

BLOCKSYNTHESE VON O-GLYCOPEPTIDEN UND ANDEREN T-ANTIGEN STRUKTUREN*

HANS PAULSEN UND MICHAEL PAAL

Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg, Martin-Luther-King-Platz 6, D-2000 Hamburg 13 (Bundesrepublik Deutschland)

(Eingegangen am 7. Februar 1984; angenommen am 17. April 1984)

ABSTRACT

Under the conditions of *in situ* anomeration, the 2-azido-4,6-di-*O*-benzoyl-2-deoxy-3-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-galactopyranosyl)- α -D-galactopyranosyl bromide reacted directly and with high selectivity with the reactive hydroxyl groups of L-serine and L-threonine derivatives to form α -glycosidically-linked products. Thus, the glycopeptides containing L-serine and L-threonine are more accessible. The disaccharide block could also be coupled with other reactive hydroxyl compounds to give compounds that contain the T-receptor.

ZUSAMMENFASSUNG

2-Azido-4,6-di-*O*-benzoyl-2-desoxy-3-*O*-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-galactopyranosyl)- α -D-galactopyranosylbromid lässt sich unter den Bedingungen der *in situ*-Anomerisierungs-Reaktion direkt mit den reaktiven Hydroxylgruppen von L-Serin- und L-Threonin-Derivaten mit hoher Selektivität unter Bildung der α -glycosidisch verknüpften Produkte umsetzen. Auf diesem Wege sind die L-Serin- und L-Threonin-haltigen Glycopeptide besser zugänglich. Der Disaccharid-Synthese-block ist zur Kupplung an reaktive Hydroxylgruppen anderer Produkte gleichfalls geeignet, um zu Substanzen zu gelangen, die die Determinante des T-Antigens enthalten.

EINFÜHRUNG

Kürzlich haben wir über eine Synthese der Glycopeptide β -D-Galp-(1 \rightarrow 3)- α -D-GalpNAc-(1 \rightarrow 3)-L-Ser und β -D-Galp-(1 \rightarrow 3)- α -D-GalpNAc-(1 \rightarrow 3)-L-Thr berichtet². Diese Synthese war nach dem "step-by-step" Verfahren durchgeführt worden, bei dem ein Baustein nach dem anderen angeknüpft wurde. Im Primärschritt wurde dabei nach der Azid-Methode^{3,4} 2-Azido-2-desoxy-D-galactose α -glycosidisch an eine Hydroxyaminosäure geknüpft. Da die Hydroxylgruppen der Hydro-

*LVI Mitteilung der Serie "Bausteine von Oligosacchariden" LV Mitteil., siehe Zit. 1.

xyaminosäuren äußerst reaktiv sind, waren besondere Vorkehrungen zu treffen, um eine Stereoselektivität der α -Glycosidierung zu gewährleisten. Eine wesentliche Verbesserung und Vereinfachung der Reaktion sollte durch eine Blocksynthese mit dem Block von β -D-Galp-(1 \rightarrow 3)-D-GalN₃ möglich sein. Dieser Block wäre auch für die Darstellung anderer T-antigener Substanzen geeignet. In der vorhergehenden Arbeit¹ haben wir die Entwicklung eines derartigen Syntheseblockes beschrieben. Die Anwendung dieses Blockes ergibt, wie die vorliegende Arbeit ausweist, bei der Synthese der *O*-Glycopeptide und anderer T-antigener Strukturen erhebliche Vorteile. Besonders ist die Stereoselektivität der Glycosidverknüpfung mit der Hydroxyaminosäure besser zu kontrollieren.

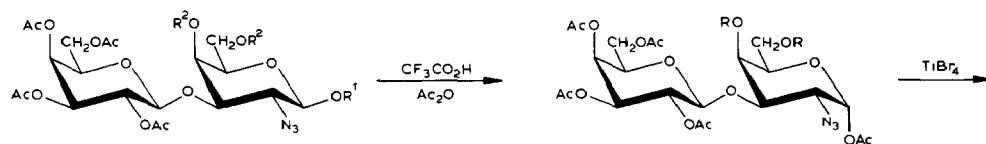
ERGEBNISSE UND DISKUSSION

An Disaccharidkomponenten des Blockes β -D-Galp-(1 \rightarrow 3)-D-GalN₃ stehen die Verbindungen **1**, **2** und **3** zur Verfügung¹. Am günstigsten sind die Methylglycoside **1** und **2**. Beide Verbindungen lassen sich unter mildesten Bedingungen mit Acetanhydrid-Schwefelsäure acetolysieren unter Bildung der einheitlichen α -Acetate **4** und **5**. Das Allyl- β -D-glycosid **3** wird mit Palladiumchlorid-Essigsäure-Natriumacetat gespalten⁵. Hierbei erweist sich ein 40% Zusatz von Aceton als besonders günstig, wodurch die Ausbeute erheblich erhöht werden kann. Die Nachacetylierung des Spaltproduktes ergibt ein α : β -Gemisch des Acetats **4**.

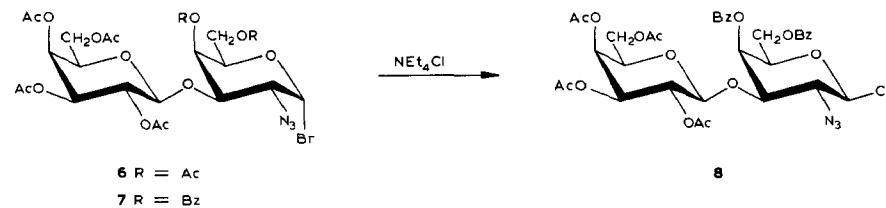
Die Halogenierung von **4** und **5** erfolgt mit Titanetetrabromid unter wasserfreien Bedingungen. Hierbei werden die Bromide **6** (Zit. 6) und **7** erhalten. Aus **6** läßt sich durch Inversion mit Tetraethylammoniumchlorid (Zit. 7) das relativ stabile kristalline β -Chlorid **8** gewinnen. Damit stehen drei Halogenide mit abgestufter Reaktivität als Glycosyldonatoren zur Verfügung.

Die Herstellung der α -glycosidischen Verknüpfung des Blockes mit den Hydroxyaminosäuren kann nur nach dem *in situ*-Anomerisierungs-Verfahren erfolgen. Als Katalysatoren sind Mischungen von Silberperchlorat mit Silbercarbonat am besten geeignet. Die Hydroxylgruppe im Serin-Derivat **9** ist sehr reaktiv. Um trotzdem eine α -Selektivität zu gewährleisten, muß bei dem *in situ*-Anomerisierungs-Verfahren in diesem Falle nach unseren Überlegungen³ ein Halogenid von geringer Reaktivität eingesetzt werden. Das einfache Halogenid 3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-azido-2-desoxy- α -D-galactopyranosylbromid erwies sich trotz Anwesenheit der die Reaktionsfähigkeit abschwächenden Acetylgruppen für eine direkte Umsetzung mit **9** unter den *in situ*-Anomerisierungs-Bedingungen als noch zu reaktiv. Es konnte hiermit keine befriedigende α -Selektivität erhalten werden². Die Disaccharide **6** und **7** dürften gegenüber dem erwähnten Monosaccharid-Halogenid eine weiter abgeschwächte Reaktivität aufweisen⁴. Ein direkter Einsatz nach dem *in situ*-Anomerisierungs-Verfahren erscheint somit aussichtsreich.

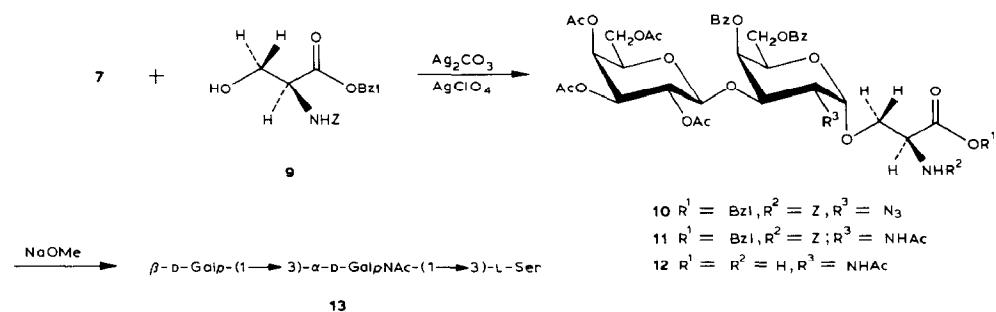
Die Ergebnisse der Blocksynthesen sind in Tabelle I zusammengefaßt. Bei der Umsetzung des Acetats **6** mit dem Serin-Derivat **9** wird zwar mit dem Verhältnis α : β wie 6:1 ein hoher Anteil an α -glycosidisch verknüpften Produkt gebildet.



