

- [10] M. Baudler, G. Scholz, K.-F. Tebbe, M. Fehér, *Angew. Chem.* **1989**, *101*, 352; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1989**, *28*, 339.
- [11] P. B. Hitchcock, J. A. Johnson, J. F. Nixon, *Angew. Chem.* **1993**, *105*, 86; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 103.
- [12] M. Driess, R. Janoschek, H. Pritzkow, *Angew. Chem.* **1992**, *104*, 449; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, *31*, 460.
- [13] T. Wetting, J. Schneider, O. Wagner, C. G. Kreiter, M. Regitz, *Angew. Chem.* **1989**, *101*, 1035; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1989**, *28*, 1013; R. Gleiter, K.-H. Pfeifer, M. Baudler, G. Scholz, T. Wetting, M. Regitz, *Chem. Ber.* **1990**, *123*, 757.
- [14] GAUSSIAN 94, Revision B.3., M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, P. M. W. Gill, B. G. Johnson, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, T. Keith, G. A. Petersson, J. A. Montgomery, K. Raghavachari, M. A. Al-Laham, V. G. Zakrzewski, J. V. Ortiz, J. B. Foresman, C. Y. Peng, P. Y. Ayala, W. Chen, M. W. Wong, J. L. Andres, E. S. Replogle, R. Gomperts, R. L. Martin, D. J. Fox, J. S. Binkley, D. J. Defrees, J. Baker, J. P. Stewart, M. Head-Gordon, C. Gonzalez, J. A. Pople, Gaussian Inc., Pittsburgh, PA, **1995**.
- [15] a) G. M. Sheldrick, SHELXS86, Universität Göttingen, **1986**; b) G. M. Sheldrick, SHELXL93, Universität Göttingen, **1993**.

## Eine orthogonale Glycosylierungsstrategie für den raschen Aufbau von Oligosacchariden an einem polymeren Träger\*\*

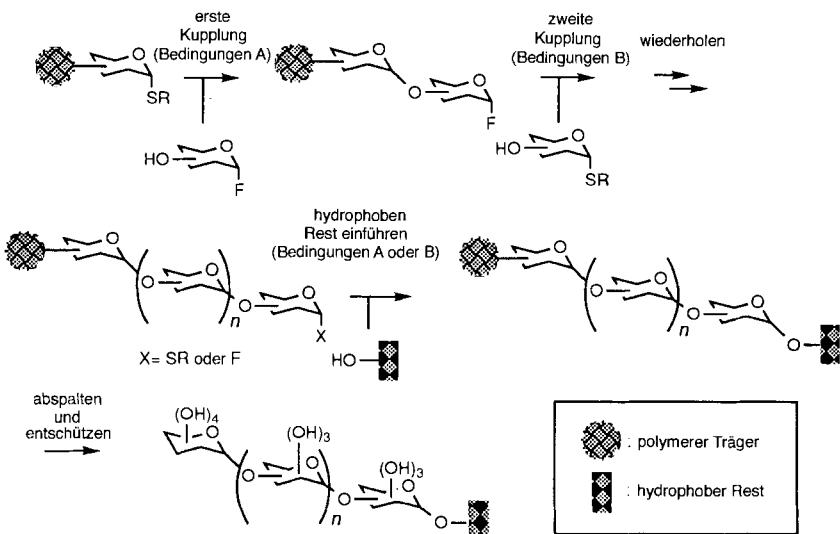
Yukishige Ito\*, Osamu Kanie und Tomoya Ogawa

Festphasenverfahren haben sich bei der routinemäßigen Synthese von Oligopeptiden und Oligonucleotiden bewährt und in Verbindung mit kombinatorischer Chemie erneut Aufmerksamkeit erregt<sup>[1]</sup>. In letzter Zeit zieht die Synthese von Oligosacchariden an einem polymeren Träger das Interesse auf sich, und einige höchst interessante Ansätze wurden beschrieben<sup>[2–5]</sup>. Wir stellen hier eine neue Strategie zur Oligosaccharidsynthese an einem polymeren Träger vor, die auf dem Konzept der orthogonalen Glycosylierung basiert<sup>[6]</sup> und die Herstellung von Oligosacchariden extrem vereinfacht.

