



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Cellulosederivate als pharmazeutische Hilfsstoffe:
Synthese von zwei Cellobiosederivaten

angestrebter akademischer Grad

Magister der Pharmazie (Mag.pharm.)

Verfasser:	Ulrich Trawnicek
Matrikel-Nummer:	9305761
Studienrichtung:	449 Pharmazie
Betreuer:	O. Univ. Prof. Mag. pharm. Dr. Helmut Viernstein

Wien, am 12.10.2008

An dieser Stelle möchte ich mich bei Univ. Prof. Dr. Helmut Viernstein für die Bereitstellung des interessanten Themas und bei Prof. Dr. Frank Michael Unger für die wissenschaftliche Betreuung und Unterstützung bei der Korrektur der Arbeit herzlich bedanken.

Mein Dank gilt insbesondere auch Mag. pharm. Yasser Saber für seine kompetente und freundliche Unterstützung bei der praktischen Arbeit.

Für die Bedienung des Spektrometers danke ich M.Sc. Theerachart Leepasert.

Bei meinem Vater, meiner Frau Bibiana und bei Lola und Leopold, den liebsten Kindern der Welt bedanke ich mich für die Liebe und Geduld ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	6
1.1. Pharmazeutische Verwendung von Cellobiose und ihren Polymeren	6
1.1.1. Natürliche Cellulosen	7
1.1.2. Synthetische Cellulosederivate	7
1.1.3. Aminoanaloge der Cellulose	9
1.2. Synthetische Annäherungen an Cellulosederivate	12
1.3. Synthetische Derivate der Cellobiose als Grundstoffe für neue Polysaccharide	13
2. Disaccharidsynthese	16
2.1. Synthese des Glycosyl-Akzeptors	16
2.2. Synthese der Glycosyl-Donoren	18
2.2.1. 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-allopyranosylbromid	19
2.2.2. 3-Azido-2,4,6-tri-O-acetyl- α -D-glucopyranosylbromid	20
2.3. Kopplung der Monosaccharide	21
3. Experimenteller Teil	22
3.1. Methoden	22
3.1.1. Dünnschichtchromatographie	22
3.1.2. Trocknen der Lösungsmittel und Reagenzien	23
3.1.3. Schmelzpunktbestimmung	23
3.2. Materialien	24
3.3. Synthese	26
3.3.1. Synthese des Glycosyl-Akzeptors	26

3.3.1.1.	D(+)-Glucose Monohydrat {1}	26
3.3.1.2.	1,2,3,4,6-Penta-O-acetyl- β -D-glucopyranosid {2}	26
3.3.1.3.	2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-glucopyranosylbromid {3}	27
3.3.1.4.	Allyl-2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranosid {4}	28
3.3.1.5.	Allyl- β -D-glucopyranosid {5}	29
3.3.1.6.	Allyl-4,6-O-benzyliden- β -D-glucopyranosid {6}	30
3.3.1.7.	Allyl-4,6-O-benzyliden-2,3-di-O-acetyl- β -D-glucopyranosid {6a}	31
3.3.1.8.	Allyl-4,6-O-benzyliden-2,3-di-O-benzoyl- β -D-glucopyranosid {7}	32
3.3.1.9.	Allyl-6-O-benzyl-2,3-di-O-benzoyl- β -D-glucopyranosid {8}	33
3.3.2.	Synthese der Glycosyl-Donoren	34
3.3.2.1.	1,2:5,6-Di-O-isopropyliden- α -D-glucofuranose {9}	34
3.3.2.2.	1,2:5,6-Di-O-isopropyliden- α -D-ribo-hexofuranos-3-ulose {10}	34
3.3.2.3.	1,2:5,6-Di-O-isopropyliden- α -D-allofuranose {11}	35
3.3.2.4.	β -D-Allose {12}	36
3.3.2.5.	1,2,3,4,6-Penta-O-acetyl- β -D-allopyranose {18}	37
3.3.2.6.	2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-allopyranosylbromid {19}	38
3.3.2.7.	1,2:5,6-Di-O-isopropyliden-3-O-methylsulfonyl- α - D-allofuranose {13}	39
3.3.2.8.	3-Azido-1,2:5,6-di-O-isopropyliden- α -D-glucofuranose {14}	40
3.3.2.9.	3-Azido- α -D-glucose {15}	41
3.3.2.10.	3-Azido-1,2,4,6-tetra-O-acetyl- α -D-glucose {16}	41
3.3.2.11.	3-Azido-2,4,6-tri-O-acetyl- α -D-glucopyranosylbromid {17}	42
3.3.3.	Kopplung der Monosaccharide	44
3.3.3.1.	2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl- β -D-allopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- allyl-6-O-benzyl-2,3-di-O-benzoyl- β -D-glucopyranosid {20}	44
3.3.3.2.	3'-Azido-2',4',6'-tri-O-acetyl- α -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- allyl-2,3-di-O-benzoyl-6-O-benzyl- β -D-glucopyranosid {21}	46
4.	Zusammenfassung / Summary	48

5. Spektrenanhang	49
6. Literaturverzeichnis	54
7. Lebenslauf	57

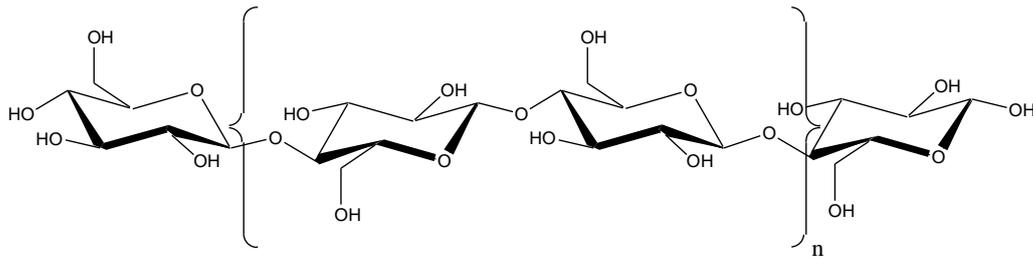
1. Einleitung

Die Polymerisation modifizierter Cellobiose bietet eine Möglichkeit zur Herstellung chemisch definierter Homopolysaccharide. Die Synthese von neuen Disacchariden soll einen Beitrag zur Entwicklung verbesserter Verfahren zur Herstellung reiner Polysaccharide mit neuen Eigenschaften leisten.

1.1. Pharmazeutische Verwendung von Cellobiose und ihren Polymeren

Cellobiose kommt frei in der Natur nicht vor. Als Baustein der Cellulose und des Lichenins ist sie aber die häufigste biogene Substanz.^[1] Cellobiose als Reinstoff spielt in der Pharmazie, im Gegensatz zu Cellulose und ihren Derivaten, nur eine untergeordnete Rolle. Ihr ist weder im europäischen noch im amerikanischen Arzneibuch eine Monographie gewidmet. Als Hilfsstoff in Pulverinhalatoren hat Cellobiose laut einem Patent der Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals, Inc. (Ridgefield, CT) verglichen mit Lactose den Vorteil einer geringeren Sinterung unter feuchten Bedingungen.^[2]

Cellulose ist ein 1,4-verknüpftes Poly- β -D-glucopyranosid, das aus etwa 3000 Monomereinheiten aufgebaut ist und eine molare Masse von etwa 500 000 g/mol hat. Im Cellulosemolekül sind die Monomereinheiten größtenteils linear und stereoregulär angeordnet. Wie Röntgenstrukturanalysen ergaben, besteht die Cellulosekette aus sich wiederholenden Einheiten von 1030 pm Länge und nicht 510 pm Länge, was der Länge einer Glucose-Einheit entspräche. Dies ist dadurch zu erklären, dass jede zweite Glucose-Einheit um 180° im Verhältnis zur vorigen gedreht ist. Cellulose lässt sich daher am besten als Polycellobiose beschreiben. In dieser Anordnung sind H-Brücken an beiden Seiten der Cellulosekette möglich, eine Voraussetzung für die lineare Ausrichtung und Steifheit der Cellulose in der lebenden Pflanze.^[3]



Cellulose

Wird Cellulose aus Pflanzenmaterial gewonnen, ist diese stets mit anderen Biopolymeren wie Lignin und Hemicellulosen verunreinigt. Die Menge und genaue Zusammensetzung dieser natürlichen Begleitstoffe ist vom Ausgangsmaterial abhängig.^[4] Diese müssen zur Gewinnung reiner Cellulose aufwändig entfernt werden.

1.1.1. Natürliche Cellulosen

Regenerierte Cellulose (Cellulosum) Herstellung durch Abscheiden von Cellulose aus ihrer Lösung. Die regenerierte Cellulose ist von der chemischen Struktur her mit der nativen Cellulose identisch, weist aber eine andere, weniger kristalline Packung auf. Regenerierte Cellulose wird als Zellwolle zu Verbandwatte (Lanugo cellulosi absorbens) verarbeitet.

Cellulosepulver (Cellulosi pulvis Ph. Eur.4.) wird aus gereinigter α -Cellulose durch mechanische Zerkleinerung gewonnen. Anwendung bei der Tablettierung als Füllmittel, Bindemittel und Zerfallsbeschleuniger.

Mikrokristalline Cellulose (Cellulosum microcristallinum Ph. Eur.4.) wird aus α -Cellulose durch saure Hydrolyse gewonnen. Anwendung wie Cellulosepulver.

1.1.2. Synthetische Cellulosederivate

Carboxymethylcellulose (Carmellose; CMC) wird in Form ihrer Salze Carboxymethylcellulose-Natrium (Carboxymethylcellulosum Natrium Ph. Eur.4.) und Carboxymethylcellulose-Calcium (Carmellosum calcicum Ph. Eur.4.) pharmazeutisch technologisch genutzt.

Herstellung durch Behandlung von Alkalicellulose (mit wässriger NaOH-Lösung vorgequollene Cellulose, deren supramolekulare Struktur teilweise aufgebrochen ist) mit Na-Monochloracetat. Anwendung als Bindemittel und Zerfallsbeschleuniger; als Stabilisator in flüssigen und halbfesten Zubereitungen; als Wirkstoff in Laxativa und Antacida.

Methylcellulose (MC; Methylcellulosum Ph. Eur.4.) Herstellung durch Behandlung von Alkalicellulose mit Dimethylsulfat bei 50°C oder mit Dichlormethan unter Druck. Anwendung bei der Granulierung und Tablettierung als Bindemittel, Trägerstoff und Filmbildner; zur Viskositätseinstellung bei wässrigen Ophthalmika und Emulsionen; zur Filmbildung bei Verbrennungen und als Klebstoff in Gipsverbänden.

Hydroxypropylcellulose (HPC; Hydroxypropylcellulosum Ph. Eur.4.) Herstellung durch Behandlung von Alkalicellulose mit 1,2-Epoxypropan. Anwendung als Bindemittel bei der Granulierung; als Filmbildner bei der Dragierung und Mikroverkapselung; zur Viskositätseinstellung verschiedener wässriger Zubereitungen.

Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC; Methylhydroxypropylcellulosum Ph. Eur.4.) Herstellung durch Behandlung von Alkalicellulose mit 1,2-Epoxypropan und Monochlormethan. Anwendung ähnlich HPC. Bei der Herstellung von Steckkapseln ist HPMC eine Alternative zur Gelatine.

Hydroxypropylmethylcellulosephthalat (HPMCP; Hypromellosi phthalas Ph. Eur.4.) Herstellung durch Veresterung von HPMC mit Phthalsäureanhydrid. Anwendung als magensaftresistenter, im Dünndarm löslicher Lacküberzug.

Celluloseacetatphthalat (CAP; Cellulosi acetas phthalas Ph. Eur.4.) Anwendung als magensaftresistenter, im Dünndarm löslicher Lacküberzug. Die Natrium-, Ammonium- und Triethanolamin- Salze von CAP werden für die Mikroverkapselung verwendet.

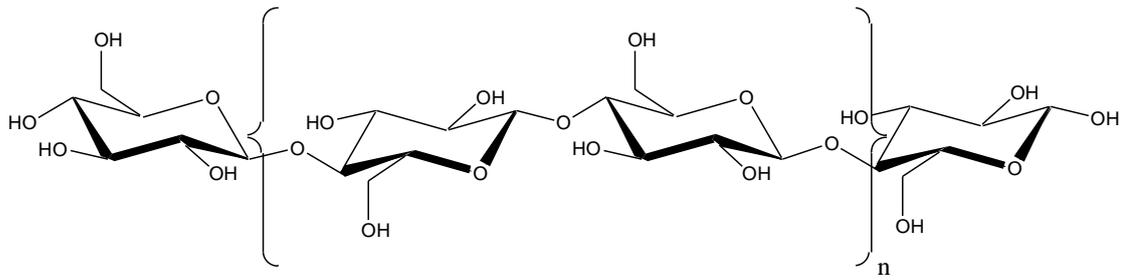
Hydroxyethylcellulose (HEC; Hydroxyethylcellulosum Ph. Eur.4.) Herstellung durch Veretherung von Cellulose mit Oxiran. Anwendung als Gelbildner.

Alle hier angeführten synthetischen Cellulosederivate enthalten die neu eingeführten funktionellen Gruppen nicht an bekannten Positionen sondern in statistischer Verteilung. Die Herstellung solcher Derivate erfolgt in einer polymeranalogen Umsetzung durch Acylierung bzw. Alkylierung von Cellulose. Acylierungen werden in der Regel säurekatalysiert in Gegenwart von Säurechloriden oder Säureanhydriden durchgeführt. Die Alkylierung erfolgt nach Deprotonierung der Hydroxylgruppen durch eine Base. Bei der Herstellung von Methylcellulose, einem industriell wichtigen Cellulosederivat, wird Cellulose mit wässriger NaOH-Lösung vorgequollen und so ihre supramolekulare Struktur teilweise aufgebrochen (Alkalicellulose). Im Zuge der Reaktion, die unter heterogenen Bedingungen abläuft, kommt es zu einer partiellen Umsetzung der im Polymer vorhandenen Hydroxylgruppen mit dem Derivatisierungsreagenz (meist ein Alkylchlorid oder Oxiran).^[5] In Abhängigkeit von der Zugänglichkeit und der Reaktivität der Hydroxylgruppen ergibt sich eine mehr oder weniger statistische Verteilung der Substituenten innerhalb der einzelnen Monomereinheit sowie entlang der Polymerkette und zwischen den Polymerketten. Insbesondere kristalline Bereiche, die nicht aufgeschlossen wurden, werden nur zu einem geringen Grad substituiert.

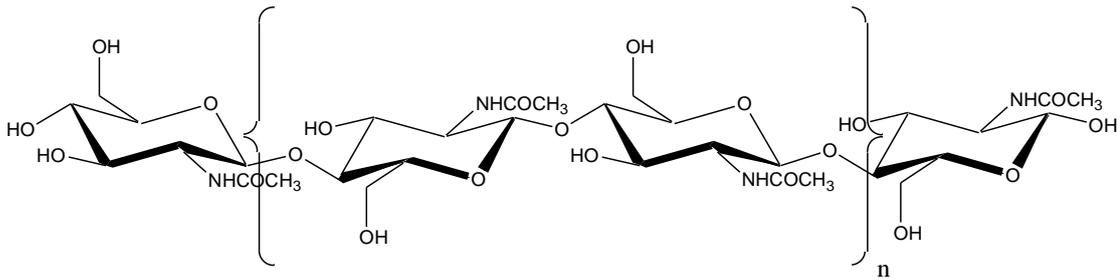
1.1.3. Aminoanaloga der Cellulose

Chitin

Die Aufgabe des Chitins in der Natur ist die gleiche wie die der Cellulose, dem Organismus mechanische Festigkeit zu geben. Hier im Pflanzenreich, da bei Pilzen, Insekten, Krustentieren und Kopffüßern. Die Funktion bestimmt auch in der Natur meist die Form, dies erklärt die strukturelle Ähnlichkeit der beiden Biopolymere.



