

Fernpartizipation in Glykosylierungen von Galaktose-Bausteinen: Direktnachweis durch kryogene Schwingungsspektroskopie

Mateusz Marianski,* Eike Mucha, Kim Greis, Sooyeon Moon, Alonso Pardo, Carla Kirschbaum, Daniel A. Thomas, Gerard Meijer, Gert von Helden, Kerry Gilmore, Peter H. Seeberger und Kevin Pagel*

Abstract: Die stereoselektive Bildung von 1,2-*cis*-glykosidischen Bindungen ist bislang sehr anspruchsvoll. Häufig wird diese 1,2-*cis*-Selektivität durch Fernpartizipation (*remote participation*) von C4- oder C6-Estergruppen herbeigeführt. Hierbei wird davon ausgegangen, dass ein ionisches Schlüsselintermediat, das Glykosylkation, gebildet wird. Obwohl derartige Mechanismen bereits vor Jahrzehnten postuliert wurden, konnte die exakte Struktur dieses Intermediats aufgrund seiner Kurzlebigkeit bisher nicht aufgeklärt werden. In dieser Studie nutzen wir kryogene Schwingungsspektroskopie und quantenchemische Rechnungen, um die Strukturen dieser Glykosylkationen aufzuklären. Acetylgruppen an der C4-Position führen zur selektiven Bildung von α -Galaktosiden, indem eine kovalente Bindung zum anomeren Kohlenstoff gebildet wird. Überraschenderweise können auch Benzylgruppen die stereoselektive Bildung von 1,2-*cis*-glykosidischen Bindungen durch Fernpartizipation herbeiführen.

Glykane sind Biopolymere die aus vielen verschiedenen Bausteinen bestehen und eine komplexe Regio- und Stereochemie besitzen, sodass deren chemische Synthese bislang

sehr langwierig ist. Obwohl die Regiochemie durchaus mit orthogonalen Schutzgruppen kontrolliert werden kann,^[1] bleibt die Kontrolle der Stereochemie der glykosidischen Bindung eine enorme Herausforderung. In vielen Fällen müssen die Synthesestrategien empirisch optimiert werden. Jedoch können 1,2-*trans*-glykosidische Bindungen meist zuverlässig durch Verwendung von C2-partizipierenden 2-*O*-Estergruppen gebildet werden.^[2] Das Abspalten der Abgangsgruppe am anomeren Kohlenstoff führt hierbei zur Bildung eines zyklischen 1,2-*cis* Dioxolenium-Intermediats, das einen nukleophilen Angriff von der *trans*-Seite begünstigt.^[3] Die stereoselektive Bildung von 1,2-*cis*-glykosidischen Bindungen erfordert hingegen die Abschirmung der *trans*-Seite. Verschiedene Vorgehensweisen werden deshalb genutzt, um den nukleophilen Angriff der *cis*-Seite zu begünstigen, wie zum Beispiel chirale Auxiliare,^[4] intramolekulare Umlagerungen,^[5] oder spezifische Aktivatoren.^[6] Eine verbreitete Methode basiert auf Fernpartizipation von Acylgruppen an der C4- oder C6-Position.^[7] Ähnlich wie bei der C2-Partizipation, wird davon ausgegangen, dass bei der Reaktion ein ionisches Schlüsselintermediat, das Glykosylkation, gebildet wird, bei dem die *trans*-Seite des anomeren Kohlenstoffs durch ferne Estergruppen abgeschirmt wird (Abbildung 1).^[8] Fernpartizipation kann durch eine Vielzahl an möglichen Intermediaten einen nukleophilen Angriff an der *cis*-Position begünstigen. Allerdings konnte die Struktur eines solchen Intermediats bislang nicht direkt nachgewiesen werden, da es durch seine hohe Reaktivität extrem kurzlebig ist.

Ausgangspunkt dieser Studie sind eine Reihe von Reaktionen (Abbildung 2), um Fernpartizipation in 1,2-*cis*-Glykosylierungen systematisch zu untersuchen. Die nukleophile Substitution von Isopropanol an vier Galaktose-Bausteinen, 2,3,4,6-Tetra-*O*-benzyl-D-galactopyranosid (**Bn**), 4-*O*-Acetyl-2,3,6-Tri-*O*-benzyl-D-galactopyranosid (**4Ac**), 6-*O*-Acetyl-2,3,4-Tri-*O*-benzyl-D-galactopyranosid (**6Ac**) und 4,6-Di-*O*-acetyl-2,3-di-*O*-benzyl-D-galactopyranosid (**4,6Ac**) wurde bei fünf verschiedenen Temperaturen zwischen -50°C und 30°C und unter reproduzierbaren Bedingungen mittels Flow-Chemie durchgeführt (siehe Hintergrundinformationen). Die Bausteine weisen hierbei entweder eine eher hohe α -Selektivität (**4Ac** und **4,6Ac**), oder eine eher niedrige α -Selektivität auf (**Bn** und **6Ac**). Die unterschiedliche Stereoselektivität beider Gruppen ist für alle gemessenen Temperaturen ähnlich, was darauf hindeutet, dass grundlegend unterschiedliche Reaktionsintermediate für den Ausgang der Reaktionen verantwortlich sind. Wenn diese Reaktionen ausschließlich durch einen $\text{S}_{\text{N}}2$ -Mechanismus abliefen, würde aufgrund der



[*] Prof. Dr. M. Marianski
Department of Chemistry and Biochemistry, Hunter College
695 Park Ave, 10065, New York, NY (USA)
E-Mail: mmarianski@hunter.cuny.edu


Prof. Dr. M. Marianski
The Ph.D. Program in Chemistry
The Graduate Center of the City University of New York
365 5th Ave, New York, NY, 10016 (USA)

