

enylgruppen anfällig für Zersetzungsreaktionen unter Bildung von metallischem Antimon. Der gleiche Trend zeigt sich bei den Molekülen P_4 , As_4 und Sb_4 . Es ist zu prüfen, ob durch einen entsprechenden sterischen Schutz auch die Isolierung von Komplexen mit dem *cyclo-Sb₆*-Liganden ermöglicht werden kann und ob Bismut eine ähnliche Chemie aufweist.

Experimentelles

1–3: Alle Arbeiten wurden unter strengem Luftausschluss in einer Argonatmosphäre oder im Vakuum durchgeführt. *cyclo-tBu₄Sb₄* (1.88 g, 2.63 mmol) und [Cp'''(CO)₃MoCH₃] (1 g, 2.33 mmol) wurden in 60 mL Dekalin ca. 3 h unter Rückfluss erhitzt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand mit 3 × 100 mL Hexan extrahiert. Die grünen Extrakte wurden vereinigt, mit 8 g Al₂O₃ versetzt und das Lösungsmittel wurde unter verminderter Druck entfernt. Der Rückstand wurde auf eine Chromatographiesäule (3 × 20 cm neutrales Al₂O₃, Korngröße 0.063–0.200 mm, Aktivität II nach Brockmann) aufgetragen. Mit Hexan/Toluol (99/1) wurde zunächst eine smaragdgrüne Fraktion eluiert. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum und Umkristallisieren des Rückstands aus Hexan bei –30 °C wurden 265 mg eines mikrokristallinen, grünen Feststoffes bestehend aus **1** und **2** isoliert. Durch Lösen in Toluol und langsames Abkondensieren des Lösungsmittels im Vakuum wurde ein Gemisch eines mikrokristallinen Pulvers mit größeren Kristallen erhalten, die kristallographisch untersucht wurden und bei denen es sich um **2** handelte. **1 + 2:** Schmp. 331–333 °C; Elementaranalyse (%): ber. für C₃₄H₅₈Mo₂Sb₅/C₃₁H₅₂Mo₂Sb₅: C 32.22/30.39, H 4.61/4.29; gef.: C 32.18, H 4.63; ¹H-NMR (250 MHz, C₆D₆, 25 °C): δ = 0.91 (br.s), 1.35 (br.s), 1.38 (br.s), 3.39 (br.s), 3.58 (br.s), 3.62 (br.s), 3.77 (br.s), 29.04 (br.s); MS (EI, 70 eV): m/z (%): 1266 (100) [**1**, M⁺], 1224 (25) [**2**, M⁺], 1195 (20) [**1**, M⁺ – C₃H₁₁], 1153 (10) [**2**, M⁺ – C₅H₁₁], 1122 (20), 57 (80) [tBu⁺]. Mit Hexan/Toluol (9/1) wurde eine gelbbraune Fraktion eluiert, aus der nach Entfernen des Lösungsmittels **3** als dunkelbrauner Feststoff isoliert wurde. Kristalle wurden durch Abkühlen einer Hexanolösung auf –30 °C erhalten. Ausbeute 205 mg (22.8%). **3:** Schmp. 185–190 °C; Elementaranalyse (%): ber. für C₃₆H₅₈Mo₂O₄: C 59.22, H 7.58; gef.: C 60.48, H 7.64; ¹H-NMR (250 MHz, C₆D₆, 25 °C): δ = 1.25 (s, 9H; tBu), 1.43 (s, 18H; tBu), 5.23 (s, 2H; C₅H₂); ¹³C-NMR (63 MHz, C₆D₆, 25 °C): δ = 31.4, 32.1, 33.8, 34.3 (tBu), 96.4, 118.3, 123.2 (C₅H₂), 242.4 (CO); IR (Nujol): ν = 1878, 1819, 1802 cm^{–1} (C=O); MS (EI, 70 eV): m/z (%): 770 (80) [M⁺], 742 (60) [M⁺ – CO], 714 (40) [M⁺ – 2CO], 686 (30) [M⁺ – 3CO], 650 (43), 57 (100) [tBu⁺].

Eingegangen am 11. Juli 2000 [Z15434]

