

- Mo(K_α)-Strahlung ($\lambda=0.71073\text{ \AA}$) mit Graphitmonochromator, Omega-Scans mit 0.3°-Inkrementen. Absorptionskorrektur mit SADABS (G. M. Sheldrick, Universität Göttingen, 1998). Strukturlösung und -verfeinerung mit SHELXTL 5.10 (Bruker AXS, Inc., Madison, WI, 1997) gegen F^2 (177 Parameter für **1**, 173 Parameter für **2**). Alle Nichtwasseroftatome wurden mit anisotropen Temperaturparametern verfeinert, während Wasserstoffatome (außer dem Deuteriumatom von CDCl₃ im Fall von **1**) in berechneten Positionen platziert und isotrop verfeinert wurden. Das CDCl₃-Deuteriumatom wurde in der Fourier-Differenzkarte lokalisiert und isotrop verfeinert. Die kristallographischen Daten (ohne Strukturfaktoren) der in dieser Veröffentlichung beschriebenen Strukturen wurden als „supplementary publication no.“ CCDC-137694 und -137693 beim Cambridge Crystallographic Data Centre hinterlegt. Kopien der Daten können kostenlos bei folgender Adresse in Großbritannien angefordert werden: CCDC, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ (Fax: (+44) 1223-336-033; E-mail: deposit@ccdc.cam.ac.uk).
- [14] Für eine Diskussion von O … X-Nebervalenzbindungen (X = Chalkogen) in intramolekularen Ringen siehe: R. M. Minyav, V. I. Minkin, *Can. J. Chem.* **1998**, *76*, 776–788, zit. Lit.
- [15] V. V. Zhdankin, *Rev. Heteroatom Chem.* **1997**, *17*, 133–151.
- [16] A: G. F. Koser, G. Sun, C. W. Porter, W. J. Youngs, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 7310–7312; B: T. M. Balthazor, J. A. Miles, B. R. Stults, *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 4538–4540; C: E. Shefter, W. Wolf, *J. Pharm. Sci.* **1965**, *54*, 104–107; D, E und I: Lit. [20e]; F: N. W. Alcock, J. F. Sawyer, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1980**, 115–120; G: P. J. Stevenson, A. B. Treacy, M. Nieuwenhuyzen, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1997**, 589–591; H: J. Z. Gougoutas, *Cryst. Struct. Commun.* **1981**, *10*, 489–494.
- [17] a) T. Steiner, *New J. Chem.* **1998**, 1099–1103; b) T. Steiner, *Chem. Commun.* **1997**, 727–734; c) G. R. Desiraju, *Acc. Chem. Res.* **1991**, *24*, 290–296.
- [18] Die in E. M. Archer, *Acta Crystallogr.* **1948**, *1*, 64–69 zitierten I-O-Abstände von 1.60 und 1.65 Å für para-Chloriodbenzol sind wahrscheinlich nicht zuverlässig.
- [19] a) „Iodonium ylide compositions and methods for antimicrobial use“: A. G. Relenyi, R. W. Walter, G. F. Koser (Dow Chemical Co., USA), EP 160322B1, **1989**; b) „Preparation of iodonium ylide antimicrobial compounds“: A. G. Relenyi, W. J. Kruper, Jr., R. W. Walter, Jr., R. B. Shankar, A. P. Zelinko, G. F. Koser (Dow Chemical Co., USA), EP 225478B1, **1990**; „Iodones and methods for antimicrobial use“: A. G. Relenyi, G. F. Koser, R. W. Walter, Jr., W. J. Kruper, Jr., R. B. Shankar, A. P. Zelinko (Dow Chemical Co., USA), US 5106407, **1992**.
- [20] Einige neuere Arbeiten: a) R. A. Moss, H. Morales-Rojas, H. Zhang, B.-D. Park, *Langmuir* **1999**, *15*, 2738–2744; b) A. R. Katritzky, G. P. Savage, J. K. Gallos, H. D. Durst, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1990**, 1515–1518; c) D. R. Leslie, S. Pantelidis, *Aust. J. Chem.* **1990**, *43*, 937–943; d) C. A. Panetta, S. M. Garlick, H. D. Durst, F. R. Longo, J. R. Ward, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 5202–5205; e) A. R. Katritzky, G. P. Savage, G. J. Palenik, K. Qian, Z. Zhang, H. D. Durst, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1990**, 1657–1661; f) R. A. Moss, K. Bracken, T. J. Emge, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 7739–7746; g) R. A. Moss, S. Bose, K. Krogh-Jespersen, *J. Phys. Org. Chem.* **1997**, *10*, 27–32; h) R. A. Moss, *Chem. Commun.* **1998**, 1559–1560.

