

## SYNTHESE EINES TRISACCHARIDES AUS *N*-ACETYLNEURAMIN-SÄURE UND *N*-ACETYLACTOSAMIN\*

HANS PAULSEN UND HOLGER TIETZ

*Institut für Organische Chemie und Biochemie der Universität Hamburg, Martin-Luther-King-Platz 6,  
D-2000 Hamburg 13 (Bundesrepublik Deutschland)*

(Eingegangen am 21. April, 1983; angenommen am 6. Juni 1983)

### ABSTRACT

The reaction of methyl 5-acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-2-chloro-2,3,5-trideoxy-D-*glycero*- $\beta$ -D-*galacto*-2-nonulopyranosonate with benzyl 2-azido-3,6-di-*O*-benzyl-2-deoxy-4-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranoside in the presence of mercury cyanide–mercury bromide gave a 1:1 mixture of the two anomeric (2 $\rightarrow$ 6)-linked trisaccharides containing *N*-acetylneuraminic acid. By chromatography, 22% of benzyl *O*-(methyl 5-acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-3,5-dideoxy-D-*glycero*- $\alpha$ -D-*galacto*-2-nonulopyranosylonate)-(2 $\rightarrow$ 6)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-2-azido-3,6-di-*O*-benzyl-2-deoxy- $\beta$ -D-glucopyranoside and 23% of the corresponding  $\beta$ -(2 $\rightarrow$ 6)-linked isomer could be isolated. A deblocking sequence, consisting of hydrogen sulfide reduction, acetylation, deacetylation, ester hydrolysis, and hydrogenolysis led to the deblocked *O*-(5-acetamido-3,5-dideoxy-D-*glycero*- $\alpha$ -D-*galacto*-2-nonulopyranosylonic acid)-(2 $\rightarrow$ 6)-*O*- $\beta$ -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-2-acetamido-2-deoxy-D-glucopyranose and to the corresponding  $\beta$ -(2 $\rightarrow$ 6)-linked compound.

### ZUSAMMENFASSUNG

Durch Umsetzung von Methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-2-chloro-2,3,5-tridesoxy-D-*glycero*- $\beta$ -D-*galacto*-2-nonulopyranosonat mit Benzyl-2-azido-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy-4-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid bei Gegenwart von Quecksilbercyanid–Quecksilberbromid erhält man ein 1:1-Gemisch der beiden anomeren (2 $\rightarrow$ 6)-verknüpften *N*-Acetylneuraminsäurehaltigen Trisaccharide. Durch Chromatographie sind 22% von Benzyl-*O*-(methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-3,5-didesoxy-D-*glycero*- $\alpha$ -D-*galacto*-2-nonulopyranosylonate)-(2 $\rightarrow$ 6)-*O*-(2,3-di-*O*-benzyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-2-azido-3,6-di-*O*-benzyl-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosid und in 23% das entsprechende  $\beta$ -(2 $\rightarrow$ 6)-verknüpfte Isomer zu isolieren. Durch eine Entblockierungssequenz wie

\*L. Mitteilung der Serie "Bausteine von Oligosacchariden"; IL. Mitteil., siehe Zit. 1.

Schwefelwasserstoff-Reduktion, Acetylierung, Entacetylierung, Esterspaltung und Hydrogenolyse gelangt man zur entblockierten *O*-(5-Acetamido-3,5-didesoxy-D-glycero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonulopyranosylonsäure)-(2 $\rightarrow$ 6)-*O*- $\beta$ -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-2-acetamido-2-desoxy-D-glucopyranose und auf dem gleichen Wege zu der entsprechenden  $\beta$ -(2 $\rightarrow$ 6)-verknüpften entblockierten Verbindung.

## EINFÜHRUNG

*N*-Acetylneuraminsäure (Neu5Ac) kommt endständig gebunden in den meisten *O*- und *N*-Glycoproteinen, Glycolipiden und Gangliosiden vor<sup>2,3</sup>. Ihr werden wichtige biologische Funktionen zugeordnet, so auch eine Schutzfunktion, da sie von Antikörpern und Leberlectinen nicht erkannt werden kann<sup>3</sup>. Neu5Ac ist in der Regel  $\alpha$ -D-ketosidisch an verschiedene Positionen von D-Galactose-, 2-Acetamido-2-desoxy-D-glucose- und 2-Acetamido-2-desoxy-D-galactose-Resten geknüpft. In den *N*-Glycoproteinen vom Lactosamin-Typ liegt als Endgruppe häufig die Trisaccharid-Einheit  $\alpha$ -Neu5Ac-(2 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-Gal-*p*-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-GlcNAc vor, die dann an die verzweigte D-Mannosetrisaccharid-Einheit gebunden ist<sup>4</sup>. In der vorliegenden Veröffentlichung wird die Synthese dieser wichtigen endständigen Trisaccharid-Einheit beschrieben.

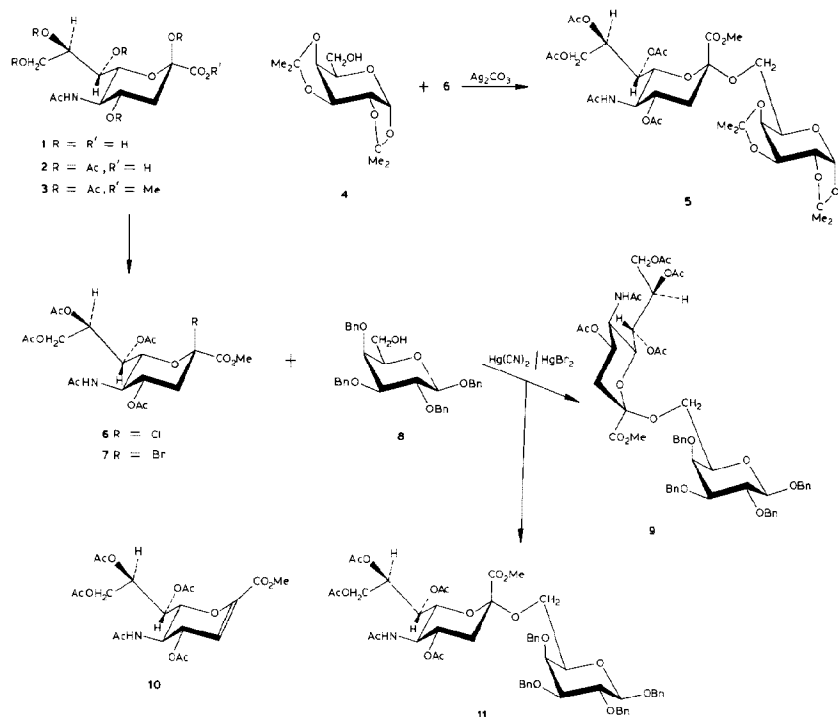
Über die Darstellung von Neuraminsäure-Disacchariden liegen erst kürzlich erschienene ausführliche Veröffentlichungen von van der Vleugel *et al.*<sup>5,6</sup> vor, die sowohl experimentelle Einzelheiten, als auch eine exakte Beschreibung der Daten der Strukturen enthalten. Diese Untersuchungen wurden parallel mit unseren Arbeiten durchgeführt. Während in vorhergehenden Untersuchungen im wesentlichen Silbercarbonat<sup>7</sup> oder eine polymere Silberverbindung<sup>8</sup> als Katalysatoren mit begrenztem Erfolg angewendet wurden, zeigte van der Vleugel *et al.*, daß bei der Reaktion des Halogenids **6** mit dem D-Galactose-Derivat **8** bei Gegenwart von Silberalicylat in 65% das  $\alpha$ -glycosidisch verknüpfte Disaccharid **11** zu erhalten war<sup>5</sup>. Die Anwendung von Silberalicylat war jedoch nur auf **8** beschränkt. Beim Einsatz von Benzyl-2-acetamido-2-desoxy-3,4-*O*-(1,1,3,3-tetraisopropylidisiloxan-1,3-diyl)- $\alpha$ -D-glucopyranosid lieferte Silberalicylat unbefriedigende Ergebnisse<sup>6</sup>. In diesem Fall erhielt man mit **6** bei Gegenwart von Silbertriflat in 46% das entsprechende  $\beta$ -glycosidisch verknüpfte Disaccharid<sup>6</sup>. Die Hauptschwierigkeit bei der Glycosidsynthese mit Halogeniden vom Typ **6** und **7** liegt darin, daß eine außerordentlich leichte Eliminierung zum ungesättigten Produkt<sup>3,9</sup> **10** eintreten kann. Außerdem sind generell ketosidische Bindungen schwierig zu knüpfen, besonders dann, wie es hier der Fall ist, wenn keine Nachbargruppenunterstützung gegeben ist<sup>10</sup>.

## ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Als Ausgangsmaterial für die Gewinnung der Halogenide **6** und **7** wurde das Hexaacetat<sup>11</sup> **3** eingesetzt. Nach unseren Erfahrungen ist es günstiger, **3** durch primäre Acetylierung von **2** (Zit. 9) und anschließende Veresterung mit Diazomethan

darzustellen. Die Acetylierung von *N*-Acetyl-D-neuraminsäure-methylester mit Pyridin-Acetanhydrid lieferte ein unreineres Produkt. Bei der Acetylierung des Methylesters bei Gegenwart von Perchlorsäure<sup>11</sup> erhält man ein Gemisch aus **10** mit Methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-2,6-anhydro-3,5-didesoxy-D-glycero-D-talo-non-2-enonat<sup>12</sup>. Für die Darstellung der Halogenide aus **3** bewährte sich das von uns entwickelte Verfahren der Umsetzung mit Titantrichlorid oder Titantribromid unter wasserfreien Bedingungen<sup>13</sup>. Hierbei wird der Überschuß des Reagenzes nach Verdünnen mit Dichlormethan, Toluol und Acetonitril mit wasserfreiem Natriumacetat zerstört. Das Bromid **7** wurde in 86%, das Chlorid **6** in 94% auf diesem Wege erhalten.

Zur Erprobung der Glycosidsynthese wurden **6** und **7** zunächst mit den D-Galactose-Derivaten **4** (Zit. 14) und **8** (Zit. 15) zur Reaktion gebracht. In **4** liegt eine äußerst reaktive 6-OH-Gruppe vor, so daß hiermit am leichtesten die Umsetzung gelingt. Am günstigsten erfolgt die Reaktion mit dem Chlorid **6** und **4** bei Gegenwart von Silbercarbonat. Man erhält dann in 67% nur das  $\alpha$ -glycosidisch verknüpfte Disaccharid **5**, das noch 3% Eliminierungsprodukt **10** enthält, welches chromatographisch nicht abzutrennen ist. Mit dem Bromid **7** oder mit anderen Katalysatoren, wie Silbersilicat<sup>16</sup>, Silberperchlorat-Silbercarbonat, ist der Anteil an Eliminierungsprodukt **10** bei dieser Umsetzung erheblich höher und die Ausbeute geringer.



