



Festphasengestützte Synthese in Lösung mit minimalem Reinigungsaufwand – Herstellung von 2-Desoxyglycokonjugaten aus Thioglycosiden**

Janis Jaunzems, Edgar Hofer, Martin Jesberger,
Georgia Sourkouni-Argirusi und Andreas Kirschning*

Professor Lutz F. Tietze zum 60. Geburtstag gewidmet

Eine der großen Herausforderungen der modernen Organischen Chemie ist die Hochdurchsatzsynthese, ein Gebiet, bei dem die Festphasenunterstützung stets eine wichtige Rolle gespielt hat.^[1] Nachteile der Festphasensynthese sind a) die Notwendigkeit der Verwendung robuster Linker, die unter verschiedenen Reaktionsbedingungen stabil sind, b) Schwierigkeiten bei der Strukturaufklärung der festphasen gebundenen Spezies sowie c) die Anforderung, dass jede funktionalisierte Bindungsstelle an der festen Phase reagiert. Diese Probleme treten auch bei der festphasengestützten Synthese von Oligosacchariden und Glycokonjugaten auf, sodass verschiedene Techniken der Hochdurchsatzsynthese in Lösung eine späte Renaissance erfahren haben oder jüngst neu entwickelt worden sind. Als wichtige Beispiele zu nennende Kohlenhydratsynthesen in Lösung verwenden fluorige Phasen,^[2] funktionalisierte Polymere,^[3] Abfangreaktoren (scavengers), die auf „Capping-und-Tagging“-Schutzgruppen beruhen,^[4] mehrfach enzymbeladene Harze zur Regenerierung nucleotidaktivierter Zucker^[5] und die computergestützte Planung von Synthesen in Lösung.^[6]

Für eine allgemeine Anwendbarkeit einer Reaktion ist die Verwendung festphasengebundener Reagenzien besonders attraktiv,^[7] weil der Aufwand bei der Aufarbeitung minimiert wird und das Reagens im Überschuss eingesetzt werden kann. Die Aktivierung von Glycosylbromiden mit auf einer festen Phase immobilisierten Silberionen wurde zuerst von Paulsen und Lockhoff^[8] und später von Capillon et al. untersucht.^[9] Im Rahmen unserer eigenen Forschung auf diesem Gebiet haben wir kürzlich ein Projekt zur polymer gestützten Synthese von Desoxyglycokonjugaten in Lösung

[*] Prof. Dr. A. Kirschning, J. Jaunzems, Dr. E. Hofer

Institut für Organische Chemie

Universität Hannover

Schneiderberg 1b, 30167 Hannover (Deutschland)

Fax: (+49) 511-726-3011

E-mail: andreas.kirschning@oci.uni-hannover.de

Dr. M. Jesberger, Dr. G. Sourkouni-Argirusi

Institut für Organische Chemie

Technische Universität Clausthal

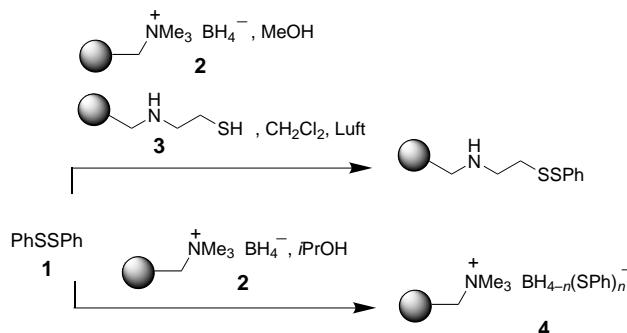
Leibnizstraße 6, 38678 Clausthal (Deutschland)

[**] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (SFB 416) und dem Fonds der Chemischen Industrie unterstützt. Sie ist Teil der Innovationsoffensive „Biologisch aktive Naturstoffe – Chemische Diversität“ an der Universität Hannover.

 Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://www.angewandte.de> zu finden oder können beim Autor angefordert werden.

gestartet. Wir zeigten bereits, dass Glycosylacetate mit polymergebundenen Lewis-Säuren aktiviert werden können.^[3] Hier beschreiben wir die effiziente Herstellung von Oligodesoxysacchariden und davon abgeleiteten Glykonjugaten unter Verwendung von Thioglycosiden als Glycosyldonor. ^[10] Hauptmerkmal dieser Arbeit sind einfache Aufarbeitungsprotokolle, die erstmals nur auf der Abtrennung von Nebenprodukten durch einfache Filtration beruhen.

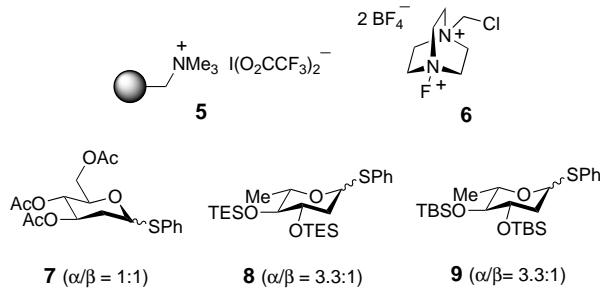
Thiophenol und Diphenyldisulfid (**1**) sind stets anfallende und problematische Nebenprodukte beim Einsatz von Phenylthioglycosiden. Deshalb entwickelten wir zunächst Abfangverfahren, die die quantitative Abtrennung dieser beiden Nebenprodukte aus dem Reaktionsgemisch erlauben (Schema 1). Beide Aufarbeitungsmethoden beruhen auf dem



Schema 1. Polymergestützte Abtrennung von Diphenyldisulfid (**1**) und Thiophenol aus Lösungen.

Borhydrid-Austauscherharz **2** (borohydride exchange resin, BER).^[11] Behandlung von **1** mit **2** in Methanol liefert Thiophenol (Schema 1), das nach Filtration quantitativ durch einfaches Zufügen des polymergebundenen Thiols **3** zu der Reaktionsmischung abgefangen wird. Da dieses Reagens die kovalente Verknüpfung von 2-Sulfanylethylamin an Polystyrol erfordert,^[12] suchten wir nach einem einfacheren Abfangverfahren. Es zeigte sich, dass 2-Propanol als Lösungsmittel nur sehr schleppend mit **2** reagiert, sodass **2** eine doppelte Funktion erfüllen kann. Zuerst fungiert es als Reduktionsmittel für **1**, anschließend reagiert es als Abfangreagens mit dem nucleophilen Thiophenol in Anwesenheit von 2-Propanol und liefert so das Harz **4**. Beide Methoden trennen quantitativ Thiophenol und **1** durch einfache Filtration von der Reaktionsmischung ab, weshalb beide Verfahren von allgemeiner Bedeutung sind.

Als nächste Stufe des Projektes wurde ein Glycosidierungsprotokoll ausgearbeitet, das auf dem von uns entwickelten, thiophilen, polymergebundenen Reagens **5**^[13,14] oder alternativ auf dem Fluorierungsmittel Selectfluor (**6**)

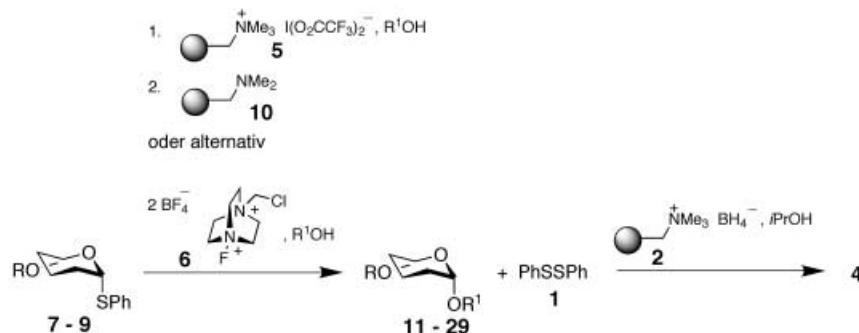


beruht,^[15] das auch elektrophile und thiophile Eigenschaften hat. Die in solchen Reaktionen üblicherweise als Salze anfallenden Produkte von **6** sind im Reaktionsmedium in der Regel unlöslich und können durch einfache Filtration abgetrennt werden. Beide Reagentien können die Phenylsulfanylgruppe in den Glycosiden **7–9** aktivieren (Schema 2).^[16]

