

- [4] L. Berner-Fenz, H. Berner, W. Graf & H. Wehrli, *Helv.* 53, 2258 (1970).  
 [5] B. P. Schaffner, L. Berner-Fenz & H. Wehrli, *Helv.* 53, 2266 (1970).  
 [6] M. M. Janot, Q. Khuong-Huu, C. Monneret, I. Kaboré, J. Hildesheim, S. D. Gero & R. Goutarel, *Tetrahedron* 26, 1695 (1970).  
 [7] K. Heusler, P. Wieland & A. Wettstein, *Helv.* 44, 1374 (1961).  
 [8] P. T. Lansbury & J. O. Peterson, *J. Amer. chem. Soc.* 83, 3537 (1961).  
 [9] K. Heusler & A. Wettstein, *Helv.* 35, 284 (1952).  
 [10] W. Graf, H. Berner, L. Berner-Fenz, E. Gössinger, R. Imhof & H. Wehrli, *Helv.* 53, 2267 (1970).  
 [11] R. Imhof, E. Gössinger, W. Graf, W. Schnüriger & H. Wehrli, *Helv.* 54, 2775 (1971).  
 [12] J. D. Albright & L. Goldman, *J. Amer. chem. Soc.* 89, 2416 (1967).  
 [13] W. Graf, E. Gössinger, R. Imhof & H. Wehrli, *Helv.* 55, 1545 (1972).  
 [14] M. Karplus, *J. Chem. Physics* 30, 11 (1959).  
 [15] W. Steglich & G. Höfle, *Angew. Chem.* 81, 1001 (1969).  
 [16] D. W. Emerson & H. Wynberg, *Tetrahedron Letters* 1971, 3445.  
 [17] E. Gössinger, W. Graf, R. Imhof & H. Wehrli, *Helv.* 54, 2785 (1971).

## 257. Neue $\beta$ -Lactam-Antibiotika. Über die Darstellung der 8- $\beta$ -Phenylacetamido-homoceph-4-em-5-carbonsäure (1)

Modifikationen von Antibiotika, 7. Mitteilung<sup>1)</sup>

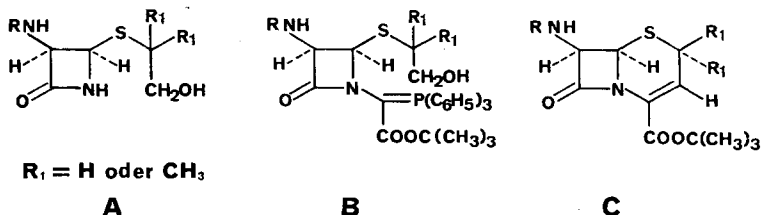
von R. Scartazzini, J. Gosteli\*, H. Bickel und R. B. Woodward\*

Chemische Forschungslaboratorien der Division Pharmazentika CIBA-GEIGY AG, Basel, und Woodward Forschungsinstitut\*, Basel

(30. VIII. 72)

*Summary.* The thiazolidine  $\beta$ -lactam **3** adds acrolein in a *Michael* type reaction. The resulting carbinolamide **4** is converted to 8- $\beta$ -phenylacetamido-homoceph-4-em-5-carboxylic acid (**1**) by previously described methods.

Vor kurzem berichteten wir über die Synthese neuer Dihydrothiazin- $\beta$ -lactam-antibiotika des Typs C [1] [2].