- 1 $R^1 = \text{Me}, R^2 = \text{Ac}$
 2 $R^1 = \text{Me}, R^2 = \text{Bz}$
 3 $R^1 = \text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2, R^2 = \text{Ac}$

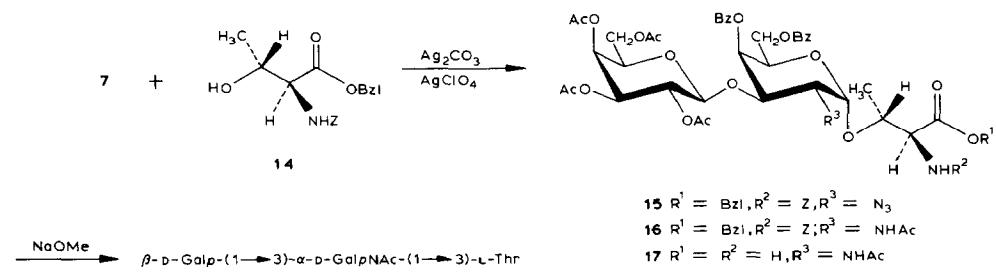


- 6 $R = \text{Ac}$
 7 $R = \text{Bz}$



- 10 $R^1 = \text{BzI}, R^2 = Z, R^3 = \text{N}_3$
 11 $R^1 = \text{BzI}, R^2 = Z, R^3 = \text{NHAc}$
 12 $R^1 = R^2 = H, R^3 = \text{NHAc}$

13



- 15 $R^1 = \text{BzI}, R^2 = Z, R^3 = \text{N}_3$
 16 $R^1 = \text{BzI}, R^2 = Z, R^3 = \text{NHAc}$
 17 $R^1 = R^2 = H, R^3 = \text{NHAc}$

18

$Z = \text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{OCO}$

TABELLE I

UNTERSUCHUNGEN ZUR BLOCKSYNTHESЕ MIT UNTERSCHIEDLICH REAKTIVEN PARTNERN^a

Glycosyl- Donator	Glycosyl- Akzeptor	Katalysator Ag_2CO_3 – $AgClO_4$ Verhältnis	Losungsmittel	Zeit (h)	Gesamt ausb. (%)	$\alpha:\beta$ Verhältnis
6	9	20:1	CH_2Cl_2 –Toluol	8	62	6:1
6	9	10:1	CH_2Cl_2 –Toluol	6	57	6:1
7	9	10:1	CH_2Cl_2 –Toluol	5	81	nur α
7	14	10:1	CH_2Cl_2 –Toluol	5	85	nur α
7	19	10:1	CH_2Cl_2 –Toluol	3	74	nur α
7	23	10:1	CH_2Cl_2 –Toluol	1	71	7:1
7	23	10:1	1,2-Dimethoxyethan	1	74	7:1
8	23	10:1	CH_2Cl_2 –Toluol	3	83	20:1
8	23	10:1	1,2-Dimethoxyethan	3	78	15:1

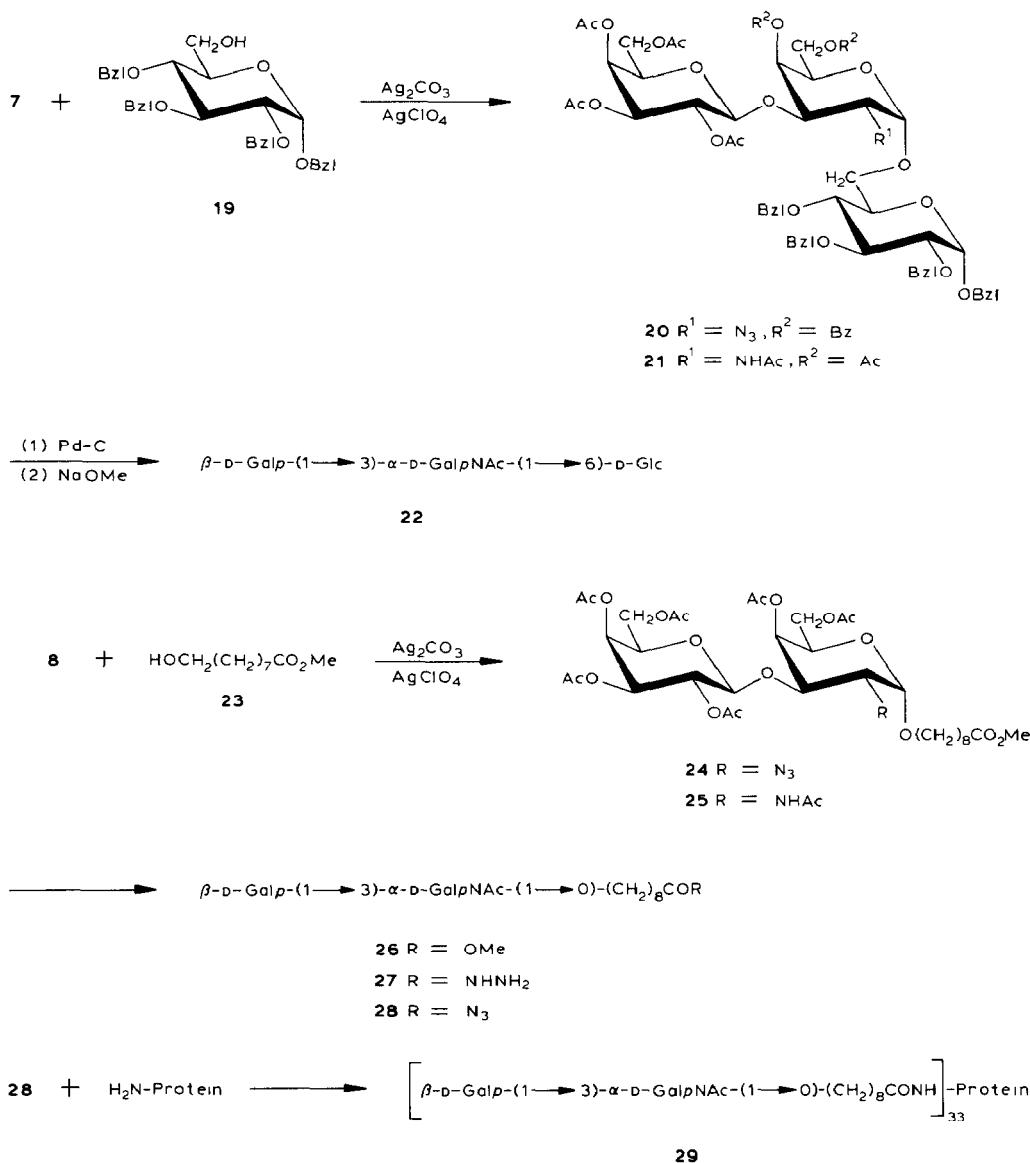
^aTemperatur: stets 20°. Das Lösungsmittelgemisch Dichlormethan–Toluol wurde stets im Verhältnis 1:1 eingesetzt.

Die Ergebnisse sind jedoch unbefriedigend und werden durch eine kürzlich erschienene Untersuchung bestätigt⁷. Bei niedrigeren Temperaturen geht die Ausbeute zurück und das Anomerenverhältnis bleibt im wesentlichen unverändert.

Wesentlich günstiger verhält sich die Benzoylverbindung **7**. Bei der Umsetzung von **7** mit **9** erhält man in direkter Reaktion in hoher Ausbeute (81%) und bester Stereoselektivität nur das α -glycosidisch verknüpfte Produkt **10**. Damit ist mit dem direkten *in situ*-Anomerisierungs-Verfahren eine gute Stereoselektivität erreicht worden. Das Threonin-Derivat **14** lässt sich unter analogen Bedingungen gleichermaßen erfolgreich umsetzen. Man erhält hierbei wiederum nur das α -glycosidisch verknüpfte Produkt **15** in 85% Ausbeute.

Zur Entblockierung von **10** wird zunächst mit Natriumborhydrid–Nickelchlorid die Azidogruppe reduziert⁸ und die gebildete Aminogruppe acetyliert zu **11**. Bei der anschließenden Hydrogenolyse in Methanol an Palladium–Kohle wird die Benzyloxycarbonyl-Gruppe und der Benzylester im Aminosäureteil gleichzeitig abgespalten. Es resultiert **12** in praktisch quantitativer Ausbeute. Die anschließende Hydrolyse mit Natriummethylat (bei genau pH 10.0) führt zum gewünschten L-Serin-Glycopeptide **13**. Eine analoge Entblockierungssequenz lässt sich auf das Threonin-Derivat **15** anwenden. Über **16** und **17** ist auf diesem Wege gleichfalls das vollständig entblockierte Produkt **18** erhältlich.

