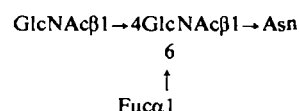


# Schutzgruppenabhängige Stabilität von Intersaccharid-Bindungen – Synthese eines Fucosyl-Chitobiose-Glycopeptids\*\*

Von Horst Kunz\* und Carlo Unverzagt

Tumorzellen weisen einen höheren Fucose-Stoffwechsel als normale Zellen und als Folge davon einen höheren Fucosylierungsgrad ihrer Zellmembran-Glycoproteine auf<sup>[1]</sup>. Glycopeptide, die in den Oligosaccharidseitenketten fucosyliert sind, interessieren deshalb als potentielle tumorassoziierte Zellmembran-Antigene<sup>[2]</sup>. Eine charakteristische Anknüpfungsstelle für die Fucose in *N*-Glycoproteinen ist O-6 der Asparagin-gebundenen Glucosamin-Einheit des Chitobioseteils der Core-Region (Struktur 1). Wir berichten hier über die Synthese von Glycopeptiden, die das Strukturelement 1 enthalten und Partialsequenzen eines Virus-Hüllproteins sind.



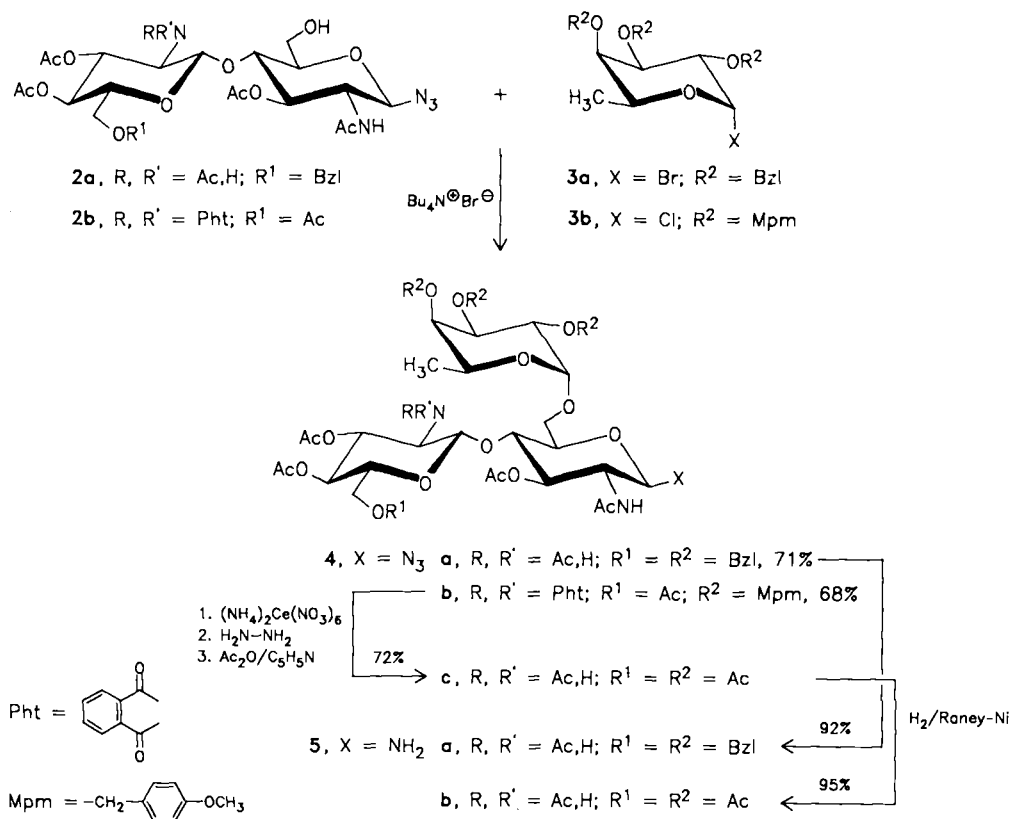
Zum Aufbau der Fucosyl-Chitobiose-Trisaccharid-Einheit in 1 wird die Fucose nach dem in-situ-Anomerisierungsverfahren<sup>[3]</sup>  $\alpha$ -glycosydisch an Chitobiosylazide 2<sup>[4]</sup>,

die in Position 6 eine freie Hydroxylgruppe aufweisen, gebunden. Dazu ist es nötig, daß der Fucosyldonor 3 nicht-nachbargruppenaktiv geschützt ist (Schema 1).

