LIEBIGS ANNALEN DER CHEMIE

HERAUSGEGEBEN VON DER
GESELLSCHAFT DEUTSCHER CHEMIKER

JAHRGANG 1983 · HEFT 3 · SEITE 337 – 520

Dieses Heft wurde am 15. März 1983 ausgegeben

Synthese von geschützten Asparagin-Glycopeptiden durch N-terminale Peptidketten-Verlängerung. – Teilsequenzen der Rinder-Desoxyribonuclease A und des luteinisierenden Hormons

*Horst Kunz** und *Hermann Kauth*[1)]

Institut für Organische Chemie der Universität Mainz,
Johann-Joachim-Becher-Weg 18 – 20, D-6500 Mainz

Eingegangen am 22. Oktober 1982

N-[2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]-[Peoc-]asparaginsäure-benzylester (**8h**) und -*tert*-butylester (**8i**) werden mit 2-Acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosylamin (**2**) zu den N^4-Glycosylasparagin-Derivaten **19** verknüpft. Aus diesen kann die Peoc-Gruppe selektiv mit Diethylamin/*tert*-Butylalkohol oder Morpholin/Methylendichlorid abgespalten werden, wobei in den entstandenen N^4-Glycosylasparaginestern **22** alle anderen Schutzgruppen und die glycosidische Bindung erhalten bleiben. Durch Kondensation von **22** mit Peoc-Aminosäuren **8** entstehen die voll geschützten N^4-Glycosylasparagin-Dipeptide **24** und **30**. Bei Kondensation der N^2-deblockierten N^4-Glycosylasparaginester **22** mit den Peoc-Peptiden **13b** oder **13c** werden die geschützten Glycotripeptide **28** bzw. **31** gebildet, die Partialsequenzen aus der Rinder-Desoxyribonucloase A bzw. der LH-β-Untereinheit darstellen. Auch kann von dem Peoc-Glycosylpeptid-*tert*-butylester **30a** die N-terminale Peoc-Gruppe hochselektiv abgespalten werden, wodurch die weitere Verlängerung der Peptidkette zu **31** möglich wird.

Synthesis of Protected Asparagine Glycopeptides *via* N-Terminal Elongation of the Peptide Chain. – Partial Sequences of Bovine Deoxyribonuclease A and of Luteinizing Hormone

N-[2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl][Peoc]aspartic acid benzyl ester (**8h**) and *tert*-butyl ester (**8i**) have been linked with 2-acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-deoxy-β-D-glucopyranosylamine (**2**) to give the N^4-glycosylasparagine esters **19**. From these the Peoc group may be removed selectively using diethylamine/*tert*-butyl alcohol or morpholine/dichloromethane to yield the N^4-glycosylasparagine esters **22**. In this way the other protecting functions and the glycosidic bond of **22** remain unchanged. Condensation of **22** with Peoc amino acids **8** gives the fully protected N^4-glycosylasparagine dipeptides **24** and **30**. The connection of the N^2-deblocked N^4-glycosylasparagine esters **22** with the Peoc dipeptides **13b** or **13c** leads to the protected glycotripeptides **28** or **31**,

Liebigs Ann. Chem. **1983**, 337 – 359

© Verlag Chemie GmbH, D-6940 Weinheim, 1983

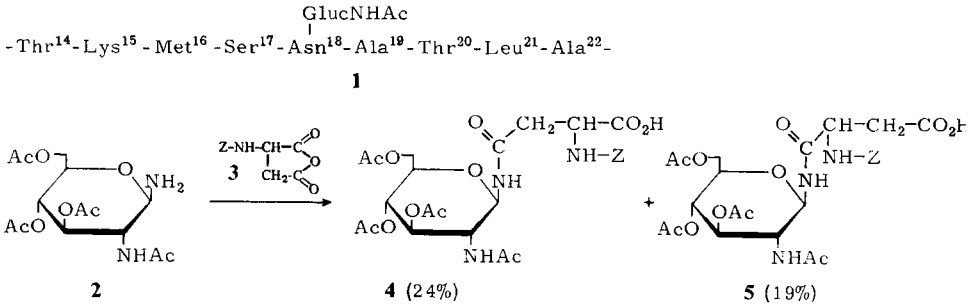
0170 – 2041/83/0303 – 0337 $ 02.50/0

respectively, which represent partial sequences of the bovine deoxyribonuclease A and of the LH β-subunit, respectively. The N-terminal Peoc group may also be removed in a highly selective manner from the Peoc glycodipeptide *tert*-butyl ester **30a**, and thus, allows the further N-terminal elongation of the peptide chain to yield **31**.

Die in der belebten Natur weit verbreiteten Glycoproteine üben als Enzyme, Hormone, Carrier, Immunoglobuline, Toxine, Lectine, Membrankomponenten usw. in vielfältiger Weise wichtige biologische Funktionen aus. Besonders an biologischen Erkennungsprozessen, so bei der Zelldifferenzierung, beim Zellwachstum, bei der Zellerkennung und bei Infektions- und Infektabwehrvorgängen scheinen Glycoproteine entscheidend beteiligt zu sein[2].

Die chemische Synthese von charakteristischen Ausschnitten aus Glycoproteinen und von Glycopeptiden wird durch die polyfunktionelle Natur dieser Verbindungen stark erschwert[3]. Der gezielte Aufbau solcher Substanzen durch Reaktionen an einer dieser funktionellen Gruppen erfordert den Einsatz selektiv nebeneinander abspaltbarer Schutzgruppen an den verschiedenen Hydroxy-, Amino-, Carboxyl- und Seitenketten-Funktionen im Kohlenhydrat- und Peptidteil. Dabei stellt die für diese Moleküle charakteristische glycosidische Bindung zwischen Kohlenhydrat und Peptid eine besondere Hürde dar. Entsprechend ihrer acetalischen Struktur ist sie gegen die in der Peptidchemie häufig angewandten stark sauren Schutzgruppen-Abspaltungsbedingungen empfindlich.

In den wenigen bisher publizierten Glycopeptid-Synthesen ist daher meist nicht mit alternativ zueinander ablösbaren Schutzgruppen gearbeitet worden, die bei ihrer Abspaltung zugleich die Erhaltung der glycosidischen Bindung garantieren. So setzten *Garg* und *Jeanloz*[4] zum Aufbau der Teilsequenz Asn^{18} bis Ala^{22} der Rinder-Desoxyribonuclease A[5] (vgl. **1**), um Probleme der selektiven Schutzgruppenabspaltung zu umgehen, das 2-Acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosylamin (**2**) mit Z-Asparaginsäure-anhydrid (**3**) um. Sie nahmen dabei die Bildung des Gemisches aus gewünschtem 4-Aspartyl-Derivat **4** und dem 1-Aspartyl-Isomeren **5**, deren Trennung und die mäßige Ausbeute an **4** in Kauf[6].

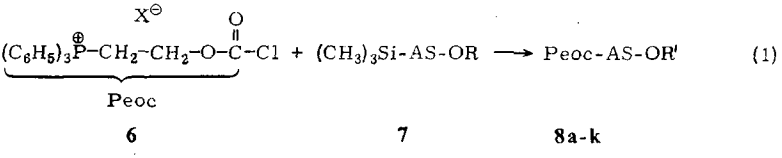


In der vorliegenden Arbeit beschreiben wir eine selektive N-terminale Kettenverlängerung an Asparagin-Glycopeptiden, bei der auch die α-Carboxylfunktion als Benzylester reversibel geschützt werden kann. Als selektiv abspaltbare Amino-Schutzgruppe

verwenden wir den basenlabilen 2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl-(Peoc-)-Rest[7]. Nach diesem Verfahren werden verschiedene Modell-Glycopeptide, unter anderem Teilsequenzen aus der Rinder-Desoxyribonulease A[5] (vgl. **1**) und aus dem luteinisierenden Hormon[8], hergestellt.

Peoc-Aminosäuren und Peoc-Peptide

Zur Einführung der Peoc-Schutzgruppe werden die *N*-Trimethylsilyl-Derivate von Aminosäure-trimethylsilylestern oder von Aminosäureestern **7** mit dem Chlorameisensäure-2-(triphenylphosphonio)ethylester-chlorid (**6**) in Chloroform oder Methylendichlorid umgesetzt[7b].



(1)

6 **7** **8a-k**

X = Cl, sofern nicht anders vermerkt; AS-OR' siehe Tab. 1.
Wenn in **7** R = $(CH_3)_3Si$, dann ist in **8** R' = H.

Auf diese Weise können auch trifunktionelle Aminosäuren in hohen Ausbeuten mit der N-terminalen Peoc-Gruppe geschützt werden. Die Ergebnisse der Schutzgruppeneinführungen zeigt Tab. 1.

Tab. 1. Eigenschaften der nach Gleichung (1) dargestellten Peoc-Aminosäuren und Peoc-Aminosäureestern **8a – k**

8	-AS-OR'	% Ausb.	$[\alpha]_D^{22}$ (*c* in $CHCl_3$)	Zustand oder Schmp. [°C]	Summenformel (Molmasse)		Analyse C	H	N
a	-Ile-OH	78	+5.1 (1.15)	amorph			–	–	–
b	-Met-OH	79	+5.07 (1.1)	amorph	$C_{26}H_{29}ClNO_4PS$ (518.0)	Ber.	60.28	5.64	2.70
						Gef.	60.42	6.10	2.61
c	-Pro-OH	96	+5.25 (1.2)	amorph			–	–	–
d	-Ser-OH	82	−0.5 (1.25)[a]	147 – 152 (Zers.)			–	–	–
e	-Thr-OH	78	−3.15 (1.0)[a]	158 (Zers.)	$C_{25}H_{27}ClNO_5P$ (487.9)	Ber.	61.54	5.58	2.87
						Gef.	61.67	5.73	3.10
f	-Ser(OtBu)-OtBu	80	−1.78 (1.25)	amorph	$C_{32}H_{41}ClNO_5P$ (586.1)	Ber.	65.58	7.05	2.39
						Gef.	65.79	7.25	2.60
g	-Thr(OtBu)-OtBu	73	+8.9 (1.0)	amorph	$C_{33}H_{43}ClNO_5P$ (600.1)	Ber.	66.04	7.22	2.33
						Gef.	66.31	7.38	2.59
h	-Asp(OH)-OBzl	90	+3.11 (1.1)	amorph	$C_{32}H_{31}ClNO_6P$ (592.0)	Ber.	64.92	5.29	2.36
						Gef.	64.78	5.56	2.61
i	-Asp(OH)-OtBu	96	−2.22 (1.0)	amorph	$C_{29}H_{33}ClNO_6P$ (558.0)	Ber.	62.42	5.96	2.51
						Gef.	62.40	6.17	2.52
j	-Asp(OBzl)-OH	86	+7.18 (1.0)	amorph	$C_{32}H_{31}ClNO_6P$ (592.0)	Ber.	64.92	5.28	2.36
						Gef.	64.80	5.65	2.03
k	-Asp(OBzl)-OtBu	92	−7.82 (1.1)	amorph	$C_{36}H_{39}ClNO_6P$ (648.1)	Ber.	66.71	6.06	2.16
						Gef.	66.50	6.21	1.96

[a] In CH_3OH.

Die in Tab. 1 zuerst aufgeführten Peoc-Aminosäuren **8a – d** halten hartnäckig Lösungsmittel fest. Ihre Struktur wurde IR- und ^{1}H-NMR-spektroskopisch sowie durch Folgeprodukte gesichert.

Zur direkten Einführung der Peoc-Gruppe in die Hydroxyaminosäuren Serin und Threonin werden deren *N,O,O*-Tris(trimethylsilyl)-Derivate eingesetzt. Peoc-Serin (**8d**) kann auch (mit Trifluoracetat als Gegenion) in guter Ausbeute aus der zweifach *tert*-butylgeschützten Form **8f** durch Behandeln mit Trifluoressigsäure gewonnen werden.

$$\underset{\textbf{8f}}{\text{Peoc-Ser(OtBu)-OtBu}} \xrightarrow[\text{Raumtemp.}]{CF_3CO_2H} \underset{\textbf{8d}\ [CF_3CO_2^{\ominus}]\ (76\%)}{\text{Peoc-Ser-OH}} \qquad (2)$$

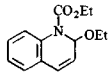
Tab. 1 zeigt, daß die Peoc-Derivate der verschiedenen Asparaginsäure-mono- und -diester **8h – k** nach diesem Verfahren sehr gut zugänglich sind. Die zur Herstellung der Konjugate mit dem Glycosylamin **2** benötigten Peoc-Asparaginsäure-α-monoester **8h** und **8i** werden dabei über die *N,O*-Bis(silyl)-Verbindungen gewonnen, in denen die β-Carboxylgruppe als Silylester vorliegt. Bei der üblichen Aufarbeitung[7b] werden die Silylester und -ether hydrolysiert.

