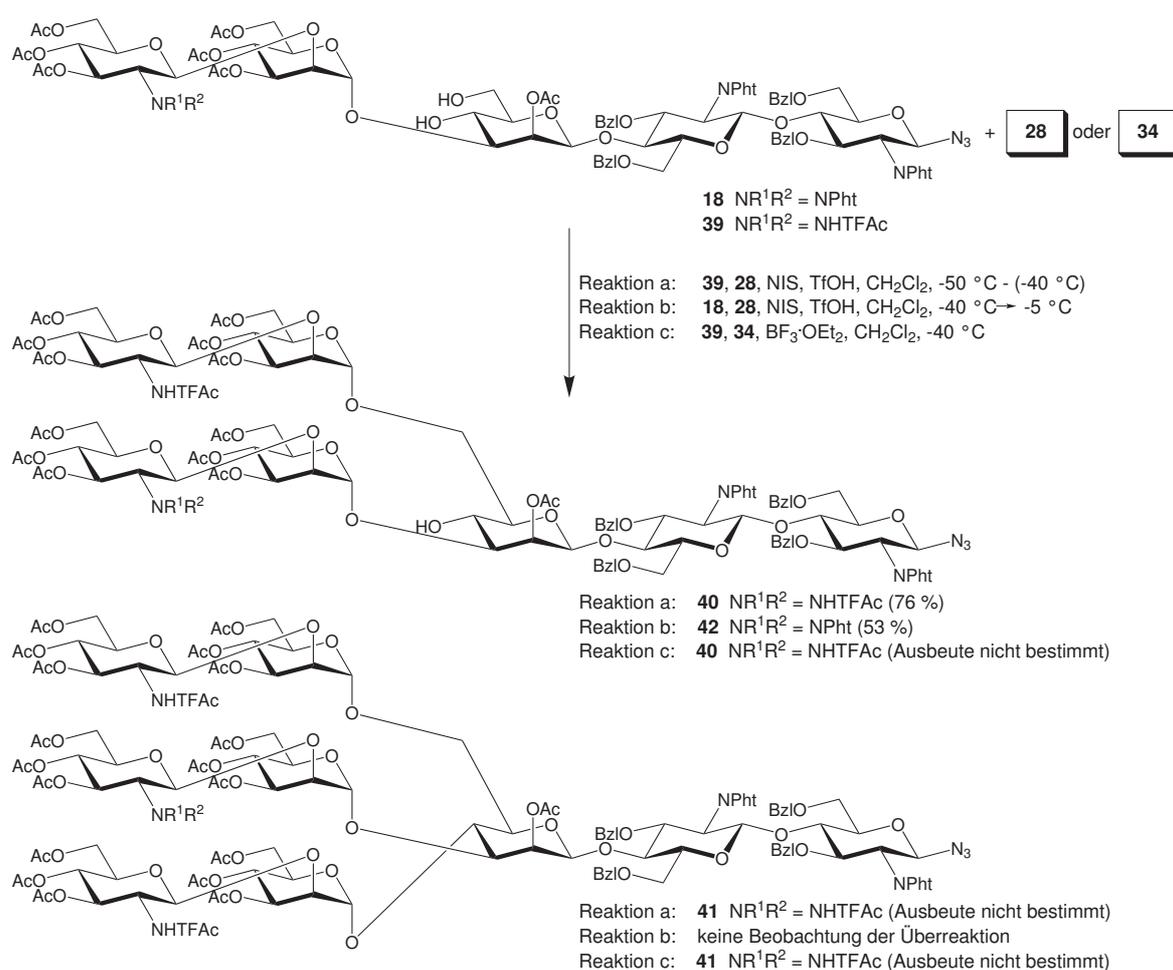


Abbildung 34. Einführung des α -1,6-Arms

Als Donor wurde auch das Trichloracetimidat **34** unter Lewis-Säure-Katalyse verwendet (s. Abbildung 34, Reaktion c).^[65,67b,69] Trotz der verdünnten Bedingungen (4.4 mM **39**) wurde das Nonasaccharid **41** bevorzugt erhalten (**40/41** = 1:2, Verhältnis durch LC-MS bestimmt).

3.2.4 Nachträgliche Einführung eines bisecting-GlcNAc-Rests in biantennäre *N*-Glycane

Zur nachträglichen Einführung eines bisecting-GlcNAc-Rests wurden die Donoren **G** und **44** (s. Kapitel 3.3) verwendet.^[52,72,91] Hierfür standen drei verschiedene Akzeptoren zur Verfügung: das phthalimidogeschützte Heptasaccharid **43**^[45], Verbindung **40** mit Trifluoracetyl-schutzgruppen in beiden Antennen und die Verbindung **42** mit den unterschiedlichen peripheren Stickstoffschutzgruppen im α -1,3- und α -1,6-Arm.

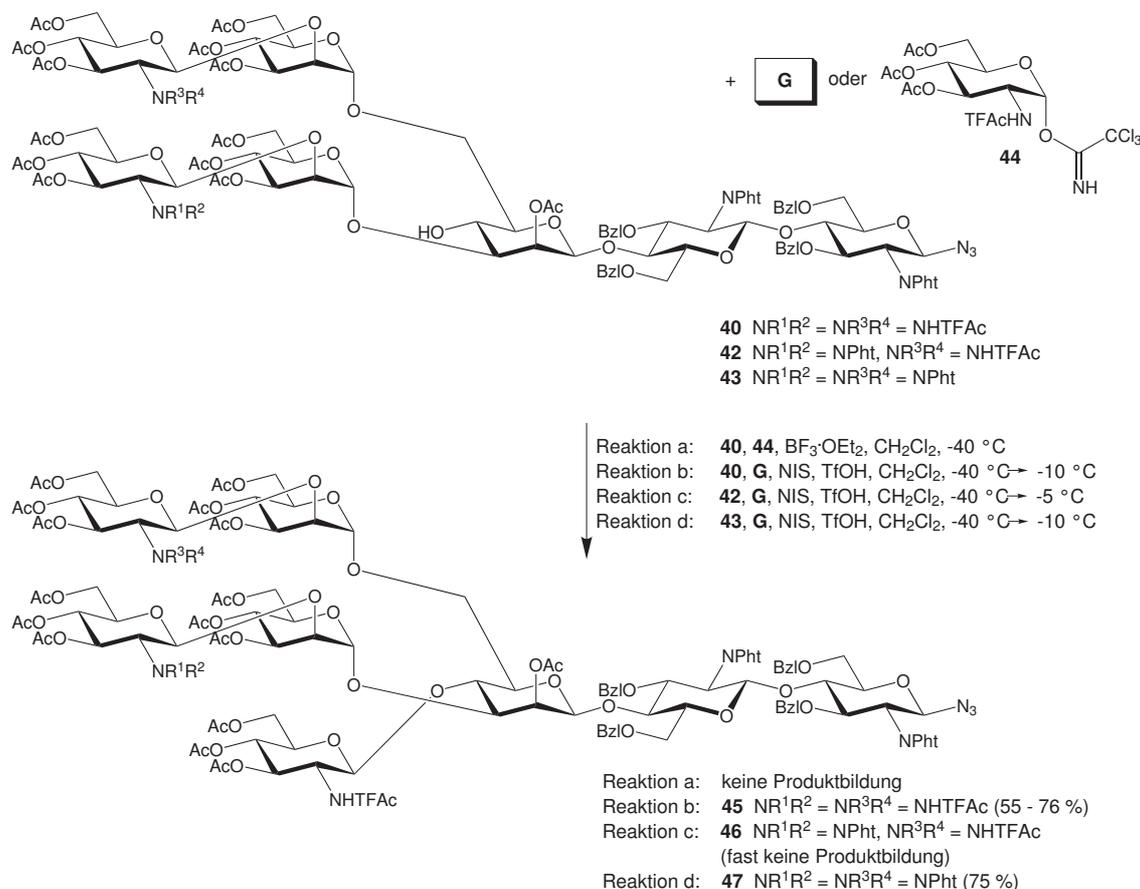


Abbildung 35. Nachträgliche Einführung eines bisecting-GlcNAc-Rests

Zur Glycosylierung der sterisch abgeschirmten 4-Hydroxylgruppe der β -Mannose der Heptasaccharide **40**, **42** und **43** wurden jeweils zehn Äquivalente Donor **G** oder **44** eingesetzt. Zunächst wurde versucht, über das Imidat **44**^[91] und Bortrifluorid-Diethyletherat-Katalyse ein bisecting-GlcNAc einzuführen (s. Abbildung 35, Reaktion a).^[65,67b,69] Bei dieser Reaktion wurde allerdings kein Oktasaccharid erhalten, was auf die Umlagerung des Imidats **44** zum Amid zurückzuführen war. Daher wurde das Thioglycosid **G** verwendet und bei -40°C mit *N*-Iodsuccinimid und Trifluormethansulfonsäure aktiviert.^[72] Es wurde eine Konzentration

des Heptasaccharids **40** von 11 mM gewählt, da sich diese Konzentration für die Glycosylierung des Akzeptors **43** mit dem Fluoriddonor **7** bewährt hatte.^[46c,45] Aus **40** konnte das trifluoracetamidgeschützte Oktasaccharid **45** in 55 % Ausbeute erhalten werden (s. Abbildung 35, Reaktion b). Das Heptasaccharid **42** zeigte unter diesen Bedingungen kaum Umsatz ($42/46 = 6:1$, Verhältnis aus LC-MS-Analytik bestimmt; s. Abbildung 35, Reaktion c). Bemerkenswert war, dass auch das phthalimidogeschützte Heptasaccharid **43** unter diesen Bedingungen in 75 %iger Ausbeute zur bisected Verbindung **47** umgewandelt werden konnte (s. Abbildung 35, Reaktion d). Dies gelang bei Verwendung von nur drei Äquivalenten Donor **G** nicht.^[52b] Durch die kleinere Trifluoracetamidenschutzgruppe und die robuste Thioglycosidaktivierung des Donors **G** konnte die Ausbeute relativ zu dem phthalimidogeschützten Fluorid **7** von 56 % auf 75 % verbessert werden.^[45,51] Bei genauer Untersuchung der Reaktionsmischung durch LC-MS wurde die Übertragung der Trifluoracetylgruppe des Donors **G** auf die freie Hydroxylgruppe von **43** gefunden. Als möglicher Mechanismus für diese Acylübertragung kam als Zwischenstufe das Stickstoffanalogon eines Orthoesters (Amidacetal) in Betracht (s. Abbildung 36). Daraus könnte sich das *O*-Trifluoracetat bilden.

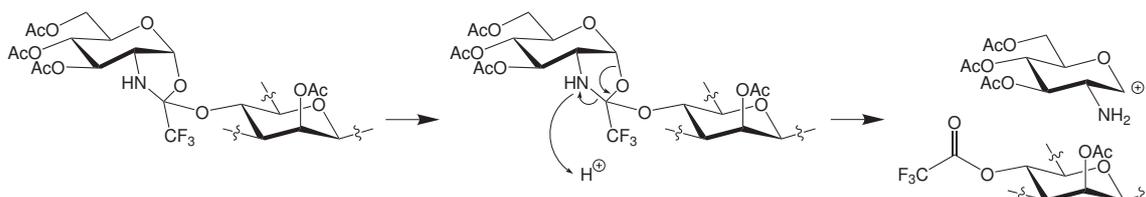


Abbildung 36. Möglicher Mechanismus zum *N,O*-Acyltransfer

Verbindung **47** konnte im Gegensatz zum trifluoracetamidgeschützten Oktasaccharid **45** durch Flashchromatographie nicht vollständig rein erhalten werden. Die Ausbeute des trifluoracetamidgeschützten *N*-Glycans **45** mit bisecting-GlcNAc konnte durch die Verwendung von konzentrierteren Reaktionsbedingungen (24 mM **40**) auf 76 % verbessert werden (s. Abbildung 35, Reaktion b). Der *N,O*-Acyltransfer wurde im Falle der trifluoracetylgeschützten Verbindung **40** nicht beobachtet.

3.3 Synthese von verzweigten trifluoracetamidgeschützten Donoren

Da die nachträgliche Einführung des bisecting-Rests beim trifluoracetamidgeschützten Heptasaccharid **40** mit sehr guten Ausbeuten möglich war, sollte diese Synthesestrategie auf höher

verzweigte *N*-Glycane übertragen werden. Hierzu sollten zunächst die verschiedenen verzweigten Donorbausteine synthetisiert werden.

Für die Synthese der verzweigten Antennenbausteine wurde zunächst das trifluoracetamidgeschützte Peracetat **49** im 100-g-Maßstab hergestellt (s. Abbildung 37).^[92]

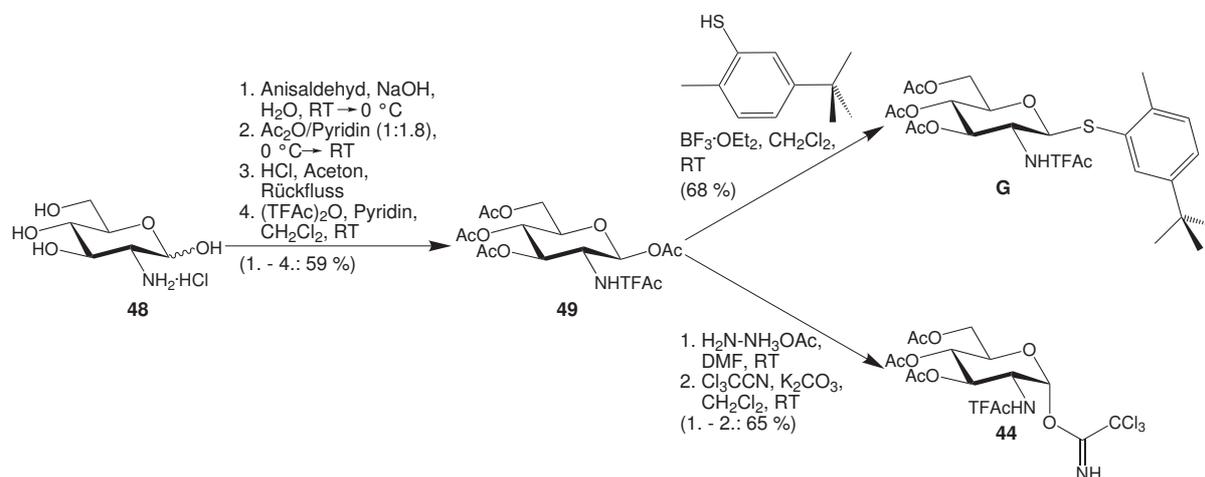


Abbildung 37. Synthese des Glucosaminderivats **49** als Vorstufe für **G** und **44**

Aus dem Acetat **49** wurde über zwei Stufen das Imidat **44**^[91] erhalten, das für die Glycosylierung von Thioglycosiden eingesetzt werden sollte.^[63d,65,67,88] Durch Umsetzung des Acetats **49** mit Bortrifluorid-Diethyletherat und dem Thiophenolderivat wurde der Donor **G** erhalten,^[92b] womit die zuvor benötigte Umschüttung der Phthalimidoschutzgruppe umgangen werden konnte.^[52b] Es empfiehlt sich, Bortrifluorid-Diethyletherat zu verwenden, da sich dieses, im Gegensatz zu Zinn(IV)-chlorid, durch Extraktion ohne Emulsionsbildung entfernen ließ. Bei der basischen Extraktion der Umsetzung mit SnCl₄ gingen zum Teil die basenlabilen Schutzgruppen von **G** verloren.

Für die Synthese der verzweigten Antennendonoren wurde das Mannosylthioglycosid **52** als gemeinsame Vorstufe benötigt (s. Abbildung 38). Dazu wurde peracetylierte Mannose **50** unter Zinn(IV)-chlorid-Katalyse^[80] zum Thioglycosid **51** umgesetzt, das unter Zemplén-Bedingungen^[93] desacetyliert wurde (s. Abbildung 38).

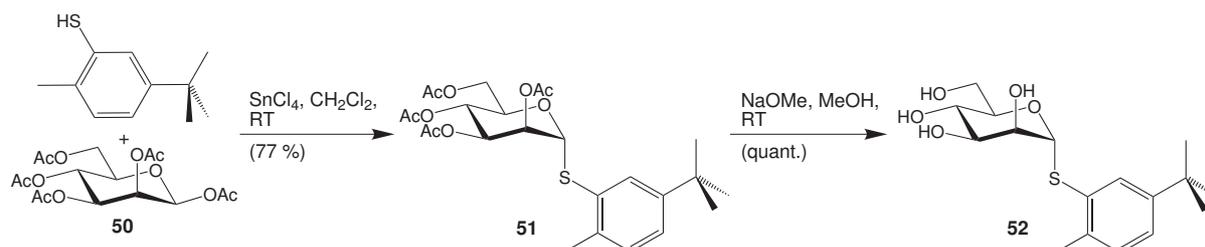


Abbildung 38. Herstellung der Vorstufe **52**

3.3.1 Synthese des 2,6-verzweigten Donors **55**

Zur Synthese des 2,6-verzweigten Donorbausteins **55** wurden zunächst die beiden trans-ständigen Hydroxylgruppen an Position 3 und 4 des Mannosids **52** mit Butan-2,3-dion in Methanol unter Säurekatalyse selektiv zum Butandiacetal umgesetzt (s. Abbildung 39).^[94] So konnte in einer Stufe der Akzeptor für die folgende Glycosylierungsreaktion erhalten werden. Durch Verwendung einer Argonatmosphäre zum Ausschluss von Luftfeuchtigkeit unter den benötigten Rückflussbedingungen konnte die Ausbeute auf 96 % gesteigert werden.

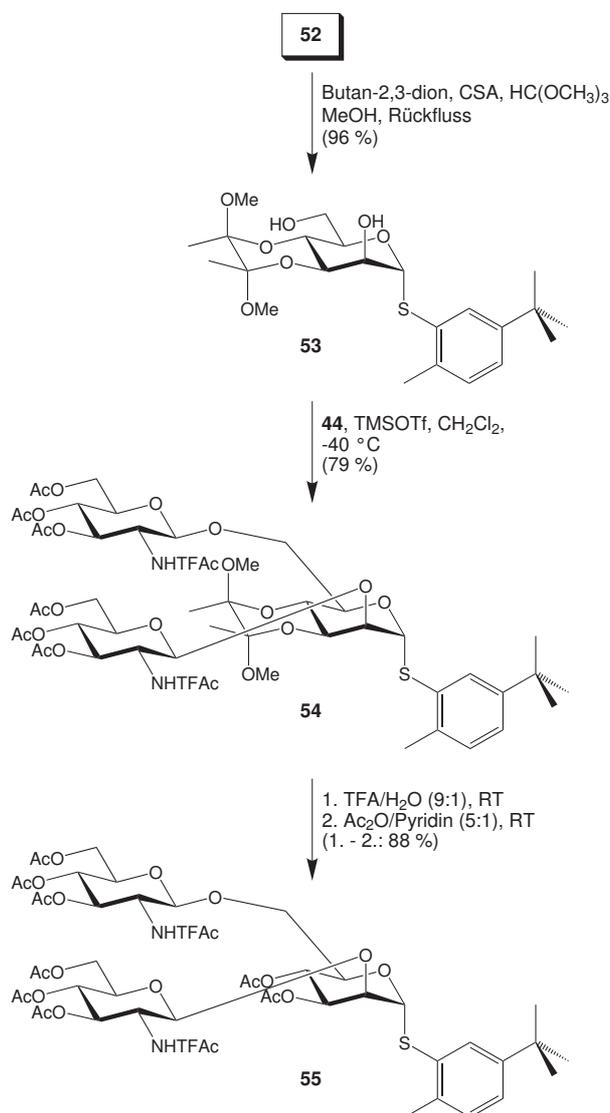


Abbildung 39. Synthese des 2,6-verzweigten Thioglycosids **55**

Durch eine doppelte Glycosylierung mit dem Trichloracetimidat **44** und TMSOTf wurde das 2,6-verzweigte Trisaccharid **54** in hoher Ausbeute (79 %) synthetisiert (s. Abbildung 39).^[95] Ein Aglycontransfer des Thiophenylrests auf den Donor konnte durch die tiefe Reaktionstem-

peratur und die sterische Abschirmung des Schwefelatoms durch die Methylgruppe des Phenylrings unterdrückt werden.^[96]

Das säurelabile Butandiacetal wurde mit Trifluoressigsäure und Wasser entfernt^[94b] und die freien Hydroxylgruppen wurden acetyliert (s. Abbildung 39).^[52b,70] Durch diese Strategie konnte die Synthese eines 2,6-verzweigten Donors um sechs Stufen^[45] verkürzt und der trifluoracetamidgeschützte Baustein **55** in guten Ausbeuten erhalten werden.

3.3.2 Synthese des 2,4-verzweigten Donors 64

Auf Grund der kurzen Synthese von **55** sollte analog auch der 2,4-verzweigte Donor als Thio-glycosid hergestellt werden. Hierzu wurde Verbindung **52** zunächst selektiv diallyliert. Dies gelang in Analogie zum monoallylierten Mannosid **6** durch die Verwendung von zwei Äquivalenten Dibutylzinnoxid zur Bildung der Stannyleneacetale und anschließende Umsetzung mit Allylbromid in Gegenwart von Cäsiumfluorid (s. Abbildung 40, vgl. Kapitel 3.1.1).^[59,60]

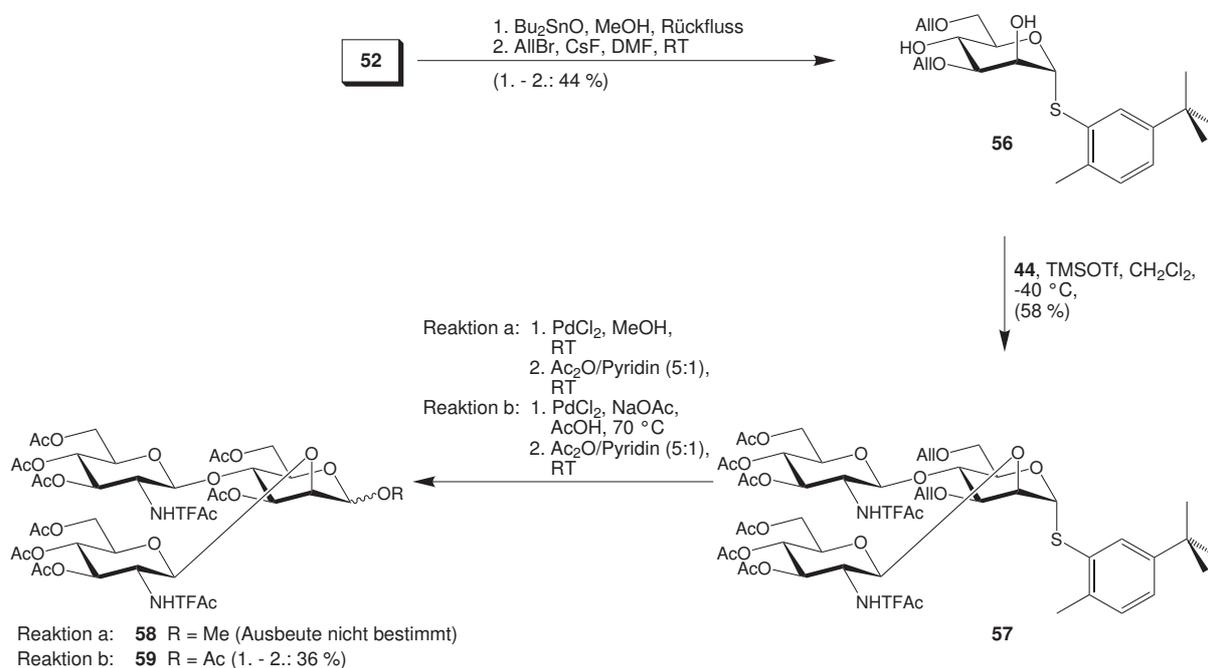


Abbildung 40. Synthese von 2,4-verzweigten Trisacchariden

Der Akzeptor **56** konnte mit drei Äquivalenten Trichloracetimidat **44** zum Trisaccharid **57** umgesetzt werden (s. Abbildung 40).^[95] Durch die tiefe Reaktionstemperatur und die sterische Abschirmung wurde auch hier kein Aglycontransfer beobachtet.^[96]

Da es bei der Aktivierung von Thioglycosiden mit *N*-Iodsuccinimid zur Iodierung der Allylschutzgruppe kommen kann, sollten die beiden Allylether durch Acetatschutzgruppen ersetzt werden. Dies wurde mit der Palladium(II)-chlorid-Methode versucht (s. Abbildung 40, Reaktion a).^[63] Unter diesen Reaktionsbedingungen konnte das gewünschte Thioglycosid jedoch nicht erhalten werden. Stattdessen wies die LC-MS-Analyse auf die Entstehung des Methylmannosids **58** hin, was durch Aktivierung der Thiophenylabgangsgruppe erklärt werden könnte. Nach der Koordination des Palladiums an der 3-Allylschutzgruppe könnte der Schwefel als inneres Nucleophil die Allylgruppe über einen sechsgliedrigen Übergangszustand aufnehmen (s. Abbildung 41). Das aktivierte Thioglycosid sollte mit Methanol zum gefundenen Methylglycosid reagieren.

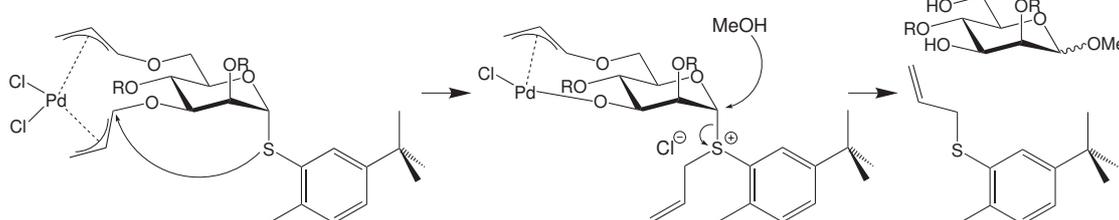


Abbildung 41. Möglicher Mechanismus zur Aktivierung des Thioglycosids

Auf weitere Versuche zur Abspaltung der Allylgruppe durch andere Desallylierungsmethoden, wie zum Beispiel unter Verwendung von Samarium(II)-iodid^[97] oder Ruthenium-Katalysatoren^[98] wurde verzichtet. Stattdessen wurde untersucht, ob das Thioglycosid **57** bei der Entschützung der Allylether ins Acetat **59** umgewandelt werden kann. Dies gelang mit Natriumacetat in Essigsäure, wobei jedoch nur eine niedrige Ausbeute erreicht wurde (s. Abbildung 40, Reaktion b).^[99]

Um die Schwierigkeiten bei der Desallylierung des Thioglycosids **57** zu umgehen, wurde die Synthese über das anomere Benzylglycosid versucht.^[46b] Hierzu wurde das Trichloracetimidat **44** mit dem diallylierten Benzylglycosid **60**^[100] umgesetzt (s. Abbildung 42).^[95] Das Trisaccharid **61** wurde mit einer hohen Ausbeute von 88 % erhalten (vgl. **57**: 58 %). In dieser Verbindung konnten die Allylether problemlos gegen Acetate ausgetauscht werden (s. Abbildung 42).^[52b,63,70]

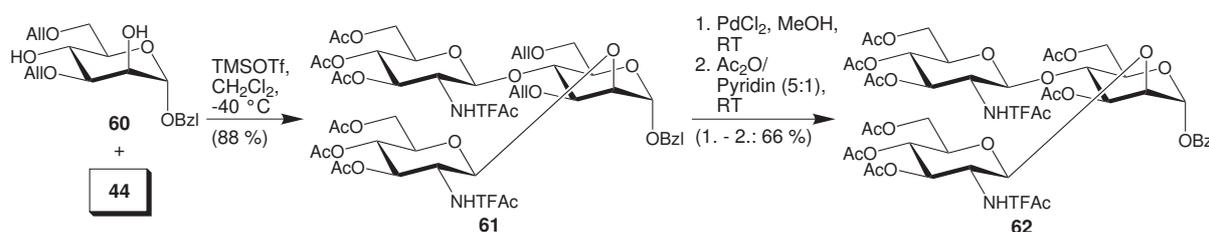


Abbildung 42. Synthese des 2,4-verzweigten Benzylglycosids **62**

Anschließend wurden die Verbindungen **59** und **62** selektiv am reduzierenden Ende entschützt (s. Abbildung 43). Das Acetat **59** wurde mit Hydrazinacetat^[88] und das Benzylglycosid **62** durch hydrogenolytische Debenzylierung^[45] entschützt. Hier ergab die Benzylglycosident-schützung deutlich bessere Ausbeuten. Das Halbacetal **63** wurde mit Kaliumcarbonat ins Trichloracetimidat **64** umgewandelt.^[63d,65,67] Auf diese Weise wurde ein günstiger Baustein erhalten, da das Imidat **64** mit einer Lewis-Säure aktiviert werden kann und dabei das Benzylidenacetal des Core-Trisaccharids **A** nicht angegriffen werden sollte (vgl. Kapitel 3.2.2).

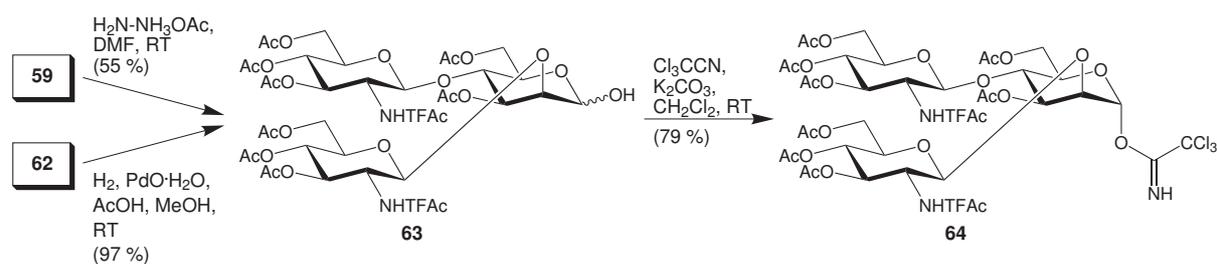


Abbildung 43. Synthese des Trichloracetimidats **64**

3.3.3 Synthese von 2,4,6-verzweigten Donoren

Aus dem Donor **44** wurde zusätzlich der 2,4,6-verzweigte Baustein **17** hergestellt. Diese Synthese ersparte das aufwendige Umschützen der Phthalimidoschutzgruppen (vgl. Kapitel 3.1.3). Bei der dreifachen Glycosylierung mit dem Trichloracetimidat **44** konnte die Ausbeute im Vergleich zum Fluorid **7** verbessert werden (s. Abbildung 44, vgl. Kapitel 3.1.1).^[95] Durch die Neutralisation mit Pyridin vor dem Einengen der Desallylierungsreaktion konnte auch die Ausbeute der zweistufigen Umschüttung erhöht werden.^[52b,63,70] Auf die hydrogenolytische Entfernung der Benzylgruppe zur Gewinnung des Halbacetals **67**^[45] folgte die Bildung des Trichloracetimidats **68**,^[63d,65,67] das durch Lewis-Säure-Aktivierung ins Thioglycosid **17** umgewandelt werden konnte.^[65,67b,69] Ein Vorteil dieser Syntheseroute bestand darin, dass auf diese Weise direkt das 2,4,6-verzweigte Trichloracetimidat **68** zugänglich war.

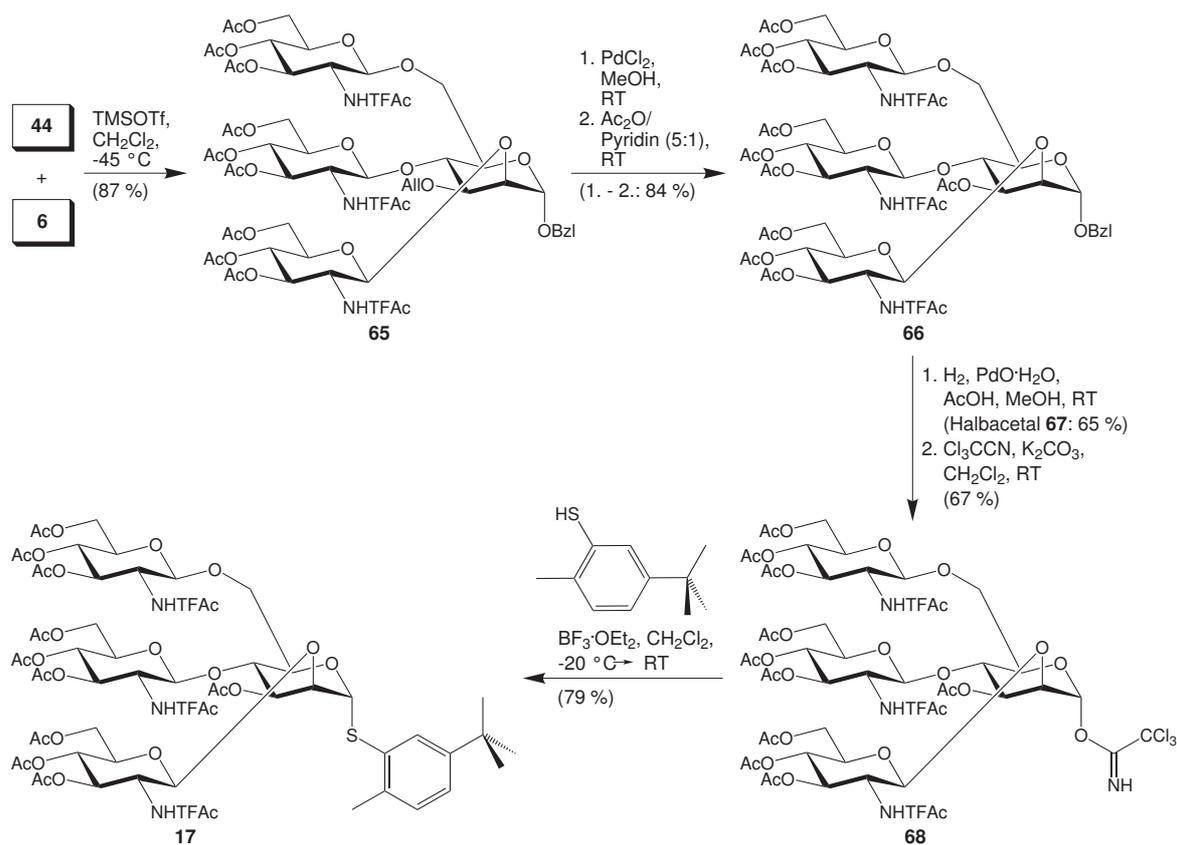


Abbildung 44. Synthese des 2,4,6-verzweigten Donors **17** über das Trichloracetimidat **68**

3.4 Synthesen der höher verzweigten komplexen *N*-Glycane des bisecting-Typs

Nach der erfolgreichen nachträglichen Einführung eines bisecting-GlcNAc-Rests im Fall des biantennären *N*-Glycans **45** sollte dieser Versuch auch für die Herstellung von höher verzweigten *N*-Glycanen des bisecting-Typs untersucht werden. Der α -1,3-Arm sollte über die Trichloracetimidate **34** oder **64** an das Core-Trisaccharid **A** gebunden werden (s. Abbildung 45). Für den α -1,6-Arm war das Thioglycosid **55** vorgesehen und als lineare Bausteine das Thioglycosid **28** und das Trichloracetimidat **34**.

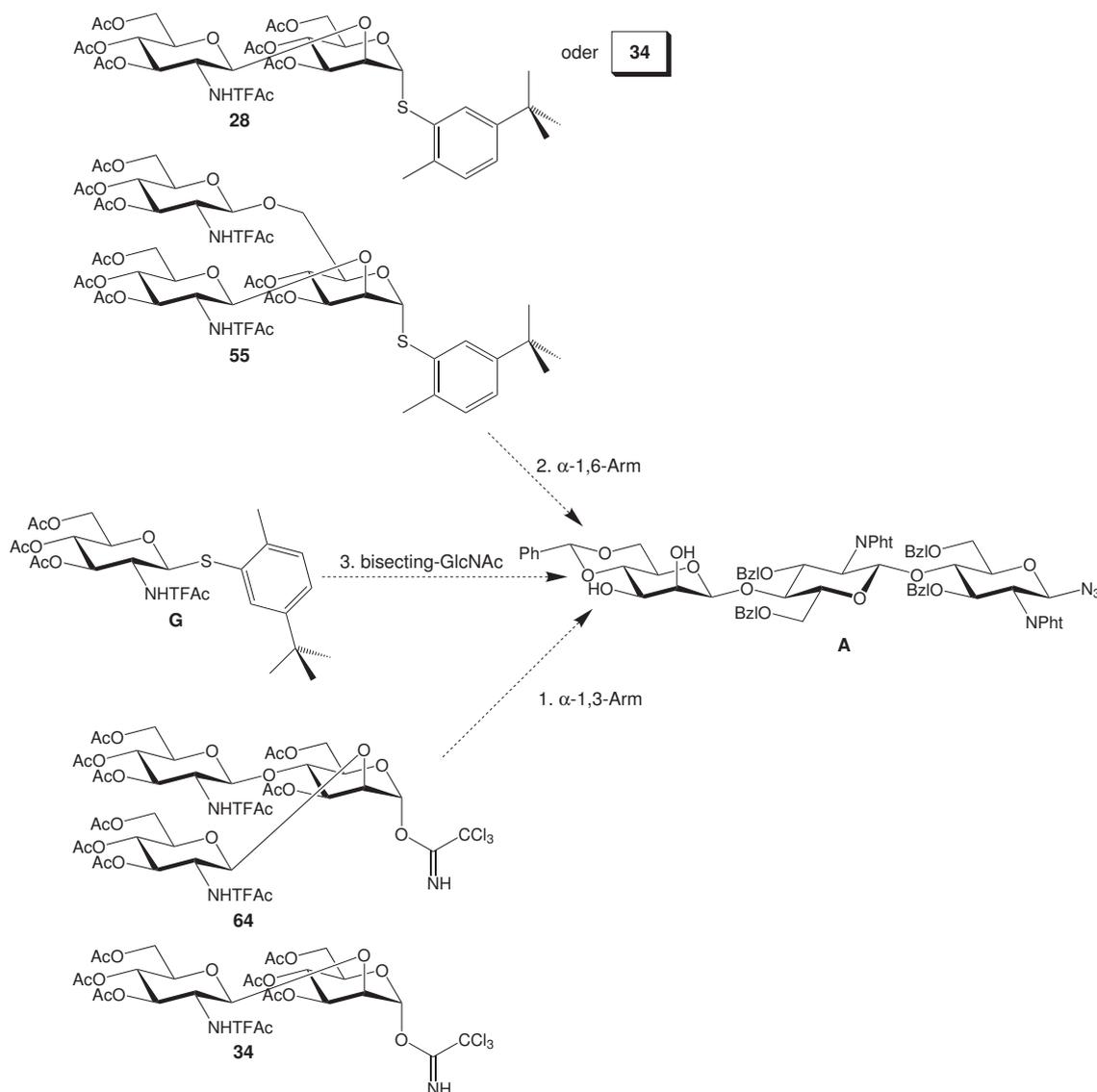


Abbildung 45. Modulares Bausteinsystem trifluoracetamidgeschützter Donoren zur Synthese von höherverzweigten *N*-Glycanen des bisecting-Typs

3.4.1 Synthese eines 2,6-verzweigten triantennären *N*-Glycans des bisecting-Typs

Zur Synthese eines 2,6-verzweigten triantennären *N*-Glycans wurde das Pentasaccharid **39** (29.2 mM) mit dem Thioglycosid **55** nach der *N*-Iodsuccinimid/Trifluormethansulfonsäure-Methode umgesetzt (s. Abbildung 46).^[72]

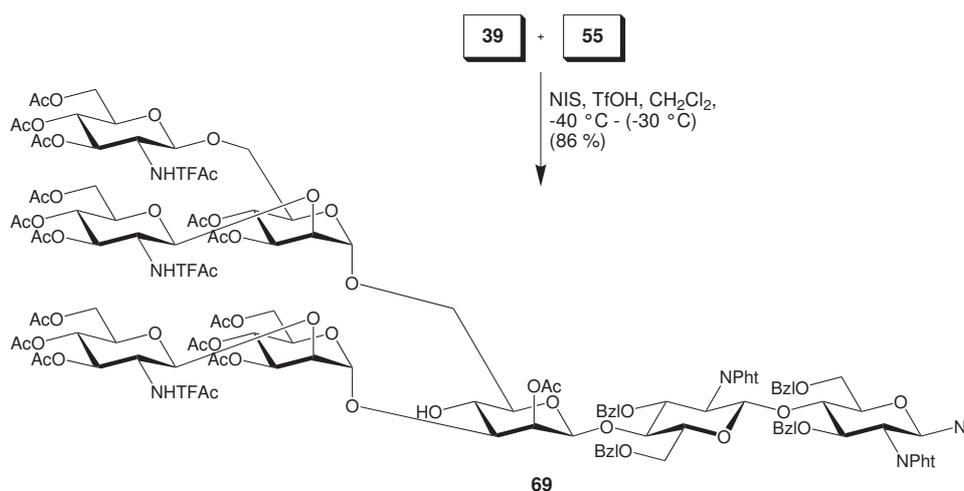


Abbildung 46. Synthese des 2,6-verzweigten *N*-Glycans **69**

Das Oktasaccharid **69** wurde in sehr guter Ausbeute (86 %) erhalten. Die hohe Reaktivität des verzweigten Donors **55** zeigte sich in der Bildung eines kleinen Anteils an Undecasaccharid, das durch Massenspektrometrie nachgewiesen werden konnte. Die Regio- und Stereoselektivität der Reaktion konnte mittels NMR-Spektroskopie nachgewiesen werden. Es wurde ein Tieffeldshift der Signale für H-6a/b³ und C-6³ gefunden und das Hydroxylgruppen-Signal bei 5.56 ppm konnte eindeutig der Position 4 der β -Mannose zugewiesen werden.

Das Oktasaccharid **69** wurde im Folgenden mit dem bisecting-Donor **G** umgesetzt (s. Abbildung 47, Reaktion a).^[72] Auf Grund der sterischen Abschirmung des verzweigten α -1,6-Arms wurden konzentrierte Reaktionsbedingungen gewählt (39.5 mM **69**). Das gewünschte Nonasaccharid **71** konnte in guter Ausbeute (77 %) gewonnen werden.

Zusätzlich wurde auch die entsprechende phthalimidogeschützte Verbindung **70**^[45,46b,46d] mit Donor **G** (10 eq) zur bisected-Verbindung umgesetzt und diese wurde ebenfalls in einer sehr guten Ausbeute (86 %) isoliert (s. Abbildung 47, Reaktion b). Auch bei dieser Reaktion konnte der *N,O*-Acyltransfer einer Trifluoracetylgruppe beobachtet werden. Diese Nebenreaktion trat nur bei den phthalimidogeschützten *N*-Glycanen auf (vgl. Kapitel 3.2.4).

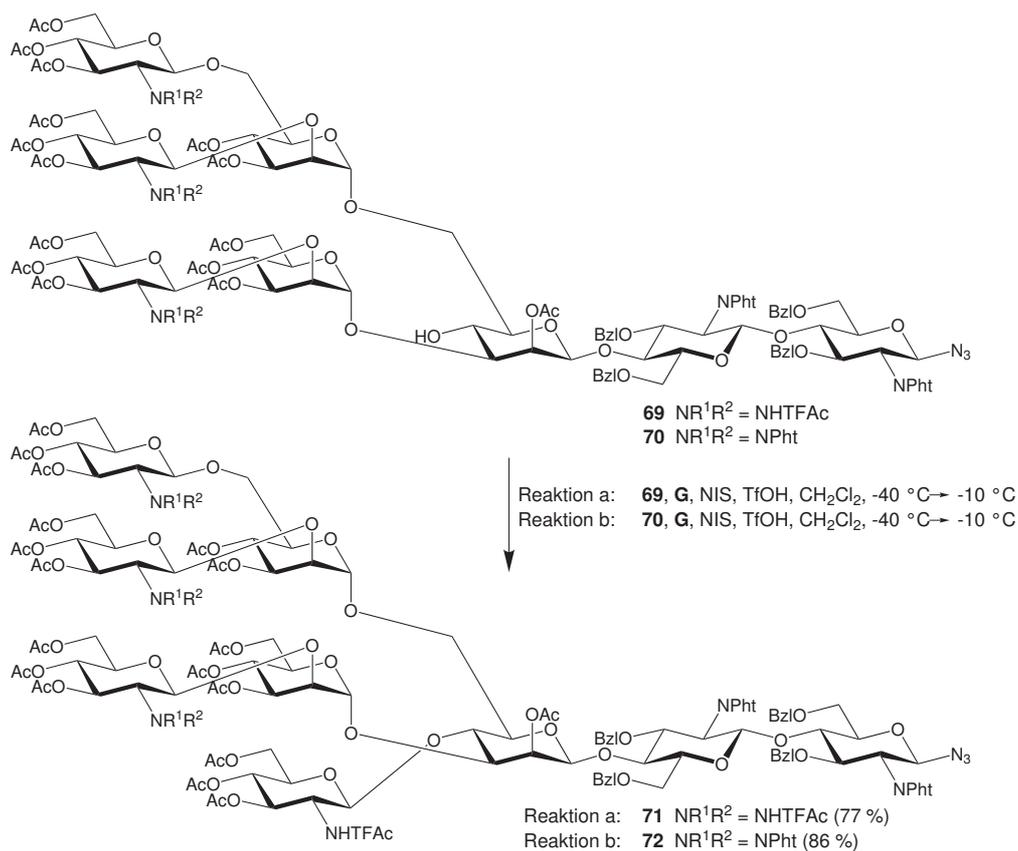


Abbildung 47. Nachträgliche Einführung eines bisecting-GlcNAc-Rests in 2,6-verzweigte triantennäre *N*-Glycane

3.4.2 Synthese eines 2,4-verzweigten *N*-Glycans des bisecting-Typs

Die Verknüpfung eines 2,4-verzweigten α -1,3-Arms mit dem Core-Trisaccharid **A** (Konzentration: 28.9 mM) wurde mit zwei Äquivalenten Trichloracetimidat **64** in einer regio- und stereoselektiven Glycosylierung durchgeführt (s. Abbildung 48). Bei der Verwendung von Bortrifluorid-Diethyletherat^[65,67b,69] blieb das Benzylidenacetal stabil. Durch LC-MS-Analytik konnten Spuren an Überreaktionsprodukt nachgewiesen werden.

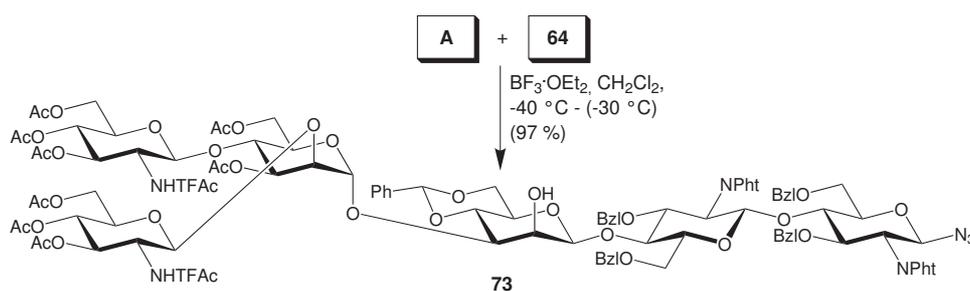


Abbildung 48. Synthese des Hexasaccharids **73**

Anschließend wurde das Hexasaccharid **73** acetyliert und das Diol **74** durch Debenzilydenierung mit *para*-Toluolsulfonsäure-Hydrat freigesetzt (s. Abbildung 49).^[52b,70,89]

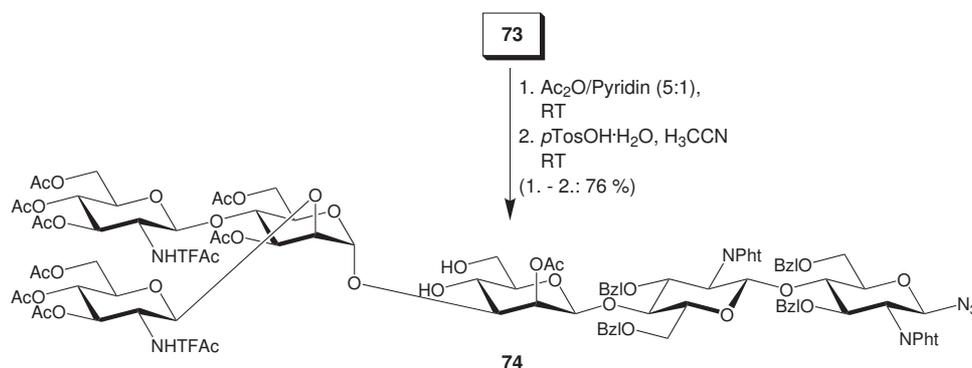


Abbildung 49. Synthese des Diols **74**

Für die Anbringung des α -1,6-Arms standen das Thioglycosid **28** und das Trichloracetimidat **34** zur Verfügung. Das Imidat **34** wurde unter verdünnten Bedingungen (4.9 mM **74**) mit Bortrifluorid-Diethyletherat aktiviert (s. Abbildung 50, Reaktion a).^[65,67b,69] Das Thioglycosid **28** wurde unter konzentrierteren Bedingungen eingesetzt (15.1 mM **74**; s. Abbildung 50, Reaktion b).^[72]

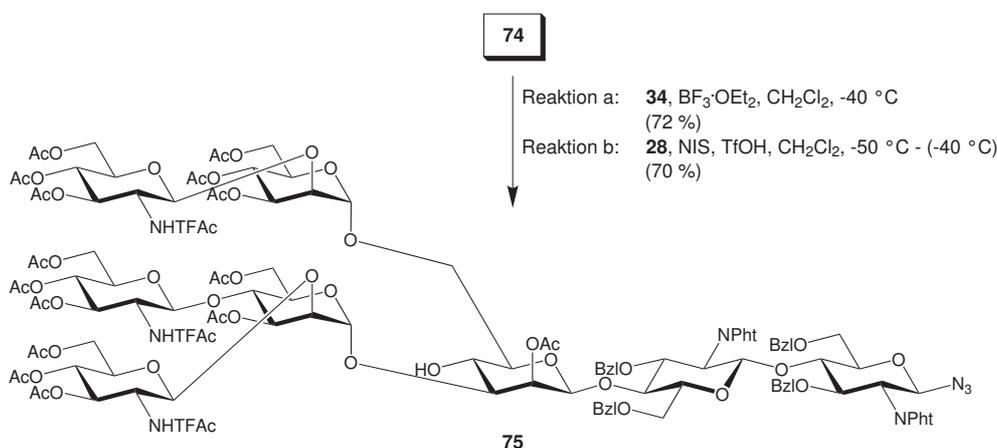


Abbildung 50. Synthese des triantennären *N*-Glycans **75**

Beide Donoren lieferten Ausbeuten um 70 %. Bei Verwendung des Thioglycosids **28** wurde der Akzeptor **74** vollständig umgesetzt, der jedoch bei der Reaktion mit dem Trichloracetimidat **34** noch nachgewiesen werden konnte. Bei beiden Glycosylierungen wurden geringe Mengen an Überreaktionsprodukt (Verbindung **76**, s. Kapitel 9.16) erhalten, die bei Donor **34** etwas größer waren. Die regioselektive Bildung der α -1,6-glycosidischen Verknüpfung wurde durch NMR-Spektroskopie belegt.

Mit Verbindung **75** lag der trifluoracetamidgeschützte Akzeptor für die Synthese der bisected Verbindung vor. Verbindung **78** wurde analog zu **71** hergestellt (10 eq **G**, 39.5 mM **75**; s. Abbildung 51, Reaktion a). Beide Glycosylierungen lieferten ähnliche Ausbeuten (**78**: 75 %, **71**: 77 %).

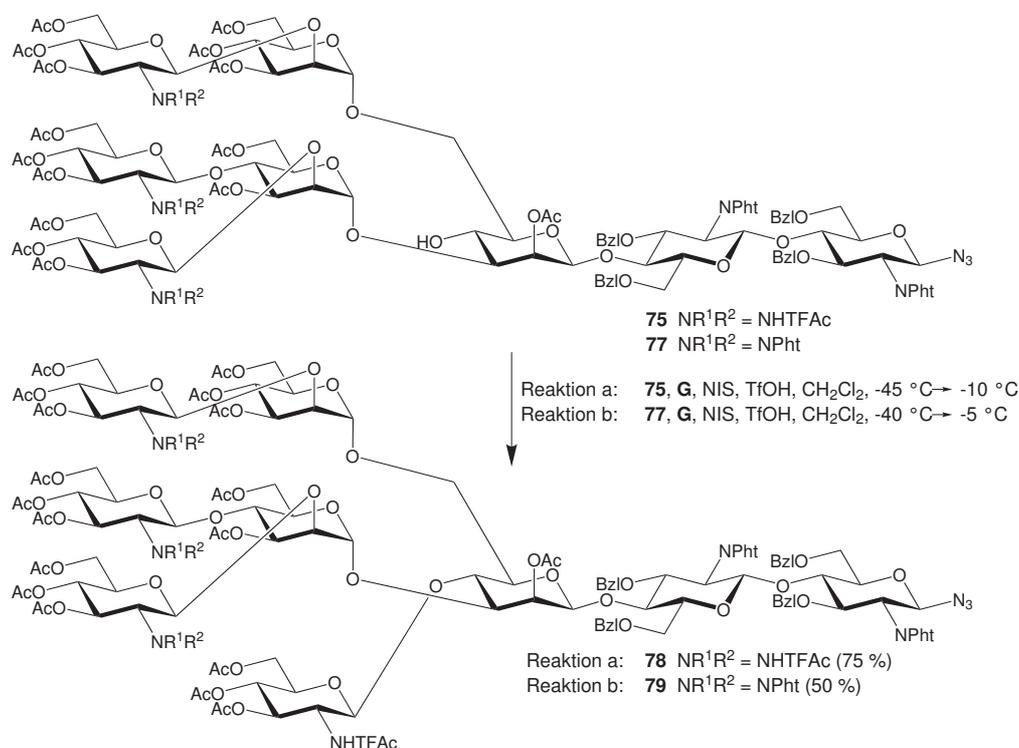


Abbildung 51. Nachträgliche Einführung eines bisecting-GlcNAc-Rests in 2,4-verzweigte triantennäre *N*-Glycane

Bei der Einführung eines bisecting-GlcNAc-Rests bei dem phthalimidgeschützten *N*-Glycan **77**^[45,46b,46d] wurde eine geringere Ausbeute (50 %) erhalten (s. Abbildung 51, Reaktion b). Zusätzlich trat erneut der *N,O*-Acytransfer der Amidschutzgruppe des Donors **G** auf (vgl. Kapitel 3.2.4).

3.4.3 Synthese des tetraantennären *N*-Glycans des bisecting-Typs

Nach dem erfolgreichen Aufbau der beiden triantennären trifluoracetylierten *N*-Glycane und der nachträglichen Einführung eines bisecting-Rests sollte das tetraantennäre Oligosaccharid **80** synthetisiert werden (s. Abbildung 52). Hierfür wurden zwei Äquivalente Thio-glycosid **55** eingesetzt. Als günstigste Konzentration für den Akzeptor **74** wurden 35 mM ermittelt.

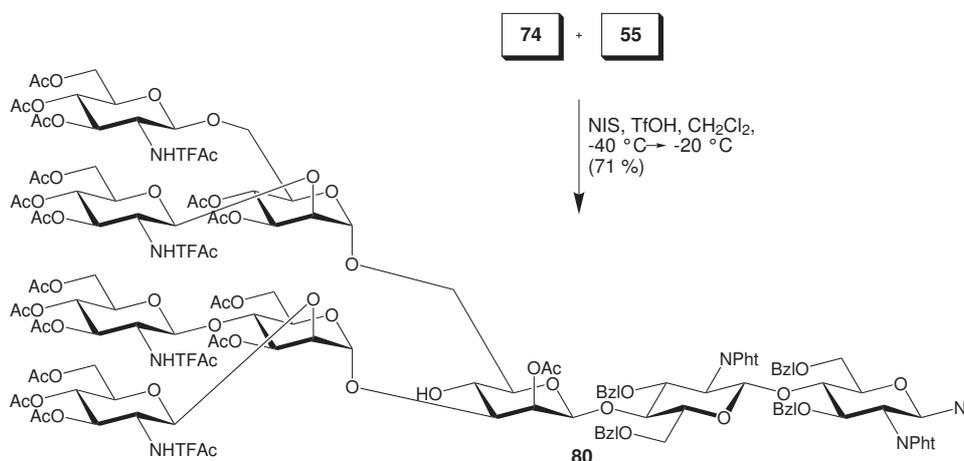


Abbildung 52. Synthese des tetraantennären *N*-Glycans **80**

Das Hauptprodukt der Glycosylierung war das gewünschte Nonasaccharid **80**. Beachtlicherweise trat auch mit dem sperrigen Donor **55** und der sterisch stark abgeschirmten 4-Hydroxylgruppe eine doppelte Glycosylierung auf, die durch LC-MS nachgewiesen werden konnte (Verbindung **81**, s. Kapitel 9.17). Daher sollte sich auch ein bisecting-Rest einführen lassen, was im nächsten Syntheseschritt untersucht wurde. Für diese Reaktion wurden zehn Äquivalente des Donors **G** verwendet, die Konzentration des Nonasaccharids **80** betrug 46 mM (s. Abbildung 53, Reaktion a). Das gewünschte Decasaccharid **83** wurde in einer Ausbeute von 77 % erhalten.

Zusätzlich wurde auch das tetraantennäre Oligosaccharid **82**^[45,46b,46d] mit Phthalimidenschutzgruppen an den terminalen Glucosaminyleinheiten mit dem Donor **G** umgesetzt (s. Abbildung 53, Reaktion b). Bei dieser Reaktion kam es zur bevorzugten Bildung eines Nebenproduktes, das nicht identifiziert werden konnte. Zudem entstand das *N,O*-Acyltransferprodukt (vgl. Kapitel 3.2.4). Zur Reinigung des Decasaccharids **84** wurde zunächst Flashchromatographie mit verschiedenen Laufmittelgemischen eingesetzt. Da diese Methode keinen Erfolg brachte, musste die Verbindung **84** im Anschluss durch RP-HPLC von den Nebenprodukten getrennt

werden. Dadurch konnte das tetraantennäre *N*-Glycan des bisecting-Typs mit 24 % Ausbeute isoliert werden. Bei diesem Akzeptor erwiesen sich die sperrigen Phthalimidenschutzgruppen als ungünstig und zeigten deutliche Nachteile gegenüber den Trifluoracetamiden.

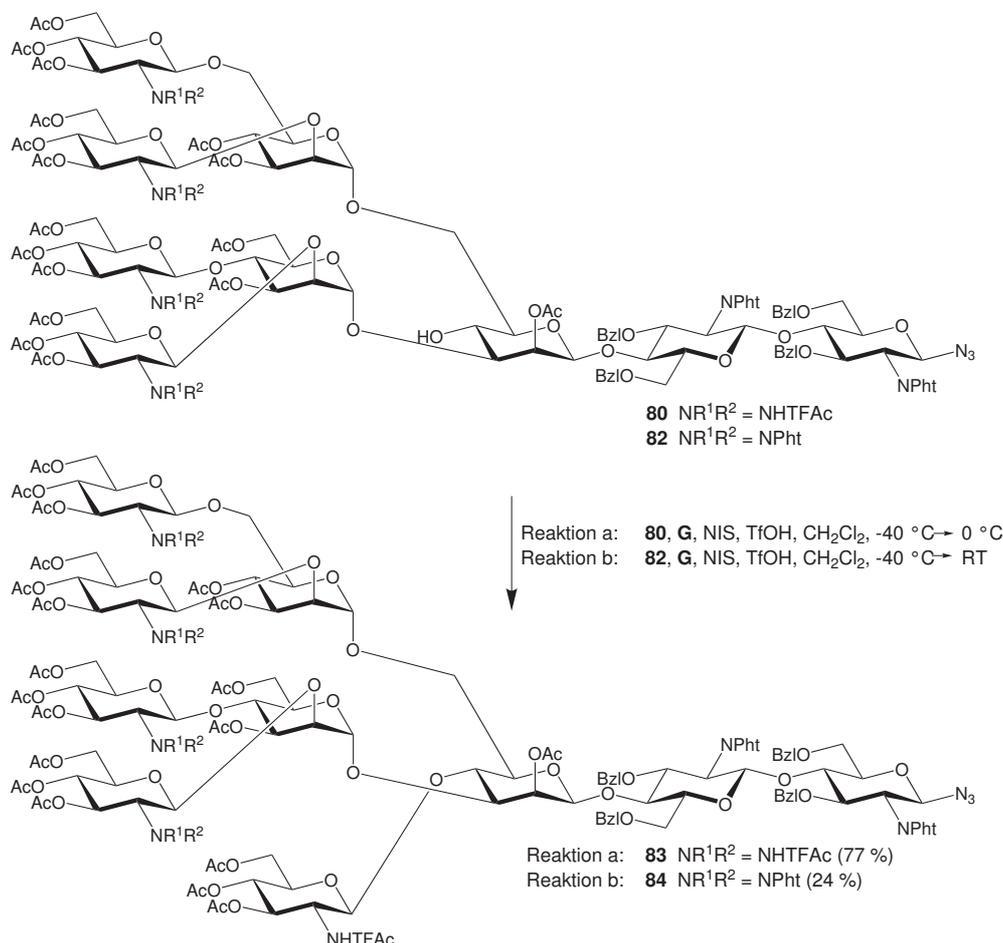


Abbildung 53. Nachträgliche Einführung von bisecting-GlcNAc in tetraantennäre *N*-Glycane

3.5 Sequentielle Einführung von α -1,6-Arm und bisecting-GlcNAc in regio- und stereoselektiven Eintopfreaktionen

Mit den modularen verfügbaren trifluoracetamidgeschützten Bausteinen konnte eine generelle Synthese für verschieden verzweigte *N*-Glycane ermöglicht werden, die aufgrund der kleinen Trifluoracetamidenschutzgruppen nachträglich mit einem bisecting-Rest in hohen Ausbeuten versehen werden konnten. Dabei wurde die erhöhte Reaktivität der primären Hydroxylgruppe zur regioselektiven Einführung des α -1,6-Arms genutzt und anschließend die verbleibende

sekundäre OH-Gruppe mit dem bisecting-Donor **G** umgesetzt. Zur Abkürzung der Synthese sollte versucht werden, die beiden Reaktionen in einer Eintopfreaktion zusammenzufassen. Eine ähnliche Vorgehensweise wurde bereits bei Kohlenhydraten gezeigt.^[95c,101]

Es sollte folglich zunächst der α -1,6-Arm in einer regio- und stereoselektiven Glycosylierungsreaktion an die primäre Hydroxylgruppe gebunden werden. Nach vollständiger Reaktion sollte durch Zugabe einer Lösung des Donors **G** ein bisecting-GlcNAc-Rest an die verbliebene Hydroxylgruppe geknüpft werden. Diese Strategie wurde zunächst mit biantennären *N*-Glycanen versucht (s. Abbildung 54).

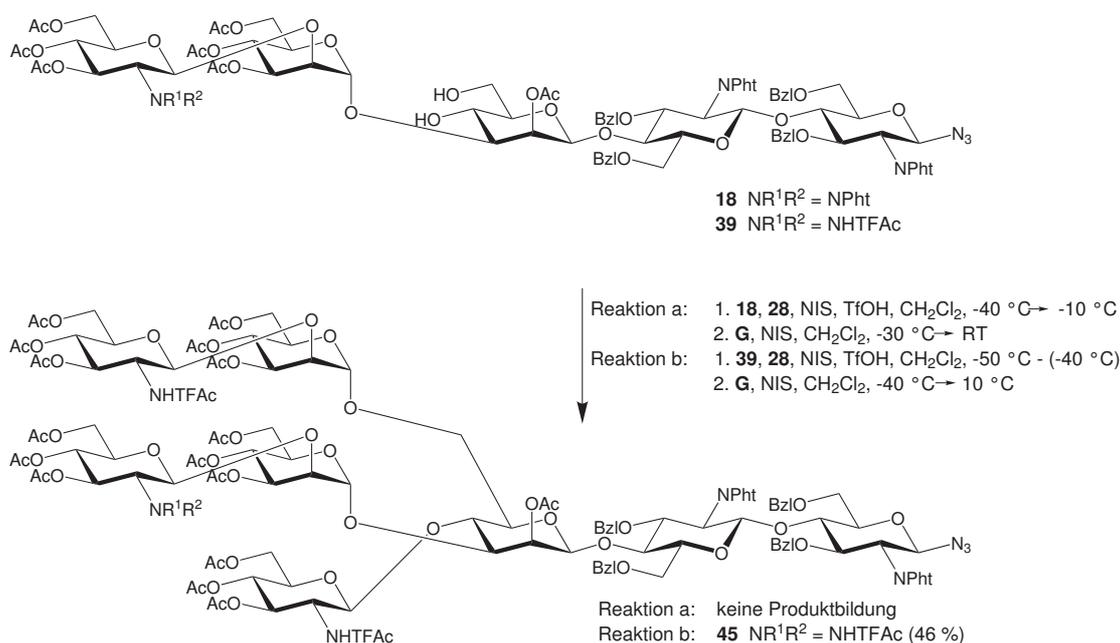


Abbildung 54. Synthese von biantennären *N*-Glycanen des bisecting-Typs durch Eintopfreaktion

Um eine Überreaktion zu vermeiden, wurde zunächst unter verdünnten Bedingungen glycosyliert (1.5 eq **28**, 4.6 mM **39**). Durch die anschließende Zugabe einer Lösung von zehn Äquivalenten Donor **G** wurde die Konzentration des Heptasaccharidakzeptors auf 3.2 mM reduziert. Trotz dieser ungünstigen Bedingungen für die bisecting-Reaktion wurde das Oktasaccharid **45** mit 31 % Ausbeute erhalten. Die LC-MS-Analytik des Reaktionsrohproduktes zeigte die Entstehung eines Hexasaccharidnebenproduktes, das aus dem Donor **G** und dem Akzeptor **39** entstanden war. Dies zeigte, dass die erste Glycosylierung bei der Zugabe des Donors **G** noch nicht abgeschlossen war. Durch die Verwendung von 2.5 Äquivalenten Thioglycosid **28** bei gleicher Akzeptorkonzentration konnte die Reaktion an der primären OH-Gruppe zur Vollständigkeit gebracht werden. Allerdings reagierten nur ca. 40 % des intermediären Heptasaccharids **40** weiter zur bisected-Verbindung **45** (Verhältnis aus

LC-MS-Analytik bestimmt). In einem weiteren Optimierungsschritt wurde die Startkonzentration erhöht (13.4 mM **39**) und der Donorüberschuss angepasst (2 eq **28**). Dadurch wurde eine Ausbeutesteigerung auf 46 % erreicht. Allerdings konnte im Eintopfverfahren durch die verdünnten Bedingungen für die bisecting-Reaktion (10.7 mM **40**) nicht die Ausbeute der zweistufigen Reaktionssequenz (58 % über zwei isolierte Stufen) erreicht werden. Nach der Eintopfreaktion konnte Verbindung **45** trotz der Nebenreaktionen nach Flashchromatographie rein isoliert werden.

Unter analogen Reaktionsbedingungen konnte für die phthalimidogeschützte Verbindung **18**, wie bereits bei der herkömmlichen Synthese, keine Produktbildung beobachtet werden (s. Abbildung 54, Reaktion a).

Für die Eintopfsynthese des 2,4-substituierten triantennären *N*-Glycans des bisecting-Typs wurde im ersten Reaktionsschritt das Hexasaccharid **74** mit dem linearen Thioglycosid **28** umgesetzt (s. Abbildung 55). Es wurden zwei Äquivalente Donor **28** bei einer Akzeptorkonzentration von 22.1 mM eingesetzt. Nachdem sich durch Dünnschichtchromatographie kein Akzeptor **74** mehr nachweisen ließ, wurden eine Lösung von zehn Äquivalenten bisecting-Donor **G** zugegeben, was zu einer Konzentration des Oktasaccharidakzeptors **75** von 11.6 mM führte. In diesem Reaktionsschritt konnte der Akzeptor nicht komplett umgesetzt werden. Die vollständige Bildung des Nonasaccharids **78** wurde auch durch die Zugabe von weiteren sechs Äquivalenten bisecting-Donor **G** nicht erreicht, obwohl die Konzentration bei der Einführung des bisecting-GlcNAcs vergleichsweise hoch war. Nach Flashchromatographie konnten die beiden Hauptprodukte **75** und **78** isoliert werden. Die LC-MS-Analyse des Reaktionsgemisches zeigte zusätzlich Spuren des Überreaktionsproduktes **76** und eines Heptasaccharids aus **74** und **G**.

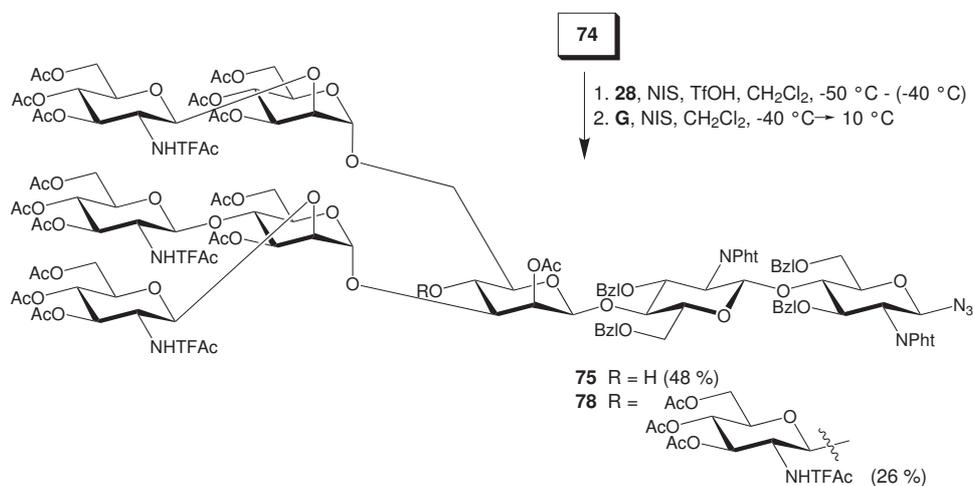


Abbildung 55. Synthese des 2,4-triantennären *N*-Glycans des bisecting-Typs durch Eintopfreaktion

Da die Ausbeute der nachträglichen Einführung des bisecting-Rests von der Konzentration des Akzeptor-*N*-Glycans abhängig ist, wurde die Eintopfreaktionssequenz auch bei einem tetraantennären *N*-Glycan untersucht, da hier höhere Startkonzentrationen möglich sein sollten (s. Abbildung 56).

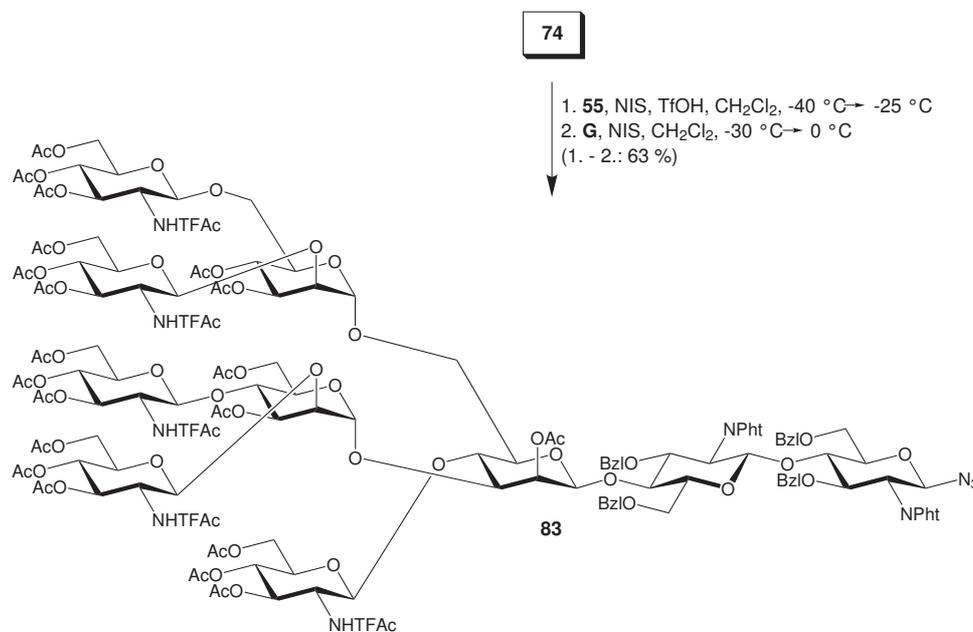


Abbildung 56. Synthese von **83** durch Eintopfreaktion

Hierzu wurde das Diol **74** (27.2 mM) mit zwei Äquivalenten Thioglycosid **55** umgesetzt. Durch die Zugabe der Lösung von Donor **G** wurde die Akzeptorkonzentration auf 12.4 mM reduziert. Unter diesen Bedingungen konnte das Decasaccharid **83** nach Flashchromatographie in 63 %iger Ausbeute gewonnen werden. Die höhere Startkonzentration wirkte sich positiv auf die bisecting-Reaktion aus, so dass mit der regio- und stereoselektiven Eintopfstrategie die Ausbeute im Vergleich zur zweistufigen Reaktionsfolge verbessert werden konnte (55 % über zwei isolierte Stufen).

Zur Überprüfung, ob sich diese Strategie auch auf pentaantennäre *N*-Glycane übertragen lässt, wurde die Eintopfreaktion mit dem Akzeptor **74** und dem Thioglycosid **17** versucht (s. Abbildung 57). Die pentaantennäre Verbindung **85** wurde unter gleichen Reaktionsbedingungen (27.2 mM **74**, 2 eq **17**) mit 29 %iger Ausbeute erhalten. Auf diesem Weg konnte somit erstmals der bisecting-Rest nachträglich in das höchstverzweigte komplexe *N*-Glycan eingeführt werden, was die Synthese aller *N*-Glycane des komplexen Typs mit oder ohne bisecting-GlcNAc ermöglicht.

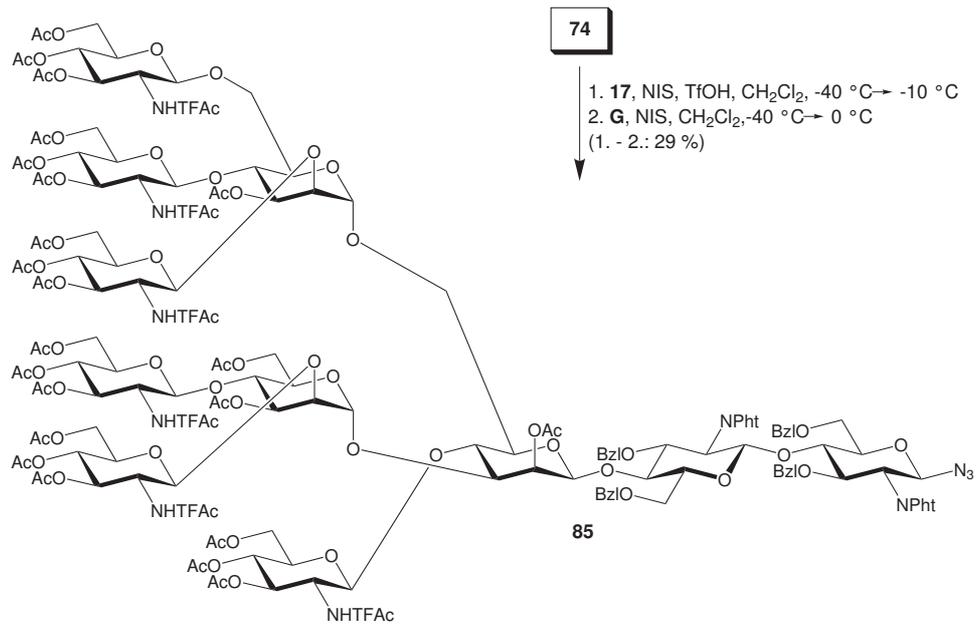
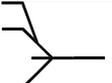
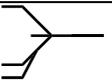


Abbildung 57. Synthese von **85** durch Eintopfreaktion

Tabelle 3. Vergleich der Ausbeuten und Gesamtausbeuten bei verschiedenen Synthesen von höher verzweigten *N*-Glycanen des bisecting-Typs^[45,46d,52]

	N-Schutzgruppe der Antenne	Einführung des bisecting-Rests	α -1,3-Arm	Acetylierung/Debenzylierung	Chloracetylierung	frühe bisecting-Reaktion	Entschützung des Chloracetats	α -1,6-Arm	späte bisecting-Reaktion	Eintopfsynthese	Gesamtausbeute
	Pht	früh	84 %	84 %	98 %	71 %	74 %	34 %	-	-	12 %
	Pht	spät	84 %	84 %	-	-	-	91 %	86 %	-	55 %
	TFAc	spät	87 %	74 %	-	-	-	86 %	77 %	-	43 %
	Pht	früh	96 %	81 %	85 %	34 %	87 %	20 %	-	-	4 %
	Pht	spät	96 %	81 %	-	-	-	78 %	50 %	-	30 %
	TFAc	spät	97 %	76 %	-	-	-	72 %	76 %	-	40 %
	TFAc	Eintopf	97 %	76 %	-	-	-	-	-	26 %	19 %
	Pht	früh	96 %	81 %	85 %	34 %	87 %	12 %	-	-	2 %
	Pht	spät	96 %	81 %	-	-	-	82 %	24 %	-	15 %
	TFAc	spät	97 %	76 %	-	-	-	71 %	77 %	-	40 %
	TFAc	Eintopf	97 %	76 %	-	-	-	-	-	63 %	46 %

Bei phthalimidogeschützten *N*-Glycanen wurde durch die Erhöhung des Überschusses des bisecting-Donors **G** von drei auf zehn Äquivalente die nachträgliche Einführung eines bisecting-Rests ermöglicht. Die Reaktionsausbeuten lagen aber mit Ausnahme des 2,6-verzweigten triantennären *N*-Glycans unter denen, die mit den trifluoracetamidgeschützten Verbindungen erzielt werden konnten. Die Reinigung der bisected phthalimidogeschützten Verbindungen durch Flashchromatographie war teilweise nicht möglich, weshalb RP-HPLC eingesetzt wurde.

Erstmals wurden durch die späte Einführung des bisecting-Rests am Ende der Synthese alle *N*-Glycane des komplexen Typs mit und ohne bisecting-Rest durch eine verkürzte Syntheseroute in guten Ausbeuten zugänglich. Auch für phthalimidogeschützte Verbindungen mit drei bis vier Antennen konnte die nachträgliche Einführung eines bisecting-GlcNAc-Rests in guten Ausbeuten etabliert werden.

3.7 Synthese von *N*-Glycanen des Hybridtyps

Die GlcNAc-Transferase III überträgt bei der Biosynthese von *N*-Glycanen ein bisecting-GlcNAc auf die 4-Hydroxylgruppe der β -Mannose. Nach der Einführung des bisecting-Rests kann das Oligosaccharid nicht mehr von Mannosidase II umgesetzt werden, was dadurch zur Bildung von *N*-Glycanen des Hybridtyps führt. Da diese *N*-Glycanklasse sehr oft eine bisecting-GlcNAc-Substitution trägt, sollte auch hier eine nachträgliche Einführung mit dem bisecting-Donor **G** untersucht werden. Hierfür wurde zuerst ein *N*-Glycan des Hybridtyps aus dem Diol **39** und dem Pentamannosyltrichloracetimidat **86**^[47] unter Bortrifluorid-Diethyletherat-Katalyse synthetisiert (s. Abbildung 58).^[65,67b,69]

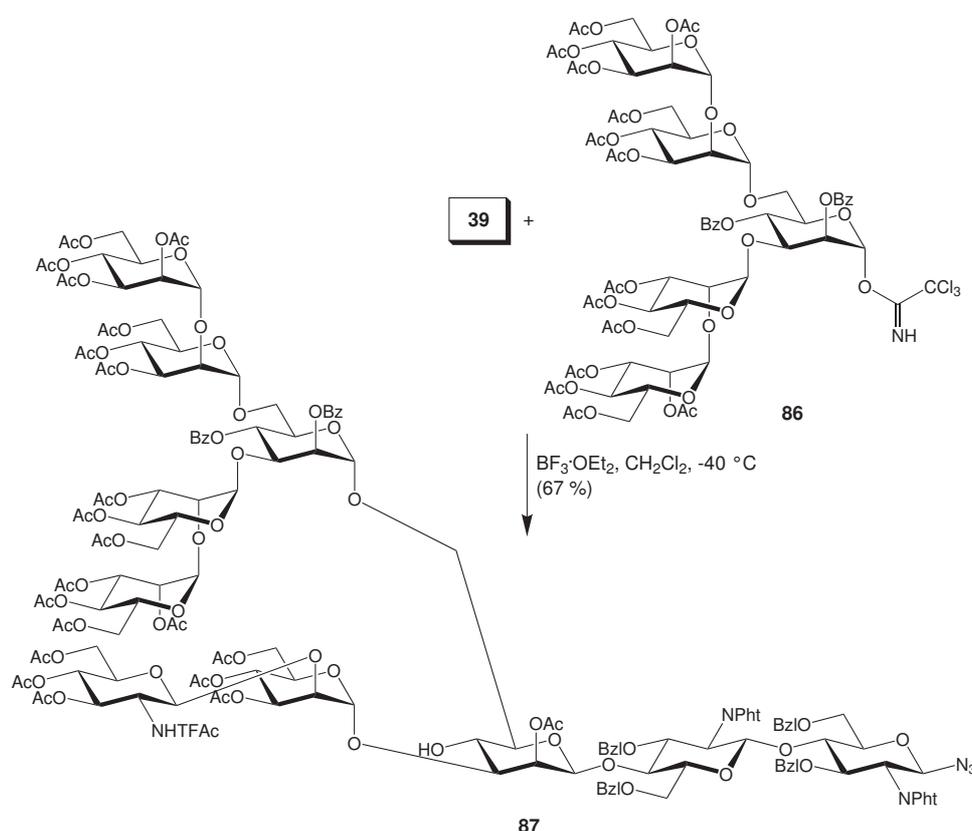


Abbildung 58. Synthese des Hybridtyp-Decasaccharids **87**

Das Decasaccharid **87** wurde in 67 % Ausbeute erhalten und im nächsten Schritt mit zehn Äquivalenten Donor **G** bei einer Akzeptorkonzentration von 35 mM umgesetzt (s. Abbildung 59). Das Undecasaccharid **88** wurde in 31 %iger Rohausbeute erhalten. Die Reinigung dieser Verbindung mittels Flashchromatographie gestaltete sich als sehr schwierig, weshalb für eine endgültige Reinigung zusätzlich eine HPLC-Reinigung notwendig ist. Auf diese wurde im Rahmen dieser Arbeit verzichtet.

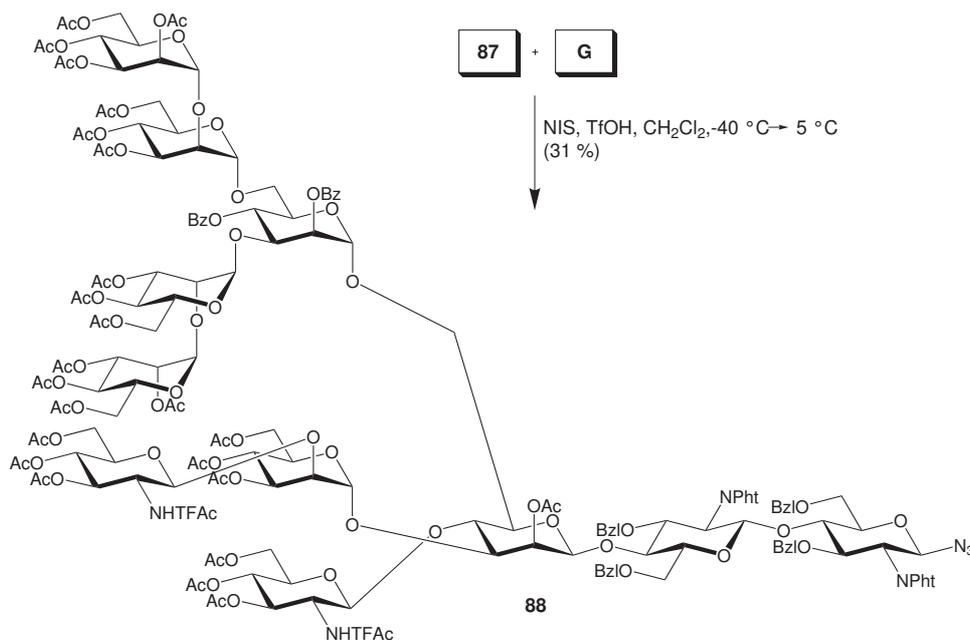


Abbildung 59. Einführung des bisecting-Rests

Anschließend wurde versucht, diese Synthese im regio- und stereoselektiven Eintopfverfahren durchzuführen (s. Abbildung 60).

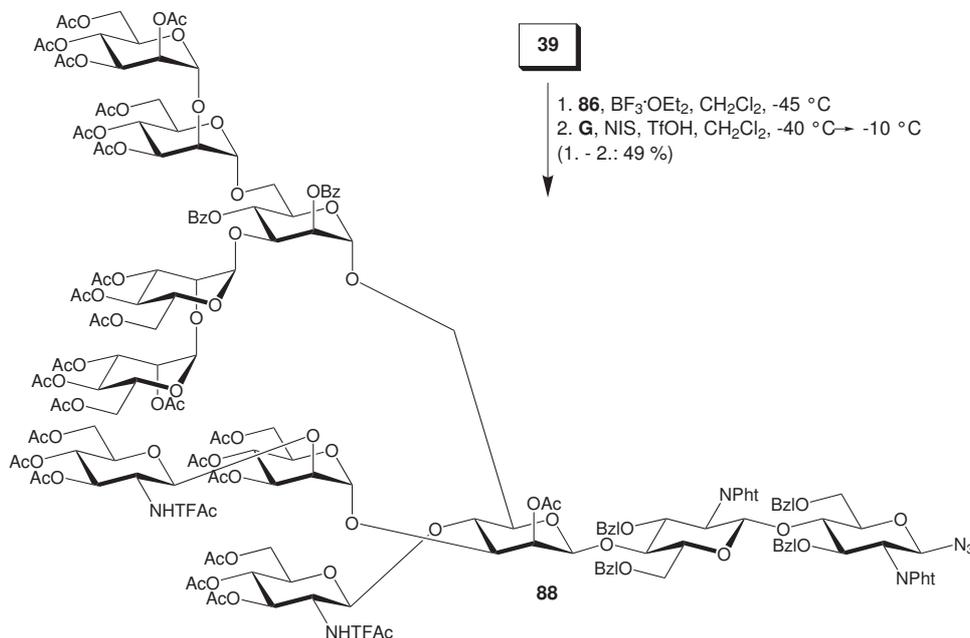


Abbildung 60. Synthese von **88** durch Eintopfreaktion

Für diese Reaktion betrug die Startkonzentration des Akzeptors **39** 32.2 mM. Nach Zugabe von zehn Äquivalenten Donor **G** konnte Verbindung **88** in 49 % Rohausbeute isoliert werden. Auch nach der Eintopfreaktion konnte die Zielverbindung nicht vollständig rein erhalten werden.

3.8 Untersuchungen zur Regioselektivität an einer ungeschützten β -Mannose des Core-Trisaccharids

Da der phthalimidogeschützte Donor **C** bei der Einführung des α -1,3- und des α -1,6-Arms in der sequentiellen Synthese eine sehr gute Regioselektivität zeigte,^[84] sollte die Möglichkeit überprüft werden, auch an dem entschützten β -Mannosid *N*-Glycane aufzubauen. Der Akzeptor **89** mit vier Hydroxylgruppen wurde durch Debenzylidenierung aus dem Core-Trisaccharid **A** gewonnen (s. Abbildung 61).^[89]

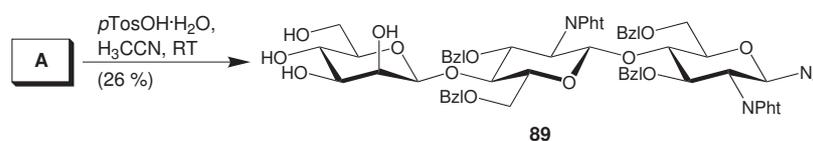


Abbildung 61. Entfernung des Benzylidenacetals

An Verbindung **89** sollte zunächst der α -1,6-Arm mit der primären und somit reaktivsten Hydroxylgruppe verknüpft werden (s. Abbildung 62).

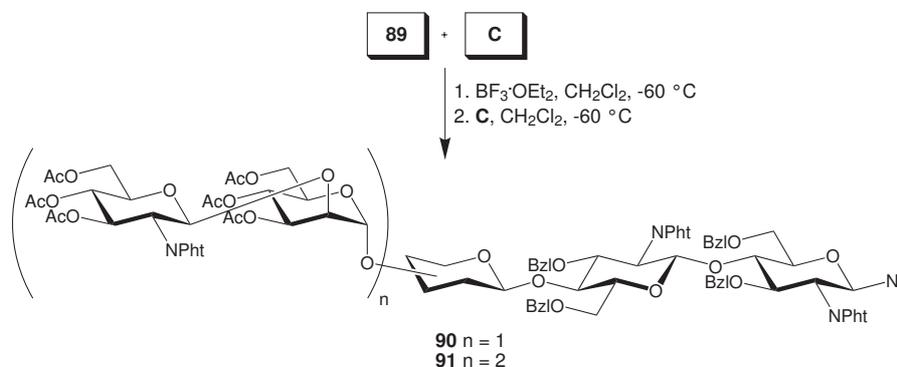


Abbildung 62. Glycosylierung des Core-Trisaccharids **89**

Um die primäre OH-Gruppe selektiv umzusetzen, wurde die Reaktion unter stark verdünnten Bedingungen (0.8 mM **89**) bei -60 °C durchgeführt und zunächst nur 1.3 Äquivalente des phthalimidogeschützten Donors **C** eingesetzt.^[65,67b,69] Nach vollständiger Umsetzung des Edukts **89** (laut Dünnschichtchromatographie) wurde eine Lösung von weiteren 1.3 Äquivalenten Donor **C** zugegeben. Der Donor sollte mit Präferenz für die OH-Gruppe an Position 3 der Mannose reagieren, da die Position 4 vom α -1,6-Arm abgeschirmt sein sollte. Außerdem ist die äquatoriale Hydroxylgruppe reaktiver als die axiale an Position 2 der Mannose. Beide Reaktionsschritte wurden durch LC-MS analysiert (s. Abbildung 63).

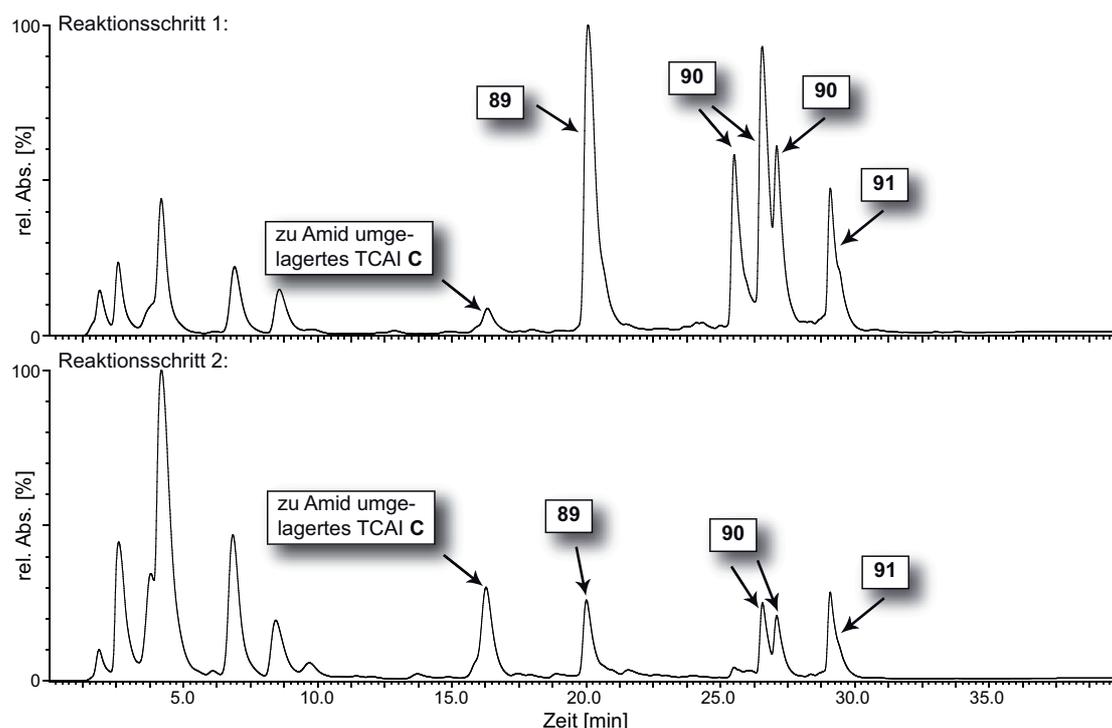


Abbildung 63. LC-MS-Analyse der Glycosylierung von **89** mit Donor **C** (Reaktionsschritt 1) und nach weiterer Zugabe des Donors **C** (Reaktionsschritt 2)

Nach der ersten Zugabe des Trichloracetimidats **C** wurden bereits drei regioisomere Verbindungen **90** erhalten. Auch das doppelte Glycosylierungsprodukt **91** war bereits nachweisbar. Zusätzlich waren noch ca. 40 % an Trisaccharid **89** vorhanden. Nach der Zugabe von weiteren 1.3 Äquivalenten Donor **C** und weiteren 75 min Reaktionszeit wurde eines der drei Pentasaccharide **90** fast vollständig umgesetzt. Beim Abbruch der Reaktion war weiterhin Akzeptor **89** im Reaktionsgemisch vorhanden.

Dieses Experiment bestätigte die Notwendigkeit der Benzylidenschutzgruppe zur regioselektiven Einführung der beiden Antennen. Auf Grund der geringen Regioselektivität bei der Umsetzung von **89** wurde auf weitere Versuche mit anderen Donorbausteinen, Konzentrationen oder Temperaturen verzichtet. Zudem bestand mit dieser Synthesestrategie nur die Gelegenheit zur Herstellung von *N*-Glycanen ohne bisecting-Rest, da die gezielte Blockierung der axialen OH-Gruppe der β -Mannose auf diesem Weg nicht möglich ist.

4. Entschützung und Funktionalisierung der synthetischen *N*-Glycane

4.1 Vollständige Entschützung

Die synthetischen *N*-Glycane des komplexen Typs mit bisecting-GlcNAc sollten vollständig entschützt und anschließend mit einem Spacer am reduzierenden Ende versehen werden. Zur Entfernung der basenlabilen Schutzgruppen wurden zuerst Phthalimide, Trifluoracetamide und Acetate von Verbindung **45** durch Ethylendiamin abgespalten (s. Abbildung 64).^[74] Anschließend wurde das *N*-Glycan mit Pyridin und Essigsäureanhydrid komplett acetyliert und die Ester selektiv durch Methylamin entfernt.^[70,79] Bei erhöhter Temperatur wurden beim letzten Reaktionsschritt auch Amide gespalten. Dies konnte durch das Einengen der Reaktionslösung bei Zimmertemperatur verhindert werden. Das Produkt **92** wurde durch Festphasenextraktion gereinigt, wobei die vier Benzylether zur Adsorption auf dem C18-Material genutzt wurden.

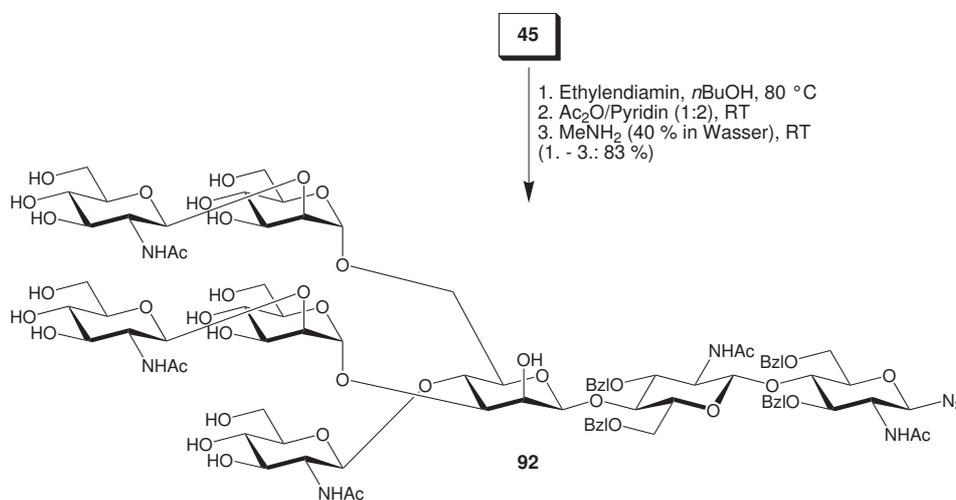


Abbildung 64. Entfernung der basenlabilen Schutzgruppen

Im Anschluss wurde das Azid am reduzierenden Ende mit Propandithiol zum Amin reduziert (s. Abbildung 65).^[102] Da Propandithiol mit der offenkettigen Form von Verbindung **93** sehr leicht zum Dithian reagiert, musste das Thiol vor der folgenden Hydrolyse entfernt werden.^[103] Dies war durch alleiniges Trocknen im Hochvakuum nicht möglich. Daher wurde das Glycosylamin durch eine weitere Festphasenextraktion gereinigt, mehrmals in Wasser aufgenommen und gefriergetrocknet. Im Anschluss konnte das Halbacetal **93** durch saure

Hydrolyse in wässriger Essigsäure freigesetzt und durch Gelfiltration über LH 20-Material gereinigt werden.^[103]

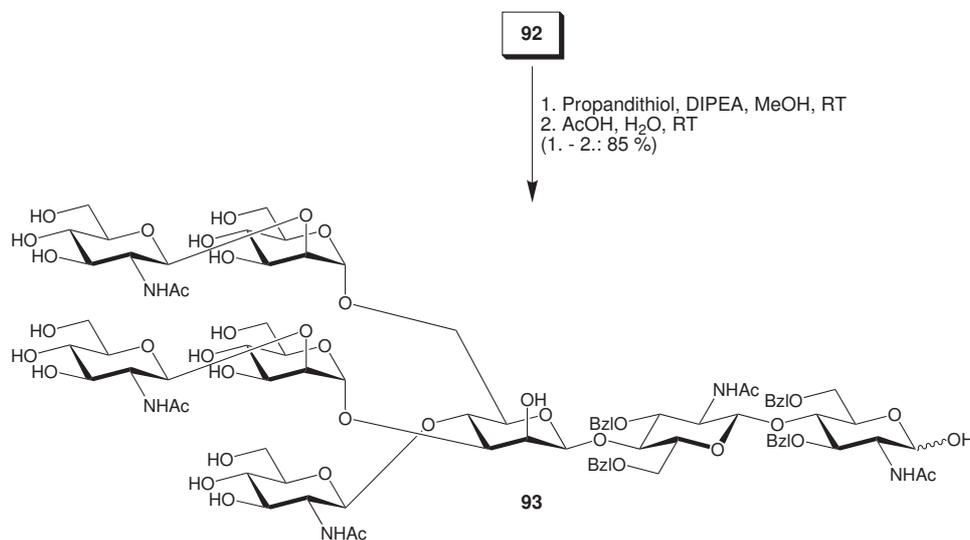


Abbildung 65. Umwandlung des Azids zum Halbacetal **93**

Zur vollständigen Entschützung wurde das Halbacetal **93** über Palladium(II)-oxid-Hydrat hydriert und die Verbindung **94** nach Gelfiltration in 69 % Ausbeute erhalten (s. Abbildung 66).^[45] Die Gelfiltration wurde in Wasser über Bio-Gel P-4 durchgeführt, damit im Endprodukt keine Puffer-Rückstände verbleiben konnten.

