

stem kein Ketimin mehr nachgewiesen werden. Ganz ähnlich verläuft die Reaktion von **2a** mit Fumarsäuredinitril. Bei der Umsetzung im äquimolaren Verhältnis wird sauber das metallorganische 1:1-Addukt **3d** gebildet. Nachfolgende Hydrolyse liefert unter kinetischer Kontrolle ein 3:2-Gemisch der Ketamine (*E*)-**4d** und (*Z*)-**4d**, aus dem sich unter Gleichgewichtsbedingungen als einziges Produkt das funktionalisierte Aminohexatrien (*E,E,Z,E*)-**4**-Amino-9-hydroxy-9,9-diphenyl-2,4,6-nonatriennitril (*Z*)-**5d** bildet.

Es lassen sich auch aliphatische Ketone (Cyclopentanon **2b**, Aceton **2c**) als Bausteine bei dieser Templaatsynthese verwenden (siehe Tabelle 1, **5f–h**). Wie erwartet^[4] ist das primäre Enamin auch mit einem aliphatischen Substituenten in α -Stellung unter Gleichgewichtsbedingungen energetisch günstiger als das Imin-Tautomer (**5g**). Auch in diesem Fall entsteht unter kinetischer Kontrolle zunächst das Imin.

Diese Experimente haben gezeigt, daß die thermochemische Konjugationsenergie einer zusätzlichen C-C-Doppelbindung ausreicht, um einfache konjugierte primäre Enamine unter Gleichgewichtsbedingungen energetisch deutlich gegenüber ihren Ketimin-Tautomeren zu begünstigen. Auf diese Weise sind 1-Aminobutadiene und verwandte Verbindungen unter thermodynamischer Reaktionskontrolle zugänglich geworden. Wir haben begonnen, auf dieser Basis einfache neue Zugänge zu diesen interessanten Synthesebausteinen und präparativen Anwendungen für sie zu entwickeln^[11].

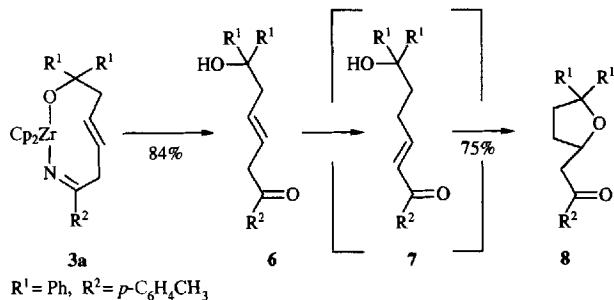
Eingegangen am 8. Oktober,
veränderte Fassung am 6. Dezember 1993 [Z 6402]

- [7] G. Erker, J. Wicher, K. Engel, F. Rosenfeldt, W. Dietrich, C. Krüger, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 6344; G. Erker, J. Wicher, K. Engel, C. Krüger, *Chem. Ber.* **1982**, *115*, 3300; G. Erker, K. Engel, C. Krüger, A.-P. Chiang, *ibid.* **1982**, *115*, 3311; H. Yasuda, Y. Kajihara, K. Mashima, K. Nagasuma, K. Lee, A. Nakamura, *Organometallics* **1982**, *1*, 388; G. Erker, K. Engel, C. Sarter in *Organometallic Synthesis*, Vol. 3 (Hrsg.: R. B. King, J. J. Eisch), Elsevier, Amsterdam, **1986**, S. 32.

- [8] G. Erker, K. Engel, J. L. Atwood, W. E. Hunter, *Angew. Chem.* **1983**, *95*, 506; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1983**, *22*, 494.

- [9] *trans*-Cyclononen hat eine Racemisierungsbarriere ΔG_{eni}^* (263 K) von ca. 19 kcal/mol⁻¹; A. C. Cope, K. Banholzer, H. Keller, B. A. Pawson, J. J. Wang, H. J. S. Winkler, *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 3644.

- [10] Dagegen liefert die Hydrolyse von **3a** mit 2 N H₂SO₄ (20 °C, 1 d) das Keton **6**. Behandlung von **3a** mit 2 N HCl in THF (20 °C, 3 d) wiederum führt zum Tetrahydrofuran-Derivat **8**, das auch aus **6** mit HCl erhalten wird (siehe Tabelle 1). Wir nehmen an, daß dabei das α,β -ungesättigte Keton **7** als in situ gebildete Zwischenstufe auftritt.