Der Syntheseblock **7** ist ferner gut geeignet, um weitere Strukturen zu synthetisieren, die die T-Determinante enthalten. Ein interessantes Substrat ist das an OH-6 unsubstituierte D-Glucose-Derivat **19**. In direkter Reaktion nach dem *in situ*-Anomerisierung-Verfahren reagiert die reaktive primäre Hydroxylgruppe von **19** mit **7** unter ausschließlicher Bildung des α -glycosidisch verknüpften Trisaccharides **20**. Dieses Trisaccharid ist bereits von uns in einer aufwendigeren “step-by-step” Synthese dargestellt worden⁹. Durch Reduktion von **20** mit Natriumborhydrid–Nickelchlorid und Nachacetylierung gelangt man zu **21**. Die anschließende hydro-



genolytische Spaltung und unmittelbare Zemplén-Verseifung¹⁰ mit Natrium-methylat führt zum freien Trisaccharid **22**. Mit **22** ist nach Schwartz und Gray¹¹ eine Kupplung mit Proteinen möglich.

Ferner wurde die Umsetzung des Blockes **7** mit dem Spacer **23** überprüft. Die Hydroxylgruppe in **23** weist eine hohe Reaktivität auf. Trotz vieler Bemühungen war es bisher nicht gelungen, **23** mit dem entsprechenden Monosaccharid-Halogenid stereoselektiv zu α -Glycosiden umzusetzen¹². Wie die Tabelle I

zeigt, führt die Reaktion von **7** mit **23** unter *in situ*-Anomerisierungs-Bedingungen bereits zu einem wesentlich besseren Anomerenverhältnis von α : β wie 7:1. In dem von Bovin *et al.*¹³ empfohlenen Lösungsmittel Dimethoxyethan verläuft die Reaktion ähnlich. Bei tieferen Temperaturen nimmt der Anteil an β -Produkt erheblich zu. Am günstigsten ist es jedoch, das invertierte β -Chlorid **8** mit **23** umzusetzen. Hiermit gelingt es, das Kupplungsprodukt **24** in hoher Ausbeute (84%) und guter Stereoselektivität (α : β wie 20:1) zu gewinnen.

Zur Entblockierung wird die Azidogruppe in **24** reduziert zur Aminogruppe, deren sofortige Acetylierung **25** ergibt. Durch Spaltung mit Natriummethylat gelangt man zum entblockierten T-Antigen-Hapten¹² **26**. Dieses wird in der bekannten Weise in das Hydrazid **27** und anschließend in das Azid **28** überführt¹⁴. Die Kupplung von **28** mit Human-Serumalbumin ergibt dann das mit T-Antigen-Determinanten besetzte Protein **29**, das für immunologische Untersuchungen von Interesse ist.

Der Syntheseblock **7** ist somit bestens geeignet, um hiermit selektive Verknüpfungen zu α -Glycosiden mit Hydroxyaminosäuren durchzuführen. Der Block **7** hat sich inzwischen auch zur selektiven α -Glycosidsynthese mit Hydroxyamino-säure-haltigen Peptiden bewährt¹⁵.

EXPERIMENTELLER TEIL

Allgemeine Methoden. — Alle Reaktionen wurden dünnsschichtchromatographisch auf mit Kieselgel beschichteten Aluminiumfolien (Merck GF₂₅₄) verfolgt. Laufmittelsysteme: Ethylacetat–Petrolether, Ether–Petrolether, Toluol–Aceton, Chloroform–Methanol, Chloroform–Methanol–Wasser, Ethylacetat–Methanol–Wasser. Detektion: U.v.-Absorption, Ansprühen mit 10%iger ethanolischer Schwefelsäure und Wärmebehandlung. Präparative Säulenchromatographie: Kieselgel 60 (70–230 mesh, Merck). Schmelzpunkte: Leitz-Heiztischmikroskop, nicht korrigiert. Optische Drehungen: Perkin–Elmer Polarimeter 241 oder 243 in 1-dm Küvetten bei 589 (Na-D-Linie). ¹H-N.m.r.-Spektren: Bruker WH 270- oder WM 400-Gerät, innerer Standard Me₄Si. In D₂O wurde die chemische Verschiebung auf DOH-Resonanz bezogen (δ_{DOH} 4.64). Gefriertrocknungen: Christ Beta (1102)-Anlage. Ultrafiltrationen wurden in einer Amicon Rührzelle an einer PM 10-Membran durchgeführt.

Alle für Glycosidsynthesen verwendeten Reagenzien und Lösungsmittel waren absolut wasserfrei und wurden über Molekularsieb 4A aufbewahrt. Die Glycosidsynthesen wurden stets unter strengstem Feuchtigkeitsausschluß unter N₂ in Braunglaskolben ausgeführt. Die Reagenzien wurden durch Molekularsieb 4A im Tropftrichter eingetropft.

1,4,6-Tri-O-acetyl-2-azido-2-desoxy-3-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)- α -D-galactopyranose (4). — Verbindung **1** (630 mg, 1 mmol) wird in Acetanhydrid (3 mL) gelöst, auf -20° gekühlt und mit der ebenfalls auf -20° gekühlten Acetolyse-Mischung (Acetanhydrid–H₂SO₄, 3 mL, 50:1, v/v) versetzt.

Nach 12 h bei -20° wird die Mischung in kaltes Chloroform (50 mL) gegeben, rasch mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung neutralisiert und mit Wasser gewaschen. Nach Einengen der Chloroformschicht *in vacuo* erhält man einen chromatographisch einheitlichen Sirup (D.c.: Ethylacetat–Petrolether 1:1, v/v), der nach längerem Stehen im Kühlschrank kristallisiert; Ausb. 620 mg (94%), Schmp. 180°, $[\alpha]_D^{24} +48^{\circ}$ (c 0.4, Chloroform); $^1\text{H-N.m.r.}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 6.35 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3.4 Hz, H-1), 5.35 (dd, 1 H, $J_{3',4'}$ 3.4, $J_{4',5'}$ 0.8 Hz, H-4'), 5.30 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 3.4, $J_{4,5}$ 0.7 Hz, H-4), 5.09 (dd, 1 H, $J_{1',2'}$ 7.8, $J_{2',3'}$ 10.4 Hz, H-2'), 4.98 (dd, 1 H, $J_{2',3'}$ 10.4, $J_{3',4'}$ 3.4 Hz, H-3'), 4.68 (d, 1 H, $J_{1',2'}$ 7.8 Hz, H-1'), 4.21 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 10.5, $J_{3,4}$ 3.4 Hz, H-3), 4.05 (dd, 1 H, $J_{5',6'a}$ 6.8, $J_{6'a,6'b}$ 11.2 Hz, H-6'a), 4.02 (dd, 1 H, $J_{1,2}$ 3.4, $J_{2,3}$ 10.5 Hz, H-2), 4.00 (dd, 1 H, $J_{5,6a}$ 4.6, $J_{6a,6b}$ 11.6 Hz, H-6a), 3.98 (dd, 1 H, $J_{5',6'b}$ 6.4, $J_{6'a,6'b}$ 11.2 Hz, H-6'b), 3.95 (dd, 1 H, $J_{5,6b}$ 4.2, $J_{6a,6b}$ 11.6 Hz, H-6b), 2.10, 2.09, 2.08, 2.06, 2.04, 2.00 (6 s, 21 H, 6 OAc).

Anal. Ber. für $\text{C}_{26}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_{17}$ (661.6): C, 47.20; H, 5.33; N, 6.35. Gef.: C, 47.25; H, 5.36; N, 6.38.

Verbindung¹ **3** kann in 50% Essigsäure–Aceton (2:1), gelöst mit PdCl_2 –Natriumacetat, entallyliert werden. Die Nachacetylierung ergibt dann **4** als α,β -Anomerengemisch.

1-Acetyl-2-azido-4,6-di-O-benzoyl-2-desoxy-3-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-O-D-galactopyranose (5). — Verbindung¹ **2** (1.49 g, 2.0 mmol) wird in Acetanhydrid (5 mL) gelöst und nach Abkühlung auf -20° fügt man die ebenfalls auf -20° gekühlte Acetolyse-Mischung (Acetanhydrid– H_2SO_4 , 5 mL, 50:1, v/v) hinzu. Nach 12 h bei -20° wird wie unter **4** beschrieben zum Sirup aufgearbeitet, der bei längerem Stehen im Kühlschrank kristallisiert; Ausb. 1.43 g (92%), Schmp. 86°, $[\alpha]_D^{26} +41^{\circ}$ (c 0.1, Chloroform); $^1\text{H-N.m.r.}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 8.08–7.41 (m, 10 H, Ph), 6.40 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3.9 Hz, H-1), 5.90 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 3.4, $J_{4,5}$ 0.8 Hz, H-4), 5.32 (dd, 1 H, $J_{3',4'}$ 3.4, $J_{4',5'}$ 0.7 Hz, H-4'), 5.12 (dd, 1 H, $J_{1',2'}$ 7.8, $J_{2',3'}$ 10.4 Hz, H-2'), 4.98 (dd, 1 H, $J_{2',3'}$ 10.4, $J_{3',4'}$ 3.4 Hz, H-3'), 4.81 (d, 1 H, $J_{1',2'}$ 7.8 Hz, H-1'), 4.45 (dd, 1 H, $J_{5,6a}$ 6.2, $J_{6a,6b}$ 12.0 Hz, H-6a), 4.42 (ddd, 1 H, $J_{5',6'a}$ 4.4, $J_{5',6'b}$ 5.2, $J_{6'a,6'b}$ 11.4 Hz, H-5'), 4.35 (dd, 1 H, $J_{5,6b}$ 7.2, $J_{6a,6b}$ 12.0 Hz, H-6b), 4.23 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 10.6, $J_{3,4}$ 3.4 Hz, H-3), 4.18 (dd, 1 H, $J_{5',6'a}$ 4.4, $J_{6'a,6'b}$ 11.4 Hz, H-6'a), 4.12 (dd, 1 H, $J_{5',6'b}$ 5.2, $J_{6'a,6'b}$ 11.4 Hz, H-6'b), 4.08 (dd, 1 H, $J_{1,2}$ 3.9, $J_{2,3}$ 10.6 Hz, H-2), 3.95 (ddd, 1 H, $J_{5,6a}$ 6.2, $J_{5,6b}$ 7.2, $J_{6a,6b}$ 12.0 Hz, H-5), 2.18, 2.06, 2.01, 2.00, 1.94 (5 s, 15 H, 5 OAc).