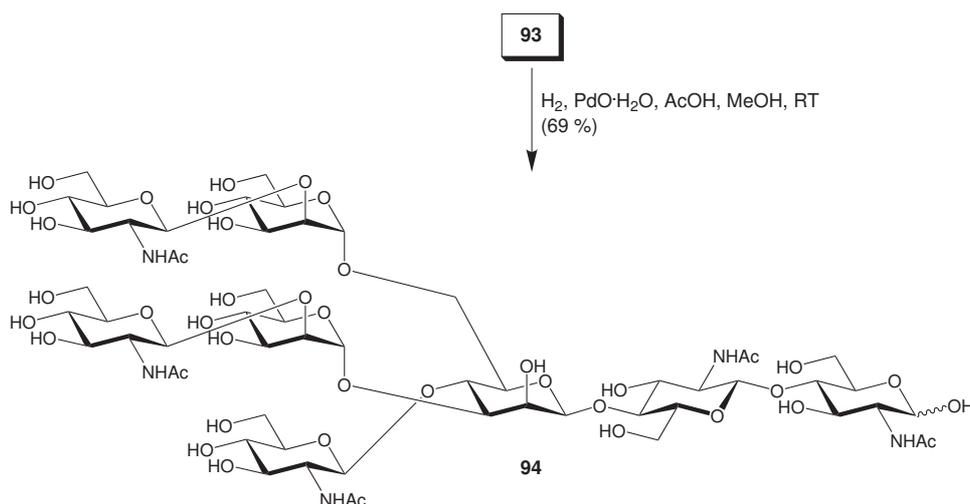


Abbildung 66. Hydrogenolytische Abspaltung der Benzylschutzgruppen

Mit dem Nonasaccharid **71** wurde analog verfahren (s. Abbildung 67). Verbindung **97** wurde in guter Ausbeute (54 % über 6 Stufen) und Reinheit erhalten.

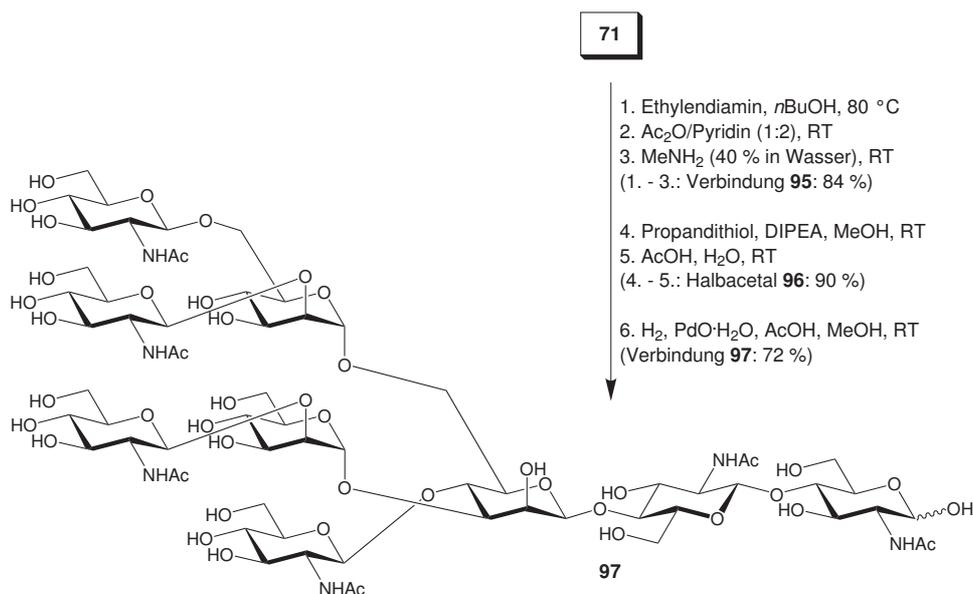


Abbildung 67. Entschützung des triantennären *N*-Glycans **71** mit bisecting-GlcNAc

Sämtliche Schutzgruppen des 2,4-verzweigten triantennären *N*-Glycans **78** wurden nach der gleichen Vorgehensweise entfernt, was zum entschützten Nonasaccharid **100** in 48 % Ausbeute über sechs Stufen führte (s. Abbildung 68).

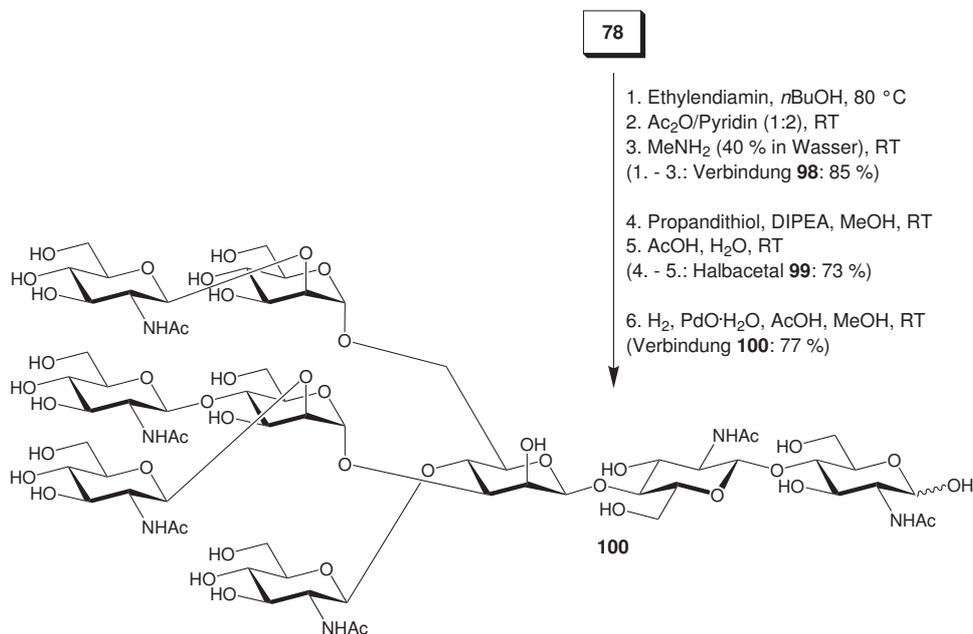


Abbildung 68. Vollständige Entschützung des triantennären *N*-Glycans **78**

Durch die gleiche Reaktionssequenz wurde das vollständig entschützte tetraantennäre *N*-Glycan des bisecting-Typs **103** erhalten (s. Abbildung 69).

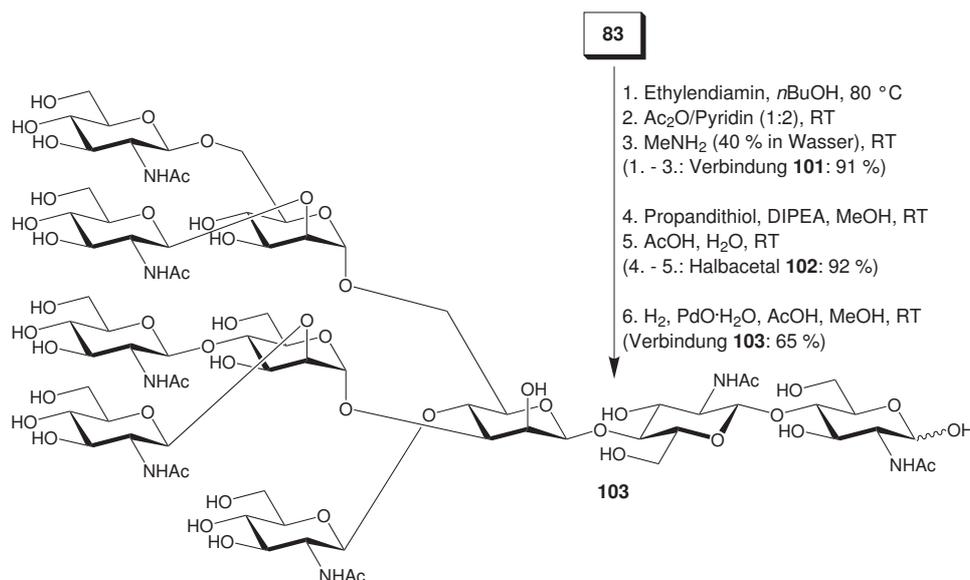


Abbildung 69. Vollständige Entschützung des tetraantennären *N*-Glycans **83**

Die Strukturen der deblockierten Verbindungen wurden mittels Massenspektrometrie und zweidimensionaler NMR-Spektroskopie bestätigt. Als Referenzen dienten zusätzlich NMR-Daten von *N*-Glycanen, die aus natürlichen Quellen isoliert wurden.^[104]

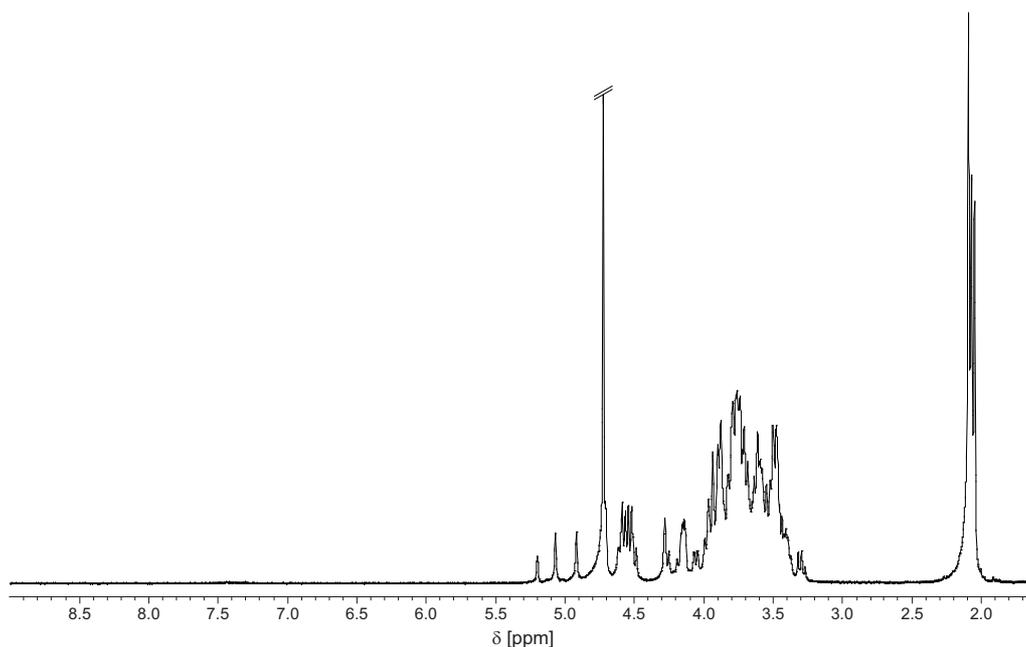


Abbildung 70. 360 MHz ¹H-NMR-Spektrum von Verbindung **103** bei 27 °C in D₂O

Die vier *N*-Glycane des bisecting-Typs wurden nach der Entschützung in Mengen zwischen 10 und 20 mg erhalten und konnten in hoher Reinheit isoliert werden. Als Reinheitskriterium diente NMR, da RP-HPLC auf Grund der Hydrophilie der Moleküle nicht möglich war.

Abbildung 70 zeigt das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum der gereinigten tetraantennären Verbindung **103**, die als Anomerengemisch vorlag.

4.2 Derivatisierung der *N*-Glycane für die Anknüpfung an Glycochips

Die entschützten *N*-Glycane sollten für die Untersuchung von Wechselwirkungen mit Seren, Antikörpern oder Lectinen auf Glycochips immobilisiert werden, da für diese Untersuchungen nur geringe Substanzmengen an Zucker erforderlich sind und viele Wechselwirkungen in kurzer Zeit getestet werden können. Hierfür sollten die *N*-Glycane zuerst mit dem bifunktionalen Spacer **104** versehen werden.^[56] Durch dessen Aminofunktion können die verschiedenen Oligosaccharide auf *N*-Hydroxysuccinimid-aktivierten Glasoberflächen gebunden werden.^[58] Für die Derivatisierung wurden die reduzierenden *N*-Glycane mit dem Spacer **104** in Acetatpuffer bei einem pH von 4.5 – 5.0 bei 37 °C inkubiert. Der überschüssige Spacer und die Salze wurden durch Festphasenextraktion auf aktiviertem Kohlenstoff entfernt.^[105] Die derivatisierten *N*-Glycane wurden in diesem Reinheitsgrad für die enzymatischen Glycosylierungen eingesetzt und für die Immobilisierung auf Glasoberflächen zusätzlich durch Gel-filtration gereinigt.

Auf diese Weise wurde das derivatisierte biantennäre Oktasaccharid-*N*-Glycan **105** in 91 % Ausbeute erhalten (s. Abbildung 71).

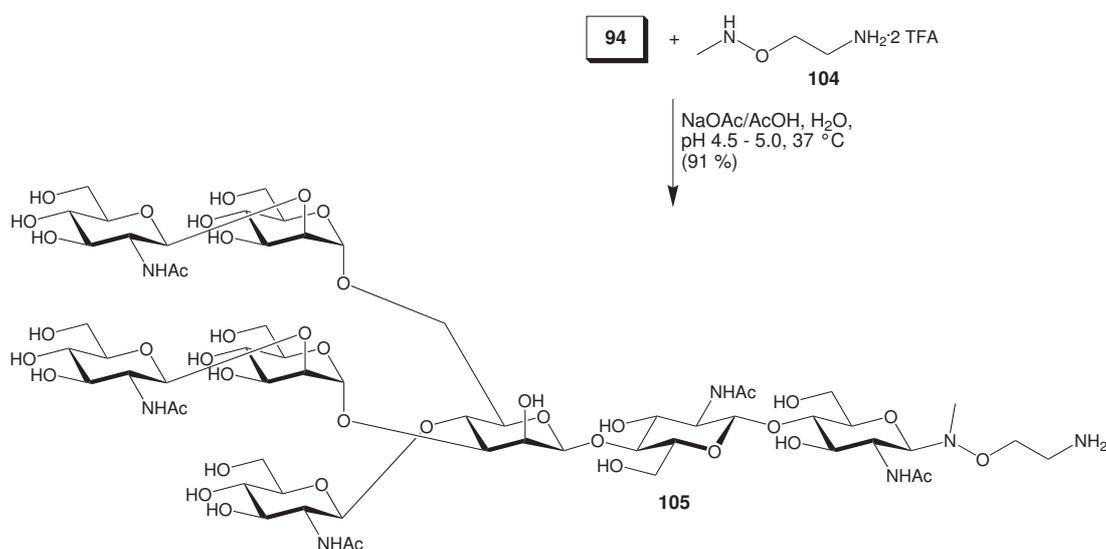


Abbildung 71. Derivatisierung des *N*-Glycans **94** mit dem bifunktionalen Spacer **104**

Die Bildung von Verbindung **105** wurde durch Massenspektrometrie bestätigt. Bei der Untersuchung der Verbindung durch NMR-Spektroskopie stellte sich heraus, dass es sich um ein Gemisch mit ca. 15 % Halbacetal **94** handelte. Dieses war durch Größenausschlusschromatographie allerdings nicht trennbar. Da sich die unvollständige Umsetzung im Weiteren nicht negativ auswirkte und beim Aufdrucken des Gemisches auf das NHS-aktivierte Glas das Halbacetal nicht binden sollte, wurde mit dem Gemisch weitergearbeitet. Mit Verbindung **105** konnte erstmals ein *N*-Glycan des bisecting-Typs mit terminalen *N*-Acetylglucosaminyleinheiten für Glycochips bereitgestellt werden.

Die NMR-Untersuchungen zeigten, dass ausschließlich das β -verknüpfte *N*-Glycan **105** entstand. Für das anomere Proton am reduzierenden Ende konnte ein Dublett mit einer Kopplungskonstante von $J_{1,2} = 9.0$ Hz gefunden werden.

Analog wurde auch die 2,6-verzweigte triantennäre Verbindung **97** mit dem Spacer **104** umgesetzt (s. Abbildung 72). Hier wurden mittels NMR ca. 12 % Halbacetal **97** im Produktgemisch bestimmt. Es konnte ebenfalls nur das β -Glycosid **106** nachgewiesen werden.

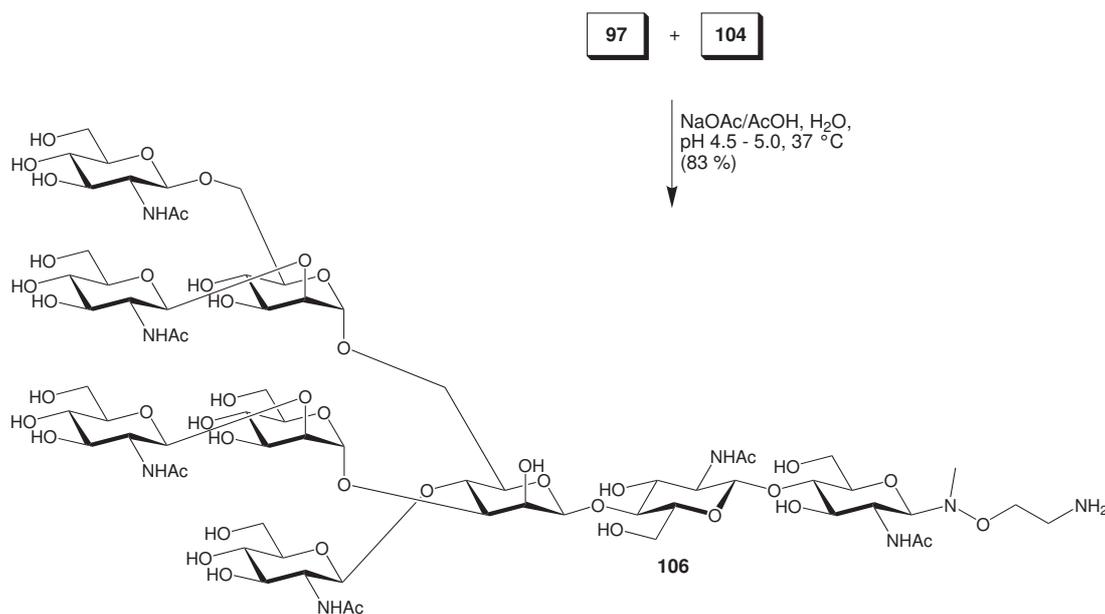


Abbildung 72. Derivatisierung des triantennären *N*-Glycans **97** mit dem bifunktionalen Spacer **104**

Auch das 2,4-verzweigte triantennäre Halbacetal **100** konnte in guter Ausbeute (92 %) derivatisiert werden (s. Abbildung 73). Nach der Isolierung verblieben noch ca. 17 % Halbacetal **100** im Produktgemisch. Die Bildung des β -Glycosids **107** wurde durch NMR-Spektroskopie belegt ($J_{1,2} = 9.7$ Hz).

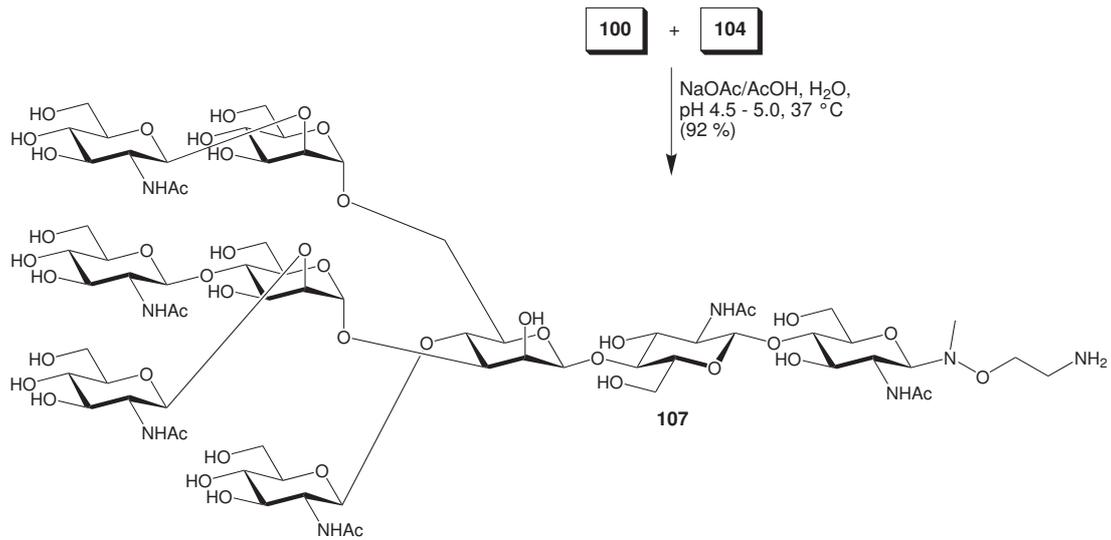


Abbildung 73. Derivatisierung des *N*-Glycans **100** mit dem bifunktionalen Spacer **104**

Unter analogen Reaktionsbedingungen wurde auch die tetraantennäre Verbindung **103** mit dem bifunktionalen Spacer **104** umgesetzt (s. Abbildung 74). Der Anteil an Halbacetal **103** im Produktgemisch wurde durch ¹H-NMR mit ca. 20 % bestimmt.

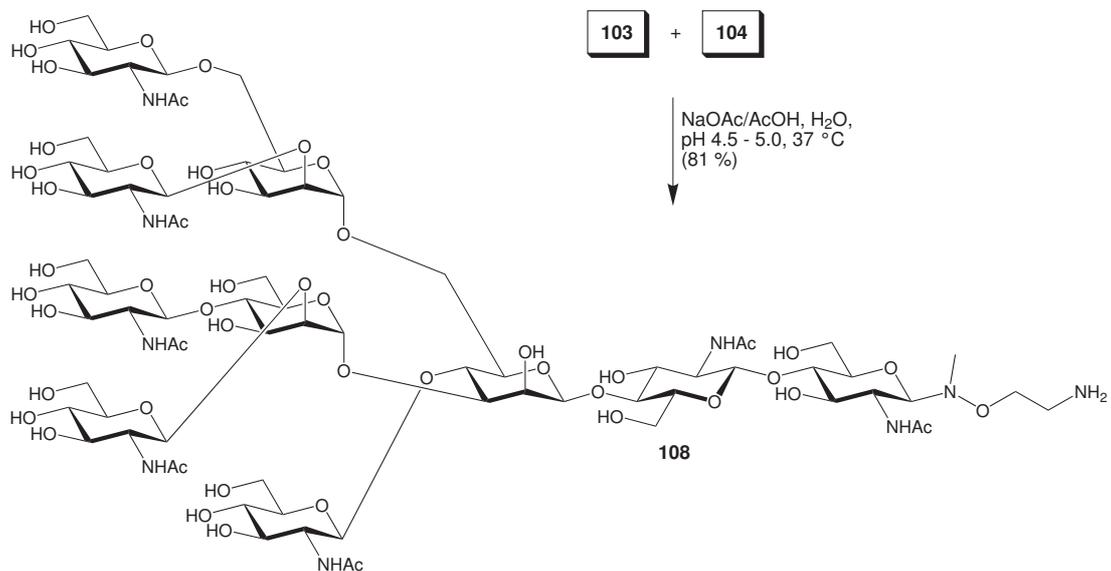


Abbildung 74. Derivatisierung des tetraantennären *N*-Glycans **103** mit dem bifunktionalen Spacer **104**

5. Enzymatische Glycosylierungen

Durch den Einsatz der Glycosyltransferasen sollten die Antennen ohne aufwendige Schutzgruppenchemie regio- und stereoselektiv verlängert werden. Auf diese Weise sollten in kurzer Zeit eine möglichst große Anzahl verschiedener *N*-Glycanverbindungen des bisecting-Typs für die Herstellung von Glycochips synthetisiert werden.

Die Anknüpfung von Galactose und Sialinsäure an die terminalen *N*-Acetylglucosaminyleinheiten geschah mit Hilfe von Glycosyltransferasen. Als Donoren fungierten die Zuckernucleotide UDP-Gal **109** und CMP-NeuAc **110** (s. Abbildung 75).

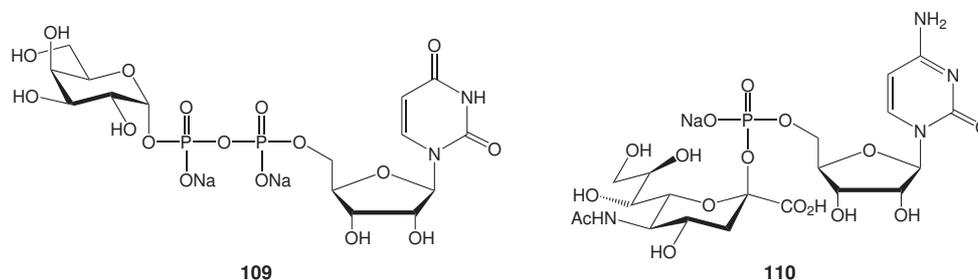


Abbildung 75. Zuckernucleotide für die enzymatischen Verlängerungen

Die enzymkatalysierten Reaktionen konnten im Core D (Glycan Array Synthesis) des Consortium for Functional Glycomics (CFG) am Scripps Research Institute in La Jolla, USA durchgeführt werden. Dort konnten nur die Proteine und Salze aus den Enzymreaktionen durch Festphasenextraktion auf aktiviertem Kohlenstoff entfernt werden.^[105] Überschüssige Zuckernucleotide ließen sich auf diese Weise nicht abtrennen. Deshalb mussten alle Verbindungen für die Herstellung der Glycochips nochmals durch Gelfiltration gereinigt werden. In La Jolla wurden die Gemische für Folgereaktionen verwendet, was die selektiven Transferasen nicht beeinflusste. Allerdings konnten auf Grund der unbekannt Menge an eingesetztem Edukt keine Ausbeuten für die Enzymreaktionen bestimmt werden.

5.1 Enzymatische Galactosylierungen

Die β -1,4-Galactosylierung wurde mit einem käuflich erhältlichen Enzym durchgeführt, das aus Rindercolostrum isoliert wird.^[106] Die Reaktion wurde in einem 75 mM Tris-Hydrochlor-

rid-Puffer bei pH 7.5 und 37 °C durchgeführt. Der Puffer enthielt zusätzlich BSA, um das Enzym zu stabilisieren und dessen Adsorption an der Reaktionsgefäßwand zu verhindern. Die Glycosyltransferase benötigt zweiwertige Metallkationen als Cofaktoren im aktiven Zentrum zur Koordination des Donors **109** und zur Enzymaktivierung.^[107] Deshalb wurde Mangan(II)-chlorid in den Puffer zugegeben. Da bei der Reaktion UDP entsteht, das die Glycosyltransferase hemmt, wurde zusätzlich alkalische Phosphatase eingesetzt, um den Reaktionsumsatz zu erhöhen.^[108] Das biantennäre *N*-Glycan wurde mit sechs Äquivalenten Donor **109** für zwei Tage unter den oben beschriebenen Bedingungen umgesetzt (s. Abbildung 76).

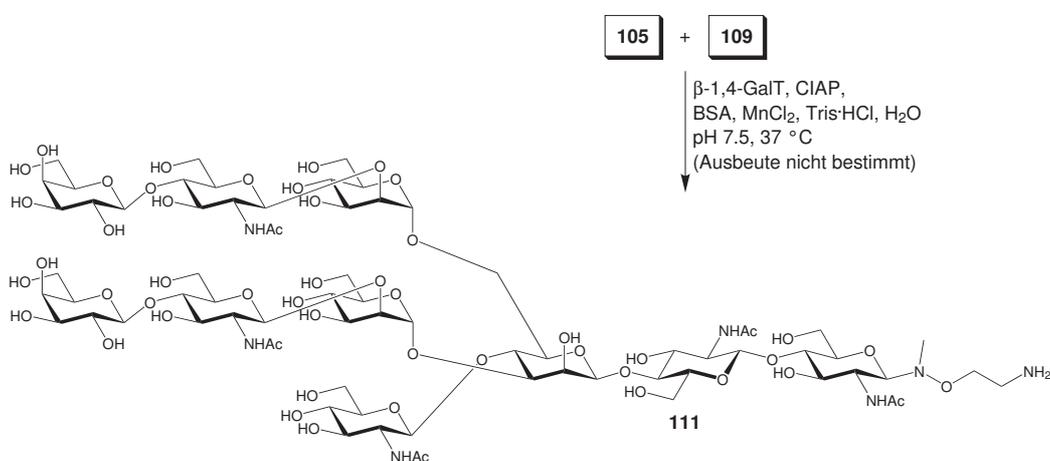


Abbildung 76. β -1,4-Galactosylierung des biantennären *N*-Glycans **105**

Das Edukt **105** wurde zweifach galactosyliert, was durch Massenspektrometrie bestätigt werden konnte. Trotz der Entdeckung von *N*-Glycanen, die am bisecting-GlcNAc galactosyliert sind,^[109] wurde diese Reaktion mit der verwendeten Galactosyltransferase nicht beobachtet.^[110] Dies geht auf die sterische Abschirmung des bisecting-Rests zwischen den beiden Antennen und die damit verbundene schlechte Zugänglichkeit dieses GlcNAcs für die Galactosyltransferase zurück.

Verbindung **111** wurde durch Aktivkohle-Festphasenextraktion von den Proteinen aus der Reaktionslösung getrennt und als Rohprodukt für die Sialylierungen verwendet. Das Decasaccharid **111** wurde für die Immobilisierung durch Gelfiltration gereinigt und durch NMR charakterisiert.

Verbindung **106** wurde mit je drei Äquivalenten UDP-Gal **109** pro Antenne enzymatisch galactosyliert (s. Abbildung 77). Das triantennäre Dodecasaccharid **112** wurde für die spätere Immobilisierung auf *N*-Glycanchips mittels Gelfiltration gereinigt.

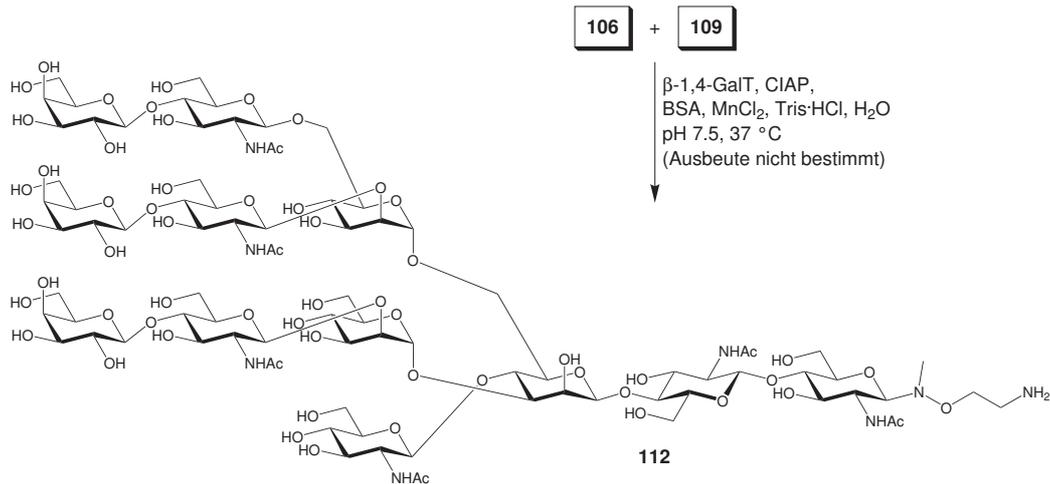


Abbildung 77. β -1,4-Galactosylierung des triantennären *N*-Glycans **106**

Die zweite triantennäre Verbindung **107** wurde unter analogen Reaktionsbedingungen enzymatisch verlängert (s. Abbildung 78). Verbindung **113** wurde als Rohprodukt für die Sialylierungen isoliert und für die Immobilisierung durch Gelfiltration weiter gereinigt.

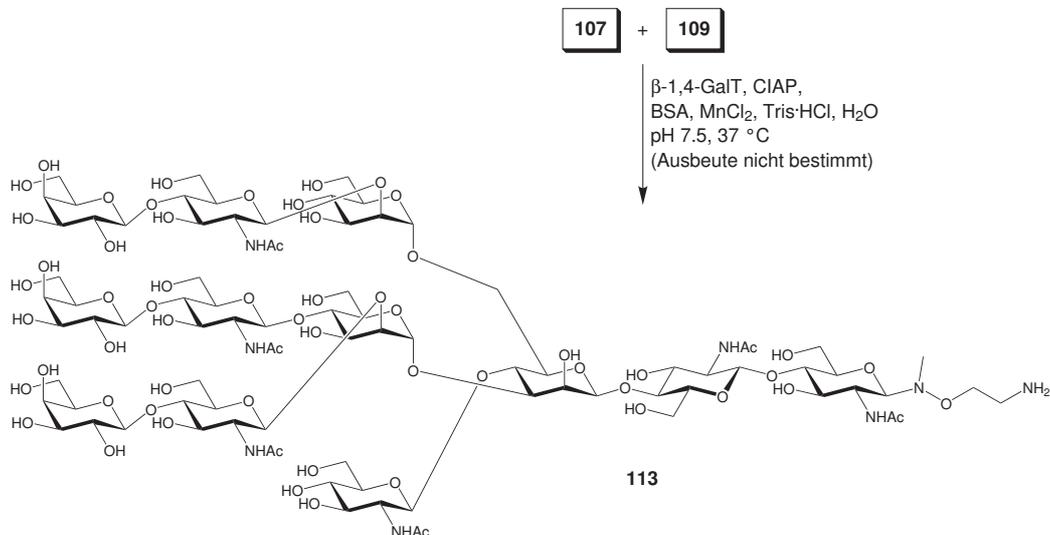


Abbildung 78. β -1,4-Galactosylierung des triantennären *N*-Glycans **107**

Das tetraantennäre *N*-Glycan **108** wurde mit zwölf Äquivalenten UDP-Gal **109** zum vollständig galactosylierten Tetradecasaccharid **114** umgesetzt, dessen Struktur nach der Reinigung durch NMR-Spektroskopie und Massenspektrometrie bewiesen wurde.

Mit den Verbindungen **111**, **112**, **113** und **114** stehen erstmals für die Immobilisierung auf *N*-Glycanchips vier unterschiedlich verzweigte Typ II-*N*-Glycane mit bisecting-GlcNAc und terminaler β -1,4-Galactose zur Verfügung.

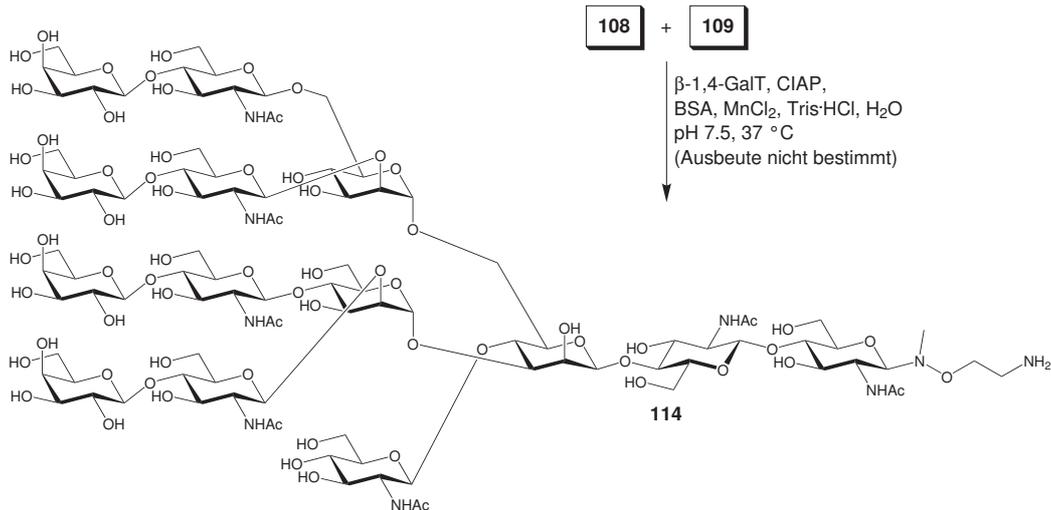


Abbildung 79. β -1,4-Galactosylierung des tetraantennären N-Glycans **108**

Es wurde ebenfalls die Synthese von Typ I-N-Glycanen mit β -1,3-verknüpfter Galactose untersucht. Hierfür wurden sechs Äquivalente UDP-Gal **109**, BSA, alkalische Phosphatase und Mangan(II)-chlorid in 75 mM Tris-Hydrochlorid-Puffer verwendet. Die Umsetzung des N-Glycans **105** mit β -1,3-Galactosyltransferase V^[111] ergab eine unvollständige Galactosylierung. Durch die Verwendung einer anderen Enzymcharge und durch die Erhöhung der Äquivalente an UDP-Gal **109** (12.1 eq) konnte die Reaktion zur Vollständigkeit gebracht werden (s. Abbildung 80).

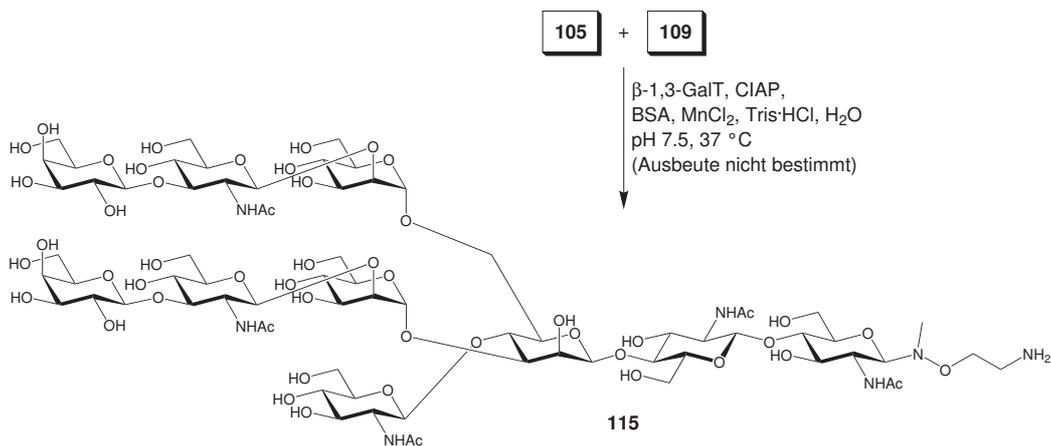


Abbildung 80. β -1,3-Galactosylierung des biantennären N-Glycans **105**

5.2 Enzymatische Sialylierungen

Für die enzymatischen Sialylierungen in La Jolla wurden Gemische aus den β -1,4-galactosylierten *N*-Glycanen des bisecting-Typs und restlichen UDP-Gal **109** eingesetzt, da UDP-Gal durch die Festphasenextraktion auf aktiviertem Kohlenstoff nicht vollständig abgetrennt werden konnte.

5.2.1 Enzymatische α -2,3-Sialylierungen

Die α -2,3-Sialylierungen wurde mit einer rekombinanten Transferase durchgeführt.^[112] Die Reaktion wurde in einem 50 mM Natriumkacodylat-Puffer bei pH 6.4 und 37 °C durchgeführt. Der Puffer enthielt zusätzlich BSA und alkalische Phosphatase.^[108] Unter diesen Bedingungen wurde das Decasaccharid **111** mit sechs Äquivalenten Donor **110** vollständig sialyliert (s. Abbildung 81). Die Struktur des Produkts **116** wurde mittels Massenspektrometrie und NMR-Spektroskopie bestätigt.

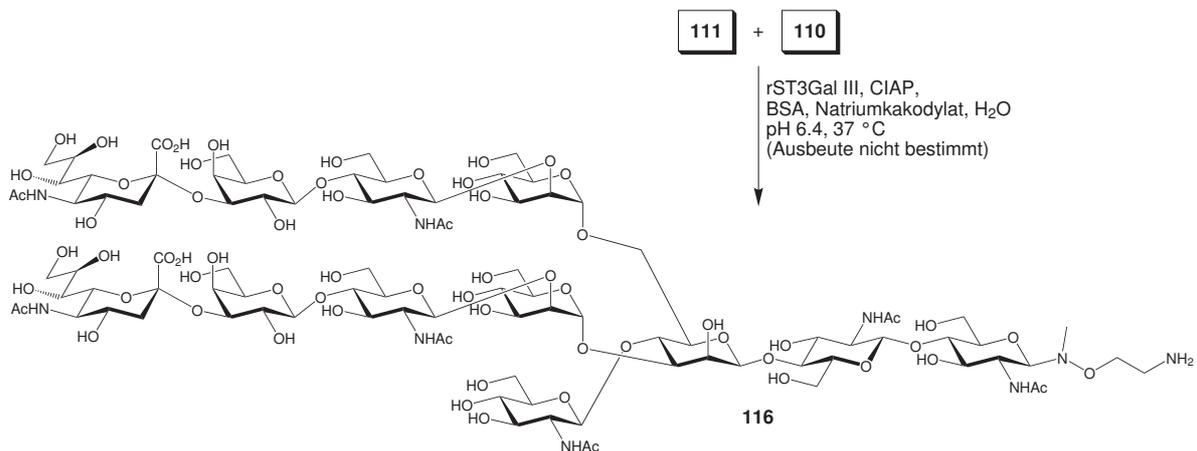


Abbildung 81. α -2,3-Sialylierung des biantennären *N*-Glycans **111**

Unter analogen Reaktionsbedingungen wurde Verbindung **112** vollständig umgesetzt (s. Abbildung 82). Auf Grund der hohen Enzymaktivität konnte der Überschuss an Donor **110** auf zwei Äquivalente pro Antenne reduziert werden. Nach Gelfiltration wurden 2.4 mg des Pentadecamers **117** erhalten.

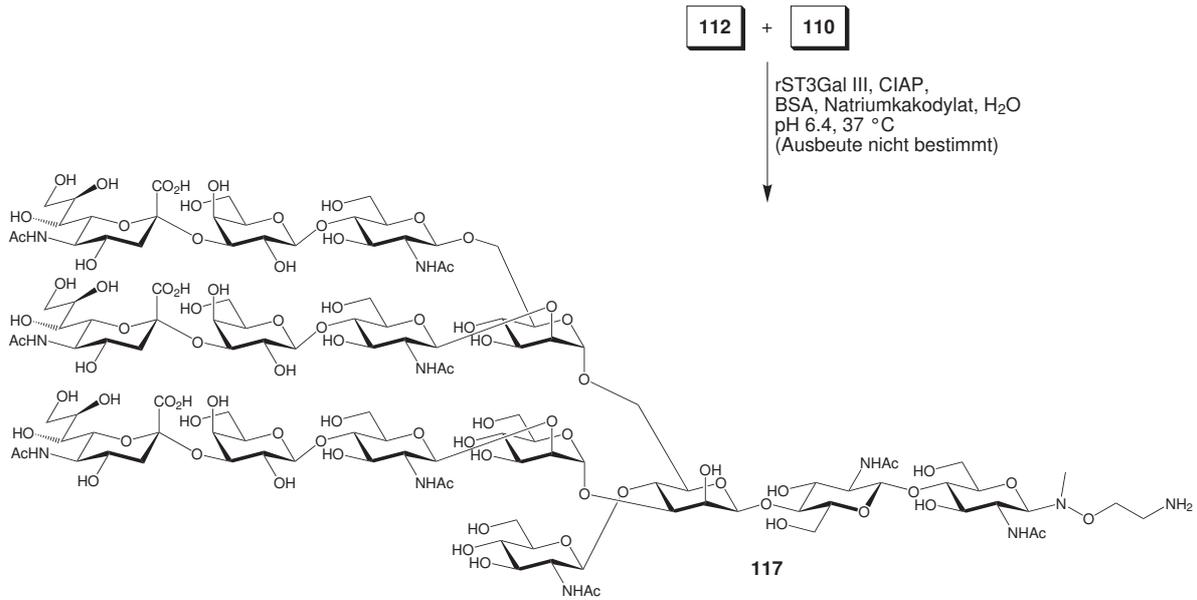


Abbildung 82. α -2,3-Sialylierung des 2,6-triantennären N-Glycans **112**

Die vollständige Umsetzung des Dodecasaccharids **113** gelang mit zwei Äquivalenten des Donors **110** pro Antenne (s. Abbildung 83). Die Struktur sialylierten Produkts **118** wurde nach Reinigung durch Gelfiltration mittels NMR-Spektroskopie und Massenspektrometrie bestätigt.

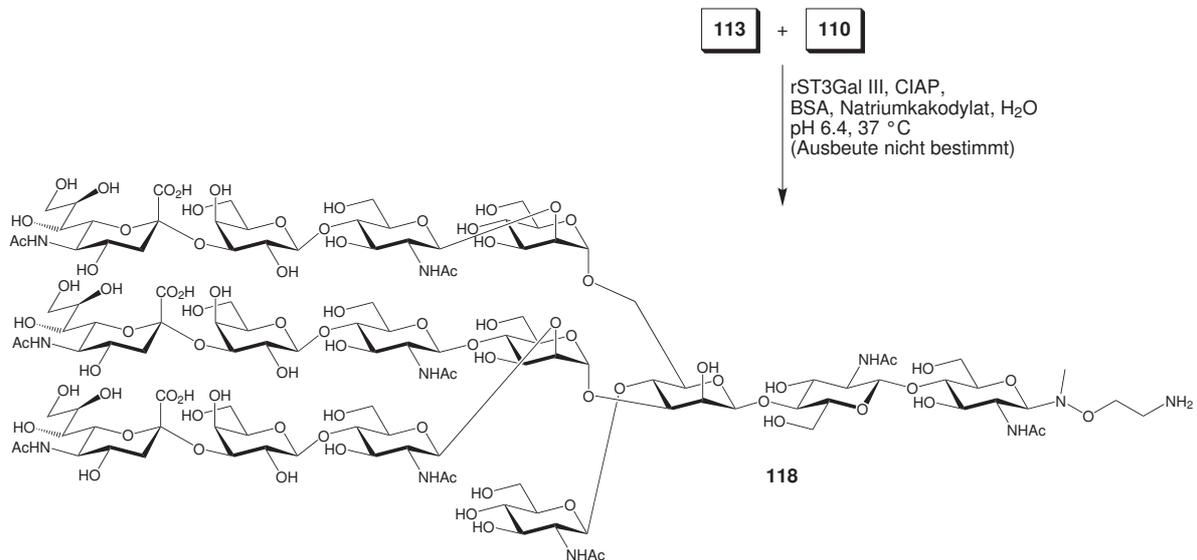


Abbildung 83. α -2,3-Sialylierung des 2,4-triantennären N-Glycans **113**

Unter analogen Bedingungen konnte das vollständig sialylierte Oligosaccharid **119** hergestellt werden (s. Abbildung 84).

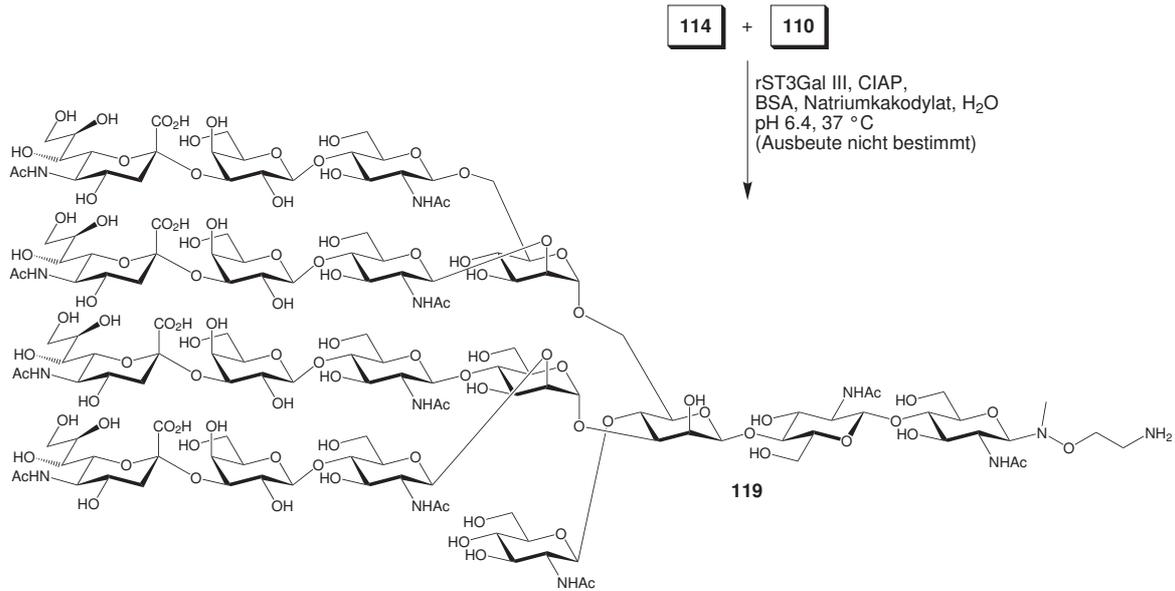


Abbildung 84. α -2,3-Sialylierung des tetraantennären *N*-Glycans **114**

5.2.2 Enzymatische α -2,6-Sialylierungen

Die α -2,6-Sialylierungen wurden mit einer humanen Transferase durchgeführt.^[113,112d-g] Die Reaktionen wurden in einem 100 mM Natriumkakodylat-Puffer bei pH 6.4 und 37 °C durchgeführt. Der Puffer enthielt zusätzlich BSA, 10 mM MnCl₂ und alkalische Phosphatase.^[108]

Unter diesen Bedingungen wurde das biantennäre *N*-Glycan **111** zwei Tage mit 6.2 Äquivalenten Donor **110** inkubiert (s. Abbildung 85). Beide Antennen konnten durch diese Reaktion an der 6-Hydroxylgruppe der Galactosen sialyliert werden. Nach anschließender Reinigung durch Festphasenextraktion und Gelfiltration wurden 0.9 mg der Verbindung **120** gewonnen.

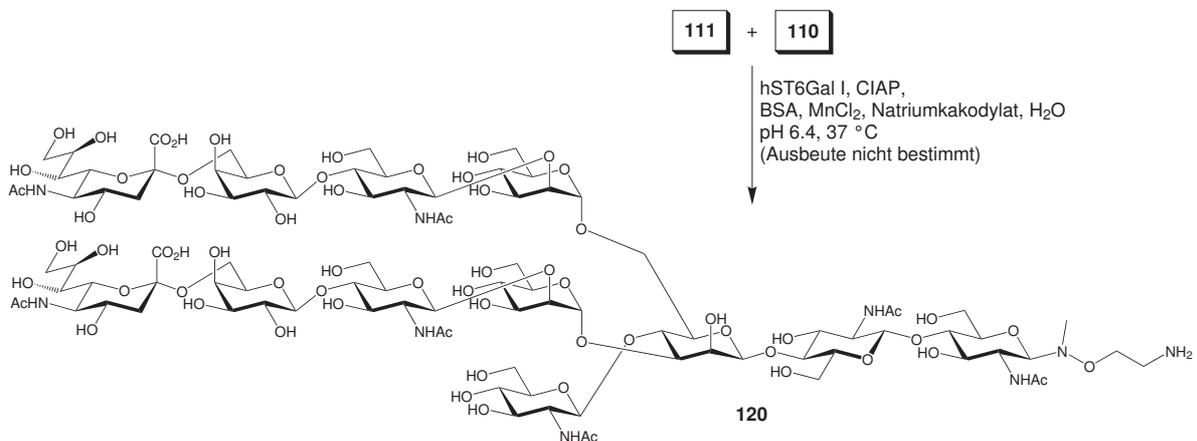


Abbildung 85. α -2,6-Sialylierung des biantennären *N*-Glycans **111**

Analog wurde das 2,6-verzweigte Dodecasaccharid **112** umgesetzt (s. Abbildung 86). Dabei konnte der Überschuss an Donor **110** auf 1.5 Äquivalente pro Antenne reduziert werden. Nach der Reinigung wurden 1.9 mg der Verbindung **121** erhalten.

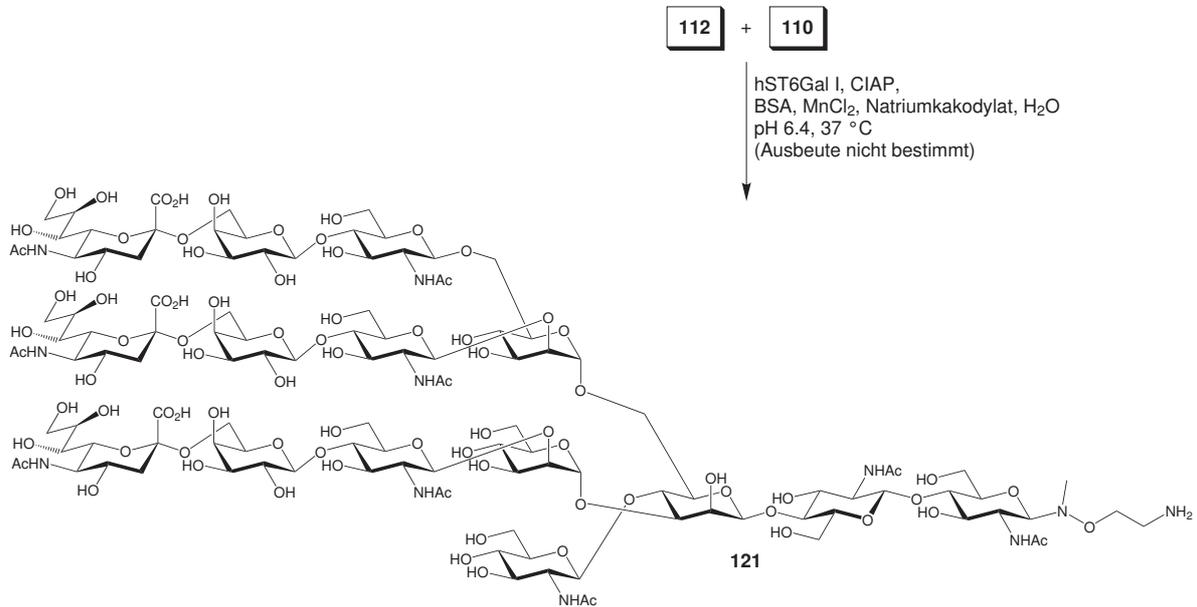


Abbildung 86. α -2,6-Sialylierung des triantennären N-Glycans **112**

Die triantennäre Verbindung **113** ergab nach zwei Tagen Inkubationszeit das vollständig sialylierte Produkt **122** (1.7 mg), das mittels MALDI-TOF-MS nachgewiesen und nach Reinigung durch zweidimensionale NMR-Spektroskopie charakterisiert wurde (s. Abbildung 87).

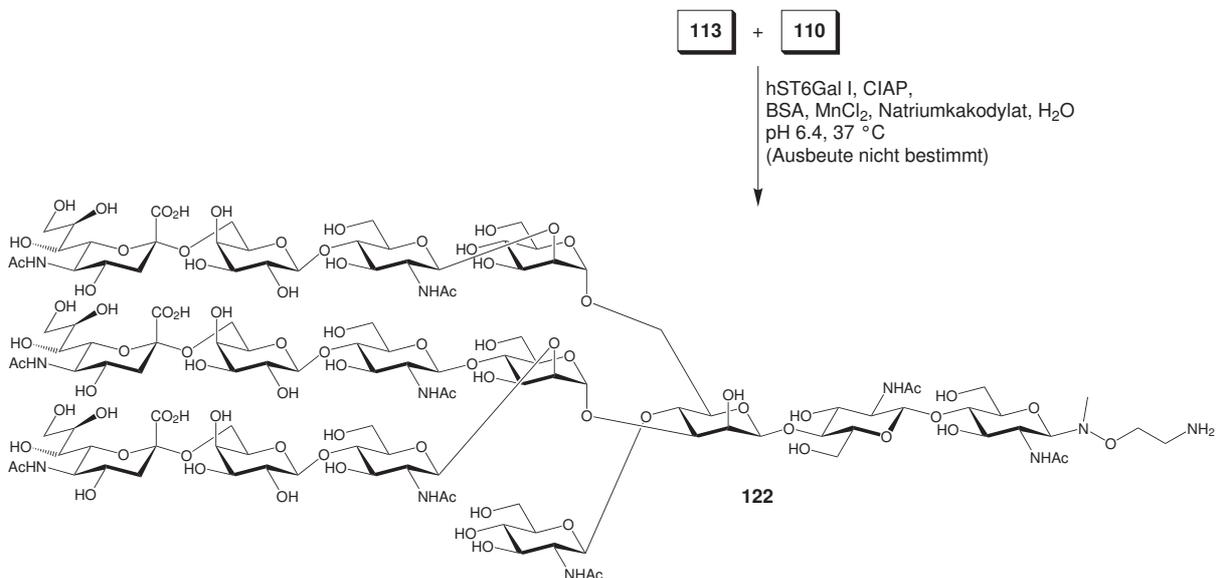


Abbildung 87. α -2,6-Sialylierung des triantennären N-Glycans **113**

Weiterhin wurde das tetraantennäre *N*-Glycan **114** mit bisecting-GlcNAc enzymatisch sialyliert (s. Abbildung 88). Nach Reinigung durch Gelfiltration wurden 1.7 mg des Octadecamers **123** erhalten.

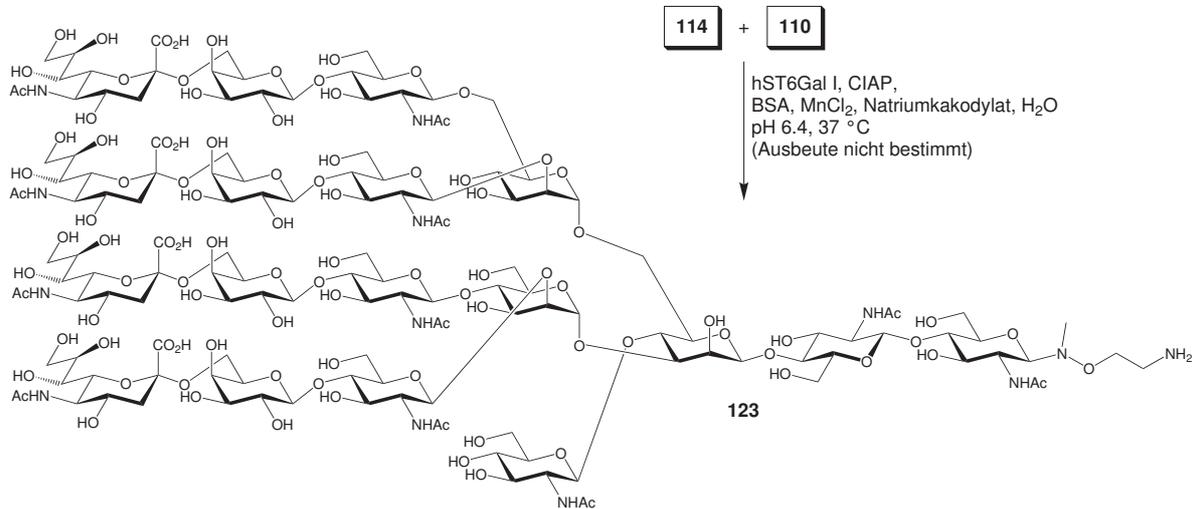


Abbildung 88. α -2,6-Sialylierung des tetraantennären *N*-Glycans **114**

Im Rahmen dieser Arbeit konnten aus den vier häufigsten *N*-Glycanen des bisecting-Typs durch chemo-enzymatische Synthese 16 neue Verbindungen zur Immobilisierung auf Glycan-arrays synthetisiert werden.

6. Synthese von Glycosylaminosäuren

6.1 Synthese von Core-Trisaccharid-Asparaginkonjugaten

Für Bindungsexperimente mit einem Chitobiose-bindenden Protein sollte das Core-Trisaccharid von *N*-Glycanen an L-Asparaginsäure gekoppelt werden.^[114] Im Rahmen einer Kooperation war geplant, diese Glycosylaminosäure als Modellverbindung mit dem Lectin Hevein für NMR-Untersuchungen zu verwenden. Dadurch sollten Informationen über die räumliche Koordination des Kohlenhydrats durch das Protein erhalten werden.

Um das entschützte Core-Trisaccharid zu erhalten, wurden in einer Eintopfreaktion^[74] die Phthalimidenschutzgruppen des Core-Trisaccharids **A** entfernt, die Amino- und Hydroxylgruppen vollständig acetyliert^[70] und im Anschluss die *O*-Acetate mit Methylamin^[79] entfernt (s. Abbildung 89).

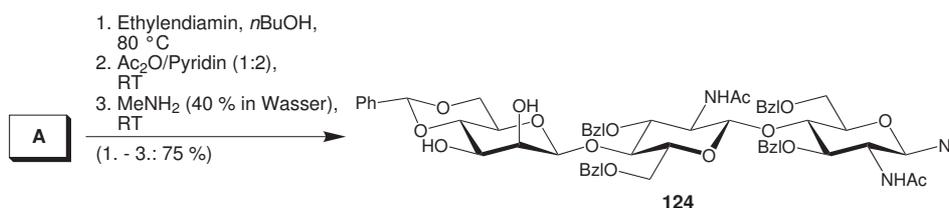


Abbildung 89. Umschützung der Phthalimidogruppen von **A**

Verbindung **124** wurde nach Reduktion des Azids mit Propandithiol^[102] am anomeren Zentrum mit *Z*-Asp(OH)OBzl gekoppelt, die mit (Benzotriazol-1-yl-oxy)trispyrrolidono-phosphonium-hexafluorophosphat (PyBOP) aktiviert wurde.^[115] Dieses Asparaginsäurederivat wurde verwendet, da sich sämtliche Schutzgruppen am Zucker und an der Aminosäure durch Hydrierung in einem Reaktionsschritt entfernen lassen sollten. Es stellte sich aber heraus, dass bei dieser Hydrierung nach vier Tagen die Aminogruppe des Asparagins methyliert wurde. Dies sollte auf eine reduktive Aminierung durch geringe Mengen an Formaldehyd, die aus dem Lösungsmittel Methanol stammen, zurückzuführen sein. Aus diesem Grund wurde auf eine *t*-Butyloxycarbonyl-Schutzgruppe für den *N*-Terminus zurückgegriffen.

Da das Core-Trisaccharid an ein acetyliertes Asparaginsäureamid gebunden werden sollte, wurde zunächst aus dem käuflich erhältlichen Boc-Asparaginsäurebenzylester **125** das Asparaginsäureamid **126** durch Umsetzung mit wässriger Methylamin-Lösung synthetisiert (s. Abbildung 90).^[79]

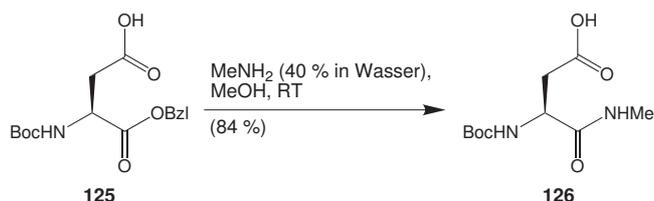


Abbildung 90. Synthese des Asparaginsäureamids **126**

Die Glycosylaminosäure wurde aus den Verbindungen **126** und dem aus **124** durch Reduktion^[102] gewonnenen Glycosylamin hergestellt (s. Abbildung 91). Zur Aktivierung diente DEPBT,^[116] da sich mit dieser Methode eine Acylierung der beiden Hydroxylgruppen vermeiden lassen sollte. Dennoch kam es beim Einengen des Reaktionsgemisches zur Veresterung der OH-Gruppen, was durch die anschließende Umsetzung mit Methylamin^[79] rückgängig gemacht wurde.

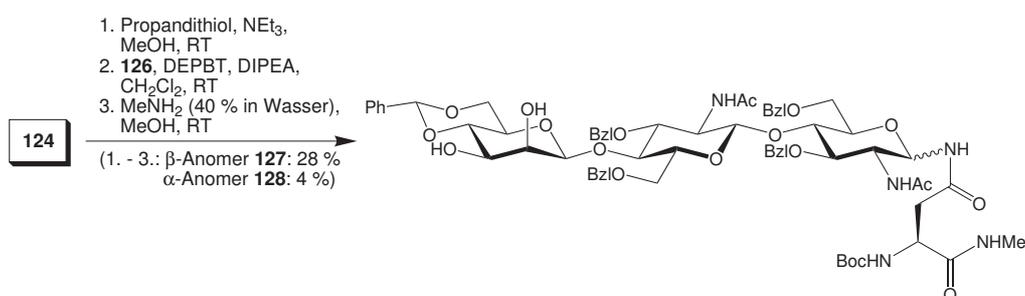


Abbildung 91. Reduktion von **124** und Kupplung mit dem Asparaginsäurederivat **126**

Das erhaltene Rohprodukt wurde durch Flashchromatographie und Gelpermeation (Sephadex LH 20) gereinigt. Dabei konnte das entstandene Gemisch aus α - und β -Anomer allerdings nicht voneinander getrennt werden, was jedoch durch RP-HPLC (C8) gelang (s. Abbildung 92).

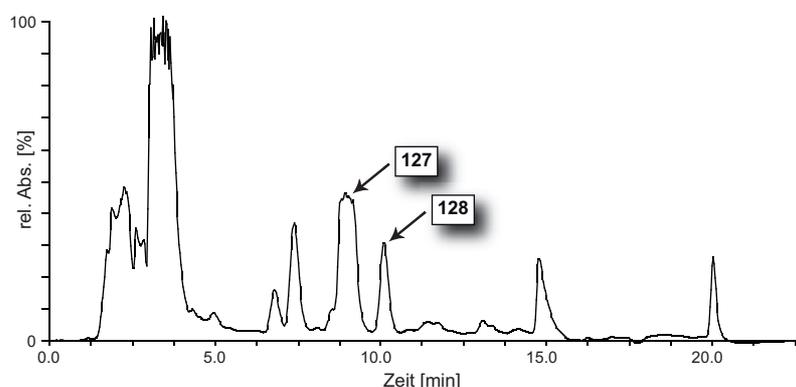


Abbildung 92. RP-HPLC-Reinigung und Trennung des Anomerengemisches nach der Kopplung des Asparaginsäurederivats **126**

Eine Trennung des Anomerengemisches durch RP-HPLC (C18) nach der Entfernung der Benzyl- und Benzylidenschutzgruppen war nicht möglich. Dies gelang auch nicht nach Acetylierung der freien Hydroxylgruppen.

Im Anschluss wurden die Hydroxylgruppen der isolierten Verbindung **127** durch Hydrierung^[45] über Palladium freigesetzt. Im nächsten Schritt wurde die Boc-Schutzgruppe mit Trifluoressigsäure^[117] abgespalten. Die Aminogruppe des Asparagins wurde mit Essigsäureanhydrid selektiv zum Acetamid umgewandelt^[74] und somit das gewünschte Glycosylaminosäurederivat **129** erhalten (s. Abbildung 93).

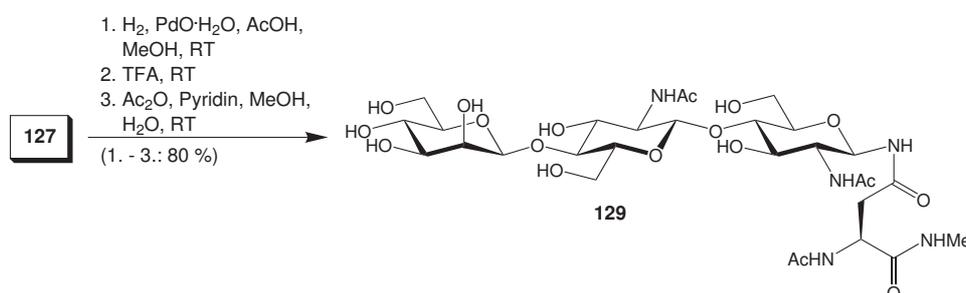


Abbildung 93. Entfernung der Schutzgruppen und selektive N-Acetylierung

Verbindung **129** wurde von *J. Jiménez Barbero* et al. als Komplex mit dem Lectin Hevein mittels NMR-Spektroskopie untersucht.^[118]

6.2 Synthese von Glycosylaminosäuren durch decarboxylative Kondensation

Die Möglichkeit zur nachträglichen Kupplung von definierten *N*-Glycanen an Asparaginsäure im Protein wäre für die Synthese von einheitlichen Glycoproteinen eine große Erleichterung. So könnten in modifizierte Peptidsequenzen die gewünschten Oligosaccharide eingebracht werden. Eine derartig einfache Verknüpfung wäre auch zur Synthese von glycosylierten Asparaginbausteinen für die konvergente Festphasenpeptidsynthese hilfreich.

Ein Beispiel hierfür ist die decarboxylative Kondensation von Hydroxylaminen und α -Ketosäuren.^[119] Um zu untersuchen, ob sich die *N*-Glycane des bisecting-Typs für diese Methode eignen, wurde aus der biantennären Verbindung **94** das Glycosylhydroxylamin **130** mit Hydroxylamin-Hydrochlorid in Wasser bei pH 6-7 hergestellt (s. Abbildung 94).^[120,121] Für diese

Testreaktion wurden keine Ausbeuten bestimmt. Das Produkt **130** wurde nach Gelfiltration durch Massenspektrometrie nachgewiesen.

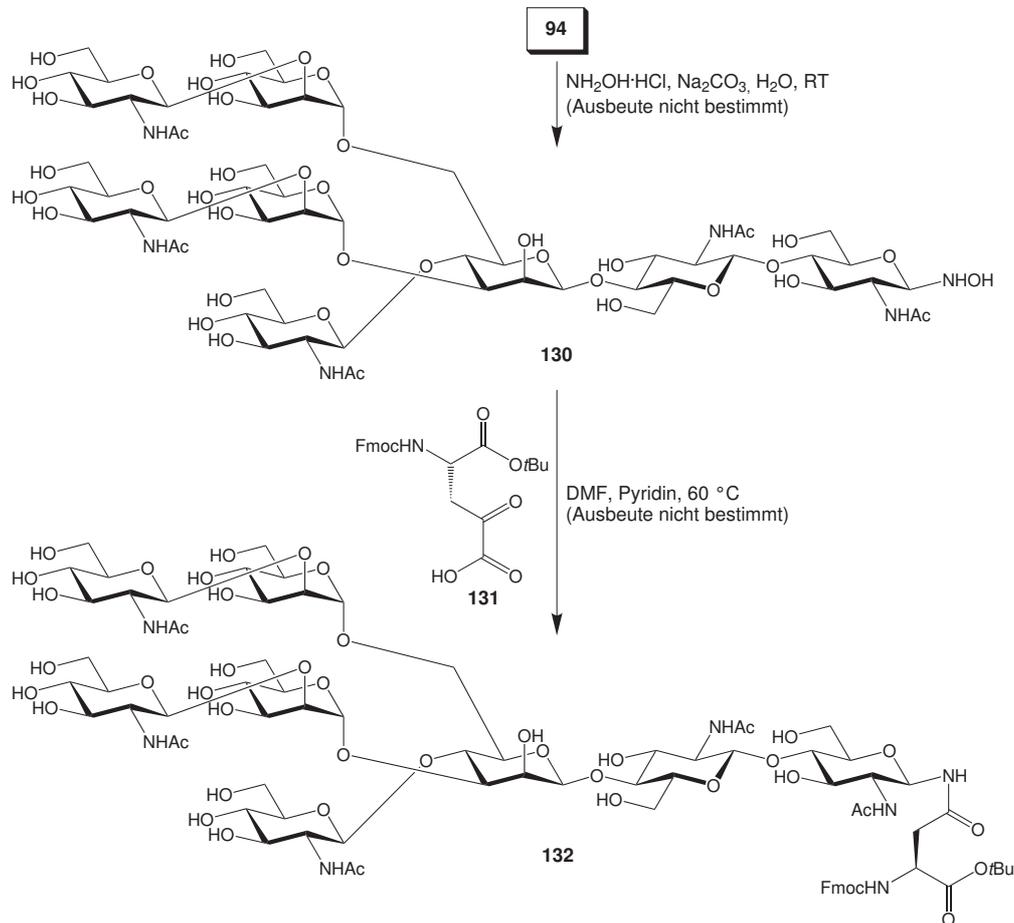


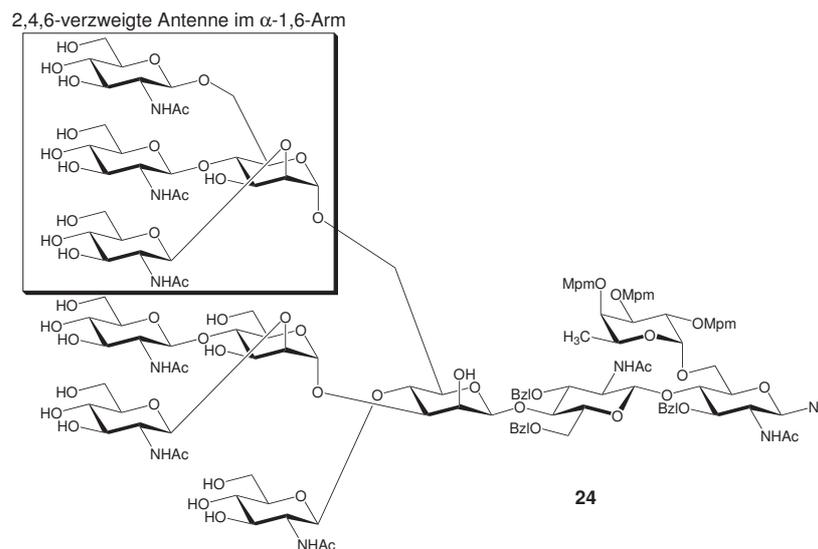
Abbildung 94. Herstellung des Glycosylhydroxylamins **130** und decarboxylative Kondensation mit der α -Ketosäure **131**

Anschließend konnte C. Pöhner das Glycosylhydroxylamin **130** mit der α -Ketosäure **131** decarboxylativ kondensieren (s. Abbildung 94).^[119,120] Die Produktbildung in diesem Testansatz konnte mittels LC-MS bewiesen werden.

Mit dieser Methode besteht eine weitere Möglichkeit zur Herstellung von Glycosylaminosäuren für die Peptidsynthese. In weiteren Testreaktionen muss die nachträgliche Einführung von *N*-Glycanen zur Herstellung von uniformen Glycoproteinen untersucht werden.

7. Zusammenfassung

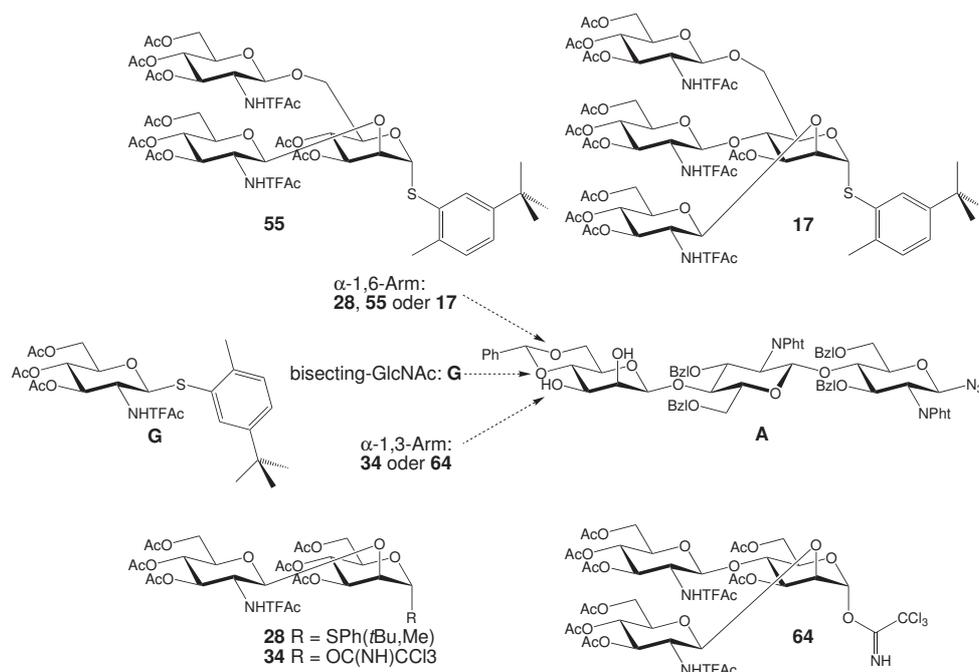
Viele Proteine in der Zellmembran oder im Blutserum sind in eukaryotischen Organismen glycosyliert. Da die Kohlenhydratstrukturen verschiedene Aufgaben erfüllen, ist die Zugänglichkeit uniformer Glycoproteine für die Untersuchung von Struktur-Wirkungsbeziehungen nötig. Aufgrund der Mikroheterogenität ist die Isolierung von *N*-Glycanen aus Glycoproteinen erschwert. Daher stellt die chemische Synthese eine gute Alternative dar. Relativ selten in der Natur kommen *N*-Glycane des bisecting-Typs vor, deren Synthese in der vorliegenden Arbeit beschrieben wird. Diese Verbindungen sollen für die Untersuchung von Wechselwirkungen mit Lectinen, Seren oder Antikörpern auf Glychips bereitgestellt werden. Substituierte *N*-Glycane können aus modularen Bausteinen hergestellt werden, aus denen auch ein pentaantennäres *N*-Glycan mit bisecting-GlcNAc und Core-Fucose synthetisiert werden sollte.



Hierbei zeigte sich, dass die Ausbeute der sterisch anspruchsvollen Glycosylierung des hoch verzweigten α -1,6-Arms an den Heptasaccharidakzeptor **1** von zwei Schlüsselschutzgruppen abhängt. Bei der Verwendung der Donorbausteine **2** und **12**, bei denen die peripheren Amino- gruppen durch Phthalimidenschutzgruppen geschützt wurden, wirkte sich das Fehlen der 3-Acetatschutzgruppe an der Mannose (**12**) positiv auf die Ausbeuten (**2**: 8 %, **12**: 31 %) aus. Einen ähnlichen Effekt hatte der Austausch der sperrigen Phthalimidenschutzgruppen gegen kleinere Trifluoracetamide in den Donoren **16** und **17**. Mit diesen Bausteinen konnte die Ausbeute weiter verbessert werden (**16**: 47 %, **17**: 38 %), was auf elektronischen und sterischen Effekten beruhen sollte. Nach der Optimierung der Glycosylierung zu pentaantennären Strukturen wurde eine Core-Fucose eingeführt und die basenlabilen Schutzgruppen wurden entfernt

(24). Damit konnte eine vielseitige Einsetzbarkeit der modularen Bausteine mit der Trifluoracetamidenschutzgruppe gezeigt werden.

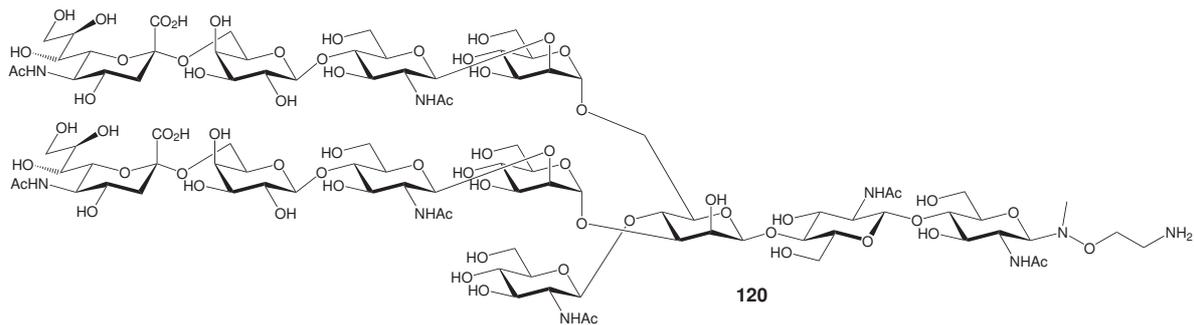
Aufgrund dieser Ergebnisse wurden neue modulare Bausteine entwickelt, um die Synthese der verschiedenen verzweigten *N*-Glycane und die nachträgliche Einführung eines bisecting-GlcNAc-Rests zu untersuchen.



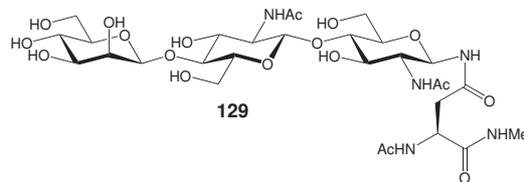
Durch die unterschiedliche Kombination der neuen Antennendonoren **17**, **28**, **34**, **55** und **64** mit dem Core-Trisaccharid **A** konnten die komplexen *N*-Glycane **40**, **69**, **75** und **80** mit zwei bis vier Antennen hergestellt werden. Für die Glycosylierungsreaktionen mussten aufgrund der erhöhten Reaktivität der trifluoracetamidgeschützten Donorbausteine geeignete Reaktionsbedingungen ermittelt werden. Die Regio- und Stereoselektivität in diesen Reaktionen wurde über die Konzentration und Temperatur der Reaktionsansätze gesteuert und ungewollte Überreaktion an benachbarten Hydroxylgruppen konnte damit unterdrückt werden.

Mit Hilfe des GlcNAc-Donors **G** konnte der bisecting-Rest nachträglich in die *N*-Glycane eingeführt werden. Durch die modularen trifluoracetamidgeschützten Bausteine wurden *N*-Glycane mit und ohne bisecting-GlcNAc in einer Syntheseroute erhältlich und die bisherige Verwendung einer temporären Chloracetatschutzgruppe unnötig. Es wurde zusätzlich die sequentielle Einführung des α -1,6-Arms und des bisecting-GlcNAc-Rests in regio- und stereoselektiven Eintopfreaktionen gezeigt. Auf diese Weise konnten auch das komplexe pentaantennäre *N*-Glycan **85** und ein *N*-Glycan des Hybridtyps **88** mit bisecting-Substitution hergestellt werden.

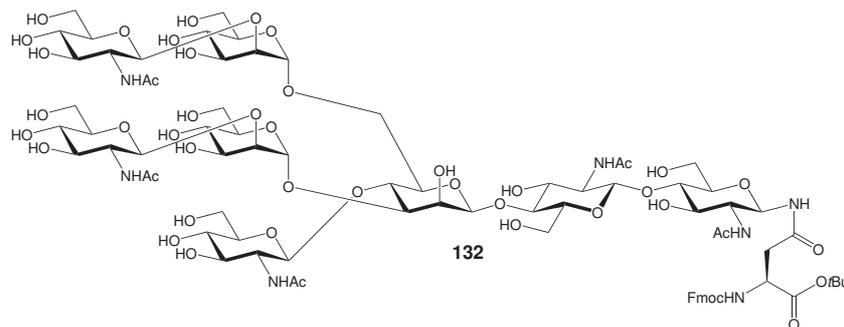
Die vier chemisch synthetisierten *N*-Glycane des bisecting-Typs wurden in sechs Reaktionsschritten entschützt, an den bifunktionalen Spacer **104** für die Immobilisierung auf Glycochips geknüpft und an den terminalen *N*-Acetylglucosaminyleinheiten mit Glycosyltransferasen enzymatisch verlängert. Hierbei wurden zuerst Galactosen β -1,4-glycosidisch angeknüpft, an welche Sialinsäuren α -2,3- oder α -2,6-glycosidisch gebunden werden konnten. Somit wurden für die Immobilisierung auf den *N*-Glycanchips erstmals 17 komplexe *N*-Glycane mit bisecting-GlcNAc zur Verfügung gestellt.



Außerdem wurde in weiteren Versuchen die Kopplung von *N*-Glycanen an die Seitenkette des Asparagins untersucht. Hierzu wurde das Core-Trisaccharid **A** nach Reduktion des Azids an ein Asparaginsäureamid geknüpft und anschließend zu **129** entschützt.

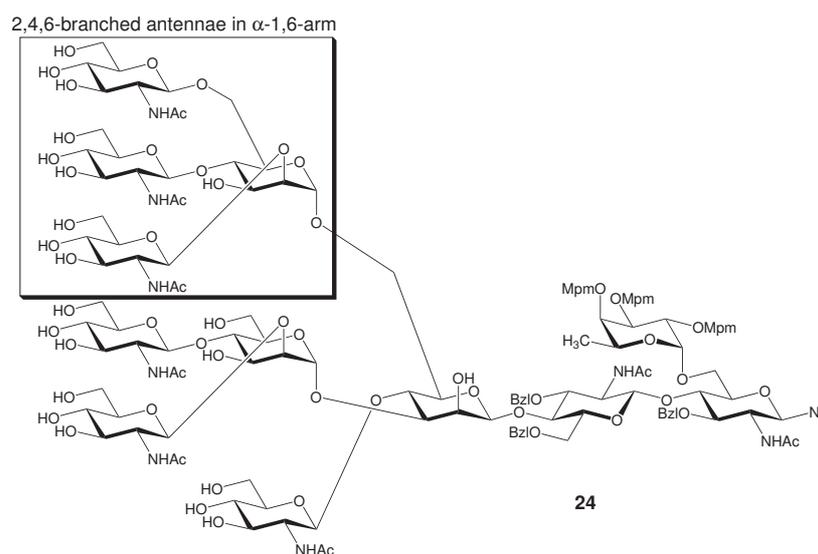


Außerdem konnte das Glycosylhydroxylamin **130** selektiv über eine decarboxylative Kondensation an ein Aminosäurederivat gebunden werden.



8. Summary

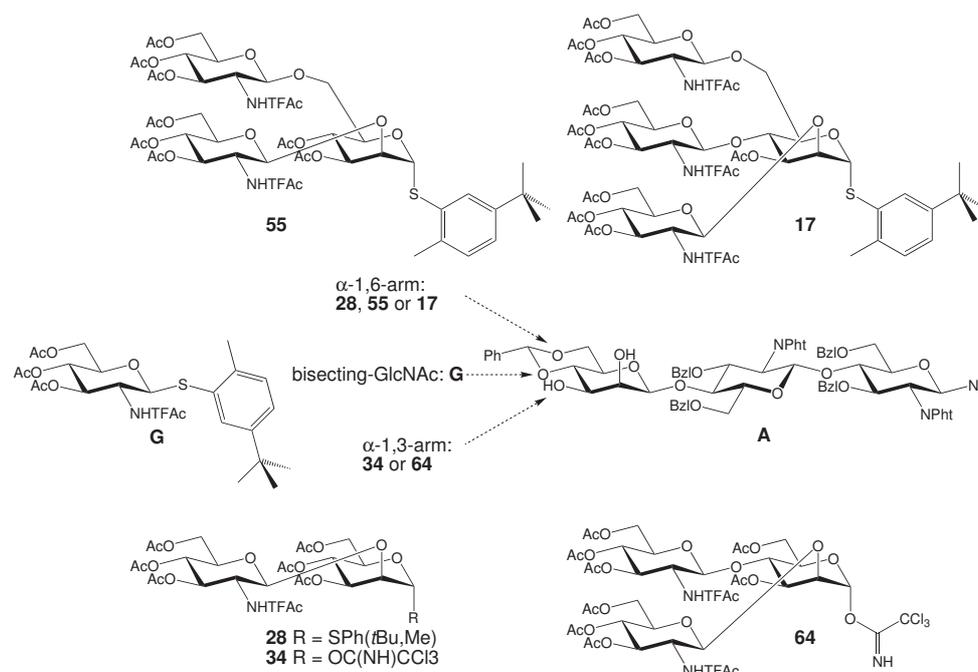
Many proteins of the cell membrane or serum are glycosylated in eukaryotic organisms. Since the carbohydrate structures fulfill different functions, the availability of uniform glycoproteins for structure-activity relationships is necessary. The microheterogeneity complicates the isolation of *N*-glycans from glycoproteins. Thus chemical synthesis is a good alternative. Relatively rare in nature are *N*-glycans of the bisecting type, whose synthesis is described in the present thesis. These compounds should be provided for the analysis of interactions with lectins, sera or antibodies on glycoarrays. Branched *N*-glycans can be synthesized with modular building blocks, from which a pentaantennary *N*-glycan with bisecting GlcNAc and core fucose should be synthesized.



It was shown that the yield in the sterically demanding glycosylation of the highly branched α -1,6-arm and the heptasaccharide acceptor **1** depends on two key protection groups. When using the donor building blocks **2** and **12** with phthalimido protecting groups for the peripheral amino functions the lack of an acetate at position 3 of the mannose (**12**) influenced the yield positively (**2**: 8 %, **12**: 31 %). The exchange of the bulky phthalimido groups for the smaller trifluoroacetamides in donor **16** and **17** showed a similar effect. With these building blocks the yield could be further improved (**16**: 47 %, **17**: 38 %), which should be related to electronic and steric effects. After optimization of the glycosylation reaction leading to pentaantennary structures, a core fucose was added and the base labile protecting groups were

removed (**24**). These results show a several applicability of the modular building blocks with trifluoroacetamide protecting groups.

Because of these results new modular building blocks were developed in order to test the synthesis of differently substituted *N*-glycans and the subsequent introduction of a bisecting GlcNAc residue.

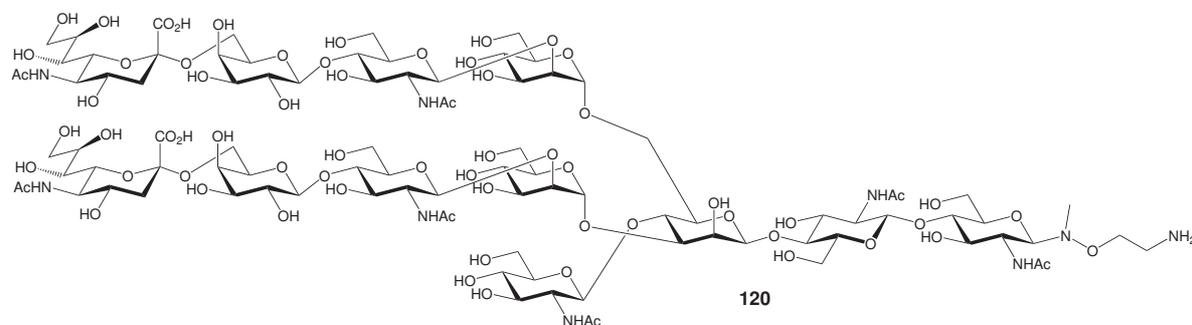


By a combination of the new antennae donors **17**, **28**, **34**, **55** and **64** with the core trisaccharide **A** the complex *N*-glycans **40**, **69**, **75** and **80** with two to four antennae were synthesized. Because of the increased reactivity of the trifluoroacetamide protected donors, adequate conditions had to be found for the glycosylation reactions. Regio- and stereoselectivity of these reactions was affected by the concentration and temperature of the reactions and unintentional overreaction at neighboring hydroxyl groups could be reduced.

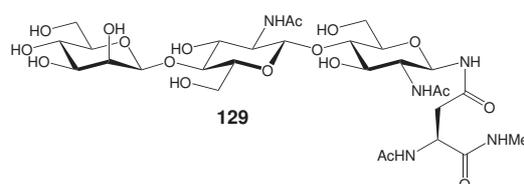
The bisecting residue could be introduced subsequently into the *N*-glycans via donor **G**. *N*-glycans with and without bisecting GlcNAc could be obtained by the modular trifluoroacetamide protected building blocks following a single route and the previous use of a temporary protecting group became unnecessary. The sequential introduction of α -1,6-arm and bisecting GlcNAc were additionally shown in a regio- and stereoselective one pot glycosylation. In this way the complex pentaantennary *N*-glycan **85** and a hybrid type *N*-glycan **88** with bisecting substitution could be obtained.

The four chemically synthesized *N*-glycans were deprotected in six reactions, coupled to a bifunctional linker **104** for the immobilization on glycochips and enzymatically elongated at

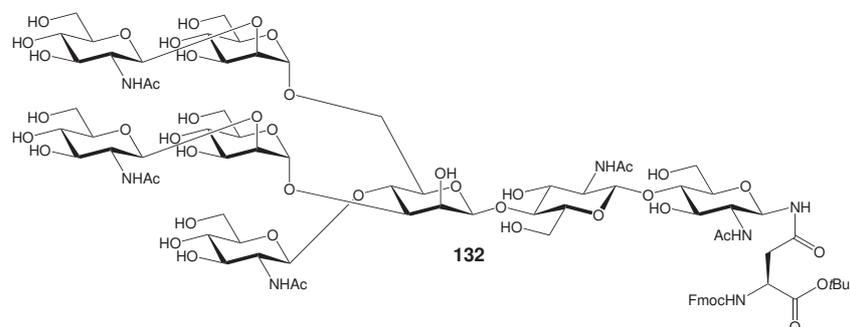
the terminal *N*-acetylglucosamine residues by glycosyltransferases. The first elongation attached β -1,4-glycosidically linked galactose, followed by an α -2,3- or α -2,6-sialylation. For the first time 17 complex *N*-glycans with a bisecting GlcNAc are provided for the immobilization on *N*-glycan arrays.



Furthermore the coupling of *N*-glycans to the side chain of asparagines was investigated. Therefore the core trisaccharide **A** was attached to an aspartic amide after reduction of the azide followed by deprotection leading to **129**.



Additionally the glycosylhydroxylamine **130** was converted to a glycosylaminoacid by decarboxylative condensation with an α -ketoacid.



9. Experimenteller Teil

9.1 Allgemeine Arbeitstechniken und Lösungsmittel

Die verwendeten Lösungsmittel (Aceton, Cyclohexan, Dichlormethan, Diethylether, Ethylacetat, Hexan, Methanol, *iso*-Propanol und Toluol) waren, soweit nicht ausdrücklich erwähnt, von technischer Qualität und wurden durch Destillation gereinigt. Zur Absolutierung wurde Dichlormethan durch mehrstündige Destillation über Diphosphorpentoxid, Methanol durch Destillation über Magnesiumspänen und THF durch Destillation über Benzophenon und Natrium getrocknet. Dimethylformamid wurde für Glycosylierungen in HPLC-Qualität verwendet und über ausgeglühtem Molekularsieb 4 Å aufbewahrt. Das verwendete Pyridin war getrocknet und hatte die Qualität Secco Solv. Acetonitril, *n*-Butanol, Dimethylformamid, Essigsäure und Essigsäureanhydrid wurden in p.a.-Qualität verwendet.

Als Schutzgas diente Argon 5.0. Das Molekularsieb 4 Å (Kugeln) wurde von der Firma Fluka bezogen, für Glycosylierungsreaktionen vor der Verwendung gemörsert und im Hochvakuum mit einem Heißluftfön ausgeglüht.

Bei der Dünnschichtchromatographie kamen Aluminiumfertigfolien „Alugram Sil G/UV₂₅₄“ der Firma Macherey-Nagel zum Einsatz. Detektiert wurde zum einen mittels Fluoreszenzlösung bei 254 nm und zum anderen durch ein kohlenhydratspezifisches Anfärbereagenz, einer Mischung aus gleichen Teilen 2 N Schwefelsäure und 0.2 %iger ethanolischer Resorcinmonomethyletherlösung. In diese wurde die DC-Platte getaucht und mittels eines Heißluftstroms entwickelt.

Zur Flashchromatographie wurde Kieselgel 60 der Firma Merck mit einer Korngröße von 0.040-0.063 mm (230-400 mesh) verwendet. Der Stickstoffdruck betrug 1.5 - 1.9 bar. Die angegebenen Mischungsverhältnisse für Dünnschichtchromatographie und Flashchromatographie sind Volumenanteile.

Für die Festphasen-RP-Extraktionen kamen SepPak C18 Classic Kartuschen der Firma Waters zum Einsatz. Das Lösungsmittel wurde mit Spritzen oder mittels Stickstoffdruck langsam durch die Kartuschen gedrückt.

Festphasenextraktionen auf aktiviertem Kohlenstoff wurden mittels Carbograph Extract-CleanTM Columns (Kartuschengröße: 150 mg, 4 mL) von der Firma Alltech durchgeführt. Die Kartuschen wurden mit 80 % Acetonitril in Wasser (0.1 % TFA) aktiviert und mit 25 % Acetonitril in Wasser für ungeladene Verbindungen oder mit 25 % Acetonitril in Was-

ser (0.05 % TFA) für geladene Verbindungen eluiert. Das Lösungsmittel wurde mittels Druckluft langsam durch die Kartuschen gedrückt.

Zur Ionenaustauschchromatographie wurde DOWEX 50WX8-100 verwendet. Das Material wurde zuerst mit Wasser gewaschen und dann mit 1 M Salzsäure die H^+ -Form erzeugt. Die zu reinigende Substanz wurde in Wasser gelöst, auf die Säule aufgetragen und mit Wasser eluiert.

HPLC-Chromatographien wurden an einer Amershan Pharmacia Äkta Basic-Anlage mit einer Pharmacia Biotech P-900 Gradientenpumpe und einem Pharmacia Biotech UV-900 Detektor durchgeführt. Detektiert wurde bei 214, 254 und 280 nm. Als Trennsäule kam eine Agilent C8 XBD Säule (Säulengröße: 4.65×15 mm) zum Einsatz. Als Lösungsmittel dienten Wasser und Acetonitril mit je 0.1 % Ameisensäure.

Größenausschlusschromatographien wurden an einer Pharmacia LKB Gradientenpumpe 2249 mit einem Pharmacia LKB Detektor VWM 2141 (Detektion bei 214 und 280 nm) oder an einem Pharmacia Äkta Purifier 100 mit einer Pharmacia Biotech P-900 Gradientenpumpe und einem Pharmacia Biotech UV-900 Detektor (Detektion bei 214, 254 und 280 nm) durchgeführt. Folgende Säulen wurden verwendet: Sephadex LH 20 (Säulengröße: 25×1000 mm) und Methanol als Eluent; Bio-Rad Bio-Gel[®] P-4 Gel Fine (Säulengröße: 25×750 mm) mit Eluent Wasser; Hi Load Superdex 30 (Säulengröße: 16×600 mm) mit 0.1 M NH_4HCO_3 als Laufmittel.

Die spezifischen Drehwerte wurden bei Zimmertemperatur an einem Perkin-Elmer Polarimeter 241 bestimmt. Die Messungen wurden in 1 mL oder 5 mL Küvetten der Länge 10 cm bei einer Wellenlänge von 589 nm durchgeführt.

IR-Spektren wurden an einem Perkin-Elmer FT-IR Spektrometer Paragon 1000 aufgenommen. Feststoffe wurden als KBr-Pressling gemessen.

ESI-Massenspektren wurden an einem Micromass LCT-Spektrometer aufgenommen, das an eine Agilent HP 1100 HPLC-Anlage mit Diodenarray-Detektor gekoppelt war. Für die LC-MS-Analysen wurden folgende Säulen verwendet: C8: YMC Pro-C8, 120 Å, S-03 µm (Säulengröße: 2.1×50 mm); C4: YMC Pro-C4, 120 Å, S-03 µm (Säulengröße: 2.1×50 mm). Als Eluent A diente Wasser und als Eluent B Acetonitril mit je 0.1 % Ameisensäure. Die Zeitdauer des Gradienten betrug für eine Endkonzentration von 95 % B 25 min und für alle anderen Endkonzentrationen von B 20 min. Die Flussrate lag für beide Säulen bei 0.2 mL/min. Proben für Direkteinlässe wurden in den jeweiligen Volumenverhältnissen aus Wasser und Acetonitril mit je 0.1 % Ameisensäure oder Methanol gelöst und über eine Spritzenpumpe ins Spektrometer eingebracht.

Die MALDI-TOF-Massenspektren wurden an einem Gerät der Firma Applied Biosystems (Foster City) gemessen. Als Matrix dienten 2,5-Dihydroxybenzoesäure und 2',4',6'-Trihydroxyacetophenon. Es wurde im *linear mode* gearbeitet.

Die NMR-Spektren wurden an einem Jeol JNM-EX-270-FT-Spektrometer, einem Bruker Avance 360 und einem Bruker DRX 500-Spektrometer, soweit nicht anders vermerkt, bei Zimmertemperatur gemessen. Die chemischen Verschiebungen wurden relativ zum Lösungsmittelsignal von [D₆]-DMSO ($\delta(^1\text{H}) = 2.49 \text{ ppm}$, $\delta(^{13}\text{C}) = 39.5 \text{ ppm}$) bestimmt und beziehen sich auf Tetramethylsilan ($\delta = 0 \text{ ppm}$). Die Zuordnung der Signale erfolgte mit Hilfe von Spektrensätzen^[122] bestehend aus ¹H, ¹³C (JMOD), HH-COSY, HH-TOCSY, NOESY, HMQC-COSY^[123] und HMQC-TOCSY-Experimenten. Die Verknüpfungen der einzelnen Zuckerringe miteinander wurden mittels NOESY und HMBC-Experimenten^[124] ermittelt. Die Konfiguration der anomeren Zentren wurde durch C,H-Kopplungskonstanten^[125] aus gekoppelten HSQC-Spektren^[78] bestimmt. Die chemischen Verschiebungen der Protonen und Kohlenstoffe in den Donor-Bausteinen wurden je nach Verzweigung analog zur 2,4,6-verzweigten Verbindung angegeben:

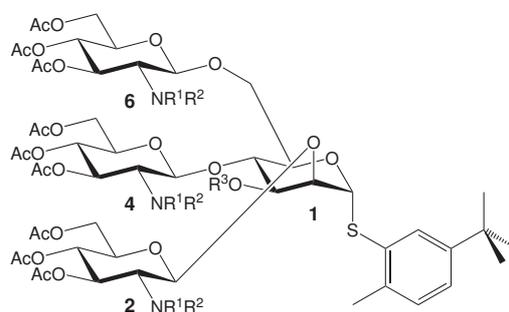


Abbildung 95. NMR-Zuordnung von Donoren

Die Zuordnung der NMR-Signale in den *N*-Glycanen zeigt Abbildung 96. In unnatürlich verzweigten *N*-Glycanen (Verbindungen **32**, **41**, **76** und **81**) wurden die Zucker des α -1,2- oder α -1,4-Arms mit Sternchen (*) gekennzeichnet.

