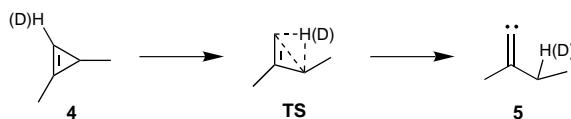


dings durch sekundäre Effekte erhöht wird. Für den spezifischen Ringöffnungsprozeß von 1,2-Dideuteriumcyclopropan, der ohne H(D)-Wanderung verläuft, ergeben Rechnungen einen Wert für den spezifischen sekundären Isotopeneffekt pro Deuteriumatom von  $\delta = 1.13 - 1.18$  bei 696 K.<sup>[22, 23]</sup> Basierend auf diesem analogen Beispiel, erscheint der hier gefundene Wert für einen sekundären Isotopeneffekt als zu groß. Dies deutet stark auf eine Beteiligung des 1-H(D)-Atoms im Übergangszustand (**TS**) der Reaktion bei der Ringöffnung von **4** hin.



Diese Ergebnisse stimmen mit der Cyclopropen-Vinylidene-Hypothese überein. Theoretische Rechnungen zum Isotopeneffekt wurden bisher noch nicht durchgeführt, sind jedoch in Planung. Obwohl ein Beitrag von 1,3-Diradikalen zur Bildung von Acetylenen aus Cyclopropenen nicht ganz ausgeschlossen werden kann, machen die hier vorgestellten Ergebnisse diese Möglichkeit recht unwahrscheinlich.

eingegangen am 27. Oktober 1998 [Z12572]

International Edition: *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 1128–1130

**Stichwörter:** Cyclopropene • Isotopeneffekte • Reaktionsmechanismen • Umlagerungen • Vinylidene

- [1] R. F. C. Brown, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1988**, *107*, 655–661.
- [2] R. P. Durán, V. T. Amorebieta, A. J. Colussi, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 3154–3155.
- [3] H. Hopf, G. Wachholz, R. Walsh, *Chem. Ber.* **1985**, *118*, 3579–3587.
- [4] R. Walsh, C. Wolf, S. Untiedt, A. de Meijere, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1992**, 421–422.
- [5] I. R. Likhotvorik, D. W. Brown, M. Jones, Jr., *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 6175–6178.
- [6] H. Hopf, A. Plagens, R. Walsh, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1994**, 1467–1468.
- [7] H. Hopf, A. Plagens, R. Walsh, *Liebigs Ann.* **1996**, 825–835.
- [8] H. Hopf, W. Graf von der Schulenburg, R. Walsh, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 415–417; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 381–383.
- [9] M. S. Baird, W. Nethercott, P. D. Slowey, *J. Chem. Res. (M)* **1985**, 3815–3829.
- [10] M. S. Baird, H. L. Fitton, W. Clegg, A. McCamley, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1993**, 321–326.
- [11] Die Substanzen wurden durch Massenspektrometrie sowie durch IR-, <sup>1</sup>H-NMR- und <sup>13</sup>C-NMR-Spektroskopie charakterisiert. Um Substanzerluste durch Oligomerisierung zu vermeiden, wurden die Substanzen bis kurz vor Beginn der Messungen bei tiefen Temperaturen ( $-26^{\circ}\text{C}$ ) aufbewahrt.
- [12] Die Durchführung der kinetischen Studien wurde bereits von uns beschrieben.<sup>[3, 4, 8, 13]</sup> Die Produktzusammensetzung wurde durch quantitative GC-Analyse bestimmt und mit bekannten Daten verglichen.<sup>[4, 8]</sup>
- [13] W. Graf von der Schulenburg, Diplomarbeit, Technische Universität Braunschweig, **1995**.
- [14] R. Freeman, H. D. W. Hill, R. Kaptein, *J. Magn. Reson.* **1972**, *7*, 327–329.
- [15] Die Signale der quartären <sup>13</sup>C-Atome wurden wie folgt zugeordnet: 2-Pentin **7**:  $\delta = 74.64$  (C-2), 80.68 (C-3), in Übereinstimmung mit Lit. [13]; 4-Methyl-2-pentin **10**:  $\delta = 74.53$  (C-2), 85.03 (C-3), in Übereinstimmung mit Lit. [5, 16].
- [16] B. J. Fahie, W. J. Leigh, *Can. J. Chem.* **1989**, *67*, 1859–1867.

