

Arylsubstituierte Sialomimetika als Liganden für Siglec-7

Masterarbeit

Durchgeführt am

Institut für Pharmazeutische und Medizinische Chemie

Im Arbeitskreis von

Jun.-Prof. Dr. Jonathan Cramer

Zweitkorrektor

Prof. Dr. Dr. h.c. Holger Stark

vorgelegt von

B. Sc. Felix Krickl

September 2023

Erklärung

Hiermit erkläre ich, die vorliegende Arbeit selbstständig im Zeitraum vom 03.03.2023 bis zum 04.09.2023 angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen und bei Zitaten kenntlich gemachten Quellen und Hilfsmittel benutzt und die vorliegende Arbeit an keiner anderen Stelle zur Erlangung eines Zertifikats oder von Credit-Points vorgelegt zu haben.

Düsseldorf, den 04.09.2023

B. Sc. Felix Krickl

Danksagung

Jun.-Prof. Dr. Jonathan Cramer danke ich für den Vorschlag eines für meinen Bildungsweg passenden Themas. Die Themenauswahl von Herrn Cramer ermöglichte es mir, bereits früher gelernte Methoden der Heteroaromatenchemie mit für mich neuen Methoden der Zuckerchemie in einer konsekutiven Synthese synergistisch zu kombinieren und sorgte dadurch für einen runden Abschluss meines Studiums der Chemie.

Prof. Dr. Dr. h.c. Holger Stark, dem ich aufgrund meiner früheren Projekte aus der Bachelorarbeit nicht unbekannt war, danke ich für die schnelle Zusage zur Übernahme des Zweitgutachtens der vorliegenden Arbeit.

Prof. Dr. Christian Ganter danke ich für den Ratschlag, mein Studium in einem pharmazeutischen Institut abzuschließen. Dies war von daher eine gute Wahl, da mich schon früh neben Naturstoffen und Heteroaromaten im Allgemeinen auch die Medizinische Chemie im Speziellen besonders interessiert hat und auch meine Bachelorarbeit zwar nicht in einem pharmazeutischen Arbeitskreis stattfand, jedoch ebenfalls einen solchen thematischen Hintergrund hatte.

M. Sc. Sebastian Wilke danke ich für die hohe Hilfsbereitschaft sowohl in fachlichen als auch in praktischen Fragen und Problemen während meiner Masterarbeit. Bei diversen Gesprächen war es mir zudem möglich noch in weitere, nicht direkt mit der vorliegenden Arbeit zusammenhängenden Themenfelder Einblicke zu erhalten, darunter z. B. Glykoproteine und die Festphasensynthese; weiterhin Themenfelder in der Elementorganischen Chemie.

M. Sc. Laura Muñoz-Gloder danke ich für die Betreuung eines dieser Masterarbeit vorausgegangenen Forschungspraktikums, in welchem ich mich mit den praktischen Grundlagen der Zuckerchemie vertraut machen konnte.

M. Sc. Dilara Derya Nemli danke ich für die Durchführung biophysikalischer Messungen wie NanoDSF und ITC, sowie der Gewinnung der dazu gebrauchten Apoprotein-Substanz.

Den Mitarbeitern des *AK Kurz*, von denen ich einige schon früher kannte und viele weitere kennenlernen durfte, gilt mein Dank wegen des allgemein kollegialen und netten Umgangs. Wir konnten uns gegenseitig in alltäglichen Aufgaben sehr gut unterstützen.

Den Mitarbeitern des CeMSA@HHU *B. Sc. Mohanad Aian und Tanja Muth*, sowie *Dr. Peter Tommes und Ralf Bürgel* danke ich für die Messung der Kernmagnetresonanzspektren, sowie der Messung der Massenspektren.

Früher Genannten, die ich hier nicht wiederholt aufführe, gilt mein Dank weiterhin. Auch wenn sich im Verlauf der Jahre Manches veränderte waren viele frühere Bekanntschaften meiner Studienzeit prägend und führten dahin, wo wir heute stehen. Es sammelten sich seit Beginn meines Studiums so viele unvergessliche Momente an, dass darüber schon ein eigener Bericht geschrieben werden könnte und Manches habe ich sogar tatsächlich zur Erinnerung verschriftlicht.

im Gedenken an *Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Reinhard Brossmer* +03.01.2020
gewidmet meiner Familie, deren Verbindung zur Medizin und zur HHU Generationen überdauerte und nach meinem Abschluss des Chemie-Studiums nicht beendet sein wird

Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung	3
2	Allgemeiner Teil	5
2.1	Einleitung	5
2.1.1	Gefahr durch Krebserkrankungen und Behandlungsansätze	5
2.1.2	Krebsimmuntherapie	6
2.1.3	Rolle des Siglec-7-Rezeptors	7
2.1.4	Theorien zur Bindung arylsubstituierter Sialomimetika an Siglec-7	8
2.2	Aufgabenstellung	13
2.3	Kenntnisstand und Literaturübersicht	15
2.3.1	Synthetischer Zugang zum Azid 2	15
2.3.2	Synthese von Biarylacetylenen	18
2.3.3	Triazolylphenyltetrazole in Kohlenhydrat-basierten Konjugaten	19
2.3.4	Synthese von Monoarylacetylenen	21
3	Hauptteil	23
3.1	Synthese des Azids 2	23
3.2	Synthese der Arylalkine	25
3.2.1	Halogenierte Biphenyl-Derivate 4a–f	25
3.2.2	Halogeniertes Ethinylphenylthiophen	29
3.2.3	Strukturaufklärung der halogenierten Phenylthiophen-Derivate	30
3.2.4	Ethinylphenyltetrazol	34
3.2.5	Strukturaufklärung des TMS-geschützten Ethinylphenyltetrazols 5b	35
3.2.6	Monoarylacetylene	35
3.3	Synthese geschützter Sialomimetika 18a–d durch CuAAC	36
3.4	Strukturaufklärung der geschützten Sialomimetika 18a–d	38
3.5	Entschützung der Sialomimetika	40
3.6	Strukturaufklärung der entschützten Sialomimetika 3a–d	42
3.7	Untersuchungen der biologischen Aktivität	44
4	Ausblick	45
5	Experimentalteil	49
5.1	Material und Methoden	49
5.2	Synthesen	50
5.2.1	Synthese der Edukte	50
5.2.1.1	5-(4-Bromphenyl)-1 <i>H</i> -tetrazol (4g) ^[56]	50
5.2.1.2	2-(4-Bromphenyl)-5-chlorthiophen (4i)	51
5.2.1.3	Allgemeine Synthesevorschrift AS1 für <i>Sonogashira</i> -Kupplung ^[76,77]	52

5.2.1.4	Trimethylsilylethynylbenzol (23) ^[76,77]	52
5.2.1.5	3-((Trimethylsilyl)ethynyl)-9 <i>H</i> -carbazol (5d) ^[60,78]	53
5.2.1.6	5-((Trimethylsilyl)ethynyl)isochinolin (5e) ^[79]	54
5.2.1.7	5-((4-Trimethylsilyl)ethynyl)phenyl-1 <i>H</i> -tetrazol (5b)	55
5.2.1.8	((4-(5-Chlorthiophen-2-yl)phenyl)ethynyl)trimethylsilan (5a)	56
5.2.1.9	Allgemeine Synthesevorschrift AS2 für die TMS-Entschützung von terminalen Alkinen	57
5.2.1.10	3-Ethynyl-9 <i>H</i> -carbazol (6e) ^[78]	57
5.2.1.11	5-Ethynylisochinolin (6b) ^[59]	58
5.2.1.12	2-Chlor-5-(4-Ethynylphenyl)thiophen (6g)	58
5.2.1.13	5-Acetamido-3,5-dideoxy-D-glycero- α -D-galacto-2-nonulopyran- osonsäuremethylester (9) ^[35]	59
5.2.1.14	5-Acetamido-4,7,8,9-tetra- <i>O</i> -acetyl-2-chlor-2,3,5-trideoxy-D- glycero- α -D-galacto-2-nonulopyranosonsäuremethyl- ester (10) ^[33-35,61]	60
5.2.1.15	Methyl-((3-chlorprop-1-yl)-5-acetamido-4,7,8,9-tetra- <i>O</i> -acetyl- 3,5-dideoxy-D-glycero- α -D-galacto-2-nonulosid)- onat (12) ^[28,37,39,80]	61
5.2.1.16	Methyl-((3-azidoprop-1-yl)-5-acetamido-4,7,8,9-tetra- <i>O</i> -acetyl- 3,5-dideoxy-D-glycero- α -D-galacto-2-nonulosid)onat (2) ^[42] . .	62
5.2.2	Synthese der geschützten Sialomimetika 18 ^[70]	63
5.2.2.1	Allgemeine Synthesevorschrift AS3 für CuAAC	63
5.2.2.2	Methyl-((3-(4-(1,1'-biphenyl-4-yl)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-yl)prop-1- yl)-5-acetamido-4,7,8,9-tetra- <i>O</i> -acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- α -D-galacto-2-nonulosid)onat (18a) ^[28]	63
5.2.2.3	Methyl-((3-(4-(9 <i>H</i> -carbazol-3-yl)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-yl)prop-1- yl)-5-acetamido-4,7,8,9-tetra- <i>O</i> -acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- α -D-galacto-2-nonulosid)onat (18b)	64
5.2.2.4	Methyl-((3-(4-(isochinolin-5-yl)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-yl)prop-1- yl)-5-acetamido-4,7,8,9-tetra- <i>O</i> -acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- α -D-galacto-2-nonulosid)onat (18c)	65
5.2.2.5	Methyl-((3-(4-(4-(5-chlorthiophen-2-yl)phen-1-yl)-1 <i>H</i> -1,2,3-tri- azol-1-yl)prop-1-yl)-5-acetamido-4,7,8,9-tetra- <i>O</i> -acetyl-3,5-di- deoxy-D-glycero- α -D-galacto-2-nonulosid)onat (18d)	66
5.2.3	Entschützung der Sialomimetika	67
5.2.3.1	Allgemeine Synthesevorschrift AS4 zur Entschützung der Produkte ^[70]	67
5.2.3.2	((3-(4-(1,1'-Biphenyl-4-yl)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-yl)prop-1-yl)-5- acetamido-3,5-dideoxy-D-glycero- α -D-galacto-2-nonulosid)on- säure (3a) ^[28]	67
5.2.3.3	((3-(4-(9 <i>H</i> -Carbazol-3-yl)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-yl)prop-1-yl)-5- acetamido-3,5-dideoxy-D-glycero- α -D-galacto-2-nonulosid)on- säure (3b)	68

5.2.3.4	((3-(4-(Isochinolin-5-yl)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-yl)prop-1-yl)-5-acetamido-3,5-dideoxy-D-glycero- α -D-galacto-2-nonulosid)onsäure (3c)	69
5.2.3.5	((3-(4-(4-(5-Chlorthiophen-2-yl)phen-1-yl)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-yl)prop-1-yl)-5-acetamido-3,5-dideoxy-D-glycero- α -D-galacto-2-nonulosid)onsäure (3d)	70
6	NMR Spektren	71
7	Literatur	77

Abkürzungsverzeichnis

ACN	Acetonitril
Äq.	Äquivalente
CDCl ₃	Deuteriochloroform
CTLA-4	cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4
CuAAC	Kupfer-katalysierte Azid-Alkin-Cycloaddition (Click-Chemie)
CuNAC	Kupfer-katalysierte Nitril-Azid-Cycloaddition
CyH	Cyclohexan
δ	chemische Verschiebung
DCM	Dichlormethan / Methylenchlorid
dd	Dublett von Dublett
ddd	Dublett von Dublett von Dublett
DIPEA	<i>N,N</i> -Diisopropylethylamin (<i>Hünig's Base</i>)
DMAP	4-Dimethylaminopyridin
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DC	Dünnschichtchromatographie
EA	Ethylacetat / Essigsäureethylester
EI	electron-impact ionization (Massenspektrometriemethode)
ESI	electron-spray ionization (Massenspektrometriemethode)
HBpin	Pinakolboran (4,4,5,5-Tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan)
HSQC	heteronuclear single quantum coherence spectroscopy
ITC	isothermal titration calorimetry (Isotherme Titrationskalorimetrie)
<i>J</i>	Kopplungskonstante
LG	Abgangsgruppe (leaving group)
m	Multiplett
MBSK	<i>Masuda</i> -Borylierung– <i>Suzuki</i> -Kupplung
MSS	<i>Masuda</i> -Borylierung– <i>Suzuki</i> -Kupplung– <i>Sonogashira</i> -Kupplung
NANA	<i>N</i> -Acetylneuraminsäure / Sialinsäure
4NBA	<i>p</i> -Nitrobenzylalkohol
nHex	<i>n</i> -Hexan
n.i.	nicht isoliert
NK-Zellen	natural killer-Zellen
NMR	Kernspinresonanzspektroskopie (nuclear magnetic resonance)
PD-1	programmed cell death protein 1
PD-L1	programmed cell death 1 ligand 1
PE	Petrolether / Benzin
PG	Schutzgruppe (protecting group)
PMA	Phosphomolybdänsäure (phosphomolybdic acid)
PPA	Polyphosphorsäure (polyphosphoric acid)
ppm	parts per million
PTSA	<i>para</i> -Toluolsulfonsäure
RP	Reversed Phase (Chromatographie-Methode)
RT	Raumtemperatur

s	Singulett
Siglec-7	sialic acid-binding immunoglobulin-like lectin 7 (Sialinsäure-bindendes Immunoglobulinartiges Lektin 7)
TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
TBAI	Tetrabutylammoniumiodid
TBSCl	<i>tert</i> -Butyldimethylsilylchlorid
TBTA	Tris((1-benzyl-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-yl)methyl)amin
TEA	Triethylamin
THF	Tetrahydrofuran
TMSA	Trimethylsilylacetylen / Ethinyltrimethylsilan
TMSOTf	Trimethylsilyltriflat
Tol	Toluol
UfG	Umwandlung funktioneller Gruppen

1 Zusammenfassung

Der Sialinsäure-Glykoside bindende Rezeptor Siglec-7 spielt als Glyko-Immunocheckpoint in der Krebsimmuntherapie eine Rolle und könnte nach den bereits heute vielverkauften, auf die Signalwege PD1/PD-L1 und CTLA4/CD80/CD86 wirkenden monoklonalen Antikörper zur Etablierung von *second generation* Krebsimmuntherapie-Medikamenten führen. Um auf diese Weise die Möglichkeiten der Behandlung von Krebserkrankungen zu erweitern wurde inspiriert von einem die natürlichen Siglec-7-Liganden imitierenden, monovalenten arylsubstituierten Sialinsäureglykosid der *G3-BioTec UG* von *Reinhard Brossmer* an der Entwicklung weiterer *Hit*-Sialomimetika gearbeitet, nachdem die Verfolgung dieses Themas aufgrund der Auflösung der Unternehmergeellschaft und dem Tod *Brossmers* 2020 der ursprünglichen Gruppe von Autoren um *Horst Prescher* leider nicht mehr möglich war.

Nach bekannten Methoden der Sialinsäure-Chemie und mit besonderem Augenmerk auf Silbersalicylat als Promotor in der *Koenigs-Knorr*-Glykosylierung konnte eine Methode zur anomererenreinen Synthese des für die Verknüpfung von Arylteil und Kohlenhydratteil des Sialomimetikums benötigten Azid-Bausteins im großen Maßstab etabliert werden. Mittels der weitverbreiteten Palladium-katalysierten Reaktionen *Masuda*-Borylierung, *Suzuki*-Kupplung und *Sonogashira*-Kupplung wurden diverse aromatische Verbindungen präpariert, um sie durch Kupfer-katalysierte Azid-Alkin-Cycloaddition mit dem Azidbaustein zum geschützten Sialomimetikum zu verbinden. Durch *Zemplén*-Entschützung dieser Verbindungen wurden schließlich vier zur biologischen Testung geeignete Sialomimetika synthetisiert. Auf Grundlage der bisher durchgeführten NanoDSF- und ITC-Experimente konnte anhand eines der neuen Sialomimetika gezeigt werden, dass die Bindungsstärke zum Rezeptor im erwarteten Bereich liegt. Es werden weitere Synthesestrategien zur Optimierung der Präparation von Biarylalkinen und für den synthetischen Zugang zu in dieser Arbeit nicht erreichten Ziel-Sialomimetika vorgeschlagen.

2 Allgemeiner Teil

2.1 Einleitung

2.1.1 Gefahr durch Krebserkrankungen und Behandlungsansätze

Nach einer Statistik des *Centre for Diseases Control* (CDC) sind die verschiedenen Arten von Krebserkrankungen seit den 1940er Jahren in den USA die zweithäufigste Todesursache und sorgen dort für mehr als doppelt so viele Todesfälle wie jede andere, einzelne Todesursache, abgesehen von der häufigsten Todesursache, den Herzerkrankungen.^[1] Es kann festgestellt werden, dass die altersbereinigte, globale Krebs-Todesrate laut der 2019er GBD Studie des *Institute for Health Metrics and Evaluation* (IMHE) zwischen 1990 und 2019 um 15 % zurückgegangen ist,^[2] doch sollte dies als Ansporn verstanden werden, um weiteren Fortschritt bei der Prävention und Behandlung von Krebserkrankungen zu ermöglichen. Mit Stand vom 02.08.2023 sind 304 lizenzierte Krebs-Arzneistoffe bekannt, wobei durch die *Europäische Arzneimittel-Agentur* (EMA) nur 206 zugelassen sind und durch nationale europäische Behörden 50.^[3,4] Man kann daher sagen, dass zwar schon viel ergiebige Arbeit auf dem Gebiet geleistet wurde, aber immer noch Potential zur Verbesserung besteht.

Medikamente gegen Krebs sind teilweise seit fast 200 Jahren bekannt; Cisplatin beispielsweise wurde 1844 entdeckt,^[5] allerdings wird es erst seit den 1970er Jahren für medizinische Zwecke angewendet.^[6,7] Bei den ersten im Sinne einer intravenösen Chemotherapie angewandten Krebsmedikamente handelt es sich um Alkylierungsmittel, die von den in Deutschland entwickelten chemischen Kampfstoffen der beiden Weltkriege abgeleitet sind.^[8] Diese Medi-

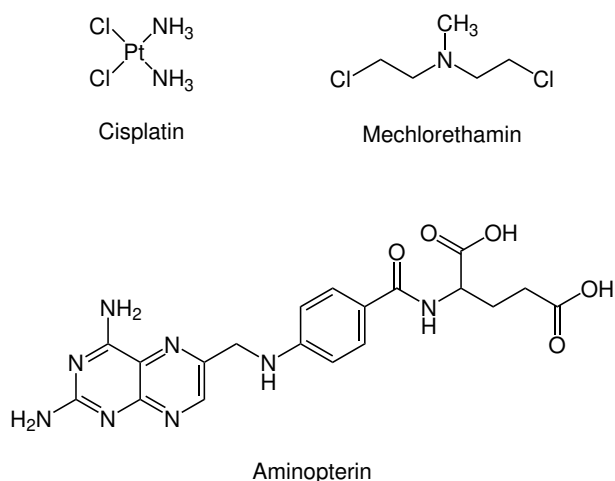


Abbildung 2.1: Drei frühe Krebsmedikamente, welche auf die DNA-Replikation wirken.

kamente (z. B. das N-Loth 2-Chlor-N-(2-chlorethyl)-N-methylethanamin, Abbildung 2.1)^[9,10] wirken vergleichbar mit Cisplatin durch eine Verbrückung der DNA-Einzelstränge über die Nukleobasen, wodurch die Replikation der krankhaft veränderten Zellen verhindert wird.^[11] Andere früh angewandte Krebsmedikamente (z. B. Aminopterin) hatten ebenfalls die DNA

der krankhaften Zellen als indirektes Ziel des Wirkmechanismus; hier wurde die Replikation durch Entzug der Nukleotide verhindert, was wiederum durch die Inhibition der Dihydrofolatreduktase erreicht wurde.^[12]

Problematisch ist an dieser Herangehensweise, wie allgemein bekannt, dass die entsprechenden Medikamente nicht selektiv für Krebszellen giftig sind, sondern genauso auch für jede andere Art Zellen. Ein Unterschied in der Wirkung ergibt sich rein aus der Tatsache, dass der Stoffwechsel in den Krebszellen gegenüber den gesunden Zellen beschleunigt ist und sie somit empfindlicher auf das Zytotoxin reagieren. Die Folgen sind mitunter starke Nebenwirkungen, die sich in einer allgemeinen Schwächung des Patienten zeigen, im Speziellen tritt häufig Haarausfall und starke Übelkeit auf. Auch Blutarmut (Anämie) ist typisch. Weil diese ursprünglichen Krebs-Medikamente oft selbst karzinogen sind, kann es in manchen Fällen sogar zu einer krebsartigen Folgeerkrankung kommen, die durch die Therapie ausgelöst wurde.^[13,14]

2.1.2 Krebsimmuntherapie

Aufgrund der Probleme mit Zytotoxin-basierten Krebs-Therapien setzt man bei moderneren Behandlungen zunehmend auf die Krebsimmuntherapie. Krebsimmuntherapie ist ein weitgefasserter Begriff; der Grundgedanke hierbei ist es, eine weniger aggressive und stattdessen mehr auf die natürlichen biologischen Prozesse im Körper zugeschnittene Methode zu wählen. Tatsächlich reichen die Denkansätze zur Krebsimmuntherapie in der Zeit sogar noch weiter zurück, als bei Chemotherapie und Strahlentherapie. Bereits im 18. und frühen 19. Jahrhundert führten einige Ärzte Versuche durch, die zeigen sollten, dass eine Art Immunisierung gegen Krebs möglich ist, vergleichbar mit Infektionskrankheiten.^[15] Die Theorie, dass Krebszellen vom Immunsystem des Menschen auf natürliche Weise beseitigt werden könnten, wurde erstmals 1909 von *Paul Ehrlich* konkret ausgeführt.^[16] Als Pionier der Krebsimmuntherapie gilt jedoch *William Coley*, der eine erfolgreiche Krebsbehandlung durch Injektion von abgetöteten *Streptococcus pyogenes*- und *Serratia marcescens*-Bakterien in das Tumorgewebe erreichen konnte.^[17–19] Dies wurde auf die durch die Bakteriensubstanz hervorgerufene Immunantwort zurückgeführt, wobei bis heute der Mechanismus dieser speziellen Theorie nicht vollständig geklärt ist.^[20]

Heutzutage sind einige der meistverkauften Krebs-Medikamente sogenannte Immunocheck-point-Inhibitoren. Dazu zählen beispielsweise *Opdivo* (Nivolumab), *Tecentriq* (Atezolizumab) und *Yervoy* (Ipilimumab).^[21] Es handelt sich bei diesen Arzneistoffen um monoklonale Antikörper, welche verschiedene Immunocheckpoints hemmen und so die Immunevasion der Krebszellen aufheben. Sie verhelfen also dem Körper zur natürlichen Regeneration ohne den Einsatz von Zytotoxinen. Wesentlich sind für den Wirkmechanismus zwei Signalwege: Das PD-1/PD-L1- und das CTLA-4/CD80/CD86-System. Letzteres wurde von dem Nobelpreisträger für Physiologie oder Medizin 2018, *James P. Allison* untersucht.^[22] An den PD-Proteinen forschte der im selben Jahr preis-gerühmte *Tasuku Honjo*.^[23] Abbildung 2.2 liefert eine Übersicht über die Rolle der besagten Proteine in der Krebsimmuntherapie: Mit Antigenpräsentierenden Zellen in Kontakt gekommene und dadurch aktivierte T-Zellen könnten die Tumorzelle angreifen, werden aber durch PD-Liganden auf der Tumorzelle, welche an die PD1-Rezeptoren auf der T-Zellen binden daran gehindert. Wird der PD1-Rezeptor jedoch durch Anti-PD1-Antikörper blockiert, bleibt die T-Zelle aktiv.

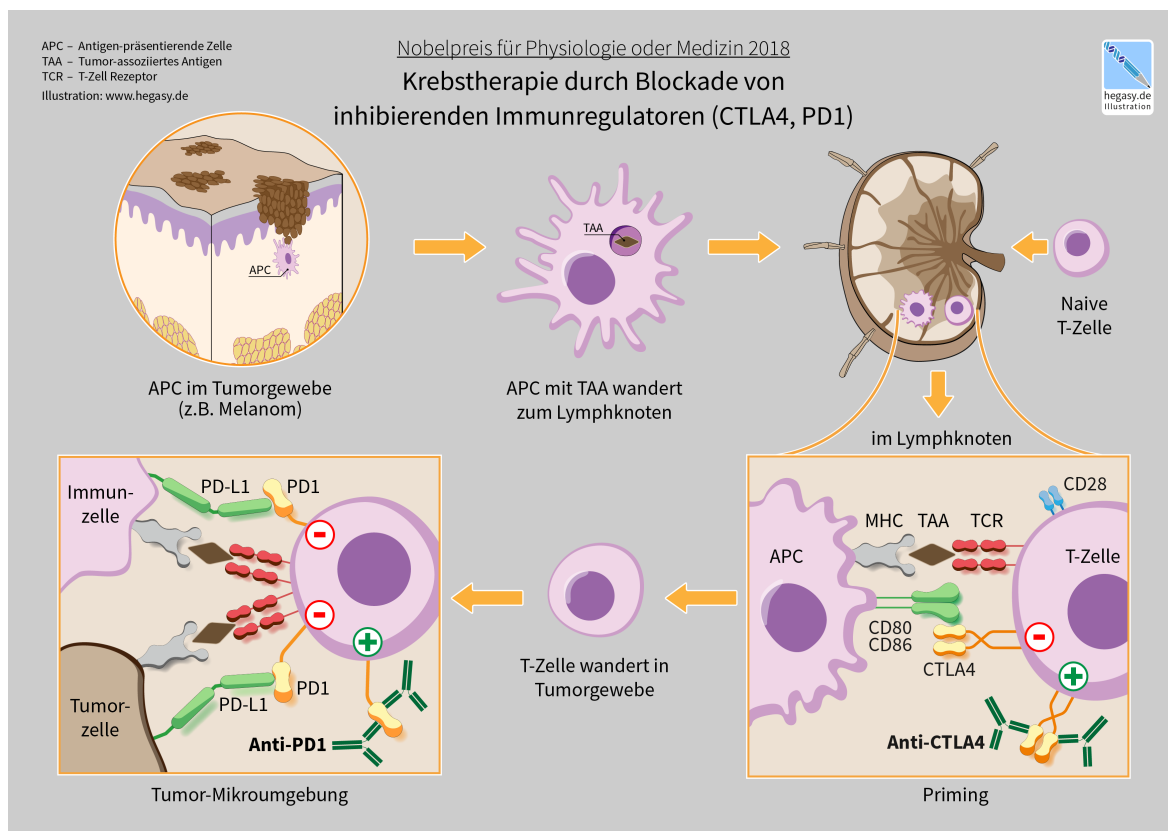


Abbildung 2.2: Darstellung der Rolle von PD1/PD-L1 und CTLA-4/CD80/CD86 bei der Krebsimmuntherapie. Bild von Guido4, erstellt 2018 und unter der Lizenz CC BY-SA 3.0 verteilt.^[24]

Nivolumab wirkt durch Bindung an den PD1-Rezeptor der T-Zellen, während Atezolizumab genau umgekehrt an den PD-L1 auf den Krebszellen bindet, somit also den selben Mechanismus der Immunevasion, aber mit einem anderem Angriffswinkel blockiert.^[25] Das letzte Beispiel, Ipilimumab, bindet an das CTLA-4.^[26]

2.1.3 Rolle des Siglec-7-Rezeptors

Sialinsäure-bindende Immunglobulinartige Lektine (Siglecs) sind in der Immunregulation von Bedeutung; genauer bei der Homöostase und der Selbst-Toleranz des Organismus und führen diese Rolle durch Erkennung von Glykoproteinen und -lipiden aus (Glyko-Immunocheckpoints).^[27] Sie gehören zu den sogenannten *Type I single-pass membrane proteins*, das bedeutet es handelt sich um Transmembranproteine, bei denen der *N*-Terminus in der extrazellulären Domäne liegt und die die Zellmembran nur an einer Stelle durchqueren. Wie der Name bereits andeutet steht die Bindung von Sialinsäure-Einheiten der Glykane an die Siglecs im Vordergrund. Sie erlauben dadurch die Unterscheidung zwischen körpereigenen und fremden Zellen, weil Sialinsäure-tragende Glykane praktisch in allen Säugetierzellen vorkommen und auch die Siglecs von den meisten Zellen des Immunsystems exprimiert werden. Siglec-7 gehört dabei von den beiden Subtypen von Siglecs zu den variablen, unter denen sich auch Siglec-5, 9, 10 und 14 finden. Einer verschiedenen Einteilung folgend gehört es zu den inhibitorisch wirkenden Siglecs, d. h. die Bindung eines Liganden an diesen Rezeptor führt zur Inhibierung der Immunzellprozesse. Das Spielfeld der Siglecs reicht somit von Entzündungsreaktionen über Autoimmunerkrankungen bis hin zu Krebs.

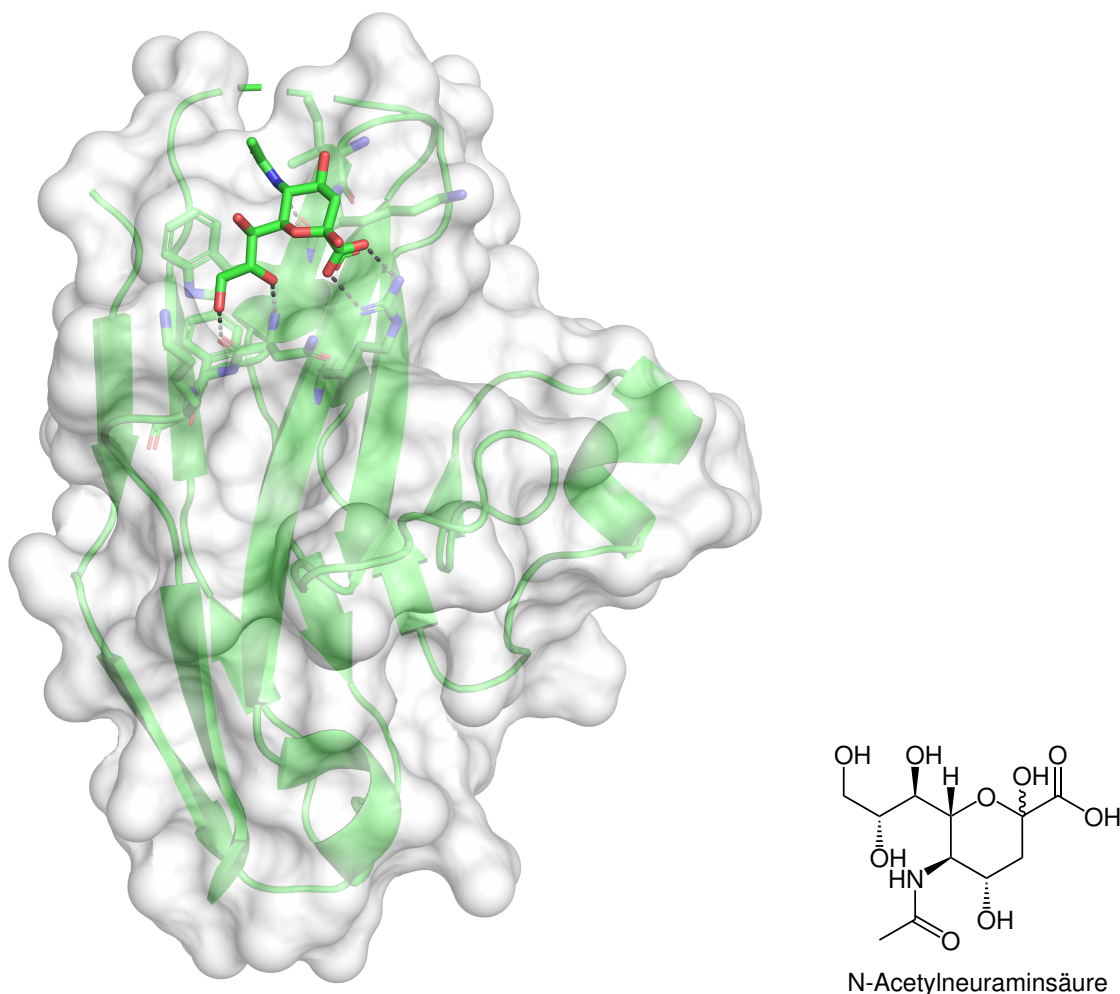


Abbildung 2.3: *Links*: Kristallstruktur von Siglec-7 (PDB 2HRL) im Komplex mit NANA (Sialinsäure). *Rechts*: Mill-Notation von NANA.

Einer der Gründe, warum in Krebspatienten die Immunabwehr gegen die Krebszellen nicht stattfindet, ist die Überexpression von Siglec-Liganden auf deren Zelloberfläche. Immunzellen, die normalerweise für die Lyse krankhaft veränderter oder körperfremder Zellen sorgen – beispielsweise die *natural killer cells* (NK-Zellen) – werden so an der Ausführung ihrer Tätigkeit gehindert. In dieser Funktion ist Siglec-7 nach bisherigem Wissensstand der wichtigste Rezeptor, da er von allen NK-Zellen exprimiert wird. Diese Rolle des Siglec-7 führte zu der Idee, entweder den Rezeptor selbst, oder die entsprechenden Liganden auf den Krebszellen bei der Entwicklung neuer Krebsimmuntherapien ins Visier zu nehmen (Abbildung 2.4). Sollte ein ausreichend starker Siglec-7-Inhibitor gefunden werden, könnte dieser im Patienten angewandt zur Rückgewinnung der körpereigenen Abwehr gegenüber den Krebszellen führen und somit eine neue Krebsimmuntherapie darstellen.

2.1.4 Theorien zur Bindung arylsubstituierter Sialomimetika an Siglec-7

Auf dem beschriebenen Gebiet konnten 2017 die Autoren um *Horst Prescher* grundlegende Arbeit leisten.^[28] Es wurde dort ein *Hit* entwickelt; ein Sialinsäure-Aryl-Konjugat des *small molecule*-Typs, welches gegenüber dem kleinsten bekannten Siglec-7-Liganden, der *N*-Acetyl-2-*O*-methylneuraminsäure 5000-fach stärker bindet (Abbildung 2.4). Bei diesem Liganden handelt es sich um ein in Position 9 Ethylsulfonamid-substituiertes Sialomimetikum, welches

ein Biphenyltriazolyl-substituiertes Aglykon beinhaltet. Es werden somit polare und unpolare Teile in einem Konjugat-Molekül vereint, ähnlich wie bei Glykolipiden oder Tensiden, was zu der verbesserten Bindung an Siglec-7 führt.