Cellulose

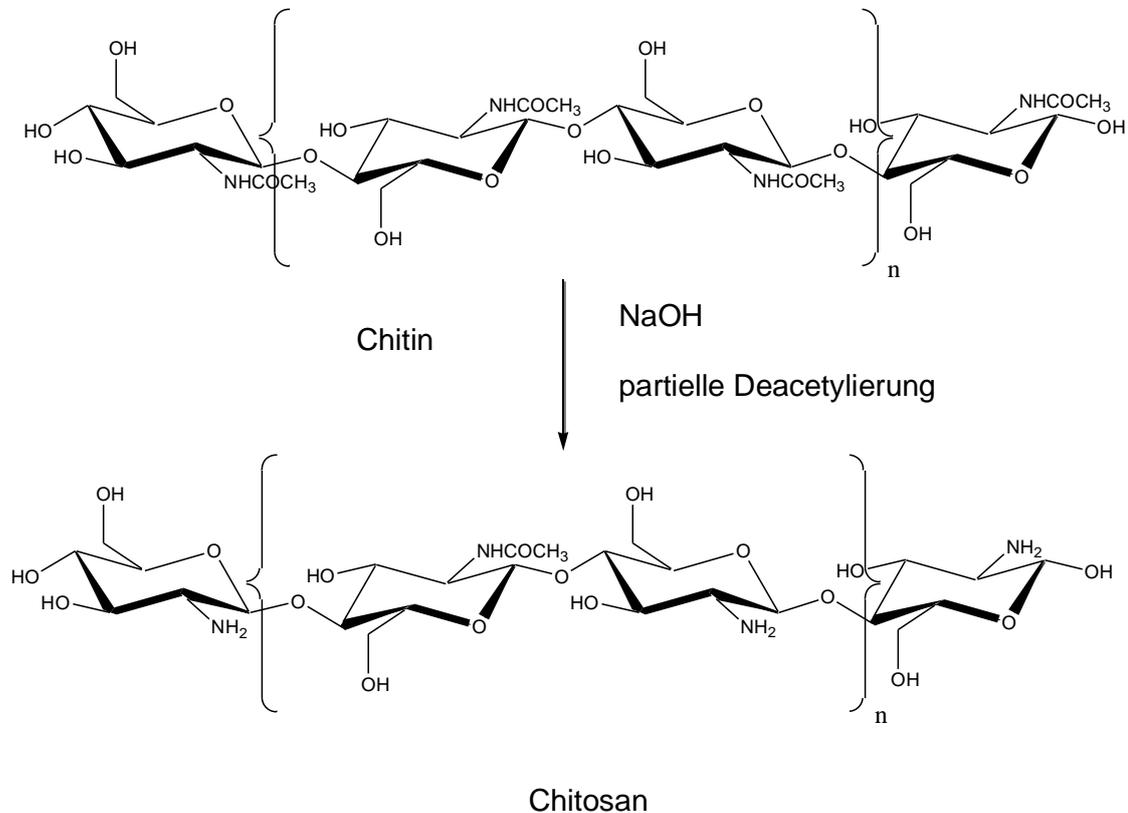


Chitin

Im Unterschied zu den meisten natürlich vorkommenden Polysacchariden wie Cellulose, Dextran, Pectin, Alginsäure, Carragen oder Agar und Chitin, die neutral oder sauer reagieren, ist Chitosan, welches aus Chitin mittels Deacetylierung durch Alkali gewonnen wird, ein stark basisches Polysaccharid.^[6]

Chitosan

Das Produkt der basischen Deacetylierung von Chitin ist Chitosan. (Chitosani hydrochloridum Ph. Eur.4.)



Chitosan wird also wie Cellulose aus einem überreich zur Verfügung stehenden Material gewonnen: aus dem Exoskelett von Crustaceen oder aus Cephalopoden.

Chitosan ist ein lineares Polysaccharid, in dem eine D-Glucosamin-1,4-glucosamin Polysaccharidkette statistisch von ebenfalls 1-4 glycosidisch verknüpften N-Acetyl-D-Glucosamin Einheiten unterbrochen wird. Der Begriff Chitosan umfasst eine Reihe von Chitosan-Derivaten, die sich in Molekulargewicht (10.000 - 2.000.000 Da), Deacetylierungsgrad (40 - 98 %) und ihrer Viskosität unterscheiden. Die Viskosität von Chitosan Lösungen ist vom Molekulargewicht, Deacetylierungsgrad, Anzahl der positiven Ladungen, pH-Wert und Temperatur abhängig. ^{[7][8]}

Nach Deacetylierung verbleiben reaktive Aminogruppen die eine chemische

Derivatisierung ermöglichen. Chitosan ist nicht toxisch oder allergen, daher die Zulassung als Lebensmittelzusatz. Chitosan weist eine Reihe von medizinisch interessanten Eigenschaften auf, so z. B. antimikrobielle Aktivität, Antitumoraktivität, hämostatische Aktivität und Förderung der Wundheilung.^[9]

Pharmazeutisch technologisch wird Chitosan vielfältig genutzt: als Füllstoff bei der Direkttablettierung, zur Herstellung von Tabletten mit modifizierter Freisetzung, zur Naßgranulierung, als Gelbildner und zur Wundversorgung.

1.2. Synthetische Annäherungen an Cellulosederivate

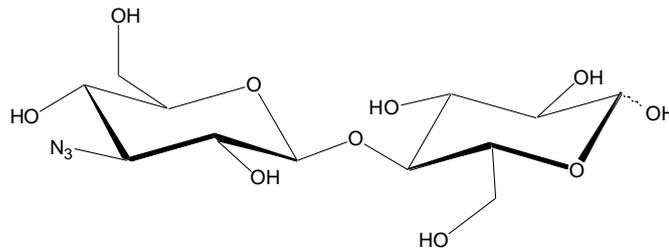
Die selektive Umsetzung der verschiedenen Hydroxyl Gruppen innerhalb der einzelnen Glucose-Einheit ist durch die Wahl geeigneter Schutzgruppen möglich. Auf diesem Weg kann bei der Derivatisierung von Cellulose aber eine definierte Substituentenverteilung innerhalb der Kette nicht erreicht werden. Da aber die Eigenschaften von Lösungen von Cellulosederivaten maßgeblich von kooperativen Wechselwirkungen und diese weniger durch die Substituentenverteilung in den Monomereinheiten als durch die Verteilung entlang der Kette beeinflusst werden, sind für genaue Untersuchungen des Zusammenhanges von Substitutionsmuster und Eigenschaften von Polysaccharidlösungen definierte Modellsubstanzen notwendig.

Eine interessante Methode zur Synthese von Homopolysacchariden ist die enzymatische Verknüpfung von Disacchariden. Ein Beispiel ist die enzymatische Synthese von Cellulose aus β -Cellobiosyl-Fluorid Monomeren mit einer Glycosyl Hydrolase als Katalysator.^[9]

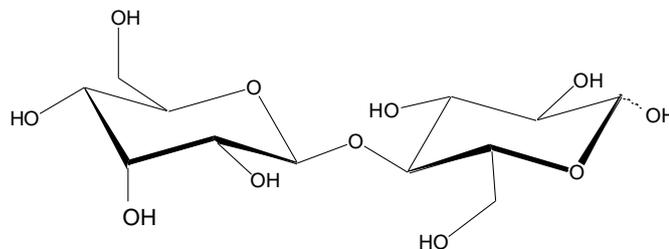
Diese Methode wurde auch schon auf ein Azido-Derivat angewendet. 6-Azido-6-deoxy-cellobiose ergab nach Polymerisation durch die umgekehrte Wirkung der Cellulase von *Trichoderma viride* ein Cellulose Analogon, das an jeder zweiten Glucoseeinheit eine Azido Funktion an C-6 aufweist.^[10]

1.3. Synthetische Derivate der Cellobiose als Grundstoffe für neue Polysaccharide

In der vorliegenden Diplomarbeit wurde versucht Cellobiose Derivate zu erhalten, welche an Stelle der nicht reduzierenden Glucose-Einheit jeweils β -Allopyranosyl oder β -3-Azido-3-deoxy-D-glucopyranosyl Einheiten enthalten sollten.

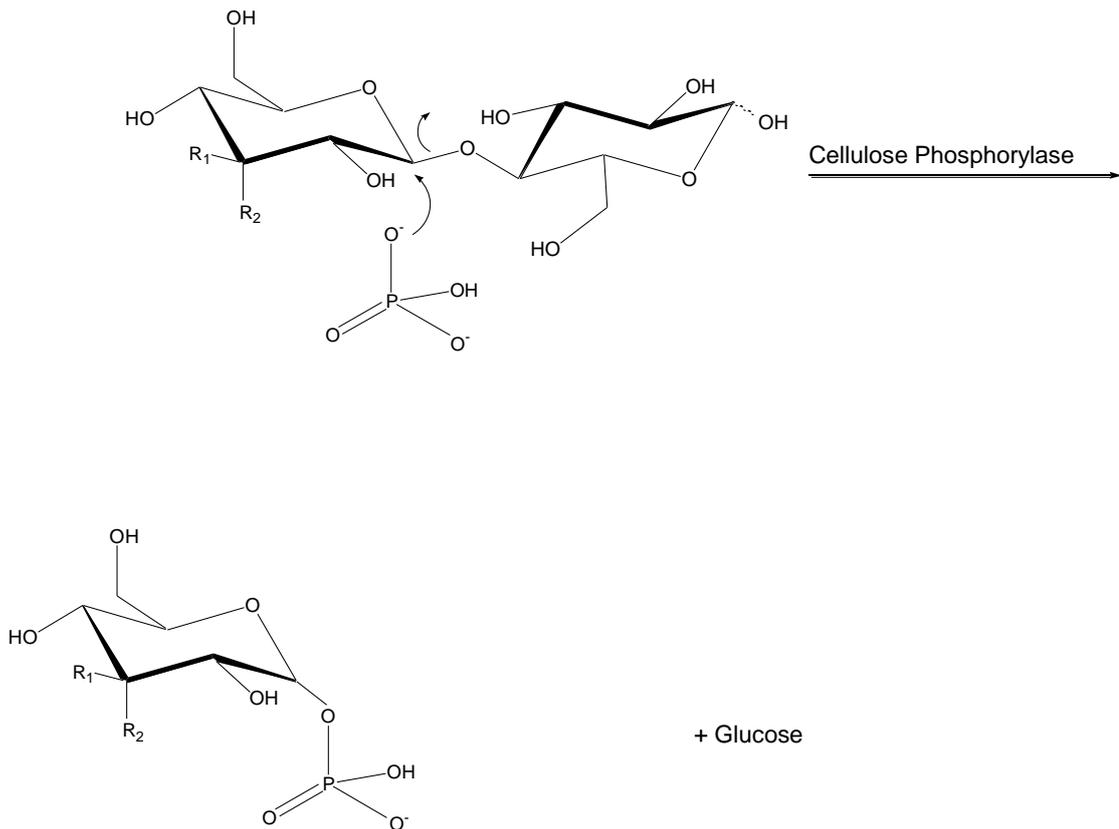


3'-Azido- α -D-glucopyranosyl- (1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosid



β -D-Allopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosid

Derart modifizierte Cellobiose-Derivate können in zwei Arten zur Synthese neuer Polysaccharide eingesetzt werden. Einerseits kann versucht werden sie in die entsprechenden anomeren β -Fluoride umzuwandeln, welche dann als Substrate der enzymkatalysierten Polymerisation zu Cellulosederivaten geprüft werden können. Andererseits eignen sich derartige Derivate potentiell als Vorstufen der Cellulose-Phosphorylase Reaktion. Dabei werden aus Cellobiose Glucose-1-phosphat und Glucose gebildet.

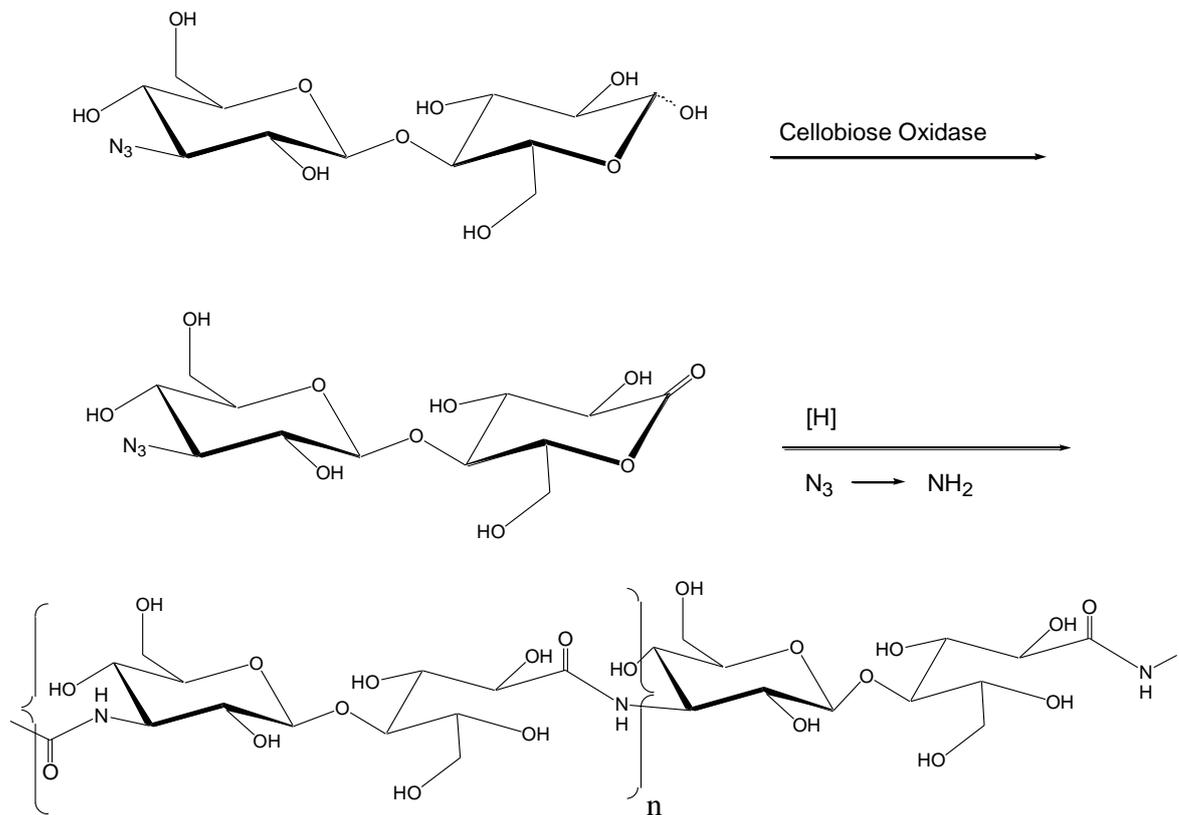


Cellulose: R1=OH; R2=H

β -D-Allopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosid: R1=H; R2=OH

3'-Azido- α -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosid: R1=N₃; R2=H

Sollten 2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl- β -D-allopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-allyl-6-O-benzyl-2,3-di-O-benzoyl- β -D-glucopyranosid {20} oder 3'-Azido-2',4',6'-tri-O-acetyl- α -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-allyl-2,3-di-O-benzoyl-6-O-benzyl- β -D-glucopyranosid {21} nach Abspalten der Schutzgruppen als Substrat der Cellulose Phosphorylase reagieren, könnte man daraus Allose-1-phosphat beziehungsweise 3-Azido-3-deoxy-D-glucose-1-phosphat herstellen. Diese könnten ihrerseits in die entsprechenden Uridindiphosphat Derivate übergeführt werden, welche dann als Glycosyl Donatoren zum Einbau künstlicher Zucker in Makromoleküle dienen könnten.



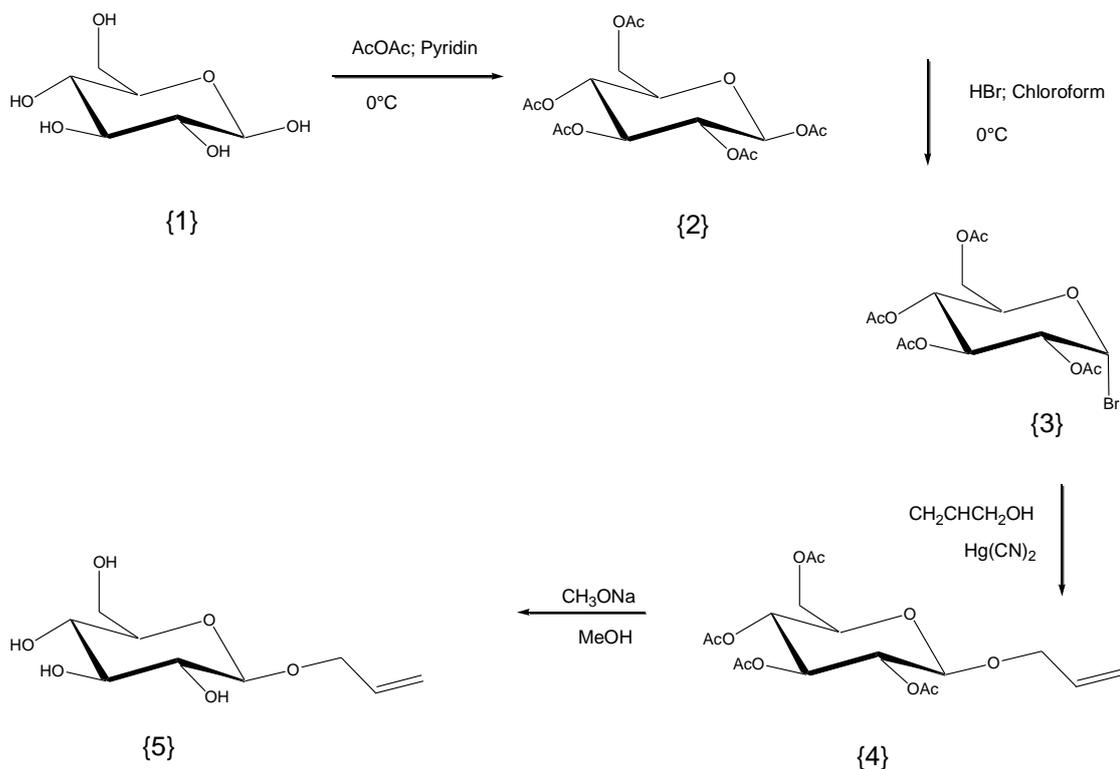
3'-Azido- α -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosid

Nicht zuletzt ist Cellobiose auch das Substrat von oxidativ wirksamen Enzymen wie Cellobiose Oxidase, welche die Umwandlung von Cellobiose in Cellobionsäure katalysiert. Derivate der Cellobionsäure können ihrerseits als Monomere für die Polymerisation von Aminosäure-Einheiten zu polyamidartigen Biogelen eingesetzt werden.

