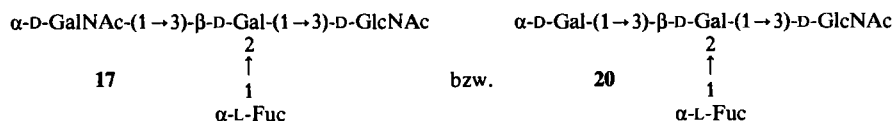


Bausteine von Oligosacchariden, XVI¹⁾**Synthese der Oligosaccharid-Determinanten der Blutgruppensubstanzen der Type 1 des ABH-Systems***Hans Paulsen* und Čeněk Kolář*

Institut für Organische Chemie und Biochemie der Universität Hamburg,
 Martin-Luther-King-Platz 6, D-2000 Hamburg 13

Eingegangen am 11. Januar 1979

Durch selektive Glycosid-Synthese, kombiniert mit einer Serie von selektiven Blockierungs- und Entblockierungsschritten, wurden die Determinanten der Blutgruppensubstanzen A und B



und die Determinante der Blutgruppensubstanz H $\alpha\text{-L-Fuc-(1}\rightarrow\text{2)-}\beta\text{-D-Gal-(1}\rightarrow\text{3)-D-GlcNAc}$ (**16**) synthetisiert. Alle drei Oligosaccharide zeigten im Hämagglutinations-Inhibitionstest mit Antikörpern oder Lectinen eine entsprechende selektive Hemmwirkung.

Building Units for Oligosaccharides, XVI¹⁾**Synthesis of the Oligosaccharide Determinants of Blood-Group Substances of Type 1 of the ABH System**

The antigenic determinants of blood-group substances A and B (**17** and **20**) (see German summary) as well as blood-group substance H (**16**) were synthesized by selective glycosidation reactions combined with a series of blocking and deblocking steps. All three oligosaccharides selectively inhibit haemagglutination with the corresponding human antibodies or lectines.

Von den zahlreichen Blutgruppensubstanzen, die Antigen-Eigenschaften aufweisen, sind die Typen des ABH-Systems am besten untersucht²⁾. Ihre Zuordnung beruht auf einer spezifischen Antigen-Antikörper-Reaktion, die zur Agglutination oder zum Auflösen der roten Blutkörperchen führt. Die Blutgruppensubstanzen stellen Glycoproteine dar, die einen relativ unspezifischen Proteinteil enthalten, an dem als „Core“ eine Oligosaccharid-Kette von mehreren Einheiten gebunden ist³⁾. Die „Core“-Kette weist bei den Typen A, B und H eine gemeinsame Struktur auf. Eine unterschiedliche Struktur besitzt dagegen die an das „Core“ geknüpfte endständige Oligosaccharid-Kette^{3,4)}. Diese stellt die eigentlich serologisch aktive Determinante des Antigens dar, die für die hohe serologische Spezifität des Antigens verantwortlich ist. Eine chemische Synthese derartiger Determinanten ist von erheblichem Interesse, da diese Produkte ganz ent-

sprechende serologische Eigenschaften aufweisen müßten. Eine Anknüpfung der Oligosaccharid-Determinanten an einen polymeren Träger müßte zu synthetischen Antigenen oder auch Immunoadsorbents führen⁵⁾. Uns ist es jetzt gelungen, die Oligosaccharid-Determinanten der Blutgruppensubstanzen A, B und H zu synthetisieren.

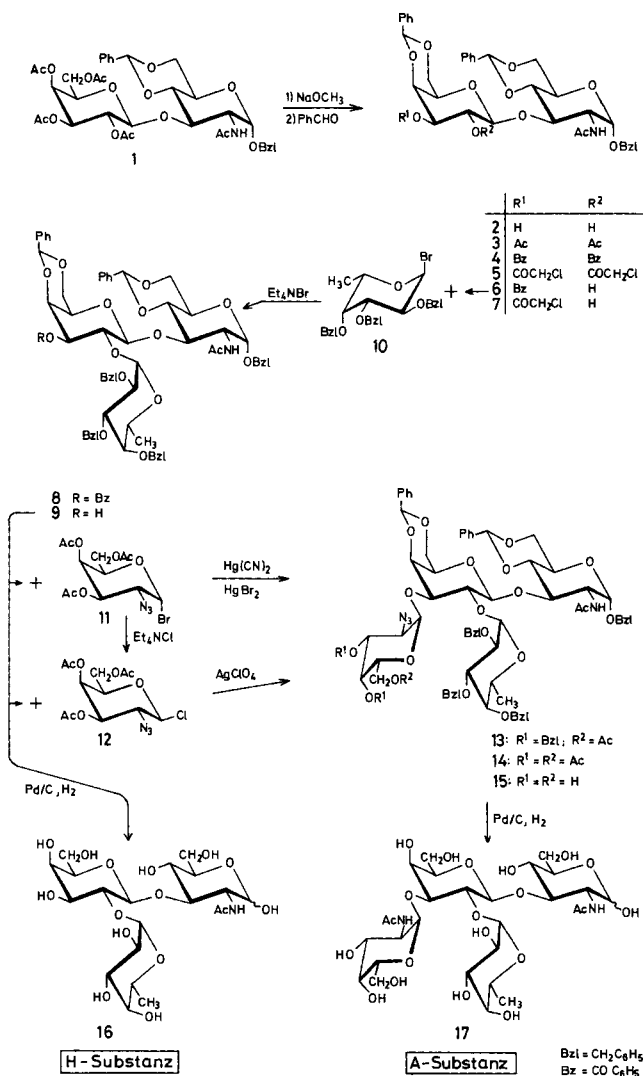
Das Ausgangsprodukt für alle Synthesen ist das $\beta(1\rightarrow3)$ -verknüpfte Disaccharid **1** von *Flowers* und *Jeanloz*⁶⁾, das aus D-Galactose und D-Glucosamin aufgebaut ist, und das nach den verbesserten Verfahren⁷⁾ in entsprechend großen Mengen direkt kristallin gut zugänglich ist. Nach selektiver Hydrolyse der *O*-Acetyl-Gruppen von **1** kann das hierbei erhaltene Spaltprodukt in 90proz. Ausb. mit Benzaldehyd/Zinkchlorid in die Dibenzyliden-Verbindung **2** übergeführt werden. Durch Acetylierung liefert **2** das Diacetat **3**, durch Benzoylierung das Dibenzoat **4**, und durch Umsetzung mit Chloracetylchlorid das Bis(chloracetat) **5**. Die NMR-Spektren der acylierten Produkte stehen mit der angegebenen Struktur in guter Übereinstimmung. In der Dibenzyliden-Verbindung **2** sind wie gewünscht nur die Hydroxyl-Gruppen 2'-OH und 3'-OH unsubstituiert, an denen bei den Determinanten der Blutgruppensubstanzen weitere Saccharid-Reste gebunden sind. Zur Gewinnung von Substanz A sind an 2'-OH L-Fucose und an 3'-OH *N*-Acetyl-D-galactosamin, von Substanz B dagegen an 2'-OH L-Fucose und an 3'-OH D-Galactose α -glycosidisch zu knüpfen. Um hier eine richtige Reihenfolge der Besetzung zu erreichen, ist eine selektive Blockierung erforderlich.

Nach *Chittenden*⁸⁾ sind in Benzyl-4,6-*O*-benzyliden- β -D-galactopyranosid die beiden Hydroxyl-Gruppen 2-OH und 3-OH bei Acylierungsreaktionen unterschiedlich reaktiv. Die durch das Aglycon abgeschirmte Gruppe 2-OH reagiert langsamer, so daß es gelingt, 3-OH selektiv zu acylieren. Da **2** ein ähnliches Strukturelement enthält, wurde diese Reaktion auf **2** übertragen. Durch Benzoylierung bei -5°C ist in der Tat das Monobenzoat **6** selektiv in 91proz. Ausb. erhältlich. Im NMR-Spektrum von **6** ist das Signal von 3'-H durch die Acylierung nach $\delta = 4.96$ zu tieferem Feld verschoben, während das Signal von 2'-H unverändert geblieben ist. Mit Chloracetylchlorid ist ebenfalls die selektiv blockierte Verbindung **7** zu gewinnen. Für die Weiterreaktion ist jedoch das Monobenzoat **6** besser geeignet.

