



## Synthese von 6-Thiosialinsäuren

Hans Mack\* und Reinhard Brossmer

Institut für Biochemie II der Universität Heidelberg, Im Neuenheimer Feld 328, D-69120 Heidelberg, BRD

Received 14 April 1997; revised 9 February 1998; accepted 16 February 1998

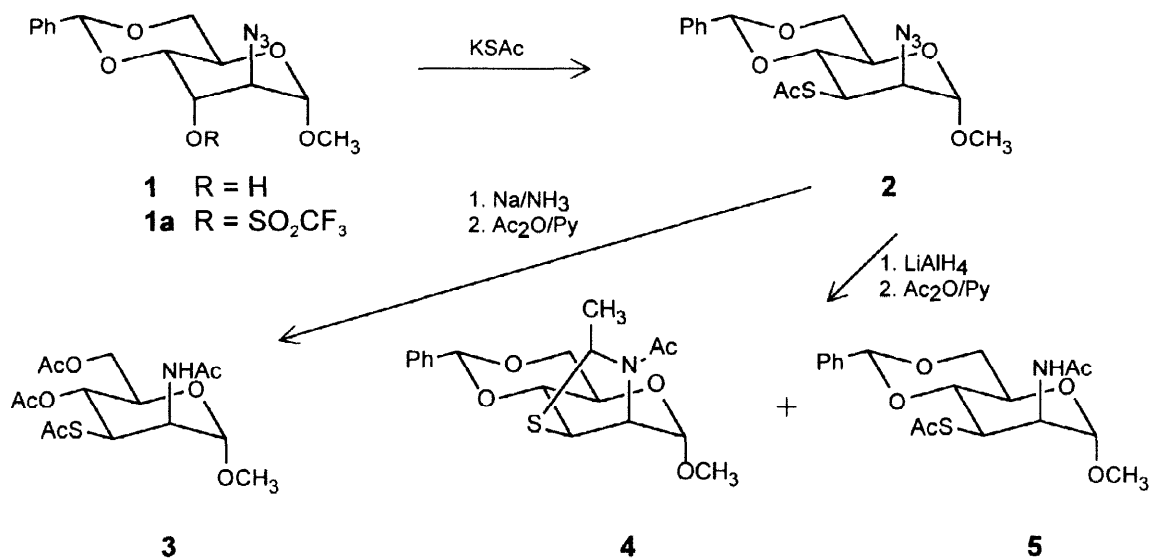
**Abstract:** The synthesis of 2-acetamido-2-deoxy-3-thio-D-mannose (**11**) is described. Chain elongation of thiazoline **10** with potassium-di-O-*t*-butyl-oxaloacetate yields epimeric 6-thiosialic acids **14** and **15**. Chain extension of **18** with oxaloacetate/ $\text{Ni}^{++}$  results in the formation of *N*-acetyl-6-thioneuraminic acid (**21**). Starting from **21** synthesis of  $\alpha$ -azide **25** and dehydro-compound **27** was accomplished by treatment of **23** with sodium azide. On the other hand lewis acid catalyzed azidation of **22** $\beta$  with azidotrimethylsilane afforded  $\beta$ -azide **29**. © 1998 Elsevier Science Ltd. All rights reserved.

Zahlreiche Sialinsäureanaloga<sup>1</sup> sind in den letzten Jahren als Substrate oder potentielle Inhibitoren für Schlüsselenzyme des katabolen und anabolen Sialinsäuremetabolismus untersucht worden<sup>2</sup>. In diesem Zusammenhang sind solche Strukturanaloga der *N*-Acetylneuraminsäure (Neu5Ac) von besonderem Interesse, bei welchen der Ringsauerstoff durch Schwefel, Stickstoff oder Kohlenstoff ersetzt ist. So zeigen auch andere ringhomologe Kohlenhydrate, wie 5-Thioglucose<sup>3</sup> oder Desoxynojirimycin (1,5-Didesoxy-1,5-imino-D-glucit)<sup>4</sup> interessante biologische Eigenschaften. Die von Vasella et al.<sup>5</sup> synthetisierte 2-Desoxy-piperidinose *N*-Acetyl-6-*aza*-2,6-didesoxy-neuraminsäure hat sich als Inhibitor von bakteriellen Sialidasen erwiesen. Das carbocyclische Analogon von Neu5Ac ist über eine komplizierte Synthese zugänglich<sup>6</sup>. Über die Synthese von 6-Thiosialinsäuren bzw. deren Synthesevorstufen wurde von uns in zwei kurzen Veröffentlichungen berichtet<sup>7a</sup>. Unter Bezugnahme auf das dort verwendete Verfahren wurde kürzlich von v. Itzstein et al.<sup>7b</sup> eine Synthese von *N*-Acetyl-6-thioneuraminsäure (6-Thio-Neu5Ac) veröffentlicht.

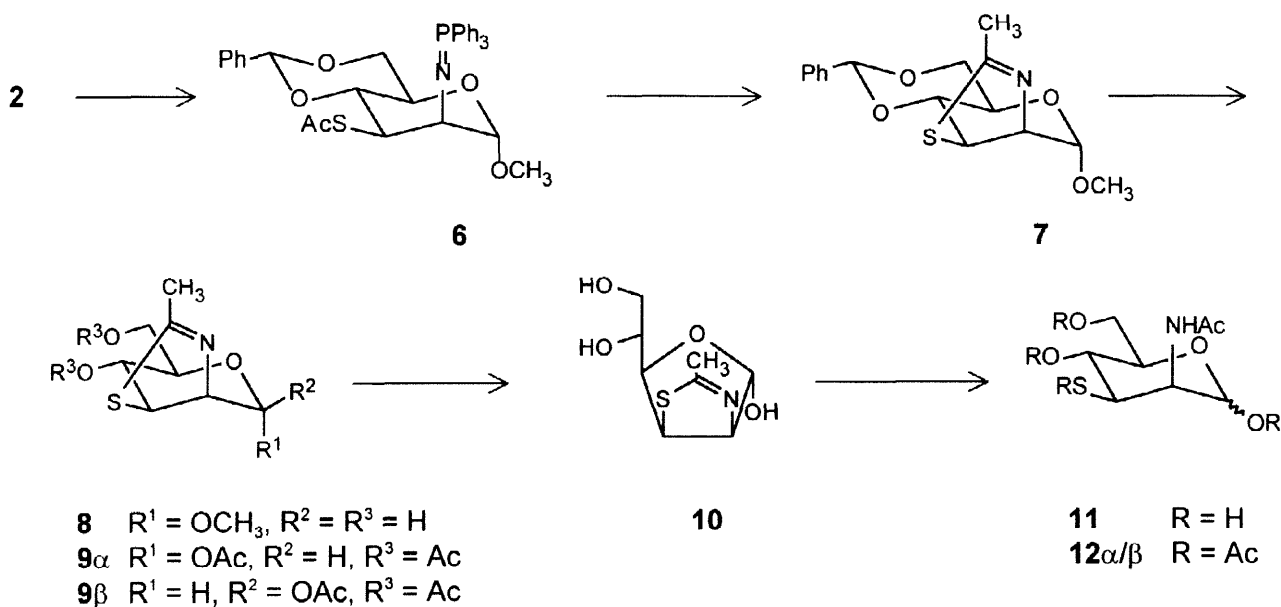
Zur Synthese von Ringhomologen von Neu5Ac können grundsätzlich zwei verschiedene Methoden in Betracht gezogen werden, nämlich entweder die strukturelle Transformation des ringbildenden 6-OH in einem offenkettigen Sialinsäurederivat, oder Kettenverlängerung von geeigneten, strukturell veränderten Hexosen. Über die Synthese einer 6-*epi*-*N*-Acetylneuraminsäure wurde von uns kürzlich berichtet<sup>8</sup>. Die synthetische Vorstufe zu diesem Sialinsäureanalogon, welche im Multigramm-Maßstab zugänglich ist, ist ein offenkettiges Sialinsäurederivat in Form eines 1,4-Lactons, bei welchem die 6-OH-Funktion im Vergleich zu Neu5Ac invers steht und selektiv als Oxazolin geschützt ist<sup>8</sup>. Versuche, die Hydroxylfunktion an C-6 nach Überführung in das Triflat durch nucleophilen Austausch gegen die Thioacetyl- oder Azid-Funktion auszutauschen, scheiterten an der benachbarten (nachbargruppenaktiven) *N*-Acetylgruppe und an der schwierigen Schutzgruppenchemie. In der hier vorliegenden ausführlichen Veröffentlichung soll über die Kettenverlängerung von **10**, **11** und **18** mit Hilfe der Aldolkondensation<sup>11a,11b</sup> berichtet werden. Nach dieser Methode sind *N*-Acetyl-6-thioneuraminsäure (**21**), sowie die entsprechenden epimeren Thiosialinsäuren **14** und **15** zugänglich.

Über synthetische Verfahren zur Herstellung von Derivaten von **11** ist mehrfach berichtet worden<sup>9a,9b,9c</sup>. Wir wählten das geschützte Methyl-2-azido-altrosid **1**<sup>10</sup> als Ausgangsprodukt, welches leicht in größeren Mengen zugänglich ist. Umsetzung von **1** mit  $\text{TiF}_4/\text{Pyridin}$  ergab das Triflat **1a**, welches mit Kaliumthioacetat in fast quantitativer Ausbeute in das Azido-thiomannose-derivat **2** übergeführt wurde. Die Reduktion der Azidofunktion, Spaltung der Benzylidenschutzgruppe durch Natrium/ $\text{NH}_3$  und Acetylierung ergab **3**, welches mit den von Miljkovic et al.<sup>9c</sup> angegebenen Daten übereinstimmte. Durch Reduktion von **2** mittels  $\text{LiAlH}_4$  und anschließender Acetylierung erhielt man **4** neben Verbindung **5** nur in mäßiger Ausbeute. Versuche zur Spaltung der glykosidischen Bindung von **3**, **4** und **5** durch Einwirkung von starken Säuren bei höheren Temperaturen verliefen unter teilweiser Zersetzung und waren unbefriedigend. Eine glatte Spaltung der

glykosidischen Bindung durch Acetolyse gelingt nur dann, wenn die vicinale Aminothiofunktion durch Thiazolinringbildung geschützt wird. Zu diesem Zweck wurde **2** durch Einwirkung von Triphenylphosphin in das Phosphinimin **6** übergeführt, welches in einer lösungsmittelabhängigen, intramolekularen Wittig-Reaktion in **7** überging. Die Umwandlung  $2 \rightarrow 6 \rightarrow 7$  verlief quantitativ. Eine andere Synthese von **7** ist von Bognar beschrieben worden<sup>9b</sup>.

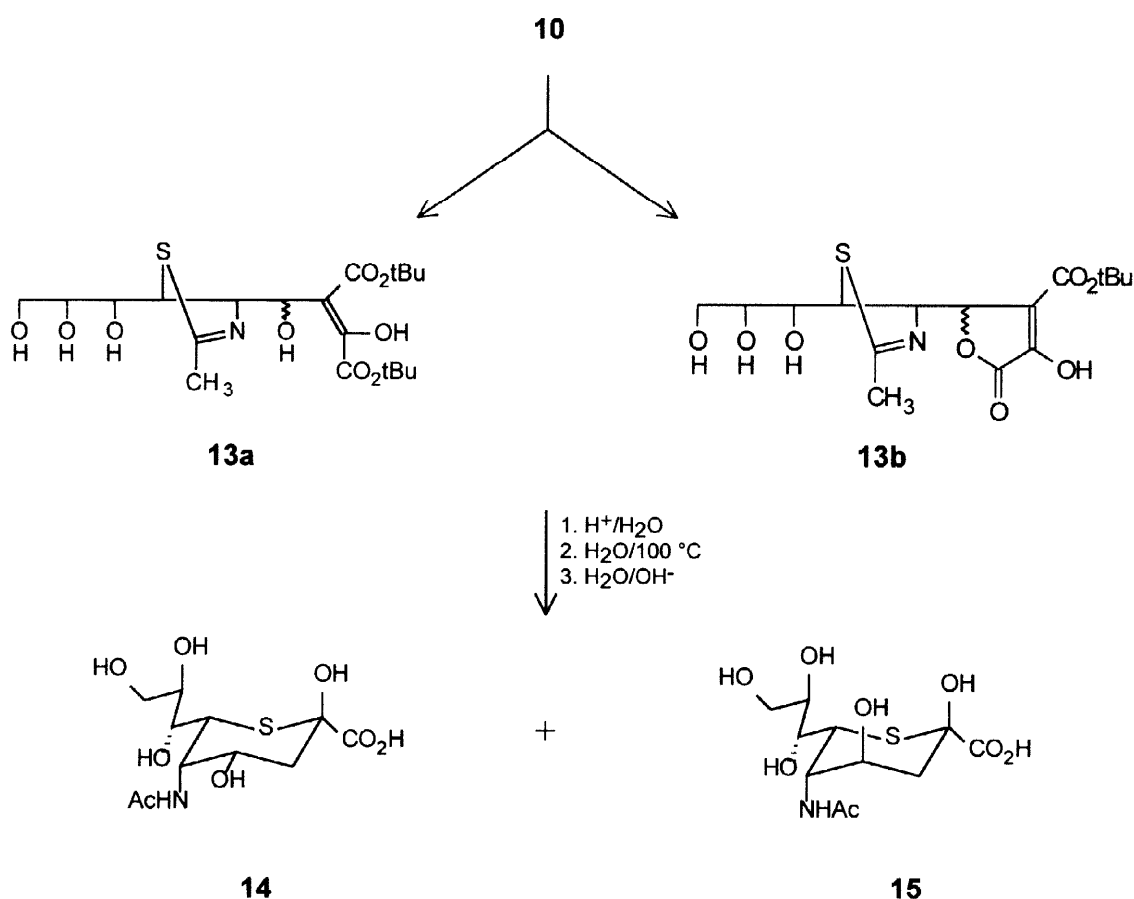


Die Acetolyse von **7** ergab ein Gemisch der anomeren Triacetate **9α** und **9β** in einer Ausbeute von 63% (60% bez. auf **2**). Die Abänderung des hier beschriebenen Verfahrens durch v. Itzstein und al.<sup>7b</sup> ergab **9α** lediglich in einer Ausbeute von 31% (bez. auf **2**). Die Entacetylierung von **9α** und **9β** mittels Diethylamin in Methanol ergab das Thiazolin **10**. Wie H-D-Austauschversuche (<sup>1</sup>H NMR-Spektrum in [D<sub>6</sub>]DMSO) zeigen, koppelt das Proton von 5-OH mit 5-H, während 4-H eine solche Kopplung nicht zeigt; daher muß **10** in der Furanoseform vorliegen. Dementsprechend ist auch die Kopplungskonstante  $J_{3,4} = 5.4$  Hz gegenüber Mannopyranosen stark erniedrigt. Die Thiazolinspaltung von **10** durch verd. wäßrige Salzsäure ergibt jetzt 2-Acetamido-2-desoxy-3-thio-D-mannose (**11**), welche nach Lyophilisieren als Anomerengemisch (α:β = 1:1) erhalten wurde.

