

Oligosaccharidsynthese für jedermann?

Computer-geleitete sequenzielle Glycosylierungen im Eintopfverfahren, einfach durchführbar und schnell, ebnet auch Nichtspezialisten den Weg für die Darstellung komplexer Kohlenhydrate.

Oligosaccharide sind an zahlreichen biologischen Erkennungsprozessen beteiligt. Diese auf molekularer Ebene aufzuklären ist das Ziel der sich stürmisch entwickelnden „Glycobiologie“.¹⁾ Voraussetzung dafür ist der Zugang zu einer ganzen Reihe von Kohlenhydratstrukturen. Hier ist die präparative Chemie gefordert, da die Isolierung von Oligosacchariden aus natürlichen Quellen aufgrund der Mikroheterogenität der Strukturen äußerst mühsam ist.

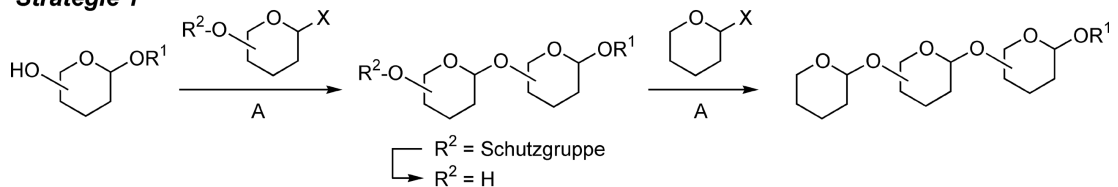
Traditionell beginnt der schrittweise Aufbau von Oligosacchariden am reduzierenden Ende.^{2,3)} Abbildung 1 verdeutlicht dies am Beispiel eines Trisaccharids (Strategie 1). Nach jeder

Verknüpfung muss die wachsende Zuckerkette durch selektives Entschützen auf die Übertragung des nächsten Bausteins vorbereitet werden. Die alternative Vorgehensweise (Strategie 2) beginnt am nichtreduzierenden Ende des Oligosaccharids, das mit einem Monosaccharid-Baustein mit freier OH-Gruppe zur Reaktion gebracht wird, sodass der Deblockierungsschritt nicht am Oligosaccharid ausgeführt werden muss. Jedoch muss das Oligosaccharid nach jeder Kupplung erneut in einen Glycosyldonor umgewandelt werden, was nicht immer unproblematisch ist. Eine Möglichkeit besteht im Entschützen des anomeren Zentrums und anschließender Über-

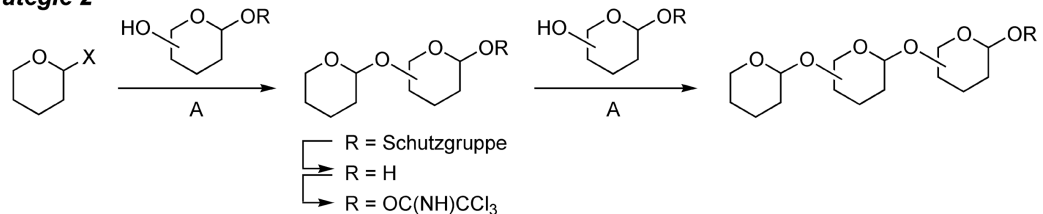
führung in ein Trichloracetimidat.³⁾ Am überzeugendsten ist jedoch der Einsatz von Glycalen, aus denen durch Epoxidierung Glycosyldonoren vom 1,2-Anhydrotyp erhältlich sind, wie die Gruppe um Danishefsky eindrucksvoll belegte.⁴⁾

In der Praxis wird häufig nach einer Kombination beider Vorgehensweisen verfahren. Kleinere Oligosaccharide werden nach Strategie 1 aufgebaut, am anomeren Zentrum des reduzierenden Endes aktiviert und dann in einer Blocksynthese auf andere Oligosaccharide übertragen. So wird ein höheres Maß an Konvergenz und damit eine höhere Effizienz der Synthese erreicht.

