

Bausteine von Oligosacchariden, IV¹⁾

Synthese des Dihydrostreptosylstreptidins

Hans Paulsen*, Peter Stadler, Anna Banaszek*¹⁾ und Folkhard Tödter

Institut für Organische Chemie und Biochemie der Universität Hamburg,
Martin-Luther-King-Platz 6, D-2000 Hamburg 13

Eingegangen am 13. August 1976

Das Streptosylchlorid **1** reagiert mit chiralem Heptaacetylstreptidin **2** zum Pseudodisaccharid **3**, das in das 2,3-*O*-Isopropyliden-Derivat des Streptosylstreptidins (**5**) überführbar ist. Das Chlorid **6** kann mit **2** zum Glycosid **7** umgesetzt werden. Hieraus gelingt es, durch Deblockierungs- und Hydrierungsschritte das freie Dihydrostreptosylstreptidin **10** zu gewinnen.

Building Units for Oligosaccharides, IV¹⁾

Synthesis of Dihydrostreptosylstreptidine

Reaction of the streptosyl chloride **1** with the optically active heptaacetylstreptidine **2** gives the pseudo-disaccharide **3**, which can be transformed into the 2,3-*O*-isopropylidene derivative of streptosylstreptidine (**5**). Condensation of the chloride **6** with **2** leads to the glycoside **7**. Deblocking and hydrogenation of **7** yields the free dihydrostreptosylstreptidine **10**.

Nachdem, wie in der vorhergehenden Veröffentlichung²⁾ beschrieben, die Möglichkeiten der Glycosidsynthese von Streptose erprobt waren, konnte der Aufbau entsprechender Disaccharide in Angriff genommen werden. Am interessantesten ist die Synthese des Pseudodisaccharidbausteins des Streptomycins³⁾, der aus mit Streptidin α -L-glycosidisch verknüpfter Streptose besteht⁴⁾. Durch Partialhydrolyse von Streptomycin ist dieses Streptosylstreptidin nicht erhältlich, da die glycosidische Bindung der Streptose stets primär gespalten wird. Streptosylstreptidin scheint aber bei der Biosynthese des Streptomycins eine Schlüsselrolle zu spielen⁵⁾. Auch nach der kürzlich von Umezawa⁶⁾ veröffentlichten bemerkenswerten Synthese des Dihydrostreptomycins ist Dihydrostreptosylstreptidin nicht zu erhalten, da diese primär vom Dihydrostreptobiosamin⁷⁾ ausgeht.

*) Anschrift: Institut für Organische Chemie der Polnischen Akademie der Wissenschaften, Warschau.

¹⁾ III. Mittel.: H. Paulsen, Č. Kolář und W. Stenzel, *Angew. Chem.* **88**, 478 (1976); *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **15**, 440 (1976).

²⁾ H. Paulsen, P. Stadler und F. Tödter, *Chem. Ber.* **110**, 1896 (1977), vorstehend.

³⁾ R. U. Lemieux und M. L. Wolfrom, *Adv. Carbohydr. Chem.* **3**, 337 (1948).

⁴⁾ I. J. McGilveray und K. L. Rinehart jr., *J. Am. Chem. Soc.* **87**, 4002 (1965); P. Claes, H. Vanderhaeghe, J. Totte und G. Slinchx, *Bull. Soc. Chim. Belg.* **78**, 151 (1969).

⁵⁾ B. Kniep und H. Grisebach, *FEBS Lett.* **65**, 44 (1976).

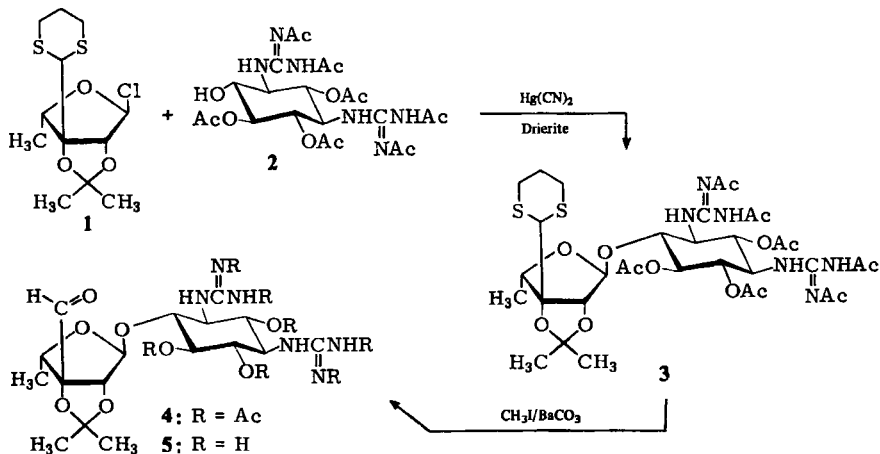
⁶⁾ S. Umezawa, T. Tsuchiya, T. Yamasaki, H. Sano und Y. Takahashi, *J. Am. Chem. Soc.* **96**, 920 (1974); S. Umezawa, Y. Takahashi und T. Tsuchiya, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **48**, 560 (1975).

