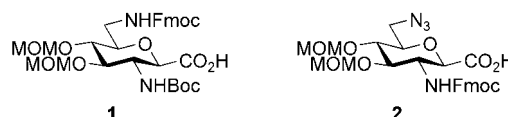


mann et al.^[8] eignen sich monomere SAAs mit rigidem Pyranring zur Positionierung funktioneller Pharmakophore in einer gewünschten räumlichen Anordnung durch Anknüpfung an Hydroxy-, Amino- und Carboxygruppen. Lineare und cyclische Oligomere von SAAs wurden unter Anwendung etablierter Methoden der Peptidchemie synthetisiert und bilden in bestimmten Fällen definierte Sekundärstrukturen aus.^[3,5] Zuckeraminosäuren mit einer zusätzlichen Aminogruppe, d.h. Zuckerdiaminosäuren, wären eine attraktive Erweiterung dieses Konzepts und ermöglichen den Zugang zu neuartigen verzweigten oligomeren Strukturen.^[9] Ihre Synthese wurde bisher jedoch noch nicht beschrieben.

Wir berichten hier über die geschützten Derivate **1** und **2** der 2,6-Diamino-2,6-didesoxy- β -D-glucopyranosylcarbonsäure



re als erste Beispiele für Zuckerdiaminosäuren (sugar diamino acids, SDAs), die sich zur Peptidsynthese nach konventioneller Fmoc-Strategie (Fmoc = 9-Fluorenylmethoxycarbonyl) in Lösung und an fester Phase eignen. Im Vergleich zu SAAs kann die zusätzliche Aminogruppe zur Bildung verzweigter amidverknüpfter Oligosaccharidmimetika herangezogen werden. Darüber hinaus bilden oligomere SDAs mit ungeschützten Aminogruppen eine neue Klasse potenzieller Aminoglycosidmimetika.^[10] Derartige Strukturen sind von großem Interesse als mögliche Liganden neuer RNA-Targets des Post-Genom-Zeitalters.^[11]

Während das Schutzgruppenmuster der SDA **1** für den Aufbau linearer Oligomere über die Aminogruppe in der 6-Position^[12] nach der Fmoc-Strategie konzipiert wurde, kann die SDA **2** zur Synthese verzweigter Strukturen herangezogen werden, da beide Aminogruppen mit der Fmoc-Gruppe bzw. als Azid orthogonal geschützt sind. Zum Schutz der Alkohole entschieden wir uns für Methoxymethyl(MOM)-Gruppen, da diese klein und zusammen mit Boc-Gruppen unter sauren Bedingungen einfach abzuspalten sind und darüber hinaus benachbarte Nucleophile nicht deaktivieren, wie dies von elektronenziehenden Acyl- oder sterisch anspruchsvollen Benzylschutzgruppen^[3] bekannt ist. Außerdem ermöglichen geschützte Hydroxygruppen bei Peptidkupplungen den Einsatz eines großen Überschusses an aktivierter Aminosäure – einer typischen Vorgehensweise bei der Festphasenpeptidsynthese.

Die SDA **1** wurde ausgehend von literaturbekanntem Glycosylcyanid **3**^[13] synthetisiert (Schema 1). Nach *O*-Desacetylierung wurde das Triol **4** regioselektiv an der 6-Position tosyliert. Nucleophile Substitution mit Natriumazid ergab **5** in einer Ausbeute von 86 % über drei Schritte. Einführung der MOM-Gruppen durch Behandlung mit Dimethoxymethan und P_2O_5 ^[14] (um toxisches MOM-Cl zu vermeiden) führte zu **6**. Die ursprünglich geplante simultane Hydrolyse von Nitril und Acetamid unter basischen Bedingungen mit wässrigem $Ba(OH)_2$ war nicht möglich. Unter diesen Bedingungen stoppte die Reaktion auf der Stufe des Acetamidocarboxylats

Kohlenhydratmimetika

Orthogonal geschützte Zuckerdiaminosäuren als Bausteine für lineare und verzweigte Oligosaccharidmimetika**

