

Kurze Synthese eines biologisch aktiven, Heparin-ähnlichen Pentasaccharids mit pseudo-alternierender Sequenz**

Von Hans Lucas, Jan E. M. Basten, Peter Konradsson und Constant A. A. van Boeckel*

Es gilt heute als sicher, daß nur ein kleiner heterogener Pentasaccharid-Teilbereich^[1, 2] des gerinnungshemmenden Wirkstoffes Heparin (ein Glycosaminoglycan) die Anti-thrombin-III(AT III)-vermittelte Inaktivierung des Blutgerinnungsfaktors Xa (α Xa-Aktivität) bewirkt. Das synthetische Pentasaccharid **15a**, das in 3-Stellung einen zusätzliche Sulfatrest in der Einheit H^[3] enthält (Abb. 1), erwies sich mit einer α Xa-Aktivität von 1250 U mg⁻¹ als eines der aktivsten Gegenstücke dieses ungewöhnlichen Heparinteilbereichs.

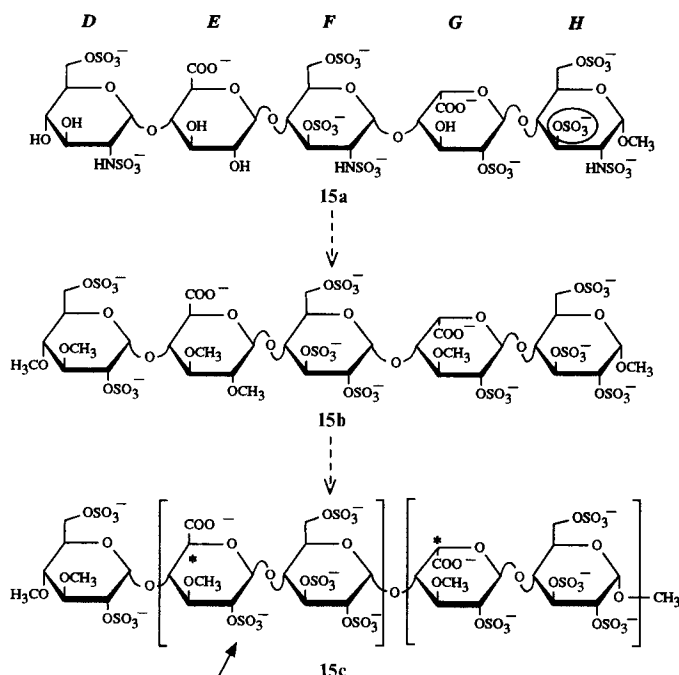


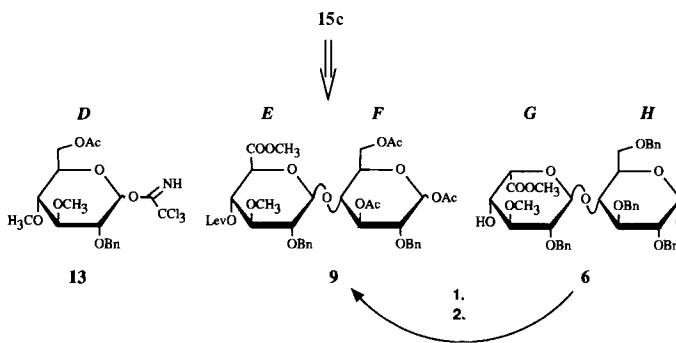
Abb. 1. Der Ersatz aller *N*-Sulfatreste in **15a** durch Sulfatreste und Methylierung aller freien OH-Gruppen führt zu dem aktiven Nicht-Glycosaminoglycan-Analogon **15b**. Im Analogon **15c** wurde in das Teilstück E eine zusätzliche Sulfatgruppe in 2-Stellung eingeführt (siehe Pfeil), um eine pseudo-alternierende Sequenz zu schaffen. Die Disaccharidfragmente zwischen den Klammern unterscheiden sich nur in der Konfiguration an C5 der Uronsäure-Einheiten (*).

