

SYNTHESE DER HEXAPEPTIDSEQUENZ 43 BIS 48 DES ASIALO-GLYCOPHORIN A MIT ZWEI DISACCHARIDSEITENKETTEN*

HANS PAULSEN UND MICHAEL SCHULTZ

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

(Eingegangen am 20 Februar 1986; angenommen am 30 April 1986)

ABSTRACT

The N- as well the C-terminus of *N*-(9-fluorenylmethoxycarbonyl)-*O*-[2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-*O*-(2-acetamido-4,6-di-*O*-benzoyl-2-deoxy- α -D-galactopyranosyl)]-L-serin benzyl ester, synthesized by a glycosidation reaction, could be deblocked selectively to give compounds **6** and **7**, which are versatile intermediates for the synthesis of glycopeptides. Thus, the glycohexapeptide, L-valyl-*O*-[(β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-*O*-(2-acetamido-2-deoxy- α -D-galactopyranosyl)]-L-seryl-L-glutamyl-L-isoleucyl-*O*-[(β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-*O*-(2-acetamido-2-deoxy- α -D-galactopyranosyl)]-L-seryl-L-valine representing the sequence 43 to 48 of asialoglycophorin A was synthesized.

ZUSAMMENFASSUNG

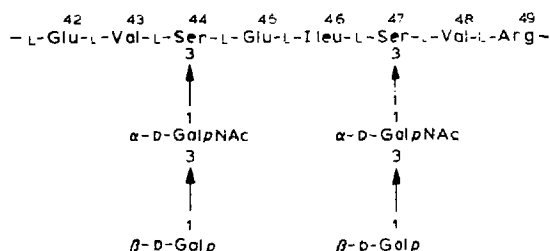
Durch eine Glycosidsynthese wurde *N*-(9-Fluorenylmethoxycarbonyl)-*O*-[(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-*O*-(2-acetamido-4,6-di-*O*-benzoyl-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)]-L-serin-benzylester dargestellt. Sowohl der N- als auch der C-Terminus dieses Glycosylserinderivates können selektiv entblockiert werden. Mit den so erhaltenen Verbindungen **6** und **7** lassen sich nach den Methoden der Peptidsynthese Glycopeptide großer Variabilität aufbauen. Auf diesem Wege wurde das Glycohexapeptid L-Valyl-*O*-[(β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)]-L-glutamyl-L-isoleucyl-*O*-[(β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-*O*-(2-acetamido-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)]-L-seryl-L-valin synthetisiert, das die Sequenz 43 bis 48 des Asialoglycophorin A darstellt.

EINFÜHRUNG

In *O*-Glycoproteinen² findet man überwiegend die Core-A-Struktur, in der das Disaccharid β -D-Galp-(1 \rightarrow 3)-D-GalNAc α -glycosidisch an die Hydroxylgruppe

*LXXV. Mitteilung der Serie "Bausteine von Oligosacchariden". LXXIV. Mitteilung, siehe Lit. 1.

des L-Serins oder L-Threonins geknüpft ist³. In Glycophorin A, dem wichtigsten transmembranen Glycoprotein der Erythrozyten⁴, enthält die Core-Struktur zusätzlich zwei Neuraminsäurereste gebunden⁵. Diese Anordnung kommt in der aus 131 Aminosäuren zusammengesetzten Peptidkette des Glycophorins 15 mal vor. Daneben ist nur eine N-glycosidisch gebundene komplexe Kette vorhanden⁶. Mit Neuraminidase wird in Glycophorin A die Core-A-Struktur, der sogenannte T-Rezeptor⁷, freigesetzt. Die Endgruppen des Asialoglycophorin A mit N- und M-Antigenität wurden bereits synthetisiert⁸. Aber auch die Zwischenabschnitte sind von erheblichem immunologischen Interesse. Die Struktur I gibt einen Ausschnitt aus dem Asialoglycophorin A wieder. Wir haben jetzt die Sequenz 43 bis 48 synthetisiert, die an den beiden Serinresten je eine Disaccharidkette enthält. Die Synthese ist ein gutes Beispiel dafür, daß es jetzt möglich ist, kohlenhydrathaltige Serinreste in beliebiger Weise in Peptidketten einzubauen.



ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Während die nachbargruppenunterstützte β -glycosidische Anknüpfung von D-Xylose an längere Peptidketten mit gutem Erfolg gelingt⁹, ist die Verknüpfung von Saccharidblöcken mit L-serin-haltigen Peptidketten unter Herstellung der α -glycosidischen Bindung nach unseren Erfahrungen nur in eingeschränktem Maße möglich¹⁰. Für die Synthese längerer Peptidketten, die die Core-A-Struktur enthalten, ist daher ein stufenweiser Aufbau vorzuziehen. Hierfür ist ein Disaccharid-Serin- oder Disaccharid-Threonin-Baustein notwendig, der am Aminosäureende sowohl N-terminal als auch C-terminal selektiv entblockiert werden kann, um ihn dann zur Peptidverknüpfung mit anderen Aminosäuren einzusetzen. Bisher haben wir für derartige aufbauende Synthesen die Blockierungskombination von N-terminalem Benzyloxycarbonyl- und C-terminalem *tert*-Butylester-Schutzgruppen benutzt¹⁰.

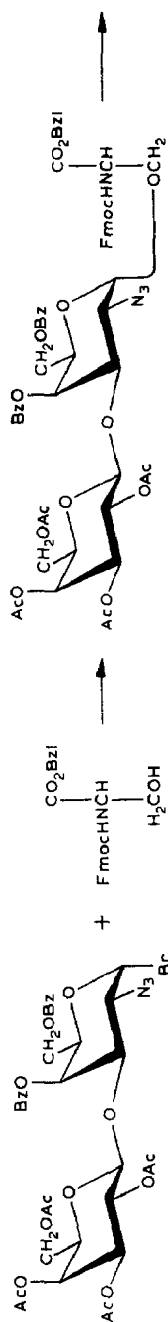
In der vorliegenden Arbeit haben wir die 9-Fluorenylmethoxycarbonyl-(Fmoc)-Gruppe¹¹ für den N-terminalen Schutz eingesetzt, die sich auch schon bei Untersuchungen anderer Arbeitskreise bewährt hat^{12,13}. Die Fmoc-Gruppe kann unter milden basischen Bedingungen mit Morpholin leicht entfernt werden, wobei das O-glycosylierte Serin nicht angegriffen wird. Die Gruppe ist unter Glyco-

sidierungsbedingungen stabil und wird nicht bei der Reduktion von Azidogruppen zu Aminogruppen im Zuckerteil verändert. Als C-terminaler Rest wurde der Benzylester gewählt. Die selektive hydrogenolytische Spaltung des Benzylesters neben der Fmoc-Gruppe ist bekanntermaßen problematisch, da diese dabei auch teilweise abgespalten wird¹⁴. Unter kontrollierten Bedingungen ist jedoch durch Wasserstoffübertragung mit Ameisensäure–Palladium die Benzylestergruppe selektiv neben der Fmoc-Gruppe zu entfernen¹⁵.

Für die Glycosidierungsreaktion wird daher als Glycosylakzeptor das gemischt-substituierte Serinderivat¹⁶ **3** eingesetzt. Als Glycosyldonor benutzt man das Disaccharidhalogenid¹⁷ **2**, das sich bisher bei α -Glycosidsynthesen zur Anknüpfung an Serin- und Threoninreste bestens bewährt hat. Hierbei ergibt sich, daß die Hydroxylgruppe von **3** offensichtlich durch Anwesenheit der Fmoc-Gruppe deaktiviert wird und kräftigere katalytische Bedingungen für den Glycosidierungsschritt notwendig sind. Nach sorgfältiger Optimierung der Reaktion kann bei der Umsetzung von **2** mit **3** in Gegenwart von reinem Silberperchlorat bei -30° in Dichlormethan–Toluol (1:1) in 61% das gewünschte α -glycosidisch verknüpfte Produkt **4** erhalten werden. Das Anomerenverhältnis bei der Reaktion beträgt α : β wie 7:1. Das unerwünschte β -Produkt läßt sich leicht chromatographisch abtrennen. Die α -glycosidische Verknüpfung in **4** ergibt sich aus dem $^1\text{H-N.m.r.}$ -Spektrum. Man findet für das anomere Proton H-1 ein Dublett bei δ 4.93 mit kleiner Kopplungskonstante $J_{1,2}$ 3.8 Hz. Die Azidogruppe in **4** wird in bewährter Weise mit Schwefelwasserstoff in Pyridin–Wasser reduziert¹⁸ und die Verbindung mit freier Aminofunktion unmittelbar durch anschließende *N*-Acetylierung in den wichtigen Basisbaustein **5** überführt (83%). Ein analoger L-threonin-haltiger Baustein ist inzwischen ebenfalls synthetisiert und zum Aufbau besonders kohlenhydratreicher Sequenzen des Asialoglycophorin A verwendet worden¹⁹.