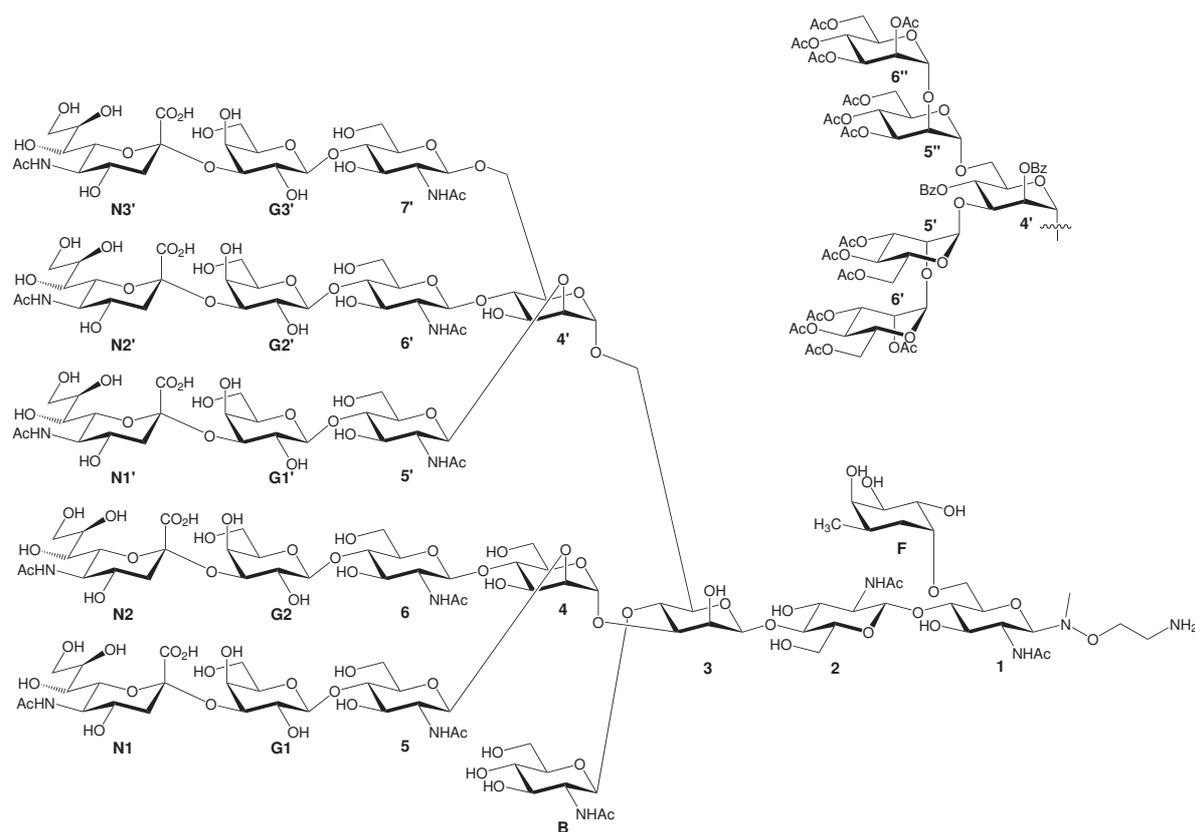


Abbildung 96. NMR-Zuordnung für komplexe N-Glycane und N-Glycane des Hybridtyps

9.2 Versuche zu Kapitel 3.1.1

Benzyl O-3-O-allyl- α -D-mannopyranosid 6

(AllMan-OBzl)

200 mg (0.74 mmol) Benzylmannosid **5** werden in 4 mL Methanol gelöst. Es werden 184 mg (0.74 mmol, 1.0 eq) Dibutylzinnnoxid zugegeben und die erhaltene Suspension wird 4 h unter Rückfluss gerührt. Die entstandene klare Lösung wird im Vakuum eingengt, der Rückstand mit 169 mg (1.33 mmol, 1.8 eq) Cäsiumfluorid versetzt und im Hochvakuum getrocknet. Das Feststoffgemisch wird unter Argonatmosphäre bei 0 °C in 1 mL absolutem *N,N*-Dimethylformamid suspendiert. Nach Zugabe von 0.33 mL (3.75 mmol, 5.1 eq) Allylbromid wird bei Zimmertemperatur 22 h (DC: Hexan/Aceton, 1.2:1) gerührt. Die Reaktion wird durch Zugabe von 2.4 mL Ethylacetat und 40 μ L Wasser beendet und weitere 30 min gerührt. Anschließend wird über Celite filtriert, die Lösung im Vakuum eingengt und der Rückstand im Hochvaku-

um getrocknet. Das erhaltene Rohprodukt wird mittels Flashchromatographie (Hexan/Aceton, 1.5:1; Säulendurchmesser: 25 mm; Füllhöhe: 11 cm) gereinigt.

Ausbeute: 158 mg (0.51 mmol, 68.8 %),

$R_f = 0.21$ (Hexan/Aceton, 1.2:1),

$C_{16}H_{22}O_6$ (310.3),

ESI-MS (100 % Acetonitril): $M_{ber} = 310.1$ $M_{gef} = 333.5 (M+Na)^+$, $349.4 (M+K)^+$.

Benzyl O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-D-glucopyranosyl)-(1→2)-[O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-D-glucopyranosyl)-(1→4)]-[O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-D-glucopyranosyl)-(1→6)]-O-3-O-allyl-α-D-mannopyranosid **8**

(β-Ac₃GlcNPht-1,2-[β-Ac₃GlcNPht-1,4]-[β-Ac₃GlcNPht-1,6]-α-AllMan-OBzl)

118 mg (0.38 mmol) Triol **6** und 1.0 g (2.29 mmol, 6.0 eq) Fluorid **7** werden unter Argonatmosphäre mit 1.2 g gemörsertem, frisch ausgeglühtem Molekularsieb 4 Å in 2.37 mL absolutem Dichlormethan suspendiert. Das Reaktionsgemisch wird jeweils 30 min bei Zimmertemperatur und bei -10 °C gerührt. Die Reaktion wird durch Zugabe von 48 µL (0.38 mmol, 1.0 eq) Bortrifluorid-Diethyletherat innerhalb von 5 min gestartet und 4.5 h bei -10 °C gerührt. Nach Reaktionsende (DC: Hexan/Aceton, 1.2:1) wird mit Dichlormethan verdünnt und über Celite filtriert. Die Reaktionslösung wird mit 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingeengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Es werden 1.1 g Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Hexan/Aceton, 1.5:1; Säulendurchmesser: 20 mm; Füllhöhe: 10 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 529 mg (0.34 mmol, 88.8 %),

$R_f = 0.32$ (Hexan/Aceton, 1.2:1),

$C_{76}H_{79}N_3O_{33}$ (1562.4),

ESI-MS (100 % Acetonitril): $M_{ber} = 1561.5$ $M_{gef} = 1584.4 (M+Na)^+$, $1600.3 (M+K)^+$.

Benzyl O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-D-glucopyranosyl)-(1→2)-[O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-D-glucopyranosyl)-(1→4)]-[O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-D-glucopyranosyl)-(1→6)]-O-α-D-mannopyranosid **9**

(β-Ac₃GlcNPht-1,2-[β-Ac₃GlcNPht-1,4]-[β-Ac₃GlcNPht-1,6]-α-Man-OBzl)

100 mg (64 μmol) allyliertes Tetrasaccharid **8** werden unter Argonatmosphäre in 1.5 mL absolutem Methanol gelöst. Zu dieser Lösung werden 55.3 mg (0.31 mmol, 4.8 eq) wasserfreies Palladium(II)-chlorid gegeben und die erhaltene Suspension wird 60 min gerührt (DC: Cyclohexan/Ethylacetat, 1:2). Die Suspension wird über Celite filtriert, im Vakuum eingengt und der Rückstand in Dichlormethan aufgenommen. Die organische Phase wird je einmal mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung und 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet und durch Flashchromatographie (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1; Säulendurchmesser: 10 mm; Füllhöhe: 11 cm) gereinigt.

Ausbeute: 75 mg (49.3 μmol, 77.0 %),

$R_f = 0.27$ (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:2),

C₇₃H₇₅N₃O₃₃ (1522.4),

ESI-MS (100 % Acetonitril): $M_{\text{ber}} = 1521.2$ $M_{\text{gef}} = 1544.5$ (M+Na)⁺, 1560.5 (M+K)⁺.

O-(3,4,6-Tri-O-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-D-glucopyranosyl)-(1→2)-[O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-D-glucopyranosyl)-(1→4)]-[O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-D-glucopyranosyl)-(1→6)]-O-D-mannopyranose **10**

(β-Ac₃GlcNPht-1,2-[β-Ac₃GlcNPht-1,4]-[β-Ac₃GlcNPht-1,6]-Man)

a) durch katalytische Hydrierung

1.4 g Palladium(II)-oxid-Hydrat werden in 3.0 mL absolutem Methanol und 0.3 mL Essigsäure suspendiert und unter Wasserstoffatmosphäre gerührt. Nach 60 min wird eine Lösung von 2 g (1.31 mmol) Benzylglycosid **9** in 19.0 mL absolutem Methanol und 1.9 mL Essigsäure zur Katalysatorsuspension gegeben. Die Reaktion wird 4 d unter Wasserstoffatmosphäre

gerührt. Nach vollständiger Umsetzung (DC: Cyclohexan/Ethylacetat, 1:2) wird der Katalysator abzentrifugiert und dreimal mit absolutem Methanol gewaschen. Die organischen Phasen werden vereint, im Vakuum eingengt und im Hochvakuum getrocknet. Es werden 2.1 g Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1 → 1:2; Säulendurchmesser: 35 mm; Füllhöhe: 11 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 1.5 g (1.05 mmol, 79.8 %),

$R_f = 0.15$ (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:2),

$C_{66}H_{69}N_3O_{33}$ (1432.3),

ESI-MS (100 % Acetonitril): $M_{ber} = 1431.4$ $M_{gef} = 1454.4$ (M+Na)⁺, 1470.3 (M+K)⁺.

b) durch Umsetzung mit Eisen(III)-chlorid

60.0 mg (39.4 μ mol) Benzylglycosid **9** werden unter Argonatmosphäre in 4.1 mL absolutem Dichlormethan gelöst. Es werden 127.9 mg (0.79 mmol, 20.0 eq) wasserfreies Eisen(III)-chlorid zugegeben und die Reaktion wird 2 h bei Zimmertemperatur gerührt. Nach vollständiger Umsetzung (DC: Cyclohexan/Ethylacetat, 1:2; nach Hydrolyse der DC-Probe) wird mit Dichlormethan verdünnt und je einmal mit Wasser und 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum eingengt und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Es werden 55 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1.5 → 1:2; Säulendurchmesser: 10 mm; Füllhöhe: 10 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 25 mg (17.5 μ mol, 44.8 %).

O-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1→2)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1→4)]-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1→6)]-*O*- α -*D*-mannopyranosyl-trichloracetimidat **11**

(β -Ac₃GlcNPht-1,2-[β -Ac₃GlcNPht-1,4]-[β -Ac₃GlcNPht-1,6]- α -Man-TCAI)

726 mg (0.51 mmol) Halbacetal **10** werden unter Argonatmosphäre in 7.3 mL absolutem Dichlormethan gelöst. Zu dieser Lösung werden 0.51 mL (5.07 mmol, 10.0 eq) Trichloracetoni-

tril und 140 mg (1.01 mmol) frisch ausgeglühtes und gemörsertes Kaliumcarbonat gegeben. Die erhaltene Suspension wird 8 h bei Zimmertemperatur intensiv gerührt. Nach Reaktionsende (DC: Hexan/Aceton, 1:1) wird mit Dichlormethan verdünnt und über Celite filtriert. Die Lösung wird im Vakuum eingeengt und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Es werden 880 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Aceton, 2:1; Säulendurchmesser: 25 mm; Füllhöhe 13 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 654 mg (0.42 mmol, 81.8 %),

$R_f = 0.57$ (Hexan/Aceton, 1:1),

$C_{68}H_{69}Cl_3N_4O_{33}$ (1576.6),

ESI-MS (100 % Acetonitril): $M_{ber} = 1574.3$ $M_{gef} = 1597.4$ (M+Na)⁺.

5-tert. Butyl-2-methyl-phenyl O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-D-glucopyranosyl)-(1→2)-[O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-D-glucopyranosyl)-(1→4)]-[O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-D-glucopyranosyl)-(1→6)]-1-thio-α-D-mannopyranosid 12

(β-Ac₃GlcNPht-1,2-[β-Ac₃GlcNPht-1,4]-[β-Ac₃GlcNPht-1,6]-α-Man-SPh(*t*Bu,Me))

436 mg (0.28 mol) Trichloracetimidat **11** werden unter Argonatmosphäre mit 436 mg gemörsertem, frisch ausgeglühtem Molekularsieb 4 Å in 6.8 mL absolutem Dichlormethan suspendiert. Es werden 1.25 mL (6.93 mmol, 24.8 eq) *5-tert. Butyl-2-methyl-thiophenol* zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird jeweils 30 min bei Zimmertemperatur und bei -10 °C gerührt. Die Reaktion wird durch Zugabe von 18 µL (0.14 mmol, 0.5 eq) Bortrifluorid-Diethyletherat gestartet und 4 h bei -10 °C gerührt. Nach vollständiger Umsetzung (DC: Hexan/Aceton, 1:1) wird mit Dichlormethan verdünnt und über Celite filtriert. Die Reaktionslösung wird mit 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingeengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Es werden 1.72 g Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Aceton, 2:1; Säulendurchmesser: 30 mm; Füllhöhe: 13 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 378 mg (0.24 mmol, 85.6 %),

$R_f = 0.44$ (Hexan/Aceton, 1:1),

$[\alpha]_D^{22} = +7.4$ (0.5, Dichlormethan),

$C_{77}H_{83}N_3O_{32}S$ (1594.6),

ESI-MS (100 % Acetonitril): $M_{ber} = 1593.5$ $M_{gef} = 1616.3$ (M+Na)⁺, 1632.2 (M+K)⁺,

¹H-NMR (360 MHz, [D6]-DMSO): $\delta = 8.10$ -7.72 (m, 12H, NPht), 7.01 (d, $J_{3,4} = 7.8$ Hz, 1H, H-4 Ar), 6.96 (s, 1H, H-6 Ar), 6.82 (d, $J_{3,4} = 7.8$ Hz, 1H, H-3 Ar), 5.62-5.55 (m, 2H, H-3², H-3⁴), 5.54-5.43 (m, 3H, H-1², H-1⁴, H-3⁶), 5.07-4.88 (m, 3H, H-1⁶, H-4², H-4⁴), 4.83 (dd, $J_{2,3} = 9.9$ Hz, $J_{3,4} = 9.9$ Hz, 1H, H-4⁶), 4.73 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1¹), 4.32-3.76 (m, 13H, H-6a², H-6a⁴, H-6a⁶, H-2², H-6b², H-6b⁴, H-2⁴, H-2⁶, H-2¹, H-5², H-5⁴, OH-3³, H-6b⁶), 3.75-3.67 (m, 1H, H-3¹), 3.63-3.55 (m, 1H, H-6a¹), 3.51-3.28 (m, 4H, H-5¹, H-5⁶, H-6b¹, H-4¹), 2.12-1.70 (m, 30H, OAc, Me), 1.15 (s, 9H, *t*Bu),

¹³C-NMR (90 MHz, [D6]-DMSO): $\delta = 170.0$, 169.7, 169.3, 169.2, 167.2 (C=O), 148.9 (C-1 Ar), 135.3, 134.8 (C-4/5 NPht, C-4 Ar), 133.7 (C-2 Ar), 133.5 (C-5 Ar), 130.7, 130.5 (C-1/2 NPht), 123.3 (C-3 Ar), 123.6 (C-3/6 NPht, C-6 Ar), 99.0 (C-1²), 98.4 (C-1⁶), 95.1 (C-1⁴), 84.8 (C-1¹), 84.4 (C-2¹), 77.3 (C-5¹), 74.9 (C-4¹), 71.3 (C-5²), 71.3 (C-5⁴), 71.3 (C-5⁶), 70.5 (C-6¹), 70.0 (C-3²), 70.0 (C-3⁴), 70.0 (C-3⁶), 70.0 (C-3¹), 68.5 (C-4²), 68.2 (C-4⁴), 68.0 (C-4⁶), 61.7 (C-6²), 61.7 (C-6⁴), 61.7 (C-6⁶), 54.4 (C-2²), 54.0 (C-2⁴), 53.7 (C-2⁶), 34.0 (*t*Bu), 31.3 (CH₃ *t*Bu), 20.5, 20.4, 20.1 (OAc), 18.7 (Me).

5-tert. Butyl-2-methyl-phenyl O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-D-glucopyranosyl)-(1→2)-[O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-D-glucopyranosyl)-(1→4)]-[O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-D-glucopyranosyl)-(1→6)]-3-O-acetyl-1-thio-α-D-mannopyranosid 2

(β-Ac₃GlcNPht-1,2-[β-Ac₃GlcNPht-1,4]-[β-Ac₃GlcNPht-1,6]-α-AcMan-SPh(*t*Bu,Me))

100 mg (62.7 μmol) Thioglycosid **12** werden bei 0 °C in 12 mL Essigsäureanhydrid/Pyridin, 1:2 gelöst und mit 15.3 mg (125 μmol, 2.0 eq) 4-(*N,N*-Dimethylamino)-pyridin versetzt. Die Lösung wird 3 d bei Zimmertemperatur gerührt (DC: Hexan/Aceton, 1:1), im Vakuum eingengt und dreimal mit Toluol codestilliert. Der Rückstand wird in Dichlormethan aufge-

nommen, die organische Phase je einmal mit 1 M Salzsäure und 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Es werden 165 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Hexan/Aceton, 3:1; Säulendurchmesser: 10 mm; Füllhöhe: 10 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 59 mg (36.1 μmol , 57.5 %),

$R_f = 0.53$ (Hexan/Aceton, 1:1),

$\text{C}_{79}\text{H}_{85}\text{N}_3\text{O}_{33}\text{S}$ (1636.6),

ESI-MS (60 % Acetonitril): $M_{\text{ber}} = 1653.5$ $M_{\text{gef}} = 1658.5$ (M+Na)⁺, 1674.4 (M+K)⁺.

9.3 Versuche zu Kapitel 3.1.2

O-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-*O*-(3,6-di-*O*-acetyl- α -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)]-*O*-(3-*O*-acetyl- α -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 6))-*O*-(2-*O*-acetyl- β -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 4))-*O*-(3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4))-3-*O*-benzyl-2-desoxy-6-*O*-(*p*-methoxyphenyl)-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosylazid **3**

(β -Ac₃GlcNPht-1,2-[β -Ac₃GlcNPht-1,4]- α -Ac₂Man-1,3-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,4]-{ β -Ac₃GlcNPht-1,2-[β -Ac₃GlcNPht-1,4]-[β -Ac₃GlcNPht-1,6]- α -AcMan-1,6}- β -AcMan-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-1,4- β -BzIMpGlcNPht-N₃)

20.4 mg (7.7 μmol) Heptasaccharidakzeptor **1**, 41.4 mg (25.3 μmol , 3.3 eq) Thioglycosid **2**, 5.7 mg (25.3 μmol , 3.3 eq) *N*-Iodsuccinimid und 64 mg gemörsertes, frisch ausgeglühtes Molekularsieb 4 Å werden unter Argonatmosphäre in 0.6 mL absolutem Dichlormethan sus-

pendiert. Das Reaktionsgemisch wird jeweils 30 min bei Zimmertemperatur und bei -30 °C gerührt. Es werden 13 µL einer gesättigten Lösung von Trifluormethansulfonsäure in absolutem Dichlormethan zugetropft und bei -30 °C gerührt. Man lässt langsam auf Zimmertemperatur erwärmen. Nach 6.5 h (DC: Hexan/Aceton, 1:1) wird mit Dichlormethan verdünnt und über Celite filtriert. Die Reaktionslösung wird je einmal mit 10 %iger Natriumthiosulfat-Lösung und mit 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingeeengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Es werden 38 mg Rohprodukt erhalten, die mittels RP-HPLC getrennt werden (Basic; Agilent C8 XBD; Säulengröße: 15×4.65 mm; Eluent A: Wasser (0.1 % Ameisensäure); Eluent B: Acetonitril (0.1 % Ameisensäure); linearer Gradient 80 % B → 95 % in 6 CV; Fluss: 1 mL/min; Detektion: 214, 254 und 280 nm; Retentionszeit: 9.7 min).

Ausbeute: 2.4 mg (0.6 µmol, 7.6 %),

$R_f = 0.12$ (Hexan/Aceton, 1:1),

$[\alpha]_D^{24} = -10.0$ (0.1, Dichlormethan),

$C_{196}H_{200}F_3N_{11}O_{85}$ (4126.7),

ESI-MS (100 % Acetonitril): $M_{ber} = 4124.2$ $M_{gef} = 4118.8$ (M+Na-N₂)⁺,
4147.1 (M+Na)⁺,

¹H-NMR (360 MHz, [D₆]-DMSO): $\delta = 9.82$ (br, 1H, NH), 8.25-6.40 (m, 47H, NPht, Ar), 5.71-3.03 (m, 81H, H-1¹, H-2¹, H-3¹, H-4¹, H-5¹, H-6a/b¹, H-1², H-2², H-3², H-4², H-5², H-6a/b², H-1³, H-2³, H-3³, H-4³, H-5³, H-6a/b³, H-1⁴, H-2⁴, H-3⁴, H-4⁴, H-5⁴, H-6a/b⁴, H-1^{4'}, H-2^{4'}, H-3^{4'}, H-4^{4'}, H-5^{4'}, H-6a/b^{4'}, H-1⁵, H-2⁵, H-3⁵, H-4⁵, H-5⁵, H-6a/b⁵, H-1^{5'}, H-2^{5'}, H-3^{5'}, H-4^{5'}, H-5^{5'}, H-6a/b^{5'}, H-1⁶, H-2⁶, H-3⁶, H-4⁶, H-5⁶, H-6a/b⁶, H-1^{6'}, H-2^{6'}, H-3^{6'}, H-4^{6'}, H-5^{6'}, H-6a/b^{6'}, H-1⁷, H-2⁷, H-3⁷, H-4⁷, H-5⁷, H-6a/b⁷, H-1^B, H-2^B, H-3^B, H-4^B, H-5^B, H-6a/b^B, 3×CH₂O, OMe), 2.24-1.61 (m, 66H, OAc).

O-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -D-glucopyranosyl)-(1→2)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -D-glucopyranosyl)-(1→4)]-*O*-(3,6-di-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyl)-(1→3)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido- β -D-glucopyranosyl)-(1→4)]-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -D-glucopyranosyl)-(1→2)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -D-glucopyranosyl)-(1→4)]-*O*-(3,4,6-tri-*O*-ace-

*tyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-D-glucopyranosyl)-(1→6)]-O-α-D-mannopyranosyl-(1→6)}-O-(2-O-acetyl-β-D-mannopyranosyl)-(1→4)-O-(3,6-di-O-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-D-glucopyranosyl)-(1→4)-3-O-benzyl-2-desoxy-6-O-(p-methoxyphenyl)-2-phthalimido-β-D-glucopyranosylazid **4***

(β-Ac₃GlcNPht-1,2-[β-Ac₃GlcNPht-1,4]-α-Ac₂Man-1,3-[β-Ac₃GlcNTFAc-1,4]-{β-Ac₃GlcNPht-1,2-[β-Ac₃GlcNPht-1,4]-[β-Ac₃GlcNPht-1,6]-α-Man-1,6}-β-AcMan-1,4-β-Bzl₂GlcNPht-1,4-β-BzlMpGlcNPht-N₃)

20.4 mg (7.7 μmol) Heptasaccharidakzeptor **1**, 40.4 mg (25.3 μmol, 3.3 eq) Thioglycosid **12**, 5.7 mg (25.3 μmol, 3.3 eq) *N*-Iodsuccinimid und 64 mg gemörsertes, frisch ausgeglühtes Molekularsieb 4 Å werden unter Argonatmosphäre in 0.6 mL absolutem Dichlormethan suspendiert. Das Reaktionsgemisch wird jeweils 20 min bei Zimmertemperatur und bei -30 °C gerührt. Die Reaktion wird durch Zugabe von 13 μL einer gesättigten Lösung von Trifluormethansulfonsäure in absolutem Dichlormethan gestartet und die Suspension 5.5 h bei -30 °C gerührt. Nach Reaktionsende (DC: Hexan/Aceton, 1:1) wird mit Dichlormethan verdünnt und über Celite filtriert. Das Filtrat wird je einmal mit 10 %iger Natriumthiosulfat-Lösung und mit 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Es werden 62 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Hexan/Aceton, 1.5:1 → 1:2; Säulendurchmesser: 10 mm; Füllhöhe: 10 cm) gereinigt werden. Hierbei werden 22.2 mg Undecasaccharid **4** und Oktasaccharid **14** erhalten, die durch RP-HPLC getrennt werden (Basic; Agilent C8 XBD; Säulengröße: 15×4.65 mm; Eluent A: Wasser (0.1 % Ameisensäure); Eluent B: Acetonitril (0.1 % Ameisensäure); linearer Gradient 80 % B → 95 % in 6 CV; Fluss: 1 mL/min; Detektion: 214, 254 und 280 nm; Retentionszeit: 9.1 min).

Ausbeute: 9.9 mg (2.4 μmol, 31.4 %),

$R_f = 0.15$ (Hexan/Aceton, 1:1),

$[\alpha]_D^{26} = +18.0$ (0.9, Dichlormethan),

C₁₉₄H₁₉₈F₃N₁₁O₈₄ (4084.7),

ESI-MS (100 % Acetonitril): $M_{\text{ber}} = 4082.2$ $M_{\text{gef}} = 2050.2 (M+2\text{Na}-N_2)^{2+}$,
 $4077.1 (M+\text{Na}-N_2)^+$

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, [D6]-DMSO): δ = 9.83 (d, $J_{\text{NH},2}$ = 8.5 Hz, 1H, NH), 8.01-7.60 (m, 28H, NPhT), 7.50-6.49 (m, 19H, Ar), 5.66-5.55 (m, 3H, H-3^{5'}, H-3^{6'}, H-3⁶), 5.44-5.22 (m, 7H, H-1⁵, H-3^B, H-1⁶, H-1^{5'}, H-3⁵, H-1¹, H-2³), 5.18-4.94 (m, 11H, H-3^{7'}, H-1^{7'}, H-1^{6'}, H-4^B, CH₂O, H-4^{5'}, H-1², H-4^{6'}, H-4⁵, CH₂O, H-4⁶), 4.87-4.80 (m, 2H, H-3⁴, CH₂O), 4.70-4.58 (m, 3H, H-4^{7'}, H-1⁴, H-1³), 4.51-4.43 (m, 2H, CH₂O, H-6a⁵), 4.35-4.20 (m, 5H, H-6a^{7'}, CH₂O, H-2^B, H-6a^{5'}, H-6a⁶), 4.17-3.42 (m, 48H, H-6a⁴, H-1^B, H-3¹, H-2^{5'}, H-2⁵, H-6a^B, H-5^{6'}, H-5⁶, H-5⁵, H-5^{5'}, CH₂O, H-2⁶, H-2^{6'}, H-1^{4'}, H-6b⁵, H-4¹, H-5⁴, H-6b^{5'}, H-2^{7'}, H-6b⁶, H-2⁴, H-2², H-6b^{7'}, H-6a³, H-6a^{6'}, H-6a¹, H-5^B, H-4⁴, H-5^{7'}, H-2¹, H-6a², H-6b¹, H-6b^B, H-4², H-3², PhOCH₃, H-6b⁴, H-5¹, H-5³, H-6b^{6'}, H-2^{4'}, H-5², H-6b², H-4^{4'}, H-4³, H-6b³), 3.40-3.30 (m, 2H, H-5^{4'}, H-3^{4'}), 3.18-3.09 (m, 2H, H-6a^{4'}, H-3³), 2.94-2.78 (m, 1H, H-6b^{4'}), 2.12-1.65 (m, 63H, OAc),

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, [D6]-DMSO): δ = 171.2, 170.8, 170.7, 170.6, 170.5, 170.4, 170.3, 170.1, 170.0, 169.9, 169.8 (C=O OAc), 167.9, 166.9, 168.9 (C=O NPhT), 156.7 (q, $^2J_{\text{C},\text{F}}$ = 37.3 Hz, C=O TFAc), 153.6, 151.7 (C-4 Omp, C-1 Omp), 139.6, 139.1, 137.8 (C-1 Ar), 136.0, 135.9, 135.8, 135.6, 135.4, 135.2 (C-4/5 NPhT), 131.5, 131.4, 131.3, 131.1 (C-1/2 NPhT), 130.4, 128.9, 128.5, 127.8 (Ar), 124.3, 124.1, 123.9 (C-3/6 NPhT), 116.2, 115.2 (C-2 Omp, C-3 Omp, C-5 Omp, C-6 Omp), 114.9 (q, $^1J_{\text{C},\text{F}}$ = 288.2 Hz, CF₃), 100.1 (C-1^B), 99.1 (C-1³), 97.5 (C-1²), 97.3 (C-1⁴), 96.6 (C-1^{4'}), 96.1 (C-1^{7'}), 96.1 (C-1^{6'}), 95.7 (C-1⁵), 95.1 (C-1^{5'}), 95.1 (C-1⁶), 84.4 (C-1¹), 78.8 (C-2^{4'}), 75.9 (C-3¹), 75.3 (C-4¹), 74.9 (C-4³), 74.6 (C-5¹), 74.5 (C-3^{4'}), 74.1 (CH₂O), 74.1 (CH₂O), 74.0 (C-4^{4'}), 73.5 (C-2⁴), 72.7 (CH₂O), 71.9 (C-3³), 71.5 (C-3⁵), 71.3 (C-4⁴), 71.3 (C-3²), 70.4 (C-5^B), 70.3 (C-5^{6'}), 70.3 (C-5⁶), 70.3 (C-5^{5'}), 70.3 (C-5⁵), 70.3 (C-5³), 70.3 (C-5²), 70.1 (C-3^B), 69.8 (C-2³), 69.7 (C-3^{5'}), 69.7 (C-3^{6'}), 69.7 (C-3⁶), 69.4 (C-3^{7'}), 69.0 (C-4⁵), 68.0 (C-4²), 67.9 (C-5⁴), 67.9 (C-5^{7'}), 67.8 (C-4^B), 67.8 (C-4^{6'}), 67.8 (C-4⁶), 67.8 (C-3⁴), 67.7 (C-4^{7'}), 67.5 (C-4⁵), 67.1 (C-5⁴), 66.4 (C-6^{4'}), 66.1 (C-6¹), 62.3 (C-6^B), 62.0 (C-6³), 61.6 (C-6⁵), 61.6 (C-6²), 61.5 (C-6⁶), 61.5 (C-6^{5'}), 61.5 (C-6^{7'}), 61.5 (C-6^{6'}), 61.3 (C-6⁴), 55.7 (C-2^{7'}), 55.0 (PhOCH₃), 54.5 (C-2⁶), 54.5 (C-2^{6'}), 54.1 (C-2^{5'}), 54.1 (C-2⁵), 54.0 (C-2^B), 54.0 (C-2¹), 53.7 (C-2²), 21.3, 21.2, 21.1, 21.0, 20.9, 20.8, 20.7 (OAc).

9.4 Versuche zu Kapitel 3.1.3

5-tert. Butyl-2-methyl-phenyl O-(2-amino-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-(1→2)-[O-(2-amino-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-(1→4)]-[O-(2-amino-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-(1→6)]-1-thio-α-D-mannopyranosid 15

(β-GlcNH₂-1,2-[β-GlcNH₂-1,4]-[β-GlcNH₂-1,6]-α-Man-SPh(*t*Bu,Me))

100 g (62.8 μmol) Thioglycosid **12** werden in 2.1 mL *n*-Butanol gelöst und mit 460 μL (6.89 mmol, 109.7 eq) Ethylendiamin versetzt. Die Lösung wird 23 h bei 80 °C gerührt. Nach vollständigem Reaktionsumsatz (DC: *iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 2:1) wird die Lösung im Vakuum eingeeengt, der Rückstand dreimal mit Toluol codestilliert und im Hochvakuum getrocknet. Es werden 186 mg Rohprodukt erhalten, die in Portionen von jeweils 93 mg durch Festphasen-RP-Extraktion gereinigt werden (Waters SepPak C18 Classic; Kartuschengröße: 2 × 330 mg; Elution (jeweils 10 mL) mit 0, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 70 und 100 % Acetonitril; Elution von **15** bei 20 und 30 % Acetonitril).

Ausbeute: 35.4 mg (42.9 μmol, 68.3 %),

$R_f = 0.61$ (*iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 2:1),

$[\alpha]_D^{22} = -63.4$ (1.3, Wasser),

C₃₅H₅₉N₃O₁₇S (825.9),

ESI-MS (100 % Wasser): $M_{\text{ber}} = 825.4$ $M_{\text{gef}} = 826.5$ (M+H)⁺, 848.4 (M+Na)⁺,

¹H-NMR (360 MHz, D₂O mit [D₆]-DMSO als interner Standard): δ = 7.36 (s, 1H, H-6 Ar), 7.14 (d, $J_{3,4} = 7.8$ Hz, 1H, H-4 Ar), 7.03 (d, $J_{3,4} = 7.8$ Hz, 1H, H-3 Ar), 4.98 (d, $J < 1$ Hz, 1H, H-1¹), 4.45 (d, $J_{1,2} = 8.2$ Hz, 1H, H-1²), 4.30-4.16 (m, 2H, H-2¹, H-1⁴), 4.25-4.04 (m, 2H, H-1⁶, H-6a¹), 3.77-3.40 (m, 10H, H-6a², H-6a⁴, H-4¹, H-6a⁶, H-3¹, H-6b¹, H-6b², H-5¹, H-6b⁴, H-6b⁶), 3.32-3.03 (m, 9H, H-3², H-4², H-5², H-3⁴, H-4⁴, H-5⁴, H-3⁶, H-4⁶, H-5⁶), 2.60 (dd, $J_{1,2} = 8.2$ Hz, $J_{2,3} = 8.6$ Hz, 1H, H-2²), 2.47 (dd, $J_{1,2} = 8.6$ Hz, $J_{2,3} = 8.6$ Hz, 1H, H-2⁴), 2.34 (dd, $J_{1,2} = 8.1$ Hz, $J_{2,3} = 8.4$ Hz, 1H, H-2⁶) 2.14 (s, 3H, Me), 1.08 (s, 9H, *t*Bu),

^{13}C -NMR (90 MHz, D_2O mit $[\text{D}_6]$ -DMSO als internen Standard): $\delta = 150.2$ (C-1 Ar), 135.5 (C-2 Ar), 131.8 (C-5 Ar), 129.9 (C-6 Ar), 126.3 (C-3 Ar), 124.5 (C-4 Ar), 103.5 (C-1²), 102.7 (C-1⁶), 101.6 (C-1⁴), 85.2 (C-1¹), 80.3 (C-2¹), 78.1 (C-5¹), 76.4 (C-3²), 76.4 (C-3⁴), 76.0 (C-4²), 75.3 (C-4⁴), 75.0 (C-3⁶), 74.9 (C-4⁶), 74.9 (C-4¹), 70.9 (C-3¹), 69.4 (C-5⁶), 69.2 (C-5²), 69.2 (C-5⁴), 68.0 (C-6¹), 60.3 (C-6²), 60.3 (C-6⁴), 60.3 (C-6⁶), 57.7 (C-2²), 57.7 (C-2⁴), 57.7 (C-2⁶), 33.5 (qC *t*Bu), 30.1 (*t*Bu), 19.0 (Me).

5-tert.Butyl-2-methyl-phenyl *O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)]-1-thio- α -*D*-mannopyranosid **16**

(β -Ac₃GlcNTFAc-1,2-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,4]-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,6]- α -Man-SPh(*t*Bu,Me))

80 mg (96.7 μmol) Triamin **15** werden in 8 mL absolutem Tetrahydrofuran unter Argonatmosphäre suspendiert und mit 0.13 mL (0.77 mmol, 8.0 eq) Trifluoressigsäurepentafluorphenylester und 0.11 mL (0.77 mmol, 8.0 eq) Triethylamin versetzt. Die erhaltene Lösung wird 24 h bei Zimmertemperatur gerührt (DC: *iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 2:1). Im Anschluss werden 1.6 mL Essigsäureanhydrid/Pyridin, 5:1 zugegeben. Die Reaktion wird nach 24 h (DC: Hexan/Aceton, 1:1) mit 1.1 mL absolutem Methanol abgebrochen, die Lösung im Vakuum eingengt und der Rückstand mit Toluol codestilliert. Der Rückstand wird in Dichlormethan aufgenommen, je einmal mit 1 M Salzsäure und 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet, im Vakuum eingengt und im Hochvakuum getrocknet. Es werden 175 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Aceton, 2:1; Säulendurchmesser: 25 mm; Füllhöhe: 12 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 90 mg (60.3 μmol , 62.5 %),

R_f (Amid) = 0.94 (*iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 2:1),

R_f (Produkt **16**) = 0.49 (Hexan/Aceton, 1:1),

$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -23.2$ (1.0, Dichlormethan),

$\text{C}_{35}\text{H}_{59}\text{N}_3\text{O}_{17}\text{S}$ (1492.3),

ESI-MS:

Amid (50 % Acetonitril): $M_{\text{ber}} = 1491.4$ $M_{\text{gef}} = 1514.4 (M+\text{Na})^+$,

Produkt **16** (50 % Acetonitril): $M_{\text{ber}} = 1491.4$ $M_{\text{gef}} = 1514.4 (M+\text{Na})^+$,

$^1\text{H-NMR}$ (360 MHz, [D6]-DMSO): $\delta = 9.76\text{-}9.60$ (m, 2H, NH), 9.54 (d, $J_{\text{NH},2} = 8.5$ Hz, 1H, NH), 7.33 (s, 1H, H-6 Ar), 7.16 (d, $J_{3,4} = 7.7$ Hz, 1H, H-4 Ar), 7.07 (d, $J_{3,4} = 7.7$ Hz, 1H, H-3 Ar), 5.30 (dd, $J_{2,3} = 9.9$ Hz, $J_{3,4} = 9.6$ Hz, 1H, H-3²), 5.24-5.04 (m, 3H, H-3⁴, H-3⁶, H-1²), 4.99-4.75 (m, 5H, H-1¹, H-4², H-4⁴, H-1⁴, H-4⁶), 4.70 (d, $J_{1,2} = 9.0$ Hz, 1H, H-1⁶), 4.27-3.45 (m, 19H, H-6a², H-6a⁴, H-2¹, H-6a⁶, OH-3¹, H-6b⁶, H-6b⁴, H-6b², H-2², H-6a¹, H-2⁴, H-5⁴, H-2⁶, H-5², H-3¹, H-5⁶, H-6b¹, H-4¹, H-5¹), 2.19 (s, 3H, Me), 2.04-1.86 (m, 27H, OAc), 1.24 (s, 9H, *t*Bu),

$^{13}\text{C-NMR}$ (90 MHz, [D6]-DMSO): $\delta = 170.0, 169.9, 169.9, 169.6, 169.5, 169.3, 169.2$ (C=O OAc), 156.5 (q, $^2J_{\text{C,F}} = 36.5$ Hz, C=O TFAc), 156.2 (q, $^2J_{\text{C,F}} = 36.5$ Hz, C=O TFAc), 149.0 (C-1 Ar), 134.7 (C-2 Ar), 134.2 (C-5 Ar), 129.4 (C-6 Ar), 126.4 (C-3 Ar), 123.8 (C-4 Ar), 115.7 (q, $^1J_{\text{C,F}} = 288.7$ Hz, CF₃), 100.5 (C-1² β , $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 167.6$ Hz), 99.6 (C-1⁶ β , $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 164.7$ Hz), 98.3 (C-1⁴ β , $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 164.4$ Hz), 85.7 (C-1¹ α , $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 155.0$ Hz), 83.7 (C-2¹), 77.3 (C-5¹), 76.2 (C-4¹), 72.0 (C-3⁶), 71.9 (C-3⁴), 71.8 (C-3²), 71.1 (C-5²), 71.0 (C-5⁶), 70.8 (C-3¹), 70.8 (C-5⁴), 68.7 (C-6¹), 68.3 (C-4²), 68.2 (C-4⁴), 68.1 (C-4⁶), 61.6 (C-6²), 61.6 (C-6⁴), 61.6 (C-6⁶), 54.5 (C-2²), 54.3 (C-2⁴), 53.7 (C-2⁶), 34.1 (qC *t*Bu), 31.0 (*t*Bu), 20.1, 19.9 (OAc), 19.3 (Me).

*5-tert. Butyl-2-methyl-phenyl O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-[O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)]-3-O-acetyl-1-thio- α -D-mannopyranosid **17***

(β -Ac₃GlcNTFAc-1,2-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,4]-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,6]- α -AcMan-SPh(*t*Bu,Me))

157 mg (105 μmol) Thioglycosid **16** werden in 15.7 mL Essigsäureanhydrid/Pyridin, 5:1 gelöst und 3 d bei Zimmertemperatur gerührt (DC: Hexan/Aceton, 1:1). Nach Reaktionsende wird im Vakuum eingengt, der Rückstand dreimal mit Toluol codestilliert und in Dichlor-

methan aufgenommen. Die organische Phase wird je einmal mit 1 M Salzsäure und mit 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Es werden 189 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Aceton, 2:1; Säulendurchmesser: 25 mm; Füllhöhe: 14 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 135 mg (88 μmol , 83.9 %),

$R_f = 0.53$ (Hexan/Aceton, 1:1),

$[\alpha]_D^{20} = -23.3$ (0.5, Dichlormethan),

$\text{C}_{61}\text{H}_{76}\text{N}_3\text{O}_{30}\text{S}$ (1534.3),

ESI-MS (50 % Acetonitril): $M_{\text{ber}} = 1533.4$ $M_{\text{gef}} = 1556.5$ ($\text{M}+\text{Na}$)⁺, 1572.4 ($\text{M}+\text{K}$)⁺,

¹H-NMR (360 MHz, [D6]-DMSO): $\delta = 9.71$ (d, $J_{\text{NH},2} = 8.9$ Hz, 1H, NH), 9.54-9.34 (m, 2H, NH), 7.37 (s, 1H, H-6 Ar), 7.22 (d, $J_{3,4} = 7.9$ Hz, 1H, H-4 Ar), 7.09 (d, $J_{3,4} = 7.9$ Hz, 1H, H-3 Ar), 5.41 (dd, $J_{2,3} = 9.8$ Hz, $J_{3,4} = 9.7$ Hz, 1H, H-3⁴), 5.21-5.06 (m, 2H, H-3⁶, H-3²), 5.04 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1¹), 5.03-4.70 (m, 6H, H-3¹, H-1⁴, H-4², H-4⁴, H-4⁶, H-1²), 4.55 (d, $J_{1,2} = 8.8$ Hz, 1H, H-1⁶), 4.34-4.06 (m, 4H, H-2¹, H-6a⁶, H-6a², H-6a⁴), 3.98-3.63 (m, 11H, H-6b⁴, H-6b⁶, H-5², H-2⁴, H-2², H-5⁴, H-6b², H-6a¹, H-2⁶, H-4¹, H-5¹), 3.59-3.41 (m, 2H, H-5⁶, H-6b¹), 2.32-1.85 (m, 33H, OAc, Me), 1.25 (s, 9H, *t*Bu),

¹³C-NMR (90 MHz, [D6]-DMSO): $\delta = 170.1, 170.0, 169.9, 169.6, 169.5, 169.4, 169.3, 169.2, 169.1$ (C=O OAc), 156.6 (q, $^2J_{\text{C,F}} = 36.5$ Hz, C=O TFAc), 149.0 (C-1 Ar), 133.1 (C-2 Ar), 132.9 (C-5 Ar), 129.6 (C-6 Ar), 128.1 (C-3 Ar), 124.4 (C-4 Ar), 115.7 (q, $^1J_{\text{C,F}} = 288.7$ Hz, CF₃), 115.6 (q, $^1J_{\text{C,F}} = 289.3$ Hz, CF₃), 115.5 (q, $^1J_{\text{C,F}} = 289.3$ Hz, CF₃), 100.7 (C-1⁴), 100.5 (C-1⁶), 98.9 (C-1²), 84.9 (C-1¹), 77.0 (C-2¹), 76.2 (C-5¹), 73.1 (C-3¹), 72.8 (C-4¹), 72.1 (C-3⁶), 71.5 (C-3⁴), 71.4 (C-3²), 70.7 (C-5⁶), 70.7 (C-5²), 70.7 (C-5⁴), 69.2 (C-6¹), 68.0 (C-4⁴), 68.0 (C-4²), 67.8 (C-4⁶), 62.0 (C-6²), 61.8 (C-6⁶), 61.5 (C-6⁴), 54.2 (C-2⁴), 53.7 (C-2⁶), 53.0 (C-2²), 34.0 (qC *t*Bu), 30.9 (*t*Bu), 20.6, 20.4, 20.2, 20.1, 19.9 (OAc), 19.6 (Me).

9.5 Versuche zu Kapitel 3.1.4

O-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl- α -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-{*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)]-*O*-(α -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)}-*O*-(2-*O*-acetyl- β -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-3,6-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosylazid **19**

(β -Ac₃GlcNPht-1,2- α -Ac₃Man-1,3-{ β -Ac₃GlcNTFAc-1,2-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,4]-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,6]- α -Man-1,6}- β -AcMan-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-N₃)

10 mg (5.2 μ mol) Pentasaccharidakzeptor **18**, 20 mg (13.1 μ mol, 2.5 eq) Thioglycosid **16**, 2.9 mg (13.1 μ mol, 2.5 eq) *N*-Iodsuccinimid und 30 mg gemörsertes, frisch ausgeglühtes Molekularsieb 4 Å werden unter Argonatmosphäre in 0.3 mL absolutem Dichlormethan suspendiert. Das Reaktionsgemisch wird jeweils 20 min bei Zimmertemperatur und bei -30 °C gerührt. Es werden 10 μ L einer gesättigten Lösung von Trifluormethansulfonsäure in absolutem Dichlormethan zugetropft und das Reaktionsgemisch 4.5 h bei -30 °C gerührt. Nach vollständigem Reaktionsumsatz (DC: Hexan/Aceton, 1:1) wird mit Dichlormethan verdünnt und über Celite filtriert. Die Lösung wird je einmal mit 10 %iger Natriumthiosulfat-Lösung und 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Es werden 25 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Aceton, 2:1; Säulendurchmesser: 10 mm; Füllhöhe: 10 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 7.5 mg (2.3 μ mol, 44.7 %),

R_f = 0.28 (Hexan/Aceton, 1:1),

$[\alpha]_D^{21}$ = -18.9 (0.8, Dichlormethan),

C₁₄₄H₁₅₆F₉N₉O₆₄ (3207.8),

ESI-MS (50 % Acetonitril): $M_{\text{ber}} = 3205.9$ $M_{\text{gef}} = 3201.2$ (M+Na-N₂)⁺,

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, [D6]-DMSO): δ = 9.67 (d, $J_{\text{NH},2}$ = 8.9 Hz, 1H, NH), 9.47-9.24 (m, 2H, NH), 9.13 (d, $J_{\text{NH},2}$ = 9.6 Hz, 1H, NH), 8.00-7.61 (m, 12H, NPht), 7.36-6.64 (m, 20H, Ar), 5.66 (dd, $J_{2,3}$ = 9.7 Hz, $J_{3,4}$ = Hz, 1H, H-3⁵), 5.36 (d, $J_{1,2}$ = 8.8 Hz, 1H, H-1⁵), 5.32-5.07 (m, 6H, H-3⁷, H-1¹, H-3⁶, H-1², H-3⁵, H-2³), 5.06-4.60 (m, 13H, H-4⁵, H-4⁴, H-4⁶, H-1⁵, H-4⁵, H-1⁶, H-4⁷, H-1⁴, CH₂O, H-3⁴, CH₂O, H-1⁷, H-1³), 4.53-4.38 (m, 4H, CH₂O, CH₂O, H-6a⁶, H-1⁴), 4.37-4.20 (m, 8H, CH₂O, H-2⁴, H-6a⁷, H-6a⁵, CH₂O, CH₂O, H-6a⁵, CH₂O), 4.19-3.66 (m, 27H, H-2⁵, H-6b⁶, H-3¹, H-6b⁵, H-6b⁵, H-6b⁷, H-3⁴, H-2⁴, H-6a², H-6a¹, H-6a⁴, H-4¹, H-2⁶, H-5⁵, H-2², H-4³, H-3², H-2⁵, H-5⁶, H-4², H-5³, H-2¹, H-5⁵, H-5⁴, H-6a⁴, H-6b², H-6b⁴), 3.64-3.50 (m, 6H, H-2⁷, H-5⁷, H-6b¹, H-6a³, H-5¹, H-3³), 3.46-3.37 (m, 4H, H-6b³, H-5², H-5⁴, H-6b⁴), 3.28-3.20 (m, 1H, H-4⁴), 2.07-1.76 (m, 48H, OAc),

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, [D6]-DMSO): δ = 170.1, 169.8, 169.7, 169.6, 169.4, 169.2 (C=O OAc), 167.4, 167.3, 167.2, 167.1 (C=O NPht), 156.7, 156.6, 156.2 (C=O TFAc), 137.9 (C-1 Ar), 134.8 (C-4/5 NPht), 130.6, 130.5 (C-1/2 NPht), 128.3, 128.1, 127.9, 127.7, 127.5, 127.3, 127.2, 127.0 (Ar), 123.4 (C-3/6 NPht), 114.2, 114.1, 114.0 (CF₃), 100.6 (C-1⁴), 99.7 (C-1⁵), 99.2 (C-1⁷), 99.0 (C-1⁶), 97.9 (C-1⁴), 96.8 (C-1³), 96.6 (C-1²), 95.6 (C-1⁵), 84.5 (C-1¹), 77.3 (C-3²), 77.3 (C-4²), 76.9 (C-3¹), 76.2 (C-5⁴), 76.0 (C-2⁴), 75.3 (C-5¹), 75.3 (C-4¹), 75.3 (C-5²), 74.0 (C-4⁴), 73.5 (CH₂O), 73.1 (CH₂O), 72.1 (CH₂O), 72.0 (C-3⁵), 71.6 (C-3⁶), 71.5 (C-3⁷), 71.5 (C-2⁴), 71.5 (CH₂O), 71.0 (C-5⁵), 71.0 (C-5⁶), 70.7 (C-5⁵), 70.7 (C-5⁷), 70.3 (C-3³), 70.2 (C-2³), 69.5 (C-3⁵), 68.8 (C-3⁴), 68.7 (C-3⁴), 68.6 (C-6⁴), 68.3 (C-4⁵), 68.5 (C-4³), 67.9 (C-4⁶), 67.9 (C-4⁵), 67.9 (C-4⁷), 67.9 (C-5³), 67.9 (C-5⁴), 67.2 (C-6³), 64.3 (C-4⁴), 61.7 (C-6⁷), 61.5 (C-6⁴), 61.5 (C-6²), 61.0 (C-6⁶), 61.0 (C-6⁵), 61.0 (C-6⁵), 60.9 (C-6¹), 55.8 (C-2²), 54.4 (C-2¹), 54.0 (C-2⁷), 53.7 (C-2⁵), 53.7 (C-2⁶), 53.4 (C-2⁵), 20.5, 20.4, 20.2, 20.1 (OAc).

O-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-*O*-(3,6-di-*O*-acetyl- α -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)]-*O*- α -*D*-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 6)]-*O*-(2-*O*-acetyl- β -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-*O*-(3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthal-

imido-β-D-glucopyranosyl)-(1→4)-3-O-benzyl-2-desoxy-6-O-(p-methoxyphenyl)-2-phthalimido-β-D-glucopyranosylazid **20**

(β-Ac₃GlcNPht-1,2-[β-Ac₃GlcNPht-1,4]-α-Ac₂Man-1,3-[β-Ac₃GlcNTFAc-1,4]-{β-Ac₃GlcNTFAc-1,2-[β-Ac₃GlcNTFAc-1,4]-[β-Ac₃GlcNTFAc-1,6]-α-Man-1,6}-β-AcMan-1,4-β-Bzl₂GlcNPht-1,4-β-BzlMpGlcNPht-N₃)

20.4 mg (7.7 μmol) Heptasaccharidakzeptor **1**, 37.8 mg (25.3 μmol, 3.3 eq) Thioglycosid **16**, 5.7 mg (25.3 μmol, 3.3 eq) *N*-Iodsuccinimid und 64 mg gemörsertes, frisch ausgeglühtes Molekularsieb 4 Å werden unter Argonatmosphäre in 0.6 mL absolutem Dichlormethan suspendiert. Das Reaktionsgemisch wird jeweils 20 min bei Zimmertemperatur und bei -30 °C gerührt. Die Reaktion wird durch Zugabe einer gesättigten Lösung von Trifluormethansulfonsäure in absolutem Dichlormethan gestartet und 5 h bei -30 °C gerührt (DC: Hexan/ Aceton, 1:1). Im Anschluss wird mit Dichlormethan verdünnt und über Celite filtriert. Die Lösung wird je einmal mit 10 %iger Natriumthiosulfat-Lösung und 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Es werden 53 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Hexan/Aceton, 1.5:1 → 1:1; Säulendurchmesser: 10 mm; Füllhöhe: 10 cm) gereinigt werden. Hierbei werden 20.3 mg leicht verunreinigtes Undecasaccharid **20** erhalten, die mittels RP-HPLC gereinigt werden (Basic, Agilent C8 XBD; Säulengröße: 15×4.65 mm; Eluent A: Wasser (0.1 % Ameisensäure); Eluent B: Acetonitril (0.1 % Ameisensäure); linearer Gradient 80 % B → 90 % in 8 CV; Fluss: 1 mL/min; Detektion: 214, 254 und 280 nm; Retentionszeit: 7.3 min).

Ausbeute: 14.3 mg (3.6 μmol, 46.8 %),

$R_f = 0.21$ (Hexan/Aceton, 1:1),

$[\alpha]_D^{26} = -4.7$ (0.9, Dichlormethan),

C₁₇₆H₁₈₉F₁₂N₁₁O₈₁ (3982.4),

ESI-MS (100 % Acetonitril): $M_{\text{ber}} = 3980.1$ $M_{\text{gef}} = 3975.5 (M+\text{Na}-\text{N}_2)^+$,
 $4003.8 (M+\text{Na})^+$,

¹H-NMR (500 MHz, [D6]-DMSO): δ = 9.62 (br, 3H, NH), 9.06 (br, 1H, NH), 7.91-7.64 (m, 16H, NPhT), 7.46-6.01 (m, 19H, Ar), 5.64-5.52 (m, 2H, H-3⁶, H-3⁵), 5.42-5.16 (m, 8H, H-1⁵, H-3^B, H-1⁶, H-1², H-1¹, H-3⁶, H-3⁷, H-3⁵), 5.12-5.00 (m, 5H, H-4⁵, H-4⁵, H-4^B, H-3⁴, H-1⁵), 4.97 (dd, $J_{3,4} = 9.4$ Hz, $J_{4,5} = 8.8$ Hz, 1H, H-4⁶), 4.91-4.76 (m, 5H, H-4⁶, H-4⁷, H-1⁶, CH₂O, H-2³), 4.70 (d, $J_{1,2} = 7.4$ Hz, 1H, H-1⁷), 4.64-4.49 (m, 5H, H-1³, CH₂O, H-1⁴, H-1⁴, CH₂O), 4.44 (d, $J_{\text{gem}} = 12.8$ Hz, 1H, CH₂O), 4.39-4.16 (m, 10H, H-1^B, H-2^B, H-6a⁶, H-6a⁵, CH₂O, CH₂O, H-3¹, H-6a⁷, H-6a⁶, H-6a⁵), 4.15-3.89 (m, 18H, H-6b⁵, H-6a^B, H-6b⁶, H-6b⁷, H-6a⁴, H-5⁶, H-2⁵, H-5⁵, H-6b⁶, H-2⁴, H-2⁶, H-2², H-4¹, H-3², H-4², H-6b⁴, H-3³, H-2⁴), 3.88-3.61 (m, 22H, H-6b⁵, H-6a¹, H-2¹, H-6a², H-5⁷, H-5¹, H-5^B, H-5³, H-6b¹, H-6b^B, H-2⁶, H-5⁶, H-2⁷, H-5⁵, H-4³, H-6a⁴, H-3⁴, PhOCH₃, H-5⁴, H-5⁴), 3.55-3.37 (m, 8H, H-2⁵, H-6a³, H-4⁴, H-4⁴, H-6b², H-6b⁴, H-5², H-6b³), 2.12-1.62 (m, 63H, OAc),

¹³C-NMR (125 MHz, [D6]-DMSO): δ = 170.1, 170.1, 170.0, 170.0, 169.9, 169.8, 169.7, 169.6, 169.3 (C=O OAc), 168.0, 167.4, 167.1 (C=O NPhT), 156.9, 156.6, 156.4, 156.3 (C=O TFAc), 153.4, 151.9 (C-4 Omp, C-1 Omp), 138.1, 137.8 (C-1 Ar), 135.0, 134.9 (C-4/5 NPhT), 130.6, 130.5, 130.4 (C-1/2 NPhT), 128.2, 128.0, 127.8, 127.7, 127.5, 127.3, 126.9, 126.7 (Ar), 123.7, 123.5, 123.2 (C-3/6 NPhT), 116.9, 116.8, 115.9 (CF₃), 115.8 (q, $^1J_{\text{C,F}} = 287.5$ Hz, CF₃), 115.3, 114.4 (C-2 Omp, C-3 Omp, C-5 Omp, C-6 Omp), 101.4 (C-1^B), 99.7 (C-1⁷), 99.5 (C-1³), 99.3 (C-1⁵), 98.5 (C-1⁶), 97.1 (C-1⁴), 97.1 (C-1²), 96.1 (C-1⁴), 95.7 (C-1⁵), 95.3 (C-1⁶), 84.4 (C-1¹), 77.6 (C-2⁴), 77.1 (C-3¹), 76.7 (C-5²), 76.2 (C-3²), 76.2 (C-4²), 76.1 (C-4³), 75.9 (C-4¹), 74.7 (C-5¹), 74.4 (C-5⁴), 73.6 (C-2⁴), 73.6 (CH₂O), 73.0 (CH₂O), 72.5 (C-4⁴), 72.2 (C-3⁶), 72.2 (CH₂O), 71.6 (C-3^B), 71.6 (C-3⁷), 71.6 (C-5^B), 71.1 (C-3⁵), 71.1 (C-5⁶), 71.1 (C-5⁵), 70.7 (C-3⁴), 70.6 (C-5⁷), 70.6 (C-4⁴), 70.6 (C-5⁵), 70.3 (C-5⁶), 70.1 (C-3⁴), 69.9 (C-3⁵), 69.9 (C-3⁶), 69.5 (C-5³), 69.0 (C-4^B), 68.5 (C-3³), 68.3 (C-4⁶), 68.3 (C-6⁴), 68.3 (C-5⁴), 68.1 (C-4⁵), 68.1 (C-4⁶), 68.1 (C-2³), 67.7 (C-4⁷), 67.3 (C-4⁵), 66.9 (C-6³), 66.4 (C-6¹), 62.9 (C-6^B), 61.9 (C-6²), 61.5 (C-6⁵), 61.5 (C-6⁵), 61.5 (C-6⁷), 61.5 (C-6⁶), 61.2 (C-6⁴), 60.7 (C-6⁶), 56.1 (C-2²), 55.1 (PhOCH₃), 54.8 (C-2⁵), 54.3 (C-2⁶), 54.3 (C-2¹), 54.2 (C-2⁶), 54.1 (C-2⁵), 54.1 (C-2⁷), 53.9 (C-2^B), 20.6, 20.5, 20.4, 20.4, 20.3, 20.2, 20.1, 20.0 (OAc).

O-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-*D*-glucopyranosyl)-(1→2)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-*D*-glucopyranosyl)-(1→4)]-*O*-(3,6-di-*O*-acetyl-α-*D*-mannopyranosyl)-(1→3)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido-β-*D*-glucopyranosyl)-

*(1→4)]-O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido-β-D-glucopyranosyl)-(1→2)-[O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido-β-D-glucopyranosyl)-(1→4)]-[O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido-β-D-glucopyranosyl)-(1→6)]-O-(3-O-acetyl-α-D-mannopyranosyl)-(1→6)}-O-(2-O-acetyl-β-D-mannopyranosyl)-(1→4)-O-(3,6-di-O-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-D-glucopyranosyl)-(1→4)-3-O-benzyl-2-desoxy-6-O-(p-methoxyphenyl)-2-phthalimido-β-D-glucopyranosylazid **21***

$(\beta\text{-Ac}_3\text{GlcNPht-1,2-}[\beta\text{-Ac}_3\text{GlcNPht-1,4}]\text{-}\alpha\text{-Ac}_2\text{Man-1,3-}[\beta\text{-Ac}_3\text{GlcNTFAc-1,4}]\text{-}\{\beta\text{-Ac}_3\text{GlcNTFAc-1,2-}[\beta\text{-Ac}_3\text{GlcNTFAc-1,4}]\text{-}[\beta\text{-Ac}_3\text{GlcNTFAc-1,6}]\text{-}\alpha\text{-AcMan-1,6}\}\text{-}\beta\text{-AcMan-1,4-}\beta\text{-Bzl}_2\text{GlcNPht-1,4-}\beta\text{-BzlMpGlcNPht-N}_3)$

20.4 mg (7.7 μmol) Heptasaccharidakzeptor **1**, 38.8 mg (25.3 μmol, 3.3 eq) Thioglycosid **17**, 5.7 mg (25.3 μmol, 3.3 eq) *N*-Iodsuccinimid und 64 mg gemörsertes, frisch ausgeglühtes Molekularsieb 4 Å werden unter Argonatmosphäre in 0.6 mL absolutem Dichlormethan suspendiert. Das Reaktionsgemisch wird jeweils 20 min bei Zimmertemperatur und bei -30 °C gerührt. Es werden 13 μL einer gesättigten Lösung von Trifluormethansulfonsäure in absolutem Dichlormethan zugetropft und das Reaktionsgemisch wird 5 h bei -30 °C gerührt (DC: Hexan/Aceton, 1:1). Anschließend wird mit Dichlormethan verdünnt und über Celite filtriert. Die Lösung wird je einmal mit 10 %iger Natriumthiosulfat-Lösung und mit 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingeeengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Es werden 54 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Hexan/Aceton, 1.5:1 → 1:1; Säulendurchmesser: 10 mm; Füllhöhe: 10 cm) gereinigt werden. Hierbei werden 18.9 mg leicht verunreinigtes Undecasaccharid **21** erhalten, die mittels RP-HPLC gereinigt werden (Basic; Agilent C8 XBD; Säulengröße: 15×4.65 mm; Eluent A: Wasser (0.1 % Ameisensäure); Eluent B: Acetonitril (0.1 % Ameisensäure); linearer Gradient 80 % B → 87 % in 8 CV; Fluss: 1 mL/min; Detektion: 214, 254 und 280 nm; Retentionszeit: 8.6 min).

Ausbeute: 11.6 mg (2.9 μmol, 37.7 %),

$R_f = 0.21$ (Hexan/Aceton, 1:1),

$[\alpha]_D^{26} = +4.9$ (1.2, Dichlormethan),

$C_{178}H_{191}F_{12}N_{11}O_{82}$ (4024.4),

ESI-MS (100 % Acetonitril): $M_{\text{ber}} = 4022.1$ $M_{\text{gef}} = 4018.3 (M+\text{Na}-\text{N}_2)^+$,

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, [D6]-DMSO): $\delta = 9.72$ (br, 2H, NH), 9.52 (br, 1H, NH), 8.99 (br, 1H, NH), 7.94-7.62 (m, 16H, NPhT), 7.29-6.56 (m, 19H, Ar), 5.66-5.53 (m, 2H, H-3⁶, H-3⁵), 5.41-5.17 (m, 6H, H-1⁵, H-1⁶, H-3⁷, H-3^B, H-1¹, H-3⁵), 5.15-4.95 (m, 6H, H-1², H-3⁶, H-4⁵, H-3⁴, H-4⁶, H-4^B), 4.94-4.73 (m, 7H, H-3⁴, H-1⁶, H-4⁵, H-4⁶, H-1⁵, H-4⁷, CH₂O), 4.70-4.48 (m, 6H, H-2³, H-1⁴, H-1⁴, H-1³, CH₂O, CH₂O), 4.47-4.18 (m, 10H, H-1^B, CH₂O, H-1⁷, CH₂O, H-2^B, H-6a⁷, CH₂O, H-6a⁶, H-6a⁵, H-6a⁵), 4.17-3.95 (m, 11H, H-6a⁶, H-6a^B, H-3¹, H-6b⁵, H-2⁵, H-6b⁷, H-5⁶, H-4¹, H-5⁵, H-2⁶, H-3³), 3.94-3.59 (m, 29H, H-2⁴, H-6b⁶, H-3², H-2², H-6b⁵, H-6a¹, H-6b⁶, H-2¹, H-5⁶, H-2⁴, H-6b^B, H-5⁴, H-5⁵, H-6a², H-4², H-6a⁴, H-6b¹, H-5¹, H-2⁶, H-5⁷, PhOCH₃, H-5⁴, H-2⁵, H-4⁴, H-2⁷, H-6a⁴, H-6a³), 3.57-3.44 (m, 3H, H-4⁴, H-5^B, H-6b⁴), 3.42-3.26 (m, 4H, H-5³, H-6b², H-5², H-6b⁴), 3.20-3.08 (m, 2H, H-6b³, H-4³), 2.11-1.69 (m, 66H, OAc),

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, [D6]-DMSO): $\delta = 170.8$, 170.7, 170.6, 170.4, 170.2, 170.0, 169.9, 169.8, 169.5, 168.0 (C=O OAc), 167.4, 167.3, 167.2, 167.1, 166.9 (C=O NPhT), 156.8, 156.6, 156.3, 155.6 (C=O TFAc), 154.3, 152.5 (C-4 Omp, C-1 Omp), 138.8, 138.7 (C-1 Ar), 135.7, 135.6, 135.3 (C-4/5 NPhT), 131.5, 131.3 (C-1/2 NPhT), 129.0, 128.6, 128.5, 128.2, 128.1, 127.8 (Ar), 124.4, 124.2 (C-3/6 NPhT), 116.2, 115.2 (C-2 Omp, C-3 Omp, C-5 Omp, C-6 Omp), 114.6, 114.5 (CF₃), 100.7 (C-1^B), 100.7 (C-1⁷), 99.2 (C-1⁶), 98.2 (C-1³), 97.3 (C-1⁵), 97.3 (C-1⁴), 96.8 (C-1⁴), 96.0 (C-1²), 95.6 (C-1⁵), 95.6 (C-1⁶), 84.5 (C-1¹), 78.6 (C-5⁴), 76.3 (C-3¹), 76.3 (C-2⁴), 74.9 (C-4¹), 74.8 (C-5¹), 74.2 (C-4²), 74.1 (C-3²), 73.8 (C-2⁴), 73.8 (C-5²), 73.4 (CH₂O), 73.4 (C-4³), 73.3 (C-4⁴), 72.6 (C-4⁴), 72.2 (C-3⁷), 72.1 (C-3⁶), 72.0 (CH₂O), 72.0 (CH₂O), 71.7 (C-5⁵), 71.3 (C-3^B), 71.0 (C-3⁴), 70.7 (C-5⁷), 70.5 (C-5⁶), 70.5 (C-5^B), 70.5 (C-5⁵), 70.2 (C-5⁶), 70.2 (C-3⁵), 69.7 (C-3⁶), 69.7 (C-3⁴), 69.6 (C-4^B), 69.0 (C-6³), 68.8 (C-3⁵), 68.8 (C-3³), 68.5 (C-5⁴), 68.1 (C-4⁶), 68.1 (C-4⁵), 67.8 (C-4⁶), 67.8 (C-4⁷), 67.5 (C-6⁴), 67.3 (C-4⁵), 67.3 (C-2³), 66.8 (C-5³), 66.3 (C-6¹), 62.2 (C-6^B), 62.2 (C-6⁵), 61.7 (C-6⁶), 61.7 (C-6⁶), 61.7 (C-6⁵), 61.7 (C-6²), 60.6 (C-6⁷), 60.6 (C-6⁴), 55.7 (C-2²), 55.1 (PhOCH₃), 54.5 (C-2^B), 54.3 (C-2⁶), 54.2 (C-2¹), 54.1 (C-2⁶), 53.8 (C-2⁵), 53.2 (C-2⁵), 53.2 (C-2⁷), 21.1, 21.0, 20.7, 20.4 (OAc).

9.6 Versuche zu Kapitel 3.1.5

O-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-*O*-(3,6-di-*O*-acetyl- α -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)]-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)]-*O*- α -*D*-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 6)}-*O*-(2-*O*-acetyl- β -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-3-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosyl-azid **22**

(β -Ac₃GlcNPht-1,2-[β -Ac₃GlcNPht-1,4]- α -Ac₂Man-1,3-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,4]-{ β -Ac₃GlcNTFAc-1,2-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,4]-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,6]- α -Man-1,6}- β -AcMan-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-1,4- β -BzlGlcNPht-N₃)

108.0 mg (27.1 μ mol) Undecasaccharid **20** werden in 3.0 mL Toluol und 3.2 mL Acetonitril gelöst. Die Reaktion wird durch Zugabe einer Lösung von 182.7 mg (333.2 μ mol, 12.3 eq) Cer(IV)-ammoniumnitrat in 2.6 mL Wasser gestartet und 5 h bei Zimmertemperatur intensiv gerührt. Nach Ende der Reaktion (DC: Hexan/Aceton, 1:1) wird mit Ethylacetat verdünnt und die organische Phase je einmal mit 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung und Wasser vorsichtig extrahiert. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet, im Vakuum eingengt und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Es werden 105 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Aceton, 1:1; Säulendurchmesser: 20 mm; Füllhöhe: 10 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 92.0 mg (23.7 μ mol, 87.6 %),

$R_f = 0.18$ (Hexan/Aceton, 1:1),

$[\alpha]_D^{21} = -14.8$ (1.3, Dichlormethan),

C₁₆₉H₁₈₃F₁₂N₁₁O₈₀ (3876.3),

O-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-*O*-(3,6-di-*O*-acetyl- α -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-{*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)]-*O*- α -*D*-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 6)}-*O*-(2-*O*-acetyl- β -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-[*O*-2,3,4-tri-*O*-(*p*-methoxybenzyl)- α -*L*-fucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)]-3-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosylazid **23**

(β -Ac₃GlcNPht-1,2-[β -Ac₃GlcNPht-1,4]- α -Ac₂Man-1,3-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,4]-{ β -Ac₃GlcNTFAc-1,2-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,4]-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,6]- α -Man-1,6}- β -AcMan-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-1,4-[α -Mpm₃Fuc-1,6]- β -BzlGlcNPht-N₃)

9.9 mg (2.6 μ mol) Undecasaccharid **22**, 30.3 mg (53.2 μ mol, 20.8 eq) Ethylthiofucosid **H** und 40 mg gemörsertes, frisch ausgeglühtes Molekularsieb 4 Å werden unter Argonatmosphäre in 120 μ L absolutem Dichlormethan und 60 μ L absolutem *N,N*-Dimethylformamid suspendiert. Hierzu werden 15.5 mg (69.2 μ mol, 26.6 eq) Kupfer(II)-bromid und 12.7 mg (39.4 μ mol, 15.2 eq) Tetrabutylammoniumbromid gegeben und die erhaltene Suspension wird bei Zimmertemperatur gerührt. Nach 3 d (DC: Hexan/Aceton, 1:1) wird mit 0.9 mL absolutem Dichlormethan verdünnt und die Reaktion mit 9 μ L (64.7 μ mol, 24.9 eq) Triethylamin und 5 μ L (67.6 μ mol, 26.0 eq) Ethanthiol gestoppt. Die Suspension wird über Celite filtriert und die organische Phase mit 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet, im Vakuum eingengt und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Es werden 36.2 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Hexan/Aceton, 1:1; Säulendurchmesser: 10 mm; Füllhöhe: 10 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 8.4 mg (1.9 μ mol, 73.7 %),

R_f = 0.24 (Hexan/Aceton, 1:1),

$[\alpha]_D^{20}$ = -26.1 (1.1, Dichlormethan),

C₁₉₉H₂₁₇F₁₂N₁₁O₈₇ (4382.9),

61.2 (C-6⁵), 61.2 (C-6⁷), 61.2 (C-6⁶), 61.2 (C-6⁴), 61.2 (C-6⁵), 60.6 (C-6⁶), 55.6 (C-2²), 54.5 (C-2⁶), 54.6 (C-2⁵), 54.6 (PhOCH₃), 54.3 (C-2⁶), 54.2 (C-2¹), 54.0 (C-2⁵), 53.8 (C-2^B), 53.8 (C-2⁷), 21.3, 21.2, 20.9, 20.8 (OAc), 16.9 (C-6^F).

O-(2-Acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-*O*- α -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-{*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)]-*O*- α -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 6)}-*O*- β -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-[*O*-2,3,4-tri-*O*-(*p*-methoxybenzyl)- α -L-fucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)]-2-acetamido-3-*O*-benzyl-2-desoxy- β -D-glucopyranosylazid **24**

(β -GlcNAc-1,2-[β -GlcNAc-1,4]- α -Man-1,3-[β -GlcNAc-1,4]-{ β -GlcNAc-1,2-[β -GlcNAc-1,4]-[β -GlcNAc-1,6]- α -Man-1,6}- β -Man-1,4- β -Bzl₂GlcNAc-1,4-[α -Mpm₃Fuc-1,6]- β -BzlGlcNAc-N₃)

15.0 mg (3.4 μ mol) Dodecasaccharid **23** werden in 0.9 mL *n*-Butanol und 230 μ L (3.4 mmol, 1012 eq) Ethylendiamin gelöst und 23.25 h bei 80 °C gerührt. Nach vollständigem Reaktionsumsatz (DC: *iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 2:1) wird im Vakuum eingengt und der Rückstand dreimal mit Toluol codestilliert und im Hochvakuum getrocknet. Der Rückstand wird in 6 mL Essigsäureanhydrid/Pyridin, 1:2 gelöst und 3.5 h bei 45 °C gerührt. Nach Reaktionsende (DC: Hexan/Aceton, 1:1) wird im Vakuum eingengt, der Rückstand dreimal mit Toluol codestilliert und im Anschluss im Hochvakuum getrocknet. Der Rückstand wird in 3 mL Methylamin-Lösung (40 % in Wasser) gelöst und 16 h bei Zimmertemperatur gerührt. Nach beendeter Reaktion (DC: *iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 2:1) wird im Vakuum eingengt, der Rückstand dreimal mit Toluol codestilliert und im Anschluss im Hochvakuum getrocknet. Es werden 24 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Festphasen-RP-Extraktion gereinigt werden (Waters SepPak C18 Classic; Kartuschengröße: 330 mg; Elution (jeweils 5 mL) mit 0, 10, 20, 30, 40, 50, 70 und 100 % Acetonitril; Elution von **24** bei 40 und 50 % Acetonitril).

Ausbeute: 5.9 mg (2.0 μ mol, 59.2 %),

R_f (Amin) = 0.52 (*iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 2:1),

diger Umsetzung wird mit Dichlormethan verdünnt und über Celite filtriert. Die Reaktionslösung wird mit 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Es werden 3.1 g Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1; Säulendurchmesser: 45 mm; Füllhöhe: 10 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 468 mg (0.53 mmol, 91.4 %),

$R_f = 0.53$ (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1),

$[\alpha]_D^{22} = +68.0$ (0.5, Dichlormethan),

$C_{43}H_{51}NO_{17}S$ (885.9),

ESI-MS (100 % Acetonitril): $M_{ber} = 885.3$ $M_{gef} = 908.0$ (M+Na)⁺, 924.0 (M+K)⁺,

¹H-NMR (360 MHz, [D6]-DMSO): $\delta = 7.92$ -7.65 (m, 4H, NPht), 7.38 (d, $J_{4,6} = 2.0$ Hz, 1H, H-6 Ar), 7.23 (dd, $J_{3,4} = 8.3$ Hz, $J_{4,6} = 2.0$ Hz, 1H, H-4 Ar), 7.17 (d, $J_{3,4} = 8.3$ Hz, 1H, H-3 Ar), 5.67 (dd, $J_{3,4} = 9.1$ Hz, $J_{2,3} = 10.4$ Hz, 1H, H-3²), 5.60 (d, $J_{1,2} = 8.6$ Hz, 1H, H-1²), 5.17 (d, $J_{1,2} = 1.6$ Hz, 1H, H-1¹), 5.05-4.80 (m, 3H, H-4², H-4¹, H-3¹), 4.44 (dd, $J_{1,2} = 1.6$ Hz, $J_{2,3} = 3.1$ Hz, 1H, H-2¹), 4.26-3.98 (m, 5H, H-6a², H-2², H-5¹, H-5², H-6b²), 3.52-3.43 (m, 2H, H-6a¹, H-6b¹), 2.25 (s, 3H, Me), 2.08-1.74 (m, 18H, OAc), 1.25 (s, 9H, *t*Bu),

¹³C-NMR (90 MHz, [D6]-DMSO): $\delta = 170.0$, 169.8, 169.6, 169.5, 169.2, 169.2 (C=O), 149.4 (C-1 Ar), 135.1 (C-2 Ar), 134.7 (C-4/5 NPht), 131.9 (C-5 Ar), 30.5 (C-1/2 NPht), 129.8 (C-3/6 NPht, C-3 Ar), 127.6 (C-6 Ar), 124.3 (C-4 Ar), 95.1 (C-1²), 84.3 (C-1¹), 74.8 (C-2¹), 70.8 (C-5²), 69.8 (C-3¹), 69.7 (C-3²), 68.8 (C-5¹), 68.7 (C-4²), 65.0 (C-4¹), 62.1 (C-6¹), 61.6 (C-6²), 53.7 (C-2²), 34.2 (qC *t*Bu), 30.9 (*t*Bu), 20.3, 20.1 (OAc), 19.6 (Me).

b) aus Verbindung **25**

100 mg (0.13 mmol) Disaccharid **25** werden unter Argonatmosphäre in 1.0 mL absolutem Dichlormethan gelöst. Es werden 48 μ L (0.26 mmol, 2 eq) 5-*tert*-Butyl-2-methyl-thiophenol zugegeben und das Reaktionsgemisch wird auf 0 °C gekühlt. Die Reaktion wird durch Zugabe von 100 μ L (65.5 μ mol, 0.5 eq) einer Lösung von 80 μ L Zinn(IV)-chlorid in 920 μ L absolutem Dichlormethan gestartet. Nach 45 min wird die Eiskühlung entfernt und weitere 65 min bei Zimmertemperatur gerührt. Nach vollständiger Umsetzung (DC: Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1) wird mit Dichlormethan verdünnt, die organische Phase mit 5 M Natriumhydro-

xid-Lösung extrahiert und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird im Vakuum eingengt und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Es werden 153 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1; Säulendurchmesser: 25 mm; Füllhöhe: 11 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 85.4 mg (96.4 μ mol, 73.6 %).

5-tert. Butyl-2-methyl-phenyl O-(2-amino-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-1-thio- α -D-mannopyranosid 27

(β -GlcNH₂-1,2- α -Man-S-Ph(*t*Bu,Me))

345 mg (0.39 mmol) Thioglycosid **26** werden in 7.0 mL *n*-Butanol gelöst und mit 1.6 mL (24.0 mmol, 61.4 eq) Ethylendiamin versetzt. Die Lösung wird 19 h bei 80 °C gerührt. Nach vollständigem Reaktionsumsatz (DC: *iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 4:1) wird die Lösung im Vakuum eingengt, der Rückstand dreimal mit Toluol codestilliert und im Hochvakuum getrocknet. Es werden 509 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Festphasen-RP-Extraktion gereinigt werden (Waters SepPak C18 Classic; Kartuschengröße: 5 g; Elution (jeweils 50 mL) mit 0, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 70 und 100 % Acetonitril; Elution von **27** bei 30 und 40 % Acetonitril).

Ausbeute: 188 mg (0.37 mmol, 95.7 %),

$R_f = 0.78$ (*iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 4:1),

$[\alpha]_D^{23} = +60.9$ (1.0, Tetrahydrofuran),

C₂₃H₃₇NO₉S (503.6),

ESI-MS (50 % Wasser): $M_{\text{ber}} = 503.2$ $M_{\text{gef}} = 504.2$ (M+H)⁺, 526.2 (M+Na)⁺,
542.1 (M+K)⁺,

¹H-NMR (360 MHz, [D₆]-DMSO): $\delta = 7.53$ (d, $J_{4,6} = 1.8$ Hz, 1H, H-6 Ar), 7.23 (dd, $J_{4,6} = 1.8$ Hz, $^3J_{3,4} = 7.8$ Hz, 1H, H-4 Ar), 7.16 (d, $J_{3,4} = 7.8$ Hz, 1H, H-3 Ar), 5.42 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1¹), 5.15-4.34 (m, 8H, OH-3¹, OH-4¹, OH-6¹, OH-3², OH-4², OH-6², NH₂, NH₂), 4.27 (d, $J_{1,2} = 8.3$ Hz, 1H, H-1²), 4.12-4.09 (m, 1H, H-2¹), 3.82-3.76 (m, 1H, H-5¹),

3.71-3.36 (m, 6H, H-6a², H-6a¹, H-3¹, H-6b¹, H-4¹, H-6b²), 3.16-3.09 (m, 1H, H-5²), 3.05-2.97 (m, 2H, H-4², H-3²), 2.45 (tdd, $J_{1,2} = 8.3$ Hz, $J_{2,3} = 8.9$ Hz, $J_{\text{NH},2} = 8.2$ Hz, 1H, H-2²), 2.33 (s, 3H, Me), 1.24 (s, 9H, *t*Bu),

¹³C-NMR (90 MHz, [D₆]-DMSO): $\delta = 149.1$ (C-1 Ar), 136.6 (C-2 Ar), 132.6 (C-5 Ar), 130.5 (C-6 Ar), 129.8 (C-4 Ar), 123.6 (C-3 Ar), 102.0 (C-1²), 86.6 (C-1¹), 77.6 (C-2¹), 77.2 (C-5²), 76.5 (C-3²), 75.2 (C-5¹), 70.5 (C-3¹), 70.1 (C-4²), 67.3 (C-4¹), 61.2 (C-6²), 60.6 (C-6¹), 55.9 (C-2²), 34.1 (qC *t*Bu), 31.0 (*t*Bu), 19.9 (Me).

5-tert. Butyl-2-methyl-phenyl O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-3,4,6-tri-O-acetyl-1-thio- α -D-mannopyranosid 28

(β -Ac₃GlcNTFAc-1,2- α -Ac₃Man-SPh(*t*Bu,Me))

a) aus Disaccharid **27**

130.8 mg (0.26 mmol) geschütztes Thioglycosid **27** werden in 12.9 mL absolutem Tetrahydrofuran unter Argonatmosphäre gelöst und mit 0.18 mL (1.0 mmol, 3.8 eq) Trifluoressigsäurepentafluorphenylester und 0.14 mL (1.0 mmol, 3.8 eq) Triethylamin versetzt. Die erhaltene Lösung wird 2.5 h bei Zimmertemperatur gerührt (DC: Dichlormethan/Methanol, 7:1) und die Reaktion durch Zugabe von 13.2 mL absolutem Methanol abgebrochen. Das Lösungsmittel wird bei Zimmertemperatur im Vakuum entfernt und der Rückstand zweimal in 10 %iger Essigsäure in Wasser aufgenommen und gefriergetrocknet. Der Rückstand wird in 8.0 mL Essigsäureanhydrid/Pyridin, 5:1 gelöst und 2 d bei Zimmertemperatur gerührt (DC: Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1). Die Lösung wird im Vakuum eingengt, der Rückstand dreimal mit Toluol codestilliert und in Dichlormethan aufgenommen. Die organische Phase wird je einmal mit 1 M Salzsäure und 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Es werden 261 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Ethylacetat, 2:1; Säulendurchmesser: 30 mm; Füllhöhe: 10.5 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 191 mg (0.22 μ mol, 84.6 %),

R_f (Amid) = 0.21 (Dichlormethan/Methanol, 7:1),

R_f (Produkt **28**) = 0.50 (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1),

$[\alpha]_D^{20} = +28.0$ (0.5, Dichlormethan),

$C_{37}H_{48}F_3NO_{16}S$ (851.8),

ESI-MS:

Amid (100 % Acetonitril): $M_{ber} = 599.2$ $M_{gef} = 622.9$ (M+Na)⁺, 638.9 (M+K)⁺,
 Produkt **28** (100 % Acetonitril): $M_{ber} = 851.3$ $M_{gef} = 870.9$ (M+H₃O)⁺, 874.4 (M+Na)⁺,
 890.4 (M+K)⁺,

¹H-NMR (500 MHz, [D₆]-DMSO): $\delta = 9.43$ (d, $J_{NH,2} = 8.8$ Hz, 1H, NH), 7.58 (d, $J_{4,6} = 1.5$ Hz, 1H, H-6 Ar), 7.21 (dd, $J_{3,4} = 8.1$ Hz, $J_{4,6} = 1.5$ Hz, 1H, H-4 Ar), 7.16 (d, $J_{3,4} = 8.1$ Hz, 1H, H-3 Ar), 5.78 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1¹), 5.14-5.04 (m, 2H, H-4¹, H-3²), 4.93 (dd, $J_{3,4} = 9.8$ Hz, $J_{4,5} = 10.8$ Hz, 1H, H-4²), 4.89-4.82 (m, 2H, H-3¹, H-1²), 4.39 (dd, $J_{1,2} < 1$ Hz, $J_{2,3} < 1$ Hz, 1H, H-2¹), 4.29-4.22 (m, 1H, H-5¹), 4.16 (dd, $J_{5,6} = 5.1$ Hz, $J_{gem} = 12.4$ Hz, 1H, H-6a²), 4.01-3.87 (m, 5H, H-6b², H-6a¹, H-2², H-6b¹, H-5²), 2.30 (s, 3H, Me), 2.04 (s, 3H, OAc), 2.03 (s, 3H, OAc), 1.98 (s, 3H, OAc), 1.97 (s, 3H, OAc), 1.92 (s, 3H, OAc), 1.90 (s, 3H, OAc), 1.25 (s, 9H, *t*Bu),

¹³C-NMR (125 MHz, [D₆]-DMSO): $\delta = 170.1, 170.0, 169.9, 169.7, 169.4, 169.2$ (C=O OAc), 156.6 (q, $^2J_{C,F} = 36.3$ Hz, C=O TFAc), 149.4 (C-1 Ar), 134.0 (C-2 Ar), 132.8 (C-5 Ar), 129.7 (C-3 Ar), 126.2 (C-6 Ar), 123.9 (C-4 Ar), 118.0 (q, $^1J_{C,F} = 288.1$ Hz, CF₃), 98.8 (C-1²), 83.6 (C-1¹), 76.3 (C-2¹), 71.5 (C-3²), 70.8 (C-5²), 70.1 (C-3¹), 68.8 (C-5¹), 68.0 (C-4²), 65.0 (C-4¹), 62.2 (C-6¹), 61.8 (C-6¹), 53.0 (C-2²), 34.1 (qC *t*Bu), 30.9 (*t*Bu), 20.5, 20.4, 20.3, 20.1, 20.0 (OAc), 19.7 (Me).

b) aus Disaccharid **26**

50.4 mg (56.9 μ mol) Thioglycosid **26** werden in 1.0 mL *n*-Butanol gelöst und mit 0.23 mL (3.4 mmol, 60.5 eq) Ethylendiamin versetzt. Die Lösung wird 17 h bei 80 °C gerührt. Nach vollständigem Reaktionsumsatz (DC: *iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 4:1) wird die Lösung im Vakuum eingeeengt, der Rückstand fünfmal mit Toluol codestilliert und im Hochvakuum getrocknet. Der Rückstand wird in 1.0 mL absolutem Tetrahydrofuran und 0.4 mL (2.85 mmol, 50 eq) Trifluoressigsäureanhydrid gelöst. Es werden langsam 0.8 mL (9.93 mmol, 174.5 eq) Pyridin zugegeben. Die Reaktion wird bei Zimmertemperatur gerührt. Nach 2.5 h und vollständiger Umsetzung (DC: Dichlormethan/Methanol, 7:1) wird 1.0 mL absolutes Methanol zugeben und 60 min (DC: Dichlormethan/Methanol, 7:1) bei Zimmertem-

peratur gerührt. Im Anschluss wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand zweimal in 10 %iger Essigsäure in Wasser aufgenommen und gefriergetrocknet, in 1.2 mL Essigsäureanhydrid/Pyridin, 5:1 gelöst und 66 h bei Zimmertemperatur gerührt (DC: Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1). Die Lösung wird im Vakuum eingengt, der Rückstand mit Toluol codestilliert und in Dichlormethan aufgenommen. Die organische Phase wird je einmal mit 1 M Salzsäure und 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet, im Vakuum eingengt und im Hochvakuum getrocknet. Es werden 78 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Ethylacetat, 2:1; Säulendurchmesser: 20 mm; Füllhöhe: 10 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 24.5 mg (28.8 μmol , 50.5 %),

R_f (Amin) = 0.82 (*iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 4:1),

R_f (Amid) = 0.21 (Dichlormethan/Methanol, 7:1).

9.8 Versuche zu Kapitel 3.2.2

O-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl- α -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-*O*- β -*D*-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosylazid **29**

(β -Ac₃GlcNTFAc-1,2- α -Ac₃Man-1,3- β -Man-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-N₃)

16.6 mg (13.4 μmol) Core-Trisaccharid **A**, 22.8 mg (26.8 μmol , 2.0 eq) Thioglycosid **28**, 6.0 mg (26.8 μmol , 2.0 eq) *N*-Iodsuccinimid und 40 mg gemörsertes, frisch ausgeglühtes Molekularsieb 4 Å werden unter Argonatmosphäre in 0.5 mL absolutem Dichlormethan suspendiert. Die Suspension wird 20 min bei Zimmertemperatur und 30 min bei -30 °C gerührt. Anschließend wird eine gesättigte Lösung von Trifluormethansulfonsäure in absolutem Dichlormethan zugetropft bis sich die Reaktionslösung violett verfärbt. Die Reaktion wird bei -30 °C 2.3 h gerührt. Nach Ende der Reaktion (DC: Hexan/Aceton, 1.2:1) wird mit Dichlormethan verdünnt und über Celite filtriert. Die Lösung wird je einmal mit 10 %iger Natriumthiosulfat-Lösung und mit 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat

getrocknet und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Es werden 39.8 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Aceton, 1.5:1; Säulendurchmesser: 10 mm; Füllhöhe: 10 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 17.1 mg (9.4 μmol , 70.1 %),

$R_f = 0.22$ (Hexan/Aceton, 1.5:1),

$[\alpha]_D^{21} = -3.2$ (1.1, Dichlormethan),

$\text{C}_{88}\text{H}_{93}\text{F}_3\text{N}_6\text{O}_{33}$ (1819.7),

ESI-MS (100 % Acetonitril): $M_{\text{ber}} = 1818.6$ $M_{\text{gef}} = 1837.4$ ($\text{M} + \text{H}_3\text{O}^+$),

$^1\text{H-NMR}$ (360 MHz, $[\text{D}_6]\text{-DMSO}$): $\delta = 9.57$ (d, $J_{\text{NH},2} = 9.1$ Hz, 1H, NH), 7.95-7.61 (m, 8H, NPht), 7.38-7.12 (m, 10H, Ar), 7.00-6.65 (m, 10H, Ar), 5.27 (d, $J_{1,2} = 9.3$ Hz, 1H, H-1¹), 5.25-5.19 (m, 2H, H-1², OH-4³), 5.15 (dd, $J_{2,3} = 10.0$ Hz, $J_{3,4} = 10.7$ Hz, 1H, H-3⁵), 5.07 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1⁴), 5.04-4.74 (m, 6H, H-3⁴, H-4⁴, H-4⁵, CH₂O, CH₂O, OH-2³), 4.72 (d, $J_{1,2} = 8.4$ Hz, 1H, H-1⁵), 4.60-4.50 (m, 3H, CH₂O, H-1³, CH₂O), 4.47 (d, $J_{\text{gem}} = 12.1$ Hz, 1H, CH₂O), 4.43-4.27 (m, 4H, CH₂O, CH₂O, CH₂O, H-2⁴), 4.26-3.85 (m, 12H, H-6a⁵, OH-6³, H-3², H-5⁴, H-4¹, H-3¹, H-2², H-4², H-6a⁴, H-6b⁵, H-6b⁴, H-2⁵), 3.84-3.64 (m, 5H, H-2³, H-2¹, H-6a², H-5⁵, H-6a³), 3.63-3.53 (m, 3H, H-5¹, H-4³, H-6b²), 3.52-3.43 (m, 2H, H-6b³, H-6a¹), 3.40-3.25 (m, 3H, H-6b¹, H-5², H-3³), 3.08-3.01 (m, 1H, H-5³), 2.07 (s, 3H, OAc), 2.02 (s, 3H, OAc), 2.00 (s, 3H, OAc), 1.98 (s, 3H, OAc), 1.95 (s, 3H, OAc), 1.93 (s, 3H, OAc),

$^{13}\text{C-NMR}$ (90 MHz, $[\text{D}_6]\text{-DMSO}$): $\delta = 170.1$, 169.7, 169.6, 169.3, 169.2 (C=O OAc), 167.1 (C=O NPht), 156.9 (q, $^2J_{\text{C,F}} = 35.3$ Hz, C=O TFAc), 138.7, 138.1, 138.0 (C-1 Ar), 138.8 (C-4/5 NPht), 130.8, 130.6 (C-1/2 NPht), 128.3, 128.2, 128.1, 127.9, 127.8, 127.6, 127.5, 127.4, 127.3, 127.1, 126.9, 126.8 (Ar), 123.4 (C-3/6 NPht), 115.8 (q, $^1J_{\text{C,F}} = 288.7$ Hz, CF₃), 99.7 (C-1⁴ α , $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 175.0$ Hz), 99.2 (C-1³ β , $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 159.2$ Hz), 98.7 (C-1⁵ β , $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 163.7$ Hz), 96.6 (C-1² β , $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 168.2$ Hz), 84.7 (C-1¹ β , $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 166.8$ Hz), 82.6 (C-3³), 76.9 (C-5³), 76.6 (C-4²), 76.3 (C-3²), 76.2 (C-3¹), 75.6 (C-5¹), 74.9 (C-4¹), 74.6 (C-5²), 74.0 (C-2⁴), 73.5 (CH₂O), 73.5 (CH₂O), 72.1 (CH₂O), 71.4 (CH₂O), 71.4 (C-3⁵), 70.7 (C-5⁵), 69.6 (C-3⁴), 69.5 (C-2³), 68.2 (C-4⁵), 67.6 (C-6²), 67.6 (C-5⁴), 67.4 (C-6¹), 65.4 (C-4⁴), 65.0 (C-4³), 62.3 (C-6⁴), 61.7 (C-6⁵), 61.1 (C-6³), 55.8 (C-2²), 54.4 (C-2¹), 53.1 (C-2⁵), 20.4, 20.1 (OAc).

O-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-*O*-(4,6-*O*-benzyliden- β -D-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -D-glucopyranosylazid **31**

(β -Ac₃GlcNTFAc-1,2- α -Ac₃Man-1,3- β -BzdnMan-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-N₃)

a) durch Glycosylierung mit dem Thioglycosid **28**

17 mg (13.8 μ mol) Core-Trisaccharid **A**, 17.6 mg (20.6 μ mol, 1.5 eq) Thioglycosid **28**, 6.2 mg (27.5 μ mol, 2 eq) *N*-Iodsuccinimid und 80 mg gemörsertes, frisch ausgeglühtes Molekularsieb 4 Å werden unter Argonatmosphäre in 3 mL absolutem Dichlormethan suspendiert. Die Suspension wird jeweils 30 min bei Zimmertemperatur und bei -30 °C gerührt. Anschließend wird die Reaktion durch Zugabe von 100 μ L einer gesättigten Lösung von Trifluormethansulfonsäure in absolutem Dichlormethan gestartet und bei -30 °C gerührt. Nach 50 min (DC: Hexan/Aceton, 1.2:1) wird die Reaktion durch die Zugabe von 10 μ L (124 μ mol, 9.0 eq) Pyridin gestoppt. Die Reaktion wird mit Dichlormethan verdünnt und über Celite filtriert. Die Lösung wird mit Wasser extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Es werden 37.7 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Aceton, 2:1; Säulendurchmesser: 10 mm; Füllhöhe: 11 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 18.4 mg (9.6 μ mol, 69.9 %),

$R_f = 0.46$ (Hexan/Aceton, 1.2:1),

$[\alpha]_D^{22} = -9.9$ (1.7, Dichlormethan),

C₉₇H₉₇F₃N₆O₃₃ (1907.8),

ESI-MS (50 % Acetonitril): $M_{\text{ber}} = 1906.6$ $M_{\text{gef}} = 1925.7$ (M+H₃O)⁺, 1929.7 (M+Na)⁺,

¹H-NMR (360 MHz, [D₆]-DMSO): $\delta = 9.55$ (d, $J_{\text{NH},2} = 9.0$ Hz, 1H, NH), 7.99-7.64 (m, 8H, NPht), 7.52-7.21 (m, 16H, Ar), 6.98-6.72 (m, 9H, Ar), 5.67 (s, 1H, Ph-CH), 5.37-5.21 (m, 3H, H-1¹, OH-2³, H-1²), 5.12-4.99 (m, 4H, H-3⁵, H-1⁴, H-3⁴, H-4⁴), 4.91-4.78 (m, 3H, H-4⁵, CH₂O, CH₂O), 4.69 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1³), 4.63 (d, $J_{\text{gem}} = 12.2$ Hz, 1H, CH₂O), 4.57 (d, $J_{\text{gem}} = 12.2$ Hz, 1H, CH₂O), 4.49 (d, $J_{1,2} = 8.3$ Hz, 1H, H-1⁵), 4.46-4.36 (m, 4H, CH₂O, CH₂O,

CH₂O, CH₂O), 4.25-3.90 (m, 13H, H-5⁴, H-3², H-4¹, H-3¹, H-6a³, H-6a⁵, H-4³, H-2², H-6a⁴, H-4², H-2³, H-6b⁴, H-2⁴), 3.89-3.76 (m, 4H, H-2⁵, H-6b⁵, H-6a², H-2¹), 3.72-3.56 (m, 4H, H-3³, H-6b², H-5¹, H-6b³), 3.53-3.35 (m, 3H, H-6a¹, H-5², H-6b¹), 3.22-3.08 (m, 2H, H-5³, H-5⁵), 2.04-1.87 (m, 18H, OAc),

¹³C-NMR (90 MHz, [D₆]-DMSO): δ = 170.1, 169.9, 169.8, 169.7, 169.4, 169.3, 169.2 (C=O OAc), 167.4, 167.1 (C=O NPh_t), 156.5 (q, ²J_{C,F} = 37.2 Hz, C=O TFAc), 138.4, 138.3, 138.1, 137.9, 137.8 (C-1 Ar), 134.8 (C-4/5 NPh_t), 130.8, 130.6 (C-1/2 NPh_t), 129.0, 128.0, 127.8, 127.7, 127.5, 127.4, 127.3, 127.2, 127.1, 126.8, 126.2 (Ar), 123.5, 123.4 (C-3/6 NPh_t), 115.7 (q, ¹J_{C,F} = 288.7 Hz, CF₃), 100.8 (Ph-CH), 99.7 (C-1³β, ¹J_{C-1,H-1} = 161.8 Hz), 99.7 (C-1⁴α, ¹J_{C-1,H-1} = 174.1 Hz), 99.7 (C-1⁵β, ¹J_{C-1,H-1} = 163.4 Hz), 99.7 (C-1²β, ¹J_{C-1,H-1} = 167.6 Hz), 99.7 (C-1¹β, ¹J_{C-1,H-1} = 166.1 Hz), 79.2 (C-3³), 76.6 (C-4³), 73.3 (C-4²), 75.9 (C-3¹), 75.7 (C-3²), 75.3 (C-5¹), 74.7 (C-4¹), 74.4 (C-5²), 73.7 (C-2⁴), 73.4 (CH₂O), 73.3 (CH₂O), 71.9 (CH₂O), 71.2 (CH₂O), 71.0 (C-3⁵), 70.8 (C-5⁵), 69.8 (C-2³), 69.0 (C-3⁴), 67.8 (C-4⁵), 67.6 (C-5⁴), 67.5 (C-6²), 67.4 (C-6³), 67.2 (C-6¹), 66.2 (C-5³), 65.1 (C-4⁴), 61.9 (C-6⁴), 61.3 (C-6⁵), 55.7 (C-2²), 54.3 (C-2¹), 52.9 (C-2⁵), 20.5, 20.4, 20.3, 20.2, 20.1 (OAc).

b) durch Glycosylierung mit dem Trichloracetimidat **34**

500 mg (0.40 mmol) Core-Trisaccharid **A**, 675 mg (0.81 mmol, 2 eq) Trichloracetimidat **34** und 1.2 g gemörsertes, frisch ausgeglühtes Molekularsieb 4 Å werden unter Argonatmosphäre in 37.5 mL absolutem Dichlormethan suspendiert. Die Suspension wird 30 min bei Zimmertemperatur und 70 min bei -40 °C gerührt. Anschließend wird die Reaktion durch Zugabe von 10 µL (81 µmol, 0.2 eq) Bortrifluorid-Diethyletherat gestartet und zwischen -40 °C und -30 °C gerührt. Nach 80 min (DC: Hexan/Aceton, 1.2:1) wird die Reaktion durch die Zugabe von 20 µL (248 µmol, 0.6 eq) Pyridin gestoppt. Die Reaktionslösung wird mit Dichlormethan verdünnt und über Celite filtriert. Die Lösung wird mit 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingeeengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Es werden 1.25 g Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Aceton, 2:1; Säulendurchmesser: 40 mm; Füllhöhe: 15 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 669 mg (0.35 mmol, 87.7 %).

