

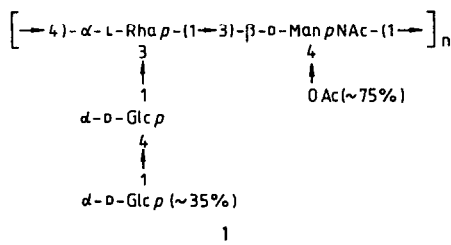
SYNTHESE VON TRI- UND TETRASACCHARID-EINHEITEN DES O-ANTIGENS AUS
 AEROMONAS SALMONICIDA

*
 Hans Paulsen und Jens Peter Lorentzen

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

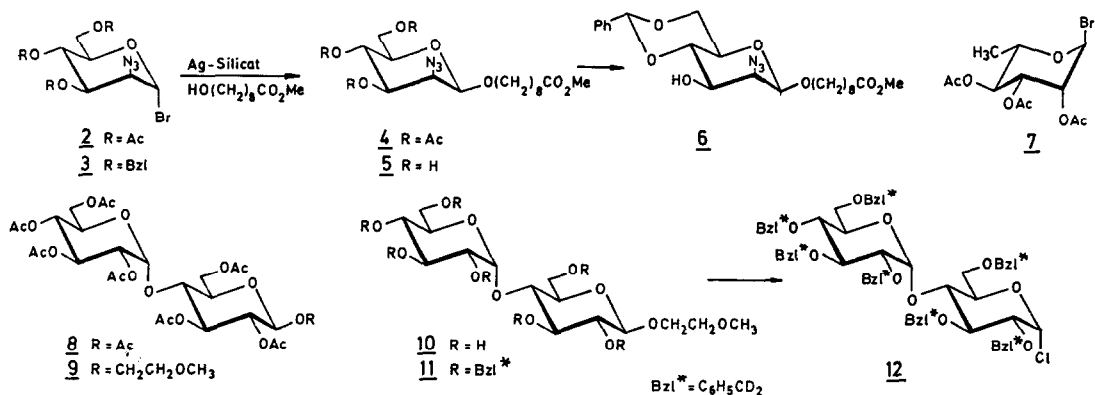
Summary: The following oligosaccharide sequences containing the repeating unit of the O-specific chain of lipopolysaccharides from aeromonas salmonicida have been synthesized: α -D-Glcp-(1 \rightarrow 3)- α -L-Rhap-(1 \rightarrow 3)- β -D-ManpNAC(CH₂)₈CO₂Me, α -D-Glcp-(1 \rightarrow 4)- α -D-Glcp-(1 \rightarrow 3)- α -L-Rhap-(1 \rightarrow 3)- β -D-ManpNAC(CH₂)₈CO₂Me and α -D-Glcp(1 \rightarrow 4)- α -D-Glcp-(1 \rightarrow 3)-[β -D-ManpNAC(1 \rightarrow 4)]-L-Rha.

Bacteriaceae der Art Aeromonas salmonicida sind verantwortlich für hohe Letalitätsraten bei Salmoniden, wobei gezeigt werden konnte, daß nicht das Endotoxin des Bacteriums die Virulenz verursacht. Die für die immunologischen Reaktionen verantwortliche O-spezifische Kette des Lipopolysaccharides besteht aus 'repeating units' der Struktur 1²⁾. Die Kohlenhydratkette enthält L-Rhamnose und 2-Acetamido-2-desoxy-D-mannose, an die D-Glucose oder Maltose als Seitenkette geknüpft sind. Von uns wurde jetzt die 'repeating unit' in ihren verschiedenen Formen synthetisiert.

