Liebigs Ann. Chem. 1983, 360 – 366

Synthese von geschützten Serin-Glycopeptiden durch N-terminale Peptidketten-Verlängerung

Hermann Kauth[1] und *Horst Kunz* *

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

Eingegangen am 22. Oktober 1982

O-(2-Acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)serin-methylester (**4**) wird mit den 2-Phosphonioethoxycarbonyl-(Peoc-)Aminosäuren **5** zu den voll geschützten *O*-Glycodipeptiden **6** umgesetzt. Aus den Verbindungen **6** wird die Peoc-Gruppe mit Morpholin/Methylendichlorid vollständig und selektiv zu **7** abgespalten, wobei weder β-Eliminierung des Kohlenhydratteils noch Esteraminolyse zu beobachten ist. Die N-deblockierten Glycodipeptide **7** reagieren mit den Peoc-Aminosäuren **5** zu den geschützten *O*-Glycotripeptiden **8**. Mit Z-Asparagin (**9**) kann der Leucyl-(*O*-glycosyl)serinester **7a** zum geschützten Glycotripeptid **10** verknüpft werden, das die für *N*-Glycoproteine typische Sequenz -Asn-X-Ser- enthält und als Modellverbindung für O → N-Glycosylverschiebungen dienen kann.

Synthesis of Protected Serine Glycopeptides *via* N-Terminal Elongation of the Peptide Chain

O-(2-Acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-deoxy-β-D-glucopyranosyl)serine methyl ester (**4**) has been coupled with the 2-phosphonioethoxycarbonyl (Peoc) amino acids **5** to give the completely protected *O*-glucodipeptides **6**. Using morpholine/dichloromethane the Peoc group is removed from the compounds **6** quantitatively and selectively, a reaction in the course of which neither β-elimination nor ester aminolysis is observed. The N-deblocked glycodipeptide esters **7** react with Peoc amino acids forming the protected glycotripeptides **8**. The condensation of Z-asparagine (**9**) with leucyl (*O*-glycosyl)serine ester **7a** yields the protected glycotripeptide **10** containing the typical sequence -Asn-X-Ser- of the *N*-glycoproteins. The compound **10** can serve as a model for the O → N glycosyl shift.

Viele Membran-, Plasma- und Bindegewebsglycoproteine enthalten die *O*-glycosidische Bindung zwischen Serin oder Threonin und Oligosaccariden als charakteristisches Strukturelement[2]. Dieser Bindungstyp ist durch eine hohe Basenlabilität gekennzeichnet, da der Kohlenhydratteil in einer β-Eliminierung[3,4] leicht aus den Aminosäurebausteinen abgespalten wird.

Nachdem wir an Glycopeptiden vom *N*-Acetylglucosamin-Asparagin-Typ mit Hilfe des hoch basenlabilen 2-Triphenylphosphonioethoxycarbonyl-(Peoc-)Restes die selektive Aminodeblockierung und Peptidverknüpfung erreichen konnten[5], haben wir dieses Verfahren auch an den empfindlichen *O*-Glycopeptiden des Serins erprobt.

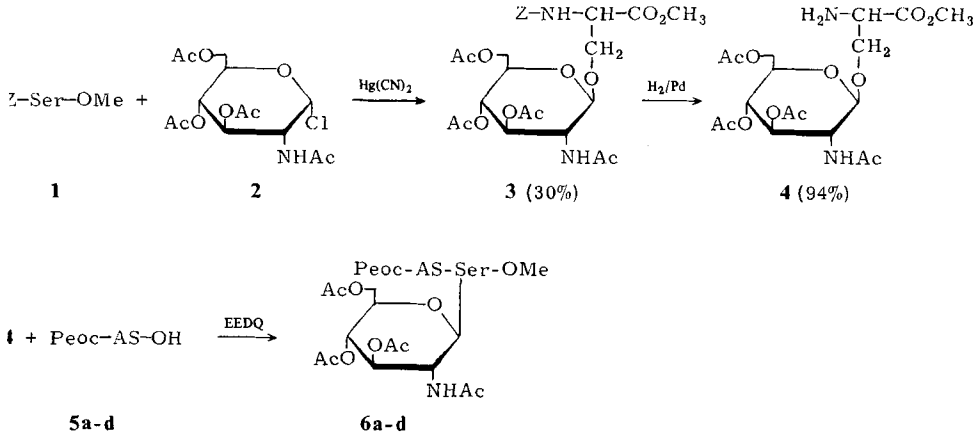
Synthese geschützter *O*-Glycodipeptide

Die Synthese geeigneter Modellverbindungen durch direkte Glycosylierung von (2-Phosphonioethoxycarbonyl)serinestern stößt wegen der Wechselwirkung des benö-