Anal. Ber. für $\text{C}_{36}\text{H}_{39}\text{N}_3\text{O}_{17}$ (785.7): C, 55.03; H, 5.00; N, 5.35. Gef.: C, 54.86; H, 5.10; N, 5.28.

4,6-Di-O-acetyl-2-azido-2-desoxy-3-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)- α -D-galactopyranosylbromid (6). — Verbindung **4** (330 mg, 0.5 mmol) wird in absol. Dichlormethan (8 mL) und absol. Ethylacetat (0.8 mL) gelöst und mit TiBr_4 (200 mg) versetzt. nach 8 h bei 20° wird mit absol. Toluol (20 mL) verdünnt und mit wasserfreiem Natriumacetat portionsweise neutralisiert bis zur bleibenden Entfärbung. Nach Filtration wird *in vacuo* eingeengt; Ausb. 310 mg (89%), Sirup $[\alpha]_D^{26} +76^{\circ}$ (c 0.1, Chloroform); Lit.⁶ $[\alpha]_D +81^{\circ}$ (Chloroform); $^1\text{H-N.m.r.}$

(400 MHz, CDCl_3): δ 6.41 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3.6 Hz, H-1), 5.40 (dd, 1 H, $J_{3',4'}$ 3.4, $J_{4',5'}$ 0.8 Hz, H-4'), 5.28 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 3.4, $H_{4,5}$ 0.8 Hz, H-4), 5.00 (dd, 1 H, $J_{1',2'}$ 8.0, $J_{2',3'}$ 10.6 Hz, H-2'), 4.95 (dd, 1 H, $J_{2',3'}$ 10.6, $J_{3',4'}$ 3.4 Hz, H-3'), 4.75 (d, 1 H, $J_{1',2'}$ 8.0 Hz, H-1'), 4.23 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 10.4, $J_{3,4}$ 3.4 Hz, H-3), 4.12 (dd, 1 H, $J_{1,2}$ 3.6, $J_{2,3}$ 10.4 Hz, H-2), 4.01 (dd, 1 H, $J_{5,6a}$ 4.4, $J_{6a,6b}$ 11.8 Hz, H-6a), 4.00 (dd, 1 H, $J_{5,6'a}$ 6.2, $J_{6a,6'b}$ 11.0 Hz, H-6'a), 3.94 (dd, 1 H, $J_{5,6b}$ 4.0, $J_{6a,6b}$ 11.8 Hz, H-6b), 3.92 (dd, 1 H, $J_{5',4'b}$ 5.8, $J_{6'a,6'b}$ 11.0 Hz, H-6'b), 2.08, 2.07, 2.05, 2.03, 2.00 (5 s, 18 H, 6 OAc).

Anal. Ber. für $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{BrN}_3\text{O}_{15}$ (682.4): C, 42.24; H, 4.73; Br, 11.70; N, 6.16. Gef.: C, 42.26; H, 4.90; Br, 12.00; N, 6.19.

2-Azido-4,6-di-O-benzoyl-2-desoxy-3-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)- α -D-galactopyranosylbromid (7). — Verbindung 5 (780 mg, 1.0 mmol) wird in absol. Dichlormethan (10 mL) und absol. Ethylacetat (1 mL) gelöst und bei 20° mit TiBr_4 (400 mg) versetzt. nach 6 h bei 20° ist die Reaktion beendet und es wird wie bei 6 beschrieben aufgearbeitet; Ausb. 780 mg (97%), Sirup, $[\alpha]_D^{25} +44^\circ$ (c 0.3, Chloroform); $^1\text{H-N.m.r.}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 8.03–7.18 (m, 10 H, Ph), 6.58 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3.6 Hz, H-1), 5.91 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 3.4, $J_{4,5}$ 0.8 Hz, H-4), 5.30 (dd, 1 H, $J_{3',4'}$ 3.4, $J_{4',5'}$ 0.8 Hz, H-4'), 5.09 (dd, 1 H, $J_{1',2'}$ 7.8, $J_{2',3'}$ 10.2 Hz, H-2'), 4.96 (dd, 1 H, $J_{2',3'}$ 10.2, $J_{3',4'}$ 3.4 Hz, H-3'), 4.79 (d, 1 H, $J_{1',2'}$ 7.8 Hz, H-1'), 4.54 (dd, 1 H, $J_{5,6a}$ 6.6, $J_{6a,6b}$ 12.0 Hz, H-6a), 4.39 (dd, 1 H, $J_{5,6b}$ 7.6, $J_{6a,6b}$ 12.0 Hz, H-6b), 4.27 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 10.0, $J_{3,4}$ Hz, H-3), 4.14 (ddd, 1 H, $J_{5',6'a}$ 4.2, $J_{5',6'b}$ 7.6, $J_{6'a,6'b}$ 11.4 Hz, H-5'), 4.12 (dd, 1 H, $J_{5',6'a}$ 4.2, $J_{6'a,6'b}$ 11.4 Hz, H-6'a), 4.09 (dd, 1 H, $J_{1,2}$ 3.6, $J_{2,3}$ 10.0 Hz, H-2), 4.07 (dd, 1 H, $J_{5',6'b}$ 7.6, $J_{6'a,6'b}$ 11.4 Hz, H-6'b), 3.90 (ddd, 1 H, $J_{5,6a}$ 6.6, $J_{5,6b}$ 7.6, $J_{6a,6b}$ 12.0 Hz, H-5), 2.03, 1.98, 1.88, 1.85 (4 s, 12 H, 4 OAc).

Anal. Ber. für $\text{C}_{34}\text{H}_{38}\text{BrN}_3\text{O}_{15}$ (806.6): C, 50.63; H, 4.50; Br, 9.91; N, 5.21. Gef.: C, 51.04; H, 4.59; Br, 10.20; N, 5.01.

2-Azido-4,6-di-O-benzoyl-2-desoxy-3-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)- β -D-galactopyranosylchlorid (8). — Verbindung 7 (400 mg, 0.5 mmol) wird in absol. Acetonitril (10 mL) gelöst und mit Tetraethylammoniumchlorid (200 mg) in absol. Acetonitril (5 mL) versetzt. Die Bildung von 8 wird polarimetrisch verfolgt. Beim Erreichen des Drehwertminimums wird die Inversion durch Zugabe von Toluol (100 mL) gestoppt. Es wird mehrfach mit kaltem Wasser gewaschen. Die organische Phase wird mit MgSO_4 getrocknet und *in vacuo* eingeengt. Das zunächst sirupöse Reaktionsprodukt kristallisiert im Kühlschrank aus; Ausb. 302 mg (79%), Schmp. 118°, $[\alpha]_D^{20} +28^\circ$ (c 0.3, Chloroform); $^1\text{H-N.m.r.}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 8.06–7.20 (m, 10 H, Ph), 5.74 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 3.4, $J_{4,5}$ 0.8 Hz, H-4), 5.30 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 3.4, $J_{4,5}$ 0.8 Hz, H-4), 5.30 (dd, 1 H, $J_{3',4'}$ 3.4, $J_{4',5'}$ 0.8 Hz, H-4'), 5.12 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 7.8 Hz, H-1), 5.09 (dd, 1 H, $J_{1',2'}$ 7.8, $J_{2',3'}$ 10.8 Hz, H-2'), 4.98 (dd, 1 H, $J_{2',3'}$ 10.8, $J_{3',4'}$ 3.4 Hz, H-3'), 4.75 (d, 1 H, $J_{1',2'}$ 7.8 Hz, H-1'), 4.54 (dd, 1 H, $J_{5,6a}$ 4.4, $J_{6a,6b}$ 12.0 Hz, H-6a), 4.35 (dd, 1 H, $J_{5,6b}$ 7.4, $J_{6a,6b}$ 12.0 Hz, H-6b), 4.09 (dd, 1 H, $J_{1,2}$ 7.8, $J_{2,3}$ 10.2 Hz, H-2), 4.07 (ddd, 1 H, $J_{5',6'a}$ 6.8, $J_{5',6'b}$ 9.0, $J_{6'a,6'b}$

11.4 Hz, H-5'), 3.87 (ddd, 1 H, $J_{5,6a}$ 4.4, $J_{5,6b}$ 7.4, $J_{6a,6b}$ 12.0 Hz, H-5), 3.68 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 10.2, $J_{3,4}$ 3.4 Hz, H-3), 2.02, 2.00, 1.93, 1.89 (4 s, 12 H, 4 OAc).

