

EINE VERBESSERTER SYNTHESE VON 2-ACETAMIDO-1-*N*-(4-L-ASPARTYL)-2-DESOXY- β -D-GLUKOPYRANOSYLAMIN UND DIE STEREOCHEMIE SEINER DERIVATE

MORIO KIYOZUMI*, KEITARO KATO, TETSUYA KOMORI, AKIRA YAMAMOTO*, TOSHIO KAWASAKI, UND HISAO TSUKAMOTO

Fakultät für Pharmazeutische Wissenschaften der Universität Kyushu, Fukuoka (Japan)

(Eingegangen den 11. Juli, 1969; in modifizierter Form den 2. März, 1970)

ABSTRACT

Crystalline 2-acetamido-2-deoxy- β -D-glucosylamine was prepared by deacetylation of 2-acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-deoxy- β -D-glucopyranosyl azide followed by catalytic hydrogenation. An improved synthesis of 2-acetamido-1-*N*-(4-L-aspartyl)-2-deoxy- β -D-glucopyranosylamine is described. The configuration and conformation of its derivatives are discussed on the basis of the n.m.r. and o.r.d. spectra.

ZUSAMMENFASSUNG

Durch Deacetylieren und anschliessende katalytische Hydrierung von 2-Acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy- β -D-glukopyranosyl-azid wurde kristallines 2-Acetamido-2-desoxy- β -D-glukopyranosylamin synthetisiert. Eine verbesserte Methode zur Synthese von 2-Acetamido-1-*N*-(4-L-aspartyl)-2-desoxy- β -D-glukopyranosylamin wird beschrieben. Die Konfiguration und die Konformation der Derivate werden auf Grund von N.m.r.- und O.r.d.-Daten diskutiert.

EINFÜHRUNG

In vielen Glykoproteinen ist 2-Acetamido-1-*N*-(4-L-aspartyl)-2-desoxy- β -D-glukopyranosylamin (8) als Baustein der Kohlenhydrat-Peptid-Bindung anzutreffen. Die Synthese dieser im Eieralbumin erstmalig nachgewiesenen Gruppierung wurde früher¹⁻⁶ durch Kondensation von α -Benzyl-*N*-benzyloxycarbonyl-L-aspartat mit 2-Acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy- β -D-glukopyranosylamin (4) durchgeführt. Das hierbei erhaltene Zwischenprodukt, 2-Acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-1-*N*-(1-benzyl-*N*-benzyloxycarbonyl-4-L-aspartyl)-2-desoxy- β -D-glukopyranosylamin¹⁻⁶ (7), ließ sich durch katalytische Hydrogenolyse und Deacetylierung in die Verbindung 8 überführen.

In der vorliegenden Arbeit beschreiben wir nun die Verbesserung der Dar-

*Gegenwärtige Adresse: Fakultät für Pharmazeutische Wissenschaften der Universität Kumamoto, Kumamoto, Japan.

stellung der Verbindung 8, ausgehend vom Zwischenprodukt 2-Acetamido-2-desoxy- β -D-glukopyranosylamin (3), anstatt von Verbindung 4.

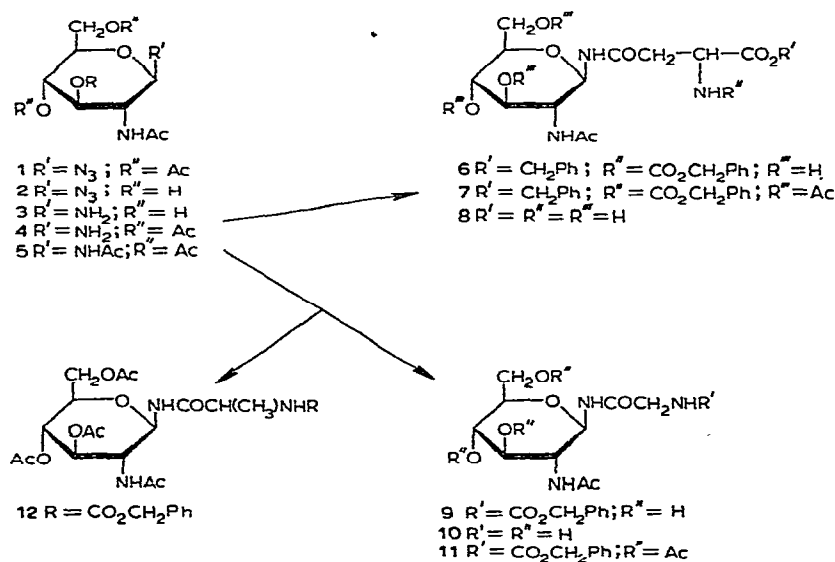
Wegen der biochemischen Bedeutung wird weiter die Stereochemie der Verbindung 8 und ihrer Derivate im Detail diskutiert.

DISKUSSION

Die erste unserer Synthesen von 3 geht auf die Arbeit von Makino und Mitarb.⁷ zurück, die diese Substanz aber nicht kristallin isolieren konnten. Nach der katalytischen Hydrierung von 2-Acetamido-2-desoxy- β -D-glukopyranosyl-azid (2) wurde nun erstmals die Verbindung 3 kristallin erhalten. Das Peracetat von 3 schmolz im Gemisch mit dem früher synthetisierten Acetat von 4 ohne Depression.

