

Wolfgang Meyer zu Reckendorf und Eberhard Bischof

Zur Konstitutionsermittlung der Gentamycine — Struktur und Synthese des Gentosamins und Garosamins

Aus dem Institut für Pharmazeutische Chemie der Universität Münster

(Eingegangen am 27. März 1972)



Durch Methylierung und Kettenverkürzung wurde aus der 3-Amino-3-desoxy-D-glucose die 3-Desoxy-3-methylamino-D-xylose — identisch mit dem Gentosamin — dargestellt. Dehydrierung zum 4-Keton und Grignardierung ergaben die 3-Desoxy-3-methylamino-4-C-methyl-L-arabinose und -D-xylose. Die Konfiguration des L-arabino-Derivates — identisch mit dem Garosamin — wurde IR-spektroskopisch und durch Cyclisierung zum 3.4-Oxazolidon bewiesen.

Structure Elucidation of the Gentamycins — Structure and Synthesis of Gentosamine and Garosamine

By methylation and degradation 3-deoxy-3-methylamino-D-xylose — identical with Gentosamine — was prepared from 3-amino-3-deoxy-D-glucose. Dehydrogenation to the 4-ketone and Grignard reaction yielded 3-deoxy-3-methylamino-4-C-methyl-L-arabinose and -D-xylose. The configuration of the L-arabino derivative — identical with Garosamine — was proved by i.r. spectroscopy and by cyclization to a 3.4-oxazolidone.



Zu den in ihrer Struktur noch nicht aufgeklärten Aminoglykosid-Antibiotika gehören die Gentamycine, die aus Kulturen von *Micromonospora purpurea*, *M. echinospora* (einschließlich der Var. *pallida* und *ferruginea*), *M. carbonacea* und *M. halophytia* isoliert wurden.

Der Gentamycin-Komplex besteht aus einer Reihe sehr eng verwandter Antibiotika. Eingehend untersucht wurde das Gentamycin A¹⁾, das aus den glykosidisch miteinander verknüpften Bausteinen 2-Amino-2-desoxy-D-glucose, 2-Desoxy-streptamin und Gentosamin, einer 3-Methylamino-3-desoxy-pentose, besteht²⁾. Für die Antibiotikatherapie haben die Gentamycine C₁, C_{1a} und C₂ infolge ihres breiten Wirkungsspektrums größere Bedeutung erlangt^{3,4)}. Über ihre Konstitution war bisher bekannt, daß sie Glykoside des 2-Desoxy-streptamins mit Garosamin und einer 2.6-Diamino-2.3.4.6-tetradesoxy-hexose darstellen und sich durch den Methylier-

1) H. Maehr und C. P. Schaffner, J. Chromatogr. [Amsterdam] 30, 572 (1967); J. Amer. chem. Soc. 89, 6788 (1967).

2) M. J. Weinstein, G. M. Luedemann, E. M. Oden und G. H. Wagman, Antimicrob. Ag. Chemother. 1963, 1.

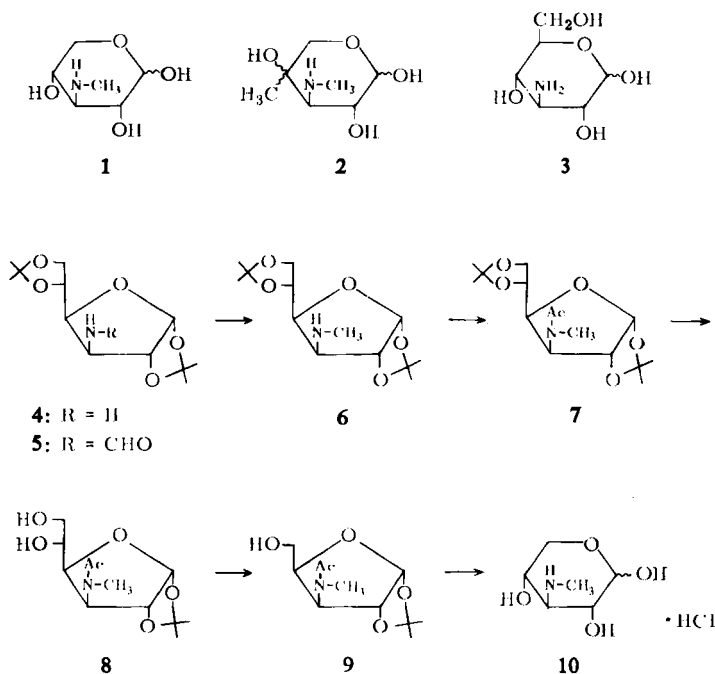
3) Z. B. K. Weissenborn, Arzneimittel-Forsch. 19, 1132 (1969).

4) Refobacin[®], E. Merck, Darmstadt; Sulcomycin[®], Byk-Essex, München.

rungsgrad der letzteren Komponente unterscheiden⁵). Auch beim Garosamin handelt es sich um eine 3-Amino-3-desoxy-pentose, die jedoch an C-4 eine Methylverzweigung trägt⁶).

Die für das Gentosamin (1) und Garosamin (2) vorgeschlagenen Strukturformeln lassen sich von der 3-Amino-3-desoxy-D-glucose (3)⁷⁻¹²) ableiten. Diese Verbindung diente uns daher zur Synthese der beiden neuen Aminozucker.

Falls der Strukturvorschlag 1 für das Gentosamin zutreffen sollte, würde eine *N*-Methylierung und Kettenverkürzung der 3-Amino-3-desoxy-D-glucose zu diesem Zucker führen. Zur Einführung der Methylgruppe wurde daher das Amin 4¹²) mit Ameisensäure/Acetanhydrid zu 5 formyliert^{13,14}) und dieses mit Lithiumaluminiumhydrid zum Methylderivat 6 reduziert, dessen NMR-Spektrum neben vier C-Methyl-Signalen das erwartete *N*-Methyl-Signal zeigte.