Die Fmoc-Gruppe in **5** läßt sich selektiv mit Morpholin abspalten, wobei nach chromatographischer Reinigung **6** in 83% isoliert werden kann. Das N-terminal entblockierte Produkt **6** ist recht empfindlich und zersetzt sich beim längeren Aufbewahren schon bei -27° . Es sollte daher für die Peptidsynthese stets frisch dargestellt werden. Die Spaltung der Benzylestergruppe erfolgt mit 85%iger Ameisensäure in Methanol bei Gegenwart von Palladium-Mohr¹⁵, wobei **7** in fast quantitativer Ausbeute erhalten werden kann. Diese recht schnelle Reaktion (10–15 min) muß jedoch genau kontrolliert und rechtzeitig abgebrochen werden, da bei zu langer Dauer auch die Fmoc-Gruppe abgespalten wird. Mit **6** und **7** stehen somit die beiden partiell entblockierten Bausteine zur Verfügung, die jetzt in einer Peptidsynthesesequenz eingesetzt werden können.

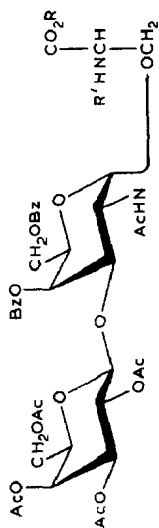
Die Synthese des Hexapeptids wird stufenweise durch N-terminale Verlängerung, am Carboxylende beginnend, vorgenommen. Als temporäre Schutzgruppen dienen die Fmoc-Gruppe für das Glycosylserin, die Boc-Gruppe für L-Glu und L-Ile sowie die Cbz-Gruppe für das N-terminale L-Val. Zum permanenten Schutz werden Benzylester gewählt. Der genaue Verlauf der Synthese ist in Schema 1 wiedergegeben. L-Valinbenzylester (**8**) wird in Dichlormethan unter Zu-



4

3

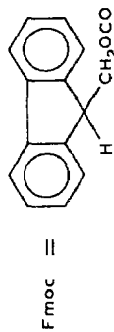
2

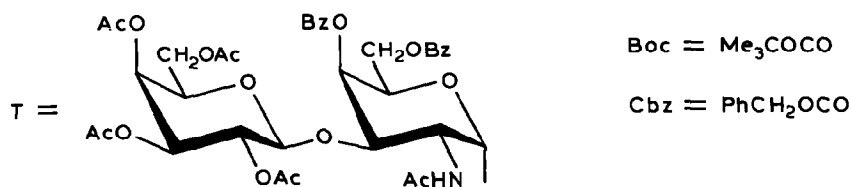
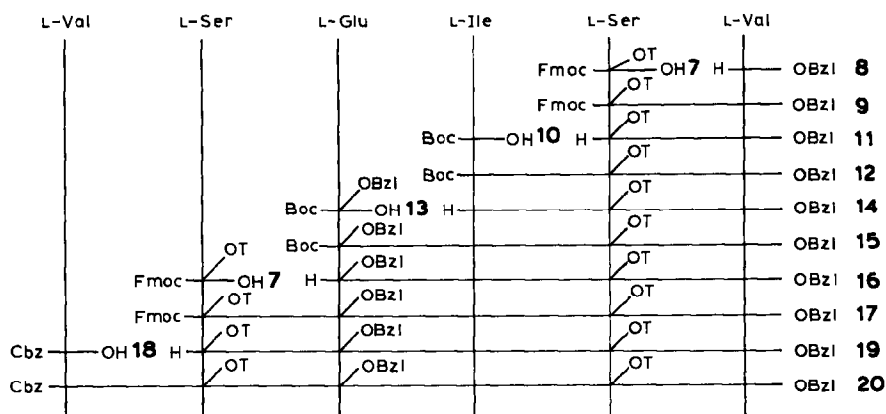


5 R = Bzl; R' = Fmoc

6 R = Bzl; R' = H

7 R = H; R' = Fmoc

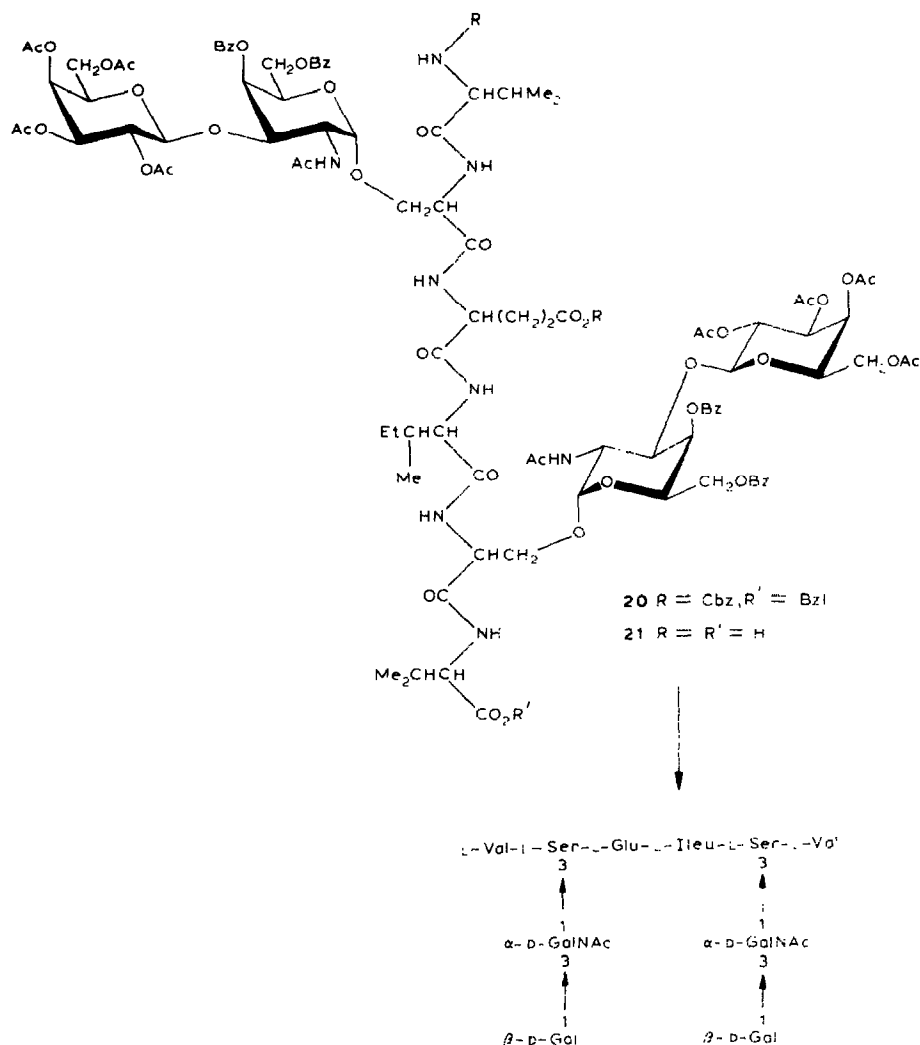




Schema 1.

satz von 2-Ethoxy-1-ethoxycarbonyl-1,2-dihydrochinolin²⁰ (EEDQ) mit dem Baustein **7** umgesetzt, und man erhält in 95% das Dipeptid **9**. Im ¹H-N.m.r.-Spektrum von **9** sind die entsprechenden Saccharidprotonen und Aminosäureprotonen erkennbar. Aus **9** wird mit Morpholin die Fmoc-Gruppe zum entblockierten Produkt **11** abgespalten. Hierbei tritt keine Diketopiperazinbildung ein²¹. Die anschließende Verknüpfung von **11** mit **10** bei Gegenwart von EEDQ liefert in fast quantitativer Ausbeute das Boc-geschützte Glycotripeptid **12**. Nach Abspaltung der Boc-Gruppe in **12** mit 98%iger Ameisensäure²² zu **14** ist eine Kupplung mit dem Glutaminsäurederivat **13** bei Gegenwart von EEDQ möglich. Das von **15** erhaltene ¹H-N.m.r.-Spektrum steht mit der angegebenen Struktur von **15** in guter Übereinstimmung. Die Peptid-NH-Protonen sind bei δ 7.04, 6.95, 6.82 sowie 6.75 zu beobachten.

Nach Abspaltung der Boc-Gruppe aus **15** mit Ameisensäure und vorsichtige Überführung in das freie Amin ist eine weitere Kupplung mit dem Glycosylserin-Baustein **7** möglich. Bei Gegenwart von EEDQ erhält man in 76% das Pentapeptid **17**. Im ¹H-N.m.r.-Spektrum von **17** sind jetzt die anomeren Protonen der beiden GalNAc-Einheiten bei δ 5.06 und 5.03 erkennbar. Nach Entfernung der Fmoc-Gruppe in **17** wird das gereinigte **19** in letzter Stufe mit Cbz-Val-OH **18** umgesetzt, und man erhält in 76% das vollständig blockierte Hexapeptid **20**.



