

- [4] N. A. Kratochwil, M. Zabel, K. J. Range, P. J. Bednarski, *J. Med. Chem.* **1996**, 39, 2499–2507.
- [5] pH-Titrationen von ^{15}N -**1** und ^{15}N -**2** in 90 % $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$ durch 1D- ^1H - und 1D- ^1H - ^{15}N -HSQC-NMR-Spektroskopie ergaben, daß die Signale für (en) $^{15}\text{NH}_2$ bei pH-Werten $>\text{pH } 6.3$ bzw. 6.8 aufgrund von ^{15}NH -Austauschreaktionen verschwanden. Die Signale der (en) $^{15}\text{NH}_2$ -Gruppen von **1** waren pH-unabhängig im Bereich von 2.3 – 6.3 , und die chemischen Verschiebungen von **2** ($\delta = 6.94$ bei $\text{pH } 2.37$ und $\delta = 6.54$ bei $\text{pH } 6.72$) ließen eine Bestimmung des $\text{p}K_{\text{a}}$ -Werts der Hydroxoliganden zu. Dieser Wert ($\text{p}K_{\text{a}} 3.8$) kommt dem für $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_5(\text{H}_2\text{O})]^{4+}$ angegebenen sehr nahe ($\text{p}K_{\text{a}} 4.1$): K. S. Koshy, G. M. Harris, *Inorg. Chem.* **1983**, 22, 2947–2953.
- [6] a) S. J. Berners-Price, J. D. Ranford, P. J. Sadler, *Inorg. Chem.* **1994**, 33, 5842–5846; b) S. J. Berners-Price, U. Frey, J. D. Ranford, P. J. Sadler, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 8649–8659, zit. Lit.
- [7] Die UV-Bestrahlung einiger Metallkomplexe führte zur Modifizierung des Zuckerrings und des Sechsrings von 5'-GMP;^[1] solche Reaktionen sind aber bei der Verwendung von sichtbarem Licht unwahrscheinlich.
- [8] a) E. G. Talman, W. Brüning, J. Reedijk, A. L. Spek, N. Veldman, *Inorg. Chem.* **1997**, 36, 854–861; b) O. Nováková, O. Vrána, V. I. Kiseleva, V. Brabec, *Eur. J. Biochem.* **1995**, 228, 616–624; c) L. T. Ellis, H. M. Er, T. W. Hambley, *Aust. J. Chem.* **1995**, 48, 793–806; d) M. Yoshida, A. R. Khokhar, Z. H. Siddik, *Cancer Res.* **1994**, 54, 4691–4697; e) R. M. Roat, J. Reedijk, *J. Inorg. Biochem.* **1993**, 52, 263–274.
- [9] Es gibt eine Mitteilung darüber, daß Licht die Reaktion von Pt^{IV} mit 5'-GMP zu Pt^{II} -Produkten verstärkt (etwa 10–20 %), die Bestrahlungsquelle wurde aber nicht angegeben: J. L. van der Veer, A. R. Peters, J. Reedijk, *J. Inorg. Biochem.* **1986**, 26, 137–140.
- [10] a) T. Lippert, J. Dauth, B. Deubzer, J. Weis, A. Wokaun, *Radiat. Phys. Chem.* **1996**, 47, 889–897; b) T. G. Appleton, K. A. Byriel, J. R. Hall, C. H. L. Kennard, D. E. Lynch, J. A. Sinkinson, G. Smith, *Inorg. Chem.* **1994**, 33, 444–455; c) O. Horvath, K. L. Stevenson, *Charge Transfer Photochemistry of Coordination Compounds*, VCH, New York, **1993**; d) H. Kunkely, A. Vogler, *Coord. Chem. Rev.* **1991**, 111, 15–25; e) V. Balzani, V. Carassiti, *Photochemistry of coordination compounds*, Academic Press, London, **1970**.
- [11] Zum Beispiel: a) Y. Wu, B. W. Pfennig, S. L. Sharp, D. R. Ludwig, C. J. Warren, E. P. Vicenzi, A. B. Bocarsly, *Coord. Chem. Rev.* **1997**, 159, 245–255; b) V. F. Plyusin, V. P. Grivin, L. F. Kryola, L. D. Dikanskaja, Y. V. Ivanov, H. Lemmetyinen, *J. Photochem. Photobiol. A* **1997**, 104, 45–52; c) R. I. Rudyi, I. F. Golovaneva, O. N. Evstaf'eva, A. V. Babaeva, L. I. Solomentseva, *Zh. Neorg. Khim.* **1975**, 20, 422–428; d) A. G. Samatov, N. N. Zheligovskaya, V. I. Spitsyn, *Izv. Akad. Nauk. SSSR, Ser. Khim.* **1974**, 7, 1467–1472; e) N. N. Zheligovskaya, N. Kamalov, V. I. Spitsyn, *Dok. Akad. Nauk SSSR* **1972**, 206, 1380–1383.
- [12] C. F. J. Barnhard, J. F. Vollano, P. A. Chaloner, S. Z. Dewa, *Inorg. Chem.* **1996**, 35, 3280–3284.
- [13] a) S. A. Kane, S. J. Lippard, *Biochemistry* **1996**, 35, 2180–2188; b) D. Payet, M. Leng, *Metal-Based Drugs* **1995**, 2, 137–141.
- [14] F. Reeder, Z. Guo, P. del S. Murdoch, A. Corazza, T. W. Hambley, S. J. Berners-Price, J.-C. Chottard, P. J. Sadler *Eur. J. Biochem.* **1997**, 249, 370–382.
- [15] N. A. Kratochwil, Z. Guo, P. del S. Murdoch, J. A. Parkinson, P. J. Bednarski, P. J. Sadler, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 8253–8254.