Ein allgemeiner Syntheseweg für die Herstellung von Glycopeptid-, „Dendrons“^{**}

Kashinath Sadalapure und Thisbe K. Lindhorst*

Professor Günter Wulff zum 65. Geburtstag gewidmet

Für die Untersuchung und Manipulation von Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen hat man Kohlenhydrat- und Dendrimerchemie auf vielfältige Weise kombiniert, um Mimetika multivalenter Glycokonjugate herzustellen.^[1] Kohlenhydrat-Dendrimere, wie man diese Verbindungen zusammenfassend nennen kann, haben prinzipiell das Potential, in Kohlenhydrat-Protein-Wechselwirkungen aufgrund des häufig auftretenden Multivalenz- oder Cluster-Effekts^[2] mit hoher Avidität einzugreifen.^[3] Darüber hinaus bergen sie die Möglichkeit, Wirkstoffe zu binden und zielgerichtet zu transportieren, Eigenschaften, die mit anderen, noch ungekannten Vorteilen dieser synthetischen Biomaterialien kombiniert werden könnten. Bisher wurden zwei Arten von Zugängen für die Synthese von Kohlenhydrat-Dendrimeren genutzt; einerseits wurde die Zucker-Ummantelung von Nicht-Kohlenhydrat-Dendrimeren für die Herstellung sogenannter Glycodendrimere verfolgt;^[4] andererseits hat man molekulare Keile, „Dendrons“, die von Cluster-Glycosiden^[5] abgeleitet wurden, konvergent kombiniert, wobei Kohlenhydrat-Dendrimere unterschiedlichen Baus erhalten wurden.^[6] Beide Strategien erlauben allerdings nicht das generationsweise Wachstum der hochverzweigten Kohlenhydrat-haltigen Moleküle wie es für klassische Dendrimersynthesen charakteristisch ist,^[7] wenngleich auch einige der publizierten Kohlenhydrat-Dendrimere trotzdem eine relativ hohe Zuckerdichte aufweisen.

Wir berichten nun über die Synthese von Glycopeptid-Dendrons, wobei die Peptidkupplung orthogonal geschützter Kohlenhydratbausteine vom AB₂-Typ die Grundlage einer iterativ anwendbaren Synthesesequenz bildet, mit der sich generationsweise Kohlenhydrat-haltige Dendrons in divergenter oder konvergenter Weise aufbauen lassen (Schema 1). Dabei erlaubt es die Verwendung der Peptid-anstelle der Glycosidsynthese im Verknüpfungsschritt auf die Optimierung der Glycosylierungsreaktion, die typischerweise für jeden individuellen Zuckerbaustein nötig ist, zu verzichten. Außerdem fiel die Wahl auf die Peptidkupplung, um die Übertragung des erarbeiteten Syntheseweges auf eine festphasengestützte Alternative im Zusammenhang mit automatisierten Glycopeptid-Dendron-Synthesen sowie kombinatorischen Herstellungsvarianten zu ermöglichen.