22

Die Entblockierung von **20** erfolgt in zwei Schritten. Zunächst werden die Peptidschutzgruppen mit Palladium-Kohle unter Wasserstoffdruck abgespalten, und man gelangt zu **21**. Im letzten Schritt sind sämtliche Acylgruppen der Kohlenhydratreste zu entfernen. Dies gelingt nach dem schon bewährten, äußerst milden Hydrolyseverfahren durch Umsetzung mit Kaliumcyanid in Methanol²³. In 84% ist ohne weitere Spaltreaktionen das freie Glycopeptid **22** auf diesem Wege zu erhalten.

¹H- und ¹³C-N.m.r.-Spektren zeigen, daß das Produkt **22** einheitlich ist. Im ¹H-N.m.r.-Spektrum fallen die anomeren Protonen H-1 der D-GalNAc-Einheiten bei δ 4.77 zusammen, die H-2'-Protonen der D-Gal-Einheiten sind bei δ 3.36 und 3.34 getrennt zu erkennen. Im ¹³C-N.m.r.-Spektrum findet man die typischen

Signale der anomeren Kohlenstoffe und die Signale der Aminosäuren. Die hier durchgeführte Glycopeptidsynthese zeigt, daß die Glycosylserin-Bausteine **6** und **7** universell im Rahmen der Peptidsynthese verwendet werden können.

EXPERIMENTELLER TEIL

Allgemeine Methoden. — Optische Drehungen: Perkin–Elmer-Polarimeter 241 oder 243 in 1 dm Küvetten (589 nm, Na-D-Linie). $^1\text{H-N.m.r.}$ -Spektren: Bruker WH 270 oder WM 400, innerer Standard Tetramethylsilan. Bei Messungen in D_2O wurde vorher dreimal mit D_2O (99.75%) versetzt und jeweils eingedampft. Die chemischen Verschiebungen beziehen sich auf die DOH-Resonanz (δ_{DOH} 4.64). 2-D-COSY-N.m.r.-Experimente zur Zuordnung der Protonen sowie n.O.e.-Experimente wurden am WM 400 durchgeführt. $^{13}\text{C-N.m.r.}$ -Spektren: Bruker WM 400, ~ 100.64 MHz, breitbandenkoppelt, innerer Standard 1,4-Dioxan (δ 67.6). Alle Reaktionen wurden dünnschichtchromatographisch (Aluminiumfertigfolien, Merck, Kieselgel 60 F_{254} oder $\text{NH}_2\text{F}_{254}$ S-Fertigplatten, Merck) verfolgt. Detektion: U.v.-Absorption, 10%ige ethanolische H_2SO_4 oder 0.2%ige ethanolische Ninhydrin-Lösung und Wärmebehandlung. Alle Lösungsmittel wurden destilliert, es wurde Petrolether mit einem Seidebereich von 60–70° verwendet. Säulentrennung: Kieselgel 60 (70–230 mesh, Merck); Lichroprep- NH_2 (25–40 μm), Merck, ~ 4 bar (0.4 MPa); Gel-Chromatographie an Sephadex G-25 mit Wasser oder Sephadex LH-20 mit Methanol als Elutionsmittel. Gefriertrocknung: Christ-Beta 1102.

Für die Glycosidsynthesen wurde die Hydroxylkomponente im Braunglas Kolben mit den Katalysatoren und Trockenmitteln für einige Stunden im Ultrahochvakuum getrocknet. Anschließend Operationen erfolgten unter N_2 , die verwendeten Lösungsmittel waren absolut wasserfrei.

N-(9-Fluorenylmethoxycarbonyl)-O-[(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-O-(2-azido-4,6-di-O-benzoyl-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)]-L-serin-benzylester (**4**). — Eine Lösung von Fmoc-Ser-OBzl **3** (1.38 g, 3.30 mmol) in absol. Dichlormethan–absol. Toluol (25 mL, 1:1, v/v) wird zusammen mit Molekularsieb 4A (4.5 g, gepulvert) unter Licht- und Feuchtigkeitsausschluß bei -30° gerührt. Nach 30 min fügt man AgClO_4 (550 mg, 2.68 mmol) hinzu und rührt weitere 30 min. Anschließend tropft man eine Lösung des α -Bromids **2** (2.75 g, 3.42 mmol), ebenfalls gelöst in absol. Dichlormethan–absol. Toluol (25 mL, 1:1, v/v), hinzu. Nach 18 h gibt man erneut AgClO_4 (225 mg, 1.34 mmol) hinzu und rührt weitere 5 h (D.c.: Ethylacetat–Petrolether 1:1, v/v). Der Reaktionsansatz wird mit Dichlormethan verdünnt, filtriert (Filterschicht, Seitz), mit Wasser gewaschen und mit MgSO_4 getrocknet. Nach dem Einengen *in vacuo* erfolgt eine säulenchromatographische Reinigung (Ethylacetat–Petrolether 10:17, v/v); Ausb. 2.68 g (71%), Sirup, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +66.7^\circ$ (c 0.3, Chloroform); $^1\text{H-N.m.r.}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 8.09–7.22 (m, 23 H, Arom.), 5.88 (d, $J_{\text{NH,CH}}$ 8.0 Hz, NH), 5.73 (dd, 1 H, $J_{4,5}$ 0.8 Hz, H-4), 5.28 (dd, 1 H, $J_{4',5'}$ 0.8 Hz, H-4'), 5.22 (mc, 2 H, PhCH_2), 5.09 (dd, 1 H, $J_{2',3'}$ 10.4 Hz, H-2'), 4.96 (dd, 1 H, $J_{3',4'}$ 3.2 Hz, H-3'), 4.93 (d, 1 H, $J_{1,2}$

3.8 Hz, H-1), 4.69 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 7.8 Hz, H-1'), 4.64 (m, 1 H, Ser- α -CH), 4.42–4.28 (m, 5 H, 2 H-6, 3 Fmoc-CH), 4.15–4.13 (m, 2 H, H-3,5), 4.10 (dd, 1 H, $J_{6'a,6'b}$ 11.4 Hz, H-6'a), 4.07 (dd, 1 H, $J_{\beta\text{CHa},\alpha\text{CH}}$ 3.4 Hz, Ser- β -CHa), 4.02 (dd, 1 H, $J_{\beta\text{CHb},\beta\text{CHa}}$ 10.6 Hz, Ser- β -CHb), 3.96 (dd, 1 H, $J_{6'b,5}$ 6.7 Hz, H-6'b), 3.84 (ddd, 1 H, H-5'), 3.72 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 10.6 Hz, H-2), 2.02, 2.00, 1.94, 1.90 (4 s, 12 H, 4 OAc).

Anal. Ber. für $\text{C}_{59}\text{H}_{58}\text{N}_4\text{O}_{20}$ (1143.1): C, 61.99; H, 5.11; N, 4.91. Gef.: C, 61.03; H, 5.22; N, 5.07.

N-(9-Fluorenylmethoxycarbonyl)-O-[(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-O-(2-acetamido-4,6-di-O-benzoyl-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)]-L-serin-benzylester (**5**). — Das Glycosid **4** (1.51 g, 1.32 mmol) wird in Pyridin (50 mL) und Wasser (5 mL) gelöst. Unter Eiskühlung und Rühren leitet man für etwa 5 h H_2S ein und läßt den Reaktionsansatz anschließend für etwa 18 h bei Raumtemp. im verschlossenen Kolben reagieren. Nach beendeter Reduktion (D.c.: Toluol–Ethanol 5:1, v/v) fügt man Acetanhydrid (10 mL) hinzu und rührt die Reaktionsmischung für 2–3 h. Anschließend wird im Hochvakuum eingeeengt und der Rückstand mehrfach mit Toluol nachdestilliert. Der Sirup wird säulenchromatographisch gereinigt (Ethylacetat–Petrolether 3:1, v/v); Ausb. 1.27 g (83%), Sirup, $[\alpha]_D^{20} + 51.2^\circ$ (c 1.55, Chloroform); $^1\text{H-N.m.r.}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 8.10–7.28 (m, 23 H, Arom.), 5.86 (d, 1 H, $J_{\text{NH,CH}}$ 8.0 Hz, Fmoc-NH), 5.79 (d, 1 H, $J_{\text{NH,CH}}$ 8.0 Hz, NHAc), 5.65 (dd, 1 H, $J_{4,5}$ 1.0 Hz, H-4), 5.32 (dd, 1 H, $J_{4',5'}$ 0.8 Hz, H-4'), 5.24 (d, 1 H, J 12.2 Hz, PhCH), 5.11 (d, 1 H, J 12.2 Hz, PhCH), 5.10 (dd, 1 H, $J_{2',3'}$ 10.4 Hz, H-2'), 5.02 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3.6 Hz, H-1), 4.93 (dd, 1 H, $J_{3',4'}$ 3.2 Hz, H-3'), 4.66–4.57 (m, 2 H, Ser- α -CH, H-2), 4.64 (d, 1 H, $J_{1,2'}$ 8.0 Hz, H-1'), 4.44–4.37 (m, 2 H, Fmoc-CH), 4.39 (dd, 1 H, $J_{6a,6b}$ 11.4 Hz, H-6a), 4.35 (dd, 1 H, $J_{6b,5}$ 7.0 Hz, H-6b), 4.25 (m, 1 H, Fmoc-CH), 4.18 (ddd, 1 H, $J_{5,6a}$ 6.4 Hz, H-5), 4.10 (dd, 1 H, $J_{6'a,5'}$ 6.4 Hz, H-6'a), 4.04 (dd, 1 H, $J_{6'b,6'a}$ 11.6 Hz, H-6'b), 4.03–3.96 (m, 2 H, H-3, Ser- β -CHa), 3.90–3.85 (m, 1 H, Ser- β -CHb), 3.87 (ddd, 1 H, $J_{5',6'b}$ 7.2 Hz, H-5'), 2.04, 2.02, 1.99, 1.96, 1.94 (5 s, 15 H, 4 OAc, 1 NAc).

