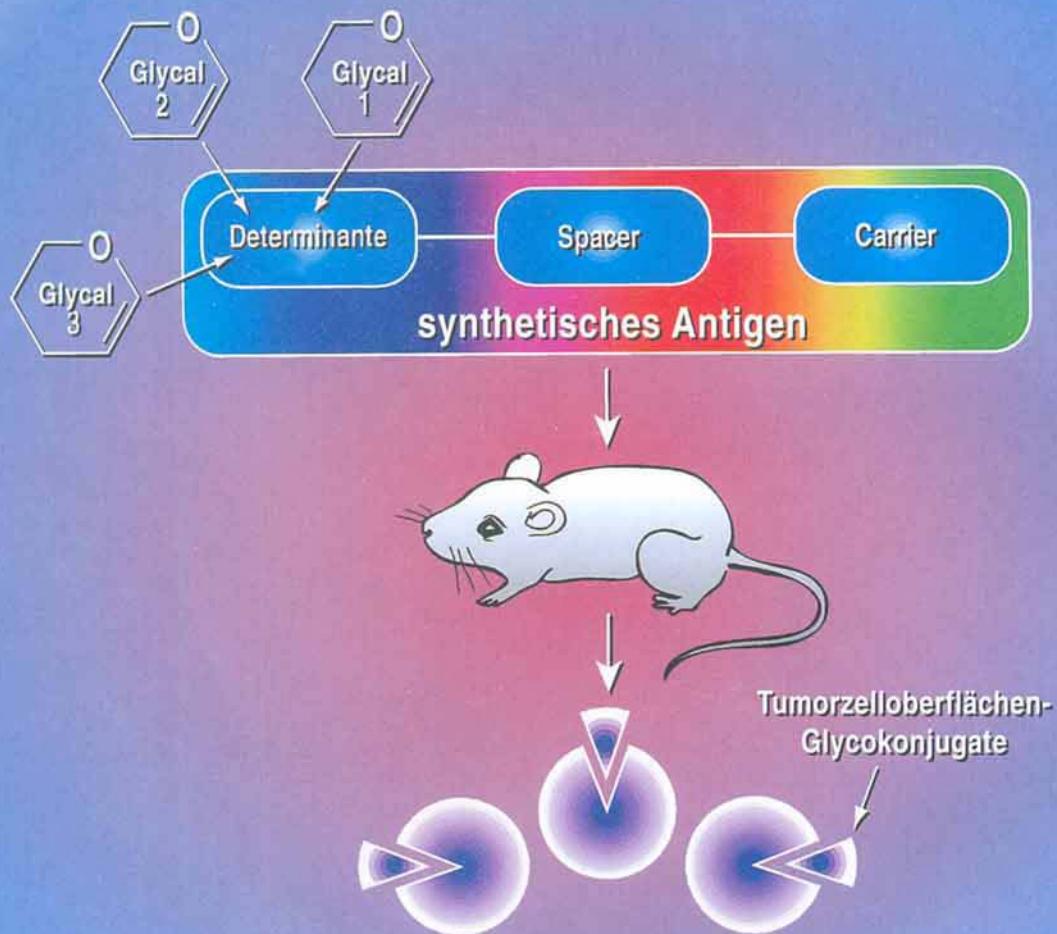


Glycalthode



Bindung der Maus-Antikörper an Tumor-transformierte Zellen.

Glycale in der organischen Synthese: die Entwicklung umfassender Strategien zum Aufbau von Oligosacchariden und Glycokonjugaten mit biologischer Bedeutung

Samuel J. Danishefsky* und Mark T. Bilodeau

Der vorliegende Aufsatz ist ein persönlicher Überblick über die Forschungsaktivitäten einer einzelnen Arbeitsgruppe zum Aufbau von Oligosacchariden und Glycokonjugaten. Diese Forschung begann vor zwanzig Jahren mit der Untersuchung von Diels-Alder-Reaktionen mit komplexen Dienen. Durch Ausweitung auf aldehydartige Heterodienophil-Äquivalente wurde ein Zugang zu nichtnatürlichen Glycalen gefunden (LACDAC-Reaktion). Diese Entdeckung war der Auslöser für eine umfassende Untersuchung über die Verwendung von Glycalen zur Synthese von

Oligosacchariden und anderen Glycokonjugaten. Die Nutzung von Glycalen als Glycosyldonoren und als Glycosylacceptoren führte zur Strategie der Verknüpfung von Glycalen, deren Anwendbarkeit durch die Entwicklung von mehreren neuen Glycosylierungsverfahren verbessert wurde. Es zeigte sich, daß auf Glycalen basierende Reaktionen gut als Festphasensynthesen durchgeführt werden können. Ferner ist das Prinzip des Glycalzusammenbaus – sowohl in Lösung als auch am festen Träger – dazu verwendet worden, einen relativ kurzen und effizienten Zugang zu einer Vielzahl

von biologisch interessanten und möglicherweise wertvollen Verbindungen zu eröffnen. Einige dieser Synthesen, besonders solche auf dem Gebiet der Tumor-Antigene, haben zu neuartigen Verbindungen geführt, die sich derzeit in einem fortgeschrittenen Stadium vorklinischer Untersuchung befinden. Dieser Aufsatz gibt einen ausführlichen Überblick über die chemischen Aspekte dieser Projekte.

Stichworte: Glycale · Glycokonjugate · Glycosylierungen · Oligosaccharide · Synthesemethoden

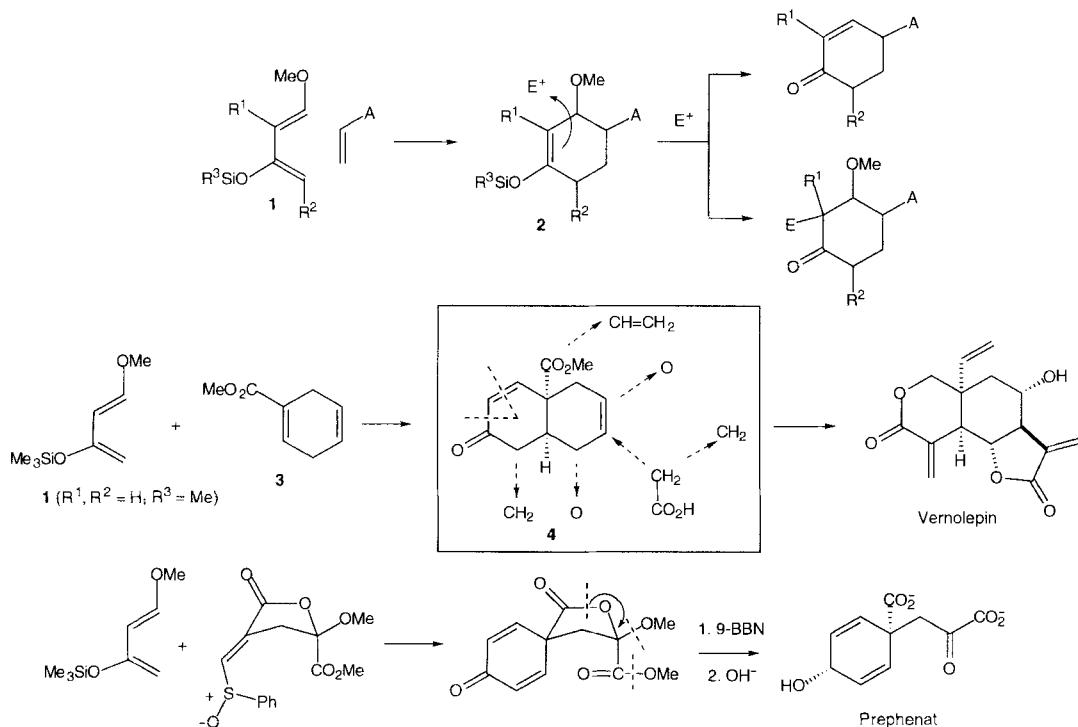
1. Hintergrund und Einführung

Die Synthese von Kohlenhydraten ist auf dem Weg, sich zu einem wichtigen Grenzgebiet der Organischen Chemie zu entwickeln. Neben ihren bewährten Funktionen als tragendes Gerüstmaterial, als Energiespeicher und als biosynthetische Ausgangsverbindungen spielen Kohlenhydrate als Glycokonjugate bei vielen interessanten Vorgängen eine wichtige Rolle (z.B. als Antibiotika^[1], Antitumor-Wirkstoffe^[2] und cardiotonische Glycoside)^[3]. Die Ganglioside werden zunehmend als Tumor-Antigene und als Marker zur Zelldifferenzierung^[4] verstanden. Die Bedeutung der Kohlenhydratbereiche in Glycoproteinen und -lipiden als Erkennungselemente an Zelloberflächen bestätigte sich durch ihre Funktion bei der Zelladhäsion^[5, 6] und als Blutgruppendifferenzierungen^[7]. Ein weiterer Anreiz, sich mit Kohlenhydraten zu befassen, ist ihre Verwendbarkeit als enantiomerenreine Ausgangsverbindungen zur Synthese von Naturstoffen und anderer chiraler Zielverbindungen^[8].

Unsere erste Begegnung mit der Kohlenhydrat-Chemie war eher zufällig als geplant. Von 1974 bis 1981 untersuchten wir das Synthesepotential der unkatalysierten Diels-Alder-Reaktion von Siloxydielen mit elektrophilen Dienophilen^[9, 10]. Das Problem, das diese Untersuchungen auslöste, war ein Syntheseplan für Vernolepin^[11]. In diesem Zusammenhang erschien uns **4** (Schema 1) als ein geeignetes Zwischenprodukt, da es genau die für einen erfolgversprechenden Weg zur Zielverbindung erforderliche Funktionalität aufwies (gestrichelte Pfeile kennzeichnen Umsetzungen, die schließlich auch verwirklicht wurden). Zu der Zeit war allerdings noch kein Weg beschrieben, um ausgehend vom gesättigten 3-Keton die $\Delta^{1,2}$ -konjugierte Doppelbindung in der *cis*-verknüpften Verbindungsreihe auf effiziente Weise einzuführen. Dieses Syntheseproblem brachte uns auf die Idee, die Grundform des Dien **1** ($R^1, R^2 = H$) in einer Diels-Alder-Reaktion mit dem Dienophil **3** umzusetzen, das selbst das Produkt der Diels-Alder-Reaktion von 1,3-Butadien mit Methylpropiolat ist. Durch das Zusammenwirken der 1,3-Substituenten in **1** ($R^1, R^2 = H$) konnte das träge Dienophil **3** addiert werden. Das Diels-Alder-Addukt ließ sich darüber hinaus auf einfache Weise in das gewünschte Produkt **4** umwandeln.

Das Zusammenbringen elektronisch komplementärer Diels-Alder-Komponenten begünstigte in der Tat viele, ansonsten schwierige Cycloadditionen. Durch Nutzung der Funktionalitäten an den Verknüpfungsstellen in den Cycloaddukten (z.B. in **3**,

* Prof. S. J. Danishefsky, Dr. M. T. Bilodeau
The Sloan-Kettering Institute for Cancer Research
Laboratory for Bioorganic Chemistry
1275 York Ave., Box 106, New York, NY 10021 (USA)
Telex: Int. + 212/772-8691
Weitere Adresse:
Department of Chemistry, Havemeyer Hall, Columbia University New York,
NY 10027 (USA)



Schema 1. Diels-Alder-Reaktionen von Siloxydienen mit elektronenreichen Dienophilen (A = elektronenreicher Substituent, E⁺ = Elektronenacceptor, einschließlich H⁺). 9-BBN = 9-Borabicyclo[3.3.1]nonan.

Schema 1) gelang uns die Totalsynthese einer Vielzahl von Naturstoffen einschließlich Vernolepin. Auch einige der anderen Zielverbindungen bedeuteten eine Herausforderung, und ihre Totalsynthesen (z.B. die von Prephensäure, Schema 1, Pentaleonolacton und Griseofulvin) waren sehr lehrreich.

Der vielleicht folgenreichste Aspekt dieser frühen Arbeit in Pittsburgh war das vom Dien 1 ausgehende und über die ausgedehnte Klasse der Siloxydiene fortspflanzende Interesse an der

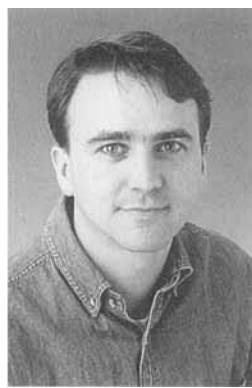
Verwendung von hoch funktionalisierten Dienen in der Diels-Alder-Reaktion. Obwohl diese Diels-Alder-Varianten mittlerweile allgemein anerkannt sind und angewendet werden^[1,2], waren viele Untersuchungen erforderlich, um ihnen zum Durchbruch zu verhelfen.

Als die Anwendung von funktionalisierten Dienen in Kohlenstoff-Diels-Alder-Reaktionen in vielen anderen Arbeitsgruppen weiterentwickelt wurde^[1,3], wandten wir unsere Aufmerksam-

Samuel J. Danishefsky erhielt seinen BS an der Yeshiva University, New York, NY (USA), und promovierte bei Peter Yates an der Harvard University, Cambridge, MA (USA). Als NIH-Stipendiat war er Postdoktorand bei Gilbert Stork an der Columbia University, New York, NY (USA). 1964 bis 1979 war er an der University of Pittsburgh, Pittsburgh, PA (USA), tätig und war von 1980 bis 1993 Professor für Chemie an der Yale University, New Haven, CT (USA), wo er von 1981 bis 1987 auch Chairman of the Department war. 1990 wurde er zum Sterling-Professor ernannt. Er ist gegenwärtig Director of the Laboratory for Bioorganic Chemistry am Sloan-Kettering Institute for Cancer Research. 1993 erhielt er eine Professur an der Columbia University. Er ist Mitglied der National Academy of Science und einer der Preisträger des Wolf Prize in Chemistry 1996.



S. J. Danishefsky



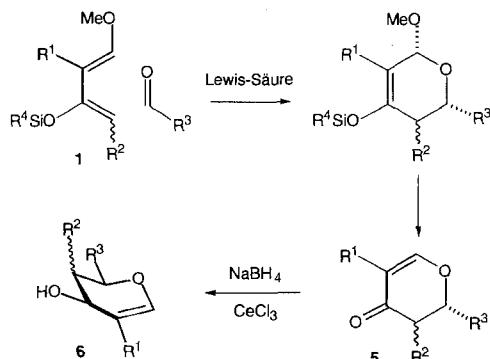
M. T. Bilodeau

Mark T. Bilodeau erhielt 1988 seinen BS in Chemie am Boston College, Chestnut Hill, MA (USA), wo er im Labor von T. Ross Kelly arbeitete. 1993 promovierte er in Organischer Chemie bei David A. Evans an der Harvard University und ging danach als NIH-Stipendiat als Postdoktorand zu Samuel J. Danishefsky an das Sloan-Kettering Institute for Cancer Research. Dort beschäftigte er sich mit der Synthese eines menschlichen Brusttumor-Antigens und des Kohlenhydratbereichs Asparagin-gebundener Glycopeptide. Seit kurzem ist er in der Abteilung für medizinische Chemie bei Merck & Co. in West Point, PA (USA), tätig.

keit einem neuen Ziel zu: der Cycloaddition von Siloxydienen mit Aldehyden. Über die frühen Entwicklungen dieser Reaktion haben wir bereits an anderer Stelle berichtet^[14]. Zwar war bekannt, daß Aldehyde, die durch benachbarte, elektronenziehende Gruppen besonders aktiviert waren (z.B. α -Dicarbonyl- oder α -Polyhalogenaldehyde), mit „nucleophilen“ Dienen^[15] Cycloadditionen eingingen, doch ließen sich analoge Reaktionen mit typischen Aldehyden unter thermischen Reaktionsbedingungen nicht realisieren. Kerwin, damals Graduate-Student in unserem Arbeitskreis an der Yale-University, entdeckte, daß die Cyclokondensation zwischen geeigneten Siloxydienen und Aldehyden unter Lewis-Säure-Katalyse tatsächlich eine allgemein anwendbare und verlässliche Reaktion ist^[16]. Nach einigen Jahren Forschungsarbeit erwies sich diese Cyclokondensation als zentrales Element einer neuen Strategie zur Synthese von polyoxigenierten Naturstoffen^[17].

2. Die Synthese von enantiomerenangereicherten, künstlichen Glycalen und deren Anwendung in Totalsynthesen

Die Lewis-Säure-katalysierte Dien-Aldehyd-Cyclokondensation (Lewis Acid Catalyzed Diene-Aldehyde Cyclocondensation, LACDAC) lieferte einen schnellen Zugang zu neuartigen Dihydropyronen vom Typ 5 (Schema 2). Von Sommer wurde



Schema 2. Synthese von Glycalenen durch die LACDAC-Reaktion (β -R²: Gluco-Reihe; α -R²: Galacto-Reihe).

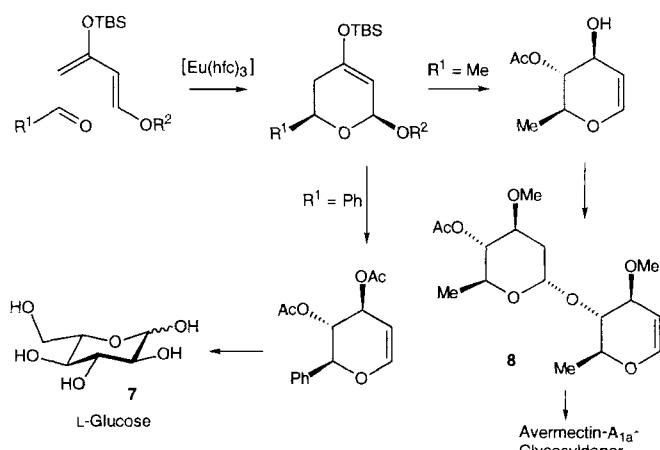
erstmals gezeigt, daß die 1,2-Reduktion von derartigen Dihydropyronen mit Natriumborhydrid und Cer(III)-chlorid als Katalysator die Alkohole mit äquatorialer Hydroxygruppe in hohen Ausbeuten lieferte (6, Schema 2)^[18]. Wir gingen dazu über, solche Verbindungen als „Glycale“ zu bezeichnen. Dieser Begriff war bis dahin Kohlenhydrat-Chemikern als Bezeichnung für natürlich vorkommende Pyranosen und Furanosen mit einer C1-C2-Doppelbindung vorbehalten gewesen. Die Überlegung, rein synthetisch erhaltene, racemische Verbindungen wie 6 als „Glycale“ zu bezeichnen, wurde von einigen der traditionellen Kohlenhydrat-Chemiker erwartungsgemäß mit Zurückhaltung aufgenommen, während uns ein derartiger Zusammenhang durchaus einleuchtend erschien.

Wir haben danach vier Wege verfolgt, um mit der LACDAC-Reaktion enantiomerenangereichte oder gar -reine Dihydro-

pyrone und Glycale zu erhalten^[14]. Wir wollen diese Reaktionswege in chronologischer Reihenfolge vorstellen.

Frühe, allerdings nur mäßige Erfolge wurden mit enantiomerenreinen, oxophilen Lanthanidkomplexen als Lewis-Säure-Katalysatoren in der Cyclokondensation erzielt^[19]. Lanthanide mit chiralen Liganden waren bereits als chemische Verschiebungssreagentien eingesetzt worden. Es ist vielfach übersehen worden, aber vielleicht der Erinnerung wert, daß die Arbeiten von Bednarski über [Eu(hfc)₃]-induzierte Enantioselektivität bei der LACDAC-Reaktion eines der ersten Beispiele für eine verlässliche enantiotope Induktion bei einer metallkatalysierten C-C-Verknüpfung waren (hfc = 3-(Heptafluoropropylhydroxymethylen)-D-camphorat).

In der nächsten Phase unserer Bemühungen untersuchten wir die Auswirkungen des Einbaus einer enantiomerenreinen Hilfsgruppe in die Dien-Komponente. Diese Maßnahme führte nur zu kläglichen Selektivitäten. Durch die Kombination einer chiralen Hilfsgruppe mit einem enantiomerenreinen Lanthanidkomplex ließen sich hingegen hohe Diastereomerenüberschüsse erzielen^[20]. Nach Trennung der Diastereomere waren enantiomerenreine Dihydropyrone erhältlich. Diese Strategie wurde zur Synthese von L-Glucose 7 (Schema 3)^[21] sowie bei der Her-

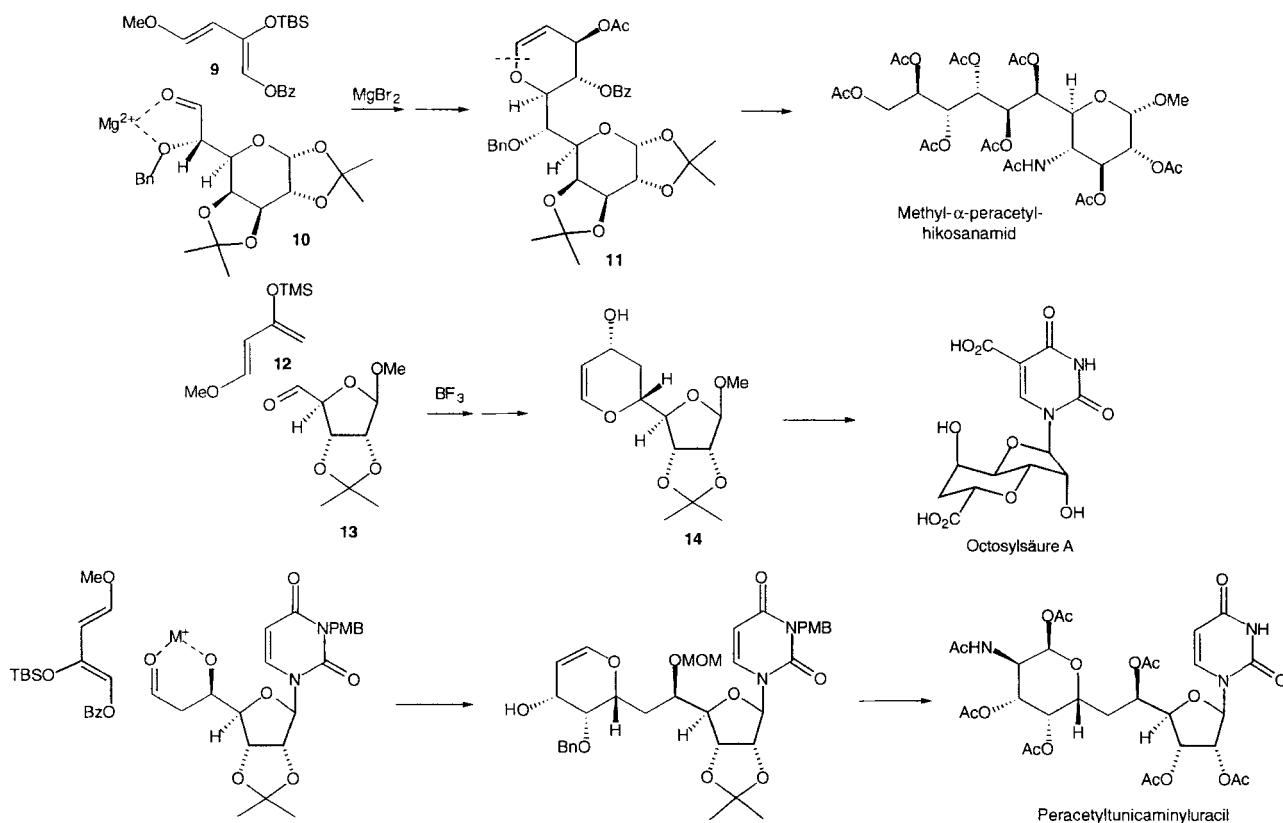


Schema 3. Enantioselektive LACDAC-Reaktion ($R^2 = L$ -8-Phenylmenthyl).

stellung des Kohlenhydrat-Fragments von Avermectin A_{1a}, **8** angewendet (Schema 3)^[22]. Interessanterweise sind die Effekte von Katalysator und Hilfsgruppe nicht multiplikativ. Bednarski erzielte die besten Ergebnisse vielmehr dann, wenn die durch die Hilfsgruppe und den Katalysator induzierten Enantioselektivitäten einander entgegengesetzt waren.

Yamamoto und Mitarbeiter haben die Verwendung von Lewis-Säure-Katalysatoren auf Basis von enantiomerenreinem 1,1'-Binaphthalin-2,2'-diylbis(diphenylphosphoran) (BINAP) erforscht, mit denen die LACDAC-Reaktion noch enantioselektiv gestaltet werden kann^[14, 23]. Diese Chemie, in Verbindung mit der stereoselektiven Reduktion von Dihydropyronen mit dem Luche-System ($NaBH_4/CeCl_3$), ist ein ausgezeichneter Weg zur Herstellung von neuartigen enantiomerenreinen, künstlichen Glycalenen.

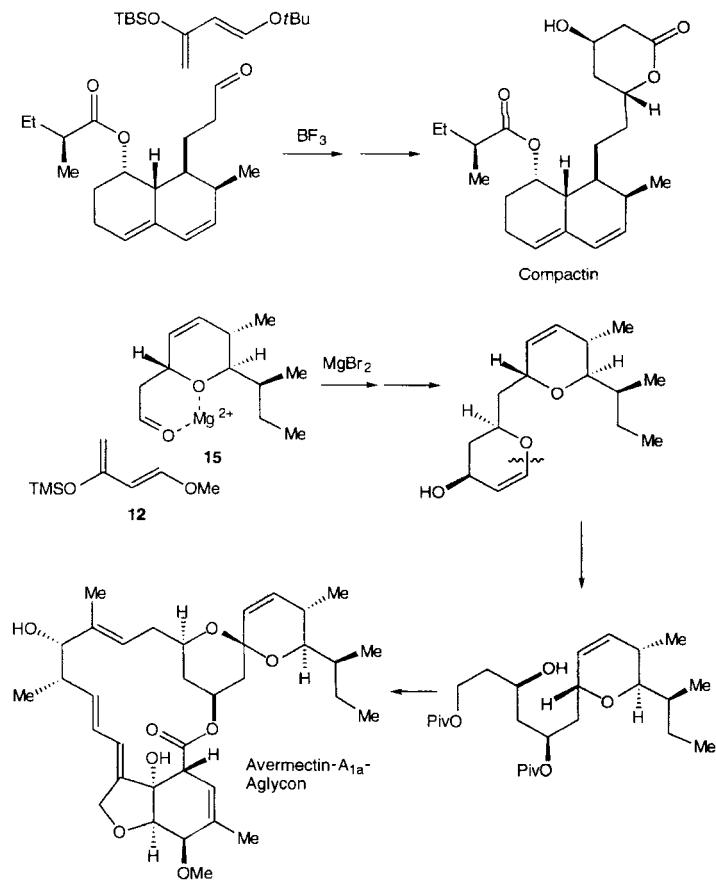
Im Unterschied zu diesen Methoden, bei denen versucht wurde, eine De-novo-Induktion von Chiralität in das Dihydropyron zu erreichen, geht der dritte Ansatz von enantiomerenreinen



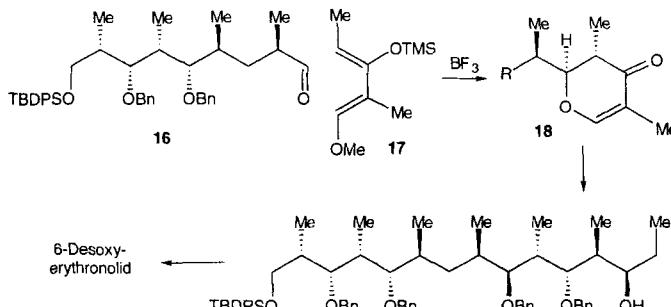
Schema 4. Anwendungen der LACDAC-Reaktion in Totalsynthesen.

Aldehyden aus. Das benachbarte stereogene Zentrum in diesen Aldehyd-Heterodienophilen bewirkt eine Seitendifferenzierung bei der LACDAC-Reaktion. So wurden unterschiedliche, komplexe, optisch reine Glycale aus Vorstufen erhalten, die sich mit hohen Diastereomerenüberschüssen bildeten. Diese Chemie eröffnete uns Synthesewege zu den Monosacchariden höherer Ordnung^[24], zu denen Lincosamin^[25], N-Acetylneuraminsäure^[26], *rac*-3-Desoxy-*manno*-2-octulosonsäure (KDO)^[26], Hikosamin^[27] und Octosylsäure A^[28] zählen. In einigen Fällen (**11** → α -Methylhikosanamid und **14** → Octosylsäure, Schema 4) wird durch die Pyron-Teilstruktur der Aufbau der gewünschten Konfigurationen bei der Ringöffnung induziert.

Bei Verbindungen mit vorgegebener Chiralität wurden die besten Erfolge mit Aldehyden erzielt, die stereogene Zentren mit elektronenziehenden Gruppen in α -Stellung zur Formylfunktion aufweisen (**9 + 10** → **11**, **12 + 13** → **14**, Schema 4). Allerdings konnten auch bei einem größeren Abstand zwischen vorgegebener Chiralität und Induktionsstelle einige beachtliche Erfolge erzielt werden. In unseren Synthesen von Tunicaminylluracil (Schema 4)^[29] und Compactin (Schema 5)^[30] wurden signifikante Diastereoselektivitäten ohne eine dirigierende Funktion in α -Position erhalten. Ein weiteres wichtiges Beispiel für eine hohe Selektivität, an der ein vorhandenes Chiralitätszentrum in einiger Entfernung vom Ort der Bindungsbildung beteiligt war, ist die LACDAC-Reaktion von **12** und **15**, die ein entscheidender Schritt auf dem Weg zu unserer Totalsynthese des Aglycons von Avermectin A_{1a} war (Schema 5)^[22]. Ein anderes, besonders eindrucksvolles Beispiel trat während unserer Synthese von 6-Desoxyerythronolid B (**16 + 17** → **18**, Schema 6) auf. In diesem Fall schien die Stereoselektivität durch von



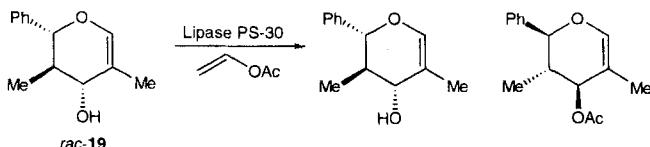
Schema 5. Anwendungen der LACDAC-Reaktion in Totalsynthesen.



Schema 6. Anwendung der LACDAC-Reaktion in der Synthese von 6-Desoxyerythronolid.

der Aldehydfunktion entfernt liegende Stereozentren verbessert zu werden^[31]. Es ist anzunehmen, daß für die Seitendifferenzierung in der LACDAC-Reaktion noch neue Möglichkeiten entdeckt und erarbeitet werden.

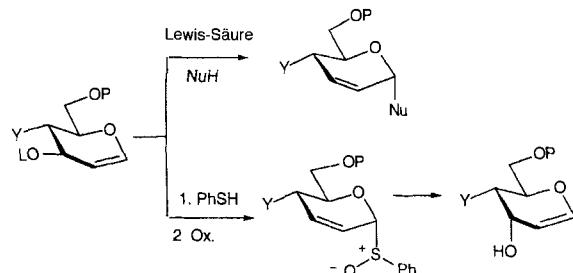
Wie erwähnt, konnte Sommer zeigen, daß die Reduktion von Dihydropyronen mit dem Luche-Reagens ($\text{NaBH}_4/\text{CeCl}_3$) recht selektiv zur Bildung von Alkoholen mit äquatorialer Hydroxygruppe an C3 führt und nicht nennenswert durch eine 1,4-Addition erschwert wird^[18]. Diese Chemie bereitete den Weg für den vierten und allgemeingültigsten Ansatz zur Herstellung von enantiomerenreinen, künstlichen Glycalen^[32, 33]. So fand Berkowitz heraus, daß Racemate vom Typ 19 gut durch enzymatische enantioselektive Acetylierung nach der Wong-Methode (Lipase PS-30 und Vinylacetat als Acylierungsmittel, Schema 7) in ihre Enantiomere getrennt werden können^[34].



Schema 7. Enzymatische Racematspaltung eines racemischen Glycals.

Ungeachtet unserer Begeisterung für das LACDAC-Verfahren läßt es sich nicht leugnen, daß für Glycale mit einer normalen Hexose-Funktionalität an C3, C4 und C6 natürlich vorkommende Zucker noch immer die beste Quelle sind. Besonders Glycale, die nahe verwandt sind mit D-Glucal, D-Galactal und D- oder L-Fucal sind aus käuflichen Vorstufen leicht erhältlich. Nur dann, wenn die erforderliche Funktionalität der angestrebten Glycale nicht auf einfache Weise aus Kohlenhydraten zugänglich ist, kann die Totalsynthese mit der LACDAC-Chemie der Partialsynthese überlegen sein.

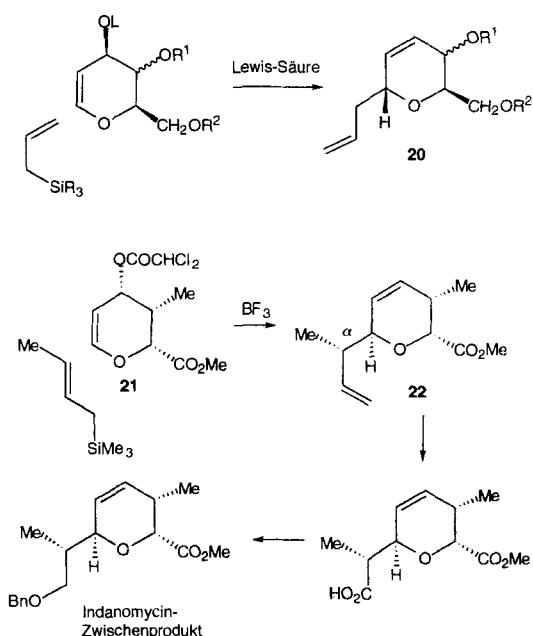
Die Synthese von Glycale aus Kohlenhydratvorstufen mit einer axialen Hydroxygruppe an C3 (z.B. D-Allal und D-Gulal) kann durch reduktive Eliminierung von Heterogruppen an C1 und C2 erreicht werden^[35]. In einigen wichtigen Fällen waren allerdings bereits die Ausgangshexosen mit der axialen Hydroxygruppe an C3 nur sehr schwer zugänglich. Wir haben einen Weg gefunden, um mit einer derartigen Situation umzugehen. Unsere Methode macht sich eine Ferrier-artige Umwandlung der Glycale zunutze^[36, 37]. Wie wir sehen werden, war die klassische Ferrier-Umlagerung zu Pseudoglycalen für unsere Vorgehensweise von Bedeutung (Schema 8). So führt die Reaktion



Schema 8. Ferrier-Umlagerungen von Glycalen und Nutzung anschließender Sulfoxid-Umlagerungen (LO = Abgangsgruppe; Y = α -OR: Allal-Reihe; Y = β -OR: Gulal-Reihe).

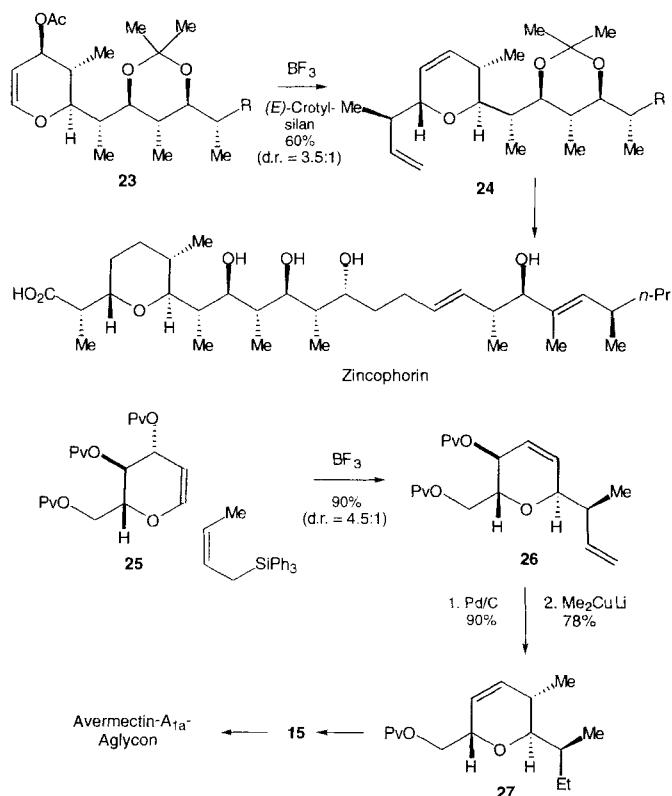
eines C3-äquatorialen Glycals mit Thiophenol zu einem axialen Thiophenyl-„Pseudoglycal“, das zu einem C3-axialen Glycal oxidiert wird. Diese Reaktion findet vermutlich über eine Umlagerung des Sulfoxids statt^[38, 39]. Obwohl diese Reaktion hinsichtlich ihrer Anwendungsbreite, ihrer Grenzen und ihres Mechanismus noch nicht vollständig verstanden ist, haben wir sie bereits in unseren Totalsynthesen der Trisaccharid-Teilstruktur von Esperamicin und der Aryltetrasaccharid-Teilstruktur von Calicheamicin eingesetzt (siehe Schema 58 bzw. 60).

Da sich der Zugang zu Glycalen deutlich verbessert hatte und unsere Synthesen zu vielen Monosacchariden höherer Ordnung erfolgreich abgeschlossen worden waren, begannen wir mit der Erforschung neuer Anwendungsmöglichkeiten für Glycale als Synthesebausteine zum Aufbau von unterschiedlichen Glykonjugaten. Bevor wir uns dem Hauptthema dieses Beitrags zuwenden, wollen wir uns der Nutzung von Glycalen in der stereoselektiven Synthese von C-Glycosiden widmen. Eine von uns entwickelte Schlüsselreaktion kann als eine Lewis-Säure-katalysierte „Kohlenstoff-Ferrier“-Reaktion betrachtet werden^[40]. Umsetzungen von Allyltrimethylsilan mit aktivierten Glucal- oder Galactal-Derivaten führen zu C-Glycosiden mit axialen Allylfunktionen (20, Schema 9).



