

## Hocheffiziente Synthese von multiantennären „bisected“ N-Glycanen über Imidate

Manuel Mönnich, Steffen Eller, Theodoros Karagiannis, Lukas Perkams, Thomas Lubert, Dimitri Ott, Mathäus Niemietz, Joanna Hoffman, Janika Walcher, Lukas Berger, Matthias Pischl, Markus Weishaupt, Cathrin Wirkner, Rachel G. Lichtenstein und Carlo Unverzagt\*

Professor Horst Kunz zum 75. Geburtstag gewidmet

**Abstract:** Die Gegenwart von N-Glycanen mit einer bisecting GlcNAc-Modifikation auf Glycoproteinen hat viele Auswirkungen in der Entwicklungs- und Immunbiologie. Allerdings ist es schwierig diese N-Glycane aus der Natur oder durch Synthese zu erhalten. Für bisected N-Glycane des komplexen Typs haben wir eine flexible und allgemeine Synthesemethode entwickelt, die auf modularen TFAc-geschützten Donoren für alle Antennen basiert. Die TFAc-geschützten N-Glycane sind besonders geeignet für die späte Einführung eines bisecting GlcNAc-Rests. Damit können erstmals gleichzeitig multiantennäre N-Glycane und ihre bisected Derivate durch einen einzigen Syntheseweg erhalten werden. Dies gelingt sequentiell mit Imidatdonoren in beispiellosen Ausbeuten und sogar durch eine Eintopf-Doppelglycosylierung. Mit der neuen Methode können die seltenen bisected N-Glycane einfach erhalten werden und damit zur Aufklärung der biologischen Rollen von bisecting GlcNAc-Modifikationen bereitgestellt werden.

Für die biologische Aktivität von rekombinanten therapeutischen N-Glycoproteinen spielt der Oligosaccharidteil eine wichtige Rolle.<sup>[1]</sup> In einigen Fällen konnte für bestimmte N-Glycane von Glycoproteinen eine Funktion gefunden werden,<sup>[2]</sup> jedoch ist eine biologische Rolle bei den meisten N-Glycanen nur schwer aufzuklären. Da die Isolierung reiner N-Glycane nur in wenigen Fällen durchführbar ist,<sup>[3]</sup> wurden chemische Synthesen<sup>[4]</sup> etabliert, um definierte Strukturen für Hochdurchsatz-Glycomik<sup>[5]</sup> oder chemische Glycoproteinsynthese<sup>[6]</sup> bereitzustellen. Über eine chemo-enzymatische Route<sup>[7]</sup> können mithilfe von modularen Bausteinen<sup>[8]</sup> selbst die anspruchsvollsten N-Glycane des komplexen Typs synthetisiert werden.<sup>[9]</sup> Trotzdem bleibt die Synthese von N-Glycanen, die ein bisecting GlcNAc an der zentralen  $\beta$ -Mannose tragen, aufgrund der sterischen Hinderung eine

besondere Herausforderung.<sup>[9,10]</sup> Das Auftreten von bisecting GlcNAc führt zu einer signifikanten Konformationsänderung des N-Glycans,<sup>[11]</sup> was die Erkennung durch Lectine beeinflusst<sup>[12]</sup> und damit Auswirkungen auf Zellproliferation, Tumorstadium und Immunantwort hat.<sup>[13]</sup> Wir stellen hier den hocheffizienten Aufbau von bisected N-Glycanen auf einer späten Stufe vor, der auf der Verwendung von Trifluoracetamido(TFAc)-geschützten Bausteinen beruht.

Die ersten Studien<sup>[10a,b]</sup> zur Synthese von bisected N-Glycanen haben gezeigt, dass die N-Schutzgruppe am bisecting GlcNAc die folgenden Verknüpfungen der Antennen (1,3- und 1,6-Arm) an die zentralen  $\beta$ -Mannose stark beeinflusst. In den meisten Fällen wurde deshalb der bisecting GlcNAc-Rest vor den Antennen eingebracht, was jedoch zusätzliche Schutzgruppenschritte erfordert.<sup>[9,10]</sup> Nur in wenigen Fällen gelang die späte Einführung eines bisecting GlcNAc,<sup>[10c,e,i,m]</sup> was formal analog zur Biosynthese von bisected N-Glycanen durch GnT-III ist.<sup>[14]</sup> Die späte Einführung eines bisecting GlcNAc-Rests wird durch die geringe Reaktivität der tief im N-Glycan-Akzeptor eingebetteten 4-OH-Gruppe gehindert. Deshalb ist ein großer Überschuss an Donor für das bisecting GlcNAc notwendig, was zu Nebenreaktionen und geringen Ausbeuten aufgrund von schwierigen Reinigungen führen kann.<sup>[10j]</sup>

