



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

⑪ CH 683771 A5

⑤① Int. Cl.⁵: C 07 H 1/00
C 07 H 11/00
C 07 H 15/20

Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein
Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

⑫ PATENTSCHRIFT A5

⑳① Gesuchsnummer: 551/92

⑳② Anmeldungsdatum: 24.02.1992

⑳③ Priorität(en): 28.02.1991 JP 3-55658

⑳④ Patent erteilt: 13.05.1994

④⑤ Patentschrift
veröffentlicht: 13.05.1994

⑦③ Inhaber:
The Nisshin Oil Mills, Ltd, Chuo-ku/Tokyo (JP)
Akira Hasegawa, Gifu-shi/Gifu-ken (JP)

⑦② Erfinder:
Hasegawa, Akira, Gifu-shi/Gifu-ken (JP)

⑦④ Vertreter:
A. Braun, Braun, Héritier, Eschmann AG,
Patentanwälte, Basel

⑤④ Verfahren zur Herstellung von Sialoglykosylverbindungen.

⑤⑦ Verbessertes Verfahren zur Herstellung von O-Glykosylverbindungen von Sialinsäure, die als Zwischenprodukte bei der Synthese von sialokonjugierten Glykosiden geeignet sind. Das Verfahren umfasst die Kondensationsreaktion zwischen Thioglykosiden von Sialinsäure und Zuckerderivaten in der Anwesenheit von N-Jodsuccinimid und Trifluormethansulfonsäure. O-Glykosylverbindungen von Sialinsäure werden in hoher Regio- und Stereoselektivität und in hohen Ausbeuten erhalten.



Beschreibung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von O-Glykosyl-Verbindungen von Sialinsäure. Insbesondere betrifft die Erfindung Verfahren zur stereoselektiven Glykolysierung von Sialinsäure unter Verwendung von Thioglykosiden von Sialinsäure.

Bei der organischen Synthese von sialokonjugierten Glykosiden war die Glykosylierung von Sialinsäure, insbesondere die Kondensation mit einer sekundären Hydroxylgruppe, die schwierigste Reaktion. Dies kann der Tatsache zugeschrieben sein, dass eine sterische Hinderung an der anomeren Position von Sialinsäure durch ein quaternäres Kohlenstoffatom in dieser Stellung verstärkt werden kann; die 2,3-Dehydroform kann leicht durch Kondensationsreaktion über Deoxy an der C-3 Stellung, benachbart zu der anomeren Position, hergestellt werden; die Teilnahme von Nachbargruppen kann bei der Steuerung der Stereochemie an der anomeren Position nicht ausgenutzt werden und eine thermodynamisch stabile Konfiguration ist eine nicht-natürliche β -Konfiguration. Es wurden verschiedene Versuche unternommen diese Probleme zu lösen. Ein Versuch ist die Verwendung der α -SMe-Form von Sialinsäure als ein Sialinsäure-Donator, α -Galactose oder α -Lactose als ein Zucker-Akzeptor und Dimethyl(methythio)sulfoniumtriflat als ein Kondensationsmittel zur Glykosylierung, um die Sialyllactose (α -Form) in einer Ausbeute von 47% synthetisch herzustellen (T. Murase et al, Carbohydr. Res., 188, 71 (1989)). Ein weiterer Versuch ist die Verwendung der α -SPh-Form von Sialinsäure als Sialinsäure-Donator, deren Kondensation mit einer primären Hydroxylgruppe des Zuckers in Anwesenheit von PhHgOTf (Tf = Trifluormethansulfonyl)-Katalysator, zur Synthese des Glykosids in einer Ausbeute von 24% (E. Kirchner et al, J. Carbohydr. Chem., 7, 453 (1988)). Es verbleiben jedoch nach wie vor zahlreiche Probleme bei der Synthese von sialokonjugierten Glykosiden, da Saccharidketten, die in konjugierten Glykosiden enthalten sind, stark divers sind.

Ein Ziel der Erfindung ist die Bereitstellung eines Verfahrens zur Herstellung von O-Glykosylverbindungen der Sialinsäure in hoher Regio- und Stereoselektivität, in hohen Ausbeuten und auf wirtschaftliche Weise.

