

Zur Synthese von Sialylglykosiden
(Darstellung von Methyl-6-*O*-benzyl-(4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-5-acetylamino-3,5-didesoxy-*D*-glycero- α bzw. β -*D*-galacto-2-nonulopyranosäure-methylester)- α bzw. β -*D*-glucopyranosid)

Hannelore H. Brandstetter und Erich Zbiral*

Institut für Organische Chemie, Universität Wien, A-1090 Wien, Österreich

(Eingegangen 25. Mai 1983. Angenommen 9. Juni 1983)

*Synthesis of Sialyl Glycosides. Synthesis of Methyl-6-*O*-benzyl-(4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-5-acetylamino-3,5-dideoxy-*D*-glycero- α and β -*D*-galacto-2-nonulopyranosidonic acid methylester)- α and β -*D*-glucopyranoside, resp.*

Silver triflate promoted condensations of 5-acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-2-chloro-2,3,5-trideoxy- β -*D*-glycero-*D*-galacto-2-nonulopyranosidonic acid methylester with methyl-2,3,4-tri-*O*-benzyl- α or β -*D*-glucopyranoside to the title products are reported.

[*Keywords: 6-*O*-(*N*-Acetyl-*D*-neuraminy)-*D*-glucopyranosides, derivatives; Koenigs-Knorr reaction with silver triflate; Sialylglucosides*]