Als L-Fucose-Baustein wurde 2,3,4-Tri-*O*-benzyl- α -L-fucopyranosylbromid (**10**)⁹⁾ verwendet. Um selektiv eine α -glycosidische Verknüpfung des L-Fucose-Restes zu erreichen, wurde das Verfahren der Halogenid-Ionen-katalysierten Glycosidierung angewandt, das sich insbesondere in der L-Fucose-Reihe als leistungsfähig erwiesen hat^{10,11)}. Es gelingt, das Monobenzoat **6** mit dem Halogenid **10** in Methylenchlorid/Dimethylformamid in Gegenwart von Tetraethylammoniumbromid und Molekularsieb 4 \AA ¹¹⁾ in 82proz. Ausb. zum Trisaccharid **8** umzusetzen. Hierbei wird nur das α -verknüpfte Produkt gefunden. Im 270-MHz-NMR-Spektrum von **8** erscheinen neu die charakteristischen Signale des L-Fucosyl-Restes. Für 1''-H (5.24 ppm) wird ebenso wie für 1-H (5.50 ppm) eine kleine Kopplungskonstante von 3.3 Hz beobachtet, wobei die Zuordnung durch Doppelresonanzexperimente erfolgte. Damit ist die α -L-Konfiguration der eingeführten L-Fucose gesichert. Die Kopplung von 1'-H für die β -glycosidisch verknüpfte D-Galactose-Einheit beträgt $J_{1',2'} = 7.8\text{ Hz}$.

Das Trisaccharid **8** ist nicht nur der Baustein für die Synthese höherer Oligosaccharide, sondern es stellt auch ein Segment der Blutgruppensubstanz H dar. Aus diesem

Grunde wurde die Entblockierung von **8** unternommen. Es ist zweckmäßig, zunächst die Benzoylgruppe alkalisch abzuspalten, wobei das Trisaccharid **9** erhalten wird. Die Abspaltung aller *O*-Benzyl-Reste und *O*-Benzyliden-Gruppen kann jetzt in einem Reaktionsschritt durch Hydrogenolyse erfolgen. Am günstigsten erwies sich eine Hydrogenolyse mit Palladium/Kohle in wasserfreiem Eisessig^{11,12}. Auf diese Weise erhält man das vollständig entblockierte Trisaccharid **16**, das die Determinante der H-Substanz darstellt. Die Reinigung von **16** erfolgt am vorteilhaftesten an Sephadex G-25. Das NMR-Spektrum stimmt mit der angegebenen Formel überein und zeigt, daß die Entblockierung vollständig gelungen ist.



Das Trisaccharid **9** mit freier 3'-OH-Gruppe ist zum weiteren Aufbau der A- und B-Substanz geeignet. Zur Anknüpfung des α -glycosidisch gebundenen Galactosamins zur A-Substanz kommt nur das Azid-Verfahren¹³⁾ in Frage, bei dem ein Halogenid der 2-Azido-2-desoxy-D-galactose eingesetzt wird. Wir hatten zunächst in Anlehnung an unsere Synthese des fucosefreien Trisaccharids der A-Substanz⁷⁾ die Verbindung **9** mit 6-O-Acetyl-2-azido-3,4-di-O-benzyl-2-desoxy- β -D-galactopyranosylchlorid¹⁴⁾ umgesetzt. Hierbei erhielten wir das Tetrasaccharid **13** mit einer $\alpha(1 \rightarrow 3)$ -verknüpften Einheit des Azidozuckers. Bei den Entblockierungsversuchen des Tetrasaccharids **13** zeigte sich jedoch, daß von der Einheit der 2-Azido-2-desoxy-D-galactose die O-Benzyl-Gruppen durch Hydrogenolyse nur mit sehr großen Schwierigkeiten abspaltbar waren. Um diese Komplikation zu umgehen, haben wir die Synthese umgestellt und sind auf die acetylierten Halogenide des Azidozuckers **11** und **12**¹⁵⁾ übergegangen.

Wir haben hierbei zunächst die normale, von uns beschriebene Inversionstechnik^{13,14)} angewendet. Das α -Bromid **11** kann mit Tetraethylammoniumchlorid in kontrollierter Form zum reaktiveren β -Chlorid **12** invertiert werden¹⁵⁾. Die sofortige Umsetzung von **12** mit **9** bei Gegenwart von Silberperchlorat/Silbercarbonat führt zum Tetrasaccharid **14**. Zur Aufarbeitung ist es zweckmäßig, die O-Acetyl-Gruppen in **14** alkalisch abzuspalten. Das erhaltene Tetrasaccharid **15** läßt sich dann besser reinigen und kann bei diesem Verfahren in 46proz. Ausb. isoliert werden.

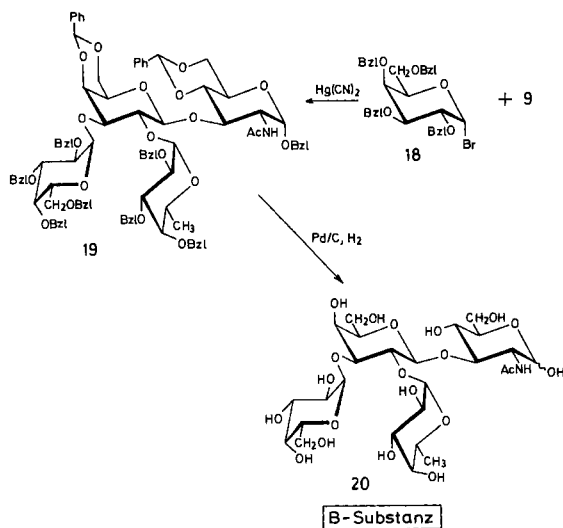
Weiterhin wurde geprüft, ob sich das α -Bromid **11** auch unter Umgehung der kontrollierten Inversionstechnik umsetzen läßt. Hierbei wurde gefunden, daß sich **11** mit **9** bei Gegenwart einer Mischung von Quecksilbercyanid und Quecksilberbromid¹⁶⁾ in Methylenchlorid auch bei Raumtemp. umsetzen läßt. Man erhält auch hier wie bei der Umsetzung mit **12** stereoselektiv nur das $\alpha(1 \rightarrow 3)$ -verknüpfte Produkt **14**. Ein Anteil an β -glycosidisch verknüpfter Verbindung liegt sicher unter 5%. Wir vermuten, daß diese direkte Umsetzung nach Art einer Halogenid-Ionen-katalysierten Reaktion¹⁰⁾ abläuft. Danach würde das α -Bromid **11** primär mit dem Quecksilberbromid zu einem äußerst reaktiven β -Bromid reagieren. Dieses β -Bromid reagiert mit **9** sehr viel schneller unter Inversion zum entsprechenden α -Glycosid als das noch in der Lösung vorhandene α -Bromid **11**. Als bevorzugtes Reaktionsprodukt entsteht somit **14** mit einer neuen α -glycosidischen Bindung. Nach Abspaltung der O-Acetyl-Gruppen aus **14** und anschließender Reinigung ist das Tetrasaccharid **15** in 63proz. und somit noch höherer Ausb. zu isolieren. Da bei diesem direkten Verfahren ausgehend von **11** der nicht ganz verlustfreie Inversionsschritt zu **12** entfällt, weist das hier beschriebene Verfahren erhebliche Vorteile auf. Ob aber im Einzelfall das direkte Verfahren oder das der kontrollierten Inversion günstiger ist, hängt von der Reaktivität des Halogenzuckers und der Reaktivität der alkoholischen Komponente ab. Diese Frage muß in jedem Einzelfall besonders geprüft werden.

