

Martin Simon Thonhofer

C-5 Modifications in the Hexose Series

DIPLOMARBEIT

zur Erlangung des akademischen Grades

eines Diplom-Ingenieurs

der Studienrichtung Technische Chemie

an der

Technischen Universität Graz

2012

Meinen Eltern und Astrid

*„Der wahre Gebrauch der Chemie ist nicht,
Gold zu machen, sondern Arzneien zu bereiten.“*

Philippus Aureolus Theophrastus Paracelsus
(1493 – 1541)

Dank

Ich möchte mich herzlich bei Herrn Prof. Dr. Arnold Stütz für die Bereitstellung des interessanten Themas, die hervorragende Betreuung, aber auch für die sehr vielseitigen Gespräche abseits der Chemie bedanken. Lieber Arnold, ich danke dir für das Vertrauen, das du in mich gesetzt hast!

Besonderer Dank gilt auch Frau Prof. Dr. Tanja Wrodnigg die stets ein offenes Ohr für meine Probleme, egal ob chemischer oder anderer Natur, für mich hatte. Liebe Tanja, ich danke dir für die über die Jahre entstandene Freundschaft!

Natürlich gilt auch mein Dank der gesamten Glycogroup. Allen langjährigen Laborkollegen sei an dieser Stelle für die lustigen Zeiten gedankt. Dabei ist sicherlich DI Uwe Groß besonderes zu erwähnen und nicht zuletzt mein „Diplomarbeit-Mitstreiter“ Patrick Kosmus.

Weiters möchte ich mich bei meinen „Glyco-Mentoren“ Dr. Andreas Steiner, besser bekannt als „Stone“, und Dr. Georg Schitter, seinerseits „Schorsch“ genannt, bedanken! Lieber Stone, danke, dass du in mir die Begeisterung und die Faszination für die Kohlenhydratchemie entfachen konntest. Bei Georg möchte ich mich für all das bedanken, was wir in vielen Jahren gemeinsam im Labor durchgemacht und überstanden haben. Aber auch abseits der Arbeit habe ich die Zeit mit Euch sehr genossen, dabei ist oft auch ein Bier geflossen...

Großer Dank gilt auch meinen anderen Institutskollegen, die mich zu jeder Zeit unterstützt haben und ohne die so manches Problem bei HPLC-Messungen nicht so schnell gelöst worden wäre. Dabei sei speziell Frau Dr. Jana Rentner erwähnt, aber auch Dipl.Chem. Martin Peters und Dr. Gernot Strohmeier. Weiters möchte ich Herrn Peter Plachota und Herrn Peter Urdl meinen Dank aussprechen. Man sollte immer einen guten Mechaniker haben, sei es für Computer, als auch für Vakuumpumpen...

Bei Herrn Prof. Dr. Rolf Breinbauer bedanke ich mich recht herzlich für die Finanzierung meiner Diplomarbeit. Bei Frau Carina Illaszewicz-Trattner und Herrn Prof. Dr. Jörg Weber bedanke ich mich für die Hilfe bei der Aufnahme und der Interpretation mancher NMR-Spektren.

Lieber Uwe, mein „Herr Prof.“, ich danke dir für deine zahlreichen Aufmunterungsversuche! Du warst zu jeder Zeit für mich da und bist mir über die Jahre ein wahrer Freund geworden. Doch vor allem möchte ich dir für die unzähligen Stunden außerhalb des Labors, in denen doch nur wieder über die Chemie gescherzt wurde, danken.

Meiner großen Liebe Astrid gebührt unendlicher Dank! Danke Astrid, dass du zu jeder Zeit so viel Verständnis für mich und meine „Affäre“ mit der Chemie aufgebracht hast. Du warst immer für mich da und hast mir auch durch schwärzeste Zeiten geholfen.

Der größte Dank gilt jedoch meinen Eltern, die mir nicht nur das Studium ermöglichten, sondern über all die Jahre hinter mir standen und niemals das Vertrauen in mich verloren haben. Auch meinem Bruder Bernhard sei in diesem Zusammenhang gedankt, besonders für die gemeinsame Zeit im Studentenheim.

EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG

Ich erkläre an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst, andere als die angegebenen Quellen/Hilfsmittel nicht benutzt, und die den benutzten Quellen wörtlich und inhaltlich entnommene Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am

.....

(Unterschrift)

Englische Fassung:

STATUTORY DECLARATION

I declare that I have authored this thesis independently, that I have not used other than the declared sources / resources, and that I have explicitly marked all material which has been quoted either literally or by content from the used sources.

.....

date

.....

(signature)

Kurzfassung

Iminoaldite stellen die wohl bekannteste Untergruppe der niedermolekularen, reversiblen Glycosidaseninhibitoren dar. Diese Kohlenhydrat-Analoga zeichnen sich dadurch aus, dass ihr Ringsauerstoff durch einen basischen, trivalenten Stickstoff ersetzt ist, wodurch ihre besonderen biologischen Eigenschaften erklärt werden können. Aufgrund ihrer starken Wechselwirkung mit Glycosidasen zeigen sie Aktivität gegen Tumorwachstum, Diabetes Typ II sowie lysosomale Speicherkrankheiten, wie zum Beispiel das Gaucher-Syndrom. In den letzten Jahren wurden sie auch immer häufiger als mögliche Therapieprinzipien bei Alzheimers bzw. Parkinsons Krankheit genannt. Als Folge seiner hervorragenden Wirkung gegen β -Glucosidasen nimmt Isofagomin einen wichtigen Platz in der Entwicklung neuartiger Therapiemöglichkeiten gegen diese Krankheiten ein. In diesem Zusammenhang erlangen auch dessen Derivate eine immer größer werdende Bedeutung, nicht zuletzt weil 6-C-Nonyl-Isofagomin der bis dato stärkste bekannte Inhibitor von β -Glucosidasen ist. Daher sollten in dieser Arbeit essentielle Reaktionsschritte eines neuartigen Synthesekonzepts für Isofagomin und der dadurch eröffnete Zugang zu C-6 derivatisierten Analoga untersucht werden.

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	10
1.1 Kohlenhydrate	10
1.1.1 Aldosen.....	11
1.1.2 Oligo- und Polysaccharide	12
1.2 Glycosylasen	13
1.2.1 Glycosylhydrolasen.....	13
1.3 Glycosidaseninhibitoren	16
1.3.1 Nicht reversible Glycosidaseninhibitoren	16
1.3.2 Reversible Glycosidaseninhibitoren	17
1.4 Iminozucker	18
1.5 Glycosphingolipide.....	21
1.5.1 Glycosphingolipidabbau	22
1.6 Lysosomale Speicherkrankheiten	24
1.6.1 Therapiemöglichkeiten.....	25
1.6.1.1 Enzyersatztherapie.....	25
1.6.1.2 Substratreduktionstherapie	25
1.6.1.3 Knochenmarktransplantation	25
1.6.1.4 Chaperontherapie	26
1.7 Glycosphingolipide im Gehirn.....	29
1.8 Isofagomin	30
2 Problemstellung	34
3 Durchführung	38
3.1 Darstellung der Edukte für die C-C-Knüpfung	38
3.2 Varianten der Kohlenstoffkettenverzweigung	39
3.2.1 Kettenverzweigung über S_N2 -Reaktionen.....	40
3.2.1.1 Variante 1	40
3.2.1.2 Variante 2	41
3.3 Kettenverzweigung über eine Nitroaldol-Reaktion.....	44
3.4 Kettenverzweigung über Phosphorreagenzien	46

3.4.1 Wittig-Reaktion	47
3.4.1.1 Variante 1	47
3.4.1.2 Variante 2	47
3.4.2 Horner-Wadsworth-Emmons-Reaktion	49
3.4.2.1 Variante 1	49
3.4.2.2 Variante 2	56
3.4.3 Weitere Umsetzungen	57
3.4.3.1 Weitere Umsetzungen der dargestellten Cyanide.....	57
3.4.3.2 Weitere Umsetzungen der dargestellten Ester	58
3.4.4 Weitere Syntheseschritte:.....	60
4 Zusammenfassung und Ausblick	64
5 Experimenteller Teil	65
5.1 Analytik	65
5.1.1 Chromatographie	65
5.1.2 NMR-Spektroskopie	66
5.2 Dargestellte Produkte.....	66
6 Anhang.....	77
7 Literaturverzeichnis.....	84
8 Lebenslauf	87
9 Publikationsliste	88

Tabelle verwendeter Abkürzungen
--

Organische Reste			
-------------------------	--	--	--

Bn	Benzyl-	Me	Methyl-
Et	Ethyl-	THP	(Tetrahydro-2 <i>H</i> -pyran-2-yl)-

Allgemeine			
-------------------	--	--	--

[α] _D ²⁰	spezifischer optischer Drehwert	NMR	Kern-Magnet-Resonanz
abs.	absolut	R _f	relative Laufstrecke am DC
DC	Dünnschichtchromatogramm	RT	Raumtemperatur
LM	Laufmittel; mobile Phase	SC	Säulenchromatographie
MM	relative Molekülmasse	ρ	Dichte

Substanzen und Lösungsmittel			
-------------------------------------	--	--	--

Ac ₂ O	Essigsäureanhydrid	HCl	Salzsäure
AcOH	Essigsäure	IR-120	stark saurer Ionentauscher
BnBr	Benzylbromid	LDA	Lithiumdiisopropylamid
Bu ₄ NCN	Terabutylammoniumcyanid	Me ₂ SO ₄	Dimethylsulfat
Bu ₄ NF	Tetrabutylammoniumfluorid	MeCN	Acetonitril
C	Cyclohexan	MeNO ₂	Nitromethan
CH ₂ Cl ₂	Dichlormethan	MeOH	Methanol
DHP	3,4-Dihydro-2 <i>H</i> -pyran	MsCl	Methansulfonsäurechlorid
DIBALH	Diisobutylaluminiumhydrid	NaBH ₄	Natriumborant
DIPNH	Diisopropylamin	NaH	Natriumhydrid
DMAP	4-(Dimethylamino)-pyridin	NaHCO ₃	Natriumhydrogencarbonat
DMF	Dimethylformamid	NaIO ₄	Natriumperiodat
DMSO	Dimethylsulfoxid	NaOH	Natriumhydroxid
EE	Essigsäureethylester	n-BuLi	n-Butyllithium
Et ₂ O	Diethylether	OxCl	Oxalsäuredichlorid
Et ₃ N	Triethylamin	<i>p</i> TSA	<i>para</i> -Toluolsulfonsäure
EtOH	Ethanol	Pyr	Pyridin
H ₂ O	Wasser	<i>t</i> -BuOK	Kalium- <i>tert</i> -Butylat
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid	Tf ₂ O	Trifluormethansäureanhydrid
H ₂ SO ₄	Schwefelsäure	THF	Tetrahydrofuran

1 Einleitung

1.1 Kohlenhydrate

Die für das folgende Kapitel 1.1 herangezogenen Informationen stammen aus einschlägigen Lehrbüchern und anderen allgemein zugänglichen Quellen.^{1,2,3}

Historisch betrachtet wurden nur die in der Natur weit verbreiteten Polyhydroxyaldehyde und Polyhydroxyketone, sowie höhermolekulare Verbindungen, welche sich durch Hydrolyse in solche Moleküle überführen lassen, als Kohlenhydrate bezeichnet. Grundsätzlich setzen sie sich aus Kohlenstoff, Wasserstoff und Sauerstoff im Verhältnis 1:2:1 zusammen. Der Begriff „Kohlenhydrate“ wurde erstmals 1844 von Carl Schmidt eingeführt und wird verständlicher, wenn man die für diese Verbindungen allgemein gültige Summenformel $C_n(H_2O)_n$ angibt. Bei dieser Stoffklasse handelt es sich somit formal um „Hydrate des Kohlenstoffes“.

Heute ist diese Definition jedoch nicht mehr gültig, da viele natürlich vorkommende Kohlenhydrate, wie zum Beispiel Rhamnose ($C_6H_{12}O_5$), nicht dem genannten Verhältnis von Kohlenstoff, Sauerstoff und Wasserstoff entsprechen. Weiters muss an dieser Stelle erwähnt werden, dass zahlreiche Verbindungen, wie zum Beispiel Essigsäure ($C_2H_4O_2$) oder Milchsäure ($C_3H_6O_3$) existieren, die die gleiche Summenformel, jedoch wesentlich andere Eigenschaften, als die zu den Kohlenhydraten gezählten Verbindungen, besitzen. Außerdem gibt es eine große dieser, die neben den erwähnten auch andere Elemente, wie zum Beispiel Stickstoff oder Schwefel, in ihrer Struktur enthalten.

Die monomeren Polyhydroxyaldehyde oder Polyhydroxyketone bzw. deren Derivate nennt man Monosaccharide, ihre Di- bis etwa Dekamere heißen Oligosaccharide und die makromolekularen Kohlenhydrate nennt man Polysaccharide. Häufig werden Monosaccharide und Oligosaccharide als „Zucker“ zusammengefasst und den Polysacchariden gegenübergestellt. Dies hat eine gewisse Berechtigung, da die niedermolekularen Kohlenhydrate meist wasserlösliche, kristalline Verbindungen mit definiertem Molekulargewicht sind, während Polysaccharide, wie die meisten Polymere, kein einheitliches Molekulargewicht haben, sich außerdem nur schlecht bis gar nicht in Wasser lösen und praktisch geschmacksfrei sind.

Weiters lassen sich Monosaccharide auch in Abhängigkeit der Art ihrer Carbonylverbindung unterteilen. Bei Aldehyden spricht man von „Aldosen“, bei Ketonen von „Ketosen“. Darüber hinaus werden Monosaccharide aufgrund der Anzahl ihrer Kohlenstoffatome weiters in Triosen (C_3), Tetrosen (C_4), Pentosen (C_5), Hexosen (C_6), usw. unterteilt.

1.1.1 Aldosen

Aldosen entsprechen im allgemeinen der Strukturformel $\text{HO}-\text{CH}_2-(\text{CHOH})_n-\text{CHO}$, wobei für sie typisch ist, dass sie nicht in einer offenkettigen Form, sondern aufgrund der intramolekularen Reaktion des Aldehydes mit einer der Hydroxylfunktionen, unter Bildung eines Halbacetales, in einer stabileren zyklisierten Ringform vorliegen. Dieser Ringschluß soll anhand der D-Glucose in **Abbildung 1** erklärt werden. Die in der *Fischer-Projektion* dargestellte offenkettige Form der D-Glucose (**1**) ist in der Lage, stabile, in der *Haworth-Projektion* dargestellte, Fünf- bzw. Sechsringe auszubilden, je nachdem ob das Halbacetal über die Hydroxylgruppe am Kohlenstoffatom C-4 bzw. C-5 geschlossen wird. Die ebenfalls mögliche Bildung eines Siebenringes über die Hydroxylgruppe C-6 ist spontan nur dann möglich, wenn die Alkohole an C-4 bzw. C-5 in geschützter Form vorliegen, während 4-gliedrige Systeme nicht gefunden werden konnten.⁴

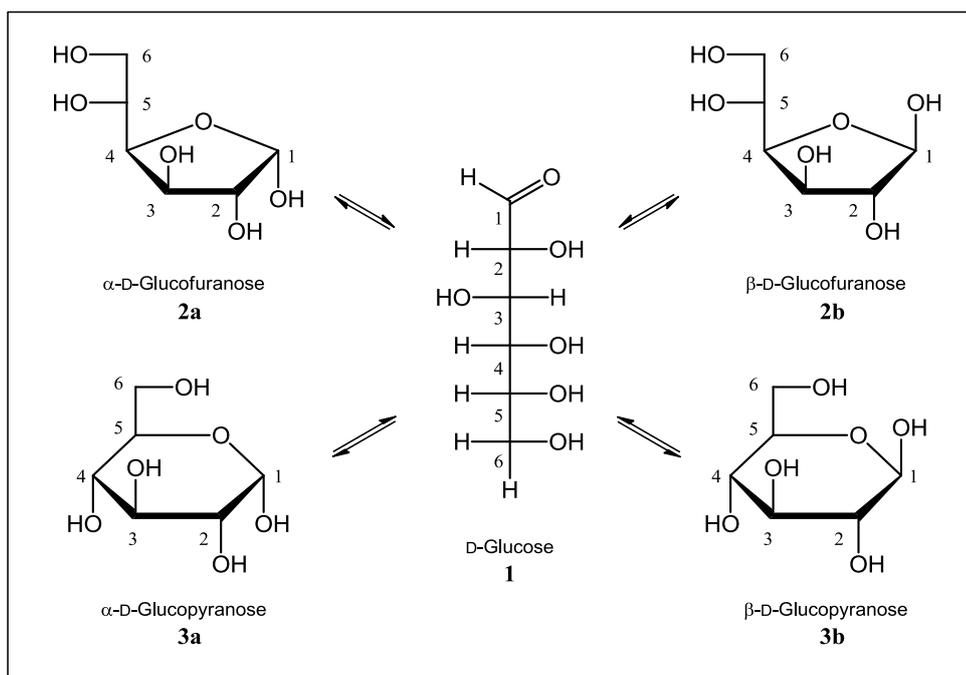


Abbildung 1: Verschiedene Formen und Darstellungen der D-Glucose.

Dabei besteht immer ein Gleichgewicht zwischen der offenkettigen (**1**) und den jeweiligen furanoiden (**2a,b**) bzw. pyranoiden (**3a,b**) Formen, wobei dieses üblicherweise stark auf der Seite der Ringe liegt. Die Bildung der Halbacetale führt zu einem neuen chiralen Zentrum am sogenannten anomeren Kohlenstoffatom. Aufgrund dessen entstehen zwei Epimere, die als α - bzw. β -Form unterschieden werden. Dabei ist zu beachten, dass diese über die offene Form miteinander im Gleichgewicht stehen (Mutarotation). Bei der D-Glucose (**1**) liegt das Verhältnis der α - und der β -Form in wässriger Lösung bei ca. 1 zu 2.^{1,3}

1.1.2 Oligo- und Polysaccharide

Bei Oligosacchariden handelt es sich um Verbindungen, die aus mindestens zwei bis zu ca. zehn Monosaccharideinheiten, welche über eine sogenannte glycosidische Bindung miteinander verknüpft sind, aufgebaut sind. Grundsätzlich gibt es zwei Arten dieser Verbindung: Einerseits können zwei Hydroxylgruppen an den jeweiligen anomeren Zentren, unter Wasserabspaltung, eine Bindung eingehen, d.h. die jeweiligen Carbonylfunktionen der beteiligten Monosaccharideinheiten bilden ein Acetal. In diesem Fall spricht man von nicht reduzierenden Zuckern. Andererseits kann diese Bindung auch von einer alkoholischen Hydroxylgruppe und der Carbonylfunktion am anomeren Zentrum gebildet werden, wodurch sogenannte reduzierende Zucker entstehen. Der Begriff „nicht reduzierend“ bzw. „reduzierend“ wird verständlicher, wenn man sich vor Augen führt, dass im Fall der nicht reduzierenden Gruppe beide Carbonylgruppen, der an der Bindung beteiligten Kohlenhydrate, als Acetale vorliegen, während in der Gruppe der reduzierenden immer eine als Halbacetal, sprich als freier Aldehyd oder Keton, vorliegt. Diese Funktionalität lässt sich oxidieren, was letzten Endes für die Namensgebung verantwortlich ist. Als Beispiel sind hier Saccharose (**4**) aus der Gruppe der nicht reduzierenden und Maltose, welche in zyklischer Form (**5a**) bzw. in der offenen Form (**5b**) dargestellt ist, als Vertreter der reduzierenden Zucker angegeben. (siehe **Abbildung 2** bzw. **Abbildung 3**)^{1,3}

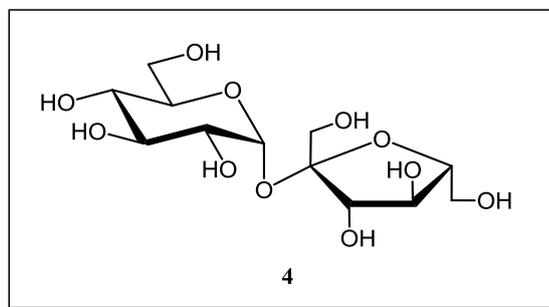


Abbildung 2: Saccharose (**4**) als Vertreter der nicht reduzierenden Zucker.

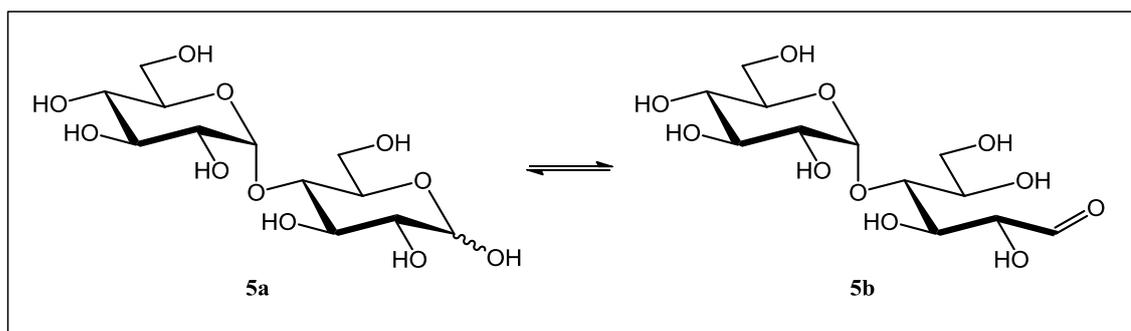


Abbildung 3: Maltose (**5a,b**) als Vertreter der reduzierenden Zucker.

In beiden Fällen kommt es zur Bildung eines Acetales, was dazu führt, dass aufgrund des sp^2 -hybridisierten Übergangszustandes, immer zwei Epimere, die α - bzw. die β -Form, bei der Bildung einer glycosidischen Bindung entstehen können. Wie wichtig dieser stereochemische Unterschied ist, soll anhand des Beispiels der D-Glucose erläutert werden. Sowohl Amylose, als auch Cellulose sind jeweils aus D-Glucoseeinheiten aufgebaut. Dennoch weisen sie gänzlich unterschiedliche Eigenschaften auf, was darauf zurück zu führen ist, dass die D-Glucoseeinheiten der Amylose (**6**) über eine α -1,4-glycosidische, bzw. die der Cellulose (**7**) über eine β -1,4-glycosidische Bindung miteinander verknüpft sind. (siehe **Abbildung 4**)

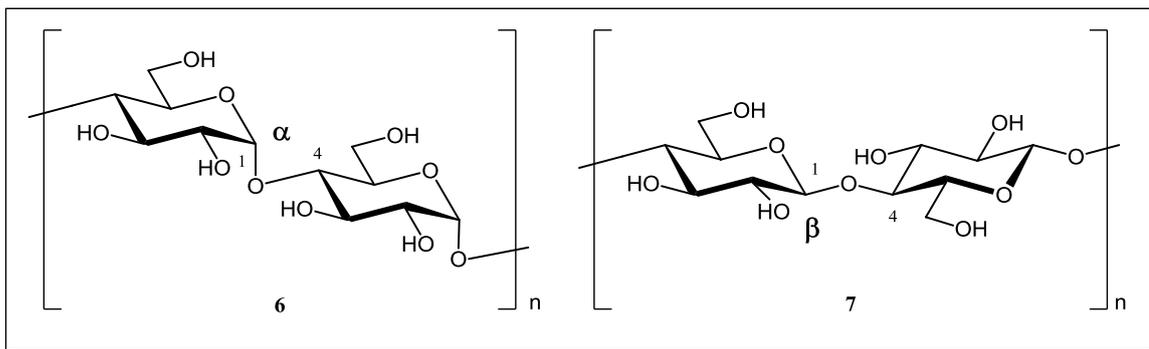


Abbildung 4: Struktur von Amylose (**6**) und Cellulose (**7**).

1.2 Glycosylasen

Glycosylasen sind Enzyme mit deren Hilfe in der Natur aktivierte Zucker sowie Glycoside und Oligosaccharide verarbeitet werden. Zu den beiden wichtigsten gehören die sogenannten Glycosylhydrolasen bzw. Glycosyltransferasen. Während die Glycosylhydrolasen für den Abbau von Kohlenhydraten zuständig sind, übertragen Glycosyltransferasen aktivierte Glycosyleinheiten auf Lipide, Proteine oder wachsende Oligo- bzw. Polysaccharidketten. Im folgenden Kapitel soll näher auf die Glycosylhydrolasen eingegangen werden.

1.2.1 Glycosylhydrolasen

Glycosylhydrolasen sind hydrolytische Enzyme, die grundlegende Bedeutung für den Stoffwechsel lebender Organismen besitzen. Sie sind in der Lage, die glycosidischen Bindungen von Kohlenhydraten zu hydrolysieren und sind somit dafür verantwortlich, dass länger-kettige Kohlenhydrate in Mono- bzw. Oligosaccharide gespalten werden.

In Abhängigkeit ihrer Funktion werden die Hydrolasen in Exoglycosidasen, die vom nicht reduzierenden Ende von Polysaccharidketten Monosaccharide abspalten, und in Endoglycosidasen, die Oligosaccharide freisetzen, eingeteilt. Wie bereits erwähnt, können am anomeren Kohlenstoff zwei Konfigurationen vorliegen. Wie alle Enzyme weisen auch Glycosylhydrolasen eine hohe Selektivität gegenüber ihrem natürlichen Substrat auf. Neben den allgemeinen möglichen Konfigurationen der Kohlenhydrateinheiten, wie zum Beispiel *D-gluco*, *D-galacto* oder *D-manno*, wird auch die Art der glycosidischen Bindung erkannt und dementsprechend hydrolysiert oder nicht. Da bei der Spaltung von Glycosiden ein sp^2 -ähnlich hybridisierter Übergangszustand (**I**) am anomeren Kohlenstoff auftritt, ist es möglich, dass die Hydrolyse unter Inversion oder Retention der Stereochemie abläuft. Als Beispiel dafür sind hier die beiden Reaktionsmechanismen der Spaltung eines β -D-Glucopyranosides (**8**) durch eine β -Glucosidase dargestellt. (siehe **Abbildung 5** und **Abbildung 6**)^{5,6}

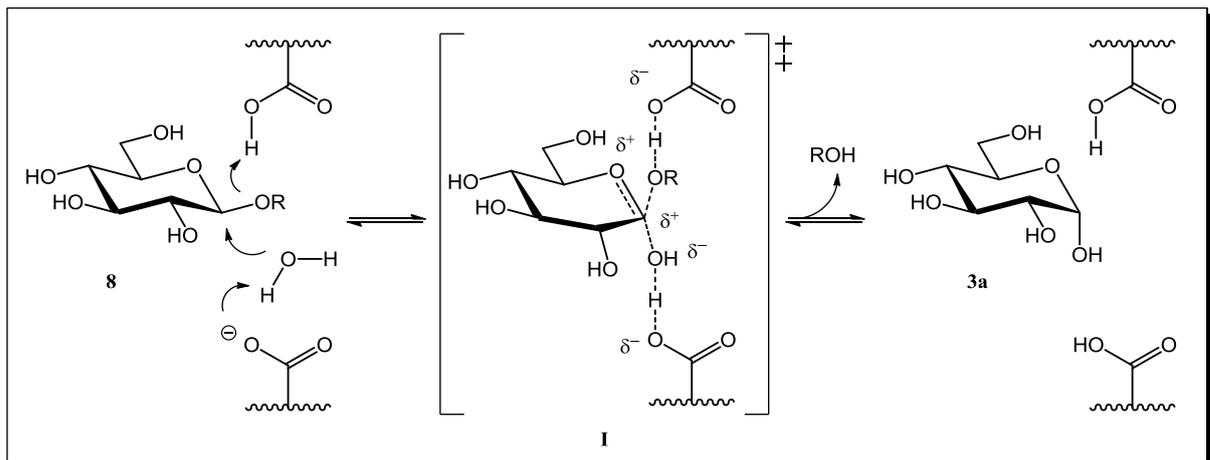


Abbildung 5: Durch eine invertierende β -Glucosidase katalysierter Hydrolysemechanismus unter Inversion der Konfiguration an C-1.

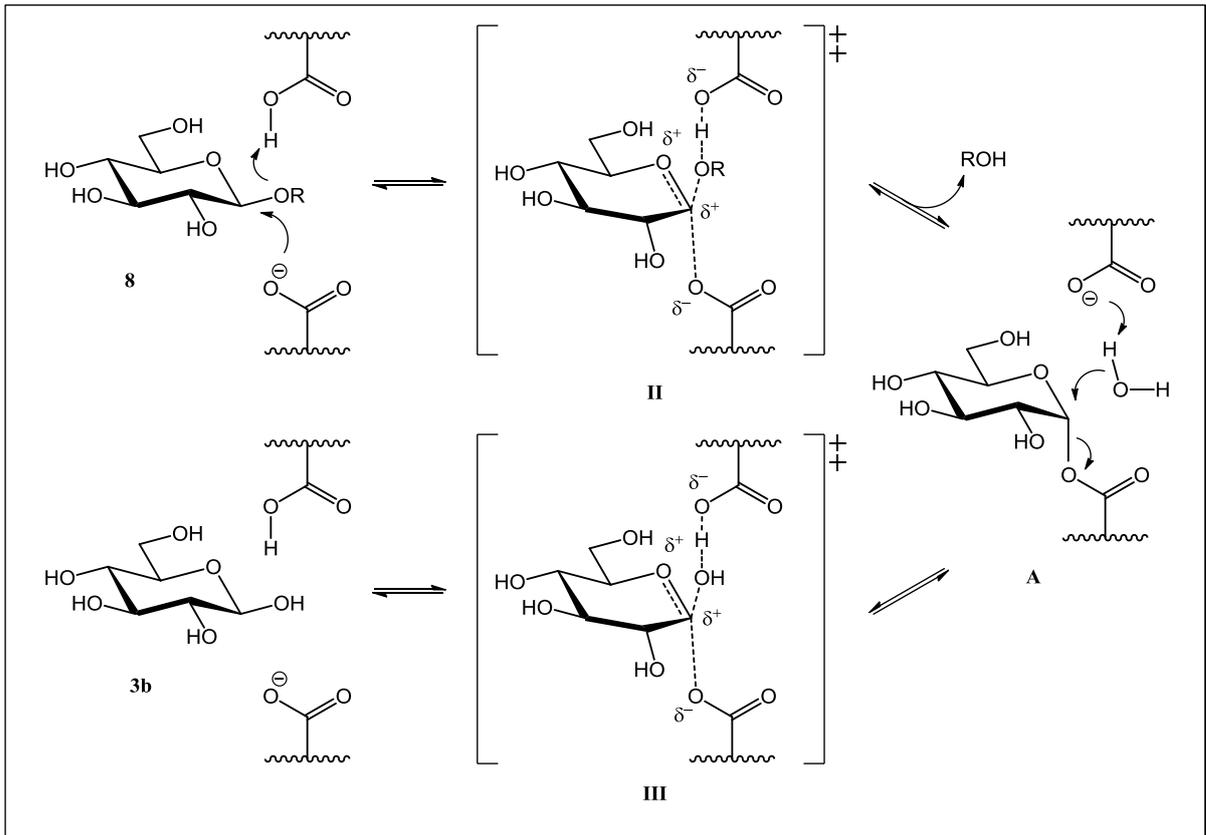


Abbildung 6: Durch eine retentierende *β-Glucosidase* katalysierter Hydrolysemechanismus unter Erhalt der Konfiguration an C-1.

Wie aus den beiden Reaktionsmechanismen zu erkennen ist, erfolgt im ersten Schritt immer ein nukleophiler Angriff am anomeren Kohlenstoff, welcher durch eine saure und eine basische Funktionalität im aktiven Zentrum des Enzyms katalysiert wird.

Bei der Hydrolyse unter Inversion verläuft die Reaktion durch direkte Substitution des Aglycons, dessen Eigenschaften als Abgangsgruppe mit Hilfe der sauren Carboxylgruppe des Enzyms erhöht werden, durch ein Nucleophil. In diesem Beispiel ist dieses Wasser, dessen Nucleophilie wiederum durch die basische Carboxylatgruppe der Glycosylhydrolase erhöht wird. Diese Substitution läuft über den bereits genannten Übergangszustand (II).

Die Hydrolyse unter Retention startet ebenfalls mit einem nukleophilen Angriff, jedoch greift in diesem Fall das Carboxylat direkt am anomeren Kohlenstoff an, wodurch es zur Ausbildung des Übergangszustandes (III) kommt. Dabei erleichtert die saure Carboxylgruppe den Austritt des Aglycons, was zur Bildung einer Glycosyl-Enzym Zwischenstufe (A) führt. Diese wird, unter Zuhilfenahme der vorhin besprochenen katalytischen Eigenschaften des Säure-Basen-Paares, erneut von einem Nucleophil, in diesem Beispiel wieder Wasser, angegriffen, wodurch es, über die Ausbildung des Übergangszustandes (III), zur Freisetzung des hydrolysierten Kohlenhydrates kommt.

Aufgrund der wichtigen physiologischen Rolle von Glycosidasen in lebenden Organismen besteht großes Interesse an Verbindungen, die in der Lage sind, diese Enzyme selektiv zu inhibieren, den sogenannten Glycosidaseninhibitoren.

1.3 Glycosidaseninhibitoren

Bei Glycosidaseninhibitoren handelt es sich um Substanzen, die in der Lage sind, mit Glycosidasen in Wechselwirkung zu treten und dadurch deren Aktivität mehr oder weniger zu verringern bzw. diese Enzyme sogar völlig zu deaktivieren. In Bezug auf ihre molekulare Masse lassen sich Glycosidaseninhibitoren in hochmolekulare, wie zum Beispiel Proteine, Glycoproteine, Polysaccharide, und in niedermolekulare Inhibitoren, wie zum Beispiel Mono- und Oligosaccharide, Alkaloide, Cyclite, einteilen. Weiters kann eine Unterteilung in reversible und nicht reversible Inhibitoren getroffen werden.

1.3.1 Nicht reversible Glycosidaseninhibitoren

Nicht reversible Glycosidaseninhibitoren deaktivieren Glycosidasen, indem sie eine kovalente Bindung in deren aktivem Zentrum ausbilden. Diese Art von Inhibitoren wird hauptsächlich zur Aufklärung von Reaktionsmechanismen herangezogen. Typische Vertreter sind zum Beispiel auf Epoxiden^{7,8} oder Aziridinen basierende Verbindungen wie Conduritol C *cis*-Epoxid (1,2-Anhydro-*epi*-inosit (**9**)) oder Conduritolaziridin (1,2-Dideoxy-1,2-epimino-*myo*-inosit (**10**)). (siehe **Abbildung 7**)

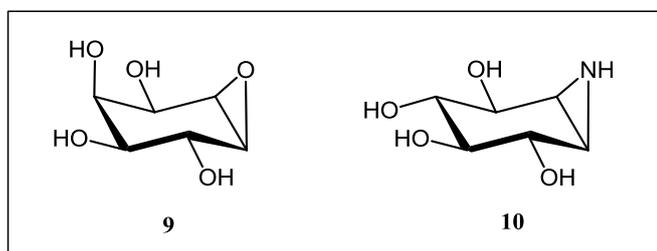


Abbildung 7: Typische Strukturen von nicht reversiblen Glycosidaseninhibitoren.