Kohlenhydrat-Kohlenhydrat-Erkennung zwischen Lewis^X-Glycoconjugaten**

Armin Geyer,* Christian Gege und Richard R. Schmidt

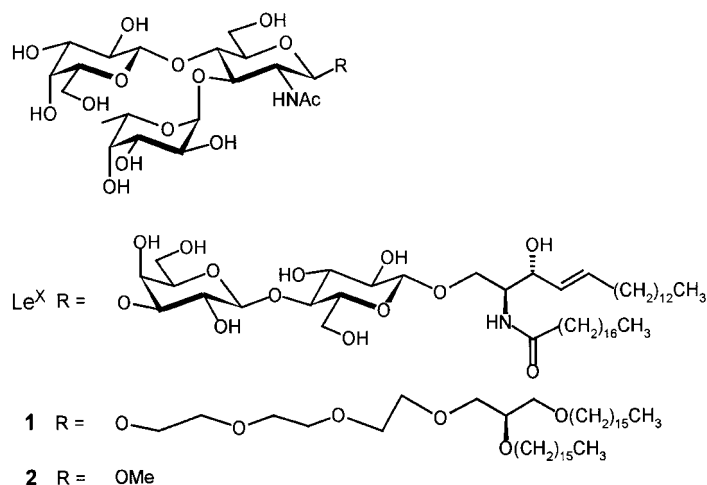
Professor Hans-Jürgen Quadbeck-Seeger zum 60. Geburtstag gewidmet

Schwache polyvalente Wechselwirkungen spielen eine große Rolle in biologischen Systemen.^[1] Während es zu Protein-Protein- und Protein-Kohlenhydrat-Wechselwirkungen inzwischen viele Beispiele gibt, existieren zur Kohlenhydrat-Kohlenhydrat-Erkennung kaum Untersuchungen. Polyvalente, interzelluläre Kohlenhydrat-Kohlenhydrat-Kontakte addieren sich zu Kräften, die für die Zelladhäsion relevant sind. Inwiefern die von Glycosphingolipiden (GSLs) durch laterale Entmischung auf der Membran gebildeten GSL-Mikrodomänen (Lipidcluster) eine Rolle spielen, ist bisher nicht eindeutig geklärt.^[2] Seitliche Kontakte zwischen den GSLs stabilisieren die Mikrodomänen, Kontakte zwischen GSLs verschiedener Membranen bewirken die Zelladhäsion.^[2b] Die GSL-Mikrodomänen sind indirekt nachweisbar durch das Auszählen aggregierter Zellen^[3] oder über die Verteilung von GSL-Antikörpern auf Zellmembranen.^[4] GSL-Domänen mit Durchmessern von 20 nm wurden kürzlich direkt beobachtet.^[5]

