

Bausteine von Oligosacchariden, LXIX¹⁾

Synthese von 1,6-Anhydromuramylpeptiden

Hans Paulsen*, Peter Himpkamp und Thomas Peters

Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg,
Martin-Luther-King-Platz 6, D-2000 Hamburg 13

Eingegangen am 5. September 1985

Es wird eine effektive Synthese für die 1,6-Anhydro- β -muraminsäure **8** angegeben. Die Kuppelung zum Disaccharid **13** mit 3,4,6-Tri-*O*-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -D-glucopyranosylbromid (**12**) als Glycosyldonator gelingt in sehr guter Ausbeute mit Silbertriflat und aktiviertem Molekularsieb (10 Å). Die Peptidkuppelung des Disaccharides **15** mit dem Dipeptid **9** führt zu **16**, aus dem das 1,6-Anhydromuramylpeptid β -D-GlcNAc-(1 \rightarrow 4)-1,6-anhydro- β -MurNAc-L-Ala-D-*iso*-GlnOH (**17**) gewonnen werden kann.

Building Units of Oligosaccharides, LXIX¹⁾. — Synthesis of 1,6-Anhydromuramyl Peptides

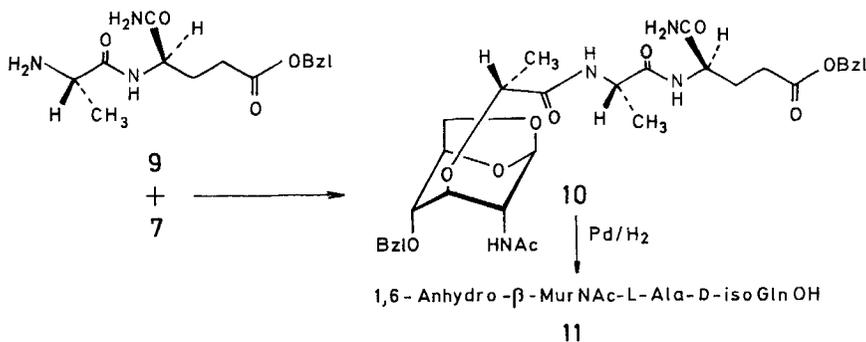
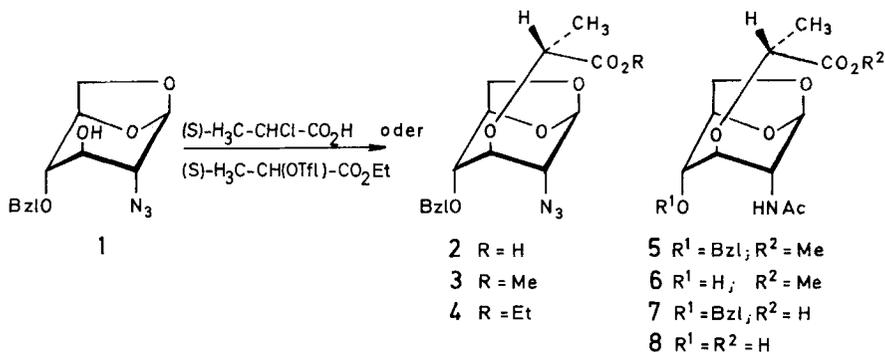
An effective synthesis of the 1,6-anhydro- β -muramic acid **8** is described. In the presence of silver triflate and activated molecular sieves (10 Å), the glycosyl donor 3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-deoxy-2-phthalimido- β -D-glucopyranosyl bromide (**12**) reacts in high yield to give the disaccharide **13**. Coupling of the disaccharide **15** with the dipeptide **9** affords **16** from which the 1,6-anhydromuramyl peptide β -D-GlcNAc-(1 \rightarrow 4)-1,6-anhydro- β -MurNAc-L-Ala-D-*iso*-GlnOH (**17**) can be obtained.

Die immunstimulierende Wirkung von Muramylpeptiden ist seit langem bekannt²⁾. Eine sehr große Anzahl von Varianten dieses Typs sind bisher synthetisiert und auf ihre biologische Wirkung geprüft worden³⁾. Kürzlich isolierten Krueger, Pappenheimer und Karnovsky⁴⁾ aus 3000 l menschlichen Urins 20 μ g eines Muramylpeptides, das somnogene Eigenschaften aufwies. Die Substanz wurde als „Schlaffaktor“ bezeichnet, da sie nach intracerebraler Injektion bei Kaninchen die Schlafphase mit langsamer Augenbewegung stark verlängert. FAB-massenspektroskopische Untersuchungen führten zu dem Schluß, daß die wirksamen Komponenten die Struktur β -D-GlcNAc-(1 \rightarrow 4)-1,6-anhydro- β -MurNAc-L-Ala-D- γ -Glu-Dap und β -D-GlcNAc-(1 \rightarrow 4)-1,6-anhydro- β -MurNAc-L-Ala-D- γ -Glu-Dap-D-Ala besitzen⁵⁾. Der Baustein 1,6-Anhydro- β -muraminsäure soll hierbei für die hohe biologische Wirksamkeit von Bedeutung sein^{5,6)}. Zur Untersuchung einer Struktur-Wirkungs-Beziehung haben wir einige 1,6-Anhydromuramylpeptide synthetisiert.

Als Ausgangsmaterial wird die gut zugängliche 1,6-Anhydro-Verbindung **1**⁷⁾ verwendet. Diese läßt sich bei Gegenwart von Natriumhydrid mit (2*S*)-2-Chlorpropansäure⁸⁾ in den Ether **2** überführen, der mit Diazomethan unmittelbar

in den Ester **3** umgewandelt wird. Die Gesamtausbeute beträgt 70%. Es wird nur etwa 5% Racemisierung beobachtet. Das unerwünschte Diastereomere ist leicht chromatographisch abtrennbar. Diese Reaktion ist wesentlich günstiger als die von *Sinay*⁹) durchgeführte Umsetzung der 1,6-Anhydro-2-acetamido-4-*O*-benzyl- β -D-glucopyranose zum entsprechenden Lactylether.

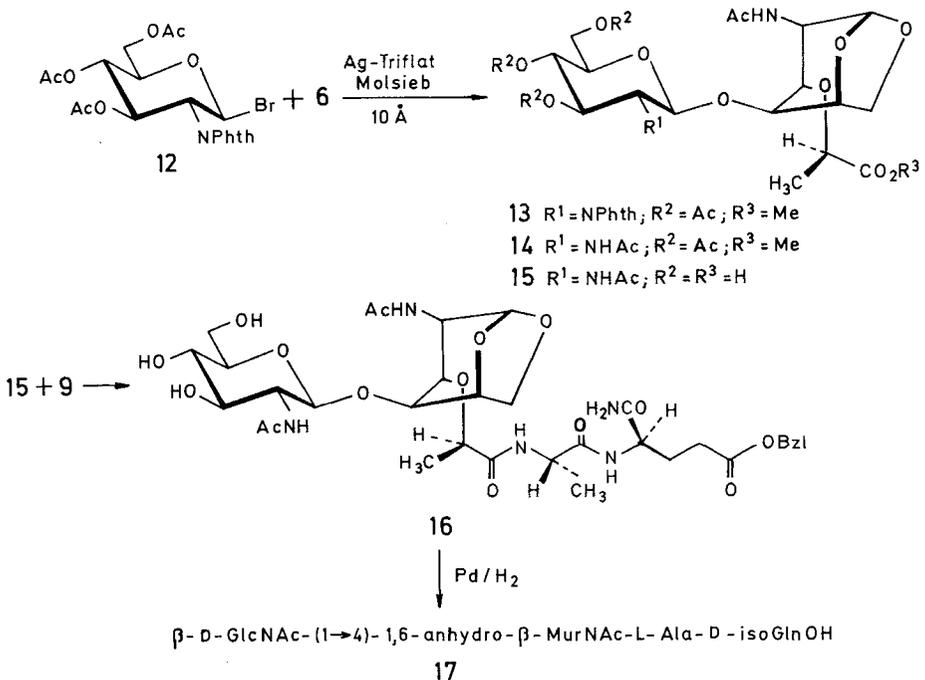
Setzt man **1** mit (2*S*)-2-Chlorpropansäure-methylester um, so tritt vollständige Racemisierung am Chiralitätszentrum der Milchsäureeinheit ein. Nach einem Vorschlag von *Schmidt*¹⁰) kann auch (2*S*)-2-(Trifluormethylsulfonyloxy)propansäure-ethylester, der aus L-Milchsäure-ethylester gut zugänglich ist, für die Alkylierungsreaktion eingesetzt werden. Man erhält ebenso bei der Umsetzung von **1** mit dem Triflat des L-Milchsäure-ethylesters in Gegenwart von Natriumhydrid in 76% racemisierungsfrei den Lactylether **4** unter Inversion zum (*R*)-konfigurierten Milchsäureester.