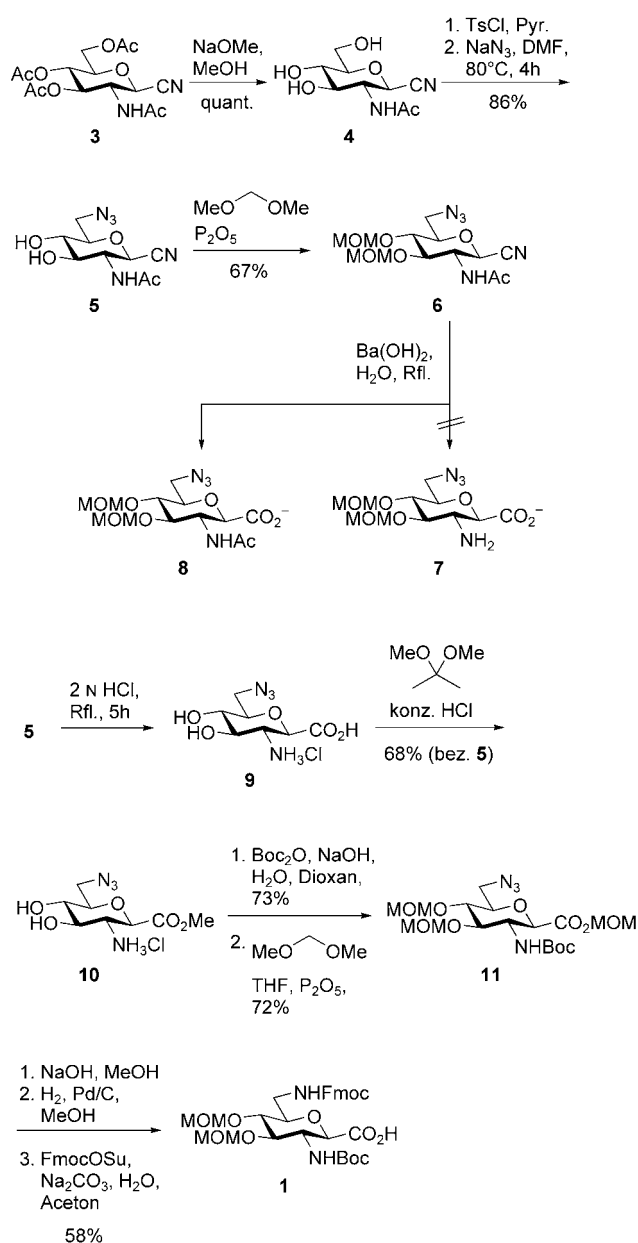
Frank Sicherl und Valentin Wittmann*

Zuckeraminosäuren (sugar amino acids, SAAs)^[1] sind Kohlenhydratderivate mit direkt an das Kohlenhydratgerüst geknüpften Amino- und Carboxygruppen. Sie haben breite Anwendung als Bausteine von Oligosaccharid-^[2,3] und Peptidmimetika,^[4,5] als Sekundärstruktur-induzierende Elemente und als Gerüste zur Pharmakophor-Präsentation^[6] bei der Erzeugung kombinatorischer Bibliotheken^[7] gefunden. Aufbauend auf den richtungsweisenden Arbeiten von Hirsch-

[*] Dipl.-Chem. F. Sicherl, Prof. Dr. V. Wittmann
Fachbereich Chemie
Universität Konstanz
Fach M 709, 78457 Konstanz (Deutschland)
Fax: (+49) 7531-88-4573
E-mail: mail@valentin-wittmann.de

[**] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (SFB 579, „RNA-Liganden-Wechselwirkungen“) unterstützt. Wir danken dem Sprecher des SFB 579, Prof. Joachim W. Engels, für seine Unterstützung und der Aventis AG für die Überlassung einer HPLC-Anlage.

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



Schema 1. Synthese der SDA 1; Rfl. = Rückfluss.

