

## Biochemie und Molekularbiologie 2013

*Epigenetik: Epigenetische Therapiekonzepte bewähren sich vermehrt in klinischen Studien. Auch die Grundlagenforschung liefert bahnbrechende Erkenntnisse.*

*Zuckerchemie: Kohlenhydratbasierte Therapeutika und Impfstoffe stehen im Fokus. Zudem gibt es bei der Visualisierung von Kohlenhydraten in lebenden Zellen wichtige Fortschritte.*

### Epigenetische Wirkstoffforschung

◆ Warum unterscheidet sich eine Leberzelle in ihrem Erscheinungsbild und ihrer Funktion so deutlich von einer Haarwurzelle, obwohl beide das gleiche Erbgut tragen? Und wie bleiben diese Ausprägungen (Phänotypen) auch über die Zellteilung hinweg erhalten? Die Epigenetik gibt Antworten auf diese Fragen, indem sie Mechanismen beschreibt, die ein zelltypspezifisches Ablesen von Genen ermöglichen. Entscheidend hierfür sind dynamische Vorgänge am Chromatin, die ohne die Änderung des ge-

netischen Codes (Genotyp) zu einer veränderten Genexpression führen können. Zu den wichtigsten epigenetischen Mechanismen zählen die Veränderung der Kernbase Cytosin, dabei vor allem die DNA-Methylierung, die Interaktion des Chromatins mit nichtkodierenden Ribonukleinsäuren (ncRNAs) und die posttranslationalen Histonmodifikationen. Bei letzteren werden vor allem die aus dem Histonoktamer herausragenden N-Termini biochemisch modifiziert.<sup>1)</sup> Dabei können Writer-Enzyme definierte

epigenetische Modifikationen einführen. Dies geschieht vor allem an den basischen Aminosäuren Lysin und Arginin, jedoch sind auch Modifikationen an Serin und Threonin bekannt.

Zu den Gruppen, die auf die Aminosäureseitenketten übertragen werden, zählen Methyl-, Acetyl- und Phosphorylgruppen sowie größere Moleküle wie Ubiquitin, Fettsäuren oder ADP-Ribose.<sup>2)</sup> Die zweite Gruppe der histonmodifizierenden Enzyme, die Eraser-Enzyme, katalysiert die Abspaltung der Markierungen. Das Zusammenspiel von epigenetischen Writern und Erasern erzeugt ein dynamisches Gleichgewicht zwischen modifizierter und nichtmodifizierter Form. Die Lage dieses Gleichgewichts beeinflusst die Chromatinplastizität und somit die Gentranskription. Epigenetische Modifikationen können über die Zellteilung hinweg erhalten bleiben und führen zu einer vererbaren Verankerung von Transkriptionsprofilen.<sup>3)</sup>

Epigenetische Mechanismen sind nicht nur daran beteiligt, die Zellidentität aufrechtzuerhalten, sondern spielen auch eine Rolle bei Krankheiten wie Krebs oder Diabetes Typ II. Ist etwa ein bestimmtes Tumorsuppressorgen

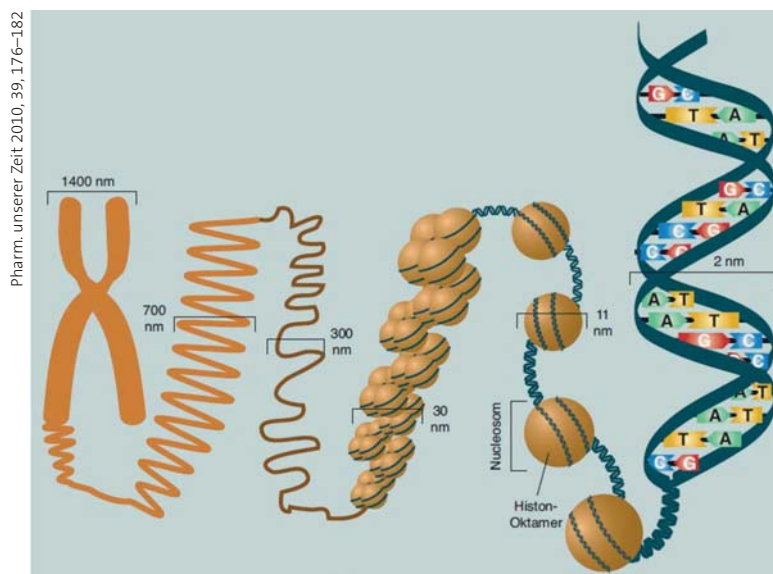


Abb. 1. Entstehung eines Chromosoms (links) durch Anlagerung von DNA (rechts) an Histon-Proteine und über weitere Verknäuelungsschritte.