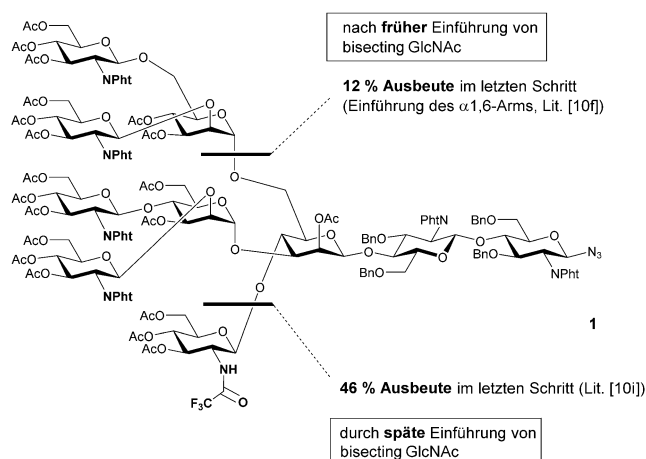
Eines der anspruchsvollsten Zielmoleküle, ein pentantennäres bisected N-Glycan mit einer zusätzlichen Core-Fucose,<sup>[9]</sup> konnte über die frühe Einführung eines TFAc-geschützten<sup>[15]</sup> Donors für bisecting GlcNAc und anschließende Verknüpfung des  $\alpha$ 1,6-Arms aufgebaut werden.<sup>[10f,g]</sup> Ein wichtiges Ergebnis dieser Synthesen war, dass die Reaktivität des Donors für die  $\alpha$ 1,6-Verknüpfung signifikant erhöht war, wenn TFAc-Gruppen anstelle von sperrigen Phtalimidogruppen verwendet wurden.<sup>[9]</sup> Dies spiegelt sich auch in den unbefriedigenden Resultaten der finalen Glycosylierungen zum phtalimidogeschützten bisected N-Glycan **1** wider. Nach der frühen Einführung eines bisecting GlcNAc-Rests wurde für die Verknüpfung des 1,6-Arms nur eine Ausbeute von 12 % erhalten,<sup>[10f]</sup> aber auch bei der späten Einführung wurde im letzten Schritt nur eine Ausbeute von 46 % erzielt (Schema 1).<sup>[10j]</sup> Wir vermuteten daher, dass der Austausch der NPht-Gruppen in den Antennen von **1** durch TFAc sowohl das Anbringen der Antennen als auch die späte Einführung des bisecting GlcNAc verbessern sollte.

Um den Einfluss eines einheitlichen N-TFAc Schutzgruppenmusters in den Antennen von N-Glycanen zu über-

[\*] M. Mönnich, Dr. S. Eller, T. Karagiannis, L. Perkams, T. Lubert, Dr. D. Ott, Dr. M. Niemietz, Dr. J. Hoffman, J. Walcher, L. Berger, Dr. M. Pischl, M. Weishaupt, C. Wirkner, Prof. C. Unverzagt  
Bioorganische Chemie, Gebäude NW1, Universität Bayreuth  
95440 Bayreuth (Deutschland)  
E-Mail: carlo.unverzagt@uni-bayreuth.de

Prof. R. G. Lichtenstein  
Department of Biotechnology Engineering  
Ben-Gurion University of the Negev  
Beer-Sheva 84105 (Israel)

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind unter:  
<http://dx.doi.org/10.1002/ange.201604190> zu finden.