Dr. E. Mucha, K. Greis, C. Kirschbaum, Dr. D. A. Thomas,
Prof. Dr. G. Meijer, Prof. Dr. G. von Helden, Prof. Dr. K. Pagel
Fritz-Haber-Institut der Max-Planck-Gesellschaft
Faradayweg 4–6, 14195, Berlin (Deutschland)
E-Mail: Kevin.pagel@fu-berlin.de

Dr. S. Moon, A. Pardo, Dr. K. Gilmore, Prof. Dr. P. H. Seeberger
Max-Planck-Institut für Kolloid und Grenzflächenforschung
Am Mühlberg 1, 14476, Potsdam (Deutschland)

K. Greis, Dr. S. Moon, A. Pardo, C. Kirschbaum,
Prof. Dr. P. H. Seeberger, Prof. Dr. K. Pagel
Institut für Chemie und Biochemie, Freie Universität Berlin
Takustraße 3, 14195, Berlin (Deutschland)

 Hintergrundinformationen und die Identifikationsnummern
 (ORCID) mehrerer Autoren sind unter <https://doi.org/10.1002/ange.201916245> zu finden.

 © 2020 Die Autoren. Veröffentlicht von Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Dieser Open Access Beitrag steht unter den Bedingungen der Creative Commons Attribution License, die jede Nutzung des Beitrages in allen Medien gestattet, sofern der ursprüngliche Beitrag ordnungsgemäß zitiert wird.

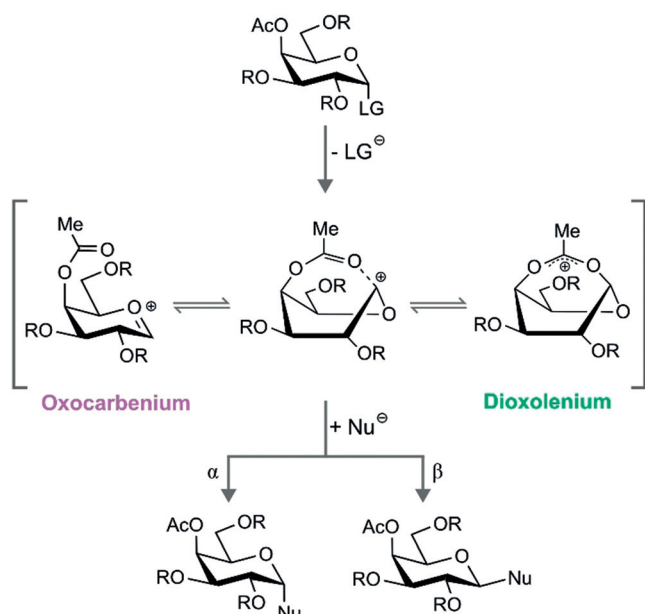


Abbildung 1. Stereoselektive Bildung von 1,2-*cis*-Galaktosiden durch Fernpartizipation von Acetylgruppen. Zwar wird davon ausgegangen, dass die Reaktion über ein Glykosylkation erfolgt, jedoch ist die exakte Struktur dieses Intermediats bislang nicht bekannt. Die Struktur des ionischen Intermediats könnte dem Oxocarbenium-, dem Hybrid- oder dem Dioxolenium-Typ, in dem eine kovalente Bindung zu dem anomeren Kohlenstoff gebildet wird, entsprechen. Die exakte Struktur des Intermediats beeinflusst die Stereochemie der neugebildeten glykosidischen Bindung. LG: Abgangsgruppe; Nu: Nucleophil.

eingesetzten Abgangsgruppe (α -Acetimidat) ausschließlich das β -Glykosid erwartet werden. Die relativen Ausbeuten an α -Glykosiden von 20% bis 90% deuten jedoch auf die Beteiligung von Glykosylkationen in dissoziativen S_N1 -Mechanismen hin. Alle Bausteine zeigen einen gleichmäßigen Anstieg der α -Selektivität mit steigender Temperatur, was mit der generellen Annahme übereinstimmt, dass dissoziative S_N1 -Mechanismen bei höheren Temperaturen aufgrund steigender Entropie bevorzugt werden.^[9]

Es wird davon ausgegangen, dass der Reaktionsmechanismus, der zum α -Produkt führt, über ein kurzlebiges und reaktives Intermediat, das Glykosylkation, verläuft. Solch ein Mechanismus lässt sich mit klassischen Methoden in der kondensierten Phase, wie zum Beispiel NMR-Spektroskopie, nur schwer aufklären. Kürzlich wurden jedoch verschiedene Glykosylkationen in Supersäuren stabilisiert und mit NMR-Spektroskopie analysiert. Hierbei werden die Schutzgruppen durch das stark saure Medium allerdings vollständig protoniert, sodass die Ergebnisse nicht direkt auf die Bedingungen der klassischen Zuckersynthese übertragen werden können.^[10] In einer anderen Studie wurden Nebenprodukte isoliert, die deutliche, aber indirekte Hinweise für Fernpartizipation durch Acylester an der C4-Position von Glykosyldonoren lieferten.^[8c,d] Alternativ dazu können massenspektrometriebasierte Methoden verwendet werden, um reaktive Intermediate aus Glykosylierungen in der Gasphase zu charakterisieren.^[3a,b,11,12] Kürzlich haben wir kryogene Schwingungsspektroskopie und quantenchemische Methoden