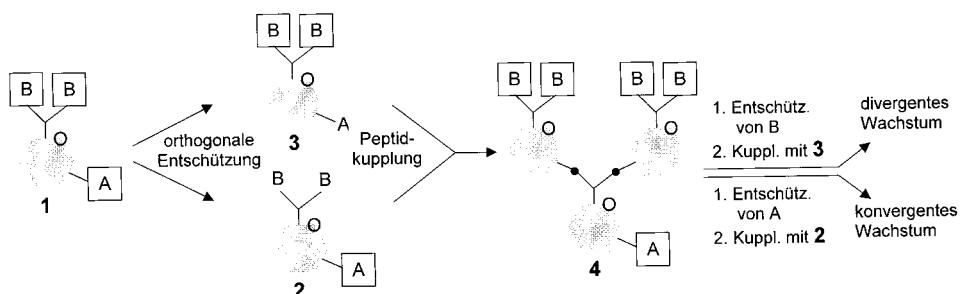
[*] Dr. T. K. Lindhorst, K. Sadalapure

Universität Hamburg, Institut für Organische Chemie
Martin-Luther-King-Platz 6, 20146 Hamburg (Deutschland)

Neue Adresse:

Christian-Albrechts-Universität Kiel, Institut für Organische Chemie
Otto-Hahn-Platz 4, 24098 Kiel (Deutschland)
Fax: (+49) 431-880-7410
E-mail: tk.lind@oc.uni-kiel.de

[**] Diese Arbeit wurde vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) im Rahmen des Glycobiotechnologie-Programms gefördert. Wir danken Herrn Dr. V. Sinnwell für die vielen schwierigen NMR-Experimente und Herrn Dipl.-Chem. M. Dubber für die MALDI-TOF-Messungen.



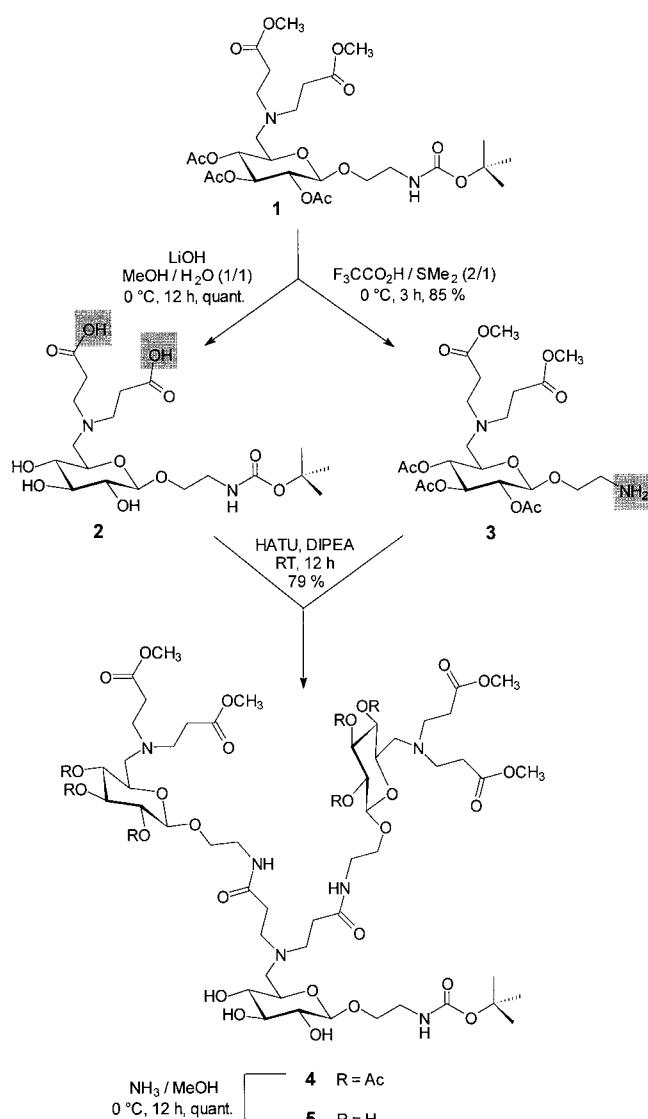
Schema 1. Der allgemeine Zugang zu Glycopeptid-Dendrons, ausgehend von orthogonal geschützten Kohlenhydrat-Bausteinen vom AB₂-Typ wie **1** (siehe Schema 2). Dabei steht B für eine Carboxylgruppe und A für eine Aminofunktion und die entsprechenden geschützten Gruppen sind mit einem Kasten gekennzeichnet. Dieser Entwurf gestattet eine iterative Synthesesequenz aus Entschützung und Peptidkupplung, die zu generationsweisem dendritischen Wachstum führt. Das Glycopeptid-Dendron der ersten Generation (**4**) kann auf einer divergenten oder konvergenten Syntheseroute vergrößert werden. Der konvergente Weg führte zu den Dendrons der zweiten und dritten Generation **7** und **8** (siehe Schema 3 bzw. 4). Ein graues Sechseck repräsentiert einen Monosaccharid-Ring, Peptidbindungen sind als schwarze Kugeln wiedergegeben.