Schema 9. Verwendung von Allylsilanen bei der Ferrier-Umlagerung (OL = Abgangsgruppe; α -OR¹: Gluco-Reihe; β -OR¹: Galacto-Reihe).

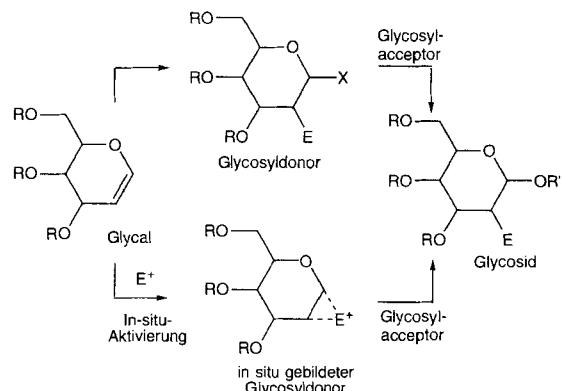
Später entdeckten wir, daß durch die Umsetzung von Glycalen mit *cis*- und *trans*-Crotylsilanen Methallylglycoside mit guter Stereoselektivität an C₂ hergestellt werden können. Die Konfiguration des Produkts wird durch die Doppelbindungs-konfiguration des Crotylrestes festgelegt. Dieser Reaktionstyp konnte in unseren Synthesen von Indanomycin^[41], Zincophorin^[42] und Avermectin A_{1a}^[22] mit gutem Erfolg eingesetzt werden: Die Reaktion von *trans*-Crotylsilan mit den Glycalen **21** und **23** (Schema 9 bzw. 10) lieferte als Hauptprodukte die Verbindungen **22** bzw. **24**, wohingegen Triphenyl-*cis*-crotylsilan mit dem Glycal **25** zu **26** reagierte (Schema 10). Dieses wurde durch Reduktion und anschließende Umsetzung mit Lithiumdimethylcuprat in **27** überführt, von dem wir über **15** zum Avermec-tin-Aglycon gelangten.



Schema 10. Nutzung der Allylsilan-Ferrier-Umlagerung in Totalsynthesen.

3. Glycale in der Oligosaccharidsynthese – einige erste Ergebnisse

Wir wollen uns nun der Anwendung von Glycalen zum Aufbau von Oligosacchariden und anderen Glykogenkonjugaten zuwenden. Die beiden Komponenten einer Glycosylierung werden unterschiedlich bezeichnet: Die Komponente, die das anomere Kohlenstoffatom zum entstehenden Glycosid beisteuert, wird als Glycosyldonor bezeichnet (Schema 11), der mit einem Glycosylacceptor zum Glycosid reagiert. In der überwiegenden Mehrzahl der Glycosylierungen ist der Acceptor ein Nucleophil, das durch Austausch einer Abgangsgruppe am anomeren Kohlenstoffatom des elektrophilen Glycosyldonors das Sauerstoffatom der entstehenden Glycosidbindung liefert. Mit Blick auf



Schema 11. Glycale als Glycosyldonoren.

die neuartigen Glycosylierungsverfahren von Schmidt^[43], David und Lubineau^[44], Vasella^[45] und Kahne^[46] ist es allerdings erforderlich, die Bezeichnungen „Glycosyldonor“ und „Glycosylacceptor“ unabhängig von mechanistischen Umschreibungen wie „Nucleophil“ oder „Elektrophil“ zu verwenden.

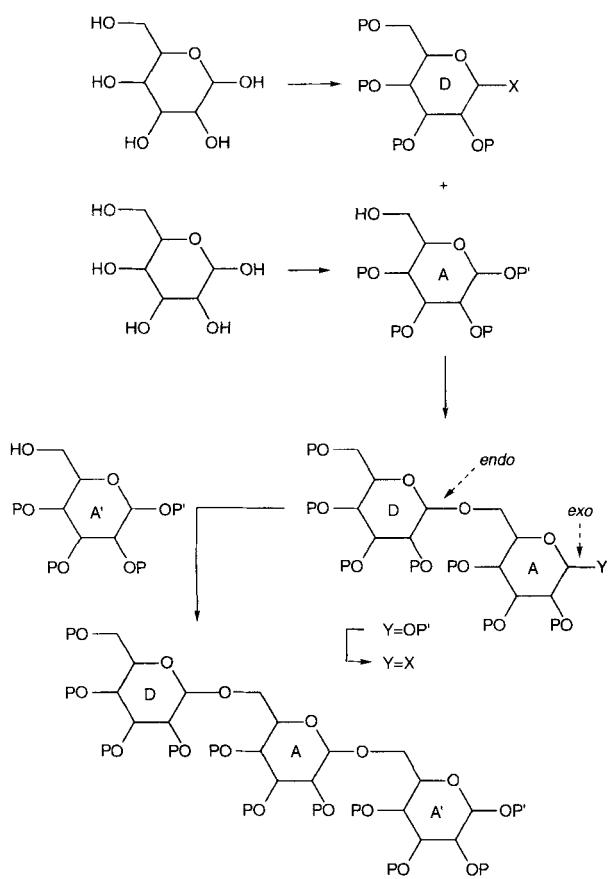
Es ist außerdem sinnvoll, zwischen zwei Reaktionsmöglichkeiten zu unterscheiden, über die Glycale als Glycosyldonoren fungieren können (Schema 11). Im ersten Fall wird das Glycal zunächst durch eine Reaktion oder eine Reaktionssequenz (beispielsweise durch Epoxidierung, Azidonitrierung^[47] oder Sulfonamidglycosylierung) in einen isolierbaren oder zumindest nachweisbaren Glycosyldonor überführt, d. h. das Glycal ist die Vorstufe für einen Glycosyldonor mit definierter Struktur. Im anderen Fall wird das Glycal *in situ* elektrophil aktiviert und fungiert dann in Form eines substöchiometrisch vorliegenden, nicht isolierbaren Intermediats als Donor.

Die Möglichkeit, Glycale als Glycosyldonoren in Disaccharidsynthesen einzusetzen, ist in den wegweisenden Arbeiten von Lemieux^[48] und Thiem^[49] durch eine haloniumvermittelte Kupplung an geeignete Acceptor-Substanzen bestätigt worden. Thiem^[49] konnte zeigen, daß diese Reaktionen eine starke Neigung zu *trans*-dialixialer Addition aufweisen und daß sie einen entscheidenden Weg zu α -verknüpften Disacchariden mit einer axialen 2-Iodfunktion am nichtreduzierenden Ende liefern. Wegen der Schwierigkeit, in derartigen Systemen^[50] das Iodatom nucleophil zu substituieren, hat diese Chemie ihre bisher nützlichste Anwendung in der Synthese von 2-Desoxyglycosiden gefunden^[49, 51].

Unsere, auf den Aufbau von Glykogenkonjugaten und Oligosacchariden ausgerichtete Chemie, gruppieren sich um vier Fragen: 1) Könnte eine Glycalbindung am Ende eines Di- oder Oligosaccharids als brauchbarer Glycosyldonor (im Sinne einer der oben beschriebenen Möglichkeiten) dienen? 2) Könnten Glycale auch als Glycosylacceptoren verwendet werden? 3) Ist es möglich, die durch LACDAC-Reaktion zugänglichen, nichtnatürlichen Glycale als Glycosyldonoren und -acceptoren stereoselektiv umzusetzen? 4) Ist das auf Glycalen basierende Verfahren für eine sinnvolle Anwendung in der Totalsynthese von komplexen, multifunktionellen Zielverbindungen ausreichend flexibel? Die Übertragung des Fortschritts von der behüteten Welt der „Synthesebeispiele“ auf die oftmals rauhe Wirklichkeit der Totalsynthese von komplexen Verbindungen darf keinesfalls für selbstverständlich gehalten werden!

Sollten Glycale tatsächlich in unterschiedlichen Kupplungen als Glycosyldonoren und als Glycosylacceptoren einsetzbar sein, könnte man zum Aufbau von komplexen Glykоконjugaten, einschließlich Oligosacchariden, eine Wiederholungsstrategie anstreben. Auf Glycalen basierende Glycosylierungen hätten den bedeutenden Vorteil, daß ein differenzierter Schutz der Hydroxygruppen und deren Freisetzung vereinfacht würden. Dies läßt sich anhand eines Vergleichs der Schemata 12 und 13 verdeutlichen.

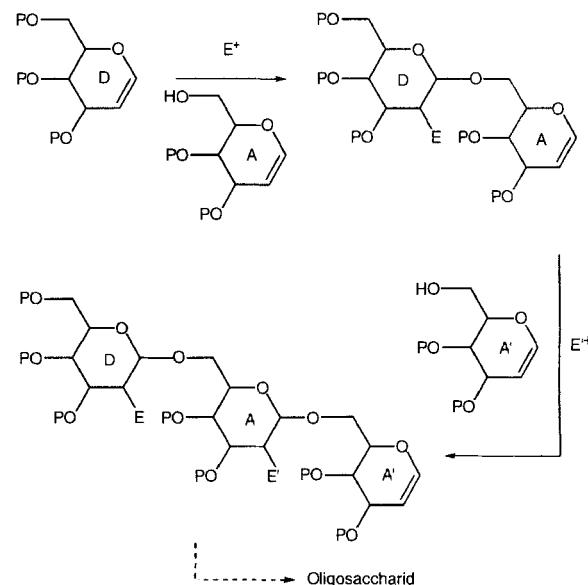
Schema 12 beschreibt die klassische Glycosylierungsstrategie^[5,2] mit vollständig oxygenierten Pyranosedonoren und -acceptoren. Für den sehr einfachen Fall der Kupplung der Hexosen D (Donor) und A (Acceptor) zum geschützten DA-Disaccharid müssen mehrere Schwierigkeiten überwunden wer-



Schema 12. Trisaccharid(DAA')-Synthese nach herkömmlichen Methoden (die Konfiguration an den glykosidischen Bindungen ist nicht berücksichtigt). A, A' = Acceptorbaustein; D = Donorbaustein; P = Schutzgruppe; X = Abgangsgruppe.

den. Die anomere Hydroxyfunktion im gebildeten Donorzucker muß als Abgangsgruppe von den vier anderen Hydroxyfunktionen unterschieden werden. Im entsprechenden Acceptor muß eine von fünf freien Hydroxygruppen bei der Glycosylierung erkannt werden, während der „Acceptor“ am anomeren Zentrum geschützt sein muß. Zur Synthese des DAA'-Trisaccharids muß man die „exo“- und die „endo“-Glycosid-Einheit des DA-Disaccharids unterschiedlich gestalten. Hat man dies erreicht, wird eine Abgangsgruppe am ehemaligen A-Zucker angefügt. Der resultierende Glycosyldonor muß mit einem Glycosylacceptor A' verknüpft werden, in dem eine der fünf Hydroxygruppen als Acceptor für die Glycosylierung spezifiziert wurde.

Wir wollen diese Strategie mit dem Syntheseplan für ein DAA'-Trisaccharid durch wiederholende Kupplung von Glycalen vergleichen (Schema 13). In diesem Fall fungiert die aktivierte, olefinische Bindung der einheitlich geschützten Verbindung D als Glycosyldonor. Eine der drei Hydroxygruppen



Schema 13. Trisaccharid(DAA')-Synthese nach der Glycalstrategie (die Konfiguration an den glykosidischen Bindungen ist nicht berücksichtigt). Die Wiederholung der Glycosylierungssequenz führt zu Oligosacchariden.

des Acceptorglycals A muß für die Glycosylierung zum DA-Disaccharid in freier Form vorliegen. Im Anschluß an die Kupplung wird die Glycalbindung von DA in situ oder in einer gesonderten Umsetzung aktiviert, so daß ein DA-Donor als Reaktionspartner für ein neues Acceptorglycal A' entsteht. So gelangt man zum Trisaccharid DAA', das durch Aktivierung der Glycalfunktion in der A'-Einheit für eine Verlängerung zum Tetrasaccharid und höheren Oligosacchariden gerüstet ist.

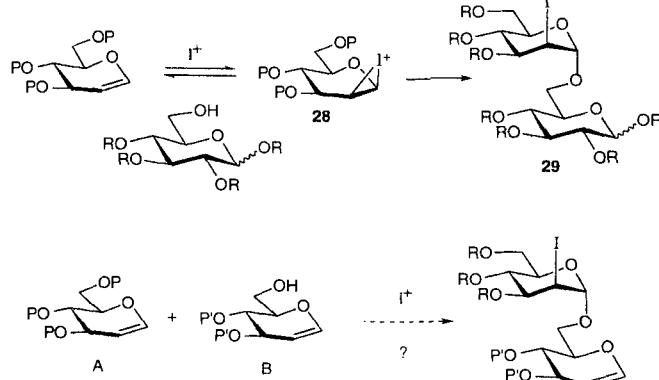
Damit das in Schema 13 beschriebene Wiederholungsverfahren durchführbar und breit anwendbar ist, müssen Glycale auch als Glycosylacceptoren fungieren. Für die von uns angestrebten, weitergehenden Anwendungen ist es darüber hinaus erforderlich, daß die Glycalbindungen am reduzierenden Ende größerer Oligosaccharide ebenfalls Donoreigenschaften aufweisen. Für eine möglichst breite Anwendbarkeit sollte ein Satz von Kupplungsmethoden zur Verfügung stehen, in denen Glycale verwendet werden, die sowohl als Donor als auch als Acceptor fungieren können. Für dieses Konzept zum Aufbau von nicht-natürlichen Glykоконjugaten und Oligosacchariden müssen entsprechende nichtnatürliche, durch Synthese herzustellende Glycale entworfen werden.

4. Halogenglycosylierung

Die von Lemieux^[48] und Thiem^[49] entwickelte Iodglycosylierung erschien uns als besonders schwierige Herausforderung für die gleichzeitige Anwendung von Glycalen als Aczeptoren und Donoren. Im klassischen Sinn wurde die Iodglycosylierung

mit Glycalen als Donoren durchgeführt, wobei die Glycalbindung durch ein I^+ -Reagens (z.B. *N*-Iodsuccinimid oder *sym*-Collidiniodoniumperchlorat) angegriffen wird. Im Normalfall wird das dabei vermutlich entstehende, substöchiometrisch vorliegende Intermediat **28** durch einen gleichzeitig vorhandenen Nicht-Glycal-Acceptor mit geschütztem reduzierendem Ende angegriffen (Schema 14). Der stereochemische Verlauf der Glycosylierung wird durch die *trans*-dixiale Addition gewährleistet, und es bildet sich das α -verknüpfte Disaccharid **29**.

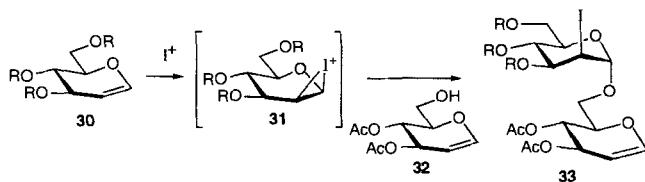
Als erstes haben wir uns der Kupplung von zwei Glycalen durch Iodglycosylierung zugewandt. Eine derartige Kupplung war zuvor offensichtlich noch nicht versucht worden. Das Problem besteht darin, die Funktion der Glycale zu kontrollieren. Da **28** ein kurzlebiges Zwischenprodukt ist, erschien es sehr unwahrscheinlich, daß die Reihenfolge der Zugabe der beiden nichtidentischen Glycale A und B (Schema 14) und des Iodierungsreagens das Ergebnis beeinflussen könnte. Tatsächlich bestimmt die Reihenfolge der Glycaladdition nicht, welches der Glycale auf dem Weg zum AB-Glycal als Donor und welches als Acceptor fungiert.



Schema 14. Iodoniumsalz-katalysierte Kupplung von Glycalen.

Im Falle unterschiedlicher Glycale kann durch Schützen sämtlicher Hydroxygruppen eines der beiden Glycale erreicht werden, daß dieses nicht mehr als Acceptor reagieren kann. Wegen der Glycalfunktion im vorgesehenen Acceptor kann dieser allerdings auch als Glycosyldonor reagieren (Schema 14), weshalb man auch dann, wenn eines der beiden Glycale als Glycosylacceptor untauglich ist, mit beachtlichen Schwierigkeiten (symmetrische Kupplung, Polymerisation) rechnen muß.

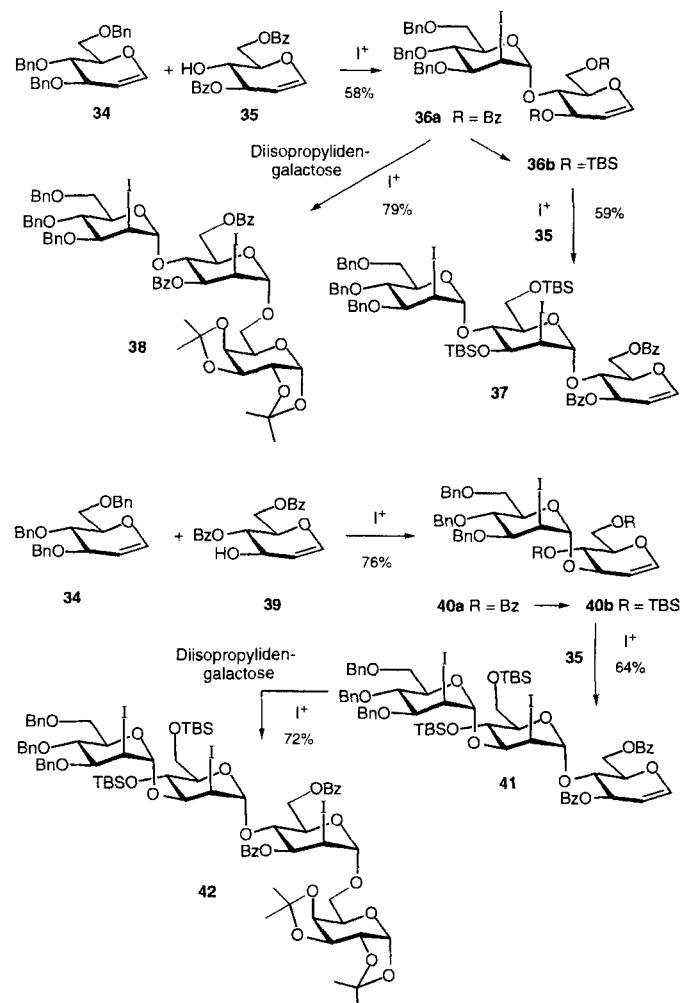
Eine interessante Lösung lag auf der Hand. Die Überlegung war, daß die Art der Schutzgruppen des Glycals den Reaktionsverlauf lenken könnte. Obwohl schon lange bekannt war, daß Acylschutzgruppen die Reaktivität von Glycosyldonoren herabsetzen^[53a], ist die Idee, diesen Effekt für die Kupplung von zwei Glycosyldonoren zu nutzen, erst in den zukunftsträchtigen Experimenten von Fraser-Reid und dessen Mitarbeitern aufgegriffen worden^[53b, 54]. Hier wollen wir die Reaktion mit dem Donor **30** und dem Acceptor **32** näher betrachten (Schema 15). Die Hydroxygruppen von **32** sind acyliert und die von **30** bis auf eine alkyliert (oder silyliert). Da **30** gegenüber dem Iodonium-Elektrophil nucleophiler ist als **32**, wird I^+ das Glycal **30** unter Bildung des Glycosyldonors **31** angreifen. Darüber hinaus weist



Schema 15. Die Verwendung von Glycaldonoren und -acceptoren in Iodglycosylierungen ($R = \text{Alkyl}$).

30 keine freie Hydroxygruppe auf und kann deshalb nicht als Acceptor fungieren. Das Glycal **32**, das eine freie Hydroxygruppe trägt, kann als Glycosylacceptor zum Iodglycosid **33** reagieren. Um dieses Konzept in die Praxis umzusetzen, ist es erforderlich, daß die Bildungsgeschwindigkeit und die effektive Konzentration von **31** sehr viel größer sind als die der entsprechenden Spezies, die sich von **32** oder vom Disaccharid **33** ableiten.

Die Realisierung dieser Reaktion gelang Friesen (34 + 35 \rightarrow 36, Schema 16)^[55]. Zur Wiederholung der Reaktionsfolge mußte die Nucleophilie des Disaccharid-Glycals gegenüber I^+ erhöht werden, damit es als Glycosyldonor mit dem nächsten Acceptor, dem Hydroxydiester **35**, reagieren konnte. Zu diesem Zweck wurde **36a** in **36b** überführt, und die Iodonium-vermit-



Schema 16. Polysaccharid-Aufbau durch Iodglycosylierung.

telte Kupplung von **36b** mit **35** führte tatsächlich zu **37**. Die analoge Kupplung von **36a** mit dem geschützten Nicht-Glycal-Acceptor Diisopropylidengalactose zu **38** zeigte (wie bereits aus früheren Untersuchungen bekannt war), daß Glycale mit Acylschutzgruppen in Iodglycosylierungen mit Nicht-Glycal-Acceptoren brauchbare Glycosyldonoren sind. Das Wesentliche dieser Arbeit war die Erkenntnis, daß die sonst sehr reaktive 1,2-Doppelbindung des als Diester geschützten Glycalsubstrats nicht mit der analogen Bindung des Triethers um den Angriff der Iodonium-Spezies konkurriert.

Den Einfluß der Substituenten auf die Iodonium-vermittelte Kupplung von zwei Glycalen haben wir noch nicht im einzelnen geklärt. Man sollte erwarten, daß der elektronische Unterschied zwischen einer Acyloxy- und einer Alkoxygruppe am allylisch zur Doppelbindung angeordneten C3-Zentrum ausschlaggebend sein sollte. Die einheitliche und erfolgreiche Kupplung von **34** und **39** unter Bildung von **40a** (Schema 16) zeigt jedoch, daß auch ohne eine Acyloxygruppe an C3 eine geordnet verlaufende Glycosylierung erreicht werden kann. Das so erhaltene Disaccharid wurde zum Trisaccharid-Glycal **41** umgesetzt, dessen Kupplung mit Diisopropylidengalactose das Tetrasaccharid **42** lieferte.

Wir waren jetzt in der Lage, diese Steuerung der Glycal-Glycal-Kupplung in einer Synthese von Ciclamycin 0 zu nutzen^[56, 57]. Die Schlüsselkupplungen zur Herstellung des Trisaccharid-Glycals **48** sind in Schema 17 abgebildet. Glücklicherweise konnte **48** erfolgreich zur Iodglycosylierung des Ciclamycin-0-Aglycons ϵ -Pyrromycinon eingesetzt werden, und nach

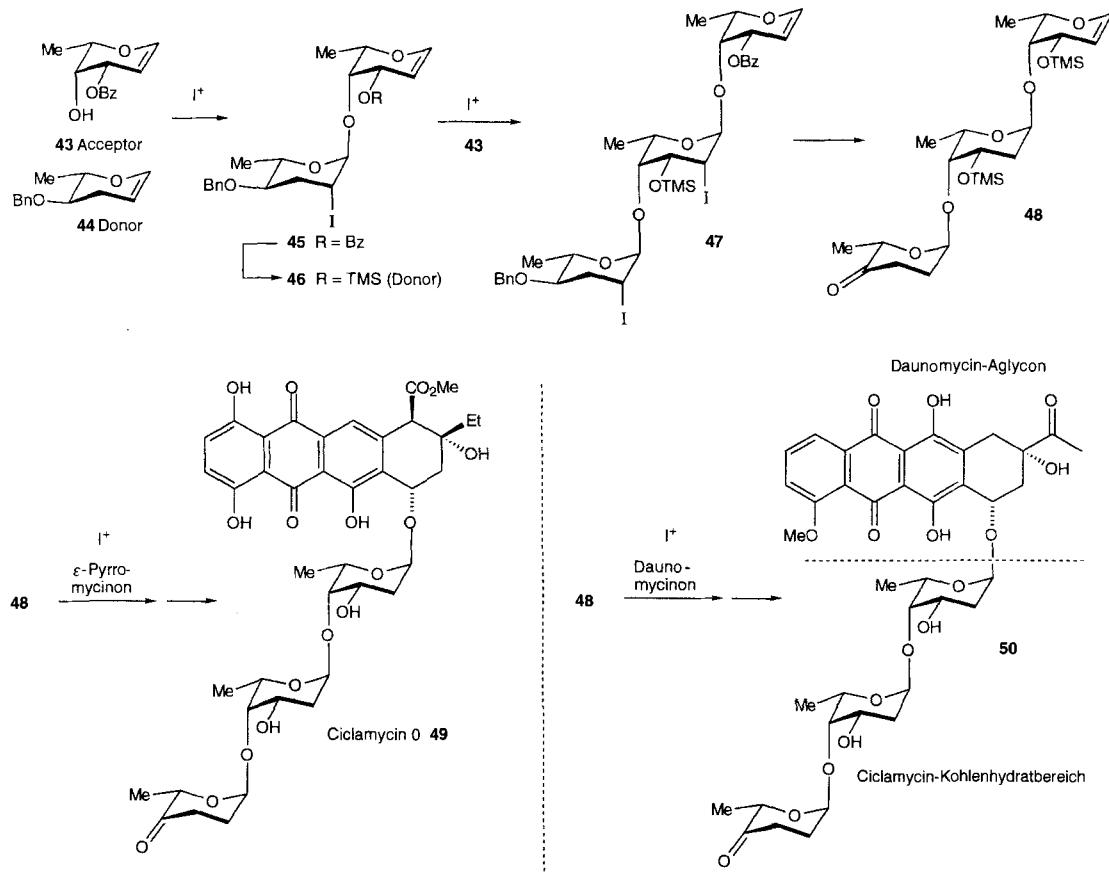
weiteren Stufen wurde der Naturstoff **49** erhalten. Durch die Iodonium-vermittelte Kupplung von **48** mit Daunomycinon und anschließende Desiodierung wurde analog das Anthracyclon **50** erhalten.

Die Synthese von neuartigen Anthracyclinen aus den nicht-naturlichen Glycalen **51** und **52** (über die LACDAC-Reaktion) ist weiterentwickelt worden (Schema 18)^[33]. Die Chiralität des Zuckerbausteins (z.B. in **53** und **54**) hat eine starke Wirkung auf die DNA-bindenden Eigenschaften der modifizierten Daunomycinone. Dieser Befund vermittelte uns einen ersten Eindruck von der möglicherweise wichtigen Rolle des Kohlenhydratbereichs zur Steuerung der Wechselwirkungen zwischen DNA und dem Wirkstoff. Bei unseren Arbeiten auf dem Calicheamicin-Gebiet kam uns diese Erkenntnis zugute (siehe Abschnitt 9).

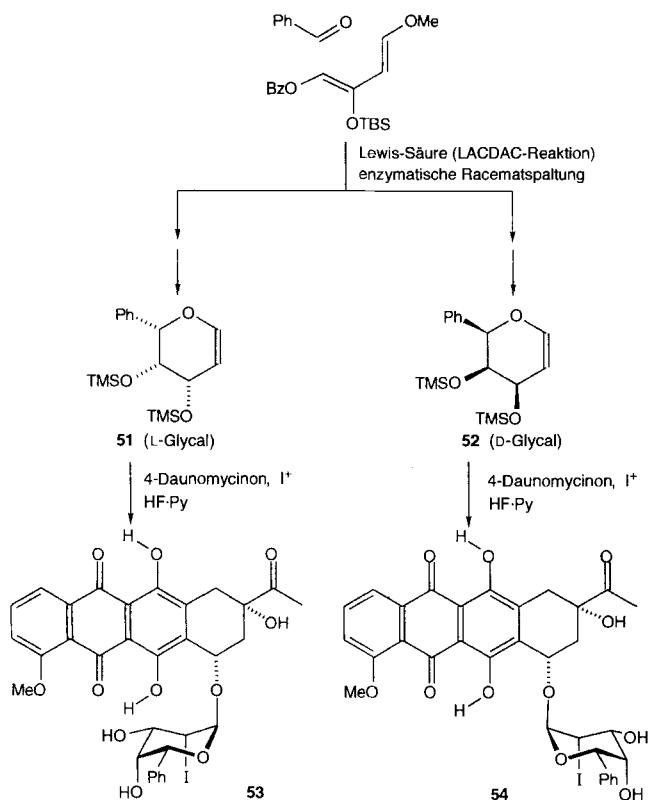
Wegen der Zugänglichkeit nichtnatürlicher Glycale in optisch reiner Form (in beiden Enantiomerengruppen) und der Leistungsfähigkeit der Iodglycosylierung ist es nun möglich, die Bedeutung des Kohlenhydratbereichs für die DNA-Erkennung und für die Cytotoxizität von Anthracyclin-Antitumor-Wirkstoffen im einzelnen zu erforschen, womit wir uns derzeit beschäftigen.

5. Azaglycosylierung von Glycalen

Angesichts der ausgezeichneten Zugänglichkeit natürlicher und nichtnatürlicher Glycale durch Total- oder partielle Synthese (Abschnitt 2) lag es nahe, ihre Verwendungsmöglichkeiten als Vorstufen für Glycoside von 2-Acylaminozuckern zu untersu-

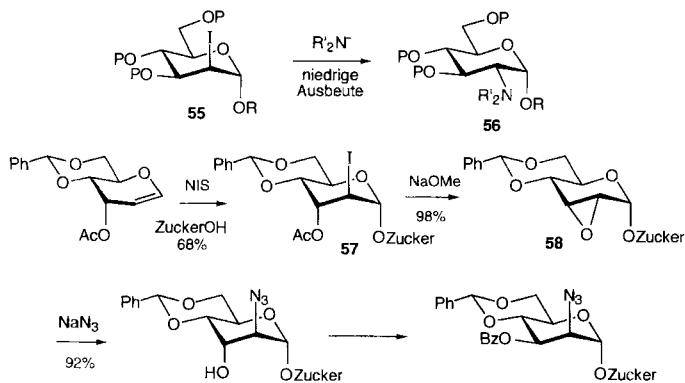


Schema 17. Synthese von Ciclamycin 0.



Schema 18. Bindung von durch enzymatische Racematspaltung erhaltenen Glycalen an das Daunomycin-Aglycon. Der Kohlenhydratbereich von **53** weist die „natürliche“ Konfiguration auf und wird von DNA stark gebunden, der von **54** weist die entgegengesetzte Konfiguration auf und wird von DNA schwach gebunden. Py = Pyridin.

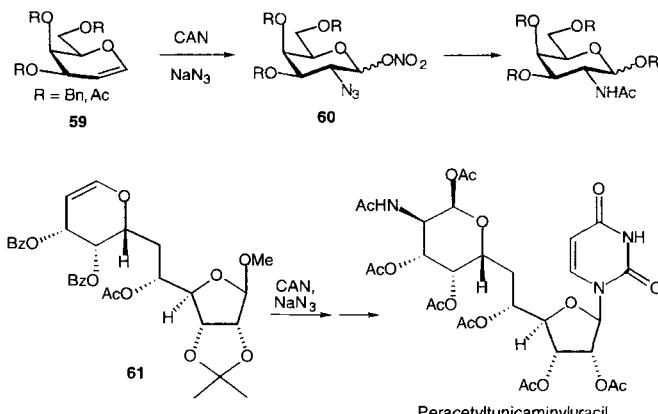
chen. Mit Blick auf die in Abschnitt 4 beschriebene Iodglycosylierungsschemie bietet sich der Austausch des axialen Iodsubstituenten (**55** → **56**, Schema 19) zur Einführung eines äquatorial angeordneten Stickstoffatoms an C2 an. S_N2-Reaktionen an Zentren mit axialen Abgangsgruppen, die zu einer axialen Glycosidbindung 1,2-anti-ständig sind, liefern die Substitutionsprodukte meist nur in geringen Ausbeuten. Für den Fall eines *N*-Acetylmannosaminglycosids haben wir einen alternativen Ansatz entwickelt, bei dem die intramolekulare Reaktion mit einem Hydroxynucleophil an C3 genutzt wird (**57** → **58**)^[55]. Dieses Verfahren ist zwar interessant, aber recht umständlich und nicht auf Verbindungen aus der Klasse der *N*-Acetylglucosamin-Glycoside ausgerichtet, wie sie beispiels-



Schema 19. Synthese eines α -Mannosamins aus einem Glycal.

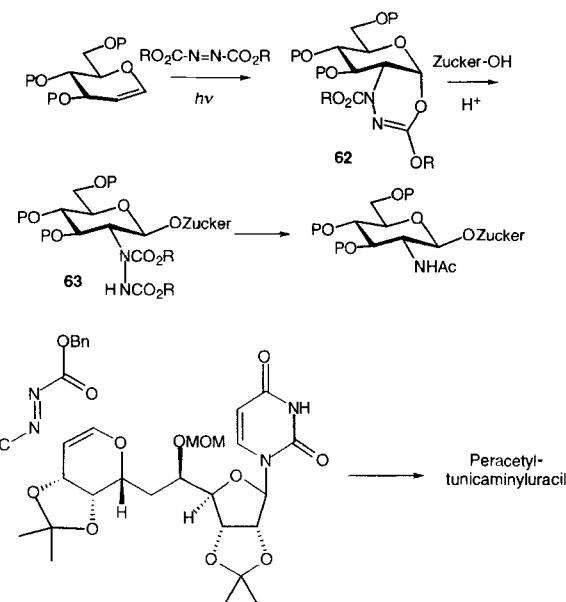
weise in Asparagin-ver-knüpften Glycoproteinen vorkommen (siehe Abschnitt 10)^[58].

Zwei Wege, um über ein Glycal ein Stickstoffatom an C2 einzuführen, waren bereits von Lemieux untersucht worden. Ein wichtiger erster Fortschritt wurde durch die Nitrosochlorierung von Glycalen erzielt^[59]. Dieser Weg war zum damaligen Zeitpunkt ein beachtlicher Erfolg, doch gab es keine hinsichtlich Ausbeute und Stereoselektivität zufriedenstellenden Methoden zur Umwandlung des Oximinoprodukts zu den Zielverbindungen. Bessere Ergebnisse wurden durch Azidonitrierung erzielt (**59** → **60**, Schema 20)^[47]. Dieses Verfahren ermöglichte in der Tat die Synthese von vielen Zielverbindungen. So haben wir in unserer ersten Synthese von Tunicaminylluracil auf die Azidonitrierung des durch LACDAC-Reaktion erhaltenen Glycals **61** zurückgegriffen^[29a].



Schema 20. Azidonitrierung von Glycalen. CAN = Cerammoniumnitrat.

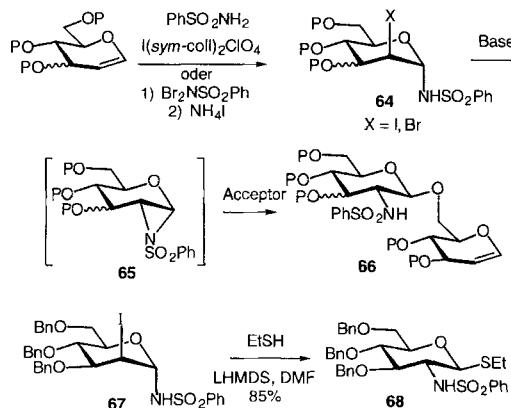
Eine sehr interessante Lösung des Problems, Glycale zu derartigen Zielverbindungen umzuwandeln, ist von Fitzsimmons, Le Blanc und Mitarbeitern entwickelt worden^[60]. Deren Methode beginnt mit der Cycloaddition von Azodicarboxylaten an Glycale unter Bildung von **62** (Schema 21). Unter unterschiedli-



Schema 21. Cycloaddition von Azodicarboxylaten mit Glycalen.

chen Bedingungen saurer Katalyse können Verbindungen wie **62** als Glycosyldonoren fungieren (**62** → **63**). Es wurden mehrere Methoden erarbeitet, um die Hydrazodicarboxylat-Bindung reduktiv zu spalten und die Produkte zu den gewünschten 2-Acetamiden umzusetzen. Wir haben diese Chemie in unserer zweiten und effektiveren Synthese von Tunicaminylluracil genutzt (Schema 21)^[29b].

Im Zusammenhang mit unserer Totalsynthese von Allosamidin^[61] suchten wir nach einer neuen Methode, um das Glycal **66** herzustellen (Schema 22). Dabei sollte die Produktbildung durch stereoelektronische Faktoren und nicht durch die Folgen



Schema 22. Iod sulfonamidierung von Glycalen. P = Schutzgruppe, Zucker; LHMDs = Lithiumhexamethyldisilazanid.

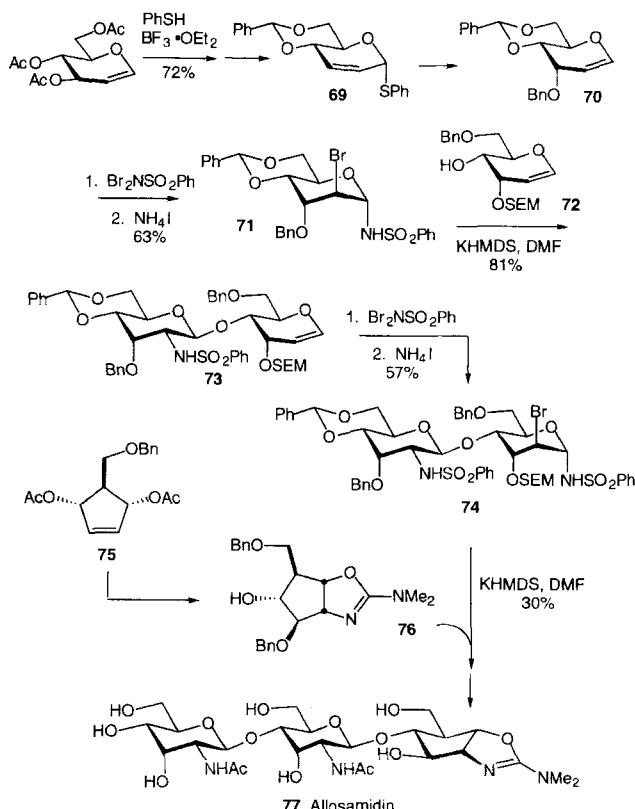
einer lokalen sterischen Hinderung gesteuert werden. Mit anderen Worten, das zu entwickelnde Verfahren sollte sowohl ausgehend von Glucal- als auch von Allalverbindungen mit einer axialen, freien oder geschützten Hydroxygruppe an C3 zum C2- α -Acetamidoprodukt führen.