Verbindung 3 und 1-Benzyl-N-benzyloxycarbonyl-L-aspartat ließen sich in Gegenwart von *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimid in das Produkt, 2-Acetamido-1-*N*-(1-benzyl-N-benzyloxycarbonyl-4-L-aspartyl)-2-desoxy- β -D-glukopyranosylamin (6), überführen, aus dem durch katalytische Hydrogenolyse der Schutzgruppe des Aminosäure-Teiles die Verbindung 8 gewonnen würde.

Auf diesem Weg konnten die Verbindung 7, 2-Acetamido-1-*N*-glycyl-2-desoxy- β -D-glukopyranosylamin (10), 2-Acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-1-*N*-(*N*-benzyloxycarbonylglycyl)-2-desoxy- β -D-glukopyranosylamin (11) und 2-Acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-1-*N*-(*N*-benzyloxycarbonyl-L-alanyl)-2-desoxy- β -D-glukopyranosylamin⁸ (12)



aus Verbindung 3 leicht dargestellt werden. Die einzelnen Substanzen wurden durch Vergleich mit den Originalpräparaten^{3,8,9} identifiziert.

Vergleicht man die Ergebnisse dieser modifizierten Reaktionsfolge mit denen der früher beschriebenen Methode, so zeigt sich, daß die Verbindung 8 in bester

Ausbeute (62%, früher 32%) erhalten und die Gesamtsynthese stark vereinfacht wurde.

Es wurde sodann die Konformation und Konfiguration der biochemisch wichtigen Substanz **8** geklärt. Die Verbindung **8** selbst ist in Deuteriochloroform oder in anderen organischen Lösungsmitteln schwer löslich. Daher wurde die Konfiguration von **7**, **11** und **12** n.m.r.-spektrometrisch untersucht; denn die Konfiguration dieser Vergleichs-Verbindungen **7**, **11** und **12** ist aufgrund der Synthese mit der von **8**, identisch. Als grundlegendes Experiment wurde zuerst die Konfiguration von 2-Acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl-azid (**1**) und 2-Acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-1-*N*-acetyl-2-desoxy- β -D-glucopyranosylamin (**5**) untersucht.

Das N.m.r.-Spektrum der Verbindung **1** in Deuteriochloroform (60 MHz) (Abb. 1) zeigt bei δ 6,57 p.p.m. ein Dublett für eine NH-Gruppe, das bei Deuteriumoxyd-Behandlung verschwindet. Es scheint, daß das Multiplett bei δ 4,20 p.p.m. den zwei Protonen H-6 und H-6' zuzuordnen ist.

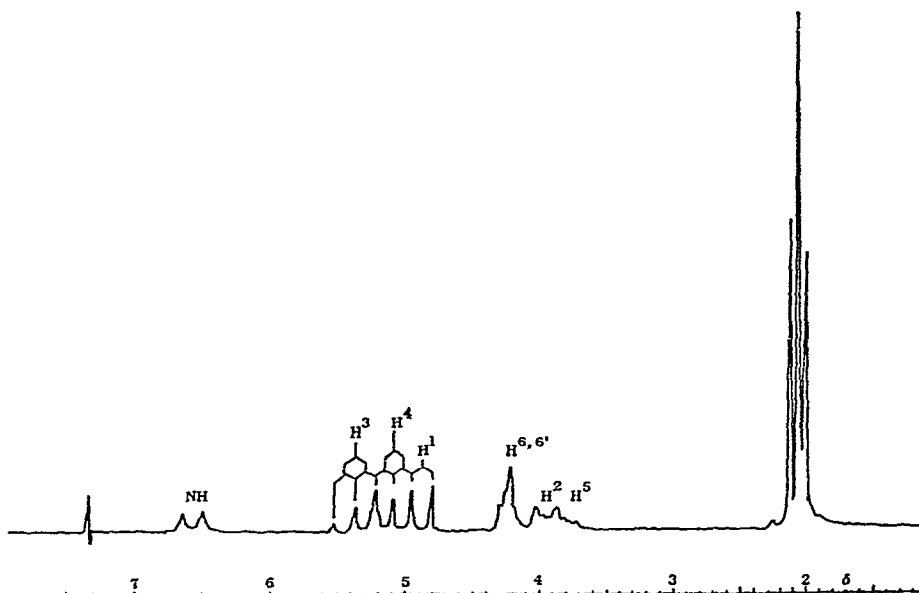


Abb. 1. N.m.r.-Spektrum von 2-Acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl-azid (**1**) in Deuteriochloroform (60 MHz).

Die Zuordnung der Resonanzen bei δ 3,7–4,1 p.p.m. konnte auf folgende Weise getroffen werden. Bei dem verwandten Methyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-glucopyranosid tritt in Deuteriochloroform (100 MHz) das Signal für H-5 bei δ 3,70 p.p.m. als Oktett auf. Außerdem fanden Liebert und Mitarb.¹⁰ in *O*-Acetyl- β -D-galaktose-Derivaten, daß das Signal des Protons am C-5 des Pyranose-Rings am stärksten nach höherem Feld verschoben ist. Deshalb gehört ein Teil des Signals für zwei Protonen bei δ 3,70–4,10 p.p.m. zu H-5.