- [11] Für verwandte Reaktionen konjugierter tertiärer Enamine siehe beispielsweise B. Pothoff, E. Breitmeier, *Chem. Ber.* **1987**, *120*, 255; R. L. S. Snowden, R. Brauchli, M. Wüst, *Helv. Chim. Acta* **1990**, *73*, 640; A. C. Braisted, P. G. Schultz, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 7430; A. R. Katritzky, Q.-H. Long, P. Lue, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 3597; R. Sustmann, M. Rogge, U. Nüchter, H. Bandmann, *Chem. Ber.* **1992**, *125*, 1647, 1657; Zusammenfassung: P. W. Hickmott, *Tetrahedron* **1984**, *40*, 2989.

Synthese eines verzweigten Heptasaccharids durch regioselektive Glycosylierungen**

Carlo Unverzagt*

Die Oligosaccharide von Glycoproteinen und Glycolipiden werden zunehmend als Träger biologischer Information erkannt^[1]; von besonderem Interesse sind dabei die Phänomene der zellulären Erkennung. Allerdings stehen die Untersuchungen über die Funktion der einzelnen Oligosaccharide von Glycoproteinen erst am Anfang. Es wurde gefunden, daß der Verzweigungsgrad der an Asparagin gebundenen Kohlenhydrate (*N*-Glycane) von rekombinantem Erythropoietin einen großen Einfluß auf dessen Wirksamkeit und Stabilität hat^[2]. In Krebszellen korreliert das Auftreten einer zusätzlichen β -(1 → 6)-Verzweigung der *N*-Glycane mit der Fähigkeit zur Bildung von Metastasen^[3]. Um die Funktionen von *N*-Glycanen in Peptiden und Proteinen genauer untersuchen zu können, werden Modellverbindungen wie das Undecasaccharid-asparagin **1** in ausrei-

[*] Dr. C. Unverzagt

Institut für Organische Chemie und Biochemie
der Technischen Universität München
Lichtenbergstraße 4, D-85748-Garching
Telefax: Int. + 89/3209-3210

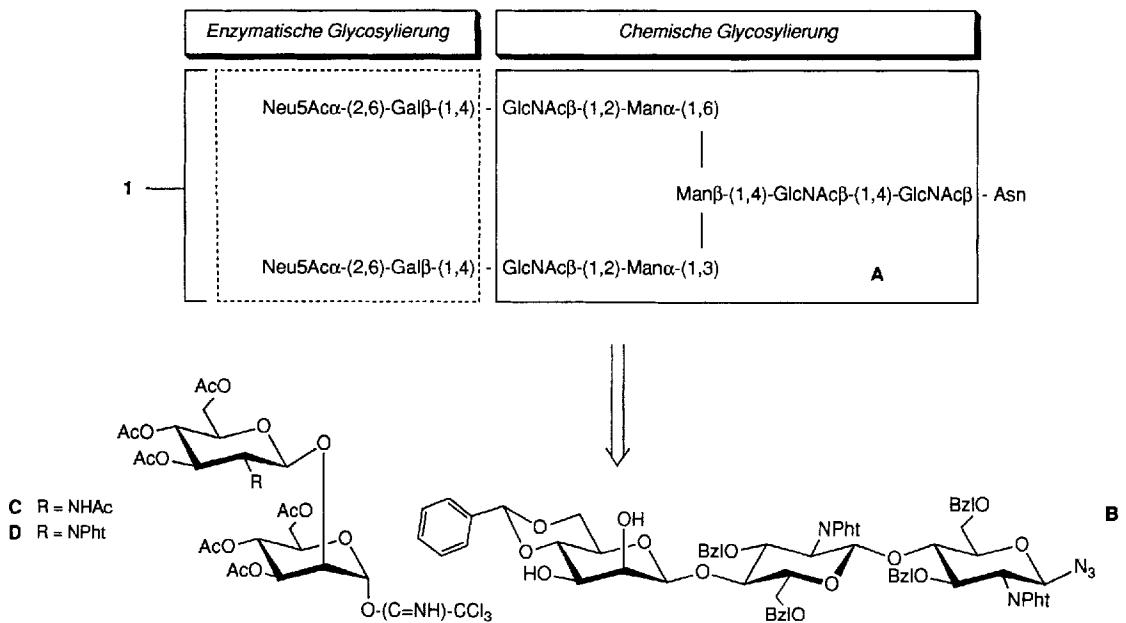
[**] Diese Arbeit wurde von der Leonhard-Lorenz-Stiftung und der Hoechst AG gefördert und beim siebten Europäischen Kohlenhydratsymposium 1993 in Krakau (Polen) vorgestellt. Prof. Dr. Horst Kessler danke ich für seine großzügige Unterstützung.