- [1] A. L. Rheingold, M. J. Foley, P. J. Sullivan, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 4727–4729.
- [2] a) O. J. Scherer, H. Sitzmann, G. Wolmershäuser, *Angew. Chem.* **1985**, *97*, 358–359; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1985**, *24*, 351–353; b) O. J. Scherer, J. Schwalb, G. Wolmershäuser, W. Kaim, R. Groß, *Angew. Chem.* **1986**, *98*, 349–350; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1986**, *25*, 363–364.
- [3] O. J. Scherer, *Angew. Chem.* **1990**, *102*, 1137–1155; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, *29*, 1104–1122; M. Scheer, E. Herrmann, *Z. Chem.* **1990**, *30*, 41–55; A.-J. DiMaio, A. L. Rheingold, *Chem. Rev.* **1990**, *90*, 169–190.
- [4] P. Jutzi, R. Kroos, *Chem. Ber.* **1988**, *121*, 1399–1401.
- [5] M. Scheer, K. Schuster, A. Krug, H. Hartung, *Chem. Ber.* **1997**, *130*, 1299–1304.
- [6] a) J. R. Harper, A. L. Rheingold, *J. Organomet. Chem.* **1990**, *390*, C36–C38; b) O. M. Kekia, R. L. Jones, Jr., A. L. Rheingold, *Organometallics* **1996**, *15*, 4104–4106.
- [7] K. Issleib, B. Hamann, L. Schmidt, *Z. Anorg. Allg. Chem.* **1965**, *339*, 298–303; H. J. Breunig, *Z. Naturforsch.* **1978**, *B 33*, 242–243.
- [8] a) H. J. Breunig, R. Rösler, E. Lork, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 2941–2942; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 2819–2821; b) R. Rösler, H. J. Breunig, E. Lork, *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem.* **1997**, *124 + 125*, 243–252; c) H. J. Breunig, R. Rösler, *Chem. Soc. Rev.* **2000**, im Druck.
- [9] H. Sitzmann, *Chem. Ber.* **1990**, *123*, 2311–2315.

- [10] Röntgenstrukturanalyse von **2** (C₃₁H₅₂Mo₂Sb₅): Bruker-P4/R/A SMART-1000-CCD-Diffraktometer, Mo_{Kα}-Strahlung, λ = 71.073 pm, φ/ω-Scan, T = 193(2) K, Absorptionskorrektur SADABS, gelöst mit Direkten Methoden, die Strukturlösung und Verfeinerung erfolgten mit dem SHELX-97-Programmpaket,^[16] Verfeinerung gegen F², die Wasserstoffatome wurden geometrisch positioniert und nach einem Reitermodell verfeinert. Kristallgröße 0.11 × 0.17 × 0.22 mm³, monoklin, Raumgruppe P2/n, a = 1320.30(6), b = 1002.10(5), c = 2834.96(12) pm, β = 95.429(1)°, V = 3.7340(3) nm³, Z = 4, ρ_{ber.} = 2.180 Mg m^{–3}, Θ_{max} = 26.40°, 18091 gemessene Reflexe, davon 7653 unabhängige (R_{int} = 0.0343), Absorptionskoeffizient 4.230 mm^{–1}, 372 freie Parameter, endgültige R-Werte (I > 2σ(I)): R1 = 0.0474, wR2 = 0.0916. Die kristallographischen Daten (ohne Strukturfaktoren) der in dieser Veröffentlichung beschriebenen Struktur wurden als „supplementary publication no. CCDC-146815“ 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).
- [11] a) O. Mundt, G. Becker, H.-J. Wessely, H. J. Breunig, H. Kischkel, *Z. Anorg. Allg. Chem.* **1982**, *486*, 70–89; b) M. Ates, H. J. Breunig, K. Ebert, S. Gülec, R. Kaller, M. Dräger, *Organometallics* **1992**, *11*, 145–150.
- [12] N. Tokitoh, Y. Arai, T. Sasamori, R. Okazaki, S. Nagase, H. Uekusa, Y. Ohashi, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 433–434.
- [13] N. Korber, F. Richter, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 1575–1577; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 1512–1514.
- [14] W. Tremel, R. Hoffmann, M. Kertesz, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 2030–2039.
- [15] A. J. Ashe III, *Adv. Organomet. Chem.* **1990**, *30*, 77–97; H. J. Breunig in *The Chemistry of Organic Arsenic, Antimony and Bismuth Compounds* (Hrsg.: S. Patai), Wiley, Chichester, **1994**, Kap. 10, S. 441–456.
- [16] G. M. Sheldrick, *SHELX-97. Programm zur Strukturlösung und -verfeinerung*, Göttingen, **1997**.

Effiziente chemische Synthese beider Anomere von ADP-L-glycero- und -D-glycero-D-manno-Heptopyranose und Bestimmung der Substratspezifität bakterieller Heptosyl-Transferasen**

Alla Zamyatina, Sabine Gronow, Clemens Oertelt, Michael Puchberger, Helmut Brade und Paul Kosma*

Die Lipopolysaccharide (LPS) der Gram-negativen Bakterien sind essentielle Bestandteile der äußeren Membran. Der

[*] Prof. P. Kosma, Dr. A. Zamyatina, Dr. M. Puchberger
Institut für Chemie
Universität für Bodenkultur
Muthgasse 18, 1190 Wien (Österreich)
Fax: (+43) 1-36006-6059
E-mail: pkosma@edv2.boku.ac.at

Dr. S. Gronow, Dipl.-Chem. C. Oertelt, Prof. H. Brade
Forschungszentrum Borstel
Zentrum für Medizin und Biowissenschaften
Parkallee 22, 23845 Borstel (Deutschland)

[**] Diese Arbeit wurde vom FWF (Projekt P11449-MOB und P13843-CHE) gefördert.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://www.wiley-vch.de/home/angewandte/> zu finden oder können beim Autor angefordert werden.