Am einfachsten gelingt die Verknüpfung mit dem benzylgeschützten Fucosylbromid 3a. Zur Reduktion der Azidofunktion des so gewonnenen Trisaccharidazids 4a kann die übliche Hydrierung an Platinkatalysatoren<sup>[5]</sup> nicht herangezogen werden, da sie unter Spaltung der Benzyletherbindungen verlaufen würde. Wir erreichten eine selektive Hydrierung zum Trisaccharidamin 5a an neutral (!) gewaschenem Raney-Nickel.

Zur Synthese des geschützten fucosylierten Chitobiosyl-Asparagin-Bausteins 7a (siehe Schema 2) wird 5a in Gegenwart von Ethyl-2-ethoxy-1,2-dihydrochinolin-1-carboxylat (EEDQ)<sup>[6]</sup> mit *N*-Allyloxycarbonyl(Aloc)-asparaginsäure-*tert*-butylester 6<sup>[7]</sup> verknüpft.

Die Aloc-Gruppe kann aus dem komplexen Trisaccharid-Asparagin-Konjugat selektiv und praktisch quantitativ durch palladium(0)-katalysierte Allylgruppenübertragung auf Dimedon als schwach basischen Acceptor entfernt werden<sup>[7]</sup>. Dabei bleiben alle anderen Schutzgruppen sowie die *O*- und *N*-Glycosid-Bindungen vollkommen intakt. Anschließend Kondensation des selektiv deblockierten Trisaccharid-Asparaginesters 8a mit dem *N*-geschützten Dipeptid 9 liefert das vollgeschützte Trisaccharid-Tripeptid 11a, eine Partialstruktur aus dem Truthahnovomucoid<sup>[8]</sup>. Beim Versuch, die *tert*-Butylesterbindung von 11a mit



Schema 1. Aufbau der Fucosyl-Chitobiose-Trisaccharid-Einheit in 1. Bzl = Ph-CH<sub>2</sub>.

[\*] Prof. Dr. H. Kunz, Dr. C. Unverzagt  
Institut für Organische Chemie der Universität  
J.-J.-Becher-Weg 18-20, D-6500 Mainz

[\*\*] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie gefördert.

Trifluoressigsäure zur späteren immunologischen Auswertung selektiv zu lösen, trat vollständige Spaltung der Fucosid-Bindung ein.

Dieses nach der vielstufigen Synthese entmutigende Ergebnis zeigt, welche Empfindlichkeit den komplexen Gly-