- [17] J. Casanova, Jr., N. D. Werner, R. E. Schuster, *J. Org. Chem.* **1966**, *31*, 3473–3482.
- [18] Die Angleichung an die Daten basierte auf einem Vergleich der Bildungsgeschwindigkeiten aller Produkte mit den entsprechenden Vorhersagen des kinetischen Modells (unter Anwendung des Gear-Algorithmus) unter Beteiligung aller Teilreaktionen des Mechanismus. Die Geschwindigkeitskonstanten wurden so lange optimiert, bis eine minimale Abweichung zwischen experimentellen und modellierten Daten erhalten wurde. Speziell die Geschwindigkeitskonstanten der Reaktionen des Vinylidens wurden durch Analyse des entsprechenden stationären Zustandes erhalten, bei der die am besten angepaßten Geschwindigkeitskonstanten für die jeweiligen Edukt-Produkt-Reaktionsschritte mit den vorausgesagten (analytischen) Daten unter Beteiligung der partiellen Geschwindigkeitsfaktoren für jeden Reaktionsweg des Vinylidens verglichen werden.
- [19] K. A. Holbrook, M. J. Pilling, S. H. Robertson, *Unimolecular Reactions*, 2. Aufl., Wiley, New York, **1996**, Kap. 10.
- [20] A. T. Blades, *Can. J. Chem.* **1961**, *39*, 1401–1407.
- [21] B. S. Rabinovitch, P. W. Gilderson, A. T. Blades, *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, *86*, 2994–2996.
- [22] S. J. Getty, E. R. Davidson, W. T. Borden, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 2085–2093.
- [23] J. E. Baldwin, Y. Yamaguchi, H. F. Schaefer III, *J. Phys. Chem.* **1994**, *98*, 7513–7522.

## Die erste Totalsynthese des 6-Sulfo-de-N-acetylsialyl-Lewis<sup>x</sup>-Gangliosids: ein hervorragender Ligand für menschliches L-Selectin\*\*

Shiro Komba, Christine Galustian, Hideharu Ishida, Ten Feizi,\* Reiji Kannagi\* und Makoto Kiso\*

Die E-, P- und L-Selectine<sup>[1, 2]</sup> sind eine Familie kohlenhydratbindender Proteine, die man auf Leukozyten, Gefäßendothelzellen und Blutplättchen findet; sie vermitteln Zelladhäsion durch die Erkennung und Bindung zellspezifischer Oligosaccharid-Liganden einer Reihe von Glycokonjugaten wie Glycoproteinen, Glycolipiden und Glycosaminoglykanen.

[\*] Prof. T. Feizi, C. Galustian

The Glycosciences Laboratory, Imperial College School of Medicine Northwick Park Hospital

Watford Road, Harrow, Middx. HA1 3UJ (Großbritannien)

Dr. R. Kannagi

Program of Experimental Pathology, Aichi Cancer Center Research Institute, Nagoya 464-8681 (Japan)

Prof. M. Kiso, Dr. S. Komba,<sup>[+]</sup> Prof. H. Ishida

Department of Applied Bioorganic Chemistry, Gifu University Gifu 501-1193 (Japan)

Fax: (+81) 58-293-2840

E-mail: kiso@cc.gifu-u.ac.jp

[+] Gegenwärtige Adresse:

Carlsberg Laboratory, Department of Chemistry  
Gammel Carlsberg Vej 10, DK-2500 Valby (Dänemark)

[\*\*] Synthetic studies on sialoglycoconjugates, 109. Mitteilung. Diese Arbeit wurde vom japanischen Ministerium für Bildung, Wissenschaft und Kultur (Förder-Nr. 09240101, 10556026 und 10660107) unterstützt. Die Autoren danken Dr. Takao Ikami von Sanwa Kagaku Kenkyusho für die Durchführung der FAB-MS-Analysen. – 108. Mitteilung: X. Zhang, T. Kamiya, N. Otsubo, H. Ishida, M. Kiso, *J. Carbohydr. Chem.* **1999**, *18*, im Druck.

glycanen. Man nimmt heute allgemein an, daß alle drei Selectine Sialyl-Lewis<sup>x</sup> (sLe<sup>x</sup>), Sialyl-Lewis<sup>a</sup> (sLe<sup>a</sup>) und strukturell verwandte Lewis-Blutgruppen-Oligosaccharide binden können, die auf vielen Krebszellen gefunden wurden.<sup>[3]</sup> Man vermutet, daß die Selectin-Kohlenhydrat-Wechselwirkung an vielen physiologischen Ereignissen wie Leukocytenwanderung, Entzündung, Thrombose und Tumormetastasierung beteiligt sein kann. Dadurch sind Forschungsarbeiten angeregt worden, die die Entwicklung neuer synthetischer Kohlenhydrate und Kohlenhydrat-Mimetika zum Ziel haben, um so therapeutisch nutzbare Verbindungen gegen das Reperfusionssyndrom, chronische Entzündungserkrankungen, Allergien, Autoimmunkrankheiten und Krebs zu erhalten.<sup>[4]</sup> Es ist auch bekannt, daß L- und P-Selectin effizient an sulfatierte Kohlenhydrate wie Fucoidan, Sulfatide, sulfatierte Glucuronyl-Oligosaccharide, Heparin, Sulfo-Le<sup>x</sup> und Sulfo-Le<sup>a</sup> binden können.<sup>[1, 2, 5-7]</sup>

