

Kurt Heyns, Roger Harrison und Hans Paulsen

Synthese eines 1→3-verknüpften Disaccharids aus zwei D-Glucosamin-Einheiten

Aus dem Institut für Organische Chemie, Chemisches Staatsinstitut, Universität Hamburg
(Eingegangen am 23. August 1966)



Der Diphenoxy-phosphoryl-Rest ist eine zur Blockierung der 2-Aminogruppen in Aminozuckern geeignete Schutzgruppe, die die Koenigs-Knorr-Synthese zu 1→3-verknüpften Disacchariden mit zwei Aminozucker-Einheiten ermöglicht. Kondensation von 2-[Diphenoxy-phosphorylamino]-3.4.6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy- α -D-glucopyranosylbromid (**5**) mit der an der 3-Hydroxylgruppe unblockierten Verbindung **2** führt bevorzugt zum 1→3- β -verknüpften Disaccharid **8a**. Über eine Reihe von Entblockierungsschritten ist daraus 2-Acetamino-3-*O*-[2-acetamino-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl]-2-desoxy- α -D-glucopyranose (**12**) in kristallisierter Form erhältlich.



Zur Aufklärung der Verknüpfungsart in Aminozucker-Polysacchariden stehen häufig die erforderlichen Disaccharid-Einheiten für Vergleichszwecke nicht zur Verfügung. Bisher ist eine Synthese von Aminozucker-Disacchariden, die 2-Amino-2-desoxy-hexosen als nichtreduzierende Einheit enthalten, nur mit einer 1→6-Verknüpfung gelungen. Gerade aber die 1→3- und 1→4-verknüpften Disaccharide besitzen besonderes Interesse, da diese Bindungsart in natürlichen Aminozucker-Polysacchariden am weitesten verbreitet ist. Wir untersuchten daher die Möglichkeiten der Synthese und berichten über die erfolgreiche Darstellung eines 1→3-verknüpften Aminozucker-Disaccharids.

Der Anwendung der Koenigs-Knorr-Synthese auf 2-Amino-2-desoxy-hexosen stehen erhebliche Schwierigkeiten entgegen. *Micheel* und *Petersen*¹⁾ fanden, daß 2-Acetamino-3.4.6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy- α -D-glucopyranosylbromid äußerst instabil ist und sich über eine Oxazolin-Zwischenstufe in eine 1-*O*-Acetyl-Verbindung umlagert und damit der Reaktion zur Bildung eines Glykosids ausweicht. Nur in frischer Lösung konnte der Halogenzucker zu Glucosaminiden²⁾ und in niedriger Ausbeute zu 1→1-²⁾ und 1→6³⁻⁵⁾-Disacchariden umgesetzt werden. Das Problem der Aminozucker-Disaccharid-Synthese ist somit davon abhängig, eine Blockierungsgruppe für die 2-Aminogruppe des Halogenaminozuckers zu finden, die folgende Forderungen erfüllt: Die Reaktion zum Halogenzucker muß durchführbar sein, die Gruppe soll keine Nachbargruppenreaktion zum Oxazolin zeigen, und sie soll so leicht abspaltbar sein, daß die Glykosidbindung nicht gefährdet wird.

1) *F. Micheel* und *H. Petersen*, Chem. Ber. **92**, 298 (1959).

2) *Y. Inouye*, *K. Onodera*, *S. Kitaoka* und *H. Ochiai*, J. Amer. chem. Soc. **79**, 4218 (1957).

3) *R. Kuhn* und *W. Kirschenlohr*, Chem. Ber. **87**, 384 (1954).

4) *T. Osawa* und *R. W. Jeanloz*, Carbohydrate Res. **1**, 181 (1965).

5) *Wang Yu* und *Tai Hsiung-I*, Acta chim. sinica **25**, 54 (1959), C. A. **54**, 6561a (1960).

Die *N*-Benzoyl-^{6,7)} und *N*-Benzylsulfonyl-^{8,9)}Gruppe ließen sich aus den dargestellten 1→6-Disacchariden nur schwierig wieder entfernen. Günstiger erwies sich die von *Lloyd* und *Roberts*¹⁰⁾ untersuchte *N*-2.4-Dinitro-phenyl-Gruppe und die Blockierung der Aminogruppe als Schiffsche Base mit dem *p*-Methoxy-benzyliden-Rest^{11,12)}, bei denen in beiden Fällen keine Nachbargruppenreaktion möglich ist. Im Hinblick auf die dabei erzielten mäßigen Ausbeuten an 1→6-Disacchariden erschien es wenig aussichtsreich, diese Methoden auf die Darstellung der 1→3-Disaccharide zu übertragen. Es ist bekannt, daß sekundäre 3-Hydroxylgruppen in Pyranose-Ringen erheblich weniger reaktiv sind als primäre 6-Hydroxylgruppen, so daß mit einem weiteren Absinken der Ausbeuten zu rechnen war.