Bei Oligosaccharidsynthesen an polymeren Trägern unterscheidet man hinsichtlich der Richtung des Kettenwachstums zwei Ansätze: Aufbau vom reduzierenden zum nichtreduzierenden Ende (Ansatz A) und vom nichtreduzierenden zum reduzierenden Ende (Ansatz B). Ansatz A gilt als vorteilhafter, weil ein nahezu homogenes Produkt erhalten werden kann, sofern das an den polymeren Träger gebundene Aglycon und der Glycosyldonor reaktiv genug sind, um die vollständige Glycosy-

lierung zu gewährleisten. Ansatz B ist weniger geradlinig: Zum einen sammeln sich alle Nebenprodukte zusammen mit dem gewünschten O-Glycosid auf der polymeren Trägerphase an, was die Isolierung des richtig zusammengesetzten Oligosaccharids erschwert, zum anderen muß die anomere Position am reduzierenden Ende der Kette nach jeder Glycosylierung durch Einführen einer Abgangsgruppe aktiviert werden.

Wir erwarteten, diese Probleme bei Ansatz B umgehen zu können, indem wir die Technik der orthogonalen Glycosylierung mit der Chemie an polymeren Trägern kombinierten (Schema 1). Thioglycosid und Glycosylfluorid wurden in Kombination eingesetzt, weil sie als Satz von orthogonalen Glycosyldonoren sehr wirksam sind<sup>[6]</sup>. Um die potentiellen Schwierigkeiten bei der Isolierung des Endprodukts zu umgehen, führt man ein hydrophobes Aglycon in die anomere Position am re-



Schema 1. Oligosaccharidsynthese an einem polymeren Träger nach dem Konzept der orthogonalen Glycosylierung.

duzierenden Ende des Oligosaccharids ein. Das gewünschte Oligosaccharid unterscheidet sich dann von allen anderen, an den polymeren Träger gebundenen Produkten, weil es als einziges diesen hydrophoben Rest trägt. Unabhängig von der Zahl der Glycosylierungsschritte sollte daher seine Isolierung mit Hilfe der Umkehrphasen-Chromatographie an Kieselgel in einem einzigen Schritt gelingen<sup>[7]</sup>.

Der erste Versuch, diese Arbeitshypothese zu überprüfen, wurde mit Polyethylenglycol (PEG) als einem „löslichen“ Polymer<sup>[3]</sup> unternommen; als Zielmolekül wählten wir die Trimannosideinheit **13** der Glycoproteinoligosaccharide mit hohem Mannoseanteil<sup>[8]</sup> (Schema 2). In diesem Fall wurde die 2-(Trimethylsilyl)ethyl(SE)-Gruppe als hydrophober Rest eingeführt<sup>[9]</sup>.

