

## DIASTEREOSELEKTIVE SYNTHESE VON FUNKTIONALISIERTEN C- $\alpha$ - UND - $\beta$ -GLYKOSYLDERIVATEN DER 2-ACETAMIDO-2-DESOXY-D- GLUCOSE\*

ATHANASSIOS GIANNIS UND KONRAD SANDHOFF

*Institut für Organische Chemie und Biochemie der Universität Bonn, Gerhard-Domagk-Straße 1, D-5300  
Bonn 1 (Bundesrepublik Deutschland)*

(Eingegangen am 2. Februar 1986; angenommen am 20. März 1986)

### ABSTRACT

2-(2-Acetamido-2-deoxy- $\alpha,\beta$ -D-glucopyranosyl)ethylamine was prepared from 2-acetamido-2-deoxy-D-glucose in six steps including a Wittig reaction. Reaction of the amine with *p*-nitrophenyldiazonium tetrafluoroborate yielded 3-[2-(2-acetamido-2-deoxy- $\alpha,\beta$ -D-glucopyranosyl)ethyl]-1-*p*-nitrophenyltriazen, a potential irreversible inhibitor of human  $\beta$ -D-hexosaminidase A.

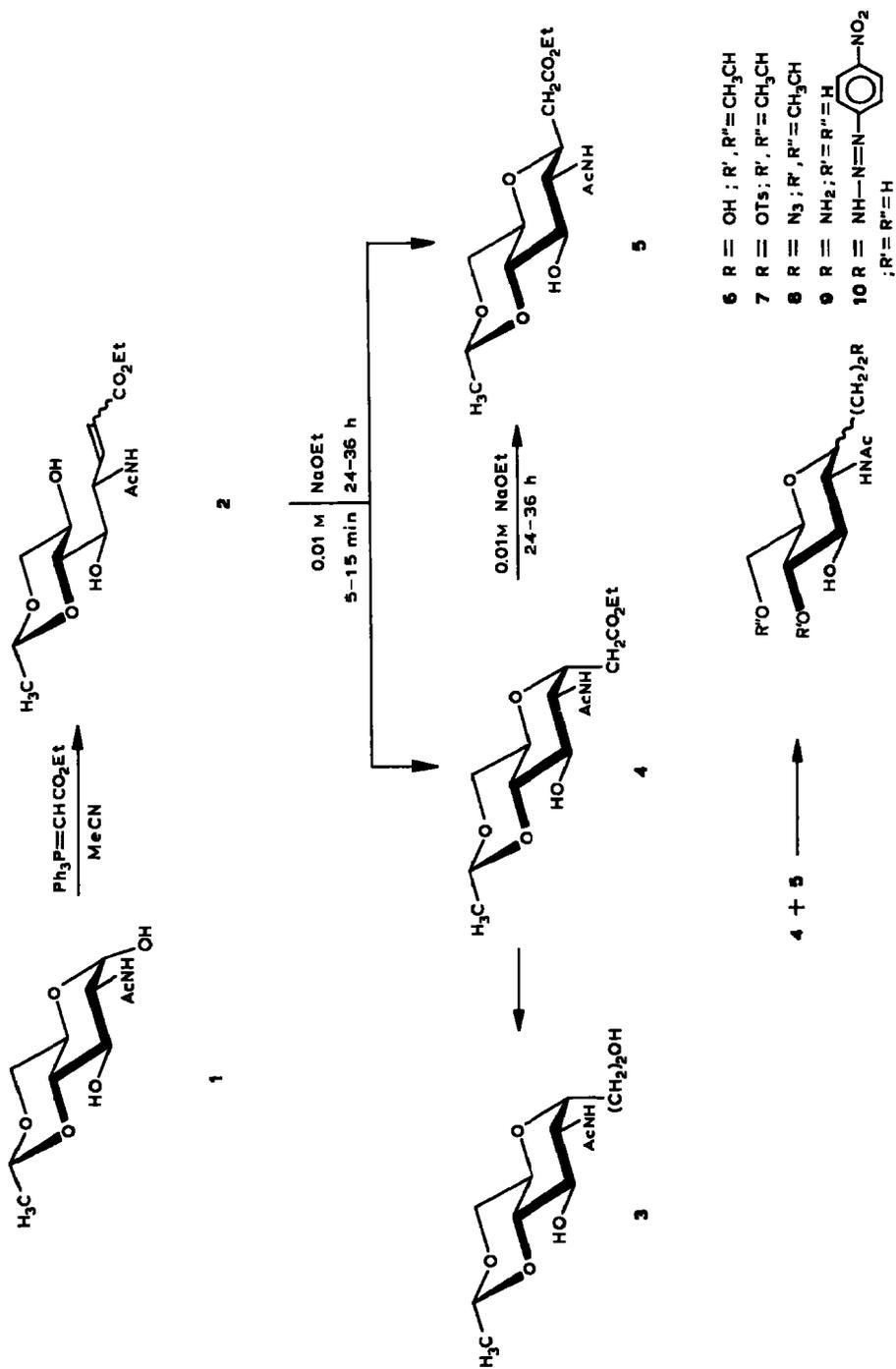
### ZUSAMMENFASSUNG

Ausgehend von 2-Acetamido-2-desoxy-D-glucose wurde über eine Wittig-Olefinierung in einer 6-stufigen Reaktion 2-(2-Acetamido-2-desoxy- $\alpha,\beta$ -D-glucopyranosyl)ethylamin hergestellt. Durch Umsetzung dieser Verbindung mit *p*-Nitrophenyldiazoniumtetrafluoroborat wurde 3-[2-(2-Acetamido-2-desoxy- $\alpha,\beta$ -D-glucopyranosyl)ethyl]-1-*p*-nitrophenyltriazen erhalten, ein potentieller irreversibler Inhibitor der menschlichen  $\beta$ -D-Hexosaminidase A.