Kürzlich entdeckte man, daß der Austausch aller *N*-Sulfatreste in **15a** durch Sulfatreste und die Methylierung aller freien Hydroxygruppen^[4] zum hochmodifizierten „Nicht-Glycosamino“glycan-Analogon **15b** die biologische Aktivität sogar noch steigerte (Verbindung **15b** hat eine α Xa-Aktivität von 1323 U mg⁻¹). Verglichen mit Synthesen von Pentasacchariden, die dem Heparinteilbereich entsprechen, ist die Herstellung des Nicht-Glycosaminoglycan-Analogons wesentlich einfacher, weil a) die freien Hydroxygruppen permanent als Methylether blockiert sind, was bedeutet,

daß man auf die für die Synthese von Heparinfragmenten erforderliche Schutzgruppenchemie verzichten kann, da es nicht notwendig ist, zwischen sulfatierten (Acylestern) und nicht-sulfatierten (Benzylethern) Hydroxygruppen zu unterscheiden; b) keine α -verknüpften Glucosamine vorliegen, für die komplizierte Synthesewege zu Azid-haltigen Bausteinen erforderlich sind; c) am Ende der Synthese keine selektive *N*-Sulfatierung durchgeführt werden muß.

Mit dem vereinfachten Derivat **15b** in Händen fragten wir uns, ob es zu dieser Verbindung oder zu eng verwandten Analoga sogar noch kürzere Synthesewege gibt. Im Hinblick darauf planten wir das Analogon **15c** (Abb. 1) mit einer pseudo-alternierenden Sequenz, d. h. mit dem 2-Sulfatrest in der Einheit E haben die Disaccharidfragmente EF und GH das gleiche Substitutionsmuster.

Der einzige noch verbleibende Unterschied zwischen den Disaccharidfragmenten EF und GH in **15c** ist die entgegengesetzte Konfiguration an C5 der Uronsäure-Einheiten. Daher konnte ein kürzerer Syntheseweg zu **15c**^[5] entwickelt werden, bei dem das Disaccharidfragment EF aus seinem Gegenstück GH durch Epimerisierung erhalten wird^[6]. Um jedoch den epimerisierten GH-Baustein in einen geeigneten EF-Glycosyldonor zu überführen, ist auch die Acetolyse des blockierten anomeren Zentrums von zentraler Bedeutung (Schema 1).



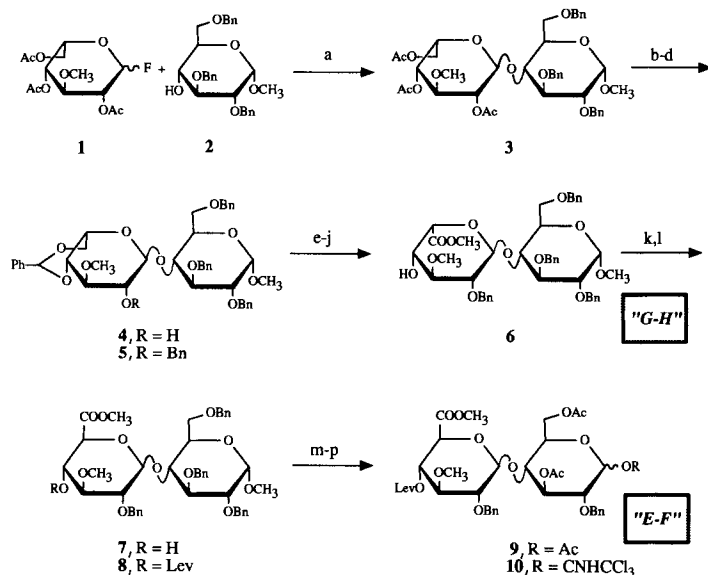
Schema 1. Retrosynthetische Analyse des Pentasaccharids **15c**. Dessen Darstellung basiert auf der Epimerisierung (1.) und Acetolyse (2.) des Iduronsäure-GH-Disaccharidacceptors **6** zu einem EF-Donor.

