

Bausteine von Oligosacchariden, XX¹⁾

Synthese der Oligosaccharid-Determinanten der Blutgruppen-substanzen der Type 2 des ABH-Systems.

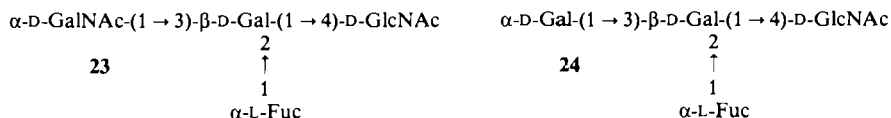
Diskussion der α -Glycosid-Synthese

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 9. April 1980

Durch eine Folge von selektiven Glycosid-Synthesen, kombiniert mit einer Serie von Blockierungs- und Entblockierungsschritten wurden die Determinanten der Type 2 der Blutgruppensubstanzen A und B



und H $\alpha\text{-L-Fuc-(1}\rightarrow\text{2)-}\beta\text{-D-Gal-(1}\rightarrow\text{4)-D-GlcNAc}$ (17) synthetisiert. Die Möglichkeiten und die Optimierung der α -Glycosid-Synthese werden diskutiert. Im Hämagglutinations-Inhibitionstest zeigen die synthetischen Haptene A und B der Type 2 und Type 1 eine ähnliche selektive Hemmwirkung. Starke Unterschiede sind aber beim Hapten H zu beobachten. Hier hemmt die Type 2 sehr stark, die Type 1 dagegen äußerst schwach. Hieraus ist zu schließen, daß in den Oberflächendeterminanten des ABH-Systems der Erythrozyten die chemische Struktur der Type 2 dominiert.

Building Units for Oligosaccharides, XX¹⁾

Synthesis of the Oligosaccharide Determinants of Blood Group Substances of Type 2 of the ABH System.

Discussion of α -Glycoside Synthesis

The antigenic determinants of type 2 of blood-group substances A and B (23 and 24) (see German Summary) as well as blood-group substance H (17) were synthesized by selective glycosidation reactions combined with a series of blocking and deblocking steps. The possibilities and optimization of the α -glycoside synthesis are discussed. In hemagglutination inhibition tests the synthetic haptens A and B of type 2 and type 1 show a similar selective inhibitory effect. In case of hapten H, however, great differences can be observed. Here the type 2 exhibited a strong inhibition activity, whereas type 1 only showed an extremely low activity. This leads to the conclusion that in the determinants of the ABH-system on the surface of erythrocytes the chemical structure of type 2 is predominating.

Eine A-, B- oder H-Blutgruppenaktivität kann bei wasserunlöslichen und wasserlöslichen körpereigenen Stoffen beobachtet werden. Die unlöslichen Substanzen stellen Glycosphingolipide dar, deren Ceramid-Teil in der Oberflächenmembran der Erythrozyten^{2,3)} verankert ist, während die Kohlenhydratkette über die Oberfläche hinausragt. Die löslichen Substanzen sind Glycoproteine⁴⁾, die in Sekreten und vor allem in Ovarialcysten vorkommen. Beiden gemeinsam ist die terminale Endgruppe, das Hapten, welches eine Oligosaccharid-Einheit mit spezifischer Struktur darstellt, die für die hohe Spezifität der Antigen-Antikörper-Reaktion verantwortlich ist. Das Hapten bindet dabei die auf dessen Struktur abgestimmten Antikörper, was bei den Antigenen der Erythrozyten-Oberfläche zur Agglutination führt. Das Hapten enthält somit die strukturelle Information, denn es kann mit der „combining site“ des Antikörpers reagieren und, gebunden an einen geeigneten Träger, die Bildung entsprechender Antikörper stimulieren⁵⁾. Eine chemische Synthese der Haptene ist somit von besonderem Interesse.

Es war uns gelungen, die Oligosaccharid-Determinanten, die die Haptene der Blutgruppensubstanzen A, B und H der Type 1 darstellen, zu synthetisieren⁶⁾. Wir haben jetzt die schwieriger darzustellenden Oligosaccharid-Determinanten der Blutgruppensubstanzen A, B und H der Type 2 synthetisiert¹⁾. Die Type 2 unterscheidet sich in der Verknüpfung der „core“-ständigen Glucosamin-Einheit zur Galactose³⁾.

Bei den Tetrasaccharid-Determinanten der Type 2 **23** und **24** ist die reduzierende Glucosamin-Einheit β -(1 \rightarrow 4)-ständig, bei der Type 1 dagegen β -(1 \rightarrow 3)-ständig an die Galactose geknüpft. Da die chemische Synthese der Tetrasaccharide stets von der Glucosamin-Einheit ausgehen muß, ist die Synthese der Tetrasaccharide der Type 2 vollständig neu zu konzipieren.

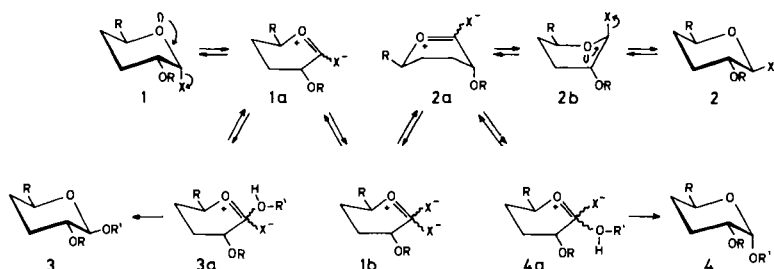
Leitlinien der α -Glycosid-Synthese (Gluco- und Galacto-Reihe)

Da bei den Tetrasaccharid-Synthesen hauptsächlich α -glycosidische Bindungen zu knüpfen sind, seien die von uns entwickelten Leitlinien für die α -Glycosid-Synthese in der Gluco- und Galacto-Reihe⁷⁾ diskutiert, da sie allgemein anwendungsfähig sind^{6,8,9)}. Die beste Austrittsgruppe beim Verknüpfungsschritt am anomeren Zentrum ist und bleibt nach unserer Ansicht die Halogen-Gruppe. Geeignet ist auch die von *Sinay*¹⁰⁻¹²⁾ entwickelte Imidat-Gruppe. Das Imidat muß aber stets aus dem Glycosylhalogenid hergestellt werden. In der Mehrzahl der Fälle kommt man aber bereits mit dem Pyranosylhalogenid direkt in befriedigender Weise zum Ziel, so daß das Imidat-Verfahren dann von Nutzen sein kann, wenn das Pyranosylhalogenid schwer zu handhaben ist.

Die β -Glycosid-Synthese erfolgt in der Regel aus dem α -Halogenid über eine Acetoxonium-Zwischenstufe, die durch selektive *trans*-Öffnung das β -Glycosid liefert^{7,13)}. Für eine α -Glycosid-Synthese ist somit ein nicht nachbargruppenaktiver Substituent am C-2 unabdingbar. Am besten sind geeignet *O*-Benzyl¹⁴⁻¹⁷⁾-, *O*-Trichloracetyl¹⁸⁾- oder Azido-Gruppen^{6,8)}. Das Prinzip der α -Glycosid-Synthese ist wie folgt.

Bei der Reaktion mit weniger reaktiven Hydroxylgruppen kann man vom stabileren α -Halogenid **1** ausgehen. Nach *Lemieux*¹⁹⁾ steht **1** in einem Halogenid-Ionen-katalysierten Gleichgewicht mit dem instabilen β -Halogenid **2**. Das α -Halogenid **1** kann in ein Ionenpaar **1a**, das β -Halogenid **2** über Konformation **2b** in ein unterschiedliches Ionenpaar **2a** übergehen. **1a** und **2a** stehen über ein Triplett-Ionenpaar **1b** im Gleichgewicht. Im Gleichgewichtszustand ist der Anteil an **1** hoch, der von **2** klein. Die Destabilisierung des β -Halogenids **2** erfolgt durch den anomeren Effekt¹⁹⁾, der bei Halogenid-Substituenten besonders wirksam ist. Das energiereiche β -Halogenid **2** und das Ionen-

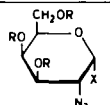
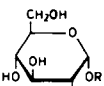
paar **2a** sind somit dem Übergangszustand näher. Die Energieschwelle bei der Reaktion mit Alkoholen über $2 \rightarrow 2a \rightarrow 4a \rightarrow 4$ zum α -Glycosid ist niedriger als über $1 \rightarrow 1a \rightarrow 3a \rightarrow 3$ zum β -Glycosid, so daß die Bildung des α -Glycosids eine schnellere



Reaktion ist. Eine Lenkung der Reaktion unter Ausnutzung dieser Reaktionsgeschwindigkeits-Differenz ermöglicht eine selektive α -Glycosid-Synthese^{19,20}. Ist diese Differenz genügend groß, so gelingt es, die Gesamtreaktion nahezu vollständig zum α -Glycosid zu leiten, auch wenn die Konzentration von **2** gering ist. Die Einstellung des Gleichgewichtes $1 \rightleftharpoons 2$ muß allerdings wirksam katalysiert werden, daß ständig neues **2** aus **1** nachgebildet werden kann. Diese für die Halogenid-Ionen-katalysierte Umsetzung angegebene Reaktionsfolge¹⁹ sollte unserer Ansicht nach auch bei Zusatz von Metallkatalysatoren in ähnlicher Weise ablaufen. Dies gilt für den lange bekannten *Helferich*-Katalysator^{21,22} Quecksilber(II)-cyanid, für Quecksilber(II)-bromid und auch wohl für Silberperchlorat^{7,23} und Silbertriflat^{5,24}. Vermutlich bilden die Quecksilbersalze mit der Halogenidgruppe Komplexe, deren genaue Struktur natürlich nicht bekannt ist, die aber die Ionenpaarbildung bzw. die Bildung der Tripletionen erleichtern. Die Reaktionsschwelle über $2a \rightarrow 4a \rightarrow 4$ und auch über $1a \rightarrow 3a \rightarrow 3$ dürfte erniedrigt werden, so daß insgesamt eine schnellere Reaktion erfolgt. Bei zu starker Katalyse kann die Differenz der Reaktionsgeschwindigkeiten zu **4** und **3** abnehmen, wodurch dann die Selektivität der Reaktion leidet. Bei den Silbersalzen dürfte eine entsprechende Komplexierung möglich sein, wenngleich hier auch ein Austausch des Halogenids in den Ionenpaaren durch die entsprechenden Anionen in Betracht zu ziehen ist.

