

Uwe Walter Groß

**Synthese von *N*-modifizierten 1-Desoxynojirimycin-Derivaten als
potentielle active-site-spezifische Chaperone zur Behandlung des
Gaucher Syndroms**

DIPLOMARBEIT

Zur Erlangung des akademischen Grades eines Diplom-Ingenieurs

Der Studienrichtung technische Chemie

erreicht an der

Technischen Universität Graz

Dipl.-Ing. Dr.techn. Assoc.Prof. Tanja Wrodnigg

Institut für organische Chemie

Technische Universität Graz

2010

Meinen Eltern und Jana

Selbstvertrauen ist das erste Geheimnis des Erfolges.

-Ralph Waldo Emerson-

Danksagung

Ich möchte mich herzlich bei Frau Prof. DI. Dr. Tanja Wrodnigg für die Bereitstellung des interessanten Themas, die fachliche Beratung, die aufgebrachte Geduld und die Aufnahme in die Glycogroup bedanken. Danke Tanja für die schönen, lehrreichen und spannenden Monate im 205'er Labor.

Besonders möchte ich mich bei Prof. DI. Dr. Arnold E. Stütz bedanken, für die aufmunternden Worte und das in mich gesetzte Vertrauen. Danke Arnold für deine Hilfe und deine spannenden Geschichten.

Weiters möchte ich mich bei der gesamten Glycogroup and friends bedanken: Gerit Pototschnig, Kathi Gallas, Verena Schenk, Flo Adanitsch, Georg Schitter, Hilmar Schröder, Martin Peters, Martin Thonhofer, Patrick Kosmus und Harry Stecher. Danke für eure Freundschaft und Hilfestellungen.

Meinem lieben Freund Georg kann ich gar nicht genug danken. Du hast mir immer in allen Situationen geholfen und ich durfte viel von dir lernen. Danke für die unzähligen Stunden vor der HPLC und besondern Dank für die „Kaffeepausen“ in denen du mir viele Male die Welt der Chemie verständlicher gemacht hast. Du bist mir ein sehr guter Freund geworden.

Ganz besonderen Dank möchte ich meinen Eltern und meinem Bruder aussprechen. Nicht nur für die finanzielle, sondern auch für die seelische Unterstützung. Mama, Papa, ihr wart immer für mich da und habt mir, egal wie schwer das Leben gerade war, geholfen. Ihr habt mir meine schulische Ausbildung und das Studium ermöglicht. Ohne euch hätte ich das nie geschafft und dafür möchte ich mich bei euch bedanken. David, danke für deine Computerkenntnisse und deine Hilfe an meinem Notebook.

Prof. Rolf Breinbauer möchte ich für die Finanzierung meiner Diplomarbeit danken. Carina Illaszewicz-Trattner und Prof. Jörg Weber möchte ich für die Unterstützung bei der NMR-Spektroskopie danken.

Bei Thoni, aka. Dr. möchte ich mich bedanken, da ich durch ihn erst die Schönheit und Genialität der Zuckerchemie kennengelernt habe. Thoni, deine Freundschaft und Loyalität haben mir immer sehr geholfen. Du hattest immer Zeit für das ein oder andere Bier und es war immer ein Vergnügen mit dir im Labor zu stehen und zu säulen.

Jana möchte ich besonders für ihre Geduld, ihre Hilfe und ihre Liebe danken. Die zahlreichen Wochenenden die wir im Labor gearbeitet haben, die anregenden Gespräche und dein chemisches Wissen haben mir sehr geholfen.

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 sind Kohlenhydrat-Analoga, deren Ringsauerstoff durch einen basischen, trivalenten Stickstoff ersetzt ist. Solche Verbindungen sind als starke, kompetitive Inhibitoren von Glycosylhydrolasen bekannt, daraus resultieren besondere biologische Eigenschaften. Synthetisch hergestellte *N*-modifizierte Derivate von 1-Desoxynojirimycin weisen starke Wechselwirkungen mit β -Glucosidasen auf und werden deshalb auch in der Chaperontherapie für die Behandlung von lysosomalen Speicherkrankheiten eingesetzt. In dieser Arbeit wurde ein robuster und effizienter Syntheseweg zur Darstellung von 1-Desoxynojirimycin Derivaten entwickelt. Es wurden zwei paradigmatische Vertreter dieser Substanzklasse hergestellt und auf ihre biologische Aktivität untersucht.

1	Einleitung	9
1.1	<i>Kohlenhydrate</i>	9
1.2	<i>Glycosidasen und Glycosidaseninhibitoren</i>	10
1.3	<i>Iminoaldite als Glycosidaseninhibitoren</i>	11
1.4	<i>Synthese von Iminozuckern</i>	13
1.4.1	<i>Iminoaldite aus „Nichtkohlenhydrat“-Startmaterialien</i>	13
1.4.2	<i>Iminoaldite aus Sacchariden</i>	15
1.5	<i>Glycosphingolipidabbau und lysosomale Speicherkrankheiten</i>	16
1.6	<i>Lysosomale Speicherkrankheiten (LSK)</i>	18
1.7	<i>Therapien</i>	19
1.7.1	<i>Enzymersatztherapie</i>	19
1.7.2	<i>Knochenmarktransplantation</i>	20
1.7.3	<i>Substratreduktionstherapie</i>	20
1.7.4	<i>Chaperontherapie</i>	21
2	Problemstellung	24
3	Durchführung und Diskussion	25
3.1	<i>Darstellung von 1-Desoxynojirimycin (11)</i>	25
3.2	<i>Darstellung von N-(4-Phenyl)butyl-1-desoxynojirimycin (55)</i>	32
4	Zusammenfassung	39
5	Experimenteller Teil	40
5.1	<i>Analytik</i>	40
5.2	<i>Darstellung der Produkte</i>	41
6	NMR-Spektren	51
7	Publikationsliste	57
8	Lebenslauf	58

Tabelle der verwendeten Abkürzungen			
$[\alpha]_D^{20}$	spezifischer optischer Drehwert	GSL	Glycosphingolipid
AcOH	Essigsäure	HCOONH ₄	Ammoniumformiat
ASSC	Active-site-spezifische-Chaperone	HPLC	High performance liquid chromatography
BiP	Binding Protein	HSP	Hitzeschockprotein
Bu ₄ NF	Tetrabutylammoniumfluorid	LiAlH ₄	Lithiumaluminiumhydrid
Bu ₄ NOH	Tetrabutylammoniumhydroxid	LSK	Lysosomale Speicherkrankheit
Cbz	Benzyloxycarbonyl-	MPS	Mukopolysaccharidose
(COCl) ₂	Oxalylchlorid	mRNA	messenger ribonucleic acid
DC	Dünnschichtchromatographie	NMR	Kern-Magnet-Resonanz
DIBAL	Diisobutylaluminiumhydrid	Pd(OH) ₂ /C	Palladiumhydroxid auf Aktivkohle
DMAP	4-(Dimethylamino)-pyridin	Pd/C	Palladium auf Aktivkohle
DMF	Dimethylformamid	PivCl	Pivaloylchlorid
DMSO	Dimethylsulfoxid	rel. Masse	Relative Masse
DNA	Desoxyribonukleinsäure	RT	Raumtemperatur
DNJ	1-Desoxynojirimycin	TBSCl	<i>tert</i> -Butyldimethylsilylchlorid
ER	Endoplasmatisches Retikulum	TEMPO	2,2,6,6-Tetramethylpiperidinyloxy
ERAD	ER-unterstützter Proteinabbau	TFAA	Trifluoressigsäureanhydrid
Et ₃ N	Triethylamin	THF	Tetrahydrofuran
GRP	Glucoseregulierende Proteine	TosCl	<i>para</i> -Toluolsulfonsäurechlorid

1 Einleitung

1.1 Kohlenhydrate

In den Anfängen der Kohlenhydratchemie wurden Moleküle, die aus C, H und O im Verhältnis von $C_x(H_2O)_x$ aufgebaut sind, als Kohlenhydrate bezeichnet. Damals vermutete man, dass es sich hierbei um ein Hydrat des Kohlenstoffes handelt. Mittlerweile umfasst diese Definition auch Verbindungen mit Heteroatomen wie z.B. Stickstoff oder Schwefel, welche nicht in der ursprünglichen Definition enthalten waren.

Zu den Kohlenhydraten zählen unter anderem Polyhydroxyaldehyde bzw. Polyhydroxyketone sowie auch größere Moleküle, die bei der Hydrolyse eine dieser Carbonylverbindungen freisetzen. Je nach Molekülgröße werden sie in Monosaccharide, Oligosaccharide und Polysaccharide eingeteilt.

Monosaccharide unterteilt man je nach Anzahl der C-Atome in Triosen (C_3), Tetrosen (C_4), Pentosen (C_5), Hexosen (C_6), usw.. Monosaccharide, die eine Aldehydfunktion besitzen, werden als Aldosen und solche mit einer Ketogruppe als Ketosen bezeichnet.

Di- und Oligosaccharide enthalten zwei bis ca. zehn Monosaccharideinheiten, die über eine sogenannte glycosidische Bindung miteinander verknüpft sind. Ist ein Saccharid durch zwei anomere Hydroxylgruppen miteinander verknüpft, wird das dabei entstehende Disaccharid als nichtreduzierender Zucker bezeichnet, wohingegen eine Verknüpfung zwischen einer alkoholischen und einer anomeren Hydroxylgruppe einen reduzierenden Zucker darstellt.

Polysaccharide sind Biomakromoleküle, die in den meisten lebenden Organismen zu finden sind. Sie stellen die größte Gruppe von Naturstoffen dar, zu denen Speicherstoffe wie Stärke und Glycogen aber auch Gerüstsubstanzen wie Cellulose und Chitin gehören. Hinsichtlich der jährlich anfallenden Menge ist Cellulose die häufigste organische Verbindung.

Zucker, die im Pflanzen- und Tierreich vorkommen, bilden zusammen mit Fetten und Proteinen die Ernährungsgrundlage aller Organismen, wobei Kohlenhydrate in erster Linie als Energiequelle dienen. Tiere und Pflanzen gewinnen die zum Leben benötigte Energie durch den Abbau von Kohlenhydraten (Glucose). Glucose entsteht durch Photosynthese aus CO_2 und H_2O unter Lichteinwirkung und Mitwirkung von Chlorophyll.¹ Kohlenhydrate sind gemeinsam mit Proteinen und Lipiden als Glycolipide und Glycoproteine an der Zellerkennung und der Blutgruppenderminierung beteiligt.

¹ Hans, G. S., In: *Allgemeine Mikrobiologie*; Eds. Fuchs, G.; Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2006, p. 407 - 408.

1.2 Glycosidasen und Glycosidaseninhibitoren

In lebenden Organismen werden Zucker hauptsächlich durch Glycosylhydrolasen und Glycosyltransferasen verarbeitet. Diese Enzyme sind in vielen biologischen Prozessen, wie Verdauung, lysosomaler Abbau von Glykokonjugaten bis hin zur posttranslationalen Modifikation von Glycoproteinen, involviert.

Die Synthese von Glycosiden erfolgt durch Glycosyltransferasen, indem aktivierte Glycosylreste auf Proteine, Lipide oder wachsende Oligo- oder Polysaccharidketten übertragen werden. Glycosidasen sind Hydrolasen, die entweder vom nichtreduzierenden Ende der Polysaccharidkette Monosaccharide freisetzen (Exoglycosidasen) oder Oligosaccharide abspalten (Endoglycosidasen). Sie werden in zwei Untergruppen, invertierende und retentive Glycosidasen, eingeteilt abhängig von der Struktur der von ihnen spezifisch gespaltenen Substrate und deren anomerer Konfiguration. Wegen der bedeutenden Rolle der Glycosidasen herrscht großes Interesse an Substanzen, die selektiv Glycosidasen inhibieren können. Es gibt eine große Vielfalt an natürlich vorkommenden Glycosidaseninhibitoren, mikrobiologischen und pflanzlichen Ursprungs, von denen manche schon in der traditionellen chinesischen Medizin verwendet wurden.² Sie können in irreversible und reversible Glycosidaseninhibitoren unterteilt werden.

Irreversible Glycosidaseninhibitoren deaktivieren das Enzym, indem sie eine kovalente Bindung mit einem Aminosäurerest der Enzyme ausbilden. Diese Art von Inhibitoren wird zur Aufklärung von Enzymmechanismen und zum Markieren von Enzymen verwendet. Beispiele dafür sind Bromcondurit- β -epoxid (**1**)³ und Diaziringalactosid (**2**)³ (siehe *Abbildung 1*).

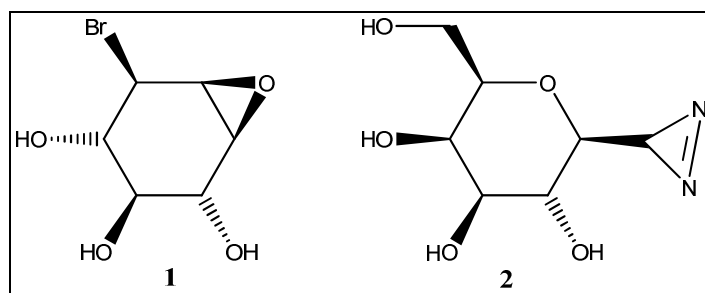


Abbildung 1: Beispiele für irreversible Glycosidaseninhibitoren

² Matrin, O.R.; Compain, P. In: *Iminosugars: From synthesis to therapeutic applications*; Eds. Compain, P.; Martin, O. R.; John Wiley & Sons, Ltd: Chichester, **2007**, p. 1 - 6.

³ Rempel, B.; Withers, S. G. *Glycobiology* **2008**, *18*, 571 – 586.

Die biologische Aktivität der meisten reversiblen Glycosidaseninhibitoren beruht auf der großen Ähnlichkeit zum natürlichen Substrat. Beispiele für natürliche, reversible Glycosidaseninhibitoren sind Swainsonin (**3**)⁴ und Nojirimycin (**4**)⁵ (siehe *Abbildung 2*).

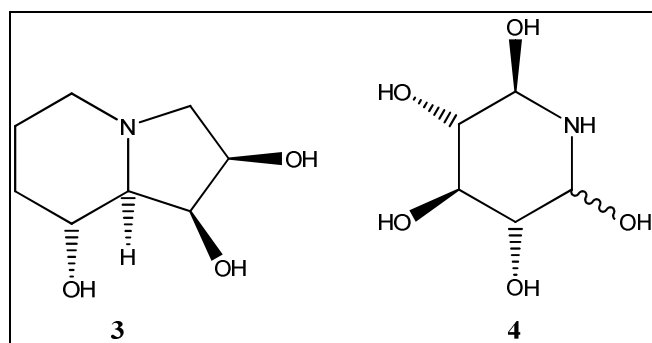


Abbildung 2: Beispiele für reversible Glycosidaseninhibitoren

Neben den Iminoalditen gibt es noch andere reversible Glycosidaseninhibitoren. Beispiele hierfür sind D-Gluconolacton (**5**)⁶ und β -D-Glucopyranosylamin (**6**)⁷ (siehe *Abbildung 3*).

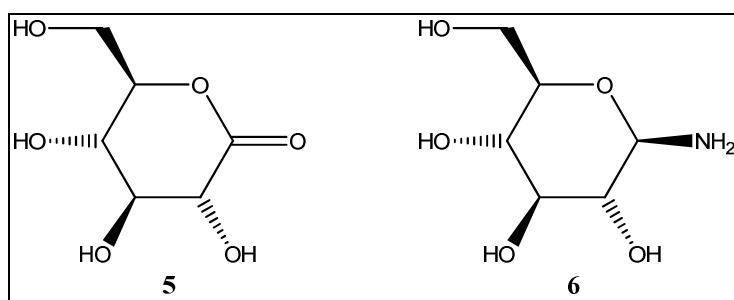


Abbildung 3: Beispiele für reversible Glycosidaseninhibitoren

1.3 Iminoaldite als Glycosidaseninhibitoren

Iminozucker sind Kohlenhydrat-Analoga, deren Ringsauerstoff durch Stickstoff ersetzt ist. Durch diese Substitution erhält dieser Zucker bemerkenswerte biologische Eigenschaften. Die therapeutische Wirkung der Iminozucker hat ihren Ursprung in der traditionellen chinesischen Medizin. Im 17. Jahrhundert ist das Haarlem-Öl zur Behandlung von verschiedenen Krankheiten verwendet worden. Das Öl wurde aus den grünen Blättern von *Morus alba*, der weißen Maulbeere, gewonnen, welche mehrere Iminoaldite enthalten.² Beispiele dafür sind *N*-

⁴ Colgate, S. M.; Dorling, P. R.; Huxtable, C. R. *Aust. J. Chem.* **1979**, *32*, 2257 – 2264.

⁵ Nouye, S.; Tsuruoka, T.; Niida, T. *J. Antibiot.* **1966**, *19*, 288 – 291.

⁶ Leaback, D. H.; *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1968**, *32*, 1023 – 1025.

⁷ Lai, H. Y. L.; Axelrod, B.; *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1973**, *54*, 463 – 468.

Methyl-1-desoxynojirimycin (**7**)⁸, Fagomine (**8**)⁸ und 1,4-Didesoxy-1,4-imino-D-arabinit (**9**)⁸ (siehe *Abbildung 4*).

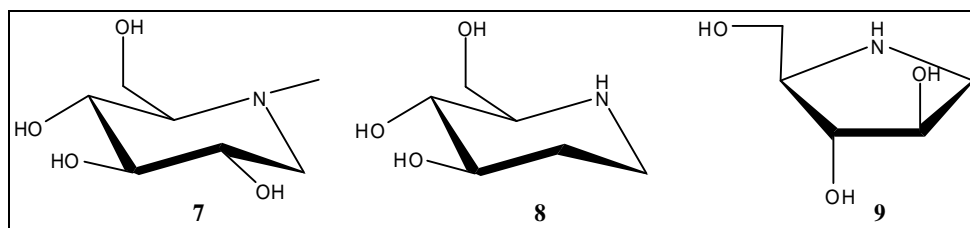


Abbildung 4: Iminozucker

In den frühen 1960er Jahren fällt der Startschuss für die synthetische Darstellung von Iminozuckern. Weiters werden anstelle des Ringsauerstoffes auch andere Heteroatome, wie beispielsweise Schwefel oder Phosphor eingeführt. Die Synthese solcher Kohlenhydrat-Analoga hat zu diesem Zeitpunkt noch keinen biologischen Hintergrund, sondern ist „nur“ eine synthetische Herausforderung. Mitte der 1960er Jahre wird 1-Desoxynojirimycin (**11**) von Hans Paulsen erstmals dargestellt.^{9,10} Zur selben Zeit wird Nojirimycin (**10**) aus dem Bakterienstamm *Streptomyces nojiriensis* isoliert und die antibakterielle Wirkung dieser Iminoaldite entdeckt.¹¹ Diese Kohlenhydrat-Analoga werden aus Fermentationsbrühen wie zum Beispiel von *Streptomyces roseochromogenes* R-468, *Streptomyces lavendulae* SF-425 und *Streptomyces nojiriensis* SF426 gewonnen.¹²

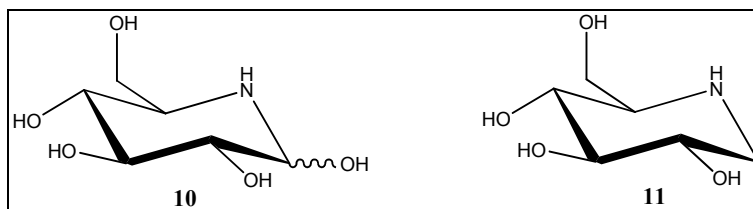


Abbildung 5: Nojirimycin (10) und Desoxynojirimycin (11)

Chemiker der Firma Bayer[®] haben entdeckt, dass 1-Desoxynojirimycin (**11**) als α -Glucosidaseninhibitor wirkt (siehe *Abbildung 5*).¹³ Diese Entdeckung haben Iminoaldite für Wissenschaftler immer interessanter gemacht. Es werden Bibliotheken von Kohlenhydrat-

⁸ Asano, N.; Oseki, K.; Tomioka, E.; Kizu, H.; Matsui, K. *Carbohydr. Res.* **1994**, *259*, 243 – 255.

⁹ Paulsen, H. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1966**, *5*, 495 – 511.

¹⁰ Paulsen, H.; Todt, K. *Chem. Ber.* **1967**, *100*, 3385 – 3407.

¹¹ Inouye, S.; Tsuruoka, T.; Niida, T. *J. Antibiot.* **1966**, *19*, 288 – 292.

¹² Inouye, S.; Tsuruoka, T.; Ito, T.; Niida, T. *Tetrahedron* **1968**, *24*, 2125 – 2144.

¹³ Truscheit, E.; Frommer, W.; Junge, B.; Müller, L.; Schmidt, D. *Angew. Chem.* **1981**, *93*, 738 – 755.

Analoga aufgebaut.¹⁴ Das Einsatzgebiet dieser Kohlenhydrate beschränkt sich nicht nur auf die Hemmung von Glucosidasen, Iminoaldite inhibieren unter anderem auch Glycosyltransferasen,¹⁵ Glycogenphosphorylasen¹⁶ oder Metallproteasen.¹⁷ Eine bahnbrechende Entdeckung ist die Wirkung von Kohlenhydrat-Analoga als pharmakologische Chaperone zur Behandlung von lysosomalen Speicherkrankheiten.¹⁸

1.4 Synthese von Iminozuckern

Das steigende Interesse an Iminoalditen und ihren besonderen biologischen Eigenschaften hat die Aufmerksamkeit vieler synthetischer Chemiker geweckt. In den letzten Jahrzehnten ist ein breites Spektrum an Kohlenhydrat-Derivaten ausgehend von natürlichen aber auch synthetischen Quellen hergestellt worden. Die für diese Zwecke entwickelten Methoden nutzen viele verschiedene Ausgangsmaterialien wie Saccharide und Aminosäuren.