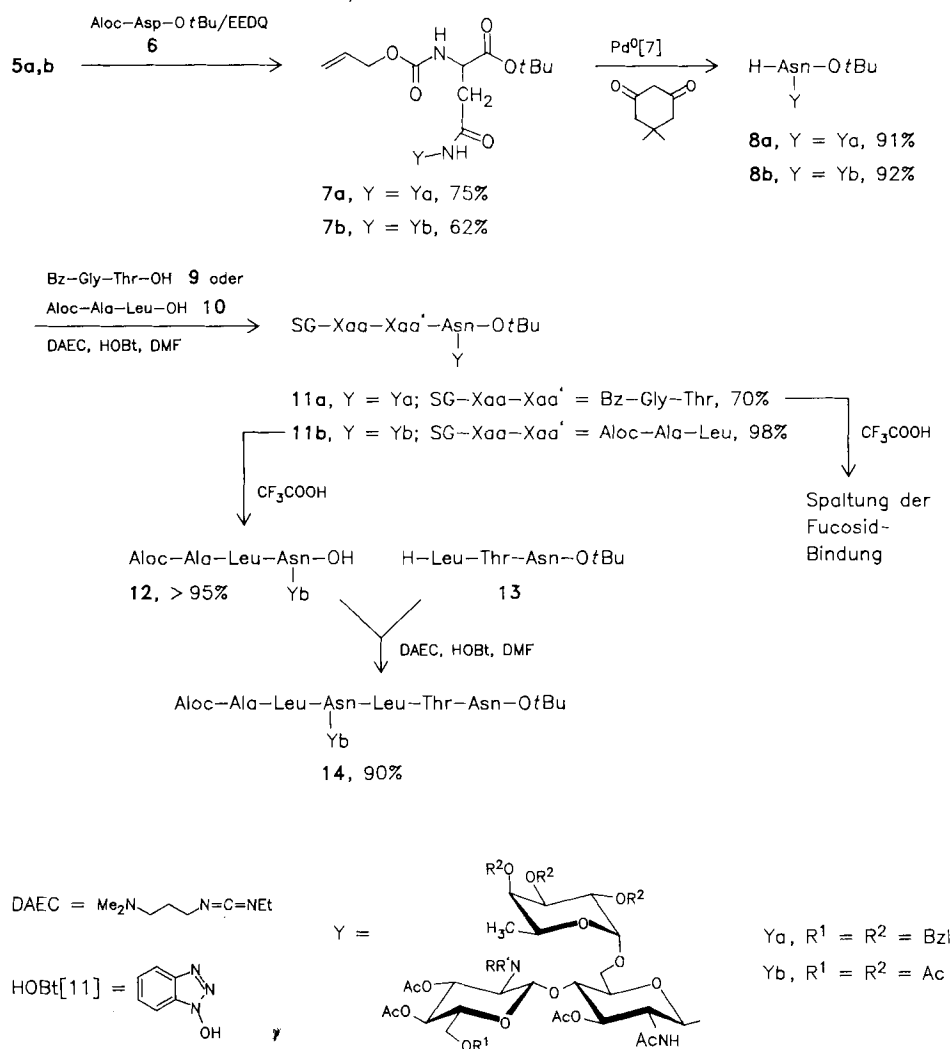
coceptiden innewohnen kann und welche Probleme schon bei der Planung der Synthese so komplexer Glykokonjugate erkannt und berücksichtigt werden müssen. Wir führen die Empfindlichkeit der Fucosid-Bindung auf die Schutzgruppen vom Ether-Typ in diesem Monosaccharid-Baustein zurück.

Deshalb haben wir ein neues Konzept zur Synthese von Fucosyl-Chitobiose-Asparagin-Derivaten des Typs **1** entwickelt, nach dem Verbindungen zugänglich sind, die im Saccharidteil möglichst ausschließlich Acylschutzgruppen (vorzugsweise Acyl = Acetyl) tragen. Zur  $\alpha$ -glycosidischen Anbindung von Fucose an das Chitobiosylazid **2b** wird der (*p*-Methoxyphenyl)methyl(Mpm)-geschützte Fucosyl-donor **3b**<sup>[10]</sup> nach dem in-situ-Anomerisierungsprinzip<sup>[4]</sup> eingesetzt (siehe Schema 1). Aus dem damit hergestellten Trisaccharidazid **4b** können durch Oxidation mit  $(\text{NH}_4)_2\text{Ce}(\text{NO}_3)_6$ <sup>[9]</sup> selektiv die Mpm-Gruppen sowie anschließend durch Hydrazinolyse die Pht-Gruppe entfernt und durch Acetylgruppen ersetzt werden. Das so in guter Ausbeute gewonnene Azid **4c** wird schließlich, wie bereits für **4a** geschildert, zum entsprechenden Trisaccharidamin (**5b**) reduziert. Durch Kondensation mit **6** erhält man das Trisaccharid-Asparagin-Konjugat **7b**, das im Kohlenhydratteil ausschließlich Acetylenschutzgruppen trägt (Schema 2).

Von dem in dieser vielstufigen Synthese aufgebauten **7b** läßt sich die Aloc-Gruppe Pd<sup>0</sup>-katalysiert wiederum selektiv

und effektiv ablösen. Der *N*-deblockierte Trisaccharid-Asparaginester **8b** ergibt mit dem Aloc-Dipeptid **10** in hoher Ausbeute das Trisaccharid-Tripeptid **11b**. Dieses Glykokonjugat wird nun für die spätere C-terminale Kettenverlängerung oder für die Anbindung an einen Träger mit Trifluoressigsäure behandelt. Nach 2 h bei Raumtemperatur ist die Spaltung der *tert*-Butylesterbindung vollständig, ohne daß eine Spaltung der  $\alpha$ -Fucosid-Bindung zu beobachten ist. Das selektiv C-terminal deblockierte Trisaccharid-Tripeptid **12** wird praktisch quantitativ isoliert.