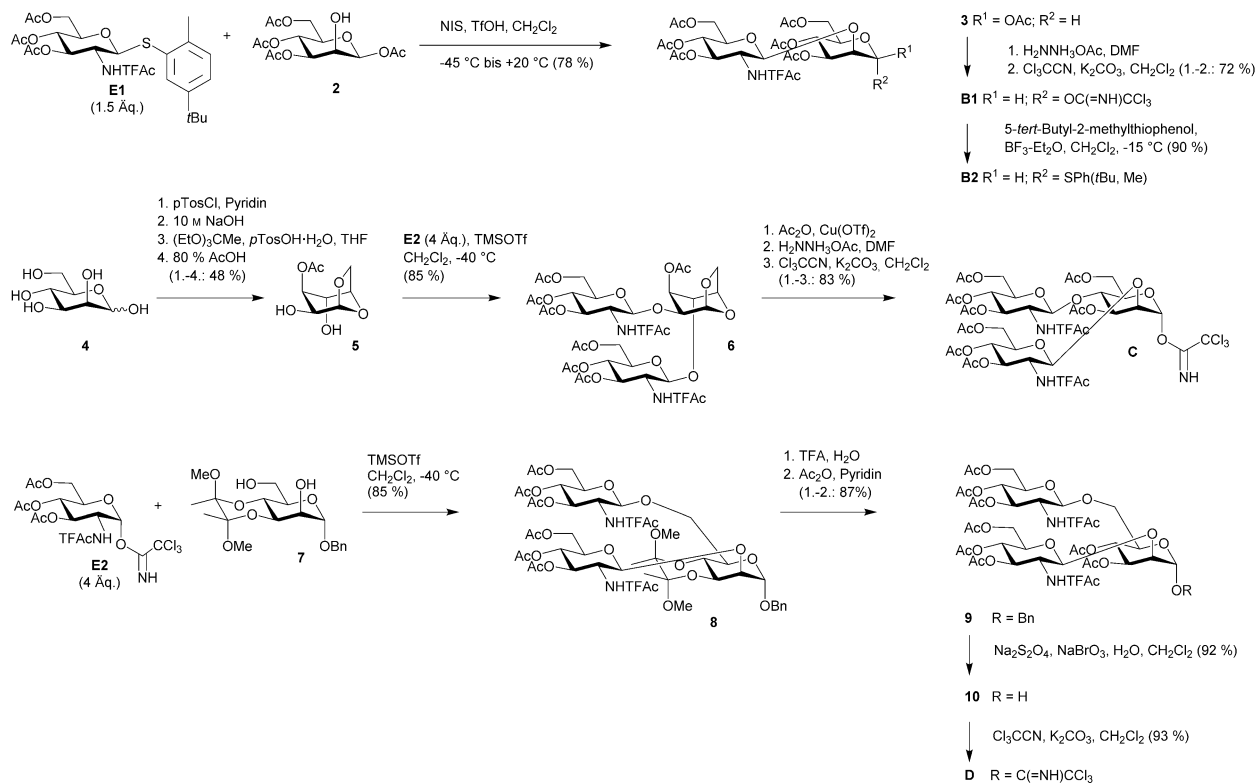
**Schema 1.** Vergleich der finalen Glycosylierungsausbeuten des tetra-antennären bisected N-Glycans **1** mit NPhT-Gruppen in allen Antennen. Bn = Benzyl, NPhT = Phthalimido, Ac = Acetyl.

prüfen, wurden die modifizierten modularen<sup>[8]</sup> Donoren **B**, **C** und **D** als Thioglycosid oder als Trichloracetimidat<sup>[16]</sup> synthetisiert (Schema 2). Disaccharid **3** wurde aus Tetraacetylmannose **2**<sup>[17]</sup> und Donor **E1**<sup>[10f]</sup> erhalten und anschließend zum Imidat (**B1**) und zum Thioglycosid (**B2**) umgewandelt.

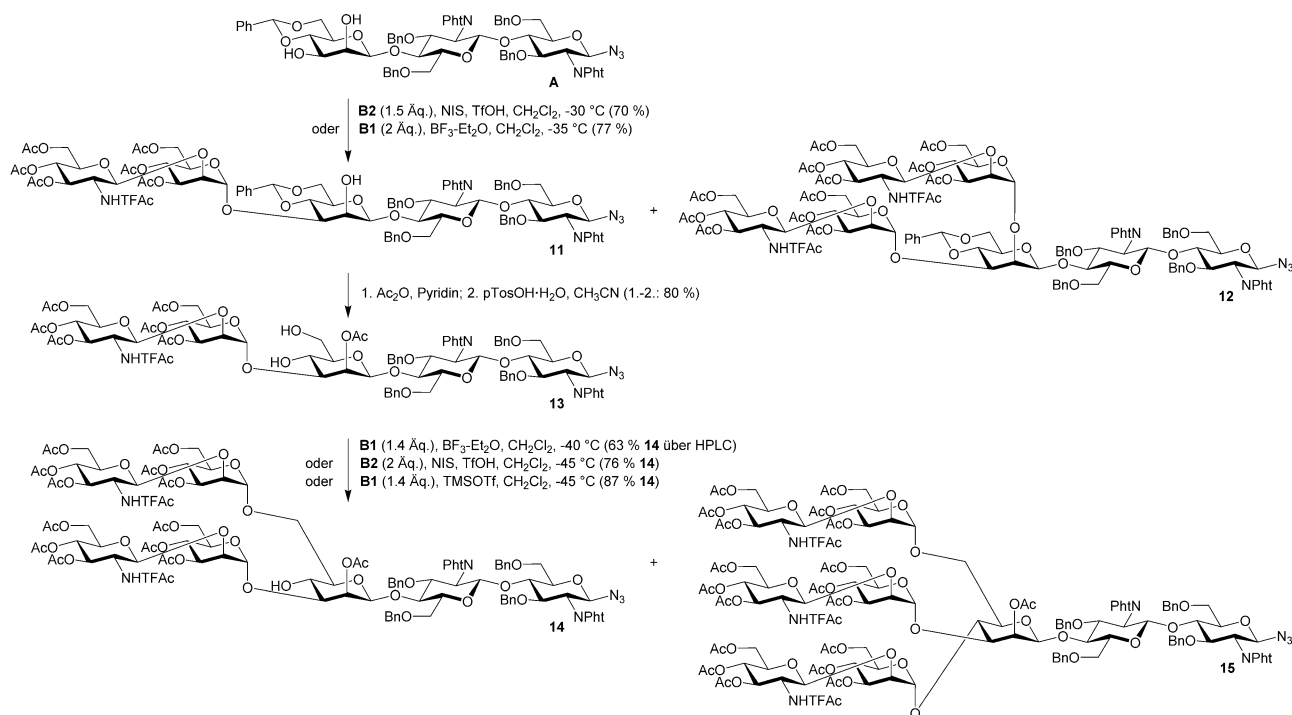
Bei der Synthese des 2,4-substituierten Trisaccharid-donors **C** konnten wir die Zinn-vermittelte Funktionalisierung von Benzylmannose<sup>[18]</sup> durch wesentlich effizientere Umsetzungen ersetzen, die auf der milden Cu(OTf)<sub>2</sub>-vermittelten Acetolyse von 1,6-Anhydrosacchariden basieren.<sup>[19]</sup>