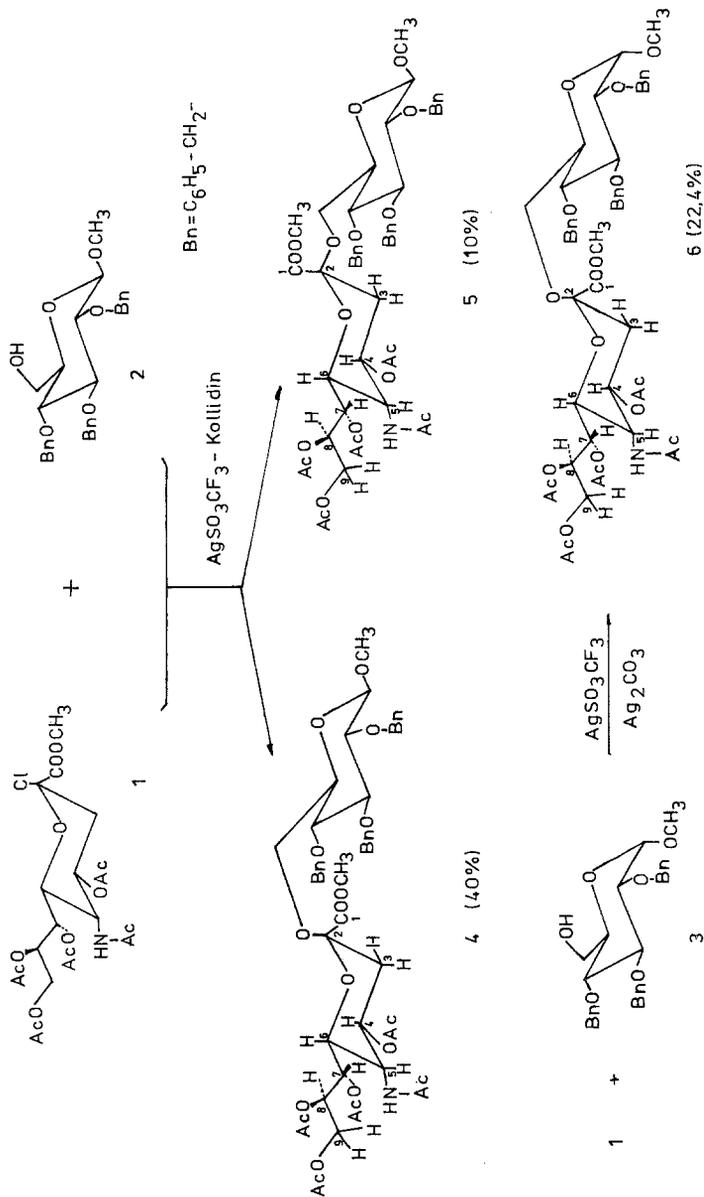
Einleitung

N-Acetylneuraminsäure übt als terminaler Zucker in Verknüpfung mit dem reduzierenden Ende von Oligosaccharidketten der verschiedenartigsten Ganglioside und Glykoproteine eine Vielfalt von biologischen Funktionen aus¹. Dies ist ein Grund für die Bemühungen, Möglichkeiten zum Aufbau einfacher Sialylglykoside aufzufinden. In der ersten beschriebenen Darstellung² (8—18%) von Sialodisacchariden bestehend aus dem *N*-Acetylneuraminylrest verknüpft mit den 6- bzw. 3-Positionen von Glucose, 2-Acetamidoglucose, Galaktose und 2-Acetamidogalaktose wurde die gewünschte α -Verknüpfung nur aufgrund eines positiven Neuraminidasetests postuliert, ohne die Frage nach dem

Anteil der unnatürlichen β -Verknüpfung zu stellen; in späteren Untersuchungen hingegen wird auf das Auftreten von Anomerengemischen bei Verwendung von Silbertriflat als Promotor für die *Königs-Knorr*-Reaktion hingewiesen³. Allerdings findet man dort keine nähere stereochemische Zuordnung. Erst kürzlich gelang *Vliegenthart* in befriedigender Ausbeute die gewünschte α -Verknüpfung von 5-Acetamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acetyl-2-chloro-2,3,5-tridesoxy- β -*D*-glycero-*D*-galakto-2-nonulopyranosidonsäure-methylester (**1**) mit der 6-Position eines geeigneten 2-Acetamido-2-desoxy-galaktosederivats mit Silbersalicylat als Promotor⁴. Bei Umsatz von **1** mit einem geeigneten 2-Acetamido-2-desoxyglucosederivat und Silbertriflat kam es jedoch überwiegend zur Bildung des „falschen“ Anomeren ($\alpha:\beta = 1:4$)⁵. *Vliegenthart* wies als erster auf sehr nützliche Parameter im ¹H-NMR-Spektrum, zur Unterscheidung zwischen α - und β -Anomeren hin. Es handelt sich vor allem um sehr charakteristische Signaldifferenzen für das H-4 und die beiden H-9 des Neuraminyrestes. *Paulsen* gelang kürzlich die Verknüpfung von **1** mit der 6-Position eines geeignet derivatisierten Lactosaminderivats zum entsprechenden Sialyldisaccharid Anomerengemisch⁶ ($\alpha:\beta = 1:1$). Für die stereochemische Zuordnung bedient er sich auch der Betrachtung der Signaldifferenz für das H-4. Auf ganz ähnliche Zuordnungsmöglichkeiten stößt man im übrigen auch bei den stereotopologisch vergleichbaren Disacchariden aus KDO und Zucker⁷ für das H-4 von KDO.

Ergebnisse und Diskussion

In der vorliegenden Arbeit beschreiben wir die Umsetzung von **1** sowohl mit dem Methyl-2,3,4-tri-*O*-benzyl- β -*D*-glucopyranosid (**2**) als auch mit dem entsprechenden α -Anomeren **3** (siehe Schema 1). Für die Kombination von **1** und **2** wendeten wir Silbertriflat und Kollidin in CH₂Cl₂ an. Bei Verwendung eines sechsfachen Überschusses von **2** gegenüber **1** analog Lit.⁵ isolierten wir eine Disaccharidmenge von 50%. Wie sich herausstellte, wurde auch hier ein Anomerengemisch **4:5** ($\alpha:\beta = 1:5$) gebildet. Bemerkenswert an diesem Resultat ist die fast vollkommene Entsprechung zu dem oben erwähnten Befund^{4,5}. Das α -Anomere setzten wir mit **1** nicht mit Kollidin, sondern mit Silbertriflat-Silbercarbonat in CH₂Cl₂ im Verhältnis 1:1 um. Dabei kam es bei einem Umsatz von 22% zur ausschließlichen Bildung des β -Sialoglucosidderivats **6**. Die stereochemische Zuordnung, die wir schon aufgrund von Lit.⁷ vornehmen konnten, korreliert — wie man den typischen chemischen Verschiebungen für H-4 und den beiden H-9 entnehmen kann (exp. Teil) — vollkommen den Literaturangaben⁴.