Bei einer Oligosaccharid-Synthese ist somit dafür Sorge zu tragen, daß die Differenz der Reaktionsgeschwindigkeiten zum α - und β -Glycosid ausreichend ist, und daß die Einstellung des Gleichgewichtes zwischen den Ionenpaaren über den Typ **1a** wirksam genug katalysiert wird. Es sind drei Parameter, mit denen man wesentlich den Verlauf der Disaccharid-Synthese in diesem Sinne beeinflussen kann (Tab. 1). Es sind dies die Reaktivitäten des *Halogenides*, des *Katalysators* (wobei das Lösungsmittel auch eine Rolle spielt) und des *Alkohols*. Die Reaktivität des Halogenides ist durch Variation der Substituenten an den Hydroxylgruppen und am anomeren Zentrum zu beeinflussen⁸. Mit Benzylether-Gruppen substituierte Verbindungen sind stets reaktiver als acetylierte oder benzoyleierte Verbindungen. Hierbei kommt es weniger auf die Stellung der Benzylether-Gruppen als auf ihre Anzahl an. Dies wurde an der Anomerisierungsgeschwindigkeit gemischt substituierter α -Glycosylhalogenide überprüft⁸. Auch bei Glycosidierungsreaktionen kommt man, wie wir jetzt fanden, zu entsprechenden Ergebnissen²⁵.

Tab. 1. Die Oligosaccharid-Synthese bestimmende Parameter

| Reaktivität Halogenid | Reaktivität Katalysator (Lösungsmittel) | Reaktivität Alkohol |
|---|---|---|
|  $R \sim \text{Bzl} > \text{Bz} \approx \text{Ac}$ $X \sim \text{I} > \text{Br} > \text{Cl}$ | $\text{Et}_4\text{NBr}, 4 \text{ \AA}$ $\text{Hg}(\text{CN})_2$ $\text{Hg}(\text{CN})_2 / \text{HgBr}_2$ $\text{HgBr}_2, 4 \text{ \AA}$ $\text{AgClO}_4, \text{Ag}_2\text{CO}_3$ $\text{Ag-Triflat}, \text{Ag}_2\text{CO}_3$ | $\text{HO-CH}_3 \gg \text{HO-CH}_2\text{R} > 6\text{-OH}$  $6\text{-OH} \gg 3\text{-OH} > 2\text{-OH} > 4\text{-OH}$ |

Als wichtigster Parameter zur Beeinflussung der Reaktion muß der Katalysator angesehen werden. Das von *Lemieux* benutzte Tetraethylammoniumhalogenid ist der mildeste Katalysator²⁶⁾, der eine gute Reaktivität der beiden anderen Parameter voraussetzt. Wirksamer Katalysatoren sind die Quecksilberverbindungen^{6,27)} der Tab. 1, die auch im Gemisch in verschiedenen Verhältnissen dosiert werden können. Am wirksamsten sind Silberperchlorat und Silbertriflat. Hierbei ist zu bedenken, daß diese auch die Reaktion des α -Halogenids wirksam katalysieren, so daß in ungünstigen Fällen die Stereoselektivität abnimmt, dem durch Senkung der Reaktionstemperatur begegnet werden kann.

Die Reaktivität des Alkohols ist in der Regel kaum zu beeinflussen, da er als Reaktionspartner vorgegeben ist. Auch hier dürften, wie gezeigt wurde¹²⁾, Ether-Substituenten die Reaktivität gegenüber Acetyl-Substituenten erhöhen. Die hier gemachten Ausführungen gelten bevorzugt für sekundäre Hydroxylgruppen, die im wesentlichen für Disaccharid-Synthesen in Frage kommen. Primäre Alkohole, wie die Hydroxylgruppe am C-6 oder die am Serin²⁸⁾, sind beträchtlich reaktiver, so daß die Differenz der Reaktionsgeschwindigkeit zu α - und β -Glycosid kleiner wird und die Stereoselektivität abnimmt. In diesen Fällen empfiehlt es sich, die Konzentration des β -Halogenids zu erhöhen, indem man dieses direkt zur Reaktion einsetzt^{18,29)}. Die Gewinnung des β -Halogenids kann durch die kontrollierte Inversionstechnik^{30,31)} erfolgen. Methanol besitzt die reaktivste Hydroxylgruppe. Daher sind Reaktionen mit Methanol im Vergleich zu einer Disaccharid-Synthese am wenigsten charakteristisch.

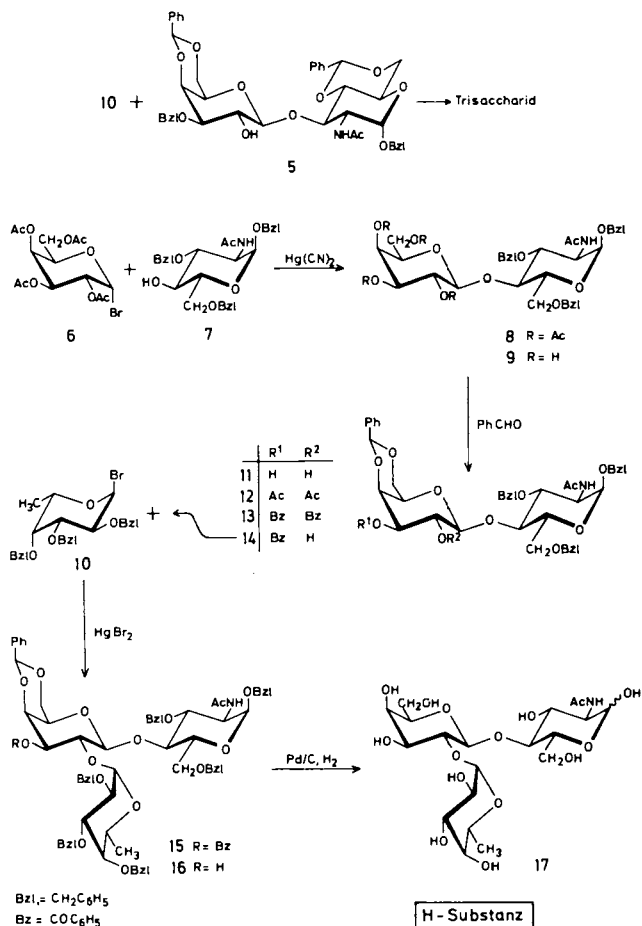
Die Anwendung der in Tab. 1 wiedergegebenen Vorstellungen wird bei den einzelnen Schritten der nachstehenden Tetrasaccharid-Synthesen erläutert.

Synthese der Oligosaccharid-Determinanten der Type 2 des ABH-Systems

Ausgangsprodukt der Synthese ist das partiell blockierte Glucosamin-Derivat **7**, das von *Sinay*³²⁾ dargestellt wurde, der auch das Disaccharid **8** durch Umsetzung von **6** mit **7** in Methylenchlorid bei Gegenwart von Quecksilber(II)-bromid und Molekularsieb 4 Å erhalten hat^{12,33)}. Nach unseren Erfahrungen ist es günstiger, **7** mit zwei Moläquivalenten **6** bei 60°C in Benzol/Nitromethan bei Gegenwart von Quecksilber(II)-cyanid umzusetzen. Man erhält dann, unter Reaktion mit Nachbargruppenbeteiligung, reines β -glycosidisch verknüpftes Produkt **8**.

Durch Abspaltung der *O*-Acetyl-Gruppen in **8** ist das Derivat **9** erhältlich, das mit Benzaldehyd in die Benzylidenverbindung **11** übergeführt werden kann. In **11** sind die

beiden Hydroxylgruppen unsubstituiert, an die sukzessiv weitere Saccharid-Einheiten angeknüpft werden müssen. Die Acetylierung und Benzoylierung von **11** liefert jeweils das Diacetat **12** und das Dibenzoat **13**. In **11** ist, wie es auch schon bei der Synthese der Type 1 gezeigt werden konnte⁶⁾, die 3'-OH-Gruppe reaktiver als die 2'-OH-Gruppe. Durch Umsetzung von **11** mit einem Mol Benzoylcyaniid^{34,35)} ist daher das Monobenzoat **14** darzustellen. Das NMR-Spektrum von **14** zeigt deutlich, daß die 2'-OH-Gruppe, an die die L-Fucose angeknüpft werden soll, unsubstituiert ist.



Schon bei der Anknüpfungsreaktion der L-Fucose sind zwischen der Synthese der Type 1 und der Type 2 deutliche Unterschiede festzustellen. Wir konnten bei der Synthese der Type 1 das Fucosylbromid **10**^{15,36)} mit der β-(1 → 3)-verknüpften Einheit **5** in guter Ausbeute (80%) unter den Bedingungen der Halogenid-Ionen-Katalyse mit dem Katalysator Tetraethylammoniumbromid von *Lemieux* umsetzen (Tab. 2)^{6,19)}. Die β-(1 → 4)-verknüpfte Einheit **14**, die sich also nur in der Verknüpfungsart von **5** unter-

scheidet, liefert dagegen unter identischen Bedingungen nur 30% Ausbeute. In **14** ist demnach die 2'-OH-Gruppe deutlich weniger reaktiv als in **5**. Geht man zu den reaktiveren Quecksilber-Katalysatoren über, so läßt sich, wie Tab. 2 zeigt, die Ausbeute sukzessiv steigern. Die höchsten Ausbeuten werden bei Anwendung des Quecksilber(II)-bromids bei Gegenwart von Molekularsieb 4 Å mit 80% erreicht. Es wird das Trisaccharid **15**¹¹⁾ erhalten, dessen 270-MHz-NMR-Spektrum sich voll analysieren läßt. Für die Kopplung $J_{1'',2''}$ des Fucoserestes wird die kleine Kopplung von 3.7 Hz gefunden, womit die α -glycosidische Verknüpfung sichergestellt ist. Ein Anteil vom β -glycosidisch-verknüpften Produkt wird nicht gefunden. Die große Kopplung von $J_{1',2'} = 7.2$ Hz für 1'-H zeigt die β -glycosidische Bindung der Galactose-Einheit an.

