

Neosynthese und Derivatisierung mariner Glycoglycerolipide als potentielle Inhibitoren der Myt1 Kinase

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.)

vorgelegt der

Naturwissenschaftlichen Fakultät I

(Biowissenschaften)

der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Frau Dipl. pharm. Christiane Göllner

geboren am 04.09.1981 in Wolfen

Gutachter/in:

1. Prof. Dr. Wolfgang Sippl
2. Prof. Dr. Bodo Dobner
3. Prof. Dr. Franz Bracher

Halle (Saale), Februar 2012

verteidigt am: 08.05.2012

Meiner Familie gewidmet

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	I
Abkürzungsverzeichnis.....	IV
Abbildungsverzeichnis.....	VI
Tabellenverzeichnis.....	VIII
1 Einleitung und Zielstellung.....	1
2 Allgemeiner Teil.....	4
2.1 Proteinkinasen.....	4
2.1.1 Struktur einer Proteinkinase.....	6
2.1.1.1 ATP-Bindungstasche.....	8
2.1.2 Bedeutung von CDKs im Zellzyklus.....	10
2.1.2.1 Zellzyklus.....	10
2.1.2.2 Zellzykluskontrolle.....	11
2.1.3 Struktur und Regulation einer CDK.....	12
2.1.4 Wee Kinasen.....	13
2.1.3.1 Wee1 Kinase.....	14
2.1.4.2 Myt1 Kinase.....	15
2.2 Inhibitoren von Proteinkinasen.....	16
2.2.1 Kinaseinhibitoren zur zielgerichteten Therapie.....	18
2.3 Krebsmedikamente aus Naturstoffen.....	20
2.3.1 Alglynglycerolipide als potentielle Myt1 Kinase Inhibitoren.....	21
3 Synthesekonzeption.....	22
3.1 Darstellung eines partiell geschützten 6-Glucosaminderivats.....	23
3.1.1 Einführung einer Tritylschutzgruppe.....	23
3.1.2 Einführung von Benzylschutzgruppen.....	24
3.1.3 Detritylierung.....	24
3.1.4 Mesylierung.....	25

3.1.5	Einführung von N-Atomen.....	26
3.1.6	Aktivierung des Zuckers für die nachfolgende Glycosylierung.....	27
3.2	Glycosylierungsverfahren.....	27
3.2.1	Glycosylierung nach <i>R.R. Schmidt</i>	29
3.2.2	Untersuchungen zur Stereoselektivität.....	31
3.3	Darstellung eines Glycoglycerolipids.....	33
3.3.1	Entfernung der Isopropyliden-Schutzgruppe	33
3.3.2	Veresterung.....	34
3.3.3	Reduktion der Azide	35
3.3.4	Aktivierung mit PyBOP	36
3.3.5	Entfernung der Benzylschutzgruppen	37
4	Strukturelle Variationen	38
4.1	Austausch des Zuckerbausteins	38
4.1.1	Galactoglycerolipide.....	39
4.1.2	Darstellung eines Galactoglycerolipids	39
4.1.3	Mannoglycoglycerolipide	41
4.1.4	Darstellung eines Mannoglycerolipids	41
4.2	Variation in der Kettenlänge	42
4.2.1	Einführung eines Caprylsäurerests.....	43
4.3	Darstellung der anomeren β -Form.....	43
5	Strukturaufklärung	44
5.1	NMR Spektroskopie.....	44
6	Durchführung, Ergebnisse und Auswertung der biochemischen Untersuchungsmethode.....	46
6.1	Biochemische Testung im TR-FRET Bindungsassay	46
6.2	Ergebnisse und Auswertung.....	48
7	Zusammenfassung und Ausblick	51
8	Arbeitsvorschriften.....	53
8.1	Allgemeine Angaben	53

8.1.1	Chromatographieverfahren.....	53
8.2	Kommerziell erworbene Chemikalien	56
8.3	Synthesevorschriften.....	57
8.3.1	Synthese eines partiell geschützten 6-Glucosaminderivats.....	57
8.3.2	Glycosylierung nach <i>R.R. Schmidt</i>	69
8.3.3	Synthese der Glycoglycerolipide	77
9	Literaturverzeichnis.....	102
10	Anhang	

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
abs.	absolut
aq.	aquatisch
AS	Aminosäure
Asp	Asparaginsäure
ATP	Adenosintriphosphat
Bn	Benzyl-
bs	breites Signal
Bsp.	Beispiel
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CAK	CDK-aktivierende Kinase
Cdc	Cell division control protein (Cdc2 = CDK1)
CDK	Cyclin dependent kinase (Cyclin-abhängige Kinase)
d	Duplett
dd	Doppelduplett
DC	Dünnschichtchromatographie
DCC	N,N'-Dicyclohexylcarbodiimid
DFG	Asparaginsäure-Phenylalanin-Glycin
DMAP	Dimethylaminopyridin
DMF	Dimethylformamid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EA	Elementaranalyse
EEDQ	N-Ethoxycarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydroquinoline
EGFR	Epidermal-Growth-Factor-Receptor
ESI	Elektronensprayionisation
Fa.	Firma
FP	Fluoreszenzpolarisation
Fp	Fußpunkt
FRET	Fluoreszenz-Resonanz-Energie-Transfer
gef.	gefunden
ges.	gesättigt

Glu	Glutaminsäure
Gly	Glycin
HER2	human epidermal growth factor receptor 2
HR	High resolution
IP	Isopopyliden
LM	Laufmittel
M	Mitose
m	Multipllett
MAP	mitogen-activated protein
MeOH	Methanol
MHz	Megahertz
MPLC	medium pressure liquid chromatography
MS	Massenspektrometrie
Ms	Mesyl-
NMR	Kernresonanz-Spektroskopie
Phe	Phenylalanin
PyBOP	(Benzotriazol-1-yloxy)tripyrrolidinophosphonium hexafluorophosphat
R _f	Retentionsfaktor
RT	Raumtemperatur
S	Synthese
s	Singulett
t	Triplett
TEA	Triethylamin
theoret.	theoretisch
THF	Tetrahydrofuran
Thr	Threonin
TMSOTf	(Trimethylsilyl)-trifluormethansulfonat
TR	time resolved
Trt	Trityl-
Tyr	Tyrosin
UV	ultraviolett
verd.	Verdünnt
V/V	Volumen pro Volumen
z.B.	zum Beispiel

Abbildungsverzeichnis

<i>Abb. 1: 1,2-Dipalmitoyl-3-(N-palmitoyl-6'-amino-6'-deoxy-α-D-glucosyl)-sn-glycerol</i>	3
<i>Abb. 2: Dendrogramm des humanen Genoms nach Manning</i>	5
<i>Abb. 3: Farbige Hervorhebung der Subdomänen von Proteinkinasen am Beispiel einer EGFR-Domäne</i>	7
<i>Abb. 4: schematische Darstellung der ATP-Bindungstasche von Proteinkinasen</i>	8
<i>Abb. 5: vereinfachte Darstellung des Zellzyklus</i>	10
<i>Abb. 6: Phosphorylierung und Dephosphorylierung der Cdc2-Kinase (CDK1)</i>	14
<i>Abb. 7: Struktur der Myt1-Kinase</i>	16
<i>Abb. 8: Beispiel für einen Typ-I-Kinaseinhibitor</i>	17
<i>Abb. 9: Beispiele für Typ-II-Kinaseinhibitoren und ihre Wechselwirkung mit der Kinase</i>	17
<i>Abb. 10: a) Typ-III-Kinaseinhibitor b) kovalenter Inhibitor</i>	18
<i>Abb. 11: All available anticancer drugs from 1940s – 06/2006</i>	20
<i>Abb. 12: farbliche Hervorhebung der einzelnen Molekülbausteine</i>	22
<i>Abb. 13: Tritylierung</i>	23
<i>Abb. 14: Benzylierung</i>	24
<i>Abb. 15: Detritylierung</i>	25
<i>Abb. 16: Mesylierung</i>	25
<i>Abb. 17: Einführung der Azido-Gruppe</i>	26
<i>Abb. 18: Aktivierung des anomeren Zentrums</i>	27
<i>Abb. 19: Übersicht Glycosylierungsmethoden</i>	28
<i>Abb. 20: thermodynamisch und kinetisch kontrollierte Produktbildung</i>	29
<i>Abb. 21: Produktbildung mit Ketenimin</i>	30
<i>Abb. 22: Synthese des N-2,2-Tri(4-chlorphenyl)ketenimin</i>	31
<i>Abb. 23: Imidatbildung</i>	31
<i>Abb. 24: Glycosylierung</i>	33

<i>Abb. 25: Acetalspaltung</i>	34
<i>Abb. 26: Carbodiimid-Methode</i>	34
<i>Abb. 27: Esterbildung am Glycerol</i>	35
<i>Abb. 28: Reduktion zum Amin</i>	36
<i>Abb. 29: Aktivierung mit PyBOP</i>	36
<i>Abb. 30: Kupplung mit PyBOP</i>	37
<i>Abb. 31: Hydrogenolyse der Benzyletherschutzgruppen</i>	37
<i>Abb. 32: Möglichkeiten der Strukturmodifikation</i>	38
<i>Abb. 33: Kopplungskonstanten in Abhängigkeit vom Diederwinkel am Bsp. von α10 und β10</i>	44
<i>Abb. 34: H-H-Cosy Spektrum von Verbindung 3</i>	45
<i>Abb. 35: schematische Darstellung der Funktionsweise des TR-FRET Kinasebindeassays</i>	47

Tabellenverzeichnis

<i>Tabelle 1: Strukturmodifikation des α-Methylgalactosids</i>	39
<i>Tabelle 2: Strukturmodifikation des α-Methylmannosids</i>	41
<i>Tabelle 3: Strukturmodifikation durch Einführung von Caprylsäureresten</i>	43
<i>Tabelle 4: Ergebnisse der biochemischen Testung kommerziell verfügbarer Kinaseinhibitoren an der Myt1 Kinase im TR-FRET Kinasebindungsassay.....</i>	48
<i>Tabelle 5: Ergebnisse der biochemischen Testung der Glycoglycerolipide an der humanen Myt1 Kinase im TR-FRET Kinasebindungsassay</i>	49

1 Einleitung und Zielstellung

Krebs gehört zu einer der häufigsten Todesursachen weltweit ⁽¹⁾. Mit der steigenden Lebenserwartung in der modernen Bevölkerungsentwicklung erhöht sich das Risiko an Krebs zu erkranken, weshalb der Bedarf an neuen Krebstherapien stetig zunimmt. Besonders die Entwicklung neuer Medikamente spielt dabei eine zentrale Rolle ⁽²⁾. Herkömmliche Krebsmedikamente, zu denen unter anderem Alkylantien, DNA-Topoisomerase-Inhibitoren und Platinverbindungen gehören, wirken unspezifisch und schädigen auch gesunde Zellen. Trotz der hohen Wirksamkeit gegenüber Tumorzellen können diese Präparate stark belastende Nebenwirkungen besitzen, die im schlimmsten Fall zum Therapieabbruch führen. Zu den negativen Begleiterscheinungen gehören unter anderem Haarausfall, Übelkeit, Erbrechen, Herzmuskelschäden und Myelosuppression ⁽³⁾. Eine weitere negative Begleiterscheinung ist das Aufkommen von Wirkstoffresistenzen während der Krebstherapie.

In den letzten Jahren gab es eine Vielzahl neuer Behandlungsansätze, die neue Therapieziele verfolgen, um besagte Nachteile zu umgehen. Diese rasante Entwicklung ist vor allem dem Verständnis der Vorgänge auf molekularer Ebene zu verdanken. Dabei richtet sich die Krebstherapie vor allem gegen biologische und zytologische Eigenarten von Krebszellen. Unkontrolliertes Zellwachstum infolge von Genläsionen und Überexpression führt zur bösartigen Entartung. Eine wichtige Rolle spielt dabei die Störung bei der intrazellulären Kommunikation. Die Verständigung und die Regulation erfolgen über Signalkaskaden. Als molekulare Schalter dienen Enzyme, die ein zentrales Kontrollinstrument der Zelle sind. Ist diese fein abgestimmte Interaktion von Enzymkaskaden durch Mutationen in Krebszellen gestört, werden Signale in falscher Stärke oder zum falschen Zeitpunkt gesendet ⁽⁴⁾. Nach der vollständigen Entschlüsselung des Genoms ⁽⁵⁾ können nun durch genomweite Assoziationsstudien Krankheiten identifiziert werden, deren Auftreten durch Fehlregulationen in Phosphorylierungs-Netzwerken verursacht werden ⁽⁶⁾. Diese systematische Analyse hat in den letzten Jahren Einblicke in die Tumorentstehung geliefert.

Dysregulationen von Proteinkinasen spielen bei der Entstehung von Tumoren eine zentrale Rolle. Proteinkinasen bilden eine große Gruppe von Enzymen, die in praktisch allen komplexen Signalkaskaden der Zelle beteiligt sind und damit Einfluss auf Zellproliferation, Zelldifferenzierung, Zellteilung und Zelltod nehmen. Die genaue Kenntnis der molekularen Grundlagen auf diesem Gebiet liefert neue und vielversprechende Ansätze bei der Wirkstoffentwicklung. Dass solche Wirkstoffe therapeutisches Potenzial besitzen, zeigt die erfolgreiche Einführung von monoklonalen Antikörpern und Tyrosinkinase-Inhibitoren zur zielgerichteten Krebstherapie. So nimmt der monoklonale Antikörper Trastuzumab (Herceptin®) einen festen Platz unter den heutigen Tumorthapeutika bei

bestimmten Brustkrebsarten ein. Er bindet spezifisch an HER2-Kinase-Rezeptoren und verlangsamt dadurch das Wachstum HER2-überexprimierter Brustkrebszellen^(7; 8). Auch der Tyrosinkinase-Inhibitor Imatinib (Glivec®) zur Behandlung der chronisch myeloischen Leukämie (CML) ist ein gutes Beispiel für den Erfolg einer solch gezielten molekularen Behandlungsstrategie⁽⁹⁾.

Andere Therapieansätze zielen darauf ab, Kontrollpunkte im Zellzyklus zu beeinflussen^(10; 11). Der korrekte Ablauf des Zellzyklus ist für das Überleben eines vielzelligen Organismus essentiell⁽¹²⁾. Für die komplexen Steuerungsprozesse des Zellzyklus existieren eine Vielzahl regulatorischer Proteine, die unter der Kontrolle von so genannten „Checkpoints“ stehen⁽¹³⁾. Das Fortschreiten des Zellzyklus ist daher an bestimmte Schlüsselsignale geknüpft. Beim Fehlen dieser Signale, verursacht unter anderem durch Schäden an der DNA oder wachstumsstimulierende Signale, wird ein Arrest in der Zelle ausgelöst. Es werden dabei Reparaturmechanismen aktiv, die den Fehler beheben oder den programmierten Zelltod einleiten. Ein wichtiger Motor für die Übergänge im Zellzyklus ist die oszillierende Aktivität von Proteinkinasen aus der Familie der Cyclin-abhängigen Kinasen⁽¹⁴⁾. Es ist bekannt, dass bei zahlreichen malignen Erkrankungen Komponenten dieser Regulationseinheiten defekt sind, wodurch die Kontrollen versagen und eine ungehemmte Vermehrung der Zelle die Folge ist^(10; 11).

Regulatorproteine des Cdc2/CyclinB-Komplexes am G2/M-Übergang sind die Wee Kinasen. Die Wee Kinasen Wee1 und Myt1 verhindern durch inhibitorische Phosphorylierung an Thr14- und Tyr15-Resten der Cdc2/CyclinB-Kinase den Mitoseeintritt^(15; 16; 17). Die arretierte Zelle ist dadurch in der Lage, DNA-Schäden zu korrigieren. Da ein Großteil der Krebszellen einen wichtigen Kontrollpunkt in der G1-Phase verloren hat, kann ein DNA-Schaden nur in der G2-Phase repariert werden. Daher sind die Wee Kinasen interessante Targets für die Wirkstoffentwicklung. Werden die inhibitorischen Eigenschaften der Wee Kinasen ausgeschaltet, kann dies zu einer frühzeitigen Aktivierung des Cdc2/CyclinB-Komplexes führen und eine vorzeitige Mitose und Apoptose einleiten^(15; 17). Die Abschaffung des G2-Arrests könnte vor allen in p53-defizienten Tumorzellen von großer Bedeutung sein⁽¹⁸⁾. Dies zeigten erste Untersuchungen mit einem potenten Wee1 Kinase-Inhibitor. MK-1775 inhibiert die Phosphorylierung des Tyr15 der Cdc2 durch Wee1, dadurch wird ein wichtiger Checkpoint der Zellregulation ausgeschaltet. In Kombination mit konventionellen Zytostatika (z.B. Cisplatin) führt diese Behandlungsstrategie zur Apoptose der Zelle⁽¹⁹⁾.

Auf der Suche nach neuen Leitstrukturen, die selektiv in zelluläre Regulationsprozesse eingreifen, ist die Arbeitsgruppe von Dr. M. Schmidt auf eine Veröffentlichung aus dem Jahr 2005 aufmerksam geworden. In dieser Veröffentlichung von Zhou *et al.* wurde über bioaktive Glycoglycerolipide aus einem unbekanntem marinen Algenextrakt berichtet⁽²⁰⁾. Die dort gefundenen nativen

Alglycolipide zeigten eine hohe Aktivität gegenüber der Myt1 Kinase. Da die Myt1 Kinase zu den Wee Kinasen gehört und an der Regulation der Cdc2-Kinase beteiligt ist, könnte ihre Inhibition auch zur Abschaffung eines wichtigen Kontrollpunktes im Zellzyklus führen⁽¹⁷⁾.

Gegenstand dieser Arbeit ist die Erstellung eines Synthesekonzepts für die Darstellung des in Abbildung 1 aufgeführten potenten Alglycoglycerolipids. Das Synthesekonzept soll gleichzeitig die Grundlage für Strukturmodifikationen schaffen. Sie soll die Substitution des Kohlenhydratbausteins, der Kettenlänge, der Glyceroldomäne sowie die Darstellung der entsprechenden Anomeren ermöglichen. Die biochemische Testung dieser Verbindungen in geeigneten Testsystemen würde somit die Ableitung von Struktur-Wirkungsbeziehungen ermöglichen und Rückschlüsse auf die Art der Inhibition zulassen. Die vorliegende Arbeit soll einen Beitrag für die Entwicklung möglicher potenter Myt1-Kinase-Inhibitoren leisten.

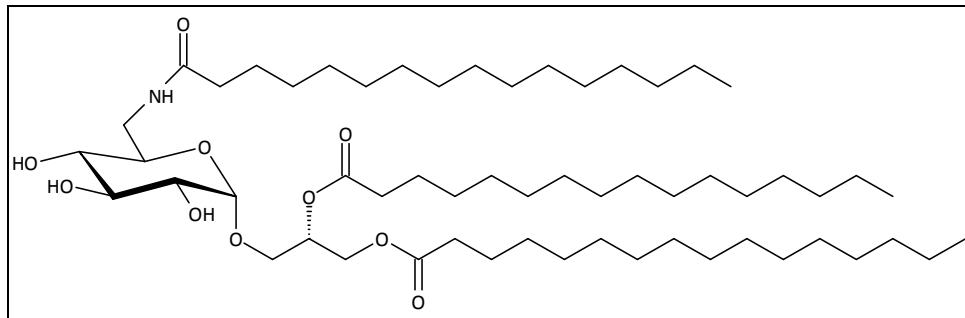


Abb. 1: 1,2-Dipalmitoyl-3-(N-palmitoyl-6'-amino-6'-deoxy- α -D-glucosyl)-sn-glycerol

2 Allgemeiner Teil

2.1 Proteinkinasen

Die Proteinkinasen gehören zu einer der größten Superfamilien von Proteinen, die im humanen Genom codiert sind. Nachdem das menschliche Genom vollständig bestimmt wurde, konnten insgesamt 518 Proteinkinasen identifiziert werden. Die Summe aller Kinasen wird als „Kinom“ bezeichnet⁽⁶⁾.

Proteinkinasen üben in ihrer Funktion als Enzyme wichtige biologische Prozesse in der Zelle aus. Indem sie bestimmte Aminosäuren auf der Oberfläche von Substratproteinen mit einer Phosphatgruppe vom ATP modifizieren, werden die biologischen Eigenschaften dieser Proteine verändert. Das Substratprotein wird dabei selbst aktiviert oder inaktiviert, je nachdem welche Konformation es nach der Phosphorylierung annimmt. In den meisten Fällen setzen solche Phosphorylierungen Kaskaden von Signalketten in Gang, die sich auf die Zellproliferation, Zellteilung, Zelldifferenzierung und den Zelltod auswirken. Die Erkenntnis, dass die Proteinkinasen in nahezu allen Signalkaskaden der Zelle einbezogen sind, macht sie als Targets für die Wirkstoffentwicklung besonders interessant⁽²¹⁾. Allerdings gestaltet sich die Wirkstoffentwicklung schwierig. Dieser Umstand ist vor allem den relativ großen Ähnlichkeiten in der katalytischen Domäne der Proteinkinasen geschuldet. So ist allen Proteinkinasen gemein, dass sie denselben Reaktionsmechanismus und sehr ähnliche Proteinsequenzen und dreidimensionale Strukturen in ihrem katalytischen Zentrum aufweisen. Außerdem binden alle Proteinkinasen ATP als Cosubstrat. Aufgrund dieser Gemeinsamkeiten ist die Aufklärung ihrer spezifischen Funktionen sehr diffizil. Man nimmt sich des Problems an, indem man Proteinkinasen anhand ihrer Aminosäuresequenz vergleicht und in Familien einordnet. Eine Klassifizierung, basierend auf Sequenzähnlichkeiten der Kinasedomänen bekannter biologischer Funktionen, zeigt sieben große Gruppen, die wiederum in 134 Familien und 201 Subfamilien untergliedert werden können⁽⁶⁾. Das in Abbildung 2 dargestellte Dendrogramm des humanen Kinoms zeigt die phylogenetischen Beziehungen der 518 Proteinkinasen auf.

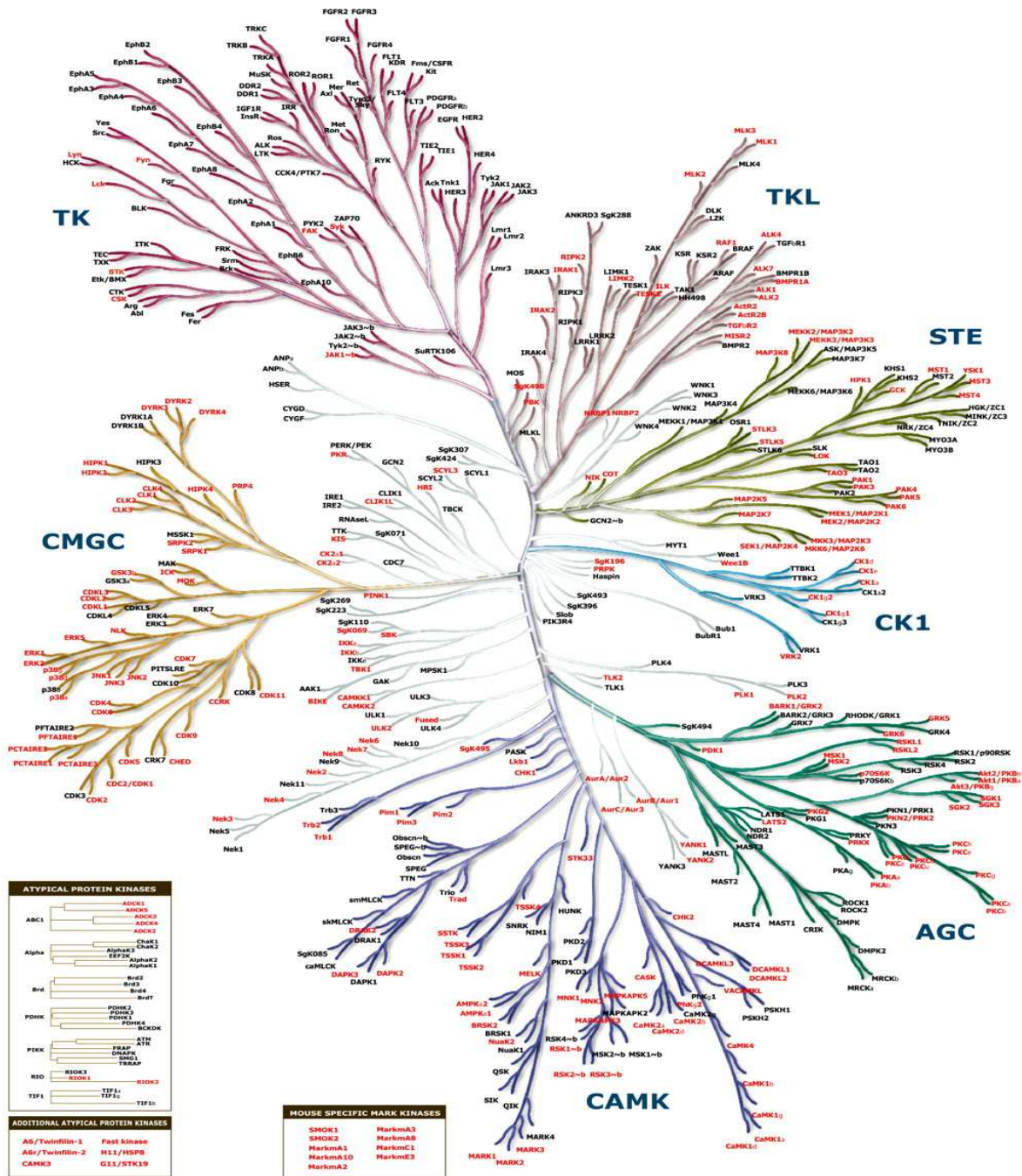


Abb. 2: Dendrogramm des humanen Genoms nach Manning ⁽²²⁾, Abkürzungen: TK-Tyrosinkinassen, TKL-Tyrosinkinase-ähnliche Kinasen, STE-Kinasen mit Ähnlichkeit zu Steril-7, Steril-11, Steril-20-Kinasen aus Hefe, CMGC-Cyclin-abhängige Kinasen, Mitogen-aktivierte Proteinkinasen, Glykogen-Synthase-Kinase, Cdc2-ähnliche Kinasen, CK1-Caseinkinase-1, AGC-Proteinkinase A, G und C, CAMK-Calmodulin-abhängige Proteinkinase

2.1.1 Struktur einer Proteinkinase

Proteinkinasen lassen sich hinsichtlich ihrer Substratspezifität in Tyrosinkinasen, Serin/Threonin-Kinasen, Histidin-spezifische Proteinkinasen und Aspartat/Glutamat-Kinasen klassifizieren ⁽²³⁾. In Hinblick auf ihre dreidimensionale Struktur zeigen die meisten Kinasen eine hohe strukturelle Ähnlichkeit. Da alle Kinasen ATP als Cosubstrat nutzen und die Übertragung von γ -Phosphatresten katalysieren, ist besonders die katalytische Domäne stark konserviert.

Die katalytische Einheit besteht aus zwei strukturellen Untereinheiten. Die kleinere N-terminale Domäne besteht vorwiegend aus β -Faltblatt, während die größere C-terminale Domäne sich mehrheitlich aus α -Helices zusammensetzt. An der Verbindung beider Domänen befindet sich eine tiefe Spalte mit der ATP-Bindungsstelle. Vergleichbar mit einem Scharnier wird sie als Hinge-Region bezeichnet.

Nach *Hanks* und *Hunter* kann die Struktur der katalytischen Einheit von Proteinkinasen in 12 Subdomänen (Domäne 6 ist unterteilt in 6A und 6B) eingeteilt werden, wobei folgende strukturelle Domänen für die katalytische Aktivität besonders charakteristisch sind ⁽²⁴⁾. Die Subdomäne 1 am N-Terminus bildet eine glycinreiche Schleife, die sich oberhalb der ATP-Bindestelle befindet und als Ankerregion der Phosphatreste des ATPs dient. Subdomäne 2 enthält die Aminosäure Lysin. In der aktiven Konformation der Proteinkinase bildet Lysin innerhalb des N-terminalen Bereiches eine Salzbrücke mit der Aminosäure Glutamat der Subdomäne 3. Der Triphosphatrest des ATPs kann aufgrund dieser Wechselwirkungen optimal positioniert und mit Hilfe der glycinreichen Schleife stabilisiert werden. In der Subdomäne 6B befindet sich die charakteristische Aminosäure Asp, die als katalytische Base bei der Phosphatübertragung fungiert. In der Subdomäne 7 befindet sich das hochkonservierte DFG-Motiv, das aus den Aminosäuren Asp, Phe und Gly gebildet wird. Es bildet auch den Anfang der äußerst flexiblen Aktivierungsschleife, die sich bis über die Subdomäne 8 erstreckt. Im Zuge von Phosphorylierungen kann sie zwei verschiedene räumliche Anordnungen annehmen und somit die Aktivität der Kinase regulieren ⁽²⁵⁾.

Abbildung 3 zeigt die Ribbonstruktur der katalytischen Domäne einer EGFR-Proteinkinase mit seinem Inhibitor ⁽²⁶⁾. In dieser Abbildung werden die einzelnen Subdomänen farbig hervorgehoben.

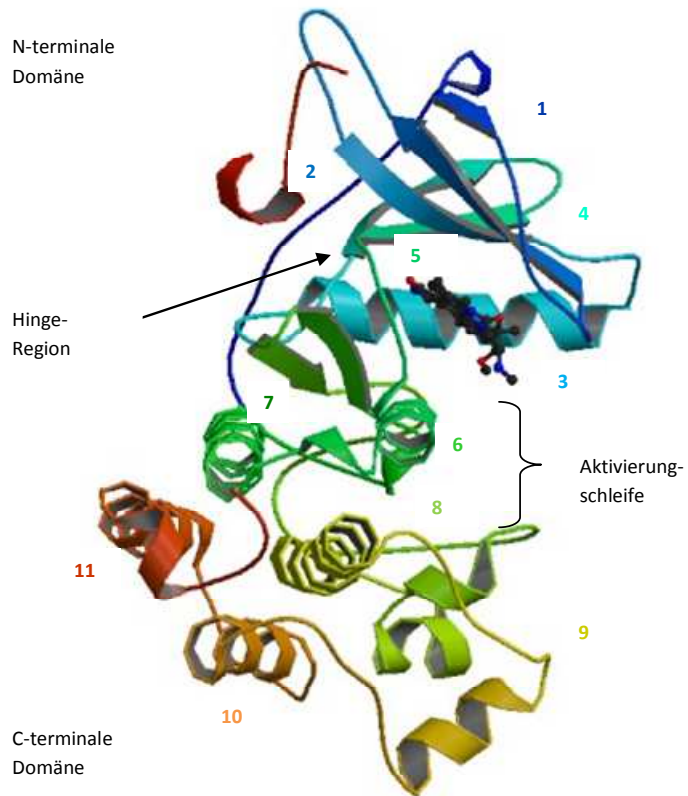


Abb. 3: Farbige Hervorhebung der Subdomänen von Proteinkinasen am Beispiel einer EGFR-Domäne. Die Subdomänen sind von 1-11 gekennzeichnet ⁽²⁷⁾

2.1.1.1 ATP-Bindungstasche

In der ATP-Bindungstasche befinden sich mehrere Bereiche, die für die Bindung von potentiellen Hemmstoffen relevant sein könnten. Sie besteht aus mehreren Unterbereichen, die für das strukturbasierte Wirkstoffdesign ausgenutzt werden können ⁽²⁸⁾. In Abbildung 4 werden diese Bereiche schematisch dargestellt.

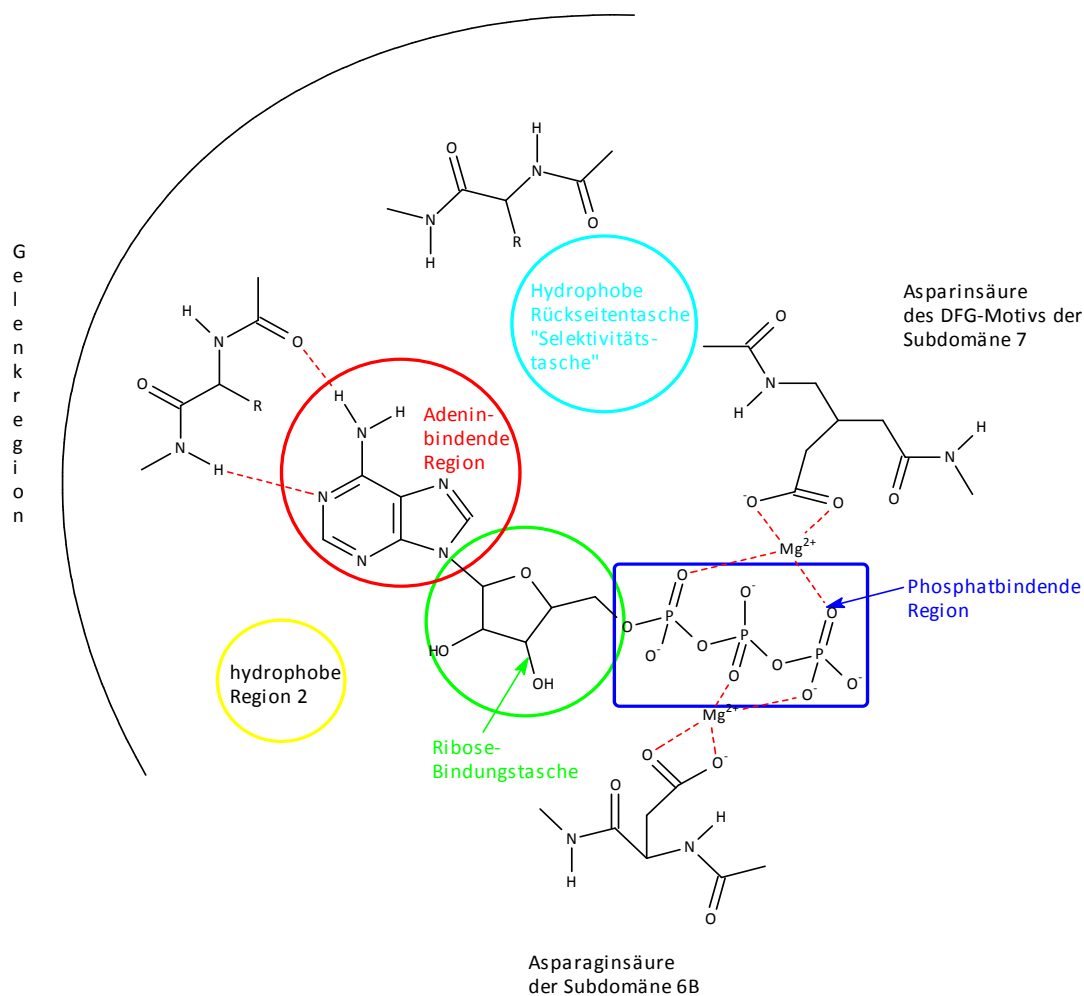


Abb. 4: schematische Darstellung der ATP-Bindungstasche von Proteinkinasen mit dem gebundenen Cofaktor ATP modifiziert nach Traxler ⁽²⁸⁾

Adenin-bindende Region

ATP bindet über konservierte Wasserstoffbrückenbindungen an den Peptidstrang der Hinge-Region. Daneben existieren nicht-polare Wechselwirkungen mit hydrophoben Resten aus den N-terminalen und C-terminalen Bereichen. Trotz der hohen Konservierung sind feine Unterschiede durch geringfügige Abweichungen der Aminosäurereste möglich. Die meisten ATP-kompetitiven Inhibitoren imitieren den Bindungsmodus des ATPs ⁽²⁹⁾.

Ribose-Bindungstasche

Sie befindet sich in einem Randbereich der ATP-Bindungstasche. Die Bindung der Ribose erfolgt über eine Wasserstoffbrückenbindung mit einer polaren Aminosäure der C-terminalen Domäne. Dieser Bereich ist hoch konserviert und erlaubt nur wenig Spielraum für das Design selektiver Wirkstoffe. Aufgrund ihres partiell hydrophilen Charakters, nutzt man diesen Bereich vor allem um lösungsverbessernde Molekülgruppen in Inhibitoren einzubauen ⁽³⁰⁾.

Phosphatbindende Region

In dieser Region erfolgt die Bindung der Triphosphatgruppe des ATPs. Für den katalytischen Vorgang muss diese optimal ausgerichtet sein, daher ist auch diese Region hochkonserviert. Mit Hilfe der entsprechenden Aminosäuren der Subdomänen, die über Mg^{2+} -Ionen das Triphosphat stabilisieren, wird eine einwandfreie Phosphatübertragung gewährleistet.

„Selektivitätstasche“ - hydrophobe Region

Diese Region befindet sich tief im inneren der ATP-Bindetasche und wird durch das natürliche Substrat ATP nicht genutzt. Man bezeichnet sie daher auch als „Selektivitätstasche“ ⁽³¹⁾. Die Ausdehnung der Tasche ist abhängig von der Größe der lipophilen Seitenketten der benachbarten Aminosäuren. Sie ist weniger konserviert als andere Bereiche des katalytischen Zentrums. Der Zugang erfolgt über die sogenannte „Gatekeeper“-Aminosäure, die in den verschiedenen Kinasen in Form und Größe variieren kann. Aufgrund der Sequenzvariabilität ist dieser Bereich besonders für das Design selektiver Hemmstoffe interessant.

Hydrophobe Region 2

Dieser wird auch als oberflächenexponierter Frontbereich bezeichnet und ist zum Solvens hin geöffnet. Auch hier wird die überwiegend hydrophobe Region nicht durch ATP zur Bindung genutzt. Sie ist wie im Fall der „Selektivitätstasche“ weniger konserviert und bietet dadurch einen weiteren Anhaltspunkt zur selektiven Wirkstoffentwicklung.

2.1.2 Bedeutung von CDKs im Zellzyklus

2.1.2.1 Zellzyklus

Der Zellzyklus setzt sich aus vier definierten, voneinander abgrenzbaren Phasen zusammen, in deren Folge aus einer Zelle zwei identische Tochterzellen hervorgehen. Die Interphase, die zwischen den aufeinanderfolgenden mitotischen Teilungen liegt, wird in der Reihenfolge ihres Ablaufs in die *G1*-, *S*- und *G2*-Phase unterteilt. Die *G1*-Phase des Zellzyklus wird eingeleitet durch wachstumsstimulierende Signale auf Zellen in der *G0*-Ruhephase. In dieser Phase beginnen die Zellen zu wachsen, um sich auf die nachfolgende *S*-Phase vorzubereiten. In der *S*-Phase wird die DNA-Synthese eingeleitet und der Chromosomensatz verdoppelt. Nach Abschluss der *S*-Phase bereitet sich die Zelle in der *G2*-Phase auf die Zellteilung vor, indem sie die neu synthetisierte DNA auf Fehler hin überprüft und gegebenenfalls repariert. Die *M*-Phase, in der der Zellkern und das Cytoplasma durch Mitose und Cytokinese geteilt werden, ist die kürzeste Phase des Zellteilungszyklus. Nach der Zellteilung in der *M*-Phase kann die Zelle erneut einen Zellzyklus durchlaufen oder in einen Zustand ohne Teilung, der *G0*-Phase, eintreten⁽³²⁾.

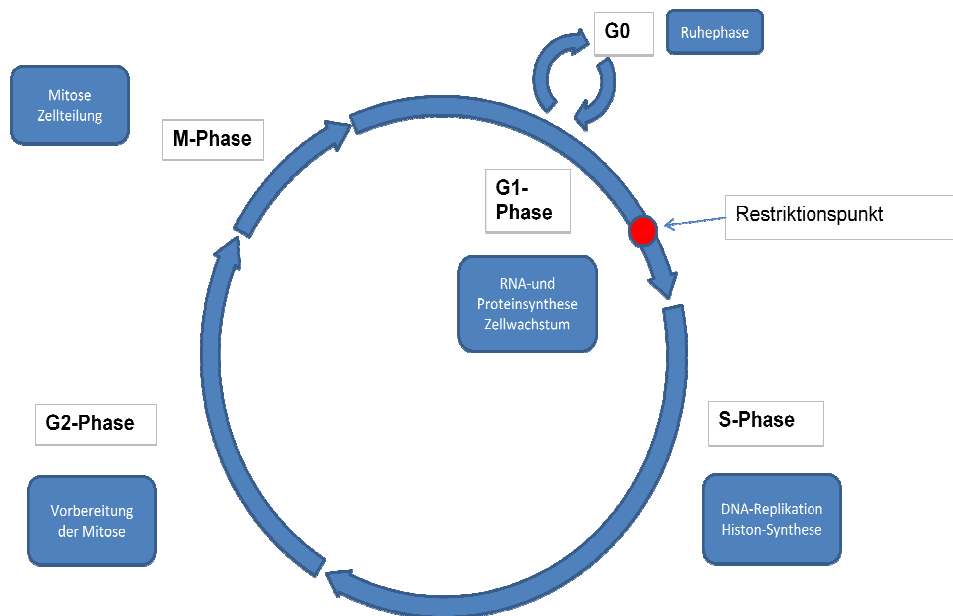


Abb. 5: vereinfachte Darstellung des Zellzyklus

Zeitpunkt und Geschwindigkeit der Zellteilung sind für das normale Wachstum und die Vitalität vielzelliger Organismen von zentraler Bedeutung. Je nach Zelltyp kann man verschiedene Muster der Zellteilung beobachten. Nerven- und Muskelzellen sind stark spezialisierte Zellen und teilen sich nicht mehr. Andere Zelltypen, unter anderem Leberzellen, lassen sich durch äußere Signale in den

Zellzyklus zurückholen. Das Zellteilungsmuster von Krebszellen unterscheidet sich von normalen Zellen. Ihr Wachstum kann durch den Organismus nicht mehr kontrolliert werden, so dass sich die Zellen autonom und mit größerer Geschwindigkeit teilen ⁽³²⁾.

2.1.2.2 Zellzykluskontrolle

Für das gesunde Überleben des Organismus ist der korrekte Ablauf der einzelnen Phasen entscheidend. Dies wird durch eine Reihe von Kontrollmechanismen geregelt, die den Übertritt in die nächste Phase erst dann zulassen, wenn bestimmte kritische Faktoren erfüllt sind. Es existieren sowohl intrinsische sowie externe Kontrollmechanismen. Die Zellteilung wird unter anderem durch das Nährstoffangebot bestimmt, sind die physiologischen Bedingungen schlecht für die Zelle, findet keine Zellteilung statt. Mitogene und antimitogene Signale sind extrazelluläre Signale, die an transmembranären Rezeptoren binden und eine intrazelluläre Signalkette in Gang setzen, die die Zellteilung beeinflussen. Die intrinsischen Faktoren stellen dagegen sicher, dass der Zyklus vollständig abläuft und am Ende jeder Zellteilung zwei genetisch identische Zellen hervorgehen. So kann erst die S-Phase durchlaufen werden, wenn die Mitose vollständig abgeschlossen ist und umgedreht. Ein weiteres wichtiges Kriterium für die Zellteilung ist die Zellgröße. Erst wenn das Verhältnis von Volumen zu Genomgröße einen Schwellenwert überschreitet, kann eine erneute Zellteilung stattfinden. Vor jeder Zellteilung muss auch die DNA Replikation auf Fehler und Vollständigkeit geprüft werden, um Mutationen zu verhindern ⁽²³⁾. An wichtigen Übergängen von einer Phase zur nächsten existieren dafür Kontrollpunkte, sogenannte *Checkpoints* ^(13; 33). Wichtige Kontrollpunkte des Zellzyklus befinden sich in am Restriktionspunkt der G1-Phase und am Ende der G2-Phase (G2/M-Übergang). Am Restriktionspunkt wird eine „Alles oder Nichts“ Entscheidung getroffen, die sowohl von inneren als auch von äußeren Signalen abhängt. Wird dieser Punkt überschritten, ist die Zelle unwiderruflich gezwungen auch die nachfolgenden Phasen zu durchlaufen und sich zu teilen ⁽²³⁾. Dieser Prozess läuft automatisch ab und arbeitet unabhängig von äußeren Signalen. Ein weiterer wichtiger Kontrollpunkt befindet sich am Ende der G2-Phase. Der Eintritt in die M-Phase findet nur dann statt, wenn die DNA vollständig und exakt repliziert wurde. Bei defekter Replikation arretiert die Zelle in der G2-Phase, bis die DNA repariert ist oder der programmierte Zelltod eingeleitet wird. Gesteuert wird das Überschreiten der *Checkpoints* durch Proteinkinasen, den sogenannten Cyclin-abhängigen Kinasen ^(13; 33).

Der Ablauf des Zellzyklus wird dabei hauptsächlich durch die CDK1 (Cdc2), CDK2, CDK4 und CDK6 bestimmt. Sie sind damit entscheidende Schlüsselemente zur Regulierung des Zellzyklus. Cyclin-abhängige Kinasen gehören zu einer Familie von Proteinkinasen, deren Aktivität durch die Konzentration ihrer zugehörigen Cycline bestimmt wird. Als CDK-Cyclin-Komplex bilden sie aktive

Formen, die in der Lage sind, Substratproteine zu phosphorylieren und damit Einfluss auf den Zellzyklus zu nehmen. Während die Konzentration der CDKs im Zellzyklus nahezu konstant bleibt, unterliegen Cycline zyklischen Konzentrationsschwankungen. Die verschiedenen Cycline weisen eine unterschiedliche Präferenz zu den CDKs auf, es werden daher nur bestimmte Kombinationen von CDK-Cyclin-Komplexen beobachtet⁽²³⁾. Durch die Expression und den proteolytischen Abbau bestimmter Cycline in den Zellzyklusphasen werden nur bestimmte CDK-Cyclin-Komplexe aktiv. In der frühen *G1*-Phase interagiert CyclinD mit CDK4 und CDK6. Ihnen folgt CDK2/CyclinE in der späten *G1*-Phase. Während CDK2/CyclinA in der *S*-Phase, CDK1/CyclinA am *S/G2*-Übergang und CDK1/CyclinB am *G2/M*-Übergang aktiviert werden. Neben den CDKs existieren auch ihre Gegenspieler, die sogenannten CKIs (cyclin-dependent kinase inhibitors), die ihrerseits die Aktivität der CDKs negativ regulieren. Eine weitere wichtige Gruppe zellregulatorisch wirkender Enzyme sind die CDC25-Phosphatasen⁽²³⁾.

2.1.3 Struktur und Regulation einer CDK

Das Faltungsmuster einer CDK weist eine große Ähnlichkeit zu anderen strukturell charakterisierten Proteinkinasen auf. Die strukturelle Basis für die folgenden Ausführungen der Struktur der CDK bilden röntgenkristallographische Untersuchungen der inaktiven CDK2 und ihres aktiven Komplexes mit Cyclin A^(34; 35). Die Angaben und die Position einzelner Aminosäuren können daher bei anderen CDKs variieren. Allgemein ist jedoch eine hohe Homologie unter den CDKs vorzufinden. Das katalytische Zentrum der CDKs beinhaltet ungefähr 300 Aminosäuren, und weist eine hohe Homologie zwischen den Mitgliedern dieser Familie auf. Die kleine N-terminale Domäne besteht vorrangig aus β -Faltblatt-Strukturen. Die größere C-terminale Domäne ist reich an α -Helices. An der Verbindung beider Domänen befindet sich eine tiefe Spalte mit der ATP-Bindungsstelle. Weiterhin existiert im Bereich der N-terminalen Domäne eine streng konservierte Sequenz von 16 Aminosäuren, die sogenannte *PSTAIRE-Region*. Diese Region, die aus einer α -Helix besteht, ist für die Bindung des zugehörigen Cyclins verantwortlich. Liegt die CDK als Monomer in inaktiver Form vor, wird der Zugang zum katalytischen Zentrum durch eine Schleife blockiert, die auch T-Schleife genannt wird. In dieser Schleife befindet sich Thr160, das durch Phosphorylierung zu einer gesteigerten Aktivierung der CDK2 führt (Thr161 bei Cdc2)⁽³⁵⁾.

Der Übergang zwischen der inaktiven und aktiven Form der Cyclin-abhängigen Proteinkinasen wird auf vielfältige Weise kontrolliert⁽³⁶⁾. Eine Aktivierung der CDKs ist nur dann möglich, wenn das zugehörige Cyclin gebunden ist. Cycline verfügen über die sogenannte *Cyclin-Box*. Diese stellt eine konservierte Domäne aus ca. 100 Aminosäuren dar, mit der die Bindung an die zugeordnete CDK erfolgt. Anhand der Röntgenkristallstruktur der CDK2 mit und ohne gebundenen Cyclin A konnte gezeigt werden, dass durch die Cyclin-Bindung eine Konformationsänderung im katalytischen

Zentrum stattfindet. Die Wechselwirkung der *Cyclin-Box* mit der *PSTAIRE-Region* der CDK führt zu einem Aufschmelzen der α L12-Helix, die normalerweise die T-Schleife und ATP in einer katalytischen ungünstigen Konformation hält. Hierbei kommt es zu einer Umorientierung der T-Schleife und das katalytische Zentrum wird aufgeweitet. Bei dieser Konformationsänderung wird auch das an der Katalyse beteiligte Glu51 der *PSTAIRE-Region* ins aktive Zentrum gebracht. Die Phosphatreste des ATP werden dabei so ausgerichtet, dass eine Phosphatübertragung möglich ist⁽³⁷⁾. Für die weitere Aktivierung der CDK muss eine Phosphorylierung an Thr160 (CDK2) bzw. Thr161 (CDK1) erfolgen. Die Phosphorylierung wird durch die CAK Proteinkinase ausgeübt und soll vermutlich zur nötigen Stabilität zwischen CDK/Cyclin-Komplex beitragen. Eine weitere Form der Aktivierung der CDK erfolgt durch spezifische Phosphatasen, den cdc25-Phosphatasen. Ihre Aufgabe besteht darin, inhibierende Phosphorylierungen an Thr14 und Tyr15 rückgängig zu machen. Neben der Aktivierung der CDK erfolgt ihre Regulation auch über inaktivierende Prozesse. Hierzu zählt unter anderem die Bindung von Inhibitoren der Cyclin-abhängigen Proteinkinase (CKIs) sowie die Phosphorylierung an Thr14 und Tyr15. Die besondere Bedeutung der Phosphorylierung kommt hierbei vor allem am G_2/M -Übergang und während der *M*-Phase zum Tragen. So wird der Cdc2/Cyclin B-Komplex durch Phosphorylierung von Thr14 und Tyr15 bis zum Ende der G_2 -Phase in einem inaktiven Zustand gehalten⁽³⁶⁾.

2.1.4 Wee Kinasen

Die Familie der Wee Kinase wird aus der Wee1 sowie Wee1 Homologen und der Myt1 gebildet. Vertreter dieser Familie sind entscheidende Regulatoren der Cdc2 (CDK1). Die Aktivität der Cdc2 bestimmt den Mitoseeintritt einer Zelle. Zusammen mit ihrem Cyclin B bildet die Cdc2 den sogenannten MPF („mitosis promoting factor“)^(38; 39). Ist dieser Komplex aktiv, wird die Mitose eingeleitet. Eine negative Kontrolle erfolgt während der *S*- und G_2 -Phase durch inhibitorische Phosphorylierung an Thr14 und Tyr15 durch die beiden homologen Kinasen. Während die Wee1 und ihre Wee1 Homologen ausschließlich Tyr15-Reste phosphorylieren, bewirkt die Myt1-Kinase die Phosphorylierung an Thr14- und Tyr15-Resten. Durch die Inhibierung des MPF soll ein vorzeitiger Eintritt in die Mitose, als Antwort auf eventuell auftretende DNA-Schäden, unterbunden werden.

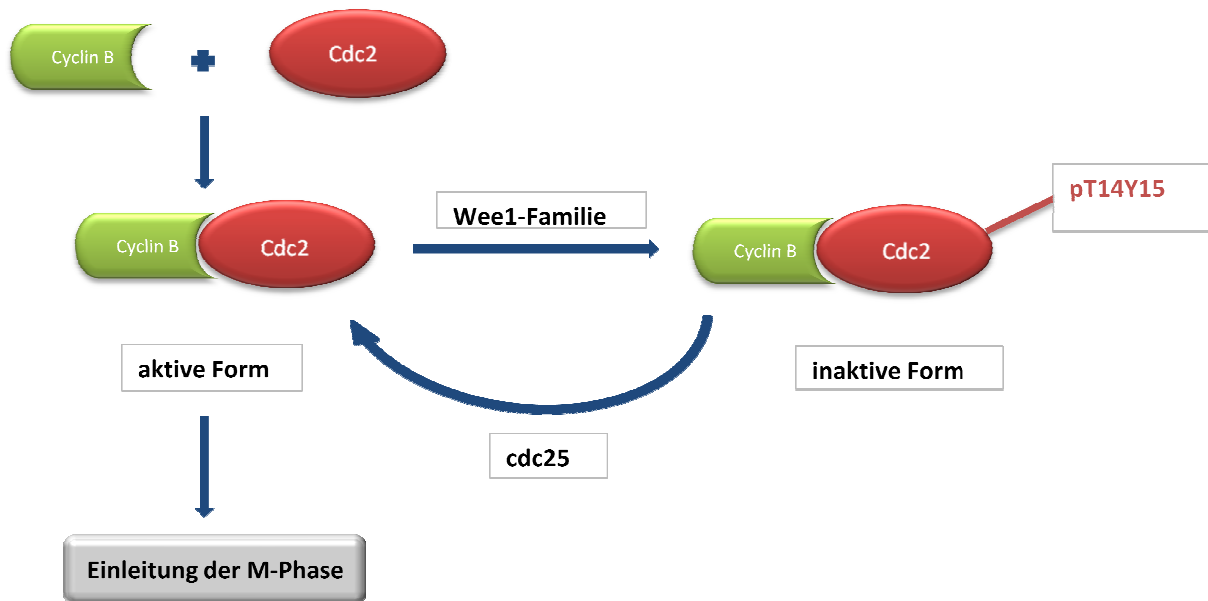


Abb. 6: Phosphorylierung und Dephosphorylierung der Cdc2-Kinase (CDK1)

2.1.3.1 Wee1 Kinase

Die humane Wee1 ist eine hauptsächlich im Zellkern lokalisierte lösliche Proteinkinase. Sie besteht aus 646 Aminosäuren mit einem Molekulargewicht von ca. 94 kDa und weist die für Proteinkinasen charakteristische Domäne auf. Die äußere Begrenzung der Proteinkinase wird durch die N- und C-terminale Domäne gebildet. Sie übernehmen vorrangig regulatorische Aufgaben. Die katalytische Domäne umfasst 271 AS und besitzt eine zweilappige Struktur. Der N-terminale Lappen wird hauptsächlich aus β -Faltblattstrukturen gebildet und enthält die charakteristische glycinreiche Schleife aus GxGxxG. Im C-terminalen Lappen überwiegen α -helikale Strukturen. Im Spalt zwischen den beiden Lappen, erfolgt die Bindung des Substrats sowie die des ATPs. Die *Hinge-Region* bildet das Ende der Spalte und verbindet den N- und C-terminalen Teil. Die Gelenkregion geht wichtige Wasserstoffbrückenbindungen mit ATP ein. Sie ist auch verantwortlich für die Wechselwirkung mit kompetitiven Hemmstoffen des ATPs. Das katalytische Segment befindet sich im C-terminalen Bereich und ist hochkonserviert. Eine Schlüsselfunktion wird vom aktivierenden Teil der Kinase ausgeübt. Hierbei handelt es sich um eine große Schleife, die sich aus insgesamt 25 AS aufbaut und ein für Wee1 typisches DLG-Motiv aufweist. Dieser Teil der katalytischen Domäne ist hochkonserviert und nur für die Familie der Wee1 Kinasen spezifisch. Für die Phosphorylierung von Tyr15-Resten der Cdc2 sind Wee1-spezifische Merkmale innerhalb der Aktivierungsschleife entscheidend sowie das Vorhandensein der AS Glu309 in der glycinreichen Schleife. Glu309 blockiert vermutlich durch sterische Hinderung die Phosphorylierung des Thr14⁽¹⁶⁾.

Funktionell betrachtet ist die Wee1 eine Tyrosinkinase, jedoch ähnelt sie in ihrer strukturellen Beschaffenheit und Sequenz den Serin/Threonin-spezifischen Kinasen. Weiterhin weist die Wee1 typische Wee1-spezifische Sequenzmuster auf, so dass sie innerhalb der Proteinkinasen eine eigenständige Subfamilie bildet^(6; 16).

