

SYNTHESE DER GLYCOPEPTIDE *O*- β -D-GALACTOPYRANOSYL-(1 $\rightarrow$ 3)-*O*-(2-ACETAMIDO-2-DESOXY- α -D-GALACTOPYRANOSYL)-(1 $\rightarrow$ 3)-L-SERIN UND -L-THREONIN*

HANS PAULSEN UND JENS-PETER HÖLCK

Institut für Organische Chemie und Biochemie der Universität Hamburg, Martin-Luther-King-Platz 6, D-2000 Hamburg 13 (Bundesrepublik Deutschland)

(Eingegangen am 20. Januar 1982; angenommen am 14. Juni 1982)

ABSTRACT

In the presence of silver carbonate–silver perchlorate and dichloromethane–toluene as solvent, 3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-azido-2-deoxy- β -D-galactopyranosyl chloride, and derivatives of L-serine and -L-threonine, gave, with high stereoselectivity, the benzyl esters of *N*-(benzyloxycarbonyl)-3-*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-azido-2-deoxy- α -D-galactopyranosyl)-L-serine (**7**) and -L-threonine (**22**), which were hydrogenolyzed and deblocked to give 3-*O*-(2-acetamido-2-deoxy- α -D-galactopyranosyl)-L-serine and -L-threonine, respectively, corresponding to the hapten of the Tn-antigen. Reduction of the azido group of **7**, followed by selective *O*-deacetylation and benzylidenation, gave a derivative that was glycosylated with 2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- α -D-galactopyranosyl bromide to yield a disaccharide. A similar sequence of reactions, starting from **22**, gave the L-threonine analog. Removal of the protecting groups from both compounds afforded *O*- β -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-*O*-(2-acetamido-2-deoxy- α -D-galactopyranosyl)-L-serine and -L-threonine, respectively, the hapten of the T-antigen.

ZUSAMMENFASSUNG

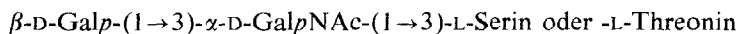
Bei Gegenwart von Silbercarbonat–Silberperchlorat lassen sich 3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-azido-2-desoxy- β -D-galactopyranosylchlorid und Derivate von L-Serin und L-Threonin in Dichlormethan–Toluol als Lösungsmittel mit hoher Selektivität zu den Benzylestern von *N*-(Benzyloxycarbonyl)-3-*O*-(3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-azido-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)-L-serin (**7**) und -L-threonin (**22**) überführen. Diese ergeben entblockiertes 3-*O*-(2-Acetamido-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)-L-serin und -L-threonin, die Haptene des Tn-Antigens darstellen. Reduktion der Azidogruppe von **7** ergibt bei nachfolgender selektiver Entacetylierung und Benzylidierung ein Derivat das mit 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- α -D-galactopyranosylbromid glycosyliert zu einem

*Herrn Professor Sumio Umezawa mit besten Wünschen gewidmet anlässlich seines 73. Geburtstages und dem 25 jährigen Bestehen der Microbial Chemistry Research Foundation. XL. Mitteilung der Serie "Bausteine von Oligosacchariden" XXXIX. Mitteil., siehe Zit. 1.

Disaccharid führt. Eine ähnliche Reaktionsfolge, mit **22** angefangen, ergibt das L-Threoninanalogen. Entfernung der Schutzgruppe beider Disaccharide lieferte *O*- β -D-Galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl-L-serin und -L-threonin), die Haptene des T-Antigens darstellen.

EINFÜHRUNG

In den *O*-Glycoproteinen erfolgt die Verknüpfung von Kohlenhydrat- und Peptidteil über eine *O*-glycosylische Bindung der Hydroxylgruppen des L-Serins oder L-Threonins^{2,3}. Fast alle *O*-Glycoproteine enthalten als Core-Strukturelement die sogenannte "fundamental structure" **1**, in der α -glycosidisch 2-Acetamido-2-desoxy-3-*O*- β -D-galactopyranosyl-D-galactopyranose an L-Serin oder L-Threonin geknüpft ist³. Normalerweise liegt dieses Basiselement in größeren Einheiten vor. In seiner unsubstituierten Form ist sie auch als "antifreeze glycoprotein"⁴ in antarktischen Fischen nachgewiesen worden. Die Bindung des Aminozuckers am Serin ist recht alkaliempfindlich, da leicht eine β -Eliminierung im Hydroxylteil des L-Serins eintreten kann, wenn die Carboxylgruppe nicht frei vorliegt⁵.



1

Das in letzter Zeit viel untersuchte⁶ Glycophorin A, das 75% an Masse aller Sialo-Glycoproteine der Zellmembran der roten Blutkörperchen darstellt, enthält 15 Oligosaccharid-Einheiten *O*-glycosylisch an L-Serin oder L-Threonin und nur eine Einheit *N*-glycosylisch an L-Asparagin gebunden. Die *O*-glycosylischen Einheiten enthalten **1**, das zusätzlich mit *N*-Acetylneuraminsäure-Resten besetzt ist⁸. Die *N*-Acetylneuraminsäure-haltigen Reste besitzen MN-Blutgruppenantigen-Aktivität⁹, wobei vermutlich auch die Anwesenheit der Aminosäure von Bedeutung ist¹⁰. Behandelt man rote Blutkörperchen mit Neuraminidase, so geht die NM-Blutgruppenantigen-Aktivität verloren und der T-Receptor wird freigelegt¹¹. Als Determinante für das T-Antigen wird das Disaccharid 2-Acetamido-2-desoxy-3-*O*- β -D-galactopyranosyl-D-galactose angesehen¹². Durch Abspaltung von D-Galactose aus dem T-Antigen gelangt man zu dem Tn-Antigen, dessen Spezifität durch die restliche *N*-Acetylgalactosamin-Einheit bestimmt wird^{9,13}.

Die T-Antigen-Struktur liegt somit normalerweise im Organismus nicht frei, sondern nur mit *N*-Acetylneuraminsäure besetzt, vor. Im gesunden Organismus sind aber Anti-T-Antikörper nachweisbar, die von Bakterien der Darmflora mit T-Antigen-ähnlichen Strukturen durch eine humorale Immunreaktion erzeugt werden¹⁴. In der Zellmembran von Brust-, Darm- und Magencarcinomen sind aber T-antigene Strukturen nachgewiesen worden und auch die T-Antikörper-Konzentration ist in diesem Falle verringert. Das T-Antigen wird daher als ein tumorassoziiertes Antigen angesehen¹⁵. Wir haben jetzt die vollständig entblockierte Basisstruktur mit L-Serin und L-Threonin dargestellt. In nicht selektiven Verknüpfungsschritten wurden

blockierte Derivate¹⁶ von **1** und Verbindungen aus 2-Acetamido-2-desoxy-D-galactose und Hydroxyaminosäuren^{17,18} bereits dargestellt, jedoch in keinem Falle war eine vollständige Entblockierung möglich.

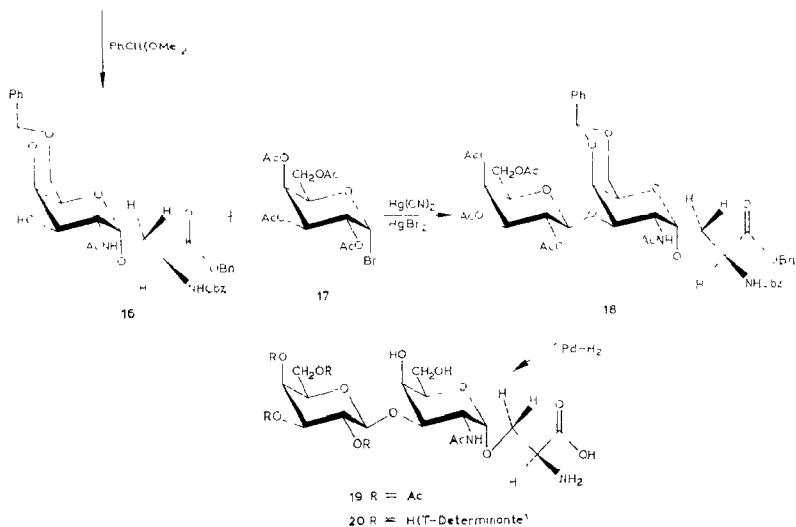
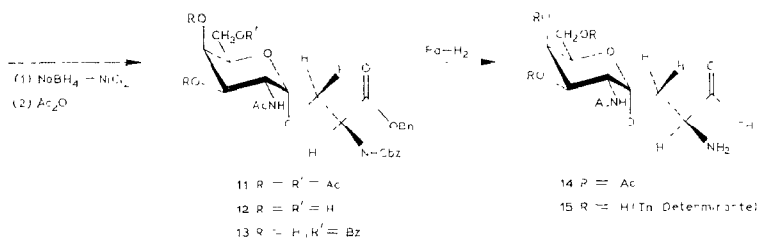
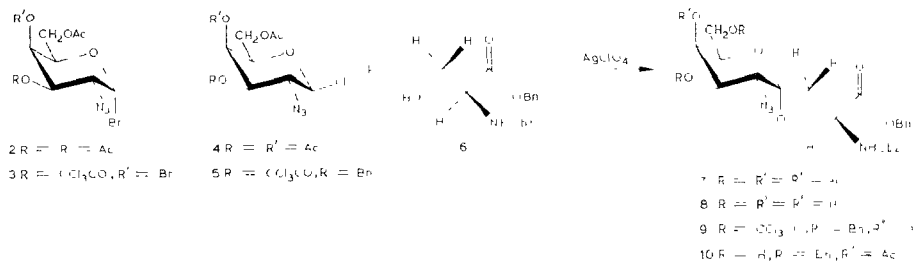
ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Für eine selektive α -glycosidische Verknüpfung der 2-Acetamido-2-desoxy-D-galactose mit L-Serin kommt nur das von uns entwickelte Azid-Verfahren¹⁹ in Frage. Bei sekundären Hydroxylgruppen mittlerer Reaktivität kann man direkt das α -Halogenid, z.B. **2** (Zit. 20,21), für die Glycosidsynthese einsetzen^{22,23}. Man erhält damit z.B. bei Gegenwart des Katalysators Silberperchlorat in hoher Selektivität und guter Ausbeute nur das α -D-glycosidisch verknüpfte Oligosaccharid. Wir nehmen an, daß hier, wie von uns ausgeführt²³, eine *in situ* Anomerisierungsreaktion vorliegt. Schwierigkeiten hinsichtlich der Selektivität treten dann auf, wenn sehr reaktive Hydroxylgruppen, wie sie im L-Serin vorliegen, zur Glycosidsynthese eingesetzt werden. So ergibt die Umsetzung von **2** mit dem selektiv blockierten L-Serin-Derivat **6** mit Quecksilbercyanid-Quecksilberbromid in Dichlormethan (40°) oder mit Silberperchlorat-Silbercarbonat (–20°) jeweils ein α : β -Anomerengemisch von 2:1 mit 50% Ausbeute an α -Anomeren.

Es muß daher bei dieser reaktiven Hydroxylgruppe vom reinen β -Halogenid **4** ausgegangen werden. Dieses ist leicht durch Inversion von **2** mit Tetraethylammoniumchlorid erhältlich²⁰. Das Chlorid **4** ist wenig reaktiv und daher nach unseren Leitlinien für die Umsetzung mit sehr reaktiven Hydroxylgruppen geeignet²³. Die Umsetzung von **4** mit **6** bei Gegenwart von Quecksilbercyanid-Quecksilberbromid in Dichlormethan ergibt aber eine unbefriedigende Selektivität von α : β -Produkt wie 7:2. Auch unter den von uns schon früher überprüften von Pavia und Ferrari¹⁸ angegeben Bedingungen (Quecksilbercyanid-Quecksilberbromid in Nitromethan) erhielten wir eine unbefriedigende Selektivität von α : β -Produkt wie 7:2. Bei der Umsetzung von **4** und **6** mit Silberperchlorat-Silbercarbonat in Dichlormethan bei tiefen Temperaturen ist ebenfalls die Selektivität nicht über 9:2 zu verbessern.