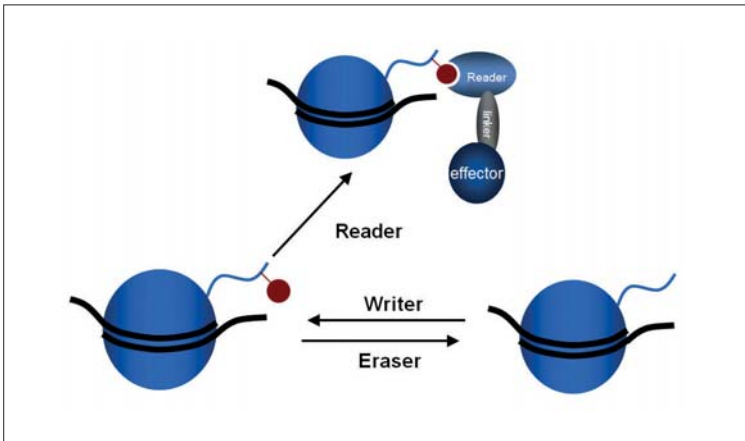


Abb. 2. Zusammenspiel von epigenetischen Writer-, Eraser- und Readerproteinen.

aufgrund einer epigenetischen Fehlregulation nicht mehr exprimierbar, obwohl die DNA-Sequenz intakt ist, spricht man von einer Epimutation. Im Gegensatz zu einer Mutation im klassischen Sinn sind die Epimutationen prinzipiell reversibel.

Die epigenetische Wirkstoffforschung versucht deshalb, Substanzen zu identifizieren, die histonmodifizierende Enzyme beeinflussen und gestörte epigenetische Markierungsmuster korrigieren. Daher hat sich die Epigenetik zu einem der wichtigsten Gebiete in der Krebsforschung und der biomedizinischen Forschung überhaupt entwickelt.<sup>4)</sup>

### Readerproteine

◆ Das Zusammenspiel von epigenetischen Writern und Erasern sowie die Vielzahl der Modifikationsmöglichkeiten erzeugen den Histon-Code. Die Familie der Reader-Proteine ist in der Lage, über Protein-Protein-Kontakte definierte Histonmodifikationen zu identifizieren und weitere Effektorproteine an die Bindungsstelle zu rekrutieren.

Der BRD4-Inhibitor JQ1 ist der prominenteste Vertreter der Readerprotein-Hemmstoffe. BRD4 gehört zu einer Proteinfamilie, die Acetyl-Lysin-Bindungsmotive (Bromodomänen) besitzen. JQ1 blockiert kompetitiv die Interaktion von Acetyllysinen in Histonen mit BRD4 und beeinflusst so nachge-

schaltete transkriptionelle Prozesse. JQ1 hemmt das Onkoprotein BRD4-NUT, das durch eine translokationsbedingte Fusion der Gene *brd4* und *nut* (nuclear protein in testis) entsteht. Diese Chromosomenmutation ist für NMC (NUT midline carcinoma) verantwortlich, eine seltene aggressive Form des Plattenepithelkarzinoms. JQ1 zeigte im Tiermodell dieser Erkrankung antiproliferative Effekte.<sup>5)</sup> Bei vielen neoplastischen Erkrankungen ist das *myc*-Gen amplifiziert und wird daher verstärkt abgelesen. Eine übermäßige Expression von *myc* steht in Verbindung mit verstärktem Tumorstrom, erhöhter Invasivität und Therapieresistenzen. Bromodomain-Inhibitoren wie JQ1 verringern die *myc*-Expression und senken so die Aktivität von *myc* indirekt. Dies führte in einem Mausmodell des kleinzelligen Lungenkarzinoms (NSCLC) zu einer Tumorregression.<sup>6)</sup> Mittlerweile gibt es neben JQ1 eine Reihe anderer Bromodomain-Inhibitoren, darunter Verbindungen wie das von Glaxo Smith Kline entwickelte I-BET, weitere Benzodiazepinanaloga sowie Dimethylisoxazole und Sulfonamide wie das kürzlich publizierte XD14.<sup>7-10)</sup> Im September 2013 gab Constellation Pharmaceuticals den Beginn einer klinischen Studie bekannt, welche die Wirksamkeit des Bromodomain-Inhibitors CPI-0610 bei Lymphompatienten untersuchen soll.<sup>11)</sup> Ebenso hat Tensha Therapeutics den Beginn klini-

