

Preliminary communication

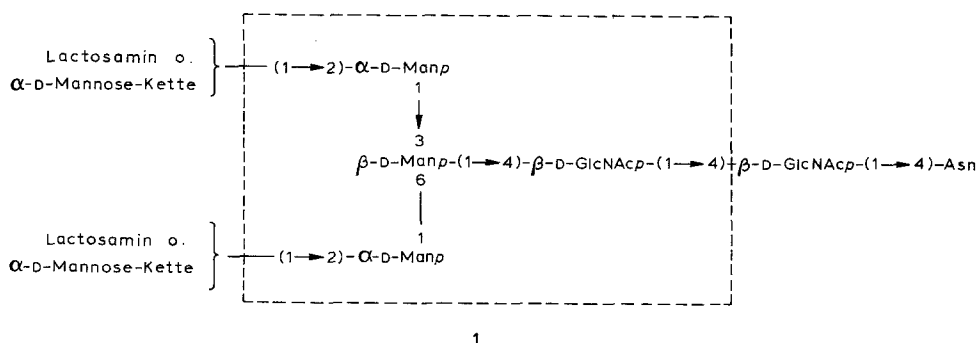
Synthese des verzweigten Tetrasaccharid-Bausteins der Schlüsselsequenz von *N*-Glycoproteinen*

HANS PAULSEN, ROLF LEBUHN und OSWALD LOCKHOFF

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

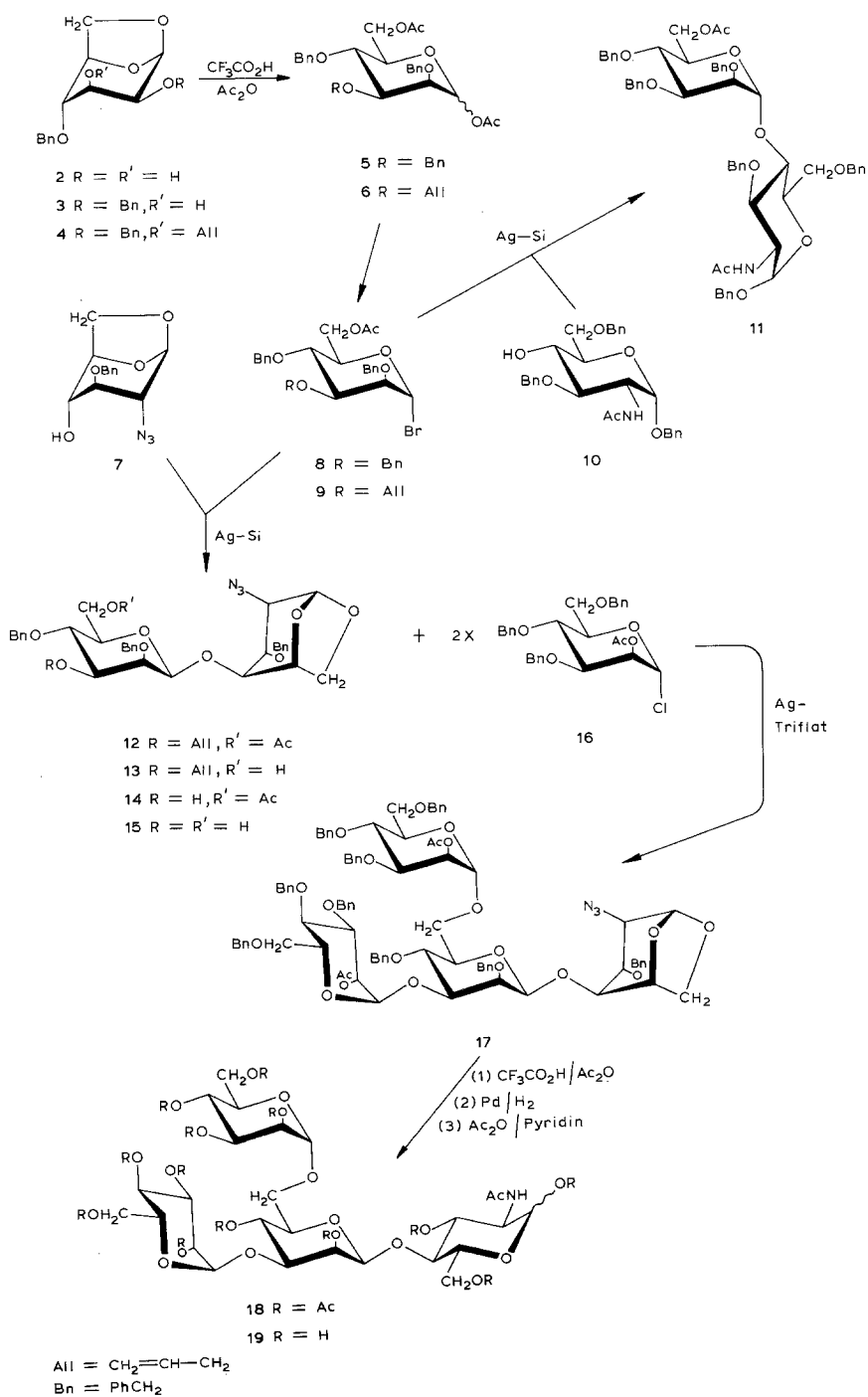
(Eingegangen am 19. November 1981; angenommen am 26. Januar 1982)