2. Disaccharidsynthese

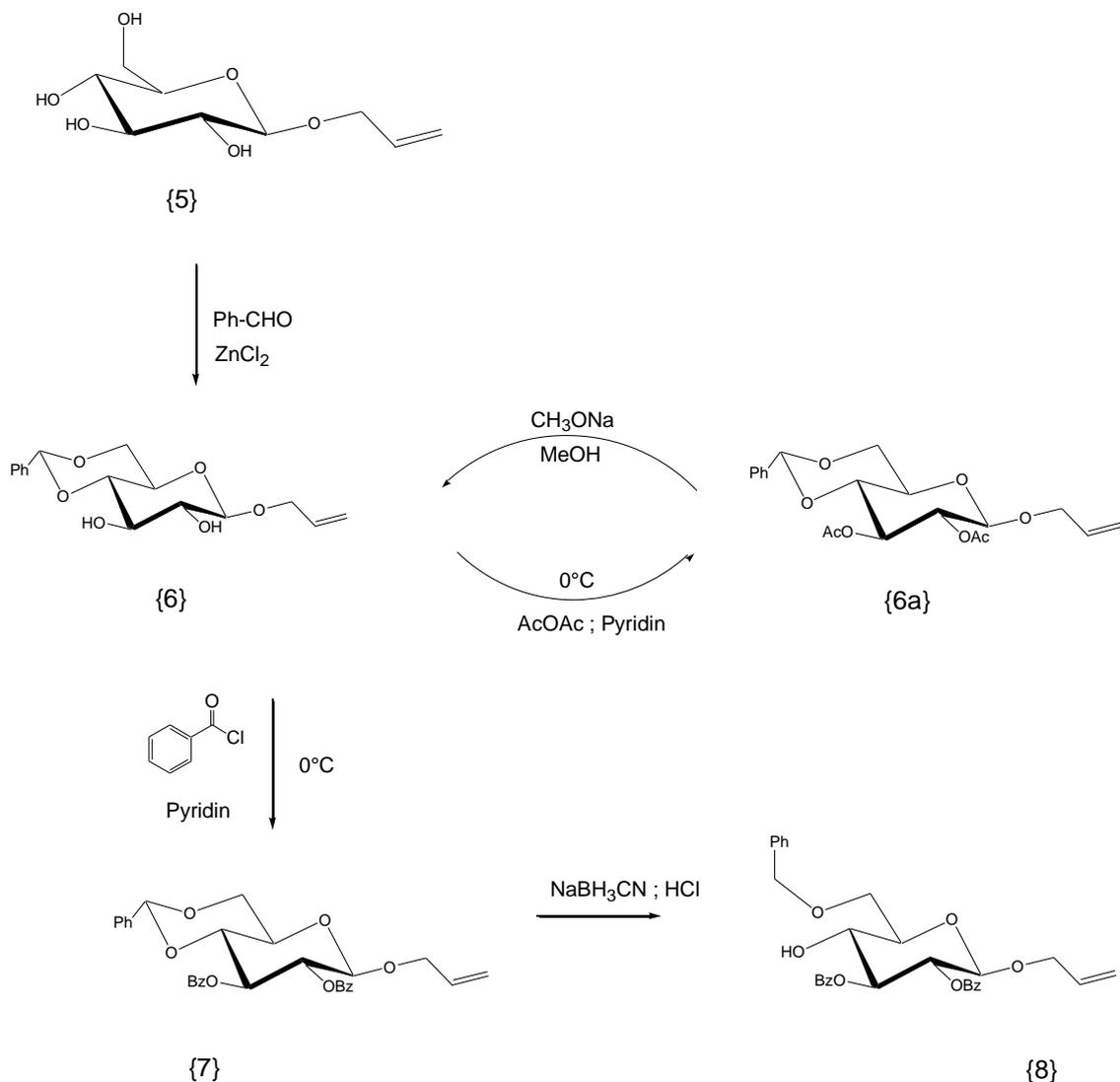
2.1. Synthese des Glycosyl-Akzeptors

Durch Peracetylierung von D(+)-Glucose Monohydrat {1} mit Essigsäureanhydrid erhielten wir 1,2,3,4,6-Penta-O-acetyl- β -D-glucopyranosid {2} in 97% Ausbeute. Durch Umsetzung mit Bromwasserstoff unter Lichtausschluss wurde der komplett geschützte Zucker am anomeren Zentrum bromiert. 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-glucopyranosylbromid {3} wurde in einer Ausbeute von 82% erhalten. Das Bromid an C1 wurde durch Allylalkohol unter Quecksilber(II)cyanid-Katalyse substituiert. Diese Reaktion lieferte ein sirupartiges braunes Rohprodukt, das durch Chromatographie und zweimalige Umkristallisation gereinigt werden musste. In nur 53% Ausbeute konnte Allyl-2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranosid {4} gewonnen werden. Durch Abspalten der verbliebenen Acetylgruppen mit Natriummethanolat in Methanol erhielten wir das freie Allylglycosid Allyl- β -D-glucopyranosid {5} in 91% Ausbeute.



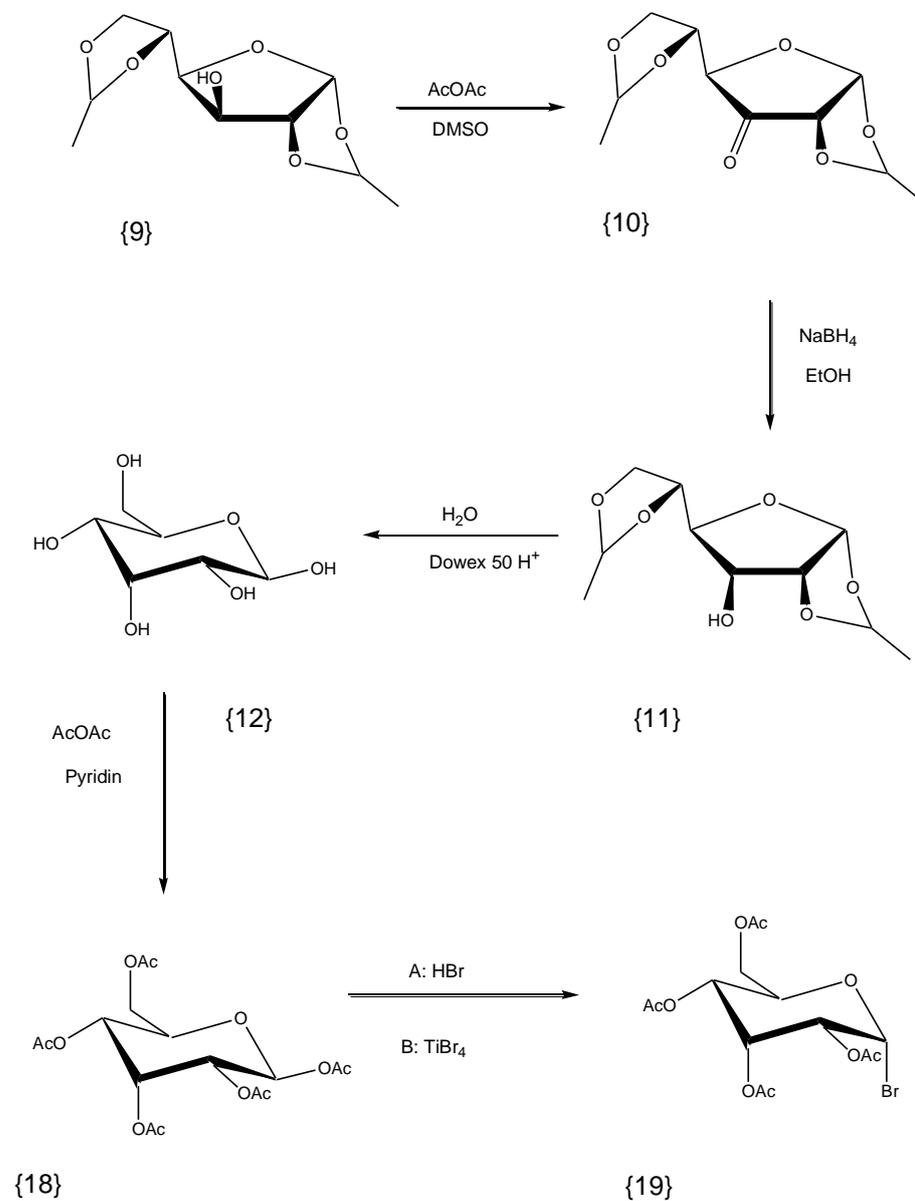
Durch Benzylidenierung mit frisch destilliertem Benzaldehyd wurden C4 und C6 durch Acetalbildung wieder geschützt. Das Ziel dieser Umsetzung Allyl-4,6-O-benzyliden- β -D-glucopyranosid {6} wurde als Reinigungsschritt acetyliert

(Allyl-4,6-O-benzyliden-2,3-di-O-acetyl- β -D-glucopyranosid {6a}) und anschließend wieder deacetyliert. Ausbeute (Komponente 5 \rightarrow Komponente 6 via 6a): 45%. Die beiden noch freien Hydroxyl Gruppen an C-2 und C-3 wurden mit Benzoylchlorid verestert und Allyl-4,6-O-benzyliden-2,3-di-O-benzoyl- β -D-glucopyranosid {7} in 75% Ausbeute erhalten. Die für die Glycosidierungsreaktion erforderliche freie Hydroxylgruppe an C-4 wurde durch oxidative Öffnung der Benzyliden-Schutzgruppe mit Natriumcyanoborhydrid in 71% Ausbeute erhalten.^{[11][12]} Der Akzeptor Allyl-6-O-benzyl-2,3-di-O-benzoyl- β -D-glucopyranosid {8} stand nun für die Disaccharidbildung zur Verfügung.



2.2. Synthese der Glycosyl-Donoren

Die ersten Schritte auf dem Weg zu beiden Glycosyl Donoren waren die gleichen. Inversion der Alkoholfunktion an C-3 von D-Glucose. 1,2:5,6-Di-O-isopropyliden- α -D-glucufuranose {9}, ein bis auf C-3 geschütztes Glucosederivat wurde mit Dimethylsulfoxid oxidiert. Dies brachte 1,2:5,6-Di-O-isopropyliden- α -D-ribohexofuranos-3-ulose {10} in 78% Ausbeute. Die anschließende Reduktion der entstandenen Ketofunktion an C-3 des sirupartigen Rohproduktes mit Natriumborhydrid lieferte 1,2:5,6-Di-O-isopropyliden- α -D-allofuranose {11}.

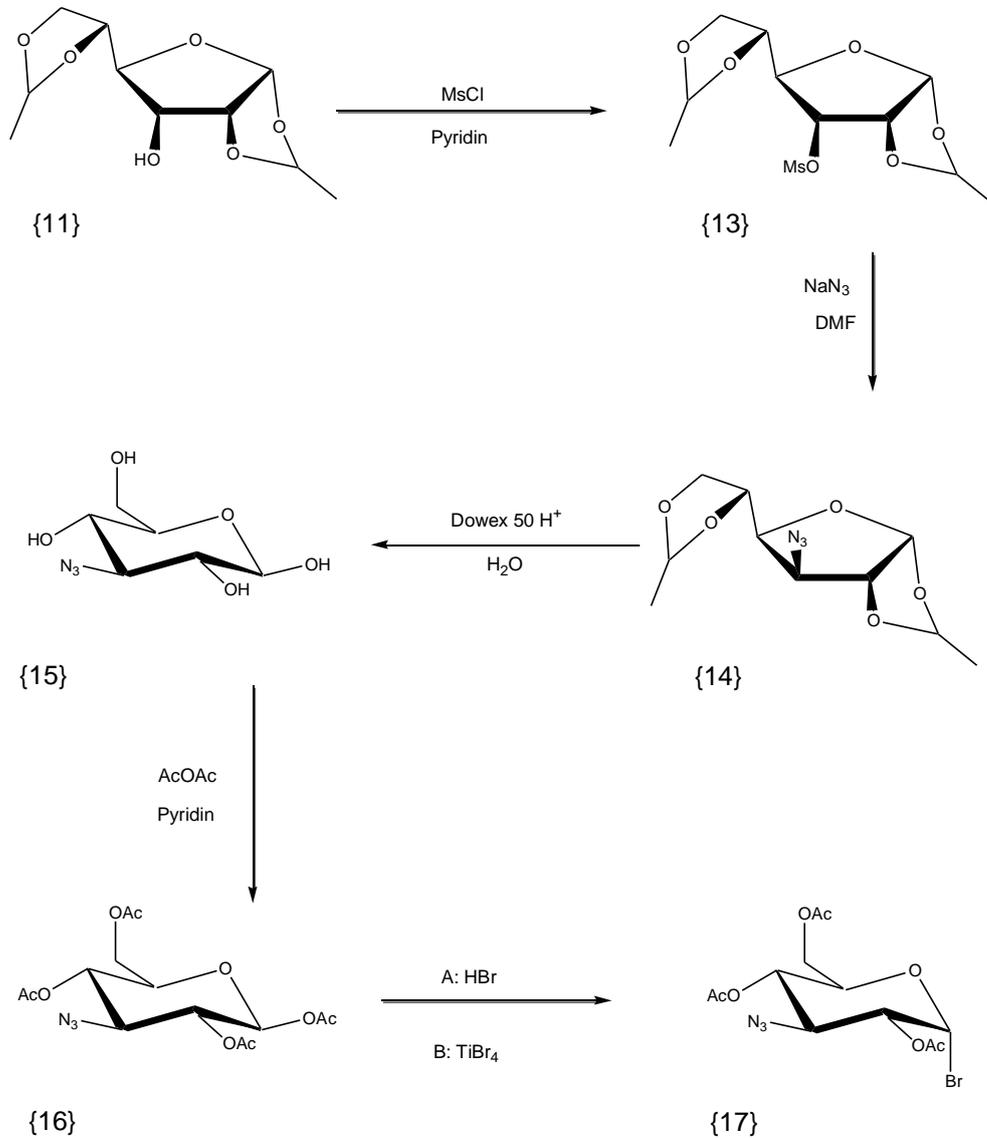


(Ausbeute: {9} → {11}...46%) Aus Komponente 11 sind durch säurekatalysierte Hydrolyse β -D-Allose {12} und durch Reaktion mit Methansulfonsäurechlorid 1,2:5,6-Di-O-isopropyliden-3-O-methylsulfonyl- α -D-allofuranose {13} zugänglich.

2.2.1. 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-allopyranosylbromid

β -D-Allose {12} wurde mit Essigsäureanhydrid peracetyliert und 1,2,3,4,6-Penta-O-acetyl- β -D-allopyranose {18} in nur 58% Ausbeute erhalten.^[13] Das Einführen der Bromid-Abgangsgruppe am glycosidischen C wurde auf zwei verschiedene Arten durchgeführt. Die Bromierung mit Titantetrabromid in einer Mischung von Dichlormethan und Ethylacetat^[14] war dabei aufgrund der langen Reaktionszeit von fünf Tagen der zweiten Methode mit Bromwasserstoff in Essigsäure^[15] klar unterlegen. Beide Verfahren führen zu 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-allopyranosylbromid {19} in 86% (TiBr₄) bzw. 94% (HBr) Ausbeute.

2.2.2. 3-Azido-2,4,6-tri-O-acetyl- α -D-glucopyranosylbromid



Für die Synthese des zweiten Glycosyl Donors wurde bei {11} die OH-Gruppe an C-3 zunächst mit Methansulfonsäurechlorid verestert und 1,2:5,6-Di-O-isopropyliden-3-O-methylsulfonyl- α -D-allofuranose {13} in 79 % Ausbeute erhalten. Die gute Abgangsgruppe Mesylat kann dann durch Natriumazid nucleophil substituiert werden. {13} wurde mit Natriumazid in Dimethylformamid bei 170°C umgesetzt. Das Produkt 3-Azido-1,2:5,6-di-O-isopropyliden- α -D-

glucofuranose {14} wurde in 87% Ausbeute erhalten. Dann wurden die Schutzgruppen hydrolytisch abgespalten. Der freie Zucker lagert sich von der Furanose in die Pyranose Form um: 3-Azido- α -D-Glucopyranose {15} wurde in 77% Ausbeute erhalten. Die freien Hydroxylgruppen wurden dann durch Acetylierung mit Essigsäureanhydrid in Pyridin wieder geschützt. Wir erhielten 3-Azido-1,2,4,6-tetra-O-acetyl- α -D-glucose {16} in 92% Ausbeute. Der letzte Schritt war die Einführung der Abgangsgruppe Bromid am anomeren C. So wie bei der Bromierung von {18} versuchten wir die Umsetzung mit TiBr_4 und mit HBr . Mit ähnlichen Ergebnissen, dass nämlich die Umsetzung mit Titan-tetrabromid sehr langsam abläuft. Die Bromierung des Azido-Zuckers benötigte sogar 16 Tage. Wir erhielten 3-Azido-2,4,6-tri-O-acetyl- α -D-glucopyranosyl bromid in 96% (HBr) bzw. 94% (TiBr_4) Ausbeute.

2.3. Kopplung der Monosaccharide

Die Disaccharidbildung wurde bei -30°C mit Silbertrifluormethansulfonat als Katalysator und sym-Collidin als Base durchgeführt. Zwei Aufschlammungen, die erste aus dem Akzeptor {8}, dem Katalysator, der Hilfsbase und 3 Å Molekularsieben die zweite aus dem Donor {17} bzw. {19} und 3 Å Molekularsieben beide in getrocknetem Dichlormethan wurden vereinigt und gerührt.

Nach 30 Minuten bei -30°C wurde die Lösung auf Raumtemperatur gebracht und weitere vier Stunden gerührt.

Als Rohprodukt entstand eine Mischung von über fünf Produkten die chromatographisch getrennt wurden.

