

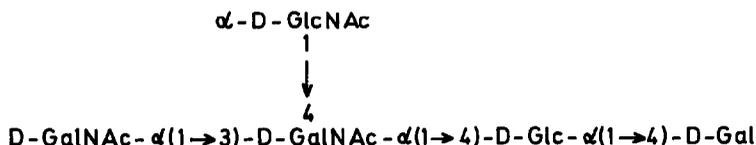
SYNTHESE DER PENTASACCHARID-SEQUENZ DER REPEATING-UNIT DER O-SPEZIFISCHEN
SEITENKETTE DES LIPOPOLYSACCHARIDES VON SHIGELLA DYSENTERIAE¹⁾

Hans Paulsen und Hellmut Bünsch

Institut für Organische Chemie und Biochemie der Universität
Martin-Luther-King-Platz 6, D-2000 Hamburg 13

Summary: The pentasaccharide sequence 1, representing the lipopolysaccharide repeating unit from shigella dysenteriae serotype 2, has been synthesised. This branched-chain pentasaccharide contains exclusively α -linked glycosidic bonds. Our methods in selective α -glycoside synthesis have been confirmed by the synthetic route.

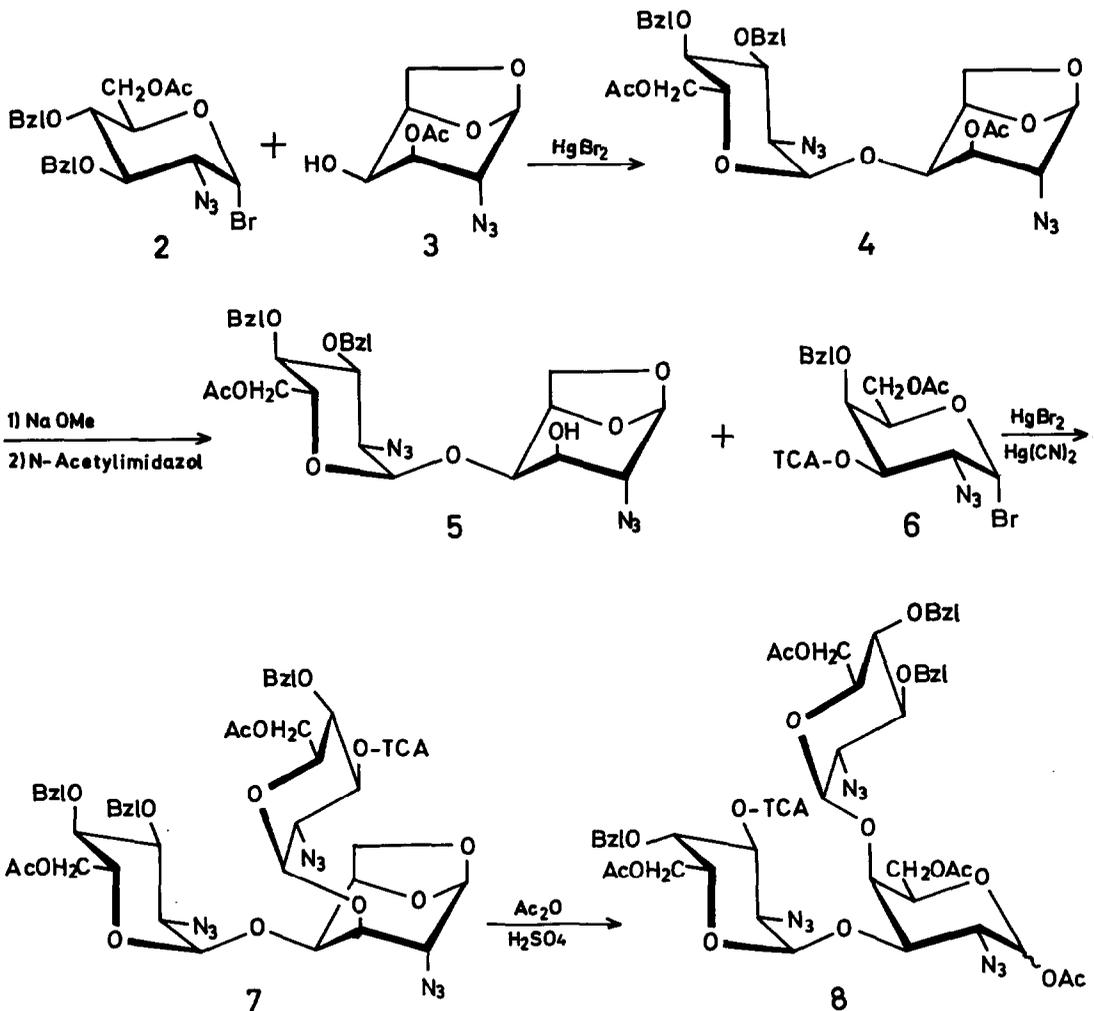
Die auf der Oberfläche von Bakterien lokalisierten Lipopolysaccharide sind sehr wirksame Endotoxine²⁾. Die O-spezifischen Seitenketten der Lipopolysaccharide enthalten die immundominanten Strukturen, die als Antigene die Bildung der gegen das Bakterium gerichteten Antikörper im Säugetier-Organismus stimulieren können²⁾. Die O-spezifischen Ketten sind in der Regel aus 'repeating-units' aufgebaut, die spezifische Oligosaccharid-Sequenzen enthalten. Die chemische Synthese einer derartigen Sequenz ist von besonderem Interesse, da diese Einheit, geknüpft an einen höher molekularen Träger, als ein spezifisches, synthetisches Antigen fungieren kann.



