

Die maximale Änderung der Fluoreszenz, die man bei der Verbindung **2** beobachten kann, liegt in einem Bereich, der zur Erfassung physiologischer Glucosespiegel geeignet ist. Drei Monosaccharide sind im wesentlichen in Blut vorhanden: D-Glucose (0.3–1.0 mM), D-Fructose ( $\leq 0.1$  mM) und D-Galactose ( $\leq 0.1$  mM). Titriert man D-Glucose in Anwesenheit von 0.1 mM D-Fructose oder D-Galactose, dann beobachtet man hierbei die gleiche Stabilität wie mit D-Glucose allein (Abb. 3).

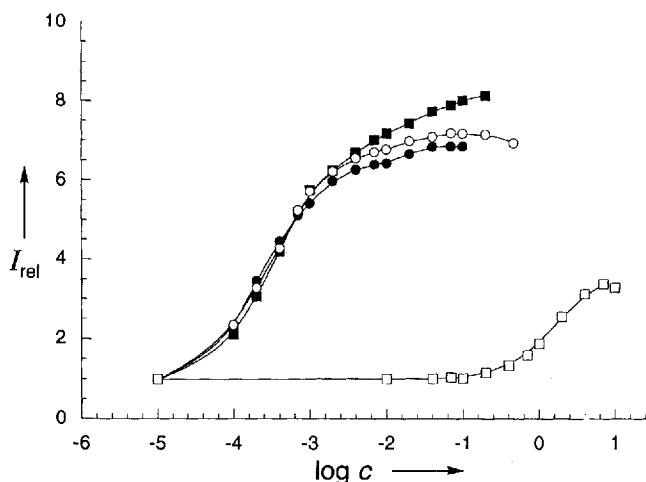


Abb. 3. Relative Fluoreszenzintensität  $I_{\text{rel}}$  von **2** in Abhängigkeit von der Glucosekonzentration  $\log c$  mit und ohne 0.1 mM D-Galactose oder D-Fructose bei 25 °C;  $1.0 \times 10^{-5}$  M von **2** in 33.3% MeOH/H<sub>2</sub>O-Puffer bei pH 7.77,  $\lambda_{\text{ex}} = 370$  nm,  $\lambda_{\text{em}} = 423$  nm. • D-Galactose/D-Glucose, ■ D-Fructose/D-Glucose, ○ D-Glucose, □ Glykol.

Es ist also möglich, einen PET-Sensor zu konstruieren, der für Glucose spezifisch ist. Wir sind der Ansicht, daß man andere kohlenhydratspezifische Sensoren entwickeln kann, wenn man die beiden Boronsäuregruppen passend für die Hydroxygruppen der Zielverbindungen anordnet.

Eingegangen am 5. April,  
veränderte Fassung am 2. Juli 1994 [Z 6823]

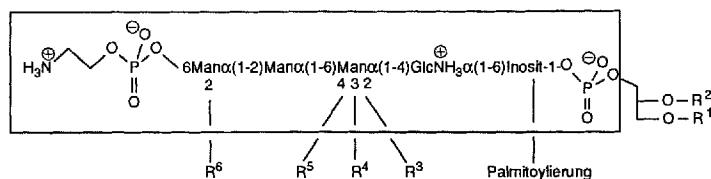
- [1] Übersichtsartikel: A. J. Bryan, A. P. de Silva, S. A. de Silva, R. A. D. Rupasingha, K. R. A. S. Sandanayake, *Biosensors* **1989**, *4*, 169; R. Bissel, A. P. de Silva, H. Q. N. Gunaratna, P. L. M. Lynch, G. E. M. Maguire, K. R. A. S. Sandanayake, *Chem. Soc. Rev.*, **1992**, *21*, 187.
- [2] S. Shinkai, K. Tsukagoshi, Y. Ishikawa, T. Kunitake, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1991**, 1039.
- [3] K. Tsukagoshi, S. Shinkai, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 4089.
- [4] K. Kondo, Y. Shiomi, M. Saisho, T. Harada, S. Shinkai, *Tetrahedron* **1992**, *48*, 8239.
- [5] Y. Shiomi, K. Kondo, M. Saisho, T. Harada, K. Tsukagoshi, S. Shinkai, *Supramol. Chem.* **1993**, *2*, 11.
- [6] Y. Shiomi, M. Saisho, K. Tsukagoshi, S. Shinkai, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1993**, 2111.
- [7] G. Deng, T. D. James, S. Shinkai, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 4567–4572.
- [8] T. D. James, T. Harada, S. Shinkai, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1993**, 857, 1176 (Corrigendum).
- [9] T. D. James, K. Murata, T. Harada, K. Ueda, S. Shinkai, *Chem. Lett.* **1994**, 273.
- [10] R. Ludwig, T. Harada, K. Ueda, T. D. James, S. Shinkai, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1994**, *4*, 697.
- [11] T. D. James, K. R. A. S. Sandanayake, S. Shinkai, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1994**, 477.
- [12] J. Yoon, A. W. Czarnik, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 5874.
- [13] L. K. Mohler, A. W. Czarnik, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 7037.
- [14] L. K. Mohler, A. W. Czarnik, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 2998.
- [15] G. Wulff, B. Heide, G. Helfmeier, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *108*, 1089.
- [16] G. Wulff, H.-G. Poll, *Makromol. Chem.* **1987**, *188*, 741.

- [17] Übersicht G. Wulff, *Pure Appl. Chem.* **1982**, *54*, 2093.
- [18] Von unseren und anderen Arbeiten [2–17] her ist bekannt, daß sich der Boronsäureester schnell und reversibel im basischen Milieu bildet. Bei den *ortho*-Aminoboronsäuren stellt sich das Gleichgewicht bei neutralem pH-Wert ebenso schnell ein [11, 16]. Nichtkovalente Wechselwirkungen werden mit Hilfe der Ausdrücke „Erkennung“, „Komplex“ und „Bindungskonstanten“ gekennzeichnet. Diese Ausdrücke werden benutzt, um das Gleichgewicht zwischen dem kovalenten Boronsäureester und der freien Boronsäure unter diesen Bedingungen zu beschreiben.
- [19] Spaltenförmige Rezeptoren wurden unter anderem von J. Rebek, Jr., et al. ausführlich untersucht: J. Rebek, Jr., *Acc. Chem. Res.* **1990**, *23*, 399, zit. Lit.
- [20] R. T. Hawkins, H. R. Snyder, *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, *82*, 3863; H. R. Snyder, R. T. Hawkins, W. J. Lennarz, *ibid.* **1960**, *82*, 3053; H. R. Snyder, M. S. Koneky, W. J. Lennarz, *ibid.* **1958**, *80*, 3611.