© Verlag Chemie GmbH, D-6940 Weinheim, 1983
0170 – 2041/83/0303 – 0360 $ 02.50/0

tigten Silber- bzw. Quecksilberreagenz mit dem Gegenion der kationischen Schutzgruppe auf Schwierigkeiten. Deshalb haben wir in diesem ersten Schritt auf die bewährte Verknüpfung des Z-Serin-methylesters (**1**) mit 2-Acetamido-3,4-6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-α-D-glucopyranosylchlorid (**2**) zurückgegriffen[6]. Die Ausbeute an geschütztem Glycosylserinester **3** ist nach dieser *Helferich*-Variante[7] der Koenigs-Knorr-Synthese nur mäßig, aber typisch für vergleichbare Umsetzungen[6].

Die hydrogenolytische Abspaltung der Benzyloxycarbonyl-(Z-)Gruppe aus dem Glycosylserinester **3** verläuft selektiv und nahezu quantitativ zu **4**. Sie wird jedoch damit erkauft, daß der Methylester als Carboxylschutz nicht mehr zerlegt werden kann, ohne daß die Glycosidbildung in einer β-Eliminierung zerstört wird[6]. Der *N*-deblockierte Glycosylserinester **4** wird als Hydrochlorid spektroskopisch durch Vergleich mit einer authentischen Probe[8] identifiziert. Im Gegensatz zu Beobachtungen am *N*-deblockierten, geschützten (α-Galactopyranosyl)serin-methylester[9] kann die Verbindung **4** bei −15 °C in Chloroform mindestens 24 h ohne Veränderung aufbewahrt werden. Sie läßt sich daher mit den 2-Phosphonioethoxycarbonyl-(Peoc-)aminosäuren **5a – d** unter der Einwirkung von (Ethyl)-2-ethoxy-1,2-dihydro-1-chinolincarboxylat (EEDQ)[10] glatt zu den voll geschützten glycosylierten Peoc-Dipeptidestern **6 a – d** umsetzen.



AS siehe Tab. 1

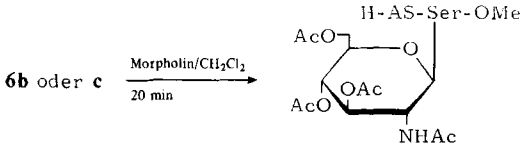
Tab. 1. Charakterisierung der Peoc-Glycodipeptid-methylester **6a – d**

6	-AS-	% Ausb.	$[\alpha]_D^{22}$ (c in $CHCl_3$)	Summenformel (Molmasse)	Analyse	C	H	N
a	-Ile-	72	−28.11 (1.25)	$C_{45}H_{57}ClN_3O_{14}P$ (930.4)	Ber.	58.09	6.18	4.51
					Gef.	58.04	6.36	4.38
b	-Leu-	74	−27.65 (1.15)	$C_{45}H_{57}ClN_3O_{14}P$ (930.4)	Ber.	58.09	6.18	4.51
					Gef.	58.08	6.23	4.39
c	-Phe-	81	−25.95 (1.20)	$C_{48}H_{55}ClN_3O_{14}P \cdot H_2O$ (982.4)	Ber.	58.68	5.48	4.27
					Gef.	58.98	6.00	4.33
d	-Thr-	65	−13.44 (1.00)	$C_{43}H_{53}ClN_3O_{15}P$ (918.3)	Ber.	56.24	5.82	4.57
					Gef.	56.50	6.01	4.47