chender Menge benötigt. Verbindung **1** repräsentiert die einfachste vollständige Struktur der *N*-Glycane des komplexen Typs, die besonders häufig in Serum- und Zelloberflächenglycoproteinen vorkommen. Die Isolierung reiner *N*-Glycane aus Glycoproteinen ist nur im Milligrammbereich praktikabel und wegen der Mikroheterogenität des natürlichen Materials sehr schwierig. Daher bietet sich die Synthese von *N*-Glycanen mit definierter Zusammensetzung an. Die vorliegende Arbeit beschreibt den Aufbau des verzweigten Core-Heptasaccharids **A** als Vorstufe zu **1** durch zwei regioselektive Glycosylierungen am β -Mannosylrest des Trisaccharids **B** mit den Disacchariddonoren **C** und **D** (Schema 1).

Die Synthese von *N*-Glycanen und deren Teilstrukturen^[4, 5] ist eine besondere Herausforderung. Bereits in der Mitte der achtziger Jahre synthetisierten Ogawa et al. das Undecasaccharid **1** ohne den Asparaginrest auf rein chemischem Weg^[5]. Folgt man den bekannten Methoden, so ist eine hohe Stufenzahl mit der Aussicht auf geringe Mengen an Endprodukt zu bewältigen. Als Alternative zu den klassisch-chemischen Verfahren haben sich in der Oligosaccharidsynthese enzymatische Methoden bewährt^[6]. Um das verzweigte Undecasaccharid-asparagin **1** möglichst effizient herzustellen, wurde eine neue Strategie entwickelt, die durch eine Kombination aus chemischen und enzymatischen Glycosylierungen die Zahl der Syntheseschritte verringert. Zunächst wird das Heptasaccharid **A** chemisch aufgebaut. Das verwendete Schutzgruppenmuster ist auf eine spätere chemo-enzymatische Verlängerung von **A** zum Undecasaccharid-asparagin **1** ausgelegt. Die beiden terminalen *N*-Acetylglucosaminreste in **A** können als Acceptoren für Glycosyl-Transferasen dienen^[7]. So wurde an *N*-Acetylglucosaminyglycosiden ($\text{GlcNAc}\beta\text{-R}$) in einer enzymatischen „Eintopfreaktion“ die Trisaccharidstruktur (Sialyl-*N*-acetyllactosamin ($\text{Neu5Ac}\alpha\text{-(2} \rightarrow 6\text{)-Gal}\beta\text{-(1} \rightarrow 4\text{)-GlcNAc}\beta\text{-R}$) in hohen Ausbeuten aufgebaut^[8]. Eine retrosynthetische Betrachtung des Heptasaccharids **A** legt eine Unterteilung in den trisaccharidischen Acceptor **B** und die Donoren **C** oder **D** nahe. Als besonders kritisch gilt dabei die Knüpfung der β -mannosidischen Bindung in **B**. Diese Reaktion gelingt mit dem von Kunz et al. eingeführten eleganten Verfahren zur intramolekularen Inversion^[9] von β -Glucosiden an C-2. Um die spätere Anbindung von Asparaginsäure an das Heptasaccharid **A** zu erleichtern, wurde dessen