Das 3-acetylierte 1,6-Anhydromannosediol **5** wurde in einer vierstufigen Eintopfsynthese aus Mannose **4** erhalten. Dabei wurde Mannose **4** zur 1,6-Anhydromannose cyclisiert und diese selektiv zum 2,3-*cis*-Orthoacetat umgesetzt. Die Hydrolyse des Orthoesters ergab das Acetat **5** als bevorzugtes axiales Umlagerungsprodukt. Die zweifache Glycosylierung des Diols **5** mit 4 Äquiv. Donor **E2** führte zu dem Trisaccharid **6** (85 % Ausbeute), das nach Acetolyse zum Imidat umgesetzt wurde (83 % Ausbeute von **C** über drei Schritte). Der 2,6-verzweigte Trisacchariddonor **D** wurde durch Doppelglycosylierung des 3,4-Diketalakzeptors **7**<sup>[21]</sup> mit dem Imidat **E2**, nachfolgendem Austausch des Diketals durch Acetate, oxidativer Debenzylierung<sup>[22]</sup> und Bildung des Imidats erhalten.

Nach dem Aufbau des modularen Satzes N-TFAc-geschützter Donoren wurde zuerst die Synthese von biantennären N-Glycanen durch doppelte regio- und stereoselektive Glycosylierung des Core-Trisaccharids **A**<sup>[23]</sup> untersucht (Schema 3). Die Reaktion des Thioglycosids **B2** mit **A** unter NIS/TfOH Aktivierung ergab das gewünschte α1,3-verknüpfte Pentasaccharid **11** (70 %) sowie Debenzylierung von **11** und das Doppelglycosylierungsprodukt **12** (12 %). Durch die Verwendung des Imidats **B1** und BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O konnte die Ausbeute an **11** auf 77 % (+ 15 % **12**) erhöht werden, während TMSOTf aufgrund von erhöhter Doppelglycosylierung eine geringere Ausbeute ergab. Das Pentasaccharid **11** wurde zu **13** derivatisiert und anschließend mit dem Disaccharidimidat **B1** (1.4 Äquiv.) in Anwesenheit von BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O umgesetzt. Die LC-MS-Analyse des Rohprodukts zeigte das gewünschte Heptasaccharid **14** (63 %), restlichen Akzeptor **13** (15 %) und eine erhebliche Menge an Doppelglycosylier-



**Schema 2.** Synthese der N-TFAc-geschützten Donoren **B**, **C**, **D**.



Schema 3. Regioselektivität der TFAc-geschützten Donoren **B1** und **B2**.

nung zum Nonasaccharid **15** (22 %).<sup>[24]</sup> Mit dem Thio-glycosiddonor **B2** konnte die Ausbeute an Heptasaccharid **14** auf 76 % erhöht werden, allerdings wurden auch 16 % des Nonasaccharids **15** gebildet. Das unerwünschte Nebenprodukt **15** konnte durch Verwendung von verdünntem TMSOTf zur Umsetzung des Diols **13** mit dem Imidat **B1** nahezu eliminiert werden (87 % **14**).

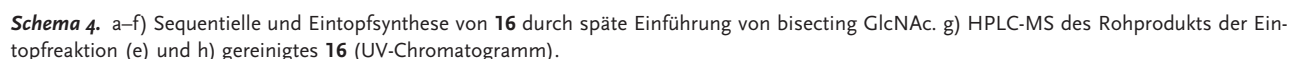
Bei allen Glycosylierungen der TFAc-geschützten Donoren **B1** und **B2** wurde vollständige  $\alpha$ -Selektivität erhalten. Andere Stereoisomere waren durch HPLC-MS und NMR-Spektroskopie nicht nachweisbar, was auch für die analogen Donoren mit NAc- oder NPhT-Gruppen gilt.<sup>[24]</sup> Im Unterschied zu den NPhT-geschützten Donoren sind die regioselektiven Glycosylierungen mit den unverzweigten TFAc-Donoren **B1** oder **B2** anfällig für Doppelglycosylierung, was einen signifikanten sterischen Beitrag der entfernten NPhT-Gruppe andeutet. Andererseits zeigen die N-Glycane **11** und **14** mit TFAc-Gruppen eine gute Zugänglichkeit der verbleibenden OH-2<sup>3</sup> und OH-4<sup>3</sup>-Funktion gegenüber überschüssigem Donor und sollten daher eine späte Einführung des bisecting GlcNAc erleichtern.

