

Synthese einer Kdo-haltigen Pentasaccharidsequenz der inneren Core- und Lipid A-Region von Lipopolysacchariden^{*,†}

Hans Paulsen und Christof Krogmann

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

(Eingegangen am 28. Juli 1989; angenommen am 9. November 1989)

ABSTRACT

Coupling of methyl (4,5,7,8-tetra-*O*-acetyl-3-deoxy- α -D-manno-2-octulopyranosyl)onate-(2 $\rightarrow$ 4)-methyl (5,7,8-tri-*O*-acetyl-3-deoxy- α -D-manno-octulopyranosyl bromide)onate with benzyl *O*-{methyl [3-deoxy-7,8-*O*-(tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)- α -D-manno-octulopyranosyl]onate}-(2 $\rightarrow$ 6)-*O*-{[(*R*)-3-benzoyloxytetradecanoylamino]-2-deoxy-3,4-*O*-(tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)- β -D-glucopyranosyl}-(1 $\rightarrow$ 6)-3-*O*-benzyl-2-[(*R*)-3-benzoyloxytetradecanoylamino]-2-deoxy- α -D-glucopyranoside gave stereo- and regioselectively a pentasaccharide that was deprotected into α -Kdo-(2 $\rightarrow$ 4)- α -Kdo-(2 $\rightarrow$ 4)- α -Kdo-(2 $\rightarrow$ 6)- β -D-GlcNhm-(1 $\rightarrow$ 6)-D-GlcNhm [Nhm = 2-deoxy-(*R*)-3-hydroxytetradecanoylamino].

ZUSAMMENFASSUNG

Methyl-(4,5,7,8-tetra-*O*-acetyl-3-desoxy- α -D-manno-2-octulopyranosyl)onate-(2 $\rightarrow$ 4)-methyl-(5,7,8-tri-*O*-acetyl-3-desoxy- α -D-manno-octulopyranosylbromid)onat wird mit Benzyl-*O*-{methyl-[3-desoxy-7,8-*O*-(tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)- α -D-manno-octulopyranosyl]onat}-(2 $\rightarrow$ 6)-*O*-{[(*R*)-3-benzoyloxytetradecanoylamino]-2-desoxy-3,4-*O*-(tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)- β -D-glucopyranosyl}-(1 $\rightarrow$ 6)-3-*O*-benzyl-2-[(*R*)-3-benzoyloxytetradecanoylamino]-2-desoxy- α -D-glucopyranosid stereo- und regioselektiv zum Pentasaccharid umgesetzt wird. Die vollständige Entblockierung des Pentasaccharids ergibt α -Kdo-(2 $\rightarrow$ 4)- α -Kdo-(2 $\rightarrow$ 4)- α -Kdo-(2 $\rightarrow$ 6)- β -D-GlcNhm-(1 $\rightarrow$ 6)-D-GlcNhm [Nhm = 2-Desoxy-(*R*)-3-hydroxytetradecanoylamino].

EINFÜHRUNG

Lipopolysaccharide (LPS) sind charakteristische Bestandteile der äußeren Membran Gram-negativer Bakterien. Sie weisen außer einer stark endotoxischen Wirkung auch andere therapeutisch interessante Reaktionen wie die Aktivierung von B-Lymphozyten, die Aktivierung der Gerinnungs- und Komplementkaskade oder der Tumornekrose auf. Der lipophile Teil der LPS, das Lipid A, ist mit den Fettsäuren in der äußeren Bakterienmembran verankert. An das Lipid A ist die Core-Struktur und hieran die O-spezifische Kette gebunden, die beide Heteropolysaccharide darstellen. Die O-spezifischen Ketten an der Oberfläche der Zellwand sind Träger der immundeterminan-

^{*}Diese Arbeit ist Professor Leslie Hough mit besten Wünschen zum 65. Geburtstag gewidmet.

[†]XCV. Mitteilung der Serie "Bausteine von Oligosacchariden". XCIV. Mitteil., siehe Zit. 1.

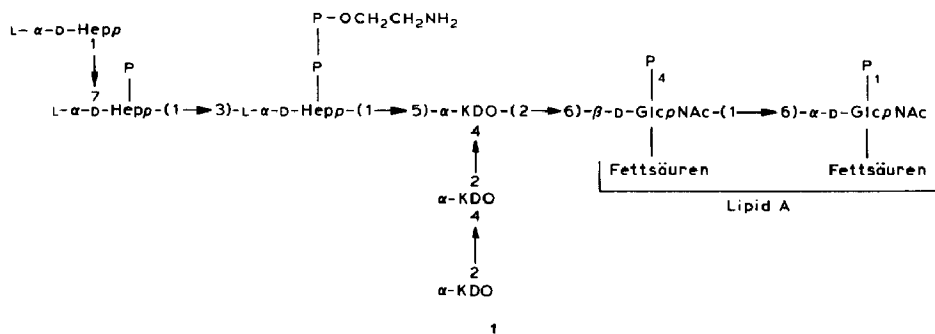
ten Strukturen. Sie variieren in ihrer Struktur stark und bestimmen den Serotyp einer Gattung².

Die Variationsbreite der Core-Region ist dagegen innerhalb der Familie der Enterobacteriaceae sehr gering. Auch die Core-Region, und hier insbesondere die innere Core-Region, die aus 2-Keto-3-desoxy-D-manno-octulosonsäure (Kdo) und L-glycero-D-manno-Heptose besteht, weist interessante immunogene Eigenschaften auf³. So soll die Kdo-Region die Sekretion von Proteinmediatoren von Macrophagen fördern, die spezifisch zur Bildung von Interleukin I angeregt werden⁴. In diesem Sinne sind auch spezifisch gegen die Kdo-Region gerichtete Antikörper von Interesse. Die in dieser Arbeit synthetisierten Kdo-haltigen Oligosaccharide sollen dazu dienen, die Epitopspezifität von gegen die Kdo-Region gerichteten monoclonalen Antikörpern zu überprüfen.

DISKUSSION UND ERGEBNISSE

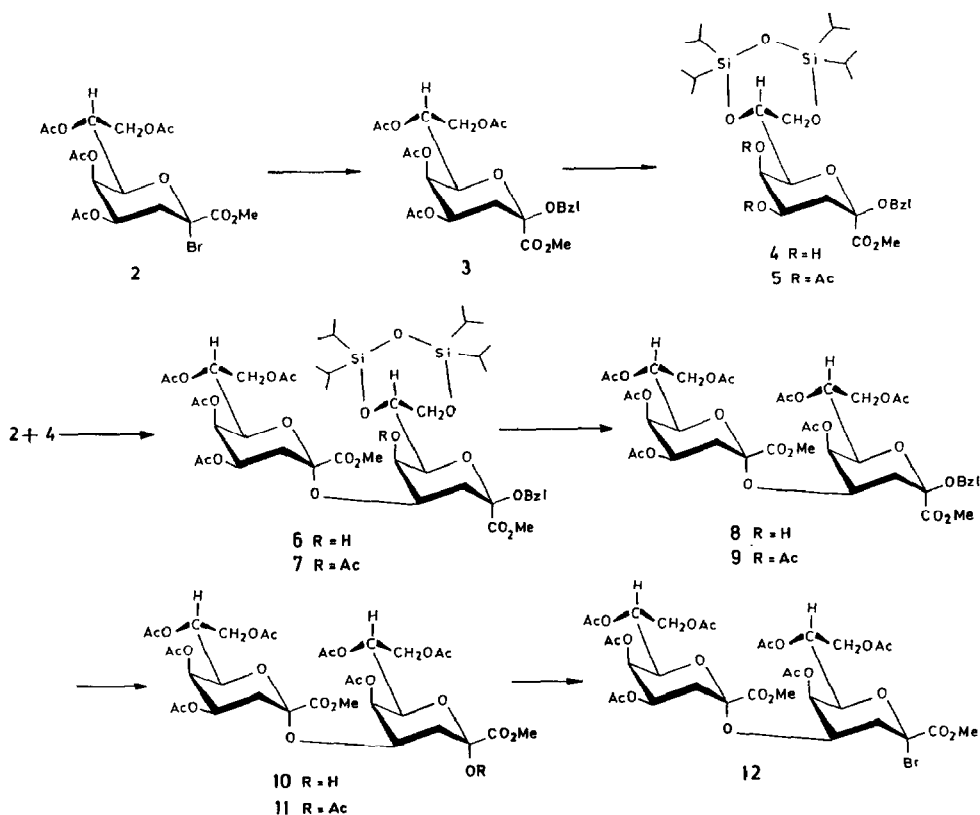
Die Formel 1 zeigt die Anknüpfung der inneren Core-Region an das Lipid A. Über eine Kdo-Einheit sind die weiteren Heptose-Reste der Core-Kette an das Lipid A geknüpft. Die zum Lipid A ständige Kdo enthält jedoch eine Seitenkette, die aus einem oder zwei weiteren Kdo-Resten besteht⁵. Es sollte das in 1 gezeigte Trisaccharid aus drei Kdo-Einheiten auf seine Epitopspezifität gegenüber monoclonalen Antikörpern getestet werden. Hierfür mußte es in eine immunogene Form gebracht werden.