2.1.4.2 Myt1 Kinase

Die Myt1 zählt aufgrund ihrer Sequenzhomologie zur Familie der Wee1 Kinasen. Sie setzt sich aus insgesamt 499 Aminosäuren zusammen und besitzt ein Molekulargewicht von ca. 55 kDa. Trotz ihrer Zugehörigkeit zu den Wee1 Kinasen existieren deutliche Unterschiede zwischen beiden Vertretern. So gehört die Myt1 zu den dual-spezifischen Kinasen. Sie ist in der Lage sowohl Thr14 als auch Tyr15 der Cdc2 zu phosphorylieren⁽¹⁵⁾. Bei der humanen Myt1 wird sogar vorzugsweise Thr14 phosphoryliert⁽¹⁷⁾. Im Unterschied zur Wee1 ist sie membrangebunden und befindet sich im Cytosol am Endoplasmatischen Retikulum und Golgi-Apparat. Anhand der Aminosäuresequenz lassen sich sowohl Gemeinsamkeiten als auch Unterschiede zwischen beiden Kinasen feststellen. Die Sequenzidentität zur humanen Wee1 beträgt nur 32 %. Ein wichtiges Unterscheidungsmerkmal ist das Fehlen einer aus 19 Aminosäuren bestehenden Einheit der katalytischen Domäne. Weiterhin zeigt sie statt des DLG-Motivs der Wee1, ein DFG-Motiv. Außerhalb des katalytischen Zentrums befindet sich im C-Terminus eine vorrangig aus ungeladenen und hydrophoben Aminosäuren gebildete Einheit. Sie ist wahrscheinlich für die Membranbindung verantwortlich⁽¹⁷⁾. Trotz der vielen Unterschiede ähneln sich die beiden Kinasen hinsichtlich ihrer Sequenz sowie ihrer Funktion im Zellzyklus. Ebenso wie die Wee1 ist sie an der Regulation des Cdc2/CyclinB-Komplexes beteiligt. Es erfolgt eine Phosphorylierung von Thr14 und Tyr15 der Cdc2, die eine Inhibierung des Cdc2/CyclinB-Komplexes bewirkt⁽¹⁵⁾.

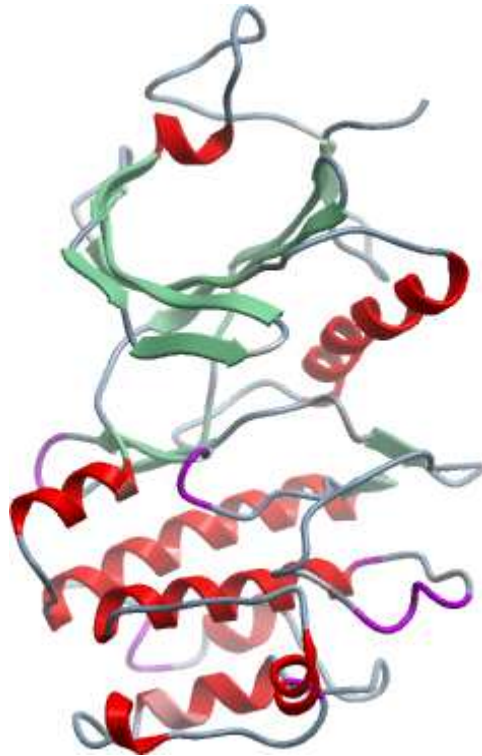


Abb. 7: Struktur der Myt1-Kinase ⁽⁴⁰⁾

2.2 Inhibitoren von Proteinkinasen

Kinaseinhibitoren können in 4 Klassen eingeteilt werden. Nach Art ihres molekularen Hemmmechanismus werden sie als Typ-I, Typ-II, Typ-III und kovalente Inhibitoren klassifiziert ⁽²⁹⁾.

Typ-I-Inhibitoren binden ähnlich dem ATP in die ATP-Bindetasche. Sie bilden Wasserstoffbrücken mit der Scharnierregion und interagieren mit hydrophoben Regionen innerhalb der ATP-Bindetasche. Die Hemmung der Kinaseaktivität erfolgt ATP-kompetitiv. Typ-I-Inhibitoren werden zumeist aus einem heterozyklischen Ringsystem gebildet, wodurch sie den Adeninrest des ATP imitieren und die Purinbindungsstelle besetzen. Gleichzeitig enthalten sie Seitenketten, die mit den angrenzenden hydrophoben Regionen in Wechselwirkung treten ⁽²⁹⁾. Ein marktzugelassener Inhibitor aus dieser Klasse ist das Dasatinib ⁽⁴¹⁾.

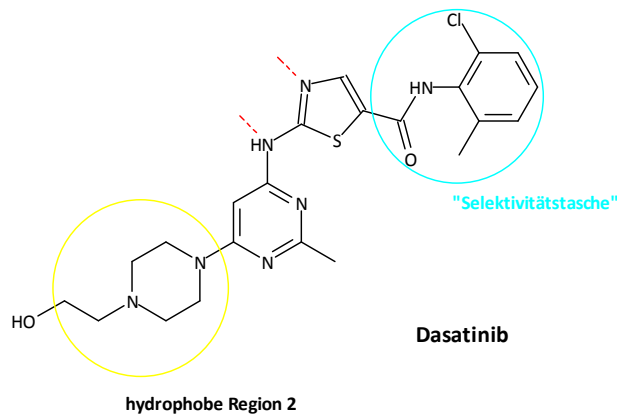


Abb. 8: Beispiel für einen Typ-I-Kinaseinhibitor/ die farbigen Markierungen zeigen die Wechselwirkungen mit der ATP-Bindungstasche

Typ-II-Inhibitoren gehören ebenfalls zu den kompetitiven Inhibitoren, allerdings erfolgt die Hemmung indirekt. Typ-II bindet mit hoher Affinität an die inaktive Konformation der Kinase. Hierbei spielt das vorhandene DFG-Motiv eine zentrale Rolle. In Abhängigkeit der räumlichen Anordnung der Aminosäuren existiert eine DFG-in und eine DFG-out Konformation. Inhibitoren dieser Klasse stabilisieren die inaktive DFG-out Konformation, bei der sich das DFG-Motiv in einer auswärts gerichteten Konformation befindet. In dieser Konformation wird ein zusätzlicher hydrophober Bereich zugänglich, der weniger stark konserviert ist ⁽²⁹⁾. Die Bindung des Inhibitors ermöglicht so keinen Wechsel der Konformation, der für die Phosphatübertragung wichtig ist. Neuere Generationen dieser Inhibitorenklasse weisen zusätzlich eine allosterische Wechselwirkung auf. Die Wechselwirkung mit der ATP-Bindetasche bleibt allerdings bestehen. Bekannte Vertreter solcher Kinaseklassen sind Imatinib, Nilotinib und Sorafenib ^{(41) (42)}.

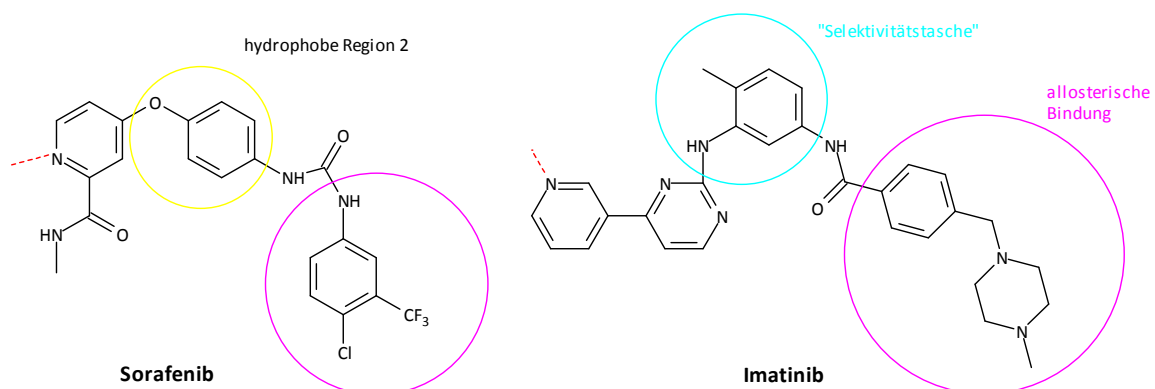


Abb. 9: Beispiele für Typ-II-Kinaseinhibitoren und ihre Wechselwirkung mit der Kinase

Typ-III-Inhibitoren hemmen rein allosterisch. Sie binden in einiger Entfernung zum aktiven Zentrum der Kinase. Da der Bindungsort nicht der gleiche ist wie für das Substrat, zählen sie zu den nicht-kompetitiven Inhibitoren. Da sich die einzelnen Proteinkinasen außerhalb des katalytischen Zentrums

hinsichtlich ihrer Struktur unterscheiden und jede eigene strukturelle Merkmale aufweist, kann diese Klasse von Inhibitoren besonders selektiv wirken ⁽²⁹⁾. Allerdings ist die Suche nach solchen Inhibitoren erschwert, da nur wenige Informationen zur Struktur und potentielle Bindungsstellen der Kinasen existieren. So befindet sich die Myristoyl-Bindungstasche der Abl-Kinase in einiger Entfernung zum aktiven Zentrum. Der Inhibitor GNF-2 bindet spezifisch an diese Tasche und hemmt die Aktivität der Kinase ⁽⁴³⁾.

Die kovalenten Inhibitoren sind in der Lage, nukleophile Aminosäureseitenketten (vorwiegend Cystein) mittels einer Michael-Addition zu alkylieren. Damit stellen sie eine irreversible, kovalente Bindung zum Protein her. Ein in Phase 3 der klinischen Erprobung befindlicher Inhibitor ist das Afatinib (BIBW-2992), der irreversibel EGFR und HER2-Kinaserezeptoren hemmt ⁽⁴⁴⁾.

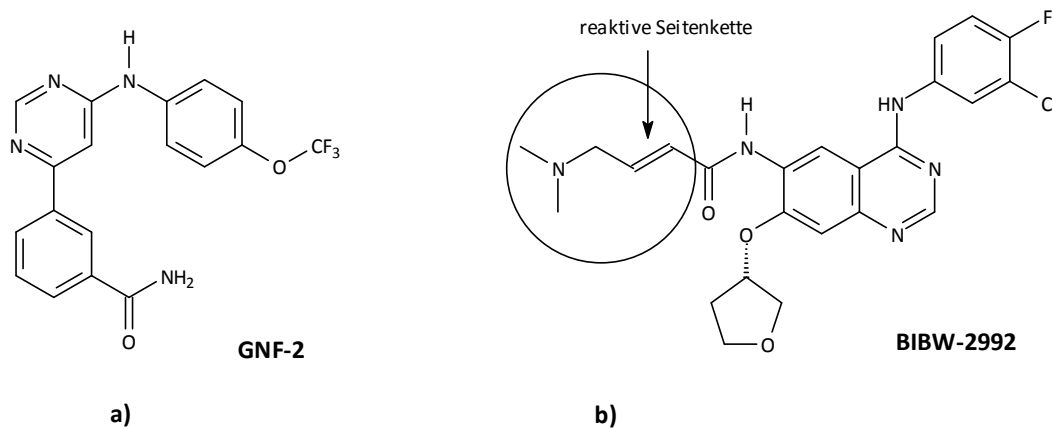


Abb. 10: a) Typ-III-Kinaseinhibitor b) kovalenter Inhibitor

2.2.1 Kinaseinhibitoren zur zielgerichteten Therapie

Protein-Tyrosinkinasen sind wichtige Regulatoren von Signalwegen und beeinflussen unter anderem die Proliferation von Zellen. Eine Fehlregulation kann einen signifikanten Einfluss auf die Proliferation der Zelle nehmen und bei der Entstehung von Krebs eine zentrale Rolle spielen. Kinaseinhibitoren in der Krebstherapie können bei auftretenden Fehlregulationen gezielt eingesetzt werden. Einige Tyrosinkinase-Inhibitoren sind bereits in die klinische Praxis eingeführt worden. Dazu gehören unter anderem die monoklonalen Antikörper, die spezifisch an Rezeptortyrosinkinasen binden. Trastuzumab (Herceptin[®]) ist ein humanisierter, monoklonaler Antikörper, der spezifisch an seinen Wachstumsfaktor-Rezeptor HER2 bindet und zur Behandlung von Brustkrebs eingesetzt wird. Cetuximab (Erbix[®]) bindet an EGFR-Rezeptoren und verhindert die Aktivierung durch EGF und damit die Tumorbildung. Bevacizumab (Avastin[®]) ist ein Beispiel eines Angiogenese-Hemmers. Dieser

humanisierte, monoklonale Antikörper bindet selektiv an VEGF und verhindert dadurch die Neubildung von Blutgefäßen, die unter anderem Tumorzellen mit Nährstoffen versorgen. Beide Antikörper werden vorrangig zur Therapie bei Darmkrebserkrankungen eingesetzt. Kleine Moleküle, die spezifisch an die katalytische Domäne binden, sind vor allem ATP-kompetitive Inhibitoren. Bekanntestes Beispiel ist Imatinib (Glivec®). Hierbei handelt es sich um einen intrazellulären Tyrosinkinase-Inhibitor, der die Tyrosinkinase-Aktivität von Bcr-Abl hemmt und damit die Proliferation von Bcr-Abl-positiven Tumorzellen hemmt. Weitere bekannte Beispiele ATP-kompetitiver Inhibitoren sind Erlotinib (Tarceva®), Dasatinib (Sprycel®) und Lapatinib (Tyverb®). Eine grundlegende Herausforderung bei der Entwicklung von neuartigen Kinaseinhibitoren ist deren Selektivitätsprofil zu erweitern und das Aufkommen von Wirkstoffresistenzen zu verringern.

Ein Großteil bekannter Kinaseinhibitoren (z. Bsp. Staurosporin) ist eher unselektiv und inhibiert in der Regel mehr als nur ein Zielprotein⁽⁴⁵⁾. Dieser Umstand ist auf den Hemmmechanismus der meisten Kinaseinhibitoren zurückzuführen. Die Mehrheit der Inhibitoren hemmt überwiegend ATP-kompetitiv an der hochkonservierten ATP-Bindungsstelle. Es müssen daher gute Strategien für das Einpassen von Wirkstoffen gefunden werden, um diesen Umstand gerecht zu werden. Wirkstoffe, die an weniger konservierten Bereichen binden und damit eine Hemmung ermöglichen, sind für die Forschung besonders attraktiv. Diese weniger konservierten Bereiche sind für die einzelnen Kinasen besonders typisch, weshalb diese Art von Inhibitoren besonders selektiv wirken können. Auch hinsichtlich der Entstehung von Wirkstoffresistenzen, die zunehmend bei der Behandlung mit Kinaseinhibitoren auftreten, stellen die rein allosterisch wirkenden Inhibitoren einen interessanten Ansatzpunkt dar. Aufgrund des Selektionsdrucks auf die Tumorzellen während der Behandlung werden häufig Mutationen im Bereich der Gatekeeper-Region („Selektivitätstasche“) beobachtet. Bei diesen Mutationen kommt es oftmals zum Austausch von kleineren Aminosäuren gegen größere, hydrophobe Reste. Als Folge solcher Mutationen kommt es zu einer gesteigerten Aktivität der Kinase. Die Bindung des Inhibitors wird erschwert, während die Affinität zu ATP zunimmt⁽⁴⁶⁾. Solche Mutationen können gezielt umgangen werden, indem man z.B. verstärkt nach Typ-III-Inhibitoren sucht, die außerhalb der ATP-Bindungstasche binden und die enzymatisch inaktive Form stabilisieren. Vielversprechend scheint auch eine Kombination aus Typ-III-Inhibitoren und ATP-kompetitiven Inhibitoren in der Tumorthherapie zu sein. Da sie verschiedene Bindungsmodi und Wirkorte besitzen, könnten sie die Entstehung von Resistenzen unterdrücken.

2.3 Krebsmedikamente aus Naturstoffen

Viele der heute zum Einsatz kommenden Wirkstoffe in der Pharmazie lassen sich auf Substanzen aus der Natur zurückführen. Dies zeigt eine Studie von *Newman* und *Cragg* vom Nationalen Krebsinstitut im US-amerikanischen Frederick, die von 1981-2006 alle neu zugelassenen Pharmazeutika untersuchten. Sie beschränkten sich dabei auf solche Medikamente, die komplett neu entwickelt wurden und nicht durch geringfügige Abänderungen bekannter Medikamente entstanden sind. Dabei schlussfolgerten sie, dass ungefähr 50% der neuen Arzneimittel, die in dieser Zeit eingeführt worden, auf einem Naturprodukt basieren oder einem solchen nachempfunden sind⁽⁴⁷⁾.

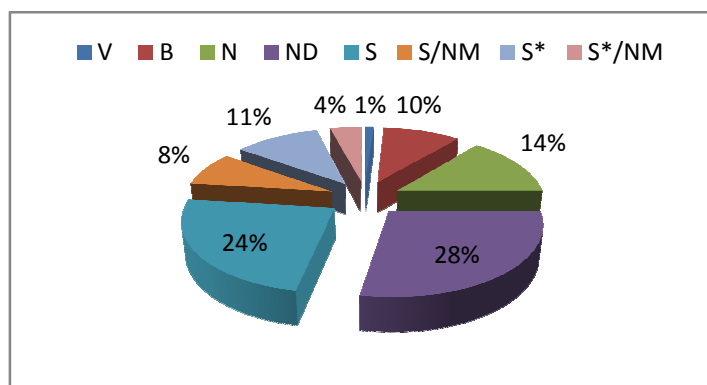


Abb. 11: All available anticancer drugs from 1940s – 06/2006 (175) „B“ Biological, „N“ Natural Product, „ND“ Natural derived, „S“ Synthetic, „S*“ Synthetic, but pharmacophore is a natural product, „V“ Vaccine, „S/NM“ Natural product mimic modifiziert nach Newman und Cragg

Viele klinisch relevante Pharmazeutika, die von Naturstoffen abgeleitet sind, stammen aus Mikroorganismen, Pflanzen sowie marinen Lebewesen⁽⁴⁸⁾. Mit der Entdeckung der Vinka-Alkaloide (Vincristin und Vinblastin) aus dem rosafarbenen Immergrün *Catharanthus roseus*, der Taxane (Paclitaxel) aus der Pazifischen Eibe *Taxus brevifolia* befinden sich reine Naturprodukte auf dem pharmazeutischen Markt. Halbsynthetische Derivate sind Etoposid und Teniposid sowie Topotecan und Irinotecan. Etoposid und Teniposid sind Abkömmlinge des Podophyllumtoxin, das aus der Wurzel des amerikanischen Maiapfels *Podophyllum peltatum* gewonnen wird. Topotecan und Irinotecan sind halbsynthetische Abkömmlinge des Alkaloids Camptotecin aus der Pflanze *Camptotheca acuminata*. Alle genannten sind gleichzeitig Paradebeispiele für pflanzliche Chemotherapeutika und nehmen einen festen Platz in der Standardkrebstherapie ein. Bleomycin, Daunorubicin, Doxorubicin und Mitomycin werden aus verschiedenen *Streptomyces*-Arten gewonnen und sind Beispiele für Chemotherapeutika, die aus Mikroorganismen gewonnen werden. Eine weitere reiche Quelle an neuen Naturstoffen liefern marine Organismen. Mit Yondelis® befindet sich ein neuer Anti-Tumor-Wirkstoff auf dem Markt, der aus einem kolonial lebenden Meeresorganismus,

der Seescheide *Ecteinascidia turbinata*, gewonnen wird ⁽⁴⁸⁾. Ein weiterer neuer Wirkstoff der seit März 2011 zugelassen ist, ist Eribulin. Eribulin ist ein strukturell vereinfachtes synthetisches Analogon des natürlicherweise im Meeresschwamm *Halichondria okadae* vorkommenden Halichondrin B ⁽⁴⁹⁾.

2.3.1 Alglynglycerolipide als potentielle Myt1 Kinase Inhibitoren

Glycoglycerolipide sind wichtige Bestandteile der Chloroplastenmembran des Pflanzenreichs. Eine Vielzahl potenter Glycoglycerolipide wurde in Pflanzen, Bakterien und Algen gefunden. Diese Glycoglycerolipide zeigen ein breites Spektrum biologischer Aktivitäten, unter anderem antiinflammatorische, antibakterielle, antivirale und antitumorale Aktivität ^(50; 51). Biologisch aktive Alglynglycerolipide konnten auch in einem methanolischen Algenextrakt (UM 2972M) einer unbekanntem Algenart identifiziert werden. Die biologische Aktivität wurde in einem Fluoreszenzpolarisations-basierten Aktivitätsassay für Myt1 Kinase-Inhibitoren ermittelt und zeigte IC₅₀-Werte zwischen 0,12 und 0,43 µg/ml. Bei den isolierten Glycoglycerolipiden handelte es sich um *1,2-Dipalmitoyl-3-(N-palmitoyl-6'-amino-6'-deoxy-α-D-glucosyl)-sn-glycerol* und *1-Palmitoyl-2-myristoyl-3-(N-stearoyl-6'-amino-6'-deoxy-α-D-glucosyl)-sn-glycerol* ⁽²⁰⁾. Diese Verbindungen repräsentieren eine neuartige Verbindungsklasse potentieller Kinaseinhibitoren. Die Hemmung der Myt1 Kinase kann zu einem Verlust der „Checkpoint“-Kontrolle im Zellzyklus führen. Die inhibitorische Phosphorylierung des Cdc2/CyclinB-Komplexes durch die Wee Kinasen bestimmt den Eintritt in die Mitose. Verschiedene Studien haben gezeigt, dass eine frühzeitige Aktivierung des Cdc2/CyclinB-Komplexes eine mitotische Katastrophe und Apoptose zur Folge hat ^(15; 17). Inhibitoren der Myt1 Kinase könnten schnell proliferierende Zellen durch Abschaffung eines wichtigen „Checkpoints“ im Zellzyklus abtöten. Solche Inhibitoren könnten an der Erweiterung der Behandlungsmöglichkeiten zur konventionellen Chemotherapie beitragen und eine mögliche Resistenzbildung umgehen. Die Neosynthese der nativen Glycoglycerolipide bildet die Basis für Strukturmodifikationen innerhalb des Moleküls und soll Aufschluss zu Struktur-Wirkungsbeziehungen liefern, die die Grundlage für die Entwicklung neuer, potenter Inhibitoren darstellen.

3 Synthesekonzeption

Im Rahmen dieser Dissertation sollte ein Synthesekonzept für die Darstellung des in Abbildung 12 aufgeführten nativen Algenglycoglycerolipids entwickelt werden. Für dessen Planung mussten nachfolgend genannte Aspekte berücksichtigt werden.

1. Verwendung kostengünstiger und in ausreichender Menge vorhandener Ausgangsstoffe
2. Anwendung einfacher und effizienter Synthesemethoden mit hoher Reproduzierbarkeit
3. Schaffung einer hohen Variabilität innerhalb der Synthese für nachfolgende Strukturmodifikationen

Die Umsetzung der aufgeführten Kernaspekte erforderte eine genaue retrosynthetische Betrachtung des Zielmoleküls.

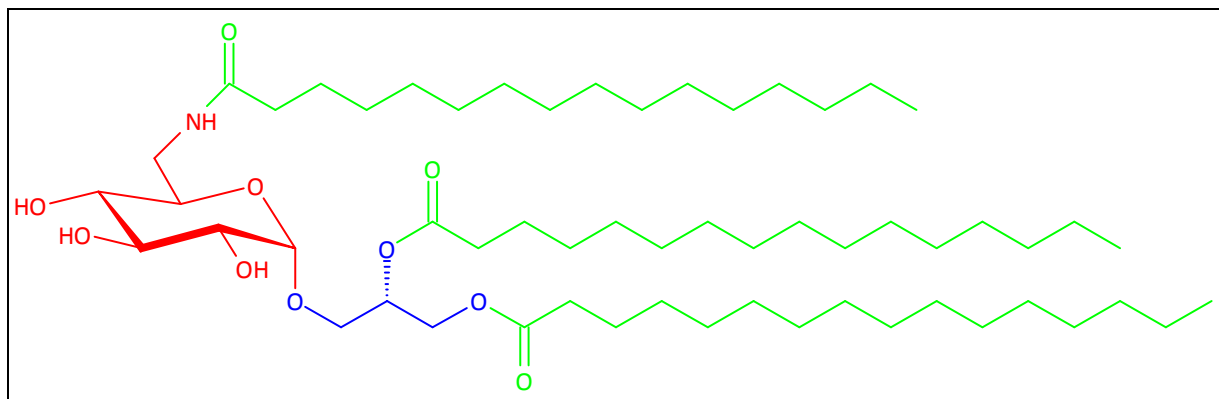


Abb. 12: farbliche Hervorhebung der einzelnen Molekülbausteine des nativen Algenglycoglycerolipids

Die notwendigen Grundbausteine ließen sich durch Zerlegung des entsprechenden Moleküls erhalten, zu der die Zuckerkomponente (rot), die Glyceroleinheit (blau) sowie die Fettsäurereste (grün) gehören.

Die Zuckerkomponente stellt ein α -konfiguriertes 6-Glucosaminderivat dar, das mit der Glyceroleinheit α -glycosidisch verknüpft ist. Bei der Zuckerkomponente und der Glyceroleinheit handelt es sich um polyfunktionelle Strukturen, die zur Gewährleistung der Regioselektivität während der glycosidischen Bindung entsprechend geschützt werden mussten. Des Weiteren handelt es sich um ein α -konfiguriertes Glucosid, weshalb die Reaktion auch hinsichtlich ihrer α/β -Verknüpfung weitestgehend stereoselektiv sein sollte. Für das Verknüpfen wurden daher aufwendige Schutzgruppenstrategien, sowie geeignete Verfahren zur Aktivierung des anomeren Zentrums notwendig. Hier zeigte sich auch die hohe Komplexität der Synthese, die folgende Schritte erforderte.

- 1) Darstellung eines 6-Glucosaminderivats
- 2) Darstellung eines α -konfigurierten Glucosids
- 3) Einführung der Fettsäurereste

3.1 Darstellung eines partiell geschützten 6-Glucosaminderivats

3.1.1 Einführung einer Tritylschutzgruppe

Als Ausgangsstoff für die Synthese musste ein Zuckerderivat zur Verfügung stehen, das den vorangegangenen Anforderungen bei der Syntheseplanung entsprach. Besonders das α -D-Methylglucosid eignete sich bezüglich seines kommerziellen und kostengünstigen Erwerbs als gute Ausgangsverbindung. Im α -D-Methylglucosid wird das anomere Zentrum durch eine Methoxygruppe entsprechend geschützt. Für die nachfolgenden Schritte mussten daher nur die restlichen Hydroxylgruppen mit geeigneten Schutzgruppen blockiert werden.

Die Darstellung eines 6-Glucosaminderivats erforderte die strukturelle Veränderung an der primären Hydroxylgruppe an Position 6. Um diese für die weiteren Syntheseschritte zugänglich zu machen, mussten die vorhandenen sekundären Hydroxylgruppen an Position 2, 3 und 4 des α -D-Methylglucosids permanent geschützt werden. Hierbei wurde der Vorteil der abweichenden Reaktivität zwischen primären und sekundären Hydroxylgruppen genutzt. Zum selektiven Schutz primärer Hydroxylgruppen wurden daher sterisch anspruchsvolle Schutzgruppen wie Tritylether verwendet^(52; 53), die sich mit Tritylchlorid unter Zugabe geringer Mengen DMAP in Pyridin bei einer Temperatur von 80 °C leicht einführen ließen⁽⁵⁴⁾. Nach etwa 3 h konnte die Reaktion beendet werden. Nach Aufarbeitung ließ sich Verbindung **1** durch Umkristallisation in einem Heptan/Essigester-Gemisch in guten Ausbeuten gewinnen.

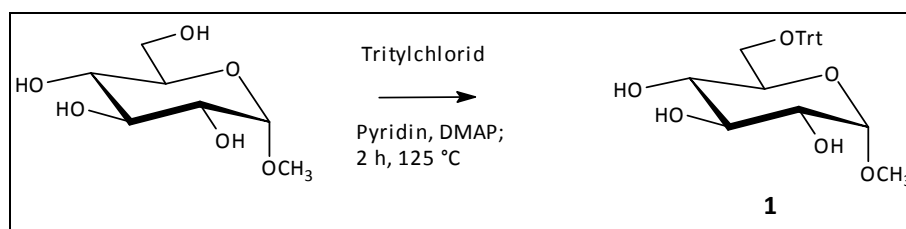


Abb. 13: Tritylierung

3.1.2 Einführung von Benzylschutzgruppen

Bei der Auswahl geeigneter Schutzgruppen der sekundären Hydroxylgruppen musste sowohl auf die Stabilität während der gesamten Synthese, sowie auf die leichte Abspaltbarkeit zum Abschluss der Synthese geachtet werden. Daher durften nachfolgende saure und basische Reaktionen keinen Einfluss auf die Schutzgruppen nehmen. Diesen Anforderungen entsprachen vor allem Benzylether-Schutzgruppen, die in der organischen Chemie sehr häufig zum Einsatz kommen⁽⁵⁵⁾. Benzylether-Schutzgruppen sind über einen weiten Bereich säure- und basenstabil und lassen sich durch katalytische Hydrierung in guten Ausbeuten abspalten^(56; 57; 58).

Die besten Umsätze von Verbindung **1** ließen sich bei der Umsetzung mit überschüssigem Benzylchlorid in Gegenwart von NaH bei einer Temperatur von ca. 125 °C erzielen. Das Reaktionsende konnte nach 2 h anhand einer einsetzenden Farbveränderung sowie der Veränderung der Fluidität visuell bestimmt werden^(59; 60). Das überschüssige Benzylchlorid ließ sich im Anschluss sehr leicht mit Hilfe einer Flash-Säule und unter Verwendung des unpolaren Lösungsmittels Heptan vom Reaktionsprodukt abtrennen. Durch Erhöhung der Polarität des Laufmittels durch den steigenden Zusatz von Ether konnte die Verbindung **2** erhalten werden. Diese konnte nach dem Entfernen des Ethers in Heptan auskristallisieren und wurde so in reiner Form gewonnen.

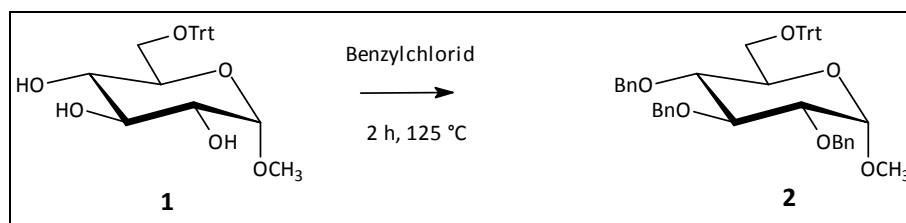


Abb. 14: Benzylierung

3.1.3 Detritylierung

Die temporär eingeführte Tritylschutzgruppe konnte nachfolgend selektiv gespalten werden. Da die Bedingungen der klassischen Etherspaltung ziemlich drastisch verlaufen⁽⁵⁷⁾, wurde nach einer besonders schonenden und einfachen Detritylierungsmethode gesucht. Aus der Vielzahl in der Literatur beschriebener Methoden der Tritylspaltung^(61; 62), erschien das Arbeiten mit BF₃ in Methanol als eine besonders geeignete Methode⁽⁶³⁾. Da Tritylether-Schutzgruppen den Vorteil besitzen, auch unter milden sauren Bedingungen gespalten zu werden, erwies sich die Einhaltung folgender Bedingungen für den einheitlichen Verlauf der Reaktion als besonders günstig. Dazu gehörte der Einsatz eines polar aprotischen Lösungsmittels, vorzugsweise Dichlormethan, sowie äquimolare

Mengen an BF_3 . Als Reagenzien wurden der BF_3 -Diethylether-Komplex und das Lösungsmittel Methanol verwendet ⁽⁶³⁾. Die Reaktion wurde bei Raumtemperatur durchgeführt. Eine dünnschichtchromatographische Untersuchung zeigte einen fast vollständigen Umsatz nach 30 min an. Das Produkt **3** wurde säulenchromatographisch unter Verwendung eines Heptan/Ether-Laufmittelgemischs unter Erhalt weißer Kristalle gereinigt.

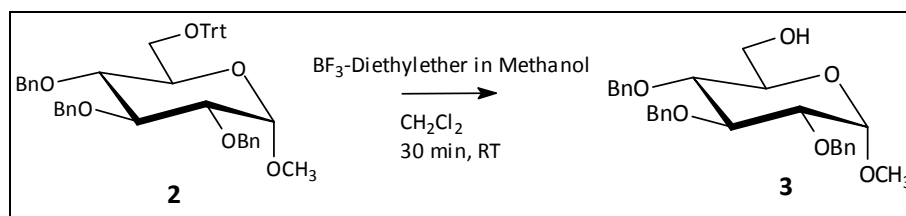


Abb. 15: Detritylierung

3.1.4 Mesylierung

Die freie primäre Hydroxylgruppe an C6 konnte nun für weitere Reaktionsschritte zur Aminogruppe umfunktioniert werden. Da die Verdrängung der OH -Gruppe als stark basisches Anion aus thermodynamischen Gründen nicht direkt möglich ist, musste die OH -Gruppe zuvor ausreichend aktiviert werden ⁽⁶⁴⁾. Dazu wurde diese in einem ersten Schritt durch eine gute Abgangsgruppe ersetzt. Als gute Abgangsgruppen haben sich in der Chemie vor allem die Sulfonsäureester bewährt, da ihre Austrittstendenz von der Stärke ihrer korrespondierenden Säure abhängt ^(64; 65). Ein gebräuchliches Verfahren ist die Mesylierung unter Bildung des Mesylats **4** ⁽⁶⁶⁾. Für die Einführung wurde dazu eine eisgekühlte Lösung des entsprechenden Alkohols **3** in CH_2Cl_2 in Gegenwart von TEA mit Methansulfonylchlorid versetzt ⁽⁶⁷⁾. Durch die Zugabe der Base TEA konnte die gebildete Salzsäure abgefangen und die Reaktion neutral gehalten werden. Gleichzeitig wurde damit die Verschiebung des Reaktionsgleichgewichts in Richtung Esterbildung unterstützt ⁽⁶⁸⁾. Das gebildete Mesylat **4** kristallisierte sehr leicht in Heptan und erforderte keine weitere Zwischenreinigung.

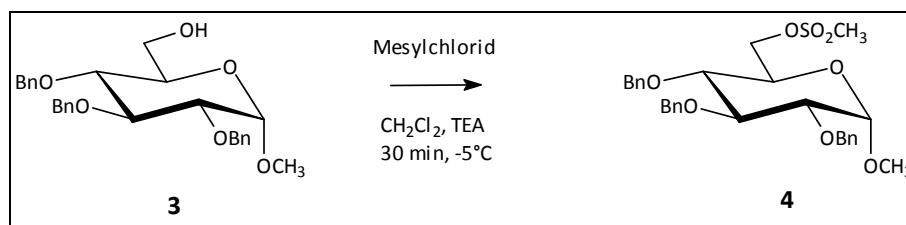


Abb. 16: Mesylierung

3.1.5 Einführung von N-Atomen

Für das einfache und effiziente Einführen von N-Atomen werden am häufigsten Azide verwendet⁽⁶⁹⁾. Die Sulfonyloxy-Gruppe des Mesylats **4** erwies sich als gute Abgangsgruppe bei der nucleophilen Substitution mit NaN_3 . Parallel dazu spielte aber auch die Wahl des eingesetzten Lösungsmittels sowie die Verfügbarkeit der Azid-Ionen für Austauschreaktionen eine für die Reaktionsgeschwindigkeit maßgebliche Rolle. Es wurde daher das polar-aprotische Lösungsmittel DMF verwendet, dass neben der Polarität des Mediums auch die Löslichkeit des NaN_3 erhöhte^(69; 70). Die optimale Reaktionstemperatur betrug $90\text{ }^\circ\text{C}$, wobei die Umsetzung innerhalb von 8 h nahezu quantitativ verlief. Die Aufarbeitung des organischen Azids **5** in DMF erfolgte anschließend unter Verwendung des unpolaren Lösungsmittels Heptan und Wasser. DMF ist in Heptan nicht mischbar und konnte vom Produkt vollständig abgetrennt werden. Somit ließ sich das Azid **5** nach Abtrennen der organischen Phase am Rotationsverdampfer ohne weitere Zwischenreinigung und mit hoher Ausbeute gewinnen.

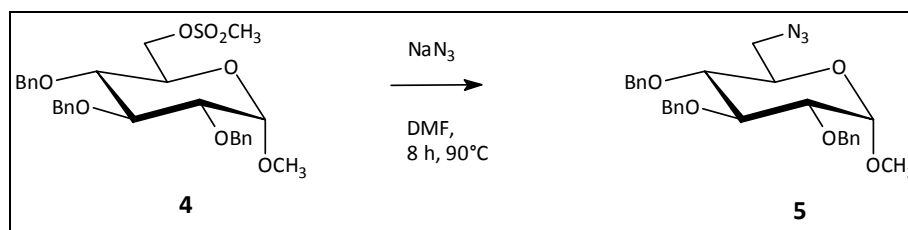


Abb. 17: Einführung der Azido-Gruppe

Das primäre Amin ließe sich nun leicht durch Reduktion des Azids **5** darstellen. Für die weitere Umsetzung ist dieses Vorgehen aber nicht sinnvoll, da die Amino-Gruppe als funktionelle Gruppe erneut geschützt werden musste. Die Verwendung des Azids als potentielle Schutzgruppe erschien deshalb besonders wertvoll, da so die reaktionsfähige Aminogruppe zunächst als Azid-Gruppe maskiert blieb. Diese Maskierung erlaubte es innerhalb des Moleküls weitere chemische Veränderungen vorzunehmen. Somit konnte die Azid-Gruppe als Schutzgruppe bei den nachfolgenden Reaktionsschritten fungieren. Allerdings mussten auch die nachfolgenden Reaktionsbedingungen so gewählt werden, dass eine unmittelbare Beeinflussung dieser Schutzgruppe nicht stattfinden konnte. Da die Azide aufgrund ihres dipolaren Charakters besonders gegenüber nucleophilen und elektrophilen Reagenzien reaktionsfähig sind und die Bereitschaft zu dipolaren [3+2]-Cycloadditionen an Mehrfachbindungssystemen zeigen⁽⁷¹⁾, musste die Stabilität der Azid-Gruppe bei den nachfolgenden Syntheseschritten sichergestellt werden.

3.1.6 Aktivierung des Zuckers für die nachfolgende Glycosylierung

In Vorbereitung auf die Glycosylierungsreaktion wurde die freie Hydroxylgruppe am anomeren C-Atom benötigt, die jedoch noch durch die Methoxy-Gruppe geschützt wurde. Im vorbereitenden Syntheseschritt erfolgte hierzu die Abspaltung dieser Schutzgruppe. Da die Methylglycoside zu den stabilsten Glycosiden gehören, benötigt man für ihre Spaltung eine ausreichend starke Säurekatalyse. Für die Umsetzung wurde daher das Azid **5** in Eisessig gelöst und mit 3 Molarer aq. H_2SO_4 versetzt und bei einer Reaktionstemperatur von ca. $80\text{ }^\circ\text{C}$ für die Dauer von 4 h gerührt.

Trotz der relativ drastischen Reaktionsbedingungen erwies sich die Stabilität der Azido-Gruppe als ausreichend. Für die Aufarbeitung musste das Produktgemisch zunächst neutralisiert werden. Neben der Neutralisation mit NaHCO_3 wurde auch mit verd. NH_3 -Lösung gearbeitet. Die Aufreinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie. Als Elutionsmittel diente ein Heptan/Chloroform-Gemisch steigender Polarität. Anschließend wurde die Polarität durch den Zusatz von wenigen Mengen Methanol weiter angehoben bis zum Erhalt des gewünschten Produkts **6**.

Da die Umsätze bei dieser Reaktion nicht zufriedenstellend ausfielen, wurden auch andere Versuche getätigt. So konnte der Einsatz von Trifluoressigsäure als Alternative zu Eisessig und verd. H_2SO_4 nicht das gewünschte Produkt liefern. Es bildete sich vielmehr eine unter UV-Licht fluoreszierende Substanz. Allerdings ergaben die MS- und H-NMR-Auswertungen keine eindeutigen Ergebnisse zu dessen Beschaffenheit. Es handelte sich vielmehr um ein Substanzgemisch unklarer Zusammensetzung. Möglicherweise könnten stattfindende Cycloadditionen der Azid-Gruppen an der Entstehung dieser Substanzen beteiligt gewesen sein.

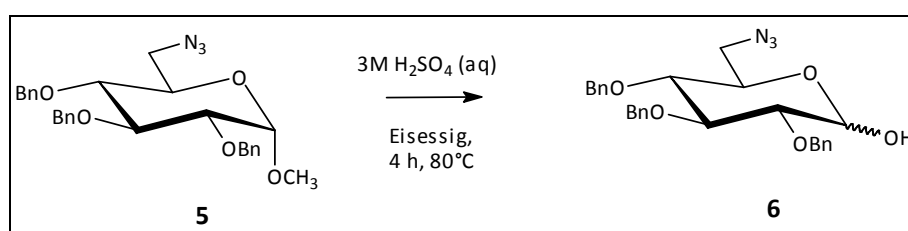


Abb. 18: Aktivierung des anomeren Zentrums

3.2 Glycosylierungsverfahren

Die in der Literatur beschriebenen Methoden zur Knüpfung O-glycosidischer Bindungen am anomeren C-Atom des Zuckers sind sehr umfangreich^(72; 73).

Im Allgemeinen umfasst die chemische Glycosidsynthese die Umwandlung eines Zuckers in einen voll geschützten Glycosyldonor, der zusätzlich an seinem anomeren Zentrum eine geeignete

Abgangsgruppe trägt. Die eigentliche Glycosylierung erfolgt mit einem geeignet geschützten Glycosyldonor⁽⁷⁴⁾.

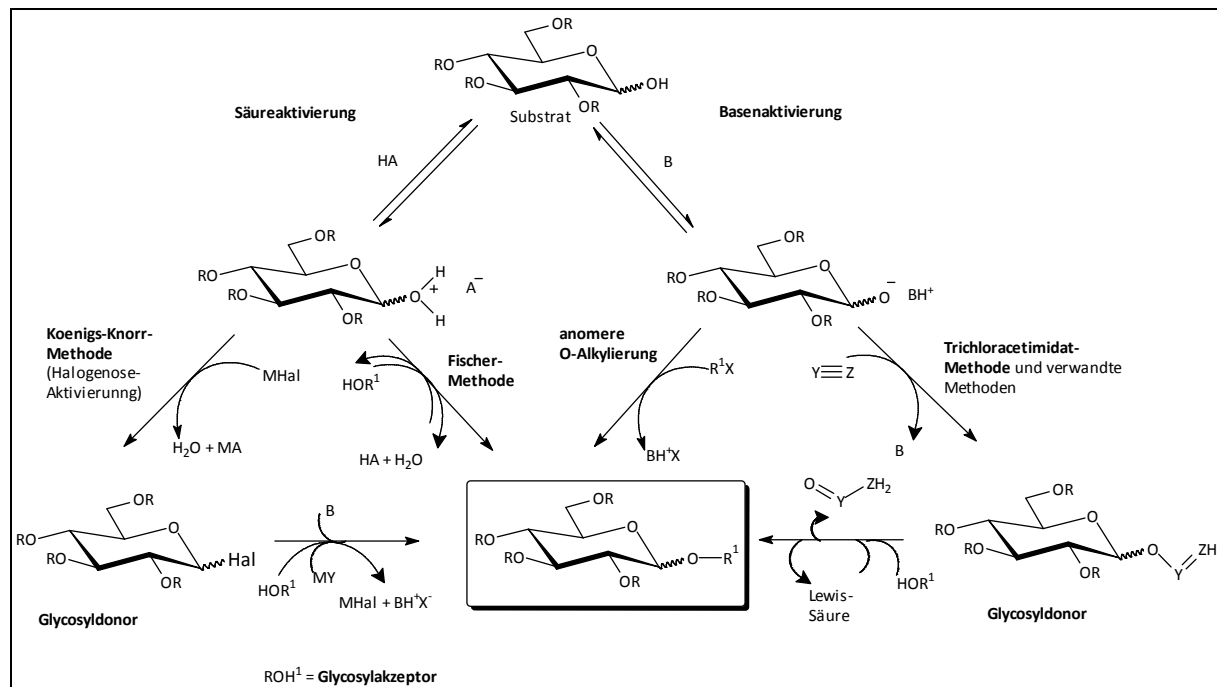


Abb. 19: Übersicht Glycosylierungsmethoden

Für das Verknüpfen sind folglich die Abgangsgruppe des Glycosyldonors und eine entsprechende Schutzgruppenstrategie wesentlicher Bestandteil für die Ausbeutensteigerung und den stereochemischen Verlauf der Glycosylierungsreaktion. Klassische Methoden wie die Glycosylierung nach *E. Fischer* sind für die Synthese komplexerer Glycoside oftmals unbrauchbar, da bei dieser Methode der ungeschützte Zucker in einem Überschuss an Alkohol gelöst und mittels Säurekatalyse zum Glycosid umgesetzt wird⁽⁷⁵⁾. Große Fortschritte wurden bei der *Koenigs-Knorr-Methode* erzielt, bei der die Aktivierung über Halogenosen in Gegenwart von Schwermetallsalzen stattfindet⁽⁷⁶⁾. Dieses Verfahren galt lange Zeit als sehr nützliche Methode zur Darstellung von stereospezifischen 1,2-*trans*-Glycosiden, die im Laufe der Zeit zu effizienteren Varianten weiterentwickelt wurden⁽⁵⁶⁾. Trotz der enormen Bedeutung dieser Methode konnten die wesentlichen Nachteile nicht beseitigt werden. Erstens sollte auf die geringe Stabilität der Halogenosen hingewiesen werden, zweitens auf den Einsatz von relativ großen Mengen an Schwermetallsalzen⁽⁷⁷⁾. Für eine effizientere Glycosylierung waren daher folgende Voraussetzungen nötig. Der erste Schritt sollte zur Bildung eines stabilen und sterisch einheitlichen Glycosyldonors führen. In einem zweiten Schritt erfolgte die Aktivierung des Glycosyldonors mit katalytischen Promotormengen unter vorzugsweiser Bildung von sterisch einheitlichem Glycosid in hohen Ausbeuten. Auf den Einsatz von Schwermetallsalzen sollte verzichtet werden.

3.2.1 Glycosylierung nach R.R. Schmidt

Eine von R. R. Schmidt *et al.* etablierte Methode besteht in der basenvermittelten Deprotonierung der anomeren Hydroxygruppe und der Addition an geeignete Dreifachbindungssysteme oder Allensysteme. Dieses auch als Trichloracetimidat-Methode bezeichnete Verfahren nutzt vor allem kinetische und thermodynamische Effekte und bildet auf diese Weise stereokontrollierte stabile O-Glycosylimidate mit hohem Glycosylierungspotential⁽⁷⁸⁾.

Für die Synthese des darzustellenden nativen Algenglycoglycerolipids wurde auf die Trichloracetimidat-Methode zurückgegriffen. Die von R. R. Schmidt *et al.* durchgeführten Untersuchungen zeigten, dass das intermediär erzeugte 1-Alkoxid in einer schnellen und reversiblen Addition an Trichloracetonitril bevorzugt das β -Trichloracetimidat bildete. Bedingt durch den anomeren Effekt mit dem elektronenziehenden 1-Substituenten anomerisiert das β -Trichloracetimidat in einer basenkatalysierten langsameren Reaktion fast vollständig in sein α -Anomer⁽⁷⁹⁾.

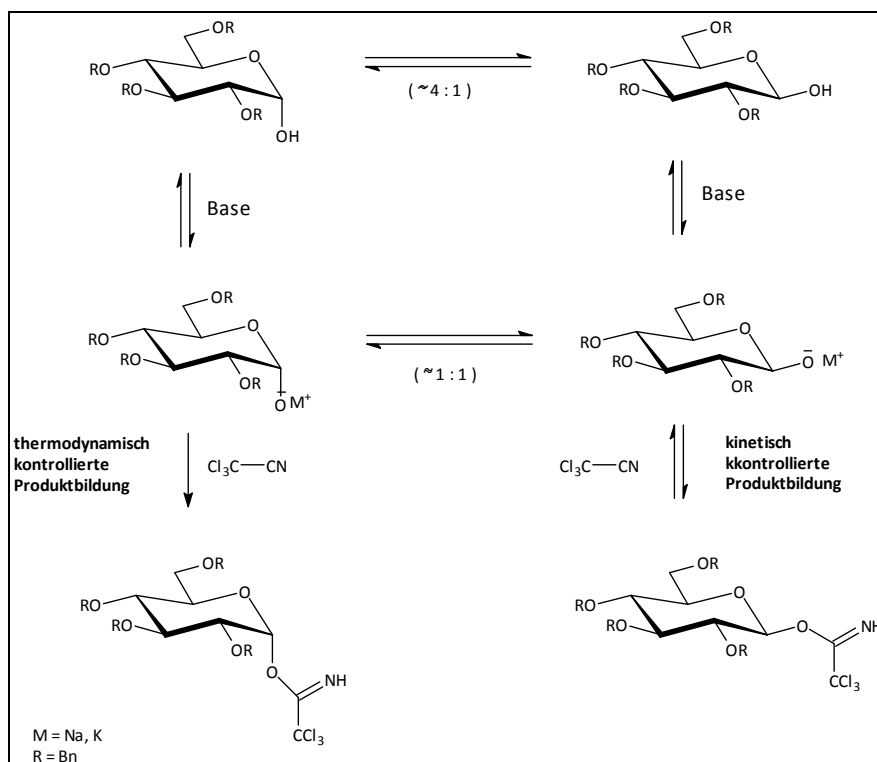


Abb. 20: thermodynamisch und kinetisch kontrollierte Produktbildung

Die verschieden schnelle Bildung der α - und β -O-Glycosyltrichloracetimidate, die Reversibilität der Reaktion und die unterschiedliche kinetische Stabilität der Anomeren wurden zur gezielten Produktlenkung eingesetzt. Hierzu musste das kinetisch kontrollierte Produkt gebildet und die Reversibilität der Rückspaltung zum thermodynamisch stabileren Produkt unterbunden werden. Laut

R. R. Schmidt et al. wird dieses Ergebnis bei der Umsetzung mit N-substituierten Keteniminin erwartet, da im gebildeten Additionsprodukt das H-Atom an einem C-Atom gebunden ist und somit von der Rückspaltung geschützt wird.

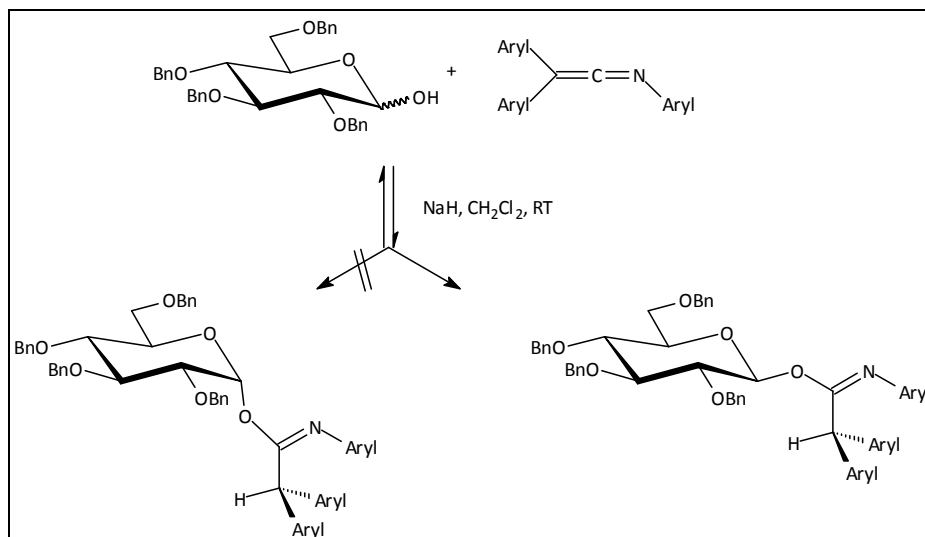


Abb. 21: Produktbildung mit Ketenimin

In einer Versuchsanordnung von *R.R. Schmidt et al.* konnte gezeigt werden, dass die Umsetzung von Tetra-O-benzylglucose mit *N*-2,2-Triphenylketenimin in CH_2Cl_2 und NaH als Base ausschließlich das β -O-Glycosylimidat bildete^(77; 79). Zur Erzielung guter Ausbeuten wurden allerdings auch lange Reaktionszeiten (> 24 h) benötigt, was auf die geringe Additionsbereitschaft des Ketenimins zurückgeführt werden konnte. Um dieses Problem zu umgehen, setzten *R. R. Schmidt et al.*, das durch seine elektronenziehenden Substituenten stärker aktivierte *N*-2,2-Tri(4-chlorphenyl)ketenimin ein und konnten so die Reaktionsbereitschaft und damit die Ausbeuten steigern. Diese Forschungsergebnisse wurden für die Glycosylierung unserer Verbindungen genutzt.

Zuvor wurde in einem 2-Stufen-Verfahren das *N*-2,2-Tri(4-chlorphenyl)ketenimin hergestellt. Dabei wurde die Bis(4-chlorphenyl)essigsäure **14** zusammen mit 4-Chloranillin und EEDQ in abs. Ethanol gelöst und für mehrere Stunden bei 50 °C gerührt. Die Pseudobase EEDQ wurde hierbei als Kupplungsreagenz eingesetzt. Das Produkt **15** konnte durch Umkristallisation in CHCl_3 gewonnen werden. In einem zweiten Schritt wurde das Produkt **15** zusammen mit Brom, Triphenylphosphin und TEA in CH_2Cl_2 gelöst und unter Rückfluss für 1 h erhitzt⁽⁸⁰⁾. Das gebildete Ketenimin **16** konnte durch Extraktion mit Petrolether und säulenchromatographische Aufreinigung in kristalliner Form gewonnen werden. Eine Umkristallisation in Methanol, wie in der Literatur⁽⁸⁰⁾ beschrieben, gelang allerdings nicht.

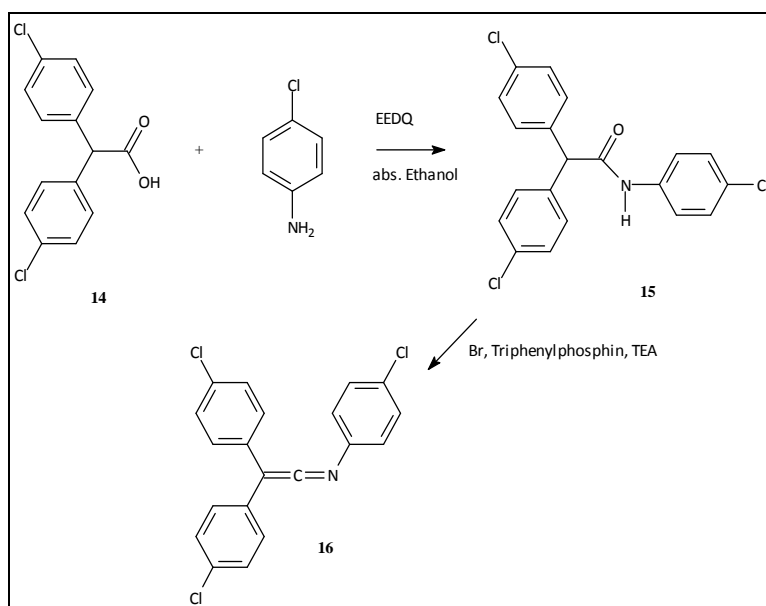


Abb. 22: Synthese des N-2,2-Tri(4-chlorphenyl)ketenimin

Entsprechend den experimentellen Angaben ließ sich in CH₂Cl₂ gelöste Verbindung **6** mit äquimolaren Mengen Ketenimin **16** und überschüssigen NaH zum Imidat umsetzen. Die Reaktion konnte nach 5 h beendet werden⁽⁷⁹⁾.

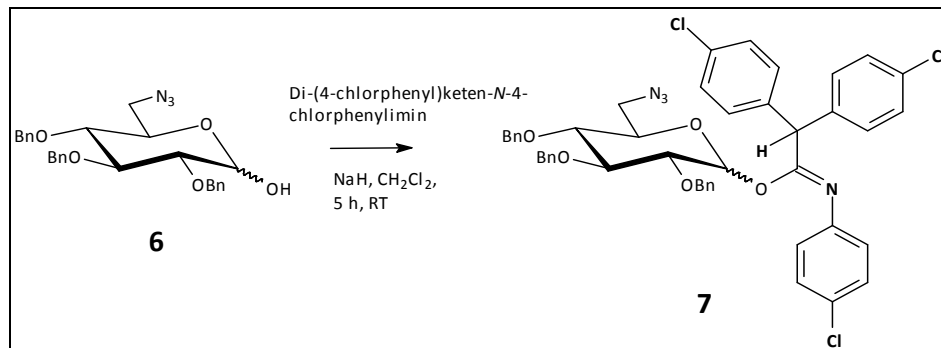


Abb. 23: Imidatbildung

3.2.2 Untersuchungen zur Stereoselektivität

Die nachfolgenden Untersuchungen des gebildeten Imidats auf seine stereochemische Zusammensetzung ergab ein Verhältnis von ca. **α7:β7** = 25:75. Es bildete sich demzufolge neben dem gewünschten β-Imidat auch das α-konfigurierte Anomer. Beide Zwischenprodukte ließen sich mittels MPLC unter Verwendung eines Heptan/Ether-Laufgemischs steigender Polarität gut trennen. Weiterhin zeigten sie eine gute Stabilität und konnten problemlos isoliert werden.