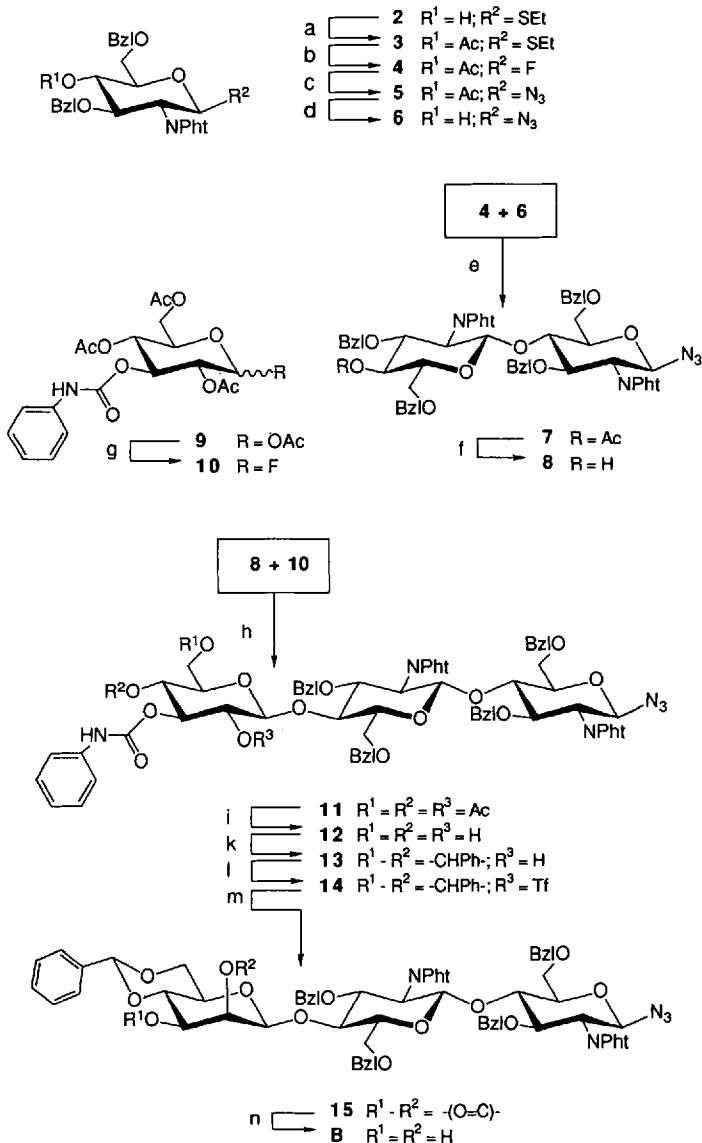
Vorstufe B mit einer Azidfunktion am reduzierenden Ende versehen. Die Azidgruppe dient als Schutz des anomeren Zentrums^[10] und kann durch selektive Reduktion mit Raney-Nickel zum Amin umgewandelt werden.

Das Trisaccharid **B** läßt sich, beginnend mit dem reduzierenden Ende, aus Monosaccharideinheiten aufbauen. In der Synthese des Chitobiosylazids **7** nimmt das Fluorid **4** eine zentrale Stellung ein, da es als Glycosyldonor und als Vorstufe für den Acceptor **6** dient. Aus dem Thioglycosid **2**, das in sechs Schritten aus D-Glucosaminhydrochlorid zugänglich ist^[11], kann nach Acetylierung zu **3** das Fluorid **4** erhalten werden. Die Aktivierung des Thioglycosids **3** mit N-Bromsuccinimid in Gegenwart des HF-Pyridin-Komplexes^[12] liefert in hoher Ausbeute das kristalline β -Fluorid **4**. Dieses reagiert mit Trimethylsilylazid und katalytischen Mengen Bortrifluorid-Ether zum β -Azid **5**, dessen Desacetylierung zum gewünschten Acceptor **6** führt. Glycosylierung des Azids **6** mit dem Fluorid **4** ergibt das Chitobiosylazid **7** in 83 % Ausbeute. Durch Abspaltung der Acetylgruppe erhält man den disaccharidischen Acceptor **8**, dessen Benzylether- und Phthalimidogruppen besonders günstig für die Reaktionssequenz zum Aufbau des β -Mannosids sind. Als Donor hierfür wurde das Fluorid **10** gewählt, das aus peracetylierter 3-Phenylcarbamoylglucose **9**^[11] durch Umsetzung mit dem HF-Pyridin-Komplex zugänglich ist. Die Glycosylierung des Disaccharids **8** mit **10** führt zum β -gluco-konfigurierten Trisaccharid **11** (85%). Um daran die intramolekulare Inversion durchführen zu können, muß die 2"-OH-Funktion der Glucose freigesetzt werden^[8]. Die basische Abspaltung der Acetylgruppen in **11** erweist sich jedoch als problematisch, besonders für das Acetat in Position 2". Während der langen Reaktionszeit wird der Phthalimidorest ebenfalls angegriffen, was die niedrige Ausbeute erklärt. Acylgruppen, die von sperrigen Resten flankiert sind, sind oft schwer zu entfernen^[13]. Benzylidenierung des Triols **12** mit (Dimethoxymethyl)benzol (α,α -Dimethoxytoluol) liefert **13**, das mit Trifluormethansulfonsäureanhydrid-Pyridin zum Triflat umgesetzt wird. Das rohe β -gluco-Triflat **14** wird in Dimethylformamid-Pyridin auf 60 °C erhitzt und invertiert dabei zu einem β -manno-konfigurierten Imidocarbonat^[9], das unter schonenden Bedingungen zum Carbonat **15** hydrolysiert wird. Durch schwach basische Methanolysen der Carbonatgruppe entsteht daraus der trisaccharidische Acceptor **B**. Sämtliche