Wir wählten zur Blockierung die *N*-Diphenoxy-phosphoryl-Gruppe, welche *Zervas* und *Konstas*¹³⁾ erfolgreich zur Darstellung von Glucosaminiden benutzten, die dabei in hohen Ausbeuten erhalten wurden. Durch Umesterung mit Benzylalkohol kann sie unter Austausch der Phenyl-Reste in die *N*-Dibenzyl-oxy-phosphoryl-Gruppe übergeführt werden, die hydrogenolytisch spaltbar ist. Ferner überprüften wir die *N*-Benzyl-oxy-carbonyl-Gruppe, mit deren Hilfe einige Glucosaminide von Derivaten des Cyclohexanols in relativ guten Ausbeuten dargestellt worden waren¹⁴⁾. Als Saccharid-kondensationspartner mit freier Hydroxylgruppe am C-Atom 3 wählten wir Benzyl-2-acetamino-4.6-*O*-benzyliden-2-desoxy- α -D-glucopyranosid (**2**)¹⁵⁾. Diese Verbindung läßt sich mit α -Acetobromgalaktose in 53-proz. Ausbeute zum Disaccharid umsetzen¹⁶⁾, womit gezeigt wird, daß die 3-Hydroxylgruppe für eine entsprechende Kondensation sterisch genügend frei ist.

Bei der Umsetzung von 2-Benzyl-oxy-carbonylamino-3.4.6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy- α -D-glucopyranosylbromid (**1**) mit **2** in Nitromethan/Chloroform bei Gegenwart von Quecksilbercyanid wurde **2** zu 75% zurückerhalten. Die gesamte Bromverbindung **1** war quantitativ in die Oxazolidon-Verbindung **3** übergeführt worden. Als Nebenprodukt wurde der 3-*O*-Benzyläther **4** zu 8% isoliert. Die erhaltenen drei Verbindungen ließen sich an einer Kieselsäule gut auftrennen. Die gefundene Produktverteilung zeigt klar, daß die *N*-Benzyl-oxy-carbonyl-Gruppe ausschließlich zur Nachbargruppe unter Bildung des Oxazolidon-Ringes in **3** reagiert. Bei dieser Reaktion wird Benzylbromid freigesetzt, welches teilweise sekundär mit **2** zu **4** reagiert. Die Brom-Verbindung **1** mit durch *N*-Benzyl-oxy-carbonyl-Gruppierung geschützter Aminogruppe ist also für eine Disaccharid-Synthese ungeeignet.

Die Kondensation von 2-[Diphenoxy-phosphorylamino]-3.4.6-tri-*O*-acetyl-2-desoxy- α -D-glucopyranosylbromid (**5**) mit **2** in trockenem Benzol bei Gegenwart von Quecksilbercyanid ergibt mit 31% Gesamtausbeute ein Gemisch der Disaccharide

6) *F. Micheel* und *E. Drescher*, Chem. Ber. **91**, 670 (1958).

7) *C. L. Stevens* und *P. Blumbergs*, J. org. Chemistry **30**, 2724 (1965).

8) *K. Onodera*, *S. Kitaoka* und *H. Ochiai*, J. org. Chemistry **27**, 156 (1962).

9) *M. L. Wolfrom* und *R. Wurmb*, J. org. Chemistry **30**, 3059 (1965).

10) *P. F. Lloyd* und *G. P. Roberts*, J. chem. Soc. [London] **1965**, 6910.

11) *F. E. Hardy*, J. chem. Soc. [London] **1965**, 375.

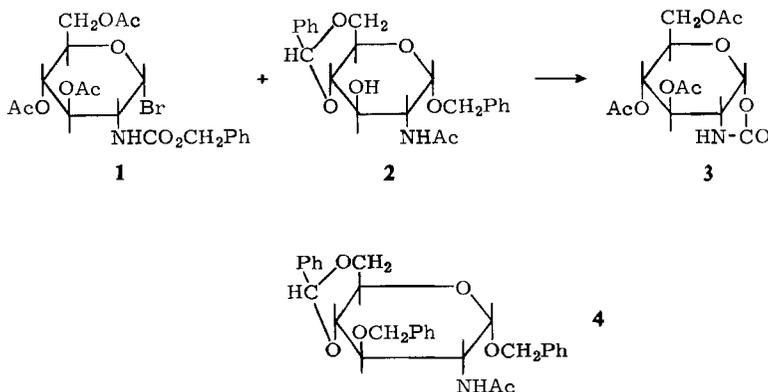
12) *F. E. Hardy*, *J. G. Buchanan* und *T. Baddily*, J. chem. Soc. [London] **1963**, 3360.

13) *L. Zervas* und *S. Konstas*, Chem. Ber. **93**, 435 (1960).

14) *T. Suami*, *S. Ogawa* und *S. Umezawa*, Bull. chem. Soc. Japan **36**, 459 (1963), C. A. **59**, 12895 g (1963).

15) *R. Kuhn*, *H. H. Baer* und *A. Seeliger*, Liebigs Ann. Chem. **611**, 236 (1958).

16) *H. M. Flowers* und *R. W. Jeanloz*, J. org. Chemistry **28**, 1377 (1963).