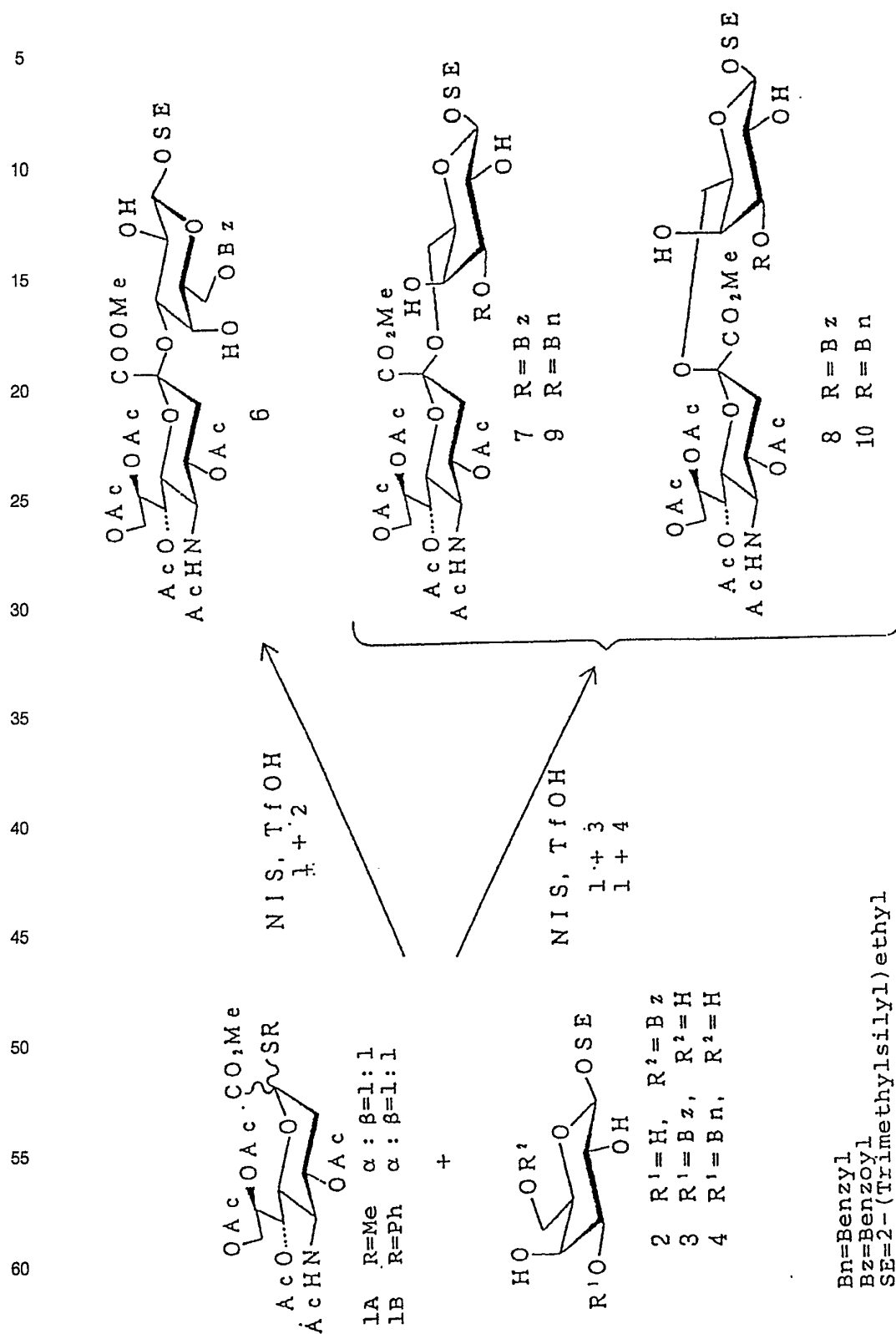
Ein weiteres Ziel der Erfindung ist die Bereitstellung einer wirksamen Glykosylierung von Sialinsäure unter Verwendung eines geeignet geschützten Zucker-Donators und eines geeignet geschützten Zucker-Akzeptors.

Erfindungsgemäss wird ein Verfahren zur Herstellung von O-Glykosylverbindungen von Sialinsäure bereitgestellt, durch Reaktion von Thioglykosiden von Sialinsäure mit Zuckerderivaten in Anwesenheit von N-Jodsuccinimid und Trifluormethansulfonsäure.

