

constants, $J_{1,2} = 5.5$ Hz. The dihedral angle between H-C(1) and H-C(2) in the 2H_1 -conformation would be about 180° , which would require a larger $J_{1,2}$.

Although the equilibrium between H-conformations ('sofa'-conformation was proposed for some 2,3-unsaturated hexopyranoside derivatives by *Watanabe et al.* [12]) was investigated only with these two examples, it can be assumed that the stabilization of the corresponding conformers is to be explained by the stereochemical position of the glycosidic linkage and its dipolar interaction with the other groups of the molecule [13].

REFERENCES

- [1] *R. E. Reeves*, J. Amer. chem. Soc. **72**, 1499 (1950); *Advances Carbohydr. Chemistry* **6**, 107 (1951); *R. B. Kelly*, *Canad. J. Chemistry* **35**, 149 (1957).
- [2] *P. L. Durette & D. Horton*, *Advances Carbohydr. Chemistry & Biochemistry* **26**, 49 (1971); *S. J. Angyal*, *Angew. Chem.* **81**, 172 (1969); *D. H. R. Barton & B. C. Cookson*, *Quart. Rev.* **10**, 44 (1956); *R. J. Ferrier & W. G. Overend*, *Quart. Rev.* **13**, 265 (1959).
- [3] *J. F. Stoddart*, 'Stereochemistry of Carbohydrates', Wiley-Intersciences, London, 1971, p. 53.
- [4] a) *E. L. Eliel*, *Accounts Chem. Res.* **3**, 1 (1970); b) *L. E. Sutton*, 'Tables of Interatomic Distances and Configuration in Molecules and Ions', The Chemical Society, London, 1958.
- [5] *J. Kiss & P. C. Wyss*, *Carbohydr. Res.* **27**, 282 (1973).
- [6] *N. S. Bhacca, D. Horton & H. Paulsen*, *J. org. Chemistry* **33**, 2484 (1968).
- [7] *O. Hassel & B. Ottar*, *Acta chem. scand.* **1**, 920 (1947).
- [8] *P. R. Sundararajan & V. S. R. Rao*, *Tetrahedron* **24**, 289 (1968); *R. J. Ferrier & G. H. Sankey*, *J. chem. Soc. (C)* **1966**, 2345.
- [9] *R. U. Lemieux & A. R. Morgan*, *Canad. J. Chemistry* **43**, 2205 (1965).
- [10] *J. S. Brimacombe & J. M. Webber*, 'Mucopolysaccharides', Elsevier, London, 1964; *J. Kiss*, *Advances Carbohydr. Chemistry & Biochemistry* **29**, 230-303 (1974).
- [11] *J. Kiss & F. Burkhardt*, *Helv.* **53**, 1000 (1970); *Tetrahedron Letters* **1970**, 1983.
- [12] *K. A. Watanabe, R. S. Goody & J. J. Fox*, *Tetrahedron* **26**, 3983 (1970), see also literature cited.
- [13] *J. T. Edward*, *Chemistry & Ind.* **1955**, 1102; *R. U. Lemieux & N. J. Chiu*, *Abstracts of Papers, Amer. Chem. Soc.* **133**, 31N (1958); see reference (42) of [4a]; *S. Wolfe, A. Rauk, L. M. Tel & I. G. Csizmadia*, *J. chem. Soc. (B)* **1971**, 136.

37. Synthese einiger Glucuronid-Metaboliten von Phenacetin und Phenetidin, Teil II¹⁾

von **Joseph Kiss, Klaus Noack** und **Richard D'Souza**

Forschungsabteilung der *F. Hoffmann-La Roche & Co. AG.*, Basel

Herrn Prof. Dr. *H. Bretschneider*, Institut für Organische und Pharmazeutische Chemie der Universität Innsbruck, zum 70. Geburtstag gewidmet.

(2. IX. 74)

Summary. The anomeric configuration of the main metabolite of phenacetin, *p*-acetamidophenyl β -D-glucopyranosido-uronic acid, was established by configurative correlation with a cyclohexyl β -D-glucopyranosido-uronic acid derivative. Furthermore, some anomeric D-glucopyranoside conjugates of 2-ethoxy-5-acetamido-phenol were synthesized and characterized using NMR.-spectroscopy and ORD./CD.

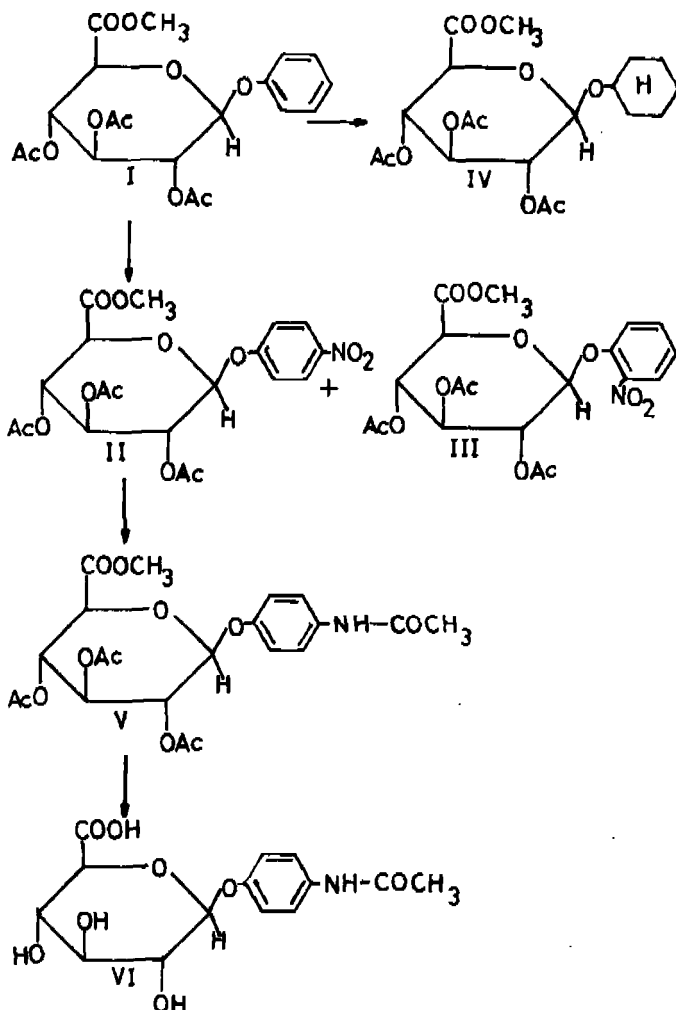
¹⁾ Teil I. s. [1].