Strategie 1



Strategie 2



Strategie 3

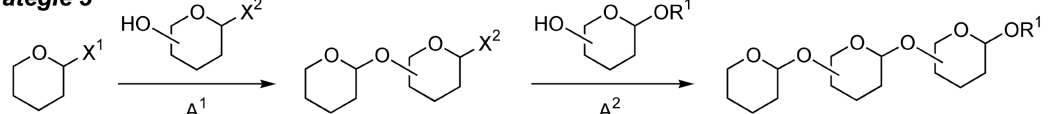


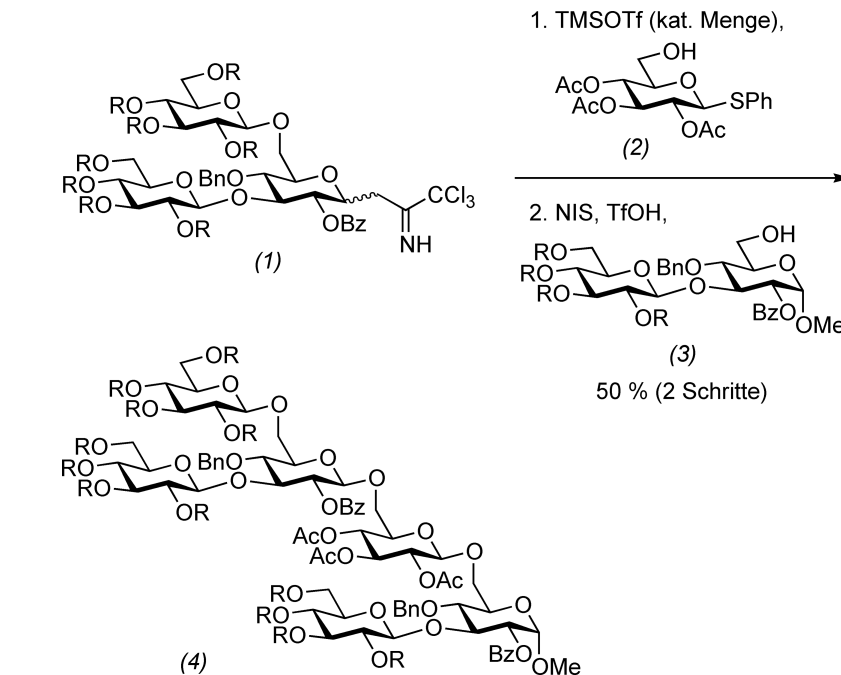
Abb. 1.
Strategien zum schrittweisen Aufbau von Oligosacchariden (unter Vernachlässigung der nicht an der Glycosylierung beteiligten Hydroxygruppen) (A = Aktivator).

Eine wesentliche Vereinfachung von Strategie 2 würde sich ergeben, wenn der Glycosylacceptor selbst bereits eine aktivierbare Abgangsgruppe X^2 am anomeren Zentrum enthielte (Strategie 3). Dann entfielen die nachträgliche Umwandlung in eine solche, und die am Oligosaccharid vorzunehmenden Schutzgruppenmanipulationen wären auf ein Minimum, nämlich das Entschützen des Zielmoleküls, begrenzt. X^2 freilich muss stabil unter den Bedingungen zur Aktivierung von X^1 durch Aktivator A^1 sein. Im Anschluss an diese chemoselektive Glycosylierung lässt sich der erhaltene Disaccharylondonor unter Zusatz des Aktivators A^2 mit dem nächsten Glycosylacceptor umsetzen. Wirken sich die zur Aktivierung von X^1 benötigten Reagentien (bzw. die aus ihnen entstehenden Produkte) nicht störend auf die Aktivierung von X^2 aus, ist eine Reaktionsführung ohne zwischenzeitliche Aufarbeitung möglich. Derartige Synthesen, für die sich im englischen Sprachraum die Bezeichnung one-pot sequential glycosylation eingebürgert hat, werden im Folgenden vorgestellt. Sie zeichnen sich durch einfache Durchführbarkeit und Schnelligkeit aus.

Die chemoselektive Aktivierung eines Glycosyldonors in Gegenwart eines zweiten gelingt auf verschiedene Weisen. Es können einerseits zwei unterschiedliche Glycosylierungsverfahren ($X^1 \neq X^2$, $A^1 \neq A^2$) zum Einsatz kommen. Lassen sich die beiden Schritte in beliebiger Reihenfolge ausführen, spricht man von orthogonaler Glycosylierung.⁵⁾ Andererseits ist es möglich, Glycosyldonoren mit abgestufter Reaktivität einzusetzen, die sich durch den gleichen Aktivator, jedoch mit unterschiedlicher Geschwindigkeit aktivieren lassen.