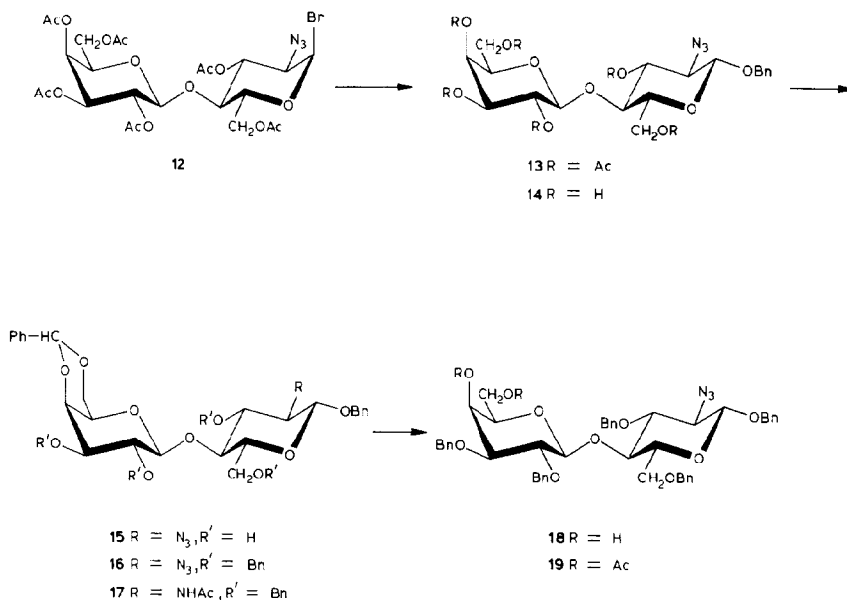
Die Reaktivität der OH-6-Gruppe in **8** ist im Vergleich zu OH-6 in Verbindung **4** bedeutend geringer. Setzt man **6** mit **8** unter analogen Bedingungen wie bei **4** mit Silbercarbonat um, so ist eine Umsetzung kaum erkennbar. Verbindung **7** liefert mit **8** bei Gegenwart von Silbercarbonat oder Silbersilikat hauptsächlich Eliminierungsprodukt **10** und maximal 20% des  $\alpha$ -glycosidisch verknüpften Produktes **11**. Es wurde aber jetzt gefunden, daß beim Einsatz von Quecksilberkatalysatoren (Quecksilbercyanid–Quecksilberbromid 3:1) die unerwünschte Eliminierungsreaktion, insbesondere bei der Umsetzung des Chlorids **6** mit **8** in unpolaren Lösungsmitteln, wie Dichlormethan, weitgehend unterdrückt werden kann. Unter diesen Bedingungen lassen sich 84% *N*-Acetylneuraminsäure-haltige Disaccharide isolieren. Allerdings verläuft jetzt die Reaktion nicht stereoselektiv. Man erhält ein Gemisch an  $\alpha$ - und  $\beta$ -glycosidisch verknüpften Disacchariden **11** und **9**. Beide anomeren Disaccharide lassen sich jedoch chromatographisch gut auftrennen, und hierbei werden 36% vom  $\alpha$ -glycosidisch verknüpften Produkt **11** und 48% vom  $\beta$ -glycosidisch verknüpften Produkt **9** isoliert. Das Produkt **11** ist identisch mit der Verbindung, die von van der Vleugel *et al.*<sup>5</sup> nach der Silbersalicylat-Methode dargestellt worden ist.

Die Quecksilbersalzmethode hat sich somit für weniger reaktive primäre Hydroxylgruppen als sehr effektiv erwiesen; vor allen Dingen wird hierbei die sonst stets auftretende, unerwünschte Eliminierung zu **10** in beträchtlichem Maße vermieden. Dieses Verfahren erschien daher am aussichtsreichsten für eine Kupplung mit einem Lactosamin-Derivat, bei dem für die entsprechende 6-OH-Gruppe des Galactose-Teiles ebenfalls eine abgeschwächte Reaktivität zu erwarten war. Zunächst mußte ein geeignet blockiertes Lactosamin-Derivat synthetisiert werden, das als Aglykon für die Glycosidierungs-Reaktion eingesetzt werden konnte.

Als Ausgangsmaterial stand das Azidobromid<sup>17</sup> **12** zur Verfügung, das leicht durch Azidonitratisierung des entsprechenden Lactal-Derivates zu gewinnen ist. Durch Umsetzung von **12** mit Benzylalkohol bei Gegenwart von Silbersilikat ergibt sich das  $\beta$ -Glycosid **13**, das mit Natriummethylat in die entacetylierte Verbindung **14** zu überführen ist. Verbindungen **13** und **14** wurden inzwischen auch auf einem vergleichbaren Wege dargestellt<sup>18</sup>. Mit Benzaldehyddimethylacetal bei Gegenwart von *p*-Toluolsulfonsäure läßt sich aus **14** die Benzyliden-Verbindung **15** erhalten, die mit Benzylbromid–Natriumhydrid in den entsprechenden Benzylether **16** überführt werden kann.

Es wurde geprüft, ob der Benzylidenring in **16** selektiv nach Lipták *et al.*<sup>19</sup> geöffnet werden kann. In diesem Falle wäre eine an 6'-OH unsubstituierte Verbindung zu erwarten. Die Reduktion unter den Bedingungen von Lipták *et al.*<sup>19</sup> ergab jedoch kein einheitliches Produkt. Mit Lithiumaluminiumhydrid allein wurde aus **16** nach *N*-Acetylierung nur das einfache Reduktionsprodukt **17** isoliert.

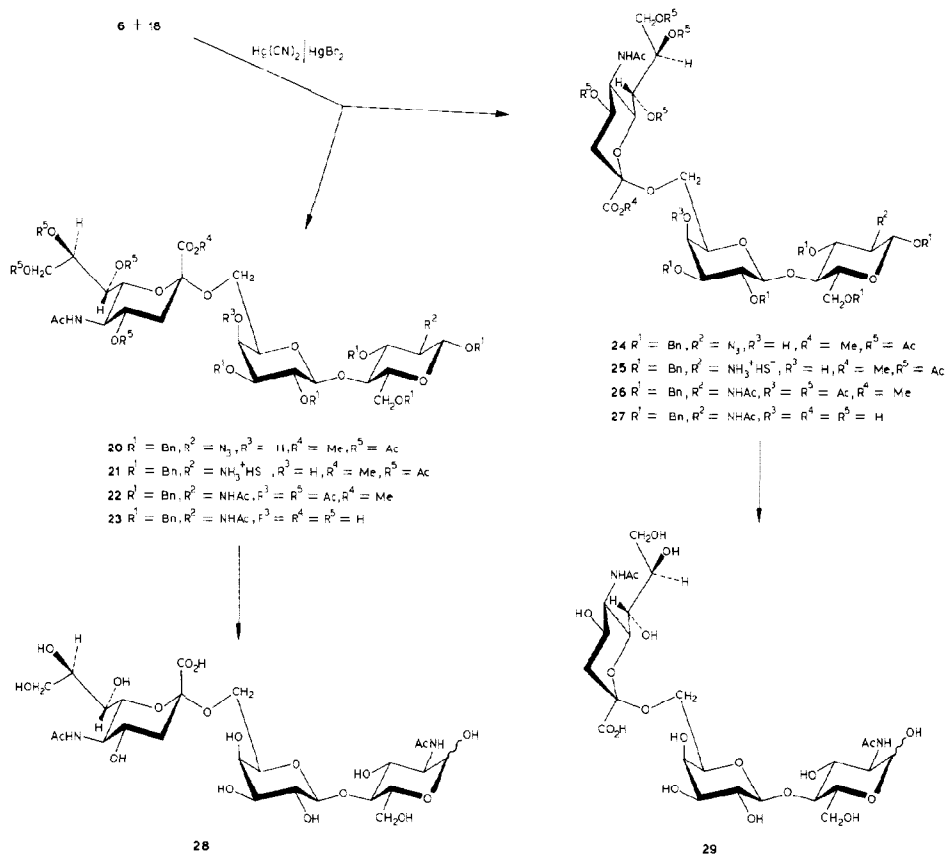
Aus diesem Grunde wurde **16** partiell zu **18** hydrolysiert. Das Diol **18** liefert nach der Acetylierung das Diacetat **19**, das <sup>1</sup>H-N.m.r.-spektroskopisch charakterisiert wurde. Die <sup>1</sup>H-N.m.r.-Daten der Pyranosering-Protonen für alle Zwischenprodukte sind in der Tabelle I–III zusammengefaßt. In **18** sollte die OH-6' erheblich



reaktiver sein als die OH-4'-Gruppe. Es wäre daher zu erwarten, daß beim Einsatz der Komponente **18** als Reaktant für das Halogenid **6** nur die reaktivere 6'-OH-Gruppe glycosidiert werden würde. Das anschließende Experiment mit **18** hat diese Annahme bestätigt, so daß **18** als Aglykon bestens geeignet ist.

Die Umsetzung des Halogenides **6** mit **18** unter analogen Bedingungen wie mit dem Monosaccharid **8** (Quecksilbercyanid-Quecksilberbromid 3:1, Dichlormethan, 20°) ergibt ein Anomerengemisch von *N*-Acetylneuraminsäure-haltigen Oligosacchariden in über 50%. Durch Chromatographie lassen sich beide Anomeren trennen, und es kann das  $\alpha$ -glycosidisch verknüpfte Produkt **20** in 22% sowie das  $\beta$ -glycosidisch verknüpfte Produkt **24** in 23% isoliert werden. Von **20** und **24** lassen sich die <sup>1</sup>H-N.m.r. Spektren weitgehend analysieren (Siehe Tabellen I-III). Aus den <sup>1</sup>H-N.m.r.- und auch den <sup>13</sup>C-N.m.r.-Daten ist jedoch keine eindeutige Zuordnung zur  $\alpha$ - oder  $\beta$ -Form möglich. Auch die NOE-Differenzspektroskopie liefert zu diesem Zuordnungsproblem keine weiteren Informationen, da bei 400 MHz keine interglycosidischen NOE-Effekte zwischen der *N*-Acetylneuraminsäure- und der D-Galactose-Einheit zu beobachten sind. Die endgültige Zuordnung erfolgt erst durch Vergleich der <sup>1</sup>H-N.m.r.-Spektren der vollständig entblockierten Produkte **28** und **29**.