L-Selectin (Leukocyten-Endothelzellen-Adhäsionsmolekül 1) ist ein Lymphocytensständiger Rezeptor, der an der Bindung von Lymphocytens an die hohen endothelialen Venolen (HEV) in peripheren Lymphknoten beteiligt ist. Einer der komplementären Endothelrezeptoren für L-Selectin ist GlyCAM-1, ein Mucinähnliches Glycoprotein mit sulfatierten, sialylierten und fucosylierten Oligosaccharidsequenzen.<sup>[8, 9]</sup> Mit chemisch synthetisierten Gangliosiden<sup>[10a]</sup> haben wir gezeigt,<sup>[11]</sup> daß die sLe<sup>x</sup>-Sequenz mit einer 6-O-Sulfatierung am N-Acetylglucosamin (6-Sulfo-sLe<sup>x</sup>) der bevorzugte Ligand für menschliches L-Selectin ist. Außerdem reagierten Anti-Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-Antikörper, die an 6-Sulfo-sLe<sup>x</sup> binden, mit HEV in Lymphknoten und hemmten die Bindung von L-Selectin an HEV.<sup>[10b]</sup> Die 6-Sulfo-sLe<sup>x</sup>-Gruppe ist auch als wichtige Kohlenhydrat-Schutzgruppe des L-Selectin-Liganden in den HEV in menschlichen Lymphknoten identifiziert worden. Dies gelang mit neu gewonnenen monoklonalen Antikörpern, die gegen chemisch synthetisierte Sulfo-sLe<sup>x</sup>-Ganglioside und ihre Derivate gerichtet waren.<sup>[12]</sup> Im Verlauf der Untersuchungen mit den synthetischen Gangliosiden wurde eine neue De-N-acetylierte Variante von 6-Sulfo-sLe<sup>x</sup> als L-Selectin-Ligand identifiziert, die der N-Acetyl-Form von 6-Sulfo-sLe<sup>x</sup> überlegen war. Diese neue Verbindung wurde ursprünglich als unbedeutendes Nebenprodukt bei der Synthese des 6-Sulfo-sLe<sup>x</sup>-Hexasaccharid-Gangliosids beschrieben.<sup>[11]</sup> Um die außergewöhnliche Reaktivität dieser neuen Verbindung zu bestätigen, führten wir die erste gezielte Totalsynthese von 6-Sulfo-de-N-acetylsialyl-Lewis<sup>x</sup> 1 (spektroskopische und physikalische Daten siehe Tabelle 1) durch und untersuchten seine Bindung durch menschliches L-Selectin.

Die Hauptprobleme bei der Totalsynthese der Titelverbindung **1** sind a) der selektive Schutz der Aminogruppe von

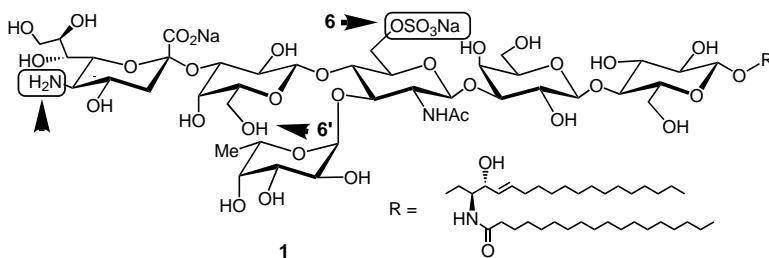


Tabelle 1. Ausgewählte spektroskopische und physikalische Daten von **4**, **7**, **10**, **14** und **1**.

4: <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 1.04 (m, 2H; CH<sub>2</sub>SiMe<sub>3</sub>), 1.99, 2.01, 2.12, 2.17 (4  $\times$  s, 12H; 4AcO), 2.74 (dd, 1H,  $J_{\text{gem}} = 13$ ,  $J_{\text{seq},4} = 4.6$  Hz; H-3b<sub>eq</sub>), 3.67 (s, 3H; COOMe), 4.44 (dd, 1H,  $J_{1,2} = 7.8$  Hz; H-1a), 4.97 (m, 1H,  $J_{\text{ax},4} = J_{4,5} = 10.5$  Hz; H-4b), 5.28 (dd, 1H,  $J_{6,7} = 2.1$ ,  $J_{7,8} = 8.9$  Hz; H-7b), 5.35 (s, 1H; CHPh), 5.42 (m, 1H; H-8b), 7.25–7.48 (m, 5H; Ph); <sup>19</sup>F-NMR (476.5 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  (relativ zu Fluorbenzol) = 37.03 (s, CF<sub>3</sub>CO);  $[\alpha]_D^{25} = -3.9^{\circ}$  ( $c = 1.3$  in CHCl<sub>3</sub>)

7: <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 1.00 (m, 2H; CH<sub>2</sub>SiMe<sub>3</sub>), 1.41, 1.48, 1.94, 2.00, 2.04, 2.06, 2.10, 2.18 (8  $\times$  s, 24H; 6AcO, AcN und AcCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.51 (m, 4H; AcCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.53 (dd, 1H, J<sub>gen</sub> = 13, J<sub>seq,4</sub> = 4.8 Hz; H-3e<sub>eq</sub>), 3.75 (s, 3H; MeOPh), 3.84 (s, 3H; COOME), 5.30 (dd, 1H, J<sub>1,2</sub> = 8.1, J<sub>2,3</sub> = 10 Hz; H-2d), 6.76–8.21 (m, 40H; 8Ph);  $[\alpha]^{25}_D$  = +11.3° (c = 1.1 in CHCl<sub>3</sub>).

