

Tabelle 1. Umsetzungen von 1a–k, 2 und 3 zu 4a–k und 5a–g.

1, 4, 5	R	4: Ausb. [%] [a]	de [%] [b]	$[\alpha]_D^{20}$ [c]	Fp [°C] [d]	5: Ausb. [%]
a	CH <sub>3</sub>	52(21)	>99 [e]	+1.5	60.2	[g]
b	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	73	>99 [e]	+9.6	70.6	[g]
c	(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> CH <sub>3</sub>	81	>99 [e]	−4.2	34.3	[g]
d	(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> CH <sub>3</sub>	65	>99 [e]	−6.6	30.8	87
e	CH(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub>	71	>99 [f]	−9.7	75.8	88
f	C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	55(31)	>99 [f]	+38.5	57.0	82
g	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub>	49(38)	90 [f]	−5.3	73.2	90
h	CH=CH-C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	61	66 [f]	−133.5	94.0	0
i	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	73	56 [f]	−108.0	84.8	0
j	C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> - <i>m</i> -Br	89	82 [f]	−101.2	114.7	0
k	C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> - <i>p</i> -OMe	80	96 [f]	−125.4	103.5	75

[a] Angabe in Klammern: zurückgewonnenes 2. [b] Bestimmung durch GC (Chromopack WOCT CP Sil 19CB, 0.22 mm × 50 m, H<sub>2</sub>). [c] Drehwerte von 4 (*c* = 1 in Chloroform). [d] Schmelzpunkte von 4, umkristallisiert aus *tert*-Butylmethylether/Petrolether. [e] Das Hauptprodukt hat (*R*)-Konfiguration. [f] Das Hauptprodukt hat (*S*)-Konfiguration. [g] Der Alkohol wurde aus dem Rohgemisch derivatisiert und nachgewiesen.

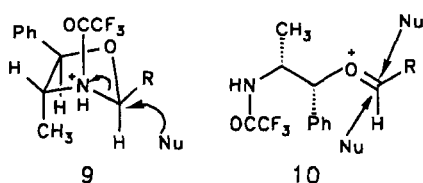
eingesetzt werden, allerdings ist die Stereoselektivität dieser Reaktionen geringer (Tabelle 1).

Die Verwendung anderer Aminoalkohole als chirale Induktoren ergab erheblich schlechtere Ausbeuten und Stereoselektivitäten. So erhielt man mit den Trimethylsilylthern von (1*S*,2*R*)-*N*-Trifluoracetyl-norephedrin und von (1*S*,2*R*)-*N*-Trifluoracetylphenedrin *de*-Werte von 52–78 bzw. 56–62% und Ausbeuten von 25–63 bzw. 32–34% für die Umsetzung mit aliphatischen Aldehyden. Aromatische Aldehyde liefern noch schlechtere Ergebnisse.

Die erhaltenen Homoallylether 4a–g können durch reduktive Spaltung mit Natrium in flüssigem Ammoniak<sup>[8]</sup> mit guten Ausbeuten ohne Racemisierung in die Homoallylalkohole 5a–g überführt werden (Tabelle 1; THF, 2.5 Äquiv. Natrium, −78 °C, 15 min). Zusätzlich wird hierbei das enantiomerenreine Amphetamin 6 erhalten, das einfach durch Destillation oder Chromatographie (Kieselgel, *tert*-Butylmethylether/Petrolether) abgetrennt werden kann. Der aus *p*-Methoxybenzaldehyd gebildete Homoallylether 4k lässt sich ebenfalls selektiv zu 5k und 6 spalten; bei den anderen, aus aromatischen Aldehyden und Zimtaldehyd erhaltenen Homoallylthern 4h–j, erfolgt dagegen die reduktive Spaltung in einer nicht erwünschten Weise.

