

Reaktion des N-Nitroso-N-acetyl-glycinesters mit Ammoniak: 2 ccm der mit ^{18}O markierten Nitroso-Verbindung wurden in 20 ccm absol. Äther und 4 ccm absol. Methanol gelöst und bei einer Temperatur von -10° bis 0° gasförmiges Ammoniak eingeleitet. Nach ungefähr 10 Min. war die Liebermannsche Reaktion negativ. Der Niederschlag von Ammonium-carbamat und wenig Acetamid wurde rasch abfiltriert und mit wenig absol. Äther gewaschen.

Beim Eindampfen des Filtrates destillierte Diazomethan mit dem Äther in die Vorlage. Als Rückstand hinterblieb Acetamid.

Das Ammonium-carbamat wurde in einen Kolben gegeben, der mit einer Hochvakuum-pumpe und einem Gasballon über ein mit wasserfreiem Kupfersulfat gefülltes Rohr in Verbindung stand. Während Substanz und Kolben auf die Temperatur der flüssigen Luft abgekühlt wurden, wurde das System evakuiert. Nach Entfernung der Pumpe wurde der Gasballon mit flüssiger Luft abgekühlt, um dort das Kohlendioxyd, welches sich beim Erwärmen des Ammonium-carbamidats bildet, zu kondensieren. Das so erhaltene Gas wurde massenspektroskopisch untersucht⁴⁾.

Die Messungen wurden ausgeführt mit einem Massenspektrometer des Typs 21-103 der Consolidated Electrodynamics Corp. Ausgewertet wurden jeweils die Ionenkonzentrationen von $^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{16}\text{O}$, $^{13}\text{C}^{16}\text{O}^{16}\text{O}$ und $^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{18}\text{O}$. Der Wert 0.91 % Anteil an ^{18}O im Sauerstoff des CO_2 ist die Hälfte des prozentualen Anteils von $^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{18}\text{O}$ an der Summe der 3 Isotopen.

WOLFGANG MEYER ZU RECKENDORF und WILLIAM A. BONNER

Schwefel-Substitutionsprodukte von Aminozuckern, II¹⁾

S- β -D-Glucosaminyloxanthogenat

Aus dem Department of Chemistry, Stanford University, Stanford, California, USA

(Eingegangen am 3. März 1961)

Das Hydrochlorid des S- β -D-Glucosaminyloxanthogenats (IV) wurde über zwei Zwischenprodukte aus dem kürzlich beschriebenen 1-Brom-1-desoxy-3.4.6-triacetyl-N-anisal- α -D-glucosamin (I) dargestellt: Raney-Nickel-Desulfurierung der O.N-Tetraacetylverbindung ergab den 2-Acetamino-2-desoxy-1.5-anhydro-D-sorbit, der ebenfalls durch Lithiumalanat-Reduktion des 1-Brom-1-desoxy-3.4.6-triacetyl- α -D-glucosamin-hydrobromids erhalten werden konnte.

Kristallisierte Schwefel-Substitutionsprodukte von Kohlenhydraten mit freien Mercapto- und Hydroxylgruppen sind bisher nicht beschrieben worden. Das von uns vor kurzem gefundene kristallisierte 1-Thio-D-glucosamin-hydrochlorid¹⁾ erwies sich bei Lagerung an der Luft als instabil. Zwischen den einzelnen Möglichkeiten einer Veränderung (Anhydridbildung, Oxydation, Anomerisierung, Hydrolyse) konnte bis-

¹⁾ Teil I: W. MEYER ZU RECKENDORF und W. A. BONNER, J. org. Chemistry 26, [1961], im Druck.

her noch nicht entschieden werden. Unsere Bemühungen gingen deshalb dahin, die Schwefelfunktion mit einer Schutzgruppe zu blockieren, die *in vitro* wie *in vivo* leicht unter Freisetzung des Thiols abhydrolysierbar sein sollte, ohne jedoch dabei gleichzeitig die Aminogruppe zu blockieren, wie es bei einer Acetylgruppe der Fall sein würde. Acetylwanderung vom Schwefel- zum Stickstoffatom tritt augenblicklich ein, wenn die Aminogruppe aus ihrem Salz in Freiheit gesetzt wird^{1,2)}, wahrscheinlich über die intermediäre Ausbildung eines Thiazolidinringes. Wir wählten deshalb den Xanthogenatrest zur Einführung und zum Schutze der Mercaptogruppe.

