

ANWENDUNG DES TRICHLORACETIMIDATVERFAHRENS AUF 2-DESOXY-2-PHTHALIMIDO-D-GLUCOSE-DERIVATE. SYNTHESE VON OLIGOSACCHARIDEN DER "CORE-REGION" VON O-GLYCOPROTEINEN DES MUCIN-TYPS*

GERHARD GRUNDLER UND RICHARD R. SCHMIDT†

Fakultät Chemie, Universität Konstanz, Postfach 5560, D-7750 Konstanz (Bundesrepublik Deutschland)

(Eingegangen am 28. Februar 1984; angenommen am 21. Mai 1984)

ABSTRACT

N-Phthaloyl derivatives of 2-acetamido-2-deoxy-D-glucose having OH-1 free treated with trichloroacetonitrile and sodium hydride gave the corresponding *O*-(β -D-glycosyl)trichloroacetimidates which in the presence of diethyl ether·borontrifluoride, led selectively with alcohols to β -D-glycosides. This procedure was applied to the synthesis of oligosaccharides from the core region of mucine-type *O*-glycoproteins. Thus, β -D-Galp-(1 \rightarrow 4)- β -D-GlcpNAc-(1 \rightarrow 3)-D-GalNAc and β -D-Galp-(1 \rightarrow 4)- β -D-GlcpNAc-[β -D-GlcpNAc-(1 \rightarrow 3)]-D-GalNAc were obtained.

ZUSAMMENFASSUNG

Aus *N*-Phthaloyl-2-acetamido-2-desoxy-D-glucose Derivaten mit freier OH-1-Gruppe können durch Umsetzung mit Trichloracetnitril und Natriumhydrid β -Trichloracetimide hergestellt werden. Bei der Reaktion mit Alkoholen in Gegenwart von Diethylether·Bortrifluorid werden aus den β -Imidaten stereoselektiv β -D-Glycoside in guter Ausbeute gebildet. Das Glycosidierungsverfahren wird zur Synthese von Oligosacchariden aus der "Core-Region" von *O*-Glycoproteinen vom Mucin-Typ angewendet. Mit dieser Methode wurden das Trisaccharid β -D-Galp-(1 \rightarrow 4)- β -D-GlcpNAc-(1 \rightarrow 3)-D-GalNAc und das Tetrasaccharid β -D-Galp-(1 \rightarrow 4)- β -D-GlcpNAc-(1 \rightarrow 6)-[β -D-GlcpNAc-(1 \rightarrow 3)]-D-GalNAc dargestellt.

EINFÜHRUNG

Epitheliale Schleimsekrete bestehen hauptsächlich aus Glycoproteinen, deren Oligosaccharideinheiten *O*-glycosylisch über 2-Acetamido-2-desoxy-D-galactose an die Aminosäuren L-Serin bzw. L-Threonin des Peptidteils geknüpft sind^{2,3}.

*Glycosylimide, 14. Mitteilung. 13. Mitteilung vgl. Zit. 1.

†Korrespondenzautor.

Die "Core"-Strukturen der komplexen Oligosaccharidseitenketten enthalten sehr häufig eine β -D-Galp-(1 \rightarrow 3)-D-GalNAc-Disaccharideinheit, die direkt an das Protein gebunden ist. In neuerer Zeit wurden aber aus Magen- und Bronchialschleimglycoproteinen Oligosaccharide eines neuen Strukturtyps isoliert, bei dem die 2-Acetamido-2-desoxy-D-galactose-Einheit am OH-3 mit einer 2-Acetamido-2-desoxy-D-glucopyranosyl-Gruppe verknüpft ist⁴⁻⁷. Diese Strukturelemente sind im Hinblick auf Erkrankungen des Bronchialtraktes von besonderem Interesse. So wurde unter anderem Oligosacchariden auch das Tetrasaccharid β -D-Galp-(1 \rightarrow 4)- β -D-GlcpNAc-(1 \rightarrow 6)-[β -D-GlcpNAc-(1 \rightarrow 3)]-D-GalpNAc als "Core"-Region von Glycoproteinen, die aus Bronchialschleimen von Patienten mit chronischer Bronchitis bzw. cystischer Fibrose isoliert wurden, identifiziert⁷. Im Rahmen der Anwendungen der von uns entwickelten Trichloracetimidatmethode^{8,9} wurde nun dieses komplexe Tetrasaccharid (**20**) synthetisiert¹⁰. Auf dem Gebiet der Aminozucker wurden Trichloracetimide bisher hauptsächlich zur Glycosidierung von 2-Azido-2-desoxy-D-galactose- und 2-Azido-2-desoxy-D-glucose-Derivaten eingesetzt^{1,11}.

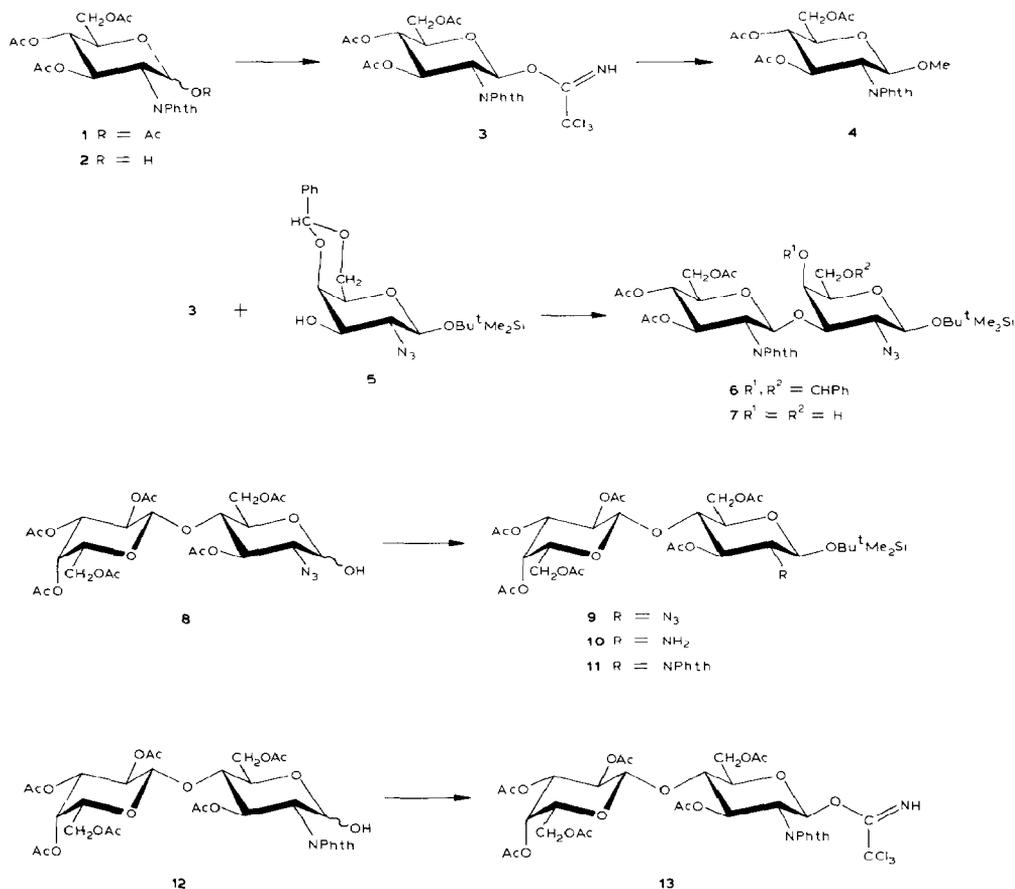
Für die stereoselektive Erzeugung der β -D-glycosidischen Verknüpfung von Aminozuckern wird das Trichloracetimidatverfahren nun zur Glycosidierung von *N*-phthaloylierten 2-Amino-2-desoxy-D-glucose-derivaten erweitert.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Zur Synthese von β -D-1,2-*trans*-Glycosiden bei 2-Amino-2-desoxyhexopyranosen wird heute meist das Phthalimidverfahren¹² eingesetzt¹³. Neben den *N*-Phthaloyl-geschützten Glycosylhalogeniden wurden auch direkt die entsprechenden 1-*O*-Acetylverbindungen zur Glycosidierung verwendet^{14,15}. Allerdings müssen bei diesen Reaktionen relativ große Mengen an Lewisäure eingesetzt werden. Die Aktivierung von *N*-Phthaloyl-geschützten Aminozuckern über Trichloracetimide erlaubt jedoch eine schwermetallfreie Glycosidierung unter milden Bedingungen.