Zur Bestimmung der absoluten Konfiguration von 5 wurde ein 87:13-Gemisch der Enantiomere von *ent*-5b und 5b mit (*R*)-(+)- $\alpha$ -Methoxy- $\alpha$ -trifluormethyl-phenyllessigsäurechlorid in die entsprechenden Ester überführt und spektroskopisch vermessen. Aus der Lage der Resonanzsignale für 2-H<sub>2</sub> und 4-H<sub>2</sub> des Esters von 5b bei  $\delta$  = 1.61 bzw. 2.41 und für 2-H<sub>2</sub> und 4-H<sub>2</sub> des Esters von *ent*-5b bei  $\delta$  = 1.69 bzw. 2.35 konnte die absolute Konfiguration der Homoallylalkohole entsprechend der Regeln von Mosher<sup>[9]</sup> abgeleitet werden. Ein Vergleich der Drehwerte von (*R*)-Dodec-1-en-4-ol 5d ( $[\alpha]_D^{20}$  = +10.5, *c* = 0.65 in CCl<sub>4</sub>) mit dem literaturbekannten Wert ( $[\alpha]_D^{20}$  = +10.2, *c* = 3.5 in CCl<sub>4</sub>)<sup>[4]</sup> bestätigt die Zuordnung.

Die hohe Stereoselektivität der Reaktion beruht vermutlich darauf, daß sich intermediär selektiv das Oxazolidinium-Ion 9 bildet, das in einer S<sub>N</sub>2-artigen Reaktion geöffnet wird. Dafür spricht auch das Auftreten des Nebenproduktes 7;



interessanterweise läßt sich 7 jedoch nicht mit 3 in Gegenwart von Brönsted- oder Lewis-Säuren zu 4 umsetzen.

Die geringere Selektivität bei Verwendung von aromatischen Aldehyden kann möglicherweise durch das Auftreten des acyclischen Oxonium-Ions 10 erklärt werden. Dieses sollte aufgrund der möglichen Mesomerie mit R = Phenyl eine höhere Stabilität als mit R = Alkyl aufweisen.

Eingegangen am 11. April 1992 [Z 5301]

CAS-Registry-Nummern:

1a, 75-07-0; 1b, 123-38-6; 1c, 111-71-7; 1d, 124-19-6; 1e, 96-17-3; 1f, 630-19-3; 1g, 2043-61-0; 1h, 104-55-2; 1i, 100-52-7; 1j, 3132-99-8; 1k, 123-11-5; 2, 143143-10-6; 3, 762-72-1; 4a, 143143-11-7; 4b, 143143-12-8; 4c, 143143-13-9; 4d, 143143-14-0; 4e, 143143-15-1; 4f, 143143-16-2; 4g, 143143-17-3; 4h (Isomer 1), 143143-18-4; 4h (Isomer 2), 143234-59-7; 4i (Isomer 1) 143143-19-5; 4i (Isomer 2), 143234-60-0; 4j (Isomer 1), 143143-20-8; 4j (Isomer 2), 143234-61-1; 4k, 143143-21-9; 5a, 64584-92-5; 5b, 51795-28-9; 5c, 143143-22-0; 5d, 85029-09-0; 5e, 143143-23-1; 5f, 67760-86-5; 5g, 94340-22-4; 5k, 115413-90-6; (1*R*,2*R*)-Norpseudoephedrinhydrochlorid, 53643-20-2; Trifluoressigsäuremethylester, 431-47-0.