Der Anteil an β -D-Glycosid wird offensichtlich aus während der Reaktion durch teilweise Reanomerisierung gebildetem α -Pyranosylchlorid hervorgerufen. Es war daher notwendig, die Reanomerisierung während der Reaktion möglichst zu unterbinden. Dieses ist durch Zugabe von Toluol möglich. Toluol hatte sich auch früher schon als wirksames Mittel zum Abstoppen gezielter Anomerisierungen bewährt^{19, 20, 24}. In einer Mischung von Dichlormethan-Toluol 1:1 läßt sich mit Silberperchlorat-Silbercarbonat (1:10) bei –7° Verbindung **4** mit **6** bis zu 90% zum Glycosid umsetzen, das ein befriedigendes Anomerenverhältnis von α : β wie 19:1 aufweist. Die Anomerenverteilung läßt sich sehr genau aus den 270 MHz-¹H-N.m.r.-Spektren entnehmen.

In dem erhaltenen Glycosid **7** soll an OH-3 der D-Galactoserest geknüpft werden. Um die notwendigen Blockierungsreaktionen zu vereinfachen, wurde auch der Einsatz des selektiv blockierten Halogenids **3** überprüft²⁵. Dieses besitzt am



OH-3 eine Trichloracetylgruppe, die neben Acetylgruppen selektiv abgespalten werden kann. Das α -Bromid 3 läßt sich in analoger Weise in das kristalline β -Chlorid 5 überführen. Aus 5 und 6 erhält man unter gleichen Bedingungen, allerdings mit kleinerer Ausbeute, das Glycosid 9. Mit etherischer Ammoniak-Lösung ist selektiv die Trichloracetylgruppe abspaltbar zu 10. Mit 10 wurde eine Glycosidsynthese mit dem α -Bromid 17 versucht. Hierbei zeigt sich, daß die OH-3 in 10 so unreaktiv ist, daß praktisch keine Reaktion eintritt. Möglicherweise ist dies auf die benachbarte Azidogruppe zurückzuführen. Entsprechende Komplikationen hatten wir bei ähnlichen Anordnungen gefunden²⁶. Dieser Syntheseweg wurde daher nicht weiter verfolgt.

Um die deaktivierende Wirkung der 2-Azidogruppe auszuschalten, wird diese mit Natriumborhydrid-Nickelchlorid²⁷ unter gepufferten Bedingungen reduziert und anschließend *N*-acetyliert zu **11**. Die hydrolytische Spaltung der *O*-Acetylgruppen in **11** bereitet erhebliche Schwierigkeiten. Mit Natriummethylat werden auch bei Anwendung katalytischer Mengen teilweise Eliminierungsprodukte des L-Serins und eine unerwünschte Umesterung des Benzylesters zum Methylester des L-Serins beobachtet. Ein Methylester ist jedoch in der Endstufe nur sehr schwer spaltbar, so daß es wichtig ist, die Benzylestergruppierung zu erhalten. Dies gelingt durch Umsetzung von **11** mit Natriumbenzylat in Benzylalkohol-Dichlormethan (-14° über 14 bis 21 Tage mit Molekularsieb 4 Å). Das Hydrolysenprodukt **12** ist in 75% rein zu erhalten, wobei sich der Anteil an Zersetzungsprodukten mit 10–20% in Grenzen hält.

Eine vollständige Entblockierung von **11** gelingt am besten, wenn primär eine hydrogenolytische Spaltung erfolgt zu **14**. In **14** sind jetzt die *O*-Acetylgruppen gut mit katalytischen Mengen Natriummethylat zu entfernen, da die freie Carboxylgruppe des L-Serins vorliegt, bei der die β -Eliminierung nicht so leicht wie beim entsprechenden Ester erfolgt. Man erhält dann **15**, das die Determinante des Tn-Antigens darstellt. Aus **12** ist **15** auch durch einfache Hydrogenolyse zu erhalten, jedoch ist dieser Weg insgesamt aufwendiger.

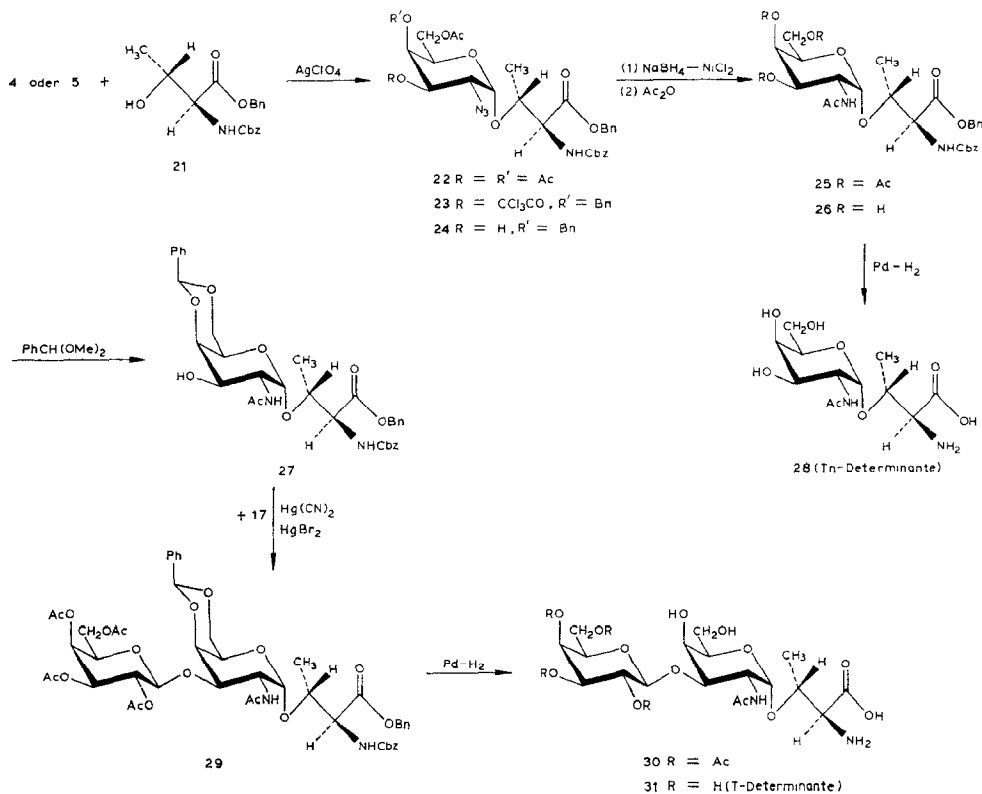
Zur selektiven Blockierung wird **12** mit Benzaldehyddimethylacetal in Acetonitril²⁸ umgesetzt. Man erhält das Acetal **16** als *exo-endo*-Gemisch²⁹ im Verhältnis 3:1, das als solches weiter umgesetzt werden kann. Aus **12** ist durch selektive Benzoylierung mit Benzoylcyanid³⁰ auch **13** zu gewinnen, in dem OH-3 und -4 unsubstituiert sind.

Die Glycosidsynthese von **16** mit dem Halogenid **17** gelingt am günstigsten in Nitromethan-Toluol 3:1 mit Quecksilbercyanid-Quecksilberbromid im Verhältnis von 5:1, bei Gegenwart von Molekularsieb 4 Å. Man erhält in 71% Ausbeute einheitlich das β -glycosidisch verknüpfte Produkt **18**. Es sind auch Versuche unternommen worden, unter ähnlichen Bedingungen an das Diol **13** zwei Galactosereste zu kuppeln. Die Umsetzung von **13** mit einem großen Überschuß **17** liefert jedoch nur spurenweise die entsprechende Triglycosid-Einheit. Zum Aufbau einer derartigen Einheit ist es offenbar notwendig, stufenweise zunächst an OH-3 und anschließend an OH-4 den Galactoserest zu knüpfen. Über eine erfolgreiche Synthese nach dieser Sequenz haben wir bereits berichtet³¹.

Zur Entblockierung wird **18** in Eisessig-Methanol hydriert. Hierbei erfolgt ebenfalls eine Abspaltung der Benzylidengruppierung zu **19**. Die anschließende vorsichtige Hydrolyse mit Natriummethylat liefert nach Reinigung über Sephadex G-15 das vollständig entblockierte T-Hapten **20** in 89% Ausbeute. Die ¹H-N.m.r.-Daten von **18** und **20** stimmen mit den angegebenen Strukturen gut überein.

Eine ähnliche Reaktionsfolge wie mit dem L-Serinderivat **6** ist mit dem L-Threoninderivat **21** durchzuführen, bei dem die sekundäre Hydroxylgruppe etwas weniger reaktiv ist. In Dichlormethan-Toluol ist **4** mit **21** bei Gegenwart von Silbercarbonat-Silberperchlorat umzusetzen. Man erhält praktisch anomerenrein in 80%

das α -Glycosid **22**. Bei der Umsetzung von **5** mit **21** erhält man **23**. Allerdings ist, wie beim L-Serin, die Ausbeute niedriger, so daß dieser Weg als ungünstig anzusehen ist. Durch Reduktion in gepufferter Natriumborhydrid-Nickelchlorid-Lösung²⁷ und anschließender *N*-Acetylierung ist das Acetamidoderivat **25** zu erhalten. Die *O*-Entacetylierung von **25** zu **26** gelingt wiederum mit Natriumbenzylat in Benzylalkohol, wobei das L-Threoninderivat sich als etwas stabiler erweist. Hydriert man jetzt die Schutzgruppen der Aminosäure ab, so gelangt man zur vollständig entblockierten Determinante des Tn-Antigens **28**.



Das nach *O*-Entacetylierung erhaltene **26** wird mit Benzaldehyddimethylacetal²⁸ in **27** überführt. Hierbei entsteht stark bevorzugt die *exo*-Verbindung. Mit **27** kann unter analogen Bedingungen eine Glycosidsynthese mit dem Halogenid **17** durchgeführt werden, die zum β -glycosidisch verknüpften Produkt **29** führt. Zur Entblockierung werden mit Palladium-Kohle zunächst die hydrogenolytisch spaltbaren Reste abgespalten zu **30**. Die ¹H-N.m.r.-Spektren bei 270 MHz von **29** und **30** sind nach Doppelresonanzversuchen vollständig zu analysieren und stimmen mit der Struktur überein. Durch Hydrolyse mit Natriummethylat ist das vollständig entblockierte mit L-Threonin verknüpfte Hapten **31** des T-Antigens zu erhalten.

Die synthetisierten Haptene **15** und **28** (Tn-Antigen) sowie **20** und **31** (T-

Antigen) werden im Hämagglutinations-Inhibitionstest mit der Röhren-Methode und im Mikrotitersystem auf Aktivität geprüft. Wie zu erwarten, hemmt **15** und **28** die Reaktion des Lectins³² aus *Helix pomatia* mit A₁-Erythrozyten und mit Neuraminidase behandelten O-Erythrozyten. Die Hemmung des L-Serin- **15** und L-Threonin-Derivates **28** ist von gleicher Größenordnung, so daß sich die Spezifität auf das N-Acetylgalactosamin beschränkt.