Anal. Ber. für $\text{C}_{61}\text{H}_{62}\text{N}_5\text{O}_{21}$ (1159.2): C, 63.21; H, 5.39; N, 2.42. Gef.: C, 62.52; H, 5.37; N, 2.42.

O-[(2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-O-(2-acetamido-4,6-di-O-benzoyl-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)]-L-serin-benzylester (**6**). — Verbindung **5** (234 mg, 0.2 mmol) wird in Morpholin (5 mL) gelöst und für 17 min stehengelassen (D.c.: Toluol–Ethanol 5:1, v/v). Anschließend wird unter mehrfacher Zugabe von absol. Toluol im Hochvakuum eingeeengt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (Toluol–Ethanol 6:1, v/v); Ausb. 158 mg (83%), $[\alpha]_D^{20} + 56.3^\circ$ (c 1.77, Chloroform); $^1\text{H-N.m.r.}$ (400 MHz, CD_3OD): δ 8.10–7.40 (m, 15 H, Arom.), 5.70 (dd, 1 H, $J_{4,5}$ 0.8 Hz, H-4), 5.29 (dd, 1 H, $J_{4',5'}$ 0.9 Hz, H-4'), 5.16 (d, 1 H, J 12.0 Hz, PhCH), 5.13 (d, 1 H, J 12.0 Hz, PhCH), 5.03 (dd, 1 H, $J_{3',4'}$ 3.4 Hz, H-3'), 4.95 (dd, 1 H, $J_{2',3'}$ 10.2 Hz, H-2'), 4.85 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3.6 Hz, H-1), 4.83 (d, 1 H, $J_{1,2'}$ 7.8 Hz, H-1'), 4.65 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 10.9 Hz, H-2), 4.45 (dd, 1 H, $J_{6a,6b}$ 11.0 Hz, H-6a), 4.34 (ddd, 1 H, $J_{5,6a}$ 4.0 Hz, H-5), 4.27 (dd, 1 H, $J_{6b,5}$ 7.1 Hz, H-6b), 4.17 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 3.4 Hz, H-3), 4.11 (dd, 1 H, $J_{6'a,5'}$ 6.0 Hz,

H-6'a), 4.06 (dd, 1 H, $J_{5',6'b}$ 6.4 Hz, H-5'), 3.99 (dd, 1 H, $J_{6'b,6'a}$ 10.0 Hz, H-6'b), 3.97 (dd, 1 H, $J_{\beta\text{CHa},\alpha\text{CH}}$ 6.4 Hz, Ser- β -CHa), 3.75 (dd, 1 H, $J_{\alpha\text{CH},\beta\text{CHb}}$ 5.4 Hz, Ser- α -CH), 3.71 (dd, 1 H, $J_{\beta\text{CHb},\beta\text{CHa}}$ 9.6 Hz, Ser- β -CHb), 2.02, 2.00, 1.91, 1.88 (4 s, 15 H, 4 OAc, 1 NAc).

Anal. Ber. für $\text{C}_{46}\text{H}_{52}\text{N}_2\text{O}_{19}$ (936.9): C, 58.97; H, 5.59; N, 3.00. Gef.: C, 58.02; H, 5.27; N, 3.20.

N-(9-Fluorenylmethoxycarbonyl)-O-[(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-O-(2-acetamido-4,6-di-O-benzoyl-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)]-L-serin (7). — Das geschützte Glycosid 5 (450 mg, 0.388 mmol) wird in 85%iger methanolischer Ameisensäure (3 mL) gelöst. Unter N_2 und heftigem Rühren fügt man schnell eine Suspension von Pd-Mohr (360 mg) in 85%iger Ameisensäure (3 mL) hinzu. Nach 12–15 min ist die Reaktion beendet (D.c.: Dichlormethan–Methanol 5:1, v/v), und der Reaktionsansatz wird filtriert. Man wäscht den Katalysator mit Methanol, engt *in vacuo* ein und destilliert mehrfach mit Methanol nach. Der glasartige Rückstand wird in Dichlormethan aufgenommen, mit 5%iger KHSO_4 -Lösung und einmal mit Wasser gewaschen, mit MgSO_4 getrocknet und *in vacuo* eingengt; Ausb. 404 mg (97%), amorph, $[\alpha]_D^{20} +81.7^\circ$ (c 1.0, Chloroform); $^1\text{H-N.m.r.}$ (400 MHz, CD_3OD): δ 8.12–7.30 (m, 18 H, Arom.), 5.75 (dd, 1 H, $J_{4,3}$ 3.0, $J_{4,5}$ 0.8 Hz, H-4), 5.30 (dd, 1 H, $J_{4',3'}$ 3.2, $J_{4',5'}$ 0.8 Hz, H-4'), 5.00 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3.6 Hz, H-1), 4.80 (d, 1 H, $J_{1',2'}$ 7.6 Hz, H-1'), 4.68 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 11.0 Hz, H-2), 4.56–3.95 (m, 13 H), 2.05, 2.03, 1.95, 1.93 (4 s, 15 H, 4 OAc, 1 NAc).

Anal. Ber. für $\text{C}_{54}\text{H}_{56}\text{N}_2\text{O}_{21}$ (1069.0): C, 60.67; H, 5.28; N, 2.62. Gef.: C, 59.83; H, 5.20; N, 2.77.

N-(9-Fluorenylmethoxycarbonyl)-O-[(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-O-(2-acetamido-4,6-di-O-benzoyl-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)]-L-seryl-L-valin-benzylester (9). — Die Carboxylkomponente 7 (693 mg, 0.65 mmol) wird in absol. Dichlormethan (30 mL) gelöst und die Lösung auf -25° gekühlt. Dazu gibt man die ebenso kalten Lösungen von L-Valin-benzylester 8 (140.8 mg, 0.68 mmol) und EEDQ (252 mg, 1.02 mmol) in absol. Dichlormethan (jeweils 30 mL). Man rührt zunächst 1 h bei der angegebenen Temperatur und läßt den Reaktionsansatz anschließend langsam Raumtemperatur erreichen. Nach etwa 18 h ist die Reaktion beendet (D.c.: Toluol–Ethanol 5:1, v/v) und es wird aufgearbeitet. Dazu verdünnt man die Lösung mit Dichlormethan und wäscht die organische Phase zunächst mit NaHCO_3 -Lösung und dann mit Wasser. Anschließend wäscht man mit 5%iger KHSO_4 -Lösung, erneut mit NaHCO_3 -Lösung und schließlich mit Wasser. Die organische Phase wird mit MgSO_4 getrocknet und *in vacuo* eingengt. Die weitere Reinigung des sirupösen Rückstands erfolgt säulenchromatographisch an Kieselgel (Laufmittel: Toluol–Ethanol 20:1, v/v); Ausb. 780 mg (95%), Sirup, $[\alpha]_D^{20} +41.35^\circ$ (c 1.7, Chloroform); $^1\text{H-N.m.r.}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 8.10–7.15 (m, 23 H, Arom.), 6.60, 6.26 (2 d, 2 H, $J_{\text{NH,CH}}$ 8.4 Hz, 2 NH), 5.70–5.67 (m, 1 H, NH), 5.67 (dd, 1 H, $J_{4,5}$ 0.6 Hz, H-4), 5.25 (d, 1 H, J 12.0 Hz, PhCH), 5.25 (dd, 1 H, $J_{4',5'}$ 1.0 Hz, H-4'), 5.19 (d, 1 H, J

12.0 Hz, PhCH), 5.08 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3.8 Hz, H-1), 5.05 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 10.4 Hz, H-2'), 4.89 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 3.4 Hz, H-3'), 4.70 (ddd, 1 H, $J_{2,3}$ 10.8, $J_{2,NH}$ 8.4 Hz, H-2), 4.64 (dd, 1 H, $J_{\alpha CH, \beta CH}$ 4.8, $J_{\alpha CH, NH}$ 8.4 Hz, Val- α -CH), 4.56 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 7.8 Hz, H-1'), 4.47–4.29 (m, 6 H), 4.18 (ddd, 1 H, $J_{5,6}$ 7.0 Hz, H-5), 4.11 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 3.4 Hz, H-3), 4.06 (dd, 1 H, $J_{6'b, 5'}$ 6.0 Hz, H-6'b), 3.94 (dd, 1 H, $J_{6'a, 6'b}$ 11.2 Hz, H-6'a), 3.82–3.77 (m, 2 H), 3.75 (ddd, 1 H, $J_{5', 6'a}$ 7.4 Hz, H-5'), 2.01, 2.00, 1.99, 1.98, 1.93 (5 s, 15 H, 4 OAc, 1 NAc), 0.94, 0.89 (2 d, 6 H, $J_{CH_3, \beta CH}$ 6.6 Hz, 2 Val-CH₃).