Die beiden Zielverbindungen 2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl- β -D-allopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-allyl-6-O-benzyl-2,3-di-O-benzoyl- β -D-glucopyranosid {20} beziehungsweise 3'-Azido-2',4',6'-tri-O-acetyl- α -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-allyl-2,3-di-O-benzoyl-6-O-benzyl- β -D-glucopyranosid {21} konnten noch nicht isoliert werden.

Die Analyse der Produkte ist noch nicht abgeschlossen.

3. Experimenteller Teil

3.1. Methoden

3.1.1. Dünnschichtchromatographie

Alle Umsetzungen wurden mit DC verfolgt. Das Verschwinden des Edukts und der entstehende Produktpot sind klare Indizien für den Fortgang der Reaktion. Anisaldehyd-Schwefelsäure ist ein hochempfindliches Nachweisreagens in der Dünnschichtchromatographie, das zum Nachweis von Kohlenhydraten und anderen Naturstoffen verwendet wird. Detektion mit Anisaldehyd-Schwefelsäure Sprühreagens bietet den Vorteil, dass neu eintretende funktionelle Gruppen teilweise auch eine Farbänderung bewirken. Gewöhnliche Hexosen und ihre Ester und Ether erzeugen verschiedene Grüntöne während Alloose und ihre Derivate einen blauen Spot erzeugen. Die Azido Gruppe lässt sich an einer braun-gelben Färbung erkennen.^[17]

Sämtliche Chromatogramme wurden auf Kieselgel 60 F₂₅₄ Platten (Fa. Merck) als stationärer Phase durchgeführt.

Mobile Phase: Bei den Reaktionen angegeben.

Detektion mit Anisaldehyd-Schwefelsäure Sprühreagens:

0,1 T Eisessig

0,5 T Anisaldehyd

0,5 T H₂SO₄

9 T EtOH 96%

Entwicklung bei 110 °C in einem Trockenschrank

3.1.2. Trocknen der Lösungsmittel und Reagenzien:

Benzaldehyd: C_6H_5CHO wird unter N_2 und vermindertem Druck destilliert.

Chloroform: $CHCl_3$ wird mit di-Phosphorpentoxid für 4h unter Rückfluss gekocht, anschließend unter Feuchtigkeitsausschluss destilliert.

Dichlormethan: CH_2Cl_2 wird mit CaH_2 für 4 h unter Rückfluss gekocht, anschließend unter Feuchtigkeitsausschluss destilliert.

Diethylether: $CH_3CH_2OCH_2CH_3$ wird mit CaH_2 für 4 h unter Rückfluss gekocht, anschließend unter Feuchtigkeitsausschluss destilliert.

Dimethylformamid: DMF wird mit für 2 h auf $250^\circ C$ erhitztem Molekularsieb 4\AA versetzt.

Dimethylsulfoxid: DMSO wird mit für 2 h auf $250^\circ C$ erhitztem Molekularsieb 4\AA versetzt.

Methanol: CH_3OH wird mit Mg für 4 h unter Rückfluss gekocht, anschließend unter Feuchtigkeitsausschluss destilliert.

Pyridin: C_5H_5N wird mit CaH_2 für 4 h unter Rückfluss gekocht, anschließend unter Feuchtigkeitsausschluss destilliert.

Zinkchlorid: $ZnCl_2$ wird bei vermindertem Druck für 2 h am Rotovapor auf $90^\circ C$ erhitzt.

3.1.3. Schmelzpunktbestimmung

Schmelzpunkte wurden mit einem Kofler-Heizmikroskop bestimmt und sind unkorrigiert.

3.2. Materialien

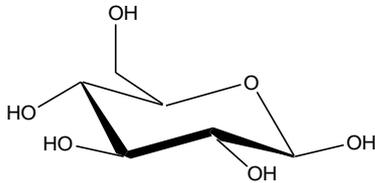
Acetonitril (Sigma-Aldrich Chemie GmbH.)
Allylalkohol (Sigma-Aldrich Chemie GmbH.)
Anisaldehyd (Sigma-Aldrich Chemie GmbH.)
Benzaldehyd (Sigma-Aldrich Chemie GmbH.)
Bromwasserstoff 33% Lösung in Essigsäure (Sigma-Aldrich Chemie GmbH.)
Celite 545 (Fa. Merck)
Chloroform (Sigma-Aldrich Chemie GmbH.)
Dichlormethan (Sigma-Aldrich Chemie GmbH.)
Diethylether (Sigma-Aldrich Chemie GmbH.)
Dimethylsulfoxid (Sigma-Aldrich Chemie GmbH.)
Dowex®-50 H⁺ (Bio-Rad Lab. Richmond USA)
Drierite (Sigma-Aldrich Chemie GmbH.)
Essigsäure 100% (Sigma-Aldrich Chemie GmbH.)
Essigsäureanhydrid (Sigma-Aldrich Chemie GmbH.)
Essigsäureethylester (Sigma-Aldrich Chemie GmbH.)
Ethanol
Natriumazid (Sigma-Aldrich Chemie GmbH.)
n-Hexan (Sigma-Aldrich Chemie GmbH.)
Cyclohexan (Sigma-Aldrich Chemie GmbH.)
Isopropanol (Sigma-Aldrich Chemie GmbH.)
Magnesiumsulfat (Sigma-Aldrich Chemie GmbH.)
Methanol (Sigma-Aldrich Chemie GmbH.)
Molekularsiebe (Fa. Merck)
Natrium (Sigma-Aldrich Chemie GmbH.)
Natriumacetat (wasserfrei) (Sigma-Aldrich Chemie GmbH.)
Natriumbicarbonat (Sigma-Aldrich Chemie GmbH.)
Natriumborhydrid (Sigma-Aldrich Chemie GmbH.)
Natriumchlorid (Fa. Fluka)
Natriumcyanoborhydrid (Sigma-Aldrich Chemie GmbH.)
Natriumhydrogensulfat (Sigma-Aldrich Chemie GmbH.)
Natriummethanolat

Propanol (Sigma-Aldrich Chemie GmbH.)
Pyridin (Sigma-Aldrich Chemie GmbH.)
Quecksilber(II)cyanid (Sigma-Aldrich Chemie GmbH.)
Salzsäure (Fa. Merck)
Schwefelsäure (Sigma-Aldrich Chemie GmbH.)
Siccapent (Fa. Fluka)
Silica gel 60, 0.06-0.2mm (Alfa Aesar GmbH.)
sym-Collidin (Sigma-Aldrich Chemie GmbH.)
Tetrahydrofuran (Sigma-Aldrich Chemie GmbH.)
Toluol (Sigma-Aldrich Chemie GmbH.)
Trifluormethansulfonsäure Silbersalz (Sigma-Aldrich Chemie GmbH.)
Titanetetrabromid (Sigma-Aldrich Chemie GmbH.)
Zinkchlorid (Sigma-Aldrich Chemie GmbH.)

3.3. Synthese

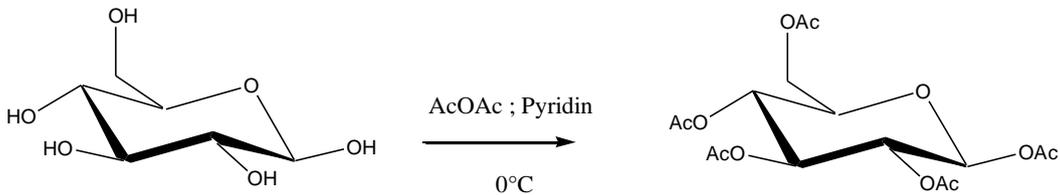
3.3.1. Synthese des Glycosyl-Akzeptors

D(+)-Glucose Monohydrat {1}



Komponente 1 bezogen von Fa. Fluka

1,2,3,4,6-Penta-O-acetyl-β-D-glucofuranosid {2}



Komponente 1 (50,17 g / 253 mmol) wird in wasserfreiem Pyridin (150 ml) unter Feuchtigkeitsausschluss (Trockenrohr) gelöst. Die Lösung wird gerührt und im Eisbad auf 0°C gekühlt. Der Lösung wird Essigsäureanhydrid (150 ml) zugesetzt. Der Reaktionsverlauf wird mit DC überprüft.

Mobile Phase: Essigsäureethylester/Toluol = 3/2

Reaktionsdauer: 20 h

Die Reaktionslösung wird auf Eis gegossen und gerührt. Das Produkt fällt aus und wird, nachdem das Eis geschmolzen ist, abgenutscht und mehrmals mit aqua dest. nachgewaschen. Das Produkt wird in Chloroform gelöst und durch mehrmaliges Ausschütteln mit aqua dest., gesättigter Natriumhydrogensulfatlösung und zuletzt mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung von Pyridinresten gereinigt.

Die organische Phase wird mit Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel abrotiert. Das Produkt wird im Exsiccator (Drierite, Vakuum) bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Man erhält 95,58 g / 245 mmol 1,2,3,4,6-Penta-O-acetyl-β-D-glucofuranosid (Komponente 2).

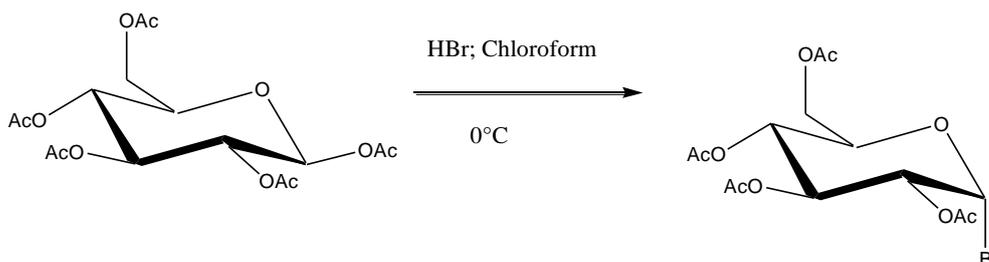
Ausbeute: 97%

Charakterisierung:

DC (Essigsäureethylester/Toluol = 3/2) RF: Edukt {1} = 0,0 RF Produkt {2} = 0,54

Schmelzpunkt: 85-87°C (Lit.: 88-89°C)^[18]

2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-glucopyranosylbromid {3}



Komponente 2 (100,60 g / 258 mmol) wird in wasserfreiem Chloroform (100 ml) unter Feuchtigkeitsausschluss (Trockenrohr) gelöst. Die Lösung wird gerührt und im Eisbad auf 0°C gekühlt. Mit einem Tropftrichter wird Bromwasserstoff (20,9 g / 258 mmol in 63,3 g einer 33% Essigsäure Lsg.) langsam zugesetzt. Das Reaktionsgefäß wird zum Schutz des lichtempfindlichen Produktes mit Alufolie umwickelt.

Der Reaktionsverlauf wird mit DC überprüft.

Mobile Phase: Essigsäureethylester/Toluol = 3/2

Reaktionsdauer: 6h

Die Reaktionslösung wird mit aqua dest. mehrmals ausgeschüttelt, mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung neutralisiert und die organische Phase mit Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Abrotieren und Trocknen bis zur Gewichtskonstanz erhält man 86,62 g / 211 mmol 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-glucopyranosylbromid (Komponente 3).

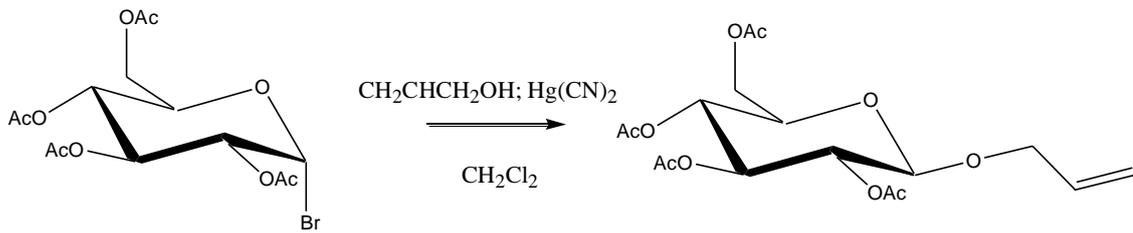
Ausbeute: 82%

Charakterisierung:

DC (Essigsäureethylester/Toluol = 3/2) RF: Edukt {2} = 0,54 RF Produkt {3} = 0,52

Schmelzpunkt: 88-90°C (Lit.: 90°C)^[19]

Allyl-2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranosid {4}



Komponente 3 (83,54 g / 204 mmol) wird in wasserfreiem Dichlormethan (125 ml) unter Feuchtigkeitsausschluss (Trockenrohr) gelöst. Um strikt H_2O freie Reaktionsbedingungen zu schaffen wird die Lösung mit Molekularsieb 4 Å (20 g) versetzt. Der gerührten Lösung wird Allylalkohol (13 g / 223 mmol) und zur Katalyse der Reaktion Quecksilber(II)cyanid (10 g) zugesetzt.

Der Reaktionsverlauf wird mit DC überprüft.

Mobile Phase: Essigsäureethylester/Toluol = 3/2

Reaktionsdauer: 36 h

Nach vollständiger Umsetzung des Eduktes verdünnt man mit Dichlormethan (80 ml) und rührt weitere 30 Minuten. Die Reaktionslösung wird durch Celite abgenutscht. Man wäscht das Celite mit CH_2Cl_2 nach und rotiert ab. Man erhält als Rohprodukt einen braunen Sirup (65,35 g). Nach Filtration durch eine Säule [Stationäre Phase: Kieselgel 60 (0,040 -0,063 mm); Mobile Phase: Essigsäureethylester /Toluol = 3/2] verbleiben 50,51 g gelblich-weiße Kristalle, die durch Umkristallisation mit Isopropanol weiter gereinigt werden.

42,23 g /108 mmol Allyl-2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranosid

(Komponente 4) werden in Form weißer Kristalle erhalten.

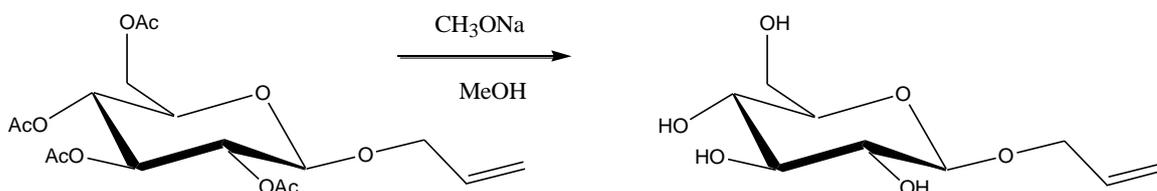
Ausbeute: 53%

Charakterisierung:

DC (Essigsäureethylester/Toluol = 3/2) RF: Edukt {3} = 0,52 RF Produkt {4} = 0,68

Schmelzpunkt: 87-89°C

Allyl- β -D-glucopyranosid {5}



Komponente 4 (7,55 g / 22 mmol) wird in wasserfreiem Methanol (50 ml) unter Feuchtigkeitsausschluss (Trockenrohr) gelöst. Die Lösung wird gerührt und Natriummethanolat (16 ml Lsg. $c_{(\text{Lsg.})} = 0,32 \text{ g} / 80 \text{ ml}$) zum Abspalten der Schutzgruppen zugesetzt.

Der Reaktionsverlauf wird mit DC überprüft.

Mobile Phase: H₂O/1-Propanol = 3/17

Reaktionsdauer: 1 h

Der Reaktionslösung wird Dowex® 50 H⁺ Kationentauscher zur Neutralisation zugesetzt. Die neutrale Lösung (p.H.-Papier) wird filtriert, das Lösungsmittel abrotiert. Nach Trocknen bis zur Gewichtskonstanz erhält man 3,90 g / 18mmol Allyl- β -D-glucopyranosid (Komponente 5).

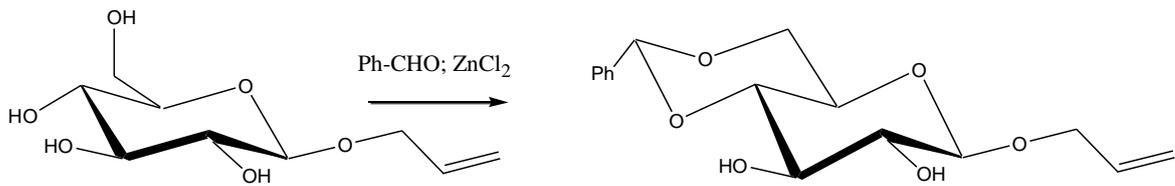
Ausbeute: 91%

Charakterisierung:

DC (H₂O/1-Propanol = 3/17) RF: Edukt {4} = 0,0 RF Produkt {5} = 0,65

Schmelzpunkt: 98-101°C (Lit.: 100-101°C)^[19]

Allyl-4,6-O-benzyliden- β -D-glucopyranosid {6}



Komponente 5 (3,66 g / 17 mmol) wird mit frisch destilliertem Benzaldehyd (40 ml) und getrocknetem Zinkchlorid (4,39 g) versetzt und für 48 h mit einem mechanical shaker geschüttelt.

Der Reaktionsverlauf wird mit DC überprüft.

