

SYNTHESE VON *O*-(3-DESOXY- α -D-*manno*-2-OCTULOPYRANOSYLON-SÄURE)-(2 $\rightarrow$ 4)-*O*-(3-DESOXY- α -D-*manno*-2-OCTULOPYRANOSYLON-SÄURE)-(2 $\rightarrow$ 6)-*O*-(2-AMINO-2-DESOXY- β -D-GLUCOPYRANOSYL)-(1 $\rightarrow$ 6)-2-AMINO-2-DESOXY-D-GLUCOPYRANOSE*

HANS PAULSEN, MICHAEL STIEM

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

UND FRANK M. UNGER

Sandoz-Forschungsinstitut, Brunner Straße 59, A-1235 Wien (Österreich)

(Eingegangen am 10. Oktober 1986; angenommen am 8. Januar 1987)

ABSTRACT

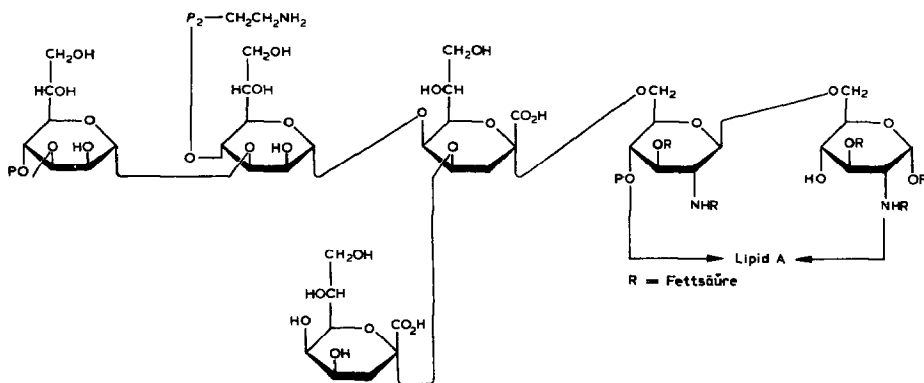
Benzyl-3-*O*-benzyl-2-benzyloxycarbonylamino-6-*O*-[2-benzyloxycarbonylamino-2-deoxy-3,4-*O*-(tetraisopropylidisiloxane-1,3-diyl)- β -D-glucopyranosyl]-2-deoxy- α -D-glucopyranoside was coupled with methyl (4,5,7,8-tetra-*O*-acetyl-3-deoxy- α -D-*manno*-2-octulopyranosyl bromide)onate (**13**) to yield the α -glycosidically linked trisaccharide. After deacetylation and selective introduction of a second 7',8'-*O*-tetraisopropylidisiloxane group, a further glycosidation reaction with **13** led regioselectively to the tetrasaccharide benzyl *O*-[methyl (4,5,7,8-tetra-*O*-acetyl-3-deoxy- α -D-*manno*-2-octulopyranosyl)onate]-(2 $\rightarrow$ 4)-*O*-{methyl [3-deoxy-7,8-*O*-(tetraisopropylidisiloxane-1,3-diyl)- α -D-*manno*-2-octulopyranosyl]onate}-(2 $\rightarrow$ 6)-*O*-[2-benzyloxycarbonylamino-2-deoxy-3,4-*O*-(tetraisopropylidisiloxane-1,3-diyl)- β -D-glucopyranosyl]-(1 $\rightarrow$ 6)-3-*O*-benzyl-2-benzyloxycarbonylamino-2-deoxy- α -D-glucopyranoside. A series of deblocking steps gave *O*-(3-deoxy- α -D-*manno*-2-octulopyranosylonic acid)-(2 $\rightarrow$ 4)-*O*-(3-deoxy- α -D-*manno*-2-octulopyranosylonic acid)-(2 $\rightarrow$ 6)-*O*-(2-amino-2-deoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 6)-2-amino-2-deoxy-D-glucopyranose which was identical with a tetrasaccharide that had been isolated by hydrazinolysis of the lipopolysaccharide from *Salmonella minnesota* R 595. Hence, synthetic proof is provided for the linkages in this part of the inner core region of lipopolysaccharides.

ZUSAMMENFASSUNG

Benzyl-3-*O*-benzyl-2-benzyloxycarbonylamino-6-*O*-[2-benzyloxycarbonylamino-2-desoxy-3,4-(*O*-tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)- β -D-glucopyranosyl]-2-

*LXXXI. Mitteilung der Serie "Bausteine von Oligosacchariden". LXXX. Mitteil., siehe Zit. 1.

desoxy- α -D-glucopyranosid (11) läßt sich mit Methyl-(4,5,7,8-tetra-*O*-acetyl-3-desoxy- α -D-manno-2-octulopyranosylbromid)onat (13) zum α -glycosidisch verknüpften Trisaccharid kuppeln. Nach Abspaltung der Acetylgruppen und selektiver Einführung einer zweiten 7',8'-*O*-Tetraisopropyldisiloxan-Gruppe ist eine weitere Glycosidierungsreaktion mit 13 möglich, die regioselektiv zum Tetrasaccharid Benzyl-*O*-[methyl-(4,5,7,8-tetra-*O*-acetyl-3-desoxy- α -D-manno-2-octulopyranosyl)onat]-(2 $\rightarrow$ 4)-*O*-{methyl-[3-desoxy-7,8-*O*-(tetraisopropyldisiloxan-1,3-diyl)- α -D-manno-2-octulopyranosyl]onat}-(2 $\rightarrow$ 6)-*O*-[2-benzyloxycarbonylamino-2-desoxy-3,4-*O*-(tetraisopropyldisiloxan-1,3-diyl)- β -D-glucopyranosyl]-(1 $\rightarrow$ 6)-3-*O*-benzyl-2-benzyloxycarbonylamino-2-desoxy- α -D-glucopyranosid führt. Eine Reihe von Entblockierungsschritten ergibt freie *O*-(3-Desoxy- α -D-manno-2-octulopyranosylonsäure)-(2 $\rightarrow$ 4)-*O*-(3-desoxy- α -D-manno-2-octulopyranosylonsäure)-(2 $\rightarrow$ 6)-*O*-(2-amino-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 6)-2-amino-2-desoxy-D-glucopyranose. Diese Verbindung ist identisch mit einem Tetrasaccharid, das als Spaltprodukt nach Hydrazinolyse eines Lipopolysaccharides aus der R_c-Mutante *Salmonella minnesota* R 595 isoliert worden ist. Damit ist ein synthetischer Beweis für die Verknüpfung dieses Teiles der inneren Core-Region von Lipopolysacchariden geführt.



1

EINFÜHRUNG

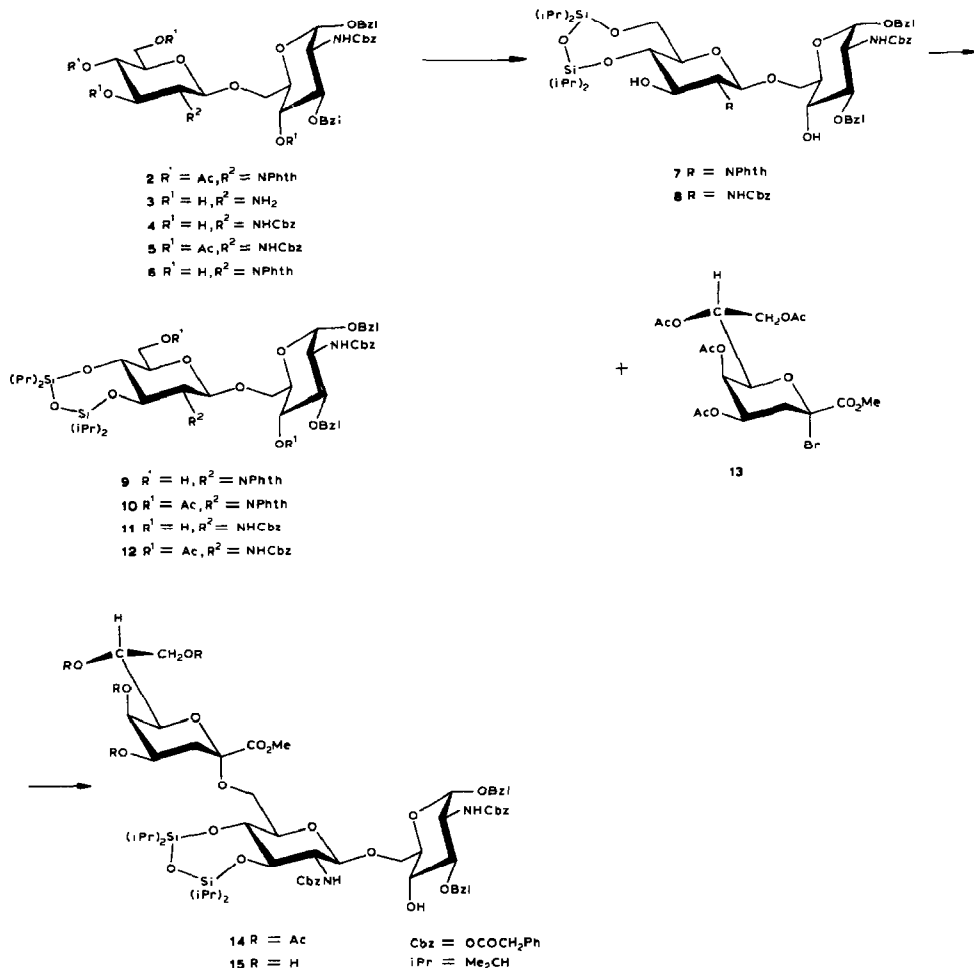
Nach den letzten analytischen Befunden kommt der Core-Region von *Salmonella*-Lipopolysacchariden die Struktur 1 zu²⁻⁴. Danach ist 3-Desoxy-D-manno-octulosonsäure (KDO) α -(2 $\rightarrow$ 6)-glycosidisch an die nicht-reduzierende Einheit der 2-Amino-2-desoxy-D-glucose des Lipoid-A-Teiles gebunden. Die Kette setzt sich fort über eine α -(1 $\rightarrow$ 5)-glycosidisch angeknüpfte L-glycero-D-manno-Heptose, an die noch eine weitere Heptose-Einheit geknüpft ist. Als Seitenkette findet man α -(2 $\rightarrow$ 4)-glycosidisch verknüpft an der KDO einen weiteren KDO-Rest.