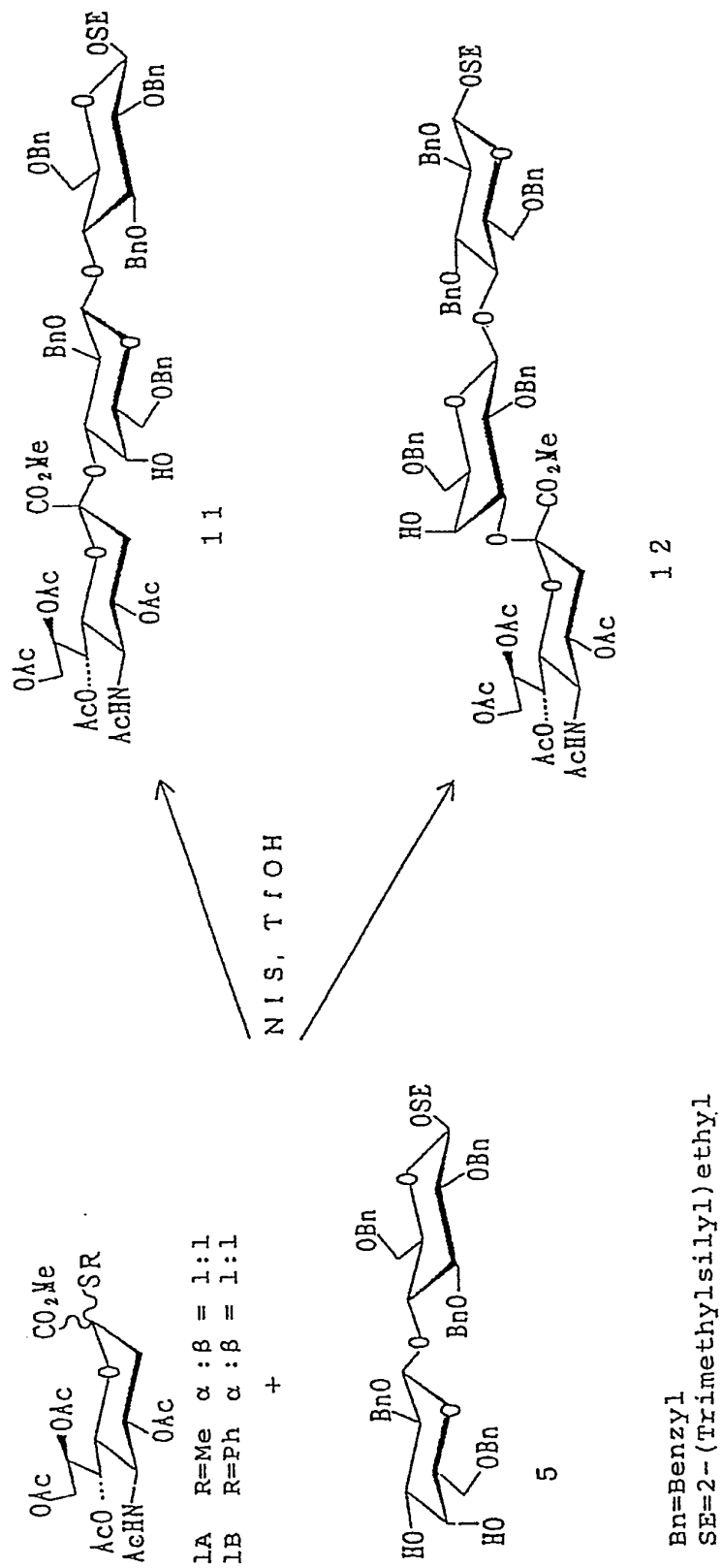
Die Erfindung ist charakterisiert durch die Verwendung von Thioglykosiden von Sialinsäure als einen Zucker-Donator und von Galactose- oder Lactose-Derivaten, die die geringst geschützten Hydroxylgruppen enthalten, als einen Zucker-Akzeptor, und weiter durch die Durchführung der Kondensationsreaktion in Anwesenheit von N-Jodsuccinimid (NIS) und von Trifluormethansulfonsäure (TfOH).

Die Sialoglykosylverbindungen können wie in den folgenden Schemata 1 und 2, die bevorzugte Ausführungsformen der Erfindungen veranschaulichen, hergestellt werden.

Schema 1



Schema 2



Beispiele für den Zucker-Donator umfassen Methyl-(methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-2-thio-D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosid)-onat (Verbindung 1A, SMe-Form von Sialinsäure) und Methyl-(phenyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,4-dideoxy-2-thio-D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosid)-onat (Verbindung 1B, SPh-Form von Sialinsäure), wie in den Schemata 1 und 2 gezeigt.

Beispiele für den Zucker-Akzeptor umfassen Galactosederivate, wie 2-(Trimethylsilyl)-ethyl-6-O-benzoyl- β -D-galactopyranosid (Verbindung 3) und 2-(Trimethylsilyl)-ethyl-3-O-benzoyl- β -D-galactopyranosid (Verbindung 4), wie in Schema 1 dargestellt, und Lactosederivate, wie 2-(Trimethylsilyl)-ethyl-(2,6-di-O-benzyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri-O-benzyl- β -D-glucopyranosid (Verbindung 5), wie in Schema 1 dargestellt.