Zum Einbau in Glycopeptidsequenzen und zur Prüfung verschiedener Kondensationsmethoden werden die Peoc-Dipeptid-*tert*-butylester **9** nach Gleichung (3) hergestellt.

$$\underset{\textbf{8}}{\text{Peoc-NH-}\overset{R^1}{\underset{|}{C}}\text{H-CO}_2\text{H}} + \text{H-NH-}\overset{R^2}{\underset{|}{C}}\text{H-CO}_2\text{tBu} \xrightarrow{\text{Verfahren A, B, C}} \underset{\textbf{9a-h}}{\text{Peoc-AS}^1\text{-AS}^2\text{-OtBu}} \qquad (3)$$

AS^1 und AS^2 siehe Tab. 2

Verfahren A: Dicyclohexylcarbodiimid (DCC)/ *N*-Hydroxysuccinimid (HOSu)
Verfahren B: Chlorameisensäure-ethylester/ Pyridin
Verfahren C: (Ethyl)-2-ethoxy-1,2-dihydro-1-chinolincarboxylat (EEDQ)



EEDQ

Die Resultate (Tab. 2) der Peptidkondensationen zeigen, daß neben dem bereits erprobten[7b] modifizierten Carbodiimid-Verfahren (A) auch das Mischanhydrid-Verfahren (B) erfolgreich zur Herstellung von Peoc-Peptiden herangezogen werden kann. Als Säurefänger bei Verfahren B wird wegen der Basenempfindlichkeit der Peoc-Gruppe Pyridin verwendet, wobei man anfangs bei –20 °C arbeitet. Besonders bequem ist die Variante C mit EEDQ[9] als Kondensationsmittel, bei der keine Base zugesetzt werden muß.

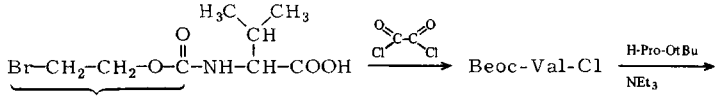
Alle drei Verfahren bewirken jedoch keine Verknüpfung von Peoc-Valin mit Prolin-*tert*-butylester. Daher haben wir für **9i** auf ein modifiziertes Säurechlorid-Verfahren[10] zurückgegriffen und die variierte Beoc-Schutzgruppe[11] verwendet [Reaktionsfolge (4)].

Die C-terminale Deblockierung der Peoc-Dipeptidester **9** gelingt glatt mit Trifluoressigsäure[12]. Neben **13a** wird auf diese Weise auch Peoc-Met-Ser-OH **13b** in 92proz. Ausbeute aus dem Ester **9b** gewonnen [Gl. (5a) und (5b)]. Eine selektive *tert*-Butylester-Spaltung erreicht man ebenso mit Chlorwasserstoff in Methylendichlorid[10] [Gl. (6a) und (6b)].

Tab. 2. Eigenschaften der nach Gleichung (3) dargestellten Peoc-Dipeptid-*tert*-butylester **9a – h**

9	-AS[1]-AS[2]-	% Ausb. nach Verfahren A	B	C	Zustand oder Schmp. [°C]	$[\alpha]_D^{22}$ (*c* in $CHCl_3$)	Summenformel (Molmasse)		Analyse C	H	N
a	-Val-Ile-	70	63	–	119 – 120	– 14.5 (1.2)	$C_{36}H_{48}ClN_2O_5P$ (655.2)	Ber.	65.99	7.38	4.27
								Gef.	66.11	7.46	4.21
b	-Met-Ser(OtBu)-	63	67	70	amorph	– 4.4 (1.1)	$C_{37}H_{50}ClN_2O_6PS$ (717.3)	Ber.	61.95	7.03	3.90
								Gef.	62.12	7.21	4.09
c	-Pro-Ile-	71	–	–	amorph	– 14.75 (1.1)	$C_{36}H_{46}ClN_2O_5P$ (653.2)	Ber.	66.19	7.09	4.29
								Gef.	66.27	7.18	4.31
d	-Leu-Ile-	–	80	–	99 – 101	– 13.2 (1.2)	$C_{37}H_{50}ClN_2O_5P$ (669.2)	Ber.	66.40	7.53	4.18
								Gef.	66.65	7.83	4.28
e	-Val-Ser(OtBu)-	–	65	–	amorph	– 8.85 (1.0)	$C_{37}H_{50}ClN_2O_6P \cdot H_2O$ (703.3)	Ber.	63.19	7.45	3.98
								Gef.	63.40	6.94	4.17
f	-Ile-Leu-	–	78	–	amorph	– 15.3 (1.0)	$C_{37}H_{50}ClN_2O_5P$ (669.2)	Ber.	66.40	7.53	4.18
								Gef.	66.65	7.64	4.30
g	-Ile-Ile-	–	72	–	amorph	– 12.35 (1.1)	$C_{37}H_{50}ClN_2O_5P$ (669.2)	Ber.	66.40	7.53	4.18
								Gef.	66.52	7.64	4.24
h	-Thr-Lys(Pht)-[a]	–	–	78	amorph	– 8.55 (1.0)	$C_{43}H_{49}ClN_3O_8P$ (802.3)	Ber.	64.37	6.15	5.23
								Gef.	64.58	6.28	5.58

[a] Pht = Phthaloyl.



Beoc **10** **11** (94%) (4)

$$\text{Beoc-Val-Pro-OtBu} \xrightarrow[\text{NaI}]{\text{MePh}_2\text{P}} (\text{MePh}_2)\text{Peoc-Val-Pro-OtBu}$$

12 (83%) **9i** [Iodid] (61%)

$$\textbf{9i}\ [\text{Iodid}] \xrightarrow{\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}} (\text{MePh}_2)\text{Peoc-Val-Pro-OH} \quad (5a)$$

13a [Iodid] (76%)

$$\textbf{9b} \xrightarrow{\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}} \text{Peoc-Met-Ser-OH} \quad (5b)$$

13b (92%)

$$\textbf{9c} \xrightarrow{\text{HCl/CH}_2\text{Cl}_2} \text{Peoc-Pro-Ile-OH} \quad (6a)$$

13c (93%)

$$\textbf{9h} \xrightarrow{\text{HCl/CH}_2\text{Cl}_2} \text{Peoc-Thr-Lys(Pht)-OH} \quad (6b)$$

13d (96%)

Die Peoc-Gruppe läßt sich von den Peptidestern **9** leicht mit Dimethylamin in Methanol[7b] ablösen, z. B. mit Reaktion (7).

$$\underset{\textbf{9b}}{\text{Peoc-Met-Ser(OtBu)-OtBu}} \xrightarrow[0\,^\circ\text{C}]{\text{HNMe}_2/\text{MeOH}} \underset{\textbf{14}}{\text{H-Met-Ser(OtBu)-OtBu}} \quad (7)$$

Die Verknüpfung des N-deblockierten Dipeptidesters **14** mit dem Peoc-Dipeptid **13d** unter der Einwirkung von EEDQ ergibt **15**, die voll geschützte Tetrapeptideinheit Thr[14] bis Ser[17] aus der Rinder-Desoxyribonuclease A. Von dieser können die *tert*-Butylgruppen mit Trifluoressigsäure wiederum selektiv zu **16** entfernt werden.

$$\textbf{13d} + \textbf{14} \xrightarrow{\text{EEDQ}} \underset{\textbf{15}\ (56\%)}{\text{Peoc-Thr-Lys(Pht)-Met-Ser(OtBu)-OtBu}} \xrightarrow{\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}} \quad (8)$$

$$\text{Peoc-Thr-Lys(Pht)-Met-Ser-OH}$$

16 (83%)

$$\textbf{13a} + \text{H-Ile-OtBu} \xrightarrow{\text{DCC/HOSu}} \underset{\textbf{17}\ [\text{Iodid}]\ (61\%)}{(\text{MePh}_2)\text{Peoc-Val-Pro-Ile-OtBu}} \xrightarrow{\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}} \quad (9)$$

$$(\text{MePh}_2)\text{Peoc-Val-Pro-Ile-OH}$$

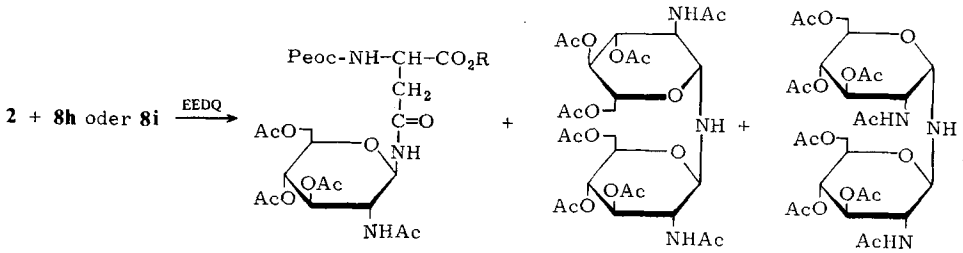
18 [Iodid] (86%)

Zur Kettenverlängerung der Peptidbruchstücke kann auch das modifizierte Carbodiimid-Verfahren[13,14] herangezogen werden, wie die Kondensation des Peoc-Dipeptids **13a** mit Isoleucin-*tert*-butylester zu **17** zeigt.

Die dargestellten Peoc-Aminosäuren und -Peptide dienen als Bausteine zum Aufbau der Glycopeptid-Modellverbindungen durch N-terminale Kettenverlängerung. Als Strukturelement wird dafür ein selektiv N-terminal deblockiertes glycosyliertes Asparagin-Derivat benötigt.

Synthese glycosylierter Asparaginester mit freier α-Aminogruppe

In allen bisher untersuchten Glycoproteinen mit *N*-glycosidisch gebundenem Asparagin dient die 2-Acetamido-2-desoxyglucose als Verknüpfungspartner[2]. Wir haben deshalb das 2-Acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosylamin (**2**) nach bekannten Verfahren[15] hergestellt und mit den Peoc-Asparaginsäure-α-monoestern **8h** und **8i** umgesetzt[7a]. Die Verknüpfung mit Carbodiimid ergibt Rohprodukte, die schwer zu reinigen sind. Wesentlich effektiver erweist sich die Kondensation mit EEDQ[9]. Dennoch müssen zwei Kohlenhydrat-Nebenprodukte durch Säulenchromatographie an silanisiertem Kieselgel abgetrennt werden. Diese können ihrerseits nach wiederholter Chromatographie an Kieselgel 60 als die beiden Bis(glycosyl)amine **20** und **21** identifiziert werden.



19a: R = Bzl (65%)
19b: R = tBu (63%)

20 (5.0%)

21 (5.5%)

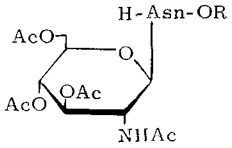
(10)

Die voll geschützten Asparagin-N^4-glycoside **19** sind auf diesem Wege mit 65- bzw. 63proz. Ausbeute zugänglich. Diese Ausbeute ist bemerkenswert, zumal hier nicht wie bei der Umsetzung des Z-Asparaginsäure-anhydrids[6] das falsche C-1-verknüpfte Isomere in fast gleicher Menge entsteht.

Die Struktur der beiden Schlüsselverbindungen **19** wird ^{1}H-NMR- und IR-spektroskopisch sowie elementaranalytisch gesichert. Im Falle des *tert*-Butylesters **19b** deuten allerdings die weiteren Umsetzungen daraufhin, daß ein Gemisch der α- und β-Anomeren vorliegt. Ein dünnschichtchromatographischer Nachweis gelingt jedoch nicht. Auch können die Signale der anomeren Protonen im ^{1}H-NMR-Spektrum nicht identifiziert werden, da sie unter denen der Schutzgruppen- und Aminosäureprotonen liegen.

Die zahlreichen funktionellen Gruppen dieser Moleküle sind mit Schutzgruppen blockiert, die verschiedenen Abspaltungsbedingungen erfordern. Dabei ist insbesondere in **19a** sicherzustellen, daß sowohl die N-terminale Peoc-Gruppe als auch der hydrogenolytisch ablösbare Benzylester so schonend entfernt werden, daß eine Spaltung der glycosidischen Bindung vermieden wird. Die selektive Abspaltung der Peoc-Gruppe aus **19** muß darüber hinaus unter Bedingungen vorgenommen werden, unter denen die Acetat-Schutzgruppen im Kohlenhydratteil stabil sind.

Mit 0.1 N NaOH in Methanol/Wasser oder mit Dimethylamin in Methanol bei 0 °C[7b] wird der primäre Ester in 6-Position des Zuckerteils von **19** bereits so schnell zerlegt, daß keine einheitlichen Produkte erhalten werden können. Setzt man dagegen Diethylamin in *tert*-Butylalkohol ein, so kann die Peoc-Gruppe selektiv aus diesen polyfunktionellen Verbindungen abgespalten werden.