Die Strukturaufklärung basiert auf massenspektrometrischen Untersuchungen^{2,3} und vor allen Dingen auf der Isolierung eines Abbauproduktes durch Hydrazinolyse des Lipopolysaccharides aus der R_c-Mutante *Salmonella minnesota* R 595 (Zit. 4). Diese R-Mutante enthält als innere Core-Region nur zwei KDO-Reste ohne Verlängerung der Kette. Aus diesem Grunde ist durch Hydrazinolyse ein KDO-haltiges Oligosaccharid-Segment zu isolieren. Bei Lipopolysacchariden mit längeren Ketten erfolgt bei einer sauren Partial-Hydrolyse eine bevorzugte Spaltung der leichter spaltbaren glycosidischen Bindungen der KDO. Alle spektroskopischen Daten für das von Christian *et al.*⁴ beim Abbau isolierte Oligosaccharid sprechen für ein Tetrasaccharid der Struktur α -KDOp-(2 $\rightarrow$ 4)- α -KDOp-(2 $\rightarrow$ 6)- β -D-GlcpN-(1 $\rightarrow$ 6)-D-GlcN. Kürzlich ist von Zähringer *et al.*⁵ durch Partial-Hydrolyse des Lipopolysaccharides der R_c-Mutante *Escherichia coli* F 515 ein ähnliches Tetrasaccharid mit der gleichen Verknüpfungsart isoliert worden, das zusätzlich am Lipoid-A noch zwei Phosphatreste und zwei Reste der (R)-3-Hydroxy-tetradecansäure enthielt. In der vorliegenden Arbeit wird die chemische Synthese der Grundstruktur des Tetrasaccharides aus zwei KDO-Resten und zwei Resten der 2-Amino-2-desoxy-D-glucose beschrieben. Das synthetische Produkt sollte insbesondere mit dem von Christian *et al.*⁴ isolierten Spaltprodukt aus natürlichem Material verglichen werden.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Als gutes Ausgangsprodukt für die Synthese eignet sich das von uns beschriebene Disaccharid⁶ **2**, das leicht in kristalliner Form zugänglich ist. In der Verbindung sind die Aminogruppen unterschiedlich substituiert. Wünscht man eine gleichmäßige Substitution, um im letzten Entblockierungsschritt zwei freie Aminogruppen zu erhalten, so muß in **2** mit Hydrazin die Phthalimidogruppe abgespalten werden zu **3**. Die anschließende Umsetzung mit Benzyloxycarbonylchlorid führt zu **4**, das als Tetraacetat **5** charakterisiert wird.

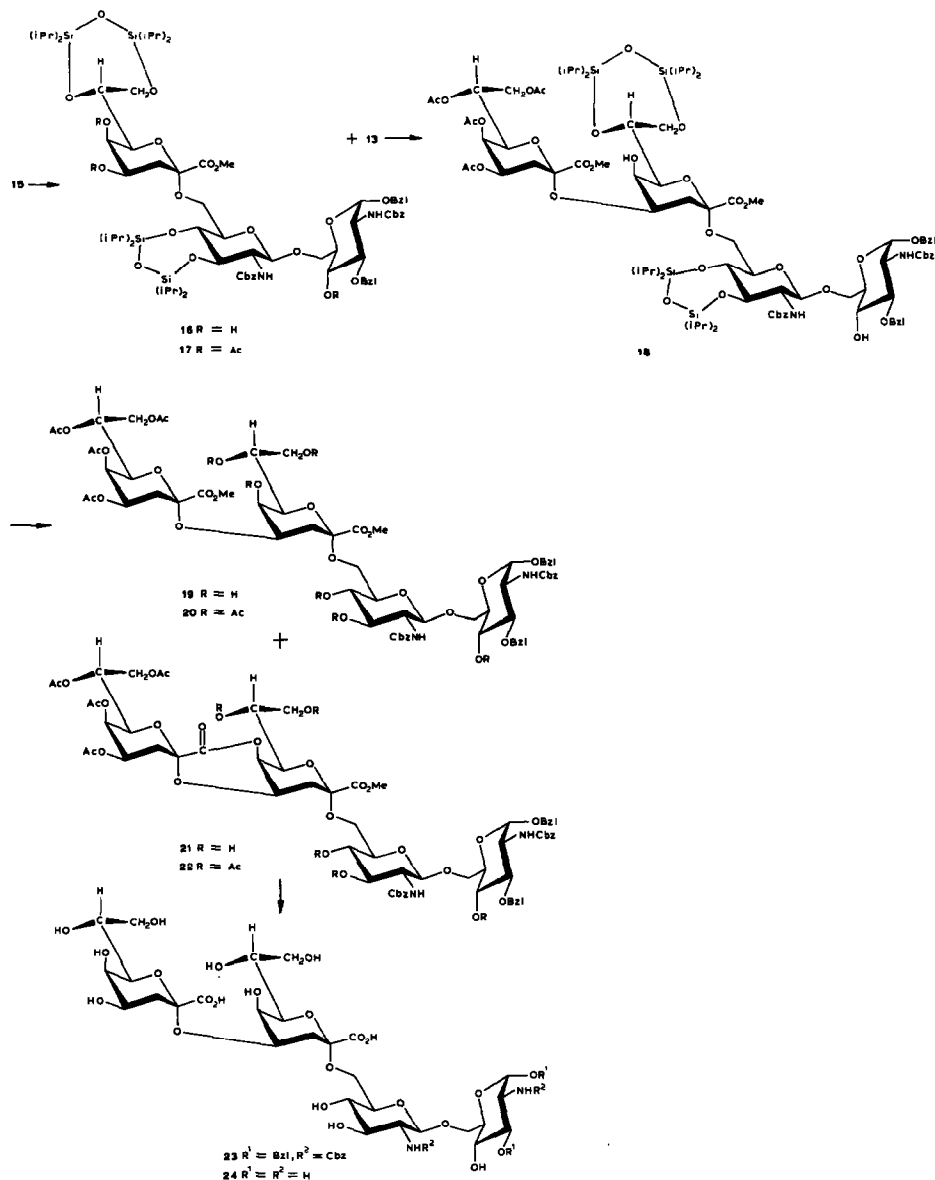
Die weiteren Untersuchungen ergaben, daß sich hinsichtlich der anschließenden Glycosidsynthese für die partielle Blockierung von **4** die 1,1,3,3-Tetraisopropylidisiloxan-Gruppe (iPr₄Si₂O-Gruppe)^{7,8} als weitaus am günstigsten erwies. Mit Benzylether-Gruppen selektiv blockierte Derivate von **4** ergaben bei der späteren Glycosidsynthese erheblich schlechtere Resultate. Bei der Umsetzung von **4** mit 1,3-Dichlor-1,1,3,3-tetraisopropylidisiloxan in Gegenwart von Pyridin erhält man zunächst die 4,6-substituierte Verbindung **8**. Diese kann aber unmittelbar zum größten Teil durch Säurekatalyse mit 4-Toluolsulfonsäure^{8,9} in die 3,4-substituierte Verbindung **11** umgelagert werden. Es stellt sich allerdings ein Gleichgewicht ein, so daß **11** in 48% bezogen auf **4** isoliert werden kann. Eine weiterhin erhaltene Mischfraktion aus **8** und **11** ist für eine erneute saure Umlagerung geeignet. Zur Festlegung der Struktur von **11** wird dieses in das Diacetat **12** überführt. Im ¹H-N.m.r.-Spektrum findet man vier Isopropylgruppen der iPr₄Si₂O-Gruppe und zwei Acetyl-Signale. Die Signale der beiden Protonen an C-6' erscheinen bei δ 4.20 und



4.41 zu tiefem Feld verschoben. Ebenfalls H-4 liegt bei $\delta \sim 5$ am weitesten bei tiefem Feld. Diese Befunde stehen mit der angegebenen Struktur **12** in Übereinstimmung. In einer völlig analogen Reaktionsfolge läßt sich auch die Phthalimido-Verbindung **6** mit $\text{iPr}_4\text{Si}_2\text{OCl}_2$ umsetzen zu **7**, welches gleichfalls sauer zu **9** umgelagert werden kann, das dann das Diacetat **10** liefert. Die ^1H -N.m.r.-Spektren von **7**, **9** und **10** mit einer Benzyloxycarbonylgruppe sind leichter zu interpretieren und ergeben wertvolle Vergleichswerte.