Die Haptene **20** und **31** hemmen stark die Reaktion des Erdnuß-Lectins (*Arachis hypogaea*) und von menschlichen Anti-T-Antikörpern, mit Neuraminidase behandelten O-Erythrozyten, bei denen die Struktur des T-Antigens freigelegt ist. Die L-Serin-**20** und L-Threonin-Verbindung **31** verhalten sich praktisch gleich. Auch das einfache Disaccharid O- β -D-Galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-2-acetamido-2-desoxy-D-galactose ergibt einen entsprechenden Hemmwert, so daß hierbei offenbar die Aminosäure nicht von Bedeutung ist. In einem Radioimmunoassay³³ wurde die Hemmung der Haptene bei der Reaktion von mit ¹²⁵I-markiertem synthetischen Antigen β -D-Galp-(1 $\rightarrow$ 3)- α -D-GalpNAc-O-(CH₂)NH-CO(CH₂)₄-CO-Protein³⁴ mit menschlichem Anti-T-Serum untersucht. Hierbei zeigen **28** und **31** eine höhere Aktivität als das einfache Disaccharid O- β -D-Galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-2-acetamido-2-desoxy-D-galactose. Hier wird offensichtlich der Einfluß des Spacers und der Aminosäuren sichtbar.

EXPERIMENTELLER TEIL

Allgemeine Methoden. — Alle Reaktionen werden dünnschichtchromatographisch an mit Kieselgel beschichteten Aluminiumfertigfolien (Merck GF₂₅₄) verfolgt. Lösungsmittelsystem: Toluol-Aceton, Toluol-Ethanol, Ether, Acetonitril, Acetonitril-Wasser, Aceton-Hexan, Dichlormethan-Methanol, Dichlormethan-Methanol-Ammoniak in verschiedenen Zusammensetzungen. Detektion: u.v.-Absorption, 2% ethanolische Naphtoresorcinlösung-2M Schwefelsäure 1:1 (v/v) oder ethanolische Ninhydrinlösung und Wärmebehandlung. Präparative Säulenchromatographie: Kieselgel 60 (70–230 mesh, Merck), Kieselgel 60 (> 230 mesh, Merck) mit präparativer H.p.l.c. bei 40–90 bar Druck oder gelchromatographisch an Sephadex LH-20 mit Methanol oder Dichlormethan als Elutionsmittel und Sephadex G-15 mit Dichlormethan gesättigten wäßrigen Systemen. Optische Drehungen: Perkin-Elmer Polarimeter 243 in 1-dm Küvetten. ¹H-N.m.r.-Spektren: Bruker WH-270 und WM-400, interner Standard Me₄Si, Doppelresonanzversuche nach dem "Frequency-Sweep"-Verfahren. I.r.-Spektren: Beckman Acculab VI und Perkin-Elmer 137. Gefriertrocknungen: Christ Beta (1102) Anlage.

Glycosidsynthesen. — Die Hydroxylkomponenten werden im ausgeheizten Braunglaskolben mit den Katalysatoren und Trockenmitteln an der Quecksilberdiffusionspumpe entgast und getrocknet, weitere Operationen erfolgen nur unter Stickstoff-Atmosphäre. Handelübliches Silberperchlorat wird mit Benzol unter Lichtausschluß azeotrop entwässert, nach dem Abkühlen mit Pentan ausgefällt, unter Stickstoff abfiltriert und im Hochvakuum bei Raumtemperatur unter Lichtausschluß bis zur Gewichtskonstanz (~48 h) getrocknet. Die Aufbewahrung erfolgt

unter Stickstoff und Lichtausschluß bei -5° , es wird erst kurz vor der Reaktion dem Synthesegemisch zugefügt.

6-O-Acetyl-2-azido-4-O-benzyl-2-desoxy-3-O-trichloracetyl- α -D-galactopyranosylbromid (3). — Zu einer Lösung von 1,6-Di-*O*-acetyl-2-azido-4-*O*-benzyl-2-desoxy-3-*O*-trichloracetyl- α -D-galactopyranose²⁵ (1,15 g, 2,19 mmol) in absol. Dichlormethan (25 mL) und absol. Essigester (2,5 mL) wird festes TiBr_4 (1,15 g, 3,13 mmol) gegeben. Es wird 18 h bei Raumtemp. stehen gelassen, mit absol. Dichlormethan (100 mL) verdünnt und portionsweise unter starkem Rühren mit $\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8 \text{H}_2\text{O}$ bis zur Entfärbung versetzt. Es wird mit MgSO_4 nachgetrocknet, eingeengt und aus Ether–Hexan auskristallisiert (Ausb., 980 mg 82 %); farblose Nadeln, Schmp. 129–130°, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +153^{\circ}$ (c 0,2, Dichlormethan); $^1\text{H-N.m.r.}$ (270 MHz, CDCl_3): δ 7,43–7,29 (m, 5 H, Aromaten-H), 6,53 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3,7 Hz, H-1), 5,37 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 2,7 Hz, H-3), 4,89, 4,57 (2 d, 2 H, J 10,8 Hz, PhCH_2), 4,32 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 10,6 Hz, H-2), 4,36–4,27 (m, 1 H, H-4 oder -5), 4,20 (dd, 1 H, $J_{5,6b}$ 5,0 Hz, H-6b), 4,20–4,16 (m, 1 H, H-4 oder -5), 4,14 (dd, 1 H, $J_{3,6a}$ 6,4, $J_{6a,6b}$ 11,1 Hz, H-6a), 2,07 (s, 3 H, OAc).

Anal. Ber. für $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{BrCl}_3\text{N}_3\text{O}_6$: C, 37,42; H, 3,14; Br, 14,65; Cl, 19,49; N, 7,70. Gef.: C, 37,43; H, 3,01; Br, 14,53; Cl, 19,34; N, 7,63.

6-O-Acetyl-2-azido-4-O-benzyl-2-desoxy-3-O-trichloracetyl- β -D-galactopyranosylchlorid (5). — Zu einer Lösung des Bromids 3 (1 g, 1,83 mmol) in absol. Acetonitril (100 mL) wird getrocknetes Tetraethylammoniumchlorid (1 g, 6,04 mmol) gegeben und die Inversion polarimetrisch verfolgt. Nach ~ 11 min wird die Inversion durch Zugabe von Toluol–Ether 4:1 (v/v, 500 mL) gestoppt, 5 mal mit Eiswasser gewaschen, über MgSO_4 getrocknet, eingeengt und aus Ether–Hexan kristallisiert (Ausb. 880 mg, 96 %), Schmp. 105°, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +88^{\circ}$ (c 1,8, Chloroform); $^1\text{H-N.m.r.}$ (270 MHz, CDCl_3): δ 7,41–7,21 (m, 5 H, Aromaten), 5,11 (d, 1 H, J 8,9 Hz, H-1), 4,92 (d, 1 H, J 11,0 Hz, PhCH_2), 4,89 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 2,8 Hz, H-3), 4,37 (d, 1 H, J 11,0 Hz, PhCH_2), 4,25 (dd, 1 H, H-6b), 4,09 (dd, 1 H, $J_{6a,6b}$ 11,3 Hz, H-6a), 4,01 (dd, 1 H, $J_{4,5}$ 0,9 Hz, H-4), 3,79 (ddd, 1 H, $J_{5,6a}$ 6,2, $J_{5,6b}$ 6,5 Hz, H-5), 3,70 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 10,7 Hz, H-2), 2,02 (s, 3 H, OAc).

Anal. Ber. für $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{Cl}_4\text{N}_3\text{O}_6$: C, 40,74; H, 3,42; Cl, 28,30; N, 8,38. Gef.: C, 40,71; H, 3,51; Cl, 28,15; N, 8,19.

N-(Benzyloxycarbonyl)-3-O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-azido-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)-L-serinbenzylester (7). — Eine Lösung von *N*-(Benzyloxycarbonyl)-L-serinbenzylester³⁵ (16) (6 g, 18,22 mmol) in absol. Toluol (120 mL) wird unter Licht- und Feuchtigkeitsausschluß bei -7° mit AgCO_3 (12 g), Drierite (8 g) und gepulvertem Molekularsieb 4 Å (10 g) gerührt. Nach 30 min wird AgClO_4 (1,2 g) zugegeben und nach weiteren 20 min eine Lösung des reinen β -Chlorids²¹ 4 (6 g, 17,15 mmol) in absol. Dichlormethan (180 mL) mit absol. Toluol (60 mL) langsam zugetropft. Es wird 18 h gerührt, mit Dichlormethan verdünnt, über Celite filtriert, mit NaHCO_3 -Lösung und Wasser gewaschen, getrocknet und eingeengt. Reinigung erfolgt säulenchromatographisch über präparative H.p.l.c. an Kieselgel (Laufmittel Toluol–Aceton 20:1 $\rightarrow$ 10:1, v/v); Ausb. 9,4 g (85 %), Sirup, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +73,5^{\circ}$ (c 1,55, Chloroform); $^1\text{H-N.m.r.}$ (270 MHz, CDCl_3): δ 7,41–7,11 (m, 10 H, Aromaten), 5,84 (d,

1 H, $J_{\text{CH},\text{NH}}$ 8,2 Hz, NH), 5,35 (dd, 1 H, $J_{4,5}$ 0,5 Hz, H-4), 5,20 (m, 2 H, PhCH_2), 5,20 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 3,2 Hz, H-3), 5,14, 5,09 (2 d, 2 H, J 12,1 Hz, PhCH_2), 4,87 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3,5 Hz, H-1), 4,59 (ddd, 1 H, $J_{\alpha\text{CH},\beta\text{CH}}$ 2,9 Hz, $\text{Ser}\alpha\text{CH}$), 4,12 (dd, 1 H, $J_{\beta\text{CHa},\beta\text{CHb}}$ 10,7 Hz, $\text{Ser}\beta\text{CHb}$), 4,08–3,98 (m, 4 H, H-5, -6a, -6b, $\text{Ser}\beta\text{CHa}$), 3,55 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 11,1 Hz, H-2), 2,10, 2,03, 1,98 (3 s, 9 H, 3 OAc).

Anal. Ber. für $\text{C}_{30}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_{12}$: C, 56,07; H, 5,34; N, 8,72. Gef.: C, 56,03; H, 5,31; N, 8,68.

3-O-(2-Azido-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)-N-(benzyloxycarbonyl)-L-serinbenzylester (8). — Eine Lösung des Glycosids 7 (100 mg, 0,156 mmol) in absol. Methanol (10 mL) wird mit Triethylamin (1,5 mL) versetzt und 3 h im Dunkeln stehen gelassen. Es wird *in vacuo* bei 10° eingeeengt und an Kieselgel säulenchromatographisch gereinigt (Laufmittel: Toluol–Ethanol 5:1, v/v); Ausb. 8 mg (10%), $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +75^\circ$ (c 0,8, Methanol); $^1\text{H-N.m.r.}$ [270 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}-(\text{CD}_3)_2\text{CO}$]: δ 7,40–7,21 (m, 10 H, Aromaten), 6,52 (d, 1 H, $J_{\text{CH},\text{NH}}$ 8,6 Hz, NH), 5,11–4,99 (m, 4 H, PhCH_2), 4,86 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3,5 Hz, H-1), 3,96 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 3,2 Hz, H-4), 3,87 (ddd, 1 H, $J_{4,5}$ 0,8 Hz, H-5).

Anal. Ber. für $\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_9$: C, 55,81; H, 5,47; N, 10,85. Gef.: C, 55,48; H, 5,39; N, 10,68.