- Übersichten: J. S. Panek in *Comprehensive Organic Synthesis*, Vol. 1 (Hrsg.: B. M. Trost, I. Fleming), Pergamon, Oxford, 1991, S. 579–627; I. Fleming, *Org. React. N.Y.* 1989, 37, 57; G. Majetich, *Org. Synth. Theory Appl.* 1989, 1, 173; *Organosilicon and Bioorganosilicon Chemistry: Structure, Bonding, Reactivity and Synthetic Application* (Hrsg.: H. Sakurai), Halsted, New York, 1985.
- Übersichten: D. Seebach, R. Imwinkelried, T. Weber, *Mod. Synth. Methods* 1986, 4, 125–259; D. Schinzer, *Janssen Chim. Acta* 1988, 6, 11; H. J. Altenbach, *Nachr. Chem. Tech. Lab.* 1988, 36, 1212–1217.
- D. Seebach, R. Imwinkelried, G. Stucky, *Helv. Chim. Acta* 1987, 70, 448–464; S. E. Denmark, N. G. Almstead, *J. Am. Chem. Soc.* 1991, 113, 8089–8110; W. S. Johnson, J. D. Elliot, *ibid.* 1983, 105, 2088–2089; J. M. McNamara, Y. Kishi, *ibid.* 1982, 104, 7371–7374; H. G. Howell, P. R. Brodfehrer, C. Sapino, *J. Org. Chem.* 1985, 50, 2598–2600; S. F. Martin, C. Gluchowsky, C. L. Campbell, R. C. Chapman, *ibid.* 1984, 49, 2513–2516.
- D. Seebach, R. Imwinkelried, G. Stucky, *Angew. Chem.* 1986, 98, 182–183; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1986, 25, 178.
- I. E. Markó, A. Mekhaffia, *Tetrahedron Lett.* 1991, 32, 4779–4782; S. E. Denmark, T. M. Wilson, *J. Am. Chem. Soc.* 1989, 111, 3475–3476; D. Seebach, R. Imwinkelried, *Angew. Chem.* 1985, 97, 781–782; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1985, 24, 765.
- R. W. Hoffmann, G. Niel, A. Schlapbach, *Pure Appl. Chem.* 1990, 62, 1993–1998; H. C. Brown, R. S. Randad, K. S. Bhat, M. Zaidlewicz, U. S. Racherla, *J. Am. Chem. Soc.* 1990, 112, 2389–2392; R. O. Duthaler, M. Riediker, *Angew. Chem.* 1989, 101, 488–490; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1989, 28, 494; E. J. Corey, C. M. Yu, S. S. Kim, *J. Am. Chem. Soc.* 1989, 111, 5495–5496; M. M. Midland, S. C. Preston, *ibid.* 1982, 104, 2330–2331.
- Das Hydrochlorid von (1*R*,2*R*)-Norpseudoephedrin wurde in Methanol gelöst und mit 1.1 Äquiv. Triethylamin versetzt. Nach Zusatz von 1.2 Äquiv. Trifluoressigsäuremethylester (0 °C) ließ man ca. 15 h bei Raumtemperatur rühren. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum vollständig entfernt und der Rückstand in Dichlormethan gelöst. Dann wurden bei 0 °C 2.5 Äquiv. Triethylamin und 1.2 Äquiv. Chlortrimethylsilan zugesetzt und ca. 15 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach wäßriger Aufarbeitung wurde der trifluoracetylierte Silylether durch Destillation gereinigt [Kp = 78 °C (0.01 mbar);  $[\alpha]_D^{20}$  = +16.0 (*c* = 1 in Methanol)].
- M. Hudlicky, *Reduction in Organic Chemistry*, Wiley, New York, 1984, S. 82.
- H. A. Mosher, J. A. Dale, *J. Am. Chem. Soc.* 1973, 95, 512–519; H. A. Mosher, J. A. Dale, D. L. Dull, *J. Org. Chem.* 1969, 34, 2543–2549.

## Stereoselektive Synthese phosphatmodifizierter DNA-Bausteine

Von Wendelin Samstag und Joachim W. Engels\*

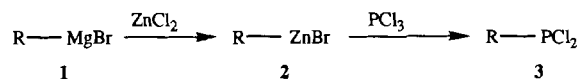
Professor Fritz Eckstein zum 60. Geburtstag gewidmet

Nichtionische DNA-Analoga sind aufgrund ihrer spezifischen Eigenschaften für die Untersuchung von DNA-DNA- und DNA-Protein-Wechselwirkungen sowie für die Anwendung als Antisense-Oligonucleotide von großem Interesse. Diese Moleküle bilden durch die verminderte elektrostatische Abstoßung sehr stabile Komplexe mit komplementären

[\*] Prof. Dr. J. W. Engels, Dipl.-Chem. W. Samstag  
Institut für Organische Chemie der Universität  
Niederurseler Hang, W-6000 Frankfurt am Main 50