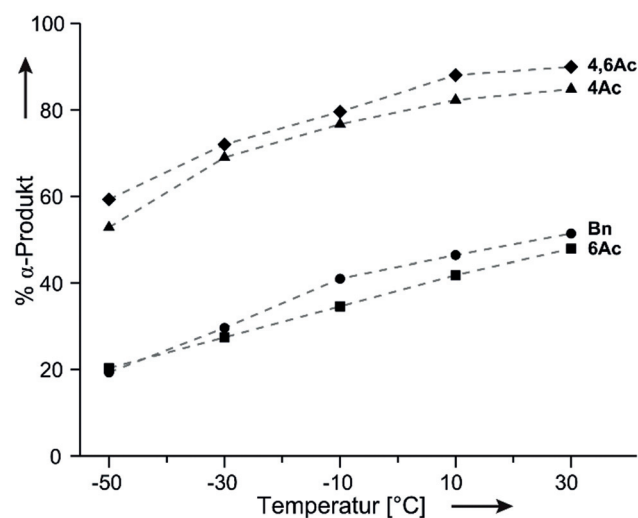
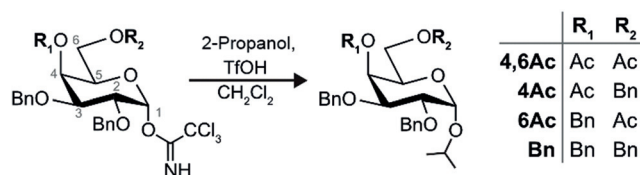


Abbildung 2. Reaktionen von Galaktose-Bausteinen, um den Einfluss von verschiedenen Kombinationen an Schutzgruppen (Bn = benzyl, Ac = acetyl) auf die Stereochemie der Produkte einer Glykosylierungsreaktion zu bestimmen. Die Reaktionen wurden bei verschiedenen Temperaturen durchgeführt mit 2-Propanol als Nucleophil. Die Stereochemie der Produkte wurde mit Normalphasen HPLC zugeordnet. Mit steigender Temperatur steigt die relative Ausbeute an α -Glykosiden, was zeigt, dass sich das mechanistische Kontinuum in Richtung S_N1 verschiebt. Bausteine, die eine Acetylschutzgruppe an der C4-Position besitzen (4,6Ac und 4Ac), besitzen eine höhere α -Selektivität als Bausteine die eine Acetylgruppe an der C6-Position (6Ac) oder keine Acetylgruppe besitzen (Bn).

kombiniert, um die exakte Struktur von Glykosylkationen in maßgeschneiderten Modellstrukturen mit C2-partizipierenden Schutzgruppen zu bestimmen.^[3a] Boltje et al. haben Infrarot-Multiphotonen-Dissoziation (infrared multiphoton dissociation, IRMPD) verwendet, um die Strukturen von verschiedenen Mannosyldonoren zu bestimmen.^[3b] Die gleiche Methode wurde verwendet, um die hohe β -Selektivität von bicyclischen 6,3-Uronsäure Lactonen durch Fernpartizipation zu untersuchen.^[12] In dieser Arbeit werden Glykosyldonoren untersucht, die in der Zuckersynthese häufig eingesetzt werden.^[7] Es ist wichtig hervorzuheben, dass Fernpartizipation auch durch Acetylgruppen an der C3-Position möglich ist und entsprechende Dioxoleniumstrukturen gebildet werden können. In dieser Studie wurde jedoch auf die Untersuchung von C3-acetylierten Donoren verzichtet.

Der experimentelle Aufbau, der benutzt wurde, um die Struktur der Glykosylkationen mittels Schwingungsspektroskopie in Helium-Nanotröpfchen zu untersuchen wurde bereits zuvor im Detail beschrieben.^[13] Die Glykosylkationen werden durch nano-Elektrosprayionisation (nESI) und In-Source-Fragmentierung von Imidat- oder Thioglykosiden generiert (siehe Hintergrundinformationen). Die m/z -selektierten Ionen werden in einer kalten (78 K) Hexapol-Ionen-

falle isoliert und durch Buffergaskühlung thermalisiert. Anschließend werden die gefangenen Ionen durch suprafluide Helium-Nanotröpfchen mit einer durchschnittlichen Größe von 10^5 Atomen aufgenommen, die durch die Falle geleitet werden. Die Heliumtröpfchen besitzen eine Gleichgewichtstemperatur von 0.4 K, und kühlen die aufgenommenen Ionen rapide ab. Die kalten Ionen werden dann durch Infrarotstrahlung untersucht, die vom Freie-Elektronen-Laser des Fritz-Haber-Instituts produziert wird (FHI-FEL^[14]). Die Absorption von mehreren resonanten Photonen führt dazu, dass intakte Ionen aus dem Tröpfchen ausgestoßen werden. Diese intakten Ionen werden als Nachweis für die Photonenabsorption genutzt. Durch Auftragen des Ionensignals als Funktion der IR-Wellenzahl, erhält man ein hoch aufgelöstes IR-Spektrum der untersuchten Spezies.

