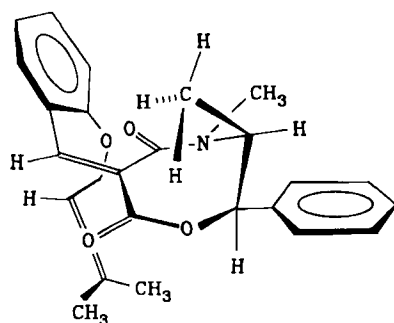


anellierten Produkte **9** entstehen zu <1 bis 4%; die zu **7** diastereomeren *cis*-verknüpften Cycloaddukte **8**<sup>[7,8]</sup> lassen sich in Konzentrationen von <1 bis 3% nachweisen. Die *trans*-Produkte **10** wurden nicht gefunden; das gleiche gilt für Verbindungen, deren Bildung sich durch Reaktion der Amidcarbonyl-Gruppe erklären ließe. Ohne Katalysatoren nimmt die Selektivität der Reaktion stark ab. So erhält man bei Umsetzung von **11a** in *o*-Dichlorbenzol (100°C, 18 h) nach säulenchromatographischer Reinigung 45% **7a**, 21% **8a** und 24% **9a**. Sterische Wechselwirkungen wie in **11d** erniedrigen ebenfalls die Selektivität und insbesondere die Reaktionsgeschwindigkeit (Tabelle 1).

Als Konformation des Übergangszustandes **14** der Cycloaddition von **11a** zu **7a** nehmen wir eine *endo*-(*E*)-*syn*-Anordnung mit einem gefalteten Oxazepandion-Teil an, in dem die C<sub>β</sub>-*si*-Seite räumlich abgeschirmt ist, so daß das Dienophil fast ausschließlich von der C<sub>β</sub>-*re*-Seite angreift. Die Bedeutung der Lewis-Säure dürfte in der Senkung der LUMO-Energie des Heterodiens und der Fixierung der Konformation im Übergangszustand zu sehen sein. Die geringere Reaktivität von **11** im Vergleich zu den entsprechenden Dimethylbarbitursäure- und Meldrumsäure-Derivaten<sup>[2]</sup> ist vermutlich darauf zurückzuführen, daß die an C<sub>α</sub> des Heterodiens gebundene Carbonylgruppe zu einem gewissen Grad aus der Ebene des π-Systems gedreht ist. Hierdurch wird die LUMO-Energie des Heterodiens erhöht und damit die Reaktionsgeschwindigkeit dieser Diels-Alder-Reaktion mit inversem Elektronenbedarf erniedrigt.



14

Die Cycloaddukte **7** sind gegenüber Alkali erstaunlich stabil. Mit methanolischer HCl (3 N HCl/MeOH = 1:1, 20°C, 14 h) erhält man jedoch aus **7a** zu 89% das Amid **12a**<sup>[7]</sup>, das mit 6 N NaOH (100°C, 3.5 h) unter Decarboxylierung mit 80% Ausbeute zum Lacton **13a**<sup>[7,8]</sup> gespalten wird. Zusätzlich zu **13a** können 87% des eingesetzten (–)-Ephedrins (bezogen auf **12a**) zurückgewonnen werden. Durch Verwendung von (+)-Ephedrin, das ebenfalls käuflich ist, läßt sich in analoger Weise *ent*-**13a** herstellen.

Eingegangen am 23. Mai,  
ergänzt am 4. Juli 1985 [Z 1310]

