

Schema 3. R = cHex₂N.

spektroskopische Kontrolle) das Phosphanyl(silyl)carben **1**, das ohne weitere Reinigung eingesetzt wurde.

3: 0.09 g (94 % Ausbeute), gelbes Öl; ³¹P{¹H}-NMR (C₆D₆): δ = 63.5; ¹³C{¹H}-NMR (C₆D₆): δ = 5.3 (d, ³J(P,C) = 3.7 Hz, CH₃Si), 8.0 (d, ¹J(P,C) = 125.7 Hz, P=C), 14.6 (s, P(CH₂)₃CH₃), 25.2 (d, ³J(P,C) = 18.5 Hz, P(CH₂)₂CH₂), 26.8 (s, NCCC), 28.1 und 28.3 (s, NCCC), 31.0 (d, ¹J(P,C) = 87.2 Hz, PCH₂), 35.6 und 36.4 (s, NCC), 56.8 (d, ²J(P,C) = 5.0 Hz, NC); Elementaranalyse (C₃₂H₆₃N₂SiP): gef. (ber.): C 72.25 (71.85), H 12.07 (11.87), N 5.04 (5.24).

4: 0.09 g (92 % Ausbeute), gelbes Öl; ³¹P{¹H}-NMR (C₆D₆): δ = 69.7; ¹³C{¹H}-NMR (C₆D₆): δ = 3.5 (d, ³J(P,C) = 2.6 Hz, CH₃Si), 9.2 (d, ¹J(P,C) = 127.6 Hz, P=C), 14.6 (s, P(CH₂)₃CH₃), 16.2 (d, ²J(P,C) = 1.8 Hz, =CCH₃), 25.7 (d, ³J(P,C) = 16.2 Hz, P(CH₂)₂CH₂), 27.1 (s, NCCCC), 27.7 (d, ²J(P,C) = 4.1 Hz, PCH₂CH₂), 28.5 und 28.6 (s, NCCC), 33.1 (d, ¹J(P,C) = 84.1 Hz, PCH₂), 36.9 (d, ³J(P,C) = 3.8 Hz, NCC), 37.3 (d, ³J(P,C) = 1.0 Hz, NCC), 57.2 (d, ²J(P,C) = 5.5 Hz, NC); Elementaranalyse (C₃₃H₆₅N₂SiP): gef. (ber.): C 71.95 (72.20), H 11.65 (11.93), N 5.24 (5.10).

5: 0.12 g (93 % Ausbeute), weiße Kristalle; Schmp. 185–186 °C; ³¹P{¹H}-NMR (C₆D₆): δ = 88.6 (d, ²J(P,P) = 183.5 Hz, (R₂N)₂P), 5.3 (d, Ph₂P); ¹³C{¹H}-NMR (C₆D₆): δ = 5.7 (d, ³J(P,C) = 2.9 Hz, CH₃Si), 12.0 (dd, ¹J(P,C) = 105.0, 21.9 Hz, P=C), 15.8 (s, P(CH₂)₃CH₃), 26.6 und 26.8 (s, NCCCC), 27.5, 27.7, 27.8 und 28.1 (s, NCCC), 28.9 (d, ³J(P,C) = 24.7 Hz, P(CH₂)₂CH₂), 35.6 (d, ³J(P,C) = 6.2 Hz, NCC), 36.2 (d, ³J(P,C) = 6.9 Hz, NCC), 36.7 und 37.2 (s, NCC), 38.0 (d, ¹J(P,C) = 93.1 Hz, PCH₂), 57.0 (d, ²J(P,C) = 4.1 Hz, NC), 57.3 (d, ²J(P,C) = 8.0 Hz, NC), 126.8 (s, C_p), 133.9 (d, ²J(P,C) = 18.9 Hz, C_d), 137.8 (s, C_m), 145.9 (dd, ¹J(P,C) = 12.2, ³J(P,C) = 8.8 Hz oder ¹J(P,C) = 8.8, ³J(P,C) = 12.2 Hz, C_i); Elementaranalyse (C₄₄H₇₂N₂SiP₂): gef. (ber.): C 73.60 (73.49), H 10.18 (10.09), N 4.05 (3.90).