In vorherigen Untersuchungen hatten wir gezeigt, daß ein Lipid A-ähnliches Disaccharid aus zwei 2-Amino-2-desoxy-D-glucose-Einheiten, die an beiden Amino-gruppen mit (R)-3-Hydroxytetradecansäure acyliert sind, sehr gut auf die äußere Membran von Schafserthrozyten (SRBC) aufgezogen werden können⁶. Mit zwei Fettsäureresten ist die Bindung des Disaccharides an die Membran offensichtlich optimal. Enthält das gebundene Disaccharid an OH-6' weitere Saccharidreste, wie z.B. Kdo⁷, so ist dieser Rest nach außen gerichtet und als hochwirksames Antigen exponiert. Um dieses Verfahren auf das Kdo-Trisaccharid als Epitop anwenden zu können, muß ein Pentasaccharid synthetisiert werden, das aus drei Kdo-Resten und zwei Resten von 2-Amino-2-desoxy-D-glucose besteht, die zwei entsprechende Fettsäuren enthalten. Die Pentasaccharidsynthese sollte nur in einer Blocksynthese durchführbar sein. Danach ist



zunächst ein Glycosyldonor zu entwickeln, der aus zwei Kdo-Resten besteht und der entsprechend aktiviert werden kann. Als Glycosylakzeptor kommt ein Trisaccharid in Frage, das einen Kdo-Rest und zwei 2-Amino-2-desoxyhexose-Reste enthält. Ein geeigneter Glycosylakzeptor ist die Verbindung 13, die wir bereits vorher beschrieben haben¹. Von den beiden unsubstituierten Hydroxylgruppen der Kdo-Einheit in 13 ist die OH-5'-Gruppe erfahrungsgemäß äußerst wenig reaktiv. Eine Glycosidierungsreaktion mit 13 sollte daher, wie gewünscht, regioselektiv an der OH-4'-Gruppe der Kdo erfolgen.

Der Aufbau eines Kdo-Disaccharid-Donors wird wie folgt durchgeführt: Das Kdo-Bromid 2 kann mit Benzylalkohol in Gegenwart des heterogenen Silbersilicat-Katalysators in Dichlormethan bei -70° stereoselektiv in 95% zum β -Glycosid 3 umgesetzt werden. Der Anteil an Eliminierungsprodukt ist hierbei zu vernachlässigen. Die chemische Verschiebung von H-4 bei δ 5.12 beweist, daß das β -Anomere vorliegt⁸. Nach Abspaltung der Acetylgruppen nach Zemplén erfolgt die Umsetzung mit einer tags zuvor bereiteten Lösung von 1,3-Dichlor-1,1,3,3-tetraisopropylidisiloxan und Imidazol in *N,N*-Dimethylformamid^{9,10}. Man erhält in 69% 4. Im ¹H-N.m.r.-Spektrum der durch Acetylierung von 4 erhaltenen Verbindung 5 liegen die Signale der H-4 und H-5



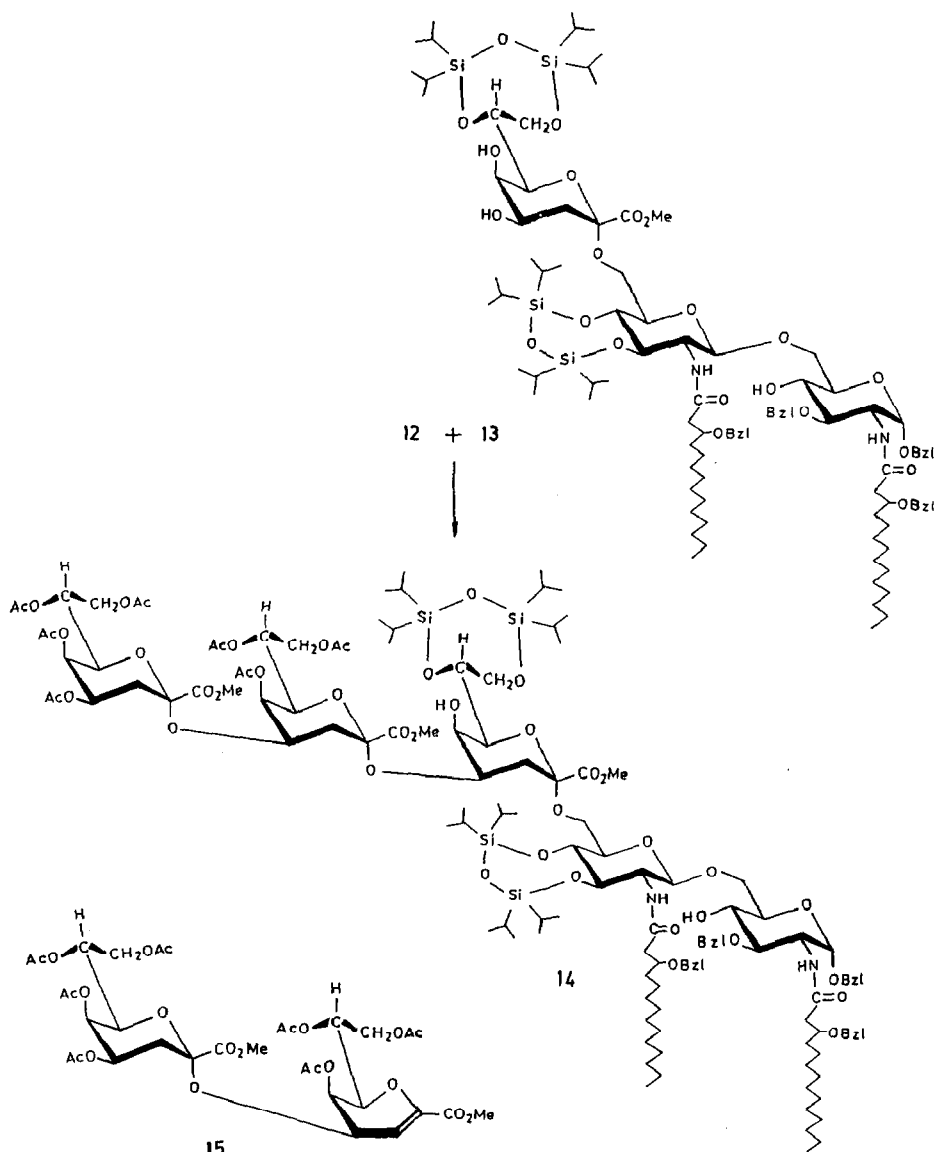
aufgrund des Anisotropieeffektes der Acetatgruppen tieffeldverschoben bei δ 5.21 bzw. 5.99, was mit der angegebenen Struktur übereinstimmt.

Zwischen OH-5 und OH-4 besteht ein großer Reaktivitätsunterschied, so daß die wenig reaktive Gruppe OH-5 nicht selektiv blockiert zu werden braucht¹¹. Man kann 4 direkt mit dem Donor 2 umsetzen. Hier ist es günstig, Quecksilber(II)cyanid als Katalysator in Nitromethan einzusetzen. Die Glycosidierung zum Disaccharid 6 verläuft vollständig regioselektiv und bei einem Verhältnis von $\alpha:\beta$ wie 13:1 annähernd stereoselektiv. Das Disaccharid 6 kann in 74% problemlos isoliert werden. Der Anteil am Eliminierungsprodukt ist gering. Das ¹H-N.m.r.-Spektrum von 6 läßt sich dann mittels 2D-Techniken vollständig zuordnen. Die chemische Verschiebung von H-4 bei δ 5.47 beweist⁸ die α -Anomerität in 6.