Diese Annahme wurde in der Reaktion des Heptasaccharids **14** mit 10 Äquiv. Donor **E1** und NIS/TfOH-Aktivierung getestet (Schema 4). Die Reaktion verlief problemlos und lieferte das gewünschte bisected Octasaccharid **16** in guter Ausbeute und Reinheit (76 %). In Kombination mit TMSOTf war Donor **E2** zu reaktiv und zeigte einen Umsatz (HPLC) zu **16** von nur 12 %. Das weniger reaktive *N*-Phenylimidat **E3**<sup>[25]</sup> (10 Äquiv. + 4 Äquiv. TfOH) setzte den Akzeptor **14** nahezu vollständig um und erhöhte die Ausbeute an isoliertem **16** auf 84 %. Noch höhere Ausbeuten (88 % **16**)

konnten mit dem reaktiven aber schwer handhabbaren Oxazolin **E4**<sup>[26]</sup> erzielt werden. Die hohen Ausbeuten an bisected N-Glycan **16** resultieren aus der nahezu vollständigen Umsetzung des TFAc-geschützten Akzeptors **14** und der einfachen Abtrennbarkeit des bisected Produkts **16** durch Flash-Chromatographie.

Da mit dem TFAc-geschützten Akzeptor **14** die späte Einführung eines bisecting GlcNAc-Rests sehr effizient gelang, nahmen wir an, dass die Einführung des 1,6-Arms und des bisecting GlcNAc in einem Eintopfverfahren kombiniert werden könnte. Das Pentasaccharid **13** wurde mit dem Disaccharidimidat **B1** (0.05 Äquiv. TMSOTf) bis zur Vollständigkeit umgesetzt (DC), anschließend wurden 10 Äquiv. des Donors **E3** und 4 Äquiv. TfOH zugegeben (Schema 4e). Bemerkenswerterweise führte die Kombination aus regio- und stereoselektiver Glycosylierung gefolgt von einer anspruchsvollen Glycosylierung mit großem Donorüberschuss nur zu wenig Nebenprodukt im Rohprodukt (HPLC-MS Schema 4g). Nach einer Flash-Chromatographie konnte reines bisected Octasaccharid **16** in einer Ausbeute von 80 % (im Vergleich zu 73 % beim sequentiellen Verfahren) isoliert werden. Dagegen benötigte das Eintopfverfahren von **13** mit den Thio-glycosiddonoren **B2** (2 Äquiv.) und **E1** (10 Äquiv.) stöchiometrische NIS-Aktivierung und ergab aufgrund von Nebenreaktionen nur eine Ausbeute von 46 % an **16**.

Die späte Einführung eines bisecting GlcNAc wurde anschließend an TFAc-geschützten triantennären N-Glycanen untersucht (Schema 5). Die Glycosylierung des Pentasaccharids **13** mit dem Trisacchariddonor **D** ergab das triantennäre Octasaccharid **17** in einer Ausbeute von 91 %. Die folgende Reaktion mit dem Donor **E3** lieferte 83 % des bisected



Um auch 2,4-verzweigte N-Glycane zugänglich zu machen, wurde das Core-Trisaccharid **A** mit dem Imidat **C** zum  $\alpha$ 1,3-verknüpften Hexasaccharid-Zwischenprodukt um-