**10:**  $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 0.99 (m, 2 H;  $\text{CH}_2\text{SiMe}_3$ ), 1.21 (3 H,  $J_{5,6}$  = 6.4 Hz; H-6f), 1.48, 1.90, 1.93, 2.02, 2.03, 2.04, 2.05, 2.08, 2.15, 2.18 (10  $\times$  s, 30 H; 8AcO, AcN and  $\text{AcCH}_2\text{CH}_2$ ), 2.46–2.54 (m, 4 H;  $\text{AcCH}_2\text{CH}_2$ ), 2.57 (dd, 1 H,  $J_{\text{gen}} = 12.4$ ,  $J_{3\text{eq},4} = 4.1$  Hz; H-3 $\text{e}_{\text{q}}$ ), 3.85 (s, 3 H; COOMe), 5.07 (d, 1 H,  $J_{1,2} = 3.0$  Hz; H-1f), 7.06–8.15 (m, 40 H; 8Ph);  $[\alpha]_D^{25} = -9.4^\circ$  ( $c = 1.7$  in  $\text{CHCl}_3$ )

12: <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 1.24 (d, 3 H,  $J_{5,6}$  = 6.4 Hz; H-6f), 1.48 (s, 3 H; AcN), 1.94 – 2.20 (16  $\times$  s, 48 H; 15 AcO und AcCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 2.56 (dd, 1 H,  $J_{\text{gem}}$  = 12.6,  $J_{3\text{eq},4}$  = 4.4 Hz; H-3e<sub>eq</sub>), 2.61 – 2.80 (m, 4 H; AcCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.87 (s, 3 H; COOMe), 6.47 (d, 1 H,  $J_{1,2}$  = 3.7 Hz; H-1a), 7.52 – 8.17 (m, 5 H; Ph), 8.66 (s, 1 H; C≡NH);  $[\alpha]_D^{25} = +5.8^\circ$  ( $c$  = 1.3 in CHCl<sub>3</sub>)

**14:**  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 0.88$  (t, 6 H,  $J_{\text{vic}} = 6.6$  Hz;  $2\text{MeCH}_2$ ), 1.46 (s, 3 H;  $\text{AcN}$ ), 1.63–2.22 (15 s, 45 H;  $15\text{AcO}$ ), 2.57 (dd, 1 H,  $J_{\text{gem}} = 12$ ,  $J_{\text{eq},4} = 4.4$  Hz;  $\text{H-3e}_{\text{eq}}$ ), 3.89 (s, 3 H;  $\text{COOME}$ ), 5.86 (dt, 1 H,  $J_{4,5} = 13.5$ ,  $J_{5,6} = J_{5,6} = 7.0$  Hz; H-5 von Sphingosin), 7.42–8.18 (m, 10 H; 2Ph);  $^{19}\text{F-NMR}$  (476.5 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  (relativ zu Fluorbenzol) = 36.82 (s,  $\text{CF}_3\text{CO}$ );  $[\alpha]_D^{25} = -17.6^\circ$  ( $c = 1.2$  in  $\text{CHCl}_3$ )

**1:** FAB-MS (Negativ-Ionen-Modus, Triethanolamin-Matrix):  $m/z$ : 1795.6 [ $M - H + Na$ ] $^-$ , 1773.0 [ $M - H$ ] $^-$ , 1750.6 [ $M - Na$ ] $^-$ , 1500.8 [ $M - H - Neu$ -raminsäure-Natriumsalz] $^-$ , 1479.8 [ $M - Neu$ raminsäure-Natriumsalz -  $Na$ ] $^-$ , 1339 [1500.8 - Gal] $^-$ , 1317.8 [1479.8 - Gal], 888.7 [Lactosylceramid] $^-$ , 726.7 [Glucosylceramid] $^-$ , 564.5 [Ceramid] $^-$ ; ber. für  $C_{77}H_{136}^-N_3Na_2O_3S$  ( $M - H$ ): 1772.8369; gef.: 1773.05; FAB-MS (Negativ-Ionen-Modus, [18]Krone-6 in 3-Nitrobenzylalkohol-Matrix):  $m/z$ : 1750.9 [ $M - Na$ ] $^-$ , 1728.90 [ $M - 2Na + H$ ] $^-$ , 1479.2 [1728.9 - Neuraminsäure] $^-$ ; ber. für  $C_{77}H_{137}N_3Na_2O_3S$  ( $M - Na$ ): 1750.8549; gef.: 1750.64