Anal. Ber. für C₆₆H₇₁N₃O₂₂ (1258.3): C, 63.00; H, 5.69; N, 3.34. Gef.: C, 62.63; H, 5.58; N, 3.42.

O-[(2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-O-(2-acetamido-4,6-di-O-benzoyl-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)]-1-seryl-L-valin-benzylester (**11**).

— Verbindung **9** (780 mg, 0.62 mmol) wird in Morpholin (10 mL) gelöst und für 27 min bei Raumtemp. belassen (D.c.: Toluol–Ethanol 5:1, v/v). Nach dem Entfernen des Morpholins im Hochvakuum unter mehrfacher Zugabe von absol. Toluol wird der Rückstand säulenchromatographisch an Kieselgel (Laufmittel: Toluol–Ethanol 3:1, v/v) gereinigt: Ausb. 551 mg (86%), Sirup, $[\alpha]_D^{20} +49.6^\circ$ (c 1.73, Chloroform): ¹H-N.m.r. (400 MHz, CDCl₃): δ 8.13–8.00 (m, 4 H, Arom.), 7.76 (d, 1 H, $J_{NH, CH}$ 9.0 Hz, Val-NH), 7.61–7.32 (m, 11 H, Arom.), 6.47 (d, 1 H, $J_{NH, CH}$ 8.8 Hz, NHAc), 5.69 (dd, 1 H, $J_{4,5}$ 0.8 Hz, H-4), 5.29 (dd, 1 H, $J_{4',5'}$ 1.0 Hz, H-4'), 5.22 (d, 1 H, J 12.2 Hz, PhCH), 5.19 (d, 1 H, J 12.2 Hz, PhCH), 5.05 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 10.6 Hz, H-2'), 5.04 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3.6 Hz, H-1), 4.91 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 3.4 Hz, H-3'), 4.74 (ddd, 1 H, $J_{2,3}$ 11.0 Hz, H-2), 4.61 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 7.8 Hz, H-1'), 4.59 (dd, 1 H, $J_{\alpha CH, \beta CH}$ 5.0 Hz, Val- α -CH), 4.47 (dd, 1 H, $J_{6b, 6a}$ 9.4 Hz, H-6b), 4.39 (ddd, 1 H, $J_{5, 6b}$ 3.0 Hz, H-5), 4.36 (dd, 1 H, $J_{6a, 5}$ 7.0 Hz, H-6a), 4.11 (dd, 1 H, $J_{6'b, 6'a}$ 11.2 Hz, H-6'b), 4.00 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 3.4 Hz, H-3), 3.99 (dd, 1 H, $J_{6'a, 5'}$ 7.4 Hz, H-6'a), 3.86 (dd, 1 H, $J_{\beta CHb, \beta CHa}$ 10.4 Hz, Ser- β -CHb), 3.85–3.83 (m, 1 H, $J_{5', 6'b}$ 6.1 Hz, H-5'), 3.82 (dd, 1 H, $J_{\beta CHa, \alpha CH}$ 5.0 Hz, Ser- β -CHa), 3.63–3.58 (m, 1 H, $J_{\alpha CH, \beta CHb}$ 5.4 Hz, Ser- α -CH), 2.26 (ddd, 1 H, $J_{\beta CH, CH_3}$ 6.6 Hz, Val- β -CH), 2.02, 2.01, 2.00, 1.92 (5 s, 15 H, 4 OAc, 1 NAc), 0.96, 0.90 (2 d, 6 H, $J_{CH_3, \beta CH}$ 6.6 Hz, 2 Val-CH₃).

Anal. Ber. für C₅₁H₆₁N₃O₂₀ (1036.1): C, 59.12; H, 5.93; N, 4.07. Gef.: C, 58.82; H, 5.81; N, 4.13.

N-(tert-Butyloxycarbonyl)-L-isoleucyl-O-[(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-O-(2-acetamido-4,6-di-O-benzoyl-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)]-1-seryl-L-valin-benzylester (**12**). — Die Aminokomponente **11** (551 mg, 0.53 mmol) wird zusammen mit Boc-Ile-OH **10** (160 mg, 0.69 mmol) in absol. Dichlormethan (40 mL) gelöst. Die Lösung wird auf -20° gekühlt, und bei dieser Temperatur fügt man eine gleichfalls kalte Lösung von EEDQ (206 mg, 0.83 mmol) in absol. Dichlormethan (10 mL) hinzu. Der Reaktionsansatz wird zunächst ~ 1 h bei der angegebenen Temperatur gehalten, danach läßt man ihn sich langsam auf Raumtemp. erwärmen. Nach 18 h ist die Reaktion beendet (D.c.: Toluol–Ethanol 5:1, v/v) und es wird bei **9** beschrieben aufgearbeitet: Ausb. 653 mg (97%), Sirup. Zur Ermittlung der analytischen Daten erfolgt eine säulenchromatographische Reinigung einer Probe an Kieselgel (Laufmittel: Toluol–Ethanol 10:1, v/v), $[\alpha]_D^{20}$

+40.9° (c 1.32, Chloroform); ¹H-N.m.r. (400 MHz, CDCl₃): δ 8.12–7.33 (m, 15 H, Arom.), 6.82 (d, 1 H, *J*_{NH,CH} 7.2 Hz, Ile-NH), 6.74 (d, 1 H, *J*_{NH,CH} 8.8 Hz, Val-NH), 6.41 (d, 1 H, *J*_{NH,CH} 8.8 Hz, NHAc), 5.68 (dd, 1 H, *J*_{4,5} 0.8 Hz, H-4), 5.25 (dd, 1 H, *J*_{4',5'} 0.8 Hz, H-4'), 5.24 (d, 1 H, *J* 12.2 Hz, PhCH), 5.18 (d, 1 H, *J* 12.2 Hz, PhCH), 5.05 (dd, 1 H, *J*_{2',3'} 10.6 Hz, H-2'), 5.04 (d, 1 H, *J*_{1,2} 3.6 Hz, H-1), 4.81 (dd, 1 H, *J*_{3',4'} 3.4 Hz, H-3'), 4.72 (ddd, 1 H, *J*_{2,3} 10.8 Hz, H-2), 4.67–4.61 (m, 1 H, Ile-α-CH), 4.62 (d, 1 H, *J*_{1',2'} 7.8 Hz, H-1'), 4.60 (dd, 1 H, *J*_{αCH,βCH} 4.8 Hz, Val-α-CH), 4.42 (dd, 1 H, *J*_{6b,6a} 11.6 Hz, H-6b), 4.38 (dd, 1 H, *J*_{6a,5} 6.4 Hz, H-6a), 4.32 (ddd, 1 H, *J*_{5,6b} 5.6 Hz, H-5), 4.13 (dd, 1 H, *J*_{3,4} 3.4 Hz, H-3), 4.08 (dd, 1 H, *J*_{6'b,6'a} 11.2 Hz, H-6'b), 3.98 (ddd, 1 H, *J*_{5',6'a} 5.8 Hz, H-5'), 3.95 (dd, 1 H, *J*_{6'b,5'} 7.8 Hz, H-6'a), 3.81 (dd, 1 H, *J*_{βCHb,βCHa} 10.4 Hz, Ser-β-CHb), 3.79–3.73 (m, 1 H, *J*_{αCH,βCHb} 7.0 Hz, Ser-α-CH), 3.74 (dd, 1 H, *J*_{βCHa,αCH} 5.0 Hz, Ser-β-CHa), 2.24 (ddd, 1 H, *J*_{βCH,CH₃} 6.6 Hz, Val-β-CH), 2.10, 2.02, 2.01, 2.00, 1.92 (5 s, 15 H, 4 OAc, 1 NAc), 1.43 (s, 9 H, CMe₃), 1.30–1.22 (m, 1 H, Ile-β-CH), 1.18–1.07 (m, 2 H, Ile-γ-CH₂), 1.00–0.86 (m, 12 H, 2 Val-CH₃, 2 Ile-CH₃).

Anal. Ber. für C₆₂H₈₀N₄O₂₃ (1249.3): C, 59.61; H, 6.45; N, 4.49. Gef.: C, 59.35; H, 6.42; N, 4.57.