Lipidteil und die nächsten benachbarten Zuckereinheiten – Lipid A und Kernregion genannt – sind von höchster Bedeutung für Wachstum und Lebensfähigkeit der Bakterien.^[1, 2] Die Entwicklung von Inhibitoren der an der Biosynthese von LPS beteiligten Enzyme ist daher eine viel versprechende Alternative in der Entwicklung antibakterieller Wirkstoffe.

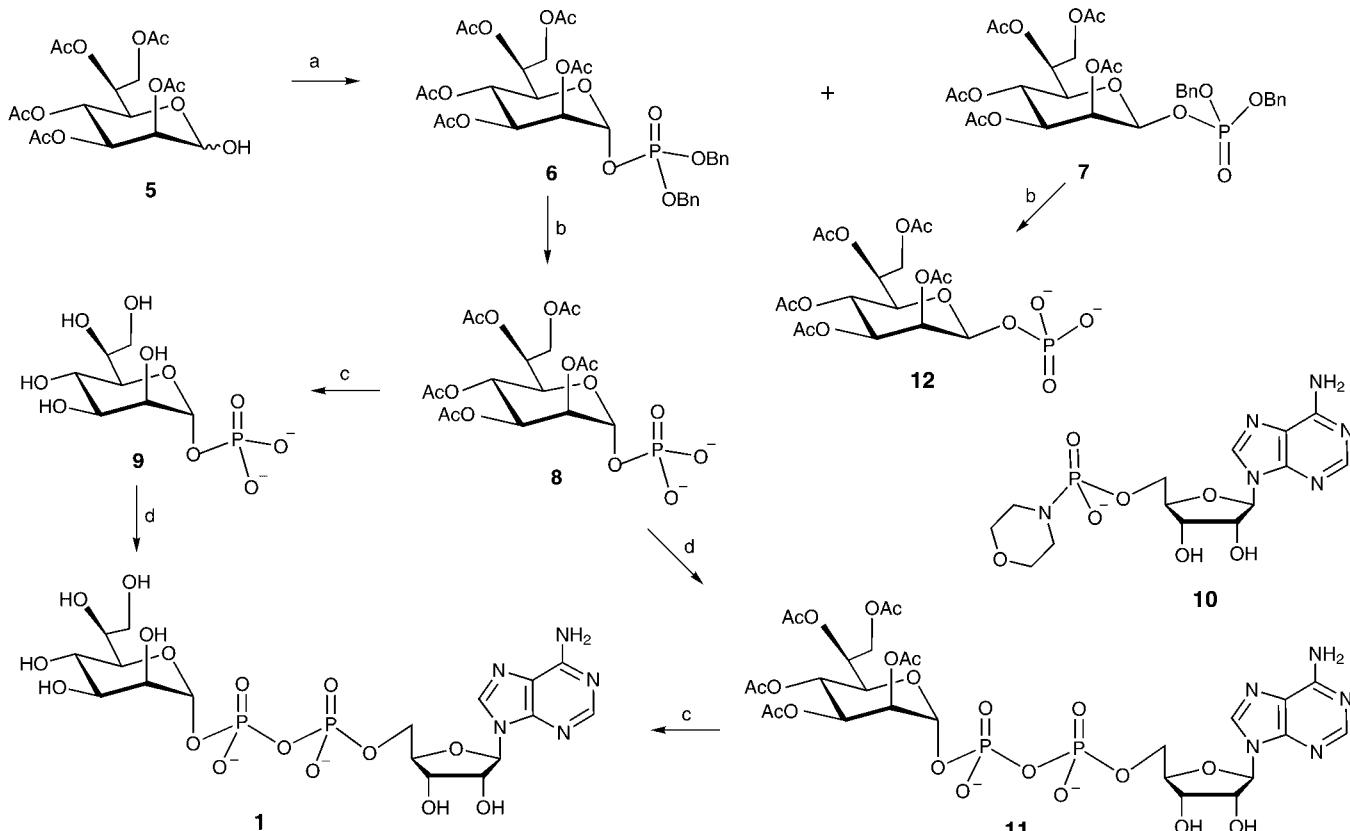
Während die Biosynthese der 3-Desoxy-d-manno-oct-2-ulosonsäure (Kdo) und der Lipid-A-Region von LPS gut untersucht ist, ist die der Heptoseregion, welche L-glycero- und/oder D-glycero-D-manno-Heptose enthält, bisher nicht im Detail beschrieben. Dies gilt sowohl für die Biosynthese dieser Zucker, deren Nucleotide und die Charakterisierung der Heptosyl-Transferasen.^[3–5] Zwar ist bekannt, dass einige Heptosyl-Transferasen ADP-Heptose als Substrat akzeptieren, doch kennt man für das physiologische Nucleotid weder die Konfiguration der Seitenkette noch die des anomeren Zentrums.^[3, 6–8]