Sodann wurde das Triplet bei δ 5,38 p.p.m. ($J_{2,3} = J_{3,4} = 9$ Hz) für das

Proton am C-3, das Triplet bei δ 5,1 p.p.m. ($J_{4,3} = J_{4,5} = 9$ Hz) für das Proton des C-4 angenommen, weil die Protonen H-3 und H-4 der β -D-Glukopyranosyl-tetraacetat-Derivate im allgemeinen ungefähr bei δ 5,5 p.p.m. beziehungsweise bei δ 5,15 p.p.m. liegen¹¹. Das Dublett bei δ 4,88 p.p.m. ($J_{1,2}$ 9 Hz) stammt von dem Proton in Stellung 1, da das Proton H-1 im Spektrum des Vergleichspräparats Methyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-glukosid bei δ 4,43 p.p.m. vorkommt und das anomere Proton einer glykosylamin Bindung etwa die gleiche chemische Verschiebung aufweist wie bei einer glykosyl Bindung. Deswegen mußte der andere Teil des Signals δ 3,70–4,10 p.p.m. auf dem Proton H-2 beruhen. Eine transdiaxiale Stellung von H-1, H-2, H-3 und H-4 war daher bewiesen. Wir schlagen eine *C1* Konformation und β -D-Konfiguration für die Verbindung 1 vor. Bolton und Mitarb.⁵ hatten schon früher mit Hilfe der Kernresonanz eine β -D-Konfiguration für 1 bewiesen.

Man sollte nun für die Verbindung 3 die gleiche Konfiguration wie für 1 finden, da keine Umlagerung des Ringprotons durch das Deacetylieren und die Reduktion zu erwarten ist. Statt der Verbindung 3 wurde weiter die Konfiguration ihres Acetats 5 n.m.r.-spektrometrisch untersucht. Aus den N.m.r.-Spektren von Derivaten des Methyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-glukopyranosid und des α -D-Anomeren ist die chemische Verschiebung des β -H-1 (etwa δ 5,70–5,85 p.p.m.) und α -H-1 (etwa δ 6,40 p.p.m.) bekannt. Das N.m.r.-Spektrum des Pentaacetats 5 (Abb. 2) zeigt die zwe

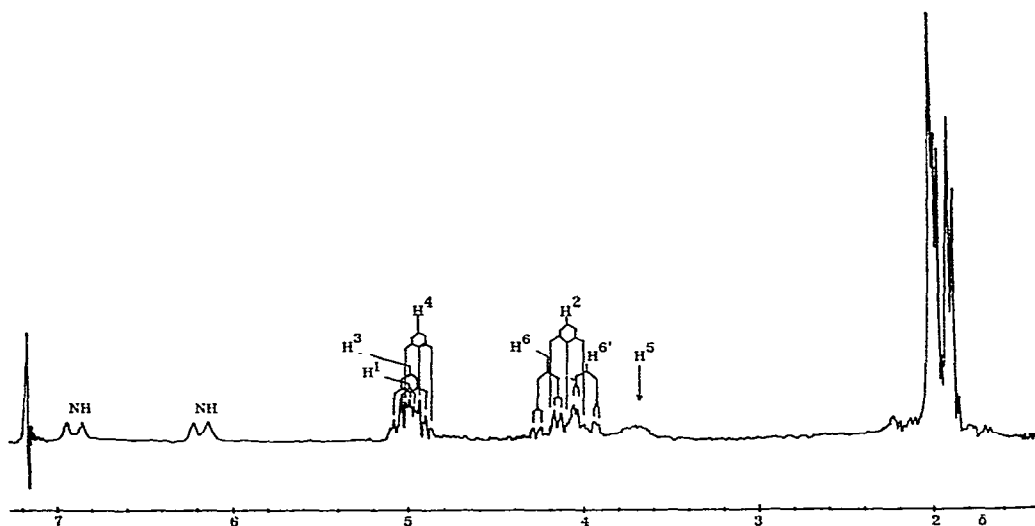


Abb. 2. N.m.r.-Spektrum von 2-Acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-1-*N*-acetyl-2-desoxy- β -D-glukopyranosylamin (5) in Deuteriochloroform (100 MHz).

Dubletts bei δ 6,19 und 6,90 p.p.m. für die beiden NH-Protonen, die bei Deuteriumoxyd-Behandlung verschwinden. Da kein Ring-Proton bei niedrigeren Feld als δ 5,0 p.p.m. gefunden wurde, muß man nun annehmen, daß das Proton H-1 in β -D-Konfiguration steht und die Signale bei δ 5,0 p.p.m. drei Protonen für H-3, H-4 und H-1 anzeigen. Tatsächlich war das Signal von H-1 infolge Kopplung mit H-2 ein

Dublett bei δ 5,0 p.p.m. ($J_{1,2}$ 9 Hz); H-3 und H-4 zeigte je ein Triplet bei δ 4,99 p.p.m. ($J_{3,4}$ 8 Hz) und bei δ 4,94 p.p.m. ($J_{4,5}$ 8 Hz). Das Oktett bei δ 3,70 p.p.m. gehörte zu H-5 und die Protonen H-6 und H-6' bildeten je ein Quadruplett im Bereich von δ 4,30–3,90 p.p.m. [H-6, δ 4,21 p.p.m. ($J_{5,6}$ 4 Hz); H-6', δ 3,98 p.p.m. ($J_{5,6'}$ 2 Hz, $J_{6,6'}$ 12 Hz)]. Deshalb ergibt das Signal von H-2 infolge Kopplung mit H-1 und H-3 ein Quadruplett bei δ 4,10 p.p.m. ($J_{2,3}$ 8 Hz) und von dem Acetat 5 läßt sich ableiten, daß es die gleiche *C1* Konformation wie die Verbindung 1 besitzt.