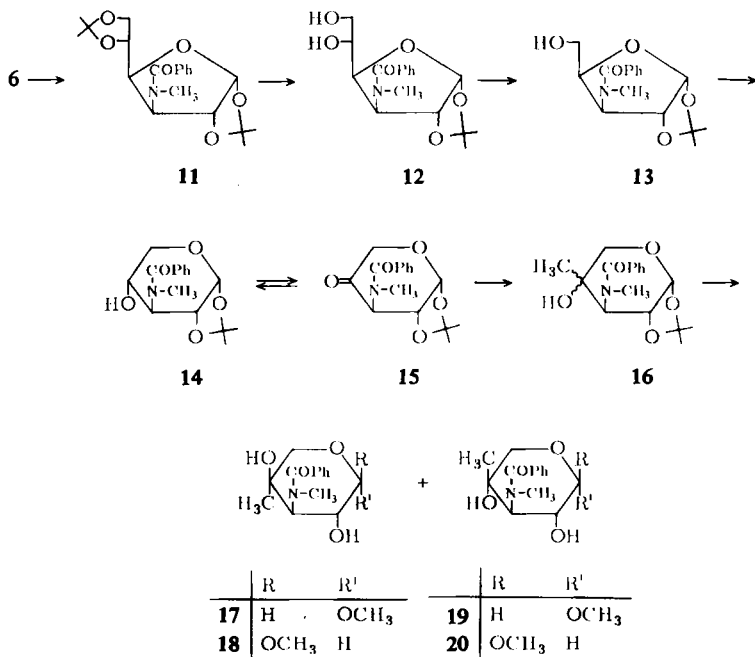


- 5) D. J. Cooper, H. M. Marigliano, M. D. Yudis und T. Traubel, J. infect. Diseases **114**, 342 (1969).
- 6) D. J. Cooper und M. D. Yudis, Chem. Commun. **1967**, 821.
- 7) R. Kuhn und G. Baschang, Liebigs Ann. Chem. **628**, 206 (1959).
- 8) H. H. Baer, J. Amer. chem. Soc. **83**, 1882 (1961).
- 9) W. Meyer zu Reckendorf, Angew. Chem. **78**, 1023 (1966); Angew. Chem. internat. Edit. **5**, 967 (1966).
- 10) D. T. Williams und J. K. N. Jones, Canad. J. Chem. **45**, 7 (1967).
- 11) J. S. Brimacombe, J. G. H. Bryan, A. Husain, M. Stacey und M. S. Tolley, Carbohydrate Res. [Amsterdam] **3**, 318 (1967).
- 12) W. Meyer zu Reckendorf, Chem. Ber. **101**, 3802 (1968).
- 13) W. Stevens und A. van Es, Recueil Trav. chim. Pays-Bas **83**, 1287 (1964).
- 14) F. W. Lichtenthaler, H. Leinert und T. Suami, Chem. Ber. **100**, 2383 (1967).

Die bisher beschriebenen Verbindungen ließen sich nicht zur Kristallisation bringen. Ein kristallines Produkt (**7**) erhielten wir erst nach der Acetylierung von **6**. Durch selektive Hydrolyse der 5.6-Isopropylidengruppe¹²⁾ zu **8** und anschließende Perjodatoxydation erhielten wir das kristalline D-Xylolederivat **9**. Säurehydrolyse ergab daraus das kristalline 3-Desoxy-3-methylamino-D-xylose-hydrochlorid (**10**)¹⁵⁾. Ein direkter Vergleich mit dem Naturprodukt war uns nicht möglich. Nach Abschluß dieser Arbeit wurde eine andere, von der D-Arabinose ausgehende Synthese dieses Zuckers publiziert¹⁶⁾. Die physikalischen Daten der synthetischen Produkte und des Naturstoffs stimmten überein. Das Gentosamin ist demnach die 3-Desoxy-3-methylamino-D-xylose.

Das Garosamin (**2**) – einer der Bausteine des Gentamycin C-Komplexes – ist unseres Wissens der einzige in der Natur gefundene verzweigt-kettige Aminosucker. Das gemeinsame Vorkommen des Gentosamins (**1**) und Garosamins (**2**) läßt die Annahme gleicher Konfiguration an den C-Atomen 2 und 3 zu. Garosamin sollte deshalb aus einem entsprechend geschützten Derivat des Gentosamins synthetisierbar sein.

Zu diesem Zweck wurde **6** zu **11** benzoyliert, dieses zu **12** hydrolysiert und dann zu **13** kettenverkürzt. Zur Überführung in die für Reaktionen an C-4 erforderliche Pyranoseform wurde die 1.2-Isopropylidengruppe in **13** mit wäßriger Trifluoressig-



¹⁵⁾ Vorläufige Mitteil.: *W. Meyer zu Reckendorf* und *E. Bischof*, *Tetrahedron Letters* [London] **1970**, 2475.

¹⁶⁾ *H. Maehr* und *C. P. Schaffner*, *J. Amer. chem. Soc.* **92**, 1697 (1970).

säure hydrolysiert¹⁷⁾ und durch Umsetzung mit 2,2-Dimethoxy-propan/*p*-Toluolsulfonsäure wieder eingeführt. Dabei bildete sich ein Gemisch der Furanose **13** und der Pyranose **14**. Nach schichtchromatographischer Trennung erhielten wir **14** in einer Ausbeute von 40%.

Zur Einführung der Methylgruppe an C-4 sollte eine Grignard-Reaktion dienen¹⁸⁾. **14** wurde deshalb mit $\text{KJO}_4/\text{RuO}_2$ in Dichlormethan/Wasser¹⁹⁾ dehydriert. Das dabei entstehende Keton **15** erwies sich als äußerst labil und wurde nur durch sein IR-Spektrum (CO bei 1725/cm) charakterisiert. Zum Beweis der Konstitution wurde es mit Natriumborhydrid reduziert. Wir erhielten dabei das Ausgangsmaterial **14** zurück. Die Instabilität des Ketons **15** wird wahrscheinlich durch Eliminierungsreaktionen hervorgerufen, wie sie schon bei ähnlichen Verbindungen beschrieben wurden²⁰⁾. Diese Labilität machte sich auch bei der Umsetzung von **15** mit Methylmagnesiumjodid bzw. Methylithium bemerkbar. In beiden Fällen lagen die Ausbeuten nur zwischen 10 und 20%. Der größere Teil des Materials ging in wasserlösliche Produkte über, die nicht isoliert werden konnten. Bei dem erhaltenen Produkt **16** handelte es sich um ein Epimerengemisch, da die anschließende Methanolyse (1 proz. HCl/Methanol) vier Produkte in etwa gleicher Menge lieferte, bei denen es sich jeweils um die Anomerengemische der an C-4 epimeren, verzweigt-kettigen Derivate **17–20** handeln mußte. Beim Angriff der metallorganischen Reagentien ist demnach keine Seite des Moleküls bevorzugt.