Die Fucosid-Bindung ist deutlich säurelabiler als die entsprechende Galactosid-Bindung<sup>[12]</sup>. Im gegensätzlichen Verhalten der Trisaccharid-Tripeptide **11a** und **11b** gegenüber Trifluoressigsäure wird ein starker Einfluß der *O*-Schutzgruppen im Fucoseil auf die Säurestabilität dieser Bindung deutlich. Wir führen den stabilisierenden Effekt der *O*-Acetylgruppen in **11b** auf die Intersaccharid-Bindung darauf zurück, daß in diesem und in analogen Glykokonjugaten die Carbonylsauerstoffatome der Acylschutzgruppen protoniert werden. Durch eine Coulomb-Abstoßung werden so die weitere Protonierung der Intersaccharid- und der Ring-Sauerstoffatome und damit die Saccharid-Spaltung verhindert. Die Acetylgruppen blockieren also nicht nur die Hydroxylfunktionen der Fucose, sondern sie schützen auch ein besonders empfindliches Strukturelement, an das sie gar nicht unmittelbar gebunden sind: die Intersaccharid-Bindung. Dieser Effekt ist für die



Schema 2. Synthese des Fucosyl-Chitobiose-Glycopeptids **14**. DMF = Dimethylformamid.

Entwicklung und Durchführung von Synthesen solch komplexer, empfindlicher Glycopeptide von großer praktischer Bedeutung, weil er die Bedingungen definiert, unter denen die leistungsfähigen, bewährten *tert*-Butylschutzgruppen beim Aufbau der polyfunktionellen Glycokonjugate eingesetzt werden können. Er erklärt auch die beobachtete Stabilität von *O*-Glycosid-Bindungen in Synthesen von Serin- und Threonin-Glycopeptiden<sup>[13]</sup> und die erstaunliche Stabilität der Intersaccharid-Bindung in Chitobiosyl-*N*-Glycopeptiden sogar gegenüber starken Säuren<sup>[14]</sup>.

Das C-terminal deblockierte Glycopeptid **12** wird mit dem Tripeptidester **13** zum Trisaccharid-Hexapeptid **14**<sup>[15]</sup> verknüpft. **14** ist das erste sowohl über *N*- als auch über C-terminale Deblockierung hergestellte Fucose-haltige Trisaccharid-Glycopeptid und entspricht einer Partialstruktur der Verknüpfungsregion des Hüllproteins eines Leukämie-Virus<sup>[16]</sup>.

Eingegangen am 20. Juli 1988 [Z 2875]