Wie bereits erwähnt, wird die Deaktivierung der Glycosidase dadurch erzielt, dass das Enzym ein substratähnliches Molekül erkennt bzw. akzeptiert und somit der erste Schritt des allgemeinen Reaktionsmechanismus, sprich, ein nukleophiler Angriff stattfindet. (Siehe dazu **Abbildung 5** bzw. **Abbildung 6**). Da dieser jedoch nicht wie bei einem natürlichen Substrat zu einem reversiblen Übergangszustand (**I** bzw. **II**), sondern aufgrund der Funktionalität im Inhibitor zur Ausbildung einer kovalenten Bindung (**V**) führt, ist das Enzym für weitere Zyklen desaktiviert. (siehe **Abbildung 8**)^{5,8}

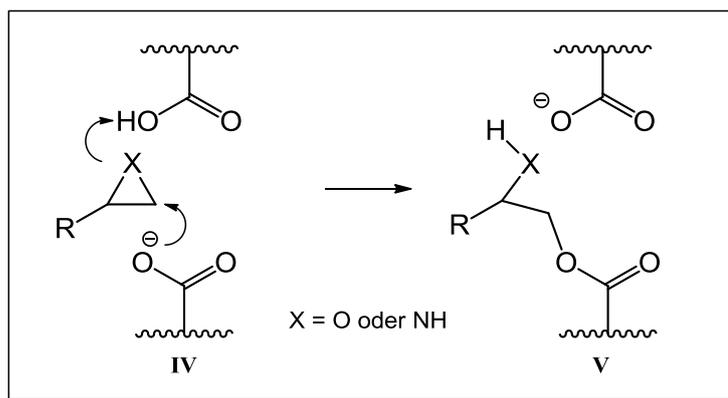


Abbildung 8: Allgemeiner Mechanismus der Deaktivierung von Glycosidasen über ein Epoxid bzw. ein Aziridin.

1.3.2 Reversible Glycosidaseninhibitoren

Bei reversiblen Glycosidaseninhibitoren ist die Inhibierung reversibel, d.h. es kommt zu keiner Ausbildung einer kovalenten Bindung im aktiven Zentrum des Enzyms. Typische Vertreter dieser Art von Inhibitoren sind zum Beispiel D-Glucono-1,5-lacton (**11**)⁹ und 5-Amino-5-desoxy-D-glucono-1,5-lactam (**12**). (siehe **Abbildung 9**)

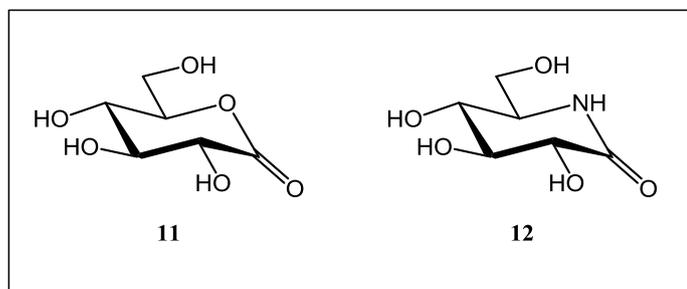


Abbildung 9: Beispiele für reversible Glycosidaseninhibitoren.

Die größte Aufmerksamkeit in dieser Verbindungsklasse wird jedoch der Untergruppe der sogenannten „basischen Zucker-Analoga“ geschenkt, deren biologische Aktivität auf ihrer großen Ähnlichkeit zu den natürlichen Substraten beruht.

Neben der Klasse der Glycosylamine¹⁰, als Beispiel sei hier β -D-Glucopyranosylamin (**13**) angeführt, und der Aminocyclite^{8,11}, welche durch (+)-Validamin (**14**) vertreten sind, (siehe **Abbildung 10**), zählen Iminozucker zu den wichtigsten dieser Substanzklasse.

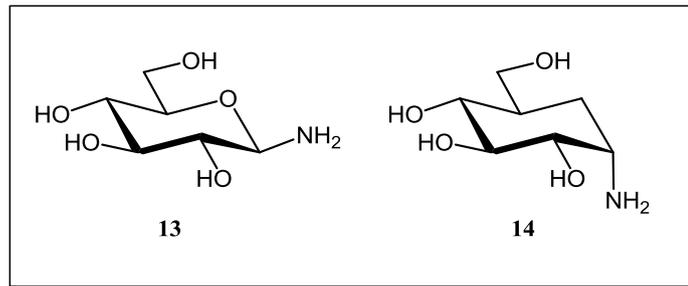


Abbildung 10: Vertreter der Glycosylamine und Aminocyclite.

1.4 Iminozucker

Iminozucker, die in der Natur in Pflanzen vorkommen bzw. von Bakterien produziert werden, sind reversible Glycosidaseninhibitoren und Zucker-Analoga, deren Ringsauerstoff durch Stickstoff ersetzt ist. Dieser Austausch ist dafür verantwortlich, dass Iminozucker basische Eigenschaften besitzen und damit ihre physiologische Wirkung erhalten. Die therapeutische Wirkung von Iminozuckern wurde bereits in der traditionellen chinesischen Medizin erkannt und erfreut sich in den letzten Jahrzehnten auch in der westlichen Medizin einer immer größer werdenden Anerkennung. Analog zu klassischen Kohlenhydraten können Iminozucker vereinfacht in furanoide, pyranoide sowie bizyklische Systeme eingeteilt werden.

Der bekannteste Vertreter der Iminozucker ist 5-Amino-5-desoxy-D-glucopyranose, welche im allgemeinen als Nojirimycin (**15**) bezeichnet wird. Das von *Streptomyces roseochromogenes* und *Streptomyces lavendulae* produzierte Antibiotikum wurde erstmals in den frühen 1960er Jahren isoliert und weckte aufgrund seiner hervorragenden Inhibierung von β -Glucosidasen großes Interesse an dieser Stoffgruppe¹². Infolge dessen konnte es als Grundsubstanz für viele weitere Derivate herangezogen werden, sei es in Bezug auf andere Konfigurationen des Kohlenhydrates, wie zum Beispiel 5-Amino-5-desoxy-D-galactopyranose, auch „Galactostatin“ (**16**)¹³ genannt, als auch für diverse Substitutionsmuster am Ring, nicht zuletzt am Stickstoff, selbst.

Ein weiterer wichtiger Vertreter dieser pyranoiden Iminozucker ist Isofagomin (**17**) (1,2,5-Trideoxy-2-hydroxymethyl-1,5-imino-D-xylit), welches genauer gesagt der Untergruppe der Isoiminozucker angehört. (siehe **Abbildung 11** bzw. vergleiche **Kapitel 1.8**)

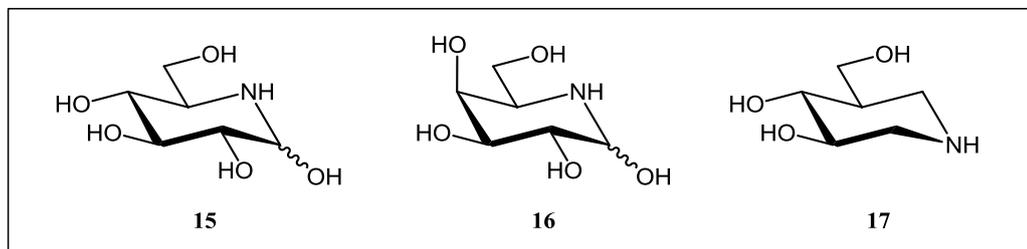


Abbildung 11: Nojirimycin (**15**), Galactonojirimycin (**16**) und Isofagomin (**17**).

Die wichtigsten Derivate des Nojirimycins (**15**) sind 1-Desoxynojoirimycin (1-DNJ) (**18**), welches erstmals von Paulsen¹⁴ synthetisiert wurde, sowie dessen am Ringstickstoff substituierte Analoga *N*-Hydroxyethyl-1-desoxynojoirimycin (**19**) und *N*-Butyl-1-desoxynojoirimycin (**20**). Ersteres ist unter dem Handelsnamen „Miglitol“ in der Behandlung von Diabetes Typ 2 bekannt.¹⁵ (siehe **Abbildung 12**).

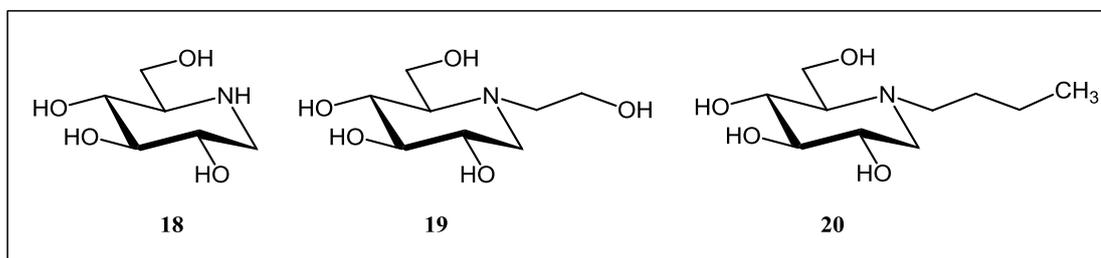


Abbildung 12: 1-Desoxynojoirimycin (**18**) und Beispiele seiner Derivate.

Wie zu Beginn des Kapitels bereits erwähnt, gibt es auch fruanoide und bizyklische Iminozucker. Ein bekannter Vertreter der pyranoiden Form ist der bereits 1976 aus den Blättern von der *Derris elliptica* isolierte Naturstoff 2,5-Dideoxy-2,5-imino-D-mannit (**21**)^{16,17}. Das aus den Früchten des australischen Baumes *Castanospermum australe* isolierte Castanospermin (**22**) ist ein klassischer Vertreter der bizyklischen Systeme. Diese starken Inhibitoren von α - und β -Glucosidasen sind in **Abbildung 13** dargestellt.

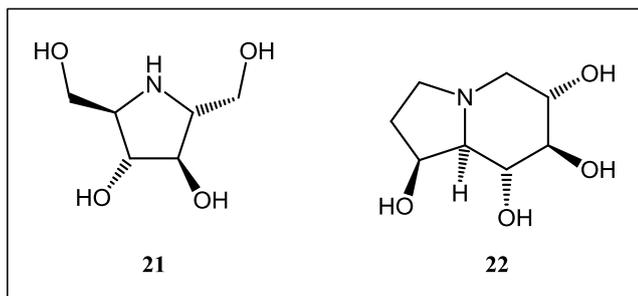


Abbildung 13: 2,5-Desoxy-2,5-imino-D-mannit (**21**) und Castanospermin (**22**).

Die Wirkung als reversible Glycosidaseninhibitoren beruht darauf, dass diese Verbindungen im Vergleich zu nicht reversiblen Inhibitoren, aufgrund ihrer basischen Funktionalität keine kovalente, sondern eine ionische Bindung mit dem aktiven Zentrum der jeweiligen Hydrolase bilden. Analog zu ihren natürlichen Substraten erfolgt ebenfalls ein nukleophiler Angriff im aktiven Zentrum des Enzymes, jedoch führt dieser zu einer Salzbindung zwischen der sauren Funktionalität des Enzymes und dem basischen Stickstoff des Iminozuckers. Dieser Salzcharakter ist dafür verantwortlich, dass diese Substanzen einerseits inhibierende Wirkungen auf Glycosidasen aufweisen, andererseits reversible Inhibitoren sind.

Die Ausbildung dieser ionischen Bindung (**VI**) ist anhand des Beispiels des protonierten pyranoiden 1-Desoxynojirimycin (**18a**), bzw. des furanoiden 2,5-Didesoxy-2,5-imino-D-mannit (**21a**), in **Abbildung 14** dargestellt und dem im allgemein gültigen Reaktionsmechanismus auftretenden Übergangszustand (**II**) gegenübergestellt. (vgl. **Abbildung 5** und **Abbildung 6**)

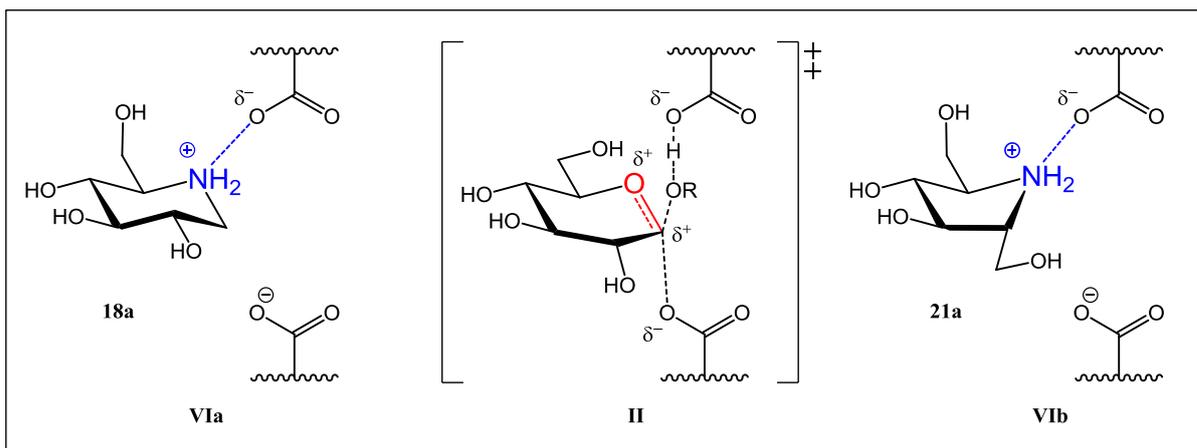


Abbildung 14: Mechanismus der Inhibierung von Glycosylhydrolasen durch Iminozucker.

1.5 Glycosphingolipide

Als Entdecker der Stoffgruppe der Glycosphingolipide gilt der Arzt und anerkannte Begründer der Gehirnchemie Johan L. Thudichum, der in den frühen 1880er Jahren Forschungen über die chemische Zusammensetzung des Gehirns anstellte. Dabei isolierte er mehrere Verbindungen, welche sich unter sauren Bedingungen in D-Galactose, freie Fettsäuren und einer damals unbekanntem Verbindung, welche alkalische Eigenschaften aufwies, heute als Sphingosin (**23**) bekannt, hydrolysieren ließen.¹⁸

Wie ihr Name bereits verrät, setzen sich Glycosphingolipide aus einem Sphingolipid, welches auch als Ceramid (**24**) bezeichnet wird, und einem Kohlenhydrat zusammen. Diese Knüpfung erfolgt über eine β -glycosidische Bindung zwischen der primären Hydroxyfunktion des Ceramides und dem reduzierenden Ende des Kohlenhydrates. Sphingolipide sind aus einem mit einer Fettsäure *N*-acylierten Sphingosin (**23**), aufgebaut. Aufgrund der allgemein gehaltenen Definition ergeben sich anhand der unterschiedlichsten Kohlenhydratreste bzw. der diversen Möglichkeiten des Fettsäurerestes eine große Anzahl von Molekülen dieser Stoffgruppe, die, wenn es sich bei dem Kohlenhydratteil um Oligosaccharide handelt, auch als Ganglioside bezeichnet werden. Die allgemeine Struktur von Glycosphingolipiden, bzw. einer ihrer wichtigsten Vertreter, Glucosylceramid (**25**), ist in **Abbildung 15** dargestellt.^{19,20}

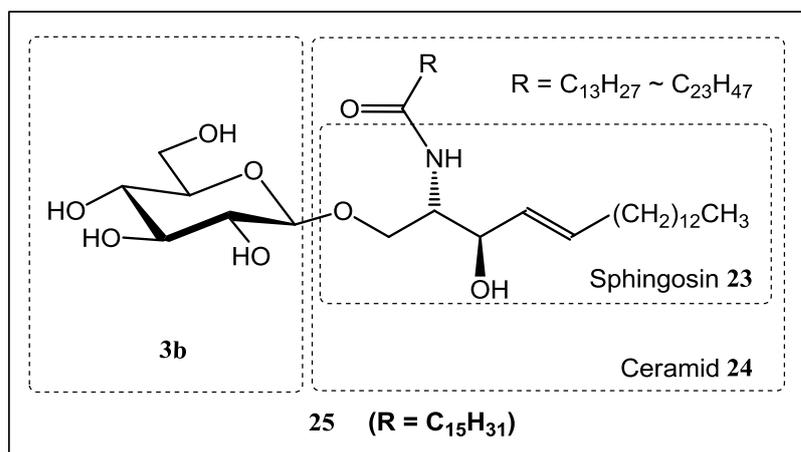


Abbildung 15: Allgemeine Struktur von Glycosphingolipiden.

Als essentieller Strukturbestandteil der Zellmembranen in Säugetieren nehmen Glycosphingolipide in den letzten Jahrzehnten in Hinblick auf ihre Funktionen, ihre Teilnahme an Erkennungs- bzw. Signalübertragungsvorgängen und vor allem ihre Wirkung in pathologischen Prozessen, welche in Zusammenhang mit Krankheiten, wie Diabetes Typ 2, Alzheimer oder lysosomalen Speicherkrankheiten stehen, einen immer größer werdenden Platz in der Forschung ein.¹⁸

1.5.1 Glycosphingolipidabbau

Nach dem Ende ihres Lebenszykluses werden in den Lysosomen sämtliche Glycosphingolipide mit Hilfe verschiedenster Glycosylhydrolasen abgebaut. Dieser Abbau beginnt mit der, durch bestimmte Glycosidasen katalysierten, hydrolytischen Abspaltung bestimmter terminaler Monosaccharide und endet schließlich mit der Freisetzung aus dem Ceramid (**24**) stammenden Sphingosin (**23**) bzw. einer freien Fettsäure. Wie bereits in Punkt 1.3 erwähnt, weisen Glycosylhydrolasen eine hohe Selektivität gegenüber ihrem Substrat auf. So ist zum Beispiel eine *G_{M1}-β-Galactosidase* dafür verantwortlich, dass von dem Gangliosid G_{M1} (**26**) D-Galactose abgespalten wird, wodurch das sogenannte Gangliosid G_{M2} (**27**) entsteht, welches wiederum von einer *β-Hexosaminidase A* in 2-(Acetylamino)-2-desoxy-D-galactopyranose und das Gangliosid G_{M3} (**28**) hydrolysiert wird. Der allgemeine im menschlichen Körper durch Glycosylhydrolasen katalysierte Abbau von Glycosphingolipiden ist in **Abbildung 16** dargestellt.^{18,21,22}

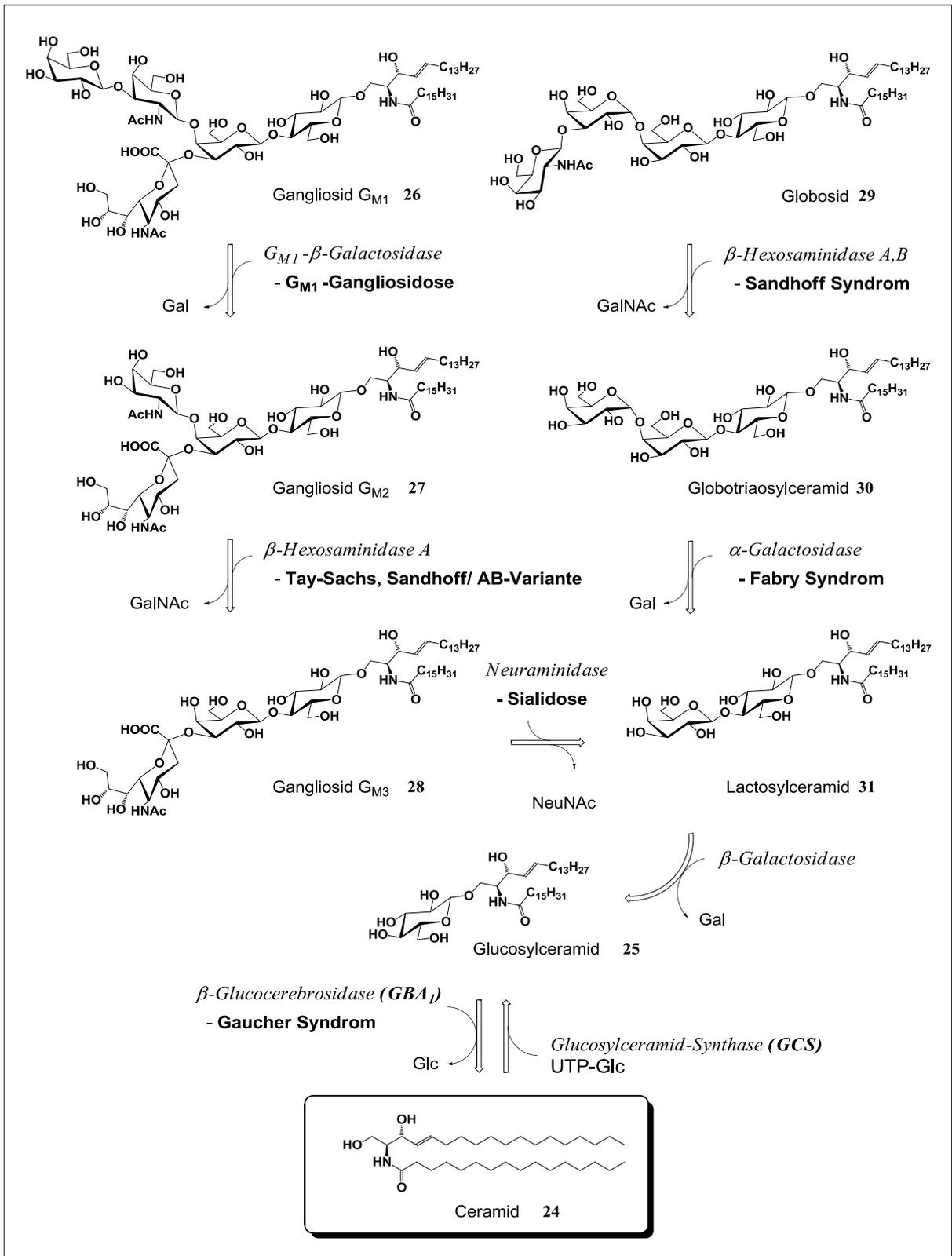


Abbildung 16: Abbau von Glycosphingolipiden.

1.6 Lysosomale Speicherkrankheiten

Die derzeit nicht heilbaren lysosomalen Speicherkrankheiten sind auf eine Störung des natürlichen Stoffwechsels, genauer gesagt, des Abbaus von Makromolekülen wie beispielsweise Glycosphingolipiden, Proteinen, Lipiden, Glycogenen oder Glycoproteinen zurückzuführen. Die für deren Abbau verantwortlichen sauren Hydrolasen weisen einen genetisch bedingten Defekt auf.²³ Da deshalb bestimmte Stoffwechselprodukte nicht weiter verarbeitet werden können, sammeln sich diese in den Lysosomen an. Diese Akkumulation von nicht abgebauten Makromolekülen führt zunächst zu einer Störung der betroffenen Zellen, kann aber bis zum Zelltod führen.

Von den heute etwa 50 bekannten, mit diesen Stoffwechselstörungen in Zusammenhang gebrachten Syndromen, stehen viele in engerem Zusammenhang mit dem fehlerhaften Abbau von Glycosphingolipiden. Die Komplexibilität des regulären Abbaus von Sphingolipiden und die Namen der, aufgrund der jeweiligen defekten Enzyme, hervorgerufenen Syndrome sind in **Abbildung 16** dargestellt bzw. in **Tabelle 1** gelistet.^{18,24}

Tabelle 1: Vertreter der bekanntesten lysosomalen Speicherkrankheiten.

Syndrom	fehlerhafte Glycosylhydrolase	Speicherstoff
Pompe	<i>α-Glucosidase</i>	Glycogen
Gaucher	<i>β-Glucocerebrosidase (GBA1)</i>	Glucosylceramid (25)
G_{M1}-Gangliosidosis	<i>G_{M1}-β-Galactosidase</i>	Gangliosid G _{M1} (26)
Tay-Sachs	<i>β-Hexosaminidase A</i>	Gangliosid G _{M2} (27)
Sialidose	<i>Neuraminidase</i>	Gangliosid G _{M3} (28)
Sandhoff	<i>β-Hexosaminidase B</i>	Globosid (29)
Fabry	<i>α-Galactosidase A</i>	Globotriaosylceramid (30)

Folglich ist die prozentuale Konzentration an aktiven Enzymen in betroffenen Zellen im Vergleich zu gesunden stark reduziert. Dieser Unterschied der relativen zellulären Enzymaktivität ist der Angriffspunkt diverser Ansätze zur Bekämpfung sowie Therapie dieser Syndrome.

1.6.1 Therapiemöglichkeiten

In den letzten 20 Jahren wurden unterschiedliche Ansätze zur Bekämpfung von lysosomalen Speicherkrankheiten entwickelt. Diese werden in Folge kurz charakterisiert.²⁵

1.6.1.1 Enzymersatztherapie

Die Enzymersatztherapie beruht darauf, dass den Patienten rekombinante lysosomale Hydrolasen, welche die defekten Enzyme ersetzen sollen, verabreicht werden. Diese gelangen über den Mannose- bzw. Mannose-6-phosphat-Rezeptor Weg zu den Lysosomen in denen sie die reduzierte Enzymaktivität ergänzen und anheben. Erste Erfolge konnten bei der Behandlung des Typ I Gaucher Syndroms erzielt werden. Ein großer Nachteil dieser Therapie liegt jedoch in der geringen Bioverfügbarkeit der „Ersatzenzyme“. Dadurch entstehen sehr hohe Therapiekosten (700.000 Euro im Jahr pro Patient)²⁶. Ein weiterer liegt darin, dass diese rekombinanten Enzyme regelmäßig, und somit aufwendig über Infusionen verabreicht werden müssen. Selbst unter Vernachlässigung all dieser Nachteile, offenbart sich jedoch aus rein biochemischer bzw. medizinischer Sicht das wohl größte Problem dieser Therapie, die molekulare Größe dieser Enzyme. Aufgrund dieser sind die für die Therapie notwendigen Hydrolasen nicht in der Lage die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden, wodurch es nicht möglich ist, neuronale Schädigungen, die in Zusammenhang mit diesen Syndromen stehen, behandeln zu können.

1.6.1.2 Substratreduktionstherapie

Die Substratreduktionstherapie basiert auf dem Prinzip die Biosynthese diverser Vorstufen von Glycosphingolipide zu inhibieren. Dadurch können diese nicht mehr als Speicherstoffe akkumuliert werden. Das große Ziel dieser Therapie ist es, Stoffe bzw. Inhibitoren zu entwickeln, die in der Lage sind die Blut-Hirn-Schranke zu passieren wodurch, auch Nervenkrankheiten, die in Bezug zu Speicherkrankheiten gebracht werden, behandelt werden könnten.

1.6.1.3 Knochenmarktransplantation

Ziel der Knochenmarktransplantation ist es, die bereits erwähnte Limitierung durch die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden. Knochenmarkmakrophagen sind in der Lage, diese in kleinen Konzentrationen zu überwinden und dienen somit als Enzymquelle im Hirn.²⁷ Obwohl in einigen Tierversuchen gezeigt werden konnte, dass mit Hilfe dieser Therapie eine Verbesserung mancher neuronalen Symptome erzielt werden kann, eignet sie sich jedoch nicht gut für die Routinebehandlung lysosomaler Speicherkrankheiten.

1.6.1.4 Chaperontherapie

Neben der Enzymersatz- und Substratreduktionstherapie ist die noch im Experimentalstudium stehende Chaperontherapie (CMT) ein Hoffnungsträger. Die Wirkung dieser Art der Therapie wurde erstmals 1999 von Fan und Mitarbeitern bei der Behandlung des Fabry-Syndromes beschrieben. Es konnte gezeigt werden, dass 1-Desoxygalactonojirimycin (**33**) in subinhibitorischen Konzentrationen in der Lage ist, die defekte α -Galactosidase A teilweise zu reaktivieren.²⁸

Wie zu Beginn des Kapitels erwähnt wurde, ist eine reduzierte Aktivität bestimmter Enzyme für lysosomale Speicherkrankheiten verantwortlich. Diese lässt sich unter anderem dadurch erklären, dass sich diese Enzyme im Laufe ihrer Biosynthese nicht korrekt falten, wodurch sie nicht mehr in der Lage sind, bestimmte Substrate umzusetzen oder sie selbst in der zelleigenen „Qualitätskontrolle“ als defekt erkannt werden und über die im endoplasmatischen Retikulum assoziierte Proteindegradation (ERAD-Weg) abgebaut werden.²⁹

Die Grundlage der Chaperontherapie basiert auf dem Konzept, dass ein reversibler Inhibitor, der gezielt auf das aktive Zentrum des Enzyms gerichtet ist, schon während der im endoplasmatischen Retikulum (ER) stattfindenden Biosynthese mit diesem in Wechselwirkung treten kann. Dabei unterstützt er aufgrund seiner chemischen und sterischen Eigenschaften die korrekte Faltung dieses Enzyms wodurch letztlich die prozentuale Konzentration an funktionstüchtigen Proteinen wieder ansteigt. Ist schließlich der zelluläre Bestimmungsort des Enzyms erreicht, dissoziiert das Chaperon aus dessen aktivem Zentrum oder wird vom natürlichen Substrat verdrängt.

Prinzipiell kann man diese in Folge pharmakologischen Chaperone (PC) genannten Inhibitoren in zwei Gruppen einteilen. Einerseits in die der chemischen, wie zum Beispiel Dimethylsulfoxid (DMSO) oder Glycerin, deren Wirkmechanismus noch nicht geklärt ist und andererseits in die sogenannten „active-site-specific“ Chaperone (ASSC). Diese sind relativ kleine Moleküle mit Molekülmassen unter 1000 g/mol worin auch ein großer Vorteil dieser Art der Therapie liegt, da diese Substanzen somit eine Voraussetzung besitzen die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden.

Basische Zucker-Analoga und im speziellen Iminozucker eignen sich hervorragend als ASSC. Sie zeichnen sich im Vergleich zu chemischen Chaperonen besonders dadurch aus, dass sie aufgrund ihrer jeweiligen Konfiguration eine sehr hohe Selektivität gegenüber Enzymen aufweisen, wodurch ein gezielter Einsatz möglich wird, da nicht andere, wichtige Glycosidasen inhibiert werden. (vgl. Kapitel 1.3). Einen weiteren Vorteil bietet die Möglichkeit, diese Substanzen chemisch so zu derivatisieren, dass sie zum Beispiel einen lipophilen Rest erhalten, welcher mit dem außerhalb des aktiven Zentrums liegenden lipophilen Gebiet des Enzyms in Wechselwirkung treten kann. Aufgrund dessen wird die Wahrscheinlichkeit einer korrekten Faltung zusätzlich erhöht. Dabei ist jedoch zu beachten, dass ein ASSC nur dann eingesetzt werden kann, wenn es in den Lysosomen leicht aus dem aktiven Zentrum dissoziiert, also bei saurem pH ein schlechter Inhibitor ist.

Einige klassische Vertreter von Chaperonen ohne lipophilen Rest sind 1-Desoxy-D-galactonojirimycin (**33**), 4-*epi*-Isofagomin (1,2,5-Trideoxy-2-hydroxymethyl-1,5-imino-D-ribose) (**35**) und α -*allo*-Homonojirimycin (**37**). In **Abbildung 17** sind ihnen β -1-C-Butyl-desoxynoijirimycin (**32**), 6-C-Nonyl-Isofagomin (**34**) und *N*-{6-[2,2,2-Trifluoro-1,1-bis(trifluoromethyl)ethoxy]hexyl}-1,5-dideoxy-1,5-imino-D-galactitol (**36**), als Vertreter mit lipophilem Rest gegenübergestellt.

6-C-Nonyl-Isofagomin (**34**) beispielsweise ist, im Vergleich zu Isofagomin (**17**), ein bis zu 93-mal stärker wirkender Inhibitor von β -Glucosylcerebrosidasen (IC_{50} 0,6 nM), jedoch als pharmakologisches Chaperon von geringerer Bedeutung.³⁰ Hingegen konnte mit Verbindung **36** eine im Vergleich zu Zellen, die mit DMSO behandelt wurden bis zu 1,6-fache Erhöhung der Enzymaktivität gefunden werden.³¹ Daraus soll die Komplexität von ASSC ersichtlich werden, deren Wirkung immer auf das Gegenspiel ihrer Eigenschaften als Inhibitor und ihrer Templatwirkung zurückzuführen ist.

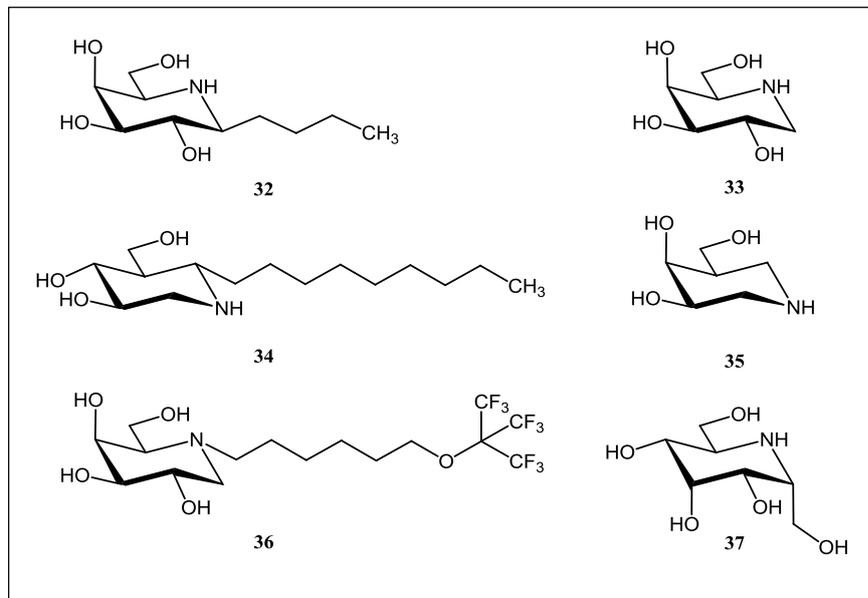


Abbildung 17: Beispiele für „active-site-specific“ Chaperone.

Die allgemeine Funktionsweise dieser Stoffwechselforgänge ist vereinfacht in **Abbildung 18** dargestellt. Von der durch Ribosomen abgelesenen *mRNA* im ER transkribierten Proteinstruktur werden in den beiden ersten Schritten durch die *ER-Glucosidasen I* und *II* zwei von drei Glucoseresten abgespalten. Diese gekürzte Oligosaccharidsequenz wird von einem natürlichen Chaperon, in diesem Beispiel dem Protein *Calnexin*, erkannt, welches in weiterer Folge die korrekte Proteinfaltung unterstützt. Ist dieser Vorgang abgeschlossen, spaltet eine *ER-Glucosidase II* den letzten Glucoserest ab. Ist das Enzym richtig gefaltet, wird es nun an seinen zellulären Bestimmungsort transportiert.