Die O-Glykosyl-Verbindungen, hergestellt durch das erfindungsgemässe Verfahren, umfassen 2-(Trimethylsilyl)-ethyl-O-(methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- α -D-galacto-2-nonulopyranosyl)-(2 $\rightarrow$ 3)-6-O-benzoyl- β -D-galactopyranosid (Verbindung 6), 2-(Trimethylsilyl)-ethyl-O-(methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- α -D-galacto-2-nonulopyranosyl)-(2 $\rightarrow$ 6)-3-O-benzoyl- β -D-galactopyranosid (Verbindung 7), 2-(Trimethylsilyl)-ethyl-O-(methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- β -D-galacto-2-nonulopyranosyl)-(2 $\rightarrow$ 6)-3-O-benzoyl- β -D-galactopyranosid (Verbindung 8), 2-(Trimethylsilyl)-ethyl-O-(methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- α -D-galacto-2-nonulopyranosyl)-(2 $\rightarrow$ 6)-3-O-benzoyl- β -D-galactopyranosid (Verbindung 9) und 2-(Trimethylsilyl)-ethyl-O-(methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- β -D-galacto-2-nonulopyranosyl)-(2 $\rightarrow$ 6)-3-O-benzoyl- β -D-galactopyranosid (Verbindung 10), wie in Schema 1 dargestellt, und umfassen weiter 2-(Trimethylsilyl)-ethyl-O-(methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- α -D-galacto-2-nonulopyranosyl)-(2 $\rightarrow$ 3)-(2,6-di-O-benzyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri-O-benzyl- β -D-glucopyranosid (Verbindung 11) und 2-(Trimethylsilyl)-ethyl-O-(methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- β -D-galacto-2-nonulopyranosyl)-(2 $\rightarrow$ 3)-(2,6-di-O-benzyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri-O-benzyl- β -D-glucopyranosid (Verbindung 12), wie in Schema 2 dargestellt.

Bei der Durchführung der Erfindung werden der Zucker-Donator und der Zucker-Akzeptor zuerst in einem geeigneten Lösungsmittel dehydratisiert und gekühlt. Die dehydratisierten Verbindungen werden der Kondensationsreaktion in Anwesenheit von N-Jodsuccinimid und Trifluormethansulfonsäure unterzogen.

Geeignete Lösungsmittel werden je nach den gewünschten Produkten gewählt. Durch Wahl der Lösungsmittel können gewünschte Verbindungen hergestellt werden, die sich in der Bindungsposition und/oder der Stereoisomerie unterscheiden. Die erfindungsgemäss verwendeten Lösungsmittel können jegliche üblicherweise bei der Synthese von Sialoglykosylverbindungen verwendeten Lösungsmittel umfassen, einschliesslich Acetonitril, Dichlormethan, Chloroform oder dergleichen. Acetonitril ist bevorzugt, um das Produktionsverhältnis der α -Form zu erhöhen.

Vorzugsweise wird der Zucker-Akzeptor in einer Menge von 0,5 bis 1 Mol pro Mol des Zucker-Donators, N-Jodsuccinimid in einer Menge von 1 bis 2 Mol und Trifluormethansulfonsäure wird in einer von 0,1 bis 0,2 Mol pro Mol des Zucker-Donators verwendet, was lediglich Beispiele darstellt, die keine Einschränkung bedeuten. Andere bekannte Reagenzien, wie ein Dehydratisierungsmittel, können zur Herstellung von Sialoglykosylverbindungen verwendet werden.

Die Reaktion wird bei Temperaturen von -80 bis -20°C , vorzugsweise bei -40°C durchgeführt, um den Zucker-Donator und den Zucker-Akzeptor nicht nachteilig zu beeinflussen. Als ein Beispiel für die Reaktion zeigt Schema 1 1+2 $\rightarrow$ 6; 1+3 $\rightarrow$ 7; 1+3 $\rightarrow$ 7+8; 1+4 $\rightarrow$ 9+10 und Schema 2 zeigt 1+5 $\rightarrow$ 11+12. Nach vollständiger Reaktion, können Nachbehandlungen, wie die Zugabe eines Terminators, die Extraktion von Lösungsmittel, die Entfernung von Lösungsmittel oder dergleichen in üblicher Weise durchgeführt werden. Falls notwendig, kann eine Reinigung in üblicher Weise, wie durch Säulenchromatographie, durchgeführt werden.

Die Glykosylverbindung (Verbindung 6), hergestellt durch die Reaktion der Verbindungen 1 und 2, ist ein wertvolles Zwischenprodukt bei der Synthese von Saccharidketten-Antigenen, 2 $\rightarrow$ 3 Sialyl Lc₄. Die Verbindung 11, hergestellt durch die Reaktion der Verbindungen 1 und 5, ist ein wertvolles Zwischenprodukt bei der Synthese von Gangliosid GM₃, GM₂ und GM₁.

Die folgenden Beispiele dienen zur weiteren Erläuterung der Erfindung.