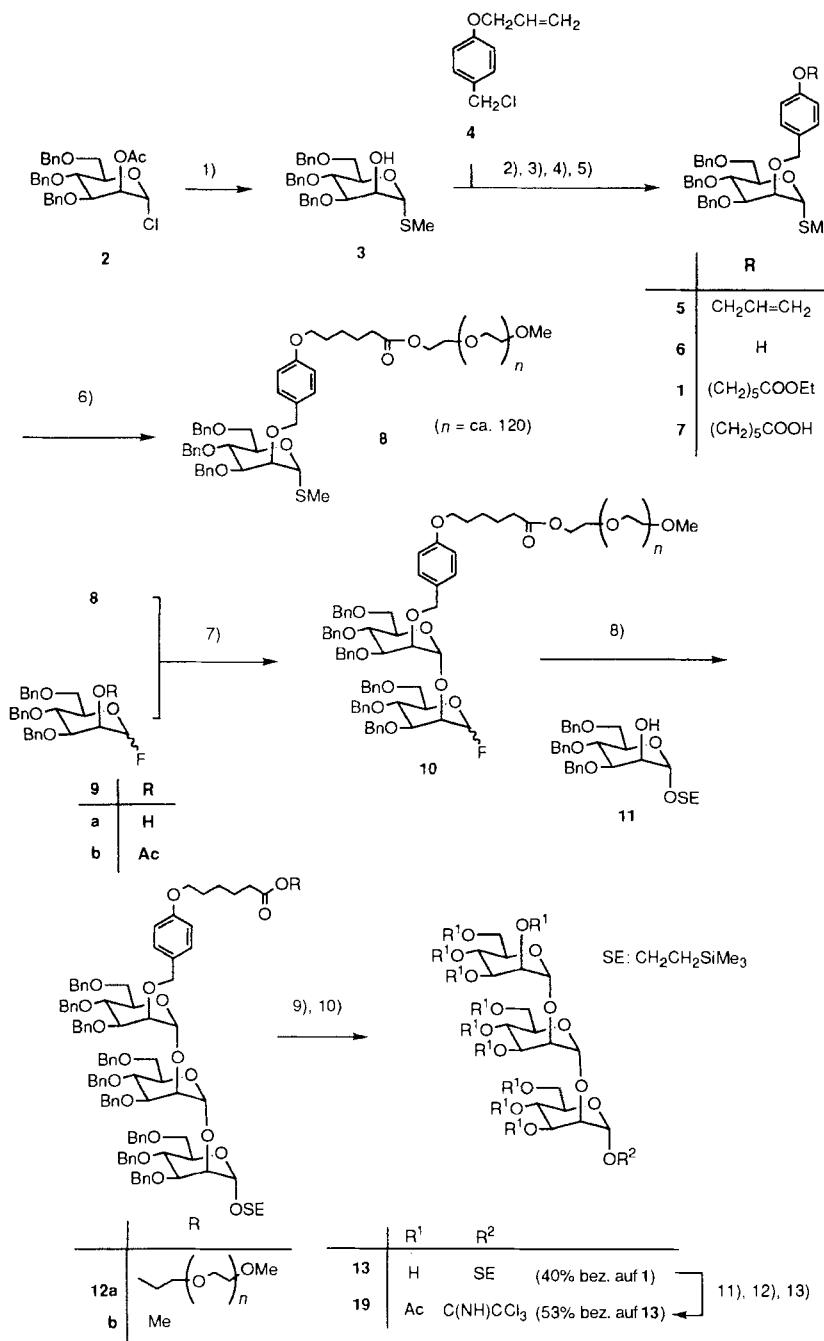
Die Synthese geht vom Ester **1** aus, der über **3**, **5** und **6** aus dem Chlorid **2**<sup>[10]</sup> erhalten wurde. Der Verseifung zur Säure **7** folgte die Kupplung mit PEG-Monomethylether (Aldrich, mittleres Molekulargewicht 5000) zum Thiomannosid/Polymer-Konjugat **8**<sup>[11]</sup>.

Die Kupplung mit Fluorid **9**<sup>[12]</sup> wurde in Anwesenheit von  $\text{MeOSO}_2\text{CF}_3$ <sup>[13]</sup> und  $\text{MeSSMe}$  in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  durchgeführt und lieferte das Disaccharid-PEG-Konjugat **10** in einer Ausbeute von 89%<sup>[11, 14]</sup>. Bei der nachfolgenden, zweiten Kupplung wurde 2-(Trimethylsilyl)ethyl(SE)-Glycosid **11**<sup>[15]</sup> mit dem reduzierenden Ende der Disaccharideinheit verknüpft. Die Reaktion

[\*] Dr. Y. Ito, Dr. O. Kanie, Prof. Dr. T. Ogawa<sup>[+]</sup>  
The Institute of Physical and Chemical Research (RIKEN)  
2-1 Hirosawa, Wako-shi, Saitama 351-01 (Japan)  
Telefax: Int. + 48/462-4680  
E-mail: yukito@postman.riken.go.jp.