Liegt jedoch keine korrekte Konformation vor, wird es von einer *Glucosyltransferase* (UGGT) erkannt und entweder in den ERAD-Weg eingeschleust, oder reglucosyliert und so erneut der Möglichkeit zur richtigen Faltung ausgesetzt. Weiters ist zu erkennen, dass an dieser Stelle die chemischen bzw. die „active-site-specific“ Chaperone ihre Wirkung entfalten. Bevor es zu einem Abbau der defekten Enzyme kommt, treten diese mit den reversiblen Inhibitoren in Wechselwirkung, wodurch ebenfalls eine korrekte Faltung induziert werden kann.¹⁸

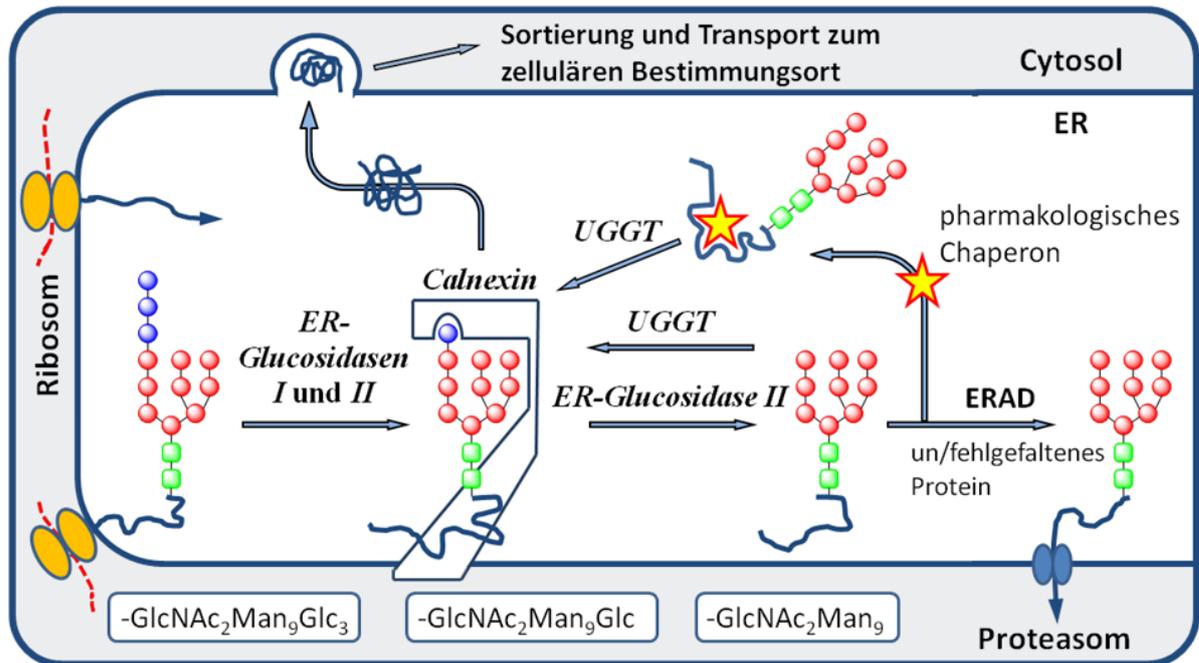


Abbildung 18: Übersicht über die im ER stattfindende Proteinfaltung, Qualitätskontrolle und putative Wirkung eines pharmakologischen Chaperons in der CMT¹⁸.

1.7 Glycosphingolipide im Gehirn

Die große Bedeutung von Glycosphingolipiden im Gehirn wurde bereits zur Zeit ihrer Entdeckung erkannt. Besonders die Neu5Ac-terminalen Ganglioside scheinen in der Neurochemie einen wichtigen Platz einzunehmen. Diese Erkenntnis legt den Schluss nahe, dass auch einige neurologische Erkrankungen, wie zum Beispiel Parkinson und Alzheimer, in Zusammenhang mit glycosphingolipidspezifischen Stoffwechselprozessen gebracht werden können.¹⁸

So konnten bei Parkinson-Patienten deutlich mehr Träger mutierter *Glucocerebrosidase* (*GBA1*)-Allele nachgewiesen werden.³² Dadurch konnte gezeigt werden, dass eine verringerte *GBA1*-Aktivität Menschen anfälliger für die Parkinson-Krankheit macht. Dem entgegengesetzt führt eine verringerte Aktivität des Proteins *Glucosylceramid-Synthase* (*GSC*) anscheinend zu Alzheimer, indem es zu einer Erhöhung der Konzentration von Ceramid (**24**) bzw. zu einer Abnahme der Gehalte an komplexen Glycosphingolipiden kommt.³³ Diese anormale Funktion im Stoffwechsel könnte durch das Verabreichen von Gangliosid G_{M1} (**26**) ausgeglichen werden. Dieses spielt generell eine wichtige Rolle in der Pathologie der Alzheimer-Krankheit, da im Gegensatz dazu gezeigt werden konnte, dass sie die Bildung von Amyloidablagerungen oder -plaques durch eine Aggregation des *Amyloid-β-Proteins* fördern.^{18,34}

Die Erkenntnis, dass diese Krankheiten ebenfalls im Zusammenhang mit defekten Glycosidasen stehen, lässt den hoffnungsvollen Schluss zu, dass eine mögliche Therapie, in Analogie zu lysosomalen Speicherkrankheiten, ebenfalls über Iminozucker führen könnte.

1.8 Isofagomin

Der als Isofagomin (**17**) bekannte 1,2,5-Tridesoxy-2-C-hydroxymethyl-1,5-imino-D-xylit zählt zu den sogenannten Isoiminozuckern und ist somit ein basisches Zucker-Analogon. Generell handelt es sich bei Isoiminozuckern um Kohlenhydrate deren anomeres Kohlenstoffatom durch Stickstoff ersetzt ist.

Seit 1994 die Entdeckung seiner hervorragenden Eigenschaften als Inhibitor von β -Glucosidasen gemacht wurde³⁵, besteht großes Interesse an dieser Verbindung. Die erstmalige Synthese dieser Substanz gelang Inge Lundt, Michael Bols und Mitarbeitern³⁵. Diese 10-stufige Synthese startet von Levoglucosan (**38**) und führt über den Dialdehyd (**42**), welcher im entscheidenden Schritt mittels einer ringschließenden, doppelten reduktiven Aminierung zum gewünschten Produkt zyklisiert. (siehe **Abbildung 19**)^{35,36}

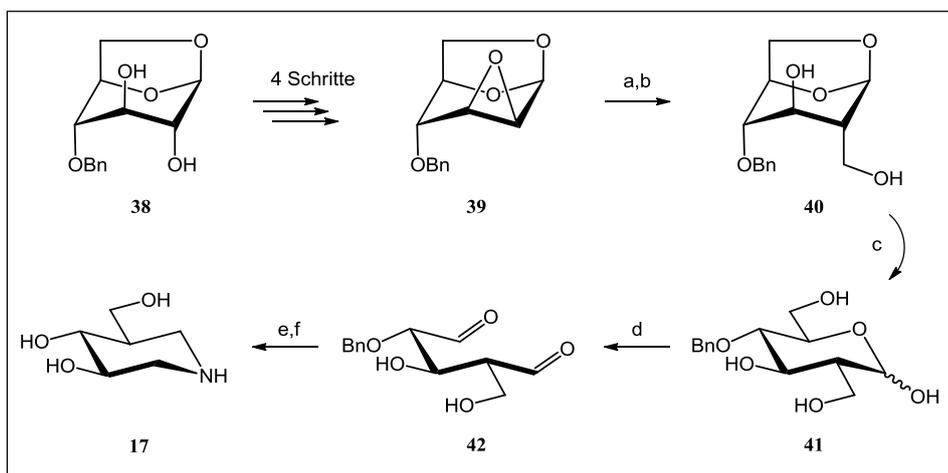


Abbildung 19: Synthese von Isofagomin (**17**): a) $\text{H}_2\text{C}=\text{CHMgBr}$; b) O_3 ; NaBH_4 ; c) H_2SO_4 ; d) NaIO_4 ; e) H_2 , NH_3 , Pd/C ; f) H_2 , HCl , Pd/C .

Die bekannten Synthesen kann man auf der Basis ihrer Edukte prinzipiell in drei Gruppen einteilen. Einerseits starten sie von klassischen Kohlenhydraten, wie D-Lyxose (**43**)³⁷ bzw. D-Arabinose³⁸ oder anderen chiralen Verbindungen, wie D-Weinsäure (**44**)³⁹ bzw. dem nach einer Vorschrift von Mamdapur und Mitarbeitern⁴⁰ synthetisierten, D-2,3-O-Cyclohexylidenglycerinaldehyd (**45**)⁴¹. Andererseits konnten achirale Verbindungen⁴², als deren Vertreter Nikotinsäuremethylester (**46**)⁴³ angeführt sei, erfolgreich eingesetzt werden. Als Beispiel sind jeweilige Vertreter der einzelnen Edukte in **Abbildung 20** dargestellt.

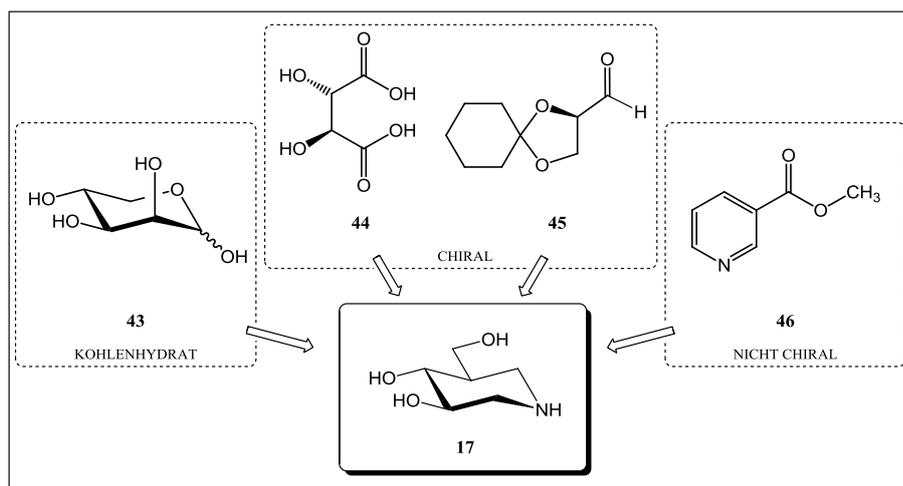
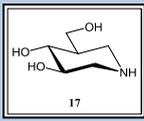
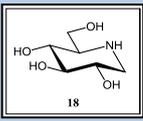
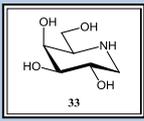
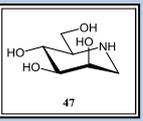
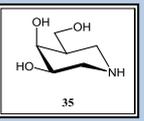


Abbildung 20: Alternative Edukte für die Synthese von Isofagomin (**17**).

Isfagomin (**17**) zählt zu den pyranoiden Isoiminozuckern und ist, wie bereits erwähnt, ein herausragender Inhibitor von β -Glucosidasen. An dieser Stelle sei erwähnt, dass auch furanoide Isoiminozucker untersucht wurden, diese jedoch im Vergleich zu 5-Ring-Iminozyckern keine nennenswerten Eigenschaften als Inhibitoren aufweisen.⁴⁴ Ein allgemeiner Vergleich zwischen Isfagomin (**17**) und dessen strukturnahen Glycosidaseninhibitoren bzw. deren Wirkung als solches auf andere Enzyme ist in **Tabelle 2** angeführt.

Tabelle 2: Aktivitäten einiger Glycosidaseninhibitoren ($K_i/\mu\text{M}$).

					
α -Glucosidase	86 (yeast) ⁴⁵	25 (yeast) ⁴⁵	-	Keine ⁴⁵	-
β -Glucosidase	0,11 (almonds) ⁴⁵	47 (almonds) ⁴⁵	570 (c. liver cytos.) ⁴⁶	300 (almonds) ⁴⁵	0,097 (almonds) ⁴⁷
Isomaltase	7,2 (yeast) ⁴⁵	11 (yeast) ⁴⁵	-	490 (yeast) ⁴⁵	-
Glucosaminidase	3,7 (Asp. Awamori) ⁴⁵	9,8 (Asp. Awamori) ⁴⁵	-	66 (Asp. Awamori) ⁴⁵	-
α -Mannosidase	770 (jack bean) ⁴⁵	270 (jack bean) ⁴⁵	-	280 (jack bean) ⁴⁵	-
α -Galactosidase	-	-	0,016 (g. coffee b.) ⁴⁶	-	50 (g. coffee b.) ⁴⁷
β -Galactosidase	-	-	0,16 (Aspergillus) ⁴⁸	-	0,004 (<i>A. Oryzae</i>) ⁴⁹

Wie bei allen Iminozuckern, beruht auch der Wirkmechanismus von Isogagomin (**17**) als Glycosidaseninhibitor darauf, dass es zur Ausbildung einer ionischen Bindung im aktiven Zentrum des Enzymes und dem Stickstoff kommt (vgl. Kapitel 1.4).

Aufgrund der wichtigen Rolle des Enzymes *Glucocerebrosidase* (GBA_1) in Bezug auf Alzheimer und lysosomale Speicherkrankheiten (Gaucher-Syndrom), soll dieser Wirkmechanismus anhand der Struktur des Komplexes GBA_1 -IFGH, in dessen aktivem Zentrum das durch die saure Gruppe E-235 protonierte Isogagomin (**IFGH 17a**) sitzt, erklärt werden. Diesem ist die Struktur des durch *N*-Butyl-1-desoxynojirimycin (**20**) inhibierten, GBA_1 Komplexes in **Abbildung 21** gegenüber gestellt.^{18,50,52}

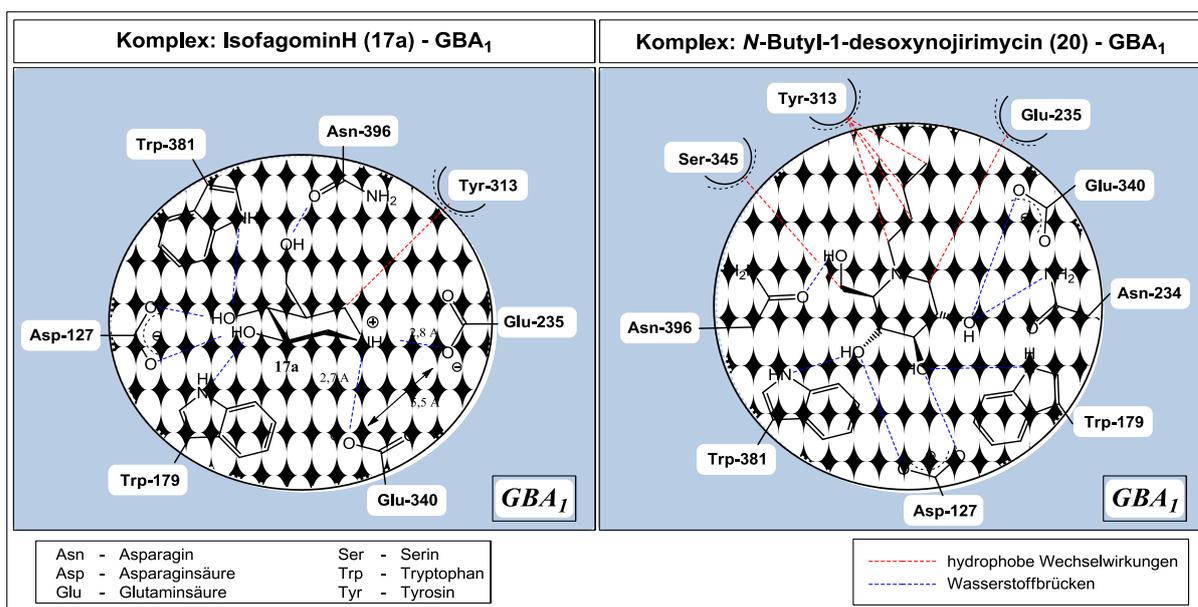


Abbildung 21: Bindungen von Isogagomin (**17**) bzw. *N*-Butyl-DNJ (**20**) im aktiven Zentrum von GBA_1 .

Es konnte gezeigt werden, dass Isogagomin (**17**) neben seiner Wirkung als GBA_1 -Inhibitor (IC_{50} 40nM) auch als pharmakologisches Chaperon für GBA_1 -Mutanten eingesetzt werden kann.⁵¹ In der 2007 beschriebenen Kristallstruktur des GBA_1 mit Isogagomin (**17**) im aktiven Zentrum ist zu erkennen, dass der Stickstoff zu beiden katalytischen Gruppen koordiniert.⁵² Außerdem konnte ein erheblicher Unterschied in der Stärke der GBA_1 -Inhibierung zwischen *N*-alkylierten (**48**, **49**) bzw. an C-6 alkylierten (**34**, **50**, **51**) Derivaten und Isogagomin (**17**) beobachtet werden. So ist 6-C-Nonyl-isogagomin (**34**) mit einem IC_{50} von 0,6 nM der bisher wirksamste bekannte GBA_1 -Inhibitor.

Von Kelly und Mitarbeitern⁵³ konnte gezeigt werden, dass auch jene Derivate, deren *N*-Alkylrest mit Amantadinamiden verknüpft ist (**52-54**), moderate *GBA₁*-Inhibitoren, die ebenfalls als ASSC eingesetzt werden können, liefern. Einige dieser Derivate sind in **Abbildung 22**¹⁸ zusammengefasst.

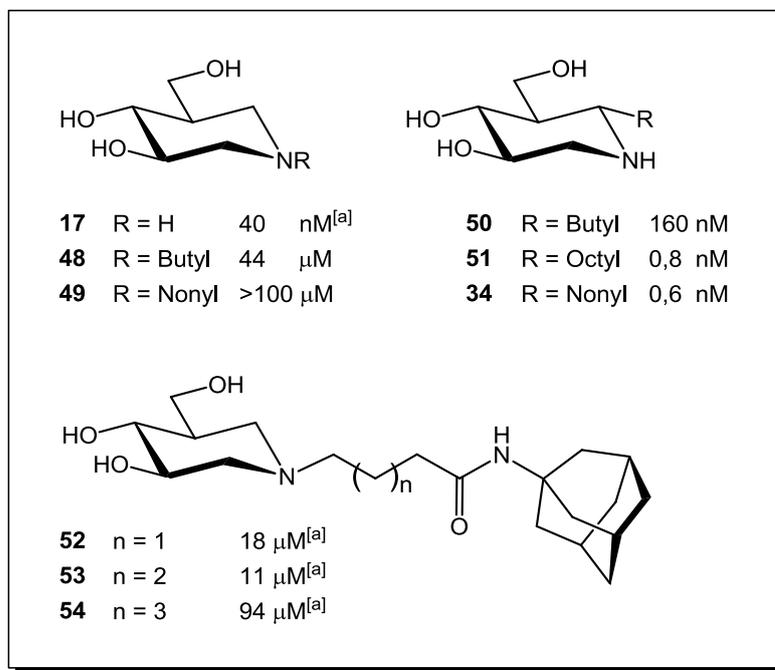


Abbildung 22: Derivate von Isogabamin (**17**) und deren IC₅₀-Werte bezogen auf die Inhibierung von *GBA₁* bzw. als ^[a] beschriebene pharmakologische Chaperone für *GBA₁*-Varianten.

2 Problemstellung

Zurzeit gibt es einige Synthesen von Isofagomin (**17**), wobei die meisten jedoch den großen Nachteil aufweisen, dass die Darstellung von Derivaten nur schwer realisiert werden kann. Aufgrund des großen Interesses seitens der Medizin wird jedoch ein leichter Zugang zu solchen gesucht.

Daher ist das Ziel dieser Arbeit, einige Schlüsselstellen in einem neuartigen Konzept einer Isofagomin-Synthese zu untersuchen. Dabei soll überprüft werden, ob der durch diese Synthese theoretisch ermöglichte Zugang zu den an C-6 derivatisierten Analoga über diese Schlüsselstellen erfolgen kann.

Als Ausgangsstoff der Synthese soll im Sinne eines wirtschaftlichen, großtechnischen Prozesses ein billiger, leicht erhältlicher Stoff dienen. Diese Voraussetzung wird durch D-Glucose erfüllt. Vergleicht man Isofagomin (**17**) mit der in pyranoider Form vorliegenden D-Glucose (**3a,b**) (vgl. dazu **Abbildung 23**) so fällt sofort auf, dass beide die gleiche Konfiguration aufweisen. Lediglich der anomere Kohlenstoff der D-Glucose C-1 ist durch Stickstoff substituiert, wobei zugleich der Ringsauerstoff durch Kohlenstoff ersetzt ist. Weiters ist zu beachten, dass die Hydroxylgruppe an C-2 bei Isofagomin (**17**) nicht mehr vorhanden ist.

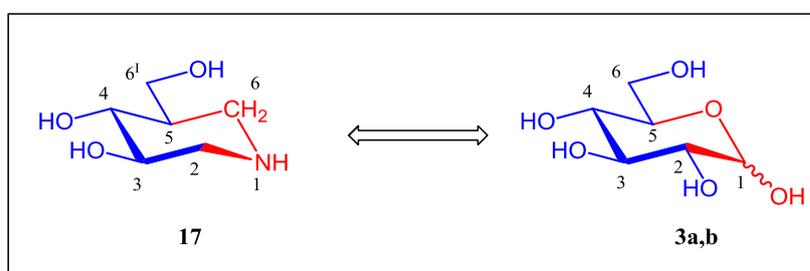


Abbildung 23: Vergleich zwischen Isofagomin (**17**) und D-Glucopyranose (**3a,b**).

Die beiden ersten Unterschiede führen zu den genannten Schlüsselstellen in dem neuartigen Synthesekonzept, welches in allgemeiner Form in **Abbildung 24** dargestellt ist. Startet man von D-Glucose, muss an der Position C-5 ein zusätzliches Kohlenstoffatom eingeführt werden sowie in weiterer Folge die Kette um ein solches von C-1 her verkürzt werden. Außerdem müssen beide Reaktionen so durchgeführt werden, dass neue funktionelle Gruppen, durch die eine Zyklisierung über ein Stickstoffatom möglich ist, entstehen. Eine Möglichkeit zur Realisierung des Ringschlusses führt über eine doppelte reduktive Aminierung, deren strukturelle Voraussetzung Dialdehyd **57** darstellt. Soll dieser Ringschluss über eine, einer S_N2 -Reaktion nachgeschalteten, einfache reduktive Aminierung erfolgen, werden hingegen die Zwischenprodukte **56** bzw. **58** angestrebt.

Die Reihenfolge der Reaktionen wurde aus praktischen Überlegungen, wie zum Beispiel der geplanten Schutzgruppenstrategie, so gewählt, dass zuerst das Problem der Kettenverzweigung an C-5 in Angriff genommen werden konnte und danach das Schneiden zwischen C-1 und C-2 mittels einer einfachen Periodatspaltung stattfinden sollte.

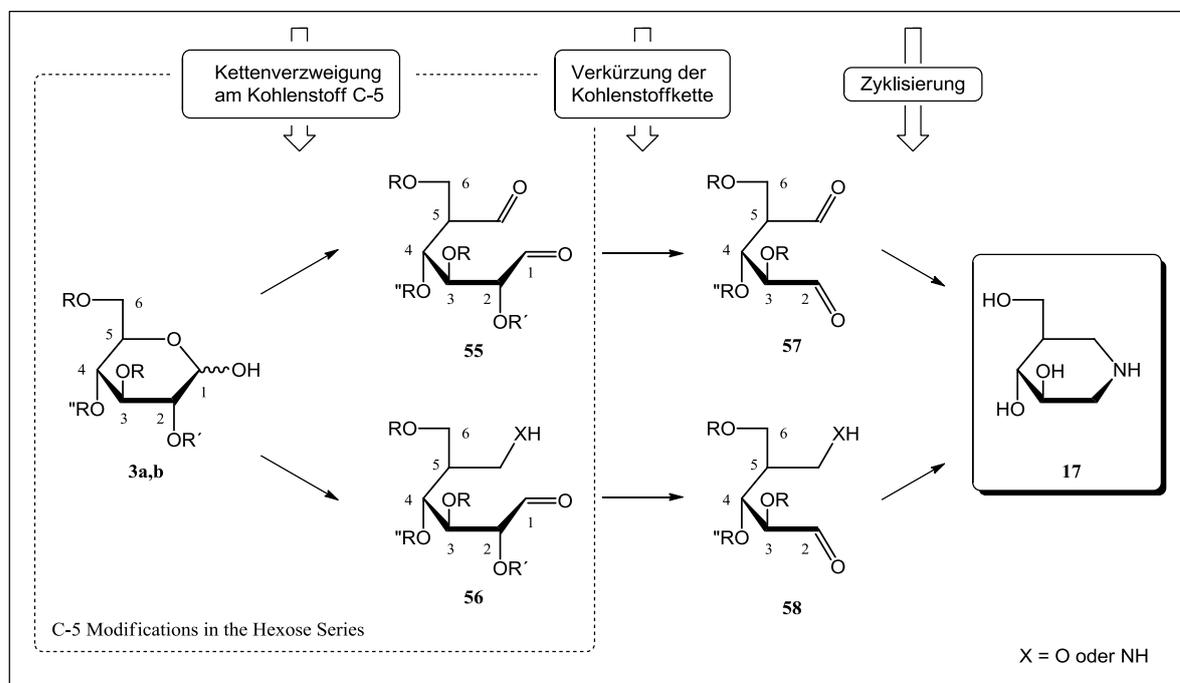


Abbildung 24: Allgemeines Synthesekonzept von Isofagomin (17).

Als Hauptziel kann somit das Verzweigen der Kohlenstoffkette an Position C-5 angesehen werden. Um diese realisieren zu können muss zuerst ein selektiver Zugang zu diesem gewährleistet werden.

Daher wurde ein in der furanoiden Form vorliegender Verwandter der D-Glucofuranose (**2a,b**), D-Glucofuranurono-6,3-lacton (**59**), als Ausgangsmaterial für die Synthese gewählt. Ausgehend von diesem sollen mehrere Zwischenstufen synthetisiert werden, die aufgrund unterschiedlicher Funktionalitäten bzw. sterischer Gegebenheiten, als Startmaterial für diverse Varianten der Kohlenstoff-Kohlenstoff-Knüpfung herangezogen werden können.

Diese geplanten Zwischenprodukte bzw. deren in Folge verschiedener Kupplungsreaktionen angestrebten Folgeprodukte sind in **Abbildung 25** dargestellt.

Zuerst soll versucht werden 1,2-*O*-Isopropyliden- α -D-glucofuranurono-6,3-lacton (**60**), über den Reaktionsweg **A** mit Cyaniden mittels einer **S_N2-Reaktion** zur Verbindung **63** umzusetzen. Dem gleichen Prinzip folgend soll die Verbindung **61** über den als **B** gekennzeichneten Weg zum Produkt **64** umgesetzt werden.

Als weiterer Ausgangsstoff zur Darstellung der verzweigten Kohlenstoffkette soll Ulose **62** dienen. An der für eine Ulose charakteristischen zweiten Carbonylgruppe kann ein als **Henry-Reaktion**⁵⁴ bekannter im Reaktionsschema als **C** bezeichneter nukleophiler Angriff durch Nitromethan erfolgen, welcher zu den Diastereomeren **65a** und **65b** führen soll. Letztlich soll überprüft werden, ob über den ebenfalls über die Ulose **62** führenden Reaktionsweg **D** diverse Alkene **66a,b** mittels verschiedener **Wittig-Reaktionen**⁵⁵ bzw. **Horner-Wadsworth-Emmons-Reaktionen**^{56,57} dargestellt werden können.

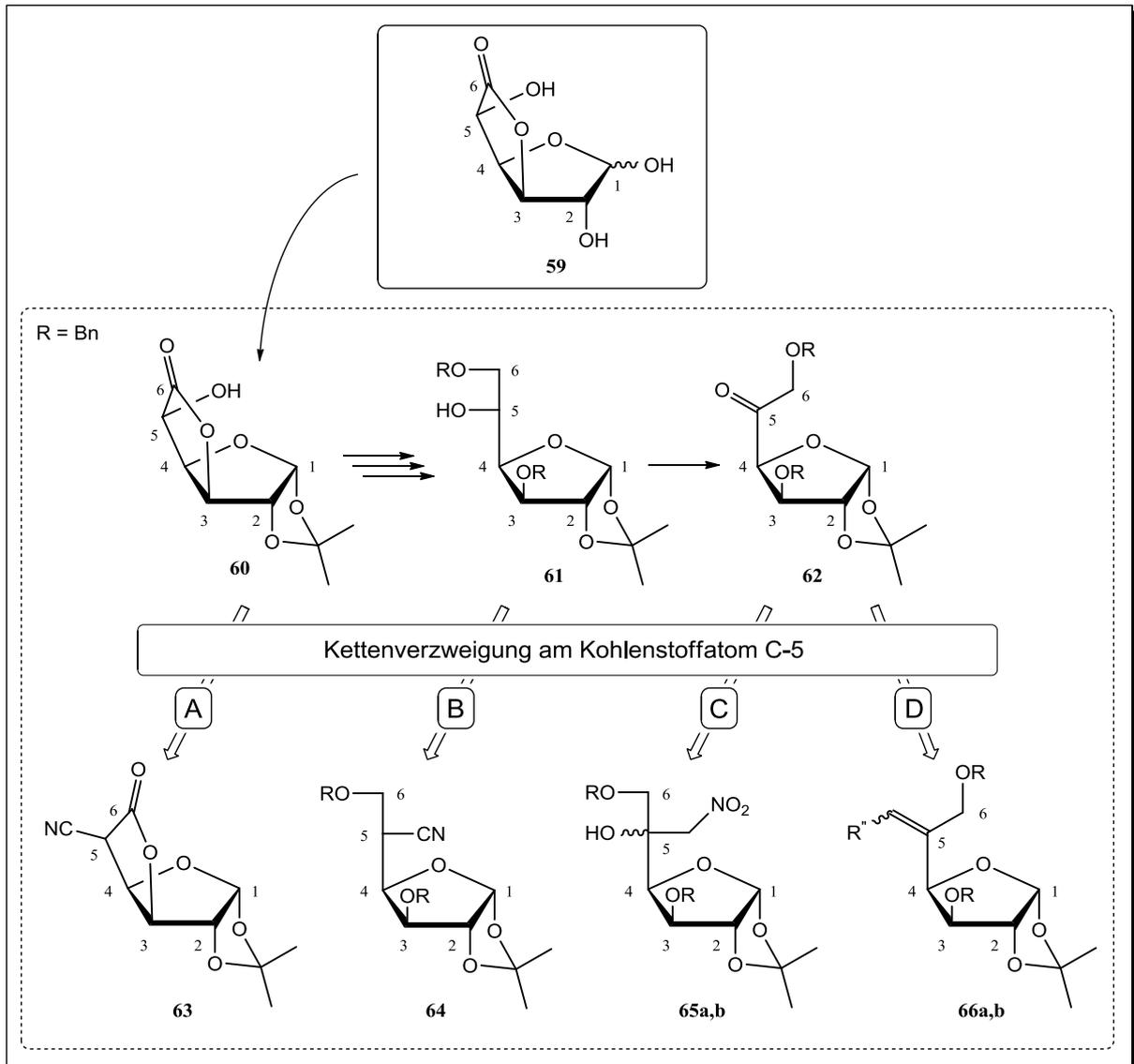


Abbildung 25: Geplante Syntheseschritte zur C-C-Knüpfung am Kohlenstoff C-5.

Der große Vorteil dieser Synthese liegt darin, dass auf diesem Weg ein leichter Zugang zu den an C-6 verzweigten Isofagomin-Derivaten (**70a,b**) ermöglicht wird. Dies lässt sich dadurch erklären, dass über die gleiche Strategie im Schritt der Kohlenstoff-Kohlenstoff-Knüpfung statt „einfachen“ Reagenzien, wie zum Beispiel Nitromethan, „längerkettige“ Analoga wie Nitrohexan eingesetzt werden können. Dieser Reaktionsweg ist vereinfacht an Hand der Beispiele der Henry- bzw. der Wittig-Reaktion in **Abbildung 26** dargestellt.

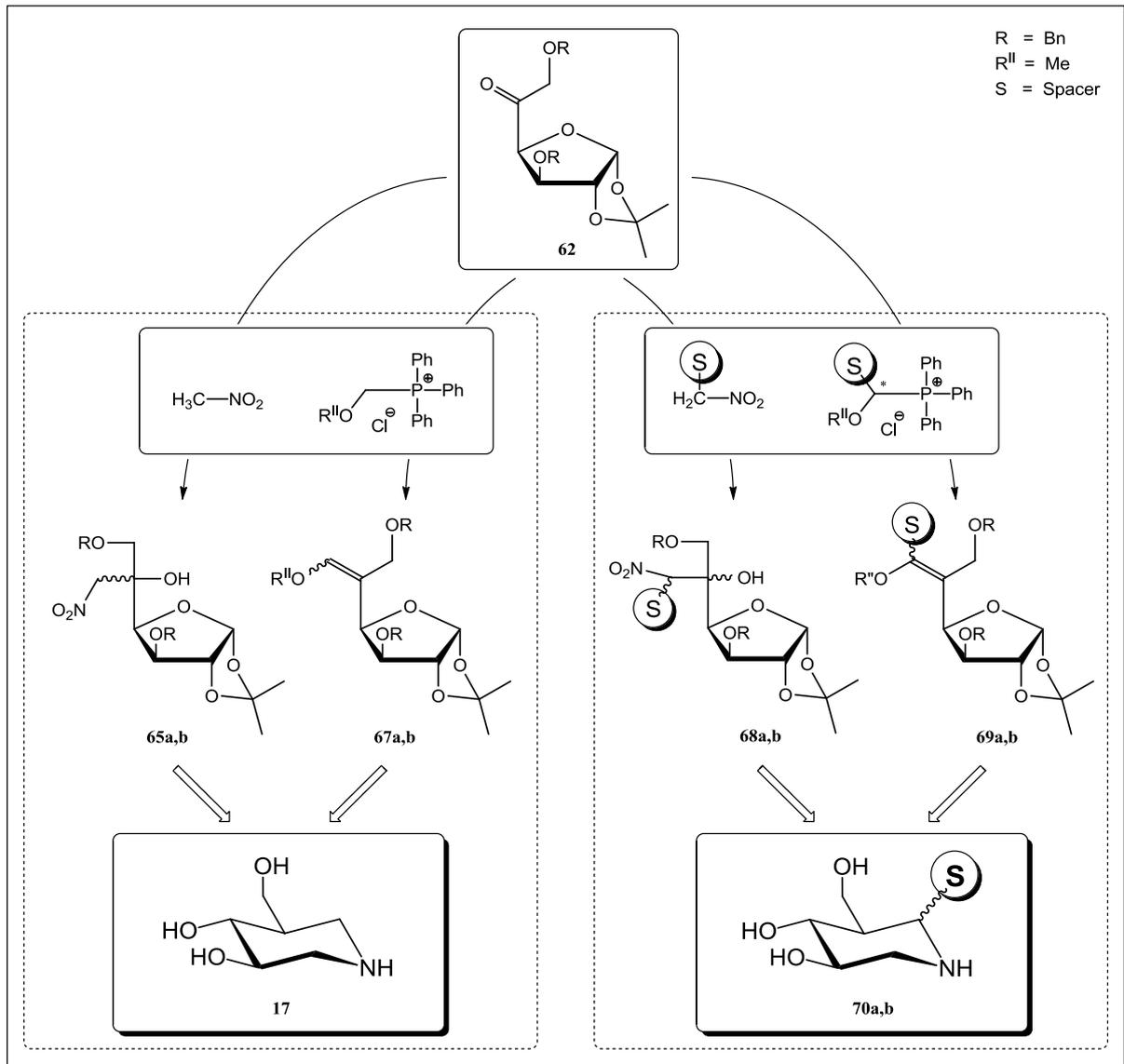


Abbildung 26: Mögliche Synthese von am C-6 verzweigten Isofagomin-Derivaten.