Für die Synthese der Glycopyranosyl-1-phosphate^[9] wurde die L-glycero-D-manno-Heptopyranose 5^[10] phosphoryliert^[11] und nachfolgend zu den anomeren Phosphotriestern 6 und 7 im Verhältnis von ca. 9:1 und in 94 % Ausbeute oxidiert (Schema 1). Alternativ dazu gab die Umsetzung von 5 mit N-Tetrazolylbisbenzylphosphoramidit einen erhöhten Anteil an β -Anomer 7.^[12] Durch langsame Zugabe des Phosphitylierungsreagens in Gegenwart von 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) im Überschuss wurden in thermodynamisch und kinetisch kontrollierter Reaktion die beiden anomeren Phosphitriester erhalten. Anschließende In-situ-Oxidation liefer-

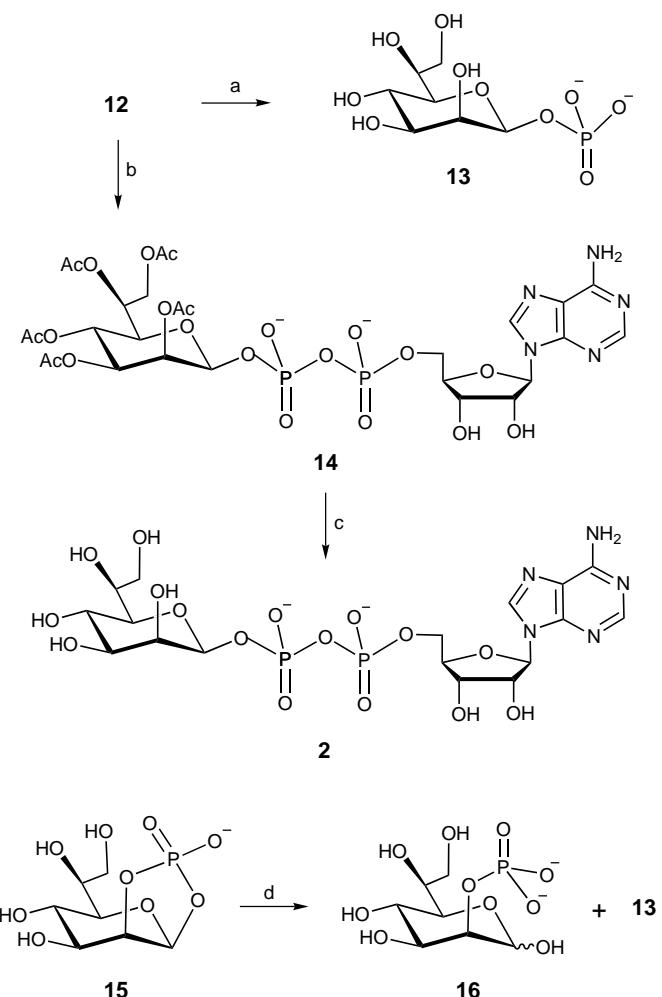
te 6 (56 %) und 7 (34 %). Durch hydrogenolytische Abspaltung der Schutzgruppen wurden 8 und 12, mit nachfolgender Deacetylierung sodann die α - und β -Heptose-1-phosphate 9 und 13 in nahezu quantitativen Ausbeuten erhalten.

Die Ausbeuten für chemische Synthesen von Zuckernucleosiddiphosphaten über die Kupplung eines Zucker-1-phosphats mit einem Nucleosidmonophosphormorpholidat^[13] liegen im Allgemeinen nicht über 25–30 %, obwohl Verbesserungen publiziert wurden.^[14] Die Zielverbindung 1 wurde zunächst durch Kupplung von AMP-Morpholidat 10 mit dem Tributyl- oder Trioctylammoniumsalz von α -Heptosyl-1-phosphat 9 ähnlich der Synthese von GDP-Fucose^[15] hergestellt. Wegen der geringen Löslichkeit dieser Salze in Pyridin konnten jedoch keine homogenen Reaktionsbedingungen erzielt werden. ADP-L-glycero- α -D-manno-Heptopyranose 1 wurde lediglich in 15 % Ausbeute erhalten und 9 zu 60 % zurückgewonnen. Dagegen lieferte die Kupplung des löslichen Monotriethylammoniumsalzes des O-acetylierten Heptosylphosphats 8 mit 10 ADP-Per-O-acetyl-L-glycero- α -D-manno-heptopyranose 11 in 90 % Ausbeute nach Reinigung durch Anionenaustauschchromatographie. Anschließende Deacetylierung von 11 mit MeOH/H₂O/Et₃N lieferte direkt nach Gefrierrocknung die ADP-Heptose 1 in 99 % Ausbeute. Die Gesamtausbeute für die Herstellung von 1 ausgehend von 5 betrug damit 76 %.