Durch zweimalige Schichtchromatographie wurden die vier Methylglykoside getrennt. Nach den Massenspektren waren sie isomer (Mol.-Gew. 295). Eine Entscheidung über die Konfigurationen der anomeren C-Atome war durch die NMR-Spektren möglich. Die Lage der 1-H-Signale in den Verbindungen **17** und **19** (4,9 bzw. 4,68 ppm) zusammen mit den niedrigen Kopplungskonstanten $J_{1,2}$ (3 bzw. 1 Hz) ließen den Schluß zu, daß es sich bei diesem Paar um die *cis*-Derivate handelte. Bei den beiden anderen Komponenten **18** und **20** erschienen die 1-H-Protonen bei höherem Feld (4,26 bzw. 4,5 ppm). Nach der Größe der Kopplungskonstanten $J_{1,2}$ (7 bzw. 4,2 Hz) konnte für dieses Paar die *trans*-Konfiguration angenommen werden.

Da die NMR-Spektren der Isomeren keine Aussagen über die Konfigurationen an C-4 erlaubten, mußte die Zuordnung zur *D-xyl*- oder *L-arabino*-Reihe bzw. die Charakterisierung als α - oder β -Glykoside auf andere Weise erfolgen.

Wir benutzten dazu die von *Kuhn* eingeführte Methode zur IR-spektroskopischen Untersuchung von Wasserstoffbrücken²¹⁾.

Diole und Aminoalkohole können in verdünnten Lösungen intramolekulare Wasserstoffbrücken ausbilden, wenn die Hydroxylgruppen *cis*-ständig angeordnet sind. Die Bildung von intermolekularen Wasserstoffbrücken kann bei Konzentrationen von weniger als 0,005 Mol/l ausgeschlossen werden. Bilden sich bei 1,3-

¹⁷⁾ J. E. Christensen und L. Goodman, Carbohydrate Res. [Amsterdam] **7**, 510 (1968).

¹⁸⁾ W. G. Overend, Chem. and Ind. **1963**, 342.

¹⁹⁾ B. T. Lawton, W. A. Szarek und J. K. N. Jones, Carbohydrate Res. [Amsterdam] **10**, 456 (1969).

²⁰⁾ W. Meyer zu Reckendorf und J. C. Jochims, Chem. Ber. **102**, 4199 (1969).

²¹⁾ L. P. Kuhn, J. Amer. chem. Soc. **74**, 2492 (1952).

ständigen diaxialen Hydroxylgruppen intramolekulare Wasserstoffbrücken, so treten im IR-Spektrum zusätzliche charakteristische niedrige OH-Streckschwingungen auf, die bei mindestens 50/cm tieferer Wellenzahl liegen als bei freien Hydroxylgruppen^{21, 22}. Diese Absorptionen verschwinden auch bei weiterem Verdünnen nicht.

Da sich die vier Isomeren **17**–**20** schlecht in Tetrachlorkohlenstoff lösten, wurden die IR-Spektren von gesättigten Lösungen aufgenommen (weniger als 0.005 Mol/l). Die Schichtdicke betrug 5.5 mm. Nach Verdünnen der Lösungen auf die Hälfte bzw. ein Viertel der Konzentration wurden die Messungen wiederholt. Bei den Verbindungen **19** und **20** fanden wir die erwarteten niedrigen IR-Frequenzen von 3410 bzw. 3420/cm, die durch eine Wasserstoffbrücke zwischen den 1.3-ständigen Hydroxylgruppen hervorgerufen werden sollten, in stark ausgeprägter Form. Daraus folgt die *D*-Xylose-Konfiguration für dieses Anomerenpaar. Die Spektren der Verbindungen **17** und **18** zeigen die IR-Banden nicht bzw. nur angedeutet. Bei ihnen muß es sich demnach um die *L*-arabino-Zucker handeln.

Um das Garosamin mit den synthetisierten Produkten vergleichen zu können, wurde Gentamycinsulfat (Refobacin[®], Merck) der Methanolyse in gesättigter methanolischer Salzsäure unterworfen. Die Methylgarosaminide wurden von den polaren Disaccharidkomponenten schichtchromatographisch abgetrennt⁶ und durch Umsetzung mit Benzoesäureanhydrid in Pyridin und anschließende Umesterung mit methanolischer Natriummethylat-Lösung in das *N*-benzoylierte Anomerenmischung übergeführt. Durch fraktionierte Kristallisation konnte das β -Anomere rein erhalten werden, die α -Verbindung erhielten wir durch Schichtchromatographie. Durch Vergleich der physikalischen Daten stellten wir fest, daß das β -Anomere mit der synthetischen Verbindung **17** und das α -Anomere mit **18** identisch war. Das Garosamin ist demnach die 3-Desoxy-3-methylamino-4-*C*-methyl-*L*-arabinose.

Zur Unterstützung des nur spektroskopisch geführten Strukturbeweises suchten wir nach einer für die Konfiguration an C-4 beweiskräftigen chemischen Methode.

Sollte im Garosamin die *L*-arabino-Form vorliegen und somit die Hydroxyl- und die Aminogruppe in *cis*-Stellung stehen, so könnte eine Cyclisierung unter Beteiligung dieser beiden Gruppen möglich sein. Erschwerend würde allerdings wirken, daß eine tertiäre Hydroxylgruppe zur Reaktion gebracht werden muß.

Zum Schutz der an der Cyclisierung nicht beteiligten Hydroxylgruppen am C-1 und C-2 diente der Isopropylidenrest. Um diese Schutzgruppe einführen zu können, sollte die *N*-Methylgruppe vorübergehend durch den Benzyloxycarbonyl-Rest geschützt werden.