L-Isoleucyl-O-[(2,3,4,6-tetra-O-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-(1→3)-O-(2-acetamido-4,6-di-O-benzoyl-2-desoxy-α-D-galactopyranosyl)]-L-seryl-L-valin-benzylester (14). — Das Glycotripeptid **12** (653 mg, 0.52 mmol) wird in Ameisensäure (20 mL) gelöst und bei Raumtemp. stehengelassen. Nach 60 min ist die Reaktion beendet (D.c.: Dichlormethan–Methanol 5:1, v/v) und man entfernt die Ameisensäure im Hochvakuum bei 20°. Das Formiat von **14** wird durch Waschen mit NaHCO₃-Lösung in das freie Amin **14** überführt und dieses mit Dichlormethan extrahiert. Man trocknet die organische Phase mit MgSO₄ und engt *in vacuo* ein; Ausb. 505 mg (84%), [*α*]_D²⁰ (Formiat) +43.6° (c 1.01, Chloroform); ¹H-N.m.r. (400 MHz, CD₃OD) (vom Formiat): δ 8.34 (s (breit), 1 H, HCO₂[−]), 8.12–7.29 (m, 15 H, Arom.), 5.75 (dd, 1 H, *J*_{4,5} 0.8 Hz, H-4), 5.26 (d, 1 H, *J* 12.2 Hz, PhCH), 5.24 (dd, 1 H, *J*_{4',5'} 1.0 Hz, H-4'), 5.20 (d, 1 H, *J* 12.2 Hz, PhCH), 4.98 (dd, 1 H, *J*_{3',4'} 3.4 Hz, H-3'), 4.96 (d, 1 H, *J*_{1,2} 3.8 Hz, H-1), 4.94 (dd, 1 H, *J*_{2',3'} 10.6 Hz, H-2'), 4.80 (dd, 1 H, *J*_{αCH,βCHa} 4.8, *J*_{αCH,βCHb} 6.8 Hz, Ser-α-CH), 4.76 (d, 1 H, *J*_{1',2'} 7.4 Hz, H-1'), 4.66 (dd, 1 H, *J*_{2,3} 11.0 Hz, H-2), 4.48 (d, 1 H, *J*_{αCH,βCH} 5.8 Hz, Val-α-CH), 4.42 (dd, 1 H, *J*_{6b,5} 3.4 Hz, H-6b), 4.38–4.33 (m, 1 H, *J*_{5,6a} 5.8 Hz, H-5), 4.33 (dd, 1 H, *J*_{6a,6b} 9.4 Hz, H-6a), 4.27 (dd, 1 H, *J*_{3,4} 3.4 Hz, H-3), 4.08–4.04 (m, 1 H, Ile-α-CH), 3.98–3.91 (m, 3 H, Ser-β-CHb, 2 H-6'), 3.80–3.75 (m, 2 H, Ser-β-CHa, H-5'), 2.28–2.18 (m, 1 H, Val-β-CH), 2.05, 2.03, 1.97, 1.88, 1.87 (5 s, 15 H, 4 OAc, 1 NAc), 1.60–1.52 (m, 1 H, Ile-β-CH), 1.29–1.17 (m, 2 H, Ile-CH₂), 1.03 (d, 3 H, *J* 7.0 Hz, Ile-γ-CH₃), 0.95 (dd, 3 H, *J* 7.2 Hz, Ile-δ-CH₃), 0.95 (d, 6 H, *J* 6.8 Hz, 2 Val-CH₃).

Anal. Ber. für C₅₇H₇₂N₄O₂₁ (1149.2): C, 59.57; H, 6.32; N, 4.87. Gef.: C, 59.33; H, 6.27; N, 4.93.

N-(tert-Butyloxycarbonyl)-L-glutamyl-(5-benzylester)-L-isoleucyl-O-[(2,3,4,6-tetra-O-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-(1→3)-O-(2-acetamido-4,6-di-O-benzoyl-2-

*desoxy- α -D-galactopyranosyl)]-L-seryl-L-valin-benzylester (15). — Man löst Boc-Glu(OBzl)-OH (**13**; 193 mg, 0.57 mmol) [erhalten aus dem Dicyclohexylammonium-Salz von **13** durch Waschen mit KHSO_4 -Lösung (5%ig) sowie Extraktion mittels Dichlormethan] und ferner die Aminokomponente **14** (505 mg, 0.44 mmol) in absol. Dichlormethan (30 mL). Die Lösung wird auf -20° gekühlt und eine Lösung von EEDQ (170 mg, 0.69 mmol) in absol. Dichlormethan (10 mL) hinzugegeben. Nachdem man ~ 1 h bei der angegebenen Temperatur gerührt hat, wird der Ansatz langsam auf Raumtemp. gebracht. Über Nacht (nach 17 h) ist die Reaktion beendet (D.c.: Toluol-Ethanol 5:1, v/v) und man arbeitet wie bei **9** beschrieben auf. Nach säulenchromatographischer Reinigung an Kieselgel (Laufmittel: Toluol-Ethanol 13:1, v/v) erhält man **15**; Ausb. 487 mg (75%), $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +34.1^\circ$ (c 2.11, Chloroform); $^1\text{H-N.m.r.}$ (400 MHz, CD_3OD): δ 8.10–7.27 (m, 20 H, Arom.), 5.78 (dd, 1 H, $J_{4,5}$ 0.8 Hz, H-4), 5.25 (dd, 1 H, $J_{4',5'}$ 0.6 Hz, H-4'), 5.22 (d, 1 H, J 12.4 Hz, PhCH), 5.14 (d, 1 H, J 12.4 Hz, PhCH), 5.10 (mc, 2 H, PhCH_2), 5.06 (dd, 1 H, $J_{3',4'}$ 3.2 Hz, H-3'), 4.96 (dd, 1 H, $J_{2',3'}$ 10.4 Hz, H-2'), 4.81 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3.6 Hz, H-1), 4.74 (dd, 1 H, $J_{\alpha\text{CH},\beta\text{CHb}}$ 6.0 Hz, Ser- α -CH), 4.68 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 11.0 Hz, H-2), 4.44 (d, 1 H, $J_{\alpha\text{CH},\beta\text{CH}}$ 6.0 Hz, Val- α -CH), 4.43 (m, 2 H, H-5,6b), 4.31 (dd, 1 H, $J_{6a,6b}$ 12.0, $J_{6a,5}$ 8.2 Hz, H-6a), 4.28 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 3.2 Hz, H-3), 4.18–4.03 (m, 3 H, H-5',6'b, Ile- α -CH), 3.99 (dd, 1 H, $J_{\beta\text{CHb},\beta\text{CHa}}$ 10.0 Hz, Ser- β -CHb), 3.94 (dd, 1 H, $J_{6'a,6'b}$ 10.2, $J_{6'a,5'}$ 6.6 Hz, H-6'a), 3.66 (dd, 1 H, $J_{\beta\text{CHa},\alpha\text{CH}}$ 5.6 Hz, Ser- β -CHa), 2.50–2.43 (m, 2 H, Glu- γ -CH $_2$), 2.25–2.16 (m, 1 H, Val- β -CH), 2.06–2.01 (m, 1 H, Glu- β -CHb), 2.05, 2.04, 1.98, 1.90, 1.89 (5 s, 15 H, 4 OAc, 1 NAc), 1.92–1.86 (m, 1 H, Glu- β -CHa), 1.62–1.53 (m, 1 H, Ile- β -CH), 1.43 (s, 9 H, CMe_3), 1.30–1.16 (m, 2 H, Ile-CH $_2$), 1.04–0.85 (m, 13 H, 4 CH $_3$, Glu- α -CH).*

Anal. Ber. für $\text{C}_{74}\text{H}_{93}\text{N}_5\text{O}_{26}$ (1468.6): C, 60.52; H, 6.78; N, 4.37. Gef.: C, 60.28; H, 6.63; N, 4.40.

*L-Glutamyl-(5-benzylester)-L-isoleucyl-O-[(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-O-(2-acetamido-4,6-di-O-benzoyl-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)]-L-seryl-L-valin-benzylester (16). — Das Boc-geschützte Glycotetrapeptid **15** (487 mg, 0.33 mmol) wird in 98%iger Ameisensäure (25 mL) gelöst. Nach 100 min ist die Reaktion beendet (D.c.: Dichlormethan-Methanol 5:1, v/v) und die Ameisensäure wird bei 20° im Hochvakuum entfernt. Aus dem zunächst erhaltenen Formiat gewinnt man das freie Amin **16** durch Waschen mit verd. NaHCO_3 -Lösung und Extrahieren mit Dichlormethan; Ausb. 398 mg (88%); $^1\text{H-N.m.r.}$ (400 MHz, CD_3OD) (vom Formiat): δ 8.23 (s, 1 H, HCO_2^-), 8.10–7.28 (m, 20 H, Arom.), 5.75 (dd, 1 H, $J_{4,5}$ 0.8 Hz, H-4), 5.26 (d, 1 H, J 12.2 Hz, PhCH), 5.24 (dd, 1 H, $J_{4',5'}$ 0.8 Hz, H-4'), 5.20 (d, 1 H, J 12.2 Hz, PhCH), 5.10 (mc, 2 H, PhCH_2), 4.94 (dd, 1 H, $J_{3',4'}$ 3.2 Hz, H-3'), 4.77 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3.6 Hz, H-1), 4.75 (d, 1 H, $J_{1',2'}$ 7.8 Hz, H-1'), 4.70 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 11.0 Hz, H-2), 4.46 (d, 1 H, $J_{\alpha\text{CH},\beta\text{CH}}$ 6.0 Hz, Val- α -CH), 4.42–4.30 (m, 5 H), 4.27 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 3.4 Hz, H-3), 4.12–4.06 (m, 1 H, Ile- α -CH), 4.00–3.89 (m, 4 H, 2 H-6', H-5', Ser- β -CHb), 3.70 (dd, 1 H, $J_{\beta\text{CHa},\beta\text{CHb}}$ 10.0 Hz, Ser- β -CHa), 2.58–2.50 (m, 2 H, Glu- γ -CH $_2$), 2.27–2.18 (m, 1 H, Val- β -CH), 2.16–2.09 (m, 2 H, Glu- β -CH $_2$), 2.04, 1.98, 1.90 (3 s, 15 H, 4 OAc, 1 NAc), 1.62–1.53*

(m, 1 H, Ile- β -CH), 1.28–1.16 (m, 2 H, Ile-CH₂), 1.06–1.00 (m, 1 H, Glu- α -CH), 1.00–0.89 (m, 12 H, 4 CH₃).