- [1] a) J. Sauer, *Angew. Chem.* 78 (1966) 233; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 5 (1966) 211; b) D. Desimoni, G. Tacconi, *Chem. Rev.* 75 (1975) 651; c) D. F. Taber: *Intramolecular Diels-Alder and Alder Ene Reactions*, Springer, Berlin 1984; d) S. M. Weinreb, R. R. Staib, *Tetrahedron* 38 (1982) 3087; e) S. Danishefsky, *Acc. Chem. Res.* 14 (1981) 400; f) D. L. Boger, *Tetrahedron* 39 (1983) 2869; g) M. Ohno, T. Sasaki, *Yuki Gosei Kagaku Kyokaiishi (J. Synth. Org. Chem. Jpn.)* 42 (1984) 125; h) E. Ciganek, *Org. React.* 32 (1984) 1.
- [2] a) L. F. Tietze, G. von Kiedrowski, B. Berger, *Tetrahedron Lett.* 23 (1982) 51; b) L. F. Tietze, H. Stegelmeier, K. Harms, T. Brumby, *Angew. Chem.* 94 (1982) 868; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 21 (1982) 863; c) L. F. Tietze in W. Bartmann, B. M. Trost (Hrsg.): *Selectivity – a Goal for Synthetic Efficiency*, Verlag Chemie, Weinheim 1984; d) S. Takano, S. Satoh, K. Ogasawara, *Heterocycles* 23 (1985) 41.