Bei der Hydrierung von **3** mit Pd/H₂ in Methanol oder Dioxan bei Gegenwart von Acetanhydrid erhält man zunächst selektiv das kristalline Amid **5**, das nach Zusatz von frischem Katalysator und längerer Hydrierungszeit das entbenzylierte Produkt **6** liefert. Sowohl der Methylester **5** als auch **6** können in Dioxan/Wasser mit KOH zu **7** bzw. zur freien 2-Acetamido-1,6-anhydro- β -muraminsäure (**8**) hydrolysiert werden. Die Produkte **6** und **7** wurden für die weiteren Glycosid- und Peptidsynthesen eingesetzt.

Die Peptidverknüpfung wird zunächst mit **7** und dem Dipeptid L-Ala-D-iso-GlnOBzl **9** durchgeführt. Als günstigstes Verknüpfungsverfahren erweist sich die Kombination aus *N,N'*-Diisopropylcarbodiimid (DICD) und *N*-Hydroxysuccinimid (NHS)¹¹⁾. Einsatz von *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) oder Ethyl-2-ethoxy-1,2-dihydro-1-chinolincarboxylat (EEDQ) liefert ungünstigere Ergebnisse. Das Glycopeptid **10** ist in 78% Ausbeute isolierbar. Durch Hydrogenolyse der Benzylgruppen wird das erste gewünschte 1,6-Anhydromuramylpeptid **11** erhalten.

Für die Disaccharid-Synthese wird die Phthalimidoverbindung **12**¹²⁾ als Glycosyldonator und **6** als Glycosylakzeptor verwendet. Unter den normalerweise für **12** angewendeten Glycosylierungsbedingungen mit Silbertriflat in Gegenwart von *s*-Collidin¹²⁾ erhält man jedoch nur sehr schlechte Ausbeuten (5–20%) des entsprechenden Disaccharids. Als Ursache kann die intermediäre Bildung eines anomeren Triflats aus **12** angenommen werden, das mit *s*-Collidin zu schwefelhaltigen Folgeprodukten reagiert¹³⁾. Ein ähnlicher Mechanismus wurde kürzlich von *van Boeckel*¹⁴⁾ vorgeschlagen, der die Anwendung von 2,6-Di-*tert*-butyl-4-methylpyridin als sterisch anspruchsvollerer Base empfiehlt. Wir verzichteten jedoch völlig auf die Base und setzten als Säurefänger hochaktiviertes Molekularsieb (10 Å) ein. Unter diesen Bedingungen werden die unerwünschten Nebenreaktionen unterbunden, und das Disaccharid **13** ist in der hervorragenden Ausbeute von 85% anomerenrein zu isolieren.



Zur Entblockierung werden in **13** zunächst die *O*-Acetylgruppen durch *Zemplén*-Verseifung entfernt. Dann spaltet man die Phthalimidogruppe mit Hydrazin

und acetyliert zu **14**. Bei **14** werden wiederum zunächst die *O*-Acetylgruppen mit Natriummethoxid und anschließend der Methylester mit wäßrigem KOH zu **15** gespalten.

Die Peptidverknüpfung von **15** mit **9** gelingt, wie bereits bei der Darstellung von **10** beschrieben, am günstigsten mit den Kupplungsreagenzien DICD/NHS. Hierbei erhält man in 60% **16**, aus dem nach Hydrogenolyse des Benzylesters das freie β -D-GlcNAc-(1 \rightarrow 4)-1,6-anhydro- β -MurNAc-L-Ala-D-*iso*-GlnOH (**17**) isoliert wird. Die ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren von **11** und **17** wurden vollständig analysiert und sichern die Strukturen sowie Einheitlichkeit der Verbindungen. Bei der Zuordnung erwiesen sich ^1H , ^1H - und ^1H , ^{13}C -korrelierte 2D-NMR-Spektren als besonders hilfreich.

Im biologischen Test zeigten jedoch **11** und **17** keine somnogene Wirksamkeit. Hierfür können zwei mögliche Ursachen in Betracht gezogen werden: Zum einen ist es denkbar, daß die zusätzliche Anwesenheit von 2,6-Diaminopimelinsäure für die Wirksamkeit erforderlich ist, wenn auch der Vergleich mit anderen Muramylpeptiden dies weniger wahrscheinlich macht. Zum anderen könnte die Amidgruppe im *D-iso*-Glutamin in **11** und **17** die somnogene Wirkung inhibieren. Auf diese Möglichkeit weist der folgende Befund hin. Das Peptidoglycanmonomer von *Brevibacterium divaricatum*¹⁶⁾ enthält neben normalem Muramylpeptid zu etwa 5% die 1,6-Anhydro-Form als β -D-GlcNAc-(1 \rightarrow 4)-1,6-anhydro- β -MurNAc-L-Ala-D-*iso*-Gln-Dap(NH₂)-D-Ala-D-Ala⁶⁾. Diese Substanz ist ebenfalls nicht somnogen. Durch milde Hydrolyse läßt sich jedoch hieraus eine Amidgruppe spalten, wobei offen ist, ob hierbei die Amidgruppe des *D-iso*-Glutamins oder der 2,6-Diaminopimelinsäure gespalten wird. Nach der Spaltung ist die Substanz wieder somnogen⁶⁾. Diese Frage konnte im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht mehr geklärt werden.

Professor *E. Lederer*, Paris, danken wir sehr für die Anregungen und Diskussionen zu diesem Problem. Dr. *M. L. Krueger*, Chicago, sind wir für die Durchführung der biologischen Tests zu Dank verpflichtet.

Experimenteller Teil

Alle Reaktionen wurden dünnschichtchromatographisch auf DC-Fertigfolien (Kieselgel 60, F₂₅₄) der Fa. Merck verfolgt. Indikation: UV-Licht oder Ethanol/Schwefelsäure (10:1) und Wärmebehandlung. Säulenchromatographische Trennungen: Kieselgel 60 (Merck, 230–400 mesh). Laufmittelsysteme: Toluol/Ethanol, Toluol/Aceton und Methanol/Chloroform. Gelfiltrationen: Sephadex G-10 (Pharmacia, 40–120 μ) mit bidestilliertem Wasser als Elutionsmittel. Gefriertrocknungen: Christ-Beta 1102. Schmelzpunkte (nicht korrigiert): Leitz-Heiztischmikroskop. Optische Drehungen: Polarimeter Perkin-Elmer 141 oder 241 in 10-cm-Küvetten. NMR-Spektren: WM 400 und WM 270 der Fa. Bruker. Innerer Standard TMS oder Aceton. Die Kopplungskonstanten wurden nach 1. Ordnung ausgewertet, die bei 1,6-Anhydroverbindungen auftretenden Fernkopplungen von etwa 0.4–1.4 Hz wurden nicht berücksichtigt. 2D-NMR-Messungen wurden mit Bruker-Meßprogrammen ausgeführt. Entblockierte Verbindungen wurden vor der Messung mehrfach mit D₂O versetzt und anschließend i. Vak. eingedampft, gefriergetrocknet und in reinem D₂O gelöst.