In den NMR-Spektren von **15** und einem durch Nachacetylierung von **15** gewonnenen reinen Produkt **14** sind alle anomeren Protonen erkennbar und zuzuordnen. Für die Kopplung von 1''-H der 2-Azido-galacto-Einheit ergibt sich eine kleine Kopplungskonstante von $J_{1'',2''} = 3.2$ Hz, wie es bei einer α -glycosidischen Bindung zu erwarten ist. Die Signale von 1-H der Glucosamin-Einheit und 1'''-H der Fucose-Einheit liegen mit 1''-H bei tiefem Feld, da auch hier eine α -Verknüpfung vorliegt und sich eine kleine Kopplung von je 3.0 Hz ergibt. Das 1'-H-Signal der β -verknüpften Galactose-

Einheit findet sich dagegen bei höherem Feld mit einer diaxialen Kopplung von $J_{1',2'} = 7.7$ Hz. Für die α -Verknüpfung der 2-Azido-galacto-Einheit spricht auch der hohe Wert der optischen Drehung von $[\alpha]_D^{25} = +79.8^\circ$.

Zur Entblockierung wird das Tetrasaccharid **15** mit Palladium/Kohle in Eisessig hydriert. Hierbei werden die *O*-Benzyl- und *O*-Benzyliden-Gruppen abgespalten und die Azido-Gruppe in eine Amino-Gruppe umgewandelt. Die *N*-Acetylierung und Reinigung an Sephadex G-25 liefert dann das freie Tetrasaccharid **17**, das die Determinante der A-Substanz darstellt.

Für die Synthese der Determinante der Blutgruppensubstanz B wurde wiederum von dem Trisaccharid **9** ausgegangen. Als Kupplungskomponente für die 3'-OH-Gruppe an **9** wurde Tetra-*O*-benzyl- α -D-galactopyranosylbromid (**18**)¹⁷⁾ gewählt. Um hiermit die



gewünschte α -glycosidische Verbindung zu erhalten, waren verschiedene Methoden zu erproben. Die normalerweise bei **18** angewendete Halogenid-Ionen-katalysierte Glycosidierung¹⁰⁾ ergab bei der Umsetzung von **9** mit **18** das gewünschte Tetrasaccharid **19** nur in etwa 20proz. Ausb. Die Reaktion von **9** mit **18** bei Gegenwart von Silbercarbonat und katalytischen Mengen Perchlorat lieferte nahezu ausschließlich das α -verknüpfte Produkt **19** in etwa 60proz. Ausb. Die besten Ergebnisse wurden erzielt bei der Reaktion von **9** mit **18** bei Gegenwart von Quecksilbercyanid und Molekularsieb 4 Å in Methylenchlorid¹⁸⁾ bei Raumtemp. Hierbei erhöhte sich die Ausbeute auf 78%, und es wurde auch hier stark bevorzugt das $\alpha(1\rightarrow3)$ -verknüpfte Produkt **19** erhalten. Die Bildung des α -Glycosids unter den beiden zuletzt genannten Bedingungen dürfte vermutlich wiederum auf das Auftreten eines intermediären reaktionsfähigen β -Bromids zurückzuführen sein, das durch Inversion von **18** entsteht¹⁹⁾.

Der Nachweis der α -glycosidischen Bindung in der angeknüpften Galactose-Einheit ist durch das 270-MHz-NMR-Spektrum zu führen. Für die Protonen 1-H, 1''-H, und 1'''-H werden kleine Kopplungskonstanten von 2.7 bis 3.2 Hz gefunden, wie es bei ei-

ner α -glycosidischen Bindung zu erwarten ist. Das Signal von 1'-H zeigt die große Kopplung von 7.4 Hz, da hier bei der mittelständigen Galactose-Einheit die β -glycosidische Bindung vorhanden ist. Die Entblockierung von **19** gelingt durch Hydrierung mit Palladium/Kohle in Eisessig in einem Schritt. Nach Reinigung über Sephadex G-25 ergibt sich das freie Tetrasaccharid **20**, das die Determinante der B-Substanz darstellt.

Alle drei synthetisierten Determinanten, die die Oligosaccharid-Haptene der drei Blutgruppensubstanzen darstellen, wurden serologisch in einem Hämagglutinations-Inhibitionstest untersucht²⁰⁾. Der Test wurde nach der geometrischen Verdünnungsreihe auf Hoppe-Lauer-Plättchen durchgeführt. Als Testerythrozyten standen Erythrozyten der Blutgruppen A₁, A₂ (enthält einen hohen Anteil H-Antigen), B und 0 zur Verfügung. Als die Hämagglutination auslösende Antikörper wurden Anti-A_{human} und Anti-B_{human} sowie eine Reihe spezifisch wirkender Lectine eingesetzt. Sofern die hier synthetisierten Oligosaccharid-Haptene analog wie die Erythrozyten Antigene mit der „combining side“ der zugesetzten entsprechenden Antikörper oder Lectine reagieren würden, so müßte eine Hemmung der Hämagglutination zu beobachten sein. Die Ergebnisse dieser Experimente sind in der Tab. zusammengestellt.

Tab.: Hemmung der Hämagglutination bei Zusatz der synthetischen Oligosaccharid-Haptene beim Hämagglutinations-Inhibitionstest in Verdünnungsstufen (Kontrolltest Agglutinine in isotonischer NaCl-Lösung)

| Agglutinine (Antikörper) | Erythrocyten (Antigene) | A-Hapten (17) | B-Hapten (20) | H-Hapten (16) |
|--|------------------------------|------------------|------------------|------------------|
| Anti-A _{human} | A ₁ | 3.5 Stufen | 0 Stufen | 0 Stufen |
| Anti-A _{human} | A ₂ ^{a)} | 4 Stufen | 0 Stufen | 0 Stufen |
| Anti-B _{human} | B | 2.5 Stufen | 7.5 Stufen | 0 Stufen |
| Anti-H _{La} -Lectin ^{b)} | A ₂ | 2.5 Stufen | 0 Stufen | 1.5 Stufen |
| Anti-H _{La} -Lectin ^{b)} | 0 | 0 Stufen | 0 Stufen | 0.5 Stufen |
| Anti-A _{HP} -Lectin ^{c)} | A ₁ | 5 Stufen | 0 Stufen | 0 Stufen |
| Anti-A _{1,Db} -Lectin ^{d)} | A ₁ | 6 Stufen | 0 Stufen | 0 Stufen |
| Anti-BH _{Ec} -Lectin ^{e)} | A ₂ | 5 Stufen | 5 Stufen | 5 Stufen |
| Anti-BH _{Ec} -Lectin ^{e)} | B | 4 Stufen | 4.5 Stufen | 0 Stufen |
| Anti-BH _{Ec} -Lectin ^{e)} | 0 | 5.5 Stufen | 5.5 Stufen | 5.5 Stufen |

a) A₂ enthält im Gegensatz zu A₁ hohe Anteile H-Antigen.

b) Reines Lectin aus *Laburnum alpinum*.

c) Lectinextrakt aus *Helix pomatia*.

d) Lectinextrakt aus *Dolichos biflorus*.

e) Reines Lectin aus *Evonymus europaeus*.

Aus der Tab. geht hervor, daß die Reaktion von Anti-A_{human} mit A₁ und A₂ signifikant durch das A-Hapten mit 3.5 – 4 Verdünnungsstufen gehemmt wird. Noch ausgeprägter ist die Hemmung der Reaktion der Lectine Anti-A_{HP} und Anti-A_{1,Db} mit A₁ durch das A-Hapten (5 – 6 Stufen). Das A-Hapten lagert sich spezifisch an die „combining side“ des Antikörpers (Anti-A_{human}) an und blockiert somit die Anlagerung

des entsprechenden Antigens (A_1 bzw. A_2), so daß die Hämagglutination ausbleibt. Das B-Hapten und H-Hapten zeigen bei allen genannten Reaktionen keine Effekte. Die hohe Spezifität der Wirkung des A-Haptens ist damit demonstriert.