3 Durchführung

3.1 Darstellung der Edukte für die C-C-Knüpfung

Im ersten Teil dieser Arbeit mussten einige Zwischenstufen synthetisiert werden, die als Ausgangsstoffe für die Kettenverzweigung am Kohlenstoffatom C-5 dienen sollten. Wie bereits im Kapitel **Problemstellung** erwähnt, startet dieser Syntheseblock bei dem käuflichen D-Glucofuranurono-6,3-lacton (**59**), welche in sieben Schritten zu 3,6-Di-O-benzyl-1,2-O-isopropyliden- α -D-xylo-hex-5-ulofuranose (**62**) umgesetzt wurde. (siehe **Abbildung 27**)

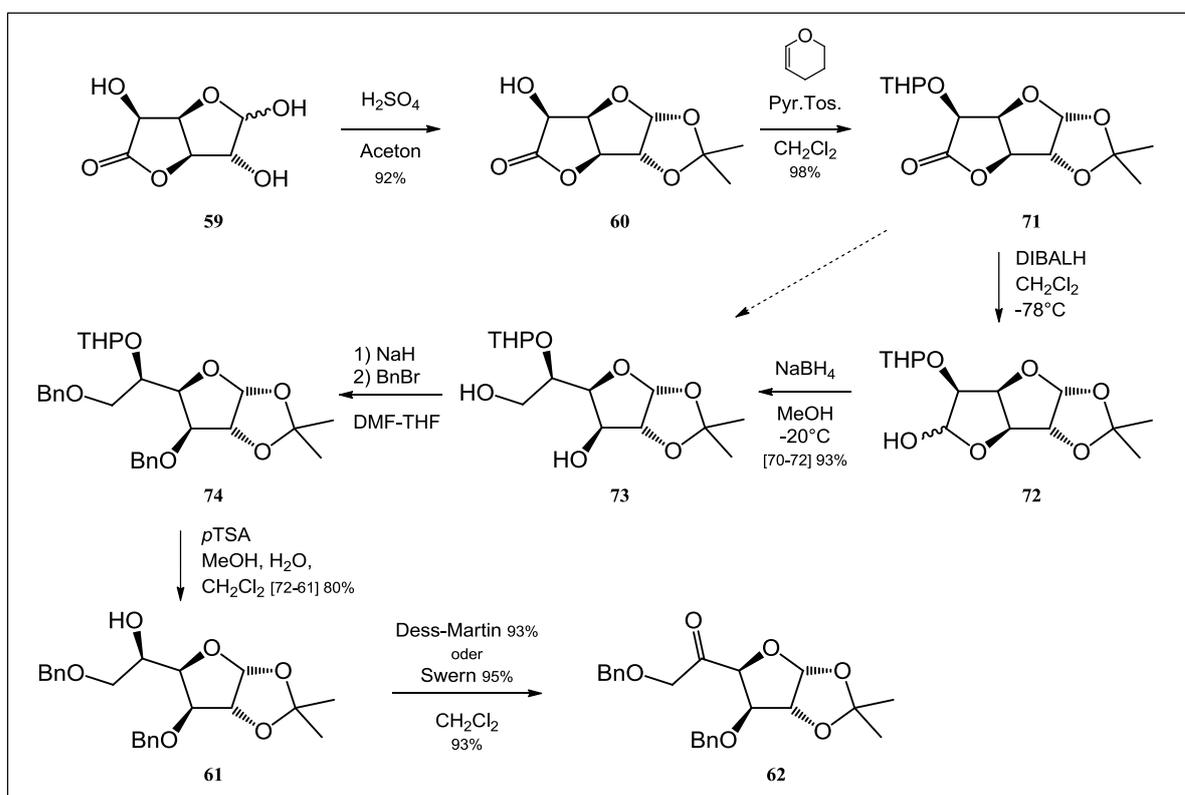


Abbildung 27: Synthese von 3,6-Di-O-benzyl-1,2-O-isopropyliden- α -D-xylo-hex-5-ulofuranose (**62**).

Dazu wurde im ersten Schritt Lacton **59** unter saurer Katalyse in Aceton zu 1,2-O-Isopropyliden- α -D-glucofuranurono-6,3-lacton (**60**) umgesetzt. Anschließend wurde der freie Alkohol an Position C-5 mit 2,3-Dihydro-2H-pyran geschützt wodurch die beiden Diastereomere der Verbindung **71** entstanden.

Nachdem die THP-Gruppe jedoch im Laufe der Synthese wieder abgespalten wird, wurden diese nicht voneinander getrennt. Anschließend wurde Lacton **71** in Anlehnung an eine von Fleet⁵⁸ erstellte Vorschrift mittels DIBALH in trockenem CH₂Cl₂ zu Lactol **72** reduziert, welches seinerseits mit NaBH₄ in Methanol zum freien Alkohol **73** umgesetzt wurde. Diese zweistufige Synthese konnte auch umgangen werden indem Lacton **71** mit NaBH₄ in MeOH direkt zum freien Alkohol **73** reduziert wurde, was jedoch mit einem Ausbeuteverlust von ca. 10% verglichen mit der zweistufigen Variante verbunden war. Dieser lässt sich darauf zurückführen, dass nach der Originalvorschrift im ersten Schritt bei -78°C gearbeitet wird, für die komplette Reduktion jedoch Raumtemperatur notwendig ist, wodurch es aus thermodynamischen Gründen unter den basischen Bedingungen leichter zu einer Eliminierung kommt. Im Anschluss wurden die beiden freien Alkohole der Verbindung **73** unter Standardbedingungen benzyliert. Von der so dargestellten Verbindung **74** wurde im folgenden Schritt unter saurer Katalyse die Hydroxylgruppe am Kohlenstoff C-5 wieder freigesetzt. Durch dieses Abspalten der THP-Gruppe konnte Alkohol **61** dargestellt werden. 3,6-Di-*O*-benzyl-1,2-*O*-isopropyliden- α -D-glucofuranose (**61**) ist das erste zentrale Zwischenprodukt, da sämtliche Funktionalitäten, mit Ausnahme des Alkohols am Kohlenstoff C-5 geschützt sind. Dadurch ist ein selektiver Zugang zu C-5 möglich. In der letzten Stufe dieses Syntheseabschnitts wurde Alkohol **61**, in Anlehnung an die Arbeit von Liang und Mitarbeitern⁵⁹, zu 3,6-Di-*O*-benzyl-1,2-*O*-isopropyliden- α -D-xylohex-5-ulo-furanose (**62**), oxidiert. Diese Umsetzung erfolgte einerseits über die aufgrund der eingesetzten Reagenzien teurere „Dess-Martin-Oxidation“ und andererseits über eine „Swern-Oxidation“, wobei kein wesentlicher Unterschied in Bezug auf die Ausbeuten (ca. 90%) festgestellt werden konnte.

3.2 Varianten der Kohlenstoffkettenverzweigung

Im zweiten Teil werden die unterschiedlichen Varianten der Kohlenstoff-Kohlenstoff-Knüpfung am Kohlenstoffatom C-5 behandelt, welche in drei Gruppen eingeteilt werden können: die S_N2-Reaktion über Cyanide, die Nitroaldol-Reaktion und der Reaktionen die auf Phosphorreagenzien basieren. (vgl. **Abbildung 25**)

Einer der wichtigsten Aspekte dieser Kettenverzweigung ist die Stereochemie, da sämtliche Verbindungen, in Bezug auf die neu eingeführten Reste, am Kohlenstoff C-5 in *D-gluco*-Konfiguration vorliegen müssen, sodass diese in weiterer Folge in das gewünschte Isofagomin (**17**) überführt werden können. Das entsprechende *L-ido*-konfigurierte Epimer würde auf dem gleichen Weg zum Derivat 5-*epi*-Isofagomin (**75**) führen. Dabei ist zu beachten, dass diese chirale Information in der Ulose (**62**) nicht mehr vorhanden ist, sodass diese erst in einem weiteren Folgeschritt, z.B. einer katalytischen Hydrierung, der aus ihr synthetisierten Alkene (z.B **67a,b**), erneut aufgebaut werden muss. (siehe **Abbildung 28**)

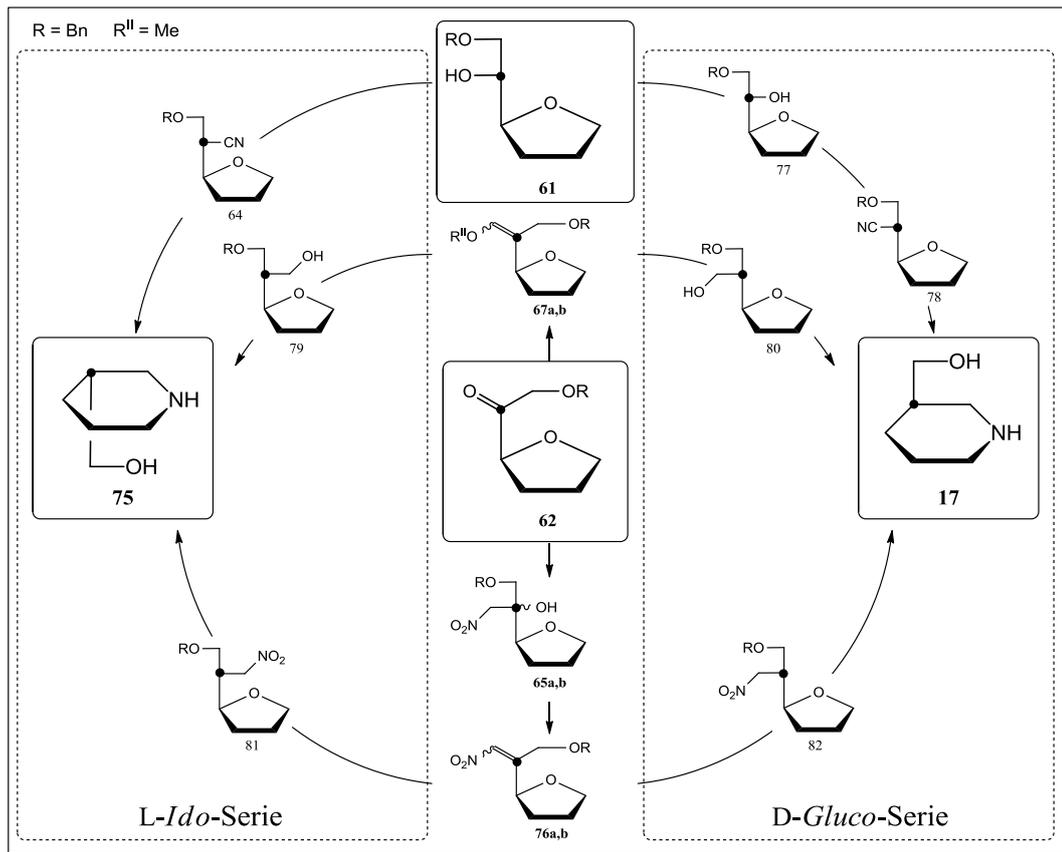


Abbildung 28: Syntheseweg mit unterschiedlichen Konfigurationen am Kohlenstoff C-5.

3.2.1 Kettenverzweigung über S_N2 -Reaktionen

3.2.1.1 Variante 1

Als erste Variante der Kettenverzweigung mittels S_N2 -Reaktion soll 1,2-*O*-Isopropyliden- α -D-glucufuranurono-6,3-lacton (**60**), in Folge der Aktivierung dessen freien Alkohols, mit Cyaniden, nach dem in **Abbildung 29** beschriebenen Reaktionsschema, zur Verbindung **63** umgesetzt werden.

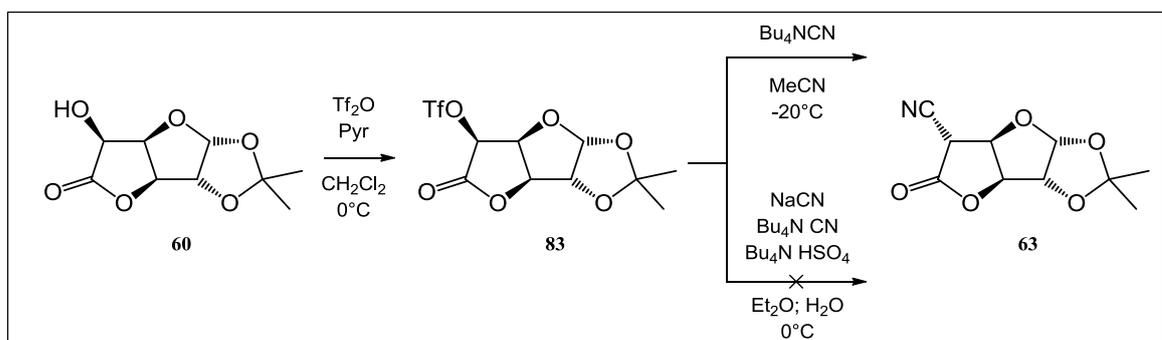


Abbildung 29: Darstellung von 5-Cyano-5-desoxy-1,2-*O*-isopropyliden- β -L-idofuranurono-6,3-lacton.

Dazu wurde der freie Alkohol **60** in Gegenwart von Pyridin mit Tf_2O in CH_2Cl_2 bei 0°C zu Verbindung **83** umgesetzt. Anschließend wurde der sauer/basisch aufgearbeitete Ansatz ungereinigt in MeCN aufgenommen und nach Zugabe von Bu_4NCN bei -20°C gerührt. Die Rohausbeute des so dargestellten Lactons **63** lag jedoch bei nur 12%.

Der Grund liegt darin, dass unter diesen basischen Bedingungen das Lacton gespalten wird bzw. es zu Eliminierungsreaktionen kommt. Deswegen wurde versucht die Substitution des Triflates **83** durch Cyanid unter milderen Bedingungen ablaufen zu lassen. Diese Reaktion wurde in einem 2-Phasen-System zwischen Wasser und Et_2O durchgeführt, sodass das in der organischen Phase gelöste Edukt **83** nur langsam mit dem im Wasser gelöstem NaCN reagieren konnte. Die beiden Phasentransferkatalysatoren Tetrabutylammoniumcyanid bzw. -hydrogensulfat wurden eingesetzt. Leider führten diese Reaktionsbedingungen zu keinem positiven Ergebnis, da Lacton **83** in Gegenwart des durch das Cyanid basischen Wassers noch instabiler wird.

Am Ende dieses Abschnitts sei noch erwähnt, dass das gewünschte Produkt **63** in *L-ido*-Konfiguration vorliegt und dadurch in weiterer Folge nicht zu Isofagomin (**17**), sondern zu dessen Derivat 5-*epi*-Isofagomin (**75**) führen würde. Somit sollte dies nur als Vorversuch angesehen werden. Im Falle einer erfolgreichen Reaktion könnte dieses Problem leicht dadurch gelöst werden, indem 1,2-*O*-Isopropyliden- α -D-glucofuranurono-6,3-lacton (**60**) mittels einer für dieses System bekannten $\text{S}_{\text{N}}2$ -Reaktion zuerst zu 1,2-*O*-Isopropyliden- α -L-idofuranurono-6,3-lacton (**77**) epimerisiert wird. (vgl. **Abbildung 28**)

3.2.1.2 Variante 2

Als zweite Variante dieser Kettenverzweigung sollte der im ersten Teil synthetisierte Alkohol **61**, ebenfalls aktiviert und mit Cyaniden nach dem in **Abbildung 30** dargestellten Reaktionsschema zur Verbindung **64** umgesetzt werden.

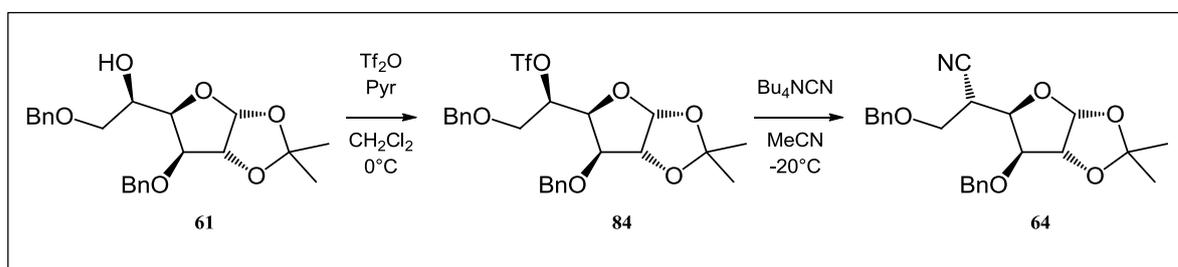


Abbildung 30: Darstellung von 3,6-Di-*O*-benzyl-5-*C*-cyano-5-desoxy-1,2-*O*-isopropyliden- β -L-idofuranose (**64**).

In Analogie zur ersten Variante wurde der Alkohol ebenfalls als Triflat aktiviert. Bei der Umsetzung, der nicht gereinigten Verbindung **84** mit Bu_4NCN in MeCN wurden jedoch Ausbeuten von nur 7% erzielt.

Der Grund für diese schlechten Ausbeuten liegt darin, dass der Alkohol am Kohlenstoff C-5, durch die Aktivierung als Triflat, eine so gute Abgangsgruppe wurde, dass es unter diesen basischen Bedingungen zu einer E2-Eliminierung mit den Wasserstoffatomen an C-4 bzw. C-6 kam. Dabei konnte beobachtet werden, dass die Eliminierungsprodukte ca. 80% des Umsatzes ausmachten. (siehe **Abbildung 31**)

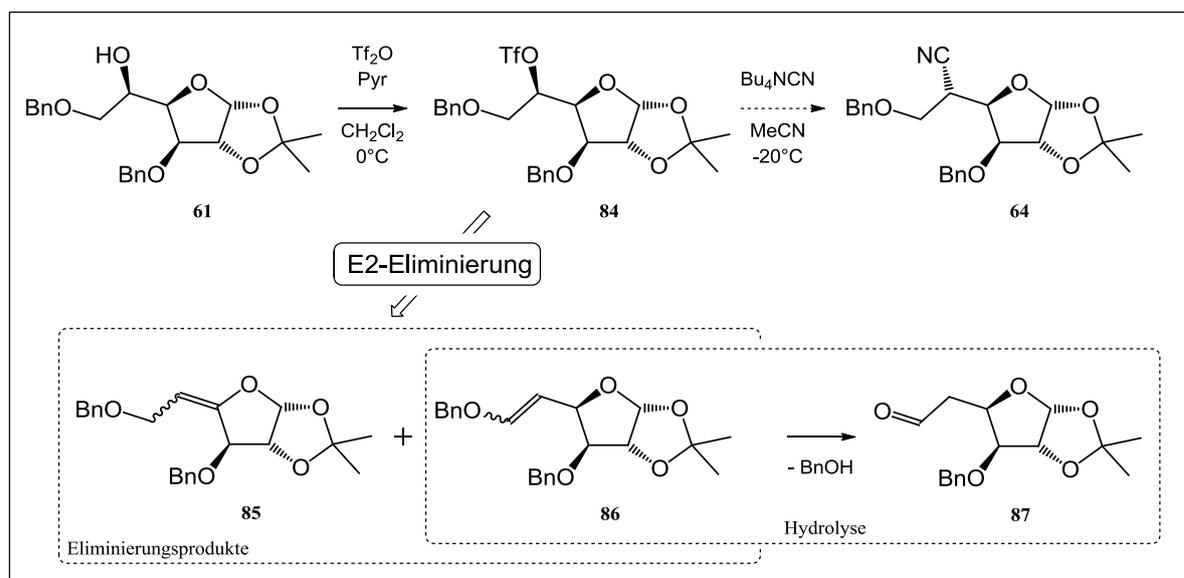


Abbildung 31: Nebenreaktionen bei der Darstellung von 3,6-Di-O-benzyl-5-C-cyano-5-desoxy-1,2-O-isopropyliden-β-L-idofuranose (**64**).

Weiters wurde das Problem dadurch verstärkt, dass der R_f -Wert des Eliminierungsproduktes **85** und der des Eduktes sehr nahe beisammen liegen. Dadurch trat in den ersten Versuchen der Irrtum auf, dass das Triflat noch nicht abreagiert hätte, woraufhin ein großer Überschuss an Cyanid eingesetzt wurde. In weiteren Versuchen konnte jedoch gezeigt werden, dass es sehr schnell zu den Eliminierungen kommt. Somit hatte der in den vorgehenden Versuchen lange Reaktionsverlauf keinen negativen Einfluss auf die Ausbeuten. Zusätzlich erschwerend zeigte sich, dass der in Verbindung **86** auftretende benzyliche Enolether, während der sauren bzw. basischen Aufarbeitung, zum Aldehyd **87** und Benzylalkohol hydrolysiert wurde. Dieser ist jedoch am DC schlecht detektierbar bzw. hat den gleichen R_f -Wert wie das gewünschte Produkt **64**. Dadurch wurde dieses Problem nicht sofort erkannt weswegen, rein auf die Auswaagen bezogen, akzeptable Ausbeuten erzielt wurden. Mittels $^1\text{H-NMR}$ -Messungen wurde jedoch bewiesen, dass diese durch die fast äquimolare Menge an Benzylalkohol deutlich verfälscht wurden. Somit musste für die Reinigung des Produktes **64** ein weiterer Schritt eingelegt werden, in dem der Benzylalkohol unter Standardbedingungen O-acetyliert wurde. Der so erhaltene Unterschied der R_f -Werte ermöglichte es nun, das Produkt **64**, ausgehend von der Verbindung **61**, in einer Gesamtausbeute von 7% darzustellen.

Die Summe dieser Probleme warf die Frage auf, wie groß der Einfluss der Schutzgruppe an C-6 ist. Dazu wurde nach der in **Abbildung 32** gezeigten Reaktionsfolge die Verbindung **91** dargestellt, welche gleich wie in den vorhin genannten Versuchen zum Cyanid **93** umgesetzt werden sollte. Dabei war zu beachten, dass auch hier eine THP-Gruppe verwendet wurde, wodurch ebenfalls zwei Diastereomere entstanden, diese jedoch ebenfalls nicht voneinander getrennt wurden.

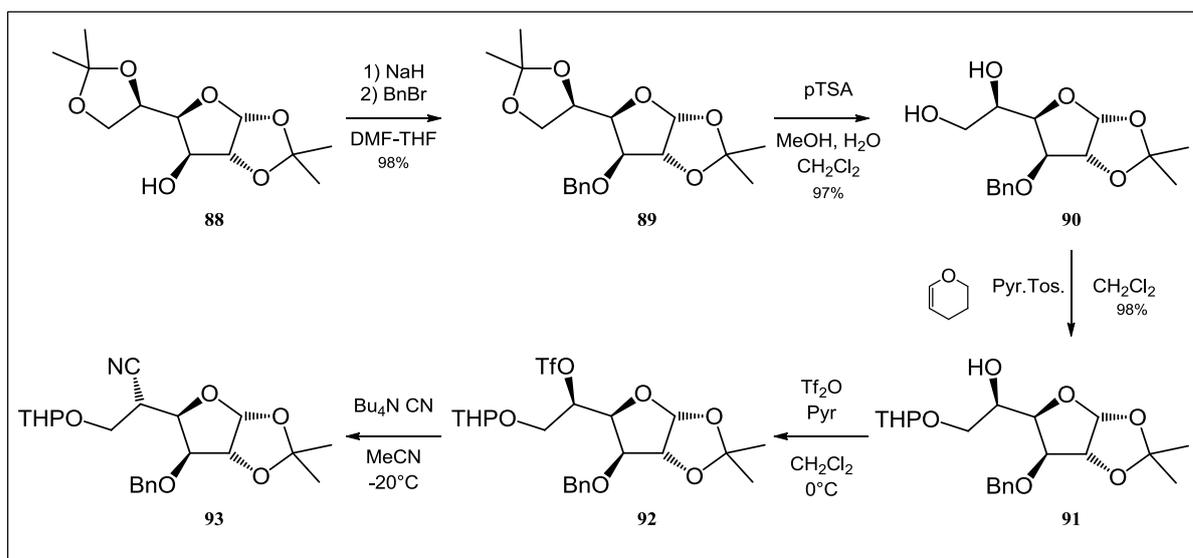


Abbildung 32: Darstellung von

3-*O*-Benzyl-5-*C*-cyano-5-desoxy-1,2-*O*-isopropyliden-6-*O*-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)-β-*L*-idofuranose (**93**).

Dazu wurde der freie Alkohol von 1,2:5,6-Di-*O*-isopropyliden-α-*D*-glucufuranose (**88**) unter Standardbedingungen in einem Gemisch aus THF und DMF mit NaH und BnBr benzyliert, um im Anschluss von der so dargestellten Verbindung **89** die terminale Isopropyliden-Schutzgruppe unter leicht sauren Bedingungen abzuspalten. Im nächsten Schritt wurde der primäre Alkohol von 3-*O*-Benzyl-1,2-*O*-isopropyliden-α-*D*-glucufuranose (**90**) mit Hilfe einer THP-Schutzgruppe selektiv geschützt, um das für die Kettenverzweigung gewünschte Edukt **91** zu erhalten.

Bei der unter den gleichen Bedingungen wie oben angeführten Umsetzung des Alkohols **91** zum Cyanid **93** stellte sich jedoch heraus, dass **92** ebenfalls eine E2-Eliminierung nach C-4 bzw. C-6 bevorzugt, wodurch vergleichbar schlechte Ausbeuten von 8% entstanden.

3.3 Kettenverzweigung über eine Nitroaldol-Reaktion

Den Arbeiten von Yoshikawa und Kitagawa^{60,61} folgend, sollte die Kettenverzweigung an C-5 über eine Nitroaldol-Reaktion führen. Dazu wurde die im ersten Teil synthetisierte Ulose **62** in einer als Henry-Reaktion bekannten Variante einer Aldoladdition unter basischen Bedingungen mit MeNO₂ zu den beiden Diastereomeren **65a** und **65b** umgesetzt (siehe **Abbildung 33**). Dass, aufgrund des am Carbonyl-Kohlenstoff stattfindenden nukleophilen Angriffes zwei Epimere entstehen, soll in erster Instanz nicht stören. Der Grund dafür liegt darin, dass die Alkohole **65a,b** im nächsten Schritt der geplanten Isogagomin-Synthese zur Verbindung **76a,b** umgesetzt werden sollen. (vgl. **Abbildung 28**)

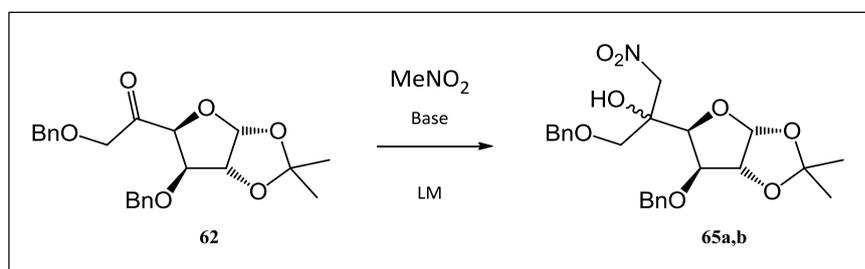


Abbildung 33: Darstellung von 3,6-Di-*O*-benzyl-1,2-*O*-isopropyliden-5-*C*-nitromethyl- α -*D*-glucofuranose **65a** und 3,6-Di-*O*-benzyl-1,2-*O*-isopropyliden-5-*C*-nitromethyl- β -*L*-idofuranose **65b**.

Es wurde Nitromethan in diversen Lösungsmitteln bzw. deren Gemischen vorgelegt und mit unterschiedlichen Basen deprotoniert. Anschließend wurde die im entsprechenden Lösungsmittel gelöste Ulose **62** unter Eiskühlung zu dieser Lösung zugetropft. Die verwendeten Reagenzien und Lösungsmittel sind in **Tabelle 3** angeführt.

Tabelle 3: Reaktionsbedingungen der Henry-Reaktion.

Base	Lösungsmittel	Temperatur
Bu ₄ NF · 3H ₂ O	Et ₂ O	0°C - RT
	THF	
NaH	DMF	0°C - RT
	DMF / THF	
<i>t</i> -BuOK	Et ₂ O	0°C - RT
	DMF / MeOH	

In den ersten Versuchen wurde $\text{Bu}_4\text{NF}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ als Base in Et_2O bzw. THF eingesetzt. Dabei stellte sich jedoch heraus, dass es trotz des im Überschuss eingesetzten Nitromethans (8-10 Äq), zu keinem vollständigen Umsatz in der Reaktion kam. Auch durch eine Temperaturerhöhung von 0°C auf RT konnte nicht verhindert werden, dass sich ab ca. der Hälfte des Reaktionsverlaufes ein scheinbares Gleichgewicht zwischen der Ulose **62** und dem gewünschten Produkt **65a,b** einstellte. Ein weiteres Problem lag darin, dass die R_f -Werte des Eduktes und des Produktes, wie schon zuvor bei der Umsetzung von **61** zu **64**, sehr knapp beieinander liegen, wodurch die Detektion des Reaktionsverlaufs erheblich erschwert wurde.

Aufgrund dieses Problems wurden in weiteren Optimierungsversuchen die stärkeren Basen *t*-BuOK bzw. NaH, sowie die aus Löslichkeitsgründen notwendigen Lösungsmittel DMF bzw. MeOH eingesetzt. Auch unter diesen härteren Reaktionsbedingungen konnte zunächst kein vollständiger Umsatz beobachtet werden. Dieser konnte jedoch über eine Erhöhung der Temperatur bzw. Verlängerung der Reaktionszeit erzielt werden.

Trotz der auf diesem Weg komplett abreagierten Ulose **62** konnten nur Ausbeuten von 62% erzielt werden. Der Grund dafür liegt darin, dass es unter diesen drastischen Bedingungen zu Nebenreaktionen kam.

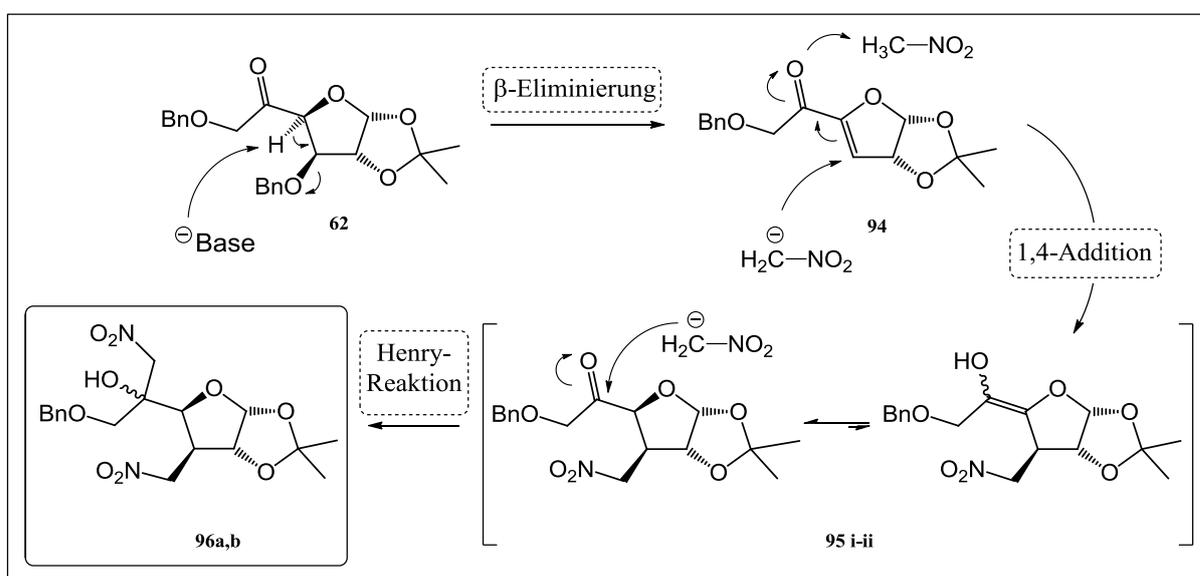


Abbildung 34: Bildung der Nebenprodukte während der Henry-Reaktion.

Wie in **Abbildung 34** gezeigt, greift im ersten Schritt eine starke Base am Wasserstoffatom H-4 an, wodurch in einer β -Eliminierung die α,β -ungesättigte Verbindung **94** entsteht. Diese wird im Anschluss von, im Überschuss vorhandenem, Nitromethan in einer 1,4-Addition zur Verbindung **95** umgesetzt.

Dieser Angriff erfolgt wegen der sterischen Hinderung durch die Isopropyliden-Gruppe nur von der *exo*-Seite. Da aufgrund der nun fehlenden *O*-Benzyl-Funktionalität keine in β -Position befindende Abgangsgruppe mehr vorhanden ist, findet im letzten Schritt die ursprünglich geplante Henry-Reaktion statt, in deren Folge die Diastereomere **96a** und **96b** gebildet werden.

3.4 Kettenverzweigung über Phosphorreagenzien

Im Rahmen der Kettenverzweigung mittels Phosphorreagenzien wurden jeweils zwei Varianten der Wittig- bzw. der Horner-Wadsworth-Emmons-Reaktion untersucht. Es sei erwähnt, dass zwei dieser vier möglichen Produkte im Sinne der gesamten Synthesestrategie des Isofagomins (**17**) als ident angesehen werden können. Dieser Teil des allgemeinen Reaktionsverlaufs ist in **Abbildung 35** dargestellt. Die unterschiedlichen Reaktionen wurden nur aufgrund der in Folge erläuterten Probleme durchgeführt.

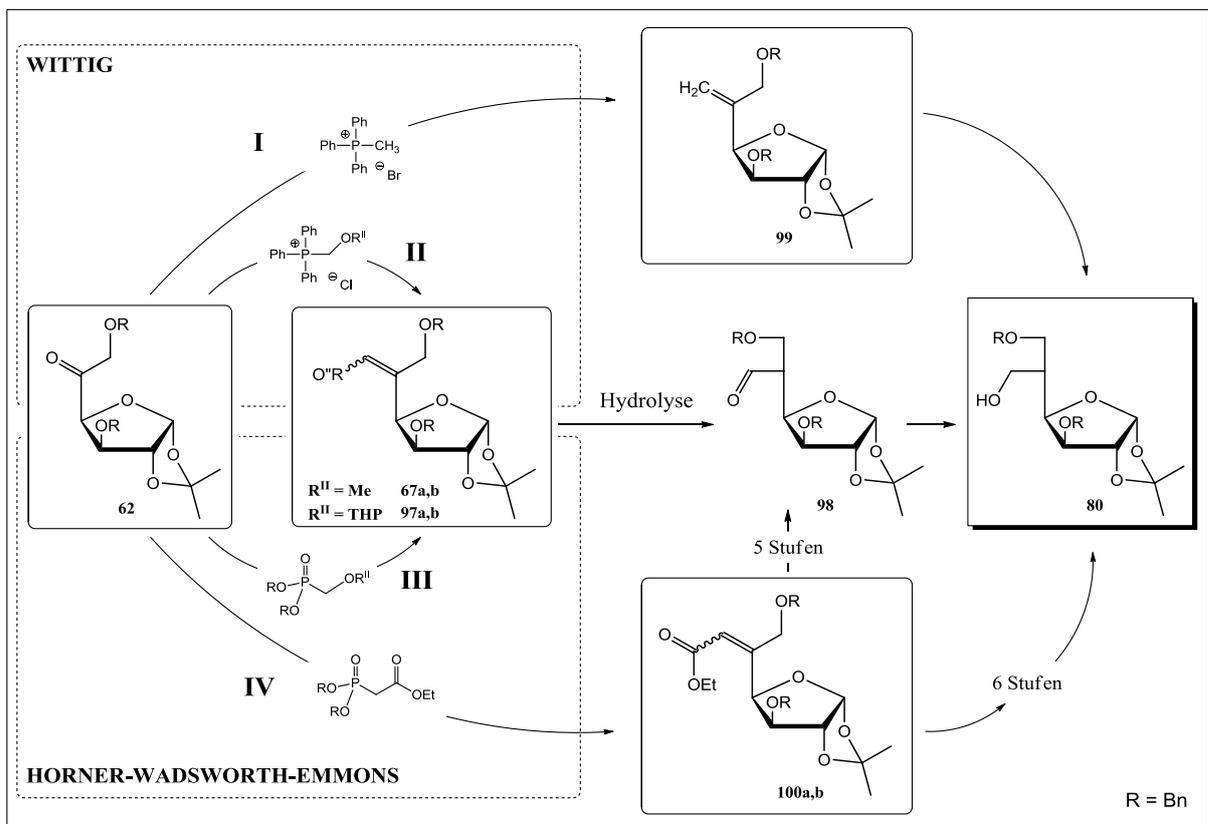


Abbildung 35: Auf Phosphorreagenzien basierende Verzweigung der Kohlenstoffkette.