Oligonucleotiden<sup>[1]</sup>, sind stabil gegen zelluläre Nucleasen<sup>[2]</sup>, haben daher in zellulären Systemen lange Halbwertszeiten und diffundieren leichter durch die Zellmembran<sup>[3]</sup>. Zu den nichtionischen, phosphatanalogen Oligonucleotiden zählen Phosphotriester, Phosphoramidate und Alkylphosphonate. Letztere zeichnen sich durch eine besonders hohe Stabilität gegenüber Nucleasen aus; deshalb gehören die Oligonucleosid-Methylphosphonate zu den am besten untersuchten Verbindungen für die Antisense-Technik<sup>[4]</sup>. Auch Difluormethyl- und Phenylphosphonate wurden bereits synthetisiert und werden momentan untersucht<sup>[5, 6]</sup>. Bisher ist nicht genau bekannt, welchen Einfluß die Methylgruppe der Methylphosphonate auf die Helixbildung ausübt. Es erschien uns interessant, sterisch anspruchsvollere organische Reste als Modifikation am Phosphoratom einzubauen, deren Einfluß auf die Diastereoselektion zu untersuchen und somit gezielt die Konfiguration und die Molekülgeometrie zu beeinflussen. Wir berichten hier über einen einfachen experimentellen Zugang zu überwiegend *Sp*-konfigurierten Alkyl- und Benzylphosphonaten, basierend auf der Reaktion von Organozinkhalogeniden mit  $\text{PCl}_3$ .

Die Umsetzung der Grignard-Verbindung **1** mit  $\text{ZnCl}_2$  führt zu den Organozinkhalogeniden **2**, die mit  $\text{PCl}_3$  zu den gewünschten Alkyl- oder Benzylchlorphosphanen **3** weiterreagieren (Schema 1).