1.4.1 Iminoaldite aus „Nichtkohlenhydrat“-Startmaterialien

Die Verwendung von Kohlenhydraten als Ausgangsmaterial zur Synthese von Iminozuckern ist nicht immer sinnvoll. Es sind Synthesewege entwickelt worden, ausgehend von „Nichtkohlenhydrat“-Startmaterialien. In diesen Methoden werden die chiralen Zentren entweder durch chemo-enzymatische Prozesse oder durch Verwendung von enantiomerenreinen Startmaterialien, wie Aminosäuren, gebildet. Ein Beispiel zur Darstellung eines Iminozuckers, ausgehend von L-Alanin ist in *Abbildung 6* zu sehen.¹⁹

¹⁴ Cipolla, L.; La Ferla, B.; Gregori, M. *Comb. Chem. High Throughput Screenin* **2006**, *9*, 571 – 582.

¹⁵ Wong, C.-H.; Dumas, D. P.; Ichikawa, Y.; Koseki, K.; Danishefsky, S. J.; Weston, B. W.; Lowe, J. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 7321 – 7322.

¹⁶ Bols, M.; Hazelle, R.; Thomsen, I. B. *Chem. Eur. J.* **1997**, *3*, 940 - 947.

¹⁷ Moriyama, H.; Tsukida, T.; Inoue, Y.; Yokota, K.; Yoshino, K.; Kondo, H.; Miura, N.; Nisimura, S.-I. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 1930 – 1938.

¹⁸ Fan, J.; Ishii, S.; Asano, N.; Suzuki, Y. *Nat. Med.* **1999**, *5*, 112 – 115.

¹⁹ Stütz, A. E., In: *Iminosugars as Glycosidase Inhibitors: Nojirimycin and Beyond*; Stütz, A. E.; Wiley-VCH, Weinheim, **1999**, *4.3*, p. 81 - 84.

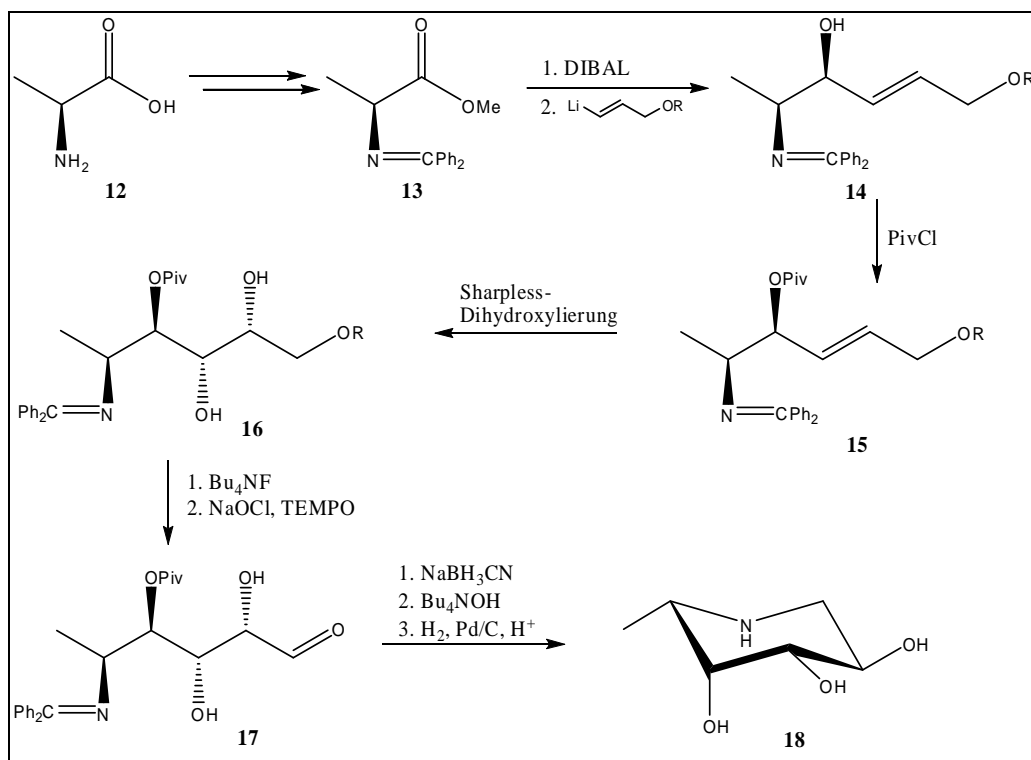


Abbildung 6: 1-Desoxy-fuco-nojirimycin (18) aus L-Alanin

Eine weitere Strategie ist die stereoselektive Funktionalisierung von Dienen zur Darstellung von Kohlenhydrat-Analoga (siehe Abbildung 7).²⁰

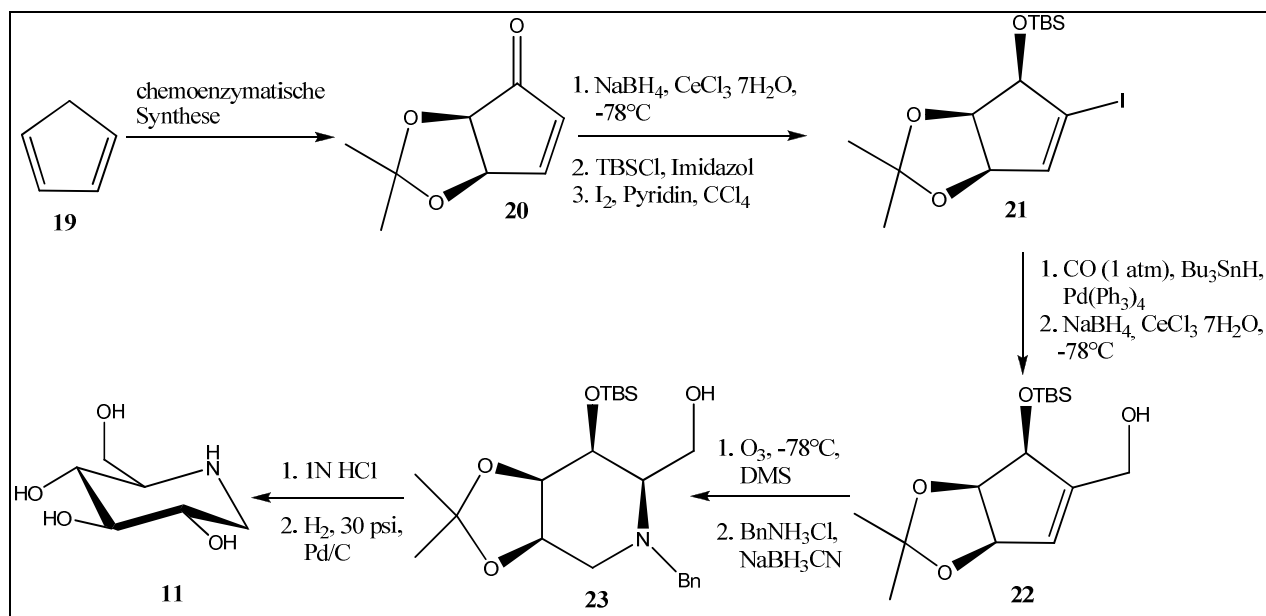


Abbildung 7: 1-DNJ aus Cyclopentadien

²⁰ Stütz, A.E.; In: *Iminosugars as Glycosidase Inhibitors: Nojirimycin and Beyond*; Eds. Stütz, A. E.; Wiley-VCH, Weinheim, 1999, 4.3, p. 86 - 87.

1.4.2 Iminoaldite aus Sacchariden

Iminozucker können ausgehend von aktivierten Alditen dargestellt werden. Eine bekannte Synthese basiert auf der Tosylierung der primären Hydroxylgruppe des Ausgangsmaterials **24** und anschließende Reaktion des Ditosylat **25** mit einem Amin (siehe *Abbildung 8*).²¹

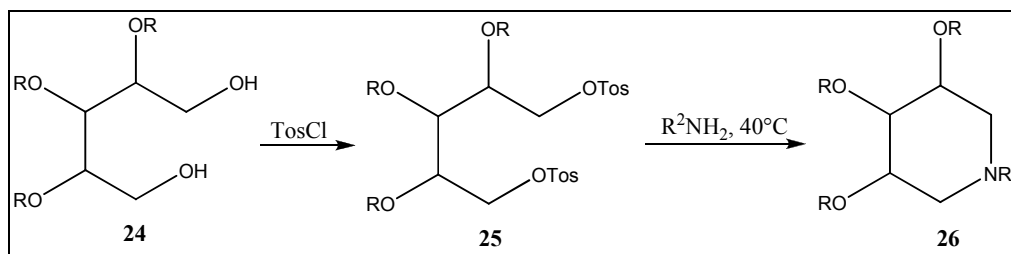


Abbildung 8: Kohlenhydrat-Analoga aus Alditen

Eine weitere Alternative ist die intramolekulare reduktive Aminierung, die 1967 von Paulsen und seinen Mitarbeitern erstmals durchgeführt wurde.²² Diese ist eine der effektivsten Methoden zur Darstellung von Iminoalditen als Glycosidaseninhibitoren (siehe *Abbildung 9*).

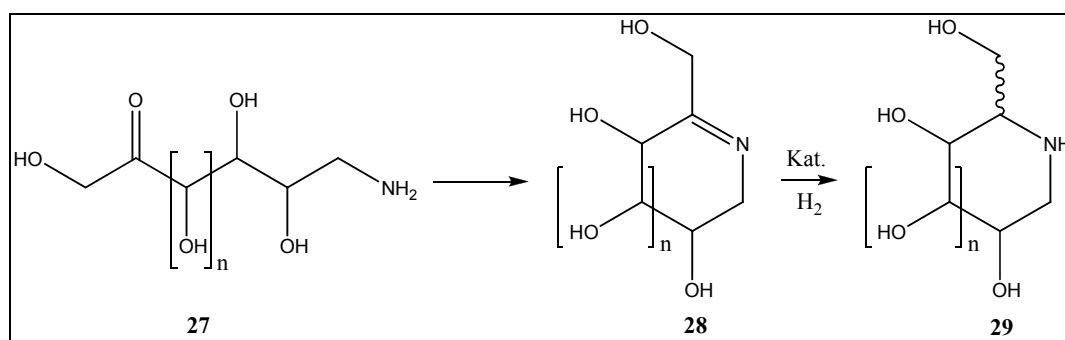


Abbildung 9: Intramolekulare reduktive Aminierung

Dabei entsteht im ersten Schritt eine Schiff'sche Base **28** aus der Carbonylfunktion des Eduktes und einem Amin. Anschließend wird dieses instabile Imin **28** mit Hilfe eines Hydrierkatalysators und H_2 zum gewünschten Iminoalditol **29** umgesetzt.

Alternativ lassen sich Iminoaldite auch aus Lactonen synthetisieren. Ausgehend von 1,2-*O*-Isopropyliden- α -D-glucofuranurono-6,3-lacton (**30**) ist 1-DNJ von Dax *et al.* über eine 6-stufige Synthese dargestellt worden (siehe *Abbildung 10*).²³

²¹ Mc Caig, A. E.; Chomier, B.; Wightman, R. H. *J. Carbohydr. Chem.* **1994**, *13*, 397 - 407.

²² Paulsen, H.; Sangster, I.; Heyns, K. *Chem. Ber.* **1967**, *100*, 802 - 815.

²³ Dax, K.; Gaigg, B.; Grassberger, V.; Kölblinger, B.; Stütz, A. E. *J. Carbohydr. Chem.* **1990**, *9*, 479 - 499.

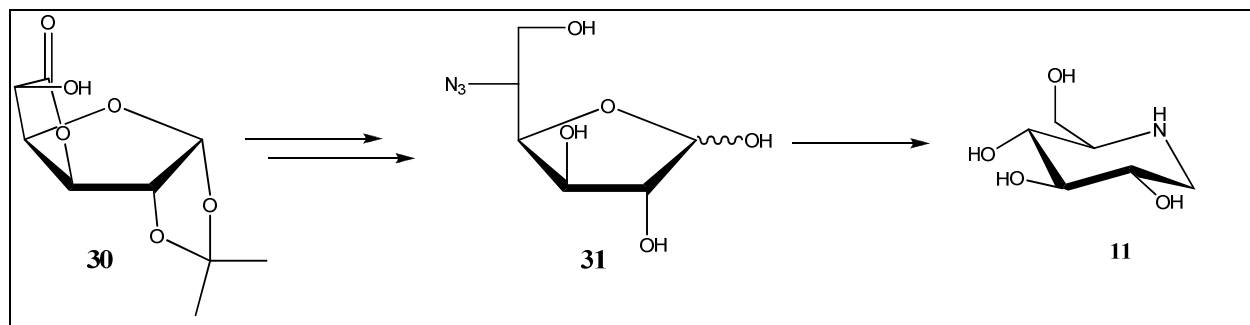


Abbildung 10: 1-DNJ aus Lacton

1.5 Glycosphingolipidabbau und lysosomale Speicherkrankheiten

Glycosphingolipide sind essentielle Strukturbestandteile der Zellmembranen in Säugetieren und befinden sich größtenteils an der Zelloberfläche. Sie bestehen aus einem Ceramidteil mit einer *N*-acylierten Sphingosingruppe, an deren primären Hydroxygruppe D-Glucose β -glycosidisch gebunden ist. Eines der am einfachsten aufgebauten Glucosphingolipiden ist das Glucosylceramid **32** (siehe *Abbildung 11*).²⁴

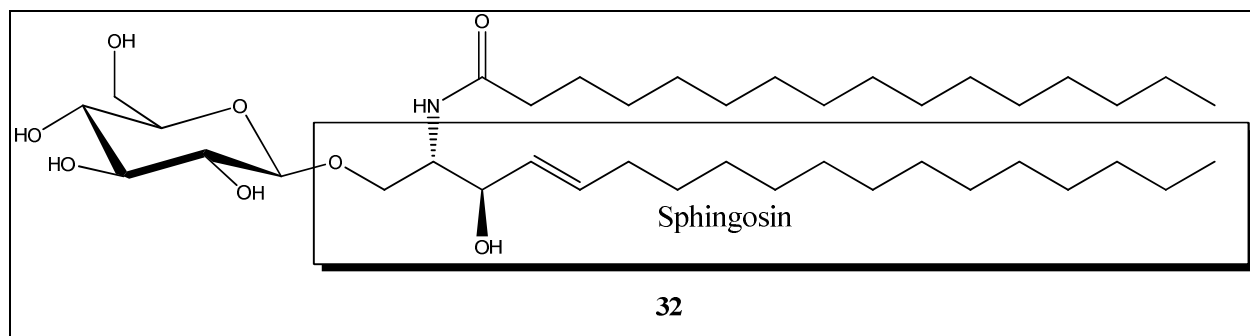


Abbildung 11: Glucosylceramid 32

Glycosphingolipide werden nach ihrem Lebenszyklus in den Lysosomen durch verschiedene Glycosidasen Schritt für Schritt abgebaut. Jedes dieser Enzyme ist für die Abspaltung einer bestimmten terminalen Zuckereinheit verantwortlich (siehe *Abbildung 12*). Am Ende des Abbauprozesses wird das Ceramid **40** zu Sphingosin und einer langkettigen Fettsäure gespalten.

²⁴ Wenekes, T.; Van den Berg, R. J. B. H. N.; Boot, R. G.; Van der Marel, G. A.; Overkleeft, H. S.; Aerts, J. M. F. G. *Angew. Chem.* **2009**, 121, 9006 – 9028.

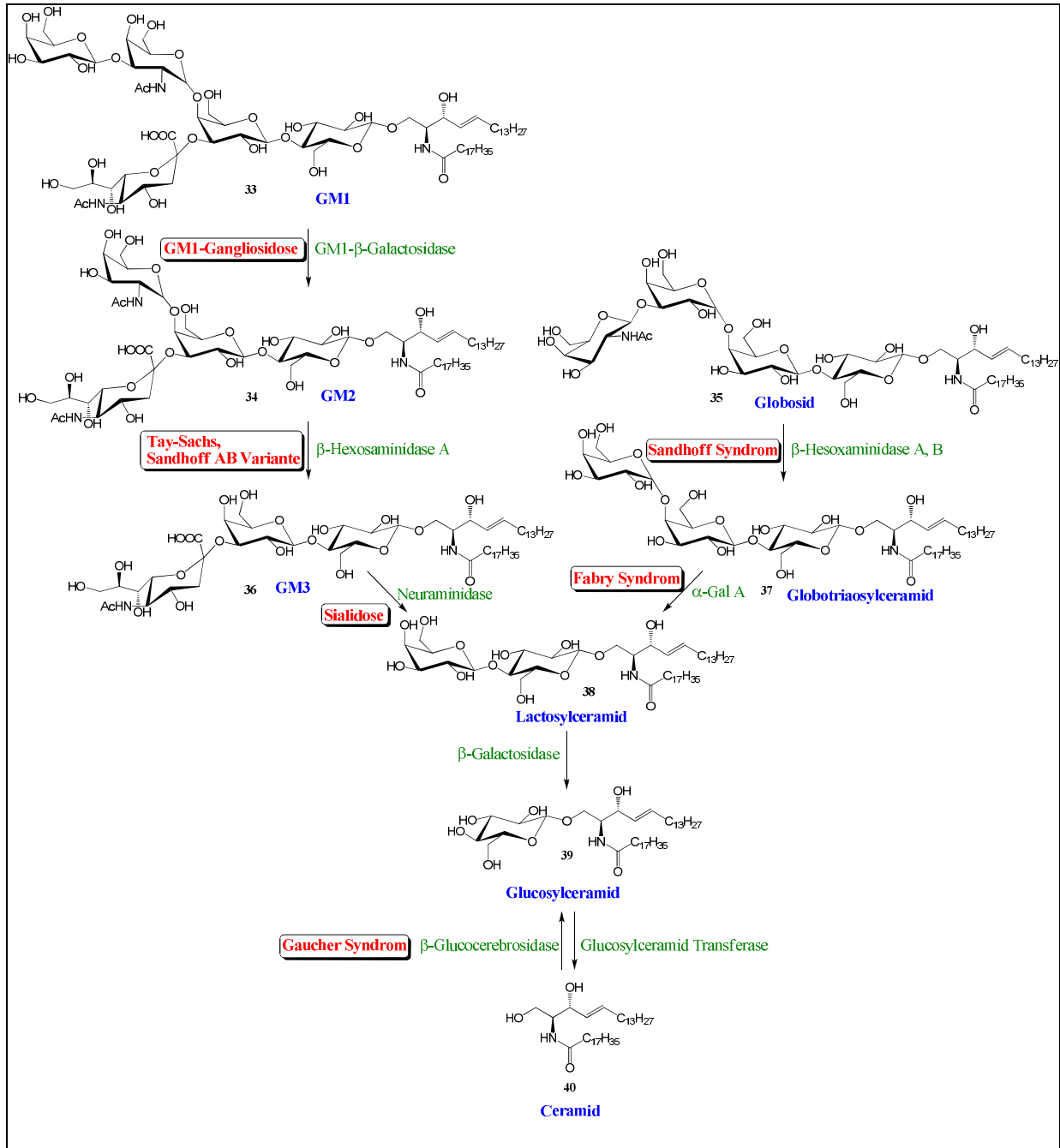


Abbildung 12: Abbau von Glycosphingolipiden

Wenn nun eines dieser für den Abbau verantwortlichen Enzyme einen Gendefekt besitzt, kann der gesamte Stoffwechselprozess behindert werden. Daraus resultiert eine abnormale Speicherung von nicht abgebauten Glycosphingolipiden in Lysosomen, was zu einer lysosomalen Speicherkrankheit (LSK) führt. Der Grund für die Speicherung dieser Glycosphingolipide in der Zelle kann neben einer reduzierten Enzymaktivität auch ein verringerter Membrantransport sein.

1.6 Lysosomale Speicherkrankheiten (LSK)

Lysosomale Speicherkrankheiten stellen Stoffwechselstörungen dar, die durch einen genetisch bedingten Defekt saurer Hydrolasen hervorgerufen werden. Diese Enzyme sind für die Degradation von Makromolekülen, wie zum Beispiel Glycosphingolipiden, Proteinen, Lipiden, Glycogen oder Glycoproteinen verantwortlich.²⁵ Es sind heute etwa 50 verschiedene Syndrome bekannt.²⁶ Etliche dieser Syndrome stehen in engem Zusammenhang mit dem fehlerhaften lysosomalen Abbau von Glycosphingolipiden. Die bekanntesten Vertreter dieser Art der LSK sind in *Tabelle 1* angeführt.

Tabelle 1: Die bekanntesten Lysosomalen Speicherkrankheiten²⁶

Syndrom	fehlerhaftes Enzym	Speicherstoff
Pompe-Syndrom	α -Glucosidase	Glycogen
G _{M1} -Gangliosidose	β -Galactosidase	GM ₁
Tay-Sachs-Syndrom	β -Hexosaminidase A	GM ₂
Sialidose	Neuraminidase	GM ₃
Gaucher-Syndrom	Glucocerebrosidase	Glucosylceramid
Fabry-Syndrom	α -Galactosidase A	Globotriaosylceramid
Sandhoff-Syndrom	β -Hexosaminidase B	Globosid

Ein durch einen Gendefekt hervorgerufener Verlust an Aktivität eines oder mehrerer Enzyme führt zur Speicherung der entsprechenden Substrate innerhalb der Lysosomen. Die Akkumulation dieser hochmolekularen Substanzen hat zunächst Funktionsstörungen und schließlich den Zelltod zur Folge. Eine grobe Einteilung der Krankheiten erfolgt je nachdem, welches Material in der Zelle angesammelt wird. Man unterscheidet beispielsweise Glycosphingolipidosen, Mukopolysaccharidosen und Oligosaccharidosen. Die meisten lysosomalen Speicherkrankheiten werden autosomal rezessiv vererbt, eine Ausnahme sind die Mukopolysaccharidose (MPS) Typ 2 (Morbus Hunter) und der Morbus Fabry, die dem X - chromosomalen Erbgang folgen.²⁷ Etwa eins von 8.000 – 10.000 Neugeborenen ist von diesen Erbkrankheiten betroffen.^{28,29,30}

²⁵ Winchester, B.; Vellodi, A.; Young, E. *Biochem. Soc. Trans.* **2000**, *28*, 154 – 154.