Eintopf-Glycosylierungen unter Verwendung unterschiedlicher Glycosylierungsverfahren

Die ersten Eintopfsynthesen nach Strategie 3 unter Einsatz verschiedener Glycosylierungsverfahren wurden 1994 von Takahashi et al. publiziert.^{6,7)} Aus den vielen zur Verfügung stehenden Methoden wurden



zum Beispiel Glycosylbromide ($X^1 = \text{Br}$) für den ersten Kupplungsschritt gewählt, und mit einem Thioglycosid als Glycosylacceptor ($X^2 = \text{SPh}$) unter Silbertriflat-Aktivierung umgesetzt, wobei das Thioglycosid unangetastet bleibt. Letzteres wird im zweiten Kupplungsschritt durch Zugabe von *N*-Iodsuccinimid (NIS) in Kombination mit der im ersten Schritt entstandenen Trifluormethansulfonsäure (TfOH) aktiviert.⁶⁾ Auch Trichloracetimidate können mit Thioglycosiden kombiniert werden, wie die Eintopfsynthese der geschützten Form (4) eines Phytoalexin-Elicitors, d. h. einer bei Pflanzen die Bildung von Abwehrstoffen hervorrufenden Substanz, zeigt (Abbildung 2).⁷⁾ Das Trisaccharid-Trichloracetimidat (1) wurde zunächst unter Trimethylsilyltriflat (TMSOTf)-Katalyse mit dem Thiophenylglucosid (2) umgesetzt. Anschließende Zugabe von Disaccharid (3) und NIS/TfOH zur Reaktionsmischung lieferte das Hexasaccharid (4) in einer Ausbeute von 50 %. Nach denselben Prinzipien erhielten Takahashi et al. später auch verzweigte Oligosaccharide und Trisaccharid-Bibliotheken.⁸⁾

Auch Chenault und Castro berichteten 1994 über eine Eintopfsynthese eines Trisaccharids.⁹⁾ Bei ihnen kam

ein Isopropenylglucosid zum Einsatz, das sich in Gegenwart eines *n*-Pentenylglucosids chemoselektiv mit TMSOTf aktivieren ließ. Zugabe von NIS und Triethylsilyltriflat leitete dann die Kupplung des *n*-Pentenylglucosids an einen weiteren Glycosylacceptor ein.

Eintopf-Glycosylierungen unter Verwendung von Glycosyldonoren mit abgestufter Reaktivität

Reaktivitäts-Tuning durch Modifikation der Abgangsgruppe

Mit der Darstellung des Ciclamycin-0-Trisaccharids (10) lieferten Raghavan und Kahne 1993 das erste Beispiel für eine echte Oligosaccharid-Eintopfsynthese (alle Monosaccharid-Bausteine werden von Beginn an vereinigt) (Abbildung 3).¹⁰⁾ Hierbei kamen die in der Gruppe von Kahne entwickelten Phenylsulfoxid-Donoren zum Einsatz, die sich durch Trifluormethansulfonsäureanhydrid (Tf_2O) oder katalytische Mengen TfOH aktivieren lassen. Wird die Mischung der Bausteine (5), (6) und (7) bei -78°C mit TfOH versetzt, wird (5) aufgrund der elektronenschieben-

Abb. 2.

Eintopfsynthese des geschützten Hexasaccharid-Phytoalexin-Elicitors (4) nach Takahashi.⁷⁾
 (Bn = Benzyl, Bz = Benzoyl, R = *p*-Methylbenzoyl)

