

## Note

---

### Glycosidsynthese von *N*-Acetylneuraminsäure mit sekundären Hydroxylgruppen\*

HANS PAULSEN UND ULRICH VON DEESSEN

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

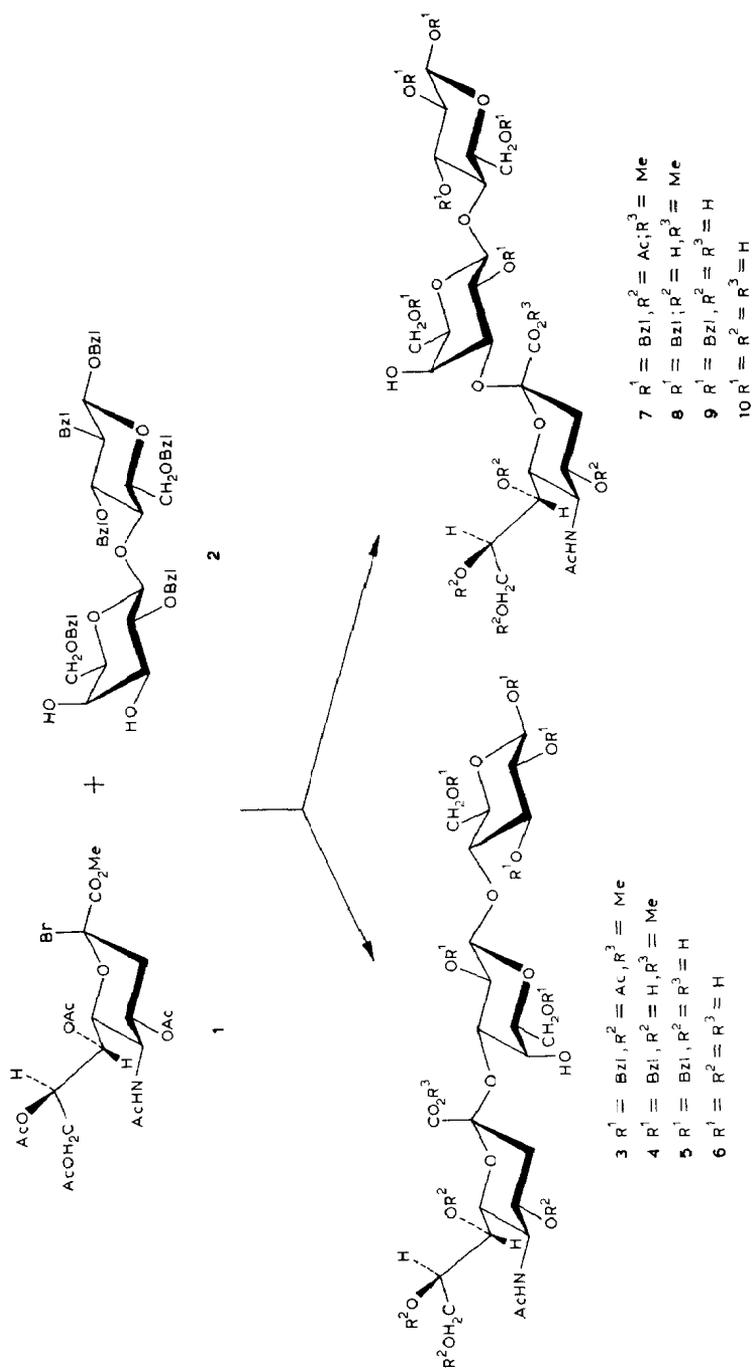
(Eingegangen am 29. April 1985; angenommen am 31. Juli 1985)

Die Verknüpfung von *N*-Acetylneuraminsäure mit der sekundären 3'-OH-Gruppe der Lactose zum entsprechenden Trisaccharid  $\alpha$ -Neu5Acp-(2 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-Galp-(1 $\rightarrow$ 4)-D-Glc ist im Hinblick auf die weite Verbreitung dieses Strukturelementes in Glycoproteinen und Gangliosiden von sehr großer Bedeutung<sup>2,3</sup>. Seit den für seine Zeit bemerkenswerten Arbeiten von Shapiro<sup>4</sup> haben sich zahlreiche Arbeitsgruppen mit nur begrenztem Erfolg mit diesem Problem befaßt. Mit großem Interesse haben wir die zahlreichen, nur vorläufigen Mitteilungen von Ogawa und Mit.<sup>5</sup> im Bereich der Oligosaccharid-Synthesen mit *N*-Acetylneuraminsäure studiert. Da in diesem Fall aber gerade die experimentellen Details von besonderer Bedeutung sein dürften und unsere Ergebnisse zum Teil von denen Ogawa und Mit.<sup>5</sup> differieren, möchten wir sie hier mitteilen.