Die von Griffith entwickelte Schlüsselreaktion zur Lösung dieses Problems war die Sulfonamidglycosylierung^[62]. Diese Methode, bei der ein N-Halogenbenzolsulfonamid *trans*-dialixial an ein Glycal addiert wird, führte zu **64**. Unter geeigneten Reaktionsbedingungen können unterschiedliche Nucleophile mit **64** zu Glycosiden von 2- α -Benzolsulfonylglycosaminen reagieren. Der eintretende Acceptor kann eine Pyranose mit geeignet differenzierter Hydroxygruppe sein oder auch ein Glycal (z.B. **66**), wodurch eine Wiederholung des Vorgangs möglich wird. Darüber hinaus könnte der Donor für die Sulfonamidglycosylierung ein Di- oder Oligosaccharid mit einer terminalen Glycalbindung sein.

Obwohl es uns bisher noch nicht gelungen ist, das Zwischenprodukt der Reaktion von 2 β -Halogen-1 α -sulfonamidpyranosiden wie **64** zu **66** eindeutig zu charakterisieren, haben wir Grund zu der Annahme, daß das 1,2-Sulfonylaziridin **65** die glycosylierende Spezies ist. Es ist ein sehr starkes Elektrophil, das mit dem Nucleophil am anomeren Kohlenstoffatom in einem β -Angriff reagiert. Es wurden mehrere Verfahren entwickelt, um die Aminogruppe aus dem 2-Sulfonamid freizusetzen (siehe Abschnitt 10). Außerdem kann ein Iod sulfonamid in das entsprechende Ethylthioglycosid überführt werden (**67** → **68**, Schema 22), das dann als Azaglycosyldonor eingesetzt werden kann. Diese Umwandlung erwies sich in einigen wichtigen Fällen,

in denen die direkte Glycosylierung der Iod sulfonamide mißlang, als sehr nützlich (siehe Schema 53 und 54).

Im folgenden wollen wir drei frühe Anwendungen der Sulfonamidglycosylierung von Glycalen beschreiben. Das erste Beispiel für diese neue Chemie war die Totalsynthese des äußerst starken Chitinase-Inhibitors Allosamidin^[51], bei der die Sulfonamidglycosylierung zweimal genutzt wird. Beim ersten Mal wird das Allal-artige Glycal **70** eingesetzt (Schema 23), das ent-



Scheme 23. Synthese von Allosamidin. SEM = Trimethylsilylethoxymethyl.

weder aus Allose oder – was noch interessanter ist – durch Umlagerung des α -Thiophenylderivats **69** zugänglich ist^[36]. **69** kann durch eine Reaktionssequenz beginnend mit der Ferrier-Umwandlung von D-Glucaltriacetat hergestellt werden. Die Bromsulfonamidierung von **70** führte zu **71**, das in Gegenwart von Kaliumhexamethyldisilazanid (KHMDS) an das Glycal **72** gekuppelt wurde. Das Produkt **73** wurde als Azaglycosyldonor eingesetzt: Die Bromsulfonamidierung von **73** lieferte **74**, das mit dem Aglycon **76** über mehrere Stufen zum Allosamidin umgesetzt wurde. **76** wurde durch enantioselektive Umsetzungen aus der *meso*-Verbindung **75** erhalten^[63], womit ein zufriedenstellend einfacher Weg zum natürlichen Enantiomer von **77** möglich wurde.

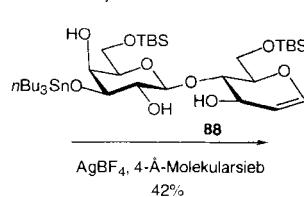
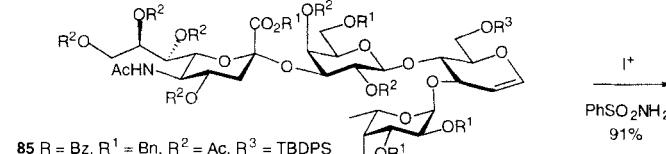
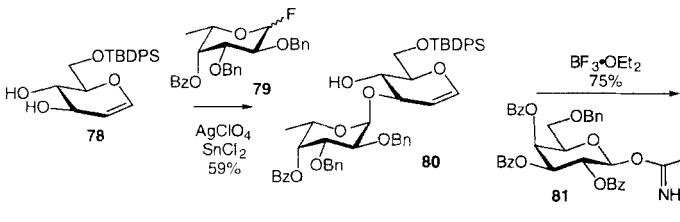
Eine zweite frühe Anwendung ergab sich auf dem bedeutenden Gebiet der Sialyl-Le α -Glycoside^[64–66]. Die Sialyl-Le α -Teilstruktur am nichtreduzierenden Ende von Zelloberflächen-Glycoproteinen ist das Hauptkennungsmerkmal bei der E-Selectin- und P-Selectin-vermittelten Adhäsion^[67]. Diese Entdeckung hat das Interesse an der Sialyl-Le α -Chemie geweckt^[68]. Aus chemisch-biologischer Sicht war die Synthese eines Zwischenprodukts wünschenswert, das als Ausgangs-

punkt für Sialyl-Le^x-Glycoside dienen könnte, die dann auf ihre Fähigkeit, den natürlichen Liganden zu inhibieren, getestet werden können.

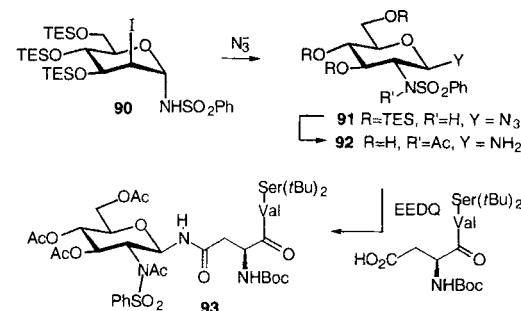
Das Sialyl-Le^x-Glycal **85** ist eine für diesen Zweck geeignete Zielverbindung (Schema 24). Aber auch die Eigenschaften des davon abgeleiteten, vollständig entschützten Glycals **86** hofften wir in einem ELAM-Bindungstest untersuchen zu können. Falls die oben beschriebene Azaglycosylierungschemie auf die geschützte Verbindung **85** anwendbar wäre, wäre außerdem ein Zugang zu einer Reihe von längeren Oligomeren ausgehend von einer späten Synthesestufe gefunden. So ließe sich die Notwendigkeit umgehen, jede zu testende Verbindung in einer separaten, langwierigen Synthese herzustellen.

In dieser Hinsicht war die Entdeckung von Gervay und Peterson wichtig, daß das Glycal **78**, das nur an der primären (C6)-Hydroxygruppe eine Silylschutzgruppe aufweist, mit **79** selektiv an der allylischen Alkoholgruppe (C3) fucosyliert wird. Nach der Fucosylierung stand die C4-Hydroxygruppe als Acceptor für die Reaktion mit dem Galactosyltrichloracetimidat-Donor **81** zur Verfügung, wodurch das Le^x-Derivat **82** (und nach Abspaltung der Schutzgruppen **83**) entstand. Die Sialylierung von **83** mit dem bekannten Sialyldonor **84** und die anschließende Acetylierung führten zum geschützten Produkt **85**, das zum Sialyl-Le^x-Glycal **86** entschützt werden kann. Des weiteren wurde **85** zu **87** iodsulfonamidiert (Schema 24), das als N-Sulfonylglucosaminyl-Donor mit Stannyl-aktivierten Glycosylacceptoren reagiert (**87** + **88** → **89**). Die Möglichkeit, die Glycal-bindung für weitere Derivatisierungen zu verwenden, ist offensichtlich. Eine weitere Vereinfachung beim Einstieg in die Klasse der Le^x-Glycale konnte durch die Verwendung eines 1,2-Anhydrogalactose-Derivats erzielt werden (siehe Schema 50)^[56].

Die Möglichkeit, durch Sulfonamidglycosylierung von Glycals Glycopeptide aufzubauen, lag auf der Hand. So wurde das Iodsulfonamid **90** mit Natriumazid in einer glatten Reaktion zum anomeren β -Azid **91** umgesetzt^[69], das in **92** überführt wurde (Schema 25). Das freie Amin konnte mit geeigneten



Schema 24. Synthese eines Sialyl-Le^x-Glycals.

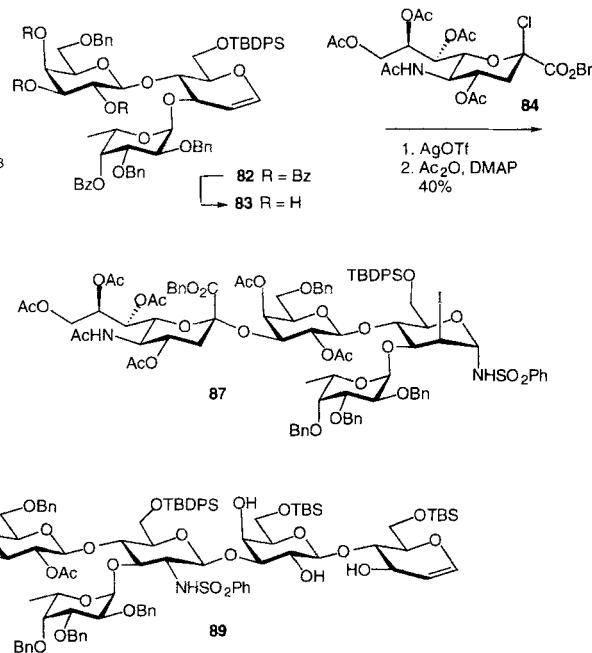


Schema 25. Synthese von N-verknüpften Glycopeptiden aus Iodsulfonamiden. TES = Triethylsilyl.

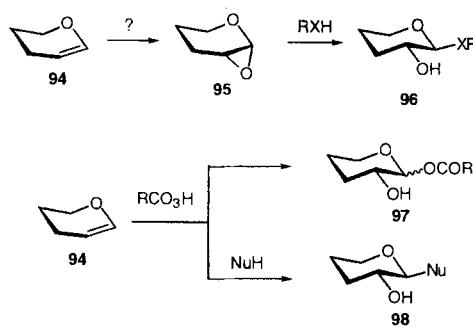
Aspartat-Resten, einschließlich dem eines Tripeptids, mit 2-Ethoxy-N-ethoxycarbonyl-1,2-dihydrochinolin (EEDQ) acyliert werden (→ **93**). Die Abspaltung der Schutzgruppen vom Sulfonamid in Gegenwart der empfindlichen Glycopeptidbindung war auf dieser Stufe – selbst im Falle eines Monosaccharid-Tripeptids – problematisch. Angesichts der sich schnell entwickelnden Verfahren für die Synthese von Oligosaccharid-Glycalen (siehe Abschnitt 6) wurde die Möglichkeit, diese in Asparagin gebundene Glycopeptide zu überführen, zu einem wichtigen Ziel bei der Synthese großer, komplexer Oligosaccharide. Wir werden auf die stürmische Entwicklung auf diesem Gebiet zurückkommen, nachdem wir uns mit der Festphasen-Oligosaccharidsynthese befaßt haben (siehe Schema 73 und 74).

6. Anwendung von 1,2-Anhydrozuckern in der Glycosidsynthese

Obwohl die Iodglycosylierung und die Sulfonamidglycosylierung wertvolle Möglichkeiten liefern, um Glycale zu unterschiedlichen Glycosiden umzusetzen, bestand ein Bedarf nach



einer sehr allgemein gehaltenen Methode, um aus Glycalen gebräuchliche Glycoside von Glucose, Galactose und Mannose herzustellen. Im Idealfall würde dieses neue Verfahren sowohl α - als auch β -Glycoside zugänglich machen. Auf der Suche nach einem solchen Verfahren zogen wir die Möglichkeit einer direkten Umwandlung von Glycalen **94** zu Glycalepoxiden **95** in Betracht (Schema 26). Zu dem Zeitpunkt, als wir uns dieser



Schema 26. Direkte Epoxidierung von Glycalen.

Untersuchung zuwandten, bestanden zwei ernst zunehmende Hindernisse für eine breite Anwendung von 1,2-Anhydrozuckern. So war kein Verfahren beschrieben, mit dem ein Glycal direkt in das entsprechende 1,2-Oxiran überführt werden konnte. Obwohl diese bereits seit 60 Jahren bekannt waren (z.B. Brigls Anhydrid)^[70], waren sie bis dahin ausschließlich nach recht langwierigen Verfahren aus Hexosederivaten hergestellt worden. So erwogen wir, derartige Epoxide direkt aus Glycalen zu erhalten. Frühere Versuche, 1,2-Anhydroverbindungen durch Umsetzung von Persäuren mit Glycalen herzustellen, führten nicht zu den gewünschten 1,2-Oxiranen, sondern zu deren Heterolyseprodukten (**97** oder **98**)^[71]. Die Anzeichen sprachen eindeutig dafür, daß Glycalepoxide im Hinblick auf die Öffnung des Oxiranrings durch einen nucleophilen Angriff am anomeren Kohlenstoffatom außerordentlich empfindlich sind.

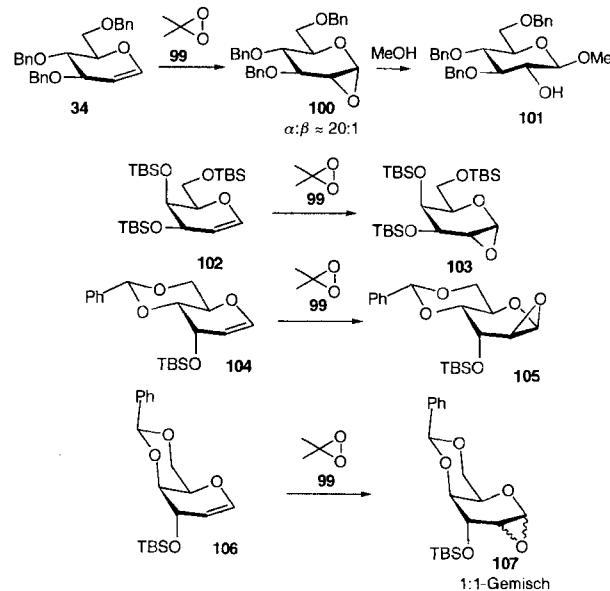
Die Berichte über die Verwendung von α -Epoxiden wie **95** als stereoselektive β -Glycosylierungsmittel zur Herstellung von Verbindungen wie **96** waren ebenfalls nicht allzu vielversprechend^[72]. Frühere Versuche, Disaccharide aus 1,2-Oxiranen als Glycosyldonoren und unterschiedlichen Acceptorien herzustellen, führten oft zu einer nichtstereoselektiven Glycosidbildung. Dennoch war die Verwendung eines derartigen Donors in der historischen Herstellung von Sucrose durch Lemieux zweifels- ohne ein Meilenstein in der Synthesechemie.

Angesichts der Schwierigkeiten, die mit der Synthese der 1,2-Oxirane verbunden waren, enthielten die meisten der als Glycosylierungsmittel eingesetzten Verbindungen Acylschutzgruppen in den Positionen 2, 3 und 4. Wir fragten uns, ob derartige Gruppen an der Epoxid-Ringöffnung beteiligt sein könnten und somit die Vollständigkeit der Inversion bei der Glycosylierung gefährden könnten. Diesbezüglich erregten Veröffentlichungen aus der Arbeitsgruppe von Schuerch^[74] unsere Aufmerksamkeit, in denen berichtet wurde, daß perbenzylierte 1,2-Anhydroglucose in Gegenwart protischer Säuren stereochemisch einheitlich polymerisiert. Es wurde erkannt, daß die Epoxypolymerisation eines 1,2-Anhydrozuckers im Grunde einer wieder-

holten Glycosylierung entspricht. Falls das Polymer tatsächlich stereochemisch definiert mit einheitlich β -konfigurierten Glycosidbindungen gebildet würde, könnte man – zumindest im Fall der Polymerisation – davon ausgehen, daß die Glycosylierungen stereospezifisch verlaufen.

Wir haben uns infolgedessen mit mehreren Aufgaben beschäftigt. Eine bestand darin, eine allgemein anwendbare Methode zu finden, Glycale in 1,2-Anhydrozucker zu überführen. Eine zweite war die Untersuchung, ob Glycale ohne Nachbargruppen-Beteiligung durch vorhandene Funktionalitäten möglicherweise als stereospezifischere und effizientere Donoren bei der Herstellung von β -Glycosiden dienen können. Des weiteren wollten wir untersuchen, ob geeignet differenzierte Glycale in Glycosylierungen mit Glycalepoxid-Donoren als Glycosylacceptoren fungieren können. Sollte ein solcher Schritt gelingen, wäre das Produkt seinerseits ein Kandidat für die weitere Verlängerung durch eine Wiederholung der Sequenz aus Epoxidierung und Kupplung.

Ein wichtiger Beitrag zur Weiterentwicklung unserer Methode wurde von Halcomb geleistet, der herausfand, daß viele Glycale glatt mit 2,2-Dimethyldioxiran (DMDO) **99** reagieren^[75]. (DMDO kann nach der Arbeitsvorschrift von Murray^[76] als Lösung in Dichlormethan leicht hergestellt werden.) So reagierte das Glucal **34** mit **99** zu **100** in nahezu quantitativer Ausbeute (Schema 27). Die Solvolyse von **100** mit wasserfreiem Methanol lieferte das Methylglycosid **101**, dessen Struktur



Schema 27. Epoxidierung von Glycalen mit 2,2-Dimethyldioxiran.

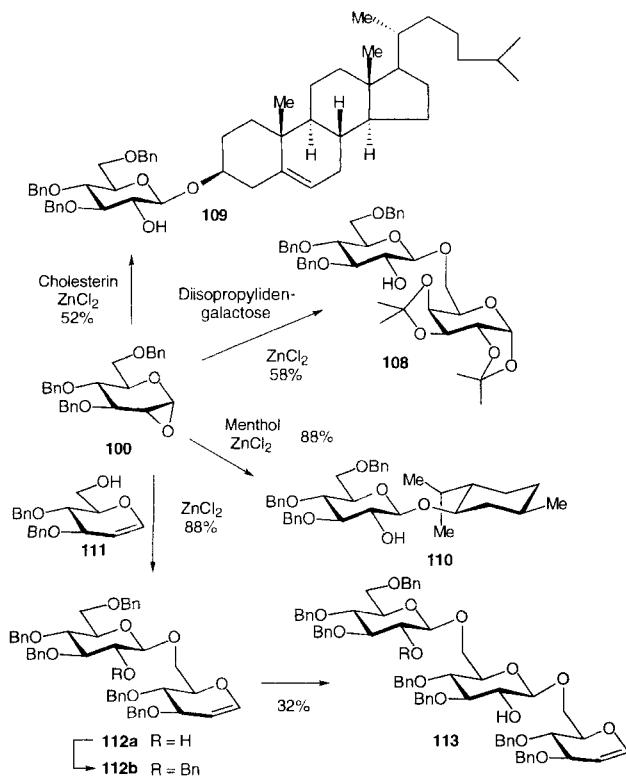
NMR-spektroskopisch aufgeklärt wurde. Anhand der Konfiguration der Methanolyseprodukte wurde die Stereoselektivität der Epoxidierung zu $\alpha:\beta \approx 20:1$ bestimmt. Die Stereoselektivität der Epoxidierung wird bei Verwendung von Acetylenschutzgruppen allerdings stark verringert (siehe Schema 46). Die Epoxidierung des Galactals **102** führt zu **103**.

Es war von besonderem Interesse, die Epoxidierung von Allallen zu untersuchen. So wird das Glycal **104** mit axialer 3-TBSO-Gruppe recht selektiv auf der β -Seite unter Bildung von **105**

epoxidiert. Das Gulal **106**, das auf beiden Seiten der Doppelbindung sterisch anspruchsvolle Substituenten aufweist, reagiert hingegen zu einem 1:1-Gemisch aus den diastereomeren Epoxiden **107**.

Mit diesem Wissen gerüstet, haben wir die Glycosyldonor-Eigenschaften dieser Epoxide, besonders die der Glucose- und Galactose-Derivate, untersucht. Wir entdeckten bald, daß die Glycosylierung von komplexeren Acceptorien als Methanol, die in etwa stöchiometrischen Mengen vorlagen, nur langsam verlief und beschleunigt werden mußte. Einen universell anwendbaren Katalysator haben wir nicht gefunden. Mit schwach sauren Acceptorien (z.B. Phenolen^[77] und Indolen^[78], siehe unten) wurden die besten Ergebnisse unter basischen Bedingungen erzielt. Wahrscheinlich ist unter diesen Bedingungen das Alkoxid die kinetisch aktive Form des Acceptors. Mit gewöhnlichen Alkoholacceptoren, einschließlich solchen, bei denen die Hydroxygruppe Teil eines Saccharids ist, war wasserfreies Zinkchlorid der universellste Katalysator. Bei einigen speziellen Anwendungen (z.B. bei Gangliosiden) wurden die besten Ergebnisse mit *in situ* hergestellten Stannylderivaten erzielt (siehe unten).

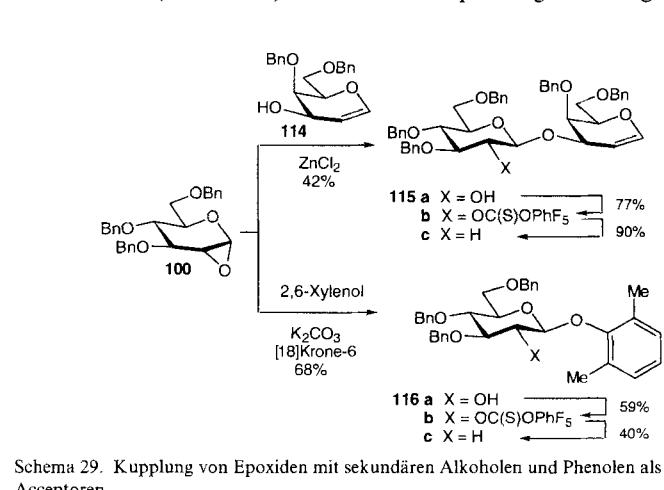
Unsere ersten Ergebnisse mit **100** als Donor sind in Schema 28 zusammengefaßt. Später fanden wir heraus, daß das in den hier beschriebenen Versuchen eingesetzte Oxiran **100** zu den schwächsten Donoren^[79, 80] gehört und in einigen Fällen auch zum α -Glycosid führt. Die Glycosylierungsausbeuten können verbessert werden, indem man die C3- und C4- oder die C4- und C6-Sauerstoff-Funktionen in einen Cyclus einbindet (siehe Schema 37 und 80). Nichtsdestotrotz waren nach diesem Verfahren viele β -Glycoside leicht in zwei Stufen aus Glucalen zugänglich. Die Tatsache, daß diese Produkte eine eindeutig differenzierte, freie Hydroxygruppe in Nachbarschaft zur β -



Schema 28. Kupplung des Anhydrozuckers **100** mit typischen Acceptorien.

Glycosidbindung aufweisen, wurde zu einem wesentlichen Faktor in unseren Synthesen von komplexen, verzweigten Saponinen und von Blutgruppendifferenzierungen (siehe unten). Ferner bildete die Entdeckung, daß der Glycosylacceptor für das Glycalepoxyd selbst ein Glycal sein kann (siehe Synthese von **112**), die Grundlage für eine Wiederholungsstrategie zur Synthese von repetitiven β -Glycosiden wie **113**. Diese Art von Wiederholungsreaktion war ein zentraler Bestandteil für unseren Zugang zu Oligosacchariden über Glycosyldonoren, die an eine Festphase gebunden waren (siehe Abschnitt 10).

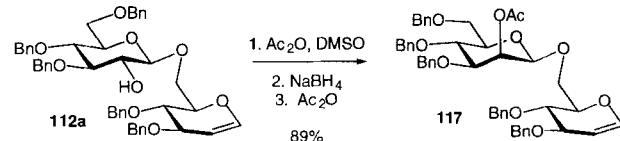
Die Glycalepoxydmethode kann auch für die Synthese von 2-Desoxy- β -glycosiden verwendet werden^[77, 81a]. In diesem Fall nutzten wir die freie Hydroxygruppe an C2 als Angriffs punkt für die Desoxygenierung, die durch radikalische Reduktion des entsprechenden Pentafluorophenylthiocarbonats erreicht wurde (Schema 29)^[81b]. Dieses Beispiel zeigt die Mög lichkeit einer Barton-Desoxygenierung in Gegenwart einer Glycalbindung. Damit sind die Voraussetzungen für die Wiederholung der Reaktionssequenz geschaffen. Die Glycosylierung von 2,6-Xylenol mit dem Donor **100** unter Bildung von **116a** bereitete den Weg für die Synthese von β -Aryloxyglucosiden und – nach anschließender Desoxygenierung – für die Synthese der entsprechenden 2-Desoxyaryloxyglucoside wie **116c**.



Schema 29. Kupplung von Epoxiden mit sekundären Alkoholen und Phenolen als Acceptorien.

lichkeit einer Barton-Desoxygenierung in Gegenwart einer Glycalbindung. Damit sind die Voraussetzungen für die Wiederholung der Reaktionssequenz geschaffen. Die Glycosylierung von 2,6-Xylenol mit dem Donor **100** unter Bildung von **116a** bereitete den Weg für die Synthese von β -Aryloxyglucosiden und – nach anschließender Desoxygenierung – für die Synthese der entsprechenden 2-Desoxyaryloxyglucoside wie **116c**.

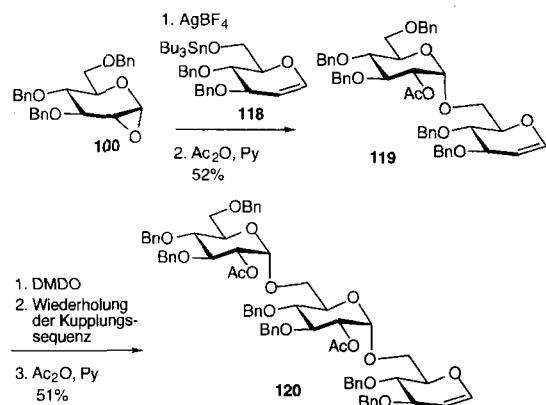
Bei der Ringöffnung der 1,2-Epoxide entstehenden β -Glucoside mit freier 2'-Hydroxygruppe können über das Oxidations/Reduktionsverfahren nach Garegg auch zu β -Mannosiden umgesetzt werden (Schema 30)^[82]. Die Oxidation von **112a**



Schema 30. Bildung von β -Mannosiden durch Oxidation/Reduktion.

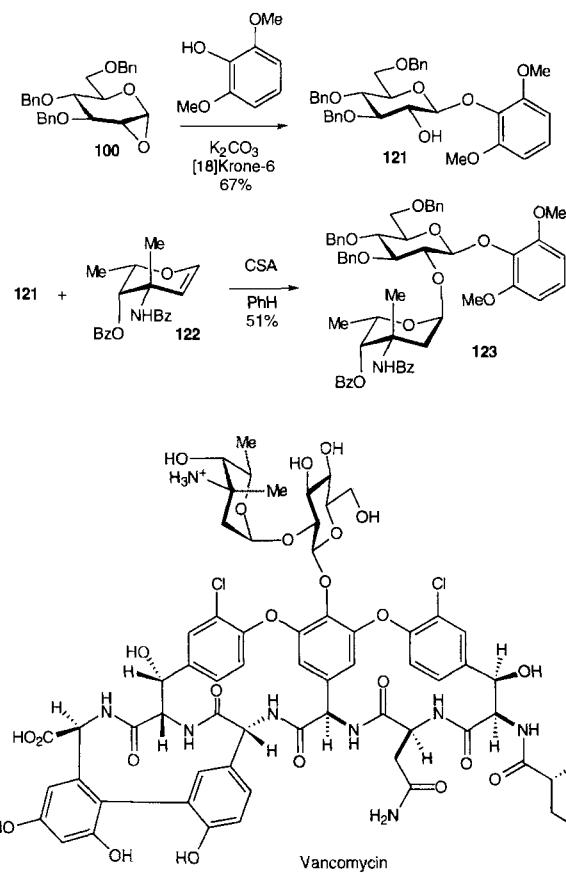
mit Essigsäureanhydrid und DMSO und die nachfolgende Reduktion des unzureichenden Produkts mit NaBH₄ lieferten so selektiv das β -Mannosid **117** in 89 % Ausbeute.

In einigen Fällen kann ein α -Glucosid direkt aus einem Glycalepoxyd hergestellt werden (Schema 31)^[83]: Die durch AgBF₄



Schema 31. Direkte Bildung von α -verknüpften Glucosebindungen. Py = Pyridin, DMDO = Dimethyldioxiran (99).

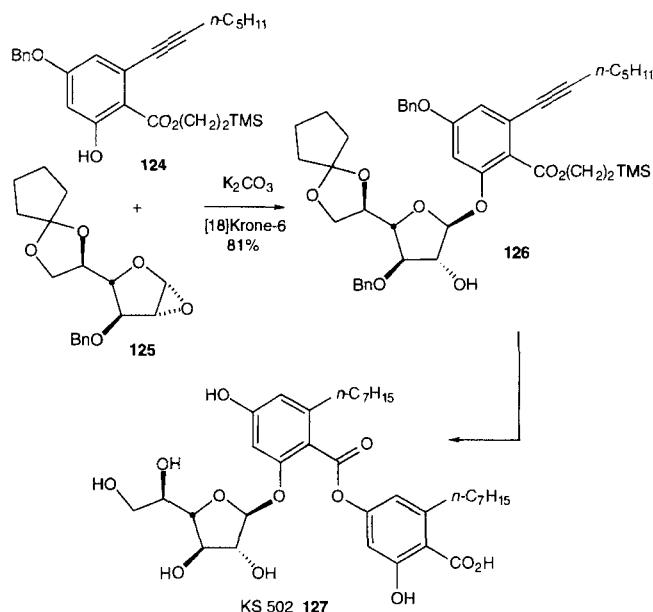
katalysierte Umsetzung des Epoxids **100** mit dem Stannylether **118** und eine anschließende Acetylierung führten zum α -Glycosid **119**. Diese Reaktionsfolge ließ sich ohne weiteres wiederholen, wodurch das Trisaccharid **120** entstand. Umsetzungen mit sekundären Alkoholen verliefen mit niedrigeren Ausbeuten und Stereoselektivitäten. Diese Methode ist also gegenwärtig auf primäre Alkohole als Akzeptoren beschränkt und somit sicherlich keine generelle Lösung für das Problem der Synthese von α -Glycosiden. Für die Umwandlung von Glucalen zu α -Glucosiden wurde eine Lösung gefunden, indem die α -Epoxide in bekannte α -Glucosidonen umgewandelt werden (siehe Schema 40).



Schema 32. Bildung eines verzweigten β -Aryldisaccharids. CSA = 1-(S)-(+)-Camphersulfonsäure.

In Schema 32 zeigen wir die Nutzung der Glycalepoxidmethode für den einfachen Aufbau eines komplexen, in 2-Position verzweigten β -Arylglycosids^[84]. Ursprünglich beabsichtigten wir, **123** durch Iodglycosylierung von **121**, das aus **100** und 2,6-Dimethoxyphenol zugänglich ist, und **122** und anschließende Reduktion herzustellen. Doch gelingt die stereoselektive Kupplung von **121** und **122** bereits protonenkatalysiert in einem Schritt. Das Produkt **123** weist die Hauptcharakteristika der verzweigten Arylglycosideinheit des Antibioticums Vancomycin auf.

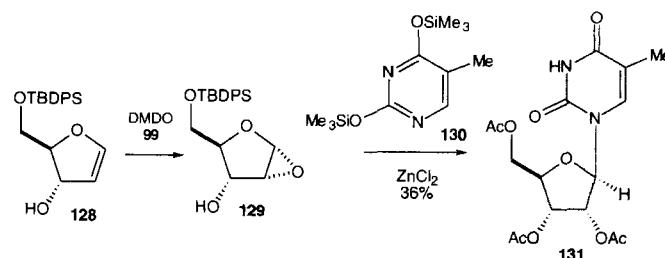
Dushin griff die Idee, diese Methode auf die Synthese von β -Glycosiden von Furanose-Derivaten auszuweiten, bei der ersten Totalsynthese des Calmodulin-abhängigen Phosphodiesterase-Inhibitors KS 502 **127** auf (Schema 33)^[85]. Der leicht zu-



Schema 33. Synthese von KS 502.

gängliche Salicylat-Glycosylacceptor **124** und das aus D-Talonsäure über das entsprechende Glycal hergestellte furanoide 1,2-Glycalepoxid **125** wurden mit hoher Stereoselektivität zu **126** gekuppelt. Die Reaktionsschritte von **126** zu KS 502 waren zwar nicht trivial, aber handhabbar.

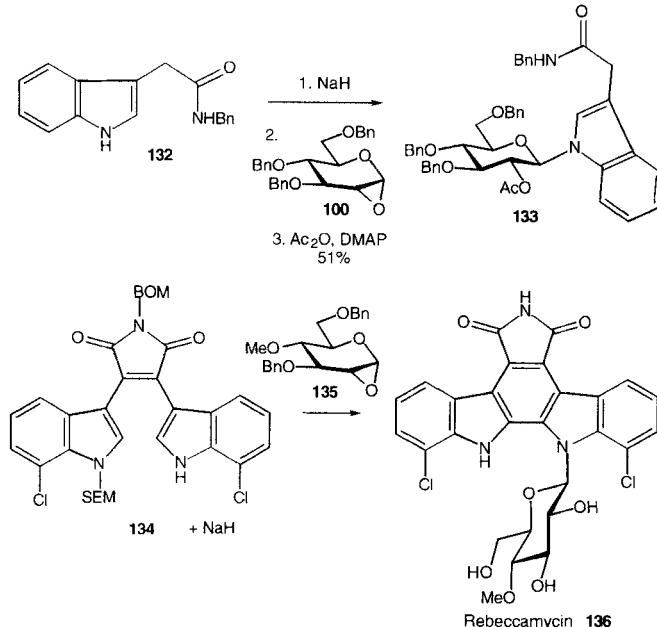
Die Möglichkeit, 1,2-Oxirane von furanoiden Epoxiden für die Synthese von Nucleosiden zu verwenden, haben wir ebenfalls untersucht^[86]. Interessanterweise liefert die Epoxidierung des furanoiden Glycals **128** mit Dimethyldioxiran mit einer Diastereoselektivität von 9:1 das α -Epoxid **129** (Schema 34). Dem-



Schema 34. Synthese des Nucleosids **131** (d.r. = 4:1).

nach scheint zumindest in der Reihe der furanoiden Glycale bei der Epoxidierung eine „Hydroxysteuerung“ wirksam zu sein. In dieser Hinsicht ist die kürzlich erschienene Veröffentlichung von Murray interessant, in der gezeigt wird, daß 2-Cyclohexen-1-ol mit 2,2-Dimethyldioxiran in unpolaren Lösungsmitteln selektiv epoxidiert wird^[87]. In unserem Fall wurde die labile Verbindung **129** als Glycosyldonor in einer Vorbrüggen-artigen Reaktion mit dem Pyrimidin **130** umgesetzt, wobei stereospezifisch das Nucleosid **131** entstand. Die Ausbeute von 36% ist allerdings enttäuschend und konnte bis zum gegenwärtigen Zeitpunkt nicht verbessert werden.

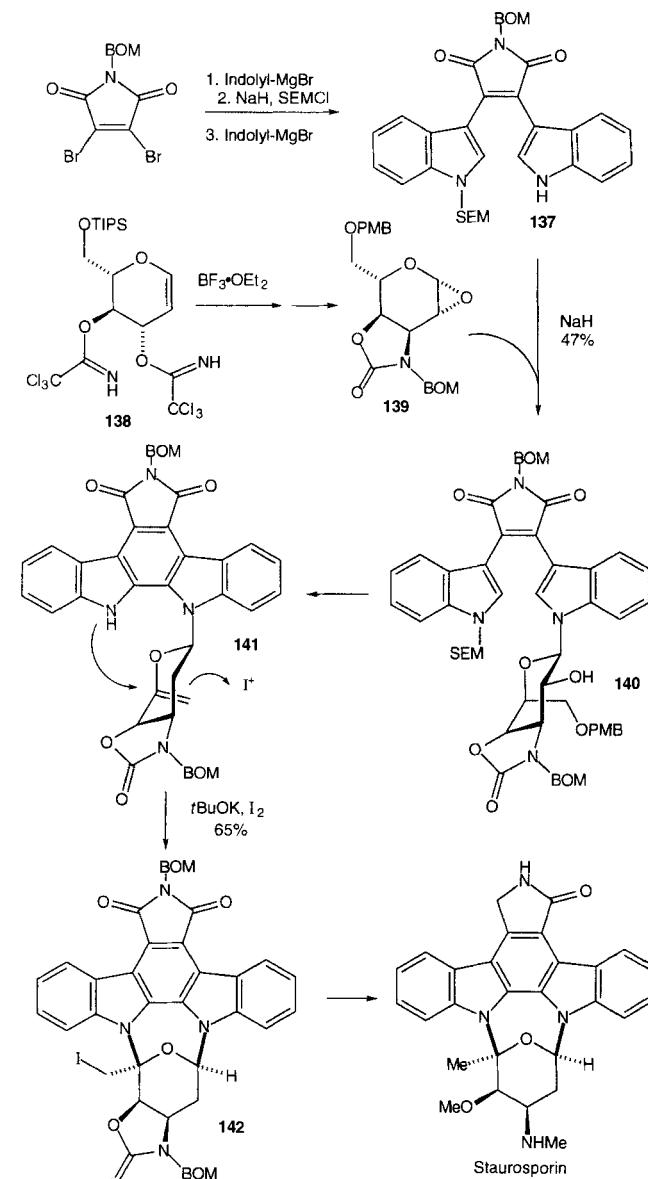
Ein weiteres Projekt befaßte sich mit der Möglichkeit, Glycal-epoxide zur Glycosylierung von Indolen zu verwenden. Gallant gelang es, durch Deprotonierung von **132** mit Natriumhydrid, nachfolgende Glycosylierung mit **100** und Acetylierung die Modellverbindung **133** herzustellen (Schema 35)^[78]. Unser Motiv



Schema 35. Indolglycosylierung mit Anhydrozuckern. DMAP = 4-Dimethylaminopyridin.