Anal. Ber. für $C_{34}H_{36}ClN_3O_{15}$ (762.1): C, 53.58; H, 4.76; Cl 4.65; N, 5.51. Gef.: C, 54.01; H, 4.90; Cl, 5.01; N, 5.56.

3-O-[2-Azido-4,6-di-O-benzoyl-2-desoxy-3-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)- α -D-galactopyranosyl]-N-(benzyloxycarbonyl)-L-serinbenzylester (10). — Eine Lösung von **9** (Zit. 16; 165 mg, 0.5 mmol) in absol. Toluol-absol. Dichlormethan (8 mL, 1:1, v/v) wird unter Licht und Feuchtigkeitsausschluß mit Ag_2CO_3 (150 mg) und Molekularsieb 4A (500 mg) 1 h bei 20° gerührt. Dann fügt man Silberperchlorat (15 mg) hinzu und röhrt weitere 20 min bei 20°. Danach tropft man innerhalb von 1 h **7** (400 mg, 0.5 mmol) in absol. Toluol-absol. Dichlormethan (8 mL, 1:1, v/v) hinzu und röhrt noch 6 h bei 20°. Es wird durch Celite filtriert und *in vacuo* eingeengt. Die Reinigung erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel (Toluol-Ethylacetat 1:1, v/v); Ausb. 415 (81%), Sirup, $[\alpha]_D^{26} +65.2^\circ$ (c 0.5, Chloroform); 1H -N.m.r. (400 MHz, $CDCl_3$): δ 8.05–7.33 (m, 20 H, Ph), 5.75 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 3.2, $J_{4,5}$ 1.0 Hz, H-4), 5.72 (d, 1 H, $J_{CH,NH}$ 8.3 Hz, NH-Ser), 5.28 (dd, 1 H, $J_{3',4'}$ 3.0, $J_{4',5'}$ 0.8 Hz, H-4'), 5.11 (dd, 1 H, $J_{1',2'}$ 7.8, $J_{2',3'}$ 10.6 Hz, H-2'), 4.96 (dd, 1 H, $J_{2',3'}$ 10.6, $J_{3',4'}$ 3.0 Hz, H-3'), 4.91 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3.4 Hz, H-1), 4.72 (d, 1 H, $J_{1',2'}$ 7.8 Hz, H-1'), 4.39 (dd, 1 H, $J_{5',6'a}$ 4.2, $J_{6'a,6'b}$ 12.0 Hz, H-6'a), 4.33 (dd, 1 H, $J_{5',6'b}$ 7.4, $J_{6'a,4'b}$ 12.0 Hz, H-6'b), 4.25 (m, 1 H, H-5'), 4.12 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 10.8, $J_{3,4}$ 3.4 Hz, H-3), 4.11 (dd, 1 H, $J_{5,6a}$ 6.4, $J_{6a,6b}$ 11.0 Hz, H-6a), 4.00 (dd, 1 H, $J_{5,6b}$ 1.8, $J_{6a,6b}$ 11.0 Hz, H-6b), 3.88 (m, 1 H, H-5), 3.70 (dd, 1 H, $J_{1,2}$ 3.4, $J_{2,3}$ 10.8 Hz, H-2), 2.02, 1.99, 1.90, 1.86 (4 s, 12 H, 4 OAc).

Anal. Ber. für $C_{51}H_{53}N_4O_{20}$ (1041.9): C, 58.79; H, 5.13; N, 5.38. Gef.: C, 58.82; H, 5.24; N, 5.41.

3-O-[2-Acetamido-4,6-di-O-benzoyl-2-desoxy-3-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-N-(benzyloxycarbonyl)-L-serinbenzylester (11). — Verbindung **10** (206 mg, 0.2 mmol) wird in Ethanol (6 mL) gelöst, mit gepufferter $NiCl_2$ -Lösung (2 mL, 4% $NiCl_2 \cdot 6 H_2O$ in Ethanol und 1% Borsäurezusatz) gelöst und mit $NaBH_4$ (20 mg) versetzt. Nach 1 h wird Pyridin (2 mL) und Acetanhydrid (2 mL) zugegeben und 6 h bei 20° stehen gelassen. Es wird eingeengt und mit Chloroform-Wasser ausgeschüttelt. Die organische Phase wird getrocknet und *in vacuo* eingeengt; Ausb. 190 mg (90%), Sirup, $[\alpha]_D^{26} +67^\circ$ (c 0.5, Aceton); 1H -N.m.r. (400 MHz, $CDCl_3$): δ 8.12–7.34 (m, 20 H, Ph), 5.84 (d, 1 H, $J_{NH,2}$ 9.0 Hz, NH), 5.72 (d, 1 H, $J_{NH,CH}$ 8.2 Hz, NH-Ser), 5.67 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 3.4, $J_{4,5}$ 0.8 Hz, H-4), 5.31 (dd, 1 H, $J_{3',4'}$ 3.4, $J_{4',5'}$ 0.6 Hz, H-4'), 5.03 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3.2 Hz, H-1), 4.95 (dd, 1 H, $J_{2',3'}$ 11.0, $J_{3',4'}$ 3.4 Hz, H-3'), 4.92 (dd, 1 H, $J_{1',2'}$ 8.0, $J_{2',3'}$ 11.0 Hz, H-2'), 4.66 (d, 1 H, $J_{1',2'}$ 8.0 Hz, H-1'), 4.49 (dd, 1 H, $J_{5',6'a}$ 2.0, $J_{6'a,6'b}$ 11.4 Hz, H-6a), 4.34 (dd, 1 H, $J_{5',6'b}$ 3.4, $J_{6'a,6'b}$ 11.4 Hz, H-6b), 4.04 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 10.8, $J_{3,4}$ 3.4 Hz, H-3), 3.87 (m, 2 H, H-5,-5'), 2.06, 2.02, 1.98, 1.95, 1.90 (5 s, 15 H, 4 OAc und 1 NAc).

Anal. Ber. für $C_{53}H_{56}N_2O_{21}$ (1057.0): C, 60.22; H, 5.34; N, 2.65. Gef.: C, 60.26; H, 5.39; N, 2.74.

3-O-[2-Acetamido-4,6-di-O-benzoyl-2-desoxy-3-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)- α -D-galactopyranosyl]-L-serin (12). — Verbindung **11** (53 mg, 0.05 mmol) wird in Methanol (5 mL) gelöst und mit Pd-Kohle (20 mg) 6 h bei 20° hydriert. Anschließend wird filtriert und *in vacuo* eingeengt; Ausb. 36 mg (85%), Sirup, $[\alpha]_D^{26} +76^\circ$ (c 0.5, Chloroform); $^1\text{H-N.m.r.}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 8.89 (d, 1 H, COOH), 8.08–7.39 (m, 10 H, Ph), 5.69 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 3.2, $J_{4,5}$ 0.8 Hz, H-4), 5.32 (dd, 1 H, $J_{3',4'}$ 3.2, $J_{4',5'}$ 0.5 Hz, H-4'), 4.96 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3.4 Hz, H-1), 4.72 (dd, 1 H, $J_{1',2'}$ 8.0, $J_{2',3'}$ 11.2 Hz, H-2'), 4.64 (dd, 1 H, $J_{2',3'}$ 11.2, $J_{3',4'}$ 3.2 Hz, H-3'), 4.41 (d, 1 H, $J_{1',2'}$ 8.0 Hz, H-1'), 4.38 (dd, 1 H, $J_{5,6a}$ 4.4, $J_{6a,6b}$ 12.0 Hz, H-6a), 4.13 (dd, 1 H, $J_{5,6b}$ 3.4, $J_{6a,6b}$ 12.0 Hz, H-6b), 3.79 (dd, 1 H, $J_{2,3}$ 10.8, $J_{3,4}$ 4.2 Hz, H-3), 2.13, 2.01, 1.90 (3 s, 15 H, 4 OAc) und 1 NAc).

Anal. Ber. für $\text{C}_{39}\text{H}_{46}\text{N}_2\text{O}_{19}$ (846.8): C, 55.32; H, 5.48; N, 3.31. Gef.: C, 55.40; H, 5.61; N, 3.36.