Das Anomerenmischung der Methylgarosaminide (**17** und **18**) wurde dazu mit 1 *n* HCl hydrolysiert und das Rohprodukt **21** direkt mit Chlorameisensäure-benzylester zu **22** umgesetzt. Einführung des Isopropylidenrestes (Aceton/2.2-Dimethoxypropan/*p*-Toluolsulfonsäure) ergab zwei Produkte, von denen sich jedoch dasjenige mit dem größeren R_F -Wert bei der Neutralisation des Ansatzes mit stark basischem Anionenaustauscher zersetzte. Die Reaktion wurde deshalb mit gasförmigem HCl als

²² R. J. Ferrier, W. G. Overend, G. A. Raferty, H. M. Wall und N. R. Williams, Proc. chem. Soc. [London] 1963, 133.

dung keine OH- und NH-Absorption, jedoch eine starke Carbonylbande bei 1740/cm. Im NMR-Spektrum waren drei C-Methylgruppen (1.39; 1.42; 1.59 ppm), eine N-Methylgruppe (2.97 ppm) und eine isolierte Methylengruppe (3.75 ppm) zu erkennen. Drei weitere Protonen konnten wie folgt zugeordnet werden (δ ; ppm): 1-H, 5.54 (d); 2-H, 4.42 (q); $J_{1,2} = 5$ Hz; 3-H, 3.79 (d); $J_{2,3} = 2.5$ Hz. Die Integration ergab 17 Protonen.

Diese Daten stehen mit einer Cyclisierung von **27** zum Oxazolidon **30** in Einklang. Da nach Modellbetrachtungen diese Reaktion nur möglich ist, wenn sich die reagierenden Gruppen zueinander in *cis*-Stellung befinden, ist diese Reaktion für die L-Konfiguration des Garosamins beweisend.

Unsere Ergebnisse wurden in der Zwischenzeit von anderen Arbeitskreisen bestätigt^{24, 25}. Auch die Konstitution der übrigen Komponenten der Gentamycine wurde inzwischen aufgeklärt²⁶.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit und der Fa. E. Merck, Darmstadt, für die Überlassung des Refobacins®.

Beschreibung der Versuche

3-Desoxy-1.2;5.6-di-O-isopropyliden-3-formamino- α -D-glucofuranose (**5**): 10.0 g (0.038 Mol) 3-Amino-3-desoxy-1.2;5.6-di-O-isopropyliden- α -D-glucofuranose¹²⁾ (**4**) werden in 120 ccm Methanol und 30 ccm Formylierungsgemisch über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Formylierungsgemisch wird bereitet, indem 20 ccm Acetanhydrid auf 0° gekühlt und 10 ccm konz. Ameisensäure zuge tropft werden; das Gemisch wird 15 Min. auf 50° erwärmt und sofort wieder auf 0° gekühlt. Die Reaktionslösung wird i. Vak. eingedampft, der sirupöse Rückstand in Chloroform aufgenommen, mit gesättigter NaHCO₃-Lösung und Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Rohausb. 12 g (quantitat.). Eine Probe (1.0 g) wird schichtchromatographisch gereinigt; Laufmittel: Chloroform/2% Methanol. $[\alpha]_D^{25}$: -38.7° ($c = 1.06$; CHCl₃).

C₁₃H₂₁NO₆ (287.3) Ber. C 54.34 H 7.37 N 4.88 Gef. C 53.11 H 7.22 N 4.71

3-Desoxy-1.2;5.6-di-O-isopropyliden-3-[N-methyl-acetamino]- α -D-glucofuranose (**7**): In einer Lösung von 3.0 g (0.08 Mol) LiAlH₄ in 250 ccm absol. Äther werden 23.5 g (0.08 Mol) **5** über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Zur Reaktionslösung werden Kaliumnatriumtartrat und Eiswasser gegeben, dann wird dreimal mit Chloroform ausgeschüttelt. Die Lösung wird mit Natriumsulfat getrocknet und i. Vak. eingedampft. Rohausb. an **6**: 20.5 g (quantitat.). 19.0 g (0.07 Mol) dieses Rohproduktes werden in einem Gemisch aus 40 ccm Pyridin und 30 ccm Acetanhydrid gelöst und über Nacht bei Raumtemperatur aufbewahrt. Das Gemisch wird i. Vak. eingedampft, in Chloroform aufgenommen, mit kalter verd. Schwefelsäure, NaHCO₃-Lösung und Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet, eingedampft und der Rückstand aus Äthanol/Äther/Petroläther umkristallisiert. Ausb. 15.6 g (71%); Schmp. 134–136°; $[\alpha]_D^{25}$: $+10.5^\circ$ ($c = 1$; CHCl₃).

C₁₅H₂₅NO₆ (315.4) Ber. C 57.13 H 7.99 N 4.44 Gef. C 57.08 H 8.14 N 4.27

²⁴⁾ D. J. Cooper, M. D. Yudis, R. D. Guthrie und A. M. Prior, J. chem. Soc. [London] C 1971, 960.

²⁵⁾ D. J. Cooper, M. D. Yudis, H. M. Marigliano und T. Traubel, J. chem. Soc. [London] C 1971, 2867.

²⁶⁾ D. J. Cooper, P. J. L. Daniels, M. D. Yudis, H. M. Marigliano, R. D. Guthrie und S. T. K. Bukhari, J. chem. Soc. [London] C 1971, 3126.

3-Desoxy-1.2-O-isopropyliden-3-[N-methyl-acetamino]- α -D-xylofuranose (9): Zu einer Lösung von 11.0 g (0.035 Mol) **7** in 150 ccm Äthanol werden 10 ccm 1 *n* HCl gegeben und 6 Stdn. bei 50° aufbewahrt. Die abgekühlte Lösung wird mit Ionenaustauscher IRA 400 OH⁻ neutralisiert und i. Vak. eingedampft. Rohausb. an **8**: 11.0 g (quantitat.). 9.0 g (0.03 Mol) dieses Diols **8** in 50 ccm Wasser werden in 165 ccm einer wäbr. 0.25 *m* NaJO₄-Lösung gegeben und 3 Stdn. bei Raumtemperatur gerührt. Unter Eiskühlung und Rühren wird nun eine Lösung von 9.0 g (0.24 Mol) NaBH₄ in 125 ccm Wasser zugefügt und weitere 4 Stdn. gerührt. Das Reaktionsgemisch wird auf die Hälfte des Vol. eingeengt und dreimal mit Chloroform ausgeschüttelt. Die CHCl₃-Lösung wird mit Natriumsulfat getrocknet, i. Vak. eingedampft und aus Äthanol/Äther/Petroläther umkristallisiert. Ausb. 5.1 g (64%); Schmp. 117–120°; $[\alpha]_D^{20}$: +95° (*c* = 1; CHCl₃).