- [3] a) L. F. Tietze, G. von Kiedrowski, B. Berger, *Angew. Chem.* 94 (1982) 222; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 21 (1982) 221; J. J. Talley, *J. Org. Chem.* 50 (1985) 1695; J. P. Marino, S. L. Dax, *ibid.* 49 (1984) 3671; b) L. F. Tietze, *Angew. Chem.* 95 (1983) 840; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 22 (1983) 828; c) L. F. Tietze, W. Schul, K. G. Fahlbusch, unveröffentlicht.
- [4] Die asymmetrische Induktion bei normalen Diels-Alder-Reaktionen ist bereits sehr gut untersucht worden. Neuere Arbeiten: W. Oppolzer, *Angew. Chem.* 96 (1984) 840; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 23 (1984) 876; L. A. Paquette in J. D. Morrison (Hrsg.): *Asymmetric Synthesis*, Academic Press, Orlando 1984; P. Welzel, *Nachr. Chem. Tech. Lab.* 31 (1983) 979; T. Poll, J. O. Metter, G. Helmchen, *Angew. Chem.* 97 (1985) 116; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 24 (1985) 112; H. Wurziger, *Kontakte (Darmstadt)* 1984, Nr. 2, S. 3; dagegen gibt es bisher nur wenige Arbeiten über die asymmetrische Induktion bei Hetero-Diels-Alder-Reaktionen: [2c]; J. Jurczak, T. Bauer, S. Filipek, M. Tkacz, K. Zygo, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1983, 540; S. D. Larsen, P. A. Grieco, *J. Am. Chem. Soc.* 107 (1985) 1768; L. F. Tietze, K.-H. Glüsenkamp, *Angew. Chem.* 95 (1983) 901; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 22 (1983) 887; R. R. Schmidt, M. Maier, *Tetrahedron Lett.* 26 (1985) 2065; S. Danishefsky, S. Kobayashi, J. F. Kerwin, Jr., *J. Org. Chem.* 47 (1982) 1981; M. Bednarski, C. Maring, S. Danishefsky, *Tetrahedron Lett.* 24 (1983) 3451; intramolekulare enantio-selektive Hetero-Diels-Alder-Reaktionen mit einer wieder abspaltbaren chiralen Hilfsgruppe wurden unseres Wissens bisher nicht beschrieben.
- [5] T. Mukaiyama, Y. Hirako, T. Takeda, *Chem. Lett.* 1978, 461; T. Mukaiyama, T. Takeda, K. Fujimoto, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 51 (1978) 3368.
- [6] In Vereinfachung der Vorschrift [5] kann das intermediär auftretende Monoamid durch Erhitzen von Malonsäure-dimethylester und (–)-Ephedrin auf 80°C (1:1, ohne Lösungsmittel, 12 h) mit 54–70% Ausbeute erhalten werden.
- [7] Elementaranalysen, <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C-NMR- und Massenspektren sind im Einklang mit den angegebenen Strukturen. Fp: **7a** 190°C; **8a** 230°C; **12a** 98–104°C; **13a** 148°C. – [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> (CHCl<sub>3</sub>, c = 1): **7a** +88.1; **8a** +69.4; **12a** +18.6; **13a** –36.3. – R<sub>f</sub> (Silicagel, Ether/Petrolether 4:1): **7a** 0.36; **8a** 0.22; **12a** 0.34; **13a** 0.46.
- [8] <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>/TMS int., 200 MHz): **7a**: δ = 1.05 (d, J = 7 Hz, 3 H, 3-CH<sub>3</sub>), 1.42 (s, 3 H, 7-CH<sub>3</sub>(ax)), 1.52 (s, 3 H, 7-CH<sub>3</sub>(eq)), 2.20 (ddd, J(7a,8ax) = 8.5, J(7a,13b) = 6, J(7a,8eq) = 4 Hz, 1 H, 7a-H), 2.67 (s, 3 H, N-CH<sub>3</sub>), 4.15 (dd, J<sub>gem</sub> = 11.5, J = 8.5 Hz, 1 H, 8-H(ax)), 4.38 (dq, J = 7, J = 3.5 Hz, 1 H, 3-H), 4.43 (dd, br, J = 6 Hz, 1 H, 13b-H), 4.49 (ddd, J<sub>gem</sub> = 11.5, J = 4, J(8eq,13b) = 1 Hz, 1 H, 8-H(eq)), 5.28 (d, J = 3.5 Hz, 1 H, 4-H), 6.78 (dd, J = 8, J = 1.5 Hz, 1 H, 10-H), 6.85 (ddd, J = 8, J = 1.5 Hz, 1 H, 12-H), 7.11 (dd, J = 8, J = 1.5 Hz, 1 H, 11-H), 7.26–7.42 (m, 5 H, Phenyl), 7.57 (dd, br, J = 8 Hz, 1 H, 13-H). – **8a**: δ = 1.19 (d, J = 7 Hz, 3 H, 3-CH<sub>3</sub>), 1.49 (s, 3 H, 7-CH<sub>3</sub>(ax)), 1.55 (s, 3 H, 7-CH<sub>3</sub>(eq)), 2.31 (ddd, J(7a,13b) = 6.5, J(7a,8ax) = 2.8, J(7a,8eq) = 1.8 Hz, 1 H, 7a-H), 3.05 (s, 3 H, N-CH<sub>3</sub>), 3.64 (q, J = 7 Hz, 1 H, 3-H), 4.30 (dd, J<sub>gem</sub> = 12, J = 2.8 Hz, 1 H, 8-H(ax)), 4.43 (dd, J<sub>gem</sub> = 12, J = 1.8 Hz, 1 H, 8-H(eq)), 4.57 (d, br, J = 6.5 Hz, 1 H, 13b-H), 5.43 (s, 1 H, 4-H), 6.76 (d, br, J = 7.5 Hz, 1 H, 10-H), 6.86 (ddd, J = 7.5, J = 1 Hz, 1 H, 12-H), 7.08 (dd, br, J = 7.5 Hz, 1 H, 11-H), 7.18–7.58 (m, 6 H, Phenyl, 13-H). – **13a**: δ = 1.49 (s, 3 H, 4-CH<sub>3</sub>(ax)), 1.58 (s, 3 H, 4-CH<sub>3</sub>(eq)), 2.29 (ddd, J(4a,5ax) = 11.3, J(4a,10b) = 5.5, J(4a,5eq) = 4 Hz, 1 H, 4a-H), 2.58 (dd, J<sub>gem</sub> = 19, J(1ax,10b) = 10 Hz, 1 H, 1-H(ax)), 3.05 (dd, J<sub>gem</sub> = 19, J(1eq,10b) = 8 Hz, 1 H, 1-H(eq)), 3.52 (m, 1 H, 10b-H), 4.02 (dd, J<sub>gem</sub> = 11.3, J(5ax,4a) = 11.3 Hz, 1 H, 5-H(ax)), 4.46 (ddd, J<sub>gem</sub> = 11.3, J(5eq,4a) = 4, J(5eq,10b) = 1.5 Hz, 1 H, 5-H(eq)), 6.87 (dd, J = 8, J = 1.5 Hz, 1 H, 7-H), 6.93 (ddd, J = 8, J = 1.5 Hz, 1 H, 9-H), 7.08 (dd, J = 8, J = 1.5 Hz, 1 H, 10-H), 7.19 (ddd, J = 8, J = 1.5 Hz, 1 H, 8-H).
- [9] Von **7a** wurde eine Röntgen-Strukturanalyse angefertigt: G. Sheldrick, J. Antel, S. Brand, T. Pfeiffer, L. F. Tietze, unveröffentlicht.