⁷⁾ S. Umezawa, H. Sano und T. Tsuchiya, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **48**, 556 (1975).

Die Streptose ist im Pseudodisaccharid am C-4 des Streptidins in einer *R*-Konfiguration geknüpft^{8,9}. Setzt man die Streptose mit einem racemisch selektiv blockierten Streptidinderivat als Reaktionspartner um, so ist ein Diastereomerengemisch von Pseudodisacchariden zu erwarten, da die 4-OH- und 6-OH-Gruppe im Streptidin gleichwertig sind. Um diese Schwierigkeit zu umgehen, wählten wir ein chiral selektiv blockiertes Derivat, das Tetra-*N*-acetyl-2,5,6-tri-*O*-acetylstreptidin (**2**) als Reaktionspartner aus, bei dem nur die 4-OH-Gruppe unsubstituiert ist.

Zur Gewinnung von **2** wird eine Partialhydrolyse von Dodecaacetyldihydrostreptomycin¹⁰ mit Chlorwasserstoff in Dichlormethan durchgeführt¹⁰. Durch Umfällen mit Benzol sind die in Benzol löslichen Streptobiosaminanteile abtrennbar. Die chromatographische Reinigung liefert dann reines kristallines **2**. Acylwanderungen treten bei Einhaltung der Bedingungen des verbesserten Verfahrens nicht auf.

Als reaktivste Halogenkomponente der Streptose zur Herstellung von α -glycosidischen Verknüpfungen hatte sich die Isopropylidenverbindung **1** gezeigt². Das Streptidinderivat **2** dagegen erwies sich als eine der am wenigsten reaktiven Aglykonkomponenten. Es ist viel weniger reaktiv als die häufig eingesetzten 4,5- und 5,6-Isopropyliden-Derivate des 2-Desoxystreptamins^{11,12}. Die Umsetzung von **1** mit **2** gelingt aber in Toluol/Dioxan bei Gegenwart von Quecksilber(II)-cyanid bei 95°C unter sorgfältigem Ausschluß von Feuchtigkeit in Stickstoffatmosphäre. Nach chromatographischer Reinigung werden 36% **3** kristallin isoliert.



Der Wert der optischen Drehung von $[\alpha]_D^{20} = -43^\circ$ spricht für eine α -L-Verknüpfung. Das 270-MHz-NMR-Spektrum von **3** ist gut zu analysieren und zeigt für 1'-H der Streptose das für α -Glycoside typische Singulett. Die Bildung von β -Produkt wird nicht beobachtet. Bei tiefstem Feld erscheinen zwei Singulets ($\delta = 13.0$ und 13.1 ppm), die je einem Proton der beiden nicht äquivalenten Guanidino-Gruppen zugeordnet werden müssen. Ferner

⁸⁾ S. Tatsuoka, S. Harii, K. L. Rinehart jr. und T. Nakabayashi, J. Antibiot., Ser. A 17, 88 (1964).

⁹⁾ S. Neidle, D. Rogers und M. B. Hursthouse, Tetrahedron Lett. 1968, 4725.

¹⁰⁾ A. M. Comrie, H. C. Mital und J. B. Stenlake, J. Med. Pharm. Chem. 2, 1 (1960); 2, 153 (1960).

¹¹⁾ M. Nakajima, A. Hasegawa und N. Kurihara, Liebigs Ann. Chem. 689, 235 (1965).

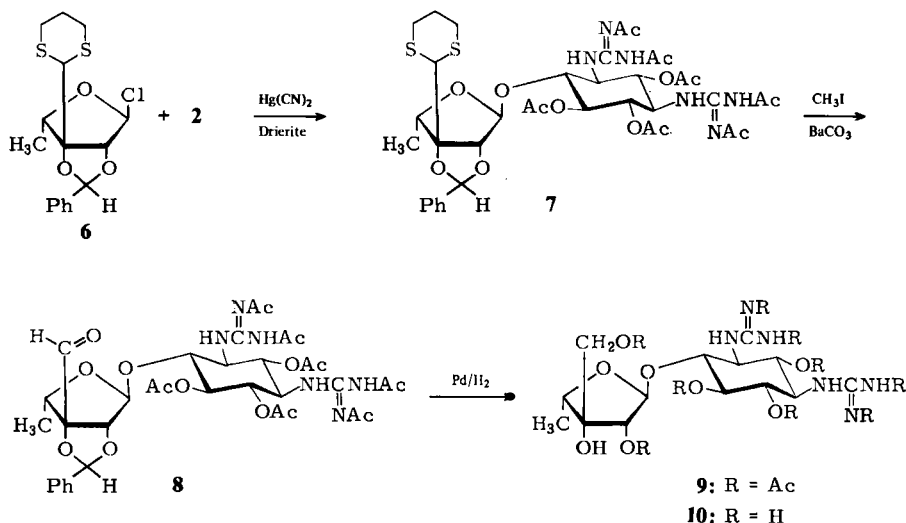
¹²⁾ H. Paulsen, F. Tödter, A. Banaszek und P. Stadler, Chem. Ber. 110, 1916 (1977), nachstehend.