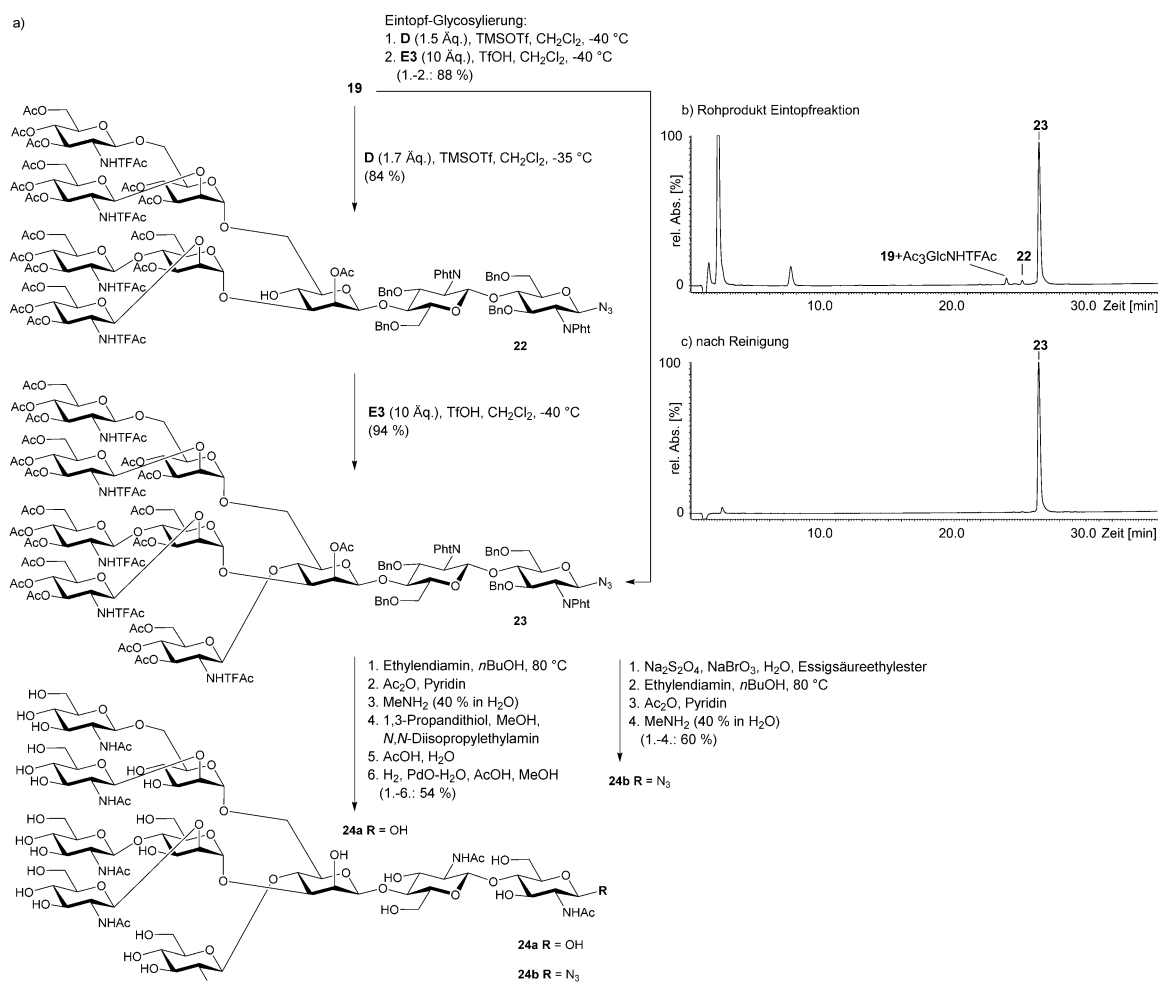
gesetzt (87 % unter Verwendung von  $\text{BF}_3\text{-OEt}_2$  mit nahezu keiner Doppelglycosylierung, nur 72 % bei TMSOTf-Aktivierung aufgrund von Doppelglycosylierung). Das Hexasaccharid wurde in das Diol **19** überführt, das mit dem Donor **B1** zum triantennären Octasaccharid **20** (85 %) reagierte. Die späte Einführung des Donors **E3** erfolgte problemlos und lieferte das bisected N-Glycan **21** in einer Ausbeute von 86 %. Durch die Eintopfsynthese konnten 81 % an **21** direkt aus **19** erhalten werden (gegenüber 73 % beim sequentiellen Verfahren). Der Akzeptor **19** wurde auch zum tetraantennären Nonasaccharid **22** (84 %) verlängert und dieses effizient zum bisected Decasaccharid **23** umgesetzt (94 %, Schema 6). Eine sehr hohe Gesamtausbeute (88 % von **23**) und exzellente Reinheit (Schema 6b,c) konnten ebenfalls beim Eintopfverfahren erhalten werden (gegenüber 78 % beim sequentiellen Verfahren).

Das tetraantennäre Azid **23** wurde in sechs Schritten vollständig entschützt und lieferte das reduzierende Decasaccharid **24a** (54 %). Das vielseitig verwendbare bisected N-Glycanazid **24b** wurde durch selektive Debenzylierung<sup>[22]</sup> in vier Schritten (60 %) zugänglich. Ein Vergleich der wichtigsten Protonen-Resonanzen von **24a** und **24b** mit isoliertem **24a** zeigt nahezu vollständige Übereinstimmung (max.  $\pm 0.02$  ppm, Tabelle S1).

Die NMR-Charakterisierung der vier bisected N-Glycane wurde durch eine Kombination von 2D-NMR-Experimenten<sup>[27]</sup> (siehe die Hintergrundinformationen) durchgeführt, die eine vollständige Zuordnung der Signale und der Regio- und Stereoselektivität der glycosidischen Bindungen ermöglichte. Bei bisected N-Glycanen konnte für C-4<sup>3</sup> die typische  $^{13}\text{C}$ -Tiefeldverschiebung von 7 ppm beobachtet werden.