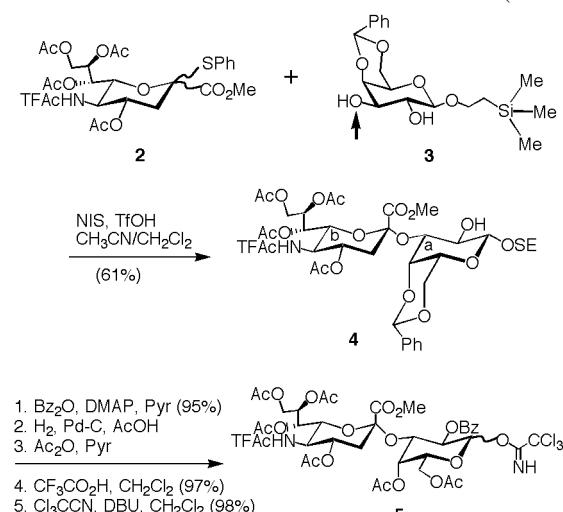
Neuraminsäure, b) die regio- und  $\alpha$ -stereoselektive Glycosylierung von Sialinsäure, c) der selektive Schutz der 3- und 6-Hydroxygruppen von *N*-Acetylglucosamin (GlcNAc), die fucosiert bzw. sulfatiert werden, und d) der effiziente Aufbau der Glycolipidstruktur. Das erste Problem wurde gelöst, indem die Aminogruppe der Neuraminsäure mit einer Trifluoracetyl(TFAC)-Gruppe geschützt wurde, die unter sauren Bedingungen stabil ist, durch alkalische Hydrolyse aber leicht abgespalten werden kann. Für das zweite Problem hatten wir bereits eine hocheffiziente, regio- und  $\alpha$ -stereoselektive Glycosylierung von Sialinsäure entwickelt,<sup>[13]</sup> wobei wir 2-Thioglycosid-Derivate der Sialinsäure als Glycosyldonoren verwendeten. Das dritte Problem konnte gelöst werden, indem wir den Trisaccharid-Baustein **6**,<sup>[10a]</sup> in dem die 3- und 6-Hydroxygruppen von GlcNAc mit der *p*-Methoxybenzyl(MPM)-Gruppe bzw. der Lävulinoyl(Lev)-Gruppe geschützt sind, synthetisierten.

Die Iodoniumionen-vermittelte,<sup>[14]</sup> regio- und  $\alpha$ -stereoselektive Glycosylierung der Ausgangsverbindung **2**, die gut aus dem Phenyl-2-thioglycosid von *N*-Acetylneuraminsäure<sup>[10a]</sup> zugänglich ist, mit **3**<sup>[10a]</sup> wurde bei  $-30^{\circ}\text{C}$  in Acetonitril/

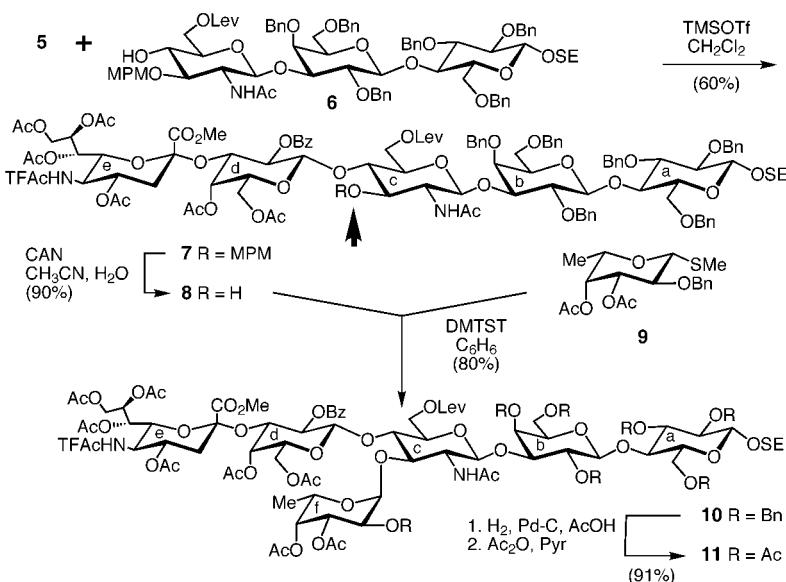
Dichlormethan (5:1) durchgeführt; dabei fiel das gewünschte Sialyl- $\alpha(2 \rightarrow 3)$ -Gal-Derivat **4** in 61 % Ausbeute an. Dieses wurde in hoher Ausbeute durch 2-O-Benzoylierung, anschließende Abspaltung der Benzylidengruppe und Acetylierung, selektive Abspaltung<sup>[15]</sup> der 2-(Trimethylsilyl)ethyl(SE)-Gruppe und Behandlung<sup>[16]</sup> mit Trichloracetonitril und DBU zum Trichloracetimidat-Derivat **5** umgesetzt (Schema 1).