Zur Freisetzung der 3'-OH-Gruppe der Galactose-Einheit wird **15** zu **16** alkalisch hydrolysiert. Eine vollständige Entblockierung von **16** ist durch hydrogenolytische Spaltung mit Palladium in Eisessig möglich. Man erhält dann das freie Hapten **17** der H-Substanz der Type 2, das auch von *Jacquinet* und *Sinay*^{11,37)} dargestellt worden ist.

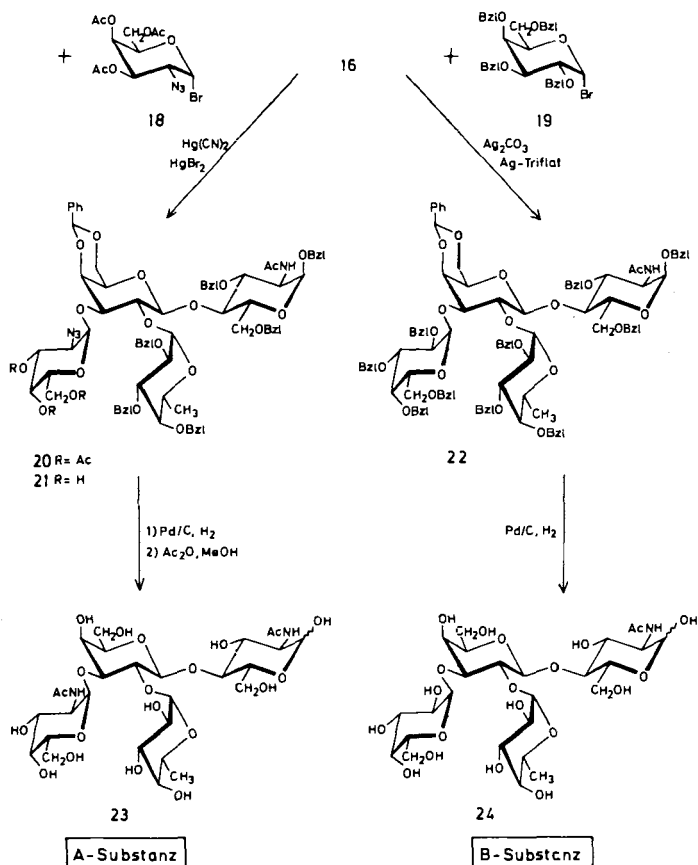
Tab. 2. Reaktionsbedingungen bei der α -Glycosid-Synthese (Lösungsmittel CH_2Cl_2)

| Reaktion | Katalysator | α/β | Ausb. (%) | Zeit | Temp. (°C) | Halogenose (mol) |
|--|--|----------------|-----------|------|------------|-------------------|
| 10 + 5 \rightarrow Trisacch. | Et_4NBr , 4 Å | α | 80 | 5 d | 25 | 3 ^{a)} |
| 10 + 14 \rightarrow 15 | Et_4NBr , 4 Å | α | 30 | 10 d | 25 | 3 ^{a)} |
| Synthese der H-Substanz | $\text{Hg}(\text{CN})_2$ | α | 40 | 10 d | 25 | 3 |
| | $\text{Hg}(\text{CN})_2/\text{HgBr}_2$ (10:1) | α | 50 | 3 d | 25 | 3 |
| | HgBr_2 , 4 Å | α | 80 | 1 d | 25 | 2.5 |
| | Et_4NBr , 4 Å | — | 0 | 5 d | 25 | 2.5 ^{a)} |
| Synthese der B-Substanz | $\text{Hg}(\text{CN})_2$ | α | 10 | 5 d | 25 | 2.5 |
| | $\text{Hg}(\text{CN})_2/\text{HgBr}_2$ (10:1) | α | 60 | 7 d | 25 | 2.5 |
| | HgBr_2 , 4 Å | α | 80 | 1 d | 25 | 2.5 |
| | Ag-Triflat , Ag_2CO_3 | α | 80 | 16 h | -25 | 2.5 |
| 18 + 16 \rightarrow 20 | $\text{Hg}(\text{CN})_2$ | — | 0 | 10 d | 25 | 3 |
| | $\text{Hg}(\text{CN})_2/\text{HgBr}_2$ (10:1) | α | 10 | 5 d | 25 | 3 |
| | $\text{Hg}(\text{CN})_2/\text{HgBr}_2$ (5:1) | α | 30 | 7 d | 25 | 3 |
| | $\text{Hg}(\text{CN})_2/\text{HgBr}_2$ (1:1) | α | 65 | 5 d | 25 | 1.5 |
| | Ag-Triflat , Ag_2CO_3 | α | 70 | 1 d | -20 | 4 |

a) Lösungsmittel $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{DMF}$.

Das Trisaccharid **16** mit freier 3'-OH-Gruppe läßt sich für die Gewinnung der A-Substanz und der B-Substanz einsetzen. Wird **16** mit dem Galactopyranosylbromid **19** unter den Bedingungen der Halogenid-Ionen-Katalyse mit Tetraethylammoniumbromid umgesetzt, so erhält man, wie Tab. 2 zeigt, praktisch kein Produkt. Dies ist bemerkenswert, da gerade das Galactopyranosylbromid **19** nach vielen Beispielen^{5,26)} besonders für dieses Verfahren geeignet ist. Mit dem reaktiveren Quecksilber(II)-cyanid werden nur 10% Ausbeute erhalten (Tab. 2). Die entsprechende Reaktion bei der Type 1 ergab unter diesen Bedingungen 78% Produkt. Auch hier zeigt sich somit, wie bei allen Stufen, die deutlich geringe Reaktivität der Hydroxylgruppen bei den Komponenten der

Type 2. Durch Einsatz aktiverer Katalysatoren ist, wie Tab. 2 zeigt, die Ausbeute auf befriedigende 80% zu steigern. Quecksilber(II)-bromid bei Gegenwart von Molekularsieb 4 Å und Silbertriflat/Silbercarbonat sind hier am besten geeignet.



Bei der Reaktion mit Silbertriflat/Silbercarbonat ist zu beachten, daß sie bei -25°C durchgeführt werden muß. Bei diesen tiefen Temperaturen ist der ebenfalls katalysierte Reaktionsweg zum β -Glycosid 3 stark verlangsamt. Die Einstellung der Ionenpaare verläuft jedoch noch mit ausreichender Geschwindigkeit und die Reaktionsschwelle des Weges zum α -Glycosid 4 ist gering genug, daß nur dieses gebildet wird. Man erhält somit bei tiefen Temperaturen stereoselektiv nur das α -glycosidisch-verknüpfte Produkt 22. Führt man die gleiche Reaktion mit Silbertriflat/Silbercarbonat bei Raumtemperatur durch, dann reagiert das α -Halogenid 19 zu schnell und die Reaktion ist nicht mehr stereoselektiv. Das Reaktionsprodukt ist dann eine Mischung von α - und β -glycosidisch verknüpftem Produkt. Beim Einsatz des Silbertriflats ist die Temperatur ein wichtiger Faktor für die Stereoselektivität der Reaktion.

Im NMR-Spektrum des Tetrasaccharids **22** sind alle vier anomeren Protonen gut zuzuordnen. Die Kopplung des $1'''$ -H der neu eingetretenen Galactose-Einheit weist eine kleine Kopplung von $J_{1''',2'''} = 3.4$ Hz auf. Hiermit ist die α -glycosidische Verknüpfung der neuen Galactose-Einheit sichergestellt. Eine Entblockierung des Tetrasaccharides **22** ist durch Hydrogenolyse mit Palladium in Eisessig unter Abspaltung aller Benzyl-Gruppen möglich. Das erhaltene Produkt wird über Sephadex G-25 gereinigt und man gelangt so zu dem terminalen Tetrasaccharid **24**, das das Hapten der Blutgruppensubstanz B^{1,11,38}, Type 2, darstellt.

Die Umsetzung des Trisaccharids **16** mit dem 2-Azidogalactopyranosylbromid **18**^{5,6,8,39} erfordert eine noch wirksamere Katalyse, da das Halogenid **18** weniger reaktiv als **19** ist. Mit dem *Helferich*-Katalysator Quecksilber(II)-cyanid wird praktisch kein Produkt gebildet. Auch mit dem Gemisch Quecksilber(II)-cyanid/Quecksilber(II)-bromid (10:1), das bei der Synthese der entsprechenden Verbindung der Type 1 befriedigende Ausbeuten liefert, ergibt sich hier, wie Tab. 2 zeigt, nur 10%. Erst beim Erhöhen des Anteiles an Quecksilber(II)-bromid oder bei Anwendung des wirksamsten Katalysators, Silbertriflat/Silbercarbonat, kann eine befriedigende Ausbeute bis zu 70% erreicht werden (s. Tab. 2). Die Reaktion mit Silbertriflat/Silbercarbonat muß aus den bereits erörterten Gründen bei tiefen Temperaturen (-20°C) erfolgen, da sonst die Stereoselektivität abnimmt.