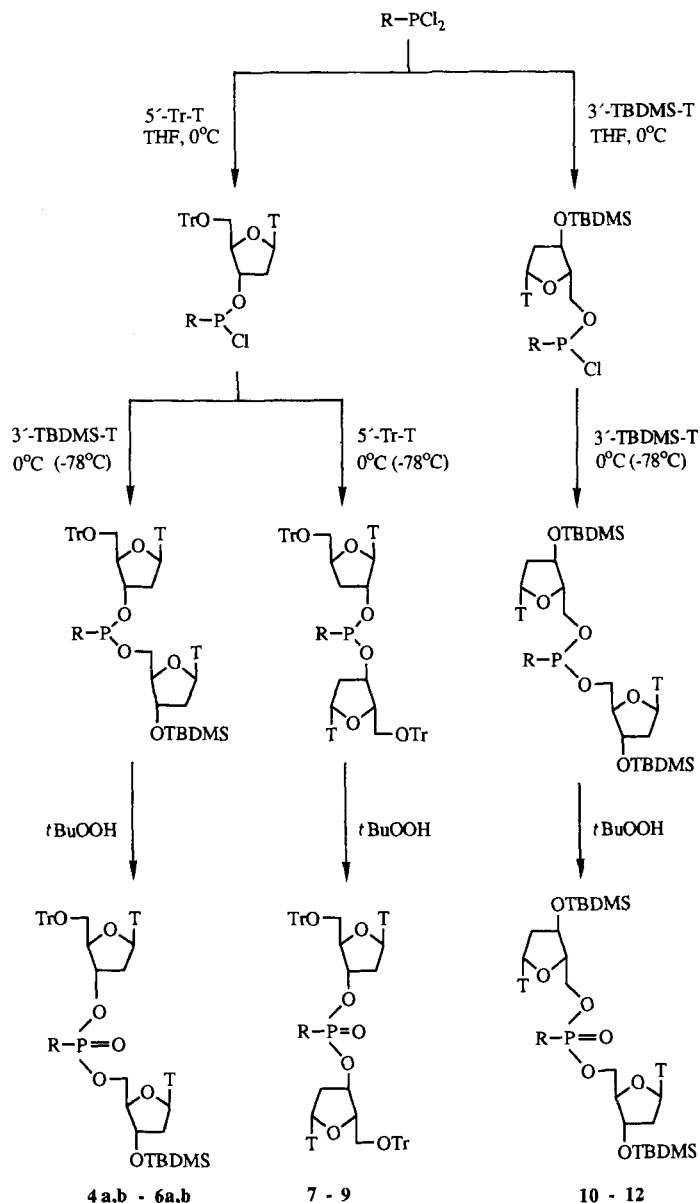


Schema 1. Synthese der Phosphonylierungsreagentien, R = *i*Pr, Benzyl, (S)-(+)-2-Methylbutyl.

In einer Eintopfreaktion wird dann das Phosphonylierungsreagens **3** in THF nacheinander mit zwei geschützten Nucleosiden umgesetzt. Der resultierende Phosphonigsäurediester wird ohne Isolierung durch Zugabe von *tert*-Butylhydroperoxid zu den entsprechenden Alkyl- oder Benzylphosphonaten **4–12** oxidiert (Schema 2).

Durch Umsetzung von jeweils zwei Äquivalenten 5'-*O*-Tritylthymidin oder 3'-*O*-(*tert*-Butyldimethylsilyl)thymidin mit dem Phosphonylierungsreagens sind die symmetrisch 3',3'- bzw. 5',5'-verknüpften Phosphonate **7–9** bzw. **10–12** als Referenzverbindungen zugänglich. Reaktion von 5'-*O*-Tritylthymidin und 3'-*O*-(*tert*-Butyldimethylsilyl)thymidin mit  $\text{R-PCl}_2$  ergibt **4–6** mit 3',5'-Verknüpfung. Die 3',3'-Phosphonate **7–9** entstehen immer als Nebenprodukte, während die Bildung von **10–12** (durch Reaktion von 3'-*O*-(*tert*-Butyldimethylsilyl)thymidin mit unverbrauchtem  $\text{R-PCl}_2$ ) durch einen leichten Überschuß (0.06 Äquiv.) an 5'-*O*-Tritylthymidin unterdrückt werden kann.

Durch die Einführung der Modifikation wird am Phosphoratom ein Chiralitätszentrum erzeugt. Die Verbindungen **4–6** liegen jeweils als zwei Diastereomere (**a**, **b**) vor, die über präparative Umkehrphasen-HPLC getrennt wurden. Analog zu den Methylphosphonaten hat das entstandene *Rp*-konfigurierte Isomer die kürzere Retentionszeit. Eine eindeutige Zuordnung durch  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektroskopie ist nach neueren Erkenntnissen nicht möglich<sup>[10]</sup>. Die Konfiguration der Diastereomere **4** wurde mit der ROESY-NMR-Technik bestimmt<sup>[7]</sup>. Hierzu mißt man die ROEs zwischen den benzyli-schen Methylenprotonen und den Zuckerprotonen in der nächsten Umgebung. Interessanterweise ist bei den Verbindungen **4–6** nach unserer derzeitigen Zuordnung eine Selektion zugunsten des *Sp*-Isomers zu beobachten, während bei der Synthese der Methylphosphonate stets das *Rp*-Isomer bevorzugt gebildet wird<sup>[8]</sup> (Tabelle 1).



Schema 2. Herstellung der 3',5'- (**4–6**), 3',3'- (**7–9**) und 5',5'-verknüpften (**10–12**) Alkyl- und Benzylphosphonate. **4**, **7**, **10**: R = *i*Pr; **5**, **8**, **11**: R = Benzyl; **6**, **9**, **12**: R = (S)-(+)-2-Methylbutyl. Die Verbindungen **4–6** liegen als Diastereomere vor. Diese *Rp*/*Sp*-Isomere werden durch **a** oder **b** gekennzeichnet. Tr = Trityl; TBDMS = *tert*-Butyldimethylsilyl; T = Thymidyl.