## Synthese eines GPI-Ankers der Hefe (*Saccharomyces cerevisiae*)\*\*

Thomas G. Mayer, Bernd Kratzer und Richard R. Schmidt\*

Glycosylphosphatidylinositol (GPIs) sind eine vor ca. zehn Jahren<sup>[1]</sup> entdeckte Naturstoffklasse von Glycophospholipiden, die Proteine und Glycoproteine C-terminal in den Membranen eukaryontischer Zellen verankern<sup>[1]</sup>. Analysen der GPI-Anker des *Trypanosoma-brucei*-, „Variant-surface“-Glycoproteins (VSG)<sup>[1, 2]</sup>, von „Rat-brain“-Thy-1<sup>[3]</sup>, der *Leishmania-major*-, „Promastigote-surface“-Protease<sup>[4]</sup>, des *Trypanosoma-cruzi*-1G7-Antigens<sup>[5]</sup> und der menschlichen Erythrocyten-Acetylcholinesterase<sup>[6]</sup> lieferten die im Schema 1 gezeigte allgemeine Struktur (eingeklammert).

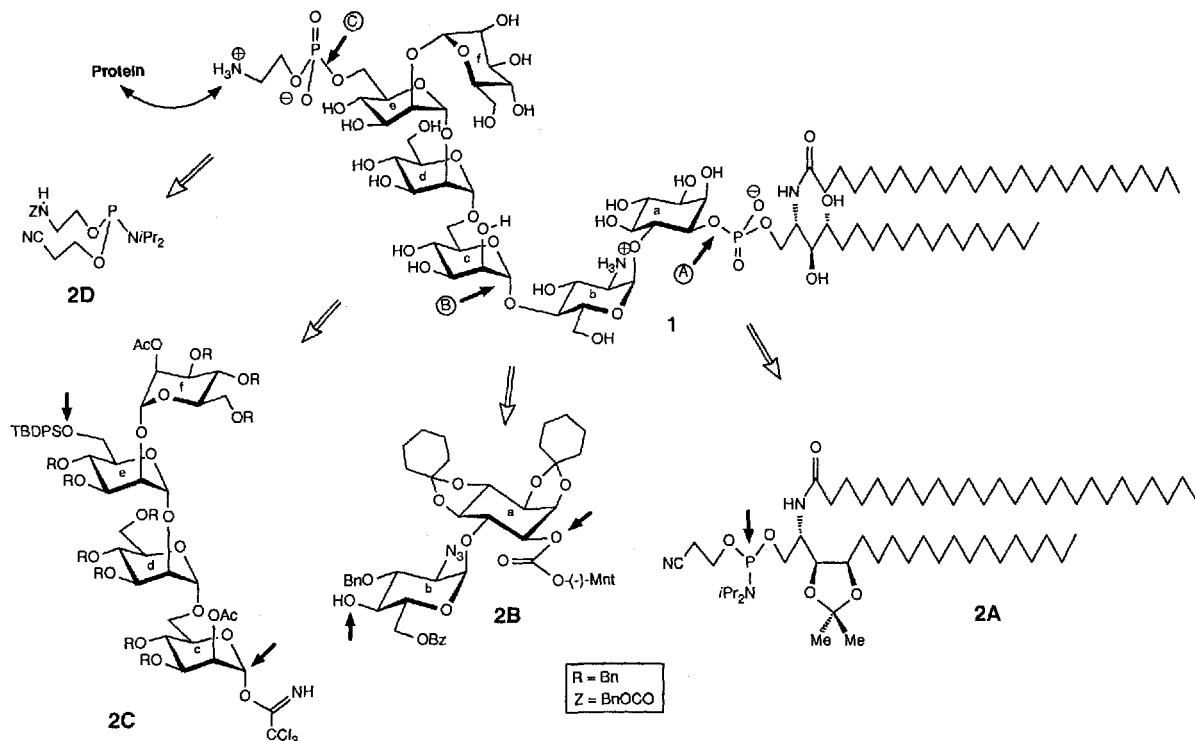


Schema 1. Struktur von GPI-Ankern.

Das Auftreten von zusätzlichen Kohlenhydrat- ( $R^4$ – $R^6$ ) oder Ethanolaminphosphat-Seitenketten ( $R^3$ ) ist artspezifisch<sup>[7]</sup>, und die Membran-verankernden Lipidstrukturen unterscheiden sich je nach Spezies und Zelltyp deutlich. Sie bestehen bei Glycerinlipiden (Variation von  $R^1$  und  $R^2$ ) aus *sn*-1,2-Dimyristoylglycerin in *T. brucei*-VSGs<sup>[8]</sup>, *sn*-1-Stearoyl-2-*lyso*-glycerin beim *T. brucei*-, „Proyclic-acidic-repetitive“-Protein<sup>[9]</sup>, *sn*-1-Alkyl-2-acylglycerin in Rinder- und Menschen-Erythrocyten-Acetylcholinesterase<sup>[10]</sup> und in menschlichem Folat-Bindeprotein<sup>[11]</sup> sowie aus *sn*-1,2-Diacylglycerin in der Torpedo-Acetylcholinesterase<sup>[12]</sup>. Des weiteren kann der Inositrest zusätzlich palmitoyliert sein. Statt Glycerinlipiden wurden bei GPI-Ankern von Hefen (*Saccharomyces cerevisiae*) auch Ceramide aus Phytosphingosin als Membrananker gefunden<sup>[13, 14]</sup>. Die typische Struktur eines solchen GPI-Ankers ist in Schema 2 dargestellt (**1**).

