Carbohydrate Research, 92 (1981) 305–309
Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam – Printed in The Netherlands

Note

Synthese eines modifizierten Sisomicins mit D-Ribofuranose-Anteil*

HANS PAULSEN UND ROLF JANSEN
Institut für Organische Chemie und Biochemie, Universität Hamburg, D-2000 Hamburg 13 (Bundesrepublik Deutschland)

(Eingegangen am 23. Juni 1980; angenommen in revidierter Form am 23. Oktober 1980)

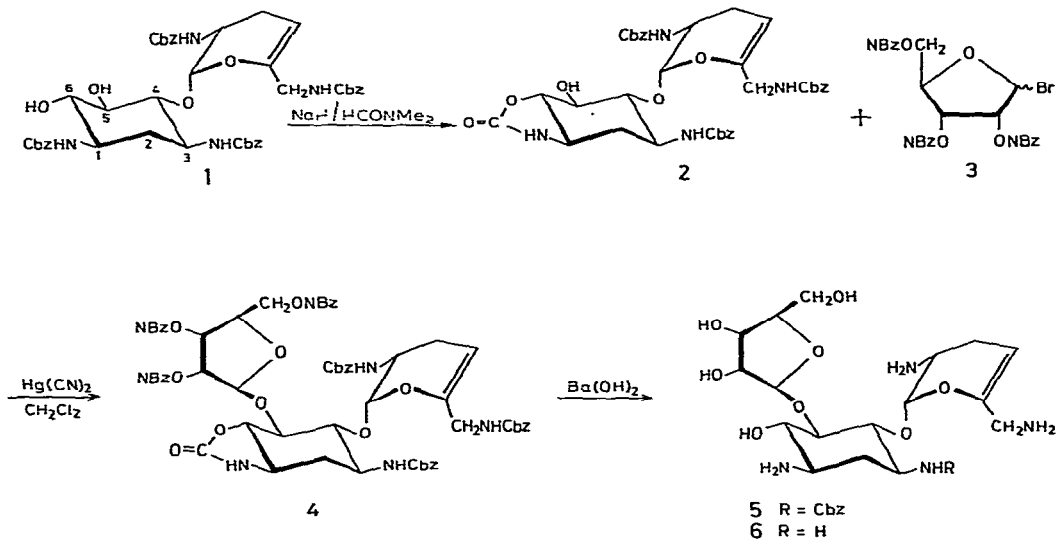
Bei der selektiven sauren Hydrolyse von Sisomicin-Derivaten wird als Spaltstück die Garamin-Einheit erhalten, da die glycosidische Bindung zum Enopyranosid-Teil des Moleküls stets primär hydrolysiert wird. Es ist uns jetzt gelungen, durch selektiven Periodatabbau auch die zweite mögliche Pseudodisaccharid-Einheit, das Sisamin, zu gewinnen. Es läßt sich leicht in die Tetra-*N*-benzyloxycarbonyl-Verbindung **1** überführen, die nun für Glycosidsynthesen zur Herstellung modifizierter Sisomicine bereit steht[2,3]. In **1** ist die OH-6-Gruppe erheblich reaktiver als die OH-5-Gruppe. Daher erfolgt bei Glycosidsynthesen mit **1** eine Kupplungsreaktion nur an der reaktiven OH-6-Gruppe zum entsprechenden Glycosid. Man erhält dann in der Garosamin-Einheit modifizierte Sisomicine. Verschiedene Derivate dieses Typs haben wir bereits dargestellt[1].

Es erscheint jedoch wünschenswert, auch an der OH-5-Gruppe Glycosidsynthesen durchzuführen. Durch Anknüpfung eines Furanosylrestes an die OH-5-Gruppe gelangt man dann in die Ribostamycin- oder Butirosin-Reihe, für die dieses Grundgerüst charakteristisch ist. Wir haben jetzt Sisamin über C-5 mit D-Ribose verknüpft und erhielten somit ein Antibiotikum, das eine Kombination von Sisomicin und Ribostamycin darstellt.