8. Die Verwendung anderer Basen wie methanolischer KOH oder wässriger NaOH führte entweder zum selben Ergebnis oder aber zu kompletter Zersetzung. Schließlich gelang die erfolgreiche Hydrolyse von Amid und Nitril durch Rückflusserhitzen von **5** in 2 N wässriger HCl unter Bildung der freien Aminosäure **9**. Um deren Reinigung zu erleichtern, wurde der Methylester **10** durch Behandlung mit Dimethoxypropan und HCl gebildet. Die Schützung der Aminofunktion von **10** mit der Boc-Gruppe erfolgte unter gleichzeitiger Spaltung des Methylesters. Installation der MOM-Schutzgruppen unter den oben erwähnten Bedingungen führte zu **11**, dessen MOM-Ester mit NaOH gespalten wurde. Hydrogenolyse des Azids und Schützen des entstehenden Amins mit der Fmoc-Gruppe ergab schließlich den SDA-Baustein **1** (Tabelle 1).

Tabelle 1: Ausgewählte physikalische Eigenschaften der Verbindungen **1**, **2**, **19** und **20**.

1: Weißer amorpher Feststoff; $R_f = 0.24$ (Silica, MeOH/CH₂Cl₂ 9:1); ¹H-NMR (600 MHz, DMSO, 300 K, TMS) (Hauptkonformation): $\delta = 7.87$ (d, $J = 7.4$ Hz, 2 H, Arene), 7.68 (m, 2 H, Arene), 7.38–7.40 (m, 3 H, Arene, NH-Fmoc), 7.29–7.32 (m, 2 H, Arene), 6.86 (br.s, 1 H, NH-Boc), 4.75 (d, $J = 6.4$ Hz, 1 H, O-CH₂-O), 4.62–4.65 (m, 3 H, O-CH₂-O), 4.11–4.24 (m, 3 H, H-9^{Fmoc}, CH₂^{Fmoc}), 3.64 (m, 1 H, H-1), 3.55 (m, 1 H, H-2), 3.55 (m, 1 H, H-3), 3.51 (m, 1 H, H-6), 3.30 (s, 3 H, O-CH₃), 3.26 (s, 3 H, O-CH₃), 3.24 (m, 1 H, H-5), 3.23 (m, 1 H, H-4), 3.00 (m, 1 H, H-6'), 1.33 ppm (s, 9 H, C(CH₃)₃); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO, 300 K, TMS): $\delta = 171.1$ (COOH), 156.4 (C=O), 155.0 (C=O), 143.9, 140.8, 127.7, 127.2, 125.3, 120.2 (Arene), 97.9 (O-CH₂-O), 97.3 (O-CH₂-O), 81.3 (C-3), 79.2 (CMe₃), 78.3 (C-1), 77.8 (C-5), 77.1 (C-4), 65.6 (CH₂^{Fmoc}), 56.0 (O-CH₃), 55.5 (O-CH₃), 53.8 (C-2), 46.7 (CH^{Fmoc}), 42.0 (C-6), 28.3 ppm (C(CH₃)₃); MS (MALDI-TOF), ber. für C₃₁H₄₀N₂NaO₁₁ [$M+Na^+$]: 639.25, gef.: 639.5.

