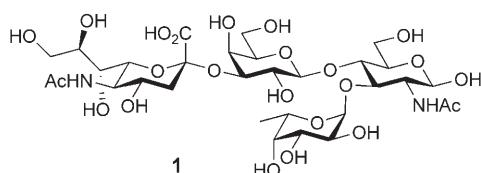


# Vom E-Selektin-Liganden 1 abgeleitete Glycopeptide mit variierter Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Struktur als Zelladhäsionsinhibitoren für E-Selektin

Christian Filser, Danuta Kowalczyk, Claire Jones, Martin K. Wild, Ute Ipe, Dietmar Vestweber und Horst Kunz\*

Professor Klaus Müllen zum 60. Geburtstag gewidmet

Bei der Rekrutierung und Lenkung von Leukozyten in entzündetes Gewebe spielen die Kohlenhydrate erkennenden Rezeptoren P- und E-Selektin entscheidende Rollen am Beginn einer Zelladhäsionskaskade.<sup>[1]</sup> Die Inhibierung von E-Selektin wäre bei der Therapie von akuten oder chronischen Entzündungen<sup>[2,3]</sup> oder bei der Blockierung metastasierender Tumorzellen<sup>[4]</sup> von großem Vorteil. Als Ligand von P- und E-Selektin wurde das Tetrasaccharid Sialyl-Lewis<sup>x</sup> (**1**) erkannt,<sup>[1]</sup>



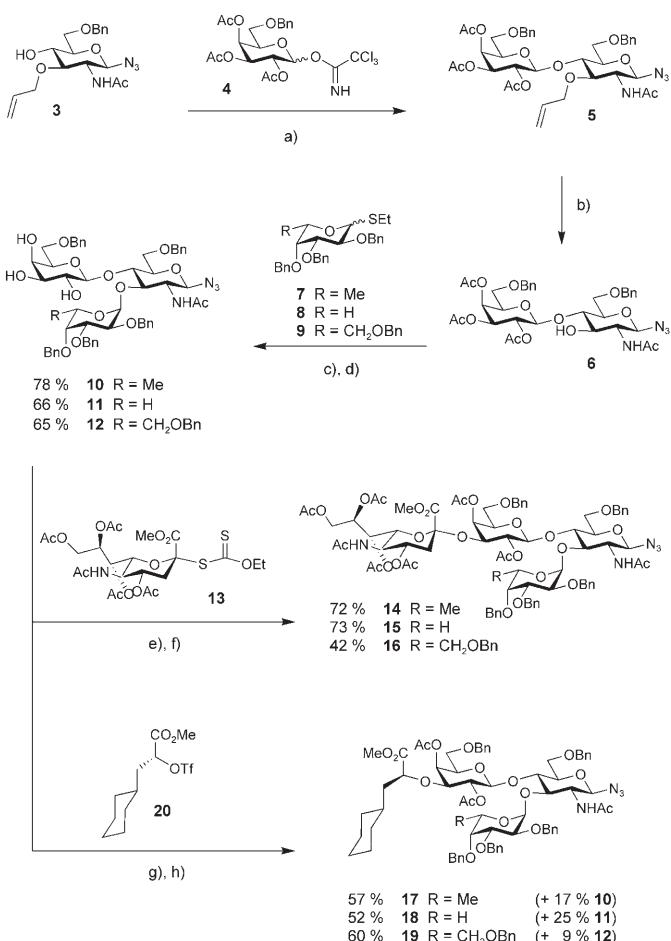
das daher als Leitstruktur für die Entwicklung von Selektin-Inhibitoren dient.<sup>[1e-h]</sup> Durch Bindungsstudien mit Varianten von **1**<sup>[5-7]</sup> Transfer-NOE-NMR-Experimente<sup>[8]</sup> und Röntgenstrukturanalyse<sup>[9]</sup> wurde gezeigt, dass die Hydroxygruppen der Fucose,<sup>[5]</sup> die 4- und 6-Hydroxygruppen<sup>[6]</sup> der Galactose und die Carboxyfunktion der Neuraminsäure<sup>[7,9]</sup> für die effektive Bindung an E-Selektin unerlässlich sind. Das Glucosamin dient zur optimalen Orientierung von Fucose und Galactose.<sup>[10]</sup>

Anhand synthetischer Glycopeptide mit Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Einheit wurde nachgewiesen, dass die Affinität und Selektivität der Bindung an P- und E-Selektin auch vom Peptidteil beeinflusst wird.<sup>[11]</sup> Der natürliche Ligand E-Selektin-Ligand 1 (ESL-1)<sup>[12]</sup> präsentiert **1** an mehreren Positionen. Die Aminosäuresequenz 672–681 **2** von ESL-1, in der eine der fünf potenziellen N-Glycosylierungsstellen liegt,<sup>[13]</sup> ist in E-Selektin-Liganden verschiedener Spezies (MG160/Ratte/Mensch; CFR/Huhn) hochkonserviert.<sup>[14]</sup> Ein Glycopeptid mit dieser Sequenz hatte eine höhere Affinität zu E-Selektin gezeigt,<sup>[11c]</sup> weshalb diese Aminosäuresequenz als günstige

Ankerstruktur für systematisch variierte Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Inhibitoren gelten kann.