3-O-(6-O-Acetyl-2-azido-4-O-benzyl-2-desoxy-3-O-trichloroacetyl- α -D-galactopyranosyl)-N-(benzyloxycarbonyl)-L-serinbenzylester (9). — Eine Lösung von 6 (50 mg, 0,152 mmol) in absol. Toluol (2 mL) wird unter Licht- und Feuchtigkeitsausschluß bei –10° mit Ag_2CO_3 (100 mg) und Drierite (200 mg) gerührt. Nach 15 min wird AgClO_4 (10 mg) zugegeben und nach weiteren 20 min eine Lösung des β -Chlorids 5 (60 mg, 0,12 mmol) mit einem α : β -Verhältnis von 1:6 in absol. Dichlormethan (3,5 mL) langsam zugetropft. Es wird 18 h gerührt und wie bei der Synthese von 7 aufgearbeitet. Reinigung erfolgt säulenchromatographisch an Kieselgel (Laufmittel Toluol–Aceton 20:1 $\rightarrow$ 10:1, v/v). Das α -Produkt wird zuerst eluiert (Ausb. 42 mg, 44%), Sirup $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +97,5^\circ$ (c 0,8, Chloroform); $^1\text{H-N.m.r.}$ (270 MHz, CDCl_3): δ 7,39–7,27 (m, 15 H, Aromaten), 5,86 (dd, 1 H, $J_{\alpha\text{CH},\text{NH}}$ 8,4 Hz, NH), 5,25 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 2,9 Hz, H-3), 5,23, 5,18 (2 d, 2 H, J 11,5 Hz, PhCH_2), 5,15, 5,09 (2 d, 2 H, J 12,1 Hz, PhCH_2), 4,92 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3,5 Hz, H-1), 4,86 (d, 1 H, J 10,8 Hz, PhCH_2), 4,61 (m, 1 H, $\text{Ser}\alpha\text{CH}$), 4,48 (d, 1 H, J 10,8 Hz, PhCH_2), 4,18–3,88 (m, 6 H, H-4, -5, -6a, -6b, $\text{Ser}\beta\text{CHa}$, $\text{Ser}\beta\text{CHb}$), 3,85 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 11,0 Hz, H-2), 1,98 (s, 3 H, OAc). Danach wird das β -Produkt eluiert (Ausb. 6 mg, 6%), Sirup, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -5,5^\circ$ (c 0,4, Chloroform); $^1\text{H-N.m.r.}$ (270 MHz, CDCl_3): δ 7,41–7,27 (m, 15 H, Aromaten), 5,75 (d, 1 H, $J_{\text{CH},\text{NH}}$ 8,2 Hz, NH), 5,24, 5,16 (2 d, 2 H, J 12,1 Hz, PhCH_2), 5,12 (m, 2 H, PhCH_2), 4,90 (d, 1 H, J 11,0 Hz, PhCH_2), 4,81 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 3,0 Hz, H-3), 4,59 (ddd, 1 H, $J_{\alpha\text{CH},\text{NH}}$ 8,2 Hz, $\text{Ser}\alpha\text{CH}$), 4,52 (d, 1 H, J 11,0 Hz, PhCH_2), 4,39 (dd, 1 H, $J_{\alpha\text{CH},\beta\text{CHa}}$ 2,6, $J_{\beta\text{CHa},\beta\text{CHb}}$ 10,2 Hz, $\text{Ser}\beta\text{CHb}$), 4,31 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 7,9 Hz, H-1), 4,21 (dd, 1 H, H-6a), 4,07 (dd, 1 H, $J_{6a,6b}$ 11,1 Hz, H-6a), 3,92 (dd, 1 H, $J_{4,5}$ 1,0 Hz, H-4), 3,91 (1 H, $\text{Ser}\beta\text{CHa}$), 3,90 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 10,8 Hz, H-2), 3,58 (ddd, 1 H, $J_{5,6a}$ 7,1, $J_{5,6b}$ 6,1 Hz, H-5), 2,00 (s, 3 H, OAc).

Anal. Ber. $C_{35}H_{35}Cl_3N_4O_{11}$: C, 52,94; H, 4,44; Cl, 13,39; N, 7,06. Gef. für α -Produkt: C, 52,76; H, 4,46; Cl, 13,29; N, 7,01.

3-O-(6-O-Acetyl-2-azido-4-O-benzyl-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)-N-(benzyloxycarbonyl)-L-serinbenzylester (**10**). — In einer 0° kalten, trockenen, verdünnten ammoniakalischen Etherlösung wird das Glycosid **9** (25 mg, 30 μ mol) gelöst, nach ~10 min ein trockener Stickstoff-Strom durch die Lösung geblasen und am Rotationsverdampfer eingengt. Zur Reinigung wird in Dichlormethan aufgenommen, mit verdünnter $KHSO_4$ -Lösung und Wasser gewaschen, getrocknet und eingengt (Ausb. 20 mg, 98%), Sirup, $[\alpha]_D^{20} +84,5^\circ$ (c 1,0, Chloroform); 1H -N.m.r. (270 MHz, $CDCl_3$): δ 7,40–7,27 (m, 15 H, Aromaten), 5,87 (d, 1 H, $J_{CH,NH}$ 8,3 Hz, NH), 5,22, 5,17 (2 d, 2 H, J 12,3 Hz, $PhCH_2$), 5,14, 5,08 (2 d, 2 H, J 12,1 Hz, $PhCH_2$), 4,84 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3,5 Hz, H-1), 4,72, 4,67 (2 d, 2 H, J 11,2 Hz, $PhCH_2$), 4,60 (ddd, 1 H, $J_{\alpha CH, \beta CH}$ 3,0 Hz, Ser αCH), 4,21–3,82 (m, 6 H, H-3, -5, -6a, -6b, Ser βCHa , Ser βCHb), 3,75 (dd, 1 H, $J_{4,5}$ 0,8 Hz, H-4), 3,42 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 10,6 Hz, H-2), 1,99 (s, 3 H, OAc).

Anal. Ber. für $C_{33}H_{36}N_4O_{10}$: C, 61,10; H, 5,59; N, 8,64. Gef.: C, 60,98; H, 5,60; N, 8,49.

3-O-(2-Acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)-N-(benzyloxycarbonyl)-L-serinbenzylester (**11**). — Zu einer Lösung von **7** (3 g, 4,67 mmol) in einer eingestellten Lösung (150 mL) von $NiCl_2 \cdot 6 H_2O$ (40 g) und Borsäure (20 g) in Ethanol (1000 mL) wird unter starkem Rühren portionsweise eine Suspension von $NaBH_4$ (400 mg) in Ethanol gegeben, so daß die Reaktionstemperatur nicht über 20° steigt. Nach Beendigung der Reaktion wird eingengt, in der Kälte mit Pyridin-Acetanhydrid nachacetyliert, im Hochvakuum eingengt und mit Toluol abgezogen. Der Rückstand wird mit Dichlormethan digeriert, über Celite filtriert und die organische Lösung gegen verd. $KHSO_4$ -Lösung, mehrmals mit $NaHCO_3$ -Lösung und Wasser gewaschen, über $MgSO_4$ getrocknet und eingengt. Die Reinigung erfolgt über präparative H.p.l.c. an Kieselgel (Laufmittel: Toluol-Aceton 6:1, v/v): Ausb. 2,71 g (88%), Schaum, Schmp. 52°, $[\alpha]_D^{20} +74,5^\circ$ (c 1,8 Chloroform); 1H -N.m.r. (270 MHz, $CDCl_3$): δ 7,45–7,28 (m, 10 H, Aromaten) 5,96 (d, 1 H, $J_{\alpha CH, NH}$ 8,2 Hz, NH), 5,77 (d, 1 H, $J_{H-2, NH}$ 9,3 Hz, $NHAc$), 5,31 (dd, 1 H, $J_{4,5}$ 0,8 Hz, H-4), 5,18, 5,12 (2 m, 4 H, 2 $PhCH_2$), 5,05 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 2,9 Hz, H-3), 4,79 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3,6 Hz, H-1), 4,62 (ddd, 1 H, Ser αCH), 4,52 (ddd, 1 H, $J_{2,3}$ 11,5 Hz, H-2), 4,12–3,93 (m, 5 H, H-5, -6a, -6b, Ser βCHa , Ser βCHb), 2,15, 2,00, 1,99, 1,91 (4 s, 12 H, 3 OAc, 1 NAc).

Anal. Ber. für $C_{32}H_{38}N_2O_{13}$: C, 58,35; H, 5,82; N, 4,25. Gef.: C, 58,28; H, 5,78; N, 4,13.

3-O-(2-Acetamido-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)-N-(benzyloxycarbonyl)-L-serinbenzylester (**12**). — Eine Lösung von **11** (4,3 g, 6,53 mmol) in absol. Benzylalkohol (50 mL) und absol. Dichlormethan (50 mL) über Molekularsieb 4 Å wird tropfenweise mit einer möglichst frisch zubereiteten, eingestellten Lösung von Natrium (1 g) in Benzylalkohol (100 mL) bis pH 10–11 versetzt und bei –14° aufbewahrt, wobei durch Zugabe von Natriumbenzylat der pH-Wert konstant gehalten wird.

Nach 14–20 Tagen wird mit Dichlormethan verdünnt, mit Ionenaustauscher Dowex 50W-X8 (H^+) neutralisiert, abfiltriert und im Hochvakuum, zuletzt an der Quecksilberdiffusionspumpe, zur Trockene eingengt. Es wird jeweils in Acetonitril und Methanol aufgenommen und in der Kälte ausgefällt, über Celite abgesaugt, eingengt und über Sephadex LH-20 (Laufmittel: Methanol) gereinigt (Ausb. 2,76 g, 79%), amorphes Pulver, Schmp. 91° , $[\alpha]_D^{20} +78^\circ$ (c 2,25, Methanol); 1H -N.m.r. [270 MHz, $(CD_3)_2CO$]: δ 7,63–7,26 (m, 10 H, Aromaten), 5,21, 5,11 (2 m, 4 H, 2 $PhCH_2$), 4,78 (ddd, 1 H, $J_{4,5}$ 0,7 Hz, H-5), 4,67–4,53 (m, 1 H), 4,24 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 10,7 Hz, H-3), 4,19 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 3,2 Hz, H-4), 3,96 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3,6 Hz, H-1), 3,91–3,53 (m, 5 H), 1,88 (s, 3 H, NAc).

Anal. Ber. für $C_{26}H_{32}N_2O_{10}$: C, 58,64; H, 6,06; N, 5,26. Gef.: C, 58,42; H, 5,98; N, 5,11.

3-O-(2-Acetamido-6-O-benzoyl-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)-N-(benzyloxy-carbonyl)-L-serinbenzylester (13). — Zu einer Lösung von **12** (90 mg, 0,17 mmol) in absol. Pyridin (2 mL) mit absol. 2-Propanol (0,5 mL) werden unter Kühlung eine Lösung (12 mL) von Benzoylcyanid (250 mg) in Dichlormethan (100 mL) gegeben. Es wird 5 Tage bei Raumtemp. gerührt, mit Methanol versetzt und zur Trockene eingengt. Reinigung erfolgt säulenchromatographisch an Kieselgel (Laufmittel: Toluol-Ethanol 10:1, v/v); Ausb. 70 mg (62%), Sirup, $[\alpha]_D^{20} +32^\circ$ (c 0,45, Dichlormethan); 1H -N.m.r. (270 MHz, $CDCl_3$): δ 8,07–7,97 und 7,60–7,38 (m, 15 H, Aromaten), 6,37, 5,67 (2 d, 2 H, 2 NH), 5,09 (m, 4 H, 2 $PhCH_2$), 4,80 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3,7 Hz, H-1), 4,64–4,51 (m, 1 H), 4,57 (dd, 1 H, $J_{6a,6b}$ 11,3 Hz, H-6b), 4,51 (dd, 1 H, $J_{5,6b}$ 7,0 Hz, H-6a), 4,24 (ddd, 1 H, $J_{2,3}$ 10,2, $J_{H-2,NH}$ 7,5 Hz, H-2), 4,03 (ddd, 1 H, $J_{5,6b}$ 5,6 Hz, H-5), 3,97 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 3,1 Hz, H-3), 3,94 (dd, 1 H, $J_{4,5}$ 0,7 Hz, H-4), 3,79–3,69 (m, 3 H), 2,04 (s, 3 H, NAc).

