

Stichworte: Circular dichroismus · Elektronentransfer · Fluoreszenz · Molekulare Schalter · Peptide

- [1] J. M. Lehn, *Angew. Chem.* **1990**, 102, 1347–1362; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, 29, 1304–1319.
- [2] A. P. Desilva, C. P. McCoy, *Chem. Ind.* **1994**, 24, 992–996.
- [3] A. P. Desilva, H. Q. N. Gunaratne, C. P. McCoy, *Nature* **1993**, 364, 42–44.
- [4] S. Lee, T. Iwata, H. Oyagi, H. Aoyagi, M. Ohno, K. Anzai, Y. Kirino, G. Sugihara, *Biochim. Biophys. Acta* **1993**, 1151, 76–82.
- [5] A. P. Todd, G. L. Millhauser, *Biochemistry* **1991**, 30, 5515–5523.
- [6] C. A. McPhalen, M. G. Vincent, D. Picot, J. N. Jansonius, A. M. Lesk, C. Chothia, *J. Mol. Biol.* **1992**, 227, 197–213.
- [7] M. Gerstein, C. Chothia, *J. Mol. Biol.* **1991**, 220, 133–149.
- [8] K. Otoda, S. Kimura, Y. Imanishi, *Biochim. Biophys. Acta* **1993**, 1150, 1–8.
- [9] D. Pathak, D. Ollis, *J. Mol. Biol.* **1990**, 214, 497–525.
- [10] G. Basu, D. Anglos, A. Kuki, *Biochemistry* **1993**, 32, 3067–3076.
- [11] W. R. Fiori, S. M. Miick, G. L. Millhauser, *Biochemistry* **1993**, 32, 11957–11962.
- [12] K. Otoda, Y. Kitagawa, S. Kimura, Y. Imanishi, *Biopolymers* **1993**, 33, 337–345.
- [13] T. Iwata, S. Lee, O. Oishi, H. Aoyagi, M. Ohno, K. Anzai, Y. Kirino, G. Sugihara, *J. Biol. Chem.* **1994**, 269, 4928–4933.
- [14] S. E. Huston, G. R. Marshall, *Biopolymers* **1994**, 34, 75–90.
- [15] J. Tirado-Rives, D. S. Maxwell, W. L. Jorgensen, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 11590–11593.
- [16] F. Donald, G. Hungerford, D. J. S. Birch, B. D. Moore, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1995**, 313–314.
- [17] C. Toniolo, G. M. Bonora, A. Bavoso, E. Benedetti, B. di Blasio, V. Pavone, C. Pedone, *Biopolymers* **1983**, 22, 205–215.
- [18] I. L. Karle, P. Balam, *Biochemistry* **1990**, 29, 6747–6756.
- [19] N. Greenfield, G. D. Fasman, *Biochemistry* **1969**, 8, 4108–4116.
- [20] M. C. Manning, R. W. Woody, *Biopolymers* **1991**, 31, 569–586.
- [21] R. W. Woody, *Peptides (NY)* **1985**, 7, 15–114.
- [22] W. C. Johnson, *Proteins: Struct. Funct. Genet.* **1990**, 7, 205–214.
- [23] T. S. Sudha, E. K. S. Vijayakumar, P. Balam, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1983**, 22, 464–468.
- [24] P. I. Haris, D. Chapman, *Biopolymers* **1995**, 37, 251–263.
- [25] D. F. Kennedy, M. Crisma, C. Toniolo, D. Chapman, *Biochemistry* **1991**, 30, 6541–6548.
- [26] R. O. Fox, F. M. Richards, *Nature* **1982**, 300, 325–330.
- [27] E. K. Bradley, J. F. Thomason, F. E. Cohen, P. A. Kosen, I. D. Kuntz, *J. Mol. Biol.* **1990**, 215, 607–622.
- [28] P. J. F. de Rege, S. A. Williams, T. J. Therien, *Science* **1995**, 269, 1409–1413.
- [29] C. Toniolo, E. Benedetti, *Trends Biochem. Sci.* **1991**, 16, 350–353.
- [30] Die Peptide wurden mit einem NovaSyn-Crystal-Festphasen-Peptidsynthesizer an einem modifizierten Rink-Harz mit der 9-Fluorenylmethoxycarbonyl(FMOC)-Schutzgruppenstrategie und Benzotriazol-1-yl-oxy-tris(pyrrolidino)phosphoniumhexafluorophosphat (PyBOP) als Kupplungsreagens synthetisiert. Nach der Abspaltung mit 10proz. Trifluoressigsäure in Dichlormethan wurde das Rohpeptid mit Umkehrphasen-Hochleistungs-Flüssigkeits-Chromatographie gereinigt und mit Elektrospray-Massenspektrometrie charakterisiert.
- [31] Die CD-Spektren wurden bei einer Konzentration von ca. 10^{-5} M mit einer 1-cm-Zelle an einem Jasco-J600-Spektropolarimeter aufgenommen. $[\theta]_M$ ist in Grad cm² dmol⁻¹ angegeben. Im Experiment wurde zunächst auf 60 °C erwärmt, dann auf –40 °C abgekühlt. Die Spektren waren über mehrere Durchläufe hinweg identisch.
- [32] Die Fluoreszenzdaten wurden bei einer Peptidkonzentration von ca. 5×10^{-5} M in entgastem Acetonitril mit einem Fluorimeter für zeitaufgelöste Untersuchungen (single photon counting) mit einer coaxialen Blitzlicht-Anregungsquelle aufgenommen, wobei die Halbwertsbreite bei 1.2 ns lag. Als Anregungs- und Emissionswellenlängen wurden mit Monochromatoren 300 bzw. 360 nm ausgewählt. Bei 0 °C wurden Lebensdauern von 4.14 und 6.32 ns erhalten, während die Lebensdauer ohne Fluoreszenzlöschung bei 7.59 ns lag. Beide Datensätze ließen sich mit einer sigmoidalen Kurve der Form $F(T) = Y_{\min} + [(Y_{\max} - Y_{\min}) / (1 + \exp(-A(T - T_m)))]$ annähern, wobei A eine Konstante, T die Temperatur und T_m die Schmelztemperatur bezeichnen. Der Schmelzbereich ΔT ergab sich aus dem mittleren 80 %-Bereich der Kurve zwischen den oberen und den unteren y-Werten. Als Ungenauigkeit des T_m -Wertes wurde die zweifache Standardabweichung angenommen.
- [33] Die Moleküldynamik-Simulationen wurden mit den Programmpaketen Insight II, Discover und Analysis der Firma Biosym Technologies an einem Silicon Graphics Iris Indigo Computer durchgeführt. Mit CVFF als Kraftfeld wurden Dynamik-Rechnungen bei 293 K in Vakuum angesetzt, wobei die α -Kohlenstoffatome des Peptids festgehalten wurden, so daß das Peptid die jeweilige helicale Konformation (α -Helix, 3_10 -Helix) beibehielt.