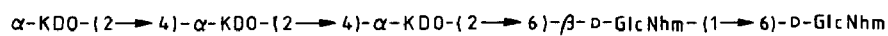
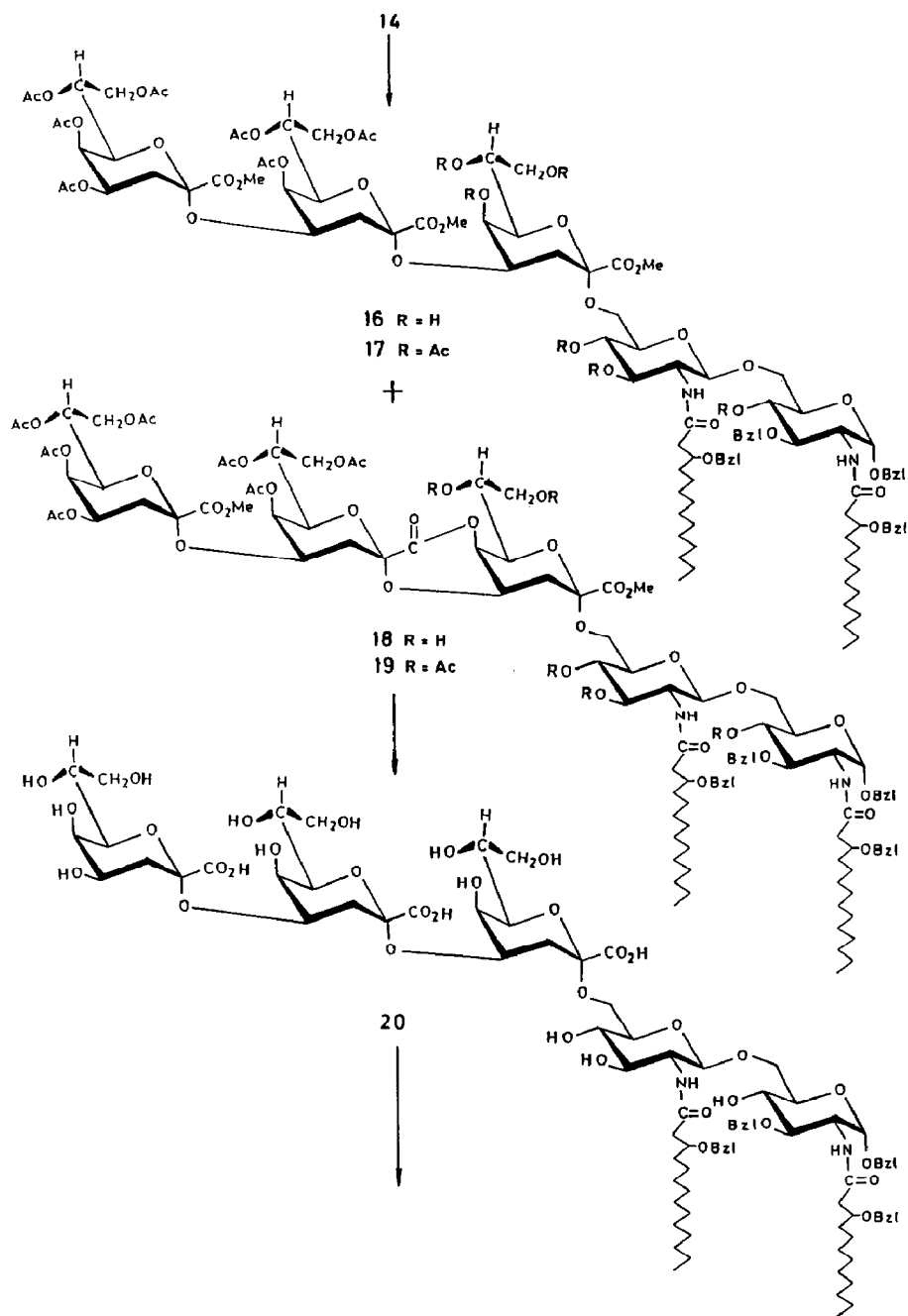
Kdo-Halogenide mit Siloxan-Schutzgruppen sind nach unseren Befunden außerordentlich reaktiv und daher nur schwer zu handhaben¹². Aus diesem Grunde ist ein Wechsel der Schutzgruppen in 6 notwendig. Zunächst muß OH-5 in 6 acetyliert werden zu 7, um eine innere Lactonbildung bei der Siloxan-Abspaltung zu vermeiden¹³. Durch Umsetzung von 7 mit Tetrabutylammoniumfluorid bei 0° erhält man einheitlich ohne Bildung eines Lactons das Disaccharid 8 in 95% Ausbeute. Die Nachacetylierung liefert 9, dessen ¹H-N.m.r.-Spektrum mit der Struktur übereinstimmt.

Zur Spaltung des Benzylglycosides wird 9 in Gegenwart von Palladium-Kohle in Methanol hydriert. Man isoliert die freie Verbindung 10, die als Anomeren-Gemisch im Verhältnis $\alpha:\beta$ wie 2:1 vorliegt (Formeln 10 und 11 zeigen nur die α -Form). Die nachfolgende Acetylierung des Gemisches liefert quantitativ nur das α -Anomere 11. Das ¹H-N.m.r.-Spektrum weist eindeutig auf die α -Form hin, auch wenn die 4-Desoxyprotonen durch den Anisotropieeffekt der Acetylgruppe am OH-2 bei δ 2.43 zusammenfallen. Die Umsetzung von 11 mit Titantetrabromid liefert in 3 Stunden den gewünschten Glycosyldonor 12 in 98% Ausbeute. Die kurze Reaktionszeit zeigt bereits eine höhere Reaktivität von 12 gegenüber 2 an. Im ¹H-N.m.r.-Spektrum von 12 ist das H-3_e signal infolge einer Tieffeldverschiebung durch das Bromatom zu δ 3.05 verschoben. Das Spektrum entspricht der angegebenen Struktur.

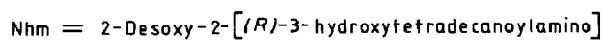
Bei dem Glycosylhalogenid 12 ist die erhöhte Eliminierungstendenz und Hydrolyseempfindlichkeit zu berücksichtigen. Daher wird zur Glycosidsynthese der Akzeptor 13 in äußerst konzentrierter Form vorgelegt und langsam der Donor 12 in zweifachem Überschuß zogetropft. Das beste Ergebnis wird mit Quecksilber(II)bromid als Katalysator in Toluol-Nitromethan (1:1) erzielt. Man erhält regio- und stereoselektiv das gewünschte Pentasaccharid 14 in 21% Ausbeute. Eine β -glycosidisch verknüpfte Verbindung wird nicht beobachtet. Als Nebenprodukte werden das Eliminierungsprodukt 15 (30%) und das Hydrolyseprodukt von 12 (40%) gebildet. Der nicht umgesetzte Akzeptor 13 kann ebenso wie das Hydrolyseprodukt von 12 zurückgewonnen und erneut eingesetzt werden. Das ¹H-N.m.r.-Spektrum von 14 ist durch 2D-Techniken weitgehend interpretierbar. Es liegen drei Kdo-Einheiten vor. Die α -Anomerität des Verknüpfungsproduktes ergibt sich aus der Differenz der chemischen Verschiebung dem Desoxyprotonen der mittleren Kdo-Einheit, die $\delta_{\text{H-3''e}} - \delta_{\text{H-3''a}}$ 0.19 p.p.m. beträgt und die für α -konfigurierte Kdo-Ketoside charakteristisch ist¹⁴. Zur Entblockierung



von **14** wird zunächst die 1,1,3,3-Tetraisopropylidisiloxandiyl-Schutzgruppe mit Tetra-
butylammoniumfluorid abgespalten. Hierbei wird neben dem Pentasaccharid **16** teil-
weise das Lacton **18** gebildet. Die Nachacetylierung von **16** und **18** führt zu **17** und **19**.
Das $^1\text{H-N.m.r.}$ -Spektrum der gereinigten Mischung zeigt, daß **17:19** im Verhältnis 20:1
vorliegt. Diese charakterische Lactonbildung wurde bereits an einer analogen Tetra-
saccharideinheit beobachtet, bei der die dritte terminale Kdo-Einheit fehlt¹. Dort ließ
sich bei dem als Nebenprodukt auftretenden Lacton die Tieffeldverschiebung vom H-5'
nachweisen, womit die Ringform des Lactonringes einwandfrei bewiesen ist. Das



21



Molekülmodell zeigt auch, daß die Lactonbrücke zur anderen Kdo-Einheit leicht möglich ist.

Das Gemisch wird nach Zemplén zunächst mit Natriummethoxid entacetyliert. Bei der anschließenden Behandlung mit wäßrigem Natriumhydroxyd werden die Methylester und das Lacton gespalten, so daß man wieder zu einem einheitlichen Produkt **20** gelangt. Im letzten Schritt lassen sich in **20** die Benzylethergruppierungen hydrogenolytisch zu **21** abspalten. Das Pentasaccharid **21** neigt wegen der im Molekül präsenten hydrophilen und hydrophoben Regionen zur Bildung von Micellen. In den verwendeten Lösungsmitteln erhält man deswegen kolloidale Lösungen. Zur Stabilisierung von **21** ist es zweckmäßig, die freie Säure in das Tris(triethylammonium)salz zu überführen. Mit **21** steht die auf Erythrozyten fixierbare Verbindung mit einem Kdo-Trisaccharid-Epitop zur Verfügung. Diese ist gut zu vergleichen mit den polymerisierten Kdo-Derivaten von Kosma *et al.*¹⁵.