Der Glucosid-Baustein **1** vom AB₂-Typ^[8] bildete die molekulare Grundlage der Herstellung der Glycopeptid-Dendrons **5**, **7** und **8**. Milde basische Hydrolyse der Methyl-estergruppen in **1** mit LiOH · H₂O in MeOH/H₂O (1/1) führte zur OH-freien Dicarbonsäure **2**. Die Entfernung der *tert*-Butoxycarbonyl(Boc)-Schutzgruppe in **1** mit Trifluoressigsäure in Gegenwart von Dimethylsulfid^[9] lieferte das Amino-funktionalisierte Glucosid **3** (Schema 2). So konnten die komplementären Bausteine **2** und **3** beide aus dem Glucosid **1** erhalten und in der Peptidkupplungsreaktion eingesetzt werden.

Für die Peptidkupplung erwies sich das Isoharnstoffderivat HATU^[10] in Gegenwart von DIPEA^[10, 11] als geeigneter Promotor und ermöglichte die Herstellung des Glycopeptid-Dendrons der ersten Generation (**4**) in 79 % Aubeute. Die Reinigung von Dendron **4** erfolgte durch Größenauflösung-chromatographie (GPC) auf einer Sephadex-LH-20-Säule mit Methanol als Elutionsmittel. Das ¹H- sowie das ¹³C-NMR-Spektrum von **4** zeigten einen Signalsatz für die acetylierten Glucosereste und einen weiteren für die Kern-Glucoseeinheit (Tabelle 1).

Die Deacetylierung von **4** mit einer gesättigten Lösung von Ammoniak in Methanol lieferte quantitativ den OH-freien Tetramethylester **5**, der durch GPC an Biogel P-6 mit Ammoniumhydrogencarbonat-Lösung als Elutionsmittel gereinigt wurde. Glycopeptid-Dendrons höherer Generationen wurden auf einem konvergenten Weg durch Wiederholung einer Synthesesequenz aus Freisetzung der Boc-geschützten Aminogruppe und Peptidkupplung hergestellt. Entsprechend wurde das Amin, das nach Abspaltung der Boc-Schutzgruppe des Glycopeptid-Dendrons der ersten Generation (**4**) erhalten wurde, mit **2** zum Dendron der zweiten Generation (**6**) in 60 % Ausbeute gekuppelt (Schema 3). Dessen Reinigung gelang per GPC an Sephadex LH-20 mit Methanol als Elutionsmittel. Die NMR-Spektren von **6** zeigten wieder zwei Signalsätze für die Kohlenhydrateinheiten (Tabelle 1). Die Deacetylierung von **6** gelang jedoch, anders als im Fall von **4**, aufgrund von Löslichkeitsproblemen nicht vollständig mit einer gesättigten Ammoniaklösung in Methanol. Die Verwendung von wässriger Ammoniaklösung führte gleichzeitig mit der Deacetylierung zur Verseifung der Methyl-estergruppen unter Bildung der Octacarbonsäure **7**, die an Biogel P-6 gereinigt werden konnte.