Anal. Ber. für $C_{34}H_{38}N_2O_{12}$: C, 61,25; H, 5,75; N, 4,20. Gef.: C, 61,29; H, 5,68; N, 4,11.

3-O-(2-Acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)-L-serin (14). — Zu einer Lösung von **11** (660 mg, 1,0 mmol) in Essigsäure-Methanol 4:1 (v/v) wird 9,7% Palladium-Kohle (80 mg) gegeben und 3 h bei Raumtemp. hydriert. Der Ansatz wird filtriert, eingengt und ergibt ein dünn-schichtchromatographisch einheitliches, glasartiges Produkt, das aus Methanol-Ether Kristalle liefert (Ausb. 415 mg, 95%), Schmp. 177° (Zers.), $[\alpha]_D^{20} +93^\circ$ (c 0,5, Methanol); 1H -N.m.r. (270 MHz, CD_3OD): δ 5,41 (dd, 1 H, $J_{4,5}$ 1,0 Hz, H-4), 5,20 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 3,1 Hz, H-3), 4,49 (dd, 1 H, $J_{1,2}$ 3,6, $J_{2,3}$ 11,4 Hz, H-2), 4,31 (ddd, 1 H, $J_{5,6a}$ 6,9, $J_{5,6b}$ 6,4 Hz, H-5), 4,17 (dd, 1 H, $J_{6a,6b}$ 11,1 Hz, H-6b), 4,09 (dd, 1 H, $J_{6a,6b}$ 11,1 Hz, H-6a), 4,18–4,07 (m, 2 H) und 3,89–3,80 (m, 1 H, $Ser\alpha CH$, $Ser\beta CHa$, $Ser\beta CHb$), 2,14, 2,03, 1,97, 1,94 (4 s, 12 H, 3 OAc, 1 NAc); 1H -N.m.r. (270 MHz, D_2O): δ 5,56 (dd, 1 H, $J_{4,5}$ 1,0 Hz, H-4), 5,33 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 3,1 Hz, H-3), 5,14 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3,6 Hz, H-1), 4,58 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 11,4 Hz, H-2), 4,51 (ddd, 1 H, H-5), 4,39–4,21 (m, 2 H) und 4,15–3,98 (m, 3 H, H-6a, -6b, $Ser\alpha CH$, $Ser\beta CHa$, $Ser\beta CHb$), 2,31, 2,19, 2,10, 2,09, (4s, 12 H, 3 OAc, 1 NAc).

Anal. Ber. für $C_{17}H_{26}N_2O_{11}$: C, 47,00; H, 6,04; N, 6,45. Gef.: C, 46,78; H, 6,02; N, 6,29.

3-O-(2-Acetamido-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)-L-serin (**15**). — (a) Aus **12**. Zu einer Lösung von **12** (50 mg, 90 μ mol) in Methanol-Essigsäure 10:1 (v/v, 3 mL) wird 9,7% Palladium-Kohle (30 mg) gegeben und 4 h bei Raumtemp. hydriert. Der Ansatz wird filtriert, eingengt, mit Wasser aufgenommen, über Watte filtriert und an der Quecksilberdiffusionspumpe lyophilisiert (Ausb. 28 mg, 96%), Schaum.

(b) Aus **14**. Eine Lösung von **14** (30 mg, 70 μ mol) in abs. Methanol (3 mL) wird tropfenweise mit einer eingestellten Lösung von Natrium (1 g) in abs. Methanol (100 mL) bis pH 10,5 versetzt und ~ 2 h bei Raumtemp. stengelassen. Es wird mit Ionenaustauscher Dowex 50W-X8 (H^+) neutralisiert, filtriert, eingengt, mit Wasser aufgenommen, über Watte filtriert und an der Quecksilberdiffusionspumpe lyophilisiert (Ausb. 20 mg, 94%), amorphe Substanz, Schmp. 186° , $[\alpha]_D^{20} +144^\circ$ (c 1,25, Wasser); 1H -N.m.r. (270 MHz, D_2O): δ 4,74 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3,7 Hz, H-1), 3,99 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 10,9 Hz, H-2), 3,88–3,70 (m, 4 H), 3,67–3,53 (m, 4 H), 1,87 (s, 3 H, NAc).

Anal. Ber. für $C_{11}H_{20}N_2O_8$: C, 42,85; H, 6,54; N, 9,09. Gef.: C, 42,67; H, 6,57; N, 8,96.

3-O-(2-Acetamido-4,6-O-benzyliden-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)-N-(benzyloxycarbonyl)-L-serinbenzylester (**16**). — Eine Lösung von **12** (2,3 g, 4,32 mmol) in abs. Acetonitril (20 mL) wird mit Benzaldehyddimethylacetal (2,0 g, 13,1 mmol) und katalytischen Mengen Toluolsulfonsäure bis zur schwach sauren Reaktion versetzt, 8 h gerührt und zur Trockene eingengt. Es wird mit Dichlormethan aufgenommen, gegen $NaHCO_3$ -Lösung und Wasser gewaschen, über $MgSO_4$ getrocknet und eingengt. Das Produkt wird aus einer Mischung von Dichlormethan-Ether-Hexan ausgefällt. Man erhält ein *exo-endo*-Gemisch von $\sim 3:1$, das so für die Glycosidsynthese als Aglycon eingesetzt werden kann (Ausb. 1,68 g, 62%), amorphes Pulver, Schmp. 188 – 191° (Zers.), $[\alpha]_D^{20} +87^\circ$ (c 2,0, Chloroform); 1H -N.m.r. (270 MHz, $CDCl_3$): δ 7,54–7,28 (m, 15 H, Aromaten), 5,87–5,76 (m, 2 H, NH), 5,50 (s, 1 H, PhCH), 5,20, 5,13 (2 m, 4 H, 2 PhCH₂), 4,91 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 3,0 Hz, H-4), 4,79 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3,5 Hz, H-1), 3,53 (s, 1 H, H-5), 1,95 (s, 3 H, NAc).

Anal. Ber. für $C_{33}H_{36}N_2O_{10}$: C, 63,86; H, 5,85; N, 4,51. Gef.: C, 63,82; H, 5,71; N, 4,47.

O-(2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 3)-O-(2-acetamido-4,6-O-benzyliden-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 3)-N-(benzyloxycarbonyl)-L-serinbenzylester (**18**). — Eine Lösung der Benzylidenverbindung **16** (100 mg, 0,16 mmol) in abs. Nitromethan (6 mL) mit abs. Toluol (3 mL) wird unter Licht- und Feuchtigkeitsausschluß bei 60° mit $Hg(CN)_2$ (400 mg), $HgBr_2$ (80 mg) und gepulvertem Molekularsieb 4 Å (600 mg) ~ 30 min gerührt und anschließend eine Lösung von 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-galactopyranosylbromid (**17**, 120 mg, 0,29 mmol) in abs. Nitromethan (6 mL) über mehrere Stunden tropfenweise langsam zugesetzt. Es wird 18 h gerührt, mit Dichlormethan verdünnt, über Celite filtriert, mit $NaHCO_3$ -Lösung, 5 mal mit KI-Lösung, Thiosulfatlösung und Wasser gewaschen, getrocknet und eingengt. Reinigung erfolgt erst säulenchromatographisch an Sephadex LH-20

(Dichlormethan) und anschließend an Kieselgel (Laufmittel: Toluol–Aceton 6:1 → 2:1, v/v); Ausb. 110 mg (71 %), Sirup, $[\alpha]_D^{20} + 70^\circ$ (*c* 0,6, Chloroform); $^1\text{H-N.m.r.}$ (270 MHz, CDCl_3): δ 7,55–7,14 (m, 15 H, Aromaten), 5,81 (d, 1 H, $J_{\alpha\text{CH},\text{NH}}$ 7,8 Hz, NH), 5,64 (d, 1 H, $J_{\text{H-2},\text{NH}}$ 8,4 Hz, NH), 5,52 (s, 1 H, PhCH), 5,39 (dd, 1 H, $J_{4',5'}$ 0,8 Hz, H-4'), 5,20 (dd, 1 H, $J_{2',3'}$ 10,6 Hz, H-2'), 5,41–5,10 (m, 4 H, PhCH_2), 4,99 (dd, 1 H, $J_{3',4'}$ 2,9 Hz, H-3'), 4,95 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3,6 Hz, H-1), 4,75 (d, 1 H $J_{1',2'}$ 7,9 Hz, H-1') 4,65–4,55 (m, 2 H), 4,25–3,81 (m, 8 H), 3,53 (s, 1 H, H-5), 2,14, 2,04, 2,03, 1,98, 1,94, (5 s, 15 H, 4 OAc, 1 NAc).

Anal. Ber. für $\text{C}_{47}\text{H}_{55}\text{N}_2\text{O}_{19}$: C, 59,30; H, 5,83; N, 2,94. Gef.: C, 59,09; H, 5,78; N, 2,88.

O-(2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-(1→3)-O-(2-acetamido-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)-(1→3)-L-serin (**19**). — Zu einer Lösung von **18** (120 mg, 0,13 mmol) in Essigsäure–Methanol 4:1 (v/v) wird 9,7% Palladium–Kohle (120 mg) gegeben und 12 h bei Raumtemp. hydriert. Der Ansatz wird mit Methanol verdünnt, über eine D3-Fritte filtriert, eingengt, mit wenig Wasser aufgenommen, über Watte–Celite filtriert und lyophilisiert. Kristallisation ist aus Ethanol–Ether möglich; Ausb. 75 mg (93 %), Schmp. 165° (Zers.), $[\alpha]_D^{20} + 85^\circ$ (*c* 0,4, Chloroform); $^1\text{H-N.m.r.}$ (270 MHz, D_2O): δ 5,34 (dd, 1 H, $J_{4',5'}$ 1,0 Hz, H-4'), 5,09 (dd, 1 H, $J_{3',4'}$ 3,3 Hz, H-3'), 4,97 (dd, 1 H, $J_{1',2'}$ 8,0, $J_{2',3'}$ 10,3 Hz, H-2'), 4,24 (dd, 1 H, $J_{1,2}$ 3,7, $J_{2,3}$ 11,1 Hz, H-2), 2,10, 2,00, 1,98, 1,92, 1,89 (5 s, 15 H, 4 OAc, 1 NAc).

Anal. Ber. für $\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_{17}$: C, 47,02; H, 6,00; N, 4,39. Gef.: C, 46,89; H, 5,91; N, 4,30.