Zur Entblockierung von **20** wird zunächst die Azidogruppe in **20** mit Schwefelwasserstoff reduziert. Man erhält das Amin, das nach säulenchromatographischer Abtrennung der schwefelhaltigen Nebenprodukte als Dihydrogensulfid **21** isoliert wird. Die anschließende Acetylierung ergibt das Heptaacetat **22**. Durch Behandlung von **22** mit Natriummethoxid werden zunächst die *O*-Acetylgruppen



und anschließend durch Einwirkung von Natriumhydroxid der Methylester des *N*-Acetylneuraminsäure-Teiles gespalten, so daß man zum partiell entblockierten Produkt **23** gelangt. Im letzten Schritt werden sämtliche noch vorhandenen Benzylethergruppierungen hydrogenolytisch abgespalten zum vollständig entblockierten Disaccharid **28**. Eine analoge Entblockierungsfolge läßt sich ebenfalls mit dem  $\beta$ -glycosidisch verknüpften Produkt **24** durchführen, wobei über **25**, **26** und **27** das vollständig entblockierte Trisaccharid **29** erreicht wird.

Die Zuordnung der beiden Anomeren **28** und **29** ist jetzt durch Analyse der  $^1\text{H-N.m.r.}$ -Spektren (s. Tabelle I) möglich, wobei insbesondere die chemische Verschiebung der Protonen am C-3' des *N*-Acetylneuraminsäure-Teiles von Bedeutung ist. Nach einer an einfachen *N*-Acetylneuraminsäure-Derivaten abgeleiteten Regel ist in der  $\alpha$ -Form das äquatoriale  $\text{H}_e\text{-3}$  gegenüber dem Signal des entsprechenden Protons in der  $\beta$ -Form charakteristisch zu tiefem Feld verschoben<sup>20,21</sup>. In

TABELLE I

<sup>1</sup>H-N M.R.-DATEN DER PROTONEN DER *N*-ACETYLNEURAMINSÄURE-EINHEIT

Ver- bindung	Chemische Verschiebung ( $\delta$ ) und Multiplicität <sup>a</sup>										Kopplungskonstanten (erster Ordnung) (Hz)										
	H-3e (dd)	H-3a (dd)	H-4 (ddd)	H-5 (ddd)	H-6 (dd)	H-7 (dd)	H-8 (ddd)	H-9a (ddd)	H-9b (dd)		J <sub>3e,3a</sub>	J <sub>3e,4</sub>	J <sub>3a,4</sub>	J <sub>4,5</sub>	J <sub>5,6</sub>	J <sub>6,7</sub>	J <sub>7,8</sub>	J <sub>8,9a</sub>	J <sub>8,9b</sub>	J <sub>9a,9b</sub>	
5	2,76	2,04	4,88	4,40	4,19	5,52	5,77	4,62	4,39		12,7	4,6	12,1	10,3	10,3	10,4	2,4	7,1	2,5	6,0	12,4
6	2,75	2,02	5,30	4,46	4,32	5,60	5,51	4,79	4,19		14,0	4,8	11,2	10,2	10,2	10,7	2,3	6,4	2,6	6,3	12,4
7	2,89	1,96	5,33	4,47	4,20	5,60	5,52	4,79	4,27		14,3	4,8	10,9	10,1	10,3	10,4	2,4	6,6	2,5	6,0	12,4
9	2,46	1,86	5,19	4,48	3,93	5,53	5,72	4,89	4,22		12,8	4,7	11,5	10,6	10,3	10,7	2,4	7,0	2,6	5,6	12,6
11	2,83	2,13	4,90	4,48	4,23	5,54	5,85	4,75	4,32		12,7	4,6	12,0	10,4	10,1	10,8	2,3	7,2	2,6	6,8	12,3
20	2,64	2,00	4,88	4,46	4,13	5,54	5,77	4,77	4,31		12,6	4,5	12,0	10,6	10,0	10,6	2,3	6,7	2,6	7,2	12,3
21	2,64	2,00	4,87	4,45	4,11	5,54	5,81	4,78	4,33		12,7	4,7	11,9	10,2	9,6	10,2	2,1	6,8	2,5	7,0	12,2
22	2,83	2,18	4,92 <sup>b</sup>	4,44	4,17	5,52	5,78	4,65	4,30		12,5	4,5	12,2	~10,9	~9,6	10,9	2,1	7,8	2,7	6,1	12,4
23	2,67	1,80	ε	ε	ε	ε	ε	ε	ε		12,7	4,5	11,3	ε	ε	ε	ε	ε	ε	ε	ε
24	2,68	1,76	~5,81 <sup>b</sup>	4,02	~4,9 <sup>b</sup>	5,83	5,89	5,20	4,63		12,7	4,7	12,1	~10,1	8,8	~10,1	~2,0	2,8	1,8	8,1	12,4
25	2,71	1,77	5,78	4,04	~4,84 <sup>b</sup>	5,82	5,90	5,18	4,64		12,7	4,9	11,6	10,2	~10,0	~10,0	2,2	2,8	2,1	7,9	12,3
26	2,63	1,78	ε	ε	ε	5,84	5,55	5,33	4,37		12,8	4,8	11,7	10,3	10,2	10,5	2,6	2,8	2,2	8,2	12,4
27	2,45	1,70	ε	ε	ε	ε	ε	ε	ε		~12	~5,0	~11	ε	ε	ε	ε	ε	ε	ε	ε
28	2,56 <sup>d</sup>	1,65 <sup>d</sup>	ε	ε	ε	ε	ε	ε	ε		12,4	4,3	11,9	ε	ε	ε	ε	ε	ε	ε	ε
29 <sup>d</sup>	2,31 <sup>d</sup>	1,59 <sup>d</sup>	ε	ε	ε	ε	ε	ε	ε		12,6 <sup>d</sup>	4,6 <sup>d</sup>	11,7 <sup>d</sup>	ε	ε	ε	ε	ε	ε	ε	ε
	2,32																				

<sup>a</sup>Soweit nicht anders angegeben, <sup>b</sup>Signal verdeckt oder teilweise verdeckt, <sup>c</sup>Signale sind wegen der Komplexität des Spektrums nicht genau zuzuordnen.  
<sup>d</sup>α- und β-Anomere.

TABELLE II

<sup>1</sup>H-N M.R.-DATEN DER PROTONEN DER D-GALACTOSE-EINHEIT

Ver- bindung	Chemische Verschiebung ( $\delta$ ) und Multiplizität <sup>a</sup>						Kopplungskonstanten (erster Ordnung) (Hz)							
	H-1 (d)	H-2 (dd)	H-3 (dd)	H-4 (dd)	H-5 (ddd)	H-6a (dd)	H-6b (dd)	J <sub>1,2</sub>	J <sub>2,3</sub>	J <sub>3,4</sub>	J <sub>4,5</sub>	J <sub>5,6a</sub>	J <sub>5,6b</sub>	J <sub>6a,6b</sub>
5	5,45	4,17	4,51	4,23	4,18	4,27	3,97	5,0	2,4	7,9	1,8	5,5	7,6	9,2
9	4,43	4,11	3,42	4,19	3,75	4,11	4,06	7,6	9,8	2,9	1,2	6,5	7,9	9,5
11	4,60	4,17	3,44	3,98	3,58	4,29	3,96	7,6	9,7	2,9	~0,8	5,6	8,7	8,6
13	4,45	5,08	4,95	5,35	3,87	4,17	4,07	7,8	10,4	3,4	1,0	6,3	7,3	11,1
14	4,30	3,39	3,51	3,77	~3,6 <sup>b</sup>	~3,6 <sup>b</sup>	~3,6 <sup>b</sup>	7,7	10,0	3,4	<0,6	<sup>b</sup>	<sup>b</sup>	<sup>b</sup>
15	4,34 <sup>c</sup>				<sup>d</sup>	<sup>d</sup>	<sup>d</sup>	8,1	<sup>d</sup>	<sup>d</sup>	<sup>d</sup>	<sup>d</sup>	<sup>d</sup>	<sup>d</sup>
16	4,43	3,76	3,38	4,01 <sup>e</sup>	2,94 <sup>f</sup>	4,19	3,84	7,9	9,5	3,7	<0,5	~1,0	1,5	12,3
17	4,46	3,78	3,42	4,04	3,03 <sup>f</sup>	4,20	3,89	7,7	9,6	3,5	~0,6	1,2	1,6	12,3
18	4,35	3,58	3,31	3,87 <sup>e,g</sup>	3,13	3,63	3,54	7,7	9,3	3,0	~0,6	7,0	4,2	12,0
19	4,43	3,48	3,38	5,40	3,46	4,08	3,88	7,8	9,5	3,4	0,7	7,5	6,3	11,2
20	4,65	3,85	3,30	4,18 <sup>g</sup>	3,44 <sup>g,h</sup>	4,14	3,79	7,8	9,3	3,2	<sup>g</sup>	8,6	4,8	8,6
21	4,71	3,88	3,30	4,17 <sup>g</sup>	3,93 <sup>i</sup>	4,12	3,81	7,7	9,4	3,0	<sup>g</sup>	9,3	4,8	8,3
22	4,77	3,80	3,44	5,72 <sup>e</sup>	~4,17 <sup>i</sup>	~3,67 <sup>b</sup>	~3,67 <sup>b</sup>	7,6	9,4	3,3	<0,5	<sup>i</sup>	<sup>i</sup>	<sup>b</sup>
23	4,42 <sup>c</sup>	<sup>d</sup>	<sup>d</sup>		<sup>d</sup>		<sup>d</sup>	7,5 <sup>c</sup>	<sup>d</sup>	<sup>d</sup>	<sup>d</sup>	<sup>d</sup>	<sup>d</sup>	<sup>d</sup>
24	4,65	3,83	3,42	4,46 <sup>f</sup>	3,57 <sup>g,h</sup>	4,37	3,83	7,8	9,2	3,1	<sup>g</sup>	9,0	4,8	8,5
25	4,72	3,84	3,39	4,41 <sup>g</sup>	3,56 <sup>g</sup>	4,36	3,84	7,7	9,2	3,3	<sup>g</sup>	9,5	5,2	7,8
26	4,71	3,83	3,42	5,86 <sup>e</sup>	<sup>d</sup>	~3,89 <sup>b</sup>	~3,89 <sup>b</sup>	7,7	9,5	3,3	<0,5	<sup>b</sup>	<sup>b</sup>	<sup>b</sup>
28	4,35 <sup>i</sup>	<sup>d</sup>	<sup>d</sup>	<sup>d</sup>	<sup>d</sup>	<sup>d</sup>	<sup>d</sup>	8,0 <sup>i</sup>	<sup>d</sup>	<sup>d</sup>	<sup>d</sup>	<sup>d</sup>	<sup>d</sup>	<sup>d</sup>
29	4,38 <sup>i</sup>	<sup>d</sup>	<sup>d</sup>	<sup>d</sup>	<sup>d</sup>	<sup>d</sup>	<sup>d</sup>	7,8 <sup>i</sup>	<sup>d</sup>	<sup>d</sup>	<sup>d</sup>	<sup>d</sup>	<sup>d</sup>	<sup>d</sup>