Schema 1. Das Undecasaccharid-asparagin 1 als Modellverbindung für *N*-Glycane des komplexen Typs. A ist das verzweigte Core-Heptasaccharid, das über die Schlüsselverbindungen B, C und D in geschützter Form synthetisiert wurde.

Reaktionen dieser Inversionssequenz lassen sich durch Dünn-schichtchromatographie verfolgen. Bezug auf eingesetztes Trisaccharid **13** gewinnt man in fünf Schritten das β -Mannosid **B** in 70% Ausbeute. Nach diesem Verfahren wurden über 10 g des Trisaccharids **B** erhalten (Schema 2).



Schema 2. a) Ac_2O , Pyridin (99%); b) N -Bromsuccinimid, HF/Pyridin, CH_2Cl_2 , 0°C (93%); c) Trimethylsilylazid, BF_3/OEt_2 , CH_2Cl_2 (91%); d) K_2CO_3 , MeOH, 0°C (65%); e) BF_3/OEt_2 , Molekularsieb 4 Å, CH_2Cl_2 (83%); f) K_2CO_3 , MeOH, 0°C (79%); g) HF/Pyridin, 0°C; h) BF_3/OEt_2 , Molekularsieb 4 Å, CH_2Cl_2 (85%); i) K_2CO_3 /MeOH, 0°C; k) α,α -Dimethoxytoluol, TosOH , CH_2CN (44% bez. auf 11); l) Tf_2O , Pyridin, CH_2Cl_2 , -20°C; m) 1. Dimethylformamid, Pyridin, 60°C; 2. AcOH , Dioxan, H_2O , 0°C; n) NaOMe , MeOH, CH_2Cl_2 (70% bez. auf 13). - $\text{Tf} = \text{F}_3\text{C}-\text{SO}_2$.

Zur Verlängerung des Trisaccharids **B** mit seinen beiden freien Hydroxygruppen wurden die Disaccharidimide^[14] **C** und **D** hergestellt. Der Donor **C** hat sich in der Gruppe von Paulsen^[15] bewährt und wurde durch eine modifizierte Synthese erhalten^[16]. Wesentlich einfacher gelangt man zum Donor **D**^[16], der in drei Stufen aus dem Imidat **16**^[17] und der Tetraacetylmannose **17**^[18] zugänglich ist.

Um eine selektive Weiterreaktion an der 3"-Hydroxygruppe des Diols **B** zu erzielen, kann über die Isomerisierung eines cycli-