Die Aggregation von Zellen über homotype Kopf-Kopf-Wechselwirkungen wurde hauptsächlich für das Lewis^X(Le^X)-GSL, das als Kopfgruppe das Trisaccharid D-Gal β (1 \rightarrow 4)[L-Fuca(1 \rightarrow 3)]D-GlcNAc β (1 \rightarrow OR) trägt, untersucht.^[2–4] Auch wurde gezeigt, daß nicht in der Membran verankerte Le^X-Oligosaccharide in der Lage sind, diese Zell-Zell-Kontakte wieder zu lösen.^[3] Eine direkte NMR-spektroskopische Beobachtung von Le^X-Le^X-Dimeren ist nicht möglich, da die Dimere wegen der schwachen Adhäsionskräfte in Lösung hauptsächlich dissoziiert vorliegen.^[6] Die transiente Bindung eines niedermolekularen Liganden an einen hochmolekularen Rezeptor kann aber NMR-spektroskopisch über Transfer-NOEs nachgewiesen werden.^[7] Kohlenhydrate mit ihren hohen Off-Raten bei der Rezeptorbindung eignen sich besonders für diese Messungen;^[8] auch für die Quantifizierung der Membranaffinität von niedermolekularen Verbindungen kann diese Methode eingesetzt werden.^[9] Da die NOEs eines transient an einen membranständigen Rezeptor bindenden Oligosaccharids stark negativ sind, sollten auch die sehr schwachen Affinitäten der Kohlenhydrat-Kohlenhydrat-Erkennung nachweisbar sein. Das native Le^X-GSL wurde auf zwei Modellverbindungen reduziert, die nur noch die für die homotype Erkennung relevanten Gruppen tragen (**1** und **2**).

[*] Dr. A. Geyer, Dipl.-Chem. C. Gege, Prof. Dr. R. R. Schmidt
Fakultät für Chemie M716 der Universität
D-78457 Konstanz
Fax: (+49) 7531-88-3898
E-mail: armin.geyer@uni-konstanz.de

[**] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und vom Fonds der Chemischen Industrie gefördert. Wir danken der Lipoid GmbH (Ludwigshafen) für das DMPC und Dr. G. Bendas (Fachbereich Pharmazie der Universität Halle) für die Lichtstreuungsexperimente.



Um die durch Ceramid begünstigte physikalische Entmischung der Membrankomponenten zu vermeiden,^[10] dient in **1** 1,2-Di-*O*-hexadecyl-*sn*-glycerin als flexibler Membrananker; darüber hinaus wurde Lactose durch einen Triethylenglycolspacer ersetzt.

1 kann in Phosphatidylcholinmembranen inserieren und dient als hochmolekularer Rezeptor, mit dem das niedermolekulare **2** in Wechselwirkung tritt (Abbildung 1). Mehrere

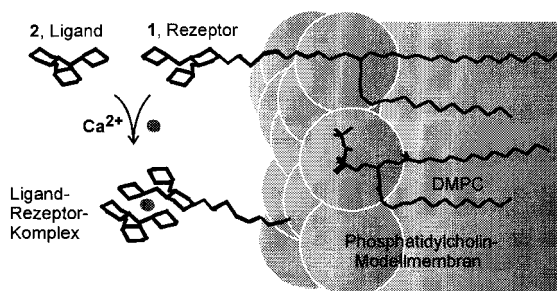


Abbildung 1. Der niedermolekulare Ligand **2** koordiniert transient an das membrangebundene und als Rezeptor fungierende **1**. Die Änderung der mittleren Rotationsdiffusion der Trisaccharide mit identischen chemischen Verschiebungen wird NMR-spektroskopisch aus NOESY-Spektren quantifiziert. DMPC = Dimyristoylphosphatidylcholin.