Als Ausgangsverbindung für die Imidatsynthese dient das OH-1-ungeschützte 2-Amino-2-desoxy-D-glucosederivat **2**. Nach dem bekannten Verfahren wird **2** aus der 1-*O*-Acetylverbindung **1** durch Behandlung mit Bromwasserstoff-Eisessig und nachfolgender Hydrolyse des Glycosylhalogenids mit Silbercarbonat in wässrigem Aceton synthetisiert¹⁶. Durch Abspaltung der 1-*O*-Acetylgruppe in **1** mit Benzylamin¹⁷ konnte **2** auch auf direktem Wege dargestellt werden. Die bei der Benzylaminspaltung als Konkurrenzreaktion auftretende Öffnung des Phthalimidringes konnte durch Absenken der Temperatur (0°) und durch sehr kurze Reaktionszeiten weitgehend unterdrückt werden. Umsetzung von **2** mit Trichloracetonitril und Natriumhydrid verläuft in guter Ausbeute zum β -Trichloracetimidat **3**. Dieses Imidat wird als kristalline Verbindung isoliert, die mehrere Wochen bei Raumtemperatur ohne nennenswerte Zersetzung aufbewahrt werden konnte.

Die Umsetzung von **3** mit Methanol und Diethylether·Bortrifluorid als Lewisäure-Katalysator liefert stereoselektiv und in guter Ausbeute das bekannte



Methylglycosid¹⁶ **4**. Auch mit weniger reaktiven Zuckeralkoholen zeigt das Trichloracetimidat **3** eine gute Reaktivität. So konnte **3** mit dem OH-3-ungeschützten Azidodesoxygalactosid¹ **5** unter Diethylether·Bortrifluorid-Katalyse zum Disaccharid **6** umgesetzt werden. Die hohe Reaktivität von **5** mit dem Imidat **3** ist erstaunlich, da OH-3 von 2-Azido-2-desoxy-D-galactose-Derivaten mit Glycosylhalogeniden wenig reaktionsfähig sind¹³. Die Struktur von **6** kann anhand der ¹H- und ¹³C-n.m.r.-Spektren eindeutig gesichert werden. Durch Abspaltung der Benzylidengruppe von **6** mit wässriger Trifluoressigsäure in Dichlormethan¹⁸ konnte der erste Baustein, der für die Blocksynthese des Tetrasaccharids **20** benötigt wird, dargestellt werden. Nach einer Reaktionszeit von 6 h wird das partiell ungeschützte Disaccharid **7** in hoher Ausbeute kristallin isoliert.

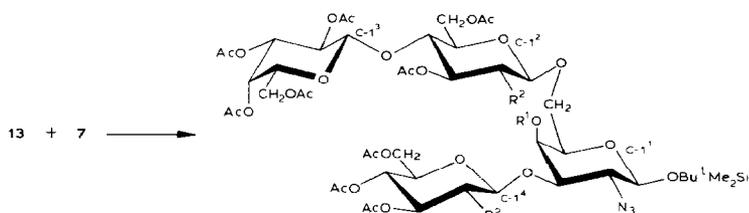
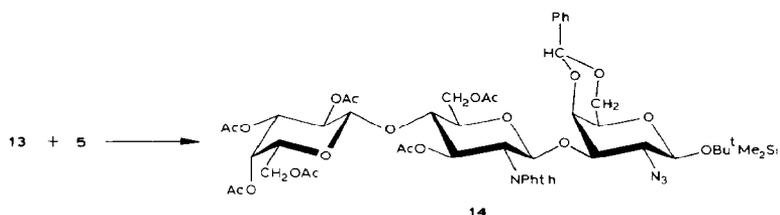
Der zweite Disaccharid-Baustein für die Blocksynthese von **20** wurde ausgehend von der Lactose synthetisiert. Das durch Azidonitratisierung von 3,6-Di-O-acetyl-1,5-anhydro-2-desoxy-4-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-D-arabino-hex-1-enit¹⁹ und anschließender Hydrolyse der glycosidischen Nitratgruppe mit Natriumnitrit zugängliche Epimerengemisch¹¹ **8** wurde zunächst am

OH-1 blockiert. Hierzu eignet sich die *tert*-Butyldimethylsilyl-Schutzgruppe, da sie später wieder selektiv abgespalten werden kann. Die Umsetzung von **8** mit *tert*-Butyldimethylchlorsilan und Imidazol liefert das Disaccharid **9** in guter Ausbeute.

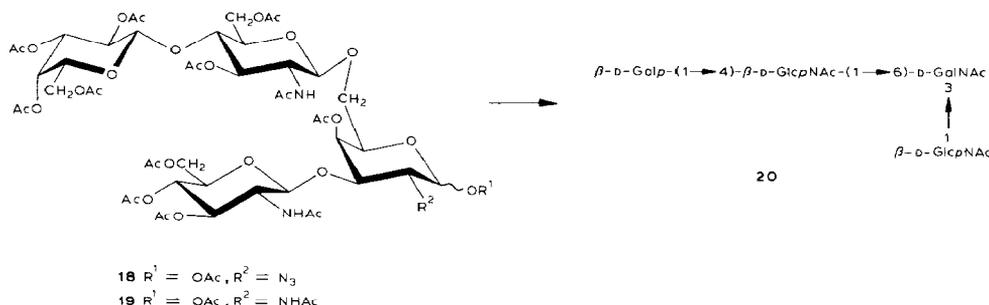
Anschließend wurde die Azidogruppe von **9** zur Aminogruppe reduziert. Unter den Bedingungen der katalytischen Hydrierung mit Palladiumschwarz verlief die Reduktion bei Normaldruck langsam und in relativ niedrigen Ausbeuten. Durch Hydrierung bei 0.4 MPa wird das Amin **10** nach einer Reaktionszeit von zwei Tagen in hoher Ausbeute isoliert. Das freie Amin **10** wird mit Phthalsäureanhydrid und Kaliumcarbonat in wässrigem Ethanol umgesetzt und anschließend mit Pyridin-Acetanhydrid zum Phthalimidoderivat **11** cyclisiert. Die Abspaltung der OH-1 *tert*-Butyldimethylsilylschutzgruppe in **11** wurde mit Tetrabutylammoniumfluorid durchgeführt. Führt man die Reaktion in Dichlormethan als Lösungsmittel durch, so beobachtet man bei der Reaktion einen hohen Anteil an Zersetzungsprodukten. Das gewünschte OH-1-ungeschützte Disaccharid **12** wird nur in niedriger Ausbeute isoliert. Durch die Verwendung von Oxolan als Lösungsmittel und Absenken der Temperatur konnten aber die Nebenreaktionen unterdrückt und **12** in hoher Ausbeute erhalten werden. Die Umsetzung von **12** mit Trichloracetonitril und Natriumhydrid in Dichlormethan liefert bereits nach kurzer Reaktionszeit das Trichloracetimidat **13**. Dieses wird in guter Ausbeute kristallin isoliert und ist ebenfalls eine stabile Verbindung, die längere Zeit bei Raumtemperatur aufbewahrt werden kann. Die Struktur von **13** kann anhand der ¹H-n.m.r.-Daten eindeutig gesichert werden. Mit dem Imidat **13** steht der für die Blocksynthese von **20** benötigte Lactosaminbaustein zur Verfügung.

Zunächst wurde **13** für die Synthese des Trisaccharids **14** eingesetzt. Dieses stellt eine geschützte Form des Trisaccharids β -D-Galp-(1→4)- β -D-GlcpNAc-(1→3)-D-GalNAc dar, das ebenfalls in Bronchialschleim Glycoproteinen von Patienten mit cystischer Fibrose als "Core"-Region identifiziert wurde⁷. Die Umsetzung von **13** mit dem Azidodesoxygalactosid **5** und Diethylether·Bortrifluorid führt stereoselektiv zum β -Trisaccharid. Nach einer Reaktionszeit von 1 h wird **14** in guter Ausbeute isoliert. Die Struktur von **14** kann eindeutig anhand der ¹H-n.m.r.-Daten geklärt werden, wobei alle Ringprotonen des Trisaccharids im 250 MHz-Spektrum eindeutig zugeordnet werden konnten. Die Zuordnung der ¹³C-n.m.r.-Daten erfolgte anhand der von Lönngren *et al.*^{20–22} angegebenen Werte.

Für die Blocksynthese des Tetrasaccharids **15** aus den Bausteinen **7** und **13** ist das entscheidende Problem die Regioselektivität, mit der das Trichloracetimidat mit dem 4,6-*O*-ungeschützten Disaccharid reagiert. Es ist ein deutlicher Reaktivitätsunterschied zwischen der OH-6, primären Hydroxylgruppe und der OH-4, sekundären, axialen Hydroxylgruppe des Azidodesoxygalactosids **7** zu erwarten. Dies wurde auch tatsächlich gefunden. Die Umsetzung von **7** mit **13** in Gegenwart von Diethylether·Bortrifluorid als Lewisäure-Katalysator liefert ausschließlich das β -D-(1→6)-verknüpfte Tetrasaccharid **15**, das nach kurzer Reaktionszeit in hoher Ausbeute isoliert wird.