²⁶ Matrin, O.R.; Compain, P. In: *Iminosugars: From synthesis to therapeutic applications*; Eds. Compain, P.; Martin, O. R.; John Wiley & Sons, Ltd: Chichester, **2007**, p. 225 – 226.

²⁷ Beck, M. *Dtsch. Arztebl.* **2001**, *98*, 2188 – 2192.

²⁸ Meikle, P.J.; Hopwood, J. J.; Clague, A. E.; Carey, W.F. *J. Am. Med. Assoc.* **1999**, *281*, 249 – 254.

Bei den lysosomalen Speicherkrankheiten ist die lysosomale Enzymkonzentration im Vergleich stark reduziert. Bedingt durch die fehlerhafte Faltung der entsprechenden Proteine wird das betroffene Enzym im Endoplasmatischen Retikulum (ER) denaturiert. Körperfremde Chaperone können diese fehlerhaften Proteine bei der richtigen Faltung unterstützen und damit die enzymatische Aktivität gewährleisten. Nachdem das defekte Enzym mit Hilfe von Chaperonen in die richtige Konformation gebracht wurde, gelangt es über den sekretorischen Weg in die Lysosomen und erhöht dort die Enzymaktivität.²⁶

Die am häufigsten auftretende lysosomale Speicherkrankheit ist das Gaucher-Syndrom, welches in drei Typen (Typ I, II und III) eingeteilt werden kann. Typ I ist am stärksten vertreten und wird auch „adulte Form“ genannt. Dabei kommt es zur Vergrößerung von Leber und Milz, Gelenksschäden, Hämatomen und Blutarmut, während das periphere Nervensystem nicht angegriffen wird. Anders ist es jedoch bei Typ II (infantile Form) und Typ III (juvenile Form) bei denen auch das periphere Nervensystem betroffen ist.

1.7 Therapien

In den letzten 20 Jahren wurden Fortschritte in der Therapie der unheilbaren lysosomalen Speicherkrankheiten erreicht. Je nach Syndrom werden Knochenmarktransplantation, Enzymersatztherapie, Substratreduktionstherapie, Stammzellen- und Chaperontherapie zur Bekämpfung dieser Krankheiten eingesetzt.^{31,32}

1.7.1 Enzymersatztherapie

Die Enzymersatztherapie basiert auf dem Konzept, dass rekombinante lysosomale Hydrolasen von Zellen und Gewebe über den Mannose- bzw. Mannose-6-phosphat-Rezeptor Weg aufgenommen und zu den Lysosomen transportiert werden. Dort werden sie aktiviert und ersetzen die defekten Hydrolasen.

Der erste erfolgreiche Test dieser Therapie wurde bei Typ I Gaucher Patienten durchgeführt. Nachdem die Enzymersatztherapie sich als sicher und effizient erwiesen hat, wurde dieses Konzept auch für die Therapie anderer lysosomaler Speicherkrankheiten angewendet.

Die Nachteile dieser Therapie sind unter anderem Probleme mit der Bioverfügbarkeit von rekombinanten Enzymen. Außerdem sind diese rekombinanten lysosomalen Enzyme große

²⁹ Rider, J. A.; Rider, D. L. *Mol. Genet. Metab.* **1999**, *66*, 231 – 233.

³⁰ Santavuori, P. *Brain Dev.* **1988**, *10*, 80 – 83.

³¹ Eto, Y.; Shen, J. S.; Meng, X. L.; Ohashi, T. *J. Inherit. Metab. Dis.* **2004**, *27*, 411 – 415.

³² Ellinwood, N. M.; Vite, C. H.; Hasskins, M. E. *J. Gene. Med.* **2004**, *6*, 481 – 506.

Moleküle, welche nicht in der Lage sind, die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden. Somit kann diese Therapie nicht bei der Behandlung von lysosomalen Speicherkrankheiten eingesetzt werden, die auch das zentrale Nervensystem betreffen. Zur Zeit werden intensive Nachforschungen angestellt um die rekombinanten Enzyme chemisch zu modifizieren, damit sie die Blut-Hirn-Schranke überwinden können. Ein weiterer Nachteil dieser Therapie ist, dass sie für Patienten sehr aufwendig und da sie durch Infusionen verabreicht wird, für Kinder ungeeignet ist.

Weiters müssen auch ökonomische Aspekte berücksichtigt werden. Die Behandlungskosten eines einzigen Patienten belaufen sich auf bis zu 700.000 Euro pro Jahr, was diese Therapie zu eine der teuersten Behandlungsarten in diesem Gebiet macht.³³

1.7.2 Knochenmarktransplantation

Das Ziel der Knochenmarkstransplantation ist, dass die Blockierung von Molekülen durch die Blut-Hirn-Schranke umgangen wird. Knochenmarkmakrophagen sind in der Lage, die Blut-Hirn-Schranke zu einem kleinen Teil zu überwinden und können als Enzymquelle im Hirn dienen. Obwohl es einige Berichte von erfolgreichen Versuchen gibt, scheint diese Art von Therapie, nicht gut für die Behandlung von lysosomalen Speicherkrankheiten geeignet zu sein.

In Tierversuchen wurde gezeigt, dass es eine Verbesserung der neuronalen Symptome und eine höhere Lebenserwartung gibt. Es konnte jedoch keine Genesung der Tiere beobachtet werden.

1.7.3 Substratreduktionstherapie

Die Substratreduktionstherapie basiert auf der Hypothese, dass die intralysosomale Akkumulation von nicht abgebautem Substrat, bei unzureichender Aktivität der jeweiligen substratabbauenden Enzyme, ansteigt. Bei dieser Therapie wird die Biosynthese der Glycosphingolipide inhibiert. Es werden Inhibitoren verwendet, die den ersten Schritt der Synthese von Ceramid **40** zu Glucosylceramid **39** blockieren und in weiterer Folge sind weniger Speicherstoffe vorhanden die akkumuliert werden können. Eines der Ziele dieser Therapie ist, Wirkstoffe zu entwickeln, die in der Lage sind die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden und die Substratbelastung im zentralen Nervensystem zu reduzieren. Ein Nachteil

³³ Parenti, G.; *EMBO Mol. Med.* **2009**, 268 – 279.

dieser Therapie ist, dass auch andere Substrate gehemmt werden, was zu unerwünschten Nebenwirkungen führen kann.

Eine Kombination der Substratreduktionstherapie mit der Knochenmarktransplantation Therapie zeigt synergetische Wirkung bei Mäusen mit Sandhoff-Syndrom.

1.7.4 Chaperontherapie (CMT)

Chaperone sind Moleküle, die frisch synthetisierten Proteinen helfen, sich in die biologisch aktive Konformation zu falten (siehe *Abbildung 13*). Weiters schützen sie diese Proteine davor Aggregate zu bilden, bzw. von der ER-assoziierten Proteindegradation (ERAD - Abbau) denaturiert zu werden. Die Funktion der Chaperone ist dabei die Abschirmung von hydrophoben Seitenketten ungefalteter Proteine, damit die Faltung korrekt ablaufen kann.³⁴ In den Zellen sind unterschiedliche molekulare Chaperone vorhanden wie z.B. Hitzeschockproteine (HSP), "Binding Proteine" (BiP) oder glucoseregulierende Proteine (GRP). Diese Chaperone sind voneinander unabhängig, aber führen ähnliche Funktionen aus.³⁵

1.7.4.1 Funktion von Chaperonen

Wie in *Abbildung 13* zu sehen ist, wird die mRNA von den Ribosomen „abgelesen“ und im ER die entsprechende Proteinsequenz nachgebaut.

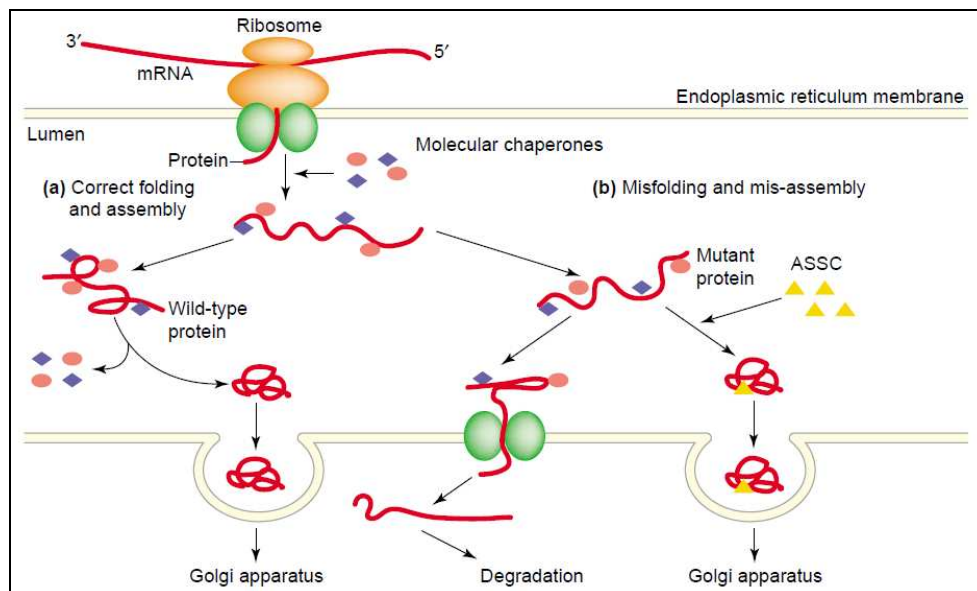


Abbildung 13: Proteinfaltung³⁶

³⁴ <http://flexikon.doccheck.com/Chaperone>, 2009.

³⁵ Buchner, *J. Cell. Mol. Life Sci.* **2002**, 59, 1587 – 1588.

³⁶ Fan, J.-Q. *Trends Pharmacol. Sci.* **2003**, 24, 355 – 360.

Die Faltung der Proteine erfolgt durch Selbstorganisation.³⁷ Unterstützt werden die Proteine bei ihrer Faltung durch molekulare Chaperone wie z.B. Binding Proteine (BiP), Calnexin oder Hitzeschockproteine (HSP). Wenn nun die Faltung von Proteinen durch Mutationen in der Aminosäure Sequenz fehlerhaft oder unvollständig ist, wird dies von der „Qualitätskontrolle“, dem ERAD-Abbau erkannt und abgebaut. Bei der CMT werden diese defekten Proteine mittels molekularer Chaperone stabilisiert bzw. richtig gefaltet. Durch diesen Vorgang wird sichergestellt, dass nur korrekt gefaltete Proteine zum Golgi-Apparat transportiert werden. Die Proteine, die selbst durch die molekularen Chaperone nicht vollständig funktionsfähig gemacht werden können, werden ins Cytosol transportiert, wo sie durch cytosole Proteasomen abgebaut werden.²⁶ Aus einer Veröffentlichung von Yewdell geht hervor, dass geschätzte 30% aller Proteine trotz der Hilfe von molekularen Chaperonen durch den ERAD-Abbau denaturiert werden.³⁸ Dieser Abbau erfolgt in wenigen Minuten.

Neben den körpereigenen sind hier auch körperfremde Chaperone zu erwähnen. Die wichtigsten lassen sich in chemische und active-site-spezifische Chaperone (ASSC) einteilen. Chemische Chaperone,³⁹ wie z.B. Dimethylsulfoxid, Trimethylamin-*N*-oxid oder Glycerin, stellen die biologische Aktivität unterschiedlicher, falsch gefalteter Proteine wieder her. Der genaue Mechanismus ist noch nicht geklärt. Bekannt ist aber, dass sie Proteine stabilisieren und verhindern, dass diese mit anderen Proteinen aggregieren. Chemische Chaperone sind nicht für therapeutische Zwecke einsetzbar, da sie auch richtig gefaltete Proteine beeinflussen. Für klinische Verwendungszwecke müssen Chaperone spezifischer sein, wie active-site-spezifische Chaperone.

Active-site-spezifische Chaperone¹⁸ [*N*-(*n*-Nonyl)-1-desoxynojirimycin (**42**), *N*-(*n*-Butyl)-1-desoxynojirimycin (**43**)], auch pharmakologische Chaperone¹⁸ genannt, sind kleine Moleküle (rel. Masse < 1000), die mit der active site eines Proteins in Wechselwirkung treten und dieses dadurch stabilisieren. Sie sind im Gegensatz zu chemischen Chaperonen hoch selektiv. Die ASSC-Therapie wurde erstmals beim Fabry-Syndrom demonstriert. Bei diesem Syndrom ist die α -Galactosidase A defekt. Durch Zuführung verschiedener α -Galactosidase A Inhibitoren in subinhibitorischen Konzentrationen kann das defekte Enzym wieder partiell aktiviert werden. Einer dieser ASSC Chaperone ist 1-Desoxygalactonojirimycin (**41**). Die

³⁷ Anfinsen, C. B.; Scheraga, H. A. *Adv. Protein Chem.* **1975**, *29*, 205 – 300.

³⁸ Yewdell, J. W. *Trends Cell. Biol.* **2001**, *11*, 294 – 297.

³⁹ Bernier, V.; Lagace, M.; Bichet, D. G.; Bouvier, M. *Trends Endocrinol. Metab.* **2004**, *15*, 222 – 228.

active-site-spezifische Chaperon-Therapie kann auch bei Gaucher-, Tay-Sachs- und Sandhoff-Syndromen eingesetzt werden.²⁶

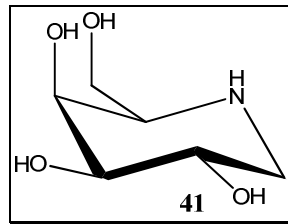


Abbildung 14: 1-Desoxygalactonojirimycin (**41**)

Ein Vorteil der ASSC-Therapie ist, dass diese kleinen Moleküle die Blut-Hirn-Schranke überwinden können. Weiters ist diese Therapie sehr einfach zu handhaben, weil die Medikamente oral verabreicht werden können.

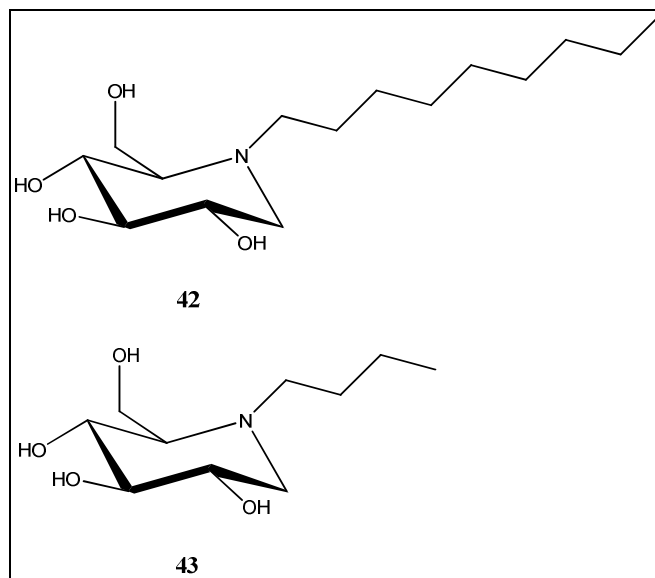


Abbildung 15: Beispiele für aktiv-site-spezifische Chaperone:

2 Problemstellung

Iminoaldite sind starke, kompetitive Inhibitoren von Glycosylhydrolasen. Verbindungen wie diese spielen eine wichtige Rolle in der Forschung, beispielsweise bei Untersuchungen von glycoproteinspaltenden Glycosidasen. Ein wichtiger Vertreter dieser Verbindungsklasse ist das 1-Desoxynojirimycin (**11**) (siehe *Abbildung 16*).

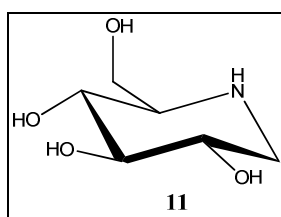


Abbildung 16: 1-Desoxynojirimycin (**11**)

N-Modifizierte Iminoaldite zeigen interessante pharmakologische Wechselwirkungen mit β -Glucosidasen. Diese Eigenschaft wird in der Chaperon-Therapie zur Behandlung von lysosomalen Speicherkrankheiten genutzt.

Im Rahmen dieser Diplomarbeit soll ein einfacher und robuster Weg zur Herstellung von *N*-modifizierten 1-Desoxynojirimycin-Derivaten (DNJ) entwickelt werden, welcher für industrielle Maßstäbe verwendet werden kann (siehe *Abbildung 17*). Die Ausgangsmaterialien sollten möglichst einfach handzuhaben und preiswert sein. Weiters sollen Modifikationen des Iminozuckers auf diesem Syntheseweg einfach und schnell zu realisieren sein.

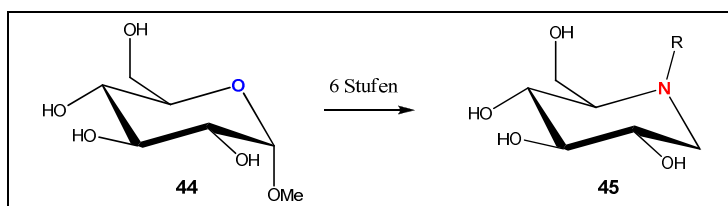


Abbildung 17: Darstellung von DNJ-Derivaten

3 Durchführung und Diskussion

3.1 Darstellung von 1-Desoxynojirimycin (11)

Zur Darstellung von 1-Desoxynojirimycin (**11**) wird der Synthesepan 1 aufgestellt (siehe Abbildung 18).

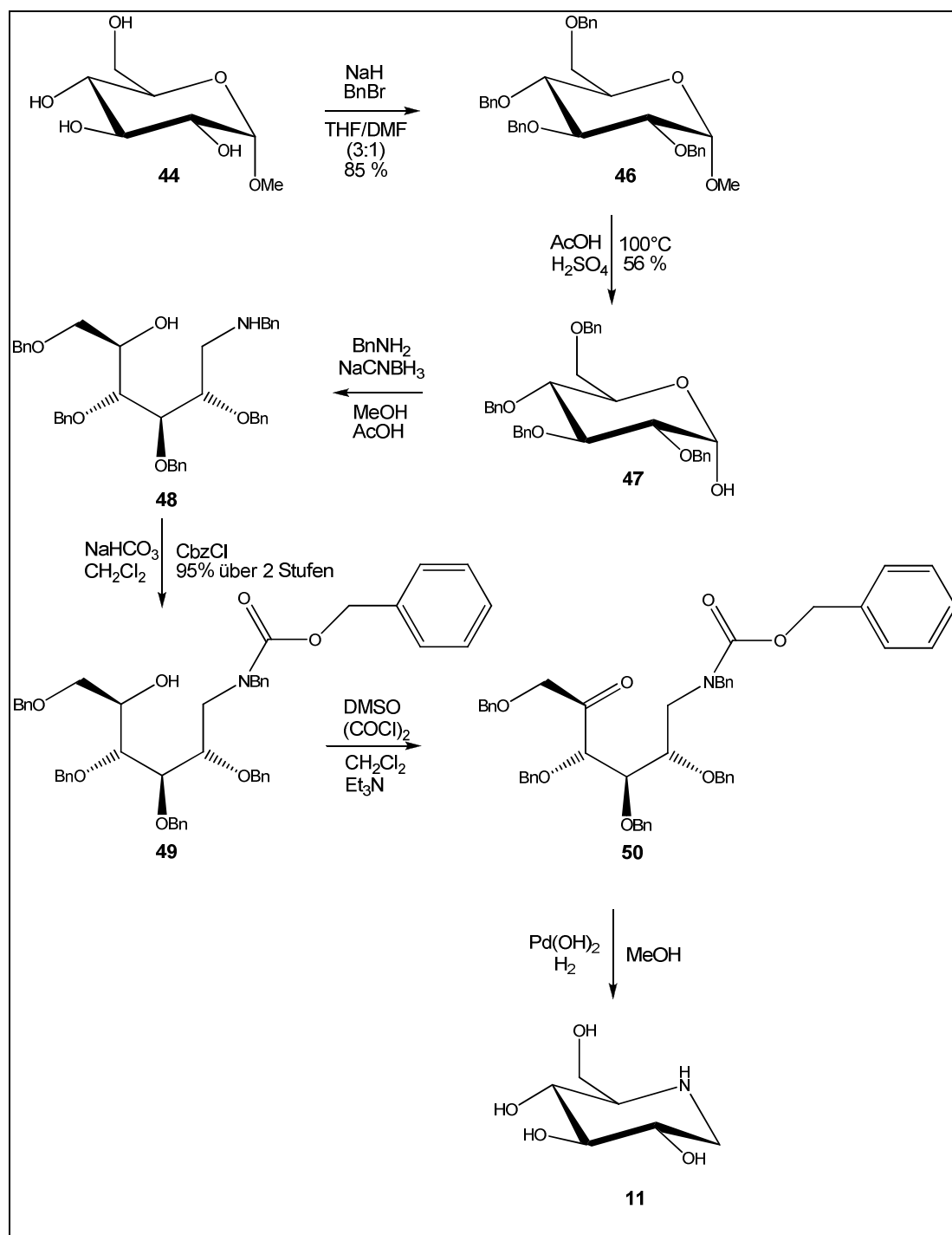


Abbildung 18: Synthesepan 1

Bei der Darstellung von Verbindung **11** wird vom Methyl- α -D-glucopyranosid (**44**) ausgegangen (siehe *Abbildung 19*).