Zur Reinigung des erhaltenen Tetrasaccharids **20** werden zweckmäßigerweise die *O*-Acetyl-Gruppen durch alkalische Hydrolyse entfernt. Man erhält das Produkt **21**, das über Sephadex LH-20 dann gut gereinigt werden kann. Im 270-MHz-NMR-Spektrum von **21** sind die Signale aller vier anomeren Protonen gut zu beobachten und zuzuordnen. Für die 2-Azidogalactose-Einheit wird für das Proton $1'''$ -H die kleine Kopplungskonstante von $J_{1''',2'''} = 3.0$ Hz gefunden. Hiermit ist die α -glycosidische Bindung der neu angekoppelten Einheit bewiesen. Anteile am β -glycosidisch verknüpften Produkt werden im Reaktionsgemisch nicht gefunden. Zur weiteren Charakterisierung wurde **21** zum Triacetat **20** acetyliert, dessen NMR-Spektrum mit der angegebenen Konstitution voll vereinbar ist.

Zur Entblockierung des Tetrasaccharids wird die Komponente **21** eingesetzt, bei der durch hydrogenolytische Spaltung mit Palladium in Eisessig sämtliche Schutzgruppen entfernt werden können. Die bei der Hydrierung in eine Aminogruppe umgewandelte Azido-Gruppe muß mit Acetanhydrid in Methanol nachacetyliert werden. Das über Sephadex G-25 gereinigte Produkt ergibt das freie Tetrasaccharid **23**. Dieses stellt die Determinante der Blutgruppensubstanz A der Type 2 dar.

Das freie Tetrasaccharid **23** wurde auch kürzlich im Urin eines Blutgruppensubstanz A ausscheidenden Patienten aufgefunden⁴⁰. Das isolierte Produkt stimmt in seinen Daten mit dem Syntheseprodukt überein.

Hämagglutinations-Inhibitionsteste

Die synthetisierten Oligosaccharide der Blutgruppensubstanzen A, B und H der Type 2 wurden serologisch im Hämagglutinations-Inhibitionstest untersucht, um sie in ihren Eigenschaften mit den entsprechenden Oligosacchariden der Type 1 zu vergleichen, mit denen wir diese Tests schon früher durchgeführt haben⁶. Mit einer 5proz. Erythrozytensuspension der Blutgruppen A₁, A₂, B und 0 wurde der Titer von entsprechenden

Agglutinine eingestellt. Sind die synthetischen Oligosaccharid-Haptene strukturanalog der Erythrozyten-Determinanten, die entsprechend mit dem Agglutinin reagieren, so muß bei Zugabe der synthetischen Haptene eine Hemmung der Hämagglutination zu beobachten sein. In dem Test wurde eine geometrische Verdünnungsreihe der A-, B- und H-Haptene aufgestellt und deren minimale Inhibitionsdosis (ID_{\min}) ermittelt, die die Hämagglutination der Erythrozyten und der Agglutinine hemmt. Die Ergebnisse sind in Tab. 3 zusammengefaßt.

Es ist zu ersehen, daß insbesondere die Reaktion der Antiseren, wie Anti- A_{human} mit A_1 - bzw. A_2 -Erythrozyten durch das A-Hapten und das Anti- B_{human} mit B-Erythrozyten durch das B-Hapten selektiv und signifikant gehemmt wird. Diese Befunde entsprechen etwa den Ergebnissen, wie sie auch mit den Haptenen A und B der Type 1 beobachtet worden sind. Für die Bindung des Haptens am Agglutinin sind somit die drei endständigen Saccharid-Einheiten maßgebend, und die Art der weiteren Verknüpfung an das Glucosamin, die sich in Type 1 und 2 unterscheidet, ist von untergeordneter Bedeutung. Dominierend für die Bildung zum Agglutinin ist aber beim Hapten A das endständige Galactosamin und beim Hapten B die endständige Galactose, die beide spezifisch erkannt werden können.

Tab. 3. Hämagglutinations-Inhibitionsteste mit den synthetischen Haptenen^{a,4)}

| Antiserum/ Agglutinin ^{b)} | Test- erythro- zyten ^{c)} | ID_{\min} der Haptene ($\mu\text{g}/10 \mu\text{l}$) ^{d)} | | | |
|--|--|--|-------------|-------------|-------------|
| | | A Type 2 | B Type 2 | H Type 2 | H Type 1 |
| Anti- A_{human} 1:24 | A_1 | 9.4 | 100 | 100 | n. d. |
| Anti- A_{human} 1:24 | A_2 | 2.3 (1.6) | 100 | 100 | n. d. |
| Anti- $A_{1,\text{Db}}$ 1:8 | A_1 | 2.3 (3.1) | 100 | 100 | n. d. |
| Anti- A_{HP} 1:1280 | A_1 | 25.0 | 100 | 100 | n. d. |
| Anti- A_{HP} 1:1280 | A_2 | 12.5 | 100 | 100 | n. d. |
| Anti- B_{human} 1:32 | B | 100 | 2.3 (3.1) | 100 | 100 |
| Anti- H_{La} 1:4 | A_2 | 100 | 100 | 3.1 | 100 |
| Anti- H_{La} 1:4 | 0 | 100 | 100 | 2.3 | 100 |
| Anti- H_{Ue} 1:2 | 0 | n. d. | n. d. | 1.6 | 200 |
| Anti- BH_{Ee} 1:6 | A_1 | 100 | 0.0013 | 1.2 | 9.4 |
| Anti- BH_{Ee} 1:16 | A_2 | 100 | 0.0023 | 12.5 | 25.0 |
| Anti- BH_{Ee} 1:16 | B | 100 | 0.24 | 100 | 100 |
| Anti- BH_{Ee} 1:8 | 0 | 100 | 0.06 | 9.4 | 25.0 |

^{a)} 10 μl der Haptenlösung (Kontrolle: isotonische NaCl-Lösung) wurden mit 10 μl vorverdünntem Antiserum/Agglutinin in den Auftragsstellen von Mikrotiterplatten (Fa. Greiner, Nürtingen, V-Form) vermischt und 30 min bei Raumtemp. inkubiert. Dann wurden 10 μl 5proz. Erythrozyten-suspension zugegeben und weitere 30 min inkubiert. Das Reaktionsergebnis wurde mit bloßem Auge abgelesen.

^{b)} Anti- $A_{1,\text{Db}}$ = Lectin aus *Dolichos biflorus*; Anti- A_{HP} = Agglutinin aus *Helix pomatia*; Anti- H_{La} = Lectin aus *Laburnum alpinum*; Anti- H_{Ue} = Lectin aus *Ulex europaeus*; Anti- BH_{Ee} = Lectin aus *Evonymus europaeus*;

Die Werte geben die vorletzte Verdünnungsstufe vor dem Titer an.

^{c)} Die A_2 -Testerythrozyten enthalten im Gegensatz zu A_1 hohe Anteile H-Antigen.

^{d)} ID_{\min} = minimale inhibitorische Dosis in $\mu\text{g}/10 \mu\text{l}$. Die Anfangskonzentration der Haptene betrug 100 μg pro 10 μl NaCl-Lösung. Alle Werte wurden durch Doppelbestimmung ermittelt; divergierende Ergebnisse sind in Klammern angegeben, n. d. = nicht durchgeführt, vgl. Lit.⁶⁾

Bei der Hämagglutination mit Lectinen wird die Reaktion von A-Erythrozyten mit Anti-A_{1,Db} stark und mit Anti-A_{HP} schwächer gehemmt. In beiden Fällen ist die Hemmung aber selektiv. Weniger spezifisch sind die Reaktionen des Lectins Anti-BH_{EE}. Nur die Reaktion mit B-Erythrozyten wird in hohem Maße und spezifisch durch Hapten B gehemmt.

Von erheblichem Interesse ist das Verhalten des Haptens H. Hier zeigen sich große Unterschiede in der Reaktionsweise des Haptens H der Type 2 und der Type 1. Aus diesem Grunde wurden die Tests mit dem Hapten H, Type 1, wiederholt und die Werte zum Vergleich mit in Tab. 3 aufgenommen.

Es ist zu erkennen, daß das H-Hapten der Type 2 die Reaktion der O-Erythrozyten mit den Lectinen *Laburnum alpinum* und *Ulex europaeus* stark und spezifisch hemmt. Die A₂-Erythrozyten, die auch hohe Anteile an H-Hapten enthalten, reagieren mit *Laburnum alpinum* in gleicher Weise. Das synthetische Hapten H der Type 1 zeigt dagegen bei den gleichen Reaktionen keinerlei Hemmwirkung.

Dieser Befund zeigt, daß für die Bindung des Lectins an das H-Hapten auch das N-Acetylglucosamin und somit die gesamte Trisaccharid-Einheit notwendig ist. Nur wenn, wie im Hapten H der Type 2, eine β -(1 \rightarrow 4)-glycosidische Bindung der mittelständigen *galacto*-Einheit mit dem „core“-ständigen N-Acetylglucosamin vorliegt, ist eine Bindung mit dem Agglutinin möglich. Bei einer β -(1 \rightarrow 3)-glycosidischen Verknüpfung liegt eine sterische Anordnung vor, bei der die für das Lectin notwendigen Haftstellen am N-Acetylglucosamin nicht mehr zur Verfügung stehen.

Da die Determinanten auf der Oberfläche der O-Erythrozyten sich genau wie das synthetische Hapten H der Type 2 verhalten, ist zu schließen, daß diese Determinanten auch in einer chemischen Struktur vorliegen, die den Haptenen der Type 2 und nicht der Type 1 entspricht. Da die Blutgruppensubstanz H als biochemische Vorstufe der A- und B-Substanz angesehen wird, kann man sagen, daß die Haptene des ABH-Systems die β -(1 \rightarrow 4)-Verknüpfung der Type 2 aufweisen. Sie stehen somit den Glycosphingolipiden nahe, mit denen sie auch strukturverwandt sind. Die Verknüpfung der Type 1 dürfte dagegen bevorzugt bei den Lewis-Blutgruppensubstanzen vorkommen.