Im ersten Teil dieser Arbeit [1] wurde die Synthese von Glucuroniden des 2-Hydroxyphenacetins und 2-Hydroxyphenetidins beschrieben. *Dreiding et al.* [2] isolierten diese Substanzen als natürliche Metabolite des Phenacetins und Phenetidins beim Menschen. Sie entstehen jedoch in grösserem Prozentsatz nur bei Patienten mit inadecuater Desacetylierungsmechanismus.

Wie schon früher [3] bemerkt wurde, erwies sich die *p*-Acetamidophenyl- β -D-glucopyranosiduronsäure (VI) als normaler Glucuronid-Hauptmetabolit des Phenacetins, neben anderen, am Benzolkern hydroxylierten Umwandlungsprodukten [4].

Um die physiologische Aktivität dieser Haupt- und Neben-Metaboliten prüfen zu können, haben wir diese synthetisch hergestellt. Daneben wurden auch andere Fragen, wie z.B. die Anomerenverhältnisse der reinen Glucuronid-Metaboliten, durch physikalische Methoden (NMR.-Spektroskopie, ORD./CD.) geklärt.

Bei dem obengenannten Glucuronid-Hauptmetaboliten wurde angenommen, dass es sich um das β -Anomere handelt [5]. Bei der Bestimmung der Anomerie von Phenyl- β -D-glucopyranosiden mittels NMR.-Technik treten infolge starker Abschirmung des



C(1)-Protons jedoch Schwierigkeiten auf [6]. In unserer vorhergehenden Mitteilung [1] wurde bereits darauf hingewiesen, dass diese Abschirmung nur bei den Aryl- β -glykosiden zu finden ist, während die entsprechenden α -Glykosid-Anomeren keine Schwierigkeiten bieten.

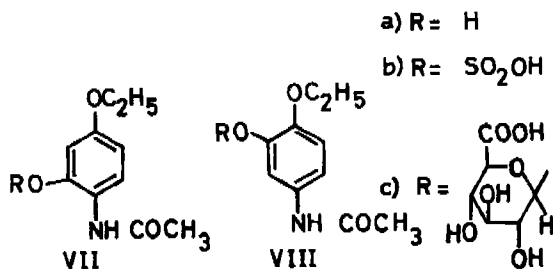
Angesichts dieser Probleme haben wir folgenden Weg zur Bestimmung der Anomerie gewählt: Nach bekannter Methode [7] wurde Tetra-O-acetyl-D-glucuronsäure-methylester mit Phenol in Gegenwart von *p*-Toluolsulfonsäure kondensiert und das erhaltene Produkt I im Benzolkern nitriert. Die beiden Nitroprodukte II und III wurden säulenchromatographisch getrennt.

Das *p*-Nitroderivat II erwies sich als identisch mit dem aus *p*-Nitrophenol und Acetobromglucuronsäure-methylester nach *Königs & Knorr* hergestellten Glucuronid [8]. II lieferte nach katalytischer Reduktion und anschliessender Acetylierung die Verbindung V, welche zu VI verseift wurde. Letzteres erwies sich als identisch mit dem natürlichen Glucuronid-Hauptmetaboliten des Phenacetins.

Die Bestimmung der Anomerie von I, II und V und VI durch Kernresonanzspektroskopie (60 und 100 MHz) war infolge des oben erwähnten Aryloxy-Abschirmeffektes [1] [6] nicht einwandfrei. Wir haben deshalb das aromatische π -Elektronsextett in Verbindung I durch katalytische Hydrierung aufgehoben. Das erhaltene Cyclohexyl-glucuronid IV war mit dem aus Acetobrom-D-glucuronsäure-methylester und Cyclohexanol nach *Königs & Knorr* erhaltenen Produkt [9] identisch. Erwartungsgemäss zeigte IV im Kernresonanzspektrum keinen Abschirmeffekt mehr. Auf übliche Weise konnte die H-C(1)/H-C(2)-Kopplungskonstante bestimmt werden, welche in CDCl₃-Lösung bei 25° 9,0 Hz betrug.

Auf diesem Wege konnte bewiesen werden, dass die angenommene β -anomere Konfiguration des Glucuronid-Hauptmetaboliten des Phenacetins zutreffend ist. Diese Beobachtung steht im Einklang mit früheren Untersuchungsergebnissen [2] [5]. Ausserdem kann die einfache Umwandlung I \rightarrow IV als Beispiel zur Stereo-Korrelation zwischen den Aryl- und Alkyl-D-glucopyranosiden und Glucopyranosiduronaten dienen.

Anschliessend möchten wir über die Synthese eines weiteren Glucuronids berichten, welches aus einem Metaboliten des Phenacetins erhalten werden kann. Wie bereits erwähnt, wird Phenacetin (und auch Phenetidin) im Organismus auch im Benzolkern hydroxyliert. Diese Hydroxylierung kann in *o*- oder *m*-Stellung zur Acylamino- bzw. Amino-Funktion erfolgen (s. Formeln VII und VIII). Derivate des *o*-hydroxylierten Produktes wurden schon in unserer ersten Mitteilung [1] beschrieben. Hier berichten wir über die Synthese des *m*-hydroxylierten Metaboliten.