8a und **8b**. Die β -glykosidisch verknüpfte Verbindung **8a** stellt mit über 85% des Gemisches das Hauptprodukt dar. Das kristallisierte Disaccharid-Gemisch **8a** und **8b** ließ sich leicht im 4-g-Maßstab durch Chromatographie an Kieselgelsäulen gewinnen. An Ausgangsmaterial **2** ließen sich 25% zurückgewinnen. Weiter konnten Phenol mit 8% und ein Phenylglucosaminid (**6**) mit 0,3% Ausbeute isoliert werden.

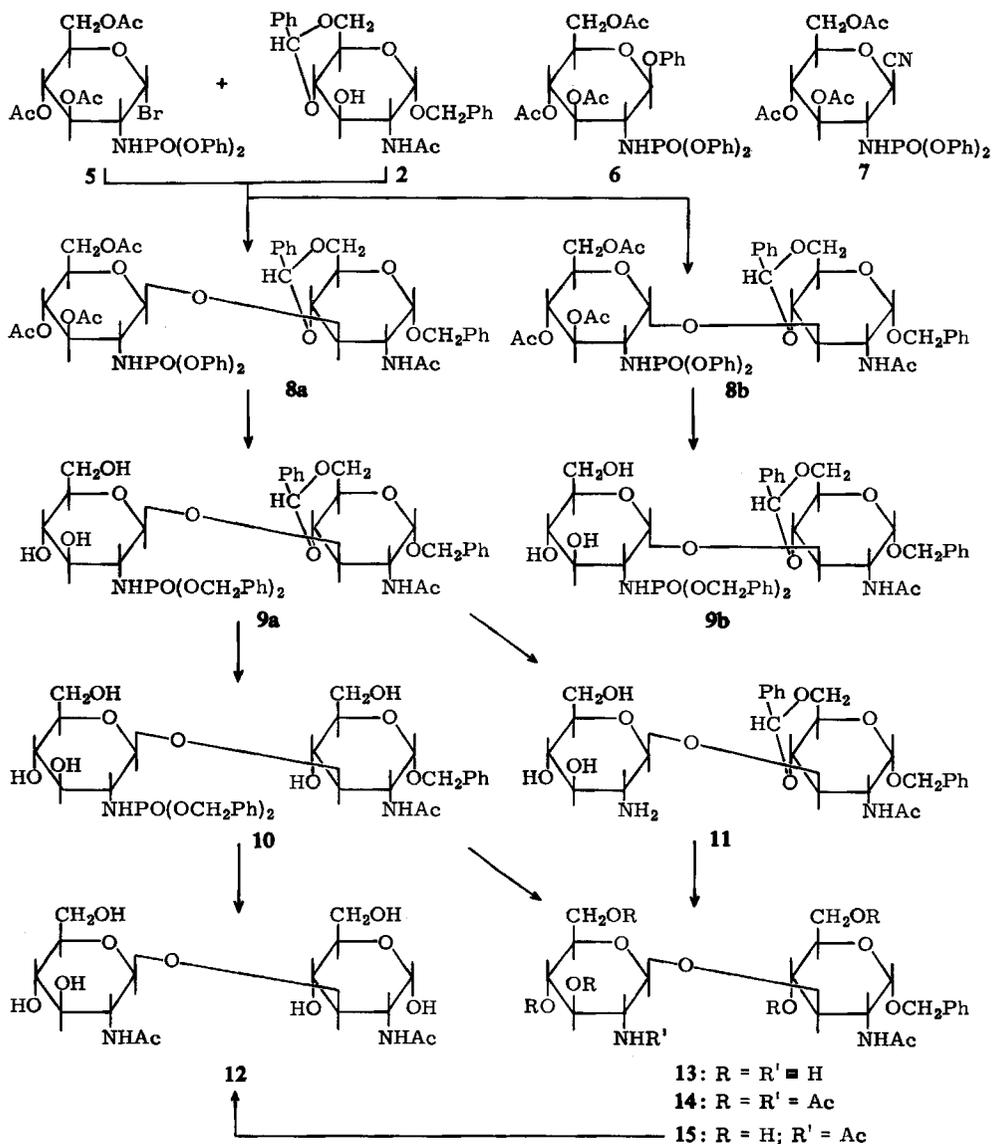
Ferner wurde als Nebenprodukt mit etwa 10% Ausbeute die 1-Cyan-Verbindung **7** chromatographisch nachgewiesen. **7** konnte auf anderem Wege kristallisiert gewonnen und in seiner Struktur sichergestellt werden¹⁷⁾. Die Bildung von **7** läßt sich durch einen nucleophilen Angriff des Cyanid-Anions auf die Brom-Verbindung **5** erklären. *Coxon* und *Fletcher*¹⁸⁾ haben die Reaktion von α -Acetobromglucose mit Cyanid-Anionen untersucht. Sie erhielten dabei zu etwa gleichen Teilen eine entsprechende 1-Cyan-Verbindung und ein 2-Cyan-2-methyl-1,3-dioxolan-Derivat, dessen Bildung durch Cyanid-Addition an ein durch Nachbargruppenreaktion gebildetes intermediäres 1,2-Acetoxonium-Ion erklärt wird. Da die Diphenoxy-phosphoryl-Gruppe keine Nachbargruppenreaktion eingeht, ist die Bildung eines entsprechenden cyclischen Cyan-Produkts nicht zu erwarten.