Nach diesem Verfahren, bei dem man zunächst eine Stunde bei −15 °C und dann 12 Stunden bei Raumtemperatur arbeitet, werden die geschützten Glycodipeptidester **6a–c** nahezu rein erhalten. Nur das Threonin-Serin-Derivat **6d** muß chromatographisch gereinigt werden. Die IR-Spektren der Verbindungen **6** zeigen Ester- und Urethanbanden bei 1750–1730 cm^{-1}, Amid-I- bei 1670–1650 cm^{-1}, Amid-II-Banden bei 1550–1530 cm^{-1} und die charakteristische Absorption der Arylphosphoniumsalze bei 1440 cm^{-1}. Auch die ^{1}H-NMR-Spektren belegen die Struktur der Glycodipeptidester **6**. In ihnen erscheinen die Signale der Peoc-Phenylprotonen bei δ = 8.0–7.6, die der Estermethylgruppe bei δ = 3.7, der Kohlenhydrat-Acetylreste bei δ = 2.10–1.95 und die der Aminosäureprotonen im korrekten Verhältnis. Das anomere 1-H verursacht bei δ = 5.1–5.0 ein Dublett ($J_{1,2} \approx 8$ Hz), das meist von den Signalen der Peoc-Methylenprotonen überlagert ist.

Abspaltung der Peoc-Schutzgruppe

Die entscheidende N-terminale Abspaltung der Peoc-Schutzgruppe unter milden basischen Bedingungen in Gegenwart der basenempfindlichen Glycosyl–Serin-Bindung gelingt in Methylendichlorid mit einem etwa zehnfachen molaren Überschuß an Morpholin.



7a: AS = Leu (76%)
7b: AS = Phe (80%)

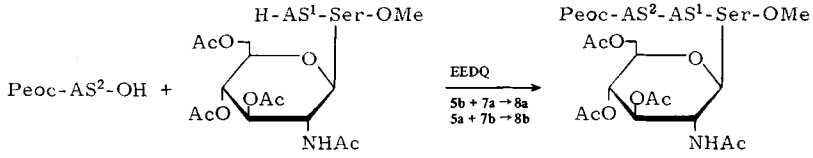
Von den voll geschützten Glycodipeptiden **6b** und **6c** ist die Peoc-Gruppe nach diesem Verfahren innerhalb von 20 min selektiv und vollständig abgelöst. Die Glycodipeptidester **7** mit der freien Aminofunktion werden in Ausbeuten von ca. 80% isoliert und spektroskopisch sowie elementaranalytisch charakterisiert.

Bei dieser Reaktion werden weder eine β-Eliminierung des Kohlenhydratteils noch eine Zerstörung einer der Estergruppen der polyfunktionellen Moleküle beobachtet. Die Peoc-Schutzgruppe leistet damit für die schnelle und hochselektive Deblockierung der Aminofunktion an *O*-Glycopeptiden wertvolle Dienste. Bei ihrem Einsatz ist prinzipiell die reversible Blockierung der Carboxylgruppe als Benzylester möglich, wenn ein geeignetes Verfahren zur Glycosylierung von Peoc-Serin-benzylester oder eine alternative Methode zum Aufbau von Peoc-Glycopeptid-benzylestern gefunden wird. Versuche in dieser Richtung unter Einbeziehung des 9-Fluorenylmethoxycarbonyl-(Fmoc-)Restes[11] verlaufen erfolgversprechend[12]. Bemerkenswert ist die Stabilität der Glycopeptidester **7**. Sie zeigen bei Raumtemperatur nach mehreren Stunden und bei −15 °C nach 36 Stunden keine Cyclisierung zu Diketopiperazinen[13].

Aufbau von *O*-Glycotripeptiden

An die freien Aminofunktionen der Glycopeptidester **7** können weitere Aminosäuren angeknüpft werden. Wiederum nach dem EEDQ-Verfahren entsteht aus Peoc-Leu-

cin[14] (**5b**) und **7a** das geschützte Glycotripeptid **8a** mit 60proz. Ausbeute und aus Peoc-Isoleucin[5a] (**5a**) und **7b** das sterisch anspruchsvollere Glycotripeptid **8b** mit 46proz. Ausbeute.

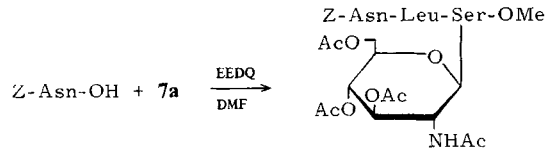


5b, a **7a, b**

8a: AS^1 = AS^2 = Leu (60%)
8b: AS^1 = Phe, AS^2 = Ile (46%)

Beide Peoc-Glycotripeptide **8** sind nach einfacher Säulenchromatographie an silanisiertem Kieselgel rein zu gewinnen. Ihre spektroskopischen und elementaranalytischen Daten (vgl. Experimenteller Teil) belegen die angegebene Struktur.