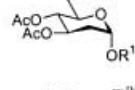
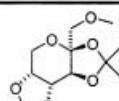
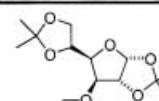
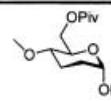
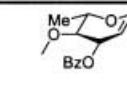
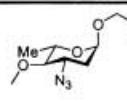
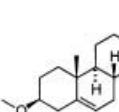
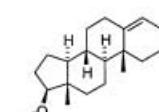
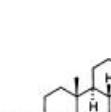
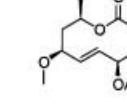
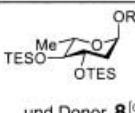
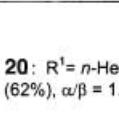
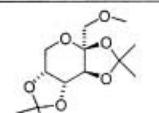
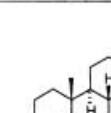
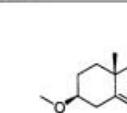
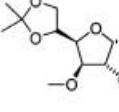
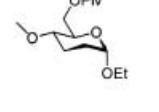
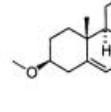
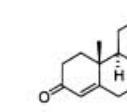
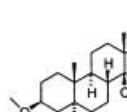
Die Glycosidierung verläuft im Allgemeinen in hohen Ausbeuten, wobei die Thioglycoside mit beiden Reagentien innerhalb von 5 bis 10 min verbraucht werden. Das beste Lösungsmittel zur Aktivierung der Thioglycoside mit **5** ist **THF/CH₃CN** im Verhältnis 1:2 bei -50°C . In **CH₂Cl₂** reagieren die Thioglycoside bei Raumtemperatur, die Glycosidierungsprodukte fallen jedoch in geringerer Reinheit an. Die Glycosidierung wird nach 2 bis 3 h durch die Zugabe von Amberlyst A-21 (**10**) als Abfangreagens für Trifluoressigsäure gestoppt. Anders als beim polymergebundenen **5** ist Acetonitril das Lösungsmittel der Wahl beim Einsatz von **6**, wobei die Reaktionszeiten nur 10 bis 20 min betragen. Die Aufarbeitung ist für beide Reagentien identisch. Nach Filtration und Einengen der Reaktionslösung im Vakuum wird **1** wie in Schema 1 beschrieben entfernt, sodass die Glycoside **11–29** frei von Thiophenol oder **1** isoliert werden. Bevorzugt werden die α -Anomere der Glycoside **11–29** gebildet (Schema 2). Die beobachteten Stereoselektivitäten^[17] stimmen mit jenen herkömmlicher Glycosidierungen von 2-Desoxythioglycosiden in Lösung überein, wenn keine dirigierende Gruppe an C-2 vorliegt.^[18] Allgemein sind die Reaktionsbedingungen sehr mild, wie die Herstellung des hochreaktiven Glycals **14**,^[19] der säure- und baselabilen glycosilierten Digitoxigeninderivate **18** und **29** oder des glycosilierten Decarestrictin-D-Derivats **19** belegt.^[20] Es ist uns wichtig, darauf hinzuweisen, dass die reduktive Abtrennung von Thiophenol und **1** die Carbonylgruppen in den Glycosiden **16–19**, **23**, **24** und **26–29** intakt lässt.^[21]

Die Effizienz der Abfangmethode wird in Schema 3 demonstriert. Das di-O-benzylierte Thioglycosid **30** wurde in der Glycosidierungsreaktion eingesetzt, und nach sorgfältiger Abtrennung der schwefelhaltigen Verunreinigungen mithilfe unserer Abfangmethode wurde das Rohprodukt unter katalytischen Hydrierungsbedingungen (RT, 2 h, 20 bar) unter Bildung des Glycosids **31** entschützt. Wie das ¹H-NMR-Spektrum der Reaktionsmischung belegt, war diese nach nur einem Reinigungsschritt vollkommen frei von sämtlichen schwefelhaltigen Verunreinigungen. Da aber die katalytische Hydrierung nur sehr schleppend verlief, wurde die Reinigung wiederholt. Auf der Grundlage der hier vorgestellten Resultate entwickelten wir eine Mehrstufen-Glycosidierungsstrategie zur Synthese von Oligodesoxysacchariden. Sie beruht ausschließlich auf Reagentien, die nach Gebrauch durch einfache Filtration entfernt werden (Schema 3).