Die Hämagglutination von Anti- B_{human} mit B wird intensiv durch das B-Hapten mit 7.5 Stufen gehemmt. Das H-Hapten ist wie erwartet unwirksam. Eine schwache Hemmung (2.5 Stuf.) findet auch mit dem A-Hapten statt. Wahrscheinlich handelt es sich hier um eine Kreuzreaktion.

Die Reaktion des Lectins Anti- H_{La} mit A_2 und 0 wird nur sehr schwach durch H-Hapten gehemmt. Da A_2 sowohl A-Antigen als auch H-Antigen enthält, sollten H-Hapten und z. T. A-Hapten wirksam sein, was in schwachem Maße auch angedeutet ist. Bei der Reaktion mit Erythrocyten ist die Hemmung von H-Hapten kaum noch signifikant.

Bemerkenswert sind die Reaktionen des Lectins Anti- BH_{Ec} . Die Hämagglutination mit A_2 und 0 wird unspezifisch mit A-Hapten, B-Hapten und H-Hapten stark gehemmt. Die Reaktion mit B wird dagegen nur von A-Hapten und B-Hapten gehemmt. Offenbar haften alle drei Haptene stark am Anti- BH_{Ec} -Lectin. Speziell das B-Antigen vermag aber das noch am lockersten gebundene H-Hapten zu verdrängen, so daß es zur Hämagglutination kommen kann. Die Verdrängung ist auch durch eine Verzögerung der Reaktion zu beobachten.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie danken wir für die wertvolle Unterstützung bei den Untersuchungen.

Experimenteller Teil

Alle Reaktionen wurden dünnschichtchromatographisch auf Kieselgel-Alu-Folien (Merck GF₂₅₄) verfolgt. Lösungsmittel: Toluol/Aceton (13:1), Methylenchlorid/Aceton (4:1), Methylenchlorid/Essigester (3:1), Methylenchlorid/Methanol/Wasser (65:35:8). Anfärbung: Konz. Schwefelsäure bei 140°C. – Säulenchromatographie: Kieselgel KG 60 (Merck) 60 mesh (0.15–0.30) und die Sephadex Typen G-10, G-15, G-20 Superfine und LH-20 (Pharmacia). – NMR: Varian T 60 und Bruker WH 270. Innerer Standard TMS. – IR: Perkin-Elmer 257, in KBr. – Optische Drehung: Perkin-Elmer Polarimeter 141, 10-cm-Küvette.

Alle Glycosidsynthesen wurden unter Stickstoff durchgeführt. Die Silbersalze und Tetraethylammoniumchlorid wurden vor der Reaktion i. Vak. getrocknet. Handelsübliches Silberperchlorat wurde mit Benzol azeotrop entwässert, mit Pentan gefällt, unter Stickstoff filtriert und i. Vak. bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Das Methylenchlorid wurde über P_4O_{10} unter Rückfluß gekocht, destilliert und über basischem Aluminiumoxid (Woelm, Aktivitätsstufe 1) aufbewahrt.

Benzyl-2-acetamido-4,6-O-benzyliden-3-O-(4,6-O-benzyliden- β -D-galactopyranosyl)-2-desoxy- α -D-glucopyranosid (2): 23.18 g (36.4 mmol) **1** werden in 1 l wasserfreiem Methanol mit einer methanolischen Natriummethylatlösung von 0.5 g Na in 10 ml Methanol versetzt. Nach 12 h intensiven Rührens fällt das entacetylierte Zwischenprodukt aus. Die Mischung wird mit 1 ml Eisessig neutralisiert und eingengt. Es wird dreimal mit 200 ml Toluol i. Vak. nachdestilliert. Dann werden 230 ml frisch destillierter Benzaldehyd und 23 g pulverisiertes $ZnCl_2$ (vorher zur Entwässerung geschmolzen) zugegeben. Der Ansatz wird 40 h geschüttelt und dann in 600 ml Eiswasser gegossen. Der entstehende Niederschlag wird mehrere Male mit Eiswasser und Hexan gewaschen. Den nur wenig nach Benzaldehyd riechenden Rückstand suspendiert man dreimal in Toluol, engt

ein und trocknet dann 5 h i. Hochvak. Ausb. 18 g (91%), Schmp. 307°C (Zers.), $[\alpha]_D^{20} = +54.4^\circ$ ($c = 0.5$ in DMSO).

$C_{35}H_{39}NO_{11}$ (649.7) Ber. C 64.70 H 6.05 N 2.15 Gef. C 64.76 H 6.13 N 2.09

Benzyl-2-acetamido-4,6-O-benzyliden-2-desoxy-3-O-(2,3-di-O-acetyl-4,6-O-benzyliden-β-D-galactopyranosyl)-α-D-glucopyranosid (3): Die Lösung von 100 mg (0.154 mmol) **2** in 3 ml absol. Pyridin wird unter Eiskühlung mit 0.3 ml Acetanhydrid versetzt. Man läßt 24 h bei Raumtemp. stehen, gibt in 20 ml Eiswasser und extrahiert dreimal mit je 5 ml Chloroform. Die vereinigten Chloroformextrakte werden mit gesättigter $NaHCO_3$ -Lösung und mit Wasser gewaschen, mit $MgSO_4$ getrocknet und zum Sirup eingengt, der auf einer Säule von 20 g Kieselgel (Toluol/Aceton/Methanol 10:1:1) gereinigt wird. Ausb. 94 mg (83%), Schmp. 239°C, $[\alpha]_D^{22} = +85.2^\circ$ ($c = 1.0$ in $CHCl_3$).

1H -NMR (270 MHz, $CDCl_3$): 1-H $\delta = 4.96$ d, 2-H 4.31 ddd, 1'-H 4.61 d, 2'-H 5.32 dd, 3'-H 4.87 dd, Ph 7.18–7.59, NH 5.83 d, PhCH 5.64 s und 5.40 s, PhCH₂ 4.66 d und 4.40 d, Ac 2.02 s, 1.97 s, 1.97 s; $J_{1,2} = 3.8$, $J_{2,3} = 10.3$, $J_{1',2'} = 8.0$, $J_{2',3'} = 10.3$, $J_{3',4'} = 3.6$, $J_{2,NH} = 9.0$, $J_{PhCH_2} = 12.0$ Hz.

$C_{39}H_{43}NO_{13}$ (733.7) Ber. C 63.83 H 5.91 N 1.91 Gef. C 63.78 H 5.96 N 1.97

Benzyl-2-acetamido-3-O-(3-O-benzoyl-4,6-O-benzyliden-β-D-galactopyranosyl)-4,6-O-benzyliden-2-desoxy-α-D-glucopyranosid (6): 15 g (23 mmol) **2** werden in 300 ml absol. Pyridin bei Raumtemp. 2 h suspendiert. Der auf $-5^\circ C$ abgekühlten Suspension werden 3.25 g (23 mmol) und im Laufe von 40 h weitere 4.86 g (34 mmol) Benzoylchlorid zugesetzt. Das Ende der Umsetzung wird dünnschichtchromatographisch verfolgt (CH_2Cl_2 /Aceton 4:1). Nach Zugabe von 3 ml Methanol wird i. Hochvak. eingengt, der Rückstand in 1 l Chloroform gelöst und die Lösung zweimal mit verd. Salzsäure und Wasser gewaschen. Die organische Phase wird über Na_2SO_4 getrocknet, i. Vak. eingengt, der erhaltene Sirup wird in wasserfreiem CH_2Cl_2 gelöst und das Produkt durch Zusatz von absol. Methanol zur Fällung gebracht. Ausb. 15.8 g (91%), Schmp. 293°C, $[\alpha]_D^{20} = +111.1^\circ$ ($c = 1.0$ in $CHCl_3$).