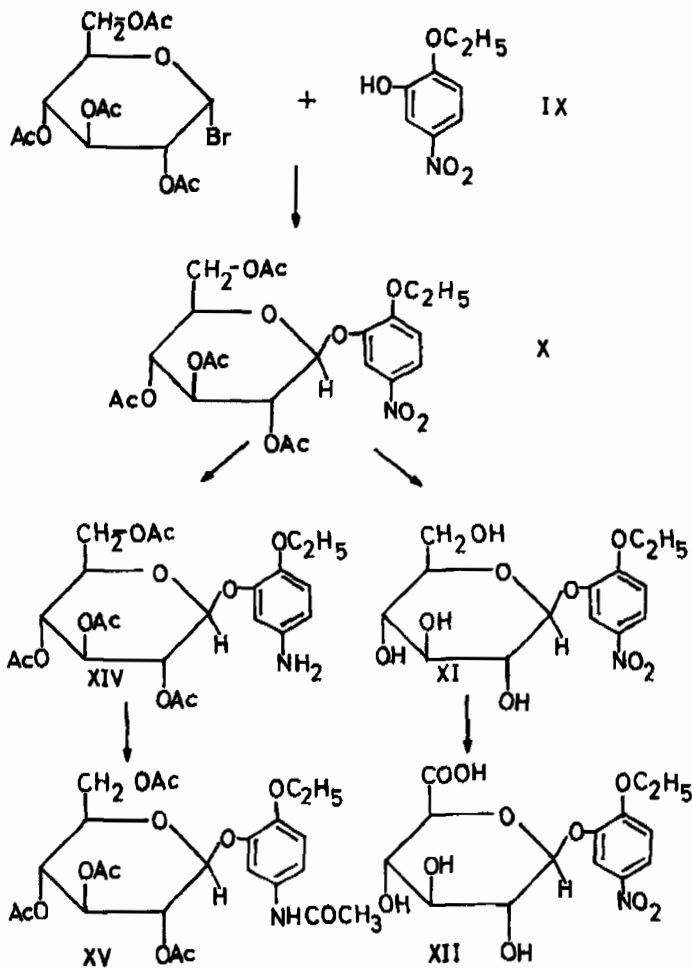


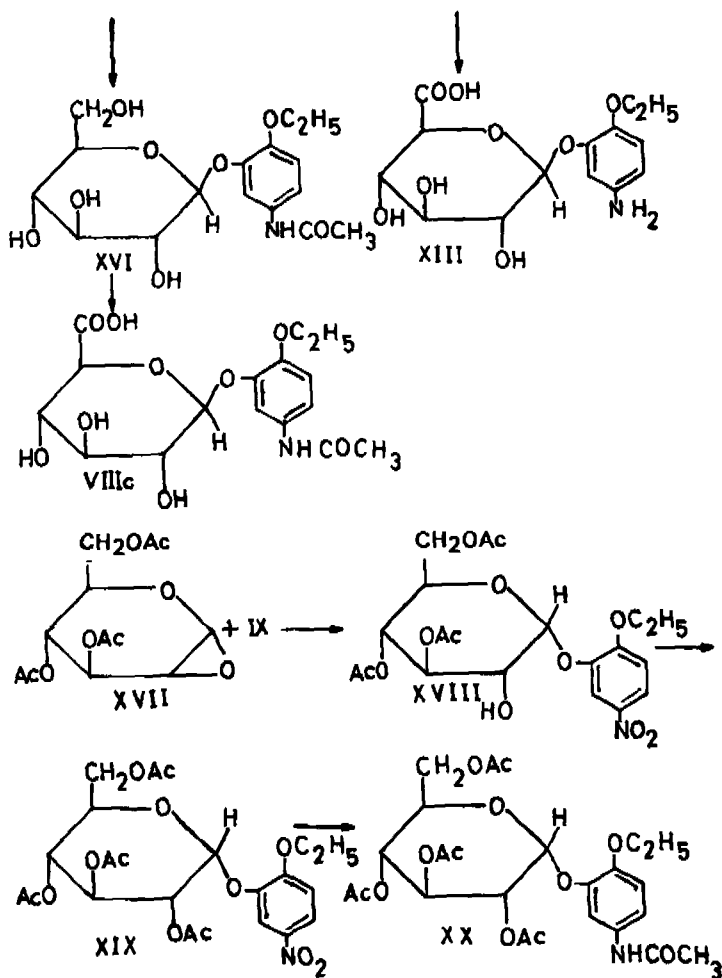
Für die Synthese des Glucuronids VIIIc wählten wir einen ähnlichen Weg, wie er für das analoge *o*-hydroxylierte Glucuronid VIIc von uns ausgearbeitet wurde: Kondensation von Acetobromglucose mit 2-Äthoxy-5-nitro-phenol (IX) nach Königs & Knorr. Das Kondensationsprodukt X wurde auf 2 Wegen weiterverwandelt.

1) Nach Abspaltung der Acetat-Schutzgruppen wurde das erhaltene Nitrophenylglucosid XI katalytisch zum entsprechenden Glucuronid XII oxydiert. Reduktion der Nitrogruppe lieferte schliesslich das Amin XIII.

2) Nach Reduktion der Nitrogruppe (Bildung von XIV) und Acetylierung der erhaltenen Aminogruppe (Bildung von XV) erhielt man durch Abspaltung der Acetat-Schutzgruppen XVI, das durch Oxydation der primären Hydroxylfunktion das Glucuronid VIIIc lieferte.

Beim Versuch zur Bestimmung der anomeren Konfiguration der letzteren Phenylglucoside und -glucuronide durch NMR.-Spektroskopie (60-, bzw. 100-MHz) traten ähnliche Schwierigkeiten auf, wie sie schon bei den isomeren 2-Hydroxy-4-äthoxy-





6-acetamido-phenyl-D-glucosiden und -glucuroniden, sowie bei den oben beschriebenen *p*-Nitrophenylglucosiden beobachtet wurden.

Um zu beweisen, dass dieser Abschirmeffekt eindeutig stereoselektiv ist und ausschliesslich bei den β -anomeren D-Arylglykosiden und -glykuroniden eintritt, haben wir die entsprechenden α -D-Glucoside aus 2-Äthoxy-5-nitrophenol und dem *Brigl*-schen Anhydrid **XVII** hergestellt. Die so erhaltenen α -D-Glucoside wiesen keinen Abschirmeffekt mehr auf; daher war die Zuordnung der anomeren Konfiguration ohne Schwierigkeiten möglich.

Auch mit Hilfe der optischen Rotationsdispersion (ORD.)- und der Circular dichroismus (CD.)-Kurven war eine Bestätigung der anomeren Konfiguration einwandfrei möglich.

Die ORD.-Kurven von anomeren Phenylglykosiden wurden von *Sticzay et al.* [10], die ORD.-Kurven und CD.-Spektren von Nitrophenylglykosiden von *Tsuzuki et al.* [11] beschrieben und diskutiert. Beide Autorengruppen konnten feststellen, dass

α -Phenyl- und Nitrophenyl-glykoside eine im Positiven beginnende ORD.-Kurve, β -Phenyl- und Nitrophenyl-glykoside eine im Negativen beginnende ORD.-Kurve zeigen. Und zwar gibt bei beiden Verbindungsgruppen der 1L_n -Übergang des Phenylchromophors bei ca. 280 nm, eventuell unter Beteiligung eines p -Elektrons des Phenoxy-Sauerstoffatoms, im Falle der β -Anomeren einen negativen, im Falle der α -Anomeren einen positiven Cotton-Effekt. Dieser ist relativ schwach und auf der ORD.-Kurve oft nicht gut zu erkennen, gibt aber Anlass zu einem negativen bzw. positiven Maximum im CD.-Spektrum. Dies gilt jedoch nur für nicht *o*-substituierte Phenylderivate. Bei den Nitrophenylglykosiden kommt dazu noch eine weitere Bande vom $n-\pi^*$ -Übergang der Nitrogruppe, welche bei längeren Wellen (ca. 340 nm) beobachtet wird. Bei *o*-Nitroverbindungen treten Komplikationen wegen sterischer Hinderung der Drehbarkeit des Phenylringes gegenüber dem Zucker als auch der Nitrogruppe selbst auf. *m*-Nitrophenylglykoside wurden bisher nicht untersucht.