Herr Dr. R. Johannsen, Behringwerke AG, Marburg, hat freundlicherweise die serologischen Untersuchungen für uns durchgeführt, wofür wir ihm danken. Frau H. Nürnberger, die den größten Teil der präparativen Arbeit geleistet hat, sei für ihre sorgfältige und umsichtige Mitarbeit gedankt. Frau C. Teuter danken wir für ihre Hilfe bei den serologischen Tests. Die *Deutsche Forschungsgemeinschaft* und der *Fonds der Chemischen Industrie* haben dankenswerterweise das Projekt durch finanzielle Mittel gefördert.

Experimenteller Teil

Alle Reaktionen wurden dünnenschichtchromatographisch 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 Glycosid-Synthesen wurden unter Stickstoff durchgeführt. Käufliches Silbertriflat muß unter strengem

Feuchtigkeitsausschluß eingesetzt werden. Das Methylenchlorid wurde über P_2O_5 unter Rückfluß gekocht, destilliert und über basischem Aluminiumoxid (Woelm, Akt.-Stufe 1) aufbewahrt.

Benzyl-2-acetamido-3,6-di-O-benzyl-2-desoxy- α -D-glucopyranosid (7): 5.0 g (12.5 mmol) Benzyl-2-acetamido-3-O-benzyl-2-desoxy- α -D-glucopyranosid werden in 500 ml absol. $CHCl_3$ gelöst. Nach Zugabe von 10 g Ag_2O und 10 g Drierite werden 5 ml (41.8 mmol) Benzylbromid in 50 ml $CHCl_3$ innerhalb 1 h zugetropft. Nach 16 h Rühren unter Feuchtigkeitsausschluß wird filtriert, und das Filtrat wird zweimal mit Wasser gewaschen und mit Na_2SO_4 getrocknet. Das nach dem Einengen gewonnene Rohprodukt (7.2 g) kristallisiert aus Essigester und Petrolether. Ausb. 5.3 g (86%). Schmp. $145^\circ C$. $[\alpha]_D^{20} = +114.7^\circ$ ($c = 1$ in $CHCl_3$) (Lit.³²) Schmp. $145 - 145.5^\circ C$. $[\alpha]_D^{20} = +114^\circ$ ($c = 1$ in $CHCl_3$)).

1H -NMR (270 MHz, $CDCl_3$): 1-H $\delta = 4.87$ d, 2-H 4.25 m, NH 5.39 d, Ph 7.40–7.18, $PhCH_2$ 4.70 d, 4.43 d, 4.61 d, 4.54 d, 4.74 d, 4.67 d, NAc 1.84 s; $J_{1,2} = 3.6$, $J_{2,3} = 10.0$, $J_{2,NH} = 9.2$, $J_{PhCH_2} = 12.0$, 11.8, 11.6 Hz.

Benzyl-2-acetamido-4-O-acetyl-3,6-di-O-benzyl-2-desoxy- α -D-glucopyranosid: 50 mg (0.10 mmol) 7 werden mit Pyridin/Acetanhydrid acetyliert und in üblicher Weise aufgearbeitet. Ausb. 52.3 mg (98%), Schmp $157.0^\circ C$. $[\alpha]_D^{20} = +108.1^\circ$ ($c = 1$ in $CHCl_3$).

1H -NMR (270 MHz, $CDCl_3$): 1-H $\delta = 4.93$ d, 2-H 4.35 m, 3-H 3.77 dd, 4-H 5.15 dd, 5-H 3.92 m, 6-H 3.52 s, 6'-H 3.51 s, NH 5.33 d, Ph 7.44–7.19, $PhCH_2$ 4.72–4.45, OAc, NAc 1.91 s, 1.82 s; $J_{1,2} = 3.8$, $J_{2,3} = 10.8$, $J_{2,NH} = 9.2$, $J_{3,4} = 9.4$, $J_{4,5} = 10.2$, $J_{5,6} = 4.4$, $J_{5,6'} = 4.4$, $J_{PhCH_2} = 11.8$, 11.4 Hz.

$C_{31}H_{35}NO_7$ (533.6) Ber. C 69.80 H 6.61 N 2.63 Gef. C 69.50 H 6.53 N 2.58

Benzyl-2-acetamido-3,6-di-O-benzyl-2-desoxy-4-O-(β -D-galactopyranosyl)- α -D-glucopyranosid (9): 6.4 g (13 mmol) 7 werden in 300 ml absol. Benzol/Nitromethan (1:1) gelöst und 6.8 g (26 mmol) Quecksilber(II)-cyanid in die Reaktionsmischung unter Rühren zugegeben. Bei $60^\circ C$ werden 10.7 g (26 mmol) 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-galactopyranosylbromid (6), gelöst in 100 ml Benzol, innerhalb von 8 h unter N_2 -Atmosphäre zugetropft. Die Mischung wird 16 h bei Raumtemp. gerührt. Das Reaktionsgemisch wird filtriert und das Filtrat zweimal mit wäßriger gesättigter $NaHCO_3$ -Lösung und zweimal mit wäßriger gesättigter $NaCl$ -Lösung gewaschen. Die wäßrigen Phasen werden noch zweimal mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und i. Vak. eingedampft. Das Rohprodukt wird in 600 ml absol. Methanol gelöst und mit 40 ml methanolischer $N NaOCH_3$ versetzt. Nach 12 h wird mit Dowex 50 WX-8 (H^+) neutralisiert. Die säulenchromatographische Trennung erfolgt auf 250 g Kieselgel mit Toluol/Ethanol (7:1). Ausb. 5.95 g (70%). Das Disaccharid kristallisiert aus Chloroform/Pentan. Schmp. $150 - 152^\circ C$. $[\alpha]_D^{20} = +85.6^\circ$ ($c = 1.0$ in Methanol).

$C_{35}H_{44}NO_{11}$ (654.8) Ber. C 64.20 H 6.77 N 2.15 Gef. C 63.70 H 6.82 N 2.16

Benzyl-2-acetamido-3,6-di-O-benzyl-2-desoxy-4-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)- α -D-glucopyranosid (8)

a) 100 mg (0.15 mmol) 9 werden in 3 ml absol. Pyridin gelöst und unter Eiskühlung mit 0.3 ml Acetanhydrid versetzt. Nach 24 h bei Raumtemp. wird 20 ml Eiswasser zugefügt und dreimal mit je 5 ml $CHCl_3$ extrahiert. Die $CHCl_3$ -Phase wird mit $NaHCO_3$ -Lösung und Wasser gewaschen und eingengt. Der erhaltene Sirup kristallisiert aus Ether/Hexan. Ausb. 107 mg (87%). Schmp. $108^\circ C$. $[\alpha]_D^{20} = +62^\circ$ ($c = 0.55$ in $CHCl_3$) (Lit.³³) Schmp. $110 - 111^\circ C$. $[\alpha]_D^{20} = +66^\circ$ ($c = 1$ in $CHCl_3$)).

b) Die Disaccharid-Synthese wird wie unter 9 durchgeführt, jedoch wird das Rohprodukt ohne Entacetylierung mit $NaOCH_3$ weiterverarbeitet. Es wird säulenchromatographisch (Toluol/Essigester 3:1) gereinigt. Auskristallisation aus Ethan/Pentan. Ausb. 30%. Schmp. $106 - 108^\circ C$. $[\alpha]_D^{20} = +62^\circ$ ($c = 0.55$ in $CHCl_3$)).

¹H-NMR (270 MHz, C₆D₆): 1-H δ = 5.01 d, 2-H 4.60 m, 3-H 3.80 dd, 4-H 4.17 dd, 5-H 3.96 m, 6a-H 3.85 dd, 6b-H 3.65 dd, 1'-H 4.71 d, 2'-H 5.64 dd, 3'-H 5.10 dd, 4'-H 5.44 dd, 5'-H 3.41 m, 6a'-H 4.04 dd, 6b'-H 3.92 dd, NH 4.99 d, Ph 7.44–6.96, PhCH₂ 5.02 d, 4.54 d, 4.66 d, 4.20 d, 4.51 d, 4.42 d, OAc, NAc 1.72 s, 1.61 s, 1.59 s, 1.43 s; J_{1,2} = 3.6, J_{2,3} = 10.8, J_{2,NH} = 9.1, J_{3,4} = 8.8, J_{4,5} = 9.6, J_{5,6a} = 4.0, J_{5,6b} = 1.6, J_{6a,6b} = 11.0, J_{1',2'} = 8.0, J_{2',3'} = 10.5, J_{3',4'} = 3.4, J_{4',5'} = 1.0, J_{5',6a'} = 7.4, J_{5',6b'} = 6.4, J_{6a',6b'} = 11.0, J_{PhCH₂} = 11.8, 11.8, 12.0 Hz.

Benzyl-2-acetamido-3,6-di-O-benzyl-4-O-(4,6-O-benzyliden-β-D-galactopyranosyl)-2-desoxy-α-D-glucopyranosid (11): 7.0 g (10.7 mmol) **9** werden mit 70 ml frisch destilliertem Benzaldehyd und 7.0 g pulverisiertem Zink(II)-chlorid (vorher zur Entwässerung geschmolzen) versetzt. Der Ansatz wird 16 h geschüttelt und dann in 250 ml eiskalte gesättigte wäßrige NaHCO₃-Lösung gegossen. Nach der Extraktion mit CHCl₃ wird die organische Phase mit Wasser gewaschen, mit Na₂SO₄ getrocknet und i. Vak. eingengt. Der Sirup kristallisiert aus CHCl₃/Ether. Ausb. 6.9 g (87%). Schmp. 174.5–175 °C. [α]_D²⁰ = +76.5° (c = 1.045 in CHCl₃).