Um die Strukturen zu identifizieren, die den IR-Fingerabdrücken zugrunde liegen, wurde der Konformationsraum der Molekülonen mit einem evolutionären Algorithmus untersucht.^[15a] Hierfür wurde das dispersionskorrigierte PBE + vdW^{TS}^[16]-Dichtefunktional, implementiert in FHI-aims,^[17] für die Modellierung verwendet, da es eine hohe Genauigkeit für Kohlenhydratstrukturen aufweist.^[15b] Die Konnektivität von Atomen wird während der Struktursuche nicht eingeschränkt, wodurch Protonentransferreaktionen oder andere Umlagerungen erlaubt sind. Die Suche neuer Konformere beinhaltet alle frei drehbaren Bindungen sowie Ringpucker, was zu etwa 300 einzigartigen Konformeren für jedes Glykosylkation führte. Diese Ensembles beinhalteten verschiedene strukturelle Isomere. Vor allem solche, die eine kovalente Bindung zwischen dem anomeren Kohlenstoff und einer bestimmten Schutzgruppe bilden. Die Strukturen wurde nach der Distanz zwischen dem Carbonylsauerstoff der Acetylgruppe und dem anomeren Kohlenstoff in Dioxolenium-Strukturen (Distanz kleiner als 2 Å) und andere Strukturen (Distanz größer als 2 Å) gruppiert (siehe Hintergrundinformationen). Für jeden Strukturtyp wurden alle Konformere in einem Energiefenster von 5 kcal mol⁻¹ über der Struktur mit der niedrigsten Energie reoptimiert. Weiterhin wurde eine Frequenzanalyse auf dem dispersionskorrigierten Hybrid-DFT-Level PBE0-D3/6-311 + G(d,p) durchgeführt.^[18] Für jede reoptimierte Struktur wurde die RI-MP2-Single-Point-Energie berechnet und zum kompletten Basissatz extrapoliert.^[19] Die harmonischen IR-Spektren und die freie Energie-Korrektur bei 78 K wurden von der Frequenzanalyse abgeleitet. Ringpucker wurden anhand Cremer-Pople-Koordinaten zugeordnet.^[20]

Die IR Spektren der Glykosylkationen zeigen mehrere Absorptionsbanden zwischen 1000 und 1800 cm⁻¹, die in zwei Gruppen unterteilt werden können. Unter 1200 cm⁻¹ dominieren komplexe C-O- und C-C Schwingungsmoden das Spektrum. Diese oftmals gekoppelten Banden sind jedoch nicht charakteristisch genug, um die Struktur eindeutig zuzuordnen. In der Region zwischen 1200 und 1800 cm⁻¹ können hingegen charakteristische Schwingungsmoden von funktionalen Gruppen, wie zum Beispiel die C=O-, die C-O-C- oder O-C-O-Schwingungen, beobachtet werden. Die exakte Position dieser Banden ist stark abhängig von der Art der Wechselwirkung, was zur Strukturbestimmung dienen kann. Da alle Hydroxygruppen geschützt sind, werden in der

Region um 3000 cm⁻¹ keine relevanten Absorptionsbanden erwartet.

Die höchste Selektivität für die Bildung von α -glykosidischen Bindungen weist der **4,6Ac** Baustein auf. Das Infrarotspektrum des entsprechenden Glykosylkations (Abbildung 3a) zeigt sechs hochaufgelöste Absorptionsbanden. Die Niedrigenergie-Struktur **A** dieser Spezies besitzt einen ¹S₅ Ringpucker mit einer kovalenten Bindung zwischen dem Carbonylsauerstoff der C4-Acetylgruppe und dem anomeren Kohlenstoff (1.52 Å). Die charakteristischen Banden für diese zyklische Dioxolenium-Struktur sind die symmetrische und antisymmetrische O-C-O-Schwingungsmoden die bei 1463 und 1566 cm⁻¹ vorhergesagt werden und beide sehr gut mit den experimentellen Daten übereinstimmen. Zwei weitere charakteristische Banden für die freie C6-Acetylgruppe werden bei 1217 und 1772 cm⁻¹ vorhergesagt, in guter Übereinstimmung mit den experimentellen Absorptionsbanden. Eine alternative Struktur **B**, in der das Dioxolenium-Motiv durch die C6-Acetylgruppe gebildet wird, besitzt eine freie Energie die etwa 5 kcal mol⁻¹ höher ist, als die von Struktur **A**. Die vorhergesagten symmetrischen und antisymmetrischen O-C-O-Schwingungsmoden von Struktur **B** bei 1459 und 1592 cm⁻¹ stimmen weniger gut mit dem experimentellen Spektrum überein. Weiterhin führen eine Differenz von 14 kcal mol⁻¹ und eine schlechte spektrale Übereinstimmung zum Ausschluss der Oxocarbenium-Struktur **C**, in der beide Acetylgruppen nicht partizipierenden. Zusammenfassend liefert die IR-Signatur von **4,6Ac** Glykosylkationen direkte Hinweise dafür, dass C4-Acetylgruppen über ein Dioxolenium-Intermediat partizipieren und somit zu α -selektiven Reaktionen führen. Eine Partizipation durch C6-Acetylgruppen konnte hingegen nicht beobachtet werden.

Das IR-Spektrum von **4Ac** (Abbildung 3b) zeigt charakteristische Banden zwischen 1450 und 1600 cm⁻¹, ähnlich zu denen, die man für das **4,6Ac**-Kation beobachten kann. Die berechneten Schwingungen bei 1465 und 1568 cm⁻¹ für die Dioxolenium-Struktur **D** mit einem ¹S₅ Pucker, stimmen mit dem Experiment überein. Die Struktur mit der niedrigsten freien Energie ist um 0.7 kcal mol⁻¹ stabiler als Struktur **D**, die Übereinstimmung der experimentellen Spektren ist jedoch weniger gut (siehe Hintergrundinformationen). Die Präsenz von mehreren Banden um 1500 cm⁻¹ weist darauf hin, dass strukturell sehr ähnliche Dioxolenium-Ionen koexistieren ($\Delta F = 2.0$ kcal mol⁻¹, **D'**). Das IR-Spektrum beinhaltet außerdem zwei zusätzliche Banden niedrigerer Intensität bei 1220 und 1780 cm⁻¹, die darauf hinweisen, dass ein Bruchteil der Glykosylkationen andere Strukturen bildet. Diese Banden können der Oxonium-Struktur **E** zugeordnet werden, in der C6-OBn und der anomere Kohlenstoff miteinander wechselwirken. Diese Struktur hat eine um etwa 4 kcal mol⁻¹ höhere freie Energie als die Struktur mit der geringsten Energie. Die Schwingungen der freien Acetylgruppe bei 1227 und 1763 cm⁻¹ stimmen mit den experimentell aufgelösten Banden überein. Diese Art von Fernpartizipation zu beobachten ist besonders überraschend, da Synthesechemiker Benzylschutzgruppen typischerweise als inert und daher nicht partizipierend betrachten. Die stabilste Oxocarbenium-Struktur **F** hat eine wesentlich höhere freie Energie ($\Delta F = 11.9$ kcal mol⁻¹) und die vorhergesagten Schwingungen