## G<sup>672</sup>N\*LTELESED<sup>681</sup> **2**

Varianten des Saccharids, insbesondere in den für Fucosidasen und Sialidasen anfälligen Fucosid- und N-Acetylneuraminsäure-Teilen, wären für die Verwendung als ent-



**Schema 1.** a) Trimethylsilyltrifluoromethansulfonat,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , Molekularsieb (4 Å),  $-50^\circ\text{C} \rightarrow 20^\circ\text{C}$ , 70%; b) 1.  $[\text{Ir}^{\text{d}}(\text{cod})(\text{PMePh}_3)_2]\text{PF}_6$ , THF,  $\text{H}_2$ ; 2. 4-Toluensulfinsäure, MeOH, 85%; c)  $\text{CuBr}_2$ ,  $n\text{Bu}_4\text{NBr}$ , Molekularsieb (4 Å),  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{DMF}$  (1:1); d)  $\text{NaOMe}$ , MeOH; e)  $\text{MeSBr}$ ,  $\text{AgOTf}$ , Molekularsieb (4 Å),  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{CN}$  (1:2),  $-50^\circ\text{C} \rightarrow -30^\circ\text{C}$ ; f)  $\text{Ac}_2\text{O}$ , DMAP, Pyridin; g)  $\text{Bu}_2\text{SnO}$ , MeOH, Siedehitze; h)  $\text{Ac}_2\text{O}$ , DMAP, Pyridin.

[\*] Dr. C. Filser, D. Kowalczyk, Prof. Dr. H. Kunz

Institut für Organische Chemie  
Johannes Gutenberg-Universität Mainz  
Duesbergweg 10–14, 55128 Mainz (Deutschland)

Fax: (+49) 6131-3924786  
E-Mail: hokunz@uni-mainz.de

Dr. C. Jones, Priv.-Doz. Dr. M. K. Wild, U. Ipe, Prof. Dr. D. Vestweber  
Max-Planck-Institut für Molekulare Biomedizin  
Röntgenstraße 20, 48149 Münster (Deutschland)

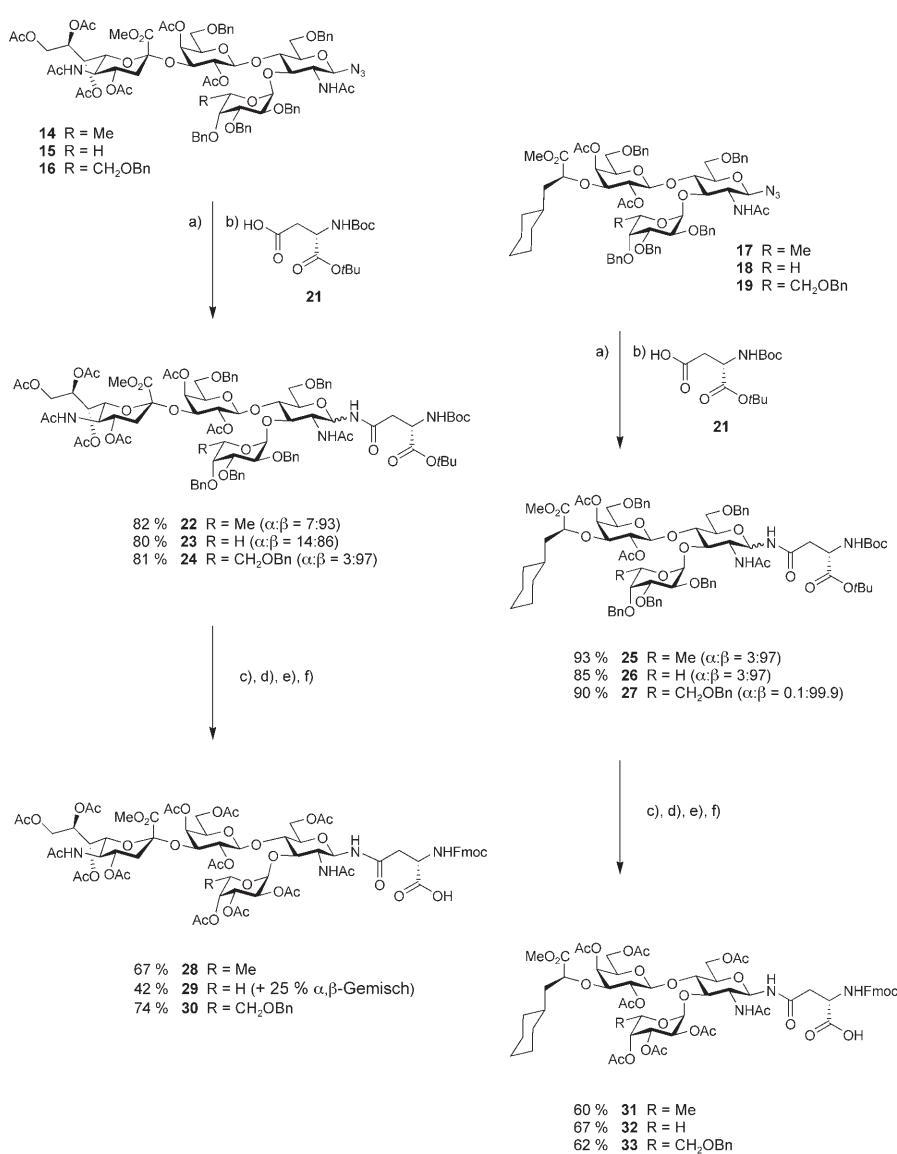
zündungshemmende Mittel von Wert. Die biologische Halbwertszeit der Liganden sollte sich durch Ersatz der L-Fucose durch im Warmblüter nicht vorkommende D-Arabinopyranose<sup>[5a,11c]</sup> oder L-Galactose<sup>[15]</sup> erhöhen lassen. Gleiches träfe auf den Austausch der Sialinsäure gegen die von der Gruppe von Ernst eingeführte (*S*)-Cyclohexylmilchsäure<sup>[16]</sup> zu. Bei der Synthese eines solchen Satzes von Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Glycopeptid-Selektin-Liganden sollten zugleich Probleme gelöst werden, die vor allem in der hohen Säureempfindlichkeit der fucosidischen Bindung begründet liegen. Wegen dieser Labilität konnte bei bisherigen Festphasensynthesen solcher Glycopeptide nicht auf die üblichen säurelabilen Anker und Seitenketten-Schutzgruppen zurückgegriffen werden.<sup>[11c,17]</sup> Benzylschutzgruppen bereiten aber Schwierigkeiten bei der schlussendlichen Entfernung und wegen gravierender Nebenreaktionen (z.B. Aspartimid-Bildung). Wir beschreiben hier Lösungen für diese Probleme und wie man Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Asparagin-Bausteine gewinnt, die in Festphasensynthesen nach Fmoc-Strategie an säurelabilen Ankern eingesetzt werden können.