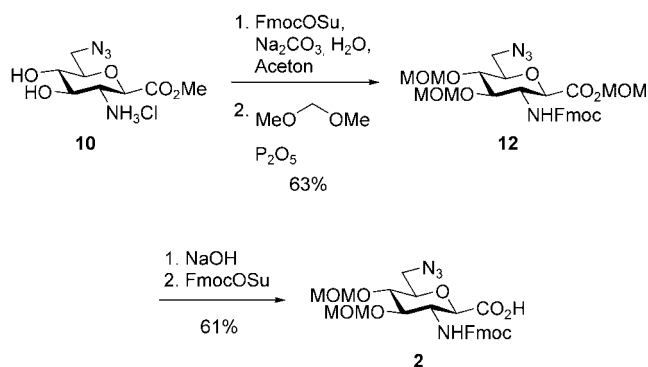
2: Weißer amorpher Feststoff; $R_f = 0.63$ (Silica, H₂O/MeCN 1:4); ¹H-NMR (600 MHz, DMSO, 300 K, TMS): $\delta = 7.86$ (m, 2 H, Arene), 7.69 (d, $J = 7.4$ Hz, 1 H, Arene), 7.66 (d, $J = 7.4$ Hz, 1 H, Arene), 7.46 (d, 1 H, NH), 7.39 (m, 2 H, Arene), 7.30 (m, 2 H, Arene), 4.72 (d, $J = 6.5$ Hz, 1 H, O-CH₂-O), 4.59 (d, $J = 6.5$ Hz, 1 H, O-CH₂-O), 4.57 (d, $J = 6.5$ Hz, 1 H, O-CH₂-O), 4.53 (d, $J = 6.5$ Hz, 1 H, O-CH₂-O), 4.29 und 4.20 (2 m, 2 H, CH₂^{Fmoc}), 4.15 (m, 1 H, H-9^{Fmoc}), 3.73 (d, $J = 10.0$ Hz, 1 H, H-1), 3.61 (m, 1 H, H-2), 3.55 (m, 1 H, H-3), 3.54 und 3.45 (2 m, 2 H, H-6), 3.38 (m, 1 H, H-4), 3.33 (m, 1 H, H-5), 3.27 (s, 3 H, O-CH₃), 3.09 ppm (s, 3 H, O-CH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO, 300 K, TMS): $\delta = 170.9$ (COOH), 155.8 (C=O^{Fmoc}), 144.0, 143.8, 140.8, 127.6, 127.1, 125.3, 120.1 (Arene), 97.9 (O-CH₂-O), 97.3 (O-CH₂-O), 81.3 (C-3), 79.2 (C-1), 77.5 (C-5), 76.9 (C-4), 65.4 (CH₂^{Fmoc}), 55.9 (O-CH₃), 55.4 (O-CH₃), 54.2 (C-2), 51.0 (C-6), 46.7 ppm (CH^{Fmoc}); MS (MALDI-TOF), ber. für C₂₆H₃₀N₄NaO₉ [$M+Na^+$]: 565.19, gef.: 565.4.

19: HRMS (MALDI-FTICR), ber. für C₈₃H₁₁₀N₈O₂₇: 1673.73730 [$M+Na^+$], gef.: 1673.73587, $\Delta m = 0.8$ ppm.

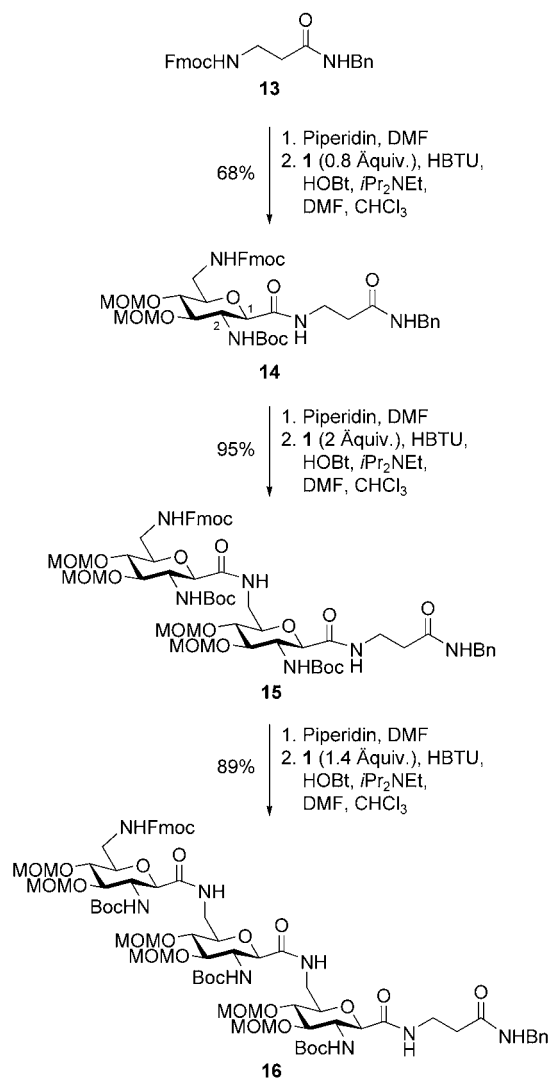
20: HRMS (ESI-FTICR, MeCN/H₂O), ber. für C₃₁H₅₀N₈O₁₃: 743.35696 [$M+H^+$], gef.: 743.35563, $\Delta m = 1.8$ ppm.