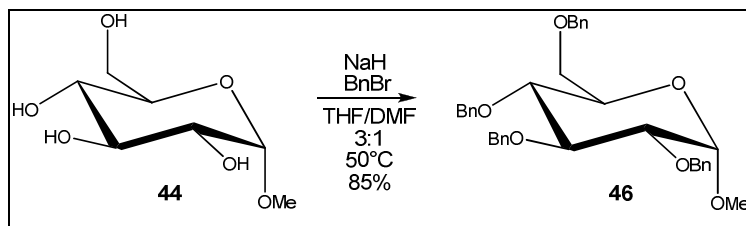


Abbildung 19: Per-*O*-benzylierung

Da in den Folgereaktionen der Zucker offenkettig vorliegt und es zu keinen unerwünschten Nebenreaktionen kommen soll, werden im ersten Schritt alle Hydroxygruppen des Edukts **44** perbenzyliert. Es wird die Benzylschutzgruppe verwendet, da andere Schutzgruppen wie Isopropyliden- oder Acetylschutzgruppen im weiteren Verlauf der Synthese nicht stabil sind. Das Methylglucosid wird unter sauren Bedingungen gespalten, dabei würde eine Isopropyliden-Schutzgruppe ebenfalls abgespalten werden. Ein weiterer wichtiger Aspekt der Benzylschutzgruppe ist, dass sie nicht „wandert“. Die Acetylschutzgruppe würde, sobald der Zuckerring geöffnet wird und eine freie Hydroxygruppe vorhanden ist, zu wandern beginnen. Bei der reduktiven Ringöffnung zum Glucit **48** wäre die Hydroxylgruppe am C-5 frei und die Acetylschutzgruppe könnte dann von *O*-4 oder von *O*-6 auf *O*-5 wandern (siehe *Abbildung 20*).

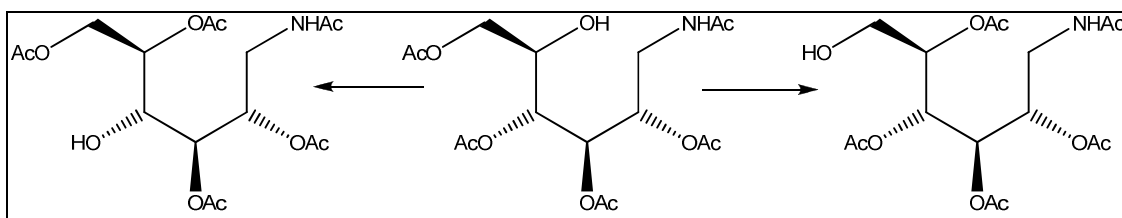


Abbildung 20: Beispiel der Acyl-Wanderung beim offenkettigen Zucker

Die Einführung der Benzylschutzgruppen wird durch Umsetzung von Verbindung **44** mit Benzylbromid in einem Gemisch aus THF/DMF (3:1) nach einer modifizierten Vorschrift von Tennant-Eyles durchgeführt.⁴⁰ Da bei RT die Reaktion sehr langsam verläuft, wird im Vergleich zu der von Tennant-Eyles beschriebener Synthese, auf 50°C erwärmt. Das gebildete Produktgemisch kann aufgrund relativ großer Unterschiede der R_f -Werte einfach säulenchromatographisch getrennt werden. Die Ausbeute beträgt 85%. Im Vergleich ergibt die Reaktion bei RT nur eine Ausbeute von 51% und es entstehen mehr Nebenprodukte, was auf die lange Reaktionszeit zurückzuführen ist.

⁴⁰ Tennant-Eyles, R. J.; Davis, B. G.; Fairbanks, A. J. *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11*, 231 – 243.

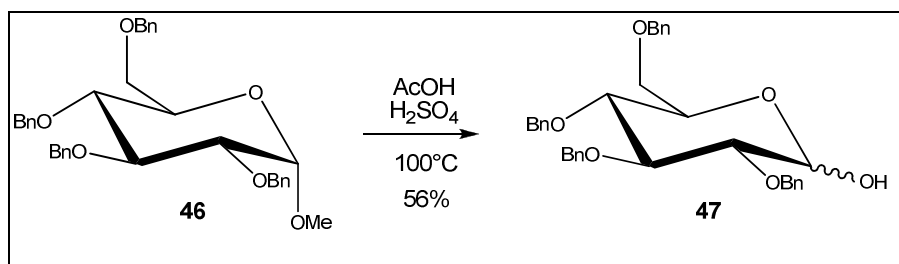


Abbildung 21: Hydrolysierung

Im Folgeschritt wird Verbindung **46** in AcOH und 2N H₂SO₄ bei 100°C hydrolysiert (siehe *Abbildung 21*). Diese Reaktion ist literaturbekannt und wurde mit der gleichen Ausbeute (56%) bereits von Presser durchgeführt.⁴¹ Durch diese Bedingungen wird nicht nur das Methylglucosid, sondern es werden auch einige Benzylschutzgruppen abgespalten. Daher ist darauf zu achten, dass das Reaktionsgemisch nicht zu lange diesen Bedingungen ausgesetzt ist, deshalb wird auch wenn der Umsatz laut DC-Kontrolle nicht vollständig ist, aufgearbeitet. Die Aufreinigung von Verbindung **47** unterscheidet sich von der Literatur⁴¹, die vorsieht, das hellgelbe Öl säulenchromatographisch zu reinigen. Durch Vorversuche ist festgestellt worden, dass es in diesem Fall möglich ist, das Produkt **47** durch Auskristallisieren aus Cyclohexan von den Nebenprodukten abzutrennen. Da sich das Rohprodukt in Cyclohexan relativ schwer löst, wird etwas Essigester als Lösungsvermittler zugegeben. Das Halbacetal **47** kristallisiert bei RT als weißer Feststoff aus. Durch Mutarotation entsteht das α,β -Anomerengemisch.

Verbindung **48** wird durch eine reduktive Aminierung aus per-*O*-Benzyl-D-glucose **47** mit Benzylamin dargestellt (siehe *Abbildung 22*).

In einem Vorversuch wird nach einer modifizierten Vorschrift von France gearbeitet.⁴² Im Gegensatz zur verwendeten Vorschrift löst sich Verbindung **47** nicht in MeOH. Die Zugabe von CH₂Cl₂ macht die Reaktion sehr langsam und es entstehen vermehrt Nebenprodukte. In einem weiteren Vorversuch wird anstelle von MeOH 1,4-Dioxan als Lösungsmittel verwendet. Auch diese Reaktion ist sehr träge und der Umsatz nicht vollständig. Da bei beiden Vorversuchen nach 48 Stunden Reaktionszeit kein weiterer Umsatz mittels DC zu erkennen ist, wird aufgearbeitet. Die säulenchromatographische Reinigung ist jedoch schwierig und die Ausbeute beträgt nur 17%.

⁴¹ Presser, A.; Kunert, O.; Pötschger, I. *Monatshefte für Chemie* **2006**, *137*, 365 – 374.

⁴² France, R. R.; Cumpstey, I.; Butters, T. D.; Fairbans, A. J.; Wormald, M. R. *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11*, 4985 – 4994.

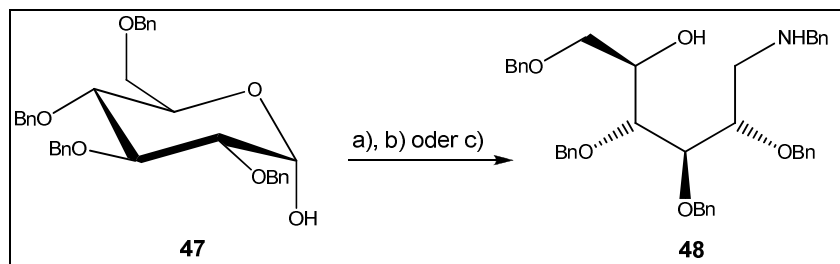


Abbildung 22: Vorversuch der reduktiven Aminierung: a) BnNH_2 , NaBH_3CN , MeOH , CH_2Cl_2 , AcOH . b) BnNH_2 , NaBH_3CN , 1,4-Dioxan. Reduktive Aminierung: c) BnNH_2 , NaBH_3CN , MeOH , AcOH .

In einem Patent⁴³ wird die Reaktion in einem Reaktor unter Schutzgas durchgeführt. Nach dieser Vorschrift ist in unseren Händen der Umsatz nach 12 Stunden noch nicht vollständig, deshalb wird erneut BnNH_2 und NaBH_3CN zugegeben. Nach weiteren sechs Stunden Reaktionszeit ist eine deutliche Änderung von einer weißen Suspension zu einer klaren gelben Lösung zu erkennen. Der vollständige Umsatz wird mittels DC festgestellt und anschließend aufgearbeitet. Das erhaltene Produkt **48** wird ohne weitere Reinigung in der nächsten Reaktion eingesetzt.

Das Amin **48** wird im nächsten Schritt Benzyloxycarbonyl (Cbz) geschützt. Allenfalls noch vorhandenes Benzylamin wird ebenfalls Cbz geschützt und kann in weiterer Folge chromatographisch abgetrennt werden.

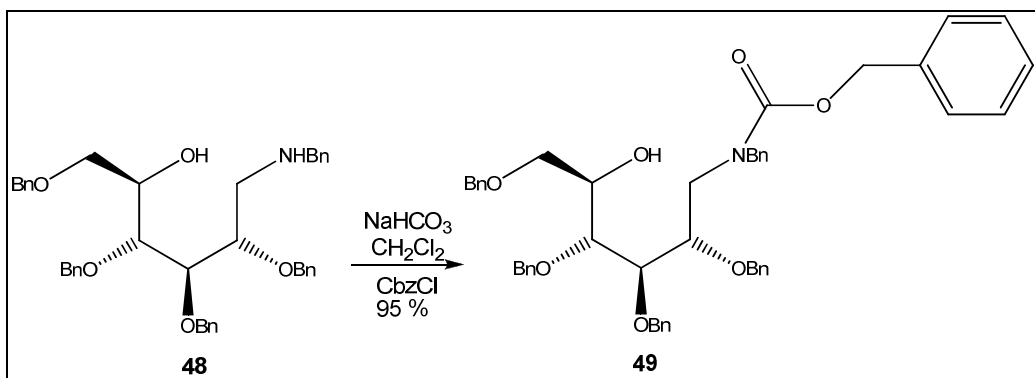


Abbildung 23: Cbz-Schutzung

Durch Anbringen der Schutzgruppe wird dieses vor ungewollten Reaktionen, wie z.B. Oxidation oder Dimerisierung in den Folgeschritten, geschützt (siehe *Abbildung 23*). Diese Wahl wird getroffen, da die Cbz-Gruppe hydrogenolytisch leicht abspaltbar ist. Die Bildung des Carbamats **49** verläuft nahezu quantitativ.

⁴³ Amann, F. *World Intellectual Property Organization* 2004, WO 2004/054975 A1.

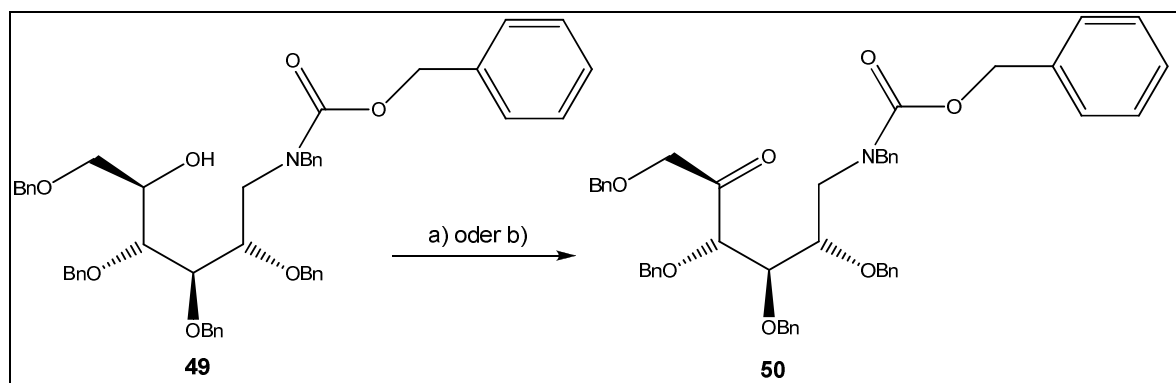


Abbildung 24: a) Dess-Martin Reagenz **51**, CH_2Cl_2 . b) DMSO, $(\text{COCl})_2$, CH_2Cl_2 , Et_3N .

Anschließend erfolgt die Oxidation der freien Hydroxylgruppe an Position C-5 zu einem Keton (siehe *Abbildung 24*). Dazu stehen mehrere Oxidationsmethoden zur Verfügung, wie z.B.: Dess-Martin-Periodinan-Oxidation,⁴⁴ Swern-Oxidation,^{45,46} Jones-Oxidation⁴⁷ oder Pfitzner-Moffatt Oxidation.⁴⁸

Im ersten Versuch wird die Dess-Martin-Oxidation durchgeführt. Vorteile dieser Oxidationsmethode sind die kurzen Reaktionszeiten, hohe Ausbeuten und eine vergleichsweise geringe Toxizität der Nebenprodukte. Die hier verwendete Arbeitsvorschrift ist eine Modifikation der bereits literaturbekannten Durchführung.⁴⁴

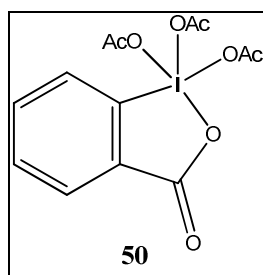


Abbildung 25: Dess-Martin Reagenz **51**

Ein NMR des Rohprodukts zeigt, dass das gewünschte Produkt **50** entstanden ist. Da das Dess-Martin Reagenz **51** (*Abbildung 25*) sehr teuer ist, werden auch andere Oxidationsmethoden in Betracht gezogen.

Eine sehr kostengünstige und effiziente Oxidationsmethode ist die Swern-Oxidation.^{45,46,52} Da die Swern-Oxidation sehr wasserempfindlich ist, ist es notwendig inert zu arbeiten. Wichtig bei dieser Reaktion ist, dass die Temperatur nie über -78°C steigt, da es sonst zur Bildung von

⁴⁴ Martin, J. C.; Dess, D. B. *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 4156 – 4158.

⁴⁵ Mootoo, D. R.; Cheng, X.; Hans, S.; Zhao, H. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 1761 – 1767.

⁴⁶ White, Allan. H.; Stick, R. V.; Skelton, B. W.; Scaffidi, A. *Aust. J. Chem.* **2006**, *59*, 426 – 433.

⁴⁷ Shibuya, M. *Tetrahedron Letters* **1983**, *24*, 1175 – 1178.

⁴⁸ Pfitzner, K. E.; Moffatt, J. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 3027 – 3028.

gemischten Acetalen kommen kann. Verbindung **50** wird in der Folge als Rohprodukt eingesetzt.

Im letzten Schritt wird der intramolekulare Ringschluss durch Abspalten der Cbz-Schutzgruppe und anschließender Reaktion des gebildeten freienamins mit der Carbonylgruppe initiiert (siehe *Abbildung 26*). Es wird nach einer leicht modifizierter Vorschrift gearbeitet.⁴³

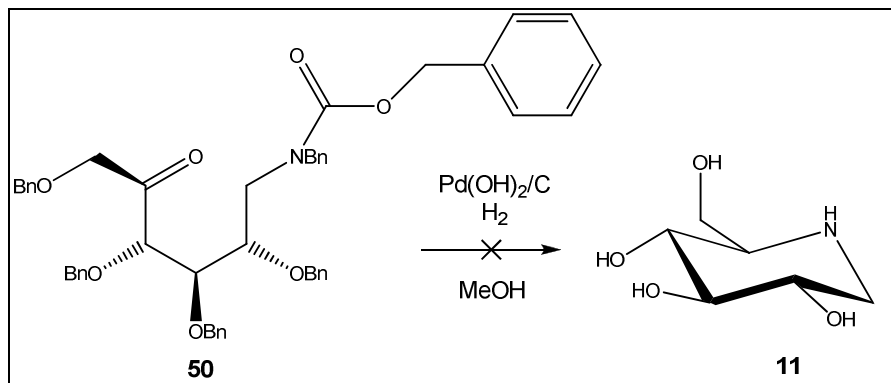


Abbildung 26: Intramolekularer Ringschluss zum Desoxynojirimycin (**11**)

Unter den reduktiven Bedingungen in Gegenwart von H_2 sollte die Cbz-Schutzgruppe in Verbindung **50** abgespalten werden und das freie Amin mit dem Keton reagieren. Doch selbst nach 4 h ist laut DC kein Umsatz zu erkennen. Nach mehrmaligem Abfiltrieren und Erneuern des Katalysators ist ein quantitativer Umsatz zu erkennen. Das NMR-Spektrum zeigt jedoch nicht das gewünschte Produkt **11**, sondern eine offenkettige Verbindung **52** (siehe *Abbildung 27*). Zum Nachweis dieser offenkettigen Form, wird das Produkt zu Verbindung **53** peracetyliert und anschließend erneut eine NMR-Messung durchgeführt.

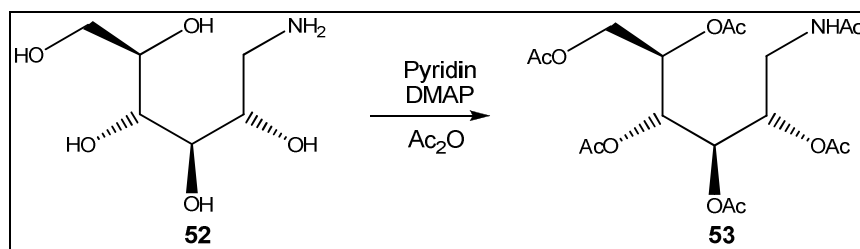


Abbildung 27: Peracetylierung

Durch die Anzahl der eingeführten Acetylreste kann man sehr gut erkennen, wie viele freie Hydroxygruppen bzw. Amine vorhanden sind und ob der Zucker offenkettig vorliegt, oder nicht.

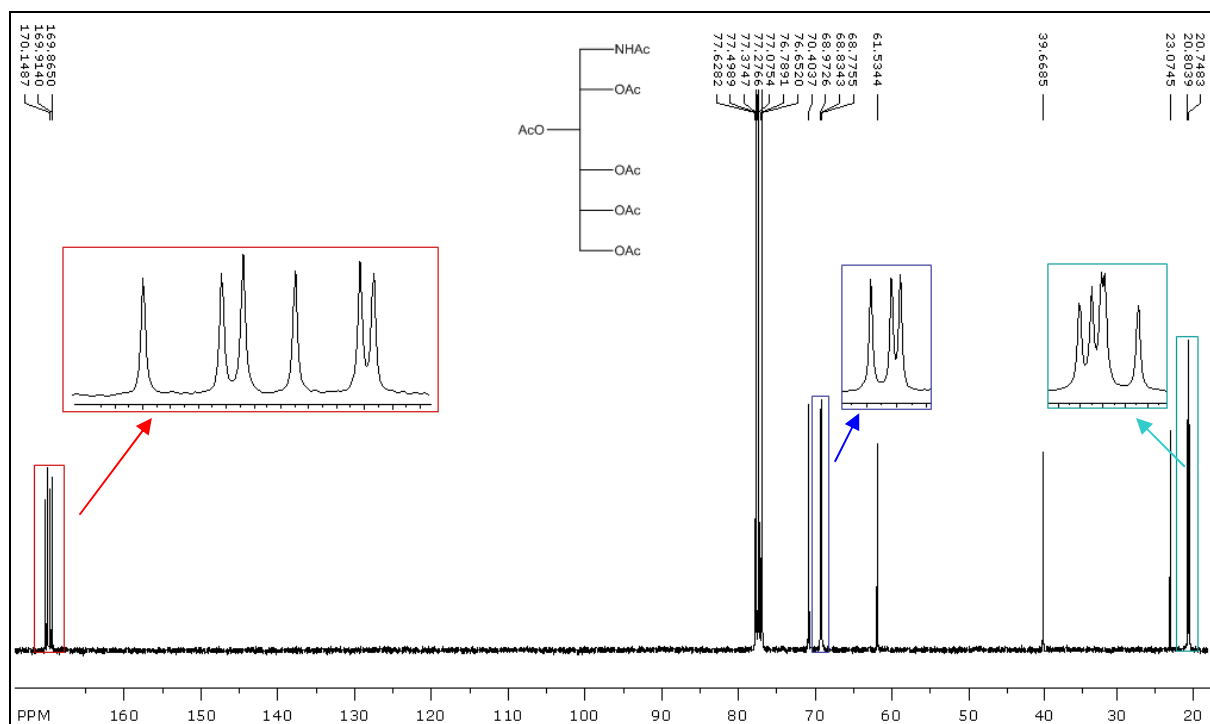


Abbildung 28: ^{13}C -NMR Spektrum von Verbindung **53**

Das ^{13}C -NMR bestätigt den Verdacht, dass die Carbonylgruppe zu einem Alkohol reduziert wurde, bevor die Cbz-Schutzgruppe abgespalten werden konnte und somit ist 1-Desoxy-1-aminoglucit (**52**) entstanden. Da der Weg über den intramolekularen Ringschluss erfolglos verläuft, wird ein alternativer Syntheseweg ausgearbeitet (siehe *Abbildung 29*). Diesem Synthesepfad folgend soll das *N*-(4-Phenyl)butyl-1-desoxynojirimycin (**56**) ausgehend von Verbindung **44** in sechs Syntheseschritten dargestellt werden. Dabei sind die ersten drei Stufen identisch zum Synthesepfad 1 und werden so übernommen.