Multiple Sialyl-Lewis^X-N-Glycopeptide: Effektive Liganden für E-Selectin**

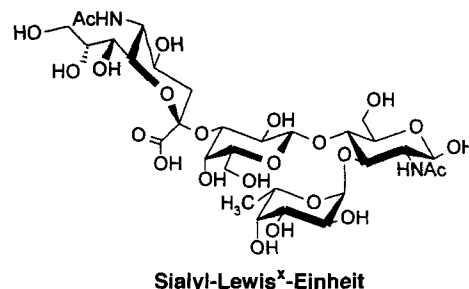
Ulrich Sprengard, Manfred Schudok, Wolfgang Schmidt, Gerhard Kretzschmar und Horst Kunz*

Professor Albert Eschenmoser zum 70. Geburtstag gewidmet

Selectine (E- und P-Selectin), eine Gruppe von Zelladhäsionsmolekülen, spielen in der Anfangsphase der Leukozytenadhäsion eine zentrale Rolle als Transmembranglycoproteine auf Blutplättchen (P-Selectin) und Endothelzellen (E- und P-Selectin)^[1]. Die vorübergehende Bindung der Selectine an Oligosaccharidliganden leitet das „Rolling“ (das Abbremsen) der Leukozyten auf dem vaskulären Endothelgewebe ein und führt bei entzündlichen Prozessen über eine komplexe Kaskade makromolekularer Wechselwirkungen mit anderen Adhäsionsmolekülen schließlich zur Auswanderung der Leukozyten (Diapedese) in das umliegende Gewebe. Komplexe Glycoproteine mit dem Sialyl-Lewis^X-Epitop und eng verwandten Saccharideinheiten wurden als hochaffine Liganden der Selectine identifiziert^[2, 3].

So gehören die Mucine zu einer Gruppe endogener Selectinliganden mit multiplen Oligosaccharideinheiten großer Oberflächendichte^[4]. Die potentiell höhere Avidität multivalenter Wechselwirkungen kann für die Effizienz der Selectin-Glycoproteinbindung von entscheidender Bedeutung sein.

Als einfache, artifizielle Modellverbindungen wurden z.B. über Diole verbrückte divalente Sialyl-Lewis^X-Analoge^[5] und trivalente Sialyl-Lewis^X-Konjugate^[6] ausgehend von Nitrome-



[*] Prof. Dr. H. Kunz

Institut für Organische Chemie der Universität Mainz
J.-J.-Becher-Weg 18-20, D-55099 Mainz
Telefax.: Int. + 6131/39-4786

Dipl.-Chem. U. Sprengard
Institut für Organische Chemie der Universität Mainz und
Zentralforschung der Hoechst AG, Frankfurt
Dr. M. Schudok
Pharma-Forschung der Hoechst AG, Frankfurt
Dr. G. Kretzschmar, Dr. W. Schmidt
Zentralforschung der Hoechst AG, Frankfurt