O-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl- α -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl- α -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)]-*O*-(4,6-*O*-benzyliden- β -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosylazid **32**

(β -Ac₃GlcNTFAc-1,2- α -Ac₃Man-1,2-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,2- α -Ac₃Man-1,3]- β -BzdnMan-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-N₃)

Das Heptasaccharid **32** wird in 12 % Ausbeute bei der Synthese von **31** mit dem Thioglycosid **28** erhalten.

$R_f = 0.43$ (Hexan/Aceton, 1.2:1),

$[\alpha]_D^{22} = -22.1$ (0.6, Dichlormethan),

C₁₂₁H₁₂₉F₆N₇O₄₉ (2579.3),

ESI-MS (50 % Acetonitril): $M_{\text{ber}} = 2577.8$ $M_{\text{gef}} = 2596.4$ (M+H₃O)⁺,

¹H-NMR (500 MHz, [D₆]-DMSO): $\delta = 9.52$ (d, $J_{\text{NH},2} = 7.7$ Hz, 1H, NH), 8.84 (d, $J_{\text{NH},2} = 7.7$ Hz, 1H, NH), 7.99-7.64 (m, 8H, NPht), 7.57-7.13 (m, 16H, Ar), 6.99-6.72 (m, 9H, Ar), 5.55 (s, 1H, Ph-CH), 5.33-5.21 (m, 3H, H-1², H-3^{5*}, H-1¹), 5.18-4.91 (m, 10H, H-4^{4*}, H-3⁴, H-4⁴, H-1⁴, H-1^{4*}, H-3⁵, H-3^{4*}, CH₂O, H-1^{5*}, H-4^{5*}), 4.87 (d, $J_{\text{gem}} = 12.1$ Hz, 1H, CH₂O), 4.78-4.67 (m, 3H, H-1³, H-4⁵, H-5^{4*}), 4.62 (d, $J_{\text{gem}} = 12.1$ Hz, 1H, CH₂O), 4.56 (d, $J_{\text{gem}} = 12.1$ Hz, 1H, CH₂O), 4.45 (d, $J_{1,2} = 7.7$ Hz, 1H, H-1⁵), 4.43-4.35 (m, 2H, CH₂O, CH₂O), 4.32 (d, $J_{\text{gem}} = 12.1$ Hz, 1H, CH₂O), 4.29-4.20 (m, 3H, H-3², CH₂O, H-2^{4*}), 4.19-3.87 (m, 17H, H-6a^{5*}, H-2⁴, H-3¹, H-6a⁴, H-4¹, H-5⁴, H-2², H-6a⁵, H-6b⁴, H-4², H-6a^{4*}, H-6a³, H-2³, H-5^{5*}, H-6b^{5*}, H-4³, H-6a²), 3.87-3.71 (m, 3H, H-6b^{4*}, H-2¹, H-6b²), 3.68-3.48 (m, 6H, H-2^{5*}, H-6b⁵, H-5¹, H-3³, H-2⁵, H-5²), 3.47-3.34 (m, 3H, H-6a¹, H-6b³, H-6b¹), 3.21-3.14 (m, 1H, H-5³), 2.33-2.27 (m, 1H, H-5⁵), 2.17-1.73 (m, 36H, OAc),

¹³C-NMR (125 MHz, [D₆]-DMSO): $\delta = 170.9, 170.8, 170.4, 170.3, 170.2, 169.9$ (C=O OAc), 168.1 (C=O NPht), 156.6 (q, $^2J_{\text{C,F}} = 35.3$ Hz, C=O TFAc), 156.4 (q, $^2J_{\text{C,F}} = 36.5$ Hz C=O, TFAc), 139.1, 138.7, 138.0 (C-1 Ar), 135.8, 135.60 (C-4/5 NPht), 131.30 (C-1/2 NPht), 129.1, 129.0, 128.9, 128.8, 128.6, 128.4, 128.3, 128.2, 128.1, 128.0, 127.9, 127.7, 127.5,

127.40 (Ar), 124.20 (C-3/6 NPht), 115.6 (q, $^1J_{C,F} = 288.7$ Hz, CF₃), 115.5 (q, $^1J_{C,F} = 288.7$ Hz, CF₃), 101.3 (Ph-CH), 99.2 (C-1³β, $^1J_{C-1,H-1} = 163.2$ Hz), 97.1 (C-1⁴α, $^1J_{C-1,H-1} = 175.8$ Hz), 97.0 (C-1^{5*}β, $^1J_{C-1,H-1} = 165.3$ Hz), 96.5 (C-1²β, $^1J_{C-1,H-1} = 167.8$ Hz), 96.3 (C-1^{4*}α, $^1J_{C-1,H-1} = 177.1$ Hz), 95.7 (C-1⁵β, $^1J_{C-1,H-1} = 167.1$ Hz), 84.4 (C-1¹β, $^1J_{C-1,H-1} = 167.3$ Hz), 78.2 (C-4³), 78.1 (C-4²), 76.9 (C-3²), 76.1 (C-3¹), 75.6 (C-5¹), 75.5 (C-5^{5*}), 75.4 (C-3³), 75.2 (C-4¹), 74.4 (C-5²), 74.3 (CH₂O), 73.6 (CH₂O), 72.6 (C-2^{4*}), 72.1 (CH₂O), 71.6 (C-2⁴), 71.4 (CH₂O), 70.2 (C-5⁵), 70.2 (C-2³), 70.2 (C-3⁵), 70.1 (C-3^{5*}), 69.3 (C-3⁴), 69.3 (C-3^{4*}), 68.5 (C-5⁴), 68.0 (C-4^{5*}), 67.7 (C-6²), 67.6 (C-4⁵), 67.3 (C-6³), 67.2 (C-5^{4*}), 67.2 (C-6¹), 65.9 (C-5³), 65.1 (C-4^{4*}), 64.8 (C-4⁴), 62.0 (C-6⁴), 61.8 (C-6^{4*}), 61.4 (C-6^{5*}), 60.5 (C-6⁵), 55.8 (C-2²), 54.3 (C-2^{5*}), 54.3 (C-2¹), 54.0 (C-2⁵), 21.1, 21.0, 20.9 (OAc).

O-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido-β-*D*-glucopyranosyl)-(1→2)-*O*-3,4,6-tri-*O*-acetyl-*D*-mannopyranose **33**

(β-Ac₃GlcNTFAc-1,2-Ac₃Man)

22.9 mg (26.9 μmol) Thioglycosid **28** und 9.1 mg (40.4 μmol, 1.5 eq) *N*-Iodsuccinimid werden in 5.0 mL absolutem Dichlormethan und 0.5 mL Wasser gelöst und auf -15 °C gekühlt. Die Reaktion wird durch die Zugabe von einer gesättigten Lösung von Trifluormethansulfonsäure in absolutem Dichlormethan gestartet. Das Reaktionsgemisch wird 3.5 h gerührt, wobei die Reaktionstemperatur von -15 °C auf Zimmertemperatur ansteigt. Nach Reaktionsende (DC: Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1) wird mit Dichlormethan verdünnt und je einmal mit 10 %iger Natriumthiosulfat-Lösung und mit 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingeeengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Es werden 20.2 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Aceton, 1.5:1; Säulendurchmesser: 10 mm; Füllhöhe: 10 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 13.5 mg (19.6 μmol, 72.8 %),

$R_f = 0.11$ (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1),

$[\alpha]_D^{23} = -38.0$ (1.3, Dichlormethan),

C₂₆H₃₄F₃NO₁₇ (689.5),

ESI-MS (100 % Acetonitril): $M_{\text{ber}} = 689.2$ $M_{\text{gef}} = 1401.6 (2M+\text{Na})^+$, $712.3 (M+\text{Na})^+$,
 $728.3 (M+\text{K})^+$,

α -Anomer:

$^1\text{H-NMR}$ (360 MHz, [D6]-DMSO): $\delta = 9.47$ (d, $J_{\text{NH},2} = 9.1$ Hz, 1H, NH), 7.13 (d, $J_{\text{OH},1} = 4.6$ Hz, 1H, OH-1¹), 5.13 (dd, $J_{2,3} = 10.6$ Hz, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, H-3²), 5.08 (dd, $J_{\text{OH},1} = 4.6$ Hz, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1¹), 5.02-4.83 (m, 3H, H-4¹, H-3¹, H-4²), 4.71 (d, $J_{1,2} = 8.4$ Hz, 1H, H-1²), 4.21-4.11 (m, 1H, H-6a²), 4.01-3.75 (m, 7H, H-6b², H-5¹, H-6a¹, H-2¹, H-2², H-6b¹, H-5²), 2.05-1.86 (m, 18H, OAc),

$^{13}\text{C-NMR}$ (90 MHz, [D6]-DMSO): $\delta = 170.1$, 169.8, 169.5, 169.4, 169.3, 169.2 (C=O OAc), 156.5 (q, $^2J_{\text{C,F}} = 36.5$ Hz, C=O TFAc), 115.7 (q, $^1J_{\text{C,F}} = 288.7$ Hz, CF₃), 99.1 (C-1² β , $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 164.6$ Hz), 91.0 (C-1¹ α , $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 174.1$ Hz), 75.6 (C-2¹), 71.6 (C-3²), 70.8 (C-5²), 69.7 (C-3¹), 68.3 (C-4²), 67.1 (C-5¹), 65.6 (C-4¹), 62.7 (C-6¹), 61.9 (C-6²), 53.3 (C-2²), 20.5, 20.2, 20.1 (OAc).

β -Anomer:

$^1\text{H-NMR}$ (360 MHz, [D6]-DMSO): $\delta = 9.18$ (d, $J_{\text{NH},2} = 9.2$ Hz, 1H, NH), 7.18 (d, $J_{\text{OH},1} = 5.8$ Hz, 1H, OH-1¹), 5.28 (dd, $J_{2,3} = 10.6$ Hz, $J_{3,4} = 9.9$ Hz, H-3²), 5.02-4.83 (m, 5H, H-1¹, H-3¹, H-4¹, H-1², H-4²), 4.21-4.11 (m, 1H, H-6a²), 4.04 (dd, $J_{1,2} < 1$ Hz, $J_{2,3} = 1.8$ Hz, 1H, H-2¹), 4.01-3.81 (m, 5H, H-6b², H-2², H-6a¹, H-6b¹, H-5²), 3.75-3.69 (m, 1H, H-5¹), 2.05-1.86 (m, 18H, OAc),

$^{13}\text{C-NMR}$ (90 MHz, [D6]-DMSO): $\delta = 170.1$, 169.8, 169.6, 169.5, 169.4, 169.3 (C=O OAc), 156.6 (q, $^2J_{\text{C,F}} = 35.9$ Hz, C=O TFAc), 115.7 (q, $^1J_{\text{C,F}} = 288.7$ Hz, CF₃), 100.3 (C-1² β , $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 167.5$ Hz), 92.6 (C-1¹ β , $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 160.4$ Hz), 75.2 (C-2¹), 71.7 (C-3²), 70.6 (C-5²), 70.5 (C-5¹), 69.7 (C-3¹), 65.6 (C-4²), 65.6 (C-4¹), 62.7 (C-6¹), 62.0 (C-6²), 54.1 (C-2²), 20.5, 20.2, 20.1 (OAc).

O-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*-1,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -*D*-mannopyranose **36**

(β -Ac₃GlcNTFAc-1,2- β -Ac₄Man)

1.27 g (3.65 mmol) Tetraacetylmannose **35**, 3.08 g (5.46 mmol, 1.5 eq) Donor **G**, 3.25 g (14.43 mmol, 4.0 eq) *N*-Iodsuccinimid und 50 mg gemörsertes, frisch ausgeglühtes Molekularsieb 4 Å werden unter Argonatmosphäre in 50 mL absolutem Dichlormethan suspendiert. Die Suspension wird jeweils 30 min bei Zimmertemperatur und bei -45 °C gerührt. Anschließend werden 75 µL (0.86 mmol, 0.2 eq) Trifluormethansulfonsäure langsam zugetropft. Die Reaktion wird 110 min gerührt, wobei sie sich von -45 °C auf Zimmertemperatur erwärmt. Nach Ende der Reaktion (DC: Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1.5) wird mit Dichlormethan verdünnt und über Celite filtriert. Die Lösung wird je einmal mit 10 %iger Natriumthiosulfat-Lösung und mit 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingeengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Es werden 4.75 g Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1; Säulendurchmesser: 50 mm; Füllhöhe: 11 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 2.07 mg (2.83 mmol, 77.5 %, β -Anomer; teilweise wird bei diesen Reaktionen ein Anomerengemisch am reduzierenden Ende erhalten.),

$R_f = 0.34$ (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1.5),

$[\alpha]_D^{23} = -42.3$ (0.5, Dichlormethan, reines β -Anomer),

$C_{28}H_{36}F_3NO_{18}$ (731.6),

ESI-MS (100 % Acetonitril): $M_{ber} = 731.2$ $M_{gef} = 754.4$ (M+Na)⁺, 771.4 (M+K)⁺,

α -Anomer:

¹H-NMR (360 MHz, [D6]-DMSO): $\delta = 9.65$ (d, $J_{NH,2} = 9.2$ Hz, 1H, NH), 6.06 (d, $J_{1,2} = 1.7$ Hz, 1H, H-1¹), 5.15-5.06 (m, 2H, H-3², H-4¹), 4.96-4.88 (m, 2H, H-3¹, H-4²), 4.79 (d, $J_{1,2} = 8.7$ Hz, 1H, H-1²), 4.19-4.12 (m, 2H, H-6a¹, H-2¹), 4.05-3.75 (m, 6H, H-6a², H-5¹, H-2², H-6b¹, H-6b², H-5²), 2.12 (s, 3H, OAc), 2.04-1.89 (m, 18H, OAc),

¹³C-NMR (90 MHz, [D6]-DMSO): $\delta = 170.1, 169.8, 169.6, 169.4, 169.2, 168.4$ (C=O OAc), 156.5 (q, $^2J_{C,F} = 36.5$ Hz, C=O TFAc), 115.8 (q, $^1J_{C,F} = 288.7$ Hz, CF₃), 98.5 (C-1² β , $^1J_{C-1,H-1} = 166.2$ Hz), 89.9 (C-1¹ α , $^1J_{C-1,H-1} = 179.8$ Hz), 72.8 (C-2¹), 71.3 (C-3²), 70.5 (C-5²), 69.2 (C-5¹), 68.9 (C-3¹), 68.0 (C-4²), 64.1 (C-4¹), 61.6 (C-6²), 61.4 (C-6¹), 52.8 (C-2²), 20.7, 20.5, 20.4, 20.2, 20.1 (OAc).

β -Anomer:

$^1\text{H-NMR}$ (360 MHz, [D6]-DMSO): δ = 9.33 (d, $J_{\text{NH},2}$ = 8.9 Hz, 1H, NH), 5.88 (d, $J_{1,2}$ < 1 Hz, 1H, H-1¹), 5.38 (dd, $J_{2,3}$ = 8.9 Hz, $J_{3,4}$ = 9.9 Hz, 1H, H-3²), 5.05-4.96 (m, 2H, H-4¹, H-3¹), 4.88 (dd, $J_{3,4}$ = 9.9 Hz, $J_{4,5}$ = 9.6 Hz, 1H, H-4²), 4.73 (d, $J_{1,2}$ = 8.6 Hz, 1H, H-1²), 4.25-4.15 (m, 2H, H-2¹, H-6a²), 3.98 (dd, $J_{5,6}$ < 1 Hz, J_{gem} = 9.8 Hz, 1H, H-6a¹), 3.92-3.76 (m, 5H, H-6b², H-5¹, H-6b¹, H-2², H-5²), 2.16-1.89 (m, 21H, OAc),

$^{13}\text{C-NMR}$ (90 MHz, [D6]-DMSO): δ = 170.1, 170.0, 169.7, 169.6, 169.4, 169.3, 168.8 (C=O OAc), 156.4 (q, $^2J_{\text{C},\text{F}}$ = 36.5 Hz, C=O TFAc), 115.8 (q, $^1J_{\text{C},\text{F}}$ = 288.1 Hz, CF₃), 100.1 (C-1² β , $^1J_{\text{C-1,H-1}}$ = 167.6 Hz), 90.5 (C-1¹ β , $^1J_{\text{C-1,H-1}}$ = 165.2 Hz), 73.0 (C-2¹), 71.4 (C-5¹), 71.3 (C-3²), 71.1 (C-3¹), 70.3 (C-5²), 68.7 (C-4²), 65.0 (C-4¹), 62.0 (C-6²), 61.9 (C-6¹), 53.9 (C-2²), 20.5, 20.4, 20.2 (OAc).

O-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*-3,4,6-tri-*O*-acetyl- α -*D*-mannopyranosyl-trichloroacetimidat **34**

(β -Ac₃GlcNTFAc-1,2- α -Ac₃Man-TCAI)

a) aus Halbacetal **33**

95.3 mg (0.14 mmol) Halbacetal **33**, werden unter Argonatmosphäre in 950 ml absolutem Dichlormethan gelöst. Es werden 138 μl (1.4 mmol, 10 eq) Trichloroacetonitril zugefügt und die Reaktion durch Zugabe von 38 mg (0.27 mmol, 2.0 eq) frisch ausgeglühtem und gemörsertem Kaliumcarbonat gestartet. Die Reaktion wird bei Zimmertemperatur 2.5 h intensiv gerührt. Nach vollständigem Umsatz (DC: Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1) wird die Suspension über Celite abfiltriert und mit Dichlormethan nachgewaschen. Die erhaltene Lösung wird im Vakuum bei Zimmertemperatur eingeeengt und im Hochvakuum getrocknet. Es werden 114 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Aceton, 3:1; Säulendurchmesser: 35 mm; Füllhöhe 10 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 101.7 mg (0.12 mmol, 87.1 %),

R_f = 0.45 (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1),

$[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ = -7.6 (0.5, Dichlormethan),

C₂₈H₃₄Cl₃F₃N₂O₁₇ (833.9),

ESI-MS (100 % Acetonitril): $M_{\text{ber}} = 832.1$ $M_{\text{gef}} = 855.0$ (M+Na)⁺, 871.0 (M+K)⁺,

¹H-NMR (360 MHz, [D₆]-DMSO): $\delta = 10.09$ (s, 1H, =NH), 9.68 (d, $J_{\text{NH},2} = 9.2$ Hz, 1H, NH), 6.31 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1¹), 5.20-5.08 (m, 2H, H-4¹, H-3²), 5.01-4.90 (m, 2H, H-3¹, H-4²), 4.86 (d, $J_{1,2} = 8.3$ Hz, 1H, H-1²), 4.32 (dd, $J_{1,2} < 1$ Hz, $J_{2,3} < 1$ Hz, 1H, H-2¹), 4.17 (dd, $J_{5,6} = 4.9$ Hz, $J_{\text{gem}} = 12.0$ Hz, 1H, H-6a²), 4.00-3.83 (m, 6H, H-5¹, H-6b², H-2², H-6a¹, H-6b¹, H-5²), 2.02, 2.01, 2.00, 1.95, 1.94, 1.92 (6s, 18H, OAc),

¹³C-NMR (90 MHz, [D₆]-DMSO): $\delta = 170.0$, 169.8, 169.7, 169.4, 169.2, 169.1 (C=O OAc), 156.9 (C=NH), 156.5 ($^2J_{\text{C,F}} = 37.2$ Hz, C=O TFAc), 115.7 ($^1J_{\text{C,F}} = 288.1$ Hz, CF₃), 98.8 (C-1² β , $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 165.2$ Hz), 93.8 (C-1¹ α , $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 183.1$ Hz), 91.0 (CCl₃), 72.7 (C-2¹), 71.6 (C-3²), 70.8 (C-5²), 70.3 (C-5¹), 69.2 (C-3¹), 68.1 (C-4²), 64.2 (C-4¹), 61.8 (C-6¹), 61.6 (C-6²), 53.1 (C-2²), 20.2, 19.6 (OAc).

b) aus Verbindung **36**

2.37 g (3.23 mmol) Acetat **36** werden in 14.4 mL *N,N*-Dimethylformamid gelöst. Zu dieser Lösung werden 446.2 mg (4.84 mmol, 1.5 eq) Hydrazinacetat gegeben und 65 min bei Zimmertemperatur gerührt (DC: Hexan/Aceton, 1:1). Die Reaktion wird durch Zugabe von 14.3 mL Aceton abgebrochen und im Hochvakuum eingengt. Der Rückstand wird in Dichlormethan aufgenommen je einmal mit 1 M Salzsäure und 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet und ohne weitere Reinigung zur Synthese des Trichloracetimidats **34** eingesetzt. Das Halbacetal (2.09 g, 3.02 mmol) wird analog zu den unter a) beschriebenen Bedingungen umgesetzt. Es werden 20.8 ml absolutes Dichlormethan, 3.02 ml (30.12 mmol, 10.0 eq) Trichloracetonitril, und 836 mg (6.05 mmol) frisch ausgeglühtes und gemörsertes Kaliumcarbonat verwendet. Es werden 2.74 g Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Aceton, 3:1; Säulendurchmesser: 50 mm; Füllhöhe 14 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 1.91 g (2.29 mmol, 70.9 %).

5-tert.Butyl-2-methyl-phenyl *O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-3,4,6-tri-*O*-acetyl-1-thio- α -*D*-mannopyranosid **28**

(β -Ac₃GlcNTFAc-1,2- α -Ac₃Man-SPh(*t*Bu,Me))

1.0 g (1.2 mmol) Trichloracetimidat **34** werden unter Argonatmosphäre mit 1.0 g gemörsertem, frisch ausgeglühtem Molekularsieb 4 Å in 12.0 mL absolutem Dichlormethan suspendiert. Es werden 4.3 mL (23.8 mmol, 19.9 eq) 5-*tert*.Butyl-2-methyl-thiophenol zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird jeweils 30 min bei Zimmertemperatur und bei -20 °C gerührt. Die Reaktion wird durch Zugabe von 76 μ L (0.6 mmol, 0.5 eq) Bortrifluorid-Diethyletherat gestartet und 1.5 h gerührt. Dabei erwärmt sich die Reaktion von -20 °C auf -5 °C. Nach vollständiger Umsetzung (DC: Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1) wird mit Dichlormethan verdünnt und über Celite filtriert. Die Lösung wird mit 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingeeengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Es werden 5.83 g Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Ethylacetat, 2:1 \rightarrow 1.5:1; Säulendurchmesser: 45 mm; Füllhöhe: 14 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 915 mg (1.1 mmol, 89.5 %).

9.9 Versuche zu Kapitel 3.2.3

O-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)]-*O*- β -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -D-glucopyranosylazid **38**

(β -Ac₃GlcNTFAc-1,2- α -Ac₃Man-1,3-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,2- α -Ac₃Man-1,6]- β -Man-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-N₃)

10.2 mg (5.6 μ mol) Pentasaccharid **29**, 9.5 mg (11.2 μ mol) Thioglycosid **28**, 2.5 mg (11.2 μ mol, 2.0 eq) *N*-Iodsuccinimid und 20 mg gemörsertes, frisch ausgeglühtes Molekularsieb 4 Å werden unter Argonatmosphäre in 0.4 mL absolutem Dichlormethan suspendiert. Die Suspension wird jeweils 30 min bei Zimmertemperatur und bei -30 °C gerührt. Anschließend

wird eine gesättigte Lösung von Trifluormethansulfonsäure in absolutem Dichlormethan zutropft bis sich die Reaktionslösung violett verfärbt. Die Reaktion wird 4 h gerührt, wobei sie sich von -30 °C auf -10 °C langsam erwärmt. Nach Ende der Reaktion (DC: Hexan/Aceton, 1:1) wird mit Dichlormethan verdünnt und über Celite filtriert. Die Lösung wird je einmal mit 10 %iger Natriumthiosulfat-Lösung und mit 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingeeengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Es werden 18.1 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Aceton, 1.5:1; Säulendurchmesser: 10 mm; Füllhöhe: 10 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 9.3 mg (3.7 μ mol, 66.0 %),

$R_f = 0.33$ (Hexan/Aceton, 1:1),

$[\alpha]_D^{22} = -4.4$ (1.1, Dichlormethan),

$C_{114}H_{125}F_6N_7O_{49}$ (2491.2),

ESI-MS (100 % Acetonitril): $M_{ber} = 2489.7$ $M_{gef} = 2508.9$ ($M+H_3O$)⁺,

¹H-NMR (500 MHz, [D₆]-DMSO): $\delta = 9.59$ (d, $J_{NH,2} = 8.8$ Hz, 1H, NH), 9.45 (d, $J_{NH,2} = 8.8$ Hz, 1H, NH), 7.94-7.59 (m, 8H, NPh_t), 7.41-7.10 (m, 11H, Ar), 7.01-6.61 (m, 9H, Ar), 5.41 (d, $J_{OH,4} = 3.3$ Hz, 1H, OH-4³), 5.28 (d, $J_{1,2} = 9.9$ Hz, 1H, H-1¹), 5.22-5.09 (m, 3H, H-1², H-3⁵, H-4^{4'}), 5.08-4.83 (m, 9H, H-3^{5'}, H-1⁴, H-3⁴, H-4⁴, H-4⁵, H-3^{4'}, CH₂O, H-4^{5'}, H-1^{4'}), 4.79-4.69 (m, 3H, H-1⁵, CH₂O, OH-2³), 4.68-4.47 (m, 5H, H-1^{5'}, CH₂O, CH₂O, H-1³, CH₂O), 4.37-4.24 (m, 4H, CH₂O, CH₂O, CH₂O, H-6a⁵), 4.23-3.82 (m, 19H, H-6a⁵, H-2⁴, H-5⁴, H-3², H-6a⁴, H-3¹, H-2^{4'}, H-4¹, H-6a^{4'}, H-2², H-6b⁴, H-6b⁵, H-4², H-2⁵, H-5^{4'}, H-6b^{4'}, H-2³, H-2^{5'}, H-5³), 3.81-3.66 (m, 5H, H-2¹, H-6a², H-6b^{5'}, H-5⁵, H-6a³), 3.65-3.46 (m, 5H, H-6b³, H-5¹, H-4³, H-5^{5'}, H-6b²), 3.45-3.35 (m, 4H, H-6a¹, H-5², H-3³, H-6b¹), 2.07-1.73 (m, 36H, OAc),

¹³C-NMR (125 MHz, [D₆]-DMSO): $\delta = 170.8, 170.7, 170.5, 170.4, 170.2, 170.1, 170.0, 169.9$ (C=O OAc), 167.9, 167.8 (C=O NPh_t), 156.5 (q, $^2J_{C,F} = 37.2$ Hz, C=O TFAc), 156.4 (q, $^2J_{C,F} = 37.2$ Hz, C=O TFAc), 139.3, 139.0, 138.9 (C-1 Ar), 135.6, 135.3 (C-4/5 NPh_t), 131.6, 131.3 (C-1/2 NPh_t), 129.0, 128.9, 128.8, 128.5, 128.4, 128.3, 128.1, 128.0, 127.8, 127.5, 127.4, 127.3 (Ar), 124.2 (C-3/6 NPh_t), 115.9 (q, $^1J_{C,F} = 287.5$ Hz, CF₃), 115.8 (q, $^1J_{C,F} = 288.7$ Hz, CF₃), 99.2 (C-1⁴ α , $^1J_{C-1,H-1} = 177.4$ Hz), 98.7 (C-1⁵ β , $^1J_{C-1,H-1} = 164.9$ Hz),

98.5 (C-1⁵β ¹J_{C-1,H-1} = 165.2 Hz), 98.4 (C-1³β ¹J_{C-1,H-1} = 158.5 Hz), 96.8 (C-1⁴α ¹J_{C-1,H-1} = 174.0 Hz), 96.7 (C-1²β ¹J_{C-1,H-1} = 166.8 Hz), 84.4 (C-1¹β ¹J_{C-1,H-1} = 166.6 Hz), 82.5 (C-3³), 76.4 (C-3¹), 76.2 (C-4²), 75.3 (C-5¹), 75.0 (C-3²), 74.8 (C-4¹), 74.6 (C-2⁴), 74.4 (C-5²), 73.9 (C-2⁴), 73.6 (CH₂O), 72.8 (CH₂O), 72.0 (CH₂O), 71.3 (C-3⁵), 71.2 (C-3⁵), 71.1 (CH₂O), 70.6 (C-5⁵), 70.5 (C-5³), 70.4 (C-5⁵), 69.4 (C-3⁴), 69.0 (C-3⁴), 69.0 (C-2³), 67.9 (C-4⁵), 67.7 (C-4⁵), 67.7 (C-6²), 67.5 (C-5⁴), 67.3 (C-6³), 67.2 (C-5⁴), 67.1 (C-6¹), 65.0 (C-4⁴), 64.9 (C-4³), 64.5 (C-4⁴), 62.1 (C-6⁴), 61.7 (C-6⁵), 61.3 (C-6⁴), 61.1 (C-6⁵), 55.4 (C-2²), 54.3 (C-2¹), 52.9 (C-2⁵), 52.9 (C-2⁵) 21.4, 21.2, 21.0, 20.9, 20.8 (OAc).

O-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido-β-*D*-glucopyranosyl)-(1→2)-*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-α-*D*-mannopyranosyl)-(1→3)-*O*-(2-*O*-acetyl-β-*D*-mannopyranosyl)-(1→4)-*O*-(3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-*D*-glucopyranosyl)-(1→4)-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-*D*-glucopyranosylazid **39**

(β-Ac₃GlcNTFAc-1,2-α-Ac₃Man-1,3-β-AcMan-1,4-β-Bzl₂GlcNPht-1,4-β-Bzl₂GlcNPht-N₃)

638 mg (0.334 mmol) Pentasaccharid **31** werden in 21 ml Essigsäureanhydrid/Pyridin, 5:1 gelöst und 17.5 h bei Zimmertemperatur gerührt. Nach vollständiger Reaktion (DC: Hexan/Aceton, 1:1) wird im Vakuum eingengt und dreimal mit Toluol codestilliert. Der Rückstand wird in Dichlormethan aufgenommen und je einmal mit 1 M Salzsäure und 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet, im Vakuum eingengt und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Es werden 662 mg Acetat erhalten und dieses in 20 ml Acetonitril gelöst. Es wird eine Lösung von 508 mg (2.67 mmol, 8 eq) *p*-Toluolsulfonsäure-Hydrat in 20 ml Acetonitril zugegeben und bei Zimmertemperatur gerührt. Nach 135 min (DC: Hexan/Aceton, 1:1) wird die Reaktion mit 430 µL (5.33 mmol, 16 eq) Pyridin abgebrochen und die Lösung im Vakuum eingengt. Der Rückstand wird in Dichlormethan aufgenommen und mit Wasser extrahiert. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Es werden 651 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Aceton, 2:1; Säulendurchmesser: 35 mm; Füllhöhe: 14 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 459 mg (0.247 mmol, 73.8 %),

R_f (Acetat) = 0.69 (Hexan/Aceton, 1:1),

R_f (Produkt **39**) = 0.43 (Hexan/Aceton, 1:1),

$[\alpha]_D^{21} = -7.7$ (1.9, Dichlormethan),

$C_{90}H_{95}F_3N_6O_{34}$ (1861.7),

ESI-MS:

Acetat (100 % Acetonitril): $M_{ber} = 1948.6$ $M_{gef} = 1971.8$ (M+Na)⁺, 1987.8 (M+K)⁺,

Produkt **39** (50 % Acetonitril): $M_{ber} = 1860.6$ $M_{gef} = 1879.9$ (M+H₃O)⁺,

¹H-NMR (360 MHz, [D₆]-DMSO): $\delta = 9.68$ (d, $J_{NH,2} = 9.6$ Hz, 1H, NH), 7.94-7.64 (m, 8H, NPht), 7.36-7.19 (m, 11H, Ar), 6.96-6.72 (m, 9H, Ar), 5.53 (d, $J_{OH,4} = 5.5$ Hz, 1H, OH-4³), 5.32-5.25 (m, 2H, H-2³, H-1¹), 5.24-5.18 (m, 2H, H-1², H-1⁴), 5.13 (dd, $J_{2,3} = 9.9$ Hz, $J_{3,4} = 9.9$ Hz, 1H, H-3⁵), 5.06 (dd, $J_{3,4} = 10.0$ Hz, $J_{4,5} = 11.0$ Hz, 1H, H-4⁴), 4.96-4.87 (m, 2H, H-4⁵, CH₂O), 4.85-4.72 (m, 3H, H-1³, CH₂O, H-3⁴), 4.69 (d, $J_{1,2} = 8.3$ Hz, 1H, H-1⁵), 4.58 (d, $J_{gem} = 12.0$ Hz, 1H, CH₂O), 4.51 (d, $J_{gem} = 12.0$ Hz, 1H, CH₂O), 4.82-4.28 (m, 5H, OH-6³, CH₂O, CH₂O, CH₂O, CH₂O), 4.25-4.11 (m, 3H, H-2⁴, H-6a⁵, H-3²), 4.10-3.84 (m, 8H, H-4¹, H-3¹, H-6a⁴, H-6b⁴, H-5⁴, H-2², H-6b⁵, H-2⁵), 3.82-3.55 (m, 9H, H-2¹, H-6a², H-3³, H-5⁵, H-6a³, H-4², H-4³, H-6b², H-5¹), 3.54-3.27 (m, 4H, H-6b³, H-6a¹, H-6b¹, H-5²), 3.18-3.10 (m, 1H, H-5³), 2.05-1.89 (m, 21H, OAc),

¹³C-NMR (90 MHz, [D₆]-DMSO): $\delta = 170.1, 170.0, 169.8, 169.7, 169.6, 169.3, 169.2$ (C=O OAc), 168.0, 167.3, 167.1 (C=O NPht), 156.4 (q, $^2J_{C,F} = 36.5$ Hz, C=O TFAc), 138.4, 138.2, 138.1, 137.9 (C-1 Ar), 135.5, 134.8 (C-4/5 NPht), 130.7, 130.6 (C-1/2 NPht), 128.0, 127.4, 127.3, 126.9, 126.3 (Ar), 123.4 (C-3/6 NPht), 115.7 (q, $^1J_{C,F} = 288.1$ Hz, CF₃), 98.3 (C-1⁵), 98.0 (C-1⁴), 97.3 (C-1³), 96.4 (C-1²), 84.8 (C-1¹), 76.8 (C-3²), 76.7 (C-3³), 76.7 (C-4²), 76.6 (C-5³), 76.3 (C-3¹), 75.7 (C-5¹), 75.1 (C-4¹), 74.5 (C-5²), 74.0 (CH₂O), 73.8 (CH₂O), 73.6 (C-2⁴), 72.2 (CH₂O), 71.8 (CH₂O), 71.7 (C-3⁵), 71.0 (C-2³), 70.9 (C-5⁵), 69.4 (C-3⁴), 68.5 (C-4⁵), 68.3 (C-5⁴), 67.9 (C-6²), 67.7 (C-6¹), 66.7 (C-4³), 65.0 (C-4⁴), 62.0 (C-6⁴), 61.9 (C-6⁵), 60.4 (C-6³), 55.9 (C-2²), 54.6 (C-2¹), 53.0 (C-2⁵), 20.5, 20.4, 20.3, 20.1, 20.0 (OAc).

O-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl- α -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido-

β-D-glucopyranosyl)-(1→2)-O-(3,4,6-tri-O-acetyl-α-D-mannopyranosyl)-(1→6)]-O-(2-O-acetyl-β-D-mannopyranosyl)-(1→4)-O-(3,6-di-O-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-D-glucopyranosyl)-(1→4)-3,6-di-O-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-D-glucopyranosylazid **40**

(β-Ac₃GlcNTFAc-1,2-α-Ac₃Man-1,3-[β-Ac₃GlcNTFAc-1,2-α-Ac₃Man-1,6]-β-AcMan-1,4-β-Bzl₂GlcNPht-1,4-β-Bzl₂GlcNPht-N₃)

100 mg (53.7 μmol) Pentasaccharid **39**, 91.5 mg (107.4 μmol, 2 eq) Thioglycosid **28**, 36.3 mg (161.1 μmol, 3 eq) *N*-Iodsuccinimid und 220 mg gemörseretes, frisch ausgeglühtes Molekularsieb 4 Å werden unter Argonatmosphäre in 12 mL absolutem Dichlormethan suspendiert. Die Suspension wird 30 min bei Zimmertemperatur und 120 min bei -50 °C gerührt. Anschließend wird die Reaktion durch Zugabe von 120 μL einer gesättigten Lösung von Trifluormethansulfonsäure in absolutem Dichlormethan gestartet und zwischen -50 °C und -40 °C gerührt. Nach 105 min (DC: Hexan/Aceton, 1:1) wird die Reaktion durch die Zugabe von 10 μL (124 μmol, 2.3 eq) Pyridin abgebrochen. Die Reaktion wird mit Dichlormethan verdünnt und über Celite filtriert. Die Lösung wird je einmal mit 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung und mit gesättigter Kochsalzlösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Es werden 235 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Aceton, 2:1; Säulendurchmesser: 30 mm; Füllhöhe: 14 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 103 mg (40.7 μmol, 75.7 %),

$R_f = 0.38$ (Hexan/Aceton, 1:1),

$[\alpha]_D^{22} = -6.8$ (1.1, Dichlormethan),

C₁₁₆H₁₂₇F₆N₇O₅₀ (2533.3),

ESI-MS (100 % Acetonitril): $M_{\text{ber}} = 2531.8$ $M_{\text{gef}} = 2554.1$ (M+Na)⁺,

¹H-NMR (360 MHz, [D₆]-DMSO): δ = 9.68 (d, $J_{\text{NH},2} = 8.9$ Hz, 1H, NH), 9.45 (d, $J_{\text{NH},2} = 8.9$ Hz, 1H, NH), 7.94-7.65 (m, 8H, NPht), 7.36-7.17 (m, 11H, Ar), 6.97-6.71 (m, 9H, Ar), 5.64 (d, $J_{\text{OH},4} = 5.3$ Hz, 1H, OH-4³), 5.33-5.24 (m, 2H, H-2³, H-1¹), 5.21-5.03 (m, 5H, H-1⁴, H-3⁵, H-1², H-4⁴, H-4⁴), 5.02-4.88 (m, 3H, H-3⁵, H-3⁴, H-4⁵), 4.88-4.67 (m, 7H, CH₂O, H-4⁵, H-1⁴, H-1³, H-3⁴, H-1⁵, CH₂O), 4.58-4.47 (m, 4H, CH₂O, CH₂O, CH₂O, H-1⁵), 4.40-4.23 (m, 4H, CH₂O, CH₂O, CH₂O, H-2⁴), 4.19 (dd, $J_{5,6} = 4.9$ Hz, $J_{\text{gem}} = 13.3$ Hz, 1H,

H-6a⁵), 4.14-3.80 (m, 16H, H-3², H-3¹, H-6a⁴, H-5⁴, H-2², H-6b⁴, H-4², H-4¹, H-2⁴, H-6a⁵, H-6b⁵, H-2⁵, H-6a⁴, H-2⁵, H-5⁴, H-6b⁴), 3.79-3.51 (m, 10H, H-2¹, H-6a³, H-3³, H-5⁵, H-6a², H-4³, H-6b⁵, H-6b², H-5¹, H-6b³), 3.45-3.21 (m, 5H, H-6a¹, H-5³, H-5², H-6b¹, H-5⁵), 2.07-1.72 (m, 39H, OAc),

¹³C-NMR (90 MHz, [D₆]-DMSO): δ = 170.1, 169.9, 169.8, 169.7, 169.6, 169.4, 169.3, 169.2, 169.1 (C=O OAc), 167.8, 167.2 (C=O NPh_t), 156.5 (q, ²J_{C,F} = 36.5 Hz, C=O TFAc), 138.3, 138.2, 138.1, 138.0 (C-1 Ar), 134.8 (C-4/5 NPh_t), 130.8, 130.6 (C-1/2 NPh_t), 128.2, 128.0, 127.8, 127.7, 127.4, 127.3, 127.2, 127.1, 127.0 (CAr), 123.4 (C-3/6 NPh_t), 115.8 (q, ¹J_{C,F} = 288.1 Hz, CF₃), 115.7 (q, ¹J_{C,F} = 288.7 Hz, CF₃), 99.0 (C-1⁵β, ¹J_{C-1,H-1} = 163.1 Hz), 98.2 (C-1⁵β, ¹J_{C-1,H-1} = 166.5 Hz), 98.0 (C-1⁴α, ¹J_{C-1,H-1} = 177.7 Hz), 96.8 (C-1⁴α, ¹J_{C-1,H-1} = 174.7 Hz), 98.7 (C-1³β, ¹J_{C-1,H-1} = 164.3 Hz), 96.5 (C-1²β, ¹J_{C-1,H-1} = 167.3 Hz), 84.5 (C-1¹β, ¹J_{C-1,H-1} = 166.9 Hz), 76.6 (C-4²), 76.4 (C-3¹), 76.1 (C-3³), 75.5 (C-5¹), 75.4 (C-3²), 75.1 (C-4¹), 74.7 (C-2⁴), 74.2 (C-5²), 73.9 (C-5³), 73.6 (CH₂O), 73.2 (C-2⁴), 73.1 (CH₂O), 72.1 (CH₂O), 71.5 (CH₂O), 71.3 (C-3⁵), 71.2 (C-3⁵), 70.6 (C-5⁵), 70.6 (C-2³), 70.4 (C-5⁵), 69.6 (C-3⁴), 69.1 (C-3⁴), 68.2 (C-5⁴), 68.0 (C-4⁵), 67.6 (C-6²), 67.5 (C-4⁵), 67.5 (C-5⁴), 67.2 (C-6¹), 66.7 (C-6³), 66.4 (C-4³), 64.7 (C-4⁴), 64.3 (C-4⁴), 61.8 (C-6⁴), 61.7 (C-6⁵), 61.5 (C-6⁴), 61.2 (C-6⁵), 55.5 (C-2²), 54.3 (C-2¹), 52.9 (C-2⁵), 52.8 (C-2⁵), 20.6, 20.4, 20.3, 20.2, 20.1 (OAc).

O-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido-β-*D*-glucopyranosyl)-(1→2)-*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-α-*D*-mannopyranosyl)-(1→3)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido-β-*D*-glucopyranosyl)-(1→2)-*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-α-*D*-mannopyranosyl)-(1→4)]-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido-β-*D*-glucopyranosyl)-(1→2)-*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-α-*D*-mannopyranosyl)-(1→6)]-*O*-(2-*O*-acetyl-β-*D*-mannopyranosyl)-(1→4)-*O*-(3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-*D*-glucopyranosyl)-(1→4)-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-*D*-glucopyranosylazid **41**

(β-Ac₃GlcNTFAc-1,2-α-Ac₃Man-1,3-[β-Ac₃GlcNTFAc-1,2-α-Ac₃Man-1,4]-[β-Ac₃GlcNTFAc-1,2-α-Ac₃Man-1,6]-β-AcMan-1,4-β-Bzl₂GlcNPh_t-1,4-β-Bzl₂GlcNPh_t-N₃)

Das Nonasaccharid **41** wird durch Überreaktion bei der Synthese von **40** zu 15.6 % erhalten, wenn 2.5 eq Donor **28** bei einer Konzentration des Akzeptors **39** von 4.4 mM und einer Temperatur von -40 °C, die im Laufe der Reaktion auf -10 °C langsam erhöht wird, umgesetzt werden.

Das Überreaktionsprodukt **41** entsteht als Hauptprodukt (**40/41** = 1:2), wenn für die entsprechende Glycosylierungsreaktion 2.5 eq Trichloracetimidat **34** bei einer 4.4 mM Konzentration des Diols **39**, 0.1 eq Bortrifluorid-Diethyletherat und einer Temperatur von -40 °C verwendet werden.

$R_f = 0.31$ (Hexan/Aceton, 1:1),

$[\alpha]_D^{24} = -6.5$ (0.4, Dichlormethan),

$C_{142}H_{159}F_9N_8O_{66}$ (3204.8),

ESI-MS (100 % Acetonitril): $M_{ber} = 3202.9$ $M_{gef} = 1620.3 (M+2H_3O)^{2+}$,
 $3222.3 (M+H_3O)^+$

1H -NMR (360 MHz, [D6]-DMSO): $\delta = 9.37$ - 9.28 (m, 2H, NH), 8.90 (d, $J_{NH,2} = 9.6$ Hz, 1H, NH), 7.92-7.62 (m, 8H, NPhT), 7.41-7.19 (m, 11H, Ar), 6.97-6.57 (m, 9H, Ar), 5.49 (dd, $J_{1,2} < 1$ Hz, $J_{2,3} = 2.6$ Hz, 1H, H-2³), 5.27 (d, $J_{1,2} = 9.3$ Hz, 1H, H-1¹), 5.24-4.98 (m, 11H, H-4⁴, H-4^{4*}, H-1⁴, H-1², H-3^{5*}, H-3⁵, H-4^{4'}, H-3^{4'}, H-4^{5*}, H-3^{5'}, H-4⁵), 4.97-4.66 (m, 11H, H-3⁴, H-1^{4*}, H-3^{4*}, H-4^{5'}, H-1⁵, H-1³, CH₂O, H-1^{4'}, H-1^{5*}, CH₂O, CH₂O), 4.58 (d, $J_{1,2} = 9.9$ Hz, 1H, H-1^{5'}), 4.52 (d, $J_{gem} = 11.6$ Hz, 1H, CH₂O), 4.45-4.25 (m, 5H, CH₂O, CH₂O, CH₂O, CH₂O, H-6a⁵), 4.17-3.80 (m, 22H, H-3², H-2⁴, H-2^{4'}, H-4¹, H-4³, H-2², H-3¹, H-4², H-6a^{4*}, H-6a^{4'}, H-2^{5*}, H-2⁵, H-6b^{4'}, H-6a^{5*}, H-2^{4*}, H-6b^{4*}, H-6b⁵, H-2^{5'}, H-6a⁴, H-5^{5*}, H-6b⁴, H-5⁵), 3.77-3.63 (m, 6H, H-2¹, H-6a^{5'}, H-3³, H-5^{4'}, H-6a², H-5^{4*}), 3.61-3.43 (m, 10H, H-5⁴, H-6b^{5'}, H-5¹, H-6b^{5*}, H-6b², H-6a³, H-5^{5'}, H-6a¹, H-5³, H-6b³), 3.37-3.32 (m, 1H, H-6b¹), 3.14-3.06 (m, 1H, H-5²), 2.07-1.81 (m, 54H, OAc),

^{13}C -NMR (90 MHz, [D6]-DMSO): $\delta = 170.1$, 170.0, 169.7, 169.3, 169.0 (C=O OAc), 167.0 (C=O NPhT), 154.4, 156.2 (C=O TFAc), 138.0, 137.9 (C-1 Ar), 134.7 (C-4/5 NPhT), 130.7, 130.6 (C-1/2 NPhT), 128.3, 128.0, 127.9, 127.8, 127.5, 127.0 (Ar), 123.4 (C-3/6 NPhT), 114.0 (CF₃), 100.8 (C-1^{5*}), 100.0 (C-1⁴), 100.0 (C-1⁵), 99.8 (C-1^{4*}), 98.6 (C-1^{5'}), 97.0 (C-1^{4'}), 96.4 (C-1³), 96.4 (C-1²), 84.5 (C-1¹), 81.3 (C-3³), 76.7 (C-2^{4*}), 76.6 (C-4¹), 76.5 (C-2^{4'}),

76.1 (C-3¹), 75.4 (C-3²), 75.4 (C-5¹), 74.8 (C-5³), 74.5 (C-4²), 74.3 (C-2⁴), 74.3 (C-5²), 73.7 (CH₂O), 73.3 (CH₂O), 72.0 (CH₂O), 71.5 (CH₂O), 71.5 (C-3⁵), 71.5 (C-3^{5*}), 71.5 (C-3^{5'}), 70.6 (C-5⁵), 70.6 (C-5^{5*}), 70.5 (C-5^{5'}), 69.7 (C-2³), 69.5 (C-3^{4'}), 69.0 (C-3⁴), 69.0 (C-3^{4*}), 68.2 (C-5⁴), 67.7 (C-4^{5'}), 67.5 (C-5^{4*}), 67.4 (C-5^{4'}), 67.4 (C-6¹), 67.3 (C-4^{5*}), 67.3 (C-4³), 67.3 (C-4⁵), 67.1 (C-6³), 66.9 (C-6²), 64.8 (C-4⁴), 64.8 (C-4^{4*}), 64.3 (C-4^{4'}), 61.7 (C-6^{4*}), 61.7 (C-6⁵), 61.5 (C-6⁴), 61.5 (C-6^{4'}), 61.2 (C-6⁵), 61.0 (C-6^{5*}), 55.1 (C-2²), 54.3 (C-2¹), 53.0 (C-2⁵), 52.9 (C-2^{5'}), 52.9 (C-2^{5*}), 20.4, 20.1, 19.7 (OAc).

O-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl- α -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl- α -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)]-*O*-(2-*O*-acetyl- β -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosylazid **42**

(β -Ac₃GlcNPht-1,2- α -Ac₃Man-1,3-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,2- α -Ac₃Man-1,6]- β -AcMan-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-N₃)

20 mg (10.6 μ mol) Pentasaccharid **18**, 13.5 mg (15.8 μ mol, 1.5 eq) Thioglycosid **28**, 3.6 mg (15.8 μ mol, 1.5 eq) *N*-Iodsuccinimid und 50 mg gemörsertes, frisch ausgeglühtes Molekularsieb 4 Å werden unter Argonatmosphäre in 2.3 mL absolutem Dichlormethan suspendiert. Die Suspension wird 45 min bei Zimmertemperatur und 35 min bei -40 °C gerührt. Anschließend wird die Reaktion durch Zugabe von 80 μ L einer gesättigten Lösung von Trifluormethansulfonsäure in absolutem Dichlormethan gestartet und langsam auf -5 °C gebracht. Nach 4 h (DC: Hexan/Aceton, 1:1) wird mit Dichlormethan verdünnt und über Celite filtriert. Die Lösung wird je einmal mit 10 %iger Natriumthiosulfat-Lösung und mit 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Es werden 34 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Aceton, 2:1; Säulendurchmesser: 20 mm; Füllhöhe: 10 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 14.4 mg (5.6 μ mol, 52.9 %),

R_f = 0.31 (Hexan/Aceton, 1:1),

$[\alpha]_D^{25}$ = -10.7 (1.2, Dichlormethan),

$C_{122}H_{130}F_3N_7O_{51}$ (2567.4),

ESI-MS (100 % Acetonitril): $M_{\text{ber}} = 2565.8$ $M_{\text{gef}} = 2584.2 (M+H_3O)^+$,

$^1\text{H-NMR}$ (360 MHz, [D6]-DMSO): $\delta = 9.47$ (d, $J_{\text{NH},2} = 9.3$ Hz, 1H, NH), 7.94-7.63 (m, 12H, NPhT), 7.32-7.08 (m, 11H, Ar), 6.95-6.71 (m, 9H, Ar), 5.71-5.61 (m, 2H, H-3⁵, OH-4³), 5.34 (d, $J_{1,2} = 9.5$ Hz, 1H, H-1⁵), 5.26 (d, $J_{1,2} = 9.9$ Hz, 1H, H-1¹), 5.18-4.91 (m, 7H, H-2³, H-1², H-4⁴, H-4⁵, H-3⁵, H-4⁴, H-3⁴), 4.88-4.78 (m, 4H, H-1⁴, H-1⁴, H-4⁵, CH₂O), 4.77-4.63 (m, 3H, H-3⁴, CH₂O, H-1³), 4.55-4.42 (m, 4H, CH₂O, CH₂O, H-1⁵, CH₂O), 4.35-4.20 (m, 5H, CH₂O, CH₂O, CH₂O, H-2⁴, H-6a⁵), 4.17 (dd, $J_{1,2} = 9.5$ Hz, $J_{2,3} = 10.0$ Hz, 1H, H-2⁵), 4.10-3.80 (m, 14H, H-3², H-3¹, H-6b⁵, H-2⁴, H-2², H-6a⁵, H-4¹, H-4², H-5⁵, H-6a⁴, H-2⁵, H-5⁴, H-6a⁴, H-5⁴), 3.79-3.45 (m, 11H, H-6a³, H-2¹, H-6b⁴, H-6b⁴, H-6a², H-6b⁵, H-6b³, H-4³, H-5¹, H-6b², H-3³), 3.42-3.18 (m, 5H, H-6a¹, H-5³, H-6b¹, H-5⁵, H-5²), 2.08-1.85 (m, 39H, OAc),

$^{13}\text{C-NMR}$ (90 MHz, [D6]-DMSO): $\delta = 170.1, 169.9, 169.7, 169.6, 169.4, 169.3, 169.2, 169.1$ (C=O OAc), 167.8, 167.2 (C=O NPhT), 156.5 (q, $^2J_{\text{C,F}} = 36.5$ Hz, C=O TFAc), 138.2, 138.1, 138.0 (C-1 Ar), 134.9, 134.8 (C-4/5 NPhT), 130.7, 130.6, 130.5 (C-1/2 NPhT), 128.2, 127.9, 127.8, 127.7, 127.4, 127.3, 127.2, 127.0 (Ar), 123.4 (C-3/6 NPhT), 115.7 (q, $^1J_{\text{C,F}} = 288.1$ Hz, CF₃), 99.2 (C-1⁵β, $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 167.4$ Hz), 97.9 (C-1⁴α, $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 175.5$ Hz), 97.2 (C-1⁴α, $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 173.9$ Hz), 96.8 (C-1³β, $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 164.3$ Hz), 96.8 (C-1²β, $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 167.9$ Hz), 69.1 (C-1⁵β, $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 167.7$ Hz), 84.7 (C-1¹β, $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 167.6$ Hz), 77.1 (C-4²), 76.8 (C-3¹), 76.1 (C-3³), 75.7 (C-5¹), 75.6 (C-4¹), 75.5 (C-3²), 75.0 (C-2⁴), 74.4 (C-5³), 74.4 (C-5²), 73.9 (CH₂O), 73.5 (C-2⁴), 73.3 (CH₂O), 72.3 (CH₂O), 71.8 (CH₂O), 71.8 (C-3⁵), 71.1 (C-5⁵), 70.8 (C-5⁵), 70.6 (C-2³), 69.9 (C-3⁴), 69.7 (C-3⁵), 69.2 (C-3⁴), 68.7 (C-4⁵), 68.0 (C-5⁴), 68.0 (C-4⁵), 67.8 (C-5⁴), 67.8 (C-6²), 67.6 (C-6¹), 67.4 (C-6³), 67.2 (C-4³), 64.7 (C-4⁴), 64.6 (C-4⁴), 62.0 (C-6⁵), 61.9 (C-6⁴), 61.8 (C-6⁴), 61.6 (C-6⁵), 55.7 (C-2²), 54.6 (C-2¹), 53.7 (C-2⁵), 53.1 (C-2⁵), 20.5, 20.3, 20.2, 20.1 (OAc).

9.10 Versuche zu Kapitel 3.2.4

O-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl- α -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl- α -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)]-*O*-(2-*O*-acetyl- β -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosylazid **45**

(β -Ac₃GlcNTFAc-1,2- α -Ac₃Man-1,3-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,4]-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,2- α -Ac₃Man-1,6]- β -AcMan-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-N₃)

21.3 mg (8.4 μ mol) Heptasaccharid **40**, 47.4 mg (84.1 μ mol, 10.0 eq) Donor **G**, 37.8 mg (168.2 μ mol, 20.0 eq) *N*-Iodsuccinimid und 110 mg gemörseretes, frisch ausgeglühtes Molekularsieb 4 Å werden unter Argonatmosphäre in 0.35 mL absolutem Dichlormethan suspendiert. Die Suspension wird 60 min bei Zimmertemperatur und 30 min bei -40 °C gerührt. Anschließend wird die Reaktion durch Zugabe von 100 μ L einer gesättigten Lösung von Trifluormethansulfonsäure in absolutem Dichlormethan gestartet und 60 min zwischen -40 °C und -30 °C gerührt. Danach wird die Reaktion langsam auf 10 °C erwärmt. Nach 4 h (DC: Hexan/Ethylacetat, 1:2) wird mit Dichlormethan verdünnt und über Celite filtriert. Die Lösung wird je einmal mit 10 %iger Natriumthiosulfat-Lösung und mit 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Es werden 66 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1 \rightarrow 1:2 \rightarrow 1:3; Säulendurchmesser: 20 mm; Füllhöhe: 11 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 18.6 mg (6.38 μ mol, 75.8 %),

R_f = 0.17 (Hexan/Ethylacetat, 1:2),

$[\alpha]_D^{22}$ = -19.1 (0.7, Dichlormethan),

C₁₃₀H₁₄₃F₉N₈O₅₈ (2916.5),

D-glucopyranosyl)-(1→4)]-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido-β-*D*-glucopyranosyl)-(1→2)-*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-α-*D*-mannopyranosyl)-(1→6)]-*O*-(2-*O*-acetyl-β-*D*-mannopyranosyl)-(1→4)-*O*-(3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-*D*-glucopyranosyl)-(1→4)-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-*D*-glucopyranosylazid **46**

(β-Ac₃GlcNPht-1,2-α-Ac₃Man-1,3-[β-Ac₃GlcNTFAc-1,4]-[β-Ac₃GlcNTFAc-1,2-α-Ac₃Man-1,6]-β-AcMan-1,4-β-Bzl₂GlcNPht-1,4-β-Bzl₂GlcNPht-N₃)

11.3 mg (4.4 μmol) Heptasaccharid **42**, 24.8 mg (44.0 μmol, 10.0 eq) Donor **G**, 9.9 mg (44.0 μmol, 10.0 eq) *N*-Iodsuccinimid und 60 mg gemörsertes, frisch ausgeglühtes Molekularsieb 4 Å werden unter Argonatmosphäre in 0.4 mL absolutem Dichlormethan suspendiert. Die Suspension wird jeweils 25 min bei Zimmertemperatur und -40 °C gerührt. Anschließend wird die Reaktion durch Zugabe von 100 μL einer gesättigten Lösung von Trifluormethansulfonsäure in absolutem Dichlormethan gestartet und zwischen -40 °C und -5 °C gerührt. Nach 335 min (DC: Hexan/Ethylacetat, 1:2) wird mit Dichlormethan verdünnt und über Celite filtriert. Die Lösung wird je einmal mit 10 %iger Natriumthiosulfat-Lösung und mit 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet.

Ausbeute: nicht bestimmt,

$R_f = 0.11$ (Hexan/Ethylacetat, 1:2),

C₁₃₆H₁₄₆F₆N₈O₅₉ (2950.6),

ESI-MS (100 % Acetonitril): $M_{\text{ber}} = 2948.9$ $M_{\text{gef}} = 2967.6$ (M+H₃O)⁺.

O-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-*D*-glucopyranosyl)-(1→2)-*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-α-*D*-mannopyranosyl)-(1→3)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido-β-*D*-glucopyranosyl)-(1→4)]-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-*D*-glucopyranosyl)-(1→2)-*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-α-*D*-mannopyranosyl)-(1→6)]-*O*-(2-*O*-acetyl-β-*D*-mannopyranosyl)-(1→4)-*O*-(3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-*D*-glucopyranosyl)-(1→4)-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-*D*-glucopyranosylazid **47**

(β -Ac₃GlcNPht-1,2- α -Ac₃Man-1,3-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,4]-[β -Ac₃GlcNPht-1,2- α -Ac₃Man-1,6]- β -AcMan-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-N₃)

18.5 mg (7.1 μ mol) Heptasaccharid **43**, 37.8 mg (71.1 μ mol, 10 eq) Donor **G**, 32.0 mg (142.2 μ mol, 20 eq) *N*-Iodsuccinimid und 80 mg gemörsertes, frisch ausgeglühtes Molekularsieb 4 Å werden unter Argonatmosphäre in 0.64 mL absolutem Dichlormethan suspendiert. Die Suspension wird 35 min bei Zimmertemperatur und 130 min bei -40 °C gerührt. Anschließend wird die Reaktion durch Zugabe von 100 μ L einer gesättigten Lösung von Trifluormethansulfonsäure in absolutem Dichlormethan gestartet und 60 min bei -40 °C gerührt. Danach lässt man innerhalb von 120 min auf -10 °C erwärmen. Nach vollständigem Umsatz der Edukte (DC: Hexan/Ethylacetat, 1:2) wird die Reaktion mit Dichlormethan verdünnt und über Celite filtriert. Die Lösung wird mit 10 %iger Natriumthiosulfat-Lösung und mit 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Es werden 41 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1→1:1.5→1:2; Säulendurchmesser: 10 mm; Füllhöhe: 11 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 15.8 mg (5.3 μ mol, 74.6 %),

R_f = 0.06 (Hexan/Ethylacetat, 1:2),

C₁₄₂H₁₄₉F₃N₈O₆₀ (2984.7),

ESI-MS (50 % Acetonitril): $M_{\text{ber}} = 2982.9$ $M_{\text{gef}} = 3001.9$ (M+H₃O)⁺, 3005.8 (M+Na)⁺.

9.11 Versuche zu Kapitel 3.3

1,3,4,6-Tetra-O-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -D-glucopyranosid **49**

(Ac₄GlcNTFAc)

50 g (0.23 mol) Glucosamin-Hydrochlorid **48** werden in 240 mL 1 M wässrigem Natriumhydroxid gelöst. Mit Hilfe eines Tropftrichters werden unter intensivem Rühren 28.5 mL (0.24 mol, 1.0 eq) Anisaldehyd zugegeben. Wenn sich in der trüben Lösung ein Niederschlag

bildet, wird die Reaktionslösung auf 0 °C gekühlt und weitere 90 min intensiv gerührt. Im Anschluss wird der Niederschlag abfiltriert, zweimal mit je 200 mL Wasser und Methanol/Diethylether, 1:1 gewaschen und im Hochvakuum getrocknet. Der Rückstand (55.8 g, 0.19 mol) wird in 300 mL (3.74 mol, 19.7 eq) Pyridin suspendiert und auf 0 °C gekühlt. Es werden 167 mL (1.77 mol, 9.4 eq) Essigsäureanhydrid zugegeben und anschließend bei Zimmertemperatur gerührt. Die erhaltene Lösung wird auf 1.5 L Eis gegeben und der entstandene Niederschlag abfiltriert. Die Kristalle werden zweimal mit je 100 mL Wasser und 100 mL Ether gewaschen und im Hochvakuum getrocknet. Die erhaltenen Kristalle (69.5 g, 0.15 mol) werden in 350 mL Aceton unter Rückfluss gelöst. Es werden mit Hilfe eines Tropftrichters 35 mL (0.18 mol, 1.2 eq) 5 M Salzsäure zugegeben und die Reaktion wird intensiv gerührt. Nach Entstehung eines weißen Niederschlags, wird das Reaktionsgemisch auf Zimmertemperatur abgekühlt. Der Niederschlag wird abfiltriert, mit 100 mL Aceton und zweimal mit je 250 mL Diethylether gewaschen und im Hochvakuum getrocknet. Das erhaltene Hydrochlorid (52.7 g, 0.18 mol) wird in 365 mL Dichlormethan und 114 mL (0.14 mol, 1.0 eq) Pyridin suspendiert. Langsam werden mit Hilfe eines Tropftrichters 23.4 mL (0.17 mol, 1.2 eq) Trifluoressigsäureanhydrid unter Rühren zugegeben, wodurch sich das Reaktionsgemisch leicht erwärmt. Sobald eine klare Lösung entstanden ist, wird diese im Vakuum eingeengt und fünfmal mit Toluol codestilliert. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet, in Dichlormethan aufgenommen und jeweils zweimal mit 1 M Salzsäure und 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung sowie einmal mit Wasser extrahiert. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet, im Vakuum eingeengt und im Hochvakuum getrocknet.

Ausbeute: 60.8 g (0.18 mol, 59.1 %),

$R_f = 0.50$ (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1),

$C_{16}H_{20}F_3NO_{10}$ (443.3),

ESI-MS (100 % Methanol): $M_{ber} = 443.1$ $M_{gef} = 466.1$ (M+Na)⁺.

5-tert. Butyl-2-methyl-phenyl 3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido-1-thio-β-D-glucopyranosid G

(Ac₃GlcNTFAc-SPh(*t*Bu,Me))

11.1 g (24.9 mmol) Acetat **49** und 5.3 mL (28.8 mmol, 1.2 eq) 5-*tert*.Butyl-2-methyl-thiophenol werden in 110 mL absolutem Dichlormethan gelöst. Es werden 4.9 mL (38.7 mmol, 1.6 eq) Bortrifluorid-Diethyletherat zugegeben und die Reaktion wird 120 min (DC: Hexan/Aceton, 1.5:1) bei Zimmertemperatur gerührt. Nach vollständigem Reaktionsumsatz wird mit Dichlormethan verdünnt, die organische Phase jeweils einmal mit Wasser und mit 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird im Vakuum eingeengt und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Es werden 15.1 g Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Aceton, 4:1; Säulendurchmesser: 70 mm; Füllhöhe: 11 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 9.6 g (17.0 μ mol, 68.4 %),

$R_f = 0.53$ (Hexan/Aceton, 2:1),

$C_{25}H_{32}F_3NO_8S$ (563.6),

ESI-MS (100 % Methanol): $M_{ber} = 563.2$ $M_{gef} = 586.2$ (M+Na)⁺.

O-3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- α -D-glucopyranosyl-trichloracetimidat **44**

(Ac₃GlcNTFAc-TCAI)

33.5 g (75.6 mmol) Acetat **49** werden in 101 mL Dimethylformamid gelöst. Es werden 9.1 g (98.4 mmol, 1.3 eq) Hydrazinacetat zugegeben. Die erhaltene Suspension wird 1 h bei Zimmertemperatur gerührt. Nach Reaktionsende (DC: Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1) werden 50 mL Aceton zugegeben und weitere 30 min gerührt. Danach wird das Lösungsmittel im Hochvakuum entfernt und der Rückstand in Dichlormethan aufgenommen. Die organische Phase wird mit 1 M Salzsäure und 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet, im Vakuum eingeengt und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Das Halbacetal wird unter Argonatmosphäre in 907 mL absolutem Dichlormethan gelöst. Zu dieser Lösung werden 100 mL (1.0 mol, 13.2 eq) Trichloracetonitril und 18.2 g (130 mmol) frisch ausgeglühtes und gemörsertes Kaliumcarbonat gegeben. Die Suspension wird 13 h bei Zimmertemperatur intensiv gerührt. Nach Reaktionsende (DC: Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1) wird mit absolutem Dichlormethan verdünnt und über Celite filtriert. Die Lösung wird im Vakuum bei Zimmertemperatur eingeengt und der Rückstand im Hochvaku-

um getrocknet. Das Rohprodukt wird mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Aceton, 4:1; Säulendurchmesser: 100 mm; Füllhöhe 10 cm) gereinigt.

Ausbeute: 27.6 g (49.3 mmol, 65.2 %),

R_f (β -Halbacetal) = 0.25 (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1),

R_f (α -Halbacetal) = 0.40 (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1),

R_f (Imidat **44**) = 0.64 (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1),

$C_{16}H_{18}Cl_3F_3N_2O_9$ (545.7).

5-tert.-Butyl-2-methyl-phenyl 2,3,4,6-tetra-O-acetyl-1-thio- α -D-mannopyranosid 51

(α -Ac₄Man-SPh(*t*Bu,Me))

63.4 g (162.4 mmol) peracetylierte Mannose **50** werden unter Argonatmosphäre in 630 mL absolutem Dichlormethan gelöst. Es werden 37.0 mL (201 mmol, 1.24 eq) *5-tert.-Butyl-2-methyl-thiophenol* zugegeben. Die Reaktion wird durch Zugabe von 14.7 mL (125.1 mmol, 0.77 eq) Zinn(IV)-chlorid gestartet und 6 h bei Zimmertemperatur gerührt. Nach vollständiger Umsetzung (DC: Hexan/Aceton, 1.5:1) wird mit Dichlormethan verdünnt. Es wird solange Dichlormethan und 5 M Natriumhydroxid-Lösung zugegeben bis sich der Zinnstein vollständig löst. Die organische Phase wird abgetrennt, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingeeengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Es werden 107.9 g Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Aceton, 5:1; Säulendurchmesser: 100 mm; Füllhöhe: 12 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 63.4 g (124.2 mmol, 76.7 %),

R_f = 0.64 (Hexan/Aceton, 1.5:1),

$[\alpha]_D^{23} = +73.2$ (0.7, Dichlormethan),

$C_{25}H_{34}O_9S$ (510.6),

ESI-MS (100 % Acetonitril): $M_{ber} = 510.2$ $M_{gef} = 532.9$ (M+Na)⁺,

¹H-NMR (270 MHz, [D₆]-DMSO): $\delta = 7.53$ (d, $J_{4,6} = 1.7$ Hz, 1H, H-6 Ar), 7.28 (dd, $J_{3,4} = 8.1$ Hz, $J_{4,6} = 1.7$ Hz, 1H, H-4 Ar), 7.21 (d, $J_{3,4} = 8.1$ Hz, 1H, H-3 Ar), 5.61 (d,

$J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1), 5.39 (dd, $J_{1,2} < 1$ Hz, $J_{2,3} < 1$ Hz, 1H, H-2), 5.25-5.12 (m, 2H, H-4, H-3), 4.49-4.38 (m, 1H, H-5), 4.19 (dd, $J_{5,6} = 4.8$ Hz, $J_{\text{gem}} = 12.1$ Hz, 1H, H-6a), 4.00 (dd, $J_{5,6} =$ Hz, $J_{\text{gem}} = 12.2$ Hz, 1H, H-6b), 2.35 (s, 3H, Me), 2.10 (s, 3H, OAc), 2.06 (s, 3H, OAc), 1.97 (s, 3H, OAc), 1.93 (s, 3H, OAc), 1.25 (s, 9H, *t*Bu),

^{13}C -NMR (67.5 MHz, [D6]-DMSO): $\delta = 170.2$, 170.0 (C=O OAc), 150.0 (C-1 Ar), 137.0 (C-2 Ar), 131.5 (C-5 Ar), 130.7 (C-3 Ar), 130.2 (C-6 Ar), 125.9 (C-4 Ar), 84.9 (C-1), 70.7 (C-2), 70.1 (C-3), 69.5 (C-5), 66.0 (C-4), 62.9 (C-6), 35.1 (*t*Bu), 31.6 (CH_3 *t*Bu), 21.3, 21.0 (OAc), 19.6 (Me).

5-tert. Butyl-2-methyl-phenyl 1-thio- α -D-mannopyranosid 52

(α -Man-SPh(*t*Bu,Me))

3.52 g (6.9 mmol) Thioglycosid **51** werden in 27 mL absolutem Methanol gelöst. Hierzu wird eine Lösung von 47.6 mg (2.1 mmol, 0.3 eq) Natrium in 1.9 mL Methanol gegeben und 20 min bei Zimmertemperatur gerührt. Nach vollständigem Reaktionsumsatz (DC: Dichlormethan/Methanol, 7:1) wird mit dem Ionenaustauscher Amberlyst 15 neutralisiert. Der Ionenaustauscher wird abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet.

Ausbeute: 2.36 g (6.9 mmol, quant.),

$R_f = 0.51$ (Dichlormethan/Methanol, 7:1),

$[\alpha]_D^{23} = +158.4$ (0.5, Dichlormethan),

$\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{O}_5\text{S}$ (342.5),

ESI-MS (100 % Methanol): $M_{\text{ber}} = 342.2$ $M_{\text{gef}} = 364.9$ (M+Na) $^+$, 706.9 (2M+Na) $^+$,
1048.9 (3M+Na) $^+$,

^1H -NMR (270 MHz, [D6]-DMSO): $\delta = 7.56$ (d, $J_{4,6} = 1.9$ Hz, 1H, H-6 Ar), 7.21 (dd, $J_{3,4} = 8.0$ Hz, $J_{4,6} = 1.9$ Hz, 1H, H-4 Ar), 7.15 (d, $J_{3,4} = 8.0$ Hz, 1H, H-3 Ar), 5.25 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1), 4.78-4.51 (m, 4H, OH-2, OH-3, OH-4, OH-6), 3.94-3.90 (m, 1H, H-2),

3.84-3.74 (m, 1H, H-5), 3.64 (dd, $J_{5,6} = 2.1$ Hz, $J_{\text{gem}} = 12.2$ Hz, 1H, H-6a), 3.58-3.46 (m, 3H, H-6b, H-4, H-3), 2.32 (s, 3H, Me), 1.25 (s, 9H, *t*Bu),

^{13}C -NMR (67.5 MHz, [D6]-DMSO): $\delta = 149.7$ (C-1 Ar), 136.5 (C-2 Ar), 133.9 (C-5 Ar), 130.3 (C-3 Ar), 130.1 (C-6 Ar), 124.9 (C-4 Ar), 89.5 (C-1), 75.9 (C-5), 72.8 (C-2), 72.1 (C-3), 67.5 (C-4), 61.4 (C-6), 34.5 (qC *t*Bu), 31.6 (*t*Bu), 20.5 (Me).

9.12 Versuche zu Kapitel 3.3.1

5-tert.Butyl-2-methyl-phenyl 3,4-*O*-(2',3'-dimethoxybutan-2',3'-diyl)-1-thio- α -D-mannopyranosid **53**

(α -BdaMan-SPh(*t*Bu,Me))

14.9 g (43.6 mmol) Thioglycosid **52** werden unter Argonatmosphäre in 360 mL absolutem Methanol gelöst. Hierzu werden 6.0 mL (68.6 mmol, 1.6 eq) Butan-2,3-dion, 19.2 mL (0.175 mol, 4.0 eq) Trimethylorthoformiat und 2.7 g (11.8 mmol, 0.2 eq) Camphersulfonsäure gegeben. Die Lösung wird 16 h unter Rückfluss gerührt (DC: Cyclohexan/Ethylacetat, 1:2). Nach dem Abkühlen wird durch Zugabe von 5.0 mL (35.9 mmol, 0.8 eq) Triethylamin neutralisiert, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Das Rohprodukt wird mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Aceton, 4:1; Säulendurchmesser: 100 mm; Füllhöhe: 10 cm) gereinigt.

Ausbeute: 19.2 g (42.1 mmol, 96.4 %),

$R_f = 0.70$ (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:2),

$[\alpha]_D^{24} = +284.4$ (0.5, Dichlormethan),

$\text{C}_{23}\text{H}_{36}\text{O}_7\text{S}$ (456.6),

ESI-MS (100 % Acetonitril): $M_{\text{ber}} = 456.2$ $M_{\text{gef}} = 475.1$ ($\text{M} + \text{H}_3\text{O}^+$),

^1H -NMR (360 MHz, [D6]-DMSO): $\delta = 7.53$ (d, $J_{4,6} = 1.5$ Hz, 1H, H-6 Ar), 7.23 (dd, $J_{3,4} = 8.4$ Hz, $J_{4,6} = 1.5$ Hz, 1H, H-4 Ar), 7.16 (d,

$J_{3,4} = 8.4$ Hz, 1H, H-3 Ar), 5.47 (d, $J_{\text{OH},2} = 4.5$ Hz, 1H, OH-2), 5.25 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1), 4.63 (dd, $J_{\text{OH},6a} = J_{\text{OH},6b} = 5.8$ Hz, 1H, OH-6), 4.00-3.88 (m, 3H, H-2, H-4, H-5), 3.77 (dd, $J_{2,3} < 1$ Hz, $J_{3,4} = 6.4$ Hz, 1H, H-3), 3.57 (dd, $J_{5,6} = 4.8$ Hz, $J_{\text{gem}} = 12.1$ Hz, 1H, H-6a), 3.53-3.44 (m, 1H, H-6b), 3.18 (s, 3H, OMe), 3.14 (s, 3H, OMe), 2.32 (s, 3H, Me), 1.24 (s, 9H, *t*Bu), 1.21 (s, 3H, Bda), 1.17 (s, 3H, Bda),

^{13}C -NMR (90 MHz, [D₆]-DMSO): $\delta = 149.2$ (C-1 Ar), 136.3 (C-2 Ar), 132.6 (C-5 Ar), 130.0 (C-3 Ar), 129.8 (C-6 Ar), 124.8 (C-4 Ar), 99.5 (qC Bda), 99.0 (qC Bda), 89.4 (C-1), 73.0 (C-5), 70.0 (C-2), 68.4 (C-3), 62.8 (C-4), 59.7 (C-6), 47.3 (OMe), 34.1 (qC *t*Bu), 31.1 (*t*Bu), 19.9 (Me), 17.6 (Bda).

5-tert.Butyl-2-methyl-phenyl *O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)]-3,4-*O*-(2',3'-dimethoxybutan-2',3'-diyl)-1-thio- α -*D*-mannopyranosid **54**

(β -Ac₃GlcNTFAc-1,2-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,6]- α -BdaMan-SPh(*t*Bu,Me))

20 mg (43.8 μmol) Diol **53**, 94.3 mg (175.2 μmol , 4.0 eq) Trichloracetimidat **44** und 200 mg gemörsertes, frisch ausgeglühtes Molekularsieb 4 Å werden unter Argonatmosphäre in 1.1 mL absolutem Dichlormethan suspendiert. Die Suspension wird jeweils 30 min bei Zimmertemperatur und bei -40 °C gerührt. Anschließend wird die Reaktion durch Zugabe von 10 μL (8.8 μmol , 0.2 eq) einer Lösung von 16 μL Trifluormethansulfonsäuretrimethylsilyl-ester in 84 μL absolutem Dichlormethan gestartet und bei -40 °C gerührt. Nach 2 h (DC: Hexan/Aceton, 1:1) wird die Reaktion durch Zugabe von 10 μL (123.6 μmol , 2.8 eq) Pyridin abgebrochen, mit Dichlormethan verdünnt, und über Celite filtriert. Die Lösung wird mit 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingeengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Es werden 108 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Aceton, 3:1; Säulendurchmesser: 20 mm; Füllhöhe: 12 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 42.4 mg (34.7 μmol , 79.1 %),

$R_f = 0.61$ (Hexan/Aceton, 1:1),

$[\alpha]_D^{26} = +54.5$ (0.7, Dichlormethan),

C₅₁H₆₈F₆N₂O₂₃S (1223.1),

ESI-MS (100 % Acetonitril): M_{ber} = 1222.4 M_{gef} = 1241.5 (M+H₃O)⁺,
1245.4 (M+Na)⁺,

¹H-NMR (360 MHz, [D₆]-DMSO): δ = 9.53 (d, J_{NH,2} = 9.2 Hz, 1H, NH), 9.31 (d, J_{NH,2} = 9.2 Hz, 1H, NH), 7.58 (d, J_{4,6} = 1.6 Hz, 1H, H-6 Ar), 7.25 (dd, J_{3,4} = 8.0 Hz, J_{4,6} = 1.6 Hz, 1H, H-4 Ar), 7.16 (d, J_{3,4} = 8.0 Hz, 1H, H-3 Ar), 5.47 (d, J_{1,2} < 1 Hz, 1H, H-1¹), 5.18-5.08 (m, 2H, H-3⁶, H-3²), 4.92 (dd, J_{3,4} = 9.8 Hz, J_{4,5} = 10.1 Hz, 1H, H-4²), 4.89-4.77 (m, 2H, H-1², H-4⁶), 4.75 (d, J_{1,2} = 8.3 Hz, 1H, H-1⁶), 4.29-4.13 (m, 3H, H-6a², H-5¹, H-2¹), 4.05 (dd, J_{5,6} = 5.5 Hz, J_{gem} = 12.5 Hz, 1H, H-6a⁶), 7.02-3.95 (m, 1H, H-6b²), 3.95-3.71 (m, 7H, H-2², H-6b⁶, H-3¹, H-2⁶, H-5⁶, H-6a¹, H-5²), 3.62 (dd, J_{5,6} = 7.7 Hz, J_{gem} = 11.7 Hz, 1H, H-6b¹), 3.51 (dd, J_{3,4} = 10.1 Hz, J_{4,5} = 10.1 Hz, 1H, H-4¹), 3.16 (s, 3H, OMe), 3.06 (s, 3H, OMe), 2.31 (s, 3H, Me), 2.02-1.86 (m, 18H, OAc), 1.27 (s, 9H, *t*Bu), 1.16 (s, 3H, Bda), 1.13 (s, 3H, Bda),

¹³C-NMR (90 MHz, [D₆]-DMSO): δ = 170.0, 169.9, 169.6, 169.3, 169.1 (C=O OAc), 156.5 (q, ²J_{C,F} = 36.5 Hz, C=O TFAc), 156.2 (q, ²J_{C,F} = 36.5 Hz, C=O TFAc), 149.3 (C-1 Ar), 136.3 (C-2 Ar), 132.6 (C-5 Ar), 130.1 (C-6 Ar), 129.8 (C-3 Ar), 125.1 (C-4 Ar), 115.7 (q, ¹J = 288.7 Hz, CF₃), 100.2 (C-1⁶β, ¹J_{C-1,H-1} = 165.1 Hz), 99.7 (qC Bda), 99.0 (qC Bda), 97.6 (C-1²β, ¹J_{C-1,H-1} = 164.3 Hz), 85.5 (C-1¹α, ¹J_{C-1,H-1} = 169.7 Hz), 76.2 (C-2¹), 72.2 (C-3²), 71.7 (C-3⁶), 71.3 (C-5²), 71.1 (C-5¹), 70.9 (C-5⁶), 69.3 (C-6¹), 68.3 (C-4⁶), 68.0 (C-4²), 67.0 (C-3¹), 63.4 (C-4¹), 62.1 (C-6⁶), 61.5 (C-6²), 53.5 (C-2⁶), 53.1 (C-2²), 47.4 (OMe), 47.2 (OMe), 34.1 (qC *t*Bu), 31.1 (*t*Bu), 20.4, 20.1, 20.0 (OAc, Me), 17.5 (Bda).

5-tert-Butyl-2-methyl-phenyl O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido-β-D-glucopyranosyl)-(1→2)-[O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido-β-D-glucopyranosyl)-(1→6)]-3,4-di-O-acetyl-1-thio-α-D-mannopyranosid 55

(β-Ac₃GlcNTFAc-1,2-[β-Ac₃GlcNTFAc-1,6]-α-Ac₂Man-SPh(*t*Bu,Me))

34.5 mg (28.2 μmol) Trisaccharid **54** werden in 1.7 mL Trifluoressigsäure/Wasser, 9:1 gelöst und bei Zimmertemperatur gerührt. Nach 2 min wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt

und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Der Rückstand wird in Dichlormethan aufgenommen, mit 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet, im Vakuum eingengt und im Hochvakuum getrocknet. Der Rückstand wird in 2.1 mL Essigsäureanhydrid/Pyridin, 5:1 gelöst und 1 d bei Zimmertemperatur gerührt (DC: Hexan/Aceton, 1:1). Die Lösung wird im Vakuum eingengt, der Rückstand dreimal mit Toluol codestilliert und in Dichlormethan aufgenommen. Die organische Phase wird je einmal mit 1 M Salzsäure und 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet, im Vakuum eingengt und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Es werden 32 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Aceton, 3:1; Säulendurchmesser: 10 mm; Füllhöhe: 10 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 29.7 mg (24.9 μmol , 88.3 %),

R_f (Diol) = 0.51 (Hexan/Aceton, 1:1),

R_f (Produkt **55**) = 0.75 (Hexan/Aceton, 1:1),

$[\alpha]_D^{24} = +1.6$ (0.5, Dichlormethan),

$\text{C}_{49}\text{H}_{62}\text{F}_6\text{N}_2\text{O}_{23}\text{S}$ (1193.1),

ESI-MS:

Diol (100 % Acetonitril): $M_{\text{ber}} = 1108.3$ $M_{\text{gef}} = 1147.2$ (M+Na)⁺,

Produkt **55** (100 % Acetonitril): $M_{\text{ber}} = 1192.3$ $M_{\text{gef}} = 1231.7$ (M+K)⁺,

¹H-NMR (360 MHz, [D6]-DMSO): $\delta = 9.52$ (d, $J_{\text{NH},2} = 8.7$ Hz, 1H, NH), 9.41 (d, $J_{\text{NH},2} = 9.5$ Hz, 1H, NH), 7.62 (d, $J_{4,6} = 1.6$ Hz, 1H, H-6 Ar), 7.22 (dd, $J_{3,4} = 8.1$ Hz, $J_{4,6} = 1.6$ Hz, 1H, H-4 Ar), 7.14 (d, $J_{3,4} = 8.1$ Hz, 1H, H-3 Ar), 5.62 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1¹), 7.16-7.03 (m, 2H, H-3⁶, H-3²), 4.99-4.77 (m, 5H, H-4¹, H-4², H-3¹, H-4⁶, H-1²), 4.70 (d, $J_{1,2} = 8.6$ Hz, 1H, H-1⁶), 4.35 (dd, $J_{1,2} < 1$ Hz, $J_{2,3} < 1$ Hz, 1H, H-2¹), 4.29-4.21 (m, 1H, H-5¹), 4.16 (dd, $J_{5,6} = 5.0$ Hz, $J_{\text{gem}} = 12.0$ Hz, 1H, H-6a⁶), 4.07 (dd, $J_{5,6} = 5.20$ Hz, $J_{\text{gem}} = 12.8$ Hz, 1H, H-6a²), 4.00-3.77 (m, 6H, H-6b⁶, H-6b², H-2², H-5², H-2⁶, H-5⁶), 3.64-3.51 (m, 2H, H-6a¹, H-6b¹), 2.29 (s, 3H, Me), 2.02 (s, 3H, OAc), 2.00 (s, 3H, OAc), 1.98 (s, 3H, OAc), 1.97 (s, 3H, OAc), 1.96 (s, 3H, OAc), 1.95 (s, 3H, OAc), 1.91 (s, 3H, OAc), 1.89 (s, 3H, OAc), 1.25 (s, 9H, *t*Bu),

¹³C-NMR (90 MHz, [D6]-DMSO): $\delta = 170.0, 169.9, 169.6, 169.5, 169.4, 169.2, 169.1$ (C=O OAc), 156.7 (q, $^2J_{\text{C,F}} = 36.5$ Hz, C=O TFAc), 156.3 (q, $^2J_{\text{C,F}} = 36.5$ Hz, C=O TFAc),

149.4 (C-1 Ar), 134.7 (C-2 Ar), 132.9 (C-5 Ar), 129.6 (C-3 Ar), 127.6 (C-6 Ar), 124.2 (C-4 Ar), 115.6 (q, $^1J_{C,F} = 288.1$ Hz, CF₃), 115.6 (q, $^1J_{C,F} = 288.1$ Hz, CF₃), 99.7 (C-1⁶), 98.6 (C-1²), 84.4 (C-1¹), 76.4 (C-2¹), 72.1 (C-3⁶), 71.4 (C-3²), 70.9 (C-5⁶), 70.8 (C-5²), 70.1 (C-5¹), 69.9 (C-3¹), 69.4 (C-6¹), 68.2 (C-4⁶), 68.1 (C-4²), 66.3 (C-4¹), 62.0 (C-6²), 61.8 (C-6⁶), 53.1 (C-2²), 53.1 (C-2⁶), 34.1 (qC *t*Bu), 31.0 (*t*Bu), 20.3, 20.2, 20.0, 19.8 (OAc, Me).

9.13 Versuche zu Kapitel 3.3.2

5-tert. Butyl-2-methyl-phenyl 3,6-di-O-allyl-1-thio- α -D-mannopyranosid 56

(α -All₂Man-SPh(*t*Bu,Me))

15.0 g (43.8 mmol) Thiomannosid **52** werden in 375 mL Methanol gelöst. Es werden 21.8 g (87.4 mmol, 2.0 eq) Dibutylzinnoxid zugegeben und die erhaltene Suspension wird 4 h unter Rückfluss gerührt. Die entstandene klare Lösung wird im Vakuum eingeeengt, der Rückstand mit 20.0 g (131.1 mmol, 3 eq) Cäsiumfluorid versetzt und über Nacht im Hochvakuum getrocknet. Das Feststoffgemisch wird unter Argonatmosphäre bei 0 °C in 150 mL absolutem *N,N*-Dimethylformamid suspendiert. Nach Zugabe von 38.3 mL (0.4 mol, 10.0 eq) Allylbromid wird bei Zimmertemperatur 40 h (DC: Hexan/Aceton, 1:1) gerührt. Die Reaktion wird durch Zugabe von 36 mL Ethylacetat und 0.6 mL Wasser beendet und für weitere 30 min gerührt. Anschließend wird über Celite filtriert, die Lösung im Vakuum eingeeengt und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Das erhaltene Rohprodukt wird mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Aceton, 3:1; Säulendurchmesser: 95 mm; Füllhöhe: 11 cm) gereinigt.

Ausbeute: 8.1 g (19.3 mmol, 44.0 %),

$R_f = 0.74$ (Hexan/Aceton, 1:1),

$[\alpha]_D^{26} = +148.4$ (1.1, Dichlormethan),

C₂₃H₃₄O₅S (422.6),

ESI-MS (100 % Acetonitril): $M_{ber} = 422.1$ $M_{gef} = 445.2$ (M+Na)⁺,

$^1\text{H-NMR}$ (360 MHz, $[\text{D}_6]\text{-DMSO}$): δ = 7.55 (d, $J_{4,6}$ = 1.8 Hz, 1H, H-6 Ar), 7.20 (dd, $J_{3,4}$ = 8.0 Hz, $J_{4,6}$ = 1.8 Hz, 1H, H-4 Ar), 7.14 (d, $J_{3,4}$ = 8.0 Hz, 1H, H-3 Ar), 5.98-5.73 (m, 2H, =CH-, =CH-), 5.37-5.27 (m, 2H, $\text{H}_2\text{C}=\text{trans}$, H-1), 5.22-5.05 (m, 5H, $\text{H}_2\text{C}=\text{cis}$, $\text{H}_2\text{C}=\text{trans}$, OH-2, OH-4, $\text{H}_2\text{C}=\text{cis}$), 4.18-4.02 (m, 3H, CH_2O , H-2, CH_2O), 3.99-3.92 (m, 1H, H-5), 3.90-3.86 (m, 2H, CH_2O , CH_2O), 3.66-3.48 (m, 3H, H-6a, H-4, H-6b), 3.39-3.34 (m, 1H, H-3), 2.29 (s, 3H, Me), 1.24 (s, 9H, *t*Bu),

$^{13}\text{C-NMR}$ (90 MHz, $[\text{D}_6]\text{-DMSO}$): δ = 149.2 (C-1 Ar), 135.8 (=CH-), 135.6 (C-2 Ar), 135.2 (=CH-), 133.4 (C-5 Ar), 129.7 (C-3 Ar), 128.7 (C-6 Ar), 124.2 (C-4 Ar), 116.3 ($\text{H}_2\text{C}=\text{}$), 88.6 (C-1), 79.1 (C-3), 74.1 (C-5), 71.3 (CH_2O), 69.6 (CH_2O), 69.6 (C-6), 68.9 (C-2), 65.9 (C-4), 34.1 (qC *t*Bu), 31.0 (*t*Bu), 19.8 (Me).

*5-tert-Butyl-2-methyl-phenyl O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-3,6-di-O-allyl-1-thio- α -D-mannopyranosid **57***

(β -Ac₃GlcNTFAc-1,2-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,4]- α -All₂Man-SPh(*t*Bu,Me))

250 mg (0.59 mmol) Diol **56**, 969 mg (1.78 mmol, 3.0 eq) Imidat **44** und 1.65 g gemörsertes, frisch ausgeglühtes Molekularsieb 4 Å werden unter Argonatmosphäre in 15 mL absolutem Dichlormethan suspendiert. Die Suspension wird jeweils 45 min bei Zimmertemperatur und bei -40 °C gerührt. Anschließend wird die Reaktion durch Zugabe von 16 μL (88.5 μmol , 0.2 eq) Trifluormethansulfonsäuretrimethylsilylester gestartet und bei -40 °C gerührt. Nach 90 min (DC: Hexan/Aceton, 2:1) wird die Reaktion durch Zugabe von Pyridin abgebrochen, mit Dichlormethan verdünnt und über Celite filtriert. Die Lösung wird mit 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Es werden 1.11 g Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Aceton, 3:1; Säulendurchmesser: 50 mm; Füllhöhe: 14 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 409 mg (0.34 mmol, 58.3 %),

R_f = 0.26 (Hexan/Aceton, 1:1),

$[\alpha]_D^{26}$ = +30.1 (0.7, Dichlormethan),

C₅₁H₆₆F₆N₂O₂₁S (1189.1),

ESI-MS (100 % Methanol): M_{ber} = 1188.4 M_{gef} = 1211.2 (M+Na)⁺, 1227.2 (M+K)⁺,

¹H-NMR (360 MHz, [D₆]-DMSO): δ = 9.61 (d, J_{NH,2} = 9.1 Hz, 1H, NH), 9.42 (d, J_{NH,2} = 9.2 Hz, 1H, NH), 7.63 (d, J_{4,6} = 1.5 Hz, 1H, H-6 Ar), 7.18 (dd, J_{4,3} = 7.9 Hz, J_{4,6} = 1.5 Hz, 1H, H-4 Ar), 7.12 (d, J_{3,4} = 7.9 Hz, 1H, H-3 Ar), 6.00-5.85 (m, 1H, =CH-), 5.77-5.64 (m, 2H, =CH-, H-1¹), 5.28 (d, J_{H₂C=,=CH-} = 16.7 Hz, 1H, H₂C= trans), 5.15-4.99 (m, 5H, H₂C= cis, H-3⁴, H-1⁴, H₂C= trans, H-3², H₂C= cis), 4.96-4.86 (m, 2H, H-4⁴, H-4²), 4.84 (d, J_{1,2} = 8.6 Hz, 1H, H-1²), 4.36 (dd, J_{1,2} < 1 Hz, J_{2,3} < 1 Hz, 1H, H-2¹), 4.28 (dd, J_{CH₂O,=CH-} = 4.3 Hz, J_{gem} = 12.1 Hz, 1H, CH₂O), 4.20 (dd, J_{5,6} = 4.4 Hz, J_{gem} = 12.2 Hz, 1H, H-6a²), 4.15-3.57 (m, 13H, H-6a⁴, H-6b⁴, H-6b², H-5¹, CH₂O, H-5⁴, H-2², CH₂O, H-2⁴, CH₂O, H-5², H-4¹, H-3¹), 3.44-3.29 (m, 2H, H-6a¹, H-6b¹), 2.27 (s, 3H, Me), 2.01 (s, 3H, OAc), 2.00 (s, 3H, OAc), 1.97 (s, 3H, OAc), 1.96 (s, 3H, OAc), 1.90 (s, 3H, OAc), 1.88 (s, 3H, OAc), 1.23 (s, 9H, *t*Bu),

¹³C-NMR (90 MHz, [D₆]-DMSO): δ = 170.0, 169.7, 169.4, 169.2 (C=O OAc), 156.5 (q, ²J_{C,F} = 36.5 Hz, C=O TFAc), 156.4 (q, ²J_{C,F} = 36.5 Hz, C=O TFAc), 149.4 (C-1 Ar), 135.3, 134.8 (=CH-), 133.9 (C-2 Ar), 133.5 (C-5 Ar), 129.5 (C-3 Ar), 126.7 (C-6 Ar), 123.7 (C-4 Ar), 116.1 (H₂C=), 115.7 (q, ¹J_{C,F} = 288.7 Hz, CF₃), 115.6 (q, ¹J_{C,F} = 288.1 Hz, CF₃), 99.3 (C-1⁴β, ¹J_{C-1,H-1} = 165.6 Hz), 99.0 (C-1²β, ¹J_{C-1,H-1} = 165.0 Hz), 83.8 (C-1¹α, ¹J_{C-1,H-1} = 171.6 Hz), 76.8 (C-3¹), 75.4 (C-2¹), 74.4 (C-4¹), 72.2 (C-3²), 72.0 (C-3⁴), 71.3 (CH₂O), 71.2 (C-5¹), 70.8 (C-5⁴), 70.8 (C-5²), 68.2 (C-6¹), 68.4 (CH₂O), 68.1 (C-4²), 68.0 (C-4⁴), 62.0 (C-6⁴), 61.7 (C-6²), 54.5 (C-2⁴), 53.3 (C-2²), 34.2 (qC *t*Bu), 30.9 (*t*Bu), 20.5, 20.4, 20.0 (OAc), 19.7 (Me).

O-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido-β-*D*-glucopyranosyl)-(1→2)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido-β-*D*-glucopyranosyl)-(1→4)]-*O*-1,3,6-tri-*O*-acetyl-*D*-mannopyranose **59**

(β-Ac₃GlcNTFAc-1,2-[β-Ac₃GlcNTFAc-1,4]-Ac₃Man)

200 mg (0.17 mmol) Trisaccharid **57** werden unter Argonatmosphäre in 14 mL sauerstofffreier Essigsäure gelöst. Zu dieser Lösung werden 60 mg (0.34 mmol, 2.0 eq) wasserfreies Palladium(II)-chlorid und 66 mg (0.84 mmol, 5 eq) wasserfreies Natriumacetat gegeben und 200 min bei 70 °C gerührt (DC: Hexan/Aceton, 1:1). Die Suspension wird über Celite filtriert, im Vakuum eingengt und der Rückstand in Dichlormethan aufgenommen. Die organische Phase wird zweimal mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung und einmal mit 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet, in 12 mL Essigsäureanhydrid/Pyridin, 5:1 gelöst und 1 d bei Zimmertemperatur gerührt (DC: Hexan/ Aceton, 1:1). Die Lösung wird im Vakuum eingengt, der Rückstand dreimal mit Toluol codestilliert und in Dichlormethan aufgenommen. Die organische Phase wird je einmal mit 1 M Salzsäure und 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet, im Vakuum eingengt und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Es werden 173 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Aceton, 3:1; Säulendurchmesser: 35 mm; Füllhöhe: 18 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 65.0 mg (60.6 μ mol, 35.6 %; es wird bei dieser Reaktion ein Anomerengemisch mit unterschiedlicher Zusammensetzung erhalten.),

R_f (Diol) = 0.39 (Hexan/Aceton, 1:1).