Eingegangen am 23. September 1998 [Z12449]

International Edition: *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 678–680

Stichwörter:

Carbene • Lithium • Phosphor-Ylide

- [1] H.-J. Cristau, *Chem. Rev.* **1994**, *94*, 1299–1313.
- [2] T. Baumgartner, B. Schinkels, D. Gudat, M. Nieger, E. Niecke, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 12410–12411.
- [3] M. Schlosser, T. Kadibelban, G. Steinhoff, *Angew. Chem.* **1966**, *78*, 1018; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1966**, *5*, 968–969.
- [4] a) E. J. Corey, J. Kang, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 4724–4725; b) E. J. Corey, J. Kang, K. Kyler, *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 555–558.
- [5] H. J. Bestmann, M. Schmidt, *Angew. Chem.* **1987**, *99*, 64–65; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1987**, *26*, 79–81.
- [6] a) B. Schaub, T. Jenny, M. Schlosser, *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 4097–4100; b) B. Schaub, M. Schlosser, *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 1623–1626; c) O. I. Kolodiaznyi, *Russ. Chem. Rev.* **1997**, *66*, 225–254.
- [7] A. Igau, H. Grützmacher, A. Baceiredo, G. Bertrand, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 6463–6466.
- [8] a) K. Horchler von Locquenghien, A. Baceiredo, R. Boese, G. Bertrand, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 5062–5063; b) G. Alcaraz, R. Reed, A. Baceiredo, G. Bertrand, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1993**, 1354–1355; c) A. H. Cowley, F. P. Gabbaï, C. J. arrano, L. M. Mokry, M. R. Bond, G. Bertrand, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 584–586; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 578–580.

[9] Kristallstrukturanalyse von **2**: C₄₀H₇₈LiN₂O₂PSi, *M_r* = 685.04, triklin, Raumgruppe *P*ī, *a* = 10.789(2), *b* = 13.336(3), *c* = 15.667(3) Å, *α* = 88.88(2), *β* = 89.79(2), *γ* = 69.95(2)°, *Z* = 2, *V* = 2117.2(7) Å³, *ρ_{ber.}* = 1.075 Mg m⁻³, *F*(000) = 760, *λ* = 0.71073 Å, *T* = 173(2) K, *μ(Mo_{Kα})* = 0.126 mm⁻¹. Die Daten des in Öl eingebetteten, schockgefrorenen Kristalls (0.3 × 0.2 × 0.05 mm) wurden auf einem STOE-IPDS-Diffraktometer mit *φ*-Rotation (4° ≤ *θ* ≤ 43°) gesammelt. Von den 17411 gemessenen Reflexen sind 4506 unabhängig (*R*_{int} = 0.2344) und wurden zur Verfeinerung von 518 Parametern mit 288 Abstands- und ADP-Restraints verwendet, max/min Restelektronendichte 257/–334 e nm⁻³, *R*₁(*F* > 2*σ*(*F*)) = 0.0704 und *wR*₂ = 0.2353 (alle Daten) mit *R*₁ = $\sum |F_0 - F_c| / \sum |F_0|$ und *wR*₂ = $[\sum w(F_0^2 - F_c^2)^2 / \sum w(F_0^2)]^{1/2}$. Strukturlösung mit Direkten Methoden (SHELXS-97),^[13] Verfeinerung gegen *F*² (SHELXL-97).^[14] Die Positionen der Wasserstoffatome wurden geometrisch idealisiert und mit dem riding model verfeinert. Die kristallographischen Daten (ohne Strukturfaktoren) der in dieser Veröffentlichung beschriebenen Struktur wurden als „supplementary publication no. CCDC-103076“ beim Cambridge Crystallographic Data Centre hinterlegt. Kopien der Daten können kostenfrei bei folgender Adresse in Großbritannien angefordert werden: CCDC, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ (Fax: (+44) 1223-336-033; E-mail: deposit@ccdc.cam.ac.uk).

[10] a) A. W. Johnson in *Ylides and imines of phosphorus* (Hrsg.: A. W. Johnson), Wiley-Interscience, New York, **1993**; b) S. M. Bachrach, *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 4367–4373.

[11] a) P. von R. Schleyer, T. Clark, A. J. Kos, G. W. Spitznagel, C. Rohde, D. Arad, K. N. Houk, N. G. Rondan, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 6467–6475; b) B. Römer, G. G. Gater, M. Zhong, J. I. Brauman, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 2919–2924.

[12] a) R. S. McDowell, A. Streitwieser, Jr., *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 4047–4048; b) H. J. Bestmann, A. J. Kos, K. Witzgall, P. von R. Schleyer, *Chem. Ber.* **1986**, *119*, 1331–1349.

[13] G. M. Sheldrick, *Acta Crystallogr. Sect. A* **1990**, *46*, 467–473.

