

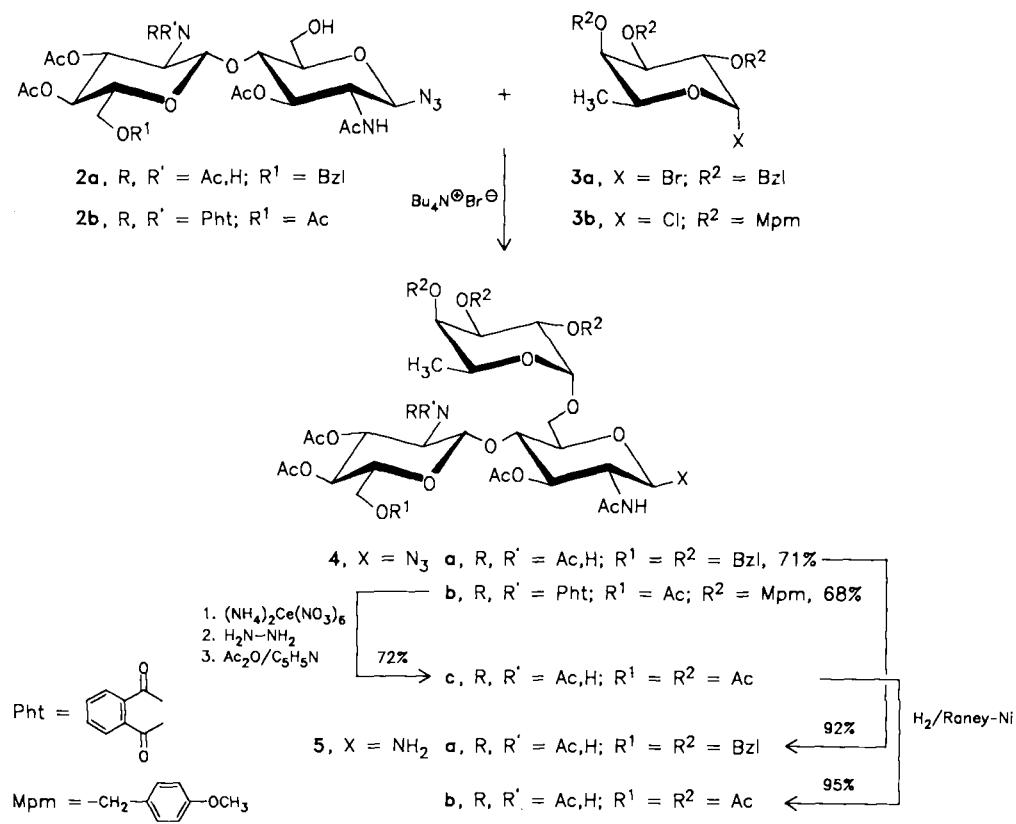
**Schutzgruppenabhängige Stabilität von
Intersaccharid-Bindungen –
Synthese eines Fucosyl-Chitobiose-Glycopeptids****

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^[1]. Glycopeptide, die in den Oligosaccharidseitenketten fucosyliert sind, interessieren deshalb als potentielle tumorassoziierte Zellmembran-Antigene^[2]. 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^[3] α -glycosydisch an Chitobiosylazide 2^[4],



Schema 1. Aufbau der Fucosyl-Chitobiose-Trisaccharid-Einheit in 1. Bzl = Ph-CH₃.

[*] 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.

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^[5] 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)^[6] mit *N*-Allyloxycarbonyl(Aloc-)asparaginsäure-*tert*-butylester 6^[7] 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^[7]. Dabei bleiben alle anderen Schutzgruppen sowie die *O*- und *N*-Glycosid-Bindungen vollkommen intakt. Anschließende Kondensation des selektiv deblockierten Trisaccharid-Asparaginesters 8a mit dem *N*-geschützten Dipeptid 9 liefert das vollgeschützte Trisaccharid-Tripeptid 11a, eine Partialstruktur aus dem Truthahnovomucoid^[8]. Beim Versuch, die *tert*-Butylesterbindung von 11a mit