C₁₁H₁₉NO₅ (245.3) Ber. C 53.85 H 7.80 N 5.71 Gef. C 53.87 H 8.14 N 5.50

3-Desoxy-3-methylamino-D-xylose-hydrochlorid (10): 500 mg (2 mMol) **9** werden in verd. Salzsäure (15 ccm) 2 Stdn. zum Sieden erhitzt, i. Vak. eingedampft und zweimal mit Wasser nachgedampft. Das Reaktionsprodukt wird aus Wasser/Äthanol umkristallisiert. Ausb. 266 mg (66.5%); Schmp. 172–173° (Zers.); $[\alpha]_D^{20}$: ±0° → +28° (*c* = 1; Wasser) [Lit.¹⁶]; Schmp. 173° (Zers.); $[\alpha]_D^{25}$: -4° → +28°.

C₆H₁₄NO₄Cl (199.6) Ber. C 36.10 H 7.07 N 7.02 Gef. C 36.52 H 7.36 N 7.05

3-Desoxy-1.2;5.6-di-O-isopropyliden-3-[N-methyl-benzamino]- α -D-glucofuranose (11): 10.0 g (0.036 Mol) **6** werden in einer Lösung von 9.1 g (0.04 Mol) Benzoessäureanhydrid in 300 ccm Methanol über Nacht bei Raumtemperatur stengelassen. Das Reaktionsgemisch wird i. Vak. eingedampft, in Chloroform aufgenommen, mit NaHCO₃-Lösung gewaschen, mit Na₂SO₄ getrocknet und zur Trockne eingedampft. Rohausb. 16 g (quantitat.). Eine Probe (1.5 g) wird schichtchromatographisch gereinigt. Laufmittel: Chloroform/4% Methanol. $[\alpha]_D^{20}$: ±0°; $[\alpha]_{300}^{20}$: +48.5° (*c* = 1.34; CHCl₃).

C₂₀H₂₇NO₆ (377.4) Ber. C 63.64 H 7.20 N 3.72 Gef. C 62.38 H 7.21 N 3.90

3-Desoxy-1.2-O-isopropyliden-3-[N-methyl-benzamino]- α -D-glucofuranose (12): 52.0 g (0.15 Mol) rohes **11** werden in 250 ccm 80proz. Essigsäure 6 Stdn. auf 50° erwärmt. Die Reaktionslösung wird eingedampft, mit Wasser, Äthanol, Äther wird nachgedampft, in Wasser aufgenommen, mit Äther ausgewaschen und i. Vak. eingedampft. Rohausb. 38.0 g (75%). Eine Probe (1.0 g) wird schichtchromatographisch gereinigt. Laufmittel: Chloroform/4% Methanol. $[\alpha]_D^{20}$: +61.5°; $[\alpha]_{400}^{20}$: +146.2° (*c* = 0.93; CHCl₃).

C₁₇H₂₃NO₆ (337.4) Ber. C 60.51 H 6.87 N 4.15 Gef. C 59.78 H 6.91 N 3.92

3-Desoxy-1.2-O-isopropyliden-3-[N-methyl-benzamino]- α -D-xylofuranose (13): 30.0 g (0.09 Mol) **12** werden in 550 ccm 0.25 *m* NaJO₄-Lösung 3 Stdn. bei Raumtemp. gerührt. Unter Eiskühlung und Rühren wird nun eine Lösung von 25.0 g (0.66 Mol) NaBH₄ in 250 ccm Wasser zugefügt und weitere 4 Stdn. gerührt. Das Reaktionsgemisch wird mit verd. Essigsäure neutralisiert und i. Vak. auf die Hälfte des Vol. eingeengt. Die Lösung wird mit Chloroform ausgeschüttelt, mit Natriumsulfat getrocknet, zur Trockne eingedampft und aus Äthanol/Äther/Petroläther umkristallisiert. Ausb. 20.0 g (73.4%); Schmp. 126–128°; $[\alpha]_D^{20}$: +72° (*c* = 1; CHCl₃).

C₁₆H₂₁NO₅ (307.4) Ber. C 62.53 H 6.88 N 4.56 Gef. C 62.30 H 6.95 N 4.61

3-Desoxy-1.2-O-isopropyliden-3-[N-methyl-benzamino]- α -D-xylopyranose (14): 2.0 g (6.5 mMol) **13** werden in 10 ccm 90proz. wäbr. Trifluoressigsäure 20 Min. bei Raumtemp. aufbewahrt. Die Lösung wird mit Ionenaustauscher neutralisiert, i. Vak. eingedampft und mehrmals mit Aceton p.A. nachgedampft. Der sirupöse Rückstand und 200 mg *p*-Toluolsulfonsäure werden in 50 ccm Aceton p.A. und 50 ccm 2.2-Dimethoxy-propan über Nacht bei

Raumtemp. gerührt. Das Reaktionsgemisch wird mit Anionenaustauscher neutralisiert und schichtchromatographisch getrennt. Laufmittel: Chloroform/4% Methanol. Ausb. obere Zone 300 mg (15%), untere Zone 800 mg (40%).

Die obere Zone ist mit der Furanose **13** identisch. Untere Zone (**14**): Schmp. 179–180° (Äthanol/Äther/Petroläther). $[\alpha]_D^{20}$: +72.5° ($c = 1$; CHCl_3).

$\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{NO}_5$ (307.4) Ber. C 62.53 H 6.88 N 4.56 Gef. C 62.55 H 6.85 N 4.41

3-Desoxy-1.2-O-isopropyliden-3-[N-methyl-benzamino]- β -L-threo-hexopyranos-4-ulose (**15**): 250 mg (0.81 mMol) **14**, 40 mg K_2CO_3 , 350 mg KJO_4 und 8 mg RuO_2 werden in 3 ccm Methylenchlorid und 3 ccm Wasser 5 Stdn. bei Raumtemp. gerührt. Zum Reaktionsgemisch werden 20 ccm Methylenchlorid und 20 ccm Wasser gegeben, die Methylenchlorid-Lösung wird abgetrennt, mit Natriumsulfat getrocknet und i. Vak. eingedampft. Ausb. quantitativ; schichtchromatographisch rein (Laufmittel: Chloroform/2% Methanol). Da sich das Keton schnell zersetzt, wurde die Substanz sofort weiter eingesetzt. IR (Film): 1725 (CO, Keton); 1620/cm (COPh); keine OH-Bande.