Die β -konfigurierte ADP-Heptose 2 wurde in analoger Weise hergestellt (Schema 2). Die Kupplung des β -Heptosyl-1-phosphats 12 mit AMP-Morpholidat 10 lieferte in hoher



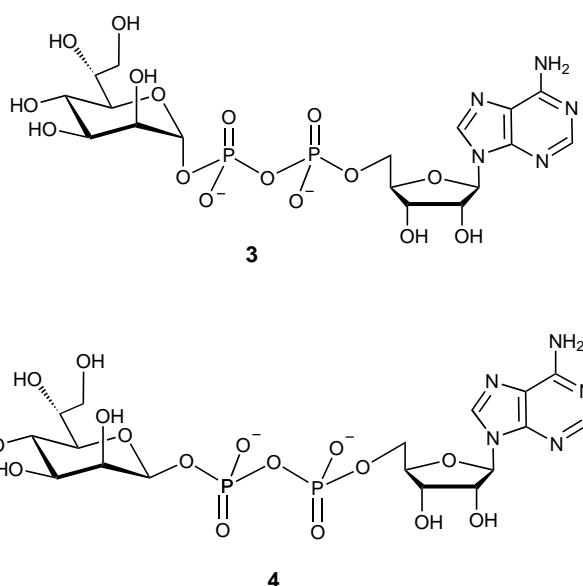
Schema 1. a) Methode A: (BnO)₂NiPr₂, 1*H*-Tetrazol, CH₂Cl₂, dann *t*BuOOH (6: 85%; 7: 9%); Methode B: DMAP, Tetrazolyl-NP(OBn)₂, CH₂Cl₂/MeCN, 1/1, dann *t*BuOOH (6: 56%; 7: 34%); b) Pd/C, H₂, MeOH, Et₃N, 99%; c) MeOH/H₂O/Et₃N (3.5/1.5/0.5), RT, 98%; d) 4'-Morpholin-N,N'-dicyclohexylcarboxamidiniumsalz von 10, Pyridin (9 → 1: 15%; 8 → 11: 90%).



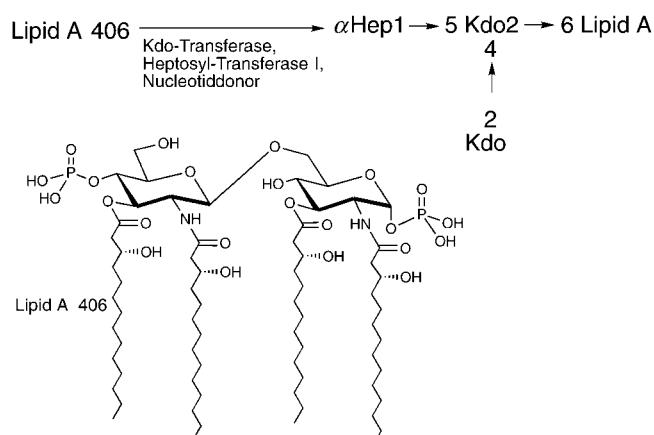
Schema 2. a) Pd/C, H₂, MeOH, Et₃N, 98%; b) 4'-Morpholin-N,N'-dicyclohexylcarboxamidiniumsalz von **10**, Pyridin, 90%; c) MeOH/0.1M Et₃NH⁺HCO₃⁻/Et₃N (3/4/0.15), -30°C, 80%; d) 1M NaOH.

Ausbeute (90%) die geschützte ADP-Heptose **14**. Versuche, die Acetatgruppen von **14** mit aq. NH₃ oder MeOH/H₂O/Et₃N bei pH 12–13 abzuspalten, führten jedoch unter Freisetzung von AMP zur Bildung des cyclischen 1,2-Phosphats **15**. Die Strukturzuordnung für **15** erfolgte auf der Grundlage des ³¹P-NMR-Signals ($\delta = 17.8$), des ¹³C-NMR-Signals für C-2 ($\delta = 79.5$) und der nachfolgenden Hydrolyse mit 1M NaOH, die zu einem nahezu 1:1-Gemisch aus dem Heptose-2-phosphat **16** und dem β -Heptosyl-1-phosphat **13** führte. Die Deacetylierung von **14** mit MeOH/0.1M aq. Et₃NH⁺HCO₃⁻/Et₃N (pH 10–11) bei -30°C gab hingegen **2** als Hauptkomponente (80%). Durch Anionenaustauschchromatographie des Rohprodukts an Bio-Rad-High-Q-Harz wurde **15** abgetrennt, restliches AMP wurde durch Gelchromatographie an einer Superdex-Peptide-Säule entfernt. Das Diphosphat **2** zersetzt sich langsam bei Raumtemperatur und pH 5 (30% Abbau nach 10 Tagen).

Die ADP-Heptosen **3** und **4** mit D-glycero-D-manno-Konfiguration wurden durch Phosphitylierung mit Tetrazolyl-NP(OBn)₂ in guten Gesamtausbeuten (50 bzw. 24%, bezogen auf die Ausgangsverbindung Penta-O-acetyl-D-glycero-D-manno-heptose^[16]) synthetisiert.