EXPERIMENTELLER TEIL

Allgemeine Methoden. — Optische Drehungen wurden mit einem Perkin–Elmer Polarimeter 243 in 1-dm Küvetten bei 589 nm (Na-D-Linie) bestimmt. Die ¹H-N.m.r.-Spektren wurden mit den Spektrometern Bruker WM 270 und Bruker WM 400 aufgenommen. Als interner Standard diente Tetramethylsilan, sofern keine anderen Angaben gemacht sind. Die Kopplungskonstanten wurden erster Ordnung ausgewertet. Die ¹³C-N.m.r.-Spektren wurden bei 100.64 MHz aufgenommen. Alle Reaktionen wurden dünnenschichtchromatographisch auf Kieselgel-Fertigfolien (Merck, GF₂₅₄) verfolgt. Die Detektion erfolgte durch U.v.-Absorption, Ansprühen mit einer 10%igen ethanolischen H₂SO₄-Lösung oder mit Fluorescein-Lösung (100:1, v/v) in 50%iger wäßriger Ethanol–Wasserstoffperoxidlösung (30%) in Eisessig (1:1, v/v) und anschließender Wärmebehandlung. Säulenchromatographische Trennungen erfolgten an Kieselgel 60 (Merck, 70–230 mesh) bei Normaldruck und Kieselgel (ICN Silica, 12-26, 60 A) bei Mitteldruck bzw. gelchromatographische Reinigungen an Sephadex LH 20 mit Methanol oder Methanol–Dichlormethan als Elutionsmittel. Alle Lösungsmittel wurden destilliert. Gefriertrocknungen erfolgten in einer Christ-Beta 1102 Anlage. Alle Glycosidsynthesen wurden in einer N₂-Atmosphäre unter strengstem Feuchtigkeitsausschluß durchgeführt. Bei Silbersalzkatalyse wurde unter Lichtausschluß in Braunglas Kolben gearbeitet. Sämtliche verwendeten Lösungsmittel waren absolut wasserfrei und wurden über Molekularsieb aufbewahrt. Filtrationen von Katalysatoren, Molekularsieb und Pd–C erfolgten über eine Seitz-Filterschicht (Fa. Seitz, Bad Kreuznach).

Methyl-(benzyl-4,5,7,8-tetra-O-acetyl-3-desoxy-β-D-manno-2-octulopyranosid)onat (3). — Eine Mischung aus Benzylalkohol (1.34 g, 12.4 mmol), AgSiO₃ (4 g) und Molekularsieb 4A (gepulvert, 3.5 g) wird 1 h unter strengstem Feuchtigkeitsausschluß in Dichlormethan (20 mL) bei –70° gerührt. Anschließend wird eine Lösung des Bromides **2** (2.08 g, 4.308 mmol) in Dichlormethan (11 mL) während 1 h zugetropft. Es wird 10 h bei –30° gerührt und anschließend vorsichtig auf Raumtemperatur erwärmt. Nach 18 h (D.c. Toluol–Ethanol 20:1, v/v) wird mit Dichlormethan verdünnt, filtriert,

mit wäßriger gesättigter NaHCO_3 -Lösung und Wasser gewaschen, mit MgSO_4 getrocknet und i. Vak. eingengt. Die Reinigung erfolgt chromatographisch unter Mitteldruck an Kieselgel mit Toluol–Ethylacetat (10:1, v/v), Ausb. 2.09 g (95%), Sirup, $[\alpha]_D^{21} + 2.3^\circ$ (c 1, Chloroform); $^1\text{H-N.m.r.}$ (400 MHz, C_6D_6): δ 7.32–7.03 (m, 5 H, Ph), 5.61 (dd, 1 H, H-5), 5.59 (ddd, 1 H, H-7), 5.12 (ddd, 1 H, $J_{4,5}$ 2.9 Hz, H-4), 4.93 (d, 1 H, CHPh), 4.64 (dd, 1 H, $J_{7,8a}$ 5.0 Hz, H-8a), 4.59 (d, 1 H, CHPh), 4.52 (dd, 1 H, $J_{7,8b}$ 2.2, $J_{8a,8b}$ 12.4 Hz, H-8b), 4.28 (dd, 1 H, $J_{5,6}$ 1.5, $J_{6,7}$ 9.8 Hz, H-6), 3.12 (s, 3 H, OCH_3), 2.71 (dd, 1 H, $J_{3e,4}$ 4.5 Hz, H-3e), 2.49 (dd, 1 H, $J_{3a,3e}$ 13.2, $J_{3a,4}$ 13.2 Hz, H-3a), 1.88, 1.82, 1.77, 1.63 (4 s, 12 H, 4 OAc).

Anal. Ber. für $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_{12}$ (510.5): C, 56.47; H, 5.92. Gef.: C, 56.13; H, 6.01.

Methyl-(benzyl-3-desoxy-7,8-O-(tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)- β -D-manno-2-octulopyranosid)onat (4). — Eine Lösung von **3** (2.19 g, 4.29 mmol) in Methanol (30 mL) wird mit katalytischen Mengen 1.4M Natriummethanolat-Lösung versetzt. Nach 2 h (D.c. Toluol–Ethanol 2:1, v/v) wird mit Ionenaustauscher Lewatit CNP LF (H^+) neutralisiert, filtriert und das Filtrat bis zur Gewichtskonstanz i. Vak. eingengt. Die deacetylierte Verbindung wird in *N,N*-Dimethylformamid (10 mL) gelöst und bei Raumtemperatur tropfenweise eine tags zuvor bereitete Lösung von 1,3-Dichlor-1,1,3,3-tetraisopropylidisiloxan (1.62 g, 5.15 mmol) und Imidazol (841.8 mg, 12.36 mmol) in *N,N*-Dimethylformamid (20 mL) zugesetzt. Nach 10 min (D.c. Toluol–Aceton 5:1, v/v) wird das überschüssige Reagenz durch Zugabe von Methanol (20 mL) zersetzt. Es wird i. Vak. eingengt und mehrfach mit Toluol codestilliert. Der Rückstand wird in Dichlormethan aufgenommen, die Lösung mit wäßriger gesättigter NaHCO_3 -Lösung und Wasser gewaschen, mit MgSO_4 getrocknet und i. Vak. eingengt. Der Rückstand wird chromatographisch unter Mitteldruck an Kieselgel mit Toluol–Aceton (30:1, v/v) gereinigt Ausb. 1.73 g (69%), Sirup, $[\alpha]_D^{20} + 7.2^\circ$ (c 1.07, Chloroform); $^1\text{H-N.m.r.}$ (270 MHz, C_6D_6): δ 7.33–7.05 (m, 5 H, Ph), 4.84 (d, 1 H, CHPh), 4.55 (m, 2 H, $J_{7,8b}$ 1.6 Hz, H-7,8b), 4.52 (d, 1 H, CHPh), 4.02 (dd, 1 H, $J_{7,8a}$ 8.4, $J_{8a,8b}$ 11.8 Hz, H-8a), 3.98 (dd, 1 H, H-5), 3.57 (dd, 1 H, $J_{5,6}$ 0.9, $J_{6,7}$ 8.1 Hz, H-6), 3.47 (ddd, 1 H, H-4), 3.13 (s, 3 H, OCH_3), 2.58 (dd, 1 H, $J_{3a,4}$ 4.8 Hz, H-3e), 2.10 (dd, 1 H, $J_{3e,3a}$ 12.5, $J_{3a,4}$ 12.5 Hz, H-3a), 1.30–1.00 (m, 28 H, 4 Isopr.).

Anal. Ber. für $\text{C}_{28}\text{H}_{48}\text{O}_9\text{Si}_2$ (584.9): C, 57.50; H, 8.27. Gef.: C, 57.85; H, 8.31.