SDA **2** wurde ausgehend von Methylester **10** synthetisiert (Schema 2). Temporäre Maskierung der 2-Aminofunktion und anschließende Einführung der MOM-Gruppen ergab **12**, das mit NaOH behandelt wurde. Wiedermaskierung der 2-Aminofunktion führte zu Baustein **2**.

Schema 3 zeigt die Anwendung des SDA-Bausteins **1** in der Peptidsynthese des Aminoglycosidmimetikums **16** nach



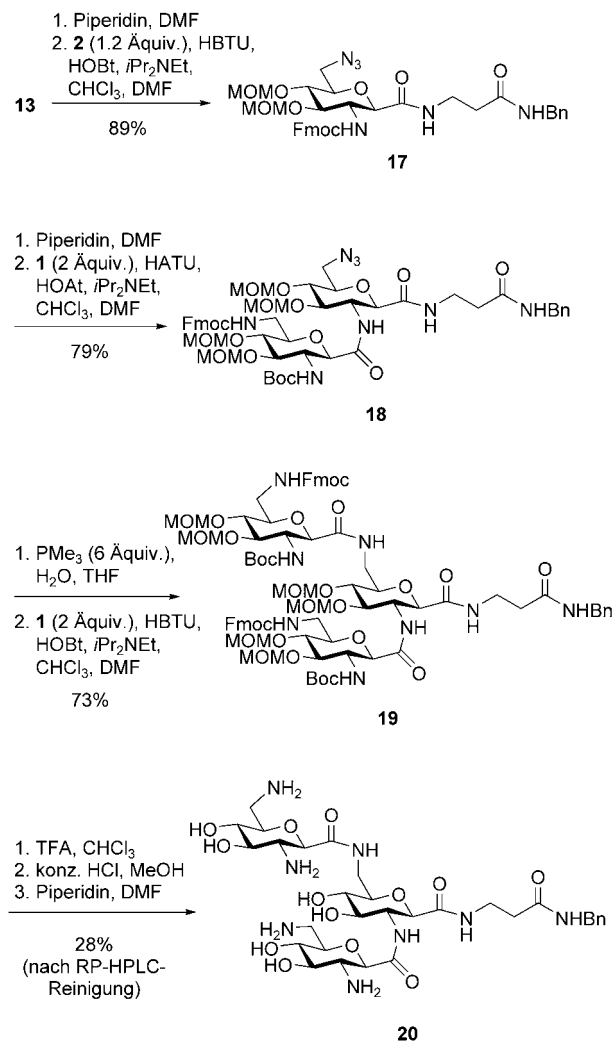
Schema 2. Synthese der SDA 2.



Scheme 3. Synthese des linearen Oligomers **16**; Bn = Benzyl.

Standard-Fmoc-Protokoll. Wir führten die Synthese in Lösung aus, um den Verlauf jedes Schritts verfolgen zu können. Ausgehend von β -Alaninamid **13** ergab die schrittweise Kupplung von **1** unter Verwendung von 2-(1*H*-Benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium-hexafluorphosphat (HBTU) und 1-Hydroxy-1*H*-benzotriazol (HOBT) als Kupplungsreagentien in sechs Schritten das lineare Pseudotrisaccharid **16**. Bei Einsatz eines Überschusses an SDA-Baustein **1** verliefen die Peptidkupplungen glatt ohne erkennbare Nebenprodukte gemäß DC-Kontrolle in Ausbeuten bis zu 95 % nach Säulenchromatographie. Die Integrität der Chiralität an C- α der Zuckerdiaminosäuren wurde durch ¹H-NMR-Spektroskopie (z. B. **14**: $\delta_{\text{H-1}} = 3.56$ ppm, $^3J_{\text{H-1,H-2}} = 9.8$ Hz) verifiziert.