Bei den von uns beschriebenen Verbindungen bestätigt sich die Regelmässigkeit, dass alle β -Phenylglykoside eine im Negativen, alle α -Phenylglykoside eine im Positiven beginnende ORD.-Kurve zeigen (siehe Tabelle).

Die CD.-Spektren, die bekanntermassen genauere Auskunft über die einzelnen Verbindungen geben, zeigen bei den Aminoacetylverbindungen XV, XVI und XX ein nahezu spiegelbildliches Verhalten von α - und β -Phenylglykosiden. Peracetylierung des Zuckers hat auf die bei ca. 280 nm gelegenen Phenylbande keinen merklichen Einfluss. Diese ist negativ bei β - und positiv bei α -Glykosiden.

Bei den Nitroverbindungen sind die Verhältnisse komplizierter. Bei α -Verknüpfung des Phenylringes wird das Spektrum von einer Acetylierung des Zuckers in Stellung 2 (XVIII und XIX) kaum beeinflusst. Bei β -verknüpftem Phenylring sind die CD.-Spektren von nicht acetyliertem und peracetyliertem Zucker ganz verschieden.

Das regelmässige Vorzeichen der ORD.-Kurven, das die Zuordnung zu α - oder β -Konfiguration erlaubt, ist demnach auf einen Cotton-Effekt im kurzwelligen Bereich unterhalb 200 nm zurückzuführen.

ORD.- und CD.-Daten

IV (1,0 g/l, Methanol). ORD.: $[\Phi]_{690} - 74^\circ$, $[\Phi]_{589} - 79^\circ$, $[\Phi]_{546} - 95^\circ$, $[\Phi]_{496} - 176^\circ$, $[\Phi]_{405} - 208^\circ$, $[\Phi]_{365} - 270^\circ (\pm 20^\circ)$.

X (1,03 g/l, Methanol). ORD.: $[\Phi]_{690} - 153^\circ$, $[\Phi]_{589} - 235^\circ$, $[\Phi]_{546} - 269^\circ$, $[\Phi]_{496} - 425^\circ (\pm 25^\circ)$, $[\Phi]_{405} - 456^\circ (\pm 250^\circ)$, $[\Phi]_{365} - 3075^\circ (\pm 2500^\circ)$. CD: $\Delta\epsilon_{358} 0,38$ (pos. Max.) $\Delta\epsilon_{304} - 1,11$ (neg. Max.) $\Delta\epsilon_{276} - 1,03$ (neg. Max.) $\Delta\epsilon_{242} 1,08$ (pos. Max.) $\Delta\epsilon_{216} - 1,58$ (neg. Max.).

XI (1,05 g/l, Methanol). ORD.: $[\Phi]_{690} - 210^\circ$, $[\Phi]_{589} - 300^\circ$, $[\Phi]_{546} - 365^\circ$, $[\Phi]_{496} - 762^\circ (\pm 18^\circ)$, $[\Phi]_{405} - 1160^\circ (\pm 180^\circ)$, $[\Phi]_{365} - 4180^\circ (\pm 1800^\circ)$. CD: $\Delta\epsilon_{325} - 0,61$ (neg. Max., sehr breit), $\Delta\epsilon_{246} - 0,89$ (neg. Max.), $\Delta\epsilon_{219} - 2,27$ (neg. Max.), $\Delta\epsilon_{189} - 5,3$ (neg. Max.).

XV (1,09 g/l, Methanol). ORD.: $[\Phi]_{690} - 155^\circ$, $[\Phi]_{589} - 188^\circ$, $[\Phi]_{546} - 238^\circ$, $[\Phi]_{496} - 407^\circ$, $[\Phi]_{405} - 503^\circ (\pm 25^\circ)$, $[\Phi]_{365} - 690^\circ (\pm 60^\circ)$, $[\Phi]_{284} - 4200^\circ$ (Tal), $[\Phi]_{275} - 3100^\circ$ (Gipfel) $(\pm 3000^\circ)$. CD: $\Delta\epsilon_{277} - 0,24$ (neg. Max.), $\Delta\epsilon_{225} - 3,50$ (neg. Max.).

XVI (1,02 g/l, Methanol). ORD.: $[\Phi]_{690} - 164^\circ$, $[\Phi]_{589} - 228^\circ$, $[\Phi]_{546} - 260^\circ$, $[\Phi]_{496} - 464^\circ$, $[\Phi]_{405} - 578^\circ$; $[\Phi]_{265} - 817^\circ (\pm 18^\circ)$. CD: $\Delta\epsilon_{284} - 0,82$ (neg. Max.); $\Delta\epsilon_{202} - 2,41$ (neg. Max.).

XVIII (1,03 g/l, Methanol). ORD.: $[\Phi]_{690} 569^\circ$, $[\Phi]_{589} 795^\circ$, $[\Phi]_{546} 956^\circ$, $[\Phi]_{496} 1681^\circ (\pm 20^\circ)$, $[\Phi]_{405} 2250^\circ (\pm 240^\circ)$. CD: $\Delta\epsilon_{338} 0,53$ (pos. Max.), $\Delta\epsilon_{273} - 0,28$ (neg. Max.), $\Delta\epsilon_{245} 2,77$ (pos. Max.), $\Delta\epsilon_{210} 2,96$ (pos. Max.).