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-

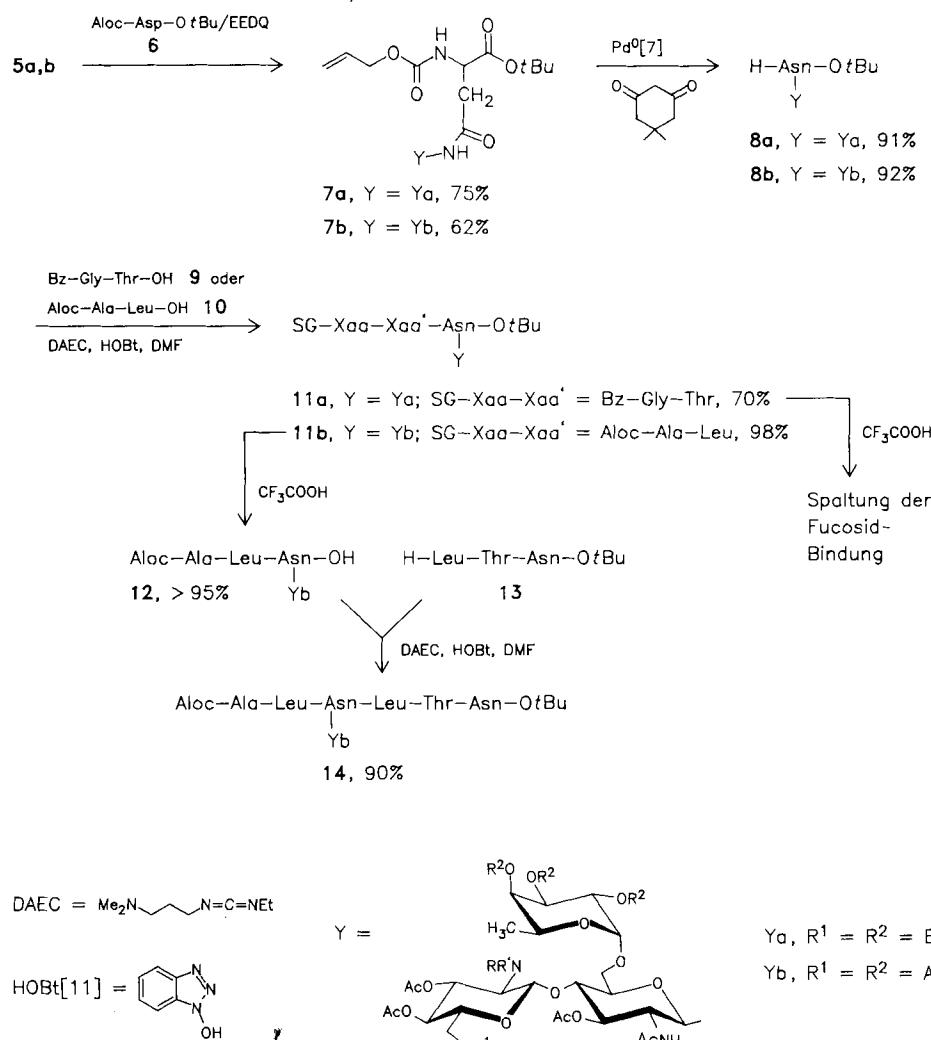
copeptiden innewohnen kann und welche Probleme schon bei der Planung der Synthese so komplexer Glycokonjugate erkannt und berücksichtigt werden müssen. Wir führen die Empfindlichkeit der Fucosid-Bindung auf die Schutzgruppen vom Ether-Typ in diesem Monosaccharid-Baustein zurück.

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 α -glycosidischen Anbindung von Fucose an das Chitobiosylazid **2b** wird der (*p*-Methoxyphenyl)methyl(Mpm)-geschützte Fucosyl-donor **3b**^[10] nach dem in-situ-Anomerisierungsprinzip^[14] eingesetzt (siehe Schema 1). Aus dem damit hergestellten Trisaccharidazid **4b** können durch Oxidation mit $(\text{NH}_4)_2\text{Ce}(\text{NO}_3)_6$ ^[9] 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 Acylschutzgruppen trägt (Schema 2).

Von dem in dieser vielstufigen Synthese aufgebauten **7b** lässt sich die Aloc-Gruppe Pd^0 -katalysiert wiederum selektiv abspalten.

tiv 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 α -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^[12]. Im gegensätzlichen Verhalten der Trisaccharid-Tripeptide **11a** und **11b** gegenüber Trifluoressigsäure wird ein starker Einfluß der *O*-Schutzgruppen im Fucoseteil 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 Glykogenkonzugaten 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 Glykokonjugate eingesetzt werden können. Er erklärt auch die beobachtete Stabilität von *O*-Glycosid-Bindungen in Synthesen von Serin- und Threonin-Glycopeptiden^[13] und die erstaunliche Stabilität der Intersaccharid-Bindung in Chitobiosyl-*N*-Glycopeptiden sogar gegenüber starken Säuren^[14].

Das *C*-terminal deblockierte Glycopeptid **12** wird mit dem Tripeptidester **13** zum Trisaccharid-Hexapeptid **14**^[15] 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 Leukämievirus^[16].