¹H-NMR (270 MHz, CDCl₃): 1-H δ = 4.90 d, 2-H 4.28 m, 3-H 3.74 dd, 4-H 4.11 dd, 1'-H 4.49 d, 2'-H 3.65 dd, 3'-H 3.42 dd, 4'-H 4.02 dd, NH 5.36 d, PhCH 5.44 s, PhCH₂ 5.01 d, 4.64 d, 4.70 d, 4.53 d, 4.68 d, 4.43 d, Ph 7.56–7.11, NAc 1.80 s; J_{1,2} = 3.5, J_{2,3} = 10.5, J_{2,NH} = 9.5, J_{3,4} = 8.8, J_{4,5} = 1.0, J_{1',2'} = 8.0, J_{2',3'} = 9.8, J_{3',4'} = 3.7, J_{4',5'} = 1.0, J_{PhCH₂} = 11.7, 12.2, 11.8 Hz.

C₄₂H₄₇NO₁₁ (741.9) Ber. C 68.00 H 6.39 N 1.89 Gef. C 67.78 H 6.27 N 1.87

Benzyl-2-acetamido-3,6-di-O-benzyl-2-desoxy-4-O-(2,3-di-O-acetyl-4,6-O-benzyliden-β-D-galactopyranosyl)-α-D-glucopyranosid (12): Die Lösung von 100 mg (0.13 mmol) **11** in 3 ml absol. Pyridin wird unter Eiskühlung mit 0.3 ml Acetanhydrid versetzt. Man läßt 24 h bei Raumtemp. stehen, trägt die Lösung in 20 ml Eiswasser ein und extrahiert dreimal mit je 5 ml CHCl₃. Die vereinigten CHCl₃-Extrakte werden mit gesättigter NaHCO₃-Lösung und Wasser gewaschen, mit MgSO₄ getrocknet und zum Sirup eingengt, der auf einer Säule von 20 g Kieselgel (Toluol/Ethanol 7:1) gereinigt wird. Ausb. 98 mg (92%). Schmp. 192–194 °C. [α]_D²⁰ = +96.3° (c = 0.54 in CHCl₃).

¹H-NMR (270 MHz, C₆D₆): 1-H δ = 5.03 d, 1'-H 4.77 d, 2'-H 5.84 dd, 3'-H 5.00 dd, Ph 7.02–7.40 m, PhCH₂ 5.28 d, 4.71 d, PhCH 5.18 s, NH 5.19 d, Ac 1.78 s, 1.66 s, 1.48 s; J_{1,2} = 3.4, J_{2,NH} = 7.0, J_{1',2'} = 7.9, J_{2',3'} = 10.2, J_{3',4'} = 3.4, J_{PhCH₂} = 11.8, 12.1 Hz.

C₄₆H₅₁NO₁₃ (825.9) Ber. C 66.89 H 6.22 N 1.70 Gef. C 66.83 H 6.43 N 1.71

Benzyl-2-acetamido-3,6-di-O-benzyl-2-desoxy-4-O-(2,3-di-O-benzoyl-4,6-O-benzyliden-β-D-galactopyranosyl)-α-D-glucopyranosid (13): Eine Lösung von 100 mg (0.13 mmol) **11** in 5 ml absol. Pyridin wird unter Eiskühlung mit 100 mg (0.72 mmol) Benzoylchlorid versetzt. Die weitere Aufarbeitung erfolgt wie bei **14**. Der erhaltene Sirup kristallisiert aus Ethanol/CHCl₃/Petrol-ether. Ausb. 109 mg (89%). Schmp. 166 °C. [α]_D²⁰ = +102.3° (c = 1.0 in CHCl₃).

¹H-NMR (270 MHz, C₆D₆): 1-H δ = 4.87 d, 2-H 4.20 ddd, 1'-H 4.77 d, 2'-H 5.80 dd, 3'-H 5.12 dd, Ph 7.14–7.54 m, PhCH₂ 5.14 d, PhCH 5.46 s, NH 5.21 d, Ac 1.76 s; J_{1,2} = 3.6, J_{2,3} = 10.4, J_{2,NH} = 9.0, J_{1',2'} = 8.0, J_{2',3'} = 10.4, J_{3',4'} = 3.6 Hz.

C₅₆H₅₅NO₁₃ (950.0) Ber. C 70.80 H 5.84 N 1.47 Gef. C 70.50 H 5.79 N 1.47

Benzyl-2-acetamido-4-O-(3-O-benzoyl-4,6-O-benzyliden-β-D-galactopyranosyl)-3,6-di-O-benzyl-2-desoxy-α-D-glucopyranosid (14): 6.1 g (8.22 mmol) **11** werden in 1.35 ml absol. Acetonitril und 13.5 ml absol. Pyridin bei Raumtemp. unter N₂ gelöst. Der auf 0 °C abgekühlten Lösung werden 1.22 g (9.3 mmol) Benzoylcyanid zugesetzt. Das Ende der Umsetzung wird dünn-schichtchromatographisch (Essigester/Petrol-ether 5:1) bestimmt. Nach Zugabe von 3 ml Methanol wird i. Vak. eingengt, mit Toluol abgezogen. Der erhaltene Sirup wird aus Ethanol/Petrol-ether kristallisiert. Ausb. 6.1 g (88%). Schmp. 175 °C. [α]_D²⁰ = +118.8° (c = 1.05 in CHCl₃).

$^1\text{H-NMR}$ (270 MHz, C_6D_6): 1-H δ = 4.96 d, 2-H 4.44 ddd, 1'-H 4.77 d, 2'-H 4.67 dd, 3'-H 5.31 dd, Ph 6.97–7.42 m, PhCH_2 5.25 d, PhCH 5.14 s, NH 5.29 d, Ac 1.48 s; $J_{1,2}$ = 3.6, $J_{2,3}$ = 10.6, $J_{2,\text{NH}}$ = 9.0, $J_{1',2'}$ = 7.7, $J_{2',3'}$ = 10.0, $J_{3',4'}$ = 3.6, J_{PhCH_2} = 12.0 Hz.

$\text{C}_{49}\text{H}_{51}\text{NO}_{12}$ (845.9) Ber. C 69.57 H 6.08 N 1.66 Gef. C 69.67 H 6.30 N 1.69

Benzyl-2-acetamido-4-O-[3-O-benzoyl-4,6-O-benzyliden-2-O-(2,3,4-tri-O-benzyl-6-desoxy- α -L-galactopyranosyl)- β -D-galactopyranosyl]-3,6-di-O-benzyl-2-desoxy- α -D-glucopyranosid (15): 5.5 g (6.5 mmol) **14**, 2.34 g (6.5 mmol) HgBr_2 , 16.5 g Molekularsieb 4 Å und 110 ml absol. CH_2Cl_2 werden 1 h intensiv gerührt. Zur Suspension werden 8.5 g (17.0 mmol) frisch zubereitetes 2,3,4-Tri-O-benzyl-6-desoxy- α -L-galactopyranosylbromid (**10**), gelöst in 130 ml absol. CH_2Cl_2 , innerhalb von 2.5 h bei Raumtemp. unter N_2 getropft. Nach 18 h Rühren unter N_2 zeigt das Dünnschichtchromatogramm (CH_2Cl_2 /Aceton 9:1) keine Ausgangsverbindung **14** mehr. Die Suspension wird weitere 2 h mit 60 ml Methanol gerührt, es wird durch Celite filtriert, mit CHCl_3 und Methanol gewaschen und i. Vak. eingengt. Der Sirup wird in CHCl_3 gelöst und die Lösung mit wäßriger 10proz. KI- und NaHCO_3 -Lösung gewaschen. Nach Einengen der organischen Phase wird der erhaltene Sirup säulenchromatographisch an 450 g Kieselgel (CH_2Cl_2 /Essigester 9:1) gereinigt. Ausb. 6.55 g (80%) Sirup. $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ = +38.4° (c = 0.985 in CHCl_3).

$^1\text{H-NMR}$ (270 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{C}_6\text{D}_6$ 10:1): 1-H δ = 4.97 d, 1'-H 4.53 d, 3'-H 5.03 dd, 1''-H 5.42 d, 2''-H 3.94 dd, 6''-H 1.09 d, Ph 7.05–7.37 m, PhCH 5.36 s, PhCH_2 5.15 d, 4.91 d, 4.71 d, 4.61 d, 4.52 d, NH 5.24 d, Ac 1.78 s; $J_{1,2}$ = 3.8, $J_{2,\text{NH}}$ = 8.6, $J_{1',2'}$ = 7.2, $J_{2',3'}$ = 9.7, $J_{3',4'}$ = 3.5, $J_{1'',2''}$ = 3.7, $J_{2'',3''}$ = 10.0, $J_{5'',6''}$ = 6.2, J_{PhCH_2} = 12.1, 11.8, 12.2, 11.4 Hz.

$\text{C}_{76}\text{H}_{79}\text{NO}_{16}$ (1262.5) Ber. C 72.30 H 6.31 N 1.11 Gef. C 72.29 H 6.32 N 1.11

Benzyl-2-acetamido-3,6-di-O-benzyl-4-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 (16): Die Lösung von 4.5 g (3.56 mmol) **15** in 90 ml absol. Benzol und 200 ml absol. Methanol wird mit 120 ml methanolischer 1 N NaOCH_3 versetzt und 24 h bei Raumtemp. stehengelassen. Es wird mit Eisessig neutralisiert, i. Vak. eingengt und der erhaltene Sirup in CHCl_3 gelöst. Nach Waschen mit Wasser, Trocknen mit Na_2SO_4 und Einengen wird das Produkt säulenchromatographisch an 300 g Kieselgel (CH_2Cl_2 /Aceton 9:1) gereinigt. Ausb. 3.15 g (76%) Sirup. $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ = +9.06° (c = 1.06 in CHCl_3).