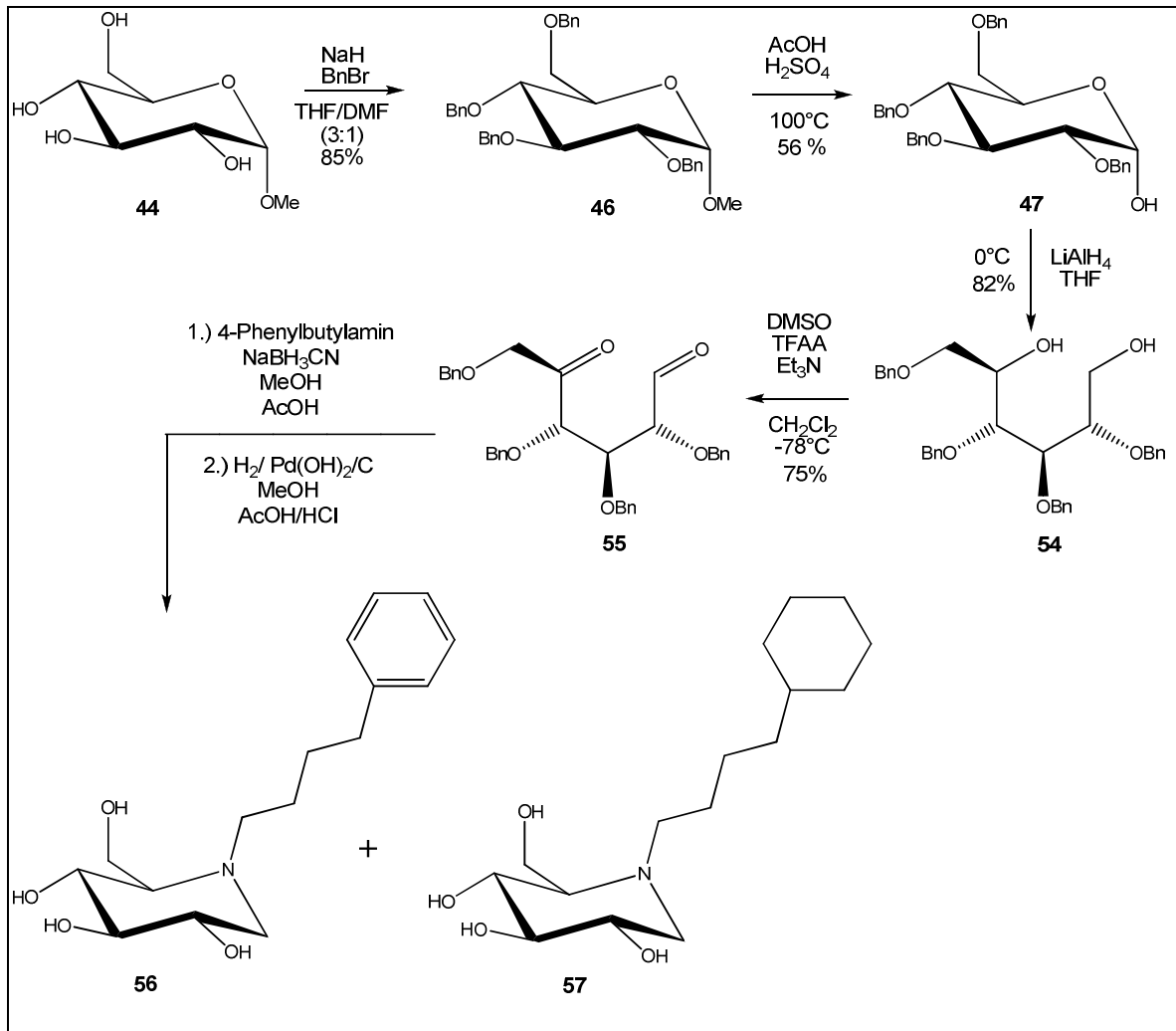
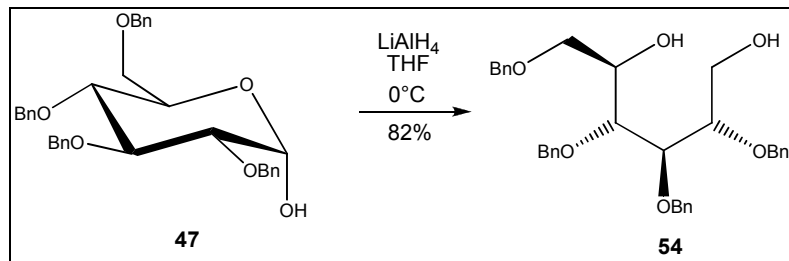
3.2 Darstellung von *N*-(4-Phenyl)butyl-1-desoxynojirimycin (**56**)

Abbildung 29: Synthesepan 2

Ausgehend von Verbindung **47**, die bereits im Synthesepan 1 aus Methyl- α -D-glucopyranosid (**44**) in zwei Stufen dargestellt wurde, wird der Ring reaktiv zum Glucit **54** geöffnet (siehe *Abbildung 30*).^{49,50}

Abbildung 30: Reduktive Ringöffnung zum Glucit **54**

⁴⁹ Matos, C. R. R.; Lopes, C. C.; Lopes, R. S. C. *Synthesis* **1999**, 4, 571 – 573.

⁵⁰ Overkleef, H. S.; Aerts, M. F. G. J.; Strijland, A.; Van der Marel, G. A.; Donker, W.; Van den Berg, R. J. B. H. N.; Wennekes, T. J. *Org. Chem.* **2007**, 72, 1088 – 1097.

Da bei dieser Reaktion mit LiAlH_4 gearbeitet wird, ist darauf zu achten, dass Kolben sowie Lösungsmittel trocken sind. Für die Umsatzkontrolle mittels DC wird eine Mikroaufarbeitung notwendig. Verbindung **54** kann aufgrund relativ großer Unterschiede der R_f -Werte gut säulenchromatographisch gereinigt werden.

Glucit **54** wird mittels doppelter Swern-Oxidation zur Dicarbonylverbindung **55** oxidiert (siehe *Abbildung 31*).

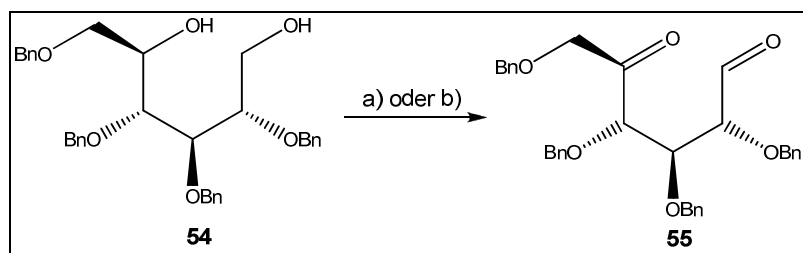


Abbildung 31: a) DMSO, $(\text{COCl})_2$, CH_2Cl_2 , Et_3N , -78°C ;
b) DMSO, TFAA, CH_2Cl_2 , Et_3N , -78°C ;

Nach einer modifizierten Reaktionsvorschrift für die Swern-Oxidation werden zwei Hydroxylgruppen oxidiert.⁴⁶ In Analogie zur Literatur für die einfache Swern-Oxidation⁴⁶ werden die Äquivalente von DMSO, Et_3N und Oxalylchlorid verdoppelt. Nach dem Zutropfen von Et_3N zur Reaktionslösung sollte nach Vorschrift 30 min später die Reaktion quantitativ sein. Jedoch ist selbst nach zwei Stunden laut DC Kontrolle immer noch sehr viel Edukt vorhanden. Je länger gewartet wird, desto mehr Spots sind am DC erkennbar. Nach 12 h wird die Reaktion abgebrochen, da immer noch Edukt vorhanden ist, und sehr viele Produkte entstanden sind. Eine simple Verdoppelung der Mengen der eingesetzten Reagenzien ist offensichtlich nicht zielführend. Nach einer Vorschrift von Matos wird die Darstellung einer Dicarbonylverbindung ausgehend von einem Kohlenhydrat nach einer abgewandelten Swern-Reaktion, mit Trifluoressigsäureanhydrid durchgeführt.⁴⁹ Die gesamte Reaktion wird unter Stickstoffatmosphäre bei -78°C durchgeführt. Eine Farbänderung von hell rosa auf orange zeigt das Ende der Reaktion.

Das Produkt **55** ist laut DC sehr sauber und wird, wie auch in der Vorschrift⁴⁹ beschrieben, als Rohprodukt ohne weiteren Reinigungsschritt in der Folgereaktion eingesetzt (siehe *Abbildung 32*).

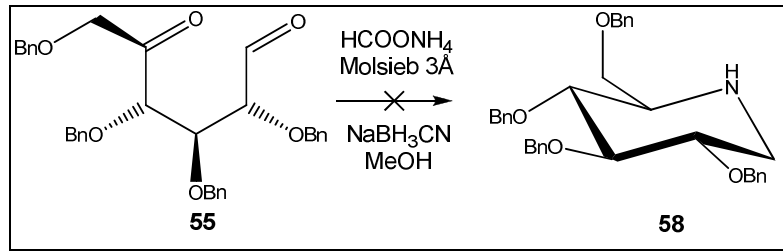


Abbildung 32: 2,3,4,6-Tetra-*O*-benzyl-1-desoxyjirimycin-Darstellung (**58**) mit Ammoniumformiat

Der bei dieser reduktiven Aminierung erhaltene Feststoff wird mittels NMR-Messung charakterisiert. Jedoch ist bei dieser Reaktion nicht der gewünschte Iminozucker **58** entstanden. Auf dem DC ist deutlich eine Umsetzung zu einer Vielzahl an Spots zu sehen, jedoch sind diese nicht durch eine NMR Messung zu definieren. Bei einem erneuten Versuch wird das Molsieb zuerst unter Schutzgas mit Hilfe eines Pistills zu einem Pulver zerrieben und dann erst in die Reaktion gegeben. Leider hat auch dies keinen positiven Effekt auf die Reaktion. Es sind bei beiden Reaktionen 8 Spots entstanden, die säulenchromatographisch nicht zu trennen sind.

Als Alternativschritt scheint die doppelte reduktive Aminierung von Verbindung **55** und die anschließende Abspaltung der Benzylschutzgruppen mit einem Hydrierkatalysator in einer Eintopfreaktion sehr vielversprechend zu sein (siehe *Abbildung 33*).

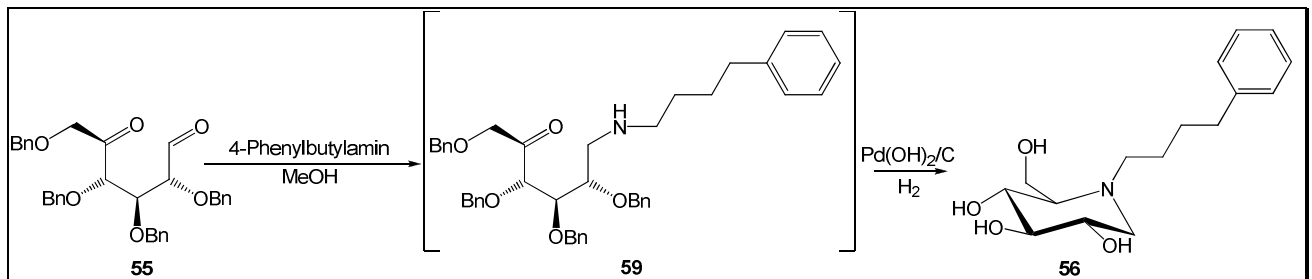


Abbildung 33: Darstellung von *N*-(4-Phenyl)butylamin-1-desoxyjirimycin (**56**) durch doppelte reduktive Aminierung und Entschützung

Ausgehend von Ulose **55** reagiert bei dieser Reaktion zuerst das *N*-(4-Phenyl)butylamin mit der Aldehydfunktion in Verbindung **55** zu dem entsprechenden Imin, welches dann weiter zum Amin **59** reduziert wird. Anschließend reagiert die zweite Carbonylgruppe an Position C-5 mit dem sekundären Amin, wodurch der gewünschte Iminozucker **56** erhalten wird. Der unter diesen Bedingungen verwendete Palladium-Katalysator und der Wasserstoff spalten gleichzeitig die Benzylschutzgruppen ab.

Es werden zwei Versuche mit unterschiedlichen Konzentrationen durchgeführt. Der Vergleich der beiden Experimente soll zeigen, wie konzentrationsabhängig diese Hydrierung ist. Beide

Reaktionen verlaufen sehr langsam und es muss mehrfach der Katalysator abfiltriert und erneuert werden. Nach fünf Tagen ist keine weitere Veränderung am DC zu erkennen und es wird aufgearbeitet. Bei der stark verdünnten Reaktion ist kein eindeutiges Produkt zu erkennen. Durch das häufige Katalysatorwechseln könnte trotz mehrfachen Nachwaschens sehr viel vom unpolaren Edukt **55** an der Aktivkohle hängen geblieben sein. Bei der weniger verdünnten Reaktion wird das Produktgemisch in einer präparativen DC aufgetrennt und das gewünschte Produkt **56** in sehr geringen Mengen isoliert. Ein Grund für die geringen Umsätze könnte das Amin selbst sein, welches potentiell den Katalysator vergiftet. Weiters könnte auch die Ketogruppe in einer Konkurrenzreaktion vom Pd-Katalysator reduziert werden. Dies würde den intramolekularen Ringschluss verhindern. Da die Hydrierung sehr lange dauert und die Ausbeute sehr gering ist, wird nach einem alternativen Schritt gesucht.

Wenn der Katalysator durch das Amin vergiftet wird, ist es sinnvoller, die Schutzgruppen in einem separaten Reaktionsschritt abzuspalten und die Reduktion des Imins über ein anderes Reduktionsmittel durchzuführen (siehe *Abbildung 34*). Hierfür bietet sich wieder Natriumcyanoborhydrid als Reduktionsmittel an.

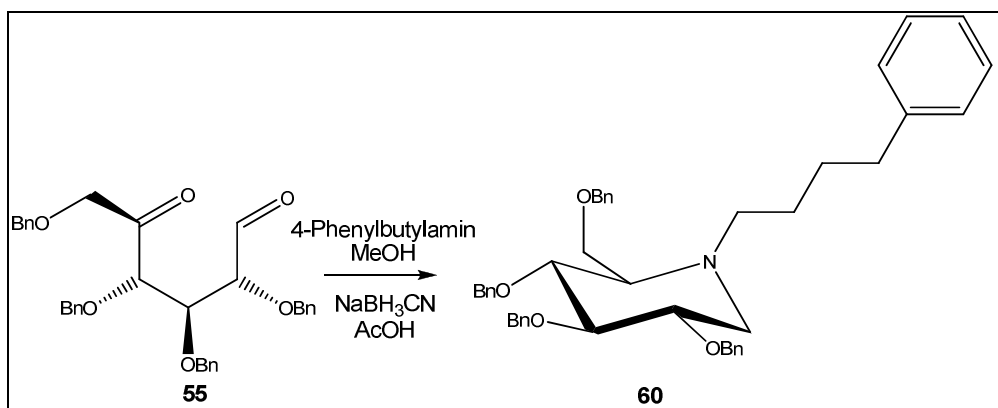


Abbildung 34: Darstellung von 2,3,4,6-Tetra-*O*-benzyl-*N*-(4-Phenyl)butylamin-1-desoxynojirimycin (**60**) durch doppelte reduktive Aminierung

Diese Synthesevorschrift ist eine Modifikation der Literatur von Baxter und Reitz.⁵¹ Zur Ulose **55** wird 4-Phenylbutylamin in leichtem Überschuss gegeben. Nach beendeter Reaktion wird mit Essigester gequenchet und das erhaltene Rohprodukt säulenchromatographisch gereinigt. Die chromatographische Trennung bei einem R_f -Wert von 0.07 (Cyclohexan/Essigester 15:1) verläuft nahezu ohne Mischfraktionen, wenn kein Druck angelegt wird. Wird bei diesem R_f -Wert mit Druck gesäult, kommt es zu einer größeren

⁵¹ Reitz, A. B.; Baxter, E. W. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 3175 – 3185.

Anzahl an Mischfraktionen. Verbindung **60** wird nach der Säulenchromatographie weiß kristallin erhalten. Führt man diese Reaktion mit einem Unterschuss (0.8 eq) an Amin durch, so kann man die Bildung von Nebenprodukten weiter reduzieren.

Als finaler Schritt ist die Abspaltung der Benzylschutzgruppen durchzuführen, um das gewünschte Endprodukt **56** zu erhalten (Abbildung 35).

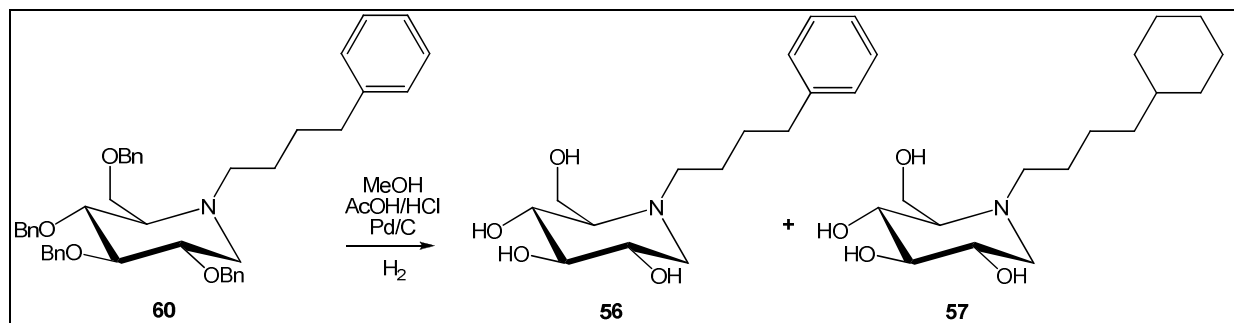


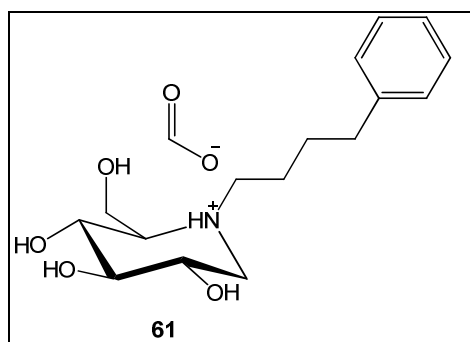
Abbildung 35: Darstellung von *N*-(4-Phenyl)butylamin-1-desoxynojirimycin (**56**)

Diese Abspaltung wird mehrfach durchgeführt, um die optimalen Reaktionsbedingungen herauszufinden. Dazu wird Verbindung **60** in wenig MeOH gelöst und 10% Pd/C Katalysator der Firma Merck zugegeben. Anschließend wird Wasserstoff eingeleitet. Zuerst wird bei geringem Druck mit einer Orsatblase hydriert. Diese Hydrierung dauert 16 Tage und es muss viermal der Katalysator erneuert werden, bis das gesamte Edukt umgesetzt ist. Da dies nicht sehr zufriedenstellend ist, werden die Reaktionsbedingungen verändert. Der pH-Wert des Reaktionsgemisches wird mit AcOH auf pH=3 eingestellt. Nach vier Tagen wird der Katalysator erneuert und wieder der pH-Wert auf pH=3 eingestellt. Nach weiteren 12 Stunden sind die ersten Intermediate auf am DC zu erkennen. Nach 11 Tagen ist bei diesem geringen Druck und Ansäuern der Reaktionslösung das gesamte Edukt umgesetzt. Um die Reaktionsbedingungen weiter zu verändern, wird bei höherem Druck (3 bar) mit einer Parr-Apparatur hydriert. Da nach 24 Stunden kein Umsatz erkennbar ist, wird mit AcOH der pH-Wert auf pH=3 angesäuert. Am dritten Tag wird der Katalysator erneuert und mit HCl auf pH=1 angesäuert. Trotz dieser extremen Bedingungen (Pd/C mit AcOH/HCl und H₂ mit 3 bar Druck) benötigt die Schutzgruppenabspaltung 13 Tage. Diese Reaktion wird in unterschiedlich großen Ansätzen durchgeführt, um zu sehen, ob die zu hydrierende Menge den Zeitfaktor merklich beeinflusst. Aus diesem direkten Vergleich geht hervor, dass die Hydrierung umso länger dauert, je mehr von Verbindung **60** zu hydrieren ist (siehe *Tabelle 2*).

Tabelle 2: Dauer der Schutzgruppenabspaltung

Menge an Verbindung 60	Druck	Dauer	Bedingungen	Säure
30 mg	Orsatblase	4 Tage	ohne Ansäuern	-
80 mg	Orsatblase	16 Tage	ohne Ansäuern	-
206 mg	Orsatblase	24 Tage	Tag 10	AcOH
260 mg	3 bar	5 Tage	Tag 2	HCl
1000 mg	3 bar	13 Tage	Tag 2	HCl

Ein Grund für die lange Reaktionsdauer bei der Abspaltung könnte sein, dass der Iminozucker als Amin den Katalysator vergiftet. Es stellt sich heraus, dass Pd/C für diese Hydrierungsreaktion der bessere Katalysator ist als Pd(OH)₂/C. Bei der Benzylschutzgruppenabspaltung kommt es aufgrund der rauen Bedingungen zu Nebenreaktionen. Ein Teil von Verbindung **60** wird zum *N*-(4-Cyclohexyl)butyl-1-desoxynojirimycin (**57**) reduziert, welches durch NMR-Spektroskopie und Massenspektrometrie identifiziert wird. Umkristallisieren, digerieren und säulenchromatographische Reinigungsversuche zur Trennung des Produktgemisches sind nicht zielführend. Die Schwierigkeit dieser Trennung liegt an der fast gleichen Polarität der Verbindungen. Schließlich gelingt die Reinigung von Verbindung **56** mittels präparativer HPLC. Die Methode für diese Trennung wurde mit der Nucleosil Merchery Nagel C₄ Säule entwickelt und auf die Nucleosil 120-5 C₄ Säule übertragen. Der verwendete Eluent enthält Ameisensäure, darum entsteht das Formiat **61**. Die Ausbeute dieser Reaktion beträgt 39%.