Die Schlüsselverbindung bei der Synthese des Pentasaccharids **15c** ist der geeignet geschützte Iduronsäure-Baustein **6**. Da die erforderliche Epimerisierung unter stark basischen Bedingungen durchgeführt wird, mußten wir den GH-Baustein **6** ausschließlich mit Benzylgruppen schützen. Dies ist bei dieser neuen Reihe von Pentasacchariden glücklicherweise kein Problem (im Gegensatz zur Synthese der natürlichen Fragmente), da wir für alle zu sulfatierenden Hydroxygruppen Ether- oder Esterschutzgruppen wählen können. Die Glycosylierung des Glycosylacceptors **2**^[7] mit dem bekannten 3-*O*-Methyldipyranosylfluorid **1**^[4a] in Gegenwart von Et₂O · BF₃ und Molekularsieb 4 Å in Dichlormethan bei 0 °C ergab das Disaccharid **3** in 90% Ausbeute (Schema 2). Verseifung der Estergruppen in **3** und nachfolgende Acetalisierung lieferte die Zwischenstufe **4** in einer Gesamtausbeute von 64%. Anschließend wurde die freie Hydroxygruppe der Verbindung **4** quantitativ unter Bildung von kristallinem **5** benzyliert. Diese Verbindung konnte nach bekannten Verfahren^[4a, 8] in 41% Gesamtausbeute zur Schlüsselverbindung **6** umgesetzt werden. Zur Epimerisierung an C5' wurde **6** mit Natriummethanolat in siedendem Methanol 16 h behandelt. Trotz der strikt wasserfreien Bedingungen konnte eine Hydrolyse des Methylesters während der Epimerisierung nicht vermieden werden. Daher wurde die freie Carbo-

[*] Dr. C. A. A. van Boeckel, H. Lucas, J. E. M. Basten, Dr. P. Konradsson
AKZO Pharma Division
Organon Scientific Development Group
P. O. Box 20, NL-5340 BH Oss (Niederlande)

[**] Diese Arbeit wurde vom Eureka-Programm der Europäischen Gemeinschaft (EU 237) gefördert. Wir danken der SANOFI Recherche Carbohydrate Chemistry Group (Maurice Petitou) für hilfreiche Diskussionen und T. van Dinther vom Department of Vascular Pharmacology für die Bestimmung der α Xa-Aktivitäten.

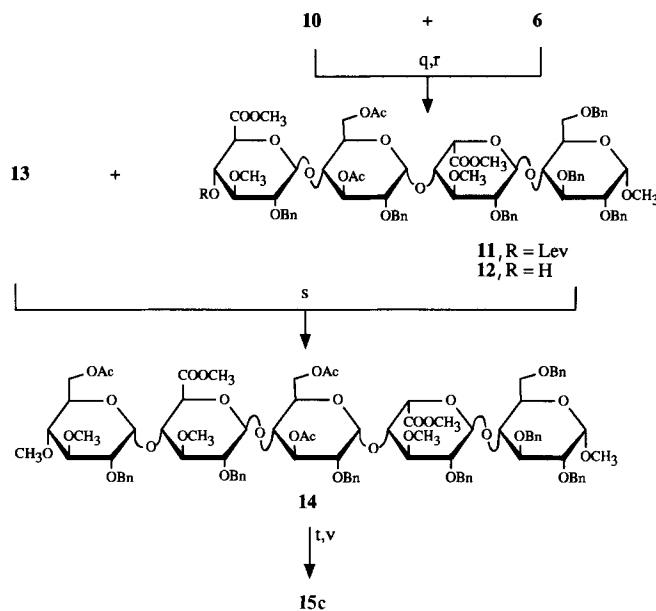
xygruppe nach Neutralisation des Reaktionsgemisches mit DOWEXH⁺ mit Methyljodid in *N,N'*-Dimethylformamid (DMF) in Gegenwart von KHCO₃ zu einem Gemisch aus 7 und 6 (Verhältnis 10:1) methyliert. Nach Reinigung über Kieselgel konnte das Glucuronsäure-Fragment 7 in etwa 73% Ausbeute zusammen mit zurückgewonnenem 6 (7%) isoliert werden. Blockieren der freien 4'-Hydroxygruppe in 7 durch Veresterung mit Lävulinsäure ergab Verbindung 8, die mit einem Gemisch aus Trifluoressigsäure, Acetanhydrid und Essigsäure (3.5/25/1, v/v/v) acetyliert wurde. Unter den angegebenen Bedingungen beobachteten wir nicht nur die Acetolyse des anomeren Zentrums, sondern auch der 3- und 6-Benzylether^[9, 10]. Glücklicherweise wurde der 2-Benzylether, der für die spätere Bildung der α -Glycosidbindung essentiell ist, nicht angegriffen. Nach zwei Tagen bei Raumtemperatur hatte sich das Disaccharid 9 nahezu quantitativ gebildet. Das anomere Acetat der Verbindung 9 wurde selektiv durch Piperidin in THF entfernt; die anschließende Einführung der Trichloracetimidatgruppe in einem Gemisch aus Dichlormethan und Trichloracetonitril in Gegenwart von Caesiumcarbonat^[11] lieferte den gewünschten EF-Glycosyldonor 10 in 75% Gesamtausbeute.