[\*] Prof. Dr. R. R. Schmidt, Dipl.-Chem. T. G. Mayer, Dipl.-Chem. B. Kratzer  
Fakultät Chemie der Universität  
Postfach 5560 M 725, D-78434 Konstanz  
Telefax: Int. +7531/88-3135

[\*\*] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und vom Fonds der Chemischen Industrie unterstützt.



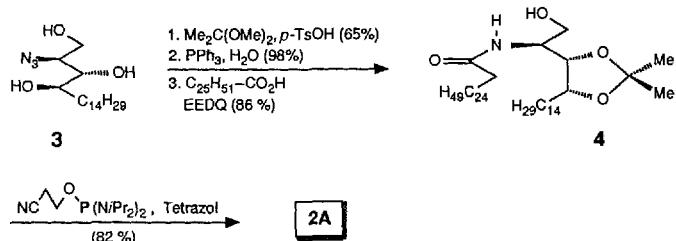
Schema 2. Retrosynthese des GPI-Ankers 1.

In der Zwischenzeit wurden für GPI-verankerte Proteine Funktionen in der Zell-Zell-Erkennung, in der Wechselwirkung mit bioaktiven Faktoren und als Enzyme diskutiert<sup>[1]</sup>. Außerdem mehren sich die Hinweise, daß der durch Insulin ausgelöste intrazelluläre Signaltransfer durch Verbindungen erfolgt, welche strukturell mit Glycosylphosphatidylinositen verwandt sind<sup>[1,5]</sup>. Somit gewinnt auch der GPI-Anker selbst – oder Teilstrukturen daraus – Bedeutung als Mediator von regulatorischen Prozessen. Dadurch wird die chemische Synthese von struktureinheitlichen GPI-Ankern und von Derivaten für biologische Untersuchungen zu einem wichtigen Anliegen. Die erforderliche Kombination aus Lipid-, Phosphat-, Kohlenhydrat- und gegebenenfalls Peptidchemie wurde für die Synthese von Teilstrukturen<sup>[16–23]</sup> sowie dem Diacylglycerin-ständigen GPI-Anker von *Trypanosoma cruzi*<sup>[24]</sup> erfolgreich eingesetzt. Wir berichten hier über ein variables Konzept für die erste Totalsynthese des Ceramid-ständigen GPI-Ankers 1 (Schema 2) aus Hefe (*Saccharomyces cerevisiae*).

Die von uns verfolgte Strategie zur Synthese von 1 ist konvergent und variabel. Das Gesamtmoletkül wurde durch Spaltung bei  $\textcircled{A}$  –  $\textcircled{C}$  in die Bausteine 2A – 2D zerlegt (Schema 2), die direkt oder nach strukturellen Modifikationen (insbesondere an O-3 und O-4 des Mannosebausteins c) in der Synthese ganz unterschiedlicher GPI-Anker vielseitig einsetzbar sein sollten. Die Effizienz dieser Strategie in der Synthese der Einzelbausteine und im Zusammenfügen zum Gesamtmoletkül soll dokumentiert werden. Dabei beruht die Bildung der wichtigen Glycosidbindungen auf hoch anomeraselektiven Reaktionen mit *O*-Glycosyltrichloracetimidaten als Glycosyldonoren<sup>[25]</sup> und die Phosphorylierung auf der Phosphitamid-Methode<sup>[22, 26]</sup>. Die Wahl der Schutzgruppen ermöglicht schließlich deren Abspaltung in zwei einfachen, mit hoher Ausbeute verlaufenden Reaktionsschritten.

Der Ceramidbaustein 2A mit Phytosphingosin als Stickstoffbase wurde ausgehend vom einfach erhältlichen Azidderivat 3<sup>[27]</sup>

hergestellt (Schema 3). Reaktion mit Dimethoxypropan in Gegenwart von *p*-Toluolsulfonsäure (*p*-TsOH) als Katalysator lieferte regioselektiv das 3,4-O-geschützte Derivat; Azidreduktion nach Staudinger et al.<sup>[28]</sup> und N-Acylierung mit Cerotinsäure (Hexacosansäure) in Gegenwart von 2-Ethoxy-1-ethoxycarbonyl-1,2-dihydrochinolin (EEDQ) als Kondensationsmittel lieferte das 1-O-ungeschützte Ceramid 4 in hoher Gesamtausbeute. Durch Umsetzung mit dem difunktionellen Phosphitylierungsreagens Cyanethoxybis(diisopropylamino)phosphan in Gegenwart von Tetrazol als Aktivator wurde der gewünschte Baustein 2A (Tabelle 1) erhalten.



Schema 3. Synthese von 2A.

Für die Synthese des  $\alpha$ -Glucosaminyl-(1-4)inositol-Bausteins 2B wurden das einfach erhältliche Trichloracetimidat 5<sup>[29]</sup> und das D-*myo*-Inositol-Derivat 6<sup>[22]</sup>, für das eine ergiebige Synthese entwickelt werden konnte<sup>[30]</sup>, als Edukte eingesetzt (Schema 4). Die 6-O-Glycosylierung von 6 als Acceptor mit 5 als Glycosyldonor führte in Ether als Lösungsmittel bei Raumtemperatur in Gegenwart von Trifluormethansulfonsäuretrimethylsilylester (TMSOTf) als Katalysator ausschließlich und in hoher Ausbeute zum  $\alpha$ -verknüpften Produkt 7. Durch die Wahl der Schutzgruppen an den Edukten und der Reaktionsbedingungen