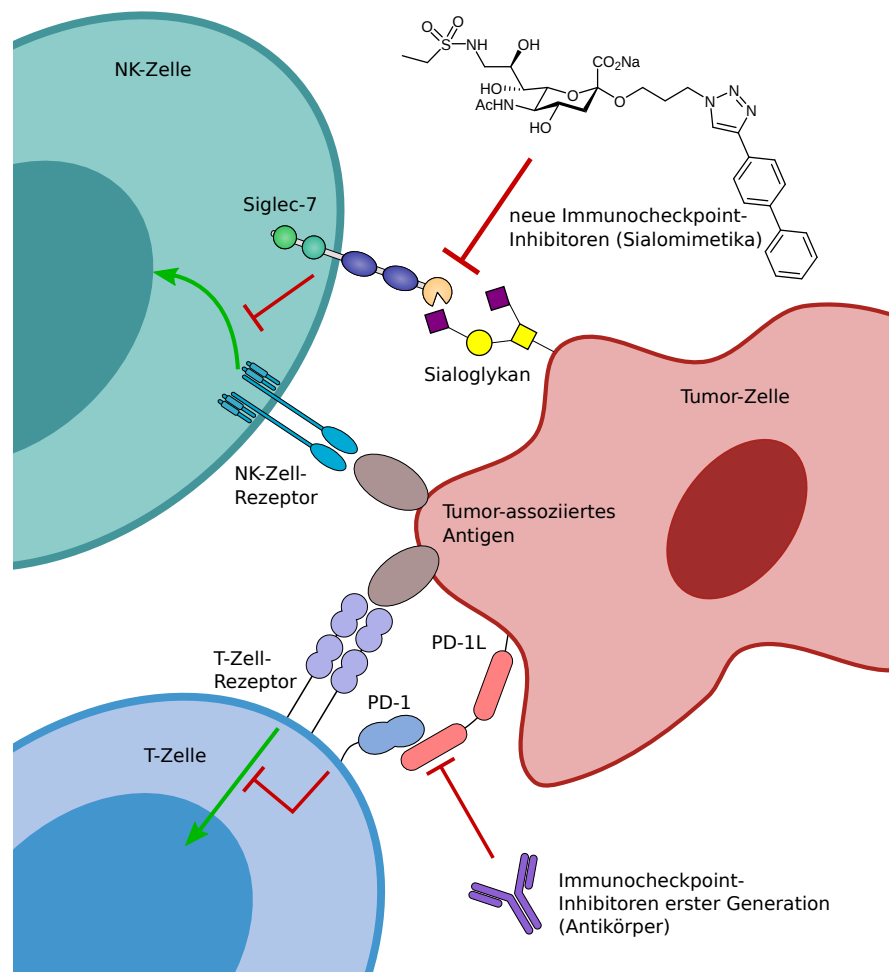


Abbildung 2.4: Konzept zum Wirkmechanismus von Sialomimetika als neue Medikamente der Krebsimmuntherapie im Vergleich zum Konzept der Krebsimmuntherapie-Medikamente der ersten Generation. Oben rechts im Bild der *Hit* aus der Arbeitsgruppe um *Brossmer* und *Prescher*.

Dieses Ergebnis sticht von daher hervor, dass selbst die natürlichen Siglec-7-Liganden nur geringe Affinität zeigen. Stattdessen wird die geringe Affinität *in vivo* durch wiederholte Präsentation eines Epitops auf einer Oberfläche umgangen (Polyvalenz). Auch in früheren Untersuchungen, unter anderem durch die aktuelle Nobelpreisträgerin *Carolyn Bertozzi* (Nobelpreis für Chemie 2022), konnten nur durch einen polyvalenten Ansatz Ergebnisse erzielt werden; dort wurden synthetische, mit Kohlenhydrat-Seitenketten versehene Polymere zur Modifikation der Glykokalyx eingesetzt.^[29] Vergleichbare Experimente wurden auch 2014 von *Norihito Kawasaki* et al. durchgeführt.^[30] Für klinische Zwecke sollten jedoch monovalente Substanzen erprobt werden, was für den Wirkmechanismus entscheidend ist, denn die Immunevasion der Krebszellen basiert wegen den polyvalenten Liganden der Krebszellen auf einem *clustering*, also dem Zusammendrängen der Siglecs auf der Membran durch Bindung an die transmembranen polyvalenten Liganden. Hierdurch kommt das inhibitorische Signale in der NK-Zelle zustande und kann durch stärkere Bindung der monovalenten Sialomimetika und damit durch die Vereinzelung der Siglecs hin zum Ausgangszustand wieder weggenommen werden.^[31]

Im für klinische Zwecke notwendigen Bereich befinden sich die biologischen Messwerte des oben genannten *Hits* mit $IC_{50} = 1.6 \mu\text{M}$ noch nicht, was *Hit Optimization* bzw. das Finden eines *Leads* nötig macht. Die Gruppe um *Prescher* variierte in ihrer Studie nur den Sialinsäure-Teil des Konjugats, während der Aryl-Teil unverändert gelassen wurde (Biphenyltriazol, *vide supra*). *Helen Attrill* et al. führten 2006 eine Kristallstruktur-Studie durch, bei welcher der entscheidende Teil des Siglec-7 mit einem synthetischen GT1b-Gangliosid-Analogen (Abbildung 2.5) kokristallisiert wurde, welches eine (Trimethylsilyl)ethylgruppe anstelle des natürlichen Lipids trug. Es konnte so die hydrophobe Tasche im Siglec-7 gefunden werden, welche vermutlich für die Bindung von *Prescher's Hit* verantwortlich ist. In dieser Tasche, welche durch Umlagerung der C-C'-Loop-Region zustande kommt, sorgt insbesondere der Aminosäurerest Tyr64 für die Bindung des Liganden. Mehr in Richtung des Kohlenhydrat-Teils des Liganden spielen noch Arg124 und Glu126 eine Rolle.^[32] Weiteren Aufschluss zur Design-Hypothese gibt ein Überlagerungsbild des GT1b-Analogons mit dem *Hit* (Abbildung 2.6).

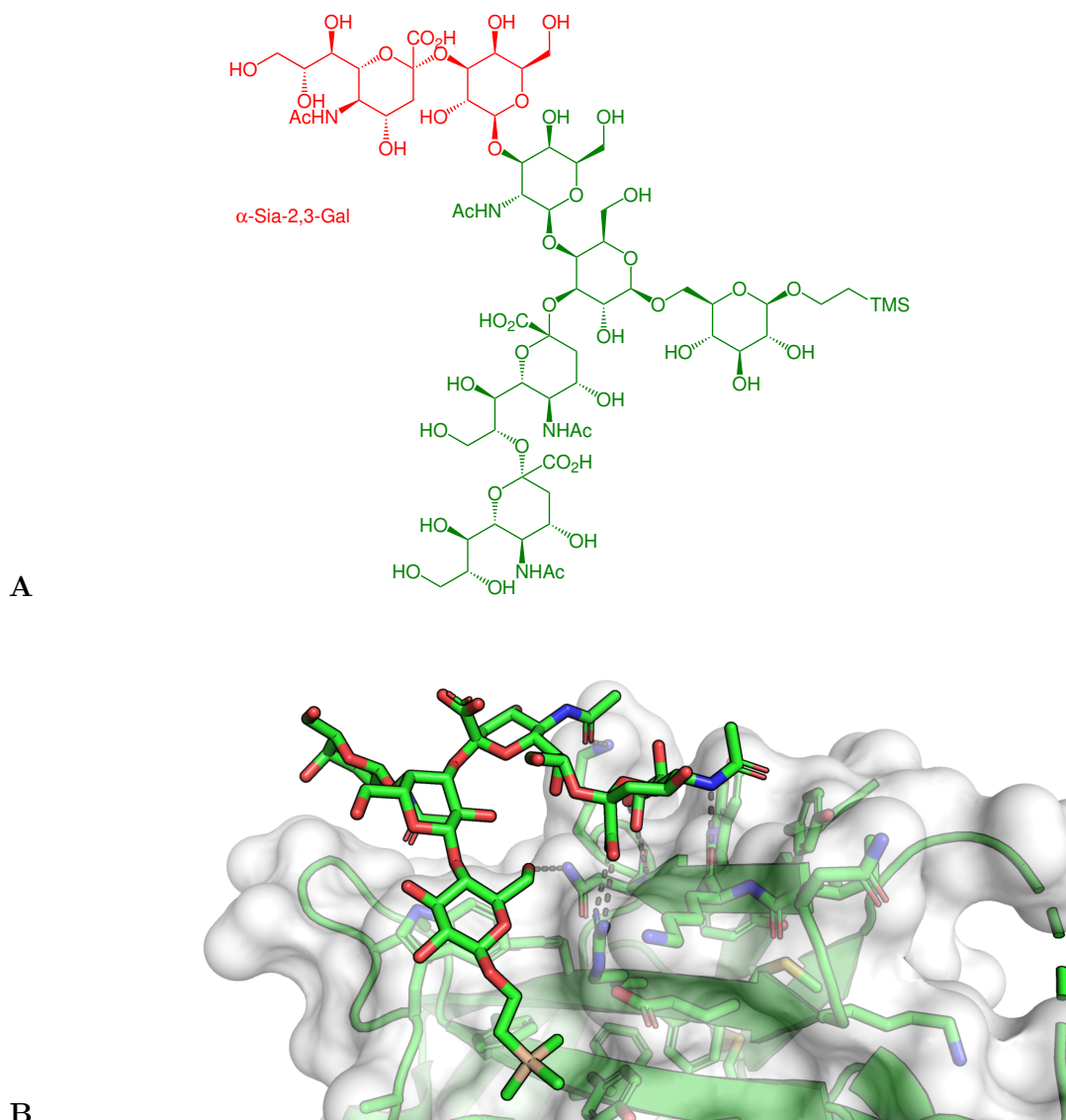


Abbildung 2.5: **A:** Synthetisches GT1b-Analogen von *Helen Attrill* et al.^[32] **B:** Kristallstruktur des GT1b-Analogons im Komplex mit Siglec-7 (PDB 2HRL). Die terminale α -Sia-2,3-Gal-Einheit fehlt in der Kristallstruktur aufgrund schlechter Auflösung dieses zum Lösungsmittel hingewandten Teils des Liganden.

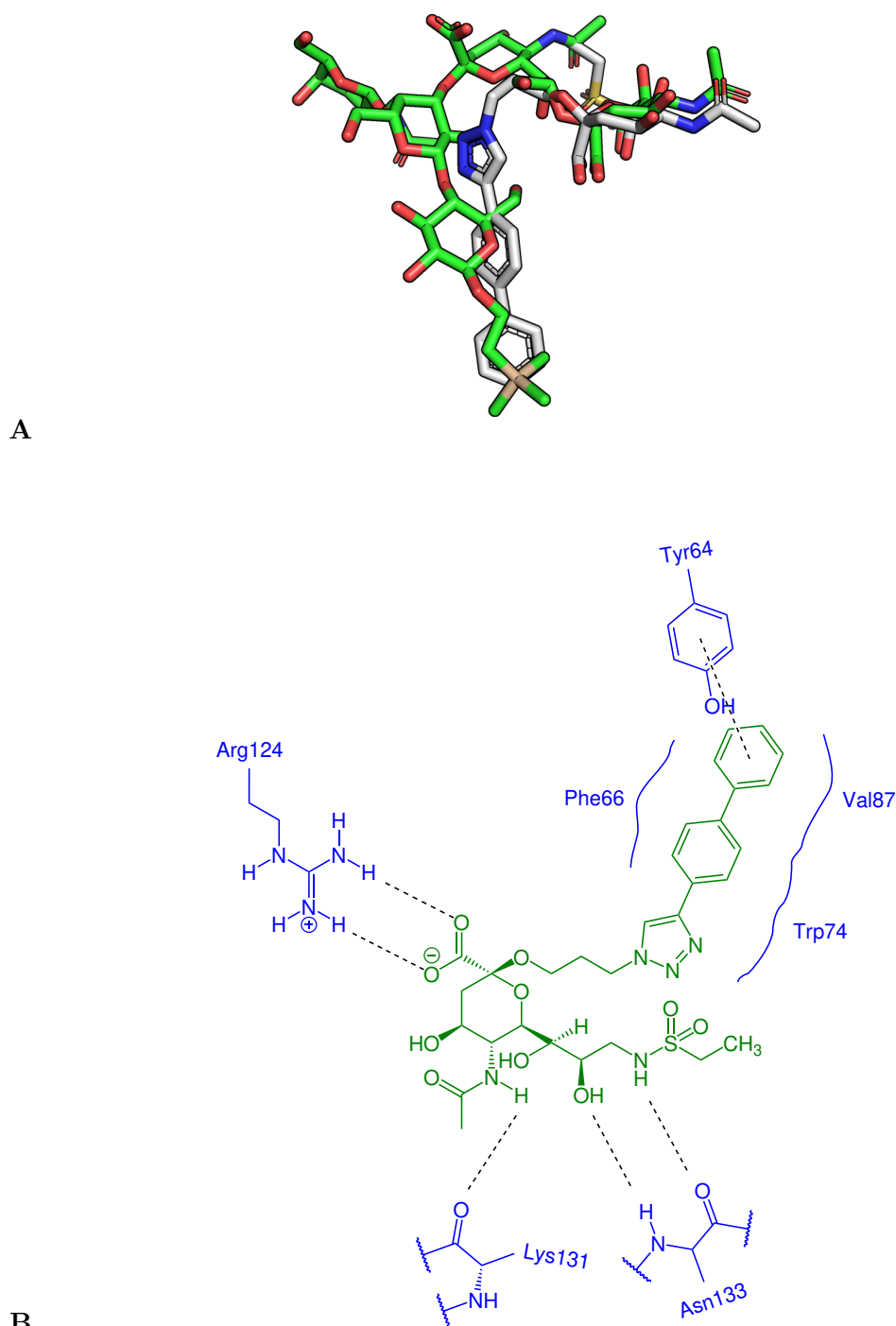


Abbildung 2.6: **A:** *Overlay* des GT1b-Analogons (grüne Kohlenstoffkette, zwei der Monosaccharid-Einheiten sind wie bei Abbildung 2.5 weggelassen) mit dem *Hit*-Sialomimetikum von *Prescher* (graue Kohlenstoffkette). **B:** Schematische 2D-Darstellung der Bindung des *Hits* (grün) an Siglec-7 (blau).

Entsprechend dieser Datengrundlage kann spekuliert werden, dass sich die Bindungsstärke des *Hits* erhöhen würde, wenn etwa an der 3-Position des Biphenylrests ein Chloratom angebracht würde. Dies würde eine Halogen- π -Bindung zum Tyr64 zur Folge haben. Eine weitere Möglichkeit zur Überprüfung der *halogen-bonding*-Theorie wäre der Austausch des Biphenyls zu einem 2-Phenyl-5-chlorthiophen. Auch in diesem Molekül ist das Halogenatom leicht gewinkelt an das Ende der Arylgruppe gebunden, wie im hypothetischen 3-Chlorbiphenyl-Target. Die hydrophoben Interaktionen des Arylrests zur Bindetasche bzw. die elektronischen

Eigenschaften des Arylrests könnten durch Substitution einzelner Wasserstoffatome durch Fluoratome oder Trifluormethylgruppen exploriert werden.

Einer zweiten Theorie zur Bindung des Sialomimetikums an das Siglec-7 nach könnte ein Wasserstoffbrücken-Donor in ungefähr der Mitte des Arylrests eingebaut werden. Auf diese Weise könnte der Akzeptor Glu126 zusätzlich angesteuert werden. Mögliche *Targets* wären hier ein 9*H*-Carbazol, welches den H-Brücken-Donor genau mittig des Arylrests trägt; ein Diphenylamin hingegen könnte den selben Zweck erfüllen und dabei noch größere Flexibilität ermöglichen. Außerdem überprüft werden könnte ein Phenyltetrazol, welches in etwa an derselben Stelle wie das Carbazol eine NH-Funktion trägt, jedoch andere elektronische Eigenschaften aufweist. Da Tetrazole einen sauren Charakter haben, könnte die Affinität durch elektrostatische Abstoßung zwischen Tetrazolat und Glutamat auch abnehmen, denkbar wäre hingegen auch die Verbrückung der beiden Anionen über ein einzelnes Proton. Abgesehen davon kommen die flexiblen Reste von Arg124 und Lys131 als H-Brücken-Donoren in derselben Region der Bindetasche in Frage, sodass bei Vorliegen des Tetrazolrings als Anion auch der umgekehrte Fall der Wasserstoffbrückenbindung vom Siglec-7 hin zum Arylrest des Sialomimetikums möglich wäre.

Zu guter Letzt wäre es von Vorteil, die Grenzen der Flexibilität der hydrophoben Bindetasche auszutesten, indem statt einem Stab-förmigen Biarylrest etwa ein gewinkelt anellierter Arylrest verwendet würde; diese Theorie wäre zum Beispiel mit einem 1-Naphthylrest oder einem 5-Isochinolinrest zu testen. Die Abbildung 2.7 zeigt eine Übersicht einiger beispielhafter Arylreste, welche anstelle des unsubstituierten Biphenyls in das Sialomimetikum eingebaut werden könnten um unsere Theorien zur Bindung an Siglec-7 zu prüfen.

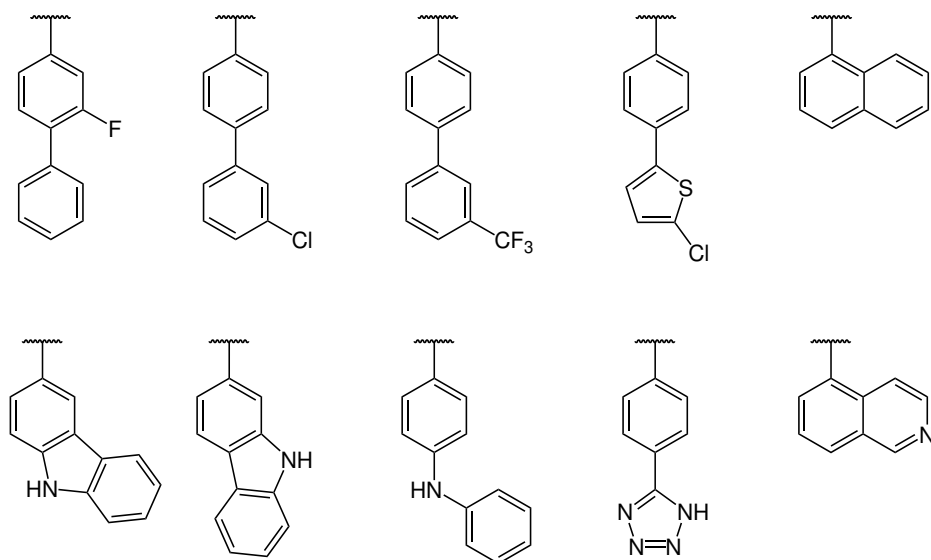
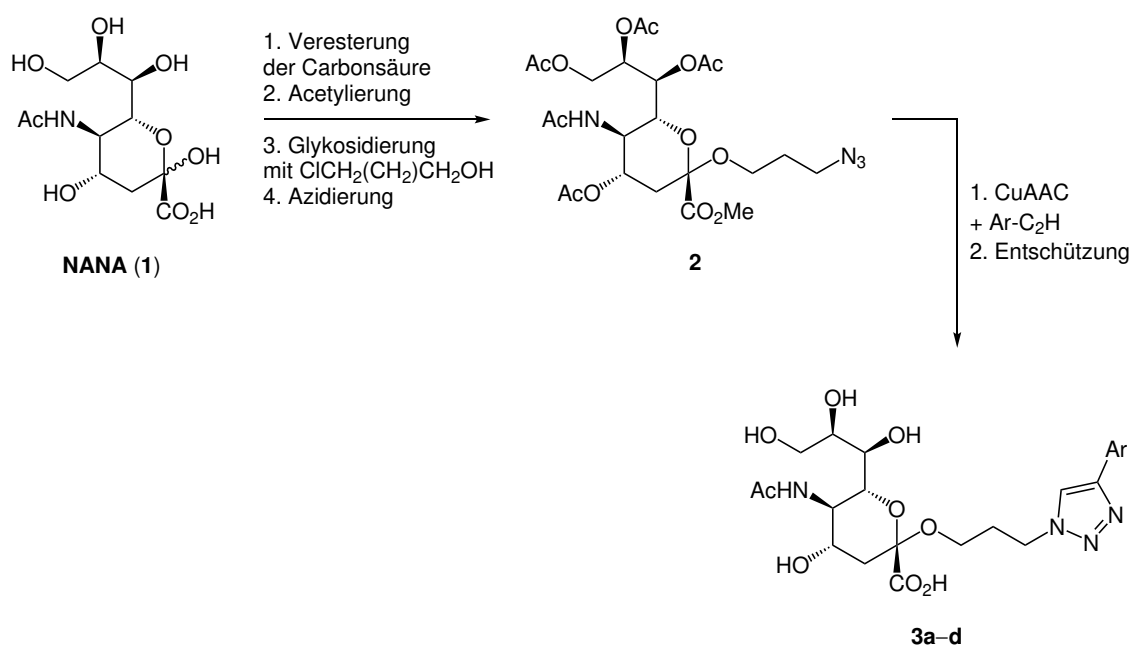


Abbildung 2.7: Beispielhafte Übersicht über potentiell die Bindung zwischen dem Sialomimetikum und Siglec-7 verbessernde Arylreste.

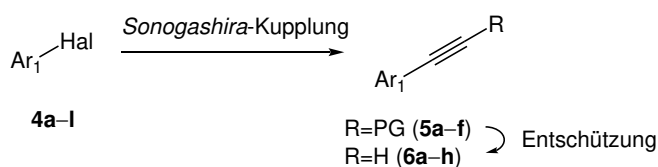
2.2 Aufgabenstellung

Inspiziert von der Arbeit von *Horst Prescher et al.*^[28] soll eine Reihe von Derivaten des in Schema 2.1 gezeigten Konjugats, bestehend aus *N*-Acetylneuraminsäure (**1**, NANA), welche *O*-glykosidisch über einen Alkyltriazolyl-Linker an einen variierenden Arylrest gebunden ist, synthetisiert werden. Dabei sollen die Arylreste variiert werden, wovon wir uns wegen der bekannten Flexibilität der hydrophoben Bindetasche von Siglec-7 (Abschnitt 2.1.4) Erfolg versprechen. Das benötigte Azid **2** soll ausgehend von NANA (**1**) präpariert und durch Kupfer-katalysierte Azid-Alkin-Cycloaddition (CuAAC) und anschließende Entschützung zum Zielkonjugat verbunden werden. Je nach kommerzieller Verfügbarkeit sollen die für die CuAAC benötigten Arylalkine ebenfalls selbst präpariert werden.



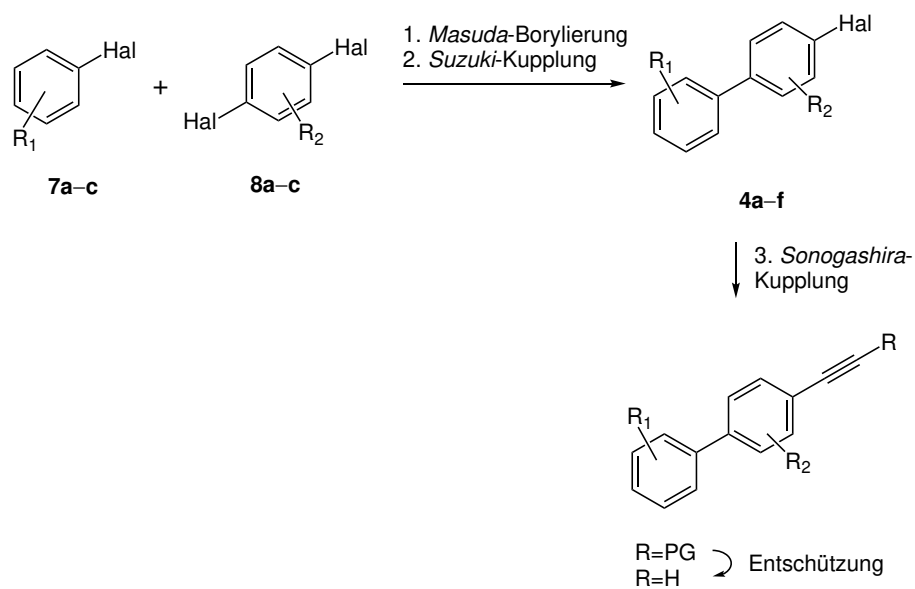
Schema 2.1: Reaktionsschema der Synthese von Sialomimetika.

Für die Präparation der Arylalkine soll Palladium-Katalyse im Sinne der *Masuda-Boryl*-ierung, der *Suzuki*-Kupplung und der *Sonogashira*-Kupplung angewendet werden um sowohl Biarylacetylene, als auch Monoarylacetylene für die CuAAC bereitzustellen (2.3 und 2.2).



Schema 2.2: Reaktionsschema der Monoarylalkin-Präparation durch *Sonogashira*-Kupplung.

Die so synthetisierten arylsubstituierten Sialomimetika sollen daraufhin mittels geeigneter biophysikalischer Messmethoden auf ihre Bindungsstärke an das Siglec-7 hin untersucht werden.



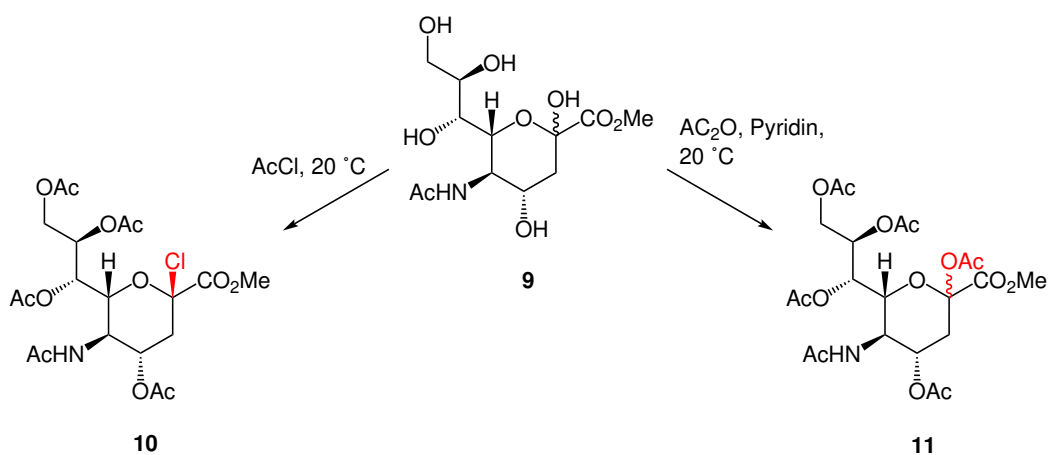
Schema 2.3: Reaktionsschema der Biarylalkin-Präparation durch verschiedene Palladium-katalysierte Reaktionen am Beispiel von beliebig substituierten Biphenylen.

2.3 Kenntnisstand und Literaturübersicht

2.3.1 Synthetischer Zugang zum Azid 2

Sialyldonoren

Als Edukt für die Sialomimetika-Synthesen sollte NANA (**1**) dienen. Es muss also zunächst das entsprechende Sialosid **12** gebildet und dann azidiert werden. Glykosylierungen mit Azidoalkoholen sind zwar ebenfalls möglich, jedoch sind die Azidoalkohole aus praktischen Gründen nicht in den benötigten Mengen verfügbar; die Handhabung ist nicht sicher. Der gängige Weg ist hier also, zunächst ein günstiges Aglykon mit einer Abgangsgruppe in der Glykosylierung zu verwenden, und die Abgangsgruppe nachfolgend durch Azid zu substituieren. Es ist in der Literatur eine große Bandbreite von Sialyldonoren bekannt; viele davon sind allerdings aufwändig herzustellen, da sie auf möglichst hohe Ausbeuten in der Glykosylierung optimiert wurden. Die meistverwendeten, leicht zugänglichen Sialyldonoren sind zum einen das Sialylchlorid **10**, welches üblicherweise in einer *Koenigs-Knorr*-Glykosylierung verwendet wird, und zum anderen das Sialylacetat **11**, welches mittels Bortrifluoridetherat oder anderen Lewis-Säuren als Promotor umgesetzt werden muss.^[33] Diese Sialyldonoren können beide aus dem Methylester **9** hergestellt werden (Schema 2.4). Wichtig ist für die vorliegende Arbeit, dass möglichst selektiv α -Sialoside erzeugt werden, weil diese die bzgl. Siglec-7 aktiven Stereoisomere sind. Relevante Anteile des β -Anomers in der gemessenen Probe würden somit die biophysikalischen Messwerte verfälschen.

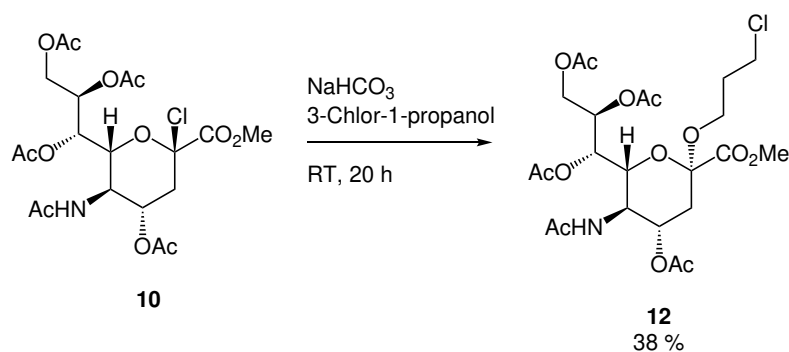


Schema 2.4: Synthese der beiden viel verwendeten, leicht zugänglichen Sialyldonoren 5-Acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-2-chlor-2,3,5-trideoxy-*D*-glycero- α -*D*-galacto-nonulopyranosäuremethylester (**10**) und 5-Acetamido-2,4,7,8,9-penta-*O*-acetyl-*D*-glycero- α -*D*-galacto-nonulopyranosäuremethylester (**11**) ausgehend vom Methylester **9**.^[34–36]

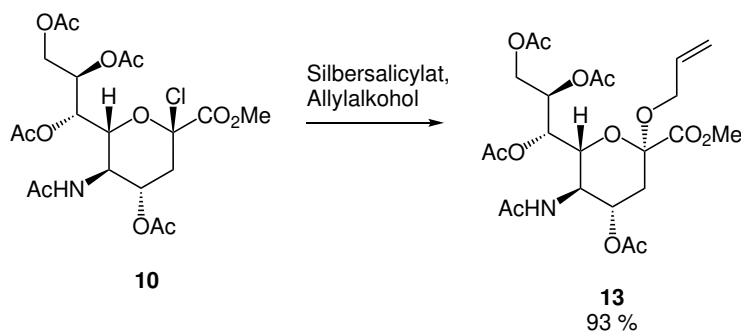
Evaluierung verschiedener Glykosylierungs-Methoden

Horst Prescher et al. synthetisierten das Sialosid **12** auf eine ungewöhnliche Weise; hier wurde das Sialylchlorid schlicht unter Zusatz von Natriumhydrogencarbonat im Aglykon (3-Chlor-1-propanol) gerührt (Schema 2.5). Nachteilig ist daran, dass eine Anomerenmischung des Sialosids erhalten wird, welches die Gruppe durch Kristallisation trennte.^[28] Die Autoren Vleugel und Roy beschrieben 1982 und 1987 eine besonders selektive Variante der *Koenigs-Knorr*-Methode, bei der Silbersalicylat statt den üblichen Silbersalzen Silbercarbonat oder

Silberoxid als Promotor verwendet wird (Schema 2.6).^[37,38] Die Methode wurde hauptsächlich an einfachen Alkoholen wie Allylalkohol, Methanol und Ethanol getestet.^[39]

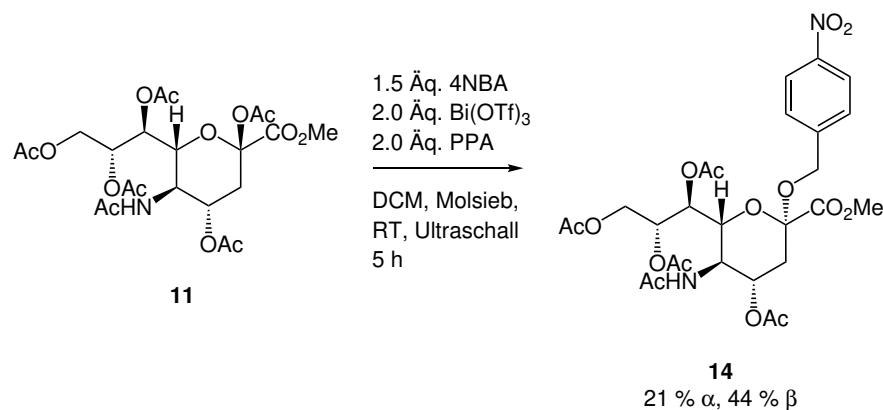


Schema 2.5: Glykosylierung des Sialylchlorids **10** mit 3-Chlor-1-propanol nach *Prescher et al.*^[28]



Schema 2.6: Glykosylierung des Sialylchlorids **10** mit Allylalkohol nach der *Koenigs-Knorr*-Methode, durchgeführt von *Roy et al.*^[38]

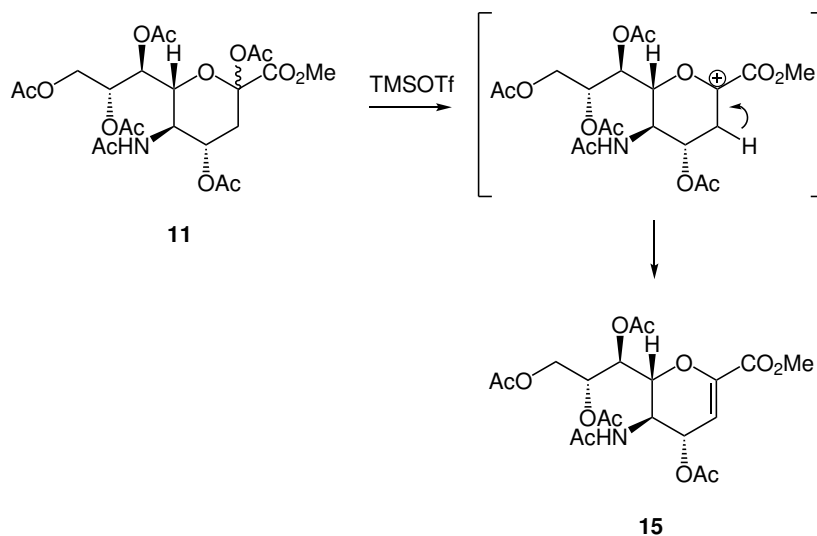
Eine vergleichsweise effiziente Glykosylierungsreaktion unter Verwendung des Acetatdonors **11** wurde 2003 von *Kiyoshi Ikeda et al.* vorgestellt.^[40] Hier wurde ein Promotor- bzw. Katalysatorsystem aus den Komponenten $\text{Bi}(\text{OTf})_3$ und Polyphosphorsäure (PPA) verwendet (Schema 2.7). Es wird davon ausgegangen, dass Triflinsäure – welche in der Reaktion dieser Komponenten miteinander freigesetzt wird – der eigentliche Katalysator für die Glykosylierung sein könnte. Auch mit der Kombination $\text{Bi}(\text{OTf})_3$ und Bortrifluoridetherat konnten die Autoren eine Verbesserung von Umsatz und α -Selektivität gegenüber der oft angewandten Glykosylierung mit Bortrifluorid als einziger Promotor-Komponente feststellen. Die Glykosylierung des Sialylacetats liefert zwar von den hier beschriebenen Methoden die niedrigsten Ausbeuten und ist auch nicht so stereoselektiv wie etwa die *Koenigs-Knorr*-Methode, birgt allerdings den Vorteil der einfachen Sialyldonor-Präparation.^[36] Durch den Verzicht auf Acetylchlorid als Reagenz in der Schützung der Hydroxygruppen (stattdessen wird Ac_2O verwendet) und durch die höhere Stabilität des Sialylacetats **11** gegen Wärme und Wasser entfallen viele Probleme des praktischen Arbeitens mit dem Donor. Weiterhin können die Anomere des Sialylacetats durch Normalphasen-Chromatographie getrennt werden, was im Bereich der Sialoside für gewöhnlich nicht möglich ist.