3-O-(2-Acetamido-2-desoxy-3-O- β -D-galactopyranosyl- α -D-galactopyranosyl)-L-serin (13). — Verbindung **12** (21 mg, 25 μmol) wird in Methanol (3 mL) gelöst und tropfenweise mit 1% Natriummethoxid-Methanol bis pH 10.5 versetzt. Man lässt 24–36 h bei 5° stehen und neutralisiert mit Amberlite IRC-50 Ionenaustauscher, filtriert und engt *in vacuo* ein; Ausb. 10 mg (85%), amorph, $[\alpha]_D^{26} +87^\circ$ (c 1.0, Methanol–Wasser 1:1, v/v); $^1\text{H-N.m.r.}$ (400 MHz, D_2O): δ 4.82 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3.4 Hz, H-1), 4.40 (d, 1 H, $J_{1',2'}$ 7.8 Hz, H-1'), 3.38 (dd, 1 H, $J_{1',2'}$ 7.8, $J_{2',3'}$ 10.2 Hz, H-2'), 1.92 (s, 3 H, 1 NAc). Alle übrigen Daten stimmen mit den Literaturangaben² überein.

Anal. Ber. für $\text{C}_{17}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_{13}$ (470.4): C, 43.40; H, 6.43; N, 5.96. Gef.: C, 43.58; H, 6.28; N, 5.79.

3-O-[2-Azido-4,6-di-O-benzyl-2-desoxy-3-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)- α -D-galactopyranosyl]-N-benzyloxycarbonyl-L-threoninbenzylester (15). — Eine Lösung von **14** (Zit. 17; 85 mg, 0.25 mmol) in absol. Toluol–absol. Dichlormethan (4 mL, 1:1, v/v) wird unter Licht- und Feuchtigkeitsausschluß mit Silbercarbonat (75 mg) und Molekularsieb 4A (250 mg) 1 h bei 20° gerührt. Dann fügt man Silberperchlorat (8 mg) hinzu und röhrt weitere 20 min bei 20°. Anschließend tropft man innerhalb von 60 min **7** (200 mg, 0.25 mmol) in absol. Toluol–absol. Dichlormethan (4 mL, 1:1, v/v) hinzu und röhrt weitere 8 h bei 20°. Die Aufarbeitung geschieht wie bei **10** beschrieben. Die Reinigung erfolgt an einer Kieselgelsäule (Toluol–Ethylacetat 1:1, v/v); Ausb. 220 mg (85%), Sirup, $[\alpha]_D^{26} +43^\circ$ (c 0.5, Chloroform); $^1\text{H-N.m.r.}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 8.02–7.38 (m, 20 H, Ph), 5.76 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 3.2, $J_{4,5}$ 1.0 Hz, H-4), 5.59 (d, 1 H, $J_{\text{CH}_\alpha,\text{NH}}$ 9.0 Hz, ThrNH), 5.33 (dd, 1 H, $J_{3',4'}$ 3.4, $J_{4',5'}$ 1.0 Hz, H-4'), 5.09 (dd, 1 H, $J_{1',2'}$ 7.8, $J_{2',3'}$ 10.4 Hz, H-2'), 4.95 (dd, 1 H, $J_{2',3'}$ 10.4, $J_{3',4'}$ 3.4 Hz, H-3'), 4.89 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3.6 Hz, H-1), 4.73 (d, 1 H, $J_{1',2'}$ 7.8 Hz, H-1'), 4.48 (dd, 1 H, $J_{5,6a}$ 3.0, $J_{6a,6b}$ 11.0 Hz, H-6a), 4.43 (dd, 1 H, $J_{5,6b}$ 1.4, $J_{6a,6b}$ 11.0 Hz, H-6b), 4.13 (dd, 1 H, $J_{\text{CH}_\alpha,\text{CH}_\beta}$ 1.6, $J_{\text{CH}_\beta,\text{CH}_\alpha}$ 6.0 Hz, ThrCH α), 4.09 (dd, 1 H, $J_{\text{CH}_\alpha,\text{CH}_\beta}$ 1.6, $J_{\text{CH}_\beta,\text{CH}_\alpha}$ 6.0 Hz, ThrCH β), 3.99 (m, 1 H, H-5'), 3.89 (m, 1 H, 5-H), 3.67 (dd, 1 H, $J_{1,2}$ 3.6, $J_{2,3}$ 10.8 Hz, H-2), 2.08, 2.05, 2.01 (3 s, 12 H, 4 OAc), 1.25 (d, 3 H, $J_{\text{CH}_\beta,\text{CH}_\alpha}$ 6.0 Hz, Thr-CH β).

Anal. Ber. für $C_{52}H_{55}N_4O_{20}$ (1056.0): C, 59.14; H, 5.25; N, 5.31. Gef.: C, 60.01; H, 5.26; N, 5.40.

3-O-[2-Acetamido-4,6-di-O-benzoyl-2-desoxy-3-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)- α -D-galactopyranosyl]-N-benzyloxycarbonyl-L-threoninbenzyl-ester (16). — Verbindung **15** (50 mg, 0.05 mmol) wird in Ethanol (3 mL) gelöst und mit gepufferter $NiCl_2$ -Lösung (1 mL) und $NaBH_4$ (10 mg) wie bei **11** beschrieben reduziert. Nach 1 h wird Pyridin (1 mL) und Acetanhydrid (1 mL) zugegeben und 6 h bei 20° stehen gelassen. Danach wird wie bei **11** angegeben aufgearbeitet; Ausb. 39 mg (73%), Sirup, $[\alpha]_D^{24} +39^\circ$ (*c* 0.3, Aceton); 1H -N.m.r. (400 MHz, $CDCl_3$): δ 8.09–7.36 (m, 10 H, Ph), 6.11 (d, 1 H, $J_{NH,2}$ 9.0 Hz, NHAc), 5.73 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 3.3, $J_{4,5}$ 0.8 Hz, H-4), 5.57 (d, 1 H, $J_{CH\alpha,NH}$ 9.0 Hz, Thr-NH), 5.31 (dd, 1 H, $J_{3',4'}$ 3.0, $J_{4',5'}$ 1.0 Hz, H-4'), 5.08 (dd, 1 H, $J_{1',2'}$ 8.0, $J_{2',3'}$ 10.4 Hz, H-2'), 4.94 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3.6 Hz, H-1), 4.79 (dd, 1 H, $J_{2',3'}$ 10.4, $J_{3',4'}$ 3.0 Hz, H-3'), 4.66 (d, 1 H, $J_{1',2'}$ 8.0 Hz, H-1'), 2.10, 2.06, 2.01 (3 s, 15 H, 4 OAc und 1 NAc), 1.25 (d, J_{CH,CH_3} 6.0 Hz, Thr-CH₃).

Anal. Ber. für $C_{54}H_{59}N_2O_{21}$ (1072.1): C, 60.50; H, 5.55; N, 2.61. Gef.: C, 60.82; H, 5.75; N, 2.48.

3-O-[2-Acetamido-4,6-di-O-benzoyl-2-desoxy-3-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)- α -D-galactopyranosyl]-L-threonin (17). — Verbindung **16** (54 mg, 0.05 mmol) wird wie bei **12** beschreiben hydriert und entsprechend aufgearbeitet; Ausb. 37 mg (87%), Sirup, $[\alpha]_D^{24} +60^\circ$ (*c* 0.15, Aceton).

Anal. Ber. für $C_{40}H_{48}N_2O_{19}$ (860.8): C, 55.81; H, 5.62; N, 3.25. Gef.: C, 55.60; H, 5.49; N, 3.27.

3-O-(2-Acetamido-2-desoxy-3-O- β -D-galactopyranosyl- α -D-galactopyranosyl)-L-threonin (18). — Verbindung **17** (20 mg, 19 μ mol) wird in Methanol (3 mL) gelöst und tropfenweise mit 1% Natriummethoxid-Methanol bis pH 10.5 versetzt. Man läßt 24–36 h bei 5° stehen, neutralisiert mit Amberlite IRC-50 Ionenaustauscher, filtriert und engt *in vacuo* ein; Ausb. 7.2 mg (79%), amorph, $[\alpha]_D^{26} +83^\circ$ (*c* 0.5, Methanol-Wasser 1:1, v/v); 1H -N.m.r. (400 MHz, D_2O): δ 4.89 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3.7 Hz, H-1), 4.36 (d, 1 H, $J_{1',2'}$ 7.7 Hz, H-1'), 3.78 (dd, 1 H, $J_{3',4'}$ 3.2, $J_{4',5'}$ 0.8 Hz, H-4'), 1.90 (s, 3 H, NAc), 1.31 (d, 3 H, J_{CH,CH_3} 6.6 Hz, Thr-CH₃). Alle übrigen Daten stimmen mit den Literaturangaben² überein.

Anal. Ber. für $C_{18}H_{32}N_2O_{13}$ (484.6): C, 44.63; H, 6.66; N, 5.78. Gef.: C, 44.71; H, 6.60; N, 5.82.