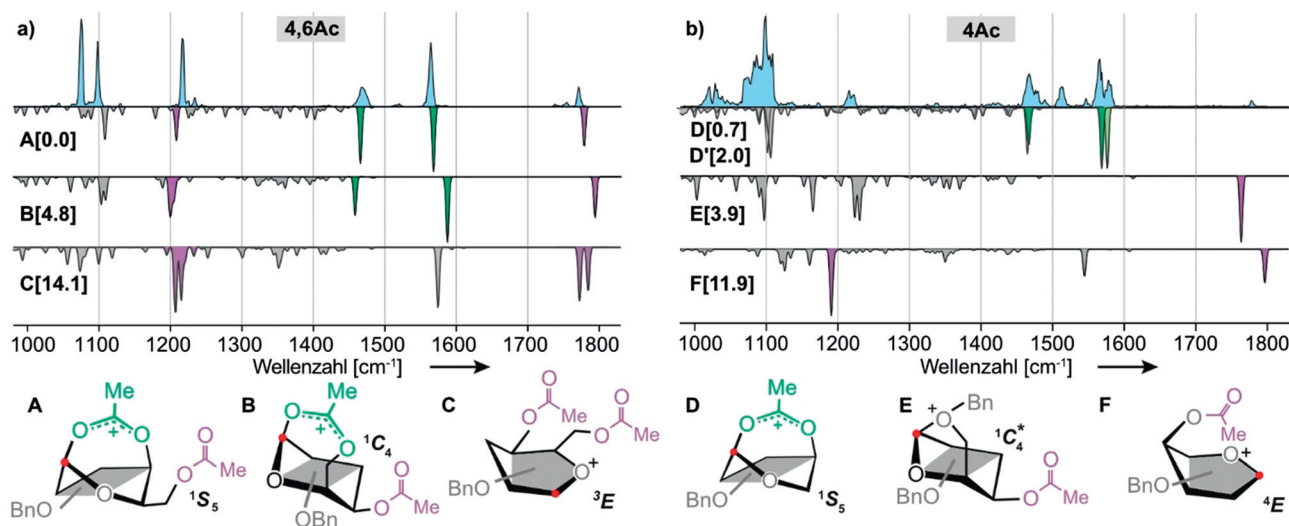


Abbildung 3. Infrarotspektren der Glykosylkationen generiert aus a) **4,6Ac**- und b) **4Ac**-Vorläufern. Blaue Spuren zeigen experimentelle IR-Spektren, während die grauen invertierten Spektren berechnet wurden anhand von niedrigerenergetischen Konformeren, die unterhalb der Spektren in einer vereinfachten Darstellung gezeigt werden. Die Zahlen in den eckigen Klammern geben die freie Energie der jeweiligen Konformere in kcal mol⁻¹ an. Exakte Strukturen sind in den Hintergrundinformationen einsehbar. Die hervorgehobenen Absorptionsbanden zeigen Schwingungen von freien Acetylgruppen (violett) und partizipierenden Acetylgruppen in Dioxolenium-Strukturen (grün). Die hellgrüne Bande zeigt eine zweite Dioxolenium-Struktur **D'**. Für beide Bausteine wird von einem Großteil der Ionen eine Dioxolenium-Struktur angenommen, die eine kovalente Bindung zwischen der C4-Acetylgruppe und dem anomeren Kohlenstoff (durch einen roten Punkt hervorgehoben) aufweist. Struktur **E** zeigt einen verzerrten ¹C₄-Ringpucker, der mit einem Stern (*) gelabelt ist.

passen weniger gut zu den experimentellen Daten. Die spektroskopischen Daten belegen daher, dass das **4Ac**-Kation größtenteils α -selektive Dioxolenium-Strukturen bildet, ähnlich zu denen die man für **4,6Ac** beobachten kann.

Die Glykosyldonoren **6Ac** und **Bn** zeigen lediglich eine geringe bis mittlere Ausbeute an α -Produkten, weshalb die zugrunde liegenden Intermediate möglicherweise strukturell unterschiedlich zu denen sind, die man für **4,6Ac** und **4Ac** beobachten kann. Das IR-Spektrum des Glykosylkations das aus dem **6Ac**-Vorläufer gebildet wird (Abbildung 4a) zeigt verschiedene Absorptionsbanden oberhalb von 1200 cm⁻¹. Struktur **G** besitzt die niedrigste freie Energie und besitzt ein Dioxolenium-Motiv mit einem ¹C₄-Ringpucker. Für eine derartige Struktur werden zwei charakteristische Absorptionsbanden bei 1457 und 1593 cm⁻¹ vorhergesagt. Obwohl passende Schwingungen im experimentellen Spektrum erkennbar sind, besitzen diese jedoch eine sehr geringe Intensität. Eine weitere Struktur mit niedrigerer freier Energie ist die Oxonium-Struktur **H**, die durch eine kovalente Bindung zwischen dem C4-Sauerstoff und dem anomeren Kohlenstoff charakterisiert wird und einen ^{1,4}B Ringpucker aufweist. Von dieser Art von Fernpartizipation wurde kürzlich von Boltje et al. berichtet, nachdem ein 1,4-Anhydro-3,6-lacton als Nebenprodukt in der stereoselektiven Synthese von 1,2-*cis*-Mannosiden isoliert wurde. Dieses Nebenprodukt deutet darauf hin, dass Glykosyl-Oxonium-Ionen durch Fernpartizipation des Sauerstoffatoms der C4-Benzylgruppe gebildet werden und relevante Intermediate in der Synthese sind.^[12] Die vorhergesagten Schwingungen der freien Acetylgruppe bei 1220 und 1762 cm⁻¹ stimmen mit den zwei charakteristischen Banden des experimentellen Spektrums überein. Eine andere, energetisch sehr ähnliche, Oxocarbenium-Struktur **I**