R_f (Produkt **59**) = 0.49 (Hexan/Aceton, 1:1),

$[\alpha]_D^{23} = -34.3$ (0.8, Dichlormethan, β -Anomer),

$C_{40}H_{50}F_6N_2O_{25}$ (1072.8),

ESI-MS (100 % Acetonitril): $M_{ber} = 1073.3$ $M_{gef} = 1095.7$ (M+Na)⁺,

α -Anomer:

¹H-NMR (360 MHz, [D₆]-DMSO): $\delta = 9.69$ (d, $J_{NH,2} = 9.6$ Hz, 1H, NH), 9.62 (d, $J_{NH,2} = 9.1$ Hz, 1H, NH), 6.00 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1¹), 5.19-5.02 (m, 2H, H-3⁴, H-3²), 4.99-4.81 (m, 4H, H-1⁴, H-3¹, H-4², H-4⁴), 4.74 (d, $J_{1,2} = 9.6$ Hz, 1H, H-1²), 4.29 (dd, $J_{5,6} < 1$ Hz, $J_{gem} = 12.0$ Hz, 1H, H-6a¹), 4.25-3.98 (m, 4H, H-6a², H-6a⁴, H-2¹, H-4¹), 3.95-3.60 (m, 8H, H-6b⁴, H-5⁴, H-2², H-6b², H-5², H-2⁴, H-5¹, H-6b¹), 2.15-1.83 (m, 27H, OAc),

^{13}C -NMR (90 MHz, [D6]-DMSO): δ = 170.0, 169.7, 169.6, 169.5, 169.4, 169.3, 169.2, 168.4 (C=O OAc), 156.5 (q, $^2J_{\text{C,F}}$ = 35.9 Hz, C=O TFAc), 156.4 (q, $^2J_{\text{C,F}}$ = 37.2 Hz, C=O TFAc), 115.7 (q, $^1J_{\text{C,F}}$ = 288.1 Hz, CF_3), 115.6 (q, $^1J_{\text{C,F}}$ = 288.1 Hz, CF_3), 98.9 (C-1 $^2\beta$, $^1J_{\text{C-1,H-1}}$ = 166.3 Hz), 98.6 (C-1 $^4\beta$, $^1J_{\text{C-1,H-1}}$ = 166.3 Hz), 89.9 (C-1 $^1\alpha$, $^1J_{\text{C-1,H-1}}$ = 181.3 Hz), 73.1 (C-2 1), 71.6 (C-3 2), 71.5 (C-3 4), 71.5 (C-4 1), 70.5 (C-3 1), 70.5 (C-5 2), 70.5 (C-5 4), 69.4 (C-5 1), 68.1 (C-4 4), 67.8 (C-4 2), 61.7 (C-6 2), 61.6 (C-6 4), 61.1 (C-6 1), 54.0 (C-2 4), 52.9 (C-2 2), 20.7, 20.4, 20.3, 20.2, 20.0, 19.9 (OAc).

β -Anomer:

^1H -NMR (360 MHz, [D6]-DMSO): δ = 9.64 (d, $J_{\text{NH},2}$ = 9.2 Hz, 1H, NH), 9.22 (d, $J_{\text{NH},2}$ = 9.3 Hz, 1H, NH), 5.78 (d, $J_{1,2}$ < 1 Hz, 1H, H-1 1), 5.35 (dd, $J_{2,3}$ = 9.8 Hz, $J_{3,4}$ = 9.7 Hz, 1H, H-3 2), 5.17 (dd, $J_{2,3}$ = 10.0 Hz, $J_{3,4}$ = 9.7 Hz, 1H, H-3 4), 4.97 (dd, $J_{2,3}$ = 3.1 Hz, $J_{3,4}$ = 8.9 Hz, 1H, H-3 1), 4.93 (d, $J_{1,2}$ = 8.7 Hz, 1H, H-1 4), 4.89-4.81 (m, 2H, H-4 4 , H-4 2), 4.65 (d, $J_{1,2}$ = 8.4 Hz, 1H, H-1 2), 4.32 (dd, $J_{5,6}$ < 1 Hz, J_{gem} = 10.7 Hz, 1H, H-6a 1), 4.24-4.13 (m, 3H, H-6a 4 , H-6a 2 , H-2 1), 3.94-3.62 (m, 9H, H-2 2 , H-4 1 , H-6b 4 , H-5 4 , H-6b 2 , H-5 2 , H-2 4 , H-6b 1 , H-5 1), 2.15-1.83 (m, 27H, OAc),

^{13}C -NMR (90 MHz, [D6]-DMSO): δ = 170.5, 170.1, 169.8, 169.6, 169.5, 169.4, 169.3, 169.2, 168.8 (C=O OAc), 156.5 (q, $^2J_{\text{C,F}}$ = 36.5 Hz, C=O TFAc), 156.3 (q, $^2J_{\text{C,F}}$ = 36.5 Hz, C=O TFAc), 115.7 (q, $^1J_{\text{C,F}}$ = 288.7 Hz, CF_3), 115.6 (q, $^1J_{\text{C,F}}$ = 288.7 Hz, CF_3), 100.6 (C-1 $^2\beta$, $^1J_{\text{C-1,H-1}}$ = 167.3 Hz), 98.4 (C-1 $^4\beta$, $^1J_{\text{C-1,H-1}}$ = 167.3 Hz), 90.5 (C-1 $^1\beta$, $^1J_{\text{C-1,H-1}}$ = 166.6 Hz), 73.1 (C-2 1), 72.1 (C-4 1), 72.1 (C-5 1), 71.8 (C-3 1), 71.6 (C-3 4), 71.6 (C-3 2), 70.6 (C-5 4), 70.3 (C-5 2), 68.6 (C-4 2), 68.2 (C-4 4), 62.0 (C-6 4), 61.9 (C-6 2), 61.4 (C-6 1), 54.2 (C-2 4), 53.7 (C-2 2), 20.5, 20.4, 20.2, 20.1, 20.0 (OAc).

*Benzyl O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-O-3,6-di-O-allyl- α -D-mannopyranosid **61***

(β -Ac $_3$ GlcNTFAc-1,2-[β -Ac $_3$ GlcNTFAc-1,4]- α -All $_2$ Man-OBzl)

3.0 g (8.6 mmol) Benzylmannosid **60**, 14.0 g (25.7 mol, 3.0 eq) Trichloracetimidat **44** und 17.0 g gemörserteres, frisch ausgeglühtes Molekularsieb 4 Å werden unter Argonatmosphäre in

210 mL absolutem Dichlormethan suspendiert. Die Suspension wird 30 min bei Raumtemperatur und 90 min bei $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt. Anschließend wird die Reaktion durch Zugabe von 0.23 mL (1.3 mmol, 0.2 eq) Trifluormethansulfonsäuretrimethylsilylester gestartet und bei $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt. Nach 75 min (DC: Hexan/Ethylacetat, 1:2) wird mit Dichlormethan verdünnt und über Celite filtriert. Die Lösung wird mit 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingedunstet. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Das erhaltene Rohprodukt wird mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Aceton, 3:1; Säulendurchmesser: 90 mm; Füllhöhe: 14 cm) gereinigt.

Ausbeute: 8.5 g (7.52 mmol, 87.8 %),

$R_f = 0.63$ (Hexan/Ethylacetat, 1:2),

$[\alpha]_D^{23} = +7.1$ (0.5, Dichlormethan),

$\text{C}_{47}\text{H}_{58}\text{F}_6\text{N}_2\text{O}_{22}$ (1117.0),

ESI-MS (100 % Acetonitril): $M_{\text{ber}} = 1116.3$ $M_{\text{gef}} = 1139.3$ (M+Na) $^+$, 1155.3 (M+K) $^+$,

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $[\text{D}_6]\text{-DMSO}$): $\delta = 9.60$ (d, $J_{\text{NH}_2} = 8.8$ Hz, 1H, NH), 9.49 (d, $J_{\text{NH}_2} = 8.8$ Hz, 1H, NH), 7.40-7.27 (m, 5H, Ar), 5.94-5.84 (m, 1H, =CH-), 5.84-5.76 (m, 1H, =CH-), 5.24 (d, $J_{\text{H}_2\text{C}=\text{CH}} = 16.5$ Hz, 1H, $\text{H}_2\text{C}=\text{trans}$), 5.17 (d, $J_{\text{H}_2\text{C}=\text{CH}} = 17.6$ Hz, 1H, $\text{H}_2\text{C}=\text{trans}$), 5.14-5.03 (m, 5H, H-3 2 , H-3 4 , $\text{H}_2\text{C}=\text{cis}$, $\text{H}_2\text{C}=\text{cis}$, H-1 4), 4.97 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1 1), 4.93-4.83 (m, 2H, H-4 2 , H-4 4), 4.79 (d, $J_{1,2} = 7.7$ Hz, 1H, H-1 2), 4.62 (d, $J_{\text{gem}} = 12.1$ Hz, 1H, CH_2O), 4.40 (d, $J_{\text{gem}} = 12.1$ Hz, 1H, CH_2O), 4.23-4.05 (m, 4H, CH_2O , H-6a 4 , H-2 1 , H-6a 2), 4.04-3.93 (m, 2H, H-6b 2 , H-6b 4), 3.91-3.78 (m, 5H, CH_2O , CH_2O , CH_2O , H-2 2 , H-5 2), 3.73 (ddd, $J_{\text{NH}_2} = 8.8$ Hz, $J_{1,2} = 9.9$ Hz, $J_{2,3} = 10.5$ Hz, 1H, H-2 4), 3.68-3.50 (m, 4H, H-5 4 , H-3 1 , H-4 1 , H-5 1), 3.43 (dd, $J_{5,6} < 1$ Hz, $J_{\text{gem}} = 10.7$ Hz, 1H, H-6a 1), 3.30-3.25 (m, 1H, H-6b 1), 2.01-1.85 (m, 18H, OAc),

$^{13}\text{C-NMR}$ (90 MHz, $[\text{D}_6]\text{-DMSO}$): $\delta = 170.0$, 169.6, 169.4, 169.3, 169.2 (C=O OAc), 156.5 (q, $^2J_{\text{C,F}} = 36.5$ Hz, C=O TFAc), 156.4 (q, $^2J_{\text{C,F}} = 36.5$ Hz, C=O TFAc), 137.3 (C-1 Ar), 135.5, 135.1 (=CH-), 128.1, 127.7 (Ar), 115.7 (q, $^1J_{\text{C,F}} = 288.1$ Hz, CF_3), 115.7 ($\text{H}_2\text{C}=\text{}$), 99.3 (C-1 $^4\beta$, $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 167.4$ Hz), 99.0 (C-1 $^2\beta$, $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 164.8$ Hz), 96.7 (C-1 $^1\alpha$, $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 171.5$ Hz), 76.4 (C-3 1), 74.5 (C-4 1), 73.2 (C-2 1), 72.1 (C-3 4), 72.0 (C-3 2), 70.9 (CH_2O), 70.8 (C-5 2), 70.8 (C-5 4), 70.3 (C-5 1), 69.2 (C-6 1), 68.7 (CH_2O), 68.4 (CH_2O),

68.3 (C-4²), 68.0 (C-4⁴), 62.0 (C-6²), 61.7 (C-6⁴), 54.4 (C-2⁴), 53.4 (C-2²), 20.4, 20.1, 20.0 (OAc).

Benzyl O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido-β-D-glucopyranosyl)-(1→2)-[O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido-β-D-glucopyranosyl)-(1→4)]-O-3,6-di-O-acetyl-α-D-mannopyranosid 62

(β-Ac₃GlcNTFAc-1,2-[β-Ac₃GlcNTFAc-1,4]-α-Ac₂Man-OBzl)

1.0 g (0.9 mmol) allyliertes Trisaccharid **61** werden unter Argonatmosphäre in 25 mL absolutem Methanol gelöst. Zu dieser Lösung werden 794 mg (4.5 mmol, 5.0 eq) wasserfreies Palladium(II)-chlorid gegeben und 1 h bei Zimmertemperatur gerührt (DC: Hexan/Ethylacetat, 1:2). Die Suspension wird über Celite filtriert, im Vakuum eingengt und der Rückstand in Dichlormethan aufgenommen. Die organische Phase wird je einmal mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung und 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet, in 60 mL Essigsäureanhydrid/Pyridin, 5:1 gelöst und 19 h bei Zimmertemperatur gerührt (DC: Hexan/Ethylacetat, 1:2). Die Lösung wird im Vakuum eingengt, der Rückstand dreimal mit Toluol codestilliert und in Dichlormethan aufgenommen. Die organische Phase wird je einmal mit 1 M Salzsäure und 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet, im Vakuum eingengt und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Es werden 800 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Aceton, 1:1; Säulendurchmesser: 40 mm; Füllhöhe: 13 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 664 mg (0.59 mmol, 66.1 %),

R_f (Diol) = 0.27 (Hexan/Ethylacetat, 1:2),

R_f (Produkt **62**) = 0.64 (Hexan/Ethylacetat, 1:2),

$[\alpha]_D^{23} = -11.3$ (0.5, Dichlormethan),

C₄₅H₅₄F₆N₂O₂₄ (1120.9),

ESI-MS (100 % Acetonitril): $M_{\text{ber}} = 1120.3$ $M_{\text{gef}} = 1139.8$ (M+H₃O)⁺,

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $[\text{D}_6]\text{-DMSO}$): $\delta = 9.60$ (d, $J_{\text{NH},2} = 9.5$ Hz, 1H, NH), 9.55 (d, $J_{\text{NH},2} = 9.4$ Hz, 1H, NH), 7.41-7.28 (m, 5H, Ar), 5.15 (dd, $J_{2,3} = 10.0$ Hz, $J_{3,4} = 9.2$ Hz, 1H, H-3⁴), 5.06 (dd, $J_{2,3} = 9.9$ Hz, $J_{3,4} = 9.6$ Hz, 1H, H-3²), 4.98-4.78 (m, 5H, H-1¹, H-4², H-1⁴, H-4⁴, H-3¹), 4.71 (d, $J_{1,2} = 8.7$ Hz, 1H, H-1²), 4.63 (d, $J_{\text{gem}} = 11.6$ Hz, 1H, CH₂O), 4.40 (d, $J_{\text{gem}} = 11.6$ Hz, 1H, CH₂O), 4.31 (dd, $J_{5,6} < 1$ Hz, $J_{\text{gem}} = 11.4$ Hz, 1H, H-6a¹), 4.22-4.10 (m, 2H, H-6a², H-6a⁴), 4.07 (dd, $J_{1,2} < 1$ Hz, $J_{2,3} = 3.3$ Hz, 1H, H-2¹), 4.01-3.93 (m, 2H, H-6b⁴, H-4¹), 3.92-3.59 (m, 7H, H-2², H-5⁴, H-5², H-6b², H-2⁴, H-6b¹, H-5¹), 2.06-1.85 (m, 24H, OAc),

$^{13}\text{C-NMR}$ (90 MHz, $[\text{D}_6]\text{-DMSO}$): $\delta = 170.1$, 169.8, 169.6, 169.5, 169.2 (C=O OAc), 156.5 (q, $^2J_{\text{C,F}} = 37.2$ Hz, C=O TFAc), 137.1 (C-1 Ar), 128.4, 128.1, 127.9, 127.6 (Ar), 115.7 (q, $^1J_{\text{C,F}} = 288.1$ Hz, CF₃), 115.6 (q, $^1J_{\text{C,F}} = 288.1$ Hz, CF₃), 99.4 (C-1²), 98.8 (C-1⁴), 96.9 (C-1¹), 74.6 (C-2¹), 72.3 (C-4¹), 71.9 (C-3⁴), 71.8 (C-3²), 71.0 (C-3¹), 70.7 (C-5⁴), 70.6 (C-5²), 69.2 (CH₂O), 68.1 (C-5¹), 68.0 (C-4²), 68.0 (C-4⁴), 61.9 (C-6²), 61.9 (C-6⁴), 61.7 (C-6¹), 54.2 (C-2⁴), 53.1 (C-2²), 20.5, 20.4, 20.1, 20.0 (OAc).

O-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-*O*-3,6-di-*O*-acetyl-*D*-mannopyranose **63**

(β -Ac₃GlcNTFAc-1,2-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,4]-Ac₂Man)

a) aus Verbindung **59**

107 mg (99.7 μmol) Acetat **59** werden in 0.85 mL *N,N*-Dimethylformamid gelöst. Zu dieser Lösung werden 13.8 mg (0.15 mmol, 1.5 eq) Hydrazinacetat gegeben und 80 min bei Zimmertemperatur gerührt (DC: Hexan/Aceton, 1:1). Die Reaktion wird durch Zugabe von 0.2 mL Aceton abgebrochen und im Hochvakuum eingengt. Der Rückstand wird in Dichlormethan aufgenommen, je einmal mit 1 M Salzsäure und 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Es werden 89 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Aceton, 3:1; Säulendurchmesser: 20 mm; Füllhöhe: 10 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 56.5 mg (54.8 μmol , 55.0 %),

$R_f = 0.48$ (Hexan/Aceton, 1:1),

$[\alpha]_D^{23} = -36.7$ (0.6, Dichlormethan),

$\text{C}_{38}\text{H}_{48}\text{F}_6\text{N}_2\text{O}_{24}$ (1030.8),

ESI-MS (100 % Acetonitril): $M_{\text{ber}} = 1030.3$ $M_{\text{gef}} = 1053.1$ (M+Na)⁺, 1069.0 (M+K)⁺,

α -Anomer:

¹H-NMR (360 MHz, [D6]-DMSO): $\delta = 9.61$ (d, $J_{\text{NH},2} = 9.1$ Hz, 1H, NH), 9.48 (d, $J_{\text{NH},2} = 9.3$ Hz, 1H, NH), 6.99 (d, $J_{\text{OH},1} = 4.1$ Hz, 1H, OH-1¹), 5.14 (dd, $J_{2,3} = 10.5$ Hz, $J_{3,4} = 10.0$ Hz, 1H, H-3⁴), 5.08 (dd, $J_{2,3} = 9.8$ Hz, $J_{3,4} = 9.7$ Hz, 1H, H-3²), 5.01 (dd, $J_{1,2} < 1$ Hz, $J_{\text{OH},1} = 4.1$ Hz, 1H, H-1¹), 4.95-4.81 (m, 4H, H-3¹, H-1⁴, H-4², H-4⁴), 4.65 (d, $J_{1,2} = 8.3$ Hz, 1H, H-1²), 4.29-4.16 (m, 2H, H-6a¹, H-6a⁴), 4.13 (dd, $J_{5,6} = 4.9$ Hz, $J_{\text{gem}} = 12.0$ Hz, 1H, H-6a²), 3.97-3.65 (m, 10H, H-6b⁴, H-2¹, H-4¹, H-2², H-6b², H-5², H-5⁴, H-5¹, H-2⁴, H-6b¹), 2.10-1.83 (m, 24H, OAc),

¹³C-NMR (90 MHz, [D6]-DMSO): $\delta = 170.1$, 169.8, 169.6, 169.5, 169.2 (C=O OAc), 156.5 (q, $^2J_{\text{C},\text{F}} = 36.5$ Hz, C=O TFAc), 156.4 (q, $^2J_{\text{C},\text{F}} = 36.5$ Hz, C=O TFAc), 115.7 (q, $^1J_{\text{C},\text{F}} = 287.5$ Hz, CF₃), 115.6 (q, $^1J_{\text{C},\text{F}} = 288.7$ Hz, CF₃), 99.6 (C-1² β , $^1J_{\text{C}-1,\text{H}-1} = 165.5$ Hz), 98.8 (C-1⁴ β , $^1J_{\text{C}-1,\text{H}-1} = 165.0$ Hz), 90.9 (C-1¹ α , $^1J_{\text{C}-1,\text{H}-1} = 174.7$ Hz), 75.8 (C-2¹), 72.7 (C-4¹), 71.8 (C-3²), 71.8 (C-3⁴), 70.8 (C-3¹), 70.7 (C-5²), 70.6 (C-5⁴), 68.2 (C-4²), 68.2 (C-4⁴), 67.3 (C-5¹), 62.2 (C-6¹), 62.0 (C-6⁴), 61.9 (C-6²), 54.2 (C-2⁴), 53.2 (C-2²), 20.5, 20.4, 20.1, 20.0 (OAc).

b) durch Entschützung des Benzylglycosids **62**

1.5 g Palladium(II)-oxid-Hydrat werden in 4 mL absolutem Methanol und 0.4 mL Essigsäure suspendiert und unter Wasserstoffatmosphäre gerührt. Nach 2 h wird eine Lösung von 1.87 g (1.67 mmol) Benzylglycosid **62** in 10 mL absolutem Methanol und 1.0 mL Essigsäure zur Katalysatorsuspension gegeben. Die Reaktion wird 2.5 d unter Wasserstoffatmosphäre gerührt. Nach vollständiger Umsetzung (DC: Hexan/Aceton, 1:1) wird der Katalysator abzentrifugiert und dreimal mit absolutem Methanol gewaschen. Die organischen Phasen werden vereint, im Vakuum eingengt und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Es werden 1.8 g Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Aceton, 2:1; Säulendurchmesser: 35 mm; Füllhöhe: 13 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 1.67 g (1.62 mmol, 97.1 %).

O-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-*O*-3,6-di-*O*-acetyl- α -*D*-mannopyranosyl-trichloracetimidat **64**

(β -Ac₃GlcNTFAc-1,2-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,4]- α -Ac₂Man-TCAl)

1.77 g (1.72 mmol) Halbacetal **63** werden unter Argonatmosphäre in 17 mL absolutem Dichlormethan gelöst. Zu dieser Lösung werden 1.72 mL (17.19 mmol, 10 eq) Trichloracetoni-
tril und 475 mg (3.44 mmol) frisch ausgeglühtes und gemörsertes Kaliumcarbonat gegeben. Die erhaltene Suspension wird 7 h bei Zimmertemperatur intensiv gerührt. Nach Reaktions-
ende (DC: Hexan/Aceton, 1:1) wird mit absolutem Dichlormethan verdünnt und über Celite
filtriert. Die Lösung wird im Vakuum bei Zimmertemperatur eingengt und der Rückstand im
Hochvakuum getrocknet. Es werden 2.17 g Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchro-
matographie (Cyclohexan/Aceton, 3:1; Säulendurchmesser: 35 mm; Füllhöhe 14 cm) ge-
reinigt werden.

Ausbeute: 1.59 g (1.35 mmol, 78.8 %),

$R_f = 0.53$ (Hexan/Aceton, 1:1),

$[\alpha]_D^{22} = -27.0$ (0.5, Dichlormethan),

C₄₀H₄₈Cl₃F₆N₃O₂₄ (1175.2),

ESI-MS (100 % Acetonitril): $M_{\text{ber}} = 1173.2$ $M_{\text{gef}} = 1196.2$ (M+Na)⁺, 1212.3 (M+K)⁺,

¹H-NMR (500 MHz, [D₆]-DMSO): $\delta = 10.06$ (s, 1H, =NH), 9.72 (d, $J_{\text{NH},2} = 9.3$ Hz, 1H, NH),
9.62 (d, $J_{\text{NH},2} = 9.2$ Hz, 1H, NH), 6.25 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1¹), 5.16 (dd, $J_{2,3} = 10.2$ Hz,
 $J_{3,4} = 10.0$ Hz, 1H, H-3⁴), 5.08 (dd, $J_{2,3} = 10.0$ Hz, $J_{3,4} = 10.3$ Hz, 1H, H-3²), 4.99-4.89 (m,
4H, H-1⁴, H-3¹, H-4², H-4⁴), 4.81 (d, $J_{1,2} = 8.7$ Hz, 1H, H-1²), 4.31 (dd, $J_{5,6} < 1$ Hz,
 $J_{\text{gem}} = 11.7$ Hz, 1H, H-6a¹), 4.27-4.19 (m, 2H, H-2¹, H-6a⁴), 4.17 (dd, $J_{5,6} = 4.6$ Hz,
 $J_{\text{gem}} = 11.6$ Hz, 1H, H-6a²), 4.06 (dd, $J_{3,4} = 9.4$ Hz, $J_{4,5} = 9.6$ Hz, 1H, H-4¹), 3.97-3.73 (m, 7H,
H-6b⁴, H-2², H-5², H-6b², H-5⁴, H-5¹, H-2⁴), 3.70 (dd, $J_{5,6} = 3.6$ Hz, $J_{\text{gem}} = 11.7$ Hz, 1H,

H-6b¹), 2.03 (s, 3H, OAc), 1.98 (s, 3H, OAc), 1.97 (s, 3H, OAc), 1.95 (s, 3H, OAc), 1.93 (s, 3H, OAc), 1.91 (s, 3H, OAc), 1.90 (s, 3H, OAc), 1.88 (s, 3H, OAc),

¹³C-NMR (90 MHz, [D₆]-DMSO): δ = 170.1, 169.8, 169.6, 169.5, 169.2 (C=O OAc), 157.0 (C=NH), 156.5 (q, ²J_{C,F} = 36.5 Hz, C=O TFAc), 115.7 (q, ¹J_{C,F} = 288.7 Hz, CF₃), 115.6 (q, ¹J_{C,F} = 288.1 Hz, CF₃), 99.3 (C-1²), 99.0 (C-1⁴), 93.8 (C-1¹), 88.0 (CCl₃), 73.1 (C-2¹), 71.8 (C-3²), 71.8 (C-4¹), 71.8 (C-3⁴), 70.8 (C-5²), 70.7 (C-3¹), 70.7 (C-5⁴), 70.2 (C-5¹), 68.1 (C-4⁴), 68.0 (C-4²), 62.0 (C-6⁴), 61.8 (C-6²), 61.3 (C-6¹), 54.2 (C-2⁴), 53.1 (C-2²), 20.4, 20.0 (OAc).

9.14 Versuche zu Kapitel 3.3.3

Benzyl O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido-β-D-glucopyranosyl)-(1→2)-[O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido-β-D-glucopyranosyl)-(1→4)]-[O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido-β-D-glucopyranosyl)-(1→6)]-O-3-O-allyl-α-D-mannopyranosid 65

(β-Ac₃GlcNTFAc-1,2-[β-Ac₃GlcNTFAc-1,4]-[β-Ac₃GlcNTFAc-1,6]-α-AllMan-OBzl)

1.05 g (3.37 mmol) Benzylmannosid **6**, 8.27 g (15.15 mmol, 4.5 eq) Imidat **44** und 10 g gemörsertes, frisch ausgeglühtes Molekularsieb 4 Å werden unter Argonatmosphäre in 50 mL absolutem Dichlormethan suspendiert. Die Suspension wird 60 min bei Zimmertemperatur und 30 min bei -45 °C gerührt. Anschließend wird die Reaktion durch Zugabe von 130 µL (0.76 mmol, 0.2 eq) Trifluormethansulfonsäuretrimethylsilylester gestartet und bei -45 °C gerührt. Nach 2 h (DC: Hexan/Aceton, 1:1) wird mit Dichlormethan verdünnt und über Celite filtriert. Die Lösung wird mit 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingeeengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgt durch Flashchromatographie (Cyclohexan/Aceton, 2:1; Säulendurchmesser: 50 mm; Füllhöhe: 16 cm).

Ausbeute: 4.28 g (2.93 mmol, 86.9 %),

R_f = 0.53 (Hexan/Aceton, 1:1),

$[\alpha]_D^{24} = -17.5$ (0.5, Dichlormethan),

$C_{58}H_{70}F_9N_3O_{30}$ (1460.2),

ESI-MS (100 % Methanol): $M_{ber} = 1459.4$ $M_{gef} = 1482.7$ (M+Na)⁺, 1498.7 (M+K)⁺,

¹H-NMR (360 MHz, [D6]-DMSO): $\delta = 9.67$ (d, $J_{NH,2} = 9.3$ Hz, 1H, NH), 9.44 (d, $J_{NH,2} = 9.1$ Hz, 1H, NH), 9.39 (d, $J_{NH,2} = 9.3$ Hz, 1H, NH), 7.41-7.26 (m, 5H, Ar), 5.96-5.83 (m, 1H, =CH-), 5.29-4.98 (m, 6H, H-3⁶, H₂C= trans, H-3², H-1⁴, H₂C= cis, H-3⁴), 4.94-4.82 (m, 4H, H-4⁶, H-4², H-1¹, H-4⁴), 4.74 (d, $J_{1,2} = 8.4$ Hz, 1H, H-1²), 4.56 (d, $J_{gem} = 11.8$ Hz, CH₂O), 4.50 (d, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, 1H, H-1⁶), 4.31 (dd, $J_{5,6} = 3.2$ Hz, $J_{gem} = 13.6$ Hz, 1H, H-6a²), 4.24 (d, $J_{gem} = 11.8$ Hz, 1H, CH₂O), 4.22-3.92 (m, 7H, CH₂O, H-6a⁶, H-2¹, H-6a⁴, H-6b², H-6b⁴, H-6b⁶), 3.90-3.68 (m, 6H, CH₂O, H-6a¹, H-2⁶, H-5⁴, H-2², H-2⁴), 3.65-3.43 (m, 5H, H-5², H-3¹, H-5¹, H-5⁶, H-4¹), (dd, $J_{5,6} = 9.5$ Hz, $J_{gem} = 10.3$ Hz, H-6b⁴), 2.02-1.85 (m, 27H, OAc),

¹³C-NMR (90 MHz, [D6]-DMSO): $\delta = 170.0$, 169.6, 169.5, 169.3, 169.2 (C=O OAc), 156.4 (q, $^2J_{C,F} = 35.9$ Hz, C=O TFAc), 137.3 (C-1 Ar), 135.4 (=CH-), 127.9, 127.6 (Ar), 115.9 (H₂C=), 115.8 (q, $^1J_{C,F} = 288.7$ Hz, CF₃), 115.7 (q, $^1J_{C,F} = 288.7$ Hz, CF₃), 99.8 (C-1⁶β, $^1J_{C-1,H-1} = 165.0$ Hz), 99.5 (C-1²β, $^1J_{C-1,H-1} = 164.4$ Hz), 99.2 (C-1⁴β, $^1J_{C-1,H-1} = 166.9$ Hz), 96.2 (C-1¹α, $^1J_{C-1,H-1} = 173.7$ Hz), 76.5 (C-3¹), 74.3 (C-4¹), 73.2 (C-2¹), 72.1 (C-3⁴), 71.6 (C-3²), 71.6 (C-3⁶), 70.7 (C-5²), 70.7 (C-5⁶), 70.6 (C-5⁴), 69.3 (C-5¹), 68.7 (C-6¹), 68.1 (CH₂O), 68.0 (C-4²), 68.0 (C-4⁴), 68.0 (C-4⁶), 67.8 (CH₂O), 61.7 (C-6⁴), 61.5 (C-6⁶), 61.1 (C-6²), 54.3 (C-2⁴), 53.9 (C-2⁶), 53.4 (C-2²), 20.4, 20.1 (OAc).

Benzyl O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido-β-D-glucopyranosyl)-(1→2)-[O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido-β-D-glucopyranosyl)-(1→4)]-[O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido-β-D-glucopyranosyl)-(1→6)]-O-3-O-acetyl-α-D-mannopyranosid **66**

(β-Ac₃GlcNTFAc-1,2-[β-Ac₃GlcNTFAc-1,4]-[β-Ac₃GlcNTFAc-1,6]-α-AcMan-OBzl)

3.86 g (2.6 mmol) Allylglycosid **65** werden unter Argonatmosphäre in 96.0 ml absolutem Methanol gelöst. Durch Zugabe von 112 mg (0.8 mmol, 0.3 eq) Palladium(II)-chlorid wird die

Reaktion gestartet. Nach 4.5 h Rühren (DC: Hexan/Ethylacetat, 1:2) bei Zimmertemperatur wird die Reaktionslösung über Celite abfiltriert, mit Pyridin neutralisiert und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet, in Dichlormethan aufgenommen, mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet, im Vakuum eingengt und im Hochvakuum getrocknet. Der Rückstand wird in 36 mL Essigsäureanhydrid/Pyridin, 5:1 gelöst und 2 d bei Zimmertemperatur gerührt. Nach vollständigem Reaktionsumsatz (DC: Hexan/Ethylacetat, 1:2) wird im Vakuum eingengt, dreimal mit Toluol codestilliert und im Hochvakuum getrocknet. Der Rückstand wird in Dichlormethan aufgenommen und je einmal mit 1 M Salzsäure und 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet, im Vakuum eingengt und im Hochvakuum getrocknet. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt durch Flashchromatographie (Cyclohexan/Ethylacetat, 2:1→1.5:1→1:1; Säulendurchmesser: 50 mm; Füllhöhe: 13 cm).

Ausbeute: 3.19 g (2.18 mmol, 83.9 %),

R_f (Desallylierungsprodukt) = 0.43 (Hexan/Ethylacetat, 1:2).

R_f (Produkt **66**) = 0.59 (Hexan/Ethylacetat, 1:2),

$[\alpha]_D^{24} = -16.5$ (0.5, Dichlormethan),

$C_{57}H_{68}F_9N_3O_{31}$ (1462.1),

ESI-MS (100 % Acetonitril): $M_{ber} = 1461.4$ $M_{gef} = 1484.0$ (M+Na)⁺, 1500.0 (M+K)⁺,

¹H-NMR (360 MHz, [D₆]-DMSO): $\delta = 9.68$ (d, $J_{NH,2} = 9.3$ Hz, 1H, NH), 9.49 (d, $J_{NH,2} = 9.5$ Hz, 1H, NH), 9.45 (d, $J_{NH,2} = 9.1$ Hz, 1H, NH), 7.42-7.28 (m, 5H, Ar), 5.24 (dd, $J_{2,3} = 9.9$ Hz, $J_{3,4} = 9.7$ Hz, 1H, H-3⁶), 5.18-5.05 (m, 2H, H-3⁴, H-3²), 4.95 (d, $J_{1,2} = 8.3$ Hz, 1H, H-1⁴), 4.93-4.80 (m, 4H, H-4⁶, H-4², H-1¹, H-4⁴), 4.76 (dd, $J_{2,3} = 3.4$ Hz, $J_{3,4} = 8.9$ Hz, H-3¹), 4.68 (d, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, 1H, H-1²), 4.56 (d, $J_{gem} = 12.8$ Hz, 1H, CH₂O), 4.53 (d, $J_{1,2} = 9.2$ Hz, 1H, H-1⁶), 4.32-4.23 (m, 2H, H-6a⁶, CH₂O), 4.16-4.08 (m, 2H, H-6a⁴, H-6a²), 4.07-4.00 (m, 2H, H-6b⁶, H-2¹), 3.96-3.54 (m, 11H, H-6b², H-6a¹, H-5⁴, H-2², H-2⁶, H-5², H-6b⁴, H-2⁴, H-4¹, H-5¹, H-5⁶), 3.24 (dd, $J_{5,6} = 9.2$ Hz, $J_{gem} = 11.1$ Hz, 1H, H-6b¹), 2.16-1.74 (m, 27H, OAc),

¹³C-NMR (90 MHz, [D₆]-DMSO): $\delta = 170.1, 170.0, 169.6, 169.5, 169.4, 169.3, 169.2$ (C=O OAc), 156.5 (q, $^2J_{C,F} = 36.5$ Hz, C=O TFAc), 156.4 (q, $^2J_{C,F} = 36.5$ Hz, C=O TFAc), 137.1 (C-1 Ar), 128.3, 128.0, 127.8 (Ar), 115.7 (q, $^1J_{C,F} = 288.1$ Hz, CF₃), 99.8 (C-1⁶),

99.5 (C-1²), 98.7 (C-1⁴), 96.1 (C-1¹), 74.5 (C-2¹), 73.0 (C-4¹), 71.9 (C-3⁴), 71.7 (C-3⁶), 71.7 (C-3²), 71.7 (C-3¹), 70.8 (C-5⁴), 70.8 (C-5²), 70.7 (C-5⁶), 69.3 (C-5¹), 68.8 (C-6¹), 68.2 (C-4⁶), 68.2 (C-4⁴), 68.2 (C-4²), 68.1 (CH₂O), 62.1 (C-6⁴), 61.8 (C-6²), 61.1 (C-6⁶), 54.2 (C-2⁴), 53.9 (C-2⁶), 53.2 (C-2²), 20.5, 20.4, 20.1, 20.0 (OAc).

O-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)]-*O*-3-*O*-acetyl-D-mannopyranose **67**

(β -Ac₃GlcNTFAc-1,2-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,4]-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,6]-AcMan)

120 mg Palladium(II)-oxid-Hydrat werden in 240 μ L absolutem Methanol und 24 μ L Essigsäure suspendiert und unter Wasserstoffatmosphäre gerührt. Nach 2 h wird eine Lösung von 121 mg (82.8 μ mol) Benzylglycosid **66** in 700 μ L absolutem Methanol und 70 μ L Essigsäure zur Katalysatorsuspension gegeben. Die Reaktion wird 5 d unter Wasserstoffatmosphäre gerührt. Nach vollständiger Umsetzung (DC: Hexan/Ethylacetat, 1:2) wird der Katalysator abzentrifugiert und dreimal mit absolutem Methanol gewaschen. Die organischen Phasen werden vereint, im Vakuum eingengt und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Das Rohprodukt wird mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Ethylacetat, 2:1; Säulendurchmesser: 20 mm; Füllhöhe: 12.5 cm) gereinigt.

Ausbeute: 74 mg (53.9 μ mol, 65.1 %),

$R_f = 0.48$ (Hexan/Ethylacetat, 1:2),

$[\alpha]_D^{24} = -32.4$ (0.6, Dichlormethan),

C₅₀H₆₂F₉N₃O₃₁ (1372.0),

ESI-MS (100 % Acetonitril): $M_{\text{ber}} = 1371.3$ $M_{\text{gef}} = 1383.4$ (M+Na)⁺, 1410.4.3 (M+K)⁺,

α -Anomer:

¹H-NMR (500 MHz, [D₆]-DMSO): $\delta = 9.68$ (d, $J_{\text{NH},2} = 8.8$ Hz, 1H, NH), 9.48 (d, $J_{\text{NH},2} = 8.8$ Hz, 1H, NH), 9.40 (d, $J_{\text{NH},2} = 9.9$ Hz, 1H, NH), 7.04 (d, $J_{\text{OH},1} = 5.5$ Hz, 1H, OH-1¹), 5.18-5.06 (m, 3H, H-3², H-3⁴, H-3⁶), 5.02 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1¹), 4.95 (d,

$J_{1,2} = 7.7$ Hz, 1H, H-1⁴), 4.93-4.83 (m, 4H, H-4⁶, H-3¹, H-4², H-4⁴), 4.63 (d, $J_{1,2} = 8.8$ Hz, 1H, H-1²), 4.57 (d, $J_{1,2} = 8.8$ Hz, 1H, H-1⁶), 4.32 (dd, $J_{5,6} < 1$ Hz, $J_{\text{gem}} = 11.0$ Hz, 1H, H-6a⁶), 4.19-4.03 (m, 3H, H-6a⁴, H-6a², H-6b⁶), 3.98-3.89 (m, 2H, H-6b², H-2¹), 3.88-3.69 (m, 8H, H-5⁴, H-5¹, H-5², H-2², H-2⁴, H-6b⁴, H-2⁶, H-6a¹), 3.60 (dd, $J_{3,4} = 8.8$ Hz, $J_{4,5} = 8.8$ Hz, 1H, H-4¹), 3.54-3.48 (m, 1H, H-5⁶), 3.40-3.34 (m, 1H, H-6b¹), 2.06-1.86 (m, 30H, OAc),

¹³C-NMR (125 MHz, [D6]-DMSO): $\delta = 170.1, 169.6, 169.5, 169.4, 169.3, 169.2$ (C=O OAc), 156.5 (q, $^2J_{\text{C,F}} = 36.5$ Hz, C=O TFAc), 113.4 (q, $^1J_{\text{C,F}} = 288.5$ Hz, CF₃), 99.6 (C-1⁶), 99.4 (C-1²), 98.4 (C-1⁴), 90.3 (C-1¹), 75.2 (C-2¹), 73.2 (C-4¹), 72.3 (C-3⁶), 72.0 (C-3⁴), 71.5 (C-3²), 71.0 (C-3¹), 70.7 (C-5⁶), 70.6 (C-5⁴), 70.6 (C-5²), 69.6 (C-6¹), 69.1 (C-5¹), 68.3 (C-4²), 68.0 (C-4⁴), 67.7 (C-4⁶), 62.1 (C-6⁴), 61.9 (C-6²), 60.4 (C-6⁶), 54.2 (C-2⁴), 53.6 (C-2⁶), 53.1 (C-2²), 20.6, 20.5, 20.4, 20.3, 20.2, 20.1 (OAc).

O-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)]-*O*-3-*O*-acetyl- α -*D*-mannopyranosyl-trichloroacetimidat **68**

(β -Ac₃GlcNTFAc-1,2-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,4]-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,6]- α -AcMan-TCAI)

65.1 mg (47.4 μ mol) Halbacetal **67** werden unter Argonatmosphäre in 0.7 mL absolutem Dichlormethan gelöst. Zu dieser Lösung werden 47.6 μ L (474 μ mol, 10 eq) Trichloracetonitril und 15.2 mg (110 μ mol) frisch ausgeglühtes und gemörseretes Kaliumcarbonat gegeben. Die erhaltene Suspension wird 7 h bei Zimmertemperatur intensiv gerührt. Nach Reaktionsende (DC: Hexan/Aceton, 1:1) wird mit Dichlormethan verdünnt und über Celite filtriert. Die Lösung wird im Vakuum eingengt und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Das Rohprodukt wird mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Aceton, 1:1; Säulendurchmesser: 20 mm; Füllhöhe 14 cm) gereinigt.

Ausbeute: 43.8 mg (31.9 μ mol, 67.3 %),

$R_f = 0.45$ (Hexan/Ethylacetat, 1:1),

$[\alpha]_D^{24} = -22.4$ (1.0, Dichlormethan),

C₅₂H₆₂Cl₃F₉N₄O₃₁ (1516.4),

ESI-MS (100 % Acetonitril): $M_{\text{ber}} = 1514.2$ $M_{\text{gef}} = 1539.8$ (M+Na)⁺,

¹H-NMR (360 MHz, [D6]-DMSO): $\delta = 9.88$ (s, 1H, =NH), 9.72 (d, $J_{\text{NH},2} = 8.9$ Hz, 1H, NH), 9.65 (d, $J_{\text{NH},2} = 9.6$ Hz, 1H, NH), 9.48 (d, $J_{\text{NH},2} = 8.4$ Hz, 1H, NH), 6.21 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1¹), 5.28-5.07 (m, 3H, H-3², H-3⁴, H-3⁶), 5.01-4.73 (m, 6H, H-1⁴, H-3¹, H-4⁴, H-4⁶, H-4², H-1²), 4.60 (d, $J_{1,2} = 7.9$ Hz, 1H, H-1⁶), 4.31-4.09 (m, 4H, H-6a⁶, H-2¹, H-6a², H-6a⁴), 4.00 (dd, $J_{5,6} < 1$ Hz, $J_{\text{gem}} = 11.8$ Hz, 1H, H-6b⁶), 3.97-3.69 (m, 9H, H-6b², H-5⁴, H-5¹, H-2², H-5², H-2⁴, H-6b⁴, H-6a¹, H-4¹), 3.66-3.50 (m, 2H, H-2⁶, H-5⁶), 3.41-3.30 (m, 1H, H-6b¹), 2.09-1.85 (m, 30H, OAc),

¹³C-NMR (90 MHz, [D6]-DMSO): $\delta = 170.1$, 170.0, 169.5, 169.3, 169.2 (C=O OAc), 157.3 (C=NH), 156.5 (q, $^2J_{\text{C},\text{F}} = 35.3$ Hz, C=O TFAc), 115.6 (q, $^1J_{\text{C},\text{F}} = 288.1$ Hz, CF₃), 99.6 (C-1⁶), 99.0 (C-1²), 98.7 (C-1⁴), 93.7 (C-1¹), 92.3 (CCl₃), 72.2 (C-4¹), 72.1 (C-5¹), 71.9 (C-2¹), 71.5 (C-3⁶), 71.3 (C-3⁴), 71.3 (C-3²), 70.6 (C-5⁶), 70.5 (C-5²), 70.5 (C-5⁴), 70.4 (C-3¹), 68.9 (C-6¹), 67.7 (C-4²), 67.7 (C-4⁴), 67.7 (C-4⁶), 61.8 (C-6⁴), 61.5 (C-6²), 61.0 (C-6⁶), 53.7 (C-2⁴), 53.7 (C-2⁶), 52.8 (C-2²), 20.5, 20.4, 20.1, 20.1 (OAc).

5-tert. Butyl-2-methyl-phenyl O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido-β-D-glucopyranosyl)-(1→2)-[O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido-β-D-glucopyranosyl)-(1→4)]-[O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido-β-D-glucopyranosyl)-(1→6)]-3-O-acetyl-1-thio-α-D-mannopyranosid 17

(β-Ac₃GlcNTFAc-1,2-[β-Ac₃GlcNTFAc-1,4]-[β-Ac₃GlcNTFAc-1,6]-α-AcMan-SPh(*t*Bu,Me))

37.8 mg (24.9 μmol) Imidat **68**, 90 μL (498. μmol, 20.0 eq) 5-*tert.* Butyl-2-methyl-thio-phenol und 40 mg gemörsertes, frisch ausgeglühtes Molekularsieb 4 Å werden unter Argon-atmosphäre in 0.6 mL absolutem Dichlormethan suspendiert. Die Suspension wird jeweils 25 min bei Zimmertemperatur und bei -20 °C gerührt. Anschließend wird die Reaktion durch Zugabe von 10 μL (12.5 μmol, 0.5 eq) einer Lösung von 80 μL Bortrifluorid-Diethyletherat in 420 μL absolutem Dichlormethan gestartet. Dabei wird das Reaktionsgemisch langsam von -20 °C bis Zimmertemperatur erwärmt. Nach 5 h (DC: Hexan/Aceton, 1:1) wird mit Dichlormethan verdünnt und über Celite filtriert. Die Lösung wird mit 2 M Kaliumhydrogencarbo-

nat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Es werden 110 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Aceton, 2:1; Säulendurchmesser: 10 mm; Füllhöhe: 10 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 30.3 mg (19.8 μmol , 79.3 %).

9.15 Versuche zu Kapitel 3.4.1

O-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-{*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)]-*O*-(3,4-di-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)}-*O*-(2-*O*-acetyl- β -D-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -D-glucopyranosylazid **69**

(β -Ac₃GlcNTFAc-1,2- α -Ac₃Man-1,3-{ β -Ac₃GlcNTFAc-1,2-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,6]- α -Ac₂Man-1,6}- β -AcMan-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-N₃)

54.3 mg (29.2 μmol) Pentasaccharid **39**, 69.6 mg (58.3 μmol , 2.0 eq) Thioglycosid **55**, 19.7 mg (87.5 μmol , 3.0 eq) *N*-Iodsuccinimid und 150 mg gemörsertes, frisch ausgeglühtes Molekularsieb 4 Å werden unter Argonatmosphäre in 1.0 mL absolutem Dichlormethan suspendiert. Die Suspension wird 30 min bei Zimmertemperatur und 90 min bei -40 °C gerührt. Anschließend wird die Reaktion durch Zugabe von 80 μL einer gesättigten Lösung von Trifluormethansulfonsäure in absolutem Dichlormethan gestartet und zwischen -40 °C und -30 °C gerührt. Nach 2 h (DC: Hexan/Aceton, 1:1) wird mit Dichlormethan verdünnt und über Celite filtriert. Die Lösung wird je einmal mit 10 %iger Natriumthiosulfat-Lösung und mit 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Es werden 118 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Aceton, 2:1 \rightarrow 1.5:1; Säulendurchmesser: 30 mm; Füllhöhe: 12.5 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 72.2 mg (25.1 μmol , 86.0 %),

$R_f = 0.36$ (Hexan/Aceton, 1:1),

$[\alpha]_D^{23} = -8.1$ (0.5, Dichlormethan),

$\text{C}_{128}\text{H}_{141}\text{F}_9\text{N}_8\text{O}_{57}$ (2874.5),

ESI-MS (100 % Acetonitril): $M_{\text{ber}} = 2872.8$ $M_{\text{gef}} = 2891.4$ ($\text{M} + \text{H}_3\text{O}^+$),

$^1\text{H-NMR}$ (360 MHz, $[\text{D}_6]\text{-DMSO}$): $\delta = 9.70$ (d, $J_{\text{NH},2} = 8.8$ Hz, 1H, NH), 9.41 (d, $J_{\text{NH},2} = 9.6$ Hz, 1H, NH), 9.36 (d, $J_{\text{NH},2} = 9.6$ Hz, 1H, NH), 7.96-7.65 (m, 8H, NPht), 7.39-7.17 (m, 10H, Ar), 6.98-6.70 (m, 10H, Ar), 5.55 (d, $J_{\text{OH},4} = 5.1$ Hz, 1H, OH-4³), 5.32-5.05 (m, 7H, H-2³, H-1¹, H-3⁷, H-1⁴, H-3⁵, H-1², H-4⁴), 5.05-4.64 (m, 12H, H-3⁴, H-4⁷, H-3⁵, H-1³, H-4⁵, CH₂O, H-3⁴, H-1⁵, H-4⁴, H-4⁵, H-1⁴, CH₂O), 4.62-4.51 (m, 4H, CH₂O, H-1⁷, CH₂O, CH₂O), 4.40-4.29 (m, 3H, CH₂O, CH₂O, CH₂O), 4.28-4.12 (m, 4H, H-1⁵, H-6a⁷, H-6a⁵, H-2⁴), 4.11-3.65 (m, 23H, H-3², H-3¹, H-5⁴, H-6a⁴, H-6b⁷, H-4¹, H-6b⁴, H-2², H-4², H-6b⁵, H-2⁵, H-6a³, H-2⁴, H-5⁴, H-6a⁵, H-4³, H-2⁷, H-2¹, H-5⁵, H-5⁷, H-6a², H-2⁵, H-3³), 3.64-3.50 (m, 3H, H-6b², H-6a⁴, H-5¹), 3.48-3.17 (m, 7H, H-6b⁵, H-6a¹, H-6b³, H-5³, H-6b¹, H-5², H-6b⁴), 2.71-2.60 (m, 1H, H-5⁵), 2.15-1.74 (m, 45H, OAc),

$^{13}\text{C-NMR}$ (90 MHz, $[\text{D}_6]\text{-DMSO}$): $\delta = 170.1$, 169.9, 169.8, 169.7, 169.5, 169.3 (C=O OAc), 167.2 (C=O NPht), 156.7 (q, $^2J_{\text{C,F}} = 36.5$ Hz, C=O TFAc), 138.3, 138.0 (C-1 Ar), 134.8 (C-4/5 NPht), 130.8, 130.6 (C-1/2 NPht), 128.1, 127.9, 127.7, 127.5, 127.4, 127.1 (Ar), 123.4 (C-3/6 NPht), 115.8 (q, $^1J_{\text{C,F}} = 288.1$ Hz, CF₃), 115.7 (q, $^1J_{\text{C,F}} = 288.7$ Hz, CF₃), 99.2 (C-1⁷ β , $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 167.4$ Hz), 99.0 (C-1⁵ β , $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 166.5$ Hz), 98.3 (C-1⁵ β , $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 164.6$ Hz), 98.2 (C-1⁴ α , $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 176.9$ Hz), 97.4 (C-1³ β , $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 163.6$ Hz), 96.7 (C-1⁴ α , $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 174.1$ Hz), 96.2 (C-1² β , $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 166.5$ Hz), 84.5 (C-1¹ β , $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 167.1$ Hz), 77.5 (C-4²), 76.5 (C-3³), 76.1 (C-3¹), 75.3 (C-5¹), 75.0 (C-3²), 74.7 (C-4¹), 74.7 (C-2⁴), 74.0 (C-5²), 73.9 (C-5³), 73.6 (C-2⁴), 73.4 (CH₂O), 72.4 (CH₂O), 72.0 (CH₂O), 71.4 (C-3⁷), 71.4 (C-3⁵), 71.4 (CH₂O), 71.2 (C-5⁵), 70.8 (C-2³), 70.8 (C-3⁵), 70.4 (C-5⁷), 70.2 (C-5⁵), 69.4 (C-3⁴), 69.0 (C-3⁴), 68.5 (C-5⁴), 68.3 (C-6⁴), 68.0 (C-5⁴), 67.9 (C-4⁷), 67.9 (C-4⁵), 67.5 (C-4⁵), 67.5 (C-6²), 67.2 (C-6¹), 65.8 (C-6³), 65.3 (C-4³), 65.0 (C-4⁴), 64.7 (C-4⁴), 61.9 (C-6⁴), 61.4 (C-6⁷), 61.4 (C-6⁵), 60.8 (C-6⁵), 55.4 (C-2²), 54.2 (C-2¹), 53.1 (C-2⁷), 52.9 (C-2⁵), 52.8 (C-2⁵), 20.6, 20.4, 20.1 (OAc).

O-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]- {*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)]-*O*-(3,4-di-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)}-*O*-(2-*O*-acetyl- β -D-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -D-glucopyranosylazid **71**

(β -Ac₃GlcNTFAc-1,2- α -Ac₃Man-1,3-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,4]-{ β -Ac₃GlcNTFAc-1,2-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,6]- α -Ac₂Man-1,6}- β -AcMan-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-N₃)

50 mg (17.4 μ mol) Oktasaccharid **69**, 98.0 mg (173.9 μ mol, 10 eq) Donor **G**, 78.3 mg (347.9 μ mol, 20 eq) *N*-Iodsuccinimid und 240 mg gemörsertes, frisch ausgeglühtes Molekularsieb 4 Å werden unter Argonatmosphäre in 0.44 mL absolutem Dichlormethan suspendiert. Die Suspension wird 35 min bei Zimmertemperatur gerührt dann auf -40 °C gekühlt. Anschließend wird die Reaktion durch Zugabe von 80 μ L einer gesättigten Lösung von Trifluormethansulfonsäure in absolutem Dichlormethan gestartet und 60 min zwischen -40 °C und -30 °C gerührt und dann über 2 h auf -10 °C erwärmt. Nach Reaktionsende (DC: Hexan/Ethylacetat, 1:2) wird mit Dichlormethan verdünnt und über Celite filtriert. Die Lösung wird je einmal mit 10 %iger Natriumthiosulfat-Lösung und mit 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingeengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Es werden 161 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1.5 \rightarrow 1:2; Säulendurchmesser: 20 mm; Füllhöhe: 12 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 43.6 mg (13.4 μ mol, 76.9 %),

R_f = 0.08 (Hexan/Ethylacetat, 1:2),

$[\alpha]_D^{24}$ = -25.7 (1.1, Dichlormethan),

C₁₄₂H₁₅₇F₁₂N₉O₆₅ (3257.8),

ESI-MS (100 % Acetonitril): M_{ber} = 3255.1 M_{gef} = 3274.0 (M+H₃O)⁺, 3294.9 (M+K)⁺,

9.16 Versuche zu Kapitel 3.4.2

O-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-*O*-(3,6-di-*O*-acetyl- α -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-*O*-(4,6-*O*-benzyliden- β -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosylazid **73**

(β -Ac₃GlcNTFAc-1,2-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,4]- α -Ac₂Man-1,3- β -BzdnMan-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-N₃)

500 mg (0.40 mmol) Core-Trisaccharid **A**, 950 mg (0.81 mmol, 2.0 eq) Donor **64** und 1.6 g gemörsertes, frisch ausgeglühtes Molekularsieb 4 Å werden unter Argonatmosphäre in 14 mL absolutem Dichlormethan suspendiert. Die Suspension wird 30 min bei Zimmertemperatur gerührt und dann auf -40 °C gekühlt. Anschließend wird die Reaktion durch Zugabe von 10 μ L (80.9 μ mol, 0.2 eq) Bortrifluorid-Diethyletherat gestartet und zwischen -40 °C und -30 °C gerührt. Nach 90 min (DC: Hexan/Aceton, 1:1) wird die Reaktion durch die Zugabe von 12 μ L (149 μ mol, 0.37 eq) Pyridin gestoppt. Die Reaktionslösung wird mit Dichlormethan verdünnt und über Celite filtriert. Die Lösung wird mit 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingeeengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Es werden 1.5 g Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Aceton, 2:1; Säulendurchmesser: 50 mm; Füllhöhe: 13 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 873 mg (0.39 mmol, 97.0 %),

R_f = 0.59 (Hexan/Aceton, 1:1),

$[\alpha]_D^{23}$ = -17.8 (0.5, Dichlormethan),

C₁₀₇H₁₁₁F₆N₇O₄₀ (2249.0),

ESI-MS (100 % Acetonitril): $M_{\text{ber}} = 2247.7$ $M_{\text{gef}} = 2270.3$ (M+Na)⁺,

¹H-NMR (360 MHz, [D₆]-DMSO): δ = 9.62 (d, $J_{\text{NH},2} = 9.3$ Hz, 1H, NH), 9.54 (d, $J_{\text{NH},2} = 9.3$ Hz, 1H, NH), 7.99-7.66 (m, 8H, NPht), 7.49-7.19 (m, 15H, Ar), 6.98-6.71 (m,

10H, Ar), 5.66 (s, 1H, Ph-CH), 5.36 (d, $J_{\text{OH},2} = 4.2$ Hz, 1H, OH-2³), 5.29 (d, $J_{1,2} = 9.2$ Hz, 1H, H-1¹), 5.24 (d, $J_{1,2} = 8.2$ Hz, 1H, H-1²), 5.15 (dd, $J_{2,3} = 10.1$ Hz, $J_{3,4} = 10.0$ Hz, 1H, H-3⁶), 5.05-4.90 (m, 4H, H-3⁵, H-3⁴, H-1⁴, H-1⁶), 4.90-4.76 (m, 3H, H-4⁵, H-4⁶, CH₂O), 4.65 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1³), 4.62 (d, $J_{\text{gem}} = 12.6$ Hz, 1H, CH₂O), 4.56 (d, $J_{\text{gem}} = 12.6$ Hz, 1H, CH₂O), 4.48-4.34 (m, 7H, CH₂O, H-1⁵, CH₂O, CH₂O, CH₂O, H-6a⁴, CH₂O), 4.24-3.90 (m, 13H, H-3², H-6a⁶, H-4¹, H-3¹, H-6a³, H-5⁴, H-6a⁵, H-4², H-2², H-2³, H-4⁴, H-4³, H-2⁴), 3.89-3.67 (m, 8H, H-5⁶, H-6b⁶, H-2⁵, H-6b⁵, H-6a², H-2¹, H-2⁶, H-6b⁴), 3.67-3.54 (m, 4H, H-6b², H-3³, H-5¹, H-6b³), 3.51 (dd, $J_{5,6} < 1$ Hz, $J_{\text{gem}} = 10.8$ Hz, 1H, H-6a¹), 3.42-3.35 (m, 2H, H-6b¹, H-5²), 3.27-3.19 (m, 1H, H-5⁵), 3.19-3.10 (m, 1H, H-5³), 2.06-1.84 (m, 24H, OAc),

¹³C-NMR (90 MHz, [D₆]-DMSO): $\delta = 170.1, 170.0, 169.7, 169.4, 169.3, 169.2$ (C=O OAc), 167.1 (C=O NPht), 156.6 (q, ${}^2J_{\text{C,F}} = 37.2$ Hz, C=O TFAc), 156.4 (q, ${}^2J_{\text{C,F}} = 36.5$ Hz, C=O TFAc), 138.4, 138.3, 138.1, 137.9, 137.8 (C-1 Ar), 134.8 (C-4/5 NPht), 130.8, 130.6 (C-1/2 NPht), 128.9, 128.0, 127.8, 127.7, 127.6, 127.4, 127.3, 127.1, 126.8, 126.3 (Ar), 123.6, 123.4 (C-3/6 NPht), 115.7 (q, ${}^1J_{\text{C,F}} = 288.7$ Hz, CF₃), 100.6 (Ph-CH), 99.4 (C-1³β, ${}^1J_{\text{C-1,H-1}} = 160.7$ Hz), 98.8 (C-1⁵β, ${}^1J_{\text{C-1,H-1}} = 164.9$ Hz), 98.6 (C-1⁴α, ${}^1J_{\text{C-1,H-1}} = 172.3$ Hz), 98.6 (C-1⁶β, ${}^1J_{\text{C-1,H-1}} = 164.7$ Hz), 96.2 (C-1²β, ${}^1J_{\text{C-1,H-1}} = 168.1$ Hz), 84.6 (C-1¹β, ${}^1J_{\text{C-1,H-1}} = 168.0$ Hz), 79.6 (C-3³), 76.7 (C-4²), 76.2 (C-4³), 75.9 (C-3¹), 75.7 (C-3²), 75.5 (C-5¹), 74.6 (C-4¹), 74.3 (C-5²), 74.0 (C-2⁴), 73.4 (CH₂O), 72.3 (C-4⁴), 71.9 (CH₂O), 71.6 (C-3⁶), 71.3 (CH₂O), 71.3 (C-3⁵), 71.3 (CH₂O), 70.8 (C-3⁴), 70.7 (C-5⁵), 70.3 (C-5⁶), 69.8 (C-2³), 67.9 (C-4⁶), 67.7 (C-4⁵), 67.5 (C-6³), 67.5 (C-5⁴), 67.5 (C-6²), 67.3 (C-6¹), 66.4 (C-5³), 61.7 (C-6⁶), 61.7 (C-6⁴), 61.4 (C-6⁵), 55.8 (C-2²), 54.2 (C-2¹), 54.0 (C-2⁶), 52.9 (C-2⁵), 20.5, 20.3, 20.1 (OAc).

O-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido-β-*D*-glucopyranosyl)-(1→2)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido-β-*D*-glucopyranosyl)-(1→4)]-*O*-(3,6-di-*O*-acetyl-α-*D*-mannopyranosyl)-(1→3)-*O*-(2-*O*-acetyl-β-*D*-mannopyranosyl)-(1→4)-*O*-(3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-*D*-glucopyranosyl)-(1→4)-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-*D*-glucopyranosylazid **74**

(β-Ac₃GlcNTFAc-1,2-[β-Ac₃GlcNTFAc-1,4]-α-Ac₂Man-1,3-β-AcMan-1,4-β-Bzl₂GlcNPht-1,4-β-Bzl₂GlcNPht-N₃)

38.5 mg (17.1 μmol) Hexasaccharid **73** werden in 0.66 mL Essigsäureanhydrid/Pyridin, 5:1 gelöst und 1 d bei Zimmertemperatur gerührt. Nach vollständiger Reaktion (DC: Hexan/Aceton, 1:1) wird im Vakuum eingengt und dreimal mit Toluol codestilliert. Der Rückstand wird in Dichlormethan aufgenommen und je einmal mit 1 M Salzsäure und 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet und anschließend in 1.1 ml Acetonitril gelöst. Es wird eine Lösung von 26 mg (136.8 μmol , 8.0 eq) *p*-Toluolsulfonsäure-Hydrat in 1.1 ml Acetonitril zugegeben und bei Zimmertemperatur gerührt. Nach 100 min (DC: Hexan/Aceton, 1:1) wird die Reaktion durch Zugabe von 22 μL (274 μmol , 16.0 eq) Pyridin abgebrochen und die Lösung im Vakuum eingengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet, in Dichlormethan aufgenommen und mit Wasser extrahiert. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Es werden 40 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Aceton, 2:1; Säulendurchmesser: 10 mm; Füllhöhe: 10 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 28.6 mg (13.0 μmol , 75.9 %),

R_f (Acetat) = 0.48 (Hexan/Aceton, 1:1),

R_f (Produkt **74**) = 0.26 (Hexan/Aceton, 1.2:1),

$[\alpha]_{\text{D}}^{23} = -13.7$ (0.5, Dichlormethan),

$\text{C}_{102}\text{H}_{109}\text{F}_6\text{N}_7\text{O}_{41}$ (2203.0),

ESI-MS (100 % Acetonitril): $M_{\text{ber}} = 2201.7$ $M_{\text{gef}} = 2220.4$ ($\text{M}+\text{H}_3\text{O}^+$),

$^1\text{H-NMR}$ (360 MHz, $[\text{D}_6]\text{-DMSO}$): $\delta = 9.68$ (d, $J_{\text{NH},2} = 9.1$ Hz, 1H, NH), 9.58 (d, $J_{\text{NH},2} = 8.9$ Hz, 1H, NH), 7.94-7.64 (m, 8H, NPht), 7.35-7.19 (m, 10H, Ar), 6.95-6.71 (m, 10H, Ar), 5.49 (d, $J_{\text{OH},4} = 4.3$ Hz, 1H, OH-4³), 5.28 (d, $J_{1,2} = 9.6$ Hz, 1H, H-1¹), 5.26-5.05 (m, 5H, H-2³, H-1², H-3⁶, H-1⁴, H-3⁵), 4.94-4.71 (m, 7H, H-4⁵, CH₂O, H-4⁶, H-1⁶, CH₂O, H-1³, H-3⁴), 4.64 (d, $J_{1,2} = 8.7$ Hz, 1H, H-1⁵), 4.57 (d, $J_{\text{gem}} = 12.3$ Hz, 1H, CH₂O), 4.51 (d, $J_{\text{gem}} = 12.3$ Hz, 1H, CH₂O), 4.48-4.33 (m, 5H, H-6a⁴, CH₂O, OH-6³, CH₂O, CH₂O), 4.30 (d, $J_{\text{gem}} = 12.1$ Hz, 1H, CH₂O), 4.23-4.09 (m, 4H, H-6a⁶, H-6a⁵, H-2⁴, H-3²), 4.09-4.01 (m, 3H, H-4¹, H-3¹, H-4²), 4.00-3.74 (m, 10H, H-2², H-6b⁶, H-4⁴, H-6b⁵, H-2⁵, H-5⁶, H-2¹, H-6b⁴, H-5⁴, H-2⁶), 3.73-3.67 (m, 2H, H-6a², H-5⁵), 3.66-3.54 (m, 5H, H-6a³, H-3³, H-4³, H-5¹,

H-6b²), 3.53-3.43 (m, 2H, H-6b³, H-6a¹), 3.38-3.33 (m, 1H, H-6b¹), 3.29-3.22 (m, 1H, H-5²), 3.13-3.06 (m, 1H, H-5³), 2.05-1.85 (m, 27H, OAc),

¹³C-NMR (90 MHz, [D6]-DMSO): δ = 170.1, 169.9, 169.6, 169.2 (C=O OAc), 168.1, 167.1 (C=O NPht), 156.5 (q, ²J_{C,F} = 36.5 Hz, C=O TFAc), 156.4 (q, ²J_{C,F} = 36.5 Hz, C=O TFAc), 138.4, 138.2, 138.0, 137.9 (C-1 Ar), 134.8 (C-4/5 NPht), 130.7, 130.6 (C-1/2 NPht), 127.8, 127.7, 127.5, 127.4, 127.3, 127.2, 127.1 (Ar), 123.4 (C-3/6 NPht), 115.8 (q, ¹J_{C,F} = 288.1 Hz, CF₃), 115.7 (q, ¹J_{C,F} = 288.7 Hz, CF₃), 98.8 (C-1⁵), 98.4 (C-1⁶), 98.3 (C-1⁴), 97.4 (C-1³), 96.4 (C-1²), 84.8 (C-1¹), 77.3 (C-3³), 76.5 (C-3²), 76.5 (C-4²), 76.3 (C-5³), 75.9 (C-3¹), 75.4 (C-5¹), 74.7 (C-4¹), 74.0 (C-5²), 73.7 (C-2⁴), 73.6 (CH₂O), 73.4 (CH₂O), 71.8 (CH₂O), 71.7 (C-4⁴), 71.6 (C-3⁶), 71.6 (C-3⁵), 71.5 (CH₂O), 70.6 (C-2³), 70.5 (C-5⁵), 70.3 (C-5⁶), 69.6 (C-3⁴), 68.0 (C-5⁴), 67.9 (C-4⁵), 67.9 (C-4⁶), 67.5 (C-6²), 67.4 (C-6¹), 66.2 (C-4³), 62.0 (C-6⁵), 62.0 (C-6⁴), 61.7 (C-6⁶), 60.5 (C-6³), 56.0 (C-2²), 54.6 (C-2¹), 54.2 (C-2⁶), 53.0 (C-2⁵), 20.5, 20.4, 20.0 (OAc).

O-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido-β-*D*-glucopyranosyl)-(1→2)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido-β-*D*-glucopyranosyl)-(1→4)]-*O*-(3,6-di-*O*-acetyl-α-*D*-mannopyranosyl)-(1→3)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido-β-*D*-glucopyranosyl)-(1→2)-*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-α-*D*-mannopyranosyl)-(1→6)]-*O*-(2-*O*-acetyl-β-*D*-mannopyranosyl)-(1→4)-*O*-(3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-*D*-glucopyranosyl)-(1→4)-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-*D*-glucopyranosylazid **75**

(β-Ac₃GlcNTFAc-1,2-[β-Ac₃GlcNTFAc-1,4]-α-Ac₂Man-1,3-[β-Ac₃GlcNTFAc-1,2-α-Ac₃Man-1,6]-β-AcMan-1,4-β-Bzl₂GlcNPht-1,4-β-Bzl₂GlcNPht-N₃)

a) über das Trichloracetimidat **34**

30 mg (13.6 μmol) Hexasaccharid **74**, 22.7 mg (27.2 μmol, 2.0 eq) Trichloracetimidat **34** und 60 mg gemörstertes, frisch ausgeglühtes Molekularsieb 4 Å werden unter Argonatmosphäre in 2.8 mL absolutem Dichlormethan suspendiert. Die Suspension wird jeweils 30 min bei Zimmertemperatur und bei -40 °C gerührt. Anschließend wird die Reaktion durch Zugabe von 10 μL (2.7 μmol, 0.2 eq) einer Lösung von 35 μL Bortrifluorid-Diethyletherat in 965 μL absolutem Dichlormethan gestartet und bei -40 °C gerührt. Nach 40 min (DC: Hexan/Aceton, 1:1) wird die Reaktion durch die Zugabe von 20 μL Pyridin gestoppt. Die Reaktionslö-

sung wird mit Dichlormethan verdünnt und über Celite filtriert. Die Lösung wird mit 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Das Rohprodukt wird mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Aceton, 2:1 → 1.5:1; Säulendurchmesser: 20 mm; Füllhöhe: 11 cm) gereinigt.

Ausbeute: 28 mg (9.7 μ mol, 71.6 %),

$R_f = 0.39$ (Hexan/Aceton, 1:1),

$[\alpha]_D^{22} = -9.4$ (0.5, Dichlormethan),

$C_{128}H_{141}F_9N_8O_{57}$ (2874.5),

ESI-MS (50 % Acetonitril): $M_{ber} = 2872.8$ $M_{gef} = 2891.0$ (M+H₃O)⁺, 2895.6 (M+Na)⁺,

¹H-NMR (360 MHz, [D₆]-DMSO): $\delta = 9.66$ (d, $J_{NH,2} = 9.1$ Hz, 1H, NH), 9.58 (d, $J_{NH,2} = 8.9$ Hz, 1H, NH), 9.43 (d, $J_{NH,2} = 8.6$ Hz, 1H, NH), 7.93-7.65 (m, 8H, NPht), 7.36-7.18 (m, 10H, Ar), 6.98-6.69 (m, 10H, Ar), 5.58 (d, $J_{OH,4} = 4.5$ Hz, 1H, OH-4³), 5.29 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, $J_{2,3} < 1$ Hz, 1H, H-2³), 5.26 (d, $J_{1,2} = 9.7$ Hz, 1H, H-1¹), 5.23-5.03 (m, 5H, H-3⁶, H-1², H-3⁵, H-1^{4'}, H-4^{4'}), 5.01-4.74 (m, 10H, H-3^{5'}, H-3^{4'}, H-4⁶, H-4⁵, H-1⁶, H-1⁴, CH₂O, H-4^{5'}, H-3⁴, H-1³), 4.73-4.64 (m, 2H, CH₂O, H-1⁵), 4.56-4.29 (m, 8H, CH₂O, CH₂O, CH₂O, H-1^{5'}, H-6a⁴, CH₂O, CH₂O, CH₂O), 4.26-4.12 (m, 3H, H-2^{4'}, H-6a⁵, H-6a⁶), 4.12-3.49 (m, 29H, H-3², H-3¹, H-6b⁵, H-6b⁶, H-4¹, H-4², H-2², H-4⁴, H-6a^{5'}, H-2⁴, H-6a^{4'}, H-5⁶, H-6b^{4'}, H-2^{5'}, H-2⁵, H-5⁴, H-6b⁴, H-5^{4'}, H-2⁶, H-2¹, H-6a³, H-5⁵, H-6a², H-4³, H-3³, H-6b^{5'}, H-6b², H-5¹, H-6b³), 3.45-3.13 (m, 5H, H-6a¹, H-5³, H-6b¹, H-5², H-5^{5'}), 2.09-1.72 (m, 45H, OAc),

¹³C-NMR (90 MHz, [D₆]-DMSO): $\delta = 170.1$, 169.9, 169.7, 169.6, 169.5, 169.2 (C=O OAc), 167.2 (C=O NPht), 156.5 (q, $^2J_{C,F} = 36.5$ Hz, C=O TFAc), 156.4 (q, $^2J_{C,F} = 36.5$ Hz, C=O TFAc), 138.3, 138.2, 138.1, 138.0 (C-1 Ar), 134.8 (C-4/5 NPht), 130.8, 130.6 (C-1/2 NPht), 128.2, 128.0, 127.8, 127.7, 127.4, 127.3, 127.2, 127.0 (Ar), 123.4 (C-3/6 NPht), 115.7 (q, $^1J_{C,F} = 288.7$ Hz, CF₃), 98.9 (C-1⁵ β , $^1J_{C-1,H-1} = 164.9$ Hz), 98.5 (C-1⁵ β , $^1J_{C-1,H-1} = 165.6$ Hz), 98.2 (C-1⁴ α , $^1J_{C-1,H-1} = 176.8$ Hz), 97.8 (C-1⁶ β , $^1J_{C-1,H-1} = 164.2$ Hz), 96.9 (C-1⁴ α , $^1J_{C-1,H-1} = 176.8$ Hz), 96.8 (C-1³ β , $^1J_{C-1,H-1} = 168.3$ Hz), 96.3 (C-1² β , $^1J_{C-1,H-1} = 168.8$ Hz), 84.4 (C-1¹ β , $^1J_{C-1,H-1} = 167.7$ Hz), 76.9 (C-3³), 76.6 (C-4²), 76.3 (C-3¹), 75.3 (C-5¹), 75.2 (C-3²), 74.8 (C-4¹), 74.7 (C-2⁴), 73.9 (C-5²), 73.9 (C-5³), 73.7 (C-2^{4'}), 73.5 (CH₂O), 73.0 (CH₂O), 71.9 (CH₂O), 71.6 (C-3⁶), 71.6 (C-4⁴), 71.5 (C-3⁵), 71.4 (C-3^{5'}), 71.2 (CH₂O),

70.4 (C-2³), 70.4 (C-5⁵), 70.4 (C-5^{5'}), 70.1 (C-5⁶), 69.5 (C-3⁴), 69.3 (C-3⁴), 68.0 (C-5⁴), 67.8 (C-4⁶), 67.8 (C-4⁵), 67.5 (C-4^{5'}), 67.5 (C-6²), 67.4 (C-5⁴), 67.2 (C-6¹), 66.7 (C-6³), 66.1 (C-4³), 64.3 (C-4⁴), 61.7 (C-6⁵), 61.5 (C-6⁴), 61.5 (C-6^{4'}), 61.2 (C-6⁶), 61.0 (C-6^{5'}), 55.3 (C-2²), 54.1 (C-2¹), 53.8 (C-2⁶), 52.7 (C-2^{5'}), 52.7 (C-2⁵), 20.5, 20.4, 20.2, 20.1 (OAc).

b) über das Thioglycosid **28**

50 mg (22.7 µmol) Hexasaccharid **74**, 38.7 mg (45.4 µmol, 2.0 eq) Thioglycosid **28**, 15.3 mg (68.1 µmol, 3.0 eq) *N*-Iodsuccinimid und 120 mg gemörsertes, frisch ausgeglühtes Molekularsieb 4 Å werden unter Argonatmosphäre in 1.5 mL absolutem Dichlormethan suspendiert. Die Suspension wird 30 min bei Zimmertemperatur gerührt und dann auf -50 °C gekühlt. Anschließend wird die Reaktion durch Zugabe von 80 µL einer gesättigten Lösung von Trifluormethansulfonsäure in absolutem Dichlormethan gestartet und zwischen -50 °C und -40 °C gerührt. Nach 90 min (DC: Hexan/Aceton, 1:1) wird die Reaktion durch die Zugabe von 10 µL (124 µmol, 5.5 eq) Pyridin gestoppt. Die Reaktionslösung wird mit Dichlormethan verdünnt und über Celite filtriert. Die Lösung wird mit 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Es werden 92 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Aceton, 2:1→1.5:1; Säulendurchmesser: 20 mm; Füllhöhe: 12 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 45.8 mg (15.9 µmol, 70.2 %).

O-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido-β-*D*-glucopyranosyl)-(1→2)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido-β-*D*-glucopyranosyl)-(1→4)]-*O*-(3,6-di-*O*-acetyl-α-*D*-mannopyranosyl)-(1→3)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido-β-*D*-glucopyranosyl)-(1→2)-*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-α-*D*-mannopyranosyl)-(1→4)]-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido-β-*D*-glucopyranosyl)-(1→2)-*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-α-*D*-mannopyranosyl)-(1→6)]-*O*-(2-*O*-acetyl-β-*D*-mannopyranosyl)-(1→4)-*O*-(3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-*D*-glucopyranosyl)-(1→4)-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-*D*-glucopyranosylazid **76**

(β -Ac₃GlcNTFAc-1,2-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,4]- α -Ac₂Man-1,3-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,2- α -Ac₃Man-1,4]-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,2- α -Ac₃Man-1,6]- β -AcMan-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-N₃)

Bei der Synthese von Verbindung **75** mit dem Trichloracetimidat **34** und dem Thioglycosid **28** kann durch Überreaktion entstandenes Decasaccharid **76** aus dem Nachlauf der Flashchromatographie isoliert werden. Für die Analytik werden die Nachläufe mehrerer Reaktionsansätze vereint.

$R_f = 0.38$ (Hexan/Aceton, 1:1),

$[\alpha]_D^{25} = -4.7$ (0.4, Dichlormethan),

C₁₅₄H₁₇₃F₁₂N₉O₇₃ (3546.0),

ESI-MS (100 % Acetonitril): $M_{\text{ber}} = 3544.0$ $M_{\text{gef}} = 1795.2$ (M+2Na)²⁺,

¹H-NMR (500 MHz, [D₆]-DMSO): $\delta = 9.07$ - 9.28 (m, 4H, NH), 7.95 - 7.59 (m, 8H, NPht), 7.41 - 7.16 (m, 10H, Ar), 6.99 - 6.55 (m, 10H, Ar), 5.49 (dd, $J_{1,2} < 1$ Hz, $J_{2,3} = 4.4$ Hz, 1H, H-2³), 5.34 - 5.23 (m, 2H, H-3⁶, H-1¹), 5.23 - 4.98 (m, 8H, H-3⁵, H-1², H-3^{5'}, H-4^{4'}, H-1^{4'}, H-4^{4*}, H-3^{4*}, H-3^{5*}), 4.98 - 4.62 (m, 14H, H-3^{4'}, H-4⁵, H-4⁶, CH₂O, H-4^{5*}, H-1⁶, H-4^{5'}, H-1³, H-1^{5*}, H-1^{4*}, CH₂O, H-3⁴, H-1⁴, H-1⁵), 4.58 - 4.50 (m, 2H, CH₂O, CH₂O), 4.50 - 4.30 (m, 7H, H-6a^{4*}, H-1^{5'}, CH₂O, H-6a⁴, CH₂O, H-6a^{4'}, CH₂O), 4.30 - 4.11 (m, 5H, H-6a⁵, CH₂O, H-6a^{5*}, H-6a⁶, H-2^{4'}), 4.11 - 3.90 (m, 12H, H-3², H-3¹, H-6b⁵, H-4¹, H-6a^{5'}, H-4², H-2^{4*}, H-2^{5*}, H-4⁴, H-2², H-6b^{5*}, H-2⁴), 3.90 - 3.43 (m, 23H, H-2⁵, H-2^{5'}, H-6b⁶, H-4³, H-5^{5*}, H-5⁴, H-6b^{4*}, H-5^{4'}, H-5⁶, H-2⁶, H-2¹, H-5^{4*}, H-6b⁴, H-6b^{4'}, H-5⁵, H-6a², H-6a³, H-3³, H-6b^{5'}, H-5^{5'}, H-5¹, H-6b³, H-6b²), 3.43 - 3.13 (m, 4H, H-6a¹, H-5³, H-6b¹, H-5²), 2.09 - 1.78 (m, 21H, OAc),

¹³C-NMR (125 MHz, [D₆]-DMSO): $\delta = 170.9$, 170.8 , 170.7 , 170.6 , 170.4 , 170.0 (C=O OAc), 167.8 (C=O NPht), 157.3 (q, $^2J_{\text{C,F}} = 36.5$ Hz, C=O TFAc), 139.0 , 138.7 (C-1 Ar), 135.6 (C-4/5 NPht), 131.3 (C-1/2 NPht), 129.1 , 129.0 , 128.8 , 128.7 , 128.5 , 128.4 , 128.3 , 128.2 , 128.1 , 127.9 , 127.7 (Ar), 124.2 (C-3/6 NPht), 114.2 (q, $^1J_{\text{C,F}} = 289.4$ Hz, CF₃), 99.0 (C-1^{5'}), 98.6 (C-1⁵), 98.6 (C-1^{4*}), 98.4 (C-1^{4'}), 98.1 (C-1⁶), 97.6 (C-1^{5*}), 97.6 (C-1⁴), 96.9 (C-1³), 96.1 (C-1²), 84.4 (C-1¹), 77.2 (C-3³), 75.9 (C-3¹), 75.9 (C-4²), 75.5 (C-3²), 75.4 (C-2^{4*}), 75.2 (C-5¹), 75.0 (C-2⁴), 74.5 (C-4¹), 74.1 (C-2^{4'}), 73.9 (C-5²), 73.8 (C-5³), 73.6 (CH₂O), 73.2 (CH₂O), 71.8 (CH₂O), 71.6 (C-4⁴), 71.5 (CH₂O), 71.4 (C-3⁵), 71.4 (C-3^{5'}),

71.4 (C-3^{5*}), 70.6 (C-5^{5*}), 70.5 (C-5⁵), 70.5 (C-5⁶), 70.4 (C-3⁶), 70.2 (C-5^{5*}), 70.2 (C-4³), 69.8 (C-2³), 69.5 (C-3⁴), 69.3 (C-3^{4'}), 67.8 (C-5⁴), 67.8 (C-5^{4'}), 67.7 (C-4⁵), 67.7 (C-4^{5'}), 67.7 (C-4⁶), 67.7 (C-4^{5*}), 67.4 (C-6²), 67.4 (C-6³), 67.4 (C-6¹), 67.2 (C-3^{4*}), 66.8 (C-5^{4*}), 64.4 (C-4^{4*}), 64.0 (C-4^{4'}), 61.5 (C-6⁴), 61.3 (C-6⁵), 61.3 (C-6⁶), 61.3 (C-6^{5*}), 61.1 (C-6^{5'}), 60.7 (C-6^{4*}), 60.7 (C-6^{4'}), 55.6 (C-2²), 54.1 (C-2¹), 54.1 (C-2⁶), 52.8 (C-2⁵), 52.8 (C-2^{5*}), 52.8 (C-2^{5'}), 21.2, 20.8 (OAc).

O-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-*O*-(3,6-di-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)]-*O*-(2-*O*-acetyl- β -D-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -D-glucopyranosylazid **78**

(β -Ac₃GlcNTFAc-1,2-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,4]- α -Ac₂Man-1,3-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,4]-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,2- α -Ac₃Man-1,6]- β -AcMan-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-N₃)

193 mg (67.1 μ mol) Oktasaccharid **75**, 378 mg (671.4 μ mol, 10.0 eq) Donor **G**, 302 mg (1.34 mmol, 20.0 eq) *N*-Iodsuccinimid und 960 mg gemörsertes, frisch ausgeglühtes Molekularsieb 4 Å werden unter Argonatmosphäre in 1.7 mL absolutem Dichlormethan suspendiert. Die Suspension wird jeweils 30 min bei Zimmertemperatur und bei -45 °C gerührt. Anschließend wird die Reaktion durch Zugabe von 150 μ L einer gesättigten Lösung von Trifluormethansulfonsäure in absolutem Dichlormethan gestartet und 60 min zwischen -45 °C und -30 °C gerührt. Dann lässt man innerhalb von 4 h auf -10 °C erwärmen und nach Verschwinden der Edukte (DC: Hexan/Ethylacetat, 1:2) wird mit Dichlormethan verdünnt. Die Lösung wird über Celite filtriert, je einmal mit 10 %iger Natriumthiosulfat-Lösung und mit 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Es werden 603 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1.5 \rightarrow 1:2 \rightarrow 1:3; Säulendurchmesser: 30 mm; Füllhöhe: 14 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 162.8 mg (50.0 μ mol, 74.5 %),

$R_f = 0.11$ (Hexan/Ethylacetat, 1:2),

$[\alpha]_D^{23} = -27.2$ (0.4, Dichlormethan),

$C_{142}H_{157}F_{12}N_9O_{65}$ (3257.8),

1H -NMR (360 MHz, [D6]-DMSO): $\delta = 9.79$ (d, $J_{NH,2} = 8.3$ Hz, 1H, NH), 9.58 (d, $J_{NH,2} = 9.6$ Hz, 1H, NH), 9.54 (d, $J_{NH,2} = 8.9$ Hz, 1H, NH), 9.43 (d, $J_{NH,2} = 8.6$ Hz, 1H, NH), 7.92-7.60 (m, 8H NPhT), 7.38-7.16 (m, 10H, Ar), 6.94-6.69 (m, 10H, Ar), 5.33-5.09 (m, 8H, H-3^B, H-1¹, H-3⁵, H-2³, H-3^{5'}, H-4^{4'}, H-3⁶, H-1²), 5.05-4.94 (m, 2H, H-3^{4'}, H-4⁵), 4.93-4.73 (m, 9H, H-1⁴, H-3⁴, H-4⁶, CH₂O, H-1^{4'}, H-1⁶, H-4^B, H-4^{5'}, H-1^B), 4.70-4.60 (m, 2H, H-1⁵, CH₂O), 4.59-4.43 (m, 4H, H-1^{5'}, CH₂O, H-1³, CH₂O), 4.41-4.21 (m, 6H, H-6a⁴, CH₂O, H-6a⁶, CH₂O, CH₂O, CH₂O), 4.17 (dd, $J_{5,6} < 1$ Hz, $J_{gem} = 10.8$ Hz, 1H, H-6a⁵), 4.13-3.91 (m, 16H, H-2^{4'}, H-3¹, H-3², H-6a^B, H-4², H-6a^{5'}, H-6b⁵, H-2⁴, H-2², H-2^B, H-6b⁶, H-4¹, H-4⁴, H-6a^{4'}, H-2⁵, H-6b^{4'}), 3.90-3.69 (m, 11H, H-6b^B, H-4³, H-5⁵, H-5^{4'}, H-6b⁴, H-5⁶, H-5^B, H-5⁴, H-2⁶, H-2^{5'}, H-2¹), 3.69-3.59 (m, 3H, H-6a³, H-6b³, H-6a²), 3.58-3.46 (m, 4H, H-6b², H-5¹, H-3³, H-6b^{5'}), 3.42-3.05 (m, 5H, H-6a¹, H-6b¹, H-5², H-5³, H-5^{5'}), 2.11-1.66 (m, 54H, OAc),

^{13}C -NMR (90 MHz, [D6]-DMSO): $\delta = 170.1$, 169.9, 169.6, 169.5, 169.2 (C=O OAc), 167.2 (C=O NPhT), 156.4 (q, $^2J_{C,F} = 37.2$ Hz, C=O TFAc), 138.1, 138.0, 137.9 (C-1 Ar), 134.7 (C-4/5 NPhT), 130.7, 130.5 (C-1/2 NPhT), 128.2, 128.0, 127.8, 127.6, 127.4, 127.2, 126.9 (Ar), 123.4 (C-3/6 NPhT), 115.7 (q, $^1J_{C,F} = 288.1$ Hz, CF₃), 98.9 (C-1⁵β, $^1J_{C-1,H-1} = 164.3$ Hz), 98.8 (C-1^Bβ, $^1J_{C-1,H-1} = 165.7$ Hz), 98.2 (C-1⁶β, $^1J_{C-1,H-1} = 160.8$ Hz), 98.1 (C-1⁴α, $^1J_{C-1,H-1} = 175.4$ Hz), 97.9 (C-1^{5'}β, $^1J_{C-1,H-1} = 162.9$ Hz), 96.6 (C-1²β, $^1J_{C-1,H-1} = 167.8$ Hz), 96.2 (C-1^{4'}α, $^1J_{C-1,H-1} = 174.0$ Hz), 96.1 (C-1³β, $^1J_{C-1,H-1} = 163.6$ Hz), 84.4 (C-1¹β, $^1J_{C-1,H-1} = 166.8$ Hz), 76.8 (C-3¹), 76.4 (C-4²), 75.6 (C-5¹), 75.4 (C-3³), 75.2 (C-4¹), 75.0 (C-3²), 74.1 (C-2⁴), 73.8 (C-5²), 73.7 (CH₂O), 73.6 (C-5³), 73.0 (CH₂O), 73.0 (C-2^{4'}), 73.0 (C-4³), 72.0 (CH₂O), 71.9 (C-4⁴), 71.7 (C-3^{5'}), 71.7 (C-3⁶), 71.6 (C-3⁵), 71.5 (CH₂O), 70.8 (C-3^B), 70.6 (C-5^B), 70.6 (C-5⁵), 70.6 (C-5^{5'}), 70.3 (C-5⁶), 70.0 (C-2³), 69.7 (C-3^{4'}), 69.0 (C-3⁴), 69.0 (C-4^B), 68.7 (C-5⁴), 67.9 (C-4⁶), 67.8 (C-4^{5'}), 67.7 (C-5^{4'}), 67.3 (C-6¹), 67.2 (C-4⁵), 67.1 (C-6²), 66.1 (C-6³), 64.4 (C-4^{4'}), 62.2 (C-6^B), 61.8 (C-6^{4'}), 61.7 (C-6⁴), 61.5 (C-6⁵), 61.0 (C-6^{5'}), 60.8 (C-6⁶), 55.3 (C-2²), 54.3 (C-2¹), 54.1 (C-2^B), 54.1 (C-2⁶), 53.7 (C-2^{5'}), 53.4 (C-2⁵), 20.6, 20.0 (OAc).

O-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-*O*-(3,6-di-*O*-acetyl- α -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl- α -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)]-*O*-(2-*O*-acetyl- β -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosylazid **79**

(β -Ac₃GlcNPht-1,2-[β -Ac₃GlcNPht-1,4]- α -Ac₂Man-1,3-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,4]-[β -Ac₃GlcNPht-1,2- α -Ac₃Man-1,6]- β -AcMan-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-N₃)

13.6 mg (4.6 μ mol) Oktasaccharid **77**, 25.7 mg (45.7 μ mol, 10.0 eq) Donor **G**, 20.6 mg (91.4 μ mol, 20.0 eq) *N*-Iodsuccinimid und 70 mg gemörseretes, frisch ausgeglühtes Molekularsieb 4 Å werden unter Argonatmosphäre in 0.41 mL absolutem Dichlormethan suspendiert. Die Suspension wird 45 min bei Zimmertemperatur gerührt und dann auf -40 °C gekühlt. Anschließend wird die Reaktion durch Zugabe von 100 μ L einer gesättigten Lösung von Trifluormethansulfonsäure in absolutem Dichlormethan gestartet und 60 min bei -40 °C gerührt. Danach lässt man innerhalb von 3.5 h auf -5 °C erwärmen. Nach vollständigem Umsatz der Edukte (DC: Hexan/Ethylacetat, 1:2) wird die Reaktion mit Dichlormethan verdünnt und über Celite filtriert. Die Lösung wird mit 10 %iger Natriumthiosulfat-Lösung und mit 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Es werden 37 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1.5 \rightarrow 1:2 \rightarrow 1:3; Säulendurchmesser: 10 mm; Füllhöhe: 11 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 7.7 mg (2.29 μ mol, 50.1 %),

R_f = 0.07 (Hexan/Ethylacetat, 1:2),

C₁₆₀H₁₆₆F₃N₉O₆₈ (3360.0),

ESI-MS (100 % Acetonitril): $M_{\text{ber}} = 3358.0$ $M_{\text{gef}} = 3381.6$ (M+Na)⁺.

9.17 Versuche zu Kapitel 3.4.3

O-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-*O*-(3,6-di-*O*-acetyl- α -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-{*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)]-*O*-(3,4-di-*O*-acetyl- α -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)}-*O*-(2-*O*-acetyl- β -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosylazid **80**

(β -Ac₃GlcNTFAc-1,2-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,4]- α -Ac₂Man-1,3-{ β -Ac₃GlcNTFAc-1,2-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,6]- α -Ac₂Man-1,6}- β -AcMan-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-N₃)

100 mg (45.4 μ mol) Hexasaccharid **74**, 108 mg (90.8 μ mol, 2.0 eq) Donor **55**, 30.6 mg (136.2 μ mol, 3.0 eq) *N*-Iodsuccinimid und 250 mg gemörsertes, frisch ausgeglühtes Molekularsieb 4 Å werden unter Argonatmosphäre in 1.3 mL absolutem Dichlormethan suspendiert. Die Suspension wird 30 min bei Zimmertemperatur und 90 min bei -40 °C gerührt. Anschließend wird die Reaktion durch Zugabe von 100 μ L einer gesättigten Lösung von Trifluormethansulfonsäure in absolutem Dichlormethan gestartet und von -40 °C langsam auf -20 °C gebracht. Nach 3 h (DC: Hexan/Aceton, 1:1) wird die Reaktion mit Dichlormethan verdünnt und über Celite filtriert. Die Lösung wird je einmal mit 10 %iger Natriumthiosulfat-Lösung und mit 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingeeengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Es werden 199 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Aceton, 2:1 \rightarrow 1.5:1; Säulendurchmesser: 30 mm; Füllhöhe: 15 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 104 mg (32.3 μ mol, 71.2 %),

$R_f = 0.29$ (Hexan/Aceton, 1:1),

$[\alpha]_D^{23} = -10.7$ (1.1, Dichlormethan),

C₁₄₀H₁₅₅F₁₂N₉O₆₄ (3215.7),

ESI-MS (100 % Acetonitril): $M_{\text{ber}} = 3213.9$ $M_{\text{gef}} = 3233.1$ (M+H₃O)⁺,

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, [D6]-DMSO): δ = 9.69 (d, $J_{\text{NH},2} = 8.8$ Hz, 1H, NH), 9.59 (d, $J_{\text{NH},2} = 8.8$ Hz, 1H, NH), 9.40 (d, $J_{\text{NH},2} = 9.9$ Hz, 1H, NH), 9.36 (d, $J_{\text{NH},2} = 8.8$ Hz, 1H, NH), 7.96-7.62 (m 8H, NPhT), 7.35-7.17 (m, 10H, Ar), 6.98-6.70 (m, 10H, Ar), 5.51 (d, $J_{\text{OH},3} = 5.4$ Hz, 1H, OH-4³), 5.28-5.07 (m, 7H, H-2³, H-1¹, H-3⁵, H-3⁶, H-1², H-3⁷, H-1⁴), 5.01 (dd, $J_{1,2} = 2.7$ Hz, $J_{3,4} = 9.9$ Hz, 1H, H-3⁴), 4.94-4.85 (m, 4H, H-4⁶, H-4⁷, H-3⁵, H-1⁶), 4.84-4.75 (m, 5H, H-4⁵, CH₂O, H-1³, H-3⁴, H-4⁴), 4.75-4.68 (m, 3H, H-4⁵, H-1⁴, H-1⁷), 4.65 (d, $J_{\text{gem}} = 13.2$ Hz, 1H, CH₂O), 4.60-4.51 (m, 4H, CH₂O, H-1⁵, CH₂O, CH₂O), 4.43 (dd, $J_{5,6} < 1$ Hz, $J_{\text{gem}} = 11.0$ Hz, 1H, H-6a⁴), 4.39-4.30 (m, 3H, CH₂O, CH₂O, CH₂O), 4.25-4.12 (m, 5H, H-1⁵, H-6a⁵, H-6a⁶, H-6a⁷, H-2⁴), 4.08-4.00 (m, 4H, H-3², H-3¹, H-6b⁷, H-4¹), 3.99-3.65 (m, 21H, H-4⁴, H-2², H-4², H-6b⁵, H-6b⁶, H-6a³, H-5⁴, H-5⁶, H-2⁷, H-6b⁴, H-2⁴, H-5⁴, H-2⁶, H-4³, H-6a⁵, H-2¹, H-2⁵, H-2⁵, H-5⁷, H-5⁵, H-6a²), 3.64-3.50 (m, 4H, H-6a⁴, H-3³, H-6b², H-5¹), 3.43-3.18 (m, 7H, H-6a¹, H-6b⁵, H-6b³, H-5³, H-6b¹, H-6b⁴, H-5²), 2.58-2.53 (m, 1H, H-5⁵), 2.10-1.73 (m, 51H, OAc),

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, [D6]-DMSO): δ = 170.9, 170.7, 170.6, 170.4, 170.3, 170.2, 170.0, 169.8 (C=O OAc), 167.6, 167.4 (C=O NPhT), 156.4 (q, $^2J_{\text{C},\text{F}} = 36.5$ Hz, C=O TFAc), 139.1, 139.0, 138.8, 138.7 (C-1 Ar), 135.6 (C-4/5 NPhT), 131.5, 131.3 (C-1/2 NPhT), 128.6, 128.5, 128.3, 128.1, 127.9, 127.8 (Ar), 124.2 (C-3/6 NPhT), 115.7 (q, $^1J_{\text{C},\text{F}} = 289.4$ Hz, CF₃), 99.2 (C-1⁵β, $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 164.5$ Hz), 99.1 (C-1⁵β, $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 166.2$ Hz), 98.7 (C-1⁷β, $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 167.2$ Hz), 98.6 (C-1⁴α, $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 177.8$ Hz), 98.0 (C-1⁶β, $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 164.5$ Hz), 97.2 (C-1³β, $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 160.4$ Hz), 96.8 (C-1⁴α, $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 174.5$ Hz), 96.1 (C-1²β, $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 168.7$ Hz), 84.4 (C-1¹β, $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 167.9$ Hz), 77.6 (C-4²), 77.4 (C-3³), 76.0 (C-3¹), 75.4 (C-5¹), 74.7 (C-3²), 74.7 (C-2⁴), 74.6 (C-4¹), 73.9 (C-5²), 73.8 (C-5³), 73.6 (C-2⁴), 73.4 (CH₂O), 72.7 (CH₂O), 71.9 (CH₂O), 71.7 (C-4⁴), 71.5 (C-3⁶), 71.5 (C-3⁵), 71.5 (C-3⁷), 71.5 (CH₂O), 70.8 (C-3⁵), 70.7 (C-2³), 70.5 (C-5⁷), 70.5 (C-5⁵), 70.3 (C-5⁵), 70.2 (C-5⁶), 69.4 (C-3⁴), 69.4 (C-3⁴), 68.5 (C-5⁴), 68.1 (C-6⁴), 68.0 (C-5⁴), 68.0 (C-4⁵), 67.9 (C-4⁶), 67.9 (C-4⁷), 67.4 (C-4⁵), 67.3 (C-6²), 67.3 (C-6¹), 65.9 (C-6³), 65.1 (C-4³), 65.0 (C-4⁴), 61.7 (C-6⁶), 61.6 (C-6⁴), 61.3 (C-6⁷), 61.2 (C-6⁵), 60.9 (C-6⁵), 55.5 (C-2²), 54.2 (C-2¹), 53.9 (C-2⁶), 53.2 (C-2⁵), 53.0 (C-2⁵), 52.8 (C-2⁷), 21.2, 21.0, 20.9 (OAc).

O-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido-β-*D*-glucopyranosyl)-(1→2)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido-β-*D*-glucopyranosyl)-(1→4)]-*O*-(3,6-di-*O*-acetyl-α-*D*-mannopyranosyl)-(1→3)-{*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido-β-*D*-glu-

*copyranosyl)-(1→2)-[O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido-β-D-glucopyranosyl)-(1→6)]-O-(3,4-di-O-acetyl-α-D-mannopyranosyl)-(1→4)]-O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido-β-D-glucopyranosyl)-(1→2)-[O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido-β-D-glucopyranosyl)-(1→6)]-O-(3,4-di-O-acetyl-α-D-mannopyranosyl)-(1→6)]-O-(2-O-acetyl-β-D-mannopyranosyl)-(1→4)-O-(3,6-di-O-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-D-glucopyranosyl)-(1→4)-3,6-di-O-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-D-glucopyranosylazid **81***

(β-Ac₃GlcNTFAc-1,2-[β-Ac₃GlcNTFAc-1,4]-α-Ac₂Man-1,3-{β-Ac₃GlcNTFAc-1,2-[β-Ac₃GlcNTFAc-1,6]-α-Ac₂Man-1,4}-{β-Ac₃GlcNTFAc-1,2-[β-Ac₃GlcNTFAc-1,6]-α-Ac₂Man-1,6}-β-AcMan-1,4-β-Bzl₂GlcNPht-1,4-β-Bzl₂GlcNPht-N₃)

Bei der Synthese von Verbindung **80** kann durch Überreaktion entstandenes Dodecasaccharid **81** aus dem Nachlauf der Flashchromatographie isoliert werden. Für die Analytik werden die Nachläufe mehrerer Reaktionsansätze vereint.