Unter Säurekatalyse sollten anschließend die geschützten β -Imidate in CH_2Cl_2 mit der Alkoholkomponente des Glycosylakzeptors überwiegend bzw. ausschließlich Inversionsprodukte liefern. Bei einer Versuchsanordnung wurde direkt das Anomerengemisch ($\alpha 7 : \beta 7 = 25 : 75$) verwendet und mit (*S*)-1,2-Isopropylidenglycerol in Gegenwart von TMSOTf bei $-20\text{ }^\circ\text{C}$ umgesetzt. Das gebildete Produkt **8** ergab ein Mischungsverhältnis aus $\alpha 8 : \beta 8 = 78 : 22$. Bei der Betrachtung beider Verhältnisse, sowohl von $\alpha 7 : \beta 7 = 25 : 75$ als auch von $\alpha 8 : \beta 8 = 78 : 22$, konnte man auf eine Inversion beider Anomere während der Reaktion schließen. Setzte man beide Verbindungen allerdings separat um, so entstand bei **7** auch ca. 20 % **8**. Ähnliche Beobachtungen wurden bei der Glycosylierung mit **7** gemacht, bei deren Umsetzung sich ca. 30 % von **8** bildeten.

Nach den Untersuchungen von *R.R. Schmidt et al.* sollten sich an den C1-ungeschützten Glucopyranosen mit NaH als Base und arylsubstituierten Keteniminen praktisch ausschließlich die β -Imidate bilden⁽⁷⁹⁾. Die Bildung von sterisch einheitlichem Imidat konnte nicht ausschließlich erreicht werden. Es lässt sich aber dennoch ein eindeutiger Trend in Richtung β -Imidat erkennen. Allerdings liegt die Vermutung nahe, dass die verwendete Ausgangsverbindung **6** der Grund für die leicht abweichenden Ergebnisse sein könnte. Die Arbeitsgruppe um *R.R. Schmidt* verwendete für ihre Umsetzung tetra-benzylgeschützte Glucopyranose, die eventuell ein ganz anderes Reaktionsverhalten zeigte, als die verwendete Azido-geschützte Glucopyranose in unserem Versuch. Ein wesentlicher Einflussfaktor bei der Bildung des Imidats kann der dipolare Charakter der Azido-Gruppe sein, der unter anderem die Bildung von Wasserstoffbrückenbindungen unterstützt und mit dem Ketenimin Wechselwirkungen eingeht.

Auch die eigentliche Glycosylierung mit (*S*)-1,2-Isopropylidenglycerol liefert nicht ausschließlich Inversionsprodukte. Die Vorversuche deuten zwar auf eine Inversion unter Verwendung des Anomerengemischs bei der Produktbildung hin, konnten aber bei der separaten Umsetzung des reinen Anomers nicht bestätigt werden. Auch hier bildete sich mindestens ein Fünftel des gleichen Diastereomers. Mögliche Ursachen für die stattfindenden Abweichungen bei der Produktlenkung könnten neben der Art der Ausgangsverbindung (Azido-Funktion) auch die einwirkenden Reaktionsbedingungen sein. Sie konnten nur in begrenztem Umfang optimiert werden, scheinen aber einen wichtigen Einfluss auf die stattfindende Reaktion zu haben. So hatte vor allem der verwendete Katalysator eine beträchtliche Wirkung bei der Produktlenkung. Anfängliche Versuche mit Bortrifluorid-Diethylether-Komplex bei $20\text{ }^\circ\text{C}$ zeigten schlechtere Umsätze zum gewünschten Inversionsprodukt ($\alpha 8 : \beta 8 = 60 : 40$), als die Verwendung des Katalysators (Trimethylsilyl)-trifluormethansulfonat bei $-20\text{ }^\circ\text{C}$. Die Verwendung von TMSOTf zur Produktlenkung wurde schon von *Grundler et al.* beschrieben⁽⁸¹⁾. Scheinbar begünstigte die stärkere Lewis-Säure (Trimethylsilyl)-trifluormethansulfonat die Bildung des thermodynamisch stabileren α -Glycosids.

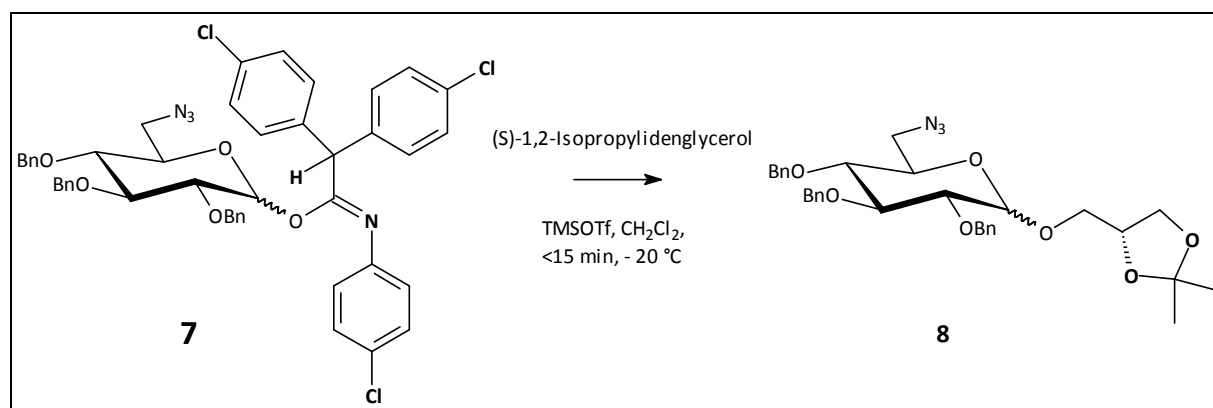


Abb. 24: Glycosylierung

Neben der bevorzugten Synthese von α -konfigurierten Glycosylierungsprodukt **8** offenbarte sich die Abtrennung von **8** als besonders schwierig. Aufgrund ihres ähnlichen Laufverhaltens musste ein Elutionsmittel gefunden werden, welches eine Trennung ermöglichte. Für die Trennung der Anomeren erwies sich die präparative Dünnschichtchromatographie unter Verwendung eines Heptan/Essigester-Gemischs als geeignetste Methode. Für die weiteren Umsetzungen war es allerdings sinnvoller, das Anomerengemisch direkt zu verwenden, da sich die nachfolgenden Verbindungen besser auftrennen ließen.

3.3 Darstellung eines Glycoglycerolipids

3.3.1 Entfernung der Isopropyliden-Schutzgruppe

Isopropylidene werden unter sauren Bedingungen gespalten. Die Auswahl an möglichen Reaktionsbedingungen ist vielfältig^(57; 58) und abhängig vom umzusetzenden Ausgangsstoff, besonders wenn andere säureanfällige Gruppen vorhanden sind. Zur Entfernung der Isopropyliden-Schutzgruppe in Verbindung **8** mussten die Bedingungen relativ schonend ausfallen, da die glycosidische Bindung besonders anfällig gegenüber starken Säuren war. Schwach saure Bedingungen wurden bei der Umsetzung mit Pyridiniumtosylat geschaffen, ohne dass dabei die glycosidische Bindung angegriffen wurde^(82; 83).

Die Verbindung **8** wurde dazu in Methanol gelöst, mit Pyridiniumtosylat versetzt und für 5 h unter Rückfluss erhitzt. Das Produkt **9** konnte mittels MPLC unter Verwendung eines Chloroform/Methanol-Laufmittelgemischs gereinigt werden.

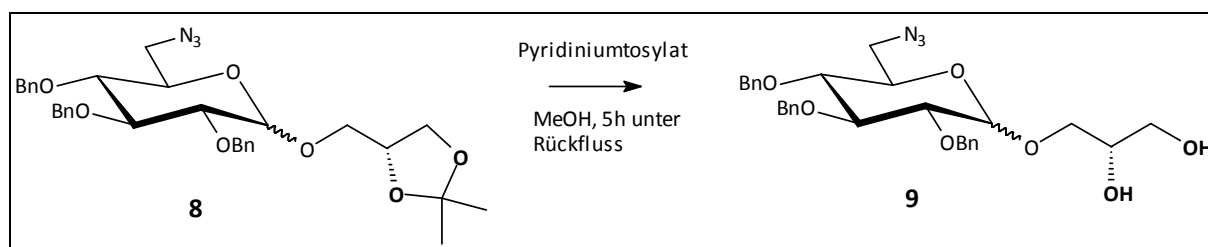


Abb. 25: Acetalspaltung

Die Trennung der Anomeren erfolgte mit Hilfe der präparativen Dünnschichtchromatographie mit Essigester. Die gebildeten Anomere zeigten dabei ein deutlich besseres Trennverhalten als ihre acetalgeschützten Vorgänger.

3.3.2 Veresterung

Die Einführung der Fettsäurereste stellte den nächsten Schritt bei der Synthese des Naturstoffs dar. Sie sollte vorerst nur am Glycerol stattfinden. Mit dem Erhalt der Azid-Gruppe an Position 6 würden weitere Derivatisierungsmöglichkeiten in nachfolgenden Reaktionsschritten geschaffen, die für weitere Strukturmodifikationen interessant wären.

Für die Veresterung der freien OH-Gruppen standen mehrere Methoden zur Auswahl. Neben der Darstellung über die entsprechenden Säurechloride existieren auch Reaktionen mit milderen Reaktionsbedingungen, welche die Umsetzung säurelabiler Edukte ermöglichen. Eine Variante bot hierzu die Überführung der Fettsäuren in die entsprechend aktiven Anhydride **PA**. Zum Einsatz kam hierzu die *Carbodiimid-Methode*⁽⁸⁴⁾. Bei dieser Methode wurde die Säure **P** durch Zusatz von Dicyclohexylcarbodiimid **DCC** in das Säureanhydrid unter Abspaltung von *N,N'*-Dicyclohexylharnstoff **DHU** überführt (Abbildung 26).

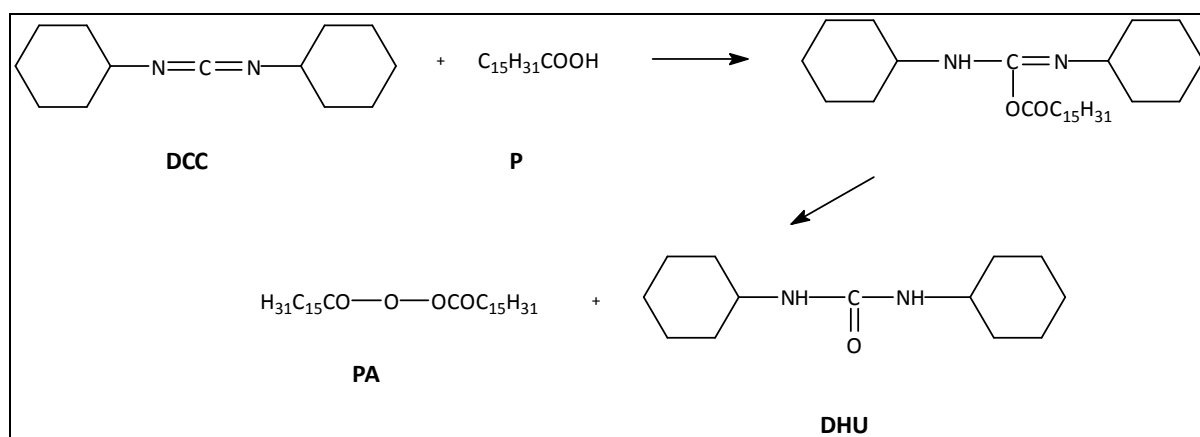


Abb. 26: Carbodiimid-Methode

Unter Verwendung von Tetrachlormethan als Lösungsmittel wurde **DHU** ausgefällt und konnte leicht aus dem Reaktionsgemisch durch Filtration entfernt werden. Das Anhydrid **PA** wurde im Anschluss mit den freien OH-Gruppen des Glycosids **9** umgesetzt. Hierzu erfolgte die Aktivierung durch DMAP, welches bei dieser Reaktion als Acyltransferreagenz (*Steglich-Reagenz*) fungierte. Dadurch wurde die Bildung eines reaktiven Amids („Aktivester“) forciert, der daraufhin mit dem Alkohol **9** zum stabileren Ester **10** reagierte⁽⁸⁵⁾. Zur Beschleunigung der Reaktion wurde das Reaktionsgemisch für 4 h auf 50 °C erhitzt. Die DC-Auswertung zeigte eine gute Umsetzung zum gewünschten Produkt. Um die Ausbeuten weiter zu steigern, wurde erneut eine kleine Menge DCC zugegeben und bei RT für weitere 20 h gerührt. Nach dieser Reaktionszeit war die Bildung von Verbindung **10** praktisch abgeschlossen. Die Aufreinigung des Produkts erfolgte mit Hilfe der MPLC. Als Laufmittel wurde ein Heptan/Ether-Gradient mit aufsteigender Polarität verwendet. Bei der Verwendung des Anomerengemischs bei der Aufreinigung konnte hierbei eine vollständige Trennung der Anomeren erreicht werden.

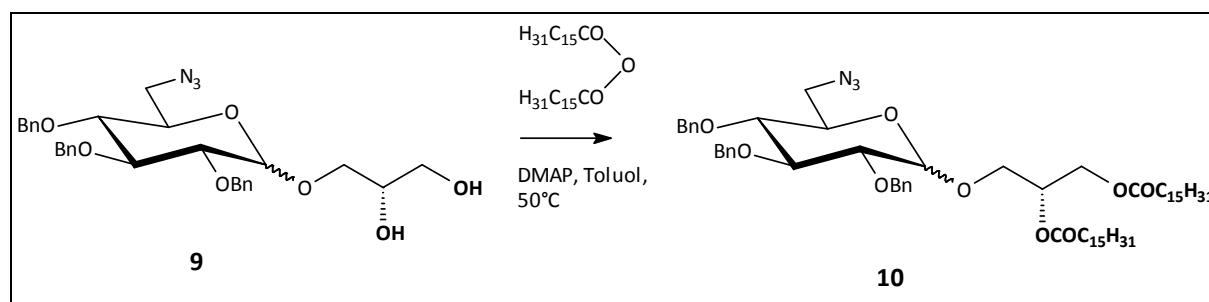


Abb. 27: Esterbildung am Glycerol

3.3.3 Reduktion der Azide

Im nächsten Schritt wurde die Schutzfunktion der Azid-Gruppe an Position 6 aufgehoben. Es folgte nunmehr die Reduktion des Azids **10** zum Amin **11**. Ein gebräuchliches und schonendes Verfahren ist die Reduktion mit Phosphornucleophilen, das auch unter den Namen *Staudinger-Reaktion* bekannt ist^(86; 87). Durch den Einsatz von Triphenylphosphin als Reduktionsmittel bildete sich aus dem Azid **10** durch den nucleophilen Angriff und unter Stickstoffabgabe ein Iminophosphoran⁽⁸⁸⁾. Dieses Iminophosphoran hydrolysierte unter Zugabe von Wasser spontan zum primären Amin **11** und Triphenylphosphinoxid. Das gebildete Triphenylphosphinoxid konnte durch anschließende Kristallisation in Heptan weitestgehend vom Produkt **11** entfernt werden. Das überschüssige Triphenylphosphin ließ sich leicht mittels MPLC unter Verwendung eines Chloroform/Methanol-Gemischs aufsteigender Polarität vom Produkt abtrennen. Die erhaltenen Ausbeuten waren nahezu quantitativ.

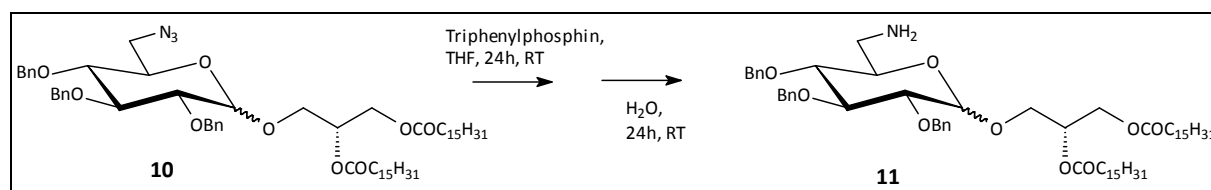


Abb. 28: Reduktion zum Amin

3.3.4 Aktivierung mit PyBOP

Die Aminogruppe der Verbindung **11** konnte im Anschluss weiter zur Verbindung **12** umgesetzt werden. Auch hier musste eine schonende Kupplungsmethode gewählt werden, um die glycosidische Bindung zu erhalten. Neben der Möglichkeit der Darstellung des Amids **12** über das entsprechende Säureanhydrid der *Carbodiimid-Methode*, sollte die Synthese mit geringerem präparativen Aufwand durchgeführt werden. Als Einstufenreaktion eignete sich hier vor allem ein in der Peptidchemie beliebtes Kupplungsverfahren mit PyBOP⁽⁸⁹⁾.

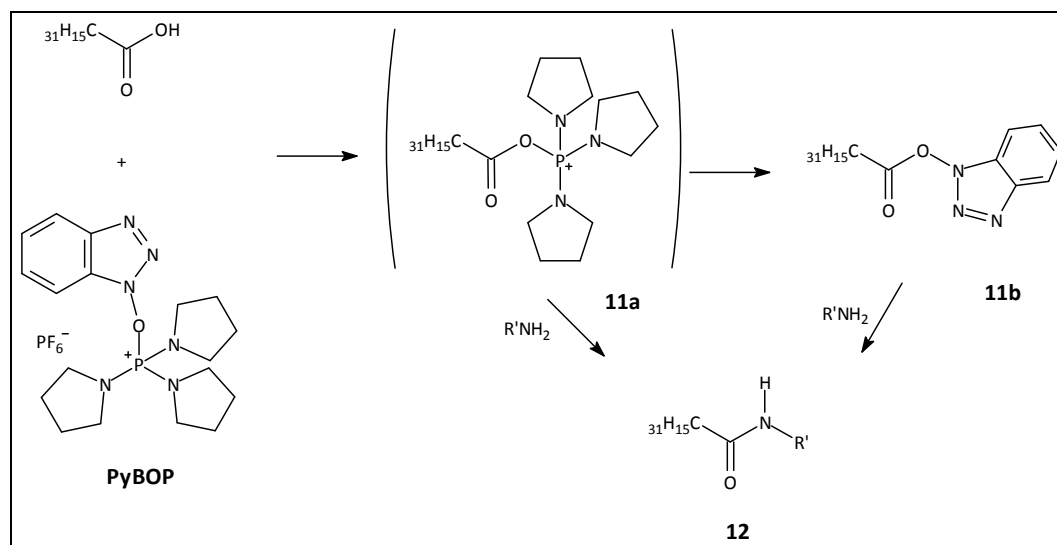


Abb. 29: Aktivierung mit PyBOP

Die Palmitinsäure reagierte mit PyBOP unter Bildung eines reaktiven Phosphoniumsalzes **11a**, welches unter normalen Bedingungen zum weniger reaktiven Benzotriazolester **11b** weiterreagiert. Das Amin **11** war nucleophil genug, um sowohl mit dem reaktiven Phosphoniumsalz **11a**, als auch mit dem entsprechenden Benzotriazolester zu reagieren⁽⁹⁰⁾. So wurde zu einer Lösung aus **11**, der Säure und PyBOP in CH_2Cl_2 und Zugabe einiger Tropfen TEA als Hilfsbase das Reaktionsgemisch für die Dauer von 20 h bei Raumtemperatur umgesetzt. Das Produkt **12** konnte im Anschluss säulenchromatographisch mit einer Heptan/Ether-Mischung gereinigt werden.

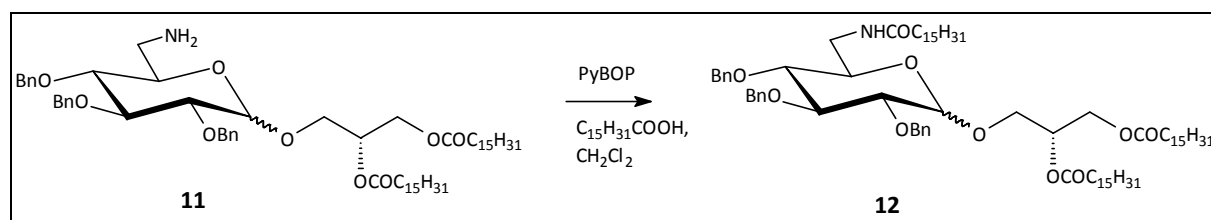


Abb. 30: Kupplung mit PyBOP

3.3.5 Entfernung der Benzylschutzgruppen

Für die Entfernung der Benzylether-Schutzgruppen sind in der Literatur zahlreiche Varianten beschrieben^(57; 58). Eine besonders häufig angewandte Methode ist die katalytische Hydrierung mit einem Palladium-Kohle-Katalysator. Sie stellte auch in dieser Synthese die Methode der Wahl dar, da sie als relativ schonend und in den meisten Fällen sehr effizient beschrieben wird. Erste Versuche mit einem Palladium-Kohle-Katalysator (10%) in THF/Isopropanol blieben allerdings erfolglos. Auch durch eine Erhöhung des Drucks wurden keine Umsätze beobachtet. Weit effektiver schien das Arbeiten mit einem Palladiumhydroxid-Katalysator. Durch die Erhöhung des Drucks auf 5 bar konnte die Umsetzung nochmals gesteigert werden. Nach 24 h konnte man anhand einer dünnschichtchromatographischen Kontrolle einen nahezu vollständigen Umsatz beobachten. Die Zielverbindung konnte mittels Säulenchromatographie mit einem $CHCl_3$ /Methanol-Gemisch gereinigt werden.

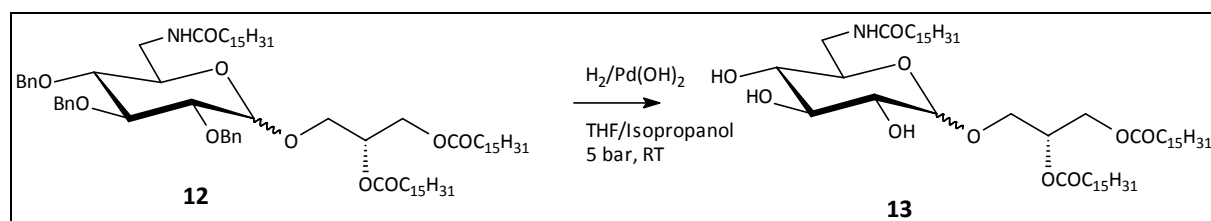


Abb. 31: Hydrogenolyse der Benzyletherschutzgruppen

4 Strukturelle Variationen

Für nachfolgende Strukturmodifikationen wurden die einzelnen Bestandteile des Zielmoleküls genau betrachtet. Dabei sollte die Synthesemethode beibehalten werden. Vier Strukturvariationen konnten demnach abgeleitet werden.

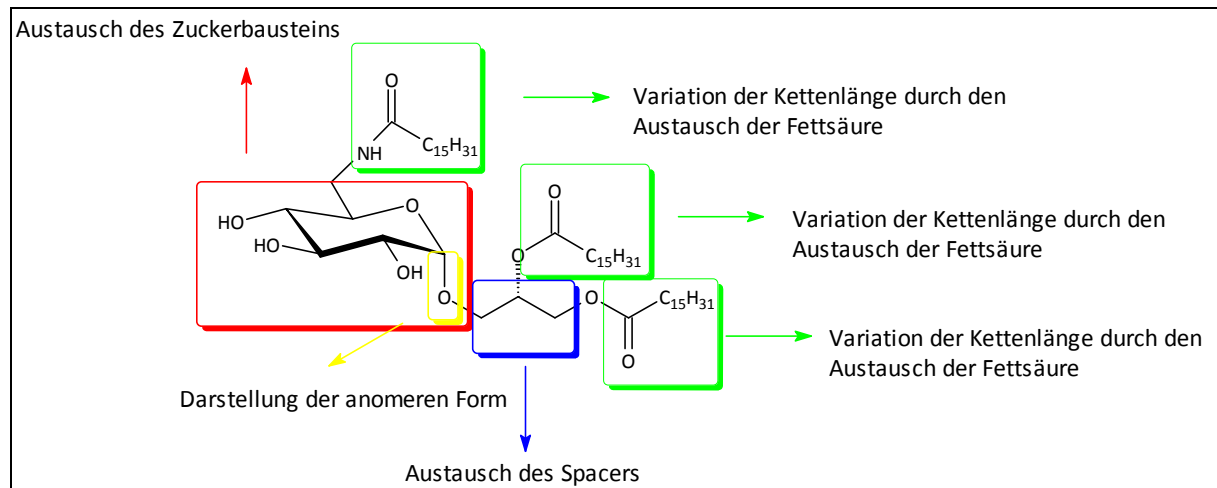


Abb. 32: Möglichkeiten der Strukturmodifikation

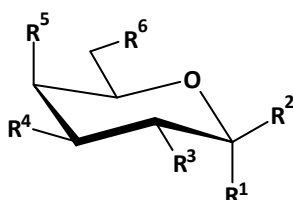
4.1 Austausch des Zuckerbausteins

Die Kernregion natürlich vorkommender Glycoglycerolipide setzt sich aus einer Vielzahl unterschiedlicher Monosaccharide zusammen. Dabei variiert die Zusammensetzung der einzelnen Spezies. Pflanzliche Glycoglycerolipide beinhalten ausschließlich Galactose, Quinovose, Rhamnose oder Glucose. Tierische Glycoglycerolipide werden vorrangig aus Galactose und Glucose gebildet, die manchmal durch eine Sulfon- oder Sulfatgruppe modifiziert sind. Die Zusammensetzung mikrobieller Glycoglycerolipide ist weitaus vielfältiger. Neben Galactose, Glucose, Mannose, Quinovose, Mannoheptose, Fucosamin, Glucosamin, N-Acetylglucosamin existieren noch weitere Formen⁽⁹¹⁾. Die Monosaccharide bilden ein Ringgerüst in Form eines Cyclohalbacetals und liegen in einer energetisch begünstigten Sesselkonformation vor. Aufgrund der unterschiedlichen Konfiguration der Monosaccharide weisen die OH-Gruppen in unterschiedliche Richtungen. Die Ausrichtung der OH-Gruppen könnte bei zellulären Erkennungsprozessen von großer Bedeutung sein. Um das zu untersuchen, wurden neben der Glucose zwei weitere bekannte Zuckerbausteine für die Synthese verwendet.

4.1.1 Galactoglycerolipide

Die Galactoglycerolipide sind vor allem im Pflanzenreich anzutreffen. Pflanzliche Galactoglycerolipide sind wesentliche Bestandteile der Chloroplastenmembranen und erhalten deren strukturelle Integrität ⁽⁹¹⁾. Des Weiteren zeigen einige dieser Glycoglycerolipide biologische Aktivität. So wurde von einer fäulnisverhütenden Wirkung ⁽⁹²⁾, antiinflammatorischen Wirkung ⁽⁹³⁾ sowie einer Anti-Tumor-Promoting Aktivität ⁽⁵¹⁾ berichtet. Aufgrund der genannten Eigenschaften der Galactoglycerolipide stellen sie damit interessante Verbindungen dar.

4.1.2 Darstellung eines Galactoglycerolipids



Verbindung	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶
1Ga	OCH ₃	H	OH	OH	OH	OTrt
2Ga	OCH ₃	H	OBn	OBn	OBn	OTrt
3Ga	OCH ₃	H	OBn	OBn	OBn	OH
4Ga	OCH ₃	H	OBn	OBn	OBn	OMs
5Ga	OCH ₃	H	OBn	OBn	OBn	N ₃
6Ga	OH	H	OBn	OBn	OBn	N ₃
α7Ga	Imidat	H	OBn	OBn	OBn	N ₃
β7Ga	H	Imidat	OBn	OBn	OBn	N ₃
α8Ga	IP	H	OBn	OBn	OBn	N ₃
β8Ga	H	IP	OBn	OBn	OBn	N ₃
α9Ga	G	H	OBn	OBn	OBn	N ₃
β9Ga	H	G	OBn	OBn	OBn	N ₃
α10Ga	DPG	H	OBn	OBn	OBn	N ₃
β10Ga	H	DPG	OBn	OBn	OBn	N ₃
α11Ga	DPG	H	OBn	OBn	OBn	NH ₂
β11Ga	H	DPG	OBn	OBn	OBn	NH ₂
α12Ga	DPG	H	OBn	OBn	OBn	NHOP
β12Ga	H	DPG	OBn	OBn	OBn	NHOP
α13Ga	DPG	H	OH	OH	OH	NHOP
β13Ga	H	DPG	OH	OH	OH	NHOP

Tabelle 1: Strukturmodifikation des α-Methylgalactosids

Die Durchführung der Synthese gestaltete sich analog der Neosynthese des 1,2-Dipalmitoyl-3-(*N*-palmitoyl-6-deoxy-6-amino- α -D-glucosyl)*sn*-glycerols. Wesentliche Unterschiede hinsichtlich des Reaktionsverhaltens und der Umsetzung wurden auf die Konfiguration des Epimers zurückgeführt. Besonders deutlich wurde dieser Unterschied bei der Umsetzung des α -Methylgalactosids während der Tritylierung zu **1Ga**. Der raumeinnehmende Substituent ließ sich bei der Galactose nur schwer einführen, da die OH-Gruppe des α -Methylgalactosids an Position 4 in axiale Richtung zeigt. Unter denselben Bedingungen wie bei der Glucose wurden kaum Umsätze erzielt. Eine Erhöhung der Reaktionstemperatur um 20 °C und eine Verlängerung der Reaktionszeit erhöhte die Ausbeuten. Die Umsetzung war dennoch mit ca. 15 % enttäuschend.

Die Einführung der Benzylschutzgruppe (**2Ga**), die Detritylierung (**3Ga**) und die Mesylierung (**4Ga**) erfolgten analog der Synthese des α -Glucosids. Einzig das Mesylat des Galactosids konnte nicht kristallin gewonnen werden und bildete eine farblose, viskose Flüssigkeit.

Der nächste Schritt umfasste die Einführung der Azidgruppe. Hierbei unterschied sich wieder das Galactosid sehr stark von seinen Epimeren Glucose und Mannose. Erst ab einer Temperatur von 130 °C und einer Reaktionszeit von 15 h ließen sich gute Ausbeuten (76 %) zu **5Ga** erzielen. Bei der Demethylierung durch Säurekatalyse am anomeren C-Atom bildete sich wie im Falle der Glucose ein Anomerengemisch. Es setzt sich aus 60 % des α -Anomers und 40 % des β -Anomers zusammen.

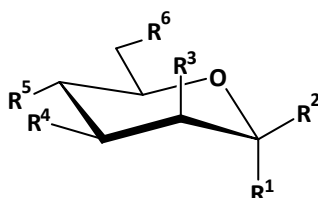
Bei der Glycosylierung nach *R.R. Schmidt et al.* mit Ketenimin ergab sich nach erfolgter Umsetzung ca. 72 % des α - und 28 % des β -Imidats im Reaktionsgemisch. Diese Ergebnisse deckten sich mit den Beobachtungen nach *R.R. Schmidt et al.* ⁽⁷⁷⁾, wonach vorrangig das α -Anomer als thermodynamisch stabileres Produkt gebildet wird. Im zweiten Schritt erfolgte die Knüpfung mit (*S*)-1,2-Isopropylidenglycerol. Nach den vorangegangenen Beobachtungen, dass die Verwendung des Katalysators (Trimethylsilyl)-trifluormethansulfonat bei – 20 °C die Bildung des α -Glycosids fördert, wurde dieser Katalysator zur Produktlenkung eingesetzt. Bei der Reaktion des α -Imidats bildete sich nur zu ca. 55 % das Inversionsprodukt. Bei der Verwendung des β -Imidats entstand zu 70 % Inversionsprodukt. Auch bei der Galactose wurden so keine einheitlichen Inversionprodukte erhalten. Die Trennung des Anomerengemischs war schwierig. Das Laufverhalten der Anomeren in Verbindung **8Ga** war so identisch, dass mit den herkömmlichen Trennmethoden keine Trennung erreicht wurde. Erst nach erfolgter Abspaltung der IP-Schutzgruppe konnten die Anomeren durch präparative Dünnschichtchromatographie aufgereinigt werden.

Die nächsten Schritte umfassten die Veresterung der freien OH-Gruppen nach der *Carbodiimid-Methode* ⁽⁸⁴⁾, die Reduktion des Azids nach *Staudinger* ⁽⁸⁶⁾, die anschließende Kupplung mit PyBOP ⁽⁸⁹⁾ und die Entfernung der Benzylschutzgruppen durch katalytische Hydrierung mit Palladiumhydroxid.

4.1.3 Mannoglycoglycerolipide

Das Vorkommen von Mannoglycerolipiden beschränkt sich auf Mikroorganismen ⁽⁹¹⁾. Die Synthese von Mannoglycerolipiden ist daher eine besonders interessante Variante der Strukturvariation, auch hinsichtlich der Synthese von sterisch anspruchsvollen β -D-Mannosiden.

4.1.4 Darstellung eines Mannoglycerolipids



Verbindung	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶
1M	OCH ₃	H	OH	OH	OH	OTrt
2M	OCH ₃	H	OBn	OBn	OBn	OTrt
3M	OCH ₃	H	OBn	OBn	OBn	OH
4M	OCH ₃	H	OBn	OBn	OBn	OMs
5M	OCH ₃	H	OBn	OBn	OBn	N ₃
6M	OH	H	OBn	OBn	OBn	N ₃
α7M	Imidat	H	OBn	OBn	OBn	N ₃
β7M	H	Imidat	OBn	OBn	OBn	N ₃
α8M	IP	H	OBn	OBn	OBn	N ₃
β8M	H	IP	OBn	OBn	OBn	N ₃
α9M	G	H	OBn	OBn	OBn	N ₃
β9M	H	G	OBn	OBn	OBn	N ₃
α10M	DPG	H	OBn	OBn	OBn	N ₃
β10M	H	DPG	OBn	OBn	OBn	N ₃
α11M	DPG	H	OBn	OBn	OBn	NH ₂
β11M	H	DPG	OBn	OBn	OBn	NH ₂
α12M	DPG	H	OBn	OBn	OBn	NHOP
β12M	H	DPG	OBn	OBn	OBn	NHOP
α13M	DPG	H	OH	OH	OH	NHOP
β13M	H	DPG	OH	OH	OH	NHOP

Tabelle 2: Strukturmodifikation des α -Methylmannosids

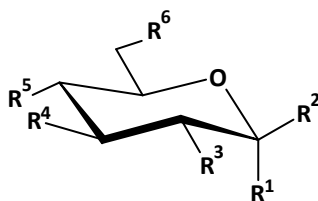
Die Darstellung des Mannoglycerolipids **α 13M** erfolgte in ähnlicher Weise wie die Darstellung von **α 13** und **α 13Ga**. Auch hier zeigten sich unterschiedliche Reaktionseigenschaften. Das Mannosid verhielt sich bei Reaktionen an Position 6 ähnlich wie das Glucosid. Unterschiede im Reaktionsverhalten zeigten sich bei der säurekatalysierten Demethylierung an C1. Es bildeten sich 80 % des α -Anomers und nur 20 % des β -Anomers, welches sich auf den anomeren Effekt zurückführen ließ. Bei der Glycosylierung nach *R.R. Schmidt et al.* ⁽⁷⁷⁾ verhielt sich die Situation bei der

Umsetzung mit Mannosiden etwas differenzierter im Vergleich zu Glucose und Galactose. Aufgrund des stärker ausgeprägten anomeren Effekts mit axialen Substituenten in 2-Stellung konnten bei der „manno“-konfigurierten Verbindung nicht ausschließlich die α -Imidate gebildet werden, wenngleich auch hier eine gewisse Tendenz zu beobachten war. Das Anomerenverhältnis lag bei ca. 60:40 von **α 7M:** **β 7M**. Setzte man anschließend das Imidat um, so entstand aus dem α -Imidat ca. 65 % **β 8M**. Aus β -Imidat ca. 68 % **α 8M**. Das gebildete Anomerengemisch ließ sich bequem mittels MPLC unter Verwendung eines Heptan/Ether-Gradienten isolieren. Die nachfolgenden Umsetzungen erfolgten analog zu den für das Glucosid **13** beschriebenen Schritten.

4.2 Variation in der Kettenlänge

Der langkettige Lipidanker bildet den hydrophoben Bereich des Glycoglycerolipids. In Glycoglycerolipiden wird dieser typischerweise aus zwei Fettsäuren gebildet und in Form eines Esters mit dem Glycerol verknüpft. Die Bindung weist dabei die typische stereospezifische sn-Konfiguration auf, die allen natürlich vorkommenden Glyceriden gemein ist. Das Spektrum der natürlich vorkommenden Fettsäuren in Glycoglycerolipiden ist vielfältig und reicht von kurz- bis langkettig, gesättigt und ungesättigt, sowie deren Konfiguration (cis/trans). In Anlehnung an eine Veröffentlichung von *Diskin et al.* ⁽⁹⁴⁾ wurde von einem Octylglucopyranosid (n-Octyl- β -D-glucopyranose) berichtet, welches nahe der ATP-Bindungstasche von p38 α (MAP) bindet. Diese Lipidbindetasche ist höchstwahrscheinlich dafür verantwortlich, dass infolge der Bindung von lipophilen Strukturen eine Konformationsänderung im Protein stattfindet und eine Aktivitätsänderung der Kinase bewirkt. Aufgrund der strukturellen Homologie von Proteinkinasen kann angenommen werden, dass solche Bereiche auch bei der Myt1 vorzufinden sind. Es kann vermutet werden, dass kurzkettige Alkylketten einen ähnlichen Bindungsmodus zur Myt1 Kinase aufweisen. Daher wurde anstelle der langkettigen Palmitinsäure, die mittelkettige Caprylsäure verwendet.

4.2.1 Einführung eines Caprylsäurerests



Verbindung	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶
α10-D8	DCG	H	OBn	OBn	OBn	N ₃
α11-D8	DCG	H	OBn	OBn	OBn	NH ₂
α12-D8	DCG	H	OBn	OBn	OBn	NHOC
α13-D8	DCG	H	OH	OH	OH	NHOC

Tabelle 3: Strukturmodifikation durch Einführung von Caprylsäureresten

Ausgehend von **9** wurden die freien OH-Gruppen des Glycerols mit Caprylsäure verestert. Auch hierzu wurde auf die *Carbodiimid*-Methode ⁽⁸⁴⁾ zurückgegriffen. Nach Einführung konnte die Azidgruppe in Position 6 zum Amin nach *Staudinger* ⁽⁸⁶⁾ reduziert werden. Im Anschluss wurde die freie Aminogruppe problemlos unter Zuhilfenahme des Kupplungsreagenz PyBOP mit Caprylsäure verknüpft. Nach der Hydrierung erhielt man **α13-D8**.

4.3 Darstellung der anomeren β-Form

Die Glycosylierung lieferte nicht die gewünschten, stereochemisch einheitlichen Produkte. Neben den α-Glycosiden bildeten sich auch die β-Formen. Im Nachhinein konnten durch den stereochemisch uneinheitlichen Verlauf der Glycosylierung mehrere Strukturvarianten geschaffen werden. Besonders interessant erwies sich die Darstellung der β-Mannoside, die eigentlich durch ihren „anomeren Effekt“ sowie die abstoßende Wirkung der axial ständigen C2-Hydroxyschutzgruppe, die Ausbildung einer α-mannosidischen Bindung bevorzugen ^(95; 96).

5 Strukturaufklärung

5.1 NMR Spektroskopie

Eine der wichtigsten Methoden zur Strukturaufklärung der Zuckerderivate ist die NMR-Spektroskopie. Besonders die einfacheren Zuckerderivate lassen sich mittels der ^1H -NMR-Methode vollständig charakterisieren. Aus ihrem Spektrum lassen sich drei grundlegenden Parameter ablesen: die chemische Verschiebung, die Kopplungskonstante und die Integrationskurve⁽⁹⁷⁾.

Die chemische Verschiebung eines bestimmten Wasserstoffs im Ring ist sehr stark davon abhängig, ob es sich um ein anomeres oder ein nicht anomeres Wasserstoffatom handelt. So ist das anomere Proton durch seine extreme Tieffeldverschiebung in Form eines Dubletts charakterisiert. Die Signale für H-2, H-3, H-4, H-6 und H-6' spalten sich in dd, da jedes mit seinem Nachbarproton koppelt. Häufig erscheinen die Signale von H-2, H-3 und H-4 als Pseudotripletts, wenn beide Kopplungskonstanten dieselbe Größe besitzen. H-5 dagegen ergibt ein ddd-System, da es mit H-4, H-6 und H-6' koppelt⁽⁵⁶⁾. Auch die Größe der Kopplungskonstante gibt einen genauen Aufschluss über die Konfiguration des Zuckers. Die Unterschiede in der Größe der Kopplungskonstante werden durch den unterschiedlichen Raumwinkel zwischen H-1 und H-2 verursacht. Der Winkel bei α -konfigurierten Analogen beträgt ca 60° , bei β -Analogen 180° . Dieser Zusammenhang wurde erstmals von *Karplus* beobachtet und beschrieben⁽⁹⁸⁾. Demnach zeigen trans-diaxiale Wasserstoffatome eine große Kopplungskonstante, wohingegen axial-äquatorial und äquatorial-äquatorial orientierte Wasserstoffatome eine kleinere Kopplungskonstante aufweisen.

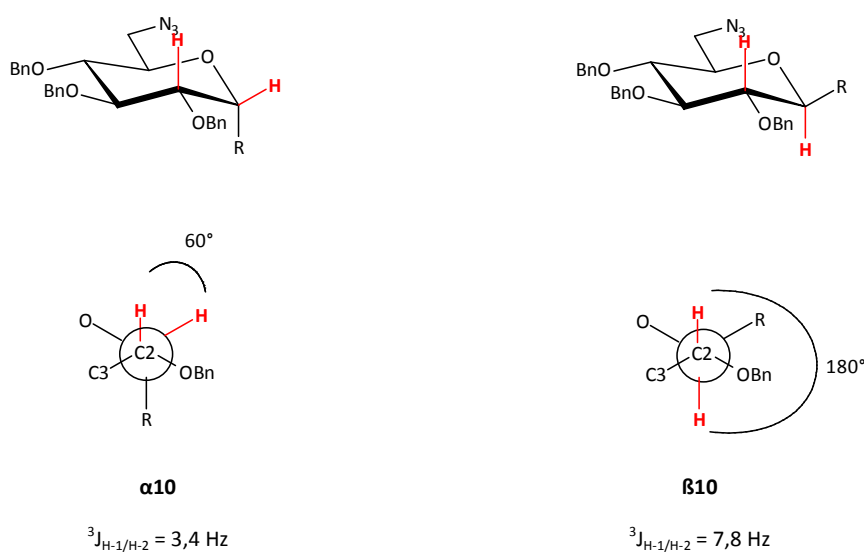


Abb. 33: Kopplungskonstanten in Abhängigkeit vom Diederwinkel nach Karplus am Bsp. von $\alpha 10$ und $\beta 10$

Um die Konfiguration von Mannosiden eindeutig zu bestimmen, reicht die einfache $^1\text{H-NMR}$ nicht aus. Die Größe der Kopplungskonstanten ist bei beiden Anomeren mit einem Diederwinkel von 60° klein. Um hier die eindeutige Konfiguration zu prüfen, wird die Größe der heterogenen Kopplungskonstante $^1J_{\text{C-1/H-1}}$ herangezogen^(56; 99). Im sogenannten Entkopplungsverfahren („gated-decoupling“) wird ein Unterschied von $^1J_{\text{C-1/H-1}}$ von ungefähr 10 Hz gemessen. Dabei ist die Größe der äquatorial ausgerichteten Wasserstoffe größer, als die der axial-äquatorialen ausgerichteten Wasserstoffe. So beträgt die von **$\alpha 8\text{M}$** gemessene $^1J_{\text{C-1/H-1}} = 169,86$ Hz, die von **$\beta 8\text{M}$** nur $^1J_{\text{C-1/H-1}} = 155,47$ Hz.

Ein weiteres Hilfsmittel bei der Strukturauswertung ist die zweidimensionale Protonenkorrelation (H-H-Cosy). Sie wird routinemäßig zur Strukturzuordnung eingesetzt und liefert wichtige Informationen über die H-H-Kopplung im Molekül. Im zweidimensionalen Diagramm lässt sich mit Hilfe der Diagonalsignale und der Kreuzsignale genau ablesen welche Protonen miteinander koppeln (Korrelationsquadrat).

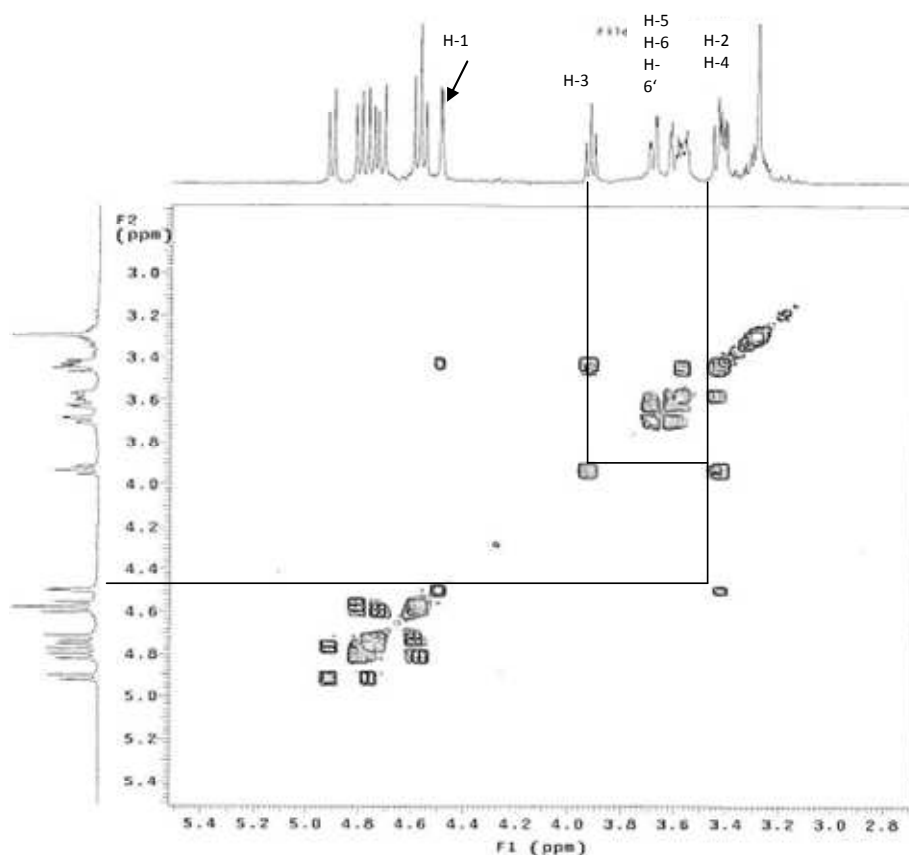


Abb. 34: H-H-Cosy Spektrum von Verbindung **3**

Mit Hilfe der NMR-Spektroskopie konnten alle Zwischen- und Endverbindungen entsprechend umfangreich und gründlich analysiert werden. Die Ergebnisse der einzelnen Spektrenauswertungen sind im experimentellen Teil aufgeführt und bestätigen die eindeutige Zuordnung der Verbindung.

6 Durchführung, Ergebnisse und Auswertung der biochemischen Untersuchungsmethode

6.1 Biochemische Testung im TR-FRET Bindungsassay

Die biochemische Testung der synthetisierten Endverbindungen, welche im Bereich unserer Arbeitsgruppe durchgeführt wurde, erfolgte im TR-FRET Bindungsassay. Dieses Assaysystem vereint das Prinzip des Fluoreszenz Resonanzenergietransfers (FRET) mit dem Prinzip der zeitauflösenden Fluoreszenz (TRF) ⁽¹⁰⁰⁾. Bei der FRET-Methode werden dabei quantenmechanische Phänomene infolge weitreichender Dipol-Dipol-Wechselwirkungen ausgenutzt. So wird nach Anregung eines Donors (meist ein Fluorophor) Energie auf einen benachbarten Akzeptorfluorophor übertragen. Der Anteil der übertragenen Energie ist dabei sehr stark von der Distanz und Orientierung von Donor und Akzeptor, dem Grad der spektralen Überlappung sowie der räumlichen Orientierung zueinander abhängig ⁽¹⁰¹⁾. Die zeitaufgelöste Messung verwendet für die Energietransferanwendung langlebige Fluorophore. Eine wichtige Klasse bilden die Lanthanoidsonden (z.B. Europium), die eine lange Emissionslebensdauer mit hoher Intensität besitzen. Solche Sonden weisen eine Reihe von technischen Vorteilen gegenüber konventionellen Fluoreszenzfarbstoffen auf. Am wichtigsten erscheint die Möglichkeit die Hintergrundfluoreszenz auszuschließen und damit die Empfindlichkeit während der Messung zu steigern ⁽¹⁰²⁾.

Bei diesem Testsystem handelt es sich um eine Methode, bei der die zu testeten Verbindungen anhand ihrer Fähigkeit an die aktive oder inaktive Kinase zu binden, charakterisiert werden können. Für die Messung im TR-FRET Bindungsassay wird hierzu ein Europium-markierter Antitag-Antikörper sowie ein AlexaFluor® gelabelter Tracer der Firma Invitrogen benötigt. Die rekombinante humane Myt1 Kinase wurde zuvor in HEK293-Zellen exprimiert und verfügt für ihre Erkennung über einen entsprechenden His-Tag ⁽¹⁰³⁾. Der Anti-His-Tag-Antikörper kann so spezifisch an das Epitop der Kinase binden. Parallel dazu bindet der Fluorophor-gelabelte Tracer kompetitiv in die ATP-Bindetasche. Nach erfolgter Bindung der beiden Chromophore an die Kinase kann, infolge der Nähe zueinander, eine Energieübertragung stattfinden und ein hohes TR-FRET-Signal gemessen werden. In Anwesenheit eines potentiellen Bindungspartners wird der Tracer aus der ATP-Bindetasche verdrängt, so dass keine Energieübertragung auf den Akzeptor stattfindet und das TR-FRET Signal abnimmt.

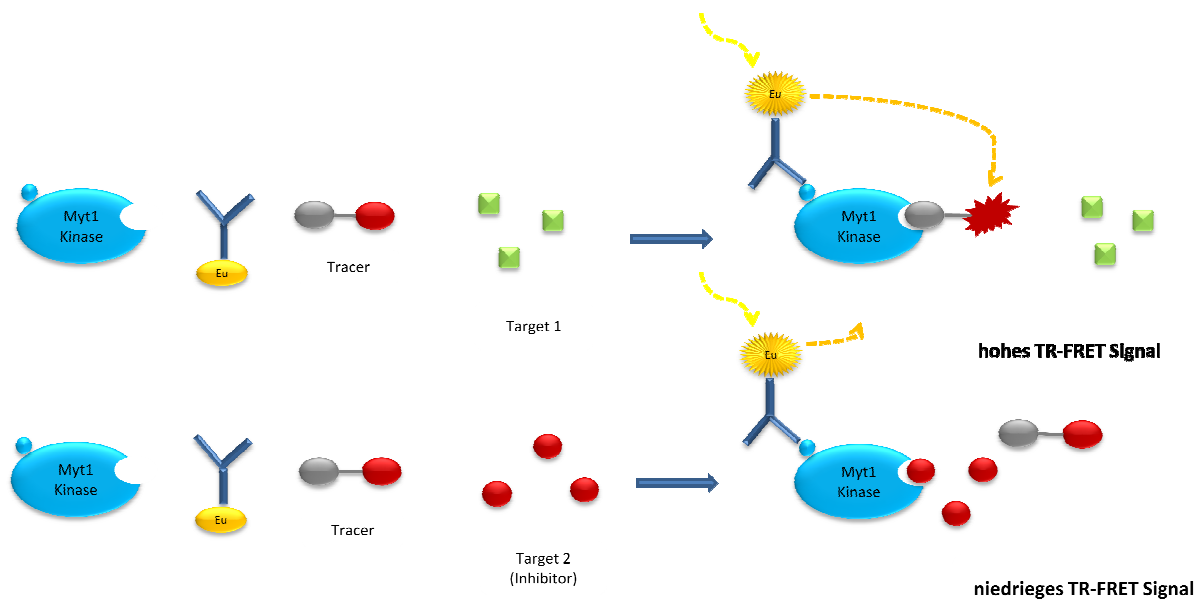


Abb. 35: schematische Darstellung der Funktionsweise des TR-FRET Kinasebindeassays

Der Test wurde in 384-well Mikrotiterplatten bei Raumtemperatur ausgeführt. Eine Verdünnungsreihe, der zu testenden Verbindungen, wurde zuvor mit Kinasepuffer und DMSO hergestellt und mit den nötigen Versuchsreagenzien versetzt. Im Anschluss wurde der Inhalt der Mikrotiterplatten bei entsprechender Wellenlänge angeregt und die Emission von Donor und Akzeptor ermittelt. Das Verhältnis der Strahlungsenergie beider Fluorophore wurde zur Berechnung der relativen Verdrängung bei der Auswertung der Testergebnisse herangezogen.

Rohe *et al.* untersuchte eine Reihe kommerziell verfügbarer Kinaseinhibitoren auf ihre hemmenden Eigenschaften an der Myt1 Kinase im TR-FRET Bindungsassay⁽¹⁰³⁾. Da die Hemmung der Myt1 Kinase bisher wenig erforscht ist und kein spezifischer Myt1 Inhibitor bekannt ist, wurden insgesamt 16 bekannte Tyrosinkinaseinhibitoren getestet. Neben relativ unselektiven Inhibitoren wie Staurosporin, testete Rohe *et al.* eine Reihe selektiv wirkender Kinaseinhibitoren. Unter den Inhibitoren befand sich auch der Inhibitor PD0166285, dessen starke nanomolare Effekte auf die Wee Kinasen (Wee1 und Myt1) bekannt sind⁽¹⁰⁴⁾. Allerdings ist PD0166285 dreimal stärker selektiv zur Wee1 Kinase und zeigt darüber hinaus auch auf andere Tyrosinkinasen hemmende Eigenschaften⁽¹⁰⁵⁾. Die Ergebnisse der Testung sind in Tabelle 4 aufgeführt. Die meisten der getesteten Verbindungen zeigten nicht nennenswerte bis gar keine Effekte im Bindungsassay. Interessanterweise konnte auch bei Staurosporin kein Einfluss auf die Myt1 Kinase im Bindungsassay bei Konzentrationen bis zu 10 μM nachgewiesen werden. Auch die Staurosporinderivate Mitostaurin und K252a zeigten keine Effekte und bekräftigen die Aussagen dieses Testergebnisses. Dieses überraschende Ergebnis wurde mittlerweile auch von anderen Arbeitsgruppen bestätigt^(106; 107).

Im TR-FRET zeigten Dasatinib (IC_{50} 63 nM) und der Wee Kinase Inhibitor PD0166285 (IC_{50} 7 nM) eine starke Bindung zur Myt1 Kinase ⁽¹⁰³⁾. Mit diesen Ergebnissen ließ sich gleichzeitig die generelle Funktionalität des verwendeten Assays belegen.

Verbindung	Verdrängung [%] bei 5 μ M	Verdrängung [%] bei 10 μ M	IC50 [nM]
Bisindolylmaleimid I	n. d.	n. d.	n. t.
Dasatinib	95.5 \pm 0.3	97.1 \pm 0.3	63.0 \pm 1.1
Erlotinib	7.05 \pm 1.65	8.15 \pm 0.65	n. t.
Gefitinib	n. d.	6.85 \pm 2.35	n. t.
HA-1077	n. d.	n. d.	n. t.
Imatinib	n. d.	n. d.	n. t.
K252a	n. d.	n. d.	n. t.
Lapatinib	n. d.	n. d.	n. t.
PD0166285	n. t.	n. t.	7.2 \pm 1.1
Midostaurin	n. d.	n. d.	n. t.
SB 203580	n. d.	n. d.	n. t.
Staurosporin	n. t.	n. t.	n. d. bis zu 10 μ M
Sunitinib	n. d.	n. d.	n. t.
Tyrophostin AG 1478	24.8 \pm 0.7	39.5 \pm 1.5	n. t.
U0126	7.55 \pm 0.65	n. d.	n. t.
Vatalinib	n. d.	n. d.	n. t.