Mobile Phase: Essigsäureethylester/Isopropanol = 10/1

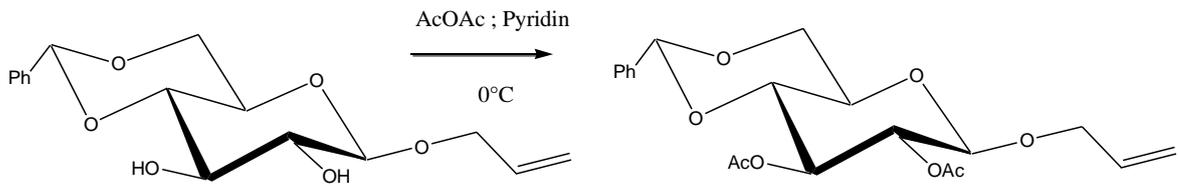
Reaktionsdauer: 48 h

Die Reaktionslösung wird in ein Becherglas gegeben und mit einem Flügelrührer gerührt, mit gesättigter Natriumcarbonatlösung neutralisiert (150 ml) und Hexan (100 ml) zugegeben. Nach 30 min rühren wird die Hexanphase abpipettiert. Man setzt erneut Hexan (80 ml) zu und rührt für weitere 30 Minuten. Nach vier weiteren Durchgängen wird das sich am Boden des Becherglases befindliche Produkt abgenutscht.

Nach Trocknen bis zur Gewichtskonstanz erhält man 20,7 g eines Gemisches von Allyl-4,6-O-benzyliden- β -D-glucopyranosid (Produkt, Komponente 6), Nebenprodukten und des Katalysators.

Zur Gewinnung des reinen Produktes wird acetyliert.

Allyl-4,6-O-benzyliden-2,3-di-O-acetyl-β-D-glucopyranosid {6a}



Das Rohprodukt wird in wasserfreiem Pyridin (150 ml) unter Feuchtigkeitsausschluss (Trockenrohr) gelöst. Die Lösung wird gerührt und im Eisbad auf 0°C gekühlt und Essigsäureanhydrid (20 ml) zugesetzt.

Der Reaktionsverlauf wird mit DC überprüft.

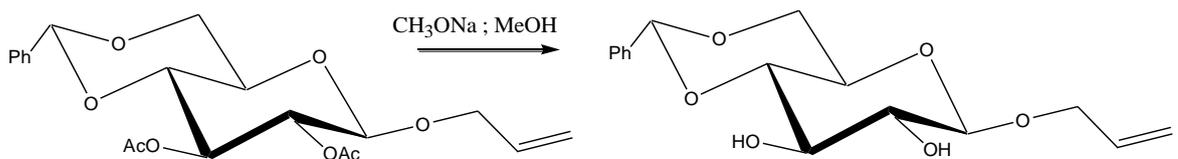
Mobile Phase: Essigsäureethylester/Toluol = 3/2

Reaktionsdauer: 20 h

Die Reaktionslösung wird auf Eis gegossen und gerührt. Das Produkt fällt aus und wird, nachdem das Eis geschmolzen ist, abgenutscht und mehrmals mit aqua dest. nachgewaschen.

Nach Trocknen bis zur Gewichtskonstanz erhält man 3,22 g / 8,21 mmol Allyl-4,6-O-benzyliden-2,3-di-O-acetyl-β-D-glucopyranosid (Komponente 6a).

Allyl-4,6-O-benzyliden-β-D-glucopyranosid {6}



Komponente 6a (3,20 g / 8 mmol) wird in wasserfreiem Methanol gelöst und die gerührte Lösung mit Natriummethanolat (4 ml Lsg. $c_{(Lsg.)} = 0,32 \text{ g} / 80 \text{ ml}$) versetzt.

Der Reaktionsverlauf wird mit DC überprüft.

Mobile Phase: Essigsäureethylester/Toluol = 3/2

Reaktionsdauer: 6 h

Die Reaktionslösung wird mit Dowex® 50 H⁺ neutralisiert. Der Ionentauscher wird abfiltriert, dann das Lösungsmittel abrotiert. Nach Trocknen bis zur

Gewichtskonstanz erhält man 2,36 g / 7,6 mmol Allyl-4,6-O-benzyliden- β -D-glucopyranosid (Komponente 6).

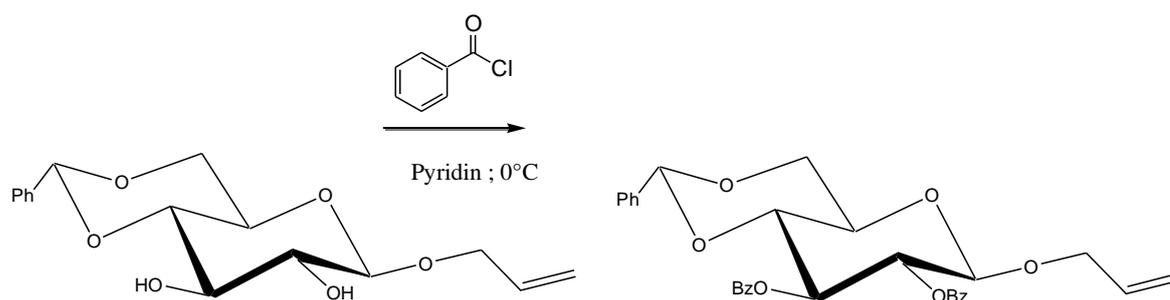
Ausbeute: (Komponente 5 \rightarrow Komponente 6): 45%

Charakterisierung:

DC (Essigsäureethylester/Toluol = 3/2) RF: Edukt {6a} = 0,80; Produkt {6} = 0,19

Schmelzpunkt: 135-137°C

Allyl-4,6-O-benzyliden-2,3-di-O-benzoyl- β -D-glucopyranosid {7}



Komponente 6 (2,35 g / 7,6 mmol) wird in wasserfreiem Pyridin (25 ml) unter Feuchtigkeitsausschluss (Trockenrohr) gelöst. Die Lösung wird gerührt und im Eisbad auf 0°C gekühlt und Benzoylchlorid (2 ml) durch einen Tropftrichter zugesetzt.

Der Reaktionsverlauf wird mit DC überprüft.

Mobile Phase: Essigsäureethylester/Toluol = 1/4

Reaktionsdauer: 8 h

Die Reaktionslösung wird auf Eis gegossen und gerührt. Das ausgefallene Produkt wird, nachdem das Eis geschmolzen ist, abgenutscht. Man wäscht mehrmals mit aqua dest. nach. Das Produkt wird in Chloroform gelöst und durch mehrmaliges Ausschütteln mit aqua dest., gesättigter Natriumhydrogensulfatlösung und zuletzt mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung von Lösungsmittelresten gereinigt.

Die Chloroform-Phase wird mit Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und abrotiert.

Das Produkt wird im Exsiccator (Drierite, Vakuum) bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Man erhält 3,76 g Allyl-4,6-O-benzyliden-2,3-di-O-benzoyl- β -D-glucopyranosid (Komponente 7). Nach Umkristallisation mit Isopropanol verbleiben 2,96 g / 5,7 mmol.

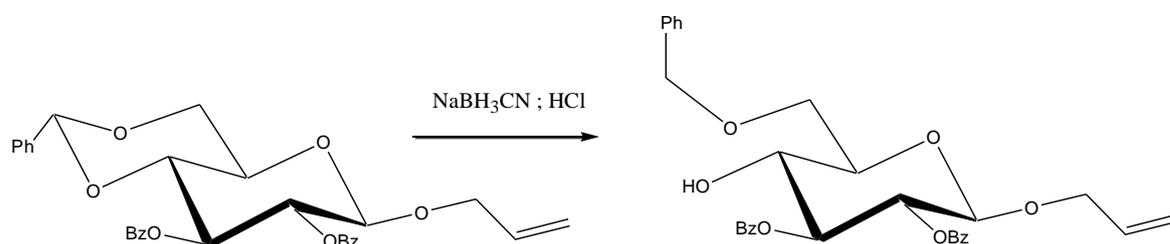
Ausbeute: 75%

Charakterisierung:

DC (Essigsäureethylester/Toluol = 1/4) RF: Edukt {6} = 0,08 RF Produkt {7} = 0,76

Schmelzpunkt: 171 -173°C

Allyl-6-O-benzyl-2,3-di-O-benzoyl- β -D-glucopyranosid {8}



Komponente 7 (2,12g / 4,1 mmol) wird in wasserfreiem Tetrahydrofuran (50 ml) unter Feuchtigkeitsausschluss (Trockenrohr) gelöst. Der Lösung werden gepulvertes Molekularsieb (3 Å) und Natriumcyanoborhydrid (2,52g / 40,1 mmol) zugesetzt. Die Lösung wird für 20 Minuten bei Raumtemperatur gerührt, dann auf 0°C gekühlt. Eine frisch bereitete gesättigte Lösung von HCl Gas in Diethylether wird zugetropft bis Gasentwicklung und Indikator einen sauren p.H. Wert anzeigen.

Der Reaktionsverlauf wird mit DC überprüft.

Mobile Phase: Essigsäureethylester/Toluol = 3/2

Reaktionsdauer: 1h

Die Reaktionslösung wird auf Eis gegossen und gerührt. Das Produkt wird mit Dichlormethan extrahiert und die organische Phase mehrmals mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen, mit Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und abrotiert. Das Produkt wird im Exsiccator (Siccapent, Vakuum) bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Man erhält 1,52 g / 2,9 mmol Allyl-6-O-benzyl-2,3-di-O-benzoyl- β -D-glucopyranosid (Komponente 8).

Ausbeute: 71%

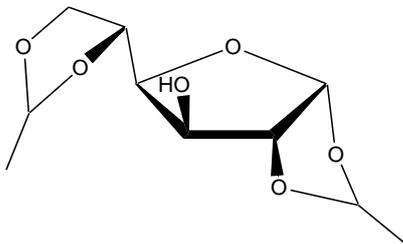
Charakterisierung:

DC (Essigsäureethylester/Toluol = 3/2) RF: Edukt {7} = 0,78; Produkt {8} = 0,52

Schmelzpunkt: keine Kristallbildung

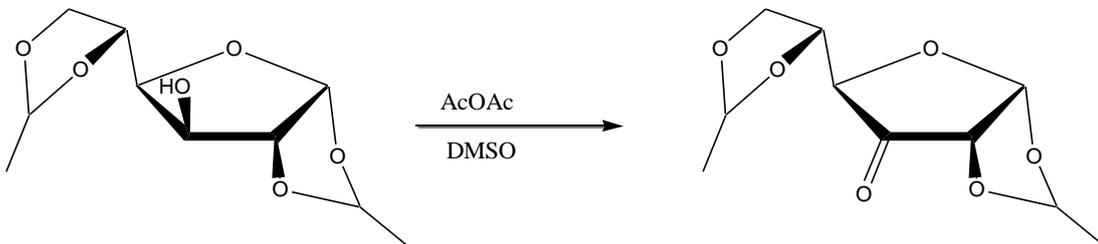
3.3.2. Synthese der Glycosyl-Donoren

1,2:5,6-Di-O-isopropyliden- α -D-glucofuranose {9}



Komponente 9 bezogen von Glycon Biochemicals GmbH., Luckenwalde

1,2:5,6-Di-O-isopropyliden- α -D-ribo-hexofuranos-3-ulose {10}



Eine Mischung von wasserfreiem Dimethylsulfoxid (320) ml und Essigsäureanhydrid (80 ml) wird unter Feuchtigkeitsausschluss (Trockenrohr), Rückfluss und Rühren auf 50°C erwärmt. Zu dieser Lösung wird Komponente 9 (50,26 g / 194 mmol) gegeben und die Temperatur auf 80°C erhöht.

Der Reaktionsverlauf wird mit DC verfolgt. Da Edukt und Produkt ähnliche RF Werte haben wird zur Detektion von {10} die Dünnschichtprobe vor dem Auftragen zur Trockene einrotiert, in Ethanol 96% aufgenommen und mit Natriumborhydrid reduziert. Dadurch wird {11} gebildet, das einen blauen Spot bei RF 0,36 bildet während {9} und {10} grüne Spots zeigen. Diese indirekte Nachweismethode

erlaubt das Verschwinden des Ausgangsmaterials in der Reaktionslösung zu verfolgen.

Mobile Phase: Essigsäureethylester/Toluol = 3/2

Reaktionsdauer: 3 h

Das Lösungsmittel wird abrotiert.

Man erhält 55,60 g sirupartiges Rohprodukt, von dem wir nur eine kleine Menge gereinigt und zur Kristallisation gebracht haben. Reinigung von 3,63 g Rohprodukt durch Säulenchromatographie [Stationäre Phase: Kieselgel 60 (0,040 -0,063 mm); Mobile Phase: Essigsäureethylester/Toluol = 3/2] ergeben nach Abrotieren der Lösungsmittel und Trocknen bis zur Gewichtskonstanz 2,54 g / 9,8 mmol 1,2:5,6-Di-O-isopropyliden- α -D-ribo-hexofuranos-3-ulose (Komponente 10) als weiße Kristalle.

Ausbeute: 78%

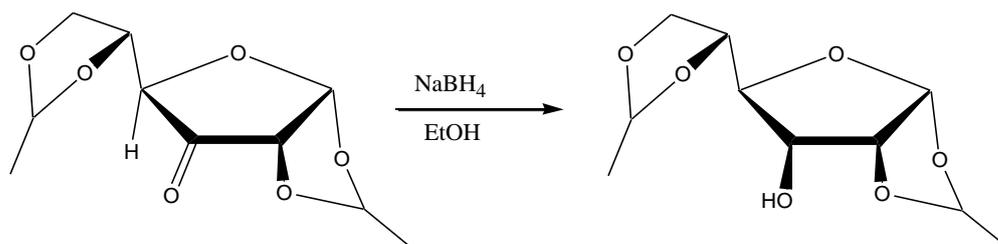
Charakterisierung:

DC (Essigsäureethylester/Toluol = 3/2) RF: Edukt {9} = 0,78; Produkt {10} = 0,52

Schmelzpunkt: 65-68°C (Lit.: Hydrat = 109-111°C)^[13]

Das nicht gereinigte Produkt wird umgesetzt, um auf einer späteren Synthesestufe die Verunreinigungen mit weniger Aufwand zu entfernen.

1,2:5,6-Di-O-isopropyliden- α -D- allofuranose {11}



Komponente 10 (27,65 g Rohprodukt) wird in Ethanol 96% (40 ml) gelöst und die Lösung auf 0°C gekühlt (Eisbad) und gerührt.

Natriumborhydrid (4,63 g / 122 mmol) wird zugegeben.

Der Reaktionsverlauf wird mit DC verfolgt.

Mobile Phase: Essigsäureethylester/Toluol = 3/2

Reaktionsdauer: 2 h

Um den Überschuss an NaBH_4 zu entfernen wird H_2O (50 ml) zugesetzt und 30 Minuten weitergerührt. Das Produkt wird durch Ausschütteln mit Chloroform und Abrotieren der organischen Phase gewonnen.

Nach Umkristallisation aus Cyclohexan erhält man 23,14 g / 88,95 mmol 1,2:5,6-Di-O-isopropyliden- α -D-allofuranose (Komponente 11).

Ausbeute: Komponente 9 \rightarrow Komponente 11: 46%

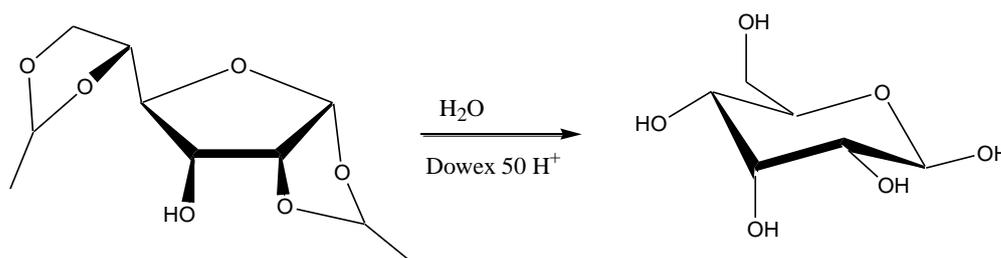
Charakterisierung:

DC (Essigsäureethylester/Toluol = 3/2) RF: Edukt {10} = 0,56; Produkt {11} = 0,36

Schmelzpunkt: 72-75°C (Lit.: 75,5-76°C)^[20]

Aus {11} sind durch säurekatalysierte Hydrolyse β -D-Allose {12} und durch Reaktion mit Methansulfonsäurechlorid 1,2:5,6-Di-O-isopropyliden-3-O-methylsulfonyl- α -D-allofuranose {13} zugänglich.

β -D-Allose {12}



Komponente 11 (10,13 g / 39 mmol) wird in H_2O gelöst, Dowex® 50 H⁺ Kationentauscher (2 g) zugegeben und die Lösung auf 50°C erwärmt (Wasserbad, Rückflusskühler).

Der Reaktionsverlauf wird mit DC verfolgt.

Mobile Phase: H_2O /Isopropanol = 3/17

Reaktionsdauer: 30 h

Man filtriert und rotiert ab. Nach Umkristallisation aus EtOH + H_2O = 20 + 1 erhält man 6,72 g / 37 mmol β -D-Allose (Komponente 12).

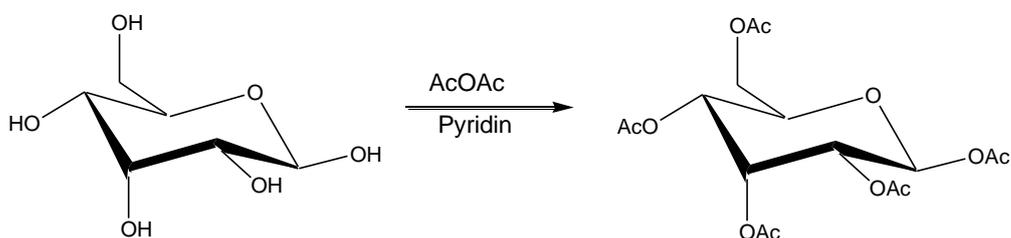
Ausbeute: 95%

Charakterisierung:

DC (H_2O /Isopropanol = 3/17) RF: Edukt {11} = 0,84 RF Produkt {12} = 0,51

Schmelzpunkt: 138-140°C (Lit.: 141-142°)^[20]

1,2,3,4,6-Penta-O-acetyl- β -D-allopyranose {18}



Komponente 12 (5,54 g / 31 mmol) wird unter Feuchtigkeitsausschluss (Trockenrohr) in wasserfreiem Pyridin gelöst, die Lösung auf 0°C gekühlt (Eisbad) und Essigsäureanhydrid (50 ml) zugegeben.