Die Verbindungen **1–4** wurden sodann in einer gekoppelten In-vitro-Reaktion eingesetzt, in der zwei Kdo-Einheiten und eine Heptose sequentiell durch eine Kdo-Transferase und die Heptosyl-Transferase I aus *E. coli* auf synthetisches Lipid A 406^[17] als Acceptor übertragen wurden (Schema 3). Beide Enzyme wurden als rekombinante Proteine eingesetzt,



Schema 3. In-vitro-Ansatz mit synthetischem Lipid A 406, rekombinanter Kdo-Transferase und rekombinanter Heptosyl-Transferase I aus *E. coli*.

die in einem Gram-positiven Wirt – ohne Gene für die LPS-Biosynthese – exprimiert wurden. Die Reaktionsprodukte wurden nach dünnenschichtchromatographischer Trennung und „Blotting“ mit dem monoklonalen Antikörper S36-20 detektiert, der Rd₂-Typ-LPS erkennt.^[18] Da dieser Antikörper nicht an LPS ohne Heptose, aber auch nicht an LPS mit zwei Heptoseresten bindet, belegen die Daten eindeutig, dass nur eine Heptoseeinheit übertragen wurde. Ähnliche Ergebnisse wurden mit einem natürlichen Donor aus einem Bakterienextrakt^[19] (Abbildung 1, Spur 1) und synthetischer ADP-D-glycero- β -D-manno-Heptose **2** (Spur 2) erhalten. Inkubation der Reaktionsmischung mit ADP-D-glycero- β -D-manno-Heptose **4** führte ebenfalls zu Produktbildung, allerdings wurden

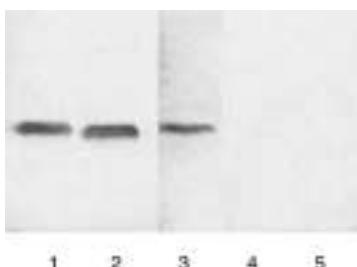


Abbildung 1. Immunoblot der Reaktionsprodukte der Heptosyl-Transferase I aus *E. coli* mit ADP-L-glycero-D-manno-Heptose unbekannter anomerer Konfiguration aus einem natürlichen Extrakt^[19] (Spur 1), mit ADP-L-glycero-β-D-manno-Heptose **2** (0.1 mM; Spur 2), mit ADP-D-glycero-β-D-manno-Heptose **4** (1 mM; Spur 3), mit ADP-L-glycero-α-D-manno-Heptose **1** (1 mM; Spur 4) und mit ADP-D-glycero-α-D-manno-Heptose **3** (1 mM; Spur 5) als Zuckernucleotiddonor. Die Reaktionsprodukte wurden dünnenschichtchromatographisch getrennt, geblottet und mit einem monoklonalen Antikörper detektiert, der mit Rd₂-Typ-LPS^[18] reagiert.

mehr als zehnfache Konzentrationen an Donor im Vergleich zur Reaktion mit **2** benötigt (Spur 3). Weder ADP-L-glycero-α-D-manno-Heptose **1** noch ADP-D-glycero-α-D-manno-Heptose **3** waren Substrate für die Heptosyl-Transferase I (Spur 4 bzw. 5). Die Heptosyl-Transferase II wies die gleiche Nucleotidspezifität auf (Daten nicht gezeigt).

Den hier beschriebenen Ergebnissen zufolge ist ADP-L-glycero-β-D-manno-Heptose der physiologische Zuckernucleotiddonor der Heptosyl-Transferasen aus *E. coli*. ADP-D-glycero-β-D-manno-Heptose ist ebenfalls ein Substrat – in Übereinstimmung mit dem Befund, dass Deletionsmutanten der ADP-L-glycero-D-manno-Heptose-6-Epimerase (gmhD) D-glycero-D-manno-Heptose einbauen.^[20] Der präparative Zugang unter Verwendung partiell acetylierter Zuckerphosphate im Kupplungsschritt liefert die Produkte in ausgezeichneten Ausbeuten, gestattet eine wirkungsvolle Reinigung und ist ebenso gut für die Synthese anderer Zuckernucleosiddiphosphate anwendbar. Dies sollte generell Untersuchungen mit Glycosyl-Transferasen erleichtern, im Besonderen aber biosynthetische Studien an LPS, die L-glycero- und D-glycero-D-manno-Heptosen enthalten.