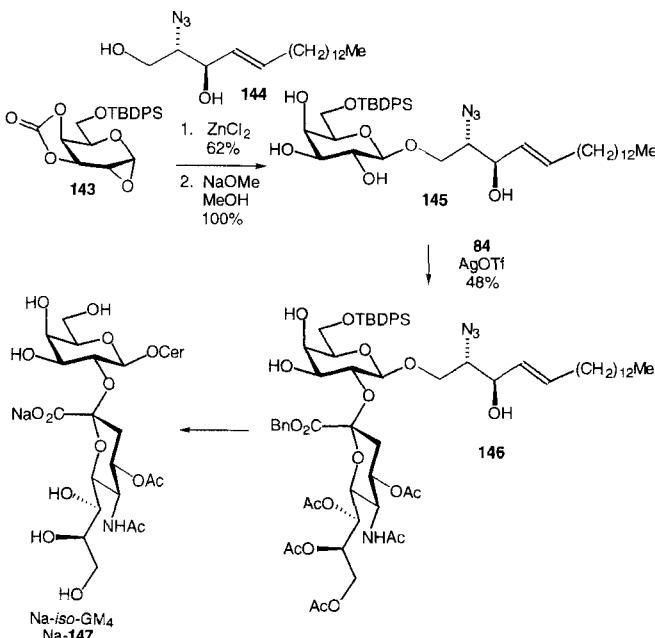
für die Untersuchung der N-Glycosylierung von Indolen mit derartigen Oxiranen war die mögliche Anwendung solcher Reaktionen in Naturstoffsynthesen. Gallant und Link waren die Ersten, die diese neue Reaktionsvariante anwendeten, um das Antitumormittel Rebeccamycin **136** herzustellen, wobei sie das differenzierte Secoimid **134** als Acceptor und das Oxiran **135** als Donor verwendeten.

Ein etwas gewagteres, aber naheliegendes Ziel war eine Totalsynthese des Proteinkinase-C-Inhibitors Staurosporin. Link, Raghavan und Gallant erkannten die Möglichkeit, Staurosporin durch die Bildung von zwei Indolylglycosid-Bindungen aufzubauen. Dementsprechend wurden das Aglycon **137** und das Glycosylierungsmittel **139** hergestellt (Schema 36)^[89, 90]. Ersteres wurde aus *N*-Benzoyloxymethyl-3,4-dibrommaleinsäureimid und Indolylmagnesiumbromid durch die schon bei der Rebeccamycin-Synthese verwendete Vorgehensweise erhalten. Die Synthese des Hexose-Abschnitts ging von einfach Triisopropylsilyl(TIPS)-geschütztem L-Glucal aus, das in das Bistrichloracetimidat **138** umgewandelt wurde. Dann wurde eine recht interessante vinyloge Schmidt-Glycosylierung durchgeführt, bei der die Trichloracetimidat-Funktion am C3-„Donor“-Kohlenstoffatom als „Abgangsgruppe“ fungiert. Dies führte schließlich zum 1,2-Epoxydonor **139**, der mit dem Natriumsalz von **137** zu **140** gekuppelt wurde. Daraus wurde in wenigen Stufen **141** erhalten, dessen Kaliumsalz eine glatte, intramolekulare „Indolo“-N-Glycosylierung zu **142** einging, so daß nach einer Reihe weiterer Reaktionsschritte Staurosporin isoliert werden konnte.



Schema 36. Die Synthese von Staurosporin. BOM = Benzoyloxymethyl.

Wir haben auch die Möglichkeit untersucht, Glycalepoxide für die Herstellung von Gangliosiden zu nutzen^[91, 92]. Ein wichtiger Fortschritt war hierbei die Verwendung des von Galactal abgeleiteten Epoxids **143** (Schema 37). Bis dahin hatten von Galactal abgeleitete Epoxide in vielen Fällen nicht besonders gut als stereospezifische β -Galactosid-Donoren gewirkt. Durch Schutz der C3- und C4-Sauerstofffunktionen in Form eines cycli-

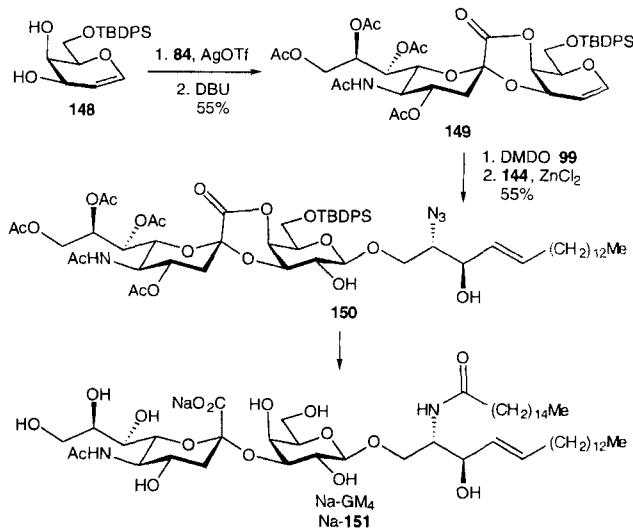
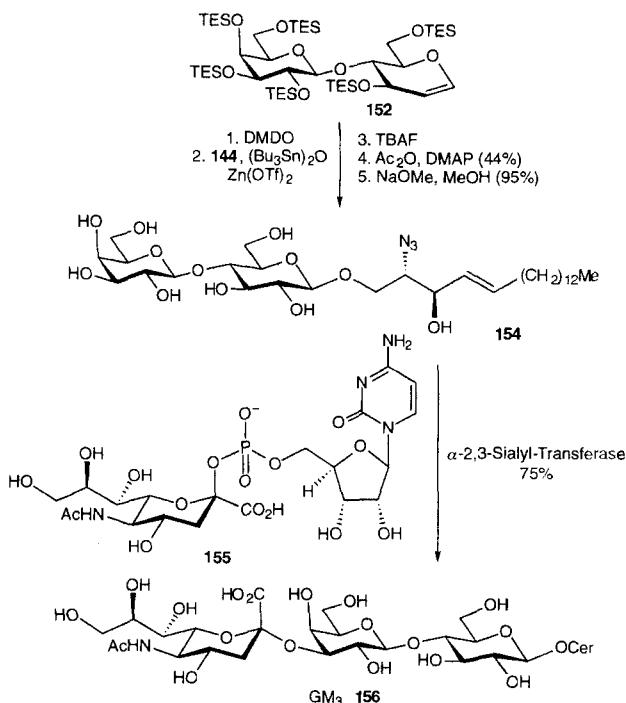
Schema 37. Synthese von „iso-GM₄“. Cer = Ceramidyl.

schen Carbonats wie in **143** wurde die β -Galactosylierung in vielen Fällen begünstigt. So reagierten **143** und der Schmidt-Baustein **144** regioselektiv zum β -Glycosid des primären Alkohols. Durch Spaltung des Carbonats entstand das Tetraol **145**. Anders als in vielen vermeintlichen Präzedenzfällen wurde **145** an der C2- statt an der C3-Hydroxygruppe sialyliert. Dieses überraschende Ergebnis wurde offenbar, nachdem **146** über mehrere Stufen in **147** überführt worden war, dessen spektroskopischen Eigenschaften nicht mit denen von GM₄ übereinstimmen. Wir haben **147** demzufolge als „iso-GM₄“ bezeichnet.

Bis heute können wir uns diese bemerkenswerte Abweichung von den von Hasegawa et al.^[93] beschriebenen Präzedenzfällen und von den Ergebnissen unserer Untersuchungen der Sialyl-Le^x-Reihe (siehe Schema 24, Bildung von **85**)^[66] nicht erklären. Die Prä-Ceramid-Seitenkette muß einen besonderen Einfluß ausüben; welche der funktionellen Gruppe zur Aktivierung an C2 führt, ist allerdings nicht klar.

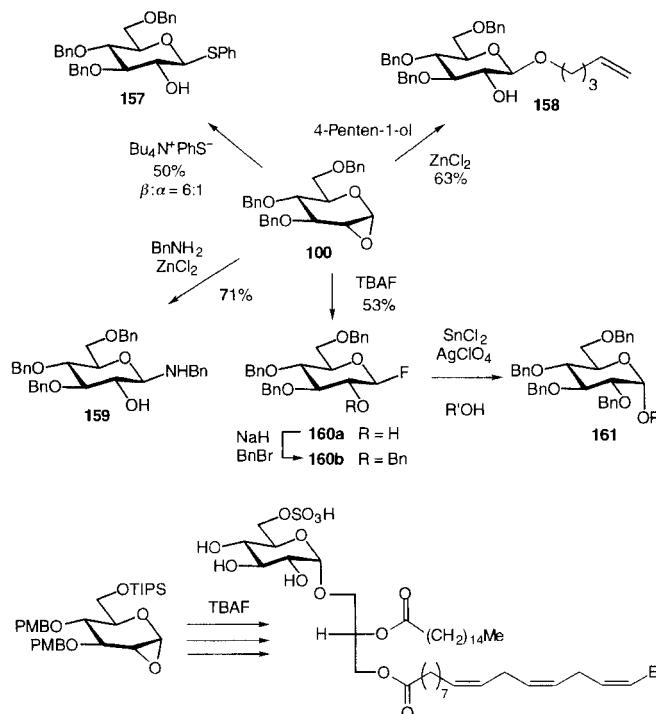
Gervay und Peterson gelang die Sialylierung an C3 auf einfache Weise: Die Kupplung des Glycals **148** mit **84** verlief glatt an der allylischen Hydroxygruppe und lieferte ein 3-sialyliertes Galactal, das mit 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) zum 3,4-Spirolacton **149** reagierte (Schema 38). Epoxidierung mit Dimethyldioxiran und Glycosylierung mit der Ceramid-Vorstufe **144** lieferten das Glycosid **150**, das sich in das Natriumsalz von GM₄ **151** überführen ließ.

Liu wandte eine Kombination chemischer und biologischer Methoden an, um eine besonders einfache Synthese des wichtigen Gangliosids GM₃ **156** zu erreichen^[91]. Lactal wurde vollständig mit Triethylsilylgruppen unter Bildung von **152** geschützt (Schema 39), das epoxidiert und mit der stannylierten Form des Schmidt-Diols **144** gekuppelt wurde. Anschließende Desilylierung führte zu **154** in hoher Ausbeute und mit hoher Spezifität. Diese Verbindung wurde enzymatisch mit Cytidin-monophosphat(CMP)-Sialinsäure **155** in Gegenwart von 2,3-Sialyl-Transferase sialyliert. Nach Abspaltung aller Schutzgruppen gelangte man zu GM₃ **156**. Zwar wurden in unseren

Schema 38. Synthese von GM₄.Schema 39. Synthese von GM₃.

Experimenten die Cofaktoren nicht regeneriert, doch ist dieser chemoenzymatische Ansatz der bislang direkteste Weg zu GM₃.

Bisher haben wir uns mit der Verwendung von Glycalepoxidien zur Synthese von β -Glycosiden beschäftigt. Es besteht auch die Möglichkeit, derartige Epoxide in andere Glycosylierungsmittel umzuwandeln (Schema 40)^[94]. So entdeckte Gordon, daß das Epoxid **100** in das Thiophenylglycosid **157**, das Pentynglycosid **158**, das Benzylaminoglycosid **159** und das Fluoroglycosid **160** überführt werden kann. Verbindung **160a** wurde durch Benzylierung der freien Hydroxygruppe an C2 zu **160b** umgesetzt, das in einer herkömmlichen Mukaiyama-Reaktion^[95] zum α -Glycosid **161** als Glycosyldonor diente. Der Weg von Glycalen zu α -Glycosiden fand eine wichtige Anwendung in Gordons Synthese des cyanobakteriellen Sulfolipids, einer Ver-



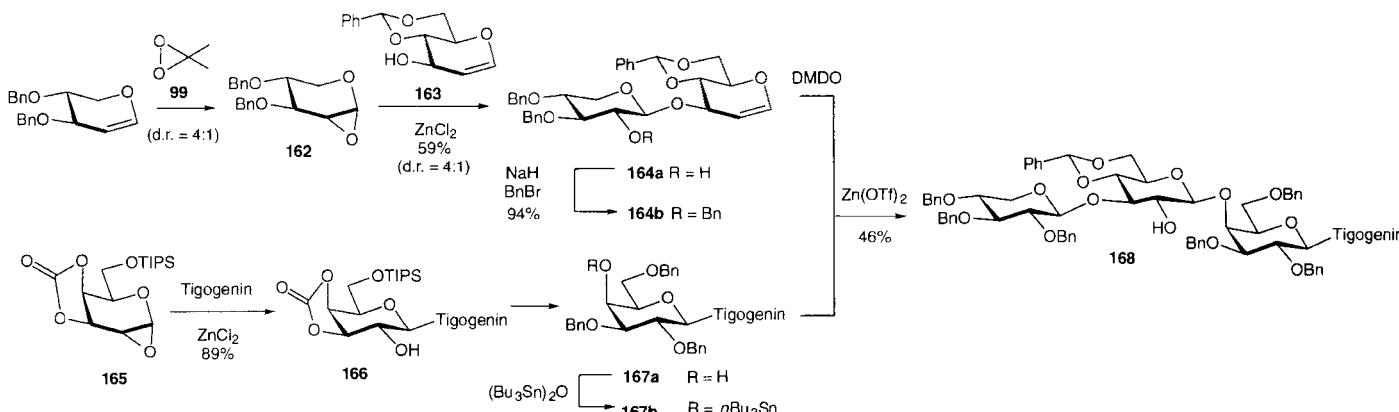
Schema 40. Umwandlung von Anhydrozuckern in andere Donoren sowie Synthese eines cyanobakteriellen Sulfolipids.

bindung, von der man annimmt, daß sie anti-HIV-aktiv ist (Schema 40)^[96]. Eine weitere Anwendung ergab sich in unserer Synthese des Kohlenhydratbereichs von Acarbose^[97].

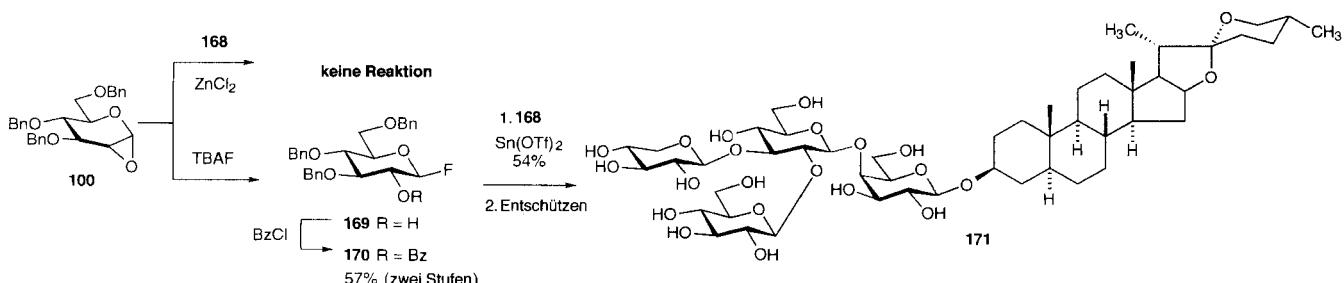
Zu diesem Zeitpunkt erkannten wir, daß wir von einer umfassenden Strategie zum Aufbau von Oligosacchariden auf der Ba-

sis von Glycalacceptoren und -donoren nicht mehr weit entfernt waren. Wir begannen, die Glycalstrategie zur Synthese von spezifisch biologisch wirksamen und wichtigen Zielverbindungen zu testen. Es besteht wohl kaum ein Zweifel daran, daß die Tauglichkeit neuer Synthesekonzepte und -verfahren am besten anhand multifunktioneller Zielverbindungen (z.B. Naturstoffen) bewertet wird, bei denen unerwartete Schwierigkeiten auftreten können.

Ein Fortschritt hinsichtlich der Glycalstrategie konnte in unserer Synthese des komplexen Saponins Desgalactotigonin erreicht werden (Schema 41 und 42)^[98, 99]. Randolph befaßte sich mit der Bildung der β -Glycosidbindungen in diesem Zielmolekül und konzentrierte sich besonders auf die Verzweigung am Glucosebaustein, der mit der Galactose β -1,4-verknüpft ist. Eine Herausforderung für die Synthese war diese Verzweigung durch eine β -1,2-Verknüpfung zu einer weiteren Glucoseseinheit und eine β -1,3-Verknüpfung zu einem Xyloserest. Die Einführung dieses zentralen Glucoseringes in Form des Glycals 163 führte zu einer deutlichen Vereinfachung der Schutzgruppenstrategie. Die freie Hydroxygruppe an C3 diente als Acceptor für das aus Xylal hervorgehende Epoxid 162, so daß nach Benzylierung 164b erhalten wurde. Der Acceptor für die Kupplung mit diesem Donor wurde aus dem cyclischen Carbonat des Galactals, 165, aufgebaut. Die Epoxidierung zu 165 und die nachfolgende Kupplung an das Tigogenin-Aglycon lieferten 166. Wiederum hatte uns ein carbonatgeschütztes Epoxid gute Dienste als β -Glycosylierungsmittel erwiesen (siehe Schema 37). Es waren noch einige, weitere Stufen erforderlich, um das gewünschte Zielglycosid zu erhalten: 1) Spaltung des cyclischen Carbonats, 2) Schutz der C4- und C6-Hydroxygruppen mit einer Benzylidengruppe, 3) Benzylierung an C2, 4) Spaltung der Benzyliden-



Schema 41. Synthese von Desgalactotigonin (Teil 1).



Schema 42. Synthese von Desgalactotigonin (Teil 2).

bindungen und 5) Benzylierung an C6 sowie Stannylierung an C4 zum Acceptor **167b**. Die Kupplung von **167b** mit dem Epoxid von **164b** in Gegenwart von Zinktriflat lieferte das Steroid-Trisaccharid **168**, allerdings in nur 46% Ausbeute. Durch die Methode der Glycalepoxid-Kupplung gelang es, die für die Verzweigung erforderliche freie Hydroxygruppe an C2 der zentralen Glucoseeinheit gezielt aufzubauen.

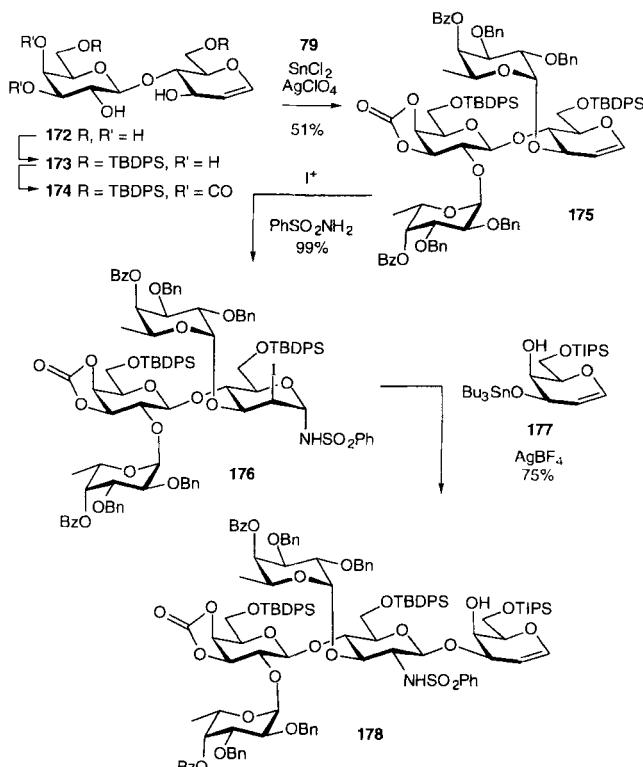
Auf dieser Stufe gelang es uns allerdings nicht, die freie, von zwei glycosidischen Bindungen an C1 und C3 flankierte Hydroxygruppe mit Epoxid-Donoren (z.B. mit **100**, Schema 42) zu glycosylieren. Es war jedoch kein Problem, ausgehend von **100**, einen reaktiven Donor herzustellen. Durch Fluoridolyse^[94] entstand **169**, das in das Benzoat **170** überführt wurde. Dieses reagierte unter Beteiligung der α -Seite bevorzugt zum β -Glycosid. Die Kupplung von **170** mit **168** gelang ohne Schwierigkeiten und lieferte nach Abspaltung der Schutzgruppen Desgalactotigonin **171**.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß durch die Verknüpfung von Glycalen das komplexe, verzweigte Zielsystem hochkonvergent aufgebaut werden konnte. Die Glycalepoxid-Öffnung diente einerseits dazu, eine einzelne freie Hydroxygruppe gezielt aufzubauen, die als Glycosylacceptor fungieren konnte (siehe **169**), und andererseits dazu, eine Nachbargruppe regiospezifisch einzuführen, die die Bildung eines β -Glycosids mit einem Fluorglycosyldonor (\rightarrow **171**) steuert.

7. Lewis-Determinanten, Blutgruppen-Determinanten und Tumor-Antigene

Die Grundlagen schienen uns hinreichend gesichert, um die Glycalstrategie auf die Synthese von Lewis- und Blutgruppen-Determinanten anzuwenden. Dabei wollten wir in einer Synthese sowohl von den Vorzügen der Glycalepoxide und der Halogensulfonamide profitieren. Die Glycalepoxidmethode sollte genutzt werden, um β -Glycosidbindungen selektiv aufzubauen, und mit der Azaglycosylierung wollten wir die N-Acetylglucosamin-Teilstruktur einbauen. Randolph und Behar beschäftigten sich diesbezüglich mit der Synthese der Le y -Determinante^[100, 101]. Das Problem bestand hierbei nicht nur in der Synthese des Kohlenhydrateils, sondern auch in dessen Bindung an ein Trägerprotein zur Anpassung an die Gegebenheiten in biologischen Systemen. Die Le y -Determinante war für uns von besonderem Interesse, da sie kurz zuvor als ein wichtiges Epitop bei der Bildung von Antikörpern gegen Dickdarm- und Leber-Adenocarcinom-Zellstämme erkannt worden war^[102]. Sie wurde darüber hinaus kürzlich als Marker bei metastatischem Prostatakrebs diskutiert^[103]. Wir hofften, die Eigenschaften der Le y -Determinante mit dem vollständig synthetisch hergestellten Antigen simulieren zu können. Dazu war es erforderlich, das Syntheseprodukt an einen Träger des Typs zu binden, der die Immunantwort stimuliert. Um die Integrität des Epitops zu bewahren, sollte dieser Bereich durch einen Spacer vom Trägerprotein getrennt sein.

Anhand der Le y -Struktur wird deutlich, daß dieses Ziel ausgehend von einem zentralen Lactose-Baustein angegangen werden kann. Mit Blick auf unsere Glycalchemie wurde das Lactal **172** als geeignetes Lactose-Äquivalent entworfen (Schema 43). Die beiden primären Hydroxygruppen wurden zum Bis-TBDPS-

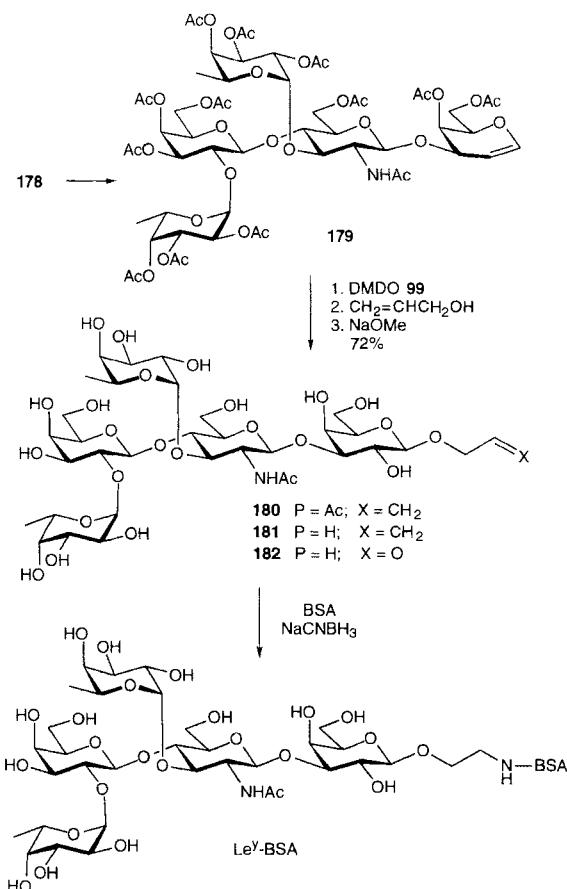


Schema 43. Synthese des Le y -Glycals **178**.

Derivat **173** silyliert (TBDPS = *tert*-Butyldiphenylsilyl). Die *cis*-angeordneten C3'- und C4'-Hydroxysubstituenten wurden als cyclisches Carbonat (**174**) geschützt. Nach diesen zwei Stufen standen somit, wie gewünscht, lediglich die beiden Hydroxygruppen an C3 und an C2' des Galactose-Bausteins als Glycosylacceptorstellen zur Verfügung. Als Glycosyldonor diente der Fluorzucker **79**, der eine unbeteiligte Benzylethergruppe an C2 und eine möglicherweise Einfluß nehmende Benzoylgruppe an C4 aufweist. Die Umsetzung von **174** mit **79** führte unter geeigneten Reaktionsbedingungen zu einem glatten Einbau von zwei Fucoseresten unter Bildung von **175**. Die Glycaldoppelbindung wurde dann unter den üblichen Bedingungen zu **176** iod sulfonamidiert. Dieses wurde als maskierter Azaglycosyldonor mit dem stannylierten Mono-TIPS-galactal **177** umgesetzt, und gab in der entscheidenden Kupplung die bisfucosyierte Verbindung **178** in 75% Ausbeute. Die Tetrasaccharid-Determinante war somit über einen sehr effizienten Weg aufgebaut worden, und enthielt noch eine für die Anbindung an ein Protein nutzbare Doppelbindung.

Vor der abschließenden Glycosylierung wurden aus strategischen Gründen die Benzolsulfonamid-Funktion in eine Acetamidogruppe umgewandelt sowie alle Schutzgruppen durch Acetylgruppen ersetzt (Schema 44). Die erhaltene Verbindung **179** wurde mit Dimethyldioxiran epoxidiert. Der entstandene Epoxiddonor reagierte mit dem Acceptor Allylalkohol zu **180**, dessen Acetylschutzgruppen mit Natriummethanolat unter Bildung von **181** abgespalten wurden. Somit war über die Glycalstrategie in Verbindung mit den leistungsfähigen Methoden der Azaglycosylierung und der Glycosylierung von aus Glycalen erhaltenen 1,2-Anhydrozuckern eine sehr kurze und konvergente Synthese von **181** gelungen.

Wir waren nun bereit für die Proteinanbindung durch die von Bernstein und Hall in einem einfacheren Fall entwickelte reduktive Aminierung^[104]: Die Allylgruppe in **181** wurde unter Bildung des nicht charakterisierten Aldehyds **182** gespalten, der mit Natriumcyanoborhydrid an Rinderserumalbumin (BSA) gebunden wurde. Die Aminosäure- und die Kohlenhydratanalyse des resultierenden Pseudoglycoproteins ergaben, daß etwa 15 Pentasaccharid-Reste an die insgesamt 38 zur Verfügung stehenden Lysinreste angebunden wurden. Mit den Konjugaten von **182** werden derzeit Immunisierungsversuche mit Mausmodellen durchgeführt, und die neuesten Ergebnisse sind recht vielversprechend.

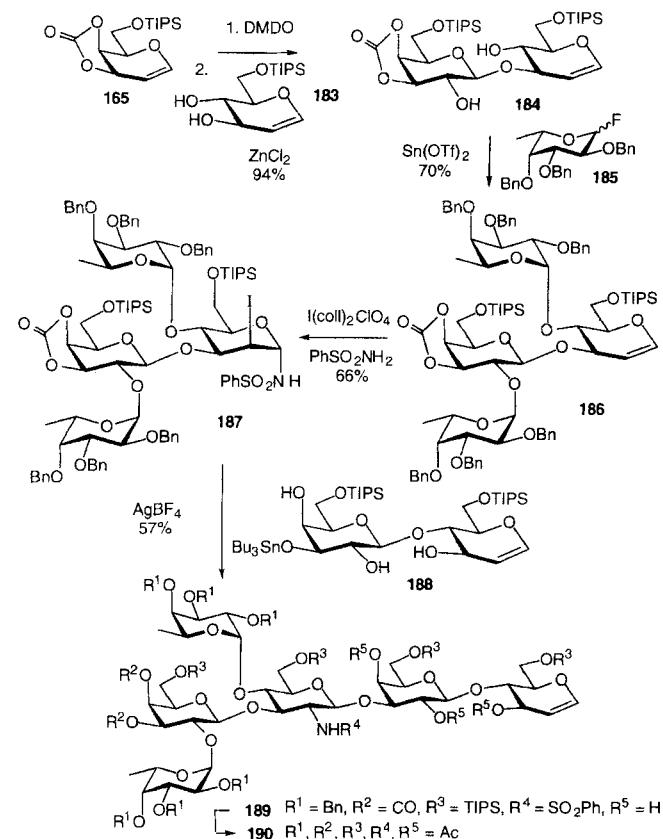


Schema 44. Anbindung von Le^Y an ein Trägerprotein.

Möglicherweise können auch Oligosaccharid-Domänen eines Tages aus Nicht-Kohlenhydrat-Bauteinen hergestellt werden. Derzeit ist dies allerdings utopisch. Die grundlegenden Aufgaben des Synthesedesigns bestehen hierbei darin, die Molekülbausteine für die Synthese so auszuwählen, daß ihr Zusammenbau in der gewünschten Weise möglichst einfach ist. Dazu müssen die unterschiedlichen Funktionalitäten möglichst prägnant aufeinander abgestimmt und die, die in den Kupplungsschritten als Glycosylacceptoren und -donoren dienen sollen, chemisch jeweils eindeutig aktiviert werden. Die Synthesen von **171** und **181** haben die Nützlichkeit von Glycalen für solche Vorhaben bereits eindrucksvoll demonstriert.

Randolph befaßte sich mit der Synthese einer an Biomoleküle anknüpfbaren Form der Le^b-Determinante^[101, 105].

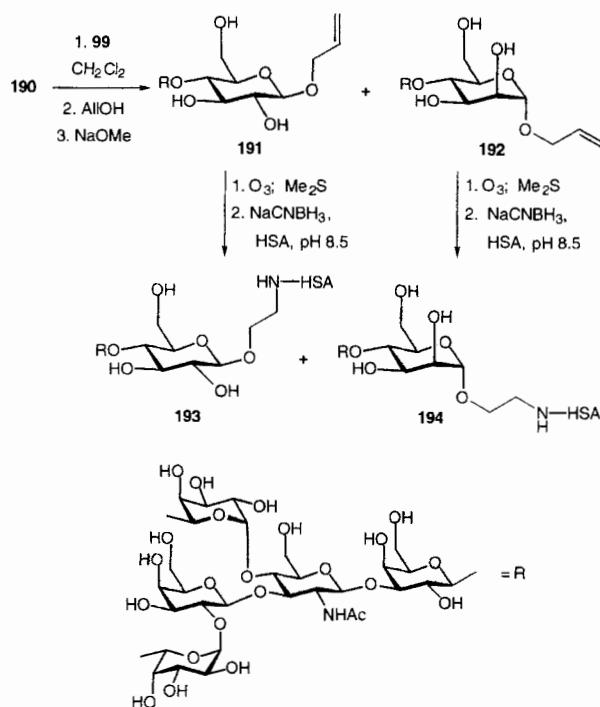
Diese Determinante ist in Hinblick auf die Synthese anspruchsvoller als die Le^y-Determinante, weil das Lactal **172**, das auf einfache Weise aus Lactose zugänglich ist, nicht als Ausgangsverbindung verwendet werden kann. Wir sind wie folgt vorgegangen: Das Triisopropylsilyl(TIPS)-Galactal **165** wurde mit Dimethyldioxiran in das entsprechende Epoxid überführt (Schema 45). Der Acceptor **183** wurde ohne Schwierigkeiten aus



Schema 45. Synthese des Le^b-Glycals **190**.

Glucal aufgebaut. An dieser Stelle konnten wir eine weitere enorme Vereinfachung durch die Anwendung der Glycalkmethode nutzen: Die Kupplung von **183** mit dem Epoxid von **165** fand ausschließlich an der C3-Hydroxygruppe statt und lieferte **184**, dessen freie Hydroxygruppen (d.h. die C4-Hydroxygruppe der Glucose und die C2'-Hydroxygruppe der Galactose, die sich deutlich von den anderen Funktionen unterschieden) fucosyliert werden mußten. Die zweifache Fucosylierung gelang unter Verwendung des leicht zugänglichen Donors **185** und lieferte auf effiziente Weise das Tetrasaccharid-Glycal **186**. Dieses wurde durch Iodbenzolsulfonamidierung zu **187** für eine Azaglycosylierung vorbereitet. Mit dem in zwei Schritten aus **172** erhaltenen Lactal-Derivat **188** reagierte **187** zu **189**. Mit dieser Verbindung war der entscheidende Tetrasaccharid-Erkennungsbereich der Le^b-Determinante über ein äußerst konvergentes Verfahren aufgebaut und mit einem Disaccharid-Spacer für die Anbindung an ein Protein ausgestattet worden. Die Silylschutzgruppen wurden mit TBAF und die Benzylschutzgruppen mit Natrium in Ammoniak abgespalten. Das Rohprodukt wurde vollständig unter Bildung von **190** acyliert. **190** wurde in ein Isomerengemisch aus den entsprechenden 1,2-Anhydroderiva-

ten überführt, die zu den entsprechenden Allylglycosiden umgesetzt wurden (Schema 46). Der wenig spezifische stereochemische Verlauf der Epoxidierung war auf eine im terminalen Glucoserest vorhandene Acetylshutzgruppe zurückzuführen. Wie bereits beschrieben (siehe Schema 26), ist Triacetylglucal ebenfalls ein schlechtes Substrat für eine stereoselektive Epoxidierung. Da die Anbindung in einem Abstand vom Epitop-Bereich stattfindet, ist nicht sicher, ob die Konfiguration an der Glycosidbindung zum Trägermolekül in biologischer Hinsicht von Bedeutung ist.

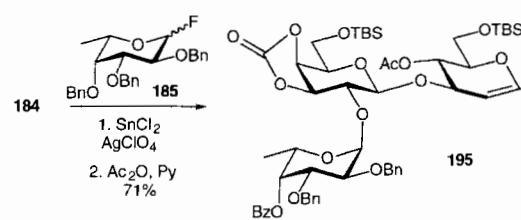


Schema 46. Anbindung von Le^b an ein Trägerprotein. All = Allyl.

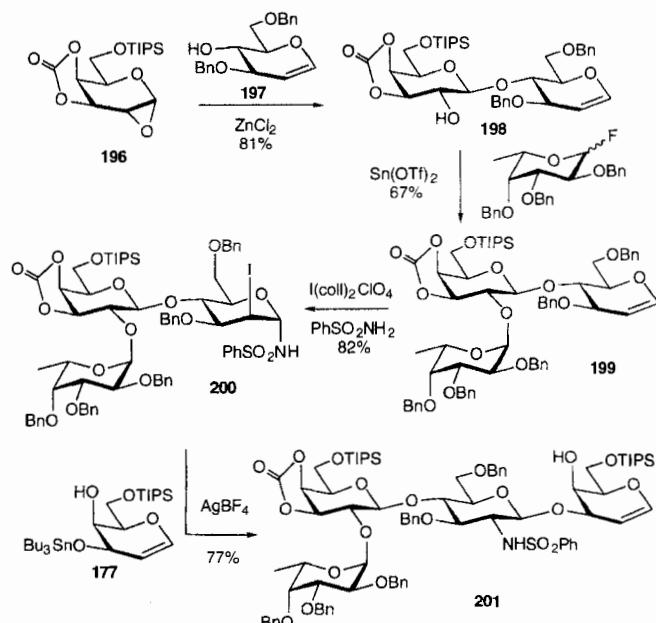
Die durch Abspaltung aller Acetylgruppen erhaltenen Oligosaccharide **191** und **192** wurden getrennt ozonolysiert und die dabei entstehenden Glycolaldehyde nach dem Bernstein-Hall-V erfahren^[104] reduktiv an menschliches Serumalbumin (HSA) zu den Addukten **193** bzw. **194** gekuppelt.

Etwa 33 Kohlenhydrat-Hexamer-Einheiten wurden – wahrscheinlich an den Seitenketten-Aminogruppen der Lysinreste – eingebaut. Dieses Konjugat ist von besonderem Interesse, da es die Erkennungsregion enthält, die vermutlich bei der Bindung von *Helicobacter pylori* an Magenepithelzellen eine Rolle spielt^[106]. Vermutlich ist diese Art von Infektion einer der Hauptfaktoren für die Bildung von Magengeschwüren und möglicherweise auch von Magenkrebs. Die Fähigkeit, lösliche, H. pylori bindende Konjugate herstellen zu können, ist ein reizvolles Ziel für die Glycalkmethode.