scher Studien mit einem BRD4-Inhibitor angekündigt.<sup>12)</sup>

Auch in anderen Bereichen ist eine Therapie mit Bromodomain-Inhibitoren denkbar. Aufgrund einer Hemmung des Hoden-Bromodomainproteins BRDT hemmt JQ1 reversibel die Spermatogenese bei Mäusen. BRDT-Inhibitoren wurden daher als potenzielle „Pille für den Mann“ postuliert.<sup>13)</sup> Auch bei einem zellbasierten phänotypischen Screening zur Suche nach neuen Substanzen zur Behandlung der Herzhypertrophie war JQ1 im Tiermodell wirksam.<sup>14)</sup>

### Nukleosom-Modifikationen

◆ Während die posttranslationalen Modifikationen der unstrukturierten N-terminalen Histonden mittlerweile eingehend untersucht sind, ist über Modifikationen der globulären Domänen, die den Kern des Nukleosoms bilden, bisher weniger bekannt. Im Gegensatz zu N-terminalen Histonmodifikationen beeinflussen die Veränderungen am nukleosomalen Kern die Struktur des Nukleosoms stärker und somit auch den Bindungsgrad zwischen DNA und Histonproteinen. Es ist beispielsweise bekannt, dass eine Acetylierung von

**GDCh-course**

**Environmental Risk Assessment  
of Veterinary Medicinal Products**  
Legal Requirements and Regulatory Needs (193/14)

**April 8 - 9, 2014, Dessau**  
Organizer: Dr. Christoph Schlüter &  
Dr. Gerd Maack

**Highlights:**  
ERA – Phase I and Phase II  
Exposure – Fate and PECs  
Ecotoxicological testing

**Registration/Information:**  
Phone: 069/7917-364  
E-Mail: fb@gdch.de  
www.gdch.de/fortbildung

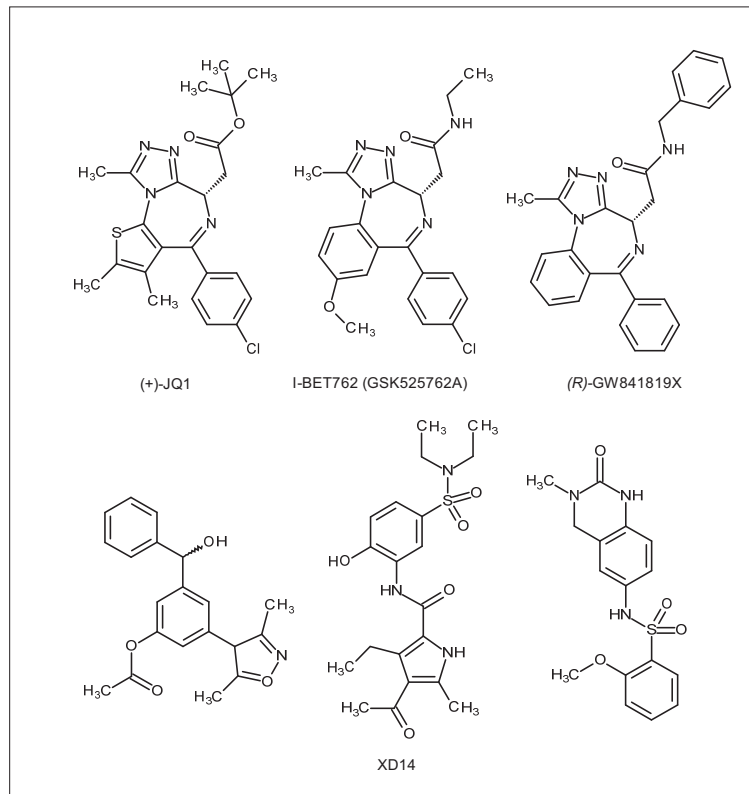


Abb. 3. Bromodomain-Inhibitoren: (+)-JQ1, I-Bet762, (R)-GW841819X, 3,5-Dimethylisoxazol (links unten), XD14 und ein weiteres Sulfonamid (rechts unten).