Nachdem wir bei der Verknüpfung von *N*-Acetylneuraminsäure mit primären Hydroxylgruppen Bedingungen gefunden hatten<sup>6</sup>, unter denen die äußerst unerwünschte konkurrierende Eliminierungsreaktion der Acetylneuraminsäure-Halogenide zumindest zurückgedrängt werden konnte, haben wir anschließend unter verschiedenen Bedingungen auch die entsprechenden Umsetzungen mit sekundären Hydroxylgruppen, insbesondere der 3'-OH-Gruppe der Lactose, überprüft.

Wir fanden, daß als Glycosyldonor das Pyranosylbromid **1** der *N*-Acetylneuraminsäure am günstigsten ist. Als Glycosylakzeptor eignet sich das Lactose-Derivat **2** mit zwei freien Hydroxylgruppen an 3'-OH und 4'-OH, an dem beide Hydroxylgruppen für eine Glycosidierung besser zugänglich sind<sup>7,8</sup>. Die 3'-OH-Gruppe ist hierbei erheblich reaktiver als die 4'-OH-Gruppe. Dies zeigen unsere Untersuchungen über die regioselektive Glycosidierung des Glycosylakzeptors **2**, der nach Wahl des Katalysatorsystems an 3'-OH oder 4'-OH glycosidiert werden

\*LXIII. Mitteilung der Serie "Bausteine von Oligosacchariden". LXII. Mittel., siehe Zit. 1.



kann<sup>8,9</sup>. Mit löslichen Katalysatoren, wie Silbertriflat oder Silberperchlorat, reagiert selektiv nur die 3'-OH-Gruppe, während man mit unlöslichen Katalysatoren unter Herstellung der  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-glycosidischen Bindungen zu Sequenzen des asialo-G<sub>M1</sub>- und asialo-G<sub>M2</sub>-Gangliosides gelangt<sup>9</sup>.

Das Bromid **1** ist aus dem  $\beta$ -Pentaacetat des *N*-Acetylneuraminsäuremethylesters mit Titan-tetrabromid-Lösung unter wasserfreien Bedingungen darstellbar<sup>6</sup>. Nach Zerstörung des überschüssigen Titan-tetrabromids mit wasserfreiem Natriumacetat wird das Bromid **1** (85%) unmittelbar zur Glycosidsynthese eingesetzt. Als Katalysatorsystem wird Silbercarbonat-Silberperchlorat im Verhältnis 30:1 eingesetzt. Katalysator, Derivat **2** und gepulvertes Molekularsieb 4A werden vorher im Hochvakuum getrocknet. Die Reaktion wird in Toluol zwischen  $-5$  bis  $+5^\circ$  durchgeführt. Nach chromatographischer Abtrennung des Eliminierungsproduktes und einer kleinen Menge (1 $\rightarrow$ 4)-glycosidisch verknüpftem Trisaccharid sind 36% (bezogen auf **1**) eines  $\alpha,\beta$ -Gemisches der Trisaccharide **3** und **7** im Verhältnis von etwa 1:1 zu isolieren. Das Anomerengemisch läßt sich dann chromatographisch an Kieselgel gut auftrennen und man isoliert 15.6% des  $\alpha$ -Produktes **3** und 18.7% des  $\beta$ -Produktes **7**. Die Zuordnung der Anomeren erfolgt aus den <sup>1</sup>H-N.m.r.-Daten (2D-N.m.r.-Spektren) nach den von uns angegebenen Regeln, nach denen die chemische Verschiebung der Protonen von H-3''*a* und H-4'' miteinander verglichen werden<sup>6</sup>.

Es sei ausdrücklich darauf hingewiesen, daß die beschriebenen Bedingungen genau eingehalten werden müssen, da sonst die Ausbeute und auch der Anteil an  $\alpha$ -Produkt **3** im Verhältnis zu **7** abnimmt. Bemerkenswert an dieser Methode ist, daß die Ausbeute an  $\alpha$ -Produkt **3** hier etwa dreimal so hoch ist, wie bei dem Verfahren nach Ogawa und Mit.<sup>5</sup> Auch die optischen Drehungen variieren.