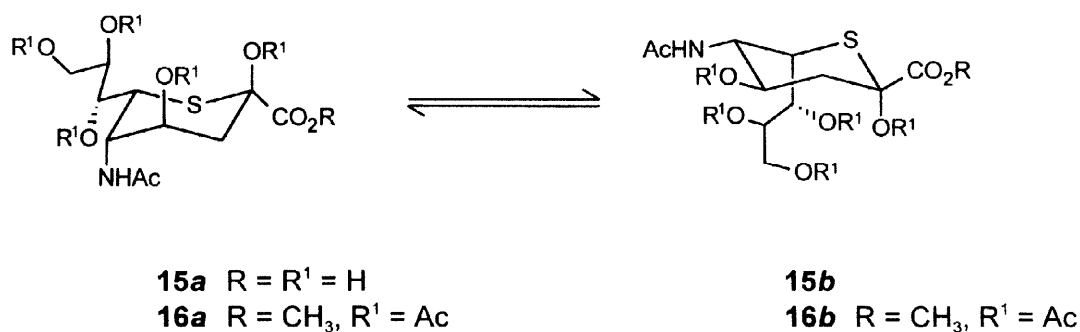


**11** wurde zwecks Charakterisierung in die beiden  $\alpha/\beta$ -Acetate **12 $\alpha$**  und **12 $\beta$**  übergeführt, welche durch Kieselgel-Chromatographie trennbar sind. Durch Einwirkung von konz. Salzsäure auf **7** bei höheren Temperaturen und nachfolgender Acetylierung erhielt man das Anomerengemisch **12 $\alpha$** , **12 $\beta$**  lediglich in schlechter Ausbeute von 34%, die Einwirkung von konz. Salzsäure bei -15 °C führte nur unter Abspaltung der Benzylidenschutzgruppe zu Verbindung **8**.

Die Kettenverlängerung von **11** mit dem Kaliumsalz des Di-*O*-*t*butyloxalessigesters entsprechend dem Verfahren nach Kuhn und Baschang<sup>11a</sup> ergab infolge der extremen Basenlabilität von **11** Verbindung **21** nur in äusserst geringer Ausbeute (1-2%). Da dieses Verfahren präparativ unbrauchbar ist, wurde **10**, in welchem die Schwefelfunktion in Form eines basenstabilen Thiazolinrings geschützt ist, als Ausgangsprodukt für eine Aldolkondensation verwendet. Anstelle von **10** kann auch **9 $\alpha$**  oder **9 $\beta$**  verwendet werden, da unter den wasserfreien, basischen Bedingungen der Kuhn-Baschang-Synthese<sup>11a</sup> immer Entacetylierung erfolgt. Man erhielt so ein Gemisch von epimeren Kondensationsprodukten **13a**, welche infolge der basischen Bedingungen teilweise in die entsprechenden Lactone **13b** umgewandelt wurden.



Die Deblockierung von **13a** und **13b** und Lactonringöffnung nach bekannten Methoden<sup>11a</sup> führte schließlich zu einem Gemisch der epimeren Thiosialinsäuren **14** und **15**, welche durch Cellulose-Verteilungschromatographie gut getrennt werden konnten. Die Gesamtausbeute beträgt 40% (**14**:**15** = 3:5). Die Interpretation der <sup>1</sup>H NMR-Parameter von **14** zeigt für die Kopplung  $J_{4,5} = 3.5$  Hz und  $J_{5,6} = 2$  Hz, woraus eine Axialstellung der Acetamido-Funktion resultiert. **15** liegt in Form eines Konformerengleichgewichts vor, welches die Konformeren **15a** und **15b** im Verhältnis 57:43 enthält. Das <sup>1</sup>H NMR-Spektrum von **15** kann mit Hilfe eines zweidimensionalen <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-COSY-Spektrums vollständig interpretiert werden (Abb. 1).



So zeigt z.B. **15a** durchwegs kleine Kopplungen für  $J_{3a,4} = 3.5$  Hz,  $J_{3b,4} = 3.5$  Hz und  $J_{4,5} = 4.0$  Hz. Die dadurch bewiesene Axialposition von 4-OH und 5-NAc führt zu einer derartigen Destabilisierung von **15a**, daß auch **15b** mit  ${}^5C_2$ -Konformation und *axialer* Glycerolseitenkette energetisch nahezu gleichwertig wird. Die Existenz des Konformeren **15b** wird durch die Kopplungen  $J_{3a,4} = 9.5$  Hz,  $J_{4,5} = 9.5$  Hz und  $J_{5,6} = 5.5$  Hz belegt.

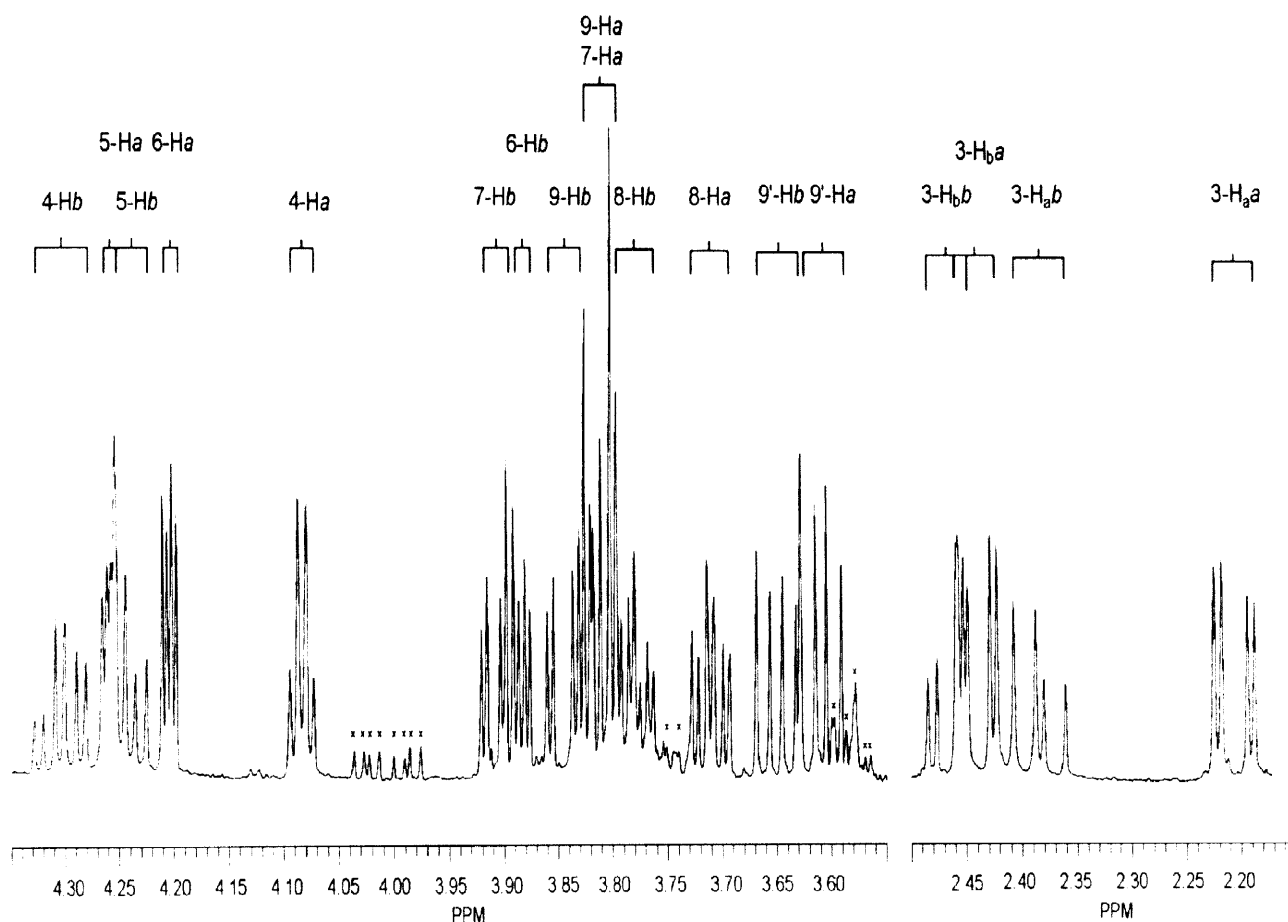
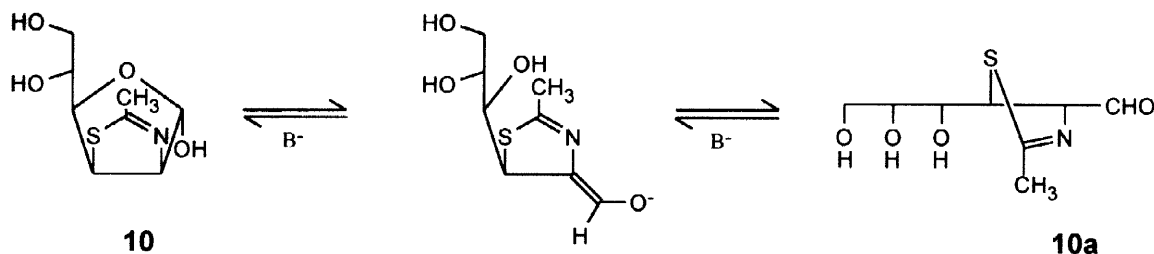


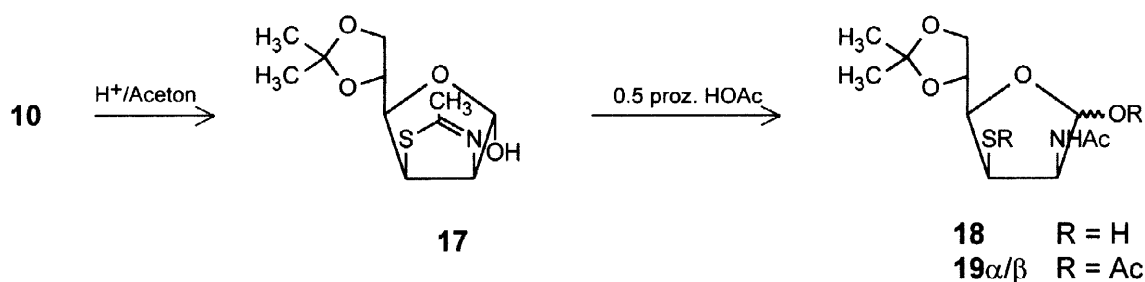
Abb.1.  ${}^1H$  NMR-Spektrum (500 MHz,  $D_2O$ ) von Verbindung **15**. Die mit *a* und *b* bezeichneten Signale sind den Konformeren **15a** und **15b** zuzuordnen. Die Spektrenanalyse erfolgte mit Hilfe eines zweidimensionalen ( ${}^1H, {}^1H$ -COSY) Spektrums. Die mit \* gekennzeichneten Signale werden durch Anomere von **15a** und **15b** verursacht.

Daraus folgt, daß **10** nicht aus der *D-manno*-, sondern aus der *D-gluco*-Form **10a** reagiert hat. Die epimere *D-gluco*-Form **10a** wird im Gegensatz zu **10** nicht durch Zucker-Ringbildung stabilisiert und kann so aus dem Epimerengleichgewicht eine Aldolkondensation eingehen.