- 15 $R^1 = H, R^2 = NPhth$
 16 $R^1 = Cl_3CCO, R^2 = NPhth$
 17 $R^1 = Ac, R^2 = NHAc$



Phth = Phthaloyl

Bu^tMe₂Si = *tert*-Butyldimethylsilyl

Der Reaktivitätsunterschied der beiden Hydroxylgruppen in **7** ist für eine regioselektive Glycosidierung hinreichend. Ähnliche Ergebnisse wurden inzwischen auch von Abbas *et al.*^{23,24} publiziert, die bei der Synthese des Trisaccharids β -D-GlcpNAc-(1 \rightarrow 3)-[β -D-GlcpNAc-(1 \rightarrow 6)]- α -D-GalpNAc-(1 \rightarrow O)-Bzl ebenfalls regioselektiv 4,6-*O*-ungeschützte 2-Amino-2-desoxy-D-galactosebausteine in OH-6 glycosidieren konnten.

Die Struktur von **15** läßt sich zwar aus den n.m.r.-Spektren zuordnen, eine eindeutige Aussage über die Verknüpfung der beiden Disaccharidbausteine in OH-4 bzw. -6 kann aber weder aus dem ¹H- noch aus dem ¹³C-n.m.r.-Spektrum getroffen werden. Beim HD-Austausch mit (²H₄)Methanol verschwindet im ¹H-n.m.r.-

Spektrum das OH-Signal bei 2.62 p.p.m. Das H-4 Signal liegt unter einem Multiplett bei δ 4, so daß dessen Multiplizität nicht erkannt werden kann. Der Beweis für die Verknüpfung von **15** wurde schließlich chemisch durchgeführt. Die freie Hydroxylgruppe von **15** wurde trichloracetyliert und das Tetrasaccharid **16** in hoher Ausbeute isoliert. Das 250 MHz-¹H-n.m.r.-Spektrum von **16** zeigt bei δ 5.29 ein Dublett von Dublett, das durch Doppelresonanzversuche eindeutig als das H-4-Signal identifiziert werden konnte. Dieses Signal wurde damit im Vergleich zu **15** erwartungsgemäß um \sim 1.2 p.p.m. zu tieferem Feld verschoben. Die Struktur des Tetrasaccharids **15** ist damit gesichert.

Zur Darstellung des entblockierten Tetrasaccharids **20** wurden zunächst die *N*-Phthaloylgruppen von **15** nach dem Verfahren von Garegg und Norberg²⁵ mit Hydrazinhydrat abgespalten, anschließend acetyliert, und das Tetrasaccharid **17** in guter Ausbeute kristallin isoliert. Die 2-Azidoschutzgruppe wurde während der gesamten Synthese mitgeführt, um die Möglichkeit einer späteren α -Verknüpfung am anomeren Zentrum—insbesondere mit Serin—offenzuhalten. Im nächsten Schritt wurde deshalb die *tert*-Butyldimethylsilyl-Schutzgruppe abgespalten. Die Umsetzung von **17** mit Tetrabutylammoniumfluorid in Oxolan bei Raumtemperatur ergab das 1-*O*-Acetyl-geschützte Tetrasaccharid **18** als Anomerengemisch (α : β =1:5). Die Bildung von **18** resultiert aus den basischen Eigenschaften des Tetrabutylammoniumfluorids, die zu einer Acetylgruppenwanderung führt. Zum sicheren Nachweis, daß es sich bei **18** tatsächlich um die peracetylierte Verbindung handelt, wurde **18** mit Pyridin-Acetanhydrid versetzt. Das nach einer Reaktionszeit von 18 h isolierte Produkt war mit **18** identisch. Die Bildung von **18** verläuft folglich auch über intermolekulare Acetylgruppen-Wanderungen. Zur vollständigen Entblockierung von **18** wurde zunächst die Azidogruppe mit Nickel(II)chlorid-Natriumborhydrid in gepufferter ethanolischer Lösung reduziert²⁶. Nach anschließender Behandlung mit Acetanhydrid wird das *N*-acetylierte Tetrasaccharid **19** isoliert. Die Charakterisierung von **19** ist im 250 MHz-¹H-n.m.r.-Spektrum anhand der H-1-Signale nach Deuteriumaustausch der NH-Gruppen möglich. Zur Abspaltung der *O*-Acetylgruppen von **19** wurde mit Kaliumcarbonat in Methanol bei 4° behandelt, da unter diesen Bedingungen keine Epimerisierung der reduzierenden 2-Amino-2-desoxy-D-glucose-Einheit zum *Manno*-Isomeren eintritt²⁷. Nach einer Reaktionszeit von 48 h wurde zunächst über sauren Ionenaustauscher chromatographiert und anschließend durch Flüssigkeitschromatographie gereinigt. Im 250 MHz-¹H-n.m.r.-Spektrum von **20** kann das H-1-Signal des α -D-Anomeren identifiziert werden. Bei δ 4.46 erscheint ein weiteres Dublett, das nach den 500-MHz-¹H-n.m.r.-Untersuchungen von Vliegenthart *et al.*^{7,28} dem D-Galactose-H-1³ zugeordnet werden kann. Als zusätzlicher Strukturbeweis wurde **20** durch Acetylierung in das peracetylierte Tetrasaccharid **19** zurückgeführt. Nach einer Reaktionszeit von 24 h wurde ein Produkt isoliert, das in allen physikalischen Daten mit **19** identisch war (α : β wie 1:2).

Das Tetrasaccharid **20** wurde ohne die Verwendung von Glycosylhalogeniden

und Schwermetallsalzen ausschließlich über die Aktivierung mit Trichloracetimidaten synthetisiert. *N*-Phthaloyl-geschützte Imidate konnten erfolgreich zur Knüpfung von β -D-glycosidischen Bindungen eingesetzt werden.

EXPERIMENTELLER TEIL

Allgemeine Methoden. — Schmelzpunkte (unkorrigiert): Metallblock. Optische Drehungen: Perkin–Elmer-Polarimeter 241 MC in 1 dm-Küvetten. I.r. Spektren: Perkin–Elmer 299 Spektrometer. $^1\text{H-N.m.r.}$ -Spektren: Bruker WP 80 CW und Bruker WM 250 Cryospec Spektrometern, innerer Standard Tetramethylsilan. $^{13}\text{C-N.m.r.}$ -Spektren: Bruker WM 250 Cryospec (62.97 MHz) Spektrometer. Alle Reaktionen wurden dünnenschichtchromatographisch an Kieselgelfertigfolien (Macherey–Nagel u. Co.; “Polygram Sil G UV 254”) verfolgt. Fließmittel sind bei den einzelnen Verbindungen angegeben. Detektion erfolgte durch Bestrahlen mit U.V.-Licht (254 nm) oder durch Besprühen mit 10% H_2SO_4 bzw. mit 2% ethanolischer Naphthoresorcinlösung–2M H_2SO_4 (1:1) und anschließender Wärmebehandlung (110°). Säulenchromatographie: Kieselgel 60 (E. Macherey–Nagel u. Co.; Korngröße 0.05–0.2 mm). Mitteldruckchromatographie (0.5–1 MPa): Kieselgel LiChroprep Si 60 (E. Merck, D-2600 Darmstadt; Korngröße 0.063–0.125 mm).

Darstellung der Trichloracetimide. — Alle Imidatsynthesen werden unter Feuchtigkeitsausschluß in absoluten Lösungsmitteln durchgeführt.

Natriumhydrid als Base. Es wird handelsübliches NaH (99%) der Firma EGA verwendet (D-7924 Steinheim, F.R.G.). Die OH-1-freie Komponente wird gelöst, mit Trichloracetonitril und NaH versetzt und bei Raumtemp. stark gerührt. Zur Beendigung der Reaktion erfolgt Filtration über eine mit Kieselgur belegte Glasfritte. Danach wird eingengt und kieselgelfiltriert. Anschließend erfolgt Reinigung durch Chromatographie oder Kristallisation.

Kaliumcarbonat als Base. K_2CO_3 wird mehrere Stunden geglüht und unter Feuchtigkeitsausschluß aufbewahrt. Die Reaktion wird wie oben beschrieben durchgeführt. Zur Beendigung wird zentrifugiert (Laborzentrifuge) und anschließend der Überstand abdekantiert. Das Sediment wird in wenig Lösungsmittel aufgeschlämmt und erneut zentrifugiert. Nach Einengen wird kieselgelfiltriert und anschließend durch Chromatographie oder Kristallisation gereinigt.