Beispiel 1

2-(Trimethylsilyl)-ethyl-O-(methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- α -D-galacto-2-nonulopyranosyl)-(2 $\rightarrow$ 3)-6-O-benzoyl- β -D-galactopyranosid (Verbindung 6)

A) Zu einer Lösung der Verbindung 1A (2,52 g, 4,42 mMol) und Verbindung 2 (1,0 g, 2,60 mMol), gelöst in Acetonitril (20 ml) wurden Molekularsiebe 3A (5 g) gefügt und die Lösung wurde bei Raumtemperatur 10 Stunden gerührt. Zu der auf -40°C gekühlten Reaktionslösung wurden N-Jodsuccinimid (1,0 g, 4,42 mMol) und weiter Trifluormethansulfonsäure (45 μl , 0,44 mMol) gefügt und das Gemisch wurde zwei Stunden bei -40°C gerührt. Nachdem die vollständige Reaktion durch Dünnschichtchromatographie bestätigt war, wurde die Reaktionslösung mit Triethylamin neutralisiert, die Molekularsiebe wurden abfiltriert und das Filtrat wurde gut mit Dichlormethan gewaschen. Das Filtrat und die Waschlösungen wurden vereint und bei 45°C unter verringertem Druck konzentriert. Der resultierende Sirup wur-

de mit Dichlormethan verdünnt, nacheinander mit $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ und H_2O gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und bei 45°C unter verringertem Druck konzentriert. Der resultierende Sirup wurde einer Säulenchromatographie an Siliciumdioxidgel (Wakogel; C-200) unterzogen, wobei 3/1 Ethylacetat/Hexan als an

5

Eluierlösungsmittel verwendet wurden, unter Bildung der Verbindung 6 (1,35 g, 60,5%) in Form eines Sirups.
B) Zu einer Lösung der Verbindung 1B (7,74 g, 13,3 mMol) und der Verbindung 2 (3,0 g, 7,8 mMol), gelöst in Acetonitril (60 ml) wurden Molekularsiebe 3A (10 g) gefügt und die Lösung wurde bei Raumtemperatur 10 Stunden gerührt. Zu der auf -40°C gekühlten Reaktionslösung wurden N-Jodsuccinimid (5,97 g, 26,5 mMol) und ausserdem Trifluormethansulfonsäure (235 μl , 2,65 mMol) gefügt, und das Gemisch wurde zwei Stunden bei -40°C gerührt. Nachdem die vollständige Reaktion durch Dünnschichtchromatographie bestätigt war, wurde die Reaktionslösung mit Triethylamin neutralisiert, die Molekularsiebe wurden abfiltriert und das Filtrat wurde gut mit Dichlormethan gewaschen. Das Filtrat und die Waschlösungen wurden vereint und bei 45°C unter verringertem Druck konzentriert. Der resultierende Sirup wurde mit Dichlormethan verdünnt, nacheinander mit $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ und H_2O gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und bei 45°C unter verringertem Druck konzentriert. Der resultierende Sirup wurde einer Säulenchromatographie an Siliciumdioxidgel (Wakogel; C-200) unter Verwendung von 3/1 Ethylacetat/Hexan als Eluierlösungsmittel unterzogen, unter Erzielung der Verbindung 6 (3,6 g, 53,8%) in Form eines Sirups.

10

15

20 Verbindung 6:

^1H NMR(CDCl_3) Gal Unit δ 1.06 (m, 2H, $\text{MeSiCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.49 (d, 1H, OH), 2.70 (1H, OH), 4.46 (d, 1H, $J_{1,2} = 7.69$ Hz, H-1), 4.50–4.65 (m, 2H, H-6), 7.27–8.06 (m, 5H, Bz); Neu 5Ac Unit δ 1.77 (s, 3H, AcN), 1.90–2.11 (4s, 12H, 4AcO), 2.72 (dd, 1H, $J_{3,4} = 4.5$ Hz, H-3c) 4.25 (dd, 1H, $J_{8,9} = 2.63$ Hz, $J_{\text{gem}} = 12.6$ Hz, H-9), 4.95 (m, 1H, H-4), 5.28 (d, 1H, $J = 9.6$ Hz, NHAc), 5.32 (dd, 1H, $J_{6,7} = 2.9$ Hz, $J_{7,8} = 10.3$ Hz, H-7), 5.45 (m, 1H, H-8)

25

Beispiel 2

2-(Trimethylsilyl)-ethyl-O-(methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- α -D-galacto-2-nonulopyranosylonat)-(2 $\rightarrow$ 6)-3-O-benzoyl- β -D-galactopyranosid (Verbindung 7)