Dank

Der Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung (A-1090 Wien) ermöglichte diese Arbeit im Rahmen der Projekte 4401 und 4009. Für die Überlassung von Meconium sind wir der I. Universitäts-Frauenklinik (Vorstand Prof. Dr. E. Gitsch) und der II. Universitäts-Frauenklinik (Vorstand Prof. Dr. H. Janisch) sowie der Ignaz-Semmelweis-Frauenklinik (Vorstand Prim. Prof. Dr. A. Rockenschaub) zu Dank verpflichtet.

Experimenteller Teil

Die Schmelzpunkte wurden mit einem Kofler-Apparat (Thermometerablesung) bestimmt und sind unkorrigiert. Die Aufnahme der $^1\text{H-NMR}$ -Spektren erfolgte mit einem WM-250-Gerät der Fa. Bruker. Für die Dünnschichtchromatographie (DC) wurden Fertigplatten mit Kieselgel 60 F₂₅₄ der Fa. Merck verwendet. Die Säulenchromatographie wurde mit Kieselgel (Korngröße 0,063–0,200 mm) der Fa. Merck durchgeführt. Die Sichtbarmachung der Substanzen erfolgte durch Besprühen mit 2% $\text{Ce}(\text{NO}_3)_4$ -Lösung in 2N H_2SO_4 und anschließendes Verkohlen auf der Heizplatte. Das Abdestillieren von Lösungsmitteln erfolgte im Rotationsverdampfer. Neuraminsäure wurde gemäß Lit.⁹) hergestellt.

Arbeitsvorschrift zur Darstellung von 4, 5, und 6

Eine Lösung von 2 g (4,3 mmol) **2** wurde mit 217 mg (0,84 mmol) Silbertriflat, 110 μl (0,84 mmol) *s*-Kollidin und Molekularsieb 4 Å in 15 ml Dichlormethan 2 h bei Raumtemp. gerührt, dann auf -40°C abgekühlt und mit der Lösung von 357 mg (0,7 mmol) **1** in 5 ml Dichlormethan (welche ebenfalls 2 h über Molekularsieb 4 Å getrocknet wurde) vereinigt. Man läßt langsam auf Raumtemp. auftauen und rührt noch 16 h. Dann wurde die Lösung filtriert, eingengt und über 100 g Kieselgel mit Essigester/Dichlormethan 3:1 chromatographiert (**4** *Rf* = 0,47, **5** *Rf* = 0,35, **6** *Rf* = 0,45). Bei der Synthese von **6** wurde statt *s*-Kollidin 232 mg (0,84 mmol) Silbercarbonat und nur 1 g (2,15 mmol) **3** verwendet.

Methyl-6-O-(4,7,8,9-tetra-O-acetyl-5-acetyl-amino-3,5-dideoxy-D-glycero- β -D-galacto-2-nonulopyranosidonsäure-methylester)-2,3,4-tri-O-benzyl- β -D-glucopyranosid (**4**)