$R_f = 0.35$ (Hexan/Aceton, 1:1),

$[\alpha]_D^{25} = -5.4$ (1.0, Dichlormethan),

C₁₇₈H₂₀₁F₁₈N₁₁O₈₇ (4228.5),

ESI-MS (100 % Acetonitril): $M_{\text{ber}} = 4226.1$ $M_{\text{gef}} = 2136.2$ (M+2Na)²⁺, 4248.5 (M+Na),

¹H-NMR (360 MHz, [D₆]-DMSO): $\delta = 9.77-9.05$ (m, 6H, NH), 7.98-7.58 (m, 8H, NPht), 7.49-7.13 (m, 10H, Ar), 7.01-6.64 (m, 10H, Ar), 5.47 (dd, $J_{1,2} < 1$ Hz, $J_{2,3} < 1$ Hz, 1H, H-2³), 5.31-4.68 (m, 28H, H-3^{7*}, H-1¹, H-3^{4*}, H-3^{7'}, H-3^{5*}, H-3^{5'}, H-3⁶, H-1⁴, H-3⁵, H-4^{4'}, H-1², H-4^{4*}, H-1^{7*}, H-3^{4'}, H-4^{7*}, H-4^{7'}, H-1^{4'}, H-1³, H-3⁴, CH₂O, H-4^{5*}, H-1^{7'}, H-1⁶, H-4^{5'}, H-1⁵, H-4⁶, H-4⁵, H-1^{5*}), 4.66-4.50 (m, 5H, CH₂O, H-1^{4*}, CH₂O, H-1^{5'}, CH₂O), 4.50-4.10 (m, 13H, CH₂O, H-6a⁴, CH₂O, CH₂O, CH₂O, H-6a^{7'}, H-6a^{5*}, H-6a^{5'}, H-3², H-2^{4*}, H-6a⁶, H-6a⁵, H-4⁴), 4.10-3.62 (m, 29H, H-2², H-6b^{7'}, H-4², H-4¹, H-2^{4'}, H-3¹, H-6b^{5*}, H-6b^{5'}, H-2⁴, H-4³, H-2^{5'}, H-6b⁶, H-3³, H-6b⁵, H-5^{7*}, H-5^{7'}, H-6a^{7*}, H-5^{5*}, H-2⁶, H-2^{5*}, H-2¹, H-2^{7'}, H-5⁴, H-6a^{4*}, H-2⁵, H-5⁶, H-5^{4'}, H-5⁵, H-6b⁴), 3.62-3.51 (m, 4H, H-6a^{4'}, H-6a³, H-6a², H-5¹), 3.51-3.40 (m, 6H, H-5^{5'}, H-2^{7*}, H-6b², H-6b^{4'}, H-6a¹, H-6b^{4*}), 3.40-3.16 (m, 5H, H-6b^{7*}, H-5^{4*}, H-5³, H-6b¹, H-6b³), 3.12-3.03 (m, 1H, H-5²), 2.15-1.78 (m, 25H, OAc),

^{13}C -NMR (90 MHz, [D6]-DMSO): $\delta = 170.0, 169.9, 169.7, 169.6, 169.5, 169.4, 169.2, 169.0$ (C=O OAc), 167.0 (C=O NPh), 156.7 (q, $^2J_{\text{C,F}} = 36.5$ Hz, C=O TFAc), 156.5 (q, $^2J_{\text{C,F}} = 36.5$ Hz, C=O TFAc), $138.1, 137.8$ (C-1 Ar), 134.7 (C-4/5 NPh), $130.7, 130.6$ (C-1/2 NPh), $128.8, 128.7, 128.2, 128.0, 127.8, 127.7, 127.5, 127.1$ (Ar), 123.4 (C-3/6 NPh), 115.7 (q, $^1J_{\text{C,F}} = 288.7$ Hz, CF_3), 115.6 (q, $^1J_{\text{C,F}} = 288.7$ Hz, CF_3), 115.5 (q, $^1J_{\text{C,F}} = 288.1$ Hz, CF_3), 100.7 (C-1⁵), 100.3 (C-1⁴ α , $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 175.5$ Hz), 100.1 (C-1⁷), 100.0 (C-1⁴ α , $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 173.4$ Hz), 98.9 (C-1^{5*}), 98.9 (C-1⁵), 98.5 (C-1^{7*}), 98.1 (C-1³), 97.8 (C-1^{4*} α , $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 172.3$ Hz), 97.2 (C-1⁶), 96.1 (C-1²), 84.6 (C-1¹), 77.6 (C-4²), 76.6 (C-3³), 76.2 (C-3¹), 76.2 (C-2⁴), 75.6 (C-2⁴), 75.4 (C-5¹), 74.6 (C-5³), 74.5 (C-3²), 74.2 (C-4¹), 74.2 (C-5²), 74.1 (C-2^{4*}), 74.0 (CH_2O), 72.7 (CH_2O), 71.8 (C-3⁵), 71.8 (C-3⁶), 71.8 (C-3⁵), 71.8 (C-3⁷), 71.8 (C-3^{5*}), 71.8 (CH_2O), 71.7 (CH_2O), 71.7 (C-4³), 71.4 (C-4⁴), 71.0 (C-3^{7*}), 70.6 (C-3^{4*}), 70.6 (C-5^{7*}), 70.6 (C-5⁷), 70.6 (C-5^{5*}), 70.6 (C-5⁶), 70.6 (C-5⁵), 70.3 (C-3⁴), 70.3 (C-2³), 69.6 (C-3⁴), 69.6 (C-5⁵), 69.0 (C-5^{4*}), 68.2 (C-5⁴), 68.2 (C-6³), 67.8 (C-5⁴), 67.8 (C-4^{7*}), 67.8 (C-4⁷), 67.8 (C-4^{5*}), 67.8 (C-4⁶), 67.8 (C-4⁵), 67.8 (C-4⁵), 67.4 (C-6²), 67.4 (C-6¹), 67.2 (C-4^{4*}), 66.2 (C-6^{4*}), 66.2 (C-6⁴), 64.8 (C-4⁴), 61.4 (C-6⁷), 61.4 (C-6^{5*}), 61.4 (C-6⁵), 61.4 (C-6⁶), 61.4 (C-6⁵), 61.0 (C-6⁴), 60.8 (C-6^{7*}), 55.3 (C-2²), 54.6 (C-2^{7*}), 54.3 (C-2¹), 53.9 (C-2⁷), 53.9 (C-2^{5*}), 53.0 (C-2⁶), 53.0 (C-2⁵), 52.9 (C-2⁵), $20.2, 20.0$ (OAc).

O-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-*O*-(3,6-di-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-{*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)]-*O*-(3,4-di-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)}-*O*-(2-*O*-acetyl- β -D-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -D-glucopyranosylazid **83**

(β -Ac₃GlcNTFAc-1,2-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,4]- α -Ac₂Man-1,3-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,4]-{ β -Ac₃GlcNTFAc-1,2-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,6]- α -Ac₂Man-1,6}- β -AcMan-1,4- β -Bzl₂GlcNPh-1,4- β -Bzl₂GlcNPh-N₃)

H-5^B, H-2^{7'}, H-4³, H-6b^B, H-5⁵, H-4⁴, H-5⁶, H-5⁴, H-5^{4'}, H-6b⁴, H-2⁶, H-2⁵, H-2¹, H-5^{7'}, 3.70-3.50 (m, 8H, H-6a^{4'}, H-6a³, H-2^{5'}, H-6a², H-6b³, H-6b², H-3³, H-5¹), 3.46-3.05 (m, 7H, H-6b^{5'}, H-6b^{4'}, H-6a¹, H-6b¹, H-5³, H-5², H-5^{5'}), 2.08-1.79 (m, 60H, OAc),

¹³C-NMR (125 MHz, [D6]-DMSO): δ = 170.9, 170.7, 170.4, 170.3, 170.1, 169.9 (C=O OAc), 167.9, 167.7 (C=O NPhT), 157.3 (q, ²J_{C,F} = 35.8 Hz, C=O TFAc), 138.9, 138.7 (C-1 Ar), 135.5 (C-4/5 NPhT), 131.5, 131.3 (C-1/2 NPhT), 129.3, 129.0, 128.9, 128.7, 128.4, 128.2, 128.0, 127.7 (Ar), 124.1 (C-3/6 NPhT), 116.4 (q, ¹J_{C,F} = 289.6 Hz, CF₃), 98.8 (C-1⁵β, ¹J_{C-1,H-1} = 166.0 Hz), 98.8 (C-1⁷β, ¹J_{C-1,H-1} = 165.4 Hz), 98.5 (C-1^Bβ, ¹J_{C-1,H-1} = 164.7 Hz), 98.3 (C-1⁶β, ¹J_{C-1,H-1} = 167.4 Hz), 98.2 (C-1⁴α, ¹J_{C-1,H-1} = 173.6 Hz), 97.9 (C-1^{5'}β, ¹J_{C-1,H-1} = 165.4 Hz), 96.5 (C-1²β, ¹J_{C-1,H-1} = 168.7 Hz), 96.4 (C-1^{4'}α, ¹J_{C-1,H-1} = 174.3 Hz), 96.3 (C-1³β, ¹J_{C-1,H-1} = 163.3 Hz), 84.3 (C-1¹β, ¹J_{C-1,H-1} = 167.5 Hz), 76.7 (C-3¹), 76.1 (C-3³), 75.4 (C-5¹), 74.9 (C-4¹), 74.3 (C-3²), 74.1 (C-4²), 73.9 (C-5²), 73.7 (CH₂O), 73.6 (C-2⁴), 73.6 (C-2⁴), 73.4 (C-5³), 72.8 (CH₂O), 72.1 (C-4³), 72.0 (CH₂O), 71.8 (C-5^B), 71.7 (C-3⁵), 71.7 (C-3^{5'}), 71.4 (CH₂O), 71.3 (C-3^B), 71.3 (C-3^{7'}), 70.8 (C-3⁶), 70.6 (C-5⁶), 70.6 (C-5^{7'}), 70.5 (C-5^{5'}), 70.4 (C-5⁵), 70.4 (C-4⁴), 70.1 (C-2³), 69.7 (C-3⁴), 69.0 (C-3⁴), 68.9 (C-5⁴), 68.9 (C-5⁴), 68.9 (C-4^B), 68.0 (C-4^{7'}), 68.0 (C-4⁶), 67.7 (C-4^{5'}), 67.2 (C-6¹), 67.1 (C-6²), 67.1 (C-6⁴), 67.1 (C-4⁵), 65.7 (C-6³), 64.8 (C-4⁴), 62.0 (C-6^B), 61.7 (C-6⁴), 61.7 (C-6^{7'}), 61.5 (C-6⁶), 60.8 (C-6^{5'}), 60.7 (C-6⁵), 55.2 (C-2²), 54.3 (C-2^B), 54.1 (C-2¹), 53.9 (C-2⁵), 53.7 (C-2⁶), 53.2 (C-2⁵), 53.2 (C-2^{7'}), 21.1, 21.0, 20.9, 20.8 (OAc).

O-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-*D*-glucopyranosyl)-(1→2)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-*D*-glucopyranosyl)-(1→4)]-*O*-(3,6-di-*O*-acetyl-α-*D*-mannopyranosyl)-(1→3)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoroacetamido-β-*D*-glucopyranosyl)-(1→4)]-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-*D*-glucopyranosyl)-(1→2)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-*D*-glucopyranosyl)-(1→6)]-*O*-(3,4-di-*O*-acetyl-α-*D*-mannopyranosyl)-(1→6)]-*O*-(2-*O*-acetyl-β-*D*-mannopyranosyl)-(1→4)-*O*-(3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-*D*-glucopyranosyl)-(1→4)-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-*D*-glucopyranosylazid **84**

(β-Ac₃GlcNPhT-1,2-[β-Ac₃GlcNPhT-1,4]-α-Ac₂Man-1,3-[β-Ac₃GlcNTFAc-1,4]-

{ β -Ac₃GlcNPht-1,2-[β -Ac₃GlcNPht-1,6]- α -Ac₂Man-1,6}- β -AcMan-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-N₃)

27.6 mg (8.23 μ mol) Nonasaccharid **82**, 46.4 mg (82.3 μ mol, 10.0 eq) Donor **G**, 37.0 mg (164.6 μ mol, 20.0 eq) *N*-Iodsuccinimid und 110 mg gemörsertes, frisch ausgeglühtes Molekularsieb 4 Å werden unter Argonatmosphäre in 0.75 mL absolutem Dichlormethan suspendiert. Die Suspension wird 50 min bei Zimmertemperatur und 45 min bei -40 °C gerührt. Anschließend wird die Reaktion durch Zugabe von 100 μ L einer gesättigten Lösung von Trifluormethansulfonsäure in absolutem Dichlormethan gestartet und 60 min bei -40 °C gerührt. Danach lässt man die Reaktionslösung langsam auf Zimmertemperatur erwärmen. Nach 22 h (DC: Hexan/Ethylacetat, 1:3) wird die Reaktion mit Dichlormethan verdünnt und über Celite filtriert. Die Lösung wird mit 10 %iger Natriumthiosulfat-Lösung und mit 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Es werden 76 mg Rohprodukt erhalten, die dreimal mittels Flashchromatographie (1. Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1.5→1:2; Säulendurchmesser: 10 mm; Füllhöhe: 11 cm; 2. Hexan/Aceton, 1.5:1→1:1; Säulendurchmesser: 10 mm; Füllhöhe: 11 cm; 3. Cyclohexan/Ethylacetat, 1:3; Säulendurchmesser: 10 mm; Füllhöhe: 18 cm;) gereinigt werden. Hierbei werden 9.8 mg eines Gemisches erhalten, das durch RP-HPLC getrennt wird (Basic; Agilent C8 XBD; Säulengröße: 15×4.65 mm; Eluent A: Wasser (0.1 % Ameisensäure); Eluent B: Acetonitril (0.1 % Ameisensäure); linearer Gradient 75 % B → 83 % in 12 CV; Fluss: 1 mL/min; Detektion: 214, 254 und 280 nm; Retentionszeit: 20.8 min).

Ausbeute: 7.5 mg (2.01 μ mol, 24.4 %),

$R_f = 0.31$ (Hexan/Ethylacetat, 1:3),

C₁₇₈H₁₈₃F₃N₁₀O₇₆ (3735.4),

ESI-MS (50 % Acetonitril): $M_{\text{ber}} = 3733.1$ $M_{\text{gef}} = 3752.0$ (M+H₃O)⁺, 3756.1 (M+Na)⁺.

9.18 Versuche zu Kapitel 3.5

O-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl- α -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl- α -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)]-*O*-(2-*O*-acetyl- β -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosylazid **45**

(β -Ac₃GlcNTFAc-1,2- α -Ac₃Man-1,3-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,4]-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,2- α -Ac₃Man-1,6]- β -AcMan-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-N₃)

30 mg (16.1 μ mol) Pentasaccharid **39**, 27.4 mg (32.2 μ mol, 2.0 eq) Thioglycosid **28**, 10.9 mg (48.3 μ mol, 3.0 eq) *N*-Iodsuccinimid und 230 mg gemörsertes, frisch ausgeglühtes Molekularsieb 4 Å werden unter Argonatmosphäre in 1.2 mL absolutem Dichlormethan suspendiert. Die Suspension wird 30 min bei Zimmertemperatur und 140 min bei -50 °C gerührt. Anschließend wird die Reaktion durch Zugabe von 80 μ L einer gesättigten Lösung von Trifluormethansulfonsäure in absolutem Dichlormethan gestartet und 50 min zwischen -50 °C und -40 °C gerührt (DC: Hexan/Aceton, 1:1). Zur Reaktion wird bei -40 °C eine Lösung von 90.7 mg (161 μ mol, 10.0 eq) Donor **G** und 72.4 mg (322 μ mol, 20.0 eq) *N*-Iodsuccinimid in 300 μ L absolutem Dichlormethan gegeben. Die Reaktion wird 175 min gerührt, wobei die Temperatur von -40 °C auf 10 °C ansteigt. Nach Ende der Reaktion (DC: Hexan/Ethylacetat, 1:2) wird mit Dichlormethan verdünnt und über Celite filtriert. Die Lösung wird je einmal mit 10 %iger Natriumthiosulfat-Lösung und mit 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingeengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Es werden 91 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1 \rightarrow 1:1.5 \rightarrow 1:2 \rightarrow 1:3; Säulendurchmesser: 20 mm; Füllhöhe: 13 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 21.5 mg (7.4 μ mol, 46.0 %).

O-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-*O*-(3,6-di-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)]-*O*-(2-*O*-acetyl- β -D-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -D-glucopyranosylazid **78**

(β -Ac₃GlcNTFAc-1,2-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,4]- α -Ac₂Man-1,3-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,4]-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,2- α -Ac₃Man-1,6]- β -AcMan-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-N₃)

26.8 mg (12.2 μ mol) Hexasaccharid **74**, 20.7 mg (24.3 μ mol, 2.0 eq) Thioglycosid **28**, 8.2 mg (36.5 μ mol, 3.0 eq) *N*-Iodsuccinimid und 200 mg gemörsertes, frisch ausgeglühtes Molekularsieb 4 Å werden unter Argonatmosphäre in 0.55 mL absolutem Dichlormethan suspendiert. Die Suspension wird 25 min bei Zimmertemperatur gerührt und dann auf -50 °C gekühlt. Anschließend wird die Reaktion durch Zugabe von 80 μ L einer gesättigten Lösung von Trifluormethansulfonsäure in absolutem Dichlormethan gestartet und 140 min zwischen -50 °C und -40 °C gerührt (DC: Hexan/Aceton, 1:1). Zur Reaktion wird bei -40 °C eine Lösung von 68.6 mg (121.7 μ mol, 10.0 eq) Donor **G** und 57.8 mg (243.4 μ mol, 20.0 eq) *N*-Iodsuccinimid in 500 μ L absolutem Dichlormethan gegeben. Nach 240 min wird eine Lösung von 42.7 mg (75.8 μ mol, 6.2 eq) Donor **G** in 100 μ L absolutem Dichlormethan zugegeben. Insgesamt wird die Reaktion 290 min gerührt, wobei die Temperatur von -40 °C auf 10 °C ansteigt. Nach Ende der Reaktion (DC: Hexan/Ethylacetat, 1:2) wird mit Dichlormethan verdünnt und über Celite filtriert. Die Lösung wird je einmal mit 10 %iger Natriumthiosulfat-Lösung und mit 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Es werden 140 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:1.5 \rightarrow 1:3; Säulendurchmesser: 20 mm; Füllhöhe: 12 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 10.1 mg (3.1 μ mol, 25.5 %),

und 16.6 mg (5.8 μ mol, 47.5 %) Oktasaccharid **75**.

O-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-*O*-(3,6-di-*O*-acetyl- α -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-{*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)]-*O*-(3,4-di-*O*-acetyl- α -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)}-*O*-(2-*O*-acetyl- β -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosylazid **83**

(β -Ac₃GlcNTFAc-1,2-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,4]- α -Ac₂Man-1,3-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,4]-{ β -Ac₃GlcNTFAc-1,2-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,6]- α -Ac₂Man-1,6}- β -AcMan-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-N₃)

30 mg (13.6 μ mol) Hexasaccharid **74**, 32.5 mg (27.2 μ mol, 2.0 eq) Thioglycosid **55**, 9.2 mg (40.9 μ mol, 3.0 eq) *N*-Iodsuccinimid und 210 mg gemörsertes, frisch ausgeglühtes Molekularsieb 4 Å werden unter Argonatmosphäre in 0.5 mL absolutem Dichlormethan suspendiert. Die Suspension wird zuerst bei Zimmertemperatur und 35 min bei -40 °C gerührt. Anschließend wird die Reaktion durch Zugabe von 80 μ L einer gesättigten Lösung von Trifluormethansulfonsäure in absolutem Dichlormethan gestartet und 135 min zwischen -40 °C und -25 °C gerührt (DC: Hexan/Aceton, 1:1). Zur Reaktion wird bei -30 °C eine Lösung von 76.6 mg (136 μ mol, 10.0 eq) Donor **G** und 61.2 mg (272 μ mol, 20.0 eq) *N*-Iodsuccinimid in 600 μ L absolutem Dichlormethan gegeben. Die Reaktion wird 2 h gerührt, wobei die Temperatur von -30 °C auf 0 °C ansteigt. Nach Ende der Reaktion (DC: Hexan/Ethylacetat, 1:2) wird mit Dichlormethan verdünnt und über Celite filtriert. Die Lösung wird je einmal mit 10 %iger Natriumthiosulfat-Lösung und mit 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Es werden 118 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:2 \rightarrow 1:3; Säulendurchmesser: 20 mm; Füllhöhe: 12.5 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 31.0 mg (8.6 μ mol, 63.3 %).

O-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-*O*-(3,6-di-*O*-acetyl- α -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-{*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)]-*O*-(3-*O*-acetyl- α -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)}-*O*-(2-*O*-acetyl- β -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosylazid **85**

(β -Ac₃GlcNTFAc-1,2-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,4]- α -Ac₂Man-1,3-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,4]-{ β -Ac₃GlcNTFAc-1,2-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,4]-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,6]- α -AcMan-1,6}- β -AcMan-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-N₃)

30.0 mg (13.6 μ mol) Hexasaccharid **74**, 41.7 mg (27.2 μ mol, 2.0 eq) Thioglycosid **17**, 9.2 mg (40.9 μ mol, 3.0 eq) *N*-Iodsuccinimid und 220 mg gemörsertes, frisch ausgeglühtes Molekularsieb 4 Å werden unter Argonatmosphäre in 0.5 mL absolutem Dichlormethan suspendiert. Die Suspension wird 30 min bei Zimmertemperatur und 90 min bei -40 °C gerührt. Anschließend wird die Reaktion durch tropfenweise Zugabe einer gesättigten Lösung von Trifluormethansulfonsäure in absolutem Dichlormethan gestartet und 165 min gerührt (DC: Hexan/Aceton, 1:1). Dabei steigt die Reaktionstemperatur von -40 °C auf -10 °C. Zur Reaktion wird bei -40 °C eine Lösung von 76.6 mg (136.0 μ mol, 10.0 eq) Donor **G** und 61.2 mg (272.0 μ mol, 20 eq) *N*-Iodsuccinimid in 0.6 mL absolutem Dichlormethan gegeben. Die Reaktion wird 105 min gerührt, wobei die Temperatur von -40 °C auf 0 °C ansteigt. Nach Ende der Reaktion (DC: Cyclohexan/Ethylacetat, 1:3) wird mit Dichlormethan verdünnt und über Celite filtriert. Die Lösung wird je einmal mit 10 %iger Natriumthiosulfat-Lösung und mit 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Es werden 134 mg Rohprodukt erhalten, die zweimal mittels Flashchromatographie (1. Cyclohexan/Ethylacetat, 1:2 \rightarrow 1:3; Säulendurchmesser: 20 mm; Füllhöhe: 13.5 cm; 2. Cyclohexan/ Ethylacetat, 1:2 \rightarrow 1:3; Säulendurchmesser: 10 mm; Füllhöhe: 13 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 15.6 mg (4.0 μ mol, 29.4 %),

R_f (Decasaccharid) = 0.71 (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:3),

R_f (Undecasaccharid **85**) = 0.64 (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:3),

$[\alpha]_D^{24} = -24.2$ (1.6, Dichlormethan),

$C_{166}H_{185}F_{18}N_{11}O_{79}$ (3940.2),

ESI-MS (50 % Acetonitril): $M_{ber} = 3938.1$ $M_{gef} = 1992.5 (M+2Na)^{2+}$,
 $3957.6 (M+H_3O)^+$

1H -NMR (360 MHz, [D6]-DMSO): $\delta = 9.86$ - 9.71 (m, 2H, NH), 9.68 - 9.54 (m, 2H, NH), 9.42 (d, $J_{NH,2} = 8.8$ Hz, 1H, NH), 9.36 (d, $J_{NH,2} = 8.6$ Hz, 1H, NH), 8.01 - 7.58 (m, 8H, NPht), 7.42 - 7.12 (m, 10H, Ar), 7.02 - 6.64 (m, 10H, Ar), 5.36 - 5.01 (m, 11H, H-3^B, H-3⁵, H-1¹, H-2³, H-3⁶, H-1², H-3⁶, H-3⁷, H-3⁵, H-4^B, H-3⁴), 4.99 - 4.55 (m, 16H, H-1⁶, H-4⁶, H-4⁶, H-3⁴, H-1⁷, H-4⁷, H-1⁴, H-4⁵, CH₂O, H-1⁵, H-1⁴, H-1³, CH₂O, H-1⁵, H-4⁵, CH₂O), 4.55 - 4.20 (m, 11H, CH₂O, H-1⁶, CH₂O, H-6a⁴, H-1^B, CH₂O, H-6a⁶, CH₂O, H-6a^B, H-6a⁷, CH₂O), 4.19 - 3.72 (m, 30H, H-6a⁵, H-6a⁶, H-6b⁶, H-2⁴, H-6b^B, H-2^B, H-2⁴, H-4¹, H-3¹, H-6b⁷, H-3², H-4⁴, H-2⁵, H-6a⁴, H-6b⁵, H-2², H-4⁴, H-6b⁶, H-5⁴, H-4², H-5⁶, H-5⁴, H-6a³, H-2⁶, H-5⁷, H-6b⁴, H-2¹, H-2⁶, H-5⁶, H-5⁵), 3.72 - 3.47 (m, 10H, H-2⁷, H-6a⁷, H-4³, H-6a², H-2⁵, H-5^B, H-6b², H-5¹, H-5⁵, H-3³), 3.47 - 3.37 (m, 2H, H-6b³, H-6a¹), 3.28 - 3.05 (m, 5H, H-6b⁵, H-6b¹, H-5², H-6b⁴, H-5³), 2.21 - 1.68 (m, 66H, OAc),

^{13}C -NMR (90 MHz, [D6]-DMSO): $\delta = 170.1$, 170.0 , 169.9 , 169.8 , 169.5 , 169.3 , 139.1 , 168.9 , 168.7 (C=O OAc), 167.3 , 167.1 (C=O NPht), 156.8 (q, $^2J_{C,F} = 36.5$ Hz, C=O TFAc), 138.1 , 137.9 (C-1 Ar), 134.8 (C-4/5 NPht), 130.8 , 130.6 (C-1/2 NPht), 128.2 , 128.1 , 127.8 , 127.5 , 127.3 , 127.2 (Ar), 123.4 (C-3/6 NPht), 115.7 (q, $^1J_{C,F} = 288.7$ Hz, CF₃), 115.6 (q, $^1J_{C,F} = 288.1$ Hz, CF₃), 100.5 (C-1^B β , $^1J_{C-1,H-1} = 162.8$ Hz), 99.5 (C-1⁵ β , $^1J_{C-1,H-1} = 164.8$ Hz), 99.5 (C-1⁶ β , $^1J_{C-1,H-1} = 164.8$ Hz), 99.3 (C-1⁴ α , $^1J_{C-1,H-1} = 172.8$ Hz), 99.1 (C-1⁵ β , $^1J_{C-1,H-1} = 166.8$ Hz), 98.7 (C-1⁷ β , $^1J_{C-1,H-1} = 168.8$ Hz), 98.5 (C-1⁶ β , $^1J_{C-1,H-1} = 165.8$ Hz), 97.3 (C-1⁴ α , $^1J_{C-1,H-1} = 175.8$ Hz), 96.0 (C-1³ β , $^1J_{C-1,H-1} = 163.8$ Hz), 95.9 (C-1² β , $^1J_{C-1,H-1} = 168.8$ Hz), 84.5 (C-1¹ β , $^1J_{C-1,H-1} = 167.8$ Hz), 79.1 (C-4²), 77.0 (C-3³), 75.8 (C-3¹), 75.4 (C-5¹), 74.6 (C-2⁴), 74.5 (C-4¹), 74.0 (C-3²), 73.6 (C-5²), 73.2 (CH₂O), 73.2 (C-5³), 73.1 (C-2⁴), 72.7 (C-4³), 71.9 (C-3⁶), 71.9 (CH₂O), 71.9 (C-4⁴), 71.6 (C-3⁶), 71.6 (CH₂O), 71.5 (CH₂O), 71.5 (C-3⁵), 71.3 (C-4⁴), 71.0 (C-3⁵), 71.0 (C-3⁷), 71.0 (C-3^B), 70.6 (C-5^B), 70.6 (C-5⁵), 70.6 (C-5⁵), 70.4 (C-2³), 70.4 (C-5⁶), 70.4 (C-5⁷), 70.4 (C-5⁶), 69.1 (C-3⁴), 69.0 (C-6⁴), 68.7 (C-4^B), 68.2 (C-5⁴), 68.2 (C-5⁴), 67.8 (C-4⁶), 67.8 (C-4⁶), 67.8 (C-4⁷),

67.8 (C-4⁵), 67.4 (C-6¹), 67.4 (C-6²), 67.0 (C-4^{5'}), 67.0 (C-3^{4'}), 66.5 (C-6³), 61.8 (C-6^B), 61.8 (C-6⁴), 61.7 (C-6⁵), 61.5 (C-6⁶), 61.0 (C-6^{7'}), 60.8 (C-6^{6'}), 60.5 (C-6^{5'}), 55.7 (C-2²), 54.1 (C-2^{6'}), 54.1 (C-2^{7'}), 54.0 (C-2⁶), 54.0 (C-2¹), 53.4 (C-2^B), 53.0 (C-2^{5'}), 53.0 (C-2⁵), 20.2, 20.0, 19.8 (OAc).

9.19 Versuche zu Kapitel 3.7

O-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl- α -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-{*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl- α -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-[*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl- α -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)]-*O*-(2,4-di-*O*-benzoyl- α -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)}-*O*-(2-*O*-acetyl- β -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -*D*-glucopyranosylazid **87**

(β -Ac₃GlcNTFAc-1,2- α -Ac₃Man-1,3-{ α -Ac₄Man-1,2- α -Ac₃Man-1,3-[α -Ac₄Man-1,2- α -Ac₃Man-1,6]- α -Bz₂Man-1,6}- β -AcMan-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-N₃)

61 mg (32.8 μ mol) Pentasaccharid **39**, 116 mg (65.6 μ mol, 2.0 eq) Trichloracetimidat **86** und 177 mg gemörsertes, frisch ausgeglühtes Molekularsieb 4 Å werden unter Argonatmosphäre in 820 μ L absolutem Dichlormethan suspendiert. Die Suspension wird 15 min bei Zimmertemperatur und 50 min bei -40 °C gerührt. Anschließend wird die Reaktion durch Zugabe von 10 μ L (6.5 μ mol, 0.2 eq) einer Lösung von 42 μ L Bortrifluorid-Diethyletherat in 958 μ L absolutem Dichlormethan gestartet und 165 min bei -40 °C gerührt. Nach vollständigen Reaktionsumsatz (DC: Hexan/Aceton, 1:1) wird mit Dichlormethan verdünnt und über Celite filtriert. Die Lösung wird mit 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingeeengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Es werden 151 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Aceton, 2:1 \rightarrow 1:1; Säulendurchmesser: 20 mm; Füllhöhe: 15 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 75.8 mg (21.8 μ mol, 66.5 %),

R_f = 0.23 (Hexan/Aceton, 1.2:1),

67.9 (C-3^{6''}), 67.9 (C-3^{6'}), 67.9 (C-3^{5'}), 67.7 (C-6²), 67.5 (C-4^{4'}), 67.4 (C-6¹), 66.1 (C-6³), 65.7 (C-6^{4'}), 65.2 (C-4^{6'}), 65.2 (C-4^{6''}), 65.2 (C-4^{5''}), 65.1 (C-4³), 64.8 (C-4^{5'}), 64.5 (C-4⁴), 62.0 (C-6⁵), 61.8 (C-6^{6''}), 61.5 (C-6⁴), 61.5 (C-6^{5''}), 60.9 (C-6^{6'}), 60.7 (C-6⁵), 55.7 (C-2²), 54.3 (C-2¹), 52.6 (C-2⁵), 20.6, 20.4, 20.1 (OAc).

O-(3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-[*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-trifluoracetamido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-{*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-[*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl- α -D-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)]-*O*-(2,4-di-*O*-benzoyl- α -D-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)}-*O*-(2-*O*-acetyl- β -D-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -D-glucopyranosylazid **88**

(β -Ac₃GlcNTFAc-1,2- α -Ac₃Man-1,3-[β -Ac₃GlcNTFAc-1,4]-{ α -Ac₄Man-1,2- α -Ac₃Man-1,3-[α -Ac₄Man-1,2- α -Ac₃Man-1,6]- α -Bz₂Man-1,6}- β -AcMan-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-N₃)

a) aus Decasaccharid **87**

28.0 mg (8.1 μ mol) Decasaccharid **87**, 45.5 mg (80.7 μ mol, 10.0 eq) Thioglycosid **G**, 36.3 mg (161.4 μ mol, 19.9 eq) *N*-Iodsuccinimid und 100 mg gemörsertes, frisch ausgeglühtes Molekularsieb 4 Å werden unter Argonatmosphäre in 230 μ L absolutem Dichlormethan suspendiert. Die Suspension wird 30 min bei Zimmertemperatur und 45 min bei -40 °C gerührt. Anschließend wird die Reaktion durch Zugabe von 100 μ L einer gesättigten Lösung von Trifluormethansulfonsäure in absolutem Dichlormethan gestartet und 60 min bei -40 °C gerührt. Es wird 4.5 h weitergerührt, wobei die Temperatur auf 5 °C ansteigt. Nach Ende der Reaktion (DC: Cyclohexan/Ethylacetat, 1:3) wird mit Dichlormethan verdünnt und über Celite filtriert. Die Lösung wird je einmal mit 10 %iger Natriumthiosulfat-Lösung und mit 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Es werden 77 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:2 \rightarrow 1:3 \rightarrow 1:5; Säulendurchmesser: 10 mm; Füllhöhe: 12 cm) gereinigt werden.

Ausbeute: 9.8 mg (2.5 μmol , 31.4 %),

$R_f = 0.24$ (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:3),

$[\alpha]_D^{24} = -0.8$ (0.4, Dichlormethan),

$\text{C}_{176}\text{H}_{197}\text{F}_6\text{N}_7\text{O}_{83}$ (3852.4),

ESI-MS (100 % Methanol): $M_{\text{ber}} = 3850.1$ $M_{\text{gef}} = 3869.0$ ($\text{M}+\text{H}_3\text{O}^+$), 3873.7 ($\text{M}+\text{Na}^+$),

$^1\text{H-NMR}$ (360 MHz, $[\text{D}_6]-\text{DMSO}$): $\delta = 9.64$ (d, $J_{\text{NH},2} = 9.2$ Hz, 1H, NH), 9.50 (d, $J_{\text{NH},2} = 9.9$ Hz, 1H, NH), 8.09-7.41 (m, 18H, NPhT, Bz), 7.39-7.05 (m, 10H, Ar), 7.00-6.40 (m, 10H, Ar), 5.64 (dd, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, $J_{4,5} = 9.2$ Hz, 1H, H-4^{4'}), 5.52 (dd, $J_{1,2} < 1$ Hz, $J_{2,3} < 1$ Hz, 1H, H-2^{4'}), 5.21-5.35 (m, 6H, H-1⁴, H-1^{4'}, H-3⁵, H-3^B, H-1¹, H-2³), 5.21-4.56 (m, 24H, H-4^B, H-4^{5'}, H-2^{6'}, H-1², H-4^{5''}, H-2^{6''}, H-4^{6''}, H-4^{6'}, H-3^{5''}, H-4⁴, H-3^{5'}, H-1^{5''}, H-3^{6'}, H-1^{6''}, H-3⁴, H-1^{5'}, H-1³, H-4⁵, CH₂O, H-3^{6''}, H-1⁵, H-1^{6'}, H-1^B, CH₂O), 4.51 (d, $J_{\text{gem}} = 12.8$ Hz, 1H, CH₂O), 4.47-4.28 (m, 5H, CH₂O, CH₂O, H-3^{4'}, H-6a^{6'}, CH₂O), 4.28-4.16 (m, 4H, CH₂O, CH₂O, H-2⁴, H-6a^{6''}), 4.15-3.68 (m, 35H, H-3¹, H-2^B, H-6a⁴, H-5^{5'}, H-6a^{5''}, H-6a^B, H-6a^{5'}, H-3², H-2^{5'}, H-2^{5''}, H-5⁴, H-4¹, H-5^{6'}, H-5^{5''}, H-6b^{5''}, H-4², H-6b^{5'}, H-6b^{6'}, H-2⁵, H-2², H-3³, H-6a^{4'}, H-5^{6''}, H-5^B, H-5^{4'}, H-6b⁴, H-6b^B, H-6b^{6''}, H-6b^{4'}, H-6a³, H-2¹, H-6a⁵, H-5¹, H-5⁵, H-6b⁵), 3.68-3.56 (m, 3H, H-6b³, H-6a², H-4³), 3.56-3.47 (m, 2H, H-6b², H-5³), 3.45-3.11 (m, 3H, H-6a¹, H-5², H-6b¹), 2.21-1.67 (m, 72H, OAc),

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $[\text{D}_6]-\text{DMSO}$): $\delta = 170.7$, 170.6, 170.4, 170.2, 170.1, 169.9, 169.8 (C=O OAc), 168.4, 167.8 (C=O NPhT), 165.7, 165.6 (C=O Bz), 157.2 (q, $^2J_{\text{C,F}} = 36.9$ Hz, C=O TFAc), 138.9, 138.7, 138.5 (C-1 Ar), 125.6, 135.1, 134.6 (C-4/5 NPhT, Bz), 131.3 (C-1/2 NPhT), 130.2, 130.0, 129.7, 129.5, 129.0, 128.9, 128.5, 128.4, 128.2, 128.1, 128.0, 127.9, 127.7 (Ar), 124.2 (C-3/6 NPhT), 114.2 (q, $^1J_{\text{C,F}} = 287.7$ Hz, CF₃), 99.3 (C-1^B β , $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 162.5$ Hz), 98.4 (C-1⁴ α , $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 176.5$ Hz), 97.9 (C-1⁵ β , $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 168.6$ Hz), 97.8 (C-1^{5'} α , $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 176.6$ Hz), 97.6 (C-1^{6''} α , $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 177.4$ Hz), 97.3 (C-1^{5''} α , $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 177.4$ Hz), 97.1 (C-1^{6'} α , $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 177.6$ Hz), 97.0 (C-1^{4'} α , $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 177.8$ Hz), 96.8 (C-1³ β , $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 166.2$ Hz), 96.4 (C-1² β , $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 166.2$ Hz), 84.3 (C-1¹ β , $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 165.6$ Hz), 76.6 (C-3¹), 76.6 (C-4³), 75.9 (C-5¹), 75.5 (C-3²), 75.5 (C-4¹), 75.3 (C-4²), 75.3 (C-3³), 75.3 (C-5³), 74.0 (C-5²), 74.0 (C-3⁴), 73.3 (CH₂O), 73.2 (C-5⁴), 73.1 (CH₂O), 73.0 (C-2^{5'}), 71.8 (CH₂O), 71.3 (C-2⁴), 71.3 (C-2^{5''}), 71.3 (CH₂O), 71.0 (C-3⁵), 70.7 (C-3^B), 70.6 (C-5⁵), 70.4 (C-2³), 70.4 (C-2⁴), 70.4 (C-5^B), 69.1 (C-2^{6'}), 68.9 (C-4⁵), 68.4 (C-2^{6''}), 68.4 (C-5^{6''}), 68.2 (C-4⁴), 68.2 (C-3^{5'}), 68.2 (C-3^{6'}), 68.2 (C-3⁴), 68.2 (C-5⁵),

68.2 (C-5⁴), 68.2 (C-5⁶), 68.2 (C-5^{5''}), 67.6 (C-4^B) 67.5 (C-3^{5''}), 67.5 (C-6²), 67.2 (C-6¹), 65.5 (C-6^{4'}), 65.5 (C-3^{6''}), 65.3 (C-6³), 65.0 (C-4^{6'}), 65.0 (C-4⁴), 65.0 (C-4^{6''}), 64.7 (C-4^{5'}), 64.7 (C-4^{5''}), 62.3 (C-6^B), 62.1 (C-6^{5'}), 61.2 (C-6⁴), 61.2 (C-6^{6''}), 60.8 (C-6^{5''}), 60.7 (C-6⁵), 60.6 (C-6^{6'}), 55.4 (C-2²), 54.2 (C-2¹), 53.9 (C-2^B), 53.4 (C-2⁵), 21.4, 21.3, 21.2, 21.1, 21.0, 20.9, 20.8 (OAc).

b) Eintopfreaktion ausgehend von Diol **39**

30.0 mg (16.1 μmol) Diol **39**, 57.0 mg (32.2 μmol , 2.0 eq) Trichloracetimidat **86** und 259 mg gemörsertes, frisch ausgeglühtes Molekularsieb 4 Å werden unter Argonatmosphäre in 0.5 mL absolutem Dichlormethan suspendiert. Die Suspension wird jeweils 30 min bei Zimmertemperatur und bei -45 °C gerührt. Anschließend wird die Reaktion durch Zugabe von 10 μL (3.2 μmol , 0.2 eq) einer Lösung von 30 μL Bortrifluorid-Diethyletherat in 970 μL absolutem Dichlormethan gestartet und 165 min lang bei -45 °C gerührt (DC: Hexan/Aceton, 1:1). Zur Reaktionslösung wird bei -40 °C eine Lösung von 90.8 mg (161.2 μmol , 10.0 eq) Donor **G** und 72.5 mg (322.4 μmol , 20.0 eq) *N*-Iodsuccinimid in 200 μL absolutem Dichlormethan gegeben. Anschließend wird langsam eine gesättigte Lösung von Trifluormethansulfonsäure in absolutem Dichlormethan zugetropft bis sich die Reaktionslösung violett verfärbt. Die Reaktion wird 60 min gerührt, wobei die Temperatur von -40 °C auf -10 °C ansteigt. Nach Ende der Reaktion (DC: Cyclohexan/Ethylacetat, 1:3) wird mit Dichlormethan verdünnt und über Celite filtriert. Die Lösung wird je einmal mit 10 %iger Natriumthiosulfat-Lösung und mit 2 M Kaliumhydrogencarbonat-Lösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingeeengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet. Das Rohprodukt wird mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Ethylacetat, 1:2→1:4; Säulendurchmesser: 10 mm; Füllhöhe: 10.5 cm) gereinigt.

Ausbeute: 30.4 mg (7.9 μmol , 49.0 %).

9.20 Versuche zu Kapitel 3.8

O- β -D-Mannopyranosyl-(1→4)-*O*-(3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -D-glucopyranosyl)-(1→4)-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -D-glucopyranosylazid **89**

(β -Man-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-1,4- β -Bzl₂GlcNPht-N₃)

250 mg (0.20 mmol) Core-Trisaccharid **A** werden in 13 ml Acetonitril gelöst. Es wird eine Lösung von 308 mg (1.62 mmol, 8.0 eq) *para*-Toluolsulfonsäure-Hydrat in 13 ml Acetonitril zugegeben und bei Zimmertemperatur gerührt. Nach 120 min (DC: Hexan/Aceton, 1:1) wird die Reaktion durch Zugabe von 260 μ L (3.22 mmol, 16.0 eq) Pyridin abgebrochen und die Lösung im Vakuum eingengt. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet, in Dichlormethan aufgenommen und mit gesättigter Kochsalz-Lösung extrahiert. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Das Rohprodukt wird mittels Flashchromatographie (Cyclohexan/Aceton, 2:1; Säulendurchmesser: 20 mm; Füllhöhe: 13 cm) gereinigt.

Ausbeute: 61 mg (53.1 μ mol, 26.3 %),

$R_f = 0.18$ (Hexan/Aceton, 1:1),

$[\alpha]_D^{24} = +0.8$ (0.7, Dichlormethan),

C₆₂H₆₁N₅O₁₇ (1148.2),

ESI-MS (100 % Acetonitril): $M_{\text{ber}} = 1147.4$ $M_{\text{gef}} = 1170.1$ (M+Na)⁺,

¹H-NMR (360 MHz, [D₆]-DMSO): $\delta = 7.94$ -7.66 (m, 8H, NPht), 7.37-7.21 (m, 10H, Ar), 6.94-6.71 (m, 10H, Ar), 5.28 (d, $J_{1,2} = 9.5$ Hz, 1H, H-1¹), 5.21 (d, $J_{1,2} = 8.2$ Hz, 1H, H-1²), 4.86 (d, $J_{\text{gem}} = 12.7$ Hz, 1H, CH₂O), 4.80 (d, $J_{\text{gem}} = 12.2$ Hz, 1H, CH₂O), 4.73 (d, $J_{\text{OH},4} = 5.8$ Hz, 1H, OH-4³), 4.62-4.48 (m, 5H, CH₂O, OH-3², CH₂O, OH-2³, H-1³), 4.44 (d, $J_{\text{gem}} = 12.7$ Hz, 1H, CH₂O), 4.40-4.33 (m, 3H, CH₂O, CH₂O, CH₂O), 4.24-4.15 (m, 2H, H-3², OH-6³), 4.13-4.02 (m, 2H, H-4¹, H-3¹), 4.02-3.92 (m, 2H, H-2², H-4²), 3.83-3.73 (m, 2H, H-2¹, H-6a²), 3.70-3.55 (m, 4H, H-2³, H-6a³, H-6b², H-5¹), 3.50-3.26 (m, 5H, H-6a¹, H-6b³, H-5², H-6b¹, H-4³), 3.24-3.16 (m, 1H, H-3³), 3.01-2.93 (m, 1H, H-5³),

¹³C-NMR (125 MHz, [D₆]-DMSO): $\delta = 168.8$, 168.1 (C=O NPht), 139.4, 139.0, 138.9, 138.7 (C-1 Ar), 135.8 (C-4/5 NPht), 131.5, 131.3 (C-1/2 NPht), 129.0, 128.6, 128.5, 128.4, 128.3, 128.1, 127.9, 127.7, 127.6 (Ar), 124.2 (C-3/6 NPht), 101.0 (C-1³), 97.3 (C-1²), 85.3 (C-1¹), 78.4 (C-5³), 78.0 (C-4²), 77.3 (C-3²), 76.9 (C-3¹), 76.3 (C-5¹), 75.8 (C-4¹), 75.4 (C-5²), 74.5 (CH₂O), 74.5 (CH₂O), 74.4 (C-3³), 73.0 (CH₂O), 72.3 (CH₂O), 71.1 (C-2³), 68.7 (C-6²), 68.3 (C-6¹), 67.7 (C-4³), 62.2 (C-6³), 56.7 (C-2²), 55.3 (C-2¹).

9.21 Versuche zu Kapitel 4.1

O-(2-Acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*- α -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*- α -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 6)]-*O*- β -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2-acetamido-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy- β -D-glucopyranosylazid **92**

(β -GlcNAc-1,2- α -Man-1,3-[β -GlcNAc-1,4]-[β -GlcNAc-1,2- α -Man-1,6]- β -Man-1,4- β -Bzl₂GlcNAc-1,4- β -Bzl₂GlcNAc-N₃)

131.6 mg (45.1 μ mol) Oktasaccharid **45** werden in 4.0 mL *n*-Butanol und 921 μ L (13.8 mmol, 305.4 eq) Ethylendiamin gelöst und 16 h bei 80 °C gerührt. Nach vollständigem Reaktionsumsatz (DC: *iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 4:1) wird im Vakuum eingeengt, der Rückstand dreimal mit Toluol codestilliert, im Hochvakuum getrocknet, in 6.6 mL Essigsäureanhydrid/Pyridin, 1:2 gelöst und 15.8 h bei Zimmertemperatur gerührt. Nach Reaktionsende (DC: Dichlormethan/Methanol, 10:1) wird im Vakuum eingeengt, der Rückstand dreimal mit Toluol codestilliert, im Hochvakuum getrocknet, in 9.2 mL Methylamin-Lösung (40 % in Wasser) aufgenommen und 19.8 h bei Zimmertemperatur gerührt. Nach beendeter Reaktion (DC: *iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 4:1) wird im Vakuum bei Zimmertemperatur eingeengt, der Rückstand dreimal mit Toluol codestilliert und anschließend im Hochvakuum getrocknet. Der Rückstand wird in Wasser gelöst und lyophilisiert. Es werden 302 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Festphasen-RP-Extraktion gereinigt werden (Waters SepPak C18; Kartuschengröße: 2 g; Elution (jeweils 20 mL) mit 0, 10, 20, 30, 40, 50 und 100 % Acetonitril; Elution von **92** bei 30 % Acetonitril).

Ausbeute: 71.7 mg (37.6 μ mol, 83.4 %),

R_f (Amin) = 0.31 (*iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 4:1),

R_f (Peracetat) = 0.53 (Dichlormethan/Methanol, 10:1),

R_f (Produkt **92**) = 0.56 (*iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 4:1),

C₈₆H₁₂₀N₈O₄₀ (1905.9),

ESI-MS:

Amin (100 % Wasser):	$M_{\text{ber}} = 1694.7$	$M_{\text{gef}} = 1695.6 (M+H)^+$,
Peracetat (50 % Acetonitril):	$M_{\text{ber}} = 2576.9$	$M_{\text{gef}} = 2600.2 (M+Na)^+$,
Produkt 92 (100 % Wasser):	$M_{\text{ber}} = 1904.8$	$M_{\text{gef}} = 1927.2 (M+Na)^+$, $1943.1 (M+K)^+$.

O-(2-Acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*- α -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*- α -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 6)]-*O*- β -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-2-acetamido-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-D-glucopyranose **93**

(β -GlcNAc-1,2- α -Man-1,3-[β -GlcNAc-1,4]-[β -GlcNAc-1,2- α -Man-1,6]- β -Man-1,4- β -Bzl₂GlcNAc-1,4-Bzl₂GlcNAc)

50.6 mg (26.5 μ mol) Oktasaccharid **92** werden unter Argonatmosphäre in 2.75 mL absolutem Methanol gelöst. Es werden 55 μ L (0.3 mmol, 11.9 eq) *N,N*-Diisopropylethylamin und 150 μ L (1.59 mmol, 56.4 eq) Propandithiol zugegeben und 230 min bei Zimmertemperatur gerührt. Nach vollständigem Reaktionsumsatz (DC: *iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 4:1) wird im Vakuum eingeeengt und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Dieser wird mittels Festphasen-RP-Extraktion (Waters SepPak C18 Classic; Kartuschengröße: 330 mg; Elution mit 20 mL Wasser und jeweils 10 mL 10, 20, 30, 50 und 100 % Acetonitril; Elution des Amins bei 10, 20 und 30 % Acetonitril) vom restlichen Propandithiol getrennt. Der Rückstand wird in 700 μ L Wasser gelöst. Es werden 700 μ L Essigsäure zugegeben und 18 h bei Zimmertemperatur gerührt. Nach vollständiger Reaktion (DC: *iso*-Propanol/ 1 M Ammoniumacetat, 4:1) wird das Lösungsmittel durch Gefriertrocknung entfernt. Es werden 54.1 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Gelpermeation gereinigt werden (Purifier; Superdex LH 20; Säulengröße: 25 \times 1000 mm; Eluent: Methanol; Fluss: 1 mL/min; Detektion: 214, 254 und 280 nm; Retentionszeit: 207.5 min).

Ausbeute: 42.4 mg (22.5 μ mol, 85.1 %),

R_f (Glycosylamin) = 0.42 (*iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 4:1).

R_f (Halbacetal **93**) = 0.62 (*iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 4:1),

$[\alpha]_D^{23} = -6.7$ (1.6, Wasser),

O-(2-Acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*- α -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*- α -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 6)]-*O*- β -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-2-acetamido-2-desoxy-D-glucopyranose **94**

(β -GlcNAc-1,2- α -Man-1,3-[β -GlcNAc-1,4]-[β -GlcNAc-1,2- α -Man-1,6]- β -Man-1,4- β -GlcNAc-1,4-GlcNAc)

47.5 mg Palladium(II)-oxid-Hydrat werden in 1.4 mL absolutem Methanol und 140 μ L Essigsäure suspendiert und unter Wasserstoffatmosphäre gerührt. Nach 120 min wird eine Lösung von 29.2 mg (15.5 μ mol) Oktasaccharid **93** in 4.1 mL absolutem Methanol und 410 μ L Essigsäure zur Katalysatorsuspension gegeben. Die Reaktion wird 3.5 d unter Wasserstoffatmosphäre gerührt. Nach vollständiger Umsetzung (DC: *iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 4:1) wird der Katalysator abzentrifugiert und dreimal mit 10 % Essigsäure in Methanol gewaschen. Die organischen Phasen werden vereint, im Vakuum eingengt und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Es werden 23.7 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Gel-filtration gereinigt werden (Purifier, Bio-Rad Bio-Gel[®] P-4 Gel Fine; Säulengröße: 25 \times 750 mm; Eluent: Wasser; Fluss: 1.5 mL/min; Detektion: 214, 254 und 280 nm; Retentionszeit: 110.3 min).

Ausbeute: 16.3 mg (10.7 μ mol, 69.2 %),

$R_f = 0.15$ (*iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 4:1),

$[\alpha]_D^{24} = +7.4$ (2.2, Deuteriumoxid),

$C_{58}H_{97}N_5O_{41}$ (1520.4),

ESI-MS (100 % Methanol): $M_{ber} = 1519.6$ $M_{gef} = 782.5 (M+2Na)^{2+}$, 1542.9 (M+Na)⁺,

¹H-NMR (500 MHz, D₂O): $\delta = 5.19$ (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1¹ α), 5.06 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1⁴), 5.01 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1^{4'}), 4.72-4.68 (m, 2H, H-1³, H-1¹ β), 4.64-4.59 (m, 1H, H-1²), 4.58-4.52 (m, 2H, H-1⁵, H-1^{5'}), 4.47 (d, $J_{1,2} = 8.8$ Hz, 1H, H-1^B), 4.25 (dd, $J_{1,2} < 1$ Hz, $J_{2,3} < 1$ Hz, 1H, H-2⁴), 4.18 (dd, $J_{1,2} < 1$ Hz, $J_{2,3} < 1$ Hz, 1H, H-2³), 4.15 (dd, $J_{1,2} < 1$ Hz, $J_{2,3} < 1$ Hz, 1H, H-2^{4'}), 4.08 (dd, $J_{3,4} = 9.9$ Hz, $J_{4,5} = 9.9$ Hz, 1H, H-4³), 4.02-3.65 (m, 28H, H-6a^B, H-6a⁴, H-6a⁵, H-6a^{4'}, H-6a³, H-3⁴, H-6a^{5'}, H-6b³, H-6a², H-3¹, H-2¹ α , H-3³, H-3^{4'},

H-2², H-6b⁵, H-2¹β, H-6b⁵, H-6b², H-3², H-4², H-2⁵, H-2⁵, H-5⁴, H-5⁴, H-6b^B, H-2^B, H-6a¹, H-6b¹), 3.65-3.52 (m, 8H, H-6b⁴, H-4¹, H-3⁵, H-6b⁴, H-3^B, H-5², H-5¹, H-5³), 3.52-3.37 (m, 8H, H-4⁴, H-4⁵, H-3⁵, H-4⁴, H-4⁵, H-5⁵, H-5^B, H-5⁵), 3.27 (dd, $J_{3,4} = 9.9$ Hz, $J_{4,5} = 9.3$ Hz, 1H, H-4^B), 2.08 (s, 3H, NAc), 2.06 (s, 3H, NAc), 2.06 (s, 3H, NAc), 2.05 (s, 3H, NAc), 2.04 (s, 3H, NAc),

¹³C-NMR (125 MHz, D₂O): δ = 175.0, 174.8, 174.7 (C=O NAc), 101.7 (C-1²β, $^1J_{C-1,H-1} = 165.6$ Hz), 100.9 (C-1^Bβ, $^1J_{C-1,H-1} = 161.3$ Hz), 100.4 (C-1³β, $^1J_{C-1,H-1} = 161.3$ Hz), 100.2 (C-1⁴α, $^1J_{C-1,H-1} = 173.0$ Hz), 100.1 (C-1⁵β, $^1J_{C-1,H-1} = 164.5$ Hz), 99.9 (C-1⁵β, $^1J_{C-1,H-1} = 164.5$ Hz), 97.9 (C-1⁴α, $^1J_{C-1,H-1} = 173.0$ Hz), 95.0 (C-1¹β, $^1J_{C-1,H-1} = 163.5$ Hz), 90.7 (C-1¹α, $^1J_{C-1,H-1} = 173.0$ Hz), 79.9 (C-4¹), 79.0 (C-4²), 78.9 (C-3³), 76.9 (C-5^B), 76.8 (C-2⁴), 76.6 (C-2⁴), 76.1 (C-5⁵), 76.0 (C-5⁵), 74.8 (C-5²), 74.6 (C-5³), 73.8 (C-5⁴), 73.8 (C-3⁵), 73.8 (C-5¹), 73.6 (C-3⁵), 73.6 (C-3^B), 72.7 (C-5⁴), 72.3 (C-3²), 71.8 (C-4³), 71.5 (C-4^B), 70.6 (C-2³), 70.2 (C-4⁵), 70.0 (C-4⁵), 69.8 (C-3⁴), 69.7 (C-3¹), 69.6 (C-3⁴), 67.7 (C-4⁴), 67.7 (C-4⁴), 65.6 (C-6³), 62.1 (C-6⁴), 62. (C-6⁴), 61.9 (C-6^B), 60.8 (C-6⁵), 60.8 (C-6⁵), 60.3 (C-6¹), 60.2 (C-6²), 56.4 (C-2^B), 55.6 (C-2¹β), 55.6 (C-2⁵), 55.6 (C-2⁵), 55.4 (C-2²), 53.9 (C-2¹α), 22.6, 22.4, 22.3, 22.1 (NAc).

O-(2-Acetamido-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-(1→2)-*O*-α-D-mannopyranosyl-(1→3)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-(1→4)]-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-(1→2)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-(1→6)]-*O*-α-D-mannopyranosyl-(1→6)]-*O*-β-D-mannopyranosyl-(1→4)-*O*-(2-acetamido-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-(1→4)-2-acetamido-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosylazid **95**

(β-GlcNAc-1,2-α-Man-1,3-[β-GlcNAc-1,4]-{β-GlcNAc-1,2-[β-GlcNAc-1,6]-α-Man-1,6}-β-Man-1,4-β-Bzl₂GlcNAc-1,4-β-Bzl₂GlcNAc-N₃)

123 mg (37.8 μmol) Nonasaccharid **71** werden in 3.7 mL *n*-Butanol und 861 μL (12.9 mmol, 340.7 eq) Ethylendiamin gelöst und 16.5 h bei 80 °C gerührt. Nach vollständigem Reaktionsumsatz (DC: *iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 4:1) wird im Vakuum eingengt, der Rückstand viermal mit Toluol codestilliert, im Hochvakuum getrocknet, in 6.2 mL Essigsäurean-

hydrid/Pyridin, 1:2 gelöst und 16 h bei Zimmertemperatur gerührt. Nach Reaktionsende (DC: Dichlormethan/Methanol, 10:1) wird im Vakuum eingeengt, der Rückstand dreimal mit Toluol codestilliert, im Hochvakuum getrocknet, in 4 mL Methylamin-Lösung (40 % in Wasser) aufgenommen und 160 min bei Zimmertemperatur gerührt. Nach beendeter Reaktion (DC: *iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 4:1) wird im Vakuum bei Zimmertemperatur eingeengt, der Rückstand dreimal mit Toluol codestilliert und im Anschluss im Hochvakuum getrocknet. Der Rückstand wird in Wasser gelöst und lyophilisiert. Es werden 98.5 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Festphasen-RP-Extraktion gereinigt werden (Waters SepPak C18; Kartuschengröße: 2 g; Elution (jeweils 20 mL) 0, 10, 20, 30, 40, 50 und 100 % Acetonitril; Elution von **95** bei 30 und 40 % Acetonitril).

Ausbeute: 67.0 mg (31.8 μ mol, 84.0 %),

R_f (Amin) = 0.16 (*iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 4:1),

R_f (Peracetat) = 0.63 (Dichlormethan/Methanol, 10:1),

R_f (Produkt **95**) = 0.50 (*iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 4:1),

$C_{94}H_{133}N_9O_{45}$ (2109.1),

ESI-MS:

Amin (100 % Wasser): $M_{ber} = 1855.8$ $M_{gef} = 1857.0$ (M+H)⁺,

Peracetat (100 % Methanol): $M_{ber} = 2864$ $M_{gef} = 2886.9$ (M+Na)⁺,

Produkt **95** (100 % Wasser): $M_{ber} = 2107.8$ $M_{gef} = 2130.1$ (M+Na)⁺.

O-(2-Acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*- α -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]- {*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)]-*O*- α -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 6)}-*O*- β -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-2-acetamido-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-D-glucopyranose **96**

(β -GlcNAc-1,2- α -Man-1,3-[β -GlcNAc-1,4]-{ β -GlcNAc-1,2-[β -GlcNAc-1,6]- α -Man-1,6}- β -Man-1,4- β -Bzl₂GlcNAc-1,4-Bzl₂GlcNAc)

H-2^{5'}, H-4⁵, H-4^{7'}, H-3³, H-4^B, H-5^B, H-4⁴, H-4^{5'}, H-3^{5'}, H-5⁵, H-5^{7'}, 3.16-2.99 (m, 3H, H-5⁴, H-5², H-5³), 2.74-2.67 (m, 1H, H-5^{5'}), 1.96 (s, 3H, NAc), 1.91 (s, 3H, NAc), 1.88 (s, 3H, NAc), 1.84 (s, 3H, NAc), 1.67-1.57 (m, 6H, NAc),

¹³C-NMR (90 MHz, D₂O): δ = 174.3, 174.0, 173.4, 173.3 (C=O NAc), 137.5, 136.9 (C-1 Ar), 128.6, 128.4, 128.4, 128.2, 128.0, 127.4, 127.3, 127.0 (Ar), 101.0 (C-1⁷β, ¹J_{C-1,H-1} = 161.9 Hz), 99.70 (C-1²β, ¹J_{C-1,H-1} = 161.9 Hz), 99.4 (C-1⁵β, ¹J_{C-1,H-1} = 163.7 Hz), 99.2 (C-1⁴α, ¹J_{C-1,H-1} = 172.2 Hz), 99.0 (C-1³β, ¹J_{C-1,H-1} = 160.9 Hz), 98.8 (C-1^Bβ, ¹J_{C-1,H-1} = 164.7 Hz), 98.7 (C-1⁵β, ¹J_{C-1,H-1} = 164.7 Hz), 96.6 (C-1⁴α, ¹J_{C-1,H-1} = 171.3 Hz), 94.3 (C-1¹β, ¹J_{C-1,H-1} = 163.7 Hz), 90.1 (C-1¹α, ¹J_{C-1,H-1} = 172.2 Hz), 79.8 (C-3¹β), 78.3 (C-3²), 78.0 (C-3³), 77.2 (C-3¹α), 76.1 (C-4²), 75.9 (C-2⁴), 75.8 (C-2^{4'}), 75.5 (C-5^B), 75.1 (C-5¹), 75.0 (C-5⁵), 75.0 (C-5^{7'}), 74.8 (C-4¹), 74.7 (C-5^{5'}), 73.4 (C-5³), 73.0 (C-3^B), 73.0 (CH₂O), 72.7 (CH₂O), 72.7 (C-4^{4'}), 72.7 (C-3⁵), 72.7 (C-5²), 72.4 (C-3^{7'}), 72.2 (CH₂O), 72.2 (C-3^{5'}), 72.1 (CH₂O), 71.3 (C-3^{4'}), 70.5 (C-5⁴), 69.7 (C-4³), 69.6 (C-2³), 69.2 (C-6^{4'}), 69.2 (C-4⁵), 69.2 (C-4^{7'}), 69.0 (C-4^B), 69.0 (C-5^{4'}), 68.8 (C-3⁴), 68.8 (C-4^{5'}), 67.2 (C-6¹), 66.9 (C-6²), 66.7 (C-4⁴), 65.1 (C-6³), 61.1 (C-6^B), 61.0 (C-6⁴), 60.0 (C-6^{7'}), 59.8 (C-6⁵), 59.5 (C-6^{5'}), 55.7 (C-2^B), 55.0 (C-2^{7'}), 54.9 (C-2^{5'}), 54.7 (C-2⁵), 54.7 (C-2¹β), 54.7 (C-2²), 51.7 (C-2¹α), 22.0, 21.9 (NAc).

O-(2-Acetamido-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-(1→2)-*O*-α-D-mannopyranosyl-(1→3)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-(1→4)]-{*O*-(2-acetamido-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-(1→2)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-(1→6)]-*O*-α-D-mannopyranosyl-(1→6)}-*O*-β-D-mannopyranosyl-(1→4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-(1→4)-*O*-2-acetamido-2-desoxy-D-glucopyranose **97**

(β-GlcNAc-1,2-α-Man-1,3-[β-GlcNAc-1,4]-{β-GlcNAc-1,2-[β-GlcNAc-1,6]-α-Man-1,6}-β-Man-1,4-β-GlcNAc-1,4-GlcNAc)

37.3 mg Palladium(II)-oxid-Hydrat werden in 1.1 mL absolutem Methanol und 110 µL Essigsäure suspendiert und unter Wasserstoffatmosphäre gerührt. Nach 120 min wird eine Lösung von 22.4 mg (10.8 µmol) Nonasaccharid **96** in 3.2 mL absolutem Methanol und 320 µL Essigsäure zur Katalysatorsuspension gegeben. Die Reaktion wird 40 h unter Wasserstoff-

atmosphäre gerührt. Nach vollständiger Umsetzung (DC: *iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 2:1) wird der Katalysator abzentrifugiert und dreimal mit 10 %iger Essigsäure in Methanol gewaschen. Die organischen Phasen werden vereint, im Vakuum eingengt und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Es werden 20.2 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Gelfiltration gereinigt werden (Purifier, Bio-Rad Bio-Gel[®] P-4 Gel Fine; Säulengröße: 25×750 mm; Eluent: Wasser; Fluss: 1.5 mL/min; Detektion: 214, 254 und 280 nm; Retentionszeit: 105.3 min).

Ausbeute: 13.4 mg (7.8 μ mol, 72.3 %),

$R_f = 0.46$ (*iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 2:1),

$[\alpha]_D^{24} = -5.2$ (0.5, Deuteriumoxid),

$C_{66}H_{110}N_6O_{46}$ (1723.6),

ESI-MS (100 % Acetonitril): $M_{ber} = 1722.7$ $M_{gef} = 884.3 (M+2Na)^{2+}$, $1745.8 (M+Na)^+$,
 $1761.8 (M+K)^+$,

1H -NMR (360 MHz, D_2O): $\delta = 5.19$ (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1¹ α), 5.06 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1⁴), 4.91 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1^{4'}), 4.74-4.67 (m, 2H, H-1¹ β , H-1³), 4.64-4.45 (m, 5H, H-1², H-1⁵, H-1^{5'}, H-1⁷, H-1^B), 4.31-4.22 (m, 2H, H-6a^{4'}, H-2⁴), 4.21-4.10 (m, 3H, H-4³, H-2³, H-2^{4'}), 4.02-3.83 (m, 12H, H-6a^B, H-6a^{5'}, H-6a⁴, H-3⁴, H-6a⁵, H-6a^{7'}, H-3¹, H-2¹ α , H-6a³, H-6a², H-6b³, H-3³), 3.83-3.63 (m, 18H, H-3^{4'}, H-2², H-6b², H-6b⁵, H-6b^{7'}, H-3², H-2⁵, H-2^{7'}, H-6b^{5'}, H-4², H-6b^B, H-5⁴, H-2^{5'}, H-2¹ β , H-2^B, H-5^{4'}, H-6a¹, H-6b¹), 3.63-3.34 (m, 19H, H-4¹, H-5², H-3^B, H-6b⁴, H-3⁵, H-3^{7'}, H-6b^{4'}, H-5¹, H-5³, H-4⁴, H-4⁵, H-4^{7'}, H-3^{5'}, H-5⁵, H-5^{7'}, H-4^{5'}, H-4^{4'}, H-5^B, H-5^{5'}), 3.28 (dd, $J_{3,4} = 9.1$ Hz, $J_{4,5} = 9.1$ Hz, 1H, H-4^B), 2.19-1.93 (m, 18H, NAc),

^{13}C -NMR (90 MHz, D_2O): $\delta = 174.3$, 174.0, 173.6 (C=O NAc), 101.2 (C-1^{7'} β , $^1J_{C-1,H-1} = 161.4$ Hz), 101.1 (C-1² β , $^1J_{C-1,H-1} = 164.3$ Hz), 99.5 (C-1⁴ α , $^1J_{C-1,H-1} = 171.5$ Hz), 99.5 (C-1³ β , $^1J_{C-1,H-1} = 162.9$ Hz), 99.5 (C-1^B β , $^1J_{C-1,H-1} = 165.8$ Hz), 99.3 (C-1⁵ β , $^1J_{C-1,H-1} = 164.3$ Hz), 99.3 (C-1^{5'} β , $^1J_{C-1,H-1} = 164.3$ Hz), 97.5 (C-1^{4'} α , $^1J_{C-1,H-1} = 173.0$ Hz), 94.4 (C-1¹ β , $^1J_{C-1,H-1} = 164.3$ Hz), 90.0 (C-1¹ α , $^1J_{C-1,H-1} = 171.5$ Hz), 79.2 (C-4¹), 78.3 (C-3³), 77.6 (C-4²), 76.2 (C-5^B), 76.2 (C-2^{4'}), 76.1 (C-2⁴), 75.4 (C-5⁵), 75.4 (C-5^{7'}), 75.3 (C-5^{5'}), 74.2 (C-5³), 74.1 (C-5¹), 74.1 (C-5²), 73.0 (C-5^{4'}), 73.0 (C-3^B), 73.0 (C-3⁵), 72.9 (C-3^{7'}), 72.9 (C-3^{5'}), 71.4 (C-5⁴), 71.4 (C-3²), 70.7 (C-4^B), 70.0 (C-2³), 69.7 (C-4³), 69.7 (C-6^{4'}),

69.6 (C-3¹), 69.5 (C-4⁵), 69.5 (C-4⁷), 69.5 (C-4^{5'}), 69.0 (C-3⁴), 68.9 (C-3⁴), 67.1 (C-4⁴), 67.0 (C-4^{4'}), 64.5 (C-6³), 61.4 (C-6⁴), 61.1 (C-6^B), 60.2 (C-6⁵), 60.2 (C-6^{5'}), 60.2 (C-6⁷), 59.6 (C-6¹), 59.4 (C-6²), 55.7 (C-2^B), 55.0 (C-2^{1β}), 55.0 (C-2⁵), 55.0 (C-2⁷), 54.8 (C-2^{5'}), 54.7 (C-2²), 53.2 (C-2^{1α}), 22.1, 22.0, 21.8 (NAc).

O-(2-Acetamido-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-(1→2)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-(1→4)]-*O*-α-D-mannopyranosyl-(1→3)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-(1→4)]-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-(1→2)-*O*-α-D-mannopyranosyl-(1→6)]-*O*-β-D-mannopyranosyl-(1→4)-*O*-(2-acetamido-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-(1→4)-2-acetamido-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl-azid **98**

(β-GlcNAc-1,2-[β-GlcNAc-1,4]-α-Man-1,3-[β-GlcNAc-1,4]-[β-GlcNAc-1,2-α-Man-1,6]-β-Man-1,4-β-Bzl₂GlcNAc-1,4-β-Bzl₂GlcNAc-N₃)

133.2 mg (40.9 μmol) Nonasaccharid **78** werden in 4.0 mL *n*-Butanol und 932 μL (13.9 mmol, 340.9 eq) Ethylendiamin gelöst und 16 h bei 80 °C gerührt. Nach vollständigem Reaktionsumsatz (DC: *iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 4:1) wird im Vakuum eingengt, der Rückstand viermal mit Toluol codestilliert, im Hochvakuum getrocknet, in 6.6 mL Essigsäureanhydrid/Pyridin, 1:2 gelöst und 15.8 h bei Zimmertemperatur gerührt. Nach vollständiger Reaktion (DC: Dichlormethan/Methanol, 10:1) wird im Vakuum eingengt, der Rückstand dreimal mit Toluol codestilliert, im Hochvakuum getrocknet, in 9.3 mL Methylamin-Lösung (40 % in Wasser) gelöst und 19.8 h bei Zimmertemperatur gerührt. Nach beendeter Reaktion (DC: *iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 4:1) wird im Vakuum bei Zimmertemperatur eingengt, der Rückstand dreimal mit Toluol codestilliert und im Anschluss im Hochvakuum getrocknet. Der Rückstand wird in Wasser gelöst und lyophilisiert. Es werden 301 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Festphasen-RP-Extraktion gereinigt werden (Waters SepPak C18; Kartuschengröße: 2 g; Elution (jeweils 20 mL) mit 0, 10, 20, 30, 40, 50 und 100 % Acetonitril; Elution von **98** bei 30 % Acetonitril).

Ausbeute: 73.5 mg (34.8 μmol, 85.2 %),

R_f (Amin) = 0.23 (*iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 4:1),

R_f (Peracetat) = 0.22 (Dichlormethan/Methanol, 10:1),

R_f (Produkt **98**) = 0.32 (*iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 4:1),

$[\alpha]_D^{24} = -15.1$ (0.6, Wasser),

$C_{94}H_{133}N_9O_{45}$ (2109.1),

ESI-MS:

Amin (100 % Wasser): $M_{ber} = 1855.8$ $M_{gef} = 1857.2$ (M+H)⁺,

Peracetat (100 % Methanol): $M_{ber} = 2864.0$ $M_{gef} = 2888.0$ (M+Na)⁺,

Produkt **98** (100 % Wasser): $M_{ber} = 2107.8$ $M_{gef} = 2130.2$ (M+Na)⁺,

¹H-NMR (360 MHz, D₂O): $\delta = 7.38-7.09$ (m, 20H Ar), 4.88 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1⁴), 4.76-4.58 (m, 3H, H-1⁴, CH₂O, CH₂O), 4.56-4.49 (m, 2H, CH₂O, H-1¹), 4.44 (d, $J_{gem} = 12.5$ Hz, 1H, CH₂O), 4.41-4.33 (m, 3H, CH₂O, H-1⁶, H-1⁵), 4.31-4.22 (m, 3H, H-1³, H-1^B, CH₂O), 4.22-4.14 (m, 2H, CH₂O, H-1²), 4.11 (dd, $J_{1,2} < 1$ Hz, $J_{2,3} < 1$ Hz, 1H, H-2⁴), 4.04 (d, $J_{1,2} = 7.7$ Hz, 1H, H-1⁵), 3.91 (dd, $J_{2,3} < 1$ Hz, $J_{3,4} = 8.9$ Hz, 1H, H-3⁴), 3.87-3.69 (m, 9H, H-4³, H-2³, H-6a⁴, H-6a⁵, H-4², H-6a⁶, H-4¹, H-2⁴, H-6b⁴), 3.69-3.18 (m, 39H, H-6a¹, H-6b⁶, H-6a⁴, H-6a³, H-2⁵, H-2⁶, H-6b⁵, H-2¹, H-5⁴, H-2², H-6a², H-2^B, H-3⁴, H-6a^B, H-6b³, H-4⁴, H-3¹, H-6b¹, H-6a⁵, H-5¹, H-6b⁵, H-6b⁴, H-3⁶, H-3⁵, H-2⁵, H-6b², H-6b^B, H-3², H-3³, H-3^B, H-4⁵, H-5⁵, H-4^B, H-4⁶, H-5⁶, H-4⁴, H-5^B, H-4⁵, H-3⁵), 3.15-3.04 (m, 2H, H-5², H-5⁴), 2.94-2.85 (m, 1H, H-5³), 2.82-2.73 (m, 1H, H-5⁵), 1.94 (s, 3H, NAc), 1.92 (s, 3H, NAc), 1.90 (s, 3H, NAc), 1.86 (s, 3H, NAc), 1.66 (s, 3H, NAc), 1.62 (s, 3H, NAc),

¹³C-NMR (90 MHz, D₂O): $\delta = 174.3, 174.2, 174.0, 173.8, 173.7, 173.4$ (C=O NAc), 137.6, 137.4, 136.9 (C-1 Ar), 128.5, 128.4, 128.3, 128.2, 127.9, 127.5 (Ar), 101.0 (C-1⁶), 100.0 (C-1^B), 99.7 (C-1²), 99.5 (C-1⁵), 99.0 (C-1³), 98.7 (C-1⁴), 98.7 (C-1⁵), 96.4 (C-1⁴), 87.8 (C-1¹), 79.6 (C-3¹), 78.7 (C-3²), 77.7 (C-3³), 77.7 (C-4⁴), 76.0 (C-5^B), 75.8 (C-4²), 75.5 (C-2⁴), 75.3 (C-2⁴), 75.3 (C-5⁵), 75.3 (C-5⁶), 75.2 (C-5¹), 74.7 (C-5⁵), 74.7 (C-4¹), 73.3 (CH₂O), 73.3 (C-5³), 72.9 (C-3^B), 72.9 (C-3⁵), 72.9 (C-5²), 72.7 (CH₂O), 72.5 (C-3⁵), 72.4 (C-3⁶), 72.4 (CH₂O), 72.1 (CH₂O), 71.3 (C-4³), 71.2 (C-5⁴), 70.5 (C-5⁴), 69.6 (C-2³), 68.9 (C-3⁴), 68.9 (C-4⁵), 68.9 (C-4⁶), 68.9 (C-4^B), 68.8 (C-4⁵), 67.5 (C-3⁴), 67.3 (C-6²), 67.0 (C-6¹), 66.7 (C-4⁴), 64.8 (C-6³), 61.0 (C-6^B), 61.0 (C-6⁴), 60.6 (C-6⁴), 60.0 (C-6⁶), 60.0 (C-6⁵), 59.5 (C-6⁵), 55.3 (C-2^B), 54.6 (C-2⁶), 54.6 (C-2⁵), 54.6 (C-2⁵), 54.2 (C-2²), 52.9 (C-2¹), 22.1, 21.8, 21.5 (NAc).

$^1\text{H-NMR}$ (360 MHz, D_2O): $\delta = 7.39\text{--}7.06$ (m, 20H, Ar), 4.94 (d, $J_{1,2} = 3.3$ Hz, 1H, H-1 $^1\alpha$), 4.87 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1 4), 4.77-4.58 (m, 4H, CH_2O , H-1 4 , CH_2O , CH_2O), 4.51 (d, $J_{\text{gem}} = 11.5$ Hz, 1H, CH_2O), 4.67-4.40 (m, 2H, CH_2O , H-1 $^1\beta$), 4.39-4.12 (m, 8H, H-1 6 , H-1 5 , CH_2O , H-1 B , H-1 3 , CH_2O , H-1 2 , CH_2O), 4.11 (dd, $J_{1,2} < 1$ Hz, $J_{2,3} < 1$ Hz, 1H, H-2 4), 4.02 (d, $J_{1,2} = 8.6$ Hz, 1H, H-1 5), 3.90 (dd, $J_{2,3} = 2.7$ Hz, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, 1H, H-3 4), 3.85-3.68 (m, 10H, H-4 3 , H-2 3 , H-2 $^1\alpha$, H-6a 4 , H-6a 5 , H-4 2 , H-6a 6 , H-4 1 , H-2 4 , H-6b 4), 3.67-3.16 (m, 40H, H-3 $^1\alpha$, H-6b 5 , H-6a 3 , H-2 6 , H-6a 4 , H-6a 1 , H-2 5 , H-2 $^1\beta$, H-2 2 , H-6b 6 , H-5 4 , H-6a 2 , H-2 B , H-3 4 , H-6a B , H-6b 3 , H-4 4 , H-6b 2 , H-6a 5 , H-6b 5 , H-3 $^1\beta$, H-6b 4 , H-3 5 , H-3 6 , H-6b 1 , H-2 5 , H-6b B , H-3 B , H-3 3 , H-3 2 , H-5 1 , H-4 5 , H-4 6 , H-4 B , H-5 5 , H-5 B , H-5 6 , H-4 4 , H-4 5 , H-3 5), 3.13-3.04 (m, 2H, H-5 4 , H-5 2), 2.91-2.84 (m, 1H, H-5 3), 2.80-2.73 (m, 1H, H-5 5), 1.94 (s, 3H, NAc), 1.91 (s, 3H, NAc), 1.88 (s, 3H, NAc), 1.85(s, 3H, NAc), 1.70-1.54 (m, 6H, NAc),

$^{13}\text{C-NMR}$ (90 MHz, D_2O): $\delta = 174.3$, 174.1, 174.0, 173.7, 173.4 (C=O NAc), 137.4, 136.9 (C-1 Ar), 128.4, 127.9, 127.5, 127.3 (Ar), 101.0 (C-1 $^6\beta$, $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 162.2$ Hz), 99.9 (C-1 $^B\beta$, $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 165.3$ Hz), 99.7 (C-1 $^2\beta$, $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 166.7$ Hz), 99.5 (C-1 $^5\beta$, $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 165.3$ Hz), 99.0 (C-1 $^3\beta$, $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 161.2$ Hz), 98.7 (C-1 $^4\alpha$, $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 172.5$ Hz), 98.7 (C-1 $^5\beta$, $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 163.1$ Hz), 96.4 (C-1 $^4\alpha$, $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 172.5$ Hz), 94.2 (C-1 $^1\beta$, $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 165.3$ Hz), 90.0 (C-1 $^1\alpha$, $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 173.3$ Hz), 79.8 (C-3 $^1\beta$), 78.7 (C-3 2), 77.9 (C-4 4), 77.7 (C-3 3), 77.2 (C-3 $^1\alpha$), 75.9 (C-5 B), 75.7 (C-4 2), 75.4 (C-2 4), 75.4 (C-2 4), 75.2 (C-5 1), 75.2 (C-5 5), 75.2 (C-5 6), 75.0 (C-4 1), 74.7 (C-5 5), 73.3 (C-5 3), 73.1 (CH_2O), 73.1 (C-3 6), 73.1 (C-3 B), 72.9 (C-5 2), 72.6 (CH_2O), 72.4 (C-3 5), 72.3 (CH_2O), 72.3 (C-3 5), 72.2 (CH_2O), 71.3 (C-4 3), 71.1 (C-5 4), 70.5 (C-5 4), 69.6 (C-2 3), 69.0 (C-4 5), 69.0 (C-4 6), 69.0 (C-4 B), 68.9 (C-3 4), 68.8 (C-4 5), 67.5 (C-3 4), 67.3 (C-6 1), 67.2 (C-6 2), 66.7 (C-4 4), 64.7 (C-6 3), 61.0 (C-6 4), 61.0 (C-6 B), 60.6 (C-6 4), 60.1 (C-6 6), 59.9 (C-6 5), 59.3 (C-6 5), 55.3 (C-2 B), 54.7 (C-2 5), 54.7 (C-2 6), 54.7 (C-2 5), 54.6 (C-2 $^1\beta$), 54.4 (C-2 2), 51.8 (C-2 $^1\alpha$), 22.1, 21.8 (NAc).

O-(2-Acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-*O*- α -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*- α -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 6)]-*O*- β -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-2-acetamido-2-desoxy-D-glucopyranose **100**

(β -GlcNAc-1,2-[β -GlcNAc-1,4]- α -Man-1,3-[β -GlcNAc-1,4]-[β -GlcNAc-1,2- α -Man-1,6]- β -Man-1,4- β -GlcNAc-1,4-GlcNAc)

25.8 mg Palladium(II)-oxid-Hydrat werden in 778 μ L absolutem Methanol und 77.8 μ L Essigsäure suspendiert und unter Wasserstoffatmosphäre gerührt. Nach 120 min wird eine Lösung von 15.5 mg (7.4 μ mol) Nonasaccharid **99** in 2.2 mL absolutem Methanol und 223 μ L Essigsäure zur Katalysatorsuspension gegeben. Die Reaktion wird 2 d unter Wasserstoffatmosphäre gerührt. Nach vollständiger Umsetzung (DC: *iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 2:1) wird der Katalysator abzentrifugiert und dreimal mit 10 %iger Essigsäure in Methanol gewaschen. Die organischen Phasen werden vereint, im Vakuum eingengt und im Hochvakuum getrocknet. Es werden 13.1 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Gelfiltration gereinigt werden (Purifier, Bio-Rad Bio-Gel[®] P-4 Gel Fine; Säulengröße: 25 \times 750 mm; Eluent: Wasser; Fluss: 1.5 mL/min; Detektion: 214, 254 und 280 nm; Retentionszeit: 102.0 min).

Ausbeute: 9.9 mg (5.7 μ mol, 77.2 %),

$R_f = 0.47$ (*iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 2:1),

$[\alpha]_D^{24} = +5.0$ (0.4, Deuteriumoxid),

$C_{66}H_{110}N_6O_{46}$ (1723.6),

ESI-MS (100 % Methanol): $M_{ber} = 1722.7$ $M_{gef} = 884.3 (M+2Na)^{2+}$, 1745.8 $(M+Na)^+$,

¹H-NMR (360 MHz, D₂O, 300 K): $\delta = 5.20$ (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1¹ α), 5.06 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1⁴), 5.00 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1^{4'}), 4.74-4.69 (m, 2H, H-1¹ β , H-1³), 4.64-4.59 (m, 1H, H-1²), 4.57-4.51 (m, 3H, H-1⁵, H-1^{5'}, H-1⁶), 4.47 (d, $J_{1,2} = 8.2$ Hz, 1H, H-1^B), 4.29 (dd, $J_{1,2} < 1$ Hz, $J_{2,3} < 1$ Hz, 1H, H-2⁴), 4.18-4.12 (m, 2H, H-2³, H-2^{4'}), 4.12-4.03 (m, 2H, H-4³, H-3⁴), 4.01-3.84 (m, 11H, H-6a^B, H-6a⁴, H-6a³, H-3¹, H-6a⁵, H-6a⁶, H-6a^{5'}, H-2¹ α , H-6b³, H-3³, H-6a²), 3.84-3.66 (m, 18H, H-3^{4'}, H-2², H-6a^{4'}, H-5⁴, H-6b², H-6b⁵, H-6b^{5'}, H-6b⁶, H-2⁶, H-3², H-4², H-2¹ β , H-2⁵, H-6b^B, H-6a¹, H-2^B, H-2^{5'}, H-6b¹), 3.66-3.37 (m, 20H, H-4¹, H-6b⁴, H-5^{4'}, H-3⁵, H-5¹, H-3⁶, H-4⁴, H-6b^{4'}, H-3^B, H-5², H-5³, H-4^{4'}, H-4⁵, H-4⁶, H-4^{5'}, H-3^{5'}, H-5⁵, H-5⁶, H-5^B, H-5^{5'}), 3.28 (dd, $J_{3,4} = 9.2$ Hz, $J_{4,5} = 9.3$ Hz, 1H, H-4^B), 2.10-2.08 (m, 6H, NAc), 2.08-2.06 (m, 6H, NAc), 2.06 (s, 3H, NAc), 2.05 (s, 3H, NAc),

^{13}C -NMR (125 MHz, D_2O): $\delta = 174.3, 174.2, 174.1$ (C=O NAc), 101.3 (C-1 $^6\beta$, $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 162.2$ Hz), 101.0 (C-1 $^2\beta$, $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 163.6$ Hz), 100.2 (C-1 $^B\beta$, $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 162.2$ Hz), 99.7 (C-1 $^3\beta$, $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 162.9$ Hz), 99.6 (C-1 $^5\beta$, $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 162.2$ Hz), 99.3 (C-1 $^5\beta$, $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 162.2$ Hz), 99.1 (C-1 $^4\alpha$, $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 173.7$ Hz), 97.3 (C-1 $^4\alpha$, $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 172.3$ Hz), 94.4 (C-1 $^1\beta$, $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 164.3$ Hz), 90.1 (C-1 $^1\alpha$, $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 174.4$ Hz), 79.1 (C-4 1), 78.5 (C-4 4), 78.3 (C-3 3), 78.1 (C-4 2), 76.4 (C-5 B), 75.8 (C-2 4), 75.7 (C-2 4), 75.5 (C-5 5), 75.5 (C-5 6), 75.4 (C-5 5), 74.1 (C-5 4), 73.9 (C-5 1), 73.9 (C-5 2), 73.8 (C-5 3), 73.1 (C-3 5), 73.0 (C-3 B), 72.8 (C-3 5), 72.8 (C-3 6), 71.5 (C-5 4), 71.5 (C-3 2), 71.2 (C-4 3), 70.7 (C-4 B), 69.9 (C-2 3), 69.5 (C-3 1), 69.4 (C-4 5), 69.4 (C-4 5), 69.4 (C-4 6), 69.1 (C-3 4), 67.7 (C-3 4), 67.0 (C-4 4), 64.9 (C-6 3), 61.4 (C-6 4), 61.3 (C-6 B), 61.1 (C-6 4), 60.2 (C-6 5), 60.2 (C-6 5), 60.2 (C-6 6), 59.6 (C-6 1), 59.5 (C-6 2), 55.7 (C-2 B), 55.0 (C-2 5), 55.0 (C-2 5), 55.0 (C-2 6), 55.0 (C-2 $^1\beta$), 54.8 (C-2 2), 53.3 (C-2 $^1\alpha$), 22.0, 21.9, 21.7 (NAc).

O-(2-Acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-*O*- α -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-{*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)]-*O*- α -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 6)}-*O*- β -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2-acetamido-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy- β -D-glucopyranosylazid **101**

(β -GlcNAc-1,2-[β -GlcNAc-1,4]- α -Man-1,3-[β -GlcNAc-1,4]-{ β -GlcNAc-1,2-[β -GlcNAc-1,6]- α -Man-1,6}- β -Man-1,4- β -Bzl $_2$ GlcNAc-1,4- β -Bzl $_2$ GlcNAc-N $_3$)

173.1 mg (40.1 μmol) Decasaccharid **83** werden in 5.2 mL *n*-Butanol und 1.21 mL (18.1 mmol, 451.4 eq) Ethylendiamin gelöst und 16.5 h bei 80 °C gerührt. Nach vollständigem Reaktionsumsatz (DC: *iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 4:1) wird im Vakuum eingengt, der Rückstand dreimal mit Toluol codestilliert, im Hochvakuum getrocknet, in 8.7 mL Essigsäureanhydrid/Pyridin, 1:2 gelöst und 16 h bei Zimmertemperatur gerührt. Nach vollständiger Reaktion (DC: Dichlormethan/Methanol, 10:1) wird im Vakuum eingengt, der Rückstand dreimal mit Toluol codestilliert, im Hochvakuum getrocknet, in 4 mL Methylamin-Lösung (40 % in Wasser) aufgenommen und 160 min bei Zimmertemperatur gerührt. Nach beendeter Reaktion (DC: *iso*-Propanol/ 1 M Ammoniumacetat, 4:1) wird im Vakuum bei

Zimmertemperatur eingengt, der Rückstand dreimal mit Toluol codestilliert und anschließend im Hochvakuum getrocknet. Der Rückstand wird in Wasser gelöst und lyophilisiert. Es werden 125.5 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Festphasen-RP-Extraktion gereinigt werden (Waters SepPak C18; Kartuschengröße: 2 g; Elution (jeweils 20 mL) mit 0, 10, 20, 30, 40, 50 und 100 % Acetonitril; Elution von **101** bei 20 und 30 % Acetonitril).

Ausbeute: 83.9 mg (36.3 μ mol, 90.5 %),

R_f (Amin) = 0.13 (*iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 4:1),

R_f (Peracetat) = 0.51 (Dichlormethan/Methanol, 10:1),

R_f (Produkt **101**) = 0.56 (DC: *iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 4:1),

$[\alpha]_D^{24} = -31.3$ (0.4, Wasser),

$C_{102}H_{146}N_{10}O_{50}$ (2312.3),

ESI-MS:

Amin (100 % Wasser): $M_{ber} = 2016.8$ $M_{gef} = 2018.3$ (M+H)⁺,

Peracetat (100 % Methanol): $M_{ber} = 3151.1$ $M_{gef} = 1598.3$ (M+2Na)²⁺,
3174.4 (M+Na)⁺,

Produkt **101** (100 % Wasser): $M_{ber} = 2310.9$ $M_{gef} = 2334.8$ (M+Na)⁺,

¹H-NMR (360 MHz, D₂O): $\delta = 7.43$ -7.07 (m, 20H, Ar), 4.88 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1⁴), 4.76-4.63 (m, 4H, CH₂O, H-1^{4'}, CH₂O, CH₂O), 4.58-4.50 (m, 2H, H-1¹, CH₂O), 4.49-4.33 (m, 5H, CH₂O, H-1⁵, H-1⁶, CH₂O, H-1^B), 4.31-4.13 (m, 5H, H-1³, CH₂O, H-1⁷, CH₂O, H-1²), 4.10 (dd, $J_{1,2} < 1$ Hz, $J_{2,3} < 1$ Hz, 1H, H-2⁴), 4.05-3.89 (m, 4H, H-1^{5'}, H-6a^{4'}, H-4³, H-3⁴), 3.86-3.69 (m, 8H, H-6a⁴, H-2³, H-6a⁵, H-6a⁶, H-4², H-6a^{7'}, H-4¹, H-2^{4'}), 3.69-3.39 (m, 31H, H-6a³, H-6a¹, H-6a^B, H-6b⁵, H-6b⁶, H-2⁶, H-2¹, H-2², H-2⁵, H-5⁴, H-3^{4'}, H-2^B, H-6b^{7'}, H-2⁷, H-6b⁴, H-6a², H-6b³, H-3^B, H-6a^{5'}, H-4⁴, H-3¹, H-6b^{5'}, H-3⁵, H-3⁶, H-6b¹, H-6b^B, H-5¹, H-3⁷, H-6b², H-3², H-5⁵), 3.39-3.19 (m, 13H, H-6b^{4'}, H-2^{5'}, H-3³, H-5⁷, H-4⁶, H-4^B, H-4⁵, H-4^{4'}, H-5^B, H-4^{5'}, H-4⁷, H-3^{5'}, H-5⁶), 3.17-3.02 (m, 3H, H-5^{4'}, H-5², H-5³), 2.79-2.70 (m, 1H, H-5^{5'}), 1.97 (s, 3H, NAc), 1.94-1.90 (m, 6H, NAc), 1.88 (s, 3H, NAc), 1.84 (s, 3H, NAc), 1.66-1.60 (m, 6H, NAc),

¹³C-NMR (90 MHz, D₂O): $\delta = 174.4$, 174.0, 173.8, 173.7, 173.4 (C=O NAc), 137.6, 136.9 (C-1 Ar), 128.6, 128.4, 128.4, 128.3, 128.2, 127.9, 127.5 (Ar), 101.4 (C-1⁷), 101.3 (C-1⁶), 100.0 (C-1²), 99.8 (C-1⁵), 99.4 (C-1³), 99.0 (C-1⁴), 99.0 (C-1^B), 99.0 (C-1^{5'}),

96.9 (C-1^{4'}), 88.2 (C-1¹), 79.8 (C-3¹), 78.6 (C-3²), 78.4 (C-3³), 78.1 (C-4⁴), 76.6 (C-4²), 76.0 (C-2^{4'}), 76.0 (C-5^B), 75.8 (C-2⁴), 75.6 (C-5¹), 75.5 (C-5⁵), 75.5 (C-5⁷), 75.3 (C-5⁶), 75.1 (C-5^{5'}), 74.8 (C-4¹), 73.7 (C-5³), 73.6 (CH₂O), 73.3 (C-3⁶), 73.1 (CH₂O), 73.1 (C-3^B), 73.1 (C-5²), 72.7 (CH₂O), 72.7 (C-3⁵), 72.5 (CH₂O), 72.5 (C-3^{5'}), 71.6 (C-3⁷), 71.5 (C-3^{4'}), 70.8 (C-5^{4'}), 70.1 (C-4³), 69.8 (C-2³), 69.6 (C-4⁵), 69.6 (C-4^B), 69.5 (C-6⁴), 69.3 (C-4⁶), 69.3 (C-4⁷), 69.3 (C-4^{5'}), 69.2 (C-5⁴), 67.7 (C-3⁴), 67.5 (C-6²), 67.2 (C-6¹), 67.1 (C-4^{4'}), 65.4 (C-6³), 61.3 (C-6⁴), 60.8 (C-6^B), 60.3 (C-6⁵), 60.3 (C-6⁶), 60.3 (C-6⁷), 59.8 (C-6^{5'}), 55.9 (C-2^B), 55.5 (C-2⁵), 55.2 (C-2^{5'}), 55.0 (C-2⁶), 55.0 (C-2⁷), 54.7 (C-2²), 53.2 (C-2¹), 22.1, 21.9, 21.5 (NAc).

O-(2-Acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-*O*- α -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-{*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)]-*O*- α -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 6)}-*O*- β -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-2-acetamido-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-D-glucopyranose **102**

(β -GlcNAc-1,2-[β -GlcNAc-1,4]- α -Man-1,3-[β -GlcNAc-1,4]-{ β -GlcNAc-1,2-[β -GlcNAc-1,6]- α -Man-1,6}- β -Man-1,4- β -Bzl₂GlcNAc-1,4-Bzl₂GlcNAc)

45.4 mg (19.6 μ mol) Decasaccharid **101** werden unter Argonatmosphäre in 2.5 mL absolutem Methanol gelöst. Es werden 52 μ l (0.3 mmol, 15.2 eq) *N,N*-Diisopropylethylamin und 140 μ l (1.4 mmol, 71.1 eq) Propandithiol zugegeben und 210 min bei Zimmertemperatur gerührt. Nach vollständigem Reaktionsumsatz (DC: *iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 4:1) wird im Vakuum eingengt und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Der Rückstand wird mittels Festphasen-RP-Extraktion (Waters SepPak C18 Classic; Kartuschengröße: 330 mg; Elution mit 20 mL Wasser und jeweils 10 mL 10, 20, 30, 50 und 100 % Acetonitril; Elution des Amins bei 10, 20 und 30 % Acetonitril) vom restlichen Propandithiol getrennt. Der Rückstand wird in 860 μ L Wasser gelöst. Es werden 860 μ L Essigsäure zugegeben und 20.3 h bei Zimmertemperatur gerührt. Nach vollständiger Reaktion (DC: *iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 4:1) wird das Lösungsmittel durch Gefriertrocknung entfernt. Es werden 47.9 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Gelpermeation gereinigt werden (Purifier;

Superdex LH 20; Säulengröße: 25×1000 mm; Eluent: Methanol; Fluss: 1 mL/min; Detektion: 214, 254 und 280 nm; Retentionszeit: 195.0 min).