19a, 19b $\xrightarrow[\text{bzw. Morpholin in } CH_2Cl_2]{HNEt_2/tBu\text{-}OH}$ **22a**: R = Bzl; 65%/68%; **22b**: R = tBu; 57% + 15% α-Isomer **23** (11)

Der glycosylierte Asparagin-benzylester **22a** ist auf diese Weise mit 65proz. Ausbeute zugänglich. Seine Struktur wird ^{1}H-NMR-spektroskopisch und elementaranalytisch gesichert. Die noch mildere Deblockierung des entsprechenden Peoc-Glycosylasparagin-*tert*-butylesters **19b** mit Morpholin in Dichlormethan führte zu zwei chromatographisch sehr ähnlichen Verbindungen im Verhältnis 4:1. Nach ihrer Trennung durch Hochdruckflüssigchromatographie können sie als der erwartete β-glycosylierte Asparagin-*tert*-butylester **22b** (57%) und der entsprechende α-glycolysierte Asparaginester **23** (15%) identifiziert werden. Obwohl die Ausgangssubstanzen der Synthese, das Glycosylamin **2** und das Peoc-Asparagin-Derivat **19b**, dünnschichtchromatographisch einheitlich schienen, ist die Anomerisierung bei der Peoc-Abspaltung unter diesen milden basischen Bedingungen unwahrscheinlich. Sie muß von einem früheren Syntheseschritt herrühren.

Beide Anomeren **22b** und **23** ergeben im Felddesorptionsmassenspektrum den erwarteten Molpeak bei 518 Dalton und als Halbhydrate korrekte Werte der Elementaranalyse. Ihre 270-MHz-^{1}H-NMR- und 67.88-MHz-^{13}C-NMR-Spektren unterscheiden sich charakteristisch (Tab. 3).

Tab. 3. Chemische Verschiebungen (δ-Werte) und Kopplungskonstanten (J) in den 270-MHz-^{1}H-NMR-Spektren der anomeren N^4-(2-Acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-D-glucopyranosyl)-asparagin-*tert*-butylester **22b** und **23** in Deuteriochloroform (TMS als Standard)

Molekülteil	Proton	Daten des β-Anomeren **22b** δ-Wert	J [Hz]	Daten des α-Anomeren **23** δ-Wert	J [Hz]
Kohlenhydrat	1-H	5.10	$J_{1,NH} = 8.94$, $J_{1,2} = 8$	5.64	$J_{1,NH} = 8.9$, $J_{1,2} = 4.7$
	2-H	4.17	$J_{2,1} = 8$, $J_{2,3} = 9$	4.59	$J_{2,1} = 4.7$, $J_{2,3} = 9.5$, $J_{2,NH} = 9.7$
	3-H	5.15	$J_{2,3} = J_{3,4} = 9$	5.18	$J_{3,2} = 9.5$, $J_{3,4} = 9.0$
	4-H	5.08	$J_{4,3} = 9$, $J_{4,5} = 9.5$	5.14	$J_{4,3} = 9.0$, $J_{4,5} = 9.5$
	5-H	3.78	$J_{5,4} = 9.5$, $J_{5,6} = 4.4$, $J_{5,6'} = 2.1$	3.84	$J_{5,4} = 9.5$, $J_{5,6} = 4.2$, $J_{5,6'} = 2.5$
	6-H	4.28	$J_{6,5} = 4.4$	4.26	$J_{6,5} = 4.2$
	6'-H	4.08	$J_{6',5} = 2.1$ } $J_{gem} = 12.4$	4.06	$J_{6',5} = 2.5$ } $J_{gem} = 12.2$
Asparagin	α-H	3.58	$J_{\alpha,\beta} = 3.14$, $J_{\alpha,\beta'} = 10.16$	3.94	$J_{\alpha,\beta} = 4.8$
	β-H	2.63	$J_{\beta,\alpha} = 3.14$	2.66[a]	$J_{\beta,\alpha} = 4.8$
	β'-H	2.32	$J_{\beta',\alpha} = 10.16$ } $J_{gem} = 15.84$		

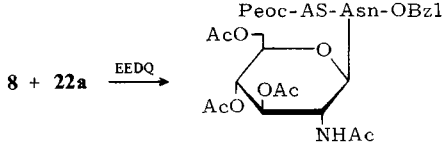
[a] δ(β-H) = δ(β'-H) = 2.66.

Deutlich und konfigurationsbeweisend ist die Tieffeld-Verschiebung des äquatorialen 1-H im Spektrum des α-Anomeren **23** und die gleichzeitige kleinere Kopplung dieses Protons mit 2-H, welche die gauche-Stellung belegt. Weiterhin fällt die magnetische Nichtäquivalenz der prochiralen Asparagin-Methylenprotonen im β-Anomeren **22b** auf, während im Spektrum des α-Anomeren keine Aufspaltung zu beobachten ist. Charakteristisch im Erscheinungsbild der Spektren ist außerdem, daß die *N*-Acetylprotonen in 2-Stellung beim β-Anomeren **22b** wie auch beim gleichkonfigurierten Benzylester **22a** bei $\delta = 1.85$ hochfeldabgesetzt von den übrigen Acetylprotonen ($\delta = 2.09 - 2.04$) absorbieren. Die Signale der Acetylprotonen des α-Anomeren **23** liegen dagegen allesamt bei $\delta = 2.09 - 2.01$.

In den ^{13}C-NMR-Spektren belegen die Signale der anomeren Kohlenstoffatome die angegebene Struktur. C-1 des β-Anomeren **22b** verursacht eine Bande bei $\delta = 79.75$, während die des α-Anomeren um 4.7 ppm hochfeldverschoben bei $\delta = 75.05$ erscheint.

Synthese von Asparagin-Glycopeptid-benzylestern und einer Partialsequenz der Rinder-Desoxyribonuclease A

Durch Kondensation des Glucosylasparagin-benzylesters **22a** mit Peoc-Aminosäuren **8** unter Einwirkung von EEDQ wird der N-terminale Aufbau zu den geschützten Glycopeptiden **24a – d** erreicht [Gl. (12) und Tab. 4].



(12)

24a-d: AS siehe Tab. 4

Tab. 4. Eigenschaften der nach Gleichung (12) dargestellten Peoc-Glycopeptid-benzylester **24a – d**

24	-AS-	% Ausb.	$[\alpha]_D^{22}$ (c in $CHCl_3$)	Summenformel (Molmasse)		Analyse C	H	N
a	-Ile-	53	+1.94 (1.2)	$C_{52}H_{62}ClN_4O_{14}P$ (1033.5)	Ber.	60.43	6.04	5.42
					Gef.	60.24	6.12	5.64
b	-Leu-	57	+1.71 (1.0)	$C_{52}H_{62}ClN_4O_{14}P$ (1033.5)	Ber.	60.43	6.04	5.42
					Gef.	60.18	5.75	5.61
c	-Phe-	61	+1.57 (1.15)	$C_{55}H_{60}ClN_4O_{14}P \cdot H_2O$ (1085.6)	Ber.	60.35	5.80	5.12
					Gef.	60.21	5.81	5.43
d	-Ser-	49	+4.07 (1.3)	$C_{49}H_{56}ClN_4O_{15}P$ (1007.4)	Ber.	58.42	5.60	5.56
					Gef.	58.14	5.57	5.52

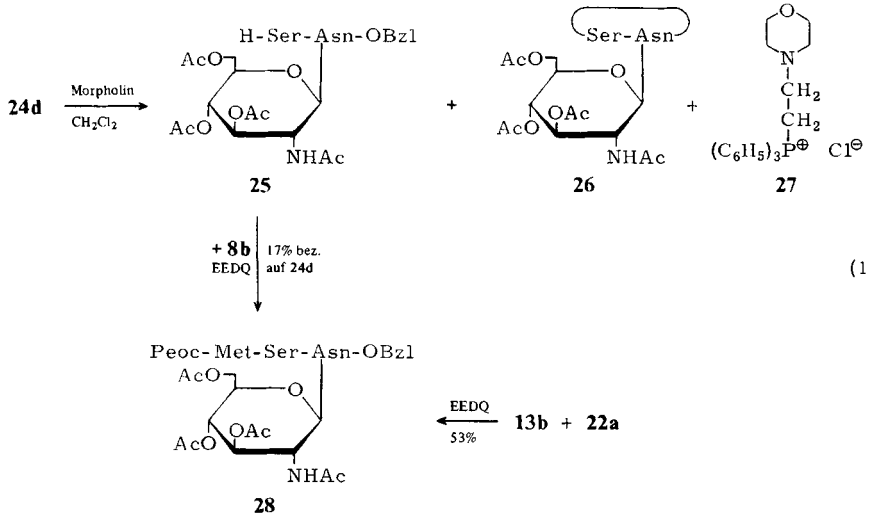
Die Reaktion ist in Chloroform in der Regel nach 12 h beendet. Nur das sterisch anspruchsvollere Peoc-Isoleucin **(8a)** ist dann noch nachzuweisen. Die Reaktionszeit kann jedoch nicht beliebig verlängert werden, weil allmähliche Zersetzung des gebildeten Glycopeptids **24a** beobachtet wird. Das in Chloroform unlösliche Peoc-Serin **(8d)**

überführt man zuerst mit EEDQ in das lösliche Anhydrid und setzt erst dann die Aminokomponente zu.

Die 60-MHz-^{1}H-NMR-Spektren der Glycopeptide **24** erlauben nur noch die Signalzuordnung der charakteristischen Schutzgruppenprotonen. Diese Signale stehen im geforderten Verhältnis zueinander und bestätigen damit die Struktur.

Die Abspaltung der Peoc-Gruppe aus den Glycopeptid-benzylestern **24** kann wegen der geringen Löslichkeit dieser Verbindungen nicht in Diethylamin/*tert*-Butylalkohol vorgenommen werden. Sie gelingt aber in Morpholin/Methylendichlorid. Dabei tritt keine Racemisierung ein. L-Phenylalanin-*tert*-butylester ⟨$[\alpha]_D^{22}$ = +30.8 (*c* = 2.5, EtOH)⟩, der mit der Peoc-Gruppe versehen wurde, zeigte nach Abspaltung des Peoc-Restes mit Morpholin/Methylendichlorid nahezu den gleichen Drehwert ⟨$[\alpha]_D^{22}$ = +30.7 (*c* = 2.0, EtOH)⟩.

Während der N-terminalen Deblockierung der Glycopeptid-benzylester **24** macht sich allerdings die Diketopiperazinbildung sehr störend bemerkbar, die auch bei der hydrogenolytischen Abspaltung der Z-Gruppe aus Dipeptid-alkylestern eintritt[14]. Bei der Peoc-Gruppenabspaltung aus dem Serin-Glycosylasparaginester **24d** nach Gleichung (13) wird deshalb nur das Triphenyl(2-morpholinoethyl)phosphoniumchlorid (**27**) durch Chromatographie an Kieselgel abgetrennt und der N-deblockierte Glycodipeptid-benzylester **25** sofort mit Peoc-Methionin (**8b**) zum Glycotripeptid **28**, dem Ausschnitt Met^{16} bis Asn^{18} aus der Rinder-Desoxyribonuclease A, weiter umgesetzt.

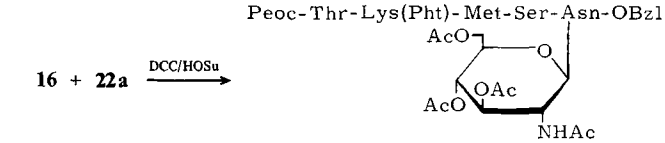


(13)

Bedingt durch unvollständige Reaktion, die Bildung des Diketopiperazins **26** und die aufwendige chromatographische Reinigung wird das Glycotripeptid **28** auf diesem Weg nur in einer Ausbeute von 17% (bezogen auf **24d**) erhalten. Um die intramolekulare Aminolyse auf der Stufe des Glycodipeptidesters **25** auszuschließen, haben wir den freien Glycosylasparagin-benzylester **22a** direkt mit dem Peoc-Dipeptid **13b** kondensiert. Das Glycotripeptid **28** kann man so nach chromatographischer Reinigung in einer Ausbeute von 53% gewinnen, wobei wiederum das EEDQ- dem Carbodiimid-Verfah-

ren überlegen ist. Die Struktur von **28** wird durch Elementaranalyse, IR- und ^{1}H-NMR-Spektren belegt.

Die Grenze der Anknüpfung einer vorgefertigten Peptidkette in einem Block, die im Falle des Dipeptids **13b** der Einzelschritt-Verlängerung überlegen ist, zeigt ein orientierender Versuch, in dem der Glycosylasparagin-benzylester **22a** mit dem Peoc-Tetrapeptid **16** umgesetzt wird. Nach dem hier effektiven Carbodiimid-Verfahren bleibt die Reaktion selbst nach 5 Tagen unvollständig. Trotz mehrfacher Chromatographie läßt sich kein reines Glycopentapeptid **29** isolieren, das den Abschnitt Thr^{14} bis Asn^{18} der Rinder-Desoxyribonuclease (vgl. **1**) darstellt. Dabei ist insbesondere das Peoc-Tetrapeptid **16** nicht vollständig abzutrennen. Das legt den Schluß nahe, daß bei Blockkondensationen zu Peoc-Glycopeptiden nur kleinere Peoc-Peptideinheiten eingesetzt werden sollten.