sind zwei Dubletts ($\delta = 9.05$ und 9.17 ppm) zu beobachten, die den anderen am Stickstoff gebundenen Protonen 1-NH und 3-NH zuzuordnen sind. Die Dublettaufspaltung kommt, wie sich durch Entkopplungsexperimente zeigen läßt, durch eine Vicinalkopplung mit den am Cyclitolring gebundenen Protonen 1-H und 3-H zustande. Hieraus folgt, daß die beiden Acetylgruppen am Guanidinrest an den beiden endständigen Stickstoffatomen gebunden sein müssen und nicht am 1-NH und 3-NH, wie es zuerst angenommen wurde¹⁰⁾.

Die Entschwefelung von **3** zu **4** gelingt am besten nach Fétizon¹³⁾ mit Methyljodid in wäßrigem Aceton unter Zusatz von Bariumcarbonat als Base. Wird **4** gut i. Vak. getrocknet, so liegt die Aldehydform vor, und man beobachtet im ¹H-NMR-Spektrum in CDCl₃ das Formylproton bei $\delta = 9.71$ ppm. In wäßrigem Aceton erfolgt dagegen ein vollständiger Übergang in die Aldehydhydratform, denn im ¹H-NMR-Spektrum erscheint das Proton der hydratisierten Formylgruppe bei $\delta = 4.38$ ppm, und das Signal bei $\delta = 9.71$ ppm fehlt. Dieser Befund stimmt mit Ergebnissen von Pedersen¹⁴⁾ überein, der auch für das Streptomycin die Aldehydhydratform nachgewiesen hat. Postulierte cyclische Iminiumformen¹⁵⁾ haben danach für das Streptomycin keine Realität und können bei **4** ohnehin nicht eintreten, da der Aminozuckerteil fehlt.

Mit basischem Ionenaustauscher kann **4** zum Streptosylstreptidin-Derivat **5** entacetyliert werden. Eine völlige Entblockierung von **5** ist jedoch nicht gelungen. Die 2,3-*O*-Isopropylidengruppe in **5** zeigte eine außerordentliche Säurestabilität. Sie war ohne gleichzeitige Spaltung der Glycosidbindung nicht hydrolysierbar. Aus diesem Grunde wurde anschließend das Chlorid **6** zur Synthese eingesetzt, bei dem durch Vorversuche geprüft worden war²⁾, daß die Benzylidengruppe hydrogenolytisch abspaltbar ist.

Für die Umsetzung mit dem sehr reaktionsträgen **2** war ein besonders reines Chlorid **6** erforderlich. Dies wurde aus Methyl-2,3-*O*-benzyliden-5-desoxy-3-*C*-(formyl-trimethylen-dithioacetal)- α,β -L-lyxofuranosid²⁾ gewonnen, das zunächst in ein Furanosylbromid



¹³⁾ B. Fétizon und M. Jurion, J. Chem. Soc., Chem. Commun. 1972, 382.

¹⁴⁾ K. Bock, C. Pedersen und H. Heding, J. Antibiot. 27, 139 (1974).

¹⁵⁾ J. Aronson, W. L. Meyer und T. D. Brock, Nature (London) 202, 555 (1964).

übergeführt wurde. Dieses wurde mit Silbercarbonat zur am C-1 freien Furanose und anschließend mit Chlorwasserstoff zu **6** umgesetzt. Eine Umsetzung von **6** mit **2** konnte bei Gegenwart von Quecksilber(II)-cyanid unter strengem Feuchtigkeitsausschluß erst bei 120°C verwirklicht werden. Nach chromatographischer Reinigung wurden 17% des Disaccharids **7** kristallin isoliert. Der größte Teil des nicht umgesetzten **6** konnte als am C-1 freie Furanose zurückgewonnen und nach Überführung in **6** erneut eingesetzt werden.