1H -NMR (270 MHz, $CDCl_3$): 1-H $\delta = 5.14$ d, 2-H 4.12 dd, 1'-H 4.60 d, 2'-H 4.22 dd, 3'-H 4.96 dd, 4'-H 4.47 dd, Ph 7.1–7.3 m, NH 6.5 d, PhCH 5.57 s, 5.40 s, PhCH₂ 4.67 d, 4.53 d, Ac 1.91 s; $J_{1,2} = 3.5$, $J_{2,3} = 10.3$, $J_{2,NH} = 7.0$, $J_{1',2'} = 8.2$, $J_{2',3'} = 10.1$, $J_{3',4'} = 3.4$, $J_{4',5'} = 0.5$, $J_{PhCH_2} = 12.4$ Hz.

$C_{42}H_{43}NO_{12}$ (753.8) Ber. C 66.92 H 5.75 N 1.86 Gef. C 66.56 H 5.52 N 1.78

Benzyl-2-acetamido-4,6-O-benzyliden-2-desoxy-3-O-(2,3-di-O-benzoyl-4,6-O-benzyliden-β-D-galactopyranosyl)-α-D-glucopyranosid (4): Die Lösung von 100 mg (0.154 mmol) **2** in 5 ml absol. Pyridin wird unter Eiskühlung mit 101 mg (0.72 mmol) Benzoylchlorid versetzt. Die weitere Aufarbeitung erfolgt wie bei dem monobenzoylierten Produkt **6**. Der erhaltene Sirup wird noch auf einer Säule von 20 g Kieselgel (CH_2Cl_2 /Aceton 6:1) gereinigt. Ausb. 113 mg (86%), Schmp. 238°C, $[\alpha]_D^{20} = +167.0^\circ$ ($c = 0.5$ in $CHCl_3$).

$C_{49}H_{47}NO_{13}$ (857.9) Ber. C 68.60 H 5.52 N 1.63 Gef. C 68.28 H 5.51 N 1.59

Benzyl-2-acetamido-4,6-O-benzyliden-3-O-(4,6-O-benzyliden-3-O-chloroacetyl-β-D-galactopyranosyl)-2-desoxy-α-D-glucopyranosid (7): Zur Suspension von 1.0 g (1.54 mmol) **2** in 50 ml absol. CH_2Cl_2 und 2 ml absol. Pyridin wird bei $-20^\circ C$ innerhalb von 40 h die Lösung von 205 mg (1.68 mmol) Chloroacetylchlorid in 20.5 ml absol. CH_2Cl_2 getropft. Aufarbeitung erfolgt wie bei **6**. Nach säulenchromatographischer Trennung an 120 g Kieselgel (CH_2Cl_2 /Aceton 5:1) erhält man 0.682 g (63%) **7** und 0.259 g (21%) des diacylierten Produkts **5**. Schmp. 271°C, $[\alpha]_D^{22} = +103.8^\circ$ ($c = 0.5$ in $CHCl_3$).

¹H-NMR (270 MHz, [D₅]Pyridin): 1-H δ = 5.4 d, 1'-H 4.92 d, 3'-H 5.46 dd, NH 9.12 d, Ph 7.17–7.71 m, PhCH 5.75 s, 5.69 s, Ac 2.10 s; $J_{1,2} = 3.3$, $J_{2,\text{NH}} = 8.5$, $J_{1',2'} = 8.0$, $J_{2',3'} = 10.3$, $J_{3',4'} = 3.4$.

C₃₇H₄₀ClNO₁₂ (726.2) Ber. C 61.19 H 5.55 Cl 4.88 N 1.93

Gef. C 60.89 H 5.62 Cl 4.96 N 1.89

Benzyl-2-acetamido-4,6-O-benzyliden-3-O-[4,6-O-benzyliden-2,3-bis-O-(chloracetyl)-β-D-galactopyranosyl]-2-desoxy-α-D-glucopyranosid (5): Zur Suspension von 100 mg (0.154 mmol) **2** in 5 ml absol. CH₂Cl₂ und 0.2 ml absol. Pyridin wird bei –20°C die Lösung von 41 mg (0.336 mmol) Chloracetylchlorid in 2 ml absol. CH₂Cl₂ getropft. Die weitere Aufarbeitung erfolgt wie bei 7. Ausb. 103 mg (84%), Schmp. 248°C, $[\alpha]_D^{20} = +104.4^\circ$ ($c = 0.25$ in CHCl₃).

C₃₉H₄₁Cl₂NO₁₃ (802.6) Ber. C 58.36 H 5.15 Cl 8.83 N 1.74

Gef. C 58.62 H 5.33 Cl 8.76 N 1.71

Benzyl-2-acetamido-3-O-[3-O-benzoyl-4,6-O-benzyliden-2-O-(2,3,4-tri-O-benzyl-6-desoxy-α-L-galactopyranosyl)-β-D-galactopyranosyl]-4,6-O-benzyliden-2-desoxy-α-D-glucopyranosid (8): 2.00 g (2.65 mmol) **6**, 1.11 g (5.30 mmol) Tetraethylammoniumbromid, 10 g Molekularsieb 4 Å und 40 ml absol. CH₂Cl₂ werden 3 h intensiv gerührt. Zur Suspension werden 2.64 g (5.31 mmol) frisch zubereitetes 2,3,4-Tri-O-benzyl-6-desoxy-α-L-galactopyranosylbromid (**10**)⁹, gelöst in 50 ml absol. CH₂Cl₂ und 60 ml absol. DMF, gegeben. Nach fünftägigem Rühren unter N₂ zeigt das Dünnschichtchromatogramm (CH₂Cl₂/Essigester 3:1) nur noch Spuren von **10**. Die Suspension wird weitere 2 h mit 20 ml Methanol gerührt, es wird durch Celite filtriert, sorgfältig mit CH₂Cl₂ gewaschen und i. Vak. eingeeengt. Der Sirup wird in CH₂Cl₂ gelöst und die Lösung mit Wasser und NaHCO₃-Lösung gewaschen. Nach Einengen der org. Phase wird der erhaltene Sirup säulenchromatographisch an 110 g Kieselgel (CH₂Cl₂/Essigester 6:1) gereinigt. Ausb. 2.54 g (82%), Schmp. 114°C, $[\alpha]_D^{23} = +69.8^\circ$ ($c = 1.0$ in CHCl₃).

¹H-NMR (270 MHz, C₆D₆): 1-H δ = 5.50 d, 2-H 4.56 ddd, 3-H 3.70 dd, 1'-H 4.71 d, 2'-H 4.37 dd, 3'-H 5.38 dd, 4'-H 3.46 dd, 1''-H 5.24 d, 2''-H 3.92 dd, 3''-H 3.62 dd, 4''-H 3.11, 6''-H 1.05, Ph 7.0–7.3 m, PhCH 5.17 s, 5.14 s, PhCH₂ 4.91 d und 4.49 d, Ac 1.88; $J_{1,2} = 3.3$, $J_{2,3} = 9.4$, $J_{2,\text{NH}} = 6.4$, $J_{3,4} = 8.4$, $J_{1',2'} = 7.8$, $J_{2',3'} = 9.8$, $J_{3',4'} = 3.6$, $J_{4,5} \approx 0.5$, $J_{1'',2''} = 3.3$, $J_{2'',3''} = 10.3$, $J_{3'',4''} = 2.6$, $J_{4'',5''} = 0.5$, $J_{5'',6''} = 6.0$ Hz.

C₆₉H₇₁NO₁₆ (1170.3) Ber. C 70.81 H 6.11 N 1.19 Gef. C 70.35 H 6.13 N 1.17

Benzyl-2-acetamido-4,6-O-benzyliden-3-O-[4,6-O-benzyliden-2-O-(2,3,4-tri-O-benzyl-6-desoxy-α-L-galactopyranosyl)-β-D-galactopyranosyl]-2-desoxy-α-D-glucopyranosid (9): Die Lösung von 2.5 g (2.13 mmol) **8** in 50 ml absol. Benzol und 150 ml absol. Methanol wird mit 20 ml NaOCH₃-Lösung (aus 1.5 g Natrium) versetzt und 24 h bei Raumtemp. stehengelassen. Es wird mit Eisessig neutralisiert, i. Vak. eingeeengt und der erhaltene Sirup in Chloroform gelöst. Nach Auswaschen mit Wasser und Einengen wird das Produkt säulenchromatographisch an 120 g Kieselgel (CHCl₃/Essigester 5:1) gereinigt. Ausb. 2.12 g (93%), Schmp. 117°C, $[\alpha]_D^{20} = +16.1^\circ$ ($c = 1.0$ in CHCl₃).