Die Behandlung von **1** mit Natriumhydrid in *N*,*N*-Dimethylformamid führt zum Cyclocarbamat **2**, in dem jetzt die OH-6-Gruppe selektiv blockiert ist und eine Verknüpfung an OH-5 erfolgen kann. Als geeignete Kupplungskomponente ist das 2,3,5-Tri-*O*-(*p*-nitrobenzoyl)-D-ribofuranosylbromid **3** leicht in kristalliner Form zugänglich[4,5]. Mit **3** ist infolge der Nachbargruppenaktivität der O-2-Acylgruppe eine bevorzugte Bildung des gewünschten 1,2-*trans*-Glycosids zu erwarten. Trotz der schlechten Reaktivität der OH-5-Gruppe in **2** gelingt die Umsetzung von **2** mit **3** in Gegenwart von Quecksilbercyanid–Drierite nahezu vollständig. Das Produkt **4** kann nach chromatographischer Reinigung in 81% Ausbeute isoliert werden. Im ^{1}H-N.m.r.-Spektrum von **4** erscheint das anomere Proton des Furanoseringes H-1″

*XXVI. Mitteilung der Serie "Bausteine von Oligosacchariden". XXV. Mitteil., siehe Zit. 1.

0008-6215/81/0000-0000/$ 02.50, © 1981 — Elsevier Scientific Publishing Company



NBz = *p*-Nitrobenzoyl

bei δ 5,87 als Dublett mit einer kleinen Kopplung $J_{1'',2''}$ 3,2 Hz zwischen den beiden Signalen von H-2″ bei δ 5,78 und H-3[3] bei δ 5,94. Die kleine Kopplung und vor allem der niedrige Drehwert von $[\alpha]_D^{22}$ +15,8° sprechen für die gewünschte β-D-glycosidische Verknüpfung der Ribose-Einheit. Nach Entblockierung von **4** läßt sich die β-D-glycosidische Bindung spektroskopisch absichern.

Es wurde geprüft, ob in **4** der Carbamatring selektiv vor den Benzyloxycarbonylgruppen hydrolysiert werden kann. In der Tat ist durch kontrollierte Hydrolyse mit Bariumhydroxid das partiell entblockierte Produkt mit freier NH_2-1-Gruppe zu erhalten. Eine spektroskopische Untersuchung einer Probe von **5** zeigt, daß alle *p*-Nitrobenzoyl-Gruppen und die Carbamatgruppe abgespalten wurden, dagegen die drei Benzyloxycarbonylgruppen im Molekül erhalten geblieben sind. Die freie NH_2-1-Gruppe in **5** ist außerdem durch den positiven Ninhydrin-Test G dünnschichtchromatographisch nachweisbar. Das Derivat **5** ist für weitere Substitutionen an der NH_2-1-Gruppe von Interesse.

Durch mehrstündiges Erhitzen mit Bariumhydroxid-Lösung läßt sich **4** in das vollständig entblockierte Produkt **6** überführen, das als freie Base isoliert werden kann. Das ^{1}H-N.m.r.-Spektrum von **6** ist vollständig analysierbar, da durch die unsymmetrische Substitution am 2-Desoxystreptaminring die sonst üblichen Multipletts auseinandergezogen sind. H-1″ des D-Riboseringes liegt mit der kleinen Kopplung $J_{1'',2''}$ 1,3 Hz bei δ 5,15. Alle weiteren Protonen lassen sich durch Doppelresonanz-Experimente festlegen. Das ^{13}C-N.m.r.-Spektrum läßt sich durch Vergleich mit den entsprechenden Bereichen der ^{13}C-N.m.r.-Spektren des Sisomicins[6] und des Ribostamycins[7] vollständig zuordnen. Insbesondere im D-Riboseteil wird eine gute Übereinstimmung mit dem Ribostamycin gefunden. Hierdurch ergibt sich ein verläßliches Indiz für die β-D-glycosidische Bindung der Ribose in **6**.

