

war eine stereoselektive Reduktion der tassenförmigen Ketone **9**, wie erwartet auf der konvexen Seite. Die Enantiomerenüberschüsse von **11a–d** wurden HPL-chromatographisch und die von **11a** sowie **11b** anhand der Mosher-Ester der Rohprodukte zusätzlich ¹H-NMR-spektroskopisch bestimmt. Beide Analysen lieferten übereinstimmende Ergebnisse.

Das neuartige, einfach herstellbare chirale Reagens **2** kann also effizient zur Cyclopentanellierung cyclischer Enone eingesetzt werden. Nach dieser Methode, die konzeptionell der Robinson-Anellierung ähnelt, lassen sich aus prochiralen cyclischen Enonen bicyclische Cyclopentenone mit hoher Enantiomerenreinheit herstellen. Der stereodifferenzierende Schritt der Sequenz ist die Michael-Addition des Carbanions **7** an das cyclische Enon. Nach den vorliegenden Ergebnissen ist es bislang nicht möglich, ein plausibles Übergangszustandsmodell zu formulieren, bei dem das für diese Reaktion unabdingbare HMPA einbezogen wird. Derzeitige und künftige Untersuchungen zielen auf ein besseres Verständnis der Seitendifferenzierung bei der Michael-Addition und auf die Entwicklung einer katalytischen Methode zur Cyclopentanellierung von Enonen hin.

Eingegangen am 26. September 1996 [Z9597]

Stichworte: Asymmetrische Synthesen · Carbanionen · Cyclisierungen · Cyclopentenone · Sulfonamide

- [1] Übersichtsartikel: M. Ramaiah, *Synthesis* **1984**, 529; B. M. Trost, *Angew. Chem.* **1986**, 98, 1; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1986**, 25, 1; T. Hudlicky, J. D. Price, *Chem. Rev.* **1989**, 89, 1467; M. E. Welker, *ibid.* **1992**, 92, 97.
- [2] Die besten Ergebnisse sind in folgenden Arbeiten beschrieben: Trost-Anellierung: M. Malacria, F. Chaigne, J. P. Gotteleand, *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 1803; B. M. Trost, P. Scoane, S. Mignani, M. Acemoglu, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, 111, 7487; M. Janson, I. Kvarnstrom, S. C. T. Svensson, B. Classon, B. Samuelsson, *Synthesis* **1993**, 129; Methylenecyclopropane: P. Binger, A. Brinkmann, W. J. Richter, *Tetrahedron Lett.* **1983**, 24, 3599; P. Binger, B. Schäfer, *ibid.* **1988**, 29, 529; Meyers-Lactame: S. Bienz, C. Busacca, A. I. Meyers, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, 111, 1905; G. P. Brengel, C. Rithner, A. I. Meyers, *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 5144; siehe auch: M. Hatanaka, Y. Tanaka, I. Veda, *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 3719; V. Bernardes, X. Verdaguera, N. Kardos, A. Riera, A. Moyano, M. A. Pericas, A. Riera, *Tetrahedron* **1995**, 51, 4239; P. Bladon, P. L. Pauson, H. Brunner, R. Eder, *J. Organomet. Chem.* **1988**, 355, 449; H. Brunner, A. Niedernhuber, *Tetrahedron: Asymmetry* **1990**, 1, 711; H.-J. Park, B. Y. Lee, Y. K. Kong, Y. K. Chung, *Organometallics* **1995**, 14, 3104; A. M. Hay, W. J. Kerr, G. G. Kirk, D. Middlemiss, *ibid.* **1995**, 14, 4986; W. J. Kerr, G. G. Kirk, D. Middlemiss, *Synlett* **1995**, 1085.
- [3] Allylische Sulfoxide: D. H. Hua, S. Venkatamaran, M. J. Coulter, G. Sinal-Zingde, *J. Org. Chem.* **1987**, 52, 719; Trost-Anellierung: B. M. Trost, D. M. T. Chan, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, 105, 2326; A. Yamamoto, Y. Ito, T. Hayashi, *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 375; Allylsilane: J. S. Panek, N. F. Jain, *J. Org. Chem.* **1993**, 58, 2345; β -Alkoxyacrylate: A. Datta, R. R. Schmidt, *Tetrahedron Lett.* **1993**, 34, 4161.
- [4] S. De Lombaert, I. Nemery, B. Roekens, J. C. Carretero, T. Kimmel, L. Ghosez, *Tetrahedron Lett.* **1986**, 27, 5099; L. Ghosez, *Pure Appl. Chem.* **1996**, 68, 15.
- [5] D. Enders, H. Kipphardt, P. Gerdes, L. J. Brena-Valle, V. Bhushan, *Bull. Soc. Chim. Belg.* **1988**, 97, 691.
- [6] S. Murata, M. Suzuki, R. Noyori, *Tetrahedron* **1988**, 44, 4259.
- [7] B. Tinant, J. P. Declercq, C. Huart, *Acta Crystallogr. Sect. C* **1995**, 51, 678.