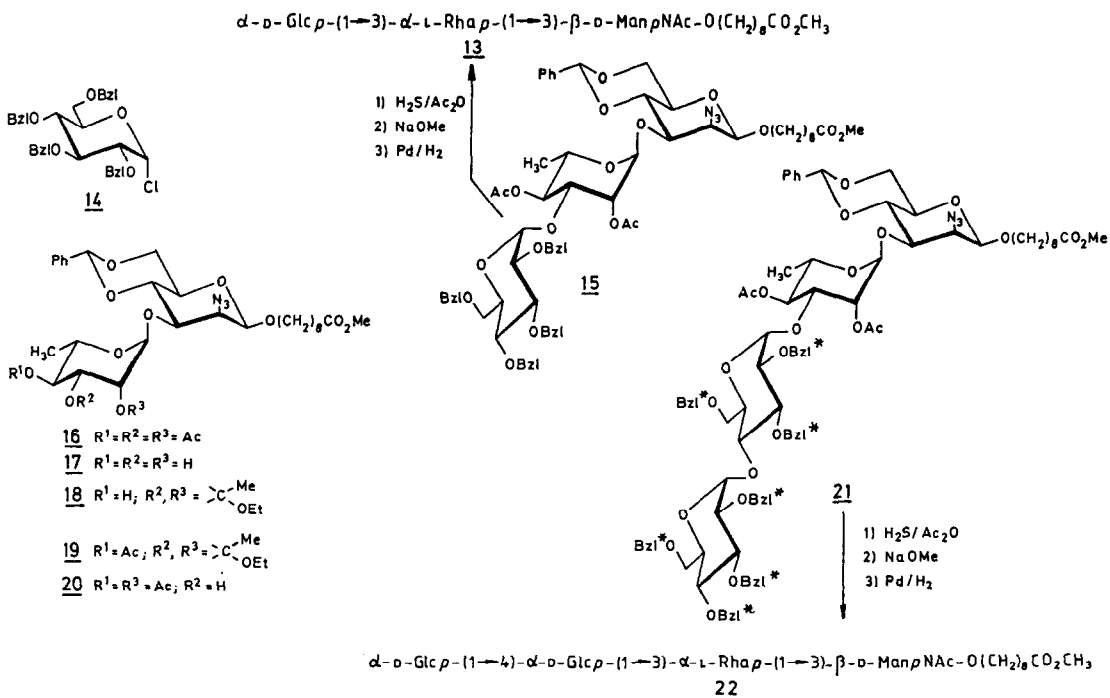


Zum Aufbau des Oligosaccharides war zunächst die Synthese geeignet blockierter Glycosyldonatoren und Glycosylakzeptoren notwendig. Um später eine Anknüpfung der 'repeating unit' an ein Polymer zum synthetischen Antigen zu ermöglichen, war die 2-Amino-2-desoxy-mannose-Einheit mit einem Spacer zu versehen. Hierzu wird das Bromid 2³⁾ bei Gegenwart von Silbersilicat (Toluol) zum β -glycosidisch verknüpften Produkt 4 umgesetzt (59 %). Nach Abspaltung der Acetylgruppen in 4 zu 5 liefert die Umsetzung mit Benzaldehyddimethylacetal den gewünschten Glycosylakzeptor 6. Als Glycosyldonator ist das Bromid der L-Rhamnose 7 gut geeignet. Die Umsetzung von 7 mit 6 bei Gegenwart von Hg(CN)₂ liefert unter Nachbargruppenbeteiligung ausschließlich das α -glycosidisch verknüpfte kristalline Disaccharid 16 (77 %).

Zur Einführung der Seitenketten ist der L-Rhamnoseiteil von 16 zu modifizieren³⁾. Die Entacetylierung liefert 17, aus dem selektiv der Orthoester 18 hergestellt werden kann. Die Acetylierung von 18 führt zum Produkt 19. Nach selektiver saurer Öffnung des Orthoesters gelangt man zum Produkt 20, in dem, wie gewünscht, die 3'-OH-Gruppe unsubstituiert ist; 20 ist als Glycosylakzeptor geeignet. Es sei darauf hingewiesen, daß mit der 20 entsprechenden Verbindung, in der der Rhamnoseiteil statt mit Acetyl mit Benzylethergruppen blockiert ist, eine weitere Glycosidsynthese nicht möglich ist.



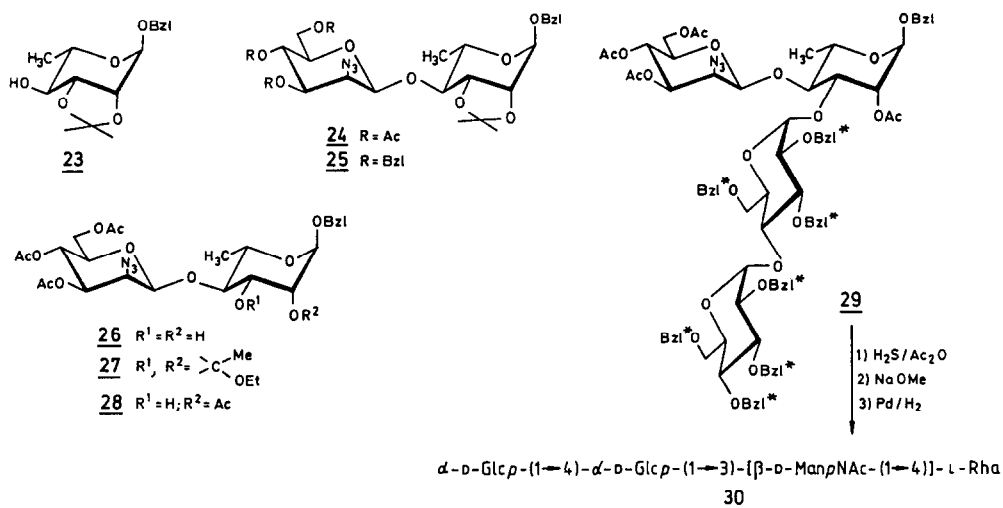
Die α -glycosidische Anknüpfung der Seitenkette von D-Glucose oder Maltose ist schwierig und erfordert eine sorgfältige Optimierung der Bedingungen. Das