Die Konfiguration am Phosphoratom hat einen drastischen Einfluß auf die Stabilität von Duplexes aus modifizierten Oligonucleotiden und komplementären Sequenzen. Oligonucleosid-Methylphosphonate mit überwiegend *Rp*-konfigurierten Diastereomeren ergeben mit komplementärer DNA stabilere Hybride als die natürlich vorkommenden Analoga, während Duplexes mit vorwiegend *Sp*-konfigurierten Isomeren eine verminderte Stabilität aufweisen<sup>[9]</sup>. Die Ursache für dieses Verhalten ist noch ungeklärt. Weitere Erkenntnisse hoffen wir dadurch zu gewinnen, daß wir die neu

Tabelle 1. Diastereoselektivitäten in Abhängigkeit vom Substituenten am Phosphoratom bei verschiedenen Temperaturen.

P-Substituent	T [°C]	<i>Rp/Sp</i>	P-Substituent	T [°C]	<i>Rp/Sp</i>
Methyl	+4	2.0:1.0	Isopropyl	+4	1.0:2.8
Methyl	-78	5.0:1.0	Isopropyl	-78	1.0:3.9
Benzyl	+4	1.0:1.6	(S)-(+)-2-Methylbutyl	+4	1.0:2.2
Benzyl	-78	1.0:2.7	(S)-(+)-2-Methylbutyl	-78	1.0:2.8

modifizierten Nucleosidphosphonate in Oligonucleotide einbauen und deren Verhalten bezüglich der Duplexbildung untersuchen.

Wie UV- und CD-Messungen an zahlreichen diastereomerenreinen Methylphosphonatdimeren belegen, liegen die Basen im *Rp*-Isomer in der gestapelten Form vor, während beim *Sp*-Isomer die gestreckte Form überwiegt<sup>[10]</sup>. Bei *Sp*-Konfiguration der Phosphodiesterbindung steht der Substituent am Phosphoratom in pseudoaxialer Position und rückt damit in die Nähe der Nucleosidbasen. Da bei der hier vorgestellten Synthese eben dieses Isomer deutlich bevorzugt wird, besteht nun die Möglichkeit, durch geeignete Wahl des Substituenten gezielt die Geometrie des Moleküls zu verändern. Weitere Einflußnahme, sei sie sterischer, elektronischer oder auch kovalenter Natur, eröffnet so ein neues Feld für Molecular Modeling an DNA-Molekülen.

Die bevorzugte Bildung eines Isomers ist in Einklang mit unserer Vorstellung vom Reaktionsmechanismus. Die Diastereoselektion findet bei der Reaktion des Monoesters mit dem zweiten Nucleosid statt, wobei wir einen  $S_N2(P)$ -Mechanismus annehmen. Die beiden Halbräume, aus denen der nucleophile Angriff erfolgen kann, werden durch die Tritylschutzgruppe einerseits und den Substituenten am Phosphoratom andererseits unterschiedlich abgeschirmt, und somit ist einer dieser Halbräume energetisch begünstigt<sup>[11]</sup>. Ist der Substituent am Phosphoratom klein, so wird der Angriff überwiegend aus diesem Halbraum erfolgen, wobei das *Rp*-konfigurierte Produkt entsteht. Ist dieser Substituent sterisch anspruchsvoll, wird der Angriff aus dem Halbraum der Tritylgruppe günstiger, und es entsteht bevorzugt das *Sp*-Isomer. Im letzteren Fall ist eine Abnahme der Ausbeute zu beobachten, da die Umgebung des Phosphoratoms nunmehr im Monoester bereits stark ausgefüllt ist. Auch die Verwendung eines chiralen Substituenten, wie hier (*S*)-(+)-2-Methylbutyl, führte somit nicht zu einer weiteren Steigerung des Diastereomerenverhältnisses. Über die Monoesterstufe sind auch Phosphoramidite als Bausteine für die Festphasensynthese leicht zugänglich, wobei jedoch derzeit noch keine Aussagen über Stereoselektivitäten und Ausbeuten möglich sind.