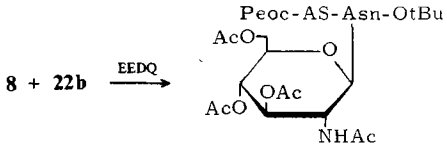


(14)

29

Synthese von Asparagin-Glycopeptid-*tert*-butylestern und einer Teilsequenz aus dem luteinisierenden Hormon

Die im vorigen Abschnitt geschilderte störende Diketopiperazinbildung bei der N-terminalen Deblockierung des Glycodipeptid-benzylesters **24d** sollte bei ensprechenden *tert*-Butylestern nicht ins Gewicht fallen. Um einen Vergleich zwischen Einzelschritt- und Blockkondensation ziehen zu können, haben wir die N-terminale Peptidkettenverlängerung von **22b** mit verschiedenen Peoc-Aminosäuren **8** zu den Glycodipeptiden **30** durchgeführt [Gl. (15) und Tab. 5].



(15)

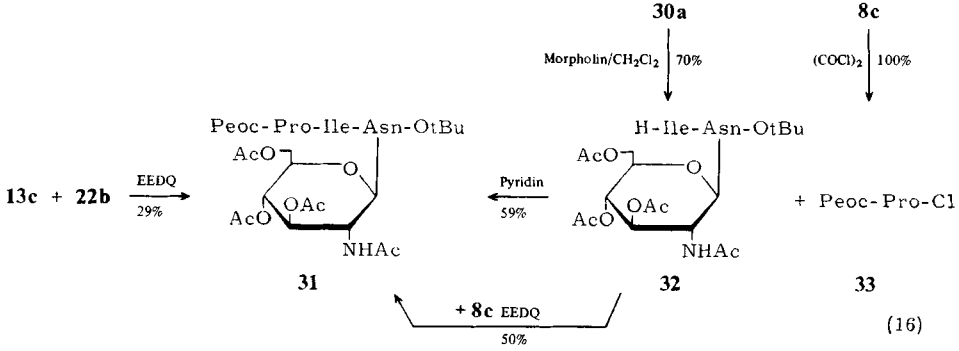
30a–c: AS siehe Tab. 5

Tab. 5. Eigenschaften der nach Gleichung (15) dargestellten Peoc-Glycopeptid-*tert*-butylester **30a–c**

30	-AS-	% Ausb.	$[\alpha]_D^{22}$ (*c* in $CHCl_3$)	Summenformel (Molmasse)		Analyse C	H	N
a	-Ile-	64	+7.39 (1.2)	$C_{49}H_{64}ClN_4O_{14}P \cdot H_2O$ (1017.5)	Ber.	57.84	6.53	5.50
					Gef.	57.60	6.38	5.79
b	-Leu-	67	+2.49 (1.1)	$C_{49}H_{64}ClN_4O_{14}P$ (999.5)	Ber.	58.84	6.45	5.60
					Gef.	59.14	6.75	5.74
c	-Phe-	61	+3.19 (1.1)	$C_{52}H_{62}ClN_4O_{14}P \cdot H_2O$ (1051.52)	Ber.	59.39	6.13	5.32
					Gef.	59.39	6.25	5.61

EEDQ liefert als Kondensationsmittel wiederum bessere Ergebnisse als DCC. Nach dem üblichen Ausschütteln und Umfällen (vgl. Experimenteller Teil) werden die Verbindungen **30** ohne Chromatographie rein erhalten. Die Analyse der 60-MHz-^{1}H-NMR-Spektren ist nur teilweise möglich. Charakteristische Signale des Kohlenhydrat- und des Peptidteils können aber zugeordnet und integriert werden. Sie belegen die angegebene Struktur.

Zum Aufbau der Partialsequenz Pro^{11} bis Asn^{13} der β-Untereinheit des luteinisierenden Hormons[8] wird der N^2-deblockierte Glycosylasparagin-*tert*-butylester **22b** mit dem Peoc-Dipeptid **13c** kondensiert.



(16)

Die Ausbeute an Glycotripeptid **31** liegt wiederum deutlich höher, wenn EEDQ statt DCC (21%) als Kondensationsmittel eingesetzt wird. Sie beträgt wegen des hohen sterischen Anspruchs beider Reaktionskomponenten und wegen der chromatographischen Reinigung an silanisiertem Kieselgel dennoch nur ca. 30%. Die schrittweise Elongation der Peptidkette bietet sich hier als Ausweg an, zumal die Verknüpfung des Glycosylasparagin-*tert*-butylesters **22b** mit dem Peoc-Tripeptid Peoc-Val-Pro-Ile-OH (**18**) weder mit EEDQ noch mit DCC zu einem rein isolierbaren Glycotetrapeptid führt. Die Peoc-Gruppe kann aus dem Glycodipeptid-*tert*-butylester **30a** mit Morpholin in Methylendichlorid selektiv und ohne beobachtbare Nebenreaktionen (Diketopiperazinbildung, Acetatspaltung) abgelöst werden. Das in 70proz. Ausbeute isolierbare Glycodipeptid **32** ist in Chloroform bei Raumtemperatur laut Dünnschichtchromatographie und ^{1}H-NMR-Spektrum mindestens 24 h stabil. Zum weiteren Aufbau der LH-β-Teilsequenz wird es mit Peoc-Prolin (**8c**) verknüpft. Bei Einsatz von EEDQ erhält man das Glycotripeptid **31** mit ca. 50proz. Ausbeute. Aktiviert man das Peoc-Prolin (**8c**) stärker nach dem von uns erprobten Säurechlorid-Verfahren[10] zu **33**, kann die Ausbeute nach chromatographischer Reinigung auf ca. 60% gesteigert werden.

Die Gesamtausbeute an Glycotripeptid **31** liegt nach den Einzelschritt-Verlängerungen (27%) nicht über der der Blockkondensation **13c** + **22b** → **31**. Da die Produkte beim schrittweisen Vorgehen wesentlich leichter zu reinigen sind und in ihrer Struktur gesichert werden können, ziehen wir dieses dennoch vor. Die Drehwerte von **31** liegen dabei etwas unter denjenigen, welche die nach Blockkondensation hergestellten Proben zeigen.

Die außerordentlich milde basische Abspaltung der Peoc-Gruppe von den Aminofunktionen der Aminosäurebausteine eröffnet nach unseren Ergebnissen einen Weg,

Asparagin-Glycopeptide gezielt durch N-terminale Peptidkettenverlängerung aufzubauen.

Der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* und dem *Fonds der Chemischen Industrie* danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit. Der *Bayer AG*, der *BASF AG*, der *Degussa AG* und der *Hoechst AG* sei für Chemikalienspenden gedankt.

Experimenteller Teil

^{1}H-NMR-Spektren: Jeol-JNM-60-, Bruker-WH-90- und Bruker-WH-270-Gerät. IR-Spektren: Beckman-Gerät Acculab 2. FD-Massenspektren: Varian-Mat-Gerät CH 711. – Drehwerte: Perkin-Elmer-Polarimeter 241. – Die Schmelzpunkte sind nicht korrigiert. – HPLC-Trennungen: Waters Prep LC 500 A. – Chromatographie: Kieselgel 60 und silanisiertes Kieselgel 60 (KG_{silan}) der Fa. Merck, Darmstadt. – EEDQ = (Ethyl)-2-ethoxy-1,2-dihydro-1-chinolincarboxylat[9].

N-[2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]aminosäuren oder -aminosäureester [Peoc-Aminosäuren] **8a–k**. – *Allgemeine Arbeitsvorschrift:* Die Herstellung der Peoc-Aminosäuren **8** erfolgt nach dem bereits beschriebenen Verfahren[7b], indem die Aminosäuren (0.02 mol) zunächst in 40 ml absol. Methylendichlorid mit 0.04 mol Trimethylchlorsilan[16,17] und 0.04 mol Triethylamin (im Falle des Serinesters, des Threoninesters und des Asparaginsäurediesters werden nur je 0.02 mol und im Falle von Serin und Threonin je 0.06 mol dieser Reagenzien eingesetzt) in *N*-(Trimethylsilyl)aminosäure-trimethylsilylester [bzw. *N*-(Trimethylsilyl)aminosäureester oder *N,O,O*-Tris-(trimethylsilyl)serin bzw. -threonin] übergeführt werden. Für Prolin und Methionin verwendet man günstiger 0.05 mol *N*-(Trimethylsilyl)diethylamin[16] zur Silylierung, destilliert die Silylaminosäure-silylester und löst sie in 40 ml Methylendichlorid. Zu der so bereiteten Lösung tropft man bei –10°C 8.10 g (0.02 mol) Chlorameisensäure-2-(triphenylphosphonioethyl)ester-chlorid [Peoc-Cl] (**6**) in 40 ml absol. Chloroform. Nach 8 h arbeitet man wie angegeben[7b] auf und fällt die Peoc-Aminosäuren bzw. Peoc-Aminosäureester **8** aus Methylendichlorid/Ether um. – Alle Peoc-Derivate **8** zeigen im IR-Spektrum bei $\tilde{\nu}$ = 1730–1710 cm^{-1} die Urethan und die Carbonsäure- bzw. Carbonsäureester-Banden, bei 1550–1520 cm^{-1} die Amid-II Bande und bei 1430–1435 cm^{-1} die charakteristische Schwingung der Arylphosphoniumsalze. Ausbeuten und weitere Daten s. Tab. 1.

N-[2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]isoleucin-chlorid [Peoc-Ile-OH] (**8a**): ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ = 8.0–7.3 (m; 15H, Phenyl), 1.1–0.6 (m; 6H, $2CH_3$).

N-[2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]methionin-chlorid [Peoc-Met-OH] (**8b**): ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ = 7.9–7.04 (m; 15H, Phenyl), 2.0 (s; 3H, S–CH_3).

N-[2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]prolin-chlorid [Peoc-Pro-OH] (**8c**): ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ = 8.1–7.6 (m; 15H, Phenyl), 2.1–1.6 (m; 4H, CH_2–CH_2 von Pro).

N-[2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]serin-chlorid [Peoc-Ser-OH] (**8d**): ^{1}H-NMR (CD_3OD): δ = 8.0–7.5 (m; 15H, Phenyl), 4.8–3.5 (m; 7H, CH_2–CH_2 von Peoc und CH–CH_2 von Ser).

N-[2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]threonin-chlorid [Peoc-Thr-OH] (**8e**): ^{1}H-NMR (CD_3OD): δ = 8.0–7.4 (m; 15H, Phenyl), 4.8–3.8 (m; 5H, CH_2–CH_2 von Peoc und CH von Thr), 1.1 (d, J = 6 Hz; 3H, CH_3).

N-[2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]-O-tert-butylserin-tert-butylester-chlorid [Peoc-Ser(OtBu)-OtBu] (**8f**): ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ = 8.0–7.5 (m; 15H, Phenyl), 1.47 [s; 9H, $CO_2C(CH_3)_3$], 1.15 [s; 9H, $OC(CH_3)_3$].

N-[2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]-O-tert-butylthreonin-tert-butylester-chlorid [Peoc-Thr(OtBu)-OtBu] (**8g**): ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ = 8.0–7.6 (m; 15H, Phenyl), 1.45 [s; 9H, $CO_2C(CH_3)_3$], 1.15 [s, darunter d; 12H, $OC(CH_3)_3$ und CH_3].

N-[2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]asparaginsäure-1-benzylester-chlorid [Peoc-Asp(OH)-OBzl] (**8h**): ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ = 8.0–7.5 (m; 15H, P-Phenyl), 7.3 („s"; 5H, C-Phenyl), 5.05 (s; 2H, CH_2-Phenyl), 3.1–2.8 (m; 2H, CH_2 von Asp).

N-[2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]asparaginsäure-1-tert-butylester-chlorid [Peoc-Asp(OH)-OtBu] (**8i**): ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ = 7.9–7.4 (m; 15H, Phenyl), 2.9–2.7 (m; 2H, CH_2 von Asp), 1.5 [s; 9H, $C(CH_3)_3$].

N-[2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]asparaginsäure-4-benzylester-chlorid [Peoc-Asp-(OBzl)-OH] (**8j**): ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ = 7.8–7.3 (m; 15H, P-Phenyl), 7.2 („s"; 5H, C-Phenyl), 5.0 (s; 2H, CH_2-Phenyl), 2.9–2.7 (m; 2H, CH_2 von Asp).

N-[2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]asparaginsäure-4-benzylester-α-tert-butylester-chlorid [Peoc-Asp(OBzl)-OtBu] (**8k**): ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ = 8.1–7.6 (m; 15H, P-Phenyl), 7.3 („s"; 5H, C-Phenyl), 5.1 (s; 2H, CH_2-Phenyl), 1.35 [s; 9H, $C(CH_3)_3$].