O- β -D-Galactopyranosyl-(1→3)-O-(2-acetamido-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)-(1→3)-L-serin (**20**). — Eine Lösung von **19** (75 mg, 0,12 mmol) in absol. Methanol wird tropfenweise mit einer eingestellten Lösung von Natrium (1 g) in absol. Methanol (100 mL) bis pH 10,5 versetzt und über Nacht bei 0° stengelassen. Es wird mit Ionenaustauscher Dowex 50-WX8 (H^+) vorsichtig neutralisiert, filtriert, eingengt, mit Wasser aufgenommen, über Sephadex G-15 gereinigt und an der Quecksilberdiffusionspumpe lyophilisiert (Ausb. 49 mg, 89 %), Schaum, $[\alpha]_D^{20} + 84^\circ$ (*c* 1,2, Wasser); $^1\text{H-N.m.r.}$ (270 MHz, D_2O): δ 4,79 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3,2 Hz, H-1), 4,34 (d, 1 H, $J_{1',2'}$ 7,8 Hz, H-1'), 4,25 (dd, 1 H, $J_{\beta\text{CHA},\beta\text{CHb}}$ 10,5 Hz, Ser βCHb), 4,23 (dd, 1 H, $J_{\alpha\text{CH},\beta\text{CH}}$ 3,2 Hz, Ser βCHa), 4,13–3,49 (m, 8 H), 3,49 (dd, 1 H, $J_{3',4'}$ 3,2 Hz, H-3'), 3,38 (dd, 1 H, $J_{2',3'}$ 10,0 Hz, H-2'), 1,90 (s, 3 H, NAc).

Anal. Ber. für $\text{C}_{17}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_{13}$: C, 43,40; H, 6,43; N, 5,96. Gef.: C, 43,19; H, 6,38; N, 5,83.

N-(Benzyloxycarbonyl)-3-O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-azido-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)-L-threoninbenzylester (**22**). — Eine Lösung von N-(Benzyloxycarbonyl)-L-threoninbenzylester³⁵ (**21**) (2,4 g, 7,0 mmol) in absol. Toluol (80 mL) wird unter Licht- und Feuchtigkeitsausschluß bei -3° mit AgCO_3 (4,8 g) und Drierite (9,6 g) gerührt. Nach 15 min wird AgClO_4 (600 mg) zugegeben und nach weiteren 20 min eine Lösung des reinen β -Chlorides²¹ **4** (2,4 g, 6,86 mmol) in absol. Dichlormethan (80 mL) langsam zugetropft. Es wird 18 h gerührt, mit Dichlormethan verdünnt, über Celite filtriert, mit NaHCO_3 -Lösung und Wasser gewaschen, getrocknet und

eingengt. Reinigung erfolgt säulenchromatographisch über H.p.l.c. an Kieselgel (Laufmittel: Toluol–Aceton 20:1, v/v); Ausb. 3,65 g (81%), Sirup, $[\alpha]_D^{20} +36,6^\circ$ (c 3,6, Chloroform); $^1\text{H-N.m.r.}$ (270 MHz, CDCl_3): δ 7,36–7,16 (m, 10 H, Aromaten), 5,56 (d, 1 H, $J_{\text{CH,NH}}$ 9,5 Hz, NH), 5,31 (dd, 1 H, $J_{4,5}$ 0,8 Hz, H-4), 5,12 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 3,1 Hz, H-3), 5,09, 5,05 (2 m, 4 H, 2 PhCH_2), 4,79 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3,7 Hz, H-1), 4,39 (dd, 1 H, $J_{\alpha\text{CH},\beta\text{CH}}$ 2,0 Hz, $\text{Thr}\alpha\text{CH}$), 4,34 (dd, 1 H, $J_{\beta\text{CH},\text{CH}_3}$ 6,4 Hz, $\text{Thr}\beta\text{CH}$), 4,10 (ddd, 1 H, $J_{4,5}$ 0,8 Hz, H-5), 3,99–3,90 (m, 2 H, H-6a, -6b), 3,49 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 11,1 Hz, H-2), 2,03, 1,92, 1,90 (3 s, 9 H, 3 OAc), 1,22 (d, 3 H, $J_{\text{CH},\text{CH}_3}$ 6,4 Hz, ThrCH_3).

Anal. Ber. für $\text{C}_{31}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_{12}$: C, 56,70; H, 5,53; N, 8,53. Gef.: C, 56,59; H, 5,55; N, 8,41.

3-O-(6-O-Acetyl-2-azido-4-O-benzyl-2-desoxy-3-O-trichloracetyl- α -D-galactopyranosyl)-N-(benzyloxycarbonyl)-L-threoninbenzylester (**23**). — Eine Lösung von **21** (50 mg, 0,15 mmol) in absol. Toluol (2 mL) wird unter Licht- und Feuchtigkeitsausschluß bei -5° mit AgCO_3 (100 mg) und Drierite (200 mg) gerührt. Nach 15 min wird AgClO_4 (10 mg) zugegeben und nach weiteren 20 min eine Lösung des β -Chlorides **5** (40 mg, 0,08 mmol) mit einem Anomerenverhältnis $\alpha:\beta$ 1:6 in absol. Dichlormethan (3 mL) langsam zugetropft. Es wird 8 h gerührt und mit Dichlormethan verdünnt, über Celite filtriert, mit NaHCO_3 -Lösung und Wasser gewaschen, getrocknet und eingengt. Reinigung erfolgt säulenchromatographisch an Kieselgel (Laufmittel: Toluol–Aceton 20:1; Anomerenverhältnis des Produktes $\alpha:\beta$ 8:1; das α -Produkt wird zuerst eluiert (Ausb. 38 mg, 59%), Sirup, $[\alpha]_D^{20} +57^\circ$ (c 0,7, Chloroform); $^1\text{H-N.m.r.}$ (270 MHz, CDCl_3): δ 7,40–7,27 (m, 15 H, Aromaten), 5,58 (d, 1 H, $J_{\text{CH,NH}}$ 9,4 Hz, NH), 5,23 (d, 1 H, J 12,2 Hz, PhCH_2), 5,22 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 2,8 Hz, H-3), 5,16 (d, 1 H, J 12,2 Hz, PhCH_2), 5,14 (m, 2 H, PhCH_2), 4,90 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3,7 Hz, H-1), 4,85 (d, 1 H, J 10,9 Hz, PhCH_2), 4,52–4,42 (m, 2 H), 4,19 (d, 1 H, J 10,9 Hz, PhCH_2), 4,15 (dd, 1 H, $J_{6a,6b}$ 12,6, $J_{5,6b}$ 8,6 Hz, H-6b), 4,07–3,98 (m, 3 H), 3,88 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 11,0 Hz, H-2), 2,00 (s, 3 H, OAc), 1,30 (d, 3 H, $J_{\text{CH},\text{CH}_3}$ 6,2 Hz, ThrCH_3). Danach wird das β -Produkt eluiert (Ausb. 4 mg, 6%), Sirup, $[\alpha]_D^{20} -4^\circ$ (c 2,0, Chloroform); $^1\text{H-N.m.r.}$ (270 MHz, CDCl_3): δ 7,40–7,21 (m, 15 H, Aromaten), 5,60 (d, 1 H, $J_{\text{CH,NH}}$ 9,3 Hz, NH), 5,15, 5,11 (2 m, 4 H, 2 PhCH_2), 4,86 (d, 1 H, J 10,8 Hz, PhCH_2), 4,75 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 3,0 Hz, H-3), 4,54 (dd, 1 H, $J_{\beta\text{CH},\text{CH}_3}$ 6,4 Hz, $\text{Thr}\beta\text{CH}$), 4,48 (d, 1 H, J 10,8 Hz, PhCH_2), 4,45 (dd, 1 H, $J_{\alpha\text{CH},\beta\text{CH}}$ 2,2 Hz, $\text{Thr}\alpha\text{CH}$), 4,28 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 7,8 Hz, H-1), 4,13 (dd, 1 H, $J_{6a,6b}$ 11,0 Hz, H-6b), 4,03 (dd, 1 H, $J_{6a,6b}$ 11,0 Hz, H-6a), 3,88 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 10,8 Hz, H-2), 3,84 (dd, 1 H, $J_{4,5}$ 0,8 Hz, H-4), 3,43 (ddd, 1 H, $J_{5,6a}$ 7,1, $J_{5,6b}$ 6,0 Hz, H-5), 1,96 (s, 3 H, OAc), 1,31 (d, 3 H, $J_{\text{CH},\text{CH}_3}$ 6,4 Hz, ThrCH_3).

Anal. Ber. für $\text{C}_{36}\text{H}_{37}\text{Cl}_3\text{N}_4\text{O}_{11}$: C, 53,51; H, 4,62; Cl, 13,6; N, 6,93. Gef. für α -Produkt: C, 53,43; H, 4,54; Cl, 13,47; N, 6,72.

3-O-(6-O-Acetyl-2-azido-4-O-benzyl-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)-N-(benzyloxycarbonyl)-L-threoninbenzylester (**24**). — In einer 0° kalten, trockenen, verdünnten ammoniakalischen Etherlösung wird **23** (50 mg, 60 μmol) gelöst und nach 10 min wie unter der Synthese von **10** beschrieben aufgearbeitet (Ausb. 38 mg, 93%), Sirup,

$[\alpha]_D^{20} + 73^\circ$ (c 1,9, Chloroform); $^1\text{H-N.m.r.}$ (270 MHz, CDCl_3): δ 7,33–7,16 (m, 15 H, Aromaten), 5,53 (d, 1 H, $J_{\text{CH,NH}}$ 9,5 Hz, NH), 5,12, 5,05 (2 d, 2 H, J 12,3 Hz, PhCH_2), 5,02 (m, 2 H, PhCH_2), 4,71 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3,7 Hz, H-1), 4,64, 4,57 (2 d, 2 H, J 11,4 Hz, PhCH_2), 4,33 (dd, 1 H, $J_{\alpha\text{CH,NH}}$ 9,5 Hz, $\text{Thr}\alpha\text{CH}$), 4,28 (dd, 1 H, $J_{\alpha\text{CH},\beta\text{CH}}$ 2,2 Hz, $\text{Thr}\beta\text{CH}$), 4,08 (dd, 1 H, $J_{5,6b}$ 7,5, $J_{6a,6b}$ 11 2 Hz, H-6b), 3,98 (dd, 1 H, $J_{5,6a}$ 5,1, $J_{6a,6b}$ 11,2 Hz, H-6a), 3,89–3,81 (m, 2 H, H-3, -5), 3,69 (dd, 1 H, $J_{4,5}$ 1,0, $J_{3,4}$ 3,1 Hz, H-4), 3,33 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 10,5 Hz, H-2), 1,90 (s, 3 H, OAc), 1,14 (d, 3 H, $J_{\text{CH},\text{CH}_3}$ 6,3 Hz, ThrCH_3).

Anal. Ber. für $\text{C}_{34}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_{10}$: C, 61,62; H, 5,78; N, 8,45. Gef.: C, 61,49; H, 5,74; N, 8,35.