Festphasensynthese eines tumorassoziierten Sialyl-T_N-Antigen-Glycopeptids mit einer Partialsequenz aus dem Tandem-Repeat des MUC-1-Mucins**

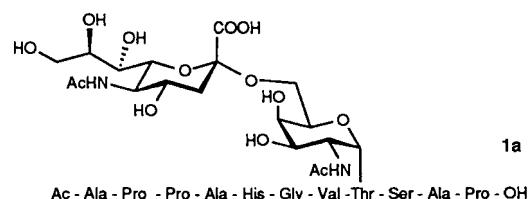
Beate Liebe und Horst Kunz*

Professor Hans Paulsen zum 75. Geburtstag gewidmet

Die Entwicklung von Impfstoffen gegen tumorassoziierte Antigene ist von besonderem Interesse. Unvollständige Glycanseitenketten von Mucinen wie T_N- und T-Antigen (GalNAc α -O-Ser/Thr bzw. Gal β 1-3GalNAc α -O-Ser/Thr) sind als tumorassoziierte Zelloberflächenstrukturen beschrieben worden.^[1, 2] Dabei werden dem T_N-Antigen und dem Sialyllierungsprodukt, dem Sialyl-T_N-Antigen (NeuAc α 2-6GalNAc α -O-Ser/Thr),^[3, 4] eine höhere Tumorselektivität zugeschrieben als dem T-Antigen.^[5] Allerdings hat auch die Peptidkette Einfluß auf die Kohlenhydrat-Antigene, wie Immunodifferenzierungen von Asialoglycoproteinen mit einem gegen ein synthetisches T-Antigen-Glycopeptid^[6] gerichteten monoklonalen Antikörper ergaben.^[7] Nachgewiesen ist der Einfluß der Peptidkette für das polymorphe, epithiale Mucin MUC-1.^[8] Es enthält eine aus „Tandem-Repeats“ von 20 Aminosäureresten aufgebaute Domäne, in der die meisten Glycosylierungspositionen lokalisiert sind. Im tumorassoziierten MUC-1 liegen die Glycane unvollständig vor,^[9] z. B. als T_N- oder Sialyl-T_N-Antigen. Kürzlich wurde die bevorzugte Glycosylierungsposition dieses Tandem-Repeats identifiziert.^[10] Sie ist am Threoninrest des Undecapeptidesabschnitts **1** lokalisiert.

Ac-Ala-Pro-Pro-Ala-His-Gly-Val-Thr*-Ser-Ala-Pro-OH **1**

Die Synthese von **1** mit einem an diesen Threoninrest gebundenen Sialyl-T_N-Saccharid (**1a**) ist somit für interdisziplinäre Untersuchungen interessant. Bei der hier beschriebenen Festphasensynthese von **1** wurde der allylische Anker



(HYCRON)^[11] mit einem polaren Spacer kombiniert und das Problem des differenzierenden Schutzes der Peptidgruppen einerseits und der Sialinsäure-Carboxygruppe andererseits gelöst.