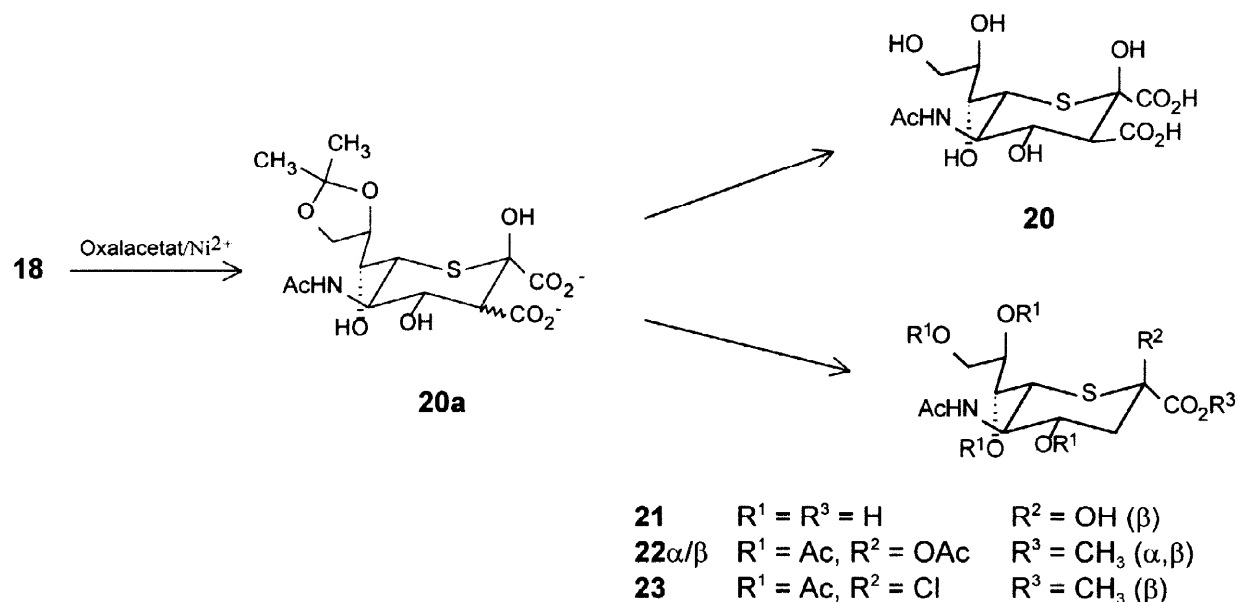
In den  $^{13}\text{C}$  NMR-Spektren von **14** und **15** stehen die beobachteten Hochfeldverschiebungen von C-2 und C-6 mit der verlangten Thiopyranose-Struktur in Übereinstimmung. **15** kann nach Veresterung mit Diazomethan und Acetylierung in die konformereren Pentaacetylderivate **16a** und **16b** übergeführt werden, welche sich jetzt nicht mehr ineinander umwandeln und daher durch HPLC-Chromatographie teilweise voneinander getrennt werden können. Auch hier zeigen die  $^1\text{H}$  NMR-Daten Übereinstimmung mit den Strukturen von **16a** und **16b** und bestätigen daher zusätzlich, daß **15a** und **15b** in einem Konformerengleichgewicht vorliegen. Eine Bestimmung der anomeren Konfiguration von **16a** und **16b** ist aus den  $^1\text{H}$  NMR-Daten nicht möglich. Zwecks massenspektrometrischer Analyse wurden **14** und **15** mit Diazomethan verestert und mit *N,O*-Bis(trimethylsilyl)-acetamid silyliert. Die erhaltenen persilylierten Hexatrimethylsilyl- oder Pentatrimethylsilylderivate zeigen im Massenspektrum die verlangten Massen bzw. die entsprechenden Fragmente [ $\text{M}^+$ ,  $\text{M}^+-\text{CH}_3$ ,  $\text{M}^+-\text{Si}(\text{CH}_3)_4$ ].

Kürzlich wurde von uns über eine einfache Synthese von 2-Acetamido-2-desoxy-*D*-gluco- und -*D*-mannofuranose berichtet<sup>12</sup>. Diese Furanosen sind hochreaktive Verbindungen und können selbst unter sehr schwach basischen Bedingungen mit Oxalacetat- $\text{Ni}^{++}$ -Komplex in die entsprechenden Sialinsäuren umgesetzt werden<sup>13</sup>. Wir verwendeten dieses Syntheseprinzip für die Synthese von **21**, da Versuche zur Kettenverlängerung von **11** infolge dessen Basenlabilität unbefriedigend verlaufen waren (siehe zuvor). Die Umsetzung von **10** mit Aceton/konz. Schwefelsäure ergab in quantitativer Ausbeute die Isopropylidenverbindung **17**, deren Kopplungen im  $^1\text{H}$  NMR-Spektrum ( $J_{1,2} = 0$ ,  $J_{2,3} = 8.5$  Hz) in Übereinstimmung mit der *D-manno*-Furanose-Struktur stehen. Das Massenspektrum von **17** zeigte erwartungsgemäß das Fragment  $101^+$  ( $\text{C}_5\text{H}_9\text{O}_2^+$ )<sup>14</sup>. Die selektive Spaltung des Thiazolinrings durch 0.5proz. Essigsäure ergab die instabile Thiofuranose **18**, welche als Anomerengemisch ( $\alpha:\beta = 75:25$ ) vorliegt.



Nach Acetylierung konnten die beiden Anomeren (**19α**, **19β**) getrennt und charakterisiert werden. Die Umsetzung von **18** mit Oxalacetat- $\text{Ni}^{++}$ -Komplex<sup>11b</sup> unter schwach basischen Bedingungen führte zunächst zur

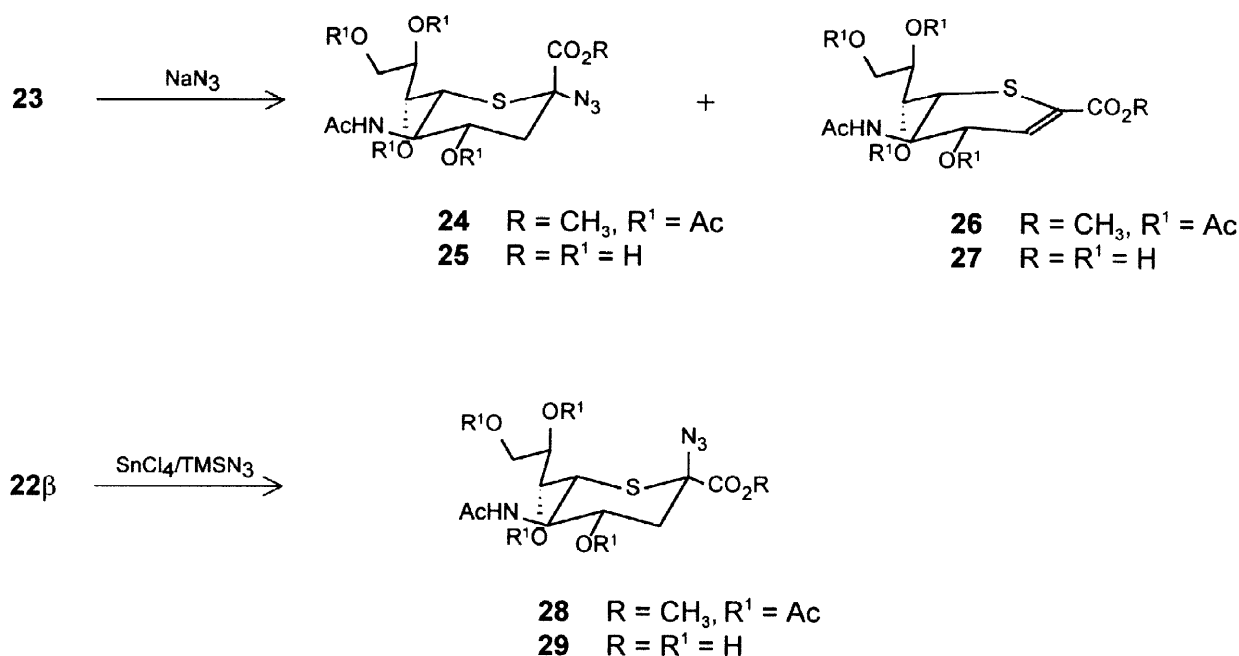
Dicarbonsäure **20a** (64%), welche nach Deblockierung mit saurem Ionenaustauscher in **20** überging und durch Cellulose-Chromatographie gereinigt wurde. Die  $^1\text{H}$  NMR-Daten von **20** belegen eine äquatoriale Position der Carboxylgruppe an C-3 der Dicarbonsäure. Zur Gewinnung von **21** wird **20a** deblockiert und in siedendem Wasser decarboxyliert. Nach Anionenaustausch erhält man 6-Thio-Neu5Ac **21** in einer Ausbeute von 49%; eine Feinreinigung kann über Cellulosechromatographie durchgeführt werden. Nach dieser Methode ist **21** im Gramm-Maßstab zugänglich.



Während die  $^1\text{H}$  NMR-Parameter von **21** Ähnlichkeit mit denen von Neu5Ac<sup>15</sup> zeigen, findet man C-2 und C-6 im  $^{13}\text{C}$  NMR-Spektrum bei niedrigen  $\delta$ -Werten<sup>16</sup>, was mit der Thiopyranose-Struktur in Übereinstimmung steht. Nach Veresterung von **21** mittels Diazomethan und anschließender Persilylierung fand sich im Massenspektrum das Fragment mit der Masse 684<sup>+</sup> ( $\text{M}^+ - \text{CH}_3$ ). Die Thiosialinsäuren **14** und **15** zeigten im Gegensatz zu **21** beim dünnschichtchromatographischen Test mit Nitroprussid-Natrium eine Rotfärbung. Dieses Verhalten zeigt die verminderte Ringstabilität von **14** und **15** gegenüber **21**, was vermutlich durch die axialen Substituenten begründet ist.

*N*-Acetyl-2-azido-2-desoxy- $\alpha$ -neuraminsäure ist ein ausgezeichnetes Substrat für Sialidasen<sup>17a,17b</sup> und *N*-Acetyl-2,3-didehydro-2-desoxy-neuraminsäure (Neu5Ac-2-en) ist ein sehr wirksamer Sialidase-Inhibitor<sup>18</sup>. Die Synthese der entsprechenden Sialinsäure-Analoga **25** und **27**, welche sich nach bekannten Verfahren richtet<sup>17b</sup>, war daher von erheblichem Interesse. Dazu kann man entweder von dem  $\alpha/\beta$ -Anomerengemisch **22 $\alpha/\beta$**  oder von dem reinen  $\beta$ -Acetat **22 $\beta$**  ausgehen. Die Peracetylierung von **21** mit Pyridin/Essigsäureanhydrid und nachfolgender Veresterung mit Diazomethan ergab das  $\beta$ -Pentaacetylderivat **22 $\beta$**  in hoher Reinheit, während die umgekehrte Verfahrensweise ein weniger reines  $\alpha/\beta$ -Acetatgemisch lieferte; daher wurde das zu **22 $\beta$**  führende Verfahren benutzt. Die nach Umsetzung von **22 $\beta$**  mit HCl erhaltene 2-Chloro-Verbindung **23** wurde mit Natriumazid in Aceton zu einem Gemisch von **24** und **26** umgesetzt, welches nur durch zweifache Kieselgelchromatographie von Beimengungen abgetrennt werden konnte. Verseifung von **24** und **26** ergab die Säuren **25** und **27**, welche jetzt durch Cellulose-Verteilungschromatographie getrennt werden konnten. Für **25** ist die große Tieffeldverschiebung von 3- $\text{H}_{\text{eq}}$  im  $^1\text{H}$  NMR-Spektrum in Übereinstimmung mit der von Friebolin et al.<sup>19</sup> gefundenen Regel, daß nämlich 3- $\text{H}_{\text{eq}}$  von  $\alpha$ -Glykosiden der Neuraminsäure nach tiefem Feld verschoben werden. Auch **25** und **27** wurden zwecks massenspektrometrischer Analyse in die persilylierten Methylester übergeführt. Um die Struktur der biologisch interessanten Verbindung **25** abzu-

sichern, wurde die Pentaacetylverbindung **22 $\beta$**  durch Lewis-Säure-katalysierte Umsetzung mit Trimethylsilylazid in das  $\beta$ -Azid **28** übergeführt.



Das Azid **28** ergab nach Verseifung *N*-acetyl-2-azido-2-desoxy-6-thio- $\beta$ -neuraminsäure (**29**), dessen spezifische Drehung ( $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -229$ ) im Vergleich zu **25** ( $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -28$ ) eindeutig die  $\beta$ -Konfiguration belegt. In Übereinstimmung damit liegt 3- $\text{H}_{\text{eq}}$  im  $^1\text{H}$  NMR-Spektrum von **29** im Vergleich zu **25** im hohen Feld ( $\delta = 2.38$ )<sup>19</sup>. Die Verbindungen **21**, **25** und **27** sind von erheblichem biologischem Interesse und werden derzeit als Substrate gegenüber anabolen und katabolen Enzymen des Sialinsäuremetabolismus untersucht.

## Experimenteller Teil

Wo nicht anders erwähnt, wurden alle Reaktionen dünnschichtchromatographisch auf Aluminiumfertigfolien (Merck oder Riedel-de Haen, Kieselgel 60 F<sub>254</sub>) verfolgt. Für Cellulose-Dünnschichtchromatographie wurden DC-Fertigfolien (Schleicher und Schüll, F1<sub>440</sub> LS<sub>254</sub> Cellulose, ohne Bindemittel) verwendet. Die Detektion erfolgte durch Ansprühen mit Lösungen von Schwefelsäure (10 proz.) oder durch Ehrlich-Reaktion mit *p*-Dimethylaminobenzaldehyd/HCl und anschließende Wärmebehandlung. Für die polaren Verbindungen **14**, **15**, **21**, **25**, **27** und **29** wurde auch Cellulose-Dünnschichtchromatographie benutzt; Detektion durch Iodanfärbung, Ehrlich-Reaktion oder Nitroprussidnatrium. Adsorptionschromatographische Trennungen erfolgten an Kieselgel 60 (Merck, 70-230 mesh), verteilungschromatographische Trennungen über eine Cellulose-Säule, Cellulose-Material: Whatman CF<sub>11</sub>. Die nach Cellulose-Säulenchromatographie erhaltenen Fraktionen wurden schonend (Wasserbadtemperatur maximal 35-40 °C) mehrfach i. Vak. in einem Büchi- oder Heidolph-Rotationsverdampfer eingeeengt, um z.B. Essigsäure, Pyridin oder *n*-Propanol vollständig zu entfernen. Reste von Pyridin wurden auch mittels Amberlite (IR 120, H<sup>+</sup>) entfernt. - Die Drehwerte wurden mit einem Perkin-Elmer 141 Polarimeter (1-dm-Küvette) bestimmt. - Die Schmelzpunkte sind unkorrigiert und wurden mit einem Totolli-Büchi-Apparat bestimmt. - Infrarotspektren wurden mit einem Perkin-Elmer 297-Spektrophotometer aufgenommen. - Zur Aufnahme der NMR-Spektren wurden die Spektrometer Varian EM 390 (90 MHz), Bruker 300 (300 MHz) oder Bruker 500 (500 MHz) benutzt. Bei Messungen in organischen

Lösungsmitteln diente Tetramethylsilan als innerer Standard, bei Messungen in D<sub>2</sub>O wurde auf  $\delta_{\text{HOD}} = 4.8$  bezogen, bei <sup>13</sup>C NMR-Spektren auf Methanol. Die Auswertung der Kopplungskonstanten erfolgte nach erster Ordnung. Bei den Verbindungen **14** und **21** wurden die exakten <sup>1</sup>H NMR-Parameter durch Computersimulationsverfahren ermittelt. Die <sup>1</sup>H NMR-Spektren von **14**, **16a** und **16b** wurden durch Entkopplungsexperimente und von **15** durch zweidimensionale NMR-Spektroskopie (<sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-COSY) analysiert. - Die Massenspektren wurden mit einem Finnigan MAT- und mit einem Dupont-21-492 Massenspektrometer gemessen.