### EINLEITUNG

Funktionell substituierte C-Glykosylderivate sind Teilstrukturen zahlreicher Naturstoffe<sup>1,2</sup>. Sie dienen als chirale Ausgangsprodukte und Enzyminhibitoren<sup>3,4</sup>. Während Verfahren zur Synthese von C-Glykosylderivaten von Aldohexosen existieren<sup>4-6</sup>, wurden bisher nur wenige Methoden zur Herstellung von C-Glykosylderivaten von Aminozuckern beschrieben<sup>6,7</sup>. C-Glykosylderivate der 2-Acetamido-2-deoxy-D-glucose sollten als Inhibitoren und Affinitätsliganden zur Charakterisierung der aktiven Zentren von Hexosaminidasen sehr nützlich sein.

\*Herrn Prof. Saul Roseman zum 65. Geburtstag gewidmet.



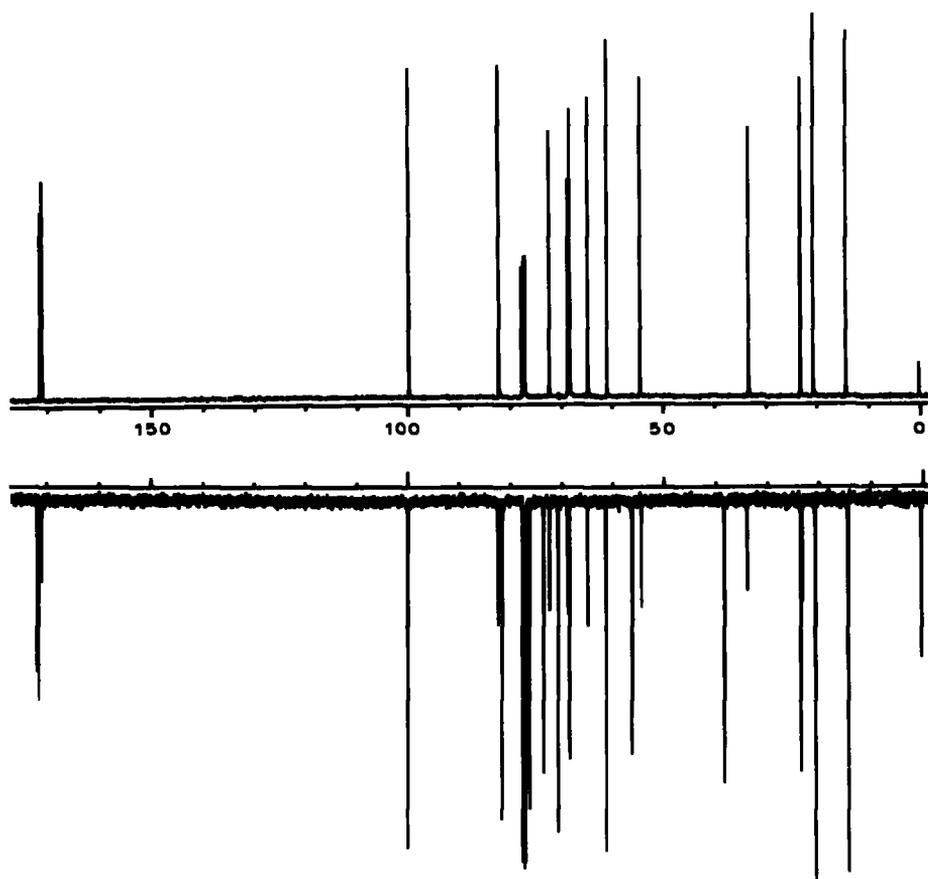


Abb. 1. Oben:  $^{13}\text{C}$ -N.m.r. der Verbindung 4 (in  $\text{CDCl}_3$ ). Unten:  $^{13}\text{C}$ -N.m.r. (Lösung in  $\text{CDCl}_3$ ) nach Behandlung der Verbindung 4 mit Natriummethylat in Ethanol.

#### ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Ausgehend vom leicht erhältlichen Derivat 2-Acetamido-2-desoxy-4,6-*O*-ethyliden- $\alpha$ -D-glucose<sup>8</sup> (1) wurde ein einfaches Verfahren zur Herstellung von funktionalisierten C-Glykosylderivaten der 2-Acetamido-2-desoxy-D-glucose entwickelt. Verbindung 1 liefert mit Ethyl-(triphenylphosphoranyliden)acetat [(Carboethoxymethylen)triphenylphosphoran]<sup>9</sup> in siedendem Acetonitril Ethyl-4-acetamido-2,3,4-tridesoxy-6,8-*O*-ethyliden-D-gluc-oct-2-enoat (2) als *E/Z*-Gemisch in ausgezeichneter Ausbeute. Eine *in situ*-Cyclisierung<sup>10</sup> dieser Verbindung wurde unter den Reaktionsbedingungen nicht beobachtet. Behandlung einer verdünnten Lösung von 2 in Ethanol mit Natriumethanolat liefert in einer intramolekularen Michael-Addition Ethyl-(2-acetamido-2-desoxy-4,6-*O*-ethyliden-D-glucopyrano-syl)acetat als  $\alpha/\beta$ -Gemisch 4 and 5. Das  $\alpha/\beta$ -Verhältnis hängt dabei stark von der