besitzt zwei Banden der freien Acetylgruppe bei 1222 und 1749 cm⁻¹, mit einer weiteren charakteristischen Absorptionsbande, die der Oxocarbeniumschwingung [C₁=O₅⁺] bei 1567 cm⁻¹ zugeordnet und auch im experimentellen Spektrum gefunden werden kann. In dieser Struktur wird das Oxocarbenium-Motiv durch eine schwache Wechselwirkung (2.8 Å) des C6-Carbonylsauerstoffs stabilisiert. Obwohl beide Strukturen **H** und **I** energetisch um etwa 4 kcal mol⁻¹ weniger bevorzugt sind, zeigt die Übereinstimmung zwischen Theorie und Experiment, dass entweder ein oder beide Intermediate vorliegen. Keine dieser Strukturen erklärt jedoch die drei Banden bei 1336, 1412 und 1464 cm⁻¹. Eine erweiterte Suche nach Konformeren, die auch strukturelle Umlagerungen, wie beispielsweise Protonenshifts zu Acetyl- oder Benzylgruppen, beinhaltet, konnte die Herkunft dieser Banden jedoch nicht erklären (siehe Hintergrundinformationen). Entweder handelt es sich um eine andere (unbekannte) Struktur oder die harmonische Näherung kann die Position und Intensität der möglicherweise anharmonischen Schwingungsbanden nicht wiedergeben. Der Mangel an diagnostischen Banden für das Dioxolenium-Motiv und die geringe bis mittlere Ausbeute an α -Produkten in den Testreaktionen zeigen jedoch, dass die Bildung des α -selektiven Dioxolenium-Intermediats **G** vernachlässigbar ist und durch die Bildung von der Oxonium-Struktur **H** und der Oxocarbenium-Struktur **I** unterdrückt wird.

Die geringe Ausbeute an α -Glykosiden für **6Ac** ist vergleichbar zu der des vollständig benzylierten Bausteins **Bn**. Das IR-Spektrum des entsprechenden Glykosylkations (Abbildung 4b) zeigt keine signifikanten Absorptionsbanden über 1200 cm⁻¹. Die niedrigerenergetische Struktur **K** weist jedoch eine starke diagnostische Absorptionsbande bei

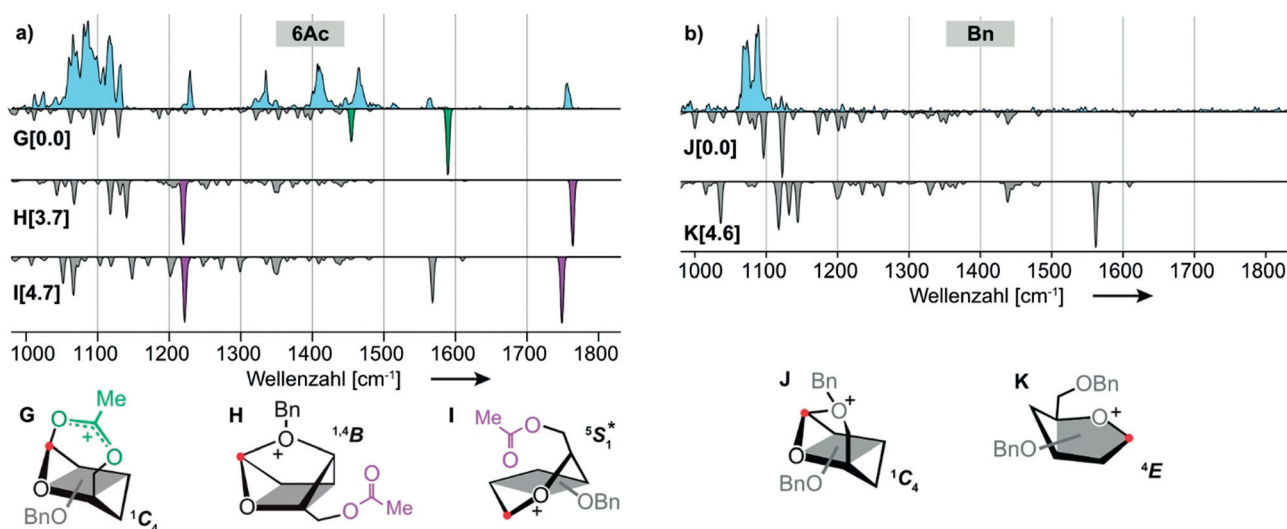


Abbildung 4. Infrarotspektren der Glykosylkationen generiert aus a) **6Ac**- und b) **Bn**-Vorläufern. Blaue Spuren zeigen experimentelle IR-Spektren, während die grauen invertierten Spektren anhand von niedrigerenergetischen Konformeren berechnet wurden, die unterhalb der Spektren in einer vereinfachten Darstellung gezeigt werden. Die Zahlen in den eckigen Klammern geben die freie Energie der jeweiligen Konformere in kcal mol⁻¹ an. Exakte Strukturen sind in den Hintergrundinformationen gezeigt. Die hervorgehobenen Absorptionsbanden zeigen Schwingungen von freien Acetylgruppen (violett) und partizipierenden Acetylgruppen in Dioxolenium-Strukturen (grün). Interessanterweise, zeigen beide Strukturen nicht-klassische Fernpartizipation von Benzylgruppen an der C4- oder der C6-Position, was zu α -selektiven Oxonium-Intermediaten führt. Struktur **I** weist einen stark verzerrten Ringpucker auf, welcher der ⁵S₁- und der ⁵H₄-Konformation am nächsten und in der Abbildung mit einem Stern (*) markiert ist.