<sup>a</sup>Soweit nicht anders angegeben. <sup>b</sup>Multipllett, höhere Ordnung. <sup>c</sup>Signale können auch vertauscht werden. <sup>d</sup>Signale sind wegen der Komplexität des Spektrums nicht genau zuzuordnen. <sup>e</sup>Multiplizität: d. <sup>f</sup>Signalverbreiterung. <sup>g</sup>Kopplungen nicht aufgelöst. <sup>h</sup>Kleine Kopplung nicht aufgelöst. <sup>i</sup>Multiplizität: dd. <sup>j</sup>Signal verdeckt oder teilweise verdeckt. <sup>k</sup> $\alpha$ - und  $\beta$ -Anomere.



TABELLE III

<sup>1</sup>H-N.M.R.-DATEN DER PROTONEN DER 2-ACETAMIDO-2-DEOXY-D-GLUCOSE-EINHEIT

Ver- bindung	Chemische Verschiebung ( $\delta$ ) und Multiplizität <sup>a</sup>						Kopplungskonstanten (erster Ordnung) (Hz)								
	H-1 (d)	H-2 (dd)	H-3 (dd)	H-4 (dd)	H-5 (ddd)	H-6a (dd)	H-6b (dd)	J <sub>1,2</sub>	J <sub>2,3</sub>	J <sub>2,NH</sub>	J <sub>3,4</sub>	J <sub>4,5</sub>	J <sub>5,6a</sub>	J <sub>5,6b</sub>	J <sub>6a,6b</sub>
13	4,41	3,46	4,96	3,72	3,54	4,51	4,12	8,0	10,3		9,1	9,9	1,9	5,1	12,0
14	4,50	3,22	3,45	3,57	3,43	3,85	3,68	8,2	9,9		8,8	9,8	2,1	5,1	12,4
15	4,37 <sup>b</sup>							8,1	<sup>c</sup>		<sup>c</sup>	<sup>c</sup>		<sup>c</sup>	<sup>c</sup>
16	4,28	3,49	3,37	4,01	3,26	3,91	3,68	8,1	9,8		8,6	9,8	3,7	1,3	10,8
17	4,93	3,55 <sup>d</sup>	4,01 <sup>b</sup>	4,06 <sup>b</sup>	3,59	3,89	3,75	7,2	7,6	7,8	8,0	8,0	3,6	3,0	10,6
18	4,28	3,47	3,33	3,95	3,28	3,80	3,67	8,1	9,9		8,9	9,9	3,9	1,2	11,0
19	4,28	3,48	3,34	4,03	3,26	3,84	3,67	8,0	9,8		8,8	9,9	3,6	1,5	11,0
20	4,23	3,60	3,34 <sup>b</sup>	4,24 <sup>b</sup>	3,22	3,95	3,78	8,2	9,8		9,1	9,8	4,5	1,4	11,0
21	4,39	3,19	3,56	4,40	3,93 <sup>c</sup>	4,07	3,83	8,0	9,5		9,1	8,5	4,3	1,0	11,0
22	5,10	3,88 <sup>d</sup>	4,29	4,36	~3,81 <sup>e</sup>	4,02	3,96	7,0	~8,7	7,9	~7,6	~8,2	4,7	~2,8	10,6
23	4,69 <sup>b</sup>							7,7 <sup>b</sup>	<sup>c</sup>		<sup>c</sup>	<sup>c</sup>	<sup>c</sup>	<sup>c</sup>	<sup>c</sup>
24	4,14	3,47	3,31	4,13	3,11	3,97	3,70	8,0	9,8		8,7	9,6	3,7	~1,3	11,0
25	4,31	3,07	3,53	4,30	3,37	4,11	3,77	7,8	9,6		8,7	9,8	3,7	1,5	11,0
26	5,07	3,70 <sup>d</sup>	4,34 <sup>c</sup>	4,26	3,74	4,02	3,86 <sup>c</sup>	7,1	~8,8	8,0	~8,0	~8,0	4,3	~3,0	10,6
28	5,09 <sup>f</sup>				<sup>c</sup>	<sup>c</sup>	<sup>c</sup>	1,9 <sup>f</sup>	<sup>c</sup>		<sup>c</sup>	<sup>c</sup>	<sup>c</sup>	<sup>c</sup>	<sup>c</sup>
29	5,11 <sup>f</sup>				<sup>c</sup>	<sup>c</sup>	<sup>c</sup>	3,2 <sup>f</sup>	<sup>c</sup>		<sup>c</sup>	<sup>c</sup>	<sup>c</sup>	<sup>c</sup>	<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Soweit nicht anders angegeben. <sup>b</sup>Signale können auch vertauscht werden. <sup>c</sup>Signale sind wegen der Komplexität des Spektrums nicht genau zuzuordnen. <sup>d</sup>Multiplizität: ddd. <sup>e</sup>Signal verdeckt oder teilweise verdeckt. <sup>f</sup>Nur  $\alpha$ -Anomer.

der  $\alpha$ -Form **28** wird für das Signal von  $H_c-3''$  mit  $\delta$  2,56 (Lösung in  $D_2O$ ) ein Wert bei tieferem Feld gegenüber **29** gefunden, bei dem  $H_c-3''$  bei  $\delta$  2,31 erscheint. Bei den blockierten Trisaccharid-Derivaten ist diese angegebene Regel nicht gültig.

Für alle blockierten Trisaccharid-Derivate, in denen der *N*-Acetylneuraminsäure-Teil vollständig acetyliert ist, wie in **20** bis **22** und **24** bis **26**, wird jedoch ein interessanter Unterschied jeweils in den  $^1H$ -N.m.r.-Spektren zwischen  $\alpha$ - und  $\beta$ -Form gefunden. In den  $\alpha$ -glycosidisch verknüpften Verbindungen liegt das Signal von  $H-4''$  des *N*-Acetylneuraminsäure-Teiles für ein Lösung in Benzol mit  $\delta$  4,88–4,92 stets bei höherem Feld als bei der entsprechenden  $\beta$ -glycosidisch verknüpften Form, bei der das  $H-4''$ -Signal im Bereich  $\delta$  5,67–5,81 erscheint (s. Tabelle I). Ferner ist interessanterweise die Kopplung  $J_{7'',8''}$  bei den angegebenen blockierten Verbindungen in den  $\alpha$ -Formen mit 6,7–7,8 Hz groß, im Vergleich zu den entsprechenden  $\beta$ -Formen, bei denen eine kleine Kopplung von 2,8 Hz gefunden wird. Dieser Unterschied deutet daraufhin, daß die Seitenkette des *N*-Acetylneuraminsäure-Teiles in den  $\alpha$ -glycosidischen Formen eine unterschiedliche Konformation gegenüber den  $\beta$ -glycosidisch verknüpften Formen besitzt. Außerdem zeigt der Vergleich, daß für alle  $\alpha$ -Glycoside das Signal  $H_a-3''$  des *N*-Acetylneuraminsäure-Teiles bei tieferem Feld liegt als für die entsprechenden  $\beta$ -Glycoside.

Von Interesse ist es, die hier synthetisierte Trisaccharid-Einheit neu zu funktionalisieren, so daß sie für eine Blocksynthese verwendet werden kann. Man kann dann mit Hilfe dieses Blocks *N*-Acetylneuraminsäure an beliebig größere Oligosaccharide knüpfen, was durch eine direkte Reaktion mit *N*-Acetylneuraminsäure nicht möglich wäre.

#### EXPERIMENTELLER TEIL

*Allgemeine Methoden.* — Schmelzpunkt: Mettler FP 61 oder Leitz-Heiztischmikroskop, nicht korrigiert. Optische Drehungen: 1-dm-Küvette mit Polarimeter Perkin-Elmer 243. Alle Reaktionen werden dünnschichtchromatographisch auf Aluminiumferti folien (Kieselgel 60  $F_{254}$ , Merck) verfolgt. Anfärbung: 10%  $H_2SO_4$  in Ethanol; 0,2% Naphthoresorcinol in Ethanol–2M  $H_2SO_4$  1:1, v/v; 0,2% Ninhydrin in Ethanol und anschließendes Erhitzen. Präparative Säulenchromatographie: Kieselgel 60 (100–230 mesh). Alle Lösungsmittel werden destilliert, für die Darstellung der Glycosylhalogenide und für die Glycosidsynthesen werden sie außerdem absolutiert und über Molekularsieb aufbewahrt. Alle Glycosidsynthesen werden unter  $N_2$ -Atmosphäre bei strengstem Feuchtigkeitsausschluß im Braunglaskolben durchgeführt.  $^1H$ -N.m.r.-Spektren: Bruker WH 270 oder WM 400, interner Standard  $Me_4Si$  (außer in  $D_2O$ ); Auswertung der Kopplungskonstanten nach 1. Ordnung. Die chemischen Verschiebungen und Kopplungskonstanten der Protonen der Kohlenhydrat-Kette sind in Tabelle I–III zusammengefaßt.

*Ausgangsverbindung.* — *N*-Acetylneuraminsäure (**1**) wird mit Acetanhydrid in Pyridin zur 2,4,7,8,9-Penta-*O*-acetyl-*N*-acetyl- $\beta$ -D-neuraminsäure (**2**) umgesetzt<sup>9</sup>. Anschließend erfolgt Veresterung in Ether–Methanol 2:1 (v/v) mit einem

Überschuß von Diazomethan in Ether. Nach Reinigung über eine Kieselgelsäule (Chloroform–Methanol 80:1, v/v) ergibt sich einheitliches Methyl-5-acetamido-2,4,7,8,9-penta-*O*-acetyl-3,5-didesoxy- $\beta$ -D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosonat (**3**).