Für die folgende Glycosidsynthese wird **11** als Glycosyl-Akzeptor und als Glycosyl-Donator das bereits mehrfach bewährte Bromid der KDO¹⁰ **13** eingesetzt. Bei Gegenwart von Quecksilberbromid in Dichlormethan-Toluol ist das gewünschte α -glycosidisch verknüpfte Trisaccharid **14** in 40% zu gewinnen. Der Anteil an unerwünschtem Eliminierungsprodukt von **13** läßt sich in Grenzen halten. Ein geringer Anteil (3%) von β -glycosidisch verknüpftem Produkt kann

nach säulenchromatographischer Reinigung gut abgetrennt werden. Das 400 MHz ^1H -N.m.r.-Spektrum von **14** kann mit Hilfe eines 2D-COSY-Experimentes weitgehend interpretiert werden. Wichtig ist die beobachtete Tieffeldverschiebung von H-4" nach δ 5.35, die nach der an einer Reihe von Vergleichssubstanzen abgeleiteten Regel für die α -glycosidische Verknüpfung des KDO-Restes spricht¹¹. Für die dünn-schichtchromatographische Verfolgung der Glycosylierungsreaktion ist es günstig, Anisaldehyd als Sprühreagens¹² zu verwenden. KDO-haltige Produkte färben hiermit blau, nur 2-Amino-2-desoxy-D-glucose-haltige Produkte braun an.



Durch Entacetylierung von **14** mit katalytischen Mengen Natriummethoxyd gelangt man zum partiell entblockierten Produkt **15**. Zur selektiven Blockierung für die weitere Glycosid-Synthese sollte wiederum die iPr_4Si_2O -Gruppe eingesetzt werden. Durch Umsetzung von **15** mit $iPr_4Si_2OCl_2$ in Pyridin erhält man in 60–70% nur die 7,8-substituierte Verbindung **16**. Die Acetylierung von **16** ergibt ein Triacetat **17**. Mit Hilfe eines 2D-COSY-Experimentes kann das 1H -N.m.r.-Spektrum von **17** weitgehend geklärt werden. Es läßt sich feststellen, daß die Signale von H-4, H-4'' und H-5'' in Folge der Tieffeldverschiebung durch die Acetylgruppen bei δ 5.55, 5.76 und 5.98 liegen. Damit ist abgesichert, daß in **16** die beiden Hydroxylgruppen OH-4'' und OH-5'' unsubstituiert sind. Im Spektrum finden sich ferner die 56 Protonen der beiden Silyl-Funktionen bei δ 0.96–1.41. Damit ist die Struktur von **16** und **18** gesichert.

Die Bis(disiloxan)-Verbindung **16** ist bestens als Glycosyl-Akzeptor für den nächsten Glycosylierungsschritt zur Anknüpfung der zweiten KDO-Einheit geeignet. Von den beiden in **16** vorhandenen freien Hydroxylgruppen ist die OH-5''-Gruppe äußerst unreaktiv, so daß die Glycosylierungsreaktion regioselektiv nur an der OH-4''-Gruppe erfolgen sollte¹³. In der Tat liefert die Umsetzung des Bromids der KDO **13** mit **16** bei Gegenwart von Quecksilbercyanid und Quecksilberbromid in Nitromethan in 30% regioselektiv das α -glycosidisch verknüpfte Tetrasaccharid **18**. Ein Anteil an β -glycosidisch verknüpfter Form ist in diesem Falle nicht nachweisbar. Dieses ist im Hinblick auf die Komplexität des Moleküls ein recht gutes Ergebnis. Das Tetrasaccharid ist somit in relativ wenigen Reaktionsschritten auch in größeren Mengen zugänglich.

Das 1H -N.m.r.-Spektrum (400 MHz) von **18** ist äußerst komplex. Es kann jedoch durch 2D-N.m.r.-Experimente weitgehend entschlüsselt werden. Ausgehend von H-3a''' und H-3e''', deren Signale bei δ 2.13 bzw. 2.29 liegen, findet man den Kopplungspartner H-4'''. Das Signal von H-4''' liegt zu tiefem Feld verschoben bei δ 5.45, was für die α -glycosidische Verknüpfung der zweiten KDO Einheit spricht. Der erste KDO-Baustein weist dagegen in Folge des veränderten Substitutionsmusters für diese Protonen andere chemische Verschiebungen auf. Man findet für H-3a'' und H-3e'' die entsprechenden Aufspaltungsmuster bei δ 2.47 bzw. 2.25. Das Signal für H-4'' erscheint bei 4.67 und ist damit wie erwartet nicht zu tiefem Feld verschoben. Die Protonen aller Schutzgruppen wie der iPr_4Si_2O , der Benzyl-, der Benzyloxycarbonyl- sowie der Methylester-Gruppen werden in der erwarteten Weise beobachtet, so daß an der Struktur von **18** kein Zweifel besteht.

Für die Entblockierung wird **18** zunächst zur Abspaltung der iPr_4Si_2O -Gruppen mit Tetrabutylammoniumfluorid in Oxolan behandelt. Hierbei werden unter Abspaltung der iPr_4Si_2O -Gruppen zwei Produkte gebildet, die als Gemisch acetyliert werden und dann als stabile Produkte N.m.r.-spektroskopisch nebeneinander untersucht werden können. Nach dem 1H -N.m.r.-Spektrum liegen die beiden acetylierten Produkte im Verhältnis 2:1 vor. Das in geringerer Menge vorhandene Produkt kann als das erwartete Tetrasaccharid **20** identifiziert werden.

Das Hauptprodukt ist dagegen das Lacton **22**. Offenbar wird unter den milden Abspaltungsbedingungen teilweise der Methylester der zweiten KDO-Einheit mit der OH-5"-Gruppe der ersten KDO-Einheit äußerst leicht zum Lacton umgeestert. Diese leichte Lactonbildung wurde auch schon bei KDO-Disacchariden mit vergleichbarer Struktur und Orientierung beobachtet¹⁴. Im ¹H-N.m.r.-Spektrum von **20** werden zehn Acetylsignale, bei der Verbindung **22** dagegen lediglich neun Acetylsignale beobachtet. Bei **22** ist H-5" durch die Estergruppierung charakteristisch zu tiefem Feld nach δ 6.05 verschoben, so daß damit die Struktur des Lactons **22** abgesichert ist.

Für die vollständige Entblockierung ist natürlich eine Trennung von **20** und **22** nicht notwendig. Das Gemisch wird zunächst zur Abspaltung der O-Acetylgruppen nach Zemplén hydrolysiert und dann mit Natronlauge behandelt. Hierbei werden sowohl die Methylester als auch die Lactonbindung gespalten, so daß man wieder zu einem einheitlichen Produkt gelangt. Nach Entfernen der Kationen mit Ionenaustauscher ist hierbei die freie Dicarbonsäure **23** zu isolieren. Im letzten Entblockierungsschritt erfolgt eine hydrogenolytische Abspaltung der Benzylether- und der Benzyloxycarbonyl-Gruppen. Bei der Hydrierung in Methanol und Wasser (1.5:1) bei 20 MPa ist ein Zusatz von acht molarem Überschuß an Essigsäure erforderlich, um auf jeden Fall eine Weiterhydrierung des 2-Amino-2-desoxy-D-glucose Restes am reduzierenden Ende zu verhindern. Das vollständig entblockierte Produkt **24** enthält zwei Carboxyl- und 2 Amino-Gruppen und liegt daher in einer zweifachen Zwitterionform vor. Im ¹H-N.m.r.-Spektrum von **24** sind durch ein 2D-COSY-Experiment die Protonen zuzuordnen. Die charakteristischen Signale der axialen und äquatorialen H-3 der KDO-Einheiten erscheinen zwischen δ 1.58 und 1.97. Die chemischen Verschiebungen beider äquatorialen H-3 deuten auf die α -Konfiguration bei beiden KDO-Einheiten hin. In wäßriger Lösung liegt am reduzierenden Ende ein Anomerengemisch im Verhältnis α - zu β -Form wie 2:1 vor.

Von besonderem Interesse ist das ¹³C-N.m.r.-Spektrum von **24**. Dieses kann direkt mit dem Spektrum des Tetrasaccharides verglichen werden, das von Christian *et al.*⁴ aus Lipopolysacchariden der R_c-Mutante *Salmonella minnesota* R 595 isoliert worden ist. Das veröffentlichte ¹³C-N.m.r.-Spektrum des entsprechenden Spaltproduktes ist mit dem des synthetischen Produktes **24** vollständig identisch¹⁵. Damit ist auch durch den Vergleich mit einem synthetischen Produkt die angegebene Verknüpfungsfolge der beiden KDO-Einheiten der inneren Core-Struktur abgesichert.