Sialyl-T_N-Serin-Konjugate wurden von Ogawa et al.^[12] durch Verknüpfung des Disaccharids mit N-Benzylloxycarbonyl(Z)-serin-benzylester erhalten. Nach Hydrogenolyse der benzylischen Gruppen konnte der NeuNAc-Methylester des nun nicht mehr CH-aciden Konjugats alkalisch hydrolysiert werden. Da die so erhaltenen Bausteine für Glycopeptidsynthesen ungeeignet sind, haben Ogawa et al.^[13] später den schwer zugänglichen Benzylester der N-Acetylneuraminsäure eingesetzt. Dabei wur-

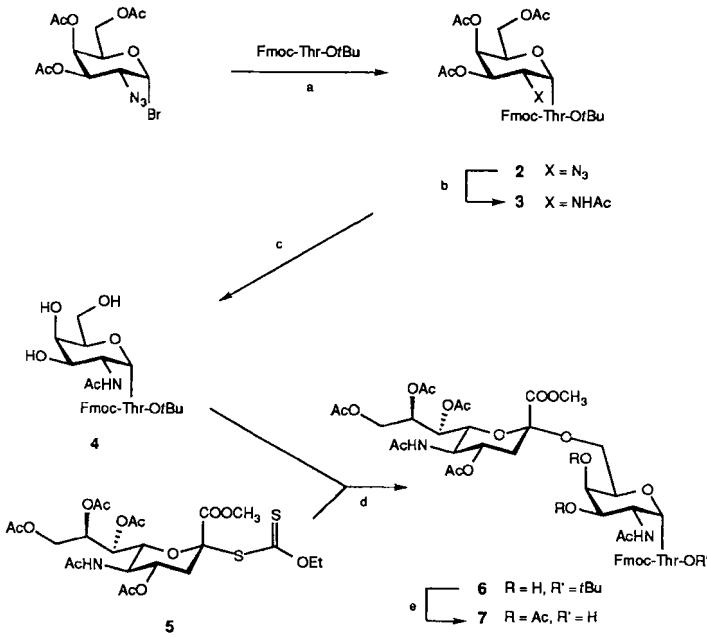
[*] Prof. Dr. H. Kunz, Dipl.-Chem. B. Liebe
Institut für Organische Chemie der Universität
J.-J. Becher-Weg 18–20, D-55128 Mainz
Telefax: Int. + 6131/394786
E-mail: hokunz@goofy.zdv.uni-mainz.de

[**] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und der Stiftung Rheinland-Pfalz für Innovation unterstützt.

de in 3-Position des NeuNAc-Donors zwischenzeitlich eine Thioethergruppe benötigt, um eine stereoselektive Glycosylierung zu erreichen. Dies erfordert zusätzliche, nicht einfache Syntheseschritte am komplexen Konjugat. Deshalb haben wir ein alternatives Konzept entwickelt, nach dem der einfache acetylgeschützte Neuraminsäuremethylester regioselektiv mit einem im Glycan ungeschützten Z-[O-(2-Azidogalactosyl)]-threoninester zur Sialyl-T_N-Struktur verknüpft wird.^[14] Die Synthese von Sialyl-T_N-Glycopeptiden nach diesem Prinzip setzt jedoch voraus, daß der NeuNAc-Methylester am Glycopeptid ohne Epimerisierung der Aminosäuren und ohne β -Eliminierung der Glycan-Seitenkette gespalten werden kann. Für Festphasensynthesen wird außerdem ein Fmoc-geschützter Sialyl-T_N-Threonin-(bzw.-Serin)-Baustein benötigt, bei dem die selektive Abspaltung der O-Acetylgruppen aus dem basenempfindlichen O-Glycosylthreoninester weit schwieriger als beim Z-ge schützten Analogon ist. Zur Lösung dieses Problems haben Kihlberg et al. einen mehrstufigen Umweg über O-Silyl-ge schützte Galactosamine beschritten.^[15]