Behandlungsdauer mit Natriummethanolat ab: Nach 5–15 Minuten ergibt sich ein  $\alpha/\beta$ -Verhältnis von 9:1 und nach 36 h von 3:10 (s. Abb. 1). Die Verbindung **4** wurde in reiner Form durch fraktionierte Kristallisation aus Diethylether–Ethanol erhalten. Wird sie für 36 h mit Natriummethanolat behandelt, so entsteht ebenfalls das  $\alpha/\beta$ -Gemisch von 3:10.

Die Struktur sowie das  $\alpha/\beta$ -Verhältnis der Anomeren **4** und **5** wurden durch Kombination von  $^1\text{H-N.m.r.}$ - (400 MHz) und  $^{13}\text{C-N.m.r.}$ -Spektroskopie bestimmt. Die endgültige Zuordnung der H-1-Signale im  $^1\text{H-N.m.r.}$ -Spektrum der Verbindungen **4** und **5** war durch selektive Entkopplungsexperimente möglich. Die thermodynamische Präferenz des  $\beta$ -D-Anomeren spiegelt die Tendenz des C-1-Alkyl-Substituenten wieder, die äquatoriale Position zu besetzen. Die Kopplungskonstante  $J_{1,2}$  für H-1 des C-Glykosylderivates **5** liegt mit 9 Hz im normalen Bereich. Hingegen wurde für das H-1 des C-Glykosylderivates **5** eine auffällig große Kopplungskonstante  $J_{1,2}$  5.6 Hz festgestellt, die in ihrer Größenordnung der für andere C- $\alpha$ -D-Glykoside beschriebenen entspricht<sup>6,11</sup>.

Bei der basenkatalysierten Umwandlung von **2** bzw. **4** zu **4** und **5** entstehen Nebenprodukte, deren Natur nicht aufgeklärt werden konnte. Das Ausmaß ihrer Bildung hängt von der Dauer der Natriumethanolat-Einwirkung ab. Für die nachfolgend beschriebenen Reaktionen wurde **4/5** mit einem  $\alpha/\beta$ -Verhältnis von 2:1 umgesetzt. Reduktion der Esterfunktion von **4/5** mit  $\text{LiBH}_4$  führt zum entsprechenden Alkohol **6**. Dabei blieb das  $\alpha/\beta$ -Verhältnis im Produkt **6** gegenüber **4/5** unverändert: Offensichtlich reicht die Basizität des Borhydridanions nicht aus, um eine Anomerisierung zu bewirken. Die Reduktion von reinem **4** mit  $\text{LiBH}_4$  führt zu **3**, wie das  $^1\text{H-N.m.r.}$ -Spektrum zeigt (Abb. 2). Auch für dieses C- $\alpha$ -D-Glykosylderivat wurde eine große Kopplungskonstante ( $J_{1,2}$  6 Hz) festgestellt. Die selektive Tosylierung der primären Hydroxyfunktion von **6** verlief problemlos. Das *p*-Toluolsulfonat **7** ( $\alpha,\beta$ ) bildet sich ohne erkennbare Nebenprodukte und wird mit  $\text{NaN}_3$  in *N,N*-Dimethylformamid zum Azid **8** ( $\alpha,\beta$ ), umgesetzt. Abspaltung der Ethyliden-Schutzgruppe und Reduktion des Azids zum freien Amin **9** ( $\alpha,\beta$ ) wird als Eintopfreaktion durchgeführt.

Analog zur Vorschrift von Sinnott und Smith<sup>12</sup> bildete das Amin **9** ( $\alpha,\beta$ ) mit *p*-Nitroanilindiazoniumtetrafluoroborat<sup>13</sup> 3-[2-(2-Acetamido-2-desoxy- $\alpha,\beta$ -D-glucopyranosyl)ethyl-1-*p*-nitrophenyl]triazin (**10**). Wie für andere C-Glykosyl-Triazine beschrieben<sup>12,14</sup>, ist **10** sehr labil und zerfällt schon bei neutralem pH. Alle Versuche, das Triazin zu isolieren und zu charakterisieren, schlugen fehl. Ein Zerfallsprodukt ist *p*-Nitroanilin, die Identifizierung der anderen ist geplant. Wie erste Versuche zeigen, werden die beiden Zentren<sup>15</sup> der menschlichen  $\beta$ -D-Hexosaminidase A durch das Triazin **10** bereits bei 0° in einer zeitabhängigen Reaktion irreversibel inaktiviert.