Bei der Synthese der Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Glycopeptide und Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Glycopeptid-Mimetika wurde der Glucosamin-Baustein **3** mit der Azidogruppe als anomerer Schutzgruppe verwendet.<sup>[11]</sup> Er wurde nicht zuerst mit Fucose, sondern mithilfe des Trichloracetimidats **4**<sup>[18,19]</sup> zunächst mit dem β-Galactosyl-Rest verknüpft (Schema 1). Man erhält so das Lactosamin-Rückgrat **5** für alle geplanten Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Varianten und vermeidet die sterische Hinderung an der 4-Position des Acceptors sowie dessen aus der α-Fucosid-Bindung resultierende Säurelabilität.<sup>[11]</sup>

In einem einheitlichen Vorgehen wurden nach Abspaltung des Allyletherteils von **5**<sup>[20]</sup> entweder der L-Fucose- **7**,<sup>[21]</sup> der D-Arabinose- **8**<sup>[11c]</sup> oder der L-Galactose-Baustein **9** unter In-situ-Anomerisierungsbedingungen<sup>[22,23]</sup> in **6** eingeführt. Nach dem Entfernen der *O*-Acetylgruppen wurden die drei Trisaccharide **10–12** mit dem Sialinsäure-Xanthogenat **13**<sup>[24]</sup> umgesetzt und nach Acetylierung der noch freien OH-Gruppen die im Fucose-Teil variierten Tetrasaccharide **14–16** erhalten. Dabei wurde das Xanthogenat **13** mit Methylsulfonyltriflat<sup>[25]</sup> unter Nutzung des Nitrileffekts<sup>[26]</sup> aktiviert, was die regio- und stereoselektive Sialylierung ermöglichte. Die Tetrasaccharid-Mimetika **17–19** wurden in

zwei Schritten aus den Lewis<sup>x</sup>-Aziden **10–12** und *O*-Tri-fluorsulfonylcyclohexylmilchsäureester **20**<sup>[1g,28]</sup> gewonnen: Stannylen-Methode<sup>[27]</sup> und Acetylierung.