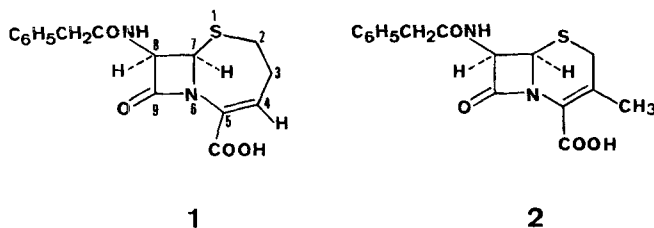


Der Aufbau des Dihydrothiazinringes in C erfolgte ausgehend von Amino-thio- $\beta$ -lactamen des Typs A, die synthetisch oder durch Abbau von Penicillin G zugänglich waren [3]. Als entscheidend für die Umwandlung der Verbindungen A in die Zwischenprodukte B erwies sich die Fähigkeit des  $\beta$ -Lactamstickstoffs, mit Glyoxylsäureestern Kondensationen einzugehen. Die dabei gewonnenen «Carbinolamide» liessen sich über die entsprechenden Chlorverbindungen in die Phosphorane B um-

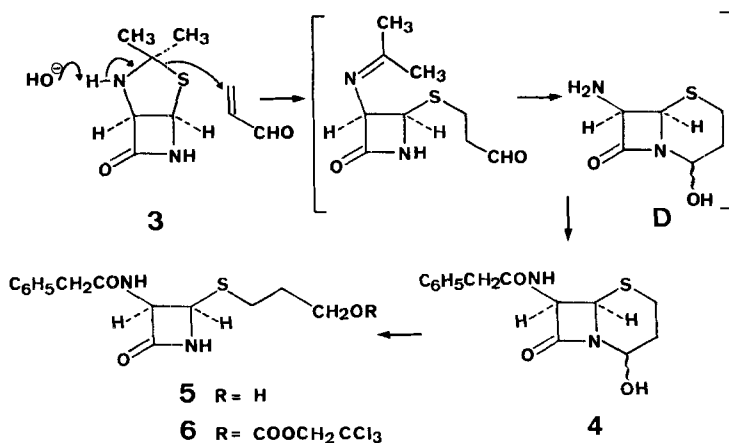
<sup>1)</sup> 6. Mitteilung, s. [1].

wandeln. Nach Oxydation können diese durch intramolekulare *Wittig*-Reaktion zu den Cephalosporin-ähnlichen Verbindungen **C** cyclisiert werden.

Das gleiche Syntheschema ermöglichte nun die Darstellung der 8- $\beta$ -Phenylacetamido-homoceph-4-em-5-carbonsäure (**1**), eines neuartigen «Cephalosporins», für das wir uns interessierten, um biologische Vergleiche mit der isomeren Verbindung **2**<sup>2)</sup> [4] anstellen zu können.



Als Ausgangsmaterial diente uns das Thiazolidin **3**. Dieses war erstmals aus seinem synthetisch zugänglichen *N*-Boc-Derivat [5] durch Behandlung mit Trifluoressigsäure dargestellt worden. Neuerdings kann man **3** auch durch Abbau von Penicillinen erhalten [3].



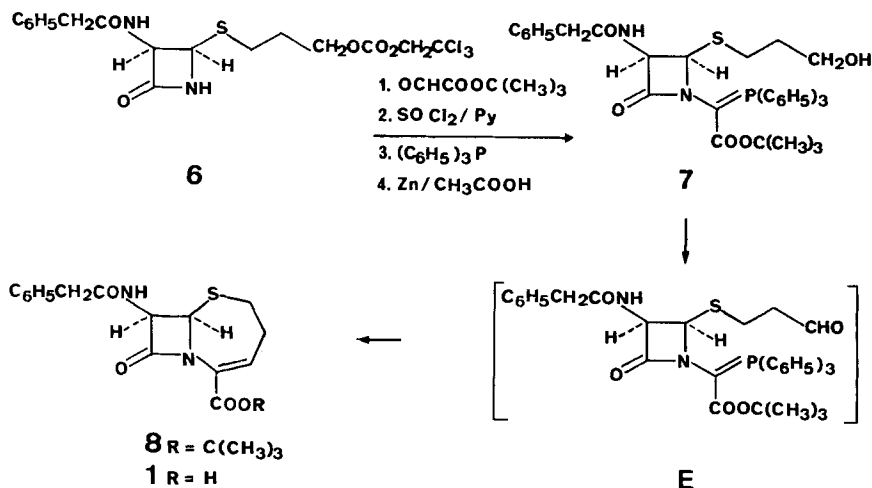
**3** reagiert mit Acrolein in Gegenwart von Tetrabutyl-ammoniumhydroxid bei 0° unter Öffnung des Thiazolidinringes. Es entsteht dabei ein chromatographisch nachweisbares polares Produkt, dem vermutlich die Struktur **D** zukommt. Wird das Reaktionsgemisch nach 2 Std. Reaktionsdauer mit Phenylacetylchlorid/Pyridin acyliert, dann lässt sich **D** in Form seines *N*-Phenylacetylderivates **4** kristallin (Smp. 157°) isolieren (Ausbeute: 39%). Wie in ähnlichen früheren Fällen kann das Vorliegen des tautomeren ringoffenen Aldehydes aufgrund spektroskopischer Befunde (u.a. die Abwesenheit eines Aldehydprotons im NMR.) ausgeschlossen werden<sup>3)</sup>.