### Experimentelles

**3:** Zu 0.1 mol der in 300 mL Ether gelösten Grignard-Verbindung **1** wird bei 0 °C unter Argon eine Lösung von  $ZnCl_2$  (0.1 mol) in Ether getropft, wobei ein grauer Niederschlag entsteht. Man läßt noch 15 min nachrühren, überführt die Suspension in einen Tropftrichter und tropft in eine siedende Lösung aus 0.3 mol  $PCl_3$  und 50 mL Ether. Man rührt noch 1 h unter Rückfluß, kühlt auf Raumtemperatur, saugt ab und wäscht mit Ether nach. Das vom Lösungsmittel befreite Filtrat wird im Argonstrom fraktioniert.

<sup>31</sup>P-NMR (121.5 MHz,  $CDCl_3$ , 295 K, 85proz.  $H_3PO_4$  extern): Benzyldichlorphosphan:  $\delta = 179.3$ ; Dichlorisopropylphosphan:  $\delta = 199.8$ ; Dichlor-(*S*)-(+)-2-methylbutylphosphan:  $\delta = 198.1$ .

**4–6:** 0.76 mmol 5'-Tritylthymidin und 0.725 mmol 3'-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-thymidin werden in separaten Spitzkolben mit THF coevaporiert. In einem ausgeheizten, mit Argon gespülten und mit Septum verschlossenen Kolben werden 2 mL THF, 1.5 mmol Collidin und 0.745 mmol Phosphonylierungsreagens **3** vorgelegt und auf 4 °C gekühlt. Zu dieser Lösung wird unter Rühren das 5'-geschützte Nucleosid, gelöst in 3 mL THF, mit einer Hamilton-Spritze innerhalb von 5 min zugegeben, wobei ein weißer Niederschlag entsteht. Nach 10 min gibt man das in THF gelöste 3'-geschützte Nucleosid bei 4 °C oder –78 °C innerhalb von 5 min zu und rührt noch 30 min nach. Nach dem Auftauen auf –20 °C oder bei 4 °C wird mit *tert*-Butylhydroperoxid in 10 min oxidiert. Die Suspension wird eingengt und der Rückstand in 150 mL  $CHCl_3$  aufgenommen. Nach dem Waschen mit 5proz.  $NaHCO_3$ -Lösung, 5proz.  $Na_2SO_4$ -Lösung und  $H_2O$  wird über  $Na_2SO_4$  getrocknet, filtriert und einrotiert. Der Rückstand wird in wenig  $CHCl_3$  gelöst und aus *n*-Hexan gefällt. Man saugt ab, wäscht nach und trocknet im Ölpumpenvakuum.

Ausbeuten bezogen auf umgesetztes TrT: **4a,b**: 47% (4 °C), 38% (–78 °C); **5a,b**: 56% (4 °C), 28% (–78 °C); **6a,b**: 31% (4 °C), 11% (–78 °C). Präparative HPLC-Trennung der Diastereomere: **4a,b**: Lichrospher RP-C18 Semipräp. 5  $\mu$ ; 3 mL/min Triethylammoniumacetat (TEAA) 0.1 M/ $CH_3CN$  28/72 isochratisch. **5a,b**: Bondapack C18 präp. 10  $\mu$ ; 15 mL/min TEAA 0.1 M/ $CH_3CN$  51/49 isochratisch. **6a,b**: Bondapack C18 präp. 10  $\mu$ ; 15 mL/min TEAA 0.1 M/ $CH_3CN$  47/53 isochratisch.

<sup>31</sup>P-NMR (121.5 MHz,  $CDCl_3$ , 295 K, 85%  $H_3PO_4$  extern): **4**:  $\delta = 29.1$  (*Rp*), 28.1 (*Sp*); **5**:  $\delta = 37.9$  (*Rp*), 37.1 (*Sp*); **6**:  $\delta = 34.9$  (*Rp*), 34.0 (*Sp*).