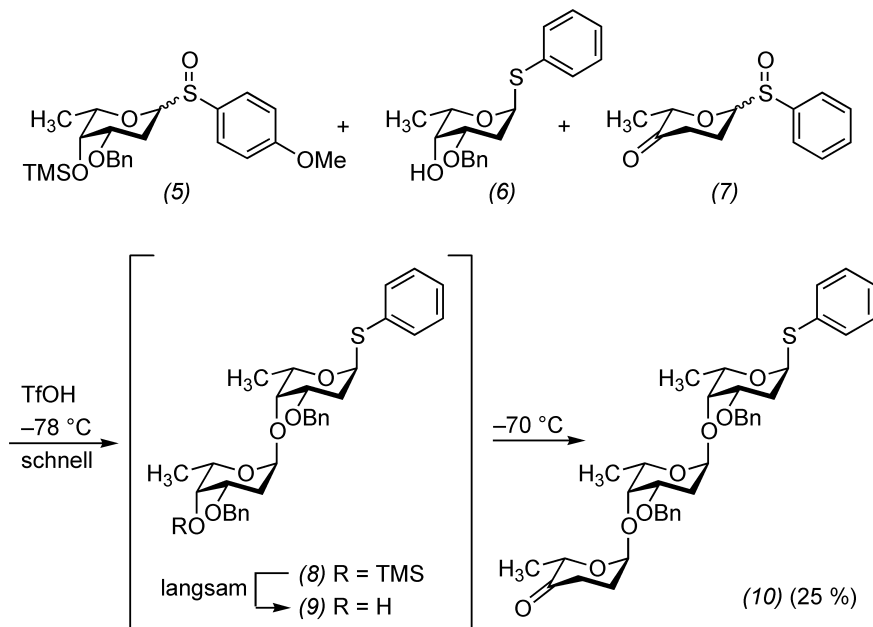


Abb. 3. Eintopfsynthese des Ciclamycin-0-Trisaccharids (10) nach Kahne.¹⁰⁾

den Wirkung der *p*-Methoxygruppe am schnellsten aktiviert und reagiert mit dem einzigen vorhandenen Glycosylacceptor (6) zum Disaccharid (8). Unter den sauren Bedingungen kommt es zur langsamen Spaltung des in (8) enthaltenen Silylethers. Der gebildete Glycosylacceptor (9) kann nun mit (7) zum gewünschten Trisaccharid (10) reagieren, das nach diesem Verfahren in einer Ausbeute von 25% erhalten wird. Am reduzierenden Ende von (10) liegt ein Phenylthioglycosid vor, das sich zur Kupplung an das Aglycon einsetzen lässt.

Auch der sterische Anspruch einer anomeren Thiolgruppe wirkt sich auf die Reaktivität eines Glycosyldonors aus. So lassen sich Ethylthioglycoside chemoselektiv neben Dicyclohexylmethyl-Thioglycosiden mit Iodoniumdi-*sym*-collidinperchlorat (IDCP) oder NIS/TMSOTf aktivieren, wie Boons et al. an einer allerdings nicht im Ein-

topfverfahren durchgeführten Pentasaccharidsynthese zeigten.¹¹⁾ Bezüglich der Möglichkeit, die Reaktivität der Abgangsgruppe abstimmen zu können, stellen die kürzlich von Hinklin und Kiessling eingeführten Glycosylsulfonylcarbamate-Donoren (11) eine interessante Neuentwicklung dar (Abbildung 4).¹²⁾ Entscheidender Parameter ist der Stickstoffsubstituent R. Die unsubstituierte Verbindung (11a) und die allylierte Verbindung (11d) lassen sich beispielsweise im Gegensatz zu (11b) und (11c) nicht mit TfOH aktivieren. Man darf gespannt sein, ob sich derartige Donoren als nützlich für den Einsatz in sequenziellen Glycosylierungen erweisen, wie von den Autoren angedeutet.

Reaktivitäts-Tuning durch Wahl der Schutzgruppen

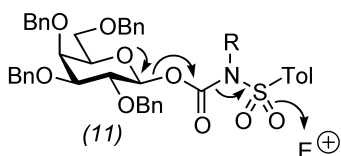
Jede Substitution am anomeren Zentrum eines Kohlenhydrats hat mehr oder weniger stark ausgeprägten S_N1 -Charakter, ist also im geschwindigkeitsbestimmenden Schritt mit der Akkumulation positiver Ladung am anomeren Zentrum bzw. am Ringsauerstoff verbunden. Damit einher geht eine Umhybridisierung ($sp^3 \rightarrow sp^2$) des anomeren C-Atoms und somit eine Konformationsänderung (Abbildung 5a). Jeder Faktor,

der diesen Prozess beeinflusst, wirkt sich demnach auf die Geschwindigkeit einer Glycosylierung (und einer Glycosidhydrolyse) aus. Die erhöhte Hydrolysegeschwindigkeit von Desoxyglycosiden beispielsweise ist seit langem bekannt,¹³⁾ und auch die Auswahl von Schutzgruppen nach induktiven Gesichtspunkten (Estergruppen sind wesentlich stärker elektronenziehend als Ethergruppen) gehört seit langem zum Repertoire, um die Stabilität des Kations (13) und damit die Aktivität von Glycosyldonoren zu beeinflussen.²⁾

Fraser-Reid et al. nutzten diese Kenntnis zum ersten Mal für eine chemoselektive Glycosylierung (Abbildung 5b).¹⁴⁾ Werden (15) und (16) mit einem Äquivalent IDCP versetzt, wird einzig das Disaccharid (17) isoliert, Homokupplung von ester-geschütztem (16) wird nicht beobachtet. Nach Fraser-Reids Nomenklatur wird (15) als armiert („armed“) und (16) als desarmiert („disarmed“) bezeichnet.