[**] Die Autoren danken Herrn Dr. Kogler (Allgemeine Pharma-Forschung der Hoechst AG) für die Durchführung wichtiger NMR-Experimente. In dieser Arbeit werden folgende Abkürzungen verwendet: Asp = Asparaginsäure, COSY = correlated spectroscopy, DIPEA = Ethyldiisopropylamin, EEDQ = N-Ethoxycarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydrochinolin, ESI = Elektrospray-Ionisation, Fmoc = (9H-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl, Fuc = fucosyl, Gal = D-Galactose, Glc = D-Glucose, Gly = Glycin, HATU = O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluroniumhexafluorophosphat, HMBC = H-detected multiple-bond correlation, HMQC = heteronuclear multiple-quantum coherence (NMR), HOAT = 1-Hydroxy-7-azabenzotriazol, HOBt = 1-Hydroxy-1H-benzotriazol, HSQC = heteronuclear single-quantum coherence (NMR), PHDQF = phase sensitive double quantum filtered, Ser = Serin, TBTU = (1H-Benzotriazol-1-yloxy)bis(dimethylamin)methylumtetrafluoroborat, TCP = Chlortritylpolystyrol, TFA = Trifluoressigsäure, TOCSY = total correlation spectroscopy (2D-NMR)

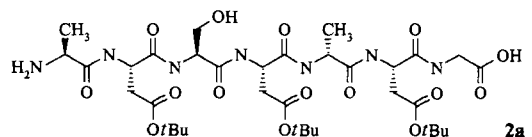
thantricarbonsäure als Templat synthetisiert. Nach dem Vorbild der endogenen Liganden haben wir die trivalenten N-Glycopeptide **7a, b** des Sialyl-Lewis^X-Bausteins aufgebaut, die im Zelladhäsions-Assay effektive Liganden von E-Selectin sind. Zur Synthese dieser cyclischen N-Glycopeptide mit drei asparaginverknüpften Sialyl-Lewis^X-Tetrasacchariden wählten wir eine Strategie mit orthogonal stabilen Schutzgruppen in der Peptid- und Oligosaccharidsynthese. Alternativ könnte die Synthese des Glycopeptids auch an der festen Phase durch sequentielle Einführung glycosylierter, vorgefertigter Aminosäurebausteine erfolgen^[7]. Hierbei müssen jedoch erhebliche Überschüsse an temporär geschützten Glycoaminosäurebausteinen und Kupplungsreagentien eingesetzt werden, was eine Rückgewinnung der wertvollen Bausteine erschwert. Außerdem schränkt die Säurelabilität der Fucose die Verwendung von Trifluoressigsäure sowie anderer in der Festphasenpeptidsynthese üblicher Reagentien ein^[8, 9].

Die Synthese der trivalenten Sialyl-Lewis^X-Glycopeptide gelingt mittels einer kombinierten Strategie aus Festphasenpeptidsynthese und Fragmentkondensation in Lösung: a) Die cyclischen Peptide **4a, b** werden als funktionalisierbare Template in einer kombinierten Synthese an der festen Phase und in Lösung in hoher Reinheit hergestellt. b) Das 4'-Lacton der Neuraminsäure maskiert die Carboxyfunktion des partiell blockierten Sialyl-Lewis^X-Bausteins **1**^[27] während der Synthese. c) Durch dreifache Fragmentkondensation von partiell blockierten Sialyl-Lewis^X-Bausteinen **1** mit den Cycloheptapeptiden **4a** und **4b** werden die N-glycosidisch verknüpften Sialyl-Lewis^X-Glycopeptide **5a** bzw. **5b** gewonnen. d) Das Schutzgruppenkonzept erlaubt die schonende Deblockierung der glycosylierten Cyclopeptide durch hydrogenolytische Abspaltung der insgesamt 15 Benzyletherschutzgruppen.

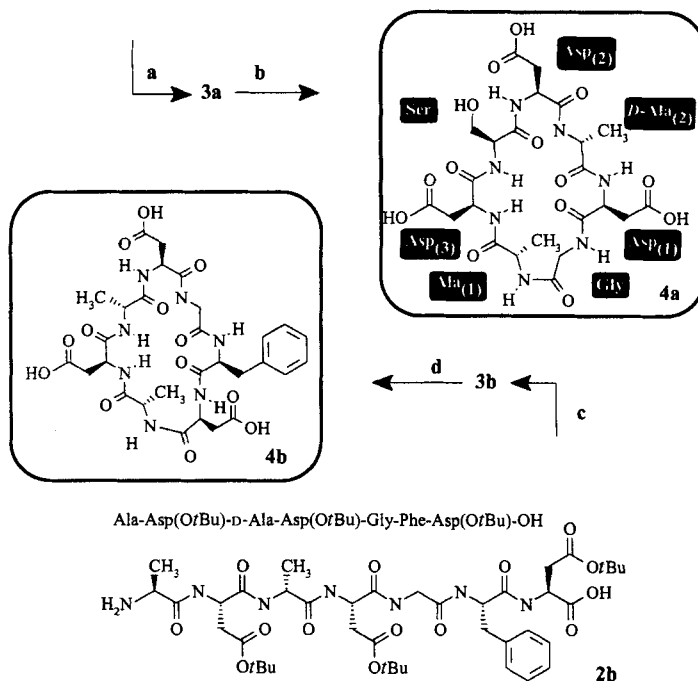
Die Synthese des linearen Heptapeptids, das D-Alanin zur leichteren Cyclisierung enthält, erfolgt an säurelabilem Sasrin-Harz^[10] nach der Fmoc-Strategie. Schonende Abspaltung (1% TFA in CH₂Cl₂) des partiell blockierten Heptapeptids **2a** vom Harz gelingt unter Erhaltung der orthogonal stabilen Schutzgruppen in 62% Ausbeute^[11]. Nachfolgende Cyclisierung des linearen, N- und C-terminal deblockierten Peptids mit HATU/HOAT/DIPEA^[12] in verdünnter Lösung (*c*_{Peptid}: 0.001 mol L⁻¹) führt in 50% Ausbeute zu **3a** (Schema 1). Versuche zur Cyclisierung mit EEDQ über in-situ gebildete, gemischte Anhydride führen dagegen zu komplexen Produktgemischen, was auf Aspartimidbildung in Folge der Aktivierung der β-Carboxygruppe zurückzuführen sein könnte. Die Abspaltung der *tert*-Butylschutzgruppen von **3a** mit Trifluoressigsäure (5% Wasser) liefert **4a** in 96% Ausbeute.