Benzyl-[O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-O-(2-azido-4,6-di-O-benzoyl-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)-2,3,4,6-tri-O-benzyl- α -D-glucopyranosid] (20). — Verbindung⁹ **19** (108 mg, 0.2 mmol) wird in absol. Toluol-absol. Dichlormethan (8 mL, 1:1, v/v) unter Licht- und Feuchtigkeitsausschluß gelöst und mit Silbercarbonat (100 mg) und Molekularsieb 4A (250 mg) 1 h bei 20° gerührt. Danach fügt man $AgClO_4$ (10 mg) hinzu und röhrt weitere 20 min bei 20°. Anschließend tropft man innerhalb von 30 min **7** (80 mg, 0.2 mmol) in absol. Toluol-absol. Dichlormethan (6 mL) hinzu und röhrt 2 h bei 20°. Es wird durch Celite filtriert und *in vacuo* eingeengt. Das Reaktionsprodukt wird an einer Kiesel-

gelsäule gereinigt (Ethylacetat–Petrolether 1:1.5, v/v); Ausb. 190 mg (85%), Sirup, $[\alpha]_D^{26} +38^\circ$ (*c* 0.1, Aceton); $^1\text{H-N.m.r.}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 8.08–7.28 (m, 30 H, Ph), 5.74 (dd, 1 H, $J_{3',4'} 3.4$, $J_{4',5'} 0.8$ Hz, H-4'), 5.28 (dd, 1 H, $J_{3'',4''} 3.4$, $J_{4'',5''} 0.6$ Hz, H-4''), 5.13 (d, 1 H, $J_{1',2'} 3.4$ Hz, H-1'), 5.09 (dd, 1 H, $J_{1'',2''} 7.6$, $J_{2'',3''} 10.2$ Hz, H-2''), 4.96 (dd, 1 H, $J_{2',3'} 10.2$, $J_{3',4'} 3.4$ Hz, H-3'), 4.84 (d, 1 H, $J_{1,2} 3.6$ Hz, H-1), 4.80 (d, 1 H, $J_{1',2'} 7.6$ Hz, H-1''), 4.14 (dd, 1 H, $J_{2',3'} 10.6$, $J_{3',4'} 3.4$ Hz, H-3''), 4.08 (dd, 1 H, $J_{3,4} 8.9$, $J_{4,5} 9.0$ Hz, H-4), 4.07 (dd, 1 H, $J_{5',6'} 4.0$, $J_{6'a,6'b} 11.2$ Hz, H-6'a), 3.94 (dd, 1 H, $J_{5',6'} 7.0$, $J_{6'a,6'b} 11.2$ Hz, H-6'b), 3.78 (dd, 1 H, $J_{1',2'} 3.4$, $J_{2',3'} 10.6$ Hz, H-2''), 3.69 (m, 3 H, H-5,6a,6b), 3.44 (dd, 1 H, $J_{1,2} 3.6$, $J_{2,3} 9.6$ Hz, H-2), 3.39 (dd, 1 H, $J_{2,3} 9.6$, $J_{3,4} 8.9$ Hz, H-3), 2.18, 2.08, 2.05, 1.92 (4 s, 12 H, 4 OAc).

Anal. Ber. für $\text{C}_{68}\text{H}_{71}\text{N}_3\text{O}_{21}$ (1266.3): C, 64.50; H, 5.625 N, 3.32. Gef.: C, 65.02; H, 5.74; N, 3.40.

Benzyl-[O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 3)-O-(2-acetamido-4,6-di-O-acetyl-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)-2,3,4,6-tri-O-benzyl- α -D-glucopyranosid] (21). — Verbindung⁹ 20 (63 mg, 0.05 mmol) wird in Methanol (5 mL) gelöst und mit 1% Natriummethoxid–Methanol (1 mL) versetzt. Nach 6 h bei 20° wird mit Amberlite IRC-50 Ionenaustauscher neutralisiert, filtriert und *in vacuo* eingeengt. Das Reaktionsprodukt wird in Ethanol (5 mL) aufgenommen und mit gepufferter NiCl_2 -Lösung (1 mL) und NaBH_4 (10 mg) wie bei 11 beschrieben 1 h bei 20° reduziert. Man gibt in das Reaktionsgemisch Pyridin (5 mL) und Acetanhydrid (2 mL) und arbeitet nach 8 h wie bei 11 beschrieben auf. Das Reaktionsprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel (Toluol–Aceton 1:1, v/v) gereinigt; Ausb. 41 mg (69%), Sirup, der nach längerem Stehen kristallisiert; Schmp. 89°, $[\alpha]_D^{24} +35.3^\circ$ (*c* 0.2, Chloroform); $^1\text{H-N.m.r.}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 7.28–7.20 (m, 20 H, Ph), 5.75 (d, 1 H, $J_{2',\text{NH}} 9.2$ Hz, NH), 5.32 (dd, 1 H, $J_{3',4'} 3.4$, $J_{4',5'} 0.8$ Hz, H-4''), 5.25 (dd, 1 H, $J_{3',4'} 3.4$, $J_{4',5'} 0.8$ Hz, H-4'), 5.22 (dd, 1 H, $J_{1',2'} 7.8$, $J_{2',3'} 10.6$ Hz, H-2''), 4.98 (dd, 1 H, $J_{2',3'} 10.6$, $J_{3',4'} 3.4$ Hz, H-3''), 4.85 (d, 1 H, $J_{1',2'} 3.4$ Hz, H-1''), 4.72 (d, 1 H, $J_{1,2} 3.6$ Hz, H-1), 4.60 (d, 1 H, $J_{1',2'} 7.8$ Hz, H-1''), 2.02, 2.00, 1.98, 1.96, 1.94 (5 s, 21 H, 6 OAc und 1 NAc).

Anal. Ber. für $\text{C}_{62}\text{H}_{71}\text{NO}_{22}$ (1182.2): C, 62.99; H, 6.05; N, 1.18. Gef.: C, 63.41; H, 6.10; N, 1.21.

O- β -D-Galactopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-O-(2-acetamido-2-desoxy- α -D-galactopyranosyl)-(1 \rightarrow 6)-D-glucopyranose (22). — Verbindung 21 (420 mg, 0.39 mmol) wird in Methanol (10 mL) gelöst und 6 h mit 10% Pd–Kohle hydriert. Es wird filtriert und mit einer 1% methanolischen Natriummethoxidlösung (0.1 mL) bis pH 11.0 versetzt. Nach 24 h bei 20° wird mit Dowex 50W X-8 Ionenaustauscher neutralisiert, filtriert und das Filtrat eingeengt; Ausb. 63 mg (81.8%), amorphe hygroscopische Substanz. Alle analytischen Daten stimmen mit den Literaturangaben⁹ überein.

(8-Methoxycarbonyloctyl)-[4,6-di-O-acetyl-2-azido-2-desoxy-3-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)- α -D-galactopyranosid] (24). — Zu einer Lösung des Spacers¹⁴ 23 (188 mg, 1 mmol) in absol. Toluol–absol. Dichlormethan (10 mL, 1:1, v/v) wird unter Licht- und Feuchtigkeitsausschluß Ag_2CO_3 (100 mg) und

Molekularsieb 4A (500 mg) gegeben und 1 h bei 20° gerührt. Dann fügt man AgClO₄ (10 mg) hinzu und röhrt weitere 20 min bei 20°. Anschließend tropft man innerhalb von 1 h **8** (380 mg, 0.5 mmol) in absol. Toluol-absol. Dichlormethan (8 mL, 1:1, v/v) hinzu und röhrt danach noch 2 h bei 20°. Die Aufarbeitung erfolgt wie bei **10** beschrieben. Das Reaktionsprodukt wird in Methanol (10 mL) gelöst und mit 1% Natriummethoxid-Methanol bis pH 11.0 versetzt. Nach 6 h bei 20° wird mit Amberlite IRC-50 Ionenaustauscher neutralisiert, filtriert und *in vacuo* eingeengt. Der Rückstand wird in absol. Pyridin (5 mL) gelöst und mit Acetanhydrid (2 mL) 4 h bei 20° acetyliert. Danach wird *in vacuo* eingeengt. Die Reinigung erfolgt an einer Kieselgelsäule (Ethylacetat-Petrolether 1:1, v/v); Ausb. 310 mg (80%), Sirup, $[\alpha]_D^{24} +142^\circ$ (c 0.5, Methanol); ¹H-N.m.r. (400 MHz, CDCl₃): δ 5.46 (dd, 1 H, J_{3',4'} 3.4, J_{4',5'} 0.8 Hz, H-4'), 5.37 (dd, 1 H, J_{3,4} 3.4, J_{4,5} 0.7 Hz, H-4), 5.19 (dd, 1 H, J_{1',2'} 7.8, J_{2',3'} 10.8 Hz, H-2'), 5.01 (dd, 1 H, J_{2',3'} 10.8, J_{3',4'} 3.4 Hz, H-3'), 4.97 (d, 1 H, J_{1,2} 3.4 Hz, H-1), 4.73 (d, 1 H, J_{1',2'} 7.8 Hz, H-1'), 4.00 (dd, 1 H, J_{2,3} 10.7, J_{3,4} 3.4 Hz, H-3), 3.93 (m, 1 H, H-5'), 3.67 (s, 3 H, OMe), 3.63 (dd, 1 H, J_{1,2} 3.4, J_{2,3} 10.7 Hz, H-2), 3.49 (m, 1 H, H-5), 2.33 (t, 2 H, CH₂-Spacer), 2.18, 2.15, 2.08, 2.06, 2.04, 2.00 (6 s, 18 H, 6 OAc), 1.63 (m, 4 H, 2 CH₂-Spacer), 1.30 (m, 8 H, 4 CH₂-Spacer).