Schema 2.7: Glykosylierung des Sialylacetats **11** mit *p*-Nitrobenzylalkohol nach Ikeda et al.^[40]

Probleme in der Glykosylierung von Sialinsäuren

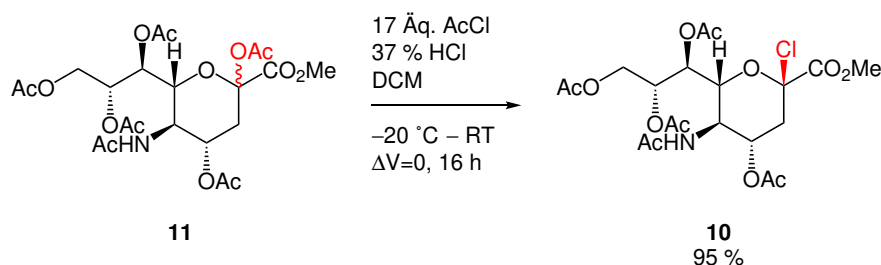
Eine bekannte Nebenreaktion der Glykosylierungsreaktionen von Sialinsäuren ist eine Eliminierung der Gruppe am anomeren Zentrum, zusammen mit einem Proton der Position 3. Diese Reaktion ist durch das Fehlen der Hydroxygruppe in der Position 3, sowie durch die wegen dem elektronenziehenden Charakter der Säuregruppe auf das anomere Zentrum herabgesetzte Stabilität des intermediär auftretenden Oxocarbeniumions im Vergleich z. B. zu gewöhnlichen Hexosen begünstigt. Je nach Reaktivität des eingesetzten Aglykons kann diese Nebenreaktion zu einem Problem werden. Bei ausreichender Reaktivität ist nicht davon auszugehen, dass das Nebenprodukt gebildet wird; der Reaktionsmechanismus ist kinetisch gesteuert. Es wird daher auch in der Regel bei den Glykosylierungsreaktionen der Sialinsäuren auf Wärmezufuhr verzichtet. Deutlich wird der Sachzusammenhang beispielsweise dann, wenn überhaupt kein Glykosid-Akzeptor eingesetzt wird, sondern der Glykosid-Donor nur mit dem jeweiligen Promotor zusammen gerührt wird. Auf diese Weise lässt sich der Sialyldonor quantitativ in das als "Glycal", bezeichnete Nebenprodukt überführen (Schema 2.8).



Schema 2.8: Quantitative Bildung des Glycals **15** aus dem Sialylacetat **11**, hier beispielhaft mit TMSOTf.^[39]

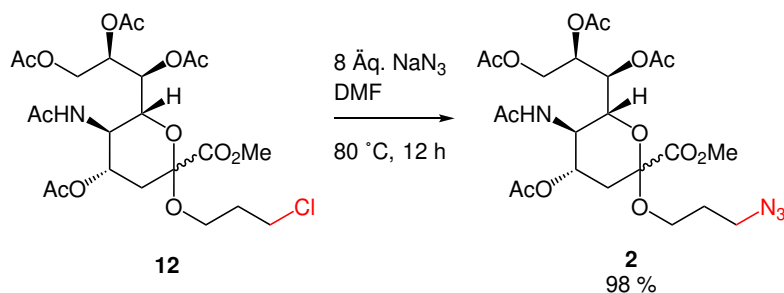
Umwandlungen funktioneller Gruppen

Eine weitere Methode, welche zur Optimierung der Glykosylierung in Betracht gezogen werden könnte ist die Überführung des Sialylacetats **11** in das Sialylchlorid **10** (Schema 2.9). Dies ist etwa durch Einwirken von gasförmigem Chlorwasserstoff oder konzentrierter Salzsäure in einem aprotischen / nicht nukleophilen Lösungsmittel wie DCM möglich. Eine solche Herangehensweise würde die Vorteile der Sialylacetatsynthese (einfache Herstellung, gute Lagerbeständigkeit) mit denen der *Koenigs-Knorr*-Glykosylierung vereinen (hohe Selektivität und Ausbeute), wobei der Einfluss dieses zusätzlichen Schrittes auf die Gesamtausbeute zu überprüfen wäre. Auch bei dieser Transformation ist es nötig, im Überschuss Acetylchlorid einzusetzen, um die gebildete Essigsäure und ggf. Wasserspuren aufzufangen, wobei also mindestens ein Äquivalent Acetanhydrid als Nebenprodukt gebildet wird. Für vollständigen Umsatz muss die Reaktion außerdem im Bombenrohr ausgeführt werden, da sonst ein Teil des Chlorwasserstoffs entweicht bevor es reagieren kann. Es ist insoweit fraglich, ob diese Umwandlung funktioneller Gruppen (UfG) gegenüber der direkten Bildung des Sialylchlorids **10** aus dem Methylester **9** von Vorteil wäre.^[41]



Schema 2.9: UfG vom Sialylacetat **11** zum Sialylchlorid **10** nach *Shelke et al.*^[41]

Die Umsetzung des Sialosids **12** zum für die Synthese der arylsubstituierten Sialomimetika benötigten Azid **2** ist ebenfalls eine UfG und wurde in der Literatur bereits an zwei verschiedenen Stellen mit sehr guten Ausbeuten beschrieben (Schema 2.10).^[28,42]

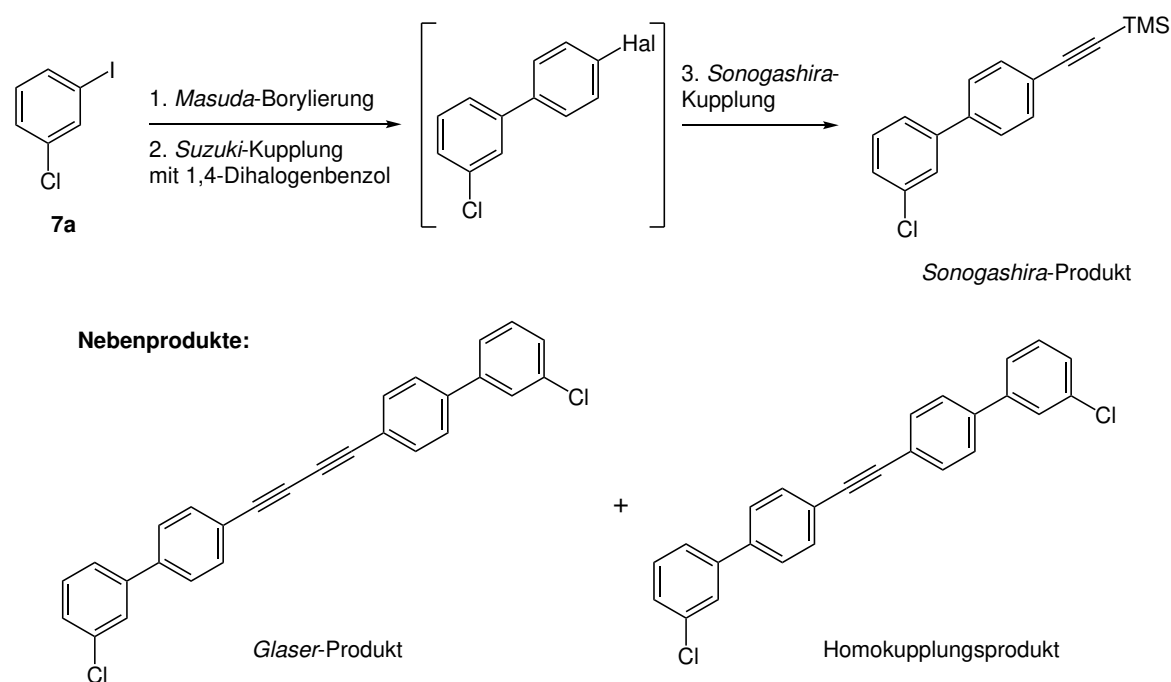


Schema 2.10: UfG des Sialosids **12** zum Azid **2**.^[28,42]

2.3.2 Synthese von Biarylacetylenen

Die für die Synthese von Sialomimetika mit Biaryl-Derivaten als Arylteil benötigten Biarylacetylene sollten aufgrund mangelnder kommerzieller Verfügbarkeit selbst synthetisiert werden. Problematisch bei Ein-Topf-Synthesen von Silylgeschützten Biarylacetylenen auf Grundlage von Palladiumkatalyse ist, dass die TMS-Gruppe in Gegenwart des bei der Suzuki-Kupplung nötigen Cäsiumcarbonats labil ist. Dies führt bei Verwendung von TMSA als Alkylierungsreagenz zu Nebenreaktionen wie zum Beispiel Homokupplung (entsprechend der

Glaser- oder der *Hay*-Kupplung)^[43] oder auch zu symmetrischen Kupplungen und damit zu Bis(biaryl)acetylenen (Schema 2.11).^[44] Eine *Masuda*-Borylierungs–*Suzuki*-Kupplungs–*Sonogashira*-Kupplungs–Sequenz^[45] ist daher praktisch nur möglich, wenn z.B. TIPSA statt TMSA verwendet wird, denn die TIPS Schutzgruppe auf terminalen Alkinen ist gegen Cäsiumcarbonat stabil. Allerdings ist das Alkinierungsreagenz TIPSA teurer als TMSA und würde auch die Verwendung von Fluorid zur Abspaltung der Schutzgruppe im darauffolgenden Schritt notwendig machen, während die TMS-Gruppe wie beschrieben leicht mit ungiftigen Alkalien abspaltbar ist.



Schema 2.11: Strukturformeln unerwünschter Nebenprodukte am Beispiel eines 3-Chlorbiphenyls, die bei Anwendung einer MSS-Sequenz gebildet werden könnten. Links das *Glaser*-Produkt, rechts das Homo-Kupplungsprodukt.

Die hier als Zwischenprodukte auftretenden Halogenbiphenyle zeigen oft denselben R_f -Wert wie deren Edukte, was die säulenchromatographische Isolation solcher Produkte erschwert. Von guter Kristallisierbarkeit silylgeschützter Biphenylacetylene kann außerdem nicht ausgegangen werden; einige polyfluorierte Biphenylderivate sind als Bestandteile patentierter Flüssigkristalle bekannt.^[46] Beschrieben sind von den hier verfolgten Biarylacetylenen in der Literatur zudem praktisch keine; auch deren halogenierte Biaryl-Vorläufer sind nur in wenigen Fällen der Literatur bekannt.^[47–52] Wegen solchen Bedenken bzgl. der Aufarbeitung der Biphenylacetylene ist die zunächst wegen des geringeren Zeitaufwands attraktiv erscheinende MSS-Sequenz im Bereich der Biphenylacetylene schwer anwendbar. Dennoch verbleibt die Möglichkeit, durch MBSK-Sequenzen und anschließende *Sonogashira*-Kupplung und TMS-Entschützung in wenigen Schritten zugänglich zu machen.

2.3.3 Triazolylphenyltetrazole in Kohlenhydrat-basierten Konjugaten

Der Überprüfung der Theorie einer verbesserten Bindung des Sialomimetikums an Siglec-7 folgend sollte eine synthetische Route gefunden werden, durch die das schlecht kommerziell verfügbare 5-(4-Ethynylphenyl)-1*H*-tetrazol oder entsprechende synthetische Äquivalente zugän-

gig sind. Die durch die anschließende CuAAC entstehende 5-(4-(1,2,3-1*H*-Triazol-4-yl)phenyl)-1*H*-tetrazol-Einheit wurde schon seitens der *Curtin University* in Glyko-Konjugaten in der medizinischen Chemie eingesetzt (Abbildung 2.8); dort zu intrazellulären Bildgebungszwecken. Tetrazolgruppen sind in vielen prominenten Arzneistoffen als zu Carbonsäuren bioisostere Gruppen enthalten, was dort mit verbesserten pharmakokinetischen Eigenschaften in Verbindung gebracht wird (*Sartane*).^[53] Gleichwohl ist die hier relevante Triazolylphenyltetrazol-Einheit bisher kaum bekannt und stellt für sich genommen ein interessantes Strukturmotiv dar. In den patentierten Konjugaten der *Curtin University* wurde diese Einheit ebenfalls durch Click-Chemie an ein azidiertes Saccharid angebracht und diente dort einem Metallkomplex (**16**) als Ligand.^[54] Eine Parallele zu der vorliegenden Arbeit kann insoweit gezogen werden, dass in beiden Fällen ein Aryl-Glyko-Konjugat mit einem Alkyltriazolyl-Linker vorliegt; lediglich die Alkylkette ist im gezeigten Literaturbeispiel um eine Methylengruppe kürzer als in den Sialomimetika dieser Arbeit.

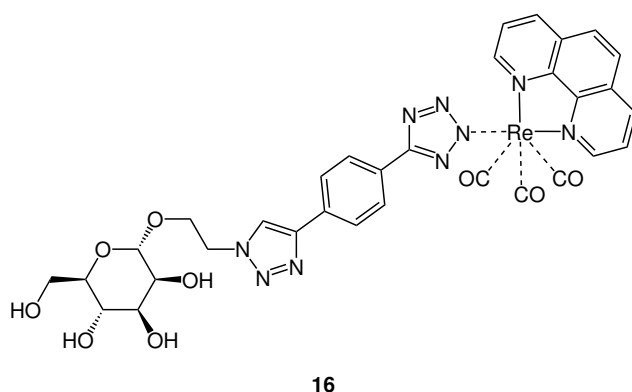
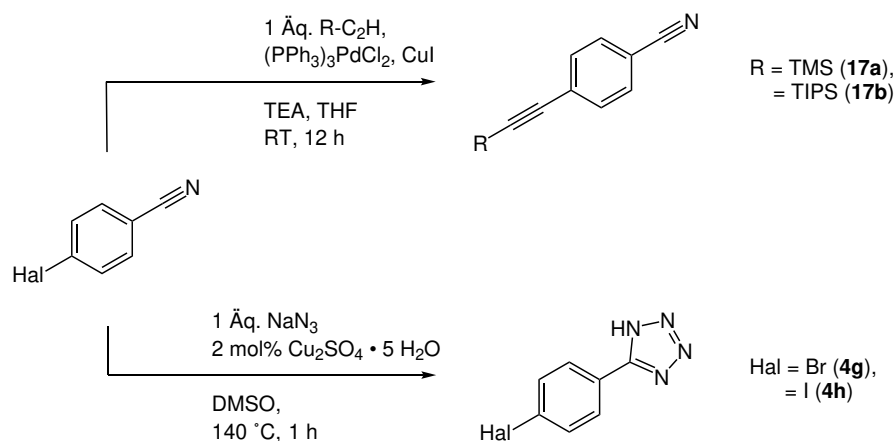


Abbildung 2.8: Patentiertes Triazolylphenyltetrazol-verbrücktes Rhenium-Komplex-Glyko-Konjugat zur intrazellulären Bildgebung.^[54]

Die Autoren des *Curtin University* Patents beschrieben für das von ihnen verwendete 5-(4-Ethynylphenyl)-1*H*-tetrazol keine Synthese; auch in der Literatur findet sich hierzu keine Erwähnung. Nur Vorläufer dieses Alkins sind literaturbekannt, z. B. die CuNAC-Vorläufer 4-((Trimethylsilyl)ethynyl)benzonnitril (**17a**) oder 4-((Triisopropylsilyl)ethynyl)benzonnitril (**17b**) oder die *Sonogashira*-Vorläufer 5-(4-Bromphenyl)-1*H*-tetrazol (**4g**) oder 5-(4-Iodphenyl)-1*H*-tetrazol (**4h**) (Schema 2.12).

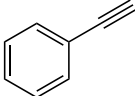
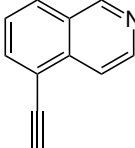
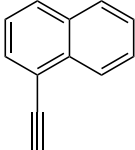
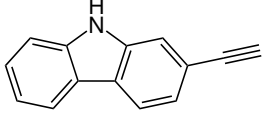
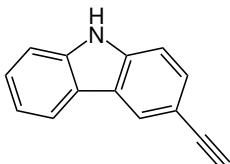
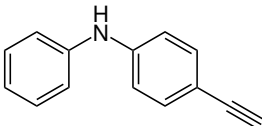


Schema 2.12: Auswahl literaturbekannter Vorläufersynthesen für die Darstellung von 5-(4-Ethynylphenyl)-1*H*-tetrazol.^[55–58]

2.3.4 Synthese von Monoarylacetylenen

Der einfachste Fall von Eduktsynthesen in der vorliegenden Arbeit ist die Präparation der Monoarylacetylene. Hier kann schlicht die *Sonogashira*-Kupplung ausgehend von käuflichen Arylhalogeniden angewandt werden. In der Regel sind die benötigten Alkine aus dieser Gruppe literaturbekannt; in vielen Fällen laufen die Kupplungen hier sogar bei Raumtemperatur ab. Die TMS-Gruppe lässt sich nach der Kupplung mit methanolischem Kaliumcarbonat abspalten. Es sei hier noch ein mal eine Übersicht über bekannte Synthesen von Monoarylacetylenen gegeben, welche sich in der Synthese unserer Sialomimetika einsetzen ließen (Tabelle 3.1).

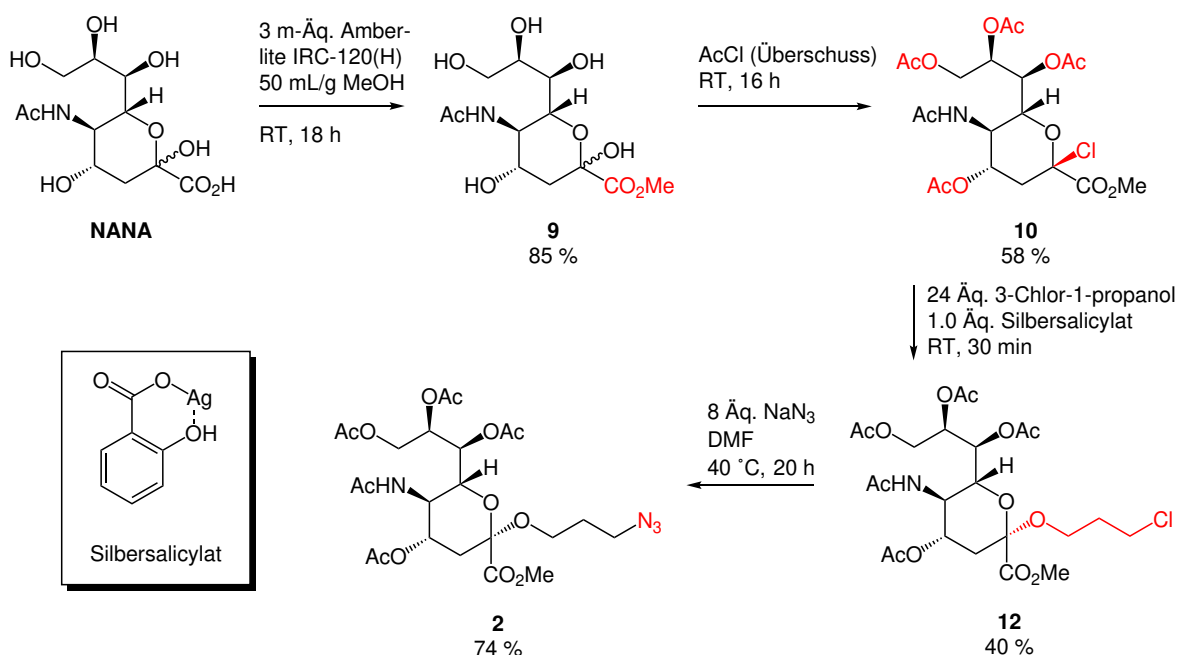
Tabelle 2.1: Erhältlichkeit und Bekanntheitsgrad verschiedener Monoarylacetylene.

Name	Struktur	Status
Phenylacetylen (6a)		käuflich
5-Ethynylisochinolin (6b)		hochpreisig käuflich; Sonogashira ausgehend von 5-Bromisochinolin mit TMSA bekannt ^[59]
1-Ethynyl-naphthalin (6c)		käuflich
2-Ethynyl-9 <i>H</i> -carbazol (6d)		literaturbekannt: Sonogashira ausgehend vom Bromid mit TMSA ^[60]
3-Ethynyl-9 <i>H</i> -carbazol (6e)		wie 2-Ethynyl-9 <i>H</i> -carbazol
<i>N</i> -(4-Ethynylphenyl)phenylamin (6f)		unbekannt

3 Hauptteil

3.1 Synthese des Azids **2**

Das für die Click-Reaktionen benötigte Azid **2** konnte ausgehend von NANA (**1**) in vier Schritten mit einer Gesamtausbeute von 15 % hergestellt werden. Dazu wurde erst nach der bekannten Methode von *Kuhn*^[35] der Methylester **9** gebildet, wobei eine Verbesserung der Literaturvorschrift darin gefunden wurde, den Methylester nicht durch bloßes Entfernen des Methanols zu isolieren, sondern dieser durch Verdünnen des methanolischen Konzentrats mit Toluol ausgefällt wurde. Diese Vorgehensweise hat den Vorteil, dass eine in Methanol lösliche, rote Verunreinigung aus dem katalytisch wirkenden sauren Ionenaustauscher abgetrennt wird. Weiterhin hat die Fällung den Vorteil, dass das Produkt leichter zu trocknen ist, weil sich Reste des Methanols schwer entfernen lassen. Toluol hingegen ist durch Lufttrocknung schnell entfernbare. Versuche mit den Lösungsmitteln DCM, CHCl₃, *i*PrOH, *n*Hex und Benzin hingegen gaben keine guten Ergebnisse. Indessen wurden bei der Anwendung verschiedener Ionenaustauscher-Varianten keine bedeutenden Unterschiede festgestellt.



Schema 3.1: Vierstufige Synthese des Azids (**2**) ausgehend von NANA.^[28,33–35,37,39,42,61]

Als Sialyldonor wurde durch simples Rühren des Methylesters **9** in Acetylchlorid das Sialylchlorid **10** erzeugt. Bei diesem Schritt scheinen einige nicht näher bekannten Nebenreaktionen abzulaufen, was sich in der Farbe der Reaktionslösung und des Produktes sowie den niedrigen Ausbeuten zeigte. Identifiziert werden konnte nur das Nebenprodukt, welches z. B. wie eingangs beschrieben durch Eliminierung von Chlorwasserstoff am Sialylchlorid **10** entstehen könnte, also dem Glycal **15**. Dieses war durch übliche Methoden wie Säulenchromatographie

oder Umkristallisation schwer bis gar nicht abzutrennen. Es sei jedoch bemerkt, dass die Anwesenheit des Glycals bei keiner der folgenden Reaktionen zu stören schien. Das Glycal ist in den Folgeschritten inert. Lediglich im letzten Schritt – der Azidierung – war es möglich, das Glycal durch Reversed-Phase Flash-Säulenchromatographie abzutrennen. **2** konnte so nach Lyophilisation als beinahe weißes Pulver erhalten werden.

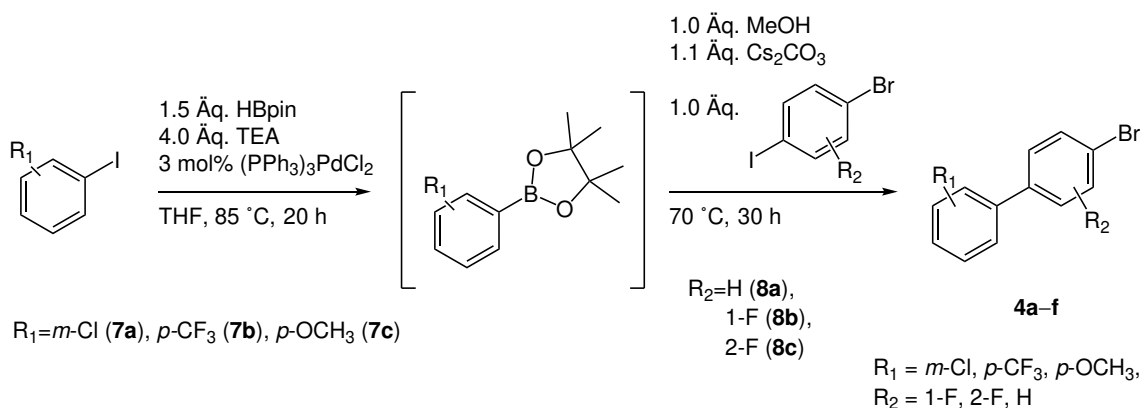
Bei der Glykosylierung und der Azidierung wurde entsprechend den im vorigen Kapitel beschriebenen Literaturvorschriften vorgegangen. Es wurde die *Koenigs-Knorr*-Methode unter Verwendung des Promotors Silbersalicylat ausgewählt, welcher aus Salicylsäure und Silbernitrat präpariert wurde. Die bei vielen anderen Silbersalzen übliche Zersetzung durch Lichteinwirkung wurde beim Silbersalicylat nicht beobachtet. Eine weitere Verbesserung gegenüber dem Literatur-Kennntnisstands war bei der UfG zum Azid möglich: Hier konnte im kleinen Reaktionsansatz (100 mg) schon bei 40 °C vollständiger Umsatz erzielt werden. Allerdings war es nicht möglich, dieses Ergebnis im Gramm-Maßstab zu reproduzieren. Ein möglicher Faktor hierbei könnte die Löslichkeit des Natriumazids im DMF sein; bei den größeren Versuchsansätzen wurden keine proportional großen Mengen DMF eingesetzt, wie bei dem kleinen Ansatz. Dennoch waren auch bei größeren Ansätzen und Reaktionstemperaturen bis 80 °C gute Ausbeuten möglich. Bei der Aufarbeitung der Azidierung konnte auf die in der Literatur angegebenen Extraktion verzichtet werden. Das überschüssige Natriumazid konnte viel leichter durch Verdünnen der Reaktionslösung mit dem Vielfachen Volumen trockenem Ethylacetat ausgefällt und abfiltriert werden. Danach muss nur noch das Lösungsmittel entfernt werden wodurch mögliche Ausbeuteverluste bei der Extraktion umgangen wurden.

Das so hergestellte Azid enthielt noch einige verwandte Verunreinigungen wie etwa das besagte Glycal **15** oder das Sialosid **12**. **2** wurde in den Click-Ansätzen der vorliegenden Arbeit ohne weitere Aufreinigung eingesetzt. Generell kann gesagt werden, dass in verschiedenen Ansätzen der einzelnen Schritte in der Synthese des Azids **2** immer wieder unterschiedliche Anteile des Glycals **15** gefunden wurden. Als diagnostisches Signal im NMR dient bei Verwendung von Deuteriochloroform oder Deuteromethanol als Lösungsmittel das Dublett bei 6 ppm, welches im Glycal dem Alken-Signal aus Position 3 zugeordnet werden kann. In diesem Bereich liegt bei allen anderen Sialinsäure-artigen Spezies nie ein anderes Signal, weswegen hier die Zuordnung eindeutig ist. Es kann allerdings nicht eindeutig bewiesen werden, in welchem Schritt das Glycal ursprünglich entstand oder ob es in mehreren der Reaktionsschritte gebildet wurde. Deutlich nachweisbar wird es mit den zur Verfügung stehenden Analysemethoden erst ab dem Schritt der Glykosylierung, wobei auch bei einzelnen Messungen des Sialylchlorids **10** bereits ein geringer Anteil an Glycal beobachtet wurde. Es gilt zu beachten, dass die Verunreinigung bei der Berechnung der Ausbeute nicht beachtet wurde und daher die Ausbeuten in Schema 3.1 tatsächlich etwas höher sein könnten.

3.2 Synthese der Arylalkine

3.2.1 Halogenierte Biphenyl-Derivate 4a–f

Bei der Verfolgung der MBSK-Sequenz-Strategie zur Synthese Halogenerter Biphenylacetylene wurde nach den in Schema 3.2 gezeigten Bedingungen und mittels Schlenk-Technik gearbeitet. Es traten hierbei einige Schwierigkeiten auf, die dazu führten, dass dieser Teil der Syntheseplanungen vorerst nicht weiter verfolgt wurde und keine Endprodukte mit Biphenyl-derivaten als Arylsubstituenten synthetisiert werden konnten. Der Grund dafür war hierbei die schlechte Trennbarkeit der Arylhalogenid-Edukte von den Biphenyl-Produkten nach der MBSK-Sequenz. Die Edukte zeigten in nahezu allen Fällen denselben R_f -Wert auf der DC wie die Produkte. Selbiges gilt in den meisten Fällen für Nebenprodukte. Somit war durch die Normalphasen-Säulenchromatographie nur eine Trennung des Produkt-Edukte-Gemisches von den sonstigen Verunreinigungen möglich. Eine Trennung dieses voraufgereinigten Gemisches durch Reversed-Phase Flash-Chromatographie (C18 Silica) war jedoch aufgrund der geringen Polarität der Komponenten dieser Mischungen und dadurch bedingter außergewöhnlich hoher Retention ebenfalls nicht möglich. Lediglich im Fall des 4-Brom-3'-Chlor-2-fluor-1,1'-biphenyls (**4a**) konnte das Produkt von seinen Edukten getrennt werden. Eine vollständige Isolation wurde aber auch in diesem Fall nicht erreicht, denn das Homokupplungsprodukt 3,3'-Dichlor-1,1'-biphenyl,^[62] welches durch unvollständigen Umsatz in der *Masuda*-Borylierung zustande gekommen sein muss und in einem großen Maße gebildet wurde, konnte wiederum weder durch Normalphasen-Säulenchromatographie noch durch Reversed-Phase Flash-Chromatographie von dem gewünschten Produkt getrennt werden (Abbildung 3.2). Bei den Versuchen, 4-Brom-2-fluor-4'-methoxy-1,1'-biphenyl aus **7c** und **8c**, sowie 4-Brom-2-fluor-1,1'-biphenyl aus Iodbenzol und **8c** herzustellen, wurde kein Umsatz beobachtet. Die vorgesehenen, an die MBSK-Sequenz anknüpfenden *Sonogashira*-Kupplungen mit TMSA wurden aus genannten Gründen in den meisten Fällen nicht versucht; nur beim 4-Brom-1,1'-biphenyl (**4b**), welches verhältnismäßig rein erhalten werden konnte wurde eine solche Kupplung versucht, was aber nur zur Spuren des gewünschten Produkts führte. Selbst bei höheren Reaktionstemperaturen (bis 100 °C) und längerer Reaktionszeit war kaum Umsatz zu beobachten.



Schema 3.2: Reaktionsbedingungen bei den MBSK-Sequenzen zur Synthese halogenerter Biphenyl-derivate **4a–f**.

Durch GCMS oder den Direkteinlass und EI konnte die Existenz folgender MBSK-Produkte im Produktgemisch nachgewiesen werden: 4-Brom-1,1'-biphenyl (**4b**, Abbildung 3.1), 4-Brom-3'-chlor-2-fluor-1,1'-biphenyl (**4a**, Abbildung 3.2), 4-Brom-4'-trifluormethyl-1,1'-biphenyl (**4c**, Abbildung 3.3), 4-Brom-2-fluor-4'-trifluormethyl-1,1'-biphenyl (**4d**, Abbildung 3.4), 4-Brom-3-fluor-4'-trifluormethyl-1,1'-biphenyl (**4e**, Abbildung 3.5), 4-Brom-3'-chlor-1,1'-biphenyl (**4f**, Abbildung 3.6). Dies sei anhand der MS-Berichte im Folgende dargelegt:

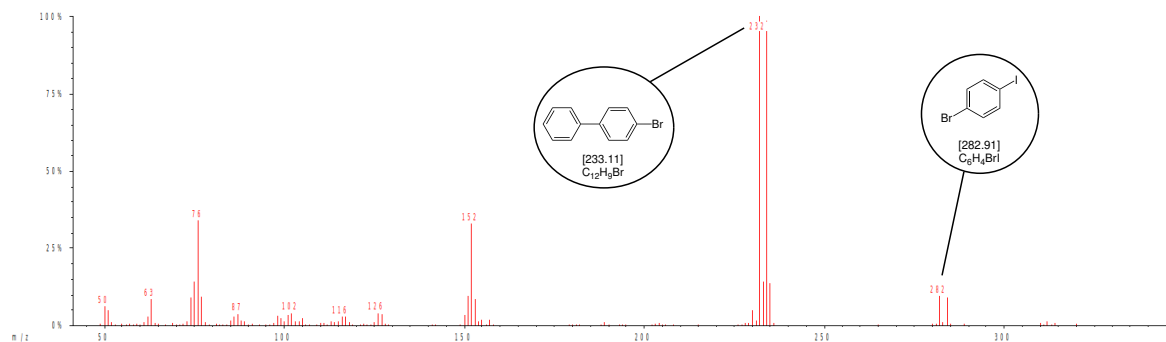


Abbildung 3.1: Massenspektrum von 4-Brom-1,1'-biphenyl (**4b**).

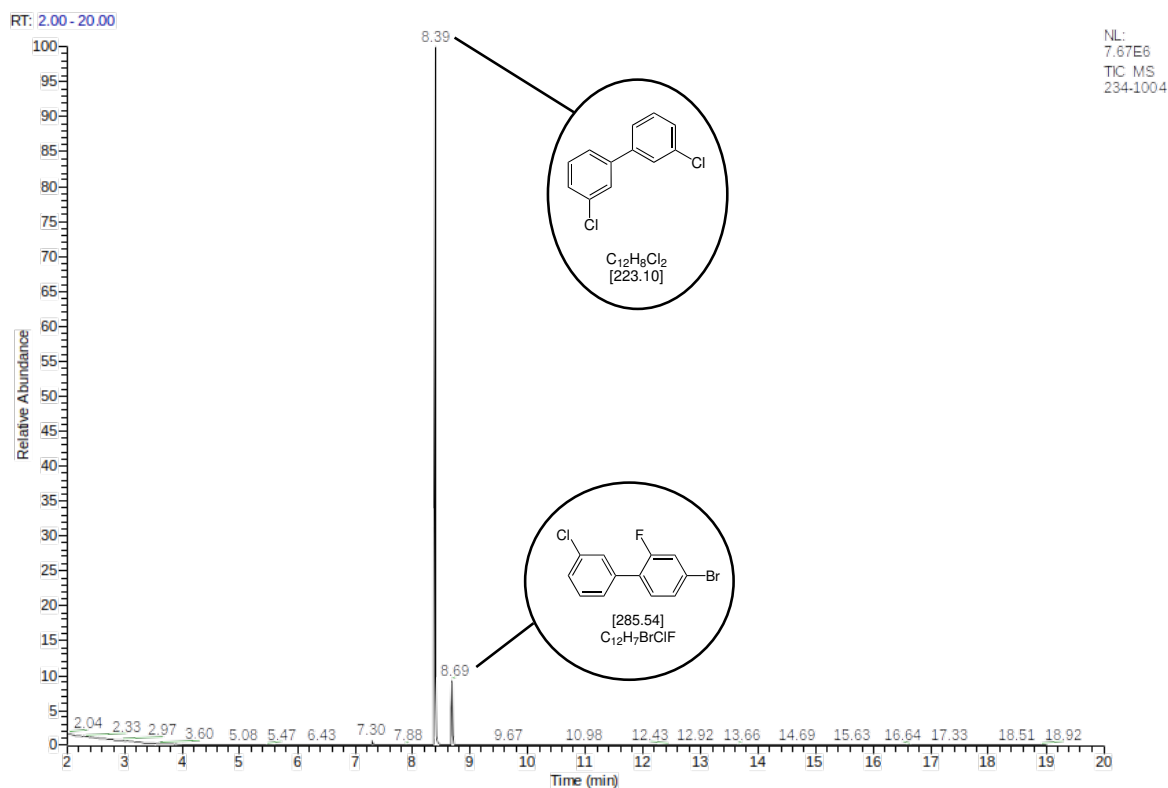


Abbildung 3.2: Gaschromatogramm von 4-Brom-3'-chlor-2-fluor-1,1'-biphenyl (**4a**) mit dem Homokupplungsprodukt 3,3'-Dichlor-1,1'-biphenyl als intensivstes Signal.

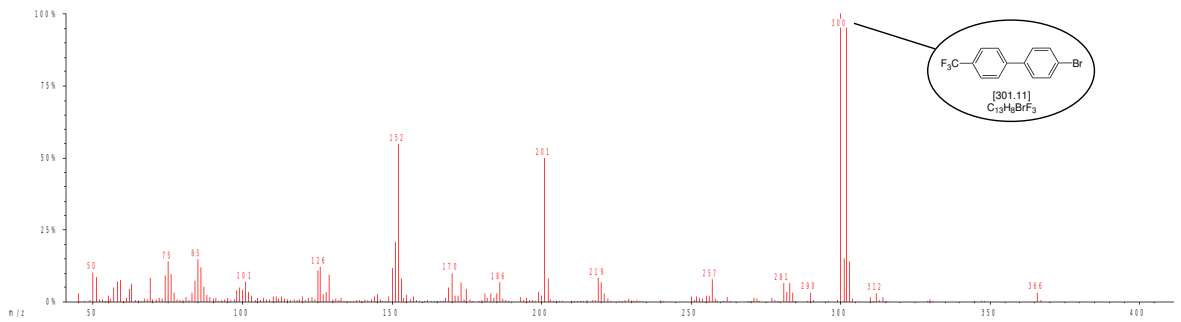


Abbildung 3.3: Massenspektrum von 4-Brom-4'-trifluormethyl-1,1'-biphenyl (**4c**). $m/z=290$, 312 und 366 deuten auf die Anwesenheit von Nebenprodukten hin; auch das Edukt **8a** ist noch vorhanden.