[+] Weitere Adresse:  
Graduate School of Agriculture and Life Science, University of Tokyo  
Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113 (Japan)

[\*\*] Ein Teil dieser Arbeit wurde finanziell unterstützt durch ein Grant-in-Aid for Scientific Research des Ministeriums für Erziehung, Wissenschaft und Kultur sowie den Special Coordination Funds der Science and Technology Agency der japanischen Regierung. Wir danken M. Yoshida und Mitarbeitern für die Elementaranalysen und A. Takahashi für die technische Unterstützung.



Schema 2. Synthese des Trimannosids 13. 1) MeSSMe, *n*BuLi/THF, 87%; 2) 4, NaH/*N,N*-Dimethylformamid (DMF), 100%; 3) [(Ph<sub>3</sub>P)<sub>4</sub>Pd], NaBH<sub>4</sub>/THF, 96%; 4) Br(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>CO<sub>2</sub>Et, Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>/DMF, 91%; 5) wäßr. NaOH/THF-EtOH, quantitativ; 6) EtO<sub>2</sub>C-N=N-CO<sub>2</sub>Et, Ph<sub>3</sub>P, PEG-Monomethylether/THF-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 95%; 7) MeOSO<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, MeSSMe, Molekularsieb 4 Å/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, Raumtemperatur (RT), 89%; 8) 11, [Cp<sub>2</sub>HfCl<sub>2</sub>], AgOSO<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, Molekularsieb 4 Å/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 0 °C → RT, 99%; 9) NaOMe/MeOH; 10) H<sub>2</sub>, Pd(OH)<sub>2</sub>/MeOH-Ethylacetat; 11) Ac<sub>2</sub>O, 4-Dimethylaminopyridin-(4-DMAP)/Pyridin; 12) CF<sub>3</sub>COOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; 13) CCl<sub>3</sub>CN, 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]-undec-7-en (DBU)/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, dann chromatographische Reinigung.

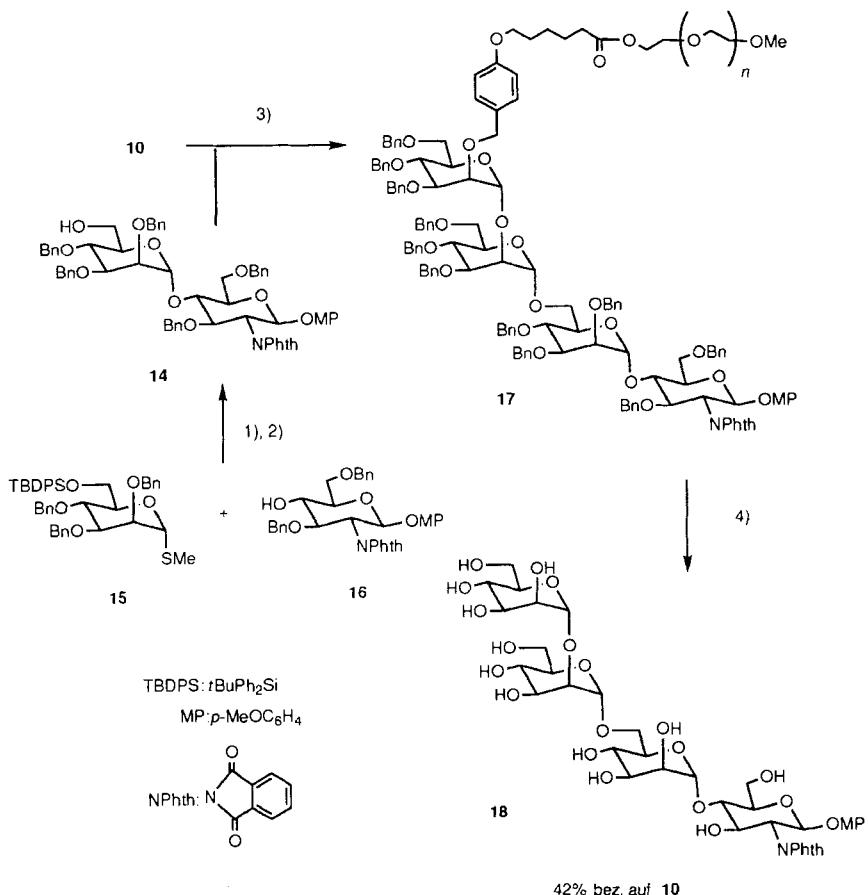
wurde nach Suzuki ([Cp<sub>2</sub>HfCl<sub>2</sub>]-AgOSO<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)<sup>[16]</sup> durchgeführt und lieferte das Trisaccharid-PEG 12a<sup>[11]</sup>.