Die Entblockierung von **3** und **7** erfolgt nach bekannten Methoden. Zunächst werden die *O*-Acetylgruppen nach Zemplén verseift; man gelangt zu **4** und **8**. Mit *M* Natriumhydroxid wird der Methylester zu **5** und **9** gespalten. Nach Neutralisation mit Ionenaustauscher liefert dann die hydrogenolytische Entblockierung die gewünschten Endprodukte **6** und **10**. Die Ausbeute über alle Entblockierungsschritte beträgt etwa 70%. Bei den entblockierten Verbindungen liegt in Lösung ein Anomerengemisch von  $\alpha:\beta$ -Form wie 1:2 vor. Die an **3** und **7** getroffene Zuordnung läßt sich an **6** und **10** mit Hilfe der <sup>1</sup>H-N.m.r.-Spektroskopie bestätigen<sup>9</sup>. Der Vergleich der chemischen Verschiebungen von H-3''*e* und H-4'' bei **6** und **10** entspricht den Erwartungen. Die hier beschriebene Synthese stellt sicherlich den jetzt erreichbaren Stand dar. Weitere Verbesserungen wären willkommen. Eventuell wären biochemische glycosidierungen günstiger

#### EXPERIMENTELLER TEIL

*Allgemeine Methoden.* — Alle Reaktionen wurden dünnschichtchromatographisch auf Aluminiumferti-gfolien (Kieselgel GF<sub>254</sub>, Merck) verfolgt. Detektion: U.v.-Absorption, Ansprühen mit 10%iger ethanolischer H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und anschließendes Erhitzen. Präparative Säulenchromatographie: Kieselgel 60 (70–230

mesh, 230–400 mesh). Optische Drehungen: Perkin-Elmer Polarimeter 241 oder 243 in 1-dm-Küvetten bei 589 nm (Na-D-Linie).  $^1\text{H-N.m.r.}$ -Spektren: Bruker WH 270 oder WM 400, interner Standard  $\text{Me}_4\text{Si}$  (in  $\text{D}_2\text{O}$ , Aceton  $\delta$  2.22); Auswertung der Kopplungskonstanten nach 1. Ordnung.

Alle Glycosidsynthesen wurden unter  $\text{N}_2$ -Atmosphären bei strengstem Feuchtigkeitsausschluß im Braunglaskolben durchgeführt. Sämtliche Lösungsmittel wurden destilliert, für die Glycosidsynthese absolutiert und über Molekularsieb aufbewahrt.

*Benzyl-O-[methyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,4-dideoxy-D-glycero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonulopyranosyl)onat]-(2 $\rightarrow$ 3)-O-(2,6-di-O-benzyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri-O-benzyl- $\beta$ -D-glucopyranosid (3) und Benzyl-O-[methyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- $\beta$ -D-galacto-2-nonulopyranosyl)onat]-(2 $\rightarrow$ 3)-O-(2,6-di-O-benzyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri-O-benzyl- $\beta$ -D-glucopyranosid (7).* — Verbindung<sup>8</sup> **2** (1.24 g, 1.39 mmol) wird zusammen mit  $\text{Ag}_2\text{CO}_3$  (1.12 g, 4.05 mmol),  $\text{AgClO}_4$  (43 mg, 0.14 mmol) und gepulvertem Molekularsieb 4A (3 g) 6 h im Hochvakuum getrocknet. Das Gemisch wird in Toluol (15 mL) aufgenommen, 1 h gerührt und auf  $-5^\circ$  abgekühlt. Das in Dichlormethan (5 mL) gelöste Bromid<sup>6</sup> **1** (0.38 g, 0.69 mmol) wird innerhalb von 45 min zugetropft (D.c.: Chloroform–Methanol 20:1, v/v). Nach 4 h wird auf  $+5^\circ$  erwärmt und zwei Tage gerührt. Es wird mit Dichlormethan (50 mL) verdünnt, über Celite filtriert und *in vacuo* zur Trockene eingengt. Der Rohsirup (1.49 g) wird chromatographisch (Toluol–Ethylacetat 1:1, v/v) gereinigt. Man erhält 728 mg **2** und 335 mg (36% bezogen auf **1**) eines  $\alpha/\beta$ -Gemisches von **3** und **7** ( $R_F$  **3**: 0.35; **7**: 0.43; Chloroform–Methanol 20:1, v/v) im Verhältnis von  $\sim 1:1$ . Das  $\alpha/\beta$ -Gemisch ist an Kieselgel KG 60 (230–400 mesh) chromatographisch (Toluol–Methanol 60:1, v/v) aufzutrennen.