Das Produkt **7** zeigt eine für ein α -L-Glycosid charakteristische Drehung von $[\alpha]_D^{22} = -51.5^\circ$. Ein Anteil an β -Glycosid wurde unter 0.5% gefunden. Vor der hydrogenolytischen Abspaltung der Benzylidengruppe war zunächst der Dithianrest zu entfernen. Wie bei **3** konnte nach Fétizon¹³⁾ aus **7** der Aldehyd **8** erhalten werden. Im ¹H-NMR-Spektrum von **8** beobachtet man in nichtwäßrigen Lösungsmitteln das Aldehydproton bei $\delta = 9.74$ ppm. Die kleine Kopplung $J_{1,2'} < 0.5$ Hz für die Streptoseeinheit spricht eindeutig für die α -glycosidische Verknüpfung.

Die reduktive Abspaltung der Benzylidengruppe ist durch Hydrierung mit einem Palladium-Kohle/Palladiumschwarz-Katalysator in wäßrigem Methanol möglich. Hierbei wird ebenfalls die Aldehydgruppe in **8** hydriert, so daß ein Dihydrostreptoserest eingeführt wird. Die Reaktion wird dadurch kompliziert, daß infolge der Labilität der Acetylgruppen des Streptidins eine teilweise Deacetylierung während der Reduktion einsetzt, so daß Produktgemische erhalten werden. Eine Nachacetylierung ergibt aber ein Nonaacetat **9**, das nach chromatographischer Reinigung kristallin erhältlich ist und dessen 270 MHz-¹H-NMR-Spektrum mit der Struktur **9** in voller Übereinstimmung steht. Als Nebenprodukt wird eine Verbindung isoliert, bei der die Aldehydgruppe von **8** reduziert, die Benzylidengruppe aber noch nicht abgespalten wurde. Danach wäre die Aldehydhydrierung die schnellere Reaktion.

Mit basischem Ionenaustauscher in wäßrigem Methanol werden von **9** alle Acetylgruppen abgespalten. Das Pseudodisaccharid **10** wird als Monoacetat-Salz isoliert, dessen 270 MHz-¹H-NMR-Spektrum voll mit der Struktur **10** übereinstimmt. Damit ist die Synthese des Dihydrostreptosylstreptidins gelungen.

Inzwischen konnte von Grisebach^{5, 16)} gezeigt werden, daß eine enzymatische Übertragung der Dihydrostreptose-Einheit von dTDP-Dihydrostreptose auf Streptidin-6-phosphat unter Bildung des *O*- α -L-Dihydrostreptose(1 \rightarrow 4)-streptidin-6-phosphats möglich ist. Das nach Entphosphorylierung hieraus erhaltene Disaccharid war in allen Daten identisch mit der in dieser Arbeit auf chemischem Wege synthetisierten Verbindung. Es wird somit angenommen, daß die enzymatische Reaktion der primäre Verknüpfungsschritt der Saccharideinheiten bei der Biosynthese des Streptomycins ist.

Frau Dr. A. Banaszek dankt dem *Deutschen Akademischen Austauschdienst* für die Gewährung eines Forschungsstipendiums. Frau H. Nürnberger danken wir für ihre sorgfältige und verantwortungsbewußte Mitarbeit an den Untersuchungen. Der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* sind wir für die Unterstützung der Untersuchungen zu großem Dank verpflichtet.

¹⁶⁾ Prof. Dr. H. Grisebach, Freiburg, danken wir für die Übermittlung der Ergebnisse.

Experimenteller Teil

Allgemeine Methoden: Vergleiche vorhergehende Veröffentlichung²⁾.

Dodecaacetyldihydrostreptomycin wurde nach Lit.¹⁰⁾ dargestellt. Eine zusätzliche Reinigung über eine kurze Silicagelsäule ist erforderlich, da sonst die Ausbeute an **2** absinkt.

Tetra-N-acetyl-2,5,6-tri-O-acetylstreptidin (2): Eine Lösung von 10,0 g Dodecaacetyldihydrostreptomycin in 35 ml absol. Dichlormethan wird bei 0°C 1,5 h mit getrocknetem HCl-Gas gesättigt. Nach 20 h bei 0°C wird unter kräftigem Rühren 50 ml Benzol zugefügt und 1 h bei -25°C stehengelassen. Das Lösungsmittel wird dekantiert und der Rückstand mit Benzol gewaschen. Einengen i. Vak. ergibt eine halbkristalline Masse, die in Chloroform/Aceton (50:25) gelöst und mit Ag₂CO₃ neutralisiert wird. Die rohe Mischung wird an Silicagel (300 g) mit Chloroform/Ethanol (99:1) chromatographiert. Beim Einengen ergeben sich 2,7 g (54%) Kristalle. Schmp. 185–187°C (Lit.¹⁰⁾ Schmp. 196–197°C).