Die hier beschriebene Chemie kann ohne Schwierigkeiten auch für die Synthese eines H-Typ-I-Tetrasaccharids verwendet werden^[101]. So liefert die selektive α -Fucosylierung des Disaccharids **184** (Schema 47) mit dem Donor **185** die Verbindung **195**. Die Selektivität für die Reaktion an der 2'- gegenüber der an der 4-Hydroxygruppe betrug 5.5:1. Ferner haben wir ein H-Typ-II-Tetrasaccharid synthetisiert (Schema 48)^[101]. Die Re-



Schema 47. Synthese des H-Typ-I-Glycals **195**.

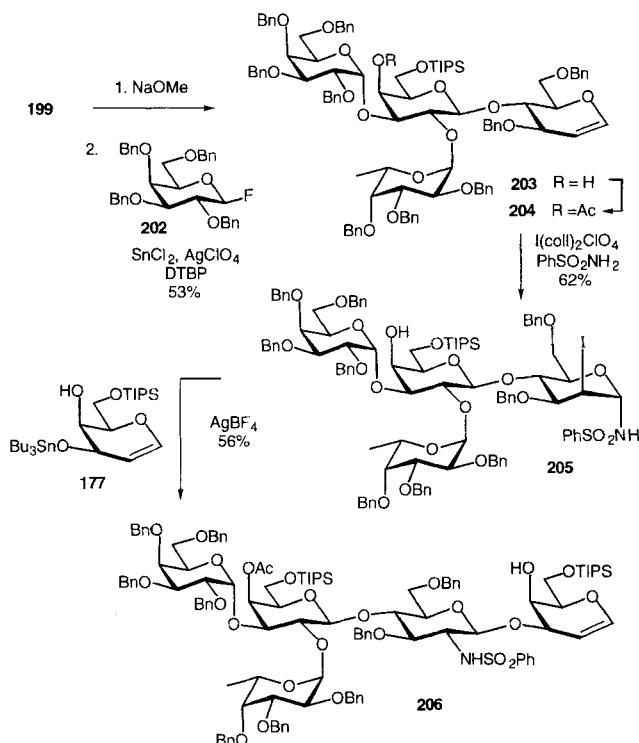


Schema 48. Synthese des H-Typ-II-Glycals **201**.

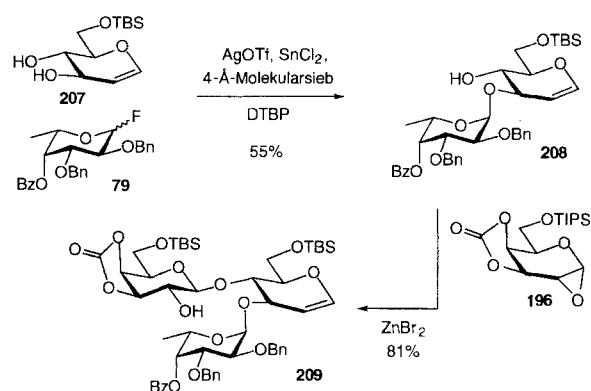
aktion des Epoxids **196** (hergestellt aus **165**) mit dem Glucal **197** lieferte das Lactal **198**, dessen neu entstandenen C2'-Hydroxygruppe für die Fucosylierung zur Verfügung steht. Durch Sn(OTf)₂ vermittelt wurde das Trisaccharid **199** erhalten, das den H-Typ-II-Bereich enthält. Wir zeigten außerdem, daß **199** durch Standard-Iodsulfonamidierung zu **200** und dessen Umsetzung mit **177** zum Tetrasaccharid **201** ausgebaut werden kann.

Wir haben die Glycalchemie auch auf die Synthese der menschlichen Blutgruppen-Determinanten A und B angewendet, die das AB0-Typsensystem kennzeichnen. Die Synthese des zentralen Bereichs der Determinante B ist in Schema 49 dargestellt^[107]. Hierbei wurde die H-Typ-II-Verbindung **199** als Ausgangsverbindung verwendet. Zunächst wurde das Carbonat gespalten und das entstandene Diol mit dem Fluorzucker **202** zum Tetrasaccharid **203** glycosyliert, das den Kohlenhydratbereich des B-Typs enthält. Nach Acetylierung wurde durch Standard-Iodsulfonamidierung **205** erhalten. Diese B-Typ-II-Struktur wurde durch Standard-Kupplung mit dem Acceptor **177** zum Pentasaccharid **206** erweitert. Die Abspaltung aller Schutzgruppen von **206** gelang problemlos. In der Verbindungsreihe des A-Typs sind ebenfalls beachtliche Fortschritte erzielt worden, aber das Projekt ist noch nicht abgeschlossen (siehe Abschnitt 11)^[107].

Wir wollen zur Verbindungsklasse der Lewis-Determinanten zurückkehren. Unsere in Schema 24 beschriebene Synthese des

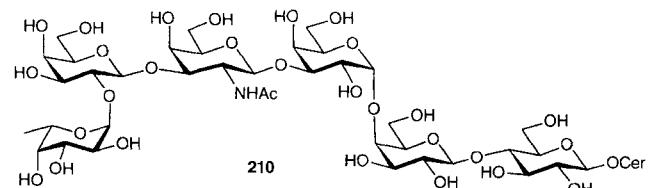
Schema 49. Synthese des B-Typ-II-Glycals 206. DTBP = Di-*tert*-butylperoxid.

Le^x -Bereichs konnte durch die Verwendung eines 1,2-Anhydrozucker-Donors erheblich vereinfacht werden (Schema 50)^[66]. Die Fucosylierung des einfach geschützten Glucals 207 lieferte das Disaccharid 208, das dem in der früheren Synthese eingesetzten Acceptor 80 ähnelt (siehe Schema 24). Unter optimierten Bedingungen reagierte 208 mit 196 zum Le^x -Trisaccharid 209 in 81 % Ausbeute. Das Epoxid 196 ist übrigens sehr viel besser zugänglich als der in der früheren Arbeit verwendete Donor 81.

Schema 50. Eine kurze Synthese der Le^x -Region (siehe auch Schema 24, 82).

8. Totalsynthese des Brusttumor-Antigens: Herausforderungen und Lösungen

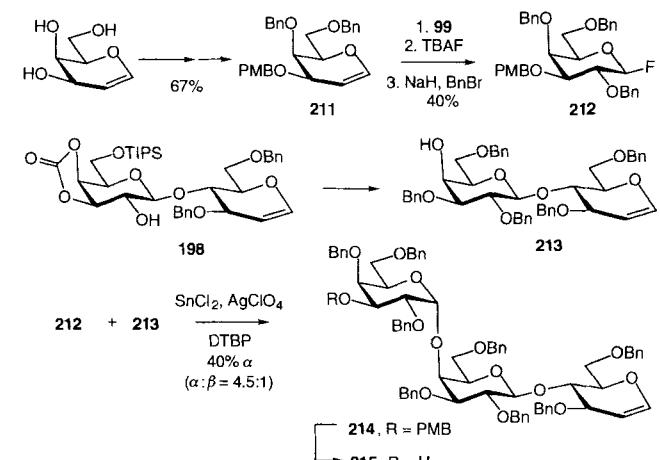
Ein Höhepunkt der Glycalmethode ist die kürzlich abgeschlossene Synthese eines Hexasaccharid-Glycosphingolipids, das ein bei Brusttumoren auftretendes Antigen mit möglicherweise klinischer Bedeutung ist. Die Verbindung 210 (Schema 51)



Schema 51. Struktur des MBr1-Kohlenhydrat-Antigen.

wurde aus dem Brustkrebs-Zellstamm MCF-7 isoliert und durch den monoklonalen Antikörper MBr1 immunologisch charakterisiert^[108].

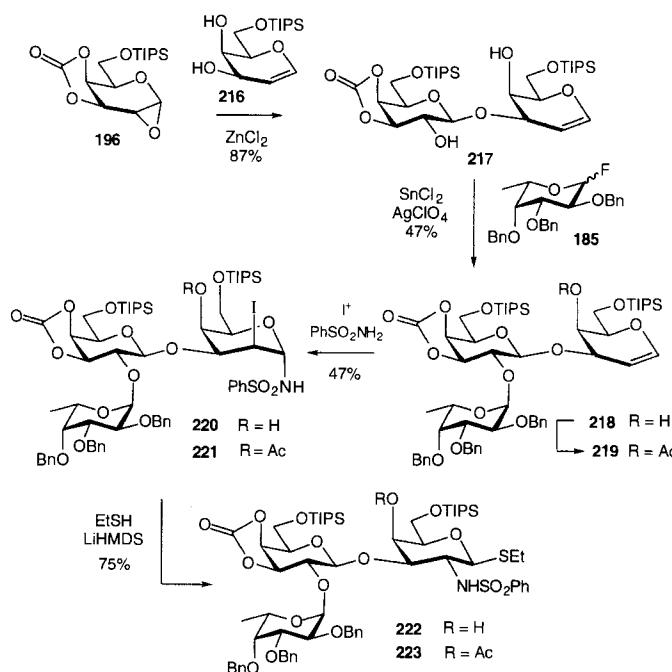
Unsere Synthese von 210 beruhte auf dem Aufbau von zwei Trisaccharideinheiten, die unter Bildung des Hexasaccharids verknüpft werden sollten^[109]. Dazu wurde das Galactal 211 in den Fluorzucker 212 überführt (Schema 52) und der Acceptor



Schema 52. Synthese des Trisaccharid-Acceptors 215.

213 wurde aus dem Disaccharid 198 (welches selbst aus einer Glykalkupplung stammte, siehe Schema 49) durch Schutzgruppenmanipulationen aufgebaut. Die Kupplung von 212 und 213 lieferte das Trisaccharid 214, das durch Spaltung des PMB-Ethers die Verbindung 215 gab, die so für eine Kupplung an einen geeigneten Trisaccharid-Donor gerüstet war. Dessen Aufbau begann mit 196, das mit dem Acceptor 216 mit ausgezeichneter Selektivität zum Disaccharid 217 glycosyliert wurde (Schema 53). Die regioselektive Fucosylierung der äquatorialen Hydroxygruppe von 217 mit dem Donor 185 lieferte das Trisaccharid 218, das zu 219 acetyliert und anschließend durch Umsetzungen in das Iodsulfonamid 221 umgewandelt wurde.

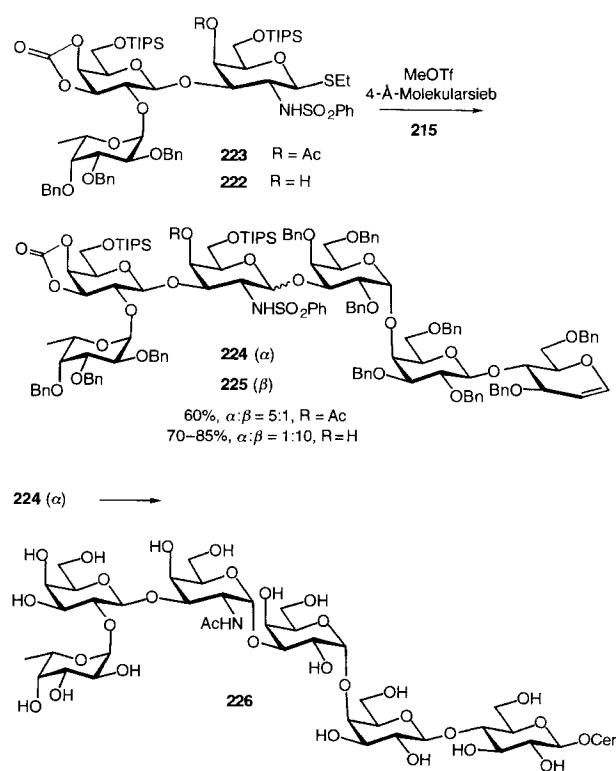
Leider waren die Iodsulfonamid-Donoren dieses Typs für die gewünschte direkte Kupplung mit unterschiedlichen Trisaccharid-Acceptoren (siehe Schema 22) nicht geeignet, so daß ein großer Überschuß an schwer zugänglichem Acceptor erforderlich wäre, was selbstverständlich nicht wünschenswert ist. Wir haben deshalb die Umwandlung von 221 in Thioglycosid-Donoren untersucht (siehe Schema 22) und festgestellt, daß die Umsetzung des Iodsulfonamids 221 mit Lithiumthioethanolat tatsächlich ausschließlich das β -Ethylthioglycosid 223 lieferte. Derartige Verbindungen können in Gegenwart von Methyltriflat auch mit komplexen Aczeptoren als Azaglycosydonoren



Schema 53. Synthese des Trisaccharid-Donors 223. LiHMDS = Lithiumhexamethyldisilazanid.

gekuppelt werden. (In Abschnitt 11 berichten wir über einige Einschränkungen bei der Kupplung von sterisch anspruchsvollen Reaktionspartnern.)

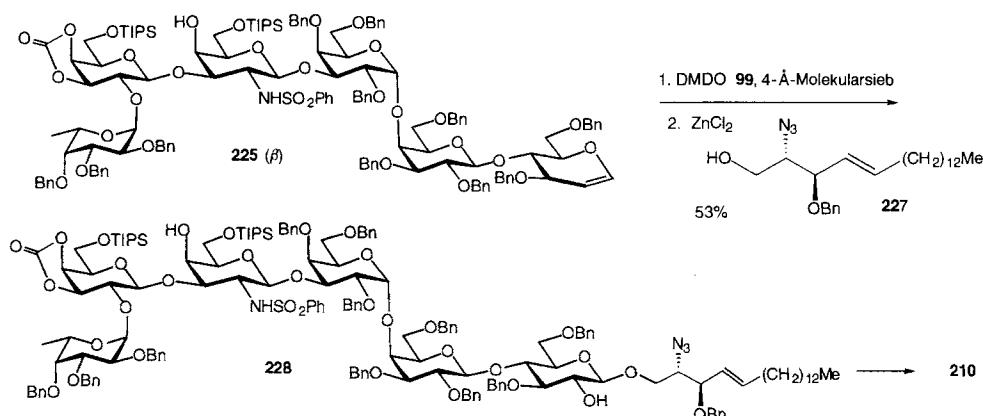
Einige unserer Untersuchungen hatten ergeben, daß Donoren dieses Typs – wahrscheinlich durch Beteiligung der Sulfonamidgruppe zu β -konfigurierten Produkten gekuppelt werden^[110]. Der Donor 223 reagierte allerdings mit dem Acceptor 215 unter Bildung eines Hexasaccharids, das weiter zu 226 umgesetzt wurde (Schema 54). Dessen spektroskopische Eigenschaften stimmten nicht mit den von Hakomori für das natürliche Antigen beschriebenen überein, das vermutlich mit der Struktur 210 korrekt beschrieben wird. Die bei der Kupplung der beiden Trisaccharide erhaltene Verbindung 226 war wahrscheinlich durch selektive Bildung des unerwarteten (und unerwünschten) α -verknüpften Produkts 224 entstanden. Später fanden wir heraus, daß mit dem Trisaccharid-Donor 222, der aus 218 über 220 hergestellt worden war, das gewünschte β -Produkt 225 mit hoher Selektivität entsteht. Die Bildung des α -Produkts wird somit möglicherweise durch einen unerwarteten elektronischen oder Nachbargruppeneffekt begünstigt, wenn die 4-Hydroxygruppe substituiert ist. Alternativ könnte die freie 4-Hydroxygruppe des Donors β -dirigierend sein. Das Auftreten der α -Glycosylierung und die damit verbundene, bemerkenswerte Selektivitätsumkehr lassen sich noch nicht verallgemeinern, doch wurden sie bereits in einigen anderen Fällen festgestellt (siehe Asialo-GM₁-Synthese in Abschnitt 11). Die α -Selektivi-



Schema 54. Synthese des Hexasaccharidglycals 226.

tät wird derzeit untersucht und sollte bald aufgeklärt werden können. Durch diese Ergebnisse wird das Konfigurationsproblem bei der Glycosylierung einmal mehr verdeutlicht. Der Reaktionsverlauf hängt nicht nur von der Art des Donors und den Reaktionsbedingungen ab, in komplizierten Fällen kann die Konfiguration auch durch spezifische Molekülwechselwirkungen zwischen Donor und Acceptor stark beeinflußt werden.

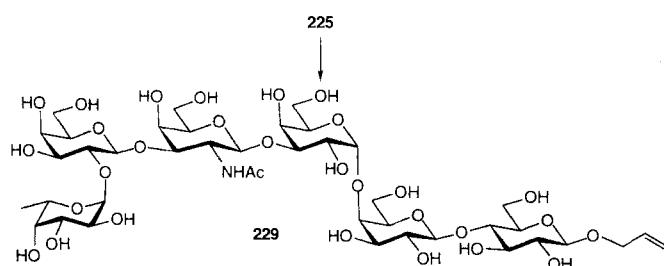
Das für die Synthese von 210 konfigurierte Hexasaccharid 225 wurde epoxidiert und mit der Ceramid-Vorstufe 227 zu 228 gekuppelt (Schema 55). Sehr viel effizienter kann 227 allerdings an das Trisaccharid 214 angeknüpft werden. Aus bisher noch unerklärlichen Gründen gibt dieser zur Zeit untersuchte, alternative Weg gegenwärtig ein niedrigeres β/α -Verhältnis für die (3+3)-Kupplung, wenn der Acceptor am reduzierenden Ende bereits das Lipidfragment enthält. Verbindung 228 wurde in weiteren Stufen zum Naturstoff 210 umgesetzt. Das vollständig



Schema 55. Abschluß der Synthese des MBr1-Antigens 210.

synthetisch hergestellte Antigen **210** wurde im ELISA-Test (ELISA = enzyme linked immunosorbent assay) und im Immun-Dünnschichtchromatographie-Test an den monoklonalen Antikörper MBr1 gebunden, während das nichtnatürliche Isomer **226** in diesen Tests nur sehr schwach gebunden wurde. Die durch Durchfluß-Cytometrie festgestellte, starke Wechselwirkung zwischen dem menschlichen Brustkrebs-Zellstamm MCF-7 und MBr1 wird durch dessen Vorinkubation mit dem Glycosphingolipid **210** vollständig gehemmt.

Das Hexasaccharid **225** wurde auch in das entsprechende Allylglycosid, **229**, umgewandelt (Schema 56) und über dieses – wie für Le^b und Le^y gezeigt – in Proteinkonjugate überführt. Erste Untersuchungen weisen darauf hin, daß unsere synthetischen Verbindungen in vivo Immunogen sind. Die Anwendbarkeit der auf diese Weise produzierten Antikörper gegen Krebszellen wird zur Zeit ausgewertet (siehe Abschnitt 11). Das Endziel ist die Entwicklung von Verbindungen, die als Impfstoffe in der Krebstherapie angewendet werden könnten.



Schema 56. Bildung des MBr1-Allylglycosids **229** zur Proteinanbindung.

9. Das Calicheamicin-Problem

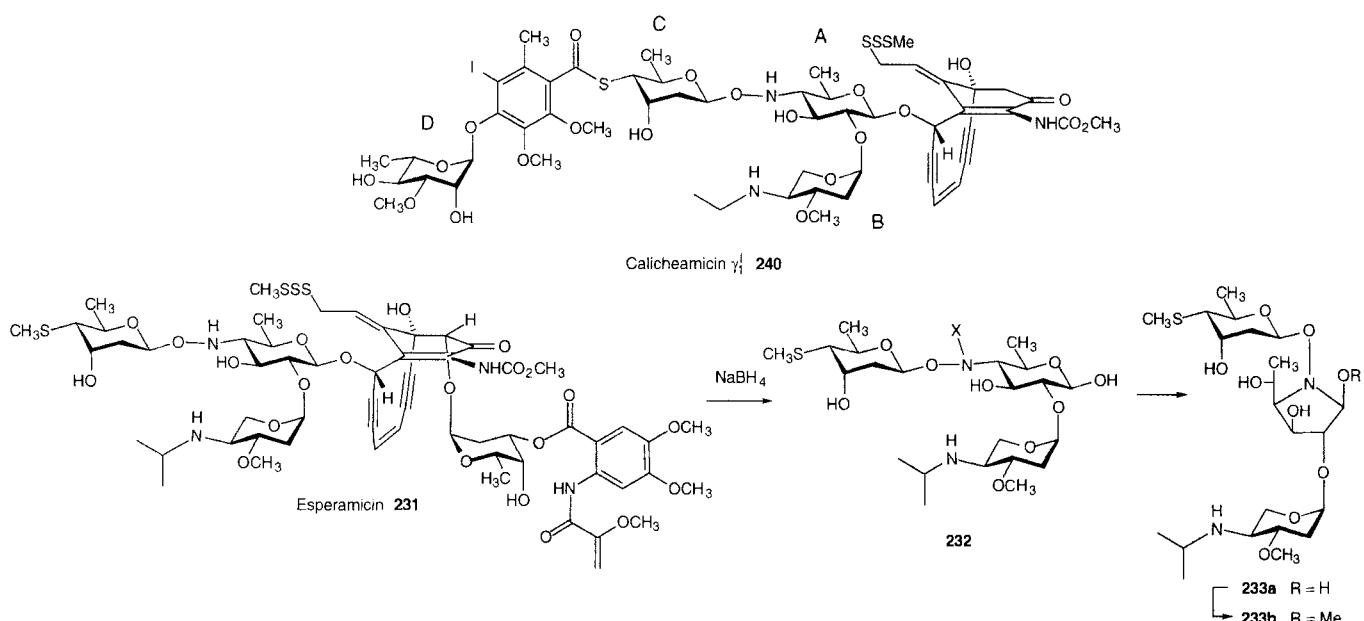
In den bisher erörterten Beispielen wurden Verbindungen aus bekannten Kohlenhydrat-Bausteinen zusammengesetzt. Ein großer Vorteil der Glycalsmethode ist die Tatsache, daß die Zahl der Schutzgruppenmanipulationen die für die Synthese komple-

xer Moleküle notwendig ist, stark verringert ist. Eine herausfordernde Ausweitung der Glycalstrategie, bei der einige sehr unübliche Bausteine verwendet wurden, war die Herstellung der Kohlenhydratbereiche der Endiin-Antibiotika Calicheamicin **230** (Schema 57) und Esperamicin **231**^[111–115].

Mit diesen Untersuchungen wurden mehrere Ziele verfolgt. So wollten wir diese Zuckerbereiche synthetisieren, um ihre biologischen Eigenschaften ohne die Effektor-Eigenschaft des Wirkstoffs zu untersuchen. Da die intakten Kohlenhydratbereiche nicht durch Abbau der Wirkstoffe erhalten werden konnten, schien dieses Ziel nur durch Synthese erreichbar zu sein. Die Realisierung einer solchen Synthese durch die Glycalsmethode würde uns mit einigen neuen Herausforderungen konfrontieren, denen wir bei Synthesen mit traditionellen Kohlenhydratbausteinen noch nicht begegnet waren.

Außerdem hofften wir, daß uns eine Totalsynthese von Calicheamicin γ_1^1 gelingen würde. Wir hatten zuvor den Aglyconbereich, das Calicheamicinon, sowohl in racemischer als auch in enantiomerenreiner Form hergestellt^[116]. In Hinblick auf eine Totalsynthese war es unser Ziel, ein vollständig synthetisch erhaltenes Kohlenhydrat als Glycosyldonor mit einem geeigneten, als Acceptor fungierenden Aglycon zu verknüpfen. Es war zu vermuten, daß im Hinblick auf die Stabilität des Glycosyldonors viele Manipulationen zum Schutz der Hydroxy-, Alkylamino- und Hydroxyaminofunktionen erforderlich sein würde. Es wäre somit entscheidend, daß sich die Schutzgruppen vom Kohlenhydratbereich abspalten ließen, ohne den Kohlenhydrat- und den Aglycon-Bereich zu zerstören. Das Aglycon sollte demzufolge in einem möglichst fortgeschrittenen Stadium als Acceptor eingesetzt werden. So könnte man vermeiden, nach der Kupplung mit dieser großen Zahl an empfindlichen funktionellen Gruppen umgehen zu müssen.

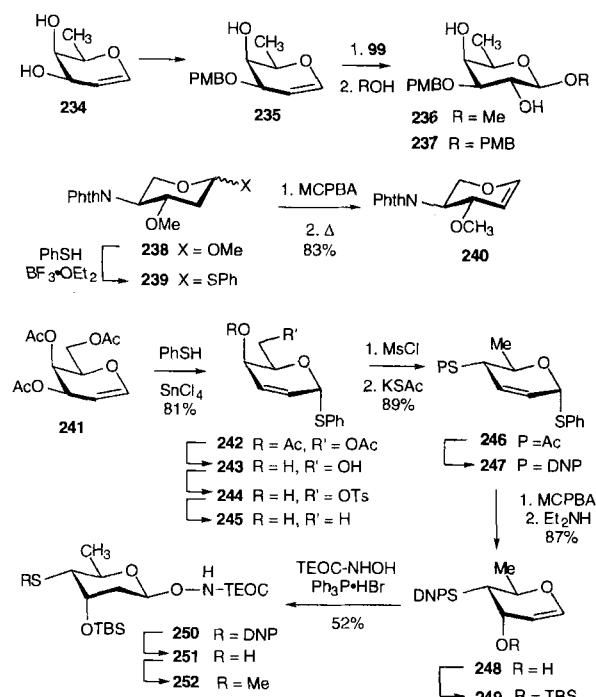
Mit Blick auf diese Ziele wandten wir uns zunächst dem Kohlenhydratbereich von Esperamicin **231** zu. Chemiker bei Bristol-Myers Squibb hatten herausgefunden, daß die Umsetzung von **231** mit Natriumborhydrid – außer einem nichtcharakterisierten Aglycon – **233a** lieferte^[117]. Dies ließ darauf schließen, daß die



Schema 57. Strukturen von Calicheamicin und Esperamicin sowie dessen reduktive Spaltung mit NaBH₄.

Reduktion des Wirkstoffs über **232** zu **233a** führte, das als Methylglycosid **233b** charakterisiert wurde. Eine Vorstellung über die Geschwindigkeit dieser Umlagerung war für uns von großem Interesse. Wahrscheinlich könnte ein Kohlenhydrat-Glycosyldonor (in der Calicheamicin-Reihe) durch Manipulationen an der freien Hydroxygruppe am anomeren Kohlenstoffatom des reduzierenden Endes von **233a** erhalten werden. Das Ergebnis der Reaktion von **231** mit NaBH_4 legte die Vermutung nahe, daß ein reduzierendes Ende und eine NH-Gruppe am Hydroxylamino-Spacer nicht gleichzeitig frei vorliegen dürfen. Falls diese Einschränkung tatsächlich zuträfe, müßte die NH-Funktion geschützt werden, um beim Zusammenbau das freie reduzierende Ende nutzen zu können.

Für die Synthese des Esperamicin-Bereichs wurden drei Glycale hergestellt (Schema 58). D-Fucal **234** wurde ohne Schwierigkeiten in **235** überführt. Das zweite Glycal, **240**, wurde ausgehend von dem beschriebenen Methylglycosid **238** über die anomere Thiophenylverbindung **239** und anschließende Pyrolyse des davon abgeleiteten Sulfoxids erhalten.

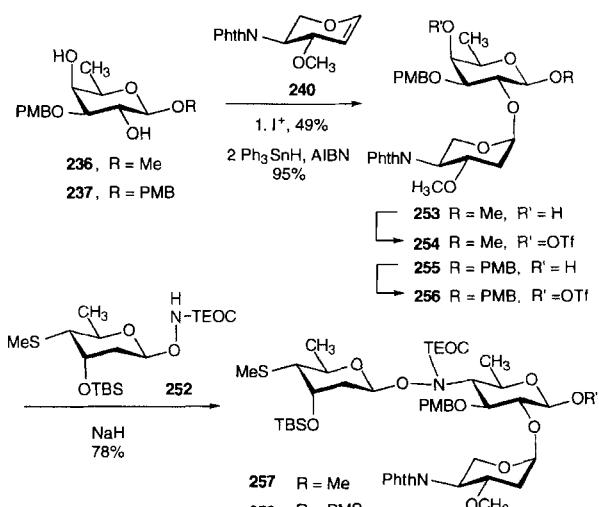


Schema 58. Synthese des Esperamicin-Kohlenhydratbereichs (Teil 1). MCPBA = *m*-Chlorperbenzoësäure, Ms = Methansulfonyl, Phth = Phthaloyl, Ts = Toluolsulfonyl.

Der Aufbau des benötigten Thioglycals war anspruchsvoll. Das D-Galactaltriacetat **241** wurde durch Thiophenyl-Ferrier-Umlagerung in **242** umgewandelt^[36]. Nach Bildung des Diols **243** und des Tosylats **244** wurde durch Reduktion **245** und daraus in wenigen Stufen **246** und **247** erhalten. Die anschließende Umlagerung des aus **247** hergestellten Sulfoxids und die Einführung einer geeigneten Schutzgruppe führten zu **249**. Diese Verbindung reagierte als Donor mit *N*-Trimethylsilylethoxy carbonyl(TEOC)-hydroxylamin zu **250**. Die Chemoselektivität dieser Addition betrug nur 1.5:1, als Nebenprodukt entstand das *N*-Glycosid. Die Stereoselektivität dieser Reaktion war hingegen sehr hoch zugunsten des β -Glycosids. Dieser ausschließliche

che Angriff von der β -Seite ist vermutlich eine Folge der α -axial angeordneten TBSO-Gruppe (TBS = *tert*-Butyldimethylsilyl), Abspaltung der Dinitrophenyl(DNP)-Gruppe und Methylierung lieferten **252**.

Der Zusammenbau der Glycale begann auf herkömmliche Weise mit der Epoxidierung von **235**. Die Umsetzung des resultierenden Anhydrozuckers mit Methanol oder *p*-Methoxybenzyl(PMB)-Alkohol führte zu **236** bzw. **237** (Schema 58). Die Iodglycosylierung von **240** mit **236** sowie **237** fand recht selektiv an der (äquatorialen) C2-Hydroxygruppe statt und lieferte nach Deiodierung das Disaccharid **253** bzw. **255** (Schema 59). Die Epoxidöffnung und Iodglycosylierung waren dabei so aufeinander abgestimmt, daß die ungewöhnlichen Disaccharide **253** und **255** möglichst schnell zugänglich waren.



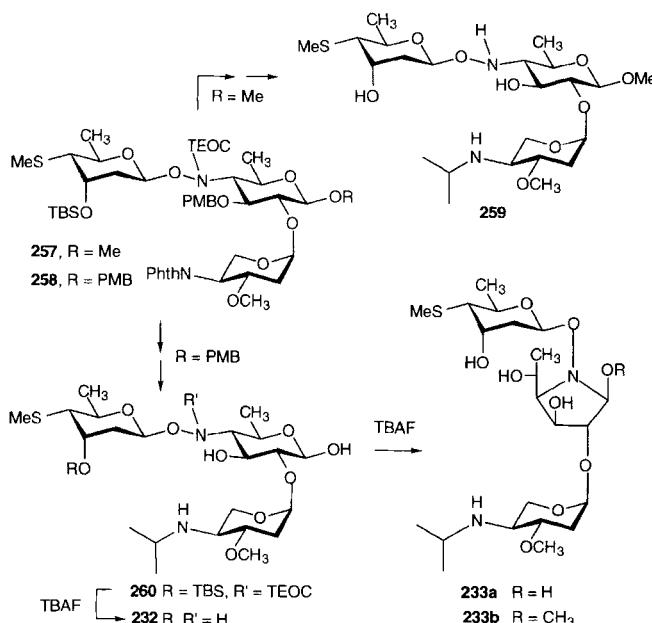
Schema 59. Synthese des Esperamicin-Kohlenhydratbereichs (Teil 2). AIBN = α,α' -Azobisisobutyronitril, Tf = Trifluormethansulfonyl.

Diese Verbindungen wurden in die Triflate **254** bzw. **256** umgewandelt, die mit deprotoniertem **252** zu den tricyclischen Verbindungen **257** bzw. **258** gekuppelt wurden^[118].

In der Methylglycosid-Reihe (**257**) wurde die Phthalimidbindung gespalten und durch reduktive Aminierung mit Aceton ein *N*-Isopropylaminrest eingeführt. Die Abspaltung der TEOC- und TBS-Schutzgruppen lieferte das Methylglycosid **259** (Schema 60).

Analog wurde die *p*-Methoxybenzyl(PMB)-Verbindung **258** *N*-Isopropyl-geschützt. Als nächstes setzten wir das freie, reduzierende Ende durch Abspaltung der PMB-Gruppe frei, wodurch wir **260** erhielten. Die *N*-TEOC-Gruppe am Hydroxylamin schützte die Verbindung vor der Umlagerung zu einer Azafuranose. Mit Tetra-*n*-butylammoniumfluorid (TBAF) wurden zwar alle Silylschutzgruppen in **260** abgespalten, Verbindung **232**, die dem vollkommen freigelegten Trisaccharid-Bereich von Esperamicin entspricht, konnte allerdings weder nachgewiesen noch isoliert werden. Bei dem isolierten Produkt handelte es sich um die Azafuranose **233a**, die am besten als Methylglycosid **233b** charakterisiert werden konnte. Diese Verbindung hatten bereits die Chemiker bei Bristol-Myers Squibb bei der NaBH_4 -Reduktion von Esperamicin erhalten.

Zu diesem Zeitpunkt war klar, daß entweder die Hydroxylaminfunktion des Spacers oder das anomere Zentrum am



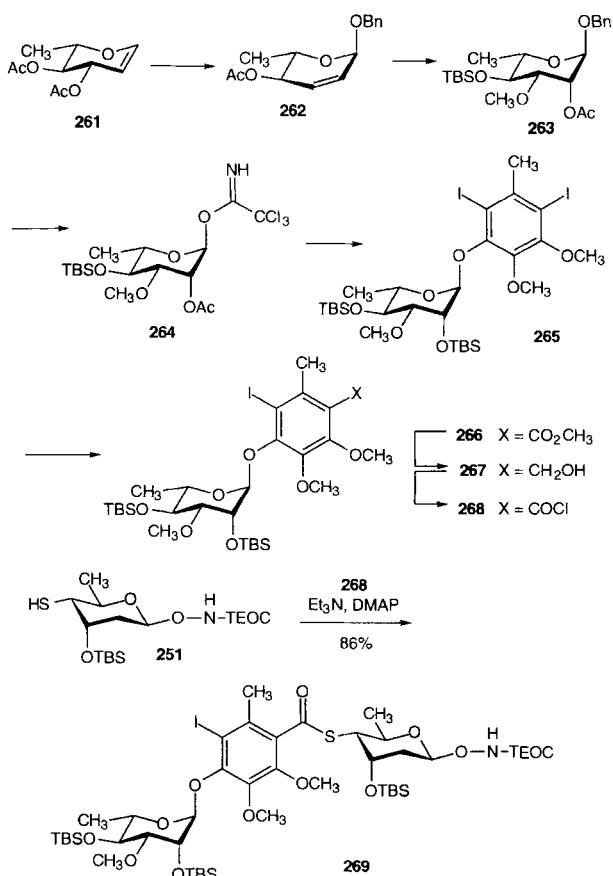
Schema 60. Synthese des Esperamicin-Kohlenhydratbereichs (Teil 3).

reduzierenden Ende geschützt werden mußten, um das Trisaccharid zu stabilisieren. Da für die Herstellung eines Glycosyldonors als Baustein in einer Calicheamicin-Synthese ein Zwischenprodukt mit einem freien, reduzierenden Ende erforderlich sein würde, sollte die NH-Gruppe des Hydroxylamins während des Zusammenbaus geschützt bleiben.

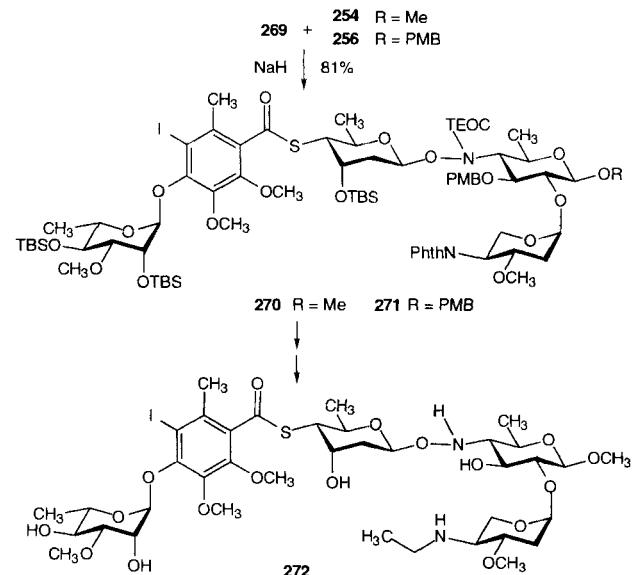
Als nächstes haben wir uns dem Aryltetrasaccharid-Bereich von Calicheamicin **230** zugewandt. Die Synthese des ABC-Abschnitts von **230** wurde angelehnt an den in der Esperamycin-Reihe verfolgten Syntheseplan realisiert. Wir haben uns deshalb auf den CD-Abschnitt konzentriert (Schema 61). Ausgehend vom Glycal **261**, das problemlos aus L-Rhamnal zugänglich war, wurde durch Ferrier-Umlagerung mit Benzylalkohol **262** erhalten, das durch Osmylierung, Monomethylierung (des entsprechenden Stannylderivats) und Silylierung zu **263** umgesetzt wurde. Nach Debemylierung wurde die Trichloracetimidat-Donorfunktion unter Bildung von **264** eingeführt. Durch Schmidt-Kupplung wurde aus **264** und 2,4-Diod-5,6-dimethoxy-3-methylphenol die Verbindung **265** erhalten, die palladium-katalysiert regioselektiv zu **266** carbonyliert wurde. Dessen Reduktion zu **267**, anschließende Oxidation und Säurechlorid-Bildung lieferten **268**^[119], das mit dem beschriebenen C-Ring-Thiol-Glycal **251** zum Aryldisaccharid **269** acyliert wurde.