#### EXPERIMENTELLER TEIL

*Allgemeine Methoden.* — Optische Drehungen: Perkin–Elmer Polarimeter

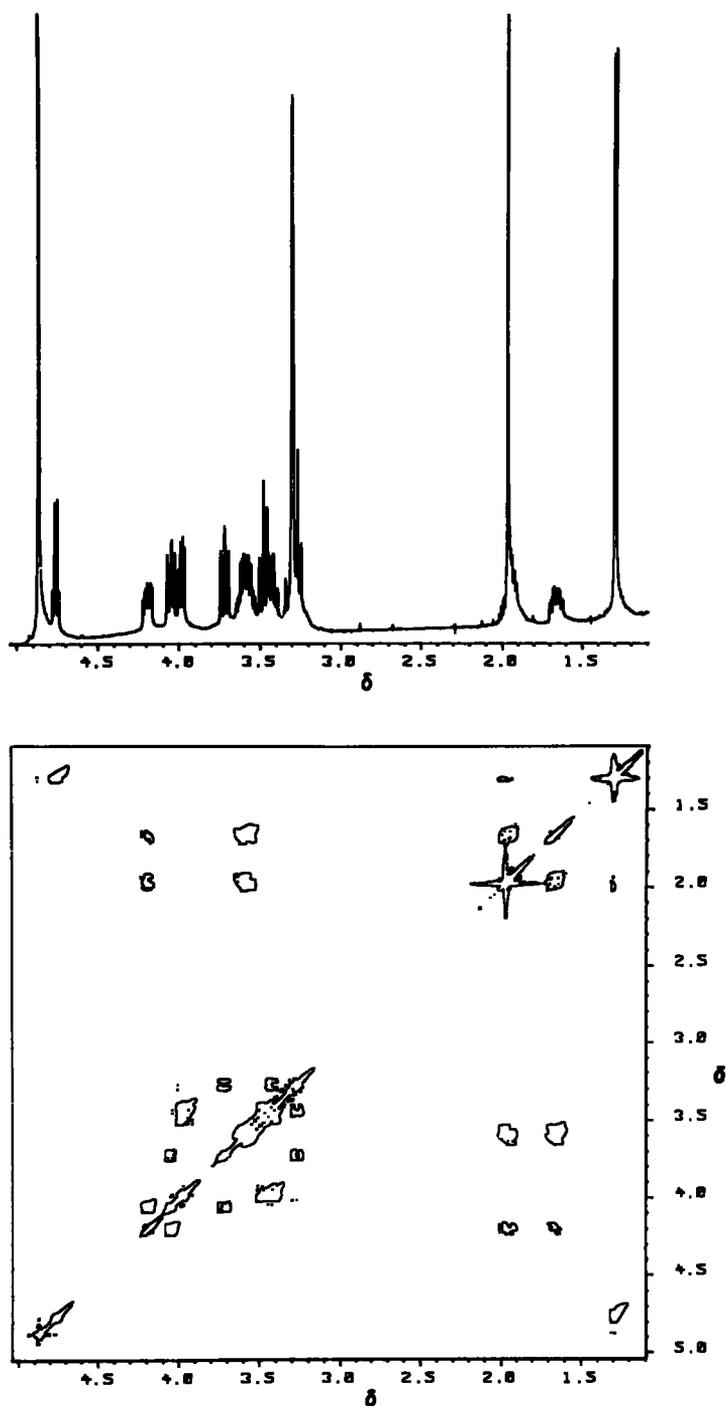


Abb. 2. Zweidimensionale Korrelation der Protonen der Verbindung 6 ( $\alpha$ -D-Anomer) in CD<sub>3</sub>OD.

241 in 10 cm-Küvetten bei 589 nm. Sämtliche Reaktionen wurden dünnschichtchromatographisch auf Kieselgel-Fertigplatten (Merck) verfolgt. Detektion: Ansprühen mit Essigsäure-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (9:1, v/v) und anschließende Wärmebehandlung. Säulenchromatographische Trennungen: Lichroprep Si-60 (Korngröße 40–63 μm), Kieselgel 60 (70–230 mesh), Merck. Laufmittel (A): Chloroform-Methanol (7:1, v/v); Laufmittel (B): Aceton-Tetrachlorkohlenstoff (3:1, v/v). I.r. Spektren: Pye Unicam SP 1025. <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-N.m.r.: Bruker WM 400. Innerer Standard: Tetramethylsilan. Hochaufgelöste Massenspektren: Kratos MS-50.

**2-Acetamido-2-desoxy-4,6-O-ethyliden-α-D-glucose<sup>8</sup> (1).** — Die Verbindung wurde nach der folgenden modifizierten Vorschrift hergestellt: Fein pulverisierte und über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getrocknete 2-Acetamido-2-desoxy-α,β-D-glucose (11.5 g, 50 mmol) wird in einer Lösung von Acetonitril (140 mL), Paraldehyd (60 mL) und konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1 mL) suspendiert und das Gemisch für 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend werden eventuell gebildete unlösliche Produkte durch Zusatz von wenig Methanol aufgelöst und die Lösung mit Dowex 1-X8 (OH<sup>-</sup>) Anionenaustauscher neutralisiert. Nach Filtrieren und Abdestillieren des Lösungsmittels *in vacuo* entsteht ein kristallines Produkt, aus dem sich 1 (11.5 g, 90%) durch Umkristallisation aus Ethanol-Ethylacetat isolieren läßt. Schmp. 205–207° (Zers.); [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> +59° (c 1, Dimethylsulfoxyd); <sup>13</sup>C-N.m.r. [(<sup>2</sup>H<sub>6</sub>)Me<sub>2</sub>SO]: δ 20.32, 22.56, 54.73, 61.95, 67.19, 67.74, 81.95, 91.34, 98.68, 169.44; lit.<sup>7</sup> Schmp. 211–212°, [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> +73° (c 1, Dimethylsulfoxyd).