(2*S*)-2-(Trifluormethylsulfonyloxy)propansäure-ethylester (vgl. Lit.¹⁷): In 1 h werden zu einer Lösung von 3.25 g (41.0 mmol) absol. Pyridin in 100 ml Dichlormethan bei -20°C unter Rühren 10.0 g (35.4 mmol) Trifluormethylsulfonsäureanhydrid in 20 ml absol. Dichlormethan getropft. Es wird 20 min gerührt und bei -20°C die Mischung aus 4.70 g (39.5 mmol) (2*S*)-2-Hydroxypropansäure-ethylester (*L*-Milchsäure-ethylester) und 39 ml absol. Dichlormethan innerhalb von 3 h eingetroppt. Es wird noch 20 min gerührt, schnell auf $20-30^{\circ}\text{C}$ erwärmt und sofort aufgearbeitet. Die ausgefallenen Kristalle werden abgesaugt, das Filtrat wird i. Vak. eingeengt und mit Hexan und wenig Ether extrahiert. Die vereinigten Hexan/Ether-Extrakte werden mit Hexan über eine kurze Säule mit Kieselgel filtriert, das fast farblose Eluat wird i. Vak. vom Lösungsmittel befreit und über eine kurze Füllkörperkolonne destilliert; Ausb. 6.03 g (68%), Sdp. $40.5^{\circ}\text{C}/0.9$ Torr, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -40$ (reine Flüssigkeit). — $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.33$ (ABX₃-System, X-Teil, $J_{\text{AX}} = 7.0$ Hz, $J_{\text{BX}} = 7.0$ Hz, 3H, CH_2CH_3), 1.71 [d, $J = 6.9$ Hz, 3H, $\text{CH}(\text{CH}_3)$], 4.29 und 4.32 (ABX₃-System, AB-Teil, $J_{\text{AB}} = 10.7$ Hz, 2H, CH_2CH_3), 5.24 [q, $J = 6.9$ Hz, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)$].

$\text{C}_6\text{H}_9\text{F}_3\text{O}_5\text{S}$ (250.2) Ber. C 28.80 H 3.63 S 12.82 Gef. C 28.9 H 3.5 S 12.8

1,6-Anhydro-2-azido-4-*O*-benzyl-2-desoxy-3-*O*-[(1*R*)-1-(methoxycarbonyl)ethyl]- β -*D*-glucopyranose (3): Unter N_2 -Atmosphäre werden 15.0 g (54.1 mmol) **1**⁷ in 500 ml absol. Dioxan gelöst, mit 6.44 g (270.5 mmol) ölfreiem Natriumhydrid versetzt und 1 h bei 60°C gerührt. Bei 60°C läßt man 7.05 g (64.9 mmol) (2*S*)-2-Chlorpropansäure⁸) (durch Spaltrohrdestillation über eine 30-cm-Fischer-Kolonnen gereinigt, Sdp. $83^{\circ}\text{C}/9.5$ Torr, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -18$) in 200 ml Dioxan innerhalb von 4 h zutropfen. Nach 1 h Rühren bei 60°C und Abkühlung auf Raumtemp. ist die Reaktion beendet. Überschüssiges Natriumhydrid wird durch vorsichtige Zugabe von 30 ml Wasser vernichtet. Danach wird zur Trockne eingeengt und mit 300 ml Wasser aufgenommen. Durch zweimalige Extraktion mit Chloroform werden Nebenprodukte entfernt. Zur Freisetzung der Säure wird mit Chloroform unterschichtet, Eis zugegeben und durch langsame Zugabe von 2 N HCl auf pH = 3 gebracht; der entstehende Niederschlag wird nach jeder HCl-Zugabe sofort in die Chloroform-Phase geschüttelt. Nach Trocknen und Einengen der organischen Phasen i. Vak. erhält man 16.3 g (86%) rohe Säure **2**, die direkt in den Methylester übergeführt wird. Dazu wird in 150 ml Methanol gelöst und mit einem Überschuß einer etherischen Diazomethanlösung (aus insgesamt 20 g *N*-Nitrosomethylharnstoff generiert) versetzt. Nach 1 h wird überschüssiges Diazomethan durch 1 Tropfen Essigsäure zerstört, die Lösung i. Vak. eingeengt und über eine kurze Kieselgelsäule filtriert (Toluol/Aceton, 6:1, v:v). Durch Chromatographie mit demselben Eluens erhält man neben wenig (*S*)-Ester-Isomerem (höherlaufende Substanz) reines **3** als farblosen Sirup, der beim Stehenlassen kristallisiert; Ausb. 13.6 g (70%), Schmp. $61-62^{\circ}\text{C}$, $[\alpha]_{\text{D}}^{19} = +57$ ($c = 0.2$, CHCl_3). — $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.35$ (d, $J = 7.0$ Hz, 3H, Lactyl- CH_3), 3.29 (mc, 1H, 4-H), 3.49 (mc, 1H, 2-H), 3.54 (mc, 1H, 3-H), 3.71 (dd, $J_{5,6b} = 4.9$ Hz, $J_{6a,6b} = 7.2$ Hz, 1H, 6b-H), 3.75 (s, 3H, OCH_3), 3.95 (dd, $J_{5,6a} = 1.1$ Hz, $J_{6a,6b} = 7.2$ Hz, 1H, 6a-H), 3.96 (q, $J = 7.0$ Hz, 1H, Lactyl- α -H), 4.62 (mc, $J_{5,6a} = 1.1$ Hz, $J_{5,6b} = 4.9$ Hz, 1H, 5-H), 4.64, 4.70 (AB-System, $J_{\text{AB}} = 12.4$ Hz, 2H, PhCH_2), 5.45 (mc, 1H, 1-H), 7.27–7.45 (m, 5H, Ph).

$\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_6$ (363.4) Ber. C 56.19 H 5.83 N 11.56 Gef. C 56.4 H 5.9 N 11.5

(*S*)-Ester-Isomeres: $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.40$ (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, Lactyl- CH_3), 3.19 (mc, 1H, 4-H), 3.55 (mc, 1H, 2-H), 3.64 (mc, 1H, 3-H), 3.67 (s, 3H, OCH_3), 3.69 (dd, $J_{5,6b} = 5.8$ Hz, $J_{6a,6b} = 7.3$ Hz, 1H, 6b-H), 4.04 (dd, $J_{5,6a} = 1.1$ Hz, $J_{6a,6b} = 7.3$ Hz, 1H, 6a-H), 4.09 (q, $J = 6.8$ Hz, 1H, Lactyl- α -H), 4.58 (mc, $J_{5,6a} = 1.1$ Hz, $J_{5,6b} = 5.8$ Hz, 1H, 5-H), 4.62, 4.68 (AB-System, $J_{\text{AB}} = 12.2$ Hz, 2H, PhCH_2), 5.48 (mc, 1H, 1-H), 7.12–7.45 (m, 5H, Ph).

Von **2** wurde eine Probe chromatographisch (Methanol/Chloroform, 3:1, v:v) gereinigt. — ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.37 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H, Lactyl-CH₃), 3.32 (mc, 1H, 4-H), 3.46 (mc, 1H, 2-H), 3.65 (mc, 1H, 3-H), 3.72 (dd, *J*_{5,6b} = 5.7 Hz, *J*_{6a,6b} = 7.2 Hz, 1H, 6b-H), 3.96 (q, *J* = 7.0 Hz, 1H, Lactyl-α-H), 3.98 (dd, *J*_{5,6a} = 0.7 Hz, *J*_{6a,6b} = 7.2 Hz, 1H, 6a-H), 4.64 (mc, *J*_{5,6a} = 0.7 Hz, *J*_{5,6b} = 5.7 Hz, 1H, 5-H), 4.65, 4.70 (AB-System, *J*_{AB} = 12.4 Hz, 2H, PhCH₂), 5.51 (mc, 1H, 1-H), 7.28–7.43 (m, 5H, Ph), 9.79 (br. s, 1H, CO₂H).