<sup>2)</sup> **2** (Desacetoxycephaloram) ist ein Analoges des klinisch verwendeten Breitspektrum-Antibiotikums Cephalexin. Cephalexin besitzt anstelle der *N*-Phenylacetylgruppe eine (*D*)-Phenylglycylseitenkette.

<sup>3)</sup> Für eine Diskussion des Aldehyd/«Carbinolamid»-Gleichgewichtes vgl. [3].

**4** lässt sich erwartungsgemäss mit Natriumborhydrid zum Alkohol **5** (Smp. 149°) reduzieren, der seinerseits mit Chlorameisensäuretrichloräthylester den entsprechenden Kohlensäureester **6** (Smp. 57–60°) liefert. **6** wird nun analog beschriebener Beispiele [1] [2] ohne Reindarstellung der Zwischenprodukte durch 1. Kondensation mit Glyoxylsäure-*t*-butylester, 2. Behandlung mit Thionylchlorid/Pyridin, 3. Kondensation mit Triphenylphosphin und 4. Reduktion mit Zink/Essigsäure in das amorphe Hydroxy-phosphoran **7** umgewandelt (Ausbeute ca. 9%).

Bei der nachfolgenden Oxydation mit DMSO/Ac<sub>2</sub>O entsteht aus **7** direkt der bicyclische Ester **8** (Smp. 128°), ohne dass der intermediär zu erwartende Aldehyd **E**



nachgewiesen werden kann (Ausbeute: 42%). Die analytischen und spektroskopischen Daten (vgl. exp. Teil) von **8** erlauben eine eindeutige Strukturzuordnung. Erwähnenswert ist das im Vergleich zu Δ<sup>3</sup>-Cephalosporansäurederivaten um ca. 20 nm nach kürzeren Wellenlängen verschobene UV.-Absorptionsmaximum bei 245 nm<sup>4)</sup>. Kurze Behandlung von **8** mit Trifluoressigsäure liefert die chromatographisch einheitliche 8-Phenyl-acetamido-homoceph-4-em-5-carbonsäure **1**.

Im Gegensatz zu Desacetoxycephaloram **2**, welches in vitro bei Konzentrationen von 0,1–10 μ/ml gegen gram-positive und bei Konzentrationen von 40–100 μ/ml gegen gram-negative Bakterien eine deutliche Hemmwirkung aufweist, zeigt **1** bis zu einer Konzentration von 100 μ/ml keine antibakterielle Wirkung<sup>5)</sup>.

### Experimenteller Teil

*Allgemeines.* Die Smp. wurden auf dem Kofler-Block gemessen und sind nicht korrigiert. Die optischen Drehungen wurden, sofern nicht anders vermerkt, in Chloroform in einem Rohr von 10 cm Länge auf einem Perkin-Elmer-Mod.-141-Apparat gemessen. Die Spektren wurden wie folgt aufgenommen: UV.-Spektren mit Cary-15 (angegebene Zahlen bedeuten nm (ε) von λ<sub>max</sub>); IR.-Spektren mit Perkin-Elmer Mod. 221 (wichtigste Banden in μ, sh = Schulter); NMR.-Spektren

<sup>4)</sup> Für eine Diskussion der Cephalosporinabsorption vgl. [6].