*Anal.* Ber. für C<sub>10</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>6</sub>: C, 48.57; H, 6.92; N, 5.66. Gef.: C, 48.24; H, 6.86; N, 5.58.

**Ethyl-4-acetamido-2,3,4-tridesoxy-6,8-O-ethyliden-D-glucoc-oct-2-(E,Z)-enoat (2).** — 2-Acetamido-2-desoxy-4,6-O-ethyliden-α-D-glucose (1) (4.94 g, 20 mmol) wird zu einer Lösung von Ethyl-(triphenylphosphoranyliden)acetat [(Carbethoxymethylen)triphenylphosphoran] (7.65 g, 22 mmol) in absol. Acetonitril (100 mL) gegeben und das Reaktionsgemisch für 4 h unter Rückfluß erhitzt. Nach Abdestillieren des Lösungsmittels *in vacuo* kann durch Flash-Chromatographie an Lichroprep Si-60 (Laufmittel A) 2 (5.76 g, 92%) als ein 3:1-E/Z-Gemisch gewonnen werden; R<sub>F</sub> 0.5 (Laufmittel A); <sup>1</sup>H-N.m.r. (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (E-Isomeres): δ 1.28 (t, 3 H, J 7 Hz, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>), 1.31 (d, 3 H, J 5 Hz, CH<sub>3</sub>CH), 2.07 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>CONH), 3.30–4.18 (m, 10 H), 4.67 (q, 1 H, J 5 Hz, CH<sub>3</sub>CH), 6.01 (dd, 1 H, J<sub>2,3</sub> 15.5, J<sub>2,4</sub> 2 Hz, H-2), 6.36 (d, 1 H, J 9 Hz, NH), 6.93 (dd, 1 H, J<sub>2,3</sub> 15.5, J<sub>3,4</sub> 5.8 Hz, H-3); Z-Isomeres, charakteristische Signale: δ 1.27 (t, 3 H, J 7 Hz, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>), 1.31 (d, 3 H, J 5 Hz, CH<sub>3</sub>CH), 4.73 (q, 1 H, J 5 Hz, CH<sub>3</sub>CH), 5.91 (dd, 1 H, J<sub>2,3</sub> 11.5, J<sub>2,4</sub> 1.5 Hz, H-2), 6.29 (dd, 1 H, J<sub>2,3</sub> 11.5, J<sub>3,4</sub> 8.2 Hz, H-3), 6.61 (d, 1 H, J 9 Hz, NH).

*Anal.* Ber. für C<sub>14</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>7</sub>: C, 52.98; H, 7.30; N, 4.41; m/z 318.1553 (M + H)<sup>+</sup>. Gef.: C, 53.27; H, 7.27; N, 4.18; m/z 318.1534.

**Ethyl-(2-acetamido-2-desoxy-4,6-O-ethyliden-α,β-D-glucopyranosyl)acetat (4 und 5).** — Zur Lösung der Verbindung 2 (5 g, 15.77 mmol) in absol. Ethanol (90 mL) wird eine 0.1M ethanolische Natriumethylat-Lösung (10 mL) zugetropft und

das Reaktionsgemisch für 10–15 min kräftig gerührt. Nach Neutralisation mit Dowex 50W-X2 (H<sup>+</sup>) Kationenaustauscher, Filtration und Abdestillieren des Lösungsmittels wird **4**, **5** (4.9 g, 98%) als  $\alpha/\beta$ -Gemisch im Verhältnis 9:1 gewonnen;  $R_F$  0.57 (Laufmittel A). Die reine Verbindung **4** läßt sich durch fraktionierte Kristallisation aus Diethylether–Ethanol isolieren.

**Verbindung 4.**  $[\alpha]_D^{20} +70^\circ$  (c 0.51, Methanol); <sup>1</sup>H-N.m.r. (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  1.26 (t, 3 H,  $J$  7.2 Hz, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O), 1.38 (d, 3 H,  $J$  5.2 Hz, CH<sub>3</sub>CH), 2.01 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>CONH), 2.62 (dd, 1 H,  $J_{1,7}$  5.6,  $J_{7,7'}$  14.4 Hz, H-7), 2.70 (dd, 1 H,  $J_{1,7'}$  8.6 Hz, H-7'), 3.30 (s, br., 1 H, OH), 3.32 (dt, 1 H,  $J_{3,4}$  8,  $J_{4,5}$  8 Hz, H-4), 3.45–3.55 (m, 2 H, H-5,6'), 3.77 (dt, 1 H,  $J_{2,3}$  9.6 Hz, H-3), 4.02 (m, 1 H, H-6), 4.10–4.20 (m, 3 H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O, H-2), 4.72 (q, 1 H,  $J_{1,2}$  5.6 Hz, H-1), 4.73 (q, 1 H,  $J$  5.2 Hz, CH<sub>3</sub>CH), 6.21 (d, 1 H,  $J$  5 Hz, NH); <sup>13</sup>C-N.m.r. (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  14.21, 20.42, 22.96, 33.09, 54.29, 60.76, 64.55, 68.09, 69.62, 72.23, 81.78, 99.66, 170.90, 171.43.