1,6-Anhydro-2-azido-4-O-benzyl-2-desoxy-3-O-[(1R)-1-(ethoxycarbonyl)ethyl]-β-D-glucopyranose (4): Unter N₂ werden 5.44 g (19.6 mmol) **1**⁷⁾ in 300 ml absol. Dichlormethan gelöst, bei 0°C mit 0.75 g (31.3 mmol) ölfreiem Natriumhydrid versetzt und 1.5 h gerührt. Zu dieser Mischung wird in 3 h bei 0°C die Lösung von 5.91 g (23.6 mmol) (2S)-2-(Trifluormethylsulfonyloxy)propansäure-ethylester in 100 ml absol. Dichlormethan getropft. Man rührt 20 h und läßt dabei auf 20°C aufwärmen. Es wird mit Wasser gewaschen, die organische Phase getrocknet und i. Vak. eingeengt. Nach Chromatographie an Kieselgel (Toluol/Aceton, 12:1, v:v) wird reines (R)-Isomer **4** als farbloses Öl erhalten. Kristallisation aus Ether/Petrolether (1:1); Ausb. 5.53 g (75%), Schmp. 55–56°C, [α]_D²² = +61 (*c* = 0.6, CHCl₃). — ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.29 (ABX₃-System, X-Teil, *J*_{AX} = 7.1 Hz, *J*_{BX} = 7.1 Hz, 3H, CH₂CH₃), 1.34 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H, Lactyl-CH₃), 3.29 (mc, 1H, 4-H), 3.50 (mc, 1H, 2-H), 3.56 (mc, 1H, 3-H), 3.70 (dd, *J*_{5,6b} = 5.7 Hz, *J*_{6a,6b} = 7.2 Hz, 1H, 6b-H), 3.93 (q, *J* = 7.0 Hz, 1H, Lactyl-α-H), 3.96 (dd, *J*_{5,6a} = 1.2 Hz, *J*_{6a,6b} = 7.2 Hz, 1H, 6a-H), 4.18, 4.21 (ABX₃-System, AB-Teil, *J*_{AB} = 10.7 Hz, 2H, CH₂CH₃), 4.57 (mc, *J*_{5,6a} = 1.2 Hz, *J*_{5,6b} = 5.7 Hz, 1H, 5-H), 4.64, 4.70 (AB-System, *J*_{AB} = 12.3 Hz, 2H, PhCH₂), 5.45 (mc, 1H, 1-H), 7.27–7.46 (m, 5H, Ph).

C₁₈H₂₃N₃O₆ (377.4) Ber. C 57.29 H 6.14 N 11.13 Gef. C 56.6 H 6.0 N 10.6

2-Acetamido-1,6-anhydro-4-O-benzyl-2-desoxy-3-O-[(1R)-1-(methoxycarbonyl)ethyl]-β-D-glucopyranose (5): 3.0 g (8.26 mmol) **3** in 50 ml Dioxan werden mit 1.26 g (12.4 mmol) Acetanhydrid und 1.8 g Palladiumkohle (10% Pd) versetzt und im Autoklaven bei 35 bar Wasserstoffdruck hydriert. Die Umsetzung ist bei Raumtemp. nach 1.5 h beendet. Es wird abfiltriert, i. Vak. eingeengt und mit Toluol/Ethylacetat (1:1, v:v) chromatographiert; Ausb. 2.58 g (82%), Schmp. 111–112°C, [α]_D²² = –31 (*c* = 1, CHCl₃) [Lit.⁹⁾ Schmp. 92–93°C, [α]_D²⁰ = –31.5 (*c* = 1.0, CHCl₃)]. — ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.38 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H, Lactyl-CH₃), 1.99 (s, 3H, CH₃CO), 3.41 (mc, 1H, 4-H), 3.45 (mc, 1H, 3-H), 3.72 (dd, *J*_{5,6b} = 5.8 Hz, *J*_{6a,6b} = 7.0 Hz, 1H, 6b-H), 3.75 (s, 3H, OCH₃), 4.10 (mc, *J*_{2,NH} = 8.6 Hz, 1H, 2-H), 4.11 (dd, *J*_{5,6a} = 0.8 Hz, *J*_{6a,6b} = 7.0 Hz, 1H, 6a-H), 4.22 (q, *J* = 7.0 Hz, 1H, Lactyl-α-H), 4.58 (mc, *J*_{5,6a} = 0.8 Hz, *J*_{5,6b} = 5.8 Hz, 1H, 5-H), 4.56, 4.67 (AB-System, *J*_{AB} = 11.8 Hz, 2H, PhCH₂), 5.35 (mc, 1H, 1-H), 6.37 (d, *J*_{2,NH} = 8.6 Hz, 1H, NH), 7.10–7.53 (m, 5H, Ph).

C₁₉H₂₅NO₇ (379.4) Ber. C 60.15 H 6.64 N 3.69 Gef. C 60.1 H 6.6 N 3.7

2-Acetamido-1,6-anhydro-2-desoxy-3-O-[(1R)-1-(methoxycarbonyl)ethyl]-β-D-glucopyranose (6): 4.37 g (12.0 mmol) **3** werden in 50 ml Methanol gelöst, mit 1.41 g (13.8 mmol) Acetanhydrid und 1.6 g Palladiumkohle (10% Pd) versetzt und mit Wasserstoff bei 25 bar im Autoklaven hydriert. Nach 2 h bei Raumtemp. werden 1.5 g frischer Katalysator zugesetzt, und unter den gleichen Bedingungen wird 2 h hydriert. Man filtriert vom Katalysator ab, engt i. Vak. ein und chromatographiert mit Toluol/Aceton (1:1, v:v) an Kieselgel; Ausb. 2.73 g (78%), Schmp. 141–142°C, [α]_D²⁰ = –27 (*c* = 0.5, CHCl₃) [Lit.⁹⁾ Schmp. 142–143°C, [α]_D²⁰ = –27 (*c* = 1.0, CHCl₃)]. — ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.42 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H, Lactyl-CH₃), 2.06 (s, 3H, CH₃CO), 3.41 (mc, 1H, 3-H), 3.73–3.82 (m, 7H, 3-H, 4-H, 6b-H, OH, OCH₃), 4.08 (mc, *J*_{2,NH} = 8.6 Hz, 1H, 2-H), 4.22 (dd, *J*_{5,6a} =

0.7 Hz, $J_{6a,6b} = 7.2$ Hz, 1H, 6a-H), 4.32 (q, $J = 6.8$ Hz, 1H, Lactyl- α -H), 4.53 (dd, $J_{5,6a} = 0.7$ Hz, $J_{5,6b} = 5.2$ Hz, 1H, 5-H), 5.36 (mc, 1H, 1-H), 6.96 (d, $J_{2,NH} = 8.6$ Hz, 1H, NH).

$C_{12}H_{19}NO_7$ (289.3) Ber. C 49.82 H 6.62 N 4.84 Gef. C 49.9 H 6.6 N 4.7

2-Acetamido-1,6-anhydro-4-O-benzyl-3-O-[(1R)-1-carboxyethyl]-2-desoxy- β -D-glucopyranose (7): Bei Raumtemp. wird 1.0 g (2.64 mmol) **5** in einem Gemisch aus 20 ml Dioxan und 5 ml Methanol gelöst und unter Rühren mit 21.1 ml wäßriger 1 N KOH versetzt. Nach 30 min ist die Hydrolyse beendet. Es wird mit Ionenaustauscher Dowex 50 (H^+) behandelt, filtriert, i. Vak. eingeengt, mit Toluol mehrfach codestilliert und i. Hochvak. getrocknet; Ausb. 950 mg (quantitativ), $[\alpha]_D^{20} = -11$ ($c = 1.0$, $CHCl_3$). — 1H -NMR (270 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 1.32$ (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, Lactyl- CH_3), 1.85 (s, 3H, CH_3CO), 3.34 (mc, 1H, 4-H), 3.42 (mc, 1H, 3-H), 3.70 (dd, $J_{5,6b} = 0.7$ Hz, $J_{6a,6b} = 7.2$ Hz, 1H, 6b-H), 3.93 (q, $J = 6.8$ Hz, 1H, Lactyl- α -H), 4.20 (dd, $J_{5,6a} = 5.4$ Hz, $J_{6a,6b} = 7.2$ Hz, 1H, 6a-H), 4.31 (mc, $J_{2,NH} = 9.5$ Hz, 1H, 2-H), 4.56 (mc, $J_{5,6a} = 5.4$ Hz, $J_{5,6b} = 0.7$ Hz, 1H, 5-H), 4.60 (s, 2H, $PhCH_2$), 5.36 (mc, 1H, 1-H), 6.35 (d, $J_{2,NH} = 9.5$ Hz, 1H, NH), 6.82 (br. s, 1H, CO_2H), 7.25–7.46 (m, 5H, Ph).