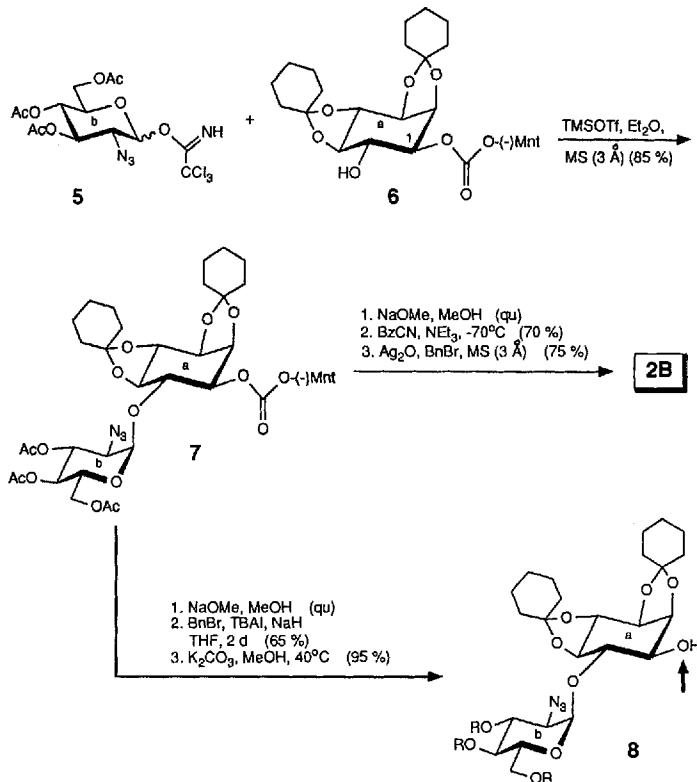
Tabelle 1. Ausgewählte physikalische Daten von **2A**, **7**, **2B**, **13**, **14**, **2C**, **16**, **17**, **18**, **20** und **1** [a].

<b>2A:</b> $\delta_{\text{H}}$ (250 MHz) = 0.82–0.87 (t, $J$ = 6.3 Hz, 6H, 2 CH <sub>3</sub> ), 1.12–1.66 (m, 90H, 2 CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> , C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> , 36 CH <sub>2</sub> ), 2.07–2.16 (m, 2H, CH <sub>2</sub> -CO), 2.58–2.64 (t, $J$ = 6.3 Hz, 2H, CH <sub>2</sub> CN), 3.50–4.18 (m, 9H, CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CN, 2 $\times$ 1-H, 2-H, 3-H, 4-H, 2 $\times$ CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ), 5.84–5.88 (d, $J$ (2-H,NH) = 9.0 Hz, 1H, NH); $\delta_{\text{P}}$ (161.7 MHz) = 148.57, 148.67 (10:7)
<b>7:</b> $\delta_{\text{H}}$ (250 MHz) = 3.37 (dd, $J$ = 3.6, 10.6 Hz, 2b-H), 4.93 (dd, $J$ = 3.9 Hz, 1a-H), 5.38 (d, $J$ = 3.6 Hz, 1b-H)
<b>2B:</b> $\delta_{\text{H}}$ (400 MHz) = 3.27 (dd, $J$ = 3.7, 10.3 Hz, 2b-H), 4.51 (dd, $J$ = 4.2, 6.6 Hz, 2a-H), 4.91 (dd, $J$ = 2.9 Hz, 1a-H), 5.24 (d, $J$ = 3.7 Hz, 1b-H)
<b>13:</b> $\delta_{\text{H}}$ (250 MHz) = 4.86 (d, $J$ = 1.8 Hz, 1c-H), 4.95 (d, $J$ = 1.7 Hz, 1d-H), 5.47 (dd, $J$ = 1.9, 2.9 Hz, 2d-H)
<b>14:</b> $\delta_{\text{H}}$ (250 MHz) = 4.78 (d, $J$ = 1.2 Hz, 1c-H), 4.86 (d, $J$ < 1 Hz, 1d-H), 5.22 (d, $J$ < 1 Hz, 1e-H), 5.53 (dd, $J$ < 1 Hz, 2e-H)
<b>2C:</b> $\delta_{\text{H}}$ (250 MHz) = 4.85 (d, $J$ < 1 Hz, 1d-H), 5.09 (d, $J$ < 1 Hz, 1f-H), 5.37 (d, $J$ < 1 Hz, 1e-H), 5.48 (dd, $J$ = 2.9 Hz, 2c-H), 5.58 (dd, $J$ < 1 Hz, 2f-H), 6.14 (d, $J$ = 1.4 Hz, 1c-H), 8.63 (s, NH)
<b>16:</b> $\delta_{\text{H}}$ (250 MHz, CDCl <sub>3</sub> /CD <sub>3</sub> OD/D <sub>2</sub> O (9/7/1), CHCl <sub>3</sub> , als interner Standard ( $\delta$ = 7.23)) = 2.86 (dd, $J$ = 4.0, 9.2 Hz, 2b-H), 5.19 (d, $J$ = 3.9 Hz, 1b-H); $\delta_{\text{P}}$ (161.7 MHz, CDCl <sub>3</sub> /CD <sub>3</sub> OD/D <sub>2</sub> O (9/7/1)) = 0.989; FAB-MS (Matrix: Glycerin/3-Nitrobenzylalkohol (1/1), Positiv-Ionen-Modus): $m/z$ (%): 1100 (42) [ $M^+ + \text{H}^+$ ], 678 (100), 422 (64)
<b>17:</b> $\delta_{\text{H}}$ (400 MHz) = 4.58 (s, 1d-H), 4.96 (s, 1a-H), 5.09 (s, 1f-H), 5.30 (d, $J$ = 2.9 Hz, 1b-H), 5.36 (s, 1e-H), 5.41 (d, $J$ < 1 Hz, 1c-H), 5.53 (br. s, 2c-H), 5.58 (br. s, 2f-H); $\delta_{\text{C}}$ (100.4 MHz) = 96.55 ( $J(\text{C},\text{H})$ = 177.30 Hz, C-1b), 99.22 ( $J(\text{C},\text{H})$ = 170.86 Hz, C-1d), 99.60 ( $J(\text{C},\text{H})$ = 175.69 Hz, C-1c), 110.12 ( $J(\text{C},\text{H})$ = 172.74 Hz, C-1f), 100.24 ( $J(\text{C},\text{H})$ = 169.51 Hz, C-1c)
<b>18:</b> $\delta_{\text{H}}$ (250 MHz) = 3.31 (dd, $J$ = 3.5, 9.5 Hz, 2b-H), 4.92, 5.10, 5.21, 5.29 (alle br. s, 1c, d, e, f-H), 5.14 (dd, $J$ = 3.6 Hz, 1a-H), 5.26 (d, $J$ = 3.5 Hz, 1b-H)
<b>20:</b> $\delta_{\text{H}}$ (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> /CD <sub>3</sub> OD (3/1)) = 4.71, 4.93, 5.02, 5.13 (s, br. s, br. s, s, 1c, d, e, f-H), 5.48 (d, $J$ $\approx$ 3 Hz, 1b-H); $\delta_{\text{P}}$ (161.7 MHz, CDCl <sub>3</sub> /CD <sub>3</sub> OD (3/1)) = $\sim$ 0.356, $\sim$ 3.895 (8:10). FAB-MS (Matrix: 3-Nitrobenzylalkohol mit NaI, Negativ-Ionen-Modus): $m/z$ (%): 3664 (46) [ $M^{2-} + \text{Na}^+$ ], 3514 (100) [ $M^{2-} + \text{Na}^+$ ], 1137 (90)
1: $\delta_{\text{H}}$ (250 MHz, [D <sub>6</sub> ]DMSO/D <sub>2</sub> O (40/1), $T$ = 60 °C) = 4.86, 4.91, 5.02, 5.16 (d, $J$ < 1 Hz, s, s, d, $J$ < 1 Hz, 1c, d, e, f-H), 5.42 (d, $J$ $\approx$ 3 Hz, 1b-H); $\delta_{\text{P}}$ (161.7 MHz, [D <sub>6</sub> ]DMSO/D <sub>2</sub> O (40/1), $T$ = 60 °C) = 0.788, 1.407 (84:100); FAB-MS (Matrix: Glycerin/3-Nitrobenzylalkohol (1/1), Positiv-Ionen-Modus): $m/z$ : 1872 [ $M + \text{H}^+$ ]; Negativ-Ionen-Modus: $m/z$ : 1868 [ $M^{2-} + \text{H}^+$ ]