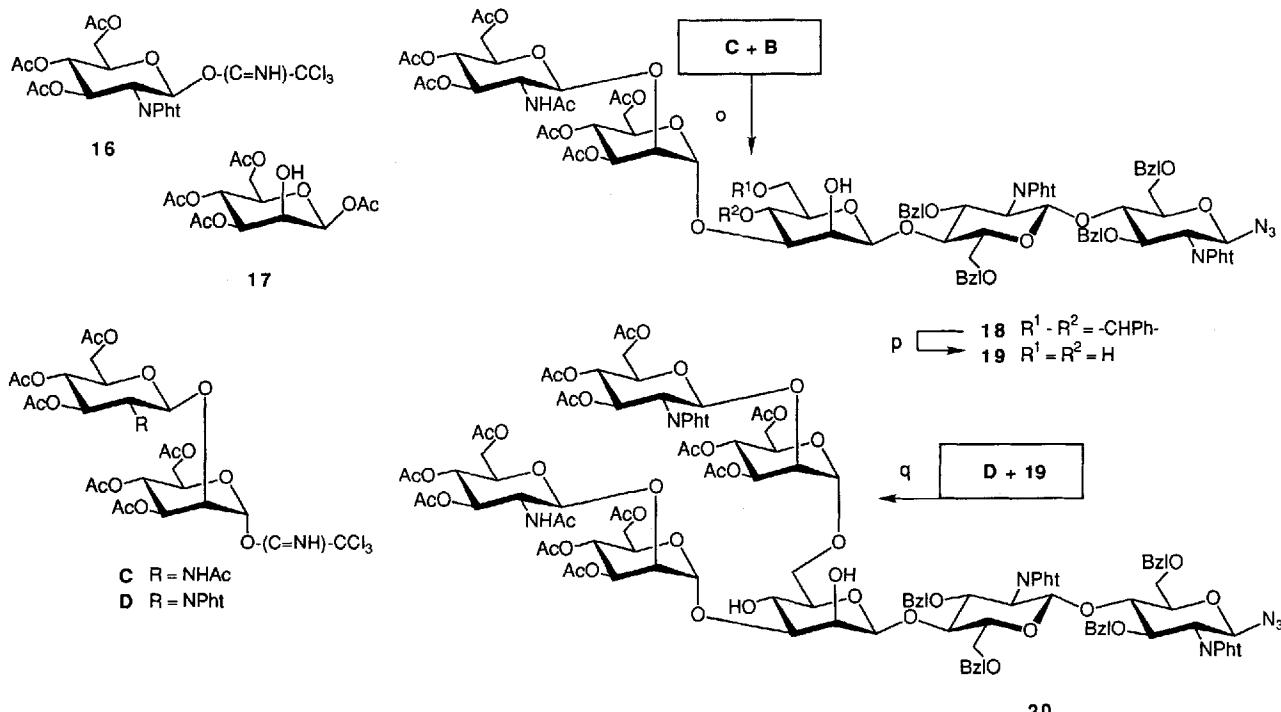
schen 2",3"-Orthoesters ein Acetylrest an 2"-O eingeführt werden^[11]. Diese Strategie zum Schutz von 2"-OH lässt sich jedoch umgehen: Das 2",3"-Diol **B** reagiert mit dem Disaccharidimid **C** regioselektiv an der gewünschten 3"-OH-Gruppe. Das Pentasaccharid **18** entsteht dabei in 62% Ausbeute. Andere Stereoisomere konnten nicht isoliert werden. Die ohne Nachbargruppenbeteiligung gebildete α -(1 → 3)-mannosidische Verknüpfung wurde durch 2D-NMR-Spektroskopie bestätigt. So liegt die durch ein Protonen-gekoppeltes HMQC-Spektrum ermittelte C-1/H-1-Kopplungskonstante des α -Mannosylrestes bei 177.7 Hz, während das β -Mannosid mit 163.6 Hz erwartungsgemäß einen niedrigeren Wert hat^[19]. Offenbar ist die äquatoriale 3"-OH-Funktion in **B** deutlich reaktiver als die axiale 2"-OH-Funktion. Die beobachtete Reaktivität des β -mannosidischen Acceptors **B** entspricht der Bevorzugung der äquatorialen 3-OH-Gruppe beim Glycosylieren von Galaktosiden mit mehreren freien Hydroxyfunktionen^[20].