Die Reduktion der Glycosylazide **14–19** zu den Glycosylaminen gelang durch Hydrierung über neutral gewaschenem Raney-Nickel.<sup>[29]</sup> Sofortige Kupplung der Glycosylamine mit *N*-*tert*-Butyloxycarbonyl(Boc)<sup>[30]</sup>-asparaginsäure-*tert*-butylester (**21**)<sup>[31]</sup> ergab die geschützten Glycosylaminosäuren **22–27**<sup>[32]</sup> (Schema 2). Analytische Proben der reinen β-Anomere wurden durch HPLC isoliert. Nur bei **24** konnten die Anomere flashchromatographisch getrennt werden. Auf eine Trennung durch präparative Umkehrphasen-HPLC wurde verzichtet, weil zur Stabilisierung der Verbindungen gegen Säuren ohnehin ein Schutzgruppenaustausch vorgenommen wurde. Dazu wurden die Benzylether über Palladium auf



**Schema 2.** a) Raney-Nickel, pH 7.0, Isopropylalkohol/H<sub>2</sub>O (9:1), H<sub>2</sub>; b) TBTU, HOEt, DMF, iPr<sub>2</sub>NEt, pH 6.5–7.5; c) Pd/C (10%), H<sub>2</sub>, MeOH/AcOH (95:5); d) Ac<sub>2</sub>O, DMAP, Pyridin; e) TFA/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:2), Triethylsilan; f) FmocOSu, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, iPr<sub>2</sub>NEt, pH 9.0–9.5. TBTU: Benzotriazol-1-yl-tetra-methyluronium-tetrafluoroborat, HOEt: 1-Hydroxybenzotriazol, TFA: Trifluoressigsäure, FmocOSu: N-(Fluoren-9-ylmethoxycarbonyloxy)succinimid.

Kohle hydrogenolierte und die freien Hydroxygruppen zur Stabilisierung der glycosidischen Bindungen acetyliert.<sup>[29]</sup> Danach wurden die Boc- und die *tert*-Butylschutzgruppen mit Trifluoressigsäure abgespalten, ohne dass eine der glycosidischen Bindungen angegriffen wurde. Selektive *N*-Acylierung mit FmocOSu<sup>[33]</sup> ergab das Fmoc-(Sialyl-Lewis<sup>x</sup>)-Asparagin-Derivat **28** und seine Varianten **29–33**. Die Bausteine **28** und **31–33** konnten durch präparative Umkehrphasen-HPLC und die Verbindungen **29** und **30** durch Flashchromatographie als reine  $\beta$ -Anomere isoliert<sup>[34]</sup> und in Festphasensynthesen eingesetzt werden.

Die automatisierten Synthesen wurden nach der Fmoc-Strategie an mit Asparaginsäure vorbeladenem TentaGel-Harz<sup>[35]</sup> durchgeführt (Schema 3). Die Fmoc-Aminosäuren wurden mit HBTU<sup>[36]</sup> und HOAt<sup>[37]</sup> und die Glycosylaminosäuren **28–33** mit HATU<sup>[38]</sup> und HOAt aktiviert.<sup>[39]</sup> Die Glycopeptide wurden unter Zusatz von TIS in Trifluoressigsäure/Dichlormethan vom Harz abgespalten, wobei auch alle *tert*-Butylschutzgruppen der Seitenkettenfunktionen entfernt wurden. Die *O*-Acetylgruppen der Saccharidseitenketten

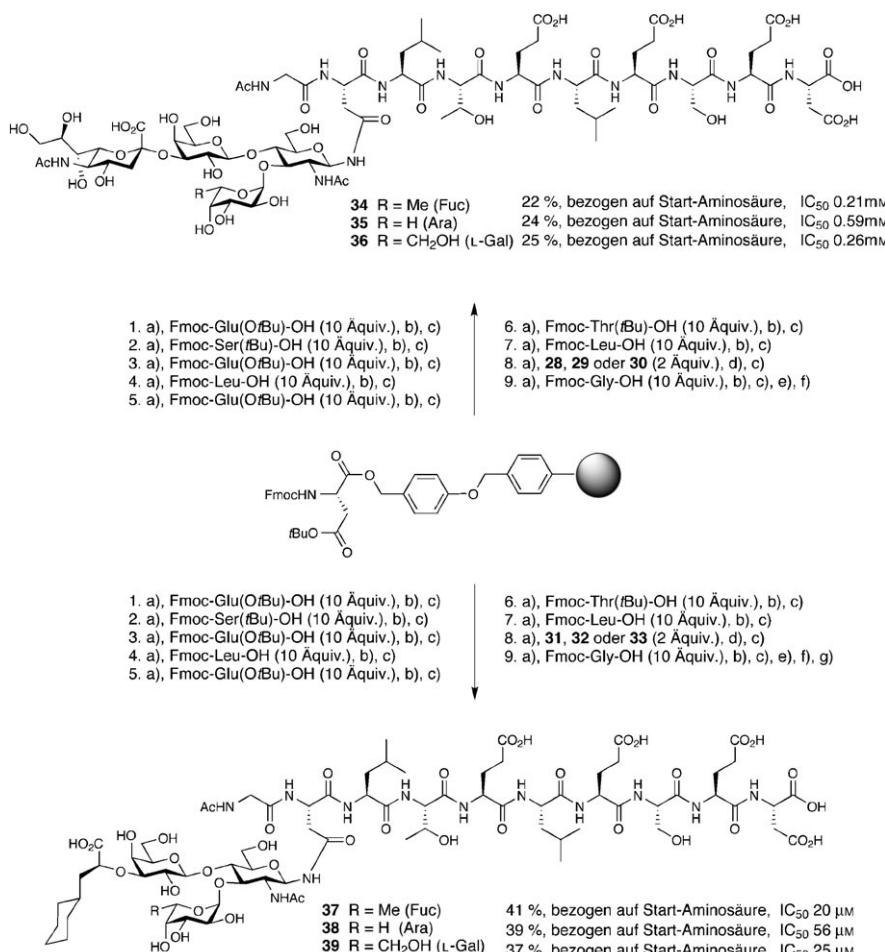
ließen sich unter Zemplén-Bedingungen<sup>[40]</sup> entfernen. Die Methylester der Sialin- oder der Cyclohexylmilchsäure wurden mit wässriger NaOH verseift; danach wurde mit Essigsäure neutralisiert. Die Zielverbindungen **34–39** fielen nach präparativer Umkehrphasen-HPLC in Gesamtausbeuten von 22–41 % bezogen auf die Menge der am Harz gebundenen Start-Aminosäure an. Die Strukturen der Glycopeptide wurden durch hochauflösende Massenspektrometrie und ein- und zweidimensionale NMR-Spektroskopie belegt.<sup>[41]</sup>