$^1\text{H-NMR}$ (270 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{C}_6\text{D}_6$ 10:1): 1-H δ = 4.93 d, 2-H 4.19 ddd, 1'-H 4.36 d, 1''-H 5.03 d, 2''-H 4.07 dd, 6''-H 1.03 d, Ph 7.06–7.39 m, PhCH 5.48 s, PhCH_2 5.11 d, 4.98 d, NH 5.16 d, Ac 1.74 s; $J_{1,2}$ = 3.7, $J_{2,3}$ = 10.6, $J_{2,\text{NH}}$ = 8.7, $J_{1',2'}$ = 7.7, $J_{1'',2''}$ = 3.2, $J_{2'',3''}$ = 9.6, $J_{5'',6''}$ = 6.4, J_{PhCH_2} = 12.0, 11.6 Hz.

$\text{C}_{69}\text{H}_{75}\text{NO}_{15}$ (1158.4) Ber. C 71.54 H 6.53 N 1.21 Gef. C 71.40 H 6.51 N 1.20

O-(6-Desoxy- α -L-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-O-(β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2-acetamido-2-desoxy-D-glucopyranose (17): 540 mg (0.466 mmol) **16** werden in 15 ml Eisessig gelöst und in Gegenwart von 650 mg Palladiumkohle (10%) 2 h bei Raumtemp. hydriert. Dann wird filtriert, eingengt und mit einer Toluol/Methanol-Mischung nachdestilliert, bis der Geruch von Essigsäure verschwunden ist. Die Lösung des Rückstandes in 15 ml Methanol wird mit 5 ml konz. Ammoniak versetzt. Nach 24 h bei Raumtemp. zeigt das Dünnschichtchromatogramm (CHCl_3 /Methanol/Wasser 5:4:1) ein einheitliches Produkt. Der nach Einengen gewonnene Sirup wird auf einer Säule mit Sephadex G-25 (130 g Gel, Elution mit Wasser) gereinigt. Ausb. 213 mg (86.2%). $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ = -46.4° (c = 1 in H_2O) (Lit.³⁷⁾ $[\alpha]_{\text{D}}$ = -46.6° (c = 0.5 in H_2O)).

$^1\text{H-NMR}$ (270 MHz, D_2O): 1-H δ = 5.17 d, 1'-H 4.41 d, 1''-H 5.06 d, 6''-H 1.09 d, Ac 1.91 s; $J_{1,2}$ = 2.5, $J_{1',2'}$ = 7.6, $J_{1'',2''}$ = 3.0, $J_{5'',6''}$ = 6.4 Hz.

$\text{C}_{20}\text{H}_{35}\text{NO}_{15}$ (529.5) Ber. C 45.37 H 6.67 N 2.65 Gef. C 44.80 H 6.68 N 2.40

Benzyl-2-acetamido-3,6-di-O-benzyl-4-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 (20): 100 mg (0.074 mmol) **21** werden in absol. Pyridin mit Acetanhydrid 14 h bei Raumtemp. acetyliert. Es wird mit Wasser versetzt und die Substanz in CHCl_3 aufgenommen. Nach Waschen mit Wasser wird die CHCl_3 -Schicht i. Vak. eingengt. Der erhaltene Sirup wird aus Ethanol kristallisiert. Ausb. 96 mg (88%). Schmp. 105 – 106°C. $[\alpha]_D^{20} = +61.5^\circ$ ($c = 0.97$ in CHCl_3).

$^1\text{H-NMR}$ (270 MHz, C_6D_6): 1-H $\delta = 5.32$ d, 1'-H 5.34 d, 2"-H 3.54 dd, 3"-H 5.62 dd, 4"-H 5.13 d, 1'''-H 5.93 d, 2'''-H 3.87 dd, 6'''-H 1.37 d, Ph 7.03 – 7.50 m, PhCH 5.24 s, PhCH₂ 5.45 d, 5.39 d, 5.11 d, 5.02 d, Ac 1.81 s, 1.67 s, 1.58 s, 1.53 s; $J_{1,2} = 3.5$, $J_{1'',2''} = 3.2$, $J_{2'',3''} = 11.3$, $J_{3'',4''} = 3.0$, $J_{1''',2'''} = 3.6$, $J_{2''',3'''} = 9.6$, $J_{5''',6'''} = 6.3$, $J_{\text{PhCH}_2} = 11.8$, 11.6, 10.8, 11.4 Hz.

$\text{C}_{81}\text{H}_{90}\text{N}_4\text{O}_{22}$ (1471.7) Ber. C 66.11 H 6.17 N 3.81 Gef. C 65.85 H 6.12 N 3.86

Benzyl-2-acetamido-4-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]-3,6-di-O-benzyl-2-desoxy- α -D-glucopyranosid (21)

a) Die Suspension von 1.0 g (0.86 mmol) **16**, 1.1 g (4.37 mmol) $\text{Hg}(\text{CN})_2$, 1.6 g (4.45 mmol) HgBr_2 und 6 g Molekularsieb 4 Å in 40 ml absol. CH_2Cl_2 wird unter Feuchtigkeitsausschluß 1 h gerührt. Nach Zugabe von 0.80 g (2.03 mmol) α -Pyranosylbromid **18**³⁸⁾, gelöst in 20 ml absol. CH_2Cl_2 , wird die Suspension unter N_2 -Atmosphäre und bei gleichzeitiger Ableitung der freiwerdenden HCN 3 d gerührt. Dann werden erneut 1.1 g $\text{Hg}(\text{CN})_2$, 1.6 g HgBr_2 und 0.80 g (0.468 mmol) **18**, gelöst in 20 ml absol. CH_2Cl_2 , zugeführt und 2 d gerührt. Die Suspension wird mit 150 ml CHCl_3 versetzt, durch Celite filtriert und mit CHCl_3 nachgewaschen. Die organische Phase wird mit wäßriger NaHCO_3 -Lösung und mit Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und i. Vak. eingengt. Nach säulenchromatographischer Reinigung an 160 g Kieselgel (CH_2Cl_2 /Aceton 7:1) erhält man einen Sirup, der noch Spuren von **16** enthält. Das Produkt wird in 200 ml absol. Methanol gelöst und mit 10 ml N NaOCH_3 versetzt. Nach 3 h wird mit verd. Essigsäure neutralisiert, eingedampft und mit Toluol destilliert. Der erhaltene Sirup wird in CHCl_3 gelöst, einmal mit Wasser gewaschen, eingedampft und über Sephadex LH-20 (400 g Gel, Elution mit Methanol) gereinigt. Ausb. 0.75 g (65%) amorph. $[\alpha]_D^{20} = +29.6^\circ$ ($c = 1.0$ in CHCl_3).

b) Die Suspension von 0.1 g (0.086 mmol) **16**, 0.5 g Silbercarbonat und 0.5 g Drierite in 3 ml absol. CH_2Cl_2 wird vor Lichteinwirkung geschützt unter Feuchtigkeitsausschluß 12 h bei -20°C gerührt. Nach Zugabe von 24 mg Silbertriflat rührt man weitere 10 min. Es werden 0.12 g (0.3 mmol) α -Pyranosylbromid **18**, gelöst in 3 ml absol. CH_2Cl_2 , zugetropft, und nach 24 h werden weitere 10 mg Silbertriflat und 0.04 g (0.10 mmol) **18** zugegeben. Nach 1 d zeigt das Dünnschichtchromatogramm (CH_2Cl_2 /Aceton 4:1), daß die Ausgangsverbindung **16** fast quantitativ umgesetzt ist. Es wird mit CH_2Cl_2 filtriert, mit CH_2Cl_2 nachgewaschen und die organische Phase mit NaHCO_3 -Lösung und Wasser gewaschen. Nach Trocknen über Na_2SO_4 und Einengen wird der Sirup säulenchromatographisch an 20 g Kieselgel (CH_2Cl_2 /Aceton 7:1) gereinigt. Die weitere Aufarbeitung erfolgt wie unter a). Ausb. 78 mg (67%) amorph.

$^1\text{H-NMR}$ (270 MHz, CDCl_3): 1-H $\delta = 4.89$ d, 1'-H 4.35 d, 1''-H 5.33 d, 1'''-H 5.17 d, 6'''-H 1.04 d, Ph 7.07 – 7.35 m, PhCH 5.37 s, PhCH₂ 5.02 d, 4.82 d, 4.65 d, NH 5.18 d, Ac 1.73 s; $J_{1,2} = 3.6$, $J_{2,\text{NH}} = 8.4$, $J_{1',2'} = 7.6$, $J_{1'',2''} = 3.6$, $J_{1''',2'''} = 3.0$, $J_{5''',6'''} = 6.3$, $J_{\text{PhCH}_2} = 12.2$, 11.4, 12.1 Hz.

$\text{C}_{75}\text{H}_{84}\text{N}_4\text{O}_{19}$ (1345.6) Ber. C 66.95 H 6.30 N 4.16 Gef. C 66.64 H 6.20 N 3.93

Benzyl-2-acetamido-3,6-di-O-benzyl-4-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]-3,6-di-O-benzyl-2-desoxy- α -D-glucopyranosid (22)

syl]-2-desoxy- α -D-glucopyranosid (22): Die Suspension von 1.3 g (1.12 mmol) **16**, 2.4 g (8.7 mmol) Ag_2CO_3 und 2 g Drierite in 65 ml absol. CH_2Cl_2 wird unter Feuchtigkeitsausschluß 2 h bei -25°C unter N_2 gerührt. Nach Zutropfen von 1.6 g (2.65 mmol) α -Pyranosylbromid **19**, gelöst in 16 ml absol. CH_2Cl_2 , werden 0.24 g (0.93 mmol) Silbertriflat zugegeben und 16 h bei -25°C gerührt. Es wird filtriert, mit CH_2Cl_2 nachgewaschen, die organische Phase mit NaHCO_3 -Lösung und Wasser gewaschen, eingengt und der Sirup säulenchromatographisch an 250 g Kieselgel (CH_2Cl_2 /Essigester 3:1) gereinigt. Ausb. 1.55 g (82%) Sirup. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +32.3^\circ$ ($c = 0.95$ in CHCl_3).