Die für die Struktur der *N*-Glycoproteine vom *N*-Acetylglucosamin-Asparagin-Typ relevante Aminosäuresequenz -Asn-X-Ser(Thr)-, worin X eine Aminosäure ohne dritte Funktion darstellt, kann nach dem angegebenen Prinzip nicht synthetisiert werden, weil wir bisher noch keinen Weg zur Herstellung von Peoc-Asparagin gefunden haben. Um dennoch eine Modellverbindung zu gewinnen, an der eine Glycosid-Verschiebung vom O-3 des Serins zum N-4 des Asparagins ausgelöst und untersucht werden könnte, haben wir **7a** mit Z-Asparagin (**9**) zum Z-geschützten Glycotripeptidester **10** verknüpft.



9 **10** (41%)

Diese Reaktion leidet unter der mangelnden Löslichkeit des Z-Asparagins (**9**) in den üblichen Lösungsmitteln. Selbst in DMF bleibt die Ausbeute mäßig.

An der Verbindung **10**, deren Struktur spektroskopisch und elementaranalytisch gesichert wird, könnten O → N-Transglycosylierungen, wie sie von Pyrimidin-Nucleosiden bekannt sind[15,16], studiert werden.

Diese Arbeit wurde von der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* und vom *Fonds der Chemischen Industrie* unterstützt. Der *BASF AG*, der *Bayer AG*, der *Degussa AG* und der *Hoechst AG* danken wir für Chemikalienspenden.

Experimenteller Teil

^{1}H-NMR-Spektren: Bruker-WH-90-Gerät. IR-Spektren: Beckman-Gerät Acculab 2; Drehwerte: Perkin-Elmer-Polarimeter 241. – Die Schmelzpunkte sind nicht korrigiert. – Die chromatographischen Trennungen wurden jeweils an 300 g Kieselgel 60, bei Peoc-Verbindungen an 300 g silanisiertem Kieselgel 60 (KG_{silan}) der Fa. Merck, Darmstadt, durchgeführt. – EEDQ = (Ethyl)-2-ethoxy-1,2-dihydro-1-chinolincarboxylat[10].

Die Peoc-Aminosäuren **5** wurden wie früher beschrieben[5a,14] hergestellt.

O-(2-Acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)-N-(benzyloxycarbonyl)serin-methylester[6] [Z-Ser(Ac_3GlucNHAc)-OMe] (**3**): Die Verbindung **3** wird aus 8.20 g (0.032 mol) Z-Serin-methylester (**1**) und 12.10 g (0.033 mol) 2-Acetamino-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy-α-D-glucopyranosylchlorid in 150 ml Benzol in Gegenwart von 8.6 g Quecksilbercyanid nach Lit.[6] gewonnen. Ausb. 5.5 g (30%), Schmp. 163 – 165 °C, $[\alpha]_D^{22}$ = – 6.27 (*c* = 1, $CHCl_3$) ⟨Lit.[6]: Schmp. 170 – 170.5 °C, $[\alpha]_D^{22}$ = – 9.0 (*c* = 1.1, $CHCl_3$); Lit.[17]: Schmp. 165 – 166 °C, $[\alpha]_D^{22}$ = – 3.0 (*c* = 1, $CHCl_3$)⟩. – ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ = 4.7 (d, *J* = 7.5 Hz, 1-H).

O-(2-Acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)serin-methylester [H-Ser(Ac_3GluNHAc)-OMe] (**4**): 1.16 g (2 mmol) Z-Ser(Ac_3GlucNHAc)-OMe (**3**) werden in 150 ml Methanol über 100 mg Palladium/Kohle (10% Pd) 3 h bei Raumtemp. hydriert. Nach Filtrieren und Einengen i. Vak. wird mit 100 ml Ether versetzt. Das amorph anfallende Produkt **4** ist laut Dünnschichtchromatogramm (Kieselgel 60, Chloroform/Methanol = 12:1, R_F = 0.18) einheitlich. Es wird so zur weiteren Synthese verwendet. Ausb. 0.85 g (94%), Hydrochlorid: Schmp. 178 °C (Zers.), $[\alpha]_D^{22}$ = – 18.4 (*c* = 1.2, CH_3OH) ⟨Lit.[8]: Schmp. 183 – 185 °C (Zers.)⟩.