Der Reaktionsverlauf wird mit DC verfolgt.

Mobile Phase: Essigsäureethylester/Toluol = 3/2

Reaktionsdauer: 20 h

Die Reaktionslösung wird auf Eis gegossen und gerührt. Das Produkt fällt aus und wird, nachdem das Eis geschmolzen ist, abgenutscht und mehrmals mit aqua dest. nachgewaschen. Das Produkt wird in Chloroform gelöst und durch mehrmaliges Ausschütteln mit aqua dest., gesättigter Natriumhydrogensulfatlösung und zuletzt mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung von Lösungsmittelresten gereinigt. Nach Umkristallisation aus Hexan / Essigsäureethylester erhält man 6,95 g / 18 mmol 1,2,3,4,6-Penta-O-acetyl- β -D-allopyranose (Komponente 18).

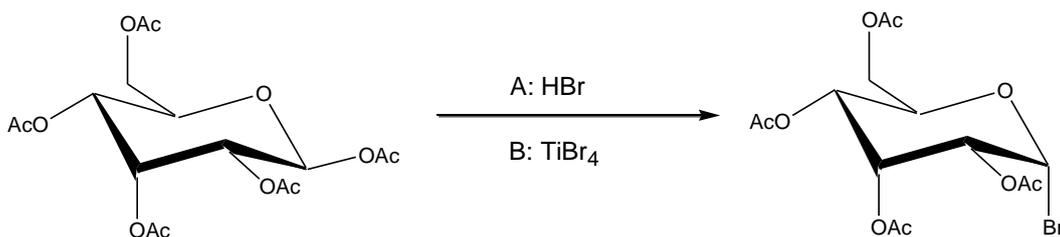
Ausbeute: 58%

Charakterisierung:

DC (Essigsäureethylester/Toluol = 3/2): RF Edukt {12} = 0,0; Produkt {18} = 0,53

Schmelzpunkt: 97-99°C (Lit.: 97-100°C)^[13]

2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-allopyranosylbromid {19}



Methode A:

Komponente 18 (2,07 g / 5,3 mmol) wird in einem mit Aluminiumfolie umwickelten Rundkolben in getrocknetem Dichlormethan gelöst. Mit einem Tropftrichter wird Bromwasserstoff unter Rühren (8 ml 33% Lsg. in Essigsäure) zugesetzt.

Der Reaktionsverlauf wird mit DC verfolgt.

Mobile Phase: Essigsäureethylester/Toluol = 3/2

Reaktionsdauer: 2 h

Die Lösung wird bei vermindertem Druck eingeeengt und der Rückstand mehrmals mit Toluol coevaporiert. Das Produkt wird getrocknet und unter Feuchtigkeitsausschluss im Dunkeln bei 4°C aufbewahrt. Man erhält 2,05 g / 5 mmol 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-allopyranosyl-bromid (Komponente 19).

Ausbeute: 94%

Methode B:

Komponente 18 (0,99 g / 2,53 mmol) wird in einer Mischung aus getrocknetem Dichlormethan (40 ml) und getrocknetem Ethylacetat (4,5 ml) in einem mit Aluminiumfolie umwickelten 500 ml Rundkolben gelöst. Der Lösung wird Titantetrabromid (4 g) zugesetzt und unter Rückfluss auf 40°C erwärmt.

Der Reaktionsverlauf wird mit DC verfolgt.

Mobile Phase: Essigsäureethylester/Toluol = 3/2

Reaktionsdauer: 5 Tage

Der Reaktionslösung werden Toluol (50 ml), Acetonitril (20 ml) und Na-Acetat (20 g) zugesetzt und die Lösung bis zur Entfärbung gerührt. Nach Filtration durch Celite wird die organische Phase mehrmals mit aqua dest. und gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen und bis zur Gewichtskonstanz

getrocknet. Man erhält 0,89 g / 2,17 mmol 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-allopyranosyl-bromid (Komponente 19).

Ausbeute: 86%

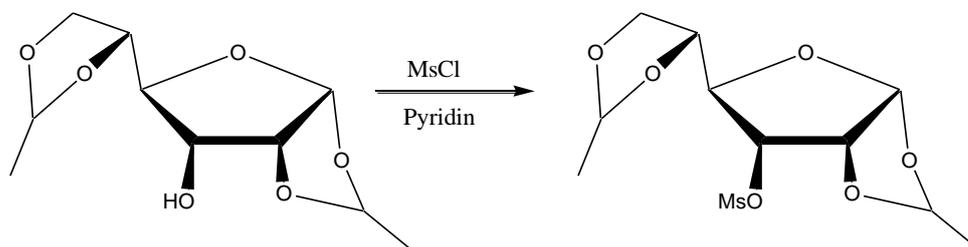
Beide Methoden führen zu dünnschichtchromatographisch identen Produkten.

Charakterisierung:

DC (Essigsäureethylester/Toluol = 3/2): RF Edukt {18} = 0,60; Produkt {19} = 0,71

Schmelzpunkt: keine Kristallbildung

1,2:5,6-Di-O-isopropyliden-3-O-methylsulfonyl- α -D-allofuranose {13}



Komponente 11 (11,30 g / 43 mmol) wird unter Feuchtigkeitsausschluss (Trockenrohr) in wasserfreiem Pyridin gelöst, die Lösung auf 0°C gekühlt (Eisbad), gerührt und Mesylchlorid (3,3 ml / 42 mmol mit CH₂Cl₂ auf 10 ml verdünnt) durch einen Tropftrichter zugegeben.

Der Reaktionsverlauf wird mit DC verfolgt.

Mobile Phase: Essigsäureethylester/Toluol = 3/2

Reaktionsdauer: 20 h

Das Produkt wird durch Ausschütteln mit Chloroform gewonnen. Die organische Phase wird mit aqua dest., gesättigter Natriumhydrogensulfatlösung und zuletzt mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung von Lösungsmittelresten gereinigt. Nach Umkristallisation aus Ethanol 90% erhält man 11,51 g / 34 mmol 1,2:5,6-Di-O-isopropyliden-3-O-methylsulfonyl- α -D-allofuranose (Komponente 13).

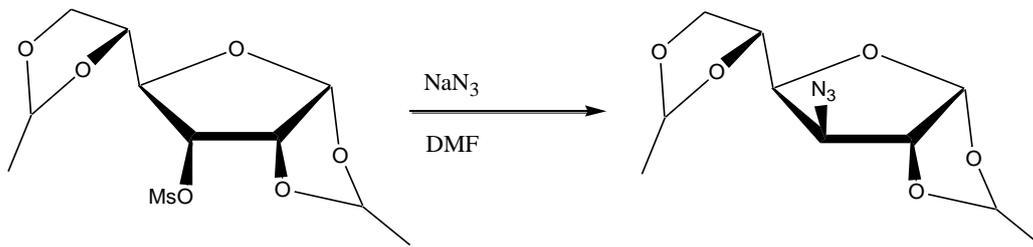
Ausbeute: 79%

Charakterisierung:

DC (Essigsäureethylester/Toluol = 3/2): RF Edukt {11} = 0,36; Produkt {13} = 0,57

Schmelzpunkt: 136-138°C

3-Azido-1,2:5,6-di-O-isopropyliden- α -D-glucofuranose {14}



Komponente 13 (10,15 g / 30 mmol) wird in wasserfreiem Dimethylformamid (110 ml) unter Feuchtigkeitsausschluss gelöst. Die Lösung wird mit Natriumazid (9,75 g) versetzt und im Ölbad unter Rückflusskühlung auf 170°C erhitzt.

Der Reaktionsverlauf wird mit DC verfolgt.

Mobile Phase: Essigsäureethylester/Toluol = 3/2

Reaktionsdauer: 8 h

Die Reaktionslösung wird bei vermindertem Druck eingengt und der Rückstand in Chloroform gelöst. Die Lösung wird mehrfach mit aqua dest. ausgeschüttelt und die organische Phase einrotiert.

Das so erhaltene Rohprodukt wird in Dichlormethan aufgenommen und durch Kieselgel filtriert. Nach Abrotieren des Lösungsmittels und Trocknen bis zur Gewichtskonstanz erhält man 7,30 g / 26 mmol 3-Azido-1,2:5,6-di-O-isopropyliden- α -D-glucofuranose (Komponente 14) als hellgelben Sirup.

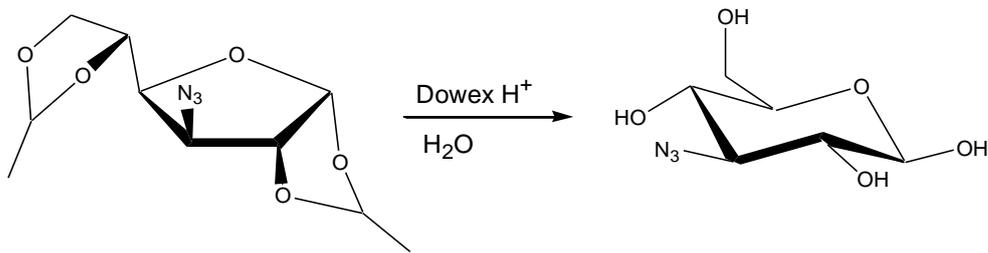
Ausbeute: 87%

Charakterisierung:

DC (Essigsäureethylester/Toluol = 3/2): RF Edukt {13} = 0,57; Produkt {14} = 0,67

Schmelzpunkt: keine Kristallbildung

3-Azido- α -D-glucose {15}



Komponente 14 (6,14 g / 22 mmol) wird in aqua dest. gelöst. Die Lösung wird mit Dowex® 50 H⁺ Kationentauscher (2 g) versetzt und auf 50°C erwärmt (Ölbad, Rückflusskühler).

Der Reaktionsverlauf wird mit DC verfolgt.

Mobile Phase: H₂O/Propanol = 3/17

Reaktionsdauer: 32 h

Der Ionentauscher wird abfiltriert, dann das Lösungsmittel abrotiert. Man erhält 3,49 g / 17 mmol 3-Azido- α -D-glucose (Komponente 15).

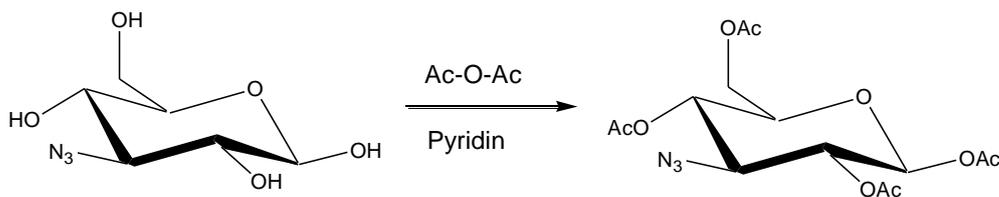
Ausbeute: 77%

Charakterisierung:

DC (H₂O/Propanol = 3/17): RF Edukt {14} = 0,67 Produkt {15} = 0,56

Schmelzpunkt: keine Kristallbildung

3-Azido-1,2,4,6-tetra-O-acetyl- α -D-glucose {16}



Komponente 15 (3,19 g / 15,5 mmol) wird unter Feuchtigkeitsausschluss (Trockenrohr) in wasserfreiem Pyridin gelöst, die Lösung auf 0°C gekühlt (Eisbad) und Essigsäureanhydrid (50 ml) zugegeben.

Der Reaktionsverlauf wird mit DC verfolgt.

Mobile Phase: Essigsäureethylester/Toluol = 3/2

Reaktionsdauer: 20 h

Die Reaktionslösung wird auf Eis gegossen und gerührt. Das Produkt fällt aus und wird, nachdem das Eis geschmolzen ist, abgenutscht und mehrmals mit aqua dest. nachgewaschen. Das Produkt wird in Chloroform gelöst und durch mehrmaliges Ausschütteln mit aqua dest., gesättigter Natriumhydrogensulfatlösung und zuletzt mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung von Pyridinresten gereinigt. Nach Abrotieren des Lösungsmittels erhält man 5,39 g / 14,4 mmol 3-Azido-1,2,4,6-tetra-O-acetyl- α -D-Glucose (Komponente 16).

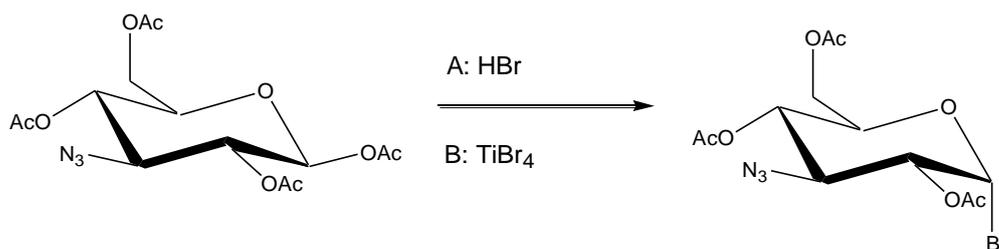
Ausbeute: 93 %

Charakterisierung:

DC (Essigsäureethylester/Toluol = 3/2): RF Edukt {15} = 0,56 Produkt {16} = 0,62

Schmelzpunkt: keine Kristallbildung

3-Azido-2,4,6-tri-O-acetyl- α -D-glucofuranosylbromid {17}



Methode A:

Komponente 16 (0,52 g / 1,39 mmol) wird in einem mit Aluminiumfolie umwickelten Rundkolben in getrocknetem Dichlormethan (20ml) gelöst. Mit einem Tropftrichter wird Bromwasserstoff unter Rühren (8 ml HBr 33% Lsg. in Essigsäure) zugesetzt.

Der Reaktionsverlauf wird mit DC verfolgt.

Mobile Phase: Essigsäureethylester/Toluol = 3/2

Reaktionsdauer: 2 h

Die Lösung wird bei vermindertem Druck eingeeengt und der Rückstand mehrmals mit Toluol coevaporiert. Das Produkt wird getrocknet und im Dunkeln bei 4°C aufbewahrt. Man erhält 0,52 g / 1,33 mmol 3-Azido-2,4,6-tri-O-acetyl- α -D-glucofuranosylbromid (Komponente 17).

Ausbeute: 96%

Methode B:

Komponente 16 (3,75 g / 10 mmol) wird in einer Mischung aus getrocknetem Dichlormethan (120 ml) und getrocknetem Ethylacetat (13,5 ml) in einem mit Aluminiumfolie umwickelten 1l Rundkolben gelöst. Der Lösung wird Titantetrabromid (12 g) zugesetzt und unter Rückfluss auf 40°C erwärmt. Der Reaktionsverlauf wird mit DC verfolgt.

Mobile Phase: Essigsäureethylester/Toluol = 3/2

Reaktionsdauer: 16 Tage

Der Reaktionslösung werden Toluol (150 ml), Acetonitril (50 ml) und Na-Acetat (85 g) zugesetzt und bis zur Entfärbung gerührt. Nach Filtration durch Celite wird die organische Phase mehrmals mit aqua dest. und gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen. Nach Einrotieren und Trocknen bis zur Gewichtskonstanz erhält man 3,21 g / 9,2 mmol 3-Azido-2,4,6-tri-O-acetyl- α -D-glucopyranosylbromid (Komponente 17).