$C_{18}H_{23}NO_7$ (365.4) Ber. C 59.17 H 6.35 N 3.83 Gef. C 58.9 H 6.3 N 3.5

2-Acetamido-1,6-anhydro-3-O-[(1R)-1-carboxyethyl]-2-desoxy- β -D-glucopyranose (2-Acetamido-1,6-anhydro- β -muraminsäure) (8): 487.5 mg (1.69 mmol) **6** werden in 10 ml Dioxan gelöst, mit 6.74 ml wäßriger 1 N KOH versetzt und bei Raumtemp. gerührt. Die Hydrolyse ist nach 30 min beendet. Es wird wie bei **7** aufgearbeitet; Ausb. 460 mg (quantitativ), $[\alpha]_D^{21} = -4$ ($c = 0.8$, H_2O). — 1H -NMR (400 MHz, D_2O): $\delta = 1.21$ (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, Lactyl- CH_3), 1.89 (s, 3H, CH_3CO), 3.28 (mc, 1H, 3-H), 3.63 (dd, $J_{5,6b} = 5.9$ Hz, $J_{6a,6b} = 7.7$ Hz, 1H, 6b-H), 3.71 (mc, 1H, 4-H), 3.74 (mc, 1H, 2-H), 4.00 (q, $J = 6.8$ Hz, 1H, Lactyl- α -H), 4.06 (dd, $J_{5,6a} = 1.1$ Hz, $J_{6a,6b} = 7.7$ Hz, 1H, 6a-H), 4.50 (dd, $J_{5,6a} = 1.1$ Hz, $J_{5,6b} = 5.9$ Hz, 1H, 5-H), 5.24 (mc, 1H, 1-H). — ^{13}C -NMR (100.62 MHz, D_2O , SEFT): $\delta = 18.8$ (Lactyl- CH_3), 22.4 (Acetyl- CH_3), 51.8 (C-2), 65.7 (C-6), 69.0 (C-4), 76.6 (C-5), 76.8 (Lactyl- α -C), 77.8 (C-3), 100.7 (C-1), 173.3 (Acetyl-CO), 180.0 (CO_2H).

$C_{11}H_{19}NO_8$ (293.3) Ber. C 45.05 H 6.53 N 4.78 Gef. C 45.4 H 6.6 N 4.8

2-Acetamido-1,6-anhydro-4-O-benzyl- β -muramoyl-L-alanyl-D-isoglutamin-benzylester (10): Zur Herstellung des aktivierten Esters werden 362 mg (1.0 mmol) **7** in 20 ml Chloroform mit 252 mg (2.0 mmol) *N,N'*-Diisopropylcarbodiimid und 326 mg (2.0 mmol) *N*-Hydroxysuccinimid 45 min bei 20°C gerührt. Das Hydrochlorid von **9**³¹ (380 mg, 1.1 mmol) wird zur Freisetzung der Base mit einem Überschuß Amberlite IR 45 (OH^-) 15 min in Methanol gerührt. Nach Abfiltrieren und Einengen i. Vak. wird die freie Base von **9** in Chloroform gelöst und zur Kupplung innerhalb von 40 min in die auf $-10^\circ C$ abgekühlte Lösung des aktivierten Esters unter Rühren getropft. Nach Aufwärmen innerhalb von 20 h unter Rühren wird mit wenig Chloroform verdünnt und mit Wasser gewaschen. Der nach Trocknen und Einengen der organischen Phase erhaltene Rohsirup wird durch Chromatographie an Kieselgel (Chloroform/Methanol, 15:1, v:v) gereinigt; Ausb. 489 mg (78%) farbloser Sirup, $[\alpha]_D^{20} = -31$ ($c = 2.9$, $CHCl_3$). — 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 1.29$ (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, Lactyl- CH_3), 1.36 (d, $J = 7.0$ Hz, 3H, Ala- CH_3), 1.83 (s, 3H, CH_3CO), 1.83–2.08 (m, 1H, Gln- β -H), 2.15–2.32 (m, 1H, Gln- β -H), 2.37–2.65 (mc, 2H, Gln- γ - CH_2), 3.43 (mc, 1H, 4-H), 3.48 (mc, 1H, 3-H), 3.78 (dd, $J_{5,6b} = 5.7$ Hz, $J_{6a,6b} = 7.6$ Hz, 1H, 6b-H), 4.01 (mc, 1H, 2-H), 4.07 (q, $J = 6.8$ Hz, 1H, Lactyl- α -H), 4.24 (dd, $J_{5,6a} = 0.9$ Hz, $J_{6a,6b} = 7.6$ Hz, 1H, 6a-H), 4.30 (dq, $J_{CH,NH} = 6.4$ Hz, $J_{CH,CH_3} = 7.0$ Hz, 1H, Ala- α -H), 4.46 (ddd, $J_{CH,NH} = 8.7$ Hz, $J = 4.8$ Hz, $J = 9.0$ Hz, 1H, Gln- α -H), 4.57, 4.68 (AB-System, $J_{AB} = 12.0$ Hz, 2H, $PhCH_2$), 5.60 (mc, $J_{5,6a} = 0.9$ Hz, $J_{5,6b} = 5.7$ Hz, 1H, 5-H), 5.10 (s, 2H, $PhCH_2$), 5.41 (mc, 1H, 1-H), 5.86 (br. s, 1H, $CONH_2$), 6.16 (d, $J_{2,NH} = 9.6$ Hz, 1H, Acetyl-NH), 6.94 (br. s, 1H,

CONH₂), 7.27–7.39 (m, 10H, 2 Ph), 7.42 (d, $J_{\text{CH,NH}} = 8.7$ Hz, 1H, Gln-NH), 7.91 (d, $J_{\text{CH,NH}} = 6.4$ Hz, 1H, Ala-NH).

C₃₃H₄₂N₄O₁₀ (654.7) Ber. C 60.54 H 6.47 N 8.56 Gef. C 60.3 H 6.6 N 8.4

2-Acetamido-1,6-anhydro- β -muramoyl-L-alanyl-D-isoglutamin (**11**): 480 mg (0.733 mmol) **10** in 7 ml Methanol werden mit 160 mg Palladiumkohle (10% Pd) bei 35 bar im Autoklaven mit Wasserstoff 2.5 h hydriert. Es wird filtriert, i. Vak. eingengt, durch Gelfiltration nachgereinigt und gefriergetrocknet; Ausb. 300 mg (86%), $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -10$ ($c = 0.6$, H₂O). – ¹H-NMR (400 MHz, D₂O): $\delta = 1.22$ (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, Lactyl-CH₃), 1.31 (d, $J = 7.2$ Hz, 3H, Ala-CH₃), 1.87 (s, 3H, CH₃CO), 1.78–1.97 (m, 1H, Gln- β -H), 2.00–2.12 (m, 1H, Gln- β -H), 2.31–2.36 (mc, 2H, Gln- γ -CH₂), 3.28 (mc, 1H, 3-H), 3.63 (dd, $J_{5,6b} = 5.8$ Hz, $J_{6a,6b} = 7.8$ Hz, 1H, 6b-H), 3.73 (mc, 1H, 4-H), 3.80 (mc, 1H, 2-H), 4.05 (q, $J = 6.8$ Hz, 1H, Lactyl- α -H), 4.14 (dd, $J_{5,6a} = 1.0$ Hz, $J_{6a,6b} = 7.8$ Hz, 1H, 6a-H), 4.18 (dd, $J = 4.8$ Hz, $J = 10.0$ Hz, 1H, Gln- α -H), 4.23 (q, $J = 7.2$ Hz, 1H, Ala- α -H), 4.55 (mc, $J_{5,6a} = 0.9$ Hz, $J_{5,6b} = 5.7$ Hz, 1H, 5-H), 5.35 (mc, 1H, 1-H). – ¹³C-NMR (100.62 MHz, D₂O, SEFT): $\delta = 17.2$ (Ala-CH₃), 18.2 (Lactyl-CH₃), 22.2 (Acetyl-CH₃), 26.7 (Gln- β -C), 30.6 (Gln- γ -C), 49.7 (C-2), 49.8 (Ala- α -C), 52.9 (Gln- α -C), 65.6 (C-6), 68.9 (C-4), 76.1 (Lactyl- α -C), 76.3 (C-5), 78.9 (C-3), 100.3 (C-1), 173.5, 174.8, 175.5, 175.8 (Acetyl- und Peptid-CO), 177.0 (CO₂H).