Nach dem Aufbau der Trisaccharidkette wurde der PEG-Rest unter basischen Bedingungen abgespalten und das Trisaccharid 12b ohne weitere Reinigung über Pd(OH)<sub>2</sub> hydriert. Die resultierende Mischung konnte auf einer kurzen Säule mit C<sub>18</sub>-Umkehrphasen-Kieselgel (Senshu Kagaku, Tokio) aufgetrennt werden. Die Nebenprodukte wurden mit Wasser herausgewaschen. Nachfolgendes Eluieren mit 50proz. Methanol lieferte das gewünschte Trisaccharid 13<sup>[17, 18]</sup> in einer Gesamtausbeute von 40% bezogen auf 1.

Das Disaccharid-PEG 10 konnte auch in das Tetrasaccharid 18 umgewandelt werden; dieses Strukturelement findet sich – in entschützter Form – in der Kohlenhydratteilstruktur von Glycosylphosphatidylinositol(GPI)-Ankern<sup>[19]</sup>. Das Disaccharid 14 wurde aus den Monosaccharidderivaten 15 und 16 synthetisiert

und dann in Gegenwart von [Cp<sub>2</sub>HfCl<sub>2</sub>]-AgOSO<sub>2</sub>CF<sub>3</sub> in Benzol mit 10 umgesetzt (Schema 3)<sup>[20]</sup>. Das entstandene Tetrasaccharid-PEG-Konjugat 17<sup>[11]</sup> wurde dann katalytisch hydriert. In diesem Fall ist das Produkt dank der *p*-Methoxyphenyl- und Phthalimidgruppen hydrophob genug, um auf einer C<sub>18</sub>-Säule zurückgehalten zu werden. Daher liefert die Trennung durch Umkehrphasen-Chromatographie, in ähnlicher Weise wie für 13 beschrieben, das Tetrasaccharid 18<sup>[17, 21]</sup> in einer Ausbeute von 42% bezogen auf 10.

Mit der hier beschriebenen Strategie, einer neuen Kombination von Synthese an polymeren Trägern und dem Konzept der orthogonalen Glycosylierung, lassen sich Oligosaccharide mit einem Minimum an Reaktionsschritten aufbauen. Bemerkenswert ist auch, daß die anomeren Positionen von 13 und 18 Schutzgruppen tragen, die selektiv gespalten werden können<sup>[22]</sup>. Beispielsweise kann das Trisaccharid 13 leicht in das



Schema 3. Synthese des Tetrasaccharids **18**. 1)  $\text{MeOSO}_2\text{CF}_3$ ,  $\text{MeSSMe}$ , Molekularsieb 4 Å/C $\text{H}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ , RT, 80%; 2)  $(n\text{Bu})_4\text{NF}$ , Essigsäure/THF, 93%; 3)  $[\text{Cp}_2\text{HfCl}_2]$ ,  $\text{AgOSO}_2\text{CF}_3$ , Molekularsieb 4 Å/Benzol, RT, 86%; 4)  $\text{H}_2$ ,  $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{MeOH}$ .