Analog zur Herstellung von **6** wurde auch das Dendron der dritten Generation (**8**), das 15 Zuckereinheiten enthält, nach Entfernung der Boc-Schutzgruppe in **6** und Peptidkupplung des intermediären Amins mit der Dicarbonsäure **2** erhalten (Schema 4). Dieses große Glycopeptid-Mimetikum war je-

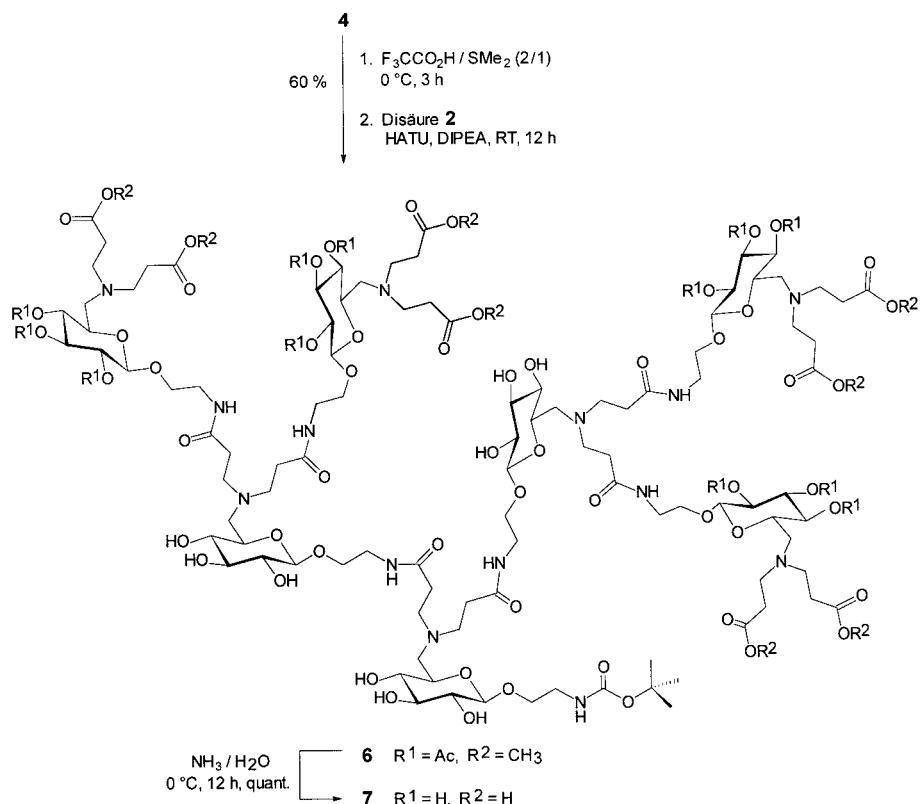


Schema 2. Synthese eines Glycopeptid-Dendrons der ersten Generation.

Tabelle 1. Ausgewählte ^1H -NMR- (500 MHz) und ^{13}C -NMR-Daten (125.75 MHz) von **4–8**.