Methyl-(benzyl-4,5-di-O-acetyl-3-desoxy-7,8-O-(tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)- β -D-manno-2-octulopyranosid)onat (5). — Die Verbindung **4** (10 mg, 0.017 mmol) wird in Pyridin (2 mL) gelöst und mit Acetanhydrid (0.7 mL) und katalytischen Mengen 4-Dimethylaminopyridin versetzt. Nach 12 h (D.c. Toluol–Aceton 10:1, v/v) wird mit Toluol verdünnt und i. Vak. eingengt. Die Reinigung erfolgt chromatographisch unter Mitteldruck an Kieselgel mit Toluol–Aceton (100:1, v/v), Ausb. 11.3 mg (quant.), Sirup, $[\alpha]_D^{20} + 15^\circ$ (c 1, Chloroform); $^1\text{H-N.m.r.}$ (270 MHz, C_6D_6): δ 7.28–7.03 (m, 5 H, Ph), 5.99 (dd, 1 H, H-5), 5.21 (ddd, 1 H, $J_{4,5}$ 2.8 Hz, H-4), 4.84 (d, 1 H, CHPh), 4.74 (dd, 1 H, H-8b), 4.52 (d, 1 H, CHPh), 4.50 (ddd, 1 H, $J_{7,8b}$ 1.8 Hz, H-7), 4.10 (dd, 1 H, $J_{7,8a}$ 8.0, $J_{8a,8b}$ 12.4 Hz, H-8a), 3.96 (dd, 1 H, $J_{5,6}$ 1.2, $J_{6,7}$ 9.0 Hz, H-6), 3.12 (s, 3 H, OCH_3), 2.75 (dd, 1 H, $J_{3e,4}$ 5.0, $J_{3,5}$ 0.7 Hz, H-3e), 2.52 (dd, 1 H, $J_{3a,3e}$ 13.2, $J_{3a,4}$ 13.2 Hz, H-3a), 1.76, 1.68 (2 s, 6 H, 2 OAc), 1.30–0.91 (m, 28 H, 4 Isopr.).

Anal. Ber. für $C_{32}H_{52}O_{11}Si_2$ (668.9): C, 57.45; H, 7.83. Gef.: C, 57.63; H, 8.01.

Benzyl-O-[methyl-(4,5,7,8-tetra-O-acetyl-3-desoxy- α -D-manno-2-octulopyranosyl)onat]-(2 $\rightarrow$ 4)-methyl-[3-desoxy-7,8-(O-tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)- β -D-manno-2-octulopyranosid]onat (6). — Eine Mischung aus **4** (775 mg, 1.32 mmol), $Hg(CN)_2$ (960 mg, 3.72 mmol) und Molekularsieb 4A (gepulvert, 1.8 g) wird 1 h unter strengstem Feuchtigkeitsausschluß in Nitromethan (4.5 mL) bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird eine Lösung des Bromides **6** (1.11 g, 2.37 mmol) in Nitromethan (10 mL) während 30 min zugetropft. Nach 20 h (D.c. Toluol–Ethanol 10:1, v/v) wird mit Dichlormethan verdünnt, filtriert und eingengt. Der Rückstand wird in Dichlormethan aufgenommen, zweimal mit m KI-Lösung und viermal mit Wasser gewaschen und mit $MgSO_4$ getrocknet. Die Reinigung erfolgt chromatographisch unter Mitteldruck an Kieselgel mit Petrolether–Aceton (8:1, v/v), Ausb. 965.5 mg (74%), Sirup, $[\alpha]_D^{20} + 56^\circ$ (c 1, Chloroform); das 1H -N.m.r.-Spektrum zeigt ein Anomerenverhältnis von α : β wie 13:1; 1H -N.m.r. (270 MHz, C_6D_6): δ 7.3–7.0 (m, 5 H, Ph), 5.71 (dd, 1 H, H-5'), 5.65 (ddd, 1 H, H-7'), 5.47 (ddd, 1 H, $J_{4',5'}$ 2.9 Hz, H-4'), 4.96 (dd, 1 H, $J_{7,8a}$ 3.0 Hz, H-8'a), 4.83 (d, 1 H, CHPh), 4.74 (m, 2 H, $J_{7,8b}$ 1.8 Hz, H-7,8b), 4.57 (d, 1 H, J 11.6 Hz, CHPh), 4.30 (m, 3 H, $J_{8a,8b}$ 12.0, $J_{7,8b}$ 6.2, $J_{5',6'}$ 1.4, $J_{6,7}$ 9.2 Hz, H-5,6,8'b), 4.21 (ddd, 1 H, $J_{4,5}$ 1.4 Hz, H-4), 4.12 (dd, 1 H, $J_{8a,8b}$ 12.4, $J_{7,8a}$ 8.8 Hz, H-8a), 3.59 (dd, 1 H, $J_{5,6}$ 0.9, $J_{6,7}$ 8.6 Hz, H-6), 3.35, 3.32 (2 s, 6 H, 2 OCH_3), 2.76 (m, 2 H, $J_{3a,3e}$ 12.0, $J_{3a,4}$ 12.0, $J_{3e,4}$ 5.0 Hz, H-3a,3e), 2.41 (m, 2 H, $J_{3'a,3'e}$ 12.6, $J_{3'a,4'}$ 12.2, $J_{3'e,4'}$ 5.2 Hz, H-3'a,3'e), 1.81, 1.78, 1.72, (3 s, 12 H, 4 OAc), 1.35–1.05 (m, 28 H, 4 Isoprop.).

Anal. Ber. für $C_{45}H_{70}O_{20}Si_2$ (987.2): C, 54.75; H, 7.14. Gef.: C, 54.69; H, 7.10.

Benzyl-O-[methyl-(4,5,7,8-tetra-O-acetyl-3-desoxy- α -D-manno-2-octulopyranosyl)onat]-(2 $\rightarrow$ 4)-methyl-[5-O-acetyl-3-desoxy-7,8-O-(tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)- β -D-manno-2-octulopyranosid]onat (7). — Verbindung **6** (1.14 g, 1.15 mmol) wird in Pyridin (12 mL) gelöst und mit Acetanhydrid (4 mL) und katalytischen Mengen 4-Dimethylaminopyridin versetzt. Nach 12 h (D.c. Toluol–Ethanol 10:1, v/v) wird der Ansatz mit Toluol verdünnt und eingengt. Die Reinigung erfolgt chromatographisch unter Mitteldruck an Kieselgel mit Petrolether–Aceton (10:1, v/v), Ausb. 1.18 g (quant.), Sirup, $[\alpha]_D^{20} + 45^\circ$ (c 1, chloroform); 1H -N.m.r. (270 MHz, C_6D_6): δ 7.29–7.01 (m, 5 H, Ph), 5.91 (m, 1 H, H-5), 5.70 (m, 1 H, H-5'), 5.63 (ddd, 1 H, $J_{6,7}$ 9.8 Hz, H-7'), 5.51 (ddd, 1 H, $J_{4',5'}$ 2.9, $J_{3'a,4'}$ 11.8, $J_{3'e,4'}$ 5.2 Hz, H-4'), 4.97 (dd, 1 H, $J_{7,8'a}$ 3.0 Hz, H-8'a), 4.85 (d, 1 H, CHPh), 4.73 (m, 2 H, $J_{4,5}$ 1.4, $J_{7,8b}$ 1.6 Hz, H-4,8b), 4.51 (d, 1 H, J 11.4 Hz, CHPh), 4.47 (m, 1 H, H-7), 4.27 (m, 2 H, $J_{5',6'}$ 1.0, $J_{7,8b}$ 6.0, $J_{8a,8b}$ 12.0 Hz, H-6',8'b), 4.10 (dd, 1 H, $J_{8a,8b}$ 12.2, $J_{7,8a}$ 7.8 Hz, H-8a), 3.88 (dd, 1 H, $J_{5,6}$ 1.0, $J_{6,7}$ 9.0 Hz, H-6), 3.37, 3.51 (2 s, 6 H, 2 OCH_3), 2.76 (dd, 1 H, $J_{3a,3e}$ 12.8, $J_{3e,4}$ 4.8 Hz, H-3e), 2.48 (m, 3 H, $J_{3a,3'e}$ 12.6, $J_{3a,4}$ 12.8 Hz, H-3a,3'a,3'e), 1.91, 1.81, 1.77, 1.75, 1.65 (5 s, 15 H, 5 OAc), 1.26–0.98 (m, 28 H, 4 Isoprop.).

Anal. Ber. für $C_{47}H_{72}O_{21}Si_2$ (1029.2): C, 54.84; H, 7.05. Gef.: C, 54.59; H, 6.98.

Benzyl-O-[methyl-(4,5,7,8-tetra-O-acetyl-3-desoxy- α -D-manno-2-octulopyranosyl)onat]-(2 $\rightarrow$ 4)-methyl-(5-O-acetyl-3-desoxy- β -D-manno-2-octulopyranosid)onat (8). — Eine Lösung des Disaccharides **7** (930 mg, 0.903 mmol) in Oxolan (18 mL) wird bei 0° mit einer m Tetrabutylammoniumfluorid-Lösung in Oxolan (259.9 mg, 0.994

mmol) versetzt. Nach 2 h (D.c. Toluol–Ethanol 10:1, v/v) wird das überschüssige Reagenz mit Wasser (30 mL) hydrolysiert, das Produkt dreimal mit Dichlormethan extrahiert, mit MgSO_4 getrocknet und i. Vak. eingeengt, Ausb. 675 mg (95%), Sirup, $[\alpha]_D^{20} + 72^\circ$ (c 1, Chloroform); $^1\text{H-N.m.r.}$ (270 MHz, C_6D_6): δ 7.29–7.01 (m, 5 H, Ph), 4.82 (d, 1 H, CHPh), 4.25 (d, 1 H, J 11.4 Hz, CHPh), 3.41, 3.37 (2 s, 6 H, 2 OCH_3), 1.80, 1.77, 1.73, 1.64 (4 s, 15 H, 5 OAc).