[a] <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C- und <sup>31</sup>P-NMR-Spektren in CDCl<sub>3</sub>, sofern nicht anders verzeichnet.

konnten somit frühere unbefriedigende  $\alpha$ -Selektivitäten und/oder Ausbeuten bei der Knüpfung dieser Bindung<sup>[16–21, 24]</sup> überwunden werden. Selektive Abspaltung der Acetylshutzgruppen mit NaOMe/MeOH, O-Benzylierung mit NaH/Benzylbromid in Gegenwart von Tetra-n-butylammoniumiodid (TBAI) und Abspaltung des Carbonatrestes mit K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>/MeOH bei erhöhter Temperatur lieferten die 1a-O-ungeschützte Verbindung **8**. Für die Synthese des Bausteins **2B** wurde zuerst ebenfalls selektiv desacyliert. Dann wurde mit Benzoylcyanid bei  $-70^\circ\text{C}$  regioselektiv 6b-O-benzoyliert und anschließend mit Benzylbromid in Gegenwart von Ag<sub>2</sub>O regioselektiv 3b-O-benzyliert. Dadurch konnte der 4b-O-ungeschützte Acceptor **2B** ohne komplexe Schutzgruppenmanipulation direkt aus **7** in guter Gesamtausbeute erhalten werden. Die Struktur von **2B** wurde durch <sup>1</sup>H-NMR-Daten gesichert (Tabelle 1).

Die Synthese des Tetramannose-Bausteins **2C** wurde auf dem Orthoester **9** aufgebaut (Schema 5), der einfach aus D-Mannose zugänglich ist<sup>[3,11]</sup>. Durch die Reaktionsfolge Benzylierung mit Benzylbromid/NaH, Öffnung des Orthoesters mit Eisessig, Acetylierung, selektive 1-O-Desacetylierung mit Ammoniumcarbonat in Dimethylformamid (DMF) und Umwandlung in das Trichloracetimidat mit Trichloracetonitril in Gegenwart von Diazabicycloundecan (DBU) als Base wird der erste Monomerbaustein (**10**) erhalten; **10** begünstigt durch die 2-O-Acetylgruppe  $\alpha$ -selektive Glycosylierungen und enthält zugleich das Schutzgruppenmuster für die Monomerbausteine d und f von