Das Auftreten von Phenol als Nebenprodukt ist auf eine partielle Hydrolyse des Phosphophenolesters zurückzuführen. Das Phenol bildet mit **5** teilweise das Glykosid **6**. Es ist bemerkenswert, daß keine Freisetzung von Phenol nachweisbar ist, wenn **5** allein mit Quecksilbercyanid umgesetzt wird. Der Anteil der gebildeten 1-Cyan-Verbindung **7** steigt dann auf etwa 25%. **2** ist in Benzol nur relativ schwer löslich und löst sich erst in dem Maße auf, wie die Kondensation zu **8a** und **8b** fortschreitet. In Nitromethan oder Nitromethan/Chloroform-Mischungen, in denen **2** gut löslich ist, ist der Anteil an Nebenprodukten der Kondensation erheblich größer. Auch läßt sich keine wesentliche Erhöhung der Ausbeute an **8a** und **8b** dadurch erzielen, daß zum Schluß der Reaktion weiteres **5** in Benzol zugesetzt wird.

Durch sorgfältige Chromatographie an Kieselgel konnte das Gemisch **8a** und **8b** in die reinen anomerer Komponenten aufgetrennt werden. Die Zuordnung erfolgte

¹⁷⁾ K. Propp, Diplomarbeit, Hamburg 1966.

¹⁸⁾ B. Coxon und H. G. Fletcher, J. Amer. chem. Soc. **85**, 2637 (1963).



aufgrund der optischen Drehungen. **8a** zeigt eine, wenn auch gering niedrigere spezifische Drehung als **8b**. Eine NMR-spektroskopische Bestimmung der Konfiguration erwies sich als undurchführbar, da das Signal des anomeren Protons der ersten Saccharideinheit im Spektrum nicht auffindbar war. Es erschien somit erforderlich, die getroffene Zuordnung durch Vergleich der optischen Drehungen auf der Stufe **9a** und **9b** zu überprüfen. Hierzu wurde das Gemisch **8a** und **8b** in mit Ammoniak gesättigtem Benzylalkohol umgesetzt. Es trat eine Spaltung aller *O*-Acetylgruppen und eine Umesterung der *N*-Diphenoxy-phosphoryl-Gruppe zur *N*-Dibenzyloxy-

phosphoryl-Gruppe ein. Das so erhaltene Gemisch **9a** und **9b** ließ sich durch Säulenchromatographie in die reinen kristallisierten anomeren Komponenten auftrennen. Es zeigte sich, daß das Hauptprodukt **9a** (33% Ausb.) wiederum eine niedrigere spezifische Drehung aufwies als **9b** (6% Ausb.).

Durch Einsatz von reinem Anomeren **8b** für die Umesterungsreaktion konnte bestätigt werden, daß **9b** tatsächlich aus **8b** gebildet wird. Damit dürfte die α,β -Zuordnung gesichert sein.

Durch Hydrolyse von **9a** mit 60-proz. Essigsäure ließ sich die Benzyliden-Gruppe selektiv abspalten, und es wurde mit 51% Ausbeute das kristallisierte Disaccharid **10** erhalten. Die katalytische Hydrierung von **10** mit Palladium-Schwarz in Methanol/Wasser führte in 20 Min. unter Abspaltung der Dibenzyl-oxy-phosphoryl-Gruppe zu **13**. Eine Weiterhydrierung unter Abspaltung der glykosidischen *O*-Benzyl-Gruppe trat unter diesen Bedingungen nicht ein. Das gleiche Verhalten wurde beobachtet, als man **9a** direkt mit Palladium in Methanol/Wasser hydrierte. Dabei erfolgte nur Abspaltung der Aminoschutzgruppe zu **11**. Eine selektive Hydrolyse von **11** mit Essigsäure lieferte unter Abspaltung der Benzyliden-Gruppe ebenfalls **13**.

Wird die Hydrierung von **10** in Essigsäure mit einem großen Überschuß an Palladium-Katalysator durchgeführt, so gelingt es, in einem Schritt die Dibenzyl-oxy-phosphoryl- und Benzyl-Gruppe abzuspalten. Das so erhaltene, chromatographisch reine Disaccharid wurde an der gebildeten freien Aminogruppe selektiv acetyliert und ergab dann die gewünschte freie 2-Acetamino-3-*O*-[2-acetamino-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl]-2-desoxy- α -D-glucopyranose (**12**) in kristallisierter Form.

Die Peracetylierung von **13** liefert das Septaacetat **14**, welches selektiv zum Benzylglykosid des Disaccharids (**15**) verseift werden konnte. Die hydrogenolytische Spaltung von **15**, die ebenfalls zum freien Disaccharid **12** führt, stellt einen weiteren Darstellungsweg für **12** dar, welcher die Isolierung der kristallisierten Zwischenstufen **13**, **14** und **15** ermöglicht.