Verbindung **3**: Ausb. 145 mg (15.6%), Schaum,  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -4.8^\circ$  ( $c$  0.52, Chloroform);  $^1\text{H-N.m.r.}$  (400 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$ ):  $\delta$  7.67–6.97 (m, 30 H, 6 Ph), 5.78 (ddd, 1 H,  $J_{7'',8''}$  7.6,  $J_{8'',9''a}$  2.5,  $J_{8'',9''b}$  6.5 Hz, H-8''), 5.43 (dd, 1 H,  $J_{6'',7''}$  2.3 Hz, H-7''), 5.27 (d, 1 H,  $J$  10.9 Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 5.02 (d, 1 H,  $J$  11.4 Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.95 (d, 1 H,  $J$  11.0 Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.90 (d, 1 H,  $J$  12.0 Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.89 (d, 1 H,  $J_{1',2'}$  8.0 Hz, H-1'), 4.87 (d, 1 H,  $J$  12.5 Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.85 (d, 1 H,  $J$  12.5 Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.81 (d, 1 H,  $J$  11.3 Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.80 (ddd, 1 H,  $J_{3''a,4''}$  12.1,  $J_{3''e,4''}$  4.6,  $J_{4'',5''}$  10.8 Hz, H-4''), 4.68 (dd, 1 H,  $J_{9''a,9''b}$  12.4 Hz, H-9''a), 4.65 (d, 1 H,  $J$  12.0 Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.58 (d, 1 H,  $J$  12.2 Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.53 (d, 1 H,  $J$  12.2 Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.47 (d, 1 H,  $J_{1,2}$  7.6 Hz, H-1), 4.40 (dd, 1 H,  $J_{2',3'}$  9.4,  $J_{4',5'}$  2.5 Hz, H-3'), 4.40 (dd, 1 H,  $J$  12.2 Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.38 (m, 1 H, H-4), 4.38 (ddd, 1 H,  $J_{5'',\text{NH}}$  10.4,  $J_{5'',6''}$  10.6 Hz, H-5''), 4.29 (d, 1 H,  $J$  12.2 Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.20 (dd, 1 H, H-9''b), 4.12 (m, 1 H, H-4'), 4.03 (d, 1 H, NH), 4.01–3.95 (bm, 2 H, H-6'a, H-6'b), 3.99 (dd, 1 H,  $J_{5,6a}$  4.0,  $J_{6a,6b}$  10.6 Hz, H-6a), 3.95 (dd, 1 H, H-6''), 3.84 (dd, 1 H, H-2'), 3.83 (dd, 1 H,  $J_{5,6b}$  1.4 Hz, H-6b), 3.72 (m, 1 H, H-3), 3.68 (m, 1 H, H-2), 3.63 (m, 1 H, H-5'), 3.36 (s, 3 H,  $\text{CH}_3$ ), 3.34 (m, 1 H, H-5), 2.92 (d, 1 H,  $J_{4',\text{OH}}$  2.6 Hz, OH), 2.67 (dd, 1 H,  $J_{3''e,3''a}$  13.0 Hz, H-3''e), 2.13 (dd, 1 H, H-3''a), 2.02, 1.88, 1.71, 1.60, 1.56 (5 s, 15 H, 5 OAc).