Wir untersuchten nun weiter die Konfiguration der Verbindung 12⁸, die aus dem Ausgangsmaterial 3 über das Zwischenprodukt 2-Acetamido-1-*N*-(*N*-benzyloxycarbonyl-L-alanyl)-2-desoxy- β -D-glucopyranosylamin synthetisiert wurde.

Im Spektrum von 12 (Abb. 3) sind die drei Dubletts bei niederem Feld (δ 5,55, 6,52 und 7,40 p.p.m.) eindeutig den NH-Protonen zuzuordnen, weil sie durch Behandlung mit Deuteriumoxyd verschwinden. Das Signal der Methylenprotonen aus der Benzyloxycarbonyl-Gruppe zeigt ein scharfes Singulett bei δ 5,0 p.p.m. Die Signale der Ringprotonen sollten dieselben Systeme wie in Verbindung 5 aufweisen. Die Resonanzlagen von H-5–H-4, H-2–H-1 und H-2–H-3 wurden durch Entkoppelungs-Experimente ermittelt. Bei Einstrahlung der Frequenz des Oktetts bei δ 3,72 p.p.m. für H-5 wird das Signal bei δ 4,94 p.p.m. (H-4) deformiert; in diesem Fall waren die Signale bei δ 5,10 p.p.m. (H-3) und bei δ 5,06 p.p.m. (H-1) unverändert. Bei Einstrahlung der Frequenz des Quadrupletts bei δ 4,07 p.p.m. waren das Signal bei δ 4,94 p.p.m. (H-4) unverändert, die Signale bei δ 5,10 p.p.m. (H-3) und δ 5,06 p.p.m. (H-1) jedoch deformiert. Deshalb spricht das Quadruplett bei δ 4,07 p.p.m. für ein axiales Proton H-2. Aus Abb. 3 ergeben sich die Kopplungs-

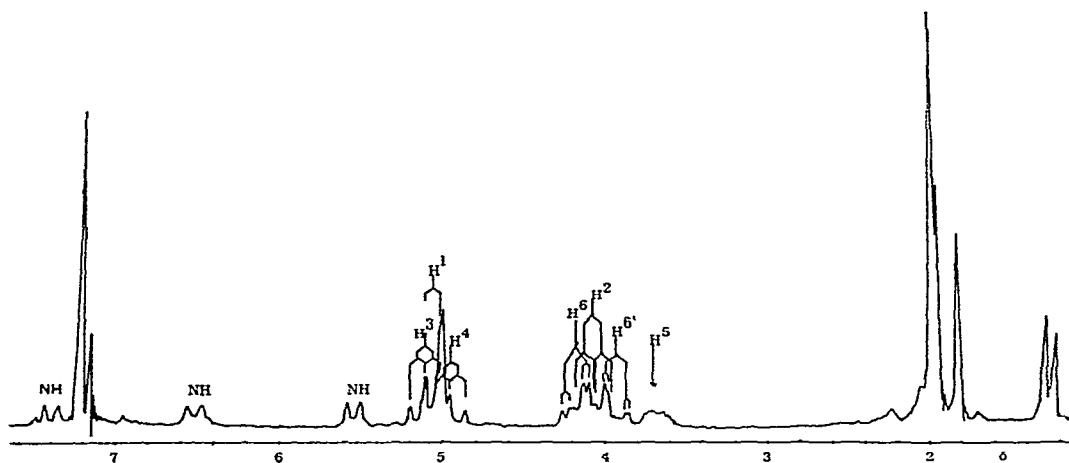


Abb. 3. N.m.r.-Spektrum von 2-Acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-1-*N*-(*N*-benzyloxycarbonyl-L-alanyl)-2-desoxy- β -D-glucopyranosylamin (12) in Deuteriochloroform (100 MHz).

konstanten und δ -Werte der chemischen Verschiebung der Ring-Protonen von 12 wie folgt: H-1, δ 5,06 p.p.m. ($J_{1,2}$ 8 Hz); H-2, δ 4,07 p.p.m. ($J_{2,3}$ 9 Hz); H-3,

δ 5,10 p.p.m. ($J_{3,4}$ 9 Hz); H-4, δ 4,94 p.p.m. ($J_{4,5}$ 9 Hz); H-5, δ 3,72 p.p.m. (Oktett); H-6, δ 4,18 p.p.m. ($J_{5,6}$ 4 Hz); H-6', δ 3,93 p.p.m. ($J_{5,6'}$ 2 Hz) ($J_{6,6'}$ 12 Hz).