Die Verwendung der orthogonal geschützten SDA **2** zur Synthese des verzweigten Oligomers **20** wird in Schema 4 beschrieben. Nach Kupplung von **2** an β -Alaninamid **13** wurde die 2-Aminogruppe durch Behandlung mit Piperidin freigelegt. Kupplung der SDA **1** an dieses sterisch gehinderte Amin erfolgte mit einer Ausbeute von 79 % nach Säulenchromatographie an Kieselgel unter Bildung von **18**. In



Scheme 4. Synthese des verzweigten Oligomers **20**.

diesem Fall wurden *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium-hexafluorphosphat (HATU) und 1-Hydroxy-7-aza-1*H*-benzotriazol (HOAt) als Kupplungsreagentien eingesetzt. Reduktion des Azids in Gegenwart der hydrogenolytisch labilen Fmoc-Gruppe gelang unter Staudinger-Bedingungen.^[15] Anschließende Kupplung mit **1** führte zum verzweigten Oligomer **19** in einer Ausbeute von 73 % über zwei Schritte. Die Totalentschüttung von **19** wurde in drei Schritten ausgeführt. Behandlung mit TFA/CHCl₃ (1:1) bewirkte komplette Boc-Entfernung und partielle Spaltung der MOM-Gruppen, die durch Zugabe einer kleinen Menge Wasser vervollständigt werden konnte. Ein einheitlicheres Produkt wurde jedoch durch Entfernung der MOM-Gruppen mit konz. HCl in Methanol erhalten. Schließlich wurden die Fmoc-Gruppen durch Behandlung mit Piperidin in DMF entfernt und das gebildete **20** durch RP-HPLC mit zugesetztem Ionenpaar-Reagens Pentafluorpropionsäure gereinigt.^[16] **20** ist das erste Zuckeramino-säure-Oligomer, in dem eine Verzweigung über zwei Amidbindungen erreicht wird.

Zusammenfassend haben wir die divergente Synthese der SDA-Bausteine **1** und **2** und ihre Anwendung zum effizienten Aufbau der Oligosaccharidmimetika **16** und **20** vorgestellt,

die erste Beispiele einer neuen Klasse von Aminoglycosidmimetika sind. Das Schutzgruppenmuster von **1** und **2** ist mit konventioneller Fmoc-Festphasenpeptidsynthese kompatibel und beinhaltet die Option, verzweigte Strukturen zu erzeugen. Zukünftige Anwendungen schließen den Einsatz von SDA-Bausteinen zum Aufbau kombinatorischer Bibliotheken von Aminoglycosidmimetika ein. Da sich SDAs auf unterschiedliche Weisen miteinander verknüpfen lassen, lässt sich bereits mit einem kleinen Satz unterschiedlicher Zuckerdiaminosäuren ein hohes Maß an Diversität erzeugen.

Eingegangen am 12. November 2004

Online veröffentlicht am 25. Februar 2005

Stichwörter: Aminoglycoside · Aminosäuren · C-Glycoside · Kohlenhydrate · Peptide