H3K122 die Bindung zwischen DNA und Histonprotein lockert und so den betreffenden Genabschnitt für Transkriptionsfaktoren leichter zugänglich macht.<sup>15)</sup> Bei epigenetischen DNA-Modifikationen werden Methylcytosinbasen in der DNA durch Tet-Oxygenasen nicht nur zu Hydroxymethylcytosin sondern weiter zu Formyl- und Carboxyl-Cytosinen oxidiert. Über

Basenexzision erfolgt dann formal eine DNA-Demethylierung.<sup>16–18)</sup> Noch ist unklar ob Tet-Oxygenasen auch Targets für die Pharmakotherapie sein können. Die kürzlich veröffentlichte Struktur des Tet2-DNA-Komplexes wird sicherlich zur Hemmstoffsuche entscheidend beitragen.<sup>19)</sup>

## Histonmethyltransferasen

◆ Auch aus der Gruppe der Histonmethyltransferase (HMTase)-Inhibitoren kamen im letzten Jahr die ersten Arzneistoffe in die Phase I der klinischen Prüfung.

EPZ-5676, ein S-Adenosylmethionin-Analogon der Firma Epizyme, ist ein hochwirksamer und selektiver Hemmstoff der HMTase DOT1L. Er dient zur Behandlung einer Form der Leukämie (mixed lineage leukemia, MLL). Bei MLL kommt es durch Translokation im *mlL*-Gen zur Entstehung des MLL-Fusionsproteins. Dieses fungiert seinerseits als Transkriptionsregulator und sorgt für eine erhöhte Expression leukämiespezifischer Gene. Jedoch benötigt das MLL-Fusionsprotein für die Bindung an das Chromatin eine Methylierung von Lysin 79 in der globulären Domäne von Histon H3, die von DOT1L eingeführt wird. Wird DOT1L pharmakologisch gehemmt, bewirkt dies eine H3K79-Hypomethylierung und das MLL-Fusionsprotein dissoziiert vom Chromatin. Im Xenograftmodell bei Ratten bildete sich bei Behandlung mit EPZ-5676 der Tumor vollständig zurück – ohne dass die Tiere signifikant Körpergewicht verloren oder andere Zeichen systemischer Toxizität aufwiesen.<sup>20)</sup>

EPZ-6438 (E7438), ein Hemmstoff der HMTase EZH2 (enhancer

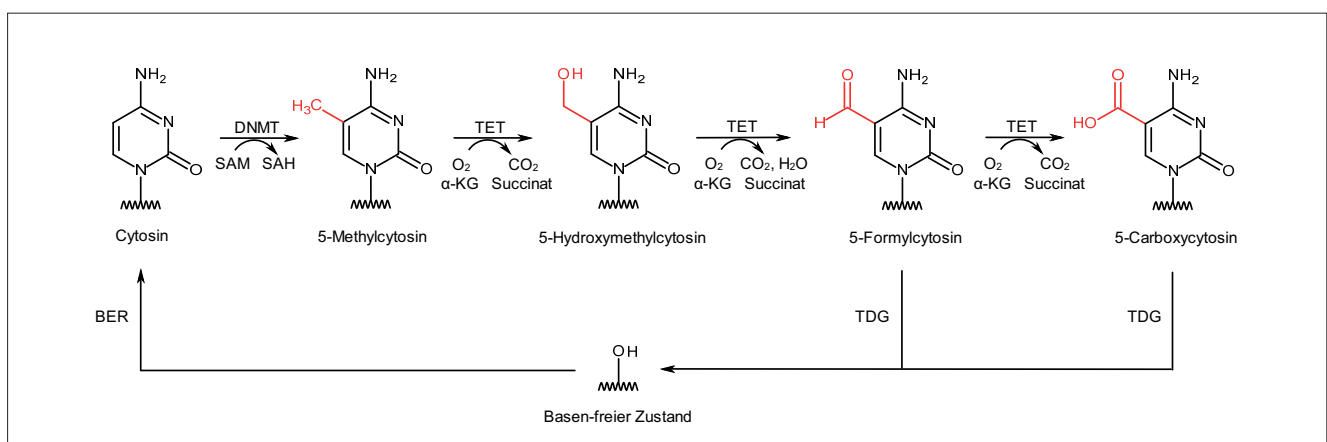


Abb. 4. Bildung von 5-Methylcytosin in der DNA durch DNA-Methyltransferasen (DNMT) über den Kofaktor S-Adenosylmethionin (SAM), weitere Oxidation bis hin zum 5-Carboxycytosin durch TET-Oxygenasen, sowie Basenexzision durch Thymidin-DNA-Glucosidase (TDG) und anschließender Basenregeneration (BER = base excision repair).