Verbindung 7: Ausb. 174 mg (18.7%), Sirup,  $[\alpha]_D^{20} -2.8^\circ$  ( $c$  1.33, Chloroform);  $^1\text{H-N.m.r.}$  (400 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$ ):  $\delta$  7.66–7.03 (m, 30 H, 6 Ph), 5.68 (m, 1 H, H-8''), 5.66 (m, 1 H, H-7''), 5.45 (ddd, 1 H,  $J_{3'a,4'}$  11.4,  $J_{3'e,4'}$  4.5,  $J_{4',5'}$  10.4 Hz, H-4''), 5.35 (dd, 1 H,  $J_{8',9'a}$  2.2,  $J_{9'a,9'b}$  12.3 Hz, H-9''a), 5.23 (d, 1 H,  $J$  11.3 Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 5.01 (d, 1 H,  $J$  11.4 Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.99 (d, 1 H,  $J$  11.3 Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.95 (d, 1 H,  $J$  11.4 Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.91 (d, 1 H,  $J$  12.0 Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.85 (d, 1 H,  $J_{1',2'}$  7.7 Hz, H-1'), 4.84 (d, 1 H,  $J$  11.4 Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.79 (d, 1 H,  $J$  11.4 Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.71 (dd, 1 H,  $J_{5',6'}$  10.6,  $J_{6',7'}$  2.6 Hz, H-6''), 4.59 (d, 1 H,  $J$  12.0 Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.59–4.41 (m, 4 H, 4  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.57 (m, 1 H, H-5''), 4.48 (d, 1 H,  $J_{1,2}$  7.5 Hz, H-1), 4.41 (dd, 1 H,  $J_{3,4}$  9.1 Hz,  $J_{4,5}$  9.6 Hz, H-4), 4.34 (dd, 1 H,  $J_{8',9'b}$  6.9 Hz, H-9''b), 4.25 (m, 1 H, H-4'), 4.18 (d, 1 H,  $J_{5',\text{NH}}$  10.2 Hz, NH), 4.05 (m, 1 H, H-3'), 4.01 (dd, 1 H,  $J_{5,6a}$  4.0,  $J_{6a,6b}$  10.8 Hz, H-6a), 3.99 (m, 1 H, H-2'), 3.92 (d, 1 H,  $J_{4',\text{OH}}$  2.1 Hz, OH), 3.88 (dd, 1 H,  $J_{5,6b}$  1.4 Hz, H-6b), 3.81 (dd, 1 H,  $J_{5',6'a}$  5.7,  $J_{6'a,6'b}$  9.9 Hz, H-6'a), 3.71–3.62 (m, 2 H, H-2,3), 3.68 (dd, 1 H,  $J_{5',6'b}$  5.0 Hz, H-6'b), 3.57 (m, 1 H, H-5'), 3.31 (ddd, 1 H, H-5), 3.28 (s, 3 H,  $\text{CH}_3$ ), 2.60 (dd, 1 H,  $J_{3'e,3'a}$  13.5,  $J_{3'e,4'}$  4.5 Hz, H-3''e), 1.95, 1.89, 1.67 (3 s, 9 H, 3 OAc), 1.66 (dd, 1 H,  $J_{3'a,4'}$  11.4 Hz, H-3''a), 1.64, 1.58 (2 s, 6 H, 2 OAc).

Anal. Ber. für  $\text{C}_{74}\text{H}_{85}\text{NO}_{23}$  (1356.5): C, 65.52; H, 6.32; N, 1.03. Gef. für 3: C, 65.47; H, 6.35; N, 0.99. Gef. für 7: C, 65.49; H, 6.35; N, 1.00.

Benzyl-O-[methyl-(5-acetamido-3,5-dideoxy-D-glycero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonulopyranosyl)onat]-(2 $\rightarrow$ 3)-O-(2,6-di-O-benzyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri-O-benzyl- $\beta$ -D-glucopyranosid (4). — Das Glycosid 3 (72.1 mg, 53  $\mu\text{mol}$ ) wird in absol. Methanol (3 mL) aufgenommen und mit einer 0.1M Natriummethanolatlösung (1 mL) versetzt. Die Reaktion ist bei Raumtemperatur nach 2 h beendet (D.c.: 1-Butanol-Essigsäure-Wasser 5:2:2, v/v). Es wird mit Ionenaustauscher Lewatit CNP LF ( $\text{H}^+$ ) neutralisiert, filtriert und zum Sirup eingengt. Ausb. 61.9 mg (98%),  $[\alpha]_D^{20} -7.8^\circ$  ( $c$  0.58, Methanol);  $^1\text{H-N.m.r.}$  (270 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6\text{-CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  7.83–7.00 (m, 30 H, 6 Ph), 5.23 (d, 1 H,  $J$  11.0 Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 5.06 (d, 1 H,  $J$  10.9 Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 5.01 (d, 1 H,  $J$  11.4 Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 5.00–3.35 (m, 28 H), 4.95 (d, 1 H,  $J$  11.4 Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.89 (d, 1 H,  $J$  11.4 Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.87 (d, 1 H,  $J$  12.0 Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 3.24 (s, 3 H, Me), 2.98 (dd, 1 H,  $J_{3'e,3'a}$  13.0,  $J_{3'e,4'}$  4.4 Hz, H-3''e), 2.37 (dd, 1 H,  $J_{3'a,4'}$  11.6 Hz, H-3''a), 2.03 (s, 3 H, OAc).