Da die Verbindungen **7** und **11** in Deuteriochloroform schwer löslich waren, wurde die N.m.r.-Untersuchung in Dimethylsulfoxyd- d_6 durchgeführt. Die Signale der Ringprotonen im Spektrum von **11** (Abb. 4) zeigen große Ähnlichkeit mit dem von **12**; H-1, δ 5,04 p.p.m., Dublett, $J_{1,2}$ 8 Hz; H-2, δ 3,92 p.p.m., $J_{2,3}$ 8 Hz; H-3, δ 5,10 p.p.m., Triplett, $J_{3,4}$ 8 Hz; H-4, δ 4,78 p.p.m., Triplett, $J_{4,5}$ 9 Hz. Daraus kann man schließen, daß die Verbindungen **11** und **12** von gleicher β -D-Glukopyranosid-Struktur sind.

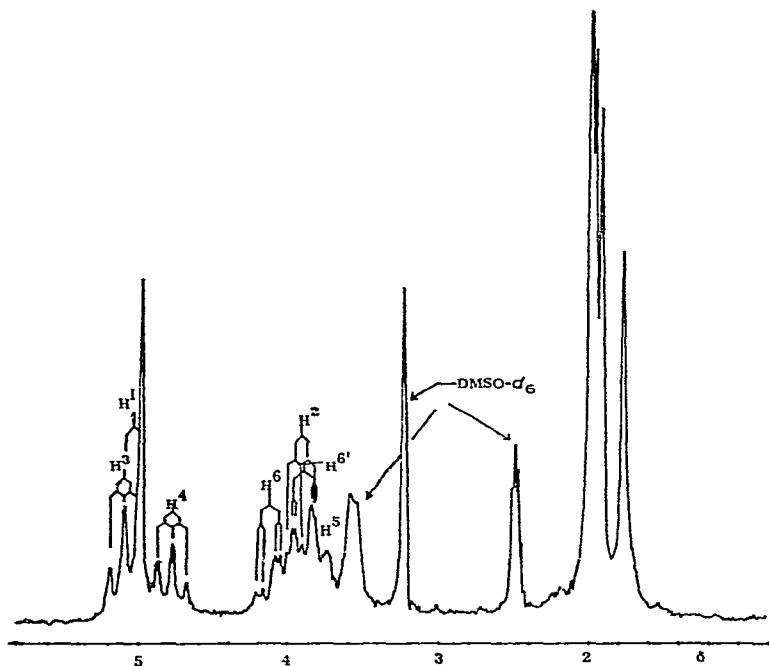


Abb. 4. N.m.r.-Spektrum von 2-Acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-1-N-(N-benzoyloxycarbonylglycyl)-2-desoxy- β -D-glucopyranosylamin (**11**) in Dimethylsulfoxyd- d_6 (100 MHz).

Die Signale für die zwei Methylenprotonen der Benzylgruppe von **7** (Abb. 5) fallen mit den Signalen der Ringprotonen bei etwa δ 5,0 p.p.m. zusammen, während die Signale der Ringprotonen von **7** mit den von **12** fast übereinstimmen. Dies war auch infolge der alltrans-Konfiguration der Ringprotonen von **7** zu erwarten.

In Übereinstimmung mit der alltrans-Konfiguration der Ringprotonen der Verbindungen **1**, **5**, **7**, **11** und **12** stehen auch die chemischen Verschiebungen der Acetylgruppen. Zur Bestimmung der Konfiguration der axialen und äquatorialen O-Acetylgruppen aus n.m.r.-Daten wurden die Beobachtungen von Sowden *et al.*¹² herangezogen, die für die axiale Gruppierung δ 2,15 p.p.m. und für die äquatoriale Anordnung δ 2,03–2,10 p.p.m. finden. Da diese Autoren aber kein Lösungsmittel angegeben hatten, wurden die chemischen Verschiebungen der Acetylgruppe von

Methyl-2,3,4,6-tetra-*O*-acetylglukosiden in Deuteriochloroform weiter untersucht und die gleichen Resultate wie oben erhalten.

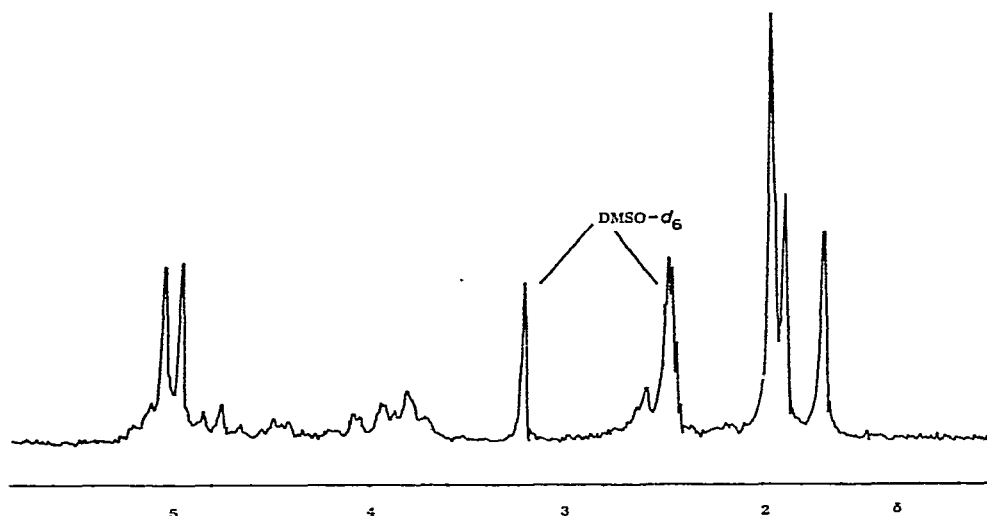


Abb. 5. N.m.r.-Spektrum von 2-Acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-1-*N*-(1-benzyl-*N*-benzyloxycarbonyl-4-*L*-aspartyl)-2-desoxy- β -D-glucopyranosylamin (7) in Dimethylsulfoxyd- d_6 (100 MHz).