Schema 2. a) BF₃ · OEt₂, CH₂Cl₂, Molekularsieb (MS) 4 Å, 0°C, 1 h (90%); b) KOtBu, MeOH, Dioxan, Raumtemperatur (RT), 1 h (92%); c) C₆H₅CH(OCH₃)₂, *p*-TsOH, RT, 1.5 h (70%); d) BnBr, NaH, DMF, RT, 2 h (100%); e) 70% Trifluoressigsäure (TFA), CH₂Cl₂, RT, 1 h (82%); f) *tert*-Butyldimethylsilylchlorid (TBDMSiCl), Pyridin, RT, 16 h; g) Lävulinsäure, *N,N*-Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) Dioxan, 4-Dimethylaminopyridin (DMAP), RT 2 h; h) CrO₃, H₂O, H₂SO₄, Aceton, RT, 3 h; i) KCHO₃, CH₃I, DMF, MS 4 Å, RT, 3 h; j) H₂NNH₂ · H₂O, HOAc, Pyridin, RT, 6 min. (50%, Stufen f-j); k) NaOMe, MeOH, Rückfluß, 16 h; l) KHCO₃, CH₃I, DMF, MS 4 Å, RT, 3 h (73%, Stufen k-l); m) Lävulinsäure, DCC, Dioxan, DMAP, RT, 2 h (97%); n) HOAc/Ac₂O/TFA 1/25/3.5, RT, 2 d; o) Piperidin, THF, RT, 16 h; p) Cs₂CO₃, NCCl₃, CH₂Cl₂, RT, 0.5 h (75%, Stufen n-p). Lev = OC(O)CH₂CH₂C(O)CH₃.

Die Verknüpfung des Disacchariddonors EF (Verbindung 10, 1.2 Äquiv.) mit dem Acceptor GH (Verbindung 6) in Dichlormethan mit Trimethylsilyltriflat als Katalysator in Gegenwart von Molekularsieb 4 Å bei -15°C ergab das Tetrasaccharid 11 in 75% Ausbeute (Schema 3). Die selektive Abspaltung des Lävulinoylrestes in 11 führte zum Acceptor 12, der dann mit dem bekannten Glycosyldonor 13^[4c] bei niedriger Temperatur unter den gleichen Bedingungen wie für die Darstellung von 11 beschrieben glycosyliert wurde. Das vollständig geschützte Pentasaccharid 14 wurde nach

Chromatographie in 65% Ausbeute erhalten. Stufenweise Verseifung, Hydrierung und Sulfatierung der Verbindung 14 nach bekannten Methoden^[12, 13] ergab das *O*-methylierte/sulfatierte Derivat 15c in ca. 76% Gesamtausbeute. Das Pentasaccharid 15c^[14] zeigte im Amidolyse-Assay eine hohe α Xa-Aktivität von 1025 Umg⁻¹.