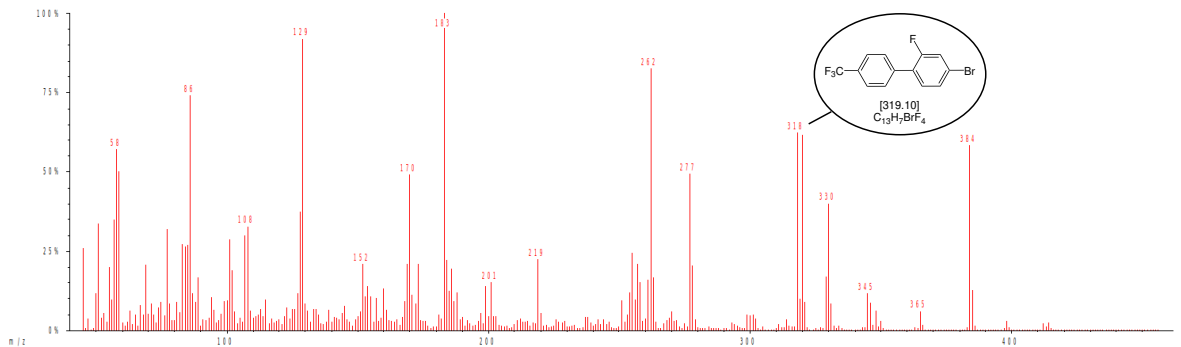
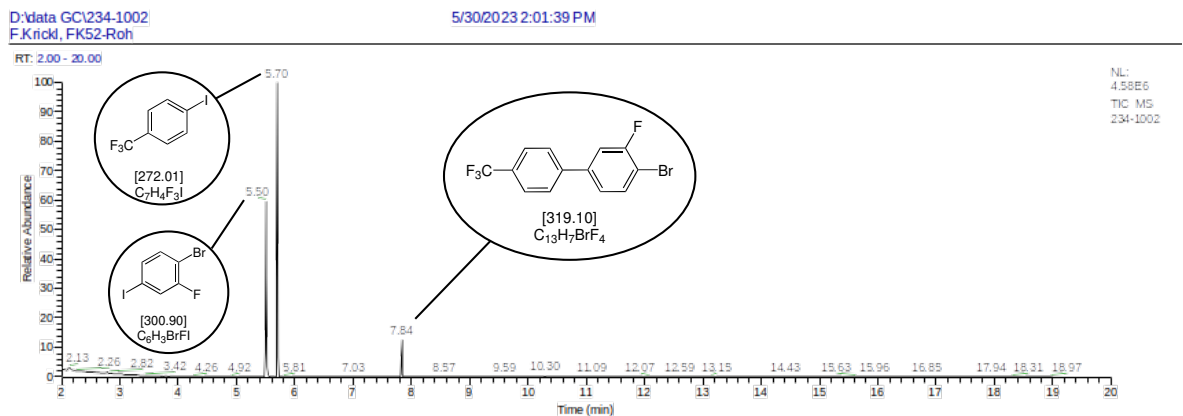


Abbildung 3.4: Massenspektrum von 4-Brom-2-fluor-4'-trifluormethyl-1,1'-biphenyl (**4d**). $m/z=384$ deutet auf die Anwesenheit eines Nebenprodukts hin; auch das Edukt **8c** ist noch vorhanden (um $m/z=300$). Weitere Verunreinigung ist PPh_3 .



234-1002#299 RT: 5.50 AV: 1 NL: 7.30E5
T: + c Full ms [38.00-700.00]

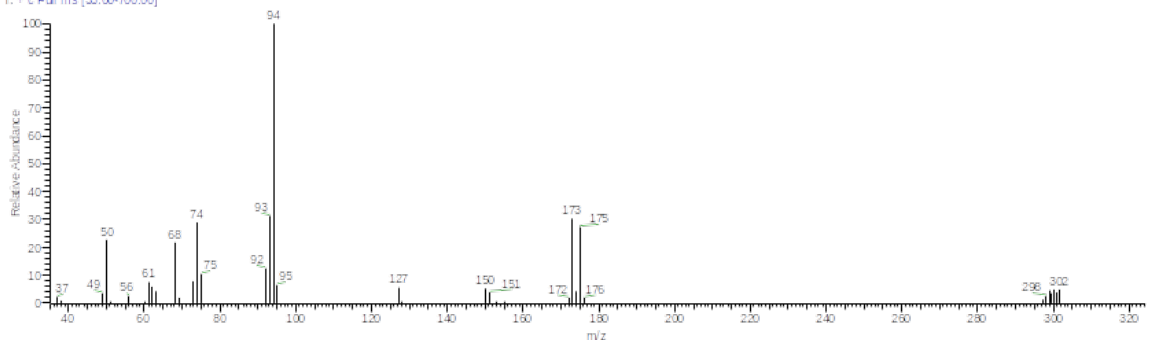


Abbildung 3.5: Gaschromatogramm von 4-Brom-3-fluor-4'-trifluormethyl-1,1'-biphenyl (**4e**).

D:\data GC\234-1003
F.Krickl, FK53-roh

5/31/2023 10:36:05 AM

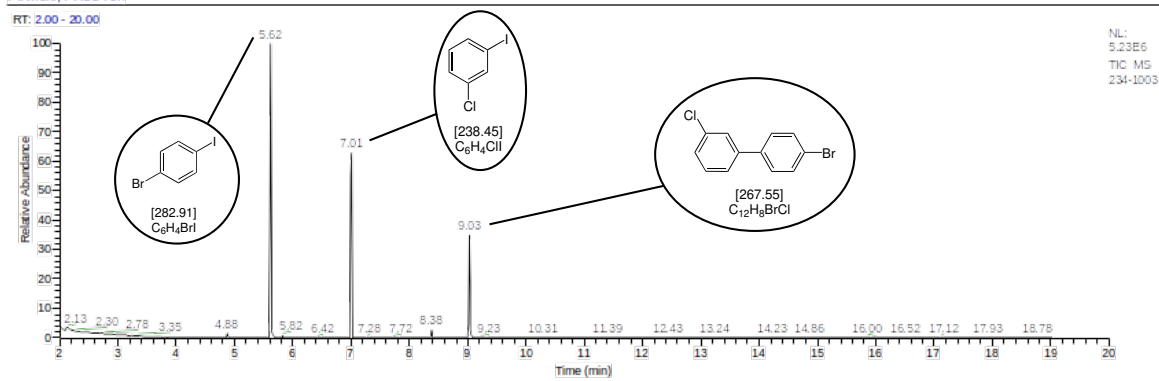
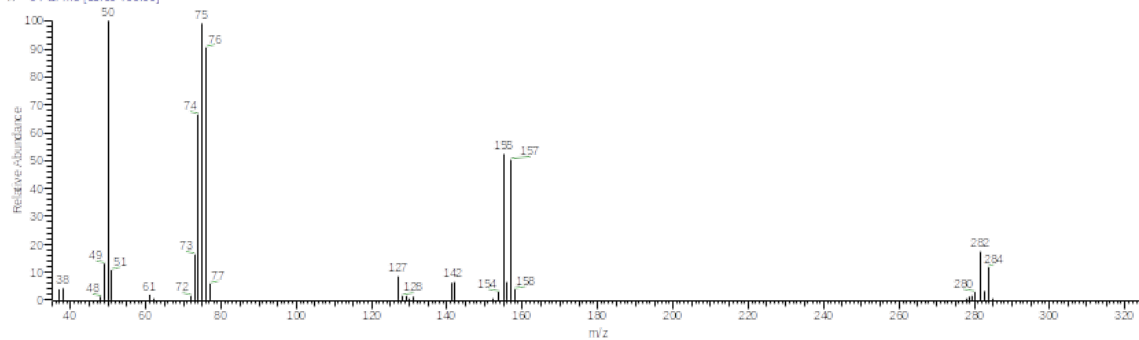
234-1003#309 RT: 5.62 AV: 1 NL: 8.78E5
T: + c Full ms [38.00-700.00]

Abbildung 3.6: Gaschromatogramm von 4-Brom-3'-chlor-1,1'-biphenyl (**4f**). Beide Edukte konnten nicht abgetrennt werden.

3.2.2 Halogeniertes Ethinylphenylthiophen

Ein weiteres der in der Einleitung vorgeschlagenen Biarylacetylene, das 2-(4-Ethinylphenyl)-5-chlorthiophen (**6g**) konnte ebenfalls durch die MBSK-Sequenz und anschließende *Sonogashira*-Kupplung und TMS-Entschützung synthetisiert werden (Abbildung 3.7). Als Edukt wurde dazu das kommerziell erhältliche 5-Brom-2-chlorthiophen verwendet. Die höhere Reaktivität dieses Edukts, sowie der geringe Reaktivitätsunterschied der beiden Halogensubstituenten in diesem Edukt – verglichen mit anderen in der vorliegenden Arbeit palladiumkatalytisch umgesetzter Edukte – führte hier zur Bildung von hauptsächlich zwei Nebenprodukten, nämlich 2,5-Bis(4-bromphenyl)thiophen und 2-Brom-5-(4-(5-chlorthiophen-2-yl)phenyl)thiophen. Spuren von 5,5'-Dichlor-2,2'-bithiophen konnten außerdem detektiert werden. Diese durch ihre Isotopenmuster in der Massenspektrometrie klar identifizierbaren Nebenprodukte konnten leicht säulenchromatographisch vom gewünschten Produkt der MBSK-Sequenz, dem 2-(4-Bromphenyl)-5-chlorthiophen (**4i**) abgetrennt werden, stellten jedoch zusammengenommen den größten Teil der Produktmischung dar. Die Ausbeute des gewünschten Produkts war aus diesem Grund auf 8 % beschränkt. Die Nebenprodukte wurden nicht weiter untersucht, weil sie seit 1960 und 2003 beschrieben sind.^[63–65] Zur Reinigung des MBSK-Produkts **4i** von einem Rest des Edukts **8a** war hierbei nach der Säulenchromatographie noch Umkristallisation aus Ethanol von Nöten.

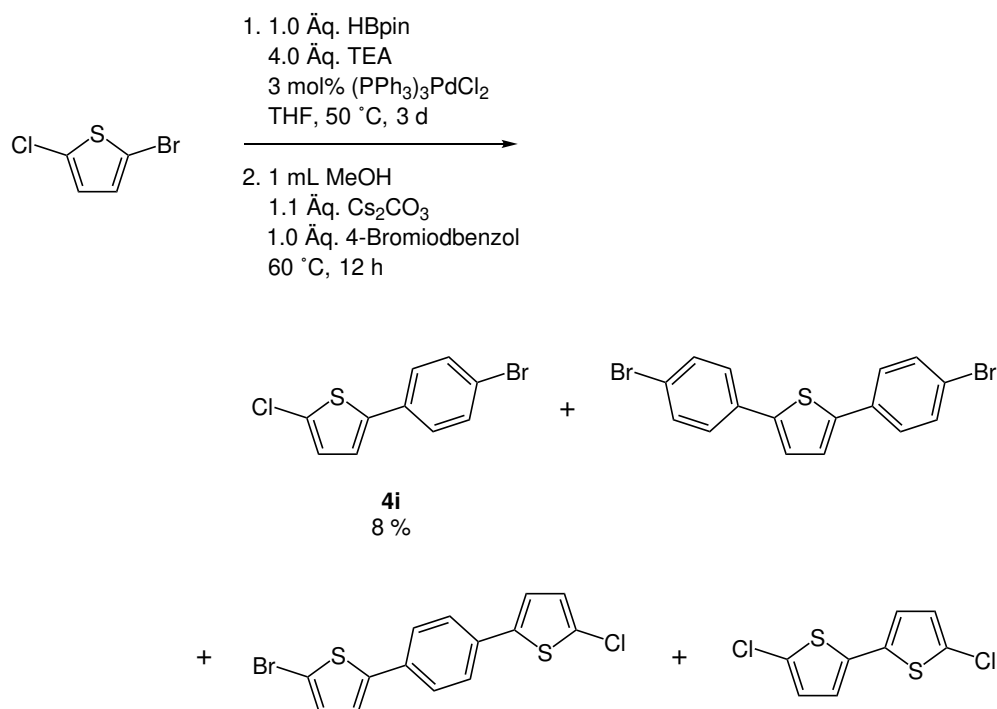


Abbildung 3.7: MBSK-Synthese von 2-(4-Bromphenyl)-5-chlorthiophen (**4i**) und Nebenprodukte.

3.2.3 Strukturaufklärung der halogenierten Phenylthiophen-Derivate

Anhand des Protonenspektrums des Biaryls **4i** (Abbildung 3.8) kann dessen Struktur leicht nachvollzogen werden: Die magnetisch äquivalenten Methinprotonen des Phenylrings führen zu jeweils zwei symmetrischen Multipletts mit einer relativen Intensität von 2, wobei im Abgleich mit dem Inkrementsystem davon ausgegangen werden kann, dass es sich bei dem stärker tieffeldverschobenen Multiplett um das Methingruppenpaar auf der terminalen, dem Bromsubstituenten näheren Seite handelt (Positionen 4 und 6) und bei dem weniger stark tieffeldverschobenen um das Methingruppenpaar an der Verknüpfungsstelle der beiden Ringe (Positionen 1 und 3). Die beiden übrigen Methingruppen aus dem Thiophenring äußern sich als Dubletts mit $^3J_{\text{HH}}=3.9$ Hz, wobei ebenfalls der Dacheffekt beobachtet werden kann und das weiter tieffeldverschobene Signal wieder zur äußeren Methingruppe an Position 9 – hier in räumlicher Nähe zum Chloratom – zugeordnet werden kann und das Signal mit der geringsten chemischen Verschiebung aller Signale zur inneren Methingruppe an Position 8.

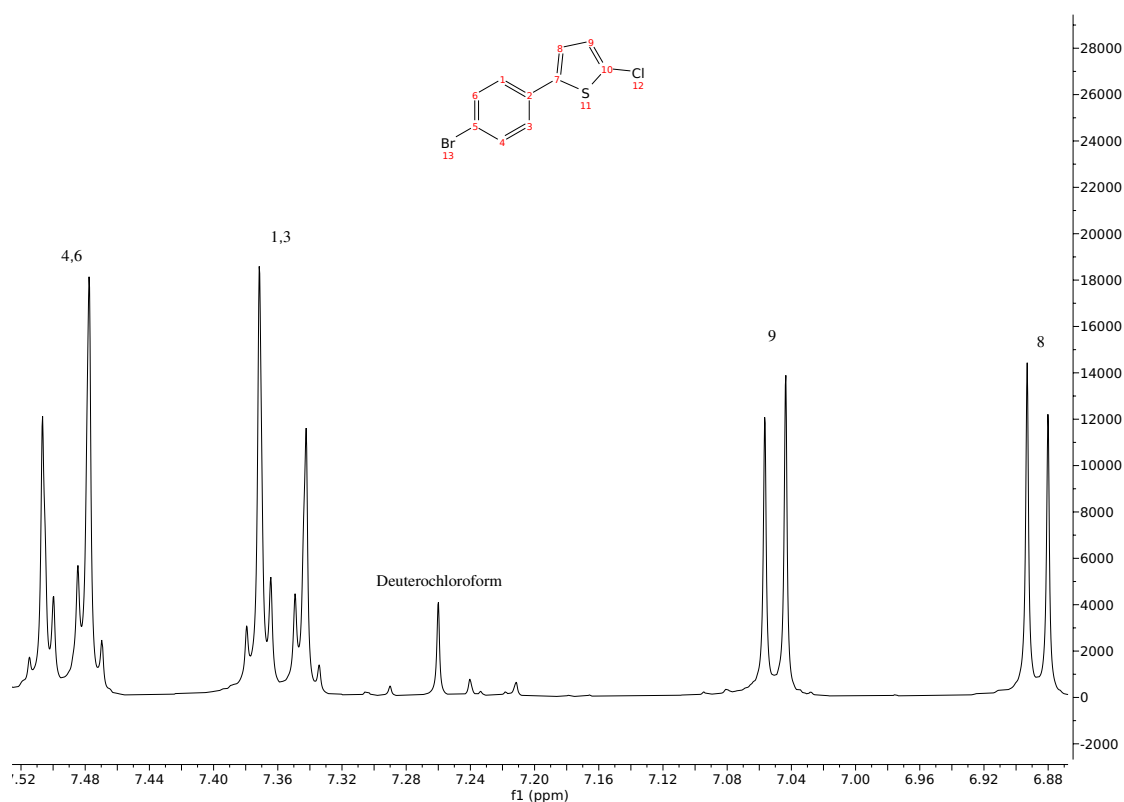


Abbildung 3.8: Ausschnitt des $^1\text{H-NMR}$ -Spektrums des Biaryls **4i**, aufgenommen in CDCl_3 bei 298 K und 300 MHz.

Auch bei dem ^{13}C -Spektrum des Biaryls **4i** (Abbildung 3.9) werden die Signale im Vergleich mit dem Inkrementsystem zugeordnet: Die höchsten chemischen Verschiebungen werden für die quartären Kohlenstoffe an den Positionen 7 und 2 beobachtet. Diese liegen bei 141.7 und 132.7 ppm. Auch im Kohlenstoffspektrum fallen die Signale der Positionen 4 und 6 und der Positionen 1 und 3 jeweils in ein Signal bei 132.2 bzw. 127.1 ppm zusammen. die halogenierten quartären Kerne der Positionen 10 und 5 liegen bei 129.8 und 121.8 ppm. Ebenfalls wenig tieffeldverschoben finden sich die einzelnen Methingruppen-Signale des Thiophenrings bei 127.4 ppm (Position 9) und 122.8 ppm (Position 8).

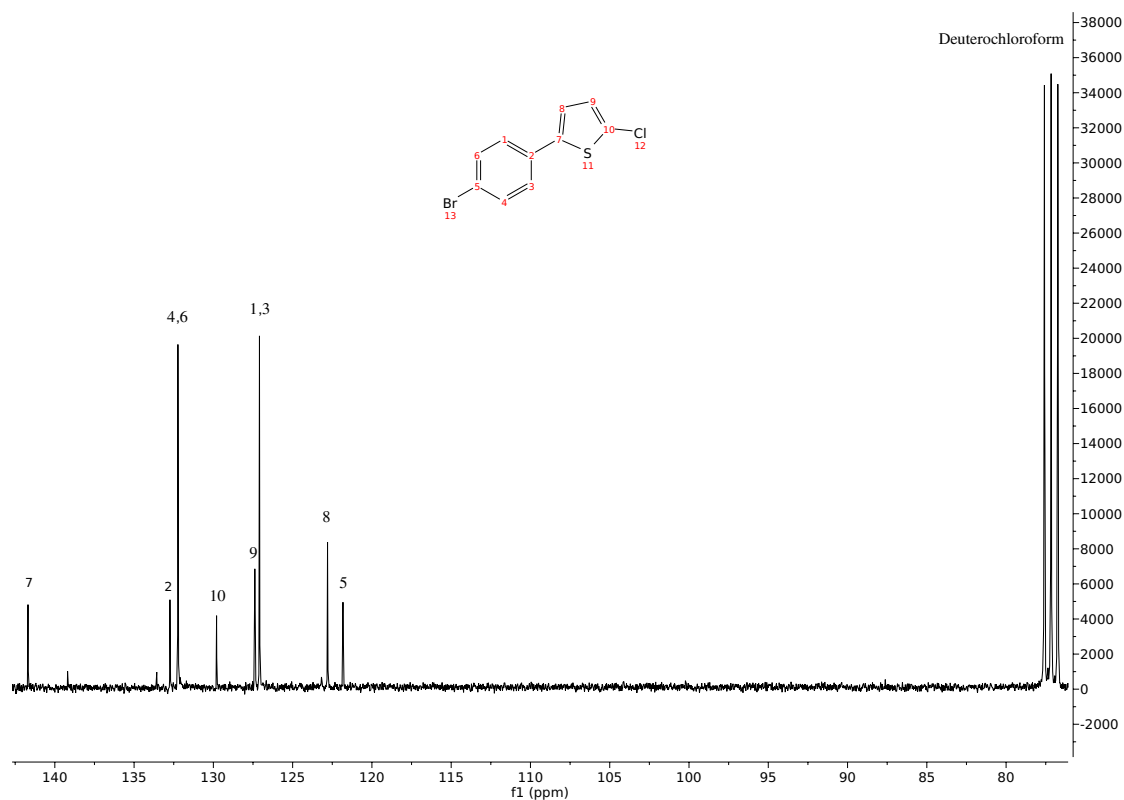


Abbildung 3.9: ^{13}C -NMR-Spektrum des Biaryls **4i**, aufgenommen in CDCl_3 bei 298 K und 75 MHz.

Im ^1H -Spektrum des *Sonogashira*-Produkts **5a** (Abbildung 3.10) gibt es nur kleine Änderungen im Vergleich zum Edukt (**4i**): Die Methingruppensignale aus dem Benzolring (Positionen 7,8,10 und 11) fallen hier noch weiter zu einem einzigen Multipllett mit $\delta=7.44$ ppm einer relativen Intensität von 4 zusammen. Die einzelnen Methingruppensignale aus dem Thio-phenring (hier Positionen 3 und 4) bleiben praktisch unverändert. Hinzu kommt noch das Silylgruppensignal als Singulett mit einer relativen Intensität von 9 bei $\delta=0.26$ ppm.

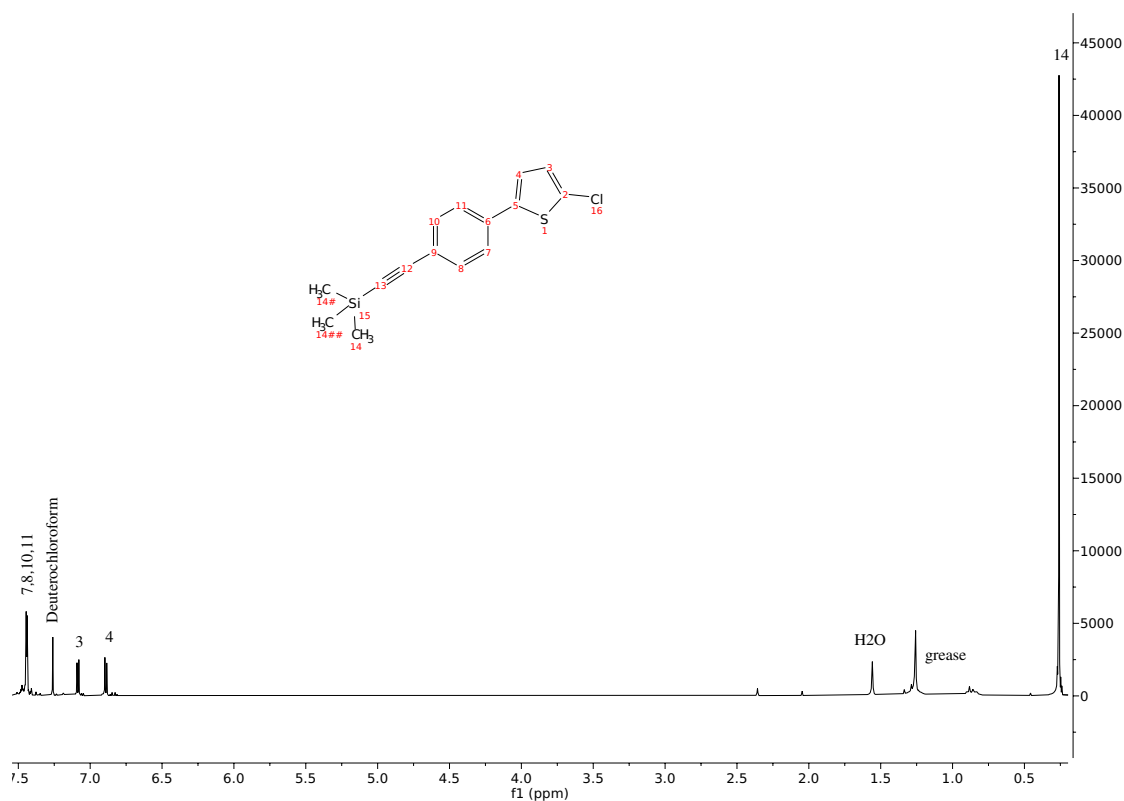


Abbildung 3.10: ^1H -NMR-Spektrum des *Sonogashira*-Produkts **5a**, aufgenommen in CDCl_3 bei 298 K und 300 MHz.

Auch im ^{13}C -Spektrum des *Sonogashira*-Produkts **5a** (Abbildung 3.11) unterscheiden sich die Signale nur wenig im Vergleich zum Vorläufer (**4i**). Die quartären Kerne in der Mitte des Moleküls sind mit 142.3 ppm (Position 5) und 133.7 ppm (Position 6) wenig stärker tieffeldverschoben als im Edukt. Die Methingruppensignale liegen im Gegensatz zum Protonenspektrum hier mit 132.7 ppm (Positionen 8 und 10) und 125.2 ppm (Positionen 7 und 11) etwas weiter auseinander als beim Edukt. Die äußeren quartären Kerne sind trotz dem Austausch des Bromatoms gegen die TMSA-Gruppe mit 130.0 ppm (Position 2) und 122.6 ppm (Position 9) nahezu unverändert. Selbiges gilt für die einzelnen Methingruppen, hier mit 127.4 ppm (Position 3) und 122.9 ppm (Position 4). Hinzu kommen die quartären Signale des Alkins, wobei der Position 12 aufgrund des Arylrests das Signale mit der höheren chemischen Verschiebung zukommt (104.8 ppm) und natürlich der Position 13 aufgrund der Silylgruppe das Signal bei 95.7 ppm. Die Silylgruppe selbst (Position 14) wird bei 0.1 ppm beobachtet.

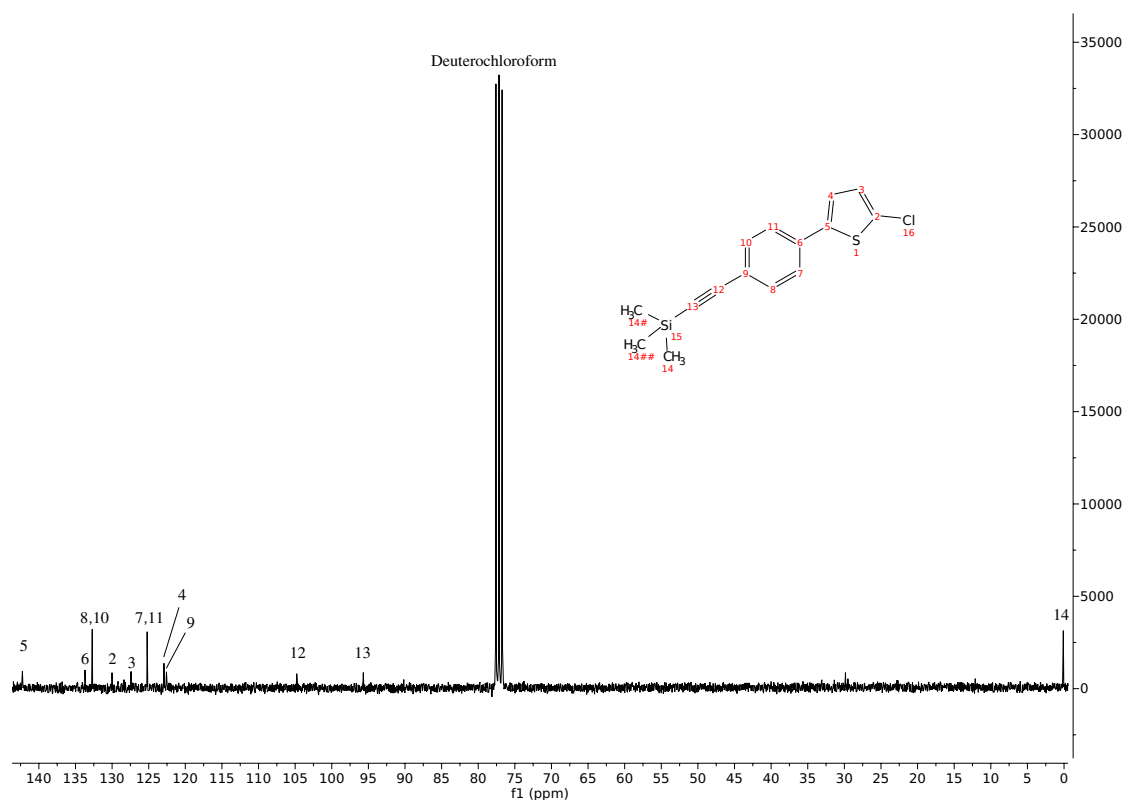
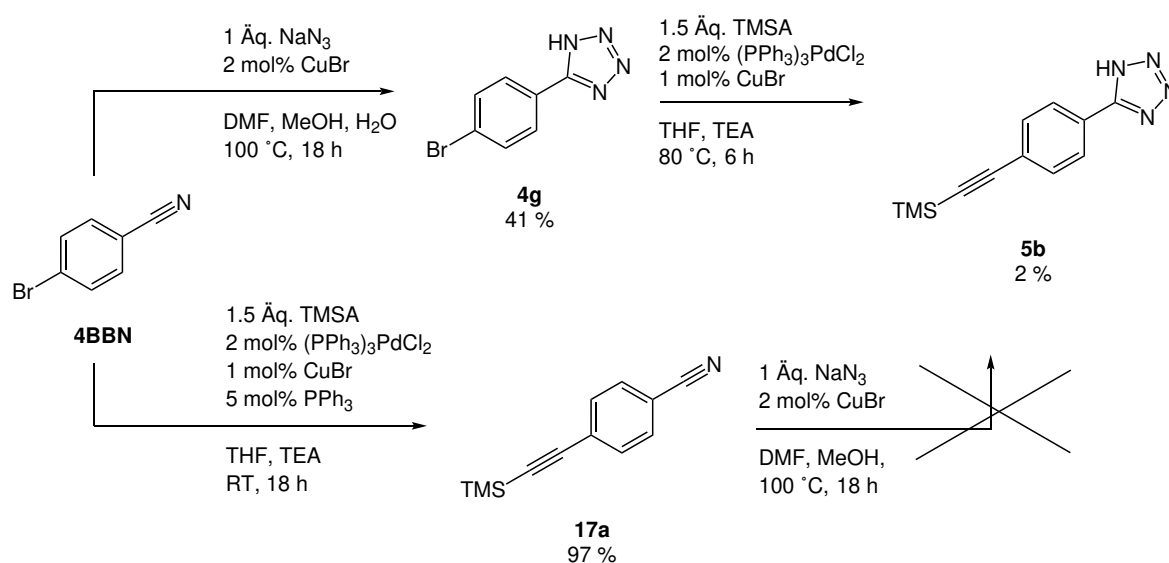


Abbildung 3.11: ^{13}C -NMR-Spektrum des *Sonogashira*-Produkts **5a**, aufgenommen in CDCl_3 bei 298 K und 75 MHz.

3.2.4 Ethinylphenyltetrazol

Zur Synthese des Tetrazol-Derivats **5b** wurden zwei Routen, beide ausgehend von 4-Brombenzonitril, versucht. Es konnte entweder zuerst der Tetrazolring durch CuNAC gebildet werden und danach die TMSA-Gruppe mittels der *Sonogashira*-Reaktion eingeführt werden, oder mit der *Sonogashira*-Reaktion begonnen und danach der Tetrazolring gebildet werden. Der erste Schritt bei diesen Routen war in beiden Fällen leicht mit guten Ausbeuten durchführbar (Schema 3.3): 5-(4-Bromphenyl)-1*H*-tetrazol (**4g**) konnte durch Ausfällen mit Salzsäure aus der Reaktionslösung und Waschen des Filtrats mit trockenem Ethylacetat gewonnen werden.^[56] 4-((Trimethylsilyl)ethinyl)benzonitril (**17a**) konnte entsprechend einer Literaturvorschrift in sehr guter Ausbeute rein erhalten werden.^[66]



Schema 3.3: Syntheserouten zu 5-(4-((Trimethylsilyl)ethinyl)phenyl)-1*H*-tetrazol (**5b**).^[56,66]

Der jeweils zweite Schritt war jedoch von verschiedenen Schwierigkeiten geprägt: Die CuNAC von **17a** zu **5b** lieferte nicht das gewünschte Produkt. Es wurden lediglich geringe Mengen des *Glaser*-Produkts der Ausgangssubstanz erhalten (Abbildung 3.12). Die Durchführung der CuNAC unter inerten Bedingungen mit trockenen, entgasteten Lösungsmitteln führte hierbei nicht zu einer Verbesserung der Ergebnisse. Die *Sonogashira*-Reaktion von **4g** zu **5b** führte nur zu sehr geringen Ausbeuten des gewünschten Produkts; dieses wurde zudem nicht in der Form der freien Säure, sondern als Salz von TEA erhalten.

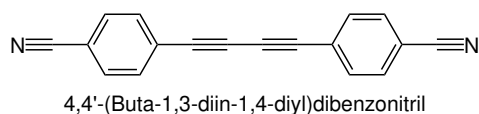


Abbildung 3.12: Ausgewähltes Nebenprodukt der CuNAC von **17a** zu **5b**.^[67]

3.2.5 Strukturaufklärung des TMS-geschützten Ethinylphenyltetrazols **5b**

Im Vergleich mit Literaturspektren des Edukts (**4g**) können die magnetisch äquivalenten Methingruppensignale des Benzolrings zu den Multipletts im Tieffeld des ^1H -Spektrums des Triethylammoniumsalzes von **5b** (Abbildung 3.13) zugeordnet werden. Dabei sind die Positionen 3 und 7 aufgrund der Nähe zum Tetrazolring stärker tieffeldverschoben, als die Positionen 4 und 6. Die Silylgruppe wird bei 0.25 ppm gefunden. Die gegenüber den Literaturwerten für Triethylamin^[68] tieffeldverschobenen Signale mit einer Intensität von 6 bzw. 9 sind hier der Beweis für das Vorliegen des Produkts als Triethylammoniumsalz, was auf Grundlage der Massenspektren nicht bestimmt werden konnte. Das weiter tieffeldverschobene Quartett gehört dabei zu den drei äquivalenten Methylengruppen der Positionen 14, 15 und 16 und das recht hochfeldverschobene Triplet zu den drei äquivalenten Methylgruppen der Positionen 17, 18 und 19.