Modellmembranen in der fluiden *L_α*-Phase wurden getestet. Experimente mit DMPC-Liposomen^[11] oder mit scheibenförmigen DMPC/DHPC-Bizellen^[12] (DHPC = Dihexanoylphosphatidylcholin) blieben jedoch erfolglos.^[13] Bei 300 K, also unterhalb der Phasenübergangstemperatur der Bizellenbildung, bildet das Gemisch DMPC/DHPC (3/1, molar) Liposomen.^[14] Ähnlich dem Cholesterin in nativen Membranen erhöht die kurzkettige Membrankomponente DHPC die Membranfluidität. Die Oberflächenkrümmung der Liposomen (Ø ca. 20 nm) und die Membranfluidität unterdrücken Seite-Seite-Kontakte der GSLs und damit die Bildung unlöslicher Glycolipidaggregate. Daher führt die Zugabe von 6 mg **1** zu einer Lösung von DMPC/DHPC-Liposomen (3/1, 300 K, 50 mg in 0.5 mL D₂O, 10 mM CaCl₂) zu keiner Niederschlagsbildung. **1** inseriert in die Modellmembran, und für die positiven intramolekularen Kreuzsignale im NOESY-Spektrum^[15] (negativer NOE) wird Spindiffusion beobachtet. Im ¹H-NMR-Spektrum ist **2** verschiebungsäquivalent zu **1**,

liefert aber aufgrund seiner geringen relativen Molekülmasse negative Kreuzsignale im NOESY-Spektrum (positiver NOE). Bei der schrittweisen Zugabe von **2** (3.6–36 mM) zu einer Lösung von **1** in DMPC/DHPC-Liposomen addieren sich die NOESY-Kreuzsignale der beiden verschiebungsäquivalenten Trisaccharide. Als Folge der transienten Bindung von **2** an **1** sind die gemessenen Kreuzsignalintensitäten, die direkt die mittlere molekulare Beweglichkeit von **1** und **2** widerspiegeln, deutlich positiver als die Summe der Kreuzsignale getrennter Lösungen von **1** und **2** in DMPC/DHPC-Liposomen. Aus der Differenz ist die Verlangsamung der mittleren Rotationsdiffusion von **2** quantifizierbar.^[16] Die sehr schwachen Adhäsionskräfte zwischen **1** und **2** sind nur aufgrund der starken Abhängigkeit des NOE von der molekularen Beweglichkeit detektierbar. Als Meßwerte dienten mehrere intensive intramolekulare NOEs. Auch die in Zelltests gefundene Calciumabhängigkeit wurde beobachtet, da sich durch die Zugabe von EDTA die NOE-Intensität auf den Wert verringert, der ohne Le^X-Le^X-Kontakte erwartet wird. Eine Trübung oder gar Niederschlagsbildung trat nicht auf. Als Affinitätskonstante zwischen den Le^X-Trisacchariden ergab sich mit der Annahme, daß die Konzentration von **1** gleich der Rezeptorkonzentration ist, 2–3 M⁻¹.