Schema 3. q) Me₃SiO₃SCF₃(TMSOTf), CH₂Cl₂, MS 4 Å, -15°C, 1 h (75%); r) H₂NNH₂ · H₂O, HOAc, Pyridin, RT, 6 min. (90%); s) TMSOTf, CH₂Cl₂, MS 4 Å, -20°C, 1 h (65%); t) LiOOH, THF, 0°C, 16 h, NaOH, MeOH, RT, 16 h (90%); u) Pd/C, H₂, RT, 16 h (94%); v) Et₃N · SO₃-Komplex, DMF, 55°C, 16 h, G-25 Sephadex-Chromatographie (90%).

Im Vergleich zur Synthese von Naturstoffanaloga (z.B. Verbindung 15a), die 60 oder mehr Stufen erfordert, können wir nun ein biologisch aktives Pentasaccharid sehr viel effizienter herstellen und eröffnen damit neue Perspektiven für die Entwicklung biologisch aktiver Heparin-ähnlicher Wirkstoffe.

Eingegangen am 30. September 1992 [Z 5605]

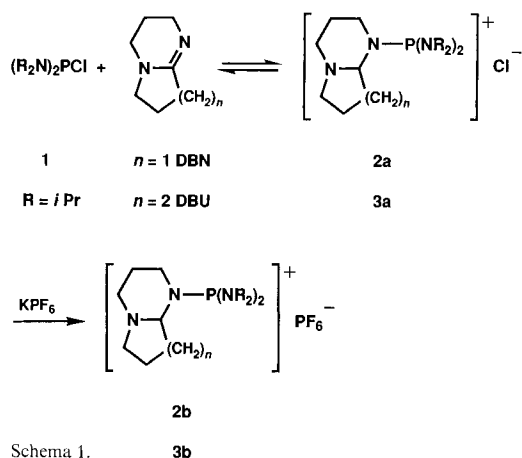
- [1] U. Lindahl, G. Backstrom, L. Thunberg, *Carbohydr. Res.* **1982**, 100, 393.
- [2] J. Choay, J.-C. Lormeau, M. Petitou, P. Sinaÿ, J. Fareed, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1981**, 370, 664.
- [3] C. A. A. van Boeckel, T. Beetz, S. F. van Aelst, *Tetrahedron Lett.* **1988**, 29, 803.
- [4] a) G. Jaurand, J. Basten, I. Lederman, C. A. A. van Boeckel, M. Petitou, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1992**, 2, 897; b) J. Basten, G. Jaurand, B. Olde-Hanter, M. Petitou, C. A. A. van Boeckel, *ibid.* **1992**, 2, 901; c) J. Basten, G. Jaurand, B. Olde-Hanter, P. Duchaussoy, M. Petitou, C. A. A. van Boeckel, *ibid.* **1992**, 2, 905.
- [5] Ein ähnlicher Syntheseweg kann für das methylierte/sulfatierte Analogon mit 2,3-Di-*O*-methyl-substituierten Uronsäure-Einheiten beschriftet werden. Die Herstellung dieser und anderer Verbindungen aus der Reihe der methylierten/sulfatierten Analoga wird an anderer Stelle veröffentlicht werden.
- [6] Offenbar ist die Konfiguration der Glucuronsäure-Einheit energetisch bevorzugt gegenüber der entsprechenden Iduronsäure. Epimerisierungsversuche an Glucuronsäure-Modellverbindungen führten kaum oder gar nicht zu den Iduronsäuren.
- [7] P. J. Garegg, H. Hultberg, *Carbohydr. Res.* **1981**, 93, C10.
- [8] C. A. A. van Boeckel, T. Beetz, J. N. Vos, A. J. M. de Jong, S. F. van Aelst, R. H. van den Bosch, J. M. R. Mertens, F. A. van der Vlugt, *J. Carbohydr. Chem.* **1985**, 4, 293.
- [9] R. Eby, S. J. Sondheimer, C. Scheurch, *Carbohydr. Res.* **1979**, 73, 273.
- [10] J. Sakai, T. Takeda, Y. Ogihara, *Carbohydr. Res.* **1981**, 95, 125.
- [11] F. J. Urban, B. S. Moore, R. Breitenbach, *Tetrahedron Lett.* **1990**, 31, 4421.