Ausb. 269 mg (40,9%). — $^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3 + TMS): Neu 5 *Ac*-Teil: δ = 1,88, 2,01, 2,02, 2,03 und 2,16 (5 s je 3 H, COCH_3), 1,94 [dd, 1 H, $\text{H}_{\text{ax-C}}$ (3)], 2,44 [dd, 1 H, $\text{H}_{\text{eq-C}}$ (3)], 3,70 (s, 3 H, COOCH_3), 4,12 [dd, 1 H, H—C (9)], 4,16 [ddd, 1 H, H—C (5)], 4,30 [dd, 1 H, H—C (6)], 5,01 [dd, 1 H, H—C (9)], 5,22 [ddd, 1 H, H—C (8)], 5,28 [ddd, 1 H, H—C (4)], 5,41 [dd, 1 H, H—C (7)], 6,16 (d, 1 H, NH). $J_{3\text{ax}3\text{eq}}$ = $-12,5$ Hz, $J_{3\text{ax},4}$ = 10,8 Hz, $J_{3\text{eq},4}$ = 5,1 Hz, $J_{4,5}$ = 10,8 Hz, $J_{5,\text{NH}}$ = 10,2 Hz, $J_{5,6}$ = 10,8 Hz, $J_{6,7}$ = 2,5 Hz, $J_{7,8}$ = 2,5 Hz, $J_{8,9}$ = 9,2 Hz, $J_{8,9'}$ = 2,5 Hz, $J_{99'}$ = $-12,5$ Hz. Glu-Teil: 3,36–3,90 (m, 6 H), 4,38 [d, 1 H, H—C (1), $J_{1,2}$ = 7,5 Hz], 3,64 (s, 3 H, OCH_3), 4,67–4,93 (3 AB-Systeme, $\text{C}_6\text{H}_5\text{—CH}_2\text{—}$), 7,24–7,39 (m, 15 H, 3 C_6H_5).

$\text{C}_{48}\text{H}_{59}\text{NO}_{18}$ (937,99). Ber. C 61,46 H 6,34 N 1,49.
Gef. C 60,89 H 6,71 N 1,40.

Methyl-6-O-(4,7,8,9-tetra-O-acetyl-5-acetyl-amino-3,5-didesoxy-D-glycero- α -D-galakto-2-nonulopyranosidonsäure-methylester)-2,3,4-tri-O-benzyl- β -D-glucopyranosid (5)

Ausb. 68 mg (10,4%), Schmp. 58 °C (aus Ether/Petrolether). — $^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{TMS}$). Neu 5 Ac-Teil: $\delta = 1,87, 1,92, 2,04, 2,05$ und $2,14$ (5 s, 15 H, COCH_3), $1,90$ [dd, 1 H, $\text{H}_{\text{ax}}\text{-C}(3)$], $2,67$ [dd, 1 H, $\text{H}_{\text{eq}}\text{-C}(3)$], $3,77$ (s, 3 H, COOCH_3), $3,97$ [dd, 1 H, $\text{H-C}(9)$], $4,07$ [m, 2 H, $\text{H-C}(5)$, $\text{H-C}(6)$], $4,20$ [dd, 1 H, $\text{H-C}(9)$], $4,82$ [ddd, 1 H, $\text{H-C}(4)$], $5,12$ (d, 1 H, NH), $5,30$ [dd, 1 H, $\text{H-C}(7)$], $5,42$ [ddd, 1 H, $\text{H-C}(8)$]. $J_{3\text{ax}3\text{eq}} = 13$ Hz, $J_{3\text{eq},4} = 4,5$ Hz, $J_{5,\text{NH}} = 9,8$ Hz, $J_{6,7} = 1$ Hz, $J_{7,8} = 9$ Hz, $J_{8,9} = 5,2$ Hz, $J_{8\text{g}'9\text{g}'} = 2,6$ Hz, $J_{9\text{g}'9\text{g}'} = -13$ Hz, die restlichen Kopplungen sind nicht meßbar. — Gluc-Teil: $3,33\text{--}3,70$ (m, 6 H), $3,54$ (s, 3 H, OCH_3), $4,26$ [d, 1 H, $\text{H-C}(1)$], $J_{1,2} = 7,8$ Hz], $4,66\text{--}4,92$ (3 AB-Systeme, $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2$), $7,26\text{--}7,38$ (m, 15 H, $3 \text{C}_6\text{H}_5$).

$\text{C}_{48}\text{H}_{59}\text{NO}_{18}$ (937,99). Ber. C 61,46 H 6,34 N 1,49.
Gef. C 60,11 H 6,50 N 1,38.