Der *Alexander-von-Humboldt-Stiftung* dankt R. H. für die Gewährung eines Forschungsstipendiums.

Beschreibung der Versuche

Reaktion von 2-Benzyl-oxy-carbonylamino-3.4.6-tri-O-acetyl-2-desoxy- α -D-glucopyranosylbromid (1) mit Benzyl-2-acetamino-4.6-O-benzyliden-2-desoxy- α -D-glucopyranosid (2): 0.502 g **1** (1.0 mMol), 0.399 g **2**¹⁵⁾ (1.0 mMol) und 0.5 g *Quecksilber(I)-cyanid* wurden unter Rühren in 44 ccm Nitromethan/Chloroform (6:5) 2 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Die abgekühlte Lösung wurde mit 100 ccm Chloroform verdünnt, mit NaCl-Lösung (10%) und Wasser ausgeschüttelt, mit MgSO₄ getrocknet und i. Vak. eingengt. Der Restsirup wurde auf eine Kieselgelsäule (100 ccm) gegeben. Durch Elution mit Chloroform/Aceton (10:1) wurden Fraktionen in folgender Reihenfolge erhalten:

a) 0.04 g *Benzyl-2-acetamino-3-O-benzyl-4.6-O-benzyliden-2-desoxy- α -D-glucopyranosid (4)* (8% Ausb., bez. auf **2**). Aus Essigester Schmp. 260–261°. Misch-Schmp. mit der authent. Substanz¹⁵⁾ 261–263°;

b) 0.33 g *2'-Oxo-3.4.6-tri-O-acetyl-1.2-didesoxy- α -D-glucopyranosido[1.2;5'.4']oxazolidin (3)* als Sirup (100%, bez. auf **1**). Aus Essigester Kristalle, Schmp. 169–170° (Lit.¹⁴⁾: 170.5 bis 171°).

IR (KBr): 1760 (CO vom Oxazolidon), 1725 (CO vom Acetat), keine Amid-II-Bande bei 1510/cm.

c) 0.30 g **2** (75 % des eingesetzten Ausgangsmaterials).

Benzyl-2-acetamino-3-O-benzyl-4.6-O-benzyliden-2-desoxy- α -D-glucopyranosid (**4**): 1.0 g **2** wurden in 20 ccm trockenem Dimethylformamid nach Zugabe von 2.0 g BaO, 0.6 g Ba(OH)₂·8H₂O und 3 ccm Benzylbromid 36 Stdn. bei 23° und anschließend 5 Stdn. bei 35° intensiv gerührt. Die Mischung wurde mit 100 ccm Chloroform verdünnt, filtriert, 2mal mit Wasser gewaschen, mit MgSO₄ getrocknet und i. Vak. eingeengt, wobei eine halbkristalline Masse zurückblieb. Reste von Dimethylformamid wurden durch Nachdestillation mit Toluol entfernt. Aus Essigester 0.88 g (72 %) **4**, Schmp. 260–261°. Nach nochmaligem Umkristallisieren aus Essigester Schmp. 261.5–263°, $[\alpha]_D^{25}$: +123° (*c* = 0.7, in Chloroform).

C₂₉H₃₁NO₆ (489.6) Ber. C 71.15 H 6.39 N 2.86 Gef. C 71.15 H 6.47 N 3.05

Benzyl-2-acetamino-4.6-O-benzyliden-3-O-[2-(diphenoxy-phosphorylamino)-3.4.6-tri-O-acetyl-2-desoxy- β (α)-D-glucopyranosyl]-2-desoxy- α -D-glucopyranosid (**8a** + **8b**): 6.0 g (15 mMol) **2**¹⁵⁾ und 9 g Quecksilber(I)-cyanid wurden in 360 ccm trockenem Benzol unter kräftigem Rühren und Erhitzen unter Rückfluß suspendiert. Es wurden 9.0 g **5**¹³⁾ (15 mMol) zugefügt und 3 Stdn. unter Feuchtigkeitsausschluß zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde mit 600 ccm Chloroform verdünnt, 2mal mit kalter NaCl-Lösung und 3mal mit Eiswasser ausgewaschen, mit MgSO₄ getrocknet und i. Vak. zum Sirup (15 g) konzentriert. Das Dünnschichtchromatogramm (Chloroform/Aceton 5:2) zeigte fünf Hauptzonen (A–E).

Der Sirup wurde auf eine Kieselgelsäule (200 ccm Herrmann neutral) gegeben und mit Chloroform eluiert. Es wurden drei Hauptfraktionen erhalten:

- 1) 7.8 g Sirup, A, B und C enthaltend;
- 2) 1.5 g kristallisiertes Ausgangsmaterial **2**, entspr. D;
- 3) Der polare Rückstand, Zone E, welcher auf der Säule verblieb, wurde nicht weiter untersucht.