In Wasser können die Le^X-Le^X-Dimere nur über hydrophobe Kontakte zwischen Pyranoseringen und eine damit verbundene Umstrukturierung der Solvathülle thermodynamisch stabilisiert werden.^[17] Bisherige Modelle^[18] gingen von einer vollständigen Desolvatisierung des Calciumions oder von einer Koordinationszahl kleiner als sieben aus – beides ist für die schwache Bindung eines neutralen Trisaccharidliganden an Calciumionen sehr unwahrscheinlich.^[6, 19] Der Kontakt der beiden Le^X-Trisaccharide kann über komplementäre hydrophobe Oberflächen stabilisiert werden. Dabei erlaubt die rigide Lösungskonformation des Le^X-Trisaccharids^[20] eine antiparallele Dimerisierung mit jeweils einem hydrophoben Kontakt zwischen der α -Seite von Galactose und der β -Seite von *N*-Acetylglucosamin. Das Calciumion kann an zweimal drei Sauerstoffatome (Fuc-O2, Fuc-O3, Gal-O6) der beiden Le^X-Trisaccharide transient koordinieren und diese verbrücken; die restlichen Valenzen des Calciumions können von Wasser abgesättigt werden. Eine ähnliche verbrückende C₂-symmetrische Koordination ist für Calcium aus einer Kristallstrukturanalyse bekannt.^[21]

Die hier vorgestellte experimentelle Strategie reduziert eine komplexe biologische Erkennung auf ein minimalisiertes Ligand-Rezeptor-System, das die Beobachtung der calciumabhängigen Kopf-Kopf-Dimerisierung zwischen Le^X-Glycoconjugaten erlaubt. Dies ist nur ein Beispiel für die homotype Erkennung zwischen Glycoconjugaten. Durch Variation der gelösten oder der in der Membran verankerten Komponente sind die Affinitäten zwischen anderen Glycoconjugaten unter standardisierbaren experimentellen Bedingungen ebenfalls quantifizierbar.

Experimentelles

Die Glycoconjugate **1** und **2** wurden durch Umsetzung des Le^X-Trisaccharidimidats^[22] mit dem Triethylenglycolspacer^[23] bzw. mit Methanol und anschließende Entschützung erhalten (siehe Lit. [24]).

Die Mischung aus DMPC und DHPC (3:1, molar) wurde einmal hergestellt und für die Experimente in Chargen zu 50 mg in 0.5 mL D₂O gelöst. Der Triethylenglycolmembrananker in **1** zeigte keine Affinität zu Calciumionen. Dies wurde für Sialyl-Lewis^x, das mit unterschiedlich langen Spacern an Modellmembranen (Natriumlaurylsulfat-Micellen, Dodecylphosphocholin-Micellen und DMPC/DHPC-Bizellen) geknüpft war, untersucht.^[25] Auch werden im Konzentrationsbereich zwischen 5 und 15 mM keine Lipidcluster über Seite-Seite-Kontakte von **1** gebildet. Dies wurde durch unabhängige Titrationsexperimente gesichert, bei denen bei systematischer Variation der Konzentration von **1** oder CaCl₂ keine Änderung der Linienform im ¹H-NMR-Spektrum von **1** zu beobachten war.

Alle NMR-Experimente wurden mit einem Bruker-DRX-600-Spektrometer durchgeführt. 2D-Spektren wurden im phasensensitiven Modus mit TPPI (time-proportional phase incrementation) aufgezeichnet. Die NOESY-Datenmatrizen enthielten 2 K Punkte in *f*₂ und 256 Punkte in *f*₁. Für die Prozessierung wurden die Matrixelemente der indirekten Dimension mit Nullen aufgefüllt und eine Apodisierung mit einer um $\pi/2$ in beiden Dimensionen verschobenen quadratischen Sinusfunktion durchgeführt.

Die Berechnung der Affinitätskonstante für die Kohlenhydrat-Kohlenhydrat-Wechselwirkung ($K_a = [1 \cdot 2]/[1][2]$, wobei $[1 \cdot 2]$ die Konzentration des calciumverbrückten Le^x-Le^x-Komplexes ist) erfolgte unter der bei der Verdünnung gerechtfertigten Annahme, daß der Komplex hauptsächlich dissoziiert vorliegt: $[2] = [2]_{\text{gesamt}}$. Calciumionen lagen im Überschuß vor, und das Verhältnis $[1 \cdot 2]/[2]$ wurde wie in Lit. [16] aus dem Verhältnis von Kreuz- zu Diagonalsignal im NOESY-Spektrum bestimmt.