3-O-(2-Acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)-N-(benzyloxycarbonyl)-L-threoninbenzylester (**25**). — Zu einer Lösung von **22** (4 g, 6,09 mmol) in einer eingestellten Lösung (250 mL) von $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (40 g) und Borsäure (20 g) in Ethanol (1000 mL) wird unter starkem Rühren portionsweise eine Suspension von NaBH_4 (600 mg) in Ethanol gegeben, so daß die Reaktionstemp. $+20^\circ$ nicht übersteigt. Nach Beendigung der Reaktion wird eingeeengt, in der Kälte mit Pyridin-Acetanhydrid nachacetyliert, im Hochvakuum eingeeengt und mit Toluol abgezogen. Der feste Rückstand wird mit Dichlormethan digeriert, über Celite abgesaugt und die organische Lösung mehrmals mit NaHCO_3 -Lösung und Wasser gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und eingeeengt. Weitere Reinigung erfolgt über präparative H.p.l.c. an Kieselgel (Laufmittel: Toluol-Aceton 10:1 $\rightarrow$ 6:1, v/v). Ausb. 3,4 g (83%), Schaum, $[\alpha]_D^{20} + 65^\circ$ (c 1,1, Chloroform); $^1\text{H-N.m.r.}$ (270 MHz, CDCl_3): 7,41–7,29 (m, 10 H, Aromaten), 5,85 (d, 1 H, $J_{\text{H-2,NH}}$ 9,6 Hz, NHAc), 5,67 (d, 1 H, $J_{\alpha\text{CH,NH}}$ 9,3 Hz, SerNH), 5,34 (dd, 1 H, $J_{4,5}$ 0,7 Hz, H-4), 5,19, 5,16 (2 d, 2 H, J 12,3 Hz, PhCH_2), 5,11, 5,07 (2 d, 2 H, J 11,9 Hz, PhCH_2), 5,06 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 2,6 Hz, H-3), 4,79 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3,7 Hz, H-1), 4,51 (ddd, 1 H, $J_{2,3}$ 11,2, $J_{\text{H-2,NH}}$ 9,6 Hz, H-2), 4,46 (d, 1 H, $J_{\alpha\text{CH},\beta\text{CH}}$ 1,6 Hz, $\text{Thr}\alpha\text{CH}$), 4,29–4,01 (m, 4 H, H-5, -6a, -6b, $\text{Thr}\beta\text{CH}$), 2,14, 2,01, 1,98, 1,96 (4 s, 12 H, 3 OAc, 1 NAc), 1,32 (d, 3 H, $J_{\text{CH},\text{CH}_3}$ 6,2 Hz, ThrCH_3).

Anal. Ber. für $\text{C}_{33}\text{H}_{40}\text{N}_2\text{O}_{13}$: C, 58,92; H, 5,99; N, 4,16. Gef.: C, 58,79; H, 5,96; N, 4,06.

3-O-(2-Acetamido-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)-N-(benzyloxycarbonyl)-L-threoninbenzylester (**26**). — Eine Lösung von **25** (1,8 g, 2,68 mmol) in absol. Dichlormethan (30 mL) und Benzylalkohol (20 mL) über Molekularsieb 4 Å wird tropfenweise mit einer möglichst frisch zubereiteten, eingestellten Lösung von Natrium (1 g) in Benzylalkohol (100 mL) bis pH 10 versetzt und bei -14° aufbewahrt, wobei durch zeitweise Zugabe von Natriumbenzylat der pH-Wert konstant gehalten wird. Nach ~ 20 Tagen wird mit Dichlormethan verdünnt, mit Ionenaustauscher Dowex 50W-X8 (H^+) neutralisiert, abfiltriert und im Hochvakuum, zuletzt an der Quecksilberdiffusionspumpe, zur Trockene eingeeengt. Es wird jeweils in Acetonitril und Methanol aufgenommen und in der Kälte ausgefällt, über Celite abgesaugt und zur Trockene eingeeengt. Es wird mit wenig trockenem Ether digeriert und ausgezogen. Der feste Rückstand wird aus Dichlormethan-Ether-Hexan umgefällt (Ausb. 1,04 g,

71 %) amorphes Pulver, Schmp. 153°, $[\alpha]_D^{20} + 106^\circ$ (*c* 1,6, Methanol); $^1\text{H-N.m.r.}$ (270 MHz, $\text{CDCl}_3 + 10\% \text{CD}_3\text{OD}$): δ 7,41–7,29 (m, 10 H, Aromaten), 5,16–5,02 (m, 4 H, PhCH_2), 4,57 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3,7 Hz, H-1), 4,33 (d, 1 H, $J_{\alpha\text{CH},\beta\text{CH}}$ 1,7 Hz, $\text{Thr}\alpha\text{CH}$), 4,26 (dd, 1 H, $J_{\beta\text{CH},\text{CH}_3}$ 6,3 Hz, $\text{Thr}\beta\text{CH}$), 4,10 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 11,0 Hz, H-2), 3,88 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 2,3, $J_{4,5}$ 0,6 Hz, H-4), 3,78–3,64 (m, 3 H, H-3, -5, -6b), 3,59 (dd, 1 H, $J_{5,6a}$ 2,8, $J_{6a,6b}$ 11,5 Hz, H-6a), 1,99 (s, 3 H, NAc), 1,23 (d, 3 H, $J_{\text{CH},\text{CH}_3}$ 6,3 Hz, ThrCH_3).

Anal. Ber. für $\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_{10}$: C, 59,33; H, 6,27; N, 5,13. Gef.: C, 59,11; H, 6,25; N, 5,04.

3-O-(2-Acetamido-4,6-O-benzyliden-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)-N-(benzyloxycarbonyl)-L-threoninbenzylester (27). — Eine Lösung von 26 (700 mg, 1,28 mmol) in absol. Acetonitril (20 mL) wird mit Benzaldehyddimethylacetal (700 mg, 4,59 mmol) und katalytischen Mengen Toluolsulfonsäure bis zur schwach sauren Reaktion versetzt, über Nacht gerührt und anschließend zur Trockene eingengt. Es wird mit Dichlormethan aufgenommen, gegen NaHCO_3 -Lösung und Wasser gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und eingengt. Das Produkt wird aus Dichlormethan-Ether-Hexan umgefällt (Ausb. 570 mg, 70 %), amorphes Pulver, Schmp. 195° (Zers.), $[\alpha]_D^{20} + 69^\circ$ (*c* 2,0, Chloroform); $^1\text{H-N.m.r.}$ (270 MHz, CDCl_3): δ 7,53–7,47, 7,41–7,29 (m, 15 H, Aromaten), 6,22 (d, 1 H, $J_{\text{H-2},\text{NH}}$ 8,7 Hz, NHAc), 5,79 (d, 1 H, $J_{\alpha\text{CH},\text{NH}}$ 9,4 Hz, ThrNH), 5,50 (s, 1 H, PhCH), 5,21–5,05 (m, 4 H, PhCH_2), 4,78 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3,5 Hz, H-1), 4,44 (dd, 1 H, $J_{\text{CH},\text{NH}}$ 9,4 Hz, $\text{Thr}\alpha\text{CH}$), 4,35 (ddd, 1 H, $J_{2,3}$ 10,9 Hz, H-2), 4,22–4,13 (m, 2 H, H-3, -6b), 4,08 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 3,2, $J_{4,5}$ 0,7 Hz, H-4), 3,98 (dd, 1 H, $J_{5,6a}$ 1,5, $J_{6a,6b}$ 12,3 Hz, H-6a), 3,75 (dd, 1 H, $J_{\beta\text{CH},\alpha\text{CH}}$ 1,5 Hz, $\text{Thr}\beta\text{CH}$), 3,60 (s, 1 H, H-5), 2,02 (s, 3 H, NAc), 1,28 (d, 3 H, $J_{\text{CH},\text{CH}_3}$ 6,3 Hz, ThrCH_3).

Anal. Ber. für $\text{C}_{34}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_{10}$: C, 64,34; H, 6,04; N, 4,41. Gef.: C, 64,36; H, 6,02; N, 4,36.

3-O-(2-Acetamido-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)-L-threonin (28). — Zu einer Lösung von 26 (50 mg, 90 μmol) in Essigsäure-Methanol 4:1 (v/v, 3 mL) wird 9,7 % Palladium-Kohle (50 mg) gegeben und 3 h bei Raumtemp. hydriert. Der Ansatz wird filtriert, eingengt und mit Wasser aufgenommen, über Watte filtriert und an der Quecksilberdiffusionspumpe lyophilisiert (Ausb. 26 mg, 88 %), amorphe Substanz, Schmp. 151° (Zers.), $[\alpha]_D^{20} + 85^\circ$ (*c* 1,1, Wasser); $^1\text{H-N.m.r.}$ (400 MHz, D_2O): δ 4,82 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3,7 Hz, H-1), 4,36 (dd, 1 H, $J_{\beta\text{CH},\text{CH}_3}$ 6,7 Hz, $\text{Thr}\beta\text{CH}$), 3,95 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 11,0 Hz, H-2), 3,87 (ddd, 1 H, $J_{5,6a}$ 4,8, $J_{5,6b}$ 7,1 Hz, H-5), 3,83 (d, 1 H, $J_{\alpha\text{CH},\beta\text{CH}}$ 1,9 Hz, $\text{Thr}\alpha\text{CH}$), 3,82 (dd, 1 H, $J_{4,5}$ 0,8 Hz, H-4), 3,71 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 3,2 Hz, H-3), 3,61 (dd, 1 H, $J_{6a,6b}$ 11,9 Hz, H-6b), 3,57 (dd, 1 H, $J_{6a,6b}$ 11,9 Hz, H-6a), 1,88 (s, 3 H, NAc), 1,26 (d, 3 H, $J_{\text{CH},\text{CH}_3}$ 6,7 Hz, ThrCH_3).

Anal. Ber. für $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_8$: C, 44,72; H, 6,88; N, 8,69. Gef.: C, 44,53; H, 6,84; N, 8,57.

O-(2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 3)-O-(2-acetamido-4,6-O-benzyliden-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 3)-N-(benzyloxycarbonyl)-L-threoninbenzylester (29). — Eine Lösung der Benzylidenverbindung 27 (90 mg, 0,14 mmol) in absol. Nitromethan (3 mL) mit absol. Toluol (3 mL) wird unter Licht- und Feuch-

tigkeitsausschluß bei 60° mit $\text{Hg}(\text{CN})_2$ (300 mg) und HgBr_2 (60 mg) ~30 min gerührt und anschließend eine Lösung von 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- α -D-galactopyranosylbromid (**17**, 160 mg, 0,39 mmol) in absol. Nitromethan (5 mL) über mehrere Stunden tropfenweise langsam zugesetzt. Es wird über Nacht gerührt, mit Dichlormethan verdünnt, über Celite filtriert, mit NaHCO_3 -Lösung, 5 mal mit KI-Lösung, Thiosulfatlösung und Wasser gewaschen, getrocknet und eingeeengt. Reinigung erfolgt erst säulenchromatographisch an Sephadex LH-20 (Dichlormethan) und anschließend an Kieselgel (Laufmittel: Toluol-Aceton 6:1→2:1, v/v); Ausb. 72 mg (53%), Sirup, $[\alpha]_D^{20} +67,5^\circ$ (c 1,4, Chloroform); $^1\text{H-N.m.r.}$ (270 MHz, CDCl_3): δ 7,33–7,29 (m, 15 H, Aromaten), 5,66 (d, 1 H, $J_{\text{H-2,NH}}$ 8,7 Hz, NHAc), 5,59 (d, 1 H, $J_{\alpha\text{CH,NH}}$ 9,4 Hz, SerNH), 5,54 (s, 1 H, PhCH), 5,39 (dd, 1 H, $J_{4',5'}$ 0,8 Hz, H-4'), 5,20 (dd, 1 H, $J_{2',3'}$ 10,5 Hz, H-2'), 5,25–5,13 (m, 3 H, PhCH_2), 5,06 (d, 1 H, J 12,0 Hz, PhCH_2), 4,98 (dd, 1 H, $J_{3',4'}$ 3,2 Hz, H-3'), 4,93 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3,5 Hz, H-1), 4,73 (d, 1 H, $J_{1',2'}$ 7,9 Hz, H-1'), 4,59 (ddd, 1 H, $J_{2,3}$ 11,2 Hz, H-2), 4,43 (dd, 1 H, $J_{\alpha\text{CH},\beta\text{CH}}$ 1,6 Hz, $\text{Thr}\alpha\text{CH}$), 4,26 (dd, 1 H, $J_{4,5}$ 0,6 Hz, H-4), 4,23–4,08 (m, 4 H, H-6b, -5', -6a', -6b'), 4,03 (dd, 1 H, $J_{6a,6b}$ 12,0 Hz, H-6a), 3,93 (dd, 1 H, $J_{\text{CH},\text{CH}_3}$ 6,3 Hz, $\text{Thr}\beta\text{CH}$), 3,86 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 3,2 Hz, H-3), 3,63 (s, 1 H, H-5), 2,13, 2,04, 2,02, 2,00, 1,97 (5 s, 15 H, 4 OAc, 1 NAc), 1,30 (d, 3 H, $J_{\text{CH},\text{CH}_3}$ 6,3 Hz, ThrCH_3).