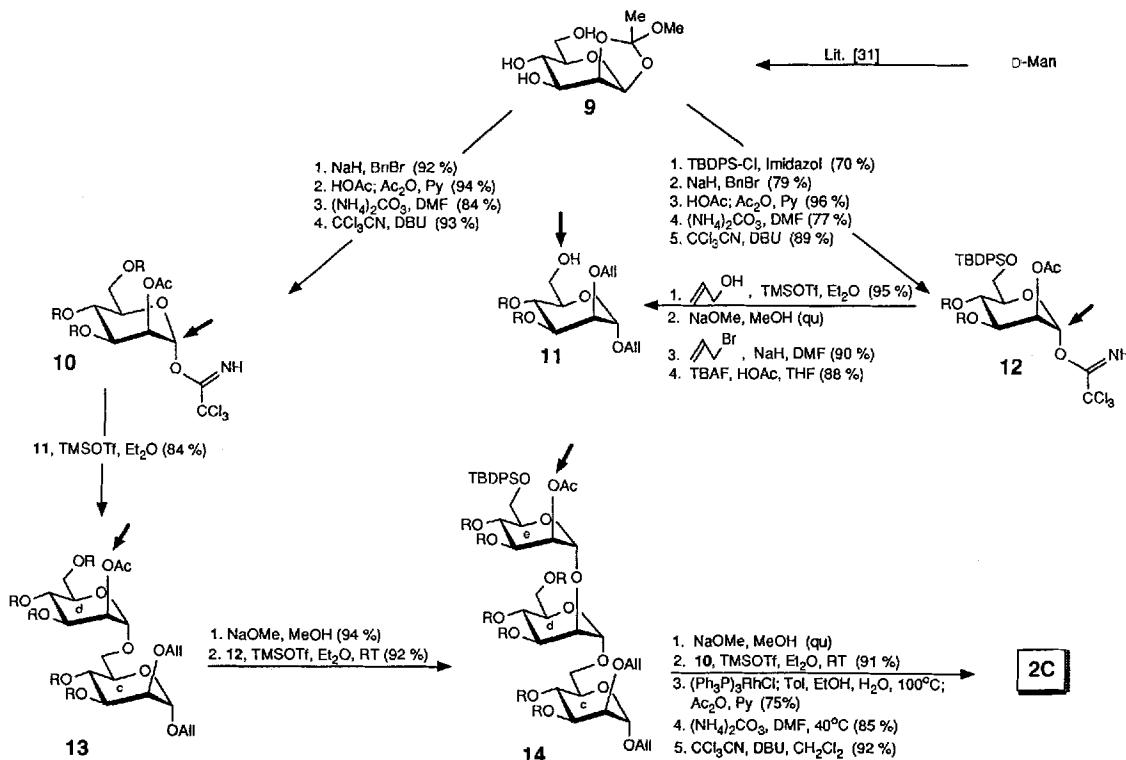


Schema 4. Synthese von **2B** und **8**. MS = Molekularsieb, qu = quantitativ, R = Ac, Mnt = Menthyl.

**2C** (siehe Schema 2). Durch regioselektive 6-O-Silylierung von **9** mit *tert*-Butyldiphenylsilylchlorid (TBDPS-Cl) in Gegenwart von Imidazol, Benzylierung, Öffnung des Orthoesters, Acetylierung, selektive 1-O-Desacetylierung und Umwandlung in das Trichloracetimidat wurde der c-Monomerbaustein **12** und daraus durch einfache Folgereaktionen der c-Monomerbaustein des Tetrasaccharids **2C** erhalten. Dazu wurde aus **12** mit Allylalkohol unter Standardbedingungen das Allyl- $\alpha$ -glycosid nahezu quantitativ erzeugt; durch Abspaltung der 2-O-Acetylgruppe, 2-O-Allylierung mit Allylbromid/NaH in DMF und Entfernung der 6-O-Silylgruppe mit TBAF in Eisessig/THF wurde das 6-O-ungeschützte Derivat **11** hergestellt.

Reaktion des Mannosyldonors **10** mit **11** als Acceptor in Ether bei Raumtemperatur und mit TMSOTf als Katalysator lieferte das  $\alpha$ (1-6)-verknüpfte Disaccharid **13** in hoher Ausbeute. Abspaltung der 2d-O-Acetylgruppe mit NaOMe/MeOH und Glycosylierung mit dem Mannosyldonor **12** unter den gleichen Bedingungen führte zum  $\alpha$ (1-2)- $\alpha$ (1-6)-verknüpften Trisaccharid **14**, wiederum in hoher Ausbeute. Abspaltung der 2e-O-Acetylgruppe und Glycosylierung mit dem Mannosyldonor **10** unter den bekannten Bedingungen lieferte das erwünschte  $\alpha$ (1-2)- $\alpha$ (1-2)- $\alpha$ (1-6)-verknüpfte Tetrasaccharid nahezu quantitativ. Anschließend wurden die 1c- und 2c-O-Allylgruppen durch Behandeln mit dem Wilkinson-Katalysator und Hydrolyse entfernt und die Hydroxygruppen mit Acetanhydrid/Pyridin acetyliert. Regioselektive Abspaltung der 1c-O-Acetylgruppe und Umwandlung in das Trichloracetimidat lieferten den Baustein **2C**; dieser wurde somit, ausgehend von den Mannosebausteinen **10**–**12**  $\alpha$ -spezifisch in hoher Gesamtausbeute erhalten. Die Struktur von **2C** wurde durch <sup>1</sup>H-NMR-Daten gesichert (Tabelle 1).

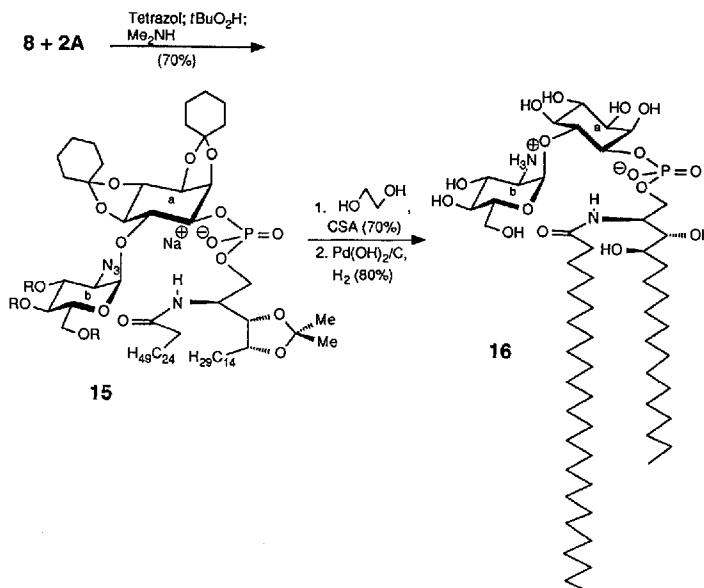
Der N-Benzylloxycarbonyl(Z)-geschützte Aminoethylphosphit-Baustein **2D** wurde auf literaturbekannter Weise hergestellt<sup>[24]</sup>.