[14] SHELLXL, Programm zur Kristallstrukturverfeinerung, G. M. Sheldrick, Universität Göttingen, **1997**.

Eine glycosidische Bindung neuen Typs: ein offenketiges N-Acetylgalactosaminacetal, gebunden im Kernbereich der Lipopolysaccharide von *Proteus*- Mikroorganismen**

Evgeny Vinogradov und Klaus Bock*

Die Monosaccharide in Naturstoffen liegen gewöhnlich als cyclische Hemiacetale vor, wobei das exocyclische Sauerstoffatom die Verbindung zum Aglycon herstellt. Hier beschreiben wir die Identifizierung einer glycosidischen Bindung neuen Typs, die im Kernbereich der Lipopolysaccharide (LPS) zweier Serotypen der Gattung *Proteus* vorkommt. LPS ist ein Bestandteil der äußeren Membran von Gram-negativen Bakterien und umfaßt drei Bereiche: das O-Antigen,

[*] Prof. K. Bock, E. Vinogradov
Carlsberg Laboratory, Department of Chemistry
Gammel Carlsberg Vej 10, DK-2500 Copenhagen (Dänemark)
Fax: (+45) 3327-4708
E-mail: kbo@crc.dk

[**] Wir danken Prof. Dr. W. Kaca, Prof. Dr. Z. Sidorszky und Prof. Dr. A. Rozalski vom Institut für Mikrobiologie und Immunologie der Universität Lodz, Polen, und Prof. Dr. E. S. Stanislavsky vom I.-I.-Mechnikov-Institut für Impfstoffe und Sera, Russische Akademie der Medizinischen Wissenschaften, Moskau, Rußland, für die Bereitstellung der Bakterien sowie Dr. J. Ø. Duus für hilfreiche Diskussionen.

gen-Polysaccharid, das Lipid A und den Kern, der aus einem nichtrepetitiven Oligosaccharid besteht und das O-Antigen-Polysaccharid mit dem Lipid A verbindet.^[1] Normalerweise haben Kernpolysaccharide komplizierte Strukturen, die für jeden Bakterientyp ziemlich konserviert sind. Die biologischen Funktionen der spezifischen Kernstrukturen sind noch unbekannt. Bei einer Reihe von *Proteus*-Stämmen wurde über eine Teilstrukturanalyse der LPS-Kernregion berichtet.^[2-7]

Durch milde, saure Hydrolyse wurden die Kernoligosaccharide vom LPS abgetrennt und durch Gelchromatographie und Anionenaustauschchromatographie isoliert. Bei der Analyse der NMR-Spektren von Kernoligosacchariden der Serotypen *Proteus mirabilis* O27 und *Proteus vulgaris* OX2 erkannten wir Spinsysteme von 2-Aminoaldosen (die Einheiten L und L'; die Bezeichnungen sind willkürlich) mit einem ungewöhnlichen Kopplungsmuster (Tabelle 1). Die

Tabelle 1. ^1H -NMR-Daten.^[a]

Einheit, Verbindung	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6a	H-6b
S, 1	4.58	3.40	3.49	3.39	3.42	3.94	3.69
S, Kern O27	4.52	3.28	3.44	3.32	3.41	3.89	3.62
S $J_{n,n+1}$ [Hz]	8	10	10	10	$J_{5,6b}$ 6	$J_{6a,6b}$ 12	$J_{5,6a}$ 2
Y, 2	4.48	3.52	3.64	3.89	3.58	3.64	3.64
Y, Kern OX2	4.42	3.50	3.63	3.89	3.57	3.74	3.74
Y $J_{n,n+1}$ [Hz]	8	10	3.5	ca. 0	—	—	—
L, 1	4.87	4.34	4.26	3.42	4.08	3.81	3.73
L, Kern O27	4.84	4.27	4.19	3.36	4.02	3.76	3.67
L, 2	4.87	4.44	4.28	3.67	4.00	3.80	3.66
L, Kern OX2	4.88	4.41	4.30	3.65	3.99	3.79	3.66
L, 3	4.89	4.36	4.12	3.36	3.93	3.66	3.66
L', Kern OX2	4.89	4.33	—	—	—	—	—
L $J_{n,n+1}$ [Hz]	5.5	1.5	10	2	$J_{5,6b}$ 6	$J_{6a,6b}$ 12	$J_{5,6a}$ 7
dM, 1	5.09	3.93	4.39	4.38	4.00	4.16	4.03
M, Kern O27	5.22	3.58	4.15	4.20	4.39	4.07	3.97
dM, 2	5.09	3.95	4.40	4.40	4.00	4.15	4.02
M, Kern OX2	5.13	3.30	3.99	4.20	4.38	4.09	3.98
dM, 3	5.09	3.94	4.41	4.40	4.01	4.16	4.03
dM $J_{n,n+1}$ [Hz]	3.5	8	—	—	$J_{5,6b}$ 2	$J_{6a,6b}$ 13	$J_{5,6a}$ < 1