Anal. Ber. für C₃₃H₅₁N₃O₈ (777.8): C, 50.96; H, 6.61; N, 5.40. Gef.: C, 51.10; H, 6.45; N, 5.32.

(8-Methoxycarbonyloctyl)-[2-acetamido-4,6-di-O-acetyl-2-desoxy-3-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)- α -D-galactopyranosid] (**25**). — Verbindung **24** (250 mg, 0.32 mmol) wird in Ethanol (19 mL) gelöst, mit gepufferter NiCl₂-Lösung (5 mL) und NaBH₄ (50 mg) wie bei **11** beschrieben reduziert. Nach 1 h wird Pyridin (5 mL) und Acetanhydrid (5 mL) zugegeben und 2 h bei 20° stehen gelassen. Es wird wie unter **11** beschrieben aufgearbeitet; Ausb. 230 mg (91%), Sirup, $[\alpha]_D^{26} +106^\circ$ (c 0.2, Aceton); ¹H-N.m.r. (400 MHz, CDCl₃): δ 5.10 (dd, 1 H, J_{3',4'} 3.4, J_{4',5'} 0.8 Hz, H-4'), 5.00 (dd, 1 H, J_{3,4} 3.4, J_{4,5} 0.7 Hz, H-4), 4.98 (dd, 1 H, J_{1',2'} 7.8, J_{2',3'} 10.8 Hz, H-2'), 4.90 (d, 1 H, J_{1,2} 3.6 Hz, H-1), 4.75 (d, 1 H, J_{1',2'} 7.8 Hz, H-1'), 4.03 (dd, 1 H, J_{2,3} 10.6, J_{3,4} 3.4 Hz, H-3), 3.60 (s, 3 H, OMe), 2.30 (t, 2 H, CH₂-Spacer), 2.11, 2.10, 2.09, 2.05, 2.00 (5 s, 21 H, 6 OAc und 1 NAc), 1.60 (m, 4 H, CH₂-Spacer), 1.35 (m, 8 H, CH₂-Spacer).

Anal. Ber. für C₃₅H₅₅NO₁₉ (793.8): C, 52.96; H, 6.98; N, 1.76. Gef.: C, 53.00; H, 7.04; N, 1.59.

(8-Methoxycarbonyloctyl)-[2-acetamido-2-desoxy-3-O- β -D-galactopyranosyl- α -D-galactopyranosid] (**26**). — Verbindung **25** (200 mg, 0.215 mmol) wird in Methanol (8 mL) gelöst und mit 1% Natriummethoxid-Methanol (1 mL) versetzt. nach 2 h wird mit Amberlite IRC-50 Ionenaustauscher neutralisiert, filtriert und *in vacuo* eingeengt; Ausb. 110 mg (80%), Sirup, der beim Stehen kristallisiert; Schmp. 202°, $[\alpha]_D^{26} +102^\circ$ (c 0.5, Methanol); Lit.¹² Schmp. 208–210° (Butanol-Ethanol), $[\alpha]_D +93^\circ$ (c 1, Wasser); ¹H-N.m.r. (400 MHz, D₂O): δ 5.15 (d, 1 H, J_{1,2} 3.5 Hz, H-1), 4.69 (d, 1 H, J_{1',2'} 7.8 Hz, H-1'), 4.54 (dd, 1 H, J_{3',4'} 3.4, J_{4',5'} 0.8 Hz, H-4'), 3.88 (dd, 1 H, J_{2',3'} 10.2, J_{3',4'} 3.4 Hz, H-3').

Anal. Ber. für $C_{24}H_{43}NO_{13} \cdot H_2O$ (571.4): C, 50.42; H, 7.93; N, 2.45. Gef.: C, 51.00; H, 7.94; N, 2.56.

(8-Methoxycarbonyloctyl)-[2-acetamido-2-desoxy-3-O- β -D-galactopyranosyl- α -D-galactopyranosid] (**27**). — Verbindung **26** (110 mg, 0.19 mmol) wird in Ethanol (6 mL) aufgenommen und mit 80% Hydrazinhydrat (1 mL) über Nacht bei 20° stehen gelassen. Danach wird *in vacuo* eingeengt; Ausb. 112 mg (96%), amorphe Substanz; 1H -N.m.r. (400 MHz, Me_2SO-d_6): δ 7.52 (d, 1 H, $J_{2,NH}$ 9.0 Hz, $NHAc$), 4.70 (d, 1 H, $J_{1,2}$ 3.4 Hz, H-1), 4.38 (d, 1 H, $J_{1',2'}$ 7.6 Hz, H-1'), 3.73 (dd, 1 H, $J_{2',3'}$ 10.6, $J_{3',4'}$ 3.4 Hz, H-3'), 3.60 (dd, 1 H, $J_{3',4'}$ 3.2, $J_{4',5'}$ 0.6 Hz, H-4'), 2.00 (t, 2 H, CH_2 -Spacer), 1.83 (s, 2 H, CH_2 -Spacer), 1.49 (m, 4 H, CH_2 -Spacer), 1.25 (m, 8 H, CH_2 -Spacer).

Anal. Ber. für $C_{23}H_{43}N_9O_{13}$ (569.6): C, 48.50; H, 7.61; N, 7.38. Gef.: C, 48.36; H, 7.65; N, 7.41.

Synthese des Antigens 29. — Verbindung **27** (57 mg, 0.1 mmol) wird in *N,N*-Dimethylformamid (3 mL) gelöst und auf -30° gekühlt. Die Darstellung des Azids **28** und die anschließende Kupplung mit Humanserumalbumin erfolgt nach der bekannten Vorschrift¹⁴.

DANK

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie für die wirksame Unterstützung der Untersuchungen. Herrn G. Merz danken wir für die Mitwirkung an den Untersuchungen.

LITERATUR

- 1 H. PAULSEN UND M. PAAL, *Carbohydr. Res.*, 135 (1984) 53-69.
- 2 H. PAULSEN UND J.-P. HOLCK, *Carbohydr. Res.*, 109 (1982) 89-107.
- 3 H. PAULSEN, Č. KOLÁŘ UND W. STENZEL, *Angew. Chem.*, 88 (1976) 478; *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, 15 (1976) 440-441.
- 4 H. PAULSEN, *Angew. Chem.*, 94 (1982) 184-202; *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, 21 (1982) 155-173.
- 5 T. OGAWA UND S. NAKABAYASHI, *Carbohydr. Res.*, 93 (1981) c1-c5.
- 6 V. V. BENCOMO, J.-C. JACQUINET UND P. SINAY, *Carbohydr. Res.*, 110 (1982) c9-c11.
- 7 H. PAULSEN, A. RICHTER, V. SINNWELL UND W. STENZEL, *Carbohydr. Res.*, 64 (1978) 339-364.
- 8 H. PAULSEN UND V. SINNWELL, *Chem. Ber.*, 111 (1978) 879-889.
- 9 H. PAULSEN UND M. PAAL, *Carbohydr. Res.*, 113 (1983) 203-218.
- 10 G. ZEMPLÉN UND E. PASCU, *Chem. Ber.*, 62 (1929) 1613-1614.
- 11 B. A. SCHWARTZ UND G. R. GRAY, *Arch. Biochem. Biophys.*, 181 (1977) 542-549.
- 12 R. M. RATCLIFFE, D. A. BAKER UND R. U. LEMIEUX, *Carbohydr. Res.*, 93 (1981) 35-41.
- 13 N. V. BOVIN, S. E. ZURABYAN UND A. YA. KHORLIN, *Carbohydr. Res.*, 112 (1983) 23-35.
- 14 R. U. LEMIEUX, D. R. BUNDLE UND D. A. BAKER, *J. Am. Chem. Soc.*, 97 (1975) 4076-4083.
- 15 H. PAULSEN, M. PAAL UND M. SCHULTZ, *Tetrahedron Lett.*, (1983) 1759-1762.
- 16 E. BAER, D. BUCHNEA UND H. C. STANCER, *J. Am. Chem. Soc.*, 81 (1959) 2166-2169.
- 17 E. BAER UND F. ECKSTEIN, *J. Biol. Chem.*, 237 (1959) 1449-1453.