	$\delta(\mathbf{4})$ in $[\text{D}_4]\text{MeOH}$	$\delta(\mathbf{5})$ in D_2O	$\delta(\mathbf{6})$ in $[\text{D}_4]\text{MeOH}$	$\delta(\mathbf{7})$ in D_2O	$\delta(\mathbf{8})$ in D_2O
^1H -NMR:					
H-1 ^[a]	4.40 (d, 1H)	4.44 (m, 3H)	4.21 (m, 3H)	4.51–4.38 (m, 7H)	4.41 (m, 15H)
H-1 ^[b]	4.65 (d, 2H)	–	4.56 (d, 4H)	–	–
NCH ₂	2.89 (m, 12H)	3.43 (m, 2H), 3.28 (m, 2H), 3.17–2.96 (m, 8H)	2.80 (m, 12H), 2.76 (m, 16H)	3.48 (m, 6H), 3.27 (m, 6H), 3.16–2.92 (m, 16H)	3.53–3.10 (m, 60H)
CH ₂ C(O)	2.48 (m, 12H)	2.64–2.46 (m, 12H)	2.37 (m, 16H), 2.35 (m, 12H)	2.67–2.45 (m, 28H)	2.76–2.44 (m, 60H)
H ₃ COC(O)	3.68 (s, 6H)	3.29 (s, 12H)	3.56 (s, 24H)	–	–
H ₃ CC(O)O	2.05 (s, 6H), 2.03 (s, 6H), 1.95 (s, 6H)	–	1.95 (s, 12H), 1.93 (s, 12H), 1.86 (s, 12H)	–	–
tBu	1.44 (s, 9H)	1.38 (s, 9H)	1.34 (s, 9H)	1.37 (s, 9H)	1.31 (s, 9H)
^{13}C -NMR:					
C-1	104.35, 101.94	102.94, 102.84	104.54, 101.94	102.39, 102.30	102.41, 102.27

[a] H-1 der OH-freien Glucose-Einheiten. [b] H-1 der acetylierten Glucose-Einheiten.



Schema 3. Synthese eines Glycopeptid-Dendrons der zweiten Generation.

doch nur schwach in Methanol löslich, sodass wässriger Carbonatpuffer als Elutionsmittel für die Gelfiltration an Biogel P-6 verwendet werden musste. Dabei zeigte sich allerdings, dass während der Trennung teilweise die *O*-Acetylgruppen abgespalten wurden, wie aus dem ^1H -NMR-Spektrum ersichtlich war. Deshalb wurde der GPC-Reinigung ein Deblockierungsschritt mit gesättigter wässriger Ammoniaklösung vorgeschaltet, der, wie im Fall der Deblockierung von **6**, zur Verseifung der Methylestergruppen und zur Deacetylierung führte. Die Hexadeca-

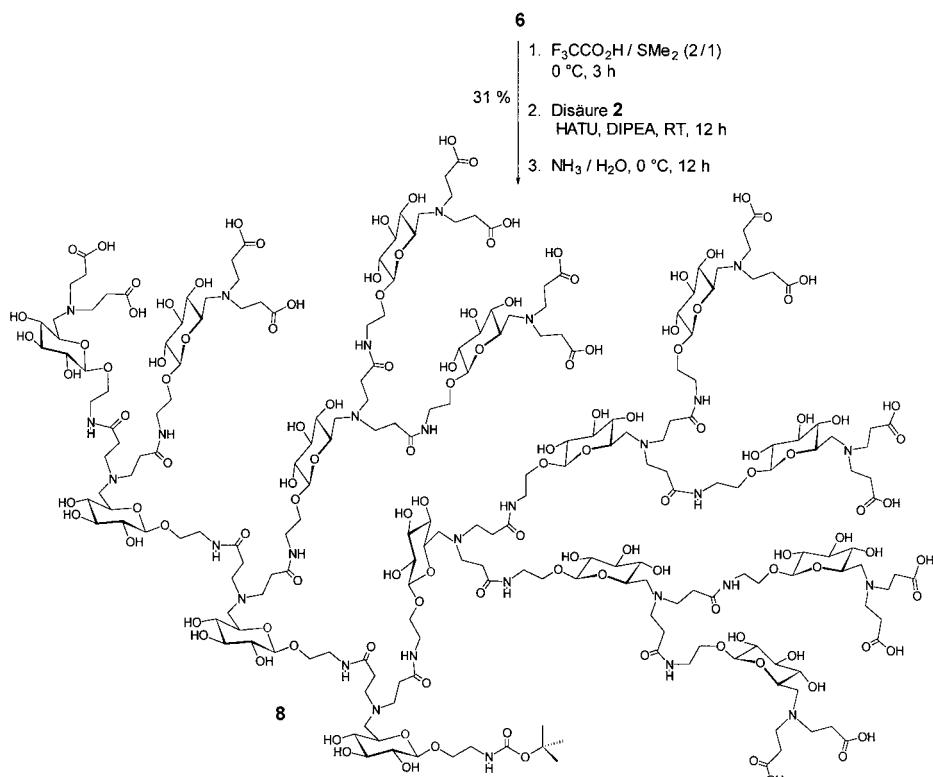
carbonsäure **8** wurde so als Ammoniumsalz isoliert.