Um die kurze Strategie über die regioselektive Sialylierung^[14] am Fmoc-geschützten T_N-Baustein zu prüfen, wurde Fmoc-Threonin zunächst mit Dicyclohexylcarbodiimid (DCC), *tert*-Butylalkohol und CuCl selektiv in den *tert*-Butylester überführt (77%)^[16] und dieser mit 3,4,6-Tri-O-acetyl-2-azido-2-desoxy- α -D-galactopyranosylbromid^[17] zum α -glycosylierten Fmoc-Threoninester **2** verknüpft. Nach Überführung der 2-Azido- in die Acetamidogruppe (**3**) wurden die O-Acetylgruppen selektiv entfernt, indem zur Lösung von **3** in Methanol 1%iges Natriummethanolat so zugetropft wurde, daß der pH-Wert von 8.5 (pH-Papier) nicht überschritten wurde. Den im Glycan entschützten Galactosamin-Threoninester **4** erhielt man in 77% Ausbeute, ohne daß die basenlabile Fmoc-Gruppe angegriffen wurde (Schema 1).

Die regioselektive Sialylierung von **4** wurde mit dem Sialyl-Xanthogenat **5**^[18] nach Aktivierung mit Methylsulfonyl triflat^[19] in Acetonitril/Dichlormethan erreicht. Dabei bildete sich



Schema 1. a) $\text{AgClO}_4/\text{Ag}_2\text{CO}_3$ (1/11), $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Toluol}$ (10/9), 47%; b) CH_3COSH , 84%; c) CH_3OH , NaOCH_3 , pH-Wert < 8.5, 77%; d) CH_3SBr , AgOTf ($\text{TF} = \text{Trifluormethansulfonat}$), $\text{CH}_3\text{CN}, \text{CH}_2\text{Cl}_2$, -62°C , 32% nach präparativer Umkehrphasen-HPLC und 8% β -Anomer; e) 1. Ac_2O , Pyridin, 88%, 2. Trifluoressigsäure(TFA)/Anisol (13/1), quantitativ; Fmoc = Fluorenylmethoxycarbonyl.

abgesehen vom gewünschten α -6-O-verknüpften Sialyl-T_N-Baustein **6** und dessen β -Anomer (α/β 4/1) nur das Glycal der Sialinsäure. Durch Flash-Chromatographie und präparative Umkehrphasen-HPLC wurde **6** im Grammaßstab erhalten. Nach Acetylierung der 3,4-Position und Acidolyse des *tert*-Butylesters wurde der Fmoc-Sialyl-T_N-Threonin-Baustein **7** isoliert. Die OH-Gruppen im Kohlenhydratteil von **7** sind ausschließlich O-acetyliert, wodurch dessen Säurestabilität gewährleistet wird. Als Fmoc-geschützter Baustein kann **7** unmittelbar zur Festphasensynthese eingesetzt werden.