[a] Interresidual-NOE: **1**: S1-L5s,6am, L1-dM4s,6bs; Kern O27: S1-L5s,6am, L1-M4s,5w,6aw,6bs; **2**: Y1-L1w,2m,3w,4s, L1-dM4s,6aw,6bs; Kern OX2: Y1-L4m, L1-M4s,6aw,6bs; **3**: L1-M4s,6aw,6bs.

Kopplungskonstanten entsprechen nicht den Werten, die gewöhnlich für Pyranosen in der Sesselkonformation oder Gleichgewichten hiervon registriert werden. Das Fehlen von tieffeldverschobenen Kohlenstoffsignalen (Tabelle 2) deutete darauf hin, daß die Zucker keine Furanosestrukturen aufweisen. Intramolekulare NOEs des Zuckerkrestes L, die entweder zwischen H1 und H3 oder H3 und H5 gemessen wurden, nicht jedoch zwischen H1 und H5, sind schwerlich durch eine Ringkonformation oder ein daraus abgeleitetes Gleichgewicht zu erklären. Die NOE-Daten ließen starke Korrelationen zwischen dem anomeren L1-Proton und den Protonen 4 und 6b des Galactosaminrestes M erkennen sowie zwischen L1 und M6a (Tabelle 1, Abbildung 1). Die ^{13}C -NMR-Signale für C4 und C6 des Galactosaminrestes M waren um $\Delta\delta \approx 6-7$ tieffeldverschoben gegenüber

Tabelle 2. ^{13}C -NMR-Daten.

Einheit, Verbindung	C1	C2	C3	C4	C5	C6
S, 1	102.8	73.9	76.2	70.4	76.2	61.7
S, Kern O27	102.9	73.7	75.9	70.1	76.0	61.7
Y, 2	103.6	71.4	73.1	69.0	75.5	61.3
Y, Kern OX2	103.5	71.3	73.0	68.9	75.4	61.3
L, 1	98.8	52.5	67.9	69.4	78.5	62.0
L, Kern O27	100.6	52.3	67.8	69.2	78.4	62.2
L, 2	99.1	51.8	67.6	77.1	69.8	62.6
L, Kern OX2	100.6	51.2	67.4	77.0	69.8	62.5
L, 3	99.0	52.3	68.4	69.7	70.1	63.6
L', Kern OX2	100.6	51.8	—	—	—	—
dM, 1	90.4	84.0	73.8	76.6	73.4	67.4
M, Kern O27	96.9	51.2	65.2	75.0	64.1	69.0
dM, 2	90.4	83.8	73.8	76.5	73.3	67.2
M, Kern OX2	99.6	51.0	67.2	75.3	64.0	69.0
dM, 3	90.5	84.0	73.8	76.5	73.3	67.2

entsprechenden Signalen eines unsubstituierten α -Galactosaminrests, während die Signale für C3 und C5 um $\Delta\delta = 3$ bzw. 8 hochfeldverschoben waren. Dies deutet auf eine gleichzeitige Substitution an O4 und O6 hin.

Fragmente, die den Zuckerrest L (Verbindung **1** vom Serotyp O27, Verbindungen **2** und **3** vom Serotyp OX2) enthalten, wurden nach der Desaminierung des Kernoligosaccharids mit Natriumnitrit in Essigsäure isoliert (Schema 1). MALDI-Massenspektren von **1** und **2** enthielten Signale für $[M+\text{H}]^+$ bei m/z 528.5 (schwach), $[M+\text{H}_2\text{O}+\text{H}]^+$ bei m/z 546.5 (stark) und $[M+\text{H}_2\text{O}+\text{Na}]^+$ bei m/z 568.4. Diese entsprechen Trisacchariden bestehend aus zwei Hexosen und einer Acetamidohexose und einer Aldehydgruppe der reduzierenden 2,5-Anhydrotalose (des Desaminierungsprodukts von Galactosamin), die überwiegend in der hydratisierten Form vorliegt.