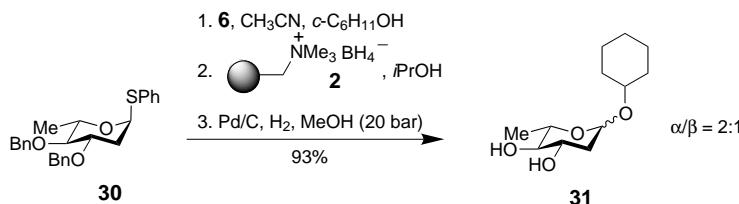
Reaktion des Didesoxythioglycosids **32** mit den Glycalen **33** oder **34** nach den hier beschriebenen Glycosidierungs- und Reinigungsverfahren liefert ausschließlich die α -verknüpften Disaccharide **35** bzw. **36** in hoher Reinheit (Schema 4). Nach Filtration und protoneninduzierter Aktivierung der Enol-ether-Doppelbindung von **35** in Anwesenheit von Testosteron und unter Verwendung der polymergebundenen Sulfonsäure **37** erhielten wir das Glykonjugat **38**. Die polymergestützte



Glycosidierungsprodukte^[a] mit R¹ (R¹ bezieht sich auf den Glycosylacceptor R¹OH)

 und Donor 7 ^[b]	 11: (94%), $\alpha/\beta = 2:1$ ^[d]	 12: (91%), $\alpha/\beta = 2.4:1$	 13: (96%), $\alpha/\beta = 2:1$	 14: (75%), $\alpha/\beta = 2.3:1$	 15: (80%), $\alpha/\beta = 2.3:1$
	 16: (97%), $\alpha/\beta = 2:1$ ^[d]	 17: (98%), $\alpha/\beta = 2.3:1$ ^[d]	 18: (98%), $\alpha/\beta = 3:1$	 19: (98%), $\alpha/\beta = 2:1$	
 und Donor 8 ^[c]	 20: R ¹ = n-Heptyl (62%), $\alpha/\beta = 1.2:1$	 21: R ¹ = Bn (93%), $\alpha/\beta = 4:1$	 22: (50%), $\alpha/\beta = 1.4:1$ ^[d]	 23: (83%), $\alpha/\beta = 1.2:1$ ^[d]	 24: (54%), $\alpha/\beta = 1:1.2$
	 25: (55%), $\alpha/\beta = 2.3:1$	 26: (60%), $\alpha/\beta = 5:1$	 27: (90%), $\alpha/\beta = 3:1$	 28: (99%), $\alpha/\beta = 3.2:1$	 29: (96%), $\alpha/\beta = 2.3:1$

Schema 2. Glycosidierungen mit geringem Reinigungsaufwand unter Verwendung der Thioglycoside 7–9. [a] Dargestellt sind nur die α -Isomere; die Produktverhältnisse wurden aus den ¹H-NMR-Spektren der Reaktionslösung bestimmt; die Ausbeuten beziehen sich auf isolierte, reine Verbindungen. Wenn nicht anders angegeben, wurden die Thioglycoside als anomere Gemische eingesetzt. [b] Typische Reaktionsbedingungen für Selectfluor-vermittelte Glycosidierungen: CH₃CN, 0°C, 10–20 min. [c] Typische Reaktionsbedingungen bei Verwendung von Reagens 5: THF/CH₃CN (1:2), –50°C, 2–3 h (TES = Triethylsilyl, TBS = *tert*-Butyldimethylsilyl). [d] Verwendet wurde das Abfangprotokoll mit Reagens 3 (siehe Schema 1)