Eingegangen am 29. Dezember 1998,
ergänzte Fassung am 8. Februar 1999 [Z12842]

International Edition: *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 1466–1468

Stichwörter: Kohlenhydrate • Lewis^x-Antigene • Membranen • Molekulare Erkennung • NMR-Spektroskopie

- [1] M. Mammen, S.-K. Choi, G. M. Whitesides, *Angew. Chem.* **1998**, 110, 2908–2953; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 2754–2794.
- [2] a) I. Eggens, B. Fenderson, T. Toyokuni, B. Dean, M. Stroud, S.-i. Hakomori, *J. Biol. Chem.* **1989**, 264, 9476–9484; b) N. V. Bovin in *Glycosciences* (Hrsg.: H.-J. Gabius, S. Gabius), Chapman & Hall, Weinheim, **1997**, S. 277–289.
- [3] M. Boubelik, D. Floryk, J. Bohata, L. Draberova, J. Macak, F. Smid, P. Draber, *Glycobiology* **1998**, 8, 139–146.
- [4] a) S.-i. Hakomori, *Biochem. Soc. Trans.* **1993**, 21, 583–595; b) S.-i. Hakomori, K. Handa, K. Iwabuchi, S. Yamamura, A. Prinetti, *Glycobiology* **1998**, 8, XI–XVIII.
- [5] J. Vogel, G. Bendas, U. Bakowsky, G. Hummel, R. R. Schmidt, U. Kettmann, U. Rothe, *Biochim. Biophys. Acta* **1998**, 1372, 205–215.
- [6] M. R. Wormald, C. J. Edge, R. A. Dwek, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1991**, 180, 1214–1221.
- [7] F. Ni, H. A. Scheraga, *Acc. Chem. Res.* **1994**, 27, 257–264.
- [8] A. Poveda, J. Jiménez-Barbero, *Chem. Soc. Rev.* **1998**, 27, 133–143.
- [9] B. Bersch, P. Koehl, Y. Nakatani, G. Ourisson, A. Milon, *J. Biomol. NMR* **1993**, 3, 443–461.
- [10] Die Übergangstemperaturen zwischen L β' - und L α -Phase liegen bei neutralen GSLs über 358 K: K. Saxena, R. I. Duclos, P. Zimmermann, R. R. Schmidt, G. G. Shipley, *J. Lipid Res.*, im Druck.
- [11] Stabile, unilamellare Vesikel können direkt aus DMPC in Wasser erzeugt werden. Die beiden Signalsätze (2:1) im ¹H-NMR-Spektrum erlauben eine Abschätzung der mittleren Liposomengröße zu ca. 20 nm (L. Calzolari, E. Gaggelli, A. Maccotta, G. Valensin, *J. Magn. Reson. B* **1996**, 112, 228–235).
- [12] a) C. R. Sanders II, B. J. Hare, K. P. Howard, J. H. Prestegard, *Prog. NMR Spectrosc.* **1994**, 26, 421–444; b) J. H. Prestegard, *Nat. Struct. Biol. NMR II Supplement* **1998**, 5, 517–522.
- [13] **1** inseriert mit seinen Alkylketten in die Doppelschichten der DMPC-Liposomen, und man beobachtet innerhalb weniger Stunden eine starke Niederschlagsbildung, die auf die Bildung stabiler GSL-Domänen zurückzuführen ist. Bei der Zugabe von Calciumionen bildet sich sofort ein unlöslicher Niederschlag. Die Niederschlagsbildung ist sehr viel stärker als bei DMPC-Liposomen ohne **1**. Im Fall der DMPC/DHPC-Bizellen (310 K) wird für **2** eine anisotrope Molekülrotation beobachtet, die im untersuchten Konzentrationsbereich unabhängig von den Konzentrationen an **1** und den Calciumionen ist. Die dipolaren Kopplungen sind im DQF-COSY-Spektrum als zusätzliche Kreuzsignale sichtbar (siehe auch: P. J. Bolon, J. H. Prestegard, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 9366–9367). Die ¹H-NMR-Resonanzsignale von **1** an der Oberfläche der Bizellen sind stark verbreitert.