<sup>5)</sup> Wir danken Herrn Dr. Kradojfer und Mitarbeitern aus unseren biologischen Laboratorien für die Ausführung der biologischen Prüfungen.

mit *Varian* Mod. HA100 (100 MHz) ( $\delta$  in ppm bezogen auf Tetramethylsilan; *s* = Singulett, *d* = Dublett, *t* = Triplett, *dd* = doppeltes Dublett, *m* = Multipllett, *b* = breit, unstrukturiert, AB = AB-System, *J* = Kopplungskonstante in Hz); Massenspektren mit *Varian* CH-7.

Die Dünnschichtchromatogramme auf Kieselgel G wurden in den jeweils angegebenen Systemen ausgeführt und mit Jod entwickelt. Zur Säulenchromatographie verwendete man Kieselgel *Merck* (0,05–0,2 mm, reinst). Für präparative Schichtchromatographie diente Kieselgel PF<sub>254</sub> (Schichtdicke 1,5 mm), wobei die Zonen unter einer UV.-Lampe (254 nm) sichtbar waren.

Unter normaler Aufarbeitung wird verstanden: Einengen im Vakuum, Aufnehmen im angegebenen Lösungsmittel, wenn nötig Auftrennung in saure, basische und neutrale Anteile, Waschen der organischen Phase mit gesättigter Kochsalzlösung, Trocknen mit wasserfreiem Natriumsulfat und Eindampfen.

«*Carbinolamid*» **4**. Eine Lösung von 3,85 g (0,024 Mol) 3,3-Dimethyl-4-thia-2,6-diazabicyclo-[3,2,0]heptan-7-on (**3**) in 80 ml Methylenchlorid wurde mit 1,50 g (0,027 Mol) frisch destilliertem Acrolein und 90,0 mg 40proz. wässrigem Tetrabutylammoniumhydroxid 2 Std. bei 0° unter N<sub>2</sub> gerührt. Anschliessend wurden 3,86 g (0,049 Mol) Pyridin und innert 30 Min. eine Lösung von 3,11 g (0,024 Mol) Phenylacetylchlorid in 20 ml Methylenchlorid zugetropft. Nach 1 Std. bei 0° und 2 Std. bei RT. wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum eingengt, der Rückstand mit 50 ml Dioxan/Wasser 1:1 15 Min. gerührt und mit Essigester normal aufgearbeitet. Der Rückstand (8,25 g) wurde an 300 g Kieselgel chromatographiert. Essigester eluierte 2,80 g (39,4%) «*Carbinolamid*» **4**, das aus Methylenchlorid/Hexan kristallisierte. Einmalige Umkristallisation ergab farblose Prismen vom Smp. 156–158°,  $[\alpha]_D^{20} = +78^\circ \pm 2^\circ$  (*c* = 0,575). IR. (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): 2,90 (OH); 3,03 (NH); 5,67 (Lactam); 5,96 (Amid I); 6,65 (Amid II). NMR. (CDCl<sub>3</sub>): 1,90 (*m*, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CHOH); 2,44 (*m*; 1 H/SCH<sub>2</sub>); 3,12 (*m*; 1 H/SCH<sub>2</sub>); 3,52 (*bs*/OH); 3,58 (*s*/C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>2</sub>); 4,07 (*d*; *J* = 4,5/H-6); 5,32 (*m*/H-4); 5,45 (*dd*; *J* = 9,5 und 4,5/H-7); 6,52 (*d*; *J* = 9,5/CONH); 7,27 (*s*/5 arom. H). MS. 292 (*M*<sup>+</sup>).