Anal. Ber. für  $\text{C}_{66}\text{H}_{77}\text{NO}_{19}$  (1188.3): C, 66.71; H, 6.53; N, 1.18. Gef.: C, 66.68; H, 6.49; N, 1.21.

Benzyl-O-[methyl-(5-acetamido-3,5-dideoxy-D-glycero- $\beta$ -D-galacto-2-nonulopyranosyl)onat]-(2 $\rightarrow$ 3)-O-(2,6-di-O-benzyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri-O-benzyl- $\beta$ -D-glucopyranosid (8). — Verbindung 7 (76.1 mg, 56  $\mu\text{mol}$ ) wird analog zur Darstellung von 4 umgesetzt; Ausb. 65.3 mg (98%),  $[\alpha]_D^{20} -6.1^\circ$  ( $c$  0.48, Methanol);  $^1\text{H-N.m.r.}$  (400 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6\text{-CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  7.63–7.00 (m, 30 H, 6 Ph), 5.19 (d, 1 H,  $J$  11.0 Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.99 (d, 1 H,  $J$  11.4 Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.94 (d, 1 H,  $J$  11.4 Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.91 (d, 1 H,  $J$  12.0 Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.89 (d, 1 H,  $J$  11.4 Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.83 (d, 1 H,  $J$  11.6 Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.74–4.70 (m, 2 H), 4.58 (d, 1 H,  $J$  12.1 Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.52 (d, 1 H,  $J$  12.0 Hz,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 4.52–4.22 (m, 8 H), 4.43 (d, 1 H,  $J$

12.1 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.36 (d, 1 H, 12.0 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.09–3.37 (m, 14 H), 3.34 (s, 3 H, Me), 2.98 (dd, 1 H,  $J_{3'e,3'a}$  13.2,  $J_{3'e,4''}$  4.5 Hz, H-3''e), 2.08 (dd, 1 H,  $J_{3'a,4''}$  11.2 Hz, H-3''a), 2.04 (s, 3 H, OAc).

*Anal.* Ber. für C<sub>66</sub>H<sub>77</sub>NO<sub>19</sub> (1188.3): C, 66.71; H, 6.53; N, 1.18. Gef.: C, 66.68; H, 6.55; N, 1.16.

*Benzyl-O-(5-acetamido-3,5-didesoxy-D-glycero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonulopyranosylonsäure)-(2 $\rightarrow$ 3)-O-(2,6-di-O-benzyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri-O-benzyl- $\beta$ -D-glucopyranosid (5).* — Eine Lösung von Verbindung **4** (58.6 mg, 49  $\mu$ mol) in absol. Methanol (4 mL) wird mit einer M NaOH-Lösung (0.5 mL), versetzt. Die Reaktion ist bei Raumtemperatur nach 2 h beendet (D.c.: 1-Butanol-Essigsäure-Wasser 5:2:2, v/v). Es wird mit Ionenaustauscher Lewatit CNP LF (H<sup>+</sup>) neutralisiert, filtriert und *in vacuo* zum Sirup eingeeengt; Ausb. 55.7 mg (97%),  $[\alpha]_D^{20}$   $-7.1^\circ$  (c 1.12, Methanol); <sup>1</sup>H-N.m.r. (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  7.52–7.15 (m, 30 H, 6 Ph), 5.08 (d, 1 H,  $J$  10.8 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.93 (d, 1 H,  $J$  11.4 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.87 (d, 1 H,  $J$  12.0 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.80 (d, 1 H,  $J$  11.0 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.64 (d, 1 H,  $J$  11.4 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.61 (d, 1 H,  $J$  12.0 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.52–4.37 (m, 4 H), 4.48 (d, 1 H,  $J$  12.0 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.45 (d, 1 H,  $J$  11.6 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.40 (d, 1 H,  $J$  11.6 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.26 (d, 1 H,  $J$  12.0 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.18–3.45 (m, 19 H), 4.00 (dd, 1 H,  $J_{3',4'}$  2.8,  $J_{4',5'}$  0.8 Hz, H-4'), 2.86 (dd, 1 H,  $J_{3'e,3'a}$  12.6,  $J_{3'e,4''}$  4.4 Hz, H-3''e), 2.03 (s, 3 H, OAc), 1.85 (dd, 1 H,  $J_{3'a,4''}$  12.0 Hz, H-3''a).