**Abbildung 36:** *N*-(4-Phenyl)butyl-1-desoxynojirimycinformiat (**61**)

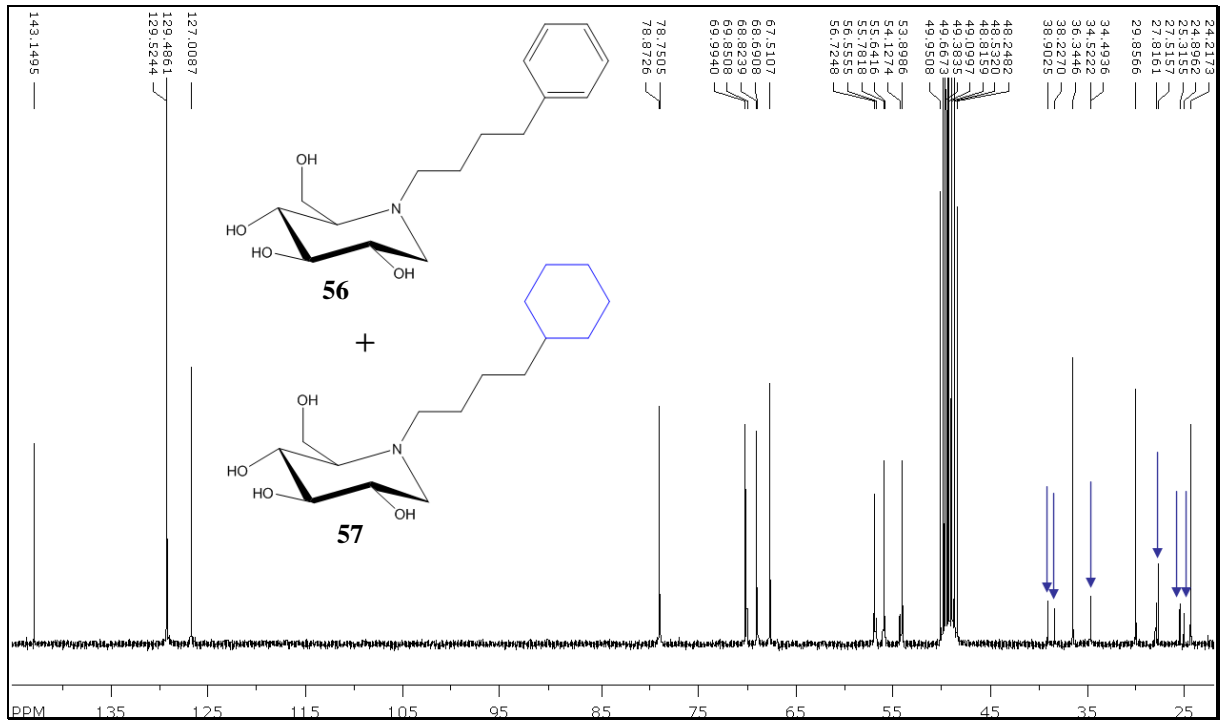


Abbildung 37: ^{13}C -NMR Spektrum der Mischfraktion (Verbindung 56 und 57)

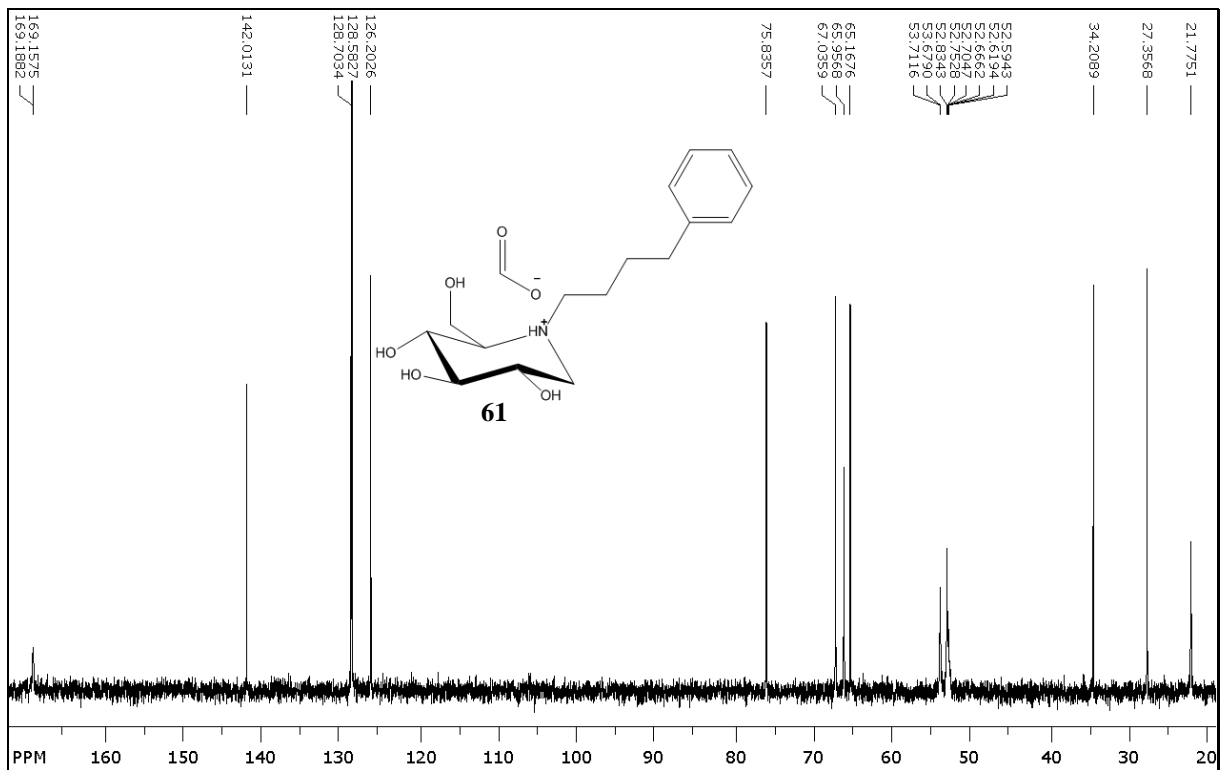


Abbildung 38: ^{13}C -NMR Spektrum von *N*-(4-Phenyl)butyl-1-deoxynojirimycinformiat (61)

4 Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Diplomarbeit ist eine robuste Synthesemethode entwickelt worden, um *N*-modifizierte 1-DNJ Derivate herzustellen. Methyl- α -D-glucopyranosid (**44**) ist unter Standardbedingungen per-*O*-benzyliert und anschließend sauer zur 2,3,4,6-Tetra-*O*-benzyl-D-glucose (**47**) hydrolysiert worden. Im nächsten Schritt wurde das Acetal **47** zum Diol **54** reduziert und anschließend mittels doppelter Swern-Oxidation Ulose **55** dargestellt. Durch intramolekulare reduktive Aminierung der Ulose **55** mit 4-Phenylbutylamin und Entschützung der Benzylgruppen mit H₂ und Pd/C erhält man *N*-(4-Phenyl)butyl-1-desoxynojirimycin (**56**). Beim anschließenden Reinigungsverfahren entsteht das *N*-(4-Phenyl)butyl-1-desoxynojirimycinformiat (**61**). Die Gesamtausbeute dieser Synthesesequenz über sechs Stufen beträgt 3.4 %. Im Zuge dieser Diplomarbeit wurden die Bedingungen der einzelnen Schritte dieser Methode erarbeitet. Weiterführend müssen diese Schritte und darunter besonders Schritt 5 noch deutlich optimiert werden, um diesen Zugang für den industriellen Maßstab konkurrenzfähig zu machen.

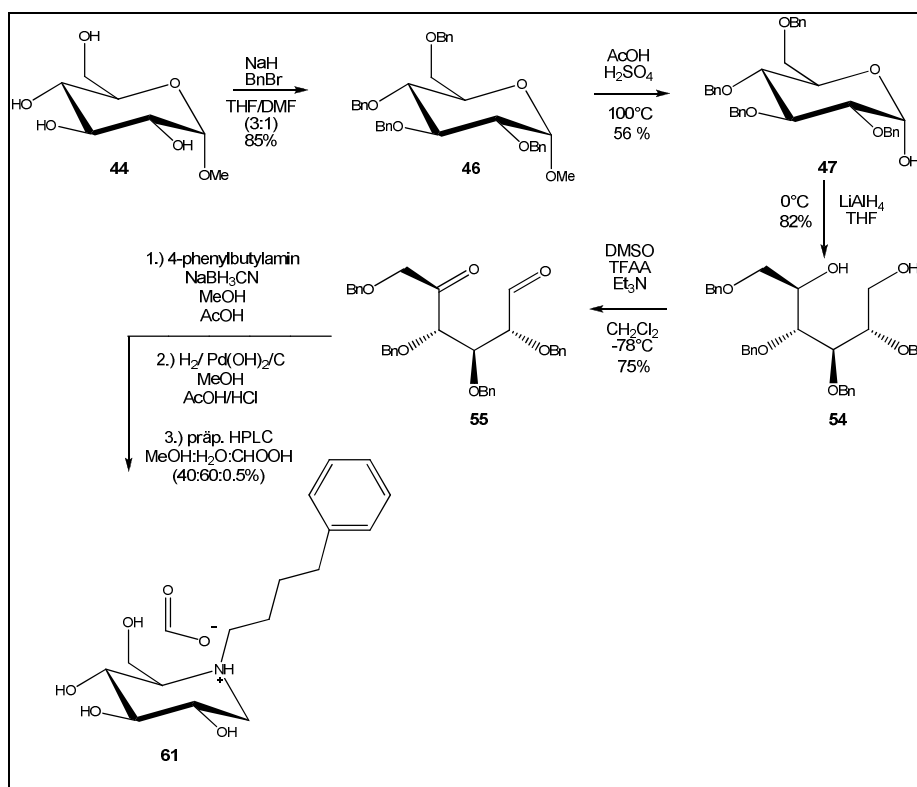


Abbildung 39: Syntheschema

Dieser Syntheseweg ist hervorragend geeignet um *N*-Modifizierte 1-DNJ Derivate zu synthetisieren, da die Manipulation am Ringstickstoff als letzter Schritt in der Synthesefolge erfolgt. Es sollte theoretisch möglich sein, jedes beliebige primäre Amin in den Zucker einzubringen.

5 Experimenteller Teil

5.1 Analytik

Chromatographie

Dünnschichtchromatographie:

Zur Dünnschichtchromatographie wurden DC-Alufolien mit Kieselgel 60 F₂₅₄ (Alufolie, Fertigplatten) der Firma Merck® verwendet. Die Detektion erfolgte mittels einer 254 nm UV Lampe und mit einem der unten angeführten Sprühreagenzien. Nach dem Sprühen wurde zur Entwicklung erhitzt.

Sprühreagenzien

- Vanillin / Schwefelsäure: (1 g Vanillin in 100 mL konzentrierter H₂SO₄)
- Ammoniummolybdat/Cersulfat: (Ammoniummolybdat (100 g) / 1000 mL H₂SO₄ (10 %) und 8 g Cer(IV)sulfat/80 mL H₂SO₄ (10 %))
- Ninhydrin: (Ninhydrin (0.2 Gew %) in EtOH)

Säulenchromatographie

Für die Säulenchromatographie wurde Kieselgel 60 der Firma Merck® (230 – 400 mesh) verwendet. Die verwendeten Laufmittel sind bei den einzelnen Darstellungen angegeben.

Preparative HPLC

Die verwendete preparative HPLC ist ein Gerät von Knauer „ADVANCED SCIENTIFIC INSTRUMENTS“ mit Smartline UV Detector 2500, Knauer Instrument Control ChromGate® V 3.1.7, Smartline Pump 1000, Smartline Manager 5000 und einem Smartline Autosampler 3800. Die verwendete Säule ist eine VP 125/21 NUCLEOSIL 120-5 C4 der Firma Marchery Nagel.

Optische Aktivität

Die Drehwerte wurden mit einem PERKIN ELMER Polarimeter 341 bei 20°C, einer Küvettenlänge von 1 dm und einer Wellenlänge von 589 nm gemessen. Die Angabe der Konzentration erfolgt in g/100mL. Lösungsmittel wurden je nach Löslichkeit verwendet und sind bei der Darstellung angeführt.

Schmelzpunkt

Die Schmelzpunkte wurden mit einem Schmelzpunktmessgerät der Marke MEL-TEMP[®] gemessen und sind nicht korrigiert.

NMR-Spektroskopie

Die NMR Messungen erfolgten mit einem 300 MHz NMR-Gerät der Marke Bruker bei einer Frequenz von 75 MHz für ¹³C-NMR-Spektren und 300 MHz für ¹H-NMR-Spektren.

Die chemischen Verschiebungen δ wurden in ppm gemessen und sind auf die deuterierten Lösungsmittel referenziert. Die dazugehörenden Kopplungskonstanten J sind in Hertz (Hz) angegeben. Die ¹³C Messungen sind ¹H-entkoppelt.

NMR-spektroskopische Daten:

δ chemische Verschiebung in ppm gegen Trimethylsilan

in Klammer:

¹³C: zugeordnetes Kohlenstoffatom

¹H: Multiplizität, Anzahl der Wasserstoffe, zugeordnete Wasserstoffe, Kopplungskonstante (J) in Hz

Multiplizität:

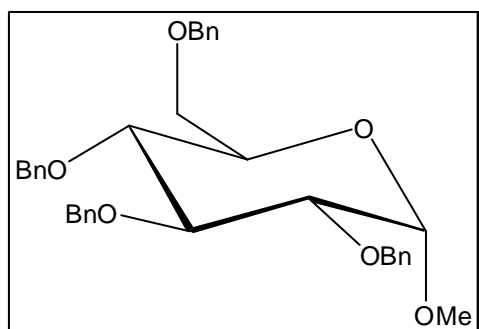
s	Singlett	d	Dublett
bs	breites Singlett	dd	dublettisches Dublett
t	Triplet	ddd	dublettisches dd
m	Multipllett	n.a.	nicht aufgelöst

5.2 Darstellung der Produkte

Methyl-2,3,4,6-tetra-*O*-benzyl- α -D-glucoopyranosid (46)⁴⁰

Die Per-*O*-benzylierung erfolgt nach einer modifizierten Vorschrift von Tennant-Eyles.⁴⁰ Es werden 10.0 g (52 mmol, 1.0 eq) Methyl- α -D-glucoopyranosid in 400 mL THF/DMF (3:1)

gelöst. Unter Eiskühlung werden portionsweise 9.9 g (410 mmol, 8.0 eq) NaH zugegeben. Der Kolben wird mit einem Trockenrohr versehen und das Reaktionsgemisch rührt für 20 min. Anschließend werden 37 mL (300 mmol, 6.0 eq) Benzylbromid über einen Tropftrichter langsam zugetropft. Danach wird die Eiskühlung entfernt und 15 h bei 50°C bis zum vollständigen Umsatz gerührt. Die Umsatzkontrolle der gelblichen Suspension erfolgt mittels DC. Die Reaktion wird unter Eiskühlung mit 250 mL MeOH vorsichtig gestoppt. Das Lösungsmittel der klaren gelblichen Lösung wird im Vakuum entfernt. Der erhaltene Rückstand wird in 80 mL CH₂Cl₂ aufgenommen, sauer mit 30 mL 1 M HCl und anschließend basisch mit 40 mL gesättigter NaHCO₃-Lösung ausgeschüttelt. Die einzelnen wässrigen Phasen werden jeweils mit 20 mL CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Es entsteht ein gelber Sirup, welcher säulenchromatographisch gereinigt wird. Ausbeute: 24.5 g (44 mmol, 85%) gelbes Öl.



DC LM:	C/EE (4:1) (v/v)
R_f Wert:	0.37
Detektion:	UV (254 nm); Vanillin/H ₂ SO ₄
Säulen LM:	C/EE (15:1) (v/v)
Ausbeute:	85%
Rel. Molekülmasse:	552.29 g/mol (C ₃₅ H ₃₈ O ₆)

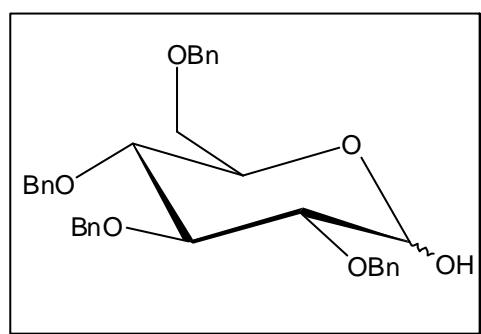
¹H-NMR (CDCl₃) δ: 7.43-7.18 (m, n.a., 20H, 4 x Ph), 5.04 (d, 1H, *J* = 10.9 Hz, CH₂-Ph), 4.88 (d, 1H, *J* = 10.7 Hz, CH₂-Ph), 4.87 (d, 1H, *J* = 10.8 Hz, CH₂-Ph), 4.85 (d, 1H, *J* = 12.0 Hz, CH₂-Ph), 4.72 (d, 1H, *J* = 12.2 Hz, CH₂-Ph), 4.69 (d, 1H, *J*_{1,2} = 3.4 Hz, H-1), 4.67 (d, 1H, *J* = 12.0 Hz, CH₂-Ph), 4.53 (d, 1H, *J* = 10.6 Hz, CH₂-Ph), 4.52 (d, 1H, *J* = 12.0 Hz, CH₂-Ph), 4.05 (dd, 1H, *J*_{2,3} = 9.4 Hz, *J*_{3,4} = 9.2 Hz, H-3), 3.84-3.74 (m, n.a., 2H, H-5, H-6), 3.74-3.65 (m, n.a., 1H, H-4), 3.61 (dd, 1H, H-2), 3.43 (bs, 3H, OMe).

¹³C-NMR (CDCl₃) δ: 138.7, 138.2, 138.1, 137.9 (4C, Ph), 128.4, 128.3, 128.3, 128.1, 127.9, 127.8, 127.8, 127.6, 127.6, 127.5 (Ph), 98.2 (C-1), 82.1 (C-3), 79.8 (C-2), 77.6 (C-4), 75.7, 75.0, 73.4, 73.3 (4C, CH₂Ph), 70.0 (C-5), 68.4 (C-6), 55.1 (OMe).

2,3,4,6-Tetra-*O*-benzyl- α,β -D-glucopyranose (47)⁴¹

Methyl-2,3,4,6-Tetra-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosid (46) [13.7 g, 24.8 mmol] wird in 160 mL AcOH gelöst und anschließend 80 mL 2N H₂SO₄ zugegeben. Die daraus erhaltene weiße Suspension wird bei 100°C 12 h auf Rückfluss erhitzt. Die Umsatzkontrolle erfolgt mittels DC. Die nun farblose Lösung wird mit 1000 mL kaltes H₂O verdünnt, wodurch ein weißer Niederschlag entsteht. Die Suspension wird 15 min gerührt und anschließend mit 150 mL CH₂Cl₂ ausgeschüttelt. Die wässrige Phase wird mit CH₂Cl₂ (2 x 30 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Dabei erhält man 12.0 g eines gelben Sirups. Dieser wird in 250 mL Cyclohexan und 2 mL Essigester in der Siedehitze gelöst. Über Nacht kristallisiert bei RT 2,3,4,6-Tetra-*O*-benzyl- α,β -D-glucopyranose (47) als weißer Feststoff aus. Dieser wird abfiltriert und mit 25 mL kaltem Cyclohexan gewaschen.

Ausbeute: 7.6 g (13.9 mmol, 56%) weißer Feststoff.



DC LM:	C/EE (2:1) (v/v)
R_f Wert:	0.42
Detektion:	UV (254 nm), Ammoniummolybdat/Cersulfat
Säulen LM:	C/EE (15:1) (v/v)
Ausbeute:	56%
Rel. Molekülmasse:	538.67 g/mol (C ₃₄ H ₃₆ O ₆)

¹H-NMR (CDCl₃) δ : 7.39-7.17 (m, n.a., 33H, 4 x Ph), 5.28 (d, 1H, $J_{1\alpha,2\alpha} = 3.4$ Hz, H-1 _{α}), 5.01 (d, 1H, $J = 10.9$ Hz, CH₂-Ph), 4.98 (d, 1H, $J = 10.9$ Hz, CH₂-Ph), 4.89 (d, 1H, $J = 11.8$ Hz, CH₂-Ph), 4.88 (d, 1H, $J = 10.7$ Hz, H CH₂-Ph), 4.85 (d, 1H, $J = 10.9$ Hz, CH₂-Ph), 4.82 (d, 1H, $J = 12.0$ Hz, CH₂-Ph), 4.81 (d, 1H, $J = 11.0$ Hz, CH₂-Ph), 4.78 (d, 1H, $J = 11.5$ Hz, CH₂-Ph), 4.75 (d, 1H, $J_{1\beta,2\beta} = 9.1$ Hz, H-1 _{β}), 4.64 (d, 1H, $J = 12.1$ Hz, CH₂-Ph), 4.58 (d, 1H, $J = 10.5$ Hz, CH₂-Ph), 4.54 (d, 1H, $J = 10.4$ Hz, CH₂-Ph), 4.53 (d, 1H, $J = 12.3$ Hz, CH₂-Ph), 4.09 (ddd, 1H, $J_{4,5} = 9.9$ Hz, $J_{5,6} = 6.8$ Hz, H-5 _{α}), 4.04 (dd, 1H, $J_{2,3} = 9.6$ Hz, $J_{3,4} = 9.1$, Hz, H-3 _{α}), 3.78–3.56 (m, 7H, H-2 _{α} , H-3 _{β} , H-4 _{α,β} , H-5 _{β} , H-6 _{α,β}), 3.45 (dd, 1H, H-2 _{β}).

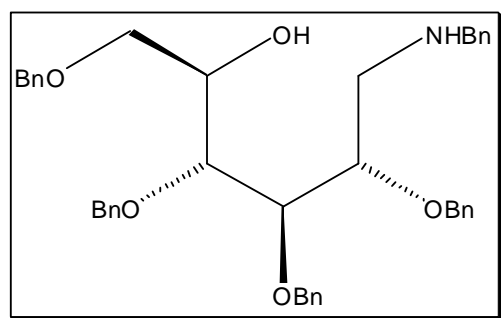
¹³C-NMR (CDCl₃) δ : 138.7, 138.6, 138.4, 138.2, 138.0, 137.9, 137.9, 137.8 (8C, Ph), 128.6, 128.5, 128.2, 128.1, 128.0, 128.0, 127.9, 127.9, 127.8, 127.8, 127.7 (Ph), 97.5 (C-1 _{β}), 91.3 (C-1 _{α}), 84.6 (C-2 _{α}), 83.2 (C-2 _{β}), 81.8 (C-3 _{α}), 80.0 (C-3 _{β}), 77.9, 77.8 (C-5 _{β} , C-4 _{α}), 75.8, 75.7,

75.1, 75.0, 74.8, 73.6, 73.5, 73.3 (8C, $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{Ph}$), 74.7 (C-4 β), 70.3 (C-5 α), 69.0 (C-6 β), 68.6 (C-6 α).