*Methyl 2-azido-4,6-O-benzyliden-2-desoxy-3-O-trifluormethansulfonyl- $\alpha$ -D-altropyranosid (1a):* Das Altrosid **1**<sup>10</sup> (15.9 g, 51.8 mmol) löst man in einer Mischung aus 1,2-Dichlorethan (230 ml) und trockenem Pyridin (55 ml). Zu der auf 0 °C gekühlten Lösung gibt man tropfenweise unter Rühren Trifluormethansulfonsäureanhydrid (9 ml), gelöst in 1,2-Dichlorethan (65 ml). Nach 1 h Rühren bei 0 °C wird mit 1,2-Dichlorethan (65 ml) verdünnt und die Mischung auf Eiswasser (260 ml) gegeben. Nach dreimaligem Extrahieren der kalten, wässrigen Lösung mit Chloroform werden die vereinigten Extrakte zweimal mit kaltem Wasser, mehrfach mit 5proz. Natriumhydrogensulfat-Lösung, mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung und zum Schluß nochmals mit Wasser ausgewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Entfernung der Lösungsmittel bei Raumtemp. i. Vak. erhält man nach mehrfacher Behandlung mit wenig eiskaltem Diethylether 16.4 g (72%) **1a**, Schmp. 113 °C (Diethylether),  $R_f = 0.48$  (Chloroform),  $[\alpha]_D^{20} = +34$  ( $c = 1.4$ , CHCl<sub>3</sub>). - <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 3.44$  (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 3.79 (dd, 1 H,  $J_{6,6'} = 9.5$  Hz, 6'-H), 4.01 (dd, 1 H,  $J_{4,5} = 9.2$  Hz, 4-H), 4.07 (dd, 1 H,  $J_{2,3} = 2.5$  Hz, 2-H), 4.23 (dd, 1 H,  $J_{6,6'} = 9.5$  Hz, 6-H), 4.32 (ddd, 1 H,  $J_{5,6} = 5$  Hz,  $J_{5,6'} = 9.5$  Hz, 5-H), 4.76 (d, 1 H,  $J_{1,2} \sim 1$  Hz, 1-H), 5.08 (dd, 1 H,  $J_{3,4} = 2.5$  Hz, 3-H), 5.62 (s, 1 H, OCHO), 7.33 - 7.48 (m, 5 H, arom. H). - C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>S (439.3) Ber. C 41.00 H 3.67 N 9.56 S 7.29. - Gef. C 40.82 H 3.45 N 9.30 S 7.15.

*Methyl 3-S-acetyl-2-azido-4,6-O-benzyliden-2-desoxy-3-thio- $\alpha$ -D-mannopyranosid (2):* Das Triflat **1a** (10.0 g, 22.76 mmol) und trockenes Kaliumthioacetat (10.0 g, 87.7 mmol) werden in DMF (30 ml) gelöst und bei ca. -15 °C Außenkühlung 15 h intensiv gerührt. Man gibt auf Eiswasser (1.2 l) und extrahiert fünfmal mit Dichlormethan. Die dreimal mit Wasser ausgewaschenen vereinigten Extrakte ergeben, nach Trocknen über Magnesiumsulfat und Abdampfen der Lösungsmittel, ca. 20 g eines Öls, welches noch DMF enthält. Der größere Teil des DMF wird durch Verdampfen i. Vak. entfernt und der Rest über Kieselgel (450 g) chromatographiert. Mit Petrolether/Ethylacetat (95:5 und 90:10, v/v) eluiert man 8.1 g (97%) **2**, Sirup,  $R_f = 0.13$  (Hexan/Ethylacetat 9:1, v/v),  $[\alpha]_D^{20} = -49$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>). - IR (Film):  $\nu = 2120$  cm<sup>-1</sup> (N<sub>3</sub>), 1700 (SAc). - <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 2.35$  (s, 3 H, SAc), 3.45 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 3.75 (dd, 1 H,  $J_{5,6'} = 9.2$  Hz, 6'-H), 3.76 (dd, 1 H,  $J_{4,5} = 10.3$  Hz, 4-H), 3.96 (ddd, 1 H,  $J_{5,6} = 3.4$  Hz, 5-H), 3.98 (dd, 1 H,  $J_{2,3} = 4.7$  Hz, 2-H), 4.23 (dd,  $J_{3,4} = 10.3$  Hz, 3-H), 4.33 (dd, 1 H,  $J_{6,6'} = 11.5$  Hz, 6-H), 4.77 (s, 1 H, 1-H), 5.52 (s, 1 H, OCHO), 7.3 - 7.5 (m, 5 H, 5 arom. H). - MS (100 eV),  $m/z$  (%): 364.096311 (5.1) [ $M^+ - 1$ , C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S<sup>+</sup>],  $m/z$ : ber. 364.0966. - C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S (365.4) Ber. C 52.59 H 5.24 N 11.49 S 8.77. - Gef. C 52.31 H 5.33 N 11.26 S 8.52.

*Methyl 2-acetamido-4,6-di-O-acetyl-3-S-acetyl-2-desoxy-3-thio- $\alpha$ -D-mannopyranosid (3):* Zu flüssigem, getrocknetem Ammoniak (180 ml) gibt man unter Reinstickstoff Natrium (2.0 g, 90 mmol), rührt 30 min. und tropft langsam eine Lösung der Azidoverbindung **2** (1.65 g, 4.5 mmol) in DME (35 ml) zu. Unter Rühren läßt man einen Teil des Ammoniaks verdampfen und gibt Ammoniumchlorid zu, bis gerade Entfärbung eintritt. Nach Zugabe von absol. Methanol (60 ml) entfernt man restliches Ammoniak und die Lösungsmittel und trocknet den Rückstand über Phosphorpentoxid i. Vak. Das Rohprodukt wird in Essigsäureanhydrid/Pyridin (1:1, v/v) gelöst, 12 h bei Raumtemp. stehen gelassen und 1 h auf 60 °C erhitzt. Nach Entfernung von Essigsäureanhydrid und Pyridin durch Abdestillieren i. Vak. erhält man 1.64 g öliges Produkt. Die säulenchromatographische Reinigung über Kieselgel (160 g) mit Petrolether/Ethylacetat (3:7, v/v) ergibt 0.7 g (41%) der Verbindung **3**; Schmp. 153 °C,  $R_f = 0.18$  [Hexan/Ethylacetat (3:7, v/v)],  $[\alpha]_D^{20} = +47$  ( $c = 1.4$ , CHCl<sub>3</sub>). - IR (KBr):  $\nu = 1740$  cm<sup>-1</sup> (OAc), 1700 (SAc), 1650/1530 (NHAc/II). - <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):



$\delta = 2.03, 2.05, 2.10$  (3 s, 9 H, 3 Ac), 2.31 (s, 3 H, SAc), 3.42 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 4.02 - 4.09 (m, 2 H), 4.28 (dd, 1 H,  $J_{3,4} = 11.5$  Hz, 3-H), 4.52 (ddd, 1 H,  $J_{2,3} = 4.5$  Hz, 2-H), 4.58 (d, 1 H,  $J_{1,2} = 1$  Hz, 1-H), 4.97 (dd, 1 H,  $J_{4,5} = 9$  Hz, 4-H), 6.04 (d, 1 H,  $J_{2,NH} = 10$  Hz, NH). Diese Daten stimmen mit den von Miljkovic angegebenen Werten überein<sup>9c</sup>. - C<sub>15</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>8</sub>S (377.4) Ber. C 47.73 H 6.14 N 3.71 S 8.49. - Gef. C 47.65 H 6.09 N 3.34 S 8.42.

*Methyl 2-N-acetyl-2-amino-4,6-O-benzyliden-2-desoxy-2-N,3-S-ethyliden-3-thio- $\alpha$ -D-mannopyranosid (4) und Methyl 2-acetamido-3-S-acetyl-4,6-O-benzyliden-2-desoxy-3-thio- $\alpha$ -D-mannopyranosid (5):* Das Azid **2** (1.32 g, 3.6 mmol) löst man in absol. Diethylether (40 ml) und gibt unter Rühren zu der auf -35 °C gekühlten Lösung Lithium-tetrahydridoaluminat (1.10 g, 29 mmol). Nach 15 min. wird Methanol/Diethylether (30 ml, 1:2, v/v) vorsichtig zugegeben und anschließend mit ges. Ammoniumchlorid-Lösung (100 ml) 1 h intensiv gerührt. Nach dreifacher Extraktion mit Ethylacetat wird die vereinigte org. Phase mit Wasser ausgewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und die Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Den Rückstand (1.1 g Harz) acetyliert man bei 0 °C (12 h) in Pyridin/Essigsäureanhydrid (20 ml, 1:1, v/v). Nach Entfernen der flüchtigen Reagenzien i. Vak. wird das erhaltene ölige Produkt über Kieselgel (80 g) chromatographisch aufgetrennt. Mit Chloroform/Diethylether/Methanol (500 ml, 90:9:1, v/v/v) eluiert man zunächst 0.16 g (12%) **4**, Schmp. 151 °C,  $R_f = 0.35$  [Chloroform/Diethylether/Methanol (85:14:1, v/v/v)],  $[\alpha]_D^{20} = -178$  ( $c = 1.2$ , CHCl<sub>3</sub>) und 0.51 g (37%) **5**, Sirup,  $R_f = 0.08$  [Chloroform/Diethylether/Methanol (85:14:1, v/v/v)],  $[\alpha]_D^{20} = -17$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>). - **4**: IR (KBr):  $\nu = 1650$  cm<sup>-1</sup> (NAc). - <sup>1</sup>H NMR (90 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 1.76$  (d,  $J = 6.6$  Hz, CH<sub>3</sub>), 2.19 (s, 3 H, NAc), 3.40 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 5.00 (d, 1 H,  $J_{1,2} = 1.2$  Hz, 1-H), 5.24 (q, 1 H, SCHN), 5.59 (s, 1 H, OCHO). - C<sub>18</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>5</sub>S (365.4) Ber. C 59.15 H 6.34 N 3.83 S 8.77. - Gef. C 58.88 H 6.16 N 3.54 S 8.18.

**5**: IR(Film):  $\nu = 1700$  cm<sup>-1</sup> (SAc), 1650/1530 (NHAc/II). - <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 2.05$  (s, 3 H, NAc), 2.30 (s, 3 H, SAc), 3.68 (dd, 1 H,  $J_{6,6'} = 12$  Hz, 6-H), 3.75 (dd, 1 H,  $J_{4,5} = 10$  Hz, 4-H), 4.01 (m, 1 H,  $J_{3,6} = 9.6$  Hz,  $J_{5,6'} = 4.5$  Hz, 5-H), 4.24 (dd, 1 H,  $J_{3,4} = 10.2$  Hz, 3-H), 4.29 (dd, 1 H, 6'-H), 4.58 (s, 1 H, 1-H), 4.60 (dd, 1 H,  $J_{NH,2} = 10$  Hz,  $J_{2,3} = 4$  Hz, 2-H), 5.52 (s, 1 H, OCHO). - MS (100 eV),  $m/z$  (%): 380.117723 (5.2) [ $M^+ - 1$ , C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>NO<sub>6</sub>S<sup>+</sup>],  $m/z$ :<sub>ber.</sub> 380.1168. - C<sub>18</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>6</sub>S (381.4) Ber. C 56.68 H 6.07 N 3.67 S 8.40. - Gef. C 56.51 H 6.25 N 3.84 S 8.16.