*Anal.* Ber. für C<sub>65</sub>H<sub>75</sub>NO<sub>19</sub> (1174.3): C, 66.48; H, 6.44; N, 1.19. Gef.: C, 66.50; H, 6.47; N, 1.20.

*Benzyl-O-(5-acetamido-3,5-didesoxy-D-glycero- $\beta$ -D-galacto-2-nonulopyranosylonsäure)-(2 $\rightarrow$ 3)-O-(2,6-di-O-benzyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri-O-benzyl- $\beta$ -D-glucopyranosid (9).* — Verbindung **8** (61.4 mg, 52  $\mu$ mol) wird wie bei **5** beschrieben umgesetzt; Ausb. 58.9 mg (97%),  $[\alpha]_D^{20}$   $-5.3^\circ$  (c 1.21, Methanol); <sup>1</sup>H-N.m.r. (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD): 7.55–7.12 (m, 30 H, 6 Ph), 5.03 (d, 1 H,  $J$  11.4 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 5.00 (d, 1 H,  $J$  11.4 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.87 (d, 1 H,  $J$  12.0 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.80 (d, 1 H,  $J$  11.4 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.69 (d, 1 H,  $J$  11.5 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.67–4.58 (m, 5 H), 4.52–4.34 (m, 6 H), 4.43 (d, 1 H,  $J$  12.0 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.35 (d, 1 H,  $J$  12.0 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.23 (d, 1 H,  $J$  10.9 Hz, CH<sub>2</sub>Ph), 4.18 (dd, 1 H,  $J_{3',4'}$  2.8,  $J_{4',5'}$  0.8 Hz, H-4'), 4.12 (ddd, 1 H,  $J_{3'a,4''}$  11.4,  $J_{3'e,4''}$  4.5,  $J_{4'',5''}$  10.4 Hz, H-4''), 4.00–3.37 (m, 13 H), 2.73 (dd, 1 H,  $J_{3'e,3'a}$  13.0 Hz), 1.97 (s, 3 H, OAc), 1.68 (dd, 1 H, H-3''a).

*Anal.* Ber. für C<sub>65</sub>H<sub>75</sub>NO<sub>19</sub> (1174.3): C, 66.48; H, 6.44; N, 1.19. Gef.: C, 66.51; H, 6.47; N, 1.21.

*O-(5-Acetamido-3,5-didesoxy-D-glycero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonulopyranosylonsäure)-(2 $\rightarrow$ 3)-O- $\beta$ -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-D-glucopyranose (6).* — Verbindung **5** (48.2 mg, 41  $\mu$ mol) wird in 1,4-Dioxan (5 mL) und Wasser (5 mL) gelöst und mit Pd-C-Katalysator (110 mg, 10% Pd-Gehalt) versetzt. Unter Rühren wird 26 h bei Raumtemp. mit 2.2 MPa H<sub>2</sub>-Überdruck hydriert (D.c.: 1-Butanol-Essigsäure-Wasser 5:2:2, v/v). Es wird mit Methanol und Wasser verdünnt, vom Katalysator filtriert und nachgewaschen. Nach Einengen des Lösungsmittels *in vacuo* bei 25° (Badtemp.) auf die Hälfte des Volumens wird gefriergetrocknet; Ausb. 22.1 mg

(85%), amorphe Substanz,  $[\alpha]_D^{20} +21.3^\circ$  (c 0.62, Wasser), das  $\alpha$ : $\beta$ -Verhältnis beträgt 1:2;  $^1\text{H-N.m.r.}$  (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  5.21 (d, 1 H,  $J_{1,2}$  3.8 Hz, H-1 $\alpha$ ), 4.66 (d, 1 H,  $J_{1,2}$  8.0 Hz, H-1 $\beta$ ), 4.52 (d, 1 H,  $J_{1',2'}$  7.8 Hz, H-1'), 3.66 (m, 1 H, H-4''), 3.27 (dd, 1 H,  $J_{2,3}$  8.8 Hz, H-2 $\beta$ ), 2.75 (dd, 1 H,  $J_{3'e,3'a}$  12.6,  $J_{3'e,4'e}$  4.4 Hz, H-3''e), 2.02 (s, 3 H, OAc), 1.80 (dd, 1 H,  $J_{3'a,4'a}$  12.0 Hz, H-3''a).

*Anal. Ber.* für  $\text{C}_{23}\text{H}_{39}\text{NO}_{19}$  (633.6): C, 43.60; H, 6.20; N, 2.21. Gef.: C, 43.70; H, 6.25; N, 2.30.