Asparaginsäurehaltige Peptide gehen gelegentlich in einer säure- oder basekatalysierten Reaktion unter Bildung des Aspartimids und nachfolgender Transpeptidierung iso-Asp-Umlagerungen ein^[13]. Dies ist insbesondere im Falle von Asp-Gly- und Asp-Ser-Sequenzen beobachtet worden. Hier konnte jedoch die sequentielle Integrität des konformativ eingeschränkten Cyclopeptids durch HSQC- und PHDQF-COSY-NMR-Experimente bestätigt werden. HMBC-Experimente erlaubten über die Analyse der Fernkopplungen (²J-, ³J- und ⁴J-Kopplungen) eine Strukturabsicherung auch im Falle der Heteroatome und nicht protonierter Carbonyle, welche die Protonen-Spin-systeme unterbrechen (Tabelle 1)^[14].

Die Fragmentkondensation des Sialyl-Lewis^X-Aminbausteins **1** und des Cyclopeptids **4a** führt unter dem Einfluß von HATU/HOAT/DIPEA in 48% Ausbeute zum partiell blockierten Sialyl-Lewis^X-Cyclopeptid **5a**, das die Sialinsäure in lactonisierter Form enthält (Schema 2). Hydrogenolytische Spaltung der Benzylethergruppen mit Pd/C in Methanol/Essigsäure/