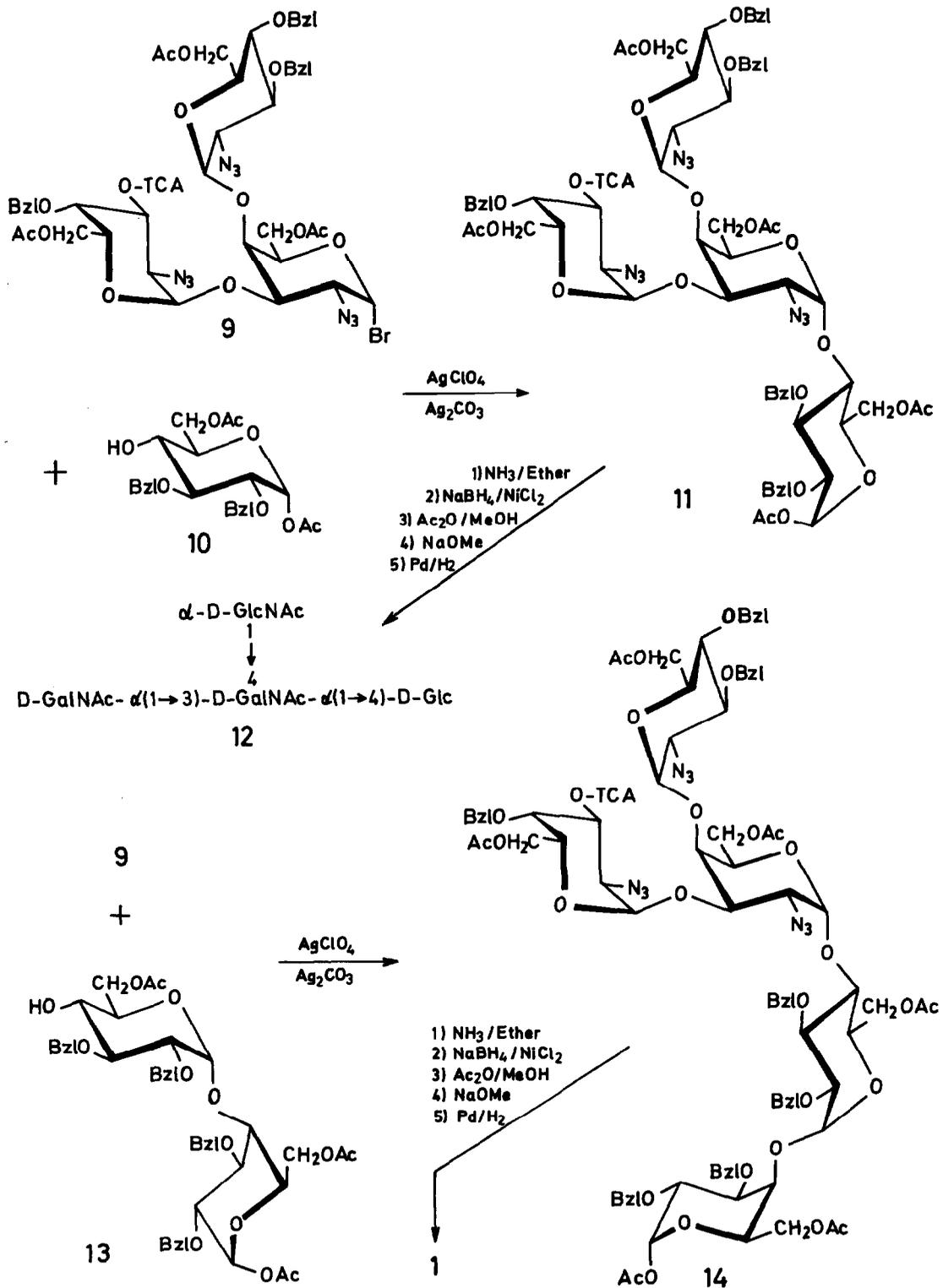
1

Wir haben jetzt die 'repeating-unit'1 der O-spezifischen Kette von Shigella dysenteriae der Serotype 2³⁾ synthetisiert. Auch vom synthetischen Standpunkt aus ist diese Kette 1 von Interesse, da es sich um ein verzweigtes Pentasaccharid handelt, das nur α -glycosidische Bindungen enthält. Es ist somit ein ausgezeichnetes Objekt, um die von uns entwickelten Regeln der α -Glycosidsynthese zu erproben^{4,5)}. Bei dem Aufbau des Pentasaccharids wurde das Verfahren der Blocksynthese angewandt, das wir auch bei anderen Oligosacchariden mit Erfolg einsetzen konnten^{5,6)}. Die Schlüsselreaktion hierzu ist das neue, von uns entwickelte Verfahren der Überführung des Oligosaccharid-Blocks in das entsprechende Glycosyl-Halogenid mit Titanatetribromid⁶⁾.