TABELLE I

CHEMISCHE VERSCHIEBUNG (δ -WERTE) DER ACETYL-PROTONEN

Verbindung	<i>O</i> -Acetyl	NH-Acetyl	Lösungsmittel
1	2,10 (3 H, s ^a) 2,03 (6 H, s)	1,97 (3 H, s)	CDCl ₃
5	2,01 (3 H, s) 1,99 (3 H, s) 1,97 (3 H, s)	1,90 (3 H, s) 1,88 (3 H, s)	CDCl ₃
12	1,97 (6 H, s) 1,93 (3 H, s)	1,80 (3 H, s)	CDCl ₃
7	1,94 (6 H, s) 1,88 (3 H, s)	1,68 (3 H, s)	DMSO- d_6
11	1,98 (3 H, s) 1,96 (3 H, s)	1,76 (3 H, s)	DMSO- d_6

^as, Singulett.

Wie aus Tab. I zu ersehen ist, stimmen die δ -Werte der *O*-Acetylgruppen alle mit einer äquatorialen Konfiguration überein. Dieser Befund erhärtet die trans-diaxiale Konfiguration der Ringprotonen der untersuchten Verbindungen.

Listowsky *et al.*¹³ beobachteten kürzlich, daß die Circular dichroismus-Spektren von Methyl-2-acetamido-2-deoxy- β -D-glucopyranosid einen Minus-Cotton-Effekt bei 220 m μ und das α -D-Anomere einen Plus-Cotton-Effekt bei 225 m μ zeigten. Die O.r.d.-Spektren der Verbindung 3 weisen bei 220 m μ einen Minus-Cotton-Effekt auf (Abb. 6). Deshalb ist die β -D-Glukopyranose-Form für 3 zu fordern.

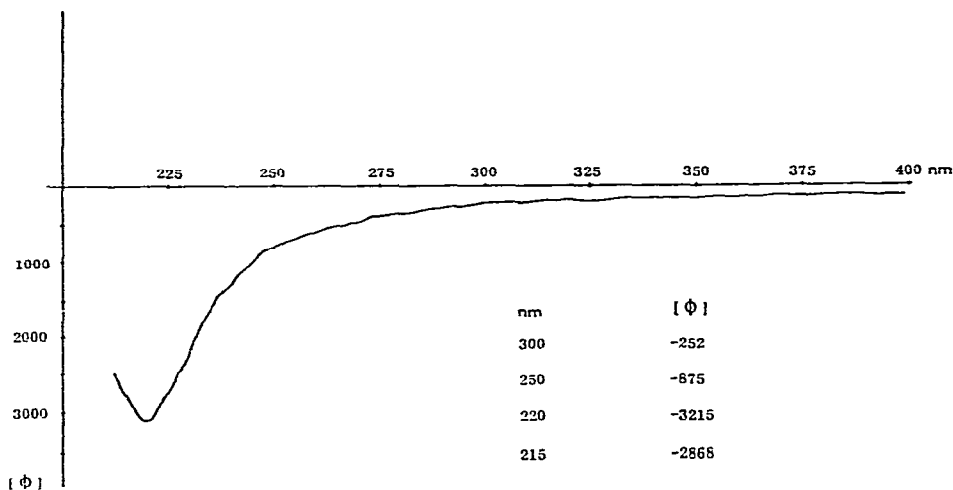


Abb. 6. O.r.d.-Spektrum von 2-Acetamido-2-desoxy- β -D-glukopyranosylamin (3) in Wasser. Nach der Auflösung der Substanz ist das Spektrum sofort aufgenommen worden.

Die erzielten experimentellen Ergebnisse bestätigen die alltrans Konfiguration der Ringprotonen und eine *C1* Konformation für 1, 3, 7, 11 und 12. Damit ist die gleiche Struktur auch für die Verbindung 8 sicher gestellt.

EXPERIMENTELLER TEIL

Die Schmelzpunkte sind nicht korrigiert. Die n.m.r.-Spektren wurden mit dem Varian-Instrument HA-100 oder mit dem JEOL-JNM-C-60 H, in Deuteriochloroform oder in Dimethylsulfoxyd- d_6 (Tetramethylsilan als innerer Standard) gemessen. Die O.r.d.-Spektren sind mit dem Gerät JASCO, Modell ORD/CD-1 aufgenommen worden.

2-Acetamido-2-desoxy- β -D-glukopyranosyl-azid (2). — 2-Acetamido-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy- β -D-glukosyl-azid 1 (5 g) wurde über Phosphor-pentoxyd getrocknet und in getrocknetem Methanol (125 ml) gelöst. Zu dieser Lösung wurde die äquiv. Menge einer 2%-Lösung von Magnesiummetholat in absol. Methanol bei 0° zugesetzt. Nach 1 Std. Stehen bei 0° wurde die Lösung mit wenig Wasser und mit Dowex-50 (H^+ , 140 ml) versetzt, und dann 10 Min. lang kräftig umgerührt. Das Harz wurde abfiltriert und mit Methanol gewaschen. Das mit dem Waschmethanol vereinigte Filtrat wurde i. Vak. abdestilliert. Der Rückstand wurde aus 2-Propanol umkristallisiert, wobei farblose Nadeln (3,2 g), Schmp. 145–146° (Zers.), $[\alpha]_D^{16} -27,5^\circ$ (*c* 2,8, Wasser), erhalten wurden; Lit.¹⁴: Schmp. 142° (Zers.), $[\alpha]_D -30^\circ$ ($\leq 1,0$, Wasser).