**Verbindung 5.** <sup>1</sup>H-N.m.r. [400 MHz, (2H)CHCl<sub>3</sub>–(2H<sub>6</sub>)Me<sub>2</sub>SO 20:1, v/v]:  $\delta$  1.24 (t, 3 H,  $J$  7.2 Hz, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O), 1.36 (d, 3 H,  $J$  5.2 Hz, CH<sub>3</sub>CH), 1.98 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>CONH), 2.42 (dd, 1 H,  $J_{7,7'}$  16,  $J_{1,7}$  9 Hz, H-7), 2.49 (dd, 1 H,  $J_{1,7'}$  2.3 Hz, H-7'), 3.23–3.37 (m, 2 H, H-5,6), 3.46 (t, 1 H,  $J_{4,5} = J_{3,4}$  9.6 Hz, H-4), 3.63–3.70 (m, 1 H, H-6'), 3.70–3.85 (m, 2 H,  $J_{1,2}$  9 Hz, H-3,1), 4.04–4.20 (m, 3 H, H-2, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O), 4.75 (q, 1 H,  $J$  5.2 Hz, CH<sub>3</sub>CH), 4.79 (d, 1 H,  $J$  5.6 Hz, OH), 7.52 (d, 1 H,  $J$  7.5 Hz, NH); <sup>13</sup>C-N.m.r. (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  14.16, 20.36, 23.26, 38.07, 55.90, 60.93, 68.16, 70.48, 76.01, 81.31, 99.68, 171.63, 171.95.

**Anal.** Ber. für C<sub>14</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>7</sub>: C, 52.98; H, 7.30; N, 4.41;  $m/z$  317.1474 (M<sup>+</sup>).  
Gef.: C, 52.68; H, 7.29; N, 4.49;  $m/z$  317.1472.

**Basenkatalysierte Anomerisierung der Verbindung 4.** — Eine Lösung von **4** (900 mg) in absol. Ethanol (27 mL) wird mit 0.1M Natriumethylat-Lösung in Ethanol (3 mL) versetzt. Nach 36 h bei Raumtemperatur neutralisiert man mit Dowex 50W-X2 (H<sup>+</sup>) Kationenaustauscher. Nach Filtration und Abdestillieren des Lösungsmittels *in vacuo* wird das Produkt folgendermaßen isoliert: (a) Säulenchromatographie an Kieselgel 60 mit Laufmittel B und (b) Säulenchromatographie an Kieselgel mit Laufmittel A. So wird **4** und **5** (330 mg, 36%) als ein  $\alpha/\beta$ -Gemisch ( $\alpha:\beta = 3:10$ ) erhalten,  $R_F$  0.5 (Laufmittel B).

**2-(2-Acetamido-2-desoxy-4,6-O-ethyliden- $\alpha,\beta$ -D-glucopyranosyl)ethanol (6).** — Das Gemisch aus **4** und **5** (**4**:**5** = 2:1; 3.17 g, 10 mmol) wird in absol. Oxolan (100 mL) gelöst, mit einer M-Lösung von LiBH<sub>4</sub> in Oxolan (12 mL) versetzt und für 6 h unter Rückfluß erhitzt. Der Reaktionsverlauf läßt sich dünnschichtchromatographisch verfolgen. Nach Beendigung der Reaktion wird das überschüssige LiBH<sub>4</sub> mit 50% Essigsäure zerstört und die Lithiumsalze mit Dowex 50W-X2 (H<sup>+</sup>) Kationenaustauscher entfernt. Anschließend entfernt man die flüchtigen Bestandteile *in vacuo* und isoliert die Verbindung **6** (2.37 g, 75%) als  $\alpha/\beta$ -Gemisch ( $\alpha:\beta = 2:1$ ) durch Flash-Chromatographie an Lichroprep Si-60 mit Laufmittel B. Alternativ dazu kann das Produkt durch Kristallisation aus Methanol gereinigt werden,  $R_F$  0.32 (Laufmittel A); <sup>1</sup>H-N.m.r. (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  1.30 (d, 3 H,  $J$  4.9 Hz, CH<sub>3</sub>CH), 1.66 (m, (1 H, H-7), 1.95 (m, 1 H, H-7'), 1.96 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>CONH), 3.26

(t, 1 H,  $J_{3,4} = J_{4,5}$  9 Hz, H-4), 3.39–3.51 (m, 2 H, H-5,6'), 3.53–3.65 (m, 2 H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ ), 3.72 (t, 1 H,  $J_{2,3} = J_{3,4}$  9 Hz, H-6), 3.98 (dd, 1 H,  $J_{6,6}$  10,  $J_{5,6}$  4 Hz, H-6), 4.05 (dd, 1 H,  $J_{1,2}$  6,  $J_{2,3}$  9 Hz, H-2), 4.20 (ddd, 1 H,  $J_{1,2}$  6 Hz, H-1), 4.76 (q, 1 H,  $J$  4.9 Hz,  $\text{CH}_3\text{CH}$ );  $\beta$ -D Anomer [charakteristische Signale, ( $^2\text{H}_6$ ) $\text{Me}_2\text{SO}$ ]:  $\delta$  1.86 (s, 3 H,  $\text{CH}_3\text{CONH}$ ), 4.71 (q, 1 H,  $J$  4.9 Hz,  $\text{CH}_3\text{CH}$ ), 5.08 (d, 1 H,  $J$  6 Hz, OH), 7.92 (d, 1 H,  $J$  6 Hz, NH).