Tabelle 4: Ergebnisse der biochemischen Testung kommerziell verfügbarer Kinaseinhibitoren an der Myt1 Kinase im TR-FRET Kinasebindungsassay (n. t.: nicht getestet, n. d.: keine Verdrängung (<5%))

6.2 Ergebnisse und Auswertung

Nachdem die Funktionalität des TR-FRET Kinasebindungsassays sichergestellt wurde, erfolgte die Testung der synthetisierten Glycoglycerolipide. Weder das synthetisierte natürliche Alglycoglycerolipid **α 13**, noch die strukturell abgewandelten Derivate konnten den Tracer aus der ATP-Bindetasche verdrängen. Im Vergleich zu den Ergebnissen von Zhou *et al.* zeichnet sich hier eine gewisse Diskrepanz ab. ⁽²⁰⁾ Allerdings sind die dort angewendeten Methoden nicht mit denen von Rohe *et al.* vergleichbar. Die IC_{50} Werte wurden bei Zhou *et al.* in einem Myt1 Aktivitätsassay

bestimmt. In Anlehnung an die Arbeiten von *Kristjánsdóttir et al.* verwendeten sie dazu ein fluoreszenzpolarisations-basierten Myt1 Kinaseassay⁽¹⁰⁸⁾. Die Testung der Verbindungen in solch einem Aktivitätsassay konnten aufgrund der eingeschränkten Substratazeptanz der Myt1 Kinase bisher noch nicht realisiert werden, weshalb die Ergebnisse der Hemmung nur im Bindungsassay gezeigt werden können. (siehe Tabelle 5)

Verbindung	Verdrängung [%] bei 3 µg/ml	Verdrängung [%] bei 30 µg/ml
α13	n. d.	n. d.
α13Ga	n. d.	7.53 ± 0.04
β13Ga	n. d.	n. d.
α13M	n. d.	n. d.
β13M	n. d.	n. d.
α13-D8	n. d.	n. d.

Tabelle 5: Ergebnisse der biochemischen Testung der Glycoglycerolipide an der humanen Myt1 Kinase im TR-FRET Kinasebindungsassay (n. d.: keine Verdrängung (<5%))

Der TR-FRET basierte Bindungsassay eignet sich vor allem für alle Typ-I und Typ-II-Inhibitoren. Typ-I-Inhibitoren binden direkt in die ATP-Bindungstasche und verdrängen dadurch den Tracer. Typ-II-Inhibitoren binden sowohl in die ATP-Bindungstasche als auch an hydrophobe Bereiche in der DFG-out Konformation (inaktive Form), so dass der Tracer auch hier nicht binden kann und verdrängt wird. Typ-III-Inhibitoren binden außerhalb der ATP-Bindungstasche und können einen unterschiedlich starken Einfluss auf die Konformation der ATP-Bindungstasche nehmen.

In einer Studie über die Anwendbarkeit des Lanthascreen® Eu Assays (TR-FRET Methode) wurden kommerziell verfügbare Typ-III-Inhibitoren hinsichtlich ihrer hemmenden Eigenschaften untersucht. Die Mehrheit der getesteten Verbindungen konnte die Konformation des aktiven Zentrums derart verändern, dass eine Verdrängung des Tracers stattfindet. Trotzdem werden nicht alle der getesteten Typ-III-Inhibitoren mit dieser Methode erfasst. CMPD1, ein substratspezifischer Typ-III-Inhibitor, lässt sich nicht im Bindungsassay sondern nur in einem Aktivitätsassay nachweisen.⁽¹⁰⁹⁾

Anhand der strukturellen Beschaffenheit der Glycoglycerolipide ist die Wahrscheinlichkeit, dass es sich um ATP-kompetitive Inhibitoren handelt gering. Die meisten Typ-I-Inhibitoren imitieren das ATP und enthalten häufig ein heterozyklisches Ringsystem. Typ-II-Inhibitoren stabilisieren die inaktive DFG-out-Konformation. Sie können zusätzlich Wasserstoffbrückenbindungen und hydrophobe

Wechselwirkungen zur allosterischen Tasche ausbilden, können aber gleichzeitig mit der Hinge-Region der ATP-Bindungstasche in Wechselwirkung treten. In ihrer chemischen Struktur sind sie den Typ-I-Inhibitoren in gewisser Hinsicht ähnlich. Da auch diese Inhibitorenklasse Wechselwirkungen mit der ATP-Bindungstasche eingehen kann, enthalten diese oftmals auch ein heterozyklisches Ringsystem.

Im Bindungsassay konnte nachgewiesen werden, dass die Glycoglycerolipide nicht zu den kompetitiven ATP-Inhibitoren gehören. Am wahrscheinlichsten wäre demnach eine allosterische Hemmung der Glycoglycerolipide. Diese müsste allerdings weit außerhalb der ATP-Bindungstasche erfolgen, da das aktive Zentrum den Tracer weiterhin binden konnte. Gerade diese Form der allosterischen Bindung an hydrophobe Bereiche, abseits der ATP-Bindungstasche, wäre für die Glycoglycerolipide denkbar. Dass solche hydrophoben Bereiche außerhalb der ATP-Bindungstasche existieren, die ihrerseits die Aktivität der Kinase beeinflussen, konnte in einigen Kinasen nachgewiesen werden ^(42; 94). Anhand der Lokalisation der Myt1 Kinase am Endoplasmatischen Retikulum und Golgi Apparat und der lipophilen Struktur der Glycoglycerolipide können vermutlich Interaktionen mit hydrophoben Bereichen am C-Terminus auftreten, sich gleichzeitig auch der Membrananker und der Cdc2 Interaktionsbereich befinden ⁽¹¹⁰⁾.

Wenn eine Inhibition der Alglycoglycerolipide wirklich stattfinden sollte, kann dieses nicht in einem Bindungsassay nachgewiesen werden. Mit dem Bindungsassay lässt sich allerdings feststellen, dass keine Inhibition im bzw. am aktiven Zentrum der Kinase erfolgt, demnach keine Inhibitoren vom Typ I und Typ II vorliegen. Ein rein allosterischer Bindungsmechanismus an hydrophobe Bereiche des Enzyms außerhalb des aktiven Zentrums ist jedoch für die Alglycoglycerolipide dennoch denkbar. Demzufolge kann nur mit Hilfe eines Aktivitätsassays nachgewiesen werden, ob die Verbindungen tatsächlich wirken. Hierzu fehlt bisher noch ein geeignetes Testsystem, da für eindeutige Aussagen ein substratspezifischer Aktivitätsassay benötigt würde. Zukünftige Arbeiten sind nötig, um die Wirksamkeit der Glycoglycerolipide und ihren wirklichen Einfluss auf die Myt1 Kinase festzustellen.

7 Zusammenfassung und Ausblick

Kinaseinhibitoren stellen eine vielversprechende Therapieform zur Behandlung von Krebs dar. Kinasen sind wichtige Schlüsselenzyme und spielen als Regulatoren für eine Vielzahl zellulärer Prozesse, wie Wachstum, Differenzierung, Proliferation, Transkription und Überleben eine zentrale Rolle. Wichtige Regulatoren des Zellzyklus sind die Cyclin-abhängigen Kinasen, die unter der Kontrolle von „Checkpoints“ stehen. Im Zellzyklus existieren mehrere dieser „Checkpoints“, einer davon befindet sich am sogenannten G₂-M-Übergang. Der Übergang wird durch die Aktivität des Cdc2/CyclinB-Komplexes gesteuert. Bei DNA-Schäden wird die Aktivität des Cdc2/CyclinB-Komplexes gedrosselt und Reparaturmechanismen eingeschaltet. Die Inhibierung erfolgt durch Phosphorylierung an Thr14 und Tyr15-Resten der Cdc2 durch die Wee Kinasen, Myt1 und Wee1. Die Hemmung der Wee Kinasen kann zur Abschaffung eines wichtigen „Checkpoints“ führen und eine vorzeitige Aktivierung des Cdc2/CyclinB-Komplexes bewirken. Die frühzeitige Aktivierung kann in einer mitotischen Katastrophe enden, deren Folge der Zelltod ist.

In einem systematischen Screening verschiedener Naturstoffe hinsichtlich ihrer antitumoralen Wirkung zeigte ein Algenextrakt (UM 2972M) aus einer taxonomisch unbekanntem, marinen Alge biologische Aktivität gegenüber der Myt1 Kinase. Die Isolation der bioaktiven Substanzen lieferte zwei wirksame Glycoglycerolipide mit IC₅₀-Werten zwischen 0,12 bis 0,43 µg/ml. Eine der Substanzen, das *1,2-Dipalmitoyl-3-(N-palmitoyl-6'-amino-6'-deoxy-α-D-glucosyl)-sn-glycerol* sollte als Leitstruktur für nachfolgende Strukturmodifikationen dienen, mit dem Ziel innerhalb des Moleküls die Substitutionen des Kohlenhydratbausteins, der Kettenlänge, der Anomeren sowie der Glyceroldomäne vorzunehmen.

Der erste Teil der Synthesearbeit befasste sich mit der Ausarbeitung eines Synthesekonzepts für die Darstellung des nativen Glycoglycerolipids. Dieses Konzept sollte gleichzeitig eine Basis für nachfolgende Strukturmodifikationen schaffen. Die mehrstufige Synthese erforderte eine geeignete Schutzgruppenstrategie zur selektiven Einführung von Molekülen. Unter retrosynthetischen Gesichtspunkten konnte die Synthese in drei wichtige Abschnitte untergliedert werden. Der erste Abschnitt erforderte die Darstellung eines partiell geschützten 6-Glucosaminderivats, der zweite Schritt umfasste das Glycosylierungsverfahren unter stereochemischer Kontrolle. Im dritten Teil erfolgte die Einführung der Fettsäurereste zum Glycoglycerolipid⁽¹¹¹⁾.

Die erarbeitete Strategie erlaubte die selektive Modifikation definierter Strukturen im Molekül. Die erste strukturelle Veränderung, die durchgeführt wurde, erfolgte durch den Austausch des Monosaccharids. Neben Glucose fanden Mannose und Galactose als Zuckergerüst Verwendung. Eine weitere Möglichkeit der strukturellen Modifikation lieferte der hydrophobe Fettsäurerest. Neben den

langkettigen Palmitinsäureresten wurde auch die mittelkettige Caprylsäure in das Molekül eingeführt. Neben der Synthese der α -konfigurierten Anomere, wurden auch die β -Anomere erhalten. Sie stellen eine weitere Strukturabwandlung innerhalb der Synthese dar. Weitere Strukturmodifikationen sind möglich und ableitbar, konnten allerdings in der entsprechenden Zeit nicht mehr realisiert werden.

Die synthetisierten Endverbindungen konnten bisher nur mit einem TR-FRET Kinasebindungsassay vermessen werden. Die Verbindungen zeigten im Bindungsassay keine Wirkung gegenüber der Myt1 Kinase. Die Ergebnisse bestätigen, dass es sich bei diesem Naturstoff um keinen Inhibitor vom Typ-I und Typ-II handelt. Für Typ-III-Inhibitoren ist dieser Assay allerdings nicht endgültig aussagekräftig, da ein Teil allosterisch wirkender Inhibitoren durch diesen Bindungsassay nicht erfasst werden kann. Sie können nur in einem Aktivitätsassay vermessen werden, welches gleichzeitig das Substrat enthält. Nachfolgende Untersuchungen in substratspezifischen Assays müssen zeigen, ob eine Hemmung der Myt1 stattfindet. Eine Hemmung der Myt1 Kinase in diesen Assays würde einen allosterischen Hemmmechanismus bestätigen. Hinzu kommt, dass nur wenige strukturbiochemische Informationen über potentielle Bindungsstellen außerhalb der ATP-Bindetasche bekannt sind. Für die Forschung stellen solche Verbindungen attraktive Targets für die weitere Wirkstoffentwicklung dar. Solche Inhibitoren wären besonders für die Krebstherapie interessant, vor allem in Hinblick der Umgehung von Wirkstoffresistenzen. Änderungen in der Struktur potenter Glycoglycerolipide, wie die Einführung von Heterozyklen an Position 6, sowie die Knüpfung ungesättigter Fettsäurereste und die Veränderung des Spacers könnten einen positiven Beitrag zur Verbesserung des Verständnisses der Wirkung auf molekularer Ebene liefern und die Entwicklung neuartiger Myt1-Kinaseinhibitoren forcieren.

8 Arbeitsvorschriften

8.1 Allgemeine Angaben

8.1.1 Chromatographieverfahren

Chromatographieverfahren

Dünnschichtchromatographie (DC)

Die Dünnschichtchromatographie diente zur Kontrolle des Reaktionsverlaufs sowie zur Untersuchung der Reinheit von isolierten Zwischen- und Endprodukten. Es wurden Fertigplatten der Fa. *Merck* (Darmstadt, Deutschland) verwendet, deren aufgetragene Adsorbenschicht aus Kieselgel 60 F₂₅₄ besteht. Die Substanzen wurden in einem geeigneten Lösungsmittel gelöst, unter Verwendung einer Kapillare dünn aufgetragen und in Chromatographiekammern unter Kammersättigung entwickelt. Als mobile Phase kamen Standardlaufmittel entsprechender Zusammensetzung (V/V) zum Einsatz:

- LM 1: Heptan/Ether 6/4
- LM 2: Essigester
- LM 3: Chloroform
- LM 4: Chloroform/Ether 6/4
- LM 5: Chloroform/Methanol 9/1

Die Detektion der Chromatogramme erfolgte nach Trocknung:

- mit UV-Licht der Wellenlänge $\lambda=254$ nm
- durch Eintauchen der Platten in einer Lösung aus 0,5 g Thymol in einer Mischung aus 5 ml konz. H₂SO₄ in 95 ml abs. Ethanol; die zuckerhaltigen Verbindungen wurden nach anschließendem Erhitzen bei 130°C durch Oxidation sichtbar
- mit Bromthymolblau-Lösung, bei der sich bereits Spuren von Verbindungen mit lipophilen Charakter nachweisen ließen und deren Empfindlichkeit durch Bedampfen mit Ammoniak erhöht werden konnte.

Die angegebenen R_F-Werte stellen nicht korrigierte Werte dar.

Säulenchromatographie

Die Säulenchromatographie diente zur Reinigung und Trennung der Zwischen- und Endprodukte. Als Trennmittel kam Kieselgel 60 der Fa. *Merck* mit einer Korngröße von 0,063 – 0,200 mm für die drucklose Chromatographie zum Einsatz. Für die Flash-Chromatographie mit Druck wurde Kieselgel 60 der Fa. *Merck* mit einer Korngröße von 0,040 – 0,063 mm verwendet. Als Elutionsmittel dienen

Heptan/Ether-, Chloroform/Methanol- und Heptan/Chloroform-Mischungen, deren Polarität diskontinuierlich erhöht wurde. Zum Schutz hydrolyseempfindlicher Verbindungen wurden den Elutionsmitteln TEA (10 Tropfen auf 100 ml Lösungsmittel) zugesetzt.

MPLC

Zur schnellen Reinigung und Trennung der Zwischenverbindungen wurde in einigen Fällen die MPLC (medium pressure liquid chromatography) eingesetzt. Als stationäre Phase diente Kieselgel 60 der Fa. Merck mit einer Korngröße von 0,040-0,063 mm. Die Säulenfüllung erfolgte mit einem Cartriger C-670. Das Elutionsmittel wurde von einem Pump Module C-601 mit dem Pump Manager C-615 durch die Säule gepumpt. Die Sammlung der Fraktionen erfolgte mittels Fraction Collector C-660. Alle 4 Geräte wurden von der Fa. Büchi erworben. Als Elutionsmittel kamen Chloroform/Methanol-, Heptan/Ether und Heptan/Chloroform-Mischungen zum Einsatz. Auch hier wurde zum Schutz hydrolyseempfindlicher Verbindungen dem Elutionsmittel TEA zugesetzt. Zur Detektion der Endprodukte in den einzelnen Fraktionen diente die Dünnschichtchromatographie.

Präparative Dünnschichtchromatographie

Die Trennung kleinerer Mengen von Substanzgemischen (bis zu 40 mg) wurde zum Teil auf die PSC-Glasplatten der Fa. Merck (20 x 20 cm, Kieselgel 60 F₂₅₄, Schichtdicke 0,2 mm) durchgeführt.

NMR-Spektroskopie

Die Aufnahme der einzelnen Spektren erfolgte an folgenden Geräten:

- Varian Gemini 2000 mit 400 MHz Arbeitsfrequenz für die ¹H-NMR
- Varian Inova Unity 500 mit 500 MHz Arbeitsfrequenz für die ¹H-NMR und ¹H-¹H-Cosy-Spektren

Als Lösungsmittel für die Proben wurde deuteriertes Chloroform verwendet, das zugleich als interner Standard für die Auswertung der chemischen Verschiebung diente. Die Auflistung der chemischen Verschiebung δ , angegeben in ppm, beziehen sich auf die Symmetrieachse der Signale. Es folgen, die für jedes Signal definierte Multiplizität (s – Singulett, d – Dublett, t – Triplet, bs – breites Signal) sowie Kombinationen von Multiplizitäten (dd – Doppelduplett) unter Angabe der Kopplungskonstante J in Hz. Im Falle eines Multipletts (m) wird der Bereich der Signale angegeben. Unschärfe Signale die eine scheinbar geringe Multiplizität aufweisen, sind mit Anführungszeichen gekennzeichnet.

Massenspektrometrie

ESI-MS

Die Probe wurde in einem geeigneten Lösungsmittel gelöst. Zum Lösen der Proben wurde ein Lösungsmittelgemisch aus Chloroform, Methanol und Wasser unterschiedlicher Zusammensetzung verwendet. Die Probenlösung wurde mittels einer Spritzenpumpe der Fa. *Havard Apparatus 22* über das ESI-Interface in das Ionenfalle-Massenspektrometer der Fa. *Finnigan MAT SSQ 710 C* eingesprüht. Die Ionisation erfolgte im Elektronenspray bei 4,5 kV positiv und negativ. Das Gerät verfügt über eine auf 200 °C beheizbarer Kapillare und weist eine Flussrate von 20 µl/min auf.

HR-MS

Die Bestimmung der exakten Masse mittels hochauflösender Massenspektroskopie wurde verwendet, um die Elementarzusammensetzung möglichst genau zu bestimmen. Für die Messung wurde die Substanz in Methanol/Wasser 1:1 gelöst und mittels Offline-Nano-ESI injiziert und ionisiert. Die Substanzen wurden an einem *LTQ ORBITRAP XL*-Massenspektrometer der Fa. *Thermo Fisher Scientific* vermessen.

Elementaranalyse

Die Analyse des Kohlenstoff-, Wasserstoff-, Stickstoff und Schwefelgehalts wurden an einem *CHNS-932* Gerät der Fa. *Leco-Corporation* (St. Joseph, Michigan, USA) im automatischen Mikroverfahren durchgeführt.

Polarimetrie

Zur Ermittlung der spezifischen Drehung $[\alpha]_D$ wurden die Proben in Chloroform gelöst und mittels einem *Eloptron/Polartronic E* der Fa. *Schmidt + Haensch GmbH & Co* gemessen.

Schmelzpunktbestimmung

Die Bestimmung der Schmelzbereiche erfolgte an einem *Boetius-Heiztischmikroskop*. Die Schmelzbereiche stellen unkorrigierte Werte dar.

Lösungsmittel

Alle eingesetzten Lösungsmittel wurden nach bekannten Vorschriften ⁽¹¹²⁾ getrocknet und frisch destilliert.

8.2 Kommerziell erworbene Chemikalien

Benzylchlorid (Fluka)

Bis(4-chlorphenyl)essigsäure (Aldrich)

Bortrifluorid-Diethylether-Komplex (Aldrich)

Caprylsäure (Aldrich)

N,N'-Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) (Aldrich)

Dimethylaminopyridin (Aldrich)

Dimethylformamid (Aldrich)

N-Ethoxycarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydroquinoline (Aldrich)

(S)-1,2-Isopropylidenglycerol (Aldrich)

Methansulfonylchlorid (Aldrich)

Methyl- α -D-glucoopyranosid (Aldrich)

Methyl- α -D-galactopyranosid (Aldrich)

Methyl- α -D-mannopyranosid (Aldrich)

Natriumazid (Aldrich)

Natriumhydrid (Aldrich)

Palladiumhydroxid (Aldrich)

Palmitinsäure (Fluka)

(Benzotriazol-1-yloxy)tripyrrolidinophosphonium hexafluorophosphat (Aldrich)

Pyridiniumtosylat (Aldrich)

(Trimethylsilyl)-trifluormethansulfonat (Aldrich)

Triphenylphosphin (Fluka)

Tritylchlorid (Aldrich)

8.3 Synthesevorschriften

8.3.1 Synthese eines partiell geschützten 6-Glucosaminderivats

Methyl-6-O-trityl- α -D-glucopyranosid (1)

Die Synthese der Verbindung **1** erfolgte nach einer Vorschrift von *Tennant-Eyles et al.* ⁽⁵⁴⁾, dazu wurden 25 g (128,75 mmol) Methyl- α -D-glucopyranosid und 55 g (197,29 mmol) Tritylchlorid in 250 ml Pyridin gelöst und mit 500 mg DMAP versetzt. Die Lösung wurde anschließend für 3 h unter ständigem Rühren bei 80 °C erhitzt. Für die Aufarbeitung wurde Pyridin im Vakuum abgedampft und der Rückstand in Essigester gelöst. Die Lösung wurde 2x mit NH_4Cl -Lösung gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Nach dem Filtrieren und Einengen konnte der Rückstand in einem Heptan/Essigester-Gemisch umkristallisiert werden.

Ausbeute: 43,3 g (77 %)

Summenformel: $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{O}_6$

Molare Masse: 436,50 g/mol

Fp: 142 – 143 °C

R_f (LM 5): 0,25

MS: M+Na

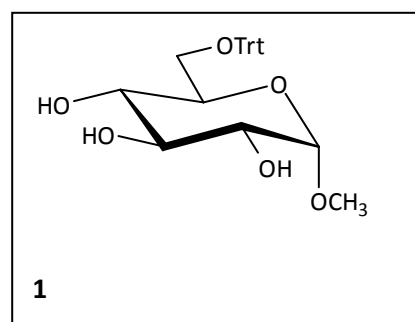
Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{23} = +56,34^\circ$ ($c = 7,0 \times 10^{-3}$ g/ml in CHCl_3)

EA: theoret. : C: 71,54 % H: 6,47 %

gef. : C: 71,71 % H: 6,69 %

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 400 MHz

$\delta = 7,23 - 7,46$ (m, 15 H, $3 \times (-\text{C}_6\text{H}_5)$), 4,77 (d, 1 H, $^3J_{\text{H-1}/\text{H-2}} = 4$ Hz, **H-1**), 3,63 – 3,70 (m, 2 H, **H-3**, **H-5**), 3,50 – 3,55 (m, 2 H, **H-2**, **H-4**), 3,36 – 3,43 (m, 2 H, **H-6**, **H-6'**), 3,43 (s, 3 H, $-\text{OCH}_3$), 2,66 (bs, 1 H, $-\text{OH}$), 2,53 (d, 1 H, $^3J = 2,4$ Hz, $-\text{OH}$), 2,11 (d, 1 H, $^3J = 9,5$ Hz, $-\text{OH}$)



Methyl-6-O-trityl- α -D-galactopyranosid (1Ga)

Die Synthese von Verbindung **1Ga** erfolgte unter ähnlichen Reaktionsbedingungen wie bei Verbindung **1**. Als Ausgangsverbindung wurde Methyl- α -D-galactopyranosid verwendet. Das Reaktionsgemisch wurde bei einer Temperatur von 100 °C für 4,5 h umgesetzt. Die Aufarbeitung und Reinigung erfolgte in gleicher Weise wie bei Verbindung **1**.

Ausbeute: 8,5 g (15 %)

Summenformel: $C_{26}H_{28}O_6$

Molare Masse: 436,50 g/mol

Fp: 121 – 124 °C

R_f (LM 5): 0,18

MS: M+Na

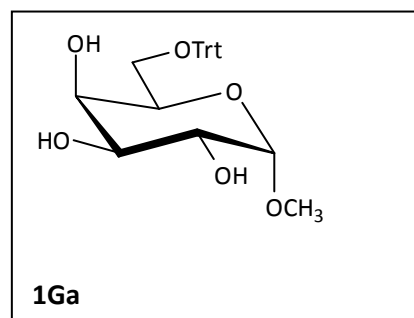
Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{23} = +77,40^\circ$ ($c = 10,08 \times 10^{-3}$ g/ml in $CHCl_3$)

EA: theoret. : C: 71,54 % H: 6,47 %

gef. : C: 72,14 % H: 6,63 %

1H -NMR ($CDCl_3$): 400 MHz

$\delta = 7,20 - 7,45$ (m, 15 H, $3 \times (-C_6H_5)$), 4,80 (d, 1 H, $^3J_{H-1/H-2} = 3,74$ Hz, **H-1**), 4,01 – 4,03 (m, 1 H, **H-4**), 3,67 – 3,82 (m, 3 H, **H-2**, **H-3**, **H-5**), 3,42 (s, 3 H, $-OCH_3$), 3,35 – 3,44 (m, 2 H, **H-6**, **H-6'**), 2,45 (d, 1 H, $^3J = 5,40$ Hz, $-OH$), 2,40 (d, 1 H, $^3J = 2,91$ Hz, $-OH$), 1,96 (d, 1 H, $^3J = 9,55$ Hz, $-OH$)

**Methyl-6-O-trityl- α -D-mannopyranosid (1M)**

Die Synthese und die Aufarbeitung von Verbindung **1M** wurden unter den gleichen Voraussetzungen wie bei Verbindung **1** durchgeführt. Als Ausgangsstoff wurde Methyl- α -D-mannopyranosid verwendet. Die Aufreinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie. Als Laufmittel diente ein Chloroform/Methanol-Gemisch, dessen Polarität diskontinuierlich erhöht wurde.

Ausbeute: 37,7 g (67 %)

Summenformel: $C_{26}H_{28}O_6$

Molare Masse: 436,50 g/mol

Fp: 76 - 79 °C

R_f (LM 5): 0,25

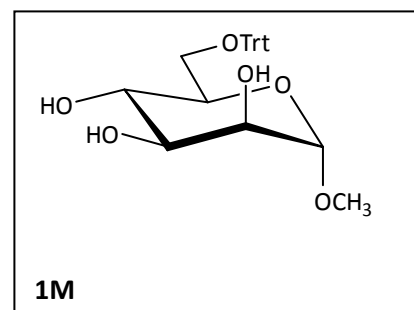
MS: M+Na

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{23} = +24,36^\circ$ ($c = 9,03 \times 10^{-3}$ g/ml in $CHCl_3$)

EA: theoret. : C: 70,09 % H: 6,56 % $\frac{1}{2} H_2O$

gef. : C: 69,91 % H: 6,58 % $\frac{1}{2} H_2O$

1H -NMR ($CDCl_3$): 400 MHz



$\delta = 7,21 - 7,44$ (m, 15 H, $3 \times (-C_6H_5)$), $4,70$ (d, 1 H, ${}^3J_{H-1/H-2} = 1,3$ Hz, **H-1**), $3,89 - 3,92$ (m, 1 H, **H-2**), $3,75 - 3,80$ (m, 1 H, **H-3**), $3,71$ (t, 1 H, ${}^3J = 9,1$ Hz, **H-4**), $3,61 - 3,67$ (m, 1 H, **H-5**), $3,38 - 3,47$ (m, 2 H, **H-6**, **H-6'**), $3,36$ (s, 3 H, $-OCH_3$), $2,69$ (bs, 1 H, $-OH$), $2,47$ (bs, 1 H, $-OH$), $2,23$ (bs, 1 H, $-OH$)

Methyl-2,3,4-tri-O-benzyl-6-O-trityl- α -D-glucopyranosid (2)

Eine Mischung von 10 g (22,9 mmol) der Verbindung **1**, 150 ml Benzylchlorid und 13.7 g (343,5 mmol) NaH (60 % ig) wurden nach einer Vorschrift von *Koto et al.* ⁽⁵⁹⁾ für 2 h bei 125 °C gerührt. Gegen Ende der Reaktion verfärbte sich das Reaktionsgemisch dunkelrot und die Reaktion konnte durch vorsichtige Zugabe von Methanol abgebrochen werden. Die viskose Masse wurde anschließend mittels Flashchromatographie aufgereinigt. Als Laufmittel eignete sich eine Heptan/Ether-Mischung, beginnend mit reinem Heptan, um überschüssiges Benzylchlorid zu entfernen. Das gewonnene Rohprodukt wurde anschließend aus Heptan umkristallisiert

Ausbeute: 15,4 g (95 %)

Summenformel: $C_{47}H_{46}O_6$

Molare Masse: 706,87 g/mol

Fp: 165 – 166 °C

R_f (LM 1): 0,38

MS: M+Na

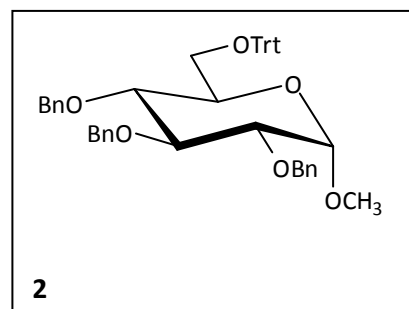
Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{23} = +20,20^\circ$ (c = $2,97 \times 10^{-3}$ g/ml in $CHCl_3$)

EA: theoret. : C: 79,86 % H: 6,56 %

gef. : C: 79,85 % H: 6,58 %

1H -NMR ($CDCl_3$): 500 MHz

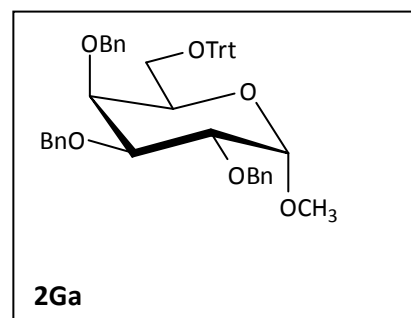
$\delta = 6,83 - 7,45$ (m, 30 H, $6 \times (-C_6H_5)$), $4,93$ und $4,78$ (d, 2 H, ${}^2J = 10,7$ Hz, $-CH_2-$ C_6H_5), $4,81$ und $4,71$ (d, 2 H, ${}^2J = 12,2$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), $4,27$ und $4,67$ (d, 2 H, ${}^2J = 10,4$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), $4,73$ (d, 1 H, ${}^3J_{H-1/H-2} = 3,7$ Hz, **H-1**), $3,94$ (t, 1 H, ${}^3J = 9,24$ Hz, **H-3**), $3,77 - 3,80$ (m, 1 H, **H-5**), $3,60$ (dd, 1H, ${}^3J_{H-1/H-2} = 3,5$ Hz, ${}^3J_{H-2/H-3} = 9,6$ Hz, **H-2**), $3,59$ (t, 1 H, ${}^3J = 9,6$ Hz, **H-4**), $3,47$ (dd, 1 H, ${}^2J_{H-6/H-6'} = 10,4$, ${}^3J_{H-6/H-5} = 1,8$ Hz, **H-6**), $3,43$ (s, 3 H, $-O-CH_3$), $3,17$ (dd, 1 H, ${}^2J_{H-6/H-6'} = 10$ Hz, ${}^3J_{H-5/H-6'} = 4,8$, **H-6'**)



Methyl-2,3,4-tri-O-benzyl-6-O-trityl- α -D-galactopyranosid (2Ga)

Verbindung **2Ga** wurde aus **1Ga** unter den gleichen Bedingungen wie bei Verbindung **2** hergestellt und gereinigt.

Ausbeute: 10,9 g (67 %)
 Summenformel: $C_{47}H_{46}O_6$
 Molare Masse: 706,87 g/mol
 R_f (LM 1): 0,18
 MS: M+Na
 Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{23} = +30,00^\circ$
 (c = $10,0 \times 10^{-3}$ g/ml in $CHCl_3$)



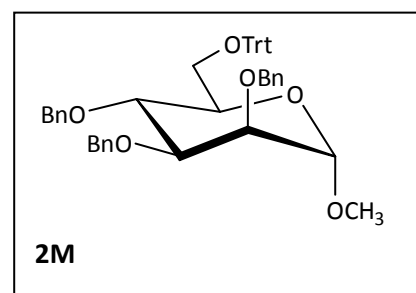
EA: theoret. : C: 79,86 % H: 6,56 %
 gef. : C: 79,74 % H: 6,32 %

1H -NMR ($CDCl_3$): 400 MHz
 $\delta = 7,06 - 7,50$ (m, 30 H, $6 \times (-C_6H_5)$), 4,84 und 4,69 (d, 2 H, $^2J = 12,0$ Hz, $-CH_2-$ C_6H_5), 4,80 und 4,45 (d, 2 H, $^2J = 11,2$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), 4,78 und 4,64 (d, 2 H, $^2J = 12,0$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), 4,63 (d, 1 H, $^3J_{H-1/H-2} = 3,7$ Hz, **H-1**), 3,95 (dd, 1 H, $^3J_{H-1/H-2} = 3,5$ Hz, $^3J_{H-2/H-3} = 9,8$ Hz, **H-2**), 3,84 – 3,87 (m, 2 H, **H-3**, **H-4**), 3,68 (t, 1 H, $^3J = 6,4$ Hz, **H-5**), 3,39 (dd, 1 H, $^2J_{H-6/H-6'} = 9,6$ Hz, $^3J_{H-6'/H-5} = 6,2$ Hz, **H-6'**), 3,34 (s, 3 H, $-O-CH_3$), 3,13 (dd, 1 H, $^3J_{H-5/H-6} = 6,4$, $^2J_{H-6/H-6'} = 9,8$ Hz, **H-6**)

Methyl-2,3,4-tri-O-benzyl-6-O-trityl- α -D-mannopyranosid (2M)

Die Synthese und die Aufarbeitung von **2M** erfolgten analog der Verbindung **2** unter Verwendung von Verbindung **1M**.

Ausbeute: 14,1 g (70,9 %)
 Summenformel: $C_{26}H_{28}O_6$
 Molare Masse: 436,50 g/mol
 Fp: 118 – 120 °C
 R_f (LM 1): 0,32
 MS: M+Na
 Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{23} = +19,61^\circ$ (c = $5,16 \times 10^{-3}$ g/ml in $CHCl_3$)



EA: theoret. : C: 78,85 % H: 6,62 % $\frac{1}{2} H_2O$
 gef. : C: 78,75 % H: 6,69 % $\frac{1}{2} H_2O$

1H -NMR ($CDCl_3$): 400 MHz
 $\delta = 6,87 - 7,51$ (m, 30 H, $6 \times (-C_6H_5)$), 4,82 und 4,71 (d, 2 H, $^2J = 12,7$ Hz, $-CH_2-$ C_6H_5), 4,81 (s, 1 H, **H-1**), 4,71 und 4,26 (d, 2 H, $^2J = 10,6$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), 4,63

(ps, 2 H, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 4,00 (t, 1 H, $^3J = 9,6 \text{ Hz}$, **H-4**), 3,86 (dd, 1 H, $^3J_{\text{H-3}/\text{H-4}} = 9,3 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{H-3}/\text{H-2}} = 3,1 \text{ Hz}$ **H-3**), 3,81 (dd, 1 H, $^3J_{\text{H-1}/\text{H-2}} = 2,1 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{H-2}/\text{H-3}} = 2,9 \text{ Hz}$, **H-2**), 3,74 – 3,77 (m, 1 H, **H-5**), 3,50 (dd, 1 H, $^2J_{\text{H-6}/\text{H-6}' } = 9,6 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{H-6}'/\text{H-5}} = 1,7 \text{ Hz}$, **H-6'**), 3,38 (s, 3 H, $-\text{O}-\text{CH}_3$), 3,26 (dd, 1 H, $^3J_{\text{H-5}/\text{H-6}} = 5,2$, $^2J_{\text{H-6}/\text{H-6}' } = 9,8 \text{ Hz}$, **H-6**)

Methyl-2,3,4-tri-O-benzyl- α -D-glucopyranosid (**3**)

10 g (14,15 mmol) der Verbindung **2** wurden in 100 ml abs. CH_2Cl_2 gelöst und nach einer Vorschrift von *Dax et al.* ⁽⁶³⁾ umgesetzt. Unter ständigem Rühren wurden dazu bei RT 2 ml BF_3 -Diethylether-Komplex in 20 ml wasserfreien Methanol langsam zur Lösung zugetropft. Nach 30 min wurde die Reaktion durch Zugabe von Wasser beendet. Die Lösung wurde 3x mit Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und CH_2Cl_2 unter Vakuum abgedampft. Das Produktgemisch wurde säulenchromatographisch unter Verwendung eines Heptan/Ether-Gradienten gereinigt.

Ausbeute: 6,2 g (95 %)

Summenformel: $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{O}_6$

Molare Masse: 464,55 g/mol

Fp: 61 – 63 °C

R_f (LM 2): 0,57

MS: M+Na

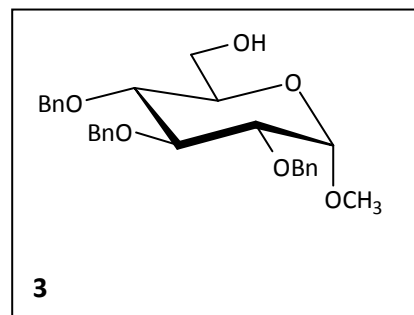
Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = +25,88^\circ$ ($c = 5,00 \times 10^{-3}$ in CHCl_3)

EA: theoret. : C: 72,39 % H: 6,94 %

gef. : C: 72,31 % H: 6,98 %

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 500 MHz

$\delta = 7,25 - 7,35$ (m, 15 H, $3 \times (-\text{C}_6\text{H}_5)$), 4,97 und 4,82 (d, 2 H, $^2J = 10,9 \text{ Hz}$, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 4,87 und 4,62 (d, 2 H, $^2J = 10,9 \text{ Hz}$, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 4,78 und 4,64 (d, 2 H, $^2J = 11,9 \text{ Hz}$, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 4,55 (d, 1 H, $^3J_{\text{H-1}/\text{H-2}} = 3,7 \text{ Hz}$, **H-1**), 3,99 (t, 1 H, $^3J = 9,3 \text{ Hz}$, **H-3**), 3,75 (dd, 1 H, $^2J_{\text{H-6}/\text{H-6}' } = 11,6 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{H-5}/\text{H-6}} = 2,6 \text{ Hz}$, **H-6**), 3,67 (dd, 1 H, $^2J_{\text{H-6}/\text{H-6}' } = 11,6 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{H-5}/\text{H-6}' } = 4,0 \text{ Hz}$, **H-6'**), 3,63 (m, 1 H, **H-5**), 3,50 (t, 1 H, $^3J = 9,3 \text{ Hz}$, **H-4**), 3,48 (dd, 1 H, $^3J_{\text{H-1}/\text{H-2}} = 3,7 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{H-2}/\text{H-3}} = 9,8 \text{ Hz}$, **H-2**) 3,35 (s, 3 H, $-\text{O}-\text{CH}_3$)



Methyl-2,3,4-tri-O-benzyl- α -D-galactopyranosid (3Ga)

Die Synthese und die Aufarbeitung von **3Ga** erfolgten analog der Verbindung **3** unter Verwendung von Verbindung **2Ga**.

Ausbeute: 6,1 g (93 %)

Summenformel: $C_{28}H_{32}O_6$

Molare Masse: 464,55 g/mol

Fp: 63 – 65 °C

R_f (LM 2): 0,48

MS: M+Na

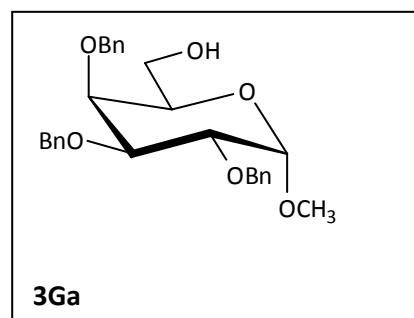
Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{22} = +6,20^\circ$ ($c = 9,76 \times 10^{-3}$ g/ml in $CHCl_3$)

EA: theoret. : C: 72,39 % H: 6,94 %

gef. : C: 72,23 % H: 6,85 %

1H -NMR ($CDCl_3$): 400 MHz

$\delta = 7,24 - 7,41$ (m, 15 H, $3 \times (-C_6H_5)$), 4,96 und 4,74 (d, 2 H, $^2J = 11,6$ Hz, $-CH_2-$
 C_6H_5), 4,88 und 4,63 (d, 2 H, $^2J = 11,6$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), 4,83 und 4,68 (d, 2 H, 2J
 $= 12,0$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), 4,63 (d, 1 H, $^3J_{H-1/H-2} = 2,9$ Hz, **H-1**), 4,04 (dd, 1 H, $^3J_{H-2/H-3} = 10$ Hz, $^3J_{H-3/H-4} = 3,7$ Hz, **H-3**), 3,93 (dd, 1 H, $^3J_{H-1/H-2} = 2,9$ Hz, $^3J_{H-2/H-3} = 10$
 Hz, **H-2**), 3,86 (pd, 1 H, $^3J = 2,9$ Hz, **H-4**), 3,67 – 3,73 (m, 2 H, H-6, **H-6'**), 3,44
 – 3,51 (m, 1 H, **H-5**) 3,35 (s, 3 H, $-O-CH_3$)

**Methyl-2,3,4-tri-O-benzyl- α -D-mannopyranosid (3M)**

Die Synthese und die Aufarbeitung erfolgten analog der Verbindung **3** unter Verwendung von Verbindung **2M**.

Ausbeute: 5,7 g (86 %)

Summenformel: $C_{28}H_{32}O_6$

Molare Masse: 464,55 g/mol

R_f (LM 2): 0,58

MS: M+Na

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{22} = +40,62^\circ$

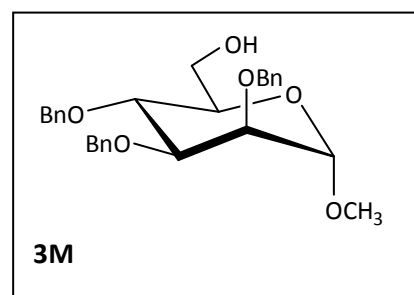
($c = 10,34 \times 10^{-3}$ g/ml in $CHCl_3$)

EA: theoret. : C: 72,39 % H: 6,94 %

gef. : C: 72,02 % H: 6,92 %

1H -NMR ($CDCl_3$): 400 MHz

$\delta = 7,25 - 7,36$ (m, 15 H, $3 \times (-C_6H_5)$), 4,93 und 4,62 (d, 2 H, $^2J = 11,4$ Hz, $-CH_2-$
 C_6H_5), 4,77 und 4,68 (d, 2 H, $^2J = 12,3$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), 4,69 (d, 1 H, $^3J_{H-1/H-2} =$



2,1 Hz, H-1) 4,62 (ps, 2 H, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 3,95 (t, 1 H, $^3J = 9,6$ Hz, **H-4**), 3,88 (dd, 1 H, $^3J_{\text{H-3/H-4}} = 9,3$ Hz, $^3J_{\text{H-3/H-2}} = 3,1$ Hz, **H-3**), 3,80 – 3,86 (m, 1 H, **H-6**), 3,73 – 3,79 (m, 1 H, **H-6'**), 3,78 (dd, 1 H, $^3J_{\text{H-1/H-2}} = 2,1$ Hz, $^3J_{\text{H-2/H-3}} = 2,9$ Hz **H-2**), 3,58 – 3,63 (m, 1 H, **H-5**), 3,29 (s, 3 H, $-\text{O}-\text{CH}_3$)

Methyl-2,3,4-tri-O-benzyl-6-O-(methylsulfonyl)- α -D-glucopyranosid (4)

Zu einer eisgekühlten Lösung von 6 g (12,9 mmol) der Verbindung **3** und 5,2 g (51,6 mmol) Triethylamin in 100 ml CH_2Cl_2 wurden innerhalb von 15 min 3 g (26,2 mmol) Methansulfonylchlorid unter Rühren zugetropft. Nach weiteren 30 min bei -5 °C wurde die Lösung auf RT gebracht und 3x mit Wasser gewaschen. Anschließend wurde die organische Phase über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingengt. Das resultierende Produktgemisch ließ sich aus Heptan umkristallisieren.

Ausbeute: 5,0 g (71 %)

Summenformel: $\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{O}_8\text{S}$

Molare Masse: 542,64 g/mol

Fp: 74 – 75 °C

R_f (LM 4): 0,53

MS: M+Na

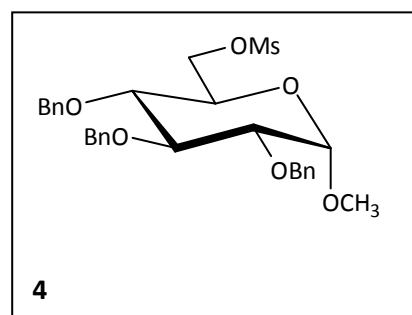
Spezifische Drehung: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +26,16^\circ$ ($c = 8,5 \times 10^{-3}$ g/ml in CHCl_3)

EA: theoret. : C: 64,19 % H: 6,32 % S: 5,91 %

gef. : C: 64,34 % H: 6,21 % S: 6,04 %

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 500 MHz

$\delta = 7,25 - 7,34$ (m, 15 H, $3 \times (-\text{C}_6\text{H}_5)$), 4,98 und 4,81 (d, 2 H, $^2J = 10,9$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 4,89 und 4,60 (d, 2 H, $^2J = 10,7$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 4,77 und 4,63 (d, 2 H, $^2J = 12,2$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 4,57 (d, 1 H, $^3J_{\text{H-1/H-2}} = 3,4$ Hz, **H-1**), 4,30 – 4,37 (m, 2 H, **H-6**, **H-6'**), 3,99 (t, 1 H, $^3J = 9,3$ Hz, **H-3**), 3,82 (m, 1 H, H-5), 3,50 (dd, 1 H, $^3J_{\text{H-1/H-2}} = 3,5$ Hz, $^3J_{\text{H-2/H-3}} = 9,6$ Hz, **H-2**) 3,46 (dd, 1 H, $^3J_{\text{H-3/H-4}} = 9,0$ Hz, $^3J_{\text{H-4/H-5}} = 9,9$ Hz, **H-4**), 3,36 (s, 3 H, $-\text{SO}_3-\text{CH}_3$), 2,96 (s, 3 H, $-\text{O}-\text{CH}_3$)



Methyl-2,3,4-tri-O-benzyl-6-O-(methylsulfonyl)- α -D-galactopyranosid (4Ga)

Die Synthese und die Aufarbeitung erfolgten analog der Verbindung **4** unter Verwendung von Verbindung **3Ga**. Das Produkt ließ sich nicht umkristallisieren.

Ausbeute: 6,8 g (>95 %)

Summenformel: $C_{29}H_{34}O_8S$

Molare Masse: 542,64 g/mol

R_f (LM 4): 0,50

MS: M+Na

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{25} = +11,43^\circ$

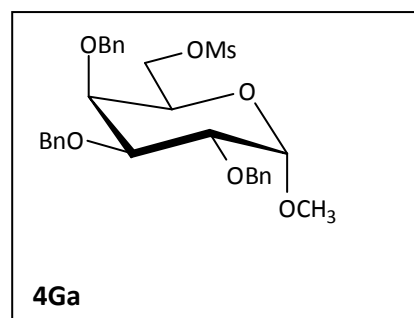
($c = 1,75 \times 10^{-3}$ g/ml in $CHCl_3$)

EA: theoret. : C: 64,19 % H: 6,32 % S: 5,91 %

gef. : C: 64,30 % H: 6,25 % S: 6,00 %

1H -NMR ($CDCl_3$): 400 MHz

$\delta = 7,25 - 7,39$ (m, 15 H, $3 \times (-C_6H_5)$), 4,98 und 4,57 (d, 2 H, $^2J = 11,4$ Hz, $-CH_2-$
 C_6H_5), 4,88 und 4,74 (d, 2 H, $^2J = 11,6$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), 4,82 und 4,67 (d, 2 H, $^2J = 12,3$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), 4,66 (d, 1 H, $^3J_{H-1/H-2} = 3,3$ Hz, **H-1**), 4,23 (dd, 1 H, $^3J_{H-5/H-6'} = 7,3$ Hz, $^2J_{H-6/H-6'} = 10,6$ Hz, **H-6'**), 4,01 (dd, 1 H, $^3J_{H-1/H-2} = 2,9$ Hz, $^3J_{H-2/H-3} = 7,1$ Hz, **H-2**), 4,00 (dd, 1 H, $^3J_{H-5/H-6'} = 4,2$ Hz, $^2J_{H-6/H-6'} = 10,4$ Hz, **H-6**) 3,92 – 3,95 (m, 2 H, **H-3**, **H-5**), 3,85 (m, 1 H, **H-4**), 3,35 (s, 3 H, $-SO_3-CH_3$), 2,91 (s, 3 H, $-O-CH_3$)

**Methyl-2,3,4-tri-O-benzyl-6-O-(methylsulfonyl)- α -D-mannopyranosid (4M)**

Die Synthese und die Aufarbeitung erfolgten analog der Verbindung **4** unter Verwendung von Verbindung **3M**. Eine Umkristallisation war nicht möglich.

Ausbeute: 6,4 g (91 %)

Summenformel: $C_{29}H_{34}O_8S$

Molare Masse: 542,64 g/mol

R_f (LM 4): 0,51

MS: M+Na

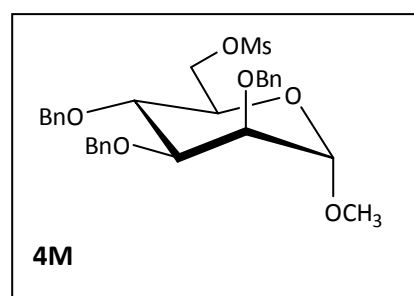
Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{25} = +40,67^\circ$

($c = 5,41 \times 10^{-3}$ g/ml in $CHCl_3$)

EA: theoret. : C: 64,19 % H: 6,32 % S: 5,91 %

gef. : C: 63,78 % H: 6,34 % S: 5,83 %

1H -NMR ($CDCl_3$): 500 MHz

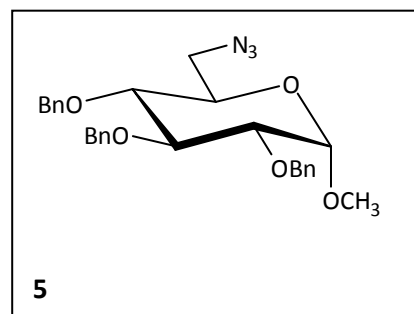


$\delta = 7,24 - 7,51$ (m, 15 H, $3x(-C_6H_5)$), 4,95 und 4,63 (d, 2 H, $^2J = 10,6$ Hz, $-CH_2-$
 C_6H_5), 4,75 und 4,62 (d, 2 H, $^2J = 12$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), 4,69 (d, 1 H, $^3J_{H-1/H-2} = 2,1$
 Hz, **H-1**), 4,63 ("s", 2 H, $-CH_2-C_6H_5$) 4,51 (dd, 1 H, $^3J_{H-5/H-6'} = 1,9$ Hz, $^2J_{H-6/H-6'} =$
 11,4 Hz, **H-6'**), 4,41 (dd, 1 H, $^3J_{H-5/H-6} = 4,4$ Hz, $^2J_{H-6/H-6'} = 11,4$ Hz, **H-6**), 3,94 (t,
 1 H, $^3J = 9,1$ Hz, **H-4**), 3,90 (dd, 1 H, $^3J_{H-2/H-3} = 2,7$ Hz, $^3J_{H-3/H-4} = 9,1$ Hz, **H-3**)
 3,78 (t, 1 H, $^3J = 2,3$ Hz, **H-2**), 3,71 – 3,76 (m, 1 H, **H-5**), 3,30 (s, 3 H, $-SO_3-$
 CH_3), 3,00 (s, 3 H, $-O-CH_3$)

6-Azido-1-methyl-2,3,4-tri-O-benzyl- α -D-glucoopyranosid (5)

Zur Darstellung des Azids wurden 5 g (9,2 mmol) des Mesylats **4** in 100 ml wasserfreien DMF gelöst und mit 3 g (46 mmol) NaN_3 versetzt. Die Suspension wurde unter ständigem Rühren für 8 h auf 90 °C erhitzt. Im Anschluss erfolgte die Aufarbeitung des Reaktionsgemischs unter Zusatz von Wasser und Heptan. Die wässrige Phase wurde 3x mit Heptan ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen wurden nachfolgend 3x mit Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingengt. Auf eine säulenchromatographische Reinigung konnte aufgrund der Umsetzung (>95 %) verzichtet werden.

Ausbeute: 4,3 g (>95 %)
 Summenformel: $C_{28}H_{31}N_3O_5$
 Molare Masse: 489,56 g/mol
 R_f (LM 3): 0,32
 MS: M+Na
 Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = +54,23^\circ$
 (c = $15,20 \times 10^{-3}$ mg/ml in $CHCl_3$)



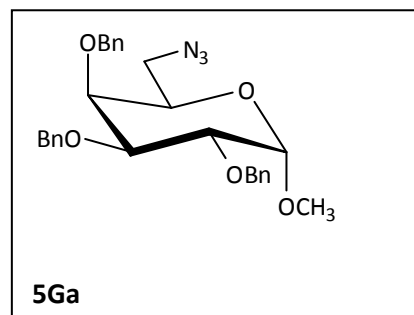
EA: theoret. : C: 68,69 % H: 6,38 % N: 8,58 %
 gef. : C: 68,67 % H: 6,38 % N: 8,40 %

1H -NMR ($CDCl_3$): 500 MHz
 $\delta = 7,23 - 7,36$ (m, 15 H, $3x(-C_6H_5)$), 4,98 und 4,80 (d, 2 H, $^2J = 10,9$ Hz, $-CH_2-$
 C_6H_5), 4,88 und 4,56 (d, 2 H, $^2J = 11,3$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), 4,77 und 4,65 (d, 2 H, 2J
 $= 11,9$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), 4,60 (d, 1 H, $^3J_{H-1/H-2} = 3,7$ Hz, **H-1**), 3,97 (t, 1 H, $^3J = 9,3$
 Hz, **H-3**), 3,76 (m, 1 H, **H-5**), 3,52 (dd, 1 H, $^3J_{H-1/H-2} = 3,5$ Hz, $^3J_{H-2/H-3} = 9,6$ Hz,
H-2) 3,39 – 3,44 (m, 2 H, **H-4**, **H-6'**), 3,38 (s, 3 H, $-O-CH_3$), 3,31 (dd, 1 H, $^3J_{H-}$
 $5/H-6 = 5,8$ Hz, $^2J_{H-6/H-6'} = 13,1$ Hz, **H-6**)

6-Azido-1-methyl-2,3,4-tri-O-benzyl- α -D-galactopyranosid (5Ga)

Die Synthese und die Aufarbeitung von **5Ga** erfolgten unter ähnlichen Voraussetzungen wie bei der Verbindung **5** unter Verwendung des Mesylats **4Ga**. Die Reaktionstemperatur betrug 130 °C und die Reaktionsdauer 15 h. Um das Produkt in reiner Form zu erhalten, musste eine säulenchromatographische Aufreinigung vorgenommen werden. Dazu wurde ein Heptan/Ether-Gemisch steigender Polarität verwendet.

Ausbeute: 3,4 g (76 %)
 Summenformel: $C_{28}H_{31}N_3O_5$
 Molare Masse: 489,56 g/mol
 R_f (LM 3): 0,48
 MS: M+Na
 Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{22} = +10,20^\circ$
 ($c = 25,60 \times 10^{-3}$ g/ml in $CHCl_3$)



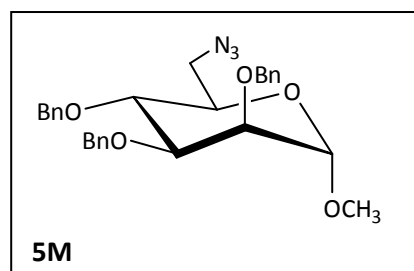
EA: theoret. : C: 68,69 % H: 6,38 % N: 8,58 %
 gef. : C: 68,95 % H: 6,38 % N: 8,37 %

1H -NMR ($CDCl_3$): 500 MHz
 $\delta = 7,25 - 7,39$ (m, 15 H, $3 \times (-C_6H_5)$), 4,98 und 4,58 (d, 2 H, $^2J = 11,6$ Hz, $-CH_2-$ C_6H_5), 4,88 und 4,73 (d, 2 H, $^2J = 11,9$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), 4,82 und 4,67 (d, 2 H, $^2J = 12,1$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), 4,68 (d, 1 H, $^3J_{H-1/H-2} = 3,7$ Hz, **H-1**), 4,02 (dd, 1 H, $^3J_{H-1/H-2} = 3,7$ Hz, $^3J_{H-2/H-3} = 10,1$ Hz, **H-2**), 3,92 (dd, 1 H, $^3J_{H-2/H-3} = 10,1$ Hz, $^3J_{H-3/H-4} = 3,1$ Hz, **H-3**), 3,75 – 3,80 (m, 2 H, **H-4**, **H-5**), 3,48 (dd, 1 H, $^3J_{H-5/H-6'} = 8,2$ Hz, $^2J_{H-6/H-6'} = 12,8$ Hz, **H-6'**), 3,38 (s, 3 H, $-O-CH_3$), 2,91 (dd, 1 H, $^3J_{H-5/H-6} = 4,7$ Hz, $^2J_{H-6/H-6'} = 12,7$ Hz, **H-6**)

6-Azido-1-methyl-2,3,4-tri-O-benzyl- α -D-mannopyranosid (5M)

Die Synthese und die Aufarbeitung von **5M** erfolgten analog der Verbindung **5** unter Verwendung des Mesylats **4M**. Das Reaktionsgemisch wurde durch säulenchromatographische Aufreinigung mit einem Heptan/Ether-Gemisch steigender Polarität gereinigt.