Die Kupplung von **5** mit dem geschützten Trisaccharid-Acceptor **6** lieferte das Sialyl- $\alpha(2 \rightarrow 3)$ -neolactotetraose-Derivat **7**; dieses wurde durch Behandlung mit Cerammoniumnitrat (CAN) über 1 h bei Raumtemperatur in Acetonitril/Wasser (9:1) in 90 % Ausbeute zu **8** umgesetzt. Anschließend wurde die 3-Hydroxygruppe des GlcNAc-Restes in **8** in Gegenwart von Dimethyl(methylsulfanyl)sulfoniumtriflat (DMTST)<sup>[17]</sup> in Benzol mit **9** fucosyliert (Schema 2). Es entstand das Sialyl-Lewis<sup>x</sup>-hexasaccharid-Derivat **10** (80 % Ausbeute). Dieses wurde durch Hydrogenolyse und anschließende Behandlung mit  $\text{Ac}_2\text{O}$  in Pyridin zu **11** (91 % Ausbeute) und dann weiter zum Trichloracetimidat-Derivat **12** in fast quantitativer Reaktion umgesetzt, wie dies bereits für **5** beschrieben wurde.

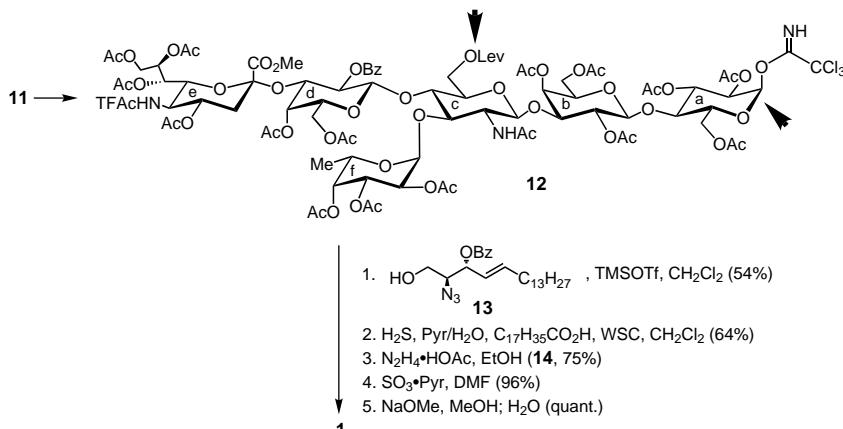
Die Glycosylierung des Azidosphingosin-Derivats<sup>[18, 19]</sup> **13** mit **12** und die nachfolgende Reduktion der Azidogruppe sowie die N-Acetylierung wurden nach der gängigen Methode durchgeführt<sup>[20–22]</sup> (Schema 3). Die Lävulinoylgruppe wurde selektiv durch Behandlung mit  $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{HOAc}$  in Ethanol über 2 h bei Raumtemperatur abgespalten, so daß ohne Entfernung der TFAC-Gruppe **14** entstand. Die freigesetzte 6-Hydroxygruppe des GlcNAc-



Schema 1. Synthese von **5**. Ac = Acetyl, TFAC = Trifluoracetyl, NIS = *N*-Iodsuccinimid, Tf =  $\text{F}_3\text{CSO}_2$ , DMAP = 4-Dimethylaminopyridin, SE = 2-(Trimethylsilyl)ethyl, Bz = Benzoyl, Pyr = Pyridin, DBU = 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en.



Schema 2. Synthese von **10** und **11** durch Kupplung der Bausteine **5**, **6** und **9**. Bn = Benzyl, MPM = *p*-Methoxybenzyl, TMS = Trimethylsilyl, Lev = Lävulinoyl, CAN = Cerammoniumnitrat, DMTST = Dimethyl(methylsulfanyl)sulfoniumtriflat.



Schema 3. Abschluß der Synthese von 6-Sulfo-de-*N*-acetylsialyl-Lewis<sup>x</sup>-Gangliosid **1**. WSC = *N*-(3-Dimethylaminopropyl)-*N*'-ethylcarbodiimid-Hydrochlorid.

Restes wurde mit Schwefeltrioxid/Pyridin in DMF nahezu quantitativ sulfatiert. Schließlich wurden alle Schutzgruppen unter basischen Bedingungen abgespalten, so daß die gewünschte Titelverbindung **1** entstand.

In Experimenten zur Bindung des multivalennten menschlichen L-Selectins<sup>[11]</sup> an das immobilisierte synthetische Gangliosid **1** und an 6-Sulfo-sLe<sup>x</sup> konnten wir die hervorragende Affinität von **1** bestätigen (Abbildung 1). Für die halbmaximale Bindung wurden 40 pmol 6-Sulfo-sLe<sup>x</sup> pro Testansatz (in Mikrotiterplatten), aber nur 18 pmol von **1** benötigt. Das synthetische Nebenprodukt (Negativkontrolle) wurde als 6-Sulfo-sLe<sup>x</sup>-Derivat mit „lactamisierter“ Neuraminsäure identifiziert.<sup>[11]</sup> Wir hatten zuvor festgestellt,<sup>[11]</sup> daß die 6-O-Sulfatierung am GlcNAc-Rest der sLe<sup>x</sup>- (6-Sulfo-sLe<sup>x</sup>-)Sequenz zu einer nennenswerten Verstärkung der Bindungsaktivität führt, während die 6'-Sulfo-sLe<sup>x</sup>-Sequenz (6-O-Sulfatierung am Galactoserest) kaum oder nicht nachweisbar bindet. Außerdem beeinträchtigt eine zusätzliche Sulfatgruppe wie in 6,6'-Bis-sulfo-sLe<sup>x</sup> die Bindung.<sup>[11]</sup> Als Reihenfolge