XIX (1,10 g/l, Methanol). ORD.: $[\Phi]_{690}^{25} 482^\circ$, $[\Phi]_{589}^{25} 702^\circ$, $[\Phi]_{546}^{25} 846^\circ$, $[\Phi]_{436}^{25} 1497^\circ (\pm 25^\circ)$, $[\Phi]_{405}^{25} 1970^\circ (\pm 250^\circ)$, $[\Phi]_{356}^{25} 5730^\circ (\pm 2500^\circ)$. CD.: $\Delta\epsilon_{323} 0,33$ (pos. Max.), $\Delta\epsilon_{272} -0,16$ (neg. Max.), $\Delta\epsilon_{237} 1,69$ (pos. Max.).

XX (1,10 g/l, Methanol). ORD.: $[\Phi]_{690}^{25} 488^\circ$, $[\Phi]_{589}^{25} 687^\circ$, $[\Phi]_{546}^{25} 824^\circ$, $[\Phi]_{436}^{25} 1380^\circ$, $[\Phi]_{405}^{25} 1664^\circ$, $[\Phi]_{369}^{25} 2262^\circ (\pm 25^\circ)$. CD.: $\Delta\epsilon_{287} 0,80$ (pos. Max.).

Experimenteller Teil

Allgemeine Angaben. Für Dünnschichtchromatographie wurden Kieselgel F 254 PSC-Fertigplatten (Merck) und für präparative Säulenchromatographie Kieselgel (Merck, Korngrösse 0,2–0,5 mm) verwendet. Die Smp. wurden in einem Büchi-Apparat (Flawil, Schweiz) in einer offenen Kapillare bestimmt und sind nicht korrigiert.

Die IR.-Spektren wurden mit einem Beckman-IR-9-Gitterspektrophotometer (KBr-Optik) von Frl. Dr. M. Grosjean, und die NMR.-Spektren mit einem Varian-A-60 und einem Varian-A-100 Apparat in unserem NMR.-Laboratorium (Leitung: Dr. G. Englert) aufgenommen und interpretiert.

Die ORD.-Spektren wurden mit einem in unseren Werkstätten gebauten selbstabgleichenden Spektropolarimeter aufgenommen (Genauigkeit $\pm 0,005^\circ$ im Bereich von 700–225 nm). Die CD.-Spektren wurden mit einem Dichrographen II von Jouan aufgenommen.

Die Mikroanalysen wurden in unserem mikroanalytischen Laboratorium ausgeführt (Leitung: Dr. A. Dirscherl).

1-O-Phenyl-(2,3,4-tri-O-acetyl)- β -D-glucopyranuronsäure-methylester (I) wurde nach bekannter Methode [7] aus Phenol und 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranuronsäure-methylester in Gegenwart von *p*-Toluolsulfonsäure als Katalysator hergestellt. Das Rohprodukt wurde an 20 Teilen Kieselgel chromatographiert; das reine Phenyl- β -glucuronid wurde mit Benzol/Äther 75:25 eluiert. Kristalle, Smp. 124–125°, $[\alpha]_D^{25} = +34,8^\circ$ (CHCl₃).

Nitrierung des Esters I. Zu 20 ml Salpetersäure ($d = 1,52$, Merck, *p.a.*), die in einem 250-ml-Rundkolben auf -15° abgekühlt waren, wurde eine Lösung von 2 g Ester I in 20 ml Eisessig unter Magnetrührung getropft (ca. 10 Min.). Das Gemisch wurde 60 Min. bei aufsteigender Temperatur (auf $+12^\circ$) stehengelassen und dann unter Rühren auf 200 g Eis gegossen. Der gebildete Niederschlag wurde abgenutscht, mit Wasser neutral gewaschen und über P₂O₅ + KOH-Plättchen im Vakuumexsikkator getrocknet: 2,1 g schwach-gelbes kristallines Rohprodukt, welches laut Dünnschichtchromatogramm (Essigester/Petroläther 1:1) aus 2 Substanzen bestand. Ihre Auftrennung erfolgte an einer Säule mit 60 g Florisil; mit Benzol (5 \times 200 ml) und Benzol/Äther (95:5, 9:1; je 5 \times 100 ml) wurde der *p*-Nitrophenyl-(2,3,4-tri-O-acetyl)- β -D-glucopyranuronsäure-methylester (II), das tieferschmelzende Nitroderivat, erhalten, welches aus einem Gemisch von Essigester und Petroläther (Sdp. 40–45°) umkristallisiert wurde. Kristalle, Smp. 152–153°. $[\alpha]_D^{25} = -48,3^\circ$ ($c = 1,1$; CHCl₃); identisch mit einem authentischen Präparat (aus *p*-Nitrophenol und Acetobromglucuronsäure-methylester in Gegenwart von Ag₂O und wasserfreiem CaSO₄ in Chinolin [8] hergestellt).

C₁₉H₂₁NO₁₂ (455,37) Ber. C 50,11 H 4,65 N 3,08% Gef. C 50,33 H 4,58 N 2,93%

Der 1-O-*p*-Nitrophenyl-(2,3,4-tri-O-acetyl)-glucopyranuronsäure-methylester (III) wurde mittels Benzol/Äther 85:15 und 75:25 (je 250 ml) abgelöst. Das kristalline Rohprodukt ergab, aus Essigester/Petroläther umkristallisiert, Kristalle vom Smp. 175–176°, $[\alpha]_D^{25} = +18,4^\circ$ ($c = 1,2$; CHCl₃), die sich als identisch mit einem authentischen Präparat (nach [7] hergestellt) erwiesen.

C₁₉H₂₁NO₁₂ (455,37) Ber. C 50,11 H 4,65 N 3,08% Gef. C 50,03 H 4,49 N 2,98%

1-O-Cyclohexyl-(2,3,4-tri-O-acetyl)- β -D-glucopyranuronsäure-methylester (IV). 2,0 g Ester I, in 60 ml Eisessig gelöst, wurden mit 3,0 g Pt (in situ aus PtO₂ hergestellt) bei 22° hydriert. Nach Beendigung der Wasserstoffaufnahme (20 Min.) wurde die Lösung filtriert, i.V. bei 30° eingedampft und der kristalline Rückstand aus Äthanol umkristallisiert. Kristalle vom Smp. 137–138°, $[\alpha]_D^{25} = -34,6^\circ$ ($c = 0,82$; in Methanol), die sich als identisch mit dem Produkt erweisen, welches aus Cyclohexanol und Acetobromglucuronsäure-methylester nach Helferich [9] erhalten wurde.