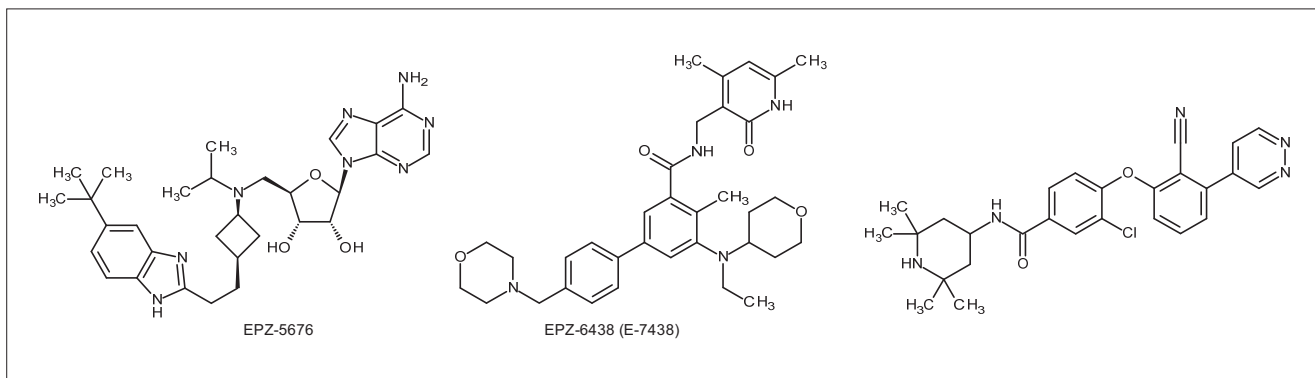


Abb. 5. Histonmethyltransferase-Inhibitoren: EPZ-5671, EPZ-6438 sowie der von Constellation Pharma vorgestellte EZH2-Inhibitor (rechts).

of zeste homolog 2) wird klinisch gegen bestimmte Formen des B-Zell-Lymphoms untersucht. Als Teil des PRC2 (polycomb repressive complex 2) ist EZH2 durch die Methylierung von H3K27 für dessen Chromatinbindung verantwortlich. PRC2 ist an der Stilllegung bestimmter Tumorsuppressorgene beteiligt. Bei einigen Krebsarten ließ sich eine Mutation von EZH2 nachweisen, die über eine Hypermethylierung von H3K27 zu einer verstärkten Stilllegung von Tumorsuppressorgenen durch PRC2 führte.<sup>21)</sup> Weitere EZH2-Inhibitoren stellte das Unternehmen Constellation Pharma vor.<sup>22)</sup>

### Epigenetische Antiinfektiva

◆ Da eukaryotische Erreger Histone und ein entsprechendes Modifikationssystem besitzen, kommen epigenetische Inhibitoren als neue Antiinfektiva in Betracht. Beim Erreger der Bilharziose *Schistosoma mansoni* zeigt die Histondesacetylase 8 (smHDAC8), im Vergleich zur humanen Isoform (hHDAC8), strukturelle Unterschiede im aktiven Zentrum, die das Design von selektiven Hemmstoffen erlauben. Zudem scheint *S. mansoni* empfindlicher gegenüber einer HDAC8-Hemmung zu sein, als dies in den meisten menschlichen Zelltypen der Fall ist. Der smHDAC8-Inhibitor J1075 ist in der Lage, bestimmte Stufen im Lebenszyklus des Parasiten abzutöten und die Trennung adulter Pärcheneggl zu induzieren. Dies verhindert Eiproduktion und -befruchtung.<sup>23)</sup>

### Ausblick

◆ Neben den bereits in der klinischen Praxis etablierten HDAC-Hemmstoffen wie Vorinostat und Romidepsin, befinden sich nun auch epigenetisch wirksame Arzneistoffe in klinischen Prüfungen, die andere Targets adressieren. Ob sich epigenetische Therapiekonzepte auch für andere Erkrankungen als Krebs durchsetzen, ist Gegenstand vieler Untersuchungen. Klinische Prüfungen dazu liegen aber noch in der Zukunft.