Anal. Ber. für $\text{C}_{35}\text{H}_{46}\text{O}_{20}$ (786.7): C, 53.43; H, 5.89. Gef.: C, 52.79; H, 5.73.

Benzyl-O-[methyl-(4,5,7,8-tetra-O-acetyl-3-desoxy- α -D-manno-2-octulopyranosyl)onat]-(2 $\rightarrow$ 4)-methyl-(5,7,8-tri-O-acetyl-3-desoxy- β -D-manno-2-octulopyranosid)onat (9). — Die Verbindung **8** (675 mg, 0.858 mmol) wird in Pyridin (9 mL) gelöst und mit Acetanhydrid (3 mL) und katalytischen Mengen 4-Dimethylaminopyridin versetzt. Nach 12 h (D.c. Toluol–Ethanol 10:1, v/v) wird der Ansatz mit Toluol verdünnt und eingeengt. Die Reinigung erfolgt chromatographisch unter Mitteldruck an Kieselgel mit Petrolether–Aceton (3:1, v/v), Ausb. 747 mg (quant.), Sirup, $[\alpha]_D^{20} + 74^\circ$ (c 1, Chloroform); $^1\text{H-N.m.r.}$ (270 MHz, C_6D_6): δ 7.38–7.06 (m, 5 H, Ph), 5.68 (m, 1 H, H-5), 5.66 (m, 1 H, H-5'), 5.60 (ddd, 1 H, H-7'), 5.53 (ddd, 1 H, $J_{7,8b}$ 2.4 Hz, H-7'), 5.45 (ddd, 1 H, $J_{3'a,4'}$ 10.0, $J_{3'e,4'}$ 7.0, $J_{4',5'}$ 3.0 Hz, H-4'), 4.94 (m, 2 H, $J_{7,8b}$ 3.0 Hz, CHPh, H-8b), 4.57 (m, 3 H, J 11.6, $J_{8a,8b}$ 12.2, $J_{7,8a}$ 4.4 Hz, CHPh, H-8a, 8b), 4.40 (ddd, 1 H, $J_{3a,4}$ 12.6, $J_{4,5}$ 3.0 Hz, H-4), 4.31 (dd, 1 H, $J_{5,6'}$ 1.2, $J_{6',7}$ 9.6 Hz, H-6'), 4.26 (dd, 1 H, $J_{5,6}$ 1.4, $J_{6,7}$ 9.7 Hz, H-6), 4.20 (dd, 1 H, $J_{7,8'a}$ 5.6, $J_{8'a,8'b}$ 12.0 Hz, H-8'a), 3.39, 3.36 (2 s, 6 H, 2 OCH_3), 2.72 (dd, 1 H, $J_{3a,3e}$ 12.6, $J_{3e,4}$ 4.6 Hz, H-3e), 2.42 (m, 3 H, $J_{3'a,3'e}$ 12.8 Hz, H-3'a, 3'e, 3a), 1.91, 1.87, 1.83, 1.79, 1.76, 1.75, 1.62 (7 s, 21 H, 7 OAc).

Anal. Ber. für $\text{C}_{39}\text{H}_{50}\text{O}_{22}$ (870.8): C, 53.79; H, 5.79. Gef.: C, 54.02; H, 5.91.

Methyl-(4,5,7,8-tetra-O-acetyl-3-desoxy- α -D-manno-2-octulopyranosyl)onat-(2 $\rightarrow$ 4)-methyl-5,7,8-tri-O-acetyl-3-desoxy-D-manno-octulopyranosonat (10). — Die Verbindung **9** (796 mg, 0.914 mmol) wird in Methanol (30 mL) gelöst und in Gegenwart von 10%iger Pd–C (800 mg) bei Normaldruck hydriert. Nach 2 h (D.c. Toluol–Ethanol 10:1, v/v) wird über eine Filterschicht filtriert und eingeengt. Die Reinigung erfolgt chromatographisch unter Mitteldruck an Kieselgel mit Petrolether–Aceton (3:1, v/v), Ausb. 678 mg (95%), Sirup, $[\alpha]_D^{20} + 91^\circ$ (c 1, Chloroform); das $^1\text{H-N.m.r.}$ -Spektrum zeigt ein Anomerenverhältnis von $\alpha:\beta = 2:1$; $^1\text{H-N.m.r.}$ (270 MHz, C_6D_6): δ 5.70 (dd, 1 H, $J_{4,5}$ 2.8 Hz, H-5), 5.62 (m, 1 H, H-5'), 5.57 (ddd, 1 H, $J_{6',7}$ 9.6, $J_{7,8'a}$ 5.4, $J_{7,8'b}$ 2.7 Hz, H-7'), 5.49 (m, 2 H, $J_{3'a,4'}$ 12.8, $J_{3'e,4'}$ 7.6, $J_{4',5'}$ 3.0 Hz, H-4'), 5.42 (ddd, 1 H, H-7), 5.01 (m, 2 H, H-6', 8'b), 4.55 (dd, 1 H, $J_{7,8b}$ 2.4 Hz, H-8b), 4.42 (dd, 1 H, $J_{7,8a}$ 4.4, $J_{8a,8b}$ 12.2 Hz, H-8a), 4.29 (m, 2 H, $J_{3a,4}$ 10.0 Hz, $J_{8'a,8'b}$ 12.0 Hz, H-4, 8'a), 4.00 (dd, 1 H, $J_{5,6}$ 1.2, $J_{6,7}$ 9.4 Hz, H-6), 3.46, 3.41 (2 s, 6 H, 2 OCH_3), 2.58 (dd, 1 H, $J_{3a,3e}$ 12.8, $J_{3e,4}$ 5.0 Hz, H-3e), 2.40 (m, 3 H, $J_{3'a,3'e}$ 12.0, H-3'a, 3'e, 3a), 1.92, 1.87, 1.81, 1.80, 1.70, 1.64 (6 s, 21 H, 7 OAc).

Anal. Ber. für $\text{C}_{32}\text{H}_{44}\text{O}_{22}$ (780.7): C, 49.23; H, 5.68. Gef.: C, 48.97; H, 5.55.

Methyl-(4,5,7,8-tetra-O-acetyl-3-desoxy- α -D-manno-2-octulopyranosyl)onat-(2 $\rightarrow$ 4)-methyl-2,5,7,8-tetra-O-acetyl-3-desoxy- α -D-manno-2-octulopyranosonat (11). — Das α,β -Gemisch **10** (670 mg, 0.858 mmol) wird in Pyridin (9 mL) gelöst und mit Acetanhydrid (3 mL) und katalytischen Mengen 4-Dimethylaminopyridin versetzt. Nach 4 h (D.c. Toluol–Ethanol 10:1, v/v) wird mit Toluol verdünnt und i. Vak.

eingengt. Die Reinigung erfolgt chromatographisch unter Mitteldruck an Kieselgel mit Petrolether–Aceton (3:1, v/v), Ausb. 706 mg (quant.), Sirup, $[\alpha]_D^{20} + 114^\circ$ (*c* 1, Chloroform); $^1\text{H-N.m.r.}$ (270 MHz, C_6D_6): δ 5.67 (m, 1 H, H-5), 5.64 (dd, 1 H, $J_{5,6}$ 1.2 Hz, H-5'), 5.57 (ddd, 1 H, H-7'), 5.45 (m, 2 H, $J_{3'a,4'}$ 11.4, $J_{3'e,4'}$ 5.8, $J_{4',5'}$ 3.0 Hz, H-4', 7), 5.08 (dd, 1 H, $J_{6,7}$ 9.8 Hz, H-6'), 5.01 (dd, 1 H, $J_{7,8'b}$ 2.8 Hz, H-8'b), 4.65 (dd, 1 H, $J_{7,8b}$ 2.2 Hz, H-8'b), 4.32 (dd, 1 H, $J_{7,8a}$ 4.4, $J_{8a,8b}$ 12.3 Hz, H-8a), 4.22 (m, 3 H, $J_{3a,4}$ 10.0, $J_{3e,4}$ 4.0, $J_{4,5}$ 1.3, $J_{5,6}$ 1.3, $J_{6,7}$ 9.8, $J_{7,8'a}$ 4.8, $J_{8'a,8'b}$ 12.0 Hz, H-4, 6, 8'a), 3.49, 3.43 (2 s, 6 H, 2 OCH_3), 2.43 (m, 4 H, $J_{3a,3e}$ 11.2, $J_{3'a,3'e}$ 11.8 Hz, 3a, 3e, 3'a, 3'e), 1.91, 1.85, 1.84, 1.83, 1.80, 1.79, 1.67, 1.64 (8 s, 24 H, 8 OAc).