C₁₉H₃₂N₄O₁₁ (492.5) Ber. C 46.34 H 6.55 N 11.38 Gef. C 46.1 H 6.3 N 11.0

2-Acetamido-1,6-anhydro-2-desoxy-3-O-*l*-(1*R*)-1-(methoxycarbonyl)ethyl]-4-O-(3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy-2-phthalimido- β -D-glucopyranosyl)- β -D-glucopyranose (**13**): Unter Inertgas und bei Lichtausschluß wird 1.0 g (3.46 mmol) **6** mit 2.67 g (10.37 mmol) getrocknetem Silber-trifluormethylsulfonat und 4 g aktiviertem Molekularsieb (10 Å; zerstoßen und bei 120°C/10⁻⁶ Torr 12 h ausgeheizt) in 20 ml absol. Dichlormethan aufgeschlämmt. Dazu wird bei –40°C innerhalb von 3.5 h die Lösung von 3.45 g (6.91 mmol) der getrockneten Halogenose **12**¹²⁾ in 20 ml Dichlormethan getropft (DC: Toluol/Aceton, 3:1, v:v). Man läßt in 3 h unter Rühren auf –15°C erwärmen und arbeitet auf. Es wird mit 30 ml Dichlormethan verdünnt, filtriert und zweimal mit gesättigter NaHCO₃-Lösung gewaschen. Die organische Phase wird getrocknet, i. Vak. eingengt und der Rohsirup an Kieselgel mit Toluol/Aceton (3:1, v:v) chromatographiert; Ausb. 2.08 g (85%) farbloser Sirup, der beim Stehenlassen kristallisiert; Schmp. 95–96°C, $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -42$ ($c = 0.5$, CHCl₃). – ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD): $\delta = 1.36$ (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, Lactyl-CH₃), 2.04, 2.05, 2.09 (3s, 9H, 3 CH₃CO), 3.49 (mc, 1H, 4-H), 3.53 (dd, $J_{5,6a} = 5.9$ Hz, $J_{6a,6b} = 7.4$ Hz, 1H, 6a-H), 3.72 (s, 3H, OCH₃), 3.86 (mc, 1H, 3-H), 3.94 (mc, 1H, 2-H), 4.03 (ddd, $J_{4,5'} = 10.2$ Hz, $J_{5,6a'} = 2.2$ Hz, $J_{5,6b'} = 4.6$ Hz, 1H, 5'-H), 4.06 (dd, $J_{5,6b} = 1.1$ Hz, $J_{6a,6b} = 7.4$ Hz, 1H, 6b-H), 4.08 (dd, $J_{5,6a'} = 2.2$ Hz, $J_{6a',6b'} = 12.5$ Hz, 1H, 6a'-H), 4.24 (mc, $J_{5,6a} = 5.9$ Hz, $J_{5,6b} = 1.1$ Hz, 5-H), 4.28 (q, $J = 6.8$ Hz, 1H, Lactyl- α -H), 4.29 (dd, $J_{1,2'} = 8.5$ Hz, $J_{2,3'} = 10.8$ Hz, 1H, 2'-H), 4.24 (dd, $J_{5,6b'} = 4.6$ Hz, $J_{6a',6b'} = 12.5$ Hz, 1H, 6b'-H), 4.99 (mc, 1H, 1-H), 5.14 (dd, $J_{3,4'} = 9.0$ Hz, $J_{4,5'} = 10.2$ Hz, 1H, 4'-H), 5.59 (d, $J_{1,2'} = 8.5$ Hz, 1H, 1'-H), 5.93 (dd, $J_{2,3'} = 10.8$ Hz, $J_{3,4'} = 9.0$ Hz, 1H, 3'-H), 7.83–7.94 (mc, 4H, Phthalimido-H).

C₃₂H₃₈N₂O₁₆ (706.6) Ber. C 54.39 H 5.42 N 3.96 Gef. C 53.8 H 5.5 N 3.6

2-Acetamido-4-O-(2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-1,6-anhydro-2-desoxy-3-O-*l*-(1*R*)-1-(methoxycarbonyl)ethyl]- β -D-glucopyranose (**14**): 2.27 g (3.22 mmol) des Disaccharides **13** werden in 40 ml absol. Methanol gelöst und mit etwa 1 ml methanolischer 1 N Natriummethanolat-Lösung tropfenweise versetzt. Man rührt bei Raumtemp., und die Deacetylierung ist nach 15 min beendet. Diese Reaktion verlangt eine sorgfältige DC-Kontrolle, da bei zu langer Einwirkung von Methanolat der Phthalimidring geöffnet wird. Dieses Produkt erscheint auf dem DC (Chloroform/Methanol, 7:1, v:v) als tiefstlau-

fender Fleck. Man neutralisiert mit Kationenaustauscher Dowex 50 (H^+), filtriert und engt i. Vak. ein. Der Rückstand (2.88 g) wird in 150 ml Ethanol gelöst, mit 9.78 ml ethanolischer 1.64 M Hydrazinhydrat-Lösung versetzt und 5.5 h unter Rückfluß erhitzt. Es wird i. Vak. eingengt und zur Entfernung von überschüssigem Hydrazin einmal i. Hochvak. mit *n*-Butanol versetzt und i. Vak. eingedampft. Das Rohprodukt (2.12 g) wird mit 50 ml absol. Pyridin und 15 ml Acetanhydrid 20 h bei 20°C acetyliert. Es wird mit Eis/Wasser versetzt, mehrmals mit Chloroform extrahiert, die Chloroformschicht mit $MgSO_4$ getrocknet, i. Vak. eingengt und durch Codestillation mit Toluol vom Pyridin befreit. Der Rückstand wird in 60 ml Chloroform suspendiert, filtriert und das Filtrat i. Vak. eingengt. Chromatographische Reinigung (Chloroform/Methanol, 30:1, v:v) erfolgt an Kieselgel; Ausb. 1.51 g (76%), amorph, Schmp. 224–226°C, $[\alpha]_D^{25} = -76$ ($c = 1.4$, $CHCl_3$). — 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD): $\delta = 1.37$ (d, $J = 6.9$ Hz, 3H, Lactyl- CH_3), 1.97, 2.00, 2.01 (3s, 9H, 3 CH_3CO), 2.06 (s, 6H, 2 CH_3CO), 3.46 (mc, 1H, 4-H), 3.69 (dd, $J_{5,6a} = 5.6$ Hz, $J_{6a,6b} = 7.4$ Hz, 1H, 6a-H), 3.72 (s, 3H, OCH_3), 3.80 (mc, 1H, 3-H), 3.82 (ddd, $J_{4,5'} = 10.1$ Hz, $J_{5,6a'} = 2.3$ Hz, $J_{5,6b'} = 4.6$ Hz, 1H, 5'-H), 4.00 (dd, $J_{1,2'} = 8.4$ Hz, $J_{2,3'} = 10.7$ Hz, 1H, 2'-H), 4.07 (mc, 1H, 2-H), 4.13 (dd, $J_{5,6a'} = 2.3$ Hz, $J_{6a',6b'} = 12.2$ Hz, 1H, 6a'-H), 4.16 (dd, $J_{5,6b} = 1.1$ Hz, $J_{6a,6b} = 7.4$ Hz, 1H, 6b-H), 4.27 (q, $J = 6.9$ Hz, 1H, Lactyl- α -H), 4.28 (dd, $J_{5,6b'} = 4.6$ Hz, $J_{6a',6b'} = 12.2$ Hz, 1H, 6b'-H), 4.54 (mc, $J_{5,6a} = 5.6$ Hz, $J_{5,6b} = 1.1$ Hz, 1H, 5-H), 4.73 (d, $J_{1,2'} = 8.4$ Hz, 1H, 1'-H), 5.00 (dd, $J_{3,4'} = 9.2$ Hz, $J_{4,5'} = 10.1$ Hz, 1H, 4'-H), 5.20 (dd, $J_{2,3'} = 10.7$ Hz, $J_{3,4'} = 9.2$ Hz, 1H, 3'-H), 5.21 (mc, 1H, 1-H).