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 Fucosyl-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); $R_f = 0.60$ (CHCl₃/MeOH = 5/1); FAB-MS: m/z 1632 ($M + 1$), 1654 ($M + Na$); 100MHz-¹³C-NMR ($^2\text{D}_6$)/DMSO: $\delta = 172.0$ –169.0 (C=O), 155.5 (Urethan-C), 133.4 (=CH), 116.9 (H₂C=), 99.3 (C-1'), 95.1 (C-1', Fuc), 80.4 (C_q von tBu), 77.5 (C-1), 66.5 (β -C, Thr), 36.7 (β -C, Asn), 22.5 (NAc), 21.5 (δ -C, Leu), 20.6–20.3 (OAc), 19.3 (γ -CH₃, Thr), 180 (CH₃, Ala), 15.3 (CH₃, Fuc). C-1 und C-1' sind die anomeren C-Atome der GlcNAc-Einheiten am reduzierenden bzw. nicht-reduzierenden Ende des Chitobiose.
- [16] M. Schlüter, D. Linder, R. Geyer, *Carbohydr. Res.* 138 (1985) 305.

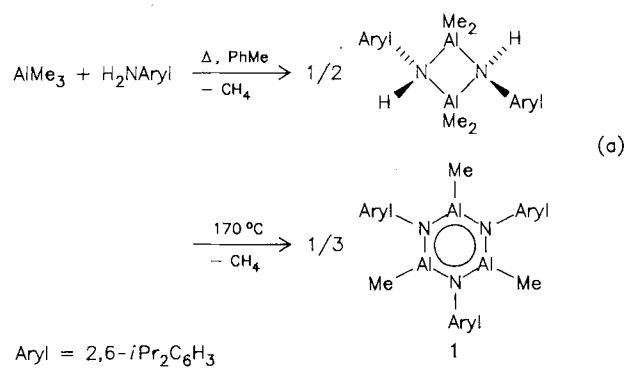
Synthese und Struktur von $[\text{MeAlN}(2,6-i\text{Pr}_2\text{C}_6\text{H}_3)]_3$: Ein Aluminium-Stickstoff-Analogon von Borazol^{**}

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

Die Poly(*N*-alkyliminoalane) (RAINR'_n) bilden eine interessante Klasse von Aluminium-Stickstoff-Verbindungen^[1]. 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 Struktur

liegt als Grundgerüst ein regulärer Al_4N_4 -Kubus vor, so z. B. in $(\text{PhAlNPh})_4$ ^[2]. Es wurden auch höher aggregierte Verbindungen (RAINR'_n) 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^[1]. 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 ¹H- und ²⁷Al-NMR-spektroskopisch charakterisiert wurde. Verbindung **1** wurde in hoher Ausbeute in Form farbloser Kristalle über eine zweistufige Eliminierungsreaktion aus AlMe_3 und $2,6-i\text{Pr}_2\text{C}_6\text{H}_3\text{NH}_2$ erhalten [Gl. (a)].



Die Struktur von **1** im Kristall^[3] 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 liegt zwischen 1.89 und 1.96 Å^[1]. Da dies immer

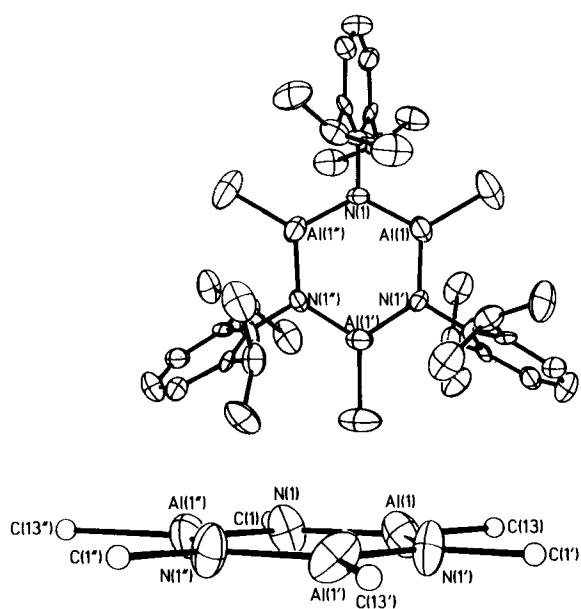


Abb. 1. Zwei Ansichten der Struktur von **1** im Kristall (H-Atome der Übersichtlichkeit halber weggelassen). Ausgewählte Bindungslängen [Å] und -winkel [°]: Al(1)-N(1) 1.782(4), Al(1)-C(13) 1.978(15), N(1)-C(1) 1.442(14); N(1)-Al(1)-N(1') 115.3(5), Al(1)-N(1)-Al(1') 124.7(5). Der Diederwinkel zwischen dem Al_3N_3 - 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.