N-[2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]serin-trifluoracetat (**8d** mit $CF_3CO_2^{\oplus}$): Man rührt 2.35 g (4 mmol) Peoc-Ser(OtBu)-OtBu (**8f**) in 5 g Trifluoressigsäure 6 h bei 0°C, dampft i. Vak. ein, fällt den Rückstand mehrmals aus Methanol/Ether um, digeriert mit Aceton und kristallisiert aus Methanol/Aceton um. Ausb. 1.7 g (76%), Schmp. 127–129°C.

$C_{26}H_{25}F_3NO_7P$ (551.5) Ber. C 56.63 H 4.57 N 2.54 Gef. C 56.27 H 4.51 N 2.61

Peoc-Dipeptid-tert-butylester **9a–h**. – *Allgemeine Arbeitsvorschriften*

Verfahren A: Es wurde bereits früher beschrieben[7b].

Verfahren B: 0.02 mol Peoc-Aminosäure **8** werden in 50 ml absol. Methylendichlorid bei –20°C mit 1.55 g (0.02 mol) Pyridin in 5 ml Methylendichlorid und danach mit 2.20 g (0.02 mol) Chlorameisensäure-ethylester versetzt. Nach 20min. Rühren tropft man bei –20°C 0.02 mol Ameisensäure-*tert*-butylester[18] in 30 ml Methylendichlorid zu. Nach 15stdg. Stehenlassen bei Raumtemp. wird die organische Phase je zweimal mit 30 ml 0.5 N HCl sowie Wasser ausgeschüttelt, mit Na_2SO_4 getrocknet und i. Vak. eingedampft. Der Rückstand wird aus Methanol/Ether oder aus Methylendichlorid/Ether umgefällt.

Verfahren C: Die Lösungen von 0.015 mol Peoc-Ameisensäure **8**, 0.015 mol Aminosäure-*tert*-butylester[18] und 3.70 g (0.015 mol) EEDQ in jeweils 50 ml absol. Methylendichlorid werden bei –15°C vereinigt und 12 h bei Raumtemp. gerührt. Die Aufarbeitung erfolgt, wie beim Mischanhydrid-Verfahren (B) angegeben ist.

Ausbeuten und Daten der Peoc-Dipeptid-*tert*-butylester **9** s. Tab. 2. In den ^{1}H-NMR-Spektren zeigen die Signale der Schutzgruppenprotonen bei δ = 7.8–7.4 (P-Phenyl) und bei δ = 1.4 (s, *tert*-Butyl) sowie die chrakteristischen Signale der Aminosäureester die korrekte Struktur für die einzelnen Verbindungen an.

N-[2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]valyl-isoleucin-tert-butylester-chlorid [Peoc-Val-Ile-OtBu] (**9a**).

N-[2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]methionyl-O-tert-butylserin-tert-butylester-chlorid [Peoc-Met-Ser(OtBu)-OtBu] (**9b**).

N-[2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]prolyl-isoleucin-tert-butylester-chlorid [Peoc-Pro-Ile-OtBu] (**9c**).

N-[2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]leucyl-isoleucin-tert-butylester-chlorid [Peoc-Leu-Ile-OtBu] (**9d**).

N-[2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]valyl-O-tert-butylserin-tert-butylester-chlorid [Peoc-Val-Ser(OtBu)-OtBu] (**9e**).

N-[2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]isoleucyl-leucin-tert-butylester-chlorid [Peoc-Ile-Leu-OtBu] (**9f**).

N-[2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]isoleucyl-isoleucin-tert-butylester-chlorid [Peoc-Ile-Ile-OtBu] (**9g**).

N-[2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]threonyl-N^6,N^6-phthaloyllysin-tert-butylester-chlorid [Peoc-Thr-Lys(Pht)-OtBu] (**9h**).

N-(2-Bromethoxycarbonyl)valylchlorid [Beoc-Val-Cl] (**11**): Zu 5.40 g (0.02 mol) *N*-(2-Bromethoxycarbonyl)valin[11] (**10**) in 50 ml absol. Methylendichlorid tropft man bei 0°C 5.10 g (0.04 mol) Oxalylchlorid. Nach Entfernen der Kühlung wird 2 h gerührt bis die Gasentwicklung beendet ist[10]. Lösungsmittel und überschüssiges Oxalylchlorid werden i. Vak. entfernt. Man destilliert zweimal 10 ml absol. Chloroform vom Rückstand ab, trocknet das Produkt **11** i. Hochvak. und setzt es in dieser Form zur weiteren Synthese ein. Ausb. 5.4 g (94%).

N-(2-Bromethoxycarbonyl)valyl-prolin-tert-butylester [Beoc-Val-Pro-OtBu] (**12**): Zu 2.90 g (0.01 mol) Beoc-Val-Cl (**11**) in 30 ml Methylendichlorid tropft man bei 0°C eine Mischung aus 1.0 g (0.01 mol) Triethylamin und 1.7 g (0.01 mol) Prolin-*tert*-butylester in 40 ml Methylendichlorid. Man rührt 15 h, schüttelt je zweimal mit 25 ml 0.5 N HCl, 0.5 N NaOH sowie Wasser aus, trocknet die organische Phase mit Natriumsulfat und destilliert das Lösungsmittel ab. Aus dem Rückstand erhält man durch Lösen in Ether und Zugabe von Petrolether die Verbindung **12** als farblose Kristalle. Ausb. 3.5 g (83%), Schmp. 79–80°C, $[\alpha]_D^{22} = -43.82$ ($c = 1.62$, $CHCl_3$). – IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 1710–1730 (C=O, Ester, Urethan), 1630 (Amid-I), 1520 cm^{-1} (Amid-II). – ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ = 4.3 (t, J = 6 Hz; 2H, CH_2–O), 3.5 (t, J = 6 Hz; 2H, CH_2–Br), 1.45 (s; 9H, *tert*-C_4H_9), 1.0 (t, J = 6 Hz; 6H, CH_3).

$C_{17}H_{29}BrN_2O_5$ (421.3) Ber. C 48.46 H 6.94 N 6.65 Gef. C 48.45 H 7.12 N 6.69

N-[2-(Methyldiphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]valyl-prolin-tert-butylester-iodid [($MePh_2$)-Peoc(I)-Val-Pro-OtBu] (**9i**): 8.50 g (0.02 mol) Beoc-Val-Pro-OtBu (**12**) werden in 100 ml Aceton mit 3.70 g (0.025 mol) Natriumiodid versetzt und 15 h unter Rückfluß erhitzt. Man filtriert und fügt unter Sauerstoffausschluß 4.00 g (0.02 mol) Methyldiphenylphosphan zu. Es wird weitere 4 d unter Rückfluß erhitzt, das (1,2-Ethandiyl)bis[methyldiphenylphosphoniumiodid] abfiltriert, das Aceton verdampft und der Rückstand in Chloroform gelöst. Man schüttelt einmal mit Natriumiodid-gesättigtem Wasser aus, engt ein und fällt **9i** mit Ether aus. Zur weiteren Reinigung wird **9i** noch zweimal aus Methylendichlorid/Ether umgefällt. Ausb. 8.1 g (61%) amorphes Pulver, $[\alpha]_D^{22} = +47.5$ (c 1.07, $CHCl_3$). – IR (NaCl): $\tilde{\nu}$ = 1720–1730 (C=O, Ester, Urethan), 1640 (Amid-I), 1520 (Amid-II), 1430 cm^{-1} (P-Aryl). – ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ = 7.4–8.0 (m; 10H, P-Phenyl), 2.85 (d, J = 12 Hz; 3H, P-CH_3), 1.8–2.1 (breit; 4H, CH_2–CH_2 von Pro), 1.40 (s; 9H, *tert*-C_4H_9), 0.85 (t, J = 6 Hz; 6H, CH_3).

$C_{30}H_{42}IN_2O_5P$ (668.6) Ber. C 53.90 H 6.33 N 4.19 Gef. C 54.18 H 6.57 N 4.46

Spaltung der tert-Butylester und tert-Butylether **9**. – *Allgemeine Arbeitsvorschriften*

a) Man rührt 0.01 mol des betreffenden Peoc-Dipeptid-*tert*-butylesters **9** in 15 ml Trifluoressigsäure 1 h bei 0°C (bei **9b** wird 6 h gerührt). Danach wird die Trifluoressigsäure i. Vak. abdestilliert und der zähe Rückstand mehrmals aus Chlroform/Ether umgefällt. Spuren von Trifluoressigsäure werden durch Ausschütteln der Chloroformphase mit Kochsalz-gesättigtem Wasser

entfernt. Die Chloroformlösung wird mit Natriumsulfat getrocknet, eingeengt und das erhaltene zähe Öl nochmals aus Chloroform/Ether umgefällt. Man gewinnt die Peoc-Dipeptide **13** als amorphe Feststoffe, die so zu weiteren Synthesen eingesetzt werden.

N-[2-(Methyldiphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]valyl-prolin-iodid [($MePh_2$)Peoc(I)-Val-Pro-OH] (**13a**): Ausb. 4.6 g (76%) amorphe Festsubstanz, $[\alpha]_D^{22} = -43.40$ ($c = 1.18$, $CHCl_3$). – IR (NaCl): $\tilde{\nu}$ = 1740 (C=O, Säure, Urethan), 1635 (Amid-I), 1520 (Amid-II), 1430 cm^{-1} (P-Aryl). – ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ = 7.4–7.7 (m; 10H, Phenyl), 2.8 (d, J = 12 Hz; 3H, P-CH_3), 2.0 (breit; 4H, CH_2-CH_2 von Pro), 0.9 (m; 6H, CH_3).

N-[2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]methionyl-serin-chlorid [Peoc-Met-Ser-OH] (**13b**): Ausb. 5.6 g (92%) amorpher Feststoff, $[\alpha]_D^{22} = +11.51$ ($c = 1.00$, $CHCl_3$). – IR (NaCl): $\tilde{\nu}$ = 1725 (C=O, Säure, Urethan), 1670 (Amid-I), 1520–1540 (Amid-II), 1430 cm^{-1} (P-Aryl). – ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ = 7.3–7.7 (m; 15H, Phenyl), 3.3–3.9 und 4.0–4.4 (sehr breit; 6H, CH_2-CH_2 von Peoc und CH_2 von Ser), 2.2–2.4 (breit; 2H, CH_2 von Met), 2.0 (s; 3H, S–CH_3).

b) Alternativ können die *tert*-Butylester **9** gespalten werden, indem in eine Lösung von 0.01 mol **9** in 50 ml Methylendichlorid bei 0°C 10 min trockener Chlorwasserstoff[10b] eingeleitet wird. Nach Verdampfen des Lösungsmittels wird in 50 ml absol. Chloroform aufgenommen, erneut eingedampft und aus Methylendichlorid/Ether umgefällt.

N-[2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]prolyl-isoleucin-chlorid [Peoc-Pro-Ile-OH] (**13c**): Ausb. 5.5 g (96%) amorpher Feststoff, $[\alpha]_D^{22} = -20.0$ ($c = 1.08$, $CHCl_3$). – IR (NaCl): $\tilde{\nu}$ = 1720–1730 (C=O, Säure, Urethan) 1650 (Amid-I), 1530–1550 cm^{-1} (Amid-II). – ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ = 7.4–7.9 (m; 15H, Phenyl), 1.8–2.2 (breit; 4H, CH_2-CH_2 von Pro), 0.9 (m; 6H, CH_3).

N-[2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]threonyl-N^6,N^6-phthaloyllysin-chlorid [Peoc-Thr-Lys(Pht)-OH] (**13d**): Ausb. 7.1 g (96%), amorphes Pulver, $[\alpha]_D^{22} = -9.97$ ($c = 0.96$, $CHCl_3$). – IR (NaCl): $\tilde{\nu}$ = 1780 (Pht), 1700–1730 (C=O, Säure, Urethan), 1670 (Amid-I), 1520 (Amid-II), 1430 cm^{-1} (P-Aryl). – ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ = 7.6–7.8 (m; 19H, P-Phenyl und Pht), 1.0–2.0 (sehr breit; 9H, CH_2 und CH_3).

Abspaltung der Peoc-Gruppe. – Methionyl-O-tert-butylserin-tert-butylester [H-Met-Ser(OtBu)-OtBu] (**14**): 7.10 g (0.01 mol) Peoc-Met-Ser(OtBu)-OtBu (**9b**) werden in 50 ml einer 20proz. Lösung von Diethylamin in Methanol 1 h bei 0°C gerührt. Danach verdampft man das Lösungsmittel und extrahiert den Rückstand mit Ether. Die etherische Phase wird mit Wasser ausgeschüttelt, mit Natriumsulfat getrocknet und der Ether abdestilliert. Der Dipeptidester **14** fällt als Öl an und wird i. Hochvak. getrocknet. Ausb. 2.8 g (82%) zähflüssiges Öl, $[\alpha]_D^{22} = +12.11$ ($c = 1.26$, $CHCl_3$). – IR (NaCl): $\tilde{\nu}$ = 1730 (C=O, Ester), 1660 (Amid-I), 1520 cm^{-1} (Amid-II). – ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ = 2.1 (s; 3H, CH_3), 1.5 (s; 9H, CO_2-*tert*-C_4H_9), 1.1 (s; 9H, O-*tert*-C_4H_9).