Im Massenspektrum zeigt **6** einen MH^+-Peak bei *m/e* 421. Alle anderen prominenten Peaks lassen sich durch Kombination der bekannten Spektren von Sisomicin und Ribostamycin zuordnen; die Fragmentierung verläuft vollständig im Sinne der von Daniels *et al.*[8] beschriebenen Spaltungssequenzen. Die Verbindung **6** zeigt im Bioautogramm-Test Wirksamkeit gegen *E. coli* 14 und *Pseudomonas* Ellsworth. Im Vergleich zu Gigomicin fällt die Wirkung jedoch deutlich ab. Dies zeigt, daß am C-5 des 2-Desoxystreptamin-Teiles des Sisamins, wie im Ribostamycin oder Butirosin, ein Pentofuranosering gebunden sein sollte, um eine antibiotische Wirkung zu erzielen.

EXPERIMENTELLER TEIL

Allgemeine Methoden.—Alle Reaktionen wurden dünnschichtchromatographisch auf DC-Alufolie (Merck GF_{254}) verfolgt. Anfärbung mit 2%iger Naphthoresorcinlösung–M H_2SO_4 (1:1, v/v) oder ethanolischer Ninhydrinlösung. Säulenchromatographische Trennungen: Kieselgel KG 60 (Merck). Schmelzpunkte (unkorrigiert): Leitz-Heiztischmikroskop. Optische Drehungen: Perkin–Elmer-Polarimeter 241 und 243, 1-dm-Küvetten. ^{1}H- und ^{13}C-N.m.r.-Spektren: Bruker WH 270, innerer Standard *N,N*-dimethylformamid, (δ 8,01). Massenspektrum Varian CH 7, Direkteinlaß.

*3,2',6'-Tri-*N*-benzyloxycarbonyl-1-*N*-6-*O*-carbonylsisamin* (**2**). — 1,3,2',6'-Tetra-*N*-benzyloxycarbonylsisamin (**1**, 1,5 g, 1,8 mmol) wird in abs. *N,N*-Dimethylformamid (20 mL) zunächst unter Eiskühlung mit Natriumhydrid (225 mg, 9 mmol) gerührt. Nach 3 h wird mit Ammoniumchloridlösung versetzt und zur Trockene eingeengt. Der Rückstand wird in Dichlormethan aufgenommen, mit Wasser gewaschen, getrocknet und eingeengt. Aus Dichlormethan kristallisieren nach Zugabe von Ether 960 mg (Ausb. 74%), Schmp. 153–155°, $[\alpha]_D^{22}$ +69,8° (*c* 0.5, Chloroform): ^{1}H-N.m.r. (*N,N*-Dimethylformamid-d_6, 130°): 7.44–7.25 (m, 15 H, 3 Ph), 6,65–6,44 (m, 3 H, 3 NH), 5,64 (m, 1 H, NH), 5,55 (d, 1 H, $J_{1',2'}$ 2,5 Hz, H-1'), 5,10 (m, 6 H, 3 PhCH_2), 4,32 (m, 1 H, H-4'), 3,46 (dt, 1 H, $J_{1,2e}$ 3,5, $J_{1,2a} = J_{1,6}$ 11,6 Hz, H-1 oder H-6), 2,25 (ddd, 1 H, $J_{2e,2a}$ 11,7, $J_{2e,3}$ 4,6 Hz, H-2e), 2,14 (m, 2 H, H_2-3'), 1,65 (q, 1 H, H-2a).

Anal. Ber. für $C_{37}H_{40}N_4O_{11}$: C, 62,00; H, 5,63; N, 7,82. Gef.: C, 62,06; H, 5,61; N, 7,73.

*3,2',6'-Tri-*N*-benzyloxycarbonyl-1-*N*-6-*O*-carbonyl-5-*O*-(2,3,5-tri-*O*-p-nitrobenzoyl-β-*D*-ribofuranosyl)sisamin* (**4**). — Eine Lösung von **2** (0,75 g, 1 mmol) in abs. Dichlormethan (20 mL) wird mit Quecksilbercyanid (1,63 g) und Drierite (3 g) unter strengstem Feuchtigkeitsausschluß 2 h gerührt, mit 2,3,5-*p*-Nitrobenzoyl-D-ribofuranosylbromid (**3** 1,5 g, 2 mmol) versetzt und 16 h gerührt. Nach Zusatz einiger Tropfen Pyridin wird filtriert und mit Natriumhydrogencarbonatkaliumiodid-Lösung geschüttelt. Die organische Phase wird getrocknet und eingeengt. Der Rückstand wird an Kieselgel chromatographisch gereinigt, zuerst mit Chloroform–Ethanol (90:1, v/v), und dann mit Toluol–Ethanol (50:1, v/v) (Ausb. 1,1 g, 81%), Schmp. 115–118°, $[\alpha]_D^{22}$ +15,8° (*c* 0,26, Chloroform); ^{1}H-N.m.r. (*N,N*-Dimethylformamid-d_6), 120°): 8.35–8.12 (m, 12 H, Aromaten-H von *p*-Nitrobenzoyl), 7,40–7,15 (m,