Xanthogenate der Aminozucker wurden bisher nicht beschrieben. Durch Reaktion des bereits zur Darstellung des 1-Thio-D-glucosamins benutzten 1-Brom-1-desoxy-3.4.6-triacetyl-N-anisal- α -D-glucosamins (I)³⁾ mit Kaliumäthylxanthogenat erhielten wir das S-[3.4.6-Triacetyl-N-anisal- β -D-glucosaminyl]-äthylxanthogenat (II) in guter Ausbeute. Hydrolyse der Schiffschen Base mit Chlor- bzw. Bromwasserstoffsäure in Aceton⁴⁾ ergab das Hydrochlorid IIIa und das Hydrobromid IIIb. Von W. SCHNEIDER und Mitarbeitern⁵⁾ wurde früher berichtet, daß der Xanthogenatrest im 2.3.4.6-Tetraacetyl- β -D-glucosyl-xanthogenat gegen methanolische Salzsäure bei 0° beständig ist, die Acetylgruppen jedoch dabei verseift werden. Versuche mit unserem Hydrochlorid IIIa ergaben, daß diese Bedingungen für die Entacetylierung nicht ausreichten, wahrscheinlich infolge Abschirmung durch den Ammoniumstickstoff. Verschärfung der Bedingungen (kurzzeitiges Erwärmen in wäßriger Salzsäure) bewirkte zwar neben völliger Entacetylierung eine teilweise Hydrolyse zu Glucosamin-hydrochlorid, jedoch ließ sich das Endprodukt durch Umkristallisation reinigen und als S- β -D-Glucosaminyl-äthylxanthogenat-hydrochlorid (IV) charakterisieren. Es stellt ein farbloses Kristallpulver dar, das im Gegensatz zum 1-Thio-D-glucosamin-hydrochlorid im festen Zustand an der Luft beständig ist. Wäßrige Lösungen zeigen jedoch nach einigen Stunden Zersetzungserscheinungen (Gelbfärbung, Geruch nach Schwefelwasserstoff). Aus diesem Grunde schien auch eine säulenchromatographische Reinigung des Rohproduktes, die wahrscheinlich wirkungsvoller als einfaches Umkristallisieren gewesen wäre, nicht angebracht.

Das Hydrobromid IIIb ergab bei saurer Verseifung in verdünntem Methanol Gemische von unvollständig entacetylierten Verbindungen, aus denen bei kleinen Ansätzen eine gut kristallisierende Substanz V isoliert werden konnte, die nach Analyse und IR-Spektrum nur noch eine Acetylgruppe enthält. Größere Ansätze (1 g) konnten nicht zur Kristallisation gebracht werden. Auf die Lokalisierung der Acetylgruppe wurde deshalb verzichtet.

Der Konstitutionsbeweis des Endproduktes IV wurde durch Acetylierung zum S-[2.3.4.6-Tetraacetyl- β -D-glucosaminyl]-äthylxanthogenat (VII) erbracht, das zum Vergleich von uns ebenfalls aus 1-Chlor-1-desoxy-2.3.4.6-tetraacetyl- α -D-glucosamin⁶⁾ (VI) und Kaliumäthylxanthogenat hergestellt wurde. Beide Produkte waren identisch.

Zur weiteren Sicherung der Konstitution der von uns als Schlüsselsubstanzen benutzten völlig acetylierten Verbindungen VII und der entsprechenden 1-S-Acetyl-