Zusätzlich zur NMR-spektroskopischen Untersuchung wurden die Strukturen aller beschriebenen Verbindungen durch matrixassistierte Laserdesorptions/ionisations-Flugzeit(MALDI-TOF)-Massenspektrometrie bestätigt (Tabelle 2) und meistens wurden sogar korrekte Elementaranalysen erhalten. Alle hier berichteten Glycopeptid-Dendrons konnten so als streng monodisperse Verbindungen ohne Strukturdefekte charakterisiert werden. Dabei war die beschriebene Syntheseroute die beste unter den alternativen Aufbaumöglichkeiten inklusive der divergenten Route.

Die Stabilität dieses neuen Typs multivalenter Neoglykonjugate gegenüber Glycosidasen wurde am Glycopeptid-Dendron **5** getestet. Laut HPLC fand bei der mehrstündigen Inkubation mit β -Glucosidase aus Mandeln kein Abbau statt.

Wir haben mit dieser Arbeit einen allgemein anwendbaren Zugang zu neuartigen hyperverzweigten Kohlenhydrat-enthaltenden Molekülen gezeigt, die sich generationsweise als Glycopeptid-Dendrons vergrößern lassen. Die synthetisierten dendritischen Verbindungen könnten dreidimensionale Strukturelemente enthalten, wie sie auch in den natürlich vorkommenden Glycopeptiden vorkommen, und sich folglich als Kandidaten für die Entwicklung einer neuen Klasse von Glycocalix-Mimetika eignen.

Eingegangen am 21. Dezember 1999 [Z14443]



Schema 4. Synthese eines Glycopeptid-Dendrons der dritten Generation.

Tabelle 2. Massenpeaks in den MALDI-TOF-Massenspektren^[a] der Glycopeptid-Dendrons 4–8.

Verb.	Summenformel	ber. Molekulargew. ^[b] [g mol ⁻¹]	beobachtete Massenpeaks
4	$\text{C}_{63}\text{H}_{102}\text{N}_6\text{O}_{33}$	1470.65	1471.58 [$\text{M}+\text{H}]^+$, 1494.60 [$\text{M}+\text{Na}]^+$, 1509.53 [$\text{M}+\text{K}]^+$
5	$\text{C}_{51}\text{H}_{90}\text{N}_6\text{O}_{27}$	1218.58	1219.63 [$\text{M}+\text{H}]^+$, 1243.61 [$\text{M}+\text{Na}]^+$
6	$\text{C}_{135}\text{H}_{218}\text{N}_{14}\text{O}_{71}$	3171.38	3172.14 [$\text{M}+\text{H}]^+$, 3195.11 [$\text{M}+\text{Na}]^+$, 3208.10 [$\text{M}+\text{K}]^+$
7	$\text{C}_{103}\text{H}_{178}\text{N}_{14}\text{O}_{59}$	2555.13	2556.45 [$\text{M}+\text{H}]^+$, 2670.08 [$\text{M}+6\text{NH}_3+3\text{H}]^+$
8	$\text{C}_{215}\text{H}_{370}\text{N}_{36}\text{O}_{123}$	5340.36	5341.24 [$\text{M}+\text{H}]^+$, 5606.15 [$\text{M}+16\text{NH}_3-6\text{H}]^+$

[a] Dihydroxybenzoësäure (DHB) in Acetonitril/Wasser/TFA (2/1/0.1) wurde als Matrix für die Co-Kristallisation der Verbindungen 4–8 verwendet. 4-Cyanimidtsäure (190.05 [$\text{M}+\text{H}]^+$), Angiotensin II (1046.54 [$\text{M}+\text{H}]^+$), Bombesin (1619.82 [$\text{M}+\text{H}]^+$) und Rinderinsulin (5734.56 [$\text{M}+\text{H}]^+$) wurden für die Kalibrierung der Massenpeaks im linearen Modus verwendet. [b] Für die Berechnung der Molekulargewichte wurden die Massen die Hauptisotope verwendet.