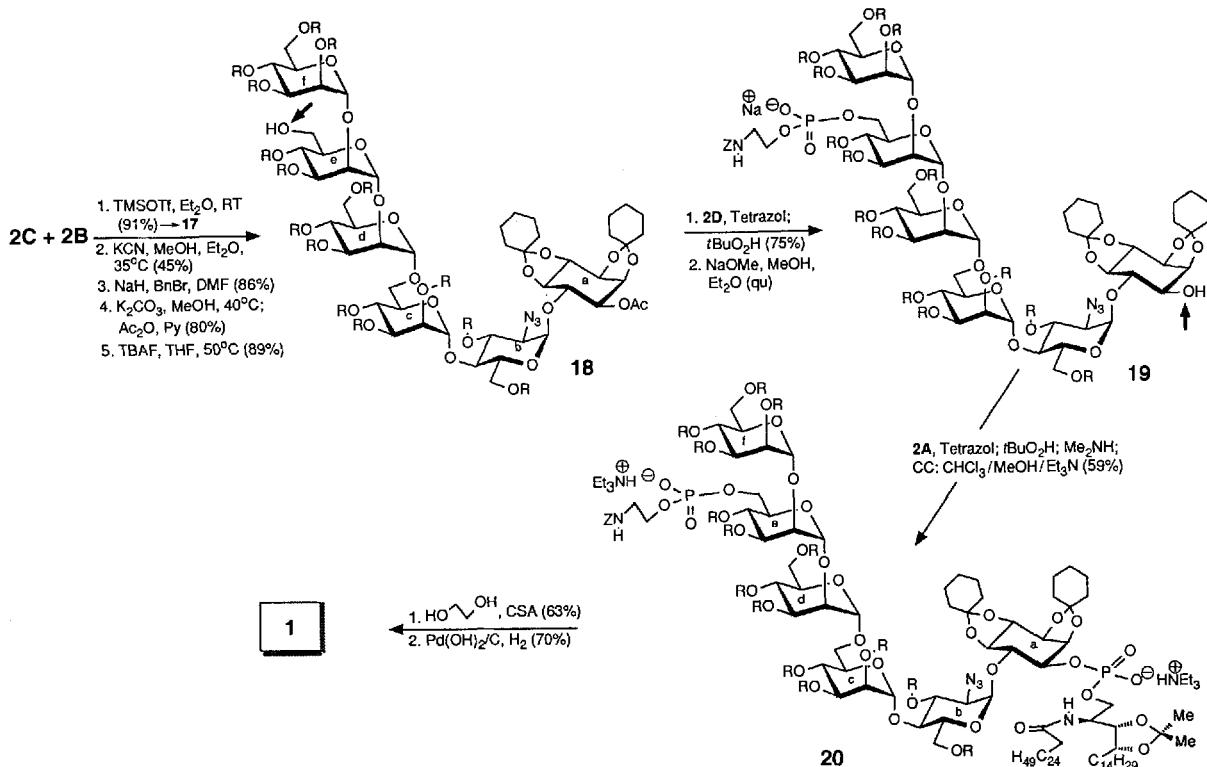
Schema 5. Synthese von **2C**. RT = Raumtemperatur, All = Allyl, R = Ac.

Zur Erprobung der Gesamtsynthesestrategie, bei der die Verknüpfung des **2DBC**-Teils mit dem **2A**-Teil im letzten Schritt vorgesehen war, wurde zunächst der Baustein **8** mit dem Ceramidphosphit **2A** verbunden (Schema 6). Die erforderliche Phosphitdiesterbildung wurde durch Aktivierung mit Tetrazol erreicht; anschließende Oxidation mit *tert*-Butylhydroperoxid zum Phosphat und Abspaltung der Cyanethylgruppe durch Behandeln mit Dimethylamin lieferte das Ceramid-1-phosphat **15** in 70% Gesamtausbeute. Camphersulfonsäure(CSA)-katalysierte Abspaltung der *O*-Cyclohexyliden- und *O*-Isopropylidengrup-

pen in Gegenwart von Glycol und anschließende gleichzeitige Hydrogenolyse der Benzylgruppen und der Azidgruppe liefern problemlos das GPI-Derivat **16**, das NMR-spektroskopisch und massenspektrometrisch charakterisiert wurde (Tabelle 1).

Durch dieses Ergebnis ermutigt, wurde die Synthese von **1** in Angriff genommen (Schema 7). Zuerst wurde der Glycosyldonor **2C** mit dem Acceptor **2B** in Ether bei Raumtemperatur in Gegenwart von TMSOTf als Katalysator umgesetzt ( $\rightarrow$  **17**) und dabei  $\alpha$ -selektiv die (1-4)-Verknüpfung zwischen diesen beiden Bausteinen in hoher Ausbeute erreicht. Die  $\alpha$ -Verknüpfungen folgen aus den C-H-Kopplungskonstanten (INEPT):  $169.51 > J_{C,H} > 177.30$  Hz. Anschließend wurden alle Acylgruppen mit KCN als Base abgespalten und die freien Hydroxygruppen mit Benzylbromid und NaH benzyliert. Als nächstes wurde die 1a-Carbonatgruppe abgespalten und die 1a-OH-Gruppe acetyliert. Erst dann wurde mit TBAF in THF die 6e-OH-Gruppe freigesetzt und damit der Baustein **18** gewonnen, der für die Umsetzung mit **2D** eingesetzt wurde. Durch Aktivierung von **2D** mit Tetrazol und Oxidation des Kondensationsproduktes mit *tert*-Butylhydroperoxid wurde der Z-geschützte Aminoethylphosphat-Rest in die 6e-O-Position von **18** in 75% Ausbeute eingeführt. Abspaltung der Cyanethylgruppe und der 1a-O-Acetylgruppe lieferte den Baustein **19**, der nun, wie für die Synthese von **16** beschrieben, zu **1** umgesetzt wurde. Die Verknüpfung mit **2A** erfolgte unter Aktivierung durch Tetrazol, Oxidation und Abspaltung der Cyanethylgruppe mit Dimethylamin. Das Produkt wurde säulenchromatographisch (CC) mit  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{Et}_3\text{N}$  (100/3/1) gereinigt, als Bis(triethylammonium)salz **20** isoliert und dann durch NMR- ( $^1\text{H}$ ,  $^{31}\text{P}$ ) und MS-Daten strukturell gesichert (Tabelle 1). Gleichzeitige Abspaltung der *O*-Isopropyliden- und *O*-Cyclohexylidengruppen mit Glycol in Gegenwart von CSA als Katalysator sowie Hydrogenolyse der Z-Gruppe, der O-Benzylschutzgruppen und der Azidgruppe liefern den erwünschten GPI-Anker **1** (10 mg), der durch NMR- und MS-Daten charakterisiert werden konnte (Tabelle 1).