C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S (292,37) Ber. C 57,51 H 5,51 N 9,58% Gef. C 57,39 H 5,48 N 9,25%

*Alkohol* **5**. Eine auf 0° gekühlte Lösung von 1,310 g (4,50 mMol) «*Carbinolamid*» **4** in 100 ml Tetrahydrofuran wurde innert 5 Min. mit einer Lösung von 0,340 g (9,00 mMol) Natriumborhydrid in 20 ml Wasser versetzt und 30 Min. gerührt. Durch tropfenweise Zugabe von Essigsäure wurde der pH-Wert auf ca. 6,5 eingestellt, das Reaktionsgemisch eingengt und mit Essigester normal aufgearbeitet. Man erhielt 1,484 g öliges Rohprodukt, das an 50 g Kieselgel chromatographiert wurde. Essigester und Essigester mit steigenden Anteilen Aceton eluierten 1,101 g (83%) *Alkohol* **5**, welcher aus Aceton/Äther kristallisierte. Nach einmaliger Umkristallisation farblose Nadeln vom Smp. 148–149°.  $[\alpha]_D^{20} = +54^\circ \pm 1^\circ$  (*c* = 0,514; C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH). IR. (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): 2,74; 2,90 (OH; NH); 5,59 (Lactam); 5,93 (Amid I); 6,65 (Amid II). NMR. (Aceton-d<sub>6</sub>): 1,68 (*m*/CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 2,53 (*t*, *J* = 7,5/SCH<sub>2</sub>); 3,55 (*m*/CH<sub>2</sub>OH und OH); 3,60 (*s*/C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>2</sub>); 4,96 (*d*, *J* = 4,5/NCHS); 5,41 (*dd*, *J* = 9 und 4,5/NCHCO); 7,30 (*m*/5 arom. H); 7,82 (*b*/CONH und Lactam NH). MS. 294 (*M*<sup>+</sup>).

C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S (294,38) Ber. C 57,12 H 6,16 N 9,52 S 10,89%  
Gef. „ 57,01 „ 6,12 „ 9,50 „ 10,78%

*Kohlensäureester* **6**. Eine auf 0° gekühlte Lösung von 1,34 g (4,54 mMol) *Alkohol* **5** und 1,44 g (6,80 mMol) Chlorameisensäure-2,2,2-trichloräthylester in 100 ml Tetrahydrofuran wurde innerhalb 10 Min. mit einer Lösung von 0,536 g (6,80 mMol) Pyridin in 10 ml Tetrahydrofuran versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde unter N<sub>2</sub> 30 Min. bei 0° und 2 Std. bei RT. gerührt, eingengt und mit Methylenchlorid wie üblich aufgearbeitet. Man erhielt 2,75 g gelblichen Schaum, welcher an 100 g Kieselgel chromatographiert wurde. Essigester eluierte 1,98 g (~93%) der dünnschichtchromatographisch einheitlichen Verbindung **6**, welche aus Methylenchlorid/Benzol kristallisierte. Zur Analyse gelangte eine 2mal umkristallisierte und 3 Tage bei 0,001 Torr getrocknete Probe vom Smp. 57–60°.  $[\alpha]_D^{20} = -16^\circ \pm 1^\circ$  (*c* = 0,353). IR. (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): 2,91 (NH); 5,61; 5,66 *sh* (Lactam; Carbonat); 5,94 (Amid I); 6,64 (Amid II). NMR. (CDCl<sub>3</sub>): 1,80 (*m*/CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 2,41 (*t*, *J* = 7/SCH<sub>2</sub>); 3,59 (*s*/C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>2</sub>); 4,17 (*t*, *J* = 6/CH<sub>2</sub>O); 4,71 (*s*/OCH<sub>2</sub>CCl<sub>3</sub>); 4,81 (*d*, *J* = 4,5/NCHS); 5,45 (*dd*, *J* = 9 und 4,5/NCHCO); 6,52 (*d*, *J* = 9/CONH); 6,55 (*bs*/Lactam NH); 7,26 und 7,29 (2*s*/5 arom. H und Benzol). MS. 425 (3<sup>52</sup>Cl) = *M*<sup>+</sup> - HNCO.