Den NMR-Analysen von **1-3** zufolge enthalten sie alle das Fragment L (Tabellen 1 und 2). Alle Kopplungskonstanten und sonstigen Befunde aus den Spektren dieses Restes blieben unverändert gegenüber denen der ursprünglichen Kernoligosaccharide. In

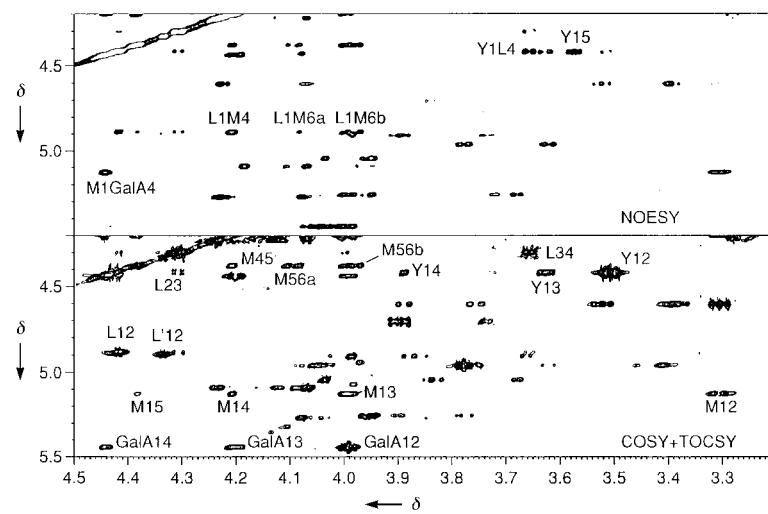
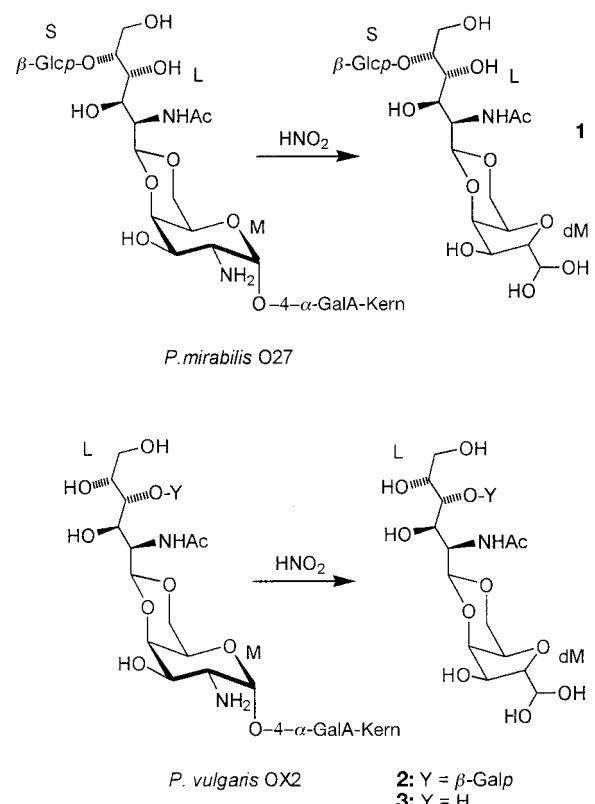
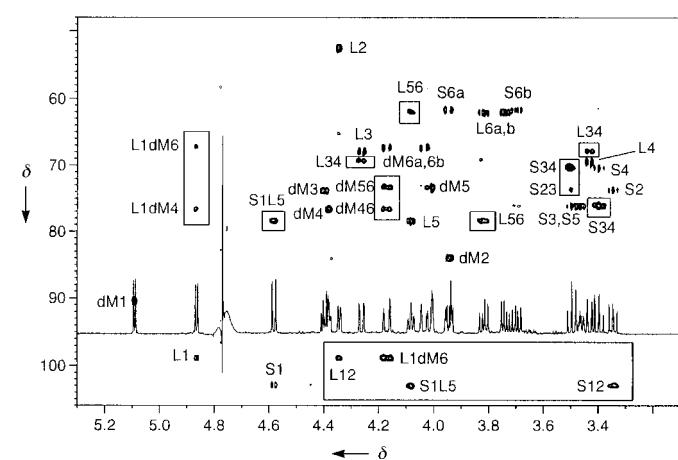


Abbildung 1. Ausschnitte aus den NOESY- (oben) und COSY+TOCSY-Spektren (unten) des Kernoligosaccharids von *P. vulgaris* OX2. Die Einheit L' ist ein unsubstituierter Rest, der nach der Desaminierung im Disaccharid **3** auftritt.



Schema 1.