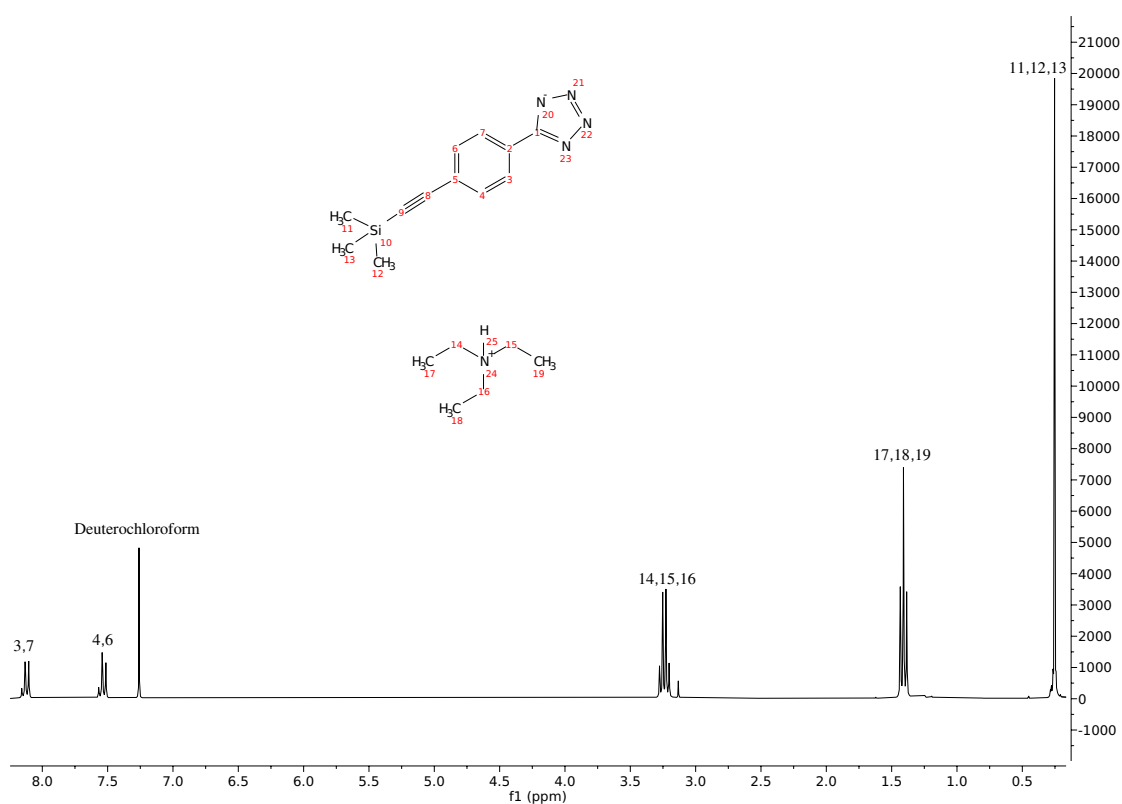
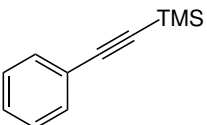
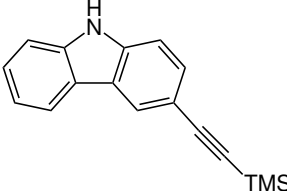
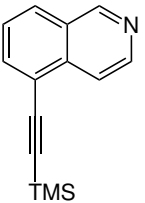
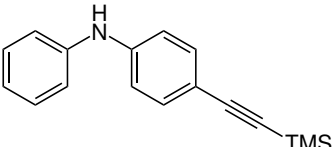


Abbildung 3.13: ^1H -NMR des Triethylaminsalzes von **5b**, aufgenommen in CDCl_3 bei 298 K und 300 MHz.

3.2.6 Monoarylacetylene

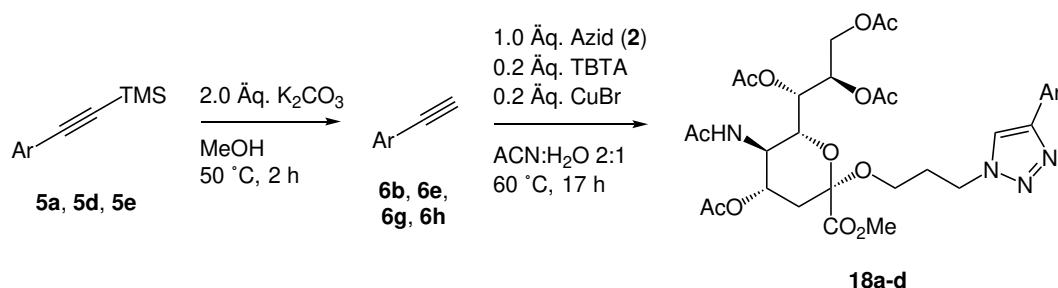
Ausgehend von Monoarylhalogeniden konnten die benötigten Alkine (zunächst TMS-geschützt) synthetisiert werden (Tabelle 3.1). Im Fall des Diphenylamins wurde kein Produkt erhalten. Die Veränderung des vermeintlichen Produkt-Spots auf der DC hin zu einer braunen Farbe über Nacht deutete bereits bei der Durchführung der Reaktion auf geringe Oxidationsstabilität der Verbindung hin. Bei dem in Autoreifen verwendeten Diphenylamin-Derivat *N*-(1,3-Dimethylbutyl)-*N'*-phenyl-*p*-phenyldiamin ist die Oxidation zu einem Chinon an der Luft bekannt.^[69] Eine ähnliche Reaktion wäre beim hier verfolgten Zielmolekül denkbar.

Tabelle 3.1: Übersicht der synthetisierten, TMS-geschützten Monoarylacetylene.

Eingesetztes Arylhalogenid	Sonogashira-Produkt	Ausbeute
Iodbenzol		5c quant.
3-Brom-9 <i>H</i> -carbazol		5d 77 %
5-Bromisochinolin		5e 29 %
<i>N</i> -(4-Bromphenyl)anilin		5f n. i.

3.3 Synthese geschützter Sialomimetika 18a–d durch CuAAC

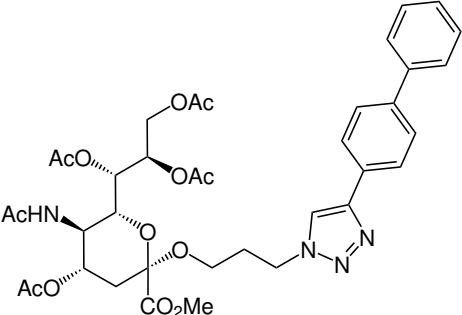
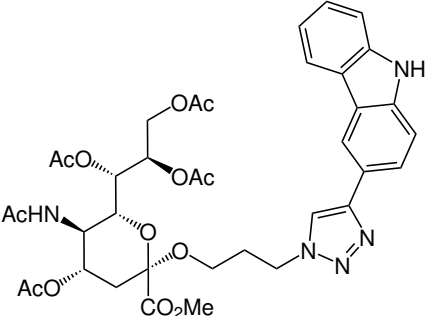
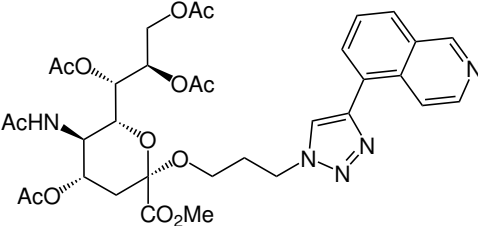
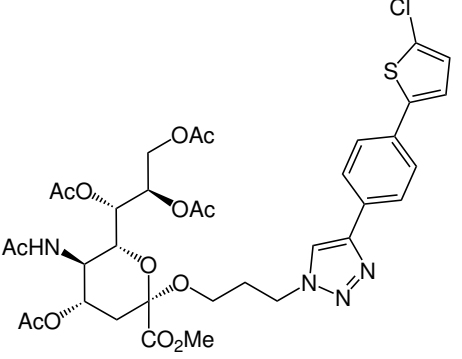
Sämtliche CuAAC-Ansätze wurden mit dem Wasser-Acetonitril-System durchgeführt, bei welchem das Kupfer(I) durch TBTA in der wässrigen Phase stabilisiert wird (Schema 3.4).^[70] Bei den ersten Versuchen der Produktsynthesen mittels CuAAC wurden die noch TMS-geschützten Arylalkine eingesetzt und zusätzlich äquimolar Kaliumcarbonat zugesetzt, in der Hoffnung, die Synthese als Ein-Topf-Reaktion im Sinne einer TMS-Entschützungs-CuAAC-Sequenz durchzuführen.^[71] Unter diesen Bedingungen wurde jedoch eine partielle Entschützung des Sialinsäurebausteins beobachtet.^[72] Das Produktgemisch wurde somit bei der säulenchromatographischen Isolation über einen weiten Gradientenbereich verteilt eluiert. In einem größeren Maße entschützte Teile des Produktgemisches wurden vollständig auf der Säule zurückgehalten (etwa ab drei bis vier entschützten Positionen). Das führte zu hohem analytischen Aufwand und stark geschmälernten Ausbeuten der Click-Produkte, weswegen der Ein-Topf-Ansatz später verworfen wurde.



Schema 3.4: Reaktionsbedingungen bei der CuAAC des Azids **2** mit den Arylalkinen **6b**, **6e**, **6g** und **6h**.^[70]

Mit den freien Alkinen hingegen konnte in jedem Fall das gewünschte Produkt erhalten werden und diese Click-Produkte eluierten in der Regel mit reinem Ethylacetat. In einigen Fällen war dabei eine zusätzliche Reinigung des Produkts durch Reversed-Phase Chromatographie nötig, um das in der Reaktionsmischung vorhandene Glycal **15** abzutrennen.

Tabelle 3.2: Übersicht über die durch CuAAC synthetisierten, geschützten Sialomimetika.

Nummer	Click-Produkt	Ausbeute
18a		48 %
18b		15 %
18c		25 %
18d		35 %

3.4 Strukturaufklärung der geschützten Sialomimetika 18a-d

NMR-Spektren des geschützten Sialomimetikums **18a** sind aus *Prescher's* Arbeit bekannt. Von dem Click-Produkt **18b** wurde aufgrund geringer Probenmenge erst nach der Entschützung ein NMR-Spektrum aufgenommen (Abbildung 3.16). Die Identität des Moleküls sowie die Reinheit wurden durch LCMS bestätigt (Abschnitt 5.2.2.3).

Im ^1H -NMR-Spektrum des Click-Produkts **18c** (Abbildung 3.14) können nahezu alle Signale im Vergleich mit dem Referenzspektrum des Sialomimetikums **18a** aus *Prescher's* Arbeit zugeordnet werden. Nur die Acetylgruppen-Signale sind untereinander nicht zuzuordnen und das Signal des axialen Protons der Position 3 ist mit den Acetylgruppen-Signalen überlagert, so dass es nicht klar differenziert werden kann. Auffällig ist das Fehlen dreier Methingruppen-Signale aus dem Isochinolin-Substituenten, wobei es sich um ein Artefakt handeln muss (z. B. aufgrund der Relaxationseigenschaften der Protonen in dieser Untereinheit), weil die Signale dieses Arylrests im ^1H -NMR-Spektrums des entsprechenden entschützten Produkts **3c** (Abbildung 3.17) wieder differenziert zu beobachten sind und das Molekül ebenfalls durch Massenspektrometrie identifiziert werden konnte.

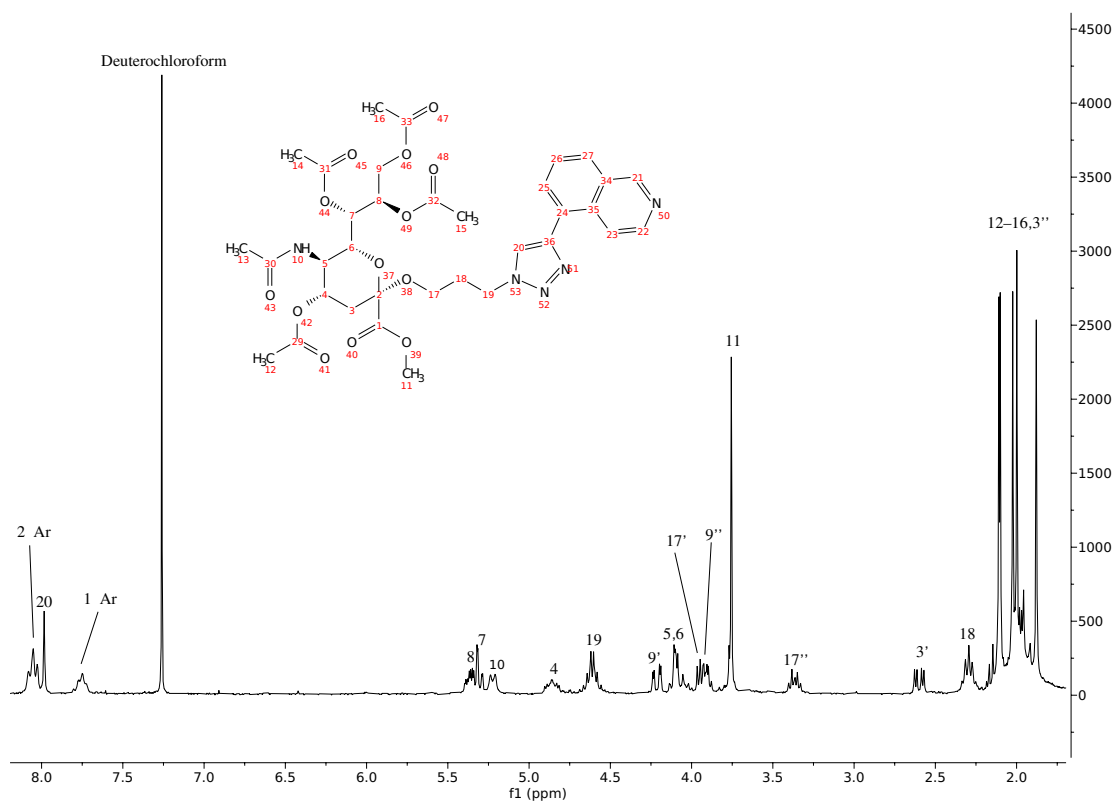


Abbildung 3.14: ^1H -NMR-Spektrum des Click-Produkts **18a**, aufgenommen in CDCl_3 bei 298 K und 300 MHz.

Es kann hier noch die Zuordnung der Signale im Spektrum des Click-Produkts **18d** gezeigt werden (Abbildung 3.15): Entsprechend der Erwartung weichen die Signale des Sialinsäure-Bausteins im Vergleich zu anderen Click-Produkt-Spektren größtenteils nicht signifikant ab. Lediglich ein Unterschied ist zu beobachten: Die Reihenfolge der Methylengruppen-Signale der Positionen 9 und 17 auf der tieffeldverschobenen Seite des Methoxygruppen-Signals ist gegenüber den sonstigen Click-Produkt-Spektren umgekehrt; dies wird durch die gemina-

le Kopplungskonstante von 12.4 Hz im dd bei 4.02 ppm belegt. Diese Kopplungskonstante taucht in den Signalen des Alkyltriazolyl-Linkers nicht auf. Es muss sich demzufolge beim besagten Signal um das des zweiten geminalen Protons in Position 9 handeln. Die Präsenz der im Vergleich mit dem $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Alkins **6g** leicht zuzuordnenden Signale des Arylrest, sowie des Triazolsignals bei 7.88 ppm bestätigen die Struktur des gewünschten Click-Produkts **18d**. Zuletzt sei bemerkt, dass aus dem Spektrum auf eine etwa 13 %ige Verunreinigung mit TBTA geschlossen werden kann; die entsprechenden Signale befinden sich bei 7.37–7.3 ppm und 5.55 ppm. Dass es sich um TBTA handeln muss, obwohl diese Signale bei einem reinen TBTA-Literaturspektrum nicht genau an dieser Stelle beobachtet werden, kann im Zusammenhang mit dem LCMS-Bericht geschlossen werden. Hier wurde ein starkes Signal mit $m/z=531$ beobachtet. Auffällig ist hierbei jedoch, dass das Triazol-Signal des TBTA (nach Literatur bei 7.65 ppm) und das Signal der aminischen Methylengruppen (nach Literatur bei 3.6 ppm) hier fehlen.^[73]

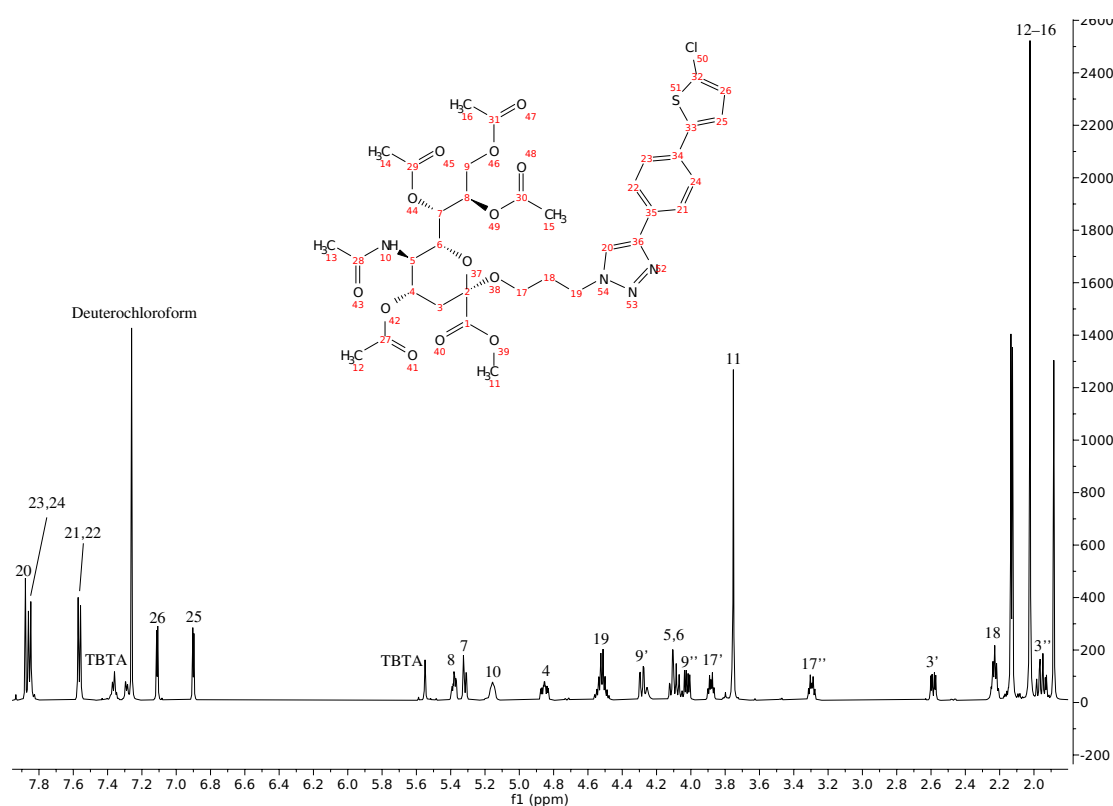
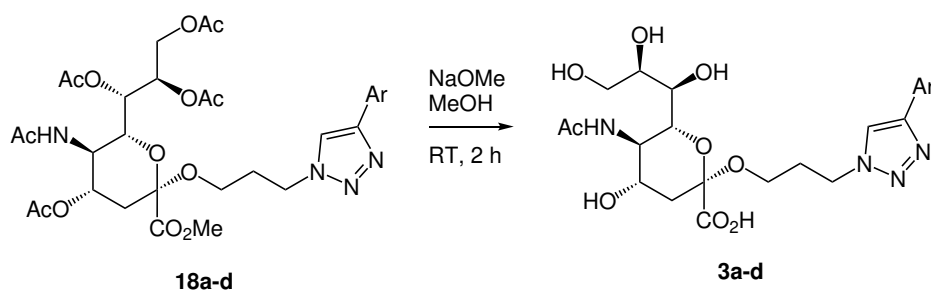


Abbildung 3.15: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Click-Produkts **18d**, aufgenommen in CDCl_3 bei 298 K und 300 MHz.

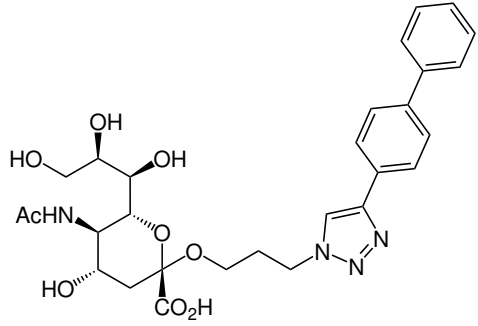
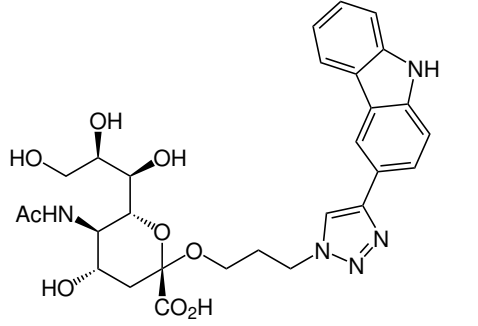
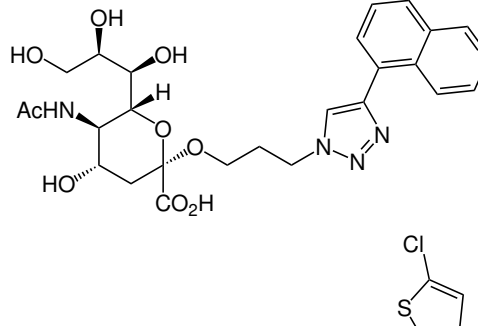
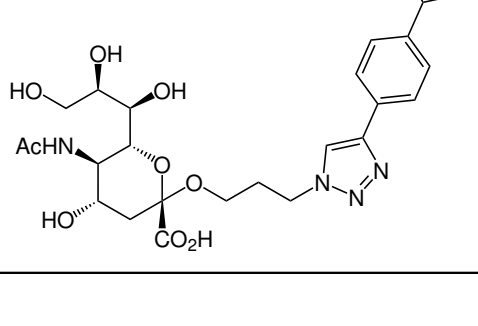
3.5 Entschützung der Sialomimetika

Bei der Entschützung der Produkte wurde ähnlich vorgegangen wie bei *Prescher et al.*: Das geschützte Produkt wurde wenige Stunden lang mit einem Überschuss an Natriummethanolat als konzentrierte methanolische Lösung bei Raumtemperatur behandelt. Durch Wasserspuren, welche nicht ausgeschlossen wurden, kommt es unter diesen Bedingungen auch zur Verseifung des Methylesters (Schema 3.5). Statt mit H^+ -Ionenaustauschern wurde die Neutralisierung der Reaktionslösung durch verdünnte Salzsäure unter Kühlung durchgeführt. Nach Abrotieren des Methanols konnte die wässrige Reaktionslösung dann durch Reversed-Phase Säulenchromatographie entsalzt und von möglichen anderen Verunreinigungen bzw. Nebenprodukten gereinigt werden (Tabelle 3.3). Es kam bei der Entschützung zu zwei interessanten Beobachtungen: Zum einem konnte im Fall des Sialomimetikums **3a** die Eliminierung einer der Hydroxygruppen in der Sialinsäure durch LCMS festgestellt werden. Hierbei handelt es sich um eine in geringem Maße ablaufende Nebenreaktion in der *Zemplén*-Entschützung, wobei das Eliminierungsprodukt nicht mehr vom gewünschten Produkt abzutrennen war. Diese Nebenreaktion trat allerdings in keinem anderen Fall auf. Stattdessen war noch zu beobachten, dass im Fall des Sialomimetikums **3c** der Methylester besonders stabil zu sein schien; während alle Acetylgruppen nach einer Stunde Reaktionszeit entfernt waren, konnte der Methylester selbst nach Rühren über Nacht und unter Zusatz von wenig Wasser zur Reaktionslösung nur etwa zur Hälfte gespalten werden. Auch beim Sialomimetikum **3d** lag ein kleiner Teil des Produkts noch in der Form des Methylester vor, allerdings in viel geringerem Ausmaß als bei **3c**.



Schema 3.5: Bedingungen zur Entschützung der Sialomimetika **18a-d**.^[28]

Tabelle 3.3: Übersicht über die synthetisierten, entschützten Sialomimetika.

Nummer	Click-Produkt	Ausbeute
3a		41 %
3b		16 %
3c		24 %
3d		54 %

3.6 Strukturaufklärung der entschützten Sialomimetika 3a–d

Die Zuordnung der Signale des Produkts **3b** im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum (Abbildung 3.16) ist aufgrund der geringen Probenmenge, der Messung bei 300 MHz und dadurch bedingte Auflösungsprobleme nicht ganz eindeutig möglich. Es gilt zu beachten, dass die Zuordnung der Carbazol-Signale besonders uneindeutig ist, weil hier die Kopplungskonstanten nicht gut gemessen werden konnte. Dieser Unterbereich der Zuordnung ist daher in loser Übereinstimmung mit dem Inkrementsystem gewählt und nur als Vorschlag zu sehen. Recht sicher ist aufgrund der Multiplizität (s) und der chemischen Verschiebung die Zuordnung des Triazolsignals zu dem Singulett bei 8.28 ppm. Die Signale des Sialinsäure-Gerüsts fallen im vorliegenden Spektrum zu einem großen, undifferenzierten Multipllett von 3.78–3.30 ppm zusammen. Ausgenommen sind die dd's der Position 3, welche bei 2.68 ppm (äquatoriales) und 1.58 ppm (axiales) gefunden werden. Stattdessen ist das intensive Multipllett noch mit dem Signal der an das Sauerstoff gebundenen Methylengruppe (Position 12) überlagert, wodurch das besagte Multipllett wieder auf eine relative Intensität von 9 kommt. Das Signal der Acetamido-Gruppe liegt bei genau 2.00 ppm. Eine Besonderheit ist hierbei die Aufspaltung dieses Signals in ein unsymmetrisches Multipllett. Das Multipllett der mittleren Methylengruppe im Alkyltriazolyl-Linker liegt bei 2.28–2.18 ppm; die Kopplungskonstanten lassen sich hier erneut nicht genau ablesen. Dem Ausschlusskriterium nach muss es sich bei dem von einer starken Basislinienverschiebung fast verdeckten Multipllett bei 4.62–4.48 ppm um das Signal der an das Stickstoffatom gebundenen Methylengruppe aus dem Alkyltriazolyl-Linker handeln.

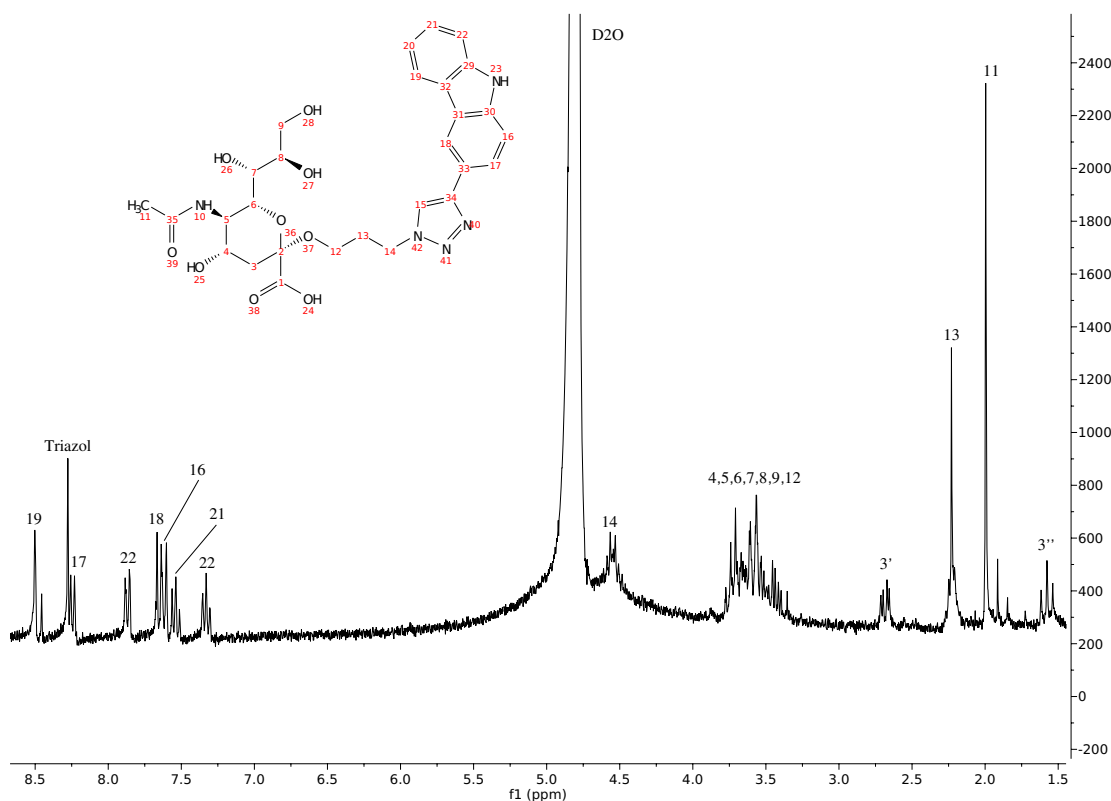


Abbildung 3.16: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Produkts **3b**, aufgenommen in D_2O bei 298 K und 300 MHz.

Es folgt das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Produkts **3c** (Abbildung 3.17): Die Signale des Sialinsäure-Gerüsts sind hier etwas besser aufgelöst, als bei dem Produkt **3b**, allerdings sind

die Signale selbst hier zu stark verbreitert und überlagert um eindeutig zugeordnet werden zu können. Sie werden daher erneut als Multipllett von 3.78–3.37 ppm zusammengefasst. Die Signale der Isochinolin-Einheit (Positionen 16 bis 21) sind hier – anders als im Spektrum der geschützten Form (Abbildung 3.14)– klar differenziert, aber auch in diesem Bereich ist die Auflösung nicht gut genug um die Kopplungskonstanten zur Zuordnung der Signale heranzuziehen. Auch bei diesem Spektrum erfolgte daher die Zuordnung unter Zuhilfenahme des Inkrementsystems. Klar zugeordnet werden können im aromatischen Bereich die beiden Singulets bei 9.10 ppm und 8.21 ppm. Ersteres wird von dem Proton im Isochinolinring ohne Kopplungspartner ausgelöst (Position 16); letzteres ist das Triazol-Signal. Im Gegensatz dazu lässt sich das Linker-Signal bei 4.59 ppm (m, Position 14) hier sehr gut erkennen. Die diastereotopen Protonen der Position 3 sind mit 2.66 ppm und 1.53 ppm quasi identischen wie beim Produkt **3b**. Selbiges gilt für das Multipllett bei 2.22 ppm (Position 13) und das unsymmetrisch aufgespltenne Signal der Acetamidogruppe, $\delta=1.99$ ppm.

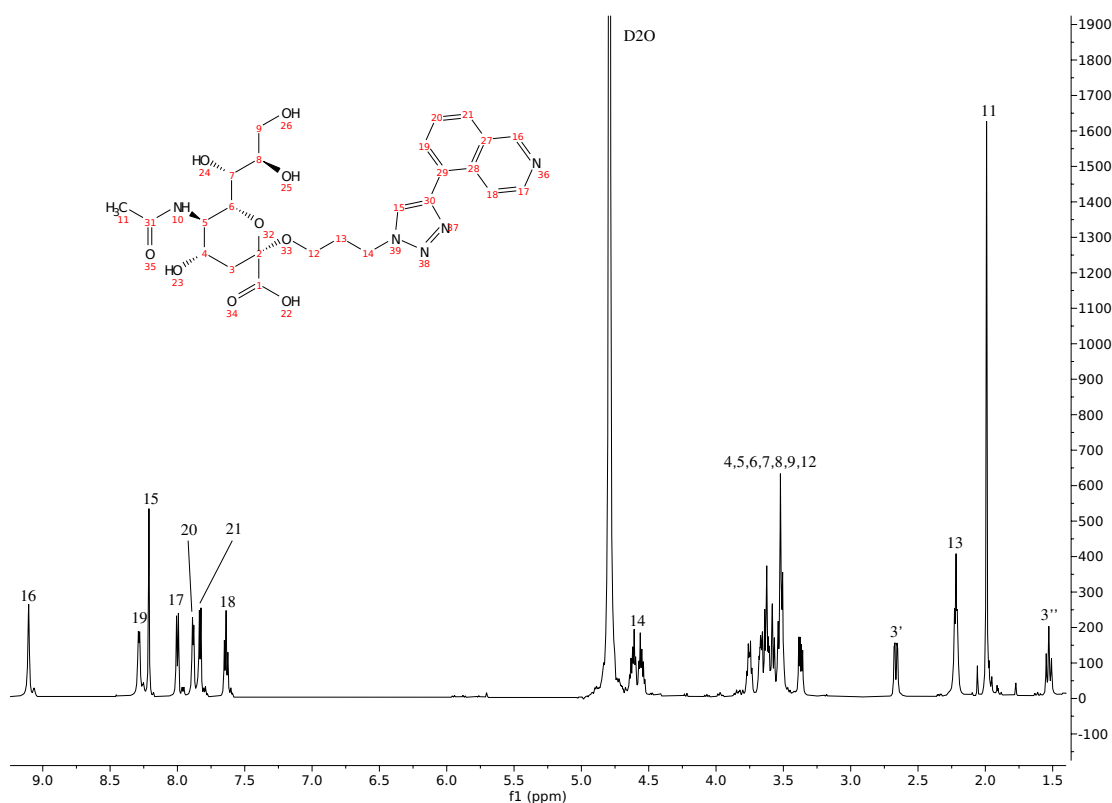


Abbildung 3.17: ^1H -NMR-Spektrum des Produkts **3c**, aufgenommen in D_2O bei 298 K und 600 MHz.

Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Sialomimetikums **3d** lassen sich im Vergleich zur geschützten Form die Signale des Arylsubstituenten zuordnen: Die Methingruppensignale der Positionen 18 und 19 sowie 16 und 17 fallen jeweils zu einem Dublett mit $^3J_{\text{HH}}=7.9$ Hz bei 7.20 ppm und 6.92 ppm zusammen. Die beiden einzelnen Methingruppensignale verursachen die Dubletts mit $^3J_{\text{HH}}=3.7$ Hz bei 6.81 und 6.73 ppm. Das Triazolsignal ist mit 7.63 ppm in dieser Struktur verhältnismäßig stark hochfeldverschoben. Die Signale des Sialosid-Gerüsts entsprechen denen in den bisher beschriebenen Spektren und bedürfen keiner weiteren Erklärung.

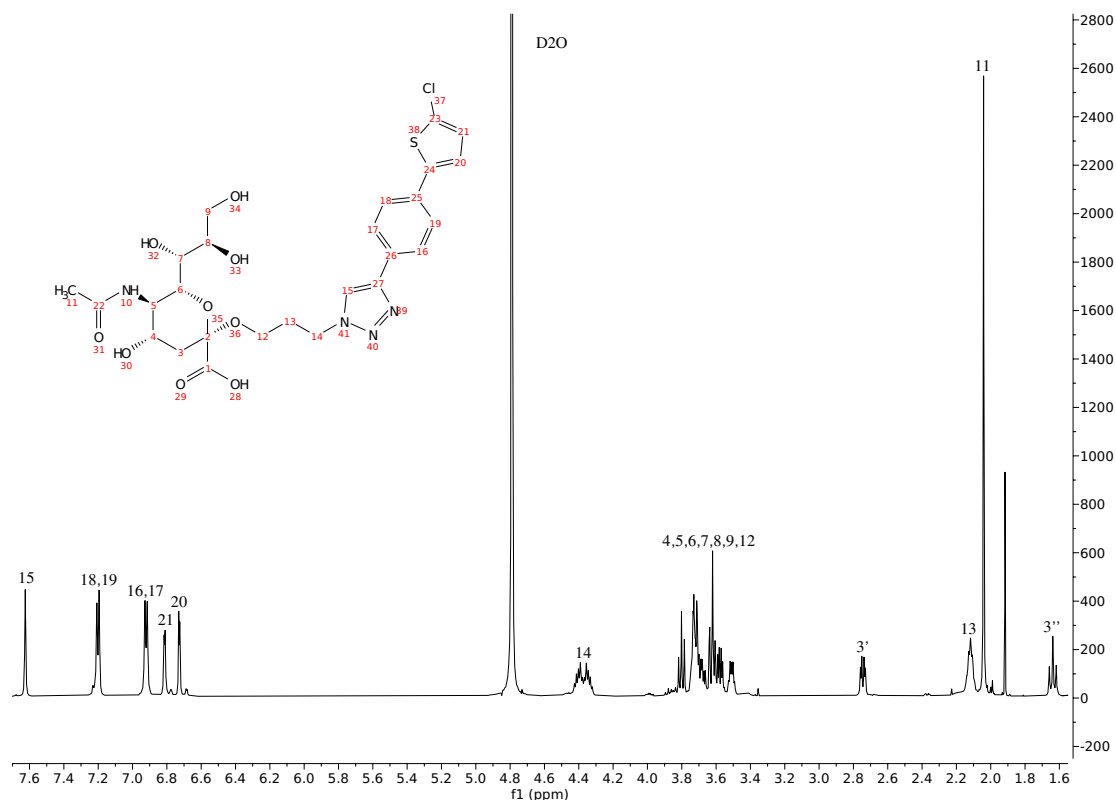


Abbildung 3.18: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Produkts **3d**, aufgenommen in D_2O bei 298 K und 600 MHz.