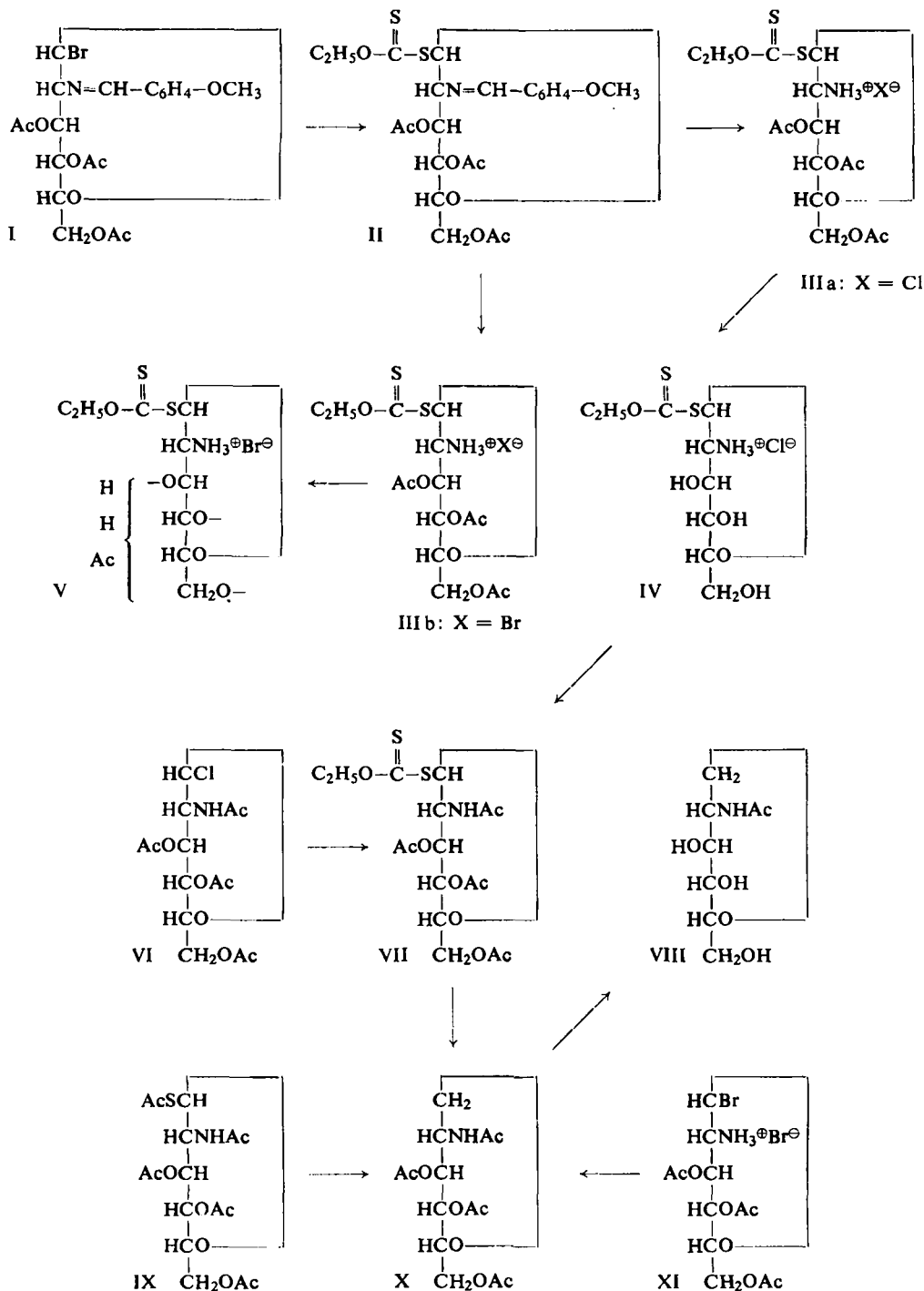
2) TH. WIELAND und E. BOKELMANN, Liebigs Ann. Chem. **576**, 20 [1952].

3) L. ZERVAS und S. KONSTAS, Chem. Ber. **93**, 435 [1960].

4) M. BERGMANN und L. ZERVAS, Ber. dtsh. chem. Ges. **64**, 975 [1931].

5) W. SCHNEIDER, R. GILLE und K. EISEL, Ber. dtsh. chem. Ges. **61**, 1244 [1928].

6) D. H. LEABACK und P. G. WALKER, J. chem. Soc. [London] **1957**, 4754.