- [12] M. Petitou, P. Duchaussoy, I. Lederman, J. Choay, P. Sinaÿ, J.-C. Jacquinet, G. Torri, *Carbohydr. Res.* **1986**, *147*, 221.
- [13] H. Lucas, J. E. M. Basten, T. G. van Dinther, D. G. Meuleman, S. F. van Aelst, C. A. A. van Boeckel, *Tetrahedron* **1990**, *46*, 8207.
- [14] ¹H-NMR-Daten (360 MHz, D₂O, Standard HOD): Das ¹H-NMR-Spektrum von **15c** wurde mit von 2D-COSY-Techniken vollständig zugeordnet. Folgende Signale sind von Bedeutung: Teil H: δ = 5.14 (d, J = 3.8 Hz, 1 H, H1), 4.59 (m, 1 H, H3), 3.46 (s, 3 H, OCH₃); Teil G: δ = 5.16 (d, J = 5.0 Hz, 1 H, H1), 4.41 (dd, J = 9.0, 5.0 Hz, 1 H, H2), 3.81 (dd, J = 4.2, 9.0 Hz, 1 H, H3), 4.96 (d, J = 3.6 Hz, 1 H, H5); Teil F: δ = 5.48 (d, J = 4.0 Hz, 1 H, H1), 4.35 (c, 1 H, H2), 4.59 (c, 1 H, H3); Teil E: δ = 4.75 (d, J = 8.1 Hz, 1 H, H1), 3.63 (c, 1 H, H3), 3.80 (t, J = 9.6 Hz, 1 H, H5); Teil D: δ = 5.53 (d, J = 3.6 Hz, 1 H, H1), 4.20 (dd, J = 3.6, 10.0 Hz, 1 H, H2), 3.67 (c, 1 H, H3), 3.41 (t, J = 9.6 Hz, 1 H, H4); [α]_D = +39.8 (c = 1.05, H₂O). MS (FAB⁺): m/z 2013 [M + Na]⁺, 1991 [M + H]⁺; MS (FAB⁻): m/z 1967 [M - Na]⁻.

DBU und DBN als starke Nucleophile: Kristallstrukturen onio- und dioniosubstituierter Phosphane**

Von Robert Reed, Régis Réau, Françoise Dahan
und Guy Bertrand*

Baseninduzierte intra- und intermolekulare Dehydrohalogenierungen sind Schlüsselreaktionen in der Organischen und in der Anorganischen Chemie. Seit den siebziger Jahren wurde die Nützlichkeit von DBU (1,8-Diazabicyclo[5.4.0]-undec-7-en) und DBN (1,5-Diazabicyclo[4.3.0]non-5-en) bei diesen Reaktionen immer wieder unter Beweis gestellt^[1], obwohl dabei oftmals Beobachtungen gemacht wurden, die nicht erklärt werden konnten^[2]. In dieser Arbeit zeigen wir, daß diese auch als „nicht-nucleophile starke Basen“ bekannten^[1, 3] bicyclischen Amidine wie starke Nucleophile reagieren können; hierzu werden Röntgenstrukturanalysen von onio- und dioniosubstituierten Phosphanen („Weiß-Verbindungen“) vorgestellt^[4].



In Dichlormethan stehen Chlorbis(diisopropylamino)-phosphan **1** und DBN oder DBU mit den Salzen **2a** bzw. **3a**

[*] Dr. G. Bertrand, Dr. R. Reed, Dr. R. Réau, Dr. F. Dahan
Laboratoire de Chimie de Coordination du CNRS
205, route de Narbonne, F-31077 Toulouse Cédex (Frankreich)

[**] Diese Arbeit wurde vom Centre National de la Recherche Scientifique gefördert.

im Gleichgewicht, die kationische Phosphane enthalten. Dieses Gleichgewicht wird in Acetonitril oder durch Austausch von Chlorid gegen Hexafluorophosphat zu den Salzen **2b** bzw. **3b** verschoben (Schema 1)^[5].