O-(5-Acetamido-3,5-didesoxy-D-glycero- $\beta$ -D-galacto-2-nonulopyranosylsäure)-(2 $\rightarrow$ 3)-O- $\beta$ -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-D-glucopyranose (**10**). — Verbindung **9** (52.5 mg, 45  $\mu\text{mol}$ ) wird in analoger Weise zum Produkt **10** umgesetzt; Ausb. 25.4 mg (90%), amorphe Substanz,  $[\alpha]_D^{20} +12.3^\circ$  (c 0.47, Wasser), das  $\alpha$ : $\beta$ -Verhältnis beträgt 1:2;  $^1\text{H-N.m.r.}$  (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  5.21 (d, 1 H,  $J_{1,2}$  3.8 Hz, H-1 $\alpha$ ), 4.65 (d, 1 H,  $J_{1,2}$  8.0 Hz, H-1 $\beta$ ), 4.47 (d, 1 H,  $J_{1',2'}$  7.6 Hz, H-1'), 4.17 (m, H-4''), 3.27 (dd, 1 H,  $J_{2,3}$  8.8 Hz, H-2 $\beta$ ), 2.47 (dd, 1 H,  $J_{3'e,3'a}$  12.8,  $J_{3'e,4'e}$  4.4 Hz, H-3''e), 2.03 (s, 3 H, OAc), 1.69 (dd, 1 H,  $J_{3'a,4'a}$  11.4 Hz, H-3''a).

*Anal. Ber.* für  $\text{C}_{23}\text{H}_{39}\text{NO}_{19}$  (633.6): C, 43.60; H, 6.20; N, 2.21. Gef.: C, 43.74; H, 6.29; N, 2.27.

DANK

Herrn Dr. V. Sinnwell danken wir für die 2D-N.m.r.-Spektren. Frau M. Armbrust sei für die Mitarbeit gedankt. Dr. Y. Shitori, Kantoishi Pharmaceutical Co., Tokio, stellte uns dankenswerterweise N-Acetylneuraminsäure zur Verfügung.

#### LITERATUR

- 1 H. PAULSEN UND J. P. LORENTZEN, *Angew. Chem.*, 97 (1985) 791–792; *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, 24 (1985) 773–774.
- 2 R. SCHAUER (Red.), *Sialic Acids, Cell Biol. Monogr.*, Vol. 10, Springer, Wien, 1982; siehe weitere Literatur.
- 3 R. KUHN UND R. BROSSMER, *Chem. Ber.*, 89 (1956) 2013–2025.
- 4 D. SHAPIRO, *Plenary Main Sect. Lect., Int. Congr. Pure Appl. Chem.*, 24th, (1973) Vol. 2, Butterworths, London, 1973, Ss. 153–166
- 5 T. KITAJIMA, M. SUGIMOTO, T. NUKADA UND T. OGAWA, *Carbohydr. Res.*, 127 (1984) c1–c4; T. OGAWA UND M. SUGIMOTO, *Carbohydr. Res.*, 128 (1984) c1–c4; T. OGAWA UND M. SUGIMOTO, *Carbohydr. Res.*, 135 (1985) c5–c9; M. SUGIMOTO UND T. OGAWA, *Glycoconjugate J.*, 2 (1985) 5–9.
- 6 H. PAULSEN UND H. TIETZ, *Angew. Chem.*, 94 (1982) 935–936; *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, 21 (1982) 927–928; H. PAULSEN UND H. TIETZ, *Carbohydr. Res.*, 125 (1984) 47–64; H. PAULSEN, U. VON DEESSEN UND H. TIETZ, *Carbohydr. Res.*, 137 (1985) 63–77; H. PAULSEN UND H. TIETZ, *Carbohydr. Res.*, 144 (1985) 205–229.
- 7 D. BEITH-HALAHMI, H. M. FLOWERS UND D. SHAPIRO, *Carbohydr. Res.*, 5 (1967) 25–30.
- 8 H. PAULSEN, D. HADAMCZYK, W. KUTSCHKER UND A. BUNSCH, *Justus Liebigs Ann. Chem.*, (1985) 129–141.
- 9 H. PAULSEN UND M. PAAL, *Carbohydr. Res.*, 137 (1985) 39–62.
- 10 U. DABROWSKI, H. FRIBOLIN, R. BROSSMER UND M. SUPP, *Tetrahedron Lett.*, (1979) 4637–4640.