Peoc-Glycodipeptid-methylester **6a – d**. – *Allgemeine Arbeitsvorschrift:* Auf – 15 °C gekühlte Lösungen von 450 mg (1 mmol) H-Ser(Ac_3GlucNHAc)-OMe (**4**) und von 1 mmol Peoc-Aminosäure **5**[5a,14] in jeweils 20 ml Chloroform werden vereinigt und mit 300 mg (1.2 mmol) festem EEDQ versetzt. Man rührt 1 h bei – 15 °C und danach 15 h bei Raumtemp. Die Lösungen von **6a – c** werden jeweils mit 15 ml 0.5 N HCl und mit Wasser zweimal ausgeschüttelt, mit Natriumsulfat getrocknet, und das Lösungsmittel wird i. Vak. verdampft. Die öligen Rückstände werden aus Methylendichlorid/Ether umgefällt, mit Ether verrieben und i. Hochvak. getrocknet. Die Reaktionslösung von **6d** wird auf 10 ml eingeengt und mit 100 ml Ether versetzt. Das ausgefallene Rohprodukt wird an silanisiertem Kieselgel mit Chloroform/Methanol (25:1) zweimal chromatographiert. Ausbeuten, $[\alpha]_D^{22}$-Werte und Analysendaten s. Tab. 1.

N-[2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]isoleucyl-O-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)serin-methylester-chlorid [Peoc-Ile-Ser(Ac_3GlucNHAc)-OMe] (**6a**): IR (NaCl): $\tilde{\nu}$ = 1740 – 1760 (C=O, Ester, Urethan), 1660 – 1670 (Amid-I), 1520 – 1545 (Amid-II), 1435 cm^{-1} (P-Aryl). – ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ = 7.6 – 8.0 (m; 15H, Phenyl), 3.67 (s; 3H, CO_2CH_3), 1.98, 2.08 (2s; 12H, Acetyl), 0.86 (m; 6H, CH_3).

N-[2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]leucyl-O-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)serin-methylester-chlorid [Peoc-Leu-Ser(Ac_3GlucNHAc)-OMe] (**6b**): ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ = 7.5 – 8.1 (m; 15H, Phenyl), 5.07 (d, *J* = 8 Hz; 1H, 1-H), 3.70 (s; 3H, CO_2CH_3), 1.95, 2.10 (s; 12H, Acetyl, darunter CH - CH_2 von Leu).

N-[2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]phenylalanyl-O-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)serin-methylester-chlorid [Peoc-Phe-Ser(Ac_3GlucNHAc)-OMe] (**6c**): ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ = 7.5 – 7.9 (m; 15H, P-Phenyl), 7.1 – 7.3 (5H, Phenyl), 3.5 (s; 3H, CO_2CH_3), 2.0 – 2.1 (m; 12H, Acetyl).

N-[2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]threonyl-O-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)serin-methylester-chlorid [Peoc-Thr-Ser(Ac_3GlucNHAc)-OMe] (**6d**): ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ = 7.4 – 8.1 (m; 15H, Phenyl), 3.60 (s; 3H, CO_2CH_3), 1.95 – 2.10 (m; 12H, Acetyl), 1.1 (m; 3H, CH_3).

Leucyl-O-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)serin-methylester [H-Leu-Ser(Ac_3GlucNHAc)-OMe] (**7a**): Man löst 930 mg (1 mmol) Peoc-Leu-Ser(Ac_3GlucNHAc)-OMe (**6b**) in 100 ml Methylendichlorid, fügt 1 ml Morpholin zu und rührt 20 min bei Raumtemp. Danach wird zweimal mit 25 ml Wasser ausgeschüttelt, die organische Phase mit Natriumsulfat

getrocknet und das Methylendichlorid i. Vak. verdampft. Man erhält ein Öl, das laut Dünnschichtchromatogramm (Kieselgel 60, Chloroform/Methanol = 12:1) einheitlich ist. Verbindung **7a** wird sowohl von Ninhydrin als auch von Naphthoresorcin angefärbt und ist bei −20 °C mindestens 24 h haltbar, ohne daß eine Veränderung eintritt (dünnschichtchromatographische Kontrolle). Ausb. 425 mg (76%) zähflüssiges Öl, R_F = 0.49 (*n*-Butanol/Eisessig/Wasser = 4:1:1), $[\alpha]_D^{22}$ = −4.67 (*c* = 1.1, $CHCl_3$). − ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ = 5.1 (d, *J* = 8 Hz; 1H, 1-H), 3.72 (s; 3H, CO_2CH_3), 2.0−2.1 (m; 12H, Acetyl), 1.4−1.8 (breit; 3H, CH − CH_2 von Leu), 1.0 (m; 6H, CH_3).