Glycosidsynthesen. — Alle Glycosidsynthesen werden unter einer trockenen Stickstoffatmosphäre in absoluten Lösungsmitteln durchgeführt. Das Imidat und die Hydroxylkomponente werden gelöst und im Dreimantelgefäß auf die entsprechende Reaktionstemperatur gebracht. Dann wird eine verdünnte Lösung des Lewissäurekatalysators unter starkem Rühren langsam zugegeben. Insbesondere bei tiefen Temperaturen tritt oft ein weißer Niederschlag von Trichloracetamid auf, der auf das Ende der Reaktion hinweist. Zur Beendigung der Reaktion wird in der Kälte zunächst festes NaHCO_3 und anschließend wässrige NaHCO_3 -Lösung zugegeben. Anschließend wird mit Wasser und Dichlormethan extrahiert, über Na_2SO_4

getrocknet und eingengt. Danach erfolgt Reinigung durch Chromatographie oder Kristallisation.

*3,4,6-Tri-O-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido-D-glucopyranose*¹⁶ (**2**). — Verbindung **1** (2.0 g, 4.19 mmol) wird unter starkem Rühren bei 0° in Benzylamin (5 mL, 45.76 mmol) gelöst. Nach 3 min wird mit eiskaltem Ether (50 mL) verdünnt und sofort mit 2M HCl (2 × 50 mL) extrahiert. Die organische Phase wird mit gesättigter NaHCO₃-Lösung (50 mL) neutralisiert, getrocknet (Na₂SO₄) und eingengt. Der erhaltene weiße Schaum wird zur Abtrennung von restlichem Edukt an Kieselgel chromatographiert [Petrolether (40–70°)–Ethylacetat 2:3, v/v]; Ausb. 630 mg (35%), amorphe Substanz; D.c. [Petrolether (40–70°)–Ethylacetat 1:1, v/v] R_F 0.31; die isolierte Substanz ist mit einer nach Lit.¹⁶ hergestellten Probe identisch.

O-(3,4,6-Tri-O-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-D-glucopyranosyl)trichloracetimidat (**3**). — Eine Lösung von **2** (4.5 g, 10.34 mmol) und Trichloracetonitril (6 mL, 59.82 mmol) in Dichlormethan (80 mL) wird mit NaH (200 mg, 8.70 mmol) nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift umgesetzt. Nach 10 min wird aufgearbeitet und anschließend kieselgelfiltriert [Petrolether (40–70°)–Ethylacetat 1:1, v/v]. Nach Einengen wird ein fester, weißer Schaum isoliert, der aus Ether kristallisiert werden kann; Ausb. 4.40 g (73%), Schmp. 146°, $[\alpha]_{578}^{25} +76^\circ$ (c 1.0, Chloroform); D.c. [Petrolether (40–70°)–Ethylacetat, 1:1, v/v] R_F 0.62; ν_{\max}^{KBr} 3320 (NH), 1680 (C=N) cm⁻¹; ¹H-n.m.r. (250 MHz, CDCl₃): δ 8.67 (s, 1 H, NH); 7.9–7.7 (2 m, 4 H, Arom.), 6.63 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 8.8 Hz, 1-H), 5.92 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 9.2 Hz, H-3), 5.29 (dd, 1 H, $J_{4,5}$ 9.2 Hz, H-4), 4.64 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 10.6 Hz, H-2), 4.40 (dd, 1 H, $J_{5,6a}$ 4.4, $J_{6a,6b}$ 12.5 Hz, H-6a), 4.20 (dd, 1 H, $J_{5,6b}$ 1.8 Hz, H-6b), 4.08 (ddd, 1 H, H-5), 2.13, 2.06, 1.90 (3 s, 9 H, 3 OAc).

Anal. Ber. für C₂₂H₂₁Cl₃N₂O₁₀: C, 45.58; H, 3.65; N, 4.83. Gef. C, 45.61; H, 3.80; N, 4.74.

Methyl-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-D-glucopyranosid (**4**). — Eine Lösung von **3** (320 mg, 0.55 mmol) und wasserfreiem Methanol (0.1 mL, 2.48 mmol) in absol. Dichlormethan (15 mL) wird bei –30° nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift mit einer 0.1M Diethylether·Bortrifluorid-Lösung (1 mL, 0.1 mmol) umgesetzt. Nach 1 h wird aufgearbeitet und anschließend an Kieselgel [Laufmittel: Petrolether (40–70°)–Methanol 1:1, v/v] chromatographiert. Der erhaltene feste, weiße Schaum kann aus Ethanol kristallisiert werden; Ausb. 162 mg (65%), Schmp. 160°, Lit.¹⁶ 156–157°; $[\alpha]_{578}^{25} +44^\circ$ (c 1.0, Chloroform), Lit.¹⁶ +46° (c 1.0, Chloroform); D.c. [Petrolether (40–70°)–Ethylacetat 1:1, v/v] R_F 0.48; ¹H-n.m.r. (250 MHz, CDCl₃): δ 7.9, 7.7 (2 m, 4 H, Arom.), 5.77 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 9.2 Hz, H-3), 5.30 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 8.5 Hz, H-1), 5.17 (dd, 1 H, $J_{4,5}$ 9.2 Hz, H-4), 4.4–4.1 (m, 3 H, H-2,6a,6b), 3.87 (ddd, 1 H, H-5), 3.44 (s, 3 H, OCH₃), 2.11, 2.03, 1.85 (3 s, 9 H, 3 OAc).

tert-Butyldimethylsilyl-O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-D-glucopyranosyl)-(1→3)-2-azido-4,6-O-benzyliden-2-desoxy-β-D-galactopyranosid (**6**). — Eine Lösung von **3** (3.0 g, 5.17 mmol) und **5** (2.0 g, 4.91 mmol) in absol.

Dichlormethan (50 mL) wird bei -20° nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift mit einer 0.1M Diethylether · Bortrifluorid-Lösung (1 mL, 0.1 mmol) umgesetzt. Nach 30 min wird aufgearbeitet und anschließend an Kieselgel (Laufmittel: Toluol-Ethylacetat 1:1, v/v) chromatographiert. Die Hauptfraktion (R_F 0.63) wird aus Methanol kristallisiert; Ausb. 2.8 g (69%); Schmp. 238° (Zers.), $[\alpha]_{578}^{25} -22^{\circ}$ (c 1.0, Chloroform); D.c. [Petrolether (40–70°)–Ethylacetat 1:1, v/v] R_F 0.52; ν_{\max}^{KBr} 2100 (N_3) cm^{-1} ; $^1\text{H-n.m.r.}$ (250 MHz, CDCl_3): δ 7.8–7.3 (4 m, 9 H, Arom.), 5.82 (dd, 1 H, $J_{3',4'}$ 9.3 Hz, H-3'), 5.56 (d, 1 H, $J_{1',2'}$ 8.5 Hz, H-1'), 5.53 (s, 1 H, PhCH), 5.20 (dd, 1 H, $J_{4',5'}$ 10.1 Hz, H-4'), 4.44 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 7.6 Hz, H-1), 4.4–4.3 (m, 2 H, H-2', 6a'), 4.2–4.0 (m, 4 H, H-4, 6a, 6b, 6b'), 3.86 (m, 1 H, H-5'), 3.51 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 10.3 Hz, H-2'), 3.3 (m, 2 H, H-3', 5'), 2.07, 2.05, 1.89 (3 s, 9 H, 3 OAc), 0.84 (s, 9 H, 3 CH_3), 0.09, 0.07 (2 s, 6 H, 2 SiCH_3); $^{13}\text{C-n.m.r.}$ (CDCl_3): δ 99.83 (C-1'), 97.51 (C-1).

Anal. Ber. für $\text{C}_{39}\text{H}_{48}\text{N}_4\text{O}_{14}\text{Si}$: C, 56.78; H, 5.87; N, 6.79. Gef. C, 56.65; H, 5.68; N, 6.66.

tert-Butyldimethylsilyl-O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-2-azido-2-desoxy- β -D-galactopyranosid (7). — Eine Lösung von **6** (540 mg, 0.65 mmol) in Dichlormethan (15 mL) wird mit 60% wässriger Trifluoressigsäure (0.5 mL) versetzt und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 6 h gibt man gesättigte NaHCO_3 -Lösung (50 mL) zu und extrahiert mit Dichlormethan (2×50 mL). Nach Trocknen (MgSO_4) und Einengen bleibt ein weißer Feststoff, der aus Ether umkristallisiert werden kann. Nach Einengen der Mutterlauge und Chromatographie an Kieselgel [Laufmittel: Petrolether (40–70°)–Ethylacetat 1:2, v/v] erhält man insgesamt 392 mg (88%) von **7** als farblose Kristalle; Schmp. 203° , $[\alpha]_{578}^{25} +12^{\circ}$ (c 0.5, Chloroform); D.c. [Petrolether (40–70°)–Ethylacetat 1:1, v/v] R_F 0.21; ν_{\max}^{KBr} 3400 (OH), 2105 (N_3) cm^{-1} ; $^1\text{H-n.m.r.}$ (250 MHz, CDCl_3): δ 7.9, 7.7 (2 m, 4 H, Arom.), 5.80 (dd, 1 H, $J_{3',4'}$ 9.2, $J_{2',3'}$ 10.7 Hz, H-3'), 5.48 (d, 1 H, $J_{1',2'}$ 8.5 Hz, H-1'), 5.13 (dd, 1 H, $J_{4',5'}$ 10.1 Hz, H-4'), 4.36 (dd, 1 H, H-2'), 4.34 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 7.3 Hz, H-1), 4.22 (m, 2 H, H-6a', 6b'), 3.97 (s, 1 H, H-4), 3.90, 3.75 (2 m, 3 H, H-5', 6a, 6b), 3.40 (m, 1 H, H-5), 3.33 (dd, 1 H, $J_{2',3'}$ 10.4 Hz, H-2), 3.23 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 3.1 Hz, H-3), 2.51, 2.20 (2 s, 2 H, 2 OH), 2.08, 2.02, 1.87 (3 s, 9 H, 3 OAc), 0.81 (s, 9 H, 3 CH_3), 0.04, 0.02 (2 s, 6 H, 2 SiCH_3); $^{13}\text{C-n.m.r.}$ (CDCl_3): δ 99.45 (C-1), 97.29 (C-1').