HMBC-Spektren wurden Kreuzsignale von L1 mit dM4 sowie mit dM6 registriert (Abbildung 2). Aus den NOE- und HMBC-Spektren war zu entnehmen, daß der Rest L mit

Abbildung 2. Überlagerung der 1D- ^1H -, HSQC- und HMBC-Spektren (Signale in Kästchen) von **1**.

den Positionen 4 und 6 der 2,6-Anhydrotalose verknüpft ist. **1** enthält außerdem einen β -Glucopyranosylrest S, der den NOE- und HMBC-Spektren zufolge an O5 des Zuckerrestes L gebunden ist. Im Oligosaccharid **2** ist der Zuckerrest L an O4 mit einem β -Galactopyranosylrest Y glycosyliert, das Nebenprodukt **3** enthält nur die Zuckerreste L und dM.

Die Oligosaccharide **1–3** wurden hydrolysiert (4 M HCl, 100 °C, 4 h) und durch einen Aminosäureanalysator und GC

(als Alditolacetate) analysiert. In allen Fällen wurde sowohl Galactosamin als auch 2,6-Anhydrotalose und Glucose (bei **1**) oder Galactose (bei **2**) detektiert. Durch Methylierungsanalysen der Oligosaccharide **1–3** (nach Reduktion mit Natriumborhydrid) wurden die Produkte massenspektrometrisch (GC-MS-Kopplung) als Alditolacetate identifiziert, wodurch die vorgeschlagenen Strukturen bestätigt wurden.

Insgesamt weisen diese Ergebnisse auf eine glycosidische Struktur neuen Typs hin, in der ein offenkettiges *N*-Acetylgalactosamin als cyclisches Acetal an die Positionen 4 und 6 von Galactosamin (in der α -Pyranosid-Form) gebunden ist. NOE-Korrelationen zwischen den Protonen L1 und M4,6 deuten auf die axiale Orientierung des Protons L1 hin, folglich hat das Kohlenstoffatom L1 (*S*-Konfiguration). Um zu beweisen, daß diese Struktur kein Artefakt der LPS-Spaltung unter milden sauren Bedingungen ist, das während der Aufarbeitung entsteht, wurde LPS von *P. vulgaris* OX2 mit wasserfreiem Hydrazin desacytyliert und das Produkt NMR-spektroskopisch untersucht. Die Fragmente Y-L-M und L'-M wurden identifiziert; ihre Kopplungskonstanten und Substitutionsmuster glichen denen der beschriebenen Verbindungen, im Unterschied zu diesen fehlte aber die *N*-Acetylgruppe in L.

Die glycosidische Bindung neuen Typs – eine Verknüpfung über ein offenkettiges cyclisches Acetal – ist in chemischer Hinsicht keine Überraschung. Dennoch wurde diese Struktur bisher nicht in Naturstoffen registriert und noch nicht einmal als theoretische Möglichkeit diskutiert.^[8] Cyclische Acetale hingegen, die aus nicht zuckerartigen Oxoverbindungen wie Brenztraubensäure gebildet werden, sind häufig Bestandteile von bakteriellen Polysacchariden.^[1, 9] Die chemische Stabilität der Acetalbindung durch einen *N*-Acetylgalactosamin-Rest weicht unwe sentlich von der einer gewöhnlichen glycosidischen Bindung ab, da sie gegenüber essigsaurer Hydrolyse und Methylierungsanalyse stabil ist, aber unter den normalerweise bei der Monosaccharidanalyse angewendeten hydrolytischen Bedingungen (2 M HCl, 100 °C) gespalten werden kann. Deshalb ist es möglich, daß diese Verknüpfung in natürlichen Poly- und Oligosacchariden häufiger vorkommt, jedoch nicht detektiert wird, da die übliche Analyse des *Proteus*-Serotyp-O27-Kerns (Monosaccharidanalyse, Methylierung, Massenspektrometrie) zur Identifizierung von terminaler Glucose, terminalem *N*-Acetylgalactosamin und 4,6-disubstituiertem Galactosamin führen würde statt zum hier beschriebenen Strukturelement. Wir schlagen vor, zur Kennzeichnung dieses Zuckertyps in abgekürzten Formeln das Symbol „o“ (für „open“) zu verwenden. Dementsprechend könnte die Formel des Disaccharids **3** als (1*S*)-GaloNAc-(1 → 4,6)-2,5-anh-Tal geschrieben werden. Über eine detaillierte Analyse der LPS-Kernstrukturen wird an anderer Stelle berichtet.