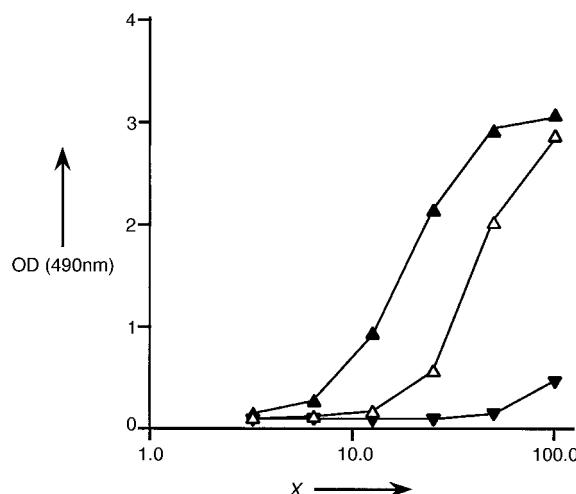


Abbildung 1. Bindung des multivalenten L-Selectins (50 ng je Testansatz) an das chemisch synthetisierte 6-Sulfo-de-N-acetylsialyl-Lewis<sup>x</sup> **1** und an verwandte sLe<sup>x</sup>-Strukturen. X: zugegebenes Glycolipid (pmol je Testansatz). ▲: **1**; △: 6-Sulfo-sLe<sup>x</sup>; ▼: Synthetisches Nebenprodukt (Negativkontrolle) mit „lactamisierter“ Neuraminsäure. Näheres siehe Text.

der Bindungsaaffinität der sLe<sup>x</sup>-Derivate mit L-Selectin lässt sich somit angeben: **1** > 6-Sulfo-sLe<sup>x</sup> > (nicht sulfatiertes) sLe<sup>x</sup><sup>[20b]</sup> = 6,6'-Bis-sulfo-sLe<sup>x</sup> > 6'-Sulfo-sLe<sup>x</sup>. Wir haben die Möglichkeit aufgezeigt, daß die De-N-acetylsialyl(Neuroaminylyl)-Derivate von 6-Sulfo-sLe<sup>x</sup> und verwandte Strukturen sich unter den hochaffinen endogenen Liganden für L-Selectin in den HEV befinden, die an der Wechselwirkung von Leukozyten mit dem Gefäßendothel beteiligt sind. Dies wird mit spezifischen Antikörpern gegen 6-Sulfo-N-acetyl-sLe<sup>x</sup> und verwandte Oligosaccharidstrukturen, die mit den chemisch synthetisierten Gangliosiden erzeugt werden, geklärt werden.

Eingegangen am 28. September 1998 [Z12464]

International Edition: *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 1131–1133

**Stichwörter:** Oligosaccharide • Selectine • Sialyl-Lewis<sup>x</sup> • Totalsynthesen

- [1] a) L. A. Lasky, *Science* **1992**, *258*, 964–969; b) R. D. Cummings, D. F. Smith, *BioEssays* **1992**, *14*, 849–856; c) M. P. Bevilacqua, R. M. Nelson, *J. Clin. Invest.* **1993**, *91*, 379–387; d) R. P. McEver, *Glycoconj. J.* **1997**, *14*, 585–591.
- [2] a) A. Varki, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1994**, *91*, 7390–7397; b) P. R. Crocker, T. Feizi, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1996**, *6*, 679–691; c) G. S. Kansas, *Blood* **1996**, *88*, 3259–3287.
- [3] a) A. Takada, K. Ohmori, T. Yoneda, K. Tsuyuoka, A. Hasegawa, M. Kiso, R. Kannagi, *Cancer Res.* **1993**, *53*, 354–361; b) R. Kannagi, *Glycoconj. J.* **1997**, *14*, 577–584.
- [4] E. E. Simanek, G. J. McGarver, J. A. Jablonowski, C.-H. Wong, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 833–862.
- [5] S. D. Rosen, C. R. Bertozzi, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1996**, *6*, 261–264.
- [6] a) P. J. Green, C.-T. Yuen, R. A. Childs, W. Chai, M. Miyasaka, R. Lemoine, A. Lubineau, B. Smith, H. Ueno, K. C. Nicolaou, T. Feizi, *Glycobiology* **1995**, *5*, 29–38; b) C.-T. Yuen, A. M. Lawson, W. Chai, M. Larkin, M. S. Stoll, A. C. Stuart, X. Sullivan, T. J. Ahern, T. Feizi, *Biochemistry* **1992**, *31*, 9126–9131.
- [7] Y. Suzuki, Y. Toda, T. Tamatani, T. Watanabe, T. Suzuki, T. Nakao, K. Murase, M. Kiso, A. Hasegawa, K. Tadano-Aritomi, I. Ishizuka, M. Miyasaka, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1993**, *190*, 426–434.
- [8] Y. Imai, L. A. Lasky, S. D. Rosen, *Nature* **1993**, *361*, 555–557.