Tetra-N-acetyl-2,5,6-tri-O-acetyl-4-O-(5-desoxy-3-C-(formyl-trimethylendithioacetal)-2,3-O-isopropyliden- α -L-lyxofuranosyl)streptidin (3): 900 mg (1,62 mmol) **2** (vorher 5 h bei 100°C i. Hochvak. über P₂O₅ getrocknet) und 670 mg (2,0 mmol) **1**²⁾ werden unter sorgfältigem Ausschluß von Feuchtigkeit mit 1,5 g Quecksilber(II)-cyanid und 800 mg Drierite in 12 ml Toluol/Dioxan (1:2; das Toluol wird durch Kochen über Lithiumalanat, das Dioxan durch Kochen über Natrium getrocknet) auf 95°C unter Stickstoff erhitzt. Nach 5 h werden weitere 670 mg **1** zugegeben und weitere 5 h erhitzt. Die Reaktion ist dann beendet. Zur Aufarbeitung versetzt man nach dem Abkühlen mit 40 ml Chloroform, filtriert und wäscht das Filtrat nacheinander mit Wasser, wäßrigem N KI und wieder mit Wasser. Man trocknet mit Magnesiumsulfat und dampft i. Vak. zu einem farblosen Sirup ein. Dünnschichtchromatographisch (Toluol/Aceton 5:2) zeigen sich vier Hauptprodukte. Sie werden wie folgt getrennt: Der erhaltene Sirup (1,8 g) wird in 7 ml Chloroform gelöst und unter scharfem Rühren mit 40 ml Ether versetzt. Danach werden 95 ml Hexan zugegropft. Vom ausgefallenen Niederschlag wird abgesaugt und mit Ether nachgewaschen. Im Filtrat ist nur noch das Produkt mit dem größten R_F-Wert vorhanden. Es wird isoliert und als 5-Desoxy-3-C-(formyl-trimethylendithioacetal)-2,3-O-isopropyliden-L-lyxofuranose (Hydrolyseprodukt von **1**) identifiziert (600 mg). Das ausgefallene Produktgemisch (800 mg) wird säulenchromatographisch (120 g Kieselgel nach Herrmann, Toluol/Aceton 6:4) aufgetrennt. Das zuerst aufgefangene Produkt erweist sich als das gewünschte Disaccharid. Es wird aus Chloroform mit Ether kristallisiert. Ausb. 500 mg (36%, bezogen auf **2**). Schmp. 204°C. $[\alpha]_D^{22} = -43^\circ$ ($c = 1.2$ in CHCl₃).

¹H-NMR (CDCl₃): 1'-H $\delta = 4.95$ s, 2'-H 4.49 s, 3'-Formyl-H 4.09 s, 4'-H 4.16 q, 5'-H 1.31 d, Dithian 4H 2.8–3.0 m, 2H 2.1–2.2 m, NH 9.05 d, 9.17 d, 13.0 s, 13.1 s, Acetyl 1.97 s, 2.10 s, 2.12 s, 2.15 s, 2.19 ppm s. $J_{4,5} = 6.1$ Hz.

C₃₄H₅₀N₆O₁₄S₂ · 2H₂O (867.0) Ber. C 47.10 H 6.27 N 9.69 S 7.40

Gef. C 47.05 H 5.85 N 9.48 S 7.54

Die beiden darauf nacheinander eluierten Substanzen sind Octaacetylstreptidin (55 mg) und nicht umgesetztes **2** (400 mg).

Tetra-N-acetyl-2,5,6-tri-O-acetyl-4-O-(5-desoxy-3-C-formyl-2,3-O-isopropyliden- α -L-lyxofuranosyl)streptidin (4): 70 mg (0,084 mmol) **3** werden in 1,5 ml 20proz. wäßrigem Aceton¹⁷⁾ mit 0,4 ml Methyljodid für 20 h auf 50°C erhitzt. Nun versetzt man mit 5 ml Aceton und fällt die Bariumsalze mit Kohlendioxid. Man filtriert und engt i. Vak. zum Sirup ein. Dieser wird auf eine kurze, mit 5,0 g Kieselgel nach Herrmann gefüllte Säule gebracht. Man eluiert mit Toluol/Aceton (1:1). Das Eluat wird eingedampft und der Rückstand aus Chloroform mit Ether und Hexan kristallisiert.

¹⁷⁾ Unter Zusatz von Bariumcarbonat als Base¹³⁾.

Um den reinen Aldehyd zu erhalten, trocknet man i. Hochvak. bei 50°C über P₂O₅. Ausb. 42 mg (68%). Schmp. 180°C (Zers.). $[\alpha]_D^{25} = -39^\circ$ ($c = 1.8$ in CHCl₃).

Freie Aldehydform: ¹H-NMR (CDCl₃): 1'-H δ = 5.02 s, 2'-H 4.42 s, 3'-Formyl-H 9.71 s, 4'-H 4.36 q, 5'-H 0.96 d, NH 9.0–9.3 m, 13.05 s, 13.3 ppm s. $J_{4,5} = 6.3$ Hz.