C₁₉H₂₉O₁₀ (415,41) Ber. C 54,88 H 6,78% Gef. C 55,04 H 6,82%

1-O-*p*-Acetamidophenyl-(2,3,4-tri-O-acetyl)- β -D-glucopyranuronsäure-methylester (V). 2,0 g Glucuronsäureester-Derivat II wurden in 40 ml Essigester mit 200 mg 5proz. Pd/C bei 22° hydriert

Nach beendiger Wasserstoffaufnahme wurde die filtrierte Lösung unter Stickstoff eingedampft und der Rückstand in 20 ml abs. Pyridin mit 2 ml Essigsäureanhydrid umgesetzt. Nach 24 Std. wurde das überschüssige Essigsäureanhydrid durch Zugabe von 1 ml Wasser zersetzt, die Lösung i.V. eingedampft und der Rückstand aus Isopropylalkohol umkristallisiert. Kristalle vom Smp. 209–210°, $[\alpha]_D^{25} = -26,9^\circ$ ($c = 0,26$; Methanol), identisch mit dem Produkt, welches durch Acetylieren und Methylieren des Glucuronid-Hauptmetaboliten des Phenacetins erhalten wurde [12].

$C_{21}H_{25}NO_{11}$ (467,42) Ber. C 53,96 H 5,39 N 3,00% Gef. C 54,12 H 5,42 N 3,23%

(2-Äthoxy-5-nitro-phenyl)-2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranosid (X). 20,0 g 2-Äthoxy-5-nitro-phenol (hergestellt nach Robinson [12], 50 g Acetobromglucose, 20 g Ag_2O (über P_2O_5 i.V. getrocknet) und 40 g Siccon (Fluka, Schweiz) wurden in 200 ml Chinolin während 20 Std. bei 22° geschüttelt. Dann wurden 500 ml Methylchlorid zugesetzt und die nichtlöslichen, anorganischen Salze abgenutscht. Die dunkelbraune Lösung wurde mit kaltem 3N HCl und mit $NaHCO_3$ -Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und i.V. eingedampft. Der Rückstand wurde an 20 Teilen Kieselgel chromatographiert. Durch Eluierung mit Essigester/Petroläther 8:2 wurden 39 g reines Glucosid X erhalten; Smp. 160–161° (aus Isopropylalkohol), $[\alpha]_D^{25} = -35,5^\circ$ ($CHCl_3$). Das Produkt wurde weiterhin durch IR., UV., NMR.-Spektren und durch ORD./CD. charakterisiert.

$C_{23}H_{27}NO_{13}$ (513,45) Ber. C 51,46 H 5,20% Gef. C 51,54 H 5,39%

(2-Äthoxy-5-amino-phenyl)-2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranosid (XIV). 20,5 g Nitroglucopyranosid-Derivat X wurden in 200 ml Essigester mit 2 g 5proz. Pd/C hydriert. Nach Abtrennung des Katalysators wurde die Lösung in N_2 -Strom i.V. eingedampft und der Rückstand aus Äthanol umkristallisiert: 18,3 g Glucopyranosid-Derivat XIV, Smp. 154°. $[\alpha]_D^{25} = -28,4^\circ$ ($c = 1,1$; $CHCl_3$).

$C_{21}H_{29}NO_{11}$ (483,47) Ber. C 54,65 H 6,04 N 2,89% Gef. C 54,70 H 6,12 N 2,91%

(2-Äthoxy-5-acetamido-phenyl)-2,3,4,6-tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranosid (XV). 17,0 g Amino-Derivat XIV wurden in 70 ml abs. Pyridin mit 30 ml Essigsäureanhydrid während 16 Std. bei 25° behandelt. Dann wurde das Gemisch auf 400 ml Wasser gegossen, 30 Min. gerührt und die ausgeschiedene feste Substanz abgenutscht. Umkristallisation des getrockneten Produktes aus Essigester/Petroläther oder aus Isopropylalkohol ergab 15 g XV, Smp. 120–121°, $[\alpha]_D^{25} = -29,2^\circ$ ($c = 0,24$; $CHCl_3$). Die Substanz wurde noch durch IR., UV.- und NMR.-Spektren und durch ORD./CD. charakterisiert.

$C_{24}H_{31}NO_{13}$ (525,51) Ber. C 54,85 H 5,95 N 2,67% Gef. C 54,67 H 6,03 N 2,65%

(2-Äthoxy-5-acetamido-phenyl)- β -D-glucopyranosid (XVI). Eine Lösung von 2,0 g Acetamido-Derivat XV in 100 ml abs. Methanol wurde mit NH_3 -Gas bei -10° gesättigt. Nach 12 Std. Stehen bei 22° wurde die Lösung eingedampft. Der farblose Rückstand wurde aus Isopropylalkohol/Isopropyläther umkristallisiert. Das Produkt bindet sehr stark Kristall-Lösungsmittel. Im Smp.-Rohr wird es bei ca. 124° durchsichtig, schmilzt aber nur gegen 198°. $[\alpha]_D^{25} = -62,8^\circ$ ($c = 0,48$; Methanol).

$C_{18}H_{23}NO_9$ Ber. C 53,77 H 6,49 N 3,92%
(357,35) Gef. „ 53,57 „ 6,47 „ 3,85% (1,08% H_2O)

1-O-(2-Äthoxy-5-acetamido-phenyl)- β -D-glucopyranuronsäure (VIIc). In einem 1,5-l-Rührkolben mit Intensivührer wurden 15 g Glucopyranosid-Derivat XVI in 357 ml Wasser bei 50° Innentemperatur in Gegenwart von 5,0 g Pt-Mohr (frisch hergestellt aus 6 g PtO durch Hydrierung) mit gasförmigem Sauerstoff während 20 Std. oxydiert. Das pH wurde zwischen 7,6 und 8,0 durch kontinuierliche Zugabe von $NaHCO_3$ -Lösung gehalten. Nach Abnutschen des Katalysators wurden die Na^+ -Ionen durch 30minütiges Rühren der Lösung mit Amberlite IRC-120 (H^+) entfernt. Die Lösung wurde durch Hydrierung mit Pd/C (16 Std.) entfärbt, dann filtriert und i.V. stark eingeeengt. Beim Stehen im Eiskasten (ca. $+5^\circ$) schied sich die Urnsäure VIIc in farblosen Kristallen aus, Smp. 126–128°, $[\alpha]_D^{25} = -86,0^\circ$ ($c = 0,575$; H_2O).