Ausbeute: 41.4 mg (18.1 μ mol, 92.3 %),

R_f (Glycosylamin) = 0.25 (*iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 4:1),

R_f (Halbacetal **102**) = 0.35 (*iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 4:1),

$[\alpha]_D^{23} = -27.3$ (0.4, Deuteriumoxid),

$C_{102}H_{147}N_7O_{51}$ (2287.3),

ESI-MS (100 % Wasser): $M_{ber} = 2285.9$ $M_{gef} = 1166.2$ (M+2Na)²⁺,
 1174.3 (M+Na+K)²⁺,
 2309.5 (M+Na)⁺, 2325.4 (M+K)⁺,

¹H-NMR (360 MHz, D₂O): $\delta = 7.38-7.08$ (m, 20H, Ar), 4.94 (d, $J_{1,2} = 3.1$ Hz, 1H, H-1¹ α), 4.86 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1⁴), 4.74-4.61 (m, 4H, CH₂O, H-1^{4'}, CH₂O, CH₂O), 4.50 (d, $J_{gem} = 12.0$ Hz, 1H, CH₂O), 4.47-4.18 (m, 9H, H-1¹ β , CH₂O, H-1⁵, H-1⁶, CH₂O, H-1^B, CH₂O, H-1³, H-1⁷), 4.16-4.06 (m, 3H, H-1², CH₂O, H-2⁴), 4.01-3.87 (m, 4H, H-1^{5'}, H-6a^{4'}, H-4³, H-3⁴), 3.84-3.66 (m, 11H, H-2¹ α , H-6a⁴, H-6a⁵, H-2³, H-6a⁶, H-4¹, H-4², H-2^{4'}, H-6a^{7'}, H-6a³, H-6b⁵), 3.66-3.39 (m, 25H, H-3¹ α , H-2⁶, H-6a^B, H-6b⁶, H-2⁵, H-5⁴, H-3^{4'}, H-6a¹, H-2¹ β , H-2^B, H-2², H-3^B, H-6b^{7'}, H-2^{7'}, H-6b⁴, H-6b³, H-6a², H-4⁴, H-6a^{5'}, H-3⁵, H-6b^{5'}, H-6b^B, H-6b¹, H-3^{7'}, H-3¹ β), 3.39-3.17 (m, 18H, H-6b², H-3⁶, H-5¹, H-6b^{4'}, H-3², H-5⁵, H-2^{5'}, H-3³, H-5^{7'}, H-4⁵, H-4⁶, H-4^B, H-4^{7'}, H-4^{4'}, H-5^B, H-4^{5'}, H-3^{5'}, H-5⁶), 3.15-2.98 (m, 3H, H-5^{4'}, H-5², H-5³), 2.74-2.68 (m, 1H, H-5^{5'}), 1.96 (s, 3H, NAc), 1.92-1.88 (m, 6H, NAc), 1.87 (s, 3H, NAc), 1.84 (s, 3H, NAc), 1.67-1.57 (m, 6H, NAc),

¹³C-NMR (90 MHz, D₂O): $\delta = 174.3, 174.0, 173.6$ (C=O NAc), 137.9, 137.5, 136.8 (C-1 Ar), 128.6, 128.4, 128.2, 127.9, 127.5, 127.3 (Ar), 101.1 (C-1⁷ β , $^1J_{C-1,H-1} = 163.4$ Hz), 101.0 (C-1⁶ β , $^1J_{C-1,H-1} = 163.4$ Hz), 99.6 (C-1² β , $^1J_{C-1,H-1} = 167.6$ Hz), 99.5 (C-1⁵ β , $^1J_{C-1,H-1} = 164.6$ Hz), 99.0 (C-1³ β , $^1J_{C-1,H-1} = 161.6$ Hz), 98.7 (C-1⁴ α , $^1J_{C-1,H-1} = 173.3$ Hz), 98.7 (C-1^B β , $^1J_{C-1,H-1} = 162.8$ Hz), 98.7 (C-1⁵ β , $^1J_{C-1,H-1} = 160.4$ Hz), 96.6 (C-1⁴ α , $^1J_{C-1,H-1} = 171.3$ Hz), 94.2 (C-1¹ β , $^1J_{C-1,H-1} = 161.0$ Hz), 90.0 (C-1¹ α , $^1J_{C-1,H-1} = 173.3$ Hz), 79.8 (C-3¹ β), 78.3 (C-3²), 78.1 (C-3³), 77.9 (C-4⁴), 77.1 (C-3¹ α), 76.2 (C-4²), 75.8 (C-2⁴), 75.7 (C-5^B), 75.5 (C-2⁴), 75.2 (C-5¹), 75.2 (C-5⁵), 75.5 (C-5^{7'}), 75.1 (C-5⁶), 74.7 (C-4¹),

74.7 (C-5⁵), 73.3 (C-5³), 73.1 (C-3⁶), 72.9 (CH₂O), 72.8 (CH₂O), 72.8 (C-3^B), 72.8 (C-5²), 72.5 (C-3⁵), 72.3 (CH₂O), 72.1 (C-3⁵), 72.1 (CH₂O), 71.3 (C-3⁷), 71.1 (C-3⁴), 70.5 (C-5⁴), 69.7 (C-4³), 69.5 (C-2³), 69.2 (C-6⁴), 69.1 (C-4⁵), 69.1 (C-4⁶), 69.1 (C-4^B), 69.1 (C-4⁷), 68.9 (C-5⁴), 68.9 (C-4⁵), 67.4 (C-3⁴), 67.2 (C-6¹), 67.1 (C-6²), 66.8 (C-4⁴), 65.1 (C-6³), 60.9 (C-6⁴), 60.5 (C-6^B), 60.0 (C-6⁵), 60.0 (C-6⁶), 60.0 (C-6⁷), 59.5 (C-6⁵), 55.6 (C-2^B), 55.0 (C-2⁵), 54.8 (C-2⁶), 54.8 (C-2⁵), 54.8 (C-2⁷), 54.8 (C-2^β¹), 54.7 (C-2²), 51.8 (C-2^{1α}), 22.1, 21.9, 21.7 (NAc).

O-(2-Acetamido-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-(1→2)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-(1→4)]-*O*-α-D-mannopyranosyl-(1→3)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-(1→4)]-{*O*-(2-acetamido-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-(1→2)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-(1→6)]-*O*-α-D-mannopyranosyl-(1→6)}-*O*-β-D-mannopyranosyl-(1→4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-(1→4)-*O*-2-acetamido-2-desoxy-D-glucopyranose **103**

(β-GlcNAc-1,2-[β-GlcNAc-1,4]-α-Man-1,3-[β-GlcNAc-1,4]-{β-GlcNAc-1,2-[β-GlcNAc-1,6]-α-Man-1,6}-β-Man-1,4-β-GlcNAc-1,4-GlcNAc)

18.6 mg Palladium(II)-oxid-Hydrat werden in 562 μL absolutem Methanol und 56.2 μL Essigsäure suspendiert und unter Wasserstoffatmosphäre gerührt. Nach 120 min wird eine Lösung von 11.4 mg (5.0 μmol) Decasaccharid **102** in 1.6 mL absolutem Methanol und 160 μL Essigsäure zur Katalysatorsuspension gegeben. Die Reaktion wird 40.5 h unter Wasserstoffatmosphäre gerührt. Nach vollständiger Umsetzung (DC: *iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 2:1) wird der Katalysator abzentrifugiert und dreimal mit 10 %iger Essigsäure in Methanol gewaschen. Die organischen Phasen werden vereint, im Vakuum eingeeengt und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Es werden 10.5 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Gelfiltration gereinigt werden (Purifier; Bio-Rad Bio-Gel[®] P-4 Gel Fine; Säulengröße: 25×750 mm; Eluent: Wasser; Fluss: 1.5 mL/min; Detektion: 214, 254 und 280 nm; Retentionszeit: 97.5 min).

Ausbeute: 6.3 mg (3.3 μmol, 65.4 %),

$R_f = 0.41$ (*iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 2:1),

$[\alpha]_D^{24} = -3.5$ (0.5, Deuteriumoxid),

9.22 Versuche zu Kapitel 4.2

*N*¹-(2-Aminoethoxy)-*N*¹-methyl-amino *O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*- α -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*- α -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 6)]-*O*- β -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosid **105**

(β -GlcNAc-1,2- α -Man-1,3-[β -GlcNAc-1,4]-[β -GlcNAc-1,2- α -Man-1,6]- β -Man-1,4- β -GlcNAc-1,4- β -GlcNAc-N(CH₃)O(CH₂)₂NH₂)

40.9 mg (0.13 mmol, 39.4 eq) bifunktionaler Spacer **104** werden in 500 μ L 0.1 M Natriumacetatpuffer gelöst. Durch Zugabe von 6.5 μ L 5 M Natriumhydroxidlösung wird der pH-Wert auf 4.5 - 5.0 eingestellt. Diese Lösung wird zu 5.0 mg (3.3 μ mol) Halbacetal **94** gegeben und anschließend 48 h bei 37 °C inkubiert. Salze und überschüssiger Spacer **104** werden mittels Festphasen-Extraktion (Carbograph Columns; Kartuschengröße: 150 mg; Waschen mit 3 mL Wasser; Elution mit 4.0 mL 25 % Acetonitril) entfernt. Eine Reinigung durch Gelfiltration wird angeschlossen (Purifier; Hi Load Superdex 30; Säulengröße: 16 \times 600 mm; Eluent: 0.1 M Ammoniumhydrogencarbonat-Lösung; Fluss: 0.75 mL/min; Detektion: 214, 254 und 280 nm; Retentionszeit: 104.8 min).

Rohausbeute: 4.8 mg (3.0 μ mol, 90.9 % nach Carbograph Column mit ca. 15 %

Halbacetal **94**),

$R_f = 0.46$ (*iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 1.5:1),

$[\alpha]_D^{25} = -3.2$ (0.2, Wasser),

C₆₁H₁₀₅N₇O₄₁ (1592.5),

ESI-MS (100 % Wasser): $M_{\text{ber}} = 1591.6$ $M_{\text{gef}} = 807.5 (M+H+Na)^{2+}$,
818.5 (M+2Na)²⁺, 1614.0 (M+Na)⁺,

¹H-NMR (360 MHz, D₂O): $\delta = 4.89$ (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1⁴), 4.84 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1^{4'}), 4.53 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1³), 4.44 (d, $J_{1,2} = 8.2$ Hz, 1H, H-1²), 4.41-4.36 (m, 2H, H-1⁵, H-1^{5'}), 4.30 (d, $J_{1,2} = 8.4$ Hz, 1H, H-1^B), 4.09 (dd, $J_{1,2} < 1$ Hz, $J_{2,3} < 1$ Hz, 1H, H-2⁴), 4.07 (d,

$J_{1,2} = 9.0$ Hz, 1H, H-1¹), 4.01 (dd, $J_{1,2} < 1$ Hz, $J_{2,3} = 2.9$ Hz, 1H, H-2³), 3.99 (dd, $J_{1,2} < 1$ Hz, $J_{2,3} < 1$ Hz, 1H, H-2⁴), 3.96-3.67 (m, 14H, H-4³, H-2¹, H-6a^B, H-6a⁴, H-6a⁵, H-6a^{4'}, H-3⁴, H-6a³, H-6a⁵, H-3¹, H-6a², H-6b³, H-3³, H-3⁴), 3.67-3.37 (m, 24H, H-6b⁵, H-2², H-6b^{5'}, H-3², H-5⁴, H-4², H-2⁵, H-2^{5'}, H-6b², H-2^B, H-6b^B, H-5^{4'}, H-6a¹, H-6b¹, CH₂O, H-3⁵, H-6b⁴, H-6b^{4'}, H-5², H-5¹, H-4¹, H-3^B, CH₂O, H-5³), 3.37-3.20 (m, 8H, H-4⁴, H-4⁵, H-3^{5'}, H-5⁵, H-4^{4'}, H-4^{5'}, H-5^B, H-5^{5'}), 3.10 (dd, $J_{3,4} = 9.8$ Hz, $J_{4,5} = 9.3$ Hz, 1H, H-4^B), 3.00-2.93 (m, 2H, CH₂N), 2.59 (s, 3H, NCH₃), 1.92 (s, 3H, NAc), 1.90 (s, 3H, NAc), 1.89 (s, 3H, NAc), 1.88 (s, 3H, NAc), 1.87 (s, 3H, NAc),

¹³C-NMR (90 MHz, D₂O): $\delta = 174.9, 174.7, 174.3$ (C=O NAc), 101.7 (C-1²), 101.0 (C-1^B), 100.5 (C-1³), 100.3 (C-1⁴), 100.1 (C-1⁵), 100.0 (C-1^{5'}), 98.0 (C-1^{4'}), 91.9 (C-1¹), 79.3 (C-4¹), 79.0 (C-4²), 79.0 (C-3³), 77.1 (C-5^B), 76.8 (C-2⁴), 76.5 (C-2^{4'}), 76.3 (C-5⁵), 73.1 (C-5^{5'}), 74.9 (C-5¹), 74.9 (C-5²), 74.9 (C-5³), 74.1 (CH₂O), 73.9 (C-5⁴), 73.9 (C-3⁵), 73.8 (C-3⁵), 73.8 (C-3^B), 72.3 (C-5⁴), 72.0 (C-4³), 71.4 (C-4^B), 70.7 (C-2³), 70.2 (C-4⁵), 70.2 (C-4^{5'}), 69.9 (C-3¹), 69.5 (C-3^{4'}), 69.5 (C-3⁴), 69.0 (C-3²), 67.8 (C-4⁴), 67.8 (C-4^{4'}), 65.8 (C-6³), 62.2 (C-6⁴), 62.2 (C-6^{4'}), 62.1 (C-6^B), 60.9 (C-6⁵), 60.9 (C-6^{5'}), 60.5 (C-6²), 60.3 (C-6¹), 56.4 (C-2^B), 55.8 (C-2⁵), 55.7 (C-2^{5'}), 55.5 (C-2²), 52.0 (C-2¹), 39.0 (CH₂N), 38.7 (NCH₃), 23.8, 23.7, 23.6 (NAc).

*N*¹-(2-Aminoethoxy)-*N*¹-methyl-amino *O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*- α -*D*-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-{*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)]-*O*- α -*D*-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 6)}-*O*- β -*D*-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2-acetamido-2-desoxy- β -*D*-glucopyranosid **106**

(GlcNAc-1,2- α -Man-1,3-[β -GlcNAc-1,4]-{ β -GlcNAc-1,2-[β -GlcNAc-1,6]- α -Man-1,6}- β -Man-1,4- β -GlcNAc-1,4- β -GlcNAc-N(CH₃)O(CH₂)₂NH₂)

29.5 mg (92.8 μ mol, 40.0 eq) bifunktionaler Spacer **104** werden in 400 μ L 0.1 M Natriumacetatpuffer gelöst. Durch Zugabe von 6.0 μ L 5 M Natriumhydroxidlösung wird der pH-Wert auf 4.5 - 5.0 eingestellt. Diese Lösung wird zu 4.0 mg (2.3 μ mol) Halbacetal **97** gegeben und anschließend 48 h bei 37 °C inkubiert. Salze und überschüssiger Spacer **104** werden mittels

Festphasen-Extraktion (Carbograph Columns; Kartuschengröße: 150 mg; Waschen mit 3 mL Wasser; Elution mit 4.0 mL 25 % Acetonitril) entfernt. Eine Reinigung durch Gelfiltration wird angeschlossen (Purifier; Hi Load Superdex 30; Säulengröße: 16×600 mm; Eluent: 0.1 M Ammoniumhydrogencarbonat-Lösung; Fluss: 0.75 mL/min; Detektion: 214, 254 und 280 nm; Retentionszeit: 103.0 min).

Rohausbeute: 3.4 mg (1.9 μmol , 82.6% nach Carbograph Column mit ca. 12 % Halbacetal **97**),

$R_f = 0.57$ (*iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 1.5:1),

$[\alpha]_D^{24} = -16.1$ (0.2, Wasser),

$\text{C}_{69}\text{H}_{118}\text{N}_8\text{O}_{46}$ (1795.7),

ESI-MS (100 % Wasser): $M_{\text{ber}} = 1794.7$ $M_{\text{gef}} = 909.5$ (M+H+Na)²⁺,
 920.5 (M+2Na)²⁺,
 928.9 (M+Na+K)²⁺,
 1795.7 (M+H)⁺, 1817.7 (M+Na)⁺,
 1833.6 (M+K)⁺,

¹H-NMR (360 MHz, D₂O): $\delta = 4.89$ (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1⁴), 4.74 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1^{4'}), 4.54 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1³), 4.46-4.30 (m, 5H, H-1², H-1⁵, H-1^{5'}, H-1⁷, H-1^B), 4.13-3.94 (m, 6H, H-6a^{4'}, H-2⁴, H-1¹, H-4³, H-2³, H-2^{4'}), 3.91-3.67 (m, 11H, H-2¹, H-6a^B, H-6a^{7'}, H-6a⁵, H-6a⁴, H-3⁴, H-6a², H-6a^{5'}, H-6a³, H-3³, H-6b³), 3.67-3.36 (m, 29H, H-6b^{7'}, H-3¹, H-6b⁵, H-2², H-3², H-3^{4'}, H-6b², H-6b^{5'}, H-2^{7'}, H-4², H-2⁵, H-6a¹, H-6b^B, H-5⁴, H-5^{4'}, H-2^B, H-2^{5'}, H-6b¹, CH₂O, H-3^B, H-4¹, H-5², H-6b⁴, H-3⁵, H-3^{7'}, H-6b^{4'}, CH₂O, H-5¹, H-5³), 3.36-3.17 (m, 10H, H-4^{7'}, H-5^{7'}, H-4⁴, H-4⁵, H-5⁵, H-3^{5'}, H-4^{4'}, H-4^{5'}, H-5^B, H-5^{5'}), 3.11 (dd, $J_{3,4} = 9.7$ Hz, $J_{4,5} = 8.9$ Hz, 1H, H-4^B), 2.95 (dd, $J_{\text{vic}} = 4.5$ Hz, $J_{\text{gem}} = 11.1$ Hz, 2H, CH₂N), 2.60 (s, 3H, NCH₃), 1.94-1.85 (m, 18H, NAc),

¹³C-NMR (90 MHz, D₂O): $\delta = 174.4$, 174.2, 174.1 (C=O NAc), 101.1 (C-1^{7'}), 100.9 (C-1²), 99.4 (C-1⁴), 99.4 (C-1³), 99.3 (C-1^B), 99.3 (C-1⁵), 99.3 (C-1^{5'}), 97.4 (C-1^{4'}), 90.9 (C-1¹), 78.5 (C-4¹), 78.2 (C-3³), 77.4 (C-4²), 76.2 (C-5^B), 76.0 (C-2⁴), 76.0 (C-2^{4'}), 75.3 (C-5⁵), 75.3 (C-5^{7'}), 75.2 (C-5^{5'}), 74.0 (C-5²), 74.0 (C-5¹), 74.0 (C-5³), 73.0 (C-5^{4'}), 72.9 (C-3^B), 72.9 (C-3^{7'}), 72.9 (C-3⁵), 72.9 (CH₂O), 72.8 (C-3^{5'}), 71.2 (C-3²), 71.2 (C-5⁴), 70.6 (C-4^B), 69.8 (C-2³), 69.7 (C-4³), 69.7 (C-6^{4'}), 69.4 (C-4^{7'}), 69.4 (C-4⁵), 69.4 (C-4^{5'}), 68.9 (C-3¹),

68.7 (C-3⁴), 68.1 (C-3^{4'}), 67.0 (C-4⁴), 66.8 (C-4^{4'}), 64.4 (C-6³), 61.3 (C-6⁴), 61.1 (C-6^B), 60.1 (C-6⁷), 60.1 (C-6⁵), 60.1 (C-6^{5'}), 59.6 (C-6¹), 59.3 (C-6²), 55.7 (C-2^B), 54.9 (C-2⁷), 54.8 (C-2⁵), 54.7 (C-2^{5'}), 54.6 (C-2²), 51.1 (C-2¹), 38.1 (NCH₃), 37.8 (CH₂N), 22.0, 21.8 (NAc).

*N*¹-(2-Aminoethoxy)-*N*¹-methyl-amino *O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-*O*- α -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*- α -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 6)]-*O*- β -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosid **107**

(GlcNAc-1,2-[β -GlcNAc-1,4]- α -Man-1,3-[β -GlcNAc-1,4]-[β -GlcNAc-1,2- α -Man-1,6]- β -Man-1,4- β -GlcNAc-1,4- β -GlcNAc-N(CH₃)O(CH₂)₂NH₂)

14.8 mg (46.4 μ mol, 38.7 eq) bifunktionaler Spacer **104** werden in 200 μ L 0.1 M Natriumacetatpuffer gelöst. Durch Zugabe von 3.0 μ L 5 M Natriumhydroxidlösung wird der pH-Wert auf 4.5 - 5.0 eingestellt. Diese Lösung wird zu 2.0 mg (1.2 μ mol) Halbacetal **100** gegeben und anschließend 48 h bei 37 °C inkubiert. Salze und überschüssiger Spacer **104** werden mittels Festphasen-Extraktion (Carbograph Columns; Kartuschengröße: 150 mg; Waschen mit 3 mL Wasser; Elution mit 4.0 mL 25 % Acetonitril) entfernt. Eine Reinigung durch Gelfiltration wird angeschlossen (Purifier; Hi Load Superdex 30; Säulengröße: 16 \times 600 mm; Eluent: 0.1 M Ammoniumhydrogencarbonat-Lösung; Fluss: 0.75 mL/min; Detektion: 214, 254 und 280 nm; Retentionszeit: 102.1 min).

Rohausbeute: 2.0 mg (1.1 μ mol, 91.7% nach Carbograph Column mit ca. 17 %

Halbacetal **100**),

$R_f = 0.48$ (*iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 1.5:1),

$[\alpha]_D^{24} = -1.3$ (0.1, Wasser),

C₆₉H₁₁₈N₈O₄₆ (1795.7),

ESI-MS (100 % Wasser): $M_{\text{ber}} = 1794.7$ $M_{\text{gef}} = 920.7 (M+2\text{Na})^{2+}$,
 $928.7 (M+\text{Na}+\text{K})^{2+}$,
 $1796.4 (M+\text{H})^+$, $1819.3 (M+\text{Na})^+$,

$^1\text{H-NMR}$ (360 MHz, D_2O): $\delta = 4.89$ (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1^{4'}), 4.83 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1^{4'}), 4.51 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1^{3'}), 4.43 (d, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, 1H, H-1^{2'}), 4.40-4.32 (m, 3H, H-1^{5'}, H-1^{5'}, H-1^{6'}), 4.29 (d, $J_{1,2} = 8.2$ Hz, 1H, H-1^B), 4.12 (dd, $J_{1,2} < 1$ Hz, $J_{2,3} < 1$ Hz, 1H, H-2^{4'}), 4.06 (d, $J_{1,2} = 9.7$ Hz, 1H, H-1^{1'}), 4.00-3.95 (m, 2H, H-2^{3'}, H-2^{4'}), 3.92-3.84 (m, 3H, H-2^{1'}, H-4^{3'}, H-3^{4'}), 3.84-3.64 (m, 11H, H-6a^B, H-6a^{5'}, H-6a^{4'}, H-3^{1'}, H-6a^{6'}, H-6a^{5'}, H-6a^{3'}, H-6a^{2'}, H-6b^{3'}, H-3^{3'}, H-3^{2'}), 3.64-3.19 (m, 38H, H-6a^{4'}, H-6b^{5'}, H-3^{4'}, H-6b^{5'}, H-6b^{6'}, H-2^{2'}, H-2^{6'}, H-2^{5'}, H-6b^{2'}, H-5^{4'}, H-4^{2'}, H-6b^B, H-6a^{1'}, H-2^{5'}, H-2^B, H-5^{4'}, H-6b^{1'}, H-4^{1'}, H-6b^{4'}, CH_2O , H-3^{5'}, H-5^{2'}, H-4^{4'}, H-6b^{4'}, H-3^{6'}, H-5^{1'}, H-3^B, CH_2O , H-5^{3'}, H-4^{5'}, H-4^{4'}, H-4^{6'}, H-3^{5'}, H-5^{5'}, H-5^{6'}, H-4^{5'}, H-5^{5'}, H-5^B), 3.10 (dd, $J_{3,4} = 9.3$ Hz, $J_{4,5} = 9.0$ Hz, 1H, H-4^B), 3.01 (dd, $J_{\text{vic}} = 4.0$ Hz, $J_{\text{gem}} = 11.3$ Hz, 2H, CH_2N), 2.60 (s, 3H, NCH_3), 1.93-1.86 (m, 18H, NAc),

$^{13}\text{C-NMR}$ (90 MHz, D_2O): $\delta = 174.8$, 174.1 (C=O NAc), 102.3 (C-1^{6'}), 101.9 (C-1^{2'}), 101.1 (C-1^B), 100.6 (C-1^{3'}), 100.4 (C-1^{5'}), 100.2 (C-1^{5'}), 100.0 (C-1^{4'}), 98.1 (C-1^{4'}), 92.2 (C-1^{1'}), 79.5 (C-4^{1'}), 79.5 (C-4^{4'}), 79.1 (C-4^{2'}), 79.1 (C-3^{3'}), 77.2 (C-5^B), 76.7 (C-2^{4'}), 76.6 (C-2^{4'}), 76.5 (C-5^{5'}), 76.5 (C-5^{6'}), 76.3 (C-5^{5'}), 75.0 (C-5^{2'}), 74.8 (C-5^{1'}), 74.8 (C-5^{3'}), 74.3 (C-5^{4'}), 74.0 (CH_2O), 74.0 (C-3^{5'}), 74.0 (C-3^{6'}), 74.0 (C-3^B), 74.0 (C-3^{5'}), 72.4 (C-5^{4'}), 72.1 (C-4^{3'}), 71.7 (C-4^B), 70.8 (C-2^{3'}), 70.3 (C-4^{5'}), 70.3 (C-4^{6'}), 70.3 (C-4^{5'}), 70.0 (C-3^{2'}), 69.0 (C-3^{1'}), 68.8 (C-3^{4'}), 68.7 (C-3^{4'}), 67.9 (C-4^{4'}), 65.9 (C-6^{3'}), 62.3 (C-6^B), 62.3 (C-6^{4'}), 62.0 (C-6^{4'}), 61.1 (C-6^{5'}), 61.1 (C-6^{6'}), 61.1 (C-6^{5'}), 60.7 (C-6^{1'}), 60.6 (C-6^{2'}), 56.6 (C-2^B), 55.9 (C-2^{5'}), 55.9 (C-2^{6'}), 55.8 (C-2^{5'}), 55.7 (C-2^{2'}), 52.7 (C-2^{1'}), 39.2 (NCH_3), 39.0 (CH_2N), 22.8, 22.7 (NAc).

*N*¹-(2-Aminoethoxy)-*N*¹-methyl-amino *O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-*O*- α -*D*-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)]-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)]-*O*- α -*D*-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 6)]-*O*- β -*D*-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 4)]-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2-acetamido-2-desoxy- β -*D*-glucopyranosid **108**

(GlcNAc-1,2-[β -GlcNAc-1,4]- α -Man-1,3-[β -GlcNAc-1,4]-{ β -GlcNAc-1,2-[β -GlcNAc-1,6]- α -Man-1,6}- β -Man-1,4- β -GlcNAc-1,4- β -GlcNAc-N(CH₃)O(CH₂)₂NH₂)

19.8 mg (62.3 μ mol, 38.9 eq) bifunktionaler Spacer **104** werden in 200 μ L 0.1 M Natriumacetatpuffer gelöst. Durch Zugabe von 5.0 μ L 5 M Natriumhydroxidlösung wird der pH-Wert auf 4.5 - 5.0 eingestellt. Diese Lösung wird zu 3.0 mg (1.6 μ mol) Halbactal **103** gegeben und anschließend 48 h bei 37 °C inkubiert. Salze und überschüssiger Spacer **104** werden mittels Festphasen-Extraktion (Carbograph Columns; Kartuschengröße: 150 mg; Waschen mit 3 mL Wasser; Elution mit 4.0 mL 25 % Acetonitril) entfernt. Eine Reinigung durch Gelfiltration wird angeschlossen (Purifier; Hi Load Superdex 30; Säulengröße: 16 \times 600 mm; Eluent: 0.1 M Ammoniumhydrogencarbonat-Lösung; Fluss: 0.75 mL/min; Detektion: 214, 254 und 280 nm; Retentionszeit: 100.5 min).

Rohausbeute: 2.0 mg (1.1 μ mol, 81.3% nach Carbograph Column mit ca. 20 % Halbactal **103**),

$R_f = 0.43$ (*iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 1.5:1),

$[\alpha]_D^{24} = -5.7$ (0.1, Wasser),

C₇₇H₁₃₁N₉O₅₁ (1998.9),

ESI-MS (100 % Wasser): $M_{\text{ber}} = 1997.8$ $M_{\text{gef}} = 1010.9$ (M+H+Na)²⁺,
 1021.9 (M+2Na)²⁺,
 1030.5 (M+Na+K)²⁺,
 1998.7 (M+H)⁺, 2020.5 (M+Na)⁺,
 2036.4 (M+K)⁺,

¹H-NMR (500 MHz, D₂O): $\delta = 4.93$ (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1⁴), 4.77 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1^{4'}), 4.56 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1³), 4.49-4.34 (m, 6H, H-1², H-1⁵, H-1^{5'}, H-1⁶, H-1^{7'}, H-1^B), 4.16-4.07 (m, 3H, H-2⁴, H-6a^{4'}, H-1¹), 4.06-3.97 (m, 3H, H-4³, H-2³, H-2^{4'}), 3.92 (dd, $J_{2,3} < 1$ Hz, $J_{3,4} = 8.8$ Hz, 1H, H-3⁴), 3.89-3.70 (m, 11H, H-2¹, H-6a^B, H-6a^{7'}, H-6a⁶, H-3¹, H-6a⁵, H-6a^{5'}, H-6a³, H-6a², H-6b³, H-3³), 3.70-3.48 (m, 21H, H-6a⁴, H-3², H-6b^{7'}, H-3^{4'}, H-6b⁶, H-2², H-6b^{5'}, H-6b⁵, H-5⁴, H-2⁷, H-2⁵, H-6b², H-5^{4'}, H-4², H-2⁶, H-2^B, H-6b^B, H-6a¹, H-5¹, H-2^{5'}, H-6b¹), 3.48-3.22 (m, 23H, H-3⁶, H-4¹, H-5², CH₂O, H-3^{7'}, H-4⁴, H-6b⁴, H-6b^{4'}, H-3^B, H-3⁵, CH₂O, H-5³, H-5⁵, H-4⁷, H-3^{5'}, H-5⁶, H-4⁶, H-4⁵, H-5⁷, H-4^{4'}, H-4^{5'}, H-5^{5'},

H-5^B), 3.15 (dd, $J_{3,4} = \text{Hz}$, $J_{4,5} = \text{Hz}$, 1H, H-4^B), 3.08-3.02 (m, 2H, CH₂N), 2.63 (s, 3H, NCH₃), 1.97-1.88 (m, 21H, NAc),

¹³C-NMR (125 MHz, D₂O): $\delta = 174.4$, 174.3 (C=O NAc), 102.4 (C-1⁶), 102.4 (C-1⁷), 102.1 (C-1²), 100.9 (C-1³), 100.7 (C-1⁵), 100.7 (C-1^{5'}), 100.7 (C-1^B), 100.3 (C-1⁴), 98.7 (C-1^{4'}), 92.3 (C-1¹), 79.7 (C-4¹), 79.7 (C-4⁴), 79.3 (C-3³), 79.0 (C-4²), 77.4 (C-2⁴), 77.4 (C-5^B), 76.8 (C-2⁴), 76.7 (C-5⁵), 76.7 (C-5⁶), 76.7 (C-5⁷), 76.5 (C-5^{5'}) 75.2 (C-5²), 75.2 (C-5³), 74.7 (C-5¹), 74.3 (C-3⁵), 74.3 (C-3⁶), 74.3 (C-3^{5'}), 74.3 (C-3⁷), 74.3 (C-3^B), 74.3 (CH₂O), 72.7 (C-5⁴), 72.7 (C-5^{4'}), 71.9 (C-4^B), 71.2 (C-2³), 71.1 (C-6⁴), 71.1 (C-4³), 70.9 (C-4⁵), 70.6 (C-4⁵), 70.6 (C-4⁶), 70.6 (C-4⁷), 70.1 (C-3²), 69.4 (C-3¹), 69.4 (C-3⁴), 68.8 (C-3⁴), 68.2 (C-4^{4'}), 65.9 (C-6³), 62.3 (C-6^B), 62.2 (C-6⁴), 61.5 (C-6⁵), 61.5 (C-6⁶), 61.5 (C-6⁷), 61.5 (C-6^{5'}), 61.1 (C-6¹), 60.8 (C-6²), 56.9 (C-2^B), 56.1 (C-2⁵), 56.1 (C-2⁶), 56.1 (C-2⁷), 56.1 (C-2^{5'}), 55.9 (C-2²), 52.4 (C-2¹), 39.3 (NCH₃), 39.2 (CH₂N), 22.9, 23.0 (NAc).

9.23 Versuche zu Kapitel 5.1

*N*¹-(2-Aminoethoxy)-*N*¹-methyl-amino *O*- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*- α -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-[*O*- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*- α -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 6)]-*O*- β -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosid **111**

(β -Gal-1,4- β -GlcNAc-1,2- α -Man-1,3-[β -GlcNAc-1,4]-[β -Gal-1,4- β -GlcNAc-1,2- α -Man-1,6]- β -Man-1,4- β -GlcNAc-1,4- β -GlcNAc-N(CH₃)O(CH₂)₂NH₂)

5.0 mg (3.1 μ mol) Oktasaccharid **105** werden in 300 μ L 75 mM Tris-Hydrochlorid-Puffer bei pH 7.5 gelöst. Der Puffer enthält 0.3 mg BSA, 10 mM Mangan(II)-chlorid, 11.5 mg (18.6 μ mol, 6.1 eq) UDP-Gal **109**, 20 U alkalische Phosphatase (E. C. 3.1.3.1) und 106 mU *N*-Acetylglucosaminyl- β -1,4-galactosyltransferase (E. C. 2.4.1.90). Die Reaktion wird 48 h bei 37 °C inkubiert. Nach Ende der Reaktion werden die Proteine mittels Fest-

phasen-Extraktion entfernt (Carbograph Columns; Kartuschengröße: 150 mg; Waschen mit 3 mL Wasser; Elution mit 4.0 mL 25 % Acetonitril). Es wird ein weiterer Reinigungsschritt durch Gelfiltration angeschlossen (Purifier; Hi Load Superdex 30; Säulengröße: 16×600 mm; Eluent: 0.1 M Ammoniumhydrogencarbonat-Lösung; Fluss: 0.75 mL/min; Detektion: 214, 254 und 280 nm; Retentionszeit: 101.1 min). Für diesen werden auch die Waschlösungen der Festphasenextraktion eingesetzt.

Ausbeute: nicht bestimmt, Produkt enthält ca. 15 % Halbacetal,

$R_f = 0.28$ (*iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 1.5:1),

$[\alpha]_D^{25} = -0.5$ (0.4, Wasser),

$C_{73}H_{125}N_7O_{51}$ (1916.8),

ESI-MS (100 % Wasser): $M_{ber} = 1915.7$ $M_{gef} = 980.5 (M+2Na)^{2+}$, $1916.3 (M+H)^+$,
 $1938.2 (M+Na)^+$, $1954.2 (M+K)^+$,

1H -NMR (360 MHz, D_2O): $\delta = 4.89$ (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1⁴), 4.85 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1⁴), 4.52 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1³), 4.47-4.39 (m, 3H, H-1², H-1⁵, H-1⁵), 4.34-4.27 (m, 3H, H-1^{G1}, H-1^{G1}, H-1^B), 4.10 (dd, $J_{1,2} < 1$ Hz, $J_{2,3} = 2.5$ Hz, 1H, H-2⁴), 4.06 (d, $J_{1,2} = 9.4$ Hz, 1H, H-1¹), 4.01 (dd, $J_{1,2} < 1$ Hz, $J_{2,3} = 2.3$ Hz, 1H, H-2³), 3.98 (dd, $J_{1,2} < 1$ Hz, $J_{2,3} < 1$ Hz, 1H, H-2⁴), 3.96-3.63 (m, 18H, H-4³, H-2¹, H-6a⁵, H-6a^B, H-6a⁵, H-6a⁴, H-3⁴, H-6a³, H-6a⁴, H-3¹, H-6b⁵, H-6b³, H-3², H-3³, H-6b⁵, H-3⁴, H-2², H-6a²), 3.63-3.19 (m, 40H, H-2⁵, H-6b², H-6a^{G1}, H-6a^{G1}, H-5⁴, CH₂O, H-2⁵, H-6b^{G1}, H-6b^{G1}, H-5⁴, H-3^{G1}, H-3^{G1}, H-4², H-4⁵, H-4⁵, H-5², H-2^B, H-6a¹, H-6b^B, H-5¹, H-3⁵, CH₂O, H-6b¹, H-3^B, H-5³, H-6b⁴, H-5^{G1}, H-5^{G1}, H-4¹, H-3⁵, H-6b⁴, H-4^{G1}, H-4^{G1}, H-2^{G1}, H-2^{G1}, H-4⁴, H-5⁵, H-4⁴, H-5⁵, H-5^B), 3.09 (dd, $J_{3,4} = 9.3$ Hz, $J_{4,5} = 9.1$ Hz, 1H, H-4^B), 2.78-2.71 (m, 2H, CH₂N), 2.59 (s, 3H, NCH₃), 1.96-1.81 (m, 15H, NAc),

^{13}C -NMR (90 MHz, [D₆]-DMSO): $\delta = 174.3$, 174.2, 174.1 (C=O NAc), 102.5 (C-1^{G1}), 102.5 (C-1^{G1}), 100.9 (C-1²), 100.1 (C-1^B), 99.6 (C-1³), 99.5 (C-1⁴), 99.1 (C-1⁵), 98.9 (C-1⁵), 97.3 (C-1⁴), 91.0 (C-1¹), 78.6 (C-4¹), 78.4 (C-3³), 78.0 (C-4⁵), 78.0 (C-4⁵), 77.8 (C-4²), 76.2 (C-5^B), 76.0 (C-2⁴), 75.9 (C-5⁵), 75.8 (C-2⁴), 75.7 (C-5⁵), 74.8 (C-3^{G1}), 74.8 (C-3^{G1}), 74.1 (C-5^{G1}), 74.1 (C-5^{G1}), 74.0 (C-2^{G1}), 74.0 (C-2^{G1}), 73.1 (C-5¹), 73.1 (C-5²), 72.9 (C-5³), 72.6 (CH₂O), 71.9 (C-3⁵), 71.9 (C-3^B), 71.9 (C-3⁵), 71.7 (C-5⁴), 71.2 (C-5⁴), 70.9 (C-4³), 70.7 (C-4^B), 70.5 (C-4^{G1}), 70.5 (C-4^{G1}), 69.8 (C-2³), 69.0 (C-3⁴), 68.9 (C-3²), 68.3 (C-3¹),

68.0 (C-3⁴), 67.0 (C-4⁴), 67.0 (C-4^{4'}), 64.8 (C-6³), 61.4 (C-6^{4'}), 61.3 (C-6⁴), 61.3 (C-6^B), 60.6 (C-6^{G1}), 60.6 (C-6^{G1'}), 59.5 (C-6⁵), 59.5 (C-6^{5'}), 59.4 (C-6¹), 59.3 (C-6²), 55.6 (C-2^B), 54.6 (C-2²), 54.5 (C-2⁵), 54.3 (C-2^{5'}), 51.2 (C-2¹), 38.4 (CH₂N), 38.1 (NCH₃), 21.9, 21.8, 21.7 (NAc).

*N*¹-(2-Aminoethoxy)-*N*¹-methyl-amino *O*-β-*D*-galactopyranosyl-(1→4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy-β-*D*-glucopyranosyl)-(1→2)-*O*-α-*D*-mannopyranosyl-(1→3)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy-β-*D*-glucopyranosyl)-(1→4)]-{*O*-β-*D*-galactopyranosyl-(1→4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy-β-*D*-glucopyranosyl)-(1→2)-[*O*-β-*D*-galactopyranosyl-(1→4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy-β-*D*-glucopyranosyl)-(1→6)]-*O*-α-*D*-mannopyranosyl-(1→6)}-*O*-β-*D*-mannopyranosyl-(1→4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy-β-*D*-glucopyranosyl)-(1→4)-2-acetamido-2-desoxy-β-*D*-glucopyranosid **112**

(β-Gal-1,4-β-GlcNAc-1,2-α-Man-1,3-[β-GlcNAc-1,4]-{β-Gal-1,4-β-GlcNAc-1,2-[β-Gal-1,4-β-GlcNAc-1,6]-α-Man-1,6}-β-Man-1,4-β-GlcNAc-1,4-β-GlcNAc-N(CH₃)O(CH₂)₂NH₂)

5.7 mg (3.2 μmol) Nonasaccharid **106** werden in 300 μL 75 mM Tris-Hydrochlorid-Puffer bei pH 7.5 gelöst. Der Puffer enthält 0.3 mg BSA, 10 mM Mangan(II)-chlorid, 17.4 mg (28.5 μmol, 8.9 eq) UDP-Gal **109**, 20 U alkalische Phosphatase (E. C. 3.1.3.1) und 128 mU *N*-Acetylglucosaminyl-β-1,4-galactosyltransferase (E. C. 2.4.1.90). Die Reaktion wird 48 h bei 37 °C inkubiert. Nach Ende der Reaktion werden die Proteine mittels Festphasen-Extraktion entfernt (Carbograph Columns; Kartuschengröße: 150 mg; Waschen mit 3 mL Wasser; Elution mit 4.0 mL 25 % Acetonitril). Es wird ein weiterer Reinigungsschritt durch Gelfiltration angeschlossen (Purifier; Hi Load Superdex 30; Säulengröße: 16×600 mm; Eluent: 0.1 M Ammoniumhydrogencarbonat-Lösung; Fluss: 0.75 mL/min; Detektion: 214, 254 und 280 nm; Retentionszeit: 98.5 min). Für diesen werden auch die Waschlösungen der Festphasenextraktion eingesetzt.

Ausbeute: nicht bestimmt, Produkt enthält ca. 12 % Halbacetal,

$R_f = 0.29$ (*iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 1.5:1),

$[\alpha]_D^{24} = -7.1$ (0.4, Wasser),

C₈₇H₁₄₈N₈O₆₁ (2282.1),

ESI-MS (100 % Wasser): $M_{\text{ber}} = 2280.9$ $M_{\text{gef}} = 1152.3$ (M+H+Na)²⁺,
 1163.3 (M+2Na)²⁺,
 1171.8 (M+Na+K)²⁺,
 2281.9 (M+H)⁺, 2302.8 (M+Na)⁺,

¹H-NMR (360 MHz, D₂O): $\delta = 4.90$ (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1⁴), 4.75 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1^{4'}), 4.55 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1³), 4.50-4.27 (m, 8H, H-1⁵, H-1^{5'}, H-1², H-1^{7'}, H-1^B, H-1^{G1}, H-1^{G1'}, H-1^{G3'}), 4.19-3.91 (m, 6H, H-6a^{4'}, H-2⁴, H-1¹, H-2³, H-4³, H-2^{4'}), 3.91-3.41 (m, 55H, H-2¹, H-6a⁵, H-6a^{7'}, H-6a⁴, H-6a^{5'}, H-6a^B, H-3⁴, H-3¹, H-6b⁵, H-6a³, H-3², H-6b³, H-6b^{7'}, H-3³, H-2², H-6b^{5'}, CH₂O, H-5⁴, H-3^{4'}, H-2^{7'}, H-6a^{G1}, H-6a^{G1'}, H-6a^{G3'}, H-6a², H-2⁵, H-5^{4'}, H-4², H-6b^{G1}, H-6b^{G1'}, H-6b^{G3'}, H-6b², H-4⁵, H-3^{G1}, H-3^{G1'}, H-3^{G3'}, H-4^{7'}, H-2^{5'}, H-3⁵, H-4^{5'}, H-2^B, H-6b⁴, H-3^B, H-3^{7'}, H-5¹, H-6a¹, CH₂O, H-6b¹, H-5², H-6b^B, H-3^{5'}, H-5^{G1}, H-5^{G1'}, H-5^{G3'}, H-4¹, H-5³), 3.41-3.17 (m, 13H, H-4^{G1}, H-4^{G1'}, H-4^{G3'}, H-6b^{4'}, H-2^{G1}, H-2^{G1'}, H-2^{G3'}, H-4⁴, H-5⁵, H-5^{7'}, H-4^{4'}, H-5^{5'}, H-5^B), 3.11 (dd, $J_{3,4} = 9.4$ Hz, $J_{4,5} = 8.8$ Hz, 1H, H-4^B), 2.81-2.72 (m, 2H, CH₂N), 2.59 (s, 3H, NCH₃), 1.98-1.81 (m, 18H, NAc),

¹³C-NMR (90 MHz, D₂O): $\delta = 174.4$, 174.3, 174.1, 174.0 (C=O NAc), 103.3 (C-1^{G1}), 103.3 (C-1^{G1'}), 103.3 (C-1^{G3'}), 102.0 (C-1^{7'}), 101.9 (C-1²), 100.3 (C-1⁴), 100.2 (C-1^B), 100.2 (C-1³), 100.1 (C-1⁵), 100.0 (C-1^{5'}), 98.3 (C-1^{4'}), 91.8 (C-1¹), 79.5 (C-4¹), 79.3 (C-3³), 78.9 (C-4⁵), 78.9 (C-4^{5'}), 78.9 (C-4^{7'}), 78.4 (C-4²), 77.0 (C-2^{4'}), 77.0 (C-5^B), 76.9 (C-2⁴), 76.5 (C-5⁵), 76.5 (C-5^{5'}), 76.5 (C-5^{7'}), 75.7 (C-3^{G1}), 75.7 (C-3^{G1'}), 75.7 (C-3^{G3'}), 75.0 (C-5^{G1}), 75.0 (C-5^{G1'}), 75.0 (C-5^{G3'}), 74.9 (C-2^{G1}), 74.9 (C-2^{G1'}), 74.9 (C-2^{G3'}), 74.0 (C-5¹), 73.9 (C-5²), 73.7 (C-5³), 72.8 (C-3^B), 72.8 (C-3⁵), 72.8 (C-3^{5'}), 72.8 (C-3^{7'}), 72.2 (C-5⁴), 72.1 (C-5⁴), 72.1 (CH₂O), 71.5 (C-4^B), 71.3 (C-4^{G1}), 71.3 (C-4^{G1'}), 71.3 (C-4^{G3'}), 70.7 (C-4³), 70.7 (C-2³), 70.6 (C-6^{4'}), 69.8 (C-3¹), 69.8 (C-3²), 69.6 (C-3^{4'}), 68.9 (C-3⁴), 67.9 (C-4⁴), 67.9 (C-4^{4'}), 64.9 (C-6³), 62.2 (C-6^B), 62.0 (C-6⁴), 61.3 (C-6^{G1}), 61.3 (C-6^{G1'}), 61.3 (C-6^{G3'}), 60.4 (C-6⁵), 60.4 (C-6^{5'}), 60.4 (C-6^{7'}), 60.3 (C-6¹), 60.2 (C-6²), 56.6 (C-2^B), 55.3 (C-2⁵), 55.3 (C-2⁷), 55.3 (C-2²), 55.2 (C-2^{5'}), 52.0 (C-2¹), 39.2 (CH₂N), 38.9 (NCH₃), 22.2, 22.1, 22.0, 21.9 (NAc).

*N*¹-(2-Aminoethoxy)-*N*¹-methyl-amino *O*- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-*O*- α -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-

H-6b⁵, H-5⁴, H-4², H-2⁶, H-6b⁶, H-2⁵, H-6a^{G1}, H-6a^{G2}, H-6a^{G3'}, H-6b^{G1}, H-6b^{G2}, H-6b^{G3'}, H-4⁵, H-4⁶, CH₂O, H-3^{G1}, H-3^{G2}, H-3^{G3'}, H-6b², H-6b^{5'}, H-4^{5'}, H-2^{5'}, H-5^{4'}, H-2^B, H-6a¹, H-5¹, H-3⁵, CH₂O, H-6b¹, H-6b^B, H-4¹, H-3⁶, H-3^{5'}, H-5², H-5^{G1}, H-5^{G2}, H-5^{G3'}, H-4⁴, H-6b⁴, H-6b^{4'}, H-3^B, H-5³, H-4^{G1}, H-4^{G2}, H-4^{G3'}, H-2^{G1}, H-2^{G2}, H-2^{G3'}, H-4^{4'}, H-5⁵, H-5⁶, H-5^{5'}, H-5^B, 3.10 (dd, $J_{3,4} = 9.2$ Hz, $J_{4,5} = 8.8$ Hz, 1H, H-4^B), 2.77-2.70 (m, 2H, CH₂N), 2.59 (s, 3H, NCH₃), 2.04-1.77 (m, 18H, NAc),

¹³C-NMR (90 MHz, D₂O): $\delta = 174.3, 174.2, 174.1$ (C=O NAc), 102.4 (C-1^{G1}), 102.4 (C-1^{G2}), 102.4 (C-1^{G3'}), 101.2 (C-1⁶), 100.9 (C-1²), 100.0 (C-1^B), 99.5 (C-1³), 99.1 (C-1⁵), 99.0 (C-1^{5'}), 99.0 (C-1⁴), 97.2 (C-1^{4'}), 91.0 (C-1¹), 78.4 (C-4¹), 78.4 (C-4⁴), 78.3 (C-3³), 77.7 (C-4²), 77.7 (C-4⁵), 77.7 (C-4⁶), 77.7 (C-4^{5'}), 76.2 (C-5^B), 75.8 (C-2^{4'}), 75.6 (C-2⁴), 75.6 (C-5⁵), 75.6 (C-5⁶), 75.6 (C-5^{5'}), 74.8 (C-3^{G1}), 74.8 (C-3^{G2}), 74.8 (C-3^{G3'}), 74.1 (C-5^{G1}), 74.1 (C-5^{G2}), 74.1 (C-5^{G3'}), 74.0 (C-2^{G1}), 74.0 (C-2^{G2}), 74.0 (C-2^{G3'}), 73.1 (C-5¹), 72.9 (C-5²), 72.9 (C-5³), 71.9 (C-3⁵), 71.9 (C-3⁶), 71.9 (C-3^{5'}), 71.9 (C-3^B), 71.6 (C-5^{4'}), 71.5 (CH₂O), 71.4 (C-5⁴), 70.8 (C-4³), 70.6 (C-4^B), 70.4 (C-4^{G1}), 70.4 (C-4^{G2}), 70.4 (C-4^{G3'}), 69.7 (C-2³), 68.9 (C-3^{4'}), 68.1 (C-3²), 68.1 (C-3¹), 67.6 (C-3⁴), 66.8 (C-4^{4'}), 64.7 (C-6³), 61.3 (C-6^B), 61.1 (C-6⁴), 61.1 (C-6^{4'}), 60.6 (C-6^{G1}), 60.6 (C-6^{G2}), 60.6 (C-6^{G3'}), 59.6 (C-6¹), 59.4 (C-6⁵), 59.4 (C-6⁶), 59.4 (C-6^{5'}), 59.3 (C-6²), 55.6 (C-2^B), 54.6 (C-2²), 54.6 (C-2⁵), 54.6 (C-2⁶), 54.4 (C-2^{5'}), 51.2 (C-2¹), 38.5 (CH₂N), 38.1 (NCH₃), 22.0, 21.9, 21.8, 21.7 (NAc).

*N*¹-(2-Aminoethoxy)-*N*¹-methyl-amino *O*- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-*O*- α -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-[*O*- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)]-*O*- α -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 6)]-*O*- β -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosid **114**

(β -Gal-1,4- β -GlcNAc-1,2-[β -Gal-1,4- β -GlcNAc-1,4]- α -Man-1,3-[β -GlcNAc-1,4]-{ β -Gal-1,4- β -GlcNAc-1,2-[β -Gal-1,4- β -GlcNAc-1,6]- α -Man-1,6}- β -Man-1,4- β -GlcNAc-1,4- β -GlcNAc-N(CH₃)O(CH₂)₂NH₂)

4.5 mg (2.3 μmol) Decasaccharid **108** werden in 300 μL 75 mM Tris-Hydrochlorid-Puffer bei pH 7.5 gelöst. Der Puffer enthält 0.3 mg BSA, 10 mM Mangan(II)-chlorid, 16.5 mg (27.0 μmol , 11.7 eq) UDP-Gal **109**, 20 U alkalische Phosphatase (E. C. 3.1.3.1) und 106 mU *N*-Acetylglucosaminyl- β -1,4-galactosyltransferase (E. C. 2.4.1.90). Die Reaktion wird 48 h bei 37 °C inkubiert. Nach Ende der Reaktion werden die Proteine mittels Festphasen-Extraktion entfernt (Carbograph Columns; Kartuschengröße: 150 mg; Waschen mit 3 mL Wasser; Elution mit 4.0 mL 25 % Acetonitril). Es wird ein weiterer Reinigungsschritt durch Gelfiltration angeschlossen (Purifier; Hi Load Superdex 30; Säulengröße: 16 \times 600 mm; Eluent: 0.1 M Ammoniumhydrogencarbonat-Lösung; Fluss: 0.75 mL/min; Detektion: 214, 254 und 280 nm; Retentionszeit: 95.0 min). Für diesen werden auch die Waschlösungen der Festphasenextraktion hinzugezogen.

Ausbeute: nicht bestimmt, Produkt enthält ca. 20 % Halbacetal,

$R_f = 0.22$ (*iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 1.5:1),

$[\alpha]_D^{24} = -6.9$ (0.5, Wasser),

$\text{C}_{101}\text{H}_{171}\text{N}_9\text{O}_{71}$ (2647.5),

ESI-MS (100 % Wasser): $M_{\text{ber}} = 2646.0$ $M_{\text{gef}} = 1335.3$ (M+H+Na)²⁺,
 1346.4 (M+2Na)²⁺,
 1354.5 (M+Na+K)²⁺,
 2668.9 (M+Na)⁺,

¹H-NMR (360 MHz, D₂O): $\delta = 4.91$ (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1⁴), 4.75 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1^{4'}), 4.55 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1³), 4.50-4.27 (m, 10H, H-1⁵, H-1², H-1^{5'}, H-1⁶, H-1^{7'}, H-1^B, H-1^{G1}, H-1^{G2}, H-1^{G1'}, H-1^{G3'}), 4.17-3.98 (m, 5H, H-2⁴, H-6a^{4'}, H-1¹, H-4³, H-2³), 3.96 (dd, $J_{1,2} < 1$ Hz, $J_{2,3} < 1$ Hz, 1H, H-2^{4'}), 3.93-3.17 (m, 80H, H-3⁴, H-6a⁵, H-2¹, H-6a⁶, H-6a^{7'}, H-6a⁴, H-6a^B, H-6a^{5'}, H-3¹, H-3², H-6a³, H-6b⁵, H-6b⁶, H-6b³, H-3³, H-6b^{7'}, H-2², H-6b^{5'}, H-2⁵, H-6a^{G1}, H-6a^{G2}, H-6a^{G1'}, H-6a^{G3'}, H-3^{4'}, CH₂O, H-5⁴, H-2⁶, H-4², H-6a², H-2^{7'}, H-6b^{G1}, H-6b^{G2}, H-6b^{G1'}, H-6b^{G3'}, H-5^{4'}, H-4⁵, H-4⁶, H-3^{G1}, H-3^{G2}, H-3^{G1'}, H-3^{G3'}, H-6b², H-4^{7'}, H-2^{5'}, H-3⁵, H-3⁶, H-5¹, H-4^{5'}, H-2^B, H-6b^B, H-3^{7'}, CH₂O, H-6a¹, H-5², H-6b¹, H-3^{5'}, H-3^B, H-5^{G1}, H-5^{G2}, H-5^{G1'}, H-5^{G3'}, H-4¹, H-5³, H-4⁴, H-6b⁴, H-6b^{4'}, H-4^{G1}, H-4^{G2}, H-4^{G1'}, H-4^{G3'}, H-2^{G1}, H-2^{G2}, H-2^{G1'}, H-2^{G3'}, H-5⁵, H-5⁶, H-5^{7'}, H-4^{4'}, H-5^{5'}, H-5^B), 3.13 (dd, $J_{3,4} = 9.5$ Hz, $J_{4,5} = 8.8$ Hz, 1H, H-4^B), 2.78-2.71 (m, 2H, CH₂N), 2.60 (s, 3H, NCH₃), 1.97-1.84 (m, 21H, NAc),

^{13}C -NMR (90 MHz, D_2O): $\delta = 174.3, 174.1, 174.0$ (C=O NAc), 102.4 (C-1^{G1}), 102.4 (C-1^{G2}), 102.4 (C-1^{G1'}), 102.4 (C-1^{G3'}), 101.1 (C-1²), 101.1 (C-1⁶), 101.1 (C-1^{7'}), 99.3 (C-1³), 99.3 (C-1^B), 99.2 (C-1⁵), 99.2 (C-1^{5'}), 99.0 (C-1⁴), 97.4 (C-1^{4'}), 91.0 (C-1¹), 78.4 (C-4¹), 78.4 (C-4⁴), 78.4 (C-3³), 78.2 (C-4^{5'}), 78.2 (C-4^{7'}), 77.6 (C-4⁵), 77.6 (C-4⁶), 77.6 (C-4²), 76.2 (C-2⁴), 76.2 (C-5^{5'}), 76.2 (C-5^B), 75.7 (C-5⁵), 75.7 (C-5⁶), 75.7 (C-5^{7'}), 75.5 (C-2⁴), 74.9 (C-3^{G1}), 74.9 (C-3^{G2}), 74.9 (C-3^{G1'}), 74.9 (C-3^{G3'}), 74.2 (C-5^{G1}), 74.2 (C-5^{G2}), 74.2 (C-5^{G1'}), 74.2 (C-5^{G3'}), 74.1 (C-2^{G1}), 74.1 (C-2^{G2}), 74.1 (C-2^{G1'}), 74.1 (C-2^{G3'}), 73.2 (C-5¹), 73.2 (C-5²), 72.9 (C-5³), 71.9 (C-3⁵), 71.9 (C-3^{5'}), 71.9 (C-3⁶), 71.9 (C-3^{7'}), 71.9 (C-3^B), 71.5 (CH_2O), 71.4 (C-5⁴), 71.4 (C-5^{4'}), 70.6 (C-4^B), 70.4 (C-4^{G1}), 70.4 (C-4^{G2}), 70.4 (C-4^{G1'}), 70.4 (C-4^{G3'}), 69.8 (C-4³), 69.8 (C-2³), 69.8 (C-6⁴), 69.0 (C-3⁴), 68.0 (C-3²), 68.0 (C-3¹), 67.7 (C-3⁴), 67.0 (C-4⁴), 63.7 (C-6³), 61.1 (C-6^B), 60.9 (C-6⁴), 60.6 (C-6^{G1}), 60.6 (C-6^{G2}), 60.6 (C-6^{G1'}), 60.6 (C-6^{G3'}), 59.6 (C-6¹), 59.5 (C-6⁵), 59.5 (C-6^{5'}), 59.5 (C-6⁶), 59.5 (C-6^{7'}), 59.2 (C-6²), 55.8 (C-2^B), 54.5 (C-2²), 54.5 (C-2⁵), 54.5 (C-2⁶), 54.5 (C-2^{7'}), 54.2 (C-2⁵), 51.1 (C-2¹), 38.5 (CH_2N), 38.1 (NCH_3), $22.2, 22.0, 21.9, 21.7$ (NAc).

N^l-(2-Aminoethoxy)-*N*^l-methyl-amino *O*- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*- α -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-[*O*- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*- α -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 6)]-*O*- β -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosid **115**

(β -Gal-1,3- β -GlcNAc-1,2- α -Man-1,3-[β -GlcNAc-1,4]-[β -Gal-1,3- β -GlcNAc-1,2- α -Man-1,6]- β -Man-1,4- β -GlcNAc-1,4- β -GlcNAc-N(CH₃)O(CH₂)₂NH₂)

3.2 mg (1.7 μmol) Oktasaccharid **105** werden in 300 μL 75 mM Tris-Hydrochlorid-Puffer bei pH 7.5 gelöst. Der Puffer enthält 0.3 mg BSA, 10 mM Mangan(II)-chlorid, 12.3 mg (20.2 μmol , 11.9 eq) UDP-Gal **109**, 20 U alkalische Phosphatase (E. C. 3.1.3.1) und 246 mU *N*-Acetylglucosaminyl- β -1,3-galactosyltransferase (E. C. 2.4.1.-; Nummer noch nicht vergeben). Die Reaktion wird 48 h bei 37 °C inkubiert. Nach Ende der Reaktion werden die Proteine mittels Festphasen-Extraktion entfernt (Carbograph Columns; Kartuschengröße: 150 mg; Waschen mit 3 mL Wasser; Elution mit 4.0 mL 25 % Acetonitril).

Ausbeute: nicht bestimmt, Produkt enthält ca. 15 % Halbacetal,
 $C_{73}H_{125}N_7O_{51}$ (1916.8),

MALDI-TOF-MS: $M_{ber} = 1915.7$ $M_{gef} = 1939 (M+Na)^+$.

9.24 Versuche zu Kapitel 5.2.1

*N*¹-(2-Aminoethoxy)-*N*¹-methyl-amino *O*-(5-acetamido-3,5-didesoxy- α -*D*-glycero-*D*-galacto-2-nonulopyranosylsäure)-(2→3)-*O*- β -*D*-galactopyranosyl-(1→4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -*D*-glucopyranosyl)-(1→2)-*O*- α -*D*-mannopyranosyl-(1→3)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -*D*-glucopyranosyl)-(1→4)]-[*O*-(5-acetamido-3,5-didesoxy- α -*D*-glycero-*D*-galacto-2-nonulopyranosylsäure)-(2→3)-*O*- β -*D*-galactopyranosyl-(1→4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -*D*-glucopyranosyl)-(1→2)-*O*- α -*D*-mannopyranosyl-(1→6)]-*O*- β -*D*-mannopyranosyl-(1→4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -*D*-glucopyranosyl)-(1→4)-2-acetamido-2-desoxy- β -*D*-glucopyranosid **116**

(α -Neu5Ac-2,3- β -Gal-1,4- β -GlcNAc-1,2- α -Man-1,3-[β -GlcNAc-1,4]-[α -Neu5Ac-2,3- β -Gal-1,4- β -GlcNAc-1,2- α -Man-1,6]- β -Man-1,4- β -GlcNAc-1,4- β -GlcNAc-N(CH₃)O(CH₂)₂NH₂)

2.1 mg (1.1 μ mol) Oligosaccharid **111** werden in 100 μ L 50 mM Natriumkacodylat-Puffer bei pH 6.4 gelöst. Der Puffer enthält 0.1 mg BSA, 4.1 mg (6.5 μ mol, 5.9 eq) CMP-NeuAc **110**, 20 U alkalische Phosphatase (E. C. 3.1.3.1) und 47 mU β -Galactosid- α -2,3-sialyltransferase (E. C. 2.4.99.6). Die Reaktion wird 48 h bei 37 °C inkubiert. Nach Ende der Reaktion werden die Proteine mittels Festphasen-Extraktion entfernt (Carbograph Columns; Kartuschengröße: 150 mg; Waschen mit 3 mL Wasser; Elution mit 4.0 mL 25 % Acetonitril mit 0.05 % TFA). Es wird ein weiterer Reinigungsschritt durch Gelfiltration abgeschlossen (Purifier; Hi Load Superdex 30; Säulengröße: 16×600 mm; Eluent: 0.1 M Ammoniumhydrogencarbonat-Lösung; Fluss: 0.75 mL/min; Detektion: 214, 254 und 280 nm; Retentionszeit: 91.5 min). Für diesen werden auch die Waschlösungen der Festphasenextraktion eingesetzt.

Ausbeute: 1.5 mg (0.6 μ mol nach Hi Load Superdex 30; prozentuale Ausbeute nicht bestimmt; Produkt enthält ca. 15 % Halbacetal),

$R_f = 0.39$ (*iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 1.5:1),

$[\alpha]_D^{25} = -2.7$ (0.2, Wasser),

$C_{95}H_{159}N_9O_{67}$ (2499.3),

ESI-MS (100 % Wasser): $M_{ber} = 2497.9$ $M_{gef} = 1248.7$ (M-2H)²⁻,

¹H-NMR (360 MHz, D₂O): $\delta = 4.89$ (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1⁴), 4.84 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1⁴), 4.52 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1³), 4.47-4.35 (m, 5H, H-1², H-1⁵, H-1^{5'}, H-1^{G1}, H-1^{G1'}), 4.29 (d, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, 1H, H-1^B), 4.11-4.08 (m, 2H, H-2⁴, H-2³), 4.06 (d, $J_{1,2} = 9.9$ Hz, 1H, H-1¹), 4.02-3.89 (m, 4H, H-4³, H-2^{4'}, H-3^{G1}, H-3^{G1'}), 3.89-3.77 (m, 7H, H-2¹, H-6a⁵, H-6a⁴, H-9a^{N1}, H-9a^{N1'}, H-3⁴, H-6a^{5'}), 3.77-3.19 (m, 62H, H-6a^{4'}, H-6a³, H-6b³, H-3¹, H-8^{N1}, H-8^{N1'}, H-6b⁵, H-6a^B, H-6b^{5'}, H-5^{N1}, H-5^{N1'}, H-3², H-3³, H-2², H-6a², H-9b^{N1}, H-9b^{N1'}, H-2⁵, H-4², H-5⁴, H-6b², H-5^{4'}, H-4⁵, H-6a^{G1}, H-6a^{G1'}, H-2^{5'}, H-3^{4'}, H-6^{N1}, H-6^{N1'}, H-4^{5'}, H-6b^{G1}, H-6b^{G1'}, H-6a¹, H-4^{N1}, H-4^{N1'}, H-2^B, H-5¹, H-6b¹, H-6b⁴, H-6b^B, CH₂O, H-3⁵, H-3^{5'}, CH₂O, H-5², H-4¹, H-3^B, H-6b^{4'}, H-7^{N1}, H-7^{N1'}, H-5^{G1}, H-5^{G1'}, H-5³, H-4^{G1}, H-4^{G1'}, H-2^{G1}, H-2^{G1'}, H-4⁴, H-5⁵, H-4^{4'}, H-5^{5'}, H-5^B), 3.09 (dd, $J_{3,4} = 9.7$ Hz, $J_{4,5} = 9.0$ Hz, 1H, H-4^B), 2.90-2.83 (m, 2H, CH₂N), 2.63-2.55 (m, 5H, NCH₃, H-3eq^{N1}, H-3eq^{N1'}), 1.95-1.81 (m, 21H, NAc), 1.64 (dd, $J_{3,4} = 12.2$ Hz, $J_{gem} = 13.8$ Hz, 2H, H-3ax^{N1}, H-3ax^{N1'}),

¹³C-NMR (90 MHz, D₂O, Verschiebungen wurden aus einem HSQC-Spektrum ermittelt): $\delta = 103.0$ (C-1^{G1}), 103.0 (C-1^{G1'}), 101.7 (C-1²), 101.1 (C-1^B), 100.3 (C-1³), 100.2 (C-1⁴), 100.0 (C-1⁵), 99.7 (C-1^{5'}), 98.2 (C-1^{4'}), 91.9 (C-1¹), 79.4 (C-4¹), 78.9 (C-3³), 78.6 (C-4⁵), 78.6 (C-4^{5'}), 78.4 (C-4²), 77.0 (C-5^B), 76.9 (C-5^{5'}), 76.8 (C-2⁴), 76.6 (C-2^{4'}), 76.5 (C-5⁵), 75.8 (C-3^{G1}), 75.8 (C-3^{G1'}), 75.5 (C-6^{N1}), 75.5 (C-6^{N1'}), 75.0 (C-5^{G1}), 75.0 (C-5^{G1'}), 74.8 (C-2^{G1}), 74.8 (C-2^{G1'}), 74.1 (C-5²), 74.1 (C-5³), 73.8 (C-5¹), 73.2 (CH₂O), 73.2 (C-3⁵), 73.2 (C-3^{5'}), 73.2 (C-3^B), 72.3 (C-5^{4'}), 72.1 (C-8^{N1}), 72.1 (C-8^{N1'}), 72.1 (C-5⁴), 71.4 (C-4^B), 70.7 (C-2³), 70.7 (C-4³), 70.1 (C-3^{4'}), 69.9 (C-3²), 69.8 (C-3¹), 69.7 (C-4^{G1}), 69.7 (C-4^{G1'}), 68.7 (C-4^{N1}), 68.7 (C-4^{N1'}), 68.4 (C-7^{N1}), 68.4 (C-7^{N1'}), 67.8 (C-3⁴), 67.8 (C-4⁴), 67.8 (C-4^{4'}), 66.0 (C-9^{N1}), 66.0 (C-9^{N1'}), 65.8 (C-6³), 62.9 (C-6^B), 62.2 (C-6⁴), 62.2 (C-6^{4'}), 61.4 (C-6^{G1}), 61.4 (C-6^{G1'}), 60.4 (C-6¹), 60.3 (C-6⁵), 60.3 (C-6^{5'}), 60.2 (C-6²), 56.4 (C-2^B), 55.4 (C-2²), 55.2 (C-2⁵), 55.2 (C-2^{5'}), 52.1 (C-5^{N1}), 52.1 (C-5^{N1'}), 52.0 (C-2¹), 39.9 (C-3^{N1}), 39.9 (C-3^{N1'}), 39.3 (NCH₃), 39.0 (CH₂N), 22.7, 22.3 (NAc).

*N*¹-(2-Aminoethoxy)-*N*¹-methyl-amino *O*-(5-acetamido-3,5-didesoxy- α -D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosylsäure)-(2 \rightarrow 3)-*O*- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*- α -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-[*O*-(5-acetamido-3,5-didesoxy- α -D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosylsäure)-(2 \rightarrow 3)-*O*- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(5-acetamido-3,5-didesoxy- α -D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosylsäure)-(2 \rightarrow 3)-*O*- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(5-acetamido-3,5-didesoxy- α -D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosylsäure)-(2 \rightarrow 3)-*O*- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)]-*O*- α -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 6)]-*O*- β -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosid **117**

(α -Neu5Ac-2,3- β -Gal-1,4- β -GlcNAc-1,2- α -Man-1,3-[β -GlcNAc-1,4]-{ α -Neu5Ac-2,3- β -Gal-1,4- β -GlcNAc-1,2-[α -Neu5Ac-2,3- β -Gal-1,4- β -GlcNAc-1,6]- α -Man-1,6}- β -Man-1,4- β -GlcNAc-1,4- β -GlcNAc-N(CH₃)O(CH₂)₂NH₂)

4.2 mg (1.8 μ mol) Oligosaccharid **112** werden in 300 μ L 50 mM Natriumkacodylat-Puffer bei pH 6.4 gelöst. Der Puffer enthält 0.3 mg BSA, 7.0 mg (11.0 μ mol, 6.1 eq) CMP-NeuAc **110**, 20 U alkalische Phosphatase (E. C. 3.1.3.1) und 148 mU β -Galactosid- α -2,3-sialyltransferase (E. C. 2.4.99.6). Die Reaktion wird 48 h bei 37 °C inkubiert. Nach Ende der Reaktion werden die Proteine mittels Festphasen-Extraktion entfernt (Carbograph Columns; Kartuschengröße: 150 mg; Waschen mit 3 mL Wasser; Elution mit 4.0 mL 25 % Acetonitril mit 0.05 % TFA). Es wird ein weiterer Reinigungsschritt durch Gelfiltration angeschlossen (Purifier; Hi Load Superdex 30; Säulengröße: 16 \times 600 mm; Eluent: 0.1 M Ammoniumhydrogencarbonat-Lösung; Fluss: 0.75 mL/min; Detektion: 214, 254 und 280 nm; Retentionszeit: 86.2 min). Für diesen werden auch die Waschlösungen der Festphasenextraktion eingesetzt.

Ausbeute: 2.4 mg (0.8 μ mol nach Hi Load Superdex 30; prozentuale Ausbeute nicht bestimmt; Produkt enthält ca. 12 % Halbacetal),

$R_f = 0.22$ (*iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 1.5:1),

$[\alpha]_D^{24} = -7.9$ (0.2, Wasser),

C₁₂₀H₁₉₉N₁₁O₈₅ (3155.9),

ESI-MS (100 % Wasser): $M_{\text{ber}} = 3154.2$ $M_{\text{gef}} = 1050.9$ (M-3H)³⁻, 1577.2 (M-2H)²⁻,

$^1\text{H-NMR}$ (360 MHz, D_2O): $\delta = 4.91$ (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1^4), 4.76 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1^4), 4.55 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1^3), 4.49-4.35 (m, 7H, H-1^5 , H-1^2 , $\text{H-1}^{5'}$, $\text{H-1}^{7'}$, H-1^{G1} , $\text{H-1}^{\text{G1}'}$, $\text{H-1}^{\text{G3}'}$), 4.32 (d, $J_{1,2} = 7.8$ Hz, 1H, H-1^{B}), 4.15-3.93 (m, 9H, H-6a^4 , H-2^4 , H-1^1 , H-2^3 , H-4^3 , H-3^{G1} , $\text{H-3}^{\text{G1}'}$, $\text{H-3}^{\text{G3}'}$, H-2^4), 3.93-3.26 (m, 84H, H-2^1 , H-6a^5 , $\text{H-6a}^{7'}$, H-6a^{B} , H-3^4 , $\text{H-6a}^{5'}$, H-9a^{N1} , $\text{H-9a}^{\text{N1}'}$, $\text{H-9a}^{\text{N3}'}$, H-6a^3 , H-3^1 , H-6b^5 , H-8^{N1} , $\text{H-8}^{\text{N1}'}$, $\text{H-8}^{\text{N3}'}$, H-6a^4 , H-3^3 , H-6b^3 , $\text{H-6b}^{7'}$, H-5^{N1} , $\text{H-5}^{\text{N1}'}$, $\text{H-5}^{\text{N3}'}$, $\text{H-6b}^{5'}$, H-2^2 , H-6a^2 , H-9b^{N1} , $\text{H-9b}^{\text{N1}'}$, $\text{H-9b}^{\text{N3}'}$, H-3^2 , $\text{H-3}^{4'}$, H-2^5 , H-5^4 , H-4^2 , H-6b^2 , $\text{H-2}^{7'}$, H-6a^{G1} , $\text{H-6a}^{\text{G1}'}$, $\text{H-6a}^{\text{G3}'}$, $\text{H-5}^{4'}$, CH_2O , H-4^5 , $\text{H-4}^{7'}$, H-6^{N1} , $\text{H-6}^{\text{N1}'}$, $\text{H-6}^{\text{N3}'}$, $\text{H-2}^{5'}$, H-6b^{G1} , $\text{H-6b}^{\text{G1}'}$, $\text{H-6b}^{\text{G3}'}$, $\text{H-4}^{5'}$, H-5^1 , H-4^{N1} , $\text{H-4}^{\text{N1}'}$, $\text{H-4}^{\text{N3}'}$, H-2^{B} , H-6a^1 , H-6b^4 , H-3^5 , CH_2O , $\text{H-3}^{7'}$, H-5^2 , H-6b^1 , H-6b^{B} , $\text{H-3}^{5'}$, H-5^{G1} , $\text{H-5}^{\text{G1}'}$, $\text{H-5}^{\text{G3}'}$, H-5^3 , H-7^{N1} , $\text{H-7}^{\text{N1}'}$, $\text{H-7}^{\text{N3}'}$, H-4^1 , H-4^{G1} , $\text{H-4}^{\text{G1}'}$, $\text{H-4}^{\text{G3}'}$, H-3^{B} , $\text{H-6b}^{4'}$, H-4^4 , H-2^{G1} , $\text{H-2}^{\text{G1}'}$, $\text{H-2}^{\text{G3}'}$, H-5^5 , $\text{H-5}^{7'}$, $\text{H-5}^{5'}$), 3.26-3.17 (m, 2H, $\text{H-4}^{4'}$, H-5^{B}), 3.11 (dd, $J_{3,4} = 10.3$ Hz, $J_{4,5} = 9.0$ Hz, 1H, H-4^{B}), 3.07-3.01 (m, 2H, CH_2N), 2.65-2.55 (m, 6H, NCH_3 , H-3eq^{N1} , $\text{H-3eq}^{\text{N1}'}$, $\text{H-3eq}^{\text{N3}'}$), 1.96-1.81 (m, 27H, NAc), 1.65 (dd, $J_{3,4} = 12.0$ Hz, $J_{\text{gem}} = 13.7$ Hz, 3H, H-3ax^{N1} , $\text{H-3ax}^{\text{N1}'}$, $\text{H-3ax}^{\text{N3}'}$),

$^{13}\text{C-NMR}$ (90 MHz, D_2O): $\delta = 174.6$, 174.2, 174.0, 173.5, 173.3 (C=O NAc), 102.2 (C-1^{G1}), 102.2 ($\text{C-1}^{\text{G1}'}$), 102.2 ($\text{C-1}^{\text{G3}'}$), 101.2 ($\text{C-1}^{7'}$), 101.1 (C-1^2), 99.7 (C-1^{B}), 99.4 (C-1^4), 99.4 (C-1^3), 99.3 (C-1^5), 99.2 ($\text{C-1}^{5'}$), 97.5 (C-1^4), 91.2 (C-1^1), 78.8 (C-4^1), 78.2 (C-3^3), 77.9 ($\text{C-4}^{5'}$), 77.8 (C-4^5), 77.8 ($\text{C-4}^{7'}$), 77.7 (C-4^2), 76.3 (C-5^{B}), 76.2 ($\text{C-2}^{4'}$), 76.0 (C-2^4), 75.8 (C-5^5), 75.8 ($\text{C-5}^{5'}$), 75.8 ($\text{C-5}^{7'}$), 75.1 (C-3^{G1}), 75.1 ($\text{C-3}^{\text{G1}'}$), 75.1 ($\text{C-3}^{\text{G3}'}$), 74.7 (C-6^{N1}), 74.7 ($\text{C-6}^{\text{N1}'}$), 74.7 ($\text{C-6}^{\text{N3}'}$), 74.3 (C-5^{G1}), 74.3 ($\text{C-5}^{\text{G1}'}$), 74.3 ($\text{C-5}^{\text{G3}'}$), 74.2 (C-2^{G1}), 74.2 ($\text{C-2}^{\text{G1}'}$), 74.2 ($\text{C-2}^{\text{G3}'}$), 73.1 (C-5^1), 72.8 (C-5^2), 72.8 (C-5^3), 72.5 (C-3^5), 72.5 ($\text{C-3}^{5'}$), 72.5 ($\text{C-3}^{7'}$), 72.5 (C-3^{B}), 72.4 (CH_2O), 71.5 (C-5^4), 71.3 (C-8^{N1}), 71.3 ($\text{C-8}^{\text{N1}'}$), 71.3 ($\text{C-8}^{\text{N3}'}$), 71.3 (C-5^4), 70.7 (C-4^{B}), 69.9 (C-4^3), 69.9 (C-2^3), 69.8 ($\text{C-6}^{4'}$), 69.1 (C-3^2), 68.9 (C-3^1), 68.9 (C-4^{G1}), 68.9 ($\text{C-4}^{\text{G1}'}$), 68.9 ($\text{C-4}^{\text{G3}'}$), 67.9 (C-4^{N1}), 67.9 ($\text{C-4}^{\text{N1}'}$), 67.9 ($\text{C-4}^{\text{N3}'}$), 67.6 (C-7^{N1}), 67.6 ($\text{C-7}^{\text{N1}'}$), 67.6 ($\text{C-7}^{\text{N3}'}$), 67.2 ($\text{C-3}^{4'}$), 67.2 (C-4^4), 67.0 (C-3^4), 67.0 (C-4^4), 65.1 (C-9^{N1}), 65.1 ($\text{C-9}^{\text{N1}'}$), 65.1 ($\text{C-9}^{\text{N3}'}$), 63.9 (C-6^3), 62.2 (C-6^4), 61.3 (C-6^{B}), 60.6 (C-6^{G1}), 60.6 ($\text{C-6}^{\text{G1}'}$), 60.6 ($\text{C-6}^{\text{G3}'}$), 59.6 (C-6^5), 59.6 ($\text{C-6}^{5'}$), 59.6 ($\text{C-6}^{7'}$), 59.6 (C-6^1), 59.5 (C-6^2), 55.8 (C-2^{B}), 54.6 (C-2^2), 54.5 (C-2^5), 54.5 ($\text{C-2}^{7'}$), 54.3 ($\text{C-2}^{5'}$), 51.3 (C-5^{N1}), 51.3 ($\text{C-5}^{\text{N1}'}$), 51.3 ($\text{C-5}^{\text{N3}'}$), 51.2 (C-2^1), 39.2 (C-3^{N1}), 39.2 ($\text{C-3}^{\text{N1}'}$), 39.2 ($\text{C-3}^{\text{N3}'}$), 38.3 (NCH_3), 37.8 (CH_2N), 21.9, 21.8, 21.6, 21.5 (NAc).

*N*¹-(2-Aminoethoxy)-*N*¹-methyl-amino *O*-(5-acetamido-3,5-didesoxy- α -D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosylsäure)-(2 \rightarrow 3)-*O*- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(5-acetamido-3,5-didesoxy- α -D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosylsäure)-(2 \rightarrow 3)-*O*- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-*O*- α -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-*O*-(5-acetamido-3,5-didesoxy- α -D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosylsäure)-(2 \rightarrow 3)-*O*- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*- α -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 6)]-*O*- β -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosid **118**

(α -Neu5Ac-2,3- β -Gal-1,4- β -GlcNAc-1,2-[α -Neu5Ac-2,3- β -Gal-1,4- β -GlcNAc-1,4]- α -Man-1,3-[β -GlcNAc-1,4]-[α -Neu5Ac-2,3- β -Gal-1,4- β -GlcNAc-1,2- α -Man-1,6]- β -Man-1,4- β -GlcNAc-1,4- β -GlcNAc-N(CH₃)O(CH₂)₂NH₂)

3.1 mg (1.4 μ mol) Oligosaccharid **113** werden in 300 μ L 50 mM Natriumkacodylat-Puffer bei pH 6.4 gelöst. Der Puffer enthält 0.3 mg BSA, 5.1 mg (8.1 μ mol, 5.8 eq) CMP-NeuAc **110**, 20 U alkalische Phosphatase (E. C. 3.1.3.1) und 106 mU β -Galactosid- α -2,3-sialyltransferase (E. C. 2.4.99.6). Die Reaktion wird 48 h bei 37 °C inkubiert. Nach Ende der Reaktion werden die Proteine mittels Festphasen-Extraktion entfernt (Carbograph Columns; Kartuschengröße: 150 mg; Waschen mit 3 mL Wasser; Elution mit 4.0 mL 25 % Acetonitril mit 0.05 % TFA). Es wird ein weiterer Reinigungsschritt durch Gelfiltration angeschlossen (Purifier; Hi Load Superdex 30; Säulengröße: 16 \times 600 mm; Eluent: 0.1 M Ammoniumhydrogencarbonat-Lösung; Fluss: 0.75 mL/min; Detektion: 214, 254 und 280 nm; Retentionszeit: 85.7 min). Für diesen werden auch die Waschlösungen der Festphasenextraktion eingesetzt.

Ausbeute: 2.3 mg (0.7 μ mol nach Hi Load Superdex 30; prozentuale Ausbeute nicht bestimmt; Produkt enthält ca. 17 % Halbacetal),

$R_f = 0.33$ (*iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 1.5:1),

$[\alpha]_D^{24} = -3.5$ (0.2, Wasser),

C₁₂₀H₁₉₉N₁₁O₈₅ (3155.9),

ESI-MS (100 % Wasser): $M_{\text{ber}} = 3154.2$ $M_{\text{gef}} = 1051.0$ (M-3H)³⁻, 1577.0 (M-2H)²⁻,

¹H-NMR (360 MHz, D₂O): δ = 4.89 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1⁴), 4.80 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1^{4'}), 4.51 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1³), 4.46-4.33 (m, 7H, H-1², H-1⁵, H-1^{5'}, H-1^{G1}, H-1^{G2}, H-1^{G1'}, H-1⁶), 4.28 (d, $J_{1,2} = 8.8$ Hz, 1H, H-1^B), 4.12 (dd, $J_{1,2} < 1$ Hz, $J_{2,3} < 1$ Hz, 1H, H-2⁴), 4.05 (d, $J_{1,2} = 9.9$ Hz, 1H, H-1¹), 4.02-3.77 (m, 14H, H-2^{4'}, H-2³, H-3^{G1}, H-3^{G2}, H-3^{G1'}, H-4³, H-2¹, H-3⁴, H-6a⁵, H-6a⁶, H-6a^{5'}, H-6a^B, H-3¹, H-3²), 3.77-3.20 (m, 79H, H-9a^{N1}, H-9a^{N2}, H-9a^{N1'}, H-6a⁴, H-6a^{4'}, H-6a³, H-6b⁵, H-8^{N1}, H-8^{N2}, H-8^{N1'}, H-6b³, H-6b⁶, H-6b^{5'}, H-5^{N1}, H-5^{N2}, H-5^{N1'}, H-3^{4'}, H-3³, H-2², H-6a², H-6a^{G1}, H-6a^{G2}, H-6a^{G1'}, H-4², H-9b^{N1}, H-9b^{N2}, H-9b^{N1'}, H-2⁵, H-2⁶, H-6b^{G1}, H-6b^{G2}, H-6b^{G1'}, H-6b², H-5⁴, H-4⁵, H-4⁶, H-2^{5'}, H-6a¹, H-4^{5'}, H-6^{N1}, H-6^{N2}, H-6^{N1'}, H-5^{4'}, H-2^B, H-6b¹, H-4^{N1}, H-4^{N2}, H-4^{N1'}, H-5¹, H-6b⁴, H-6b^{4'}, CH₂O, H-3⁵, H-3⁶, H-3^{5'}, CH₂O, H-5², H-5^{G1}, H-5^{G2}, H-5^{G1'}, H-4¹, H-4⁴, H-6b^B, H-7^{N1}, H-7^{N2}, H-7^{N1'}, H-5³, H-3^B, H-4^{G1}, H-4^{G2}, H-4^{G1'}, H-2^{G1}, H-2^{G2}, H-2^{G1'}, H-5⁵, H-5⁶, H-4^{4'}, H-5^{5'}, H-5^B), 3.09 (dd, $J_{3,4} = 9.1$ Hz, $J_{4,5} = 9.0$ Hz, 1H, H-4^B), 2.97 (dd, $J_{vic} = 4.4$ Hz, $J_{gem} = 10.7$ Hz, 2H, CH₂N), 2.63-2.55 (m, 6H, NCH₃, H-3eq^{N1}, H-3eq^{N2}, H-3eq^{N1'}), 1.94-1.82 (m, 27H, NAc), 1.64 (dd, $J_{3,4} = 12.2$ Hz, $J_{gem} = 13.7$ Hz, 3H, H-3ax^{N1}, H-3ax^{N2}, H-3ax^{N1'}),

¹³C-NMR (90 MHz, D₂O): δ = 174.6, 174.1, 173.4 (C=O NAc), 102.2 (C-1^{G1}), 102.2 (C-1^{G2}), 102.2 (C-1^{G1'}), 101.3 (C-1⁶), 101.0 (C-1²), 100.3 (C-1^B), 99.6 (C-1³), 99.3 (C-1⁵), 99.1 (C-1⁴), 99.1 (C-1^{5'}), 97.6 (C-1^{4'}), 91.1 (C-1¹), 78.5 (C-4¹), 78.5 (C-4⁴), 78.2 (C-3³), 77.8 (C-4⁵), 77.8 (C-4⁶), 77.8 (C-4^{5'}), 77.7 (C-4²), 76.4 (C-5^{5'}), 76.4 (C-5^B), 75.9 (C-2^{4'}), 75.8 (C-5⁵), 75.8 (C-5⁶), 75.7 (C-2⁴), 75.1 (C-3^{G1}), 75.1 (C-3^{G2}), 75.1 (C-3^{G1'}), 74.7 (C-6^{N1}), 74.7 (C-6^{N2}), 74.7 (C-6^{N1'}), 74.4 (C-5^{G1}), 74.4 (C-5^{G2}), 74.4 (C-5^{G1'}), 74.0 (C-2^{G1}), 74.0 (C-2^{G2}), 74.0 (C-2^{G1'}), 73.5 (C-5¹), 73.5 (C-5²), 73.5 (C-5³), 72.8 (C-3^B), 72.5 (C-3⁵), 72.5 (C-3⁶), 72.5 (C-3^{5'}), 72.1 (CH₂O), 71.6 (C-5^{4'}), 71.5 (C-5⁴), 71.4 (C-8^{N1}), 71.4 (C-8^{N2}), 71.4 (C-8^{N1'}), 71.3 (C-4³), 70.8 (C-4^B), 69.9 (C-2³), 69.1 (C-3^{4'}), 69.0 (C-4^{G1}), 69.0 (C-4^{G2}), 69.0 (C-4^{G1'}), 68.1 (C-9^{N1}), 68.1 (C-9^{N2}), 68.1 (C-9^{N1'}), 68.0 (C-4^{N1}), 68.0 (C-4^{N2}), 68.0 (C-4^{N1'}), 67.8 (C-7^{N1}), 67.8 (C-7^{N2}), 67.8 (C-7^{N1'}), 67.6 (C-3⁴), 67.1 (C-3¹), 67.1 (C-3²), 67.0 (C-4^{4'}), 65.2 (C-6³), 62.2 (C-6⁴), 62.1 (C-6^{4'}), 61.4 (C-6^B), 60.7 (C-6^{G1}), 60.7 (C-6^{G2}), 60.7 (C-6^{G1'}), 59.7 (C-6¹), 59.6 (C-6⁵), 59.6 (C-6⁶), 59.6 (C-6^{5'}), 59.5 (C-6²), 55.7 (C-2^B), 54.7 (C-2²), 54.5 (C-2⁵), 54.5 (C-2⁶), 54.4 (C-2^{5'}), 51.3 (C-2¹), 51.3 (C-5^{N1}), 51.3 (C-5^{N2}), 51.3 (C-5^{N1'}), 39.2 (C-3^{N1}), 39.2 (C-3^{N2}), 39.2 (C-3^{N1'}), 38.4 (NCH₃), 38.1 (CH₂N), 21.9, 21.8, 21.7, 21.6 (NAc).

*N*¹-(2-Aminoethoxy)-*N*¹-methyl-amino *O*-(5-acetamido-3,5-didesoxy- α -D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosylsäure)-(2 \rightarrow 3)-*O*- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(5-acetamido-3,5-didesoxy- α -D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosylsäure)-(2 \rightarrow 3)-*O*- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-*O*- α -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-*O*-(5-acetamido-3,5-didesoxy- α -D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosylsäure)-(2 \rightarrow 3)-*O*- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(5-acetamido-3,5-didesoxy- α -D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosylsäure)-(2 \rightarrow 3)-*O*- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)]-*O*- α -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 6)}-*O*- β -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosid **119**

(α -Neu5Ac-2,3- β -Gal-1,4- β -GlcNAc-1,2-[α -Neu5Ac-2,3- β -Gal-1,4- β -GlcNAc-1,4]- α -Man-1,3-[β -GlcNAc-1,4]-{ α -Neu5Ac-2,3- β -Gal-1,4- β -GlcNAc-1,2-[α -Neu5Ac-2,3- β -Gal-1,4- β -GlcNAc-1,6]- α -Man-1,6}- β -Man-1,4- β -GlcNAc-1,4- β -GlcNAc-N(CH₃)O(CH₂)₂NH₂)

3.8 mg (1.5 μ mol) Oligosaccharid **114** werden in 300 μ L 50 mM Natriumkacodylat-Puffer bei pH 6.4 gelöst. Der Puffer enthält 0.3 mg BSA, 7.4 mg (11.6 μ mol, 7.7 eq) CMP-NeuAc **110**, 20 U alkalische Phosphatase (E. C. 3.1.3.1) und 106 mU β -Galactosid- α -2,3-sialyltransferase (E. C. 2.4.99.6). Die Reaktion wird 48 h bei 37 °C inkubiert. Nach Ende der Reaktion werden die Proteine mittels Festphasen-Extraktion entfernt (Carbograph Columns; Kartuschengröße: 150 mg; Waschen mit 3 mL Wasser; Elution mit 4.0 mL 25 % Acetonitril mit 0.05 % TFA). Es wird ein weiterer Reinigungsschritt durch Gelfiltration angeschlossen (Purifier; Hi Load Superdex 30; Säulengröße: 16 \times 600 mm; Eluent: 0.1 M Ammoniumhydrogencarbonat-Lösung; Fluss: 0.75 mL/min; Detektion: 214, 254 und 280 nm; Retentionszeit: 81.5 min). Für diesen werden auch die Waschlösungen der Festphasenextraktion eingesetzt.

Ausbeute: 1.8 mg (0.5 μ mol nach Hi Load Superdex 30; prozentuale Ausbeute nicht bestimmt; Produkt enthält ca. 20 % Halbacetal),

$R_f = 0.19$ (*iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 1.5:1),

$[\alpha]_D^{24} = -7.4$ (0.2, Wasser),

C₁₄₅H₂₃₉N₁₃O₁₀₃ (3812.5),

ESI-MS (100 % Wasser): $M_{\text{ber}} = 3810.4$ $M_{\text{gef}} = 951.6$ (M-4H)⁴⁺, 1269.5 (M-3H)³⁺,
1905.6 (M-2H)²⁺,

¹H-NMR (360 MHz, D₂O): $\delta = 4.92$ (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1^{4'}), 4.74 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1^{4'}), 4.55 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1^{3'}), 4.49-4.34 (m, 9H, H-1^{5'}, H-1^{5'}, H-1^{2'}, H-1^{G1'}, H-1^{G2'}, H-1^{G1'}, H-1^{G3'}, H-1^{6'}, H-1^{7'}), 4.31 (d, $J_{1,2} = 7.7$ Hz, 1H, H-1^B), 4.16-4.09 (m, 2H, H-2^{4'}, H-6a^{4'}), 4.06 (d, $J_{1,2} = 9.7$ Hz, 1H, H-1^{1'}), 4.03-3.92 (m, 7H, H-2^{3'}, H-4^{3'}, H-3^{G1'}, H-3^{G2'}, H-3^{G1'}, H-3^{G3'}, H-2^{4'}), 3.92-3.78 (m, 9H, H-3^{4'}, H-2^{1'}, H-6a^{5'}, H-6a^{7'}, H-6a^{6'}, H-3^{1'}, H-3^{2'}, H-6a^B, H-6a^{5'}), 3.78-3.17 (m, 95H, H-8^{N1'}, H-8^{N2'}, H-8^{N1'}, H-8^{N3'}, H-6b^{5'}, H-6b^{7'}, H-6a^{3'}, H-6a^{4'}, H-6b^{3'}, H-5^{N1'}, H-5^{N2'}, H-5^{N1'}, H-5^{N3'}, H-6b^{6'}, H-3^{3'}, H-9a^{N1'}, H-9a^{N2'}, H-9a^{N1'}, H-9a^{N3'}, H-2^{2'}, H-6b^{5'}, H-4^{2'}, H-3^{4'}, H-2^{5'}, H-2^{6'}, H-2^{7'}, H-6a^{2'}, H-5^{4'}, H-4^{5'}, H-4^{7'}, H-4^{6'}, H-4^{5'}, H-6a^{G1'}, H-6a^{G2'}, H-6a^{G1'}, H-6a^{G3'}, H-5^{4'}, H-2^B, H-2^{5'}, H-6b^{2'}, H-6b^{G1'}, H-6b^{G2'}, H-6b^{G1'}, H-6b^{G3'}, H-6a^{1'}, H-6^{N1'}, H-6^{N2'}, H-6^{N1'}, H-6^{N3'}, CH₂O, H-9b^{N1'}, H-9b^{N2'}, H-9b^{N1'}, H-9b^{N3'}, H-4^{N1'}, H-4^{N2'}, H-4^{N1'}, H-4^{N3'}, H-6b^{1'}, H-6b^{4'}, H-3^{5'}, H-3^{6'}, H-3^{5'}, H-3^{7'}, H-3^B, H-5^{1'}, H-5^{2'}, H-5^{3'}, H-4^{1'}, H-5^{G1'}, H-5^{G2'}, H-5^{G1'}, H-5^{G3'}, H-4^{4'}, H-7^{N1'}, H-7^{N2'}, H-7^{N1'}, H-7^{N3'}, H-4^{G1'}, H-4^{G2'}, H-4^{G1'}, H-4^{G3'}, H-6b^B, CH₂O, H-2^{G1'}, H-2^{G2'}, H-2^{G1'}, H-2^{G3'}, H-6b^{4'}, H-5^{5'}, H-5^{6'}, H-5^{7'}, H-5^{5'}, H-4^{4'}, H-5^B), 3.12 (dd, $J_{3,4} = 9.3$ Hz, $J_{4,5} = 8.9$ Hz, 1H, H-4^B), 3.06 (dd, $J_{\text{vic}} = 4.5$ Hz, $J_{\text{gem}} = 11.2$ Hz, 1H, CH₂N), 2.66-2.55 (m, 7H, NCH₃, H-3eq^{N1'}, H-3eq^{N2'}, H-3eq^{N1'}, H-3eq^{N3'}), 2.02-1.81 (m, 33H, NAc), 1.65 (dd, $J_{3,4} = 12.2$ Hz, $J_{\text{gem}} = 13.8$ Hz, 4H, H-3ax^{N1'}, H-3ax^{N2'}, H-3ax^{N1'}, H-3ax^{N3'}),

¹³C-NMR (90 MHz, D₂O, Verschiebungen wurden aus einem HSQC-Spektrum ermittelt): $\delta = 103.0$ (C-1^{G1'}), 103.0 (C-1^{G2'}), 103.0 (C-1^{G1'}), 103.0 (C-1^{G3'}), 102.0 (C-1^{2'}), 102.0 (C-1^{6'}), 102.0 (C-1^{7'}), 100.4 (C-1^B), 100.1 (C-1^{5'}), 100.1 (C-1^{5'}), 100.0 (C-1^{3'}), 99.7 (C-1^{4'}), 98.3 (C-1^{4'}), 91.9 (C-1^{1'}), 79.2 (C-4^{1'}), 79.0 (C-4^{4'}), 78.8 (C-3^{3'}), 78.7 (C-4^{6'}), 78.7 (C-4^{5'}), 78.4 (C-4^{2'}), 78.4 (C-4^{5'}), 78.4 (C-4^{7'}), 77.2 (C-5^B), 77.1 (C-2^{4'}), 76.5 (C-5^{5'}), 76.5 (C-5^{5'}), 76.5 (C-5^{6'}), 76.5 (C-5^{7'}), 76.4 (C-2^{4'}), 75.8 (C-3^{G1'}), 75.8 (C-3^{G2'}), 75.8 (C-3^{G1'}), 75.8 (C-3^{G3'}), 75.4 (C-6^{N1'}), 75.4 (C-6^{N2'}), 75.4 (C-6^{N1'}), 75.4 (C-6^{N3'}), 75.1 (C-5^{G1'}), 75.1 (C-5^{G2'}), 75.1 (C-5^{G1'}), 75.1 (C-5^{G3'}), 75.0 (C-2^{G1'}), 75.0 (C-2^{G2'}), 75.0 (C-2^{G1'}), 75.0 (C-2^{G3'}), 74.2 (C-5^{1'}), 74.2 (C-5^{2'}), 74.2 (C-5^{3'}), 73.3 (C-3^{5'}), 73.3 (C-3^{5'}), 73.3 (C-3^{6'}), 73.3 (C-3^{7'}), 73.3 (C-3^B), 72.3 (C-5^{4'}), 72.3 (CH₂O), 72.1 (C-5^{4'}), 72.1 (C-8^{N1'}), 72.1 (C-8^{N2'}), 72.1 (C-8^{N1'}), 72.1 (C-8^{N3'}), 71.4 (C-4^B), 70.9 (C-4^{3'}), 70.6 (C-2^{3'}), 70.5 (C-6^{4'}), 69.9 (C-9^{N1'}), 69.9 (C-9^{N2'}), 69.9 (C-9^{N1'}), 69.9 (C-9^{N3'}), 69.7 (C-4^{G1'}), 69.7 (C-4^{G2'}), 69.7 (C-4^{G1'}), 69.7 (C-4^{G3'}), 68.7 (C-4^{N1'}), 68.7 (C-4^{N2'}), 68.7 (C-4^{N1'}), 68.7 (C-4^{N3'}), 68.5 (C-7^{N1'}), 68.5 (C-7^{N2'}), 68.5 (C-7^{N1'}), 68.5 (C-7^{N3'}), 68.3 (C-3^{4'}), 68.0 (C-3^{2'}), 68.0 (C-3^{4'}), 67.8 (C-4^{4'}),

67.7 (C-3¹), 64.5 (C-6³), 63.0 (C-6⁴), 61.8 (C-6^B), 61.5 (C-6^{G1}), 61.5 (C-6^{G2}), 61.5 (C-6^{G1'}), 61.5 (C-6^{G3'}), 60.4 (C-6¹), 60.4 (C-6⁵), 60.4 (C-6^{5'}), 60.4 (C-6⁶), 60.4 (C-6^{7'}), 60.1 (C-6²), 56.6 (C-2^B), 55.4 (C-2²), 55.4 (C-2⁵), 55.4 (C-2⁶), 55.4 (C-2^{7'}), 55.1 (C-2^{5'}), 52.0 (C-5^{N1}), 52.0 (C-5^{N2}), 52.0 (C-5^{N1'}), 52.0 (C-5^{N3'}), 51.9 (C-2¹), 40.0 (C-3^{N1}), 40.0 (C-3^{N2}), 40.0 (C-3^{N1'}), 40.0 (C-3^{N3'}), 39.1 (NCH₃), 38.6 (CH₂N), 23.0, 22.7, 22.3 (NAc).