*2-Methyl-4,5-dihydro-(4,6-O-benzyliden-2,3-didesoxy-1-O-methyl- $\alpha$ -D-mannopyranoso)[2,3-d]-1,3-thiazol (7):* Das Azid **2** (4.07 g, 11.13 mmol) löst man in absol. Diethylether (70 ml) und gibt Triphenylphosphin (4.20 g, 16.0 mmol) zu. Nach 3 h ist die N<sub>2</sub>-Entwicklung beendet und die Bildung des Phosphinimis **6** vollständig. Nach Verdampfen des Diethylether bei Raumtemp. i. Vak. löst man den öligen Rückstand in Chloroform (70 ml) und läßt 24 h stehen. Die Chloroformlösung wird unter mehrfacher Diethyletherzugabe eingengt, in absol. Diethylether gelöst und gekühlt; nach Abfiltrieren von ausgefallenem Triphenylphosphinoxid und Einengen des Filtrats chromatographiert man über Kieselgel (150 g). Mit Petrolether/Diethylether (4:6 und 2:8, v/v) eluiert man 3.53 g (96%) **7**, Sirup,  $R_f = 0.40$  [Petrolether/Diethylether (2:8, v/v)],  $[\alpha]_D^{20} = -148$  ( $c = 0.75$ , CHCl<sub>3</sub>). - IR (Film):  $\nu = 1630$  cm<sup>-1</sup> (C=N). - <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 2.29$  (d, 3 H,  $J_{CH3,2} = 2.2$  Hz, CH<sub>3</sub>), 3.43 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 3.46 (dd, 1 H,  $J_{4,5} = 10$  Hz, 4-H), 3.69 (dd, 1 H,  $J_{5,6} = 10.2$  Hz,  $J_{6,6'} = 10.2$  Hz, 6-H), 3.79 (dd, 1 H,  $J_{3,4} = 9.9$  Hz, 3-H), 3.84 (ddd, 1 H,  $J_{5,6'} = 4.9$  Hz, 5-H), 4.16 (dd, 1 H,  $J_{2,3} = 7$  Hz, 2-H), 4.28 (dd, 1 H, 6'-H), 5.40 (s, 1 H, 1-H), 5.52 (s, 1 H, OCHO), 7.33 - 7.50 (m, 5 H, arom. H). - <sup>13</sup>C NMR (74.47 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 20.86$  (1 C, CH<sub>3</sub>), 51.28, 54.95, 61.75 (3 C, C-2, C-3, OCH<sub>3</sub>), 69.01 (1 C, C-6), 79.45, 80.63 (2 C, C-4, C-5), 99.20, 102.17 (2 C, C-1, OCHO), 126.18, 128.26, 129.10, 137.26 (6 arom. C), 168.39 (1 C, C=N). - MS (100 eV),  $m/z$  (%): 321.103370 (17.2) [ $M^+$ , C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>4</sub>S<sup>+</sup>],  $m/z$ :<sub>ber.</sub> 321.1034. - C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>4</sub>S (321.4) Ber. C 59.79 H 5.96 N 4.36 S 9.98. - Gef. C 59.88 H 5.98 N 4.47 S 9.90.

**2-Methyl-4,5-dihydro-(2,3-didesoxy-1-O-methyl- $\alpha$ -D-mannopyranoso)[2,3-d]-1,3-thiazol (8):** Das Thiazolin 7 (500 mg, 1.55 mmol) wird zusammen mit konz. Salzsäure (1.5 ml) bei -10 bis -15 °C Außenkühlung ca. 20 h intensiv gerührt. Nach Zugabe von Wasser (6 ml) unter guter Kühlung neutralisiert man sofort mit einem Überschuß an Dowex 1x4,  $\text{HCO}_3^-$ , und extrahiert die eingeeengte, wässrige Phase mehrfach mit Ethylacetat. Nach Entfernung des Lösungsmittels wird der Rückstand aus Wasser lyophilisiert und eine Probe aus Ethylacetat umkristallisiert; man erhält Verbindung 8 (300 mg, 82%), Schmp. 139 °C,  $R_f = 0.43$  [Ethanol/Ethylacetat (7:3, v/v)],  $[\alpha]_D^{20} = -36$  ( $c = 0.51$ ,  $\text{CH}_3\text{OH}$ ). - IR (KBr):  $\nu = 1625 \text{ cm}^{-1}$  (C=N). -  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $[\text{D}_6]\text{DMSO}$ ):  $\delta = 2.14$  (d, 3 H,  $J_{2,\text{CH}_3} = 2 \text{ Hz}$ , N=C-CH<sub>3</sub>), 2.98 (dd, 1 H,  $J_{4,5} = 10 \text{ Hz}$ , 4-H), 3.23 - 3.43 (m, 2 H, 5-H, 6'-H), 3.28 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 3.47 (dd, 1 H,  $J_{3,4} = 10 \text{ Hz}$ , 3-H), 3.61 (dd, 1 H,  $J_{6,6'} = 11 \text{ Hz}$ ,  $J_{5,6} = 1 \text{ Hz}$ , 6-H), 3.87 (dd, 1 H,  $J_{2,3} = 6 \text{ Hz}$ , 2-H), 4.52 (dd, 1 H,  $J_{\text{H,OH}} = 6 \text{ Hz}$ , 6-OH), 5.18 (s, 1 H, 1-H), 5.24 (d, 1 H,  $J_{\text{H,OH}} = 6 \text{ Hz}$ , 4-OH). -  $\text{C}_9\text{H}_{15}\text{O}_4\text{NS}$  (233) Ber. C 46.33 H 6.48 N 6.00 S 13.74. - Gef. C 46.13 H 6.70 N 5.70 S 13.38.

**2-Methyl-4,5-dihydro-(1,4,6-tri-O-acetyl-2,3-didesoxy- $\alpha$ - und  $\beta$ -D-mannopyranoso)[2,3-d]-1,3-thiazol (9 $\alpha$ , 9 $\beta$ ):** Das Thiazolin 7 (11.90 g, 37.07 mmol) wird in kaltem Essigsäureanhydrid (590 ml) gelöst und unter Kühlung mit Eis-Kochsalz-Mischung mit konz. Schwefelsäure (12.9 ml) tropfenweise versetzt. Man läßt 1 d bei 0 °C und einen weiteren Tag bei Raumtemp. stehen, gibt zur Neutralisation unter Kühlung und Rühren einen Überschuß an Natriumacetat (wasserfrei) zu und entfernt Essigsäureanhydrid durch Destillation i. Vak. möglichst vollständig. Den in Ethylacetat (300 ml) aufgenommenen Rückstand rührt man mit kalter, gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung (1.2 l) und filtriert vom Salzbrei ab. Nach dreimaliger Extraktion mit Ethylacetat trocknet man die vereinigten Extrakte über Magnesiumsulfat und entfernt das Lösungsmittel i. Vak. Aus dem öligen Rückstand kristallisieren nach Versetzen mit Diethylether 4.73 g  $\alpha$ -Triacetat 9 $\alpha$ , Schmp. 135 °C,  $R_f = 0.20$  (Diethylether),  $[\alpha]_D^{20} = -60$  ( $c = 2.3$ ,  $\text{CHCl}_3$ ). Die säulenchromatographische Auftrennung der Mutterlauge über Kieselgel mit Diethylether als Elutionsmittel ergibt weitere 0.88 g 9 $\alpha$ , sowie 2.51 g öliges  $\beta$ -Triacetat 9 $\beta$ ,  $R_f = 0.08$  (Diethylether),  $[\alpha]_D^{20} = -15$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ). Gesamtausbeute an 9 $\alpha$  und 9 $\beta$ : 8.12 g (63%). - 9 $\alpha$ : IR (KBr):  $\nu = 1750 \text{ cm}^{-1}$  (C=O), 1630 (C=N). -  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 2.05, 2.08, 2.14$  (3 s, 9 H, 3 Ac), 2.29 (d, 3 H,  $J_{2,\text{CH}_3} = 2 \text{ Hz}$ , N=C-CH<sub>3</sub>), 3.79 (dd,  $J_{3,4} = 10.2 \text{ Hz}$ , 3-H), 3.95 (ddd, 1 H,  $J_{5,6} = 5.1 \text{ Hz}$ ,  $J_{5,6'} = 3 \text{ Hz}$ , 5-H), 4.04 (dd, 1 H,  $J_{6,6'} = 12.3 \text{ Hz}$ , 6-H), 4.09 (qd, 1 H,  $J_{2,3} = 6.3 \text{ Hz}$ , 2-H), 4.14 (dd, 1 H, 6-H), 4.84 (dd, 1 H,  $J_{4,5} = 9.9 \text{ Hz}$ , 4-H), 6.80 (s, 1 H, 1-H). -  $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{NO}_7\text{S}$  (345.3) Ber. C 48.68 H 5.54 N 4.05 S 9.28. - Gef. C 48.44 H 5.60 N 3.81 S 9.36.

9 $\beta$ : IR (Film):  $\nu = 1750 \text{ cm}^{-1}$  (C=O), 1630 (C=N). -  $^1\text{H NMR}$  (90 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 2.03, 2.08, 2.22$  (3 s, 9 H, 3 Ac), 2.30 (s, 3 H,  $J_{2,\text{CH}_3} = 2 \text{ Hz}$ , N=C-CH<sub>3</sub>), 4.50 (m, 1 H, 2-H), 5.06 (dd, 1 H,  $J_{4,5} = 9 \text{ Hz}$ , 4-H), 6.16 (d, 1 H,  $J_{1,2} = 3 \text{ Hz}$ , 1-H).

**2-Methyl-4,5-dihydro-(2,3-didesoxy- $\alpha$ -D-mannofuranoso)[2,3-d]-1,3-thiazol (10):**  $\alpha$ - oder  $\beta$ -Triacetat 9 $\alpha$  oder 9 $\beta$  (2.43 g, 7.04 mmol) löst man unter Rühren in absol. Methanol (125 ml) und gibt zu der gekühlten Lösung Diethylamin (13 ml). Nach 12 h bei 0 °C läßt man weitere 2 d bei -14 °C stehen. Der über eine Glasfritte abfiltrierte Niederschlag wird mit wenig kaltem Methanol nachgewaschen und i. Vak. getrocknet, 1.03 g 10; aus der Mutterlauge werden noch weitere 0.18 g gewonnen, Gesamtausbeute: 1.21 g (78%) 10, Schmp. 192-195 °C ( $\text{H}_2\text{O}$ ),  $R_f = 0.5$  [n-Propanol/Ammoniak/Wasser (6:1:1, v/v/v)],  $[\alpha]_D^{20} = -63$  ( $c = 0.23$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ). - IR (KBr):  $\nu = 3300 \text{ cm}^{-1}$  (OH), 1630 (C=N). -  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $[\text{D}_6]\text{DMSO}$ , H-D-Austausch):  $\delta = 2.10$  (d, 3H,  $J_{2,\text{CH}_3} = 0.9 \text{ Hz}$ , CH<sub>3</sub>), 3.38 (dd, 1 H, 6-H), 3.50 (ddd,  $J_{5,6} = 1.8 \text{ Hz}$ ,  $J_{5,6'} = 5.7 \text{ Hz}$ , 5-H), 3.61 (dd, 1 H,  $J_{6,6'} = 11.1 \text{ Hz}$ , 6'-H), 4.19 (dd, 1 H,  $J_{4,5} = 9.3 \text{ Hz}$ , 4-H), 4.53 (dd, 1 H,  $J_{3,4} = 5.4 \text{ Hz}$ , 3-H), 4.88 (qd, 1 H,  $J_{2,3} = 8.4 \text{ Hz}$ , 2-H), 5.14 (s, 1 H, 1-H). Nach H-D-Austausch wird 5-H zu einem Signal der Multiplizität ddd vereinfacht. -  $\text{C}_8\text{H}_{13}\text{NO}_4\text{S}$  (219.26) Ber. C 43.82 H 5.97 N 6.38 S 14.62. - Gef. C 43.55 H 5.98 N 6.28 S 14.41.

**2-Acetamido-2-desoxy-3-thio-D-mannopyranose (11):** Das Thiazolin **10** (100 mg, 0.456 mmol) löst man unter Durchleiten von Reinstickstoff in 0.1 N Salzsäure (20 ml) und lässt etwa 20 h bei Raumtemp. unter Ausschluss von Luftsauerstoff stehen. Unter Kühlung wird mit Dowex 1x4, (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Form) entionisiert, gefriergetrocknet und anschließend über Phosphorpentoxid i. Vak. getrocknet; 98 mg (90 %) **11**,  $R_f = 0.57$  [Pyridin/Ethylacetat/Eisessig/Wasser (2:5:1:1, v/v/v/v)],  $[\alpha]_D^{20} = -2.4$  ( $c = 1.1$ , H<sub>2</sub>O). Die Substanz ist ein Anomerengemisch ( $\alpha:\beta = 1:1$ ) und enthält geringe Mengen an Disulfid. - IR (KBr):  $\nu = 1640/1550$  cm<sup>-1</sup> (NHAc/II). - <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta = 2.09, 2.13$  (2 s, 3 H, NHAc  $\alpha/\beta$ ), 3.22 (dd, 0.5 H,  $J_{3,4} = 10.5$  Hz, 3-H), 3.43 (dd, 0.5 H,  $J_{3,4} = 10.5$  Hz, 3-H), 3.52 (dd, 1 H,  $J_{4,5} = 10$  Hz, 4-H), 4.29 (dd, 0.5 H,  $J_{2,3} = 4$  Hz, 2-H $\alpha$ ), 4.41 (dd, 0.5 H,  $J_{2,3} = 4$  Hz, 2-H $\beta$ ), 5.06 (d, 0.5 H,  $J_{1,2} = 1.5$  Hz, 1-H $\beta$ ), 5.09 (s, 0.5 H, 1-H $\alpha$ ). - FAB(-)-MS:  $m/z_{\text{ber.}}$  237,  $m/z_{\text{gef.}}$  236 (M-1). - Disulfid von **11**: FAB(+)-MS:  $m/z_{\text{ber.}}$  472,  $m/z_{\text{gef.}}$  473 (M+1). - C<sub>8</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>3</sub>S + 0.5 H<sub>2</sub>O (237.25) Ber. C 39.00 H 6.50 N 5.69 S 13.00. - Gef. C 38.61 H 6.63 N 5.55 S 12.79.