Ala⁽¹⁾-Asp(OrBu)⁽³⁾-Ser-Asp(OrBu)⁽²⁾-D-Ala⁽²⁾-Asp(OrBu)⁽¹⁾-Gly-OH

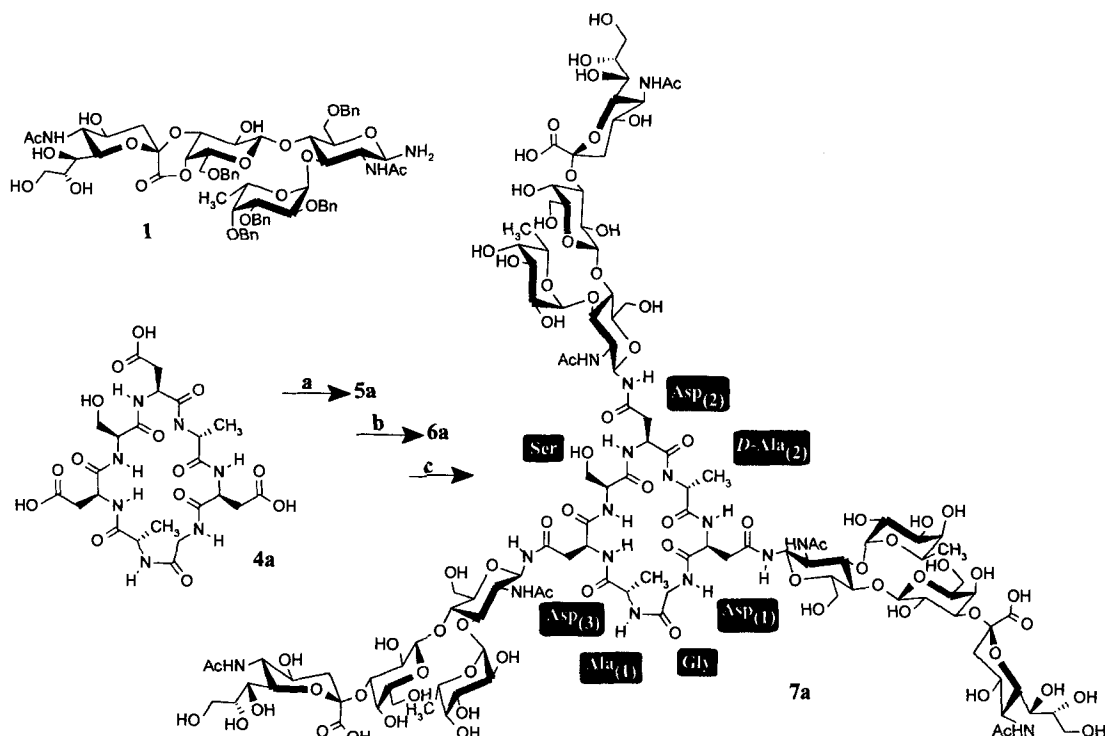


Schema 1. Synthese von **4a, b**. Die tiefgestellten Zahlen erleichtern die Zuordnung der Aminosäure-Positionen im linearen und cyclischen Peptid **2a** bzw. **4a**. Zur besseren Übersicht werden mitunter NH-Wasserstoffatome weggelassen. Diese Anmerkungen gelten auch für Schema 2 und 3. a) **2a** (1 mmol L⁻¹), HATU/HOAT/DIPEA (jeweils 3 Äquiv.), **3a**: 50%; b) TFA (mit 5% Wasser), **4a**: 96%; c) **2b** (1 mmol L⁻¹), HATU/HOAT/DIPEA (jeweils 1.6 Äquiv.), nach 1 h nochmals HATU/HOAT/DIPEA (jeweils 0.8 Äquiv.), **3b**: 83%; d) TFA (mit 5% Wasser), **4b**: 81%.

Tabelle 1. ¹H- und ¹³C-NMR-chemische Verschiebungen von **4a** in D₂O mit Ammoniumformiat als Puffer.

	Ala ¹	Asp ³	Ser	Asp ²	D-Ala ²	Asp ¹	Gly
1-C	174.8	173.5	171.1	173.0	174.5	173.6	171.2
2-C	49.9	52.4	56.3	51.7	50.1	51.5	43.0
3-C	16.7	38.5	60.9	38.5	16.7	38.5	
4-C		177.7		177.4		177.6	
α-H	4.34	4.51	4.31	4.60	4.33	4.66	3.92
β ₁ -H	1.35	2.76	3.88	2.67	1.37	2.70	
β ₂ -H		2.71	3.84	2.61		2.53	

Dioxan (5/1/1) führt in 88% Ausbeute zu **6a**, wobei das 4'-Lacton als interne Schutzgruppe erhalten bleibt. Die Lactonöffnung gelingt in 96% Ausbeute durch schonende, alkalische Verseifung. Das cyclische Sialyl-Lewis^X-Glycopeptid **7a** wurde mit Gelpermeationschromatographie (Biogel-P2-Säulenmaterial) gereinigt, die Molekülmasse über ESI-Massenspektren bestätigt und die Struktur durch HSQC-, HMBC-, HSQC-TOCSY und HMQC-COSY-NMR-Experimente abgesichert. Das PHDQF-COSY-NMR-Spektrum (Tabelle 2) zeigt die nahezu vollständige Koinzidenz der Resonanzen aller drei GlcNAc-, Fuc-, Gal- und NeuNAc-Bausteine^[15]. Demnach schränkt das trivalente



Schema 2. Synthese von **7a**. a) HATU/HOAT/DIPEA (jeweils 3 Äquiv.) in DMF, **5a**: 48%; b) H_2 , Pd-Aktivkohle, CH_3OH /Dioxan/ CH_3COOH (5/1/1), **6a**: 88%; c) NaOH in H_2O/CH_3OH , pH = 10.4, **7a**: 96%.

Tabelle 2. 1H - und ^{13}C -NMR-chemische Verschiebungen von **7a** in D_2O mit Ammoniumformiat als Puffer [a].

	GlcNAc		Fuc		Gal		NANA	
	H	C	H	C	H	C	H	C
1	5.07	77.73	5.07	98.2	4.50	101.12		173.44
	5.08	77.61						
2	4.0	54.08	3.66	67.17	3.5	68.77		99.19
	3.98							
3	3.88	74.89	3.86	68.77	4.05	75.15	1.76	39.3
							2.72	
4	3.93	72.4	3.75	71.4	3.89	66.85	3.65	67.86
5	3.61	76.53	4.79	66.25	3.54	74.45	3.81	51.22
6	3.89	59.03	1.14	14.82	3.66	61.06	3.62	72.4
7							3.55	67.65
8							3.86	71.4
9							3.60	62.13
							3.83	
CH_3	1.95	21.75					1.99	21.57
	1.96	21.73						
$C=O$		173.73						174.53
		173.81						

[a] Aufgrund der nahezu vollständigen Koinzidenz der 1H - und ^{13}C -Signale wird für die einzelnen Atome bis auf wenige Ausnahmen nur ein Signal angegeben.

Cyclopeptid die Flexibilität der drei Sialyl-Lewis^X-Liganden im Vergleich zum monomeren Tetrasaccharid kaum ein.