Verbindung IX¹⁾ wurden diese mit Raney-Nickel⁷⁾ desulfuriert. Die erhaltenen sirupösen Produkte konnten in keinem Falle zur Kristallisation gebracht werden. Ihre IR-Spektren zeigten eine Hydroxylbande von wechselnder Intensität und machten eine stattgefunden Entacetylierung der zu erwartenden 1-Desoxyverbindung durch den Katalysator wahrscheinlich. Da auch ein Zusatz von Ionenaustauscher (Amberlite IRC 50)⁸⁾ zum Abfangen von Alkalispuren im Nickel wirkungslos blieb, wurde der erhaltene Sirup sowohl mit methanolischem Ammoniak völlig *O*-entacetyliert als auch mit Pyridin/Acetanhydrid reacctyliert. Wir erhielten auf diese Weise den 2-Acetamino-2-desoxy-1.5-anhydro-D-sorbit (2-Acetamino-2-desoxy-polygalit) (VIII) bzw. dessen Tri-*O*-acetyl-Derivat (X) in guter Ausbeute. Diese beiden Verbindungen sind bereits von L. HOUGH und M. I. TAHA⁹⁾ als Nebenprodukte in geringer Menge erhalten worden. Da wir jedoch nicht zu vernachlässigende Schmelzpunktsdifferenzen mit unseren Verbindungen feststellten, war ein Vergleich mit authentischem Material wünschenswert. Das Verfahren von HOUGH und TAHA schien nicht leicht wiederholbar. Da andererseits Polygalit in guter Ausbeute durch Lithiumalanat-Reduktion von 1-Brom-1-desoxy-2.3.4.6-tetraacetyl- α -D-glucose¹⁰⁾ erhältlich ist, wandten wir dieses Verfahren auf das 1-Brom-1-desoxy-3.4.6-triacetyl- α -D-glucosamin-hydrobromid (XI)^{3, 11)} an. Die verschiedenen bekannten *N*-Acylglucosaminyhalogenide lassen sich für die Reduktion selbstverständlich nicht verwenden, da sie *N*-Alkyl-Verbindungen ergeben würden. — Die Aufarbeitung des Reaktionsansatzes mußte dem speziellen Problem angepaßt werden. Sie erfolgte durch Fällung des Aluminiums aus der salzsauren wäßrigen Phase mit Ammoniak und Extraktion des Produktes nach Acetylierung des gesamten, durch Eindampfen erhaltenen Salzgemisches¹²⁾. Wir erhielten auf diese Weise den 3.4.6-Triacetyl-2-acetamino-2-desoxy-1.5-anhydro-D-sorbit (X) in guter Ausbeute. Diese Verbindung wie auch die daraus durch Verseifung gewonnene Verbindung VIII waren mit den von uns durch Raney-Nickel-Desulfurierung erhaltenen in jeder Hinsicht identisch.

Die Autoren danken dem U. S. ARMY MEDICAL RESEARCH AND DEVELOPMENT COMMAND (Contract No. DA-49-193-MD-2070) für die großzügige Unterstützung dieser Arbeit.

7) N. K. RICHTMYER, C. J. CARR und C. S. HUDSON, *J. Amer. chem. Soc.* **65**, 1477 [1943]; W. A. BONNER und J. E. KAHN, ebenda **73**, 2241 [1951].

8) F. J. MCEVOY, M. J. WEISS und B. R. BAKER, *J. Amer. chem. Soc.* **82**, 205 [1960].

9) *J. chem. Soc. [London]* **1956**, 2042.

10) R. K. NESS, H. G. FLETCHER und C. S. HUDSON, *J. Amer. chem. Soc.* **72**, 4547 [1950].

11) J. G. IRVINE, D. MCNICHOLL und A. HYND, *J. chem. Soc. [London]* **99**, 250 [1911].

12) Eine Trennung mit Ionenaustauschern, wie sie NESS, FLETCHER und HUDSON anwandten, war durch die Anwesenheit der Aminogruppe nicht möglich.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE*)

S-[3.4.6-Triacetyl-N-anisal-β-D-glucosaminyl]-äthylxanthogenat (II): Eine Lösung von 4.86 g (0.01 Mol) *1-Brom-1-desoxy-3.4.6-triacetyl-N-anisal-α-D-glucosamin*³⁾ (I) in 50 ccm Aceton wird mit 2.4 g (0.015 Mol) *Kaliumäthylxanthogenat* in 50 ccm Äthanol versetzt. Nach 1stdg. Aufbewahren bei Raumtemp. wird die Lösung mitsamt dem ausgefallenen KBr in Wasser gegeben und das sich ölig abscheidende Produkt ausgeäthert. Nach Trocknen mit wasserfreiem Magnesiumsulfat wird die äther. Lösung i. Vak. abgedunstet und der zurückbleibende Sirup mit Äthanol versetzt. Das Produkt kristallisiert im Eisschrank aus. Ausbeute nach einmaligem Umkristallisieren aus Äthanol 3.5 g (66% d. Th.), Schmp. 128–129°, $[\alpha]_D^{25}$: +133° ($c = 0.98$, in Chloroform).