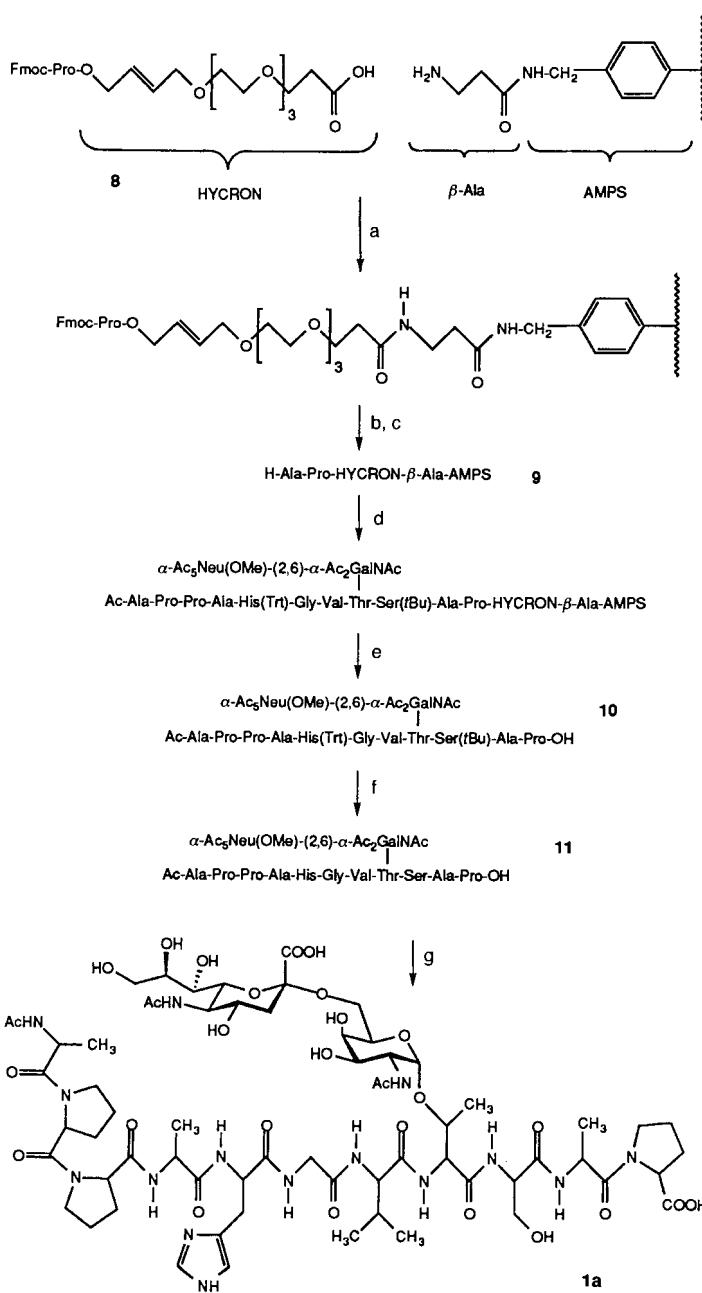
Zum Aufbau des Glycoundecapeptids **1a** wurde das HYCRON-Konjugat **8** aus Fmoc-Prolin, allylischem Anker (HYCRON) und Triethylenglycolspacer^[11] an β -Alanyl(amino-methyl)polystyrol gekuppelt. Die Aminosäureanalyse^[20] ergab eine Beladung von 0.43 mmol Prolin pro Gramm. Nach einer typischen Arbeitsvorschrift für Festphasensynthesen wurde die Fmoc-Gruppe mit DMF/Morpholin abgespalten und die Kupplungen mit ca. vierfachem Überschuß der N-geschützten Aminosäuren, TBTU,^[21] HOBt und NMM in DMF durchgeführt. Nicht umgesetzte Aminogruppen wurden jeweils acetyliert. Für die Kupplung der Sialyl-T_N-Einheit **7** wurde die Reaktionszeit von ca. 4.5 auf 15 h erhöht, bei der 9. und 10. Kupplung betrug die Reaktionszeit 19 h. Die erste Kupplung zum polymergebundenen Diptid wurde mit Boc-Alanin durchgeführt. Wegen der Stabilität des allylischen Ankers sowohl gegen Basen als auch gegen Säuren kann die Boc-Gruppe mit TFA/ CH_2Cl_2 (1/1) abgespalten werden. Vor der zweiten Kupplung wird die Verbindung mit Diisopropylethylamin deprotoniert. Durch den Wechsel von der Fmoc- zur Boc-Strategie wird die Diketopiperazinbildung unterbunden. Die nachfolgenden Schritte wurden mit Fmoc-geschützten Bausteinchen durchgeführt (Schema 2).

Nach der 10. und letzten Kupplung wurde die Fmoc- durch eine N-Acetylgruppe ersetzt. Durch Palladium(0)-katalysierte Spaltung des Allylankers^[11, 22] wurde das selektiv carboxyent-schützte Sialyl-T_N-Undecapeptid **10** freigesetzt. Gemäß Amino-säureanalyse des Harzes betrug die Ausbeute der Abspaltungsreaktion ca. 98%. Die säurelabilen Seitenkettenbeschutzgruppen wurden mit TFA entfernt. Das im Glycan noch geschützte Glycopeptid **11** wurde nach präparativer Umkehrphasen-HPLC in einer Gesamtausbeute von 42%, bezogen auf die polymergebundene Startaminosäure, und in einer Reinheit (laut analyti- scher HPLC) von > 98% isoliert (Tabelle 1).