1550 cm⁻¹ auf, die vermutlich von dem Oxocarbenium-Motiv stammt. Eine bessere Übereinstimmung mit dem experimentellen Spektrum findet man für die Oxonium-Struktur **J**, die durch eine kovalente Bindung zwischen dem anomeren Kohlenstoff und des C6-Sauerstoffs charakterisiert wird und einen ¹C₄-Pucker aufweist. Interessanterweise führt die Fernpartizipation über die C6-Benzylgruppe in diesem Intermediat zu einer energetischen Stabilisierung von 4.6 kcal mol⁻¹ im Vergleich zu Struktur **K**. Obwohl Glykosylierungen, die durch dieses Intermediat verlaufen höchst α -selektiv sein sollten, zeigen die Testreaktionen nur Ausbeuten des α -Produkts von unter 50%. Dies deutet darauf hin, dass der entropische Energiegewinn durch den S_N1-artigen Mechanismus über Struktur **J** durch eine enthalpische Barriere geschwächt wird, wodurch die Reaktion an das S_N2-Ende des mechanistischen Kontinuums verschoben wird. Allerdings muss man hervorheben, dass das starke Nukleophil, das in den Reaktionen verwendet wurde, generell eher zu S_N2-Reaktionen führt.^[21] In der Oligosaccharidsynthese sind Nukleophile (Glykosylakzeptoren) generell schwächer und hoch α -selektive Reaktionen wurden für diesen Baustein (α/β -Verhältnis von 14:1) bereits beschrieben.^[7] Daraus kann man schließen, dass die α -Selektivität dieses Bausteins auf Fernpartizipation der C6-Benzylgruppe zurückgeführt werden kann.

Zusammenfassend zeigen wir direkte Beweise für Fernpartizipation in Galaktosebausteinen, die üblicherweise in der Oligosaccharidsynthese verwendet werden. Hierbei führen C4-Acetylgruppen zur Bildung von α -selektiven Glykosylkationen die energetisch bevorzugte Dioxolenium-Struktur annehmen und durch eine kovalente Bindung zwischen dem Carbonylsauerstoff und dem anomeren Kohlenstoff gekennzeichnet sind. Solche Dioxolenium-Strukturen

sind für Acetylgruppen an der C6-Position energetisch weniger bevorzugt, was wie in Baustein **6Ac** zur Bildung von Oxocarbenium- oder Oxonium-Strukturen führt. Das Beobachten von Oxonium-Strukturen ist besonders überraschend, da hier eine Fernpartizipation von Benzylschutzgruppen auftritt, welche die selektive Bildung von α -Glykosiden fördern kann. Für den vollständig benzylierten **Bn** Baustein, ist Fernpartizipation über C6-Benzylgruppen energetisch bevorzugt und führt zu einem α -selektiven Oxonium-Intermediat. Unsere Beobachtungen liefern eine strukturelle Basis für verschiedene Arten von Fernpartizipation, die essentiell für die stereoselektive Bildung von 1,2-*cis*-glykosidischen Bindungen sind. Durch das Entfernen des Einflusses von Lösungsmittel und Gegenionen, kann die intrinsische Stereoselektivität von Glykosylkationen untersucht werden und als Basis dienen, um ein rationales Design von Glykosyldonoren zu ermöglichen.

Danksagung

Die Autoren danken der Max-Planck-Gesellschaft für die großzügige Bereitstellung von Geldmitteln sowie Dr. Wieland Schöllkopf und Sandy Gewinner für ihre Expertise und die zahlreichen kohärenten Photonen des FHI-FEL. D.A.T. dankt der Alexander von Humboldt-Stiftung und S.M. dankt für die Unterstützung des DFG InCheM (FOR 2177). M.M. dankt dem The Professional Staff Congress of The City University of New York (PSC-CUNY). K.Gr. ist der „Fondation Félix Chomé“ dankbar für das „Bourse Chomé-Bastian“ Stipendium. Außerdem dankt K.Gr. dem „Fonds National de la Recherche“ (Luxembourg) für die Finanzierung des Projektes „GlycoCat“.

Interessenkonflikt

Die Autoren erklären, dass keine Interessenkonflikte vorliegen.