EXPERIMENTELLER TEIL

Allgemeine Methoden. — Optische Drehungen: Perkin-Elmer Polarimeter 243 in 1 dm Küvetten. ¹H-N.m.r.-Spektren: Bruker WM 270 oder WM 400, innerer Standard war Me₄Si. ¹³C-N.m.r.-Spektren: Bruker WM 400 bei 100.64 MHz. Alle Reaktionen wurden dünnschichtchromatographisch auf Kieselgel Fertigfolie

(Merck, GF₂₅₄) verfolgt. Laufmittelsysteme: Dichlormethan–Ether, Toluol–Ethylacetat, Toluol–Aceton, Toluol–Ethanol, Hexan–Ethylacetat, Chloroform–Methanol, Acetonitril–Wasser, Chloroform–Methanol–Wasser. Detektion: U.v.-Absorption, Ansprühen mit 0.3%iger ethanolischer Naphthoresorcinlösung–m H₂SO₄ 1:1 und Wärmebehandlung. Glycosylbromide wurden mit Fluorescein–H₂O₂, freie Aminofunktionen mit ethanolischer Ninhydrinlösung detektiert. Bei Glycosidsynthesen wurde auch H₂SO₄–Anisaldehyd–Ethanol 1:1:18 und Wärmebehandlung angewandt. Säulenchromatographische Trennungen: Kieselgel 60, 70–230 mesh (Merck) bzw. 230–400 mesh (Merck) bei 2–6 MPa. Gelchromatographische Trennungen: Sephadex G 10 und an Bio-Gel P-2 <400 mesh bei 2–5 MPa und einer Flußrate von 1–1.5 mL/min mit Wasser als Eluationsmittel. Gefriertrocknungen: Christ Beta (1102). Bei Glycosidsynthesen wurden die Reaktionsgefäße vorher mit einem Heißluftföhn am Hochvakuum getrocknet und mit Stickstoff belüftet. Es wurde in einer N₂-Atmosphäre unter striktem Feuchtigkeitsausschluß in Gegenwart von Silbersalzen unter Lichtausschluß gearbeitet.

Benzyl-3-O-benzyl-2-benzyloxycarbonylamino-6-O-(2-benzyloxycarbonylamino-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-2-desoxy-α-D-glucopyranosid (4). — Das Disaccharid⁶ **2** (9.02 g, 9.91 mmol) wird in Methanol (90 mL) suspendiert und Natriummethoxidlösung (8 mL, 1M) zugefügt. Nach 45 min (D.c.: Dichlormethan–Methanol 5:1) wird *N,N*-Dimethylformamid zugegeben, bis sich die ausgefallene Substanz gelöst hat. Es wird mit Ionenaustauscher Bio-Rad AG 50W-X4 (H⁺) neutralisiert, filtriert, eingeeengt, in Ethanol (140 mL) aufgenommen, mit 80%iger Hydrazinlösung (24 mL) versetzt und auf 100° erhitzt. Nach 2 h (D.c.: Chloroform–Methanol 5:1) wird die Reaktionsmischung eingeeengt, mit Butanol, Methanol und Toluol codestilliert und i. Vak. eingedampft. Das Rohprodukt **3** wird in 1,4-Dioxan (200 mL) und Wasser (200 mL) gelöst und mit K₂CO₃ (5.2 g) versetzt. Eine Lösung von Chlorameisensäurebenzylester in 1,4-Dioxan (390 mL, 2%) wird in drei Portionen innerhalb von 12 h hinzugetropft. Nach weiteren 6 h (D.c.: Chloroform–Methanol 5:1) wird das Lösungsmittel fast bis zur Trockene eingedampft. Der sirupöse Rückstand wird mit Chloroform (50 mL) und Wasser (50 mL) behandelt. Die Hauptmenge des Produktes fällt dabei aus und wird abfiltriert. Das Filtrat wird dreimal mit Wasser gewaschen und die Chloroformphase getrocknet (MgSO₄) und eingeeengt. Durch mehrmaliges Behandeln des Rückstandes mit Toluol bei Gegenwart von Ultraschall läßt sich das Phthalsäurehydrazid herauswaschen; Ausb. 6.03 g (77%); farbloses amorphes Pulver, Schmp. 205°, $[\alpha]_D^{20} +67^\circ$ (c 0.96, Pyridin).

Anal. Ber. für C₄₂H₄₈N₂O₁₃ (788.8): C, 63.95; H, 6.13; N, 3.55. Gef.: C, 64.27; H, 6.15; N, 3.51.

Benzyl-4-O-acetyl-3-O-benzyl-2-benzyloxycarbonylamino-6-O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-benzyloxycarbonylamino-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-2-desoxy-α-D-glucopyranosid (5). — Das Disaccharid **4** (100 mg, 0.13 mmol) wird in Pyridin (4 mL) gelöst und mit Acetanhydrid (1 mL) und 4-Dimethylaminopyridin (1 mg) versetzt. Nach 1.5 h (D.c.: Chloroform–Methanol 15:1) wird eingeeengt und mehrmals mit

Toluol zur Entfernung von Pyridin nachdestilliert; Ausb. 124 mg (quantitativ); amorphes Pulver, Schmp. 191°, $[\alpha]_D^{20} +48.5^\circ$ (*c* 0.95, Chloroform); $^1\text{H-N.m.r.}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 7.35–7.14 (m, 20 H, Ph), 5.18 (dd, $J_{3',4'}$ 9.4, $J_{4',5'}$ 10.2 Hz, 1 H, H-4'), 5.10 (d, J 12.2 Hz, 1 H, $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 5.06 (dd, $J_{2',3'}$ 10.0 Hz, 1 H, H-3')*, 5.03 (d, J 12.2 Hz, 1 H, $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 5.03 (dd, $J_{3,4}$ 9.4, $J_{4,5}$ 10.1 Hz, 1 H, H-4), 4.87 (d, $J_{1',2'}$ 8.4 Hz, 1 H, H-1'), 4.86 (d, $J_{1,2}$ 3.6 Hz, 1 H, H-1), 4.68 (d, J 11.5 Hz, 1 H, $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 4.60–4.52 (m, 3 H, 3 $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 4.36 (d, J 11.5 Hz, 1 H, $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 4.28 (dd, $J_{5',6'a}$ 4.2 Hz, 1 H, H-6'a), 4.11 (dd, $J_{5',6'b}$ 1.6, $J_{6'a,6'b}$ 12.3 Hz, 1 H, H-6'b), 4.09 (ddd, 1 H, H-2), 3.98 (dd, $J_{5,6b}$ 1.3 Hz, 1 H, H-6b), 3.89 (ddd, 1 H, H-5), 3.81 (ddd, $J_{2',N'H}$ 9.0 Hz, 1 H, H-2'), 3.72 (dd, $J_{2,3}$ 10.3 Hz, 1 H, H-3), 3.68 (ddd, 1 H, H-5'), 3.48 (dd, $J_{5,6a}$ 6.6, $J_{6a,6b}$ 11.2 Hz, 1 H, H-6a), 2.05, 1.94, 1.93, 1.90 (4 s, 12 H, 4 CH_3CO).

Anal. Ber. für $\text{C}_{50}\text{H}_{56}\text{N}_2\text{O}_{17}$ (957.0): C, 62.75; H, 5.90; N, 2.93. Gef.: C, 62.03; H, 5.86; N, 2.90.

Benzyl-3-O-benzyl-2-benzylloxycarbonylamino-6-O-[2-benzylloxycarbonylamino-2-desoxy-4,6-O-(tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)- β -D-glucopyranosyl]-2-desoxy- α -D-glucopyranosid (8). — Das Disaccharid **4** (2.04 g, 2.58 mmol) wird in Pyridin (10.4 mL) gelöst und auf -10° gekühlt. Man tropft 1,3-Dichlor-1,1,3,3-tetraisopropylidisiloxan ($\text{iPr}_4\text{Si}_2\text{OCl}_2$) (0.92 mL, 2.92 mmol) hinzu und rührt 1 h. Dann wird noch 0.12 mL (0.38 mmol) $\text{iPr}_4\text{Si}_2\text{OCl}_2$ zugetropft. Nach 3 h (D.c.: Chloroform–Methanol 15:1) wird mit Methanol (15 mL) gequenscht, das Lösungsmittel abgezogen, der Rückstand in Chloroform (20 mL) aufgenommen und mit Wasser, NaHCO_3 -Lösung und Wasser gewaschen. Es wird getrocknet (MgSO_4), eingeengt und durch mehrfache azeotrope Destillation mit Toluol von Pyridinresten befreit; Ausb. 2.1 g, Rohprodukt. Zur Charakterisierung wird 100 mg säulenchromatographisch (Dichlormethan–Ether 5:1 $\rightarrow$ Chloroform–Methanol 15:1) gereinigt; Sirup, $[\alpha]_D^{20} +21.5^\circ$ (*c* 1.3, Chloroform); $^1\text{H-N.m.r.}$ (270 MHz, CDCl_3): δ 7.45–7.19 (m, 20 H, Ph), 5.17–5.00 (m, 3 H, 3 $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 5.17 (d, $J_{2',N'H}$ 8.3 Hz, 1 H, N'H), 5.05 (d, $J_{1',2'}$ 8.6 Hz, 1 H, H-1'), 4.91 (d, $J_{2,NH}$ 10.0 Hz, 1 H, NH), 4.89 (d, $J_{1,2}$ 3.6 Hz, 1 H, H-1), 4.81–4.61 (m, 4 H, 4 $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 4.39 (d, J 11.6 Hz, 1 H, $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 1.18–1.00 (m, 28 H, 4 $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$).