Zu einer Lösung der Verbindung 3 (700 mg, 1,82 mMol) und der Verbindung 1A (1,61 g, 3,09 mMol) gelöst in Acetonitril (15 ml) wurden Molekularsiebe 3A (2,3 g) gefügt und die Lösung wurde bei Raumtemperatur fünf Stunden gerührt. Zu der auf -40°C gekühlten Lösung wurden N-Jodsuccinimid (1,39 g, 6,17 mMol) und ausserdem Trifluormethansulfonsäure (54,7 μl , 0,62 mMol) gefügt, und das Gemisch wurde bei der gleichen Temperatur zwei Stunden gerührt. Nachdem die vollständige Reaktion durch Dünnschichtchromatographie bestätigt war, wurde die Reaktionslösung mit Triethylamin neutralisiert, die Molekularsiebe wurden abfiltriert und das Filtrat wurde unter verringertem Druck konzentriert. Der resultierende Sirup wurde mit Chloroform extrahiert, nacheinander mit Na_2CO_3 , 2N-HCl und $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel wurde abdestilliert. Der resultierende Sirup wurde der Säulenchromatographie an Siliciumdioxidgel (Wakogel; C-200) unterzogen und man erhielt die Verbindung 7 (917 mg, 58,8%) in Form einer Fraktion, die mit 70/1 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, eluierte.

35

40

Beispiel 3

2-(Trimethylsilyl)-ethyl-O-(methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- α -D-galacto-2-nonulopyranosylonat)-(2 $\rightarrow$ 6)-3-O-benzoyl- β -D-galactopyranosid (Verbindung 7) und 2-(Trimethylsilyl)-ethyl-O-(methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- β -D-galacto-2-nonulopyranosylonat)-(2 $\rightarrow$ 6)-3-O-benzoyl- β -D-galactopyranosid (Verbindung 8)

Zu einer Lösung der Verbindung 3 (700 mg, 1,82 mMol) und der Verbindung 1A (1,61 g, 3,09 mMol), gelöst in Dichlormethan (15 ml) wurden Molekularsiebe 3A (2,3 g) gefügt. Die Reaktion wurde in gleicher Weise wie in Beispiel 2 durchgeführt. Nachdem die vollständige Reaktion durch Dünnschichtchromatographie bestätigt war, wurden die Molekularsiebe abfiltriert und das Filtrat wurde mit Chloroform extrahiert, nacheinander mit Na_2CO_3 und $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, und das Lösungsmittel wurde abdestilliert. Der resultierende Sirup wurde einer Säulenchromatographie an Siliciumdioxidgel (Wakogel; C-200) unterzogen, und man erhielt einen Sirup der Verbindung 7 (762 mg, 48,8%) und der Verbindung 8 (388 mg, 24,8%) als eine Fraktion, die mit 70/1 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ eluierte.

45

50

55

60 Beispiel 4

2-(Trimethylsilyl)-ethyl-O-(methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- α -D-galacto-2-nonulopyranosylonat)-(2 $\rightarrow$ 6)-3-O-benzyl- β -D-galactopyranosid (Verbindung 9) und 2-(Trimethylsilyl)-ethyl-O-(methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- β -D-galacto-2-nonulopyranosylonat)-(2 $\rightarrow$ 6)-3-O-benzyl- β -D-galactopyranosid (Verbindung 10).

65

Zu einer Lösung der Verbindung 4 (700 mg, 1,89 mMol) und der Verbindung 1A (1,67 g, 3,20 mMol), gelöst in Acetonitril (15 ml) wurden Molekularsiebe (2,3 g) gefügt, und die Lösung wurde bei Raumtemperatur fünf Stunden gerührt. Zu der auf -40°C gekühlten Lösung wurden N-Jodsuccinimid (1,44 g, 6,40 mMol) und ausserdem Trifluormethansulfonsäure (56,8 μl , 0,64 mMol) gefügt, und das Gemisch wurde bei der gleichen Temperatur zwei Stunden gerührt. Nachdem die vollständige Reaktion durch Dünnschichtchromatographie bestätigt war, wurde die Reaktionslösung mit Triethylamin neutralisiert, die Molekularsiebe wurden abfiltriert und das Filtrat wurde unter verringertem Druck konzentriert. Der resultierende Rückstand wurde mit Chloroform extrahiert, nacheinander mit Na_2CO_3 , 2N-HCl und $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet, und das Lösungsmittel wurde abdestilliert. Der resultierende Sirup wurde einer Säulenchromatographie (Wakogel; C-200) unterzogen und man erhielt als Sirup die Verbindung 9 (810 mg, 50,9%) und die Verbindung 10 (417 mg, 26,2%) als eine Fraktion, die mit 25/1 Toluol/MeOH eluierte.