$C_{18}H_{21}NO_9$ (371,34) Ber. C 51,75 H 5,70 N 3,77% Gef. C 51,93 H 5,63 N 3,81%

(2-Äthoxy-5-nitro-phenyl)- β -D-glucopyranosid (XI). Eine Lösung von 0,8 g Nitroglucopyranosid-Derivat X in 100 ml Methanol wurde mit NH_3 -Gas während 20 Min. bei RT. behandelt, und dann bei -15° mit NH_3 -Gas gesättigt (30 Min.). Nach 20stdg. Stehen der Lösung bei RT. in

offenem Gefäss wurde sie i.V. eingedampft und der Rückstand aus Isopropylalkohol umkristallisiert. Smp. 183-184°, $[\alpha]_D^{25} = -73,9^\circ$ ($c = 0,287$; Methanol).

$C_{14}H_{19}NO_6$ (345,30) Ber. C 48,69 H 5,55 N 4,06% Gef. C 48,53 H 5,56 N 3,88%

(2-Äthoxy-5-nitro-phenyl)- β -D-glucopyranuronsäure (XII). 7,0 g Glucopyranosid-Derivat XI wurden in 400 ml Wasser in Gegenwart von 10 g Pt-Mohr (frisch hergestellt aus 12 g PtO_2 durch Hydrierung) und 3 g $NaHCO_3$ unter kräftigem Rühren bei 80° (Innentemperatur) während 16 Std. mit Sauerstoff behandelt. Die filtrierte Lösung wurde auf ca. 60 ml eingedampft, auf +3° abgekühlt und mit 3N HCl angesäuert. Die Uronsäure wurde mit Essigester ausgezogen, die Lösung über Na_2SO_4 getrocknet und i.V. bei 25° eingedampft. Der Rückstand wurde aus Essigester/Isopropyläther kristallisiert. Smp. 160°, $[\alpha]_D^{25} = -54,8^\circ$ ($c = 0,317$; Dimethylformamid).

$C_{14}H_{17}NO_{10}$ (359,28) Ber. C 46,80 H 4,76 N 3,90% Gef. C 46,77 H 4,83 N 3,81%

Der Methylester von XII wurde durch Behandlung der Säure in Methanol mit ätherischer Diazomethanlösung erhalten. Smp. 158° (aus Äthanol/Isopropyläther).

$C_{15}H_{19}NO_{10}$ (373,31) Ber. N 3,75% Gef. N 3,98%

(2-Äthoxy-5-amino-phenyl)- β -D-glucopyranuronsäure (XIII). 10,0 g Nitro-uronsäure XII wurden in 100 ml Wasser in Gegenwart von 2 g 5proz. Pd/C bei 22° hydriert. Nach beendeter Wasserstoffaufnahme wurde der Katalysator abgenutscht und die Lösung i.V. bei 25° auf ca. 20 ml eingedampft. Beim Stehen im Eiskasten (ca. +4°) kristallisiert die Amino-uronsäure aus. Sie wird aus wässrigem Isopropylalkohol umkristallisiert. Smp. 143-145°, $[\alpha]_D^{25} = -63,0^\circ$ ($c = 0,525$; Dimethylformamid).

$C_{14}H_{19}NO_6$ (329,30) Ber. C 51,06 H 5,82 N 4,25% Gef. C 50,66 H 5,69 N 4,55%

(2-Äthoxy-5-nitro-phenyl)-3,4,6-tri-O-acetyl- α -D-glucopyranosid (XVIII). 2,0 g 2-Äthoxy-5-nitro-phenol (IX) und 3,0 g *Brigl*-Anhydrid (XVII) wurden in 30 ml abs. Toluol (über Na destilliert) während 20 Std. unter Rückfluss gekocht, wobei die Reaktion dünnschichtchromatographisch (Laufmittel: Aceton/Petroläther 3:7) verfolgt wurde. Nach Eindampfen der Lösung i.V. wurde der feste Rückstand an 100 g Kieselgel aufgetrennt. Benzol und Benzol/Äther 19:1 und 10:1 eluierten zunächst nicht umgesetztes Nitrophenol, worauf mit Benzol/Äther 7:3 (10 x 100 ml) das reine α -Glucosid abgelöst wurde. Die einzelnen Eluate wurden auf der Dünnschichtplatte im zuletzt angegebenen Laufmittel geprüft und im UV.-Licht (254 nm) sichtbar gemacht. Ausbeute an XVIII: 2,3 g. Nach Umkristallisieren aus Essigester/Petroläther: Smp. 123-124°, $[\alpha]_D^{25} = +173^\circ$ ($c = 0,38$; $CHCl_3$). Die Substanz wurde noch durch IR., UV., und NMR.-Spektroskopie und durch ORD./CD. charakterisiert.

$C_{20}H_{28}NO_{12}$ (471,41) Ber. C 50,96 H 5,35% Gef. C 51,10 H 5,20%

(2-Äthoxy-5-nitro-phenyl)-2,3,4,6-tetra-O-acetyl- α -D-glucopyranosid (XIX). 2,1 g Triacetyl-Derivat XVIII wurden in 30 ml abs. Pyridin mit 3 ml Essigsäureanhydrid bei 22° während 16 Std. stehengelassen. Dann wurde das Gemisch i.V. bei 40° (Badtemperatur) eingedampft, am Schluss 5mal mit je 50 ml Benzol. Der feste Rückstand wurde aus Essigester/Petroläther umkristallisiert. Smp. 102-103°, $[\alpha]_D^{25} = +159^\circ$ ($c = 0,3$; $CHCl_3$). NMR. ($CDCl_3$): $J_{1/2} = 3,9$ Hz, $J_{2/3} = 10,2$ Hz, $J_{3/4} = 10$ Hz, $J_{4/5} = 10$ Hz, $\pm 0,5$ Hz.

(2-Äthoxy-5-acetamido-phenyl)-2,3,4,6-tetra-O-acetyl- α -D-glucopyranosid (XX). 1,1 g Nitrophenyl-glucosid XIX wurden in 30 ml Essigester mit 0,2 g 5proz. Pd/C bei RT. hydriert. Nach Aufnahme der berechneten Menge Wasserstoff wurde die Lösung filtriert, i.V. eingedampft und der sirupartige Rückstand in 20 ml abs. Pyridin mit 1 ml Essigsäureanhydrid während 3 Std. umgesetzt. Dann wurde das Gemisch i.V. bei 40° (Badtemp.) eingedampft. Die letzten Spuren von Pyridin und Essigsäureanhydrid wurden durch Azeotropdestillation mit Äthanol/Benzol entfernt. Der amorphe Rückstand wurde an 20 g Kieselgel chromatographiert, wobei 1,1 g dünnschichtchromatographisch einheitlicher weisser Schaum erhalten wurde. $[\alpha]_D^{25} = +136^\circ$ ($c = 0,60$; $CHCl_3$).