$C_{24}H_{39}N_3O_{12}$ (561.58) Ber. C 51.33 H 7.00 N 7.47 Gef. C 51.93 H 7.07 N 6.92

Phenylalanyl-O-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)serin-methylester [H-Phe-Ser(Ac_3GlucNHAc)-OMe] (**7b**): Nach der für **7a** geschilderten Methode wird aus 960 mg (1 mmol) Peoc-Phe-Ser(Ac_3GlucNHAc)-OMe (**6c**) mit Morpholin die Verbindung **7b** als amorpher Feststoff gewonnen. Ausb. 475 mg (80%), R_F = 0.54 (*n*-Butanol/Eisessig/Wasser = 4:1:1), $[\alpha]_D^{22}$ = +6.09 (*c* = 1.15, $CHCl_3$). − ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ = 7.5−7.9 (m; 15H, P-Phenyl), 7.2−7.3 (breit; 5H, Phenyl), 3.65 (s; 3H, CO_2CH_3), 1.95, 2.07 (2s; 12H, Acetyl).

$C_{27}H_{37}N_3O_{12}$ (595.60) Ber. C 54.44 H 6.26 N 7.05 Gef. C 54.24 H 6.26 N 6.95

Peoc-Glycotripeptid-methylester **8a, b**. − *Allgemeine Arbeitsvorschrift:* Auf −15 °C gekühlte Lösungen von 1 mmol **7a** bzw. **7b** und 1 mmol **5b** bzw. **5a** in jeweils 30 ml Methylendichlorid werden vereinigt und mit 370 mg (1.5 mmol) EEDQ versetzt. Man läßt 2 h bei −15 °C und 56 h bei Raumtemp. stehen, schüttelt zweimal mit je 20 ml 0.5 N HCl und mit Wasser aus, trocknet die organische Phase mit Natriumsulfat und verdampft das Lösungsmittel i. Vak. Der ölige Rückstand wird an silanisiertem Kieselgel mit Chloroform/Methanol (25:1) zweimal chromatographiert. Man erhält die Produkte **8** als analysenreine amorphe Festsubstanzen.

N-[2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]leucyl-leucyl-O-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)serin-methylester-chlorid [Peoc-Leu-Leu-Ser(Ac_3GlucNHAc)-OMe] (**8a**): Ausb. 60%, $[\alpha]_D^{22}$ = −75.50 (*c* = 1.05, $CHCl_3$), R_F = 0.36 (Chloroform/Methanol = 25:1). − ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ = 7.6−8.0 (m; 15H, Phenyl), 3.6 (s; 3H, CO_2CH_3), 1.95, 1.98, 2.05 (3s; 12H, Acetyl), 1.55−1.85 (m; 6H, CH − CH_2 von Leu), 0.9 (breit; 12H, CH_3).

$C_{51}H_{68}ClN_4O_{15}P \cdot H_2O$ (1061.6) Ber. C 57.70 H 6.64 N 5.27 Gef. C 57.46 H 6.35 N 5.01

N-[2-(Triphenylphosphonio)ethoxycarbonyl]isoleucyl-phenylalanyl-O-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)serin-methylester-chlorid [Peoc-Ile-Phe-Ser(Ac_3GlucNHAc)-OMe] (**8b**): Ausb. 46%, $[\alpha]_D^{22}$ = −11.00 (*c* = 1.05, $CHCl_3$), R_F = 0.38 (Chloroform/Methanol = 25:1). − ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): δ = 7.5−7.9 (m; 15H, P-Phenyl), 7.1−7.35 (m; 5H, Phenyl), 3.55 (s; CO_2CH_3), 2.0, 2.1 (2s; 12H, Acetyl), 0.8 (m; 6H, CH_3).