## Synthese der immunologisch essentiellen Saccharidsequenz des „Enterobacterial Common Antigens“

Von Hans Paulsen\* und Jens Peter Lorenzen

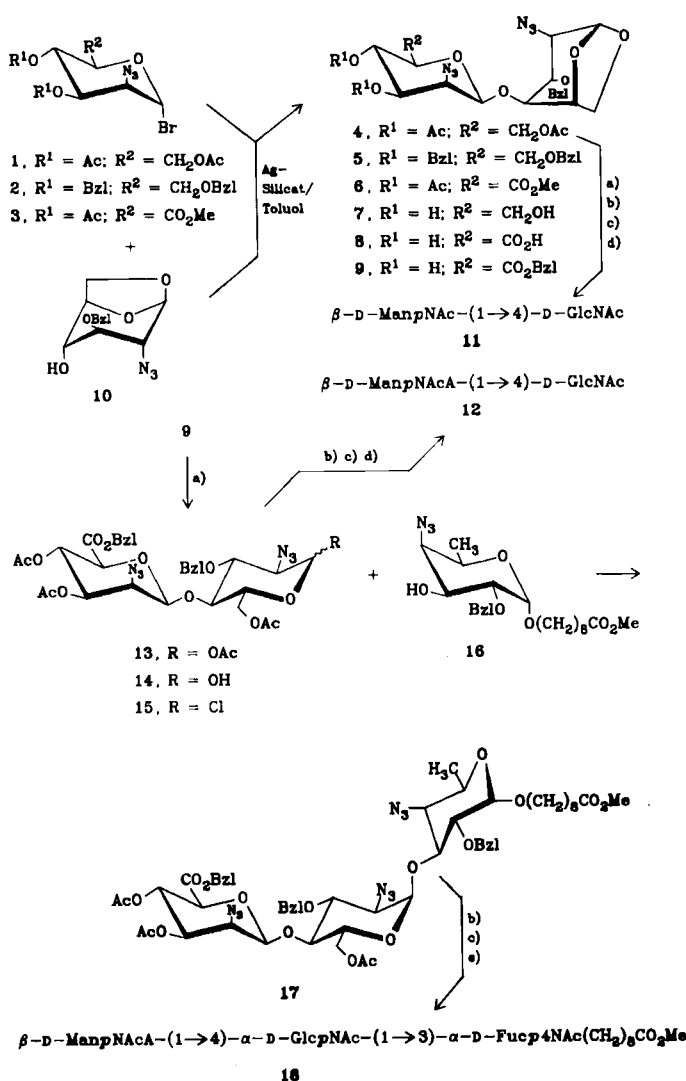
Die meisten Oberflächenantigene von Bakterien enthalten als immundeterminante Strukturen spezifische Saccharidsequenzen, die die serologische Differenzierung der verschiedenen Arten einer Gattung ermöglichen. Im Gegensatz dazu ist das „Enterobacterial Common Antigen“ (ECA) weit verbreitet; es ist ein familienspezifisches Antigen aller *Enterobacteriaceae*, zu denen eine Vielzahl krankheitsregender Keime gehört<sup>[1]</sup>. Daher hat der Nachweis

\* Prof. Dr. H. Paulsen, Dipl.-Chem. J. P. Lorenzen  
Institut für Organische Chemie der Universität  
Martin-Luther-King-Platz 6, D-2000 Hamburg 13

von ECA und ECA-Antikörpern bei der Bakterientaxonomie und der Diagnose von enterobakteriellen Infektionen Bedeutung erlangt<sup>[1,2]</sup>. Das für die immunologischen Reaktionen verantwortliche oligomere Saccharid besteht aus folgender, sich wiederholender Trisaccharidkette<sup>[3]</sup>:



Bei der Verankerung der Kohlenhydratkette in der äußeren Zellmembran gramnegativer Bakterien könnten cyclische Strukturen<sup>[3]</sup> und L-glycero-Phosphatideinheiten<sup>[2]</sup> eine Rolle spielen. Wir haben jetzt ein Derivat der Trisaccharideinheit synthetisiert, das die Erzeugung eines entsprechenden synthetischen Antigens ermöglichen sollte.



Schema 1. a)  $\text{Ac}_2\text{O}$ ,  $\text{CF}_3\text{COOH}$  (10:1, v/v), 3 h, 20°C. b)  $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  (2:1, v/v),  $\text{H}_2\text{S}$ , 24 h, 20°C;  $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$ ,  $\text{Ac}_2\text{O}$  (2:1, v/v), 6 h, 20°C. c)  $\text{MeOH}$ ,  $\text{Pd-C}$ , 1 h, 20 bar  $\text{H}_2$ . d)  $\text{MeOH}$ ,  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (1:2.5, v [mL]/w [mg]), 24 h, 0°C. e)  $\text{MeOH}$ ,  $\text{MeONa}$  (500:1, v [mL]/w [g]), 2 h, 20°C. - Ac = Acetyl, Bzl = Benzyl, Me = Methyl.

Kürzlich ist es uns gelungen, 2-Acetamido-2-desoxy-D-mannopyranose und 2-Acetamido-2-desoxy-D-mannopyranuronsäure mit der wenig reaktiven 4-OH-Gruppe von 2-Acetamido-2-desoxy-D-glucose  $\beta$ -glycosidisch zu verknüpfen<sup>[4]</sup>. Bei der Umsetzung der Glycosylbromide 1, 2 und

3<sup>[5]</sup> mit dem Glycosylacceptor 10 unter heterogener Silber-silicat-Katalyse<sup>[6]</sup> werden die  $\beta$ -verknüpften Disaccharide 4 (48%), 5 (79%) und 6 (29%) erhalten<sup>[4]</sup>. Wie nach unseren Vorstellungen<sup>[7]</sup> zu erwarten war, reagiert die reaktive Benzylverbindung 2 selektiver als das weniger reaktive Triacetat 1, während die Uronsäure 3 für Glycosidsynthesen wenig geeignet erscheint. Es ist daher sinnvoll, die Oxidation zur Uronsäure nach der Glycosidierung durchzuführen. Die Entblockierung von 4 in vier Stufen liefert das Disaccharid 11 (56%,  $[\alpha]_D^{20} - 30.0$ ), das bei vielen grampositiven Bakterien die Verknüpfungsstelle von Peptidoglycan und Teichonsäure ist<sup>[8]</sup>.

Nach Entacylierung von 4 zu 7 gelingt es, 7 durch selektive katalytische Oxidation mit  $\text{O}_2/\text{Pt}^{[9]}$  (Turborührer) zum Uronsäuredisaccharid 8 zu oxidieren, das mit Phenyl-diazomethan den Benzylester 9 ergibt. Eine erneute Funktionalisierung nach Acetylierung ist durch Acetolyse mit Trifluoressigsäure/Acetanhydrid unter Bildung des Derivates 13 möglich. Die dreistufige Entblockierung von 13 ermöglicht die Darstellung des Disaccharids 12 (Kaliumsalz; 73%,  $[\alpha]_D^{20} - 35.5$ ); 12 kommt im Kapselpolysaccharid von *Haemophilus influenzae* Typ d vor<sup>[10]</sup>.