3.4.1 Wittig-Reaktion

3.4.1.1 Variante 1

Ulose **62** sollte nach dem in **Abbildung 35** dargestellten Reaktionsweg **I**, zum Alken **99** umgesetzt werden. Dazu wurde Methyltriphenylphosoniumbromid in Et₂O unter einer N₂-Schutzgasatmosphäre vorgelegt. Zu diesem, bei -78°C mit *n*-BuLi deprotoniertem Reagenz, wurde im Anschluss Ulose **62** langsam zugetropft.

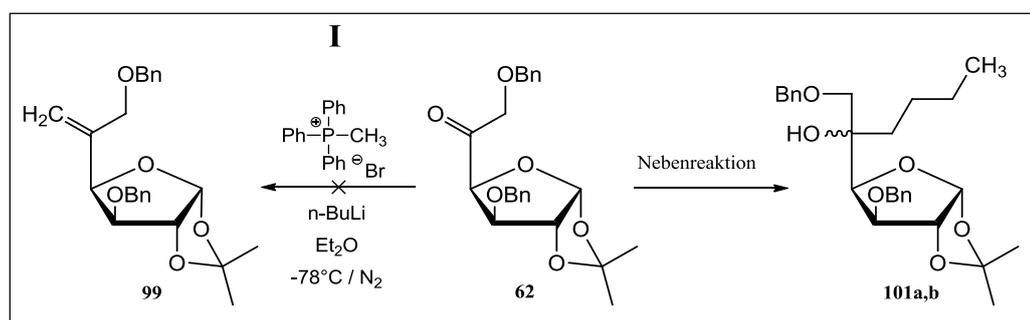


Abbildung 36: Umsetzung von Ulose **62** in einer Wittig-Reaktion.

Es entstand jedoch eine Vielzahl von Produkten, von denen keines als Hauptprodukt identifiziert werden konnte, sodass der erste Versuch verworfen wurde. Auch in weiteren Umsetzungen konnte das gewünschte Produkt **99** nicht dargestellt werden. Dabei konnte die Möglichkeit, dass das eingesetzte *n*-BuLi nicht mehr reaktionsfähig sei, ausgeschlossen werden. Als dieses im Überschuss eingesetzt wurde, kam es zu einem nukleophilen Angriff an der Carbonylfunktion der Ulose **62**, wodurch die beiden Diastereomere **101a** und **101b** entstanden. (siehe **Abbildung 36**)

3.4.1.2 Variante 2

Wie bereits erwähnt, ähnelt der in **Abbildung 35** als **I** beschriebene Reaktionsweg der Wittig-Reaktion, dem der als **II** bezeichneten Horner-Wadsworth-Emmons-Reaktion. Der große Vorteil dieser Varianten liegt darin, dass die so dargestellten Enoether **67a,b** bzw. **97a,b**, theoretisch leicht zu Aldehyd **98** welcher ein wichtiges Zwischenprodukt in der geplanten Isofagominsynthese ist, hydrolysiert werden können.

Wie in **Abbildung 37** gezeigt, verläuft die Abspaltung der Schutzgruppe über ein Enol (**i**), das im Gleichgewicht mit Aldehyd **98** steht.

Dabei ist zu beachten, dass sich aufgrund der sogenannten „Keto-Enol-Tautomerie“ ebenfalls *L-ido*-konfigurierter Aldehyd **102** bilden kann, wobei dieses Gleichgewicht zu Beginn der Reaktion laut einer „Empirischen Regel“, zu einem großen Teil auf der natürlich vorkommenden *D-gluco* Seite (**98**) liegen sollte.

Somit sollte dieser Aldehyd so schnell wie möglich zu Alkohol **80** reduziert werden, um die eingangs besprochenen Probleme der Isofagomin- (**17**) bzw. der 5-*epi*-Isfagomin (**75**) –Synthese, bezüglich der Chiralität an C-5 zu minimieren. (vgl. **Abbildung 28**)

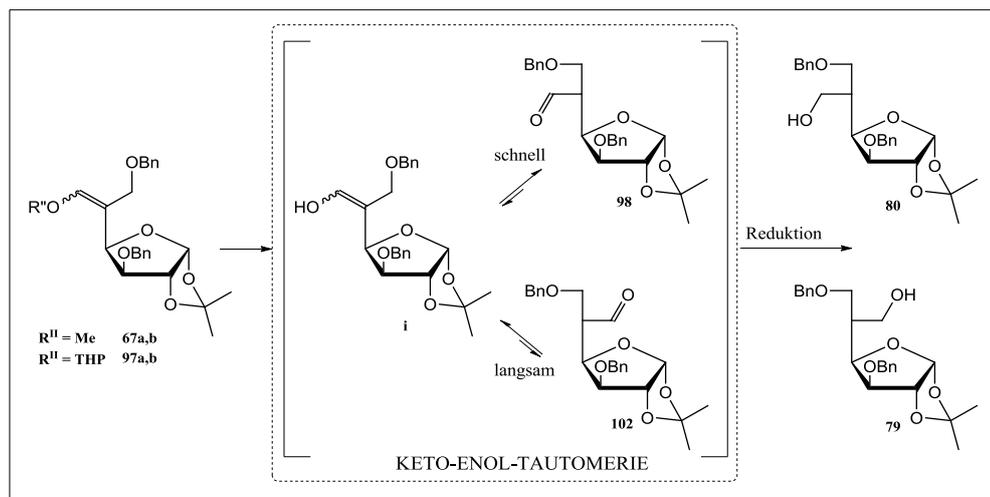


Abbildung 37: Keto-Enol-Tautomerie.

Für die in **Abbildung 38** dargestellte Umsetzung von Ulose **62** zu dem *E*- bzw. *Z*-konfigurierten Enolether **67a,b**, wurde im ersten Schritt bei -78°C und unter N_2 -Schutzgasatmosphäre, Methoxymethyltriphenylphosphoniumchlorid in trockenem THF vorgelegt und ca. eine Stunde mit *n*-BuLi deprotoniert, bis eine für Wittig-Reagenzien charakteristische orange Färbung zu beobachten war. Anschließend wurde zu dieser Lösung die in trockenem THF gelöste Ulose **62** getropft.

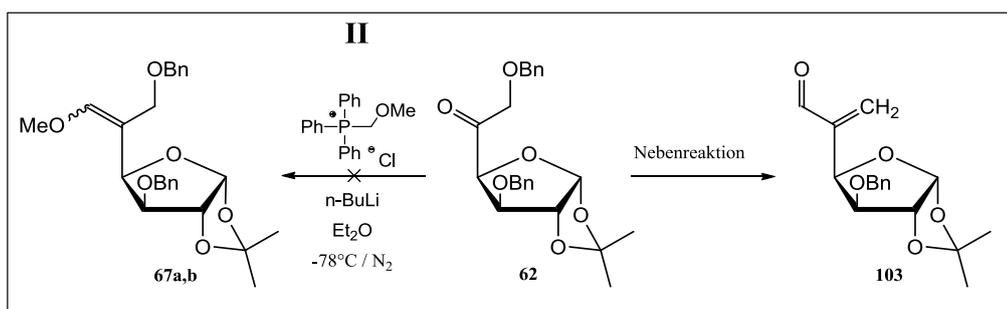


Abbildung 38: Umsetzung von Ulose **62** in einer Wittig-Reaktion.

Wie schon bei der ersten Variante der Wittig-Reaktion, konnten auch in dieser Umsetzung die gewünschten Produkte **67a,b** nicht dargestellt werden.

Dabei war genau wie bei den vorangegangenen Reaktionen zu beobachten, dass trotz der im Überschuss eingesetzten Reagenzien kein vollständiger Umsatz zu erzielen war. Mit Hilfe von HPLC-MS-Messungen konnte gezeigt werden, dass sich Verbindung **103** in wenigen Prozenten bildete. Dies ließ den Schluss zu, dass die ursprünglich geplante Reaktion zu einem geringen Teil funktioniert haben muss, da der α,β -ungesättigte Aldehyd **103** wie in **Abbildung 39** gezeigt wird, als „Zersetzungsprodukt“ der Aldehyde **98** bzw. **102** angesehen werden kann.

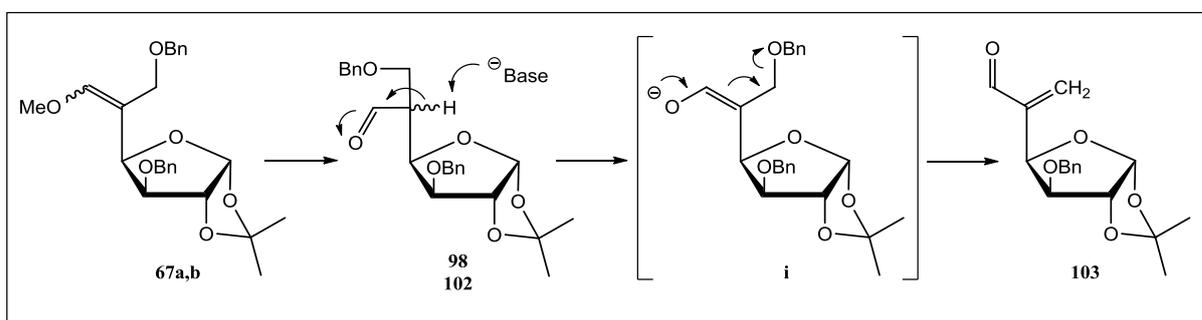


Abbildung 39: Bildung des Nebenproduktes während der Wittig-Reaktion.

3.4.2 Horner-Wadsworth-Emmons-Reaktion

3.4.2.1 Variante 1

Bei dieser Reaktion soll Ulose **62** mit Diethyl[(2-tetrahydropyranyloxy)methyl]phosphonat **106** in Anlehnung an eine Arbeit von Cloudsdale und Mitarbeitern⁶² zu Enolether **97a,b** umgesetzt werden. Wie schon besprochen, liegt ein großer Vorteil, der in **Abbildung 35** als **III** bezeichneten Umsetzung darin, dass der, ebenso in *E*- bzw. *Z*-Konfiguration entstehende, Enolether **97a,b**, theoretisch leicht zum Aldehyd **98** hydrolysierbar sein sollte. Dabei sind natürlich die gleichen Probleme bezüglich der Stereochemie, wie schon bei der als **II** bezeichneten Variante der Wittig-Reaktion zu beachten. (vgl. **Abbildung 37**)

Der wohl größte Vorteil dieser Variante der Horner-Wadsworth-Emmons-Reaktion (**HWE**) liegt aber darin, dass die für diese Reaktion notwendigen Phosphorreagenzien, leicht synthetisiert werden können⁶³ wodurch der in **Abbildung 26** beschriebene Zugang zu den an C-6 derivatisierten Isogominen elegant realisiert werden könnte. Dieser allgemeine Syntheseblock ist in **Abbildung 40** dargestellt.

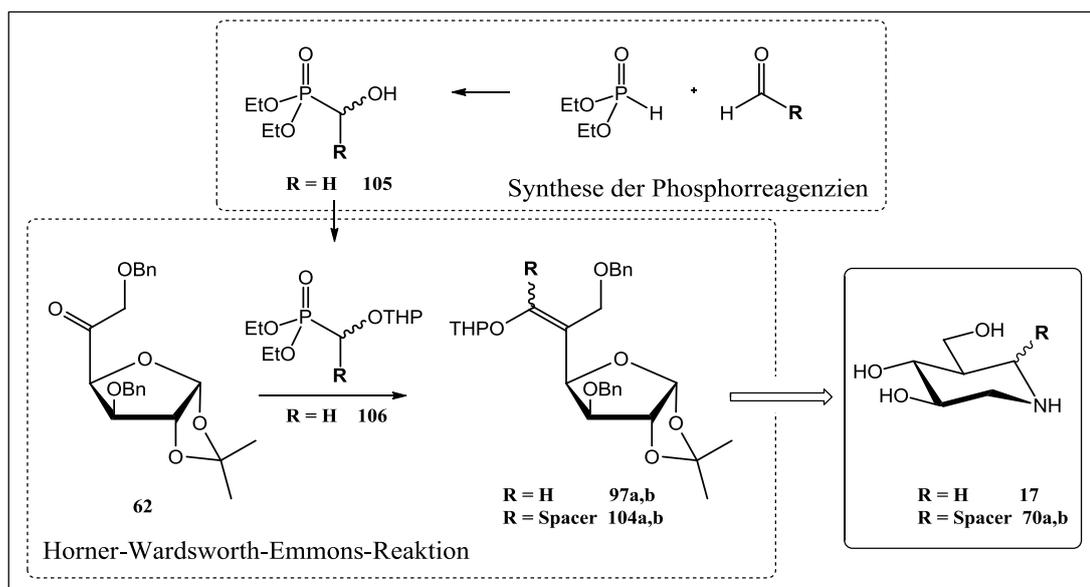


Abbildung 40: Die HWE-Reaktion mit unterschiedlichen Phosphorreagenzien.

Das käufliche Diethyl(hydroxymethyl)phosphonat **105** wurde unter saurer Katalyse mit 2,3-Dihydro-2H-pyran in CH_2Cl_2 zu Verbindung **106** umgesetzt⁶². Diese wurde unter Stickstoff bei -78°C mit aus Diisopropylamin und *n*-BuLi *in situ* dargestelltem LDA deprotoniert. Anschließend wurde zu diesem in trockenem THF gelöste Ulose **62** zugetropft. Dabei ist zu beachten, dass aufgrund der Chiralität der THP-Schutzgruppe, ebenfalls jeweils zwei Diastereomere, also in Summe vier Produkte entstehen sollten, diese jedoch nur aufgrund ihrer Konfiguration an der Doppelbindung als **97a** bzw. **97b** unterschieden werden.

Leider konnten auch bei dieser Variante der Kohlenstoffkettenverzweigung die gewünschten Enolether **97a** bzw. **97b** nicht dargestellt werden. Erschwerend kam hinzu, dass sich in mehreren Ansätzen unter leicht unterschiedlichen Bedingungen immer verschiedene Produkte bildeten, sodass eine Interpretation des Reaktionsverlaufs nur schwer möglich war.

Im Anschluss soll auf die in verschiedenen Ansätzen entstandenen Produkte bzw. die beobachteten Nebenreaktionen näher eingegangen werden. Dazu sind in **Abbildung 41** verschiedene Dünnschichtchromatogramme von jeweils typischen Versuchen der Umsetzung von Ulose **62** angeführt.

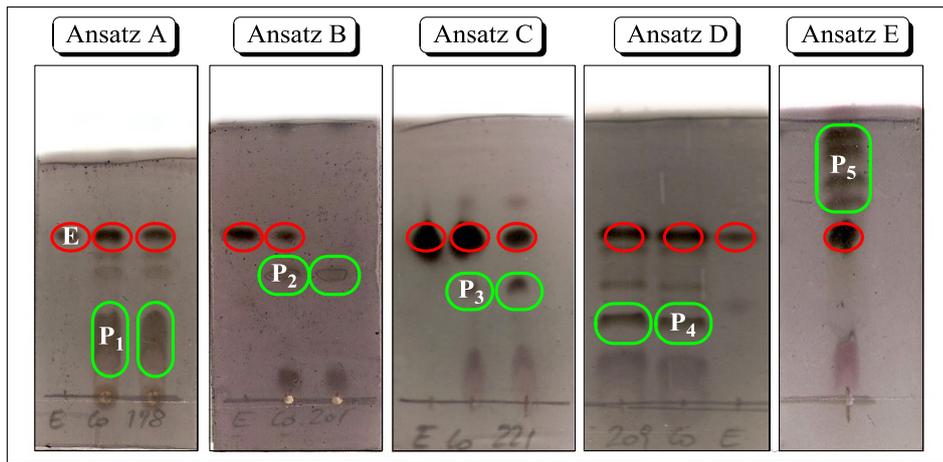


Abbildung 41: Mittels DC detektierter Reaktionsverlauf verschiedener Ansätze der Umsetzung von Ulose **62** in einer HWE-Reaktion.

Ansatz A

Bei diesem Versuch wurde das Phosphonat **106**, wie oben erwähnt, mit LDA deprotoniert und zu dieser Lösung Ulose **62** zugetropft. Dabei konnte laut Umsatzkontrolle mittels DC beobachtet werden, dass sich mehrere polarere Produkte **P₁** bildeten (siehe **Abbildung 41**). Diese konnten laut NMR-Messungen nicht als gewünschte Produkte identifiziert werden. Darauf wurde der Reaktionsverlauf so interpretiert, dass sich der zyklische Übergangszustand **B** nicht ausbildete, wodurch sich die, am sauren DC hydrolysierten Verbindungen **107 (i-vi)** bildeten. (siehe **Abbildung 42**)

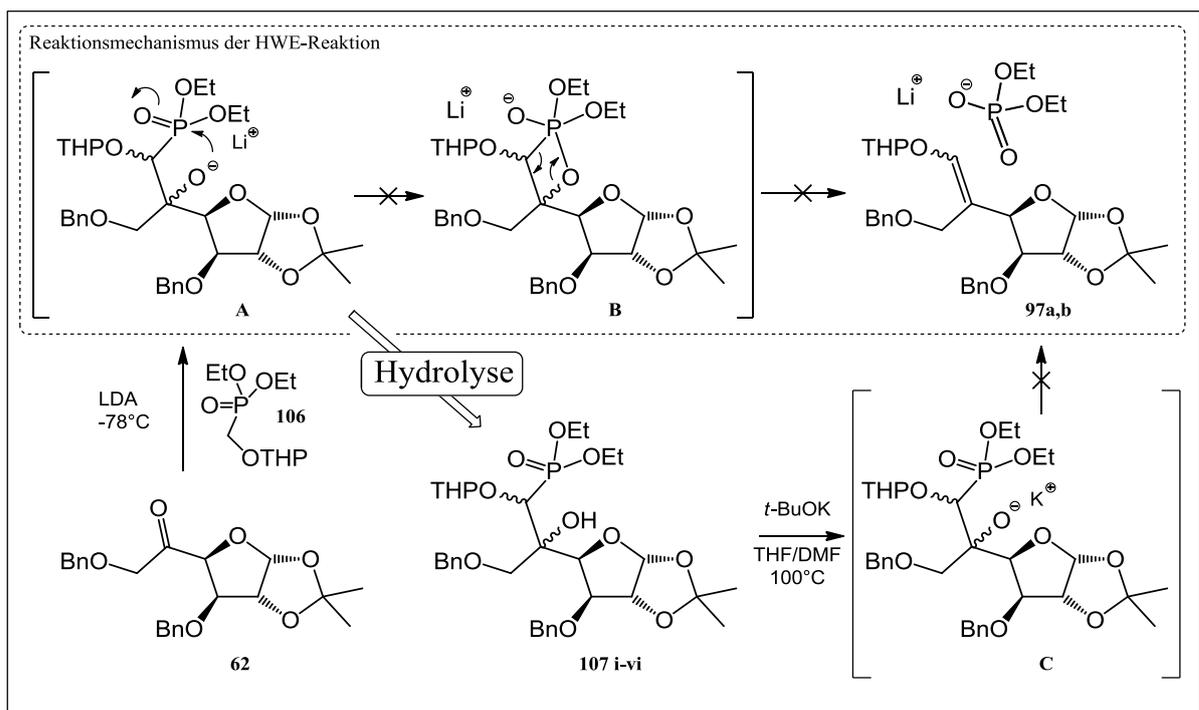


Abbildung 42: Konkurrenzreaktionen zu der geplanten HWE-Reaktion.

Diese Annahme wurde durch eine Arbeit von Cloudsdale und Mitarbeitern⁶² bestärkt, da in dieser das gleiche Problem beschrieben ist. Als Lösung, wird in dieser Vorschrift angegeben, dass die Reaktion über zwei Stufen durchgeführt werden muss. Dazu wurde der komplette Ansatz aufgearbeitet, und der dadurch in den Verbindungen **107 (i-vi)** auftretende Alkohol erneut deprotoniert. In diesem zweiten Schritt wurde jedoch nicht LDA, sondern *t*-BuOK als Base verwendet. Dieser formelle Austausch des Gegenions von Lithium gegen Kalium (Übergangszustand **C**) sollte nun ermöglichen, dass sich der ursprünglich angestrebte zyklische Übergangszustand **B** ausbildet, welcher zu dem gewünschten Produkt **97a,b** führt.

Leider konnte auch über diesen Weg kein zufriedenstellendes Ergebnis erzielt werden. Vielmehr führten diese Versuche zu weiteren Unklarheiten, da sich die am DC beobachteten Produkte unter den Bedingungen in Ulose **62** zurück überführen ließen. Anhand von weiteren ³¹P-NMR-Messungen konnte jedoch gezeigt werden, dass sich, aufgrund des in der **Abbildung 43** dargestellten Reaktionsmechanismus, die Verbindungen **108** bzw. **109** gebildet hatten.

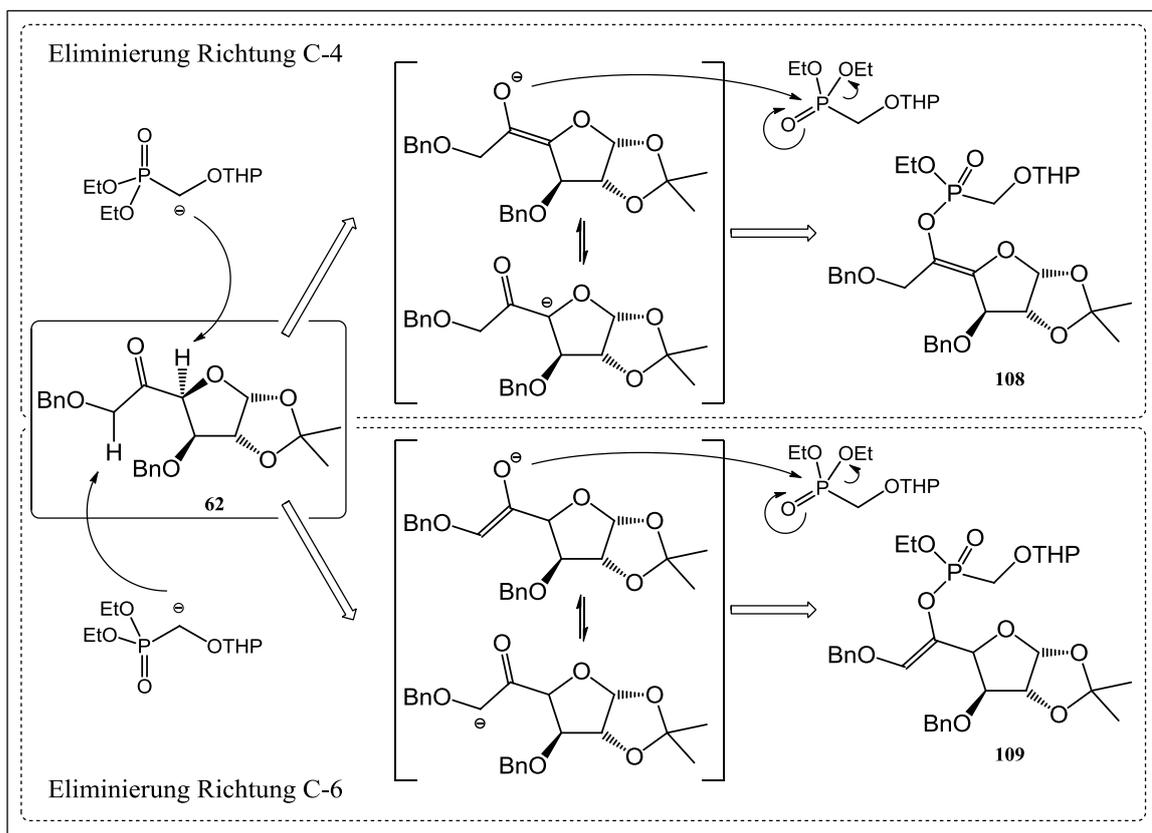


Abbildung 43: Nebenreaktionen bei der HWE-Reaktion.

Wie in **Abbildung 43** gezeigt, greift dabei das deprotonierte Phosphonat **106** nicht wie geplant nukleophil am Carbonylkohlenstoff C-5 an, sondern wirkt als Base, wodurch die Wasserstoffatome am Kohlenstoff C-4 bzw. C-6 abgezogen werden. In Folge dieser Deprotonierung bilden sich vier mögliche Enolate, die ihrerseits wiederum nukleophil am Phosphor des reprotonierten Reagenz angreifen, sodass im Rahmen eines Additions-Eliminierungs-Mechanismus die beiden möglichen Phosphonsäureester **108** und **109** gebildet werden.

Diese Verbindungen erklären letztlich den unübersichtlichen Reaktionsverlauf und die Nebenreaktionen. Einerseits wird durch sie die Bildung mehrerer polarerer Spots verständlich und andererseits kann so der Umstand, dass sie sich unter hydrolytischen Bedingungen wieder quantitativ in Ulose **62** überführen lassen, erklärt werden.

Ansatz B

Das im **Ansatz A** besprochene Problem des Einflusses des Gegenions während der Bildung des zyklischen Übergangszustandes **B** führte zu dem Versuch, das Phosphonat **106** nicht mit LDA, sondern mit *t*-BuOK zu deprotonieren.

Dazu wurde dieses, wie in **Abbildung 44** dargestellt, bei -78°C in trockenem THF unter Stickstoff mit *t*-BuOK gerührt. Anschließend wurde die in THF gelöste Ulose **62** zugetropft, um die beiden Enoether **97a** und **97b** zu erhalten. Wie in der in **Abbildung 41** gezeigten Umsatzkontrolle mittels DC zu erkennen ist, bildete sich bei diesen Reaktionsbedingungen ein, im Verhältnis zum Edukt, leicht polareres Produkt **P₂**.

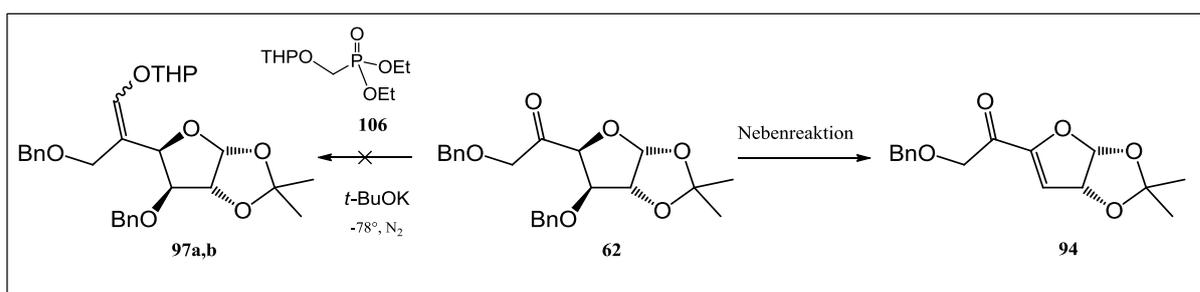


Abbildung 44: Umsetzung von Ulose **62** in einer HWE-Reaktion.

Auch bei dieser Reaktionsführung konnten die gewünschten Produkte nicht synthetisiert werden, da das eingesetzte *t*-BuOK eine zu schwache Base ist. Aufgrund dessen wurde das Phosphonat **106** nicht deprotoniert, wodurch es, unter den dennoch stark basischen Bedingungen, vergleichbar der Nebenreaktion bei der Henry-Reaktion, über eine β -Eliminierung des Benzylalkoholates, zur Bildung der α,β -ungesättigten Verbindung **94** kam.

Ansatz C

Für diese analog zu **Ansatz A** durchgeführte Reaktion muss das in **Abbildung 41** gezeigte polarere Hauptprodukt **P₃** genauer betrachtet werden. Dazu ist der zeitlich verfolgte Reaktionsverlauf dieser Reaktion, über die Umsatzkontrolle mittels DC, in **Abbildung 45** dargestellt.

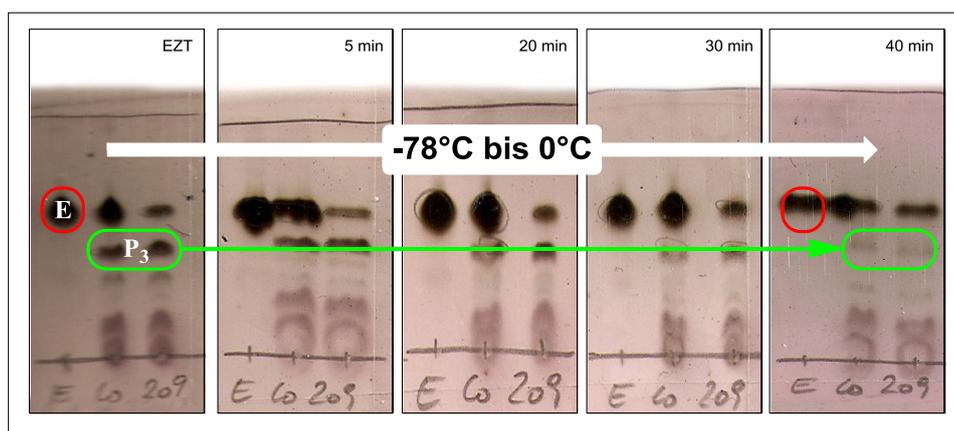


Abbildung 45: Zeitlich verfolgte Umsatzkontrollen der HWE-Reaktion.

Dabei ist zu erkennen, dass sich der als **P₃** gekennzeichnete Spot direkt nachdem die Ulose **62** zum aktivierten Phosphonat **106** zugetropft wurde, spontan gebildet hatte. Im Laufe der Reaktion wurde die Temperatur von -78°C auf 0°C erhöht, wobei zu beobachten war, dass die Konzentration von **P₃** wieder abnahm. Gleichzeitig schien es jedoch, dass sich parallel dazu die als **E** bezeichnete bereits abreagierte Ulose **62** wieder zu bilden schien, wodurch der Schluss nahe lag, dass sich zwischen diese beiden Verbindungen unter den basischen Bedingungen ein temperaturabhängiges Gleichgewicht einstellt.

Anfangs wurde dieses Phänomen dadurch erklärt, dass, in Analogie zu den vorhin erworbenen Erfahrungen, es unter den basischen Bedingungen zu einer Deprotonierung an C-4 kommt, wodurch sich das in **Abbildung 46** als **i** bezeichnete Enolat bildet. Über dieses kann sich jedoch ein Gleichgewicht zwischen *D-gluco* Ulose **62** und *D-galacto* konfigurierte Ulose **110** einstellen. Zusätzlich wurde diese Vermutung dadurch verstärkt, dass sich bei erhöhten Temperaturen (0°C), dieses Gleichgewicht in Richtung der „natürlichen“ *D-gluco*-Form zu verschieben schien.

Auch diese Theorie musste verworfen werden, da die Verbindung **110** nicht isoliert werden konnte. Dies sollte erzielt werden, indem ein neuer Ansatz, gleich zu Beginn der Reaktion, sofort aufgearbeitet werden sollte. Dabei war zu beobachten, dass sich, wie schon in den vorigen Versuchen, ebenfalls der Spot **P₃** spontan gebildet hatte, dieser nach der Aufarbeitung jedoch wieder verschwunden war und so die gesamte eingesetzte Ulose **62** rückgewonnen werden konnte.

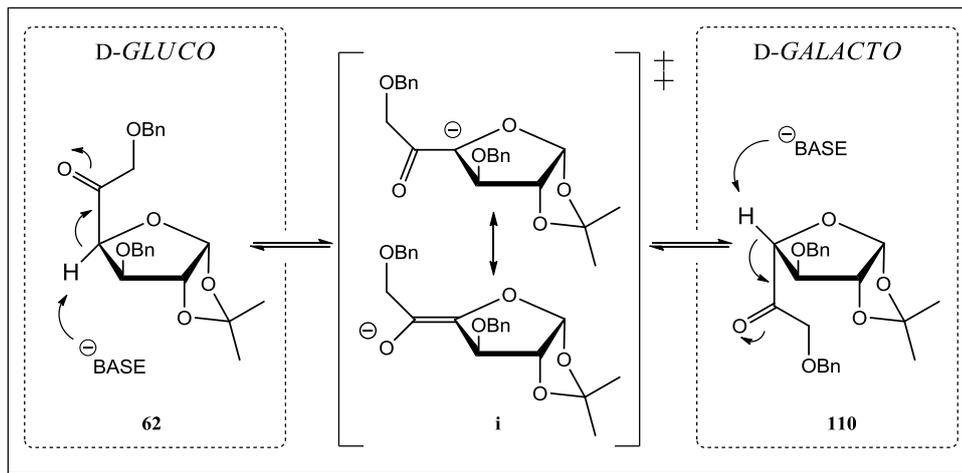


Abbildung 46: Basisch katalysierte Epimerisierung zwischen D-glucose und D-galactose Konfiguration.

Ansatz D

Da in den vorangegangenen Ansätzen die gewünschten Enolether **97a,b** nicht dargestellt werden konnten, wurden die Reaktionszeiten in dieser Versuchsreihe deutlich verlängert bzw. zusätzlich die Temperatur auf RT erhöht. Auf diesem Weg konnte nach drei Tagen Hauptprodukt **P₄** isoliert werden. (siehe **Abbildung 41**)

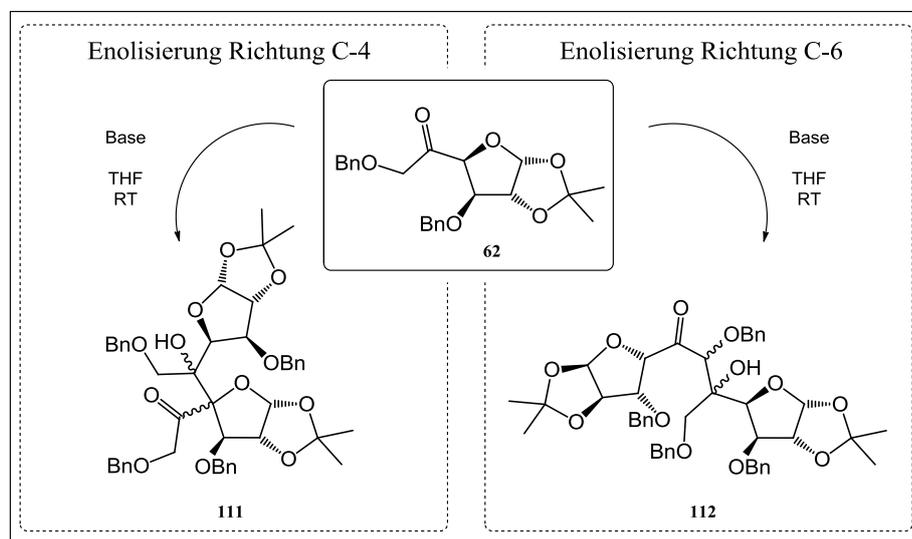


Abbildung 47: Bildung der Dimere von Ulose **62** unter basischer Katalyse.

Auch so konnten die gewünschten Produkte **97a,b** nicht dargestellt werden. Der Grund dafür liegt darin, dass es im Rahmen dieses langen Reaktionsverlaufs über eine basenkatalysierte, intermolekulare Aldolkondensation zur Bildung der Produkte **111** und **112** kam. (siehe **Abbildung 47**)

Ansatz E

Dieser Ansatz ist angeführt, um die Komplexität des Systems zu unterstreichen. Betrachtet man die Produkte, fällt sofort auf, dass sie alle polarer als Ulose **62** sind. In einem weiteren Versuch, unter den fast gleichen Reaktionsbedingungen bildeten sich jedoch vier im Vergleich zu Ulose **62** unpolare Produkte **P₅** (siehe **Abbildung 41**). Dies schürte die Hoffnung, dass es sich doch um die vier Enoether **97a,b** handelt.