*Anal.* Ber. für  $\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{NO}_6 \cdot 0.25 \text{H}_2\text{O}$ : C, 51.51; H, 7.74; N, 5.00;  $m/z$  275.1369 ( $\text{M}^+$ ). Gef.: C, 51.50; H, 7.76; N, 4.85;  $m/z$  275.1363.

2-(2-Acetamido-2-desoxy-4,6-O-ethyliden- $\alpha,\beta$ -D-glucopyranosyl)ethyl-1-p-toluolsulfonat (7). — Eine Lösung von Verbindung 6 (1.37 g, 5 mmol) in absol. Pyridin (30 mL) wird mit frisch umkristallisiertem *p*-Toluolsulfonsäurechlorid (1.14 g, 6 mmol) bei Raumtemperatur unter Rühren versetzt und das Gemisch für 4 h bei 50° gerührt. Nach Beendigung der Reaktion und Neutralisation mit 5%  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung sowie Extraktion mit Dichlormethan (dreimal je 50 mL) werden die organischen Phasen vereinigt, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und die flüchtigen Bestandteile *in vacuo* abgezogen. Durch Flash-Chromatographie an Lichroprep Si-60 mit Laufmittel A kann 7 (1.95 g, 91%) als ein 2:1-Gemisch gewonnen werden,  $R_F$  0.63 (Laufmittel A);  $^1\text{H-N.m.r.}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) ( $\alpha$ -D Anomer):  $\delta$  1.35 (d, 3 H,  $J$  5 Hz,  $\text{CH}_3\text{CH}$ ), 1.96 (s, 3 H,  $\text{CH}_3\text{CONH}$ ), 1.50–2.10 (m, 2 H,  $\text{CH}_2\text{CHOTs}$ ), 2.42 (s, 3 H,  $\text{CH}_3\text{-Ph}$ ), 3.20–4.80 (m, 11 H), 7.30–7.40 (m, 2 H, arom. H), 7.19 (d, 1 H,  $J$  8 Hz, NH), 7.75–7.85 (m, 2 H, arom. H);  $\beta$ -D Anomer (charakteristische Signale):  $\delta$  1.32 (d, 3 H,  $J$  5 Hz,  $\text{CH}_3\text{CH}$ ), 2.02 (s, 3 H,  $\text{CH}_3\text{CONH}$ ), 2.44 (s, 3 H,  $\text{CH}_3\text{-Ph}$ ), 7.73 (d, 1 H,  $J$  8 Hz, NH).

*Anal.* Ber. für  $\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{O}_8\text{S}$ :  $m/z$  429.1458 ( $\text{M}^+$ ). Gef.:  $m/z$  429.1460.

2-(2-Acetamido-2-desoxy-4,6-O-ethyliden- $\alpha,\beta$ -D-glucopyranosyl)-1-azidoethan (8). — Verbindung 7 (0.64 g, 1.5 mmol) wird zusammen mit Natriumazid (0.19 g, 3 mmol) in absol. *N,N*-Dimethylformamid (5 mL) für 6 h auf 110° erhitzt. Das Lösungsmittel wird im Hochvakuum abdestilliert und der feste Rückstand mehrmals mit Dichlormethan extrahiert. Durch Flash-Chromatographie an Lichroprep Si-60 mit Laufmittel A wird 8 (0.43 g, 97%) als ein  $\alpha/\beta$ -Gemisch (2:1) gewonnen,  $R_F$  0.61 (Laufmittel A);  $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$  840, 890, 1030, 1095, 1150, 1210, 1295, 1390, 1550, 1645, 2110, 2910, 3420  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H-N.m.r.}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) ( $\alpha$ -D Anomer):  $\delta$  1.31 (d, 3 H,  $J$  5 Hz,  $\text{CH}_3\text{CH}$ ), 1.97 (s, 3 H,  $\text{CH}_3\text{CONH}$ ), 1.60–2.10 (m, 2 H,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$ ), 3.20–4.10 (m, 8 H), 4.16 (ddd, 1 H,  $J_{1,2}$  6 Hz, H-1), 4.74 (q, 1 H,  $J$  5 Hz,  $\text{CH}_3\text{CH}$ ); ( $\beta$ -D Anomer, charakteristische Signale):  $\delta$  1.30 (d, 3 H,  $\text{CH}_3\text{CH}$ ), 1.98 (s, 3 H,  $\text{CH}_3\text{CONH}$ ).

*Anal.* Ber. für  $\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{N}_4\text{O}_5$ :  $m/z$  301.1512 ( $\text{M} + \text{H}$ )<sup>+</sup>. Gef.:  $m/z$  301.1514.