3.7 Untersuchungen der biologischen Aktivität

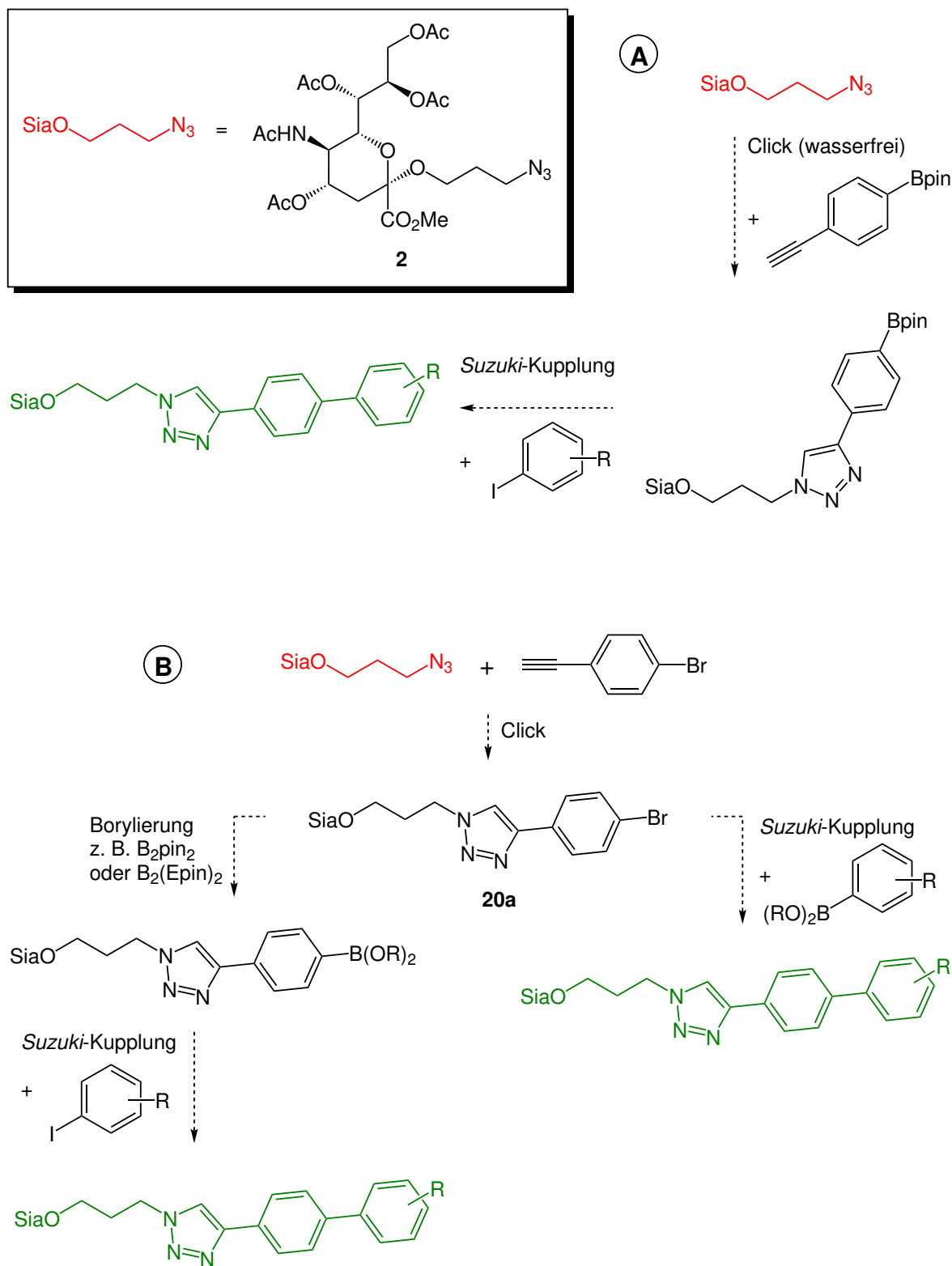
Auf der bisherigen Datengrundlage biophysikalischer Messungen der hier synthetisierten Sialomimetika kann die Fähigkeit des Siglec-7, das Sialomimetikum **3c** zu binden, bestätigt werden. Bei einer NanoDSF-Messung wurde eine Erhöhung des Schmelzpunktes des Protein-Ligand-Komplexes gegenüber dem Apoprotein von 1.28 °C beobachtet. Die ITC-Messung lieferte einen K_D -Wert von 202 μM . Unter Berücksichtigung der fehlenden Substitution der Hydroxygruppe in Position 9 zu einem Ethylsulfonamid liegt dieser Wert in der zu erwartenden Größenordnung, weil diese Substitution nach den Untersuchungen von *Prescher et al.* im Sialomimetikum zu etwa 66-fach verbesserten Bindungseigenschaften führt.^[28] Messungen mit den übrigen Sialomimetika stehen zum Zeitpunkt der Abgabe dieser Arbeit noch aus, sodass bisher kein Vergleich der Bindungsstärken anhand verschiedener Arylsubstituenten angeführt werden kann.

4 Ausblick

Die anomenreine Synthese arylsubstituierter Sialomimetika im großen Maßstab konnte etabliert werden. Auf der Grundlage dieser Arbeit wird die Synthese und Evaluierung einer großen Bandbreite diverser weiterer Sialomimetika möglich sein. Am Ende weiterer Untersuchungen sollte außerdem die Derivatisierung der besten gefundenen Sialomimetika mit einer Ethylsulfonamid-Gruppe in Position 9 des Sialinsäure-Bausteins stehen, um die Affinität in die für klinische Zwecke nötige Größenordnung zu verschieben (Entwicklung des *Leads*).

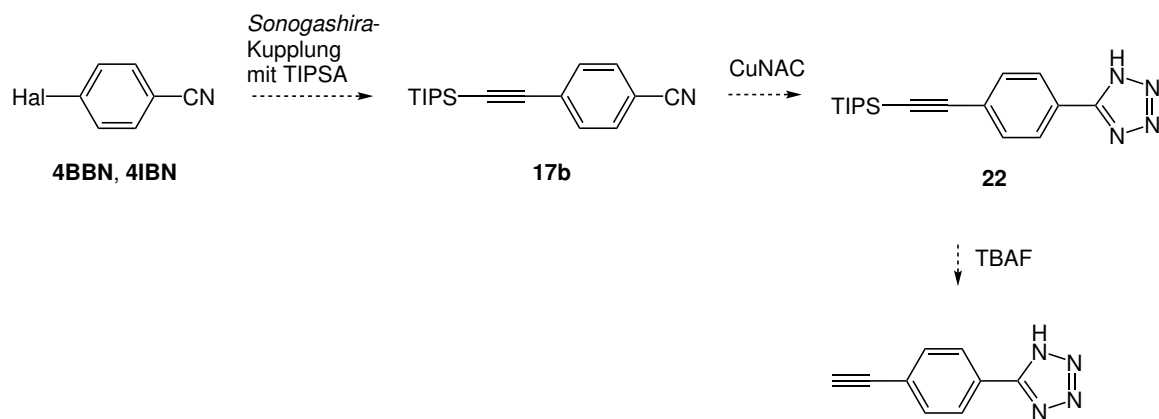
Bezüglich der unglücklichen Entwicklungen im Hinblick auf die Synthese verschiedener Biphenylacetylen-Derivate wird eine Anpassung der Synthesestrategie vorgeschlagen: Anstatt die Biphenylacetylene der Click-Reaktion vorangehend zu präparieren könnten die Probleme der Isolation solcher Alkin-Komponenten aus ihrer Reaktionsmischung durch eine *late stage-Suzuki*-Kupplung umgangen werden. Es könnte hierzu als einfachstes Beispiel kommerzieller 4-Ethynylphenylboronsäurepinakolester (**19**) in einer CuAAC mit dem Azid **2** umgesetzt werden und hiernach die Kupplung mit einem entsprechenden Arylhalogenid erfolgen. Die abschließende Entschützung des Sialomimetikums könnte unter den üblichen Bedingungen durchgeführt werden. Zu bedenken wäre in einer solchen Synthese, dass Phenylboronsäurepinakolester in wässrigem Reaktionsmedium innerhalb von Minuten bis Stunden zur freien Borsäure hydrolysieren, sodass das in dieser Arbeit verwendete Acetonitril-Wasser-System bei der Click-Reaktion problematisch sein könnte.^[74] Würde die CuAAC in einem wasserfreien Lösungsmittel durchgeführt würden, könnte diese Problematik umgangen werden. Besser wäre aber vielleicht noch die Verwendung des B(Epin)-Derivats, weil diese Art von Boronsäureester weit stabiler gegen Hydrolyse sind und somit eine gute Lagerform darstellen.^[75] Aufgrund schlechter kommerzieller Verfügbarkeit müsste dazu der B(Epin)-Ester selbst eingeführt werden, etwa durch Borylierung des Triazolylphenylhalogenids **20** mit B₂(Epin)₂ (**21**). Eine vollkommene Umgehung der Hydrolyseunbeständigkeit vieler Borsäureester und voraussichtlich kosteneffizienter wäre eine MBSK-Sequenz ausgehend von den terminalen Arylgruppen, in welcher das Sialosid-verknüpfte Triazolylphenylbromid **20a** in umgekehrter Weise als Kupplungspartner dient. Einen Überblick über diese Vorschläge einer neuen Synthesestrategie von Biphenyl-Sialomimetika gibt das Schema 4.1

In Bezug auf die Synthese des Ethynylphenyltetrazols, welches in dieser Arbeit nicht in ausreichender absoluter Ausbeute synthetisiert werden konnte, wird Folgendes vorgeschlagen: Es sollte versucht werden, aus 4-Brombenzonitril oder 4-Iodbenzonitril das literaturbekannte 4-(Triisopropylsilyl)ethynyl)benzonitril (**17b**) herzustellen und dieses mit Natriumazid zum Tetrazol **22** umzusetzen. Es ist aufgrund der höheren Stabilität TIPS-geschützter Alkine gegenüber den TMS-geschützten davon auszugehen, dass die *Glaser*-Kupplung nicht erfolgt. Abschließend wäre die TIPS-Entschützung mit TBAF erforderlich, um das freie Alkin zu erhalten (Schema 4.2). Ansonsten wäre in diesem Fall die Möglichkeit der *late stage*-CuNAC ausgehend vom Benzonitril-Sialomimetikum zu evaluieren,



Schema 4.1: Mögliche Routen zur Synthese im Arylrest halogenerter Biphenyl-Sialomimetika. **A:** Verwendung eines kommerziellen Alkin-Bpin-Bausteins. **B:** Nutzung eines Triazolylphenyl-halogenids als Verzweigungspunkt in der Synthese.

wobei aber ebenfalls die *Glaser*-Kupplung zum Dinitril aus Abbildung 3.12 im CuAAC-Schritt stören könnte und zu prüfen wäre, ob das geschützte Sialomimetikum die Behandlung in DMF bei 100 °C zulässt.



Schema 4.2: Alternativer Vorschlag zur Synthese des Ethynylphenyltetrazols basierend auf dem Wechsel von TMSA zu TIPSA.

5 Experimentalteil

5.1 Material und Methoden

Die verwendeten Lösungsmittel wurden ohne weitere Reinigung verwendet. Trockene Lösungsmittel wurden als solche eingekauft oder mit im Feinvakuum aktiviertem 4 Å Molekularsieb nachgetrocknet. Chemikalien wurden von den Herstellern *BIOZOL Diagnostics Vertrieb GmbH*, *BLD Pharmatec Ltd.*, *Carbolution Chemicals GmbH*, *Carl Roth GmbH*, *chemPUR Feinchemikalien und Forschungsbedarf GmbH*, *Sigma-Aldrich Chemie GmbH*, *Tokyo Chemical Industry Co. Ltd.* und *VWR International GmbH* bezogen und ohne weitere Reinigung verwendet. Reaktionsansätze bei tiefen Temperaturen wurden in Kühlbädern (Eis/Wasser) durchgeführt. Reaktionsansätze bei erhöhten Temperaturen wurden in Ölbädern durchgeführt.

Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgte mit Kieselgel M60 (Korngröße 0.040–0.063 nm) der Firma Macherey-Nagel. Hierzu wurde das Rohprodukt an Celite[®] der Firma *Carl Roth GmbH* adsorbiert und entweder per Handsäule oder per Flash-Chromatographie (Biotage Isolera One) isoliert. Als Elutionsmittel wurden Lösungsmittelgemische aus handelsüblichen Lösungsmitteln wie Aceton, Acetonitril, Cyclohexan, Dichlormethan, Essigsäureethylester, Ethanol, *n*-Hexan, Methanol, Toluol und Wasser verwendet. Die Kontrolle des Reaktionsfortschritts erfolgte mittels Dünnschichtchromatographie mit ALUGRAM[®] Xtra SIL G/UV₂₅₄ der Firma *Macherey-Nagel GmbH & Co. KG.* Die Detektion wurde unter Verwendung von UV-Licht (254 bzw. 360 nm) oder von Färbelösungen wie PMA in EtOH oder KMnO₄ in Pottasche-alkalischem Wasser durchgeführt.

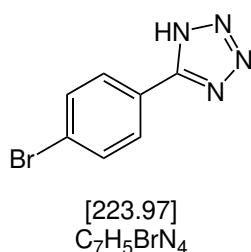
¹H-, ¹³C-, HSQC- und DEPT-135-Spektren wurden bei einer Temperatur von T=298 K auf einem Avance III - 300, einem Avance III - 500 und einem Avance III - 600 der Firma Bruker aufgenommen. Als interner Standard wurde das deuterierte Lösungsmittel verwendet. Eingesetzt wurden Deuteriochloroform (δ H 7.24, δ C 77.0), DMSO-d₆ (δ H 2.50, δ C 39.5) und D₂O (δ H 4.79). Zur Charakterisierung der Signale wurden die Verschiebung δ in ppm, die Multiplizität *m* und die Kopplungskonstante *J* in Hertz angegeben. Die Multiplizitäten wurden im Folgenden abgekürzt mit: s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, td = Triplett von Dublett, dd = Dublett von Dublett, ddd = Dublett von Dublett von Dublett und m = Multipllett. Die Zuordnung der ¹³C-Kohlenstoffatome erfolgte mithilfe der HSQC- und 135-DEPT-Spektren.

Sämtliche Massenspektren wurden in der Abteilung für Massenspektrometrie der Universität Düsseldorf (CeMSA@HHU) durchgeführt. EI-Massenspektren wurden auf dem Triple-Quadrupol-Gerät TSQ 7000 der Firma *Finnigan MAT* aufgenommen. ESI-Massenspektren wurden auf dem Gerät UHR-QTOF maXis 4G der Firma *Bruker Daltonics* gemessen.

5.2 Synthesen

5.2.1 Synthese der Edukte

5.2.1.1 5-(4-Bromphenyl)-1H-tetrazol (4g)^[56]



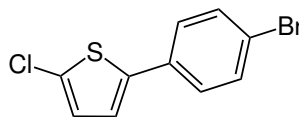
In einem 100 mL Rundkolben werden 2.5 g (13.73 mmol, 1 Äq.) 4-Brombenzonitril, 893 mg (13.73 mmol, 1 Äq.) Natriumazid und 69 mg (275 µmol, 2 mol%) Kupfer(I)-bromid in 11 mL DMF:MeOH:H₂O 9:1:1 gelöst und über Nacht bei 100 °C zum Rückfluss erhitzt. Die Reaktionsmischung wird nach Abkühlen filtriert und mit Wasser und MeOH nachgespült. Das Filtrat wird im Vakuum konzentriert und dann mit konzentrierter Salzsäure auf pH=3 eingestellt. Die entstandene Suspension wird durch Zugabe von Eis abgekühlt und der Niederschlag abfiltriert. Das ergab nach Trocknung 1.25 g (5.58 mmol, 41 %) schwach gelbes Pulver.

¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 10.35 (d, ³J_{HH}=8.3 Hz, 1H), 10.15 (d, ³J_{HH}=8.3 Hz, 1H).

¹H-NMR (DMSO, 300 MHz): δ 8.01–7.92 (m, 1H), 7.84–7.76 (m, 1H).

HRMS (ESI, pos., *m/z*): Berechnet für ¹³CC₆H₆⁸¹BrN₄: 227.9789. Beobachtet: 227.9782 ([⁸¹Br¹³CM+H]⁺), 226.9756 ([⁸¹BrM+H]⁺), 225.9802 ([⁷⁹Br¹³CM+H]⁺), 224.9775 ([⁷⁹BrM+H]⁺).

5.2.1.2 2-(4-Bromphenyl)-5-chlorthiophen (4i)



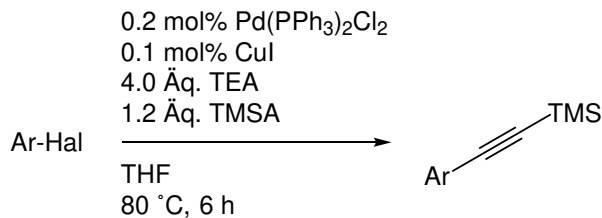
[273.57]
C₁₀H₆BrClS

In einem sekurierten Schlenk-Rohr werden 1.358 g (6.876 mmol, 1 Äq.) 2-Chlor-5-bromthiophen, 1.5 mL (10.31 mmol, 1 Äq.) HBpin, 3.8 mL (27.50 mmol, 4 Äq.) TEA und 1.5 mL (206 µmol, 3 mol %) (PPh₃)₂PdCl₂ im Gegenstrom vorgelegt und in 10 mL THF gelöst. Die Reaktionsmischung wird unter Rühren 3 d auf 50 °C erwärmt. Die Reaktionsmischung wird abkühlen gelassen und im Gegenstrom wird erst 1 mL MeOH langsam zugegeben, dann 1.945 g (6.876 mmol, 1 Äq.) 4-Bromiodbenzol und 2.465 g (7.564 mmol, 1.1 Äq.) Cäsiumcarbonat zugegeben. Die Reaktionsmischung wird noch 12 h bei 60 °C weitergerührt und dann über Silica Plug filtriert. Das Filtrat wird an Celite[®] adsorbiert und das Produkt säulenchromatographisch isoliert (nHex:EA). Das Rohprodukt (540 mg, 29 %) enthält noch 4-Bromiodbenzol, welches durch Umkristallisieren aus Ethanol entfernt wird. Das ergab 150 mg (548 µmol, 8 %) grünlich schimmernde Blättchen.

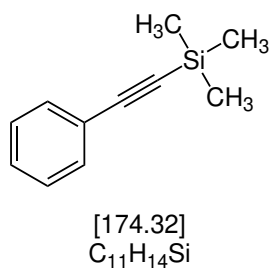
¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 7.54–7.44 (m, 2H, H-2', H-6'), 7.39–7.33 (m, 2H, H-3', H-5'), 7.05 (d, ³J_{HH}=3.9 Hz, 1H, H-3), 6.89 (d, ³J_{HH}=3.9 Hz, 1H, H-4).

¹³C-NMR (CDCl₃, 75 MHz): δ 141.7 (C_{quart}), 132.7 (C_{quart}), 132.2 (2 CH), 129.8 (CCl), 127.4 (CH), 127.1 (2 CH), 122.8 (CH), 121.8 (CBr).

MS (EI, m/z): Berechnet für ¹³CC₉H₆⁸¹Br³⁷ClS: 271.9062. Beobachtet: 277 ([¹³C⁸¹Br³⁷ClM]⁺, 3), 276 ([⁸¹Br³⁷ClM]⁺, 28), 275 ([¹³C⁸¹Br³⁵ClM]⁺, [¹³C⁷⁹Br³⁷ClM]⁺, 12), 274 ([⁸¹Br³⁵ClM]⁺, [⁷⁹Br³⁷ClM]⁺, 100), 273 ([¹³C⁷⁸Br³⁵ClM]⁺, 10), 272 ([⁷⁸Br³⁵ClM]⁺, 76).

5.2.1.3 Allgemeine Synthesevorschrift AS1 für *Sonogashira-Kupplung*^[76,77]

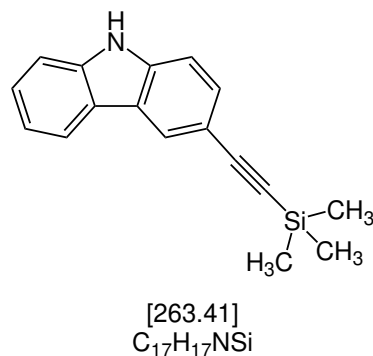
In einem sekurierten Schlenk-Rohr werden das Arylhalogenid **4** (1 Äq.), 0.2 mol% (PPh₃)₂PdCl₂, 0.1 mol% Kupfer(I)-bromid, 1.2 Äq. trockenes TEA und 4.0 Äq. TMSA vorgelegt und 10 mL trockenes THF zugegeben. Die Reaktionsmischung wird für 6 h bei 80 °C gerührt und nach Abkühlen über Silica Plug filtriert. Das Filtrat wird an Celite[®] adsorbiert und säulenchromatographisch das Produkt isoliert.

5.2.1.4 Trimethylsilylethynylbenzol (**23**)^[76,77]

Synthetisiert nach **AS1**. Erhalten als gelbes Öl, das TMSA in Spuren enthält. Ohne weitere Aufreinigung eingesetzt.

¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 7.53–7.41 (m, 2H), 7.30 (m, 3H), 0.26 (s, 9H).

MS (EI, m/z): 174 ([M]⁺, 23), 159 ([M-Me]⁺, 89).

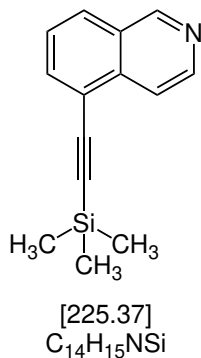
5.2.1.5 3-((Trimethylsilyl)ethynyl)-9*H*-carbazol (5d)^[60,78]

Synthetisiert nach **AS1** von 1 g (3.412 mmol, 1 Äq.) 3-Iod-9*H*-carbazol. Abweichend davon wird bei 50 °C über Nacht gerührt. Das gab 694 mg (2.635 mmol, 77 %) eines hellbraunen Feststoffs.

¹H-NMR (CDCl₃, 600 MHz): δ 8.25 (dd, ⁴J_{HH}=1.5, 0.7 Hz, 1H, **NH**), 8.07–8.03 (m, 2H, **H4**, **H5**), 7.54 (dd, ³J_{HH}=8.4, ⁴J_{HH}=1.6 Hz, 1H, **H8**), 7.44 (ddd, ³J_{HH}=8.2, 7.1 Hz, ⁴J_{HH}=1.2 Hz, 1H, **H7**), 7.38 (dd, ³J_{HH}=8.2, ⁴J_{HH}=0.9 Hz, 1H, **H1**), 7.31–7.24 (m, 2H, **H2**, **H6**), 0.32 (s, 9H, **Si(CH₃)₃**).

¹³C-NMR (CDCl₃, 600 MHz): δ 139.9 (**C8a**), 139.3 (**C9a**), 129.9 (**C2**), 126.5 (**C4**), 124.6 (**C7**), 123.3 (**C4a**), 123.0 (**C4b**), 120.6 (**C5**), 120.1 (**C6**), 113.9 (**C3**), 110.9 (**C1**), 110.6 (**C8**), 106.7 (**C_{alkin}**), 92.00 (**C_{alkin}**), 0.3 (**Si(CH₃)₃**).

HRMS (ESI, pos., *m/z*): Berechnet für C₁₇H₁₈NSi: 264.1209. Beobachtet: 266.1731 ([¹³C₂M+H]⁺), 265.1233 ([¹³CM+H]⁺), 264.1203 ([M+H]⁺), 263.2372 ([M]⁺).

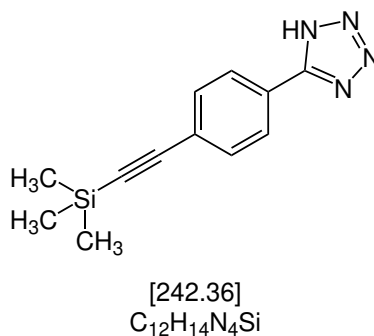
5.2.1.6 5-((Trimethylsilyl)ethynyl)isochinolin (5e)^[79]

Synthetisiert nach **AS1** von 1 g (4.806 mmol, 1 Äq.) 5-Bromisochinolin. Abweichend davon wird über Nacht bei RT gerührt. Das gab 310 mg (1.376 mmol, 29 %) eines gelb-braunen Öls.

¹H-NMR (CDCl₃, 600 MHz): δ 9.23 (d, ⁴J_{HH}=1.1 Hz, 1H, **H-1**), 8.61 (d, ³J_{HH}=5.8 Hz, 1H, **H-3**), 8.06 (dt, ³J_{HH}=5.9 Hz, ⁵J_{HH}=1.0 Hz, 1H, **H-4**), 7.91 (dt, ³J_{HH}=8.2 Hz, ⁴J_{HH}=1.0 Hz, 1H, **H-8**), 7.86 (dd, ³J_{HH}=7.2 Hz, ⁵J_{HH}=1.2 Hz, 1H, **H-6**), 7.52 (dd, ³J_{HH}=8.2, 7.2 Hz, 1H, **H-7**), 0.33 (s, 9H, (**CH₃**)₃).

¹³C-NMR (CDCl₃, 151 MHz): δ 152.8 (**C1**), 144.2 (**C3**), 136.3 (**C4a**), 134.5 (**C6**), 128.4 (**C8a**), 128.3 (**C8**), 126.7 (**C7**), 120.3 (**C5**), 118.9 (**C4**), 101.4 (**C_{alkin}**), 101.2 (**C_{alkin}**), 0.1 (**Si(CH₃)₃**).

HRMS (ESI, pos., m/z): Berechnet für C₁₄H₁₆NSi: 226.1052. Beobachtet: 228.1039 ([¹³C₂M+H]⁺), 227.1072 ([¹³CM+H]⁺), 226.1048 ([M+H]⁺).

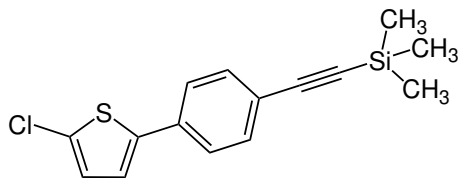
5.2.1.7 5-((4-Trimethylsilyl)ethynyl)phenyl-1*H*-tetrazol (5b)

Synthetisiert nach **AS1** von 462 mg (2.063 mmol, 1 Äq.) **4g**. Abweichend davon wird die Reaktionsmischung nicht über Silica Plug filtriert, sondern die flüssige Phase abpipettiert und der Feststoff in ACN:H₂O resolvatisiert und das Produkt per RP Flash Chromatographie isoliert. Das gab nach Lyophilisation 12 mg (49.5 µmol, 2 %) eines weißen Pulvers, das durch NMR als das Triethylaminsalz des Produktes identifiziert wurde.

¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 8.19–8.07 (m, 2H, 2 CH), 7.60–7.48 (m, 2H, 2 CH), 3.23 (s, 6H, N(CH₂)₃), 1.41 (s, 9H, N(CH₃)₃), 0.25 (s, 9H, Si(CH₃)₃).

MS (EI, m/z): 242 ([M]⁺, 13), 227 ([M-CH₃]⁺, 11), 214 ([M-N₂]⁺, 67), 199 ([M-HN₃]⁺, 71), 184 (14), 170 ([M-Si(CH₃)₃]⁺, 8).

5.2.1.8 ((4-(5-Chlorthiophen-2-yl)phenyl)ethynyl)trimethylsilan (5a)



[290.88]
C₁₅H₁₅ClSi

Synthetisiert nach **AS1** von 50 mg **4i** (183 μ mol, 1 \ddot{A} q.). Abweichend davon wird DMF statt THF verwendet und auf 110 °C geheizt; es werden außerdem 5 \ddot{A} q. TMSA eingesetzt. Das gab 27 mg (92.8 μ mol, 51 %) schwach grünen, amorphen Feststoff.

¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 7.48–7.41 (m, 4H, 4 CH_{Phenylen}), 7.09 (d, ³J_{HH}=3.9 Hz, 1H, CH_{Thiophen}), 6.89 (d, ³J_{HH}=3.9 Hz, 1H, CH_{Thiophen}), 0.26 (s, 9H, 3 CH₃).

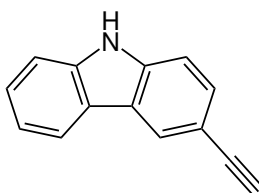
¹³C-NMR (CDCl₃, 75 MHz): δ 142.3 (C_{quart.}), 133.7 (C_{quart.}), 132.7 (2 CH), 130.0 (C_{quart.}), 127.4 (CH), 125.2 (2 CH), 122.9 (CH), 122.6 (C_{quart.}), 104.8 (C_{Alkin}), 95.7 (C_{Alkin}), 0.1 (3 CH₃).

GC-MS (EI, pos., m/z): 292 ([³⁷ClM]⁺), 290 ([³⁵ClM]⁺), 277 ([³⁷ClM-Me]⁺), 275 ([³⁵ClM-Me]⁺).

5.2.1.9 Allgemeine Synthesevorschrift AS2 für die TMS-Entschützung von terminalen Alkinen

Das TMS-geschützte terminal Alkin (500 μmol , 1 Äq.) wird für 2 h bei 50 °C mit 2 Äq. wasserfreiem K_2CO_3 in 20 mL MeOH gerührt. Danach wird 20 mL Wasser hinzugegeben und das entschützte Alkin mit 2 x 50 mL EA extrahiert. Nach Trocknung der organischen Phase mit MgSO_4 und entfernen der flüchtigen Komponenten im Vakuum werden die Alkine in sehr guten Ausbeuten erhalten.

5.2.1.10 3-Ethynyl-9H-carbazol (6e)^[78]

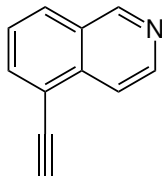


$\text{C}_{14}\text{H}_9\text{N}$
[191.23]

Synthetisiert nach **AS2** von 200 mg (682 μmol , 1 Äq.) **5d**. Das gab 127 mg (664 μmol , 97 %) braunen, amorphen Feststoff.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz): δ 8.25 (m, 1H), 8.14 (br. s, NH), 8.06 (d, $^3J_{\text{HH}}=7.7$ Hz, 1H), 7.55 (dd, $^3J_{\text{HH}}=8.4$, $^4J_{\text{HH}}=1.6$ Hz, 1H), 7.46–7.41 (m, 2H), 7.36 (dd, $^3J_{\text{HH}}=8.3$, $^4J_{\text{HH}}=0.7$ Hz, 1H), 7.26 (ddd, $^3J_{\text{HH}}=8.1$, 5.3 Hz, $^4J_{\text{HH}}=3.0$ Hz, 1H), 3.07 (s, C_2H).

MS (EI, m/z): 191 ($[\text{M}]^+$, 100), 163 (20), 140 ($[\text{C}_{10}\text{H}_6\text{N}]^+$, 3).

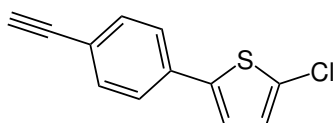
5.2.1.11 5-Ethynylisochinolin (6b)^[59]

C₁₁H₇N
[153.18]

Synthetisiert nach **AS2** von 100 mg (481 µmol, 1 Äq.) **5e**. Das gab 62 mg (405 µmol, 84 %) gelbes Pulver.

MS (EI, m/z): 153 ([M]⁺, 100), 126 ([M-CN]⁺, 64), 100 ([C₈H₄]⁺, 7), 77 ([C₅H₃N]⁺, 13), 76 ([C₆H₄]⁺, 17).

5.2.1.12 2-Chlor-5-(4-Ethynylphenyl)thiophen (6g)

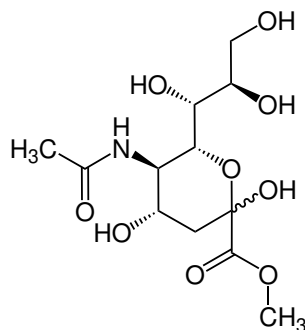


C₁₂H₇ClS
[218.70]

Synthetisiert nach **AS2** von 27 mg (99.0 µmol, 1 Äq.) **5a**. Das gab 21 mg (96.0 µmol, 97 %) eines gelbgrünen, nadelförmig kristallinen Feststoff.

GC-MS (EI, pos., m/z): 220 ([³⁷ClM]⁺), 218 ([³⁵ClM]⁺).

5.2.1.13 5-Acetamido-3,5-dideoxy-D-glycero- α -D-galacto-2-nonulopyranosonsäuremethylester (9)^[35]



[323.12]
C₁₂H₂₁NO₉

In einem mit Uhrglas abgedecktem 2 L Erlenmeyerkolben werden 20 g (64.67 mmol, 1 Äq.) NANA und 45 g Amberlite IRC-120(H) in 1 L MeOH suspendiert und 18 h stark bei RT gerührt. Die flüssige Phase wird abdekantiert und im Vakuum bis 100 mL konzentriert. Zum Konzentrat wird Toluol gegeben. Der ausgefallene Feststoff wird abfiltriert und erst luftgetrocknet, dann wird die Trocknung im Vakuum vervollständigt. Das gab 17.75 g (54.90 mmol, 85 %) glitzerndes, farbloses Pulver.

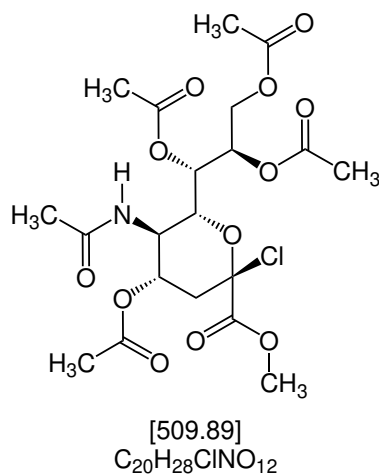
¹H-NMR (DMSO-d₆, 600 MHz): δ 8.09 (d, ³J_{HH}=8.4 Hz, 1H), 6.43 (s, 1H), 3.94 (dd, ³J_{HH}=10.2, 1.5 Hz, 1H), 3.85 (ddd, ³J_{HH}=11.3, 10.0, 5.0 Hz, 1H), 3.74 (dd, ³J_{HH}=10.6, 1.5 Hz, 1H), 3.70 (s, 3H), 3.60 (dd, ³J_{HH}=11.1, 2.6 Hz, 1H), 3.50 (dd, ³J_{HH}=9.3, 2.7 Hz, 1H), 3.29 (dd, ³J_{HH}=11.1, 6.8 Hz, 1H), 2.03 (dd, ³J_{HH}=12.8, 5.0 Hz, 1H), 1.89 (s, 3H), 1.72 (dd, ³J_{HH}=12.9, 11.2 Hz, 1H).

HRMS (ESI, pos., m/z): Berechnet für C₁₂H₂₂NO₉: 324.1295. Beobachtet: 326.1340 ([¹³C₂M+H]⁺), 325.1320 ([¹³CM+H]⁺), 324.1286 ([M+H]⁺), 323.3294 ([M]⁺).

MS (ESI, neg., m/z): 631 ([M+M-Me]⁻), 617 ([M-Me+M-Me+H]⁻), 309 ([M-Me+H]), 308 ([M-Me]⁻).

MS (ESI, pos., m/z): 362 ([M+K]⁺), 346 ([M+Na]⁺), 332 ([M-Me+Na]⁺).

5.2.1.14 5-Acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-2-chlor-2,3,5-trideoxy-D-glycero- α -D-galacto-2-nonulopyranosonsäuremethylester (10)^[33–35,61]

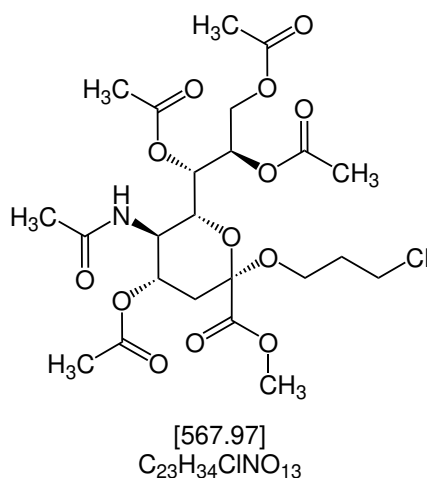


In einem 250 mL Einhalskolben mit Stopfen werden 4.15 g (12.84 mmol, 1 Äq.) **9** in 40 mL (650.5 mmol, 43.7 Äq.) AcCl suspendiert und unter Rühren langsam 3 mL trockener MeOH zugetropft. Die Reaktionsmischung wird 7 d bei RT gerührt. Flüchtige Komponenten werden im Vakuum entfernt, wobei zuletzt drei mal azeotrop mit trockenem Toluol destilliert wird. Der sirupöse Rückstand wird in DCM resolvatisiert und an Silica adsorbiert und das Produkt säulenchromatographisch mit EA isoliert. Das gab 3.8 g (7.453 mmol, 58 %) nahezu farblosen, amorphen Feststoff.