C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>Cl<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S · 1/2 C<sub>6</sub>H<sub>6</sub> (469,77) Ber. C 47,21 H 4,36 Cl 20,90 N 5,51%  
Gef. „ 46,99 „ 4,32 „ 21,34 „ 5,51%

*Darstellung des Hydroxy-phosphorans 7.* – *Hydroxy-amid.* Aus einer Lösung von 20,0 g Glyoxylsäure-*t*-butylester in 500 ml Toluol wurden zur Entfernung des Wassers 100 ml Toluol abdestilliert und die verbleibende Lösung mit 2,56 g (5,45 mMol) Kohlensäureester **6** 15 Std. unter  $N_2$  bei  $90^\circ$  gerührt. Nach dem Erkalten wurde das Reaktionsgemisch 5mal mit je 100 ml dest. Wasser extrahiert, die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingedampft. Der Rückstand (3,38 g), welcher das rohe Hydroxy-amid enthielt, wurde direkt weiterverarbeitet.

*Chlor-ester.* Eine Lösung von 3,38 g rohem Hydroxy-amid und 2,06 g (0,026 Mol) Pyridin in 150 ml Tetrahydrofuran/Dioxan 1:1 wurde unter  $N_2$  bei  $-10^\circ$  mit einer Lösung von 2,98 g (0,025 Mol) Thionylchlorid in 40 ml Tetrahydrofuran/Dioxan 1:1 tropfenweise versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 30 Min. bei  $-10^\circ$ , 2 Std. bei  $0^\circ$  und 30 Min. bei RT. gerührt, über Celit filtriert und das Filtrat nach Zugabe von 100 ml Benzol im Vakuum eingedampft. Der ölige, dunkelrote Rückstand enthielt den rohen Chlor-ester, welcher direkt weiter umgesehen wurde.

*Phosphoran-carbonat.* Eine Lösung des rohen Chlor-esters in 125 ml Dioxan wurde mit 2,30 g Triphenylphosphin und 0,70 ml Pyridin unter  $N_2$  während 10 Std. bei  $55^\circ$  gerührt. Eindampfen des Reaktionsgemisches und normale Aufarbeitung des Rückstandes mit Methylenchlorid ergab 9,94 g Rohprodukt. Präparative Schichtchromatographie (Hexan/Aceton 1:1) lieferte 0,641 g (ca. 14% bezogen auf **6**) dünn-schichtchromatographisch einheitliches Phosphoran-carbonat als gelblichen Schaum. Rf  $\sim 0,31$  (Hexan/Aceton 1:1). IR. ( $CH_2Cl_2$ ): 3,03 (NH); 5,69 (Lactam, Carbonat); 5,93; 6,15 (Ester; Amid I); 6,68 (Amid II).

*Hydroxy-phosphoran 7.* Eine Lösung von 0,641 g Phosphoran-carbonat in 50 ml 90proz. wässriger Essigsäure wurde mit 5 g Zinkstaub 30 Min. bei  $10$ – $15^\circ$  gerührt. Der Zinkstaub wurde abfiltriert, mit Aceton nachgewaschen und das Filtrat im Vakuum eingedampft. Normale Aufarbeitung des Rückstandes mit Methylenchlorid ergab 0,501 g Rohprodukt, aus dem durch präparative Schichtchromatographie (Hexan/Aceton 1:1) 0,315 g ( $\sim 62\%$ ) dünn-schichtchromatographisch einheitliches Hydroxy-phosphoran **7** erhalten wurden. Rf  $\sim 0,11$  (Hexan/Aceton 1:1). IR. ( $CH_2Cl_2$ ): 2,86; 3,03 (OH; NH); 5,68 (Lactam); 5,97; 6,15 (Ester; Amid I); 6,68 (Amid II).