Beispiel 5

2-(Trimethylsilyl)-ethyl-O-(methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- α -D-galacto-2-nonulopyranosylonat)-(2 $\rightarrow$ 6)-3-O-benzyl- β -D-galactopyranosid (Verbindung 9) und 2-(Trimethylsilyl)-ethyl-O-(methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- β -D-galacto-2-nonulopyranosylonat)-(2 $\rightarrow$ 6)-3-O-benzyl- β -D-galactopyranosid (Verbindung 10)

Zu einer Lösung der Verbindung 4 (700mg 1,89 mMol) und der Verbindung 1A (1,67 g, 3,20 mMol), gelöst in Dichlormethan (15 ml) wurden Molekularsiebe 3A (2,3 g) gefügt, und die Lösung wurde bei Raumtemperatur fünf Stunden gerührt. Zu der auf -20°C gekühlten Lösung wurden N-Jodsuccinimid (1,44 g, 6,40 mMol) und darüber hinaus Trifluormethansulfonsäure (56,8 μl , 0,64 mMol) gefügt, und das Gemisch wurde bei der gleichen Temperatur zwei Stunden gerührt. Nachdem die vollständige Reaktion durch Dünnschichtchromatographie bestätigt war, wurde die Reaktionslösung mit Triethylamin neutralisiert, die Molekularsiebe wurden abfiltriert und das Filtrat wurde unter verringertem Druck konzentriert. Der resultierende Rückstand wurde mit Chloroform extrahiert, nacheinander mit Na_2CO_3 , 2N-HCl und $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet, und das Lösungsmittel wurde abdestilliert. Der resultierende Sirup wurde einer Säulenchromatographie an Siliciumdioxidgel (Wakogel; C-200) unterzogen und man erhielt als Sirup die Verbindung 9 (513 mg, 32,2%) und die Verbindung 10 (791 mg, 49,7%) aus einer Fraktion, die mit 25/1 Toluol/MeOH eluierte.

Die optische Drehung und die kernmagnetischen Resonanzdaten der Verbindung 10 sind nachstehend angegeben.

(α) $D - 10.44^{\circ}$ (c 0.8 Chloroform); $^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$ Gal Unit δ 0.98 (m, 2H, $\text{Me}_3\text{SiCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 2.41 (d, 1H, $J = 1.8$ Hz, 4-OH), 3.21 (d, 1H, $J = 2.9$ Hz, 2-OH), 4.22 (d, 1H, $J_{1,2} = 7.7$ Hz, H-1), 7.35–7.50 (m, 5H, ph); Neu 5Ac Unit δ 1.84 (s, 3H, AcN), 2.00, 2.02, 2.05, 2.12 (4s, 12H, 4AcO), 2.45 (dd, 1H, $J_{3a,3c} = 12.8$ Hz, $J_{3c,4} = 4.9$ Hz, H-3e), 3.79 (s, 3H, COOMe), 3.93 (ddd, 1H, $J_{5,6} = 10.5$ Hz, J_5 , $NH = 9.5$ Hz, H-5), 4.17 (dd, 1H, $J_{9,9'} = 12.6$ Hz, H-9), 4.37 (dd, 1H, $J_{6,7} = 2.1$ Hz, H-6), 4.74 (dd, 1H, $J_{8,9'} = 2.2$ Hz, H-9'), 5.27 5.42 (m, 3H, H-4,7,8), 5.73 (d, 1H, NH).

Beispiel 6

2-(Trimethylsilyl)-ethyl-O-(methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- α -D-galacto-2-nonulopyranosylonat)-(2 $\rightarrow$ 3)-(2,6-di-O-benzyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri-O-benzyl- β -D-glucopyranosid (Verbindung 11) und 2-(Trimethylsilyl)-ethyl-O-(methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-D-glycero- β -D-galacto-2-nonulopyranosylonat)-(2 $\rightarrow$ 3)-(2,6-di-O-benzyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri-O-benzyl- β -D-glucopyranosid (Verbindung 12)

Zu einer Lösung der Verbindung 1A (1,42 g, 2,49 mMol) und der Verbindung 5 (1,00 g, 1,25 mMol), gelöst in Acetonitril, wurden Molekularsiebe 3A (3 g) gefügt und die Lösung wurde bei Raumtemperatur fünf Stunden gerührt. Zu der auf -35°C gekühlten Lösung wurden N-Jodsuccinimid (1,12 g, 4,98 mMol) und ausserdem Trifluormethansulfonsäure (44 μl , 0,43 mMol) gefügt, und das Gemisch wurde bei der gleichen Temperatur zwei Stunden gerührt. Nachdem die vollständige Reaktion durch Dünnschichtchromatographie bestätigt war, wurde Triethylamin zu der Reaktionslösung gefügt, bis sie neutral war, und die Reaktionslösung wurde mit Celit filtriert. Das Filtrat und die Waschlösungen wurden vereint und mit Dichlormethan extrahiert. Die Dichlormethanschicht wurde nacheinander mit 2N-HCl, Na_2CO_3 , $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ und H_2O gewaschen und mit Na_2SO_4 entwässert und unter verringertem Druck konzentriert. Der resultierende Sirup wurde einer Säulenchromatographie (Siliciumdioxidgel OG-II) unterzogen und aus dem Eluat (1,5% MeOH in Toluol) erhielt man die Verbindung 11 (987 mg, 59%) und die Verbindung 12 (201 mg, 12%).