Anal. Ber. für $\text{C}_{54}\text{H}_{74}\text{N}_2\text{O}_{14}\text{Si}_2$ (1031.4): C, 62.89; H, 7.23; N, 2.72. Gef.: C, 62.57; H, 7.20; N, 2.70.

Benzyl-3-O-benzyl-2-benzylloxycarbonylamino-6-O-[2-desoxy-2-phthalimido-3,4-O-(tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)- β -D-glucopyranosyl]-desoxy- α -D-glucopyranosid (9). — Das Disaccharid **6** (154 mg, 0.2 mmol) wird in Pyridin (1 mL) gelöst und auf 0° gekühlt. Es wird $\text{iPr}_4\text{Si}_2\text{OCl}_2$ (70 μL , 0.22 mmol) zugetropft und 1 h gerührt. Dann wird weiteres $\text{iPr}_4\text{Si}_2\text{OCl}_2$ (20 μL , 0.06 mmol) zum Ansatz getropft. Nach 2.5 h (D.c.: Chloroform–Methanol, 15:1) wird mit Methanol gequenscht, eingeengt, dreimal in Toluol aufgenommen und jeweils i. Vak. eingedampft. Das Rohprodukt **7** wird in *N,N*-Dimethylformamid (1 mL) aufgenommen

*H-3' und H-4' können vertauscht sein.

und mit wasserfreier 4-Toluolsulfonsäure (3 mg) versetzt. Nach 2 h bei Raumtemperatur (D.c.: Dichlormethan–Ether 5:1) wird mit wässriger Ammoniaklösung neutralisiert, eingengt und i. Hochvak. getrocknet. Der Rückstand wird säulenchromatographisch (Dichlormethan–Ether 10:1) getrennt; Ausb. 73 mg (36%); Sirup, $[\alpha]_D^{20} +31^\circ$ (c 0.7, Chloroform); $^1\text{H-N.m.r.}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3\text{--CD}_3\text{OD}$): δ 7.78–7.54 (m, 4 H, Phth), 7.35–7.13 (m, 15 H, Ph), 5.31 (d, 1 H, H-1'), 5.12 (d, $J_{2,\text{NH}}$ 10.0 Hz, 1 H, NH), 5.02 (d, J 12.2 Hz, 1 H, $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 4.95 (d, J 12.2 Hz, 1 H, $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 4.62 (d, J 11.2 Hz, 1 H, $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 4.56 (d, $J_{1,2}$ 3.6 Hz, 1 H, H-1), 4.53 (d, J 11.2 Hz, 1 H, $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 4.40 (d, J 11.3 Hz, 1 H, $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 4.39 (dd, $J_{3',4'}$ 8.2 Hz, 1 H, H-3'), 4.14 (dd, $J_{1',2'}$ 8.6, $J_{2',3'}$ 10.2 Hz, 1 H, H-2'), 4.03 (dd, 1 H, H-4), 4.02 (d, J 11.3 Hz, 1 H, $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 3.90 (dd, 1 H, H-6'b), 3.75 (ddd, $J_{2,3}$ 9.8 Hz, 1 H, H-2), 3.69 (dd, $J_{6'a,6'b}$ 11.7 Hz, 1 H, H-6'a), 3.68–3.61 (m, 3 H, H-5, H-6b,4'), 3.51 (ddd, $J_{4',5'}$ 8.1, $J_{5',6'a}$ 5.7, $J_{5',6'b}$ 2.3 Hz, 1 H, H-5'), 3.44–3.34 (m, 2 H, H-3,6a), 1.09–0.69 (m, 28 H, 4 $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$).

Anal. Ber. für $\text{C}_{54}\text{H}_{70}\text{N}_2\text{O}_{14}\text{Si}_2$ (1027.3): C, 63.13; H, 6.87; N, 2.73. Gef.: C, 62.85; H, 6.88; N, 2.73.

Benzyl-4-O-acetyl-6-O-[6-O-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido-3,4-O-(tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)- β -D-glucopyranosyl]-3-O-benzyl-2-benzyloxycarbonylamino-2-desoxy- α -D-glucopyranosid (10). — Die Verbindung **9** (50 mg, 0.048 mmol) wird in Pyridin (1 mL) gelöst und mit Acetanhydrid (0.5 mL) versetzt. Nach Zugabe von 4-Dimethylaminopyridin (0.5 mg) wird 2 h gerührt (D.c.: Dichlormethan–Ether 5:1), eingengt und mehrfach mit Toluol nachdestilliert. Das Produkt wird säulenchromatographisch (Dichlormethan–Ether 10:1) gereinigt; Ausb. 5.3 mg (quantitativ); Sirup, $[\alpha]_D^{20} +50.5^\circ$ (c 0.5, Chloroform); $^1\text{H-N.m.r.}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 7.86–7.56 (m, 4 H, Phth), 7.38–7.09 (m, 15 H, Ph), 5.30 (d, 1 H, H-1'), 5.07 (d, J 12.2 Hz, 1 H, $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 5.00 (d, J 12.2 Hz, 1 H, $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 4.81 (dd, $J_{4,5}$ 10.2 Hz, 1 H, H-4), 4.77 (d, $J_{2,\text{NH}}$ 10.0 Hz, 1 H, NH), 4.48–4.41 (m, 3 H, 3 $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 4.47 (d, $J_{1,2}$ 3.6 Hz, 1 H, H-1), 4.44 (dd, $J_{3',4'}$ 8.0 Hz, 1 H, H-3'), 4.29 (d, J 11.5 Hz, 1 H, $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 4.27 (dd, $J_{5',6'a}$ 4.8, $J_{6'a,6'b}$ 11.8 Hz, 1 H, H-6'a), 4.22 (dd, $J_{1',2'}$ 8.6, $J_{2',3'}$ 10.3 Hz, 1 H, H-2'), 3.91 (ddd, 1 H, H-2), 3.89 (dd, $J_{5,6b}$ 1.6 Hz, 1 H, H-6b), 3.85–3.77 (m, 2 H, H-5,4'), 3.82 (dd, $J_{5',6'b}$ 1.4 Hz, 1 H, H-6'b), 3.67 (ddd, $J_{4',5'}$ 9.8 Hz, 1 H, H-5'), 3.59 (dd, $J_{2,3}$ 10.4, $J_{3,4}$ 9.2 Hz, 1 H, H-3), 3.46 (dd, $J_{5,6a}$ 8.3, $J_{6a,6b}$ 10.6 Hz, 1 H, H-6a), 2.10, 1.92 (2 s, 6 H, 2 CH_3CO), 1.14–0.75 [m, 28 H, 4 $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$].

Anal. Ber. für $\text{C}_{58}\text{H}_{74}\text{N}_2\text{O}_{16}\text{Si}_2$ (1111.4): C, 62.68; H, 6.71; N, 2.52. Gef.: C, 62.59; H, 6.74; N, 2.50.

Benzyl-3-O-benzyl-2-benzyloxycarbonylamino-6-O-[2-benzyloxycarbonylamino-2-desoxy-3,4-O-(tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)- β -D-glucopyranosyl]-2-desoxy- α -D-glucopyranosid (11). — Zur Umlagerung wird das Rohprodukt **8** (2.0 g) in *N,N*-Dimethylformamid (10 mL) aufgenommen und mit wasserfreier 4-Toluolsulfonsäure (30 mg) versetzt. Nach 2 h bei Raumtemperatur (D.c.: Dichlormethan–Ether 5:1) wird mit wässriger Ammoniaklösung neutralisiert, eingengt und i. Hochvak. getrocknet. Der Rückstand wird säulenchromatographisch

(Dichlormethan–Ether 8:1 → 5:1, Chloroform–Methanol 10:1, 4 MPa) getrennt; Ausb. 1.28 g (48%); Schaum, Schmp. 52–53°, $[\alpha]_D^{20} +59^\circ$ (c 0.9, Chloroform).

Anal. Ber. für $C_{54}H_{74}N_2O_{14}Si_2$ (1031.4): C, 62.89; H, 7.23; N, 2.72. Gef.: C, 62.50; H, 7.19; N, 2.71.