Ausbeute: 4,4 g (>95 %)
 Summenformel: $C_{28}H_{31}N_3O_5$
 Molare Masse: 489,56 g/mol
 R_f (LM 3): 0,55
 MS: M+Na
 Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{22} = +51,14^\circ$
 ($c = 14,86 \times 10^{-3}$ mg/ml in $CHCl_3$)



EA:	theoret. :	C: 68,69 %	H: 6,38 %	N: 8,58 %
	gef. :	C: 68,91 %	H: 6,29 %	N: 8,48 %

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 500 MHz

$\delta = 7,24 - 7,37$ (m, 15 H, $3 \times (-\text{C}_6\text{H}_5)$), 4,93 und 4,57 (d, 2 H, $^2J = 11$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 4,74 und 4,69 (d, 2 H, $^2J = 12,5$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 4,71 (d, 1 H, $^3J_{\text{H-1/H-2}} = 1,8$ Hz, **H-1**), 4,56 (ps, 2 H, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 3,86 (dd, 1 H, $^3J_{\text{H-2/H-3}} = 2,4$ Hz, $^3J_{\text{H-3/H-4}} = 9,2$ Hz, **H-3**), 3,84 (t, 1 H, $^3J = 9,3$ Hz, **H-4**), 3,77 (dd, 1 H, $^3J_{\text{H-1/H-2}} = 1,8$ Hz, $^3J_{\text{H-2/H-3}} = 2,4$ Hz, **H-2**), 3,45 (dd, 1 H, $^3J_{\text{H-5/H-6}} = 2,4$ Hz, $^2J_{\text{H-6/H-6'}} = 13,1$ Hz, **H-6**), 3,39 (dd, 1 H, $^3J_{\text{H-5/H-6'}} = 6,6$ Hz, $^2J_{\text{H-6/H-6'}} = 13$ Hz, **H-6'**), 3,32 (s, 3 H, $-\text{O}-\text{CH}_3$)

6-Azido-2,3,4-tri-O-benzyl-D-glucopyranose (6)

Zur Darstellung von Verbindung **6** wurden 1,7 g (3,47 mmol) von **5** in 10 ml Eisessig gelöst und mit 1,2 ml aq. H_2SO_4 (3 M) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde danach auf 80 °C erhitzt und 4 h lang gerührt. Nach Beendigung der Reaktion wurde die Lösung unter Zugabe von verd. Ammoniaklösung neutralisiert. Nach Abkühlung des Reaktionsgemisches wurde die Lösung mit Wasser verdünnt und mit Ether extrahiert. Die vereinigten Etherextrakte wurden nochmals mit ges. NaCl-Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingengt. Der Rückstand wurde mittels Säulenchromatographie gereinigt. Für eine optimale Auftrennung wurde zuerst mit Heptan eluiert, anschließend wurde die Polarität unter Zugabe von CHCl_3 schrittweise erhöht, solange bis das Heptan vollständig eluierte. Dann wurde die Polarität des Laufmittels durch Zugabe von Methanol weiter gesteigert. Die Analyse der Verbindung ergab ein Gemisch aus beiden Anomeren, wobei der Anteil an α -Anomer mit ca. 60% überwiegte.

Ausbeute: 1,07 g (65 %)

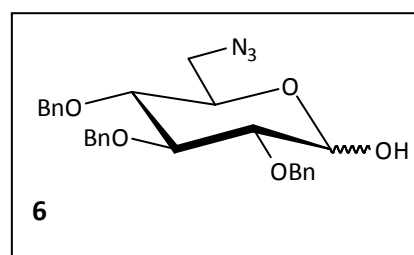
Summenformel: $\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_5$

Molare Masse: 475,54 g/mol

R_f (LM 4): 0,56

MS: M+Na

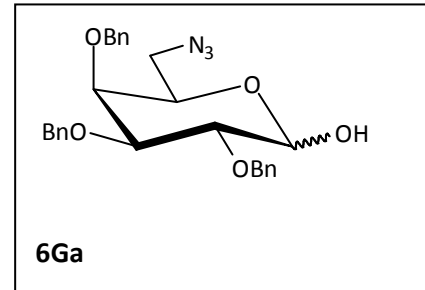
HR-MS: 498,2003



6-Azido-2,3,4-tri-O-benzyl-D-galactopyranose (6Ga)

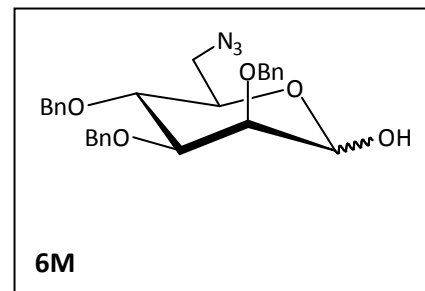
Die Darstellung und die Aufreinigung der Verbindung **6Ga** erfolgten analog der Verbindung **6** unter Verwendung der Verbindung **5Ga**. Die Analyse des gebildeten Produkts ergab eine Mischung aus 60% des α -Anomers und 40% des β -Anomers.

Ausbeute:	0,82 g (50 %)
Summenformel:	$C_{27}H_{29}N_3O_5$
Molare Masse:	475,54 g/mol
R_f (LM 4):	0,65
MS:	M+Na
HR-MS:	498,1996

**6-Azido-2,3,4-tri-O-benzyl-D-mannopyranose (6M)**

Die Darstellung und die Aufreinigung der Verbindung **6M** erfolgten analog der Verbindung **6** unter Verwendung der Verbindung **5M**. Die Analyse des gebildeten Produkts ergab eine Mischung aus 80% des α -Anomers und 20% des β -Anomers.

Ausbeute:	0,43 g (26 %)
Summenformel:	$C_{27}H_{29}N_3O_5$
Molare Masse:	475,54 g/mol
R_f (LM 4):	0,67
MS:	M+Na
HR-MS:	498,2006



8.3.2 Glycosylierung nach *R.R. Schmidt*

Di-(4-chlorphenyl)aceto-4-chloranilid

Eine Suspension aus 5 g (17,7 mmol) Bis(4-chlorphenyl)essigsäure, 2,26 g (17,7 mmol) 4-Chloranilin und 4,38 g (17,7 mmol) EEDQ wurden in 60 ml abs. Ethanol gelöst und für 24 h bei 50 °C gerührt. Der gebildete Niederschlag wurde vom Lösungsmittel abgetrennt und in CHCl₃ umkristallisiert.

Di-(4-chlorphenyl)keten-N-4-chlorphenylimin

Die Synthese erfolgte nach Literatur ⁽⁸⁰⁾. Es wurden nacheinander 1,68 g (6,4 mmol) Triphenylphosphin, 1,02 g (6,4 mmol) Brom, 4,8 ml TEA und 2,5 g (6,4 mmol) Di-(4-chlorphenyl)aceto-4-chloranilid in CH₂Cl₂ gelöst und 1 h unter Rückfluss gekocht. Nach Abkühlen wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand mehrmals mit Petrolether extrahiert. Die vereinigten Extrakte wurden eingengt und säulenchromatographisch unter Verwendung eines Heptan/Ether-Gemischs und Zusatz von TEA aufgereinigt.

O-(6-Azido-2,3,4-tri-O-benzyl-6-deoxy-D-glucopyranosyl)-

N-2,2-tris(4-chlorphenyl)acetimidat (7)

Für die Darstellung des Imidats **7** nach *R.R. Schmidt et al.* ⁽⁷⁹⁾ wurden 1,13 g (2,38 mmol) der Verbindung **6** in CH₂Cl₂ gelöst. Zu der Lösung wurde vorsichtig 0,96 g (40 mmol) NaH (60 %ig) zugegeben. Nach etwa 2 min wurde langsam 0,90 g (2,4 mmol) des Di-(4-chlorphenyl)keten-N-4-chlorphenylimines in CH₂Cl₂ zugetropft. Die Reaktion wurde dünnschichtchromatographisch verfolgt. Nach 2,5 h wurde erneut 0,4 g (16,7 mmol) NaH (60%ig) zugegeben und weitere 2,5 h gerührt. Nach insgesamt 5 h Reaktionszeit wurde das überschüssige NaH abgetrennt und die erhaltene Lösung am Rotationsverdampfer eingengt. Das Rohprodukt wurde im Anschluss via MPLC unter Verwendung eines Heptan/Ether-Gemischs steigender Polarität und unter Zugabe von TEA gereinigt. Mittels MPLC ließen sich das α- und β-Anomer voneinander trennen.

Ausbeute: 1,03 g (51 %)

O-(6-Azido-2, 3, 4-tri-O-benzyl-6-deoxy- α -D-glucopyranosyl)-**N-2,2-tris(4-chlorphenyl)acetimidat (α 7)**

Ausbeute: 0,31 g (25 % von 51%)

Summenformel: $C_{47}H_{41}Cl_3N_4O_5$

Molare Masse: 848,21 g/mol

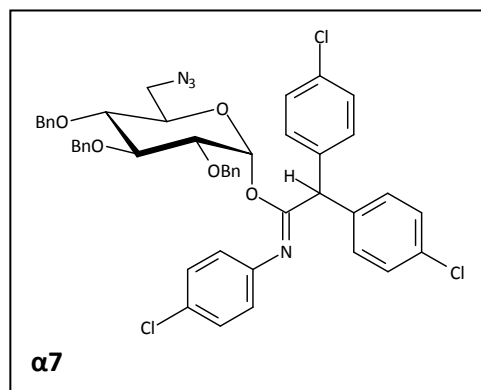
 R_f (LM 1): 0,54

MS: M+Na

HR-MS: 871,2003

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = + 67,26^\circ$
($c = 13,38 \times 10^{-3}$ g/ml in $CHCl_3$) 1H -NMR ($CDCl_3$): 500 MHz

$\delta = 6,52 - 7,36$ (m, 27 H, $3x(-C_6H_5)$, $3x(-C_6H_4)$), 6,72 (d, 1 H, $^3J_{H-1/H-2} = 3,3$ Hz, **H-1**), 5,03 (s, 1H, **-CH-**), 4,88 und 4,75 (d, 2 H, $^2J = 11$ Hz, **-CH₂-C₆H₅**), 4,85 und 4,53 (d, 2 H, $^2J = 10,4$ Hz, **-CH₂-C₆H₅**), 4,75 und 4,72 (d, 2 H, $^2J = 10,4$ Hz, **-CH₂-C₆H₅**), 3,68 (dd, 1 H, $^3J_{H-1/H-2} = 3,3$ Hz, $^3J_{H-2/H-3} = 9,5$ Hz, **H-2**), 3,61 („t“, 1H, $^3J = 9,5$ Hz, **H-3**), 3,38 („t“, 1 H, $^3J = 9,5$ Hz, **H-4**), 3,25 (dd, 1 H, $^2J_{H-6/H-6'} = 12,8$ Hz, $^3J_{H-5/H-6} = 2,2$ Hz, **H-6**), 3,18 (dd, 1 H, $^3J_{H-6/H-6'} = 12,8$ Hz, $^3J_{H-5/H-6'} = 5,5$ Hz, **H-6'**), 3,11 – 3,15 (m, 1 H, **H-5**)

**O-(6-Azido-2,3,4-tri-O-benzyl-6-deoxy- β -D-glucopyranosyl)-****N-2,2-tris(4-chlorphenyl)acetimidat (β 7)**

Ausbeute: 0,92 g (75 % von 51 %)

Summenformel: $C_{47}H_{41}Cl_3N_4O_5$

Molare Masse: 848,21 g/mol

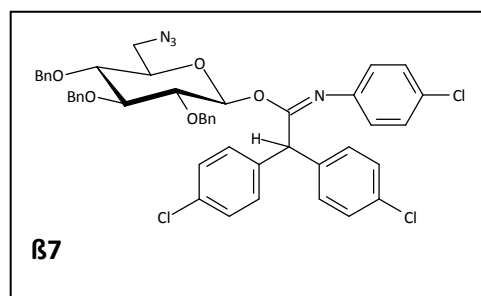
 R_f (LM 1): 0,46

MS: M+Na

HR-MS: 871,2029

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{22} = - 10,53^\circ$
($c = 7,58 \times 10^{-3}$ g/ml in $CHCl_3$) 1H -NMR ($CDCl_3$): 500 MHz

$\delta = 6,62 - 7,35$ (m, 27 H, $3x(-C_6H_5)$, $3x(-C_6H_4)$), 6,06 (d, 1 H, $^3J_{H-1/H-2} = 8,1$ Hz, **H-1**), 5,04 (s, 1H, **-CH-**), 4,85 und 4,59 (d, 2 H, $^2J = 11,1$ Hz, **-CH₂-C₆H₅**), 4,84 und 4,76 (d, 2 H, $^2J = 11,1$ Hz, **-CH₂-C₆H₅**), 4,31 und 3,98 (d, 2 H, $^2J = 11,4$ Hz, **-CH₂-C₆H₅**), 3,73 („t“, 1H, $^3J = 8,7$ Hz, **H-3**), 3,65 – 3,69 (m, 1 H, **H-5**), 3,52 –



3,57 (m, 2 H, **H-2, H-4**), 3,46 (dd, 1 H, $^2J_{\text{H-6/H-6}'} = 13,1 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{H-5/H-6}} = 2,0 \text{ Hz}$, **H-6**), 3,29 (dd, 1 H, $^3J_{\text{H-6/H-6}'} = 13,1 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{H-5/H-6}'} = 5,4 \text{ Hz}$, **H-6'**)

O-(6-Azido-2,3,4-tri-O-benzyl-6-deoxy-D-galactopyranosyl)-

N-2,2-tris(4-chlorphenyl)acetimidat (7Ga)

Die Synthese und die Reinigung von **7Ga** erfolgten entsprechend der Vorschrift von Verbindung **7**.

Ausbeute: 1,29 g (64 %)

O-(6-Azido-2,3,4-tri-O-benzyl-6-deoxy- α -D-galactopyranosyl)-

N-2,2-tris(4-chlorphenyl)acetimidat (α 7Ga)

Ausbeute: 0,36 g (28 % von 64 %)

Summenformel: $\text{C}_{47}\text{H}_{41}\text{Cl}_3\text{N}_4\text{O}_5$

Molare Masse: 848,21 g/mol

R_f (LM 1): 0,33

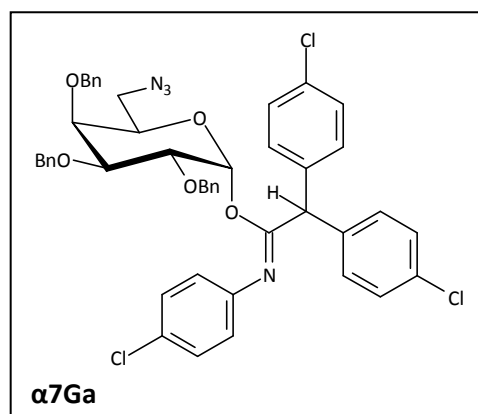
MS: M+Na

HR-MS: 869,2058

Spezifische Drehung: $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +49,22^\circ$
($c = 7,72 \times 10^{-3} \text{ g/ml}$ in CHCl_3)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 500 MHz

$\delta = 6,51 - 7,37$ (m, 27 H, $3 \times (-\text{C}_6\text{H}_5)$, $3 \times (-\text{C}_6\text{H}_4\text{Cl})$), 6,70 (d, 1 H, $^3J_{\text{H-1/H-2}} = 3,3 \text{ Hz}$, **H-1**), 4,97 (s, 1 H, $-\text{CH}-(\text{C}_6\text{H}_4\text{Cl})_2$), 4,97 und 4,55 (d, 2 H, $^2J = 11,5 \text{ Hz}$, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 4,70 - 4,81 (m, 4 H, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 4,17 (dd, 1 H, $^3J_{\text{H-1/H-2}} = 3,7 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{H-2/H-3}} = 9,9 \text{ Hz}$, **H-2**), 3,53 - 3,55 (m, 2 H, **H-3, H-4**), 3,39 (dd, 1 H, $^3J_{\text{H-5/H-6}'} = 8,1 \text{ Hz}$, $^2J_{\text{H-6/H-6}'} = 12,5 \text{ Hz}$, **H-6'**), 3,05 - 3,07 (m, 1 H, **H-5**), 2,79 (dd, 1 H, $^3J_{\text{H-5/H-6}} = 4,4 \text{ Hz}$, $^2J_{\text{H-6/H-6}'} = 13,2 \text{ Hz}$, **H-6**)



O-(6-Azido-2,3,4-tri-O-benzyl-6-deoxy- β -D-galactopyranosyl)-

N-2,2-tris(4-chlorphenyl)acetimidat (β 7Ga)

Ausbeute: 0,93 g (72 % von 64 %)

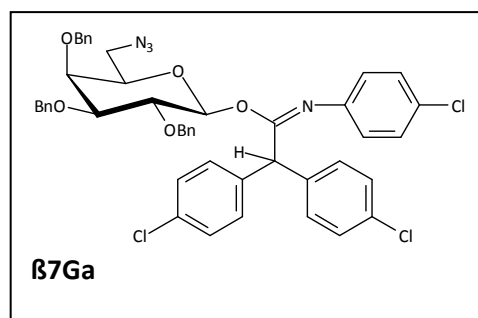
Summenformel: $\text{C}_{47}\text{H}_{41}\text{Cl}_3\text{N}_4\text{O}_5$

Molare Masse: 848,21 g/mol

R_f (LM 1): 0,30

MS: M+Na

HR-MS: 869,2035



Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{25} = -16,90^\circ$ ($c = 18,94 \times 10^{-3}$ g/ml in CHCl_3)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 500 MHz

$\delta = 6,59 - 7,38$ (m, 27 H, $3 \times (-\text{C}_6\text{H}_5)$, $3 \times (-\text{C}_6\text{H}_4\text{Cl})$), 6,00 (d, 1 H, $^3J_{\text{H-1/H-2}} = 8,2$ Hz, **H-1**), 5,01 (s, 1 H, $-\text{CH}-(\text{C}_6\text{H}_4\text{Cl})_2$), 4,97 und 4,61 (d, 2 H, $^2J = 11,6$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 4,74 und 4,69 (d, 2 H, $^2J = 11,9$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 4,40 und 3,96 (d, 2 H, $^2J = 11,3$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 3,84 (dd, 1 H, $^3J_{\text{H-1/H-2}} = 8,1$ Hz, $^3J_{\text{H-2/H-3}} = 9,6$ Hz, **H-2**), 3,63 – 3,70 (m, 3 H, **H-4**, **H-5**, **H-6'**), 3,61 (dd, 1 H, $^3J_{\text{H-2/H-3}} = 9,6$ Hz, $^3J_{\text{H-3/H-4}} = 2,9$ Hz, **H-3**), 2,82 (dd, 1 H, $^3J_{\text{H-5/H-6}} = 7,5$ Hz, $^2J_{\text{H-6/H-6'}} = 16,4$ Hz, **H-6**)

O-(6-Azido-2,3,4-tri-O-benzyl-6-deoxy-D-mannopyranosyl)-

N-2,2-tris(4-chlorophenyl)acetimidat (7M)

Die Synthese und die Reinigung von **7M** erfolgten entsprechend der Vorschrift für Verbindung **7**.

Ausbeute: 1,09 g (54 %)

O-(6-Azido-2,3,4-tri-O-benzyl-6-deoxy- α -D-mannopyranosyl)-

N-2,2-tris(4-chlorophenyl)acetimidat (α 7M)

Ausbeute: 0,65 g (32 %)

Summenformel: $\text{C}_{47}\text{H}_{41}\text{Cl}_3\text{N}_4\text{O}_5$

Molare Masse: 848,21 g/mol

R_f (LM 1): 0,32

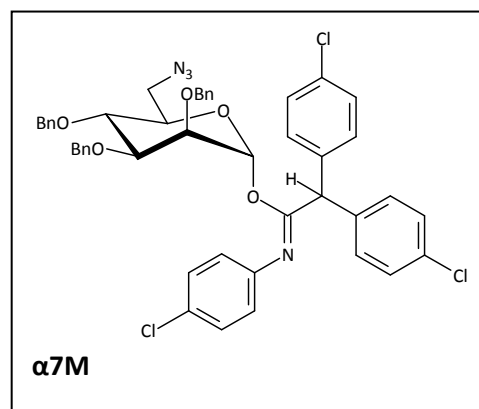
MS: M+Na

HR-MS: 869,2038

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{25} = +22,88^\circ$
($c = 8,74 \times 10^{-3}$ g/ml in CHCl_3)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 500 MHz

$\delta = 6,59 - 7,39$ (m, 27 H, $3 \times (-\text{C}_6\text{H}_5)$, $3 \times (-\text{C}_6\text{H}_4\text{Cl})$), 6,48 (bs, 1 H, **H-1**), 5,00 (s, 1 H, $-\text{CH}-(\text{C}_6\text{H}_4\text{Cl})_2$), 4,90 und 4,54 (d, 2 H, $^2J = 11,4$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 4,74 und 4,70 (d, 2 H, $^2J = 12,1$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 4,43 (ps, 2 H, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 3,82 (t, 1 H, $^3J = 9,4$ Hz, **H-4**), 3,73 – 3,74 (m, 1 H, **H-2**), 3,41 (dd, 1 H, $^3J_{\text{H-2/H-3}} = 3$ Hz, $^3J_{\text{H-3/H-4}} = 9,1$ Hz, **H-3**), 3,32 – 3,38 (m, 3 H, **H-5**, **H-6**, **H-6'**)



$^{13}\text{C-NMR}$ (Gated-Decoupling-Verfahren): $^1J_{\text{C-1/H-1}} = 175,71$ Hz

O-(6-Azido-2,3,4-tri-O-benzyl-6-deoxy-β-D-mannopyranosyl)-**N-2,2-tris(4-chlorphenyl)acetimidat (β7M)**

Ausbeute: 0,44 g (22 %)

Summenformel: C₄₇H₄₁Cl₃N₄O₅

Molare Masse: 848,21 g/mol

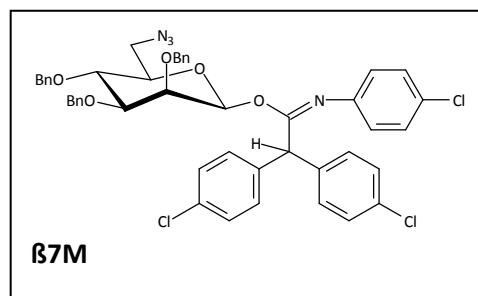
R_f (LM 1): 0,32

MS: M+Na

HR-MS: 869,2038

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{25} = -22,88^\circ$ $(c = 8,74 \times 10^{-3} \text{ g/ml in CHCl}_3)$ ¹H-NMR (CDCl₃): 500 MHz

$\delta = 6,62 - 7,34$ (m, 27 H, 3x(-C₆H₅), 3x(-C₆H₄Cl), 6,02 (bs, 1 H, **H-1**), 5,05 (s, 1 H, -CH-(C₆H₄Cl)₂), 4,90 und 4,59 (d, 2 H, ²J = 11,3 Hz, -CH₂-C₆H₅), 4,56 und 4,51 (d, 2 H, ²J = 11,8 Hz, -CH₂-C₆H₅), 4,42 (ps, 2 H, -CH₂-C₆H₅), 3,90 - 3,87 (m, 2 H, **H-2**, **H-3**), 3,62 - 3,66 (m, 2 H, **H-4**, **H-5**), 3,32 - 3,40 (m, 2 H, **H-6**, **H-6'**)

¹³C-NMR (Gated-Decoupling-Verfahren): ¹J_{C-1/H-1} = 161,13 Hz**3-O-(6'-Azido-2',3',4'-tri-O-benzyl-6'-deoxy-D-glucosyl)-1,2-isopropyliden-sn-glycerol (8)**

0,58 g (1,20 mmol) des β-konfigurierten Imidats **β7** wurden in 30 ml CH₂Cl₂ gelöst. Nach der Zugabe von 0,36 g (S)-1,2-Isopropylidenglycerol wurde die Lösung auf -20 °C abgekühlt und katalytische Mengen TMSOTf zugegeben. Die Lösung wurde solange bei -20 °C gerührt, bis eine weiße Trübung eintrat. Im Anschluss wurde das Produktgemisch auf RT gebracht und mit TEA neutralisiert. Das Reaktionsgemisch wurde 3x mit Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Der Rückstand wurde in Heptan aufgenommen und über eine kurze, mit Kieselgel beschichtete Säule filtriert. Um reines **α8** und **β8** zu erhalten, konnte eine präparative Dünnschichtchromatographie mit einem Heptan/Essigester-Gemisch durchgeführt werden.

Ausbeute: 0,40 g (56 %)

3-O-(6'-Azido-2',3',4'-tri-O-benzyl-6'-deoxy- α -D-glucosyl)-1,2-isopropyliden-*sn*-glycerol (α 8)

Ausbeute: 0,27 g (81% von 56 %)

Summenformel: $C_{33}H_{39}N_3O_7$

Molare Masse: 569,68 g/mol

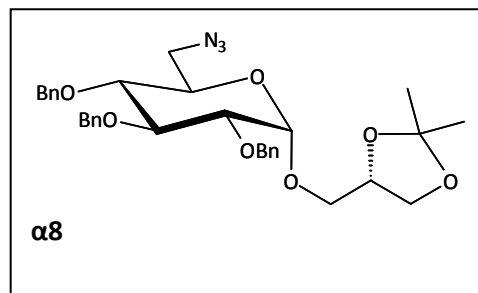
 R_f (LM 1): 0,22

MS: M+Na

HR-MS: 612,2688

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{22} = +49,25^\circ$
($c = 7,31 \times 10^{-3}$ g/ml in $CHCl_3$) 1H -NMR ($CDCl_3$): 500 MHz

$\delta = 7,15 - 7,30$ (m, 15 H, $3x(-C_6H_5)$), 4,81 (d, 1 H, $^3J_{H-1/H-2} = 3,7$ Hz, **H-1**), 4,91 und 4,72 (d, 2 H, $^2J = 10,7$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), 4,82 und 4,50 (d, 2 H, $^2J = 11,1$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), 4,68 und 4,59 (d, 2 H, $^2J = 11,8$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), 4,26 – 4,31 (m, 1 H, **sn2**), 4,00 (dd, 1 H, $^2J_{sn1/sn1'} = 8,4$ Hz, $^3J_{sn1/sn2} = 6,4$ Hz, **sn1**), 3,88 (t, 1 H, $^2J = 9,4$ Hz, **H-3**), 3,73 – 3,77 (m, 1 H, **H-5**), 3,67 (dd, 1 H, $^2J_{sn1/sn1'} = 8,4$ Hz, $^3J_{sn1'/sn2} = 6,0$ Hz, **sn1'**), 3,57 (dd, 1 H, $^2J_{sn3/sn3'} = 10,7$ Hz, $^3J_{sn2/sn3} = 5,7$ Hz, **sn3**), 3,49 (dd, 1 H, $^2J_{sn3/sn3'} = 10,7$ Hz, $^3J_{sn2/sn3'} = 6,0$ Hz, **sn3'**), 3,47 (dd, 1 H, $^3J_{H-1/H-2} = 3,7$ Hz, $^3J_{H-2/H-3} = 9,4$ Hz, **H-2**), 3,35 – 3,39 (m, 2 H, **H-4**, **H-6**), 3,26 (dd, 1 H, $^3J_{H-5/H-6'} = 5,4$ Hz, $^2J_{H-6/H-6'} = 13,1$ Hz, **H-6'**), 1,30 und 1,36 (s, 6 H, $2x(-CH_3)$)

**3-O-(6'-Azido-2',3',4'-tri-O-benzyl-6'-deoxy- β -D-glucosyl)-1,2-isopropyliden-*sn*-glycerol (β 8)**

Ausbeute: 0,14 g (18 % von 56 %)

Summenformel: $C_{33}H_{39}N_3O_7$

Molare Masse: 589,68 g/mol

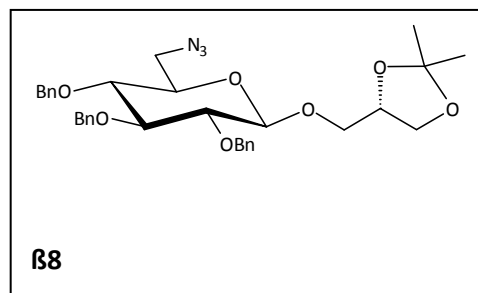
 R_f (LM 1): 0,22

MS: M+Na

HR-MS: 612,2685

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{25} = -22,22^\circ$
($c = 1,8 \times 10^{-3}$ g/ml in $CHCl_3$) 1H -NMR ($CDCl_3$): 500 MHz

$\delta = 7,22 - 7,36$ (m, 15 H, $3x(-C_6H_5)$), 4,94 und 4,56 (d, 2 H, $^2J = 10,7$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), 4,94 und 4,86 (d, 2 H, $^2J = 11,4$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), 4,78 und 4,71 (d, 2 H, $^2J = 11,1$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), 4,46 (s, 1 H, $^3J_{H-1/H-2} = 7,7$ Hz, **H-1**), 4,29 – 4,35 (m, 1 H, **sn2**), 4,06 (dd, 1 H, $^2J_{sn1/sn1'} = 8,4$ Hz, $^3J_{sn1/sn2} = 6,4$ Hz, **sn1**), 3,98 (dd, 1 H, 2J



${}_{sn3/sn3'} = 10,1$ Hz, ${}^3J_{sn3/sn2} = 5,0$ Hz, **sn3**), 3,83 (dd, 1 H, ${}^2J_{sn1/sn1'} = 8,4$ Hz, ${}^3J_{sn1'/sn2} = 6,0$ Hz, **sn1'**), 3,61 – 3,64 (m, 2 H, **H-3**, **sn3'**), 3,43 – 3,49 (m, 3 H, **H-2**, **H-4**, **H-5**), 3,40 (dd, 1 H, ${}^3J_{H-5/H-6} = 2,4$ Hz, ${}^2J_{H-6/H-6'} = 13,1$ Hz, **H-6**), 3,31 (dd, 1 H, ${}^3J_{H-5/H-6'} = 6,4$ Hz, ${}^2J_{H-6/H-6'} = 13,1$ Hz, **H-6'**), 1,36 und 1,41 (s, 6 H, $2x(-CH_3)$)

3-O-(6'-Azido-2',3',4'-tri-O-benzyl-6'-deoxy-D-galactosyl)-1,2-isopropyliden-sn-glycerol (8Ga)

Die Synthese und die Reinigung von **8Ga** erfolgten in gleicher Weise wie die Darstellung von Verbindung **8**. Dazu wurden 0,22 g (0,26 mmol) **α7Ga** und 0,58 g (0,68 mmol) **β7Ga** separat umgesetzt. Das erhaltene Anomerengemisch aus α- und β-Produkt wurde direkt weiterverarbeitet.

Ausbeute: 0,14 g (91 %) für die Umsetzung mit **α7Ga**

Ausbeute: 0,27 g (67 %) für die Umsetzung mit **β7Ga**

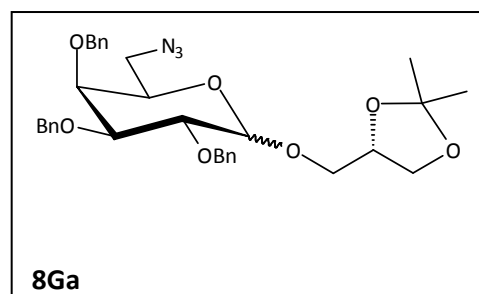
Summenformel: $C_{33}H_{39}N_3O_7$

Molare Masse: 589,68 g/mol

R_f (LM 1): 0,20

MS: M+Na

HR-MS: 612,2672



3-O-(6'-Azido-2',3',4'-tri-O-benzyl-6'-deoxy-D-mannosyl)-1,2-isopropyliden-sn-glycerol (8M)

Die Synthese und die Reinigung von **8M** erfolgten analog von **8**. Dazu wurden 1,10 g (1,3 mmol) **α7M** und 0,75 g (0,88 mmol) **β7M** separat umgesetzt. Das erhaltene Anomerengemisch wurde via MPLC mit einem Heptan/Ether-Gradient steigender Polarität und Zugabe von TEA aufgetrennt.

Ausbeute: 0,42 g (55 %) für die Umsetzung mit **α7M**

Ausbeute: 0,48 g (92 %) für die Umsetzung mit **β7M**

3-O-(6'-Azido-2',3',4'-tri-O-benzyl-6'-deoxy-α-D-mannosyl)-1,2-isopropyliden-sn-glycerol(α8M)

Summenformel: $C_{33}H_{39}N_3O_7$

Molare Masse: 589,68 g/mol

R_f (LM 1): 0,25

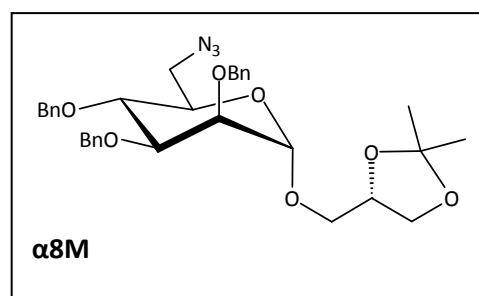
MS: M+Na

HR-MS: 612,2688

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{25} = +41,43^\circ$

($c = 5,31 \times 10^{-3}$ g/ml in $CHCl_3$)

1H -NMR ($CDCl_3$): 500 MHz



$\delta = 7,24 - 7,36$ (m, 15 H, $3x(-C_6H_5)$), 4,86 (d, 1 H, $^3J_{H-1/H-2} = 1,8$ Hz, **H-1**), 4,93 und 4,57 (d, 2 H, $^2J = 11,2$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), 4,75 und 4,69 (d, 2 H, $^2J = 12,5$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), 4,61 (s, 2 H, $-CH_2-C_6H_5$), 4,19 – 4,24 (m, 1 H, **sn2**), 4,01 (dd, 1 H, $^2J_{sn1/sn1'} = 8,1$ Hz, $^3J_{sn1/sn2} = 6,6$ Hz, **sn1**), 3,82 – 3,89 (m, 3 H, **H-2**, **H-3**, **H-4**), 3,72 – 3,76 (m, 1 H, **H-5**), 3,67 (dd, 1 H, $^2J_{sn3/sn3'} = 10,6$ Hz, $^3J_{sn3/sn2} = 4,6$ Hz, **sn3**), 3,62 (dd, 1 H, $^2J_{sn1'/sn1'} = 8,1$ Hz, $^2J_{sn1'/sn2} = 6,6$ Hz, **sn1'**), 3,44 – 3,48 (m, 2 H, **sn3'**, **H-6**), 3,39 (dd, 1 H, $^3J_{H-5/H-6'} = 6,6$ Hz, $^2J_{H-6/H-6'} = 12,8$ Hz, **H-6'**), 1,35 und 1,39 (s, 6 H, $2x(-CH_3)$)

^{13}C -NMR (Gated-Decoupling-Verfahren): $^1J_{C-1/H-1} = 169,86$ Hz

3-O-(6'-Azido-2',3',4'-tri-O-benzyl-6'-deoxy- β -D-mannosyl)-1,2-isopropyliden-*sn*-glycerol (**β 8M**)

Summenformel: $C_{33}H_{39}N_3O_7$

Molare Masse: 589,68 g/mol

R_f (LM 1): 0,16

MS: M+Na

HR-MS: 612,2680

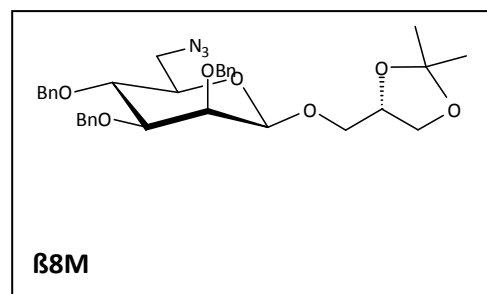
Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{25} = -39,23^\circ$

($c = 3,06 \times 10^{-3}$ g/ml in $CHCl_3$)

1H -NMR ($CDCl_3$): 500 MHz

$\delta = 7,22 - 7,45$ (m, 15 H, $3x(-C_6H_5)$), 4,95 und 4,80 (d, 2 H, $^2J = 12,5$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), 4,93 und 4,56 (d, 2 H, $^2J = 11$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), 4,51 und 4,44 (d, 2 H, $^2J = 12$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), 4,46 (s, 1 H, **H-1**), 4,26 – 4,30 (m, 1 H, **sn2**), 4,01 (dd, 1 H, $^2J_{sn1/sn1'} = 8,1$ Hz, $^3J_{sn1/sn2} = 6,6$ Hz, **sn1**), 3,96 (dd, 1 H, $^2J_{sn3/sn3'} = 10,6$ Hz, $^3J_{sn3/sn2} = 3,7$ Hz, **sn3**), 3,92 („d“, 1 H, $^3J_{H-2/H-3} = 2,9$ Hz, **H-2**), 3,88 (dd, 1 H, $^2J_{sn1'/sn1'} = 8,1$ Hz, $^3J_{sn1'/sn2} = 6,2$ Hz, **sn1'**), 3,77 (t, 1 H, $^3J = 9,2$ Hz **H-4**), 3,61 (dd, 1 H, $^2J_{sn3'/sn3'} = 11$ Hz, $^3J_{sn3'/sn2} = 5,5$ Hz, **sn3'**), 3,48 (dd, 1 H, $^3J_{H-2/H-3} = 2,9$ Hz, $^3J_{H-3/H-4} = 9,5$ Hz, **H-3**), 3,33 – 3,45 (m, 3 H, **H-5**, **H-6**, **H-6'**), 1,35 und 1,38 (s, 6 H, $2x(-CH_3)$)

^{13}C -NMR (Gated-Decoupling-Verfahren): $^1J_{C-1/H-1} = 155,47$ Hz



8.3.3 Synthese der Glycoglycerolipide

3-O-(6'-Azido-2',3',4'-tri-O-benzyl-6'-deoxy-D-glucosyl)-sn-glycerol (9)

0,75 g (1,27 mmol) **8** wurden in 50 ml abs. Methanol gelöst und mit 0,96 g Pyridiniumtosylat versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 5 h unter Rückfluss gekocht. Nach Abkühlung wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgetrennt und der Rückstand in CH₂Cl₂ aufgenommen. Die Lösung wurde 3x mit Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Die Trennung des Anomerengemisch erfolgte mit Hilfe der präparativen Dünnschichtchromatographie unter Verwendung von Essigester.

Ausbeute: 0,57 g (82 %)

3-O-(6'-Azido-2',3',4'-tri-O-benzyl-6'-deoxy- α -D-glucosyl)-sn-glycerol (α 9)

Summenformel: C₃₀H₃₅N₃O₇

Molare Masse: 549,62 g/mol

R_f (LM 2): 0,49

MS: M+Na

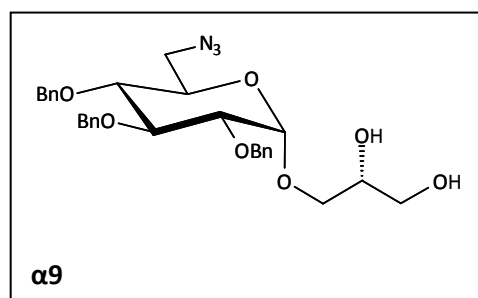
HR-MS: 572,23676

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{22} = +35,71^\circ$

(c = 0,9 x 10⁻³ g/ml in CHCl₃)

¹H-NMR (CDCl₃): 500 MHz

$\delta = 7,23 - 7,33$ (m, 15 H, 3x(-C₆H₅)), 4,94 und 4,81 (d, 2 H, ²J = 10,7 Hz, -CH₂-C₆H₅), 4,88 und 4,56 (d, 2 H, ²J = 11,1 Hz, -CH₂-C₆H₅), 4,78 und 4,62 (d, 2 H, ²J = 11,8 Hz -CH₂-C₆H₅), 4,72 (d, 1 H, ³J_{H-1/H-2} = 3,7 Hz, **H-1**), 3,93 (t, 1 H, ³J = 9,2 Hz, **H-3**), 3,84 - 3,87 (m, 2 H, **sn2**, **sn1**), 3,79 - 3,87 (m, 1 H, **H-5**), 3,57 - 3,77 (m, 2 H, **sn3**, **sn3'**), 3,53 (dd, 1 H, ³J_{H-1/H-2} = 3,7 Hz, ³J_{H-2/H-3} = 9,7 Hz, **H-2**), 3,39 - 3,46 (m, 3 H, **H-4**, **H-6**, **sn1'**), 3,31 (dd, 1 H, ³J_{H-6/H-6'} = 13,1 Hz, ³J_{H-5/H-6'} = 5,7 Hz, **H-6'**)



3-O-(6'-Azido-2',3',4'-tri-O-benzyl-6'-deoxy- β -D-glucosyl)-sn-glycerol (β 9)

Summenformel: C₃₀H₃₅N₃O₇

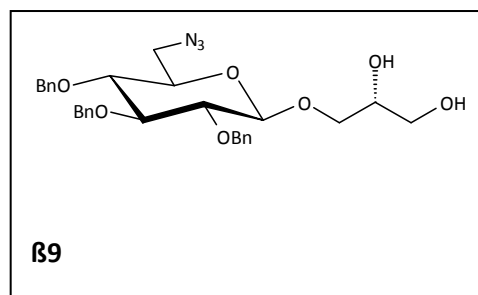
Molare Masse: 549,62 g/mol

R_f (LM 2): 0,51

MS: M+Na

HR-MS: 572,2367

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{22} = +25,97^\circ$



($c = 2,37 \times 10^{-3}$ g/ml in CHCl_3)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 500 MHz
 $\delta = 7,16 - 7,30$ (m, 15 H, $3 \times (-\text{C}_6\text{H}_5)$), 4,87 und 4,73 (d, 2 H, $^2J = 11$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 4,80 und 4,69 (d, 2 H, $^2J = 11$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 4,80 und 4,38 (d, 2 H, $^2J = 11$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 4,38 (d, 1 H, $^3J_{\text{H-1}/\text{H-1}} = 8,1$ Hz, **H-1**), 3,74 – 3,84 (m, 3 H, **sn1**, **sn1'**, **sn2**), 3,63 (dd, 1 H, $^2J_{\text{sn3}/\text{sn3}'} = 11,4$ Hz, $^3J_{\text{sn3}/\text{sn2}} = 3,3$ Hz, **sn3**), 3,59 (t, 1 H, $^3J = 8,8$ Hz, **H-3**), 3,53 (dd, 1 H, $^2J_{\text{sn3}/\text{sn3}'} = 11,4$ Hz, $^3J_{\text{sn2}/\text{sn3}'} = 5,1$ Hz, **sn3'**), 3,37 – 3,44 (m, 4 H, **H-2**, **H-4**, **H-5**, **H-6**), 3,25 (dd, 1 H, $^2J_{\text{H-6}/\text{H-6}'} = 12,8$ Hz, $^3J_{\text{H-5}/\text{H-6}'} = 5,9$ Hz, **H-6'**), 2,10 – 2,58 (bs, 2 H, $2 \times (-\text{OH})$)

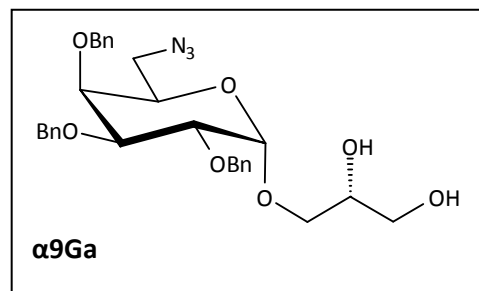
3-O-(6'-Azido-2',3',4'-tri-O-benzyl-6'-deoxy-D-galactosyl)-sn-glycerol (9Ga)

0,30 g (0,51 mmol) der Verbindung **9Ga** wurden in analoger Weise wie Verbindung **9** dargestellt, gereinigt und getrennt.

Ausbeute: 0,24 g (86 %)

3-O-(6'-Azido-2',3',4'-tri-O-benzyl-6'-deoxy- α -D-galactosyl)-sn-glycerol (α 9Ga)

Summenformel: $\text{C}_{30}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_7$
 Molare Masse: 549,62 g/mol
 R_f (LM 2): 0,51
 MS: M+Na
 HR-MS: 572,2357
 Spezifische Drehung: $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = + 25,97^\circ$

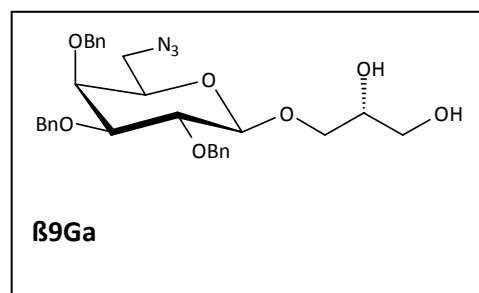


($c = 1,54 \times 10^{-3}$ g/ml in CHCl_3)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 500 MHz
 $\delta = 7,25 - 7,38$ (m, 15 H, $3 \times (-\text{C}_6\text{H}_5)$), 4,97 und 4,57 (d, 2 H, $^2J = 11,6$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 4,84 und 4,74 (d, 2 H, $^2J = 11,6$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 4,79 (d, 1 H, $^3J_{\text{H-1}/\text{H-2}} = 3,4$ Hz, **H-1**), 4,82 und 4,66 (d, 2 H, $^2J = 11,6$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 4,03 (dd, 1 H, $^3J_{\text{H-1}/\text{H-2}} = 3,4$ Hz, $^3J_{\text{H-2}/\text{H-3}} = 9,8$ Hz, **H-2**), 3,83 – 3,91 (m, 4 H, **H-3**, **H-5**, **sn1**, **sn2**), 3,83 – 3,91 (m, 1H, **H-4**), 3,71 (dd, 1 H, $^2J_{\text{sn3}/\text{sn3}'} = 11,9$ Hz, $^3J_{\text{sn3}/\text{sn2}} = 3,7$ Hz, **sn3**), 3,62 (dd, 1 H, $^2J_{\text{sn3}/\text{sn3}'} = 11,9$ Hz, $^3J_{\text{sn3}'/\text{sn2}} = 3,7$ Hz, **sn3'**), 3,42 – 3,49 (m, 2 H, **H-6**, **sn1'**), 2,97 (dd, 1 H, $^3J_{\text{H-5}/\text{H-6}'} = 4,9$ Hz, $^2J_{\text{H-6}/\text{H-6}'} = 12,5$ Hz, **H-6'**)

3-O-(6'-Azido-2',3',4'-tri-O-benzyl-6'-deoxy- β -D-galactosyl)-sn-glycerol (β 9Ga)

Summenformel:	$C_{30}H_{35}N_3O_7$
Molare Masse:	549,62 g/mol
R_f (LM 2):	0,43
MS:	M+Na
HR-MS:	572,23725
Spezifische Drehung:	$[\alpha]_D^{22} = -8,85^\circ$ ($c = 2,26 \times 10^{-3}$ g/ml in $CHCl_3$)

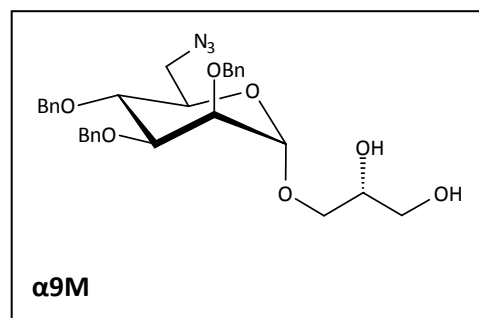


1H -NMR ($CDCl_3$):	500 MHz
	$\delta = 7,25 - 7,36$ (m, 15 H, $3 \times (-C_6H_5)$), 4,97 und 4,61 (d, 2 H, $^2J = 11,6$ Hz, $-CH_2-$ C_6H_5), 4,72 - 4,85 (m, 4 H, $-CH_2-C_6H_5$), 4,36 (d, 1 H, $^3J_{H-1/H-2} = 7,6$ Hz, H-1), 3,44 - 3,87 (m, 10 H, H-2 , H-3 , H-4 , H-5 , H-6 , sn1 , sn1' , sn2 , sn3 , sn3'), 2,96 (dd, 1 H, $^3J_{H-5/H-6'} = 4,0$ Hz, $^2J_{H-6/H-6'} = 12,5$ Hz, H-6')

3-O-(6'-Azido-2',3',4'-tri-O-benzyl-6'-deoxy- α -D-mannosyl)-sn-glycerol (α 9M)

0,42 g (0,71 mmol) **α 8M** wurden in 50 ml abs. Methanol gelöst, mit 0,54 g Pyridiniumtosylat versetzt und für 5 h unter Rückfluss gekocht. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer abgetrennt und der Rückstand in CH_2Cl_2 aufgenommen. Im Anschluss wurde die organische Phase 3x mit Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und am Rotationsverdampfer eingengt.

Ausbeute:	0,37 g (95 %)
Summenformel:	$C_{30}H_{35}N_3O_7$
Molare Masse:	549,62 g/mol
R_f (LM 2):	0,46
MS:	M+Na
HR-MS:	572,2360
Spezifische Drehung:	$[\alpha]_D^{23} = +68,20^\circ$ ($c = 0,88 \times 10^{-3}$ g/ml in $CHCl_3$)



1H -NMR ($CDCl_3$):	500 MHz
	$\delta = 7,24 - 7,36$ (m, 15 H, $3 \times (-C_6H_5)$), 4,92 und 4,56 (d, 2 H, $^2J = 11,1$ Hz, $-CH_2-$ C_6H_5), 4,74 und 4,68 (d, 2 H, $^2J = 12,4$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), 4,62 („s“, 2 H, $-CH_2-$ C_6H_5), 4,81 (d, 1 H, $^3J_{H-1/H-2} = 1,7$ Hz, H-1), 3,81 - 3,87 (m, 3 H, H-3 , H-4 , sn2), 3,70 - 3,75 (m, 3 H, H-2 , H-5 , sn1), 3,66 (dd, 1 H, $^2J_{sn3/sn3'} = 11,4$ Hz, $^3J_{sn3/sn2} = 4,0$ Hz, sn3), 3,54 (dd, 1 H, $^2J_{sn3/sn3'} = 11,4$ Hz, $^3J_{sn3'/sn2} = 5,7$ Hz, sn3'), 3,46 (dd,

1 H, $^3J_{\text{H-6/H-6}'} = 13,1 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{H-5/H-6}} = 2,4 \text{ Hz}$, **H-6**), 3,43 (dd, 1 H, $^2J_{\text{sn1/sn1}'} = 10,4 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{sn1}'/\text{sn2}} = 7,1 \text{ Hz}$, **sn1'**), 3,38 (dd, 1 H, $^3J_{\text{H-6/H-6}'} = 13,1 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{H-5/H-6}'} = 6,7 \text{ Hz}$, **H-6'**)

3-O-(6'-Azido-2',3',4'-tri-O-benzyl-6'-deoxy- β -D-mannosyl)-sn-glycerol (**β 9M**)

Es wurden 0,48 g (0,81 mmol) **β 8M** in gleicher Weise wie **α 8M** umgesetzt und gereinigt.

Ausbeute: 0,38 g (85 %)

Summenformel: $\text{C}_{30}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_7$

Molare Masse: 549,62 g/mol

R_f (LM 2): 0,38

MS: M+Na

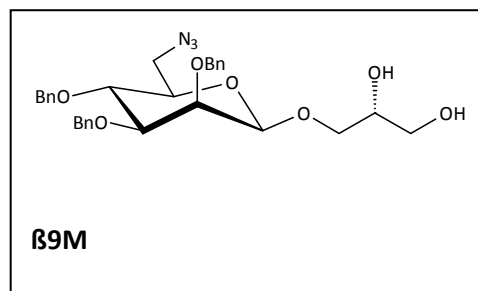
HR-MS: 572,2359

Spezifische Drehung: $[\alpha]_{\text{D}}^{23} = -29,40^\circ$

($c = 2,72 \times 10^{-3} \text{ g/ml}$ in CHCl_3)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 500 MHz

$\delta = 7,24 - 7,42$ (m, 15 H, $3 \times (-\text{C}_6\text{H}_5)$), 4,92 und 4,57 (d, 2 H, $^2J = 11,1 \text{ Hz}$, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 4,87 und 4,82 (d, 2 H, $^2J = 12,4 \text{ Hz}$, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 4,57 und 4,51 (d, 2 H, $^2J = 11,8 \text{ Hz}$, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 4,42 („s“, 1 H, **H-1**), 3,92 („d“, 1 H, $^3J_{\text{H-2/H-3}} = 2,7 \text{ Hz}$, **H-2**), 3,88 (dd, 1 H, $^2J_{\text{sn1/sn1}'} = 10,1 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{sn1}/\text{sn2}} = 5,7 \text{ Hz}$, **sn1**), 3,82 – 3,86 (m, 1 H, **sn2**), 3,78 (t, 1 H, $^3J = 9,1 \text{ Hz}$, **H-4**), 3,74 (dd, 1 H, $^2J_{\text{sn1}/\text{sn1}'} = 10,1 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{sn1}'/\text{sn2}} = 3,0 \text{ Hz}$, **sn1**), 3,69 (dd, 1 H, $^2J_{\text{sn3}/\text{sn3}'} = 11,4 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{sn3}/\text{sn2}} = 4,0 \text{ Hz}$, **sn3**), 3,61 (dd, 1 H, $^2J_{\text{sn3}/\text{sn3}'} = 11,4 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{sn3}'/\text{sn2}} = 4,7 \text{ Hz}$, **sn3'**), 3,51 (dd, 1 H, $^3J_{\text{H-2/H-3}} = 2,7 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{H-3/H-4}} = 9,1 \text{ Hz}$, **H-3**), 3,41 – 3,45 (m, 3 H, **H-5**, **H-6**, **H-6'**)



1,2-Dipalmitoyl-3-O-(6'-azido-2',3',4'-tri-O-benzyl-6'-deoxy-D-glucosyl)-sn-glycerol (10)

Für die Umsetzung von 0,43 g (0,78 mmol) von Verbindung **9** wurden 0,803 g (3,13 mmol) Palmitinsäure und 0,323 g (1,56 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid in 20 ml abs. CCl₄ gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde unter Verschluss für circa 20 h abgedunkelt stehen gelassen. Der gebildete Niederschlag wurde abfiltriert und die Lösung am Rotationsverdampfer eingeeengt. Im Anschluss erfolgte die Aufnahme des Rückstands in abs. Toluol. Zu dieser Lösung wurde das zuvor in Toluol gelöste und mit katalytischen Mengen DMAP versetzte **9** langsam zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde bei ständigem Rühren auf 50 °C erhitzt. Nach 4 h wurde erneut 0,160 g (0,78 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid zugegeben und für weitere 20 h bei RT gerührt. Die Lösung wurde 3x mit Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Die Reinigung unter Verwendung eines Heptan/Ether-Gradienten steigender Polarität.

Ausbeute: 0,54 g (67 %)

1,2-Dipalmitoyl-3-O-(6'-azido-2',3',4'-tri-O-benzyl-6'-deoxy- α -D-glucosyl)-sn-glycerol (α 10)

Summenformel: C₆₂H₉₅N₃O₉

Molare Masse: 1026,43 g/mol

R_f (LM 1): 0,52

MS: M+Na

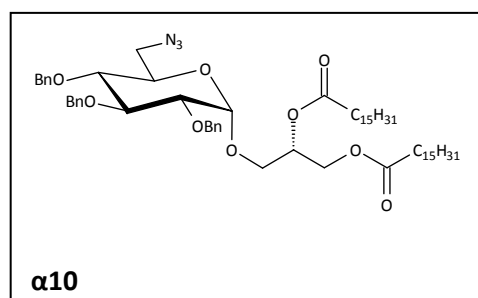
HR-MS: 1048,69763

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{22} = +46,08^\circ$

(c = 4,34x10⁻³ g/ml in CHCl₃)

¹H-NMR (CDCl₃): 500 MHz

$\delta = 7,23 - 7,32$ (m, 15 H, 3x(-C₆H₅)), 5,21 – 5,25 (m, 1 H, **sn2**), 4,95 und 4,78 (d, 2 H, ²J = 11 Hz, -CH₂-C₆H₅), 4,88 und 4,56 (d, 2 H, ²J = 11 Hz, -CH₂-C₆H₅), 4,73 und 4,61 („d“, 2 H, ²J = 11,9 Hz, -CH₂-C₆H₅), 4,73 (d, 1 H, ³J_{H-1/H-2} = 3,4 Hz, **H-1**), 4,39 (dd, 1 H, ²J_{sn1/sn1'} = 11,9 Hz, ³J_{sn1/sn2} = 3,4 Hz, **sn1**), 4,18 (dd, 1 H, ²J_{sn1/sn1'} = 11,9 Hz, ³J_{sn1'/sn2} = 5,8 Hz, **sn1'**), 3,92 (t, 1 H, ³J = 9,2 Hz, **H-3**), 3,74 – 3,79 (m, 2 H, **H-5**, **sn3**), 3,50 – 3,57 (m, 2 H, **H-2**, **sn3'**), 3,39 – 3,44 (m, 2 H, **H-4**, **H-6**), 3,30 (dd, 1 H, ²J_{H-6/H-6'} = 13,1 Hz, ³J_{H-5/H-6'} = 5,5 Hz, **H-6'**), 2,26 – 2,30 (m, 4 H, 2x(-CH₂-(CH₂)₁₃-CH₃)), 1,55 – 1,61 (m, 4 H, 2x(-CH₂-CH₂-(CH₂)₁₂-CH₃)), 1,20 – 1,30 (m, 48 H, 2x(-CH₂-CH₂-(CH₂)₁₂-CH₃)), 0,86 (t, 6 H, J = 7 Hz, 2x(-CH₃))



1,2-Dioctoyl-3-O-(6'-azido-2',3',4'-tri-O-benzyl-6'-deoxy- α -D-glucosyl)-sn-glycerol (α 10-D8)

0,73 g (5,04 mmol) Caprylsäure und 0,52 g (2,52 mmol) DCC wurden in 20 ml CCl_4 gelöst und 12 h unter Lichtausschluss stehen gelassen. Der sich bildende Niederschlag wurde abfiltriert und die Lösung am Rotationsverdampfer eingengt. Der Rückstand wurde zusammen mit 0,69 g (1,26 mmol) von Verbindung **9** in Toluol gelöst und mit katalytischen Mengen DMAP versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde auf 50°C für 4 h unter ständigem Rühren erwärmt. Im Anschluss wurde erneut 0,07 g DCC zugegeben und für weitere 12 h bei RT gerührt. Die Aufreinigung erfolgte in gleicher Weise wie von **α 10**.