$C_{16}H_{32}N_2O_4S$ (348.5) Ber. C 55.14 H 9.26 N 8.03 Gef. C 55.17 H 9.68 N 7.54

N-[2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]threonyl-N^6,N^6-phthaloyllysyl-methionyl-O-tert-butylserin-tert-butylester-chlorid [Peoc-Thr-Lys(Pht)-Met-Ser(OtBu)-OtBu] (**15**): 3.70 g (5 mmol) Peoc-Thr-Lys(Pht)-OH (**13d**) werden in Methylendichlorid mit 1.75 g (5 mmol) H-Met-Ser(OtBu)-OtBu (**14**) und 1.25 g (5.5 mmol) EEDQ umgesetzt. Zur Aufarbeitung wird nach 4 d mit 30 ml 0.5 N HCl und mit Wasser je zweimal ausgeschüttelt, die Lösung mit Natriumsulfat getrocknet und i. Vak. eingeengt. Zur weiteren Reinigung wird mehrmals aus Methylendichlorid/Ether umgefällt, mit Ether verrieben und getrocknet. Ausb. 3.0 g (56%) amorphes Pulver, $[\alpha]_D^{22} = -9.35$ ($c = 1.04$, $CHCl_3$). – IR (NaCl): $\tilde{\nu}$ = 1785 (Pht), 1720–1730 (C=O, Ester, Urethan), 1670 (Amid-I), 1530–1540 cm^{-1} (Amid-II). – ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ = 7.4–7.9 (m; 19H,

P-Phenyl und Pht), 2.0 (s; 3H, S–CH_3), 1.5 (s; 9H, CO_2-*tert*-C_4H_9, stark überlagert von CH_2 und CH_3), 1.1 (s; 9H, O-*tert*-C_4H_9).

$C_{55}H_{71}ClN_5O_{11}PS \cdot H_2O$ (1094.7) Ber. C 60.34 H 6.72 N 6.39 Gef. C 60.57 H 6.56 N 6.63

N-[2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]threonyl-N^6,N^6-phthaloyllysyl-methionyl-serin-chlorid [Peoc-Thr-Lys(Pht)-Met-Ser-OH] (**16**): 2.10 g (2 mmol) Peoc-Thr-Lys(Pht)-Met-Ser-(OtBu)-OtBu (**15**) werden bei 0 °C mit 5 g Trifluoressigsäure übergossen. Man rührt 6 h bei dieser Temperatur und entfernt danach die Trifluoressigsäure i. Vak. Der Rückstand wird in Chloroform aufgenommen und mit Kochsalz-gesättigtem Wasser ausgeschüttelt. Die organische Phase wird mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel verdampft. Das Rohprodukt wird anschließend mehrmals aus Methylendichlorid/Ether umgefällt, mit Ether verrieben, abfiltriert und getrocknet. Ausb. 1.6 g (83%) amorphes Pulver, $[\alpha]_D^{22} = -57.33$ (c = 1.00, $CHCl_3$). – IR (NaCl): $\tilde{\nu}$ = 1780 (Pht), 1705 (C=O, Säure, Urethan), 1670 (Amid-I), 1530, 1550 (Amid-II), 1430 cm^{-1} (P-Aryl). – ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ = 7.5–8.1 (m; 19H, P-Phenyl und Pht), 2.05 (s; 3H, S–CH_3), 1.0–2.0 (sehr breit; 9H, CH_2 und CH_3).

N-[2-(Methyldiphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]valyl-proyl-isoleucin-tert-butylester-iodid [(Me-Ph_2)Peoc(I)-Val-Pro-Ile-OtBu] (**17**): Nach dem Carbodiimid-Verfahren[7b,13,14] werden 3.05 g (5 mmol) (MePh_2)Peoc(I)-Val-Pro-OH (**13a**) in 50 ml Methylendichlorid mit 0.93 g (5 mmol) H-Ile-OtBu, 1.15 g (10 mmol) *N*-Hydroxysuccinimid und 1.20 g (6 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid versetzt. Nach 4 d schüttelt man die Lösung mit 30 ml 0.5 N HCl, Wasser und 20 ml gesättigter Natriumthiosulfat-Lösung (zur Zerstörung gebildeten Iods) aus, trocknet mit Natriumsulfat und destilliert das Lösungsmittel ab. Das ölige Produkt wird durch Umfällen aus Methylendichlorid/Ether in ein amorphes Pulver übergeführt. Ausb. 2.4 g (61%), $[\alpha]_D^{22} = -34.54$ (c = 1.00, $CHCl_3$). – IR (NaCl): $\tilde{\nu}$ = 1720–1730 (C=O, Ester, Urethan), 1645 (Amid-I), 1515 – 1535 cm^{-1} (Amid-II). – ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ = 7.6–8.1 (m; 10H, Phenyl), 2.9 (d, J = 12 Hz; 3H, P-CH_3), 1.5 (s; 9H, *tert*-C_4H_9), 0.9–1.1 (m; 12H, CH_3).

$C_{36}H_{53}IN_3O_7P \cdot H_2O$ (815.7) Ber. C 53.01 H 6.79 N 5.15 Gef. C 53.56 H 6.49 N 5.11

N-[2-(Methyldiphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]valyl-proyl-isoleucin-iodid [(MePh_2)Peoc(I)-Val-Pro-Ile-OH] (**18**): Analog zur Vorschrift für **16** werden 1.6 g (2 mmol) (MePh_2)Peoc(I)-Val-Pro-Ile-OtBu (**17**) mit Trifluoressigsäure umgesetzt. Anstelle von Kochsalz-gesättigtem Wasser wird mit Natriumiodid-gesättigtem Wasser ausgeschüttelt. Ausb. 1.3 g (86%) amorphes Pulver, $[\alpha]_D^{22} = -22.5$ (c = 1.03, $CHCl_3$). – IR (NaCl): $\tilde{\nu}$ = 1715–1725 (C=O, Säure, Urethan), 1660 (Amid-I), 1520–1540 (Amid-II), 1435 cm^{-1} (P-Aryl). – ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ = 7.5–7.9 (m; 10H, Phenyl), 2.85 (d, J = 14 Hz; 3H, P-CH_3), 0.9–1.1 (m; 12H, CH_3).

N^4-(2-Acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyrsanosyl)-N^2-[2-(triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]asparagin-benzylester-chlorid [Peoc-Asn(Ac_3GluNHAc)-OBzl] (**19a**): 5.90 g (0.01 mol) Peoc-Asp(OH)-OBzl (**8h**) und 3.46 g (0.01 mol) 2-Acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosylamin[15] (**2**) werden in jeweils 70 ml Methylendichlorid gelöst und auf –15 °C abgekühlt. Man vereinigt die beiden Lösungen und versetzt mit 2.7 g (0.011 mol) EEDQ. Anschließend wird 2 h bei –15 °C und 15 h bei Raumtemp. gerührt. Man schüttelt zweimal mit 50 ml 0.5 N HCl und mit Wasser aus, trocknet mit Natriumsulfat und dampft i. Vak. ein. Der amorphe Rückstand wird portionsweise (2.0–2.5 g) über 300 g silanisiertem Kieselgel mit Chlorofrom/Methanol (25:1) chromatographiert. Man eluiert zuerst die zwei nicht getrennten Kohlenhydratverbindungen **20** und **21**, dann den gewünschten Glycosylasparaginester **19a**. Ausb. 6.0 g (65%) amorphes **19a** mit R_F = 0.55 (Chloroform/Methanol = 25:1), $[\alpha]_D^{22} = +21.16$ (c = 1.08, $CHCl_3$). – IR (NaCl): $\tilde{\nu}$ = 1750 (C=O, Ester, Urethan), 1675 (Amid-I), 1550, 1540 (Amid-II), 1440 cm^{-1} (P-Aryl). – ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ = 7.8 (m; 15H, P-Phenyl), 7.27 (s; 5H, Phenyl), 5.1 (s; 2H, Benzyl-CH_2), 1.95, 2.01 (2s; 9H, OAc), 1.85 (s; 3H, NHAc).

$C_{46}H_{51}ClN_3O_{13}P \cdot H_2O$ (938.36) Ber. C 58.87 H 5.69 N 4.48 Gef. C 58.98 H 5.76 N 4.42

Die beiden Kohlenhydratkomponenten **20** und **21** können über Kieselgel 60 mit Chloroform/Methanol (8:1) chromatographisch getrennt und aus Ethanol umkristallisiert werden.

2-Acetamido-N-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-3,4,-6-tri-O-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosylamin (**20**): Ausb. 170 mg (5.0%, bez. auf **2**), Schmp. 260 bis 261 °C, $[\alpha]_D^{22} = -26.5$ ($c = 1.05$, $CHCl_3$) ⟨Lit[19]: Schmp. 267–268 °C, $[\alpha]_D^{22} = -28.5$ ($c = 1.2$, $CHCl_3$)⟩.

2-Acetamido-N-(2-acetamido-3,4-6-tri-O-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-3,4,-6-tri-O-acetyl-2-desoxy-α-D-glucopyranosylamin (**21**): Ausb. 190 mg (5.5 %, bez. auf **2**), Schmp. 245–247 °C, $[\alpha]_D^{22} = +35.9$ ($c = 1.1$, $CHCl_3$) ⟨Lit[19]: Schmp. 253–254 °C, $[\alpha]_D^{22} = +38.8$ ($c = 1.2$, $CHCl_3$)⟩.

N^4-(2-Acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-N^2-[2-(triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]asparagin-tert-butylester-chlorid [Peoc-Asn(Ac_3GluNHAc)-OtBu] (**19b**): 5.60 g (0.01 mol) Peoc-Asp(OH)-OtBu (**8i**) werden in 150 ml Chloroform bei −15 °C zuerst mit 3.46 g (0.01 mol) **2**[15] in 100 ml Chloroform und danach mit 2.5 g (0.01 mol) festem EEDQ versetzt und 15 h gerührt. Dabei wird Raumtemp. erreicht. Es wird zweimal mit je 70 ml 0.5 N HCl und mit Wasser ausgeschüttelt, mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel verdampft. Der Rückstand wird portionsweise an 300 g silanisiertem Kieselgel 60 in Chloroform/Methanol (25:1) chromatographiert. Man eluiert zuerst ein Gemisch der oben beschriebenen isomeren Bis(glucosyl)amine **20** und **21**. Danach isoliert man amorphes **19b**, das aus Methylendichlorid/Ether umgefällt und i. Hochvak. getrocknet wird. Ausb. 5.6 g (63%) amorphes Pulver, $R_F = 0.60$ (Chloroform/Methanol 25:1) – eine Anomerentrennung kann unter diesen Bedingungen nicht beobachtet werden – $[\alpha]_D^{22} = +23.18$ ($c = 0.95$, $CHCl_3$). – IR (NaCl): $\tilde{\nu} = 1740$ (C=O, Ester, Urethan), 1675 (Amid-I), 1550, 1530 (Amid-II), 1430 cm^{-1} (P-Aryl). – ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): $\delta = 7.7$ (m; 15H, Phenyl), 1.86, 1.94, 1.98 (3s; 12H, Acetyl), 1.35 (s; 9H, *tert*-C_4H_9). Die Signale der anomeren Protonen liegen im Spektrum unter denen der Schutzgruppen- und Asparaginprotonen. Sie können im Spektrum nicht identifiziert werden.

$C_{43}H_{53}ClN_3O_{13}P$ (886.83) Ber. C 58.27 H 6.02 N 4.74 Gef. C 58.08 H 6.10 N 5.13

N^4-(2-Acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-asparagin-benzylester [H-Asn(Ac_3GlucNHAc)-OBzl] (**22a**): 4.60 g (5 mmol) Peoc-Asn(Ac_3GlucNHAc)-OBzl (**19a**) in 140 ml *tert*-Butylalkohol werden mit 60 ml einer 20proz. Lösung von Diethylamin in *tert*-Butylalkohol versetzt. Nach 30min. Rühren bei Raumtemp. engt man i. Vak. ein und verteilt den zähen Rückstand zwischen Chloroform und Wasser. Die organische Phase wird mit Natriumsulfat getrocknet und danach eingedampft. Das Produkt **22a** kristallisiert aus Methylendichlorid/Ether als farblose Nadeln aus. Es ist laut Dünnschichtchromatogramm [*n*-Butanol/Eisessig/H_2O (4:1:1) und Chloroform/Methanol (12:1)] einheitlich. Ausb. 1.9 g (68%), Schmp. 149–150 °C, $R_F = 0.26$ in Chloroform/Methanol (12:1), $[\alpha]_D^{22} = -31.2$ ($c = 1.26$, $CHCl_3$). – IR (KBr): $\tilde{\nu} = 1755$, 1745 (C=O, Ester), 1680, 1660 (Amid-I), 1550, 1530 cm^{-1} (Amid-II). – ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): $\delta = 7.38$ (s; 5H, Phenyl), 5.15 [s; 2H, Benzyl-CH_2 (überlagert von m; 3H, 1-H, 3-H, 4-H)], 4.0–4.35 (m; 3H, 2-H, 6-H, 6'-H), 1.85, 2.06, 2.07, 2.12 (4s, 12H, Acetyl).