Reduktion des Ketons 15 zur 3-Desoxy-1.2-O-isopropyliden-3-[N-methyl-benzamino]- α -D-xylopyranose (**14**): 100 mg (0.32 mMol) Keton **15** werden in einer Lösung von 70 mg (1.8 mMol) NaBH_4 in 15 ccm Äthanol eine Stde. bei Raumtemp. aufbewahrt. Dann wird zur Trockne eingedampft, in wenig Wasser aufgenommen und dreimal mit Chloroform ausgeschüttelt. Die Lösung wird mit Natriumsulfat getrocknet, eingedampft und aus Äthanol/Äther/Petroläther umkristallisiert. Ausb. 74 mg (74%); Schmp. 178–180°; $[\alpha]_D^{20}$: +72.5° ($c = 1$; CHCl_3). Das Produkt ist identisch mit der aus **13** erhaltenen Verbindung.

3-Desoxy-1.2-O-isopropyliden-3-[N-methyl-benzamino]-4-C-methyl-pentopyranose (**16**)

a) Zu 500 mg (0.02 g-Ät) *Magnesiumspänen* in 50 ccm absol. Äther werden unter Rühren 4.4 g (30 mMol) *Methyljodid* getropft und 30 Min. zum Sieden erhitzt. 5 ccm (2 mMol) dieser Lösung des Grignard-Reagenzes werden mit 20 ccm Äther verdünnt. Unter Rühren und Eiskühlung wird eine Lösung von 100 mg (0.33 mMol) des *Ketozuckers 15* in 20 ccm Äther zugetropft und 30 Min. bei Raumtemp. gerührt. Unter Eiskühlung werden 30 ccm gesättigte Ammoniumchlorid-Lösung zugegeben, die ätherische Phase wird abgetrennt, mit Natriumsulfat getrocknet und i. Vak. eingedampft. Das Reaktionsprodukt wird schichtchromatographiert (Kieselgel PF_{254} , Chloroform/4% Methanol). Ausb. 10–25 mg (10 bis 20%).

b) Zu 100 mg (0.33 mMol) des *Ketozuckers 15* in 50 ccm absol. Äther werden unter Rühren 3.5 ccm *Methylithium-Lösung* (= 15 mg; 0.7 mMol) getropft und $\frac{1}{2}$ Stde. bei Raumtemp. gerührt. Die Aufarbeitung erfolgt wie oben. Nach schichtchromatographischer Isolierung schien das Produkt einheitlich zu sein. Ausb. 10–25 mg (10–20%). Die Charakterisierung erfolgte nur spektroskopisch. $[\alpha]_D^{20}$: +34°; $[\alpha]_{300}^{20}$: +276° ($c = 0.7$; CHCl_3).

NMR (CDCl_3 , 100 MHz, δ in ppm): 1-H, 5.7 (d); 2-H, 4.74 (q); $J_{1,2} = 3.8$ Hz; 2 5-H, 3.73 (s); 3 C- CH_3 , 1.28, 1.4, 1.58; 1 N- CH_3 , 3.16; Phenyl, 7.4 (s).

Methanolyse von 16: 180 mg (0.56 mMol) **16** werden über Nacht bei Raumtemperatur in 50 ccm 1proz. *HCl/Methanol* aufbewahrt. Die Reaktionslösung wird mit Silbercarbonat neutralisiert und i. Vak. eingedampft. Die vier im Dünnschichtchromatogramm sichtbaren Produkte werden schichtchromatographisch getrennt (Laufmittel: Chloroform/6% Methanol). Die vier Substanzen werden durch eine zweite Schichtchromatographie vollständig rein erhalten (Laufmittel: Essigester/Äther (1 : 1)/6% Methanol).

1. Zone: Methyl-3-desoxy-3-[N-methyl-benzamino]-4-C-methyl- α -L-arabino-pyranosid (**18**). Ausb. 27 mg; $[\alpha]_D^{20}$: +40° ($c = 0.76$; CHCl_3). Mol.-Gew. 295 (massenspektrometr.).

IR (in CCl_4): 3610, 3580/cm (OH).

NMR (CDCl₃, 100 MHz, δ in ppm): 1-H, 4.26; $J_{1,2} = 7$ Hz; C-CH₃, 1.23; N-CH₃, 3.06; O-CH₃, 3.57; Phenyl, 7.38.

2. Zone: *Methyl-3-desoxy-3-[N-methyl-benzamino]-4-C-methyl- β -L-arabino-pyranosid* (17).
Ausb. 14 mg; $[\alpha]_D^{20}$: +178.5° ($c = 0.5$; CHCl₃). Mol.-Gew. 295 (massenspektrometr.).

IR (in CCl₄): 3585/cm (OH).

NMR (CDCl₃, 100 MHz, δ in ppm): 1-H, 4.9 (d); $J_{1,2} = 3$ Hz; C-CH₃, 1.24; N-CH₃, 3.06; O-CH₃, 3.48; Phenyl, 7.38.

3. Zone: *Methyl-3-desoxy-3-[N-methyl-benzamino]-4-C-methyl- β -D-xylo-pyranosid* (20).
Ausb. 15 mg; $[\alpha]_D^{20}$: $\pm 0^\circ$ ($c = 0.5$; CHCl₃). Mol.-Gew. 295 (massenspektrometr.).

IR (in CCl₄): 3620, 3420/cm (OH).

NMR (CDCl₃, 100 MHz, δ in ppm): 1-H, 4.5 (d); $J_{1,2} = 4.2$ Hz; C-CH₃, 1.21; N-CH₃, 3.09; O-CH₃, 3.41; Phenyl, 7.38.

4. Zone: *Methyl-3-desoxy-3-[N-methyl-benzamino]-4-C-methyl- α -D-xylo-pyranosid* (19).
Ausb. 19 mg; $[\alpha]_D^{20}$: +211° ($c = 0.5$; CHCl₃). Mol.-Gew. 295 (massenspektrometr.).