Experimentelles

Die Züchtung der Bakterienstämme und die Isolierung der Lipopolysaccharide erfolgten wie bereits beschrieben.^[10, 11]

NMR-Spektroskopie und generelle Methoden: ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren wurden mit einem Bruker-AMX-600-Spektrometer in D_2O bei 25 °C mit Aceton als Standard ($\delta = 2.225$ für ^1H , $\delta = 31.5$ für ^{13}C) aufgenommen unter Verwendung von Standardpulssequenzen. NOESY-Spektren wurden

von den Kernoligosacchariden aufgenommen und ROESY-Spektren (Mischzeit 250 ms) von **1–3**. Für die Zuordnung der NMR-Signale wurde das Programm Pronto^[12] verwendet. NMR-Messungen, GC-, GC-MS-, Methylierungs- und Monosaccharidanalysen wurden wie bereits beschrieben durchgeführt.^[13, 14]

Herstellung der Kernoligosaccharide und der Oligosaccharide **1–3**: LPS der Serotypen O27 und OX2 (je 200 mg) wurden mit 2proz. Essigsäure (100°C, 5 h) hydrolysiert. Der erhaltene Niederschlag wurde durch Zentrifugieren entfernt und der Überstand auf einer Sephadex-G50-SF-Säule (Pharmacia; 2.5 × 80; Detektion mit einem Waters-Differentialrefraktometer) unter Verwendung von Pyridin-Essigsäure-Puffer (4 bzw. 10 mL in 1 L Wasser) aufgetrennt. Die Kernfraktionen wurden auf einer TSK-DEAE-Säule (1.5 × 20 cm) in Wasser unter refraktometrischer Detektion weiter aufgetrennt und lieferten mehrere Unterfraktionen. Zur Analyse wurde die letzte eluierte Fraktion verwendet. Die Kernoligosaccharide (je 20 mg) wurden in Wasser gelöst (2 mL) und NaNO₂ (5 mg) und AcOH (30 µL) hinzugefügt. Nach 1 h bei 20°C wurden die Mischungen durch Gelfiltrationschromatographie über eine TSK-HW40(S)-Gel-Säule (Merck, 1.6 × 80 cm) entsalzt. Fraktionen, die die Oligosaccharide **1–3** enthielten (detektiert durch NMR), wurden durch aufsteigende Papierchromatographie (Whatman-Nr.-1-Papier) in Pyridin/Butanol/Essigsäure/Wasser (1/1/1/1) getrennt, wobei eine alkalische Silbernitratlösung zur Detektion verwendet wurde. Die Oligosaccharide **1–3** wurden mit Wasser vom Papier eluiert.

Eingegangen am 5. Oktober 1998 [Z12485]

International Edition: *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 671–674

Stichwörter: Glycoside • Kohlenhydrate • Naturstoffe • NMR-Spektroskopie

- [1] B. Lindberg, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1990**, *48*, 279–318.
- [2] J. Radziejewska-Lebrecht, H. Mayer, *Eur. J. Biochem.* **1989**, *183*, 573–581.
- [3] J. Radziejewska-Lebrecht, U. R. Bhat, H. Brade, H. Mayer, *Eur. J. Biochem.* **1988**, *172*, 535–541.
- [4] K. Kotelko, M. Deka, W. Gromska, W. Kaca, J. Radziejewska-Lebrecht, A. Rozalski, *Arch. Immunol. Ther. Exp.* **1983**, *31*, 619–624.
- [5] J. Radziejewska-Lebrecht, U. Feige, M. Jensen, K. Kotelko, H. Fribolin, H. Mayer, *Eur. J. Biochem.* **1980**, *107*, 31–38.
- [6] J. Boll, J. Radziejewska-Lebrecht, C. Warth, D. Krajewska-Pietrasik, H. Mayer, *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* **1994**, *8*, 329–342.
- [7] E. V. Vinogradov, J. Thomas-Oates, H. Brade, O. Holst, *J. Endotoxin Res.* **1994**, *1*, 199–206.
- [8] R. A. Laine, *Pure Appl. Chem.* **1997**, *69*, 1867–1873.
- [9] Y. A. Knirel, N. K. Kochetkov, *Biochemistry (Moscow)* **1994**, *59*, 1325–1383.
- [10] E. V. Vinogradov, W. Kaca, A. Rozalski, A. S. Shashkov, M. Cedzynski, Y. A. Knirel, N. K. Kochetkov, *Eur. J. Biochem.* **1991**, *200*, 195–201.
- [11] E. V. Vinogradov, D. Pietrasik, A. S. Shashkov, Y. A. Knirel, N. K. Kochetkov, *Bioorg. Khim.* **1988**, *14*, 1282–1286.
- [12] M. Kjaer, K. V. Andersen, F. M. Poulsen, *Methods Enzymol.* **1994**, *239*, 288–308.
- [13] E. V. Vinogradov, O. Holst, J. Thomas-Oates, K. W. Broady, H. Brade, *Eur. J. Biochem.* **1992**, *210*, 491–498.
- [14] E. V. Vinogradov, K. Bock, B. Petersen, O. Holst, H. Brade, *Eur. J. Biochem.* **1997**, *243*, 122–127.