Ausbeute: 92%

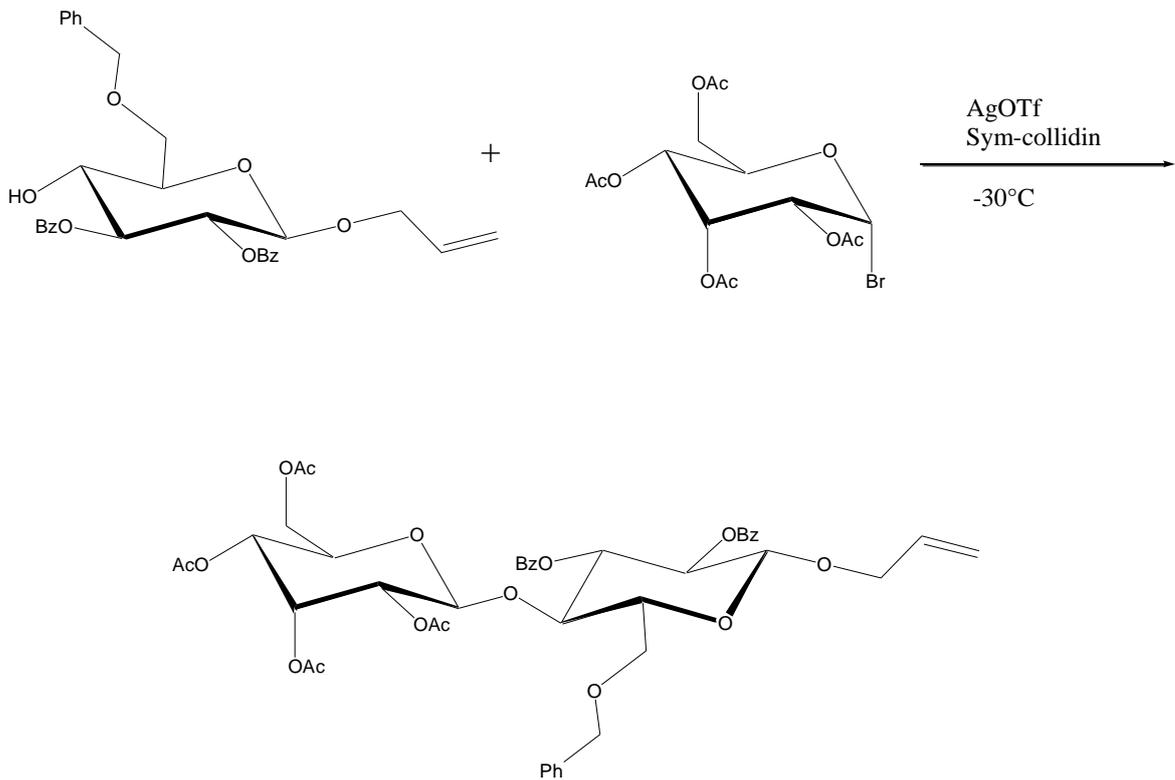
Charakterisierung:

DC (Essigsäureethylester/Toluol = 3/2): RF Edukt {16} = 0,61 Produkt {17} = 0,75

Schmelzpunkt: keine Kristallbildung

3.3.3. Kopplung der Monosaccharide

3.3.3.1. 2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl- β -D-allopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-allyl-6-O-benzyl-2,3-di-O-benzoyl- β -D-glucopyranosid



Eine aus Komponente 8 (0,35 g / 0,67 mmol) Silbertrifluormethansulfonat (0,64 g / 2,5 mmol, sym-Collidin (0,24 g / 2 mmol) und gepulvertem Molekularsieb (3 Å) in Dichlormethan bereitete Aufschlämmung wird bei Raumtemperatur für eine Stunde gerührt. Die Mischung wird dann auf -30°C gekühlt (Aufschlämmung 1). Parallel wird eine zweite Aufschlämmung von Komponente 19 (1,01 g / 2,4 mmol) und gepulvertem Molekularsieb (3 Å) in Dichlormethan bereit. Diese wird wie die erste zur Entfernung von Wasserspuren für eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt.

Zur gekühlten Aufschlämmung 1 wird dann unter Rühren Aufschlämmung 2 durch einen Tropftrichter zugegeben.

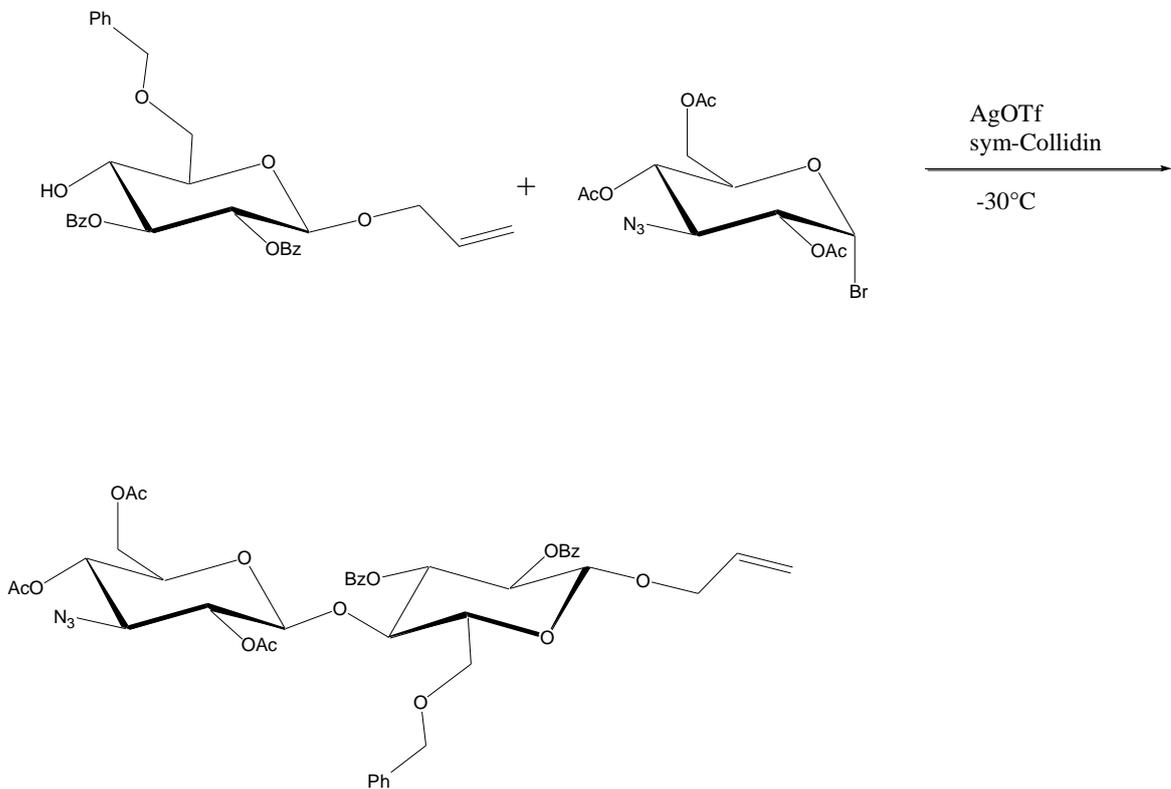
Der Reaktionsverlauf wird mit DC überprüft.

Mobile Phase: Essigsäureethylester/Toluol = 3/2

Reaktionsdauer: 6h

Die Reaktionslösung wird durch Celite filtriert. Das Filtrat wird mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung, 10% Thiosulfatlösung, 10% Essigsäure, erneut gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung, dann mit Wasser und zuletzt mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Die organische Phase wird mit Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und abrotiert. Das Produkt wird im Exsiccator (Siccapent, Vakuum) bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Man erhält 0,62 g Rohprodukt, das chromatographisch gereinigt wird. [Stationäre Phase: Kieselgel 60 (0,040 -0,063 mm); Mobile Phase: Essigsäureethylester/Toluol = 3/2]

3.3.3.2. 3'-Azido-2',4',6'-tri-O-acetyl- α -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-allyl-2,3-di-O-benzoyl-6-O-benzyl- β -D-glucopyranosid



Eine aus Komponente 8 (0,13 g / 0,25 mmol) Silbertrifluormethansulfonat (2,2 g / 0,87 mmol), sym-Collidin (0,9 g / 0,75 mmol) und gepulvertem Molekularsieb (3 Å) in Dichlormethan bereitete Aufschlämmung wird bei Raumtemperatur für eine Stunde gerührt und dann auf -30°C gekühlt. (Aufschlämmung 1)

Parallel wird eine zweite Aufschlämmung von Komponente 17 (0,35 g / 0,89 mmol) und gepulvertem Molekularsieb (3 Å) in Dichlormethan bereitete. Diese wird wie Aufschlämmung 1 zur Entfernung von Wasserspuren für eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt.

Zur gekühlten Aufschlämmung 1 wird dann unter Rühren Aufschlämmung 2 durch einen Tropftrichter zugegeben.

Der Reaktionsverlauf wird mit DC überprüft.

Mobile Phase: Essigsäureethylester/Toluol = 3/2

Reaktionsdauer: 4h

Die Reaktionslösung wird durch Celite filtriert. Das Filtrat wird mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung, 10% Thiosulfatlösung, 10% Essigsäure. erneut gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung dann mit Wasser und zuletzt mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Die organische Phase wird mit Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und abrotiert. Das Produkt wird im Exsiccator (Siccapent, Vakuum) bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Man erhält 0,84 g Rohprodukt, das chromatographisch gereinigt wird. [Stationäre Phase: Kieselgel 60 (0,040 -0,063 mm); Mobile Phase: Essigsäureethylester/Toluol = 3/2]

Die Charakterisierung der Disaccharide ist noch nicht abgeschlossen.

Die aus dem Glycosylierungsgemisch von Acetylallosebromid mit Allyl-6-O-benzyl-2,3-di-O-benzoyl- β -D-glucopyranosid isolierte Substanz enthält keine Acetylgruppen und dürfte daher ein Folgeprodukt des Glykosylacceptors sein.

Umgekehrt enthält das Spektrum der aus dem Glycosylierungsgemisch von 3-Azido-2,4,6-tri-O-acetyl- α -D-glucopyranosyl-bromid mit Allyl-6-O-benzyl-2,3-di-O-benzoyl- β -D-glucopyranosid erhaltenen Verbindung zwar die erforderlichen drei O-Acetylgruppen, aber keine Signale die aromatischen Protonen entsprechen.

4. Zusammenfassung

Die Eigenschaften von Cellulosederivaten hängen neben dem Polymerisationsgrad und der Art der Substituenten auch von der Verteilung der neu eingeführten Gruppen innerhalb der einzelnen Glucoseeinheit und in der Kette entscheidend ab.

Enzymatisch katalysierte Polymerisationen mit Cellulasen aus Schimmelpilzen ermöglichen die Verknüpfung von Cellobiose-Analoga zu chemisch definierten Cellulosederivaten.

Ob ein Disaccharid als Substrat geeignet ist, lässt sich nur experimentell feststellen. Ziel dieser Arbeit war daher die Synthese von zwei Disacchariden, einer konfigurationsinvertierten Cellobiose und eines Analogons der Disaccharideinheit von Chitosan mit der Stickstofffunktion an C-3.

Das Misslingen der Kopplung von Glycosyl Donor und Akzeptor, oder die zumindest viel zu geringe Ausbeute verhindert die Realisierung des ursprünglichen Planes diese Disaccharide für entsprechende Versuche zur Verfügung zu stellen.

Summary

The properties of cellulose derivatives are depending not only from the degree of substitution and the type of substituent but also from the distribution pattern within the single glucose unit and along the polysaccharide chain.

Polymerisation reactions catalyzed by cellulase enzymes from molds allow the linkage of cellobiose analogues to chemically defined cellulose derivatives.

If a disaccharide is a possible substrate for the enzyme has to be ascertained by experiment. The aim of this work therefore was the synthesis of two disaccharides, namely cellobiose with inverted configuration and an analogue of the disaccharide unit of chitosan having the nitrogen function at C-3.

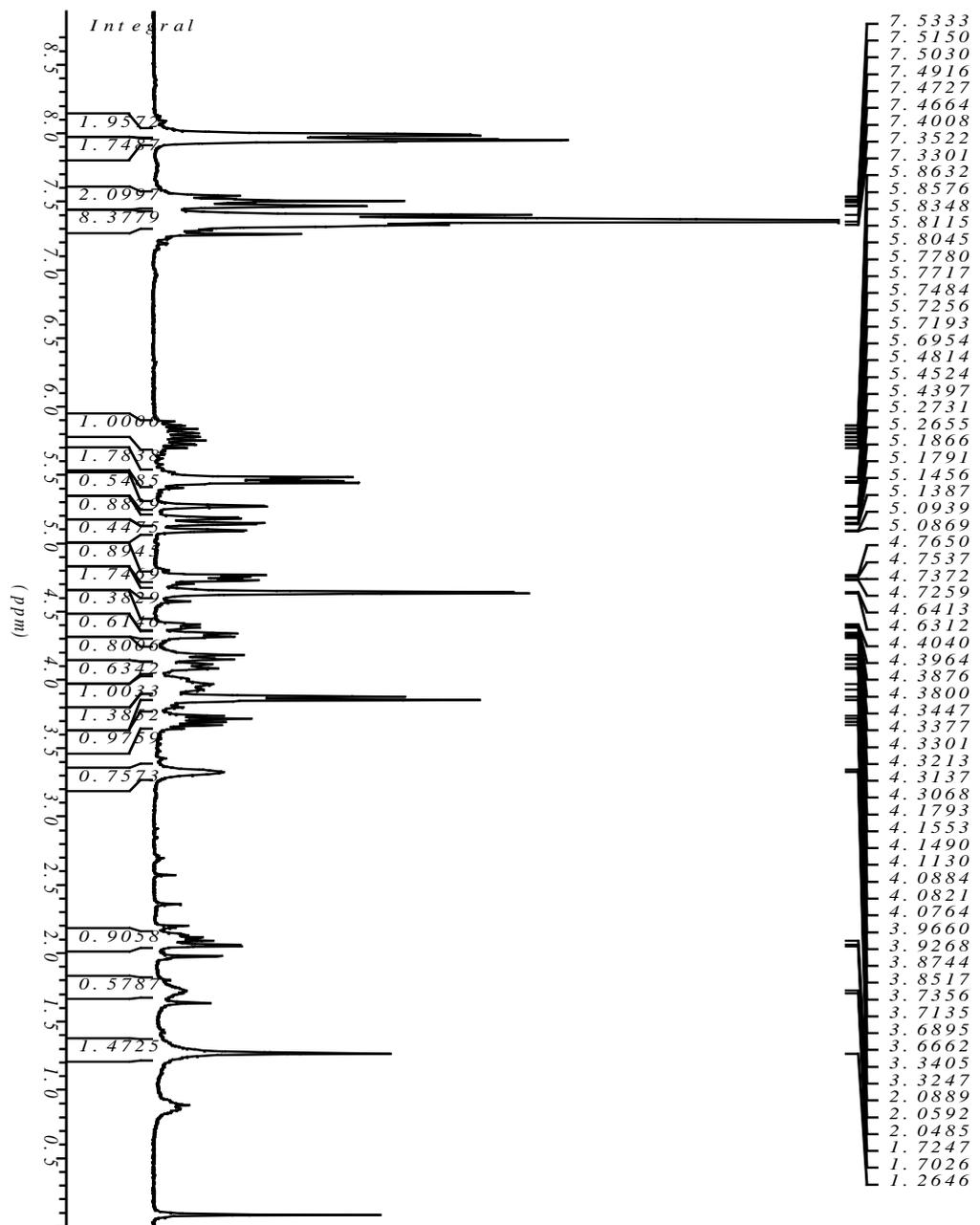
The miscarriage coupling glycosyl donor and acceptor, leading to a very low yield impeded providing these disaccharides for corresponding research.