Fraktion 1) (A, B und C) wurde wieder an einer Kieselgelsäule (200 ccm) mit Chloroform/Benzol (2:1) fraktioniert. Es ergaben sich folgende Fraktionen:

- a) 0.2 g Phenol (8 % Ausb., bez. auf **5**)
- b) 0.025 g Phenyl-2-[diphenoxy-phosphorylamino]-3.4.6-tri-O-acetyl-2-desoxy- β -D-glucopyranosid (**6**) (0.3 % Ausb., bez. auf **5**). Aus Essigester Schmp. 214–218° (Zers.), $[\alpha]_D^{25}$: –13.5° (*c* = 1.0, in Chloroform).

C₃₀H₃₂NO₁₁P (613.6) Ber. C 58.73 H 5.26 N 2.28 Gef. C 58.48 H 5.27 N 2.23

c) 0.9 g Zone A, die chromatographisch identisch war mit 2-[Diphenoxy-phosphorylamino]-3.4.6-tri-O-acetyl-1-cyan-1,2-didesoxy- β -D-glucopyranose (**7**)¹⁷⁾ (11 %, bez. auf **5**).

- d) 0.38 g Zone B, mindestens drei Substanzen enthaltend, die nicht rein erhalten wurden.
- e) 5.8 g Zone C. Umkristallisation aus Essigester/Petroläther ergab 4.2 g **8a** + **8b**, Schmp. 102–104°, $[\alpha]_D^{25}$: +66° (*c* = 1, in Chloroform) (30 %, bez. auf **5**).

C₄₆H₅₇N₂O₁₆P (918.9) Ber. C 60.13 H 5.60 N 3.05 Gef. C 59.98 H 5.62 N 3.30

Bei weiterer Umkristallisation zeigte sich keine Änderung der physikalischen Konstanten. Dünnschichtchromatographisch war die Substanz in Chloroform/Aceton (5:2) einheitlich, in Benzol/Methanol (10:1) wurden **8a** und **8b** getrennt. Sie zeigten ein Mengenverhältnis von etwa 6:1. Aus den Mutterlaugen konnten weitere 0.7 g **8a** + **8b** als gelartige Masse erhalten werden; das Mengenverhältnis von **8a** zu **8b** war hier etwa 1:1.

Benzyl-2-acetamino-4.6-O-benzyliden-3-O-[2-(diphenoxy-phosphorylamino)-3.4.6-tri-O-acetyl-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl]-2-desoxy- α -D-glucopyranosid (**8a**): 0.35 g **8a** + **8b** wurden

an einer Kieselgelsäule (100 ccm) mit Benzol/Methanol (100:1) chromatographiert. Es wurden 0.25 g chromatographisch reines **8a** erhalten. Aus Essigester/Petroläther 0.18 g Kristalle, Schmp. 102.5–103.5°, $[\alpha]_D^{25}$: +66° ($c = 0.85$, in Chloroform). Keine Drehungsänderung bei weiterem Umkristallisieren.

$C_{46}H_{57}N_2O_{16}P$ (918.9) Ber. C 60.13 H 5.60 N 3.05 Gef. C 60.30 H 5.75 N 3.23

Benzyl-2-acetamino-4.6-O-benzyliden-3-O-[2-(diphenoxy-phosphorylamino)-3.4.6-tri-O-acetyl-2-desoxy- α -D-glucopyranosyl]-2-desoxy- α -D-glucopyranosid (8b): Die aus der Mutterlauge der Gewinnung von **8a** + **8b** erhaltene gelartige Substanz (0.7 g), in der bereits **8b** angereichert ist, wurde an einer Kieselgelsäule (200 ccm) mit Benzol/Methanol (100:1) chromatographiert. Dabei wurden 0.30 g chromatographisch reines **8b** erhalten, das aus Essigester/Petroläther 0.25 g Kristalle ergab. Schmp. 147–149°, $[\alpha]_D^{25}$: +81° ($c = 0.85$, in Chloroform). Keine Drehungsänderung bei weiterem Umkristallisieren.

$C_{46}H_{57}N_2O_{16}P$ (918.9) Ber. C 60.13 H 5.60 N 3.05 Gef. C 60.30 H 5.75 N 3.32

Benzyl-2-acetamino-4.6-O-benzyliden-3-O-[2-(dibenzoyloxy-phosphorylamino)-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl]-2-desoxy- α -D-glucopyranosid (9a) und Benzyl-2-acetamino-4.6-O-benzyliden-3-O-[2-(dibenzoyloxy-phosphorylamino)-2-desoxy- α -D-glucopyranosyl]-2-desoxy- α -D-glucopyranosid (9b): Die kristallisierte Mischung von **8a** + **8b** (3.2 g) wurde unter sorgfältigem Feuchtigkeitsschluß in 300 ccm mit Ammoniak bei 0° gesättigtem Benzylalkohol (frisch von CaO abdestilliert) gelöst. Die Lösung wurde auf Raumtemp. erwärmt und 60 Stdn. in verschlossener Flasche stehengelassen. Das Ammoniak wurde dann an der Wasserstrahlpumpe abgesaugt und das Lösungsmittel bei 45°/0.1 Torr abdestilliert. Der erhaltene braune Sirup wurde an einer Kieselgelsäule (250 ccm) mit Benzol/Methanol (50:1) chromatographiert. Die ersten Fraktionen enthielten Benzaldehyd, Benzylalkohol und partiell entacetylierte Disaccharid-Komponenten. Dann wurde chromatographisch reines **9a** und **9b** erhalten.