$C_{26}H_{38}N_2O_{15}$ (618.6) Ber. C 50.48 H 6.19 N 4.53 Gef. C 50.0 H 6.0 N 4.6

2-Acetamido-4-O-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-1,6-anhydro-2-desoxy-3-O-[(1R)-1-carboxyethyl]- β -D-glucopyranose [2-Acetamido-4-O-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-1,6-anhydro- β -muraminsäure] (**15**): 300 mg (0.485 mmol) **14** werden in 5 ml absol. Methanol gelöst und unter Rühren tropfenweise mit etwa 1 ml methanolischer 1 N Natriummethanolat-Lösung versetzt. Die Deacetylierung ist nach 20 min beendet. Es wird mit Ionenaustauscher Dowex 50 (H^+) neutralisiert, filtriert und i. Vak. eingengt. Zur Esterhydrolyse nimmt man erneut in 5 ml Methanol auf und rührt 1 h bei Raumtemp. mit 1 ml wäßriger 1 N KOH (DC: Acetonitril/Wasser, 5:1, v:v). Die Na^+ -Ionen werden mit Dowex 50 (H^+) entfernt. Man filtriert und engt i. Vak. ein. Eine analytische Probe wird durch Gelfiltration nachgereinigt; Ausb. 230 mg (quantitativ) Sirup, $[\alpha]_D^{25} = -48$ ($c = 2.0$, H_2O). — 1H -NMR (400 MHz, D_2O): $\delta = 1.24$ (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, Lactyl- CH_3), 1.92 (s, 3H, CH_3CO), 1.93 (s, 3H, CH_3CO), 3.31 (dd, $J_{4,5'} = 9.8$ Hz, $J_{5,6a'} = 1.8$ Hz, $J_{5,6b'} = 5.0$ Hz, 1H, 5'-H), 3.33 (dd, $J_{3,4'} = 8.6$ Hz, $J_{4,5'} = 9.8$ Hz, 1H, 4'-H), 3.41 (mc, 1H, 3-H), 4.43 (dd, $J_{2,3'} = 10.3$ Hz, $J_{3,4'} = 8.6$ Hz, 1H, 3'-H), 3.56 (dd, $J_{5,6b'} = 5.0$ Hz, $J_{6a',6b'} = 12.6$ Hz, 1H, 6b'-H), 3.62 (dd, $J_{1,2'} = 8.3$ Hz, $J_{2,3'} = 10.3$ Hz, 1H, 2'-H), 3.63 (dd, $J_{5,6b} = 0.9$ Hz, $J_{6a,6b} = 7.8$ Hz, 1H, 6b-H), 3.76 (dd, $J_{5,6a'} = 1.8$ Hz, $J_{6a',6b'} = 12.6$ Hz, 1H, 6a'-H), 3.84 (mc, 1H, 4-H), 3.93 (mc, 1H, 2-H), 4.06 (dd, $J_{5,6a} = 6.2$ Hz, $J_{6a,6b} = 7.8$ Hz, 1H, 6a-H), 4.15 (q, $J = 6.8$ Hz, 1H, Lactyl- α -H), 4.52 (d, $J_{1,2'} = 8.3$ Hz, 1H, 1'-H), 4.53 (mc, $J_{5,6a} = 6.2$ Hz, $J_{5,6b} = 0.9$ Hz, 1H, 5-H), 5.23 (mc, 1H, 1-H). — ^{13}C -NMR (100.62 MHz, D_2O , SEFT): $\delta = 18.2$ (Lactyl- CH_3), 22.3, 22.7 (Acetyl- CH_3), 50.5 (C-2), 56.0 (C-2'), 61.2 (C-6'), 65.1 (C-6), 70.4 (C-4'), 73.9 (C-3'), 74.0 (C-5), 74.6 (C-4), 75.2 (Lactyl- α -C), 76.4 (C-5'), 76.9 (C-3), 100.3 (C-1), 100.9 (C-1'), 173.5, 175.1 (Acetyl-CO), 177.7 (CO_2H).

$C_{19}H_{32}N_2O_{13}$ (496.5) Ber. C 45.97 H 6.50 N 5.64 Gef. C 45.9 H 6.7 N 5.4

2-Acetamido-4-O-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-1,6-anhydro- β -muramoyl-L-alanyl-D-isoglutamin-benzylester (**16**): Zur Herstellung des aktivierten Esters werden unter leichtem Erwärmen 541 mg (0.955 mmol) **15** in einem Gemisch aus 40 ml Acetonitril und 20 ml *N,N*-Dimethylformamid gelöst und mit 252 mg (2.0 mmol) *N,N'*-Diisopropylcarbo-

diimid und 326 mg (2.0 mmol) *N*-Hydroxysuccinimid 2.5 h bei Raumtemp. gerührt. Wie bei **10** beschrieben wird aus 380 mg (1.1 mmol) Hydrochlorid von **9** die freie Base hergestellt und wie bei **10** beschrieben mit dem aktivierten Ester gekuppelt. Es wird eingeeignet, mehrfach mit Toluol versetzt und i. Vak. eingedampft und zweimal mit Chloroform/Methanol (3:1, v: v) an Kieselgel chromatographiert. Eine analytische Probe wird durch Gelfiltration nachgereinigt; Ausb. 450 mg (60%), amorph, Schmp. 140–143°C, $[\alpha]_D^{20} = -34$ ($c = 0.6$, H₂O). — ¹H-NMR (400 MHz, D₂O): $\delta = 1.20$ (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, Lactyl-CH₃), 1.23 (d, $J = 7.2$ Hz, 3H, Ala-CH₃), 1.73–1.86 (m, 1H, Gln- β -H), 1.90 (s, 3H, CH₃CO), 1.92 (s, 3H, CH₃CO), 1.99–2.11 (m, 1H, Gln- β -H), 2.28–2.40 (mc, 2H, Gln- γ -H), 3.26–3.33 (m, 2H, 4'-H, 5'-H), 3.42 (mc, 1H, 4-H), 3.43 (dd, $J_{2,3} = 10.3$ Hz, $J_{3,4} = 8.6$ Hz, 1H, 3'-H), 3.58 (dd, $J_{5,6a} = 5.3$ Hz, $J_{6a,6b} = 12.4$ Hz, 1H, 6b'-H), 3.62 (dd, $J_{1,2} = 8.3$ Hz, $J_{2,3} = 10.3$ Hz, 1H, 2'-H), 3.63 (dd, $J_{5,6a} = 5.8$ Hz, $J_{6a,6b} = 8.0$ Hz, 1H, 6b-H), 3.75 (dd, $J_{5,6a} = 1.5$ Hz, $J_{6a,6b} = 12.4$ Hz, 1H, 6a'-H), 3.81 (mc, 1H, 3-H), 3.83 (mc, 1H, 2-H), 4.01 (q, $J = 6.8$ Hz, 1H, Lactyl- α -H), 4.10 (dd, $J_{5,6a} = 0.6$ Hz, $J_{6a,6b} = 8.0$ Hz, 1H, 6a-H), 4.16 (q, $J = 7.2$ Hz, 1H, Ala- α -H), 4.17 (mc, $J = 4.7$ Hz, $J = 9.8$ Hz, 1H, Gln- α -H), 4.51 (d, $J_{1,2} = 8.3$ Hz, 1H, 1'-H), 4.54 (mc, $J_{5,6a} = 0.6$ Hz, $J_{5,6b} = 5.8$ Hz, 1H, 5-H), 5.24 (mc, 1H, 1-H), 7.20–7.33 (m, 5H, Ph).