15 H, Aromaten-H von Cbz), 6,50–6,12 (m, 4 H, NH), 5,94 (dd, 1 H, $J_{3'',4''}$ 4,5 Hz, H-3″) 5,87 (d, 1 H, $J_{1'',2''}$ 3,2 Hz, H-1″), 5,79 (dd, 1 H, $J_{2'',3''}$ 5,2 Hz, H-2″), 5,61 (d, 1 H, $J_{1',2'}$ 2,1 Hz, H-1′), 5,10 (m, 6 H, 3 CH_2 von Cbz), 4,80 (m, 3 H, H-4″ und H_2-5″), 4,67 (m, 1 H, H-4′), 4,43 (dd, 1 H, *J* 7,7 und 10 Hz, H-5 od. -6), 4,03 (dd, 1 H, *J* 7,7 und 9,6 Hz, H-5 od. -6), 2,30 (m, 1 H, H-3a), 2,15 (m, 2 H, H-2e und -3b), 1,67 (q, 1 H, $J_{2a,2a} \approx J_{2a,1} \approx J_{2a,3}$ 11,6 Hz, H-2a).

Anal. Ber. für $C_{63}H_{57}N_7O_{24}$: C, 58,38; H, 4,44; N, 7,56. Gef.: C, 58,39; H, 4,65; N, 7,21.

*3,2′,6′-Tri-*N*-benzyloxycarbonyl-5-*O*-β-*D*-ribofuranosylsisamin* (**5**). — Eine Lösung von **4** (300 mg, 0,23 mmol) in 1,4-Dioxan–Wasser (4 mL) wird mit $Ba(OH)_2 \cdot 8\ H_2O$ (150 mg) bei 80° gerührt. Nach jeweils 30 min werden zweimal $Ba(OH)_2 \cdot 8\ H_2O$ (50 mg) zugegeben. Nach 3 h wird filtriert und eingeengt. Der Rückstand wird an Kieselgel mit Chloroform–Methanol–konz. Ammoniak (100:20:1, v/v) chromatographiert (Ausb. 95 mg, 49%), Schaum, der zur weiteren Entblockierung eingesetzt wird, $[\alpha]_D^{22}$ +30° (*c* 0,1, Methanol); ^{1}H-N.m.r. (*N*,*N*-Dimethylformamid-d_6, 120°): 7,40–7,20 (m, 15 H, 3 Aromaten von Cbz), 5,53 (d, 1 H, $J_{1',2'}$ 2,1 Hz, H-1′), 5,29 (s, 1 H, H-1″), 5,10 (m, 6 H, 3 CH_2 von Cbz), 4,68 (m, 1 H, H-4′), 3,21 (t, 1 H, $J_{6,5} \approx J_{6,1}$ = 9,2 Hz, H-6), 2,20–1,90 (m, 3 H, H-2e und H_2-3′), 1,34 (q, 1 H, $J_{2a,2e} \approx J_{2a,1} \approx J_{2a,3}$ = 12,2 Hz, H-2a).