Die grosse Anzahl von über Asparagin β -*N*-glycosyl-verknüpften Glycoproteinen enthält als innere Core-Struktur des Glycan-Teiles die in **1** angegebene Anordnung². Die Glycoproteine vom *N*-Acetyllactosamin-Typ (*N*-Glycoproteine) enthalten an den endständigen α -D-Mannopyranosyl-Resten vorwiegend β -D-(1 $\rightarrow$ 2)-glycosidisch gebundenen Lactosamin-Ketten. Diese sind wiederum häufig mit Neuraminsäure besetzt. Bei dem mannosidischen Glycoprotein-Typ sind an gleicher Stelle weitere, zum Teil verzweigte α -D-Mannose-Ketten gebunden. Es ist erkennbar, dass die Core Region 1 als Fundamentalstruktur gemeinsam auftritt.



Die wichtigste Schlüsselsequenz dieser Einheit ist das in **1** gekennzeichnete verzweigte Tetrasaccharid aus 2-Acetamido-2-deoxy-D-glucose und drei D-Mannose-Einheiten. Das grösste Hindernis für die Synthese dieser Sequenz ist die Herstellung der β -D-(1 $\rightarrow$ 4)-glycosidischen Bindung zwischen D-Mannose und 2-Acetamido-2-desoxy-D-glucose. Da diese Verknüpfung bisher nicht synthetisiert werden konnte, wurde β -D-Man-*p*-(1 $\rightarrow$ 4)-D-GlcNAc auf einem Umweg über das besser erhältliche β -D-Glc-*p*-(1 $\rightarrow$ 4)-D-GlcNAc dargestellt^{3–5}. Hierzu musste im D-Glucose-Teil selektiv eine 2-Keto-Gruppe

*XXXVIII. Mitteilung der Serie "Bausteine von Oligosacchariden". XXXVII. Mitteil., siehe Zit. 1.



eingeführt und anschliessend zur *D-manno*-Konfiguration reduziert werden. Uns ist jetzt die direkte Synthese des betreffenden Disaccharides, und damit auch des gesamten Tetrasaccharides, gelungen.

Kürzlich haben wir über eine neue Methode zur Herstellung β -D-glycosidisch verknüpfter Mannoside berichtet⁶. Hierbei werden ohne Nachbargruppenbeteiligung äusserst reaktive D-Mannopyranosylhalogenide mit hinreichend reaktiven Hydroxylkomponenten mit dem Katalysator Silbersilikat⁶ umgesetzt. Wir haben jetzt dieses Verfahren auf das vorgenannte Problem angewandt. Äusserst reaktive D-Mannopyranosylhalogenide mit einer genügenden Anzahl von Ethersubstituenten sind **8** und **9**. Beide Verbindungen lassen sich aus der 1,6-Anhydroverbindung⁷ **2** über **5** bzw. **6** darstellen. Die partiell benzylierte Verbindung **3** ist durch selektive Benzylierung mittels Phasentransfer-Katalyse (Tetrabutylammoniumbromid) in 80% Ausbeute zugänglich.