Bemerkenswert ist, dass die Glycosylierungsausbeute bei der späten Einführung eines bisecting GlcNAc unabhängig von der Anzahl der Antennen der TFAc-geschützten N-Glycanakzeptoren (**14**, **17**, **20** und **22**) ist, was eine ähnlich gute Zugänglichkeit von  $\text{OH-4}^3$  nahelegt. Aufgrund der nahezu quantitativen Umsetzung und der günstigen Eigenschaften der TFAc-geschützten N-Glycane bei der Flash-Chromatographie, lieferten die Eintopfreaktionen reproduzierbar höhere Gesamtausbeuten als zwei getrennte Glycosylierungen.

Zusammenfassend konnte für komplexe N-Glycane eine flexible und allgemeine Methode entwickelt werden, die auf N-TFAc-geschützten modularen Donoren für alle Antennen beruht. Die resultierenden N-Glycane sind geeignete Akzeptoren für die hocheffiziente späte Einführung eines bisecting GlcNAc-Rests. Im Rahmen einer einheitlichen Strategie werden sowohl multiantennäre N-Glycane als auch ihre



**Schema 6.** a) Synthese und Entschützung des tetraantennären bisected N-Glycans **23**. b) HPLC-MS des Rohprodukts der Eintopfreaktion und c) gereinigtes **16** (UV-Chromatogramme).



bisected Derivate zugänglich. Dies gelingt über Imidate in beispiellosen Ausbeuten selbst bei Doppelglycosylierungen im Eintopfverfahren. Mit der neuen Methode können die seltenen bisected N-Glycane einfach aufgebaut und zur Aufklärung der biologischen Rollen der bisecting GlcNAc-Modifikation eingesetzt werden.

## Danksagung

Wir danken für die finanzielle Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG, SPPP 1623) und die German-Israeli Foundation (GIF).

**Stichwörter:** Glykosylierungen · Kohlenhydrate · Oligosaccharide · Schutzgruppen · Synthesemethoden

**Zitierweise:** *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 10487–10492  
*Angew. Chem.* **2016**, *128*, 10643–10648