Diese konnten jedoch ebenfalls nicht isoliert werden, da sie sich in Analogie zum **Ansatz C** nach der Aufarbeitung wieder quantitativ zu Edukt **62** umgesetzt hatten.

3.4.2.2 Variante 2

Nachdem bei all den bisherigen auf Phosphorreagenzien basierenden Kettenverzweigungsreaktionen sehr starke Basen eingesetzt werden mussten und diese Bedingungen aufgrund der Deprotonierungen an C-4 und C-6 zu Nebenreaktionen führten, wurde versucht, diese Reaktion in Anlehnung an die Arbeiten von Liang⁵⁹ bzw. Chida⁶⁴ unter mildereren Bedingungen ablaufen zu lassen.

Ulose **62** wurde wie in **Abbildung 48** dargestellt, mit Ethyl(diethyl)phosphonoacetat umgesetzt. Dieses resonanzstabilisierte, und somit weniger basische Phosphonat wurde mit *t*-BuOK in trockenem THF bei RT deprotoniert. Im Anschluss wurde zu dieser Lösung ebenfalls in THF gelöste Ulose **62** getropft.

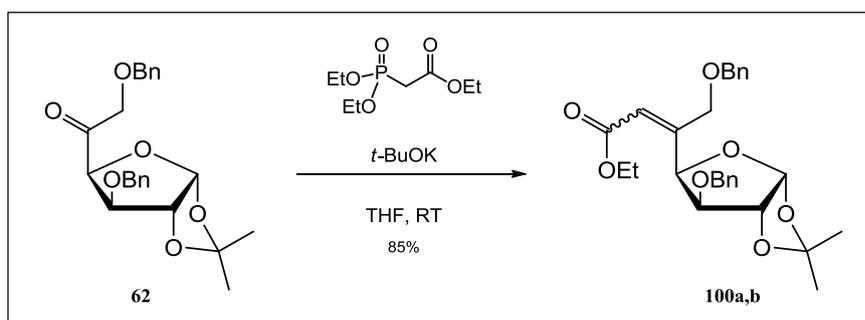


Abbildung 48: Darstellung von 3-*O*-Benzyl-5-*C*-(benzyloxymethyl)-5,6-dideoxy-1,2-*O*-isopropyliden- α -*D*-xylo-hept-5-(*E,Z*)-enofuranosyluronsäuremethylester **100a,b**.

Trotz des, wie schon bei der Henry-Reaktion auftretenden Problems, dass trotz der im Überschuss eingesetzten Reagenzien kein vollständiger Umsatz erzielt wurde, konnten auf diesem Weg die beiden α,β -ungesättigten Ester **100a** und **100b** in einem Verhältnis von ca. 1:1, in einer Gesamtausbeute von 85% dargestellt werden.

3.4.3 Weitere Umsetzungen

In diesem Kapitel wird besprochen werden, wie die über die Kohlenstoffverzweigung an C-5, dargestellten Produkte im Rahmen der geplanten Isogagominsynthese weiter umgesetzt wurden.

3.4.3.1 Weitere Umsetzungen der dargestellten Cyanide

Im ersten Teil werden die Folgereaktionen der Cyanide **64** und **93** besprochen. Diese sollten nach dem in **Abbildung 49** dargestellten Reaktionsverlauf zu den Alkoholen **79** bzw. **114** umgesetzt werden. Der Hauptgrund dafür liegt darin, dass ihr Kohlenstoffatom C-5, aufgrund des Reaktionsmechanismus bei deren Darstellung, in *L-ido*-Konfiguration vorliegt. So führen sie zwar nicht zu Isogagomin (**17**), jedoch können die so entstehenden Alkohole, speziell **79**, als Referenz, beim Vergleich späterer Produktgemische, herangezogen werden. (siehe nächstes Kapitel)

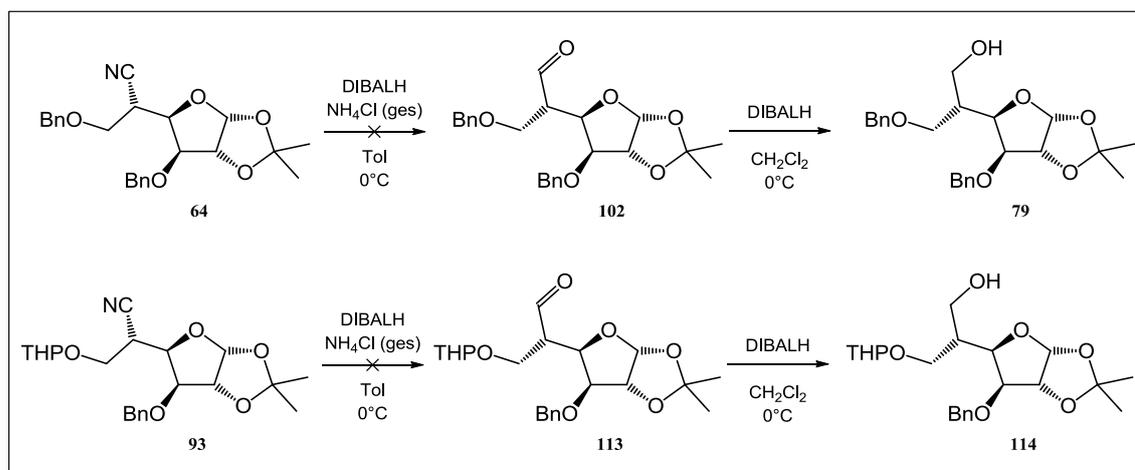


Abbildung 49: Geplante Umsetzung der Cyanide **64** bzw. **93** zu den entsprechenden Alkoholen **79** bzw. **114**.

Diese Umsetzung wurde in beiden Reaktionen gleich durchgeführt. Im ersten Schritt sollte Cyanid **64** mit DIBALH in Toluol zum entsprechenden Aldehyd **102** reduziert werden. Diese Reaktion läuft über ein Imin, sodass dieser Aldehyd erst während der leicht sauren Aufarbeitung mittels gesättigter NH_4Cl -Lsg. entstehen sollte. Aufgrund der vorhin genannten Probleme einer möglichen Enolisierung des Aldehydes **102** und dem damit verbundenen Verlust der stereochemischen Information an C-5 wurde dieser sofort bei 0°C mit DIBALH in CH_2Cl_2 zum Alkohol **79** weiter reduziert.

Leider konnten auch bei diesen Umsetzungen die gewünschten Alkohole **79** bzw. **114** nicht dargestellt werden. Der genaue Grund dafür ist nicht bekannt, jedoch liegt die Vermutung nahe, dass die Reduktion zum Imin nicht funktioniert hat, da die darauf folgende Reaktion zum Alkohol, wie später gezeigt werden wird, realisierbar ist.

3.4.3.2 Weitere Umsetzungen der dargestellten Ester

Zu Beginn dieses Abschnitts sei erwähnt, dass im Rahmen der für diesen Reaktionsverlauf notwendigen Reaktionen bzw. Schutzgruppen zusätzliche chirale Zentren an der Verbindung **100a,b** aufgebaut werden, wodurch weitere Diastereomere einer „Grundstruktur“ gebildet werden. Nachdem diese jedoch im Laufe des Reaktionsschemas wieder abgebaut werden, erfolgte nur an einigen Stellen eine Trennung dieser Produkte. Weiters sei noch angeführt, dass die aufgrund der THP-Schutzgruppe entstehenden Diastereomere nicht extra gekennzeichnet und als nur ein Produkt behandelt wurden. (siehe **Abbildung 50**)

Im ersten Schritt dieses Syntheseblocks wurde das Gemisch der *E*- bzw. *Z*-Form, des im vorigen Teil synthetisierten α,β -ungesättigten Esters **100a,b**, bei -15°C mit DIBALH in CH_2Cl_2 zu den entsprechenden Allylalkoholen **115a** und **115b** reduziert⁶⁴. Die R_f -Werte dieser Verbindungen liegen so weit auseinander, dass sie getrennt werden konnten. Dabei konnte jedoch nicht bestimmt werden, welches das *E*-, bzw. welches das *Z*-konfigurierte Diastereomer ist. Somit sind die in **Abbildung 50** getroffenen Bezeichnungen nur schematisch. Der folgende Reaktionsverlauf wurde sowohl mit der reinen Verbindung **115a**, als auch mit der reinen Verbindung **115b** separat durchgeführt.

Da, wie oben erwähnt, die chirale Information an C-5 im Laufe der Synthese wieder abgebaut werden, wurde ebenfalls der Versuch gestartet, diese Umsetzungen mit den entstehenden Gemischen durchzuführen. Diese führte jedoch, aufgrund der Unübersichtlichkeit der entstehenden Produkte, zu keinem Ergebnis. Im Rahmen dieser Arbeit wird nur einer dieser beiden möglichen Wege beschrieben, da der andere völlig analog durchgeführt wurde.

Im Anschluss wurde der primäre Alkohol der Verbindung **115a**, unter saurer Katalyse mit 2,3-Dihydro-2*H*-pyran zu Verbindung **116a** umgesetzt. Im folgenden Schritt wurde ausgehend vom geschützten Allylalkohol **116a**, im Rahmen einer Hydroborierung die beiden Diastereomere der Verbindung **117a** dargestellt. Trotz des Umstandes, dass diese Reaktion sehr stereoselektiv abläuft (Anti-Markownikow-Produkt; *syn*-Addition), besteht dennoch die Möglichkeit, dass der Angriff an der Doppelbindung von beiden Seiten erfolgt, wodurch die beiden Produkte **117aⁱ** und **117aⁱⁱ** erklärt werden. Dabei ist weiters zu beachten, dass jedes dieser mit einer THP-Schutzgruppe geschützt ist, wodurch in der Praxis vier Produkte entstehen. Dennoch ist an dieser Stelle zu erwähnen, dass sich trotz der vier theoretisch möglichen Produkte, nur ein Hauptprodukt bildete, was eventuell dadurch erklärbar ist, dass der erwähnte Angriff an die Doppelbindung von einer Seite sterisch behindert wird. Zusätzlich ist zu erwähnen, dass in den ersten Ansätzen versucht wurde diese

Produktgemische mittels Kieselgelchromatographie zu trennen. Dabei stellte sich jedoch heraus, dass diese nicht stabil sind, wodurch es zu einem großen Verlust bezüglich der Ausbeuten kam. Folglich wurde in weiteren Versuchen auf diesen Reinigungsschritt verzichtet.

Diese Umstände erklären unter anderem die schlechten Ausbeuten von nur ca. 10%. Aufgrund dessen wurde versucht, diese Probleme zu minimieren, indem man auf den Schritt des Schützens, bzw. Entschützens des Allylalkohols **115a,b** verzichtet und diesen direkt zu den Diastereomeren **118a,b** umsetzt. Dabei stellte sich jedoch heraus, dass diese verkürzte Variante nicht zu den gewünschten Produkten führt.

Um die beiden Diolsysteme **118aⁱ** bzw. **118aⁱⁱ** zu erhalten, wurde im Anschluss die THP-Schutzgruppe unter leicht sauren Bedingungen, abgespalten. Dabei ist zu beachten, dass die 1,2-*O*-Isopropyliden-Schutzgruppe ebenfalls säurelabil ist. Dieser Umstand führte zu Überlegungen, die im Anschluss noch besprochen werden. Weiters sei noch erwähnt, dass wegen des vorhin besprochenen verschobenen Verhältnisses, der vier theoretisch möglichen Produkte der Hydroborierung, auch hier nur ein deutliches Hauptprodukt dargestellt wurde.

Im letzten Schritt dieser Synthesesequenz wurden die Diole **118aⁱⁱⁱ** mit NaIO₄ in einem Gemisch aus H₂O und Et₂O zu den Aldehyden **98** bzw. **102** umgesetzt. Dabei ist zu beachten, dass die vom anderen Epimer (**115b**) startende Synthese zu den selben Endprodukten **98** bzw. **102** führt. Zusammenfassend kann jedoch gesagt werden, dass trotz der pro Syntheseweg zwei theoretisch möglichen Produkte immer nur eines isoliert werden konnte. Dies lässt sich wohl auf die nicht im Verhältnis 1:1 entstehenden Produkte der Hydroborierung zurückführen.

Somit kann gesagt werden, dass ausgehend von einer Konfiguration des Esters **100a,b**, also entweder *E* oder *Z*, jeweils ein Aldehyd, **98** oder **102**, synthetisiert werden kann.

Diese Aldehyde wurden, aufgrund der bereits öfter diskutierten und in **Abbildung 37** dargestellten Probleme bezüglich der möglichen Enolisierung, sofort zu den entsprechenden Alkoholen **79** bzw. **80** reduziert.

An dieser Stelle soll noch einmal auf den Grund der geplanten Umsetzungen des Cyanides **64** zu Alkohol **79** eingegangen werden. Wie in diesem Teil bereits erwähnt, konnten die Konfigurationen an C-5, der über diesen Weg dargestellten Aldehyde bzw. Alkohole nicht bestimmt werden, d.h. es konnte nicht festgestellt werden, über welchen Weg man welches Epimer synthetisieren kann. Hierzu hätte der, infolge seiner über Cyanid **64** stereochemisch eindeutigen Synthese, dargestellte Alkohol **79** als Vergleichssubstanz dienen können.

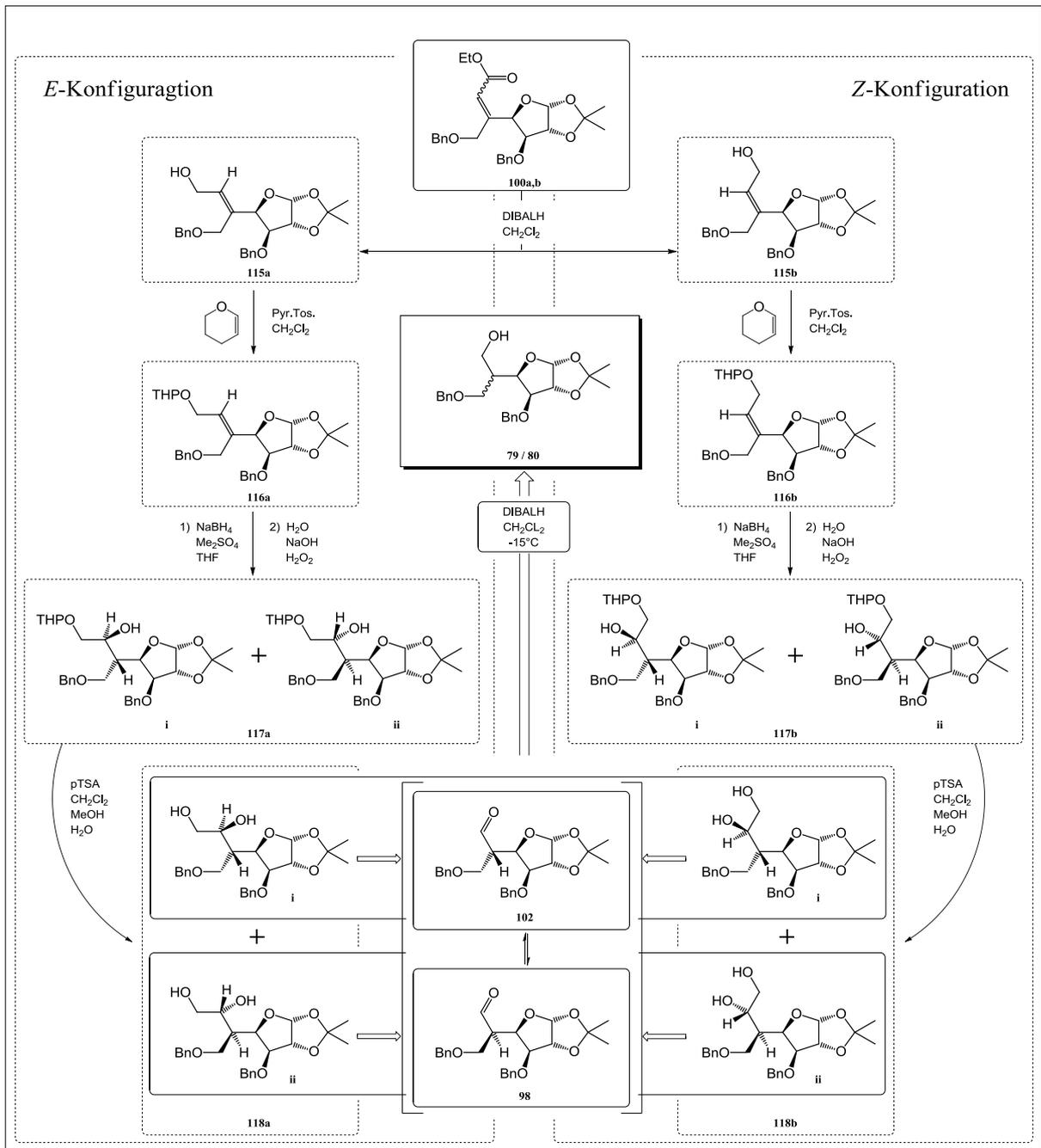


Abbildung 50: Darstellung von 98 bzw. 102.

3.4.4 Weitere Syntheseschritte:

Abschließend werden weitere bzw. alternativ angestrebte Syntheseschritte diskutiert. Dieses Reaktionsschema ist in **Abbildung 51** dargestellt. Dabei ist zu beachten, dass, ebenso wie schon im vorangegangenen Teil, mehrere Diastereomere einer „Basisstruktur“ auftreten, diese jedoch im Formelschema nicht mehr einzeln, sondern „als Gruppe“ angeführt sind.

Zuerst soll der ursprünglich bis zum Isofagomin (**17**) geplante Syntheseweg, bzw. die aufgrund diverser Probleme notwendigen Änderungen erläutert werden.

Ester **100a,b** wurde wie bereits in **Abbildung 50** beschrieben, in drei Stufen zum geschützten Allylalkohol **117a,b** umgesetzt.

An dieser Stelle soll in Erinnerung gerufen werden, dass im Verlauf der geplanten Isofagominsynthese die Kohlenstoffkette um das anomere Kohlenstoffatom C-1 verkürzt werden muss (vgl. **Abbildung 24**). Weiters muss beachtet werden, dass im Rahmen der Kettenverzweigung über das resonanzstabilisierte Phosphonat, ein zusätzlicher Kohlenstoff am Ende der Kette eingeführt wurde. Dieser Umstand sollte keinen Nachteil darstellen, da diese beiden Atome über eine Periodatspaltung gleichzeitig abgespalten werden können, sodass kein zusätzlicher Syntheseschritt entstände.

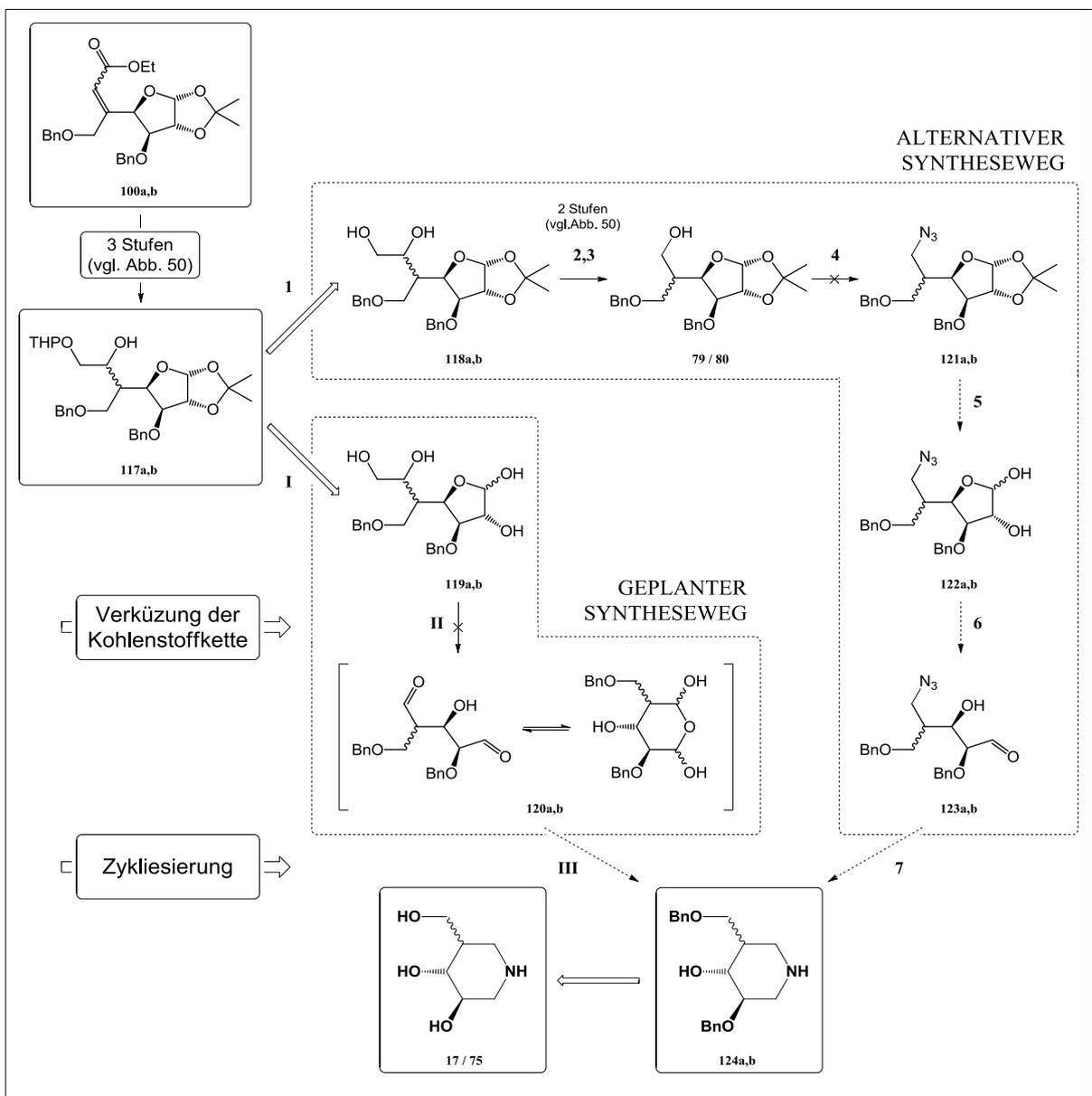


Abbildung 51: Alternative Syntheseschritte.

Es mussten die beiden säurelabilen Schutzgruppen des Allylkohols **117a,b** simultan hydrolysiert werden. Dazu wurde Verbindung **117a,b** in einem Gemisch aus MeCN und H₂O aufgenommen und mit saurem Ionentauscher IR-120 behandelt. Im Anschluss sollten diese in der Verbindung **119a,b** entstandenen Diolsysteme, in einem 2-Phasensystem aus Et₂O und H₂O mit NaIO₄ zu Dialdehyd **120a,b** umgesetzt werden. Dieser könnte im letzten Schritt, vergleichbar mit der ersten Isofagominsynthese³⁶, über eine doppelte, reduktive Aminierung zu Isofagomin (**17**), bzw. 5-*epi*-Isifagomin (**75**) zyklisiert werden. In Analogie zu der Arbeit von Varchi et al.⁶⁵, könnte diese Reaktion auch so durchführbar sein, dass im ersten Schritt die beiden Benzyl-Schutzgruppen nicht hydriert werden, wodurch sich Verbindung **124a,b** synthetisieren ließe. Diese ist von großer Bedeutung, denn so könnte der freie Alkohol an C-4 im Rahmen einer S_N2-Reaktion epimerisiert werden, was bedeutet, dass man in einem Schritt Zugang in die D-*galacto*-Serie erlangen würde.

Leider konnte die Spaltung der beiden Diole nicht realisiert werden. Der Grund dafür liegt darin, dass die Verbindung **119a,b** nicht in der dargestellten Form vorliegt. Stattdessen bildete sich, wie in **Abbildung 52** dargestellt, über die offenkettige Form, ein Acetal an dem Aldehyd und terminales Diolsystem beteiligt sind, wodurch keine Glycolspaltung mehr möglich ist.

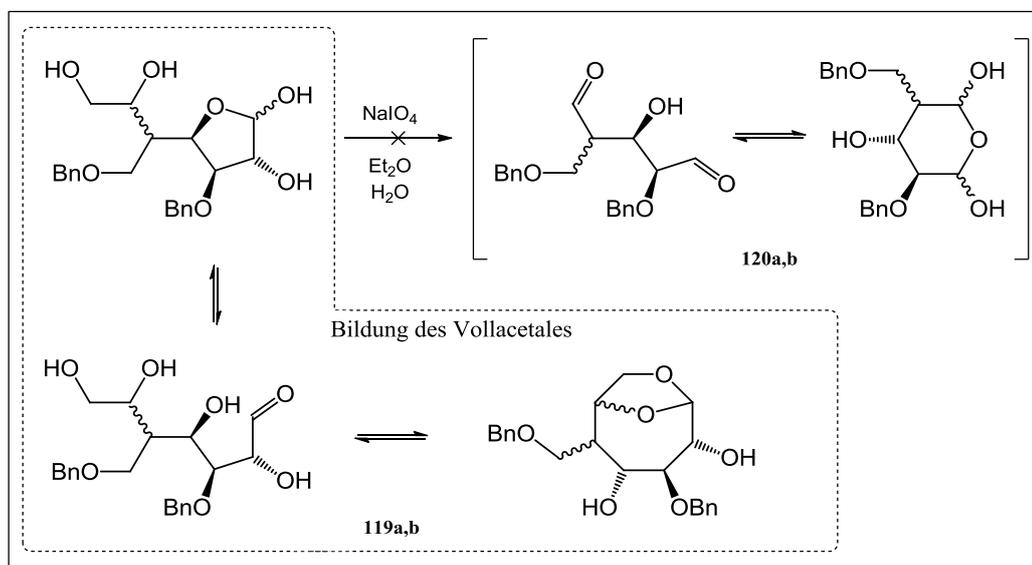


Abbildung 52: Gleichgewichte der Verbindung **119a,b**.

Deswegen musste der längere, wie in **Abbildung 51** dargestellte Reaktionsweg eingeschlagen werden. Dieser unterschied sich darin, dass die beiden säurelabilen Schutzgruppen des Allylkohols **117a,b** sequenziell abgespalten werden mussten. Dazu wurde Verbindung **117a,b** in einem Gemisch aus CH_2Cl_2 , MeOH und H_2O mit *p*TSA behandelt. Das so entstandene Diol **118a,b** wurde, wie bereits in **Abbildung 50** besprochen, in zwei Stufen zu den Alkoholen **79** bzw. **80** umgesetzt.

Im nächsten Schritt sollte der freie Alkohol eines der beiden Diastereomere in einer $\text{S}_{\text{N}}2$ -Reaktion, in das Azid **122a,b** überführt werden. Dazu wurde dieser über ein Triflat aktiviert. Im Anschluss wurde die nicht gereinigte Verbindung **124a,b** in Aceton aufgenommen und mit NaN_3 behandelt. Dabei konnte jedoch nicht das gewünschte Produkt **121a,b** dargestellt werden.

Der Grund dafür liegt darin, dass das Triflat eine so gute Abgangsgruppe ist, dass der benzylgeschützte Sauerstoff an C-3 nukleophil, am neu eingeführten Kohlenstoff angreifen konnte, wodurch das trizyklische Anhydringsystem **125a,b** entstand.

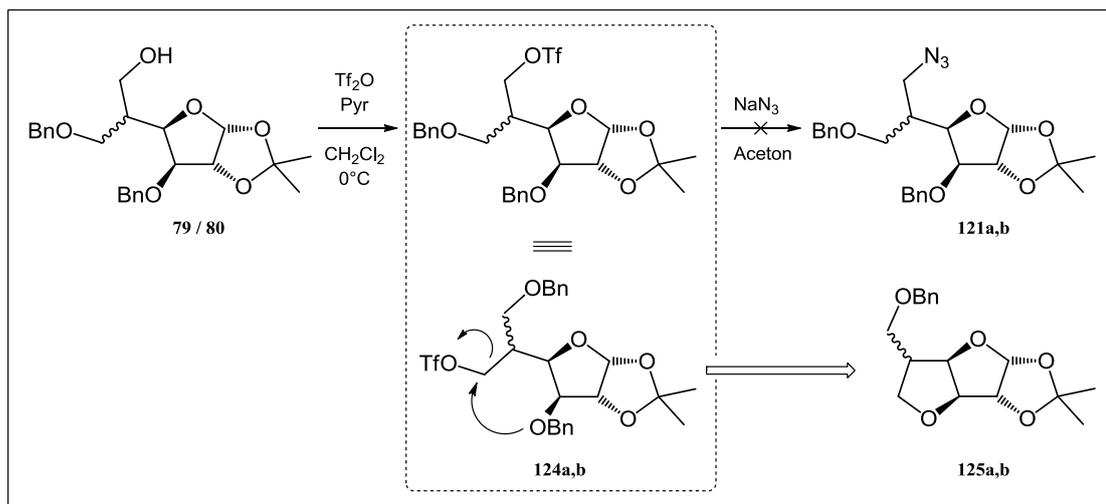


Abbildung 53: Nebenreaktion der geplanten Darstellung des Azides **121a,b**.

Dieses Problem sollte jedoch relativ einfach gelöst werden können, indem man, statt der Aktivierung über das Triflat auf die Umsetzung mit einer weniger reaktiven Gruppe, wie beispielsweise einem Tosylat, zurückgreift. Leider konnte diese Theorie aus zeitlichen Gründen nicht mehr bewiesen werden. Die anschließenden Reaktionsschritte würden dann dem gleichen Prinzip der geplanten Synthese folgen. Zunächst müsste die Isopropyliden-Schutzgruppe hydrolysiert werden, um das so entstehende Diol **122a,b** in einer Periodatspaltung in den Aldehyd **123a,b** überführen zu können. Im letzten Schritt würde dieser wieder über eine reduktive Aminierung zu Isofagomin (**17**), bzw. 5-*epi*-Isogomin (**75**) zyklisiert werden.

4 Zusammenfassung und Ausblick

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Synthese der für die Kohlenstoffkettenverzweigung am C-5 notwendigen Edukte keine großen Probleme darstellt. Ausgehend von D-Glucofuranurono-6,3-lacton (**59**), konnte Alkohol **61** in sechs Schritten mit einer Gesamtausbeute von 67%, bzw. Ulose **62** in sieben Schritten mit einer Gesamtausbeute von 62% dargestellt werden.

Der Schritt der Kohlenstoff-Kohlenstoff-Knüpfung an C-5 bereitete jedoch größere Probleme, die sich alle auf Konkurrenzreaktion zwischen Basen und Nucleophilen zurückführen lassen. Da nicht jede Base ein Nucleophil ist, aber jedes Nucleophil basische Eigenschaften besitzt, besteht in allen Varianten der Kettenverzweigung die Möglichkeit, dass die eingesetzten Reagenzien nicht wie geplant nukleophil, sondern als Base angreifen. Aufgrund dieses Umstandes lassen sich sämtliche der beobachteten Nebenreaktionen erklären.

Dieses Problem wird dadurch verstärkt, dass die in der Ulose **62** enthaltene Carbonylfunktion einen leicht enolischen Charakter besitzt. Säße diese im Ring, würde dieses Problem nicht so ausgeprägt auftreten. In **Abbildung 54** sind noch einmal die unterschiedlichen möglichen Angriffe der Reagenzien an die für die Kettenverzweigung notwendigen Edukte dargestellt.

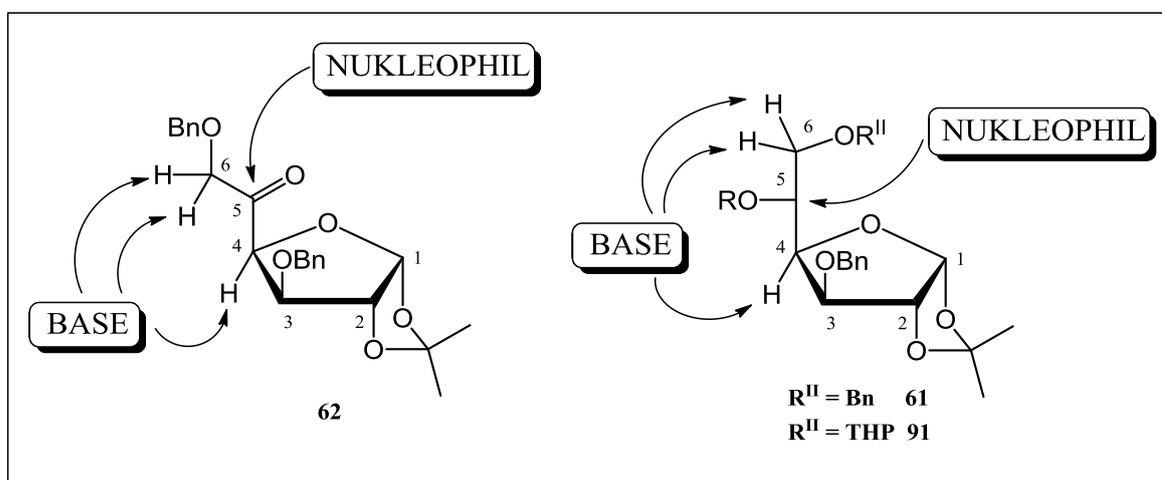


Abbildung 54: Konkurrenzreaktionen zwischen Basen und Nucleophilen.

Dennoch kann gesagt werden, dass im Schritt der Kettenverzweigung über die Henry-Reaktion Ausbeuten von 63% bzw. über die Horner-Wardsworth-Emmons-Reaktion mit dem resonanzstabilisierten Reagenz 85% erzielt werden konnten. Dadurch konnte gezeigt werden, dass über diese Wege ein eleganter Zugang zu den an C-6 verzweigten Isofagominderivaten (**70a,b**) ermöglicht werden könnte.

5 Experimenteller Teil

5.1 Analytik

5.1.1 Chromatographie

Dünnschichtchromatographie

Für die Dünnschichtchromatographie wurden mit Kieselgel 60 F₂₅₄ beschichtete Alufolien der Firma Merck (TLC Silica gel 60 F₂₅₄; 1.05554.0001) verwendet. Die Detektion der Produkte erfolgte über eine UV-Lampe bei einer Wellenlänge von 254nm bzw. über die in Folge angegebenen Tauchreagenzien. Die dafür benötigten Laufmittel sind jeweils bei den einzelnen dargestellten Produkten angegeben. Lösungsmittelgemische sind in (v/v) angegeben.

Tauchreagenzien:

- Vanillin / Schwefelsäure:

(0,3g Vanillin in: 30ml H₂O, 25ml EtOH und 4ml H₂SO₄ (konz.))

- Ammoniummolybdat / Cersulfat:

Lösung I: Ammoniummolybdat (100g in 1000ml H₂SO₄ (10%ig))

Lösung II: Cer(IV)sulfat (8g in 80ml H₂SO₄ (10%ig))

Beide Lösungen wurden separat hergestellt und erst im Anschluss vereinigt.

Kieselgelchromatographie

Die dargestellten Produkte wurden durch Säulenchromatographie gereinigt. Als stationäre Phase wurde Kieselgel 60 der Firma Merck (230-240 mesh; 5554) eingesetzt. Die als mobile Phasen benötigten Laufmittel (v/v) sind jeweils bei den einzelnen dargestellten Produkten angegeben.