$C_{23}H_{29}NO_9S_2$ (527.6) Ber. C 52.36 H 5.54 N 2.66 S 12.16
Gef. C 52.02 H 5.13 N 2.63 S 11.72

S-[3.4.6-Triacetyl-β-D-glucosaminyl]-äthylxanthogenat-hydrochlorid (IIIa): 5.27 g (0.01 Mol) II in 100 ccm Aceton werden zum Sieden erhitzt und 1 ccm konz. Salzsäure zugegeben. Das Produkt kristallisiert nach wenigen Augenblicken aus, die Kristallisation wird mit Äther vervollständigt und das Hydrochlorid aus Äthanol/Äther umkristallisiert. Ausb. 4.2 g (94% d. Th.), Schmp. 188–189° (Zers.), $[\alpha]_D^{25}$: +21.9° ($c = 0.87$, in Äthanol).

$C_{15}H_{23}NO_8S_2 \cdot HCl$ (446.0) Ber. C 40.40 H 5.43 Cl 7.95 N 3.14 S 14.38
Gef. C 40.57 H 5.41 Cl 7.68 N 3.07 S 14.50

S-[3.4.6-Triacetyl-β-D-glucosaminyl]-äthylxanthogenat-hydrobromid (IIIb): Dargestellt analog IIIa, jedoch aus Aceton/Äther umkristallisiert. Ausb. 4.4 g (90% d. Th.), Schmp. 174–175° (Zers.), $[\alpha]_D^{25}$: +21.4° ($c = 1.2$, in Äthanol).

$C_{15}H_{23}NO_8S_2 \cdot HBr$ (490.4) Ber. C 36.74 H 4.93 Br 16.30 N 2.86 S 13.08
Gef. C 36.85 H 4.86 Br 15.91 N 2.99 S 13.07

S-β-D-Glucosaminyl-äthylxanthogenat-hydrochlorid (IV): 500 mg IIIa werden in Salzsäure (35 ccm konz. Salzsäure + 15 ccm Wasser) bis zur Lösung und HCl-Entwicklung erwärmt und über Nacht bei Raumtemperatur belassen. Die völlig farblose, geringfügig nach Schwefelverbindungen riechende Lösung wird i. Vak. zur Trockne eingedampft, der Sirup mit absol. Äthanol aufgenommen und Äthylacetat bis zur Trübung zugesetzt. Die erste, schmierige Fällung wird verworfen und das Produkt durch weitere Zugabe von Äthylacetat zur Kristallisation gebracht. Ausb. 311 mg (87% d. Th.). Zur Analyse wird zweimal aus Äthanol/Äthylacetat umkristallisiert, jeweils unter Verwerfung der ersten Fällung. Schmp. 148–149° (Zers.), $[\alpha]_D^{25}$: –30° ($c = 0.67$, in Wasser).

$C_9H_{17}NO_5S_2 \cdot HCl$ (319.8) Ber. C 33.80 H 5.67 Cl 11.08 N 4.38 S 20.05
Gef. C 33.57 H 5.83 Cl 11.04 N 4.44 S 19.63

S-[Monoacetyl-β-D-glucosaminyl]-äthylxanthogenat-hydrobromid (V): 100 mg IIIb in 2 ccm Methanol werden mit 2 ccm konz. Bromwasserstoffsäure versetzt und über Nacht bei Raumtemp. stengelassen. Die Lösung wird i. Vak. zum Sirup eingedampft und dieser mit absol. Äthanol/Äthylacetat zur Kristallisation gebracht. Es resultieren 30 mg farblose Kristalle vom Schmp. 177–178° (Zers.), die im IR-Spektrum zwei scharfe OH-Banden bei 3360 und 3250/cm und eine ungewöhnlich scharfe Carbonylbande bei 1745/cm aufweisen. Die Analyse des nicht weiter gereinigten Produktes trifft ungefähr für eine Monoacetylverbindung zu.