1-N-Benzylamino-2,3,4,6-tetra-O-benzyl-1-desoxy-D-glucit (**48**)⁴³

Dieser Versuch wird nach einer modifizierten Vorschrift von Amann *et al.* Durchgeführt.⁴³ Es werden 2.00 g (3.7 mmol, 1.0 eq) 2,3,4,6 - Tetra-O-benzyl- α,β -D-glucopyranose (**47**) in 25 mL MeOH suspendiert. Anschließend werden 0.74 g (10 mmol, 2.7 eq) NaBH₃CN, portionsweise zugegeben. Danach werden 1.82 mL (16.7 mmol, 4.5 eq) BnNH₂ zugegeben und ein Gemisch aus 0.85 mL (14.8 mmol, 4.0 eq) AcOH und 1.5 mL MeOH zugetropft. Das Reaktionsgemisch rührt bei 50°C 12 h und anschließend wird eine Umsatzkontrolle mittels DC gemacht. Beim Aufarbeiten wird das Reaktionsgemisch mit 10 mL gesättigter NaHCO₃-Lösung ausgeschüttelt. Der pH-Wert der wässrigen Phase ist 8. Die wässrige Phase wird mit CH₂Cl₂ (2 x 10 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

Rohausbeute: 3.09 g



DC LM:	C/EE (2:1) + 1 Tropfen Et ₃ N (v/v)
R_f Wert:	0.23
Detektion:	UV (254 nm), Ammoniummolybdat/Cersulfat
Rel.	631.33 g/mol (C ₄₁ H ₄₅ NO ₅)
Molekülmasse:	

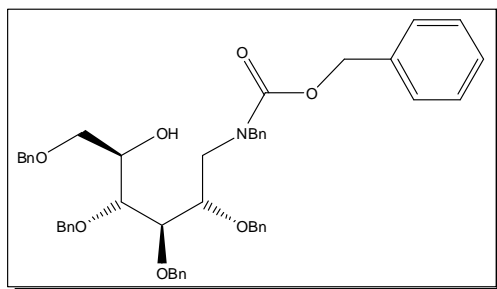
¹H-NMR (CDCl₃) δ : 7.31-7.16 (m, n.a., 25H, 5 x Ph), 4.72 (d, 1H, $J = 11.3$ Hz, $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-Ph}$), 4.63 (d, 2H, $J = 11.7$ Hz, $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-Ph}$), 4.55 (d, 1H, $J = 11.6$ Hz, $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-Ph}$), 4.53 (d, 1H, $J = 11.5$ Hz, $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-Ph}$), 4.49 (d, 1H, $J = 10.7$ Hz, $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-Ph}$), 4.48 (d, 1H, $J = 11.7$ Hz, $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-Ph}$), 4.45 (d, 1H, $J = 11.3$ Hz, $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-Ph}$), 4.04 – 3.99 (m, 1H, H-5), 3.91 (dd, 1H, $J_{2,3} = 6.5$ Hz, $J_{3,4} = 3.6$ Hz, H-3), 3.88 – 3.84 (m, 1H, H-2), 3.68 (dd, 1H, $J_{4,5} = 6.6$ Hz, H-4), 3.65-3.52 (m, n.a., 4H, H-6a, H-6b, $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-Ph}$), 2.78 (dd, 1H, $J_{1a,1b} = 12.6$ Hz, $J_{1a,2} = 4.1$ Hz, H-1a), 2.60 (dd, 1H, $J_{1b,2} = 5.7$ Hz, H-1b).

¹³C-NMR (CDCl₃) δ : 140.3, 138.5, 138.3, 138.2, 138.1 (5C, Ph), 128.7, 128.5, 128.4, 128.4, 128.3, 128.2, 128.1, 128.0, 127.9, 127.8, 127.8, 127.7, 127.7, 127.1, 127.0, 127.0, 126.9, 126.9 (Ph), 79.5 (C-3), 79.4 (C-2), 77.7 (C-4), 74.6 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{Ph}$), 73.5 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{Ph}$), 73.2 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{Ph}$), 73.1 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{Ph}$), 71.4 (C-6), 70.8 (C-5), 53.8 ($\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{Ph}$), 49.0 (C-1).

1-(*N*-Benzyl-*N*-benzyloxycarbonyl)amino-2,3,4,6-tetra-*O*-benzyl-1-desoxy-D-glucit (49)⁴³

2,3,4,6-Tetra-*O*-benzyl-1-Benzylamino-D-glucit (**48**) 7.81 g (11.9 mmol, 1.0 eq) werden in 50 mL CH₂Cl₂ gelöst. Zu dieser gelben Lösung werden 20 mL gesättigte NaHCO₃-Lösung gegeben. Anschließend werden langsam 3.23 mL (30.3 mmol, 2.5 eq) Benzyloxycarbonylchlorid (CbzCl) zugetropft. Die Umsatzkontrolle erfolgt mittels DC. Beim Aufarbeiten wird erst sauer mit 20 mL 1M HCl und anschließend basisch mit 40 mL gesättigter NaHCO₃-Lösung ausgeschüttelt. Die wässrigen Phasen werden mit CH₂Cl₂ (2 x 20 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der gelbliche Sirup wird säulenchromatographisch gereinigt.

Ausbeute: 6.73 g (8.8 mmol, 95%) farbloser Sirup.



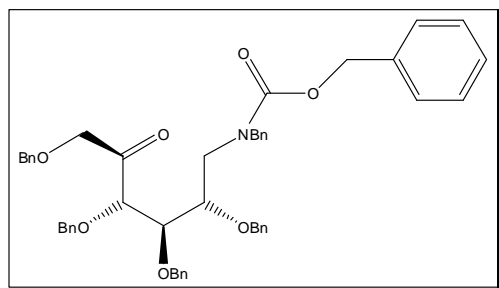
DC LM:	C/EE (2:1) (v/v)
R_f Wert:	0.55
Detektion:	UV (254 nm), Ammoniummolybdat/Cersulfat
Säulen LM:	C/EE (8:1) (v/v)
Ausbeute:	95%
Rel. Molekülmasse:	765.93 g/mol (C ₄₉ H ₅₁ NO ₇)

¹H-NMR (CDCl₃) δ: 7.21-6.96 (m, n.a., 25H, 5 x Ph), 5.08-5.01 (m, n.a., 2H, CH₂-Ph), 4.64-4.23 (m, 10H, CH₂-Ph), 4.12-3.76 (m, n.a., 2H, H-2, H-4), 3.74-3.60 (m, n.a., 2H, H-3, H-5), 3.60-3.40 (m, n.a., 3H, H-1a, H-6a, H-6b), 3.26 (dd, 1H, H-1b).

¹³C-NMR (CDCl₃) δ: 156.8, 156.5 (C=O), 138.4, 138.3, 138.3, 138.3, 138.2, 138.1, 138.1, 138.1, 138.1, 138.0, 137.9, 136.8 (12C, Ph), 128.8, 128.6, 128.6, 128.5, 128.4, 128.4, 128.2, 128.1, 128.1, 128.0, 128.0, 127.9, 127.8, 127.7, 127.6, 127.6, 127.5, 127.5, 127.4, 127.3 (Ph), 78.6, 78.3 (C-5), 77.4, 77.4 (C-2, C-3), 74.0, 73.9, 73.8, 73.7, 73.5 (CH₂Ph), 71.3, 71.2 (C-6), 70.8 (C-4), 67.6, 67.3, 52.0 (CH₂Ph), 48.7, 47.6 (C-1).

6-(*N*-Benzyl-*N*-benzyloxycarbonyl)-1,3,4,5-tetra-*O*-benzyl-6-amino-6-desoxy-*L*-sorbose (**50**)⁵²

In einem evakuierten und mit Stickstoff gespülten 2-Halskolben werden 6.3 mL (6.3 mmol, 3.2 eq) Oxalylchlorid vorgelegt und mit 6.2 mL trockenem CH₂Cl₂ verdünnt. Die Reaktionslösung wird auf -78°C gekühlt und anschließend werden 1.1 mL (14.9 mmol, 3.8 eq) DMSO zugetropft. Nach 20 min werden 3.0 g (3.9 mmol, 1.0 eq) Verbindung **49**, gelöst in 17 mL trockenem CH₂Cl₂, langsam zugetropft. Nach weiteren 20 min werden 3.4 mL (39 mmol, 10.0 eq) Et₃N zugetropft und anschließend auf Raumtemperatur erwärmt. Nach 20 min ist ein quantitativer Umsatz auf der DC zu sehen. Die Reaktionslösung wird mit 70 mL Diethylether verdünnt. Die daraus erhaltene Suspension wird mit gesättigter NaHCO₃-Lösung ausgeschüttelt und die wässrige Phase mit Diethylether (2 x 20 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch gereinigt. Ausbeute: 2.3 g (3.0 mmol, 77%) gelblicher Sirup.



DC LM:	C/EE (2:1) (v/v)
R_f Wert:	0.52
Detektion:	UV (254 nm), Ammoniummolybdat/Cersulfat
Säulen LM:	C/EE (15:1) (v/v)
Ausbeute:	77%
Rel. Molekülmasse:	763.35 g/mol (C ₄₉ H ₄₉ NO ₇)

¹³C-NMR (CDCl₃) δ: 207.8 (C=O), 156.4 (C=O), 138.4, 137.8, 137.4, 137.3, 136.6, 136.5 (6C, Ph), 128.7, 128.6, 128.5, 128.4, 128.4, 128.2, 128.1, 128.0, 127.9, 127.6, 127.3 (Ph), 82.4, 82.1, 74.5, 73.9, 73.4, 73.2, 67.5, 67.2, 66.9, 53.4, 51.9, 47.0, 45.2, (13C, CH₂Ph, C-1, C-2, C-3, C-4, C-6).

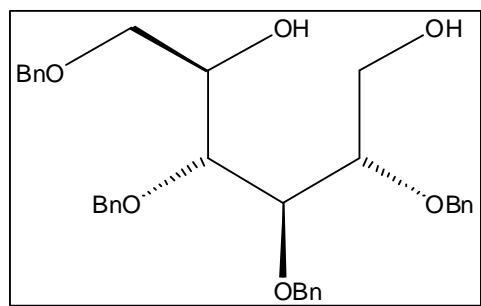
2,3,4,6-Tetra-*O*-benzyl-*D*-glucit (**54**)⁴⁹

Es werden 7.86 g (14.5 mmol, 1.0 eq) 2,3,4,6-Tetra-*O*-benzyl-*D*-glucopyranose (**47**) in 98 mL THF gelöst. Unter Eiskühlung werden portionsweise 1.95 g (49.9 mmol, 3.4 eq) LiAlH₄ zugegeben. Das Eisbad wird entfernt und die graue Suspension rührt 12 h bei RT. Die Umsatzkontrolle erfolgt mittels DC. Unter Eiskühlung wird die Reaktion mit 52 mL

⁵² Von Deyn, W.; Mielke, B.; Paulsen, H. *Liebigs Ann. Chem.* **1987**, 439 – 445.

Essigester gestoppt (pH = 9). Die Suspension wird nun in 450 mL Essigester aufgenommen und mit 300 mL einer 2N HCl-Lösung ausgeschüttelt. Anschließend wird die organische Phase mit 60 mL gesättigter NaHCO₃-Lösung ausgeschüttelt und die jeweiligen wässrigen Phasen werden mit Essigester (2 x 50 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der daraus erhaltene hellgelbe, klare Sirup wird säulenchromatographisch gereinigt.

Ausbeute: 5.82 g (10.7 mmol, 74%) farbloser Sirup.



DC LM:	C/EE (1:1) (v/v)
R_f Wert:	0.51
Detektion:	UV (254 nm), Ammoniummolybdat/Cersulfat
Säulen LM:	C/EE (5:1) (v/v)
Ausbeute:	74%
Rel. Molekülmasse:	542.27 g/mol (C ₃₄ H ₃₈ O ₆)

¹H-NMR (CDCl₃) δ: 7.39-7.24 (m, n.a., 20H, 4 x Ph), 4.85 (d, 2H, *J* = 10.3 Hz, CH₂-Ph), 4.59 (d, 2H, *J* = 10.4 Hz, CH₂-Ph), 4.72 (d, 2H, *J* = 12.5 Hz, CH₂-Ph), 4.70 (d, 2H, *J* = 9.7 Hz, CH₂-Ph), 4.11 – 4.03 (m, 1H, H-5), 3.93 (d, 1H, *J*_{3,2} = 3.7 Hz, *J*_{3,4} = 6.3 Hz, H-3), 3.87 – 3.74 (m, 3H, H-1_a, H-2, H-4), 3.68 (dd, n.a., 2H, H-6), 3.64 - 3.57 (m, 1H, H-1_b).

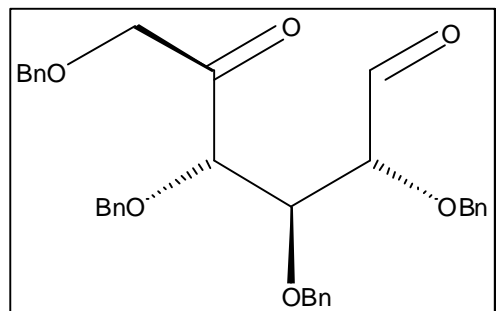
¹³C-NMR (CDCl₃) δ: 138.2, 138.0, 137.9, 137.9 (4C, Ph), 128.5, 128.5, 128.2, 128.0, 128.0, 127.9, 127.9, 127.8 (Ph), 79.5 (C-4), 79.2 (C-3), 77.4 (C-2), 74.5, 73.5, 73.3, 73.1 (CH₂Ph), 71.2 (C-6), 70.74 (C-5), 61.9 (C-1).

2,3,4,6-Tetra-*O*-benzyl-D-xylo-hexos-5-ulose (**55**)⁴⁹

Unter Stickstoffatmosphäre werden 2.4 mL (34.1 mmol, 6.2 eq) DMSO mit 22.8 mL CH₂Cl₂ in einen ausgeheizten Kolben vorgelegt und auf -78°C gekühlt. Danach wird über ein Septum ein Gemisch aus 3.4 mL (24.0 mmol, 4.4 eq) Trifluoressigsäureanhydrid (TFAA) und 5.7 mL CH₂Cl₂ langsam in das DMSO/CH₂Cl₂ Gemisch getropft. Das Reaktionsgemisch wird für 30 min bei -78°C gerührt und anschließend werden 3.0 g (5.5 mmol, 1.0 eq) 2,3,4,6-Tetra-*O*-benzyl- α -D-glucit (**54**), gelöst in 22.8 mL CH₂Cl₂, langsam zugetropft. Nach 1.5 h wird ein Gemisch aus 6.2 mL Et₃N und 22.7 mL CH₂Cl₂ langsam zugetropft und das Reaktionsgefäß auf RT gebracht. Bei RT wird 30 min gerührt und danach mittels DC der Umsatz festgestellt.

Das Reaktionsgemisch wird erst sauer mit 15.0 mL 0.5M HCl und anschließend basisch mit 20.0 mL aus gesättigter NaHCO₃-Lösung und Natriumthiosulfat ausgeschüttelt. Die wässrigen Phasen werden mit CH₂Cl₂ (2 x 10.0 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel bei RT im Vakuum entfernt.

Rohausbeute: 3.5 g gelber Sirup.



DC LM:	C/EE (2:1) (v/v)
R_f Wert:	0.33
Detektion:	UV (254 nm), Ammoniummolybdat/Cersulfat
Rel. Molekülmasse:	538.63 g/mol (C ₃₄ H ₃₄ O ₆)

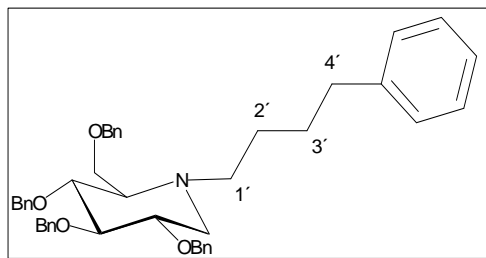
¹³C-NMR (CDCl₃) δ: 207.9 (C-5), 200.1 (C-1), 137.3, 137.0, 136.7, 136.3 (4C, Ph), 128.8, 128.7, 128.6, 128.5, 128.5, 128.5, 128.4, 128.4, 128.2, 128.2, 128.2, 128.1, 128.1, 128.1, 128.0, 128.0, 127.9, 127.9, 127.9, 127.7, 127.7 (Ph), 81.9, 80.8, 79.9 (3C, C-2, C-3, C-4), 74.7, 74.2, 74.1, 73.3, 73.3 (5C, C-6, CH₂Ph).

2,3,4,6-Tetra-O-benzyl-N-(4-phenyl)butyl-1-desoxynojirimycin (60)⁵¹

Es wird nach einer modifizierten Vorschrift von Reitz *et al.* gearbeitet.⁵¹ 4-Phenylbutylamin 0.12 mL (0.74 mmol, 0.8 eq) und 0.42 mL (0.74 mmol, 0.8 eq) AcOH werden in 4.10 mL MeOH gemischt. Das Reaktionsgemisch wird auf -78°C gekühlt und anschließend werden 0.50 g (0.92 mmol, 1.0 eq) des Rohproduktes **55**, gelöst in 4.10 mL MeOH, zugegeben. Nach 10 min werden portionsweise 0.15 g (2.03 mmol, 2.2 eq) NaBH₃CN zugegeben und für 2 h bei -78°C gerührt. Anschließend wird das Reaktionsgemisch auf RT erwärmt und 20 h gerührt. Die Umsatzkontrolle erfolgt mittels DC. Die Reaktionslösung wird in 10 mL CHCl₃ aufgenommen und mit 10 mL gesättigter NaHCO₃ Lösung ausgeschüttelt. Die wässrige Phase wird mit CHCl₃ (3 x 5 mL) extrahiert.

Die vereinten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der gelblich klare Sirup wird säulenchromatographisch gereinigt.

Rohausbeute: 0.21 g weißer Feststoff.



DC LM:	C/EE (2:1) (v/v)
R_f Wert:	0.74
Detektion:	UV (254 nm), Ammoniummolybdat/Cersulfat
Säulen LM:	C/EE (15:1) (v/v)
Schmelzpunkt:	71-72 °C
[α]_D²⁰:	-1.71
Rel. Molekülmasse:	655.86 g/mol (C ₄₄ H ₄₉ NO ₄)

¹H-NMR (CDCl₃) δ: 7.25-7.04 (m, n.a. 25H, Ph), 4.88 (d, 1H, *J* = 11.2 Hz, CH₂-Ph), 4.79 (d, 1H, *J* = 11.0 Hz, CH₂-Ph), 4.73 (d, 1H, *J* = 11.2 Hz, CH₂-Ph), 4.6 (d, 1H, *J* = 11.7 Hz, CH₂-Ph), 4.55 (d, 1H, *J* = 11.5 Hz, CH₂-Ph), 4.39 (d, 1H, *J* = 12.2 Hz, CH₂-Ph), 4.35 (d, 1H, *J* = 11.9 Hz, CH₂-Ph), 3.62 – 3.32 (m, 5H, H-6a, H-6b, H-4, H-3, H-2), 2.98 (dd, 1H, *J*_{1eq,ax} = 11.1 Hz, *J*_{1eq,2} = 4.8 Hz, H-1eq), 2.67 – 2.56 (m, 2H, H-1'), 2.56 – 2.43 (m, 2H, H-4'), 2.25 – 2.18 (m, 1H, H-5), 2.12 (dd, 1H, *J*_{1ax,2} = 10.6 Hz, H-1ax), 1.48 – 1.16 (m, 4H, H-2', H-3').

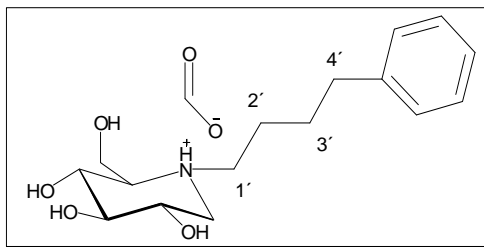
¹³C-NMR (CDCl₃) δ: 142.4, 139.1, 138.7, 138.6, 137.9 (5C, Ph), 128.5, 128.4, 128.4, 128.4, 127.9, 127.9, 127.7, 127.6, 127.5, 125.8 (Ph), 87.4 (C-3), 78.7 (C-4), 78.6 (C-2), 75.3, 75.2, 73.48, 72.8 (CH₂Ph), 65.6 (C-6), 63.9 (C-5), 54.5 (C-1), 52.3 (C-1'), 35.8 (C-4'), 29.3 (C-3'), 23.4 (C-2').

N-(4-Phenyl)butyl-1-desoxynojirimycinformiat (61)

2,3,4,6-Tetra-O-benzyl-N-(4-Phenyl)butyl-1-desoxynojirimycin (**60**) 1.00 g (1.52 mmol, 1.0 eq) wird in 25 mL trockenem MeOH gelöst, 7 Tropfen konzentrierte HCl und 2 Spatelspitzen Pd(OH)₂/C zugegeben. Das Reaktionsgefäß wird an der Parr-Apparatur angeschlossen und bei 3 bar hydriert. Nach 10 Tagen ist die Benzylabspaltung laut DC-Kontrolle quantitative. Es werden 45 mg mittels präparativer HPLC gereinigt. Es wird folgende Methode verwendet:

- Nucleosil C4; MeOH/H₂O/CHOOH (40:60:0.5%) (v/v/v) mit einen Fluss von 0.8 mL/min. Detektiert wird bei einer Wellenlänge von 360 nm.

Ausbeute: 24.8 mg (0.07 mmol, 39%) weißer, hygroskopischer Schaum.