Schema 6. Verknüpfung von **8** mit **2A**. R = Ac.



Schema 7. Totalsynthese von 1. R = Ac.

Die einfache Zugänglichkeit aller Ausgangsverbindungen, die erzielten hohen Regio- und Diastereoselektivitäten sowie Ausbeuten in allen Reaktionsschritten und die einfache Schutzgruppenabspaltung bilden eine ausgezeichnete Basis für weitere erfolgreiche chemische Synthesen auf diesem Gebiet.

Eingegangen am 28. Juni 1994 [Z 7079]

- [1] M. A. J. Ferguson, A. F. Williams, *Annu. Rev. Biochem.* **1988**, *57*, 285–320; G. A. M. Cross, *Annu. Rev. Cell Biol.* **1990**, *6*, 1–39; R. Thomas, R. A. Dwek, T. W. Rademacher, *Biochemistry* **1990**, *29*, 5413–5422; M. C. Field, *Glycoconjugate J.* **1992**, *9*, 155–159; A. M. Tartakoff, N. Singh, *Trends Biochem. Sci.* **1992**, *17*, 470–473.
- [2] M. A. J. Ferguson, K. Haldar, G. M. A. Cross, *J. Biol. Chem.* **1985**, *260*, 4963–4968.
- [3] S. W. Homans, M. A. J. Ferguson, A. F. Williams, *Nature* **1988**, *333*, 269–272.
- [4] P. Schneider, M. A. J. Ferguson, S. W. Homans, *J. Biol. Chem.* **1990**, *265*, 16955–16964.
- [5] M. L. Günther, M. A. J. Ferguson, *J. Biol. Chem.* **1992**, *267*, 6820–6828.
- [6] M. A. Deeg, D. R. Humphrey, S. M. Yang, *J. Biol. Chem.* **1992**, *267*, 18573–18580.
- [7] M. A. J. Ferguson, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1991**, *1*, 522–529.
- [8] M. A. J. Ferguson, G. A. M. Cross, *J. Biol. Chem.* **1985**, *260*, 14547–14555.
- [9] M. C. Field, G. A. M. Cross, *J. Biol. Chem.* **1991**, *266*, 8392–8400.
- [10] W. L. Roberts, T. L. Rosenberry, *J. Biol. Chem.* **1988**, *263*, 18776–18784.
- [11] C. A. Luhrs, B. C. Slomiany, *J. Biol. Chem.* **1989**, *264*, 21446–21449.
- [12] P. Butikofer, F. A. Knijpers, C. Shackleton, *J. Biol. Chem.* **1990**, *265*, 18983–18987.
- [13] A. Conzelmann, A. Puoti, R. L. Lester, C. Desponds, *EMBO J.* **1992**, *11*, 457–466; C. Fankhauser, S. W. Homans, J. E. Thomas-Oates, M. J. McConville, C. Desponds, A. Conzelmann, M. A. J. Ferguson, *J. Biol. Chem.* **1993**, *268*, 26365–26374.
- [14] Ein Ceramid-Anker wurde auch beim *D.-discoidineum*-„Contactside-A“-Protein gefunden: J. Stadler, G. Bauer, *EMBO J.* **1989**, *8*, 371–377.
- [15] A. R. Saltiel, J. A. Fox, P. Sherline, P. Cuatrecasas, *Science* **1986**, *233*, 967–972; G. Romero, L. Luttrell, A. Rogol, K. Zeller, E. Hewlett, J. Larner, *ibid.* **1988**, *240*, 509–511; H.-N. Caro, M. Martin-Lomas, M. Bernabé, *Carbohydr. Res.* **1993**, *240*, 119–131.
- [16] C. Murakata, T. Ogawa, *Carbohydr. Res.* **1992**, *234*, 75–91.
- [17] D. R. Mootoo, P. Konradsson, B. Fraser-Reid, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 8540–8542; U. E. Uddong, R. Madsen, C. Roberts, B. Fraser-Reid, *ibid.* **1993**, *115*, 7886–7887.
- [18] R. Verduyn, C. J. J. Elie, C. E. Dreef, G. A. van der Marcl, J. H. van Boom, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1990**, *109*, 591–593.
- [19] R. Plourde, M. d'Alarcao, A. R. Saltiel, *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 2606–2610.
- [20] A. Zapata, M. Martin-Lomas, *Carbohydr. Res.* **1992**, *234*, 93–106.
- [21] S. V. Ley, L. L. Young, *Synlett* **1992**, 997–998; G. J. Boons, P. Grice, R. Leslie, S. V. Ley, L. L. Young, *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 8523–8526.
- [22] B. Kratzer, T. G. Mayer, R. R. Schmidt, *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 6881–6884.
- [23] A. Y. Frantova, A. E. Stepanov, A. S. Bushnev, E. N. Zvonkova, V. I. Slwets, *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 3539–3542.
- [24] C. Murakata, T. Ogawa, *Carbohydr. Res.* **1992**, *235*, 95–114.
- [25] R. R. Schmidt, *Angew. Chem.* **1986**, *98*, 213–236; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1986**, *25*, 212–235; R. R. Schmidt, W. Kinzy, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1994**, *50*, im Druck.
- [26] W. Bannwarth, V. Trzeciak, *Helv. Chim. Acta* **1987**, *70*, 175–186, zit. Lit.
- [27] R. R. Schmidt, T. Maier, *Carbohydr. Res.* **1988**, *174*, 169–179.
- [28] H. Staudinger, J. Meyer, *Helv. Chim. Acta* **1919**, *2*, 635–646; H. Staudinger, E. Hauser, *ibid.* **1921**, *4*, 861–886.
- [29] G. Grundler, R. R. Schmidt, *Liebigs Ann. Chem.* **1984**, 1826–1847; R. U. Lemieux, R. M. Ratcliffe, DOS 2816340 (19. Oktober 1975); *Chem. Abstr.* **1979**, *90*, 87846k.
- [30] Die Racemattrennung gelang durch einfache Kristallisation aus Petrolether (Sdp. 65°C).
- [31] T. G. Mayer, Diplomarbeit, Universität Konstanz, 1993.