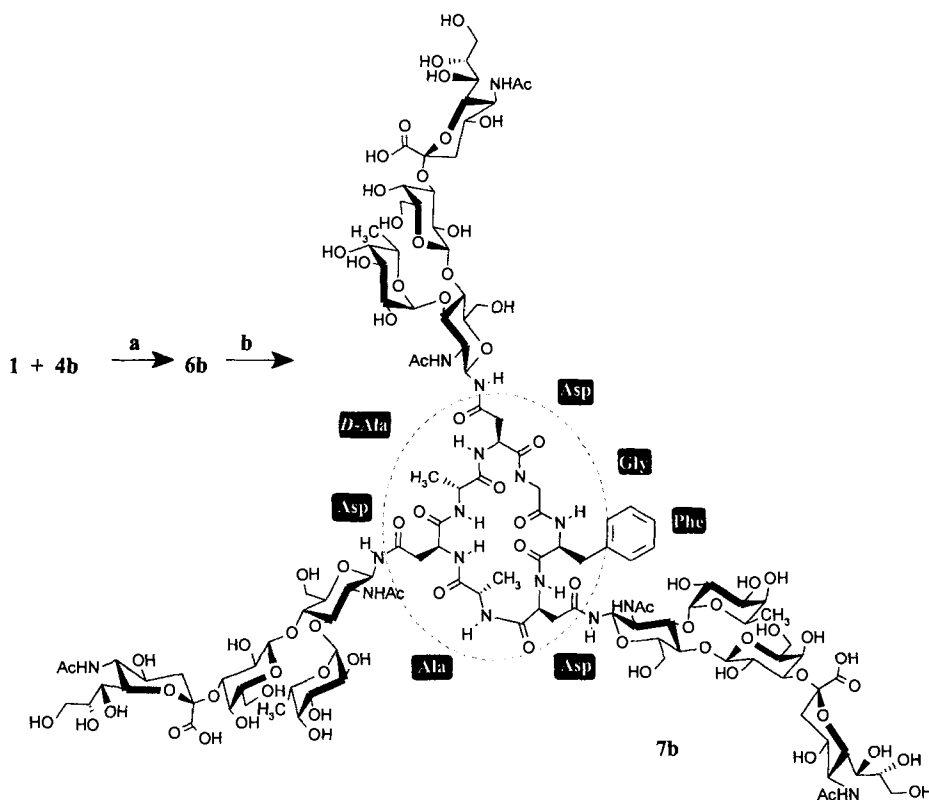
Das partiell geschützte, lineare Heptapeptid **2b** mit variiert Peptidsequenz wurde in Analogie zu **2a** mittels Fmoc-Festphasenstrategie aufgebaut, wobei die Abspaltung vom extrem säurelabilen TCP-Harz^[16] unter wesentlich milderen Bedingungen mit Essigsäure/Methanol/Dichlormethan (5/1/4) unter Erhaltung der *tert*-Butylester der Asparaginsäureseitenketten möglich ist^[17]. Diese Abspaltungsbedingungen sind prinzipiell mit der Festphasen-Glycopeptidsynthese fucosylierter Strukturen kompatibel, da ein Verlust der säurelabilen Fucose unter diesen

Bedingungen nicht zu erwarten ist^[18]. Die Cyclisierung von **2b** mit HATU/HOAT/DIPEA (**3b**: 83 % Ausbeute), Deblockierung der *tert*-Butylester mit wässriger Trifluoressigsäure (**4b**: 81 % Ausbeute), Fragmentkondensation in Gegenwart von HATU/HOAT/DIPEA zu **5b** und schließlich terminale hydrolytische Spaltung der Benzylethergruppen sowie Hydrolyse des Lactons in **6b** führt in 80 % Ausbeute zum Sialyl-Lewis^X-Glycopeptid **7b** (Schema 3).

Die Verknüpfung der Asparaginsäure mit dem Sialyl-Lewis^X-Amin **1** zum N-Glycosid in Nachbarschaft des sterisch anspruchsvollen Phenylalanins erfordert eine effiziente Fragmentkondensation. Die angewandten Bedingungen erlauben offenbar eine vollständige N-Glycosid-Bildung an der sterisch abgeschirmten Asparaginsäure mit dem komplexen Oligosaccharid.

Die Synthese topologisch funktionalisierbarer Cyclopeptid-Template mit orthogonal deblockierbaren Seitenkettenschutzgruppen eröffnet die Möglichkeit einer N-glycosidischen Anknüpfung unterschiedlicher Oligosaccharide. Dieses Ziel ließ sich bisher nur durch Festphasen-Glycopeptidsynthese oder Synthese in Lösung mit den vorgefertigten Glycoaminosäurebausteinen erreichen^[7]. Die gute Löslichkeit des partiell blockierten Tetrasaccharidbausteins **1** erlaubt den Einsatz vieler organischer Lösungsmittel (Dichlormethan, DMF und Methanol) für die N-Glycosid-Bildung sowohl von lipophilen als auch von hydrophilen Bausteinen. Der partiell geschützte Sialyl-Lewis^X-Baustein hat sich für multiple Bildungen von N-Glycosiden an trivalenten Templaten bewährt^[26, 27] und insbesondere die Synthese von oligovalenten Glycopeptidstrukturen mit repetitiven Saccharideinheiten durch die konvergente Synthesestrategie ermöglicht. Ähnliche Strategien wurden bisher nur auf einfachere Glycopeptide erfolgreich angewendet^[19].