Aldehydhydratform: ¹H-NMR ([D₆]Aceton + 30% D₂O): 1'-H δ = 5.00 s, 2'-H 4.97 s, 3'-Formyl-H 4.38 s, 4'-H 4.20 q, 5'-H 1.25 d, Acetyl 2.15–2.20 ppm m. $J_{4,5} = 6.4$ Hz.

C₃₁H₄₆N₆O₁₆ · 2H₂O (794.9) Ber. C 46.84 H 6.35 N 10.57 Gef. C 45.55 H 6.50 N 10.11

4-*O*-(5-Desoxy-3-*C*-formyl-2,3-*O*-isopropyliden- α -L-lyxofuranosyl)streptidin (5): 34 mg (0.046 mmol) 4 werden in 1.5 ml 20proz. wäßrigem Methanol 10 h mit basischem Ionenaustauscherharz (IRA 400, OH-Form) geschüttelt. Man filtriert, dampft ein und nimmt den zurückbleibenden Sirup mit Wasser auf. Man wäscht die wäßrige Phase zweimal mit Chloroform und dampft sie zum farblosen Glas ein. Ausb. 18 mg (87%). $[\alpha]_D^{20} = -40^\circ$ ($c = 1.0$ in H₂O).

Aldehydform: ¹H-NMR (D₂O): 1'-H δ = 5.03 s, 2'-H 5.00 s, 3'-Formyl-H 4.45 s, 5'-H 1.07 d, Streptidin-H 3.3–3.6 ppm m. $J_{4,5} = 6.4$ Hz.

C₁₇H₃₂N₆O₉ · 1H₂O (500.5) Ber. C 40.80 H 7.25 N 16.79 Gef. C 40.31 H 7.40 N 16.23

Methyl-2,3-*O*-benzyliden-5-desoxy-3-*C*-(formyl-trimethylenedithioacetal)- α -L-lyxofuranosid: 0.81 g Methyl-5-desoxy-3-*C*-(formyl-trimethylenedithioacetal)- α -L-lyxofuranosid²⁾ werden in 15 ml trockenem Ether mit 3 ml frisch dest. Benzaldehyd und 1.5 g geschmolzenem Zinkchlorid bei Raumtemp. gerührt. Nach 8 h ist dünnschichtchromatographisch (Essigester/Hexan 3:7) kein Ausgangsprodukt mehr nachweisbar. Die Reaktionsmischung wird auf Eis gegossen und das Produkt mit Ether extrahiert. Die Extrakte werden mit wäßriger Natriumhydrogencarbonatlösung und anschließend mit Wasser gewaschen, getrocknet und i. Vak. eingedampft. Zur Abtrennung des restlichen Benzaldehyds wird der so erhaltene Sirup auf Kieselgel chromatographiert. Mit Hexan/Ether (95:5) eluiert man zuerst Benzaldehyd. Anschließendes Eluieren mit Hexan/Ether (85:15) liefert die Titelverbindung als farblosen Sirup. Ausb. 0.89 g (83%). $[\alpha]_D^{25} = -52.3^\circ$ ($c = 1.01$ in CDCl₃).

C₁₇H₂₂O₄S₂ (354.5) Ber. C 57.94 H 6.25 S 18.09 Gef. C 57.52 H 6.31 S 18.18

Die Darstellung größerer Mengen Benzylidenverbindung ist in analoger Weise aus dem Anomerengemisch von Methyl-5-desoxy-3-*C*-(formyl-trimethylenedithioacetal)- α,β -L-lyxofuranosid²⁾ möglich.

2,3-*O*-Benzyliden-5-desoxy-3-*C*-(formyl-trimethylenedithioacetal)- α -L-lyxofuranosylchlorid (6): Für die Disaccharidsynthese ist ein besonders reines Halogenid 6 erforderlich, das über das Furanosylbromid wie folgt dargestellt wird. 0.4 g Methyl-2,3-*O*-benzyliden-5-desoxy-3-*C*-(formyl-trimethylenedithioacetal)- α -L-lyxofuranosid oder eine Mischung des α - und β -Glycosids werden in 5 ml Methylenchlorid bei -5°C mit 1 ml einer 40proz. Lösung von HBr in Eisessig versetzt. Die Mischung wird 1.5 h bei 0°C gerührt. Eindampfen i. Hochvak. ergibt einen gelben Sirup, der in 10proz. wäßrigem Aceton gelöst mit einem Überschuß an Silbercarbonat gerührt wird. Nach 30 min werden die Salze abfiltriert und das Filtrat zum Sirup eingengt. Der Rückstand wird an Silicagel mit Methylenchlorid chromatographiert. Nach dem Einengen ergibt sich 0.34 g (89%) 2,3-*O*-Benzyliden-5-desoxy-3-*C*-(formyl-trimethylenedithioacetal)- α -L-lyxofuranose als amorphes Pulver. Schmp. 45–46°C. $[\alpha]_D^{20} = -52.7^\circ$ ($c = 0.51$ in CHCl₃).