¹H-NMR (270 MHz, CDCl₃): 1-H δ = 5.17 d, 1''-H 4.71 d, 6''-H 0.99, Ph 7.1–7.3 m, PhCH 5.50 s, 5.46 s, PhCH₂ 4.97 d, 4.81 d, Ac 1.68; $J_{1,2} = 2.0$, $J_{1'',2''} = 1.6$, $J_{5'',6''} = 6.0$, $J_{\text{PhCH}_2} = 11.6$ Hz.

C₆₂H₆₇NO₁₅ (1066.2) Ber. C 69.84 H 6.33 N 1.31 Gef. C 69.52 H 6.47 N 1.26

O-(6-Desoxy-α-L-galactopyranosyl)-(1→2)-O-(β-D-galactopyranosyl)-(1→3)-2-acetamido-2-desoxy-D-glucopyranose (16): 250 mg (0.234 mmol) **9** werden in 30 ml Eisessig gelöst und in Gegenwart von 300 mg Palladiumkohle (10%) 2 d bei Raumtemp. hydriert. Dann wird filtriert, eingeeengt und mit einer Toluol/Methanol-Mischung nachdestilliert, bis der Geruch von Essigsäure verschwunden ist. Die Lösung des Rückstands in 30 ml Methanol wird mit 7 ml konz. Ammoniak

versetzt. Nach 1 d bei Raumtemp. zeigt das Dünnschichtchromatogramm ($\text{CHCl}_3/\text{Methanol}/\text{Wasser}$ 65:35:8) ein einheitliches Produkt. Der nach Einengen gewonnene Sirup wird auf einer Säule mit Sephadex G-25 (160 g Gel, Elution mit Wasser) gereinigt. Ausb. 92 mg (74%), amorph, $[\alpha]_D^{20} = -19.4^\circ$ ($c = 1$ in Methanol).

$^1\text{H-NMR}$ (270 MHz, CD_3OD): 1-H $\delta = 5.18$ d, 1''-H 5.07 d, 6''-H 1.21 d, Ac 2.03 s; $J_{1,2} = 3.4$, $J_{1'',2''} = 2.8$, $J_{5'',6''} = 6.0$ Hz.

$\text{C}_{20}\text{H}_{35}\text{NO}_{15}$ (529.5) Ber. C 45.36 H 6.66 N 2.64 Gef. C 45.12 H 6.59 N 2.52

Benzyl-2-acetamido-3-O-[3-O-(6-O-acetyl-2-azido-3,4-di-O-benzyl-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)-4,6-O-benzyliden-2-O-(2,3,4-tri-O-benzyl-6-desoxy- α -L-galactopyranosyl)- β -D-galactopyranosyl]-4,6-O-benzyliden-2-desoxy- α -D-glucopyranosid (13)

a) Die Suspension von 500 mg (0.468 mmol) **9**, 2.5 g Silbercarbonat und 2.5 g Drierite in 40 ml absol. CH_2Cl_2 wird vor Lichteinwirkung mit Alu-Folie geschützt und unter Feuchtigkeitsausschluß 1 h bei Raumtemp. gerührt. Nach Zugabe von 50 mg AgClO_4 rührt man weitere 15 min. Anschließend werden 417 mg (0.938 mmol) 6-O-Acetyl-2-azido-3,4-di-O-benzyl-2-desoxy- β -D-galactopyranosylchlorid, gelöst in 10 ml CH_2Cl_2 , zugegeben. Nach dem Dünnschichtchromatogramm ($\text{CHCl}_3/\text{Essigester}$ 3:1) ist **9** in 40 min größtenteils umgesetzt. Die Suspension wird mit 30 ml CH_2Cl_2 versetzt, filtriert und mit CH_2Cl_2 gewaschen, die organische Phase mit wäßriger NaHCO_3 -Lösung und Wasser gewaschen, getrocknet, i. Vak. eingengt und der Sirup säulenchromatographisch ($\text{CHCl}_3/\text{Essigester}$ 6:1) an 60 g Kieselgel gereinigt. Ausb. 366 mg (53%).

b) Die Suspension von 500 mg (0.468 mmol) **9**, 237 mg (0.938 mmol) $\text{Hg}(\text{CN})_2$ und 2 g Drierite in 25 ml absol. CH_2Cl_2 wird unter Feuchtigkeitsausschluß 1 h gerührt. Nach Zugabe von 276 mg (0.563 mmol) 6-O-Acetyl-2-azido-3,4-di-O-benzyl-2-desoxy- α -D-galactopyranosylbromid, gelöst in 15 ml CH_2Cl_2 , wird die Suspension unter N_2 -Atmosphäre und bei gleichzeitiger Ableitung der freiwerdenden HCN 20 h gerührt. Dann werden weitere 270 mg (0.469 mmol) von dem Pyranosylbromid, gelöst in 20 ml CH_2Cl_2 zugegeben, und es wird nochmals 20 h gerührt. Die Aufarbeitung erfolgt, wie bei a) beschrieben. Ausb. 442 mg (64%), Schmp. 92°C , $[\alpha]_D^{25} = +66.8^\circ$ ($c = 1.0$ in CHCl_3).

$^1\text{H-NMR}$ (270 MHz, CDCl_3): 1-H $\delta = 5.02$ d, 1''-H 4.98 d, 1'''-H 5.10 d, 6'''-H 1.12 d, Ph 7.1–7.3 m, PhCH 5.51 s, 5.42 s, Ac 1.92 s, 1.50; $J_{1,2} = 3.4$, $J_{1'',2''} = 3.3$, $J_{1''',2'''} = 3.0$, $J_{5''',6'''} = 6.0$ Hz.

$\text{C}_{84}\text{H}_{90}\text{N}_4\text{O}_{20}$ (1475.6) Ber. C 68.37 H 6.14 N 3.79 Gef. C 67.95 H 6.19 N 3.67

3,4,6-Tri-O-acetyl-2-azido-2-desoxy- α -D-galactopyranosylbromid (11): Die Lösung von 500 mg (1.339 mmol) 1,3,4,6-Tetra-O-acetyl-2-azido-2-desoxy- α -D-galactopyranose in 5 ml absol. CH_2Cl_2 wird unter Feuchtigkeitsausschluß auf -30°C abgekühlt, mit 30 ml einer auf -30°C gekühlten Lösung von HBr in CH_2Cl_2 versetzt und 20 min im verschlossenen Kolben bei Raumtemp. gerührt. Nach Abziehen von HBr/ CH_2Cl_2 i. Vak. bei 30°C wird der verbliebene leicht gelbe Sirup in 50 ml absol. Toluol gelöst und die Lösung 30 min mit 0.25 g Kieselgel (70–130 mesh) gerührt. Das gelb gefärbte Kieselgel wird schnell über eine Fritte abfiltriert, das Filtrat i. Vak. eingengt und der Rückstand i. Hochvak. getrocknet. Ausb. 491 mg (93%) Sirup, $[\alpha]_D^{20} = +104^\circ$ ($c = 1.2$ in Acetonitril) (Lit.¹⁵⁾ $[\alpha]_D^{20} = +104.5^\circ$, $c = 1.2$ in Acetonitril).