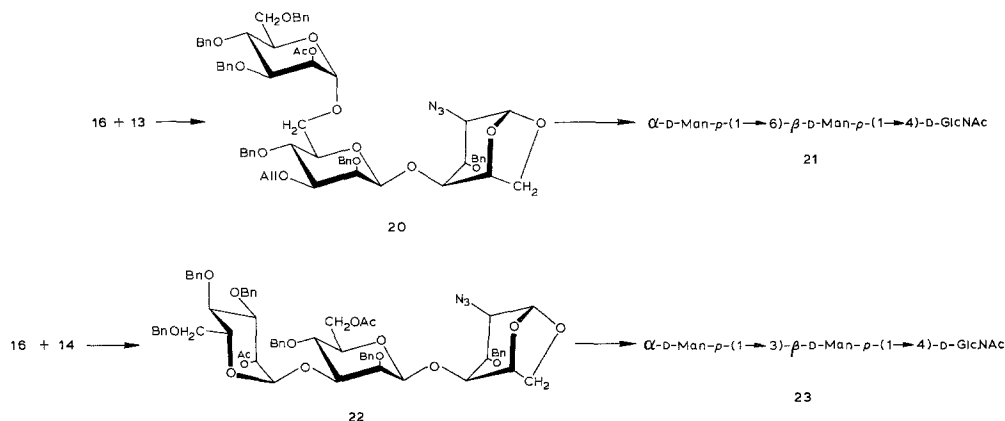
Die Reaktivität der als Kupplungskomponente geeigneten Hydroxylkomponente war noch zu erproben. Bei der Umsetzung von **8** mit dem selektiv blockierten 2-Acetamido-2-desoxy-D-glucose-Derivat **10** in Dichlormethan bei Gegenwart von Silbersilikat wurde in 75% nur das unerwünschte α -D-glycosidisch verknüpfte Disaccharid **11**, $\{[\alpha]_D^{20} + 31,9^\circ$ (*c* 1,35, Chloroform)} erhalten. Die 4-OH-Gruppe in **10**, deren Reaktionsträgheit bekannt ist⁸, ist offensichtlich für eine β -D-Glycosidsynthese zu unreaktiv. Es wurde daher die 1,6-Anhydroverbindung **7** mit axialer 4-OH-Gruppe eingesetzt⁹. Die Reaktion von **7** mit **9** in Dichlormethan bei Raumtemperatur führte bei Gegenwart des Silbersilikat-Katalysators⁶ in der Tat mit hoher Selektivität ($\alpha:\beta = 1:7$) zum β -D-verknüpften Disaccharid **12**, das in 62% Ausbeute nach Säulenchromatographie (Kieselgel; Toluol-Aceton) isoliert werden konnte $\{[\alpha]_D^{20} - 23,6^\circ$ (*c* 1,06, Chloroform)}. Die Zuordnung der Anomeren-Konfiguration erfolgte in jedem Falle durch Analyse der ¹³C-N.m.r.-Spektren¹⁰.

Eine Entblockierung von **12** erfolgte in vier Schritten: Deallylierung¹¹ mit PdCl₂, Acetolyse mit Trifluoressigsäure–Acetanhydrid, Hydrierung mit Pd–C in Methanol–1,4-Dioxan mit wenig Acetanhydrid und Entacetylierung mit Natriummethoxid. Vom peracetylierten Disaccharid war das 270 MHz-¹H-N.m.r.-Spektrum voll analysierbar; die Daten der vollständig entblockierten Substanz stimmten mit den angegebenen Werten überein^{3,12}.

Zur Anknüpfung der D-Mannose-Reste wird in **12** an 3-OH entallyliert (PdCl₂ in wässriger Essigsäure) und an 6-OH entacetyliert zu **15**. Dieses wird mit 4 Mol des D-Mannosylchlorides **16** bei Gegenwart von Silbertriflat und Tetramethylharnstoff¹³ in Dichlormethan bei -15° umgesetzt. Man erhält dabei in 80% Ausbeute das Tetrasaccharid **17** $\{[\alpha]_D^{20} + 14,2^\circ$ (*c* 0,81, Chloroform)}, das, wie das 270 MHz-¹H-N.m.r.-Spektrum zeigt, zwei α -D-glycosidisch verknüpfte D-Mannose-Reste enthält. Zur Entblockierung von **17** wird mit Trifluoressigsäure–Acetanhydrid der 1,6-Anhydroring geöffnet, das erhaltene Produkt unmittelbar hydriert und anschliessend acetyliert. Man gelangt dann zum Tridecaacetat **18**, aus dem mit Natriummethoxid der freie Zucker **19** erhalten wird, der in Lösung ein Anomerenverhältnis $\alpha:\beta$ wie 3:1 aufweist $\{[\alpha]_D^{20} + 37,2^\circ$ (*c* 0,73, Methanol)}.