*$\delta$ - $\beta$ -Phenylacetamido-homoceph-4-em-5-carbonsäure-*t*-butylester (8).* Eine Lösung von 0,314 g Hydroxy-phosphoran **7** in 50 ml Dimethylsulfoxid/Acetanhydrid 1:1 wurde unter  $N_2$  4 Std. bei RT. stengelassen. Das Gemisch wurde bei 0,01 Torr eingedampft, der Rückstand in 250 ml Toluol aufgenommen und 5mal mit je 100 ml Wasser extrahiert. Die wässrigen Phasen wurden mit 250 ml Toluol nachextrahiert, die organischen Phasen kombiniert, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Man erhielt 0,312 g Rohprodukt, welches an 20 g Kieselgel chromatographiert wurde. Toluol/Essigester 4:1 eluierte 77 mg (42%) der dünn-schichtchromatographisch einheitlichen Verbindung **8**; nach einmaliger Umkristallisation aus Methylenchlorid/Hexan feine farblose Nadeln vom Smp.  $127$ – $129^\circ$ .  $[\alpha]_D^{20} = +45 \pm 1^\circ$  ( $c = 0,445$ ). UV. ( $C_6H_5OH$ ): 245 (6940). IR. ( $CH_2Cl_2$ ): 2,91 (NH); 5,62 (Lactam); 5,81 (Ester); 5,92 (Amid I); 6,05 (C=C); 6,64 (Amid II). NMR. ( $CDCl_3$ ): 1,46 (*s*/ $C(CH_3)_3$ ); 2,35–3,05 (*m*/ $SCH_2CH_2$ ); 3,63 (*s*,  $C_6H_5CH_2$ ); 5,02 (*d*,  $J = 5$ /H-7); 5,64 (*dd*,  $J = 9$  und  $5$ /H-8); 6,44 (*d*,  $J = 9$ /CONH); 6,56 (*dd*,  $J = 7$  und  $4$ /H-4); 7,29 ( $\sim s/5$  arom. H). MS. 388 ( $M^+$ ).

$C_{20}H_{24}N_2O_4S$	Ber. C 61,83	H 6,23	N 7,21	S 8,25%
(388,48)	Gef. „ 61,74	„ 6,37	„ 7,10	„ 8,41%

*$\delta$ - $\beta$ -Phenylacetamido-homoceph-4-em-5-carbonsäure (1).* 74,5 mg Ester **8** wurden in 5 ml Trifluoressigsäure 30 Min. bei RT. stengelassen und eingedampft. Der Rückstand wurde noch 2mal mit 10 ml Chloroform/Toluol 1:1 eingedampft und anschliessend an 10 g Kieselgel, welches durch Zugabe von 5% Wasser desaktiviert worden war, chromatographiert. Methylenchlorid/Aceton 4:1 eluierte 56,3 mg (88%) der dünn-schichtchromatographisch einheitlichen, amorphen Säure **1**, welche aus Aceton/Äther kristallisierte, Smp.  $125^\circ$  (Zersetzung). Rf  $\sim 0,45$  (*n*-Butanol/Eisessig/Pyridin/Wasser 40:24:6:30).

UV. ( $C_6H_5OH$ ): 245 (6150). IR. (KBr): 2,92 (OH); 3,02 (NH); 5,66 (Lactam); 5,87 (COOH); 6,06 (Amid I); 6,53 (Amid II). NMR. (Aceton- $d_6$  + DMSO- $d_6$ ): 2,40–3,30 (*m*/ $SCH_2CH_2$ ); 3,59 (*s*/ $C_6H_5CH_2$ ); 3,80 (*b*/COOH + HDO); 5,09 (*d*,  $J = 5$ /H-7); 5,55 (*dd*,  $J = 9$  und  $5$ /H-8); 6,65 (*dd*,  $J = 7$  und  $4$ /H-4); 7,26 (*m/5* arom. H); 8,60 (*bd*,  $J = 9$ /CONH). MS. 332 ( $M^+$ ).