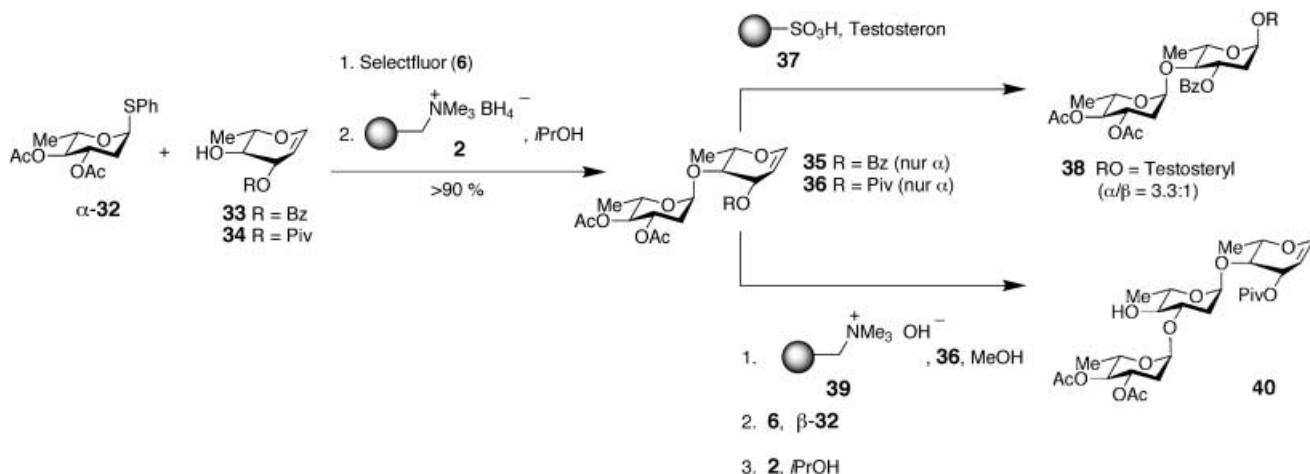
Schema 3. Mehrstufige polymergestützte Glycosidierungen (Bn = Benzyl).

Entschüttung des Disaccharids 36 und anschließende Aktivierung des β -konfigurierten Thioglycosids 32 lieferten das Trisaccharid 40 ($\alpha/\beta = 4.3:1$), wiederum nach polymergestützter Abfangreaktion von 1.

Wir haben hier eine Mehrstufen-Synthese in Lösung von 2-Desoxyoligosacchariden und Glycokonjugaten vorgestellt, in welcher die Aufarbeitung jeder einzelnen Transformation durch einfache Filtration gelingt. Die Synthese umfasst die Abtrennung von Thiophenol und Diphenyldisulfid (1) aus der Reaktionslösung sowie die Aktivierung von Thioglycosiden und einem Glycal. Untersuchungen zur automatisierten Glycosidierung in Lösung finden derzeit in unserer Arbeitsgruppe statt.

Experimentelles

Aktivierung von Thioglycosiden mit 5 und anschließendes Abfangen von 1: Zu einer Lösung des Thioglycosids (1.0 Åquiv.) in wasser-



Schema 4. Herstellung der α -verknüpften Disaccharide **35** und **36** und deren weitere Umsetzung zu Glykокonjugat **38** bzw. Trisaccharid **40** (Bz = Benzoyl, Piv = Pivaloyl).

freiem THF/CH₃CN (1:2; 50 mL mmol⁻¹) werden bei -50°C der Glycosylacceptor (1.0 Äquiv.) sowie das Harz **5** gegeben (1.0 Äquiv.; 2.5 mmol g⁻¹, beruhend auf der Originalbeladung des kommerziell erhältlichen Harzes). Die Reaktionsmischung wird bei -50°C 2–3 h bei 300 rpm unter Lichtausschluss geschüttelt. Die Reaktion wird dünnenschichtchromatographisch verfolgt und durch Zugabe von Amberlyst A-21 abgebrochen (3.0 Äquiv.; 0.11 Äquiv. g⁻¹ für das trockene Harz). Nach weiteren 30 min Schütteln wird filtriert, das Harz mit CH₂Cl₂ gewaschen und die vereinigten organischen Phasen im Vakuum eingeengt, sodass das gewünschte Glycosid zusammen mit Verunreinigungen von **1** verbleibt. Das Rohprodukt wird in iPrOH aufgenommen (50 mL mmol⁻¹), mit **2** (100 mg mmol⁻¹; 3 mmol g⁻¹-Beladung) versetzt, über Nacht gerührt, das Harz abfiltriert und die Lösung im Vakuum eingeengt, sodass das gewünschte Glycosid zurückbleibt. Die Isolierung der einzelnen Isomere erfordert eine chromatographische Reinigung an Kieselgel.