Anal. Ber. für C₆₉H₈₅N₅O₂₄ (1368.4): C, 60.56; H, 6.25; N, 5.12. Gef.: C, 60.19; H, 6.10; N, 5.20.

N-(9-Fluorenylmethoxycarbonyl)-O-[(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-O-(2-acetamido-4,6-di-O-benzoyl-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)]-L-seryl-L-glutamyl-(5-benzylester)-L-isoleucyl-O-[(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-O-(2-acetamido-4,6-di-O-benzoyl-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)]-L-seryl-L-valin-benzylester (**17**). — Zu einer Lösung von **7** (436 mg, 0.41 mmol) sowie **16** (398 mg, 0.29 mmol) in absol. Dichlormethan (25 mL) gibt man bei -20° eine Lösung von EEDQ (144 mg, 0.59 mmol) in absol. Dichlormethan (10 mL). Man läßt zunächst ~ 1 h bei der angegebenen Temperatur reagieren und bringt den Reaktionsansatz dann langsam auf Raumtemperatur. Nach 18 h (D.c.: Toluol-Ethanol 5:1, v/v) ist die Reaktion beendet und man arbeitet wie bei **9** beschrieben auf. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Toluol-Ethanol 10:1, v/v); Ausb. 536 mg (76%), $[\alpha]_D^{20} +47.1^\circ$ (c 0.73, Chloroform); $^1\text{H-N.m.r.}$ (400 MHz, CDCl₃): δ 8.13–7.27 (m, 38 H, Arom.), 7.09 (d, 1 H, $J_{\text{NH,CH}}$ 9.0 Hz, NH), 7.04 (d, 1 H, $J_{\text{NH,CH}}$ 9.2 Hz, NH), 6.84 (d, 1 H, $J_{\text{NH,CH}}$ 9.0 Hz, NH), 5.80 (d, 1 H, $J_{\text{NH,CH}}$ 8.8 Hz, NH), 5.70 (dd, 1 H, $J_{4,5}$ 3.0 Hz, H-4), 5.67 (dd, 1 H, $J_{4,5}$ 3.0 Hz, H-4), 5.32 (dd, 1 H, $J_{4',5'}$ 3.2 Hz, H-4'), 5.31 (dd, 1 H, $J_{4',5'}$ 3.4 Hz, H-4'), 5.24 (d, 1 H, J 12.2 Hz, PhCH), 5.22 (mc, 2 H, PhCH₂), 5.14 (dd, 1 H, $J_{3',4'}$ 3.4 Hz, H-3'), 5.08 (d, 1 H, J 12.2 Hz, PhCH), 5.06 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3.6 Hz, H-1), 5.03 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3.6 Hz, H-1), 5.02 (2 dd, 2 H, $J_{2',3'}$ 10.0 Hz, 2 H-2'), 4.95 (dd, 1 H, $J_{3',4'}$ 3.2 Hz, H-3'), 4.78 (d, 1 H, $J_{1',2'}$ 8.0 Hz, H-1'), 4.74 (d, 1 H, $J_{1',2'}$ 8.0 Hz, H-1'), 2.63–2.44 (m, 2 H, Glu- γ -CH₂), 2.15–2.34 (m, 3 H, Val- β -CH, Glu- β -CH₂), 2.12–1.91 (m, 30 H, 8 OAc, 2 NAc), 1.61–1.49 (m, 1 H, Ile- β -CH), 1.39–1.24 (m, 2 H, Ile-CH₂), 1.04 (d, 3 H, $J_{\text{CH}_3,\text{CH}}$ 6.6 Hz, CH₃), 1.03–0.87 (m, 9 H, 3 CH₃).

Anal. Ber. für C₁₂₉H₁₃₉N₇O₄₄ (2419.5): C, 61.06; H, 5.79; N, 4.05. Gef.: C, 60.83; H, 5.61; N, 4.13.

O-[(2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-O-(2-acetamido-4,6-di-O-benzoyl-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)]-L-seryl-L-glutamyl-(5-benzylester)-L-isoleucyl-O-[(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-O-(2-acetamido-4,6-di-O-benzoyl-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)]-L-seryl-L-valin-benzylester (**19**). — Das Glycopentapeptid **17** (536 mg, 0.22 mmol) wird in Morpholin (10 mL) gelöst und die Lösung stehengelassen. Nach 20 min ist die Reaktion beendet (D.c.: Dichlormethan-Methanol 5:1, v/v, ninhydrinaktives Produkt) und man entfernt das Morpholin unter mehrfacher Zugabe von absol. Toluol im Hochvakuum bei 20° . Der Rückstand wird durch Säulenchromatographie an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Toluol-Ethanol 4:1, v/v); Ausb. 380 mg (79%), $[\alpha]_D^{20} +48.8^\circ$ (c 2.62, Chloroform).

Anal. Ber. für C₁₀₈H₁₂₉N₇O₄₂ (2197.2): C, 59.04; H, 5.92; N, 4.46. Gef.: C, 58.73; H, 5.81; N, 4.51.

N-(Benzyloxycarbonyl)-L-valyl-O-[(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-O-(2-acetamido-4,6-di-O-benzoyl-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)]-L-seryl-L-glutamyl-(5-benzylester)-L-isoleucyl-O-[(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-O-(2-acetamido-4,6-di-O-benzoyl-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)]-L-seryl-L-valin-benzylester (**20**). — Zu einer Lösung von Cbz-Valin (**18**; 66 mg, 0.26 mmol) sowie **19** (380 mg, 0.17 mmol) in absol. Dichlormethan (25 mL) gibt man bei -20° eine Lösung von EEDQ (77 mg, 0.31 mmol) in absol. Dichlormethan (10 mL). Man rührt für 1 h bei -20° , anschließend läßt man die Reaktionsmischung langsam Raumtemp. erreichen und über Nacht reagieren. Nach 20 h ist die Reaktion beendet (D.c.: Toluol-Ethanol 5:1, v/v) und es wird wie bei **9** angegeben aufgearbeitet. Das Glycohexapeptid **20** wird durch Säulenchromatographie an Kieselgel gereinigt (Laufmittel: Toluol-Ethanol 10:1, v/v); Ausb. 314 mg (76%), $[\alpha]_D^{20} +41.2^\circ$ (c 0.85, Chloroform); $^1\text{H-N.m.r.}$ (400 MHz, CD_3OD): δ 8.10–7.27 (m, 35 H, Arom.), 5.78 (2 dd, 2 H, $J_{4,3}$ 3.2 Hz, 2 H-4), 5.25 (d, 1 H, J 12.2 Hz, PhCH), 5.23 (2 dd, 2 H, $J_{4,3}$ 3.0 Hz, 2 H-4'), 5.18 (d, 1 H, J 12.2 Hz, PhCH), 5.11 (d, 1 H, J 12.2 Hz, PhCH), 5.07 (mc, 2 H, PhCH_2), 5.06 (d, 1 H, J 12.2 Hz, PhCH), 5.03–4.89 (m, 5 H), 4.85–4.77 (m, 3 H), 4.76–4.68 (m, 4 H), 4.54–4.24 (m, 10 H), 4.12–3.88 (m, 9 H), 3.78–3.71 (m, 2 H), 2.54–2.44 (m, 2 H, Glu- γ -CH $_2$), 2.24–2.15 (m, 2 H, 2 Val- β -CH), 2.04, 2.03, 2.01, 2.00, 1.95, 1.92, 1.88, 1.86 (8 s, 30 H, 8 OAc, 2 NAc), 1.60–1.50 (m, 2 H, Glu- β -CH $_2$), 1.37–1.27 (m, 1 H, Ile- β -CH), 1.25–1.14 (m, 2 H, Ile-CH $_2$), 1.00–0.85 (m, 19 H, 6 CH $_3$, Glu- α -CH).

Anal. Ber. für $\text{C}_{121}\text{H}_{144}\text{N}_8\text{O}_{45}$ (2430.5): C, 59.80; H, 5.97; N, 4.61. Gef.: C, 59.03; H, 5.85; N, 4.73.