**Manfred Jung** ist seit dem Jahr 2003 Professor für Pharmazeutische Chemie an der Universität Freiburg (seit 2011 W3). Er wurde an der Universität Marburg 1993 bei Wolfgang Hanefeld in Pharmazeutischer Chemie promoviert. Von 1993 bis 1994 war er Postdoktorand bei Tony Durst (Universität Ottawa). Die Habilitation in Pharmazeutischer Chemie erfolgte im Jahr 2000 an der Universität Münster (Mentor Bernard Unterhalt). Jungs Forschungsschwerpunkt ist die chemische Epigenetik mit der Synthese von Inhibitoren und der Entwicklung von Assays zur Identifizierung neuer Wirkstoffe. Er ist Co-Sprecher des SFB 992 (Medizinische Epigenetik) und Sprecher des Integrierten Graduiertenkollegs im SFB.



manfred.jung@pharmazie.uni-freiburg.de

**Matthias Schiedel** ist seit Mai 2011 Doktorand und wissenschaftliche Mitarbeiter im Arbeitskreis von Manfred Jung. Schiedel studierte Pharmazie im Staatsexamensstudiengang in Freiburg und erlangte im Januar 2011 den Grad eines Diplom-Pharmazeuten. In seiner Forschung beschäftigt er sich mit der Synthese und Testung neuer Histon-Desacetylase-Inhibitoren. matthias.schiedel@pharmazie.uni-freiburg.de



### Literatur

- 1) M. Jung, W. Sippl, Epigenetic Targets in Drug Discovery, Wiley-VCH, Weinheim, 2009.
- 2) M. Biel, V. Wascholowski, A. Giannis, Angew. Chem. 2005, 117, 3248–3280.
- 3) A.V. Probst, E. Dunleavy, G. Almouzni, Nat. Rev. Mol. Cell. Biol. 2009, 10, 192–206.
- 4) K. Keller, M. Jung, Nachr. Chem. 2011, 59, 822–827.
- 5) P. Filippakopoulos, J. Qi, S. Picaud, Y. Shen, W. B. Smith, O. Fedorov, E. M. Morse, T. Keates, T. T. Hickman, I. Felletar, M. Philpott, S. Munro, M. R. McKeown, Y. Wang, A.L. Christie, N. West, M.J. Cameron, B. Schwartz, T. D. Heightman, N. La Thangue, C. A. French, O. Wiest, A. L. Kung, S. Knapp, J. E. Bradner, Nature 2010, 468, 1067–1073.
- 6) T. Shimamura, Z. Chen, M. Soucheray, J. Carretero, E. Kikuchi, J. H. Tchaicha, Y. Gao, K.A. Cheng, T.J. Cohoon, J. Qi, E. Akbay, A. C. Kimmelman, A. L Kung, J. E. Bradner, K.K. Wong, Clin. Cancer Res. 2013, 19, 6183–6192.
- 7) E. Nicodeme, K.L. Jeffrey, U. Schaefer, S. Beinke, S. Dewell, C.W. Chung, R. Chandwani, I. Marazzi, P. Wilson, H. Coste, J. White, J. Kirilovsky, C. M. Rice, J.M. Lora, R.K. Prinjha, K. Lee, A. Tarakhovsky, Nature 2010, 468, 1119–1123.
- 8) C.W. Chung, H. Coste, J.H. White, O. Mirguet, J. Wilde, R.L. Gosmini, C. Delves, S.M. Magny, R. Woodward, S. A. Hughes, E.V. Boursier, H. Flynn, A. M. Bouillot, P. Bamborough, J. M. Brusq, F. J. Gellibert, E. J. Jones, A. M. Riou, P. Homes, S.L. Martin, I. J. Uings, J. Toum, C. A. Clement, A. B. Boullay, R. L. Grimley, F. M. Blandel, R. K. Prinjha, K. Lee, J. Kirilovsky, E. Nicodeme, J. Med. Chem. 2011, 54, 3827–3838.
- 9) D. S. Hewings, T. P. Rooney, L. E. Jennings, D.A. Hay, C.J. Schofield, P. E. Brennan, S. Knapp, S.J. Conway, J. Med. Chem. 2012, 55, 9393–9413.