Die inhibitorischen Eigenschaften der Glycopeptide bezüglich E-Selektin wurden in Durchflusszytometrie-Experimenten als IC<sub>50</sub>-Werte der Inhibierung der Bindung eines E-Selektin-IgG-Konstrukts<sup>[42]</sup> an die neutrophile Maus-Zell-Linie 32Dc13 ermittelt.<sup>[43]</sup> Die IC<sub>50</sub>-Werte sind in Schema 3 aufgeführt. Der Wert des Sialyl-Lewis<sup>x</sup> enthaltenden Glycopeptids **34** war mit 0.21 mm 13-mal niedriger als der von Sialyl-Lewis<sup>x</sup> (**1**) als Standard. Der Ersatz der enzymatisch anfälligen Fucose durch im Säugetierorganismus stabilere L-Galactose (**36**) beeinflusst die Affinität kaum negativ (IC<sub>50</sub> = 0.26 mM). Wird die L-Fucose durch D-Arabinose ersetzt (**35**), so sinkt die Inhibitorwirkung um einen Faktor 2 (IC<sub>50</sub> = 0.59 mM). Durch Austausch der Sialinsäure gegen (*S*)-Cyclohexylmilchsäure (vgl. **34–36** mit **37–39**) wurden die IC<sub>50</sub>-Werte um einen Faktor 10 erniedrigt (**37**: IC<sub>50</sub> = 20  $\mu$ M; **38**: IC<sub>50</sub> = 56  $\mu$ M; **39**: IC<sub>50</sub> = 25  $\mu$ M). Das Glycopeptid **39** inhibiert also die Adhäsion der E-Selektin-Liganden exprimierenden neutrophilen Maus-Zell-Linie 32Dc13<sup>[42]</sup> an E-Selektin mehr als einhundertmal stärker als Sialyl-Lewis<sup>x</sup> (**1**), obwohl es statt der als essenziell geltenden Fucose<sup>[5,8,9]</sup> den metabolisch stabileren L-Galactose-Rest enthält.

Diese Eigenschaften sind für die Entwicklung praktisch anwendbarer Inhibitoren entzündlicher Prozesse und metastasierender Tumorzellen von Interesse. Zugleich wurden für die Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Aminosäuren ökonomischere Synthesen über das gemeinsame Lactosamin-Rückgrat und durch Austausch der Benzyl- gegen Acetylenschutzgruppen genügend säurestabile Bausteine entwickelt, die in Festphasensynthesen nach Fmoc-Strategie allgemein eingesetzt werden können.

Eingegangen am 30. Oktober 2006  
Online veröffentlicht am 13. Februar 2007

**Stichwörter:** E-Selektin-Inhibitoren · Festphasensynthesen · Glycopeptide · Schutzgruppen · Sialyl-Lewis<sup>x</sup>



**Schema 3.** a) Piperidin/NMP (1:4); b) HBTU, HOAt, DMF, iPr<sub>2</sub>NEt; c) Ac<sub>2</sub>O, iPr<sub>2</sub>NEt, kat. HOAt, NMP; d) HATU, HOAt, NMM, NMP; e) TFA/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1), TIS (2.5 %), H<sub>2</sub>O (2.5 %); f) NaOMe, MeOH, pH 8.5–9.5; g) 1. NaOH<sub>aq</sub>, pH 9.5–10.5; 2. AcOH<sub>aq</sub>; HBTU: O-(Benzotriazolyl)-N,N,N',N'-tetramethyluronium-hexafluorophosphat, HATU: O-(7-Azabenzotriazolyl)-N,N,N',N'-tetramethyluronium-hexafluorophosphat, HOAt: 7-Aza-1-hydroxybenzotriazol, TIS: Triisopropylsilan, NMP = N-Methylpyrrolidin-2-on, NMM = N-Methylmorpholin.