$^1\text{H-NMR}$ (270 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{C}_6\text{D}_6$ 10:1): 1-H $\delta = 4.97$ d, 1'-H 4.37 d, 1''-H 5.62 d, 2''-H 3.94 dd, 1'''-H 5.35 d, 2'''-H 3.94 dd, 6'''-H 1.17 d, Ph 7.05 – 7.42 m, PhCH 5.30 s, PhCH₂ 5.14 d, 4.89 d, 4.80 d, 4.77 d, 4.71 d, NH 5.18 d, Ac 1.77 s; $J_{1,2} = 3.7$, $J_{2,\text{NH}} = 8.6$, $J_{1,2'} = 8.0$, $J_{1'',2''} = 3.6$, $J_{1''',2'''} = 3.4$, $J_{5''',6'''} = 6.4$, $J_{\text{PhCH}_2} = 12.6$, 11.5, 11.9, 12.4 Hz.

$\text{C}_{103}\text{H}_{109}\text{NO}_{20}$ (1681.0) Ber. C 73.59 H 6.54 N 0.83 Gef. C 73.71 H 6.70 N 0.84

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 4)-2-acetamido-2-desoxy-D-glucopyranose (23): 500 mg (0.371 mmol) **21** werden in 15 ml Eisessig in Gegenwart von 650 mg Palladium/Kohle (10proz.) 16 h bei Raumtemp. und nach weiterer Zugabe von 650 mg Palladium/Kohle noch 8 h hydriert. Dann wird mit Eisessig verdünnt, filtriert, nachgewaschen und i. Vak. eingengt. Der Rückstand wird in 40 ml Methanol/Wasser (1:1) und 4 ml Acetanhydrid gelöst und 16 h bei Raumtemp. stengelassen. Die Lösung wird i. Vak. eingengt, mit Methanol/Toluol destilliert. Der amorphe Rückstand wird in 30 ml Methanol gelöst und mit 10 ml konz. Ammoniak versetzt. Nach 16 h wird eingengt und der Rückstand über Sephadex G-25 (400 g Gel, Elution mit Wasser) gereinigt. Ausb. 201 mg (74%) amorph. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +45^\circ$ ($c = 1.0$ in H_2O), 7 d bei 60°C über P_2O_5 getrocknet (Lit. ³⁹) $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +18^\circ$ ($c = 0.5$ in H_2O)).

$^1\text{H-NMR}$ (270 MHz, D_2O): 1-H $\delta = 5.01$ d, 1'-H 4.44 d, 1''-H 5.19 d, 1'''-H 5.04 d, 6'''-H 1.08 d, Ac 1.88 s, 1.87 s; $J_{1,2} = 3.7$, $J_{1,2'} = 7.2$, $J_{1'',2''} = 3.5$, $J_{1''',2'''} = 3.4$, $J_{5''',6'''} = 6.0$ Hz.

$\text{C}_{28}\text{H}_{48}\text{N}_2\text{O}_{20}$ (732.7) Ber. C 45.90 H 6.61 N 3.82 Gef. C 45.20 H 6.72 N 3.32

O-(6-Desoxy- α -L-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 2)-O-[α -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]-O-(β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)-2-acetamido-2-desoxy-D-glucopyranose (24): 520 mg (0.309 mmol) **22** werden in 15 ml Eisessig in Gegenwart von 650 mg Palladium/Kohle (10proz.) 5 h bei Raumtemp. hydriert. Dann wird filtriert, mit Eisessig nachgewaschen und i. Vak. eingengt. Der Rückstand wird mit Ethanol/Toluol destilliert, in 25 ml Methanol aufgenommen und die Lösung mit 7.5 ml konz. Ammoniak versetzt. Nach 1 h bei Raumtemp. zeigt das Dünnschichtchromatogramm (CHCl_3 /Methanol/Wasser 5:4:1) ein einheitliches Produkt. Der nach dem Einengen gewonnene Sirup wird auf einer Säule mit Sephadex G-25 (130 g Gel, Elution mit Wasser) gereinigt. Ausb. 174 mg (81%) amorph. $[\alpha]_{\text{D}} = +14.5^\circ$ ($c = 0.92$ in H_2O) (Lit. ⁴⁰): $[\alpha]_{\text{D}} = +12^\circ$ ($c = 0.5$ in H_2O); Lit. ¹¹): $[\alpha]_{\text{D}} = +14.1^\circ$ ($c = 0.36$ in H_2O)).

$^1\text{H-NMR}$ (270 MHz, D_2O): 1-H $\delta = 5.08$ d, 1'-H 5.20 d, 1''-H 5.11 d, 6'''-H 1.12 d, Ac 1.92 s; $J_{1,2} = 3.1$, $J_{1,2'} = 4.0$, $J_{1'',2''} = 2.6$, $J_{5''',6'''} = 6.4$ Hz.

$\text{C}_{26}\text{H}_{45}\text{NO}_{20}$ (691.6) Ber. C 45.15 H 6.56 N 2.03

Gef. C 44.88 H 6.90 N 1.88 (7 d über P_2O_5 bei 60°C getrocknet)

¹⁾ XIX. Mittell.: H. Paulsen und Č. Kolář, Tetrahedron Lett. 1979, 2881.

²⁾ R. R. Race und Sanger, Blood Group in Man, Blackwell Scientific Publ., Oxford 1975.

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, Haworth Memorial Lecture, Chem. Soc. Rev. **7**, 423 (1978).
- 6) H. Paulsen und Č. Kolář, Chem. Ber. **112**, 3190 (1979).
- 7) K. Igarashi, Adv. Carbohydr. Chem. Biochem. **34**, 243 (1977).
- 8) H. Paulsen, A. Richter, V. Sinnwell und W. Stenzel, Carbohydr. Res. **64**, 339 (1978).
- 9) H. Paulsen, O. Lockhoff, B. Schröder und W. Stenzel, Carbohydr. Res. **68**, 239 (1979).
- 10) J. R. Pouguay, J. C. Jacquinet, M. Nasser, D. Duchet, M.-L. Milat und P. Sinay, J. Am. Chem. Soc. **99**, 6762 (1977).
- 11) M.-L. Milat und P. Sinay, Angew. Chem. **91**, 501 (1979); Angew. Chem., Int. Ed. Engl. **18**, 464 (1979).
- 12) P. Sinay, Pure Appl. Chem. **50**, 1437 (1979).
- 13) M. E. Chacon-Fuertes und M. Martin-Lomas, Carbohydr. Res. **43**, 51 (1975).
- 14) P. A. Gent, R. Gigg und A. E. Penglis, J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1 **1976**, 1395.
- 15) M. Dejter-Juszynski und H. M. Flowers, Carbohydr. Res. **18**, 219 (1971).
- 16) G. Excoffier, D. Y. Gagnaire und M. R. Vignon, Carbohydr. Res. **46**, 215 (1976).
- 17) J. C. Jacquinet und P. Sinay, J. Org. Chem. **42**, 720 (1977).
- 18) B. Helferich, W. M. Müller und S. Karbach, Liebigs Ann. Chem. **1974**, 1514.
- 19) R. U. Lemieux, K. B. Hendriks, R. v. Stick und K. James, J. Am. Chem. Soc. **97**, 4056 (1975).
- 20) P. A. Gent und R. Gigg, J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1 **1974**, 1446.
- 21) B. Helferich und K. Weis, Chem. Ber. **89**, 314 (1956).
- 22) B. Helferich und J. Zirner, Chem. Ber. **95**, 2604 (1962).
- 23) K. Igarashi, J. Irisawa und T. Honma, Carbohydr. Res. **39**, 213 (1975).
- 24) S. Hanessian und J. Banoul, Carbohydr. Res. **53**, C 13–16 (1977).
- 25) H. Paulsen und O. Lockhoff, unveröffentlicht.
- 26) R. U. Lemieux und H. Driguez, J. Am. Chem. Soc. **97**, 4063, 4069 (1975).
- 27) H. Paulsen und O. Lockhoff, Tetrahedron Lett. **1978**, 4027.
- 28) H. Paulsen und J. P. Hölck, unveröffentlicht.
- 29) H. Paulsen und W. Stenzel, Chem. Ber. **111**, 2334 (1978).
- 30) H. Paulsen und W. Stenzel, Chem. Ber. **111**, 2348 (1978).
- 31) H. Paulsen, Č. Kolář und W. Stenzel, Chem. Ber. **111**, 2370 (1978).
- 32) J. C. Jacquinet, J. M. Petit und P. Sinay, Carbohydr. Res. **38**, 305 (1974).
- 33) J. C. Jacquinet und P. Sinay, Carbohydr. Res. **46**, 138 (1976).
- 34) G. J. F. Chittenden, Carbohydr. Res. **16**, 495 (1971).
- 35) S. A. Abbas und A. H. Maines, Carbohydr. Res. **39**, 358 (1975).
- 36) J. C. Jacquinet und P. Sinay, Carbohydr. Res. **42**, 251 (1975).
- 37) J. C. Jacquinet und P. Sinay, Tetrahedron **32**, 1693 (1976).
- 38) R. U. Lemieux und R. A. Ratcliffe, Can. J. Chem. **57**, 1244 (1979).
- 39) C. Derappe, A. Lundblad, L. Messeter und S. Svensson, V. International Symposium on Glycoconjugates, Kiel 1979.
- 40) T. J. Painter, W. M. Watkins und W. T. J. Morgan, Nature (London) **206**, 594 (1965).
- 41) Nach R. Johannsen, unveröffentlicht.

[112/80]