Die optische Drehung und die NMR-Daten der Verbindungen 11 und 12 sind nachstehend aufgeführt.

Verbindung 11:

(α) $D + 4.3^{\circ}$; $^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$ Lac Unit δ 1.00 (m, 2H, $\text{Me}_3\text{SiCH}_2\text{CH}_2$), 7.18–7.38 (m, 25H, 5Ph); Neu

5Ac Unit δ 1.85 (s, 3H, AcN), 1.87, 1.96, 1.99, 2.07 (4s, 12H, 4AcO), 2.48 (dd, 1H, $J_{\text{gem}} = 13.0$ Hz, $J_{3a,4} = 4.8$ Hz, H-3e), 3.83 (s, 3H, MeO), 4.86 (m, 1H, H-4), 5.25 (d, 1H, $J_{5,\text{NH}} = 7.2$ Hz, NH), 5.28 (dd, 1H, $J_{6,7} = 1.6$ Hz, $J_{7,8} = 7.0$ Hz, H-7) und 5.36 (ddd, 1H, H-8)

5 Verbindung 12:

(α) D -4.7°; ^1H NMR(CDCl_3) Lac Unit δ 1.03 (m, 2H, $\text{Me}_3\text{SiCH}_2\text{CH}_2$), 7.19–7.37 (m, 25H, 5Ph); Neu 5Ac Unit δ 1.72 (s, 3H, AcN), 1.94, 1.96, 2.07, 2.08 (4s, 12H, 4AcO), 2.53 (dd, 1H, $J_{\text{gem}} = 13.3$ Hz, $J_{3c,4} = 4.6$ Hz, H-3e), 3.60 (s, 3H, MeO), 5.16 (m, 1H, H-4), 5.18 (dd, 1H, H-7) und 5.26 (m, 1H, H-8)

10

Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung einer O-Glykosylverbindung von Sialinsäure, dadurch gekennzeichnet, dass man ein Thioglycosid von Sialinsäure mit einem Zucker mit der für die Reaktion benötigten geringsten Anzahl geschützter Hydroxylgruppen in Anwesenheit von N-Jodsuccinimid und Trifluormethansulfonsäure umsetzt.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das Thioglycosid der Sialinsäure Methyl-(methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-2-thio-D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosid)-onat oder Methyl-(phenyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-2-thio-D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosid)-onat ist.

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass der Zucker Galactose mit der für die Reaktion benötigten geringsten Anzahl geschützter Hydroxylgruppen, wie 2-(Trimethylsilyl)-ethyl-6-O-benzoyl- β -D-galactopyranosid, 2-(Trimethylsilyl)-ethyl-3-O-benzoyl- β -D-galactopyranosid und 2-(Trimethylsilyl)-ethyl-3-O-benzyl- β -D-galactopyranosid, ist.

4. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass der Zucker Lactose mit der für die Reaktion benötigten geringsten Anzahl geschützter Hydroxylgruppen, wie 2-(Trimethylsilyl)-ethyl-O-(2,6-di-O-benzyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri-O-benzyl- β -D-glucopyranosid, ist.

5. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass Methyl-(methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-2-thio-D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosid)-onat mit 2-(Trimethylsilyl)-ethyl-6-O-benzoyl- β -D-galactopyranosid umgesetzt wird.

6. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass Methyl-(phenyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-2-thio-D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosid)-onat mit 2-(Trimethylsilyl)-ethyl-6-O-benzoyl- β -D-galactopyranosid umgesetzt wird.

7. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass Methyl-(methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-2-thio-D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosid)-onat mit 2-(Trimethylsilyl)-ethyl-3-O-benzoyl- β -D-galactopyranosid umgesetzt wird.

8. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass Methyl-(phenyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-2-thio-D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosid)-onat mit 2-(Trimethylsilyl)-ethyl-3-O-benzyl- β -D-galactopyranosid umgesetzt wird.

9. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass Methyl-(phenyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-2-thio-D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosid)-onat mit 2-(Trimethylsilyl)-ethyl-O-(2,6-di-O-benzyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri-O-benzyl- β -D-glucopyranosid umgesetzt wird.

45

50

55

60

65