- [9] S. Hemmerich, H. Leffler, S. D. Rosen, *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 12035–12047.
- [10] a) S. Komba, H. Ishida, M. Kiso, A. Hasegawa, *Bioorg. Med. Chem.* **1996**, *4*, 1833–1847; b) C. Mitsuoka, N. Kawakami-Kimura, M. Kasugai-Sawada, N. Hiraiwa, K. Toda, H. Ishida, M. Kiso, A. Hasegawa, R. Kannagi, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1997**, *230*, 546–551.
- [11] C. Galustian, A. M. Lawson, S. Komba, H. Ishida, M. Kiso, T. Feizi, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1997**, *240*, 748–751.
- [12] C. Mitsuoka, M. Sawada-Kasugai, K. Ando-Furui, M. Izawa, H. Nakanishi, S. Nakamura, H. Ishida, M. Kiso, R. Kannagi, *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 11225–11233.
- [13] a) T. Murase, H. Ishida, M. Kiso, A. Hasegawa, *Carbohydr. Res.* **1988**, *184*, c1–c4; b) A. Hasegawa, T. Nagahama, H. Ohki, K. Hotta, H. Ishida, M. Kiso, *J. Carbohydr. Chem.* **1991**, *10*, 493–498; c) A. Hasegawa, M. Kiso in *Preparative Carbohydrate Chemistry* (Hrsg.: S. Hanessian), Dekker, New York, **1997**, S. 357–379.
- [14] a) G. H. Veeneman, S. H. van Leeuwen, J. H. van Boom, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 1331–1334; b) P. Konradsson, U. E. Uddong, B. Fraser-Reid, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 4313–4316.
- [15] K. Jansson, S. Ahlfors, T. Frejd, J. Kihlberg, G. Magnusson, J. Dahmen, G. Noori, K. Stenvall, *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 5629–5647.
- [16] R. R. Schmidt, G. Grundler, *Synthesis* **1981**, 885–887.
- [17] P. Fügedi, P. J. Garegg, *Carbohydr. Res.* **1986**, *149*, c9–c12.
- [18] R. R. Schmidt, P. Zimmermann, *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 481–484.
- [19] M. Kiso, A. Nakamura, Y. Tomita, A. Hasegawa, *Carbohydr. Res.* **1986**, *158*, 101–111.
- [20] a) T. Murase, H. Ishida, M. Kiso, A. Hasegawa, *Carbohydr. Res.* **1989**, *188*, 71–80; b) A. Kameyama, H. Ishida, M. Kiso, A. Hasegawa, *J. Carbohydr. Chem.* **1991**, *10*, 549–560; c) A. Hasegawa, M. Kiso, *Methods Enzymol.* **1994**, *242*, 158–183.
- [21] R. R. Schmidt, P. Zimmermann, *Angew. Chem.* **1986**, *98*, 722–723; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1986**, *25*, 725–726.
- [22] A. Hasegawa, K. Ito, H. Ishida, M. Kiso, *J. Carbohydr. Chem.* **1995**, *14*, 353–368.

## Molekulare Erkennung durch einen zylindrischen supramolekularen Wirt\*\*

Thomas Heinz, Dmitry M. Rudkevich und Julius Rebek, Jr.\*

Vor kurzem haben wir über die Synthese und die Charakterisierung des kapselähnlichen Assoziats **1** (Abbildung 1) berichtet.<sup>[1]</sup> Es handelt sich hierbei um ein zylindrisches Dimer, das in unpolaren organischen Lösungsmitteln durch acht verzweigte Wasserstoffbrücken zusammengehalten wird; es kann aus der Lösung ein großes oder auch zwei kleine Moleküle aufnehmen und reversibel umhüllen. Wir beschreiben hier weitere Besonderheiten von **1**, die bei der Verwen-

[\*] Prof. J. Rebek, Jr., Dr. T. Heinz, Prof. D. M. Rudkevich  
The Skaggs Institute for Chemical Biology and  
Department of Chemistry  
The Scripps Research Institute, MB-26  
10550 North Torrey Pines Road, La Jolla, CA 92037 (USA)  
Fax: (+1) 619-784-2876  
E-mail: jrebek@scripps.edu

[\*\*] Diese Arbeit wurde durch die Skaggs Foundation, die National Institutes of Health (USA), den Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung und die Ciba-Geigy-Jubiläums-Stiftung unterstützt. Wir danken Dr. A. Lützen für hilfreiche Diskussionen.