- [1] a) W. M. Gallatin, I. L. Weissman, E. C. Butcher, *Nature* **1983**, 304, 30–34; b) M. P. Bevilacqua, J. S. Pober, D. L. Mendrick, R. S. Cotran, M. A. Gimbrone, Jr., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1987**, 84, 9238–9242; c) S.-C. Hsu-Lin, C. L. Berman, B. C. Furie, D. August, B. Furie, *J. Biol. Chem.* **1984**, 259, 9121–9126; d) L. Phillips, E. Nudelman, F. C. A. Gaeta, M. Perez, A. K. Shinghal, S.-I. Hakomori, J. C. Paulson, *Science* **1990**, 250, 1130–1132; e) E. E. Simanek, G. J. McGarvey, J. A. Jablonowski, C.-H. Wong, *Chem. Rev.* **1998**, 98, 833–862; f) F. M. Unger, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **2001**, 57, 207–435; g) B. Ernst, Z. Dragic, S. Marti, C. Müller, B. Wagner, W. Jahnke, J. L. Magnani, K. E. Norman, R. Oehrlein, T. Peters, H. C. Kolb, *Chimica* **2001**, 55, 266–274; h) C. Ehrhardt, C. Kneuer, U. Bakowsky, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2004**, 56, 527–549.
- [2] T. Ochi, S. Hakomori, M. Fujimoto, M. Okamura, H. Owaki, S. Wakitani, Y. Shimaoka, K. Hayashida, T. Tomita, S. Kawamura, K. Ono, *J. Rheumatol.* **1993**, 20, 2038–2045.
- [3] W. Sluiter, A. Pietersma, J. M. J. Lamers, J. F. Koster, *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **1993**, 22, S37–S44.
- [4] a) T. Nakashio, T. Narita, M. Sato, S. Akiyama, Y. Kasai, M. Fujiwara, K. Ito, H. Takagi, R. Kannagi, *Anticancer Res.* **1997**, 17, 293–299; b) L. Borsig, *News Physiol. Sci.* **2004**, 19, 16–21.
- [5] a) J. Y. Rampal, Z.-L. Zheng, C. Perez, L. E. Walker, S. A. DeFrees, F. C. A. Gaeta, *J. Med. Chem.* **1994**, 37, 3459–3463; b) B. K. Bradley, M. Kiso, S. Abbas, P. Nikrad, O. Srivastava, C. Foxall, Y. Oda, A. Hasegawa, *Glycobiology* **1993**, 3, 633–641.
- [6] a) W. Stahl, U. Sprengard, G. Kretzschmar, H. Kunz, *Angew. Chem.* **1994**, 106, 2186–2188; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, 33, 2096–2098; b) R. Bänteli, B. Ernst, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, 11, 459–462; c) M. Kinnbauer, B. Ernst, W. Wagner, J. Magnani, A. J. Benie, T. Peters, *Glycobiology* **2003**, 13, 435–443.
- [7] D. Tyrell, P. James, N. Rao, C. Foxall, S. Abbas, F. Dasgupta, M. Nashed, A. Hasegawa, M. Kiso, D. Asa, J. Kidd, B. K. Bradley, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, 88, 10372–10376.
- [8] K. Schaffler, B. Ernst, A. Katapodis, J. L. Magnani, W. T. Wong, R. Weisemann, T. Peters, *Angew. Chem.* **1995**, 107, 2034–2037; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, 34, 1841–1844.
- [9] W. S. Somers, J. Tang, G. D. Shaw, R. T. Camphausen, *Cell* **2000**, 103, 467–479.
- [10] M. J. Bamford, M. Bird, P. M. Gore, D. S. Holmes, R. Priest, J. C. Prodger, V. Saez, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, 6, 239–244.
- [11] a) U. Sprengard, G. Kretzschmar, E. Bartnik, C. Hüls, H. Kunz, *Angew. Chem.* **1995**, 107, 1104–1107; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, 34, 990–993; b) U. Sprengard, M. Schudok, W. Schmidt, G. Kretzschmar, H. Kunz, *Angew. Chem.* **1996**, 108, 359–362; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, 35, 321–324; c) M. Rösch, H. Herzner, W. Dippold, M. Wild, D. Vestweber, H. Kunz, *Angew. Chem.* **2001**, 113, 3954–3957; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40, 3836–3839.
- [12] A. Levinovitz, J. Mühlhoff, S. Isenmann, D. Vestweber, *J. Cell Biol.* **1993**, 121, 449–459.
- [13] M. Steegmaier, A. Levinovitz, S. Isenmann, E. Borges, M. Lenter, H. P. Kocher, B. Kleuser, D. Vestweber, *Nature* **1995**, 373, 615–620.
- [14] a) Z. Mourelatos, J. O. Gonatas, E. Cinato, N. K. Gonatas, *DNA Cell Biol.* **1996**, 15, 1121–1128; b) CFR: Cystein-reicher FGF-Rezeptor (FGF: Fibroblast Growth Factor).
- [15] a) M. W. Cappi, W. J. Moree, L. Qiao, T. G. Marron, G. Weitz-Schmidt, C.-H. Wong, *Bioorg. Med. Chem.* **1997**, 5, 283–296; b) G. Baisch, R. Öhrlein, A. Katopodis, M. Streiff, F. Kolbinger, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, 7, 2447–2450.
- [16] a) H. C. Kolb, B. Ernst, *Chem. Eur. J.* **1997**, 3, 1571–1578; b) G. Thoma, W. Kinzy, C. Bruns, J. T. Patton, J. L. Magnani, R. Bänteli, *J. Med. Chem.* **1999**, 42, 4909–4913.
- [17] K. Peilstöcker, H. Kunz, *Synlett* **2000**, 823–825.
- [18] R. R. Schmidt, J. Michel, *Angew. Chem.* **1980**, 92, 763–764; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1980**, 19, 731–732.
- [19] E. Eichler, H. J. Jennings, M. Gilbert, D. M. Whitfield, *Carbohydr. Res.* **1999**, 319, 1–16.