¹H-NMR (CDCl₃, 600 MHz): δ 5.56 (d, ³J_{HH}=10.2 Hz, 1H, NH), 5.47 (dd, ³J_{HH}=6.9, 2.4 Hz, 1H, H-7), 5.39 (ddd, ³J_{HH}=11.2, 10.4, 4.8 Hz, 1H, H-4), 5.17 (ddd, ³J_{HH}=6.9, 5.9, 2.7 Hz, 1H, H-8), 4.42 (dd, ³J_{HH}=12.5, 2.7 Hz, 1H, H-9'), 4.35 (dd, ³J_{HH}=10.8, 2.4 Hz, 1H, H-6), 4.20 (ddd, ³J_{HH}=10.5, 10.4, 10.4 Hz, 1H, H-5), 4.06 (dd, ³J_{HH}=12.5, 5.9 Hz, 1H, H-9''), 3.87 (s, 3H, OCH₃), 2.78 (dd, ³J_{HH}=13.9, 4.9 Hz, 1H, H-3'), 2.27 (dd, ³J_{HH}=13.9, 11.2 Hz, 1H, H-3''), 2.11 (s, 3H, COCH₃ H-9), 2.07 (s, 3H, COCH₃), 2.05 (s, 3H, COCH₃), 2.04 (s, 3H, COCH₃), 1.90 (s, 3H, COCH₃ NH).

HRMS (ESI, pos., m/z): Berechnet für C₂₀H₂₉³⁷ClNO₁₂: 512.1349. Beobachtet: 514.1498 ([³⁷Cl¹³C₂M+H]⁺), 513.1381 ([³⁷Cl¹³CM+H]⁺, [³⁷Cl¹³C₂M]⁺), 512.1352 ([³⁷ClM+H]⁺, [³⁷Cl¹³CM]⁺), 511.1408 ([³⁵Cl¹³CM+H]⁺, [³⁷ClM]⁺, [³⁵Cl¹³C₂M]⁺), 510.1377 ([³⁵ClM+H]⁺, [³⁵Cl¹³CM]⁺, [³⁵Cl¹³CM]⁺), 509.1978 ([³⁵ClM]⁺).

5.2.1.15 Methyl-((3-chlorprop-1-yl)-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- α -D-galacto-2-nonulosid)onat (12)^[28,37,39,80]

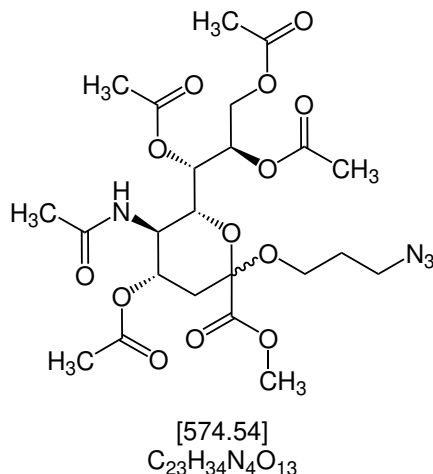


In einem 100 mL Einhalskolben mit Stopfen werden 3.8 g (7.453 mmol, 1 Äq.) **10** in 15 mL (180.4 mmol, 24 Äq.) 3-Chlorpropan-1-ol gelöst und unter starkem Rühren 1.826 g (7.453 mmol, 1 Äq.) Silbersalicylat (präpariert nach bekannter Methode)^[81,82] portionsweise innerhalb von 30 min hinzugegeben. Nach der Zugabe wird die Reaktionsmischung ohne weitere Verzögerung über Silica Plug filtriert (Nachspülen mit EA) und das Filtrat mit je 2 mal 50 mL gesättigter NaHCO₃-Lösung, Na₂S₂O₃-Lösung, Wasser und NaCl-Lösung gewaschen. Das Filtrat wird mit Na₂SO₄ getrocknet, erneut filtriert und flüchtige Komponenten im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde säulenchromatographisch mit einem DCM:Aceton-Gradienten isoliert. Das gab 1.674 g (2.947 mmol, 40 %) farblosen, amorphen Feststoff.

¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 5.39 (ddd, ³J_{HH}=8.2, 5.6, 2.7 Hz, 1H, **H-8**), 5.31 (dd, ³J_{HH}=8.3, 2.0 Hz, 1H, **H-7**), 4.83 (ddd, ³J_{HH}=12.1, 9.7, 4.5 Hz, 1H, **H-4**), 4.30 (dd, ²J_{HH}=12.4, ³J_{HH}=2.7 Hz, 1H, **H-9'**), 4.17–4.02 (m, 3H, **H-6**, **H-9''**, **H-5**), 3.89–3.83 (m, 1H, **OCH₂'**), 3.79 (s, 3H, **OCH₃**) 3.63–3.58 (m, 2H, **ClCH₂**), 3.41 (ddd, ⁴J_{HH}=9.8, ³J_{HH}=7.7, 4.5 Hz, 1H, **OCH₂''**), 2.56 (dd, ²J_{HH}=12.8, ³J_{HH}=4.6 Hz, 1H), 2.16 (s, 3H, **CH₃**), 2.13 (s, 3H, **CH₃**), 2.13 (s, 3H, **CH₃**), 2.07–2.03 (m, 2H, **(CH₂)₂CH₂**), 2.03 (s, 3H, **CH₃**), 2.02 (s, 3H, **CH₃**), 1.98–1.95 (m, 1H, **H-3''**).

HRMS (ESI, pos., *m/z*): Berechnet für C₂₃H₃₅³⁵ClNO₁₃: 568.1797. Beobachtet: 606 ([³⁵ClM+K]⁺), 590 ([³⁵ClM+Na]⁺), 585 ([³⁵ClM+H₂O]⁺), 571 ([¹³C³⁷ClM+H]⁺), 570 ([³⁷ClM+H]⁺), 569 ([¹³C³⁵ClM+H]⁺), 568.1806 ([³⁵ClM+H]⁺).

5.2.1.16 Methyl-((3-azidoprop-1-yl)-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-3,5-dideoxy-*D*-glycero- α -*D*-galacto-2-nonulosid)onat (**2**)^[42]



In einem 20 mL Schlenkrohr werden 120 mg (211 μ mol, 1 Äq.) **12** und 110 mg (1.7 mmol, 8 Äq.) Natriumazid in 3.5 mL DMF suspendiert. Die Reaktionsmischung wird 20 h bei 40 °C gerührt. Nach Beendigung der Reaktion wird die Reaktionsmischung über Faltenfilter filtriert und das Filtrat mit 25 mL EA versetzt. Der ausgefallene Feststoff wird erneut über den selben Faltenfilter filtriert und flüchtige Komponenten im Vakuum entfernt. Das gab 90 mg (157 μ mol, 74 %) gelb-braunen Sirup.

¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 5.40 (ddd, ³*J*_{HH}=8.4, 5.6, 2.7 Hz, 1H, H-8), 5.31 (dd, ³*J*_{HH}=8.5, 2.0 Hz, 1H, H-7), 5.19 (d, ³*J*_{HH}=9.5 Hz, 1H, NH), 4.85 (ddd, ³*J*_{HH}=12.3, 9.7, 4.7 Hz, 1H, H-4), 4.31 (dd, ²*J*_{HH}=12.4, ³*J*_{HH}=2.7 Hz, 1H, H-9'), 4.16–4.03 (m, 3H, H-6, H-9'', H-5), 3.80 (m, 4H, OCH₂', OCH₃), 3.39 (t, ³*J*_{HH}=6.7 Hz 1H, CH₂N₃), 3.33 (ddd, ²*J*_{HH}=9.8, ³*J*_{HH}=6.8, 5.2 Hz, 1H, OCH₂''), 2.57 (dd, ²*J*_{HH}=12.8, ³*J*_{HH}=4.6 Hz, 1H, H-3'), 2.14 (s, 3H, CH₃), 2.13 (s, 3H, CH₃), 2.04 (s, 3H, CH₃), 2.02 (s, 3H, CH₃), 1.94 (t, *J* = 12.6 Hz, 1H, H-3''), 1.88 (s, 3H, CH₃), 1.81 (ddd, *J* = 8.1, 5.5, 2.8 Hz, 1H, (CH₂)₂CH₂).

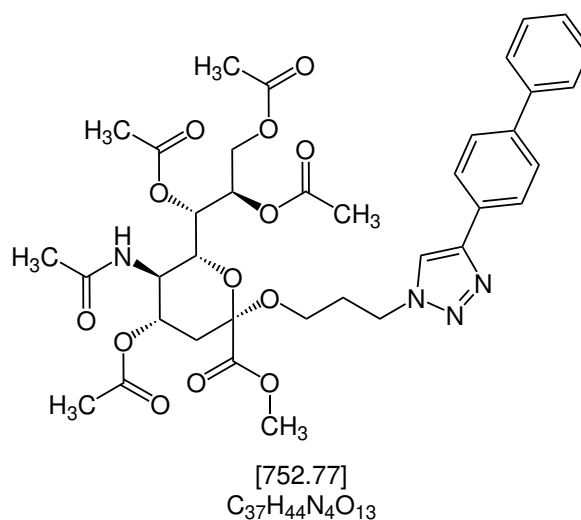
LC-MS (ESI, pos., *m/z*): Berechnet für C₂₃H₃₅N₄O₁₃: 575.2201. Beobachtet: 575.2201 ([M+H]⁺).

5.2.2 Synthese der geschützten Sialomimetika 18^[70]

5.2.2.1 Allgemeine Synthesevorschrift AS3 für CuAAC

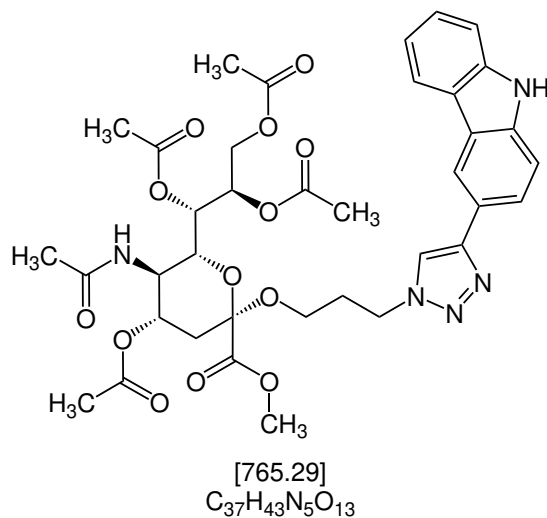
In einem 50 mL Einhalskolben mit Stopfen werden 9 mg (17.42 μmol , 0.2 \AA q.) TBTA und 9 mg (62.74 μmol , 0.72 \AA q.) CuBr vorgelegt. Dazu werden 50 mg (87.11 μmol , 1 \AA q.) des Azids **2** und 87.11 μmol (1 \AA q.) des Alkins als Lösung in je 6 mL ACN:H₂O 2:1 gegeben. Der Reaktionsansatz wird für 20 h bei 60 °C gerührt und nach Abkühlen an eine Spatelspitze QuadraSil™ MP(S) adsorbiert. Der Rückstand wird mit EA resolvatisiert und ein Löffel Silica hinzugegeben. Das Lösungsmittel wird erneut im Vakuum entfernt und das Gel-Produktgemisch-Adsorbat zur Auftragung in der Flash-Chromatographie verwendet. Das Produkt wird mit einem CH:EA-Gradienten isoliert. Hierbei eluieren in der Regel die Verunreinigungen zuerst und das Produkt zuletzt. Falls nötig wird das so erhaltene Rohprodukt noch per Reversed-Phase Flash-Chromatographie weiter gereinigt. Die Click-Produkte werden auf diese Weise in moderaten Ausbeuten erhalten.

5.2.2.2 Methyl-((3-(4-(1,1'-biphenyl-4-yl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)prop-1-yl)-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- α -D-galacto-2-nonulosid)onat (18a)^[28]



Synthetisiert nach **AS3** von 50 mg (87.11 μmol , 1 \AA q.) **2** und 16 mg (87.11 μmol , 1 \AA q.) Biphenylacetylen. Das gab 32 mg (42.51 μmol , 48 %) eines farblosen Sirups.

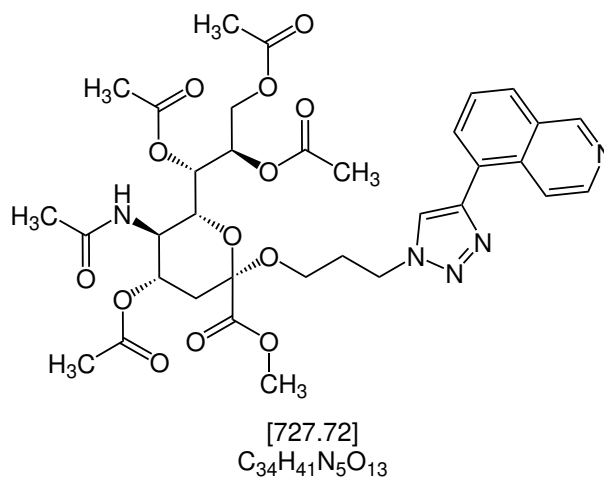
¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 7.95 (s, 1H, Triazol), 7.92 (d, ³J_{HH}=2.8 Hz, 2H, Ar), 7.67 (d, ³J_{HH}=8.2 Hz, 2H, Ar), 7.64 (dd, ³J_{HH}=7.0, 1.5 Hz, 2H, Ar), 7.48–7.42 (m, 2H, Ar), 7.39–7.32 (m, 1H, Ar), 5.38 (dd, ³J_{HH}=5.7, 2.6 Hz, 1H, H-8), 5.34–5.29 (m, 1H, H-7), 5.14 (d, ³J_{HH}=9.2 Hz, 1H, NH), 4.90–4.81 (m, 1H, H-4), 4.57–4.49 (m, 2H, NCH₂), 4.29 (dd, ²J_{HH}=12.4 Hz, ³J_{HH}=2.7 Hz, 1H, H-9'), 4.13–4.07 (m, 2H, H-6, H-5), 4.02 (dd, ²J_{HH}=12.4 Hz, ³J_{HH}=5.8 Hz, 1H, H-9''), 3.93–3.85 (m, 1H, OCH₂'), 3.76 (s, 3H, OCH₃), 3.31 (dt, ²J_{HH}=10.7 Hz, ³J_{HH}=6.0 Hz, 1H, OCH₂''), 2.59 (dd, ²J_{HH}=12.7 Hz, ³J_{HH}=4.6 Hz, 1H, H-3'), 2.14 (s, 3H, CH₃), 2.13 (s, 3H, CH₃), 2.02 (s, 6H, 2 CH₃), 2.00–1.94 (m, 3H, H-3'', (CH₂)₂CH₂), 1.88 (s, 3H, CH₃).

5.2.2.3 Methyl-((3-(4-(9H-carbazol-3-yl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)prop-1-yl)-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- α -D-galacto-2-nonulosid)onat (18b)

Synthetisiert nach **AS3** von 50 mg (87.11 μ mol, 1 \ddot{A} q.) **2** und 23 mg (87.11 μ mol, 1 \ddot{A} q.) **6e**. Das gab 10 mg (13.07 μ mol, 15 %) orangen Sirup.

LC-MS (ESI, pos., m/z): Berechnet für $C_{37}H_{44}N_5O_{13}$: 766.2936. Beobachtet: 766.29 ($[M+H]^+$),

5.2.2.4 Methyl-((3-(4-(isochinolin-5-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)prop-1-yl)-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- α -D-galacto-2-nonulosid)onat (18c)

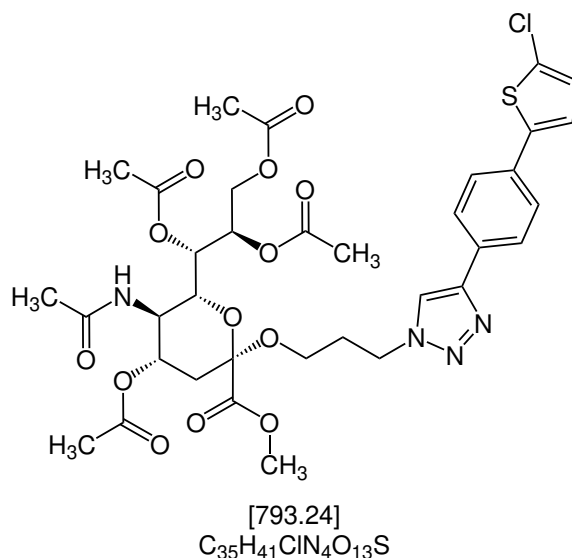


Synthetisiert nach **ASX** von 225 mg (392 μ mol, 1 \ddot{A} q.) **2** und 60 mg (392 μ mol, 1 \ddot{A} q.) **6b**. Das gab nach Reversed-Phase Flash-Chromatographie 70 mg (96.19 μ mol, 25 %) eines schwach gelben Pulvers.

¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 8.05 (t, ³*J*_{HH}=8.3 Hz, 2H, Ar), 7.98 (s, 1H, Triazol), 7.82–7.70 (m, 1H, Ar), 5.36 (ddd, ³*J*_{HH}=5.9, 5.6, 2.8 Hz, 1H, H-8), 5.30 (dd, ³*J*_{HH}=8.8, 1.7 Hz, 1H, H-7), 5.22 (d, ³*J*_{HH}=8.6 Hz, 1H, NH), 4.92–4.81 (m, 1H, H-4), 4.61 (ddd, ³*J*_{HH}=7.1, 6.9, 6.9 Hz, 2H, NCH₂), 4.21 (dd, ²*J*_{HH}=12.4 Hz, ³*J*_{HH}=2.6 Hz, 1H, H-9'), 4.14–4.04 (m, 2H, H-5, H-6), 3.98–3.93 (m, 1H, OCH₂'), 3.93–3.87 (m, 1H, H-9''), 3.76 (s, 3H, OCH₃), 3.41–3.32 (m, 1H, OCH₂''), 2.60 (dd, ²*J*_{HH}=12.8 Hz, ³*J*_{HH}=4.6 Hz, 1H, H-3'), 2.29 (p, ³*J*_{HH}=6.4 Hz, 2H, (CH₂)₂CH₂), 2.11 (s, 3H, CH₃), 2.10 (s, 3H, CH₃), 2.03–1.99 (m, 7H, 2 CH₃, H-3''), 1.88 (s, 3H, CH₃).

LC-MS (ESI, pos., *m/z*): Berechnet C₃₄H₄₂N₅O₁₃: 728.2779; C₁₄H₁₅N₅O: 255.1246. Beobachtet: 728.28 ([M+H]⁺), 255.12 ([C₁₄H₁₅N₅O]⁺).

5.2.2.5 Methyl-((3-(4-(4-(5-chlorthiophen-2-yl)phen-1-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)prop-1-yl)-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- α -D-galacto-2-nonulosid)onat (18d)



Synthetisiert nach **ASX** von 52 mg (91.0 μ mol, 1 \ddot{A} q.) **2** und 20 mg (91.0 μ mol, 1 \ddot{A} q.) **6g**. Das gab nach Reversed-Phase Flash-Chromatographie 25 mg (31.52 μ mol, 35 %) eines farblosen Sirups.

¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 7.88 (s, 1H, Triazol), 7.85 (d, ³*J*_{HH}=8.4 Hz, 2H, 2 CH, außen), 7.59–7.54 (m, 2H, 2 CH, innen), 7.11 (d, ³*J*_{HH}=3.9 Hz, 1H, CH, außen), 6.90 (d, ³*J*_{HH}=3.8 Hz, 1H, CH, innen), 5.38 (ddd, ³*J*_{HH}=8.7, 5.8, 2.7 Hz, 1H, H-8), 5.32 (dd, ³*J*_{HH}=8.8, 2.1 Hz, 1H, H-7), 5.18–5.13 (m, 1H, H-10), 4.85 (ddd, ³*J*_{HH}=12.2, 9.6, 4.5 Hz, 1H, H-4), 4.57–4.47 (m, 2H, NCH₂), 4.29 (dd, ²*J*_{HH}=12.4 Hz, ³*J*_{HH}=2.7 Hz, 1H, 9'), 4.11 (dd, ³*J*_{HH}=10.7, 2.2 Hz, 2H, H-5, H-6), 4.02 (dd, ²*J*_{HH}=12.4 Hz, ³*J*_{HH}=5.9 Hz, 1H, 9''), 3.88 (dt, ²*J*_{HH}=9.8 Hz, ³*J*_{HH}=5.6 Hz, 1H, OCH₂'), 3.75 (s, 3H, OCH₃), 3.30 (dt, ²*J*_{HH}=9.9 Hz, ³*J*_{HH}=6.1 Hz, 1H, OCH₂''), 2.59 (dd, ²*J*_{HH}=12.8 Hz, ³*J*_{HH}=4.6 Hz, 1H, 3'), 2.23 (ddd, ³*J*_{HH}=6.5, 6.4, 6.4 Hz, 2H, (CH₂)₂CH₂), 2.13 (s, 3H, CH₃), 2.13 (s, 3H, CH₃), 2.02 (s, 6H, 2 CH₃), 1.96 (dd, 1H, 3''), 1.88 (s, 3H, CH₃).

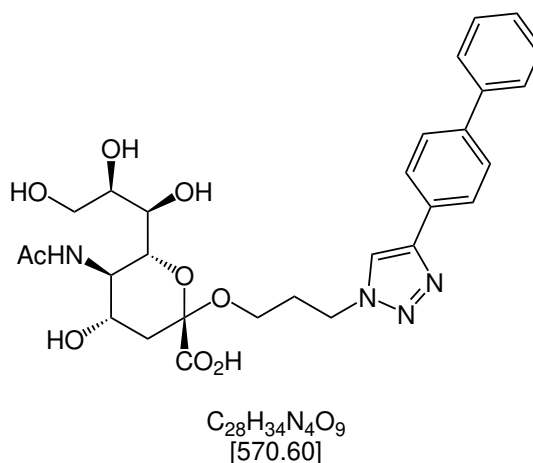
LC-MS (ESI, pos., *m/z*): Berechnet für C₃₅H₄₂³⁵ClN₄O₁₃S: 793.2158. Beobachtet: 793.2155 ([³⁵ClM+H]⁺).

5.2.3 Entschützung der Sialomimetika

5.2.3.1 Allgemeine Synthesevorschrift AS4 zur Entschützung der Produkte^[70]

In einem 50 mL Einhalskolben mit Stopfen wird das geschützte Produkt **18** in 20 mL 0.2 M methanolischer NaOMe-Lösung aufgelöst und für 2 h bei RT stehen gelassen. Dann wird die Reaktionslösung mit 1 N HCl auf pH=8 eingestellt und der enthaltene Methanol im Vakuum entfernt. Der Rest der wässrigen Produktlösung wird flüssig in die RP Flash-Kartusche injiziert um das Produkt chromatographisch zu isolieren. Nach Lyophilisation der Produktenthaltenden Fraktionen werden die entschützten Produkte **3** erhalten.

5.2.3.2 ((3-(4-(1,1'-Biphenyl-4-yl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)prop-1-yl)-5-acetamido-3,5-dideoxy-D-glycero- α -D-galacto-2-nonulosid)onsäure (**3a**)^[28]

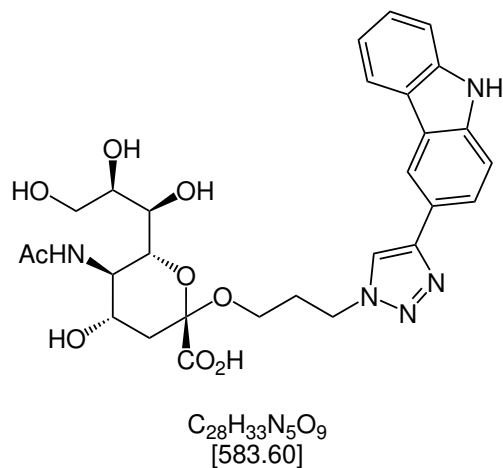


Synthetisiert nach **ASX** von 32 mg (47.29 μ mol) **18a**. Das gab 11 mg (19.28 μ mol, 41 %) weißes Pulver.

¹H-NMR (D_2O , 300 MHz): δ 7.90–7.26 (m, 10H, Arylrest), 4.50–3.17 (m, 12H, H-4-H-9, 5 Alkylkette), 2.70 (dd, J = 12.4, 4.6 Hz, 1H, 3'), 2.06–1.87 (m, 4H, NHAc, 1 Linker), 1.57 (dd, J = 11.9, 11.9 Hz, 1H, 3'').

LC-MS (ESI, pos., m/z): Berechnet für $C_{28}H_{35}N_4O_9$: 571.2404; $C_{17}H_{18}N_3O$: 280.1450. Beobachtet: 571.2395 ($[M+H]^+$), 280.1440 ($[C_{17}H_{18}N_3O]^+$).

HRMS (ESI, neg., m/z): Berechnet für $C_{28}H_{33}N_4O_9$: 569.2248. Beobachtet: 569.2270 ($[M-H]^-$).

5.2.3.3 ((3-(4-(9H-Carbazol-3-yl)-1H-1,2,3-triazol-1-yl)prop-1-yl)-5-acetamido-3,5-dideoxy-D-glycero- α -D-galacto-2-nonulosid)onsäure (3b)

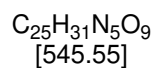
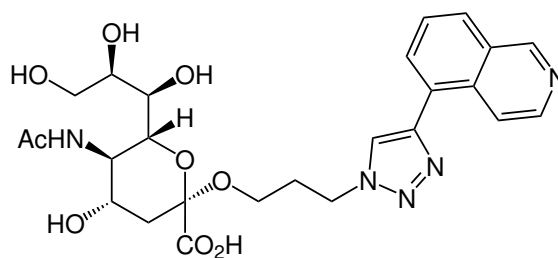
Synthetisiert nach **X** von 10 mg (13.07 μ mol) **18b**. Das gab 1.2 mg (2.056 μ mol, 16 %) schwach gelbliches Pulver.

1 H-NMR (D₂O, 300 MHz): δ 8.50 (s, 1H), 8.28 (s, 1H, **Triazol**), 8.24 (d, 1H), 7.87 (d, 1H), 7.67 (s, 1H), 7.62 (d, 1H), 7.54 (t, 1H), 7.33 (t, 1H), 4.62–4.48 (m, 2H, **NCH₂**), 3.78–3.30 (m, 9H, **H-4-H-9, OCH₂**) 2.68 (dd, $J=12.5, 4.6$ Hz, 1H, **3'**), 2.28–2.18 (m, 2H, **(CH₂)₂CH₂**), 2.00 (s, 3H, **NHAc**), 1.58 (t, $J=12.0$ Hz, 1H, **3''**).

LC-MS (ESI, pos., m/z): Berechnet $C_{28}H_{34}N_5O_9$: 584.2357; $C_{17}H_{17}N_4O$: 293.1402. Beobachtet: 584.23 ($[M+H]^+$), 293.14 ($[C_{17}H_{17}N_4O]^+$).

HRMS (ESI, neg., m/z): Berechnet für $C_{28}H_{32}N_5O_9$: 582.2200. Beobachtet: 584.2280 ($[^{13}C_2M-H]^-$), 583.2247 ($[^{13}CM-H]^-$) 582.2212. ($[M-H]^-$).

5.2.3.4 ((3-(4-(Isochinolin-5-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)prop-1-yl)-5-acetamido-3,5-dideoxy-D-glycero- α -D-galacto-2-nonulosid)onsäure (3c)

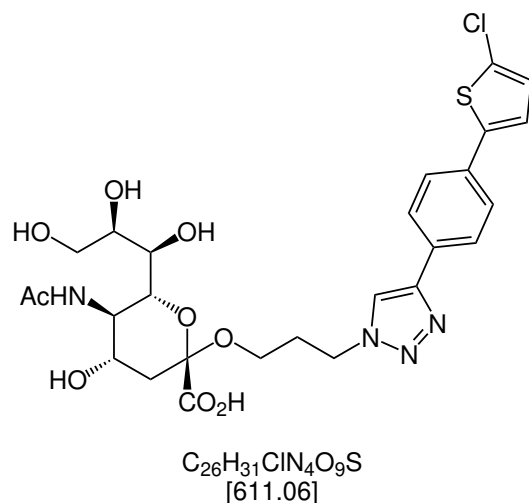


Synthetisiert nach **ASX** von 59 mg (77.1 μ mol) **18c**. Das gab 10 mg (18.33 μ mol, 24 %) eines weißen, kristallinen Pulvers.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz): δ 9.10 (s, 1H, **CH-1**), 8.29 (d, 1H), 8.21 (s, 1H, **Triazol**), 8.00 (d, 1H), 7.88 (d, 1H), 7.83 (d, 1H), 7.64 (t, 1H), 4.65–4.52 (m, 2H, **NCH₂**), 3.78–3.35 (m, 9H, **H-4-H-9, OCH₂**), 2.66 (dd, $^2J_{\text{HH}}=12.4$ Hz, $^3J_{\text{HH}}=4.1$ Hz, 1H, **3'**), 2.22 (p, $^3J_{\text{HH}}=6.3$ Hz, 2H, **(CH₂)₂CH₂**), 1.99 (s, 3H, **NHAc**), 1.53 (t, $^2J_{\text{HH}}=11.8$ Hz, 1H, **3''**).

LC-MS (ESI, pos., m/z): Berechnet für $C_{25}H_{32}N_5O_9$: 546.2200; $C_{14}H_{15}N_5O$: 255.1246. Beobachtet: 546.22 ($[\text{M}+\text{H}]^+$), 255.12 ($[\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}]^+$).

5.2.3.5 ((3-(4-(4-(5-Chlorthiophen-2-yl)phen-1-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)prop-1-yl)-5-acetamido-3,5-dideoxy-D-glycero- α -D-galacto-2-nonulosid)onsäure (3d)



Synthetisiert nach **ASX** von 21.7 mg (27.36 μ mol) **18d**. Das gab 9.0 mg (14.73 μ mol, 54 %) eines weißen, kristallinen Pulvers.

1H -NMR (D_2O , 600 MHz): δ 7.63 (s, 1H, **Triazol**), 7.20 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H, **2 CH, außen**), 6.92 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H, **2 CH, innen**), 6.81 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H, **CH, außen**), 6.73 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H, **CH, innen**), 4.43–4.31 (m, 2H, **NCH₂**), 3.80 (t, $^3J_{HH}=10.0$ Hz, 1H), 3.76–3.65 (m, 4H), 3.65–3.60 (m, 2H), 3.58 (dd, $^3J_{HH}=12.0, 5.4$ Hz, 1H), 3.51 (dt, $^3J_{HH}=10.5, 5.5$ Hz, 1H), 2.74 (dd, $^2J_{HH}=12.3, ^3J_{HH}=4.7$ Hz, 1H, **H-3'**), 2.16–2.08 (m, 2H, **(CH₂)₂CH₂**), 2.04 (s, 3H, **NHAc**), 1.64 (t, $^2J_{HH}=12.1$ Hz, 1H, **H-3''**).

^{13}C -NMR (D_2O , 151 MHz): δ 175.05 (**CO**), 173.45 (**CO₂H**), 150.55, 146.47, 141.66, 132.33, 128.28, 127.68, 125.61 (**2 C**), 124.86 (**2 C**), 122.56, 121.52, 100.42 (**anom.**), 72.59 (**C-8**), 71.57 (**C-7**), 68.31 (**C-6**), 68.02 (**C-4**), 62.25 (**C-9**), 61.10 (**OCH₂**), 51.97 (**C-5**), 47.71 (**NCH₂**), 40.39 (**C-3**), 29.68 (**(CH₂)₂CH₂**), 22.01 (**CH₃**).

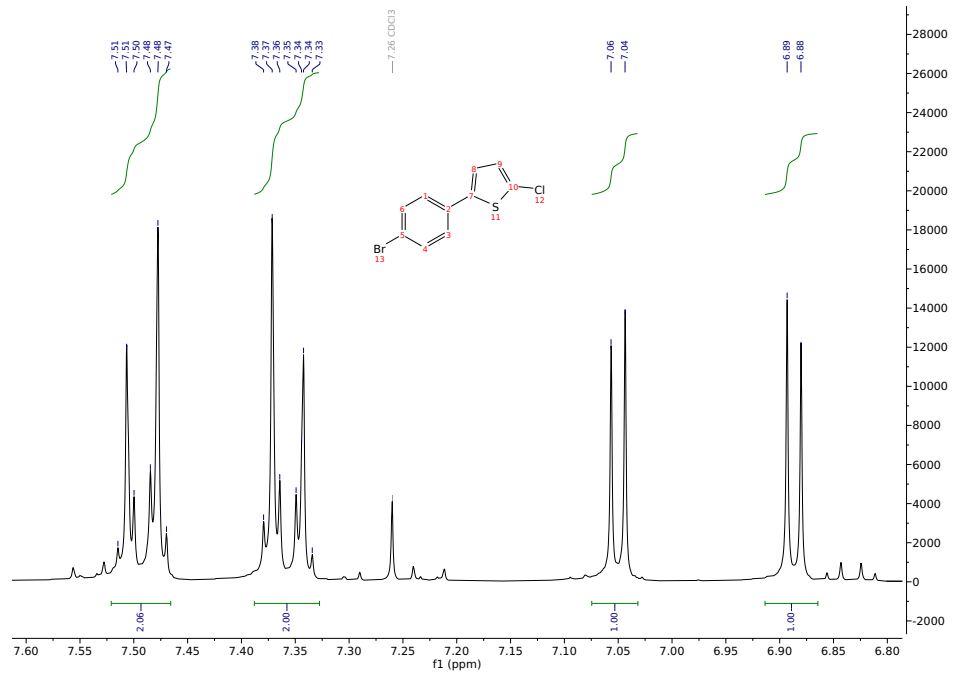
LC-MS (**ESI, pos., m/z**): Berechnet für $C_{26}H_{32}^{35}ClN_4O_9S$: 611.1579; $C_{15}H_{15}^{35}ClN_3OS$: 320.0619. Beobachtet: 611.1586 ($[^{35}ClM+H]^+$), 320.0622 ($[C_{15}H_{15}^{35}ClN_3OS]^+$).

HRMS (**ESI, pos., m/z**): Berechnet für $C_{26}H_{32}^{35}ClN_4O_9S$: 611.1579; $C_{15}H_{15}^{35}ClN_3OS$: 320.0619. Beobachtet: 614.1588 ($[^{37}Cl^{13}CM+H]^+$), 613.1560 ($[^{37}ClM+H]^+$), 612.1613 ($[^{35}Cl^{13}CM+H]^+$), 611.1574 ($[^{35}ClM+H]^+$), 320.06 ($[C_{15}H_{15}^{35}ClN_3OS]^+$).