Glucose-Derivat 14 ist mit 20 bei Gegenwart von $\text{Hg}(\text{CN})_2/\text{HgBr}_2$ 1,4:1 (CH_2Cl_2) in 54 % in das α -glycosidisch verknüpfte Trisaccharid 15 zu überführen (Anteil an β -Glycosid 14 %). Eine dreistufige Entblockierungssequenz liefert dann in 80 % das gewünschte spacerhaltige Trisaccharid 13 ($[\alpha]_D^{20} = -1,2$; $c = 1$ in CH_3OH), womit die als Hauptkomponente vorkommende 'repeating unit' zugänglich geworden ist.

Von der Maltose ist ein geeigneter Glycosyldonator für die α -Glycosid-synthese ohne Nachbargruppenbeteiligung nicht verfügbar. Aus diesem Grunde wird das β -Octaacetat 8 bei Gegenwart von Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (CH_2Cl_2) in das 2-Methoxyethylmaltosid 9 überführt (62 %). Diese temporäre Schutzgruppe am anomeren Zentrum hat den Vorteil, daß sie später direkt in ein Halogenid überführt werden kann⁵⁾. Die Entacetylierung von 9 liefert 10, aus dem das perbenzylierte Produkt 11 erhältlich ist. Es wurde $\text{C}_6\text{H}_5\text{CD}_2\text{Br}$ zur Benzylierung verwendet, um die ^1H -NMR-spektroskopische Analyse der Oligosaccharide zu erleichtern⁶⁾. Die Umsetzung von 11 mit Titanatetrachlorid liefert den gewünschten Glycosyldonator 12 in 72 %.

Die Glycosidierung von 20 mit 12 erfolgt unter identischen Bedingungen wie bei 20 mit 14. Das α -glycosidisch verknüpfte Tetrasaccharid 21 kann in 48 % isoliert werden (Anteil an β -Produkt 15 %). Die Entblockierungssequenz von 21 führt dann in 70 % zum Tetrasaccharid 22 ($[\alpha]_D^{20} = +43.6$, $c = 1$ in CH_3OH).



Es ist uns gelungen, auch die inverse Sequenz der 'repeating unit' mit der Verzweigung zu synthetisieren. Hierzu wird das Rhamnose-Derivat 23 mit den Glycosyldonatoren 2 und 3³⁾ umgesetzt. Unter heterogener Silbersilicat-Katalyse liefert das wenig reaktive 2 das β -glycosidisch verknüpfte Produkt 24 in 27 % sowie 55 % des α -Produktes. Die entsprechende Reaktion mit dem reaktiven Bromid 3 liefert erwartungsgemäß in 55 % nur das β -Produkt 25. Durch

selektive saure Hydrolyse ist aus 24 das Diol 26 erhältlich, daß in den Orthoester 27 überführt und zu 28 geöffnet wird. Das Chlorid 14 läßt sich in Gegenwart von $\text{Hg}(\text{CN})_2/\text{HgBr}_2$, 1:1, in analoger Weise wie 20 zum Trisaccharid umsetzen. Für die Umsetzung von 28 mit 12 ist es vorteilhaft, in Gegenwart von Silbertrifluormethansulfonat (Tetramethylharnstoff, CH_2Cl_2) zu arbeiten, da bei Quecksilbersalzkatalyse größere Menge an Zersetzungsprodukt von 12 auftreten. Das verzweigte Tetrasaccharid 29 (54 %; Anteil an β -Produkt 25 %) ist nach einer analogen Entblockierungssequenz zu 80 % in 30 überführbar. ($[\alpha]_{\text{D}}^{20} +68.5$, $c = 1$ in H_2O). Damit stehen alle Sequenzen der 'repeating unit' aus Aeromonas salmonicida zur Verfügung.

Literatur

- 1) LXX. Mitteilung der Reihe 'Bausteine von Oligosacchariden'.
LXIX. Mitteil. H. Paulsen, P. Himpkamp und T. Peters, Liebigs Ann. Chem. im Druck.
- 2) D.H. Shaw, Y.-Z. Lee, M.J. Squires und O. Lüderitz, Eur. J. Biochem., 131, 633 (1983).
- 3) H. Paulsen, J.P. Lorentzen und W. Kutschker, Carbohydr. Res., 136, 153 (1985).
- 4) D.R. Bundle und S. Josephson, Carbohydr. Res., 80, 75 (1980).
- 5) N. Morishima, S. Koto, K. Kanemitsu und S. Zen, Chem. Lett., 1189 (1983).
- 6) H. Paulsen, W. Röben und F.R. Heiker, Tetrahedron Lett., 3679 (1980).

(Received in Germany 4 September 1985)