9.25 Versuche zu Kapitel 5.2.2

*N*¹-(2-Aminoethoxy)-*N*¹-methyl-amino *O*-(5-acetamido-3,5-didesoxy- α -*D*-glycero-*D*-galacto-2-nonulopyranosylsäure)-(2 \rightarrow 6)-*O*- β -*D*-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*- α -*D*-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-[*O*-(5-acetamido-3,5-didesoxy- α -*D*-glycero-*D*-galacto-2-nonulopyranosylsäure)-(2 \rightarrow 6)-*O*- β -*D*-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*- α -*D*-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 6)]-*O*- β -*D*-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2-acetamido-2-desoxy- β -*D*-glucopyranosid **120**

(α -Neu5Ac-2,6- β -Gal-1,4- β -GlcNAc-1,2- α -Man-1,3-[β -GlcNAc-1,4]-[α -Neu5Ac-2,6- β -Gal-1,4- β -GlcNAc-1,2- α -Man-1,6]- β -Man-1,4- β -GlcNAc-1,4- β -GlcNAc-N(CH₃)O(CH₂)₂NH₂)

1.0 mg (0.5 μ mol) Oligosaccharid **111** werden in 200 μ L 100 mM Natriumkacodylat-Puffer bei pH 6.4 gelöst. Der Puffer enthält 0.2 mg BSA, 2.0 mg (3.1 μ mol, 6.2 eq) CMP-NeuAc **110**, 10 mm Mangan(II)-chlorid, 20 U alkalische Phosphatase (E. C. 3.1.3.1) und 94 mU β -Galactosid- α -2,6-sialyltransferase (E. C. 2.4.99.1). Die Reaktion wird 48 h bei 37 °C inkubiert. Nach Ende der Reaktion werden die Proteine mittels Festphasen-Extraktion entfernt (Carbograph Columns; Kartuschengröße: 150 mg; Waschen mit 3 mL Wasser; Elution mit 4.0 mL 25 % Acetonitril mit 0.05 % TFA). Es wird ein weiterer Reinigungsschritt durch Gelfiltration angeschlossen (Purifier; Hi Load Superdex 30; Säulengröße: 16 \times 600 mm; Eluent: 0.1 M Ammoniumhydrogencarbonat-Lösung; Fluss: 0.75 mL/min; Detektion: 214, 254 und 280 nm, Retentionszeit: 92.9 min). Für diesen werden auch die Waschlösungen der Festphasenextraktion eingesetzt.

Ausbeute: 0.9 mg (0.4 μmol nach Hi Load Superdex 30; prozentuale Ausbeute nicht bestimmt; Produkt enthält ca. 15 % Halbacetal),

$R_f = 0.23$ (*iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 1.5:1),

$[\alpha]_D^{25} = +1.1$ (0.1, Wasser),

$\text{C}_{95}\text{H}_{159}\text{N}_9\text{O}_{67}$ (2499.3),

ESI-MS (100 % Wasser): $M_{\text{ber}} = 2497.9$ $M_{\text{gef}} = 1247.6$ ($\text{M}-2\text{H}$)²⁻, 2496.6 ($\text{M}-\text{H}$)⁻,

¹H-NMR (360 MHz, D₂O): $\delta = 4.91$ (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1⁴), 4.86 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1^{4'}), 4.54 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1³), 4.48-4.40 (m, 3H, H-1², H-1⁵, H-1^{5'}), 4.33-4.25 (m, 3H, H-1^B, H-1^{G1}, H-1^{G1'}), 4.10 (dd, $J_{1,2} < 1$ Hz, $J_{2,3} < 1$ Hz, 1H, H-2⁴), 4.02 (dd, $J_{1,2} < 1$ Hz, $J_{2,3} < 1$ Hz, 1H, H-2³), 3.99 (dd, $J_{1,2} < 1$ Hz, $J_{2,3} < 1$ Hz, 1H, H-2^{4'}), 3.97-3.63 (m, 27H, H-1¹, H-4³, H-6a⁴, H-9a^{N1}, H-9a^{N1'}, H-2¹, H-6a⁵, H-6a^{G1}, H-6a^{G1'}, H-6a^{4'}, H-6a^{5'}, H-3⁴, H-3¹, H-6a^B, H-3², H-8^{N1}, H-8^{N1'}, H-3^{4'}, H-6a³, H-6b³, H-6b⁵, H-6b^{5'}, H-5^{N1}, H-5^{N1'}, H-6a², H-6^{N1}, H-6^{N1'}), 3.63-3.43 (m, 32H, H-2², H-6b², H-9b^{N1}, H-9b^{N1'}, H-5⁴, H-5^{4'}, H-3³, H-2⁵, H-6a¹, CH₂O, H-3⁵, H-3^{5'}, H-3^B, CH₂O, H-3^{G1}, H-3^{G1'}, H-4², H-2^{5'}, H-2^B, H-4⁵, H-4^{5'}, H-6b¹, H-4^{N1}, H-4^{N1'}, H-5^{G1}, H-5^{G1'}, H-6b^B, H-6b^{G1}, H-6b^{G1'}, H-5¹, H-5², H-4¹), 3.43-3.21 (m, 14H, H-6b⁴, H-6b^{4'}, H-7^{N1}, H-7^{N1'}, H-2^{G1}, H-2^{G1'}, H-5³, H-4^{G1}, H-4^{G1'}, H-4⁴, H-4^{4'}, H-5⁵, H-5^{5'}, H-5^B), 3.10 (dd, $J_{3,4} = 8.9$ Hz, $J_{4,5} = 8.2$ Hz, 1H, H-4^B), 2.92-2.85 (m, 2H, CH₂N), 2.60 (s, 3H, NCH₃), 2.55-2.47 (m, 2H, H-3eq^{N1}, H-3eq^{N1'}), 1.95-1.83 (m, 21H, NAc), 1.56 (dd, $J_{3,4} = 12.1$ Hz, $J_{\text{gem}} = 13.7$ Hz, 2H, H-3ax^{N1}, H-3ax^{N1'}),

¹³C-NMR (90 MHz, D₂O, Verschiebungen wurden aus einem HSQC-Spektrum ermittelt): $\delta = 103.0$ (C-1^{G1}), 103.0 (C-1^{G1'}), 100.9 (C-1²), 100.1 (C-1^B), 99.6 (C-1³), 99.4 (C-1⁴), 98.7 (C-1⁵), 98.7 (C-1^{5'}), 97.1 (C-1^{4'}), 87.5 (C-1¹), 80.2 (C-4¹), 80.0 (C-4⁵), 80.0 (C-4^{5'}), 79.9 (C-4²), 79.5 (C-3³), 76.2 (C-5^B), 75.7 (C-2⁴), 75.5 (C-2^{4'}), 75.4 (C-5⁵), 75.4 (C-5^{5'}), 73.8 (C-5^{G1}), 73.8 (C-5^{G1'}), 73.8 (C-2^{G1}), 73.8 (C-2^{G1'}), 73.6 (C-4^B), 73.1 (C-6^{N1}), 73.1 (C-6^{N1'}), 72.9 (C-3^{G1}), 72.9 (C-3^{G1'}), 72.8 (C-5¹), 72.8 (C-5²), 72.8 (C-5³), 71.8 (CH₂O), 71.8 (C-3⁵), 71.8 (C-3^{5'}), 71.8 (C-3^B), 71.4 (C-5⁴), 71.4 (C-5^{4'}), 71.2 (C-8^{N1}), 71.2 (C-8^{N1'}), 70.9 (C-4³), 70.2 (C-4^{G1}), 70.2 (C-4^{G1'}), 69.8 (C-2³), 68.9 (C-3¹), 68.9 (C-3²), 68.9 (C-3^{4'}), 67.9 (C-7^{N1}), 67.9 (C-7^{N1'}), 67.8 (C-3⁴), 67.7 (C-4^{N1}), 67.7 (C-4^{N1'}), 66.9 (C-4^{4'}), 66.8 (C-4⁴), 65.0 (C-9^{N1}), 65.0 (C-9^{N1'}), 64.9 (C-6³), 62.6 (C-6⁴), 62.6 (C-6^{4'}), 62.1 (C-6^B), 61.2 (C-6^{G1}), 61.2 (C-6^{G1'}), 59.6 (C-6⁵), 59.6 (C-6^{5'}), 59.5 (C-6¹), 59.4 (C-6²), 55.5 (C-2^B), 54.2 (C-2²),

54.2 (C-2⁵), 54.2 (C-2^{5'}), 51.3 (C-2¹), 51.3 (C-5^{N1}), 51.3 (C-5^{N1'}), 39.6 (C-3^{N1}), 39.6 (C-3^{N1'}), 38.2 (NCH₃), 37.9 (CH₂N), 21.8, 21.6, 21.5 (NAc).

*N*¹-(2-Aminoethoxy)-*N*¹-methyl-amino *O*-(5-acetamido-3,5-didesoxy- α -*D*-glycero-*D*-galacto-2-nonulopyranosylsäure)-(2→6)-*O*- β -*D*-galactopyranosyl-(1→4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -*D*-glucopyranosyl)-(1→2)-*O*- α -*D*-mannopyranosyl-(1→3)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -*D*-glucopyranosyl)-(1→4)]-[*O*-(5-acetamido-3,5-didesoxy- α -*D*-glycero-*D*-galacto-2-nonulopyranosylsäure)-(2→6)-*O*- β -*D*-galactopyranosyl-(1→4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -*D*-glucopyranosyl)-(1→2)-[*O*-(5-acetamido-3,5-didesoxy- α -*D*-glycero-*D*-galacto-2-nonulopyranosylsäure)-(2→6)-*O*- β -*D*-galactopyranosyl-(1→4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -*D*-glucopyranosyl)-(1→6)]-*O*- α -*D*-mannopyranosyl-(1→6)]-*O*- β -*D*-mannopyranosyl-(1→4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -*D*-glucopyranosyl)-(1→4)-2-acetamido-2-desoxy- β -*D*-glucopyranosid **121**

(α -Neu5Ac-2,6- β -Gal-1,4- β -GlcNAc-1,2- α -Man-1,3-[β -GlcNAc-1,4]-{ α -Neu5Ac-2,6- β -Gal-1,4- β -GlcNAc-1,2-[α -Neu5Ac-2,6- β -Gal-1,4- β -GlcNAc-1,6]- α -Man-1,6}- β -Man-1,4- β -GlcNAc-1,4- β -GlcNAc-N(CH₃)O(CH₂)₂NH₂)

4.2 mg (1.8 μ mol) Oligosaccharid **112** werden in 350 μ L 100 mM Natriumkacodylat-Puffer bei pH 6.4 gelöst. Der Puffer enthält 0.35 mg BSA, 5.1 mg (8.0 μ mol, 4.4 eq) CMP-NeuAc **110**, 10 mM Mangan(II)-chlorid, 20 U alkalische Phosphatase (E. C. 3.1.3.1) und 236 mU β -Galactosid- α -2,6-sialyltransferase (E. C. 2.4.99.1). Die Reaktion wird 48 h bei 37 °C inkubiert. Nach Ende der Reaktion werden die Proteine mittels Festphasen-Extraktion entfernt (Carbograph Columns; Kartuschengröße: 150 mg; Waschen mit 3 mL Wasser; Elution mit 4.0 mL 25 % Acetonitril mit 0.05 % TFA). Es wird ein weiterer Reinigungsschritt durch Gelfiltration angeschlossen (Purifier; Hi Load Superdex 30; Säulengröße: 16×600 mm; Eluent: 0.1 M Ammoniumhydrogencarbonat-Lösung; Fluss: 0.75 mL/min; Detektion: 214, 254 und 280 nm, Retentionszeit: 88.3 min). Für diesen werden auch die Waschlösungen der Festphasenextraktion eingesetzt.

Ausbeute: 1.9 mg (0.6 μ mol nach Hi Load Superdex 30; prozentuale Ausbeute nicht bestimmt; Produkt enthält ca. 12 % Halbacetal),

$R_f = 0.14$ (*iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 1.5:1),

$[\alpha]_D^{24} = -12.0$ (0.2, Wasser),

$C_{120}H_{199}N_{11}O_{85}$ (3155.9),

ESI-MS (100 % Wasser): $M_{ber} = 3154.2$ $M_{gef} = 1050.5$ (M-3H)³⁻, 1576.3 (M-2H)²⁻,

¹H-NMR (360 MHz, D₂O): $\delta = 4.92$ (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1⁴), 4.80 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1⁴), 4.50 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1³), 4.50 (d, $J_{1,2} = 7.7$ Hz, 1H, H-1⁵), 4.47-4.39 (m, 3H, H-1², H-1⁵, H-1⁷), 4.34 (d, $J_{1,2} = 8.0$ Hz, 1H, H-1^B), 4.32-4.25 (m, 3H, H-1^{G1}, H-1^{G1'}, H-1^{G3'}), 4.16-4.94 (m, 6H, H-6a^{4'}, H-2⁴, H-1¹, H-2³, H-4³, H-2^{4'}), 3.89-3.58 (m, 42H, H-6a⁵, H-9a^{N1}, H-9a^{N1'}, H-9a^{N3'}, H-6a^{7'}, H-6a⁴, H-6a^{5'}, H-2¹, H-6a^B, H-3⁴, H-3¹, H-6a^{G1}, H-6a^{G1'}, H-6a^{G3'}, H-3², H-6^{N1}, H-6^{N1'}, H-6^{N3'}, H-8^{N1}, H-8^{N1'}, H-8^{N3'}, H-6a³, H-6b⁵, H-6b³, H-6b^{7'}, H-6b^{5'}, H-3^{4'}, H-3³, H-3^{G1}, H-3^{G1'}, H-3^{G3'}, H-2², H-2⁵, H-2^{7'}, H-5^{N1}, H-5^{N1'}, H-5^{N3'}, H-5⁴, H-5^{4'}, H-6a², H-4², H-6b²), 3.58-3.18 (m, 47H, H-3⁵, H-5¹, H-4⁵, H-6a¹, CH₂O, H-3^{7'}, H-2^B, H-2^{5'}, H-6b⁴, H-4^{7'}, H-6b¹, H-4^{N1}, H-4^{N1'}, H-4^{N3'}, H-3^{5'}, CH₂O, H-3^B, H-6b^{G1}, H-6b^{G1'}, H-6b^{G3'}, H-5², H-4^{5'}, H-5³, H-5^{G1}, H-5^{G1'}, H-5^{G3'}, H-6b^B, H-4¹, H-6b^{4'}, H-9b^{N1}, H-9b^{N1'}, H-9b^{N3'}, H-7^{N1}, H-7^{N1'}, H-7^{N3'}, H-4^{G1}, H-4^{G1'}, H-4^{G3'}, H-2^{G1}, H-2^{G1'}, H-2^{G3'}, H-4⁴, H-5⁵, H-5^{7'}, H-4^{4'}, H-5^{5'}, H-5^B), 3.13 (dd, $J_{3,4} = 9.8$ Hz, $J_{4,5} = 8.9$ Hz, 1H, H-4^B), 3.05 (dd, $J_{vic} = 4.7$ Hz, $J_{gem} = 11.2$ Hz, 2H, CH₂N), 2.62 (s, 3H, NCH₃), 2.57-2.47 (m, 3H, H-3eq^{N1}, H-3eq^{N1'}, H-3eq^{N3'}), 1.96-1.83 (m, 27H, NAc), 1.62-1.50 (m, 3H, H-3ax^{N1}, H-3ax^{N1'}, H-3ax^{N3'}),

¹³C-NMR (90 MHz, D₂O, Verschiebungen wurden aus einem HSQC-Spektrum ermittelt): $\delta = 103.9$ (C-1^{G1}), 103.9 (C-1^{G1'}), 103.9 (C-1^{G3'}), 101.8 (C-1²), 101.8 (C-1⁷), 100.7 (C-1³), 100.3 (C-1⁴), 100.1 (C-1^B), 99.8 (C-1⁵), 99.8 (C-1^{5'}), 98.3 (C-1^{4'}), 91.9 (C-1¹), 81.1 (C-4^{5'}), 80.5 (C-4⁵), 80.5 (C-4^{7'}), 79.7 (C-4¹), 79.5 (C-3³), 78.7 (C-4²), 77.0 (C-5^{5'}), 77.0 (C-5^B), 76.8 (C-2^{4'}), 76.6 (C-2⁴), 76.5 (C-5⁵), 76.5 (C-5^{7'}), 74.8 (C-5^{G1}), 74.8 (C-5^{G1'}), 74.8 (C-5^{G3'}), 74.8 (C-2^{G1}), 74.8 (C-2^{G1'}), 74.8 (C-2^{G3'}), 74.0 (C-3^{G1}), 74.0 (C-3^{G1'}), 74.0 (C-3^{G3'}), 73.9 (C-5¹), 73.9 (C-5²), 73.9 (C-5³), 72.8 (C-3⁵), 72.8 (C-3^{5'}), 72.8 (C-3^{7'}), 72.8 (C-3^B), 72.7 (CH₂O), 72.6 (C-5⁴), 72.6 (C-5^{4'}), 72.1 (C-6^{N1}), 72.1 (C-6^{N1'}), 72.1 (C-6^{N3'}), 72.1 (C-8^{N1}), 72.1 (C-8^{N1'}), 72.1 (C-8^{N3'}), 71.4 (C-4^B), 71.1 (C-4^{G1}), 71.1 (C-4^{G1'}), 71.1 (C-4^{G3'}), 70.7 (C-2³), 70.7 (C-4³), 70.6 (C-6⁴), 69.8 (C-3⁴), 69.7 (C-3¹), 69.7 (C-3²), 68.7 (C-7^{N1}), 68.7 (C-7^{N1'}), 68.7 (C-7^{N3'}), 68.7 (C-4^{N1}), 68.7 (C-4^{N1'}), 68.7 (C-4^{N3'}), 68.6 (C-3⁴), 68.0 (C-4⁴), 68.0 (C-4^{4'}), 65.8 (C-6³), 63.7 (C-9^{N1}), 63.7 (C-9^{N1'}), 63.7 (C-9^{N3'}), 63.0 (C-6^{G1}), 63.0 (C-6^{G1'}), 63.0 (C-6^{G3'}), 62.3 (C-6^B), 62.1 (C-6⁴), 60.5 (C-6⁵), 60.5 (C-6^{5'}),

60.5 (C-6⁷), 60.4 (C-6¹), 60.3 (C-6²), 56.7 (C-2^B), 55.3 (C-2²), 55.3 (C-2⁵), 55.3 (C-2⁷), 55.0 (C-2⁵), 52.3 (C-5^{N1}), 52.3 (C-5^{N1'}), 52.3 (C-5^{N3'}), 51.8 (C-2¹), 40.5 (C-3^{N1}), 40.5 (C-3^{N1'}), 40.5 (C-3^{N3'}), 39.1 (NCH₃), 38.6 (CH₂N), 22.8, 22.6, 22.4 (NAc).

*N*¹-(2-Aminoethoxy)-*N*¹-methyl-amino *O*-(5-acetamido-3,5-didesoxy- α -D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosylsäure)-(2 \rightarrow 6)-*O*- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(5-acetamido-3,5-didesoxy- α -D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosylsäure)-(2 \rightarrow 6)-*O*- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-*O*- α -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-[*O*-(5-acetamido-3,5-didesoxy- α -D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosylsäure)-(2 \rightarrow 6)-*O*- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*- α -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 6)]-*O*- β -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosid **122**

(α -Neu5Ac-2,6- β -Gal-1,4- β -GlcNAc-1,2-[α -Neu5Ac-2,6- β -Gal-1,4- β -GlcNAc-1,4]- α -Man-1,3-[β -GlcNAc-1,4]-[α -Neu5Ac-2,6- β -Gal-1,4- β -GlcNAc-1,2- α -Man-1,6]- β -Man-1,4- β -GlcNAc-1,4- β -GlcNAc-N(CH₃)O(CH₂)₂NH₂)

3.1 mg (1.4 μ mol) Oligosaccharid **113** werden in 300 μ L 100 mM Natriumkacodylat-Puffer bei pH 6.4 gelöst. Der Puffer enthält 0.4 mg BSA, 3.9 mg (6.1 μ mol, 4.4 eq) CMP-NeuAc **110**, 10 mM Mangan(II)-chlorid, 20 U alkalische Phosphatase (E. C. 3.1.3.1) und 188 mU β -Galactosid- α -2,6-sialyltransferase (E. C. 2.4.99.1). Die Reaktion wird 48 h bei 37 °C inkubiert. Nach Ende der Reaktion werden die Proteine mittels Festphasen-Extraktion entfernt (Carbograph Columns; Kartuschengröße: 150 mg; Waschen mit 3 mL Wasser; Elution mit 4.0 mL 25 % Acetonitril mit 0.05 % TFA). Es wird ein weiterer Reinigungsschritt durch Gelfiltration angeschlossen (Purifier; Hi Load Superdex 30; Säulengröße: 16 \times 600 mm; Eluent: 0.1 M Ammoniumhydrogencarbonat-Lösung; Fluss: 0.75 mL/min; Detektion: 214, 254 und 280 nm, Retentionszeit: 87.0 min). Für diesen werden auch die Waschlösungen der Festphasenextraktion eingesetzt.

Ausbeute: 1.7 mg (0.5 μ mol nach Hi Load Superdex 30; prozentuale Ausbeute nicht bestimmt; Produkt enthält ca. 17 % Halbacetal),

$R_f = 0.15$ (*iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 1.5:1),

$[\alpha]_D^{24} = -6.3$ (0.2, Wasser),

$C_{120}H_{199}N_{11}O_{85}$ (3155.9),

ESI-MS (100 % Wasser): $M_{ber} = 3154.2$ $M_{gef} = 1050.1$ (M-3H)³⁺, 1576.2 (M-2H)²⁻,

¹H-NMR (360 MHz, D₂O): $\delta = 4.92$ (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1⁴), 4.85 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1^{4'}), 4.54 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1³), 4.48-4.37 (m, 4H, H-1⁵, H-1², H-1^{5'}, H-1⁶), 4.33-4.25 (m, 4H, H-1^B, H-1^{G1}, H-1^{G2}, H-1^{G1'}), 4.15 (dd, $J_{1,2} < 1$ Hz, $J_{2,3} < 1$ Hz, 1H, H-2⁴), 4.05 (d, $J_{1,2} = 9.4$ Hz, 1H, H-1¹), 4.03-3.97 (m, 2H, H-2³, H-2^{4'}), 3.94-3.16 (m, 91H, H-3⁴, H-4³, H-2¹, H-6a⁴, H-6a⁵, H-6a^{4'}, H-6a⁶, H-6a^{G1}, H-6a^{G2}, H-6a^{G1'}, H-6a^{5'}, H-3¹, H-3², H-6b⁵, H-6a³, H-8^{N1}, H-8^{N2}, H-8^{N1'}, H-9a^{N1}, H-9a^{N2}, H-9a^{N1'}, H-6b³, H-6b⁶, H-3³, H-3^{4'}, H-2², H-6b^{5'}, H-6a^B, H-5^{N1}, H-5^{N2}, H-5^{N1'}, H-6^{N1}, H-6^{N2}, H-6^{N1'}, H-2⁵, H-2⁶, H-5⁴, H-6a², H-5^{4'}, H-2^{5'}, H-6b², H-4², CH₂O, H-3⁵, H-3⁶, H-4⁵, H-4⁶, CH₂O, H-3^{5'}, H-4^{5'}, H-5¹, H-6b^{G1}, H-6b^{G2}, H-6b^{G1'}, H-2^B, H-6a¹, H-3^{G1}, H-3^{G2}, H-3^{G1'}, H-6b¹, H-9b^{N1}, H-9b^{N2}, H-9b^{N1'}, H-4^{N1}, H-4^{N2}, H-4^{N1'}, H-4¹, H-5^{G1}, H-5^{G2}, H-5^{G1'}, H-5², H-3^B, H-4⁴, H-6b^B, H-6b⁴, H-6b^{4'}, H-7^{N1}, H-7^{N2}, H-7^{N1'}, H-5³, H-2^{G1}, H-2^{G2}, H-2^{G1'}, H-4^{G1}, H-4^{G2}, H-4^{G1'}, H-4^{4'}, H-5⁵, H-5⁶, H-5^{5'}, H-5^B), 3.12 (dd, $J_{3,4} = 9.9$ Hz, $J_{4,5} = 9.4$ Hz, 1H, H-4^B), 3.07-3.02 (m, 2H, CH₂N), 2.62 (s, 3H, NCH₃), 2.56-2.48 (m, 3H, H-3eq^{N1}, H-3eq^{N2}, H-3eq^{N1'}), 1.99-1.82 (m, 27H, NAc), 1.62-1.50 (m, 3H, H-3ax^{N1}, H-3ax^{N2}, H-3ax^{N1'}),

¹³C-NMR (90 MHz, D₂O, Verschiebungen wurden aus einem HSQC-Spektrum ermittelt): $\delta = 104.0$ (C-1^{G1}), 104.0 (C-1^{G2}), 104.0 (C-1^{G1'}), 101.9 (C-1⁶), 101.8 (C-1²), 101.1 (C-1^B), 100.5 (C-1³), 99.8 (C-1⁴), 99.5 (C-1⁵), 99.5 (C-1^{5'}), 98.0 (C-1^{4'}), 91.9 (C-1¹), 80.8 (C-4⁵), 80.8 (C-4⁶), 80.8 (C-4^{5'}), 79.2 (C-3³), 79.2 (C-4¹), 79.2 (C-4⁴), 79.0 (C-4²), 77.1 (C-5^B), 77.1 (C-5^{5'}), 76.6 (C-5⁵), 76.6 (C-5⁶), 76.3 (C-2^{4'}), 76.2 (C-2⁴), 74.8 (C-3^{G1}), 74.8 (C-3^{G2}), 74.8 (C-3^{G1'}), 74.8 (C-5^{G1}), 74.8 (C-5^{G2}), 74.8 (C-5^{G1'}), 74.7 (C-2^{G1}), 74.7 (C-2^{G2}), 74.7 (C-2^{G1'}), 74.0 (C-6^{N1}), 74.0 (C-6^{N2}), 74.0 (C-6^{N1'}), 73.7 (C-5¹), 73.7 (C-5²), 73.7 (C-5³), 72.8 (CH₂O), 72.8 (C-3⁵), 72.8 (C-3⁶), 72.8 (C-3^{5'}), 72.8 (C-3^B), 72.5 (C-5⁴), 72.5 (C-5^{4'}), 72.1 (C-4³), 72.0 (C-8^{N1}), 72.0 (C-8^{N2}), 72.0 (C-8^{N1'}), 71.4 (C-4^B), 71.1 (C-4^{G1}), 71.1 (C-4^{G2}), 71.1 (C-4^{G1'}), 70.6 (C-2³), 69.9 (C-3^{4'}), 68.8 (C-3²), 68.8 (C-7^{N1}), 68.8 (C-7^{N2}), 68.8 (C-7^{N1'}), 68.7 (C-3¹), 68.7 (C-4^{N1}), 68.7 (C-4^{N2}), 68.7 (C-4^{N1'}), 68.5 (C-3⁴), 67.8 (C-4^{4'}), 65.9 (C-6³), 63.6 (C-6⁴), 63.6 (C-6^{4'}), 63.1 (C-9^{N1}), 63.1 (C-9^{N2}), 63.1 (C-9^{N1'}), 62.1 (C-6^{G1}), 62.1 (C-6^{G2}), 62.1 (C-6^{G1'}), 61.8 (C-6^B), 60.5 (C-6⁵), 60.5 (C-6⁶), 60.5 (C-6^{5'}), 60.4 (C-6¹),

60.3 (C-6²), 56.5 (C-2^B), 55.4 (C-2²), 55.2 (C-2⁵), 55.2 (C-2⁶), 55.1 (C-2⁵), 52.2 (C-5^{N1}), 52.2 (C-5^{N2}), 52.2 (C-5^{N1'}), 51.8 (C-2¹), 40.5 (C-3^{N1}), 40.5 (C-3^{N2}), 40.5 (C-3^{N1'}), 39.2 (NCH₃), 38.6 (CH₂N), 22.8, 22.7, 22.3 (NAc).

*N*¹-(2-Aminoethoxy)-*N*¹-methyl-amino *O*-(5-acetamido-3,5-didesoxy- α -D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosylsäure)-(2 \rightarrow 6)-*O*- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(5-acetamido-3,5-didesoxy- α -D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosylsäure)-(2 \rightarrow 6)-*O*- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-*O*- α -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-*O*-(5-acetamido-3,5-didesoxy- α -D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosylsäure)-(2 \rightarrow 6)-*O*- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-[*O*-(5-acetamido-3,5-didesoxy- α -D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosylsäure)-(2 \rightarrow 6)-*O*- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)]-*O*- α -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 6)]-*O*- β -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosid **123**

(α -Neu5Ac-2,6- β -Gal-1,4- β -GlcNAc-1,2-[α -Neu5Ac-2,6- β -Gal-1,4- β -GlcNAc-1,4]- α -Man-1,3-[β -GlcNAc-1,4]-{ α -Neu5Ac-2,6- β -Gal-1,4- β -GlcNAc-1,2-[α -Neu5Ac-2,6- β -Gal-1,4- β -GlcNAc-1,6]- α -Man-1,6}- β -Man-1,4- β -GlcNAc-1,4- β -GlcNAc-N(CH₃)O(CH₂)₂NH₂)

3.8 mg (1.5 μ mol) Oligosaccharid **114** werden in 355 μ L 100 mM Natriumkacodylat-Puffer bei pH 6.4 gelöst. Der Puffer enthält 0.4 mg BSA, 5.6 mg (8.8 μ mol, 5.9 eq) CMP-NeuAc **110**, 10 mM Mangan(II)-chlorid, 20 U alkalische Phosphatase (E. C. 3.1.3.1) und 283 mU β -Galactosid- α -2,6-sialyltransferase (E. C. 2.4.99.1). Die Reaktion wird 48 h bei 37 °C inkubiert. Nach Ende der Reaktion werden die Proteine mittels Festphasen-Extraktion entfernt (Carbograph Columns; Kartuschengröße: 150 mg; Waschen mit 3 mL Wasser; Elution mit 4.0 mL 25 % Acetonitril mit 0.05 % TFA). Es wird ein weiterer Reinigungsschritt durch Gelfiltration angeschlossen (Purifier; Hi Load Superdex 30; Säulengröße: 16 \times 600 mm; Eluent: 0.1 M Ammoniumhydrogencarbonat-Lösung; Fluss: 0.75 mL/min; Detektion: 214, 254 und 280 nm, Retentionszeit: 83.5 min). Für diesen werden auch die Waschlösungen der Festphasenextraktion eingesetzt.

Ausbeute: 1.7 mg (0.4 μmol nach Hi Load Superdex 30; prozentuale Ausbeute nicht bestimmt; Produkt enthält ca. 20 % Halbacetal),

$R_f = 0.11$ (*iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 1.5:1),

$[\alpha]_D^{24} = -11.0$ (0.2, Wasser),

$\text{C}_{145}\text{H}_{239}\text{N}_{13}\text{O}_{103}$ (3812.5),

ESI-MS (100 % Wasser): $M_{\text{ber}} = 3810.4$ $M_{\text{gef}} = 1269.4$ ($\text{M}-3\text{H}$) $^{3-}$, 1905.0 ($\text{M}-2\text{H}$) $^{2-}$,

$^1\text{H-NMR}$ (360 MHz, D_2O): $\delta = 4.92$ (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, $\text{H}-1^4$), 4.78 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, $\text{H}-1^4$), 4.54 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, $\text{H}-1^3$), 4.49 (d, $J_{1,2} = 7.0$ Hz, 1H, $\text{H}-1^5$), 4.47-4.38 (m, 4H, $\text{H}-1^2$, $\text{H}-1^5$, $\text{H}-1^6$, $\text{H}-1^7$), 4.35 (d, $J_{1,2} = 8.2$ Hz, 1H, $\text{H}-1^{\text{B}}$), 3.32-3.24 (m, 4H, $\text{H}-1^{\text{G}1}$, $\text{H}-1^{\text{G}2}$, $\text{H}-1^{\text{G}1'}$, $\text{H}-1^{\text{G}3'}$), 4.16-3.96 (m, 6H, $\text{H}-2^4$, $\text{H}-6\text{a}^4$, $\text{H}-1^1$, $\text{H}-2^3$, $\text{H}-4^3$, $\text{H}-2^4$), 3.94-3.30 (m, 105H, $\text{H}-2^1$, $\text{H}-3^4$, $\text{H}-6\text{a}^5$, $\text{H}-6\text{a}^6$, $\text{H}-6\text{a}^7$, $\text{H}-6\text{a}^4$, $\text{H}-9\text{a}^{\text{N}1}$, $\text{H}-9\text{a}^{\text{N}2}$, $\text{H}-9\text{a}^{\text{N}1'}$, $\text{H}-9\text{a}^{\text{N}3'}$, $\text{H}-6\text{a}^5$, $\text{H}-3^1$, $\text{H}-3^2$, $\text{H}-6^{\text{N}1}$, $\text{H}-6^{\text{N}2}$, $\text{H}-6^{\text{N}1'}$, $\text{H}-6^{\text{N}3'}$, $\text{H}-6\text{a}^{\text{G}1}$, $\text{H}-6\text{a}^{\text{G}2}$, $\text{H}-6\text{a}^{\text{G}1'}$, $\text{H}-6\text{a}^{\text{G}3'}$, $\text{H}-8^{\text{N}1}$, $\text{H}-8^{\text{N}2}$, $\text{H}-8^{\text{N}1'}$, $\text{H}-8^{\text{N}3'}$, $\text{H}-6\text{a}^3$, $\text{H}-6\text{b}^5$, $\text{H}-6\text{b}^6$, $\text{H}-6\text{b}^7$, $\text{H}-6\text{b}^3$, $\text{H}-3^{\text{G}1}$, $\text{H}-3^{\text{G}2}$, $\text{H}-3^3$, $\text{H}-3^{\text{G}1'}$, $\text{H}-3^{\text{G}3'}$, $\text{H}-2^2$, $\text{H}-5^{\text{N}1}$, $\text{H}-5^{\text{N}2}$, $\text{H}-5^{\text{N}1'}$, $\text{H}-5^{\text{N}3'}$, $\text{H}-6\text{b}^5$, $\text{H}-6\text{a}^{\text{B}}$, $\text{H}-3^4$, $\text{H}-5^4$, $\text{H}-5^4$, $\text{H}-2^5$, $\text{H}-2^6$, $\text{H}-2^7$, $\text{H}-6\text{a}^2$, $\text{H}-4^2$, $\text{H}-6\text{b}^2$, CH_2O , $\text{H}-3^5$, $\text{H}-4^5$, $\text{H}-6\text{b}^4$, $\text{H}-2^5$, $\text{H}-2^{\text{B}}$, $\text{H}-6\text{a}^1$, $\text{H}-3^6$, $\text{H}-3^7$, $\text{H}-3^5$, $\text{H}-4^6$, $\text{H}-4^7$, CH_2O , $\text{H}-3^{\text{B}}$, $\text{H}-5^1$, $\text{H}-5^2$, $\text{H}-5^3$, $\text{H}-5^{\text{G}1}$, $\text{H}-5^{\text{G}2}$, $\text{H}-5^{\text{G}1'}$, $\text{H}-5^{\text{G}3'}$, $\text{H}-6\text{b}^{\text{G}1}$, $\text{H}-6\text{b}^{\text{G}2}$, $\text{H}-6\text{b}^{\text{G}1'}$, $\text{H}-6\text{b}^{\text{G}3'}$, $\text{H}-6\text{b}^1$, $\text{H}-4^1$, $\text{H}-4^5$, $\text{H}-4^4$, $\text{H}-4^{\text{N}1}$, $\text{H}-4^{\text{N}2}$, $\text{H}-4^{\text{N}1'}$, $\text{H}-4^{\text{N}3'}$, $\text{H}-6\text{b}^{\text{B}}$, $\text{H}-9\text{b}^{\text{N}1}$, $\text{H}-9\text{b}^{\text{N}2}$, $\text{H}-9\text{b}^{\text{N}1'}$, $\text{H}-9\text{b}^{\text{N}3'}$, $\text{H}-7^{\text{N}1}$, $\text{H}-7^{\text{N}2}$, $\text{H}-7^{\text{N}1'}$, $\text{H}-7^{\text{N}3'}$, $\text{H}-6\text{b}^4$, $\text{H}-4^{\text{G}1}$, $\text{H}-4^{\text{G}2}$, $\text{H}-4^{\text{G}1'}$, $\text{H}-4^{\text{G}3'}$, $\text{H}-2^{\text{G}1}$, $\text{H}-2^{\text{G}2}$, $\text{H}-2^{\text{G}1'}$, $\text{H}-2^{\text{G}3'}$, $\text{H}-5^5$, $\text{H}-5^6$, $\text{H}-5^7$), 3.30-3.17 (m, 3H, $\text{H}-4^4$, $\text{H}-5^5$, $\text{H}-5^{\text{B}}$), 3.14 (dd, $J_{3,4} = 8.9$ Hz, $J_{4,5} = 8.6$ Hz, 1H, $\text{H}-4^{\text{B}}$), 3.08-3.05 (m, 2H, CH_2N), 2.62 (s, 3H, NCH_3), 2.57-2.47 (m, 4H, $\text{H}-3\text{eq}^{\text{N}1}$, $\text{H}-3\text{eq}^{\text{N}2}$, $\text{H}-3\text{eq}^{\text{N}1'}$, $\text{H}-3\text{eq}^{\text{N}3'}$), 1.99-1.82 (m, 33H, NAc), 1.62-1.50 (m, 4H, $\text{H}-3\text{ax}^{\text{N}1}$, $\text{H}-3\text{ax}^{\text{N}2}$, $\text{H}-3\text{ax}^{\text{N}1'}$, $\text{H}-3\text{ax}^{\text{N}3'}$),

$^{13}\text{C-NMR}$ (90 MHz, D_2O , Verschiebungen wurden aus einem HSQC-Spektrum ermittelt): $\delta = 103.9$ ($\text{C}-1^{\text{G}1}$), 103.9 ($\text{C}-1^{\text{G}2}$), 103.9 ($\text{C}-1^{\text{G}1'}$), 103.9 ($\text{C}-1^{\text{G}3'}$), 101.9 ($\text{C}-1^2$), 101.9 ($\text{C}-1^6$), 101.9 ($\text{C}-1^7$), 100.3 ($\text{C}-1^3$), 100.0 ($\text{C}-1^{\text{B}}$), 99.9 ($\text{C}-1^5$), 99.9 ($\text{C}-1^5$), 99.8 ($\text{C}-1^4$), 98 ($\text{C}-1^4$), 92.0 ($\text{C}-1^1$), 81.1 ($\text{C}-4^5$), 80.7 ($\text{C}-4^5$), 80.7 ($\text{C}-4^6$), 80.7 ($\text{C}-4^7$), 79.4 ($\text{C}-4^1$), 79.4 ($\text{C}-4^4$), 79.3 ($\text{C}-3^3$), 78.5 ($\text{C}-4^2$), 77.0 ($\text{C}-5^5$), 77.0 ($\text{C}-5^{\text{B}}$), 76.8 ($\text{C}-2^4$), 76.5 ($\text{C}-5^5$), 76.5 ($\text{C}-5^6$), 76.5 ($\text{C}-5^7$), 76.2 ($\text{C}-2^4$), 74.8 ($\text{C}-5^{\text{G}1}$), 74.8 ($\text{C}-5^{\text{G}2}$), 74.8 ($\text{C}-5^{\text{G}1'}$), 74.8 ($\text{C}-5^{\text{G}3'}$), 74.8 ($\text{C}-2^{\text{G}1}$), 74.8 ($\text{C}-2^{\text{G}2}$), 74.8 ($\text{C}-2^{\text{G}1'}$), 74.8 ($\text{C}-2^{\text{G}3'}$), 74.0 ($\text{C}-3^{\text{G}1}$), 74.0 ($\text{C}-3^{\text{G}2}$), 74.0 ($\text{C}-3^{\text{G}1'}$), 74.0 ($\text{C}-3^{\text{G}3'}$), 73.9 ($\text{C}-5^1$), 73.9 ($\text{C}-5^2$), 73.8 ($\text{C}-5^3$), 72.7 (CH_2O), 72.7 ($\text{C}-3^5$), 72.7 ($\text{C}-3^5$), 72.7 ($\text{C}-3^6$), 72.7 ($\text{C}-3^7$), 72.7 ($\text{C}-3^{\text{B}}$), 72.5 ($\text{C}-5^4$), 72.5 ($\text{C}-5^4$), 72.1 ($\text{C}-6^{\text{N}1}$),

72.1 (C-6^{N2}), 72.1 (C-6^{N1'}), 72.1 (C-6^{N3'}), 72.1 (C-8^{N1}), 72.1 (C-8^{N2}), 72.1 (C-8^{N1'}),
 72.1 (C-8^{N3'}), 71.4 (C-4^B), 71.1 (C-4^{G1}), 71.1 (C-4^{G2}), 71.1 (C-4^{G1'}), 71.1 (C-4^{G3'}),
 71.6 (C-6⁴), 71.6 (C-4³), 71.6 (C-2³), 69.7 (C-3⁴), 68.7 (C-3¹), 68.7 (C-3²), 68.7 (C-7^{N1}),
 68.7 (C-7^{N2}), 68.7 (C-7^{N1'}), 68.7 (C-7^{N3'}), 68.5 (C-3⁴), 68.5 (C-4^{N1}), 68.5 (C-4^{N2}),
 68.5 (C-4^{N1'}), 68.5 (C-4^{N3'}), 67.8 (C-4⁴), 65.6 (C-6³), 63.6 (C-9^{N1}), 63.6 (C-9^{N2}),
 63.6 (C-9^{N1'}), 63.6 (C-9^{N3'}), 63.0 (C-6^{G1}), 63.0 (C-6^{G2}), 63.0 (C-6^{G1'}), 63.0 (C-6^{G3'}),
 62.0 (C-6⁴), 61.9 (C-6^B), 60.6 (C-6⁵), 60.6 (C-6⁶), 60.6 (C-6^{5'}), 60.6 (C-6^{7'}), 60.4 (C-6¹),
 60.3 (C-6²), 56.6 (C-2^B), 55.5 (C-2²), 55.5 (C-2⁵), 55.5 (C-2⁶), 55.5 (C-2⁷), 55.0 (C-2^{5'}),
 52.2 (C-5^{N1}), 52.2 (C-5^{N2}), 52.2 (C-5^{N1'}), 52.2 (C-5^{N3'}), 51.7 (C-2¹), 40.5 (C-3^{N1}),
 40.5 (C-3^{N2}), 40.5 (C-3^{N1'}), 40.5 (C-3^{N3'}), 39.2 (NCH₃), 38.7 (CH₂N), 23.0, 22.7, 22.4 (NAc).

9.26 Versuche zu Kapitel 6.1

O-(4,6-*O*-Benzyliden- β -*D*-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2-acetamido-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy- β -*D*-glucopyranosylazid **124**

(β -BzdnMan-1,4- β -Bzl₂GlcNAc-1,4- β -Bzl₂GlcNAc-N₃)

200 mg (0.16 mmol) Core-Trisaccharid **A** werden in 26 mL *n*-Butanol gelöst und mit 6.5 mL (97.2 mmol, 607.5 eq) Ethylendiamin versetzt. Die Lösung wird 20 h bei 80 °C gerührt (DC: Dichlormethan/Methanol, 15:1). Nach vollständigem Reaktionsumsatz wird die Lösung im Vakuum eingeeengt, der Rückstand dreimal mit Toluol codestilliert, im Hochvakuum getrocknet, in 20 mL Essigsäureanhydrid/Pyridin, 1:2 gelöst und 3 h bei Zimmertemperatur gerührt (DC: Dichlormethan/Methanol, 15:1). Die Lösung wird im Vakuum eingeeengt, der Rückstand dreimal mit Toluol codestilliert, im Hochvakuum getrocknet, in 13 mL Methylaminlösung (40 % in Wasser) suspendiert. Zur besseren Löslichkeit werden 10 mL Methanol zugegeben und 13 h bei Zimmertemperatur gerührt. Nach Reaktionsende (DC: Dichlormethan/Methanol, 15:1) wird im Vakuum eingeeengt, dreimal mit Toluol codestilliert und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Es werden 740 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Flashchromatographie (Dichlormethan/ Methanol, 20:1; Säulendurchmesser: 30 mm;

Füllhöhe: 13 cm) gereinigt werden. Zur weiteren Reinigung wird das Produkt dreimal in Methanol suspendiert, abzentrifugiert, der Überstand abgenommen und verworfen.

Ausbeute: 127 mg (0.12 mmol, 74.9 %),

R_f (Amin) = 0.40 (Dichlormethan/Methanol, 15:1),

R_f (Peracetat) = 0.46 (Dichlormethan/Methanol, 15:1),

R_f (Produkt **124**) = 0.18 (Dichlormethan/Methanol, 15:1),

$[\alpha]_D^{25} = -45.4$ (0.5, Dichlormethan),

$C_{57}H_{65}N_5O_{15}$ (1060.2),

ESI-MS (50 % Acetonitril): $M_{ber} = 1059.5$ $M_{gef} = 1060.5$ (M+H)⁺,
 1082.6 (M+Na)⁺,
 1098.5 (M+K)⁺,

¹H-NMR (360 MHz, [D6]-DMSO): $\delta = 8.03$ (d, $J_{NH,2} = 8.9$ Hz, 2H, NH), 7.49-7.13 (m, 25H, Ar), 5.51 (s, 1H, Ph-CH), 5.00-4.89 (m, 3H, CH₂O, CH₂O, OH-3³), 4.86 (d, $J_{OH,2} = 4.3$ Hz, 1H, OH-2³), 4.66-4.41 (m, 8H, CH₂O, H-1², CH₂O, H-1¹, CH₂O, H-1³, CH₂O, CH₂O), 4.38 (d, $J_{gem} = 12.5$ Hz, 1H, CH₂O), 3.96-3.42 (m, 16H, H-6a³, H-4¹, H-4², H-6a¹, H-2¹, H-2³, H-6b¹, H-4³, H-6a², H-3², H-2², H-5¹, H-3¹, H-6b², H-6b³, H-3³), 3.27-3.20 (m, 1H, H-5²), 3.07-2.99 (m, 1H, H-5³), 1.81 (s, 3H, NAc), 1.79 (s, 3H, NAc),

¹³C-NMR (90 MHz, [D6]-DMSO): $\delta = 169.3, 169.2$ (C=O NAc), 139.3, 139.2, 138.5, 138.3, 137.9 (C-1 Ar), 128.7, 128.2, 127.7, 127.2, 127.0, 126.3 (Ar), 101.0 (Ph-CH), 100.6 (C-1³), 100.0 (C-1²), 88.0 (C-1¹), 80.5 (C-3¹), 79.9 (C-3²), 78.3 (C-4³), 77.0 (C-4²), 76.3 (C-5¹), 74.9 (C-4¹), 74.4 (C-5²), 73.6 (CH₂O), 73.4 (CH₂O), 72.2 (CH₂O), 71.9 (CH₂O), 70.9 (C-2³), 70.0 (C-3³), 68.5 (C-6²), 68.1 (C-6¹), 67.9 (C-6³), 66.8 (C-5³), 55.3 (C-2²), 53.6 (C-2¹), 22.9, 22.8 (NAc).

*N*²-*tert*-Butyloxycarbonyl-*L*-asparaginsäure-*l*-methyramid **126**

(Boc-Asp(OH)-NHMe)

200 mg (0.69 mmol) Boc-AspOBzl **125** werden in 4 mL absolutem Methanol gelöst und unter Wasserbadkühlung mit 4 mL Methylamin-Lösung (40 % in Wasser) versetzt. Die Lösung wird 2 h gerührt. Im Anschluss wird das Lösungsmittel durch Gefriertrocknung entfernt und der Rückstand mittels Ionentauschersäule (DOWEX 50WX8-100 H⁺-Form; Säulendurchmesser: 15 mm; Füllhöhe: 10 cm; Elution mit Wasser) gereinigt.

Ausbeute: 141.7 mg (0.58 mmol, 84.1 %),

$R_f = 0.35$ (Dichlormethan/Methanol, 10:1 mit 0.1 % Essigsäure),

$[\alpha]_D^{24} = +6.3$ (0.9, Wasser),

C₁₀H₁₈N₂O₅ (246.3),

IR (KBr): $\tilde{\nu} = 3373$ (NHCO), 3093 (COOH), 2978 (CH₃), 2740, 2667, 2584 (NCR), 1732, 1695, 1643 (C=O),

ESI-MS (100 % Wasser): $M_{\text{ber}} = 246.1$ $M_{\text{gef}} = 493.2$ (2M+H)⁺,
515.2 (2M+Na)⁺,
531.2 (2M+K)⁺,

¹H-NMR (360 MHz, D₂O): $\delta = 12.22$ (s, 1H, CO₂H), 7.72 (d, $J_{\text{NH,Me}} = 4.6$ Hz, 1H, NHMe), 6.99 (d, $J_{\text{NH},\alpha} = 8.2$ Hz, 1H, NHBoc), 4.24-4.16 (m, 1H, α CH-Asp), 2.62-2.56 (m, 1H, β CH-a-Asp), 2.55 (d, $J_{\text{NH,Me}} = 4.6$ Hz, 1H, Me), (dd, $J_{\alpha,\beta} = 8.6$ Hz, $J_{\text{gem}} = 16.1$ Hz, 1H, β CH-b-Asp), 1.36 (s, 9H, *t*Bu),

¹³C-NMR (90 MHz, D₂O): $\delta = 171.9$, 171.3, 155.1 (C=O), 78.2 (qC *t*Bu), 51.0 (C- α Asp), 36.5 (C- β Asp), 28.2 (*t*Bu), 25.8 (Me).

*N*⁴-[O-(4,6-O-Benzyliden- β -D-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-O-(2-acetamido-3,6-di-O-benzyl-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2-acetamido-3,6-di-O-benzyl-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl]-*N*²-tert.butylloxycarbonyl-L-asparaginsäure-1-methylamid **127**

(Boc-Asn(BzdnBzl₄CoreTris- β)-NHMe)

25 mg (23.6 μmol) Trisaccharid **124** werden unter Argonatmosphäre in 2 mL absolutem Methanol unter Argonatmosphäre suspendiert und mit 131 μL (0.94 mmol, 39.8 eq) Triethylamin und 473 μL (4.72 mmol, 200.0 eq) 1,3-Propandithiol versetzt. Die erhaltene Lösung wird 4 h bei Zimmertemperatur gerührt. Nach Ende der Reaktion (DC: Dichlormethan/Methanol, 15:1) wird das Lösungsmittel unter Argonatmosphäre eingengt und das Amin im Hochvakuum getrocknet. 116.1 mg (0.47 mmol, 19.9 eq) Asparaginsäureamid **126** und 141.1 mg (0.47 mmol, 19.9 eq) DEPBT werden in 1.0 mL absolutem Dichlormethan und 202 μL (1.18 mmol, 50.0 eq) *N,N*-Diisopropylethylamin gelöst und 10 min voraktiviert. Die Lösung des aktivierten Asparaginsäurederivats wird zum Amin gegeben und unter Argonatmosphäre 40 min bei Zimmertemperatur gerührt. Nach vollständigem Reaktionsumsatz (DC: Dichlormethan/Methanol, 10:1) wird im Vakuum eingengt und im Hochvakuum getrocknet. Der Rückstand wird in 2.5 mL absolutem Methanol gelöst. Es werden unter Wasserbadkühlung 2.5 mL Methylamin-Lösung (40 % in Wasser) zugegeben und 1 h gerührt. Nach Reaktionsende (DC: Dichlormethan/Methanol, 10:1) wird im Vakuum eingengt und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Das Rohprodukt wird mittels Flashchromatographie (Dichlormethan/Methanol, 20:1; Säulendurchmesser: 25 mm; Füllhöhe: 10 cm) gereinigt. Hieraus ergeben sich 64.3 mg Rohprodukt die mittels RP-HPLC gereinigt werden (Basic; Agilent C8 XBD; Säulengröße: 15 \times 4.65 mm; Eluent A: Wasser (0.1 % Ameisensäure); Eluent B: Acetonitril (0.1 % Ameisensäure); linearer Gradient 50 % B \rightarrow 65 % in 3.5 CV; Fluss: 1 mL/min; Detektion: 214, 254 und 280 nm; Retentionszeit: 8.7 min).

Ausbeute: 8.2 mg (6.5 μmol , 27.5 %),

R_f (Glycosylamin) = 0.30 (Dichlormethan/Methanol, 10:1),

R_f (Glycosylaminosäure) = 0.47 (Dichlormethan/Methanol, 10:1),

R_f (Produkt **127**) = 0.36 (Dichlormethan/Methanol, 10:1),

$[\alpha]_D^{23} = -17.7$ (0.3, Methanol),

$\text{C}_{67}\text{H}_{83}\text{N}_5\text{O}_{19}$ (1262.4),

ESI-MS (50 % Acetonitril): $M_{\text{ber}} = 1261.6$ $M_{\text{gef}} = 1262.5$ (M+H)⁺,
1284.6 (M+Na)⁺,

¹H-NMR (360 MHz, [D₆]-DMSO): $\delta = 8.29$ (d, $J_{\text{NH},1} = 8.7$ Hz, 1H, NH), 8.01 (d, $J_{\text{NH},2} = 8.4$ Hz, 1H, NHAc²), 7.85 (d, $J_{\text{NH},2} = 8.9$ Hz, 1H, NHAc¹), 7.63 (d, $J_{\text{NH},\text{Me}} = 4.21$ Hz, 1H, NHMe), 7.44-7.13 (m, 15H, Ar), 6.60 (d, $J_{\text{NH},\alpha} = 8.4$ Hz, 1H, NHBoc), 5.50 (s, 1H,

Ph-CH), 4.99-4.88 (m, 4H, CH₂O, H-1¹, CH₂O, OH-3³), 4.81 (d, $J_{\text{OH},2} = 4.5$ Hz, 1H, OH-2³), 4.68-4.36 (m, 8H, H-1², H-1³, CH₂O, CH₂O, CH₂O, CH₂O, CH₂O, CH₂O), 4.23-4.14 (m, 1H, α CH-Asn), 3.95-3.85 (m, 2H, H-6a³, H-4¹), 3.83-3.42 (m, 13H, H-4², H-2¹, H-6a¹, H-4³, H-2³, H-3², H-6b¹, H-3¹, H-2², H-6a², H-6b³, H-6b², H-3³), 3.42-3.17 (m, 2H, H-5¹, H-5²), 3.08-2.99 (m, 1H, H-5³), 2.54 (d, $J_{\text{NH},\text{Me}} = 4.2$ Hz, 3H, Me), 2.46-2.28 (m, 2H, β CH-a-Asn, β CH-b-Asn), 1.82 (s, 3H, NAc), 1.76 (s, 3H, NAc), 1.35 (s, 9H, *t*Bu),

¹³C-NMR (90 MHz, [D₆]-DMSO): $\delta = 171.6, 169.9, 169.4, 165.8, 165.1$ (C=O), 139.3, 138.5, 138.4, 137.9 (C-1 Ar), 128.7, 128.2, 127.9, 127.8, 127.6, 127.3, 127.2, 127.1, 127.0, 126.9, 126.3 (Ar), 100.8 (Ph-CH), 100.4 (C-1³), 99.6 (C-1²), 81.4 (C-3¹), 79.6 (C-3²), 78.2 (qC *t*Bu), 78.1 (C-1¹ β , $^1J_{\text{C-1,H-1}} = 156.6$ Hz), 78.1 (C-4³), 76.8 (C-4²), 75.9 (C-5¹), 74.4 (C-4¹), 74.2 (C-5²), 73.5 (CH₂O), 73.3 (CH₂O), 72.2 (CH₂O), 71.8 (CH₂O), 71.0 (C-2³), 70.0 (C-3³), 68.6 (C-6²), 67.9 (C-6¹), 66.8 (C-6³), 66.8 (C-5³), 55.4 (C-2²), 53.3 (C-2¹), 50.9 (C- α Asn), 37.4 (C- β Asn), 28.1 (*t*Bu), 25.7 (Me), 22.9, 22.8 (NAc).

*N*⁴-[O-(4,6-O-Benzyliden- β -D-mannopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-O-(2-acetamido-3,6-di-O-benzyl-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2-acetamido-3,6-di-O-benzyl-2-desoxy- α -D-glucopyranosyl)]-*N*²-tert.butylloxycarbonyl-L-asparaginsäure-1-methylamid **128**

(Boc-Asn(BzdnBzl₄CoreTris- α)-NHMe)

Das α -Anomer **128** wird in der oben beschriebenen Reaktion erhalten und kann mittels RP-HPLC vom β -Anomer **127** abgetrennt werden (Retentionszeit: 10.1 min).

Ausbeute: 1.1 mg (0.87 μ mol, 3.7 %),

$R_f = 0.37$ (Dichlormethan/Methanol, 10:1),

$[\alpha]_D^{21} = -17.3$ (0.1, Methanol),

C₆₇H₈₃N₅O₁₉ (1262.4),

ESI-MS (50 % Acetonitril): $M_{\text{ber}} = 1261.6$ $M_{\text{gef}} = 1262.5$ (M+H)⁺,
1284.6 (M+Na)⁺,

$^1\text{H-NMR}$ (360 MHz, $[\text{D}_6]\text{-DMSO}$): $\delta = 8.41$ (d, $J_{1,\text{NH}} = 9.6$ Hz, 1H, NH), 7.98 (d, $J_{\text{NH},2} = 7.6$ Hz, 1H, NHAc^2), 7.79-7.67 (m, 2H, NHMe, NHAc^1), 7.44-7.15 (m, 15H, Ar), 6.85 (d, $J_{\text{NH},\alpha} = 8.3$ Hz, 1H, NHBoc), 5.50 (s, 1H, Ph-CH), 5.33 (dd, $J_{1,2} = 4.9$ Hz, $J_{1,\text{NH}} = 9.1$ Hz, 1H, H-1^1), 5.01-4.98 (m, 3H, CH_2O , CH_2O , OH-3^3), 4.83 (br, 1H, OH-2^3), 4.67-4.42 (m, 7H, H-1^2 , CH_2O , H-1^3 , CH_2O , CH_2O , CH_2O , CH_2O), 4.38 (d, $J_{\text{gem}} = 12.4$ Hz, CH_2O), 4.22-4.13 (m, 1H, $\alpha\text{CH-Asn}$), 4.07-3.98 (m, 1H, H-2^1), 3.95-3.86 (m, 2H, H-6a^3 , H-4^1), 3.84-3.64 (m, 8H, H-3^1 , H-4^2 , H-3^2 , H-2^3 , H-6a^1 , H-6a^2 , H-4^3 , H-2^2), 3.62-3.42 (m, 4H, H-6b^1 , H-6b^2 , H-6b^3 , H-3^3), 3.30-3.25 (m, 1H, H-5^2), 3.08-2.99 (m, 2H, H-5^3 , H-5^1), 2.55 (d, $J_{\text{NH},\text{Me}} = 4.6$ Hz, 3H, Me), 2.55-2.43 (m, 2H, $\beta\text{CH-a-Asn}$, $\beta\text{CH-b-Asn}$), 1.81 (s, 3H, NAc), 1.78 (s, 3H, NAc), 1.35 (s, 9H, *t*Bu),

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $[\text{D}_6]\text{-DMSO}$): $\delta = 171.3$, 170.1, 169.9, 169.8 (C=O), 140.1, 139.3, 139.1 (C-1 Ar), 129.0, 128.9, 128.7, 128.6, 128.5, 128.1, 128.0, 127.9, 127.7, 127.1 (Ar), 100.6 (Ph-CH), 100.3 (C-1³), 99.7 (C-1²), 78.9 (qC *t*Bu), 78.0 (C-4³), 77.1 (C-4²), 76.7 (C-3²), 76.7 (C-3¹), 74.9 (C-4¹), 74.1 (C-5²), 73.6 (C-1¹), 73.2 (CH_2O), 72.7 (CH_2O), 71.9 (CH_2O), 71.6 (CH_2O), 70.7 (C-2³), 69.7 (C-3³), 68.3 (C-6²), 67.7 (C-6¹), 67.5 (C-6³), 66.4 (C-5³), 66.4 (C-5¹), 54.8 (C-2²), 51.1 (C- α Asn), 50.3 (C-2¹), 37.5 (C- β Asn), 29.0 (*t*Bu), 25.3 (Me), 22.6, 22.3 (NAc).

*N*⁴-[*O*- β -D-Mannopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)]-*N*²-acetyl-L-asparaginsäure-1-methylamid **129**

(Ac-Asn(CoreTris- β)-NHMe)

23 mg Palladium(II)-oxid-Hydrat werden in 0.5 mL absolutem Methanol und 50 μL Essigsäure suspendiert und unter Wasserstoffatmosphäre gerührt. Nach 120 min wird eine Lösung von 10.6 mg (8.4 μmol) Glycosylaminosäure **127** in 1.2 mL absolutem Methanol und 120 μL Essigsäure zur Katalysatorsuspension gegeben. Die Reaktion wird 2 d unter Wasserstoffatmosphäre gerührt. Nach vollständiger Umsetzung (DC: *iso*-Propanol/ 1 M Ammoniumacetat, 4:1) wird der Katalysator abzentrifugiert und je dreimal mit Methanol und Wasser gewaschen. Die Lösungen werden vereint, im Vakuum eingeeengt und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Es werden 7 mg Rohprodukt erhalten, die ohne weitere Reinigung nach

Überprüfung mittels NMR- und Massenspektroskopie zur weiteren Synthese eingesetzt werden.

$R_f = 0.60$ (*iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 4:1),

ESI-MS (100 % Wasser): $M_{\text{ber}} = 813.4$ $M_{\text{gef}} = 814.3$ (M+H)⁺,
836.3 (M+Na)⁺,
1649.8 (2M+Na)⁺,

¹H-NMR (360 MHz, D₂O): $\delta = 4.98$ (d, $J_{1,2} = 9.5$ Hz, 1H, H-1¹), 4.61 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1³), 4.45 (d, $J_{1,2} = 7.5$ Hz, 1H, H-1²), 4.28-4.20 (m, 1H, α CH-Asn), 3.90 (dd, $J_{1,2} < 1$ Hz, $J_{2,3} = 3.1$ Hz, 1H, H-2³), 3.81-3.36 (m, 16H, H-6a³, H-2¹, H-6a¹, H-5¹, H-2², H-6a², H-5², H-3¹, H-6b³, H-3², H-6b², H-3³, H-6b¹, H-4², H-4³, H-4¹), 3.30-3.22 (m, 1H, H-5³), 2.65-2.33 (m, 5H, β CH-a-Asn, Me, β CH-b-Asn), 1.90 (s, 3H, NAc), 1.86 (s, 3H, NAc), 1.26 (s, 9H, *t*Bu),

¹³C-NMR (90 MHz, D₂O): $\delta = 174.4$, 174.2 (C=O), 100.9 (C-1²), 99.7 (C-1³), 78.4 (C-3²), 78.4 (C-3¹), 78.0 (C-1¹), 76.1 (C-5³), 75.9 (C-4¹), 74.3 (C-4²), 72.5 (C-3³), 71.9 (C-5¹), 71.9 (C-5²), 70.2 (C-2³), 66.2 (C-4³), 60.5 (C-6³), 59.7 (C-6²), 59.5 (C-6¹), 54.6 (C-2²), 53.4 (C-2¹), 53.3 (C- α Asn), 36.9 (C- β Asn), 27.2 (*t*Bu), 25.5 (Me), 24.5 (Cq *t*Bu), 21.7 (NAc).

Der Rückstand wird in 0.3 mL Trifluoressigsäure gelöst und 5 min bei Zimmertemperatur gerührt. Anschließend wird im Vakuum bei Zimmertemperatur eingengt und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Dieser wird in 3 mL 10 %iger Essigsäure in Wasser aufgenommen und gefriergetrocknet. Der Rückstand wird in 2 mL absolutem Methanol und 0.3 mL Wasser gelöst. Es werden 0.2 mL (2.1 mmol, 250 eq) Essigsäureanhydrid zugegeben und 90 min bei Zimmertemperatur gerührt. Nach Reaktionsende (DC: *iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 2:1) wird im Vakuum bei Zimmertemperatur eingengt und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Es werden 9.3 mg Rohprodukt erhalten, die mittels Gelfiltration gereinigt werden (LKB; Bio-Rad Bio-Gel[®] P-4 Gel Fine; Säulengröße: 750×25 mm; Eluent: Wasser; Fluss: 1.5 mL/min; Detektion: 214 und 280 nm; Retentionszeit: 165.8 min).

Ausbeute: 5.1 mg (6.7 μ mol, 80.3 %),

R_f (Amin) = 0.40 (*iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 2:1),

R_f (Produkt **129**) = 0.56 (*iso*-Propanol/1 M Ammoniumacetat, 2:1),

$[\alpha]_D^{23} = -11.2$ (0.5, Wasser),

$C_{29}H_{49}N_5O_{18}$ (755.7),

ESI-MS:

Amin (100 % Wasser): $M_{ber} = 713.3$ $M_{gef} = 736.4$ (M+Na)⁺,

Produkt **129** (100 % Wasser): $M_{ber} = 755.3$ $M_{gef} = 778.6$ (M+Na)⁺,

¹H-NMR (360 MHz, D₂O): $\delta = 4.89$ (d, $J_{1,2} = 9.7$ Hz, 1H, H-1¹), 4.61 (d, $J_{1,2} < 1$ Hz, 1H, H-1³), 4.50 (dd, $J_{\alpha,\beta} = J_{\alpha,\beta} = 6.6$ Hz, 1H, α CH-Asn), 4.45 (d, $J_{1,2} = 7.7$ Hz, 1H, H-1²), 3.90 (dd, $J_{1,2} < 1$, $J_{2,3} = 2.7$ Hz, 1H, H-2³), 3.80-3.71 (m, 2H, H-6a³, H-6a²), 3.70-3.54 (m, 8H, H-2¹, H-6a¹, H-2², H-3², H-6b², H-3¹, H-4², H-6b³), 3.54-3.37 (m, 6H, H-3³, H-4¹, H-6b¹, H-5², H-4³, H-5¹), 3.30-3.22 (m, 1H, H-5³), 2.67-2.51 (m, 5H, β CH-a-Asn, β CH-b-Asn, Me), 1.90 (s, 3H, NAc), 1.87 (s, 3H, NAc), 1.85 (s, 3H, NAc),

¹³C-NMR (90 MHz, D₂O): $\delta = 174.3$, 174.1, 173.7, 172.3, 172.2 (C=O), 100.8 (C-1²), 99.7 (C-1³), 78.2 (C-4²), 78.2 (C-4¹), 77.8 (C-1¹), 76.0 (C-5³), 75.7 (C-5¹), 74.2 (C-5²), 72.4 (C-3¹), 72.3 (C-3³), 71.5 (C-3²), 70.1 (C-2³), 66.2 (C-4³), 60.5 (C-6³), 59.7 (C-6²), 59.5 (C-6¹), 54.6 (C-2²), 53.2 (C-2¹), 49.9 (C- α Asn), 36.5 (C- β Asn), 25.5 (Me), 21.7, 21.4 (NAc).

9.27 Versuche zu Kapitel 6.2

O-(2-Acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*- α -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)]-[*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-*O*- α -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 6)]-*O*- β -D-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl-hydroxylamin **130**

(β -GlcNAc-1,2- α -Man-1,3-[β -GlcNAc-1,4]-[β -GlcNAc-1,2- α -Man-1,6]- β -Man-1,4- β -GlcNAc-1,4- β -GlcNAc-NHOH)

10. Danksagung

Mein besonderer Dank gilt

Prof. Dr. Carlo Unverzagt

für die Aufnahme in seine Arbeitsgruppe, die Stellung des interessanten und vielseitigen Themas und seine gute Betreuung mit vielen hilfreichen Tipps.

Allen Mitarbeitern des Lehrstuhls für Bioorganische Chemie danke ich für ihre Hilfsbereitschaft und das harmonische Arbeitsumfeld, das sehr zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat.

Sehr großer Dank gilt *Prof. Dr. James C. Paulson*, der es mir in seinem Labor ermöglicht hat, die synthetisierten *N*-Glycane enzymatisch zu verlängern. Ich danke allen Mitarbeitern des Core D (Glycan Array Synthesis) des Consortium for Functional Glycomics (CFG) am Scripps Research Institute, Department of Chemical Physiology and Molecular Biology in La Jolla, Kalifornien, USA für die sehr nette Aufnahme in die Arbeitsgruppe und die große Hilfsbereitschaft. Ganz besonders möchte ich mich bei *Dr. Ognian Bohorov* für die Einführung in die Arbeit mit den Glycosyltransferasen bedanken.

Dr. Gundula Voss danke ich für die stete Diskussionsbereitschaft und die vielen hilfreichen Tipps im Laboralltag.

Für die Einführung in die Arbeitsweisen der Kohlenhydratsynthese bedanke ich mich bei *Dr. Xaver Schratt* und besonders bei *Dr. Ralf Schuberth* für die Unterstützung bei meinen ersten Undecasaccharidsynthesen.

Ein weiteres Dankeschön geht an *Dr. Melanie Schnabel* und *Dr. Ralf Schuberth* für die Einführung und Unterstützung an den Bruker-NMR-Geräten, die ich von ihnen in einem hervorragenden Zustand übernehmen durfte.

Für die Aufnahme der ESI-Massenspektren und für die Durchführung der LC-MS-Analysen bedanke ich mich bei *Christian Heinlein*, *Dr. Christian Piontek*, *Claudia Pöhner*, *Sebastian Ryczek*, *Sebastian Siebenhaar* und *Dr. Daniel Varón Silva*.

Danksagung

Ich möchte mich bei *Christian Heinlein, Volker Schubert* und *Dr. Daniel Varón Silva* für die Hilfe an den HPLC-Geräten und deren Wartung bedanken.

Mein zusätzlicher Dank geht an *Dipl.-Math. (GFH) Helena Riffel, Dr. Herbert Thurn, Dr. Bernhard Winkler, Dr. Markus Püttner, Volker Schubert* und *Dr. Daniel Varón Silva* für die Unterstützung bei den Administratortätigkeiten am Lehrstuhlnetzwerk und an den Computern.

Für die Bestellung von Chemikalien und Verbrauchsmaterialien, die Destillation der Lösungsmittel, die Wartung der Laborgeräte und deren sonstige Hilfe möchte ich mich bei *Volker Schubert* und *Nikolaus Antonakis* bedanken.

Mein ganz besonderer Dank gilt *Volker Schubert* für die Herstellung von verschiedenen Saccharidbausteinen für die Synthese der komplexen *N-Glycane*.

Zusätzlicher Dank geht an *Annette Behr, Traudl Herold* und *Silvia Kastner* für die schnelle Erledigung der administrativen Aufgaben und die Süßigkeiten im Sekretariat.

Bei *Andrea Treske, Markus Weishaupt* und *Christian Heinlein* bedanke ich mich für das aufmerksame Korrekturlesen dieser Arbeit.

Bei meinen Praktikanten *Florian Unfried, Volker Bornitzky, Kristina Görmer, Nadja Nikol, Sabine Herzog, Marie Heinze, Yvonne Brede, Johannes Priller, Claudia Lindemann, Markus Weishaupt, Michaela Dörfelt, André Dehler, Matthias Pischl, Julia Wack* und *Claudia Raps* bedanke ich mich für ihr Interesse und ihren Beitrag, den sie für diese Arbeit geleistet haben.

Für die Unterstützung während meines gesamten Studiums geht ein besonders herzlicher Dank an meine Eltern *Diethard* und *Gloria Eller*, meine Brüdern *Nicolai* und *David* und an meine Großeltern *Elfriede* und *Rudolf Sünkel*. Nicht zuletzt danken möchte ich meiner lieben Freundin *Andrea Treske* für ihre Unterstützung und für das Ertragen meiner Launen an schlechteren und längeren Labortagen.

11. Literatur

- [1] a) A. Varki, *Glycobiology* **1993**, 3, 97-130.
b) J. C. Paulson, *Trends Biochem. Sci.* **1989**, 14, 272-276.
- [2] R. Apweiler, H. Hermjakob, N. Sharon, *Biochim. Biophys. Acta, Gen. Subj.* **1999**, 1473, 4-8.
- [3] R. Kornfeld, S. Kornfeld, *Ann. Rev. Biochem.* **1985**, 54, 631-664.
- [4] H. Schachter, *Biochem. Cell Biol.* **1986**, 64, 163-181.
- [5] a) A. Brik, S. Ficht, C.-H. Wong, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2006**, 10, 638-644.
b) L. Liu, C. S. Bennet, C.-H. Wong, *Chem. Commun.* **2006**, 21-33.
c) B. G. Davis, *Chem. Rev.* **2002**, 102, 579-601.
d) Y. Kajihara, N. Yamamoto, T. Miyazaki, H. Sato, *Curr. Med. Chem.* **2005**, 12, 527-550.
- [6] a) S. Mezzato, M. Schaffrath, C. Unverzagt, *Angew. Chem.* **2005**, 117, 1677-1681;
Angew. Chem. Int. Ed. **2005**, 44, 1650-1654.
b) S. Mezzato, *Dissertation* **2004**, Universität Bayreuth.
c) D. Varón Silva, *Dissertation* **2006**, Universität Bayreuth.
- [7] P. E. Dawson, T. W. Muir, I. Clark-Lewis, S. B. H. Kent, *Science* **1994**, 266, 776-779.
- [8] P. Burda, M. Aebi, *Biochim. Biophys. Acta, Gen. Subj.* **1999**, 1426, 239-257.
- [9] C. B. Hirschberg, M. D. Snider, *Annu. Rev. Biochem.* **1987**, 56, 63-87.
- [10] A. Helenius, M. Aebi, *Annu. Rev. Biochem.* **2004**, 73, 1019-1049.
- [11] R. Knauer, L. Lehle, *Biochim. Biophys. Acta, Gen. Subj.* **1999**, 1426, 259-273.
- [12] B. Imperiali, T. L. Hendrickson, *Bioorg. Med. Chem.* **1995**, 3, 1565-1578.
- [13] R. D. Marshall, *Biochem. Soc. Symp.* **1974**, 40, 17-26.
- [14] E. Bause, G. Legler, *Biochem. J.* **1981**, 195, 639-644.
- [15] B. Imperiali, K. L. Shannon, M. Unno, K. W. Rickert, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 7944-7945.
- [16] A. Abbadi, M. Mcharfi, A. Aubry, S. Prémilat, G. Boussard, M. Marraud, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 2719-2735.
- [17] a) E. S. Trombetta, *Glycobiology* **2003**, 13, 77R-91R.
b) A. Helenius, M. Aebi, *Science* **2001**, 291, 2364-2369.
- [18] G. Fischer, F. X. Schmid, *Biochemistry* **1990**, 29, 2205-2212.
- [19] E. S. Trombetta, A. Helenius, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1998**, 8, 587-592.
- [20] a) S. E. Trombetta, M. Bosch, A. J. Parodi, *Biochemistry* **1989**, 28, 8108-8116.

- b) S. E. Trombetta, A. J. Parodi, *J. Biol. Chem.* **1992**, 267, 9236-9240.
- [21] a) R. G. Spiro, *Cell. Mol. Life Sci.* **2004**, 61, 1025-1041.
 b) A. A. McCracken, J. L. Brodsky, *BioEssays* **2003**, 25, 868-877.
- [22] J. S. Bonifacino, A. M. Weissmann, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **1998**, 14, 19-57.
- [23] a) A. Dell, *Aust. J. Chem.* **2002**, 55, 27-37.
 b) H. Schachter, *Glycoconjugate J.* **2000**, 17, 465-483.
 c) H. Schachter, *Glycobiology* **1991**, 1, 453-461.
 d) I. Brockhausen, S. Narasimhan, H. Schachter, *Biochimie* **1988**, 70, 1521-1533.
 e) I. Brockhausen, J. P. Carver, H. Schachter, *Biochem. Cell Biol.* **1988**, 66, 1134-1151.
- [24] T. Watanabe, H. Ihara, E. Miyoshi, K. Honke, N. Taniguchi, T. Taguchi, *Glycobiology* **2006**, 16, 431-439.
- [25] Y. Ikeda, N. Taniguchi, *Trends Glycosci. Glycotech.* **2001**, 13, 167-176.
- [26] S. Narasimhan, *J. Biol. Chem.* **1982**, 257, 10235-10242.
- [27] A. Nishikawa, S. Fujii, T. Sugiyama, N. Hayashi, N. Taniguchi, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1988**, 152, 107-112.
- [28] P. Stanley, *Biochim. Biophys. Acta, Gen. Subj.* **2002**, 1573, 363-368.
- [29] a) S. Hakomori, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, 99, 10231-10233.
 b) N. Taniguchi, J. Gu, M. Takahashi, E. Miyoshi, *Proc. Japan Acad., Ser. B* **2004**, 80, 82-91.
- [30] M. Yoshimura, A. Nishikawa, Y. Ihara, S. Taniguchi, N. Taniguchi, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, 92, 8754-8758.
- [31] T. Isaji, J. Gu, R. Nishiuchi, Y. Zhao, M. Takahashi, E. Miyoshi, K. Honke, K. Sekiguchi, N. Taniguchi, *J. Biol. Chem.* **2004**, 279, 19747-19754.
- [32] a) A. Rebbaa, H. Yamamoto, T. Saito, E. Meuillet, P. Kim, D. S. Kersey, E. G. Bremer, N. Taniguchi, J. R. Moskal, *J. Biol. Chem.* **1997**, 272, 9275-9279.
 b) Y. Sato, M. Takahashi, Y. Shibukawa, S. K. Jain, R. Hamaoka, J.-i. Miyagawa, Y. Yaginuma, K. Honke, M. Ishikawa, N. Taniguchi, *J. Biol. Chem.* **2001**, 276, 11956-11962.
- [33] Y. Shibukawa, M. Takahashi, I. Laffont, K. Honke, N. Taniguchi, *J. Biol. Chem.* **2003**, 278, 3197-3203.
- [34] a) P. Umana, J. Jean-Mairet, R. Moudry, H. Amstutz, J. E. Bailey, *Nat. Biotechnol.* **1999**, 17, 176-180.

- b) J. Davies, L. Y. Jiang, L. Z. Pan, M. J. LaBarre, D. Anderson, M. Reff, *Biotechnol. Bioeng.* **2001**, *74*, 288-294.
- c) R. L. Shields, A. K. Namenuk, K. Hong, Y. G. Meng, J. Rae, J. Briggs, D. Xie, J. Lai, A. Stadlen, B. Li, J. A. Fox, L. G. Presta, *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 6591-6604.
- d) T. Shinkawa, K. Nakamura, N. Yamane, E. Shoji-Hosaka, Y. Kanda, M. Sakurada, K. Uchida, H. Anazawa, M. Satoh, M. Yamasaki, N. Hanai, K. Shitara, *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 3466-3473.
- [35] a) E. Staudacher, F. Altmann, I. B. H. Wilson, L. März, *Biochim. Biophys. Acta.* **1999**, *1473*, 216-236.
- b) A. Kobata, *Eur. J. Biochem.* **1992**, *209*, 483-501.
- [36] T. Noronkoski, I. Mononen, *Glycobiology* **1997**, *7*, 217-220.
- [37] B. Ma, J. L. Simala-Grant, D. E. Taylor *Glycobiology* **2006**, *16*, 158R-184R.
- [38] a) K. Noda, E. Miyoshi, N. Uozumi, S. Yanagidani, Y. Ikeda, C.-x. Gao, K. Suzuki, H. Yoshihara, M. Yoshikawa, K. Kawano, N. Hayashi, M. Hori, N. Taniguchi, *Hepatology* **1998**, *28*, 944-952.
- b) N. Okuyama, Y. Ide, M. Nakano, T. Nakagawa, K. Yamanaka, K. Moriwaki, K. Murata, H. Ohigashi, S. Yokoyama, H. Eguchi, O. Ishikawa, T. Ito, M. Kato, A. Kasahara, S. Kawano, J. Gu, N. Taniguchi, E. Miyoshi, *Int. J. Cancer* **2006**, *118*, 2803-2808.
- c) T. Takahashi, Y. Ikeda, E. Miyoshi, Y. Yaginuma, M. Ishikawa, N. Taniguchi, *Int. J. Cancer* **2000**, *88*, 914-919.
- [39] a) V. Y. Dudkin, J. S. Miller, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 736-738.
- b) S. Hanashima, S. Manabe, Y. Ito, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 4290-4296; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 4218-4224.
- c) S. Jonke, K.-g. Liu, R. R. Schmidt, *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 1274-1290.
- [40] a) X. Geng, V. Y. Dudkin, M. Mandal, S. J. Danishefsky, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 2616-2619; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 2562-2565.
- b) A. Düffels, S. V. Ley, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1999**, 375-378.
- c) G. M. Watt, G.-J. Boons, *Carbohydr. Res.* **2004**, *339*, 181-193.
- d) Y. Ito, S. Hagihara, I. Matsuo, T. Kiichiro, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2005**, *15*, 481-489.

- e) T. W. D. F. Rising, T. D. W. Claridge, N. Davies, D. P. Gamblin, J. W. B. Moir, A. J. Fairbanks, *Carbohydr. Res.* **2006**, *341*, 1574-1596.
- f) I. Matsuo, T. Kashiwagi, K. Totani, Y. Ito, *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 4197-4200.
- [41] M. Mandal, C. Y. Dudkin, X. Geng, S. J. Danishefsky, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 2611-2615; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 2557-2561.
- [42] a) H. Paulsen, M. Heume, H. Nürnberger, *Carbohydr. Res.* **1990**, *200*, 127-166.
b) F. Yamazaki, T. Nukada, Y. Ito, S. Sato, T. Ogawa, *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 4417-4420.
- [43] S. Weiler, R. R. Schmidt, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 2299-2302.
- [44] C. Unverzagt, *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 1369-1376.
- [45] C. Unverzagt, *Habilitationsschrift* **1996**, Technische Universität München.
- [46] a) C. Unverzagt, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 1170-1173; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 1102-1104.
b) C. Unverzagt, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 2078-2081; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 1989-1992.
c) J. Seifert, *Dissertation* **1997**, Technische Universität München.
d) G. Gundel, *Dissertation* **2002**, Universität Bayreuth.
- [47] a) X. Schratt, C. Unverzagt, *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 691-694.
b) X. Schratt, *Dissertation* **2005**, Universität Bayreuth.
- [48] a) C. Unverzagt, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 2507-2510; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 2350-2353.
b) C. Unverzagt, *Carbohydr. Res.* **1998**, *305*, 423-431.
- [49] J. Seifert, C. Unverzagt, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 6527-6530.
- [50] J. Seifert, C. Unverzagt, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 7857-7860.
- [51] C. Unverzagt, J. Seifert, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 4549-4553.
- [52] a) H. Weiss, C. Unverzagt, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 4389-4392; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 4261-4263.
b) H. Weiss, *Dissertation* **2002**, Universität Bayreuth.
- [53] a) R. Schubert, C. Unverzagt, *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 4201-4204.
b) R. Schuberth, *Dissertation* **2004**, Universität Bayreuth.
- [54] a) C. Unverzagt, S. André, J. Seifert, S. Kojima, C. Fink, G. Srikrishna, H. Freeze, K. Kayser, H.-J. Gabius, *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 478-491.
b) S. André, C. Unverzagt, S. Kojima, M. Frank, J. Seifert, C. Fink, K. Kayser, C.-W. von der Lieth, H.-J. Gabius, *Eur. J. Biochem.* **2004**, *271*, 118-134.

- c) S. André, T. Kožár, R. Schuberth, C. Unverzagt, S. Kojima, H.-J. Gabius, *Biochemistry* **2007**, *46*, 6984-6995.
- [55] a) T. Endo, *J. Chromatogr., A* **1996**, *720*, 251-261.
b) A. Seko, M. Koketsu, M. Nishizono, Y. Enoki, H. R. Ibrahim, L. Raj Juneja, M. Kim, T. Yamamoto, *Biochim. Biophys. Acta, Gen. Subj.* **1997**, *1335*, 23-32.
c) K. G. Rice, *Anal. Biochem.* **2000**, *283*, 10-16.
- [56] O. Bohorov, H. Andersson-Sand, J. Hoffmann, O. Blixt, *Glycobiology* **2006**, *16*, 21C-27C.
- [57] a) I. Shin, S. Park, M.-r. Lee, *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 2894-2901.
b) V. I. Dyukova, N. V. Shilova, O. E. Galanina, A. Y. Rubina, N. V. Bovin, *Biochim. Biophys. Acta, Gen. Subj.* **2006**, *1760*, 603-609.
- [58] O. Blixt, S. Head, T. Mondala, C. Scanlan, M. E. Huflejt, R. Alvarez, M. C. Bryan, F. Fazio, D. Calarese, J. Stevens, N. Razi, D. J. Stevens, J. J. Skehel, I. van Die, D. R. Burton, I. A. Wilson, R. Cummings, N. Bovin, C.-H. Wong, J. C. Paulson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 17033-17038.
- [59] a) V. K. Srivastava, C. Schuerch, *Tetrahedron Lett.* **1979**, 3269-3272.
b) A. J. Varma, C. Schuerch, *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 799-803.
c) S. David, S. Hanessian, *Tetrahedron* **1985**, *41*, 643-663.
- [60] a) N. Nagashima, M. Ohno, *Chem. Lett.* **1987**, 141-144.
b) J. Arukwe, *Acta Chem. Scand.* **1998**, *52*, 819-823.
- [61] C. Unverzagt, *Dissertation* **1988**, Johannes Gutenberg-Universität Mainz.
- [62] K. Toshima, *Carbohydr. Res.* **2000**, *327*, 15-26.
- [63] a) T. Ogawa, H. Yamamota, *Agric. Biol. Chem.* **1985**, *49*, 475-482.
b) X. Qian, K. Sujino, A. Otter, M. M. Palcic, O. Hindsgaul, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 12063-12072.
c) E. Bedini, G. Barone, C. Unverzagt, M. Parrilli, *Carbohydr. Res.* **2004**, *339*, 393-400.
d) W. Zhao, F. Kong, *Carbohydr. Res.* **2004**, *339*, 1779-1786.
- [64] a) E. Bedini, M. Parrilli, C. Unverzagt, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 8879-8882.
b) M. H. Park, R. Takeda, K. Nakanishi, *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 3823-3824.
c) N. Ikemoto, O. K. Kim, L.-C. Lo, V. Satyanarayana, M. Chang, K. Nakanishi, *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 4295-4298.
d) R. Rodebaugh, J. S. Debenham, B. Fraser-Reid, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 5477-5478.

- [65] R. R. Schmidt, W. Kinzy, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1994**, *50*, 21-123.
- [66] a) J. M. Lassaletta, K. Carlsson, P. J. Garegg, R. R. Schmidt, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 6873-6880.
b) D. Qiu, R. R. Koganty, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 961-964.
c) H. Yu, B. Yu, X. Wu, Y. Hui, X. Han, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2000**, 1445-1453.
- [67] a) R. R. Schmidt, J. Michel, M. Roos, *Liebigs Ann. Chem.* **1984**, 1343-1357.
b) G. Grundler, R. R. Schmidt, *Carbohydr. Res.* **1985**, *135*, 203-218.
- [68] a) M. Tomoi, Y. Kato, H. Kakiuchi, *Makromol. Chem.* **1984**, *185*, 2117-2124.
b) J. L. Chiara, L. Encinas, B. Díaz, *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 2445-2448.
c) I. Ohashi, M. J. Lear, F. Yoshimura, M. Hirama, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 719-722.
- [69] R. R. Schmidt, *Angew. Chem.* **1986**, *98*, 213-236; *Angew. Chem. Int. Engl.* **1986**, *25*, 212-235.
- [70] H. Weber, H. G. Khorana, *J. Mol. Biol.* **1972**, *72*, 219-249.
- [71] G. Höfle, W. Steglich, H. Vorbrüggen, *Angew. Chem.* **1978**, *90*, 602-615; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1978**, *17*, 569-583.
- [72] a) P. Konradsson, U. E. Udodong, B. Fraser-Reid, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 4313-4316.
b) G. H. Veeneman, S. H. van Leeuwen, J. H. van Boom, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 1331-1334.
- [73] D. R. Mootoo, P. Konradsson, U. Udodong, B. Fraser-Reid, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 5583-5584.
- [74] O. Kanie, S. C. Crawley, M. M. Palcic, O. Hindsgaul, *Carbohydr. Res.* **1993**, *243*, 139-164.
- [75] L. M. Gayo, M. J. Suto, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 4915-4918.
- [76] a) T. Fukuyama, A. A. Laird, L. M. Hotchkiss, *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 6291-6292.
b) M. Petitou, P. Duchaussoy, J. Choay, *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 1389-1390.
c) T. M. Slaghek, Y. Nakahara, T. Ogawa, J. P. Kamerling, J. F. G. Vliegthart, *Carbohydr. Res.* **1994**, *255*, 61-85.
- [77] S. Sato, M. Mori, Y. Ito, T. Ogawa, *Carbohydr. Res.* **1986**, *155*, C6-C10.
- [78] G. Bodenhausen, D. J. Ruben, *Chem. Phys. Lett.* **1980**, *69*, 185-189.
- [79] a) T. Kawada, R. Asano, S. Hayashida, T. Sakuno, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 9268-9271.

- b) T. G. Mayer, R. Weingart, F. Münstermann, T. Kawada, T. Kurzchalia, R. R. Schmidt, *Eur. J. Org. Chem.* **1999**, 2563-2571.
- [80] S. Houdier, P. J. A. Vottero, *Carbohydr. Res.* **1993**, 248, 377-384.
- [81] F. Cramer, H. P. Bär, H. J. Rhaese, W. Sängler, K. H. Scheit, G. Schneider, J. Tennigkeit, *Tetrahedron Lett.* **1963**, 1039-1042.
- [82] a) T. G. Bonner, *Adv. Carbohydr. Chem.* **1961**, 16, 59-84.
b) S. G. Pyne, *Tetrahedron Lett.* **1987**, 28, 4737-4740.
- [83] L. J. van den Bos, B. A. Duivenvoorden, M. C. de Koning, D. V. Filippov, H. S. Overkleef, G. A. van der Marel, *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, 116-124.
- [84] C. Unverzagt, S. Eller, S. Mezzato, R. Schuberth, *Chem. Eur. J.* **2008**, 14, 1304-1311.
- [85] a) H. I. Duynstee, M. C. de Koning, G. A. van der Marel, J. H. van Boom, *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 4129-4132.
b) Y. Zeng, F. Kong, *J. Carbohydr. Chem.* **2003**, 22, 881-890.
- [86] a) R. J. Bergeron, J. S. McManis, *J. Org. Chem.* **1988**, 53, 3108-3111.
b) H. Newman, *J. Org. Chem.* **1965**, 30, 1287-1288.
- [87] a) B. Helferich, J. Zirner, *Ber.* **1962**, 95, 2604-2611.
b) P. Kováč, *Carbohydr. Res.* **1986**, 153, 168-170.
c) H. Franzyk, M. Meldal, H. Paulsen, K. Bock, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1995**, 2883-2898.
- [88] a) P. Westerduin, J. H. van Boom, C. A. A. van Boeckel, T. Beetz, *Carbohydr. Res.* **1985**, 137, C4-C7.
b) L. L. Morais, H. Yuasa, K. Bennis, I. Ripoché, F.-I. Auzanneau, *Can. J. Chem.* **2006**, 84, 587-596.
- [89] N. J. Davis, S. L. Flitsch, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1994**, 359-368.
- [90] a) A. N. de Belder, *Adv. Carbohydr. Chem.* **1965**, 20, 219-302.
b) D. M. Clode, *Chem. Rev.* **1979**, 79, 491-513.
c) M. Shiozaki, Y. Watanabe, Y. Iwano, T. Kaneko, H. Doi, D. Tanaka, T. Shimozato, S.-i. Kurakata, *Tetrahedron* **2005**, 5101-5122.
- [91] A. Makino, K. Kurosaki, M. Ohmae, S. Kobayashi, *Biomacromolecules* **2006**, 7, 950-957.
- [92] a) M. Bergmann, L. Zervas, *Chem. Ber.* **1931**, 975-980.
b) D. J. Silva, H. Wang, N. M. Allanson, R. K. Jain, M. J. Sofia, *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 5926-5929.
- [93] G. Zemplén, A. Kunz, *Ber.* **1923**, 56, 1705-1710.

- [94] a) S. V. Ley, A. Polara, *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 5943-5959.
b) D. K. Baeschlin, A. R. Chaperon, L. G. Green, M. G. Hahn, S. J. Ince, S. V. Ley, *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 172-186.
c) D. K. Baeschlin, L. G. Green, M. G. Hahn, B. Hinzen, S. J. Ince, S. V. Ley, *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11*, 173-197.
- [95] a) B. Wegmann, R. R. Schmidt, *J. Carbohydr. Chem.* **1987**, *6*, 357-375.
b) H. Paulsen, F. Reck, I. Brockhausen, *Carbohydr. Res.* **1992**, *236*, 39-71.
c) H. Yamada, T. Harada, T. Takahashi, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 7919-7920.
d) Y. Du, M. Zhang, G. Yang, G. Gu, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **2001**, 3122-3127.
- [96] Z. Li, J. C. Gildersleeve, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 11612-11619.
- [97] A. Dahlén, A. Sundgren, M. Lahmann, S. Oscarson, G. Hilmersson, *Org. Lett.* **2003**, *22*, 4085-4088.
- [98] K. C. Nicolaou, T. J. Caulfield, H. Kataoka, N. A. Stylianides, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 3693-3695.
- [99] T. Ogawa, S. Nakabayashi, *Carbohydr. Res.* **1981**, *93*, C1-C5.
- [100] J. Arnap, J. Lönngrén, *Acta Chem. Scand. B* **1978**, *32*, 696-697.
- [101] a) B. Yu, Z. Yang, H. Cao, *Curr. Org. Chem.* **2005**, *9*, 179-194.
b) B. Fraser-Reid, J. C. López, K. V. Radhakrishnan, M. V. Nandakumar, A. M. Gómez, C. Uriel, *Chem. Commun.* **2002**, 2104-2105.
c) Z. Wang, L. Zhou, K. El-Boubbou, X.-s. Ye, X. Huang, *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 6409-6420.
d) A. Miermont, Y. Zeng, Y. Jing, X.-s. Ye, X. Huang, *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 8958-8961.
e) T. Takahashi, M. Adachi, A. Matsuda, T. Doi, *Tetrahedron. Lett.* **2000**, *41*, 2599-2603.
- [102] H. Bayley, D. N. Standring, J. R. Knowles, *Tetrahedron Lett.* **1978**, 3633-3634.
- [103] I. Prah, *Dissertation* **2002**, Universität Bayreuth.
- [104] a) J. F. G. Vliegthart, L. Dorland, H. van Halbeek, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1983**, *41*, 209-374.
b) J. Paz-Parente, G. Strecker, Y. Leroy, J. Montreuil, B. Fournet, H. van Halbeek, L. Dorland, J. F. G. Vliegthart, *FEBS Lett.* **1983**, *152*, 145-152.
c) I. Brockhausen, A. A. Grey, H. Pang, H. Schachter, J. P. Carver, *Glycoconjugate J.* **1988**, *5*, 419-448.

- d) J. M. Alonso, P. Boulenguer, J.-M. Wieruszkeski, Y. Leroy, J. Montreuil, *Eur. J. Biochem.* **1988**, *177*, 187-197.
- [105] N. H. Packer, M. A. Lawson, D. R. Jardine, J. W. Redmond, *Glycoconjugate J.* **1998**, *15*, 737-747.
- [106] a) J. F. Morrison, K. E. Ebner, *J. Biol. Chem.* **1971**, *246*, 3977-3984.
b) R. Barker, K. W. Olsen, J. H. Shaper, R. L. Hill, *J. Biol. Chem.* **1972**, *247*, 7135-7147.
- [107] a) J. T. Powell, K. Brew, *J. Biol. Chem.* **1976**, *251*, 3645-3652.
b) A. D. Tsopanakis, D. G. Herries, *Eur. J. Biochem.* **1978**, *83*, 179-188.
c) P. J. Andree, L. J. Berliner, *Biochemistry* **1980**, *19*, 929-934.
- [108] C. Unverzagt, H. Kunz, J. C. Paulson, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 9308-9309.
- [109] a) Y. Takegawa, K. Deguchi, H. Nakagawa, S.-I. Nishimura, *Anal. Chem.* **2005**, *77*, 6062-6068.
b) D. J. Harvey, M. Crispin, C. Scanlan, B. B. Singer, L. Lucka, V. T. Chang, C. M. Radcliffe, S. Thobhani, C.-T. Yuen, P. M. Rudd, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2008**, *22*, 1047-1052.
- [110] S. Narasimhan, J. C. Freed, H. Schachter, *Biochemistry* **1985**, *24*, 1694-1700.
- [111] a) S. Isshiki, A. Togayachi, T. Kudo, S. Nishihara, M. Watanabe, T. Kubota, M. Kitajima, N. Shiraishi, K. Sasaki, T. Andoh, H. Narimatsu, *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 12499-12507.
b) D. Zhou, T. R. Henion, F. B. Jungalwala, E. G. Berger, T. Hennen, *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 22631-22634.
- [112] a) H. Kitagawa, J. C. Paulson, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1993**, *194*, 375-382.
b) D. X. Wen, B. D. Livingston, K. F. Medzihradzky, S. Kelm, A. L. Burlingame, J. C. Paulson, *J. Biol. Chem.* **1992**, *267*, 21011-21019.
c) A. Grahn, G. S. Barkhordar, G. Larson, *Glycoconjugate. J.* **2004**, *20*, 493-500.
d) A. Hardiun-Lepers, R. Mollicone, P. Delannoy, R. Oriol, *Glycobiology* **2005**, *15*, 805-817.
e) J. Weinstein, U. de Souza-e-Silva, J. C. Paulson, *J. Biol. Chem.* **1982**, *257*, 13835-13844.
f) J. Weinstein, U. de Souza-e-Silva, J. C. Paulson, *J. Biol. Chem.* **1982**, *257*, 13845-13853.

- g) O. Blixt, K. Allin, O. Bohorov, X. Liu, H. Andersson-Sand, J. Hoffmann, N. Razi, *Glycoconjugate J.* **2008**, *25*, 59-68.
- [113] a) A. K. Datta, J. C. Paulson, *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 1497-1500.
b) P. Legaigneur, C. Breton, A. El Battari, J.-C. Guillemont, C. Augé, M. Malissard, E. G. Berger, C. Ronin, *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 21608-21617.
- [114] N. Aboitiz, M. Vila-Perelló, P. Groves, J. L. Asensio, D. Andreu, F. J. Cañada, J. Jiménez-Barbero, *ChemBioChem.* **2004**, *5*, 1245-1255.
- [115] J. Coste, E. Frérot, P. Jouin, B. Castro, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 1967-1970.
- [116] a) C.-X. Fan, X.-L. Hao, Y.-H. Ye, *Synth. Commun.* **1996**, *26*, 1455-1460.
b) M. Goodman, C. Zapf, Y. Rew, *Biopolymers (Pept. Sci.)* **2001**, *60*, 229-245.
c) H. Li, X. Jiang, Y-h.. Ye, C. Fan, T. Romoff, M. Goodman, *Org. Lett.* **1999**, *1*, 91-93.
- [117] B. F. Lundt, N. L. Johansen, A. Vølund, J. Markussen, *Int. J. Peptide Protein Res.* **1978**, *12*, 258-268.
- [118] J. Jiménez Barbero et al., unveröffentlichte Ergebnisse.
- [119] J. W. Bode, R. M. Fox, K. D. Baucom, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 1270-1274; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 1248-1252.
- [120] C. Pöhner, *Dissertation in Vorbereitung*, Universität Bayreuth, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [121] a) P. Finch, Z. Merchant, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1975**, 1682-1686.
b) J. Brand, T. Huhn, U. Groth, J. C. Jochims, *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 499-509.
- [122] H. Kessler, M. Gehrke, C. Griesinger, *Angew. Chem.* **1988**, *100*, 507-554; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, *27*, 490-536.
- [123] H. Kessler, P. Schmieder, M. Kurz, *J. Magn. Reson.* **1989**, *85*, 400-405.
- [124] A. Bax, M. F. Summers, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 2093-2094.
- [125] a) K. Bock, C. Pedersen, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1974**, 293-297.
b) K. Bock, I. Lundt, C. Pedersen, *Tetrahedron Lett.* **1973**, 1037-1040.

Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig verfasst und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet habe.

Ferner erkläre ich, dass ich nicht diese oder eine gleichartige Doktorprüfung an einer anderen Hochschule endgültig nicht bestanden habe.

Bayreuth, den 24. Oktober 2008

Steffen Eller