Methyl-6-O-(4,7,8,9-tetra-O-acetyl-5-acetyl-amino-3,5-didesoxy-D-glycero- β -D-galakto-2-nonulopyranosidonsäure-methylester)-2,3,4-tri-O-benzyl- α -D-glucopyranosid (6)

Ausb. 164 mg (22,4%). — $^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{TMS}$) Neu 5 Ac-Teil: $\delta = 1,87, 1,98, 2,02, 2,06$ und $2,13$ (5 s, je 3 H, COOCH_3), $1,89$ [dd, 1 H, $\text{H}_{\text{ax}}\text{-C}(3)$], $2,49$ [dd, 1 H, $\text{H}_{\text{eq}}\text{-C}(3)$], $3,74$ (s, 3 H, COOCH_3), $4,12$ [ddd, 1 H, $\text{H-C}(5)$], $4,15$ [dd, 1 H, $\text{H-C}(9)$], $4,29$ [dd, 1 H, $\text{H-C}(6)$], $5,10$ [dd, 1 H, $\text{H-C}(9)$], $5,18$ [ddd, 1 H, $\text{H-C}(4)$], $5,29$ [ddd, 1 H, $\text{H-C}(8)$], $5,41$ [dd, 1 H, $\text{H-C}(7)$], $5,42$ (d, 1 H, NH). $J_{3\text{ax}3\text{eq}} = -12,9$ Hz, $J_{3\text{ax},4} = 10$ Hz, $J_{3\text{eq},4} = 5,7$ Hz, $J_{4,5} = 10,5$ Hz, $J_{5,\text{NH}} = 10$ Hz, $J_{5,6} = 10$ Hz, $J_{6,7} = 2$ Hz, $J_{7,8} < 1$ Hz, $J_{8,9} = 8,5$ Hz, $J_{8,9\text{g}'} = 2$ Hz, $J_{9,9\text{g}'} = -12$ Hz. — Gluc-Teil: $3,36$ (s, 3 H, OCH_3), $3,62$ [dd, 1 H, $\text{H-C}(2)$], $3,67\text{--}3,86$ (m, 4 H), $3,99$ [dd, 1 H, $\text{H-C}(3)$], $4,91$ [d, 1 H, $\text{H-C}(1)$], $4,70\text{--}5,00$ (3 AB-Systeme, $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2$), $7,24\text{--}7,45$ (m, 15 H, C_6H_5), $J_{1,2} = 3,5$ Hz, $J_{2,3} = 9,2$ Hz, $J_{3,4} = 9,3$ Hz, die restlichen Kopplungen sind nicht meßbar.

$\text{C}_{48}\text{H}_{59}\text{NO}_{18}$ (937,99). Ber. C 61,46 H 6,34 N 1,49.
Gef. C 60,39 H 6,48 N 1,37.

Literatur

- 1 a) Sialic Acids. Chemistry, Metabolism and Functions (Schauer R., ed.). (Cell Biology Monographs, Vol. 10.) Wien-New York: Springer. 1982. b) Schauer R., Adv. Carbohydr. Chem. Biochem. **40**, 131 (1982).
- 2 Khorlin A. Ya., Privalova I. M., Bystrova I. B., Carbohydr. Res. **19**, 272 (1971).
- 3 Brossmer R., Friebohn H., Keilich G., Löser B., Supp M., Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. **359**, 1064 (1978).
- 4 Van der Vleugel D. J. M., Wassenburg F. R., Zwikker J. W., Vliegthart J. F. G., Carbohydr. Res. **104**, 221 (1982).
- 5 Van der Vleugel D. J. M., Zwikker J. W., Vliegthart J. F. G., van Boeckel S. A. A., van Boom J. H., Carbohydr. Res. **105**, 19 (1982).
- 6 Paulsen H., Tietz H., Angew. Chem. **94**, 934 (1982).
- 7 Private Mitteilung von Unger F. M.
- 8 Meindl P., Tuppy H., Monatsh. Chem. **96**, 802 (1965); *ibid.* **97**, 990 (1966).
- 9 Zilliken F., O'Brien P. J., Biochem. Prep. **7**, 1 (1960).