1,2;3,4-Di-*O*-isopropyliden-6-*O*-(methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-3,5-didesoxy-D-glycero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonulopyranosylonat)- $\alpha$ -D-galactopyranose (**5**). — Silbercarbonat (100 mg), Drierite (250 mg) und 1,2;3,4-Di-*O*-isopropyliden- $\alpha$ -D-galactopyranose<sup>14</sup> (**4**) (60 mg, 231  $\mu$ mol) werden im Hochvakuum getrocknet. Nach Zugabe von Dichlormethan (2 mL) wird 1 h unter Stickstoff gerührt, auf  $-40^\circ$  abgekühlt und **6** (27,5 mg, 54  $\mu$ mol), in Dichlormethan–Toluol 1:1 (v/v, 1,6 mL) gelöst, zugetropft. Anschließend wird bei  $-20^\circ$  15 h lang, und nach langsamem Erwärmen auf Raumtemp. weitere 50 h gerührt (D.c. Toluol–Aceton 1:1, v/v). Es wird mit Dichlormethan verdünnt, filtriert, mit Wasser ausgeschüttelt, die organische Phase mit  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und *in vacuo* eingeeengt. Der erhaltene Sirup wird säulenchromatographisch (Toluol–Aceton 2:1, v/v) getrennt. Das Produkt (27,4 mg) erhält man als zweite Fraktion nach nicht umgesetztem **4**. Es wird  $^1\text{H}$ -N.m.r.-spektroskopisch analysiert und zeigt eine Reinheit von 97% (Ausb. 26,6 mg, 67%), Sirup, der nach einiger Zeit kristallisiert. Das Eliminierungsprodukt **10** ist zu 3% enthalten und läßt sich chromatographisch nicht abtrennen. Die übrigen Fraktionen enthalten Zersetzungsprodukte aus **6** (Vergl. Lit.<sup>7,8</sup>);  $^1\text{H}$ -N.m.r. (400 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$ ): s. Tab. I, II und  $\delta$  4,56 (d, 1 H, NH), 3,45 (s, 3 H, OMe), 2,09, 1,97, 1,80, 1,64, 1,63 (5 s, 15 H, 4 OAc, 1 NAc), 1,47, 1,44, 1,17, 1,05 [4 s, 12 H, 4 ( $\text{CH}_3$ )CO].

Methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-2-chloro-2,3,5-tridesoxy-D-glycero- $\beta$ -D-galacto-2-nonulopyranosonat (**6**). — Eine Lösung von **3** (2,0 g, 3,75 mmol) in Dichlormethan–Essigester 200:1, v/v, (40 mL) wird mit einer Lösung von Titan-tetrachlorid (2,3 g, 12,1 mmol) im gleichen Lösungsmittel (10 mL) versetzt. Der Ansatz wird 16 h bei  $0^\circ$  und 5 h bei Raumtemp. stehengelassen (D.c. Chloroform–Methanol 20:1, v/v). Es wird mit absol. Toluol (100 mL), Dichlormethan (80 mL) und Acetonitril (20 mL) verdünnt und mit wasserfreiem, fein gepulvertem Natriumacetat ( $\sim 18$  g) unter Rühren versetzt. Nach Entfärbung der Reaktionsmischung wird  $\sim 1$  h weitergerührt, über Celite filtriert, mit absol. Toluol nachgewaschen und *in vacuo* zur Trockene eingeeengt. Das Reaktionsprodukt (Ausb. 1,80 g, 94%) zeigt dünnschichtchromatographisch und im  $^1\text{H}$ -N.m.r.-Spektrum keine Nebenprodukte und wird unmittelbar weiter umgesetzt;  $^1\text{H}$ -N.m.r. (270 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$ ): s. Tab. I und  $\delta$  5,06 (d, 1 H, NH), 3,34 (s, 3 H, OMe), 1,94, 1,89, 1,72, 1,67, 1,61 (5 s, 15 H, 4 OAc, 1 NAc).

Methyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-2,3,5-tridesoxy-D-glycero- $\beta$ -D-galacto-2-nonulopyranosylbromid)onat (**7**). — Eine Lösung von **3** (0,5 g, 0,94 mmol) in Dichlormethan–Ethylacetat 10:1 (v/v, 15 mL) wird bei  $-20^\circ$  im Stickstoffgegenstrom mit Titan-tetrabromid (1,0 g, 2,7 mmol) versetzt (D.c. Chloroform–Methanol 20:1, v/v). Nach 14 h wird auf  $0^\circ$  erwärmt, mit absol. Toluol (20 mL), Dichlormethan (20 mL) und Acetonitril (5 mL) verdünnt und mit wasserfreiem, fein

gepulvertem Natriumacetat (~5 g) unter Rühren versetzt. Nach 30 min wird auf Raumtemp. erwärmt, bis zur Entfärbung der Reaktionsmischung weitergerührt, über Celite filtriert, mit absol. Toluol nachgewaschen und *in vacuo* eingengt. Die  $^1\text{H-N.m.r.}$ -spektroskopische Analyse des Produktes (0,47 g) zeigt eine 95%ige Reinheit an (Ausb. 0,45 g, 86%). Das Bromid wird sofort zur Glycosidsynthese eingesetzt;  $^1\text{H-N.m.r.}$  (270 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$ ): s. Tab. I und  $\delta$  4,59 (d, 1 H, NH), 3,37 (s, 3 H, OMe), 1,93, 1,91, 1,75, 1,63, 1,59 (5 s, 15 H, 4 OAc, 1 NAc).

*Benzyl-2,3,4-tri-O-benzyl-6-O-(methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-didesoxy- $\beta$ -D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosylonat)- $\beta$ -D-galactopyranosid (9)* und *Benzyl-2,3,4-tri-O-benzyl-6-O-(methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-didesoxy-D-glycero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonulopyranosylonat)- $\beta$ -D-galactopyranosid (11)*. — Verbindung<sup>15</sup> **8** (420 mg, 777  $\mu\text{mol}$ ), Quecksilbercyanid (120 mg, 475  $\mu\text{mol}$ ), Quecksilberbromid (55 mg, 153  $\mu\text{mol}$ ) und gepulvertes Molekularsieb 4A (220 mg) werden im Hochvakuum getrocknet und 1 h mit Dichlormethan (10 mL) unter Stickstoff gerührt. Dann wird das in Dichlormethan (10 mL) gelöste Chlorid **6** (198 mg, 388  $\mu\text{mol}$ ) bei Raumtemp. zugetropft. Nach 4 Tagen Rühren (D.c. Chloroform–Methanol 20:1, v/v) wird mit Dichlormethan verdünnt, über Celite filtriert, mit KI-Lösung und Wasser gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und *in vacuo* eingengt. Der zurückbleibende Sirup (600 mg) wird säulenchromatographisch getrennt (Chloroform–Methanol 300:1, v/v). Man erhält nacheinander nicht umgesetztes **8** (150 mg); **9** (Ausb. 190 mg, 48%), Sirup,  $[\alpha]_{\text{D}}^{19} -12,7^\circ$  (c 0,5, Dichlormethan); **11** (Ausb. 140 mg, 36%), weißer Schaum,  $[\alpha]_{\text{D}}^{19} -4,8^\circ$  (c 1, Dichlormethan); weitere Fraktionen enthalten hauptsächlich **10** sowie in kleinerer Menge nicht identifizierte Zersetzungsprodukte aus **6**; Lit.<sup>5</sup> für **11**: Schmp.  $79-80^\circ$ ,  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -5,0^\circ$  (c 1,7, Methanol);  $^1\text{H-N.m.r.}$  (400 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$ ): s. Tab. I, II und für **9**:  $\delta$  7,68–7,05 (m, 20 H, 4 Ph), 5,65, 5,07, 5,00, 4,91, 4,71, 4,64, 4,57, 4,56 (8 mc, 8 H, 4  $\text{PhCH}_2$ ), 3,91 (d, 1 H, NH), 3,31 (s, 1 H, OMe), 2,15, 1,92, 1,74, 1,64, 1,63 (5 s, 15 H, 4 OAc, 1 NAc); für **11**: 7,49–7,08 (m, 20 H, 4 Ph), 5,18, 5,09, 5,01, 4,81, 4,78, 4,72, 4,70, 4,57 (8 mc, 8 H, 4  $\text{PhCH}_2$ ), 4,69 (d, 1 H, NH), 3,23 (s, 1 H, OMe), 2,12, 1,98, 1,76, 1,68, 1,68 (5 s, 15 H, 4 OAc, 1 NAc).

*Anal.* Ber. für  $\text{C}_{54}\text{H}_{63}\text{NO}_{18}$  (1014,1): C, 63,96; H, 6,26; N, 1,38. Gef. für **9**: C, 63,70; H, 6,18; N, 1,30. Gef. für **11**: C, 63,64; H, 6,23; N, 1,32.

*Benzyl-3,6-di-O-acetyl-4-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-2-azido-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosid (13)*. — Silbersilikat (10 g) und gepulvertes Molekularsieb 4A (20 g) werden im Hochvakuum getrocknet. Nach Zugabe von Dichlormethan (200 mL), Toluol (50 mL) und absol. Benzylalkohol (9,5 g, 88 mmol) wird 1 h unter Stickstoff gerührt, auf  $-15^\circ$  abgekühlt und das Bromid<sup>17</sup> **12** (10,0 g, 14,7 mmol), gelöst in Dichlormethan (250 mL), innerhalb von 2 h zuge- tropft. Nach 15 h bei  $-15^\circ$  wird langsam auf Raumtemp. erwärmt und 2 Tage ge- rührt (D.c. Toluol–Ethanol 10:1, v/v). Die Salze werden abfiltriert, die organische Phase wird mit Wasser gewaschen, mit  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und eingengt. Kristalli- sation erfolgt aus Ether–Petrolether (Ausb. 7,2 g, 69%), Schmp.  $124-126^\circ$ ,  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -3,2^\circ$  (c 1,2, Chloroform);  $^1\text{H-N.m.r.}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): s. Tab. II, III und  $\delta$  7,41–

7,30 (m, 5 H, Ph), 4,90, 4,68 (2 mc, 2 H,  $\text{PhCH}_2$ ), 2,15, 2,15, 2,12, 2,07, 2,04, 1,97 (6 s, 18 H, 6 OAc); Lit.<sup>18</sup> Schmp. 137–138°,  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -9.7^\circ$  (c 2,3, Chloroform).