In einem Zelladhäsionstest, bei dem die kompetitive Bindung von **7b** an rekombinante, humane E-Selectin-Immunglobulin-Fusionsproteine (E-Selectin-IgG^[20]) gegenüber Sialyl-Lewis^X-Liganden tragenden Tumorzellen (Zelllinie HL-60) gemessen



Schema 3. Synthese von **7b**. a) HATU/HOAT/DIPEA (jeweils 1.5 Äquiv.) in DMF, nach 4 h nochmals HATU/HOAT/DIPEA (jeweils 0.5 Äquiv.), dann H_2 , Pd-Aktivkohle, CH_3OH /Dioxan/ CH_3COOH (1/1/1), **6b**: 92%; b) NaOH in H_2O/CH_3OH (4/1), pH = 10.6, **7b**: 87%.

wird, erweist sich **7b** als wirksamer synthetischer Ligand. Mit $IC_{50} = 0.35\text{--}0.6$ mM inhibiert das trivalente Glycopeptid die Adhäsion der HL-60-Zellen 2–3 mal stärker als monomere Sialyl-Lewis^X-Bausteine. In Erweiterung des hier vorgestellten Konzepts führte die mehrfache Konjugation von Sialyl-Lewis^X-Bausteinen mit biokompatiblen, peptidischen Polymerträgern zu multivalenten Saccharid-Clustern, mit denen sich eine wirksame Hemmung der Leukozytenadhäsion erreichen lässt^[21, 22]. Neben höheraffinen, monovalenten Mimetica^[23–27] von Sialyl-Lewis^X-Bausteinen können somit auch multivalente Antagonisten der durch Selectin vermittelten Leukozytenadhäsion als potentiell entzündungshemmende Wirkstoffe geprüft werden.

Eingegangen am 15. September 1995 [Z 8403]

Stichworte: Cyclopeptide · Glycopeptide · Selectine · Sialyl-Lewis^X · Zelladhäsion

- [1] T. A. Springer, *Cell* **1994**, 76, 301–314; D. N. Granger, P. Kubes, *J. Leukocyte Biol.* **1995**, 55, 662–675, zit. Lit.
- [2] T. P. Patel, S. E. Goetz, R. R. Lobb, R. B. Parekh, *Biochemistry* **1994**, 33, 14815–14824.
- [3] M. R. Stroud, K. Handa, K. Ito, M. E. K. Salyan, H. Fang, S. B. Levery, S. Hakomori, B. B. Reinhold, V. N. Reinhold, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1995**, 209, 777–787.
- [4] P. A. Van der Merwe, A. N. Barclay, *TIBS* **1994**, 19, 354–358.
- [5] S. A. DeFrees, W. Kosch, W. Way, J. C. Paulson, S. Sabesan, R. L. Halcomb, D.-H. Huang, Y. Ichikawa, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 66–79.
- [6] G. Kretschmar, U. Sprengard, H. Kunz, E. Bartnik, W. Schmidt, A. Toepfer, B. Hörsch, M. Krause, D. Seiffge, *Tetrahedron* **1995**, 51, 13015–13030.
- [7] H. G. Garg, K. von dem Bruch, H. Kunz, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1994**, 50, 277–310.
- [8] H. Kunz, C. Unverzagt, *Angew. Chem.* **1988**, 100, 1763–1765; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, 27, 1697–1699.