$C_{24}H_{31}NO_{12}$ (525,51) Ber. C 54,85 H 5,95 N 2,67% Gef. C 54,59 H 6,18 N 2,50%

5-Amino-2-äthoxy-phenol. 20,0 g 2-Äthoxy-5-nitro-phenol (hergestellt nach *Robinson & Robinson* [12]) wurden in 200 ml Essigester mit 2 g 5proz. Pd/C bei 22° hydriert. Das erhaltene Produkt wurde aus Isopropylalkohol/Petroläther umkristallisiert. Smp. 103°.

$C_8H_{11}NO_2$ (153,18) Ber. C 62,72 H 7,24 N 9,14% Gef. C 62,36 H 7,26 N 9,04%

3-Hydroxy-p-acetophenetidin (VIIIa). – *3-Acetoxy-p-acetophenetidin*: 10,0 g 2-Äthoxy-5-amino-phenol wurden in 40 ml abs. Pyridin mit 15 ml Essigsäureanhydrid acetyliert. Das Gemisch wurde nach 16 Std. auf 200 g Eis gegossen, das ausgeschiedene N, O-Diacetyl-Derivat abgenutscht, mit Wasser neutral gewaschen, getrocknet und aus Isopropylalkohol/Petroläther umkristallisiert. Smp. 135°.

$C_{13}H_{15}NO_4$ (237,25) Ber. C 60,75 H 6,37 N 5,90% Gef. C 60,95 H 6,57 N 5,82%

Partielle Verseifung zu VIIIa: 7,0 g 3-Acetoxy-p-acetophenetidin wurden in 30 ml abs. Methanol mit Natriummethylat-Lösung auf üblicher Weise [13] behandelt. Nach Entfernung der Na^+ -Ionen mittels Amberlite IRC-120 (H^+) wurde die Lösung i.V. eingedampft und der Rückstand aus Äthanol/Isopropyläther umkristallisiert. Smp. 160–162°.

$C_{10}H_{13}NO_3$ (195,21) Ber. C 61,52 H 6,71 N 7,18% Gef. C 61,48 H 6,79 N 7,10%

K-Salz der 5-Acetamido-2-dihydroxyphenol-sulfonsäure (VIIIb). Nach der Methode von *Hartrodt & Wooksmann* [14] wurden in einem 3-Halskolben von 350 ml 2,0 g 3-Hydroxy-p-acetophenetidin in einem Gemisch von 60 ml N, N-Dimethylanilin und 60 ml Tetrahydrofuran gelöst. Diese Lösung wurde mit 12 ml Chlorsulfonsäure unter Rühren unterhalb von +8° versetzt. Nach weiterem Rühren bei 40–50° während 30 Min. wurde das Gemisch mit 50 ml 50proz. KOH-Lösung neutralisiert. Die gebildeten Kristalle wurden abgenutscht und aus Methanol umkristallisiert. Smp. 188°.

$C_{10}H_{12}KNO_6S$ Ber. C 38,33 H 3,86 N 4,47 S 10,23%
(313,37) Gef. „ 38,28 „ 3,89 „ 4,45 „ 10,00%

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] J. Kiss & F. Burkhardt, Carbohydrate Res. 12, 115 (1970).
- [2] N. T. Shahidi, H. Wylar, W. H. Hitzig, A. S. Dreiding & A. Prader, Clin. Res. 14, 327 (1966).
- [3] B. B. Brodie & J. Axelrod, J. Pharmacol. exptl. Therap. 97, 58 (1949).
- [4] H. Büch, K. Pfleger, W. Rummel, V. Ullrich, D. Hey & H. Staudinger, Biochem. Pharmacol. 16, 2247 (1967); J. Raaflaub & U. C. Dubach, Klin. Wochenschr. 47, 1286 (1969); Experientia, 25, 956 (1969); R. Nery, Biochem. J. 122, 317 (1971).
- [5] L. Weintraub, S. L. Oles, A. Wilson & L. Wilson, J. chem. Soc. (C) 1969, 1562.
- [6] I. M. Jackman & S. Sternhell, 'Application of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in Organic Chemistry', 2nd Ed., Pergamon Press, London, 1969, S. 94–98; J. S. Martin, Jun-Ichi Hayami & R. U. Lemieux, Canad. J. Chemistry 46, 3263 (1968); K. Heyns, W. P. Trautwein, F. G. Espinosa & H. Paulsen, Chem. Ber. 99, 1183 (1966); T. Sticzay, C. Peciar & S. Bauer, Tetrahedron Letters, 1968, 2407.
- [7] C. A. Marsh, 'Chemistry of D-Glucuronic Acid and its Glycosides' (Editor: G. J. Dutton), Acad. Press, New York, 1966, S. 62; G. N. Hollenbach, J. W. Long, D. G. Benjamin & J. A. Lindquist, J. Amer. chem. Soc. 77, 3310 (1955); H. Tsukamoto, M. Hamana, K. Kato & T. Kuroda, J. pharmaceut. Soc. (Japan) 76, 1282 (1956).
- [8] K. Kato, K. Yoshida, H. Tsukamoto, M. Nobunaga, T. Masuya & T. Sawada, Chem. pharmaceut. Bull. 8, 239 (1960).
- [9] B. Helferich & A. Berger, Chem. Ber. 90, 2492 (1957).
- [10] T. Sticzay, C. Peciar & S. Bauer, Tetrahedron 25, 3521 (1969); T. Sticzay, C. Peciar, S. Bauer, A. J. Tóhé, A. Levai & R. Bogndár, Chem. Zvesti 28, 90 (1974).
- [11] Y. Tsuzuki, M. Koyama, K. Achi, T. Kato & K. Tanabe, Bull. chem. Soc. Japan 42, 1052 (1969).
- [12] G. M. Robinson & R. Robinson, J. chem. Soc. 111, 932 (1917); F. Dallacker & R. Binsack, Mh. Chem. 92, 492 (1961).
- [13] M. L. Wolfrom & R. L. Whistler, 'Methods in Carbohydrate Chemistry', Acad. Press, New York, 1963, Vol. II, S. 216.
- [14] W. Hartrodt & H. Wooksmann, J. pract. Chem. 27, 99 (1965).