Anal. Ber. für $\text{C}_{34}\text{H}_{46}\text{O}_{23}$ (822.7): C, 49.64; H, 5.64. Gef.: C, 49.37; H, 5.58.

Methyl-(4,5,7,8-tetra-O-acetyl-3-desoxy- α -D-manno-2-octulopyranosyl)onat-(2 $\rightarrow$ 4)-methyl-(5,7,8-tri-O-acetyl-3-desoxy- α -D-manno-octulopyranosylbromid)onat (12). — Das Disaccharid 11 (351 mg, 0.426 mmol) wird in Dichlormethan (2 mL) gelöst und bei Raumtemperatur mit TiBr_4 (400 mg), gelöst in einer Mischung aus Dichlormethan (4 mL) und Ethylacetat (0.4 mL), versetzt. Nach 3 h (D.c. Toluol–Ethylacetat 1:1, v/v) wird der Ansatz mit Toluol (10 mL) und Acetonitril (2 mL) verdünnt und sukzessive bis zur vollständigen Entfärbung mit Natriumacetat versetzt. Anschließend wird mit Toluol (6 mL) verdünnt, weitere 30 min gerührt, filtriert und eingengt, Ausb. 352 mg (98%); $^1\text{H-N.m.r.}$ (270 MHz, CDCl_3): δ 5.73 (m, 1 H, H-5), 5.61 (m, 1 H, $J_{5,6}$ 1.4 Hz, H-5'), 5.55 (ddd, 1 H, $J_{6,7}$ 9.8, $J_{7,8'a}$ 4.8 Hz, H-7'), 5.49 (m, 1 H, $J_{7,8a}$ 4.8 Hz, H-7), 5.38 (ddd, 1 H, $J_{3'a,4'}$ 10.8, $J_{3'e,4'}$ 6.3, $J_{4',5'}$ 3.0 Hz, H-4'), 5.21 (ddd, 1 H, $J_{4,5}$ 3.0 Hz, H-4), 5.11 (dd, 1 H, $J_{7,8'b}$ 2.6, $J_{8'a,8'b}$ 12.1 Hz, H-8'b), 4.59 (dd, 1 H, $J_{7,8b}$ 2.1, $J_{8a,8b}$ 12.0 Hz, H-8b), 4.52 (dd, 1 H, $J_{5,6}$ 1.2, $J_{6,7}$ 9.8 Hz, H-6), 4.23 (m, 3 H, H-6', 8a, 8'a), 3.45, 3.29 (2 s, 6 H, 2 OCH_3), 3.05 (dd, 1 H, $J_{3e,4}$ 4.6 Hz, H-3e), 2.66 (dd, 1 H, $J_{3a,3e}$ 13.9, $J_{3a,4}$ 11.7 Hz, H-3a), 2.49 (m, 2 H, $J_{3'a,3'e}$ 12.4 Hz, H-3'a, 3'e), 1.86, 1.85, 1.82, 1.80, 1.79, 1.67, 1.64 (7 s, 21 H, 7 OAc); die Verbindung muß unmittelbar zur Glycosidsynthese eingesetzt werden.

Benzyl-O-[methyl-(4,5,7,8-tetra-O-acetyl-3-desoxy- α -D-manno-2-octulopyranosyl)onat]-(2 $\rightarrow$ 4)-O-[methyl-(5,7,8-tri-O-acetyl-3-desoxy- α -D-manno-2-octulopyranosyl)onat]nat]-(2 $\rightarrow$ 4)-O-[methyl-[3-desoxy-7,8-O-(tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)- α -D-manno-2-octulopyranosyl)onat]-(2 $\rightarrow$ 6)-O-[2- f (R)-3-benzoyloxytetradecanoylamino]-2-desoxy-3,4-O-(tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)- β -D-glucopyranosyl]-(1 $\rightarrow$ 6)-3-O-benzyl-2- f (R)-3-benzoyloxytetradecanoylamino]-2-desoxy- α -D-glucopyranosid (14). — Die Hydroxylkomponente 13 (277 mg, 0.148 mmol) wird in Nitromethan (1 mL) und Toluol (1 mL) gelöst. Es wird HgBr_2 (121 mg, 0.337 mmol) und Molekularsieb 4A (gepulvert, 400 mg) zugegeben und 1 h unter strengstem Feuchtigkeitsschluß gerührt. Das Bromid 12 (237 mg, 0.281 mmol), gelöst in Nitromethan (6.5 mL), wird innerhalb von 2 h bei Raumtemperatur zugetropft. Nach 12 h (D.c. Toluol–Ethylacetat 1:1, v/v) wird mit Dichlormethan verdünnt, filtriert und eingengt. Der Rückstand wird in Dichlormethan aufgenommen, zweimal mit *m* KI-Lösung und viermal mit Wasser gewaschen und mit MgSO_4 getrocknet. Die Reinigung erfolgt säulenchromatographisch unter Mitteldruck an Kieselgel mit Petrolether–Ethylacetat (2:1 $\rightarrow$ 1.5:1 $\rightarrow$ 1:1, v/v), Ausb. 82 mg (21%), Sirup, $[\alpha]_D^{20} + 46^\circ$ (*c* 1, Chloroform); $^1\text{H-N.m.r.}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 7.39–7.18 (m, 20 H, 4 Ph), 6.65 (d, 1 H, NH), 6.33 (d, 1 H, NH), 5.33 (m, 1 H,

H-5'''), 5.22 (m, 1 H, H-5'''), 5.17 (m, 2 H, H-4''', 7'''), 5.08 (ddd, 1 H, $J_{6'',7''}$ 9.4, $J_{7'',8''b}$ 3.4 Hz, H-7'''), 4.85 (d, 1 H, H-1), 4.73 (d, 1 H, J 11.2 Hz, CHPh), 4.72 (dd, 1 H, $J_{7'',8''a}$ 3.0, $J_{8''a,8''b}$ 12.0 Hz, H-8'''), 4.67 (dd, 1 H, $J_{7'',8''a}$ 3.0, $J_{8''a,8''b}$ 12.0 Hz, H-8''a), 4.66 (d, 1 H, J 11.6 Hz, CHPh), 4.51 (ddd, 1 H, $J_{3'',4''}$ 11.6, $J_{3'',e,4''}$ 4.8, $J_{4'',5''}$ 2.6 Hz, H-4'''), 4.50 (d, 1 H, J 11.2 Hz, CHPh), 4.49 (d, 1 H, J 11.8 Hz, CHPh), 4.43 (d, 1 H, J 11.2 Hz, CHPh), 4.37 (d, 1 H, J 10.8 Hz, CHPh), 4.35 (d, 1 H, J 11.2 Hz, CHPh), 4.20 (ddd, 1 H, $J_{1,2}$ 3.6, $J_{2,NH}$ 9.2 Hz, H-2), 3.87 (s, 3 H, OCH₃), 3.79 (m, 1 H, H-5''), 3.72, 3.58 (2s, 6 H, 2 OCH₃), 3.52 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 10.2, $J_{3,4}$ 8.8 Hz, H-3), 3.39 (ddd, 1 H, $J_{1,2}$ 8.4, $J_{2,NH}$ 8.1, $J_{2,3}$ 9.8 Hz, H-2'), 3.29 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 9.2, $J_{4,5}$ 8.0 Hz, H-4'), 2.51–2.24 (m, 4 H, 2 CH₂-Myristinoyl), 2.15, 2.06, 2.05, 2.04, 1.99, 1.96 (7 s, 21 H, 7 OAc), 1.60–1.47 (m, 8 H, 4 CH₂-Myristinoyl), 1.47–1.19 (m, 32 H, 16 CH₂-Myristinoyl), 1.19–0.92 (m, 56 H, 8 Isoprop.), 0.86 (br.t, 6 H, 2 CH₃-Myristinoyl).

Anal. Ber. für C₁₃₃H₂₀₈N₂O₄₃Si₄ (2635.4): C, 60.61; H, 7.95; N, 1.06. Gef.: C, 61.19; H, 8.16; N, 1.11.