Ausbeute: 0,58 g (57,4 %)

Summenformel: $\text{C}_{46}\text{H}_{63}\text{N}_3\text{O}_9$

Molare Masse: 802,01 g/mol

R_f (LM 1): 0,54

MS: M+Na

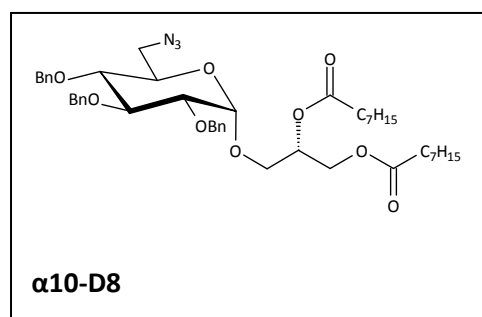
HR-MS: 824,4474

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{22} = +60,76^\circ$

($c = 3,95 \times 10^{-3}$ g/ml in CHCl_3)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 500 MHz

$\delta = 7,21 - 7,34$ (m, 15 H, $3 \times (-\text{C}_6\text{H}_5)$), 5,21 – 5,25 (m, 1 H, **sn2**), 4,95 und 4,78 (d, 2 H, $^2J = 10,7$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 4,88 und 4,56 (d, 2 H, $^2J = 11$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 4,73 und 4,61 (d, 2 H, $^2J = 12,0$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 4,73 (d, 1 H, $^3J_{\text{H-1}/\text{H-2}} = 3,7$ Hz, **H-1**), 4,39 (dd, 1 H, $^2J_{\text{sn1}/\text{sn1}'} = 12$ Hz, $^3J_{\text{sn1}/\text{sn2}} = 3,7$ Hz, **sn1**), 4,18 (dd, 1H, $^2J_{\text{sn1}/\text{sn1}'} = 12$ Hz, $^3J_{\text{sn1}'/\text{sn2}} = 6$ Hz, **sn1'**), 3,92 ("t", 1 H, $^3J = 9,3$ Hz, **H-3**), 3,74 – 3,78 (m, 2 H, **H-5**, **sn3**), 3,50 – 3,57 (m, 2 H, **H-2**, **sn3'**), 3,39 – 3,43 (m, 2 H, **H-4**, **H-6**), 3,30 (dd, 1 H, $^3J_{\text{H-5}/\text{H-6}} = 5,8$ Hz, $^2J_{\text{H-6}/\text{H-6}'}$ = 13 Hz, **H-6'**), 2,26 – 2,30 (m, 4 H, $2 \times (-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}_3)$), 1,55 – 1,64 (m, 4 H, $2 \times (-\text{CH}_2-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_4-\text{CH}_3)$), 1,20 – 1,31 (m, 16 H, $2 \times (-(\text{CH}_2)_2-(\text{CH}_2)_4-\text{CH}_3)$), 0,83 – 0,87 (m, 6 H, $2 \times (-\text{CH}_3)$)

**1,2-Dipalmitoyl-3-O-(6'-azido-2',3',4'-tri-O-benzyl-6'-deoxy- β -D-glucosyl)-sn-glycerol (**B10**)**

Summenformel: $\text{C}_{62}\text{H}_{95}\text{N}_3\text{O}_9$

Molare Masse: 1026,43 g/mol

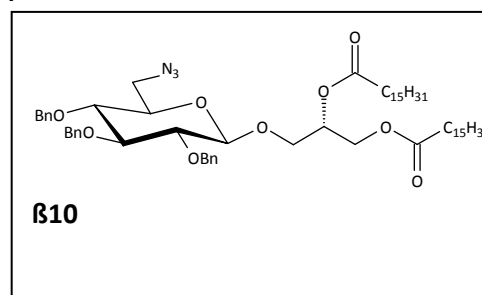
R_f (LM 1): 0,40

MS: M+Na

HR-MS: 1048,6980

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{22} = -8,39^\circ$

($c = 4,77 \times 10^{-3}$ g/ml in CHCl_3)



$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 500 MHz

$\delta = 7,20 - 7,33$ (m, 15 H, $3 \times (-\text{C}_6\text{H}_5)$), $5,24 - 5,28$ (m, 1 H, **sn2**), 4,92 und 4,76 (d, 2 H, $^2J = 11$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 4,91 und 4,68 (d, 2 H, $^2J = 11,1$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 4,84 und 4,54 (d, 2 H, $^2J = 11,1$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 4,41 (d, 1 H, $^3J_{\text{H-1/H-2}} = 7,8$ Hz, **H-1**), 4,34 (dd, 1 H, $^2J_{\text{sn1/sn1}'} = 11,9$ Hz, $^3J_{\text{sn1/sn2}} = 3,9$ Hz, **sn1**), 4,21 (dd, 1 H, $^2J_{\text{sn1/sn1}'} = 11,9$ Hz, $^3J_{\text{sn1}'/\text{sn2}} = 6,7$ Hz, **sn1'**), 4,03 (dd, 1 H, $^2J_{\text{sn3/sn3}'} = 10,8$ Hz, $^3J_{\text{sn3/sn2}} = 4,6$ Hz, **sn3**), 3,70 (dd, 1 H, $^2J_{\text{sn3/sn3}'} = 10,8$ Hz, $^3J_{\text{sn3}'/\text{sn2}} = 4,6$ Hz, **sn3'**), 3,62 („t“, 1 H, $^3J = 9,1$ Hz, **H-3**), 3,36 – 3,48 (m, 4 H, **H-2**, **H-4**, **H-5**, **H-6**), 3,28 (dd, 1 H, $^2J_{\text{H-6/H-6}'} = 13,1$ Hz, $^3J_{\text{H-5/H-6}'} = 6,3$ Hz, **H-6'**), 2,23 – 2,34 (m, 4 H, $2 \times (-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_{13}-\text{CH}_3)$), 1,53 – 1,63 (m, 4 H, $2 \times (-\text{CH}_2-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_{12}-\text{CH}_3)$), 1,21 – 1,30 (m, 48 H, $2 \times (-\text{CH}_2-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_{12}-\text{CH}_3)$), 0,86 (t, 6 H, $J = 7$ Hz, $2 \times (-\text{CH}_3)$)

1,2-Dipalmitoyl-3-O-(6'-azido-2',3',4'-tri-O-benzyl-6'-deoxy-D-galactosyl)-sn-glycerol (10Ga)

Die Darstellung und die Reinigung von 0,58 g (1,06 mmol) **10Ga** erfolgten analog wie bei **10**. Die Auftrennung der beiden Anomeren wurde mittels MPLC unter Verwendung eines Heptan/Ether-Gradienten steigender Polarität und Zusatz von TEA durchgeführt.

Ausbeute (insg.): 0,91 g (84 %)

1,2-Dipalmitoyl-3-O-(6'-azido-2',3',4'-tri-O-benzyl-6'-deoxy- α -D-galactosyl)-sn-glycerol (α 10Ga)

Ausbeute: 0,55 g (51 %)

Summenformel: $\text{C}_{62}\text{H}_{95}\text{N}_3\text{O}_9$

Molare Masse: 1026,43 g/mol

R_f (LM 1): 0,39

MS: M+Na

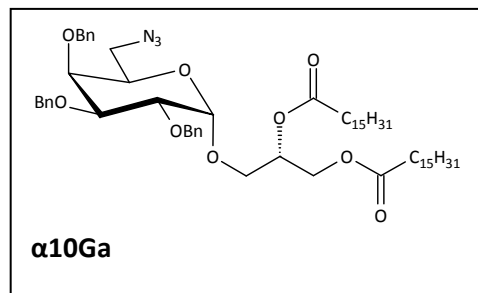
HR-MS: 1048,6955

Spezifische Drehung: $[\alpha]_{\text{D}}^{21} = +16,72^\circ$

($c = 5,98 \times 10^{-3}$ g/ml in CHCl_3)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 500 MHz

$\delta = 7,25 - 7,38$ (m, 15 H, $3 \times (-\text{C}_6\text{H}_5)$), $5,23 - 5,27$ (m, 1 H, **sn2**), 4,97 und 4,56 (d, 2 H, $^2J = 11,6$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 4,85 und 4,72 (d, 2 H, $^2J = 11,6$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 4,77 und 4,62 (d, 2 H, $^2J = 12$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 4,79 (d, 1 H, $^3J_{\text{H-1/H-2}} = 3,7$ Hz, **H-1**), 4,34 (dd, 1 H, $^2J_{\text{sn1/sn1}'} = 11,9$ Hz, $^3J_{\text{sn1/sn2}} = 3,7$ Hz, **sn1**), 4,17 (dd, 1 H, $^2J_{\text{sn1/sn1}'} = 11,9$ Hz, $^3J_{\text{sn1}'/\text{sn2}} = 5,8$ Hz, **sn1'**), 4,01 (dd, 1 H, $^3J_{\text{H-1/H-2}} = 3,7$ Hz, $^3J_{\text{H-2/H-3}} = 10,1$ Hz, **H-2**), 3,88 (dd, 1 H, $^3J_{\text{H-2/H-3}} = 10,1$ Hz, $^3J_{\text{H-3/H-4}} = 2,8$ Hz, **H-3**), 3,73 – 3,81 (m, 3 H, **H-4**, **H-5**, **sn3**), 3,54 (dd, 1 H, $^2J_{\text{sn3/sn3}'} = 10,7$ Hz, $^3J_{\text{sn3}'/\text{sn2}} =$



5,8 Hz, **sn3'**), 3,47 (dd, 1 H, $^2J_{H-6/H-6'} = 12,8$ Hz, $^3J_{H-5/H-6} = 8,2$ Hz, **H-6**), 2,92 (dd, 1 H, $^2J_{H-6/H-6'} = 12,8$ Hz, $^3J_{H-5/H-6'} = 4,9$ Hz, **H-6'**), 2,25 – 2,29 (m, 4 H, $2x(-CH_2-(CH_2)_{13}-CH_3)$), 1,54 – 1,61 (m, 4 H, $2x(-CH_2-CH_2-(CH_2)_{12}-CH_3)$), 1,21 – 1,30 (m, 48 H, $2x(-CH_2-CH_2-(CH_2)_{12}-CH_3)$), 0,86 (t, 6 H, $J = 7$ Hz, $2x(-CH_3)$)

1,2-Dipalmitoyl-3-O-(6'-azido-2',3',4'-tri-O-benzyl-6'-deoxy-β-D-galactosyl)-sn-glycerol (B10Ga)

Ausbeute: 0,35 g (33 %)

Summenformel: $C_{62}H_{95}N_3O_9$

Molare Masse: 1026,43 g/mol

R_f (LM 1): 0,31

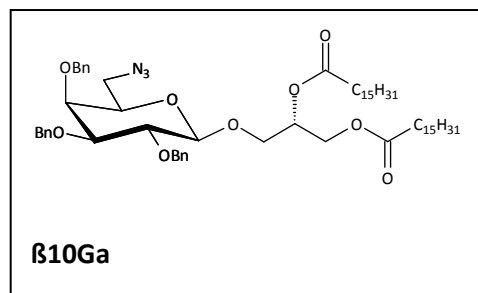
MS: M+Na

HR-MS: 1048,6955

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{21} = -19,20^\circ$ (c = $5,21 \times 10^{-3}$ g/ml in $CHCl_3$)

1H -NMR ($CDCl_3$): 500 MHz

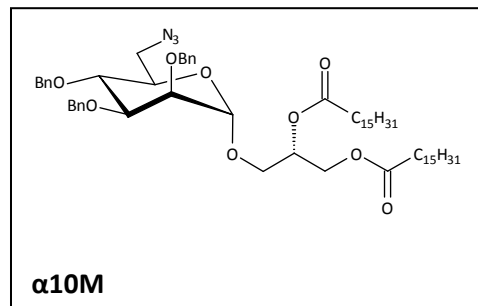
$\delta = 7,25 - 7,36$ (m, 15 H, $3x(-C_6H_5)$), 5,22 – 5,26 (m, 1 H, **sn2**), 4,96 und 4,61 (d, 2 H, $^2J = 11,6$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), 4,91 und 4,73 (d, 2 H, $^2J = 11$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), 4,80 und 4,71 (d, 2 H, $^2J = 11,6$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), 4,34 (d, 1 H, $^3J_{H-1/H-2} = 7,9$ Hz, **H-1**), 4,34 (dd, 1 H, $^2J_{sn1/sn1'} = 11,9$ Hz, $^3J_{sn1/sn2} = 3,7$ Hz, **sn1**), 4,21 (dd, 1 H, $^2J_{sn1/sn1'} = 11,9$ Hz, $^3J_{sn1'/sn2} = 6,7$ Hz, **sn1'**), 4,05 (dd, 1 H, $^2J_{sn3/sn3'} = 10,7$ Hz, $^3J_{sn2/sn3} = 4,6$ Hz, **sn3**), 3,80 (dd, 1 H, $^3J_{H-1/H-2} = 7,9$ Hz, $^3J_{H-2/H-3} = 9,8$ Hz, **H-2**), 3,65 – 3,68 (m, 2 H, **H-4**, **sn3'**), 3,58 (dd, 1 H, $^2J_{H-6/H-6'} = 12,8$ Hz, $^3J_{H-5/H-6} = 7,9$ Hz, **H-6**), 3,49 (dd, 1 H, $^3J_{H-2/H-3} = 9,8$ Hz, $^3J_{H-3/H-4} = 2,8$ Hz, **H-3**), 3,42 – 3,44 (m, 1 H, H-5), 2,85 (dd, 1 H, $^2J_{H-6/H-6'} = 12,8$ Hz, $^3J_{H-5/H-6'} = 4,6$ Hz, **H-6'**), 2,21 – 2,27 (m, 4 H, $2x(-CH_2-(CH_2)_{13}-CH_3)$), 1,53 – 1,60 (m, 4 H, $2x(-CH_2-CH_2-(CH_2)_{12}-CH_3)$), 1,21 – 1,31 (m, 48 H, $2x(-CH_2-CH_2-(CH_2)_{12}-CH_3)$), 0,86 (t, 6 H, $J = 7$ Hz, $2x(-CH_3)$)



1,2-Dipalmitoyl-3-O-(6'-azido-2',3',4'-tri-O-benzyl-6'-deoxy- α -D-mannosyl)-sn-glycerol (α 10M)

0,37 g (0,67 mmol) α 9M wurde unter den gleichen Reaktionsbedingungen, wie bei der Darstellung von **10** beschrieben, synthetisiert. Die Reinigung von α 10M erfolgte mittels MPLC mit einem Heptan/Ether-Gradienten steigender Polarität und der Zugabe von TEA.

Ausbeute: 0,45 g (66 %)
 Summenformel: $C_{62}H_{95}N_3O_9$
 Molare Masse: 1026,43 g/mol
 R_f (LM 1): 0,44
 MS: M+Na
 HR-MS: 1048,6965
 Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{25} = +31,10^\circ$
 ($c = 4,5 \times 10^{-3}$ g/ml in $CHCl_3$)

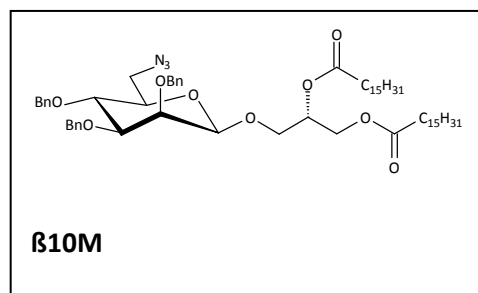


1H -NMR ($CDCl_3$): 500 MHz
 $\delta = 7,25 - 7,35$ (m, 15 H, $3 \times (-C_6H_5)$), $5,12 - 5,15$ (m, 1 H, **sn2**), $4,91$ und $4,56$ (d, 2 H, $^2J = 11$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), $4,73$ und $4,66$ (d, 2 H, $^2J = 12,3$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), $4,62$ und $4,59$ („d“, 2 H, $^2J = 12$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), $4,77$ (s, 1 H, $^3J_{H-1/H-2} = 1,8$ Hz, **H-1**), $4,28$ (dd, 1 H, $^2J_{sn1/sn1'} = 11,9$ Hz, $^3J_{sn1/sn2} = 3,9$ Hz, **sn1**), $4,04$ (dd, 1 H, $^2J_{sn1/sn1'} = 11,9$ Hz, $^3J_{sn1'/sn2} = 6$ Hz, **sn1'**), $3,80 - 3,85$ (m, 2 H, **H-3**, **H-4**), $3,77$ (dd, 1 H, $^2J_{sn3/sn3'} = 10,6$ Hz, $^3J_{sn3/sn2} = 5,1$ Hz, **sn3**), $3,68 - 3,73$ (m, 2 H, **H-2**, **H-5**), $3,51$ (dd, 1 H, $^2J_{sn3/sn3'} = 10,6$ Hz, $^3J_{sn3'/sn2} = 5,5$ Hz, **sn3'**), $3,41$ (dd, 1 H, $^2J_{H-6/H-6'} = 13,2$ Hz, $^3J_{H-5/H-6} = 2,6$ Hz, **H-6**), $3,36$ (dd, 1 H, $^2J_{H-6/H-6'} = 13,2$ Hz, $^3J_{H-5/H-6'} = 6,2$ Hz, **H-6'**), $2,25 - 2,29$ (m, 4 H, $2 \times (-CH_2-(CH_2)_{13}-CH_3)$), $1,56 - 1,59$ (m, 4 H, $2 \times (-CH_2-CH_2-(CH_2)_{12}-CH_3)$), $1,21 - 1,28$ (m, 48 H, $2 \times (-CH_2-CH_2-(CH_2)_{12}-CH_3)$), $0,83$ (t, 6 H, $J = 7$ Hz, $2 \times (-CH_3)$)

1,2-Dipalmitoyl-3-O-(6'-azido-2',3',4'-tri-O-benzyl-6'-deoxy- β -D-mannosyl)-sn-glycerol (β 10M)

Die Darstellung und die Reinigung von 0,38 g (0,69 mmol) β 9M erfolgten analog der Verbindung **10**.

Ausbeute: 0,54 g (77 %)
 Summenformel: $C_{62}H_{95}N_3O_9$
 Molare Masse: 1026,43 g/mol
 R_f (LM 1): 0,27
 MS: M+Na
 HR-MS: 1048,6952
 Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{25} = -41,40^\circ$ ($c = 5,8 \times 10^{-3}$ g/ml in $CHCl_3$)

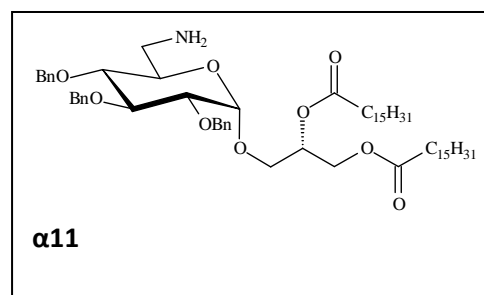


$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 500 MHz
 $\delta = 7,23 - 7,43$ (m, 15 H, $3\times(-\text{C}_6\text{H}_5)$), $5,25 - 5,29$ (m, 1 H, **sn2**), 4,93 und 4,55 (d, 2 H, $^2\text{J} = 11$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 4,91 und 4,77 (d, 2 H, $^2\text{J} = 12,6$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 4,50 und 4,42 (d, 2 H, $^2\text{J} = 11,7$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 4,41 („s“, 1 H, **H-1**), 4,29 (dd, 1 H, $^2\text{J}_{\text{sn1}/\text{sn1}'} = 12$ Hz, $^3\text{J}_{\text{sn1}/\text{sn2}} = 6,4$ Hz, **sn1**), 4,18 (dd, 1 H, $^2\text{J}_{\text{sn1}/\text{sn1}'} = 12$ Hz, $^3\text{J}_{\text{sn1}'/\text{sn2}} = 6,4$ Hz, **sn1'**), 4,03 (dd, 1 H, $^2\text{J}_{\text{sn3}/\text{sn3}'} = 11$ Hz, $^3\text{J}_{\text{sn3}/\text{sn2}} = 5,7$ Hz, **sn3**), 3,90 („d“, 1 H, $^3\text{J}_{\text{H-2}/\text{H-3}} = 2,9$ Hz, **H-2**), 3,76 (t, 1 H, $^3\text{J} = 9,2$ Hz, **H-4**), 3,63 (dd, 1 H, $^2\text{J}_{\text{sn3}/\text{sn3}'} = 11$ Hz, $^3\text{J}_{\text{sn3}'/\text{sn2}} = 4,8$ Hz, **sn3'**), 3,47 (dd, 1 H, $^3\text{J}_{\text{H-2}/\text{H-3}} = 2,9$ Hz, $^3\text{J}_{\text{H-3}/\text{H-4}} = 9,2$ Hz, **H-3**), 3,33 – 3,45 (m, 3 H, **H-5**, **H-6**, **H-6'**), 2,26 – 2,30 (m, 4 H, $2\times(-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_{13}-\text{CH}_3)$), 1,56 – 1,60 (m, 4 H, $2\times(-\text{CH}_2-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_{12}-\text{CH}_3)$), 1,21 – 1,29 (m, 48 H, $2\times(-\text{CH}_2-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_{12}-\text{CH}_3)$), 0,86 (t, 6 H, $\text{J} = 7$ Hz, $2\times(-\text{CH}_3)$)

1,2-Dipalmitoyl-3-O-(6'-amino-2',3',4'-tri-O-benzyl-6'-deoxy- α -D-glucosyl)-sn-glycerol (α 11)

0,32 g (0,31 mmol) α 10 wurden in 25 ml abs. THF gelöst und mit der 0,33 g (1,25 mmol) Triphenylphosphin versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 24 h bei RT gerührt und im Anschluss mit 1 ml Wasser versetzt. Nach 24 h erfolgte die Aufarbeitung. THF wurde am Rotationsverdampfer abgetrennt und der Rückstand in CHCl_3 aufgenommen. Die organische Phase wurde 3x mit ges. NaCl-Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und am Vakuumverdampfer eingengt. Danach wurde gebildetes Triphenylphosphinoxid durch Ausfällung in Heptan vom Produktgemisch abgetrennt und via MPLC unter Verwendung eines CHCl_3 /Methanol-Laufmittelgemischs steigender Polarität unter Zugabe von TEA gereinigt.

Ausbeute: 0,29 g (95 %)
 Summenformel: $\text{C}_{62}\text{H}_{97}\text{NO}_9$
 Molare Masse: 1000,45 g/mol
 R_f (LM 5): 0,61
 MS: M+H
 HR-MS: 1000,72382
 Spezifische Drehung: $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = + 37,62^\circ$
 ($c = 3,19 \times 10^{-3}$ g/ml in CHCl_3)



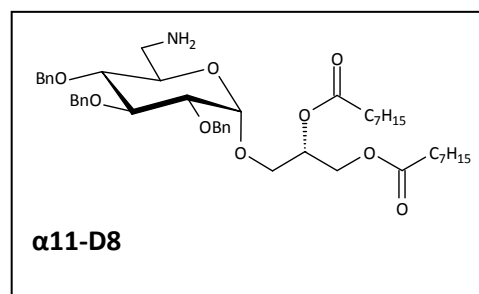
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 500 MHz
 $\delta = 7,24 - 7,32$ (m, 15 H, $3\times(-\text{C}_6\text{H}_5)$), $5,20 - 5,24$ (m, 1 H, **sn2**), 4,95 und 4,78 (d, 2 H, $^2\text{J} = 11$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 4,86 und 4,60 (d, 2 H, $^2\text{J} = 11$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 4,72 und 4,60 (d, 2 H, $^2\text{J} = 12,2$ Hz, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 4,58 – 4,66 (m, 4H, $-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$), 4,69 (d, 1 H, $^3\text{J}_{\text{H-1}/\text{H-2}} = 3,7$ Hz, **H-1**), 4,39 (dd, 1 H, $^2\text{J}_{\text{sn1}/\text{sn1}'} = 11,9$ Hz, $^3\text{J}_{\text{sn1}/\text{sn2}} = 2,7$ Hz, **sn1**), 4,18 (dd, 1 H, $^2\text{J}_{\text{sn1}/\text{sn1}'} = 11,9$ Hz, $^3\text{J}_{\text{sn1}'/\text{sn2}} = 5,8$ Hz, **sn1'**),

3,93 („t“, 1 H, $^3J_{H-2/H-3} = 9,7$ Hz, $^3J_{H-3/H-4} = 9,2$ Hz, **H-3**), 3,72 (dd, 1 H, $^2J_{sn3/sn3'} = 11$ Hz, $^3J_{sn2/sn3} = 5,5$ Hz, **sn3**), 3,51 – 3,58 (m, 2H, **H-5**, **sn3'**), 3,47 (dd, 1 H, $^3J_{H-1/H-2} = 3,7$ Hz, $^3J_{H-2/H-3} = 9,7$ Hz, **H-2**), 3,33 (t, 1 H, $^3J = 9,2$ Hz, **H-4**), 2,95 (dd, 1 H, $^2J_{H-6/H-6'} = 13,1$ Hz, $^3J_{H-5/H-6} = 2,1$ Hz, **H-6**), 2,71 (dd, 1 H, $^2J_{H-6/H-6'} = 13,1$ Hz, $^3J_{H-5/H-6'} = 6,1$ Hz, **H-6'**), 2,25 – 2,40 (m, 4 H, $2x(-CH_2-(CH_2)_{13}-CH_3)$), 1,65 – 1,83 (m, 4 H, $2x(-CH_2-CH_2-(CH_2)_{12}-CH_3)$), 1,10 – 1,40 (m, 48 H, $2x(-CH_2-CH_2-(CH_2)_{12}-CH_3)$), 0,86 (t, 6 H, $J = 7$ Hz, $2x(-CH_3)$)

1,2-Diocteyl-3-O-(6'-amino-2',3',4'-tri-O-benzyl-6'-deoxy- α -D-glucosyl)-sn-glycerol (α 11-D8)

Die Synthese und die Reinigung von 0,43 g (0,54 mmol) α 10-D8 erfolgten in gleicher Weise wie für α 11 beschrieben.

Ausbeute: 0,42 g (79 %)
 Summenformel: $C_{46}H_{65}NO_9$
 Molare Masse: 776,01 g/mol
 R_f (LM 5): 0,59
 MS: M+H
 HR-MS: 776,4747
 Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{25} = +42,68^\circ$
 (c = $3,28 \times 10^{-3}$ g/ml in $CHCl_3$)
 1H -NMR ($CDCl_3$): 500 MHz



$\delta = 7,24 - 7,35$ (m, 15 H, $3x(-C_6H_5)$), 5,20 – 5,24 (m, 1 H, **sn2**), 4,95 und 4,79 (d, 2 H, $^2J = 10,8$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), 4,86 und 4,60 (d, 2 H, $^2J = 11,1$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), 4,72 und 4,61 (d, 2 H, $^2J = 12,1$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), 4,69 (d, 1 H, $^3J_{H-1/H-2} = 3,7$ Hz, **H-1**), 4,40 (dd, 1 H, $^3J_{sn2/sn3'} = 6$ Hz, $^2J_{sn1/sn1'} = 12,1$ Hz, $^3J_{sn1/sn2} = 3,7$ Hz, **sn1**), 4,18 (dd, 1 H, $^2J_{sn1/sn1'} = 12,1$ Hz, $^3J_{sn1'/sn2} = 3,7$ Hz, **sn1'**), 3,94 („t“, 1 H, $^3J = 9,3$ Hz, **H-3**), 3,73 (dd, 1 H, $^2J_{sn3/sn3'} = 10,7$ Hz, $^3J_{sn2/sn3} = 5,8$ Hz, **sn3**), 3,50 – 3,55 (m, 2 H, **H-5**, **sn3'**), 3,47 (dd, 1 H, $^3J_{H-1/H-2} = 3,7$ Hz, $^3J_{H-2/H-3} = 9,7$ Hz, **H-2**), 3,34 (dd, 1 H, $^3J_{H-3/H-4} = 9,7$ Hz, $^3J_{H-4/H-5} = 8,9$ Hz, **H-4**), 2,93 (dd, 1 H, $^3J_{H-5/H-6} = 2,8$ Hz, $^2J_{H-6/H-6'} = 13,4$ Hz, **H-6**), 2,70 (dd, 1 H, $^3J_{H-5/H-6'} = 6,1$ Hz, $^2J_{H-6/H-6'} = 13,4$ Hz, **H-6'**), 2,25 – 2,31 (m, 4 H, $2x(-CH_2-(CH_2)_5-CH_3)$), 1,55 – 1,62 (m, 4 H, $2x(-CH_2-CH_2-(CH_2)_4-CH_3)$), 1,19 – 1,31 (m, 20 H, $2x(-(CH_2)_2-(CH_2)_5-CH_3)$), 0,84 – 0,87 (m, 6 H, $2x(-CH_3)$)

1,2-Dipalmitoyl-3-O-(6'-amino-2',3',4'-tri-O-benzyl-6'-deoxy- β -D-glucosyl)-sn-glycerol (**β 11)**

Die Darstellung und die Reinigung von **β 11** erfolgten analog der Verbindung **α 11** unter Verwendung von 0,22 g (0,21 mmol) **β 10**.

Ausbeute: 0,17 g (82 %)

Summenformel: $C_{62}H_{97}NO_9$

Molare Masse: 1000,45 g/mol

R_f (LM 5): 0,67

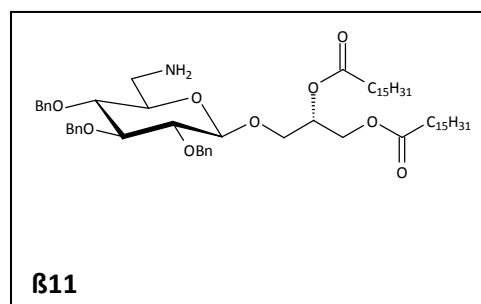
MS: M+H

HR-MS: 000,7247

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{22} = +5,40^\circ$ ($c = 0,81 \times 10^{-3}$ g/ml in $CHCl_3$)

1H -NMR ($CDCl_3$): 500 MHz

$\delta = 7,22 - 7,31$ (m, 15 H, $3 \times (-C_6H_5)$), $3,31 - 4,91$ (m, 18 H, **sn2**, $3 \times (-CH_2-C_6H_5)$), **H-1**, **sn1**, **sn1'**, **sn3**, **H-2**, **H-4**, **sn3'**, **H-3**, **H-5**, **H-6**, **H-6'**), $2,16 - 2,29$ (m, 4 H, $2 \times (-CH_2-(CH_2)_{13}-CH_3)$), $1,49 - 1,63$ (m, 4 H, $2 \times (-CH_2-CH_2-(CH_2)_{12}-CH_3)$), $1,17 - 1,29$ (m, 48 H, $2 \times (-CH_2-CH_2-(CH_2)_{12}-CH_3)$), $0,86$ (t, 6 H, $J = 6,9$ Hz, $2 \times (-CH_3)$)

**1,2-Dipalmitoyl-3-O-(6'-amino-2',3',4'-tri-O-benzyl-6'-deoxy- α -D-galactosyl)-sn-glycerol (**α 11Ga**)**

Für die Darstellung und die Reinigung von **α 11Ga** wurden 0,53 g (0,516 mmol) **α 10Ga** nach gleicher Vorschrift wie **α 11** behandelt.

Ausbeute: 0,29 g (56,2%)

Summenformel: $C_{62}H_{97}NO_9$

Molare Masse: 1000,45 g/mol

R_f (LM 5): 0,51

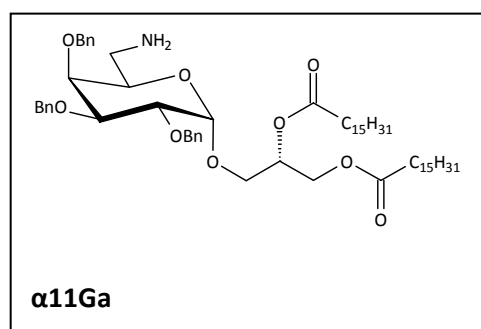
MS: M+H

HR-MS: 1000,7229

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{22} = +17,76^\circ$
($c = 28,16 \times 10^{-3}$ g/ml in $CHCl_3$)

1H -NMR ($CDCl_3$): 500 MHz

$\delta = 7,24 - 7,40$ (m, 15 H, $3 \times (-C_6H_5)$), $5,24 - 5,29$ (m, 1 H, **sn2**), $4,96$ und $4,64$ (d, 1 H, $^2J = 11,7$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), $4,86$ und $4,74$ (d, 1 H, $^2J = 11,7$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), $4,80$ und $4,65$ (d, 2 H, $^2J = 12,1$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), $4,82$ (d, 1 H, $^3J_{H-1/H-2} = 3,7$ Hz, **H-1**), $4,35$ (dd, 1 H, $^2J_{sn1/sn1'} = 12,1$ Hz, $^3J_{sn1/sn2} = 3,7$ Hz, **sn1**), $4,17$ (dd, 1 H, $^2J_{sn1/sn1'} = 12,1$ Hz, $^3J_{sn1'/sn2} = 6,2$ Hz, **sn1'**), $4,04$ (dd, 1 H, $^3J_{H-1/H-2} = 3,7$ Hz,



$^3J_{H-2/H-3} = 9,9$ Hz, **H-2**), 3,90 (dd, 1 H, $^3J_{H-2/H-3} = 9,9$ Hz, $^3J_{H-3/H-4} = 2,6$ Hz, **H-3**), 3,84 – 3,85 (m, 1H, **H-4**), 3,73 (dd, 1 H, $^2J_{sn3/sn3'} = 11$ Hz, $^3J_{sn2/sn3} = 5,5$ Hz, **sn3**), 3,60 – 3,63 (m, 1H, **H-5**), 3,58 (dd, 1 H, $^2J_{sn3/sn3'} = 10,6$ Hz, $^3J_{sn2/sn3'} = 5,9$ Hz, **sn3'**), 2,89 (dd, 1 H, $^2J_{H-6/H-6'} = 12,8$ Hz, $^3J_{H-5/H-6} = 7,3$ Hz, **H-6**), 2,64 (dd, 1 H, $^2J_{H-6/H-6'} = 12,8$ Hz, $^3J_{H-5/H-6'} = 5,7$ Hz, **H-6'**), 2,25 – 2,30 (m, 4 H, $2x(-CH_2-(CH_2)_{13}-CH_3)$), 1,55 – 1,63 (m, 4 H, $2x(-CH_2-CH_2-(CH_2)_{12}-CH_3)$), 1,21 – 1,33 (m, 48 H, $2x(-CH_2-CH_2-(CH_2)_{12}-CH_3)$), 0,88 (t, 6 H, $J = 7$ Hz, $2x(-CH_3)$)

1,2-Dipalmitoyl-3-O-(6'-amino-2',3',4'-tri-O-benzyl-6'-deoxy- β -D-galactosyl)-sn-glycerol (**β 11Ga**)

Es wurden 0,32 g (0,31mmol) der Verbindung **β 10Ga** nach gleicher Vorschrift wie **α 11** umgesetzt und gereinigt.

Ausbeute: 0,17 g (54,8%)

Summenformel: $C_{62}H_{97}NO_9$

Molare Masse: 1000,45 g/mol

R_f (LM 5): 0,40

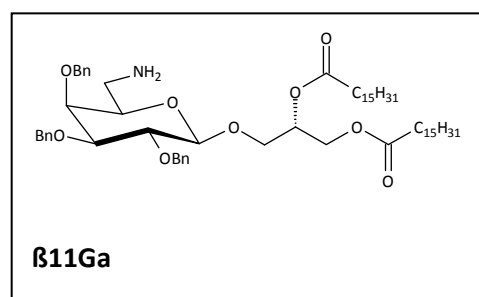
MS: M+H

HR-MS: 1000,7225

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{22} = -2,00^\circ$ ($c = 29,93 \times 10^{-3}$ g/ml in $CHCl_3$)

1H -NMR ($CDCl_3$): 500 MHz

$\delta = 7,25 - 7,38$ (m, 15 H, $3x(-C_6H_5)$), 5,23 – 5,27 (m, 1 H, **sn2**), 4,96 und 4,68 (d, 1 H, $^2J = 11,7$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), 4,91 und 4,75 (d, 1 H, $^2J = 11$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), 4,80 und 4,73 (d, 2 H, $^2J = 12,1$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), 4,40 (dd, 1 H, $^2J_{sn1/sn1'} = 12,1$ Hz, $^3J_{sn1/sn2} = 3,3$ Hz, **sn1**), 4,35 (d, 1 H, $^3J_{H-1/H-2} = 7,7$ Hz, **H-1**), 4,22 (dd, 1 H, $^2J_{sn1/sn1'} = 12,1$ Hz, $^3J_{sn1'/sn2} = 7$ Hz, **sn1'**), 4,00 (dd, 1 H, $^2J_{sn3/sn3'} = 10,6$ Hz, $^3J_{sn2/sn3} = 4,4$ Hz, **sn3**), 3,82 (dd, 1 H, $^3J_{H-1/H-2} = 7,7$ Hz, $^3J_{H-2/H-3} = 9,9$ Hz, **H-2**), 3,75 („d“, 1 H, $J = 2,6$ Hz, **H-4**), 3,69 (dd, 1 H, $^2J_{sn3/sn3'} = 10,6$ Hz, $^3J_{sn2/sn3'} = 5,5$ Hz, **sn3'**), 3,52 (dd, 1 H, $^3J_{H-2/H-3} = 9,9$ Hz, $^3J_{H-3/H-4} = 2,9$ Hz, **H-3**), 3,28 – 3,31 (m, 1H, **H-5**), 3,01 (dd, 1 H, $^2J_{H-6/H-6'} = 12,8$ Hz, $^3J_{H-5/H-6} = 7,7$ Hz, **H-6**), 2,65 (dd, 1 H, $^2J_{H-6/H-6'} = 13,2$ Hz, $^3J_{H-5/H-6'} = 4,8$ Hz, **H-6'**), 2,23 – 2,30 (m, 4 H, $2x(-CH_2-(CH_2)_{13}-CH_3)$), 1,54 – 1,62 (m, 4 H, $2x(-CH_2-CH_2-(CH_2)_{12}-CH_3)$), 1,23 – 1,33 (m, 48 H, $2x(-CH_2-CH_2-(CH_2)_{12}-CH_3)$), 0,88 (t, 6 H, $J = 7$ Hz, $2x(-CH_3)$)



1,2-Dipalmitoyl-3-O-(6'-amino-2',3',4'-tri-O-benzyl-6'-deoxy- α -D-mannosyl)-sn-glycerol (α 11M)

Es wurden 0,70 g (0,68mmol) der Verbindung α 10M nach gleicher Vorschrift wie α 11 umgesetzt und gereinigt.

Ausbeute: 0,62 g (91 %)

Summenformel: $C_{62}H_{97}NO_9$

Molare Masse: 1000,45 g/mol

R_f (LM 5): 0,54

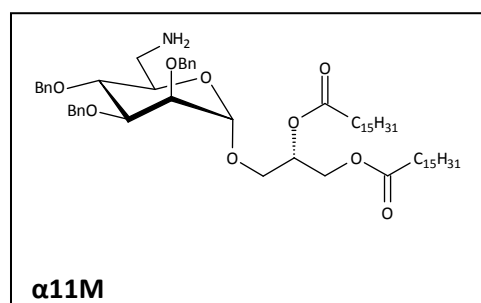
MS: M+H

HR-MS: 1000,7247

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{22} = +17,90^\circ$ ($c = 17,9 \times 10^{-3}$ g/ml in $CHCl_3$)

1H -NMR ($CDCl_3$): 500 MHz

$\delta = 7,24 - 7,34$ (m, 15 H, $3 \times (-C_6H_5)$), $5,12 - 5,16$ (m, 1 H, **sn2**), $4,95$ (d, 1 H, $^2J = 11$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), $4,77$ („s“, 1 H, **H-1**), $4,76$ (d, 1 H, $^2J = 12,2$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), $4,60 - 4,68$ (m, 4 H, $4 \times (-CH_2-C_6H_5)$), $4,30$ (dd, 1 H, $^2J_{sn1/sn1'} = 11,9$ Hz, $^3J_{sn1/sn2} = 3,1$ Hz, **sn1**), $4,06$ (dd, 1 H, $^2J_{sn1/sn1'} = 11,9$ Hz, $^3J_{sn1'/sn2} = 6,1$ Hz, **sn1'**), $3,85 - 3,87$ (m, 1 H, **H-3**), $3,68 - 3,79$ (m, 3H, **H-2**, **H-4**, **sn3**), $3,46 - 3,50$ (m, 2H, **H-5**, **sn3'**), $2,99$ („d“, 1 H, $^2J_{H-6/H-6'} = 13,4$ Hz, **H-6**), $2,82$ (dd, 1 H, $^2J_{H-6/H-6'} = 13,4$ Hz, $^3J_{H-5/H-6'} = 6,7$ Hz, **H-6'**), $2,26 - 2,30$ (m, 4 H, $2 \times (-CH_2-(CH_2)_{13}-CH_3)$), $1,54 - 1,65$ (m, 4 H, $2 \times (-CH_2-CH_2-(CH_2)_{12}-CH_3)$), $1,20 - 1,32$ (m, 48 H, $2 \times (-CH_2-CH_2-(CH_2)_{12}-CH_3)$), $0,88$ (t, 6 H, $J = 7$ Hz, $2 \times (-CH_3)$)

**1,2-Dipalmitoyl-3-O-(6'-amino-2',3',4'-tri-O-benzyl-6'-deoxy- β -D-mannosyl)-sn-glycerol (β 11M)**

Es wurden 0,74 g (0,72mmol) der Verbindung β 10M nach gleicher Vorschrift wie α 11 umgesetzt und gereinigt.

Ausbeute: 0,59 g (82 %)

Summenformel: $C_{62}H_{97}NO_9$

Molare Masse: 1000,45 g/mol

R_f (LM 5): 0,49

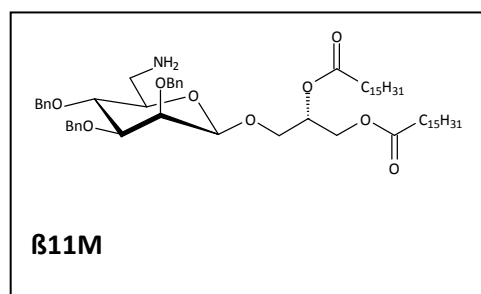
MS: M+H

HR-MS: 1000,7240

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{22} = -10,39^\circ$ ($c = 7,7 \times 10^{-3}$ g/ml in $CHCl_3$)

1H -NMR ($CDCl_3$): 500 MHz

$\delta = 7,25 - 7,32$ (m, 15 H, $3 \times (-C_6H_5)$), $5,24 - 5,28$ (m, 1 H, **sn2**), $4,91$ und $4,59$ (d, 2 H, $^2J = 10,7$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), $4,90$ und $4,77$ (d, 2 H, $^2J = 12,2$ Hz, $-CH_2-$

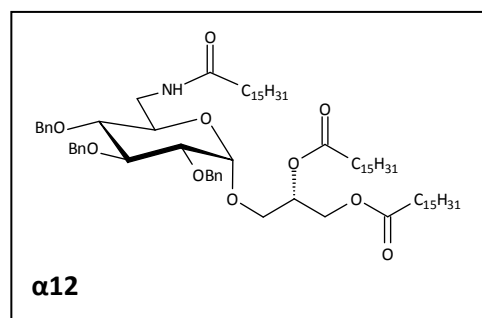


C₆H₅), 4,50 und 4,44 (d, 2 H, ²J = 11,7 Hz, -CH₂-C₆H₅), 4,39 („s“, 1 H, **H-1**), 4,31 (dd, 1 H, ²J_{sn1/sn1'} = 12,2 Hz, ³J_{sn1/sn2} = 3,7 Hz, **sn1**), 4,18 (dd, 1 H, ²J_{sn1/sn1'} = 12,2 Hz, ³J_{sn1'/sn2} = 6,1 Hz, **sn1'**), 3,97 (dd, 1 H, ²J_{sn3/sn3'} = 11 Hz, ³J_{sn3/sn2} = 5,2 Hz, **sn3**), 3,88 („d“, 1 H, ³J_{H-2/H-3} = 2,4 Hz, **H-2**), 3,71 (t, 1 H, ³J = 9,6 Hz, **H-4**), 3,63 (dd, 1 H, ²J_{sn3/sn3'} = 11 Hz, ³J_{sn3'/sn2} = 5,2 Hz, **sn3'**), 3,48 (dd, 1 H, ³J_{H-2/H-3} = 2,4 Hz, ³J_{H-3/H-4} = 9,2 Hz, **H-3**), 3,15 – 3,20 (m, 1 H, **H-5**), 3,06 (dd, 1 H, ²J_{H-6/H-6'} = 13,1 Hz, ³J_{H-5/H-6} = 2,4 Hz, **H-6**), 2,87 (dd, 1 H, ²J_{H-6/H-6'} = 13,1 Hz, ³J_{H-5/H-6'} = 7,9 Hz, **H-6'**), 2,26 – 2,30 (m, 4 H, 2x(-CH₂-(CH₂)₁₃-CH₃), 1,56 – 1,59 (m, 4 H, 2x(-CH₂-CH₂-(CH₂)₁₂-CH₃), 1,20 – 1,30 (m, 48 H, 2x(-CH₂-CH₂-(CH₂)₁₂-CH₃), 0,86 (t, 6 H, J = 6,7 Hz, 2x(-CH₃))

1,2-Dipalmitoyl-3-(N-palmitoyl-6'-amino-2',3',4'-tri-O-benzyl-6'-deoxy-α-D-glucosyl)-sn-glycerol (α12)

0,2 g (0,2 mmol) von **α11** wurden in 10 ml CHCl₃ gelöst und nacheinander 0,05 g (0,2 mmol) Palmitinsäure, 0,10 g (0,2 mmol) PyBOP und 5 Tropfen TEA zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde für 20 h bei RT gerührt. Die organische Phase wurde mit Wasser gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Nach Einengen am Rotationsverdampfer erfolgte die säulenchromatographische Aufreinigung mit einer Heptan/Ether-Mischung steigender Polarität und unter Zusatz von TEA.

Ausbeute: 0.17 g (87 %)
 Summenformel: C₇₈H₁₂₇NO₁₀
 Molare Masse: 1238,84 g/mol
 R_f (LM 4): 0,74
 MS: M+Na
 HR-MS: 1238,9519
 Spezifische Drehung: [α]_D²² = + 13,57°
 (c = 10,32x10⁻³ g/ml in CHCl₃)



¹H-NMR (CDCl₃): 500 MHz
 δ = 7,25 – 7,33 (m, 15 H, 3x(-C₆H₅)), 5,60 – 5,62 (m, 1 H, -NH-CO-), 5,18 – 5,22 (m, 1 H, **sn2**), 4,94 und 4,80 (d, 2 H, ²J = 10,8 Hz, -CH₂-C₆H₅), 4,82 und 4,61 (d, 2 H, ²J = 9,7 Hz, -CH₂-C₆H₅), 4,74 und 4,61 (d, 2 H, ²J = 11,9 Hz, -CH₂-C₆H₅), 4,68 (d, 1 H, ³J_{H-1/H-2} = 3,6 Hz, **H-1**), 4,30 (dd, 1 H, ²J_{sn1/sn1'} = 11,9 Hz, ³J_{sn1/sn2} = 3,6 Hz, **sn1**), 4,17 (dd, 1 H, ²J_{sn1/sn1'} = 11,9 Hz, ³J_{sn1'/sn2} = 6,1 Hz, **sn1'**), 3,93 (t, 1 H, ³J = 9,4 Hz, **H-3**), 3,63 – 3,77 (m, 3 H, **H-5**, **H-6**, **sn3**), 3,55 (dd, 1 H, ²J_{sn3/sn3'} = 11,2 Hz, ³J_{sn3'/sn2} = 5,4 Hz, **sn3'**), 3,45 (dd, 1 H, ³J_{H-1/H-2} = 3,6 Hz, ³J_{H-2/H-3} = 9,4 Hz, **H-2**), 3,33 (m, 1 H, **H-6'**), 3,26 (t, 1 H, ³J = 9,4 Hz, **H-4**), 2,25 –

2,29 (m, 4 H, $2x(-CO-CH_2-(CH_2)_{13}-CH_3)$), 2,07 – 2,10 (m, 2 H, $-NH-CO-CH_2-(CH_2)_{13}-CH_3$), 1,54 – 1,60 (m, 6 H, $3x(-CO-CH_2-CH_2-(CH_2)_{12}-CH_3)$), 1,22 – 1,30 (m, 72 H, $3x(-CH_2-CH_2-(CH_2)_{12}-CH_3)$), 0,86 (t, 9 H, $J = 7 \text{ Hz}$, $3x(-CH_3)$)

1,2-Diocteoyl-3-O-(N-octeoyl-6'-amino-2',3',4'-tri-O-benzyl-6'-deoxy- α -D-glucosyl)-sn-glycerol

(α 12-D8)

Für die Acylierung wird 0,15 g (0,19 mmol) von Verbindung **α 11-D8** in 25 ml CH_2Cl_2 gelöst. Zu dieser Lösung wurden nacheinander 0,03 g (0,193 mmol) Caprylsäure, 0,10 g (0,193 mmol) PyBOP und 5 Tropfen TEA zugegeben. Die Lösung wurde für 20 h bei RT gerührt. Die organische Phase wurde im Anschluss mit Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer eingengt. Das Produktgemisch wurde säulenchromatographisch unter Verwendung eines Heptan/Ether-Gemischs steigender Polarität und Zugabe von TEA gereinigt.

Ausbeute: 0,17g (95%)

Summenformel: $C_{54}H_{79}NO_{10}$

Molare Masse: 902,21 g/mol

R_f (LM 4): 0,65

MS: M+H

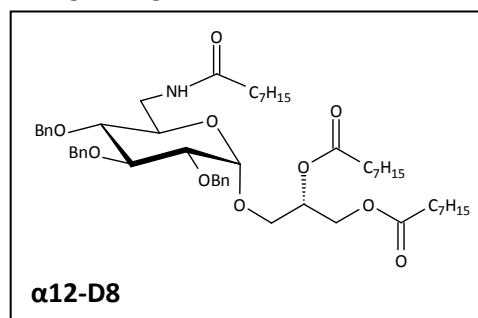
HR-MS: 924,5609

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{25} = + 61,54^\circ$

($c = 3,75 \times 10^{-3} \text{ g/ml}$ in $CHCl_3$)

1H -NMR ($CDCl_3$): 500 MHz

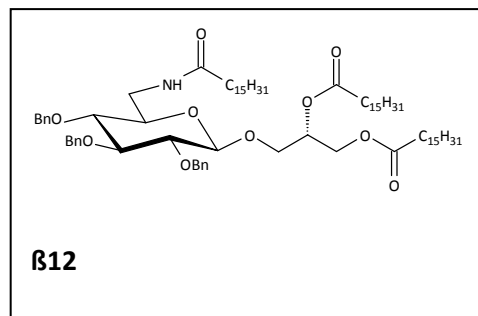
$\delta = 7,23 - 7,34$ (m, 15 H, $3x(-C_6H_5)$), $5,60 - 5,63$ (m, $-CH_2-NH-CO-$), $5,19 - 5,23$ (m, 1 H, **sn2**), $4,95$ und $4,81$ (d, 2 H, $^2J = 10,8 \text{ Hz}$, $-CH_2-C_6H_5$), $4,83$ und $4,62$ (d, 2 H, $^2J = 10,4 \text{ Hz}$, $-CH_2-C_6H_5$), $4,74$ und $4,61$ (d, 2 H, $^2J = 11,9 \text{ Hz}$, $-CH_2-C_6H_5$), $4,69$ (d, 1 H, $^3J_{H-1/H-2} = 3,4 \text{ Hz}$, **H-1**), $4,39$ (dd, 1 H, $^2J_{sn1/sn1'} = 11,9 \text{ Hz}$, $^3J_{sn1/sn2} = 3,7 \text{ Hz}$, **sn1**), $4,17$ (dd, 1 H, $^2J_{sn1/sn1'} = 11,9 \text{ Hz}$, $^3J_{sn1'/sn2} = 6 \text{ Hz}$, **sn1'**), $3,94$ ("t", 1 H, $^3J = 9,3 \text{ Hz}$, **H-3**), $3,64 - 3,77$ (m, 3 H, **H-6'**, **sn3**, **H-5**), $3,56$ (dd, 1 H, $^2J_{sn3/sn3'} = 11 \text{ Hz}$, $^3J_{sn2/sn3} = 5,5 \text{ Hz}$, **sn3'**), $3,45$ (dd, 1 H, $^3J_{H-1/H-2} = 3,4 \text{ Hz}$, $^3J_{H-2/H-3} = 9,7 \text{ Hz}$, **H-2**), $3,33$ (td, 1 H, $^3J_{H-5/H-6} = 4 \text{ Hz}$, $^2J_{H-6/H-6'} = 13,7 \text{ Hz}$, $^3J_{H-6/NH} = 7,6 \text{ Hz}$, **H-6**), $3,26$ (dd, 1 H, $^3J_{H-3/H-4} = 9,6 \text{ Hz}$, $^2J_{H-4/H-5} = 9 \text{ Hz}$, **H-4**), $2,26 - 2,30$ (m, 4 H, $2x(-CH_2-(CH_2)_5-CH_3)$), $2,08 - 2,11$ (t, 2 H, $^3J = 7,6 \text{ Hz}$, $(-NH-CO-CH_2-(CH_2)_5-CH_3)$), $1,56 - 1,68$ (m, 6 H, $3x(-CH_2-CH_2-(CH_2)_4-CH_3)$), $1,22 - 1,30$ (m, 24 H, $3x(-(CH_2)_2-(CH_2)_4-CH_3)$), $0,84 - 0,89$ (m, 9 H, $3x(-CH_3)$)



1,2-Dipalmitoyl-3-(N-palmitoyl-6'-amino-2',3',4'-tri-O-benzyl-6'-deoxy- β -D-glucosyl)-sn-glycerol (**β 12)**

Die Darstellung und die Reinigung von **β 12** erfolgten analog der Umsetzung von **α 12** unter Verwendung von 0,10 g der Verbindung **β 11**.