**2-Acetamido-1,4,6-tri-O-acetyl-3-S-acetyl-2-desoxy-3-thio- $\alpha$ - und - $\beta$ -D-mannopyranose (12 $\alpha$ , 12 $\beta$ ):** Die Thiopyranose **11** (300 mg, 1.27 mmol) wird unter Reinstickstoff und Kühlung in Pyridin (5 ml) und Essigsäureanhydrid (5 ml) gelöst. Man lässt 3 d bei 0 °C stehen und entfernt Pyridin und Essigsäureanhydrid durch mehrfache Kodestillation mit Toluol i. Vak. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Kieselgel gereinigt; Elution mit einem Chloroform/Ethanol-Gradienten [Chloroform: 50 ml, Chloroform/Ethanol (100:1, v/v) 700 ml, (80:1, v/v) 500 ml, (60:1, v/v) 500 ml] ergibt **12 $\beta$**  (134 mg, 26%), Sirup,  $R_f = 0.4$  (Ethylacetat),  $[\alpha]_D^{20} = -22$  ( $c = 5.54$ , CHCl<sub>3</sub>), 125 mg (24%) gemischte Fraktion aus **12 $\alpha$**  und **12 $\beta$**  und **12 $\alpha$**  (110 mg, 21%), Sirup,  $R_f = 0.32$  (Ethylacetat),  $[\alpha]_D^{20} = +39$  ( $c = 2.85$ , CHCl<sub>3</sub>), Gesamtausbeute: 369 mg (71%). - IR (Film):  $\nu = 1750$  cm<sup>-1</sup> (OAc), 1700 (SAC), 1660/1540 (NHAc/II). - **12 $\beta$** : <sup>1</sup>H NMR (90 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 2.03, 2.09, 2.55$  (3 s, 15 H, 1 SAC, 3 OAc, 1 NAc), 4.72 (ddd, 1 H, 2-H), 5.01 (dd, 1 H,  $J_{4,5} = 9.5$  Hz, 4-H), 5.95 (d, 1 H,  $J_{1,2} = 1.5$  Hz, 1-H), 6.42 (d, 1 H,  $J_{\text{NH},2} = 10$  Hz, NH). - **12 $\alpha$** : <sup>1</sup>H NMR (90 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 2.04, 2.08, 2.20, 2.34$  (4 s, 15 H, 1 SAC, 3 OAc, 1 NAc), 4.58 (ddd, 1 H, 2-H), 5.08 (dd, 1 H,  $J_{4,5} = 9.5$  Hz, 4-H), 5.94 (d, 1 H,  $J_{1,2} = 1.5$  Hz, 1-H), 6.58 (d, 1 H,  $J_{\text{NH},H} = 10$  Hz, NH). - MS (70 eV),  $m/z$  (%): 346.0939 (1.0) [M<sup>+</sup>-C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>O<sub>2</sub>],  $m/z_{\text{ber.}}$  346.0960. - C<sub>16</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>9</sub>S (405.4) Ber. C 47.40 H 5.71 N 3.45 S 7.90. - Gef. C 47.23 H 5.92 N 3.52 S 7.66.

**5-Acetamido-3,5-didesoxy-6-thio-D-glycero-D-gulo-2-nonulopyranosonsäure (14) und 5-Acetamido-3,5-didesoxy-6-thio-D-glycero-D-ido-2-nonulopyranosonsäure (15):** Das Thiazolin- $\alpha$ -acetat **9 $\alpha$**  (5.61 g, 16.26 mmol) wird in absol. Methanol/Dioxan (240 ml, 2:1, v/v) gelöst und unter Durchleiten von Reinstickstoff auf 0 °C gekühlt. Kalium-di-O-*n*-butyl-oxalacetat<sup>11a</sup> (20 g, 71 mmol) wird unter Rühren zugegeben und unter Lichtausschluss 5 d gerührt. Die dünnschichtchromatographische Kontrolle des Reaktionsansatzes mit **10** als Referenz [n-Propanol/Ammoniak/Wasser (6:1:1, v/v/v)] zeigt, dass vollständige Umsetzung erfolgt war. Man filtriert die gekühlte Lösung über eine Glasfritte, wäscht mit wenig kaltem, absol. Methanol nach und entionisiert die auf -10 °C gekühlte Lösung mit saurem Ionenaustauscher (Amberlite IR 120, H<sup>+</sup>, mit absol. Methanol ausgewaschen). Nach Abfiltrieren wird die methanolische Lösung mit wasserfreiem Natriumcarbonat geschüttelt, um Säurespuren zu entfernen. Anschließend entfernt man die Lösungsmittel und rührt intensiv den öligen Rückstand mit absol. Diethylether. Es bleibt ein amorphes Pulver, welches aus einem Gemisch der diastereoisomeren Kondensationsprodukte **13a** und **13b** besteht. Nach Trocknen über Phosphorpentoxid i. Vak. 7.08 g,  $R_f = 0.40$  [n-Propanol/Ammoniak/Wasser, (6:1:1, v/v/v)], chromatographisch einheitlich. - IR (KBr):  $\nu = 1760$  cm<sup>-1</sup> (C=O), 1630 (C=N). - Die Silylierung von **13a** und **13b** ergibt ein Pentatrimethylsilyl- und ein Tetratrimethylsilylderivat:  $m/z_{\text{gef.}}$  824.48 und  $m/z_{\text{gef.}}$  749.31. - Das Kondensationsprodukt **13a**, **13b** (2.0 g) wird unter Zugabe von einigen ml Dioxan in Wasser (800 ml) unter Rühren gelöst. Unter Durchleiten von Reinstickstoff erhitzt man 30-40 min. unter Rückfluß, kühlt sofort im Eisbad und bringt mit wässrigem Alkali auf pH 9-10. Nach ca. 12 h wird die kalte Lösung mit Kationentauscher (H<sup>+</sup>-Form) behandelt und lyophilisiert. Man erhält 1.36 g Rohprodukt, welches im Dünnschichtchromatogramm [Cellulose-Folie, Pyridin/Ethylacetat/Eisessig/Wasser (5:5:1:2.5, v/v/v/v), Iodanfärbung] die beiden Nonulonsäuren **14** und **15**, sowie unpolare Verunreinigungen zeigt. Die Abtrennung erfolgt durch Cellulose-

Säulenchromatographie mit obigem Laufmittel. Dabei eluiert man nach mehreren unpolaren Beimengungen zuerst Verbindung **15** und anschließend **14**. Man vereinigt alle **14** und **15** enthaltenden Fraktionen und entfernt den größten Teil von Pyridin und Essigsäure durch schonende Kodestillation mit Wasser i. Vak. Der Rest des Pyridins wird mittels saurem Ionenaustauscher (wie bei **21**) entfernt und aus Wasser lyophilisiert. Man erhält 0.37 g (25% bez. auf **9α**) **15**, amorph,  $R_f = 0.36$  [Pyridin/Ethylacetat/Eisessig/Wasser (5:5:1:2.5, v/v/v/v), Cellulose-Folie, Iodanfärbung],  $R_f = 0.35$  (wie zuvor, Kieselgelfolie),  $[\alpha]_D^{20} = -63.6$  ( $c = 1.37$ ,  $H_2O$ ). - IR (KBr):  $\nu = 1725\text{ cm}^{-1}$  (COOH), 1640/1535 (NHAc/II). - **15** ist als freie Säure instabil und zersetzt sich langsam zu einem weniger polaren Produkt. - Von **14** erhält man 0.22 g (15% bez. auf **9α**), amorph,  $R_f = 0.21$  [Laufmittel wie bei **15**, Cellulose-Folie, Iodanfärbung],  $[\alpha]_D^{20} = -77.8$  ( $c = 0.81$ ,  $H_2O$ ). - IR (KBr):  $\nu = 1725\text{ cm}^{-1}$  (COOH), 1640/1535 (NHAc/II). - **14** und **15** zeigen auf dem DC eine positive Nitroprussid-Anfärbung. - **14**:  $^1\text{H NMR}$  (500 MHz,  $D_2O$ ):  $\delta = 2.09$  (s, 3 H, NAc), 2.16 (m, 1 H,  $J_{3b,4} = 2.0\text{ Hz}$ , 3- $H_b$ ), 2.18 (m, 1 H,  $J_{3a,3b} = 13.5\text{ Hz}$ ,  $J_{3a,4} = 9.5\text{ Hz}$ , 3- $H_a$ ), 3.58 (dd, 1 H,  $J_{8,9} = 7\text{ Hz}$ , 9'-H), 3.69 (ddd, 1 H,  $J_{8,9} = 3\text{ Hz}$ , 8-H), 3.78 (dd, 1 H,  $J_{9,9'} = 12\text{ Hz}$ , 9-H), 3.80 (dd, 1 H,  $J_{7,8} = 7\text{ Hz}$ , 7-H), 3.85 (dd, 1 H,  $J_{6,7} = 4.5\text{ Hz}$ , 6-H), 4.13 (ddd, 1 H,  $J_{4,5} = 3.5\text{ Hz}$ , 4-H), 4.59 (dd, 1 H,  $J_{5,6} = 2\text{ Hz}$ , 5-H). -  $^{13}\text{C NMR}$  (74.47 MHz,  $D_2O$ ):  $\delta = 25.1$  (1 C,  $CH_3$ ), 41.0 (1 C, C-3), 47.9 (1 C, C-6), 54.7 (1 C, C-5), 65.1 (1 C, C-9), 70.3 (1 C, C-4), 74.8 (1 C, C-7), 75.9 (1 C, C-8), 85.2 (1 C, C-2), 177.8, 178.5 (2 C, 2 C=O). - Veresterung und Silylierung von **14**: Die Säure **14** (0.01 g) wird in absol. Methanol (1 ml) gelöst und mit Diazomethan verestert und silyliert, wie bei **21** beschrieben; MS (70 eV),  $m/z$  (%): 772 (1) [ $M^+$ , Hexatrimethylsilylderivat], 757 (8) [ $M^+ - CH_3$ ], 684 (35) [ $M^+ - SiMe_3$ ]. - **15**:  $^1\text{H NMR}$  (500 MHz,  $D_2O$ ):  $\delta = 2.05$  (s, 1.7 H, NAc), 2.07 (s, 1.3 H, NAc), 2.20 [dd, 0.57 H,  $J_{3a,3b} = 15.2\text{ Hz}$ ,  $J_{3a,4} = 3.4\text{ Hz}$ , 3- $H_a$ ], 2.38 [dd, 0.43 H,  $J_{3a,3b} = 13.7\text{ Hz}$ ,  $J_{3a,4} = 9.8\text{ Hz}$ , 3- $H_a$ ], 2.43 [dd, 0.57 H,  $J_{3b,4} = 3.2\text{ Hz}$ , 3- $H_b$ ], 2.47 [dd, 0.43 H,  $J_{3b,4} = 4.2\text{ Hz}$ , 3- $H_b$ ], 3.60 [dd, 0.57 H,  $J_{9,9'} = 11.8\text{ Hz}$ ,  $J_{8,9} = 6.8\text{ Hz}$ , 9'-H], 3.64 [dd, 0.43 H,  $J_{9,9'} = 11.8\text{ Hz}$ ,  $J_{8,9} = 6.1\text{ Hz}$ , 9'-H], 3.70 [ddd, 0.57 H, 8-H], 3.77 [ddd, 0.43 H, 8-H], 3.80 [dd, 0.57 H,  $J_{8,9} = 2.9\text{ Hz}$ , 9-H], 3.81 [dd, 0.57 H,  $J_{7,8} = 7.5\text{ Hz}$ , 7-H], 3.83 [dd, 0.43 H,  $J_{8,9} = 2.8\text{ Hz}$ , 9-H], 3.87 [dd, 0.43 H,  $J_{6,7} = 2.5\text{ Hz}$ , 6-H], 3.90 [dd, 0.43 H,  $J_{7,8} = 8.8\text{ Hz}$ , 7-H], 4.07 [ddd, 0.57 H,  $J_{4,5} = 3.8\text{ Hz}$ , 4-H], 4.20 [dd, 0.57 H,  $J_{6,7} = 4.2\text{ Hz}$ , 6-H], 4.23 [dd, 0.43 H,  $J_{5,6} = 5.2\text{ Hz}$ , 5-H], 4.25 [dd, 0.57 H,  $J_{5,6} = 2.2\text{ Hz}$ , 5-H], 4.30 [dd, 0.43 H,  $J_{4,5} = 9.6\text{ Hz}$ , 4-H]. -  $^{13}\text{C NMR}$  (75.47 MHz,  $D_2O/CD_3OD$  1:1, v/v) von **15a**:  $\delta = 22.98$  ( $CH_3$ ), 36.03 (C-3), 40.09 (C-6), 52.19 (C-5), 63.26 (C-9), 69.17, 72.69, 73.96 (C-4, C-7, C-8), 82.78 (C-2), 174.73, 175.13 (2 C=O); **15b**:  $\delta = 22.85$  ( $CH_3$ ), 45.48 (C-3), 45.66 (C-6), 56.44 (C-5), 63.74 (C-9), 65.10, 69.45, 72.85 (C-4, C-7, C-8), 81.15 (C-2), 174.82, 175.49 (2 C=O). -  $C_{11}H_{19}NO_8S$  (325.3) + 0.5  $H_2O$  Ber. C 39.52 H 5.99 N 4.19 S 9.58. - Gef. C 39.31 H 5.62 N 4.28 S 9.71.