- [1] Übersichten: a) T. K. Chakraborty, P. Srinivasu, S. Tapadar, B. K. Mohan, *J. Chem. Sci.* **2004**, *116*, 187–207; b) E. Gräfin von Roeder, M. A. Born, M. Stöckle, H. Kessler in *Methods of Organic Chemistry (Houben-Weyl)*, Vol. E22c (Hrsg.: M. Goodman, A. Felix, L. Moroder, C. Toniolo), Thieme, Stuttgart, **2003**, S. 807–821; c) S. A. W. Gruner, E. Locardi, E. Lohof, H. Kessler, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 491–514; d) F. Schweizer, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 240–264; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 230–253.
- [2] a) T. Q. Gregar, J. Gervay-Hague, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 1001–1009; b) S. Sabesan, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 3127–3130; c) H. P. Wessel, C. Mitchell, C. M. Lobato, G. Schmid, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 2920–2921; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 2712–2713.
- [3] Y. Suhara, Y. Yamaguchi, B. Collins, R. L. Schnaar, M. Yanagishita, J. E. K. Hildreth, I. Shimada, Y. Ichikawa, *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10*, 1999–2013.
- [4] a) M. Raunkjær, F. El Oualid, G. A. van der Marel, H. S. Overkleeft, M. Overhand, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3167–3170; b) E. Lohof, E. Planker, C. Mang, F. Burkhardt, M. A. Dechantsreiter, R. Haubner, H.-J. Wester, M. Schwaiger, G. Hölzemann, S. L. Goodman, H. Kessler, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 2868–2871; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 2761–2764; c) A. B. Smith III, S. Sasho, B. A. Barwis, P. Sprengeler, J. Barbosa, R. Hirschmann, B. S. Cooperman, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 3133–3136.
- [5] a) T. K. Chakraborty, V. Ramakrishna Reddy, G. Sudhakar, S. Uday Kumar, T. Jagadeeshwar Reddy, S. Kiran Kumar, A. C. Kunwar, A. Mathur, R. Sharma, N. Gupta, S. Prasad, *Tetrahedron* **2004**, *60*, 8329–8339; b) S. Chandrasekhar, M. S. Reddy, B. Jagadeesh, A. Prabhakar, M. H. V. R. Rao, B. Jagannadh, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 13586–13587; c) R. M. van Well, L. Marinelli, C. Altona, K. Erkelens, G. Siegal, M. van Raaij, A. L. Llamas-Saiz, H. Kessler, E. Novellino, A. Lavecchia, J. H. van Boom, M. Overhand, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 10822–10829; d) S. A. W. Gruner, V. Truffault, G. Voll, E. Locardi, M. Stöckle, H. Kessler, *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 4365–4376; e) N. L. Hungerford, T. D. W. Claridge, M. P. Watterson, R. T. Aplin, A. Moreno, G. W. J. Fleet, *Perkin 1* **2000**, 3666–3679.
- [6] M. Ghosh, R. G. Dulina, R. Kakarla, M. J. Sofia, *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 8387–8390.
- [7] a) A. A. Edwards, O. Ichihara, S. Murfin, R. Wilkes, M. Whittaker, D. J. Watkin, G. W. J. Fleet, *J. Comb. Chem.* **2004**, *6*, 230–238; b) M. J. Sofia, N. Allanson, N. T. Hatzenbuehler, R. Jain, R. Kakarla, N. Kogan, R. Liang, D. Liu, D. J. Silva, H. Wang, D. Gange, J. Anderson, A. Chen, F. Chi, R. Dulina, B. Huang, M. Kamau, C. Wang, E. Baizman, A. Branstrom, N. Bristol, R. Goldman, K. Han, C. Longley, S. Midha, H. R. Axelrod, *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 3193–3198.
- [8] a) R. Hirschmann, K. C. Nicolaou, S. Pietranico, J. Salvino, E. M. Leahy, P. A. Sprengeler, G. Furst, A. B. Smith III, C. D. Strader, M. A. Cascieri, M. R. Candelore, C. Donaldson, W. Vale, L. Maechler, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 9217–9218; b) zur Verwendung von Kohlenhydraten als multifunktionelle Gerüste siehe: U. Hüniger, J. Ohnsmann, H. Kunz, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 1125–1128; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 1104–1107; c) C.-H. Wong, X.-S. Ye, Z. Zhang, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 7137–7138.
- [9] Zur Synthese eines verzweigten Oligomers unter Verwendung einer glycosylierten Zuckeraminosäure siehe: C. M. Timmers, J. J. Turner, C. M. Ward, G. A. van der Marel, M. L. C. E. Kooijzer, P. D. J. Grootenhuys, J. H. van Boom, *Chem. Eur. J.* **1997**, *3*, 920–929.
- [10] 2,6-Diamino-2,6-dideoxyglucose ist eine Substruktur des Aminoglycosid-Antibiotikums Neomycin B. Zur Verwendung Disaccharid-basierter Diaminosäurederivate als Inhibitoren der bakteriellen Zellwandbiosynthese siehe Lit. [7b].
- [11] a) Q. Vicens, E. Westhof, *ChemBioChem* **2003**, *4*, 1018–1023; b) Y. Tor, *ChemBioChem* **2003**, *4*, 998–1007.
- [12] In dieser Zuschrift wird durchgehend die Nummerierung analog zur Stammverbindung Glucosamin verwendet.
- [13] D. Carrière, S. J. Meunier, F. D. Tropper, S. Cao, R. Roy, *J. Mol. Catal. A* **2000**, *154*, 9–22.
- [14] K. Fuji, S. Nakano, E. Fujita, *Synthesis* **1975**, 276–277.
- [15] J. T. Lundquist IV, J. C. Pelletier, *Org. Lett.* **2002**, *4*, 3219–3221.
- [16] M. McCroskey, V. E. Groppi, J. D. Pearson, *Anal. Biochem.* **1987**, *163*, 427–432.