Eingegangen am 23. Mai 1992 [Z 5370]

- [1] L. S. Kan, D. S. Cheng, P. S. Miller, J. Yano, P. O. Ts'O, *Biochemistry* **1980**, *19*, 2122.
- [2] J. C. Barrett, P. S. Miller, P. O. Ts'O, *Biochemistry* **1974**, *13*, 4897.
- [3] J. C. Marcus-Sekura, A. Woerner, K. Shinozuka, G. Zon, G. Quinnan, *Nucleic Acids Res.* **1987**, *15*, 5749.
- [4] P. S. Miller, *Bio/Technology* **1991**, *9*, 358.
- [5] D. E. Bergstrom, P. W. Shum, *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 3953.
- [6] K. L. Agarwal, F. Riftina, *Nucleic Acids Res.* **1979**, *6*, 3009.
- [7] T. Löschner, J. W. Engels, *Nucleic Acids Res.* **1990**, *18*, 5083.
- [8] T. Löschner, J. W. Engels, *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 5587.
- [9] J. Lesnikowski, M. Jaworska, W. J. Stec, *Nucleic Acids Res.* **1990**, *18*, 2109.
- [10] A. V. Lebedev, E. V. Vyazovkina, A. Frauendorf, J. W. Engels, *Tetrahedron*, eingereicht.
- [11] J. W. Engels, T. Löschner, A. Frauendorf, *Nucleosides & Nucleotides* **1991**, *10*, 347.

## Synthese des speziesspezifischen *Mycobacterium-avium* (Sero var 21)-Trisaccharids zur Herstellung eines Neoglycoproteins für immunologische Studien\*\*

Von Thomas Ziegler\*

Cornelis P. J. Glaudemans zum 60. Geburtstag gewidmet

Disseminierte Infektionen durch Mikroorganismen des MAI-Komplexes (*Mycobacterium avium intracellulare*), die normalerweise keine Krankheiten hervorrufen, werden häufig bei AIDS-Patienten als schwerwiegende Komplikation des Krankheitsverlaufs beobachtet<sup>[1–3]</sup>. Die frühzeitige Erkennung der Infektion und die klare diagnostische Unterscheidung dieser „atypischen“ Mycobacteriosen von Tuberkulose (*Mycobacterium tuberculosis, bovis*) ist für die gezielte Behandlung der Infektion wichtig. Dies ist jedoch nur durch aufwendige und zeitraubende Kultivierung von Bakterienisolationen möglich<sup>[4]</sup>. Ein schneller und hochselektiver Nachweis von atypischen Mycobacteriosen (z.B. serologisch durch ELISA-Techniken oder durch Hauttests) wäre deshalb für klinische Routineuntersuchungen wünschenswert. Hierfür ist jedoch die Zugänglichkeit MAI-spezifischer Antigene erforderlich, die die Herstellung geeigneter Antisera oder die Bestimmung von Antikörpertitern ermöglicht. Ein entsprechender Ansatz unter Verwendung von MAI-spezifischen Protein-Antigenen hat jedoch kürzlich gezeigt, daß störende Kreuzreaktionen mit Antigenen von *M. tuberculosis* auftreten können und somit keine eindeutige Diagnose zulassen<sup>[5]</sup>.

Vielfersprechender ist dagegen die Verwendung von speziesspezifischen Oligosaccharidhaptenen, die sich in den charakteristischen Glycopeptidolipiden der Zellmembran von MAI finden<sup>[6–8]</sup>. Es handelt sich hierbei um Tri- bis Pentasaccharide, die *O*-glycosidisch an die Threonineinheit eines Tetrapeptids geknüpft sind (Schema 1). Der proteinsei-

[\*] Dr. T. Ziegler  
Institut für Organische Chemie und Isotopenforschung  
Pfaffenwaldring 55, W-7000 Stuttgart 80

[\*\*] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft gefördert. Verwendete Abkürzungen: *p* = Pyranose, *Rha* = Rhamnose, *Tal* = Talose, *Bn* = Benzyl, *Bz* = Benzoyl, *Ac* = Acetyl, *Z* = Benzyloxycarbonyl, *Tos* = Tosyl, *TMSOTf* = Trimethylsilyltriflat, *BSA* = Rinderserumalbumin, *PBS* = phosphatgepufferte Kochsalzlösung, *EE* = Essigsäureethylester, *RT* = Raumtemperatur.