Durch Kahne-Kupplung^[118] des Anions von **269** mit dem Triflat **254** entstand das Aryltetrasaccharid **270** (Schema 62). Durch Spaltung des Phthalimids in **270**, anschließende reduktive Ethylierung und Entfernen aller Silyl- sowie der PMB-Schutzgruppen wurde **272** erhalten. Mehrere voneinander unabhängige Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe^[120–122] und der von Nicolaou^[123, 124], die den Kohlenhydratbereich von Calicheamicin schon vorher synthetisiert hatten^[125], ergaben, daß die Erkennungsdomäne von Calicheamicin tatsächlich im Aryltetrasaccharid-Bereich von **272** enthalten ist.

Unser nächstes Ziel bestand darin, zu zeigen, daß aus **272** ein geeigneter Glycosyldonor erhalten werden kann und – vor allem – daß dieser mit einer fortgeschrittenen Vorstufe des Aglycons

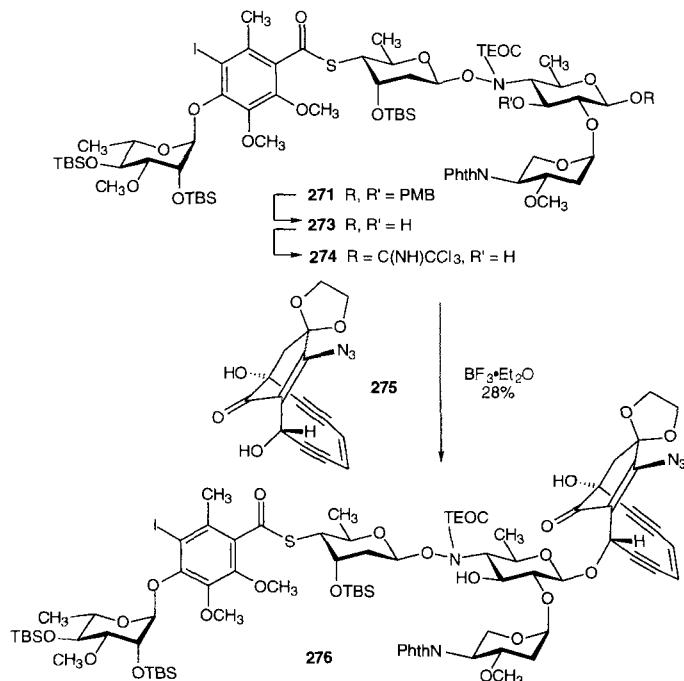


Schema 61. Synthese des Calicheamicin-Kohlenhydratbereichs (Teil 1).



Schema 62. Synthese des Calicheamicin-Kohlenhydratbereichs (Teil 2).

reagiert. Dazu wurde durch Kupplung von **269** und **256** das Aryltetrasaccharid **271** hergestellt (Schema 62). Die Abspaltung der PMB-Schutzgruppen von **271** mit 2,3-Dichlor-5,6-dicyanbenzoquinon (DDQ) lieferte **273**, das zum Trichloracetimidat-Donor **274** umgesetzt wurde (Schema 63). Einer der getesteten Aglycon-Acceptoren war **275**. Die Schmidt-Kupplung von **274** mit **275** führte zu einem gut trennbaren 3:1-Gemisch aus **276** und

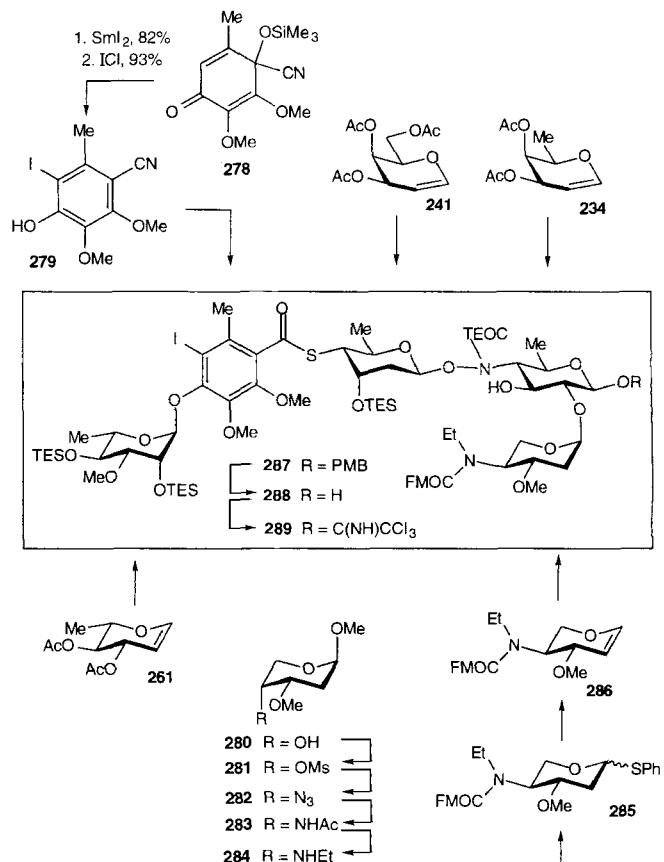


Schema 63. Erste Kupplung eines komplexen Kohlenhydratbereichs an ein Endiin.

dem entsprechenden α -Glycosid. Dies war die erste derartige Glycosidkupplung von zwei vollkommen synthetisch hergestellten Teilstrukturen in der Klasse der Calicheamicine^[126].

Obwohl dies Ergebnis durchaus erfreulich war, stellte sich bald heraus, daß **276** für eine Synthese von Calicheamicin nicht geeignet war. Doch wurden in dieser Phase des Syntheseprogramms einige wertvolle Erkenntnisse gewonnen: Eine wichtige Entdeckung war der Befund, daß die Hydrazin-induzierte Spaltung der Phthalimidgruppe in Gegenwart der Endiin-Funktionalität nicht möglich war. Unter den unterschiedlichsten Reaktionsbedingungen war die unspezifisch verlaufende Zerstörung des Endiins sehr viel schneller als die Freisetzung des Amins aus dem Phthalimid. Ebenso ist zu berücksichtigen, daß die Abspaltung der TBS-Schutzgruppen an den axialen Positionen mit TBAF ein problematischer Schritt ist. Bei der endgültigen Abspaltung der Schutzgruppen traten bei unterschiedlichen Verbindungen mit diesen Schutzgruppen schwerwiegende Schäden am Rhamnose-D-Ring auf. Unter Bedingungen, unter denen diese Schäden am geringsten waren (-10°C), dauerte die Abspaltung der TBS-Schutzgruppen sieben Tage. Auf der Grundlage der Ergebnisse von Konkurrenzexperimenten zur Lebensdauer der funktionellen Gruppen erschien es unwahrscheinlich, daß eine Endiingruppe diese Reaktionsbedingungen über einen Zeitraum unbeschadet überstehen würde, der zur Freisetzung des Alkohols aus dem TBS-Derivat erforderlich ist.

Zur Lösung dieses Problems haben wir mit Blick auf die erste Totalsynthese von Calicheamicin von Nicolaou und Mitarbeitern^[11] unsere Schutzgruppenstrategie geändert (Schema 64). In Vorbereitung auf den letzten Schritt zum Calicheamicin γ_1^1 wurden einige Verbesserungen vorgenommen: Der Zugang zum Aren wurde komplett erneuert und geradliniger gestaltet. Olson machte dabei eine wichtige Entdeckung, die an sich keinen direkten Bezug zur Kohlenhydrat-Chemie hat: Er fand heraus, daß Mono-TMS-cyanhydrin-Derivate von Chinonen (z.B. 278)

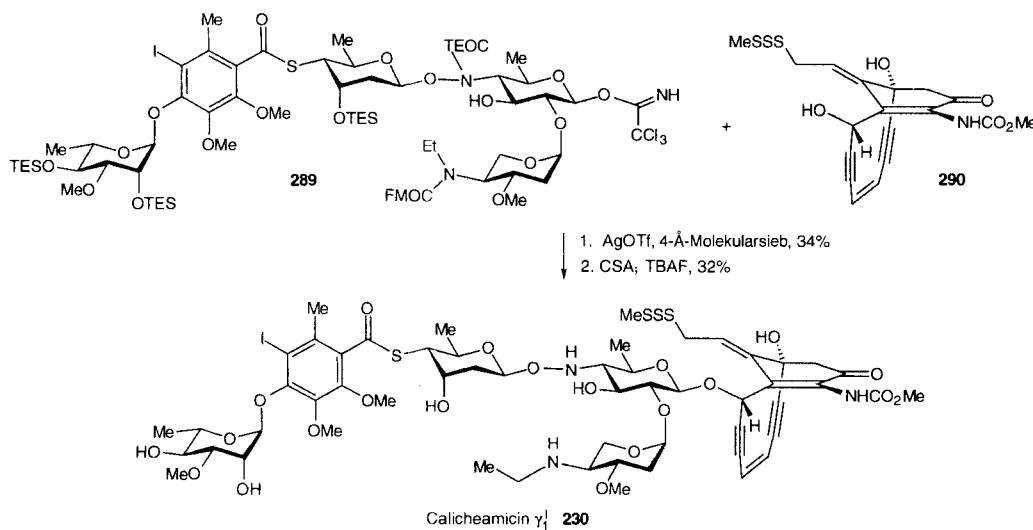


Schema 64. Verbesserte Synthese des Calicheamicin-Kohlenhydratbereichs.
 FMOC = 9-Fluorenylmethoxykarbonyl.

mit Samarium(II)-iodid zu *p*-Hydroxybenzonitrilen (z.B. **279**) reagieren^[127]. Als Bausteine für die A-, C- und D-Ringe wurden – im wesentlichen wie zuvor – D-Fucal **234**, D-Galactaltriacetat **241** und L-Rhamnaldiacetat **261** verwendet, wobei die Hydroxygruppen allerdings nicht TBS-, sondern Triethylsilyl-(TES)-geschützt wurden.

Ausgangsverbindung für das 9-Fluorenylmethyloxycarbonyl(FMOC)-substituierte Glycal **286** war das Mesylat **281**, das aus dem differenzierten Methylglycosid **280** erhalten wurde. Boyer entdeckte, daß durch Substitution von **281** mit Azid Verbindung **282** entstand und daraus nacheinander das Acetamid **283** und das *N*-Ethylderivat **284** aufgebaut werden konnten. Durch Thiophenol-Substitution am anomeren Zentrum gelangte man zu **285** und durch anschließende Oxidation sowie Thermolyse zu **286**. Das AB-Segment wurde mit dem D-Fucal **237** durch Iodglycosylierung von **286** aufgebaut. Die Fortsetzung der Reaktionssequenz führte wie beschrieben über die Tetrasaccharide **287** und **288** zu **289**.

An dieser Stelle konnte Hitchcock eine äußerst aufregende Entdeckung machen: Durch die Verwendung des Donors **289** ergab sich die Möglichkeit, in der Glycosylierung einen solch komplexen Acceptor wie **290** einzusetzen (Schema 65). Da weder Oxidations- noch Reduktionsschritte erforderlich sein würden, um das angestrebte Produkt in die für den Wirkstoff benötigte Form zu überführen, konnte man hoffen, den ansonsten empfindlichen Acceptor **290** einsetzen zu können, in dem die allylische Trisulfid-Funktion bereits vorhanden ist. Glücklicherweise gelang die Glycosylierung zudem unter besonders milden



Schema 65. Die endgültige, konvergente Synthese von Calicheamicin.

Bedingungen (AgOTf , 4-Å-Molekularsieb)^[128], und nach Abspaltung aller Schutzgruppen in zwei Stufen wurde Calicheamicin γ_1 **230** erhalten, womit uns eine sehr konvergente Synthese gelungen war.

10. Oligosaccharid-Festphasensynthesen

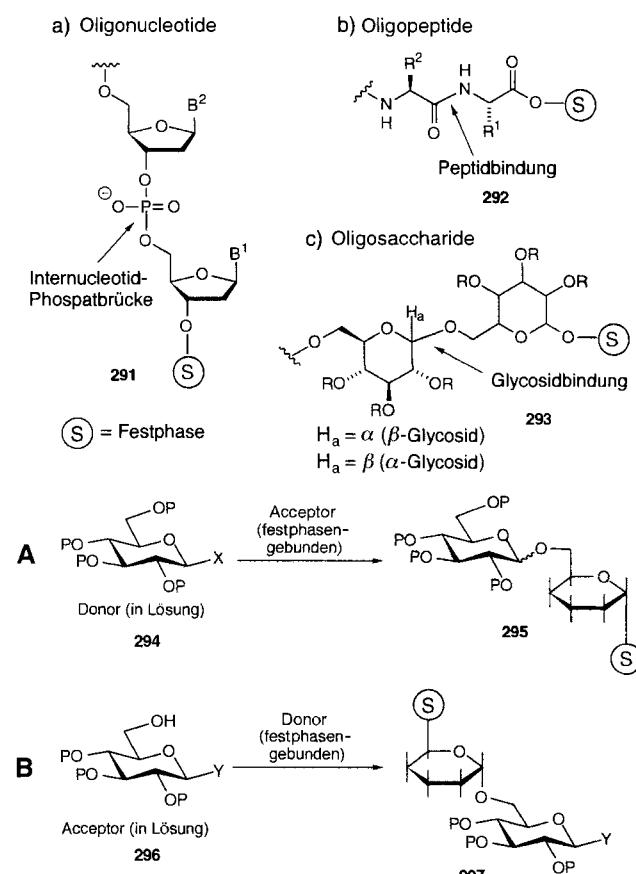
Die Bedeutung der oben beschriebenen Methoden in Lösung besteht nicht nur darin, daß mit ihnen beachtliche Fortschritte bei der Synthese von Oligosacchariden und Glycokonjugaten erzielt wurden, sondern daß mit ihnen weitere Vereinfachungen und Effizienzsteigerungen möglich waren. Es war äußerst aufschlußreich, diese Problematik im Zusammenhang mit der Synthese von Biooligomeren zu betrachten und Analogien zwischen der Oligosaccharidsynthese und der Synthese von Oligonucleotiden und Peptiden heranzuziehen. Sicherlich waren auch bei der Synthese dieser Biooligomere in Lösung beachtliche Erfolge erzielt worden, ihren größten Aufschwung haben diese Synthesen allerdings zweifelsohne erst erfahren, als die Kupplungsmethoden in Lösung auf die Festphase zugeschnitten worden waren. Auch wenn die Festphasensynthese von Oligopeptiden^[129] und Oligonucleotiden^[130] nicht in jedem Fall geeignet ist, führt sie doch häufig zu besseren Ausbeuten und einfacher durchführbaren Verfahren. Darüber hinaus entfällt die Notwendigkeit, das Produkt nach jedem Reaktionsschritt zu reinigen. Selbstverständlich geht mit der Arbeitsweise am festen Träger auch der mögliche Vorteil einer Reinigung nach jeder Kettenverlängerung verloren. Die Chemie der Wiederholungsschritte muß deswegen so beschaffen sein, daß der Reinigungsschritt am Ende der Synthese ausreicht, um das gewünschte Produkt mit der erforderlichen Reinheit zu erhalten.

Bei der Polypeptid- und Oligonucleotidsynthese ist durch die hohen Ausbeuten der einzelnen Kupplungsschritte gewährleistet, daß die Strategie der Reinigung auf der letzten Stufe praktikabel ist. Die ausgezeichneten Ausbeuten ergeben sich aus der Qualität der verwendeten Kupplungsreaktionen und können noch dadurch verbessert werden, daß man den in Lösung be-

findlichen Kupplungspartner, der durch Filtration leicht von der Festphase getrennt werden kann, im Überschuß verwendet.

Die Festphasensynthese von Oligosacchariden ist vergleichsweise sehr viel weniger weit entwickelt^[131]. Diese Bemerkung ist nicht als Kritik an den Praktikern auf diesem Gebiet zu verstehen, sondern spiegelt vielmehr die Tatsache wider, daß das Problem der Oligosaccharidsynthese sehr viel komplexer ist als das der Synthese von Oligonucleotiden und Oligopeptiden.

Wir wollen die Synthese von Oligonucleotiden, besonders von Oligo-2'-desoxynucleotiden betrachten (Schema 66). Setzt man die gute Zugänglichkeit der Nucleoside voraus, so besteht jede Verlängerung in der Verknüpfung durch eine Phosphatbrücke. Dazu ist es notwendig, zwischen den 5'- und 3'-Hydroxygruppen zu unterscheiden und eine effiziente Kupplungsreaktion zu finden. Beim Aufbau der Internucleotidbindungen entsteht kein neues Chiralitätszentrum. In ähnlicher Weise müssen beim Aufbau von Peptiden die α -Amino- und

Schema 66. Festphasensynthese von Biopolymeren. B^1, B^2 = Nucleinsäurebase.

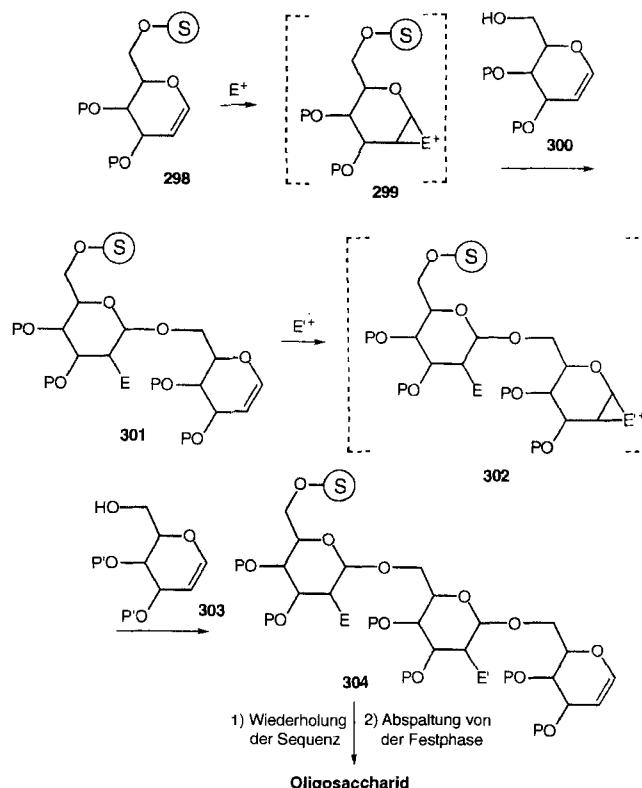
α -Carboxygruppen von allen anderen derartigen oder ähnlichen funktionellen Gruppen (z.B. -SH und -OH) an den Seitenketten unterschieden werden. Man benötigt außerdem eine effiziente Reaktion zur Bildung der Amidbindung. Auch bei der Verlängerung des Oligopeptids wird kein neues Chiralitätszentrum aufgebaut. Die beiden Strategien zur Kettenverlängerung bei der Synthese am festen Träger ist in Schema 66 anhand der Strukturen 291 bzw. 292 angedeutet. Bei der analogen Synthese eines Oligosaccharids (siehe 293) an einem festen Träger erhöht sich das Maß an Komplexität erheblich.

So muß man beim Aufbau eines Oligosaccharids aus einer Aldohexose den anomeren Bereich einer der Komponenten so unterscheiden, daß er als Donor (siehe 294) fungieren kann, und eine der fünf sehr ähnlichen Hydroxygruppen der Hexoseeinheiten so differenzieren, daß sie als Glycosylacceptor dienen kann (siehe 296). Die wichtigste Forderung ist die Steuerung der Konfiguration bei jeder neu gebildeten Glycosidbindung. Anders als bei den anderen Biooligomeren hat die Verknüpfung der Monomerausteine bei der Glycosylierung stereochemische Konsequenzen. Angesichts der sehr viel komplizierteren Problemstellung bei der Oligosaccharidsynthese am festen Träger ist der erzielte Fortschritt in der Tat erstaunlich und spricht deutlich für die Kreativität und die Beharrlichkeit der Forscher.

Bei Oligosaccharidsynthesen an einem festen Träger kann man grundsätzlich zwei Strategien verfolgen. Im einen Fall (Fall A) wird ein Glycosylacceptor an den Träger gebunden, und sowohl der in Lösung befindliche Donor (294) als auch der Katalysator werden für den Kupplungsschritt zugegeben (\rightarrow 295). Für eine Wiederholung des Prozesses muß am festen Träger ein neuer Acceptor gebildet werden. Um an der gewünschten Position eine Acceptorstelle zu erhalten, ist im allgemeinen eine spezifische Schutzgruppe (P) abzuspalten.

Bei der zweiten Strategie (Fall B) setzt man einen polymergebundenen Glycosyldonor ein, der mit einem in Lösung vorliegenden Acceptor (296) reagiert. Für eine Wiederholung des Prozesses muß die Donor-Funktionalität aus der funktionellen Gruppe Y am anomeren Zentrum in der trägergebundenen Verbindung 297 freigesetzt werden. Außerdem müssen für jeden Wiederholungsschritt definierte Glycosylacceptoren hergestellt werden, in denen nur eine Hydroxygruppe als Acceptor fungieren und nach der Glycosylierung am anomeren Zentrum des Produkts eine neue Donorfunktion gebildet werden kann. Anhand dieser Erfordernisse wird der Zuwachs an Komplexität bei der Oligosaccharidsynthese am festen Träger im Vergleich zur Festphasensynthese von anderen Biooligomeren besonders deutlich.

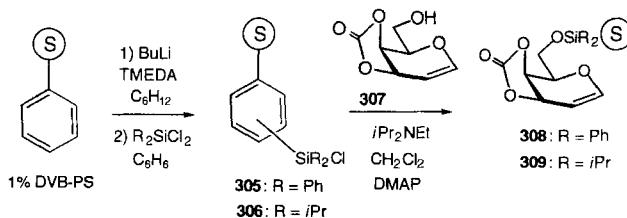
Erst als wir uns mit dem Problem der Festphasen-Kohlenhydratsynthese befaßten, erkannten wir, daß sich der auf Glycalen basierende Aufbau von Kohlenhydraten als besonders wertvoll erweisen könnte^[132, 133]. Die geplante Vorgehensweise ist in Schema 67 gezeigt. Das polymergebundene Glycal 298 sollte durch Anbindung des entsprechenden Glycals an einen geeigneten festen Träger hergestellt und durch ein Elektrophil E⁺ unter Bildung des polymergebundenen Donors 299 aktiviert werden. Im Prinzip kann 299 entweder ein substochiometrisches Zwischenprodukt (siehe Iodglycosylierung) oder eine charakterisierbare, chemische Verbindung sein (siehe 1,2-Epoxide). Die Kupplung von 299 mit dem in Lösung vorliegenden Glycalacceptor 300 sollte zum verlängerten polymergebundenen Glycal



Schema 67. Festphasen-Kohlenhydratsynthese mit Glycalen. P,P' = Schutzgruppe; E⁺, E'⁺ = Elektrophil.

301 führen. Die Wiederholung der Reaktionsfolge mit dem neuen polymergebundenen Donor 302 und dem in Lösung befindlichen Acceptor 303 (der auch 300 sein kann) liefert 304.

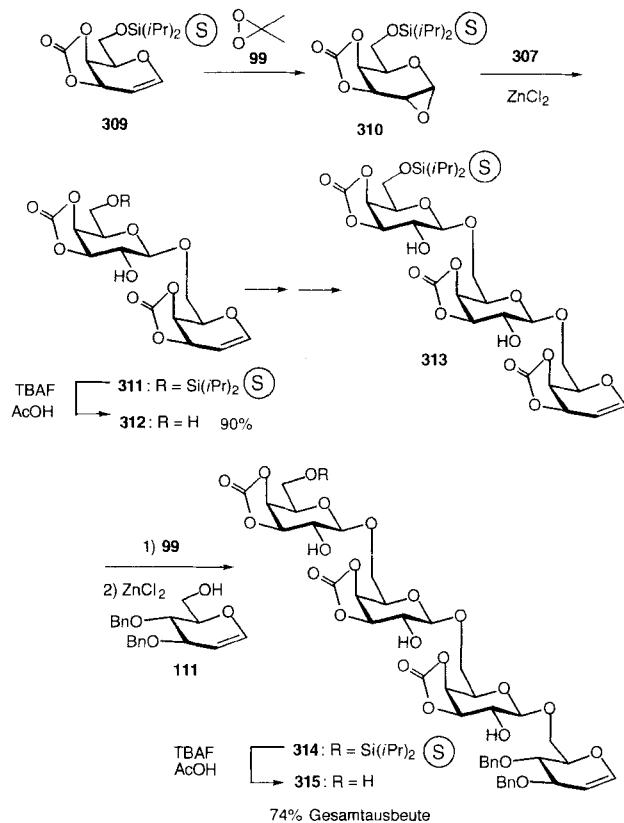
Als Anbindung des wachsenden Kohlenhydrats an den festen Träger wählten wir eine Siliciumbrücke und als Träger käufliches Polystyrol (quervernetzt mit 1% Divinylbenzol). Dabei konnten wir die in einem anderen Zusammenhang von Chan^[134] erhaltenen Befunde nutzen, denen zufolge das Polymer unter Bildung von Aryllithium-Spezies metalliert werden kann. Durch anschließende Silylierung mit difunktionellen Silanen des Typs R₂SiCl₂ erhält man ein silylchloridfunktionalisiertes Harz (Schema 68).



Schema 68. Herstellung eines polymergebundenen Glycals. TMEDA = Tetramethylenthylendiamin, 1% DVB-PS = Polystyrol, quervernetzt mit 1% Divinylbenzol.

Bei unseren ersten Untersuchungen^[132] haben wir mit Diphenyldichlorsilan silyliert und als erstes Glycal 307 durch eine herkömmliche Reaktion zur Bildung von Silylethern gebunden, wodurch 308 erhalten wurde. Es zeigte sich allerdings, daß der Spacer in den durch Verlängerung von 308 entstandenen Pro-

dukte nicht ausreichend hydrolytisch stabil war. Demzufolge verwendeten wir Diisopropyldichlorsilan als Silylierungsmittel, und **309** wurde zum festphasengebundenen Donor unserer Wahl. Die Beladung mit Kohlenhydrat sollte > 0.9 mmol **307** pro Gramm Festphase betragen. Als Aktivierungsmethode entwickelten wir als erstes die Glycalepoxydierung mit 2,2-Dimethylidioxiran als Oxidationsmittel. Die hierbei gebildeten Verbindungen, wie **310**, sind in der Regel nicht vollständig charakterisierbar (Schema 69). Die Umsetzung von **310** mit



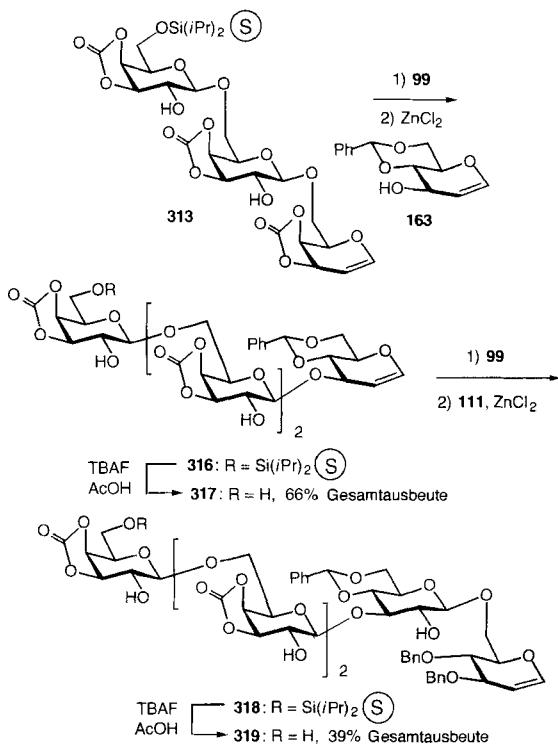
Schema 69. Festphasensynthese von 1,6-verknüpften Polysaccharidresten.

dem Glycalacceptor **307** in Gegenwart von Zinkchlorid lieferte **311**, dessen Bildung indirekt über die mit Tetra-*n*-butylammoniumfluorid (TBAF) freigesetzte Verbindung **312** (90 % Ausbeute) nachgewiesen wurde. Eine zweimalige Wiederholung der Sequenz mit den Aczeptoren **307** bzw. **111** und die anschließende Abspaltung vom Polymer mit TBAF führten zum Tetrasaccharid **315** in einer Gesamtausbeute von 74 % (was einer durchschnittlichen Ausbeute von 90 % pro Kupplungssequenz entspricht). Wir setzten bei diesen ersten Streifzügen großes Vertrauen in Galactoseepoxid-Donoren des Typs **310**, da diese die bevorzugte Bildung des β -Produkts gewährleisten (siehe Schema 37). Darüber hinaus bietet die Galactosylierung bedeutende Möglichkeiten zum Aufbau von biologisch wichtigen Oligosacchariden.

Einige Besonderheiten der Methode sollen hervorgehoben werden. So sind die polymergebundenen Donoren, bei denen die C3- und C4-Hydroxygruppen als cyclisches Carbonat geschützt sind, in der Tat äußerst stereoselektiv reagierendes Galactosylierungsmittel. Auch bereitete die Reinigung nur auf der Tetra-

saccharidstufe keine Schwierigkeiten. Eine weitere Besonderheit war die „Selbstkontrolle“ bei fehlgeschlagenen Kupplungen: Die durchschnittlichen Kupplungsausbeuten liegen zwar nur bei etwa 90 %, doch wird nicht gekuppeltes Epoxid offensichtlich hydrolysiert, so daß wir keine Produkte mit Fehlstellen im Inneren der Kette feststellen konnten.

Glycosylaceptoren mit sekundären Hydroxygruppen können ebenfalls eingesetzt werden (Schema 70). So reagierte **313**

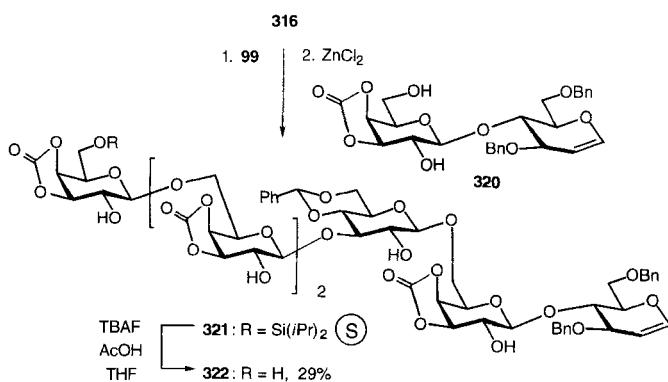


Schema 70. Synthese des Pentasaccharids **319** am festen Träger.

nach Epoxidierung mit **99** mit dem α -Glucal **163** zu **316**. Das Tetrasaccharid **317** wurde nach Abspaltung vom Träger mit TBAF in einer Gesamtausbeute von 66 % bezogen auf **309** erhalten. Nimmt man eine Ausbeute von 90 % pro Kupplungsstufe bei der Synthese von **313** an, so ergibt sich für die Glycosylierung von **163** eine Ausbeute von etwa 80 %. Ein weiteres Beispiel, das die Verwendung Glycals mit sekundären Hydroxygruppen demonstriert, ist die Umsetzung von **310** mit gelöstem 3,6-Dibenzylglucal zum entsprechenden 1,4-verknüpften Disaccharid.

Verbindung **316** wurde mit **99** unter Bildung eines polymergebundenen Glucosyldonors oxidiert. Dieses Epoxid reagierte mit einer Lösung von **111** und $ZnCl_2$ in Tetrahydrofuran zu **318**, woraus das Pentasaccharid **319** in einer Gesamtausbeute von 39 % bezogen auf **309** erhalten wurde. Diese Glycosylierung verläuft mit einer Ausbeute von etwa 60 % bezogen auf **316** und außerdem mit hoher Stereoselektivität. Dennoch wurde in diesem Fall im 1H -NMR-Spektrum als Nebenprodukt vermutlich das α -Glycosid nachgewiesen. Das Verhältnis des gewünschten, einheitlich β -konfigurierten Produkts zu dieser unbekannten Verbindung betrug >10:1. Diese mäßige β -Selektivität mit diesen von Glucal abgeleiteten Donor kann möglicherweise durch Optimierung der Reaktionsbedingungen verbessert werden.

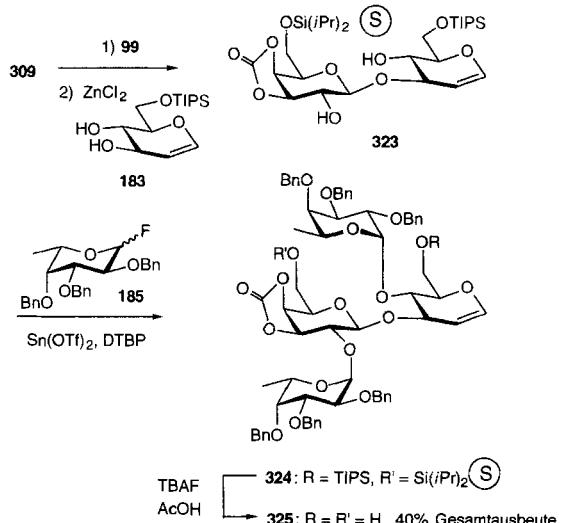
Die Synthese kann durch die Verwendung von Disaccharid- oder Oligosaccharid-Acceptoren noch konvergenter gestaltet werden (Schema 71). So gelangten wir durch Epoxidierung des polymergebundenen Tetrasaccharid-Glycals **316**, anschließende $ZnCl_2$ -katalysierte Kupplung mit dem Disaccharid-Acceptor-glycal **320** und Freisetzung vom Träger (TBAF) zu **322** in einer Gesamtausbeute von 58% (29% Gesamtausbeute bezogen auf **309**, 45% bezogen auf **316**).



Schema 71. Synthese des Hexasaccharids **322** am festen Träger.

Bei dieser letzten Kupplung wird interessanterweise ein Diol-acceptor regioselektiv glycosyliert. Diese Selektivität bei der Verwendung von polymergebundenen Donoren und in Lösung vorliegenden Acceptor kann von erheblichem Vorteil sein, da dadurch die Notwendigkeit entfallen kann, diese zu schützen.

Die Festphasensynthese kann auch auf die bereits beschriebene Herstellung von verzweigten Oligosacchariden mit der Glycalmethode (siehe Schema 41 und 42) angewendet werden. Wir zeigten dies anhand des trägergebundenen Glycals **309**, das epoxidiert und an den Acceptor **183** zum Disaccharid **323** gekuppelt wurde (Schema 72). Dieses ist in Gegenwart von Zinntriflat ein polymergebundener Glycosylacceptor gegenüber dem Fluorzucker **185**. Die Abspaltung des so erhaltenen Tetrasaccharids **324** vom Polymer mit TBAF führte zur Lewis-*b*-Gly-



Schema 72. Synthese des verzweigten Zuckers **325** am festen Träger. DTBP = *Di-tert*-butylperoxid.

calvorstufe **325**. In einer wachsenden Kette kann also eine Verzweigung an der C2-Hydroxygruppe durch Nutzung der ungeschützten Hydroxygruppe, die bei der auf Epoxidionen basierenden Glycosylierung freigesetzt wird, erreicht werden. Allerdings war es durch dieses Verfahren nicht möglich, einen gelösten Acceptor mit polymergebundenen Donoren über den in Schema 22 dargestellten Weg direkt in einer Sulfonamidglycosylierung umzusetzen. Zwar wird das Halogensulfonamid-Addukt am festen Träger gebildet, doch versagt die Glycosylierung. Wir waren daher nicht in der Lage, aus der polymergebundenen Verbindung **324** die vollständige Lewis-*b*-Determinante herzustellen, sondern mußten dazu auf die Reaktionen in Lösung zurückgreifen (siehe **325**). Vor kurzem haben wir ein zweistufiges Verfahren entwickelt, mit dem die Sulfonamidglycosylierung am festen Träger durchgeführt werden kann (siehe Schema 81).

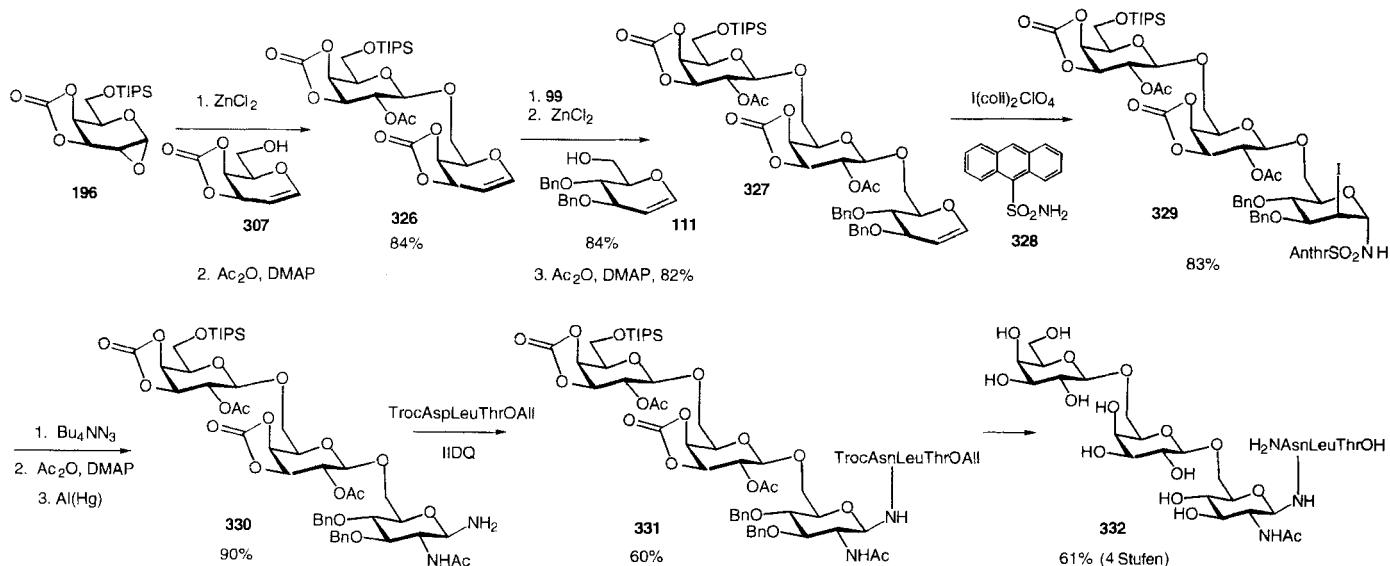
Ein weiteres Ziel war die Anwendung der Glycalstrategie zur Synthese von Glycopeptiden. Als erstes wandten wir uns der Herstellung von Asparagin-gebundenen Glycopeptiden zu. Viele^[135], unter anderem Paulsen, Kunz^[135e], Meldal und Lansbury^[135c], haben aufsehenerregende Fortschritte auf dem Gebiet der Glycopeptidsynthese erzielt. Die von uns angestrebte Strategie würde sich von den bekannten Syntheseverfahren allerdings radikal unterscheiden und hoch konvergent sein.