Aktivierung von Thioglycosiden mit **6** und hydrogenolytische Entschützung der Benzylether: Zu einer eisgekühlten Suspension aus Thioglycosid (1.0 Äquiv.), Glycosylacceptor (1.0 Äquiv.) und gemörsertem Molekularsieb (1 g mmol⁻¹; 4 Å) in wasserfreiem Acetonitril (100 mL mmol⁻¹) wird **6** gegeben und 10–20 min gerührt, bevor die Reaktion durch Zugabe von trockenem Amberlyst A-21 abgebrochen wird. Nach Filtration durch basisches Al₂O₃ wird der Rückstand mit Acetonitril gewaschen und die vereinigten Filtrate im Vakuum eingeengt. Die Abtrennung von **1** erfolgt wie oben beschrieben. Im Fall des 3,4-Di-*O*-benzyl-2,6-didesoxy-1-phenylthio-*arabino*-pyranosids (**30**) wurden die Verunreinigungen durch nochmaliges Abfangen (12 h) mit anschließender Filtration und Einengen im Vakuum entfernt. Das erhaltene Produkt wird in Methanol gelöst (20 mL \times 0.1 mmol⁻¹) und eine katalytische Menge (5 Mol-%) Pd/C (10%) zugegeben. Die Entschützung wird innerhalb von 2 h in einer Wasserstoffatmosphäre von 20 bar erreicht. Nach Filtration und Einengen im Vakuum wird das entschützte Glycosid **31** als einzige Verbindung isoliert ($\alpha:\beta = 2:1$; 93%).

Eingegangen am 26. August 2002,
veränderte Fassung am 12. November 2002 [Z50042]

Stichwörter: Festphasensynthesen · Funktionalisierte Polymere · Glycosidierungen · Thioglycoside · Trennverfahren

[1] a) D. E. Bergbreiter, *Med. Res. Rev.* **1999**, *19*, 439–450; b) J. S. Früchtel, G. Jung, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 19–46; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 17–42; c) F. Balkenhol, C.

von dem Bussche-Hünnefeld, A. Lansky, C. Zechel, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 2436–2488; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 2288–2337.

- [2] D. P. Curran, R. Ferritto, Y. Hua, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 4937–4940.
- [3] A. Kirschning, M. Jesberger, A. Schönberger, *Org. Lett.* **2001**, *3*, 3623–3626.
- [4] a) E. R. Palmacci, M. C. Hewitt, P. H. Seeberger, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 4565–4568; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 4433–4437; b) V. Pozsgay, *Org. Lett.* **1999**, *1*, 477–479.
- [5] X. Chen, J. Fang, J. Zhang, Z. Liu, J. Shao, P. Kowal, P. Andreana, P. G. Wang, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 2081–2082.
- [6] a) Z. Zhang, I. R. Ollmann, X.-S. Ye, R. Wischnat, T. Baasov, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 734–753; b) F. Burkhardt, Z. Zhang, S. Wacowich-Sgarbi, C.-H. Wong, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 1314–1317; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 1274–1277.
- [7] Aktuelle Übersichten über polymergebundene Reagenzien:
 - a) A. Kirschning, H. Monenschein, R. Wittenberg, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 670–701; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 650–679; b) S. V. Ley, I. R. Baxendale, R. N. Bream, P. S. Jackson, A. G. Leach, D. A. Longbottom, M. Nesi, J. S. Scott, R. I. Storer, S. J. Taylor, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **2000**, 3815–4195; c) D. H. Drewry, D. M. Coe, S. Poon, *Med. Res. Rev.* **1999**, *19*, 97–148.
- [8] H. Paulsen, O. Lockhoff, *Chem. Ber.* **1981**, *114*, 3102–3114.
- [9] J. Capillon, A. Richard, R. Audebert, C. Quivoron, *Polym. Bull.* **1985**, *13*, 185–192.
- [10] Thioglycoside haben sich als hervorragende Glycosyldonoren für die Synthese von Desoxyglykокonjugaten wie Cyclamycin O erwiesen: S. Rhagavan, D. Khane, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 1580–1581.
- [11] A. Kirschning, *J. Prakt. Chem.* **2000**, *342*, 508–511.
- [12] S. E. Ault-Justus, J. C. Hodges, M. W. Wilson, *Biotechnol. Bioeng.* **1998**, *61*, 17–22.
- [13] In Analogie zu unseren früheren Arbeiten haben wir Reagens **5** durch oxidativen Ligandentransfer der mobilen Liganden in [Bis(trifluoracetoxy)iod]benzol auf polymergebundenes Iodid hergestellt. Nach Waschen mit wasserfreiem Dichlormethan erhält man das neue funktionalierte Polymer, das bei -20°C für mehrere Wochen aufbewahrt werden kann: a) G. Sourkouni-Argirusi, A. Kirschning, *Org. Lett.* **2000**, *2*, 3781–3784; b) H. Monenschein, G. Sourkouni-Argirusi, K. M. Schuboth, T. O'Hare, A. Kirschning, *Org. Lett.* **1999**, *1*, 2101–2104; c) A. Kirschning, H. Monenschein, C. Schmeck, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 2720–2722; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 2594–2596.