Anal. Ber. für $C_8H_{14}N_4O_5 \cdot 0,5 H_2O$ (255,2): C, 37,64; H, 5,93; N, 21,95. Gef.: C, 37,93; H, 6,18; N, 21,92.

2-Acetamido-2-desoxy- β -D-glukopyranosylamin (3). — In Methanol (84 ml) wurde 2 (2 g) unter Zusatz von Platinoxid (200 mg) bei Raumtemp. 2 Stdn. lang katalytisch hydriert. Der Katalysator wurde abfiltriert. Das unter vermindertem

Druck eingeengte Filtrat lieferte die Substanz, die aus Methanol umkristallisiert wurde; dabei wurden farblose Nadeln (1,6 g) erhalten; Schmp. 140–143° (Zers.), $[\alpha]_D^{19} -9,9^\circ$ (c 1,9, Wasser, bestimmt sofort nach der Auflösung), $[\alpha]_D^{19} -3,4^\circ$ (c 1,9, Wasser, bestimmt nach 24 Stdn.). Unter diesen Bedingungen erhielt man kein Diglycosylamin.

Anal. Ber. für $C_8H_{16}N_2O_5 \cdot 0,5 H_2O$ (229,2): C, 41,91; H, 7,48; N, 12,22. Gef.: C, 42,18; H, 7,36; N, 12,66.

2-Acetamido-1-N-(1-benzyl-N-benzyloxycarbonyl-4-L-aspartyl)-2-desoxy- β -D-glukopyranosylamin (6). — Zu einer Lösung von 3 (0,2 g) und 1-Benzyl-N-benzyloxycarbonyl-L-aspartat (0,3 g) in 4:1 Pyridin–Wasser (6 ml) wurden *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimid (0,22 g) gegeben. Es wurde bei Zimmertemp. 2 Stdn. lang gerührt und über Nacht stehengelassen. Dann wurde 1 Tropfen Essigsäure hingefügt und 10 Min lang gerührt. Das durch Abfiltrieren des Dicyclohexylharnstoffs erhaltene Filtrat wurde unter vermindertem Druck abdestilliert. Der hierbei hinterbliebene amorphe Rückstand wurde ohne Reinigung weiter verarbeitet.

2-Acetamido-1-N-(4-L-aspartyl)-2-desoxy- β -D-glukopyranosylamin (8). — Unter Zusatz von 0,11 g Paladium-Kohle (10%) wurde die Verbindung 6 (0,5 g) in Methanol (65 ml) 5 Stdn. lang katalytisch hydriert. Das Lösungsmittel wurde entfernt und der Rückstand aus heißem wässrigen Äthanol umkristallisiert; 0,18 g, Schmp. 250° (Zers.), $[\alpha]_D^{22} +24,9^\circ$ (c 1,0, Wasser). Lit.¹: Monohydrat, Schmp. 220,5° (Zers.). Lit.⁵: Monohydrat, Schmp. 219–221° (Zers.), $[\alpha]_D^{26} +24^\circ$ (c 1,0, Wasser). Wenn 8 aus kaltem wässrigen Äthanol umkristallisiert wurde, erhielt man ein Additionsprodukt mit 3 Mol Wasser. Es schmilzt bei 220–222° (Zers.). Siehe Ref. 4.

Anal. Ber. für $C_{12}H_{21}N_3O_8$ (335,3): C, 42,98; H, 6,31; N, 12,53. Gef.: C, 42,86; H, 6,23; N, 12,45.

2-Acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-1-N-acetyl-2-desoxy- β -D-glukopyranosylamin (5). — Verbindung 3 (0,5 g) wurde in Pyridin (12 ml) mit Acetanhydrid (38 ml) bei 0° acetyliert. Nach drei Tagen wurde die Lösung in Eiswasser (100 ml) gegossen und mit Chloroform extrahiert. Man wusch den Extrakt mit m Salzsäure, Wasser, wässriger Lösung von Natriumhydrogencarbonat und mit Wasser, trocknete mit Natriumsulfat und engte i. Vak. ein, wobei eine farblose Masse verblieb. Aus Äthanol wurden Nadeln (0,5 g) vom Schmp. 239–240° (Zers.), $[\alpha]_D^{32} +17,9^\circ$ (c 1,0, Pyridin) erhalten. Lit.⁵: Schmp. 236–237°, $[\alpha]_D^{24} +12,5^\circ$ (c, 2,0, chloroform).

Anal. Ber. für $C_{16}H_{24}N_2O_9$ (388,4): C, 49,48; H, 6,23; N, 7,21. Gef.: C, 49,08; H, 6,01; N, 7,17.