C₃₄H₄₉N₅O₁₅ (767.8) Ber. C 53.19 H 6.43 N 9.12 Gef. C 53.0 H 6.3 N 9.1

2-Acetamido-4-O-(2-acetamido-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl)-1,6-anhydro- β -muramoyl-L-alanyl-D-isoglutamin (**17**): 320 mg (0.417 mmol) Benzylester **16** werden in 18 ml Methanol gelöst und wie bei **11** beschrieben 1 h hydriert. Das Produkt wird durch Gelfiltration nachgereinigt und lyophilisiert; Ausb. 280 mg (quantitativ), $[\alpha]_D^{20} = -35$ ($c = 0.7$, H₂O). — ¹H-NMR (400 MHz, D₂O): $\delta = 1.22$ (d, $J = 6.8$ Hz, 3H, Lactyl-CH₃), 1.30 (d, $J = 7.2$ Hz, 3H, Ala-CH₃), 1.75–1.88 (m, 1H, Gln- β -H), 1.93, 1.95 (2s, 6H, 2 CH₃CO), 1.97–2.11 (m, 1H, Gln- β -H), 2.31–2.35 (mc, 2H, Gln- γ -H), 3.28–3.34 (m, 2H, 4'-H, 5'-H), 3.43 (mc, 1H, 3-H), 3.44 (dd, $J_{2,3} = 10.4$ Hz, $J_{3,4} = 8.6$ Hz, 1H, 3'-H), 3.60 (dd, $J_{5,6a} = 5.8$ Hz, $J_{6a,6b} = 12.4$ Hz, 1H, 6b'-H), 3.63 (dd, $J_{1,2} = 8.4$ Hz, $J_{2,3} = 10.4$ Hz, 1H, 2'-H), 3.67 (dd, $J_{5,6a} = 5.4$ Hz, $J_{6a,6b} = 8.0$ Hz, 1H, 6b-H), 3.71 (dd, $J_{5,6a} = 1.8$ Hz, $J_{6a,6b} = 12.4$ Hz, 1H, 6a'-H), 3.85 (mc, 1H, 4-H), 3.86 (mc, 1H, 2-H), 4.04 (q, $J = 6.8$ Hz, 1H, Lactyl- α -H), 4.14 (dd, $J_{5,6a} = 0.7$ Hz, $J_{6a,6b} = 8.0$ Hz, 1H, 6a-H), 4.21 (q, $J = 7.2$ Hz, 1H, Ala- α -H und mc, $J = 4.6$ Hz, $J = 9.8$ Hz, 1H, Gln- α -H), 4.53 (d, $J_{1,2} = 8.4$ Hz, 1H, 1'-H), 4.58 (mc, $J_{5,6a} = 0.7$ Hz, $J_{5,6b} = 5.4$ Hz, 1H, 5-H), 5.29 (mc, 1H, 1-H). — ¹³C-NMR (100.62 MHz, D₂O, SEFT): $\delta = 17.2$ (Ala-CH₃), 18.2 (Lactyl-CH₃), 22.3, 22.7 (Acetyl-CH₃), 26.7 (Gln- β -C), 30.4 (Gln- γ -C), 49.2 (C-2), 49.7 (Ala- α -C), 52.9 (Gln- α -C), 56.0 (C-2'), 61.3 (C-6'), 65.1 (C-6), 70.6 (C-4'), 73.7 (C-3'), 73.9 (C-5), 75.1 (C-4), 76.3 (Lactyl- α -C), 76.5 (C-5'), 77.6 (C-3), 100.3 (C-1), 100.8 (C-1'), 173.5, 174.7, 175.1, 175.4, 176.0 (Acetyl- und Peptid-CO), 176.8 (CO₂H).

C₂₇H₄₅N₅O₁₆ (695.7) Ber. C 46.62 H 6.52 N 10.07 Gef. C 46.0 H 6.4 N 9.9

¹⁾ LXVIII. Mitteilung: H. Paulsen und U. von Deessen, Carbohydr. Res., im Druck.

²⁾ J.-F. Petit, A. Adam, J. Wietzerbin-Falszpan, E. Lederer und C. M. Ghuyssen, Biochem. Biophys. Res. Commun. **35**, 478 (1969); E. Ellouz, A. Adam, R. Ciorbaru und E. Lederer, ebenda **59**, 1317 (1974); C. Merser, P. Sinay und A. Adam, ebenda **66**, 1316 (1975).

³⁾ P. Lefrancier, M. Derrien, X. Jamet, J. Choay, E. Lederer, F. Audibert, M. Parant und L. Chedid, J. Med. Chem. **25**, 87 (1982); A. Hasegawa, Y. Kaneda, Y. Goh, K. Nishibori, M. Kiso und I. Azuma, Carbohydr. Res. **94**, 143 (1981); S. Kusumoto, S. Okada, T. Shiba, I. Azuma und Y. Yamamura, Tetrahedron Lett. **1976**, 4287; **1978**, 4899; M. Zaoral, J. Ježek und J. Rotta, Collect. Czech. Chem. Commun. **47**, 2989 (1982).

⁴⁾ J. M. Krueger, J. R. Pappenheimer und M. L. Karnovsky, J. Biol. Chem. **257**, 1664 (1984); Proc. Natl. Acad. Sci. USA **79**, 6102 (1982).

- ⁵⁾ S. A. Martin, M. L. Karnovsky, J. M. Krueger, J. R. Pappenheimer und K. Biemann, *J. Biol. Chem.* **259**, 12652 (1984).
- ⁶⁾ J. M. Krueger, M. L. Karnovsky, S. A. Martin, J. R. Pappenheimer, J. Walter und K. Biemann, *J. Biol. Chem.* **259**, 12659 (1984).
- ⁷⁾ H. Paulsen, H. Koebernick, W. Stenzel und P. Köll, *Tetrahedron Lett.* **1975**, 1493.
- ⁸⁾ P. Sinäy, M. D. A. Halford, M. S. Choudhary, P. H. Gross und R. W. Jeanloz, *J. Biol. Chem.* **247**, 391 (1972).
- ⁹⁾ C. Merseur und P. Sinäy, *Tetrahedron Lett.* **1973**, 1029.
- ¹⁰⁾ Prof. R. R. Schmidt, Konstanz, danken wir für die persönliche Mitteilung.
- ¹¹⁾ E. Wünsch und F. Drees, *Chem. Ber.* **99**, 110 (1966); F. Weygand, D. Hoffmann und E. Wünsch, *Z. Naturforsch., Teil B*, **21**, 426 (1966).
- ¹²⁾ R. U. Lemieux, T. Takeda und B. Y. Chung, *Synthetic Methods for Carbohydrates*, ACS Symp. Ser. **39**, 90 (1976).
- ¹³⁾ R. W. Binkley und M. G. Ambrose, *J. Carbohydr. Chem.* **3**, 1 (1984); *J. Org. Chem.* **48**, 1776 (1983).
- ¹⁴⁾ C. A. A. van Boeckel, T. Beetz, J. N. Vos, A. J. M. de Jong, S. F. van Aelst, R. H. van den Bosch, J. M. R. Mertens und F. A. van der Vlugt, *J. Carbohydr. Chem.*, im Druck.
- ¹⁵⁾ J. M. Krueger, J. Walter, M. L. Karnovsky, L. Chedid, J. Choay, P. Lefrancier und E. Lederer, *J. Exp. Med.* **159**, 68 (1984).
- ¹⁶⁾ D. Keglevič, B. Ladešić, O. Hadžija, J. Tomašić, Z. Valinger und R. Naumski, *Biochem. Biophys. Acta* **585**, 273 (1979).
- ¹⁷⁾ E. Vedejís, D. A. Engler und M. J. Mullins, *J. Org. Chem.* **42**, 3109 (1977).

[158/85]