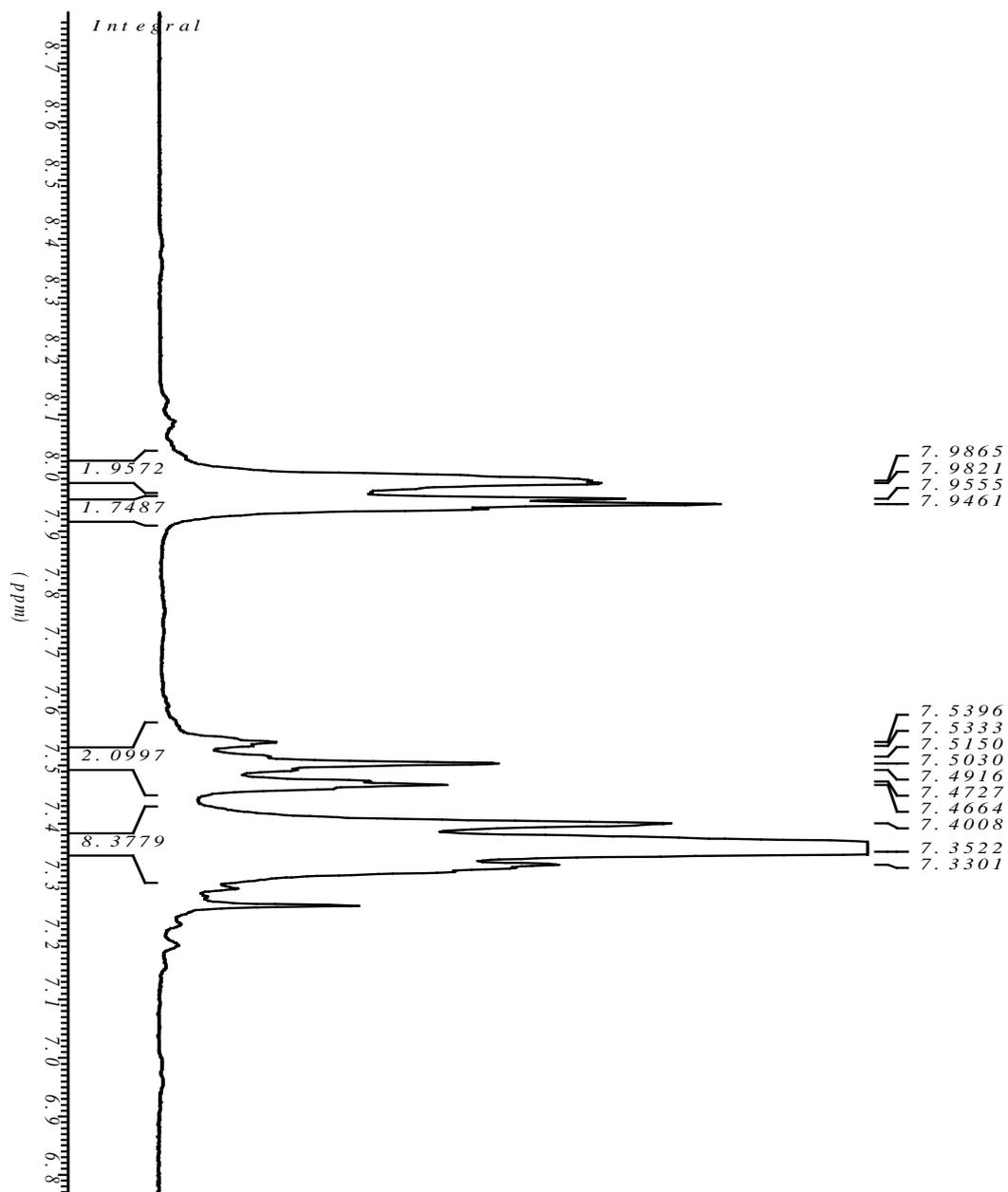
5. Spektrenanhang

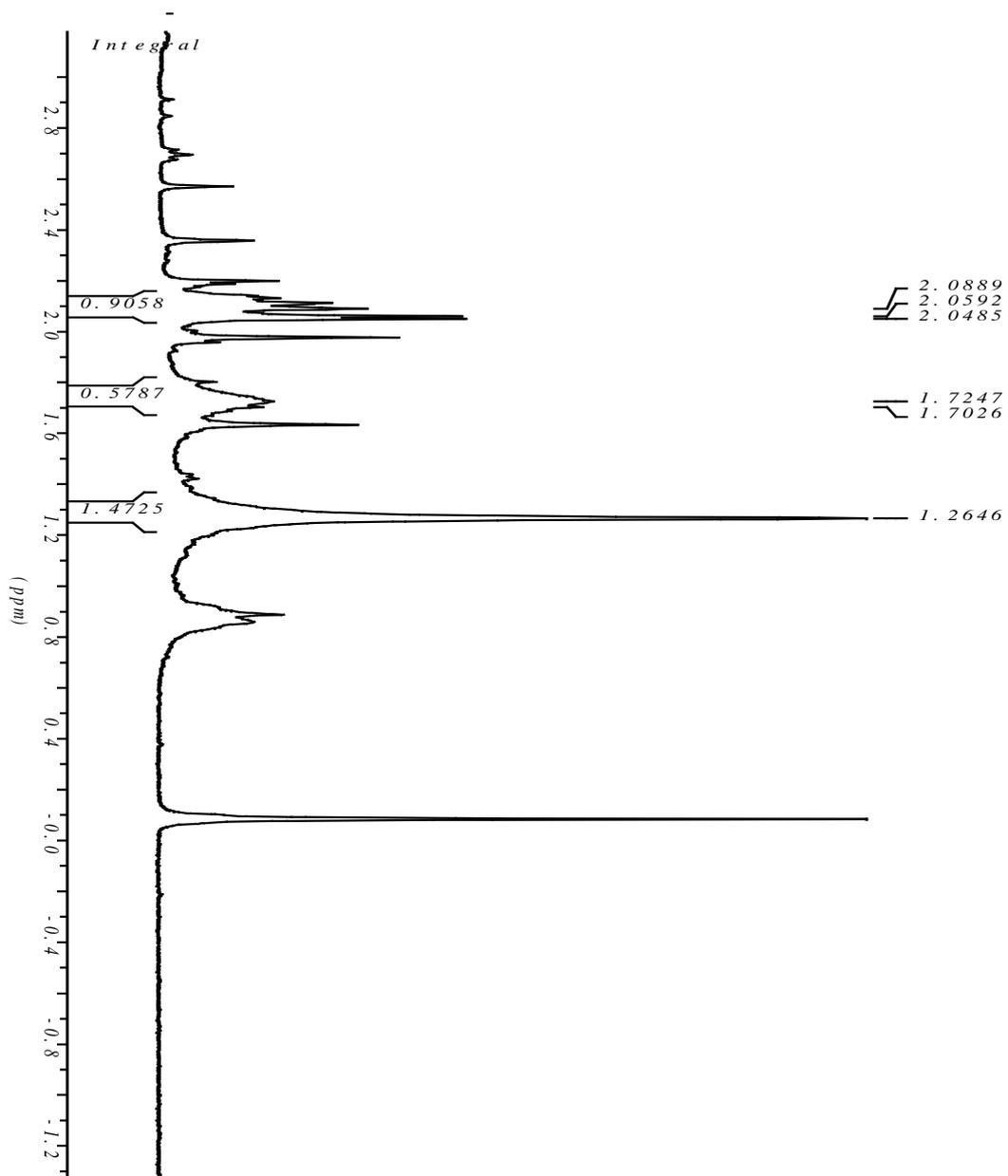
Von den isolierten Verbindungen wurden bisher nur zwei spektroskopisch untersucht, je eine pro Kopplung. Die erhaltenen Spektren ermöglichen keine eindeutige Zuordnung zu den Zielverbindungen.

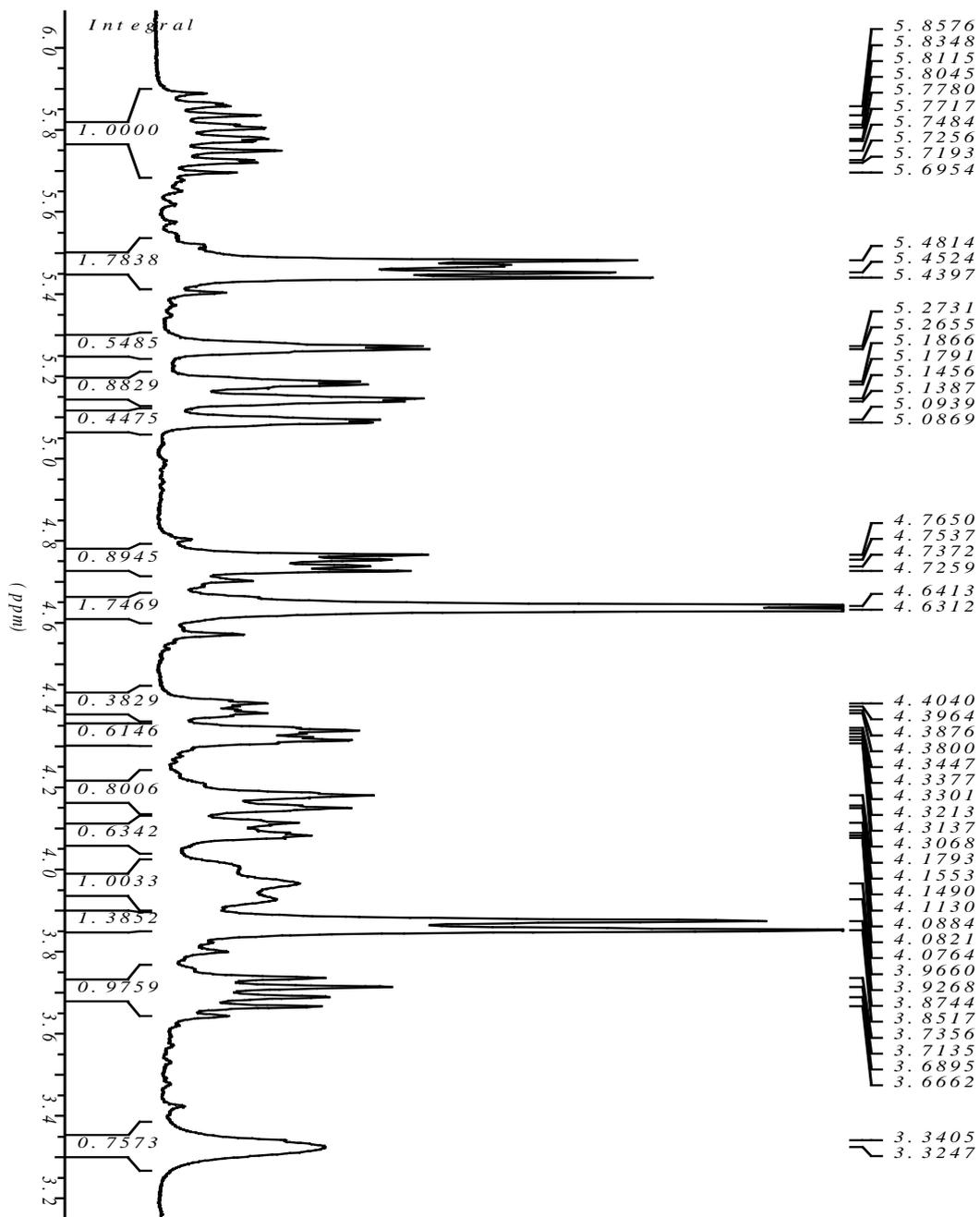
Zielstruktur: 2',3',4',6'-Tetra-O-acetyl- β -D-allopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-allyl-6-O-benzyl-2,3-di-O-benzoyl- β -D-glucopyranosid {20}

Unbekannte Monosaccharidkomponente:



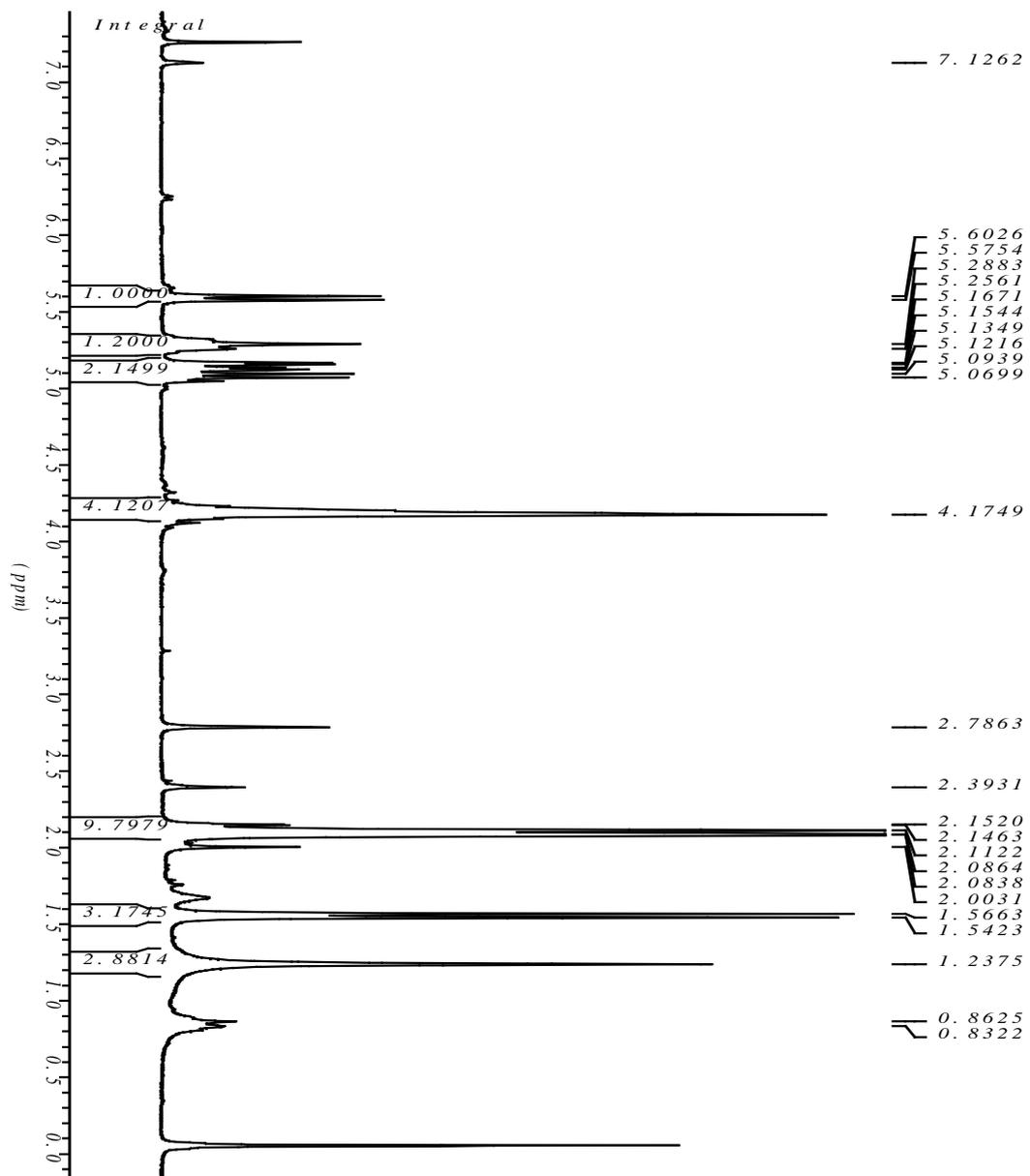






Zielstruktur: 3'-Azido-2',4',6'-tri-O-acetyl- α -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-allyl-2,3-di-O-benzoyl-6-O-benzyl- β -D-glucopyranosid {21}

Unbekannte Monosaccharidkomponente:



6. Literaturverzeichnis

[1] Lehninger, A. L.; Nelson, D. L.; Cox, M. M. Herausgeber Tschesche H.;
Prinzipien der Biochemie (1994, 2. Auflage S. 345 ff); Spektrum Akademischer
Verlag

[2] United States Patent 6,482,429

Inventors: Etzler; Frank M. (New Milford, CT)

Assignee: Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals, Inc. (Ridgefield, CT)

Appl. No.: 09/885,349 Filed: June 20, 2001

[3] K.P.C. Vollhardt, N. E. Schore, Organische Chemie, 3. Aufl., Wiley-VCH,
Weinheim (2000)

[4] Shiro Saka; Chemical Composition and distribution; in Wood and Cellulosic
Chemistry; Hrsgb. D. Hon; N. Shiraishi (1991) p.59-88 Dekker

[5] J.C. Arthur; Chemical Modification of Cellulose and its derivatives; in
Comprehensive Polymer Science; Vol.6 (1989) Pergamon Press

[6] Majeti N.V. Ravi Kumar; A review of chitin and chitosan applications; in
Reactive & Functional Polymers 46 (2000) 1–27

[7] Illum L.; Chitosan and its use as a pharmaceutical excipient. Pharm. Res.
(1998)15; p.1326–31.

[8] Rabea, E. I., Badawy, M. E. T., Stevens, C. V., Smagghe, G. & Steurbaut W.
Chitosan as antimicrobial agent: Applications and mode of action.
Biomacromolecules 4, (2003); 1457-1465

[9] S. Kobayashi, S. Shoda, J. Donnelly and S.P. Church; Enzymatic synthesis of
cellulose; in Methods in Biotechnology, Vol.10: Carbohydrate Biotechnology
protocols; Hrsgb. C. Bucke (1999) p. 57-69

- [10] B. Schwarz; New regular Aminopolysaccharides as matrix components for innovative pharmaceutical dosage forms; (2003) Dissertation Uni Wien
- [11] Per J. Garegg, H. Hultberg and S. Wallin;
A novel reductive ring opening of carbohydrate benzylidene acetals
Carbohydrate research, 108 (1982) p.97-101
- [12] Per J. Garegg; Some aspects of regio-, stereo-, and chemoselective reactions in carbohydrate chemistry
Pure and applied chemistry, Vol. 56, No.7 (1984) p.845-858
- [13] J.D. Stevens; β -D-Allose from D-Glucose by Oxidation of 1,2:5,6-Di-O-isopropylidene- α -D-glucopyranose and Reduction of 1,2:5,6-Di-O-isopropylidene- α -D-ribo-hexopyranose-3-ulose; in Methods Carbohydr. Chem., 6, 123 (1972); Academic Press
- [14] H. Paulsen, W. Rauwald, U. Weichert; Bausteine von Oligosacchariden – Glycosidierung mit Thioglycosiden von Oligosacchariden zu Segmenten von O-Glycoproteinen; Liebigs Annalen der Chemie (1988) Issue 1 p.75-86
- [15] Ramesh H. Shah and Om P. Bahl; Synthesis of p-aminophenyl- β -D-allopyranoside and 1-Thio- β -D-allopyranoside as analogues of glycosidase substrates; Carbohydrate Research, Volume 65, 1978, p. 47-55.
- [16] M.B. Carter, P.A. Petillo, L. Anderson and L.A. Lerner; The 1,4-linked disaccharide of hyaluron synthesis of methyl 2-acetamido-deoxy- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosiduronic acid;
Carbohydrate research, 258 (1994) p.299-306
- [17] B.A. Lewis und F. Smith; Zucker und Derivate; in
Dünnschichtchromatographie ein Laboratoriumshandbuch; Hrsgb. E.Stahl, (1967)
Springer Verlag, p.769-798

[18] R.U. Lemieux; Tetra-O-acetyl- α -D-glucopyranosyl-bromide; in Methods in Carbohydrate chemistry Vol.2 Department of chemistry, University of Ottawa p.221-222

[19] Glycon Biochemicals: Entwicklungs-, Produktions- und Vertriebs GmbH D-14943 Luckenwalde; Produktinformation 2000

[20] D.C. Baker, D. Horton and C.G. Tindall; Preparation of Mono- and Disaccharides; in Methods in Carbohydrate Chemistry Vol. 7; Department of chemistry; Ohio State University p. 3-6

7. Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name: Ulrich Trawnicek

Geburtsdatum: 7. Mai 1968

Geburtsort: Wien

Lebensgemeinschaft mit Bibiana Kernegger

Gemeinsame **Kinder:** Lola Kernegger (*24.08.2002), Leopold Kernegger (*27.09.2005)

Adresse: Meldemannstr. 2/5/4 1200 Wien

Ausbildung:

1974-1978 Volksschule: Linzerstr. 419 1140 Wien

1984 Beendigung der Schulpflicht im Bundesoberstufenrealgymnasium Unterbergg. 1
1200 Wien

1993-1996 Lehrgang zur Studienberechtigungsprüfung: Volkshochschule Stöbergasse
Siebenbrunneng.37 1050 Wien

1996 Zulassung zum Studium der Pharmazie an der Universität Wien