Die gegensätzliche Orientierung der Rückgratneigung in Pyranosyl-RNA und homo-DNA korreliert mit einer entsprechend gegensätzlichen Orientierung von Duplexeigenschaften**

Ronald Micura, René Kudick, Stefan Pitsch und Albert Eschenmoser*

In früheren Veröffentlichungen über Pyranosyl-RNA (p-RNA)^[1] haben wir auf die besondere Bedeutung der Interstrang-Basenstapelung für die Eigenschaften dieses oligonukleotidischen Basenpaarungssystems hingewiesen. Zu den beeinflussten Eigenschaften gehören die Sequenzmotiv-abhängigkeit der Stabilität von p-RNA-Duplexen,^[1a,c,f] die Regioselektivität des Einflusses von überhängenden Basen („dangling ends“) auf die Duplexstabilität^[1d] sowie die Sequenzabhängigkeit der Effizienz und Selektivität matrizensteuerter Ligationen bei der Replikation^[1f] und der auto-katalytischen Oligomerisierung^[1e] von p-RNA-Basensequenzen. Die Dominanz der Interstrang- über die Intrastrang-Basenstapelung in diesem Paarungssystem ist die Folge der ausgeprägten Neigung der (approximierten) Rückgratachse relativ zu den Achsen der Watson-Crick-Basenpaare. Näheungsweise lässt sich eine solche Rückgratneigung leicht aus der idealisierten Paarungskonformation eines p-RNA-Stranges ablesen (Abbildung 1 a, b). Der Typ dieser Konformation ist konformationsanalytisch nach Kriterien der Spannungsminimierung hergeleitet^[1a] und durch die Ergebnisse einer NMR-Strukturanalyse am p-RNA-Duplex [pr(CGAATT-CG)]₂^[1c] belegt. Mit dieser Analyse stimmt eine auf Molekülmechanikberechnungen beruhende Modellierung des gleichen Duplex überein.^[1c] Danach ist die Interstrang-Basenstapelung zwischen Purinen sowie zwischen Purinen und Pyrimidinen, jedoch nicht zwischen Pyrimidinen^[1c] zu erwarten (Abbildung 1 c).

Nicht nur p-RNA, sondern auch die früher eingehend untersuchte homo-DNA^[2] ist ein Paarungssystem mit starker Rückgratneigung. Diese weist aber – wie die beiden idealisierten Paarungskonformationen der homo-DNA^[2a,c] in Abbildung 1 a, b zeigen – die umgekehrte Orientierung wie die p-RNA auf. Nach einer am homo-DNA-Duplex [ddGlc(A₅T₅)₂] durchgeföhrten NMR-Strukturanalyse^[2d] sollte zu-

[*] Prof. Dr. A. Eschenmoser, Dr. R. Micura, Dr. R. Kudick, Dr. S. Pitsch

Laboratorium für Organische Chemie der Eidgenössischen Technischen Hochschule Universitätstrasse 16, CH-8092 Zürich (Schweiz)
Fax: (+41) 1-632-1043

und
The Skaggs Institute for Chemical Biology at The Scripps Research Institute
10550 North Torrey Pines Road, La Jolla, CA 92037 (USA)

[**] Chemie der Pyranosyl-RNA, 8. Mitteilung; Chemie von α -Aminonitrilen, 24. Mitteilung. Diese Arbeit wurde von der Ciba-Geigy AG, Basel, der Leitung der ETH Zürich und der Skaggs Foundation am Scripps Research Institute unterstützt. Dr. H.-V. Hoppe, Dr. N. Windhab und Dr. C. Miculka, vormals Hoechst AG, Frankfurt, danken wir für die Überlassung von Zwischenprodukten. R.M. dankt dem Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung, Wien, für ein Schrödinger-Stipendium. – 7. bzw. 23. Mitteilung: Lit. [1e].