Wie erwartet, erwies sich die Hydrolyse des NeuNAc-Methylesters als schwierig. Sie erfordert stärker basische Bedingungen als die Hydrolyse der O-Acetylgruppen. Um die β -Eliminierung der Kohlenhydratseitenkette aus **11** zu vermeiden, wurden systematische Hydrolysestudien bei steigender Konzentration von

Tabelle 1. Spektroskopische und analytische Daten von **1** und **11**.

1:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 4.84$ (d, $J(1,2) = 3.5$ Hz, 1H, H-1), 4.54 (m, 1H, T ³), 4.45 (dd, 1H, A ⁹), 2.58 (dd, $J(3'e,3'a) = 12.3$, $J(3'e,4') = 4.4$ Hz, 1H, H-3'e), 1.92, 1.88 (s, 9H, CH_3CO), 1.54 (t, $J(3'e,3'a) = 12.3$ Hz, 1H, H-3'a), 1.29–1.20 (m, 12H, A ⁶ , T ³), 0.86 (t, $J(b,g) = 6.5$ Hz, 6H, V ⁷); $^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, D_2O): $\delta = 100.4$ (C-2'), 99.2 (C-1), 77.1 (T ³), 63.8, 62.8 (C-6, C-9'), 61.6 (S ⁹), 42.5 (G ⁷), 40.2 (C-3'), 30.2 (V ⁷), 22.3, 22.1, 21.6 (CH_3CO), 18.5, 18.3, 17.8 (T ⁷ , V ⁷), 16.5, 15.4, 15.1 (A ⁶); MS (FAB): m/z (%) = 1561.2 (42) [$M + \text{Na}^+ - 2\text{H}^+$], 1541.4 (11) [$M(2^{13}\text{C}) - \text{H}^+$], 1540.3 (24) [$M(1^{13}\text{C}) - \text{H}^+$], 1539.3 (35) [$M - \text{H}^+$].
11:	$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 5.06$ (dd, $J(2,3) = 11.2$ Hz, 1H, H-3), 5.01 (d, $J(1,2) = 3.5$ Hz, 1H, H-1), 4.79 (ddd, 1H, H-4'), 4.53 (d, 1H, T ³), 4.45 (q, 1H, A ⁹), 2.67 (dd, $J(3'e,3'a) = 12.9$, $J(3'e,4') = 4.4$ Hz, 1H, H-3'e), 1.28–1.20 (m, 12H, A ⁶ , T ³), 0.86 (t, 6H, V ⁷); $^{13}\text{C-NMR}$ (100.6 MHz, D_2O): $\delta = 99.3$ (C-1), 98.9 (C-2'), 77.9 (T ³), 71.9 (C-6'), 69.6, 69.5 (C-3, C-4'), 68.7 (C-5), 68.4, 68.2, 67.7 (C-4, C-7', C-8'), 63.4 (C-6), 62.4 (C-9'), 61.6 (S ⁹), 57.3 (T ³), 55.4 (S ⁷), 53.7 (P ³), 47.8, 47.7 (P ⁶), 42.6 (G ⁷), 36.8 (C-3'), 30.5 (V ⁷), 18.6, 18.4, 18.0 (T ⁷ , V ⁷), 16.6, 15.6 (A ⁶); MS (FAB): m/z (%) = 1807.3 (44) [$M + \text{H}^+$].



strukturreichlich charakterisiert werden. Zum Schutz der *N*-Acetylneuraminsäure kann selbst der stabile Methylester eingesetzt werden, der bei pH-Werten von 11–11.5 abspaltbar ist, ohne daß eine unerwünschte β -Eliminierung eintritt. Diese Lösung des Problems ist auf *O*-6-Sialyl-Glycopeptide allgemein anwendbar.