Als erste Substanz erhielt man 0.25 g **9b**, welches aus Essigester/Petroläther 0.16 g Nadeln lieferte (6%, bez. auf **8a** + **8b**). Schmp. 214–217°, $[\alpha]_D^{25}$: +75° ($c = 0.5$, in Pyridin). Die Drehung blieb beim Umkristallisieren konstant.

$C_{42}H_{49}N_2O_{13}P$ (820.8) Ber. C 61.45 H 6.02 N 3.41 Gef. C 61.60 H 5.97 N 3.31

Von **9a** wurden 1.2 g Sirup erhalten, welcher aus Essigester/Petroläther 0.95 g Nadeln lieferte (33%, bez. auf **8a** + **8b**). Schmp. 177–179°, $[\alpha]_D^{25}$: +44° ($c = 1.3$, in Chloroform). Nach Umkristallisation Schmp. 179–180°, $[\alpha]_D^{25}$: +38° ($c = 0.5$, in Chloroform) und $[\alpha]_D^{25}$: +49° ($c = 0.5$, in Pyridin), unverändert bei weiterem Umkristallisieren.

$C_{42}H_{49}N_2O_{13}P$ (820.8) Ber. C 61.45 H 6.02 N 3.41 Gef. C 61.42 H 5.98 N 3.39

Direkte Reaktion von 8b zu 9b: 100 mg kristallisiertes **8b** wurden wie oben umgesetzt und ergaben 60 mg reinen Sirup, welcher aus Essigester/Petroläther 35 mg kristallisiertes **9b** (39% Ausb.) vom Schmp. 215.5–217° lieferte.

Benzyl-2-acetamino-3-O-[2-(dibenzoyloxy-phosphorylamino)-2-desoxy- β -D-glucopyranosyl]-2-desoxy- α -D-glucopyranosid (10): 0.24 g **9a** wurden in 7.5 ccm Eisessig und 2.5 ccm Wasser 5 Min. auf 100° erhitzt. 2.5 ccm Wasser wurden zugefügt und weitere 25 Min. erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde das Lösungsmittel bei 40°/12 Torr entfernt. Durch mehrfache Nachdestillation mit Wasser und Toluol wurden restliche Mengen Benzaldehyd und Essigsäure entfernt. Chromatographie an einer Kieselgelsäule (100 ccm) mit Benzol/Methanol (4:1) ergab 0.15 g reinen Sirup, der mit Äthanol/Petroläther 0.11 g Nadeln von **10** lieferte (Ausb. 51%), Schmp. 191–192°, $[\alpha]_D^{25}$: +72° ($c = 0.8$, in Methanol).

$C_{35}H_{45}N_2O_{13}P$ (732.7) Ber. C 57.36 H 6.19 N 3.82 Gef. C 57.42 H 6.01 N 3.65

Benzyl-2-acetamino-3-O-[2-amino-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl]-2-desoxy-α-D-glucopyranosid (13): 0.5 g **10** wurden in 50 ccm Methanol und 1 ccm Wasser in Gegenwart von 0.40 g Palladium-Schwarz bei 23° und Normaldruck hydriert. In 20 Min. war die *Wasserstoff*-Aufnahme beendet. Die Lösung wurde filtriert, mit Austauscher Dowex 2 X 8 (CO₃²⁻-Form) gerührt und anschließend i. Vak. eingengt, wobei 0.31 g kristalliner Rückstand zurückblieb. Aus Äthanol 0.22 g **13** (Ausb. 68%), Schmp. 208–209° (Zers.), [α]_D²⁵: +65° (c = 0.61, in Wasser).

C₂₁H₃₂N₂O₁₀ (472.5) Ber. C 53.37 H 6.83 N 5.93 Gef. C 53.30 H 6.74 N 5.98

Benzyl-2-acetamino-4.6-O-benzyliden-3-O-[2-amino-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl]-2-desoxy-α-D-glucopyranosid (11): 0.25 g **9a** wurden in 50 ccm Methanol und 5 ccm Wasser mit 0.20 g Palladium-Schwarz bei 23° und Normaldruck hydriert. In 30 Min. war die ber. Menge *Wasserstoff* aufgenommen. Die Lösung wurde filtriert, mit Dowex 2 X 8-Harz (CO₃²⁻-Form) gerührt und i. Vak. zum Sirup (0.11 g) eingengt. Aus Äthanol 0.09 g **11** (Ausb. 51%), Schmp. 268–269° (Zers.), [α]_D²⁵: +76° (c = 0.6, in Pyridin).

C₂₈H₃₆N₂O₁₀ · H₂O (578.6) Ber. C 58.11 H 6.62 N 4.84 Gef. C 58.15 H 6.56 N 4.83

Das Kristallwasser wird auch beim Trocknen über P₂O₅ bei 120°/0.5 Torr nicht abgegeben.