Für die Ausführung der Mikroanalysen danken wir Dr. *W. Padowetz* und für die Aufnahme und Diskussion der NMR-, IR-, UV- und Massenspektren Dr. *J. Bercier*, Dr. *H. Fuhrer* und Dr. *H. Hürzeler*.

## LITERATURVERZEICHNIS

- [1] *R. Scartazzini & H. Bickel*, *Helv.* 55, 423 (1972).
- [2] *R. Scartazzini, H. Peter, H. Bickel, K. Heusler & R. B. Woodward*, *Helv.* 55, 408 (1972).
- [3] *K. Heusler*, *Helv.* 55, 388 (1972).
- [4] *R. R. Chauvette, P. A. Pennington, C. W. Ryan, R. D. G. Cooper, F. L. José, J. G. Wright, E. M. van Heyningen & G. W. Huffman*, *J. org. Chemistry* 36, 1259 (1971).
- [5] *R. B. Woodward, K. Heusler, J. Gosteli, P. Naegeli, W. Oppolzer, R. Ramage, S. Ranganathan & H. Vorbrüggen*, *J. Amer. chem. Soc.* 88, 852 (1966).
- [6] *R. Nagarajan & D. O. Spry*, *J. Amer. chem. Soc.* 93, 2310 (1971).

## 258. Charge Transfer as a Molecular Probe in Systems of Biological Interest

### VI<sup>1)</sup>: Interactions between Lysozyme and the Methyl 2-acetamido-6-O- (N-methyl-isonicotinium)-2-deoxy- $\beta$ -D-glucopyranoside Ion

by **Jan Verhoeven<sup>2)</sup>** and **Robert Schwyzer**

Institut für Molekularbiologie und Biophysik, Eidg. Technische Hochschule,  
CH-8049 Zürich

(28. VIII. 72)

*Summary.* The synthesis of methyl 2-acetamido-6-O-(N-methyl-isonicotinium)-2-deoxy- $\beta$ -D-glucopyranoside ion (**2**; iodide and chloride) is reported. Association with hen-egg-white lysozyme causes chemical shift changes for its acetamido and glycosidic methyl groups comparable to those observed for the monosaccharide lysozyme inhibitor methyl 2-acetamido-3-deoxy- $\beta$ -D-glucopyranoside. The binding modes of the two compounds to the enzyme in solution therefore appear to be analogous. Furthermore, a charge transfer interaction of the pyridinium: indole type is observed spectrophotometrically, indicating that the **2**/lysozyme complex in solution is similar to that of the monosaccharide (and polysaccharide) inhibitor in crystals (proximity of the ligand O<sup>6</sup> to the enzyme Trp<sup>62</sup>).

**Introduction.** – The current interests of one of us (*R.S.*) are centered around the process of biological recognition at the molecular level [2]. We are studying hormone/potential receptor and inhibitor (substrate)/enzyme interactions with fluorescent [3], NMR. [4], photo-affinity [5], radioactive [6], and charge-transfer (CT.) [7] probes.

Recent CT. investigations have indicated that N(1)-methyl-nicotinamide ion forms a molecular complex with Trp<sup>62</sup> of hen-egg-white lysozyme in solution. An association constant of  $K = 3.2$  l/mole was determined from spectrophotometric titration experiments [8]. According to X-ray crystallographic studies [9], mono- and polysaccharide inhibitors of the N-acetyl-glucosamine (NAG) and N-acetyl-muramic

<sup>1)</sup> Elektronen-Donator-Acceptor-Komplexe bei Polypeptiden. For paper V see [1].

<sup>2)</sup> Present address: Laboratory for Organic Chemistry, University of Amsterdam, Nieuwe Achtergracht 129, Amsterdam, The Netherlands.