- [14] Die vermutete Struktur wurde aus Beobachtungen abgeleitet, die in Lit. [13] beschrieben sind.
- [15] V. Gouverneur, B. Greedy, *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 766–771.
- [16] Wir haben eine große Zahl polymergebundener Halogenat(i)-Komplexe wie $\text{I}(\text{OAc})_2^-$, $\text{Br}(\text{OAc})_2^-$, $\text{Br}(\text{O}_2\text{CCF}_3)_2^-$ sowie Reagentiengemische wie $\text{Br}(\text{OAc})_2^-/\text{TMSOTf}$, $\text{I}(\text{OAc})_2^-/\text{TMSOTf}$ auf ihre thiophilen Eigenschaften untersucht. Keines dieser Reagentien führte zu einer effizienten Glycosidierung.
- [17] Das reine α -konfigurierte Thioglycosid **31** wurde in Anwesenheit von **6** mit Testosteron glycosidiert. Hierbei wurde ein α/β -Gemisch der beiden Anomere in einem Verhältnis von 2.3:1 erhalten, dasselbe Verhältnis wie bei Verwendung des β -konfigurierten Thioglycosids **31**.
- [18] a) K. C. Nicolaou, S. P. Seitz, D. P. Papahatjis, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 2430–2434; b) W. R. Roush, X. Lin, J. A. Straub, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 1649–1655; c) K. Fukase, A. Hasuoka, S. Kusumoto, *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 2187–2190.
- [19] Selectfluor (**6**) kann leicht nucleophile Additionsreaktionen mit Glycalen eingehen: a) M. D. Burkhardt, Z. Zhang, S.-C. Hung, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 11743–11746; b) S. P. Vincent, M. D. Burkhardt, C.-Y. Tsai, Z. Zhang, C.-H. Wong, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 5264–5279; c) M. Albert, K. Dax, J. Ortner, *Tetrahedron* **1998**, *54*, 4839–4848; d) M. Albert, B. J. Paul, K. Dax, *Synlett* **1999**, 1483–1485; e) J. Ortner, M. Albert, H. Weber, K. Dax, *J. Carbohydr. Chem.* **1999**, *18*, 297–316.
- [20] a) S. Grabley, E. Granzer, K. Hütter, D. Ludwig, M. Mayer, R. Thiericke, G. Till, J. Wink, S. Phillips, A. Zeeck, *J. Antibiot.* **1992**, *45*, 56–65; b) A. Göhrt, A. Zeeck, K. Hütter, R. Hirsch, H. Kluge, R. Thiericke, *J. Antibiot.* **1992**, *45*, 66–73.
- [21] Wird BER (**2**) mehrere Wochen bei 0 °C aufbewahrt, ist es immer noch ausreichend aktiv für die Abtrennung von Diphenyldisulfid (**1**), ist aber in vielen Fällen nicht mehr in der Lage, Carbonylgruppen zu reduzieren.