Anal. Ber. für $\text{C}_{48}\text{H}_{56}\text{N}_2\text{O}_{19}$: C, 59,75; H, 5,85; N, 2,90. Gef.: C, 59,58; H, 5,73; N, 2,86.

O-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-(1→3)-*O*-(2-Acetamido-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)-(1→3)-L-threonin (**30**). — Zu einer Lösung von **29** (70 mg, 70 μmol) in Essigsäure-Methanol 4:1 (v/v) wird 9,7% Palladium-Kohle (50 mg) gegeben und 18 h bei Raumtemp. hydriert. Der Ansatz wird mit Methanol verdünnt, über eine D3-Fritte filtriert, eingeeengt, mit wenig Wasser aufgenommen, über Watte-Celite filtriert und an der Quecksilberdiffusionspumpe lyophilisiert (Ausb. 45 mg, 95%); Schaum, Schmp. 193° (Zers.), $[\alpha]_D^{20} +66^\circ$ (c 1,9, Methanol); $^1\text{H-N.m.r.}$ (270 MHz, D_2O): δ 5,36 (dd, 1 H, $J_{4',5'}$ 0,5 Hz, H-4'), 5,10 (dd, 1 H, $J_{3',4'}$ 3,2 Hz, H-3'), 4,99 (dd, 1 H, $J_{2',3'}$ 10,2 Hz, H-2'), 4,85 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3,5 Hz, H-1), 4,84 (d, 1 H, $J_{1',2'}$ 7,8 Hz, H-1'), 4,39 (dd, 1 H, $J_{\text{CH},\text{CH}_3}$ 6,7 Hz, $\text{Thr}\beta\text{CH}$), 4,21–4,09 (m, 4 H, H-3, -5', -6a', -6b'), 4,07 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 2,4, $J_{4,5}$ 0,8 Hz, H-4), 3,97–3,88 (m, 2 H, H-2, -5), 3,75 (d, 1 H, $J_{\alpha\text{CH},\beta\text{CH}}$ 1,7 Hz, $\text{Thr}\alpha\text{CH}$), 3,69 (dd, 1 H, $J_{5,6b}$ 7,4, $J_{6a,6b}$ 12,0 Hz, H-6b), 3,62 (dd, 1 H, $J_{5,6a}$ 5,0, $J_{6a,6b}$ 12,0 Hz, H-6a), 2,12, 2,01, 2,00, 1,96, 1,91 (5 s, 15 H, 4 OAc, 1 NAc), 1,32 (d, 3 H, $J_{\text{CH},\text{CH}_3}$ 6,7 Hz, ThrCH_3).

Anal. Ber. für $\text{C}_{26}\text{H}_{40}\text{N}_2\text{O}_{17}$: C, 47,85; H, 6,18; N, 4,29. Gef.: C, 47,71; H, 6,19; N, 4,21.

O- β -D-Galactopyranosyl-(1→3)-*O*-(2-Acetamido-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)-(1→3)-L-threonin (**31**). — Eine Lösung von **30** (45 mg, 70 μmol) in absol. Methanol wird tropfenweise mit einer eingestellten Lösung von Natrium (1 g) in absol. Methanol (100 mL) bis pH 11 versetzt und über Nacht bei 0° stehengelassen. Es wird mit Ionenaustauscher Dowex 50W-X8 (H^+) vorsichtig neutralisiert, filtriert, eingeeengt, mit Wasser aufgenommen, über Sephadex G-15 gereinigt und an der Quecksilberdiffusionspumpe lyophilisiert (Ausb. 29 mg, 87%), $[\alpha]_D^{20} +90^\circ$ (c 1,4,

Wasser); $^1\text{H-N.m.r.}$ (270 MHz, D_2O): δ 4,84 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3,6 Hz, H-1), 4,34 (d, 1 H, $J_{1',2'}$ 7,7 Hz, H-1'), 4,33 (dd, 1 H, $J_{\alpha\text{CH},\beta\text{CH}}$ 1,8 Hz, Thr βCH), 4,17 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 11,1 Hz, H-2), 4,10 (dd, 1 H, $J_{4,5}$ 0,5 Hz, H-4), 3,96 (ddd, 1 H, H-5 oder -5'), 3,90 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 2,8 Hz, H-3), 3,78 (dd, 1 H, $J_{4',5'}$ 0,7 Hz, H-4'), 3,70–3,52 (m, 4 H, H-5 oder -5', -6a, -6b, -6a', -6b', Thr αCH), 3,49 (dd, 1 H, $J_{3',4'}$ 3,3 Hz, H-3'), 3,37 (dd, 1 H, $J_{2',3'}$ 9,8 Hz, H-2'), 1,92 (s, 3 H, NAc), 1,29 (d, 3 H, $J_{\text{CH},\text{CH}_3}$ 6,4 Hz, Thr CH_3).

Anal. Ber. für $\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_{13}$: C, 44,63; H, 6,66; N, 5,78. Gef.: C, 44,40; H, 6,68; N, 5,69.

DANK

Herrn Dipl.-Chem. W. Höppner sowie Herrn Prof. Dr. K. Fischer danken wir für die Durchführung der serologischen Untersuchungen. Herrn H. Wilkens sei für die Mitwirkung an dem Projekt gedankt. Die Deutsche Forschungsgemeinschaft und der Fonds der Chemischen Industrie haben uns dankenswerterweise Sachmittel zur Verfügung gestellt.

LITERATUR

- 1 H. PAULSEN UND J.-P. HÖLCK, *Justus Liebigs Ann. Chem.*, (1982) 1121–1131.
- 2 N. SHARON UND H. LIS, *Chem. Eng. News*, 59 (1981) 21–44.
- 3 J. MONTREUIL, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, 37 (1980) 157–223.
- 4 J. R. VANDENHEEDE, A. I. AHMED UND R. E. FEENEY, *J. Biol. Chem.*, 247 (1972) 7885–7889; A. L. DE VRIES, J. R. VANDENHEEDE UND R. E. FEENEY, *ibid.*, 246 (1971) 305–308.
- 5 H. G. GARG UND R. W. JEANLOZ, *Carbohydr. Res.*, 49 (1976) 482–488.
- 6 M. TOMITA UND V. T. MARCHESI, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 72 (1976) 2964–2968; M. TOMITA, H. FURTHMAYR UND V. T. MARCHESI, *Biochemistry*, 17 (1978) 4756–4770.
- 7 V. T. MARCHESI, H. FURTHMAYR UND M. TOMITA, *Annu. Rev. Biochem.*, 45 (1976) 667–698.
- 8 D. B. THOMAS UND R. J. WINZLER, *J. Biol. Chem.*, 244 (1969) 5943–5946.
- 9 G. F. SPRINGER UND P. R. DESAI, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 61 (1974) 470–475.
- 10 E. LISOWSKA UND M. DUK, *Eur. J. Biochem.*, 54 (1975) 469–474.
- 11 O. THOMSEN, *Z. Immunitätsforsch.*, 52 (1927) 85–107; V. FRIEDENREICH, *The Thomsen Hemagglutination Phenomenon*, Levin & Munksgaard, Copenhagen, 1930; C. M. CHU, *Nature (London)*, 161 (1948) 606–607; P. VAITH UND G. UHLENBRUCK, *Z. Immunitätsforsch.*, 154 (1978) 1–14.
- 12 Z. KIM UND G. UHLENBRUCK, *Z. Immunitätsforsch.*, 130 (1966) 88–99.
- 13 G. F. SPRINGER, P. R. DESAI UND J. BANATWALA, *J. Natl. Cancer Inst.*, 54 (1975) 335–339; G. F. SPRINGER UND P. R. DESAI, *Carbohydr. Res.*, 40 (1975) 183–192.
- 14 K. B. FRASER, *J. Pathol. Bacteriol.*, 70 (1955) 13–33.
- 15 G. F. SPRINGER UND P. R. DESAI, *Transplant. Proc.*, 9 (1977) 1105–1111; G. F. SPRINGER, P. R. DESAI, M. S. MURTHY UND E. F. SCANLON, *J. Surg. Oncol.*, 11 (1979) 95–106.
- 16 R. KAIFU UND T. OSAWA, *Carbohydr. Res.*, 69 (1979) 79–88.
- 17 R. KAIFU UND T. OSAWA, *Carbohydr. Res.*, 58 (1977) 235–239.
- 18 B. FERRARI UND A. A. PAVIA, *Carbohydr. Res.*, 79 (1980) c1–c7.
- 19 H. PAULSEN UND W. STENZEL, *Chem. Ber.*, 111 (1978) 2348–2357.
- 20 H. PAULSEN, A. RICHTER, V. SINNWELL UND W. STENZEL, *Carbohydr. Res.*, 64 (1978) 339–364.
- 21 R. U. LEMIEUX UND R. M. RATCLIFFE, *Can. J. Chem.*, 57 (1979) 1244–1251.
- 22 H. PAULSEN, W. STENZEL UND Č. KOLÁŘ, *Tetrahedron Lett.*, (1977) 2785–2788.
- 23 H. PAULSEN UND Č. KOLÁŘ, *Chem. Ber.*, 114 (1981) 306–321.
- 24 H. PAULSEN, Č. KOLÁŘ UND W. STENZEL, *Chem. Ber.*, 111 (1978) 2358–2369; 2370–2375.
- 25 H. PAULSEN UND H. BÜNSCH, *Chem. Ber.*, 114 (1981) 3126–3145.

- 26 H. PAULSEN UND D. SCHNELL, *Chem. Ber.*, 114 (1981) 333–345.
- 27 H. PAULSEN UND V. SINNWELL, *Chem. Ber.*, 111 (1978) 879–889.
- 28 M. E. EVANS, *Carbohydr. Res.*, 21 (1972) 473–475.
- 29 N. BAGGETT, J. M. DUXBURY, A. B. FOSTER UND J. M. WEBBER, *Carbohydr. Res.*, 1 (1965) 22–30;
T. B. GRINDLEY UND V. GULASEKHARAM, *Carbohydr. Res.*, 74 (1979) 7–30.
- 30 S. A. ABBAS UND A. H. HAINES, *Carbohydr. Res.*, 39 (1975) 358–363.
- 31 J.-C. JACQUINET UND H. PAULSEN, *Tetrahedron Lett.*, (1981) 1387–1390.
- 32 I. J. GOLDSTEIN UND C. E. HAYES, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, 35 (1978) 127–340.
- 33 W. HÖPPNER, K. FISCHER, J.-C. JACQUINET, H. PAULSEN UND A. POSCHMANN, in *CEA und andere Tumormarker*, Symposiumsb. Tumor Diagnostik Verlag, Leonberg, 1981, S 320.
- 34 H. PAULSEN, J.-C. JACQUINET UND W. RUST, *Carbohydr. Res.*, 104 (1982) 195–219.
- 35 E. BAER UND J. MAURUKAS, *J. Biol. Chem.*, 212 (1955) 25–38; E. BAER UND F. ECKSTEIN, *ibid.*, 237 (1962) 1449–1453.