Die Reaktivitätsdrosselung lässt sich auch durch konformatives Fixieren des Zuckersechsrings, z. B. durch Einführen eines 4,6-O-Benzylidenacetals, erreichen.¹⁵⁾ Aufbauend auf dieser Beobachtung konnten Ley et al. später zeigen, dass dies auch für in 3,4-Position angebrachte 1,2-Diacetalschutzgruppen, wie die Dispiroketal- und Cyclohexan-1,2-diacetal(CDA)-Gruppe, zutrifft.¹⁶⁾ Derartig geschützte Donoren wurden als „semidesarmiert“ bezeichnet und können zur sequenziellen Eintopfsynthese eingesetzt werden (Abbildung 5c).¹⁷⁾ Wird ein Gemisch aus semidesarmiertem (18) und armiertem (19) mit NIS/TfOH versetzt, bildet sich (20) als einziges Produkt. Nach Zugabe des zweiten Acceptors (21) wurde Tri-rhamnosid (22) durch Zusatz von weiterem NIS/TfOH in einer sehr guten Gesamtausbeute von 62% erhalten. Entfernung der Schutzgruppen lieferte das Streptokokken-Epitop (23).

Ein wesentliches Verdienst der Ley-Gruppe bestand darin, die Einflüsse verschiedener Schutzgruppen, insbesondere in Abhängigkeit von ihrer Position im Zucker, auf die Glycosylierungsgeschwindigkeit am Bei-