- [1] K. Bork, R. Horstkorte, W. Weidemann, *J. Pharm. Sci.* **2009**, *98*, 3499–3508.
- [2] a) R. Sackstein, J. S. Merzaban, D. W. Cain, N. M. Dagia, J. A. Spencer, C. P. Lin, R. Wohlgemuth, *Nat. Med.* **2008**, *14*, 181–187; b) R. M. Anthony, F. Nimmerjahn, D. J. Ashline, V. N. Reinhold, J. C. Paulson, J. V. Ravetch, *Science* **2008**, *320*, 373–376; c) T. Shinkawa, K. Nakamura, N. Yamane, E. Shoji-Hosaka, Y. Kanda, M. Sakurada, K. Uchida, H. Anazawa, M. Satoh, M. Yamasaki, N. Hanai, K. Shitara, *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 3466–3473.
- [3] a) K. G. Rice, *Anal. Biochem.* **2000**, *283*, 10–16; b) Y. Kajihara, Y. Suzuki, K. Sasaki, L. R. Juneja, *Methods Enzymol.* **2003**, *362*, 44–64; c) T. Endo, *J. Chromatogr. A* **1996**, *720*, 251–261; d) W. R. Alley, Jr., B. F. Mann, V. Hruska, M. V. Novotny, *Anal. Chem.* **2013**, *85*, 10408–10416.
- [4] a) A. Düffels, S. V. Ley, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1999**, 375–378; b) D. M. Ratner, E. R. Swanson, P. H. Seeberger, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 4717–4720; c) S. Jonke, K. G. Liu, R. R. Schmidt, *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 1274–1290; d) T. W. Rising, C. D. Heidecke, J. W. Moir, Z. Ling, A. J. Fairbanks, *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 6444–6464; e) Y. Ito, S. Hagihara, I. Matsuo, K. Totani, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2005**, *15*, 481–489; f) M. A. Walczak, J. Hayashida, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 4700–4703; g) Z. Wang, Z. S. Chinoy, S. G. Ambre, W. Peng, R. McBride, R. P. de Vries, J. Glushka, J. C. Paulson, G. J. Boons, *Science* **2013**, *341*, 379–383; h) H. Ochiai, W. Huang, L. X. Wang, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 13790–13803.
- [5] C. D. Rillahan, J. C. Paulson, *Annu. Rev. Biochem.* **2011**, *80*, 797–823.
- [6] C. Unverzagt, Y. Kajihara, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 4408–4420.
- [7] C. Unverzagt, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 2350–2353; *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 2507–2510.
- [8] C. Unverzagt, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 1989–1992; *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 2078–2081.
- [9] S. Eller, R. Schuberth, G. Gundel, J. Seifert, C. Unverzagt, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 4173–4175; *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 4251–4253.
- [10] a) H. Paulsen, M. Heume, H. Nürnberger, *Carbohydr. Res.* **1990**, *200*, 127–166; b) F. Yamazaki, T. Kitajima, T. Nukada, Y. Ito, T. Ogawa, *Carbohydr. Res.* **1990**, *201*, 15–30; c) A. Dan, Y. Ito, T. Ogawa, *Carbohydr. Lett.* **1996**, *1*, 469–474; d) S. Weiler, R. R. Schmidt, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 2299–2302; e) C. Unverzagt, J. Seifert, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 4549–4553; f) H. Weiss, C. Unverzagt, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 4261–4263; *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 4389–4392; g) R. Schuberth, C. Unverzagt, *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 4201–4204; h) G. Wang, W. Zhang, Z. Lu, P. Wang, X. Zhang, Y. Li, *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 2508–2515; i) S. Eller, C. Raps, M. Niemietz, C. Unverzagt, *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 2648–2651; j) P. Wang, J. Zhu, Y. Yuan, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 16669–16671; k) G. Zou, H. Ochiai, W. Huang, Q. Yang, C. Li, L. X. Wang, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 18975–18991; l) S. Hanashima, H. Korekane, N. Taniguchi, Y. Yamaguchi, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, *24*, 4533–4537; m) C. W. Lin, M. H. Tsai, S. T. Li, T. I. Tsai, K. C. Chu, Y. C. Liu, M. Y. Lai, C. Y. Wu, Y. C. Tseng, S. S. Shivatare, C. H. Wang, P. Chao, S. Y. Wang, H. W. Shih, Y. F. Zeng, T. H. You, J. Y. Liao, Y. C. Tu, Y. S. Lin, H. Y. Chuang, C. L. Chen, C. S. Tsai, C. C. Huang, N. H. Lin, C. Ma, C. Y. Wu, C. H. Wong, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2015**, *112*, 10611–10616.
- [11] W. Nishima, N. Miyashita, Y. Yamaguchi, Y. Sugita, S. Re, *J. Phys. Chem. B* **2012**, *116*, 8504–8512.
- [12] S. André, T. Kozar, R. Schuberth, C. Unverzagt, S. Kojima, H. J. Gabius, *Biochemistry* **2007**, *46*, 6984–6995.
- [13] a) H. E. Miwa, Y. Song, R. Alvarez, R. D. Cummings, P. Stanley, *Glycoconjugate J.* **2012**, *29*, 609–618; b) M. Edri-Brami, B. Rosental, D. Hayoun, M. Welt, H. Rosen, I. Wirguin, B. Nefussy, V. E. Drory, A. Porgador, R. G. Lichtenstein, *PLoS One* **2012**, *7*, e35772.
- [14] H. Schachter, *Glycobiology* **1991**, *1*, 453–461.
- [15] D. J. Silva, H. Wang, N. M. Allanson, R. K. Jain, M. J. Sofia, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 5926–5929.
- [16] R. R. Schmidt, W. Kinzy, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1994**, *50*, 21–123.
- [17] H. Franzyk, M. Meldal, H. Paulsen, K. Bock, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1995**, 2883–2898.
- [18] C. Unverzagt, G. Gundel, S. Eller, R. Schuberth, J. Seifert, H. Weiss, M. Niemietz, M. Pischl, C. Raps, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 12292–12302.
- [19] J. C. Lee, X. A. Lu, S. S. Kulkarni, Y. S. Wen, S. C. Hung, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 476–477.
- [20] A. Makino, K. Kurosaki, M. Ohmae, S. Kobayashi, *Biomacromolecules* **2006**, *7*, 950–957.
- [21] a) S. V. Ley, D. K. Baeschlin, D. J. Dixon, A. C. Foster, S. J. Ince, H. W. Pripke, D. J. Reynolds, *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 53–80; b) B. G. Davis, A. J. Fairbanks, N.-C. Reichhardt, V. U. Angadiparambil, (Glycoform Limited, UK). Application: WO2007091040 A2, **2007**, S. 47.
- [22] M. Niemietz, L. Perkams, J. Hoffman, S. Eller, C. Unverzagt, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 10485–10487.
- [23] C. Unverzagt, *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 1369–1376.
- [24] C. Unverzagt, S. Eller, S. Mezzato, R. Schuberth, *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 1304–1311.
- [25] a) A. Walczewska, D. Grzywacz, D. Bednarczyk, M. Dawgul, A. Nowacki, W. Kamysz, B. Liberek, H. Myska, *Beilstein J. Org. Chem.* **2015**, *11*, 869–874; b) B. Yu, H. Tao, *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 2405–2407; c) X. Zhu, R. R. Schmidt, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 1900–1934; *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 1932–1967.
- [26] W. Meyer-zu-Reckendorf, N. Vassiliadou-Micheli, *Chem. Ber.* **1970**, *103*, 1792–1796.
- [27] I. Brockhausen, A. A. Grey, H. Pang, H. Schachter, J. P. Carver, *Glycoconjugate J.* **1988**, *5*, 419–448.
- [28] H. Kessler, M. Gehrke, C. Griesinger, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, *27*, 490–536; *Angew. Chem.* **1988**, *100*, 507–554.

Eingegangen am 4. Mai 2016

Online veröffentlicht am 22. Juli 2016