IR (in CCl₄): 3570, 3410/cm (OH).

NMR (CDCl₃, 100 MHz, δ in ppm): 1-H, 4.68 (d); 2-H, 4.84 (q); $J_{1,2} = 1$ Hz; C-CH₃, 1.24; N-CH₃, 3.12; O-CH₃, 3.47; Phenyl, 7.4.

Methyl-3-desoxy-3-[N-methyl-benzamino]-4-C-methyl- α - und - β -pyranosid: 5.0 g *Gentamycinsulfat* (Refobacin[®], Merck) werden in 400 ccm gesättigter *methanol. HCl* 7 Stdn. zum Sieden erhitzt. Das Reaktionsgemisch wird i. Vak. eingedampft, mehrmals mit Methanol nachgedampft und die Methylgarosaminide werden durch Schichtchromatographie (Kieselgel; Chloroform/Methanol/konz. Ammoniak 2 : 1 : 1) von den in diesem Laufmittel nicht wandernden Disaccharidkomponenten abgetrennt.

1.2 g (6.3 mMol) α - und β -Methylgarosaminid werden in der Lösung von 3.3 g (14.5 mMol) *Benzoesäureanhydrid* in 30 ccm Pyridin über Nacht bei Raumtemp. aufbewahrt, anschließend wird i. Vak. eingedampft. Der Sirup wird in konz. Na₂CO₃-Lösung aufgenommen und dreimal mit Chloroform ausgeschüttelt. Die Chloroform-Phase wird je einmal mit verd. Schwefelsäure und Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Das Reaktionsgemisch wird in 50 ccm Methanol aufgenommen, mit 0.1 n *Natriummethylat*-Lösung bis zur schwach alkalischen Reaktion versetzt und über Nacht bei Raumtemp. stehengelassen. Die Lösung wird eingedampft, in konz. Na₂CO₃-Lösung aufgenommen, dreimal mit Chloroform ausgeschüttelt, mit Natriumsulfat getrocknet und i. Vak. eingedampft. Der Rückstand wird aus Äthanol/Äther/Petroläther umkristallisiert, Ausb. 920 mg (50%) β -Anomeres, Schmp. 194–197°; $[\alpha]_D^{20}$: +178.5° ($c = 1$; CHCl₃).

C₁₅H₂₁NO₅ (295.3) Ber. C 61.00 H 7.16 N 4.74 Gef. C 60.93 H 7.20 N 5.09

Dieses β -Anomere erweist sich durch Vergleich der physikalischen Daten und Spektren als identisch mit 17.

Die Mutterlauge wird eingedampft und schichtchromatographisch aufgetrennt (Kieselgel; Chloroform/6% Methanol). Die untere Zone liefert eine geringe Menge des β -Anomeren, die obere Zone ergibt 260 mg (14%) α -Anomeres als farblosen Sirup. $[\alpha]_D^{20}$: +40° ($c = 0.8$; CHCl₃).

Gef. C 60.15 H 7.09 N 4.87

Dieses α -Anomere erweist sich durch Vergleich der physikalischen Daten und Spektren als identisch mit 18.

3-Desoxy-3-[methyl-benzyloxycarbonyl-amino]-4-C-methyl-L-arabinose (22): 3.0 g *Methyl- α -* und *- β -garosaminid* werden über Nacht in 250 ccm 1 *n HCl* zum Sieden erhitzt. Die Lösung wird i. Vak. eingedampft und mehrmals mit Wasser nachgedampft. Das sirupöse Reaktionsprodukt **21** wird in 150 ccm Wasser mit 1.5 g Na_2CO_3 versetzt. Unter Rühren und Eiskühlung werden 3.5 g *Chlorameisensäure-benzylester* zugetropft; das Reaktionsgemisch wird bei Raumtemp. über Nacht weiter gerührt. Die Lösung wird mit 1 *n HCl* neutralisiert und zweimal mit Chloroform ausgeschüttelt. Da die wäßr. Phase noch Reaktionsprodukt enthält, wird sie über Nacht im Perforator mit Chloroform extrahiert. Die Chloroform-Lösungen werden mit Natriumsulfat getrocknet, eingedampft und schichtchromatographisch gereinigt (Laufmittel: Chloroform/12% Methanol). Ausb. 3.2 g (65%); $[\alpha]_D^{20}$: +83° (*c* = 0.9; Methanol).

$\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{NO}_6$ (311.3) Ber. C 57.86 H 6.80 N 4.50 Gef. C 57.02 H 6.80 N 4.34

3-Desoxy-1.2-O-isopropyliden-3-[methyl-benzyloxycarbonyl-amino]-4-C-methyl- β -L-arabinopyranose (27) und *3-Desoxy-1.2-O-isopropyliden-3-[methyl-benzyloxycarbonyl-amino]-4-C-methyl- β -L-arabino-furanose (23)*: In die Lösung von 3.0 g (0.01 Mol) **22** in 50 ccm *Aceton* p. A. und 50 ccm 2.2-Dimethoxy-propan werden etwa 50 Blasen *HCl*-Gas eingeleitet und die Lösung über Nacht bei Raumtemp. aufbewahrt. Nach vorsichtigem Eindampfen wird das Gemisch in Aceton aufgenommen und schichtchromatographiert (Laufmittel: Cyclohexan/Essigester 1 : 1).

Untere Zone (Furanose 23): Ausb. 590 mg (16%); $[\alpha]_D^{20}$: +28.3° (*c* = 0.7; CHCl_3).

IR (Film): 3420 (OH); 1690 (CO); 700/cm (Aromat).

NMR (CDCl_3 , 60 MHz, δ in ppm): 3 C-CH₃, 1.17, 1.25, 1.53; N-CH₃, 2.95; Phenyl, 7.4.

$\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{NO}_6$ (351.4) Ber. C 61.52 H 7.17 N 3.99 Gef. C 61.43 H 7.18 N 3.90

Obere Zone (Pyranose 27): Ausb. 1.23 g (33%); $[\alpha]_D^{20}$: +48° (*c* = 0.7; CHCl_3).

IR (Film): 3420 (OH); 1680 (CO); 700/cm (Aromat).