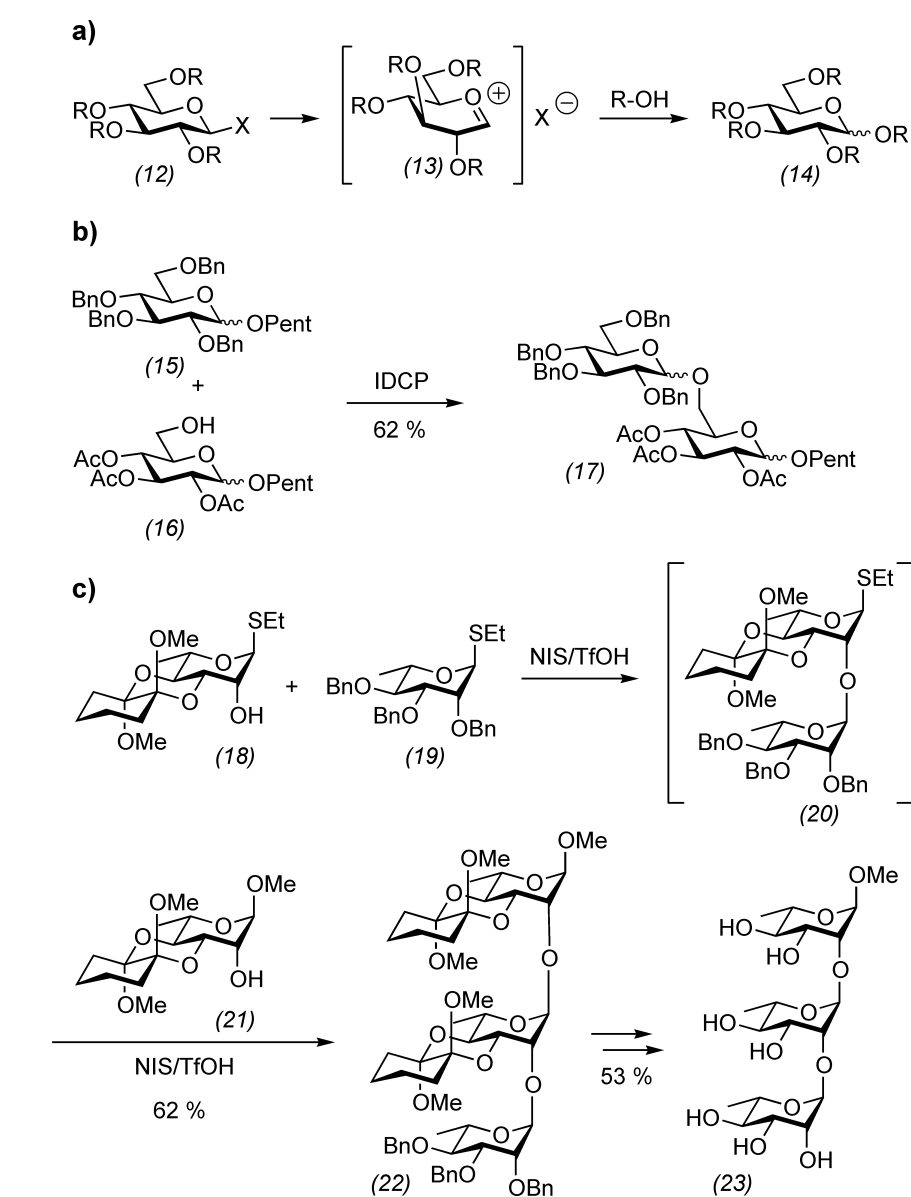


(11a): R = H (11b): R = Me
(11c): R = CH₂CN (11d): R = All

spiel der Rhamnose und Mannose durch Konkurrenzexperimente erstmals zu quantifizieren.¹⁸⁾ Mit diesem Wissen und unter Einsatz von orthogonalen Glycosylierungstechniken gelangen in der Folgezeit Eintopfsynthesen komplexer Kohlenhydrate mit bis zu drei chemoselektiven Glycosylierungsschritten.¹⁶⁾

Wong et al. gingen noch einen Schritt weiter und bestimmten von zahlreichen (bis heute sind es etwa 200) Glycosyldonoren mit *p*-Methylphenylthiol als Abgangsgruppe relative Reaktivitätswerte (RRWs, gleichzusetzen mit relativen Geschwindigkeitskonstanten).¹⁹⁾ Die RRWs decken dabei einen Bereich von 0,692 bis $3,3 \times 10^5$ bezogen auf *p*-Methylphenyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-1-thio- α -D-mannopyranosid (RRW \equiv 1) ab. Im Unterschied zur Ley-Gruppe konnten sie aufgrund einer anderen experimentellen Vorgehensweise RRWs auch von Glycosyldonoren mit einer freien OH-Gruppe, wie man sie für die sequenzielle Glycosylierung benötigt, erhalten. Einer von vielen interessanten Trends, die aus dieser umfangreichen Datensammlung abzulesen sind, betrifft die Reaktivität verschiedener gleichartig geschützter (z. B. perbenzylierter) Zucker, die im Allgemeinen in der Reihenfolge Fucose > Galactose > Glucose > Mannose abnimmt. Auch die Position in Pyranosiden, die den größten Einfluss auf die Reaktivität des anomeren Zentrums ausübt, variiert von Zucker zu Zucker. Während für Mannose die Reihenfolge 2 > 6 > 4 > 3 gefunden wurde,¹⁸⁾ ergab sich für Galactose die Reihenfolge 4 > 3 > 2 > 6.¹⁹⁾

Weiterhin wurde von der Wong-Gruppe ein Computerprogramm (OptiMer) entwickelt, das aus einer Datenbank mit Glycosyldonoren und ihren RRWs diejenigen Bausteine heraus sucht, die in einer Synthese eines vorgegebenen Oligosaccharids die höchste Gesamtausbeute erwarten lassen. Eine eindrucksvolle Illustration dieser Computer-geleiteten Vorgehensweise bietet die kürzlich publizierte Synthese der Hexasaccharidstruktur des Krebsantigens Globo H (Abbildung 6).²⁰⁾ In einer ersten Eintopfreaktion wurden zunächst durch se-



quenzielle Zugabe die Bausteine (24), (25) und (26) zum Trisaccharid (27) zusammengefügt (67% Ausbeute), dessen Lävulinoylgruppe anschließend selektiv abgespalten wurde (\rightarrow (28)). Eine zweite Eintopfreaktion mit Fucosederivat (29), Trisaccharid (28) und Disaccharid (30) lieferte das geschützte Hexasaccharid in 62% Ausbeute, aus dem nach Abspaltung sämtlicher Schutzgruppen Globo H (31) erhalten wurde.

Zusammenfassung und Ausblick

Oligosaccharidsynthesen nach Strategie 3 (Abbildung 1) weisen, wenn sie als Blocksynthesen durch-

geführt werden, ein Höchstmaß an Konvergenz auf. Die sequenzielle Glycosylierung im Eintopfverfahren zeichnet sich darüber hinaus durch einfache Durchführbarkeit und Schnelligkeit aus. Bedingung ist jedoch, dass die Glycosylierungen stereoselektiv verlaufen, da andernfalls schwer zu trennende Produktgemische entstehen. In diesem Zusammenhang darf man nicht aus den Augen verlieren, dass bei jeder Glycosidbildung zwei chirale, sterisch anspruchsvolle Partner miteinander reagieren, die den Reaktionsverlauf im Einzelfall durchaus in nicht erwartete Richtungen lenken können.²¹⁾ Die von Ley und Wong quan-

Abb. 5.