C₁₆H₂₀O₄S₂ (340.5) Ber. C 56.40 H 5.92 S 18.83 Gef. C 56.34 H 6.07 S 18.90

Das so dargestellte Furanose-Derivat mit freier Hydroxylgruppe am C-1 reagiert vollständiger mit HCl als das Methylfuranosid und wird wie folgt umgesetzt: 0.34 g der oben dargestellten Furanose werden in 5 ml Methylenchlorid 30 min bei 0°C mit HCl-Gas behandelt. Dann wird 1 ml einer 20proz. Lösung von HCl in Eisessig zugefügt und 12 h bei Raumtemp. gerührt. DC

(Hexan/Ether 4:6) zeigt ein homogenes Produkt an. Es wird i. Vak. zum Sirup eingeeengt und mehrmals mit Toluol i. Vak. nachdestilliert. Sirup in quantitat. Ausb., $[\alpha]_D^{20} = -119.9^\circ$ ($c = 1.23$ in CHCl_3). Die Substanz ist äußerst empfindlich und muß sofort zur Glycosidsynthese eingesetzt werden.

Tetra-N-acetyl-2,5,6-tri-O-acetyl-4-O-(2,3-O-benzyliden-5-desoxy-3-C-(formyl-trimethylendithioacetal)- α -L-lyxofuranosyl)streptidin (7): 2.3 g gut getrocknetes **2** (5 h bei 105°C über P_2O_5 i. Vak.) werden unter sorgfältigem Ausschluß von Feuchtigkeit (Stickstoffatmosphäre) in 7 ml absol. Dioxan gelöst. Dann werden 1.2 g Drierite und 1.4 g Quecksilber(II)-cyanid zugegeben. Man erhitzt auf $115-120^\circ\text{C}$ und gibt unter gutem Rühren eine Lösung von 1.0 g **6** in 3 ml trockenem Toluol hinzu. Nach 1–3 h bei 120°C ist dünnschichtchromatographisch (Toluol/Aceton 5:3) kein **6** mehr nachweisbar. Nach dem Abkühlen versetzt man mit 50 ml Chloroform, filtriert und wäscht das Filtrat nacheinander mit Wasser, wäßrigem N KI und wieder mit Wasser. Man trocknet mit Magnesiumsulfat und entfernt das Lösungsmittel i. Vak. Der amorphe Rückstand wird an einer kurzen Säule mit 20 g Silicagel aufgetrennt. Man eluiert zunächst mit Benzol/Aceton (95:5) und erhält 0.31 g (31%) 2,3-O-Benzyliden-5-desoxy-3-C-(formyl-trimethylendithioacetal)-L-lyxofuranose (Hydrolyseprodukt von **6**). Anschließendes Eluieren mit Benzol/Aceton (85:15) liefert 0.415 g (17%) **7**. Zur Reinigung kristallisiert man aus Dichlormethan/Ether. Schmp. $138-140^\circ\text{C}$. $[\alpha]_D^{22} = -51.5^\circ$ ($c = 0.96$ in CHCl_3). Das β -verknüpfte Disaccharid wird als letzte Substanz der Säulentrennung in weniger als 0.5% erhalten.

$\text{C}_{39}\text{H}_{50}\text{N}_6\text{O}_{14}\text{S}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (897.0) Ber. C 50.88 H 5.84 N 9.36 S 7.15
Gef. C 51.31 H 5.76 N 9.34 S 7.23

Tetra-N-acetyl-2,5,6-tri-O-acetyl-4-O-(2,3-O-benzyliden-5-desoxy-3-C-formyl- α -L-lyxofuranosyl)streptidin (8): 0.4 g (4 mmol) **7** werden in 25 ml 20proz. wäßrigem Aceton mit 1 ml Methylidid und 0.8 g Bariumcarbonat bei $60-65^\circ\text{C}$ gerührt. Nach 12 h ist dünnschichtchromatographisch (Toluol/Aceton 5:3) kein **7** mehr nachweisbar. Man versetzt mit Chloroform und Aceton und filtriert vom Niederschlag ab. Das Filtrat wird i. Vak. eingedampft und der Rückstand säulenchromatographisch an Silicagel gereinigt (Kieselgel 60, Merck). Man eluiert zuerst mit Benzol/Aceton (95:5) und anschließend mit Benzol/Aceton (8:2) und erhält **8** als kristallines Produkt. Ausb. 0.27 g (75%). Schmp. $121-122^\circ\text{C}$. $[\alpha]_D^{22} = -53^\circ$ ($c = 0.48$ in CHCl_3).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 1'-H $\delta = 5.14$ s, 2'-H 4.56 s, 3'-Formyl-H 9.74 s, 4'-H 4.53 q, 5'-H 1.29 d, Ph 7.3–7.5 m, NH 9.06 d, 9.18 d, PhCH 6.0 ppm s. $J_{1',2'} < 0.5$, $J_{4,5} = 6.3$ Hz.