Unser Konzept beinhaltete, ein terminales Glycal in einem synthetischen Oligosaccharid zu iodosulfonamidieren. Wie bereits mit einfacheren Modellverbindungen gezeigt wurde (siehe **90 → 91**, Schema 25), lieferte die Umsetzung eines derartigen Zwischenprodukts mit Azid unter suprafacialer Verschiebung des α -Sulfonamids von C1 nach C2 das β -Azid. Dessen Reduktion und anschließende Acylierung des entstandenen anomerenreinen β -Aminozuckers lieferten das geschützte Glycopeptid **93** (siehe Schema 25). Glücklicherweise ließ sich diese Reaktionsfolge auch an der Festphase durchführen (siehe unten).

Auf dieser Grundlage hofften wir, unsere Synthesestrategie aufzubauen, wobei uns allerdings klar war, daß der schwierigste Schritt in der Synthese von Glycopeptiden die endgültige Abspaltung aller Schutzgruppen sein würde. Da N-Asparagin-verknüpfte Glycopeptide sehr empfindliche Verbindungen sein können, muß die Synthese dementsprechend sorgfältig geplant und geeignete Vorkehrungen getroffen werden.

Roberge und Beebe befaßten sich eingehend mit diesem Problem. Wir wollen dem Leser die Beschreibung der vielen Rückschlüsse ersparen, die bei der Durchführung dieses scheinbar geradlinigen Syntheseplans mit der Vorkehrung für eine vollständige Abspaltung der Schutzgruppen verbunden waren, und zunächst das Verfahren zur Herstellung von Glycopeptiden in Lösung^[136] und anschließend dessen Übertragung auf eine entsprechende Festphasensynthese vorstellen.

Bei der Synthese des Kohlenhydratbereichs des Glycopeptids konzentrierten wir uns auf eine Zielverbindung, die über das geradlinigste, von uns entwickelte Verfahren zugänglich war. So wurde das Galactal-Epoxid **196** mit **307** umgesetzt und das Kupplungsprodukt zum Disaccharid **326** acetyliert (Schema 73). Die Epoxidierung von **326** und die nachfolgende Umsetzung mit dem Acceptor **111** führten nach Acetylierung zum Trisaccharidglycal **327**. Somit waren die Voraussetzungen für eine Funktionalisierung der Glycalbindung für die Bildung des Glycopeptids geschaffen. In der Iodosulfonamid-Reaktion



Schema 73. Synthese des N-verknüpften Glycopeptids 332. All = Allyl, Anthr = Anthracenyl, Troc = Trichlorethoxycarbonyl, IIDQ = 2-Isobutoxy-1-isobutoxycarbonyl-1,2-dihydrochinolin.

setzten wir 9-Anthracensulfonamid **328** ein, da die entsprechende Schutzgruppe unter einer Vielzahl milder Reduktionsbedingungen leicht abgespalten werden kann. Die Umsetzung von **327** mit **328** und Di-sym-collidiniodoniumperchlorat ($\text{I}(\text{sym-coll})_2\text{ClO}_4$) lieferte **329**. Dessen Reaktion mit Tetra-*n*-butylammoniumazid führte erwartungsgemäß zur Verschiebung der Sulfonamidgruppe, und das resultierende Azidotrisaccharid wurde acetyliert. Die Reduktion der Azidgruppe und die reduktive Spaltung des Sulfonamids gelangen mit Aluminiumamalgam und liefern **330**. Die β -Aminogruppe wurde mit der ω -Carboxygruppe des Tripeptids TrocAspLeuThrOAll in Gegenwart von IIDQ zu **331** acyliert. Nach Desilylierung, Entfernen der Allylgruppe, reduktiver Abspaltung der Troc-Gruppe und Hydrogenolyse der Benzylgruppen wurde das cyclische Carbonat mit KCN/Methanol gespalten und das freie, N-verknüpfte Glycopeptid **332** erhalten. Die Synthese dieses Trisaccharid-Tripeptids ist ein wichtiges Teilziel bei unseren Bemühungen um eine allgemein anwendbare Synthese von Glycopeptiden.

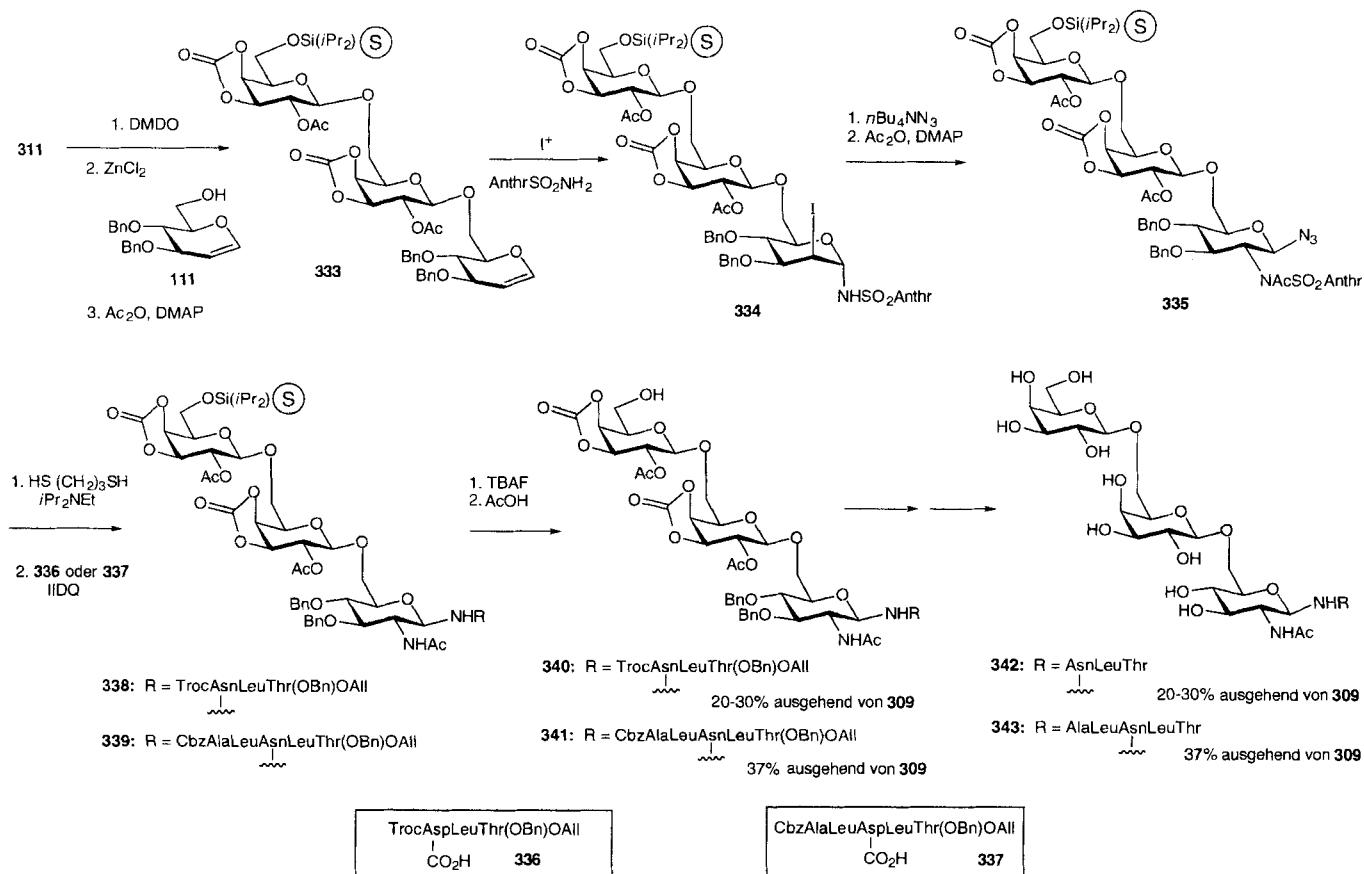
Diese in Lösung durchgeführte Synthese wurde zu einer Festphasenvariante entwickelt (Schema 74)^[137]. Das polymergebundene Disaccharid **311** wurde durch Epoxidierung, Reaktion mit **111** und Acetylierung zum Trisaccharid **333** erweitert. Dessen Umsetzung mit Anthracensulfonamid und $\text{I}(\text{sym-coll})_2\text{ClO}_4$ lieferte, wie die nachfolgenden Stufen ergaben, in glatter Reaktion **334**. Durch Umsetzung mit Tetra-*n*-butylammoniumazid und anschließende Acetylierung wurde das anomerenreine Azid **335** erhalten. Dieser Erfolg steht im Widerspruch zu unseren früheren, fehlgeschlagenen Versuchen zur Sulfonamidglycosylierung von Kohlenhydratacceptoren am festen Träger (siehe Schema 71).

Der wesentliche Vorteil der Anthracensulfonamid-Bindung ist deren Spaltbarkeit unter milden Reaktionsbedingungen. So konnte die Anthracensulfonylgruppe mit Thiophenol oder 1,3-Propandithiol und der Hünig-Base abgespalten werden. Diese Reaktionsbedingungen sind für die Durchführung als Festphasensynthese geeignet. Außerdem ist das Anthracensulfonamid

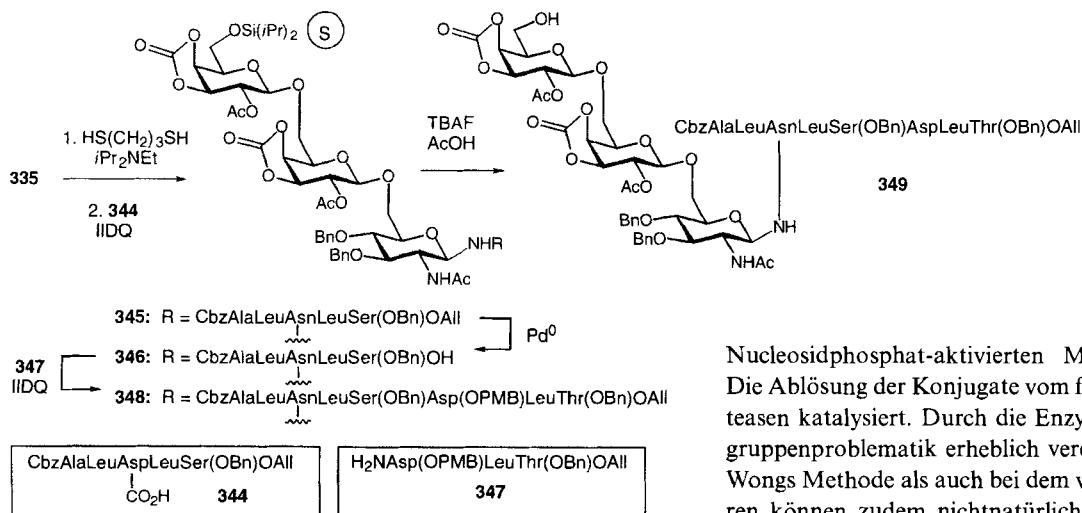
in THF, das ein gut quellendes Lösungsmittel für feste Träger ist, besser löslich als das Benzolsulfonamid, so daß mit Anthracen-Reagentien eine effizientere und vollständigere Iodsulfonamidierung möglich ist. Durch die Umsetzung von **335** mit 1,3-Propandithiol und *iPr*₂NEt wurde sowohl das Azid reduziert als auch das Sulfonamid gespalten. Das resultierende Amin wurde in Gegenwart von IIDQ mit dem Tripeptid **336** oder dem Pentapeptid **337** gekuppelt, wodurch die geschützten Glycopeptide **338** bzw. **339** erhalten wurden. Die Abspaltung vom festen Träger mit HF · Pyridin führte zu den Glycopeptiden **340** und **341** in Gesamtausbeuten von 30 bzw. 37 %. Für **341** bedeutet dies eine durchschnittliche Ausbeute von 90 % für jede der vom polymergebundenen Glycal ausgehenden zehn Stufen. Die säulenchromatographische Trennung an einer kurzen Umkehrphasen-Kieselgelsäule (C18) war ausreichend, um **340** und **341** in reiner Form zu erhalten. Diese problemlose Reinigung des Endprodukts ergibt sich aus der oben beschriebenen Eigenschaft der „Selbstkontrolle“ bei der Kupplung von Glycals am festen Träger (siehe Schema 70) und illustriert die Effizienz der Umsetzung des terminalen Glycals zum Glucosamin.

Sowohl von **340** als auch von **341** wurden die verbleibenden Schutzgruppen unter Standardbedingungen abgespalten und so die freien Glycopeptide **342** und **343** in 61 bzw. 48 % Gesamtausbeute erhalten. NMR-Spektroskopisch wurde nachgewiesen, daß alle Glycosidbindungen an den anomeren Zentren β -konfiguriert sind. Die Strukturen wurden massenspektrometrisch abgesichert.

Das Vorhandensein orthogonaler Schutzgruppen an den C- und N-Enden des Peptids bietet die Möglichkeit, die Peptidkette am festen Träger zu verlängern. Alternativ kann das bei der Abspaltung von der Festphase freigesetzte Peptidende für die Anbindung an eine „Carrier“-Verbindung dienen, wodurch andere Glykokonjugate zugänglich werden. Schema 75 zeigt, wie der Peptidbereich des noch an die Festphase gebundenen Glycopeptids erweitert werden konnte. Das festphasenbundene Trisaccharid-Pentapeptid **345** wurde – wie oben beschrieben –



Schema 74. Synthese der N-verknüpften Glycopeptide 342 und 343 am festen Träger. Cbz = Benzylloxycarbonyl.



Schema 75. Synthese des N-verknüpften Glycopeptids 349 am festen Träger.

durch Kupplung von 335 mit dem Pentapeptid 344 erhalten. Das C-terminale Ende von 345 wurde unter Bildung der trägergebundenen Säure 346 entschützt, die dann an das Tripeptid 347, das ein freies N-terminales Ende aufweist, zum Glycopeptid 348 gekuppelt wurde. Nach Abspaltung vom festen Träger wurde das Trisaccharid-Octapeptid 349 in einer Gesamtausbeute von 18 % bezogen auf das polymergebundene Galactalcarbonat erhalten.

Für die weitere Entwicklung der Glycopeptid-Synthese sollte man besonders der Methode von Wong^[138] Beachtung schenken. Bei diesem Verfahren wird festphasengebundenes, glycosyliertes Peptid enzymatisch (Glycosyl-Transferase-) katalysiert mit ungeschützten, Nucleosidphosphat-aktivierten Monosacchariden verknüpft. Die Ablösung der Konjugate vom festen Träger wird durch Proteasen katalysiert. Durch die Enzymkatalyse kann die Schutzgruppenproblematik erheblich vereinfacht werden. Sowohl bei Wongs Methode als auch bei dem von uns vorgestellten Verfahren können zudem nichtnatürliche Aminosäuren und andere Säuren verwendet werden. Die hier gezeigte Glycalstrategie ist allerdings vollkommen allgemein gehalten, d.h. es ist keine Transferase oder Nucleosid-aktivierte Hexose erforderlich. Darüber hinaus können mit unserer Methode auch nichtnatürliche Zucker eingebaut werden. Solche künstlichen Bausteine können über die in Schema 2 gezeigten Lewis-Säure-katalysierte Dien-Aldehyd-Cyclokondensation erhalten werden. Unabhängig davon, ob die Verfahren ausschließlich chemisch oder chemoenzymatisch ausgelegt sind, ist das gemeinsame Ziel all dieser Synthesebemühungen, Glycopeptide gezielt vollkommen synthetisch herzustellen.

11. Derzeit bearbeitete Projekte

Bis hierher haben wir ausschließlich über bereits abgeschlossene und veröffentlichte Projekte berichtet, doch ist es angebracht, über den aktuellen Stand der Forschungsarbeiten in unserem Labor zur Lösung chemischer und biologischer Probleme mit der Glycalstrategie zu informieren.

11.1. Synthese der Blutgruppen-Determinante A (Typ 2)

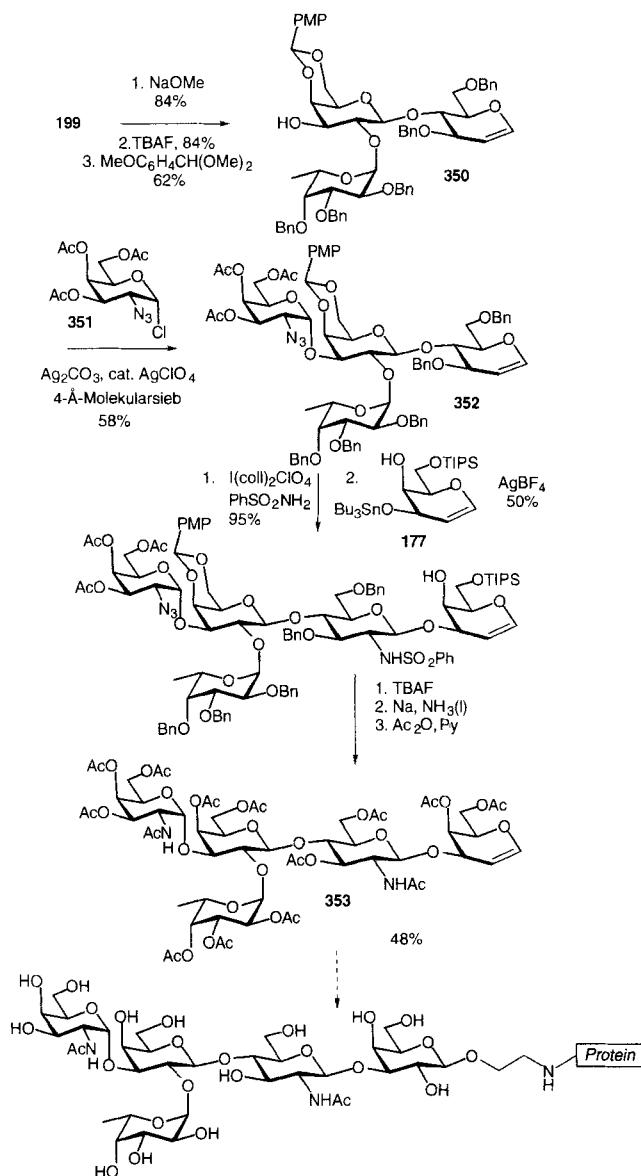
In Fortführung unserer Arbeiten zur Totalsynthese der menschlichen Blutgruppen-Determinante mit der Glycalstrategie haben wir uns mit einer wichtigen, neueren Zielverbindung, der Blutgruppen-Determinante A (Typ 2) beschäftigt^[7]. Zwar haben wir dieses Ziel im Sinne der Herstellung einer von allen Schutzgruppen befreiten, geeignet angebundenen Teilstruktur des Faktors A noch nicht erreicht, doch stimmen uns die bislang erzielten erheblichen Fortschritte^[139] zuversichtlich, daß dieses Projekt in Kürze erfolgreich abgeschlossen werden wird. Die Synthese begann mit der in Abschnitt 7 beschriebenen Verbindung **199** (Schema 76), die so in das Glycal **350** überführt wurde, daß die C3'-Hydroxygruppe des Galactose-Rings freigesetzt wurde, um als Glycosylacceptor zu fungieren. Glücklicherweise konnte die Kupplung – gemäß den Arbeiten von Paulsen^[140] – mit dem anomeren reinen C2-Azido-Chlorid **351** durchgeführt werden und führte auf effiziente Weise zu **352**, das über bekannte Wege in das pentacyclische Glycal **353** umgewandelt wurde. Dieses Glycal ist bereit für die Überführung in eine für immunologische Untersuchungen geeignete synthetische menschliche Blutgruppen-Determinante vom Typ A.

11.2. Ein Syntheseweg zum N3-Antigen

Unsere Synthese des N3-Antigens ist mittlerweile fast abgeschlossen. Ebenso wie andere^[141] sind wir sehr zuversichtlich, daß eine passend angebundene Version dieses Antigens dazu verwendet werden kann, kleinste Mengen an N3-Antikörper nachzuweisen, der – so wird vermutet – spezifisch als Immunantwort bei Magen-Darm-Krebs gebildet wird.

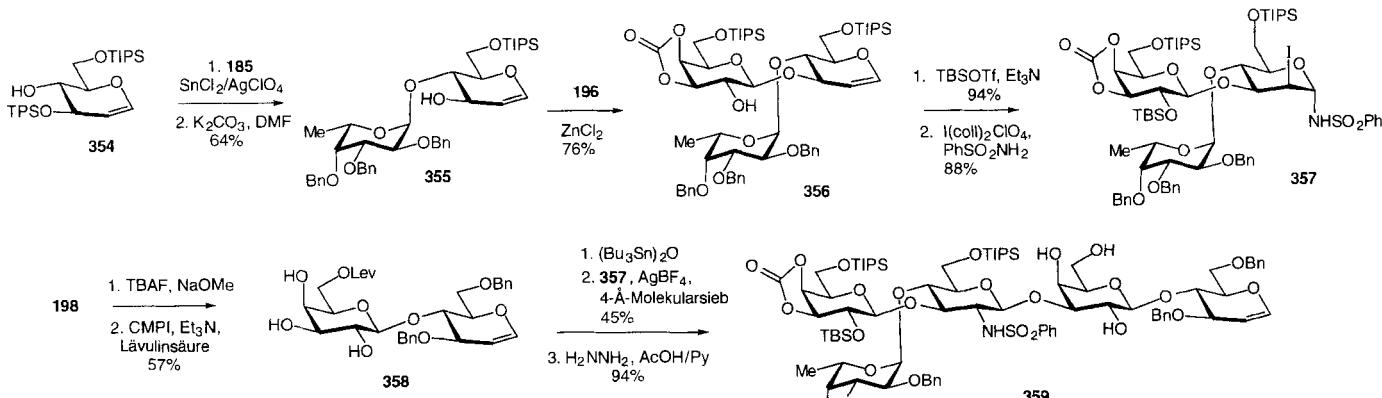
Dieses Synthesenziele über die Glycalkmethode zu erreichen war schwieriger als erwartet. Dabei wurden einige Einschränkungen des Verfahrens deutlich, auf die wir bereits hingewiesen haben. Es stellte sich heraus, daß die Sulfonamidglycosylierung – unabhängig davon, ob sie über den direkten Weg (siehe Schema 22) oder über das zweistufige Verfahren mit einem am anomeren Zentrum Ethylsulfanyl-substituierten Zucker durchgeführt wird (siehe Schema 54) – durch eine Donor/Acceptor-Kombination mit starker sterischer Hinderung erschwert wird. Obwohl wir ein Gespür dafür entwickelt haben, wann derartige Kupplungen mißlingen könnten, können wir noch nicht eindeutig vorhersagen, welches Maß an sterischer Belastung bei spezifischen Donor/Acceptor-Kombinationen toleriert wird. Selbstverständlich ist eine solche Abschätzung bei komplexen Systemen unerlässlich, wenn das schon jetzt leistungsfähige Glycalverfahren zur vollen Reife weiterentwickelt werden soll.

Unser Vorgehen bei der Synthese des N3-Antigens ist in den Schemata 77 und 78 erläutert^[142]. Aus dem Glycal **355** wurde

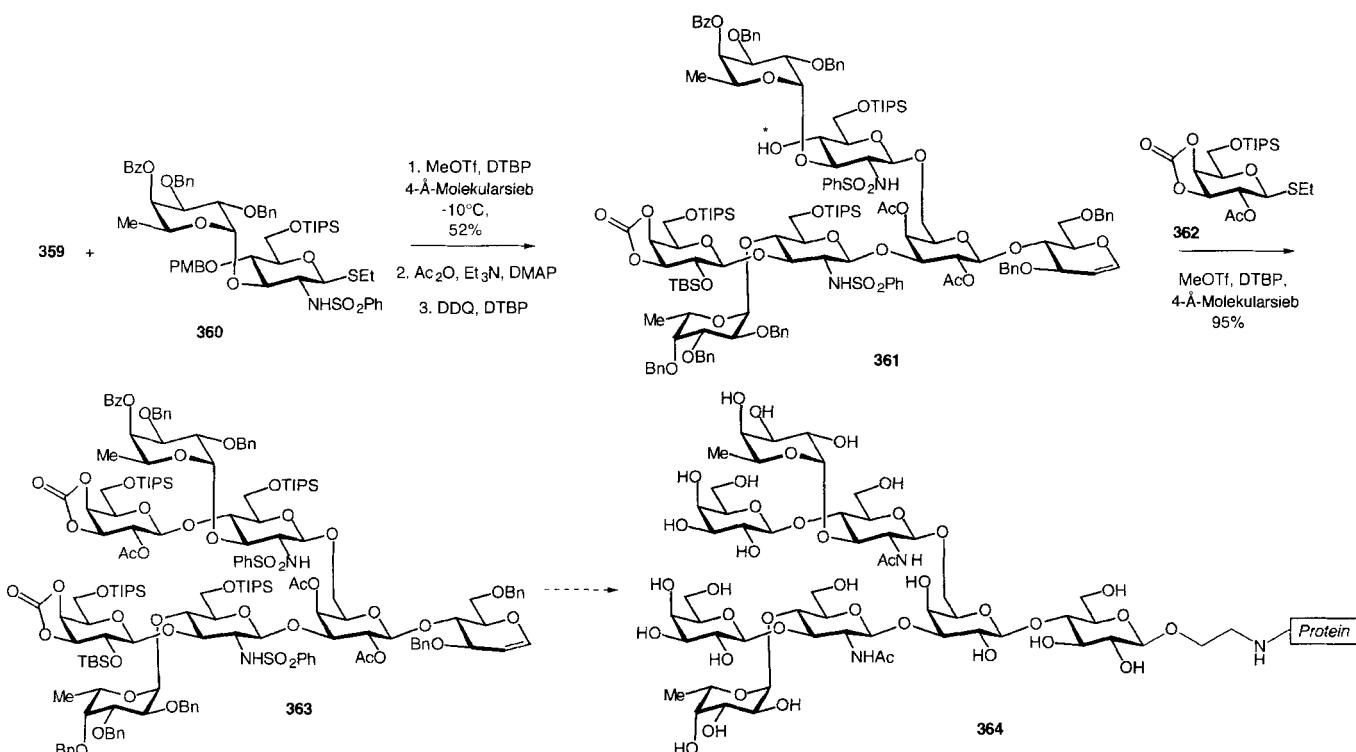


Schema 76. Synthese eines Glycals der Blutgruppen-Determinante A (Typ 2).

der Schlüsselbaustein **356** aufgebaut, über den der komplexe Azaglycosylierungsdonor **357** – synthetisiert wurde. Das Lävulinoyl-geschützte Acceptor-Triol **358** wurde aus Glucal und Galactal hergestellt. Glücklicherweise ist die 3',4',5'-Triol-Anordnung sterisch nicht zu anspruchsvoll, so daß die Kupplung mit **357** unter Verschiebung der Sulfonamidgruppe möglich war. Die Freisetzung der primären Hydroxyfunktion durch Hydrazin-induzierte Abspaltung der Lävulinoyl-Schutzgruppe lieferte **359**. Ausgehend von D-Glucal wurde analog der Donor **360** aufgebaut, der eine strategisch wichtige *p*-Methoxybenzyl-Schutzgruppe an der C4-Hydroxygruppe des GlcNAc-Rings trägt (Schema 78). Die Voraussetzungen waren nun geschaffen, um die sterisch relativ wenig gehinderte primäre Hydroxyfunktion in **359** als Acceptorstelle zu nutzen, die von einer freien Hydroxygruppe an C4' flankiert wird. Nach der Kupplung wurde diese axiale C4'-Hydroxygruppe am Galactosering acetyliert. Danach setzten wir durch Abspaltung der PMB-Gruppe selektiv eine Acceptorstelle frei (siehe Sternchen in der Darstellung



Schema 77. Synthese des N3-Antigens (Teil 1). CMPI = 2-Chlor-1-methylpyridiniumiodid, Leu = Lävulinoyl.



Schema 78. Synthese des N3-Antigens (Teil 2).

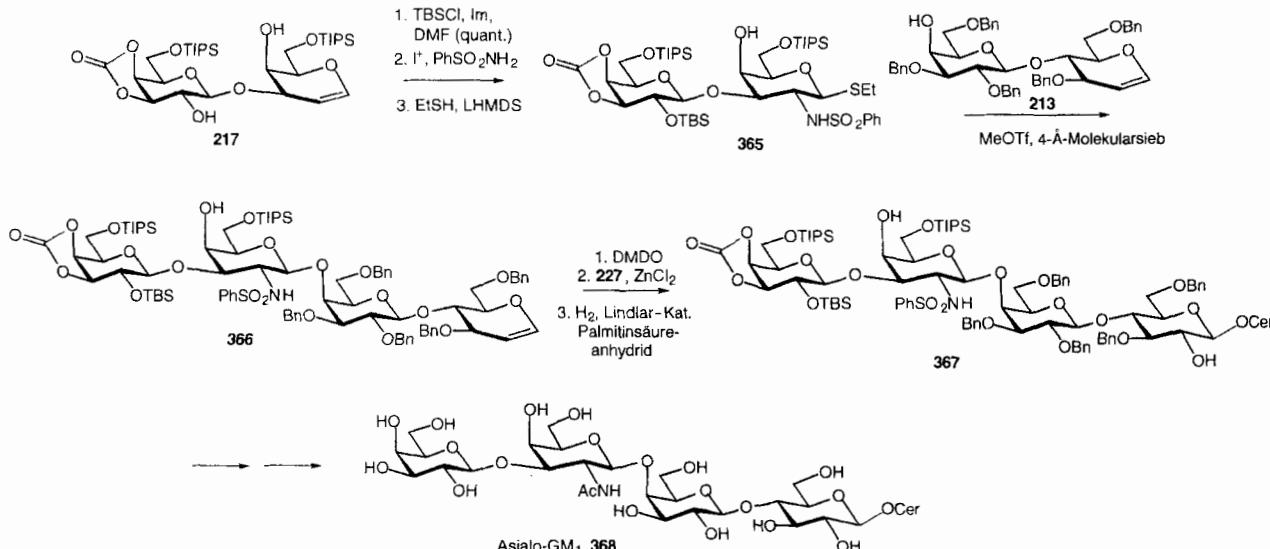
von 361). Angesichts des sterischen Anspruchs der Umgebung dieser Acceptorstelle haben wir die Anforderungen an die Kupplung durch Verwendung eines reaktiveren Thioethyl-donors verringert. Erfreulicherweise gelang aber die Kupplung des aus D-Galactal aufgebauten Donors 362 mit 361 zur N3-Glycal-Vorstufe 363 in 95 % Ausbeute. Wir beschäftigen uns zur Zeit damit, die Totalsynthese des N3-Antigens abzuschließen und N3-Konjugate herzustellen, die möglicherweise als Immunostimulanten oder zu diagnostischen Zwecken verwendet werden könnten.

Die gelungene Synthese des geschützten N3-Glycals 363 hebt einen wichtigen Aspekt komplexer Oligosaccharidsynthesen hervor: Obwohl die Grundbausteine hierbei im weitesten Sinne meistens schon im voraus festliegen, ist viel Geschick und Einfallsreichtum erforderlich, um herauszufinden, wie diese Bausteine verknüpft werden können. Eine besondere Herausforderung sind die Synthesen von stark verzweigten Verbindungen.

Man beachte, daß in 361 nur eine von 19 Hydroxygruppen^[14,3] als Acceptorstelle freigesetzt worden ist. Diese Stelle befindet sich zwar in einem schwer zugänglichen Bereich des Moleküls, doch gelingt die Kupplung ohne Schwierigkeiten, wenn sie mit einem sehr reaktiven Donor (362) durchgeführt wird. Beherrscht man insofern die „Grammatik“ der Synthese von komplexen Oligosacchariden, ist man in der Lage, eine neue, umfangreiche „Literatur“ zu verfassen.

11.3. Synthese von Asialo-GM₁

Unsere Totalsynthese von Asialo-GM₁ konnten wir kürzlich erfolgreich abschließen^[14,4]. Hintergrund für die Bearbeitung dieses Projekts war die Entdeckung von Al-Awqati und Mitarbeitern, daß membrangebundenes Asialo-GM₁ die primäre In-

Schema 79. Synthese von Asialo-GM₁. Im = Imidazol.

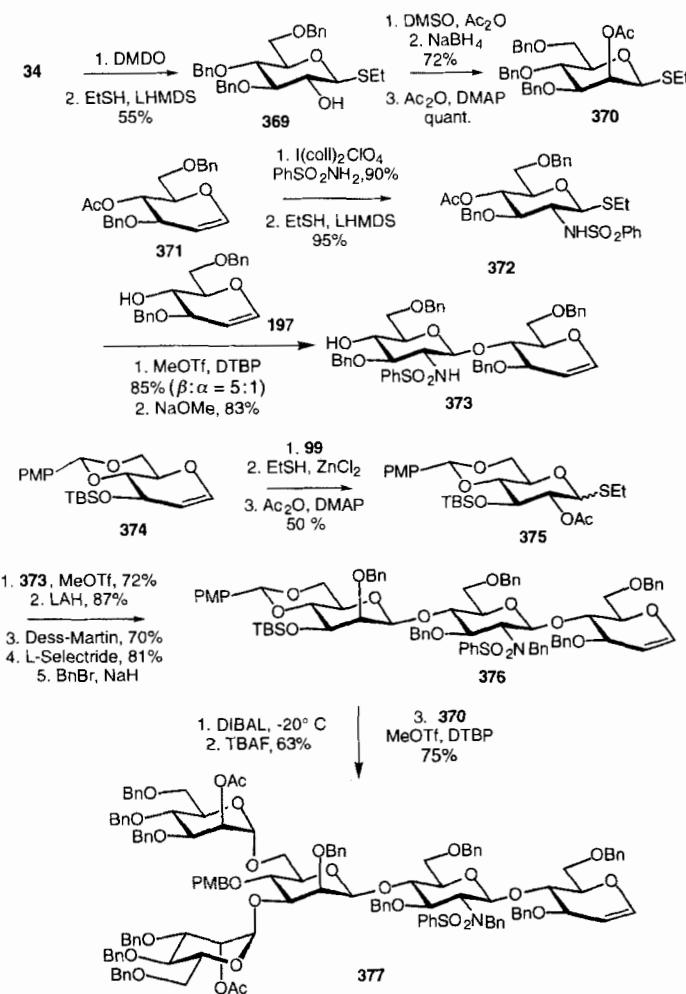
fektionsstelle für Krankheitserreger bei zystischer Fibrose (Bindegewebsvermehrung) ist^[145]. Das in Asialo-GM₁ enthaltene GalNAc-Gal-Strukturelement war in der Tat schon als allgemeiner Kohlenhydrat-Bioligand für die Anbindung von Pathogenen bei einer Vielzahl anderer Infektionen erkannt worden^[146]. Unsere Absicht ist es, lösliche, zellmembrandurchdringende Formen dieser Teilstruktur zu synthetisieren, um ihre Wirksamkeit als Infektionshemmer zu untersuchen.

Bei dieser Synthese wurde die Leistungsfähigkeit der Azaglycosylierungsmethode deutlich^[147]. Das bekannte Glycal 217 wurde zunächst zum Azaglycosyldonor 365 umgesetzt, der eine freie axiale Hydroxygruppe im Donorring aufweist (Schema 79).

Wie bereits bei der Synthese des menschlichen Brusttumormarkers erwähnt wurde (siehe Schema 54), wird durch diese Anordnung die Bildung des β -Glycosids bei der Sulfonamidglycosylierung stark begünstigt. So wurde 365 an den entsprechend differenzierten Glycosylacceptor 213 unter Bildung von 366 gekuppelt. Diese Reaktion war eine große Herausforderung für unsere Methode, da die Verknüpfung an der sterisch stark gehinderten axialen Position des Lactal-Derivats stattfinden mußte. Die weiteren Reaktionen zu Asialo-GM₁ 368 wurden nach den in früheren Synthesen gut ausgearbeiteten Verfahren durchgeführt. Die synthetische Verbindung 368 bindet ebenso wie andere Konjugate mit diesem Glycosidbereich an Pathogene, die zystische Fibrose auslösen^[148].

11.4. Synthese des Polysaccharidbereichs eines Glycopeptids

Bei unserem langfristig angelegten Vorhaben, ein Naturstoffen ähnnelndes (stark Mannose-haltiges), von allen Schutzgruppen befreites, Asparagin-verbrücktes Glycopeptid mit biologischer Wirkung herzustellen, sind wir ein gutes Stück vorangekommen (Schema 80)^[149]. So wurden der Mannosyldonor 370 aus dem Dibenzylglucalepoxid 34 über 369 (siehe Schema 30) und das Glycal 373 aus dem aus 371 hergestellten Azaglycosyldonor 372 und 197 erhalten.



Schema 80. Synthese des Polysaccharidbereichs eines Glycopeptids. LAH = Lithiumaluminimumhydrid, DIBAL = Diisobutylaluminumhydrid.