Die ³¹P-NMR-chemischen Verschiebungen in diesen Verbindungen (**2b**: δ = +108 und **3b**: δ = +107) sprechen für Triaminophosphane; außerdem sind die NMR-Signale der Brückenkopf-C-Atome aufgrund einer Kopplung mit dem Phosphoratom (²J_{C,P} = 31.1 bzw. 21.1 Hz) aufgespalten, was beweist, daß die bicyclischen Amidine an Phosphor gebunden sind. Um die Art der Wechselwirkung zwischen der Amidineinheit und dem Phosphoratom nun genauer zu ergründen, wurde eine Einkristall-Röntgenstrukturanalyse an **2b** durchgeführt^[6]. Wie in Abbildung 1 zu erkennen, ist das Phosphoratom pyramidal umgeben, und die drei Substituenten sind propellerartig angeordnet, wodurch die sterische Wechselwirkung minimiert wird. Die Abstände P1-N3 und P1-N4 sind im erwarteten Bereich und mit 1.666(4) bzw. 1.661(4) Å länger als P-N-Abstände entsprechender Phosphanylium-Ionen, wo eine 2pπ-3pπ-Wechselwirkung zwischen dem Phosphor- und den Stickstoffatomen vorliegt^[7]. Besonders bemerkenswert sind der sehr lange Abstand P1-N1 (1.796(3) Å) sowie die fast völlige Übereinstimmung zwischen den Abständen C1-N1 (1.322(5) Å) und C1-N2 (1.298(5) Å). Die Struktur dieses kationischen Phosphans ähnelt der von Borylium-Ionen, bei denen das zweiwertige kationische Boratom durch einen Elektronenpaardonor stabilisiert und die positive Ladung delokalisiert wird^[8].

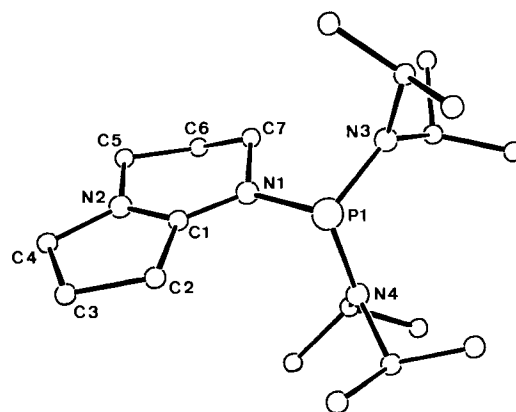


Abb. 1. Struktur des Kations von **2b** im Kristall (ORTEP). Ausgewählte Bindungslängen [Å] und Winkel [°]: P1-N1 1.796(3), P1-N3 1.661(4), P1-N4 1.666(4), N1-C1 1.322(5), C1-N2 1.298(5); N1-P1-N3 101.6(2), N1-P1-N4 99.1(2), N3-P1-N4 109.3(2), P1-N1-C1 120.3(3), P1-N1-C7 124.0(3), C7-N1-C1 114.9(3), N1-C1-C2 123.7(4), N2-C1-C2 110.0(4), N1-C1-N2 126.2(4), C1-N2-C5 123.7(4), C1-N2-C4 115.3(3), C4-N2-C5 120.9(4).

Erwartungsgemäß erhält man durch Umsetzung von Bis(diisopropylamino)phosphanyliumtetrachloroaluminat^[9] mit DBN ein ähnlich aufgebautes Addukt **2c**. Darüber hinaus kann man das freie Bis(diisopropylamino)phosphanylium-Salz durch Zugabe von einem Äquivalent Bortrifluorid-Ether zu **2b** rein zurückgewinnen.

Am wichtigsten ist jedoch, daß sich DBU und DBN allgemein als Nucleophile verhalten können (Tabelle 1) und somit die Darstellung der dioniosubstituierten Phosphane **6–9** möglich wird, die formal betrachtet Produkte der Umsetzung von zwei Molekülen DBU oder DBN mit Dikationen RP²⁺ sind, die einfach koordinierten Phosphor enthalten.