Als Glycosylacceptor für die Trisaccharidsynthese wird das  $\alpha$ -glycosidisch einen Spacer enthaltende Derivat 16 eingesetzt, das mehrstufig, aber effizient aus selektiv blockierten Derivaten der 4-Azido-4-desoxy-D-fucose dargestellt werden kann<sup>[11]</sup>. Das Acetat 13 ist wegen der Säurelabilität der 3-O-Benzylethergruppe nicht direkt in ein Halogenid überführbar. Es wird zunächst mit Piperidin selektiv zu 14 desacetyliert<sup>[12]</sup>, das dann mit dem Vilsmeier-Reagens Chlor-N,N-dimethylformamidiniumchlorid zum Glycosyldonator 15 umgesetzt wird. Die Reaktion von 15 mit 16, unter den Bedingungen der in-situ-Anomerisierung bei der  $\alpha$ -Glycosidsynthese<sup>[7]</sup> ( $\text{AgClO}_4/\text{Ag}_2\text{CO}_3$ ), ergibt das Trisaccharid 17 (40%,  $[\alpha]_D^{20} + 7.6$ ,  $J_{1,2} = 3.7$ ,  $J_{1,2'} = 3.5$  Hz).

Die schrittweise Entblockierung von 17 gelingt durch Reduktion aller Azidgruppen mit  $\text{H}_2\text{S}$ , N-Acetylierung, hydrogenolytische Abspaltung der Benzylgruppen und Entacetylierung. Bei dieser Reaktionsfolge werden die Estergruppen des Moleküls selektiv gespalten. Mit 18 (Natriumsalz, 51%,  $[\alpha]_D^{20} + 83.6$ ) wurde erstmals ein Oligosaccharid mit einer Aminouronsäure-Einheit synthetisiert. Es kann mit erprobten Methoden<sup>[13]</sup> über den Spacer mit Proteinen, z. B. Serumalbumin oder Polylysin, zum synthetischen Antigen umgesetzt werden.

Eingegangen am 9. April,  
in veränderter Fassung am 18. Juni 1985 [Z 1254]

- [1] H. Mayer, G. Schmidt, *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 85 (1979) 99.
- [2] H.-M. Kuhn, U. Meier, H. Mayer, *Forum Mikrobiol.* 7 (1984) 274.
- [3] C. Lugowski, E. Romanowska, L. Kenne, B. Lindberg, *Carbohydr. Res.* 118 (1983) 173; A. Dell, J. Oates, C. Lugowski, E. Romanowska, L. Kenne, B. Lindberg, *ibid.* 133 (1984) 95.
- [4] H. Paulsen, J. P. Lorentzen, *Carbohydr. Res.* 133 (1984) C 1.
- [5] H. Paulsen, J. P. Lorentzen, W. Kutschker, *Carbohydr. Res.* 136 (1985) 153.
- [6] H. Paulsen, O. Lockhoff, *Chem. Ber.* 114 (1981) 3102.
- [7] H. Paulsen, *Angew. Chem.* 94 (1982) 184; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 21 (1982) 155.
- [8] N. Kojima, Y. Araki, E. Ito, *J. Biol. Chem.* 258 (1983) 9043; Y. Sasaki, Y. Araki, E. Ito, *Eur. J. Biochem.* 132 (1983) 207; S. Kaya, K. Yokoyama, Y. Araki, E. Ito, *J. Bacteriol.* 158 (1984) 990; S. Kaya, Y. Araki, E. Ito, *Eur. J. Biochem.* 146 (1985) 517.
- [9] K. Heyns, H. Paulsen, *Adv. Carbohydr. Chem.* 17 (1962) 169.
- [10] P. Branefors-Helander, L. Kenne, B. Lindberg, K. Petersson, P. Unger, *Carbohydr. Res.* 97 (1981) 285; F.-P. Tsui, R. Schneerson, R. A. Boykins, A. B. Karpas, W. Egan, *ibid.* 97 (1981) 293.
- [11] H. Paulsen, J. P. Lorentzen, *Carbohydr. Res.* 140 (1985) 155.
- [12] R. M. Rowell, M. S. Feather, *Carbohydr. Res.* 4 (1967) 486.
- [13] R. U. Lemieux, D. R. Bundle, D. A. Baker, *J. Am. Chem. Soc.* 97 (1975) 4076.