Zum Einfluss von Schutzgruppen auf die Glycosylierungsgeschwindigkeit:
a) Akkumulation positiver Ladung am anomeren Zentrum und Konformationsänderung während einer Glycosylierung;
b) Fraser-Reids „Armirt/desarmiert“-Konzept;¹⁴⁾
c) Reaktivitätskontrolle durch cyclische Acetale nach Ley.¹⁷⁾ (Pent = 4-Pentenyl)

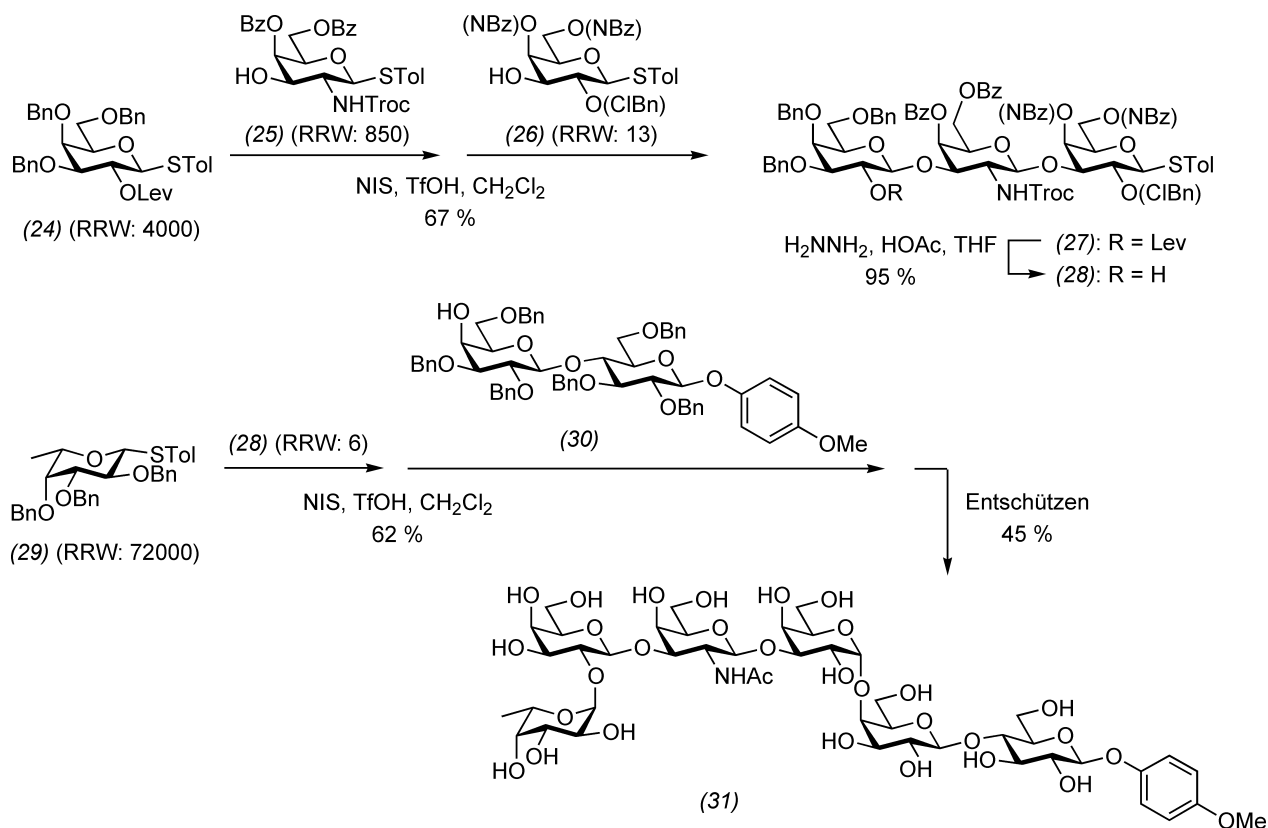


Abb. 6. Wongs Eintopfsynthese des Globos-H-Hexasaccharids.²⁰⁾ (ClBn = o-Chlorbenzyl, Lev = Lävulinoyl, NBz = p-Nitrobenzoyl, RRW = relativer Reaktivitätswert, Troc = 2,2,2-Trichlor-ethoxycarbonyl)