2-(2-Acetamido-2-desoxy- $\alpha,\beta$ -D-glucopyranosyl)ethylamin (9). — Verbindung 8 (150 mg, 0.5 mol) in 0.2M wässriger  $\text{H}_2\text{SO}_4$ -Lösung (1.5 mL) wird mit Aceton versetzt (1.5 mL) und das Gemisch unter Rühren auf 50° erwärmt. Nach Beendigung der Reaktion (4–6 h, D.C.-Kontrolle) wird mit Dowex 1-X8 (OH<sup>-</sup>) Anionenaustauscher neutralisiert und die Lösung filtriert. Es werden die flüchtigen Bestandteile *in vacuo* abdestilliert, das anfallende Produkt in Methanol (5 mL)

gelöst und in Gegenwart einer katalytischen Menge PtO<sub>2</sub> unter Normaldruck für 24 h hydriert. Anschließend wird die Lösung über Celite abfiltriert, das Methanol *in vacuo* abdestilliert und **9** (115 mg, 93%) als  $\alpha,\beta$ -Gemisch (2:1) gewonnen; <sup>1</sup>H-N.m.r. (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) ( $\alpha$ -D Anomer):  $\delta$  1.65–1.95 (m, 2 H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 1.98 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>CONH), 2.93–4.02 (m, übrige H); ( $\beta$ -D Anomer) charakteristische Signale):  $\delta$  1.99 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>CONH).

*Anal.* (als Pentaacetat): Ber. für C<sub>18</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>9</sub>: *m/z* 416.1794 (M<sup>+</sup>). Gef.: *m/z* 416.1788.

3-[2-(2-Acetamido-2-desoxy- $\alpha,\beta$ -D-glucopyranosyl)ethyl]-1-p-nitrophenyltriazin (**10**). — Zu einer Lösung von Verbindung **9** (60.5 mg, 0.244 mmol) in eiskaltem Wasser (1 mL) wird *p*-Nitrophenyldiazoniumtetrafluorborat (27 mg, 0.122 mmol) gegeben und die Reaktionsmischung erst für 10 min bei 20°, dann für 20 min bei 0° (Eisbad) gerührt. Anschließend wird eiskaltes Wasser (2 mL) zugefügt und die unlöslichen Feststoffe abfiltriert. Die hellgelbe Reaktionslösung wird dreimal (je 3 mL) mit eiskaltem Ether (H<sub>2</sub>O-gesättigt) ausgeschüttelt, um das entstandene Diazoniumhydroxid zu entfernen. Die etherische Phase wird verworfen und die wäßrige noch dreimal (je 1 mL) mit eiskaltem Butanol ausgeschüttelt. Die butanolischen Phasen werden vereinigt und lyophilisiert; Ausb. 29 mg (30%). Das Produkt wird sofort in dest. Wasser gelöst und so für die enzymatischen Experimente verwendet; <sup>1</sup>H-n.m.r. (D<sub>2</sub>O, 25°; charakteristische Signale):  $\delta$  7.48 (m), 7.78 (m), 8.24 (m), 8.74 (m), 8.90 (m).

DANK

Herrn Dr. G. Eckhardt danken wir für die Aufnahme der hochaufgelösten Massenspektren, Herrn C. Schmidt für die Aufnahme der 400 MHz <sup>1</sup>H-N.m.r.-Spektren, der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG Sa 257/10-9) und dem Fonds der Chemischen Industrie für finanzielle Unterstützung.

#### LITERATUR

- 1 J. S. GLASBY, *Encyclopaedia of Antibiotics*, 2. Ausg., Wiley, New York, 1979.
- 2 T. D. INCH, *Tetrahedron*, 40 (1984) 3161–3213.
- 3 M. L. SHULMAN, S. D. SHIYAN UND A. YA. KHORLIN, *Carbohydr. Res.*, 33 (1974) 229–235; M. L. SINNOTT UND P. J. SMITH, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, (1976) 223–224.
- 4 A. GIANNIS UND K. SANDHOFF, *Tetrahedron Lett.*, 26 (1985) 1479–1482 und dort zitierte Literatur; A. GIANNIS, Dissertation Universität Bonn, 1985.
- 5 J. M. BEAU UND P. SINAY, *Tetrahedron Lett.*, 26 (1985) 6185–6188 und dort zitierte Literatur.
- 6 M. G. HOFFMANN UND R. R. SCHMIDT, *Justus Liebigs Ann. Chem.*, (1985) 2403–2419.
- 7 Y. A. ZHDANOV, Y. ALEXEEV UND V. G. ALEXEEVA, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, 27 (1972) 227–292; R. W. MYERS UND Y. C. LEE, *Carbohydr. Res.*, 132 (1984) 61–82.
- 8 L. HOLMQUIST, *Acta Chem. Scand.*, 24 (1970) 173–178.
- 9 O. ISLER, H. GUTMANN, M. MONTAVON, R. RÜEGG, G. RYSER UND P. ZELLER, *Helv. Chim. Acta*, 40 (1957) 1242–1249.
- 10 R. D. DAWE UND B. FRASER-REID, *J. Org. Chem.*, 49 (1983) 522–528.
- 11 M. D. LEWIS, J. K. CHA UND Y. KISHI, *J. Am. Chem. Soc.*, 104 (1982) 4976–4978; B. GIESE UND J. DUPUIS, *Angew. Chem.*, 95 (1983) 633–634; *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, 22 (1983) 622–623.

- 12 M. L. SINNOTT UND P. J. SMITH, *Biochem. J.*, 175 (1978) 525–538.
- 13 M. F. W. DUNKER, E. B. STARKEY UND G. L. JENKINS, *J. Am. Chem. Soc.*, 58 (1936) 2308–2309.
- 14 M. L. SINNOTT UND G. T. TZOTZOS, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, (1982) 1655–1664.
- 15 H. J. KYTZIA UND K. SANDHOOF, *J. Biol. Chem.*, 260 (1985) 7568–7572.