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→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-[(R)-3-benzyloxytetradecanoylamino]-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl}-(1→6)-4-O-acetyl-3-O-benzyl-2-[(R)-3-benzyloxytetradecanoylamino]-2-desoxy-α-D-glucopyranosid (17) und Benzyl-O-[methyl-(4,5,7,8-tetra-O-acetyl-2-desoxy-α-D-manno-2-octulopyranosyl)onat]-(2→4)-O-{methyl-[4-O-(7,8-di-O-acetyl-3-desoxy-5,7,8-tri-O-acetyl-3-desoxy-α-D-manno-2-octulopyranosylono-1''',5'''-lacton)-α-D-manno-octulopyranosyl]onat}-(2→6)-O-{3,4-di-O-acetyl-2-[(R)-3-benzyloxytetradecanoylamino]-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl}-(1→6)-4-O-acetyl-3-O-benzyl-2-[(R)-3-benzyloxytetradecanoylamino]-2-desoxy-α-D-glucopyranosid (19). — Das Pentasaccharid 14 (82, mg, 0.031 mmol) wird in Oxolan (1 mL) gelöst, auf 0° gekühlt und mit einer M Tetrabutylammoniumfluorid-Lösung in Oxolan (16.2 mg, 0.062 mmol) versetzt. Nach 5 h (D.c. Dichlormethan–Methanol 15:1) wird überschüssiges Reagenz mit Wasser (2 mL) hydrolysiert, dreimal mit Chloroform ausgeschüttelt, mit MgSO₄ getrocknet und eingengt. Zur Reinigung wird das Produktgemisch aus 16 und 18 acetyliert. Der Rohsirup wird in Pyridin (3 mL) gelöst und mit Acetanhydrid (1 mL) und katalytischen Mengen 4-Dimethylaminopyridin versetzt. Nach 5 h (D.c. Dichlormethan–Methanol 30:1, v/v) wird mit Toluol verdünnt, eingengt und anschließend mehrmals mit Toluol codestilliert. Die Reinigung erfolgt chromatographisch unter Mitteldruck an Kieselgel mit Toluol–Ethylacetat (3:2 → 1:1, v/v), Ausb. 63.5 mg im Verhältnis 17:19 = 20:1; ¹H-N.m.r. (400 MHz, C₆D₆): δ 5.71 (m, 1 H, H-5'' von 17), 5.56 (m, 1 H, H-5'' von 17), 5.53 (m, 1 H, H-5' von 17), 3.56, 3.42, 3.37 (3 s, 9 H, 3 OCH₃ von 17), 2.06, 2.05, 2.02, 1.98, 1.91, 1.90, 1.88, 1.86, 1.79, 1.78, 1.71, 1.66, 1.61 (13 s, 39 H, 13 OAc von 17).

Benzyl-O-(3-desoxy-α-D-manno-2-octulopyranosylonsäure)-(2→4)-O-(3-desoxy-α-D-manno-2-octulopyranosylonsäure)-(2→4)-O-[3-desoxy-α-D-manno-2-octulopyranosylonsäure)-(2→6)-O-{2-[(R)-3-benzyloxytetradecanoylamino]-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl}-(1→6)-2-[(R)-3-benzyloxytetradecanoylamino]-2-desoxy-α-D-glu-

copyranosid (20). — Das Gemisch der Pentasaccharide 17 und 19 (60 mg) wird in Methanol (5 mL) gelöst und mit katalytischen Mengen einer 1.4M Natriummethanolat-Lösung versetzt. Nach 2 h (D.c. Acetonitril-Wasser 7:1, v/v) wird der Ansatz mit Ionenaustauscher Lewatit CNP LF (H^+) neutralisiert, filtriert und eingeeengt. Das deacetylierte Produktgemisch wird in Dichlormethan (4 mL) und Methanol (2 mL) gelöst und mit M NaOH-Lösung (0.4 mL) versetzt. Nach 1.5 h (D.c. Butanol-Essigsäure-Wasser 5:2:2, v/v) wird der Ansatz mit Ionenaustauscher Lewatit CNP LF (H^+) neutralisiert, filtriert und eingeeengt. Es wird gelchromatographisch an Sephadex LH 20 (Methanol) gereinigt, Ausb. 45 mg, $[\alpha]_D^{20} + 34^\circ$ (c 1, Methanol); 1H -N.m.r. (400 MHz, CD_3OD): δ 7.42–7.18 (m, 20 H, 4 Ph), 1.38–1.09 (m, 40 H, 20 CH_2 -Myristinoyl), 0.91 (br.t, 6 H, 2 CH_3 -Myristinoyl).

Anal. Ber. für $C_{92}H_{133}N_2O_{34}$ (1814.1): C, 60.91; H, 7.56; N, 1.54. Gef.: C, 60.42; H, 7.29; N, 1.51.

O-(3-Desoxy- α -D-manno-2-octulopyranosylonsäure)-(2 $\rightarrow$ 4)-O-(3-desoxy- α -D-manno-2-octulopyranosylonsäure)-(2 $\rightarrow$ 4)-O-(3-desoxy- α -D-manno-2-octulopyranosylonsäure)-(2 $\rightarrow$ 6)-O-{2-desoxy-[(R)-3-hydroxytetradecanoylamino]- β -D-glucopyranosyl}-(1 $\rightarrow$ 6)-2-desoxy-2-[(R)-3-hydroxytetradecanoylamino]-D-glucopyranose (21). — Das Pentasaccharid 20 (44 mg, 0.024 mmol) wird in 1,4-Dioxan (5 mL) und Methanol (3.5 mL) gelöst. Nach Zusatz von Essigsäure (0.2 mL) und Palladiummohr (90 mg) wird bei Raumtemperatur und 27 MPa H_2 -Druck hydriert. Nach 6 Tagen (D.c. Butanol-Essigsäure-Wasser 5:2:2, v/v) wird über eine Filterschicht filtriert, mit Methanol-Dichlormethan (3:2) nachgewaschen und i. Vak. eingeeengt, Ausb. 31 mg (89%). Zur Gefriertrocknung wird die freie Säure mit Triethylamin in das Triethylammoniumsalz überführt; 1H -N.m.r. (400 MHz, CD_3OD): δ 1.49–1.09 (m, 40 H, 20 CH_2 -Myristinoyl), 0.90 (br.t, 6 H, 3 CH_3 -Myristinoyl); F.a.b.m.s.: Ber. m/z 1450.7. Gef. m/z 1473.7 ($M + Na^+$).

DANK

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft sind wir für die großzügige Förderung der Untersuchungen zu Dank verpflichtet. Die Untersuchungen wurden durch die Herbert-Quandt-Stiftung der VARTA AG gefördert.

LITERATUR

- 1 H. Paulsen und C. Krogmann, *Justus Liebig's Ann. Chem.*, (1989) 1203–1213.
- 2 J. Y. Homma, S. Kanegasaki, O. Lüderitz, T. Shiba und O. Westphal, (Eds.), *Bacterial Endotoxin, Chemical, Biological and Clinical Aspects*, Verlag Chemie, Weinheim 1984, und dort zitierte Literatur.
- 3 H. Brade, L. Brade, U. Schade, U. Zähringer, O. Holst, H.-M. Kuhn, A. Rozalski, E. Röhrscheidt und E. T. Rietschel, *Bacterial Endotoxins: Pathophysiological Effects, Clinical Significance and Pharmacological Control*, Alan R. Liss, New York 1988, SS. 17; u. dort zitierte Literatur.
- 4 L. Brade und H. Brade, *Infect. Immun.*, 50 (1985) 687–694.
- 5 H. Brade und E. T. Rietschel, *Eur. J. Biochem.*, 145 (1984) 231–236.
- 6 L. Brade, P. Kosma, B. J. Appelmeik, H. Paulsen und H. Brade, *Infect. Immun.*, 55 (1987) 462–466.
- 7 H. Paulsen und M. Schüller, *Justus Liebig's Ann. Chem.*, (1987) 249–258.
- 8 F. M. Unger, D. Stix und G. Schulz, *Carbohydr. Res.*, 80 (1980) 191–195.

- 9 W. T. Markiewicz, *J. Chem. Res., Synopses*, (1979) 24–25.
- 10 C. A. A. van Boeckel und J. H. van Boom, *Tetrahedron Lett.*, 21 (1980) 3705–3708; *Chem. Lett.*, (1981) 581–584.
- 11 P. Waldstätten, R. Christian, R. Kosma, C. Kratky, G. Schulz, H. Paulsen und F. M. Unger, *ACS Symp.*, 231 (1983) 121–140.
- 12 H. Paulsen und C. Krogmann, unveröffentlichte Ergebnisse.
- 13 H. Paulsen, M. Stiem und F. M. Unger, *Carbohydr. Res.*, 172 (1988) 11–25.
- 14 H. J. Jennings, K. G. Rosell und K. G. Johnson, *Carbohydr. Res.*, 105 (1982) 45–56.
- 15 P. Kosma, G. Schulz, F. M. Unger und H. Brade, *Carbohydr. Res.*, 190 (1989) 191–201.