- [1] Übersicht: M. C. Glick in E. F. Walborg, Jr. (Hrsg.): *Glycoproteins and Glycolipids in Disease Processes* (ACS Symp. Ser. 80 (1978)), S. 404.  
 [2] a) A. Kobata, K. Yamashita, *Pure Appl. Chem.* 56 (1984) 821; b) K. Yamashita, J. Ueda, M. Kuroki, Y. Matsuoka, A. Kobata, *Proc. 8th Int. Symp. Glycoconjugates* (Houston, Texas, USA 1985).  
 [3] R. U. Lemieux, K. B. Hendriks, R. V. Stick, K. James, *J. Am. Chem. Soc.* 97 (1975) 4056.  
 [4] C. Unverzagt, *Dissertation*, Universität Mainz 1988; über die Einzelheiten der Synthese wird an anderer Stelle ausführlich berichtet werden.  
 [5] C. H. Bolton, L. Hough, M. Y. Khan, *Biochem. J.* 101 (1966) 184.  
 [6] B. Belleau, G. Malek, *J. Am. Chem. Soc.* 90 (1968) 1651.  
 [7] a) H. Kunz, C. Unverzagt, *Angew. Chem.* 96 (1984) 426; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 23 (1984) 436; b) H. Kunz, H. Waldmann, C. Unverzagt, *Pept. Proc. Eur. Pept. Symp. 19th 1986* (1987), 615.  
 [8] E. M. Taga, A. Waheed, R. L. van Etten, *Biochemistry* 23 (1984) 815.  
 [9] R. Johansson, B. Samuelsson, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* 1984, 2371.  
 [10] Die Mpm-Gruppe wurde bereits in der Synthese eines analogen Fuco-syl-Chitobiose-Trisaccharids eingesetzt: H. H. Lee, D. A. Schwartz, J. F. Harris, J. P. Carver, J. J. Krepinski, *Can. J. Chem.* 64 (1986) 1912.  
 [11] W. König, R. Geiger, *Chem. Ber.* 103 (1970) 788.  
 [12] W. G. Overend, C. W. Rees, J. S. Sequeira, *J. Chem. Soc.* 1962, 3429.  
 [13] a) V. Verez Bencomo, P. Sinaý, *Carbohydr. Res.* 116 (1983) C9; b) H. Paulsen, M. Schultz, J. D. Klamann, B. Waller, M. Paal, *Liebigs Ann. Chem.* 1985, 2028.  
 [14] H. Kunz, H. Waldmann, *Angew. Chem.* 97 (1985) 885; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 24 (1985) 883.  
 [15] **14**:  $[\alpha]_D^{25} = -42.3$  (0.1, MeOH);  $R_f = 0.60$  (CHCl<sub>3</sub>/MeOH = 5/1); FAB-MS:  $m/z$  1632 ( $M+1$ ), 1654 ( $M+Na$ ); 100MHz-<sup>13</sup>C-NMR (CD<sub>3</sub>COODMSO):  $\delta = 172.0-169.0$  (C=O), 155.5 (Urethan-C), 133.4 (=CH), 116.9 (H<sub>2</sub>C=), 99.3 (C-1'), 95.1 (C-1''), 80.4 (C<sub>4</sub> von *t*Bu), 77.5 (C-1), 66.5 ( $\beta$ -C, Thr), 36.7 ( $\beta$ -C, Asn), 22.5 (NAc), 21.5 ( $\delta$ -C, Leu), 20.6-20.3 (OAc), 19.3 ( $\gamma$ -CH<sub>3</sub>, Thr), 180 (CH<sub>3</sub>, Ala), 15.3 (CH<sub>3</sub>, Fuc). C-1 und C-1' sind die anomeren C-Atome der GlcNAc-Einheiten am reduzierenden bzw. nicht-reduzierenden Ende der Chitobiose.  
 [16] M. Schlüter, D. Linder, R. Geyer, *Carbohydr. Res.* 138 (1985) 305.

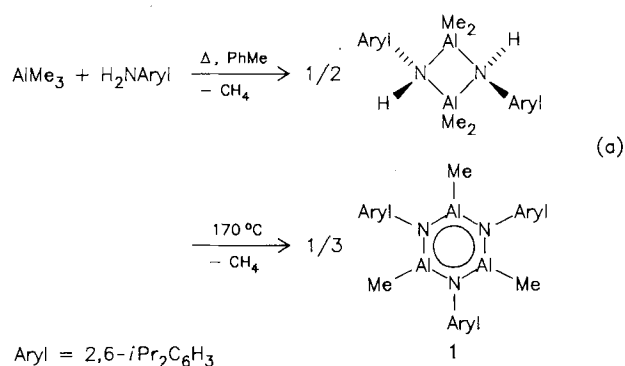
## Synthese und Struktur von [MeAlN(2,6-*i*Pr<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>)<sub>3</sub>]<sub>3</sub>: Ein Aluminium-Stickstoff-Analogon von Borazol\*\*