Anal. Ber. für $\text{C}_{32}\text{H}_{44}\text{N}_4\text{O}_{14}\text{Si}$: C, 52.17; H, 6.02; N, 7.60. Gef. C, 52.00; H, 5.88; N, 7.47.

tert-Butyldimethylsilyl-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-3,6-di-O-acetyl-2-azido-2-desoxy- β -D-glucopyranosid (9). — Eine Lösung von **8** (Zit. 1; 6.2 g, 10.0 mmol) in absol. *N,N*-Dimethylformamid (50 mL) wird mit *tert*-Butyldimethylchlorsilan (3.01 g, 20.0 mmol) und Imidazol (2.72 g, 40.0 mmol) versetzt und bei Raumtemperatur gerührt. Nach 4 h wird Wasser (100 mL) zugegeben und anschließend mit Dichlormethan (2×100 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte werden mit Wasser (50 mL) gewaschen, getrocknet (Na_2SO_4) und eingengt. Das verbleibende gelbe Öl wird in Ether aufgenommen. Nach kur-

zer Zeit scheidet sich eine schwach gelbe, amorphe Masse ab. Nach Filtration wird die Mutterlauge eingengt und an Kieselgel (Laufmittel: Toluol–Ethylacetat 1:1, v/v) chromatographiert. Die Fraktion mit R_F 0.62 und die aus Ether erhaltene Masse werden anschließend aus Methanol umkristallisiert; Ausb. 4.6 g (63%); Schmp. 99–102°, $[\alpha]_{578}^{25} -4^\circ$ (c 1.0, Chloroform); D.c. (Toluol–Ethylacetat 1:1, v/v) R_F 0.62; ν_{\max}^{KBr} 2115 (N_3) cm^{-1} ; $^1\text{H-n.m.r.}$ (250 MHz, CDCl_3): δ 5.35 (dd, 1 H, $J_{3',4'}$ 3.4 Hz, H-4'), 5.09 (dd, 1 H, $J_{2',3'}$ 10.3 Hz, H-2'), 5.0–4.9 (m, 2 H, H-3,3'), 4.60 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 7.6 Hz, H-1), 4.44 (d, 1 H, $J_{1',2'}$ 7.9 Hz, H-1'), 4.43 (dd, 1 H, H-6a), 4.2–4.0 (m, 3 H, H-6b,6a',6b'), 3.87 (ddd, 1 H, $J_{5',6'}$ 6.2 Hz, H-5'), 3.7–3.5 (m, 2 H, H-4,5), 3.33 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 10.4 Hz, H-2), 2.16, 2.12, 2.09, 2.08, 2.04, 1.96 (6 s, 18 H, 6 OAc), 0.92 (s, 9 H, 3 CH_3), 0.15, 0.14 (2 s, 6 H, 2 SiCH_3); $^{13}\text{C-n.m.r.}$ (CDCl_3): δ 96.91 (C-1), 100.88 (C-1').

Anal. Ber. für $\text{C}_{30}\text{H}_{47}\text{N}_3\text{O}_{16}\text{Si}$: C, 49.10; H, 6.46; N, 5.73. Gef. C, 49.13; H, 6.41; N, 5.49.

tert-Butyldimethylsilyl-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-3,6-di-O-acetyl-2-amino-2-desoxy- β -D-glucopyranosid (10). — Eine Lösung von **9** (3.7 g, 5.04 mmol) in absol. Ethylacetat (50 mL) und absol. Methanol (50 mL) wird in Gegenwart von PdSchwarz-Katalysator (800 mg) 48 h lang bei 0.4 MPa hydriert. Nach Filtration und Einengen werden 3.3 g (92%) eines amorphen Schaums isoliert; D.c. (Toluol–Ethylacetat 1:1, v/v) R_F 0.1 und 0.28; ν_{\max}^{KBr} 3510, 3450 (NH_2), 1720 ($\text{C}=\text{O}$) cm^{-1} ; $^1\text{H-n.m.r.}$ (250 MHz, CDCl_3): δ 5.33 (dd, 1 H, H-4'), 5.09 (dd, 1 H, $J_{2',3'}$ 10.4, $J_{1',2'}$ 8.0 Hz, H-2'), 4.95 (m, 2 H, H-3,3'), 4.5–4.4 (m, 3 H, H-1,6a,1'), 4.2–4.0 (m, 3 H, H-6b,6a,6b'), 3.86 (ddd, 1 H, H-5'), 3.7–3.6 (m, 2 H, H-4,5), 2.77 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 10.7, $J_{1,2}$ 7.9 Hz, H-2), 2.14, 2.11, 2.08, 2.05, 2.03, 1.95 (6 s, 2 OH, 6 OAc und NH_2), 0.89 (s, 9 H, 3 CH_3), 0.11 (s, 6 H, 2 SiCH_3).

tert-Butyldimethylsilyl-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-3,6-di-O-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -D-glucopyranosid (11). — Eine Lösung von **10** (3.3 g, 4.66 mmol) in Ethanol (120 mL) wird mit Phthalsäureanhydrid (4.0 g, 27.0 mmol) und einer wässrigen K_2CO_3 -Lösung (4.0 g, 28.9 mmol) in Wasser (15 mL) versetzt und 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird die heiße Suspension zur Trockne eingengt und im Exsikkator (CaCl_2) getrocknet. Danach wird in Pyridin–Acetanhydrid aufgenommen und 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Mischung wird auf Eiswasser (400 mL) gegeben, mit 2M HCl auf pH 1 angesäuert und mit Dichlormethan (2×150 mL) extrahiert. Die organische Phase wird mit Wasser (200 mL) gewaschen, mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung (300 mL) neutralisiert, erneut mit Wasser (100 mL) gewaschen, getrocknet (Na_2SO_4) und eingengt. Es werden 3.7 g (79%) eines Öls isoliert, das aus Ethylacetat–Petrolether (40–70°) kristallisiert; Schmp. 197°, $[\alpha]_{578}^{25} -43^\circ$ (c 1.0, Chloroform); D.c. [Petrolether (40–70°)–Ethylacetat 1:1, v/v] R_F 0.42; ν_{\max}^{KBr} 1760, 1720 ($\text{C}=\text{N}$) cm^{-1} ; $^1\text{H-n.m.r.}$ (250 MHz, CDCl_3): δ 7.9, 7.8 (2 m, 4 H, Arom.), 5.36 (m, 2 H, H-3,4'), 5.13 (dd, 1 H, $J_{2',3'}$ 10.4 Hz, H-2'), 4.97 (dd, 1 H, $J_{3',4'}$ 3.4 Hz, H-3'), 4.88 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 7.3 Hz, H-1), 4.51 (dd, 1 H, $J_{5',6a'}$ 1.8 Hz, H-6a'), 4.50 (d, 1 H, $J_{1',2'}$ 7.9 Hz, H-1'), 4.2–4.1 (m, 3 H, H-2,6a,6b'), 3.90 (ddd, 1 H, H-5'), 3.8–3.7 (m, 2

H, H-5,6b), 2.14, 2.13, 2.08, 2.07, 1.97, 1.92 (6 s, 18 H, 6 OAc), 0.74 (s, 9 H, 3 OH₃), 0.07, 0.00 (2 s, 6 H, 2 SiCH₃).

Anal. Ber. für C₃₈H₅₁NO₁₈Si: C, 54.47; H, 6.14; N, 1.67. Gef. C, 54.64; H, 6.09; N, 1.73.