$\text{C}_{35}\text{H}_{44}\text{N}_6\text{O}_{15} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (806.8) Ber. C 52.11 H 5.75 N 10.42 Gef. C 52.60 H 5.67 N 10.20

Tetra-N-acetyl-2,5,6-tri-O-acetyl-4-O-(2,3'-di-O-acetyl-5-desoxy-3-C-hydroxymethyl- α -L-lyxofuranosyl)streptidin (9): 0.1 g (0.12 mmol) **8** werden in 3 ml 70proz. wäßrigem Methanol über 0.1 g Palladium auf Kohle (10proz.) und 0.045 g Palladiumschwarz 30 h bei Raumtemp. hydriert. Nach Abfiltrieren des Katalysators wird das Filtrat i. Vak. eingedampft. Der zurückbleibende Sirup (0.045 g) wird in 1 ml Pyridin mit 0.5 ml Acetanhydrid acetyliert. Nach 48 h Rühren bei Raumtemp. ist die Reaktion beendet. Dünnschichtchromatographisch (Toluol/Aceton 1:1) zeigt sich, daß der nach dem Einengen i. Hochvak. erhaltene Sirup zwei Produkte enthält, die säulenchromatographisch an Silicagel getrennt werden. Da das Produkt sehr empfindlich ist und leicht einer Deacetylierungsreaktion unterliegt, muß die Kieselgelsäule zunächst mit Benzol/Aceton (9:1), das 1% Pyridin enthält, gewaschen werden. Nach Aufgabe der Substanz eluiert man mit Benzol/Aceton (85:15) dann zuerst *Tetra-N-acetyl-2,5,6-tri-O-acetyl-4-O-(3'-O-acetyl-2,3-O-benzyliden-5-desoxy-3-C-hydroxymethyl- α -L-lyxofuranosyl)streptidin* als Nebenprodukt. Ausb. 7 mg (7%). Schmp. $128-129^\circ\text{C}$. $[\alpha]_D^{22} = -42^\circ$ ($c = 0.94$ in CHCl_3).

$\text{C}_{37}\text{H}_{48}\text{N}_6\text{O}_{16} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (850.8) Ber. C 52.23 H 5.92 N 9.88 Gef. C 51.91 H 5.74 N 9.37

Anschließend eluiert man **9**. Ausb. 21 mg (22%). Schmp. 115–116°C. $[\alpha]_D^{22} = -48^\circ$ ($c = 1.0$ in CHCl_3).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): 1'-H $\delta = 4.98$ s, 2'-H 4.96 s, 3''-H 4.03 d, 4.16 d, 4'-H 4.0 q, 5'-H 1.19 d, NH 9.05 d, 9.14 ppm d, $J_{4,5} = 6.2$, $J_{\text{gem.}} = 11.4$ Hz.

$\text{C}_{32}\text{H}_{46}\text{N}_6\text{O}_{17}$ (786.7) Ber. C 48.85 H 5.89 N 10.68 Gef. C 48.93 H 5.85 N 10.08

4-O-(5-Desoxy-3-C-hydroxymethyl- α -L-lyxofuranosyl)streptidin-acetat (10): Eine Lösung von 32 mg (0.4 mmol) **9** in 5 ml 30proz. wäßrigem Methanol wird mit Ionenaustauscherharz (Amberlite IRA 400 OH^\ominus -Form) über Nacht bei Raumtemp. gerührt. Dann wird vom Harz abfiltriert, dieses mit wäßrigem Methanol gewaschen und das Filtrat i. Vak. eingedampft. Der zurückbleibende Sirup wird in Wasser gelöst und die Lösung dreimal mit wenig Chloroform extrahiert. Eindampfen der wäßrigen Lösung i. Vak. liefert 17 mg (89%) farbloses amorphes Pulver. $[\alpha]_D^{20} = -41.5^\circ$ ($c = 1.04$ in H_2O).

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{D}_2\text{O}/\text{CD}_3\text{OD}$): 1'-H $\delta = 5.05$ d, 2'-H 4.13 d, 4'-H 4.34 q, 5'-H 1.22 d, Ac 1.90 s, Streptidin-H 3.7–3.95 ppm m. $J_{1,2} = 3.5$, $J_{4,5} = 6.0$ Hz.

$\text{C}_{14}\text{H}_{28}\text{N}_6\text{O}_8 \cdot \text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$ (468.5) Ber. C 41.01 H 6.88 Gef. C 40.20 H 6.50

[367/76]