Veresterung und Silylierung von **15**: Die Säure **15** (0.05 g) wird in absol. Methanol (2.0 ml) gelöst und mit Diazomethan wie bei **21** verestert. Nach Entfernung der Lösungsmittel wird über Kieselgel (6 g) chromatographiert. Elution mit dem Laufmittelsystem Pyridin/Ethylacetat/Eisessig/Wasser (10:50:5:3, v/v/v/v) ergibt nach Entfernung der Lösungsmittel, Gefriertrocknung und Trocknen i. Vak. 0.018 g Methylester. Die Silylierung erfolgt wie bei **21** und ergibt ein Pentatrimethylsilylderivat. - MS (100 eV),  $m/z$  (%): 684.2710 (11) [ $M^+ - CH_3$ ,  $C_{16}H_{58}O_8N_2Si_5^+$ ],  $m/z_{\text{ber.}}$  684.2729.

*5-Acetamido-2,4,7,8,9-penta-O-acetyl-3,5-didesoxy-6-thio-α/β-D-glycero-D-ido-2-nonulopyranoson-säure-methylester (16a, 16b)*: Die Säure **15** (250 mg, 0.769 mmol) wird in absol. Methanol (5 ml) gelöst und unter Kühlung mit einem Überschuß etherischer Diazomethan-Lösung versetzt. Nach Zugabe von 1 Tropfen Eisessig werden die Lösungsmittel i. Vak. entfernt, der Rückstand in Wasser gelöst und lyophilisiert. Der rohe Methylester (256 mg) wird in Pyridin/Essigsäureanhydrid (14 ml, 12:10, v/v) 2 d bei 0 °C acetyliert. Nach Entfernung der Reagentien durch schonendes Verdampfen i. Vak. und Kodestillation mit Toluol wird der Rückstand über Kieselgel vorgereinigt. Man eluiert mit einem Chloroform-Methanol-Gradienten: [Chloroform → Chloroform/Methanol (50:1, v/v)] und erhält 310 mg (73%) Gemisch von anomeren und konformeren Acetylderivaten. Das erhaltene Produkt zeigt im DC überwiegend 2 Spots:  $R_f = 0.28$  (**16a**) und  $R_f = 0.33$  (**16b**) [Chloroform/Methanol (30:1, v/v)]. Ein kleiner Teil wird durch HPLC getrennt: ERC-HPLC-Pumpe 64 mit RI-Detektor [ERC-7520], Elutionsmittel: Chloroform/Methanol (100:1, v/v), Elutionsgeschwindigkeit 23

ml/min, 7.5 bar, Trennsäule: Lichrosorb S 60, 7  $\mu$ m. Man erhält zuerst 44 mg **16b** und nachfolgend 32 mg **16a**; die Substanzen enthalten noch ca. 15% an isomeren Acetaten, welche nicht abgetrennt werden konnten. - **16a**:  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 2.06, 2.07, 2.08, 2.10, 2.11 (5 s, 15 H, 5 OAc), 2.14 (s, 3 H, NAc), 2.22 (dd, 1 H,  $J_{3b,4}$  = 3.3 Hz,  $J_{3a,3b}$  = 15 Hz, 3-H<sub>b</sub>), 2.79 (dd, 1 H,  $J_{3a,4}$  = 3.1 Hz, 3-H<sub>a</sub>), 3.78 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 3.98 (dd, 1 H,  $J_{6,7}$  = 6.8 Hz, 6-H), 4.19 (dd, 1 H, 9'-H), 4.31 (dd, 1 H,  $J_{9,9'}$  = 12.3 Hz, 9-H), 4.45 (ddd, 1 H,  $J_{5,6}$  = 2.3 Hz,  $J_{5,\text{NH}}$  = 8.6 Hz, 5-H), 5.02 (ddd, 1 H,  $J_{4,5}$  = 3.5 Hz, 4-H), 5.20 (ddd, 1 H,  $J_{8,9}$  = 2.9 Hz,  $J_{8,9'}$  = 6.7 Hz, 8-H), 5.29 (dd, 1 H,  $J_{7,8}$  = 5.1 Hz, 7-H), 6.25 (d, 1 H,  $J_{5,\text{NH}}$  = 8.6 Hz, NH). - **16b**:  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 2.05, 2.06, 2.07, 2.14, 2.20 (5 s, 18 H, 5 OAc, 1 NAc), 2.51 (dd, 1 H,  $J_{3a,4}$  = 8.5 Hz,  $J_{3a,3b}$  = 14.3 Hz, 3-H<sub>a</sub>), 2.57 (dd, 1 H,  $J_{3b,4}$  = 4.0 Hz, 3-H<sub>b</sub>), 3.79 (s, 3 H, OCH<sub>3</sub>), 3.89 (dd, 1 H,  $J_{6,7}$  = 5.2 Hz, 6-H), 4.19 (dd, 1 H, 9'-H), 4.39 (dd, 1 H,  $J_{9,9'}$  = 12.5 Hz, 9-H), 4.58 (ddd, 1 H,  $J_{5,6}$  = 4.7 Hz, 5-H), 5.15 (ddd, 1 H,  $J_{3,4}$  = 4.0 Hz,  $J_{4,5}$  = 8.4 Hz, 4-H), 5.19 (ddd, 1 H,  $J_{8,9}$  = 2.7 Hz,  $J_{8,9'}$  = 5.2 Hz, 8-H), 5.46 (dd, 1 H,  $J_{7,8}$  = 6.8 Hz, 7-H), 6.28 (d, 1 H,  $J_{\text{NH},5}$  = 9 Hz, NH).

*2-Methyl-4,5-dihydro-(2,3-didesoxy-5,6-O-isopropyliden- $\alpha$ -D-mannofuranoso)[2,3-d]-1,3-thiazol (17):*

Das Thiazolin **10** (4.52 g, 20.6 mmol) wird in absol. Aceton (220 ml) unter Kühlung und Rühren suspendiert und tropfenweise konz. Schwefelsäure (7.9 ml) zugeben. Nach 1-2 h wird eine klare Lösung erhalten, welche man zu kalter, gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung (900 ml) gibt. Man extrahiert fünfmal mit Ethylacetat und trocknet die vereinigten Extrakte über Magnesiumsulfat. Nach üblicher Aufarbeitung erhält man einen Sirup (6.4 g), welcher überwiegend aus **17** besteht. Chromatographie über Kieselgel (60 g) und Elution mit Diethylether ergibt 4.50 g (82.5%) **17**, Sirup,  $R_f$  = 0.23 (Ethylacetat),  $[\alpha]_D^{20}$  = -20 ( $c$  = 0.9,  $\text{CHCl}_3$ ). - IR (Film):  $\nu$  = 3150  $\text{cm}^{-1}$  (OH), 1630 (C=N). -  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 1.34, 1.41 (2 s, 6 H, 2 CH<sub>3</sub>), 2.11 (d, 3 H,  $J_{2,\text{CH}_3}$  = 1.5 Hz, N=C-CH<sub>3</sub>), 3.94 (dd, 1 H,  $J_{6,6'}$  = 9 Hz, 6'-H), 4.09 (dd, 1 H, 6-H), 4.22 (ddd, 1 H,  $J_{5,6}$  = 6 Hz,  $J_{5,6'}$  = 4.5 Hz, 5-H), 4.36 (dd, 1 H,  $J_{4,5}$  = 8.5 Hz, 4-H), 4.56 (dd, 1 H,  $J_{3,4}$  = 6 Hz, 3-H), 5.08 (dd, 1 H,  $J_{2,3}$  = 8.5 Hz, 2-H), 5.41 (s, 1 H, 1-H), 5.71 (1-OH). - MS (70 eV),  $m/z$  (%): 259.0890 (1.9) [ $\text{M}^+$ ],  $m/z_{\text{ber}}$ : 259.0878;  $m/z$  (%): 244.0631 (15.3) [ $\text{M}^+ - \text{CH}_3$ ],  $m/z_{\text{ber}}$ : 244.0643. -  $\text{C}_{11}\text{H}_{17}\text{NO}_4\text{S}$  (259.3) Ber. C 50.95 H 6.60 N 5.40 S 12.36. - Gef. C 60.21 H 6.53 N 5.27 S 12.22.

*2-Acetamido-2-desoxy-5,6-O-isopropyliden-3-thio-D-mannofuranose (18):* Das Thiazolin **17** (4.52 g, 17.4 mmol) wird in Methanol (200 ml) gelöst und unter Kühlung und Reinstickstoff Wasser (200 ml) und Essigsäure (2.0 ml) zugegeben. Die dünnschichtchromatographische Kontrolle des Ansatzes [Diethylether/Methanol (10:1, v/v)] zeigt nach 24 h weitgehenden Umsatz zur Thiofuranose **18** neben wenigen Prozent Edukt. Essigsäure wird unter Eiskühlung durch Dowex 1x4 ( $\text{HCO}_3^-$ -Form) entfernt. Nach Abfiltrieren wird mit Wasser nachgewaschen, die vereinigten Filtrate eingengt und lyophilisiert; 4.44 g (91%) Lyophilisat, welches nach DC wenige Prozent Edukt enthält und zur weiteren Umsetzung genügend rein ist. Das lyophilisierte Produkt (0.2 g) wird in Wasser (10 ml) gelöst, zweimal mit Diethylether extrahiert und die wässrige Phase erneut lyophilisiert. Man erhält **18** (0.18 g) als dünnschichtchromatographisch einheitliches Produkt, welches im  $^1\text{H}$  NMR als Anomerengemisch ( $\alpha:\beta$  = 75:25) vorliegt;  $R_f$  = 0.43 [Diethylether/Methanol (10:1, v/v)],  $[\alpha]_D^{20}$  = +44 ( $c$  = 0.58,  $\text{CH}_3\text{OH}$ ). Die Thiofuranose **18** ist instabil und wird sofort weiterverarbeitet. - IR (Film):  $\nu$  = 2550  $\text{cm}^{-1}$  (SH), 1640/1540 (NHAcI/II). -  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $[\text{D}_6]\text{DMSO}$ ):  $\delta$  = 1.28, 1.33 (2 s, 6 H, 2 CH<sub>3</sub> $\alpha,\beta$ ), 1.89 (s, 2.25 H, NAc $\alpha$ ), 1.94 (s, 0.75 H, NAc $\beta$ ), 3.55 (dd, 0.25 H,  $J$  = 4.9 Hz,  $J$  = 6.6 Hz, 3-H $\beta$ ), 3.71 (dd, 0.75 H,  $J_{2,3}$  = 6.2 Hz,  $J_{3,4}$  = 3.6 Hz, 3-H $\alpha$ ), 3.83 (dd, 0.75 H,  $J_{6,6'}$  = 8.4 Hz,  $J_{5,6}$  = 4.9 Hz, 6-H $\alpha$ ), 3.93 (dd, 0.25 H,  $J_{6,6'}$  = 8.4 Hz,  $J_{5,6'}$  = 5.7 Hz, 6'-H $\beta$ ), 4.04 (dd, 0.75 H,  $J_{5,6'}$  = 5.7 Hz, 6'-H $\alpha$ ), 4.17 (dd, 0.75 H,  $J_{3,4}$  = 3.6 Hz,  $J_{4,5}$  = 7.5 Hz, 4-H $\alpha$ ), 4.20-4.27 (2 x ddd, 2-H $\alpha$ , 5-H $\alpha$ ), 4.41 (ddd, 0.25 H,  $J_{4,5}$  ~ 7 Hz,  $J_{5,6}$  ~ 5 Hz, 5-H $\beta$ ), 5.14 (dd, 1 H,  $J_{1,\text{OH}}$  ~ 6.6 Hz,  $J_{1,2}$  ~ 5.3 Hz, 1-H $\alpha$ , 1-H $\beta$ ; 1-H $\beta$  ist überdeckt von 1-H $\alpha$ ), 6.45 (d, 1 H,  $J_{1,\text{OH}}$  = 6.6 Hz, 1-OH $\alpha$ , 1-OH $\beta$ ), 7.28 (d, 0.25 H,  $J_{\text{NH},2}$  = 7.1 Hz, NH $\beta$ ), 8.08 (d, 0.75 H,  $J_{\text{NH},2}$  = 7.9 Hz, NH $\alpha$ ). - ( $[\text{D}_6]\text{DMSO} + \text{D}_2\text{O}$ , HD-Austausch):  $\delta$  = 5.18 (d, 0.75 H,  $J_{1,2}$  = 5.3 Hz, 1-H $\alpha$ ), 5.19 (d, 0.25 H,  $J_{1,2}$  = 5.2 Hz, 1-H $\beta$ ). - Die Signale bei  $\delta$  = 6.45, 7.28 und 8.08 verschwinden nach HD-Austausch.