*Anal.* Ber. für  $\text{C}_{31}\text{H}_{39}\text{N}_3\text{O}_{16}$  (709,7): C, 52,47; H, 5,54; N, 5,92. Gef.: C, 52,04; H, 5,51; N, 5,86.

*Benzyl-2-azido-2-desoxy-4-O-β-D-galactopyranosyl-β-D-glucopyranosid (14).* — Eine Lösung von **13** (7.32 g, 10.3 mmol) in absol. Methanol (150 mL) wird mit einer Natriummethanolatlösung (7 mL, 2,3%) versetzt. Nach 3 h (D.c. Chloroform–Methanol 3:1, v/v) wird so viel Wasser zugegeben, daß die Lösung wieder klar wird. Es wird mit Ionenaustauscher (Dowex 50 WX-8,  $\text{H}^+$ ) neutralisiert, abfiltriert, nachgewaschen und *in vacuo* zur Trockene eingeeengt. Vom verbleibenden Sirup (Ausb. 4,37 g, 93%) wird ein kleiner Teil zur Analyse aus heißem Methanol–Petrolether kristallisiert, Schmp. 202°,  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -11,1^\circ$  (c 0.4, Methanol),  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +5,9^\circ$  (c 0.9, Wasser);  $^1\text{H-N.m.r.}$  (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ): s. Tab. II, III und  $\delta$  7,36–7,25 (m, 5 H, Ph), 4,79, 4,62 (2 mc, 2 H,  $\text{PhCH}_2$ ); Lit.<sup>18</sup> Schmp. 202–204°,  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -1,1^\circ$  (c 0.4, Methanol).

*Anal.* Ber. für  $\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_{10}$  (457,4): C, 49,89; H, 5,95; N, 9,19. Gef.: C, 49,26; H, 6,03; N, 8,91.

*Benzyl-2-azido-4-O-(4,6-O-benzyliden-β-D-galactopyranosyl)-2-desoxy-β-D-glucopyranosid (15).* — Es werden nacheinander in absol. Acetonitril (430 mL) Verbindung **14** (4.27 g, 9.3 mmol), Benzaldehyddimethylacetal (4,27 g, 28 mmol) und wasserfreie *p*-Toluolsulfonsäure (0,42 g, 2,4 mmol) unter Rühren eingetragen. Nach 3,5 h (D.c. Chloroform–Methanol 3:1, v/v) wird die Säure mit Ionenaustauscher IRA-400 ( $\text{OH}^-$ ) unter Zugabe von Methanol neutralisiert, der Austauscher wird abfiltriert und es wird *in vacuo* eingeeengt. Der erhaltene Rohsirup (6,73 g) wird ohne Reinigung weiter umgesetzt. Zur Analyse wird ein kleiner Teil säulenchromatographisch (Chloroform–Methanol 30:1, v/v) gereinigt und als amorphe Substanz aus Petrolether gefällt, Schmp. 98–100°,  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -36,1^\circ$  (c 1,4, Chloroform);  $^1\text{H-N.m.r.}$  [400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , Probe mit ( $^2\text{H}_4$ )Methanol abgezogen]: s. Tab. II, III und  $\delta$  7,49–7,27 (m, 10 H, 2 Ph), 5,36 (s, 1 H,  $\text{PhCH}$ ), 4,87, 4,63 (2 mc, 2 H,  $\text{PhCH}_2$ ), 4,19–3,26 (m, 12 H, 12 Zuckerprotonen).

*Anal.* Ber. für  $\text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_{10}$  (545,6): C, 57,24; H, 5,73; N, 7,70. Gef.: C, 57,21; H, 5,92; N, 7,10.

*Benzyl-2-azido-3,6-di-O-benzyl-2-desoxy-4-O-(2,3-di-O-benzyl-4,6-O-benzyliden-β-D-galactopyranosyl)-β-D-glucopyranosid (16).* — Das Rohprodukt von **15** (5,16 g, ~7 mmol) wird in absol. *N,N*-Dimethylformamid (150 mL) gelöst, auf 0° gekühlt, portionsweise mit Natriumhydrid (2,6 g, 80%, ~87 mmol) versetzt und 1 h gerührt. Dann wird Benzylbromid (6,7 g, 39 mmol) zugetropft, 30 min bei 0° und weitere 2,5 h bei Raumtemp. gerührt (D.c. Ethylacetat–Hexan 1:3, v/v). Es wird tropfenweise Methanol unter Eiskühlung zugegeben bis keine Wasserstoffentwicklung mehr zu beobachten ist. Die Lösung wird an der Ölpumpe zu einem dickflüssigen Sirup eingeeengt, der in Dichlormethan aufgenommen und mehrfach mit Wasser gewaschen wird. Die organische Phase wird mit  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und *in vacuo* zum Sirup (8,3 g) eingeeengt, der an Kieselgel (170 g) säulenchromatogra-

phisch (Toluol–Aceton 50:1, v/v) gereinigt wird. Man erhält einen Sirup (Ausb. 46 g, 69%, bezogen auf **14**), der sich aus Ether–Petrolether kristallisieren läßt; Schmp. 142°,  $[\alpha]_D^{20}$  –20,5° (c 0,4, Chloroform);  $^1\text{H-N.m.r.}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): s. Tab. II, III und  $\delta$  7,56–7,16 (m, 30 H, 6 Ph), 5,45 (s, 1 H, PhCH), 5,21, 4,91, 4,83, 4,73, 4,72, 4,71, 4,71, 4,66, 4,56, 4,32 (10 mc, 10 H, 5  $\text{PhCH}_2$ ).

*Anal.* Ber. für  $\text{C}_{54}\text{H}_{55}\text{N}_3\text{O}_{10}$  (906,1): C, 71,59; H, 6,12; N, 4,64. Gef.: C, 71,31; H, 6,21; N, 4,41.

*Benzyl-2-acetamido-3,6-di-O-benzyl-2-desoxy-4-O-(2,3-di-O-benzyl-4,6-O-benzyliden- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (17).* — Eine Lösung von **16** (100 mg, 110  $\mu\text{mol}$ ) in absol. Oxolan (2 mL) wird portionsweise mit  $\text{LiAlH}_4$  (20 mg, 0,5 mmol) versetzt und 15 min gerührt (D.c. Toluol–Ethanol 10:1, v/v). Der Ansatz wird auf 0° abgekühlt und das überschüssige  $\text{LiAlH}_4$  mit Ethylacetat vernichtet. Nach Einengen des Ansatzes *in vacuo* wird der Rückstand in Dichlormethan aufgenommen, filtriert, gegen Wasser geschüttelt, mit  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und *in vacuo* eingeeengt (Ausb. 85 mg). Es wird Pyridin (1 mL) und Acetanhydrid (0,1 mL, 1 mmol) zugegeben und 15 h gerührt. Dann wird *in vacuo* eingeeengt, mit Toluol nachdestilliert, in Dichlormethan aufgenommen, mit Wasser gewaschen, mit  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und *in vacuo* eingeeengt. Eine säulenchromatographische Reinigung (Toluol–Ethanol 30:1, v/v) ergibt einen Sirup, der kristallisiert (Ausb. 76 mg, 75%), Schmp. 164°,  $[\alpha]_D^{20}$  –10,9° (c 0,5, Chloroform);  $^1\text{H-N.m.r.}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): s. Tab. II, III und  $\delta$  7,50–7,20 (m, 30 H, 6 Ph), 5,66 (d, 1 H, NH), 5,45 (s, 1 H, PhCH), 5,06, 4,87, 4,83, 4,80, 4,74, 4,74, 4,68, 4,56, 4,55, 4,35 (10 mc, 10 H, 5  $\text{PhCH}_2$ ), 1,81 (s, 3 H, NAc).

*Anal.* Ber. für  $\text{C}_{56}\text{H}_{59}\text{NO}_{11}$  (922,1): C, 72,95; H, 6,45; N, 1,52. Gef.: C, 72,05; H, 6,24; N, 1,49.

*Benzyl-2-azido-3,6-di-O-benzyl-2-desoxy-4-O-(2,3-di-O-benzyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (18).* — Verbindung **16** (4,12 g, 4,5 mmol) wird mit 80% Essigsäure (400 mL) versetzt und bei 80° 1,5 h gerührt (D.c. Ethylacetat–Hexan 1:1, v/v). Es wird das Lösungsmittel im Ölpumpenvakuum abgezogen, dreimal mit Toluol nachdestilliert, der Rückstand in Dichlormethan aufgenommen, mit Wasser gewaschen, mit  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und *in vacuo* eingeeengt (Ausb. 3,12 g, 84%). Aus Dichlormethan–Petrolether lassen sich Kristalle erhalten, Schmp. 118–119°,  $[\alpha]_D^{20}$  +0,55° (c 1,1, Chloroform);  $^1\text{H-N.m.r.}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): s. Tab. II, III und  $\delta$  7,47–7,20 (m, 25 H, 5 Ph), 5,00, 4,91, 4,78, 4,74, 4,73, 4,69, 4,66, 4,66, 4,56, 4,38 (10 mc, 10 H, 5  $\text{PhCH}_2$ ), 2,60 (s, 1 H, OH), 1,82 (breit, 1 H, OH).

*Anal.* Ber. für  $\text{C}_{47}\text{H}_{51}\text{N}_3\text{O}_{10}$  (817,9): C, 69,02; H, 6,28; N, 5,14. Gef.: C, 69,02; H, 6,25; N, 5,03.

*Benzyl-2-azido-3,6-di-O-benzyl-2-desoxy-4-O-(4,6-di-O-acetyl-2,3-di-O-benzyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)- $\beta$ -D-glucopyranosid (19).* — Eine Lösung von **18** (200 mg, 245  $\mu\text{mol}$ ) in Pyridin (4 mL) wird mit Acetanhydrid (2 mL) versetzt (D.c. Toluol–Ethanol 20:1, v/v). Nach 16 h bei Raumtemp. wird *in vacuo* eingeeengt, der Rückstand mit Dichlormethan aufgenommen, mit Wasser gewaschen, mit  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und *in vacuo* eingeeengt. Nach säulenchromatographischer Reinigung

(Toluol–Ethanol 40:1, v/v) verbleibt ein Sirup (Ausb. 214 mg, 97%),  $[\alpha]_D^{20} -6,6^\circ$  (c 1,0, Chloroform);  $^1\text{H-N.m.r.}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): s. Tab. II, III und  $\delta$  7,49–7,14 (m, 25 H, 5 Ph), 5,00, 4,92, 4,77, 4,73, 4,72, 4,69, 4,67, 4,60, 4,48, 4,37 (10 mc, 10 H, 5  $\text{PhCH}_2$ ), 2,09, 2,02 (2 s, 6 H, 2 OAc).