tifizierten relativen Reaktivitätswerte zahlreicher Glycosyldonoren sind die Basis für eine Computer-unterstützte rationale Synthesepaltung und ebenen damit den Weg für die Darstellung komplexer Kohlenhydrate durch den Nichtspezialisten, vorausgesetzt, die benötigten Bausteine sind erhältlich. Optimer Pharmaceuticals, eine Start-up-Firma aus San Diego, hat die von Wong entwickelte Technik lizenziert und plant sie zu kommerzialisieren. Für den Anwender bleibt noch die nicht triviale Aufgabe, die Identität der synthetisierten Oligosaccharide zu verifizieren. Die Zukunft wird zeigen, ob das Verfahren die nötige Zuverlässigkeit hat.

- 1) Essentials of Glycobiology (Hrsg.: A. Varki, R. Cummings, J. Esko, H. Freeze, G. Hart, J. Marth) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, 1999.
- 2) H. Paulsen, Angew. Chem. 1982, 94, 184–201.
- 3) R. R. Schmidt, Angew. Chem. 1986, 98, 213–236.
- 4) Übersicht: S. J. Danishefsky, M. T. Bilo-deau, Angew. Chem. 1996, 108, 1482–1522.

- 5) O. Kanie, Y. Ito, T. Ogawa, J. Am. Chem. Soc. 1994, 116, 12073–12074.
- 6) H. Yamada, T. Harada, H. Miyazaki, T. Takahashi, Tetrahedron Lett. 1994, 35, 3979–3982.
- 7) H. Yamada, T. Harada, T. Takahashi, J. Am. Chem. Soc. 1994, 116, 7919–7920.
- 8) H. Yamada, T. Kato, T. Takahashi, Tetrahedron Lett. 1999, 40, 4581–4584; T. Takahashi, M. Adachi, A. Matsuda, T. Doi, Tetrahedron Lett. 2000, 41, 2599–2603.
- 9) H. K. Chenault, A. Castro, Tetrahedron Lett. 1994, 35, 9145–9148.
- 10) S. Raghavan, D. Kahne, J. Am. Chem. Soc. 1993, 115, 1580–1581.
- 11) R. Geurtsen, D. S. Holmes, G. J. Boons, J. Org. Chem. 1997, 62, 8145–8154.
- 12) R. J. Hinklin, L. L. Kiessling, J. Am. Chem. Soc. 2001, 123, 3379–3380.
- 13) W. G. Overend, C. W. Rees, J. S. Sequeria, J. Chem. Res. 1962, 3429.
- 14) D. R. Mootoo, P. Konradsson, U. Udodong, B. Fraser-Reid, J. Am. Chem. Soc. 1988, 110, 5583–5584.
- 15) B. Fraser-Reid, Z. Wu, C. W. Andrews, E. Skowronski, J. P. Bowen, J. Am. Chem. Soc. 1991, 113, 1434–1435.
- 16) Übersicht: S. V. Ley, D. K. Baeschlin, D. J. Dixon, A. C. Foster, S. J. Ince, H. W. M. Priepe, D. J. Reynolds, Chem. Rev. 2001, 101, 53–80.
- 17) S. V. Ley, H. W. M. Priepe, Angew. Chem. 1994, 106, 2412–2414.
- 18) N. L. Douglas, S. V. Ley, U. Lucking, S. L. Warriner, J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1 1998, 51–66.

- 19) Z. Zhang, I. R. Ollmann, X.-S. Ye, R. Wischnat, T. Baasov, C.-H. Wong, J. Am. Chem. Soc. 1999, 121, 734–753.
- 20) F. Burkhart, Z. Y. Zhang, S. Wacowich-Sgarbi, C.-H. Wong, Angew. Chem. 2001, 113, 1314–1317.
- 21) N. M. Spijker, C. A. A. van Boeckel, Angew. Chem. 1991, 103, 179–182.

Blickpunkt Synthese

will zur Beschäftigung mit neuen synthetischen Verfahren oder eleganten und wichtigen Synthesen aus der Literatur anregen. Die Rubrik erscheint von Februar bis Dezember alle zwei Monate und wird dieses Jahr von Dr. Valentin Wittmann, Institut für Organische Chemie der Universität Frankfurt, betreut.