Die Pentasaccharid-Einheit enthält drei Aminozucker, darunter Galaktosamin als Verzweigungspunkt. Zur selektiven Herstellung der gewünschten α -glycosidischen Bindungen wurde das Azid-Verfahren eingesetzt. Es war somit zunächst der Syntheseblock 7 zu synthetisieren, der aus drei unterschiedlichen 2-Azido-Zuckern besteht. Zum Aufbau von 7 wurde zunächst das Halogenid 2 bei Gegenwart von Quecksilberbromid unter den Bedingungen der α -Glycosidsynthese mit 3 zum Disaccharid 4 umgesetzt. Nach Abspaltung der O-Acetylgruppen mit Natriummethylat wird die 6'-OH-Gruppe selektiv mit N-Acetylimidazol acetyliert zu 5. Hier ist jetzt die 3-OH-Gruppe unsubstituiert so daß eine erneute Glycosidsynthese mit 6 bei Gegenwart von Quecksilberbromid/Quecksilbercyanid unter den Bedingungen der α -Glycosidsynthese erfolgen kann zum gewünschten Trisaccharid 7. (64 %, $[\alpha]_D^{20} = +116^\circ$). Dieses



TCA = COCCl_3



ist der am reduzierenden Ende der Galakto-Einheit wieder zu funktionalisierende Trisaccharid-Syntheseblock für die weiteren Aufbaureaktionen.