Aus dem Pentasaccharid **18** kann durch saure Abspaltung des Benzylidenrestes das Triol **19** gewonnen werden. Es wurde geprüft, ob eine selektive Reaktion an der primären 6"-OH-Gruppe möglich ist. Die Glycosylierung des Pentasaccharids **19** mit 1.7 Äquivalenten des Disacchariddonors **C** bei -10°C ergab jedoch nur 20% α -(1 → 6)-verknüpftes Heptasaccharid neben 15% mehrfach glycosyliertem Produkt und 55% zurückgewonnenem Acceptor **19**. Unter ähnlichen Bedingungen entstanden bei Verwendung des phthalimidogeschützten Donors **D** (1.5 Äq.) 27% Heptasaccharid und 28% einer mehrfach glycosylierten Verbindung. Wesentlich selektiver reagiert der Donor **D** (1.2 Äq.) bei tieferer Temperatur (-40°C) und größerer Verdünnung des Reaktionsansatzes mit **19** zum gewünschten Heptasaccharid **20** (52%), einer geschützten Form des Zielmoleküls **A**. Die Struktur von **20**^[21] wird durch 2D-NMR-Spektren sowie FAB-Massen-spektren eindeutig belegt. Gegenwärtig wird **20** auf die Anknüpfung von Asparaginsäure und die enzymatische Glycosylierung zu **1** untersucht. Eine Abspaltung der Phthalimidorschutzgruppen aus **20** gelingt nach dem üblichen Verfahren mit Hydrazinhydrat in Ethanol (Schema 3, siehe nächste Seite).

Kernstück der Synthese des verzweigten Heptasaccharids **20** ist die gezielte Verlängerung des Trisaccharidbausteins **B**. Zur Lenkung der Glycosylierung in Position 3" genügt ein temporärer Schutz des β -Mannosids mit einem Benzylidenacetat. Ein Vorzug dieser Minimalschutzstrategie ist, daß nach der Reaktion der primären 6"-OH-Gruppe die OH-Funktionen 2" und 4" an der Verzweigungsstelle für weitere, in der Natur bekannte Verlängerungen zur Verfügung stehen.

Eingegangen am 20. Dezember 1993 [Z 6571]

- [1] A. Varki, *Glycobiology* **1993**, *3*, 97–130.
- [2] M. Takeuchi, N. Inoue, T. W. Strickland, M. Kobuta, M. Wada, R. Shimizu, S. Hoshi, H. Kozutsumi, S. Takasaki, A. Kobata, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1989**, *86*, 7819–7822.
- [3] J. W. Dennis, S. Laferte, *Cancer Res.* **1989**, *49*, 945.
- [4] Übersicht: H. Paulsen, *Angew. Chem.* **1990**, *102*, 851–857; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, *29*, 823–839.
- [5] T. Ogawa, M. Sugimoto, T. Kitajima, K. K. Sadozai, T. Nukada, *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 5739–5742.
- [6] Übersicht: Y. Ichikawa, G. C. Look, C. H. Wong, *Anal. Biochem.* **1992**, *202*, 215–238.
- [7] C. Augé, R. Fernandez-Fernandez, C. Gautheron, *Carbohydr. Res.* **1990**, *200*, 257–268.
- [8] a) C. Unverzagt, H. Kunz, J. C. Paulson, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 9308–9309; b) C. Unverzagt, S. Kelm, J. C. Paulson, *Carbohydr. Res.* **1994**, *251*, 285–301.
- [9] H. Kunz, W. Günther, *Angew. Chem.* **1988**, *100*, 1118–1119; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, *27*, 1086–1087.
- [10] a) H. Kunz, C. Unverzagt, *Angew. Chem.* **1988**, *100*, 1763–1765; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, *27*, 1697–1699; b) C. Unverzagt, H. Kunz, *J. Prakt. Chem.* **1992**, *334*, 570–578.



Schema 3. o) BF_3/OEt_2 , Molekularsieb 4 Å, CH_2Cl_2 , 0 °C (62%); p) 80% AcOH , 80 °C (70%); q) BF_3/OEt_2 , Molekularsieb 4 Å, CH_2Cl_2 , -40 °C (52%).