$C_{25}H_{33}N_3O_{11} \cdot H_2O$ (569.56) Ber. C 52.72 H 6.19 N 7.38 Gef. C 52.99 H 5.84 N 7.52

N^4-(2-Acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-β-D- und -α-D-glucopyranosyl)asparagin-tert-butylester (**22b** bzw. **23**): Man versetzt eine Lösung von 8.9 g (0.01 mol) Peoc-Asn(Ac_3GlucNHAc)-OtBu (**19b**) in 250 ml Methylendichlorid mit 8.4 ml Morpholin und rührt 20 min bei Raumtemp. Danach schüttelt man mit Kochsalz-gesättigtem Wasser aus. Die organische Phase wird mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. verdampft. Das Rohprodukt enthält zwei Komponenten, die durch Hochdruckflüssigchromatographie an Kieselgel mit Chloroform/Methanol (25:1) getrennt werden.

H-Asn(Ac_3-α-GlucNHAc)-OtBu (**23**): Ausb. 770 mg (15%) amorphes Pulver, R_F = 0.43 in Chloroform/Methanol (12:1), $[\alpha]_D^{22}$ = +48.54 (*c* = 1.03, $CHCl_3$). – FD-MS: *m/e* = 518 (M^+).

$C_{22}H_{35}N_3O_{11} \cdot 0.5\ H_2O$ (526.53) Ber. C 50.18 H 6.89 N 7.84 Gef. C 49.79 H 6.63 N 7.84

H-Asn(Ac_3-β-GlucNHAc)-OtBu (**22b**): Ausb. 2.9 g (57%) amorphes Pulver, R_F = 0.48 in Chloroform/Methanol (12:1), $[\alpha]_D^{22}$ = −10.07 (*c* = 1.37, $CHCl_3$). – FD-MS: *m/e* = 518 (M^+).

$C_{22}H_{35}N_3O_{11} \cdot 0.5\ H_2O$ (526.53) Ber. C 50.18 H 6.89 N 7.84 Gef. C 50.14 H 6.62 N 7.90

Die ^1H- und ^{13}C-NMR-Daten der Verbindung **22b** und **23** sind in Tab. 3 aufgeführt.

Asparagin-Glycodipeptid-benzylester **24a–d**. – *Allgemeine Arbeitsvorschrift:* 1.4 g (2.5 mmol) H-Asn(Ac_3GlucNHAc)-OBzl (**22a**) werden in 30 ml Methylendichlorid bei −15°C mit 2.5 mmol der betreffenden Peoc-Aminosäure **8** in 30 ml Methylendichlorid und mit 740 mg (3 mmol) EEDQ versetzt. (**8d** läßt man zuerst 2 h bei Raumtemp. mit EEDQ reagieren, danach wird bei −15°C die Lösung von **22a** zugegeben.) Man rührt 15 h und läßt dabei auf 20°C erwärmen. Anschließend wird dreimal mit je 20 ml 0.5 N HCl und mit Wasser ausgeschüttelt, die organische Phase mit Na_2SO_4 getrocknet und das Methylendichlorid verdampft. Zur weiteren Reinigung werden **24b** und **24c** aus Methylendichlorid/Ether umgefällt. Man erhält sie als amorphe Feststoffe. Die Verbindungen **24a** und **24d** werden über 300 g silanisiertes Kieselgel in Chloroform/Methanol (25:1) chromatographiert. Auch sie werden als amorphe Pulver isoliert; Ausbeuten und weitere Daten vgl. Tab. 4.

N-[2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]isoleucyl-N⁴-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)asparagin-benzylester-chlorid [Peoc-Ile-Asn(Ac_3GlucNHAc)-OBzl] (**24a**): IR (NaCl): $\bar{\nu}$ = 1750–1760 (C=O, Ester, Urethan) 1670–1680 (Amid-I), 1540, 1555 (Amid-II), 1445 cm^{-1} (P-Aryl). – ^1H-NMR ($CDCl_3$): δ = 7.7 (m; 15H, P-Phenyl), 7.3 (s; 5H, Phenyl), 1.8–2.1 (12H, Acetyl), 0.7–0.85 (m; 6H, CH_3).

N-[2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]leucyl-N⁴-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)asparagin-benzylester-chlorid [Peoc-Leu-Asn(Ac_3GlucNHAc)-OBzl] (**24b**): IR (NaCl): $\bar{\nu}$ = 1755–1760 (C=O, Ester, Urethan), 1650–1665 (Amid-I), 1530–1550 (Amid-II), 1435 cm^{-1} (P-Aryl). – ^1H-NMR ($CDCl_3$): δ = 7.7 (m; 15H, P-Phenyl), 7.35 (s; 5H, Phenyl), 1.95 (s; 9H, OAc), 1.8 (s; 3H, NHAc), 0.7 (breit; 6H, CH_3).

N-[2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]phenylalanyl-N⁴-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)asparagin-benzylester-chlorid [Peoc-Phe-Asn(Ac_3GlucNHAc)-OBzl] (**24c**): ^1H-NMR ($CDCl_3$): δ = 7.6–8.0 (m; 15H, P-Phenyl), 7.2–7.3 (10H, Phenyl), 5.1 (s; 2H, Benzyl-CH_2), 1.9–2.1 (12H, Acetyl).

N-[2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]seryl-N⁴-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)asparagin-benzylester-chlorid [Peoc-Ser-Asn(Ac_3GlucNHAc)-OBzl] (**24d**): ^1H-NMR ($CDCl_3$): δ = 7.6–8.0 (m; 15H, P-Phenyl), 7.2 (s; 5H, Phenyl), 5.0 (s; 2H, Benzyl-CH_2), 1.8–2.1 (m; 12H, Acetyl).

N-[2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]methionyl-seryl-N⁴-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)asparagin-benzylester-chlorid [Peoc-Met-Ser-Asn(Ac_3GlucNHAc)-OBzl] (**28**)

a) *Aus Peoc-Methionin* (**8b**) *und Glycodipeptid-benzylester* **25**

1) *Seryl-N⁴-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)asparagin-benzylester-chlorid* [Ser-Asn(Ac_3GlucNHAc)-OBzl] (**25**): 4.0 g (4 mmol) Peoc-Ser-Asp(Ac_3GlucNHAc)-OBzl] (**24d**) werden in 100 ml Methylendichlorid mit 3.4 ml (0.04 mol) Morpholin 20 min gerührt. Man engt ein, versetzt mit 40 ml Ether, dekantiert, nimmt das etherunlösliche Öl in Methanol auf und versetzt mit der doppelten Menge an Eisessig (480 mg). Triphenyl(2-morpholinoethyl)phos-

phoniumchlorid (**27**) wird durch Chromatographie über 50 g Kieselgel 60 mit Methanol/Eisessig (30:1) abgetrennt. Anschließend wird das Lösungsmittel verdampft und der Rückstand mehrmals aus Methylendichlorid/Ether umgefällt.

2) **28**: Das erhaltene rohe, *N*-deblockierte Glycosid **25** wird in 50 ml Chloroform mit 80 mg (1 mmol) Pyridin und 520 mg (1 mmol) Peoc-Methionin (**8b**) in 30 ml Chloroform versetzt. Danach gibt man 370 mg (1.5 mmol) EEDQ bei −15°C zu und rührt 18 h bei Raumtemp. Man schüttelt mit 40 ml 0.5 N HCl und mit Wasser aus, trocknet mit Natriumsulfat und destilliert das Lösungsmittel ab. Das erhaltene Rohprodukt wird an 300 g silanisiertem Kieselgel 60 mit Chloroform/Methanol (25:1) chromatographiert. Ausb. 770 mg (17%, bez. auf **24d**) amorphes Pulver, R_F = 0.48 (Chloroform/Methanol = 25:1), $[\alpha]_D^{22}$ = +3.8 (*c* = 1.13, $CHCl_3$). – IR (NaCl): $\tilde{\nu}$ = 1725–1740 (C=O, Ester, Urethan), 1640–1660 (Amid-I), 1530–1560 (Amid-II), 1445 cm^{-1} (P-Aryl). – ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ = 7.5–8.1 (m; 15H, P-Phenyl), 7.25 (s; 5H, Phenyl), 5.1 (s; 2H, Benzyl-CH_2), 1.8–2.1 (m; 15H, Acetyl und S–CH_3).

$C_{54}H_{65}ClN_5O_{15}PS \cdot 2H_2O$ (1174.7) Ber. C 55.21 H 5.92 N 5.96 Gef. C 55.36 H 5.89 N 5.76

b) *Aus Peoc-Dipeptid* **13b** *und Glycosylasparagin-benzylester* (**22a**): Zu einer Lösung 1.65 g (3 mmol) H-Asn(Ac_3GlucNHAc)-OBzl (**22a**) in 40 ml Chloroform gibt man bei −15°C 1.8 g (3 mmol) Peoc-Met-Ser-OH (**13b**) in 40 ml Chloroform und 1.1 g (4.5 mmol) EEDQ. Man rührt anschließend 3 d und schüttelt danach mit 40 ml 0.5 N HCl und mit Wasser aus. Laut Dünnschichtchromatogramm enthält die Lösung mehrere Komponenten. Man chromatographiert daher mehrfach an 300 g silanisiertem Kieselgel mit Chloroform/Methanol (25:1) und trennt schrittweise die Verunreinigungen und nicht umgesetztes **22a** ab. Man fällt mehrmals aus Chloroform/Ether um, verreibt mit Ether, filtriert ab und trocknet i. Hochvak. Ausb. 1.0 g (31%) amorphes Pulver, $[\alpha]_D^{22}$ = +4.5 (*c* = 1.43, $CHCl_3$). IR- und ^{1}H-NMR-Spektrum stimmen mit denen der nach a) erhaltenen Verbindung **28** überein.

Versuch zur Synthese von N-[2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]threonyl-N^6,N^6-phthaloyllysyl-methionyl-seryl-N^4-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-asparagin-benzylester-chlorid [Peoc-Thr-Lys(Pht)-Met-Ser-Asn(Ac_3GlucNHAc)-OBzl] (**29**): Man kühlt eine Lösung von 480 mg (0.5 mmol) Peoc-Thr-Lys(Pht)-Met-Ser-OH (**16**) in 30 ml Chloroform auf −20°C ab, gibt 275 mg (0.5 mmol) Glycosylasparaginester **22a** und 110 mg (1 mmol) *N*-Hydroxysuccinimid in 20 ml Chloroform und danach 206 mg (1 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid zu. Man rührt 2 h bei −15°C und anschließend 5 d bei Raumtemp. Die Lösung wird eingeengt, ausgefallener Dicyclohexylharnstoff abgetrennt, das Filtrat wieder mit 40 ml Chloroform verdünnt und mit 25 ml 0.5 N HCl und mit Wasser ausgeschüttelt. Nach dem Trocknen mit Natriumsulfat enthält die Lösung laut Dünnschichtchromatogramm (Chloroform/Methanol = 8:1) mehrere Komponenten, von denen insbesondere **16** selbst durch mehrfache Chromatographie an 300 g silanisiertem Kieselgel in Chloroform/Methanol-Gemischen nicht abzutrennen war, so daß **29** nicht rein isoliert und identifiziert werden konnte.

Asparagin-Glycodipeptid-tert-butylester **30a–c**. – *Allgemeine Arbeitsvorschrift:* Man löst 1.0 g (2 mmol) H-Asn(Ac_3GlucNHAc)-OtBu (**22b**) und 2 mmol Peoc-Aminosäure **8** in jeweils 30 ml Methylendichlorid, kühlt auf −10°C, vereinigt die Lösungen und fügt 0.5 g (2 mmol) EEDQ zu. Man rührt 1 h bei −10°C und läßt dann während ca. 15 h auf Raumtemp. erwärmen. Man schüttelt je zweimal mit 30 ml 0.5 N HCl und Wasser aus, trocknet mit Natriumsulfat und destilliert das Lösungsmittel i. Vak. ab. Der ölige Rückstand wird in wenig Methylendichlorid gelöst und mit Ether ausgefällt. Diese Operation wird wiederholt und anschließend das Lösungsmittel dekantiert. Nach dem Trocknen i. Hochvak. bleiben die Glycodipeptidester **30** als analysenreine, amorphe Pulver zurück; Analysendaten s. Tab. 5.