Durch Acetolyse von 7 läßt sich der 1,6-Anhydroring öffnen zum Acetat 8 (81 %). Dieses läßt sich jetzt mit Titan-tetrabromid unter wasserfreien Bedingungen⁶⁾ zum Glycosylbromid 9 umsetzen, das wegen seiner Empfindlichkeit sofort der Glycosidsynthese zugeführt werden muß. Um die Blocksynthese zu erproben, wurde zunächst das an 4-OH unsubstituierte Glucosederivat 10 eingesetzt. Trotz der bekannten relativ schlechten Reaktivität der 4-OH-Gruppe gelingt mit Silberperchlorat/Silbercarbonat unter den Bedingungen der α -Glycosidsynthese selektiv die Verknüpfung zum Tetrasaccharid 11 (19 %, $[\alpha]_D^{22} = + 108^\circ$). Es ist gelungen, 11 in einer Sequenz von Entblockierungsschritten vollständig zu entblockieren zur freien Verbindung 12 (60 %, $[\alpha]_D^{22} = + 140^\circ$). Hierzu wurde mit Ammoniak die Trichloracetyl-Gruppe abgespalten, die Azidogruppen mit Natriumborant/Nickelchlorid⁸⁾ reduziert. Das nach Nachacetylierung erhaltene Produkt wurde ent-O-acetyliert und zur Abspaltung der Benzylreste abschließend hydriert.

Nachdem die Blocksynthese zu 11 gelungen war, wurde als Kupplungskomponente für 9 das Disaccharid 13 mit freier 4'-OH-Gruppe eingesetzt, das eine $\alpha(1\rightarrow4)$ -Verknüpfung aufweist, wie sie im Pentasaccharid gewünscht wird. Die Kupplung von 9 mit 13 gelingt unter gleichen Bedingungen mit Silberperchlorat/Silbercarbonat selektiv zum α -Glycosid 14 (19 %, $[\alpha]_D^{22} = + 102^\circ$). Auf 14 ließ sich mit Erfolg die gleiche Entblockierungs-Sequenz anwenden, die sich bei der Entblockierung von 11 bereits bewährt hatte. Auf diesem Wege ließ sich die freie Pentasaccharid-Sequenz 1 gewinnen, die die 'repeating-unit' der O-spezifischen Kette von Shigella dysenteriae Serotype 2 darstellt (19 %, $[\alpha]_D^{22} = + 170^\circ$). Die Synthese zeigt die Leistungsfähigkeit unserer Azid-Methode zur Herstellung α -glycosidischer Bindungen. Sie demonstriert ferner die Möglichkeiten der Handhabung einer Blocksynthese zum Aufbau größerer Einheiten.

Frau H. Nürnberger danken wir für die sehr sorgfältige und gewissenhafte Mitarbeit an den Untersuchungen.

Literatur

- 1) XXIII. Mitteil. der Reihe Bausteine von Oligosacchariden. XXII. Mitteil.: H. Paulsen und D. Schnell, Chem. Ber. im Druck
- 2) O. Lüderitz, O. Westphal, A.M. Staub und H. Nikaido, Microbiol. Toxines (G. Weinbaum, S. Kadis und S.J. Ajl) 34, 145, Academic Press, New York 1971
- 3) B.A. Dmitriev, Y.A. Knivel, N.K. Kochetkov, J.L. Hofman und K. Čapek, Eur. J. Biochem. 76, 433 (1977)
- 4) H. Paulsen und Č. Kolář, Chem. Ber. im Druck
- 5) H. Paulsen und O. Lockhoff, Chem. Ber. im Druck
- 6) H. Paulsen und A. Bünsch, Angew. Chemie im Druck
- 7) H. Paulsen und W. Stenzel, Chem. Ber. 111, 2334, 2348 (1978)
- 8) H. Paulsen und V. Sinnwell, Chem. Ber. 111, 869 (1978)

(Received in Germany 21 October 1980)