Ausbeute: 0,11 g (85%)
 Summenformel: $C_{78}H_{127}NO_{10}$
 Molare Masse: 1238,84 g/mol
 R_f (LM 4): 0,74
 MS: M+Na
 HR-MS: 1238,95328



Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{22} = -4,67^\circ$ (c = $6,43 \times 10^{-3}$ g/ml in $CHCl_3$)

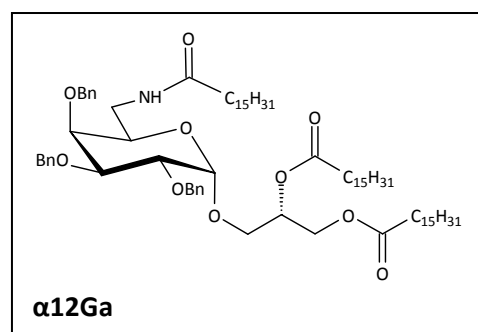
1H -NMR ($CDCl_3$): 500 MHz

$\delta = 7,19 - 7,29$ (m, 15 H, $3 \times (-C_6H_5)$), $6,13 - 6,16$ (m, 1 H, $-NH-CO-$), $5,18 - 5,23$ (m, 1 H, **sn2**), $4,84$ (d, 1 H, $^2J = 11$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), $4,81$ und $4,63$ (d, 2 H, $^2J = 11,7$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), $4,72 - 4,74$ (m, 2 H, $-CH_2-C_6H_5$), $4,58$ (d, 1 H, $^2J = 11,7$ Hz, $-CH_2-C_6H_5$), $4,40$ (dd, 1 H, $^2J_{sn1/sn1'} = 12,1$ Hz, $^3J_{sn1/sn2} = 2,9$ Hz, **sn1**), $4,33$ (d, 1 H, $^3J_{H-1/H-2} = 8,1$ Hz, **H-1**), $4,10$ (dd, 1 H, $^2J_{sn1/sn1'} = 12,1$ Hz, $^3J_{sn1/sn2} = 7,0$ Hz, **sn1'**), $3,23 - 3,81$ (m, 8 H, **H-2**, **H-3**, **H-4**, **H-5**, **H-6**, **H-6'**, **sn3**, **sn3'**), $2,19 - 2,25$ (m, 4 H, $2 \times (-CO-CH_2-(CH_2)_{13}-CH_3)$), $2,12 - 2,16$ (m, 2 H, $-NH-CO-CH_2-(CH_2)_{13}-CH_3$), $1,50 - 1,59$ (m, 6 H, $3 \times (-CO-CH_2-CH_2-(CH_2)_{12}-CH_3)$), $1,16 - 1,25$ (m, 72 H, $3 \times (-CH_2-CH_2-(CH_2)_{12}-CH_3)$), $0,81$ (t, 9 H, $J = 7$ Hz, $3 \times (-CH_3)$)

1,2-Dipalmitoyl-3-(N-palmitoyl-6'-amino-2',3',4'-tri-O-benzyl-6'-deoxy- α -D-galactosyl)-sn-glycerol (**α 12Ga)**

Für diesen Ansatz wurden 0,20 g (0,2 mmol) von **α 11Ga** in 25 ml CH_2Cl_2 gelöst und mit 0,051 g Palmitinsäure und 0,104 g PyBOP versetzt. Die Umsetzungsbedingungen und die Aufarbeitung des Produkts erfolgten in gleicher Weise wie bei der Verbindung **α 11**.

Ausbeute: 0,16 g (64 %)
 Summenformel: $C_{78}H_{127}NO_{10}$
 Molare Masse: 1238,84 g/mol
 R_f (LM 4): 0,58
 MS: M+Na
 HR-MS: 1238,9514
 Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = +17,91^\circ$



(c = 25,68x10⁻³ g/ml in CHCl₃)

¹H-NMR (CDCl₃): 500 MHz

δ = 7,26 – 7,40 (m, 15 H, 3x(-C₆H₅)), 5,36 – 5,38 (m, 1 H, -NH-CO), 5,20 – 5,24 (m, 1 H, **sn2**), 4,97 und 4,63 (d, 2 H, ²J = 11,7 Hz, -CH₂-C₆H₅), 4,87 und 4,74 (d, 2 H, ²J = 11,7 Hz, -CH₂-C₆H₅), 4,81 (d, 1 H, ³J_{H-1/H-2} = 3,7 Hz, **H-1**), 4,79 und 4,65 (d, 2 H, ²J = 11,7 Hz, -CH₂-C₆H₅), 4,35 (dd, 1 H, ²J_{sn1/sn1'} = 12,1 Hz, ³J_{sn1/sn2} = 3,3 Hz, **sn1**), 4,16 (dd, 1 H, ²J_{sn1/sn1'} = 12,1 Hz, ³J_{sn1'/sn2} = 6,2 Hz, **sn1'**), 4,02 (dd, 1 H, ³J_{H-1/H-2} = 3,3 Hz, ³J_{H-2/H-3} = 10,3 Hz, **H-1**), 3,89 (dd, 1 H, ³J_{H-2/H-3} = 10,3 Hz, ³J_{H-3/H-4} = 2,2 Hz, **H-3**), 3,79 – 3,80 (m, 1 H, **H-4**), 3,73 -3,76 (m, 1 H, **H-5**), 3,66 (dd, 1 H, ²J_{sn3/sn3'} = 10,6 Hz, ³J_{sn2/sn3'} = 5,5 Hz, **sn3**), 3,56 (dd, 1 H, ²J_{sn3/sn3'} = 10,6 Hz, ³J_{sn2/sn3'} = 5,5 Hz, **sn3'**), 3,39 – 3,45 (m, 1 H, **H-6**), 3,19 – 3,24 (m, 1 H, **H-6'**), 2,25 – 2,30 (m, 4 H, 2x(-O-CO-CH₂-)), 1,94 – 1,97 (m, 2 H, -NH-CO-CH₂-), 1,57 – 1,61 (m, 4 H, 2x(-O-CO-CH₂-CH₂-(CH₂)₁₂-CH₃)), 1,47 – 1,52 (m, 2 H, -NH-CO-CH₂-CH₂-(CH₂)₁₂-CH₃), 1,23 – 1,40 (m, 72 H, 3x(-CH₂-CH₂-(CH₂)₁₂-CH₃)), 0,88 (t, 9 H, J = 7 Hz, 3x(-CH₃))

1,2-Dipalmitoyl-3-(N-palmitoyl-6'-amino-2',3',4'-tri-O-benzyl-6'-deoxy-β-D-galactosyl)-sn-glycerol (β12Ga)

0,10 g (0,1 mmol) von **β11Ga** wurden in CH₂Cl₂ gelöst und mit 0,026 g (0,1 mmol) Palmitinsäure und 0,052 g PyBOP umgesetzt. Die Umsetzung und die Aufarbeitung erfolgten in gleicher Weise wie von **α11**.

Ausbeute: 0,084 g (68 %)

Summenformel: C₇₈H₁₂₇NO₁₀

Molare Masse: 1238,84 g/mol

R_f (LM 4): 0,58

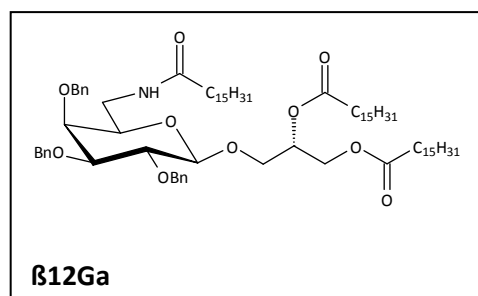
MS: M+Na

HR-MS: 1238,9523

Spezifische Drehung: [α]_D²¹ = -2,87° (c = 10,8x10⁻³ g/ml in CHCl₃)

¹H-NMR (CDCl₃): 500 MHz

δ = 7,19 – 7,62 (m, 15 H, 3x(-C₆H₅)), 5,67 – 5,71 (m, 1 H, -NH-CO), 5,19 – 5,23 (m, 1 H, **sn2**), 4,89 und 4,59 (d, 2 H, ²J = 11,7 Hz, -CH₂-C₆H₅), 4,81 (d, 1 H, ²J = 11 Hz, -CH₂-C₆H₅), 4,73 (d, 1 H, ²J = 12,1 Hz, -CH₂-C₆H₅), 4,63 – 4,69 (m, 2 H, -CH₂-C₆H₅), 4,34 (dd, 1 H, ²J_{sn1/sn1'} = 12,1 Hz, ³J_{sn1/sn2} = 2,6 Hz, **sn1**), 4,22 (d, 1 H, ³J_{H-1/H-2} = 7,7 Hz, **H-1**), 4,14 (dd, 1 H, ²J_{sn1/sn1'} = 12,1 Hz, ³J_{sn1'/sn2} = 7 Hz, **sn1'**), 2,63 – 3,76 (m, 4 H, **H-2**, **H-4**, **sn3**, **sn3'**), 3,31 – 3,42 (m, 3 H, **H-3**,



H-5, H-6), 3,15 – 3,20 (m, 1 H, **H-6'**), 2,18 – 2,24 (m, 4 H, 2x(-O-CO-CH₂-)), 1,96 (t, 2 H, ³J = 7,5 Hz, -NH-CO-CH₂-), 1,42 – 1,55 (m, 6 H, 3x(-CO-CH₂-CH₂-(CH₂)₁₂-CH₃)), 1,15 – 1,25 (m, 72 H, 3x(-CH₂-CH₂-(CH₂)₁₂-CH₃)), 0,81 (t, 9 H, J = 7 Hz, 3x(-CH₃))

1,2-Dipalmitoyl-3-(N-palmitoyl-6'-amino-2',3',4'-tri-O-benzyl-6'-deoxy- α -D-mannosyl)-sn-glycerol (α 12M)

0,49 g (0,49 mmol) von **α 11M** wurden analog der Verbindung **α 11** umgesetzt und gereinigt.

Ausbeute: 0,49 g (81 %)

Summenformel: C₇₈H₁₂₇NO₁₀

Molare Masse: 1238,84 g/mol

R_f (LM 4): 0,68

MS: M+Na

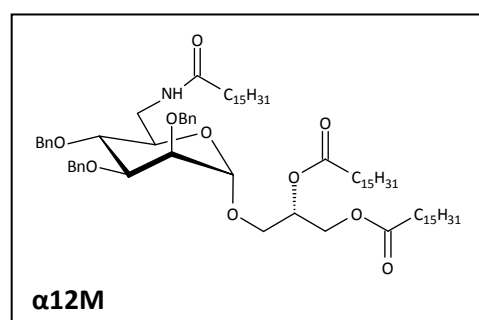
HR-MS: 1260,9343

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{22} = +52,17^\circ$

(c = 2,3x10⁻³ g/ml in CHCl₃)

¹H-NMR (CDCl₃): 500 MHz

δ = 7,25 – 7,35 (m, 15 H, 3x(-C₆H₅)), 5,76 – 5,79 (m, 1 H, -NH-CO), 5,10 – 5,13 (m, 1 H, **sn2**), 4,83 (d, 1 H, ²J = 10,4 Hz, -CH₂-C₆H₅), 4,76 (d, 1 H, ²J = 12,4 Hz, -CH₂-C₆H₅), 4,74 („s“, 1 H, **H-1**), 4,65 (d, 1 H, ²J = 11,8 Hz, -CH₂-C₆H₅), 4,59 – 4,62 (m, 3 H, -CH₂-C₆H₅), 4,28 (dd, 1 H, ²J_{sn1/sn1'} = 11,9 Hz, ³J_{sn1/sn2} = 3,4 Hz, **sn1**), 4,03 (dd, 1 H, ²J_{sn1/sn1'} = 11,9 Hz, ³J_{sn1'/sn2} = 6,1 Hz, **sn1'**), 3,80 – 3,89 (m, 2 H, **H-3, H-6**), 3,74 („t“, 1 H, ³J = 9,5 Hz, **H-4**), 3,67 – 3,70 (m, 2 H, **H-2, sn3**), 3,49 (dd, 1 H, ²J_{sn3/sn3'} = 10,7 Hz, ³J_{sn2/sn3'} = 5,2 Hz, **sn3'**), 3,58 – 3,61 (m, 1 H, **H-5**), 3,32 – 3,36 (m, 1H, **H-6'**), 2,39 (m, 2 H, -NH-CO-CH₂-), 2,24 (m, 4 H, 2x(-O-CO-CH₂-)), 2,06 – 2,09 (m, 2 H, -NH-CO-CH₂-CH₂-(CH₂)₁₂-CH₃), 1,91 – 1,98 (m, 4 H, 2x(-O-CO-CH₂-CH₂-(CH₂)₁₂-CH₃)), 1,21 – 1,82 (m, 72 H, 3x(-CH₂-CH₂-(CH₂)₁₂-CH₃)), 0,86 (t, 9 H, J = 7 Hz, 3x(-CH₃))



1,2-Dipalmitoyl-3-(N-palmitoyl-6'-amino-2',3',4'-tri-O-benzyl-6'-deoxy-β-D-mannosyl)-sn-glycerol (β12M)

0,42 g (0,42 mmol) von **β11M** wurden analog der Verbindung **α11** umgesetzt und gereinigt.

Ausbeute: 0,41 g (79 %)

Summenformel: C₇₈H₁₂₇NO₁₀

Molare Masse: 1238,84 g/mol

R_f (LM 4): 0,68

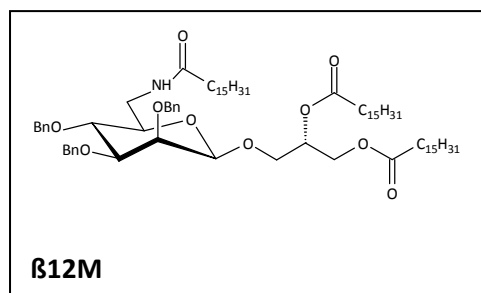
MS: M+Na

HR-MS: 1260,9343

Spezifische Drehung: [α]_D²² = + 9,30° (c = 4,3x10⁻³ g/ml in CHCl₃)

¹H-NMR (CDCl₃): 500 MHz

δ = 7,24 – 7,41 (m, 15 H, 3x(-C₆H₅)), 6,28 – 6,30 (m, 1 H, -NH-CO), 5,25 – 5,29 (m, 1 H, **sn2**), 4,87 und 4,86 (d, 1 H, ²J = 12,1 Hz, -CH₂-C₆H₅), 4,76 und 4,63 (d, 1 H, ²J = 10,3 Hz, -CH₂-C₆H₅), 4,53 und 4,48 (d, 1 H, ²J = 12,1 Hz, -CH₂-C₆H₅), 4,35 – 4,37 (m, 2 H, **H-1**, **sn1**), 4,17 (dd, 1 H, ²J_{sn1/sn1'} = 12,1 Hz, ³J_{sn1'/sn2} = 6,6 Hz, **sn1'**), 3,86 („d“, 1 H, ³J_{H-2/H-3} = 2,2 Hz, **H-2**), 3,82 (dd, 1 H, ²J_{sn3/sn3'} = 10,6 Hz, ³J_{sn2/sn3} = 4,4 Hz, **sn3**), 3,57 – 3,72 (m, 4 H, **H-4**, **H-6**, **H-6'**, **sn3'**), 3,44 – 3,48 (m, 1 H, **H-3**), 3,28 – 3,32 (m, 1 H, **H-5**), 2,26 – 2,31 (m, 4 H, 2x(-O-CO-CH₂-)), 2,15 – 2,18 (m, 2 H, -NH-CO-CH₂-), 1,53 – 1,59 (m, 6 H, 3x(-CO-CH₂-CH₂-(CH₂)₁₂-CH₃)), 1,20 – 1,28 (m, 72 H, 3x(-CH₂-CH₂-(CH₂)₁₂-CH₃)), 0,86 (t, 9 H, J = 7 Hz, 3x(-CH₃))



1,2-Dipalmitoyl-3-(N-palmitoyl-6'-amino-6'-deoxy-α-D-glucosyl)-sn-glycerol (α13)

Für die Hydrierung wurden 124 mg (0,1 mmol) von Verbindung **α12** in 50 ml eines THF/Isopropanol-Gemischs (9:1) gelöst und mit 240 mg Pd(OH)₂ versetzt. Die Hydrierung erfolgte in einer Hydrierapparatur bei einem Druck von 5 bar und RT. Nach 24 h wurde die Hydrierung abgebrochen, Pd(OH)₂ abfiltriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch mit einem CHCl₃/Methanol-Laufmittelgemisch und Zusatz von TEA gereinigt.

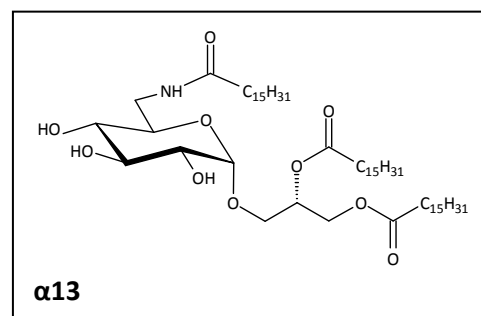
Ausbeute: 92 mg (95 %)

Summenformel: C₅₇H₁₀₉NO₁₀

Molare Masse: 968,48 g/mol

R_f (LM 5): 0,50

MS: M+Na



HR-MS: 968,8121

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{22} = +12,38^\circ$
($c = 0,32 \times 10^{-3}$ g/ml in CHCl_3) $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 500 MHz

$\delta = 5,85 - 5,89$ (m, 1 H, $-\text{NH}-\text{CO}$), $5,19 - 5,23$ (m, 1 H, **sn2**), $4,78$ (d, 1 H, $^3J_{\text{H-1/H-2}} = 3,7$ Hz, **H-1**), $4,36$ (dd, 1 H, $^2J_{\text{sn1/sn1}'} = 11,8$ Hz, $^3J_{\text{sn1/sn2}} = 4,0$ Hz, **sn1**), $4,11$ (dd, 1 H, $^2J_{\text{sn1/sn1}'} = 11,8$ Hz, $^3J_{\text{sn1'}/\text{sn2}} = 5,7$ Hz, **sn1'**), $3,97 - 4,03$ (m, 1 H, **H-6**), $3,77$ (dd, 1 H, $^2J_{\text{sn3/sn3}'} = 10,7$ Hz, $^3J_{\text{sn2/sn3}} = 4,4$ Hz, **sn3**), $3,71$ (t, 1 H, $^3J = 9,4$ Hz, **H-3**), $3,61$ (dd, 1 H, $^2J_{\text{sn3/sn3}'} = 10,7$ Hz, $^3J_{\text{sn3'}/\text{sn2}} = 6,0$ Hz, **sn3'**), $3,54 - 3,57$ (m, 1 H, **H-5**), $3,46$ (dd, 1 H, $^3J_{\text{H-1/H-2}} = 3,7$ Hz, $^3J_{\text{H-2/H-3}} = 9,4$ Hz, **H-2**), $3,08$ (t, 1 H, $^3J = 9,4$ Hz, **H-4**), $3,00 - 3,04$ (m, 1 H, **H-6'**), $2,27 - 2,30$ (m, 4 H, $2 \times (-\text{O}-\text{CO}-\text{CH}_2-)$), $2,21 - 2,24$ (m, 2 H, $-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}_2-$), $1,55 - 1,63$ (m, 6 H, $3 \times (-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_{12}-\text{CH}_3)$), $1,21 - 1,31$ (m, 72 H, $3 \times (-\text{CH}_2-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_{12}-\text{CH}_3)$), $0,86$ (t, 9 H, $J = 7,0$ Hz, $3 \times (-\text{CH}_3)$)

 $^{13}\text{C-NMR}$: CDCl_3 :

$\delta = 175,7; 173,4; 173,1$ ($-\text{CO}-$), $99,4$ (**C1**), $73,1$ (**C3**), $72,4$ (**C2**), $71,1$ (**C5**), $69,9$ (**C4**), $69,8$ (**sn2**), $66,9$ (**sn3**), $62,1$ (**sn1**), $39,7$ (**C6**), $36,4$ ($-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}_2-$), $34,2; 34,1$ ($-\text{CO}-\text{CH}_2-$), $31,9; 29,1 - 29,7; 22,7$ ($-(\text{CH}_2)_{12}-\text{CH}_3$), $24,9; 22,7$ ($(-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-)$), $14,1$ (**CH₃**)

1,2-Diocteoyl-3-O-(N-octeoyl-6'-amino-6'-deoxy- α -D-glucosyl)-sn-glycerol (α 13-D8)

Die Bedingungen für die Hydrierung für die Umsetzung von 30 mg (0,033 mmol) von **α 12-D8** entsprachen denen von Verbindung **α 12**. Die Reinigung der Endverbindung erfolgte mit einem CHCl_3 /Methanol-Gemisch steigender Polarität und Zugabe von TEA.

Ausbeute: 20 mg (96 %)

Summenformel: $\text{C}_{33}\text{H}_{61}\text{NO}_{10}$

Molare Masse: 631,84 g/mol

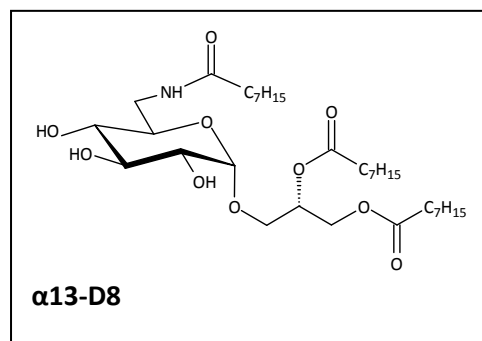
 R_f (LM 5): 0,40

MS: M+Na

HR-MS: 654,41877

 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 500 MHz

$\delta = 5,88 - 5,93$ (m, 1 H, $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CO}-$), $5,19 - 5,23$ (m, 1 H, **sn2**), $4,78$ (d, 1 H, $^3J_{\text{H-1/H-2}} = 4$ Hz, **H-1**), $4,36$ (dd, 1 H, $^2J_{\text{sn1/sn1}'} = 11,9$ Hz, $^3J_{\text{sn1/sn2}} = 4$ Hz, **sn1**), $4,11$ (dd, 1 H, $^2J_{\text{sn1/sn1}'} = 11,9$ Hz, $^3J_{\text{sn1'}/\text{sn2}} = 5,9$ Hz, **sn1'**), $3,99$ (ddd, 1 H, $^3J_{\text{H-5/H-6}} = 2,6$ Hz, $^3J_{\text{NH-/H-6}} = 8,2$ Hz, $^2J_{\text{H-6/H-6}'} = 15$ Hz, **H-6**), $3,77$ (dd, 1 H, $^2J_{\text{sn3/sn3}'} = 11$



Hz, $^3J_{sn2/sn3} = 4,8$ Hz, **sn3**), 3,71 (t, 1 H, $^3J = 9,5$ Hz, **H-3**), 3,61 (dd, 1 H, $^2J_{sn3/sn3'} = 11$ Hz, $^3J_{sn2/sn3'} = 5,9$ Hz, **sn3'**), 3,56 (ddd, 1 H, $^3J_{H-4/H-5} = 9,5$ Hz, $^3J_{H-5/H-6'} = 2,6$ Hz, $^3J_{H-5/H-6} = 2,9$ Hz, **H-5**), 3,46 (dd, 1 H, $^3J_{H-1/H-2} = 4,0$ Hz, $^3J_{H-2/H-3} = 9,5$ Hz, **H-2**), 3,08 (t, 1 H, $^3J = 9,5$ Hz, **H-4**), 3,03 (ddd, 1 H, $^3J_{H-5/H-6'} = 2,9$ Hz, $^3J_{NH/H-6'} = 4,4$ Hz, $^2J_{H-6/H-6'} = 15$ Hz, **H-6'**), 2,60 (bs, 3 H, 3x(-OH)), 2,27 – 2,31 (m, 4 H, 2x(-CO-CH₂-(CH₂)₅-CH₃)), 2,21 – 2,24 (m, 2 H, -NH-CO-CH₂-(CH₂)₅-CH₃), 1,56 – 1,64 (m, 6 H, 3x(-CH₂-CH₂-(CH₂)₄-CH₃)), 1,22 – 1,30 (m, 24 H, 3x(-(CH₂)₂-(CH₂)₄-CH₃)), 0,84 – 0,87 (m, 9 H, 3x(-CH₃))

1,2-Dipalmitoyl-3-(N-palmitoyl-6'-amino-β-D-glucosyl)-sn-glycerol (β13)

Die Umsetzung und die Aufbereitung von 40 mg (0,032 mmol) **β12** erfolgten in gleicher Weise wie für Verbindung **α12**.

Ausbeute: 28 mg (90 %)

Summenformel: C₅₇H₁₀₉NO₁₀

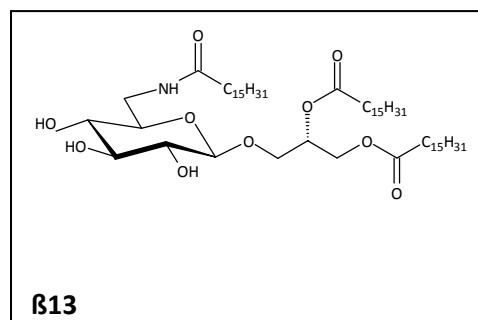
Molare Masse: 968,48 g/mol

R_f (LM 5): 0,47

MS: M+Na

HR-MS: 968,81242

¹H-NMR (CDCl₃): 500 MHz



$\delta = 6,68 - 6,72$ (m, 1 H, -NH-CO), 5,32 – 5,36 (m, 1 H, **sn2**), 4,58 (dd, 1 H, $^2J_{sn1/sn1'} = 11,9$ Hz, $^3J_{sn1/sn2} = 3,4$ Hz, **sn1**), 4,32 (d, 1 H, $^3J_{H-1/H-2} = 7,6$ Hz, **H-1**), 3,99 – 4,11 (m, 2 H, **H-6**, **sn1'**), 3,74 – 3,83 (m, 2 H, **sn3**, **sn3'**), 3,57 (t, 1 H, $^3J = 9,2$ Hz, **H-3**), 3,35 („t“, 1 H, $^3J = 9,2$ Hz, **H-2**), 3,22 – 3,27 (m, 1 H, **H-5**), 3,13 (t, 1 H, $^3J = 9,2$ Hz, **H-4**), 3,04 – 3,09 (m, 1 H, **H-6'**), 2,23 – 2,33 (m, 6 H, 3x(-O-CO-CH₂-)), 1,50 – 1,63 (m, 6 H, 3x(-CO-CH₂-CH₂-(CH₂)₁₂-CH₃)), 1,20 – 1,31 (m, 72 H, 3x(-CH₂-CH₂-(CH₂)₁₂-CH₃)), 0,86 (t, 9 H, J = 6,7 Hz, 3x(-CH₃))

1,2-Dipalmitoyl-3-(N-palmitoyl-6'-amino- α -D-galactosyl)-sn-glycerol (α 13Ga)

Für die Hydrierung wurden 0,05 g (0,04 mmol) von α 12Ga in 50 ml eines THF/Isopropanol-Gemischs (9:1) gelöst und mit 100 mg Pd(OH)₂ versetzt. Die Hydrierung erfolgte in einer Hydrierapparatur bei einem Druck von 5 bar und RT. Nach 24 h wurde die Hydrierung abgebrochen, Pd(OH)₂ abfiltriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch mit einem CHCl₃/Methanol-Laufmittelgemisch und Zusatz von TEA gereinigt.

Ausbeute: 0,038 g (>95 %)

Summenformel: C₅₇H₁₀₉NO₁₀

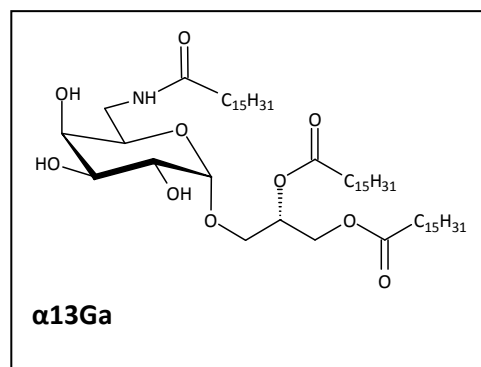
Molare Masse: 968,48 g/mol

R_f (LM 5): 0,39

MS: M+Na

HR-MS: 968,8125

¹H-NMR (CDCl₃): 500 MHz



δ = 5,90 – 5,93 (m, 1 H, –NH–CO), 5,21 – 5,25 (m, 1 H, **sn2**), 4,86 (d, 1 H, ³J_{H-1/H-2} = 3,4 Hz, **H-1**), 4,30 (dd, 1 H, ²J_{sn1/sn1'} = 11,7 Hz, ³J_{sn1/sn2} = 3,4 Hz, **sn1**), 4,11 (dd, 1 H, ²J_{sn1/sn1'} = 11,7 Hz, ³J_{sn1'/sn2} = 5,9 Hz, **sn1'**), 3,64 – 3,85 (m, 7 H, **H-2**, **H-3**, **H-4**, **H-5**, **H-6**, **sn3**, **sn3'**), 3,08 – 3,13 (m, 1 H, **H-6'**), 2,28 – 2,32 (m, 4 H, 2x(–O–CO–CH₂–)), 2,18 (t, 2 H, J = 7,3 Hz, –NH–CO–CH₂–), 1,55 – 1,62 (m, 6 H, 3x(–CO–CH₂–CH₂–(CH₂)₁₂–CH₃)), 1,21 – 1,30 (m, 72 H, 3x(–CH₂–CH₂–(CH₂)₁₂–CH₃)), 0,86 (t, 9 H, J = 7,3 Hz, 3x(–CH₃))

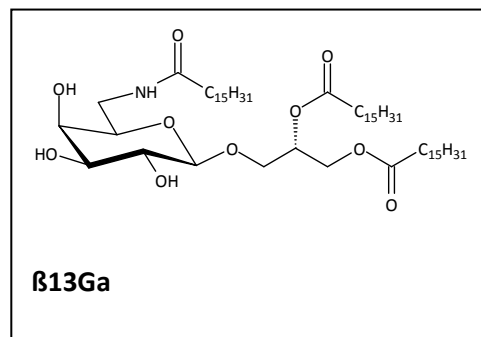
¹³C-NMR: CDCl₃:

δ = 175,0; 173,5; 173,3 (–CO–), 100,0 (**C1**), 70,2 (**C2**), 70,1 (**C3**), 69,6 (**C5**), 69,2(**sn2**), 68,2 (**C4**), 67,6 (**sn3**), 62,2 (**sn1**), 39,3 (**C6**), 36,6 (–NH–CO–CH₂–), 34,3; 34,1 (–CO–CH₂–), 31,9; 29,1 – 29,7; 22,7 (–(CH₂)₁₂–CH₃), 24,9 ; 22,7 ((–CO–CH₂–CH₂–), 14,1 (**CH₃**)

1,2-Dipalmitoyl-3-(N-palmitoyl-6'-amino-6'-deoxy-β-D-galactosyl)-sn-glycerol (β13Ga)

Die Hydrierung von 17,6 mg (0,014 mmol) der Verbindung **β12Ga** erfolgte analog der Verbindung **α12**. Die Reinigung der Endverbindung wurde mit einem CHCl₃/Methanol-Gemisch steigender Polarität unter TEA-Zusatz durchgeführt.

Ausbeute:	10,63 mg (77,5 %)
Summenformel:	C ₅₇ H ₁₀₉ NO ₁₀
Molare Masse:	968,48 g/mol
R _f (LM 5):	0,33
MS:	M+Na
HR-MS:	990,79577
¹ H-NMR (CDCl ₃):	500 MHz

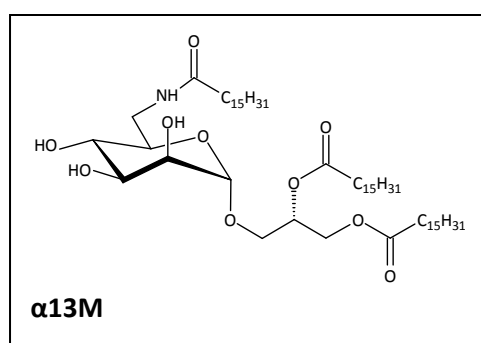


δ = 6,28 – 6,32 (m, 1 H, –NH–CO), 5,25 – 5,30 (m, 1 H, **sn2**), 4,35 (dd, 1 H, ²J_{sn1/sn1'} = 11,9 Hz, ³J_{sn1/sn2} = 2,1 Hz, **sn1**), 4,19 – 4,22 (m, 2 H, **H–1**, **sn1'**), 3,80 – 3,86 (m, 3 H, **H–4**, **H–6**, **sn3**), 3,73 (dd, 1 H, ²J_{sn3/sn3'} = 10,7 Hz, ³J_{sn2/sn3'} = 6,7 Hz, **sn3'**), 3,57 – 3,61 (m, 1 H, **H–2**), 3,54 (dd, 1 H, ³J_{H-2/H-3} = 9,2 Hz, ³J_{H-3/H-4} = 2,1 Hz, **H–3**), 3,47 – 3,50 (m, 1 H, **H–5**), 3,24 – 3,29 (m, 1 H, **H–6'**), 2,27 – 2,32 (m, 4 H, 2x(–O–CO–CH₂–)), 2,22 (t, 2 H, J = 7,3 Hz, –NH–CO–CH₂–), 1,56 – 1,62 (m, 6 H, 3x(–CO–CH₂–CH₂–(CH₂)₁₂–CH₃)), 1,20 – 1,31 (m, 72 H, 3x(–CH₂–CH₂–(CH₂)₁₂–CH₃)), 0,86 (t, 9 H, J = 7 Hz, 3x(–CH₃))

1,2-Dipalmitoyl-3-(N-palmitoyl-6'-amino-6'-deoxy-α-D-mannosyl)-sn-glycerol (α13M)

Die Darstellung und die Aufreinigung von Verbindung **α13M** erfolgten analog der Darstellung von Verbindung **α13**.

Ausbeute:	10,6 mg (27 %)
Summenformel:	C ₅₇ H ₁₀₉ NO ₁₀
Molare Masse:	968,48 g/mol
R _f (LM 5):	0,49
MS:	M+Na
HR-MS:	980,7900
¹ H-NMR (CDCl ₃):	500 MHz



δ = 6,04 – 6,07 (m, 1 H, –NH–CO), 5,15 – 5,18 (m, 1 H, **sn2**), 4,77 („s“, 1 H, **H–1**), 4,30 (dd, 1 H, ²J_{sn1/sn1'} = 11,7 Hz, ³J_{sn1/sn2} = 3,9 Hz, **sn1**), 4,10 (dd, 1 H, ²J_{sn1/sn1'} = 11,7 Hz, ³J_{sn1'/sn2} = 5,9 Hz, **sn1'**), 4,01 – 4,06 (m, 1 H, **H–6**), 3,95 („d“, 1 H, ³J = 2,6 Hz, **H–2**), 3,84 (dd, 1 H, ³J_{H-2/H-3} = 2,9 Hz, ³J_{H-3/H-4} = 9,3 Hz, **H–3**),

3,73 (dd, 1 H, $^2J_{sn3/sn3'} = 10,7$ Hz, $^3J_{sn2/sn3} = 4,9$ Hz, **sn3**), 3,56 (dd, 1 H, $^2J_{sn3/sn3'} = 10,7$ Hz, $^3J_{sn2/sn3} = 5,4$ Hz, **sn3'**), 3,50–3,53 (m, 1 H, **H-5**), 3,43 (t, 1H, $^3J = 9,3$ Hz, **H-4**), 2,98 – 3,03 (m, 1 H, **H-6'**), 2,22 – 2,30 (m, 6 H, $3x(-CO-CH_2-)$), 1,55 – 1,64 (m, 6 H, $3x(-CO-CH_2-CH_2-(CH_2)_{12}-CH_3)$), 1,21 – 1,30 (m, 72 H, $3x(-CH_2-CH_2-(CH_2)_{12}-CH_3)$), 0,86 (t, 9 H, $J = 6,8$ Hz, $3x(-CH_3)$)

¹³C-NMR:CDCl₃:

$\delta = 176,1; 173,3; 173,0$ ($-CO-$), $100,4$ (**C1**), $71,5$ (**C2**), $69,9$ (**C3**), $69,7$ (**C5**), $66,8$ (**sn2**), $66,1$ (**C4**), $66,1$ (**sn3**), $62,3$ (**sn1**), $39,9$ (**C6**), $36,4$ ($-NH-CO-CH_2-$), $34,3; 34,1$ ($-CO-CH_2-$), $31,9; 29,1 - 29,7; 22,7$ ($-(CH_2)_{12}-CH_3$), $25,7; 24,9$ ($CO-CH_2-CH_2-$), $14,1$ (**CH₃**)

1,2-Dipalmitoyl-3-(N-palmitoyl-6'-amino-6'-deoxy- β -D-mannosyl)-sn-glycerol (**B13M**)

Für die Hydrierung wurden 35 mg (0,028 mmol) der Verbindung **B12M** in gleicher Weise wie Verbindung **a12** umgesetzt und gereinigt.

Ausbeute: 19,5 mg (72%)

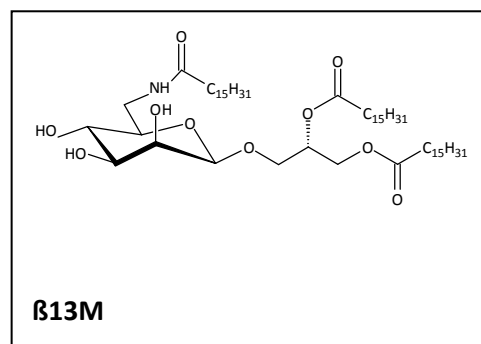
Summenformel: C₅₇H₁₀₉NO₁₀

Molare Masse: 968,48 g/mol

R_f (LM 5): 0,42

MS: M+Na

HR-MS: 990,79492

¹H-NMR (CDCl₃): 500 MHz

$\delta = 6,69 - 6,73$ (m, 1 H, $-NH-CO$), $5,30 - 5,34$ (m, 1 H, **sn2**), $4,55$ (dd, 1 H, $^2J_{sn1/sn1'} = 12,1$ Hz, $^3J_{sn1/sn2} = 2,9$ Hz, **sn1**), $4,50$ („s“, 1 H, **H-1**), $3,96 - 4,07$ (m, 3 H, **H-2**, **H-6**, **sn1'**), $3,76 - 3,84$ (m, 2 H, **sn3**, **sn3'**), $3,59$ (dd, 1 H, $^3J_{H-2/H-3} = 2,6$ Hz, $^3J_{H-3/H-4} = 9,5$ Hz, **H-3**), $3,48$ (t, 1H, $^3J = 9,5$ Hz, **H-4**), $3,12 - 3,18$ (m, 2 H, **H-5**, **H-6'**), $2,24 - 2,32$ (m, 6 H, $3x(-CO-CH_2-)$), $1,55 - 1,64$ (m, 6 H, $3x(-CO-CH_2-CH_2-(CH_2)_{12}-CH_3)$), $1,20 - 1,31$ (m, 72 H, $3x(-CH_2-CH_2-(CH_2)_{12}-CH_3)$), $0,86$ (t, 9 H, $J = 7$ Hz, $3x(-CH_3)$)

9 Literaturverzeichnis

- (1) www.who.int/cancer. [Online]
- (2) Verband forschender Arzneimittelhersteller. *So wirken die Krebsmedikamente der Zukunft*. 2011.
- (3) E. Mutschler, G. Geisslinger, H. K. Kroemer und P. Ruth. *Mutschler Arzneimittelwirkungen: Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie*. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, 2008.
- (4) H. Gießen. *Was macht Krebs aggressiv?* Pharmazie in unserer Zeit. 2003, 2, 90-91.
- (5) J.C. Venter, D. Adams, E.W. Myers. *The Sequence of the Human Genome*. Science. 2001, 291, 1304-1352.
- (6) C. Manning, D.B. Whyte, R. Martinez, T. Hunter, S. Sudarsanam. *The Protein Kinase Complement of the Human Genome*. Science. 2002, 298, 1912-1934.
- (7) www.herceptin.com/breast. [Online]
- (8) D. B. Lipka, F. Heidel, C. Huber, T. Fischer. *Entwicklung von Tyrosinkinase-Inhibitoren bei hämatologischen Neoplasien. FLT3 und JAK2 als therapeutische Targets*. Pharmazie in unserer Zeit. 2008, 5, 394-403.
- (9) C. Kunick, A-M. Egert-Schmidt. *Die kurze Geschichte der Proteinkinase-Inhibitoren. Jung, kompetitiv, erfolgreich*. Pharmazie in unserer Zeit. 2008, 37, 360-368.
- (10) M. Malumbres, M. Barbacid. *Cell cycle, CDKs and cancer: a changing paradigm*. Nature Reviews Cancer. 2009, 9, 153-166.
- (11) S. Lapenna, A. Giordano. *Cell cycle kinases as therapeutic targets for cancer*. Nature Reviews Drug Discovery. 2009, 8, 547-566.
- (12) P. Daniel. *Zellzyklus und Apoptose*. Molekularmedizinische Grundlagen von hämatolog. Neoplasien. Springer Verlag, 2003, Bd. 3.
- (13) D. G. Walker, C. L. Johnson. *CYCLINS AND CELL CYCLE CHECKPOINTS*. Annual Review of Pharmacology and Toxicology. 1999, 39, 295–312.
- (14) J. Pines. *Cyclins and cyclin-dependent kinases: a biochemical view*. Biochemical Journal. 1995, 308, 697-711.
- (15) P. R. Mueller, T. R. Coleman, A. Kumagai, W. G. Dunphy. *Myt1: A Membrane-Associated Inhibitory Kinase That Phosphorylates Cdc2 on Both Threonine-14 and Tyrosine-15*. Science. 1995, 270, 86 - 90.
- (16) C. J. Squire, J. M. Dickson, I. Ivanovic, E. N. Baker. *Structure and Inhibition of the Human Cell Cycle Checkpoint Kinase, Wee 1A Kinase: An Atypical Tyrosine Kinase with a Key Role in CDK1 Regulation*. Structure. 2005, 13, 541-550.

- (17) F. Liu, J. J. Stanton, Z. Wu, H. Piwnica-Worms. *The human Myt1 kinase preferentially phosphorylates Cdc2 on threonine 14 and localizes to the endoplasmic reticulum and Golgi complex. Molecular and Cellular Biology.* 1997, 17, 571 - 583.
- (18) Y. Wang, S. J. Decker, J. Sebolt-Leopold. *Knockdown of Chk1, Wee1 and Myt1 by RNA Interference Abrogates G2 Checkpoint and Induces Apoptosis.* *Cancer Biology & Therapy.* 2004, 3, 305 - 313.
- (19) H. Hirai, Y. Iwasawa, M. Okada et al. *Small-molecule inhibition of Wee1 kinase by MK-1775 selectively sensitizes p53-deficient tumor cells to DNA-damaging agents.* *Molecular Cancer Therapeutics.* 2009, 8, 2992-3000.
- (20) B. Zhou, S. Tang, R. K. Johnson, M. P. Mattern, J. S. Lazo, E. R. Sharlow, K. Harich, D. G. I. Kingston. *New glycolipid inhibitors of Myt1 kinase. Tetrahedron.* 2005, 61, 883 - 887.
- (21) T. Winkler, I. Zündorf, T. Dingermann. *Protein-Tyrosinkinase als Wirkstoff-Targets. Eine wichtige Gruppe intrazellulärer Regulatoren. Pharmazie in unserer Zeit.* 2008, 5, 370-380.
- (22) <http://www.cellsignal.com/reference/kinase/images/kinome.jpg>. [Online]
- (23) G. Krauss. *Biochemistry of Signal Transduction and Regulation.* WILEY-VCH Verlag GmbH & Co KGaA, Weinheim, 2005.
- (24) S. K. Hunter, T. Hanks. Protein kinases 6. *The eukaryotic protein kinase superfamily: kinase (catalytic) domain structure and classification.* *The FASEB Journal.* 1995, 9, 576-596.
- (25) E. J. Goldsmith, M. H. Cobb. *Protein kinases. Current Opinion in Structural Biology.* 1994, 4, 833-840.
- (26) C. H. Yun, T. J. Boggan, Y. Li, M. S. Woo, H. Greulich, M. Meyerson, M. J. Eck. *Structures of Lung Cancer-Derived EGFR Mutants and Inhibitor Complexes: Mechanism of Activation and Insights into Differential Inhibitor Sensitivity.* *Cancer Cell.* 2007, 11, 217-227.
- (27) modifiziert nach http://www.rcsb.org/pdb/images/2itw_bio_r_500.jpg. [Online]
- (28) P. Traxler. *Tyrosine kinase inhibitors in cancer treatment (Part II).* *Expert Opinion on Therapeutic Patents.* 1998, 8, 1599-1625.
- (29) J. Zhang, P. L. Yang, N. S. Gray. *Targeting cancer with small molecule kinase inhibitors.* *Nature Reviews Cancer.* 2009, 9, 28-39.
- (30) M. Holm, F. Lehmann, S. Laufer. *Medizinische Chemie und molekulare Hemmmechanismen der Tyrosinkinase-Inhibitoren. Schwerpunkt pharmazeutischer Forschung.* *Pharmazie in unserer Zeit.* 2008, 5, 382-392.
- (31) M. E. M. Noble, J. A. Endicott, L. N. Johnson. *Protein Kinase Inhibitors: Insights into Drug Design from Structure.* *Science.* 2004, 19, 1800-1805.
- (32) N. A. Campell. *Biologie.* Spektrum Akademischer Verlag, 1997.

- (33) E. A. Nigg. *Mitotic kinases as regulators of cell division and its checkpoints*. Nature Reviews Molecular Cell Biology. 2001, 2, 21-32.
- (34) N. P. Pavletich. *Mechanisms of cyclin-dependent kinase regulation: structures of cdk, their cyclin activators, and cip and INK4 inhibitors*. Journal of Molecular Biology. 1999, 287, 821-828.
- (35) J. Pines. *Confirmational change*. Nature. 1995, 294, 294-295.
- (36) D. O. Morgan. *Principles of CDK regulation*. Nature. 1995, 374, 131-134.
- (37) P. D. Jeffrey, A. A. Russo, K. Polyak, E. Gibbs, J. Hurwitz, J. Massagué, N. P. Pavletich. *Mechanism of CDK activation revealed by the structure of a cyclinA-CDK2 complex*. Nature. 1995, 376, 313-320.
- (38) R. Ohi, K. L. Gould. *Regulating the onset of mitosis*. Current Opinion in Cell Biology. 1999, 11, 267-273.
- (39) C. H. McGowan, P. Russell. *Cell cycle regulation of human WEE1*. EMBO. 1995, 14, 2166 - 2175.
- (40) <http://www.thesgc.org/structures/details>. [Online]
- (41) F. Zuccotto, E. Ardini, E. Casale, M. Angiolini. *Through the "Gatekeeper Door": Exploiting the Active Kinase Conformation*. Journal of Medicinal Chemistry. 2010, 53, 2681-2694.
- (42) J. Zhang, F. J. Adrián, W. Jahnke, S. W. Cowan-Jacob, A. G. Li, R. E. Iacob, T. Sim, J. Powers, C. Dierks, F. Sun, G. Guo, Q. Ding, B. Okram, Y. Choi, A. Wojciechowski, X. Deng, G. Liu, G. Fendrich, A. Strauss, N. Vajpai, S. Grzesiek, T. Tuntland, Y. Liu. *Targeting Bcr-Abl by combining allosteric with ATP-binding-site inhibitors*. Nature. 2010, 463, 501-507.
- (43) F. J. Adrián, Q. Ding, T. Sim, A. Velentza, C. Sloan, Y. Liu, G. Zhang, W. Hur, S. Ding, P. Manley, J. Mestan, D. Fabbro & N. S. Gray. *Allosteric inhibitors of Bcr-abl-dependent cell proliferation*. Nature Chemical Biology. 2006, 2, 95-102.
- (44) N. Minkovsky, A. Berezov. *BIBW-2992, a dual receptor tyrosine kinase inhibitor for the treatment of solid tumors*. Current Opinion in Investigational Drugs. 2008, 9, 1336-1346.
- (45) M. A. Fabian, W. H. Biggs III, D. K. Treiber, C. E. Atteridge et al. *A small molecule-kinase interaction map for clinical kinase inhibitors*. Nature Biotechnology. 2005, 23, 329-336.
- (46) M. Azam, M. A. Seeliger, N. S. Gray, J. Kuriyan und G. Q. Daley. *Activation of tyrosine kinases by mutation of the gatekeeper threonine*. Nature Structural & Molecular Biology. 2008, 15, 1109-1118.
- (47) D. J. Cragg, G. M. Newman. *Natural Products as Sources of New Drugs over the Last 25 Years*. Journal of Natural Products. 2007, 70, 461-477.
- (48) D. G. I. Kingston. *Modern Natural Products Drug Discovery and Its Relevance to Biodiversity Conservation*. Journal of Natural Products. 2011, 74, 496-511.

- (49) <http://de.wikipedia.org/wiki/Eribulin>. [Online]
- (50) T. Morimoto, A. Nagatsu, N. Murakami, J. Sakakibara, H. Tokuda, H. Nishino, A. Iwashima. *Anti-tumour-promoting glyceroglycolipids from the green alga, Chlorella vulgaris*. *Phytochemistry*. 1995, 40, 1433-1437.
- (51) A. Nagatsu, M. Watanabe, K. Ikemoto, M. Hashimoto, N. Murakami, J. Sakakibara, H. Tokuda, H. Nishino, A. Iwashima, K. Yazawa. *Synthesis and structure- anti-tumor-promoting activity relationship of monogalactosyl diacylglycerols*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 1994, 4, 1619-1622.
- (52) B. Helferich. *Trityl Ethers of Carbohydrates*. *Advances in Carbohydrate Chemistry*. 1948, 3, 79-111.
- (53) S. K. Chaudhary, O. Hernandez. *A simplified procedure for the preparation of the triphenylmethylethers*. *Tetrahedron Letters*. 1979, 20, 95-98.
- (54) R. J. Tennant-Eyles, B. G. Davis, A. J. Fairbanks. *Peptide templated glycosylation reactions*. *Tetrahedron. Asymmetry*. 2000, 11, 231-243.
- (55) M. Schelhaas, H. Waldmann. *Schutzgruppenstrategien in der organischen Synthese*. *Angewandte Chemie*. 1996, 108, 2192-2219.
- (56) Th. K. Lindhorst. *Essentials of Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*. 3. vollst. überarb. u. erw. Auflage. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2007.
- (57) P. J. Kocienski. *Protecting Groups*. Georg Thieme Verlag Stuttgart, 2005.
- (58) W. T. Greene, P.G.M Wuts. *Protective Groups in Organic Chemistry*. New York Wiley, 1991, 2. Auflage.
- (59) S. Koto, N. Morishima, Y. Miyata, S. Zen. *Preparation of 2,3,4,6-Tetra-O-benzyl-D-mannose*. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*. 1976, 49, 2639-2640.
- (60) C. D. Warren, R. Gigg. *Use of the allyl ether as a protecting group in a new synthesis of L-lyxose*. *Journal of the Chemical Society (Resumed)*. 1965, 2205-2210.
- (61) P. Buckus. *Detritylation and Transtritylation Reactions*. *Russian Chemical Reviews*. 1970, 39, 58-69.
- (62) M. MacCoss, D. J. Cameron. *Facile detritylation of nucleoside derivatives by using trifluoroacetic acid*. *Carbohydrate Research*,. 1978, 60, 206-209.
- (63) K. Dax, W. Wolflehner, H. Weidmann. *Eine einfache Enttritylierungsmethode*. *Carbohydrate Research*. 1978, 65, 132-138.
- (64) H. Beyer, W. Walter, W. Francke. *Lehrbuch der Organischen Chemie*. 23., überarb. u. aktualis. Aufl. S. Hirzel Verlag, 1998. 137-138.
- (65) M. Fieser, L. F. Fieser und. *Organische Chemie*. Wiley-VCH, 1989, 5. Nachdr. d. 2. verb. Aufl. 1968.

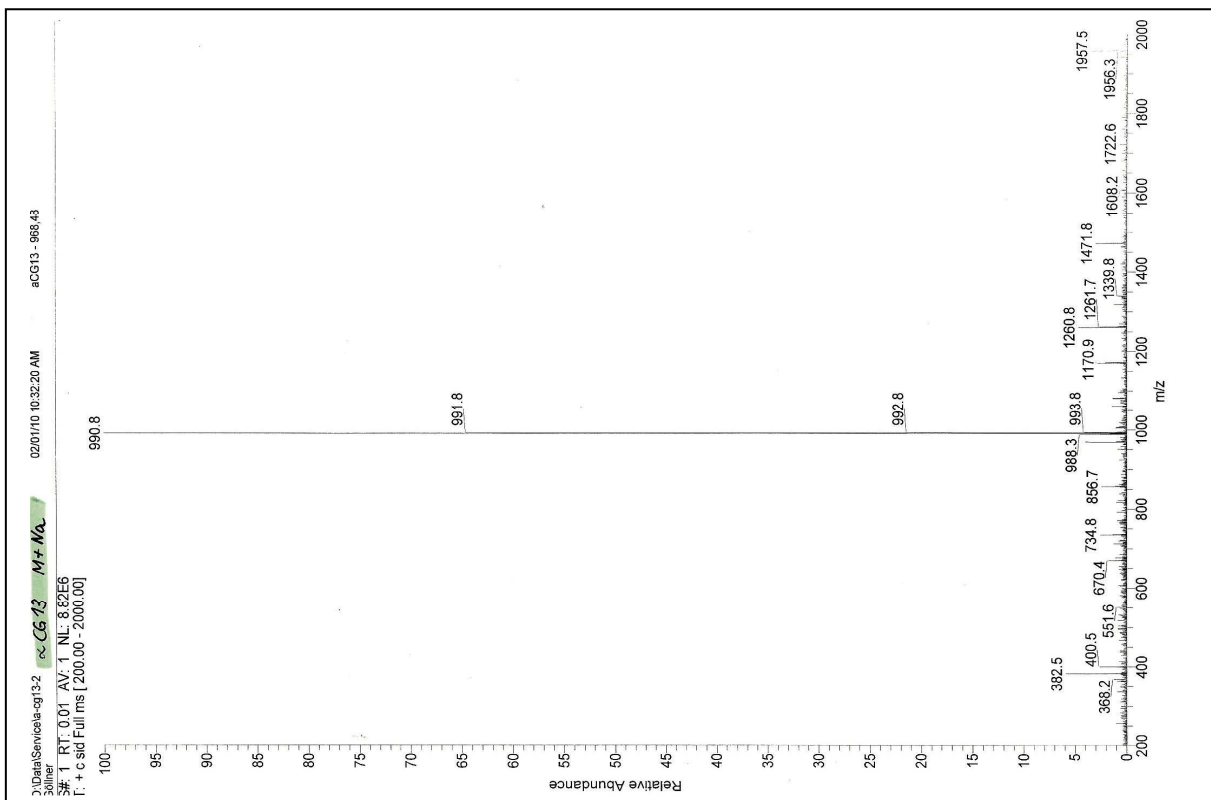
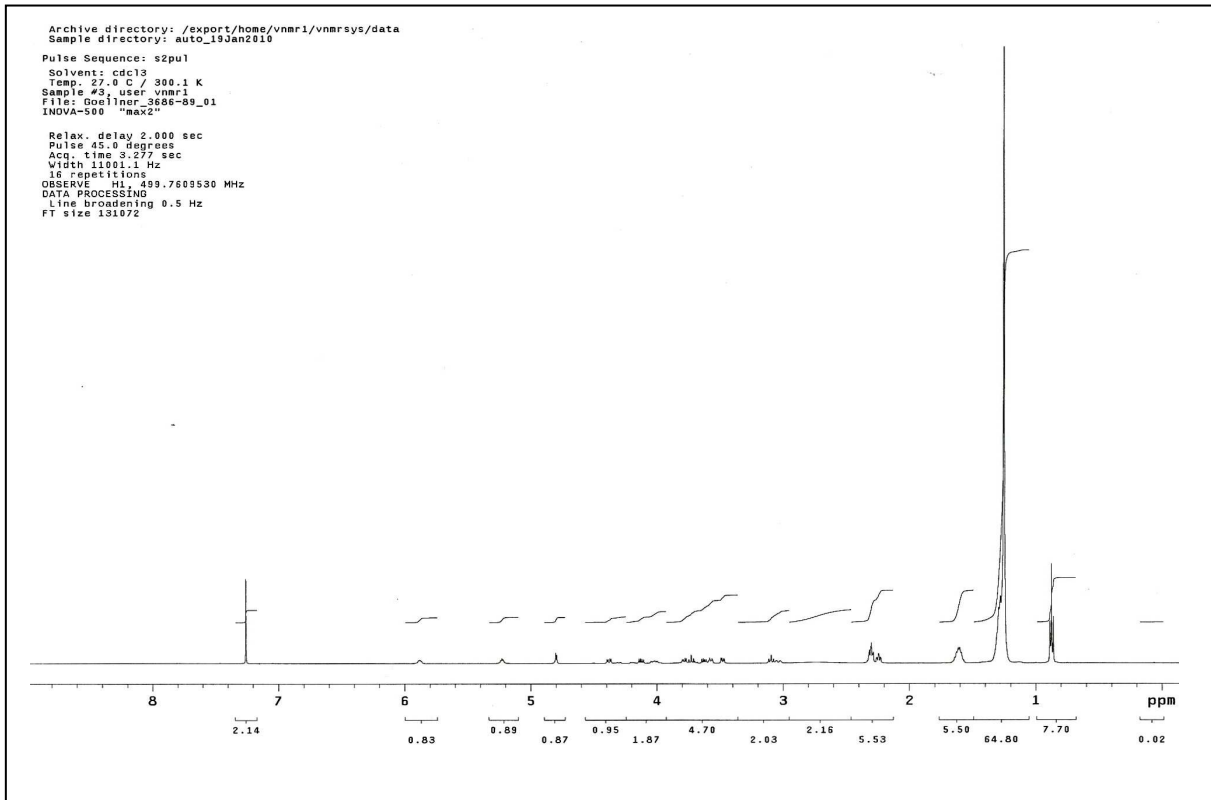
- (66) W. J. Baumann, H. K. Mangold. *Reactions of Aliphatic Methanesulfonates. I. Syntheses of Long-Chain Glyceryl-(1) Ethers*. Journal of Organic Chemistry. 1964, 29, 3055–3057.
- (67) B. Bernet, A. Vasella. *Carbocyclische Verbindungen aus Monosacchariden. II. Umsetzungen in der Mannosereihe*. Helvetica Chimica Acta. 1979, 62, 2400-2410.
- (68) Y. Yoshida, Y. Sakakura, N. Aso, S. Okada, Y. Tanabe. *Practical and efficient methods for sulfonylation of alcohols using Ts(Ms)Cl/Et₃N and catalytic Me₃H-HCl as combined base: Promising alternative to traditional pyridine*. Tetrahedron. 1999, 55, 2183-2192.
- (69) J. Houben, T. Weyl. *Methoden der organischen Chemie*, Band E16a, Teil 2. 1990. Thieme Verlag.
- (70) R. T. Morrison, R. N. Boyd. *Lehrbuch der Organischen Chemie*. Verlag der Chemie, 1983.
- (71) R. Huisgen. *1,3-Dipolare Cycloadditionen Rückschau und Ausblick*. Angewandte Chemie. 1963, 75, 604-637.
- (72) X. Zhu, R.R. Schmidt. *Neue Prinzipien für die Bildung von glycosidischen Bindungen*. Angewandte Chemie. 2009, 121, 1932-1967.
- (73) R. R. Schmidt. *Neue Methoden zur Glycosid- und Oligosaccharidsynthese – gibt es Alternativen zur Koenigs-Knorr-Methode?* Angewandte Chemie. 1986, 98, 213-236.
- (74) H. Paulsen. *Fortschritte bei der selektiven chemischen Synthese komplexer Oligosaccharide*. Angewandte Chemie. 1982, 94, 184–201.
- (75) E. Fischer. *Ueber die Glucoside der Alkohole*. Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft. 1893, 26, 2400-2412.
- (76) W. Koenigs, E. Knorr. *Ueber einige Derivate des Traubenzuckers und der Galactose*. Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft. 1901, 34, 957-981.
- (77) R. R. Schmidt, J. Michel, M. Roos. *Glycosylimidate, 12 Direkte Synthese von O- α - und O- β -Glycosyl-imidaten*. Liebigs Annalen der Chemie. 1984, 1984, 1343-1357.
- (78) R. R. Schmidt, M. Reichrath. *Einfache, hochselektive α - und β -Disaccharidsynthesen aus 1-O-metallierten D-Ribofuranosen*. Angewandte Chemie. 1979, 91, 497-499.
- (79) R. R. Schmidt, J. Michel. *Direct o-glycosyl trichloroacetimidate formation, nucleophilicity of the anomeric oxygen atom*. Tetrahedron Letters. 1984, 25, 821-824.
- (80) H. J. Bestmann, J. Lienert, L. Mott. *Reaktionen von Triphenylphosphin sowie dessen Hydrobromid und Dibromid, IV1) Reaktionen zwischen Triphenylphosphin-dibromid und substituierten Säureamiden*. Liebigs Annalen der Chemie. 1968, 718, 24-32.
- (81) G. Grundler, R. R. Schmidt. *Glycosylimidate, Anwendung des Trichloracetimidat-Verfahrens auf 2-Azidoglucose- und 2-Azidogalactose-Derivate*. Liebigs Annalen der Chemie. 1984, 1984, 1826-1847.