- [14] Die Viskosität der klaren Lösung ist unterhalb von 290 K wasserähnlich. Ein einzelner, isotroper Signalsatz wird im ¹H-NMR-Spektrum beobachtet; die Unterscheidung von Außen- und Innenseite der Liposomen ist nicht mehr möglich. Aus Lichtstreuexperimenten folgt eine Vesikelgröße unter 20 nm.
- [15] J. Jeener, B. H. Meier, P. Bachman, R. R. Ernst, *J. Chem. Phys.* **1979**, 71, 4546–4553; C. Macura, Y. Huang, D. Suter, R. R. Ernst, *J. Magn. Reson.* **1981**, 34, 259–281.
- [16] R. M. Cooke, R. S. Hale, S. G. Lister, G. Shah, M. P. Weir, *Biochemistry* **1994**, 33, 10591–10596.
- [17] a) R. U. Lemieux, *Acc. Chem. Res.* **1996**, 29, 373–380; b) W. I. Weis, K. Drickamer, *Annu. Rev. Biochem.* **1996**, 65, 441–473.
- [18] a) G. Siuzdak, Y. Ichikawa, T. J. Caulfield, B. Munoz, C.-H. Wong, K. C. Nicolaou, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 2877–2881; b) N. Kojima, B. A. Fenderson, M. R. Stroud, R. I. Goldberg, R. Habermann, T. Toyokuni, S.-i. Hakomori, *Glycoconj. J.* **1994**, 11, 238–248.
- [19] S. J. Angyal, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1989**, 47, 1–43.
- [20] Computersimulationen^[20a,b] und experimentelle Untersuchungen im Festkörper^[20c] in Lösung^[20d] oder gebunden an Selectine^[20e] zeigen eine fast identische mittlere Konformation des Le^x-Trisaccharids; die Lewis-Antigene können durch ein übergeordnetes Sekundärstrukturelement beschrieben werden.^[20f] a) H. Thøgersen, R. U. Lemieux, K. Bock, B. Meyer, *Can. J. Chem.* **1982**, 60, 44–57; b) A. Imberty, E. Mikros, J. Koca, R. Mollicone, R. Oriol, S. Pérez, *Glycoconj. J.* **1995**, 12, 331–349; c) S. Pérez, N. Mouhous-Rou, N. E. Nifantév, Y. E. Tsvetkov, B. Bachet, A. Imberty, *Glycobiology* **1996**, 6, 537–542; d) K. E. Miller, C. Mukhopadhyay, P. Cagas, C. A. Bush, *Biochemistry* **1992**, 31, 6703–6709; e) L. Poppe, G. S. Brown, J. S. Philo, P. V. Nikrad, B. H. Shah, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 1727–1736; f) A. Geyer, S. Reinhardt, G. Bendas, U. Rothe, R. R. Schmidt, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 11707–11708.
- [21] W. J. Cook, C. E. Bugg, *Carbohydr. Res.* **1973**, 31, 265–275.
- [22] L. Manzoni, L. Lay, R. R. Schmidt, *J. Carbohydr. Chem.* **1998**, 17, 739–758.
- [23] F. Wilhelm, S. K. Chatterjee, B. Rattay, P. Nuhn, R. Benecke, J. Ortwein, *Liebigs Ann.* **1995**, 1673–1679.
- [24] C. Gege, J. Vogel, G. Bendas, U. Rothe, R. R. Schmidt, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [25] C. Gege, A. Geyer, G. Bendas, J. Vogel, U. Rothe, R. R. Schmidt, *XIX. Int. Carbohydrate Symposium*, San Diego, **1998**.