Benzyl-4-O-acetyl-6-O-[6-O-acetyl-2-benzoyloxycarbonylamino-2-desoxy-3,4-O-(tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)- β -D-glucopyranosyl]-3-O-benzyl-2-benzoyloxycarbonylamino-2-desoxy- α -D-glucopyranosid (12). — Das Disaccharid **11** (20 mg, 0.02 mmol) wird in Pyridin (1 mL) gelöst und mit Acetanhydrid (0.5 mL) versetzt. Nach der Zugabe von 4-Dimethyl(amino)pyridin (0.5 mg) wird 2 h gerührt (D.c.: Dichlormethan–Ether 5:1), eingengt und mehrfach mit Toluol nachdestilliert. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch (Dichlormethan–Ether 10:1) gereinigt; Ausb. 22 mg (quant.), Sirup, $[\alpha]_D^{20} +46^\circ$ (c 0.35, Chloroform); 1H -N.m.r. (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.44–7.14 (m, 20 H, Ph), 5.11 (d, J 12.3 Hz, 1 H, $CH_2C_6H_5$), 5.14–5.00 (m, 4 H, H-4,1', N'H, $CH_2C_6H_5$), 4.92–4.79 (m, 2 H, NH, $CH_2C_6H_5$), 4.87 (d, 1 H, H-1), 4.67 (d, J 11.6 Hz, 1 H, $CH_2C_6H_5$), 4.65–4.52 (m, 3 H, 3 $CH_2C_6H_5$), 4.41 (dd, $J_{5',6'b}$ 1.8 Hz, H-6'b), 4.35 (d, J 11.6 Hz, 1 H, $CH_2C_6H_5$), 4.20 (dd, $J_{5',6'a}$ 5.0, $J_{6'a,6'b}$ 11.8 Hz, 1 H, H-6'a), 4.08 (ddd, $J_{1,2}$ 3.6, $J_{2,NH}$ 10.0 Hz, 1 H, H-2), 3.95–3.86 (m, 3 H, H-5,6b,3'), 3.72 (dd, $J_{2,3}$ 10.0, $J_{3,4}$ 9.0 Hz, 1 H, H-3), 3.70 (dd, $J_{3',4'}$ 8.0, $J_{4',5'}$ 9.4 Hz, 1 H, H-4'), 3.50–3.36 (m, 3 H, H-6a,2',5'), 2.08, 1.95 (2 s, 6 H, 2 CH_3CO), 1.05–0.76 [m, 28 H, 4 $CH(CH_3)_2$].

Anal. Ber. für $C_{58}H_{78}N_2O_{16}Si_2$ (1115.4): C, 62.45; H, 7.05; N, 2.51. Gef.: C, 62.30; H, 7.07; N, 2.49.

Benzyl-O-[methyl-(4,5,7,8-tetra-O-acetyl-3-desoxy- α -D-manno-2-octulopyranosyl)onat]-(2→6)-O-[2-benzoyloxycarbonylamino-2-desoxy-3,4-O-(tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)- β -D-glucopyranosyl]-(1→6)-3-O-benzyl-2-benzoyloxycarbonylamino-2-desoxy- α -D-glucopyranosid (14). — Die Hydroxykomponente **11** (1.3 g, 1.28 mmol) wird in Dichlormethan (5.5 mL) und Toluol (1.4 mL) gelöst. Es wird $HgBr_2$ (667 mg, 1.85 mmol) und Molekularsieb 4A (1.3 g) zugegeben und 0.5 h gerührt. Das Bromid **15** (915 mg, 1.89 mmol), in Toluol (50 mL) und Dichlormethan (10 mL) gelöst, wird innerhalb 36 h zugetropft. Nach weiteren 16 h (D.c.: Toluol–Aceton 4:1) wird mit Chloroform (100 mL) verdünnt und filtriert. Die organische Phase wird zweimal mit KI-Lösung und viermal mit Wasser gewaschen und mit $MgSO_4$ getrocknet. Es wird eingengt und der Rückstand säulenchromatographisch (Toluol–Aceton 15:1 → 13:1 → 7:1, 4 MPa) getrennt; Ausb. 744 mg (40%); amorphes Pulver, Schmp. 80–81°, $[\alpha]_D^{22} +74^\circ$ (c 1.25, Chloroform); 1H -N.m.r. (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7.43–7.12 (m, 20 H, Ph), 5.39 (dd, 1 H, H-5''), 5.35 (ddd, $J_{3'a,4'a}$ 10.8, $J_{3'e,4'e}$ 6.4, $J_{4',5'}$ 2.8 Hz, 1 H, H-4''), 5.24 (ddd, 1 H, H-7''), 5.15 (d, J 12.2 Hz, 1 H, $CH_2C_6H_5$), 5.07 (d, J 12.2 Hz, 1 H, $CH_2C_6H_5$), 4.94 (d, $J_{2,NH}$ 10.0 Hz, 1 H, NH), 4.87 (d, 1 H, H-1), 4.73 (d, J 11.3 Hz, 1 H, $CH_2C_6H_5$), 4.68 (d, J 11.3 Hz, 1 H, $CH_2C_6H_5$), 4.63 (dd, $J_{7'',8''b}$ 2.4 Hz, 1 H, H-8''b), 4.39 (dd, $J_{5'',6''}$ 1.4, $J_{6'',7''}$ 9.8 Hz, 1 H, H-6''), 4.33 (d, J 11.4 Hz, 1 H, $CH_2C_6H_5$), 4.32 (dd, $J_{6a,6b}$ 10.7 Hz, 1 H, H-6b), 4.14 (dd, $J_{7'',8''a}$ 4.7, $J_{8''a,8''b}$ 12.2 Hz, 1 H, H-8''a), 4.00 (ddd, $J_{1,2}$ 3.6 Hz, 1 H, H-2), 3.99 (ddd, 1 H, H-5), 3.79 (s, 3 H, CO_2CH_3), 3.76 (dd, 1 H, H-6a), 3.70

(ddd, 1 H, H-4), 3.59 (dd, 1 H, H-3), 3.41 (dd, 1 H, H-4'), 2.27–2.16 (m, 2 H, H-3''a, 3''e), 2.11 (s, 6 H, 2 CH₃CO), 2.01, 1.93 (2 s, 6 H, 2 CH₃CO), 1.17–0.88 [m, 28 H, 4 CH(CH₃)₂].

Anal. Ber. für C₇₁H₉₆N₂O₂₅Si₂ (1433.7): C, 59.48; H, 6.75; N, 1.95. Gef.: C, 60.21; H, 6.70; N, 1.96.

Benzyl-O-[methyl-(3-desoxy-α-D-manno-2-octulopyranosyl)onat]-(2→6)-O-[2-benzyloxycarbonylamino-2-desoxy-3,4-O-(tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)-β-D-glucopyranosyl]-(1→6)-3-O-benzyl-2-benzyloxycarbonylamino-2-desoxy-α-D-glucopyranosid (15). — Das Trisaccharid **14** (331 mg, 0.23 mmol) wird in absol. Methanol (20 mL) gelöst und mit Natriummethoxid (0.5 mL, m) versetzt. Nach 2 h (D.c.: Toluol–Ethanol 5:1) wird mit Ionenaustauscher Bio-Rad AG 50W-X4 (H⁺) neutralisiert, filtriert und eingengt; Ausb. 291 mg (quant.); farblose Plättchen, Schmp. 234–235°, [α]_D²⁰ +78° (c 0.78, Pyridin); ¹H-N.m.r. (270 MHz, CDCl₃–CD₃OD): δ 7.35–7.05 (m, 20 H, Ph), 3.69 (s, 3 H, CO₂CH₃), 2.06 (dd, *J*_{3''e,4''} 5.2 Hz, 1 H, H-3''e), 1.88 (dd, *J*_{3''a,3''e} 12.8, *J*_{3''a,4''} 11.8 Hz, 1 H, H-3''a), 1.13–0.75 [m, 28 H, 4 CH(CH₃)₂].

Anal. Ber. für C₆₃H₈₈N₂O₂₁Si₂ (1265.6): C, 59.79; H, 7.01; N, 2.21. Gef.: C, 60.03; H, 7.00; N, 2.21.