Ein Schlüsselement unserer Strategie war die Verwendung des Epoxids des an C4 und C6 *p*-Methoxybenzyliden-geschützten *D*-Glucals 374. Die Kupplung von 373 und des aus diesem

Epoxid hergestellten Ethylsulfanylglycosid **375** verlief glatt und führte zu **376**. Durch reduktive Abspaltung der Benzyliden-schutzgruppe und Desilylierung wurden die α -Mannosyl-Acceptorstellen für die Kupplung mit **370** zum stark Mannose-haltigen Glycal **377** freigesetzt. Der Aufbau des vollständigen Mannosebereichs mit einer ausbaufähigen Glycalfunktion ist ein bedeutender Schritt auf dem Weg zu unserem Ziel. Nach einer Verfeinerung dieses Verfahrens sind die Voraussetzungen für die Einführung des über Asparagin gebundenen Peptids mit der in Abschnitt 10 beschriebenen Methode geschaffen (siehe Schema 75).

11.5. Festphasensynthese eines 2-Sulfonamid-2-deoxyglycosids

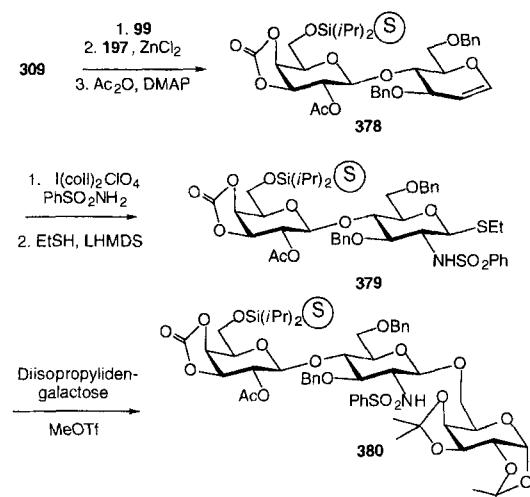
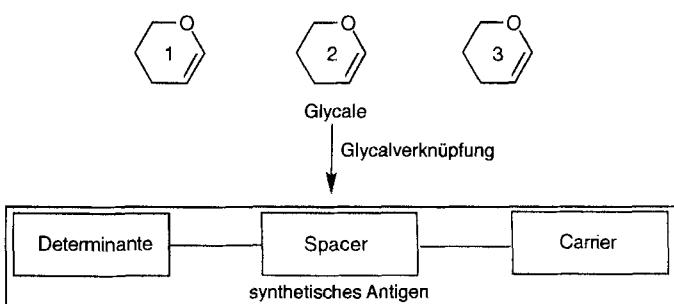
Unser langfristiges Ziel besteht darin, ein Glycopeptid einschließlich der stark Mannose-haltigen Bereiche vollständig am festen Träger zu synthetisieren, was uns schließlich auch in die Lage versetzen sollte, die Blutgruppen- und Tumor-Antigen-Epitope am nichtreduzierten Ende des Glycopeptids auf diese Weise aufzubauen zu können.

Wir haben bereits in Abschnitt 10 erwähnt, daß die Azaglycosylierung am festen Träger – abgesehen von der Möglichkeit, die Azidgruppe am anomeren Zentrum einzuführen – nicht erfolgreich war (siehe Anmerkungen zu Schema 72 und 73). Ein bedeutender Fortschritt ist mittlerweile dadurch erzielt worden, daß polymergebundenes **378**, das auf übliche Weise aus der beschriebenen Verbindung **309** hergestellt wurde, als Azaglycosyldonor-Vorstufe geeignet ist (Schema 81)^[150]. So wurde **378** am

11.6. Vorklinische Untersuchungen

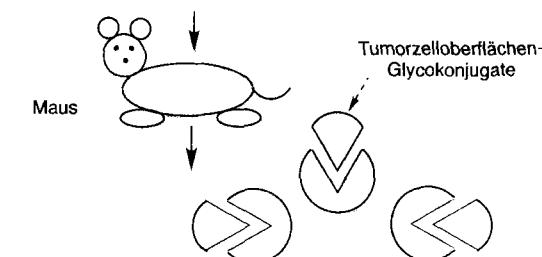
Derzeit konzentrieren wir uns auf Proteinkonjugate von menschlichen Brusttumor- (MBr1) und Le^y-Antigenen. In allen bisher untersuchten Fällen binden die synthetischen Konjugate an entsprechende Antikörper. Diese Untersuchungen sind ein deutlicher Hinweis darauf, daß die Kohlenhydratbereiche die entscheidenden immunologischen Erkennungsstellen sind. Durch Kartierungsversuche werden zur Zeit die wesentlichen Bindungsbeiträge bei der Erkennung des Kohlenhydratbereichs untersucht.

Die größte Ermutigung ist die Tatsache, daß unsere synthetischen Verbindungen beider Strukturklassen in Mausmodellen die Bildung von Antikörpern auslösen, die *in vitro* an Tumorzellen gebunden werden (Schema 82). Diese vielversprechenden Befunde werfen die Frage auf, ob solche Verbindungen auch beim Menschen einen klinisch nutzbaren immunologischen Schutz bieten oder sogar die Rückentwicklung von Tumoren begünstigen. Die Verfahren, die benötigt werden, um Antworten auf solche Fragen zu finden, werden derzeit erarbeitet.



Schema 81. Lactosamin-Synthese am festen Träger.

festen Träger in den polymergebundenen Donor **379** überführt, der mit gelöster Diisopropyliden-Galactose zu **380** reagierte. Auch wenn die Allgemeingültigkeit der Azaglycosylierung von polymergebundenen Donoren noch geklärt werden muß, sind die Aussichten auf eine durchgehend an fester Phase durchgeführte Synthese von Glycopeptid-verknüpften Tumor-Antigenen recht vielversprechend.



Schema 82. Impfung von Mäusen mit synthetischen Antigenen. Die Maus-Antikörper werden an Tumor-transformierte Zellen gebunden.

12. Schlußbemerkungen und Ausblick

In diesem Beitrag haben wir anhand von Beispielen die Leistungsfähigkeit unserer Glycalstrategie demonstriert. Doch ist unsere Arbeitsgruppe nur eine unter mehreren, die sich mit der Synthese von komplexen Oligosacchariden beschäftigen. Unsere Methoden sind sicherlich nicht unentbehrlich, und alle in diesem Übersichtsartikel genannten Zielverbindungen können vermutlich auch über andere Kupplungsmethoden und -strategien hergestellt werden. Eine größere Zahl der hier gezeigten Synthesen sind in der Tat mit konventionelleren Methoden der Kohlenhydratchemie erfolgreich durchgeführt worden. Wir sind jedoch der Ansicht, daß die Glycalmethode große Vorteile bietet, da durch sie die Synthesewege deutlich verkürzt werden. So entfallen viele der lästigen Schutzgruppenmanipulationen,

die die Oligosaccharidsynthese lange beherrscht haben. Die Glycalkmethode hat darüber hinaus zur Entwicklung von neuen Kupplungsverfahren geführt und wird so ständig verbessert. Jene, die der Kohlenhydrat-Chemie unvoreingenommen gegenüberstehen, sind also gut beraten, Wege in Betracht zu ziehen, bei denen die Glycale für ihre Zwecke nutzen können.

Wir sind davon überzeugt, daß die Oligosaccharid-Festphasensynthese – wie sie von uns und anderen^[1,38] entwickelt worden ist – zu beachtlichen Fortschritten führen wird. Bei der Glycopeptidsynthese sind weitere Erfolge durch Anwendung der hier beschriebenen sowie anderer chemischer und enzymatischer Methoden zu erwarten. Eines unserer nächsten Ziele ist es, die Festphasenmethode auch auf die Synthese von stark Mannose-haltigen Glycopeptiden anzuwenden.

Der Erfolg der chemischen Methoden wird letztlich davon abhängen, ob sie auch von Nichtspezialisten zur Synthese von komplexen Oligosacchariden und Glykokonjugaten angewendet werden. Trotz der hier beschriebenen Erfolge sind wir davon aber noch weit entfernt, und die Weiterentwicklung der Verfahren ist somit dringend erforderlich. Die großen Herausforderungen und weitreichenden Perspektiven sind Anlaß genug, zahlreiche Lösungsansätze zu erarbeiten und zu prüfen.

Die Bewertungskriterien können sich allerdings ändern, auch und gerade dann, wenn die Lösung chemischer Problemstellungen näher rückt. Bis heute haben Chemiker viel Zeit und Energie darauf verwendet, eine Vielzahl von Glycosylierungsmethoden und -strategien zu entwickeln, so daß heute das Auffinden von lohnenswerten Zielverbindungen die eigentliche Herausforderung ist. In chemischer Hinsicht muß noch viel getan werden, doch können bereits heute neuartige Verbindungen hergestellt werden, mit denen wichtige Fragestellungen aus der Strukturbioologie, der Immunologie und der Medizin untersucht werden können. Was unsere Methode betrifft, konnten wir erst im letzten Jahr Tumor-Antigene auf der Grundlage von Carrierprotein-gebundenen Kohlenhydraten in ausreichender Menge für eine vorklinische und hoffentlich auch eine klinische Prüfung herstellen. Niemand kann heute mit Gewißheit voraussagen, welche Bedeutung derartigen Kohlenhydrat-Protein-Konjugaten für die Diagnose oder die Behandlung von Krebs beizumessen ist. Sicher ist nur, daß diese Frage in allen Einzelheiten untersucht werden wird. Die größten Herausforderungen liegen deshalb zur Zeit im Entwurf von Zielsetzungen und in der Organisation der multidisziplinären Anstrengungen, um die Ergebnisse systematisch auszuwerten.

Wir wollen diesen Aufsatz mit einigen Anmerkungen über die Arbeit an der Grenze zwischen Chemie und Biologie beenden. Wir haben hier anhand der historischen Entwicklung gezeigt, wie wir, die wir uns zunächst mit faszinierenden Fragestellungen auf dem Gebiet niedermolekularer Naturstoffe beschäftigt haben, zunehmend mit Themen aus den Bereichen Tumorexpression und Tumormunologie konfrontiert worden sind. Was wir und andere Arbeitsgruppen, die ähnliche Gebiete bearbeiteten, hier einbringen, ist ein Feingefühl für Einzelheiten der Strukturen. Bei der Zusammenarbeit mit Biologen, neuartige Wirkstoffe zu identifizieren und zu untersuchen, legen Chemiker besonderen Wert darauf, daß die in Frage kommenden Verbindungen nachweisbar in reiner Form vorliegen und ihre Strukturen, einschließlich der Konfiguration an jedem stereogenen Zentrum, eindeutig aufgeklärt sind. Aber die Chemie

steuert mehr bei als die Beschränkungen, die sich aus dem Be- harren auf Sorgfalt und Genauigkeit ergeben. Durch systematisches Aufbauen auf den Grundlagen unserer Wissenschaft entfaltet sich der Zauber der Synthese mit ihrer einzigartigen Fähigkeit, Verbindungen mit nahezu jeder erdenklichen Gestalt und Anordnung von funktionellen Gruppen herzustellen. Die Kreativität bei der Synthese ist ein unentbehrliches Talent, das der Chemiker zu vielen aufregenden Arbeiten und Entwicklungen auch in Zukunft beitragen wird.

Die in diesem Übersichtsartikel beschriebenen Ergebnisse konnten nur durch das Engagement, die Begeisterung und die Kreativität vieler Mitarbeiter erzielt werden, deren Namen in den hier zitierten Veröffentlichungen unserer Arbeitsgruppe aufgeführt sind. Wir danken besonders den im Text namentlich erwähnten Mitarbeitern, die an entscheidenden Punkten des Projekts beteiligt waren. Daraüber hinaus gilt unser Dank allen Mitarbeitern für anregende und hilfreiche Diskussionen. Unsere Arbeiten wurden von den National Institutes of Health gefördert (AI 16943, CA 28824, HL 25848). M. T. B. wurde von den NIH durch ein Postdoctoral-Research-Fellowship unterstützt. Wir bedanken uns außerdem für die im Verlauf dieser zwanzig Jahre erhaltene großzügige Unterstützung von Unternehmen der pharmazeutischen Industrie, besonders von der Merck Corporation und in neuerer Zeit von der Pfizer Foundation.

Eingegangen am 14. August 1995 [A 130]
Übersetzt von Dr. Sabine Töteberg-Kaulen, Boffzen

- [1] Siehe unter anderem: „The Carbohydrate-Containing Antibiotics“: A. K. Mallams in *Carbohydrate Chemistry* (Hrsg.: J. F. Kennedy), Oxford Science Publications, Oxford, Großbritannien, 1988, Kap. 3, S. 73–170; „Aminocyclitol Antibiotics“: K. L. Rinehart, T. Suami, *ACS Symp. Ser.* 1980, 125; „Nucleotide Analogues as Antiviral Agents“: J. C. Martin, *ibid.* 1988, 401.
- [2] Siehe unter anderem: *The Chemistry of Antitumor Antibiotics* (Hrsg.: W. A. Remers), Wiley, New York, 1978; *Anthracycline and Anthracenedione Based Anticancer Agents* (Hrsg.: J. W. Lown), Elsevier, Amsterdam, 1988; *Lectins and Glycoconjugates in Oncology* (Hrsg.: H. J. Gabius, G. A. Nagel), Springer, New York, 1988.
- [3] T. W. Smith, *N. Engl. J. Med.* 1988, 318, 358.
- [4] a) H. F. Oettgen, *Gangliosides and Cancer*, VCH, Weinheim, 1989; b) K. Toshima, K. Tatsuta, *Chem. Rev.* 1993, 93, 1503; c) R. R. Schmidt in *Comprehensive Organic Synthesis*, Vol. 6 (Hrsg.: B. M. Trost, I. Fleming, E. Winterfeldt), Pergamon, Oxford, 1991, S. 33.
- [5] A. Varki, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1994, 91, 7390.
- [6] D. E. Levy, P. C. Tang, J. H. Musser in *Annual Reports in Medicinal Chemistry* (Hrsg.: W. K. Hagmann), Academic Press, San Diego, 1994, S. 215.
- [7] J. B. Lowe in *The Molecular Basis of Blood Diseases* (Hrsg.: G. Stamatoyanopoulos, A. W. Nienhuis, P. W. Majerus, H. Varmus), Saunders, Philadelphia, 1987, Kap. 8, S. 293.
- [8] S. Hannessian, *Total Synthesis of Natural Products: The Chiron Approach*, Pergamon, 1983.
- [9] S. J. Danishefsky, *Acc. Chem. Res.* 1981, 14, 400.
- [10] Für einen allgemeinen Überblick über funktionalisierte Diene in Diels-Alder-Reaktionen siehe: M. Petrzilka, J. I. Grayson, *Synthesis* 1981, 753.
- [11] S. J. Danishefsky, P. F. Schuda, T. Kitahara, S. J. Etheredge, *J. Am. Chem. Soc.* 1977, 99, 6066.
- [12] S. J. Danishefsky, M. Hirama, N. Fritsch, J. Clardy, *J. Am. Chem. Soc.* 1979, 101, 7013. Für einen vollständigen Überblick über diese frühen Experimente siehe: S. J. Danishefsky, *Acc. Chem. Res.* 1981, 14, 1981.
- [13] F. Fringuelli, A. Tatichchi, *Dienes in the Diels-Alder Reaction*, Wiley, New York, 1990.
- [14] S. J. Danishefsky, *Chemtracts Org. Chem.* 1989, 2, 273.
- [15] S. David, J. Eustache, A. Lubineau, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* 1979, 1795; J. Jurczak, A. Golebiowski, T. Bauer, *Synthesis* 1985, 928; H. C. J. G. van Balen, A. A. Brockius, J. W. Scheeren, R. J. F. Niviad, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* 1979, 98, 36; R. W. Aben, J. W. Scheeren, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* 1979, 3132. In dieser Veröffentlichung wird die Verwendung von $ZnCl_2$ zur Beschleunigung der Cycloaddition von 1 ($R^1, R^2 = H$) mit Aldehyden zu γ -Dihydropyronen erwähnt, aber keine Beispiele angegeben. Sofern diese ungenau beschriebene Entdeckung auch nichtaktivierte Aldehyde eingeschlossen haben sollte, wäre dies die erste Mitteilung über das Konzept der LACDAC-Reaktion.

- [16] S. J. Danishefsky, J. F. Kerwin, S. Kobayashi, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 358; S. J. Danishefsky, J. F. Kerwin, *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 3183.
- [17] S. J. Danishefsky, *Aldrichimica Acta* **1986**, *19*, 59.
- [18] T. Sommer, Yale University, **1981**, unveröffentlichte Ergebnisse aus Untersuchungen zur Synthese von Calchose.
- [19] M. Bednarski, C. Maring, S. J. Danishefsky, *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 3451.
- [20] M. Bednarski, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 6968.
- [21] M. Bednarski, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 7060.
- [22] a) S. J. Danishefsky, D. M. Armistead, F. E. Wincott, H. G. Selnick, R. Hungate, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 2967; b) *ibid.* **1987**, *109*, 8117; c) S. J. Danishefsky, H. G. Selnick, D. M. Armistead, F. E. Wincott, *ibid.* **1987**, *109*, 8119.
- [23] K. Marouka, T. Itoh, T. Shirasaka, H. Yamamoto, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 310.
- [24] S. J. Danishefsky, M. P. DeNinno, *Angew. Chem.* **1987**, *99*, 15; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1987**, *26*, 15.
- [25] S. J. Danishefsky, E. Larson, J. Springer, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 1274.
- [26] S. J. Danishefsky, M. P. DeNinno, S.-H. Chen, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 929.
- [27] S. J. Danishefsky, C. Maring, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 2193.
- [28] S. J. Danishefsky, R. Hungate, G. Shulte, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 7434.
- [29] a) S. J. Danishefsky, M. Barbachyn, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 6647; b) S. J. Danishefsky, S. L. DeNinno, S.-H. Chen, L. Boisvert, M. Barbachyn, *ibid.* **1989**, *111*, 5810.
- [30] S. J. Danishefsky, B. Simoneau, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 2599.
- [31] D. C. Myles, S. J. Danishefsky, *Pure Appl. Chem.* **1989**, *61*, 1235; D. C. Myles, S. J. Danishefsky, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 1636.
- [32] D. B. Berkowitz, S. J. Danishefsky, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 5497.
- [33] D. B. Berkowitz, S. J. Danishefsky, G. K. Schulte, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 4518.
- [34] H. M. Sweers, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 7060; Y.-F. Wang, C.-H. Wong, *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 3127.
- [35] a) M. Sharma, R. K. Brown, *Can. J. Chem.* **1966**, *44*, 2825; b) R. U. Lemieux, E. Fraga, K. A. Watanabe, *ibid.* **1968**, *46*, 61.
- [36] M. D. Wittman, R. L. Halcomb, S. J. Danishefsky, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 1979.
- [37] R. J. Ferrier, N. Prasad, *J. Chem. Soc. C* **1969**, 570; R. J. Ferrier, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1969**, *24*, 199.
- [38] a) P. Bickart, F. W. Carson, J. Jacobus, E. G. Miller, K. Mislow, *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *90*, 4869; b) R. Tang, K. Mislow, *ibid.* **1970**, *92*, 2100.
- [39] a) D. A. Evans, G. C. Andrews, C. L. Sims, *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, *93*, 4956; b) D. A. Evans, C. A. Bryan, C. L. Sims, *ibid.* **1972**, *94*, 2891; c) D. A. Evans, G. C. Andrews, *Acc. Chem. Res.* **1974**, *7*, 147.
- [40] S. J. Danishefsky, J. F. Kerwin, *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 3803.
- [41] S. J. Danishefsky, S. DeNinno, P. Lartey, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 2082.
- [42] S. J. Danishefsky, H. G. Selnick, R. E. Zelle, M. P. DeNinno, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 4368.
- [43] R. R. Schmidt, *Angew. Chem.* **1986**, *98*, 213; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1986**, *25*, 212.
- [44] S. David, A. Lubineau, J.-M. Vatele, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1978**, 535.
- [45] A. Vasella, *Pure Appl. Chem.* **1991**, *63*, 507.
- [46] D. Kahne, D. Yang, J. J. Lim, R. Miller, E. Paguaga, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 8716.
- [47] R. U. Lemieux, R. M. Ratcliffe, *Can. J. Chem.* **1979**, *57*, 1244.
- [48] R. U. Lemieux, S. Levine, *Can. J. Chem.* **1964**, *42*, 1473; R. U. Lemieux, A. R. Morgan, *ibid.* **1965**, *43*, 2190.
- [49] J. Thiem, H. Karl, J. Schwentner, *Synthesis* **1978**, 696; J. Thiem, H. Karl, *Tetrahedron Lett.* **1978**, 4999; J. Thiem, P. J. Ossowski, *Carbohydr. Chem.* **1984**, *3*, 287; J. Thiem, A. Prahs, T. Wendt, *Liebigs Ann. Chem.* **1986**, 1044; J. Thiem, W. Klaffke, *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 2006; J. Thiem, *ACS Symp. Ser.* **1989**, *396*, Kap. 8.
- [50] Für Versuche zum Austausch entsprechender Sulfonate siehe: W. Karpiesiuk, A. Banaszek, A. Zamojski, *Carbohydr. Res.* **1989**, *186*, 156; A. C. Richardson, *ibid.* **1969**, *10*, 395.
- [51] R. U. Lemieux, B. Fraser-Reid, *Can. J. Chem.* **1965**, *43*, 1460.
- [52] Neuere Übersichtsartikel zu verfügbaren Methoden: a) Lit. [4b]; b) J. Banoob, P. Boullanger, D. Lafont, *Chem. Rev.* **1992**, *92*, 1167.
- [53] a) H. Paulsen, *Angew. Chem.* **1982**, *94*, 184; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1982**, *21*, 155; b) D. R. Mootoo, P. Konradsson, U. Dodong, B. Fraser-Reid, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 5583. In dieser Arbeit wurde das Konzept „bewaffneter“ und „unbewaffneter“ *n*-Pentenylglycoside eingeführt. In der Arbeit von Friesen [55], die abgeschlossen war, bevor diese wichtige Veröffentlichung erschien, gibt es kein Analogon zum „unbewaffneten“ Substrat. Glycale mit Acyloxygruppen können sehr gut als Glycosyldonoren verwendet werden, die mit Acceptorien lediglich langsamer reagieren als ihre Triether-Analoga.
- [54] Für weitere Beispiele siehe: R. Roy, F. O. Anderson, M. Letellier, *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 6053; L. A. J. M. Sliedregt, K. Zegelaar-Jaarsvald, G. A. van der Marel, J. H. van Boom, *Synlett* **1993**, 335.
- [55] a) R. W. Friesen, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 6656; b) *Tetrahedron* **1990**, *46*, 103.
- [56] K. Suzuki, G. A. Sulikowski, R. W. Friesen, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 8895.
- [57] Für eine noch kürzere Synthese von Ciclamycin 0 siehe: S. Raghavan, D. Kahne, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 1580.
- [58] A. Kobata, *Eur. J. Biochem.* **1992**, *209*, 483.
- [59] R. U. Lemieux, T. L. Nagabushan, *Can. J. Chem.* **1968**, *46*, 401.
- [60] B. J. Fitzsimmons, Y. Leblanc, N. Chan, J. Rokach, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 5229; Y. Leblanc, B. J. Fitzsimmons, *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 2889.
- [61] D. A. Griffith, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 5863.
- [62] D. A. Griffith, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 5811.
- [63] D. R. Dearford, A. J. Matthews, D. S. McMeekin, C. L. Craney, *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 1255.
- [64] S. J. Danishefsky, K. Koseki, D. A. Griffith, J. Gervay, J. M. Peterson, F. E. McDonald, T. Oriyama, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 8329.
- [65] S. J. Danishefsky, J. Gervay, J. M. Peterson, F. E. McDonald, K. Koseki, T. Oriyama, D. A. Griffith, C.-H. Wong, D. P. Dumas, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 8331.
- [66] S. J. Danishefsky, J. Gervay, J. M. Peterson, F. E. McDonald, K. Koseki, D. A. Griffith, T. Oriyama, S. Marsden, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 1940.
- [67] a) M. L. Phillips, E. Nudelman, F. C. A. Gaeta, M. Perez, A. K. Singhal, S. Hakamori, J. C. Paulson, *Science* **1990**, *250*, 1130; b) G. Walz, A. Aruffo, W. Kolanus, M. Bevilacqua, B. Seed, *Science* **1990**, *250*, 1132; c) J. B. Lowe, L. M. Stoolman, R. P. Nair, R. D. Larsen, T. L. Berhend, R. M. Marks, *Cell* **1990**, *63*, 475; d) M. Tiemyer, S. J. Swieder, M. Ishihara, M. Moreland, H. Schweingruber, P. Hirtzer, B. K. Brandley, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, *88*, 1138; e) M. J. Polley, M. L. Phillips, E. Wayner, E. Nudelman, A. K. Singhal, S. Hakamori, J. C. Paulson, *ibid.* **1991**, *88*, 6224.
- [68] a) M. M. Palcic, A. P. Venot, R. M. Ratcliffe, O. Hindsgaul, *Carbohydr. Res.* **1989**, *190*, 1; b) A. Kameyama, H. Ishida, M. Kiso, A. Hasegawa, *ibid.* **1991**, *209*, C1; c) A. Kameyama, H. Ishida, M. Kiso, A. Hasegawa, *J. Carbohydr. Chem.* **1991**, *10*, 549; d) K. C. Nicolaou, C. W. Hummel, N. J. Bockovich, C.-H. Wong, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1991**, *870*; e) D. P. Dumas, Y. Ichikawa, C.-H. Wong, J. B. Lowe, P. N. Rajan, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1991**, *1*, 425; f) K. C. Nicolaou, C. W. Hummel, Y. Iwabuchi, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 3126; g) G. E. Ball, R. A. O'Neill, J. E. Schultz, J. B. Lowe, B. W. Weston, J. O. Nagy, E. G. Brown, C. J. Hobbs, M. D. Bednarski, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 5449; h) Y. Ichikawa, Y.-C. Lin, D. P. Dumas, G.-J. Shen, E. Garcia-Juncenda, M. A. Williams, R. Bayer, C. Ketcham, L. E. Walker, J. C. Paulson, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 9283.
- [69] F. E. McDonald, S. J. Danishefsky, *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 7001.
- [70] P. Z. Brigg, *Z. Physiol. Chem.* **1922**, *122*, 245.
- [71] F. Sweet, R. K. Brown, *Can. J. Chem.* **1966**, *44*, 1571.
- [72] a) W. J. Hickenbottom, *J. Chem. Soc.* **1928**, 3140; b) E. Hardeger, J. de Pascual, *Helv. Chim. Acta* **1948**, *31*, 221; c) L. L. Klein, W. W. McWhorter, Jr., S. S. Ko, K.-P. Pfaff, Y. Kishi, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 7362; d) V. Bellostia, S. Czernecki, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1989**, 199.
- [73] R. U. Lemieux, R. Huber, *J. Am. Chem. Soc.* **1953**, *75*, 4118.
- [74] D. L. Trumbo, C. Schuerch, *Carbohydr. Res.* **1985**, *135*, 195.
- [75] S. J. Danishefsky, R. L. Halcomb, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 6661.
- [76] R. W. Murray, R. Jeyaraman, *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 2847.
- [77] J. Gervay, S. J. Danishefsky, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 5448.
- [78] M. Gallant, J. T. Link, S. J. Danishefsky, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 343.
- [79] In einigen Fällen wird das α -Glycosid mit überschüssigem Acceptor coeluiert und blieb somit unbemerkt [80].
- [80] C. M. Timmers, G. A. van der Marel, J. H. van Boom, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1993**, *112*, 609; C. A. Timmers, G. A. van der Marel, J. H. van Boom, *Chem. Eur. J.* **1995**, *1*, 159.
- [81] a) Zur Herstellung von 2-Desoxy- β -glycosiden aus Glycalen ist ein direktes Verfahren mit $\text{Ph}_3\text{P}-\text{HBr}$ entwickelt worden: V. Bolitt, C. Mioskowski, S.-G. Lee, J. R. Falck, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 5812; b) D. H. R. Barton, J. C. Jaszberenyi, *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 2619.
- [82] a) K. K.-L. Liu, S. J. Danishefsky, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 1892; b) H. B. Boren, G. Ekborg, K. Eklind, P. J. Garegg, Å. Pilotti, C.-G. Swahn, *Acta Chem. Scand.* **1973**, *27*, 2639.
- [83] K. K.-C. Liu, S. J. Danishefsky, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 1895.
- [84] R. G. Dushin, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 3472.
- [85] R. Dushin, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 655.
- [86] K. Chow, S. J. Danishefsky, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 4211.
- [87] R. W. Murray, M. Singh, B. L. Williams, H. M. Moncrieff, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 2437.
- [88] U. Niedballa, H. Vorbrüggen, *J. Org. Chem.* **1974**, *39*, 3654.
- [89] J. T. Link, M. Gallant, S. Huber, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 3782.
- [90] J. T. Link, S. Raghavan, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 552; J. T. Link, S. Raghavan, M. Gallant, S. J. Danishefsky, T. C. Chou, M. Ballas, *ibid.* **1996**, *118*, 2825.
- [91] K. K.-C. Liu, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 4933.
- [92] J. Gervay, J. M. Peterson, T. Oriyama, S. J. Danishefsky, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 5465.

- [93] T. Murase, A. Kameyama, K. P. R. Kartha, H. Ishida, M. Kiso, A. Hasegawa, *J. Carbohydr. Chem.* **1989**, *8*, 265.
- [94] D. Gordon, S. J. Danishefsky, *Carbohydr. Res.* **1990**, *206*, 361.
- [95] T. Mukaiyama, Y. Murai, S. Shoda, *Chem. Lett.* **1981**, 431.
- [96] D. M. Gordon, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 657.
- [97] T. K. Park, S. J. Danishefsky, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 2671.
- [98] J. T. Randolph, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 8473.
- [99] J. T. Randolph, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 5693.
- [100] V. Behar, S. J. Danishefsky, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 1534; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 1468.
- [101] S. J. Danishefsky, V. Behar, J. T. Randolph, K. O. Lloyd, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 5701.
- [102] a) T. Kaizu, S. B. Levery, E. Nudelman, R. E. Stenkamp, S. Hakomori, *J. Biol. Chem.* **1986**, *261*, 11254; b) S. B. Levery, E. Nudelman, N. H. Anderson, S. Hakomori, *Carbohydr. Res.* **1986**, *151*, 311; c) S. Hakomori, E. Nudelman, S. B. Levery, R. Kannagi, *J. Biol. Chem.* **1984**, *259*, 4672; d) Y. Fukushi, S. Hakomori, E. Nudelman, N. Cochran, *ibid.* **1984**, *259*, 4681; e) Y. Fukushi, E. Nudelman, S. B. Levery, S. Hakomori, H. Rauvala, *ibid.* **1984**, *259*, 10511; f) J. Sakamoto, K. Furukawas, C. Cardon-Dardo, B. W. T. Lin, W. J. Rettig, H. F. Oettgen, L. J. Old, K. O. Lloyd, *Cancer Res.* **1986**, *46*, 1553.
- [103] R. B. Myers, S. Srivastava, W. E. Grizzle, *J. Urol. (Baltimore)* **1995**, *153*, 1572.
- [104] a) M. A. Bernstein, L. D. Hall, *Carbohydr. Res.* **1980**, *78*, C1; b) R. U. Lemieux, *Chem. Soc. Rev.* **1978**, *7*, 423; c) R. U. Lemieux, D. R. Bundle, D. A. Baker, *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 4076, zit. Lit.
- [105] J. T. Randolph, S. J. Danishefsky, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 1538; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 1470.
- [106] T. Boren, P. Falk, K. A. Roth, G. Larson, S. Normark, *Science* **1993**, *262*, 1892.
- [107] P. F. Cirillo, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [108] E. G. Bremer, S. B. Levery, S. Sonnino, R. Ghidoni, S. Canevari, R. Kannagi, S. Hakomori, *J. Biol. Chem.* **1984**, *259*, 14773; S. Menard, E. Tagliabue, S. Canevari, G. Fossati, M. I. Colnaghi, *Cancer Res.* **1983**, *43*, 1295.
- [109] M. T. Bilodeau, T. K. Park, S. Hu, J. T. Randolph, S. J. Danishefsky, P. O. Livingston, S. Zhang, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 7840.
- [110] D. A. Griffith, Dissertation, Yale University, **1992**.
- [111] Für die erste Totalsynthese von Calicheamicin siehe: a) K. C. Nicolaou, C. W. Hummel, E. N. Pitsinos, M. Nakada, A. L. Smith, K. Shibayama, H. Saimoto, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 10082; b) K. C. Nicolaou, C. W. Hummel, M. Nakada, K. Shibayama, E. N. Pitsinos, H. Saimoto, Y. Mizuno, K.-U. Baldenius, A. L. Smith, *ibid.* **1993**, *115*, 7625.
- [112] S. Hitchcock, S. Boyer, M. Y. Chu Moyer, S. Olson, S. J. Danishefsky, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 928; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 858.
- [113] R. Halcomb, S. Boyer, M. Wittman, S. Olson, D. Denhardt, K. K. C. Liu, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 5720.
- [114] S. Hitchcock, M. M. Chu Moyer, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 5750.
- [115] R. L. Halcomb, M. D. Wittman, S. Olson, S. J. Danishefsky, J. Golik, H. Wong, D. Vyas, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 5080.
- [116] a) J. N. Haseltine, M. P. Cabal, N. B. Mantlo, N. Iwasawa, D. S. Yamashita, R. S. Coleman, G. M. Schulte, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 3856; b) D. S. Yamashita, V. P. Rocco, S. J. Danishefsky, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 6667; c) V. P. Rocco, S. J. Danishefsky, G. K. Schulte, *ibid.* **1991**, *32*, 6671.
- [117] J. Golik, H. Wong, B. Krishnan, D. Vyas, T. W. Doyle, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 1851.
- [118] D. Yang, S.-H. Kim, D. Kahne, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 4715.
- [119] K. C. Nicolaou, T. Li, N. Masahisa, C. W. Hummel, A. Hiatt, W. Wrasing, *Angew. Chem.* **1988**, *100*, 1138; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, *27*, 1097.
- [120] J. Drak, N. Iwasawa, D. M. Crothers, S. J. Danishefsky, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, *88*, 7464.
- [121] J. Aiyar, S. A. Hitchcock, D. Denhart, K. K.-C. Liu, S. J. Danishefsky, D. M. Crothers, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 925; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 855.
- [122] J. Aiyar, S. J. Danishefsky, D. M. Crothers, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 7552.
- [123] K. C. Nicolaou, S.-C. Tsay, T. Suzuki, G. F. Joyce, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 7555.
- [124] T. Li, V. A. Estevez, K. U. Baldenius, K. C. Nicolaou, G. F. Joyce, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 3709.
- [125] Für die erste Synthese des vollständigen Kohlenhydrat-Abschnitts siehe: K. C. Nicolaou, R. D. Bromeberg, T. Miryazaki, N. A. Stylianides, T. J. Schulze, W. Stahl, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 8193.
- [126] R. L. Halcomb, S. H. Boyer, S. J. Danishefsky, *Angew. Chem.* **1992**, *104*, 314; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, *31*, 338.
- [127] S. H. Olson, S. J. Danishefsky, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *43*, 7901.
- [128] S. P. Douglas, D. M. Whitfield, J. J. Krepinsky, *J. Carbohydr. Chem.* **1993**, *12*, 131.
- [129] J. Jones, *The Chemical Synthesis of Peptides*, Clarendon, Oxford, **1991**.
- [130] G. M. Blackburn, M. J. Gait in *Nucleic Acids in Chemistry and Biology* (Hrsg.: G. M. Blackburn, M. J. Gait), IRL, Oxford University Press, Oxford, **1990**, S. 73.
- [131] a) J. M. J. Fréchet in *Polymer-Supported Synthesis of Oligosaccharides* (Hrsg.: P. Hodge, D. C. Sherrington), Wiley, Chichester, **1980**, S. 407–434; b) S. J. Danishefsky, J. Y. Robege in *Glycopeptides and Related Compounds: Synthesis, Analysis and Applications* (Hrsg.: D. G. Large, D. G. Warren), Marcel Dekker, im Druck.
- [132] K. F. McClure, J. T. Randolph, R. Ruggeri, S. J. Danishefsky, *Science* **1993**, *260*, 1307.
- [133] J. T. Randolph, K. F. McClure, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 5712.
- [134] T.-H. Chan, W.-Q. Huang, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1985**, 909.
- [135] a) Lit. [131b]; b) M. Meldal, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1994**, *4*, 710. Ausgewählte neuere Beispiele: c) S. T. Cohen-Anisfeld, P. T. Lansbury, Jr., *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 10531; d) D. Vetter, D. Tumelty, S. K. Singh, M. A. Gallop, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 94; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 60; e) U. Sprengard, G. Kretzschmar, E. Bartnik, C. Hüls, H. Kunz, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 1104; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 990.
- [136] S. J. Danishefsky, J. Y. Robege, *Pure Appl. Chem.* **1995**, *67*, 1647.
- [137] J. Y. Robege, X. Beebe, S. J. Danishefsky, *Science* **1995**, *269*, 202.
- [138] M. Schuster, P. Wang, J. C. Paulson, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 1135.
- [139] P. F. Cirillo, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [140] H. Paulsen, W. Stenzel, *Chem. Ber.* **1978**, *111*, 2334.
- [141] B. E. Anderson, M. Grove, L. E. Davis (Northwestern University) US-A 5376531, **1994** [*Chem. Abstr.* **1994**, *121*, 705].
- [142] I. J. Kim, T. K. Park, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [143] Es liegen 17 O-geschützte und 2 latente Hydroxygruppen, die an der Glycal-Doppelbindung aufgebaut werden können, vor.
- [144] O. Kwon, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [145] L. Imundo, J. Barasch, A. Prince, Q. Al-Awqati, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, *92*, 3019.
- [146] H. C. Krivan, D. D. Roberts, V. Ginsburg, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1988**, *85*, 6157.
- [147] O. Kwon, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [148] Q. Al-Awqati, persönliche Mitteilung.
- [149] X. Beebe, S. Hu, M. T. Bilodeau, P. Seeberger, P. F. Cirillo, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [150] S. Hu, P. Seeberger, unveröffentlichte Ergebnisse.