3,4,6-Tri-O-acetyl-2-azido-2-desoxy- β -D-galactopyranosylchlorid (12): Die Lösung von 491 mg (1.245 mmol) **11** in 49.1 ml absol. Acetonitril wird mit 736 mg (4.47 mmol) Tetraethylammoniumchlorid versetzt und dann der Drehwert gemessen. Nachdem die niedrigste Drehung erreicht ist (12–15 min), wird in destilliertes Toluol gegossen, fünfmal mit je 50 ml Eiswasser ausgeschüttelt und mit Na_2SO_4 getrocknet. Nach Eindampfen i. Vak. und erneutem Abziehen mit absol. Toluol wird der resultierende Sirup 1 h i. Hochvak. getrocknet (410 mg). Er wird ohne weitere Reinigung

für folgende Synthesen eingesetzt. Ausb. 410 mg (94%), $[\alpha]_D^{20} = +35.7^\circ$ ($c = 1.0$ in Acetonitril) (Lit.¹⁵⁾ $[\alpha]_D^{20} = +39.1^\circ$, $c = 4.3$ in Acetonitril).

Benzyl-2-acetamido-3-O-[3-O-(2-azido-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)-4,6-O-benzyliden-2-O-(2,3,4-tri-O-benzyl-6-desoxy- α -L-galactopyranosyl)- β -D-galactopyranosyl]-4,6-O-benzyliden-2-desoxy- α -D-glucopyranosid (15)

a) Die Suspension von 500 mg (0.468 mmol) **9**, 2.5 g Silbercarbonat und 2.5 g Drierite in 30 ml absol. CH_2Cl_2 wird vor Lichteinwirkung mit Alu-Folie geschützt und unter Feuchtigkeitsausschluß 1 h bei Raumtemp. gerührt. Nach Zugabe von 100 mg AgClO_4 rührt man weitere 10 min. Dann werden 327 mg (0.936 mmol) β -Pyranosylchlorid **12**, gelöst in 15 ml absol. CH_2Cl_2 , zugegeben. Nach 3 h zeigt das Dünnschichtchromatogramm (CH_2Cl_2 /Essigester 3:1), daß mehr als die Hälfte von **9** umgesetzt ist. Die Suspension wird mit 70 ml CH_2Cl_2 versetzt, filtriert und der Filterinhalt mit CH_2Cl_2 nachgewaschen. Die organische Phase wird mit wäßriger NaHCO_3 -Lösung und mit Wasser gewaschen, getrocknet, i. Vak. eingeeengt, das erhaltene Produkt in 60 ml Methanol gelöst und die Lösung mit methanolischer Natriummethylat-Lösung versetzt. Nach Neutralisieren mit Eisessig wird zum Sirup eingeeengt, dessen Lösung in CH_2Cl_2 mit Wasser gewaschen wird. Die org. Phase wird über MgSO_4 getrocknet und i. Vak. eingeeengt. Nach säulenchromatographischer Trennung an 60 g Kieselgel (CH_2Cl_2 /Aceton 4:1) werden 210 mg Ausgangsprodukt **9** und 270 mg **15** gewonnen. Ausb. 270 mg (46%).

b) Die Suspension von 0.50 g (0.468 mmol) **9**, 1.185 g (4.69 mmol) $\text{Hg}(\text{CN})_2$ und 2.0 g Drierite in 25 ml absol. CH_2Cl_2 wird unter Feuchtigkeitsausschluß 1 h gerührt. Nach Zugabe von 100 mg HgBr_2 und 276 mg (0.702 mmol) α -Pyranosylbromid **11**, gelöst in 15 ml absol. CH_2Cl_2 , wird die Suspension unter N_2 -Atmosphäre und bei gleichzeitiger Ableitung der freiwerdenden HCN 24 h gerührt. Dann werden erneut 184 mg (0.468 mmol) **11**, gelöst in 10 ml CH_2Cl_2 , zugefügt, und 24 h wird gerührt. Die Aufarbeitung erfolgt, wie bei a) beschrieben. Ausb. 370 mg (63%), Schmp. 128°C , $[\alpha]_D^{25} = +79.8^\circ$ ($c = 0.5$ in CHCl_3).

¹H-NMR (270 MHz, C_6D_6): 1-H $\delta = 5.15$ d, 1'-H 4.57 d, 1''-H 4.97 d, 2''-H 3.64 dd, 1'''-H 5.51 d, 6'''-H 1.11 d, Ph 7.1–7.3 m, PhCH 5.29 s, 5.25 s, Ac 1.74 s; $J_{1,2} = 3.0$, $J_{1',2'} = 7.7$, $J_{1'',2''} = 3.2$, $J_{2'',3''} = 10.2$, $J_{1''',2'''} = 3.0$, $J_{5''',6'''} = 6.0$ Hz.

$\text{C}_{68}\text{H}_{76}\text{N}_4\text{O}_{19}$ (1253.4) Ber. C 65.16 H 6.11 N 4.47 Gef. C 64.79 H 6.17 N 4.28

Benzyl-2-acetamido-4,6-O-benzyliden-3-O-[4,6-O-benzyliden-3-O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-azido-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)-2-O-(2,3,4-tri-O-benzyl-6-desoxy- α -L-galactopyranosyl)- β -D-galactopyranosyl]-2-desoxy- α -D-glucopyranosid (14): 100 mg (0.079 mmol) **15** werden in absol. Pyridin mit Acetanhydrid 14 h bei Raumtemp. acetyliert. Es wird mit Wasser versetzt und die Substanz in Chloroform aufgenommen. Nach Waschen mit NaHCO_3 -Lösung und Wasser wird die Chloroformschicht i. Vak. eingeeengt. Der erhaltene Sirup wird säulenchromatographisch an 20 g Kieselgel/ $(\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /Essigester 4:1) gereinigt. Ausb. 103 mg (95%), Schmp. 118°C , $[\alpha]_D^{25} = +104.8^\circ$ ($c = 1.0$ in CHCl_3).

¹H-NMR (270 MHz, CDCl_3): 1-H $\delta = 5.12$ d, 1'-H 4.24 d, 3'-H 5.70 dd, 4'-H 5.61 d, 1''-H 4.71 d, 1'''-H 5.17 d, 6'''-H 1.07 s, Ph 7.1–7.3 m, PhCH 5.48 s, 5.43 s, PhCH_2 5.20 d, 5.02 d, 4.90 d, Ac 2.11 s, 1.97 s, 1.88 s, 1.32 s; $J_{1,2} = 3.4$, $J_{1',2'} = 7.8$, $J_{1'',2''} = 3.3$, $J_{2'',3''} = 11.0$, $J_{3'',4''} = 3.3$, $J_{1''',2'''} = 2.9$, $J_{5''',6'''} = 6.0$ Hz.

$\text{C}_{74}\text{H}_{82}\text{N}_4\text{O}_{22}$ (1379.5) Ber. C 64.43 H 5.99 N 4.06 Gef. C 64.28 H 5.91 N 3.97

O-(2-Acetamido-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-O-[6-desoxy- α -L-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]-O-(β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-2-acetamido-2-desoxy-D-glucopyranose (17): 150 mg (0.119 mmol) **15** werden in 20 ml Eisessig in Gegenwart von 200 mg Palladium/Kohle (10proz.) 3 d bei Raumtemp. hydriert. Dann wird mit 20 ml Eisessig verdünnt, filtriert, nachgewaschen und i. Vak. eingeeengt. Der Rückstand wird in 15 ml Eisessig/Acetanhydrid (10:1) gelöst, die Lösung

i. Vak. langsam eingeengt, das amorphe Produkt in 20 ml Methanol gelöst, und zur Lösung werden 6 ml konz. Ammoniak gegeben. Nach 24 h zeigt das Dünnschichtchromatogramm eine einheitliche Substanz ($\text{CHCl}_3/\text{Methanol}/\text{Wasser}$ 65:35:8). Nach Eindampfen i. Vak. wird der Rückstand über Sephadex G-25 (160 g Gel, Elution mit Wasser) gereinigt. Ausb. 68 mg (77%), amorph, $[\alpha]_D^{20} = +53.8^\circ$ ($c = 1.0$ in Methanol).

$^1\text{H-NMR}$ (270 MHz, CD_3OD): 1-H $\delta = 5.20$ d, $1''\text{-H}$ 5.10 d, $1'''\text{-H}$ 5.29 d, $6'''\text{-H}$ 1.23 d, Ac 2.07 s, 2.05 s; $J_{1,2} = 3.6$, $J_{1'',2''} = 3.3$, $J_{1''',2'''} = 4.0$, $J_{5''',6'''} = 6.0$ Hz.