O-(2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-(1→4)-3,6-di-O-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-D-glucopyranose (**12**). — Zu einer auf -30° gekühlten Lösung von **11** (1.13 g, 1.35 mmol) in absol. Oxolan (25 mL) wird eine Lösung von Tetrabutylammoniumfluorid (430 mg, 1.36 mmol) in Oxolan (5 mL) während 30 min zugetropft. Es wird noch 2 h bei -30° gerührt, dann wird Wasser (50 mL) zugegeben und mit Dichlormethan (2 × 50 mL) extrahiert. Die organische Phase wird getrocknet (Na₂SO₄), eingengt und das verbleibende Öl durch Mitteldruckchromatographie an Kieselgel [Laufmittel: Petrolether (40–70°)–Ethylacetat 1:2, v/v] gereinigt. Es werden 860 mg (88%) **12** als amorpher Feststoff isoliert; [α]_D²⁵₅₇₈ +39° (c 1.0, Chloroform, nach 2 h); D.c. [Petrolether (40–70°)–Ethylacetat 1:2, v/v] R_F 0.30; ν_{max}^{KBr} 3420 (OH) cm⁻¹; ¹H-n.m.r. (250 MHz, CDCl₃; β-Anomer): δ 8.9, 8.7 (2 m, 4 H, Arom.), 5.79 (dd, 1 H, J_{3,4} 8.2 Hz, H-3), 5.66 (dd, 1 H, J_{1,2} 8.2 Hz, H-1), 5.34 (dd, 1 H, H-4'), 5.13 (dd, 1 H, J_{1',2'} 7.6, J_{2',3'} 10.4 Hz, H-2'), 4.96 (dd, 1 H, J_{3',4'} 3.4 Hz, H-3'), 4.55 (m, 2 H, H-1',6a'), 4.16 (dd, 1 H, J_{2,3} 10.7 Hz, H-2), 4.17–4.00 (m, 3 H, H-4,6a,6b'), 3.9 (m, 3 H, H-5,6b,5'), 3.40 (d, 1 H, J_{1,OH} 6.7 Hz, OH), 2.15, 2.14, 2.07, 2.04, 1.97, 1.91 (6 s, 18 H, 6 OAc).

O-[(2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-(1→4)-3,6-di-O-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-D-glucopyranosyl]trichloracetimidat (**13**). — Eine Lösung von **12** (937 mg, 1.29 mmol) und Trichloracetonitril (1.2 mL, 11.97 mmol) in Dichlormethan (15 mL) wird mit NaH (20 mg, 0.83 mmol) nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift umgesetzt. Nach 5 min wird aufgearbeitet. Nach Kieselgelfiltration [Laufmittel: Petrolether (40–70°)–Ethylacetat 1:2, v/v] erhält man ein farbloses Öl, das aus Ethylacetat–Petrolether (40–70°) kristallisiert werden kann. Aus der Mutterlauge wird nach Einengen und Mitteldruckchromatographie an Kieselgel [Laufmittel: Petrolether (40–70°)–Ethylacetat 2:3, v/v] weiteres Produkt isoliert; Ausb. 814 mg (72%); Schmp. 128°, [α]_D²⁵₅₇₈ +43° (c 0.5, Chloroform); D.c. [Petrolether (40–70°)–Ethylacetat 1:2, v/v] R_F 0.58; ν_{max}^{KBr} 3320 (NH), 1680 (C=N) cm⁻¹; ¹H-n.m.r. (250 MHz, CDCl₃): δ 8.65 (s, 1 H, NH), 7.9, 7.7 (2 s, 4 H, Arom.), 6.62 (d, 1 H, J_{1,2} 8.9 Hz, H-1), 5.88 (m, 1 H, H-3), 5.35 (dd, 1 H, H-4'), 5.15 (dd, 1 H, J_{1',2'} 7.9, J_{2',3'} 10.4 Hz, H-2'), 4.96 (dd, 1 H, J_{3',4'} 3.4 Hz, H-3'), 4.6–4.5 (m, 3 H, H-2,1',6a'), 4.23 (m, 1 H, H-6b'), 4.1–3.9 (m, 4 H, H-4,5,6a,6b), 3.99 (m, 1 H, H-5'), 2.16, 2.15, 2.08, 2.07, 1.97, 1.94 (6 s, 18 H, 6 OAc).

Anal. Ber. für C₃₄H₃₇Cl₃N₂O₁₈: C, 47.04; H, 4.30; N, 3.23. Gef. C, 47.25; H, 4.37; N, 3.00.

tert-Butyldimethylsilyl-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-(1→4)-O-(3,6-di-O-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido-β-D-glucopyranosyl)-(1→3)-2-azido-4,6-O-benzyliden-2-desoxy-β-D-glucopyranosid (**14**). — Eine Lösung von **13** (200 mg, 0.23 mmol) und **5** (80 mg, 0.20 mmol) werden nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift bei -20° mit einer 0.1M Lösung von Diethylether·Bortrifluorid in

Dichlormethan (0.5 mL, 0.05 mmol) umgesetzt. Nach 1 h wird aufgearbeitet und das nach Einengen erhaltene farblose Öl durch Mitteldruckchromatographie an Kieselgel [Laufmittel: Petrolether (40–70°)–Ethylacetat 1:1, v/v] gereinigt; amorpher Feststoff (145 mg, 67%); $[\alpha]_{578}^{25} +18^\circ$ (*c* 0.5, Chloroform); D.c. [Petrolether (40–70°)–Ethylacetat 1:2, v/v] R_F 0.55; ν_{\max}^{KBr} 2115 (N_3) cm^{-1} ; $^1\text{H-n.m.r.}$ (250 MHz, CDCl_3): δ 7.9–7.4 (m, 9 H, Arom.), 5.77 (dd, 1 H, $J_{3',4'}$ 8.5 Hz, H-3'), 5.53 (s, 1 H, PhCH), 5.52 (d, 1 H, $J_{1',2'}$ 8.5 Hz, H-1'), 5.33 (dd, 1 H, H-4''), 5.15 (dd, 1 H, $J_{2',3'}$ 10.4 Hz, H-2''), 4.98 (dd, 1 H, $J_{3'',4''}$ 3.4 Hz, H-3''), 4.81 (dd, 1 H, $J_{5',6a'}$ 1.6 Hz, H-6a'), 4.60 (d, 1 H, $J_{1'',2''}$ 7.6 Hz, H-1''), 4.42 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 7.6 Hz, H-1), 4.28 (dd, 1 H, $J_{2',3'}$ 10.7 Hz, H-2'), 4.2 (m, 2 H, H-4,6a''), 4.1–4.0 (m, 4 H, H-6a,6b,6b',6b''), 3.87 (m, 2 H, H-4',5''), 3.75 (m, 1 H, H-5'), 3.49 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 10.7 Hz, H-2), 3.29 (m, 1 H, H-5), 3.25 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 3.4 Hz, H-3), 2.15, 2.07, 2.03, 1.97, 1.93 (5 s, 18 H, 6 OAc), 0.84 (s, 9 H, 3 CH_3), 0.09, 0.06 (2 s, 6 H, 2 SiCH_3); $^{13}\text{C-n.m.r.}$ (CDCl_3): δ 100.94 (PhCH), 100.74 (C-1''), 99.80 (C-1'), 97.38 (C-1).

Anal. Ber. für $\text{C}_{51}\text{H}_{64}\text{N}_4\text{O}_{22}\text{Si}$: C, 55.03; H, 5.80; N, 5.03. Gef. C, 54.79; N, 5.65; N, 5.01.