*Anal.* Ber. für  $\text{C}_{51}\text{H}_{55}\text{N}_3\text{O}_{12}$  (902,0): C, 67,91; H, 6,15; N, 4,66. Gef.: C, 67,85; H, 6,13; N, 4,60.

*Benzyl-O-[methyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-didesoxy-D-glycero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonulopyranosyl)onat]-(2 $\rightarrow$ 6)-O-(2,3-di-O-benzyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-2-azido-3,6-di-O-benzyl-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosid (20)* und *Benzyl-O-[methyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-didesoxy-D-glycero- $\beta$ -D-galacto-2-nonulopyranosyl)onat]-(2 $\rightarrow$ 6)-O-(2,3-di-O-benzyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-2-azido-3,6-di-O-benzyl-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosid (24).* — Am Hochvakuum werden Verbindung **18** (2,08 g, 2,5 mmol), Quecksilbercyanid (680 mg, 2,7 mmol), Quecksilberbromid (350 mg, 1 mmol) und Molekularsieb 4A, gepulvert (1,5 g) getrocknet und dann 1 h mit absol. Dichlormethan (25 mL) unter Stickstoff gerührt. Bei Raumtemp. wird das Chlorid **6** (760 mg, 1,49 mmol), gelöst in Dichlormethan (20 mL), zutropft. Nach 5 Tagen Rühren (D.c. Chloroform–Methanol 20:1, v/v) wird mit Dichlormethan verdünnt, über Celite filtriert, mit KI-Lösung (10%) und Wasser gewaschen, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und *in vacuo* eingengt. Das Produktgemisch (2,8 g) wird säulenchromatographisch an Kieselgel getrennt (Chloroform–Methanol 300:1, v/v). Man erhält nacheinander ein Zersetzungsprodukt (17 mg) aus **18**; nicht umgesetztes Aglycon **18** (1,35 g); das *N*-Acetylneuraminsäure- $\beta$ -glycosid **24** (Ausb. 440 mg, 23%), Sirup,  $[\alpha]_D^{27} -4,0^\circ$  (c 1,0, Dichlormethan); das *N*-Acetylneuraminsäure- $\alpha$ -glycosid **20** (Ausb. 420 mg, 22%), weißer Schaum,  $[\alpha]_D^{27} -12,8^\circ$  (c 1,0, Dichlormethan) und ein Gemisch weiterer Fraktionen (250 mg), die **10** als Hauptkomponente sowie Zersetzungsprodukte aus **6** enthalten;  $^1\text{H-N.m.r.}$  (400 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$ ): s. Tab. I–III und für **20**:  $\delta$  7,79–7,08 (m, 25 H, 5 Ph), 5,27, 4,86, 4,84, 4,84, 4,81, 4,63 (6 mc, 6 H, 3  $\text{PhCH}_2$ ), 4,62 (d, 1 H, NH), 4,59, 4,53, 4,47, 4,38 (4 mc, 4 H, 2  $\text{PhCH}_2$ ), 3,40 (s, 3 H, OMe), 2,88 (d, 1 H,  $J_{4',\text{OH}}$  2,4 Hz, OH), 2,04, 2,03, 1,74, 1,70, 1,68 (5 s, 15 H, 4 OAc, 1 NAc); für **24**: 7,72–7,00 (m, 25 H, 5 Ph), 5,77 (d, 1 H, NH), 5,24, 4,89, 4,87, 4,80, 4,77, 4,77, 4,71, 4,54, 4,52, 4,39 (10 mc, 10 H, 5  $\text{PhCH}_2$ ), 3,68 (s, 1 H, OH), 3,31 (s, 3 H, OMe), 1,93, 1,85, 1,72, 1,66, 1,63 (5 s, 15 H, 4 OAc, 1 NAc).

*Anal.* Ber. für  $\text{C}_{67}\text{H}_{78}\text{N}_4\text{O}_{22}$  (1291,4): C, 62,32; H, 6,09; N, 4,34. Gef. für **20**: C, 62,11; H, 6,11; N, 3,94. Gef. für **24**: C, 61,84; H, 5,99; N, 4,01.

*Benzyl-O-[methyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-didesoxy-D-glycero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonulopyranosyl)onat]-(2 $\rightarrow$ 6)-O-(2,3-di-O-benzyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-2-amino-3,6-di-O-benzyl-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosid-Dihydrogensulfid (21).* — In eine Lösung von **20** (195 mg, 151  $\mu\text{mol}$ ) in Pyridin (5 mL) und Wasser (2,5 mL) wird 3 h bei Raumtemp.  $\text{H}_2\text{S}$ -Gas eingeleitet. Es wird 16 h gerührt, auf  $60^\circ$  erwärmt, nochmals 1 h  $\text{H}_2\text{S}$  eingeleitet und weitere 4 h bei  $60^\circ$  gerührt (D.c. Toluol–Aceton 1:1, v/v). Zur Aufarbeitung wird mit Toluol und Ethanol verdünnt und *in vacuo* eingengt. Mehrfach wird mit Toluol *in vacuo* nach-

destilliert. Das Produkt wird über eine Kieselgelsäule (Chloroform–Methanol 80:1, v/v) gereinigt (Ausb. 140 mg, 71%), weißer Schaum,  $[\alpha]_D^{23} -11.0^\circ$  (c 1.0, Chloroform);  $^1\text{H-N.m.r.}$  (400 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$ ): s. Tab. I–III und  $\delta$  7,77–7,08 (m, 25 H, 5 Ph), 5,46, 4,93, 4,89, 4,81, 4,79, 4,62, 4,58, 4,58, 4,47, 4,42 (10 mc, 10 H, 5  $\text{PhCH}_2$ ), 4,36 (d, 1 H, NH), 3,39 (s, 3 H, OMe), 2,06, 2,03, 1,76, 1,68, 1,65 (5 s, 15 H, 4 OAc, 1 NAc).

*Anal.* Ber. für  $\text{C}_{67}\text{H}_{82}\text{N}_2\text{O}_{22}\text{S}$  (1299,5): C, 61,93; H, 6,36; N, 2,16; S, 2,47. Gef.: C, 61,80; H, 6,31; N, 2,15; S, 2,17.

*Benzyl-O-[methyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-didesoxy-D-glycero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonulopyranosyl)onat]-(2 $\rightarrow$ 6)-O-(4-O-acetyl-2,3-di-O-benzyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-2-acetamido-3,6-di-O-benzyl-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosid (22).* — Eine Lösung von **21** (140 mg, 108  $\mu\text{mol}$ ) in absol. Methanol (10 mL) wird mit methanolischer HCl bis pH 2–3 angesäuert, mit Toluol verdünnt und *in vacuo* bei 30° (Badtemp.) eingeeengt. Der Rückstand wird in Pyridin (4 mL) aufgenommen und mit Acetanhydrid (2 mL) versetzt. Nach 24 h (D.c. Chloroform–Methanol, 20:1, v/v) wird *in vacuo* eingeeengt, mit Dichlormethan aufgenommen, mit Wasser gewaschen, mit  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und *in vacuo* eingeeengt. Das Produkt wird an einer Kieselgelsäule (Chloroform–Methanol 100:1, v/v) gereinigt (Ausb. 103 mg, 71%), Sirup,  $[\alpha]_D^{26} -12,2^\circ$  (c 1,0, Chloroform);  $^1\text{H-N.m.r.}$  (400 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$ ): s. Tab. I–III und  $\delta$  7,61–7,10 (m, 25 H, 5 Ph), 5,63 (d, 1 H, NH), 5,20, 4,91, 4,90, 4,87, 4,86, 4,81 (6 mc, 6 H, 3  $\text{PhCH}_2$ ), 4,66 (d, 1 H, NH von NeuAc), 4,57, 4,53, 4,41, 4,39 (4 mc, 4 H, 2  $\text{PhCH}_2$ ), 3,48 (s, 3 H, OMe), 2,14, 2,00, 1,89, 1,85, 1,68, 1,68, 1,65 (7 s, 21 H, 5 OAc, 2 NAc).

*Anal.* Ber. für  $\text{C}_{71}\text{H}_{84}\text{N}_2\text{O}_{24}$  (1349,5): C, 63,20; H, 6,27; N, 2,08. Gef.: C, 62,91; H, 6,20; N, 2,00.

*Benzyl-O-(5-acetamido-3,5-didesoxy-D-glycero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonulopyranosylonsäure)-(2 $\rightarrow$ 6)-O-(2,3-di-O-benzyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-2-acetamido-3,6-di-O-benzyl-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosid (23).* — Verbindung **22** (90 mg; 67  $\mu\text{mol}$ ) in absol. Methanol (10 mL) wird mit einer Natriummethanolatlösung (1%, 0,5 mL) versetzt. Nach 4 h bei Raumtemp. wird m Natriumhydroxyd (5 mL) zugefügt (D.c. 1-Butanol–Eisessig–Wasser 5:2:2, v/v). Nach 2 h wird mit Ionenaustauscher Dowex 50 WX-8 ( $\text{H}^+$ ) neutralisiert, abfiltriert und *in vacuo* bei 30° (Badtemp.) eingeeengt und am Hochvakuum getrocknet (Ausb. 74 mg, 99%), Schaum,  $[\alpha]_D^{28} -12,1^\circ$  (c 1,0, Chloroform);  $^1\text{H-N.m.r.}$  [400 MHz,  $\text{CDCl}_3$  + 10% ( $^2\text{H}_4$ )Methanol]: s. Tab. I–III und  $\delta$  7,40–7,23 (m, 25 H, 5 Ph), 4,86, 4,85, 4,78, 4,78, 4,75, 4,66, 4,60, 4,57, 4,54, 4,43 (10 mc, 10 H, 5  $\text{PhCH}_2$ ), 4,08–3,34 (m, 19 H) 2,05, 1,90 (2 s, 6 H, 2 NAc).

*Anal.* Ber. für  $\text{C}_{60}\text{H}_{72}\text{N}_2\text{O}_{19}$  (1125,2): C, 64,05; H, 6,45; N, 2,49. Gef.: C, 64,30; H, 6,40; N, 2,18.