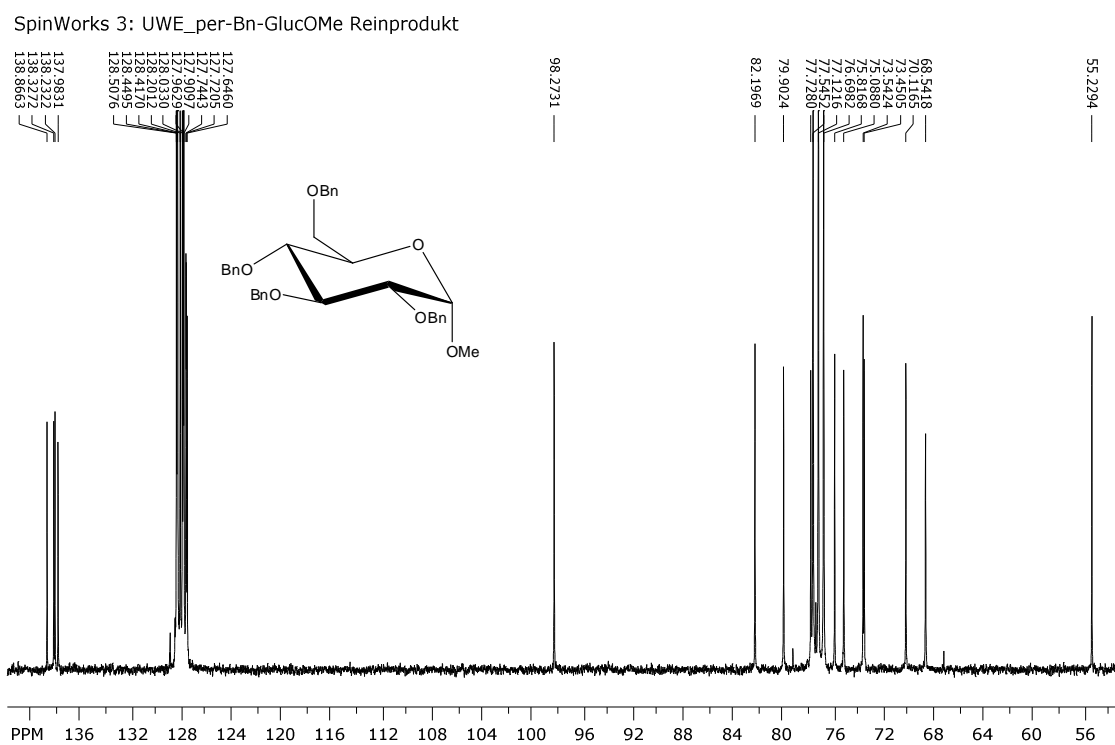
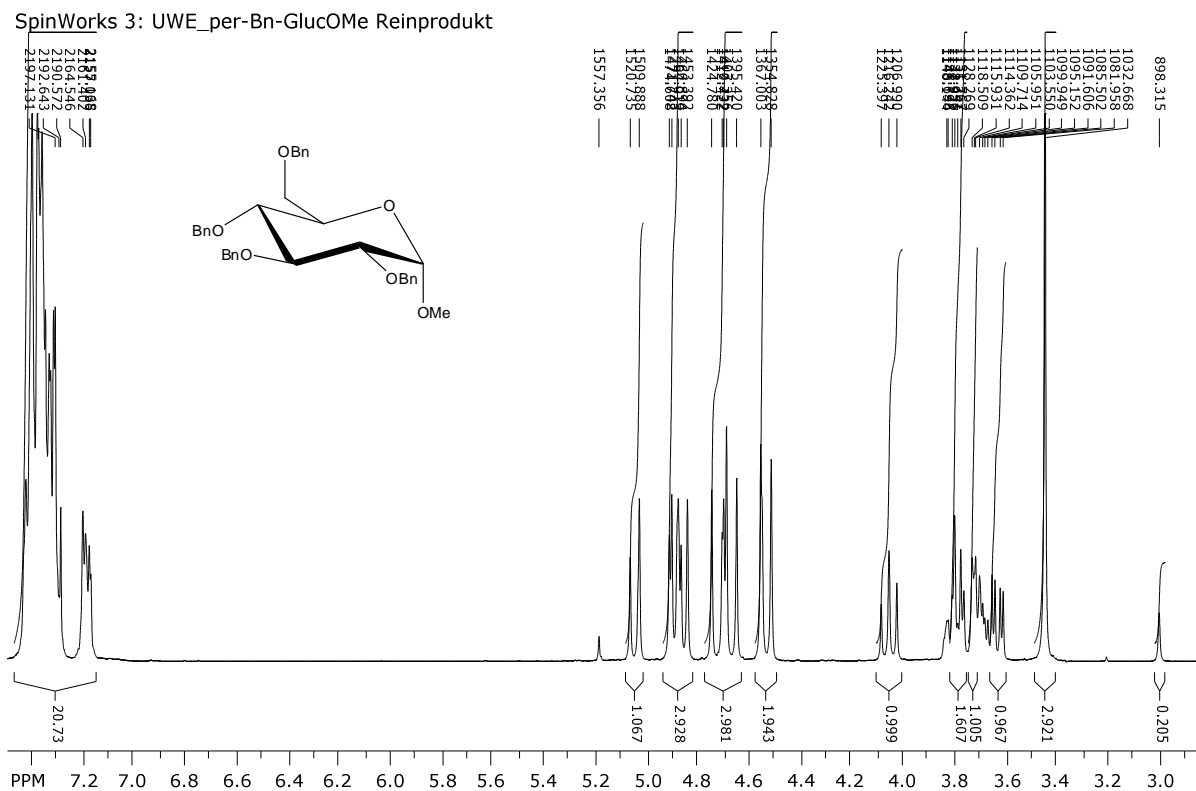
DC LM:	C/EE (2:1) (v/v) CHCl ₃ /MeOH (7:1)
R_f Wert:	0.74
Detektion:	UV (254 nm), Ammoniummolybdat/Cersulfat
Ausbeute:	39%
[α]₅₈₉²⁰:	-4.9
Rel. Molekülmasse:	341.40 g/mol (C ₁₇ H ₂₇ NO ₆)

¹H-NMR (CDCl₃) δ: 8.3 (bs, 1H, HCOO⁻), 7.3 - 7.1 (m, n.a. 5H, Ph), 3.94 (bd, 1H, *J*_{6a,6b} = 13.2 Hz, H-6b), 3.81 (dd, 1H, *J*_{5,6a} = 10.8 Hz, H-6a), 3.7 - 3.6 (ddd, 1H, *J*_{2,3} = 9.3 Hz, H-2), 3.5 (dd, 1H, *J*_{4,5} = 10.1 Hz, *J*_{4,3} = 9.7 Hz, H-4), 3.38 (dd, 1H, H-3), 3.40 (dd, 1H, *J*_{1eq,ax} = 12.4 Hz, *J*_{1eq,2} = 5.7 Hz, H-1eq), 3.30 - 3.17 (m, 1H, H-1'), 3.17 - 3.00 (m, 2H, H-1', H-5), 2.9 (dd, 1H, *J*_{1ax,2} = 11.8 Hz, H-1ax), 2.63 - 2.55 (m, 2H, H-4'), 1.6 (bs, 4H, H-2', H-3').

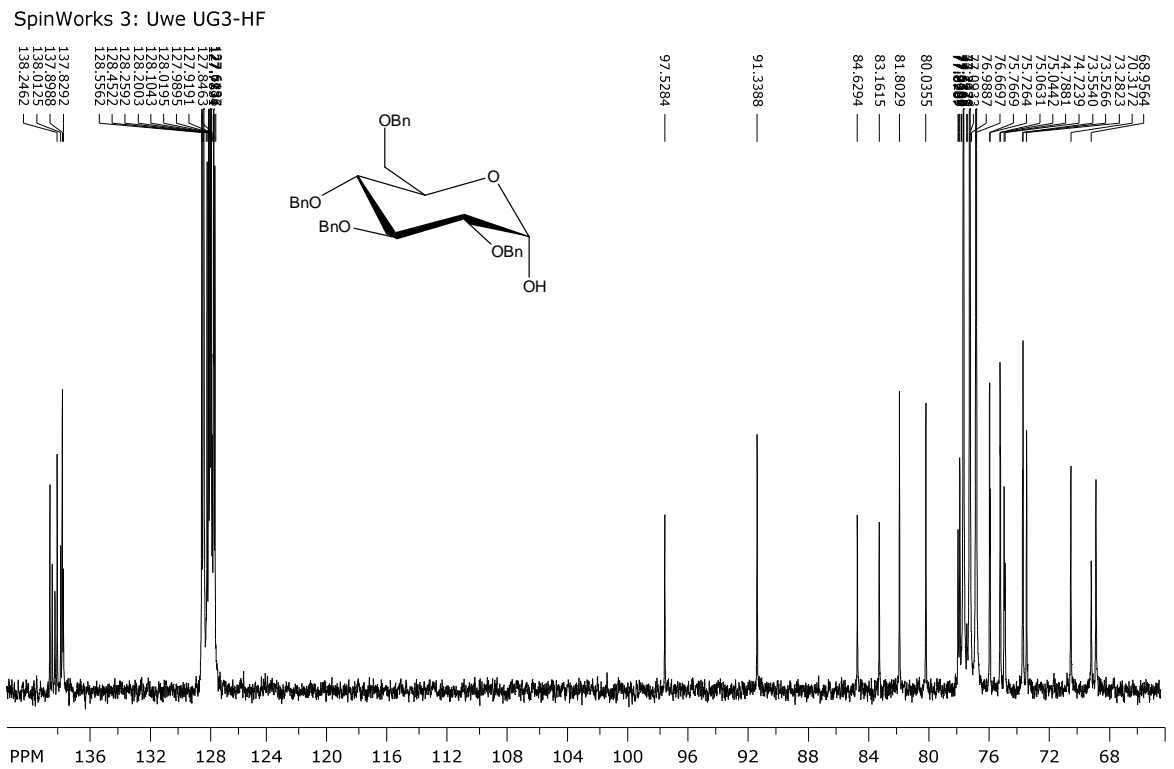
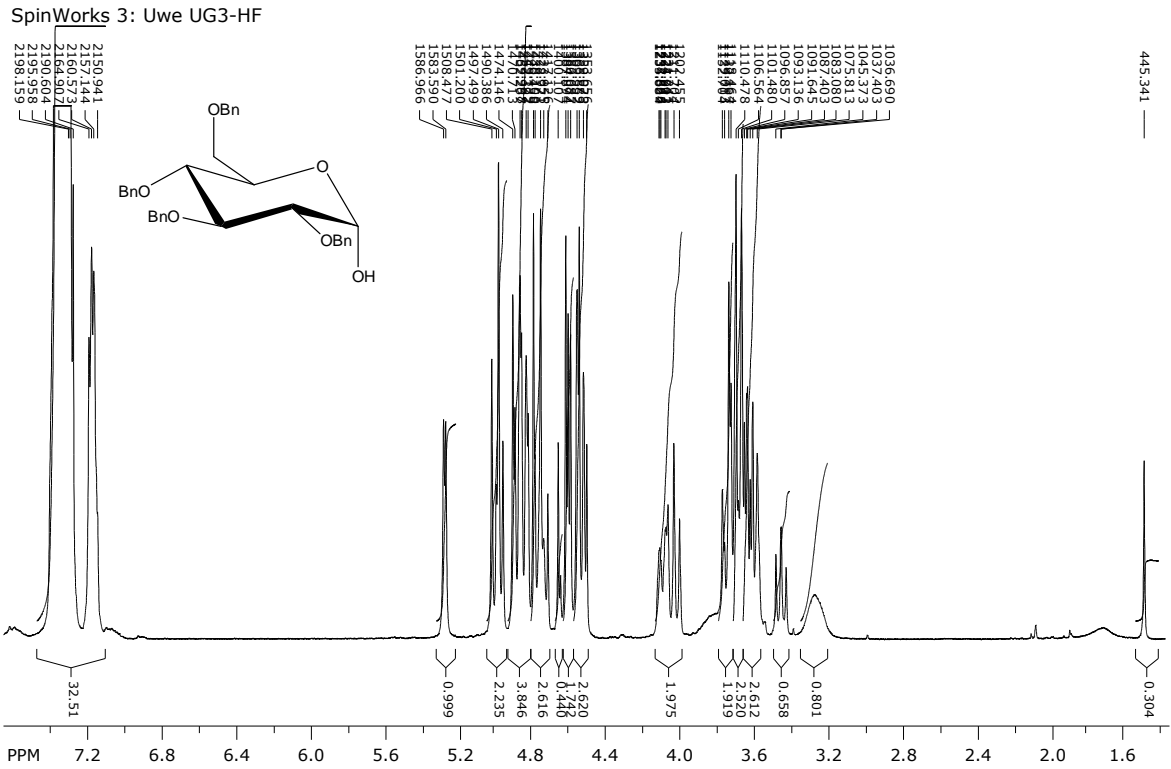
¹³C-NMR (CDCl₃) δ: 169.2 (HCOO⁻), 142.0 (1C, Ph), 128.7, 128.6, 126.2 (Ph), 75.8 (C-3), 67.0 (C-4), 65.9 (C-2), 65.2 (C-5), 53.7 (C-6), 52.8 (C-1), 52.7 (C-1'), 34.2 (C-4'), 27.4, 23.4 (C-2', C-3').

6 NMR-Spektren

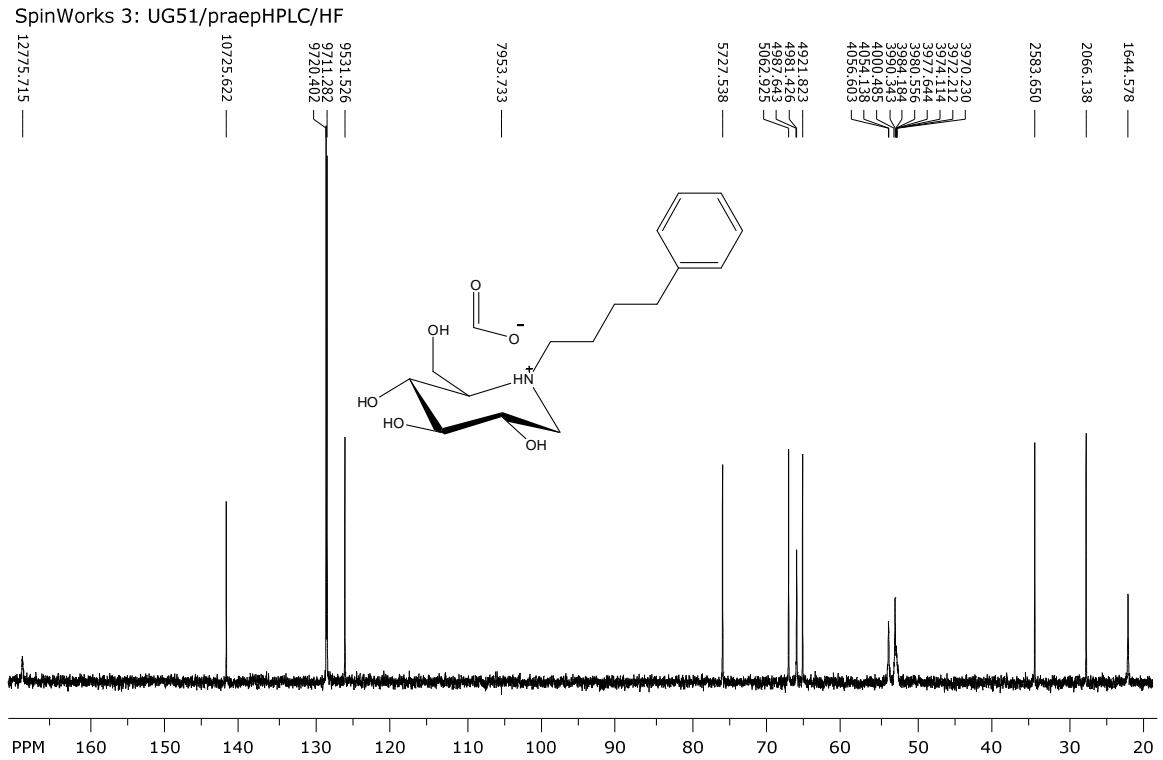
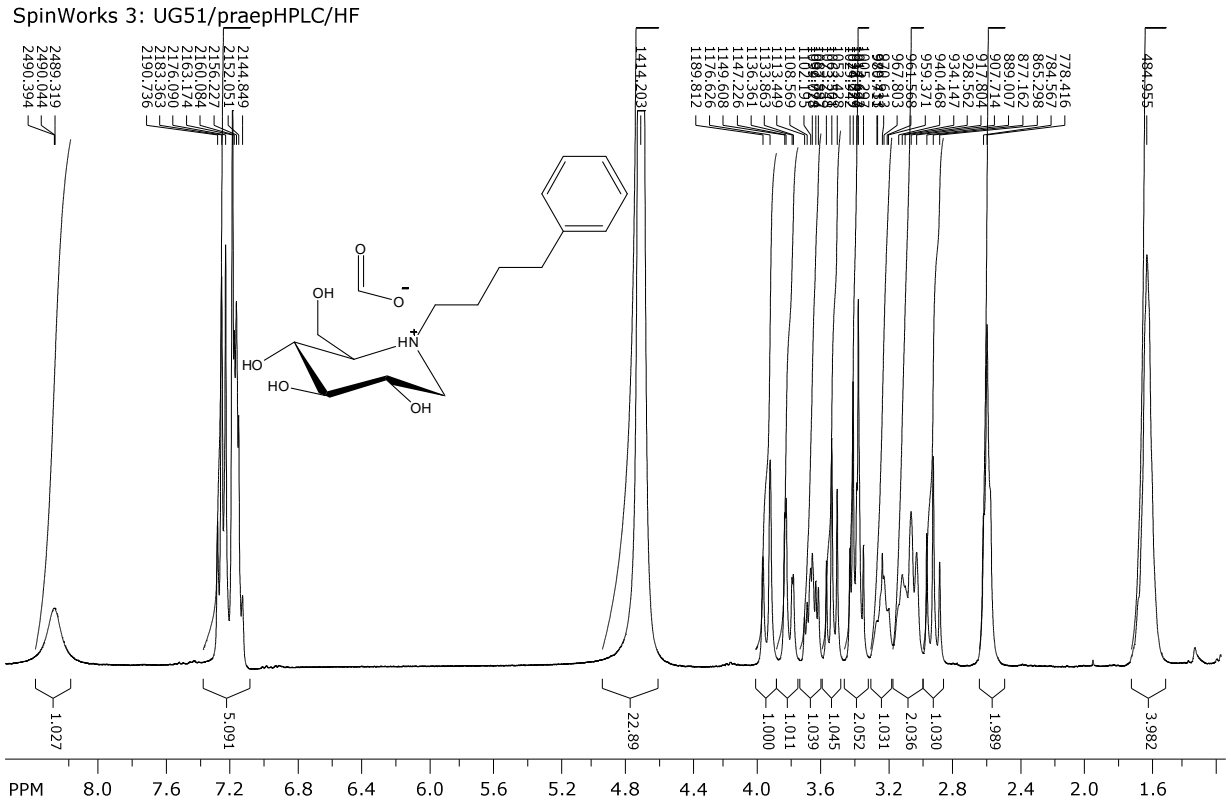
Methyl-2,3,4,6-tetra-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosid (46)



2,3,4,6-Tetra-*O*-benzyl- α,β -D-glucopyranose (47)



***N*-(4-Phenyl)butyl-1-desoxynojirimycinformiat (61)**



7 Publikationsliste

Poster:

“Synthesis of *N*-modified 1-Deoxynojirimycin derivatives with potential as active site specific chaperones in the treatment of Gaucher disease”, U. Groß, G. Schitter, A.E. Stütz, T.M. Wrodnigg, *15th European Carbohydrate Symposium*, Vienna, Austria, 19 – 24 July, **2009**

“Synthesis of *N*-modified 1-Deoxynojirimycin derivatives for the treatment of Gaucher disease”, U. Gross, G. Schitter, A. E. Stütz, T. M. Wrodnigg, *13th Austrian Chemistry Days*, Vienna, Austria, 24 - 27 August, **2009**

Vorträge:

G. Schitter, U. Groß, A. Stütz, T. Wrodnigg, Basic Impact - N-Substitution von 1-Desoxygalactonojirimycin: Einfluß der Basizität des Substituenten auf die enzyminhibierende Aktivität., 13. Österreichischer Kohlenhydratworkshop, Technische Universität Graz, Graz, Austria, 2 Februar, **2009**

Uwe Groß, Tanja Wrodnigg, Synthesis of N-(4-Phenyl)butyl-1-deoxynojirimycin, 14. Österreichischer Kohlenhydratworkshop, Technische Universität Wien, Wien, Austria, 11 Februar, **2010**

8 Lebenslauf

Persönliche Daten

.....

Name	Uwe Walter Groß
Geburtsdatum und -ort	30.05.1984, Graz
Nationalität	österreichisch
Familienstand	ledig

Bildung

.....

09/1990 - 07/1994	Volksschule in Großsteinbach
09/1994 - 07/1998	Hauptschule in Großsteinbach
09/1998 - 06/2003	HTBLA-Weiz / Umwelttechnik-Maschinenbau Abschluss: Matura mit Auszeichnung Vertiefungsarbeit im Bereich Energie und Umwelttechnik zum Thema „ <i>Brennstoffzellen</i> “
10/2003 - 05/2004	Präsenzdienst
seit 10/2004	Studium der Technischen Chemie an der TU-Graz
08/2007 - 12/2007	Auslandssemester in Schweden (Erasmus)
seit 03/2009	Diplomarbeit <i>Institut für Organische Chemie, Prof. Dr. Wrodnigg, TU-Graz</i> <i>„Synthesis of N-modified 1-deoxynojirimycin derivatives with potential as active site specific chaperones in the treatment of Gaucher disease“</i>

EDV-Kenntnisse

.....

MS-Office, ChemOffice, ISIS Draw, Origin

Fremdsprachenkenntnisse

.....

Englisch	10 Jahre Schulausbildung Auslandssemester (Schweden)
----------	---