L-Valyl-O-[(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-O-(2-acetamido-4,6-di-O-benzoyl-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)]-L-seryl-L-glutamyl-L-isoleucyl-O-[(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-O-(2-acetamido-4,6-di-O-benzoyl-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)]-L-seryl-L-valin (**21**). — Das geschützte Glycohexapeptid **20** (132 mg, 54 μmol) wird in Essigsäure-Methanol 4:1 (v/v) (5 mL) gelöst und in Gegenwart von 9.7%iger Palladium-Kohle (130 mg) bei einem Druck von 10 bar (1 MPa) hydriert. Über Nacht (20 h) erfolgt eine quantitative Hydrogenolyse der Peptidschutzgruppen (D.c.: Butanol-Pyridin-Essigsäure-Wasser 4:1:1:2, v/v) und die Reaktion wird aufgearbeitet. Man filtriert vom Katalysator ab, wäscht diesen mit Methanol und engt das Filtrat im Hochvakuum bei 20° ein; Ausb. 109 mg (95%), $[\alpha]_D^{20} +48.1^\circ$ (c 0.59, Methanol); $^1\text{H-N.m.r.}$ (400 MHz, CD_3OD): δ 8.10–7.32 (m, 20 H, Arom.), 5.77 (s, 2 H, 2 H-4), 5.29 (s, 2 H, 2 H-4'), 2.15–1.92 (m, 30 H, 8 OAc, 2 NAc), 1.12–0.82 (m, 20 H, 6 CH $_3$, 1 CH $_2$).

Anal. Ber. für $\text{C}_{90}\text{H}_{126}\text{N}_8\text{O}_{43}$ (2116.1): C, 56.19; H, 6.00; N, 5.30. Gef.: C, 55.83; H, 5.92; N, 5.42.

L-Valyl-O-[(β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-O-(2-acetamido-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)]-L-seryl-L-glutamyl-L-isoleucyl-O-[(β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-O-(2-acetamido-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)]-L-seryl-L-valin (**22**). — Verbindung **21** (55 mg, 26 μmol) wird in absol. Methanol (12 mL) gelöst. Anschließend gibt man 12 mL einer Lösung von KCN in Methanol (10 mg/1 mL)

hinzu und rührt den Reaktionsansatz bei Raumtemperatur. Nach 2 d ist die Reaktion beendet (D.c.: $\text{NH}_2\text{F}_{254}\text{S}$ -Fertigplatten, Merck, Methanol–Wasser 2:1, v/v; R_F 0.9) und wird aufgearbeitet. Die Lösung wird vorsichtig mit 85%iger methanolischer Ameisensäure neutralisiert und das Lösungsmittel im Hochvakuum bei 20° entfernt. Nach Säulenchromatographie an Sephadex G-25 mit Wasser und Lyophilisation erhält man **22**; Ausb. 29.8 mg (84%), $[\alpha]_D^{20} +31.9^\circ$ (c 0.94, Wasser); $^1\text{H-N.m.r.}$ (400 MHz, D_2O): δ 4.77 (d, 2 H, $J_{1,2}$ 3.6 Hz, 2 H-1), 4.62–4.56 (m, 1 H, Ser- α -CH), 4.39, 4.34 (2 d, 2 H, $J_{1',2'}$ 8.0 Hz, 2 H-1'), 4.25–4.17 (m, 1 H), 4.18, 4.17 (2 dd, 2 H, $J_{2,3}$ 10.8 Hz, 2 H-2), 4.13–4.06 (m, 1 H), 4.07 (s, 2 H, 2 H-4), 3.97 (d, 1 H, $J_{\alpha\text{CH},\beta\text{CH}}$ 5.6 Hz, Val- α -CH), 3.90–3.69 (m, 7 H), 3.77 (dd, 2 H, $J_{4',3'}$ 3.2, $J_{4',5'}$ 0.8 Hz, 2 H-4'), 3.66–3.45 (m, 14 H), 3.36, 3.34 (2 dd, 2 H, $J_{2',3'}$ 10.0 Hz, 2 H-2'), 2.15–2.07 (m, 2 H, Glu- CH_2), 2.03–1.92 (m, 2 H, 2 Val- β -CH), 1.90 (s, 6 H, 2 NAc), 1.76–1.65 (m, 2 Glu- CH_2), 1.40–1.28 (m, 1 H, Ile- β -CH), 1.12–1.00 (m, 2 H, Ile- CH_2), 0.95–0.86 (m, 1 H), 0.85–0.68 (m, 18 H, 6 CH_3); $^{13}\text{C-N.m.r.}$ (100.64 MHz, D_2O): δ 105.60 (2 C-1'), 98.71 (2 C-1), 78.42 (2 C-3), 76.10 (2 C-5'), 73.73 (2 C-3'), 71.91 (2 C-5, 2 C-2'), 69.68 (2 C-4, 2 C-4'), 62.25, 62.14 (2 C-6, 2 C-6'), 49.50 (2 C-2'), 32.09 (GluC γ), 25.58 (GluC β), 23.30 (2 CH_3CO).

Anal. Ber. für $\text{C}_{55}\text{H}_{94}\text{N}_8\text{O}_{31}$ (1363.4): C, 48.45; H, 6.95; N, 8.22. Gef.: C, 48.03; H, 6.72; N, 8.31.

DANK

M. Schultz dankt der Studienstiftung des deutschen Volkes für ein Stipendium. Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie sind wir für die Bereitstellung von Mitteln zu Dank verpflichtet.

LITERATUR

- 1 H. PAULSEN UND J. P. LORENTZEN, *Justus Liebigs Ann. Chem.*, (1986) 1586–1599.
- 2 N. SHARON UND H. LIS, *Chem. Eng. News*, 59 (1981) 21–44.
- 3 J. MONTREUIL, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, 37 (1980) 157–223.
- 4 V. T. MARCHESI, H. FURTHMAYR UND M. TOMITA, *Annu. Rev. Biochem.*, 45 (1976) 667–698.
- 5 D. B. THOMAS UND R. J. WINZLER, *J. Biol. Chem.*, 244 (1969) 5943–5946.
- 6 H. YOSHIMA, H. FURTHMAYR UND A. KOBATA, *J. Biol. Chem.*, 255 (1980) 9713–9718.
- 7 F. G. HANISCH, G. H. FARRAR, R. SCHMALISCH UND G. UHLENBRUCK, *Immunobiology (Stuttgart)*, 165 (1983) 147–157.
- 8 V. V. BENCOMO UND P. SINAY, *Glycoconjugate J.*, 1 (1984) 5–8.
- 9 H. PAULSEN, H. G. GARG UND T. HASENKAMP, *Carbohydr. Res.*, 151 (1986) 225–232.
- 10 H. PAULSEN, M. SCHULTZ, J.-D. KLANMANN, B. WALLER UND M. PAAL, *Justus Liebigs Ann. Chem.*, (1985) 2028–2048.
- 11 L. A. CARPINO UND G. Y. HAN, *J. Am. Chem. Soc.*, 92 (1970) 5748–5749; *J. Org. Chem.*, 37 (1972) 3404–3409.
- 12 P. SCHULTHEISS-REIMANN UND H. KUNZ, *Angew. Chem.*, 95 (1983) 64.
- 13 J. M. LACOMBE UND A. A. PAVIA, *J. Org. Chem.*, 48 (1983) 2557–2563; B. FERRARI UND A. A. PAVIA, *Tetrahedron*, 41 (1985) 1939–1944.
- 14 E. ATHERTON, C. BURY, R. C. SHEPPARD UND B. J. WILLIAMS, *Tetrahedron Lett.*, (1979) 3041–3042.
- 15 H. K. SIVANANDAIAH UND S. GURUSIDDAPPA, *J. Chem. Res., Synop.*, (1979) 108–109.

- 16 C.-D. CHANG, M. WAKI, M. AHMAD, J. MEIENHOFER, E. O. LUNDELL UND J. D. HAUG, *Int. J. Pept. Protein Res.*, 15 (1980) 59–66.
- 17 H. PAULSEN UND M. PAAL, *Carbohydr. Res.*, 135 (1984) 53–69; *ibid.*, 135 (1984) 71–84.
- 18 T. ADACHI, Y. YAMADA UND J. INOUE, *Synthesis*, (1977) 45–46.
- 19 H. PAULSEN UND M. SCHULTZ, *Justus Liebigs Ann. Chem.*, (1986) 1435–1447.
- 20 B. BELLEAU UND G. MALEK, *J. Am. Chem. Soc.*, 90 (1968) 1651–1652.
- 21 E. WUNSCH, in E. MÜLLER (Hrsg.), *Houben-Weyl. Methoden der organischen Chemie*, Bd. 15, Thieme, Stuttgart, 1974.
- 22 B. HALPERN UND D. E. NITECKI, *Tetrahedron Lett.*, (1967) 3031–3033; *Aust. J. Chem.*, 22 (1969) 871–874.
- 23 H. A. EL-SHENAWY UND C. SCHUERCH, *J. Carbohydr. Chem.*, 4 (1985) 215–225