*Benzyl-O-[methyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-didesoxy-D-glycero- $\beta$ -D-galacto-2-nonulopyranosyl)onat]-(2 $\rightarrow$ 6)-O-(2,3-di-O-benzyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-2-amino-3,6-di-O-benzyl-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosid-Dihydrogensulfid (25).* — Verbindung **24** (238 mg, 184  $\mu\text{mol}$ ) wird analog zur Dar-



stellung von **21** umgesetzt (Ausb. 180 mg, 75%), Schaum,  $[\alpha]_D^{20} +4,5^\circ$  (c 1,1, Dichlormethan);  $^1\text{H-N.m.r.}$  (400 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$ ): s. Tab. I und  $\delta$  7,60–7,07 (m, 25 H, 5 Ph), 5,58 (s, verbreitert, 1 H, NH), 5,38, 4,87, 4,87, 4,84, 4,81, 4,76, 4,70, 4,58, 4,53, 4,42 (10 mc, 10 H, 5  $\text{PhCH}_2$ ), 3,29 (s, 3 H, OMe), 1,89, 1,83, 1,67, 1,61, 1,59 (5 s, 15 H, 4 OAc, 1 NAc).

*Anal.* Ber. für  $\text{C}_{67}\text{H}_{82}\text{N}_2\text{O}_{22}\text{S}$  (1299,5): C, 61,93; H, 6,36; N, 2,16; S, 2,47. Gef.: C, 61,67; H, 6,34; N, 2,14; S, 2,30.

*Benzyl-O-[methyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-didesoxy-D-glycero- $\beta$ -D-galacto-2-nonulopyranosyl)onat]-(2 $\rightarrow$ 6)-O-(4-O-acetyl-2,3-di-O-benzyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-2-acetamido-3,6-di-O-benzyl-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosid (26).* — Verbindung **25** (180 mg, 139  $\mu\text{mol}$ ) wird analog zur Darstellung von **22** umgesetzt (Ausb. 140 mg, 75%), Sirup,  $[\alpha]_D^{22} -16,0^\circ$  (c 0,9, Dichlormethan);  $^1\text{H-N.m.r.}$  (400 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$ ): s. Tab. I–III und  $\delta$  7,51–7,07 (m, 25 H, 5 Ph), 6,27 (d, 1 H, NH von NeuAc), 5,37 (d, 1 H, NH), 5,11, 4,90, 4,89, 4,85, 4,82, 4,79, 4,53, 4,53, 4,53, 4,37 (10 mc, 10 H, 5  $\text{PhCH}_2$ ), 3,36 (s, 3 H, OMe), 2,24, 2,00, 1,82, 1,74, 1,74, 1,68, 1,56 (7 s, 21 H, 5 OAc, 2 NAc).

*Anal.* Ber. für  $\text{C}_{71}\text{H}_{84}\text{N}_2\text{O}_{24}$  (1349,5): C, 63,20; H, 6,27; N, 2,08. Gef.: C, 62,98; H, 5,98; N, 1,97.

*Benzyl-O-(5-acetamido-3,5-didesoxy-D-glycero- $\beta$ -D-galacto-2-nonulopyranosylonsäure)-(2 $\rightarrow$ 6)-O-(2,3-di-O-benzyl- $\beta$ -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-2-acetamido-3,6-di-O-benzyl-2-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosid (27).* — Verbindung **26** (140 mg, 104  $\mu\text{mol}$ ) wird analog zur Darstellung von **23** umgesetzt (Ausb. 110 mg, 94%), Sirup,  $[\alpha]_D^{23} -12,5^\circ$  (c 1,0, Chloroform);  $^1\text{H-N.m.r.}$  [400 MHz,  $\text{CDCl}_3-(^2\text{H}_4)\text{Methanol}$  1:1, v/v]: s. Tab. I und  $\delta$  7,43–7,22 (m, 25 H, 5 Ph), 4,95–4,41 (m), 4,13–3,30 (m), 2,05, 1,90 (2 s, 6 H, 2 NAc).

*Anal.* Ber. für  $\text{C}_{60}\text{H}_{72}\text{N}_2\text{O}_{19}$  (1125,2): C, 64,05; H, 6,45; N, 2,49. Gef.: C, 64,10; H, 6,60; N, 2,30.

*O-(5-Acetamido-3,5-didesoxy-D-glycero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonulopyranosylonsäure)-(2 $\rightarrow$ 6)-O- $\beta$ -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-2-acetamido-2-desoxy-D-glucopyranose (28).* — Verbindung **23** (80 mg, 71  $\mu\text{mol}$ ) wird in Methanol (5 mL) und 1,4-Dioxan (0,5 mL) mit Pd-C (10%, 80 mg) und leichtem  $\text{H}_2$ -Überdruck bei Raumtemp. 16 h unter Rühren hydriert (D.c. 1-Butanol-Eisessig-Wasser 5:2:2, v/v). Es wird mit Methanol und Wasser verdünnt, vom Katalysator filtriert und nachgewaschen. Nach Einengen des Lösungsmittels *in vacuo* bei  $25^\circ$  (Badtemp.) auf  $\sim 60\%$  wird gefriergetrocknet (Ausb. 48 mg, 93%),  $[\alpha]_D^{26} -0,7^\circ$  (c 1,0, Wasser);  $^1\text{H-N.m.r.}$  (400 MHz;  $\text{D}_2\text{O}$ ; interner Standard, Aceton  $\delta$  2,12): s. Tab. I–III und  $\delta$  3,95–3,41 (m), 1,96, 1,93 (2 s, 6 H, 2 NAc);  $\alpha:\beta = 61:39$ .

*Anal.* Ber. für  $\text{C}_{25}\text{H}_{42}\text{N}_2\text{O}_{19} \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$  (728,7): C, 41,21; H, 6,64; N, 3,84. Gef.: C, 40,80; H, 6,30; N, 3,61.

*O-(5-Acetamido-3,5-didesoxy-D-glycero- $\beta$ -D-galacto-2-nonulopyranosylonsäure)-(2 $\rightarrow$ 6)-O- $\beta$ -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-2-acetamido-2-desoxy-D-glucopyranose (29).* — Verbindung **27** (110 mg, 98  $\mu\text{mol}$ ) wird analog zur Darstellung von **28** mit Pd-C (110 mg) umgesetzt (Ausb. 66 mg, 93%),  $[\alpha]_D^{27} -3,5^\circ$  (c 1,0, Wasser);

$^1\text{H-N.m.r.}$  (400 MHz;  $\text{D}_2\text{O}$ ; interner Standard, Aceton,  $\delta$  2,12): s. Tab. I–III und  $\delta$  4,02–3,44 (m), 1,94, 1,93 (2 s, 6 H, 2 NAc);  $\alpha:\beta = 16:9$ .

*Anal.* Ber. für  $\text{C}_{25}\text{H}_{42}\text{N}_2\text{O}_{19} \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$  (728,7): C, 41,21; H, 6,64; N, 3,84. Gef.: C, 40,78; H, 6,31; N, 3,65.

## DANK

Frau Monika Armbrust sei für ihre einsatzfreudige und selbständige Mitarbeit an diesem Projekt besonders gedankt. Die Untersuchungen wurden von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie durch Bereitstellung von Sachmitteln gefördert, wofür wir diesen Institutionen zu Dank verpflichtet sind.

## LITERATUR

- 1 H. PAULSEN UND R. LEBUHN, *Carbohydr. Res.*, 125 (1984) 21–45.
- 2 H. TUPPY UND A. GOTTSCHALK, in A. GOTTSCHALK (Ed.), *Glycoproteins, Their Composition, Structure and Function*, Elsevier, Amsterdam 1972, SS. 403–449.
- 3 R. SCHAUER (Ed.), *Sialic Acids, Cell Biology Monographs* Vol. 10, Springer, Wien, 1982, siehe hier weitere Literatur.
- 4 J. MONTREUIL, *Adv. Carb. Chem. Biochem.*, 37 (1980) 157–223.
- 5 D. J. M. VAN DER VLEUGEL, F. R. WASSENBURG, J. W. ZWIKKER UND J. F. G. Vliegenthart, *Carbohydr. Res.*, 104 (1982) 221–233.
- 6 D. J. M. VAN DER VLEUGEL, J. W. ZWIKKER, J. F. G. Vliegenthart, S. A. A. VAN BOECKEL UND J. H. VAN BOOM, *Carbohydr. Res.*, 105 (1982) 19–31.
- 7 A. YA. Khorlin, I. M. PRIVALOVA UND I. B. BYSTROVA, *Carbohydr. Res.*, 19 (1971) 272–275.
- 8 R. BROSSMER, H. FRIEBOLIN, G. KEILICH, B. LOSER UND M. SUPP, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.*, 359 (1978) 1064.
- 9 P. MEINDL UND H. TUPPY, *Monatsh. Chem.*, 96 (1965) 802–815; 100 (1969) 1295–1306.
- 10 H. PAULSEN, *Angew. Chem.*, 94 (1982) 184–201; *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, 21 (1982) 155–173.
- 11 R. KUHN, P. LUTZ UND D. L. MACDONALD, *Chem. Ber.*, 99 (1966) 611–617.
- 12 V. KUMAR, J. KESSLER, M. E. SCOTT, B. H. PATWARDHAN, S. W. TANENBAUM UND M. FLASHNER, *Carbohydr. Res.*, 94 (1981) 123–130.
- 13 H. PAULSEN UND A. BUNSCH, *Angew. Chem.*, 92 (1980) 929–930; *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, 19 (1982) 902–903; *Carbohydr. Res.*, 100 (1982) 143–167.
- 14 O. T. SCHMIDT, *Methods Carbohydr. Chem.*, 2 (1963) 318–324.
- 15 K. MIYAI UND R. W. JEANLOZ, *Carbohydr. Res.*, 21 (1972) 45–55.
- 16 H. PAULSEN UND O. LOCKHOFF, *Chem. Ber.*, 114 (1981) 3102–3114.
- 17 H. PAULSEN UND J.-P. HOLCK, *Justus Liebigs Ann. Chem.*, (1982) 1121–1131.
- 18 R. U. LEMIEUX, S. Z. ABBAS, M. H. BURZYNSKA UND R. M. RATCLIFFE, *Can. J. Chem.*, 60 (1982) 63–67.
- 19 A. LIPTAK, I. JODÁL UND P. NÁNÁSI, *Carbohydr. Res.*, 52 (1976) 17–22.
- 20 U. DABROWSKI, H. FRIEBOLIN, R. BROSSMER UND M. SUPP, *Tetrahedron Lett.*, (1979) 4637–4640.
- 21 J. HAVERKAMP, H. VAN HALBEEK, L. DORLAND, J. F. G. Vliegenthart, R. PFEIL UND R. SCHAUER, *Eur. J. Biochem.*, 122 (1982) 305–311.