- [11] W. Günther, H. Kunz, *Carbohydr. Res.* **1992**, *228*, 217–241.
- [12] K. C. Nicolaou, R. E. Dolle, D. P. Papahatjis, J. L. Randall, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 4189–4192.
- [13] Z. Szurmai, J. Kerekgártó, J. Harangi, A. Lipták, *Carbohydr. Res.* **1987**, *164*, 313–325.
- [14] Übersicht: R. R. Schmidt, *Angew. Chem.* **1986**, *98*, 213–236; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1986**, *25*, 212–235.
- [15] H. Paulsen, B. Helpap, *Carbohydr. Res.* **1991**, *216*, 289–313.
- [16] Details der Synthese werden an anderer Stelle veröffentlicht.
- [17] G. Grundler, R. R. Schmidt, *Carbohydr. Res.* **1985**, *135*, 203–218.
- [18] J. Deferari, E. G. Gros, I. O. Mastronardi, *Carbohydr. Res.* **1967**, *4*, 432–434.
- [19] a) K. Bock, C. Pedersen, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1974**, 293–297; b) S. Wolfe, B. M. Pinto, V. Varma, R. Y. N. Leung, *Can. J. Chem.* **1990**, *68*, 1051–1062.
- [20] T. Murase, H. Ishida, M. Kiso, A. Hasegawa, *Carbohydr. Res.* **1988**, *184*, c1–c4.
- [21] FAB-MS [o-Nitrobenzylalkohol]: $\text{C}_{120}\text{H}_{131}\text{N}_5\text{O}_{50} M_r$ (ber.) 2469.8; M_r (gef.) 2478.2 ($M + \text{Li}$); 2494.5 ($M + \text{Na}$).

Synthese von Endiinen durch Diels-Alder-Addition**

Henning Hopf* und Marcus Theurig

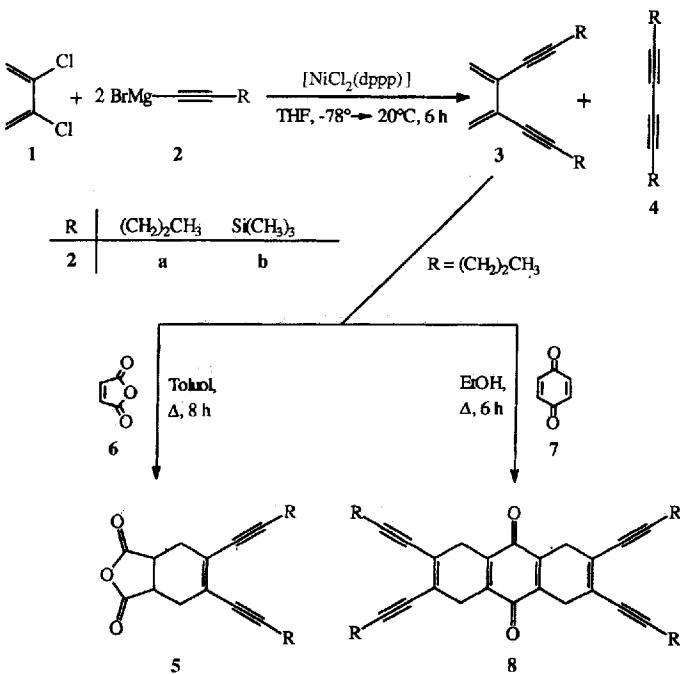
Professor Maximilian Zander zum 65. Geburtstag gewidmet

Das 3-Hexen-1,5-dien-System bildet den Kernbestandteil und das reaktionsauslösende Prinzip der Endiin-Antibiotica – Verbindungen, die wegen ihrer DNA-spaltenden Eigenschaften rasch auf großes Interesse gestoßen sind^[11]. Bislang erfolgte die

Synthese von Endiinen entweder durch Eliminierungsreaktionen (Erzeugen der zentralen Doppelbindung bei bereits vorhandenen Ethinylgruppen^[21]) oder durch Kupplungsreaktionen (Knüpfen der Dreifachbindungen an ein vorhandenes, meistens halogeniertes Olefin^[3]).

Wir stellen nun einen prinzipiell neuen Weg zu Endiinen vor, der das hochungesättigte System auf einfache Weise durch eine [2+4]-Cycloaddition erzeugt und den Einbau von (unterschiedlichen) Substituenten in allen vier Positionen des Stammkohlenwasserstoffs ermöglicht.

Kupplung von 2,3-Dichlor-1,3-butadien **1** mit den terminalen Alkinen **2** in Gegenwart von [1,3-Bis(diphenylphosphinopro-



[*] Prof. Dr. H. Hopf, Dipl.-Chem. M. Theurig

Institut für Organische Chemie der Technischen Universität
Hagenring 30, D-38106 Braunschweig
Telefax: Int. + 531/391-5388

[**] Neue Diene und Dienophile, 5. Mitteilung. Diese Arbeit wurde vom Fonds der Chemischen Industrie gefördert. – 4. Mitteilung: H. Hopf, B. Witulski, *Nachr. Chem. Techn. Lab.* **1991**, *39*, 286.