- [1] N. Jayaraman, S. A. Nepogodiev, J. F. Stoddart, *Chem. Eur. J.* **1997**, 3, 1193–1199.
- [2] a) L. L. Kiessling, N. L. Pohl, *Chem. Biol.* **1996**, 3, 71–77; b) R. Roy, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1996**, 6, 692–702.
- [3] a) Y. C. Lee, *Acc. Chem. Res.* **1995**, 28, 321–327; b) M. Mammen, S.-K. Choi, G. M. Whitesides, *Angew. Chem.* **1998**, 110, 2908–2953; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 2754–2794.
- [4] a) T. K. Lindhorst, *Nachr. Chem. Techn. Lab.* **1996**, 44, 1073–1079; b) R. Roy, D. Zanini, J. Meunier, A. Romanowska, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1993**, 1869–1870; c) K. Aoi, K. Itoh, M. Okada, *Macromolecules* **1995**, 28, 5391–5393; d) T. K. Lindhorst, C. Kieburg, *Angew. Chem.* **1996**, 108, 2083–2086; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, 35, 1953–1956; e) P. R. Ashton, S. E. Boyd, C. L. Brown, N. A. Nepogodiev, E. W. Meijer, H. W. Peerlings, J. F. Stoddart, *Chem. Eur. J.* **1997**, 3, 974–984.
- [5] a) Y. C. Lee, *Carbohydr. Res.* **1978**, 67, 509–514; b) L. A. J. M. Sliedregt, P. C. N. Rensen, E. T. Rump, P. J. van Santbrink, M. K. Bijsterbosch, A. R. P. M. Valentijn, G. A. van der Marel, J. H. van Boom, T. J. C. van Berkel, E. A. L. Biessen, *J. Med. Chem.* **1999**, 42, 609–618.
- [6] a) P. R. Ashton, S. E. Boyd, C. L. Brown, N. Jayaraman, S. A. Nepogodiev, J. F. Stoddart, *Chem. Eur. J.* **1996**, 2, 1115–1128;
- b) P. R. Ashton, S. E. Boyd, C. L. Brown, N. Jayaraman, J. F. Stoddart, *Angew. Chem.* **1997**, 109, 756–759; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, 36, 732–735; c) P. R. Ashton, E. F. Hounsell, N. Jayaraman, T. M. Nilson, N. Spencer, J. F. Stoddart, M. Young, *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 3429–3437; d) B. Colonna, V. D. Harding, S. A. Nepogodiev, F. M. Raymo, N. Spencer, J. F. Stoddart, *Chem. Eur. J.* **1998**, 4, 1244–1254.
- [7] a) M. Fischer, F. Vögtle, *Angew. Chem.* **1999**, 111, 934–955; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 884–905; b) O. A. Matthews, A. N. Shipway, J. F. Stoddart, *Prog. Polym. Sci.* **1998**, 23, 1–56.
- [8] C. Kieburg, K. Sadalapure, T. K. Lindhorst, *Eur. J. Org. Chem.*, im Druck.
- [9] K. Katano, H. A. Y. Aoyagi, M. Overhand, S. J. Scheck, W. C. Stevens, Jr., C. D. Hess, X. Zhou, S. M. Hecht, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 11285–11296.
- [10] Verwendete Abkürzungen: HATU = $O-(7\text{-Azabenzotriazol-1-yl})-\text{N},\text{N}',\text{N}'\text{-tetramethyluroniumhexafluorophosphat}$; DIPEA = Diisopropylethylamin.
- [11] L. A. Carpinino, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 4397–4398.