Hydrolyse von 11 zu 13: 70 mg **11** wurden in 3 ccm *Essigsäure* und 1 ccm Wasser 5 Min. auf 100° erhitzt. Nach Verdünnen mit 1 ccm Wasser wurde weitere 25 Min. erwärmt. Die Lösungsmittel wurden i. Vak. abdestilliert, der Rückstand mehrmals mit Wasser und Toluol nachdestilliert. Reinigung über eine Kieselgelsäule (Benzol/Methanol 4:1) ergab kristallisiertes **13**. Aus Äthanol 40 mg (72%), Schmp. 208–209° (Zers.).

2-Acetamino-3-O-[2-acetamino-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl]-2-desoxy-α-D-glucopyranose (12): 0.26 g **10** wurden in 50 ccm 60-proz. *Essigsäure* mit 0.40 g Palladium-Schwarz 48 Stdn. bei 23° und Normaldruck hydriert. Es wurde filtriert und i. Vak. (12 Torr, 40°) zum Sirup (0.255 g) eingengt. Dieser wurde in Wasser gelöst, die Lösung mit *Essigester* gewaschen, die wäßr. Phase zum Sirup eingengt und dieser in 4 ccm Wasser gelöst. Dann wurden 3 ccm Dowex 2 X 8-Harz (CO₃²⁻-Form) bei 0° hinzugegeben, 0.7 ccm Methanol, 4 ccm Wasser und 0.2 ccm *Acetanhydrid* zugefügt und die Mischung 1.5 Stdn. bei 0° gerührt. Nach Abtrennen des Austauscherharzes wurde i. Vak. zum Sirup konzentriert. Der Rückstand wurde in wenig Wasser aufgenommen und durch eine kleine Säule (2 ccm) Dowex 50 X 8 (H⁺-Form) gegeben. Konzentration des Eluates i. Vak. ergab 0.14 g Sirup, der aus Äthanol/Wasser 80 mg Kristalle lieferte (Ausb. 51%), Schmp. 198–199° (Zers.), [α]_D²⁵: +14.5° (nach 4 Min.), +6.5° (nach 2 Stdn.) (c = 0.6, in Wasser). Die Verbindung reduziert stark *Fehling*-sche Lösung.

C₁₆H₂₈N₂O₁₁ · H₂O (442.4) Ber. C 43.34 H 6.84 N 6.33 Gef. C 43.78 H 6.82 N 6.00

Beim Trocknen i. Vak. über P₂O₅ tritt teilweise Abspaltung des Kristallwassers ein. Es beginnt *Zersetzung* der Substanz, bevor alles Wasser entfernt ist.

Benzyl-2-acetamino-4.6-di-O-acetyl-3-O-[2-acetamino-3.4.6-tri-O-acetyl-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl]-2-desoxy-α-D-glucopyranosid (14): 0.15 g **13** wurden in 5 ccm trockenem *Pyridin* mit 1 ccm *Acetanhydrid* 48 Stdn. bei 23° gerührt. Die Mischung wurde in 50 ccm Eiswasser gegeben, mit Chloroform extrahiert und die organische Phase mit Wasser gewaschen, mit MgSO₄ getrocknet und zum Sirup i. Vak. eingengt. Es wurde mit Toluol mehrmals nachdestilliert, wobei sich ein kristallisierter Rückstand bildete. Aus Äthanol/Petroläther lange Nadeln, Ausb. 0.14 g (61%), Schmp. 256–258.5°; [α]_D²⁵: +59° (c = 0.31, in Chloroform).

C₃₃H₄₄N₂O₁₆ (724.7) Ber. C 54.70 H 6.12 N 3.87 Gef. C 54.38 H 6.12 N 3.87

Benzyl-2-acetamino-3-O-[2-acetamino-2-desoxy-β-D-glucopyranosyl]-2-desoxy-α-D-glucopyranosid (15): 0.11 g **14** in 4 ccm trockenem Methanol wurden mit 0.2 ccm methanolischer *n* NaOCH₃-Lösung versetzt und 18 Stdn. bei 23° stehengelassen, wobei sich eine gelartige Substanz abschied. Es wurden 10 ccm Wasser zugefügt, mit Dowex 50 X 8-Harz (H[⊕]-Form) gerührt und die Lösung i. Vak. zum Sirup konzentriert, der aus Äthanol/Wasser 45 mg (Ausb. 58%) Kristalle lieferte. Schmp. 307–308°, $[\alpha]_D^{25}$: +96° (*c* = 0.17, in Wasser).

C₂₃H₃₄N₂O₁₁ (514.5) Ber. C 53.70 H 6.66 N 5.44 Gef. C 53.12 H 6.66 N 5.29

Hydrierung von 15 zu 12: 0.027 g **15** wurden in 15 ccm Wasser mit 0.02 g Palladium-Schwarz bei Raumtemp. und Normaldruck 18 Stdn. hydriert. Die filtrierte Lösung wurde i. Vak. zum Sirup eingengt. Dünnschichtchromatographisch (Kieselgel, *n*-Butanol/Essigsäure/Wasser 4:1:1) zeigte sich **12** als Hydrierungsprodukt neben einer Spur von **15**.

[349/66]