$\text{C}_{28}\text{H}_{48}\text{N}_2\text{O}_{20}$ (732.7) Ber. C 45.90 H 6.60 N 3.82 Gef. C 46.03 H 6.57 N 3.74

Benzyl-2-acetamido-4,6-O-benzyliden-3-O-[4,6-O-benzyliden-3-O-(2,3,4,6-tetra-O-benzyl- α -D-galactopyranosyl)-2-O-(2,3,4-tri-O-benzyl-6-desoxy- α -L-galactopyranosyl)- β -D-galactopyranosyl]-2-desoxy- α -D-glucopyranosid (19): Die Suspension von 0.50 g (0.468 mmol) **9**, 1.184 g (4.69 mmol) $\text{Hg}(\text{CN})_2$, 5 g Molekularsieb (4 Å) und 1 g Drierite in 25 ml absol. CH_2Cl_2 wird unter Feuchtigkeitsausschluß 2 h gerührt. Nach Zugabe von 0.566 g (0.938 mmol) α -Pyranosylbromid **18**¹⁷⁾, gelöst in 10 ml absol. CH_2Cl_2 , wird unter N_2 -Atmosphäre und bei gleichzeitiger Ableitung von HCN 24 h gerührt. Danach wird erneut mit 0.141 g (0.234 mmol) **18** versetzt und weitere 24 h gerührt. Es wird mit CH_2Cl_2 filtriert, mit CH_2Cl_2 nachgewaschen, die organische Phase mit NaHCO_3 -Lösung und Wasser gewaschen, eingeengt und der Sirup säulenchromatographisch an 60 g Kieselgel (CH_2Cl_2 /Essigester 6:1) und danach an Sephadex (LH-20, 50 g, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Methanol}$ 1:1) gereinigt. Ausb. 580 mg (78%), Schmp. 97°C , $[\alpha]_D^{23} = +20.2^\circ$ ($c = 1.0$ in CHCl_3).

$^1\text{H-NMR}$ (270 MHz, C_6D_6): 1-H $\delta = 5.57$ d, $1'\text{-H}$ 4.64 d, $1''\text{-H}$ d 5.19, $1'''\text{-H}$ 5.33 d, $6'''\text{-H}$ 1.15 d, Ph 7.05–7.40 m, PhCH 5.24 s, 5.19 s, PhCH_2 5.08 d, 4.86 d, 4.85 d, 4.73 d, 3.66 d, Ac 1.90 s; $J_{1,2} = 3.0$, $J_{1',2'} = 7.4$, $J_{1'',2''} = 3.1$, $J_{1''',2'''} = 2.7$, $J_{5''',6'''} = 6.0$, $J_{\text{PhCH}_2} = 11.6$, $J_{\text{PhCH}_2} = 10.9$, $J_{\text{PhCH}_2} = 11.5$, $J_{\text{PhCH}_2} = 12.0$ Hz.

$\text{C}_{96}\text{H}_{101}\text{NO}_{20}$ (1588.9) Ber. C 72.57 H 6.35 N 0.88 Gef. C 72.12 H 6.34 N 0.87

O-(α -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-O-[6-desoxy- α -L-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]-O-(β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-2-acetamido-2-desoxy-D-glucopyranose (20): 250 mg (0.157 mmol) **19** werden in 25 ml Eisessig in Gegenwart von 400 mg Palladium/Kohle (10proz.) 3 d bei Raumtemp. hydriert. Dann wird filtriert, nachgewaschen und i. Vak. eingeengt. Der Rückstand wird in 30 ml Methanol aufgenommen und die Lösung mit 7 ml konz. Ammoniak versetzt. Nach 1 d bei Raumtemp. zeigt das Dünnschichtchromatogramm ($\text{CHCl}_3/\text{Methanol}/\text{Wasser}$ 65:35:8) ein einheitliches Produkt. Der nach Einengen gewonnene Sirup wird auf einer Säule mit Sephadex G-25 (160 g Gel, Elution mit Wasser) gereinigt. Ausb. 89 mg (82%), amorph, $[\alpha]_D^{20} = +33.3^\circ$ ($c = 1.0$ in Methanol).

$^1\text{H-NMR}$ (270 MHz, CD_3OD): 1-H $\delta = 5.22$ d, $1''\text{-H}$ 5.07 d, $1'''\text{-H}$ 5.17 d, $6'''\text{-H}$ 1.18 d, Ac 2.03 s; $J_{1,2} = 4.0$, $J_{1'',2''} = 3.3$, $J_{1''',2'''} = 2.6$, $J_{5''',6'''} = 6.0$ Hz.

$\text{C}_{26}\text{H}_{45}\text{NO}_{20}$ (691.6) Ber. C 45.15 H 6.55 N 2.02 Gef. C 45.02 H 6.51 N 1.94

Literatur

- 1) XV. Mitteil.: H. Paulsen und O. Lockhoff, *Tetrahedron Lett.* **1978**, 4027.
- 2) R. R. Race und R. Sanger, *Blood Group in Man*, Blackwell Scientific Publ., Oxford 1975; J. F. Mohn, R. W. Plunkett, R. K. Cunnungham und R. M. Lamberg, *Human Blood Groups*, S. Karger, Basel 1977.
- 3) S. Hakomori und A. Kobata, *Blood Group Antigens in The Antigens*, Vol. II, S. 79, Ed. M. Sela, Acad. Press, New York 1974.
- 4) K. O. Lloyd, *Glycoproteins with Blood Group Activity in Int. Rev. Science, Org. Chem. Ser. Two*, Vol. 7, S. 251, Ed. G. O. Aspinall, Butterworths, London 1976.
- 5) R. U. Lemieux, Vortrag IX. International Symposium on Carbohydrate Chemistry, London 1978.
- 6) H. M. Flowers und R. W. Jeanloz, *J. Org. Chem.* **18**, 1377 (1963).

- ⁷⁾ H. Paulsen, C. Kolář und W. Stenzel, Chem. Ber. **111**, 2370 (1978).
⁸⁾ G. J. F. Chittenden, Carbohydr. Res. **16**, 495 (1971).
⁹⁾ M. Dejter-Juszynski und H. M. Flowers, Carbohydr. Res. **18**, 219 (1971).
¹⁰⁾ R. U. Lemieux, K. B. Hendriks, R. V. Stick und K. James, J. Am. Chem. Soc. **97**, 4056 (1975).
¹¹⁾ R. U. Lemieux und H. Driguez, J. Am. Chem. Soc. **97**, 4063 (1975).
¹²⁾ J. Pougny, J. C. Jacquinet, M. Nassr, D. Duchet, M. L. Milat und P. Sinay, J. Am. Chem. Soc. **99**, 6762 (1977).
¹³⁾ H. Paulsen und W. Stenzel, Chem. Ber. **111**, 2334, 2348 (1978).
¹⁴⁾ H. Paulsen, Č. Kolář und W. Stenzel, Chem. Ber. **111**, 2358 (1978).
¹⁵⁾ H. Paulsen, A. Richter, V. Sinnwell und W. Stenzel, Carbohydr. Res. **64**, 339 (1978).
¹⁶⁾ G. Excoffier, D. Y. Gagnaire und M. R. Vignon, Carbohydr. Res. **46**, 215 (1976).
¹⁷⁾ F. J. Kronzer und C. Schuerch, Carbohydr. Res. **33**, 273 (1974).
¹⁸⁾ C. T. Gi und S. Tejma, Chem. Pharm. Bull. **25**, 464 (1977).
¹⁹⁾ K. Igarashi, Adv. Carbohydr. Chem. Biochem. **34**, 243 (1977).
²⁰⁾ Herrn Prof. Dr. K. Fischer, Universitätsklinik Hamburg-Eppendorf, sind wir für die Durchführung der serologischen Tests zu großem Dank verpflichtet.

[5/79]