Trichloracetimidat **19**<sup>[17, 23]</sup> überführt werden, einem wertvollen Synthesebaustein für Polysaccharide (Glycane) mit hohem Mannoseanteil (Schema 2).

Eingegangen am 21. Mai 1996 [Z 9141]

**Stichworte:** Festphasensynthese • Glycoproteine • Glycosylierungen • Oligosaccharide

- [1] L. A. Thompson, J. A. Ellman, *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 555–600.
- [2] L. Yan, C. M. Taylor, R. Goodnow, Jr., D. Kahne, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 6953–6954.
- [3] S. P. Douglas, D. Whitfield, J. J. Krepinsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 5095–5097; *ibid.* **1995**, *117*, 2116–2117.
- [4] M. Schuster, P. Wang, J. C. Paulson, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 1135–1136.
- [5] S. J. Danishefsky, K. F. McClure, J. T. Randolph, R. B. Ruggeri, *Science* **1993**, *260*, 1307–1309; J. T. Randolph, K. F. McClure, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 5712–5719.
- [6] O. Kanie, Y. Ito, T. Ogawa, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 12073–12074.
- [7] M. M. Palcic, L. D. Heeze, M. Pierce, O. Hindsgaul, *Glycoconjugate J.* **1988**, *5*, 49–63.
- [8] A. Kobata, *Acc. Chem. Res.* **1993**, *26*, 319–324.
- [9] Zum Einsatz eines SE-Glycosids als hydrophobes Aglycon bei der chemoenzymatischen Synthese eines Gangliosids siehe Y. Ito, J. C. Paulson, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 1603–1604. Ein hydrophobes Aglycon – ähnlich SE – wurde kürzlich beschrieben: P. Stangier, M. M. Palcic, D. R. Bundle, *Carbohydr. Res.* **1995**, *267*, 153–159.