Von Krista M. Waggoner, Håkon Hope und Philip P. Power\*

Die Poly(*N*-alkyliminoalane) (RAINR')<sub>n</sub> bilden eine interessante Klasse von Aluminium-Stickstoff-Verbindungen<sup>[1]</sup>. Sie sind höchst bemerkenswert wegen der Vielfalt und Neuartigkeit ihrer Strukturen, meist dreidimensionale Al-N-Gerüste, in denen sowohl die Al- als auch die N-Atome vierfach koordiniert sind. In der einfachsten Struk-

tur liegt als Grundgerüst ein regulärer Al<sub>4</sub>N<sub>4</sub>-Kubus vor, so z. B. in (PhAlNPh)<sub>4</sub><sup>[2]</sup>. Es wurden auch höher aggregierte Verbindungen (RAINR')<sub>n</sub> mit  $n \leq 16$  beschrieben, und von einer Reihe derartiger Verbindungen mit H sowie unterschiedlichen Alkyl- und Arylgruppen als Substituenten R und R' sind für  $n = 4, 6, 7$  und  $8$  die Strukturen bekannt<sup>[1]</sup>. Bisher wurde jedoch noch über keine Aggregate mit  $n < 4$  berichtet. Solche Aggregate wären aber von besonderem Interesse, da sie Al-N-Mehrfachbindungen (z. B. für  $n = 1$ ) sowie möglicherweise ein aromatisches Ringsystem (für  $n = 3$ ) aufweisen sollten.

Wir berichten nun über das erste trimere Iminoalan **1**, das röntgenstrukturanalytisch sowie <sup>1</sup>H- und <sup>27</sup>Al-NMR-spektroskopisch charakterisiert wurde. Verbindung **1** wurde in hoher Ausbeute in Form farbloser Kristalle über eine zweistufige Eliminierungsreaktion aus AlMe<sub>3</sub> und 2,6-*i*Pr<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>NH<sub>2</sub> erhalten [Gl. (a)].



Die Struktur von **1** im Kristall<sup>[3]</sup> ist in Abbildung 1 wiedergegeben. Sie weist einen zentralen planaren sechsgliedrigen Ring auf, in dem Al und N alternieren und die durchschnittliche Bindungslänge 1.78 Å beträgt. Die Al- und die N-gebundenen C-Atome sind coplanar mit dem zentralen Ring. Der Al-N-Abstand in höheren Polyiminoalanen liegt zwischen 1.89 und 1.96 Å<sup>[1]</sup>. Da dies immer

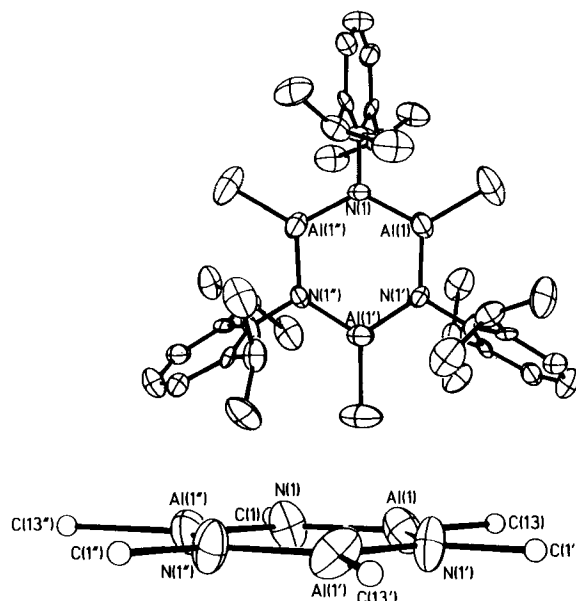


Abb. 1. Zwei Ansichten der Struktur von **1** im Kristall (H-Atome der Übersichtlichkeit halber weggelassen). Ausgewählte Bindungslängen [Å] und -winkel [°]: Al(1)-N(1) 1.782(4), Al(1)-C(13) 1.978(15), N(1)-C(1) 1.442(14); N(1)-Al(1)-N(1') 115.3(5), Al(1)-N(1)-Al(1'') 124.7(5). Der Diederwinkel zwischen dem Al<sub>3</sub>N<sub>3</sub>- und dem C(1)-Ring beträgt 75.2°.

[\*] Prof. P. P. Power, K. M. Waggoner, Prof. H. Hope  
Department of Chemistry, University of California  
Davis, CA 95616 (USA)

[\*\*] Diese Arbeit wurde von der National Science Foundation gefördert. Wir danken R. A. Bartlett und Dr. M. M. Olmstead für hilfreiche Diskussionen und experimentelle Unterstützung.