- 10) X. Lucas, D. Wohlwend, M. Hügler, K. Schmidt-kunz, S. Gerhardt, R. Schüle, M. Jung, O. Einsle, S. Günther, *Angew. Chem.* 2013, 125, 14305–14309.
- 11) [www.constellationpharma.com/2013/09/constellation-pharmaceuticals-initiates-clinical-development-of-cpi-0610-a-novel-bet-protein-bromodomain-inhibitor-in-patients-with-lymphoma/](http://www.constellationpharma.com/2013/09/constellation-pharmaceuticals-initiates-clinical-development-of-cpi-0610-a-novel-bet-protein-bromodomain-inhibitor-in-patients-with-lymphoma/); zuletzt aufgerufen 28.11.2013
- 12) <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01987362?term=tensha&rank=1>, zuletzt aufgerufen 28.11.2013
- 13) M. M. Matzuk, M. R. McKeown, P. Filippakopoulos, Q. Li, L. Ma, J. E. Agno, M. E. Lemieux, S. Picard, R. N. Yu, J. Qi, S. Knapp, J. E. Bradner, *Cell* 2012, 150, 673–684.
- 14) P. Anand, J. D. Brown, C. Y. Lin, J. Qi, R. Zhang, P. C. Artero, M. A. Alaiti, J. Bullard, K. Alazem, K. B. Margulies, T. P. Cappola, M. Lemieux, J. Plutzky, J. E. Bradner, S. M. Haldar, *Cell* 2013, 154, 569–582.
- 15) P. Tropberger, S. Pott, C. Keller, K. Kamieni-arz-Gdula, M. Caron, F. Richter, G. Li, G. Mittler, E. T. Liu, M. Bühler, R. Margueron, R. Schneider, *Cell* 2013, 152, 859–872.
- 16) T. Pfaffeneder, B. Hackner, M. Truss, M. Munzel, M. Müller, C. A. Deiml, C. Hagemeier, T. Carell, *Angew. Chem.* 2011, 123, 7146–7150.
- 17) Y. F. He, B. Z. Li, Z. Li, P. Liu, Y. Wang, Q. Tang, J. Ding, Y. Jia, Z. Chen, L. Li, Y. Sun, X. Li, Q. Dai, C. X. Song, K. Zhang, C. He, G. L. Xu, *Science* 2011, 333, 1303–1307.
- 18) S. Ito, L. Shen, Q. Dai, S. C. Wu, L. B. Collins, J. A. Swenberg, C. He, Y. Zhang, *Science* 2011, 333, 1300–1303.
- 19) L. Hu, Z. Li, J. Cheng, Q. Rao, M. Gong, M. Liu, Y. G. Shi, J. Zhu, P. Wang, Y. Xu, *Cell* 2013, 155, 1545–1555.
- 20) S. R. Daigle, E. J. Olhava, C. A. Therkelsen, A. Basavathruni, L. Jin, P. A. Boriack-Sjodin, C. J. Allain, C. R. Klaus, A. Raimondi, M. P. Scott, N. J. Waters, R. Chesworth, M. P. Moyer, R. A. Copeland, V. M. Richon, R. M. Pollock, *Blood* 2013, 122, 1017–1025.
- 21) S. K. Knutson, N. M. Warholc, T. J. Wigle, C. R. Klaus, C. J. Allain, A. Raimondi, M. Porter Scott, R. Chesworth, M. P. Moyer, R. A. Copeland, V. M. Richon, R. M. Pollock, K. W. Kuntz, H. Keilhack, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2013, 110, 7922–7927.
- 22) S. Garapaty-Rao, C. Nasvechuk, A. Gagnon, E. Y. Chan, P. Sandy, J. Busby, S. Balasubramanian, R. Campbell, F. Zhao, L. Bergeron, J. E. Audia, B. K. Albrecht, J. C. Harmange, R. Cummings, P. Trojer, *Chem. Biol.* 2013, 20, 1329–1339.
- 23) M. Marek, S. Kannan, A. T. Hauser, M. Moraes Mourão, S. Caby, V. Cura, D. A. Stoffa, K. Schmidt-kunz, J. Lancelot, L. Andrade, J. P. Renaud, G. Oliveira, W. Sippl, M. Jung, J. Cavarelli, R. J. Pierce, C. Romier, *PLoS Pathog.* 2013, 9, e1003645.