- [10] Zur Synthese von **2** vergleiche T. Ogawa, K. Katano, K. Sasajima, M. Matsui, *Tetrahedron* **1981**, *37*, 2779–2786. *p*-Allyloxybenzylchlorid **4** wurde aus *p*-Hydroxybenzaldehyd erhalten (1. Allylbromid,  $\text{K}_2\text{CO}_3$ /Aceton; 2.  $\text{LiAlH}_4$ /Ether; 3.  $\text{SOCl}_2$ , DMF/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).
- [11] Alle an den PEG-Träger gebundenen Produkte wurden wie beschrieben [3] durch Ausfällen aus *tert*-Butylmethylether isoliert. Die Ausbeuten wurden auf der Grundlage von Massenbilanzen berechnet und beziehen sich nicht zwangsläufig auf reine Produkte.
- [12] Y. Ito, T. Ogawa, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 1843–1845; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 1765–1767.
- [13] H. Lönn, *J. Carbohydr. Chem.* **1987**, *6*, 301–306.
- [14] Das entsprechende Stereoisomer wurde mit einem 270-MHz-<sup>1</sup>H-NMR-Gerät nicht beobachtet.
- [15] Synthetisiert aus Fluorid **9b** (1.  $\text{Me}_3\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ –[ $\text{Cp}_2\text{HfCl}_2$ ],  $\text{AgOSO}_2\text{CF}_3/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; 2.  $\text{NaOMe}/\text{MeOH}$ ).
- [16] K. Suzuki, K. H. Maeta, T. Matsumoto, *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 4853–4856.
- [17] <sup>1</sup>H- (270 MHz) und <sup>13</sup>C-NMR-Daten (68.4 MHz): **13**:  $\delta_{\text{H}}$  (D<sub>2</sub>O, 50 °C) = 5.25 (d,  $J$  = 2 Hz, H-1<sup>2</sup>), 5.06 (s, H-1<sup>3</sup>), 5.03 (d,  $J$  = 2 Hz, H-1<sup>1</sup>), 4.09 und 4.05 (dd,  $J$ , 3 und 2 Hz, H-2<sup>1</sup> und H-2<sup>2</sup>), 0.95 (m,  $\text{CH}_2\text{SiMe}_3$ ), 0.02 (SiMe<sub>3</sub>);  $\delta_{\text{C}}$  (D<sub>2</sub>O, 50 °C) = 103.68, 102.19 und 98.97 (anomere Kohlenstoffatome), 80.57 und 80.03 (C-2<sup>1</sup> und C-2<sup>2</sup>), 18.47 (CH<sub>2</sub>SiMe<sub>3</sub>), –0.89 (SiMe<sub>3</sub>); **18**:  $\delta_{\text{H}}$  (D<sub>2</sub>O, 70 °C) = 5.70 (d,  $J$  = 8.6 Hz, H-1<sup>1</sup>), 5.28 (d,  $J$  = 1.7 Hz, H-1<sup>2</sup>), 5.13 (d,  $J$  = 1 Hz, H-1<sup>4</sup>), 5.06 (d,  $J$  = 1.7 Hz, H-1<sup>3</sup>);  $\delta_{\text{C}}$  (D<sub>2</sub>O, 50 °C) = 103.64, 103.14, 99.88 und 98.83 (anomere Kohlenstoffatome); **19**:  $\delta_{\text{H}}$  (CDCl<sub>3</sub>) 8.76 (NH), 6.43 (d,  $J$  = 2.3 Hz, H-1<sup>1</sup>), 5.20 (d,  $J$  = 2.3 Hz, H-1<sup>3</sup>), 4.97 (d,  $J$  = 2.0 Hz, H-1<sup>2</sup>).
- [18] Bei diesem Material handelt es sich um eine 3.5:1-Mischung der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Anomere (bezüglich  $\text{Man}^2$ ). Die Isomere können auf der C<sub>18</sub>-Säule getrennt werden (linearer Gradient von Wasser zu 50proz. MeOH).
- [19] M. J. McConville, M. A. J. Ferguson, *Biochem. J.* **1993**, *294*, 305–324.
- [20] K. Suzuki, H. Maeta, T. Suzuki, T. Matsumoto, *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 6879–6882.
- [21] Es wurde eine 8:1-Mischung der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Anomere erhalten (bezüglich  $\text{Man}^2$ ). In CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> erhält man ein nahezu statistisches Anomerieverhältnis ( $\alpha:\beta$  = 1.2:1).
- [22] K. Jansson, S. Ahlfors, T. Freid, J. Kihlberg, G. Magnusson, *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 5629–5647; T. Fukuyama, A. A. Laird, L. M. Hotchkiss, *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 6291–6292.
- [23] Überblick über die Trichloracetimidat-Methode: R. R. Schmidt, W. Kinzy, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1994**, *50*, 21–123.

## Berichtigung

In der Zuschrift „Mikroporöse Mischoxide – Katalysatoren mit einstellbarer Oberflächenpolarität“ von S. Klein und W. F. Maier (*Angew. Chem.* **1996**, *108*, 2376–2379) fehlt nach dem ersten Satz in der zweiten Spalte der Verweis auf die Reaktionsgleichung und die Gleichung selbst. Die Passage sollte lauten:

Es ist uns nun gelungen, dieses Synthesekonzept auf die Herstellung von mikroporösen Mischoxiden zu übertragen, in denen ein beliebig einstellbarer Anteil der Siliciumzentren eine Alkylgruppe trägt [Gl. (a)]<sup>[6]</sup>.