Stichwörter: Glykosylierung · Glykosylierung · Massenspektrometrie · Reaktionsintermediate · Spektroskopie

Zitierweise: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2020**, *59*, 6166–6171
Angew. Chem. **2020**, *132*, 6224–6229

- [1] *Glycochemical Synthesis*, Wiley, Hoboken, **2016**.
- [2] a) O. J. Plante, E. R. Palmacci, P. H. Seeberger, *Science* **2001**, *291*, 1523–1527; b) B. Capon, S. P. McManus, *Neighboring Group Participation, Vol. 1*, Plenum, New York **1976**.
- [3] a) E. Mucha, M. Marianski, F.-F. Xu, D. A. Thomas, G. Meijer, G. von Helden, P. H. Seeberger, K. Pagel, *Nat. Commun.* **2018**, *9*, 4174; b) H. Elferink, M. E. Severijnen, J. Martens, R. A. Mensink, G. Berden, J. Oomens, F. P. J. T. Rutjes, A. M. Rijs, T. J. Boltje, *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, *140*, 6034–6038; c) D. Crich, Z. Dai, S. Gastaldi, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 5224–5229.
- [4] a) J.-H. Kim, H. Yang, G.-J. Boons, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 947–949; *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 969–971; b) M. A. Fascione, W. B. Turnbull, *Beilstein J. Org. Chem.* **2010**, *6*, 19.
- [5] K.-H. Jung, M. Müller, R. R. Schmidt, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 4423–4442.
- [6] S. S. Nigudkar, A. V. Demchenko, *Chem. Sci.* **2015**, *6*, 2687–2704.
- [7] H. S. Hahm, M. Hurevich, P. H. Seeberger, *Nat. Commun.* **2016**, *7*, 12482.
- [8] a) L. Bohé, D. Crich, *Carbohydr. Res.* **2015**, *403*, 48–59; b) A. V. Demchenko, E. Rousson, G.-J. Boons, *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 6523–6526; c) Y. Ma, G. Lian, Y. Li, B. Yu, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 7515; d) D. Yao, Y. Liu, S. Yan, Y. Li, C. Hu, N. Ding, *Chem. Commun.* **2017**, *53*, 2986–2989.
- [9] a) P. O. Adero, H. Amarasekara, P. Wen, L. Bohé, D. Crich, *Chem. Rev.* **2018**, *118*, 8242–8284; b) S. Chatterjee, S. Moon, F. Hentschel, K. Gilmore, P. H. Seeberger, *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, *140*, 11942–11953.
- [10] a) A. Martin, A. Arda, J. Désiré, A. Martin-Mingot, N. Probst, P. Sinaÿ, J. Jiménez-Barbero, S. Thibaudeau, Y. Blériot, *Nat. Chem.* **2016**, *8*, 186; b) L. Lebedel, A. Arda, A. Martin, J. Desire, A. Mingot, M. Aufiero, N. Aiguabella Font, R. Gilmour, J. Jimenez-Barbero, Y. Bleriot, S. Thibaudeau, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, *58*, 13758–13762; *Angew. Chem.* **2019**, *131*, 13896–13900.
- [11] C. Denekamp, Y. Sandler, *J. Mass Spectrom.* **2005**, *40*, 1055–1063.
- [12] H. Elferink, R. A. Mensink, W. W. A. Castelijns, O. Jansen, J. P. J. Bruekers, J. Martens, J. Oomens, A. M. Rijs, T. J. Boltje, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, *58*, 8746–8751; *Angew. Chem.* **2019**, *131*, 8838–8843.
- [13] a) A. I. González Flórez, E. Mucha, D. S. Ahn, S. Gewinner, W. Schöllkopf, K. Pagel, G. von Helden, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 3295–3299; *Angew. Chem.* **2016**, *128*, 3356–3360; b) E. Mucha, A. I. González Flórez, M. Marianski, D. A. Thomas, W. Hoffmann, W. B. Struwe, H. S. Hahm, S. Gewinner, W. Schöllkopf, P. H. Seeberger, G. von Helden, K. Pagel, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 11248–11251; *Angew. Chem.* **2017**, *129*, 11400–11404.
- [14] W. Schöllkopf, S. Gewinner, H. Junkes, A. Paarmann, G. von Helden, H. Bluem, A. M. M. Todd, *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng.* **2015**, 95121L.
- [15] a) A. Supady, V. Blum, C. Baldauf, *J. Chem. Inf. Model.* **2015**, *55*, 2338–2348; b) M. Marianski, A. Supady, T. Ingram, M. Schneider, C. Baldauf, *J. Chem. Theory Comput.* **2016**, *12*, 6157–6168.
- [16] a) J. P. Perdew, K. Burke, M. Ernzerhof, *Phys. Rev. Lett.* **1996**, *77*, 3865–3868; b) A. Tkatchenko, M. Scheffler, *Phys. Rev. Lett.* **2009**, *102*, 073005.
- [17] V. Blum, R. Gehrke, F. Hanke, P. Havu, V. Havu, X. Ren, K. Reuter, M. Scheffler, *Comput. Phys. Commun.* **2009**, *180*, 2175–2196.
- [18] a) C. Adamo, V. Barone, *J. Chem. Phys.* **1999**, *110*, 6158–6170; b) S. Grimme, J. Antony, S. Ehrlich, H. Krieg, *J. Chem. Phys.* **2010**, *132*, 154104.
- [19] a) F. Weigend, M. Häser, H. Patzelt, R. Ahlrichs, *Chem. Phys. Lett.* **1998**, *294*, 143–152; b) S. Kossmann, F. Neese, *Chem. Phys. Lett.* **2009**, *481*, 240–243; c) F. Neese, E. F. Valeev, *J. Chem. Theory Comput.* **2011**, *7*, 33–43; d) F. Neese, *WIREs Comput. Mol. Sci.* **2012**, *2*, 73–78.
- [20] a) D. Cremer, J. A. Pople, *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 1354–1358; b) A. D. Hill, P. J. Reilly, *J. Chem. Inf. Model.* **2007**, *47*, 1031–1035.
- [21] S. van der Vorm, T. Hansen, H. S. Overkleef, G. A. van der Marel, J. D. C. Codée, *Chem. Sci.* **2017**, *8*, 1867–1875.

Manuskript erhalten: 18. Dezember 2019
Akzeptierte Fassung online: 16. Januar 2020
Endgültige Fassung online: 2. März 2020