*5-*O*-β-*D*-Ribofuranosylsisamin* (**6**). — Eine Lösung von **4** (300 mg, 0,23 mmol) in 50%iger Bariumhydroxid-Lösung (2 mL) wird 4 h bei 80–90° gerührt. Das Bariumhydroxid wird als Sulfat abgetrennt. Die Lösung wird gefriergetrocknet. Der Rückstand wird an Kieselgel mit Chloroform–Methanol–konz. Ammoniak (10:4:1, v/v) chromatographiert. Das Produkt wird mit basischen Ionenaustauscher (Lewatit MP 500) behandelt und gefriergetrocknet (Ausb. 41 mg, 42%), Schmp. 106–109°, $[\alpha]_D^{22}$ +36.5° (*c* 0,3, Wasser); M.s.: *m/z* 420 (M^+; $C_{17}H_{32}N_4O_8$, 420,5); ^{1}H-N.m.r. (D_2O; innerer Standard, HOD, δ 4,67): 5,30 (d, 1 H, $J_{1',2'}$ 2,2 Hz, H-1′), 5,15 (d, 1 H, $J_{1'',2''}$ 1,3 Hz, H-1″), 4,71 (m, 1 H, H-4′), 4,00 (m, 2 H, H-2″ und -3″), 3,82 (ddd, 1 H, $J_{4'',3''}$ 5,8, $J_{4'',5''a}$ 3,1, $J_{4'',5''b}$ 6,2 Hz, H-4″), 3,70 (dd, 1 H, $J_{5''a,5''b}$ 12,2 Hz, H-5″a), 3,52 (dd, 1 H, H-5″b), 3,47 (dd, 1 H, $J_{3,4}$ 9,2 Hz, H-4), 3,40 (dd, 1 H, $J_{4,5}$ 9,0 Hz, H-5), 3,08 (dd, 1 H, $J_{5,6}$ 8,8 und $J_{1,6}$ 9,8 Hz, H-6), 3,0 (s, 2 H, H_2-6′), 2,93 (ddd, 1 H, $J_{2',3'a}$ 6,1, $J_{2',3'b}$ 9,3 Hz, H-2′) 2,63 (ddd, 1 H, $J_{3,2e}$ 4,2, $J_{3,2a}$ 12,0 Hz, H-3), 2,55 (ddd, 1 H, $J_{1,2e}$ 4,0, $J_{1,2a}$ 12,0 Hz, H-1), 2,06 (dm, 1 H, $J_{3'a,3'b}$ 16,8 Hz, H-3′a), 1,85 (m, 2 H, H-3′b und -2e), 1,08 (q, 1 H, $J_{2a,(2b,1,3)}$ 12,4 Hz, H-2a); ^{13}C-N.m.r. (D_2O; innerer Standard, 1,4-Dioxan, δ 67,4): 150,4 (C-5′), 109,9 (C-1″), 99,3 (C-1′), 95,7 (C-4′), 84,7 (C-5), 83,1 (C-4″), 81,5 (C-4), 78,6 (C-6), 75,9 (C-2″), 70,7 (C-3″), 62,7 (C-5″), 51,2 (C-1), 50,7 (C-3), 47,4 (C-2′), 43,2 (C-6′), 36,2 (C-2), 25,6 p.p.m. (C-3′).

DANK

Der Bayer AG, Leverkusen, sind wir für die Unterstützung der Untersuchungen

zu Dank verpflichtet. Ferner danken wir der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie für die Bereitstellung von Sachmitteln.

LITERATUR

1 H. PAULSEN UND R. JANSEN, *Chem. Ber.*, 114 (1981) 843–857.
2 H. PAULSEN, R. JANSEN UND P. STADLER, Ger. Offen. 2 730 372 (1977).
3 H. PAULSEN, R. JANSEN UND P. STADLER, *Chem. Ber.*, 114 (1981) 837–842.
4 H. S. EL KHADEM, T. D. AUDICHIYA, D. A. NIEMEYER UND J. KLOSS, *Carbohydr. Res.*, 47 (1976) 233–240.
5 J. WATANABE, A. EJIMA, T. TSUCHIYA, D. IKEDA UND S. UMEZAWA, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 50 (1977) 487–490.
6 J. B. MORTON, R. C. LONG, P. J. L. DANIELS, R. W. TKACH UND J. H. GOLDSTEIN, *J. Am. Chem. Soc.*, 95 (1973) 7464–7469.
7 S. OMOTO, S. INOUYE, M. KOJIMA UND T. NIIDA, *J. Antibiot.*, 26 (1973) 717–724.
8 P. J. L. DANIELS, A. K. MALLAMS, J. WEINSTEIN, J. J. WRIGHT UND G. W. A. MILNE, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, (1976) 1078–1088.