- [20] a) D. Baudry, M. Ephritikhine, H. Felkin, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1978**, 694–695; b) J. J. Oltvoort, C. A. A. van Boekel, J. H. de Koning, J. H. van Boom, *Synthesis* **1981**, 305–308.
- [21] H. Lönn, *Carbohydr. Res.* **1985**, 139, 105–113.
- [22] R. U. Lemieux, K. B. Hendricks, R. V. Stick, K. James, *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, 97, 4056–4062.
- [23] S. Sato, M. Mori, Y. Ito, T. Ogawa, *Carbohydr. Res.* **1986**, 155, c6–c10.
- [24] a) A. Marra, P. Sinaÿ, *Carbohydr. Res.* **1989**, 187, 35–42; b) B. Liebe, H. Kunz, *Angew. Chem.* **1997**, 109, 629–631; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, 36, 618–621.
- [25] F. Dasgupta, P. J. Garegg, *Carbohydr. Res.* **1988**, 177, c13–c17.
- [26] a) A. J. Ratcliffe, B. Fraser-Reid, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1990**, 747–750; b) R. R. Schmidt, M. Behrendt, A. Toepfer, *Synlett* **1990**, 694–696; c) A. Hasegawa, T. Nagahama, H. Ohki, K. Hotta, H. Ishida, M. Kiso, *J. Carbohydr. Chem.* **1991**, 10, 493–498; d) I. Braccini, C. Derouet, J. Esnault, C. Hervé du Penhoat, J.-M. Mallet, V. Michon, P. Sinaÿ, *Carbohydr. Res.* **1993**, 246, 13–22.
- [27] S. David, S. Hanessian, *Tetrahedron* **1985**, 41, 643–663.
- [28] R. V. Hoffman, J. Tao, *Tetrahedron* **1997**, 53, 7119–7126.
- [29] H. Kunz, C. Unverzagt, *Angew. Chem.* **1988**, 100, 1763–1765; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, 27, 1697–1699.
- [30] L. A. Carpino, *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, 79, 98–101.
- [31] J. Tomasz, *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.* **1971**, 70, 255–261.
- [32]  $[\alpha]_D^{23}$ -Werte [ $\text{deg cm}^3 \text{g}^{-1} \text{dm}^{-1}$ ] ( $c = 1.0 \text{ g cm}^{-3}$  in  $\text{CHCl}_3$ ) der reinen  $\beta$ -Anomere: **22**: -44; **23**: -57; **24**: -38; **25**: -56; **26**: -64; **27**: -44.
- [33] L. A. Carpino, G. Y. Han, *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, 92, 5748–5749.
- [34]  $[\alpha]_D^{23}$  [ $\text{deg cm}^3 \text{g}^{-1} \text{dm}^{-1}$ ] ( $c = 1.0 \text{ g cm}^{-3}$  in  $\text{CHCl}_3$ ): **28**: -27; **29**: -35; **30**: -32; **31**: -32 (in MeOH); **32**: -43; **33**: -32; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H-COSY): **28**:  $\delta = 5.31$  (d, 1H,  $J_{3,4} = 2.7 \text{ Hz}$ , Fuc-4), 4.98 (m, 1H, GlcNAc-1), 4.95 (d, 1H,  $J_{3,4} = 2.7 \text{ Hz}$ , Gal-4), 2.55 ppm (dd, 1H,  $J_{\text{aq},\text{ax}} = 12.3$ ,  $J_{3,4} = 3.7 \text{ Hz}$ , Sial-3äq); **29**:  $\delta = 5.53$  (d, 1H,  $J_{1,2} = 2.7 \text{ Hz}$ , Ara-1), 5.00 (t, 1H,  $J_{1,2} \approx J_{1,\text{NH}} = 9.2 \text{ Hz}$ , GlcNAc-1), 4.70 (d, 1H,  $J_{1,2} = 7.8 \text{ Hz}$ , Gal-1), 2.55 ppm (dd, 1H,  $J_{\text{aq},\text{ax}} = 12.1$ ,  $J_{3,4} = 3.9 \text{ Hz}$ , Sial-3äq); **30**:  $\delta = 5.67$ –5.63 (m, 2H, L-Gal-4, L-Gal-1), 5.17 (m, 1H, GlcNAc-1); 4.95 (d, 1H,  $J_{3,4} = 3.5 \text{ Hz}$ , Gal-4), 2.47 ppm (dd, 1H,  $J_{\text{aq},\text{ax}} = 12.1$ ,  $J_{3,4} = 3.9 \text{ Hz}$ , Sial-3äq); **31**:  $\delta = 55.58$  (m, 2H, Fuc-1, Gal-4), 4.93 (m, 1H, GlcNAc-1), 4.05 ppm (dd, 1H,  $J_{\text{vic}} = 5.1$ ,  $J_{\text{vic}} = 7.4 \text{ Hz}$ , CH-COO(Me); **32**:  $\delta = 55.56$  (m<sub>klein</sub>, 2H, Ara-1, Gal-4), 4.98 (m, 1H, GlcNAc-1), 4.93 (dd, 1H,  $J_{1,2} = 3.1$ ,  $J_{2,3} = 11.0 \text{ Hz}$ , Ara-2), 4.05 ppm (dd, 1H,  $J_{\text{vic}} = 5.5$ ,  $J_{\text{vic}} = 7.0 \text{ Hz}$ , CH-COO(Me); **33**:  $\delta = 5.65$  (db, 1H,  $J_{3,4} = 2.7 \text{ Hz}$ , L-Gal-4), 5.56 (db, 1H,  $J_{1,2} = 3.1 \text{ Hz}$ , L-Gal-1), 5.07 (m, 1H, GlcNAc-1), 4.25 (d, 1H,  $J_{1,2} = 8.2 \text{ Hz}$ , Gal-1), 1.48 ppm (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{CHCOOMe}$ ); HR-ESI-MS:  $m/z [M+\text{Na}]^+$  (ber.): **28**: 1655.5310 (1655.5287); **29**: 1641.5093 (1641.5131); **30**: 1713.5386 (1713.5342); **31**: 1350.4924 (1350.4904); **32**: 1336.4713 (1336.4748); **33**: 1408.4906 (1408.4959).
- [35] E. Bayer, W. Rapp, *Chem. Pept. Proteins* **1986**, 3, 3–8.
- [36] a) R. Knorr, A. Trzeziak, W. Baumwarth, D. Gillesen, *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 1927–1930; b) V. Dourtoglou, J.-C. Ziegler, B. Gross, *Tetrahedron Lett.* **1978**, 19, 1269–1272.
- [37] W. König, R. Geiger, *Chem. Ber.* **1970**, 103, 788–798.
- [38] L. A. Carpino, A. El-Faham, C. Minor, F. Albericio, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1994**, 201–203.
- [39] L. A. Carpino, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 4397–4398.
- [40] G. Zemplén, A. Kunz, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1923**, 56, 1705–1710.