Eingegangen am 16. Oktober 1996 [Z 9659]

Stichworte: Antigene · Glycopeptide · Festphasensynthesen · Peptide

- [1] S. Hakomori, *Curr. Opin. Immunol.* **1991**, *43*, 646.
- [2] G. D. McLean, B. M. Longenecker, *Can. J. Oncol.* **1994**, *4*, 249.
- [3] A. Kurosaka, H. Kitagawa, S. Fukui, Y. Numata, H. Nakada, I. Funakoshi, T. Kawasaki, T. Ogawa, H. Iijima, I. Yamashina, *J. Biol. Chem.* **1988**, *263*, 8724.
- [4] D. V. Gold, M. J. Mattes, *Tumor Biol.* **1988**, *9*, 137.
- [5] T. Toyokuni, A. K. Singh, *Chem. Soc. Rev.* **1995**, *24*, 231.
- [6] H. Kunz, S. Birnbach, *Angew. Chem.* **1986**, *98*, 354; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1986**, *25*, 360; H. Kunz, S. Birnbach, P. Wernig, *Carbohydr. Res.* **1990**, *202*, 207.
- [7] W. Dippold, K. H. Meyer zum Büschenfelde, A. Steinborn, unveröffentlichte Ergebnisse; A. Steinborn, Dissertation, Universität Mainz, **1990**.
- [8] S. J. Gandler, C. A. Lancaster, J. Taylor-Papadimitriou, T. Duhig, N. Peat, J. Burchell, L. Pemberton, E.-N. Lalani, D. Wilson, *J. Biol. Chem.* **1990**, *265*, 15286.
- [9] F.-G. Hanisch, G. Uhlenbrück, J. Peter-Katalinic, H. Egge, J. Dabrowski, U. Dabrowski, *J. Biol. Chem.* **1989**, *264*, 872.
- [10] T. R. E. Stadie, W. Chai, A. M. Lawson, P. G. Byfield, F.-G. Hanisch, *Eur. J. Biochem.* **1995**, *229*, 140.
- [11] O. Seitz, H. Kunz, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 901; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 803.
- [12] H. Iijima, T. Ogawa, *Carbohydr. Res.* **1988**, *172*, 183.
- [13] Y. Nakahara, H. Iijima, S. Shibayama, T. Ogawa, *Carbohydr. Res.* **1991**, *216*, 211.
- [14] B. Liebe, H. Kunz, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 8777.
- [15] M. Elofsson, J. Kihlberg, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 7499.
- [16] G. Braum, Dissertation, Universität Mainz, **1991**; M. Schultz, H. Kunz, *Tetrahedron: Asymmetry*, **1993**, *4*, 1205.
- [17] H. Paulsen, J.-P. Hölk, *Carbohydr. Res.* **1982**, *109*, 89.
- [18] A. Marra, P. Sinay, *Carbohydr. Res.* **1989**, *187*, 35.
- [19] W. Birberg, H. Lönn, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 7457; F. Dasgupta, P. J. Garegg, *Carbohydr. Res.* **1988**, *177*, c13.
- [20] Aminosäureanalysen wurden von der Fa. Orpegen Pharma, Heidelberg, durchgeführt.
- [21] R. Knorr, A. Trzeciak, W. Bannwarth, D. Gillessen, *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 1927.
- [22] H. Kunz, H. Waldmann, *Angew. Chem.* **1984**, *96*, 49; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1984**, *23*, 71.

Sm-vermittelte, hochstereoselektive Reaktionen von 1,1-Dihalogenalkanen mit Aldehyden – Herstellung eines chiralen α -Iodethyl-Synthesebausteins aus 1,1-Diiodethan**

Seiji Matsubara, Masahito Yoshioka und Kiitiro Utimoto*

Die Reaktion α -Heteroatom-substituierter Alkylmetall-Reagentien mit Carbonylverbindungen ist als Zugang zu β -substituierten Alkanolen etabliert.^[1] α -Halogenalkylmetall-Reagentien sind besonders intensiv untersucht worden, da sie mit

[*] Prof. K. Utimoto, Dr. S. Matsubara, M. Yoshioka
Department of Material Chemistry
Graduate School of Engineering, Kyoto University
Yoshida, Sakyo, Kyoto, 606-01 (Japan)
Telefax: Int. + 81/753-4863
E-mail: utimoto@orgx2.kuic.kyoto-u.ac.jp

[**] Diese Arbeit wurde vom japanischen Ministerium für Erziehung, Wissenschaft und Kultur gefördert (Nr. 06403025, 07230247, 07651053).