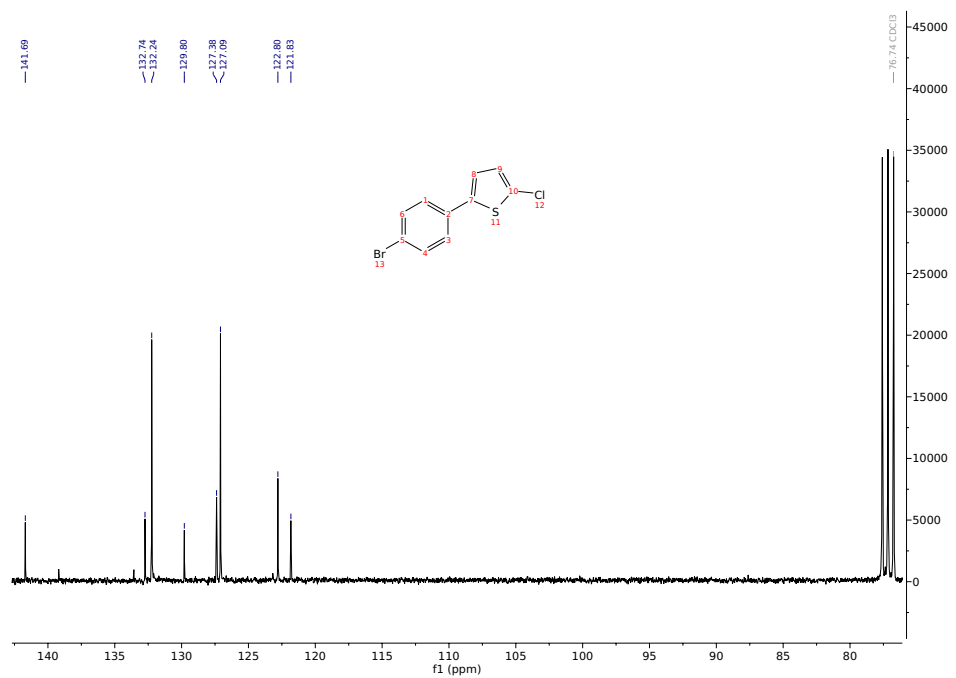
6 NMR Spektren

2-(4-Bromphenyl)-5-chlorthiophen (X)

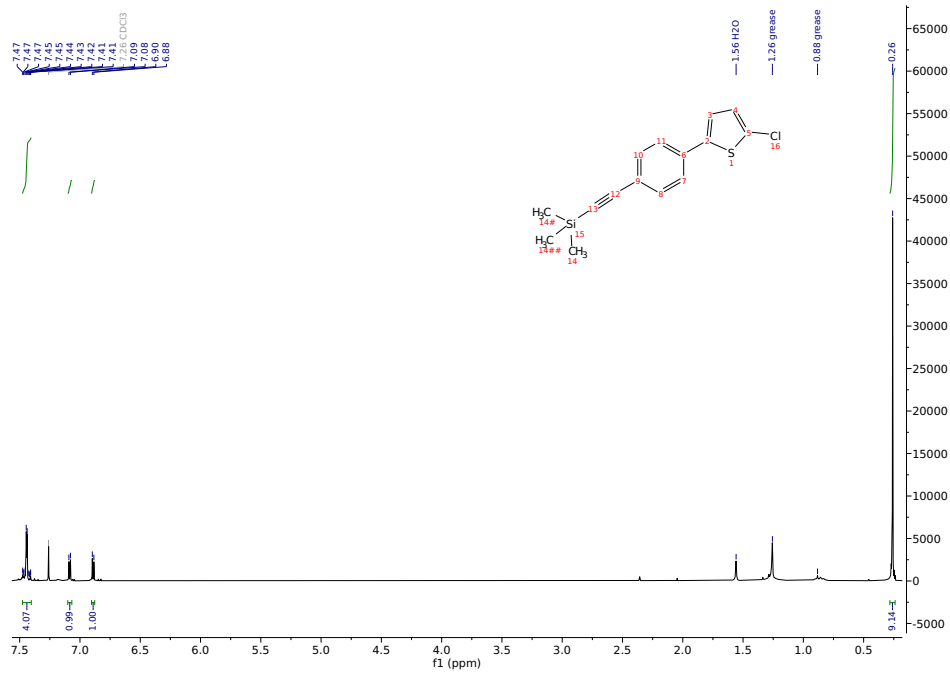
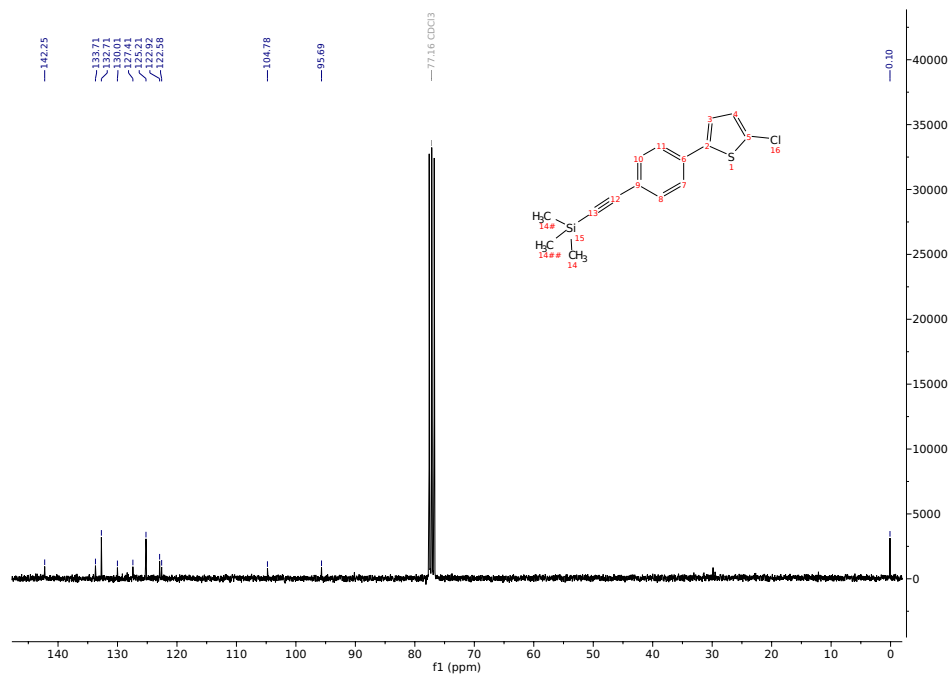
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz, 298 K)



$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 75 MHz, 298 K)

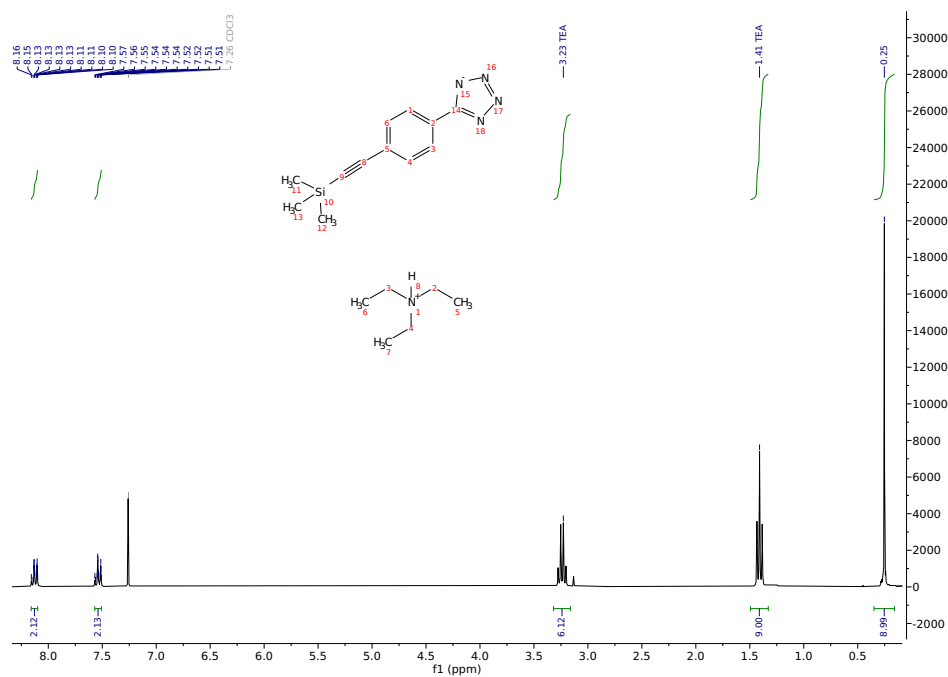


2-(4-((Trimethylsilyl)ethynyl)phenyl)-5-chlorothiophen (X)

 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz, 298 K) $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 75 MHz, 298 K)

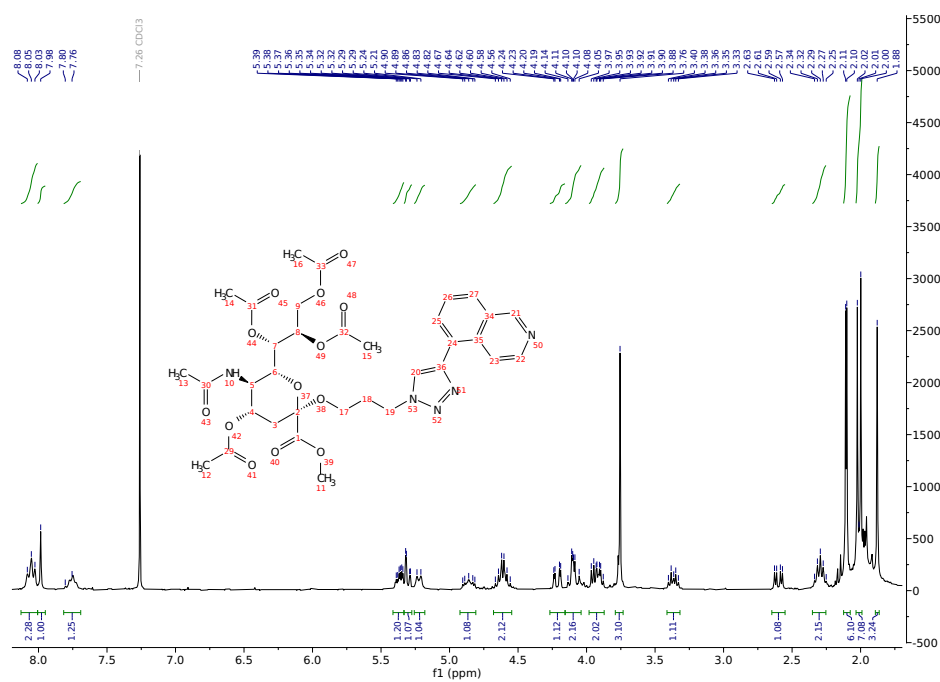
Triethylammonium-5-(4-((trimethylsilyl)ethynyl)phenyl)-1*H*-tetrazolat (X)

¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz, 298 K)



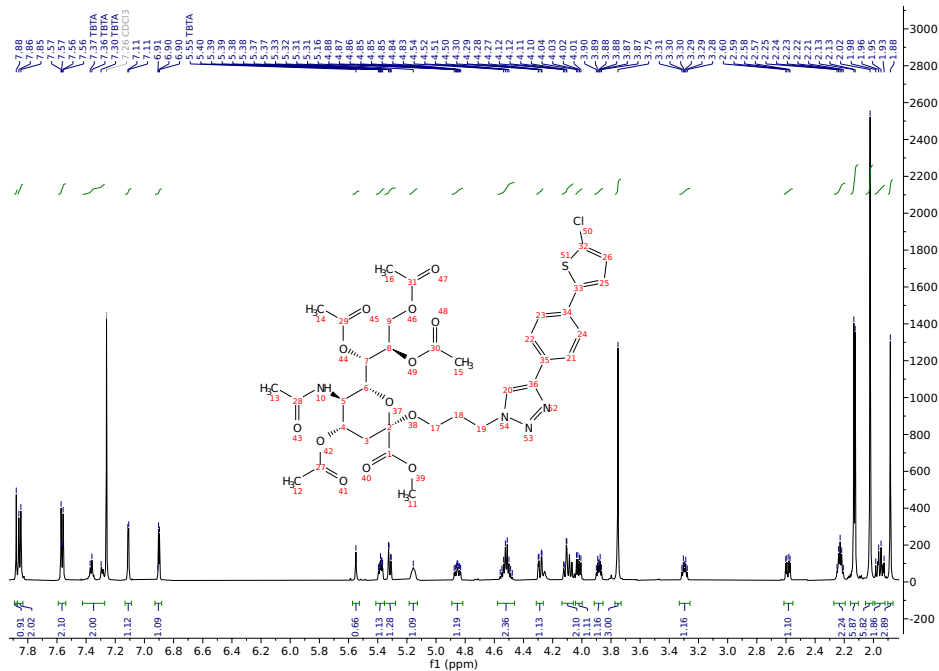
Methyl-((3-(4-(isochinolin-5-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)prop-1-yl)-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- α -D-galacto-2-nonulosid)onat (X)

¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz, 298 K)



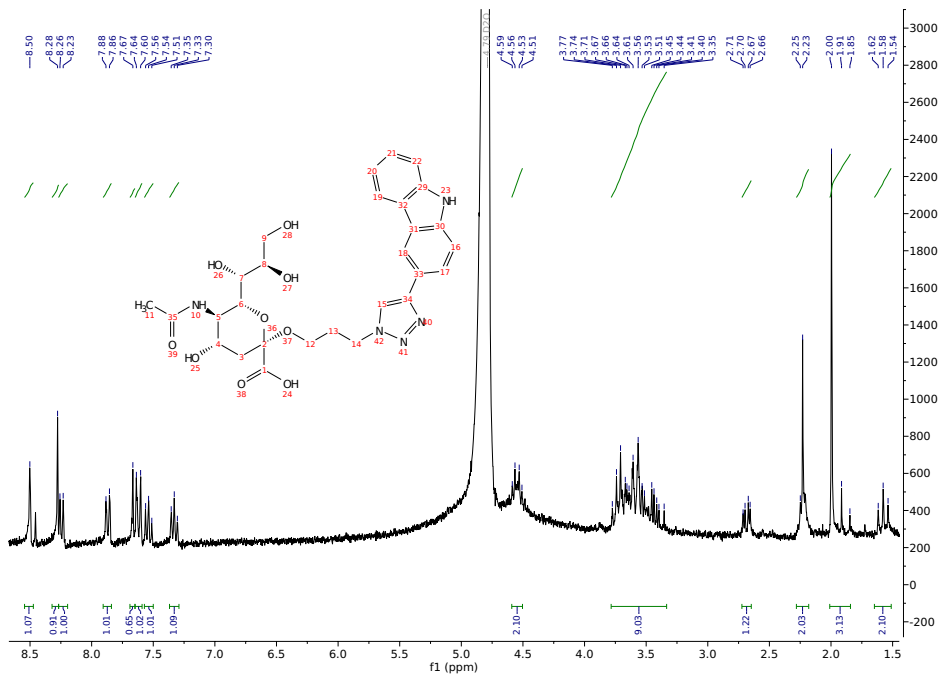
Methyl-((3-(4-(4-(5-chlorthiophen-2-yl)phen-1-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)prop-1-yl)-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- α -D-galacto-2-nonulosid)onat (X)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz, 298 K)



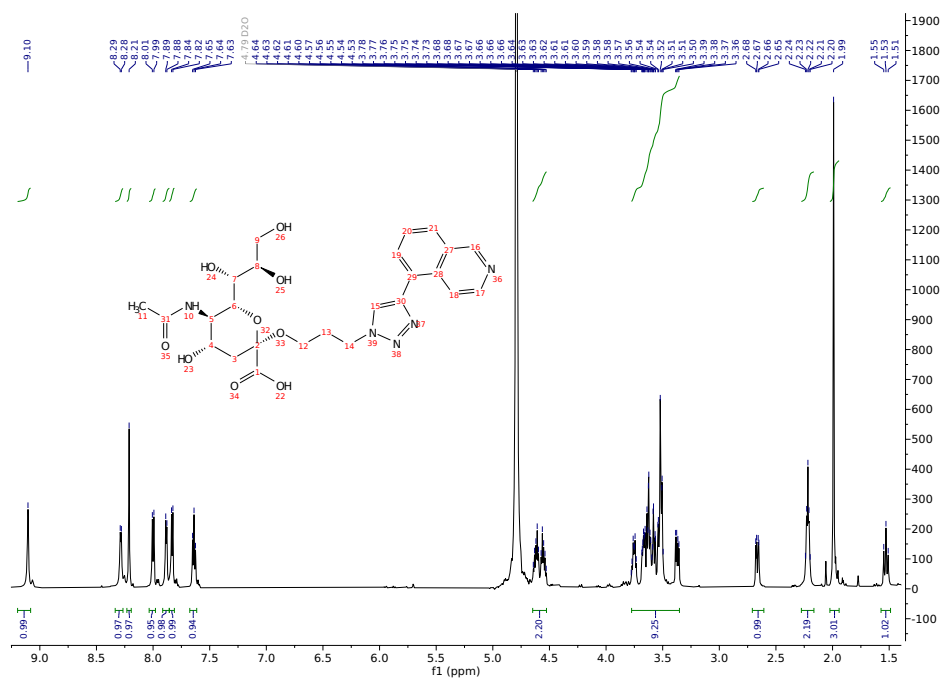
((3-(4-(9*H*-Carbazol-3-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)prop-1-yl)-5-acetamido-3,5-dideoxy-D-glycero- α -D-galacto-2-nonulosid)onsäure (X)

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O , 300 MHz, 298 K)



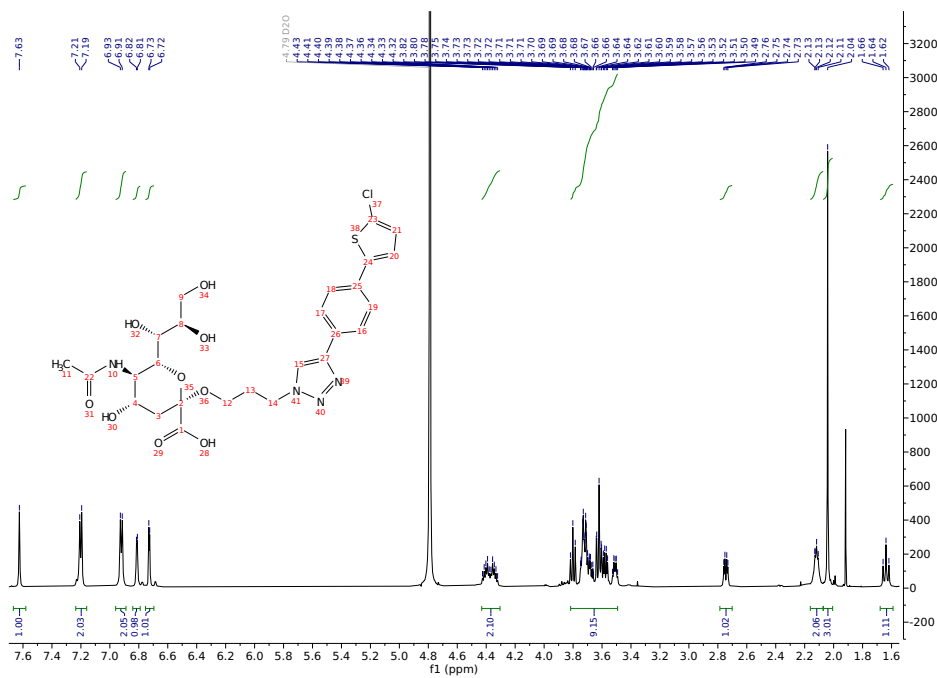
((3-(4-(Isochinolin-5-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)prop-1-yl)-5-acetamido-3,5-dideoxy-D-glycero- α -D-galacto-2-nonulosid)onsäure (X)

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O , 600 MHz, 298 K)

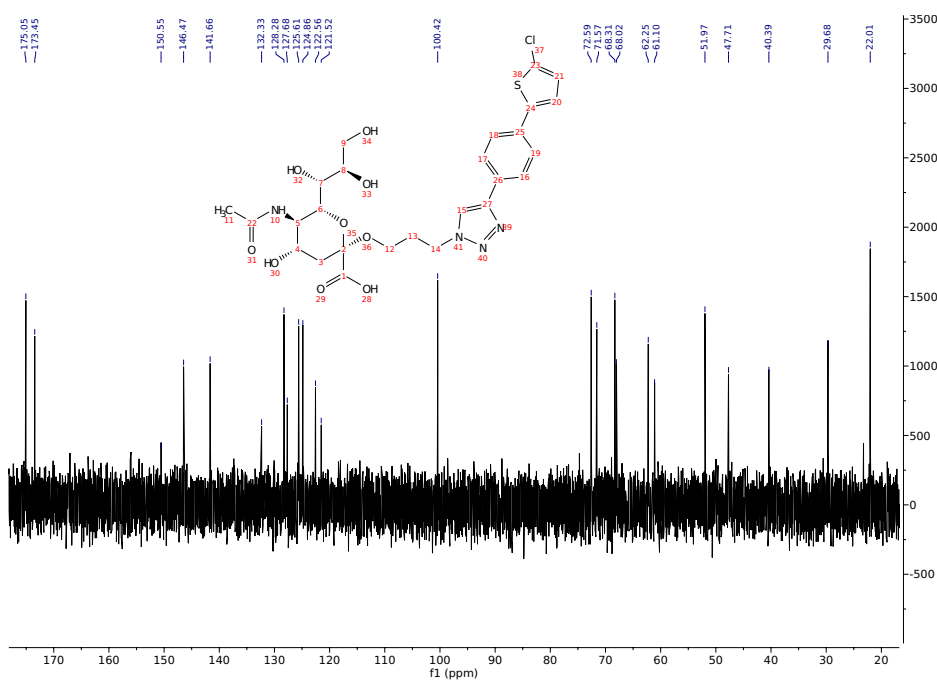


((3-(4-(4-(5-Chlorthiophen-2-yl)phen-1-yl)-1*H*-1,2,3-triazol-1-yl)prop-1-yl)-5-acetamido-3,5-dideoxy-D-glycero- α -D-galacto-2-nonulosid)onsäure (X)

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O , 600 MHz, 298 K)



$^{13}\text{C-NMR}$ (D_2O , 151 MHz, 298 K)



7 Literatur

- [1] Death rates through the 20th century, **2019**, <https://ourworldindata.org/grapher/death-rates-through-the-20th-century>.
- [2] Cancer – The age-standardized death rate from cancer declined by 15 %, **2019**, <https://ourworldindata.org/cancer>.
- [3] Cancer Durgs Database, **2023**, <https://www.anticancerfund.org/en/cancerdrugs-db>.
- [4] P. Pantziarka, R. Capistrano I, A. De Potter, L. Vandeborne, G. Bouche, *Front. Pharmacol.* **2021**, *12*, 627574, DOI 10.3389/fphar.2021.627574.
- [5] M. Peyrone, *Justus Liebigs Annalen der Chemie* **1844**, *51*, 1–29.
- [6] D. J. Higby, D. J. Higby, H. J. Wallace Jr, D. Albert, J. Holland, *Cancer* **1974**, *33*, 1219–1225.
- [7] FDA Oncology Tools Approval Summary for cisplatin for Metastatic ovarian tumors, **1977**, <https://web.archive.org/web/20080208232952/http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/onctools/summary.cfm?ID=73>.
- [8] J. E. Fenn, R. Udelsman, *J. Am. Coll. Surg.* **2011**, *212*, 413–417, DOI 10.1016/j.jamcollsurg.2010.10.018.
- [9] A. Gilman, *Am. J. Surg.* **1963**, *105*, 574–578, DOI 10.1016/0002-9610(63)90232-0.
- [10] L. S. Goodman, M. M. Wintrobe, W. Dameshek, M. J. Goodman, A. Gilman, M. T. McLennan, *JAMA* **1946**, *132*, 126–132, DOI 10.1001/jama.1946.02870380008004.
- [11] B. Lippert et al. *Helv. Chim. Acta* **1999**.
- [12] W. C. Werkheiser, *Cancer Res.* **1963**, *23*, 1277–1285.
- [13] P. Boffetta, J. M. Kaldor, *Acta Oncol.* **1994**, *33*, 591–598, DOI 10.3109/02841869409121767.
- [14] L. M. Morton, G. M. Dores, M. A. Tucker, C. J. Kim, K. Onel, E. S. Gilbert, J. F. Fraumeni Jr, R. E. Curtis, *Blood* **2013**, *121*, 2996–3004, DOI 10.1182/blood-2012-08-448068.
- [15] C. V. Ichim, *J. Trans. Med.* **2005**, *3*, 1–13, DOI 10.1186/1479-5876-3-8.
- [16] E. Paul, *Ned. Tijdschr. Geneesk* **1909**, 273–290.
- [17] W. B. Coley, *Ann. Surg.* **1928**, *88*, 641, DOI 10.1097/00000658-192810000-00002.
- [18] D. B. Levine, *HSS J.* **2008**, *4*, 1–9, DOI 10.1007/s11420-007-9063-2.
- [19] W. B. Coley, *Ann. Surg.* **1891**, *14*, 199, DOI 10.1097/00000658-189112000-00015.
- [20] I. D. Davis, M. Jefford, P. Parente, J. Cebon, *J. Leukoc. Biol.* **2003**, *73*, 3–29, DOI 10.1189/jlb.0502261.

- [21] The top 15 best-selling cancer drugs in 2022, **2017**, <https://www.fiercepharma.com/special-report/special-report-top-15-best-selling-cancer-drugs-2022>.
- [22] M. F. Krummel, J. P. Allison, *J. Exp. Med.* **1995**, *182*, 459–465, DOI 10.1084/jem.182.2.459.
- [23] T. Okazaki, T. Honjo, *Int. Immunol.* **2007**, *19*, 813–824, DOI 10.1093/intimm/dxm057.
- [24] 11 Hegasy CTLA4 PD1 Immuntherapie.png, **2018**, https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/4/45/11_Hegasy_CTLA4_PD1_Immuntherapie.png.
- [25] Ein Neuling für zwei Krebsarten, **2017**, <https://www.pharmazeutische-zeitung.de/index.php?id=72127>.
- [26] E. J. Lipson, C. G. Drake, *Clin. Cancer Res.* **2011**, *17*, 6958–6962, DOI 10.1158/1078-0432.CCR-11-1595.
- [27] Z. Ye, Y. Wang, B. Xiang, H. Wang, H. Tao, C. Zhang, S. Zhang, D. Sun, F. Luo, L. Song, *Biomed. Pharmacother.* **2023**, *165*, 115064, DOI 10.1016/j.biopha.2023.115064.
- [28] H. Prescher, S. A. Gütgemann, C. Watzl, R. Brossmer, *J. Med. Chem.* **2017**, *60*, 941–956, DOI 10.1021/acs.jmedchem.6b01111.
- [29] J. E. Hudak, S. M. Canham, C. R. Bertozzi, *Nat. Chem. Biol.* **2014**, *10*, 69–75, DOI 10.1038/nchembio.1388.
- [30] N. Kawasaki, C. D. Rillahan, T.-Y. Cheng, I. Van Rhijn, M. S. Macauley, D. Moody, J. C. Paulson, *J. Immunol.* **2014**, *193*, 1560–1566, DOI 10.4049/jimmunol.1303278.
- [31] J. Karmakar, K. Mukherjee, C. Mandal, *Front. Immunol.* **2021**, *12*, 758588, DOI 10.3389/fimmu.2021.758588.
- [32] H. Attrill, A. Imamura, R. S. Sharma, M. Kiso, P. R. Crocker, D. M. Van Aalten, *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 32774–32783, DOI 10.1074/jbc.M601714200.
- [33] K. H. Asressu, C.-W. Chang, S. Lam, C.-C. Wang, *Eur. J. Org. Chem.* **2021**, *2021*, 4525–4530, DOI 10.1002/ejoc.202100718.
- [34] P. Rota, F. Cirillo, M. Piccoli, A. Gregorio, G. Tettamanti, P. Allevi, L. Anastasia, *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 14614–14629, DOI 10.1002/chem.201501770.
- [35] H. Paulsen, P. Matschulat, *Liebigs Ann. d. Chem.* **1991**, *1991*, 487–495, DOI 10.1002/jlac.199119910188.
- [36] T. Heise, J. D. Langereis, E. Rossing, M. I. de Jonge, G. J. Adema, C. Büll, T. J. Boltje, *Cell Chem. Biol.* **2018**, *25*, 1279–1285, DOI 10.1016/j.chembiol.2018.05.018.
- [37] D. J. van der Vleugel, W. A. van Heeswijk, J. F. Vliegthart, *Carbohydr. Res.* **1982**, *102*, 121–130, DOI 10.1016/S0008-6215(00)88055-6.
- [38] R. Roy, C. A. Laferrière, A. Gamian, H. J. Jennings, *J. Carbohydr. Chem.* **1987**, *6*, 161–165, DOI 10.1080/07328308708058867.
- [39] K. Okamoto, T. Goto, *Tetrahedron* **1990**, *46*, 5835–5857, DOI 10.1016/S0040-4020(01)87911-4.
- [40] K. Ikeda, Y. Torisawa, T. Nishi, J. Minamikawa, K. Tanaka, M. Sato, *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 3073–3076, DOI 10.1016/S0968-0896(03)00277-3.

-
- [41] S. V. Shelke, B. Cutting, X. Jiang, H. Koliwer-Brandl, D. S. Strasser, O. Schwardt, S. Kelm, B. Ernst, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 5857–5861, DOI 10.1002/ange.200907254.
- [42] K. El-Boubbou, D. C. Zhu, C. Vasileiou, B. Borhan, D. Prospero, W. Li, X. Huang, *JACS* **2010**, *132*, 4490–4499, DOI 10.1021/ja100455c.
- [43] E. Merkul, Diss., **2011**, S. 53–60.
- [44] C. Yi, R. Hua, *J. Org. Chem* **2006**, *71*, 2535–2537, DOI 10.1021/jo0525175.
- [45] D. Drießen, L. Biesen, T. J. Müller, *Synlett* **2021**, *32*, 491–496, DOI 10.1055/s-0040-1707818.
- [46] C. Brocke, K. Linke, S. C. Lott, CN111170984, **2020**.
- [47] S. Liang, X. Cao, X. Yan, L. Chen, *J. Chem. Res.* **2012**, *36*, 555–556, DOI 10.3184/174751912X13419099572319.
- [48] R. Martin, S. L. Buchwald, *JACS* **2007**, *129*, 3844–3845, DOI 10.1021/ja070830d.
- [49] L. K. Chan, G. Gray, D. Lacey, K. Toyne, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* **1988**, *158*, 209–240, DOI 10.1080/00268948808076143.
- [50] J. Riedl, R. Pohl, L. Rulíšek, M. Hocek, *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 1026–1044, DOI 10.1021/jo202321g.
- [51] Y. Liu, Y. Ling, H. Ge, L. Lu, Q. Shen, *Chinese J. Chem.* **2021**, *39*, 1667–1682, DOI 10.1002/cjoc.202100107.
- [52] M. Barbero, S. Dughera, *Tetrahedron* **2018**, *74*, 5758–5769, DOI 10.1016/j.tet.2018.08.018.
- [53] Z. Israili, *J. Hum. Hypertens.* **2000**, *14*, S73–S86, DOI 10.1038/sj.jhh.1000991.
- [54] B. Doug, P. Sally, M. Massimiliano, S. Stefano, WO2017015722, **2017**.
- [55] X. Luo, P. Wang, *Org. Lett.* **2021**, *23*, 4960–4965, DOI 10.1021/acs.orglett.1c01243.
- [56] B. Akhlaghinia, S. Rezazadeh, *J. Braz. Chem. Soc.* **2012**, *23*, 2197–2203, DOI 10.1590/S0103-50532013005000005.
- [57] S. Uргаonkar, J. G. Verkade, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 5752–5755, DOI 10.1021/jo049325e.
- [58] J. Kaczmarek, H. Smagowski, Z. Grzonka, *J. Chem. Soc.* **1979**, 1670–1674, DOI 10.1039/P29790001670.
- [59] U. Dutta, D. W. Lupton, D. Maiti, *Org. Lett.* **2016**, *18*, 860–863, DOI 10.1021/acs.orglett.6b00147.
- [60] R. A. Al-Balushi, A. Haque, M. Jayapal, M. K. Al-Suti, J. Husband, M. S. Khan, O. F. Koentjoro, K. C. Molloy, J. M. Skelton, P. R. Raithby, *Inorg. Chem.* **2016**, *55*, 6465–6480, DOI 10.1021/acs.inorgchem.6b00523.
- [61] P. S. Thuy-Boun, D. W. Wolan, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2019**, *29*, 2609–2612, DOI 10.1016/j.bmcl.2019.07.054.
- [62] F. Ullmann, *Justus Liebigs Annalen der Chemie* **1904**, *332*, 38–81, DOI 10.1002/jlac.19043320104.
-

- [63] J. Uhlenbroek, J. Bijloo et al. *Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas* **1960**, *79*, 1181–1196, DOI 10.1002/recl.19600791113.
- [64] T. Katagiri, M. Suzuki, O. Hotta, JP2003040886, **2003**.
- [65] S. Hotta, T. Katagiri, *J. Heterocycl. Chem.* **2003**, *40*, 845–850, DOI 10.1002/jhet.5570400515.
- [66] M. Valasek, K. Edelmann, L. Gerhard, O. Fuhr, M. Lukas, M. Mayor, *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 7342–7357, DOI 10.1021/jo501029t.
- [67] E. Merkul, D. Urselmann, T. J. J. Müller, *Eur. J. Org. Chem.*, *2011*, 238–242, DOI 10.1002/ejoc.201001472.
- [68] G. R. Fulmer, A. J. Miller, N. H. Sherden, H. E. Gottlieb, A. Nudelman, B. M. Stoltz, J. E. Bercaw, K. I. Goldberg, *Organometallics* **2010**, *29*, 2176–2179, DOI 10.1021/om100106e.
- [69] K. Z. Benis, A. Behnami, S. Minaei, M. Brinkmann, K. N. McPhedran, J. Soltan, *Environ. Sci. Technol. Lett.* **2023**, DOI 10.1021/acs.estlett.3c00521.
- [70] J. Cramer, A. Lakkaichi, B. Aliu, R. P. Jakob, S. Klein, I. Cattaneo, X. Jiang, S. Rabbani, O. Schwardt, G. Zimmer et al. *JACS* **2021**, *143*, 17465–17478, DOI 10.1021/jacs.1c06778.
- [71] E. Merkul, F. Klukas, D. Dorsch, U. Grädler, H. E. Greiner, T. J. Müller, *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9*, 5129–5136, DOI 10.1039/C1OB05586K.
- [72] B. Ren, M. Wang, J. Liu, J. Ge, X. Zhang, H. Dong, *Green Chem.* **2015**, *17*, 1390–1394, DOI 10.1039/C4GC02006E.
- [73] R. Sun, H. Wang, J. Hu, J. Zhao, H. Zhang, *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12*, 5954–5963, DOI 10.1039/C4OB01176G.
- [74] C. Achilli, A. Ciana, M. Fagnoni, C. Balduini, G. Minetti, *Cent. Eur. J. Chem.* **2013**, *11*, 137–139, DOI 10.2478/s11532-012-0159-2.
- [75] N. Oka, T. Yamada, H. Sajiki, S. Akai, T. Ikawa, *Org. Lett.* **2022**, *24*, 3510–3514, DOI 10.1021/acs.orglett.2c01174.
- [76] M.-M. Zhang, J. Gong, R.-J. Song, J.-H. Li, *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, *2014*, 6769–6773, DOI 10.1002/ejoc.201402558.
- [77] F. Sun, Z. Gu, *Org. Lett.* **2015**, *17*, 2222–2225, DOI 10.1021/acs.orglett.5b00830.
- [78] E. K. Galván-Miranda, H. M. Castro-Cruz, J. A. Arias-Orea, M. Iurlo, G. Valenti, M. Marcaccio, N. A. Macías-Ruvalcaba, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2016**, *18*, 15025–15038, DOI 10.1039/C6CP01926A.
- [79] V. Do Cao, D. G. Jo, H. Kim, C. Kim, S. Yun, S. Joung, *Synthesis* **2021**, *53*, 754–764, DOI 10.1055/s-0040-1707323.
- [80] M. F. Ebbesen, D. Itskalov, M. Baier, L. Hartmann, *ACS Macro Letters* **2017**, *6*, 399–403, DOI 10.1021/acsmacrolett.7b00124.
- [81] G. Wulff, W. Krüger, G. Röhle, *Chem. Ber.* **1971**, *104*, 1387–1399, DOI 10.1002/cber.19711040507.

-
- [82] G. Wulff, G. Röhle, W. Krüger, *Chem. Ber.* **1972**, *105*, 1097–1110, DOI 10.1002/cber.19721050403.