$C_{54}H_{66}ClN_4O_{15}P \cdot 2H_2O$ (1113.0) Ber. C 58.24 H 6.33 N 5.03 Gef. C 58.40 H 6.15 N 5.05

N^2-(Benzyloxycarbonyl)asparaginyl-leucyl-O-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl)serin-methylester [Z-Asn-Leu-Ser(Ac_3GlucNHAc)-OMe] (**10**): 560 mg (1 mmol) H-Leu-Ser(Ac_3GlucNHAc)-OMe (**7a**) werden in 20 ml DMF und 265 mg (1 mmol) Z-Asparagin (**9**) in 30 ml DMF gelöst. Bei −15 °C vereinigt man beide Lösungen und fügt 370 mg (1.5 mmol) EEDQ zu. Man läßt auf Raumtemp. erwärmen und rührt weitere 48 h. Danach wird das Lösungsmittel i. Hochvak. abdestilliert und der Rückstand in 60 ml Chloroform aufgenommen. Man schüttelt mit 30 ml 0.5 N HCl und mit Wasser aus, trocknet die organische Phase mit Natriumsulfat und verdampft das Lösungsmittel. Das Rohprodukt wird an Kieselgel 60 mit Chloroform/Methanol (8:1) chromatographiert. Verbindung **10** kristallisiert beim Einengen des Laufmittels spontan aus und wird aus Methanol umkristallisiert. Ausb. 332 mg (41%), Schmp. 147 bis 149 °C, $[\alpha]_D^{22}$ = −6.27 (*c* = 1.25, $CHCl_3$), R_F = 0.45 (Chloroform/Methanol = 8:1). − ^{1}H-

NMR (CD_3OD): δ = 7.3 (s; 5H, Phenyl), 3.70 (s; 3H, CO_2CH_3), 1.95 – 2.10 (breit; 12H, Acetyl), 0.85 (m; 6H, CH_3).

$C_{36}H_{51}N_5O_{16}$ (809.8) Ber. C 53.39 H 6.35 N 8.65 Gef. C 53.72 H 6.59 N 8.63

---

[1] Auszug aus der Dissertation von *H. Kauth*, Univ. Mainz 1982.
[2] Eine neuere Übersicht: *J. Montreuil*, Adv. Carbohydr. Chem. Biochem. **37**, 157 (1980).
[3] *R. Kuhn* und *J. Löw*, Ber. Dtsch. Chem. Ges. **74**, 219 (1941).
[4] *J. R. Vercellotti, R. Fernandez* und *C. J. Chang*, Carbohydr. Res. **5**, 97 (1974).
[5] [5a] *H. Kunz* und *H. Kauth*, Liebigs Ann. Chem. **1983**, 337, voranstehend. – [5b] *H. Kunz* und *H. Kauth*, Angew. Chem. **93**, 918 (1981); Angew. Chem., Int. Ed. Engl. **20**, 895 (1981).
[6] *H. Garg* und *R. W. Jeanloz*, Carbohydr. Res. **49**, 482 (1976).
[7] *B. Helferich* und *K. F. Wedemeyer*, Liebigs Ann. Chem. **563**, 139 (1949).
[8] *M. Buchholz*, Dissertation, Univ. Mainz 1982, *H. Kunz* und *M. Buchholz*, Veröffentlichung in Vorbereitung.
[9] *B. Ferrari* und *A. A. Pavia*, Carbohydr. Res. **79**, C1 (1980).
[10] *D. Belleau* und *G. Malek*, J. Am. Chem. Soc. **90**, 1651 (1968).
[11] *L. A. Carpino* und *G. Y. Han*, J. Am. Chem. Soc. **92**, 5748 (1970).
[12] *P. Schultheiß-Reimann* und *H. Kunz*, Angew. Chem. **95**, 64 (1983).
[13] *E. Wünsch* und *E. Drees*, Chem. Ber. **99**, 110 (1966).
[14] *H. Kunz*, Chem. Ber. **109**, 2670 (1976).
[15] *T. L. V. Ulbricht* und *G. T. Rogers*, J. Chem. Soc. **1965**, 6125.
[16] *G. Wagner*, Z. Chem. **6**, 367 (1966).
[17] *M. G. Vafina, A. Kim* und *M. V. Molodtov*, Carbohydr. Res. **64**, 334 (1978).

[160/82]