- (82) M. Miyashita, A. Yoshikoshi, P. A. Grieco. *Pyridinium p-toluenesulfonate. A mild and efficient catalyst for the tetrahydropyranylation of alcohols.* Journal of Organic Chemistry. 1977, 42, 3772–3774.
- (83) J. D. White, P. R. Blakemore, C. C. Browder, J. Hong, C. M. Lincoln, P. A. Nagorny, L. A. Robarge, D. J. Wardrop. *Total Synthesis of the Marine Toxin Polycavernoside A via Selective Macrolactonization of a Trihydroxy Carboxylic Acid.* Journal of the American Chemical Society. 2001, 123, 8593–8595.
- (84) Z. Selinger, Y. Lapidot. *Synthesis of fatty acid anhydrides by reaction with dicyclohexylcarbodiimide.* Journal of Lipid Research. 1966, 7, 174-175.
- (85) B. Neises, W. Steglich. *Einfaches Verfahren zur Veresterung von Carbonsäuren.* Angewandte Chemie. 1978, 90, 556-557.
- (86) H. Staudinger, J. Meyer. *Über neue organische Phosphorverbindungen III. Phosphinmethylderivate und Phosphinimine.* Helvetica Chimica Acta. 1919, 2, 635-646.
- (87) S. Bräse, C. Gil, K. Knepper, V. Zimmermann. *Organische Azide – explodierende Vielfalt bei einer einzigartigen Substanzklasse.* Angewandte Chemie. 2005, 117, 5320-5374.
- (88) D. E. Shalev, S. M. Chiacchiera, A. E. Radkowsky, E. M. Kosower. *Sequence of Reactant Combination Alters the Course of the Staudinger Reaction of Azides with Acyl Derivatives. Bimanes. 30.* Journal of Organic Chemistry. 1996, 61, 1689–1701.
- (89) J. Coste, D. Le-Nguyen, B. Castro. *PyBOP®: A new peptide coupling reagent devoid of toxic by-product.* Tetrahedron Letters. 1990, 31, 205-208.
- (90) K. H. Moon, P. V. Dinesh. *"BOP" as a reagent for mild and efficient preparation of esters.* Tetrahedron Letters. 1994, 35, 5603-5606.
- (91) Yamakawa, I. Ishizuka und T. *Glycoglycerolipids.* [Hrsg.] H.Wiegandt. Glycolipids. Elsevier, 1985.
- (92) M. Katsuoka, C. Ogura, H. Etoh, K. Sakata, K. Ina. *Galactosyl- and ulfoquinovosyldiacylglycerols Isolated from the Brown Algae, Undaria pinnatifida and Costaria costata as Repellents of the Blue Mussel, Mytilus edulis.* Agricultural and Biological Chemistry. 1990, 54, 3043-3044.
- (93) H. Kikuchi, Y. Tsukitani, T. Manda, T. Fujii, H. Nakanishi, M. Kobayashi, I. Kitagawa. *Marine Natural Products. X. Pharmacologically Active Glycolipids from the Okinawan Marine Sponge Phyllospongia foliascens (PALLAS).* Chemical & Pharmaceutical Bulletin. 1982, 30, 3544-3547.
- (94) R. Diskin, D. Engelberg und O. Livnah. *A Novel Lipid Binding Site Formed by the MAP Kinase Insert in p38 α .* Journal of Molecular Biology. 2008, 375, 70-79.
- (95) Lemieux, R. U. *Effects of unshared pairs of electrons and their solvation on conformational equilibria.* Pure and Applied Chemistry. 1971, 25, 527-548.

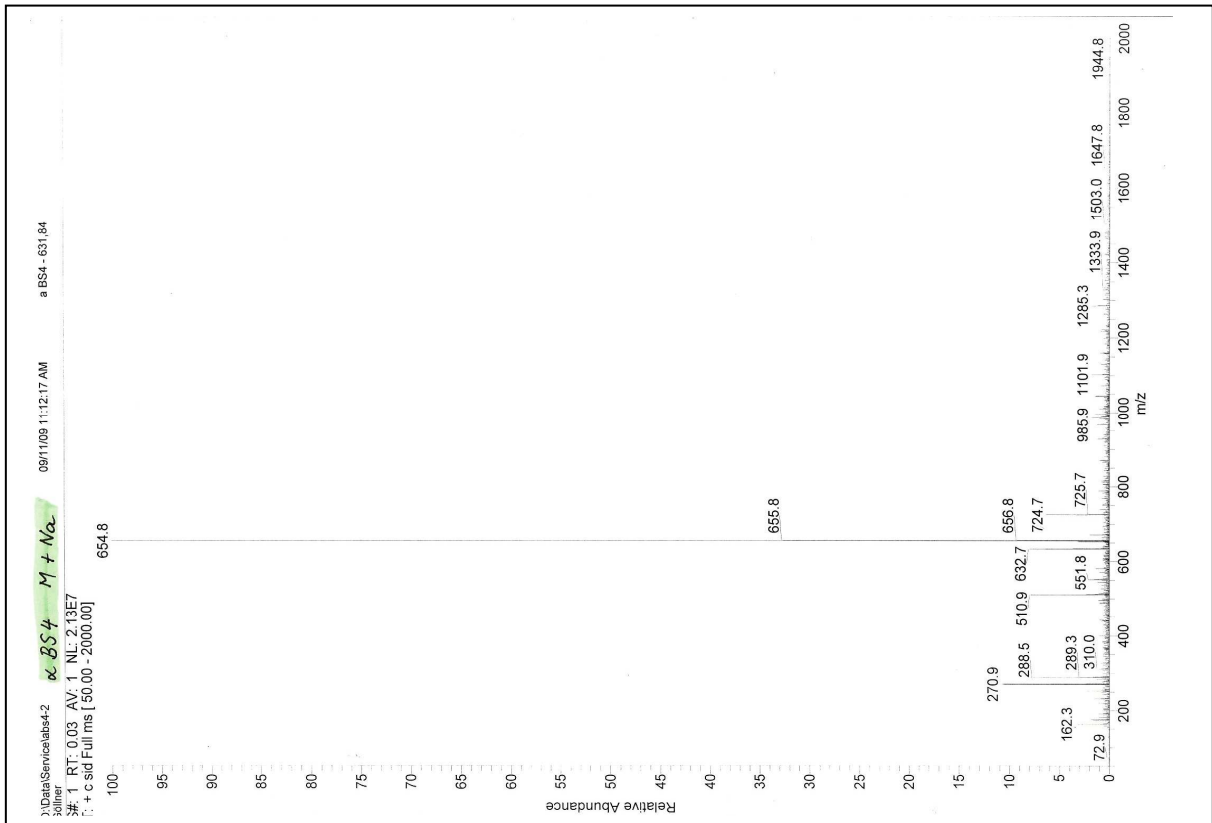
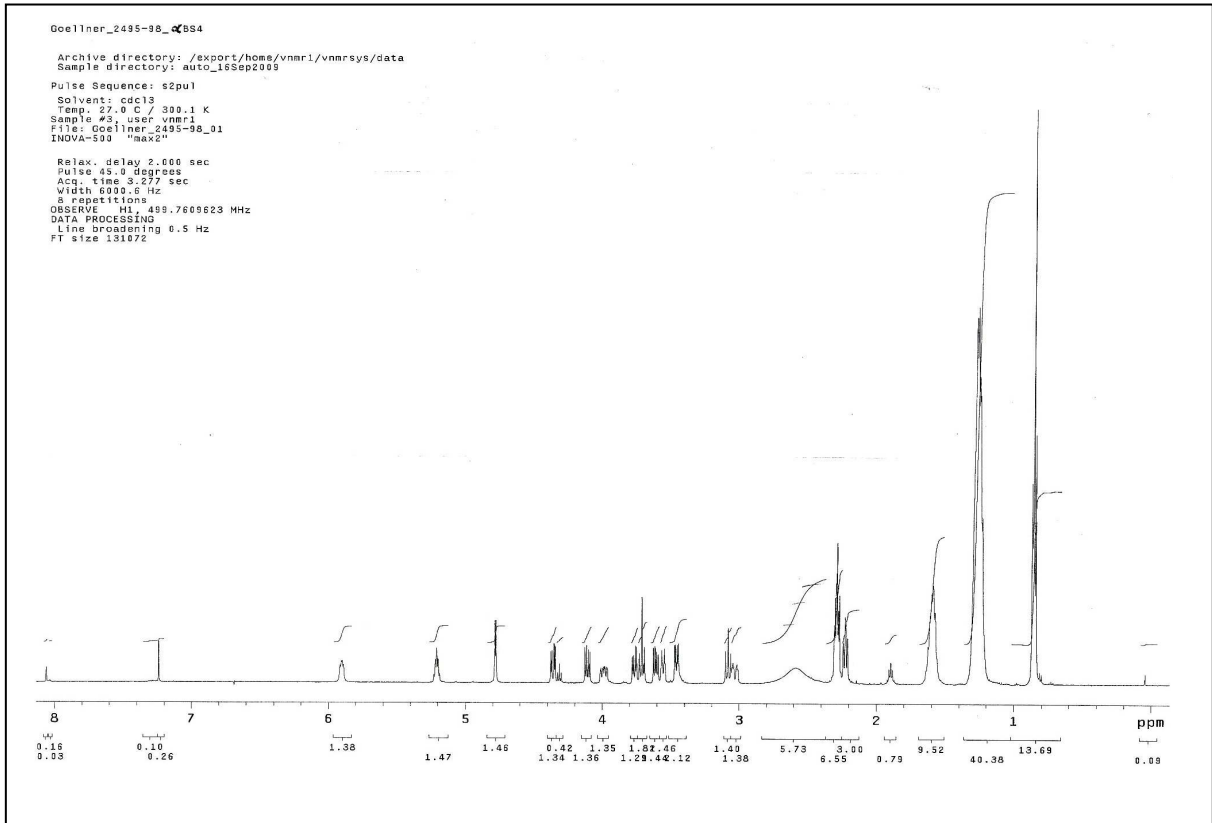
- (96) E. Juaristi, G. Cuevas. *Recent studies of the anomeric effect*. Tetrahedron. 1992, 48, 5019-5087.
- (97) G. Rücker, M. Neugebauer und G. G. Willems. *Instrumentelle pharmazeutische Analytik*. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 2001.
- (98) M. Karplus. *Contact Electron-Spin Coupling of Nuclear Magnetic Moments*. Journal of Chemical Physics. 1959, 30, 11-15.
- (99) I. Wawer, B. Diehl, U. Holzgrave. *NMR Spectroscopy in Pharmaceutical Analysis*. Elsevier Science; Auflage: 1, 2008.
- (100) H. Ma, S. Deacon, K. Horiuchi. *The challenge of selecting protein kinase assays for lead discovery optimization*. Expert Opinion on Drug Discovery. 2008, 3, 607-621.
- (101) Th. Förster. *Zwischenmolekulare Energiewanderung und Fluoreszenz*. Annalen der Physik. 1948, 437, 55-75.
- (102) K. E. Sapsford, L. Berti, I. L. Medintz. *Materialien für den resonanten Fluoreszenz-energietransfer (FRET): jenseits klassischer Donor-Acceptor-Kombinationen*. Angewandte Chemie. 2006, 118, 4676-4704.
- (103) A. Rohe, F. Erdmann, C. Bäßler, K. Wichapong, W. Sippl, M. Schmidt. *In vitro and in silico studies on substrate recognition and acceptance of human PKMYT1, a Cdk1 inhibitory kinase*. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. 2012, 22, 1219-1223.
- (104) Y. Wang, J. Li, R. N. Booher, A. Kraker, T. Lawrence, W. R. Leopold, Y. Sun. *Radiosensitization of p53 Mutant Cells by PD0166285, a Novel G2 Checkpoint Abrogator*. Cancer Research. 2001, 61, 8211-8217.
- (105) R. L. Panek, G. H. Lu, S. R. Klutchko, B. L. Batley, T. K. Dahring, J. M. Hamby, H. Hallak, A. M. Doherty, J. A. Keiser. *In Vitro Pharmacological Characterization of PD 166285, a New Nanomolar Potent and Broadly Active Protein Tyrosine Kinase Inhibitor*. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 1997, 283, 1433-1444.
- (106) M. I. Davis, J. P. Hunt, S. Herrgard, P. Ciceri, L. M. Wodicka, G. Pallares, M. Hocker, D. K. Treiber, P. P. Zarrinkar. *Comprehensive analysis of kinase inhibitor selectivity*. Nature Biotechnology. 2008, 11, 1047-1051.
- (107) M. W. Karaman, S. Herrgard, D. K. Treiber, P. Gallant, C. E. Atteridge, B. T. Campbell, K. W. Chan, P. Ciceri, M. I. Davis, P. T. Edeen, R. Faraoni, M. Floyd, J. P. Hunt, D. J. Lockhart, Z. V. Milanov, M. J. Morrison, G. Pallares, H. K. Patel, S. Pritchard. *A quantitative analysis of kinase inhibitor selectivity*. Nature Biotechnology. 2008, 26, 127-132.
- (108) K. Kristjánssdóttir, J. Rudolph. *A fluorescence polarization assay for native protein substrates of kinases*. Analytical Biochemistry. 2003, 316, 41-49.

- (109) http://tools.invitrogen.com/content/sfs/brochures/O-091089_KBA_AppNote_TypIII_Final.pdf. *Use of the LanthaScreen Eu Kinase Binding Assay for Type III kinase inhibitors*. [Online]
- (110) N.J. Wells, N. Watanabe, T. Tokusumi, W. Jiang, M.A. Verdecia, T. Hunter. *The C-terminal domain of the Cdc2 inhibitory kinase Myt1 interacts with Cdc2 complexes and is required for inhibition of G(2)/M progression*. *Journal of Cell Science*. 1999, 112, 3361-3371.
- (111) C. Göllner, C. Philipp, B. Dobner, W. Sippl, M. Schmidt. *First total synthesis of 1,2-dipalmitoyl-3-(N-palmitoyl-6'-amino-6'-deoxy- α -d-glucosyl)-sn-glycerol—a glycoacyl lipid of a marine alga with a high inhibitor activity against human Myt1-kinase*. *Carbohydrate Research*. 2009, 344, 1628-1631.
- (112) H. G. O. Becker, W. Berger und G. Domschke. *Organikum*. Deutscher Verlag der Wissenschaften, 1974.

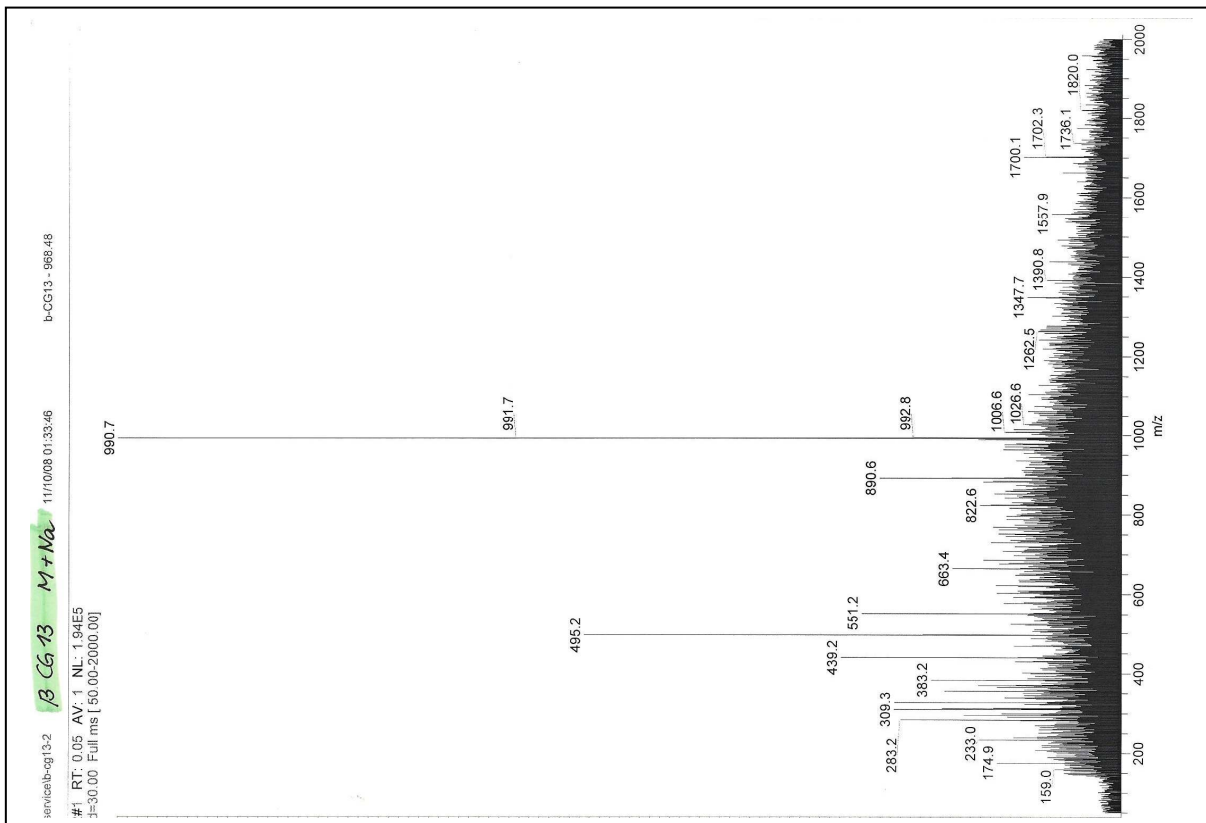
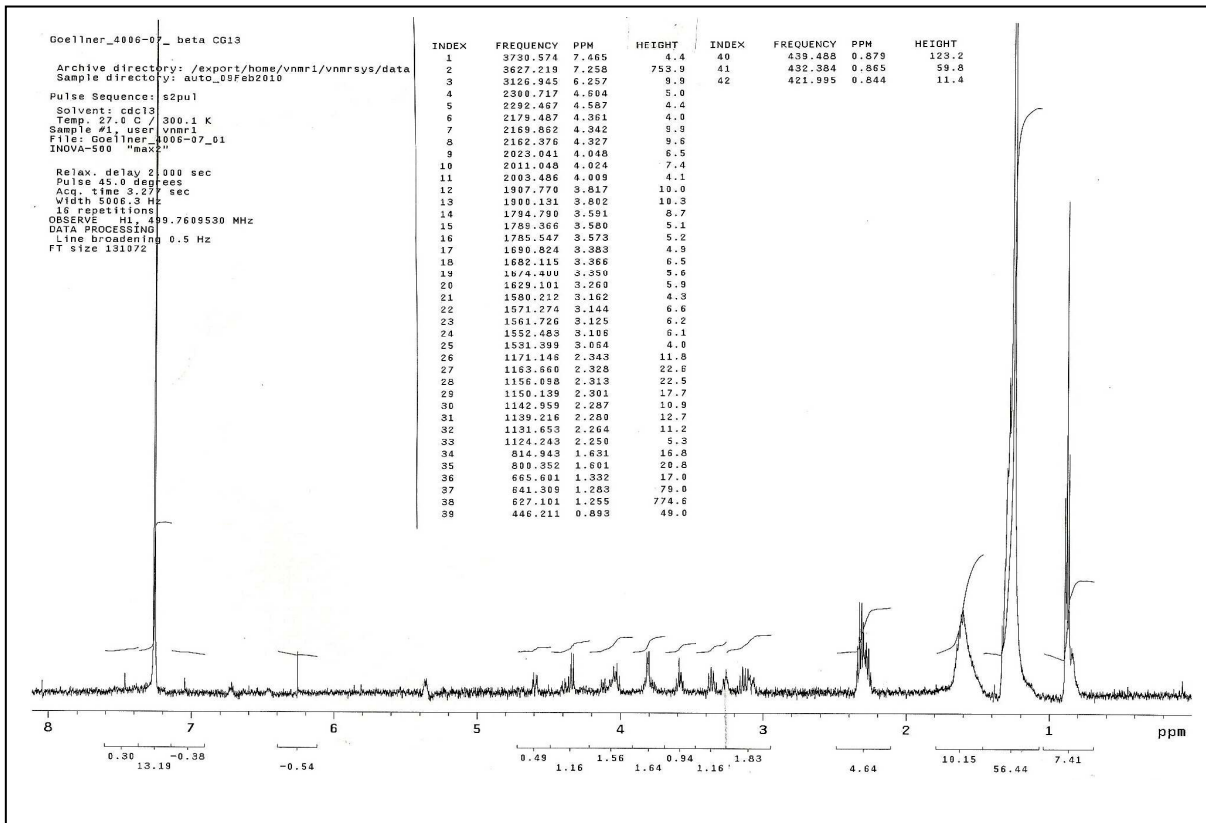
10 Anhang

¹H-NMR-Spektren und ESI-Massenspektren der Endverbindungen**1,2-Dipalmitoyl-3-(N-palmitoyl-6'-amino-6'-deoxy- α -D-glucosyl)-sn-glycerol (α 13)**

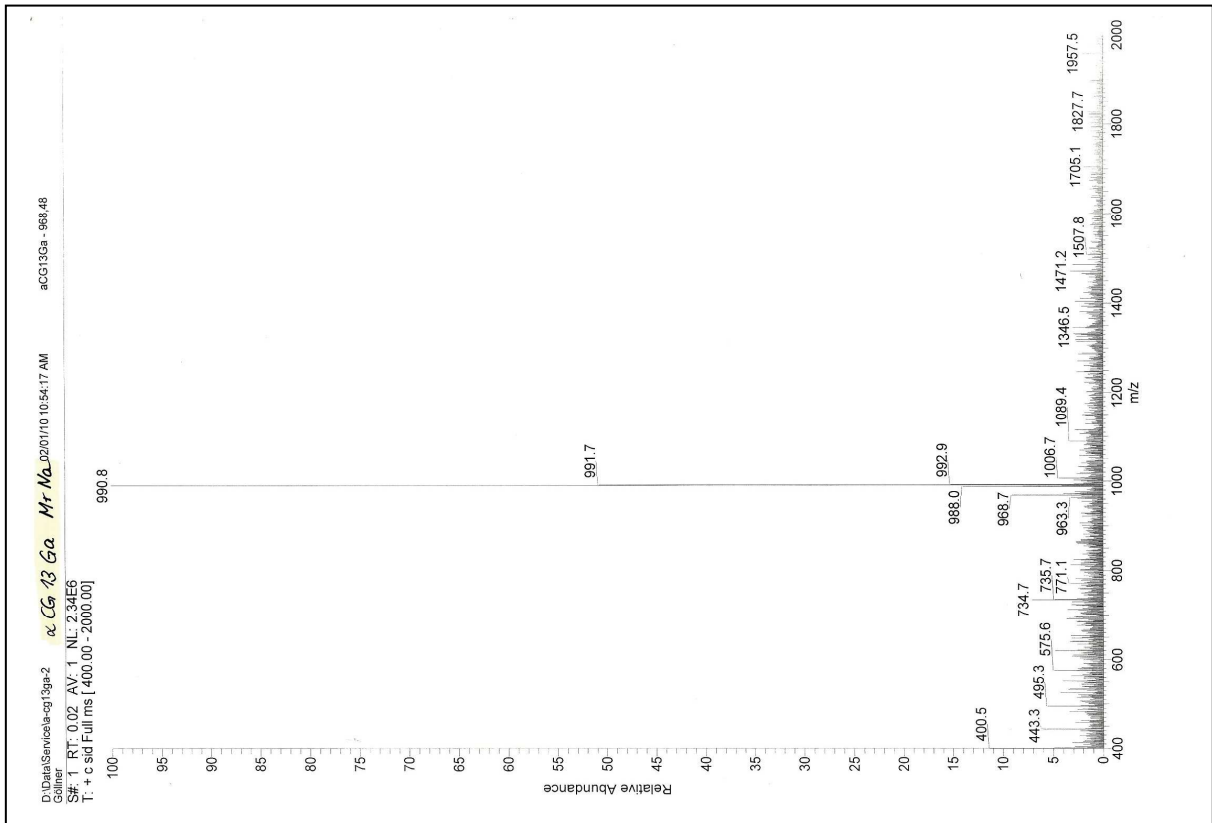
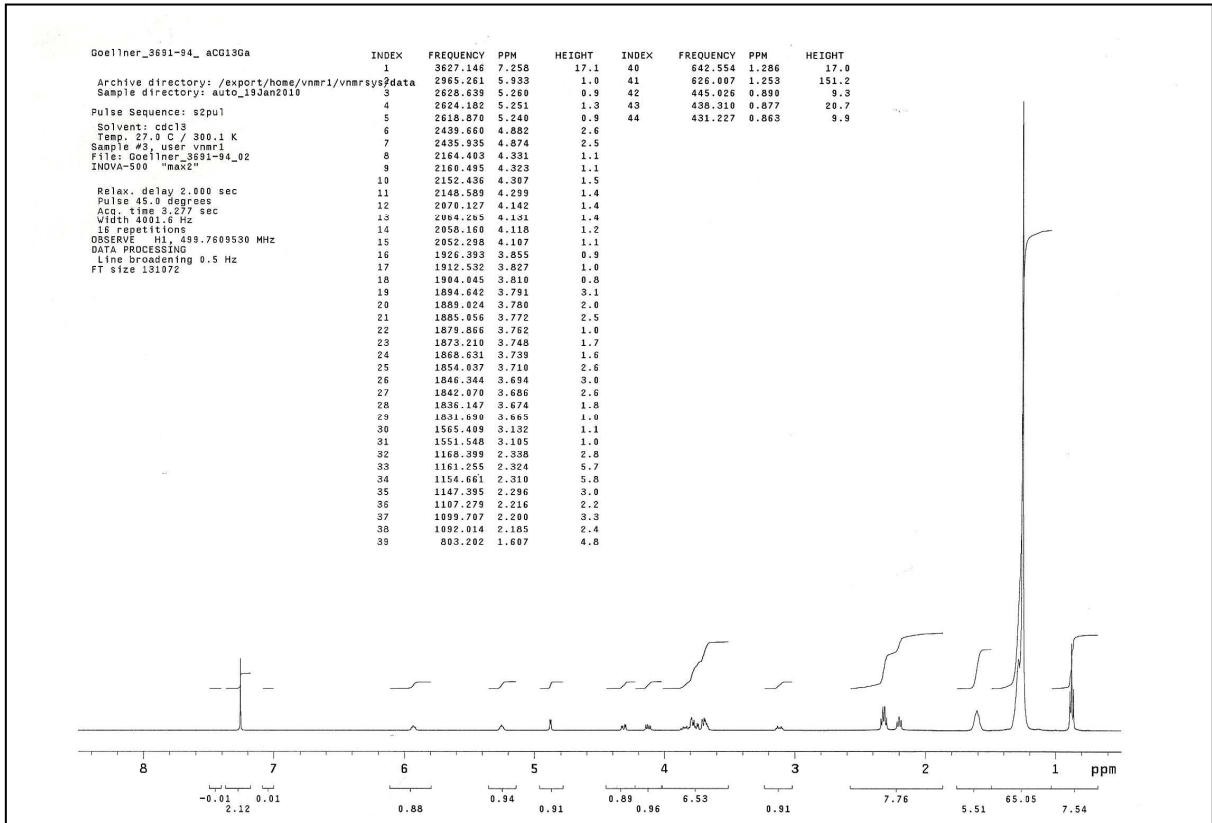
1,2-Dioctoyl-3-O-(N-octeoyl-6'-amino-6'-deoxy- α -D-glucosyl)-sn-glycerol (α 13-D8)



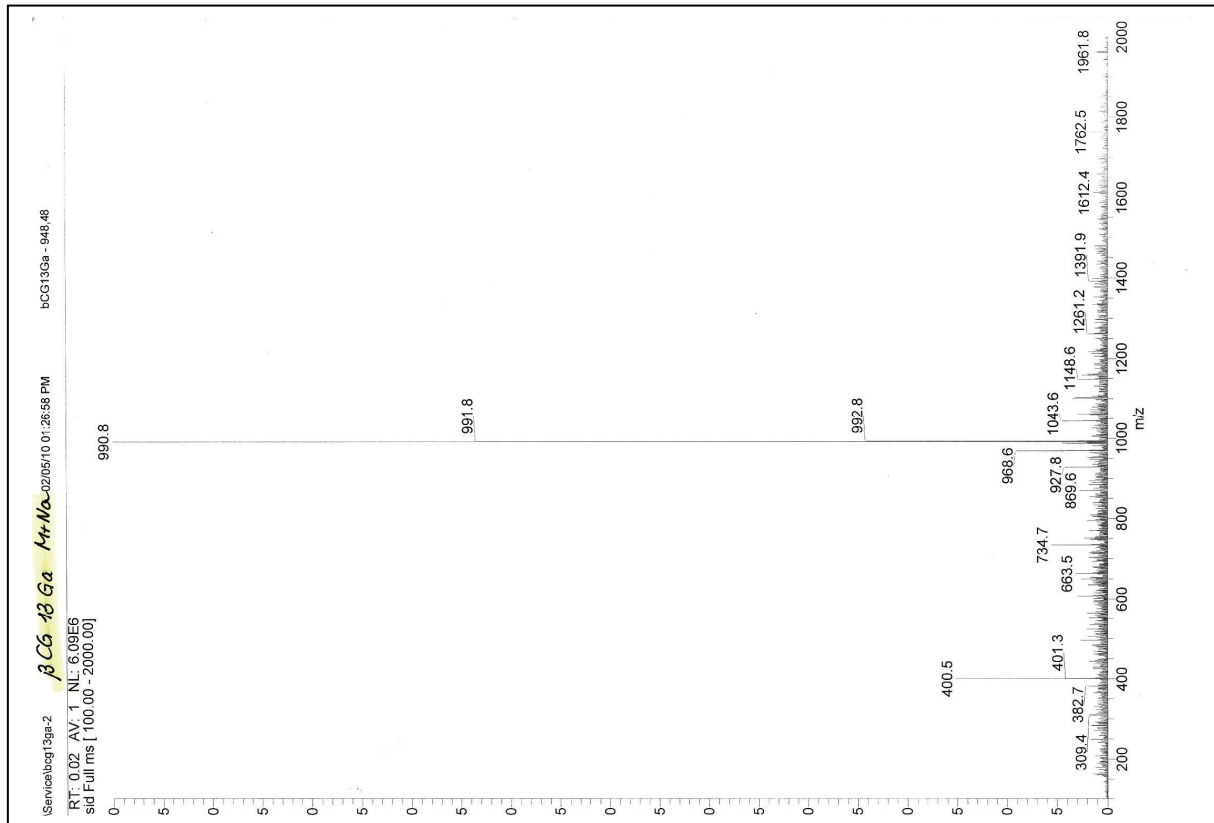
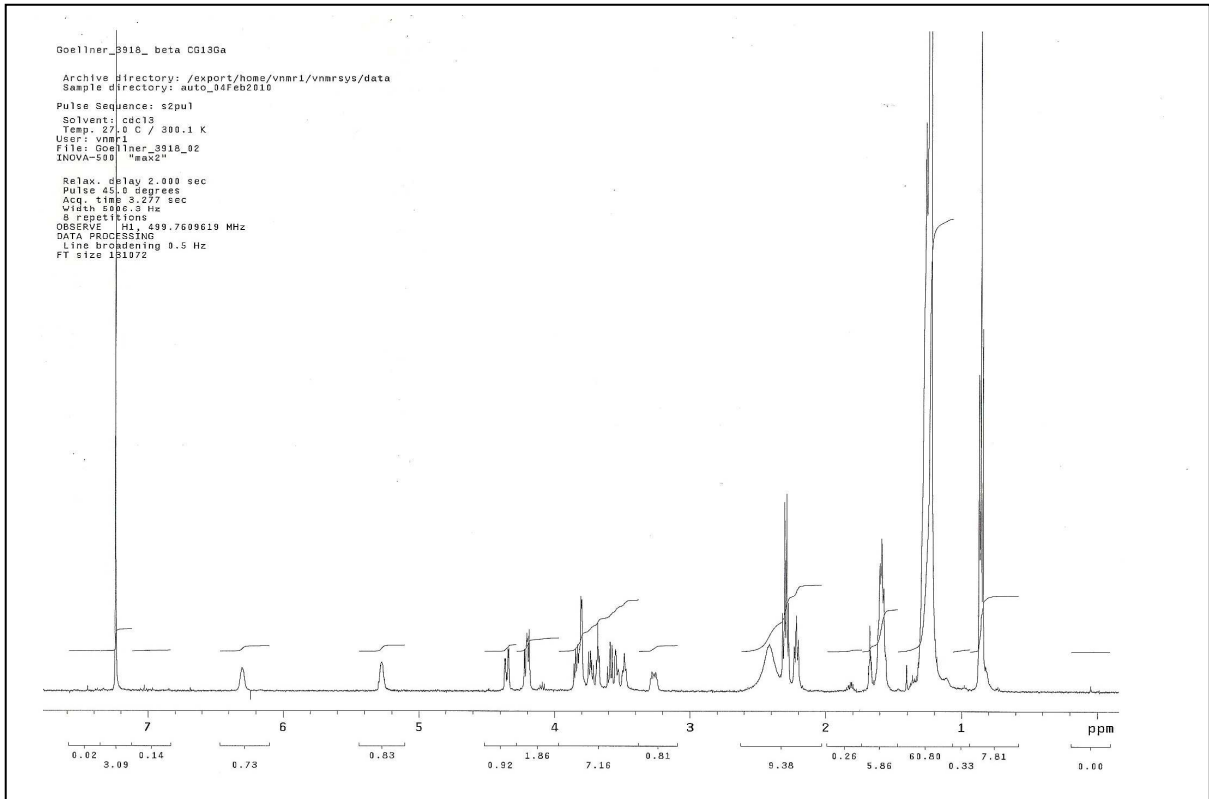
1,2-Dipalmitoyl-3-(N-palmitoyl-6'-amino-6'-deoxy-β-D-glucosyl)-sn-glycerol (B13)



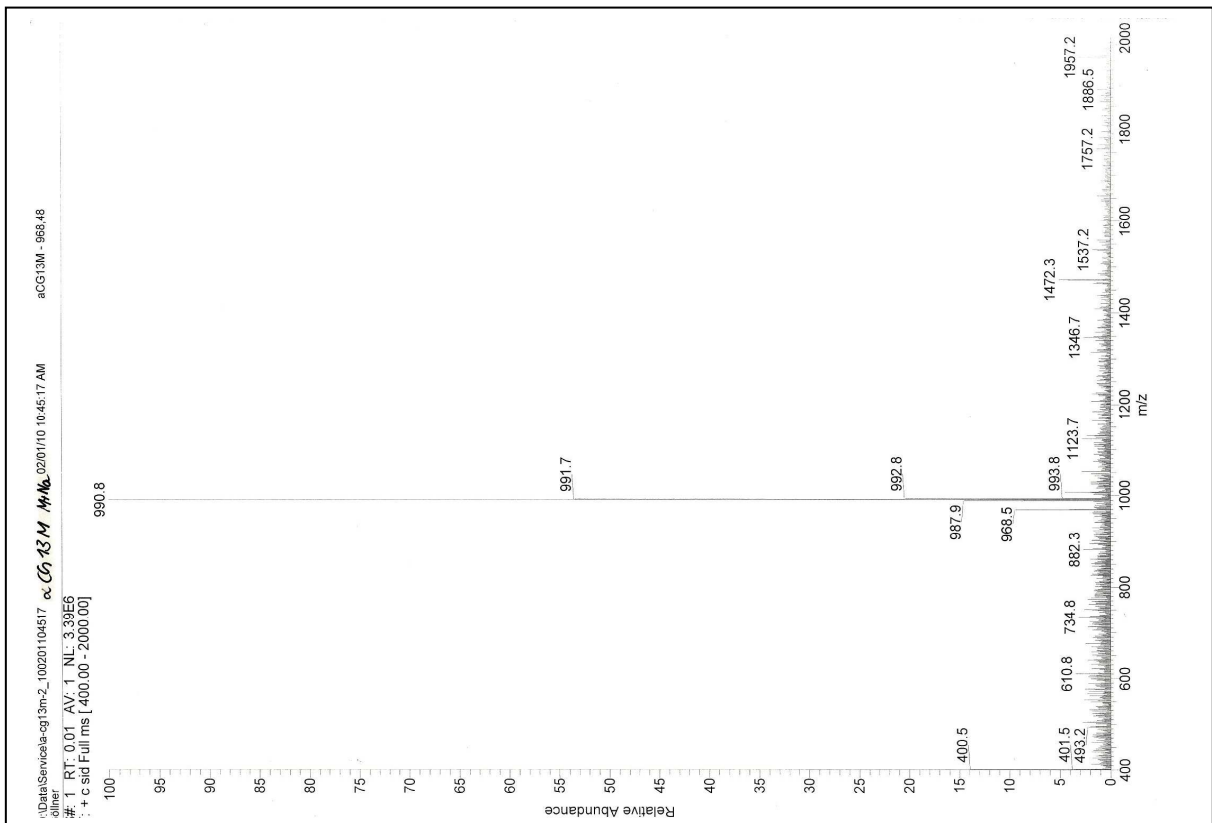
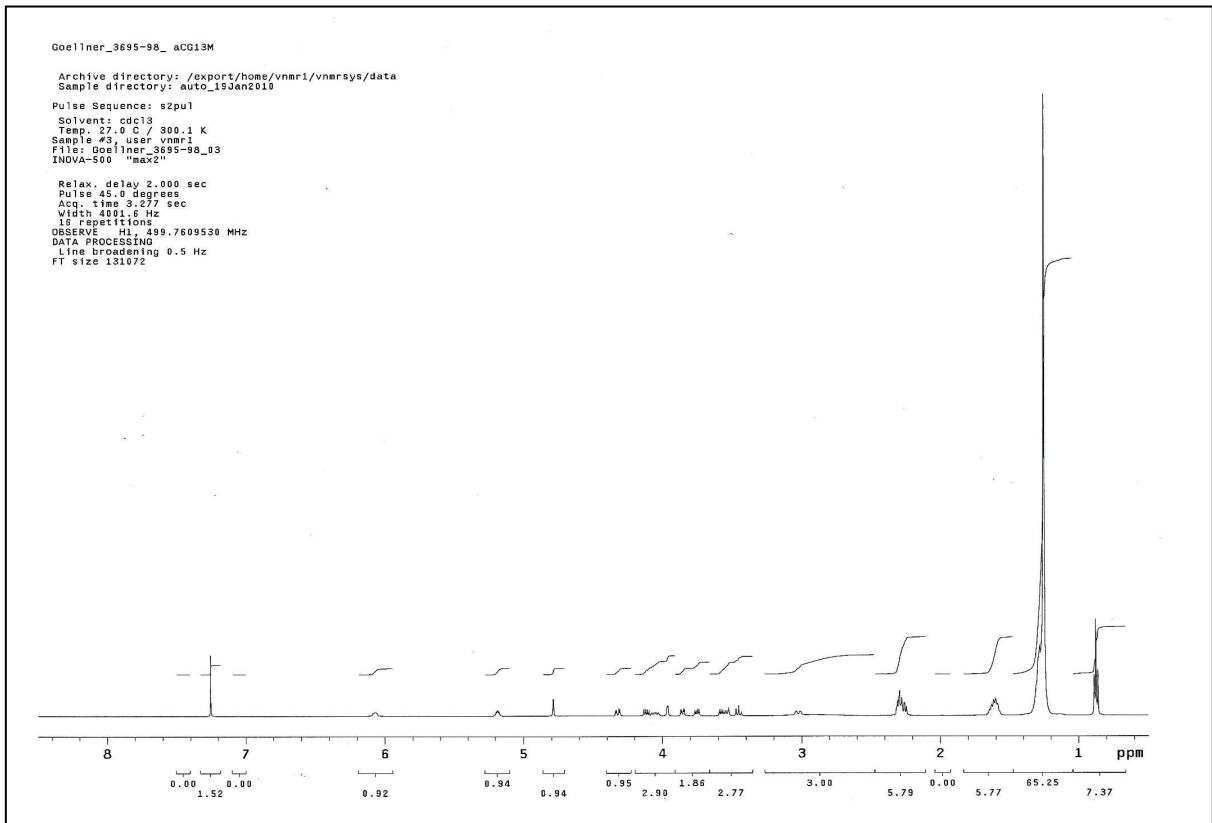
1,2-Dipalmitoyl-3-(N-palmitoyl-6'-amino- α -D-galactosyl)-sn-glycerol (α 13Ga)



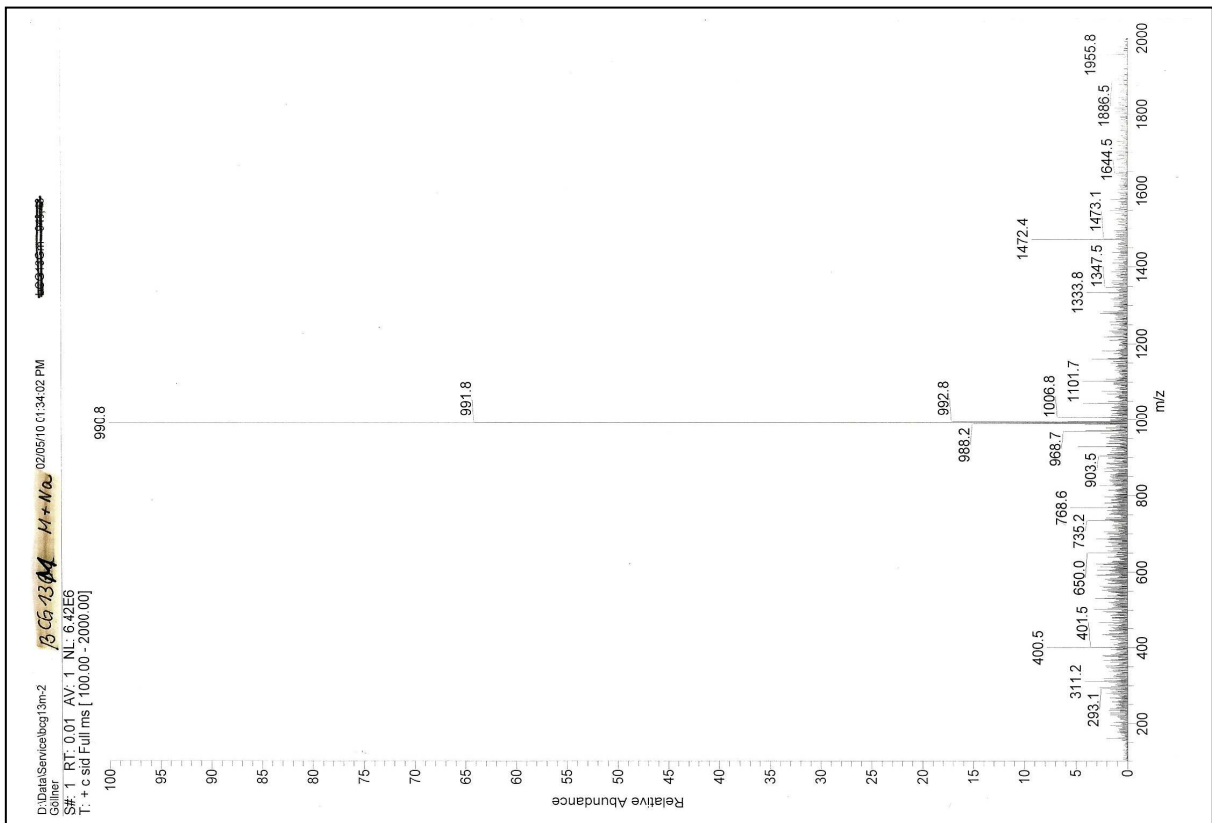
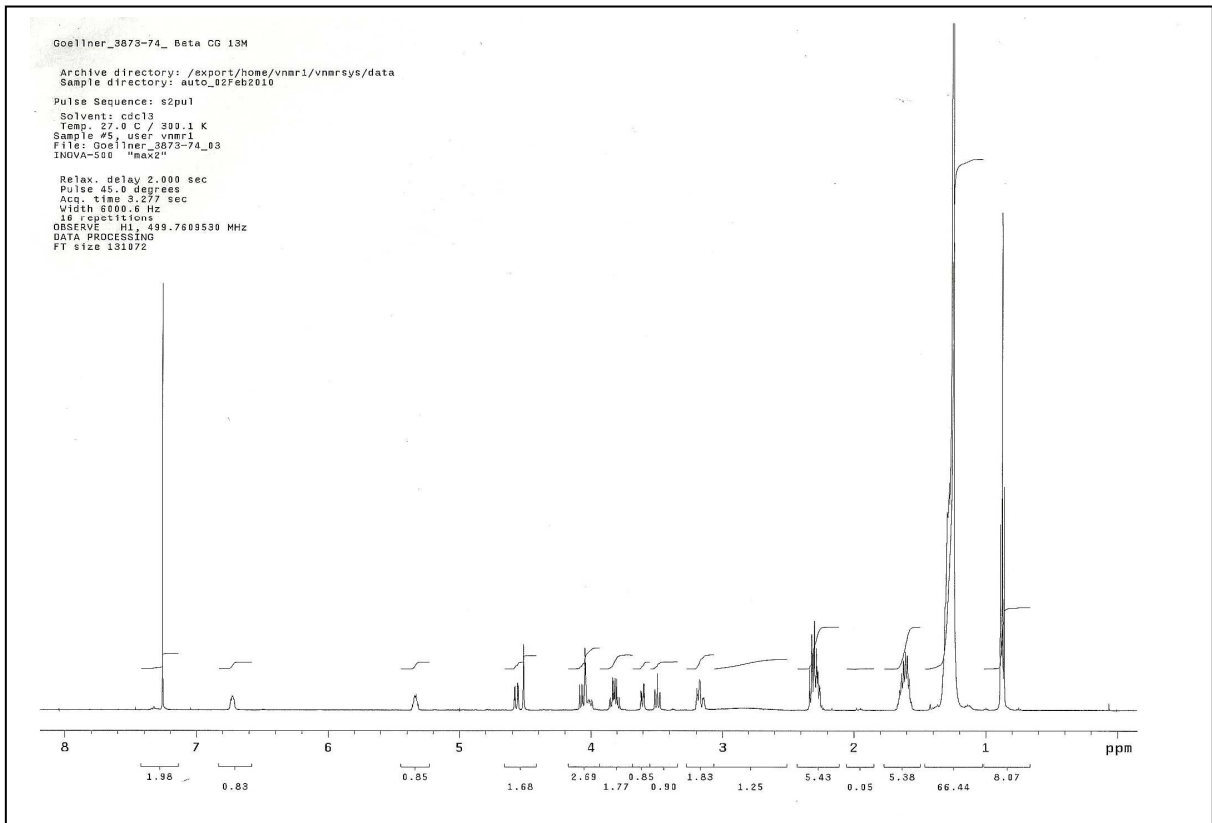
1,2-Dipalmitoyl-3-(N-palmitoyl-6'-amino-β-D-galactosyl)-sn-glycerol (B13Ga)



1,2-Dipalmitoyl-3-(N-palmitoyl-6'-amino-6'-deoxy- α -D-mannosyl)-sn-glycerol (α 13M)



1,2-Dipalmitoyl-3-(N-palmitoyl-6'-amino-6'-deoxy- β -D-mannosyl)-sn-glycerol (β 13M)



Danksagung

Die vorliegende Arbeit wäre nicht ohne die Unterstützung, den Rat und die Geduld zahlreicher Personen möglich gewesen, bei denen ich mich hiermit herzlich bedanken möchte.

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. Wolfgang Sippl für die Möglichkeit zur Anfertigung der vorliegenden Dissertationsschrift, sowie die Überlassung des interessanten Themas und dessen freie Gestaltungsmöglichkeit.

Meinen unmittelbaren Betreuer, Herrn Dr. Matthias Schmidt, danke ich besonders für seine fortwährende, freundliche Betreuung, den zahlreichen wertvollen Tipps, praktischen Ratschlägen, aufmunternden Worten und seiner Engelsgeduld.

Herrn Prof. Dr. Bodo Dobner für seine fachliche Kompetenz und immerwährende Hilfsbereitschaft.

Weiterhin danke ich Frau Prof. Dr. Andrea Sinz und deren gesamte Arbeitsgruppe sowie Frau Woigk für die schnelle und sorgfältige Anfertigung der Massenspektren, Herrn Dr. Ströhl und seinen Mitarbeitern für die Erstellung der unzähligen NMR-Spektren, Frau Brandt für die Durchführung der Elementaranalysen.

Für die biochemische Testung bedanke ich mich bei Herrn Apotheker Alexander Rohe.

Ein ganz besonderer Dank gilt meiner kleinen Arbeitsgruppe. Insbesondere meiner Kollegin und Freundin Frau Dr. Claudia Bäßler, für die gegenseitige Unterstützung auch in schwierigen Situationen nicht den Kopf zu verlieren. Apotheker Benjamin Sauer danke ich für seine tatkräftige Unterstützung bei meinen synthetischen Arbeiten.

Auch allen anderen, die hier nicht namentlich erwähnt wurden, bin ich ebenfalls zu besonderen Dank verpflichtet.

Meiner Familie und meinem Freund Stefan danke ich von ganzem Herzen, dass sie mich bei meinem Vorhaben in allen Lebenslagen unterstützt haben.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Vor- und Zuname: Christiane Göllner
Geburtsdatum/-ort: 04.09.1981/ Wolfen
Staatsangehörigkeit: deutsch
Familienstand: ledig

Schulbildung

09/1988 – 07/1992 Grundschole, Roitzsch
09/1992 – 07/2000 Europagymnasium "Walther Rathenau", Bitterfeld
mit Abschluss Abitur

Studium und Ausbildung

10/2000 – 09/2001 Studium Lehramt für Gymnasium mit Fachrichtung Chemie
und Biologie an der Universität Leipzig
10/2001 – 09/2005 Studium der Pharmazie an der Martin-Luther-Universität
Halle-Wittenberg
08/2003 Erster Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung
09/2005 Zweiter Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung
10/2005 – 03/2006 Diplomarbeit zur Erlangung des akademischen Grades:
Diplompharmazeut (Dipl. pharm.)
Martin-Luther Universität Halle-Wittenberg, Fachbereich
Pharmazie, Institut für Pharmazeutische Chemie mit dem
Thema: „Synthese und Charakterisierung neuer kationischer
Transfektionslipide“

Lebenslauf

04/2006 – 09/2006 Pharmaziepraktikantin Neue Apotheke/ Halle

12/2006 Approbation zur Apothekerin

10/2006 – 02/2010 Promotionsvorhaben am Institut für Pharmazie des Institutsbereichs für Pharmazeutische Chemie/ Abteilung Medizinische Chemie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg zum Thema:
„Neosynthese und Derivatisierung mariner Glycoglycerolipide als potentielle Inhibitoren der Myt1-Kinase“ unter Leitung von Herrn Prof. Dr. Wolfgang Sippl

Berufstätigkeit

01/2007 – 07/2009 Nebentätigkeit als Apothekerin in der „Apotheke am Händelhaus“ in Halle /Saale

seit 03/2010 angestellte Apothekerin in der „Stadt-Apotheke“ in Mühlendorf am Inn

Liste der Veröffentlichungen

Publikationen

Christiane Göllner, Claudia Philipp, Bodo Dobner, Wolfgang Sippl, Matthias Schmidt:

First total synthesis of 1,2-dipalmitoyl-3-(N-palmitoyl-6'-amino-6'-deoxy- α -d-glucosyl)-sn-glycerol—a glycoacylglycerolipid of a marine alga with a high inhibitor activity against human Myt1-kinase.

Carbohydrate Research 2009, 344, 1628-1631

Alexander Rohe, Christiane Göllner, Frank Erdmann, Wolfgang Sippl, Matthias Schmidt:

Evaluation of potential Myt1 kinase inhibitors by TR-FRET based binding assay

European Journal of Medicinal Chemistry, submitted 2012

Poster

Christiane Göllner, Claudia Philipp, Bodo Dobner, Wolfgang Sippl, Matthias Schmidt:

Neuartige Glycoacylglycerolipidderivate als potentielle Leitstrukturen für Myt1 Kinase Inhibitoren

DPhG-Tagung – Bonn 2008

Claudia Philipp, Christiane Göllner, Wolfgang Sippl, Matthias Schmidt:

Entwicklung und Vergleich biochemischer Assays zur Bestimmung der Aktivität potentieller Myt1 Kinaseinhibitoren

DPhG-Tagung – Bonn 2008

Christiane Göllner, Claudia Philipp, Bodo Dobner, Wolfgang Sippl, Matthias Schmidt:

New glycoacylglycerolipid-derivates as potential lead structures for Myt1 kinase inhibitors

DPhG-Tagung – Jena 2009

Claudia Philipp, Christiane Göllner, Hans-Herrmann Rüttinger, Wolfgang Sippl, Markus Pietzsch, Matthias Schmidt:

Generation of Myt1 kinase and development of Myt1 kinase bioassays

DPhG-Tagung – Jena 2009

Alexander Rohe, Claudia Philipp, Petar Balgarov, Christiaen Göllner, Ghassab Al-Mazaideh, Frank Erdmann, Wolfgang Sippl, Hans-Herrmann Rüttinger, Matthias Schmidt:

Development of a CE based assay for determination of human Myt1 kinase activity

DPhG-Tagung – Braunschweig 2010

Alexander Rohe, Frank Erdmann, Claudia Philipp, Ghassab Al-Mazaideh, Christiane Göllner, Wolfgang Sippl, Matthias Schmidt:

The human PKMYT1 as a target in Assay Development

DPhG-Tagung – Innsbruck 2011

Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe, als unter Verwendung der angegebenen Quellen und Hilfsmittel, angefertigt habe. Alle Stellen, die wörtlich und inhaltlich aus Veröffentlichungen oder anderen Werken entnommen sind, habe ich als solche kenntlich gemacht.

Ich versichere weiterhin, dass ich mich zu keinem früheren Zeitpunkt um den Doktorgrad beworben habe und die Dissertation an keiner anderen Universität oder Hochschule im In- und Ausland eingereicht habe.

Polling, Februar 2012

Christiane Göllner