## Kohlenhydrate – mehr als nur Energielieferanten

◆ Kohlenhydrate gehören zusammen mit Nukleinsäuren, Proteinen und Lipiden zu den vier großen Klassen von Makromolekülen in lebenden Systemen. Entgegen der weit verbreiteten Meinung dienen sie jedoch zu weit mehr als nur zur Energieversorgung. Kohlenhydrate finden sich auf allen Zelloberflächen als Glycokalix. Dort sind sie Teil von fundamentalen biologischen Erkennungsprozessen bei der Zell-Zell-Kommunikation und -Adhäsion, etwa bei Entzündungen oder der Immunmodulation. Auch Viren und Bakterien nutzen die Kohlenhydratstrukturen von Wirtszellen, um mit Adhäsinen an diese zu binden und so eine Infektion einzuleiten oder – im Fall von nützlichen Bakterien – die gewebespezifische Kolonialisierung zu bewirken. Mikrobielle Kohlenhydratstrukturen werden andererseits bei der Immunabwehr von Antikörpern erkannt. Entsprechend sind sie in den meisten Impfstoffen gegen Infektionskrankheiten enthalten. Kohlenhydrate schützen auch Zellen. So blockiert die Glycokalix als physikalische Barriere die unspezifische Bindung von Pathogenen. Bakterien schützen sich in ähnlicher Weise durch die Bildung kohlenhydrathaltiger Biofilme.

Aktuelle Forschungsthemen mit medizinischem Hintergrund sind die Entwicklung kohlenhydratbasierter Therapeutika und Impfstoffe, wie zahlreiche Arbeiten des vergangenen Jahres zeigen. Um mehr über die Rolle der Kohlenhydrate in biologischen Prozessen zu erfahren, sind zuverlässige Methoden zur Visualisierung von Kohlenhydraten in lebenden Zellen wünschenswert. Auch hier gab es im Jahr 2013 wichtige Fortschritte.

### Antivirale Strategien

◆ Das Hüllprotein gp120 des humanen Immundefizienz-Virus (HIV) zählt zu den am stärksten glycosy-

lierten Proteinen. Die Entdeckung breit neutralisierender Antikörper in Menschen, die immun gegen HIV sind, schürt die Hoffnung auf die Entwicklung eines HIV-Impfstoffs. Im Jahr 2009 wurden mit PG9 und PG16 zwei neue derartige Antikörper aus einem HIV-1-infizierten afrikanischen Spender isoliert.<sup>1)</sup> Diese Antikörper, die an die Glycanhülle von HIV binden und 70 bis 80 Prozent der zirkulierenden HIV-1-Isolate neutralisieren, nutzten gleich mehrere Arbeitsgruppen als Grundlage ihrer Arbeit.<sup>2–4)</sup> Ein erster Schritt, um die Feinstruktur der Epitope neutralisierender Antikörper aufzuklären, und damit einen HIV-Impfstoff zu entwickeln, ist die Synthese von Glycopeptiden, die von den Antikörpern erkannt werden. Im Gegensatz zu isolierten Glycopeptiden, die aufgrund der natürlichen Mikroheterogenität als Mischungen verschiedener Glycoformen anfallen, bieten synthetische Glycopeptide den Vorteil, komplexe und zugleich homogene Kohlenhydratstrukturen zu untersuchen.

In ihren synthetischen Ansätzen mussten die Arbeitsgruppen mehrere Schwierigkeiten überwinden: Unter anderem waren dies die Einführung zweier Oligosaccharide an zwei, nur vier Positionen voneinander entfernten Aminosäuren sowie die Nachbildung der räumlichen Struktur des natürlichen Glycopeptids.

Die Arbeitsgruppe von Danishefsky wählte eine Kombination aus konvergenter Synthese zweier Glycopeptid-Fragmente und deren anschließende Verknüpfung durch native chemische Ligation (NCL) (Abbildung 1a,b).<sup>2)</sup> Die Synthese des Heptasaccharids (4) erfolgte durch regioselektive Fragmentkuppelung des Trisaccharid-Thioglycosids (1) an das Tetrasaccharid-Diol (2). Nach Entschützung von (3) führte eine Kochetkov-Aminierung zum  $\beta$ -konfigurierten