tert-Butyldimethylsilyl-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-(1→4)-O-(3,6-di-O-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -D-glucopyranosyl)-(1→6)-O-[(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -D-glucopyranosyl)-(1→3)]-2-azido-2-desoxy- β -D-galactopyranosid (**15**). — Eine Lösung von **13** (590 mg, 0.68 mmol) und **7** (580 mg, 0.79 mmol) in Dichlormethan (15 mL) wird bei -20° nach der allgemeinen Arbeitsvorschrift mit einer 0.1M Lösung von Diethylether · Bortrifluorid in Dichlormethan (1 mL, 0.1 mmol) umgesetzt. Nach 1 h wird aufgearbeitet. Nach Einengen isoliert man einen festen, weißen Schaum, der durch Mitteldruckchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Toluol–Ethylacetat 11:10, v/v) gereinigt wird. Danach kann **15** aus Ether–Petrolether (40–70°) kristallisiert werden (Ausb. 692 mg, 71%); Schmp. 168–170°, $[\alpha]_{578}^{25} +10^\circ$ (*c* 0.5, Chloroform); D.c. (Toluol–Aceton 2:1, v/v) R_F 0.46; ν_{\max}^{KBr} 3500 (OH), 2110 (N_3) cm^{-1} ; $^1\text{H-n.m.r.}$ (250 MHz, CDCl_3): δ 8.0–7.7 (m, 8 H, Arom.), 5.77 (dd, 1 H, $J_{3^4,4^4}$ 9.2 Hz, H-3⁴), 5.67 (dd, 1 H, $J_{3^2,4^2}$ 8.2 Hz, H-3²), 5.43 (d, 1 H, $J_{1^2,2^2}$ 8.2 Hz, H-1²), 5.35 (d, 1 H, $J_{1^4,2^4}$ 8.5 Hz, H-1⁴), 5.33 (dd, 1 H, $J_{4^3,5^3}$ 0.9 Hz, H-4³), 5.13 (dd, 1 H, $J_{2^3,3^3}$ 10.4 Hz, H-2³), 5.10 (dd, 1 H, $J_{4^4,5^4}$ 10.1 Hz, H-4⁴), 4.97 (dd, 1 H, $J_{3^3,4^3}$ 3.4 Hz, H-3³), 4.55 (d, 1 H, $J_{1^3,2^3}$ 7.9 Hz, H-1³), 4.54 (m, 1 H, H-6¹), 4.33 (dd, 1 H, $J_{2^4,3^4}$ 10.7 Hz, H-2⁴), 4.23 (d, 1 H, $J_{1^1,2^1}$ 7.6 Hz, H-1¹), 4.16 (dd, 1 H, $J_{2^2,3^2}$ 10.4 Hz, H-2²), 3.85 (m, 1 H, H-4²), 3.38 (m, 1 H, H-5¹), 3.26 (dd, 1 H, $J_{2^1,3^1}$ 10.7 Hz, H-2), 3.11 (dd, 1 H, $J_{3^1,4^1}$ 3.4 Hz, H-3¹), 2.62 (d, 1 H, $J_{4^1,\text{OH}}$ 2.7 Hz, OH), 2.19, 2.14, 2.12, 2.08, 2.06, 2.04, 1.97, 1.89, 1.88 (9 s, 27 H, 9 OAc), 0.70 (s, 9 H, 3 CH_3), -0.14 , -0.22 (2 s, 6 H, 2 SiCH_3); $^{13}\text{C-n.m.r.}$ (CDCl_3): δ 101.65 (C-1³), 99.37 (C-1⁴), 98.05 (C-1²), 97.15 (C-1¹).

Anal. Ber. für $\text{C}_{64}\text{H}_{79}\text{N}_5\text{O}_{31}\text{Si}$: C, 53.29; H, 5.52; N, 4.86. Gef. C, 53.21; H, 5.56; N, 4.62.

tert-Butyldimethylsilyl-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-(1→4)-O-(3,6-di-O-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -D-glucopyranosyl)-(1→6)-O-

[(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)]-2-azido-2-desoxy-4-O-trichloroacetyl- β -D-galactopyranosid (**16**). — Eine Lösung von **15** (19.4 mg, 13.4 μ mol) in absol. Pyridin (2 mL) wird auf -20° gekühlt und mit Trichloroacetanhydrid (0.2 mL, 1.1 mmol) versetzt. Nach 30 min wird Eiswasser (10 mL) zugegeben und anschließend mit Dichlormethan (15 mL) extrahiert. Die organische Phase wird getrocknet (MgSO_4), eingeengt und der Rückstand durch Kieselgelfiltration [Laufmittel: Petrolether (40–70°)–Ethylacetat 1:2, v/v] gereinigt. Es wird ein farbloses Öl isoliert, das aus Ether–Petrolether (40–70°) kristallisiert werden kann; Ausb. 20 mg (94%); Schmp. 164° [α] $_{578}^{25} + 14^\circ$ (c 0.5, Chloroform); D.c. (Toluol–Aceton 2:1, v/v) R_F 0.49; ν_{\max}^{KBr} 2110 (N_3) cm^{-1} ; $^1\text{H-n.m.r.}$ (250 MHz, CDCl_3): δ 7.9–7.6 (m, 8 H, Arom.), 5.78 (dd, 1 H, $J_{2^4,3^4}$ 11.0 Hz, $J_{3^4,4^4}$ 9.2 Hz, H-3 4), 5.66 (dd, 1 H, $J_{2^2,3^2}$ 10.4 Hz, $J_{3^2,4^2}$ 7.6 Hz, H-3 2), 5.50 (d, 1 H, $J_{1^2,2^2}$ 8.5 Hz, H-1 2), 5.38 (d, 1 H, $J_{1^4,2^4}$ 8.5 Hz, H-1 4), 5.33 (dd, 1 H, H-4 3), 5.29 (dd, 1 H, H-4 1), 5.18 (dd, 1 H, $J_{4^4,5^4}$ 9.2 Hz, H-4 4), 5.13 (dd, 1 H, $J_{2^3,3^3}$ 10.4 Hz, H-2 3), 4.96 (dd, 1 H, $J_{3^3,4^3}$ 3.4 Hz, H-3 3), 4.58 (dd, 1 H, H-6 1), 4.53 (d, 1 H, $J_{1^3,2^3}$ 7.9 Hz, H-1 3), 4.32 (d, 1 H, $J_{1^1,2^1}$ 7.6 Hz, H-1 1), 3.43 (dd, 1 H, $J_{3^1,4^1}$ 3.7 Hz, H-3 1), 3.22 (dd, 1 H, $J_{2^1,3^1}$ 10.4 Hz, H-2 1), 2.15, 2.14, 2.08, 2.04, 1.97, 1.88, 1.87 (7 s, 27 H, 9 OAc), 0.69 (s, 9 H, 3 CH_3), -0.15 , -0.26 (2 s, 6 H, 2 SiCH_3).

Anal. Ber. für $\text{C}_{66}\text{H}_{78}\text{Cl}_3\text{N}_5\text{O}_{32}\text{Si}$: C, 49.93; H, 4.95; N, 4.41. Gef. C, 49.88; H, 4.99; N, 4.14.

tert-Butyldimethylsilyl-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-O-(2-acetamido-3,6-di-O-acetyl-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)-O-[(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)]-4-O-acetyl-2-azido-2-desoxy- β -D-galactopyranosid (**17**). — Eine Suspension von **15** (250 mg, 0.17 mmol) in 95% Ethanol (10 mL) wird mit 98% Hydrazinhydrat (5 mL, 100 mmol) versetzt und 15 min bei 70° gerührt. Danach wird bis zur Trockne eingeengt (Wasserstrahlvakuum, 50°) und der weiße Rückstand noch zweimal in Ethanol aufgenommen und jeweils wieder eingeengt. Zur Acetylierung wird der Rückstand in absol. Pyridin (20 mL) aufgenommen, mit Acetanhydrid (10 mL) versetzt und 20 min bei 90° gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels (Hochvakuum, 50°) wird noch zweimal mit Toluol eingeengt. Man erhält ein gelbes Öl, das aus Dichlormethan–Ether als farbloser amorpher Feststoff ausgefällt werden kann; Ausb. 146 mg (64%); [α] $_{578}^{25} - 7^\circ$ (c 0.5, Chloroform); D.c. (Chloroform–Aceton 1:2, v/v) R_F 0.64; ν_{\max}^{KBr} 3400 (NH), 2115 (N_3) cm^{-1} ; $^1\text{H-n.m.r.}$ (250 MHz, CDCl_3): δ 5.83, 5.57 (2 d, 2 H, J 9.2 Hz, NH), 5.36 (dd, 1 H, H-4 3), 5.28 (s, 1 H, H-4 1), 4.97 (dd, 1 H, $J_{2^3,3^3}$ 10.1, $J_{3^3,4^3}$ 3.1 Hz, H-3 3), 4.82, 4.57, (2 d, 2 H, J 7.3 Hz, H-1 2 , 1 4), 2.15, 2.12, 2.10, 2.07, 2.06, 2.03, 1.97, 1.96, 1.94 (9 s, 36 H, 10 OAc, 2 NAc), 0.93 (s, 9 H, 3 CH_3), 0.15 (s, 6 H, 2 SiCH_3); $^{13}\text{C-n.m.r.}$ (CDCl_3): δ 101.16 (C-1 3), 100.80 (C-1 4), 100.16 (C-1 2), 96.86 (C-1 1).

Anal. Ber. für $\text{C}_{54}\text{H}_{81}\text{N}_5\text{O}_{30}\text{Si}$: C, 49.57; H, 6.24; N, 5.35. Gef. C, 49.80; H, 6.08; N, 5.16.