2-Acetamido-1-N-(N-benzyloxycarbonylglycyl)-2-desoxy- β -D-glukopyranosylamin (9). — Analog Verbindung 6 wurde 9 aus 3 und *N*-Benzyloxycarbonylglycin dargestellt. Das nach dem Abfiltrieren des *N,N'*-Dicyclohexylureas erhaltene Filtrat wurde unter vermindertem Druck eingedampft. Aus dem Rückstand wurde 9 aus Methanol umkristallisiert. Farblose Nadeln, Schmp. 230° (Zers.), $[\alpha]_D^{13} +41,5^\circ$ (c 1,0, Pyridin).

Anal. Ber. für $C_{18}H_{25}N_3O_8$ (411,4): C, 52,55; H, 6,13; N, 10,21. Gef.: C, 52,66; H, 6,10; N, 10,26.

2-Acetamido-1-N-glycyl-2-desoxy- β -D-glukopyranosylamin (10). — Wie die

Verbindung 8 wurde 10 aus der Verbindung 9 durch Hydrierung gewonnen. Die aus wässrigem Äthanol umkristallisierte Verbindung 10 zeigte den Schmp. von 236° (Zers.), $[\alpha]_D^{19} + 25,4^\circ$ (c 1,0, Wasser).

Anal. Ber. für $C_{10}H_{19}N_3O_6$ (277,3): C, 43,31; H, 6,91; N, 15,16. Gef.: C, 43,12; H, 6,93; N, 14,89.

2-Acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-1-N-(1-benzyl-N-benzyloxycarbonyl-4-L-aspartyl)-2-desoxy-β-D-glukopyranosylamin (7). — Die Acetylierung von 6 wurde entsprechend der für 3 beschriebenen durchgeführt. Der hierbei erhaltene Rückstand wurde aus Äthanol umkristallisiert, wobei farblose Nadeln, Schmp. 213–217° (Zers.), $[\alpha]_D^{20} + 12,0^\circ$ (c 0,5, Chloroform) erhalten wurden. Lit.: Schmp. 221–222° (Ref. 1); Schmp. 220–221°, $[\alpha]_D^{26,5} + 17^\circ$ (c 2,0, Chloroform) (Ref. 5).

Anal. Ber. für $C_{33}H_{39}N_3O_{13}$ (685,7): C, 57,80; H, 5,73; N, 6,13. Gef.: C, 57,74; H, 5,83; N, 5,98.

2-Acetamido-3,4,6-O-tri-acetyl-1-N-(N-benzyloxycarbonylglycyl)-2-desoxy-β-D-glukopyranosylamin (11). — Durch Acetylierung von 9 wurde 11 ähnlich der Überführung von 3 in 5 gewonnen. Kristallisation aus Äthanol nach üblichem Aufarbeiten, Schmp. 195–196° (Zers.), $[\alpha]_D^{20} + 12,8^\circ$ (c 1,1, Pyridin).

Anal. Ber. für $C_{24}H_{31}N_3O_{11}$ (537,5): C, 53,62; H, 5,81; N, 7,82. Gef.: C, 53,47; H, 5,83; N, 7,83.

DANK

Wir möchten Herrn Dr. H. Morimoto, Forschungslaboratorium für Chemie der Takeda Chemische Industrie A.G., Osaka, für die Aufnahme von 100 MHz N.m.r.-Spektren sowie dem Forschungsinstitut der Firma Shionogi, Osaka, für die Aufnahme der O.r.d.-Spektren herzlich danken.

LITERATUR

- 1 G. S. MARKS, R. D. MARSHALL UND A. NEUBERGER, *Biochem. J.*, 87 (1963) 274.
- 2 I. YAMASHINA, K. BAN-I UND M. MAKINO, *Biochim. Biophys. Acta.*, 78 (1963) 382.
- 3 A. YAMAMOTO, C. MIYASHITA UND H. TSUKAMOTO, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 15 (1964) 151.
- 4 A. YAMAMOTO, C. MIYASHITA UND H. TSUKAMOTO, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 13 (1965) 1041.
- 5 C. H. BOLTON, L. HOUGH UND M. Y. KHAN, *Biochem. J.*, 101 (1966) 184.
- 6 C. H. BOLTON UND R. W. JEANLOZ, *J. Org. Chem.*, 28 (1963) 3228.
- 7 M. MAKINO, T. KOJIMA, T. OHGUSHI UND I. YAMASHINA, *J. Biochem.* (Tokyo), 63 (1968) 186.
- 8 A. YAMAMOTO, M. KIYOZUMI UND H. TSUKAMOTO, *Abstr. Meet. Jap. Biochem. Soc.*, 38 (1965) 239.
- 9 A. YAMAMOTO, C. MIYASHITA UND H. TSUKAMOTO, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 13 (1965) 1036.
- 10 H. LIBERT, I. SCHUSTER UND L. SCHMID, *Chem. Ber.*, 101 (1968) 1092.
- 11 K. IGARASHI UND T. HONDA, *J. Org. Chem.*, 32 (1967) 2521.
- 12 J. C. SOWDEN UND C. H. BOWERS, *Chem. Ind.* (London), (1962) 1827.
- 13 I. LISTOWSKY, G. AVIGAD UND S. ENGLARD, *Carbohydr. Res.*, 8 (1968) 205.
- 14 F. MICHEEL UND H. WULFF, *Chem. Ber.*, 89 (1956) 1521.

Carbohydr. Res., 14 (1970) 355–364