$C_{11}H_{19}NO_6S_2 \cdot HBr$ (406.3) Ber. C 32.51 H 4.96 Br 19.67 N 3.45 S 15.78
Gef. C 31.95 H 4.82 Br 18.84 N 3.33 S 15.51

*) Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

S-[2.3.4.6-Tetraacetyl- β -D-glucosaminyl]-äthylxanthogenat (VII): 3.66 g (0.01 Mol) *l*-Chlor-*l*-desoxy-2.3.4.6-tetraacetyl- α -D-glucosamin⁶⁾ (VI) in 30 ccm Aceton werden mit 2.4 g (0.015 Mol) Kaliumäthylxanthogenat in 50 ccm Äthanol versetzt, die Mischung 1 Stde. bei Raumtemp. belassen und dann in 400 ccm Wasser gegeben. Das Produkt kristallisiert in farblosen Nadeln aus, die aus Äthylacetat/Petroläther umkristallisiert werden. Ausb. 3.7 g (82% d. Th.), Schmp. 143–144°, $[\alpha]_D^{25}$: +36° ($c = 1.56$, in Chlf.).

$C_{17}H_{25}NO_9S_2$ (451.5) Ber. C 45.22 H 5.58 N 3.10 S 14.20
Gef. C 44.72 H 5.54 N 3.12 S 14.31

Acetylierung von IV: 50 mg *IV* geben mit *Acetanhydrid* in Pyridin und nach Umkristallisieren aus Äthylacetat/Petroläther 23 mg vom Schmp. und Misch-Schmp. mit *VII*: 140–141°; das IR-Spektrum ist mit dem von *VII* identisch.

3.4.6-Triacetyl-2-acetamino-2-desoxy-1.5-anhydro-D-sorbit (*X*)

a) *Durch Desulfurierung mit Raney-Nickel*: 500 mg *VII* werden mit 4 g Raney-Nickel in 20 ccm absol. Äthanol 3 Stdn. unter Rückfluß erhitzt, die Lösung durch Kieselgur filtriert und i. Vak. eingedampft. Der erhaltene Sirup wird mit 5 ccm Pyridin und 3 ccm Acetanhydrid reacetyliert und ergibt nach konventioneller Aufarbeitung 260 mg farblose Nadeln (71% d. Th.), Schmp. 160–161° nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Äthylacetat/Petroläther (Lit.⁹⁾: 164°). $[\alpha]_D^{25}$: $\pm 0^\circ$ ($c = 1.1$, in Chlf.).

Desulfurierung von *IX* ergibt ein identisches Produkt.

b) *Durch Lithiumalanat-Reduktion*: 2 g *l*-Brom-*l*-desoxy-3.4.6-triacetyl- α -D-glucosaminhydrobromid¹¹⁾ (*XI*) in 50 ccm absol. Tetrahydrofuran läßt man unter Rühren innerhalb 30 Min. zu 1 g Lithiumalanat in 50 ccm absol. Tetrahydrofuran tropfen, rührt noch 30 Min. weiter und zersetzt den Lithiumalanat-Überschuß mit 5 ccm Äthylacetat. Der ausgefallene Aluminiumkomplex wird mit 50 ccm verd. Salzsäure in Lösung gebracht und die wäßrige Phase abgetrennt. Nach Ausfällen des Aluminiums mit verd. Ammoniak, Filtrieren und Ansäuern mit verd. Salzsäure wird die wäßr. Lösung i. Vak. zur Trockne eingedampft, der Salzurückstand über P_2O_5 sorgfältig getrocknet und mit 30 ccm Pyridin und 20 ccm *Acetanhydrid* acetyliert. Die Aufarbeitung ergibt 950 mg farblose Nadeln (65% d. Th.), Schmp. 160 bis 161°, identisch mit dem durch Desulfurierung erhaltenen Präparat.

2-Acetamino-2-desoxy-1.5-anhydro-D-sorbit (VIII): 50 mg *X* werden in 3 ccm mit Ammoniakgas bei 0° gesättigtem absol. Methanol über Nacht bei Raumtemp. stengelassen. Die Lösung wird i. Vak. eingedampft, der Sirup mit absol. Äthanol aufgenommen und mit Äther zur Kristallisation gebracht. Ausb. 30 mg (100% d. Th.), Schmp. 204–206° nach einmaligem Umkristallisieren mit absol. Äthanol/Äthylacetat (Lit.⁹⁾: 190°).

Verseifung des Desulfurierungs- wie des Reduktionsproduktes ergibt identische Präparate. Die (sehr kleine) spezif. Drehung konnte infolge Substanzmangels nicht genau bestimmt werden.