5.1.2 NMR-Spektroskopie

Die Aufnahme der NMR-Spektren erfolgte auf einem VARIAN 300MHz-Spektrometer bei 75MHz für ^{13}C -NMR-Spektren bzw. bei 300MHz für ^1H -NMR-Spektren. Die chemischen Verschiebungen δ (in ppm) wurden auf die jeweiligen deuterierten Lösungsmittel referenziert. Die entsprechenden Kopplungskonstanten J sind in Herz (Hz) angegeben. Die gemessenen ^{13}C -NMR-Spektren sind ^1H -entkoppelt.

NMR-Daten

δ chemische Verschiebung bezogen auf Trimethylsilan
(in Klammer):

- ^{13}C : zugeordnetes Kohlenstoffatom
 ^1H : Multiplizität, Anzahl der Wasserstoffatome, Kopplungskonstante J in Hz, zugeordnetes Wasserstoffatom

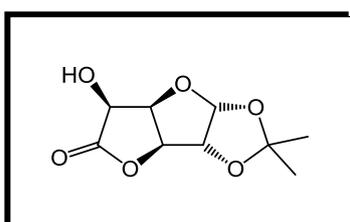
Multiplizität

s	Singlett	d	Dublett
bs	Breites Signal	dd	dubletisches Dublett
t	Triplet	ddd	dubletisches dd
m	Multipliett	n.a.	Nicht aufgelöst

5.2 Dargestellte Produkte

1,2-*O*-Isopropyliden- α -D-glucofuranurono-6,3-lacton (**60**)

Dazu wurden 25g D-Glucofuranurono-6,3-lacton (**59**) (141,9mmol) in Aceton suspendiert und ca. 10ml H_2SO_4 hinzu getropft. Diese Reaktionslösung wurde ca. 40 Stunden bei RT gerührt und anschließend mit Na_2CO_3 (fest) neutralisiert. Die dabei entstandenen Salze wurden abfiltriert und die eingeeengte Mutterlauge aus CH_2Cl_2 und C umkristallisiert.



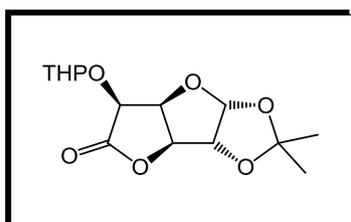
Substanz: **60**
 $M = 216,19 \text{ g/mol}$
 $R_f = 0,3$ mit DC-LM: C:EE/1:1
 SC-LM: ---
 Ausbeute: 92%

^{13}C : (MeOD): $\delta = 176,24$ (C-6); 114,10 (isoprop-C); 108,16 (C-1); 84,14 (C-2); 83,03/ 80,21 (C-3, C-4); 71,40 (C-5); 27,12/ 26,70 (2x CH_3)

^1H : (MeOD): $\delta = 5,99$ -5,98 (d, 1H, $J_{1,2} = 3,70$; H-1); 4,88-4,84 (m, 2H, H-3, H-4); 4,83-4,82 (d, 1H, $J_{2,1} = 3,72$; H-2); 4,62-4,61 (d, 1H, $J_{5,4} = 4,59$, H-5); 1,49/ 1,33 (2s, je 3H, 2x CH_3)

1,2-O-Isopropyliden-5-O-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)- α -D-glucofuranurono-6,3-lacton (**71**)

Zu 27g in CH_2Cl_2 gelöstem **60** (124,9mmol) wurden 30ml DHP (386,1mmol) und katalytische Mengen Pyridinium-Tosylat gegeben. Diese Lösung wurde 12 Stunden bei RT gerührt. Anschließend wurde der Reaktionsansatz mit NaHCO_3 (ges.) extrahiert und die organischen Phasen über Na_2SO_4 getrocknet. Nachdem das LM am Rotavapor abgezogen wurde, konnten 43,2g **71** (141,9mmol) isoliert werden. Das Produkt wurde ohne weitere Reinigungsschritte in der nächsten Stufe eingesetzt.



Substanz: **71**

M = 300,30 g/mol

$R_f = 0,7$ mit DC-LM: C:EE/1:1

SC-LM: ---

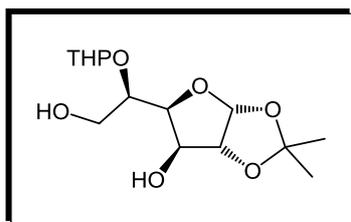
Ausbeute: 113,6%

^{13}C : (CDCl_3): siehe Anhang (**Abbildung 55**)

^1H : (CDCl_3): siehe Anhang (**Abbildung 56**)

1,2-O-Isopropyliden-5-O-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)- α -D-glucofuranose (**73**)

Die Reduktion wurde in zwei Schritten durchgeführt. Zunächst wurden 3,81g **71** (12,6mmol) in CH_2Cl_2 gelöst. Zu dieser Lösung wurden bei -78°C 14,5ml DIBALH (1M in C) getropft. Nach 2 Stunden wurde der Ansatz vorsichtig in 150ml einer gesättigten Na/K-Tartrat-Lösung gelehrt. Dieses 2-Phasensystem rührte weitere zwei Stunden bei RT. Anschließend wurden die Phasen getrennt, die wässrige erneut mit CH_2Cl_2 extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Na_2SO_4 getrocknet. Nachdem das LM am Rotavapor abgezogen wurde, konnte das Lactol **72** in einer Rohausbeute von 99,5% dargestellt werden. Dieses wurde im nächsten Schritt in MeOH (abs.) aufgenommen und auf -20°C gekühlt. Diese Lösung wurden mit 92mg NaBH_4 (9,6mmol) versetzt und für weitere 4,5 Stunden bei -10°C gerührt. Nach der Extraktion des Reaktionsansatzes mit HCl (2M), NaHCO_3 (ges.) und CH_2Cl_2 , wurden die vereinigten organischen Phasen über Na_2SO_4 getrocknet. Nachdem das LM am Rotavapor abgezogen wurde, konnten 3,79g der Verbindung **73** isoliert werden. (Rohausbeute über 2 Stufen 98,4%)

Substanz: **73**

M = 304,34 g/mol

R_f = 0,48-0,52 mit DC-LM: C:EE/1:1

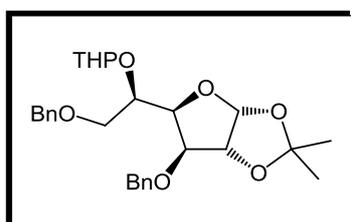
SC-LM: ---

Ausbeute: [71-73] 98,4%

¹³C: nicht aufgenommen¹H: nicht aufgenommen

3,6-Di-O-benzyl-1,2-O-isopropyliden-5-O-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)- α -D-glucofuranose (**74**)

Zu einer auf 0°C gekühlten Lösung aus 6,3g **73** (20,9mmol) in einem Gemisch aus DMF und THF (3:1) wurden 3,3g NaH (60%, 62,5mmol) zugegeben. Zu dieser wurden nach ca. 20min 6,2ml BnBr (52,0mmol) getropft. Nach weiteren 2 Stunden wurden 15ml MeOH zugetropft und der so gequenchte Reaktionsansatz mit HCl (2N), NaHCO₃ (ges.) und THF extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet. Im Anschluss wurde das LM am Rotavapor abgezogen und die so erhaltene Verbindung **74** ohne weitere Reinigung in der nächsten Stufe eingesetzt.

Substanz: **74**

M = 484,58 g/mol

R_f = 0,60-0,65 mit DC-LM: C:EE/3:1

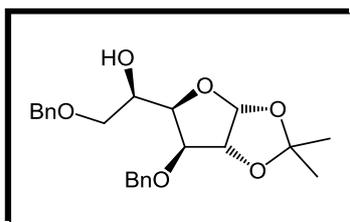
SC-LM: ---

Ausbeute: nicht bestimmt

¹³C: nicht aufgenommen¹H: nicht aufgenommen

3,6-Di-O-benzyl-1,2-O-isopropyliden- α -D-glucofuranose (**61**)

Dazu wurden 9,8g der nicht gereinigten Verbindung **74** (20,1mmol) in CH₂Cl₂ aufgenommen und ca. 5ml H₂O zugetropft. Im Anschluss wurde zu der so entstehenden Suspension so viel MeOH zugegeben, bis eine klare Lösung vorlag. Anschließend wurde der Ansatz, nach der Zugabe katalytischer Mengen pTSA, für ca. 5 Stunden bei RT gerührt. Nach der Extraktion mit NaHCO₃ (ges.) wurden die gesammelten organischen Phasen über Na₂SO₄ getrocknet und das LM am Rotavapor abgezogen. Nach anschließender Reinigung mittels Kieselgelchromatographie (LM C:EE/8:1) konnte Alkohol **61** in einer Ausbeute von 81% über 2 Stufen isoliert werden.

Substanz: **61**

M = 400,46 g/mol

R_f = 0,45 mit DC-LM: C:EE/3:1

SC-LM: C:EE/8:1

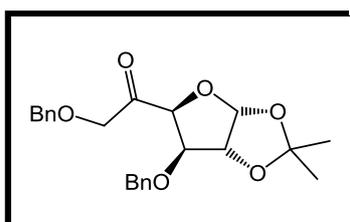
Ausbeute: [73-61] 81%

¹³C: (CDCl₃): δ = 138,09/ 137,48 (2x ipso Bn); 128,59-127,78 (aromat. Bn); 111,77 (isoprop-C); 105,50 (C-1); 82,36 (C-2); 82,12 (C-3); 79,90 (C-4); 73,51 (C-6); 72,39/72,19 (CH₂-Ph); 68,06 (C-5); 26,96/ 26,84 (2x CH₃)

¹H: (CDCl₃): δ = 7,30-7,27 (m, 10H_{Ar}, Bn); 5,86-5,85 (d, 1H, J_{1,2}=3,7; H-1); 4,62-4,44 (m, 5H, 2x CH₂-Bn, H-2), 4,12-4,01 (m, 3H, H-3, H-4, H-5); 3,69-3,66 (dd, 1H, J_{5,6A}=2,5; J_{6A,6B}=9,5; H-6A); 3,57-3,51 (dd, 1H, J_{5,6A}=5,5; H-6B); 2,57 (s, 1H, OH); 1,42/ 1,25 (2s, je 3H, CH₃)

3,6-Di-O-benzyl-1,2-O-isopropyliden-α-D-xylo-hex-5-ulofuranose (**62**)

Zu einer auf -78°C gekühlten Lösung aus 1,4ml DMSO (19,9mmol) in CH₂Cl₂ wurden 1,1ml OxCl (12,5mmol) getropft und im Anschluss für ca. 20min gerührt. Anschließend wurde eine Lösung aus 1g **61** (2,50mmol) in CH₂Cl₂ zu dieser aktivierten Reaktionslösung getropft. Nach weiteren 45min wurden 2,1ml Et₃N zugetropft und der Ansatz mit HCl (2M), NaHCO₃ und CH₂Cl₂ aufgearbeitet. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet und das LM am Rotavapor abgezogen. Nach anschließender Reinigung mittels Kieselgelchromatographie (LM C:EE/10:1) konnten 0,98g Ulose **62** (2,46mmol; 98,5%) isoliert werden.

Substanz: **62**

M = 398,45 g/mol

R_f = 0,48 mit DC-LM: C:EE/3:1

SC-LM: C:EE/10:1

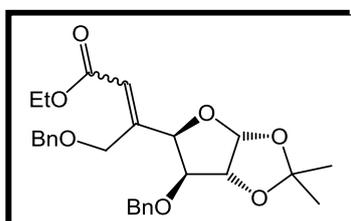
Ausbeute: 98,5%

¹³C: (CDCl₃): δ = 204,75 (C-5); 137,50/ 136,84 (2x ipso Bn); 128,69-127,98 (aromat. Bn); 112,65 (isoprop-C); 106,03 (C-1); 85,01 (C-2); 83,77 (C-3); 81,87 (C-4); 74,57 (C-6); 73,35/ 72,77 (2x CH₂-Ph); 27,06/ 26,46 (2x CH₃)

¹H: (CDCl₃): δ = 7,31-7,17 (m, 10H_{Ar}, Bn); 5,98-5,97 (d, 1H, J_{1,2}=3,57; H-1); 4,76-4,74 (d, 1H, J_{4,3}= 3,65; H-4); 4,55-4,454 (d, 1H, J_{2,1}=3,58; H-2), 4,51-4,40 (m, 4H, 2x CH₂-Ph); 4,37-4,34 (d, 2H, J=6,58, H-6A, H-6B); 4,32-4,31 (d, 1H, J_{3,4}= 3,65; H-3); 1,42/ 1,27 (2s, je 3H, CH₃)

3-*O*-Benzyl-5-*C*-(benzyloxymethyl)-5,6-didesoxy-1,2-*O*-isopropyliden- α -D-xylo-hept-5-(*E,Z*)-enofuranosyluronsäuremethylester (**100a,b**)

Zu einer Suspension aus 414mg *t*-BuOK in THF (abs.) wurden, bei RT unter einer N₂-Schutzgasatmosphäre, 0,97ml Ethyl(diethyl)phosphonoacetat (4,9mmol) zugetropft. Diese Reaktionslösung wurde 30min bei RT gerührt. Im Anschluss wurden zu dieser 980mg Ulose **62** (2,46mmol), welche in THF (abs.) gelöst wurde, getropft. Nach ca. 12 Stunden wurde die Reaktion sauer (HCl, 2*N*) und basisch (NaHCO₃ ges.) aufgearbeitet, die vereinigten organischen Phasen über Na₂SO₄ getrocknet und das LM am Rotavapor abgezogen. Nach der anschließenden Reinigung mittels Kieselgelchromatographie (LM C:EE/10:1) konnten 934mg der beiden Diastereomere **100a** und **100b** (1,99mmol; 81,2%) im Verhältnis ca. 1:1 isoliert werden.



Substanz: **100a,b**

M = 468,54 g/mol

R_f = 0,57-0,58 mit DC-LM: C:EE/3:1

SC-LM: C:EE/10:1

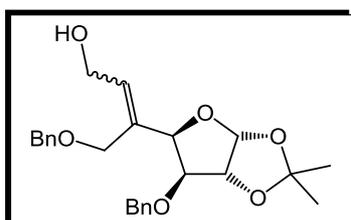
Ausbeute: 81,2%

¹³C: (CDCl₃): siehe Anhang (**Abbildung 57**)

¹H: (CDCl₃): siehe Anhang (**Abbildung 58**)

3-*O*-Benzyl-5-*C*-(benzyloxymethyl)-5,6-dideoxy-1,2-*O*-isopropyliden- α -D-xylo-hept-5-(*E,Z*)-enofuranose (**115a,b**)

Dazu wurden 924mg des Gemisches der *E*- bzw. *Z*-Form des Esters **100a,b** (2mmol) in CH₂Cl₂ aufgenommen und auf -20°C gekühlt. Anschließend wurden 3,9ml DIBALH (1*M* in C) vorsichtig zugetropft und die Lösung bei 0°C für weitere 4 Stunden gerührt bis der Ansatz sauer (HCl, 2*N*) bzw. basisch (NaHCO₃ ges.) aufgearbeitet wurde. Nach der Extraktion wurden die vereinigten organischen Phasen über Na₂SO₄ getrocknet und das LM am Rotarvapor abgezogen. Nach anschließender Reinigung mittels Kieselgelchromatographie (LM C:EE/15:1) konnten die beiden Isomere **115a** und **115b** separat isoliert werden, wobei nicht unterschieden werden konnte, welches das *E*-konfigurierte und welches das *Z*-konfigurierte ist. Das Verhältnis der beiden zueinander lag bei ca. 1:1. In Summe konnte eine Ausbeute von 86,8% erzielt werden.



Substanz: **115a,b**

M = 426,50 g/mol

R_f = 0,18/0,20 mit DC-LM: C:EE/3:1

SC-LM: C:EE/15:1

Ausbeute: gesamt 86,8%

¹³C: (CHCl₃) (**115a**): $\delta = 138,38/ 137,30$ (2x ipso Bn); 133,17 (C-5); 130,75 (C-6); 128,56-127,63 (aromat. Bn); 111,77 (isoprop-C); 104,43 (C-1); 83,59 (C-3); 82,59 (C-2); 79,89 (C-4); 72,78/ 72,30 (2x CH₂-Ph); 72,16 (C-8); 58,54 (C-7); 26,84/ 26,28 (2x CH₃)

¹H: (CDCl₃) (**115a**): $\delta = 7,30-7,17$ (m, 10H_{Ar}, Bn); 5,99-5,94 (dd, 1H, $J_{6,7a}=1,42$; $J_{6,7b}=0,89$; H-6); 5,91-5,90 (d, 1H, $J_{1,2}=3,74$; H-1); 4,88-4,87 (d, 1H, $J_{4,3}=2,85$; H-4); 4,55-4,52 (d, 1H, $J_{2,1}=3,76$; H-2); 4,50-4,38 (m, 4H, 2x CH₂-Ph); 4,27-4,20 (m, 2H, H-7a, H-7b); 3,90-3,96 (d, 2H, $J=7,1$; H-8a, H-8b); 3,92-3,91 (d, 1H, $J_{3,4}=3,1$; H-3); 1,98 (s, 1H, OH); 1,44/ 1,27 (2s, je 3H, 2x CH₃)

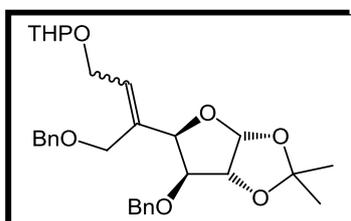
¹³C: (CHCl₃) (**115b**): $\delta = 137,92/ 137,49$ (2x ipso Bn); 133,76 (C-5); 130,75 (C-6); 128,48-127,81 (aromat. Bn); 111,68 (isoprop-C); 104,61 (C-1); 82,93 (C-3); 82,62 (C-2); 77,58 (C-4); 72,49/ 71,98 (2x CH₂-Ph); 66,24 (C-8); 58,80 (C-7); 26,88/ 26,35 (2x CH₃)

¹H: (CDCl₃) (**115b**): $\delta = 7,29-7,18$ (m, 10H_{Ar}, Bn); 6,08-6,03 (dd, 1H, $J_{6,7a}=6,57$; $J_{6,7b}=0,6,71$; H-6); 5,95-5,94 (d, 1H, $J_{1,2}=3,80$; H-1); 4,74-4,75 (d, 1H, $J_{4,3}=2,30$; H-4); 4,58-4,57 (d, 1H, $J_{2,1}=3,79$; H-2); 4,56-4,30 (m, 4H, 2x CH₂-Ph); 4,17-4,15 (d, 2H, $J=7,1$; H-7a, H-7b); 4,090-3,91 (m, 3H, H-3, H-8a, H-8b); 2,13 (s, 1H, OH); 1,47/ 1,30 (2s, je 3H, 2x CH₃)

3-O-Benzyl-5-C-(benzyloxymethyl)-5,6-didesoxy-1,2-O-isopropyliden-5-O-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)- α -D-xylo-hept-5-(E,Z)-enofuranose (**116a,b**)

Zu 145mg, in CH₂Cl₂ gelöstem, **115a** (0,34mmol) wurden bei RT 65 μ l DHP (0,68mmol) zugegeben und katalytische Mengen an Pyridinium-Tosylat zugegeben. Nachdem die Lösung ca. 3 Stunden bei RT gerührt hatte, wurde diese mit NaHCO₃ (ges.) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Na₂SO₄ getrocknet. Anschließend wurde das LM am Rotavapor abgezogen, um das Isomer **116a** in einer Rohausbeute von 95,5% zu erhalten.

Auf die gleiche Weise wurde in einem Parallelansatz **115b** (138mg; 0,32mmol) mit DHP (58 μ l; 0,64mmol), in einer Rohausbeute von 120%, zum entsprechend anderen Konfigurationsisomer **116b** umgesetzt.



Substanz: **116a,b**

M = 510,62 g/mol

R_f = 0,46 mit DC-LM: C:EE/3:1 (**116a**)

R_f = 0,48 mit DC-LM: C:EE/3:1 (**116b**)

¹³C: nicht aufgenommen

¹H: nicht aufgenommen

3-O-Benzyl-5-C-(benzyloxymethyl)-5-desoxy-1,2-O-isopropyliden-7-O-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)- α -D-glycero-D-*altro*-heptofuranose (117aⁱ) bzw.

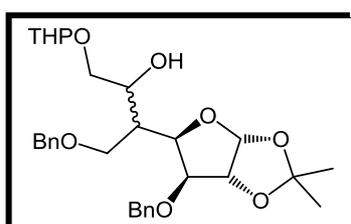
3-O-Benzyl-5-C-(benzyloxymethyl)-5-desoxy-1,2-O-isopropyliden-7-O-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)- α -D-glycero-L-*gluco*-heptofuranose (117aⁱⁱ) bzw.

3-O-Benzyl-5-C-(benzyloxymethyl)-5-desoxy-1,2-O-isopropyliden-7-O-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)- α -D-glycero-L-*galacto*-heptofuranose (117bⁱ) bzw.

3-O-Benzyl-5-C-(benzyloxymethyl)-5-desoxy-1,2-O-isopropyliden-7-O-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)- α -D-glycero-D-*ido*-heptofuranose (117bⁱⁱ)

Dazu wurden 1,2g **116a** (2,35mmol) in trockenem THF gelöst. Anschließend wurden bei RT 0,4g NaBH₄ zugegeben. In weiterer Folge wurden zu dieser Suspension vorsichtig 0,4ml Me₂SO₄ getropft, wobei darauf geachtet werden musste, dass sich die Reaktionslösung nicht über 30°C erwärmt. Anschließend rührte diese Suspension für ca. 4,5 Stunden bei RT und wurde anschließend mit Hilfe eines Eisbades auf 0°C gekühlt. Anschließend wurden über einen Zeitraum von 15min 10ml H₂O vorsichtig zugetropft. Dabei wurde eine heftige Schaumentwicklung beobachtet. In weiterer Folge wurden 15ml NaOH (3N), sowie 15ml H₂O₂ (30%ig) zugetropft. Nach anschließender Extraktion mit CH₂Cl₂ wurden die vereinigten organischen Phasen über Na₂SO₄ getrocknet und das LM am Rotavapor abgezogen um das Produktgemisch der Verbindungen **117aⁱ** und **117aⁱⁱ** in einer Rohausbeute von 110,6% zu erhalten. Auf eine weitere Trennung der Produkte wurde, aufgrund der großen Anzahl der entstandenen Diastereomere, verzichtet.

Auf die gleiche Weise wurde in einem Parallelansatz **116b** (0,72g; 1,41mmol) mit NaBH₄ (0,25g), Me₂SO₄ (0,26ml), in einer Rohausbeute von 112%, zu den entsprechen anderen Konfigurationsisomeren **117bⁱ** und **117bⁱⁱ** umgesetzt.



Substanz: **117a,b**^{i,ii}

M = 528,63 g/mol

R_f = 0,30-0,33 mit DC-LM: C:EE/3:1 (**117a^{i,ii}**)

R_f = 0,38-0,41 mit DC-LM: C:EE/3:1 (**117b^{i,ii}**)

¹³C: (CDCl₃): siehe Anhang (**Abbildung 59** und **Abbildung 61**)

¹H: (CDCl₃): siehe Anhang (**Abbildung 60** und **Abbildung 62**)

3-O-Benzyl-5-C-(benzyloxymethyl)-5-desoxy-1,2-O-isopropyliden- α -D-glycero-D-*altro*-heptofuranose (118aⁱ) bzw.

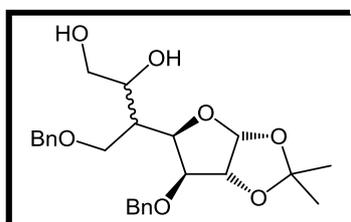
3-O-Benzyl-5-C-(benzyloxymethyl)-5-desoxy-1,2-O-isopropyliden- α -D-glycero-L-*gluco*-heptofuranose (118aⁱⁱ) bzw.

3-O-Benzyl-5-C-(benzyloxymethyl)-5-desoxy-1,2-O-isopropyliden- α -D-glycero-L-*galacto*-heptofuranose (118bⁱ) bzw.

3-O-Benzyl-5-C-(benzyloxymethyl)-5-desoxy-1,2-O-isopropyliden- α -D-glycero-D-*ido*-heptofuranose (118bⁱⁱ)

Dazu wurden 1,25g des nicht getrennten Produktgemisches **117aⁱ** und **117aⁱⁱ** (2,36mmol) in CH₂Cl₂ gelöst und ca. 5ml H₂O zugetropft. Anschließend wurde zu der so entstehenden Suspension so viel MeOH zugegeben, bis wieder eine klare Lösung vorlag. Nach der Zugabe von katalytischen Mengen von *p*TSA wurde diese für ca. 12 Stunden bei RT gerührt. Nach der Extraktion mit NaHCO₃ (ges.) und CH₂Cl₂ wurden die vereinigten organischen Phasen über Na₂SO₄ getrocknet und das LM am Rotavapor abgezogen um 1,13g des Gemisches der Verbindungen **118aⁱ** und **118aⁱⁱ** zu erhalten. Auf eine weitere Trennung dieser wurde verzichtet.

In einem Parallelansatz wurde auf die gleiche Weise das Gemisch der Verbindungen **117bⁱ** und **117bⁱⁱ** (0,18g; 0,34mmol) zu den entsprechend anderen Konfigurationsisomeren **118bⁱ** und **118bⁱⁱ** (0,12g) umgesetzt.



Substanz: **118a,b**^{i,ii}
 M = 444,52 g/mol
 R_f = 0,7-0,8 mit DC-LM: C:EE/1:1
 SC-LM: ---
 Ausbeute:---

¹³C: (CDCl₃): siehe Anhang (**Abbildung 63**)

¹H: (CDCl₃): siehe Anhang (**Abbildung 64**)

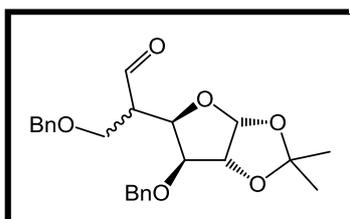
3-O-Benzyl-5-(benzyloxymethyl)-5-desoxy-1,2-O-isopropyliden- α -D-dialdoglucofuranose (102) bzw. 3-O-Benzyl-5-(benzyloxymethyl)-5-desoxy-1,2-O-isopropyliden- α -L-dialdoidofuranose (98)

Dazu wurden 1,1g des nicht getrennten Produktgemisches der Verbindungen **118aⁱ** und **118aⁱⁱ** (2,47mmol) in einem 2-Phasensystem aus Et₂O und H₂O (1:1) gelöst. Anschließend wurden unter heftigem Rühren 2,9g NaIO₄ zugegeben. Nach ca. 30min wurde der entstandene Niederschlag abfiltriert. Nach der Extraktion mit CH₂Cl₂ und NaHCO₃ (ges.)

wurden die organischen Phasen über Na_2SO_4 getrocknet und das LM am Rotavapor abgezogen. So konnten 614mg des Aldehydes **98** isoliert werden.

Dieser wurde jedoch aufgrund der im Kapitel **Durchführung** erläuterten Probleme nicht gereinigt, sondern sofort zu Alkohol **80** umgesetzt.

In einem Parallelansatz wurde auf die gleiche Weise das Gemisch der Verbindungen **118bⁱ** und **118bⁱⁱ** (0,12g) zu dem entsprechend anderen Konfigurationsisomeren **102** umgesetzt.



Substanz: **98/102**

M = 412,48 g/mol

R_f = 0,38 mit DC-LM: C:EE/3:1 (**98**)

R_f = 0,42 mit DC-LM: C:EE/3:1 (**102**)

Ausbeute: nicht bestimmt

¹³C: (CDCl₃) (**98**): δ = 202,31 (CHO); 137,86/ 137,07 (2x ipso Bn); 128,61-127,74 (aromat. Bn); 111,89 (isoprop-C); 105,06 (C-1); 82,10 (C-3); 81,84 (C-2); 77,95 (C-4); 73,47/ 71,8 (2x CH₂-Ph); 66,72 (C-6); 51,10 (C-5); 26,88/ 26,37 (2x CH₃)

¹H: (CDCl₃) (**98**): δ = 9,79 (s, 1H, CHO); 7,30-7,12 (m, 10H_{Ar}, Bn); 5,88-5,87 (d, 1H, J_{1,2}=3,87; H-1); 4,63-4,25 (m, 6H, 2x CH₂-Ph, H-2, H-4); 3,82-3,81 (d, 1H, J_{3,4}= 2,96; H-3); 3,62-3,48 (d, 2H, H-6A, H-6B); 2,93-2,86 (m, 1H, H-5); 1,44/ 1,26 (2s, je 3H, 2x CH₃)

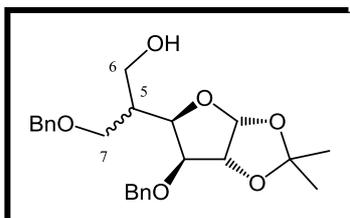
¹³C: (CDCl₃) (**102**): δ = 201,22 (CHO); 138,07/ 137,25 (2x ipso Bn); 128,59-127,76 (aromat. Bn); 111,83 (isoprop-C); 104,48 (C-1); 82,49 (C-3); 82,07 (C-2); 77,43 (C-4); 73,53/ 72,34 (2x CH₂-Ph); 66,71 (C-6); 51,61 (C-5); 26,95/ 26,44 (2x CH₃)

¹H: (CDCl₃) (**102**): δ = 9,68 (s, 1H, CHO); 7,31-7,16 (m, 10H_{Ar}, Bn); 5,85-5,84 (d, 1H, J_{1,2}=4,05; H-1); 4,56-4,30 (m, 6H, 2x CH₂-Ph, H-2, H-4); 4,08-4,07 (d, 1H, J_{3,4}= 3,30; H-3); 3,83-3,81 (d, 2H, J= 5,06; H-6A, H-6B); 3,09-3,03 (m, 1H, H-5); 1,46/ 1,28 (2s, je 3H, 2x CH₃)

3-O-Benzyl-5-C-(benzyloxymethyl)-5-desoxy-1,2-O-isopropyliden-α-D-glucofuranose (79) bzw. 3,6-Di-O-Benzyl-5-C-(hydroxymethyl)-5-desoxy-1,2-O-isopropyliden-α-D-glucofuranose (80)

Zu 614mg, in CH₂Cl₂ gelöstem **98** (1,5mmol) wurden bei -78°C 3ml DIBALH (1M in C) zuge tropft. Anschließend wurde die Reaktionslösung bei 0°C für ca. 1,5 Stunden gerührt. Nach der Extraktion mit HCl (2N), NaHCO₃ (ges.) und CH₂Cl₂ wurden die vereinigten organischen Phasen über Na₂SO₄ getrocknet und das LM am Rotavapor abgezogen um 575mg des Alkohols **80** zu erhalten.

In einem Parallelansatz wurde auf die gleiche Weise die Verbindung **102** zu dem entsprechend anderen Konfigurationsisomeren **79** umgesetzt.



Substanz: **79/80**

M = 414,49 g/mol

R_f = 0,64 mit DC-LM: C:EE/1:1 (**80**)

SC-LM: ---

Ausbeute: 93%

¹³C: (CDCl₃) (**80**): δ = 138,11/ 137,38 (2x ipso Bn); 128,59-127,85 (aromat. Bn); 111,67 (isoprop-C); 104,64 (C-1); 81,86 (C-3); 79,96 (C-2); 77,58 (C-4); 73,41/ 71,75 (2x CH₂-Ph); 69,48 (C-6); 63,49 (C-7); 39,93 (C-5); 26,81/ 26,34 (2x CH₃)

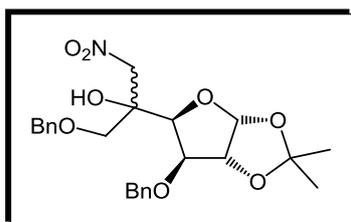
¹H: (CDCl₃) (**80**): δ = 7,30-7,19 (m, 10H_{Ar}, Bn); 5,86-5,85 (d, 1H, J_{1,2}=3,67; H-1); 4,63-4,57 (d, 1H, J = 14,30; CH₂-Ph); 4,54-4,52 (d, 1H, J_{2,1}=3,65; H-2); 4,35-4,22 (m, 3H, CH₂-Ph); 4,19-4,16 (dd, 1H, J_{4,3}= 2,7; J_{4,5}= 9,6; H-4); 3,88-3,76 (m, 2H, H-6A, H-6B); 3,74-3,73 (d, 1H, J_{3,4}=2,91; H-3); 3,38-3,26 (m, 2H, H-7A, H7B); 2,39-2,29 (m, 1H, H-5); 1,44/ 1,26 (2s, je 3H, 2x CH₃)

¹³C: (CDCl₃) (**79**): δ = 138,24/ 137,33 (2x ipso Bn); 128,67-127,73 (aromat. Bn); 111,62 (isoprop-C); 104,62 (C-1); 81,97 (C-3); 81,78 (C-2); 77,58 (C-4); 73,71/ 71,90 (2x CH₂-Ph); 71,91 (C-6); 63,51 (C-7); 39,93 (C-5); 26,81/ 26,34 (2x CH₃)

¹H: (CDCl₃) (**79**): δ = 7,31-7,20 (m, 10H_{Ar}, Bn); 5,86-5,84 (d, 1H, J_{1,2}=3,95; H-1); 4,66-4,62 (d, 1H, J = 11,02; CH₂-Ph); 4,59-4,58 (d, 1H, J_{2,1}= 3,95; H-2); 4,49-4,46 (bs, 2H, CH₂-Ph); 4,43-4,39 (d, J = 11,30; CH₂-Ph); 4,30-4,26 (dd, 1H, J_{4,3}= 2,95; J_{4,5}= 10,08; H-4); 3,92-3,91 (d, 1H, J_{3,4}= 2,96; H-3); 3,71-3,47 (m, 4H, H-6A, H-6B, H-7A, H-7B); 2,33-2,23 (m, 1H, H-5); 1,43/ 1,27 (2s, je 3H, 2x CH₃)

3,6-Di-O-Benzyl-1,2-O-isopropyliden-5-C-nitromethyl-α-D-glucufuranose (65a) und 3,6-Di-O-Benzyl-1,2-O-isopropyliden-5-C-nitromethyl-β-L-idofuranose (65b)

Dazu wurden 60μl MeNO₂ (1,1mmol) in DMF bei RT mit 30mg NaH (0,8mmol; 60%) ca. 15min lang deprotoniert. Zu dieser aktivierten Lösung wurde die in DMF gelöste Ulose **62** (90mg; 0,2mmol) zugetropft. Nach ca. 4 Stunden wurde die gleiche Menge an aktiviertem MeNO₂ zugetropft. Nachdem kein vollständiger Umsatz erzielt werden konnte, wurde der Ansatz nach weiteren 3 Stunden aufgearbeitet. Nach der Extraktion mit HCl (2M), NaHCO₃ (ges.) und CH₂Cl₂ wurden die vereinigten organischen Phasen über Na₂SO₄ getrocknet und das LM am Rotavapor abgezogen. Nach der anschließenden Reinigung mittels Kieselgelchromatographie (LM C:EE/15:1) konnten die beiden Diastereomere **65a** und **65b**, in einem Verhältnis von ca. 1:1, isoliert werden. In Summe konnte eine Ausbeute von 63% erzielt werden.