Benzyl-O-[methyl-(4,5,7,8-tetra-O-acetyl-3-desoxy-α-D-manno-2-octulopyranosyl)onat]-(2→4)-O-{methyl-[3-desoxy-7,8-O-(tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)-α-D-manno-2-octulopyranosyl]onat}-(2→6)-O-[2-benzyloxycarbonylamino-2-desoxy-3,4-O-(tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)-β-D-glucopyranosyl]-(1→6)-3-O-benzyl-2-benzyloxycarbonylamino-2-desoxy-α-D-glucopyranosid (18). — Die Hydroxykomponente **16** (346 mg, 0.23 mmol) wird in Nitromethan (2 mL) gelöst und Hg(CN)₂ (145 mg, 0.57 mmol), HgBr₂ (88 mg, 0.24 mmol) und Molekularsieb 4A (500 mg) hinzugegeben. Nach 0.5 h wird das Bromid **13** (240 mg, 0.49 mmol), in Nitromethan (8 mL) gelöst, innerhalb 1 h zugetropft. Es wird noch 16 h bei Raumtemperatur gerührt (D.c.: Toluol–Ethylacetat 1:1). Dann wird der Ansatz mit Chloroform (20 mL) verdünnt, filtriert, zweimal mit KI-Lösung (1 M) und viermal mit Wasser ausgeschüttelt, mit MgSO₄ getrocknet, und i. Vak. eingedampft. Der Rückstand wird säulenchromatographisch (Toluol–Ethylacetat 2:1) getrennt; Ausb. 133 mg (30%); amorphes Pulver, Schmp. 95°, [α]_D²⁰ +80° (c 1.8, Chloroform); ¹H-N.m.r. (400 MHz, C₆D₆): δ 7.48–6.94 (m, 20 H, Ph), 5.65 (dd, 1 H, H-5'''), 5.63 (ddd, 1 H, H-7'''), 5.45 (ddd, *J*_{3''a,4''} 12.0, *J*_{4'',5''} 2.9 Hz, 1 H, H-4'''), 5.16 (d, *J* 12.1 Hz, 1 H, CH₂C₆H₅), 5.10 (d, *J* 12.1 Hz, 1 H, CH₂C₆H₅), 5.01 (d, *J* 12.2 Hz, 1 H, CH₂C₆H₅), 4.97 (dd, *J*_{7''a,8''b} 2.2 Hz, 1 H, H-8''b), 4.86 (d, *J*_{1,2} 3.6 Hz, 1 H, H-1), 4.67 (ddd, 1 H, H-4''), 4.55 (d, *J* 11.6 Hz, 1 H, CH₂C₆H₅), 4.47 (dd, *J*_{7''a,8''a} 4.5, *J*_{8''a,8''b} 12.1 Hz, 1 H, H-8''a), 4.42 (dd, *J*_{5',6'b} 1.8, *J*_{6'a,6'b} 10.6 Hz, 1 H, H-6'b), 4.37 (ddd, 1 H, H-2), 4.28 (dd, *J*_{5''a,6''} 1.4, *J*_{6''a,7''} 9.4 Hz, 1 H, H-6'''), 4.14 (dd, 1 H, H-5''), 3.91 (dd, *J*_{4,5} 10.1 Hz, 1 H, H-4), 3.83 (dd, *J*_{4',5'} 9.3 Hz, 1 H, H-4'), 3.68 (dd, *J*_{2,3} 10.1, *J*_{3,4} 8.6 Hz, 1 H, H-3), 3.49 (dd, *J*_{2',3'} 9.0, *J*_{3',4'} 8.0 Hz, 1 H, H-3'), 3.42, 3.40 (2 s, 6 H, 2 CO₂CH₃), 2.47 (dd, *J*_{3''a,3''e} 13.0, *J*_{3''a,4''} 11.5 Hz, 1 H, H-3''a), 2.29 (dd, *J*_{3''e,4''} 4.9 Hz, 1 H, H-3''e), 2.25 (dd, *J*_{3''e,4''} 5.0 Hz, 1 H, H-3''e), 2.13 (dd, *J*_{3''a,3''e}

13.2 Hz, 1 H, H-3''a), 2.12, 1.80, 1.79, 1.74 (4 s, 12 H, 4 CH₃CO), 1.47–0.88 [m, 56 H, 8 CH(CH₃)₂].

Anal. Ber. für C₉₂H₁₃₆N₂O₃₃Si₄ (1910.4): C, 57.84; H, 7.18; N, 1.47. Gef.: C, 57.56; H, 7.23; N, 1.46.

Benzyl-O-{methyl-[3-desoxy-7,8-O-(tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)-α-D-manno-2-octulopyranosyl]onat}-(2→6)-O-[2-benzylloxycarbonylamino-2-desoxy-3,4-O-(tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)-β-D-glucopyranosyl]-(1→6)-3-O-benzyl-2-benzylloxycarbonylamino-2-desoxy-α-D-glucopyranosid (16). — Eine Lösung von **15** (288 mg, 0.23 mmol) in Pyridin (1.2 mL) wird auf –10° gekühlt und mit iPr₄Si₂OCl₂ (79 μL, 0.25 mmol) versetzt. Nach 5 h (D.c.: Chloroform–Methanol 15:1) wird mit Methanol (5 mL) gequentscht und eingengt. Eine Trennung erfolgt säulenchromatographisch an Kieselgel (Dichlormethan–Ether 5:1 → 2:1, Chloroform–Methanol 15:1); Ausb. 210 mg (61%); amorphes Pulver, Schmp. 81–82°, [α]_D²⁰ +60° (c 0.55, Chloroform); ¹H-N.m.r. (400 MHz, C₆D₆): δ 7.51–7.00 (m, 20 H, Ph), 3.36 (s, 3 H, CO₂CH₃), 2.46 (dd, J_{3''a,4''} 11.5 Hz, 1 H, H-3''a), 2.38 (dd, J_{3''a,3''e} 12.2, J_{3''e,4''} 5.0 Hz, 1 H, H-3''e), 1.45–0.93 [m, 56 H, 8 CH(CH₃)₂].

Anal. Ber. für C₇₅H₁₁₄N₂O₂₂Si₄ (1508.1): C, 59.73; H, 7.62; N, 1.86. Gef.: C, 59.07; H, 7.58; N, 1.85.

Benzyl-O-{methyl-[4,5-di-O-acetyl-3-desoxy-7,8-O-(tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)-α-D-manno-2-octulopyranosyl]onat}-(2→6)-O-[2-benzylloxycarbonylamino-2-desoxy-3,4-O-(tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)-β-D-glucopyranosyl]-(1→6)-4-O-acetyl-3-O-benzyl-2-benzylloxycarbonylamino-2-desoxy-α-D-glucopyranosid (17). — Die Verbindung **16** (20 mg, 0.013 mmol) wird in Pyridin (1 mL) gelöst, mit 4-Dimethylaminopyridin (3 mg) und Acetanhydrid (0.3 mL) versetzt und 3 h gerührt (D.c.: Dichlormethan–Ether 2:1). Der Ansatz wird eingengt, dreimal mit Toluol (2 mL) versetzt und jeweils wieder i. Hochvak. eingedampft; Ausb. nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Dichlormethan–Ether 5:1) 20 mg (94%); Sirup, [α]_D²⁰ +49° (c 0.5, Chloroform); ¹H-N.m.r. (400 MHz, C₆D₆): δ 7.51–7.00 (m, 20 H, Ph), 5.98 (dd, 1 H, H-5''), 5.76 (ddd, J_{3''a,4''} 10.6, J_{3''e,4''} 6.6, J_{4'',5''} 2.8 Hz, 1 H, H-4''), 5.55 (dd, J_{3,4} 9.0, J_{4,5} 10.6 Hz, 1 H, H-4), 3.41 (s, 3 H, CO₂CH₃), 2.49–2.44 (m, 2 H, H-3''a, 3''e), 1.77, 1.75, 1.73 (3 s, 9 H, 3 CH₃CO), 1.41–0.96 [m, 56 H, 8 CH(CH₃)₂].

Anal. Ber. für C₈₁H₁₂₀N₂O₂₅Si₄ (1634.2): C, 59.53; H, 7.40; N, 1.71. Gef.: C, 59.45; H, 7.36; N, 1.71.

Benzyl-O-[methyl-(4,5,7,8-tetra-O-acetyl-3-desoxy-α-D-manno-2-octulopyranosyl)onat]-(2→4)-O-[methyl-(5,7,8-tri-O-acetyl-3-desoxy-α-D-manno-2-octulopyranosyl)onat]-(2→6)-O-(3,4-di-O-acetyl-2-benzylloxycarbonylamino-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-(1→6)-4-O-acetyl-3-O-benzyl-2-benzylloxycarbonylamino-2-desoxy-α-D-glucopyranosid (20) und Benzyl-O-(4,5,7,8-tetra-O-acetyl-3-desoxy-α-D-manno-2-octulopyranosylono-1',5-lacton)-(2→4)-O-[methyl-(7,8-di-O-acetyl-3-desoxy-α-D-manno-2-octulopyranosyl)onat]-(2→6)-O-(3,4-di-O-acetyl-2-benzylloxycarbonylamino-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-(1→6)-4-O-acetyl-3-O-benzyl-2-benzylloxycarbonylamino-2-desoxy-α-D-glucopyranosid (22). — Das

Tetrasaccharid **18** (133 mg, 0.07 mmol) wird in abs. Oxolan (2 mL) gelöst, auf 0° gekühlt und mit Tetrabutylammoniumfluorid (100 µL, M) versetzt. Nach 3.5 h (D.c.: Chloroform–Methanol 10:1) wird der Ansatz mit Wasser (4 mL) gequenchet, dreimal mit Chloroform ausgeschüttelt, getrocknet (MgSO₄) und eingeeengt. Der Rohsirup von **19** und **21** wird in Pyridin (1.5 mL) gelöst, 4-Dimethylaminopyridin (5 mg) und Acetanhydrid (0.5 mL) hinzugefügt und 3 h bei Raumtemperatur belassen (D.c.: Toluol–Ethylacetat 1:1). Es wird i. Hochvak. eingedampft und dreimal mit Toluol zur Entfernung von Pyridin nachdestilliert. Gereinigt wird säulenchromatographisch (Toluol–Ethylacetat 2:1); Ausb. 80 mg im Verhältnis **20**:**22** wie 1:2; ¹H-N.m.r. (400 MHz, C₆D₆): δ 6.05 (d, *J* 9.0 Hz, H-5" von **22**), 5.59 (bs, H-5" von **20**), 3.59 (s, CO₂CH₃ von **22**), 3.56 (s, CO₂CH₃ von **20**), 3.41 (s, CO₂CH₃ von **20**), 2.96 (dd, H-3"*a* von **22**), 2.50 (dd, H-3"*a* von **20**).