NMR (CDCl_3 , 60 MHz, δ in ppm): 1-H, 5.68; $J_{1,2}$ = 5 Hz; 2 5-H, 5.2; 3 C-CH₃, 1.17, 1.29, 1.57; N-CH₃, 3.17; Phenyl, 7.4.

Gef. C 61.77 H 7.18 N 3.84

3-Desoxy-1.2-O-isopropyliden-3-methylamino-4-C-methyl- β -L-arabino-pyranose-hydrochlorid (28): 350 mg (0.9 mMol) **27** werden in 100 ccm Methanol/Wasser (1 : 1) nach Zusatz von 75 mg 10% Palladium/Kohle über Nacht unter Normaldruck hydriert. Nach Filtrieren wird die Lösung i. Vak. eingedampft. Die Umsetzung verläuft quantitativ. Eine Probe wird in 30 ccm Methanol mit 0.1 *n HCl* bis zur schwach sauren Reaktion versetzt, i. Vak. eingedampft und aus Äthanol/Äther/Petroläther umkristallisiert. Schmp. 201–205°; $[\alpha]_D^{20}$: +46° (*c* = 0.5; Methanol). Mol.-Gew. des freien Amins: 217 (massenspektrometr.).

$\text{C}_{10}\text{H}_{20}\text{NO}_4\text{Cl}$ (253.7) Ber. C 47.30 H 7.95 Cl 13.97 N 5.52

Gef. C 47.20 H 7.93 Cl 14.02 N 5.90

3-Desoxy-1.2-O-isopropyliden-3-methylamino-4-C-methyl- β -L-arabino-furanose-hydrochlorid (24): 350 mg (0.9 mMol) **23** werden in 100 ccm Methanol nach Zusatz von 75 mg 10% Palladium/Kohle 6 Stdn. unter Normaldruck hydriert. Nach Filtrieren wird mit 0.1 *n HCl* bis zur schwach sauren Reaktion versetzt, i. Vak. eingedampft und aus Äthanol/Äther/Petroläther umkristallisiert. Ausb. 170 mg (79%); Schmp. 210–211°; $[\alpha]_D^{20}$: +7° (*c* = 1; CHCl_3). Mol.-Gew. des freien Amins: 217 (massenspektrometr.).

Gef. C 47.22 H 7.87 Cl 14.00 N 5.42

3-Desoxy-1.2-O-isopropyliden-3-[N-methyl-benzamino]-4-C-methyl- β -L-arabino-pyranose (29): 140 mg (0.65 mMol) **28** und 160 mg (0.7 mMol) *Benzoessäureanhydrid* werden in 50 ccm

Methanol p.A. über Nacht bei Raumtemp. aufbewahrt, sodann wird i. Vak. eingedampft und schichtchromatographisch gereinigt (Laufmittel: Chloroform/4% Methanol). Das Reaktionsprodukt wird in einem Gemisch aus 20 ccm Pyridin und 15 ccm *Acetanhydrid* über Nacht aufbewahrt, zur Trockne eingedampft, mit verd. Schwefelsäure, mit NaHCO_3 -Lösung und mit Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Das sirupöse Produkt wird schichtchromatographisch gereinigt (Chloroform/4% Methanol). Ausb. 85 mg (42.5%). $[\alpha]_D^{20}$: $+38.5^\circ$ ($c = 1$; CHCl_3).

IR (Film): 3330 (OH); 1620/cm (PhCO); kein OAc.

NMR (CDCl_3 , 60 MHz, δ in ppm): 1-H, 5.72; $J_{1,2} = 4$ Hz; 2 5-H, 3.77; 3 C-CH₃, 1.27, 1.40, 1.58; N-CH₃, 3.19; Phenyl, 7.48.

5-O-Acetyl-3-desoxy-1,2-O-isopropyliden-3-[N-methyl-benzamino]-4-C-methyl- β -L-arabinofuranose (**26**): 85 mg (0.39 mMol) **24** und 100 mg (0.44 mMol) *Benzoesäureanhydrid* werden in 50 ccm Methanol p.A. aufbewahrt und wie oben aufgearbeitet. Das Reaktionsprodukt wird in 20 ccm Pyridin und 15 ccm *Acetanhydrid* über Nacht stehengelassen und ebenfalls wie oben aufgearbeitet und gereinigt. Ausb. 80 mg (55%); $[\alpha]_D^{20}$: -10.5° ($c = 1$; CHCl_3).

IR (Film): kein OH; 1730 (AcO); 1630/cm (PhCO).

NMR ($\text{C}_6\text{D}_6/\text{CDCl}_3$ 1 : 1, 60 MHz, δ in ppm): 4 C-CH₃, 1.20, 1.28, 1.56, 1.85; N-CH₃, 2.75; Phenyl, 3.71.

$\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{NO}_6$ (363.4) Ber. C 62.79 H 6.93 N 3.85 Gef. C 62.45 H 6.88 N 3.46

3,5-Dimethyl-1'-2'-O-isopropyliden- β -L-arabino-pyrano[4,3-d]oxazolidon-(2) (**30**): 300 mg (0.8 mMol) **27** werden in 50 ccm Methanol mit 2.0 g stark basischem Anionenaustauscher (*Ionenaustauscher III*, Merck) 2 Stdn. bei Raumtemp. gerührt. Nach Filtrieren wird i. Vak. eingedampft und aus Äthanol/Äther/Petroläther umkristallisiert. Ausb. 142 mg (75%). Schmp. 123–124°; $[\alpha]_D^{20}$: $\pm 0^\circ$; $[\alpha]_{250}^{20}$: -110° ($c = 1$; CHCl_3).

$\text{C}_{11}\text{H}_{17}\text{NO}_5$ (243.2) Ber. C 54.31 H 7.04 N 5.76

Gef. C 54.15 H 7.04 N 5.78 Mol.-Gew. 243 (massenspektrometr.)

IR (Nujol): kein OH; 1740/cm (CO).

NMR (CDCl_3 , 60 MHz, δ in ppm): 1-H, 5.54 (d); 2-H, 4.42 (q); $J_{1,2} = 5$ Hz; 3-H, 3.79 (d); $J_{2,3} = 2.5$ Hz; 2 5-H, 3.75; 3 C-CH₃, 1.39, 1.42, 1.59; N-CH₃, 2.97.

[109/72]