N-[2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]isoleucyl-N⁴-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)asparagin-tert-butylester-chlorid [Peoc-Ile-Asn(Ac_3GlucNHAc)-OtBu] (**30a**): Ausb. 1.3 g (64%) amorpher Feststoff. – IR (NaCl): $\bar{\nu}$ = 1745 (C=O, Ester, Urethan), 1680 (Amid-I), 1550, 1540 (Amid-II), 1445 cm^{-1} (P-Aryl). – ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ = 7.55–7.90 (m; 15H, Phenyl), 2.73 (s, breit; 2H, CH_2 von Asn), 1.88, 1.95, 2.02 (3s; 12H, Acetyl), 1.33 (s; 9H, *tert*-C_4H_9), 0.82 (d, J = 7 Hz; 6H, CH_3).

N-[2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]leucyl-N⁴-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)asparagin-tert-butylester-chlorid [Peoc-Leu-Asn(Ac_3GlucNHAc)-OtBu] (**30b**): Ausb. 1.35 g (67%) amorphes Pulver. – IR (NaCl): $\bar{\nu}$ = 1730–1750 (C=O, Ester, Urethan), 1650–1665 (Amid-I), 1520–1540 (Amid-II), 1435 cm^{-1} (P-Aryl). – ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ = 7.5–8.0 (m; 15H, Phenyl), 2.80 (breit; 2H, CH_2 von Asn), 1.85–2.08 (m; 12H, Acetyl), 1.45 (s; 9H, *tert*-C_4H_9, überlagert durch CH–CH_2 von Leu), 0.84 (d, J = 6 Hz; 6H, CH_3).

N-[2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]phenylalanyl-N⁴-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)asparagin-tert-butylester-chlorid [Peoc-Phe-Asn(Ac_3GlucNHAc)-OtBu] (**30c**): Ausb. 1.25 g (61%) amorphes Pulver. – IR (NaCl): $\bar{\nu}$ = 1720–1740 (C=O, Ester, Urethan), 1680–1660 (Amid-I), 1535–1555 (Amid-II), 1440 cm^{-1} (P-Aryl). – ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ = 7.55–8.0 (m; 15H, P-Phenyl), 7.30 (s; 5H, Phenyl), 2.85–3.10 (m; 4H, CH_2 von Asn und Phe), 1.85, 1.95, 2.03, (3s, 12H, Acetyl), 1.40 (s; 9H, *tert*-C_4H_9).

N-[2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]prolyl-isoleucyl-N⁴-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)asparagin-tert-butylester-chlorid [Peoc-Pro-Ile-Asn(Ac_3GlucNHAc)-OtBu] (**31**)

a) *Aus Peoc-Dipeptid* **13c** *und Glycosylasparagin-tert-butylester* **22b**

α) *Verknüpfung mit DDC:* 1.0 g (2 mmol) H-Asn(Ac_3GlucNHAc)-OtBu (**22b**) werden in 30 ml Chloroform mit 500 mg (4 mmol) *N*-Hydroxysuccinimid versetzt. Man kühlt auf –20°C ab und fügt eine Lösung von 1.2 g (2 mmol) Peoc-Pro-Ile-OH (**13c**) in 30 ml Chloroform zu. Nach Zugabe von 825 mg (4 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid läßt man die Lösung langsam auf Raumtemp. erwärmen und rührt danach 4 d. Man verdampft einen Teil des Lösungsmittels, filtriert die Hauptmenge an Dicyclohexylharnstoff ab, verdünnt mit 50 ml Chloroform und schüttelt mit 0.5 N HCl und mit Wasser aus. Nach Trocknen mit Natriumsulfat und Vertreiben des Lösungsmittels bleibt ein viskoser Rückstand zurück, der laut Dünnschichtchromatogramm [Chloroform/Methanol (8:1)] mehrere Substanzen enthält. Das Rohprodukt wird daher mehrmals an 300 g silanisiertem Kieselgel 60 mit Chloroform/Methanol (25:1) chromatographiert. Ausb. 460 mg (21%) amorpher Feststoff, R_F = 0.46 (Chloroform/Methanol = 25:1), $[\alpha]_D^{22}$ = –2.8 (c = 1.14, $CHCl_3$).

β) *Verknüpfung mit EEDQ:* Man löst jeweils 1.0 g (2 mmol) H-Asn(Ac_3GlucNHAc)-OtBu (**22b**) und 1.2 g (2 mmol) Peoc-Pro-Ile-OH (**13c**) in jeweils 40 ml Methylendichlorid, kühlt auf –15°C, vereinigt die Lösungen und versetzt mit 740 mg (3 mmol) EEDQ. Man läßt innerhalb von 3 h auf 20°C erwärmen und rührt bei dieser Temperatur 56 h. Danach schüttelt man mit 30 ml 0.5 N HCl und mit Wasser aus und chromatographiert wiederholt an 300 g silanisiertem Kieselgel. Man erhält **31** als zähes Öl, das durch Umfällen aus Methylendichlorid/Ether und Trocknen i. Hochvak. in ein amorphes Pulver übergeführt wird. – Ausb. 635 mg (29%), $[\alpha]_D^{22}$ = –2.1 (c = 1.32, $CHCl_3$). – IR (NaCl): $\bar{\nu}$ = 1730–1710 (C=O, Ester, Urethan), 1660 (Amid-I), 1520–1545 (Amid-II), 1430 cm^{-1} (P-Aryl). – ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ = 7.6–8.1 (m; 15H, Phenyl), 1.7–2.1 (m; 18H, Acetyl und CH_2), 1.40 (s; 9H, *tert*-C_4H_9), 0.85–1.1 (m; 6H, CH_3).

b) *Aus Peoc-Prolin* (**8c**) *und Glycodipeptid-tert-butylester* **32**

1) *Isoleucyl-N⁴-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)asparagin-tert-butylester* [Ile-Asn(Ac_3GlucNHAc)-OtBu] (**32**): Zu 1.0 g (1 mmol) Peoc-Ile-Asn(Ac_3GlucNHAc)-

OtBu (**30a**) in 50 ml Methylendichlorid werden 0.9 ml (0.01 mol) Morpholin bei Raumtemp. gegeben. Nach 20min. Rühren schüttelt man mit Wasser aus. Die organische Phase wird mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel verdampft. Der Rückstand wird zweimal aus Methylendichlorid/Ether umgefällt und ist danach laut Dünnschichtchtchromatogramm einheitlich. Verbindung **32** fällt als amorphes Pulver an. Ausb. 440 mg (70%), R_F = 0.37 (*n*-Butanol/Eisessig/Wasser = 4:1:1), $[\alpha]_D^{22}$ = +5.84 (*c* = 1.07, $CHCl_3$). – IR (NaCl): $\tilde{\nu}$ = 1735 (C=O, Ester, Urethan), 1670 (Amid-I), 1520–1545 cm^{-1} (Amid-II). – ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ = 7.4–7.9 (m; 15H, Phenyl), 2.90 (s, breit; 2H, CH_2 von Asn), 1.86–2.05 (m; 12H, Acetyl), 1.40 (s; 9H, *tert*-C_4H_9), 0.85 (d, *J* = 5 Hz; 6H, CH_3).

$C_{28}H_{46}N_4O_{12}$ (630.69) Ber. C 53.32 H 7.35 N 8.88 Gef. C 53.09 H 7.27 N 8.66

2α) *Verknüpfung mit EEDQ:* 630 mg (1 mmol) H-Ile-Asn(Ac_3GlucNHAc)-OtBu (**32**) werden mit 480 mg (1 mmol) Peoc-Prolin (**8c**) und 370 mg (1.5 mmol) EEDQ in 20 ml Methylendichlorid umgesetzt. Nach 3 d schüttelt man die Lösung mit 40 ml 0.5 N HCl und mit Wasser aus, trocknet mit Natriumsulfat und verdampft das Lösungsmittel i. Vak. Im Dünnschichtchromatogramm des Rohproduktes [Chloroform/Methanol (8:1)] erkennt man nur geringe Verunreinigungen, die durch Chromatographie an 300 g silanisiertem Kieselgel 60 mit Chloroform/Methanol (25:1) abgetrennt werden. Man erhält **31** als amorphes Pulver, das durch Spektrenvergleich identifiziert wird. Ausb. 550 mg (50%), R_F = 0.45 (Chloroform/Methanol = 25:1), $[\alpha]_D^{22}$ = −1.73 (*c* = 1.25, $CHCl_3$). – Die IR- und ^{1}H-NMR-Spektren stimmen mit dem nach a) β) hergestellten **31** überein.

2β) *Kondensation mit Oxalylchlorid*[10]: 970 mg (2 mmol) Peoc-Prolin **8c** werden in 20 ml Methylendichlorid bei 0 °C tropfenweise mit 508 mg (4 mmol) Oxalylchlorid in 5 ml Methylendichlorid versetzt. Danach entfernt man die Kühlung und rührt, bis die Gasentwicklung beendet ist (ca. 2 h). Unter Feuchtigkeitsausschluß wird das Lösungsmittel und überschüssiges Oxalylchlorid verdampft und noch dreimal mit wenig absol. Chloroform eingedampft. Die Ausbeute an Peoc-Prolyl-chlorid (**33**) ist quantitativ. – Zu 500 mg (1 mmol) **33** in 30 ml Methylendichlorid tropft man bei −25 °C 79 mg (1 mmol) Pyridin und daran anschließend 630 mg (1 mmol) **32** in Methylendichlorid zu. Man rührt 2 h bei −15 °C und 36 h bei Raumtemp. und arbeitet wie unter 2a) beschrieben auf. Ausb. 650 mg (59%) amorphes Pulver, $[\alpha]_D^{22}$ = −1.40 (*c* = 1.15, $CHCl_3$). – Die ^{1}H-NMR- und IR-Spektren stimmen mit dem nach a) β) hergestellten **31** überein.

$C_{54}H_{71}ClNO_{15}P \cdot 2\,H_2O$ (1132.63) Ber. C 57.26 H 6.67 N 6.18 Gef. C 57.30 H 6.44 N 6.12

---

[1] Auszug aus der Dissertation von *H. Kauth*, Univ. Mainz 1982.
[2] Eine neue Übersicht: *N. Sharon* und *H. Lis*, Chem. Eng. News **59**, 21 (1981).
[3] Vgl. z. B. *H. G. Garg* und *R. W. Jeanloz*, Carbohydr. Res. **70**, 47 (1979), und dort zitierte Literatur.
[4] *H. G. Garg* und *R. W. Jeanloz*, J. Org. Chem. **41**, 2480 (1976).
[5] *T. H. Liao, J. Salnikow, S. Moore* und *W. H. Stein*, J. Biol. Chem. **248**, 1489 (1973).
[6] *H. G. Garg* und *R. W. Jeanloz*, Carbohydr. Res. **23**, 437 (1972).
[7] [7a] *H. Kunz* und *H. Kauth*, Angew. Chem. **93**, 918 (1981); Angew. Chem., Int. Ed. Engl. **20**, 895 (1981). – [7b] *H. Kunz*, Chem. Ber. **109**, 2670 (1976).
[8] *W.-K. Liu, H. S. Nahm, C. M. Sweeney, G. N. Holcomb* und *D. N. Ward*, J. Biol. Chem. **247**, 4365 (1972).
[9] *B. Belleau* und *G. Malek*, J. Am. Chem. Soc. **90**, 1651 (1968).
[10] [10a] *H.-H. Bechtolsheimer* und *H. Kunz*, Angew. Chem. **94**, 637 (1982); Angew. Chem., Int. Ed. Engl. **21**, 630 (1982). – [10b] *H. Kunz* und *H.-H. Bechtolsheimer*, Liebigs Ann. Chem. **1982**, 2068.

[11] *H. Kunz,* Liebigs Ann. Chem. **1976**, 1674.
[12] *H. Kunz,* Angew. Chem. **90**, 63 (1978); Angew. Chem., Int. Ed. Engl. **17**, 67 (1978).
[13] *F. Weygand, D. Hoffmann* und *E. Wünsch,* Z. Naturforsch., Teil B **21**, 426 (1966).
[14] *E. Wünsch* und *F. Drees,* Chem. Ber. **99**, 110 (1966).
[15] *C. H. Bolton, L. Hough* und *M. Y. Khan,* Biochem. J. **101**, 184 (1966).
[16] *K. Rühlmann,* J. Prakt. Chem. [4] **9**, 315 (1959).
[17] *H. R. Kricheldorf,* Liebigs Ann. Chem. **763**, 17 (1972).
[18] *R. W. Roeske,* J. Org. Chem. **28**, 1251 (1963).
[19] *B. Paul* und *W. Korytnik,* Carbohydr. Res. **67**, 457 (1978).

[159/82]