Experimentelles

1 (Et₃NH-Salz): $[\alpha]_D^{20} = +4.5$ ($c = 1$ in H₂O); ¹H-NMR (300 MHz, pD 5, D₂O): $\delta = 8.51$ (s, 1H; H-8^{Ade}), 8.26 (s, 1H; H-2^{Ade}), 6.14 (d, ³J(1,2) = 6.0 Hz, 1H; H-1^{Rib}), 5.51 (dd, ³J(1,2) = 1.9, ³J(1,P) = 7.4 Hz, 1H; H-1^{Hep}), 4.75 (m, 1H; H-2^{Rib}), 4.52 (dd, ³J(2,3) = 3.5, ³J(3,4) = 5.1 Hz, 1H; H-3^{Rib}), 4.39 (m, 1H; H-4^{Rib}), 4.22 (m, 2H; H-5a,5b^{Rib}), 4.02 (dd, ³J(2,3) = 3.2 Hz, 1H; H-2^{Hep}), 3.99 (m, 1H; H-6^{Hep}), 3.94–3.80 (m, 3H; H-3, H-4, H-5^{Hep}), 3.73 (dd, ²J(7a,7b) = 11.6, ³J(6,7a) = 6.2 Hz, 1H; H-7a^{Hep}), 3.64 (dd, ³J(6,7b) = 7.1 Hz, 1H; H-7b^{Hep}), 3.19 (q, 6H; CH₂N), 1.26 (t, 9H; Me); ¹³C-NMR: $\delta = 156.50$ (C-6^{Ade}), 153.64 (C-2^{Ade}), 150.15 (C-4^{Ade}), 140.92 (C-8^{Ade}), 119.71 (C-5^{Ade}), 97.62 (C-1^{Hep}, ²J(C-1,P) = 6.0 Hz), 87.92 (C-1^{Rib}), 84.95 (C-4^{Rib}, ³J(C-4,P) = 9.0 Hz), 75.36 (C-2^{Rib}), 73.09 (C-5^{Hep}), 71.43 (C-3^{Rib}), 71.35 (C-3^{Hep}), 71.19 (C-2^{Hep}), 69.63 (C-6^{Hep}), 66.97 (C-4^{Hep}), 66.25 (C-5^{Hep}, ²J(C-5,P) = 5.0 Hz), 63.49 (C-7^{Hep}); ¹J(C-1,H-1) = 174.0 Hz; ³¹P-NMR: $\delta = -10.7$ (d, P^{Rib}, ²J(P,P) = 21.1 Hz), -13.1 (d, P^{Hep}); Negativ-Ionen-MALDI-TOF-MS: m/z : 618.31 (ber. für C₁₇H₂₇N₅O₁₆P₂ [M - H]⁻: 618.36); Elementaranalyse (%): ber. für C₁₇H₂₇N₅O₁₆P₂ · N(C₂H₅)₃ · 0.5H₂O (756.605): C 37.87, H 5.99, N 11.52; gef.: C 38.08, H 6.13, N 11.07.

2 (Et₃NH-Salz): $[\alpha]_D^{20} = -31$ ($c = 0.3$ in H₂O); ¹H-NMR (300 MHz, D₂O, pD 4.7): $\delta = 8.60$ (s, 1H; H-8^{Ade}), 8.37 (s, 1H; H-2^{Ade}), 6.18 (d, ³J(1,2) = 5.8 Hz, 1H; H-1^{Rib}), 5.23 (dd, ³J(1,2) = 1.0, ³J(1,P) = 8.5 Hz, 1H; H-1^{Hep}), 4.75 (m, 1H; H-2^{Rib}), 4.50 (dd, ³J(2,3) = 3.8, ³J(3,4) = 4.9 Hz, 1H; H-3^{Rib}),

4.42 (m, 1H; H-4^{Rib}), 4.25 (m, 2H; H-5a,5b^{Rib}), 4.07 (dd, ³J(2,3) = 3.2 Hz, 1H; H-2^{Hep}), 3.95 (m, 1H; H-6^{Hep}), 3.82 (dd, ³J(3,4) = ³J(4,5) = 9.7 Hz, 1H; H-4^{Hep}), 3.87–3.67 (m, 2H; H-7a,7b^{Hep}), 3.67 (dd, 1H; H-3^{Hep}), 3.37 (dd, ³J(5,6) = 1.7 Hz, 1H; H-5^{Hep}), 3.20 (m, 6H; CH₂N), 1.28 (t, 9H; Me); ¹³C-NMR (75.47 MHz): $\delta = 156.75$ (C-6^{Ade}), 153.99 (C-2^{Ade}), 150.23 (C-4^{Ade}), 140.89 (C-8^{Ade}), 119.80 (C-5^{Ade}), 96.89 (C-1^{Hep}, ²J(C-1,P) = 4.8 Hz), 87.84 (C-1^{Rib}), 84.88 (C-4^{Rib}, ³J(C-4,P) = 8.7 Hz), 76.04 (C-5^{Hep}), 75.34 (C-2^{Rib}), 73.72 (C-3^{Hep}), 71.73 (C-2^{Hep}), 71.49 (C-3^{Rib}), 69.71 (C-6^{Hep}), 66.66 (C-4^{Hep}), 66.35 (C-5^{Hep}, ²J(C-5,P) = 5.8 Hz), 63.40 (C-7^{Hep}); ¹J(C-1,H-1) = 163.3 Hz; ³¹P-NMR: $\delta = -10.8$ (d, P^{Rib}, ²J(P,P) = 20.8 Hz), -12.8 (d, P^{Hep}); Negativ-Ionen-MALDI-TOF-MS: m/z : 618.63 (ber. für C₁₇H₂₇N₅O₁₆P₂ [M - H]⁻: 618.36).