- [41] Angaben für die Glycopeptide **34–39**: Menge,  $[\alpha]_D^{23}$  [ $\text{deg cm}^3 \text{g}^{-1} \text{dm}^{-1}$ ] ( $c = 0.5 \text{ g cm}^{-3}$  in  $\text{H}_2\text{O}$ ), HR-ESI-MS (mit 0.1-proz. TFA)  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  (ber.): **34**: 42 mg, –54, 1972.7614 (1972.7634); **35**: 46 mg, –47, 1958.7511 (1958.7477); **36**: 49 mg, –45, 1988.7568 (1988.7583); **37**: 75 mg, –60, 1835.7638 (1835.7673); **38**: 70 mg, –29, 1799.7725 (1799.7698,  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ); **39**: 67 mg, –28 (in MeOH), 1829.7859 (1829.7803,  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ). Die 600-MHz- $^1\text{H}$ -NMR- und 150.9-MHz- $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren belegen die angegebenen Strukturen.
- [42] M. Hahne, U. Jäger, S. Isenmann, R. Hallmann, D. Vestweber, *J. Cell Biol.* **1993**, *121*, 655–664.
- [43] Das E-Selektin-IgG-Konstrukt<sup>[42]</sup> ( $25 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) wurde im Kulturmedium (pH 7.4, 4°C) 1 h mit den Glycopeptiden (Verdünnungsreihe 0–6 mM) inkubiert. Diese Lösung wurde zur Maus-Zell-Linie 32Dcl3 gegeben. Nach 1 h bei 4°C wurden die Zellen zur Bestimmung des gebundenen E-Selektin-IgG mit einem Phycoerythrin-anti-IgG-Antikörper inkubiert (30 min, 4°C), und ihre Menge wurde im Durchflusszytometer anhand der Phycoerythrin-Fluoreszenz bestimmt.