Benzyl-O-(3-desoxy-α-D-manno-2-octulopyranosylonsäure)-(2→4)-O-(3-desoxy-α-D-manno-2-octulopyranosylonsäure)-(2→6)-O-(2-benzyloxycarbonylamino-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-(1→6)-3-O-benzyl-2-benzyloxycarbonylamino-2-desoxy-α-D-glucopyranosid (23). — Das Gemisch der Tetrasaccharide **20** und **22** (80 mg) wird in abs. Methanol (6 mL) gelöst und mit einer Lösung von Natriummethoxid in abs. Methanol (0.5 mL, M) versetzt. Nach 2 h (D.c.: Acetonitril–Wasser 7:1) wird der Ansatz auf die Hälfte seines Volumens eingeeengt, mit Wasser (1 mL) verdünnt und mit NaOH-Lösung (0.1 mL, M) versetzt. Nach 1 h (D.c.: Acetonitril–Wasser 7:1) wird die Reaktionsmischung mit Ionenaustauscher Bio-Rad AG 50-WX 4 (H⁺) auf pH 6 eingestellt, filtriert und eingeeengt. Es wird gelchromatographisch an Sephadex G-10 (Methanol–Wasser 1:1) gereinigt; Ausb. 67 mg (78%) bezogen auf **16**; [α]_D²⁰ +63.5° (c 0.4, Methanol); ¹H-N.m.r. (400 MHz, CD₃OD): δ 7.43–7.10 (m, 20 H, Ph), 4.86 (d, *J*_{1,2} 3.6 Hz, 1 H, H-1), 4.49 (d, *J*_{1',2'} 8.0 Hz, 1 H, H-1'), 2.15 (dd, *J*_{3"*a*,3"*e*} 13.0, *J*_{3"*e*,4"*a*} 4.6 Hz, 1 H, H-3"*e*), 2.03 (dd, *J*_{3"*a*,3"*e*} 12.0, *J*_{3"*e*,4"*a*} 5.0 Hz, 1 H, H-3"*e*), 2.00 (dd, *J*_{3"*a*,4"*a*} 12.0 Hz, 1 H, H-3"*a*), 1.81 (dd, *J*_{3"*a*,4"*a*} 11.9 Hz, 1 H, H-3"*a*).

Anal. Ber. für C₅₈H₇₂N₂O₂₇ (1229.2): C, 56.67; H, 5.90; N, 2.28. Gef.: C, 57.05; H, 5.94; N, 2.30.

O-(3-Desoxy-α-D-manno-2-octulopyranosylonsäure)-(2→4)-O-(3-desoxy-α-D-manno-2-octulopyranosylonsäure)-(2→6)-O-(2-amino-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-(1→6)-2-amino-2-desoxy-D-glucopyranose (24). — Das Tetrasaccharid **23** (67 mg, 0.055 mmol) wird in Methanol (5.4 mL) und Wasser (3.5 mL) gelöst und mit Eisessig (24 µL, 0.41 mmol) versetzt. Es wird stündlich 10% Pd–C (insges. 130 mg) zugefügt und bei 20 MPa hydriert. Nach 5.5 h (D.c.: Chloroform–Methanol–Wasser 10:10:3) wird filtriert, eingeeengt und gelchromatographisch an Sephadex G-10 (Wasser) gereinigt; Ausb. 32 mg (75%); amorphes Pulver, Schmp. 185° (Zers.), [α]_D²⁰ +61° (c 1.25, Wasser); ¹H-N.m.r. (400 MHz, D₂O): δ 5.25 (d, *J*_{1α,2α} 3.6 Hz, 2/3 H, H-1α), 4.73 (d, *J*_{1β,2β} 8.4 Hz, 1/3 H, H-1β), 4.52 (d, *J*_{1'β,2'β} 8.4 Hz, 1/3 H, H-1'β), 4.49 (d, *J*_{1'α,2'α} 8.4 Hz, 2/3 H, H-1'α), 3.08 (dd, *J*_{2α,3α} 10.6 Hz, 2/3 H, H-2α), 2.91–2.80 (m, 1 H, H-2'α,2'β), 2.77 (dd, *J*_{2β,3β} 10.3 Hz, 1/3 H, H-2β), 1.97 (dd, *J*_{3"*a*,3"*e*} 13.1, *J*_{3"*a*,4"*a*} 5.0 Hz, 1 H, H-3"*e*), 1.86 (dd, *J*_{3"*a*,3"*e*} 12.6, *J*_{3"*e*,4"*a*} 5.0 Hz,

1 H, H-3''e), 1.74 (dd, $J_{3'a,4''}$ 12.0 Hz, 1 H, H-3''a), 1.58 (dd, $J_{3'a,4''}$ 12.0 Hz, 1 H, H-3''a); $^{13}\text{C-N.m.r.}$ (100.62 MHz, D_2O): δ 176.58 (C-1'''), 175.66 (C-1'' α), 175.61 (C-1'' β), 100.92 (C-1' β), 100.61 (C-2''), 100.49 (C-2'''), 100.18 (C-1' α), 93.86 (C-1 β), 90.27 (C-1 α), 75.85 (C-5 β), 75.69 (C-5'), 73.44 (C-6'''), 73.33 (C-3 β), 73.19 (C-6''), 72.89 (C-4 β), 72.59 (C-3'), 71.18 (C-5 α), 70.99 (C-3 α), 70.75 (C-7'''), 70.75 (C-4 α), 70.59 (C-7''), 70.59 (C-4'), 70.52 (C-6 β), 70.03 (C-6 α), 69.51 (C-4''), 67.08 (C-5'''), 66.84 (C-4'''), 65.39 (C-5''), 64.31 (C-8''), 64.31 (C-8'''), 62.30 (C-6' α), 62.22 (C-6' β), 57.50 (C-2 β), 56.50 (C-2'), 55.17 (C-2 α), 35.23 (C-3'''), 34.07 (C-3'' α), 33.98 (C-3'' β).

Anal. Ber. für $\text{C}_{28}\text{H}_{48}\text{N}_2\text{O}_{23}$ (780.7): C, 43.08; H, 6.20; N, 3.59. Gef.: C, 42.98; H, 6.24; N, 3.58.

DANK

Der Deutsche Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der chemischen Industrie sind wir für die Bereitstellung von Sachmitteln zur Durchführung des Projektes zu Dank verpflichtet.

LITERATUR

- 1 H. PAULSEN UND T. PETERS, *Carbohydr. Res.*, 165 (1987) 229–249.
- 2 H. BRADE UND E. T. RIETSCHEL, *Eur. J. Biochem.*, 145 (1984) 231–236.
- 3 H. BRADE, U. ZÄHRINGER, E. T. RIETSCHEL, R. CHRISTIAN, G. SCHULZ UND F. M. UNGER, *Carbohydr. Res.*, 134 (1984) 157–166.
- 4 R. CHRISTIAN, G. SCHULZ, P. WALDSTÄTTEN UND F. M. UNGER, *Tetrahedron Lett.*, 25 (1984) 3433–3436.
- 5 U. ZÄHRINGER, B. LINDNER, U. SEYDEL, E. T. RIETSCHEL, H. NAOKI, F. M. UNGER, M. IMOTO, S. KUSUMOTO UND T. SHIBA, *Tetrahedron Lett.*, 26 (1985) 6321–6324.
- 6 H. PAULSEN, Y. HAYAUCHI UND F. M. UNGER, *Justus Liebigs Ann. Chem.*, (1984) 1288–1297.
- 7 W. T. MARKIEWICZ, *J. Chem. Res., Synopses*, (1979) 24–25.
- 8 C. A. A. VAN BOECKEL UND J. H. VAN BOOM, *Tetrahedron Lett.*, 21 (1980) 3705–3708; *Chem. Lett.*, (1981) 581–584.
- 9 J. J. OLTVOORT, M. KLOOSTERMAN UND J. H. VAN BOOM, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas*, 102 (1983) 501–505.
- 10 H. PAULSEN, Y. HAYAUCHI UND F. M. UNGER, *Carbohydr. Res.*, 111 (1983) c5–c8.
- 11 F. M. UNGER, D. STIX UND G. SCHULZ, *Carbohydr. Res.*, 80 (1980) 191–195.
- 12 P. J. DUNPHY, J. D. KERR, J. F. PENNOCH, K. J. WITTLE UND J. FEENEY, *Biochim. Biophys. Acta*, 136 (1976) 136–147.
- 13 P. WALDSTÄTTEN, R. CHRISTIAN, P. KOSMA, CH. KRATKY, G. SCHULZ, H. PAULSEN UND F. M. UNGER, *ACS Symp.*, 231 (1983) 121–140.
- 14 H. PAULSEN, M. STIEM UND F. M. UNGER, *Justus Liebigs Ann. Chem.*, (1987) 273–281.
- 15 H. PAULSEN, M. STIEM UND F. M. UNGER, *Tetrahedron Lett.*, 27 (1986) 1135–1138.