Die enzymatischen In-vitro-Ansätze zum Test des Transfers der α - und β -konfigurierten ADP-Heptosen **1–4** mit Heptosyl-Transferase I aus *E. coli* wurden im Wesentlichen wie in Lit. [6a, 21] beschrieben durchgeführt.

Eingegangen am 12. April 2000 [Z 14981]

- [1] C. R. H. Raetz, *Annu. Rev. Biochem.* **1990**, *59*, 129–170.
- [2] O. Holst in *Endotoxin in Health and Disease* (Hrsg.: H. Brade, S. M. Opal, S. N. Vogel, D. C. Morrison), Marcel Dekker, New York, **1999**, S. 115–154, zit. Lit.
- [3] a) D. E. Heinrichs, C. Whitfield, M. A. Valvano in *Endotoxin in Health and Disease* (Hrsg.: H. Brade, S. M. Opal, S. N. Vogel, D. C. Morrison), Marcel Dekker, New York, **1999**, S. 305–330; b) T. Kontrohr, B. Kocsis, *J. Chromatogr.* **1986**, *354*, 417–423; c) B. Kocsis, T. Kontrohr, *J. Biol. Chem.* **1984**, *259*, 11858–11860.
- [4] P. D. Rick, C. R. H. Raetz in *Endotoxin in Health and Disease* (Hrsg.: H. Brade, S. M. Opal, S. N. Vogel, D. C. Morrison), Marcel Dekker, New York, **1999**, S. 283–304.
- [5] a) J. S. Brooke, M. A. Valvano, *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 3608–3614; b) L. Ding, B. L. Seto, S. A. Ashraf Ahmed, W. G. Coleman, *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 24384–24390.
- [6] a) J. L. Kadrmas, C. R. H. Raetz, *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 2799–2807; b) J. L. Kadrmas, K. A. Brozek, C. R. H. Raetz, *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 32119–32125.
- [7] H. Paulsen, M. Pries, J. P. Lorentzen, *Liebigs Ann. Chem.* **1994**, 389–397.
- [8] D. M. Sirisena, K. A. Brozek, P. R. MacLachlan, K. E. Sanderson, C. R. H. Raetz, *J. Biol. Chem.* **1992**, *267*, 18874–18884.
- [9] Weitere Beispiele: a) B. M. Heskamp, H. J. G. Broxterman, G. A. van der Marel, J. H. van Boom, *J. Carbohydr. Chem.* **1996**, *15*, 611–622; b) H. A. Nunez, J. V. O'Connor, P. R. Rosevear, R. Barker, *Can. J. Chem.* **1981**, *59*, 2086–2095; c) A. Eßwein, R. R. Schmidt, *Liebigs Ann. Chem.* **1988**, 675–678; d) T. Müller, G. Hummel, R. R. Schmidt, *Liebigs Ann. Chem.* **1993**, 325–329.
- [10] a) J. S. Brimacombe, A. K. M. S. Kabir, *Carbohydr. Res.* **1986**, *162*, 329–334; b) S. A. Nepogod'ev, L. V. Backinowsky, B. Grzeszczyk, A. Zamojski, *Carbohydr. Res.* **1994**, *254*, 43–60.
- [11] W. Bannwarth, A. Trzeciak, *Helv. Chim. Acta* **1987**, *70*, 175–186.
- [12] Die Phosphorylierung von **5** mit Diphenylchlorophosphat (S. Sabesan, S. Neira, *Carbohydr. Res.* **1992**, *223*, 169–185) lieferte als Hauptprodukt (85 %) den β -Phosphotriester.
- [13] a) S. Roseman, J. J. Distler, J. G. Moffatt, H. G. Khorana, *J. Am. Chem. Soc.* **1961**, *83*, 659–663; b) J. G. Moffatt, H. G. Khorana, *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, *80*, 3756–3761.
- [14] a) V. Wittmann, C.-H. Wong, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 2144–2147; b) H. Yuasa, M. M. Palicic, O. Hindsgaul, *Can. J. Chem.* **1995**, *73*, 2190–2195.
- [15] U. B. Gokhale, O. Hindsgaul, M. M. Palicic, *Can. J. Chem.* **1990**, *68*, 1063–1071.
- [16] K. Dzwiewska, A. Zamojski, *Carbohydr. Res.* **1986**, *150*, 163–171.
- [17] M. Imoto, H. Yoshimura, M. Yamamoto, T. Shimamoto, S. Kusumoto, T. Shiba, *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 2667–2670.
- [18] A. Swierzko, L. Brade, W. Brabetz, K. Zych, H. Paulsen, H. Brade, *J. Endotoxin Res.* **1994**, *1*, 38–44.
- [19] W. Brabetz, S. Müller-Loennies, O. Holst, H. Brade, *Eur. J. Biochem.* **1997**, *247*, 716–724.
- [20] W. G. Coleman Jr., L. Leive, *J. Bacteriol.* **1979**, *139*, 899–910.
- [21] S. Löbau, U. Mamat, W. Brabetz, H. Brade, *Mol. Microbiol.* **1995**, *18*, 391–399.