O-(2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-O-(2-acetamido-3,6-di-O-acetyl-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)-O-[2-acetamido-3,4,6-tri-O-

acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl-(1→3)]-1,4-di-O-acetyl-2-azido-2-desoxy-D-galactopyranose (18). — Zu einer auf 0° gekühlten Lösung von **17** (125 mg, 95.5 μmol) in absol. Oxolan (4 mL) wird eine Lösung von Tetrabutylammonium fluorid (45 mg, 142.6 μmol) in Oxolan (1 mL) unter Rühren langsam zugetropft. Nach 1 h wird die Kühlung entfernt und die Lösung weitere 7 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend gibt man Wasser (15 mL) zu und extrahiert mit Dichlormethan (2 × 15 mL). Die organischen Extrakte werden getrocknet (MgSO₄), eingeengt, der verbleibende Feststoff durch Kieselgelfiltration (Laufmittel: Chloroform–Aceton 1:2, v/v) gereinigt und aus Dichlormethan–Petrolether (40–70°) umgefällt; Ausb. 84 mg (74%); D.c. (Chloroform–Aceton 1:2, v/v) *R_F* 0.58; ν_{\max}^{KBr} 3400 (NH), 2110 (N₃) cm⁻¹; ¹H-n.m.r. (250 MHz, CDCl₃): δ 6.34 (d, *J* 9.5 Hz, NH), 6.16 (d, *J*_{1',2'} 4.3 Hz, H-1'α), 5.79 (d, *J* 8.9 Hz, NH), 5.68 (d, *J* 9.2 Hz, NH), 5.63 (d, *J* 8.9 Hz, NH), 2.3–1.9 (m, 39 H, 11 OAc, 2 NAc); ¹³C-n.m.r. (CDCl₃): δ 101.4–100.9 (C-1², 1³, 1⁴), 93.58 (C-1¹).

Anal. Ber. für C₅₀H₆₉N₅O₃₁: C, 48.58; H, 5.63; N, 5.67. Gef. C, 48.36; H, 5.51; N, 5.60.

O-(2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-β-D-galactopyransyl)-(1→4)-O-(2-acetamido-3,5-di-O-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-(1→6)-O-[2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-(1→3)]-2-acetamido-1,4-di-O-acetyl-2-desoxy-D-galactopyranose (19). — (a) Aus **18**. Verbindung **18** (28 mg, 22.6 μmol) wird in einer ethanolischen NiCl₂ (4% NiCl₂–2% H₃BO₃)-Lösung (10 mL) aufgenommen. Dann wird eine ethanolische NaBH₄-Lösung (50 mg, 1.32 mmol in 5 mL Ethanol) so langsam zugetropft, daß die Farbe der Lösung immer wieder nach grün umschlägt. Nachdem die Lösung schwarz bleibt wird noch 45 min gerührt. Danach gibt man Acetanhydrid (5 mL) zu und rührt 4 h bei Raumtemperatur weiter. Anschließend wird auf Eiswasser (30 mL) gegeben und mit Dichlormethan (2 × 30 mL) extrahiert. Die organische Phase wird mit gesättigter NaHCO₃-Lösung (30 mL) neutralisiert, getrocknet (MgSO₄) und eingeengt. Danach erfolgt Reinigung durch Mitteldruckchromatographie an Kieselgel (Laufmittel: Chloroform–Methanol 9:1, v/v). Das erhaltene Öl kann aus Dichlormethan–Petrolether (40–70°) zu einem amorphen Feststoff gefällt werden; Ausb. 16 mg (33%).

(b) Aus **20**. Verbindung **20** (1.5 mg, 1.9 μmol) wird in absol. Pyridin (0.5 mL) und Acetanhydrid (0.5 mL) gelöst und 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird eingeengt (Hochvakuum, 50°), der Rückstand in Toluol (2 mal je 2 mL) aufgenommen und erneut eingeengt. Zur Reinigung wird aus Dichlormethan–Petrolether (40–70°) gefällt; Ausb. 1.2 mg (50%); D.c. (Chloroform–Methanol 9:1, v/v) *R_F* 0.54, 0.50; ν_{\max}^{KBr} 3400 (NH), 1750 (C=O), 1670 (Amid) cm⁻¹; ¹H-n.m.r. (250 MHz, CDCl₃): δ 6.14 (d, *J*_{1',2'} 3.7 Hz, H-1'α), 5.69 (d, *J*_{1',2'} 8.9 Hz, H-1'β), 2.3–1.9 (m, 42 H, 11 OAc, 3 NAc).

Anal. Ber. für C₅₂H₇₃N₃O₃₂: C, 49.88; H, 5.88; N, 3.35. Gef. C, 49.63; H, 5.83; N, 3.24.

O-β-D-Galactopyranosyl-(1→4)-O-(2-acetamido-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-(1→6)-O-[2-acetamido-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl-(1→3)]-D-glucose (20). —

Verbindung **19** (10 mg, 7.99 μmol) wird in absolutem Methanol (2 mL) gelöst, auf 4° gekühlt, mit K_2CO_3 (50 mg, 362 μmol) versetzt und 2 h bei 4° stark gerührt. Danach wird zentrifugiert (Laborzentrifuge), das Sediment noch zweimal mit Methanol (je 1 mL) gewaschen und erneut zentrifugiert. Nach Einengen erhält man einen weißen Feststoff, der über Amberlite IR-100 (H^+) Ionenaustauscher mit Wasser chromatographiert wird. Zur weiteren Reinigung erfolgt eine L.c.-Trennung über eine 5- μm LiChrosorb- NH_2 -Säule von Merck (Laufmittel: Acetonitril-Wasser 7:3, v/v); der Druck 18 MPa; Flow von 1.5 mL/min und die Retentionszeit 10 min; die Detektion erfolgte U.v.-spektroskopisch bei 204 nm. Nach Gefrier-trocknung wird **20** als weißer, amorpher Feststoff isoliert; Ausb. 4.4 mg (70%); $[\alpha]_{578}^{25} -5^\circ$ (c 0.2, Wasser, nach 2 h); $^1\text{H-n.m.r.}$ (250 MHz, D_2O): δ (bezogen auf (D_2O) 5.19 (d, $J_{1',2'}$ 3.7 Hz, H-1' α), 4.46 (d, 1 H, $J_{1^3,2^3}$ 7.4 Hz, H-1 3), 2.02 (s, 9 H, 3 NAc).

DANK

Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie unterstützt. G.G. dankt für ein Chemie-Fonds-Stipendium.

LITERATUR

- 1 G. GRUNDLER UND R. R. SCHMIDT, *Justus Liebigs Ann. Chem.*, (1984) im Druck.
- 2 J. MONTREUIL, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, 37 (1980) 157–223.
- 3 N. SHARON UND H. LIS, *Chem. Eng. News*, 59 (1981) 21–44.
- 4 A. SLOMIANY UND B. L. SLOMIANY, *J. Biol. Chem.*, 253 (1978) 7301–7306.
- 5 G. LAMBLIN, M. LHERMITTE, A. BOERSMA UND P. ROUSSEL, *J. Biol. Chem.*, 255 (1980) 4595–4598.
- 6 E. F. HOUNSELL, M. FUKUDA, M. E. POWELL, T. FEIZI UND S. HAKAMORI, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 92 (1980) 1143–1150.
- 7 H. VAN HALBEEK, L. DORLAND, J. F. G. Vliegenthart, W. E. HULL, G. LAMBLIN, M. LHERMITTE, A. BOERSMA UND P. ROUSSEL, *Eur. J. Biochem.*, 127 (1982) 7–12.
- 8 R. R. SCHMIDT UND J. MICHEL, *Angew. Chem.*, 92 (1980) 763; *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, 19 (1980) 731–732.
- 9 R. R. SCHMIDT UND J. MICHEL, *Angew. Chem.*, 94 (1982) 77–78; *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, 21 (1982) 77–78.
- 10 R. R. SCHMIDT UND G. GRUNDLER, *Angew. Chem.*, 95 (1983) 805–806; *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, 22 (1983) 776–777.
- 11 R. R. SCHMIDT UND G. GRUNDLER, *Angew. Chem.*, 94 (1982) 790–791; *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, 21 (1982) 781–782; *Angew. Chem. Suppl.*, (1982) 1707–1714.
- 12 R. U. LEMIEUX, T. TAKEDA UND B. Y. CHUNG, *ACS Symp. Ser.*, 39 (1976) 90–115.
- 13 H. PAULSEN, *Angew. Chem.*, 94 (1982) 184–201; *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, 21 (1982) 155–197.
- 14 T. OGAWA, K. BEPPU UND S. NAKAHAYASHI, *Carbohydr. Res.*, 93 (1981) 67–81.
- 15 H. PAULSEN UND O. LOCKHOFF, *Chem. Ber.*, 114 (1981) 3079–3101.
- 16 S. AKIJA UND T. OSAWA, *Chem. Pharm. Bull.*, 8 (1960) 583–587.
- 17 B. HELFERICH UND B. PROTZ, *Chem. Ber.*, 86 (1953) 604–612.
- 18 R. M. RATCLIFFE, D. A. BAKER UND R. U. LEMIEUX, *Carbohydr. Res.*, 93 (1981) 35–41.
- 19 R. U. LEMIEUX UND R. M. RATCLIFFE, *Ger. Offen. Pat.*, 2 816 340; *Chem. Abstr.*, 90 (1979) 87 846.
- 20 J. ARNARP UND J. LÖNNGREN, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, (1980) 1000–1002.
- 21 J. ARNARP UND J. LÖNNGREN, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, (1981) 2070–2074.