Substanz: **65a,b**

M = 459,49 g/mol

R_f = 0,46/0,47 mit DC-LM: C:EE/3:1

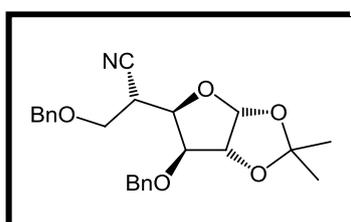
SC-LM: C:EE/15:1

Ausbeute: gesamt 63%

¹³C: (CDCl₃): siehe Anhang (**Abbildung 65** und **Abbildung 66**)¹H: (CDCl₃): siehe Anhang (**Abbildung 67** und **Abbildung 68**)

3,6-Di-O-Benzyl-5-C-cyano-5-desoxy-1,2-O-isopropyliden-β-L-idofuranose (**64**)

Zu einer Lösung von 0,5g **61** (1,25mmol) in CH₂Cl₂ wurden bei 0°C zuerst 0,20ml Pyr (2,5mmol) und anschließend 0,23ml Tf₂O (1,37mmol) zugetropft. Nachdem diese Lösung ca. 30min lang gerührt hatte wurde der Ansatz mit kalter HCl (verd.), kaltem NaHCO₃ und CH₂Cl₂ extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Na₂SO₄ getrocknet und das LM am Rotavapor fast bis zur Trockene abgezogen. Der so entstandene Sirup wurde in MeCN aufgenommen. Anschließend wurde bei -20°C ca. 1g Bu₄NCN (3,75mmol CN⁻; stark hygroskopisch!) zugegeben. Nach weiteren 12 Stunden Reaktionszeit wurde das LM erneut am Rotavapor abgezogen. Nach der anschließenden Reinigung mittels Kieselgelchromatographie (LM C:EE/12:1) konnte das Produkt **64** und BnOH isoliert werden. Diese konnten nicht voneinander getrennt werden, sodass der Ansatz unter Standardbedingungen acetyliert werden musste. Dazu wurde das Gemisch in CH₂Cl₂ aufgenommen, mit Pyr und Ac₂O versetzt und bei RT für weitere 12 Stunden gerührt. Nach der erneuten sauren bzw. basischen Aufarbeitung, wurden die vereinigten organischen Phasen über Na₂SO₄ getrocknet, das LM am Rotavapor abgezogen und nach der Reinigung mittels Kieselgelchromatographie (LM C:EE/10:1) das reine Produkt **64** in einer Ausbeute von 11,2%, isoliert.

Substanz: **64**

M = 409,47 g/mol

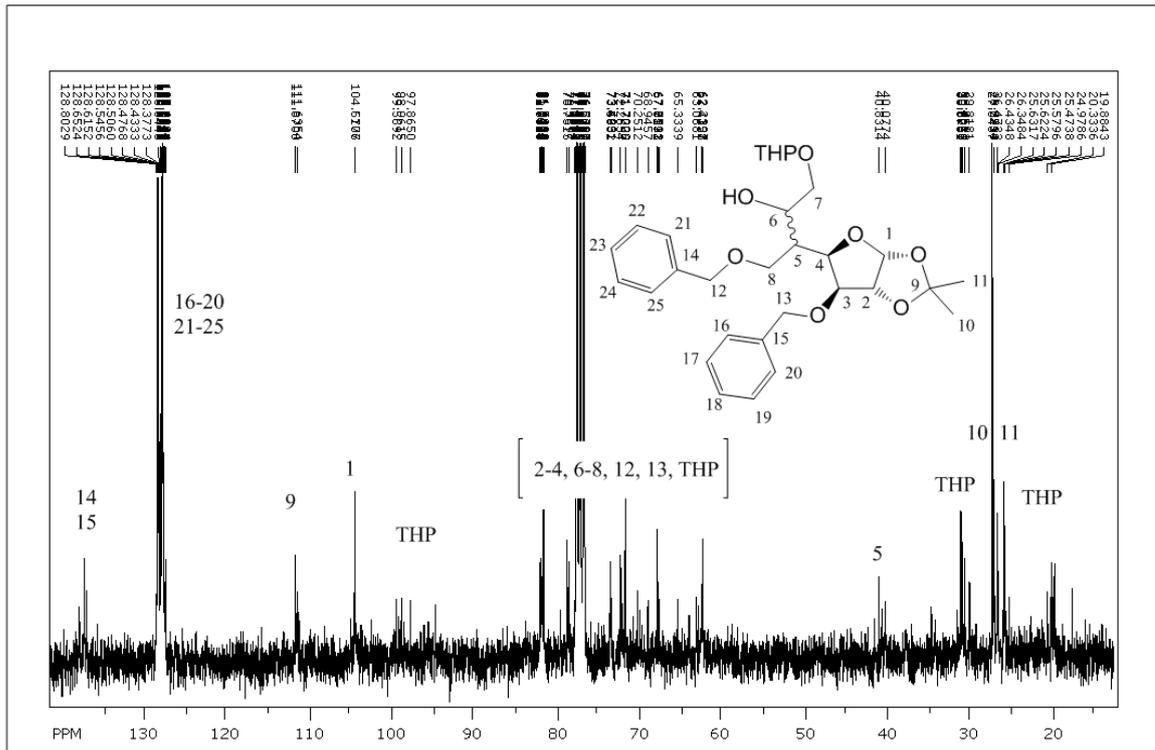
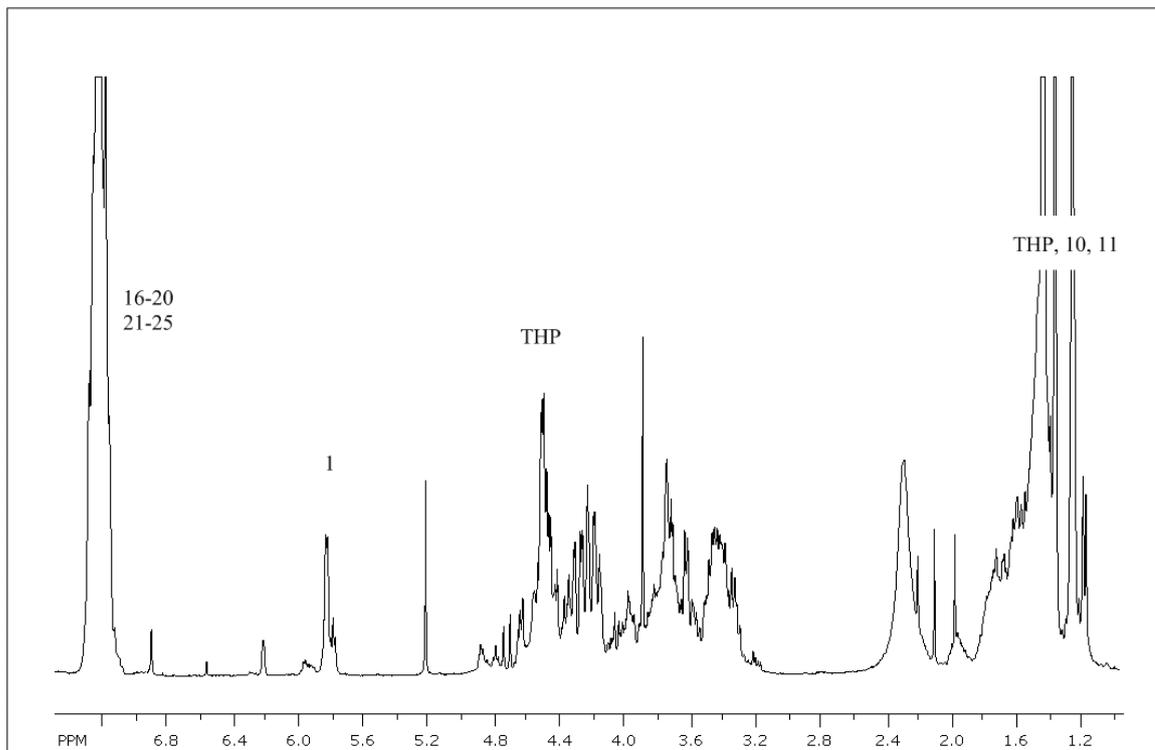
R_f = 0,32 mit DC-LM: C:EE/3:1

SC-LM: C:EE/10:1

Ausbeute: 11,2%

¹³C: (CDCl₃): δ = 137,25/ 136,83 (2x ipso Bn); 128,74-128,00 (aromat. Bn); 118,18 (CN); 112,25 (isoprop-C); 105,05 (C-1); 81,99 (C-2); 81,15 (C-3); 77,14 (C-4); 73,55/ 71,90 (2x CH₂-Ph); 66,94 (C-6); 32,74 (C-5); 26,94/ 26,40 (2x CH₃)

¹H: (CDCl₃): δ = 7,32-7,16 (m, 10H_{Ar}, Bn); 5,90-5,89 (d, 1H, J_{1,2}=3,75; H-1); 4,68-4,23 (m, 6H, H-2, H-4, 2x CH₂-Ph); 3,75 (d, 1H, J=3,41, H-3); 3,52-3,39 (m, 2H, H-6A, H-6B); 3,16-3,10 (m, 1H, H-5); 1,43/ 1,26 (2s, je 3H, 2x CH₃)

Abbildung 59: ^{13}C -Spektrum der Verbindungen $117a^{i,ii}$.Abbildung 60: ^1H -Spektrum der Verbindungen $117a^{i,ii}$.

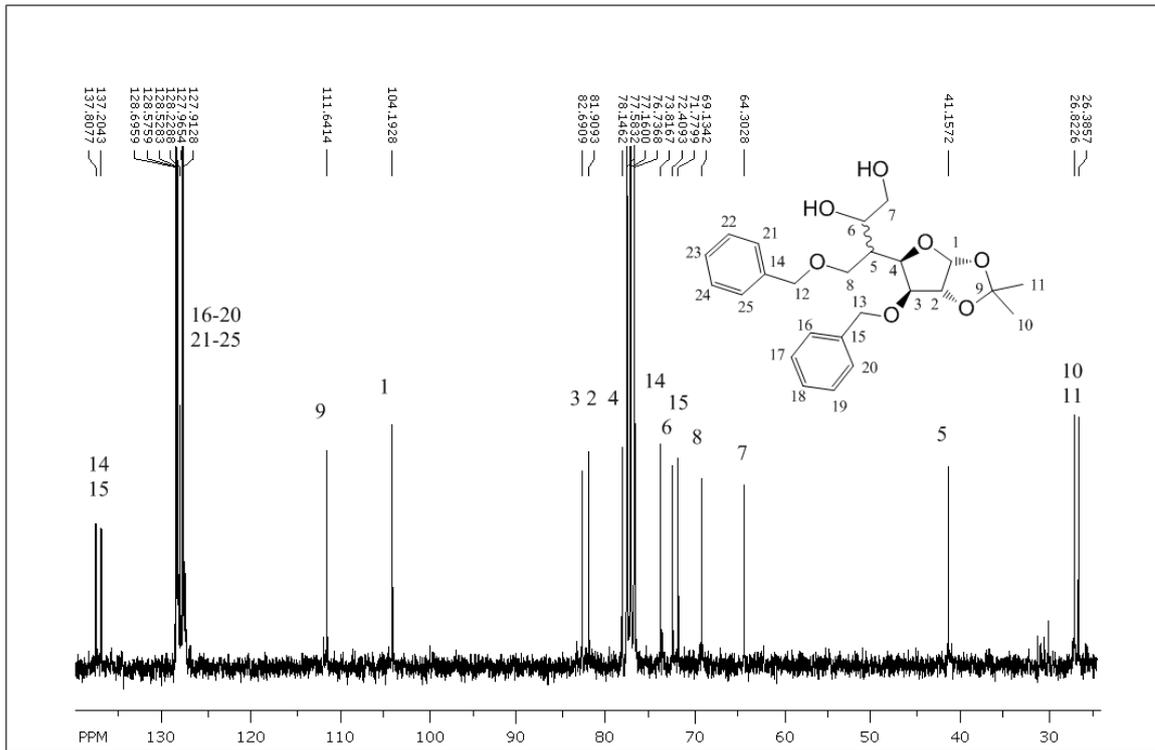


Abbildung 63: ^{13}C -Spektrum der Verbindungen **118a**^{i,ii}.

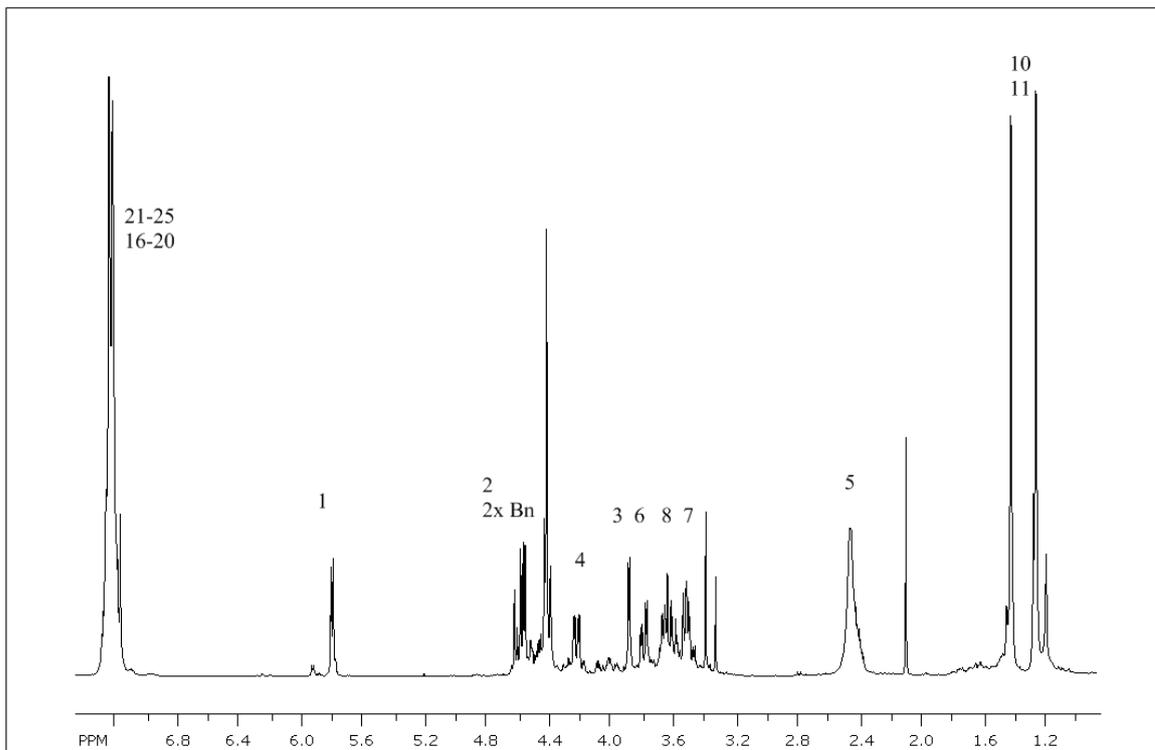
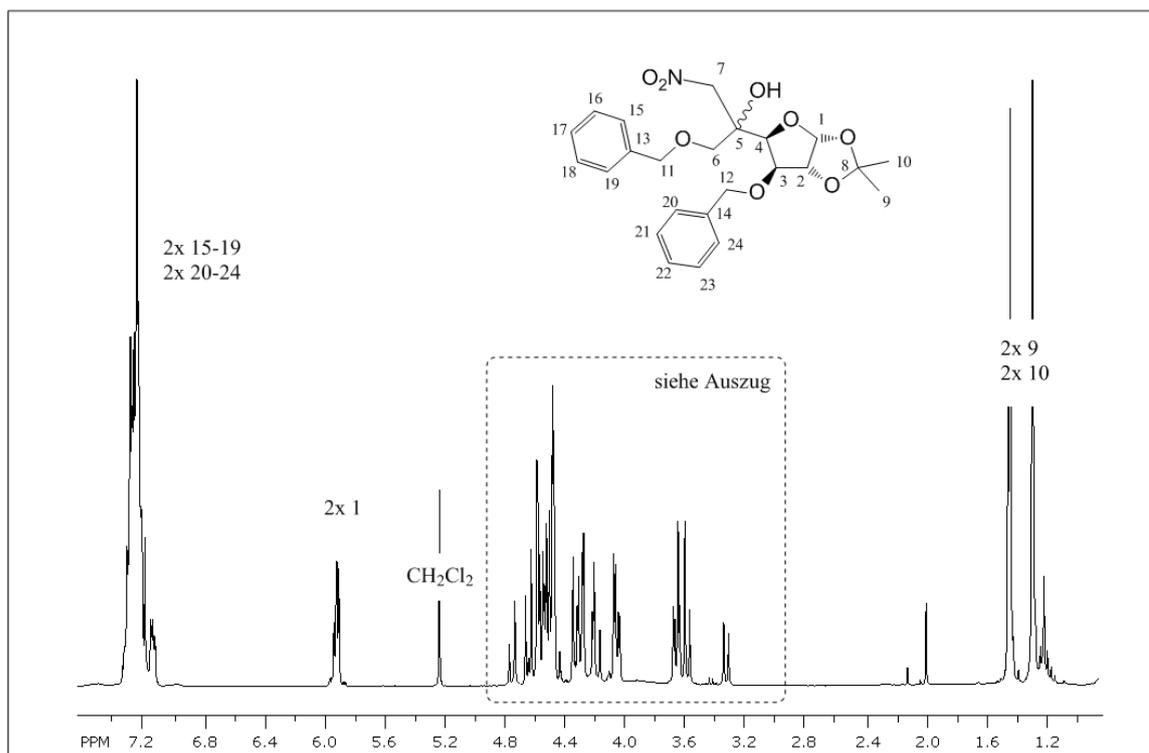
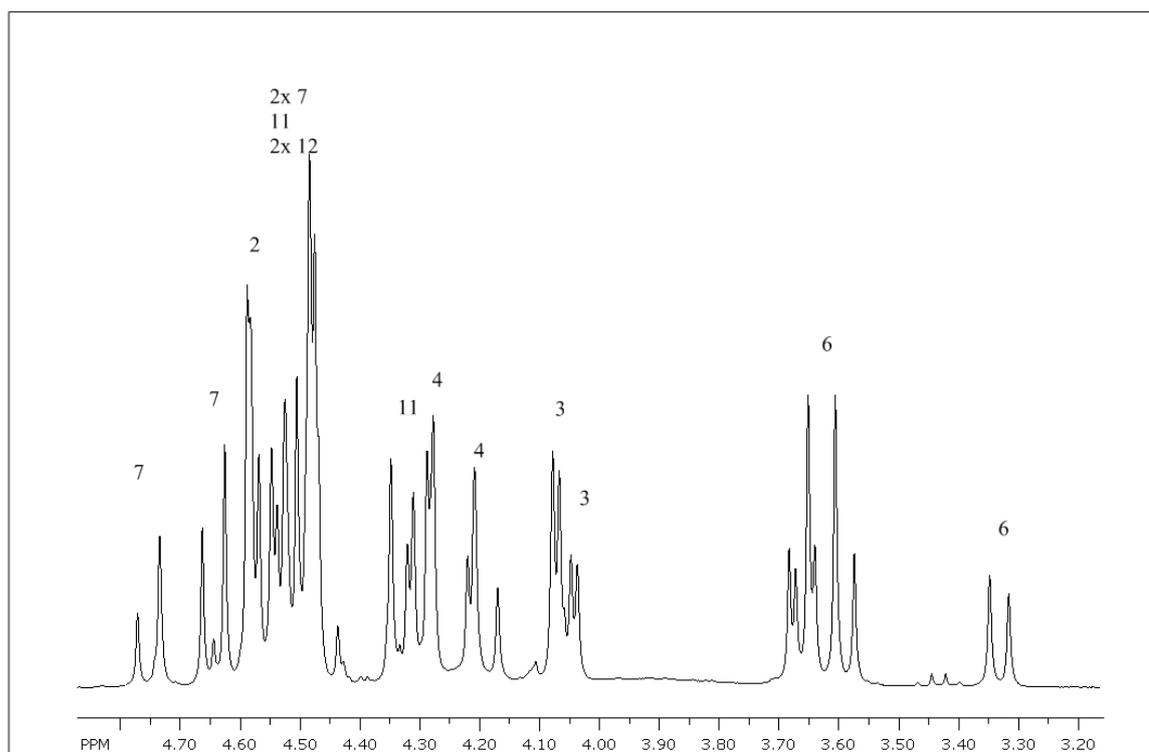


Abbildung 64: ^1H -Spektrum der Verbindungen **118a**^{i,ii}.

**Abbildung 67:** ^1H -Spektrum der Verbindungen 65a,b.**Abbildung 68:** Auszug aus dem ^1H -Spektrum der Verbindungen 65a,b.

7 Literaturverzeichnis

- ¹ Streitwieser, A.; Heathcock, C.; In: *Organische Chemie*; VCH-Verlagsges. mbH, Weinheim; **1986**, 823-825.
- ² Karlson, P.; In: *Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler*; Thieme-Verlag Stuttgart; **1972**, 237-287.
- ³ „Kohlenhydrate“; In: *Römpp Online Chemielexikon*; Thieme-Verlag.
- ⁴ Paulsen, H.; *Angew. Chem.*; **1966**, 78, 501-566.
- ⁵ Rempel, B. P.; Withers, S. G. *Glycobiology*; **2008**, 18, 570-586.
- ⁶ Street, I. P.; Withers, S. G.; *J. Am. Chem. Soc.*; **1988**, 110, 8551-8553.
- ⁷ Stick, V. Robert and Williams, J., Spencer; In: *Carbohydrates, The Essential Molecules of Life*; Elsevier, Oxford; **2009**, 267-268.
- ⁸ Legler, G.; *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*; **1990**, 48, 319-384.
- ⁹ Leaback, D. H.; *Biochem. Biophys. Res. Commun.*; **1968**, 32, 1023-1025.
- ¹⁰ Lai, H. Y. L.; Axelrod, B.; *Biochem. Biophys. Res. Commun.*; **1973**, 54, 463-468.
- ¹¹ Horii, S.; Iwasa, E. Mizuka; Kameda, Y.; *J. Antibiot.*; **1971**, 24, 59-63.
- ¹² Inouye, S.; Tsuruoka, T.; Niida, T.; *J. Antibiot.*; **1966**, 19, 288-292.
- ¹³ Miyake, Y.; Ebata, M.; *J. Antibiot.*; **1987**, 40, 122-123.
- ¹⁴ Paulsen, H.; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*; **1966**, 5, 495-511.
- ¹⁵ Asano, N.; Nash, R.J.; Molyneux, R. J.; Fleet, G. W. J.; *Tetrahedron Asymm.*; **2000**, 1645-1680.
- ¹⁶ Asano, N.; Oseki K.; Kisu, H.; Matsui, K.; *J. Med. Chem.*; **1994**, 37, 3701-3706.
- ¹⁷ Welter, H.; Dardenne, G.; Marlier, M.; Casimir, J.; *Phytochemistry*; **1976**, 25, 747-758.
- ¹⁸ Wennekes, T.; Van den Berg, R. J. B. H. N.; Van der Marel, G. A.; Overkleeft, H. S.; Aerts, J. M. F. G.; *Angew. Chem.*; **2009**, 127, 9006-9028.
- ¹⁹ Wiegandt, H.; *Angew. Chem.*; **1968**, 3, 89-132.
- ²⁰ Karlson, P.; In: *Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler*; Thieme-Verlag Stuttgart; **1972**, 216-217.
- ²¹ Kolter, T.; Sandhoff, K.; *Angew. Chem. Int. Ed.*; **1999**, 38, 1532-1568.
- ²² Martin, O. R.; Compain; In: *Iminosugars: From synthesis to the therapeutic application*; Eds. Compain, P.; Martin, O.R.; John Wiley & Sons, Ltd: Chichester; **2007**, p. 226-228.
- ²³ Winchester, B.; Vellodi, A.; Young, E.; *Biochem. Soc. Trans.*; **2000**, 28, 154-154.
- ²⁴ Martin, O. R.; Compain; In: *Iminosugars: From synthesis to the therapeutic application*; Eds. Compain, P.; Martin, O.R.; John Wiley & Sons, Ltd: Chichester; **2007**, p. 225-226.
- ²⁵ Schitter, G.; Dissertation, Technische Universität Graz; **2009**.
- ²⁶ Parenti, G.; *EMBO Mol. Med.*; **2009**, 268-279.
- ²⁷ Hoogerburugge, P. M.; Suzuki, K.; Poorthuis, B. J.; Kobayashi, T.; Wagemaker, G.; van Bekkum, D.W.; *Scienc*; **1988**, 239, 1035-1038.

- 28 Fan, J. Q.; Ishii, S.; Asano, N.; Suzuki, Y.; *Nat. Med.*; **1999**, 5, 112-115.
- 29 Fan, J. Q.; Ishii, S.; *FEBS J.*; **2007**, 274, 496-4971.
- 30 Martin, O. R.; Compain, In: *Iminosugars: From synthesis to the therapeutic application*; Eds. Compain, P.; Martin, O.R.; John Wiley & Sons, Ltd: Chichester; **2007**, p. 225-247.
- 31 Schitter, G.; Steiner, A. J.; Pototschnig, G.; Scheucher, E.; Thonhofer, M.; Tarling, C. A.; Withers, S. G.; Fantur, K.; Paschke, E.; Mahuran, D. J.; Rigat, B. A.; Tropak, M. B.; Illaszewicz, C.; Saf, R.; Wrodnigg, T. M.; Stütz, A. E.; *Chem.Bio.Chem.*; **2010**, 11, 2026-2033.
- 32 Goker-Alpan, O.; Lorenz, G.; Vithayathil, J.; Davis, J.; Hallett, M.; Sidransky, E.; *Arch. Neurol.*; **2008**, 65, 1353-1357.
- 33 Marks, N.; Berg, M. J.; Saito, M.; *Brain Res.*; **2008**, 1191, 136-147.
- 34 Ariga, T.; McDonald, M. P.; Yu, R. K.; *J. Lipid Res.*; **2008**, 49, 1157-1175.
- 35 Stütz, A. E.; In: *Iminosugars as Glycosidase Inhibitors: Nojirimycin and Beyond*; Stütz, A. E.; Wiley-VCH, Weinheim; **1999**, 117-123.
- 36 Jepsen, T. M.; Dong, W.; Sierks, M. R. Skrydstrup, T.; Lund, I.; Bols, M.; *Angew. Chem.*; **1994**, 1858-1860.
- 37 Ichikawa, Y.; Igarashi, Y.; Ichikawa, M.; Suhara, Y.; *J. Am. Chem. Soc.*; **1998**, 120, 3007-3018.
- 38 Andersch, J.; Bols, M.; *Chem. Eur. J.*; **2001**, 17, 3744-3747.
- 39 Pandey, G.; Kapur, M.; *Tetrahedron Lett.*; **2000**, 41, 8821-8824.
- 40 Chattopadhyay, A.; Mamdapur, V. R.; *J. Org. Chem.*; **1995**, 60, 585-587.
- 41 Kim, Y. J.; Ichikawa, M.; Ichikawa, Y.; *J. Org. Chem.*; **2000**, 65, 2599-2602.
- 42 Ouchi, H.; Mihara, Y.; Takahata, H.; *J. Org. Chem.*; **2005**, 70, 5207-5214.
- 43 Zhao, G.; Deo, U. C.; Ganem, B.; *Org. Lett.*; **2001**, 3, 201-203.
- 44 Bols, M.; Perrson, M. P.; Butt, W. M.; Jorgensen, M.; Christensen, P.; Hansen, L. T.; *Tetrahedron. Lett.*; **1996**, 37, 2097-2100.
- 45 Dong, W.; Jepsen, T.; Bols, M.; Skrydstrup, T.; Sierks, M. R.; *Biochem.*; **1996**, 35, 2788-2795.
- 46 Ganem, B.; *Acc. Chem. Res.*; **1996**, 29, 340-347.
- 47 Martin, O. R.; Compain, In: *Iminosugars: From synthesis to the therapeutic application*; Eds. Compain, P.; Martin, O.R.; John Wiley & Sons, Ltd: Chichester; **2007**, p. 137.
- 48 Takayama, S.; Chung, S. J.; Igarashi, Y.; Ichikawa, Y.; Sepp, A.; Lechler, R.; Wu, J.; Hayashi, T.; Siuzdak, G.; Wong, C. H.; *Bioorg. Med. Chem.*; **1999**, 7, 401-409.
- 49 Ichikawa, Y.; Igarashi, Y.; *Tetrahedron Lett.*; **1995**, 36, 4585-4586.
- 50 Brumsthein, B.; Greenblatt, H. M.; Butters, T. D.; Shaaltiel, Y.; Aviezer, D.; Silman, I.; Futerman, H. A.; Sussman, J. L.; *J. Biol. Chem.*; **2007**, 282, 29052-29058.
- 51 Chang, H. H.; Asano, N.; Ishii, S.; Ichikawa, Y.; Fan, J. Q.; *FEBS J.*; **2006**, 273, 4082-4092.
- 52 Lieberman, R. L.; Wustman, B. A.; Huertas, P.; Powe, A. C.; Khanna, R.; Schlossmacher, M. G.; Ringe, D.; Petsko, G. A.; *Nat. Chem. Biol.*; **2007**, 3, 101-107.
- 53 Yu, Z.; Sawkar, A. R.; Whalen, L. J.; Wong, C. H.; Kelly, J. W.; *J. Med. Chem.*; **2007**, 50, 94-100.
- 54 Luzzio, F.; *Tetrahedron*; **2001**, 57, 915-945.
- 55 Wittig G.; Schöllkopf U.; *Chemische Berichte*; **1954**; 87(9), 1318-1330.

- ⁵⁶ Horner, L.; Hoffmann, H.; Wippel, H. G.; *Chemische Berichte*; **1958**, 91, 61-63.
- ⁵⁷ Wadsworth, S. W.; Emmons, D. W.; *J. Am. Chem. Soc.*; **1961**, 83, 1733-1738.
- ⁵⁸ Best, D.; Wang, C.; Weymouth-Wilson, A. C.; Clarkson, R. A.; Wilson, F. X.; Nash, R. J.; Miyauchi, S.; Kato, A.; Fleet, G. W. J.; *Tetrahedron: Asymm.*; **2010**, 21, 311-319.
- ⁵⁹ Liang, D.; Pauls, H. W.; Fraser-Reid, B.; *Can. J. Chem.*; **1986**, 64, 1800-1809.
- ⁶⁰ Yoshikawa, M.; Okaichi, Y.; Cheon Cha, B.; Kitagawa, I.; *Tetrahedron*; **1990**, 46, 7459-7470.
- ⁶¹ Yoshikawa, M.; Cheon Cha, B.; Nakae, T.; Kitagawa, I.; *Chem. Pharm. Bull.*; **1988**, 36, 3714-3717.
- ⁶² Kluge, F. Arthur; Cloudsdale, S. Ian; *J. Org. Chem.*; **1979**, 44, 4847-4852.
- ⁶³ Pamies, Oscar; Bäckvall, Jan-E.; *J. Org. Chem.*; **2003**, 68, 4815-4818.
- ⁶⁴ Oishi, T.; Ando, K.; Inomiya, K.; Sato, H.; Iida, M.; Chida, N.; *Org. Lett.*; **2002**, 4, 151-154.
- ⁶⁵ Bernardi, L.; Bonini, B. F.; Dessole, G.; Fochi, M.; Comes-Franchini, M.; Gavioli, S.; Ricci, A.; Varchi, G.; *J. Org. Chem.*; **2003**, 68, 1418-1425.

8 Lebenslauf

Martin Simon Thonhofer, geboren am 22. April 1982 in Linz als Sohn von Dr. Kurt Thonhofer und Mag. Gertrude Thonhofer, geborene Payr.

1988-1992	Besuch der Volksschule 2, Linz
1992-1996	Besuch des BRG Auhof, Linz
1996-2001	Besuch der HTBLA 2 Paul-Hahn (Zweig für Maschinenbau)
Juni 2001	Reifeprüfung
2001-2002	Ableistung eines einjährigen Präsenzdienstes
WS 2002	Beginn des Studiums der Mechatronik an der Johannes Kepler Universität Linz
WS 2003	Beginn des Studiums der Technischen Chemie an der Technischen Universität Graz
Dezember 2009	Erste Diplomprüfung; Fortsetzung des Studiums in der Studienrichtung „Allgemeine Technische Chemie“
2011-2012	Durchführung der Diplomarbeit mit dem Thema: „C-5 Modifications in the Hexose Series“ am Institut für Organische Chemie der Technischen Universität Graz

9 Publikationsliste

Patent

„*Fluorophile Glycosidasehemmer*“ (AT 507745)

Elisabeth Scheucher, Martin Thonhofer, Andreas J. Steiner, Georg Schitter, Tanja M. Wrodnigg and Arnold E. Stütz

Publikationen in internationalen Fachjournalen

1. „*Fluorous Iminoalditols: A New Family of Glycosidase Inhibitors and Pharmacological Chaperones*“

Georg Schitter, Andreas J. Steiner, Gerit Pototschnig, Elisabeth Scheucher, Martin Thonhofer, Chris A. Tarling, Stephen G. Withers, Katrin Fantur, Eduard Paschke, Don J. Mahuran, Brigitte A. Rigat, Michael B. Tropak, Carina Illaszewicz-Trattner, Robert Saf, Arnold E. Stütz and Tanja M. Wrodnigg

Chem. Bio. Chem.; **2010**, 11, 2026–2033

2. „*Synthesis of lipophilic 1-deoxygalactonojirimycin derivatives as D-galactosidase inhibitors*“

Georg Schitter, Elisabeth Scheucher, Andreas J. Steiner, Arnold E. Stütz, Martin Thonhofer, Chris A. Tarling, Stephen G. Withers, Jacqueline Wicki, Katrin Fantur, Eduard Paschke, Don J. Mahuran, Brigitte A. Rigat, Michael Tropak and Tanja M. Wrodnigg

Beilstein Journal of Organic Chemistry; **2010**, 6, 21

Poster

1. „*C-5 Modifications in the Hexose Series*“

Martin Thonhofer, Patrick Kosmus, Tanja M. Wrodnigg and Arnold E. Stütz

16th European Carbohydrate Symposium, 03. - 07. Juli **2011**, Sorrento, Italy

2. „*Synthesis of 2,5-Dideoxy-2,5-imino-D-Hexitol Derivatives: Potential Inhibitors of Lysosomal α -Galactosidase?*“

Patrick Kosmus, Martin Thonhofer, Arnold E. Stütz and Tanja M. Wrodnigg

16th European Carbohydrate Symposium, 03. - 07. Juli **2011**, Sorrento, Italy

3. „*C-5 Modifications in the Hexose Series*“

Martin Thonhofer, Patrick Kosmus, Tanja M. Wrodnigg and Arnold E. Stütz

Österreichische Chemietage, 26. - 29. September **2011**, Linz, Austria

4. „*Synthesis of 2,5-Dideoxy-2,5-imino-D-Hexitol Derivatives: Potential Inhibitors of Lysosomal α -Galactosidase?*“

Patrick Kosmus, Martin Thonhofer, Arnold E. Stütz and Tanja M. Wrodnigg

Österreichische Chemietage, 26. - 29. September **2011**, Linz, Austria

Vorträge

1. „*C-5 Modifizierung an Hexosen*“

Martin Thonhofer, Arnold E. Stütz

16. Österreichischer Kohlenhydrat-Workshop, BOKU-Wien, 16. Februar **2012**, Wien, Austria

2. „*Synthese neuartiger lipophiler Iminoaldite mit interessantem chaperoning-Profil*“

Georg Schitter, Elisabeth Scheucher, Martin Thonhofer, Tanja M. Wrodnigg, Gerit Pototschnig, Andreas J. Steiner

12. Österreichischer Kohlenhydrat-Workshop, BOKU-Wien, 21. Februar **2008**, Wien, Austria