- [9] Die Entwicklung unter milden Bedingungen spaltbarer Allylanker ermöglicht die Synthese von Glycopeptiden an der Festphase: H. Kunz, B. Dombo, *Angew. Chem.* **1988**, 100, 732; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, 27, 711; O. Seitz, H. Kunz, *ibid.* **1995**, 107, 94–97 bzw. **1995**, 34, 803–805.
- [10] M. Mergler, R. Tanner, J. Gosteli, P. Grogg, *Tetrahedron Lett.* **1988**, 29, 4005–4008.
- [11] Festphasenpeptidsynthese an Sasrin-Harz: a) 20% Piperidin in DMF; b) 2 Äquiv. temporär blockierte Aminosäure, TBTU/HOBT/DIPEA (jeweils 2 Äquiv.); c) TFA (1% in CH_2Cl_2), dann Pyridin, **2a**: 62%.
- [12] Reaktionen mit HOAT siehe: L. A. Carpino, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 4397–4398; Reaktionen mit EEDQ siehe: B. Belleau, G. Malek, *ibid.* **1968**, 90, 1651.
- [13] M. Bodanszky, J. Z. Kwei, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1978**, 12, 69; M. Bodanszky, J. C. Tolle, S. S. Deshmane, A. Bodanszky, *ibid.* **1978**, 12, 57.
- [14] M. F. Summers, L. G. Marzilli, A. Bax, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 4285.
- [15] **7a**: $[\alpha]_D^{20} = -41.3$ ($c = 1$ in Wasser); 1H -NMR (400 MHz, D_2O): $\delta = 1.33$ (d, 3H, $J_{\beta,\alpha} = 7.3$ Hz, β -Ala¹), 1.36 (d, 3H, $J_{\beta,\alpha} = 7.3$ Hz, β -Ala²), 2.66 (dd, 1H, $J_{\beta,\alpha} = 7$, $J_{gem} = 16$ Hz, β -Asp¹), 2.71 (dd, 1H, $J_{\beta,\alpha} = 7$, $J_{gem} = 16$ Hz, β -Asp²), 2.73 (dd, 1H, $J_{\beta,\alpha} = 7$, $J_{gem} = 16$ Hz, β -Asp³), 2.76 (dd, 1H, $J_{\beta,\alpha} = 7$ Hz, β -Asp⁴), 2.85 (dd, 1H, $J_{\beta,\alpha} = 7.2$ Hz, β -Asp⁵), 2.94 (dd, 1H, $J_{\beta,\alpha} = 6$ Hz, β -Asp⁶), 3.84 (β -Ser), 4.26 (m, 2H, α -Ala¹, α -Ala²), 4.28 (dd, 1H, α -Ser), 4.52 (1H, α -Asp¹), 4.72 (1H, α -Asp²), 4.79 (1H, α -Asp³); ^{13}C -NMR (125.8 MHz, D_2O): $\delta = 15.57$ (β -Ala²), 16.11 (β -Ala¹), 35.53 (β -Asp¹), 35.67 (β -Asp¹), 35.99 (β -Asp³), 41.62 (α -Gly), 49.27 (α -Ala¹), 49.78 (α -Ala¹), 49.08, 49.19, 50.57 (α -Asp¹, α -Asp², α -Asp³), 55.24 (α -Ser), 59.89 (β -Ser), 170.46, 170.57 ($C=O$ -Ser, $C=O$ -Gly), 171.62, 171.69, 171.79, 171.88, 172.22, 172.34 ($C=O$ -Asp¹, $C=O$ -Asp², $C=O$ -Asp³, $C=O$ -Asp⁴, $C=O$ -Asp⁵, $C=O$ -Asp⁶), 174.3 ($C=O$ -Ala¹), 174.70 ($C=O$ -Ala²). Die Indizierung der Aminosäuren mit hochgestellten Zahlen hat keinen Zusammenhang mit den Markierungen im Formelbild. ESI-MS: 1540 ($M + 2Na$)²⁺, 1034 ($M + 3Na$)³⁺.
- [16] K. Barlos, D. Gatos, J. Kallitsis, G. Papaphotiou, Y. Wenqing, W. Schäfer, *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 394.
- [17] Festphasenpeptidsynthese an TCP-Harz: a) 20% Piperidin in DMF; b) 3 Äquiv. temporär blockierte Aminosäure, HBTU/HOBT/DIPEA (jeweils 3 Äquiv.); c) $CH_3COOH/CH_3OH/CH_2Cl_2$, **2b**: 36%.
- [18] D. Vetter, D. Tumelty, S. K. Singh, M. A. Gallop, *Angew. Chem.* **1995**, 107, 94–97; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, 34, 60–63.
- [19] K. Gall-Istok, E. Zará-Kaczian, L. Kisfaludy, G. Deak, *Acta. Chim. Acad. Sci. Hung.* **1981**, 107, 221–229; M. Tamura, H. Okai, *Carbohydr. Res.* **1984**, 133, 207–218; T. Takeda, A. Utsuno, N. Okamoto, Y. Ogihara, *ibid.* **1990**, 207, 71–79; T. Takeda, K. Kojima, Y. Ogihara, *Chem. Pharm. Bull.* **1991**, 39, 2699–2701; G. Arsequell, S. Y. C. Wong, G. R. Guile, T. W. Rademacher, R. A. Dwek, *Abstr. Pap. Eur. Pept. Symp. 22nd* (Interlaken, Schweiz) **1992**, A416.
- [20] A. Aruffo, W. Kolanus, G. Walz, P. Fredman, B. Seed, *Cell* **1991**, 67, 35–44; Testsystem in Analogie zu: B. M. C. Chan, M. J. Elices, E. Murthy, M. E. Hemler, *J. Biol. Chem.* **1992**, 267, 8366–8370.
- [21] W. Stahl, U. Sprengard, M. Ahlers, B. Hörsch, A. Walch, G. Kretschmar, *Tetrahedron Lett.*, eingereicht; B. Hörsch et al., unveröffentlicht.
- [22] Biophysikalische Untersuchungen der Neutrophil-Selectin-Interaktionen in hydrodynamischen Flußsystemen könnten Aufschluß über die Bedeutung der vorübergehenden Bindung von clusterförmigen Kohlenhydratlignanden und deren Rezeptoren geben.
- [23] F. Dasgupta, B. N. N. Rao, *Expert Opin. Invest. Drugs* **1995**, 3, 709–724.
- [24] W. Stahl, U. Sprengard, G. Kretschmar, H. Kunz, *Angew. Chem.* **1994**, 106, 2186–2188; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, 33, 2096–2098.
- [25] W. Stahl, U. Sprengard, G. Kretschmar, D. W. Schmidt, H. Kunz, *J. Prakt. Chem.* **1995**, 337, 441–445.
- [26] H. Huang, C.-H. Wong, *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 3100–3106.
- [27] U. Sprengard, G. Kretschmar, E. Bartnik, C. Hüls, H. Kunz, *Angew. Chem.* **1995**, 107, 1104–1107; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, 34, 990–993.