Da **12** im D-Mannose-Teil auch selektiv entblockiert werden kann, sind die beiden in **19** enthaltenen Trisaccharide ebenfalls zugänglich. Durch Umsetzung von **16** mit **13** unter den obigen Bedingungen ergibt sich das Trisaccharid **20**, $\{[\alpha]_D^{20} + 5,6^\circ$

(c 1,27, Chloroform)}, das in 90% Ausbeute isoliert wird. Zur Entblockierung wird in **20** entallyliert und dann der 1,6-Anhydriding acetolytisch gespalten. Hierbei zeigte sich, dass die 6-*O*-Benzylethergruppe der zweiten D-Mannose-Einheit ebenfalls abgespalten wird. Dies ist jedoch unerheblich, da man unmittelbar eine Hydrierung und Acetylierung anschliessen kann. Die Entacetylierung des erhaltenen Decaacetats ergibt das freie Trisaccharid **21** $\{[\alpha]_D^{20} + 36,5^\circ$ (c 0,74 Methanol)}.



Ganz entsprechend können **16** und **14** miteinander kondensiert werden, wobei in 80% das Trisaccharid **22** erhalten wird $\{[\alpha]_D^{20} - 0,5^\circ$ (c 0,85, chloroform)}. Eine Entblockierung erfolgt in einer analogen Reaktionsfolge und führt zum freien Trisaccharid **23** $\{[\alpha]_D^{20} + 27,8^\circ$ (c 0,71, Methanol)}¹⁴.

Das Tetrasaccharid **17** ist ausserdem ein ausgezeichnetes Zwischenprodukt zum Aufbau noch grösserer Oligosaccharide. So ist an den D-Mannose-Resten an 2-OH eine Verlängerung der Kette, je nachdem mit Lactosamin als auch mit D-Mannose-Ketten, möglich¹⁵. Die 1,6-Anhydroform des 2-Azido-Zuckers ist ebenfalls neu zu funktionalisieren, so dass auch eine Kettenverlängerung in Richtung des Asparagins möglich ist.

LITERATUR

- 1 H. Paulsen, J.-C. Jacquinet und W. Rust, *Carbohydr. Res.*, 104 (1982) 195–219.
- 2 J. Montreuil, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, 37 (1980) 157–223.
- 3 M. A. E. Shaban und R. W. Jeanloz, *Carbohydr. Res.*, 52 (1976) 115–127.
- 4 C. D. Warren, C. Augé, M. L. Laver, S. Suzuki, D. Power und R. W. Jeanloz, *Carbohydr. Res.*, 82 (1980) 71–83.
- 5 C. Augé, C. D. Warren, R. W. Jeanloz, M. Kiso und L. Anderson, *Carbohydr. Res.*, 82 (1980) 85–95.
- 6 H. Paulsen und O. Lockhoff, *Chem. Ber.*, 114 (1981) 3102–3114.
- 7 R. E. Reeves, *J. Am. Chem. Soc.*, 71 (1949) 2116–2119.
- 8 E. F. Hounsell, M. B. Jones und J. A. Wright, *Carbohydr. Res.*, 65 (1978) 201–207.
- 9 H. Paulsen und W. Stenzel, *Chem. Ber.*, 111 (1978) 2348–2357.
- 10 K. Bock, J. Lundt und C. Pedersen, *Tetrahedron Lett.*, (1973) 1037–1040; K. Bock und C. Pedersen, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, (1974) 293–297; *Acta Chem. Scand., Ser. B*, 29 (1975) 258–264.
- 11 T. Ogawa und S. Nakabayashi, *Carbohydr. Res.*, 93 (1981) C1–C5.

- 12 G. Johnson, R. T. Lee und Y. C. Lee, *Carbohydr. Res.*, 39 (1975) 271–281.
- 13 S. Hanessian und J. Banoub, *Carbohydr. Res.*, 53 (1977) C13–C16; T. Ogawa und K. Sasajima, *Carbohydr. Res.*, 93 (1981) 53–66, 67–81.
- 14 L. Dorland, J. Haverkamp, J. F. G. Vliegenthart, G. Spik, G. Strecker, B. Fournet und J. Montreuil, *FEBS Lett.*, 77 (1977) 15–20.
- 15 J. Arnarp und J. Lönngren, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, (1980) 1000–1002; *J. Chem. Soc., Perkin Trans., 1*, (1981) 2070–2074.