**2-Acetamido-1-O-acetyl-3-S-acetyl-5,6-O-isopropyliden-2-desoxy-3-thio- $\alpha$ - und - $\beta$ -D-mannofuranose (19 $\alpha$ , 19 $\beta$ ):** Die Thiofuranose **18** (170 mg, 0.61 mmol) wird unter Reinstickstoff in Pyridin/Essigsäureanhydrid (10 ml, 1:1, v/v) gelöst und 3 d bei 0 °C stehen gelassen. Man entfernt Essigsäureanhydrid und Pyridin durch fünfmalige Kodestillation mit Toluol i. Vak. Säulenchromatographie über Kieselgel und Gradienten-Elution mit Diethylether/Methanol [Diethylether 100 ml, Diethylether/Methanol (200:1, v/v) 100 ml, (100:1, v/v) 300 ml, (50:1, v/v) 100 ml, (30:1, v/v) 100 ml, (10:1, v/v) 200 ml] ergibt zunächst **19 $\alpha$**  (50 mg, 23%), Schmp. 140 °C,  $R_f = 0.24$  [Diethylether/Methanol (30:1, v/v)],  $[\alpha]_D^{20} = +26$  ( $c = 0.5$ , CHCl<sub>3</sub>). - IR (KBr):  $\nu = 1750$  cm<sup>-1</sup> (OAc), 1710 (SAc), 1680/1520 (NHAc/II). - Weitere Elution ergibt eine Fraktion, welche aus **19 $\alpha$**  und **19 $\beta$**  besteht (40 mg, 18%), sowie **19 $\beta$**  (42 mg, 19%), Sirup,  $R_f = 0.17$  [Diethylether/Methanol (30:1, v/v)],  $[\alpha]_D^{20} = -31$  ( $c = 2$ , CHCl<sub>3</sub>), Gesamtausbeute: 60%. - **19 $\alpha$** : <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 1.36, 1.58$  (2 s, 6 H, 2 CH<sub>3</sub>), 1.99, 2.12 (2 s, 6 H, 1 OAc, 1 NAc), 2.40 (s, 3 H, SAc), 3.87 (dd, 1 H,  $J_{4,5} = 7.5$  Hz, 4-H), 4.03 (dd, 1 H,  $J_{3,4} = 8$  Hz, 3-H), 4.42 (ddd, 1 H,  $J_{5,6} = 3.5$  Hz,  $J_{5,6'} = 7.5$  Hz, 5-H), 4.50 (ddd, 1 H,  $J_{2,3} = 7.5$  Hz,  $J_{NH,2} = 7.6$  Hz, 2-H), 4.69-4.76 (m, 2 H, 6-H, 6'-H), 6.01 (d, 1 H,  $J_{1,2} = 1$  Hz, 1-H), 6.66 (d, 1 H,  $J_{NH,2} = 7.6$  Hz, NH). - C<sub>15</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>7</sub>S (361.4) Ber. C 49.85 H 6.41 N 3.87 S 8.87. - Gef. C 49.77 H 6.25 N 3.85 S 8.97.

**19 $\beta$** : <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 1.29, 1.37$  (2 s, 6 H, 2 CH<sub>3</sub>) 2.01, 2.12 (2 s, 6 H, 1 OAc, 1 NAc), 2.42 (s, 3 H, SAc), 3.94 (dd, 1 H,  $J_{6,6'} = 8.8$  Hz, 6-H), 4.05 (dd, 1 H,  $J_{5,6'} = 5.5$  Hz, 6'-H), 4.08-4.13 (m, 1 H,  $J_{5,6} = 4$  Hz, 5-H), 4.33 (dd, 1 H,  $J_{4,5} = 7.5$  Hz, 4-H), 4.63 (dd, 1 H,  $J_{3,4} = 5.2$  Hz, 3-H), 5.06 (ddd, 1 H,  $J_{2,3} = 7$  Hz,  $J_{NH,2} = 8.8$  Hz, 2-H), 5.77 (d, 1 H,  $J_{NH,2} = 8.8$  Hz, NH), 6.09 (d, 1 H,  $J_{1,2} = 4.7$  Hz, 1-H).

**5-Acetamido-3,5-didesoxy-6-thio-D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosonsäure (21), a) 20:** Natriumhydroxid (855 mg, 21.37 mmol) und Nickel-II-acetat (855 mg, 3.42 mmol) werden zusammen in Wasser (12 ml) gelöst, auf 0 °C gekühlt und Oxallessigsäure (906 mg, 6.84 mmol) zugegeben. Der pH-Wert der Lösung wird durch vorsichtige Zugabe von Oxallessigsäure auf etwa 7.5 gebracht. Dazu wird unter Durchleiten von Reinstickstoff eine Lösung von Verbindung **18** (630 mg, 2.27 mmol) in Wasser (12 ml) schnell zugegeben. Man läßt langsam auf Raumtemp. erwärmen und stellt den pH-Wert der Lösung durch Zugabe von Oxallessigsäure auf etwa 8 ein. Nach 12 h zeigt die dünnschichtchromatographische Kontrolle des Reaktionsansatzes [Laufmittelsystem: n-Propanol/Ammoniak (2:1, v/v)], daß die Umsetzung beendet ist. Die Abtrennung der Dicarbonsäure **20a** von überschüssigem Oxalacetat und von daraus durch Decarboxylierung entstandenem Pyruvat erfolgt durch Anionen-Austausch-Chromatographie mittels AG-MP-1 (Anionen-Austauscher der Firma BIORAD, 200-400 mesh) in der Bicarbonat-Form. Man eluiert zuerst mit Wasser (200 ml) und danach mit einem Ammoniumbicarbonat-Gradient (H<sub>2</sub>O  $\rightarrow$  NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>-Lösung, 2 M). Zuerst werden Pyruvat und Oxalacetat, sowie schließlich die Dicarbonsäure **20a** eluiert. Nach Lyophilisieren erhält man 650 mg (64%) **20a** (Ammoniumsalz), welches in Wasser (100 ml) gelöst und durch dreistündiges Rühren mit saurem Ionenaustauscher (Amberlite IR 120, H<sup>+</sup>-Form) deblockiert und entionisiert wird. Ca. 10% dieser Lösung werden lyophilisiert und die Dicarbonsäure **20** durch Cellulose-Chromatographie rein isoliert. Man eluiert mit dem Laufmittelsystem: Pyridin/Ethylacetat/Eisessig/Wasser (5:5:1:2.5, v/v/v/v); Detektion erfolgt per DC auf Kieselgelfolie mit dem Laufmittelsystem: n-Propanol/Ammoniak (2:1, v/v). Die vereinigten Fraktionen werden durch wiederholtes Kodestillieren mit Wasser von der Hauptmenge Pyridin und Essigsäure befreit und das restliche Pyridin mit Hilfe von saurem Ionenaustauscher (Amberlite IR 120, H<sup>+</sup>, Eiskühlung, Bad) entfernt. Nach Lyophilisieren erhält man sehr reine Dicarbonsäure **20** (20 mg),  $[\alpha]_D^{20} = -109.5$  ( $c = 0.85$ , H<sub>2</sub>O). - <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, D<sub>2</sub>O):  $\delta = 2.15$  (s, 3 H, NAc), 3.46 (d, 1 H,  $J_{3a,4} = 10.2$  Hz, 3-H<sub>a</sub>), 3.62-3.72 (m, 3 H, 7-H, 9-H, 9'-H), 3.86 (m, 1-H, 8-H), 3.96 (dd, 1 H,  $J_{6,7} = 1.8$  Hz, 6-H) 4.23 (dd, 1 H,  $J_{5,6} = 9.3$  Hz, 5-H), 4.29 (dd, 1 H,  $J_{4,5} = 10$  Hz, 4-H). - b) **21:** Die nach a) erhaltene Dicarbonsäure **20a** wird, wie zuvor beschrieben, deblockiert. Unter pH-Kontrolle (Zugabe von verd. Essigsäure) wird 5 h auf ca. 95 °C erhitzt. Im Eisbad wird mittels saurem Ionenaustauscher (Amberlite IR 120, H<sup>+</sup>) entionisiert und lyophilisiert: 425 mg (57%) Rohprodukt. Das DC auf Cellulose-Folie [Pyridin/Ethylacetat/Eisessig/Wasser (5:5:1:2.5, v/v/v/v), Iodanfärbung] zeigt als Hauptprodukt 6-Thio-Neu5Ac **21**,  $R_f = 0.21$ . Anionenaustausch-Chromatographie [Dowex 1x4 HCOO<sup>-</sup>-Form) oder Amberlite IRA-400 (HCOO<sup>-</sup>-Form)] und Elution mit einem Ameisensäure-

Gradienten ( $\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Ameisensäure, 2 M}$ ) ergibt nach Lyophilisieren **21** (361 mg, 49%). Eine Feinreinigung kann über eine Cellulose-Säule (wie bei **20**) durchgeführt werden, ist jedoch verlustreich. Man erhält so sehr reine 6-Thio-Neu5Ac **21** (175 mg),  $[\alpha]_D^{20} = -82$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ). - IR (KBr):  $\nu = 1730 \text{ cm}^{-1}$  (COOH), 1640/1540 (NHAc/II). -  $^1\text{H NMR}$  (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta = 2.08$  (s, 3 H, NAc), 2.29 (dd, 1 H,  $J_{3a,3b} = 13 \text{ Hz}$ ,  $J_{3a,4} = 11 \text{ Hz}$ , 3- $\text{H}_a$ ), 2.51 (dd, 1 H,  $J_{3b,4} = 4 \text{ Hz}$ , 3- $\text{H}_b$ ), 3.56 (dd, 1 H,  $J_{6,7} = 2 \text{ Hz}$ , 6-H), 3.58 (dd, 1 H,  $J_{9,9'} = 11.5 \text{ Hz}$ , 9-H), 3.63 (ddd, 1 H,  $J_{8,9} = 2.5 \text{ Hz}$ , 8-H), 3.78 (dd, 1 H,  $J_{8,9'} = 6.2 \text{ Hz}$ , 9'-H), 3.87 (dd, 1 H,  $J_{7,8} = 9.5 \text{ Hz}$ , 7-H), 3.97 (ddd, 1 H,  $J_{4,5} = 10.5 \text{ Hz}$ , 4-H), 4.07 (dd, 1 H,  $J_{5,6} = 11 \text{ Hz}$ , 5-H). -  $^{13}\text{C NMR}$  (75.47 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta = 22.1$  ( $\text{CH}_3$ ), 44.3 (C-6), 44.9 (C-3), 55.9 (C-5), 63.2 (C-9), 68.6 (2 C, C-4, C-7), 70.1 (C-8), 82.4 (C-2), 174.1, 175.1 (2 C, C=O). - FAB(-)-MS,  $m/z$ :<sub>ber.</sub> 325,  $m/z$ :<sub>gef.</sub> 324 (M-1). -  $\text{C}_{11}\text{H}_{19}\text{NO}_8\text{S}$  (325.3) + 0.5  $\text{H}_2\text{O}$  Ber. C 39.52 H 5.99 N 4.19 S 9.58. - Gef. C 39.21 H 5.86 N 4.31 S 9.66.

Veresterung und Silylierung von **21**: Die Säure **21** (2 mg) wird in absol. Methanol gelöst und mit einem Überschuß etherischer Diazomethanol-Lösung verestert. Nach Zugabe von 1 Tropfen Eisessig und Entfernung der Lösungsmittel wird aus Wasser lyophilisiert. Der Methylester wird durch Erwärmen auf 50 °C mit einer Mischung aus N,O-Bis-Trimethylsilylacetamid und N,O-Bis-Trimethylsilyl-trifluoracetamid (3:1, v/v) persilyliert. - MS (100 eV),  $m/z$  (%): 684 (8) [ $\text{M}^+-\text{CH}_3$ ; Pentatrimethylsilylderivat,  $\text{C}_{26}\text{H}_{58}\text{NO}_8\text{SSi}_5^+$ ],  $m/z$ :<sub>ber.</sub> 684.

5-Acetamido-2,4,7,8,9-penta-O-acetyl-3,5-didesoxy-6-thio-D-glycero- $\alpha/\beta$ -D-galacto-2-nonulopyranoson-säure-methylester (**22 $\alpha$** , **22 $\beta$** ): Die Säure **21** (240 mg, 0.74 mmol) wird in absol. Methanol (5 ml) gelöst und unter Kühlung auf 0 °C mit einem Überschuss an etherischer Diazomethanol-Lösung versetzt. Nach Zugabe von einem Tropfen Essigsäure wird unter Zugabe von Wasser Methanol entfernt und gefriertrocknet. Das Lyophilisat wird in Pyridin/Essigsäureanhydrid (10 ml, 2:1.5, v/v) gelöst, 4 d bei 0 °C stehen gelassen und unter mehrfachem Zusatz von Toluol die Reagentien i. Vak. abdestilliert. Im Laufmittelsystem Toluol/Ethanol (18:1, v/v, zweimal entwickelt) sind die beiden  $\alpha/\beta$ -Acetate dünnschichtchromatographisch gerade noch unterscheidbar,  $R_f = 0.07$ -0.08. Beimengungen werden durch wiederholte Reinigung mittels HPLC-Säulenchromatographie entfernt (siehe **16a** und **16b**). Mit Toluol/Ethanol (30:1, v/v), Chloroform/Methanol (70:1, v/v) und (90:1, v/v) eluiert man schließlich 105 mg (26%) **22 $\alpha$** , **22 $\beta$**  als Anomerengemisch ( $\alpha:\beta = 1:1$ ), Harz. -  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1.94$ , 1.97, 2.05, 2.08, 2.10, 2.11, 2.18 (7 s, 18 H, 12 Ac), 2.33 (dd, 0.5 H,  $J_{3a,3b} = 13 \text{ Hz}$ ,  $J_{3a,4} = 11.5 \text{ Hz}$ , 3- $\text{H}_a\beta$ ), 2.44 (dd, 0.5 H,  $J_{3a,3b} = 13 \text{ Hz}$ ,  $J_{3a,4} = 8 \text{ Hz}$ , 3- $\text{H}_a\alpha$ ), 2.76 (dd, 0.5 H,  $J_{3b,4} = 4.5 \text{ Hz}$ , 3- $\text{H}_b\beta$ ), 2.80 (dd, 0.5 H,  $J_{3b,4} = 4.5 \text{ Hz}$ , 3- $\text{H}_b\alpha$ ), 3.28 (dd, 0.5 H,  $J_{5,6} = 8.2 \text{ Hz}$ , 6- $\text{H}\alpha$ ), 3.58 (dd, 0.5 H,  $J_{5,6} = 10 \text{ Hz}$ , 6- $\text{H}\beta$ ), 3.78 (s, 1.5 H,  $\text{CH}_3\alpha$ ), 3.80 (s, 1.5 H,  $\text{OCH}_3\beta$ ), 4.04 (dd, 0.5 H,  $J_{8,9'} = 6 \text{ Hz}$ ,  $J_{9,9'} = 12 \text{ Hz}$ , 9'- $\text{H}\beta$ ), 4.13 (dd, 0.5 H,  $J_{8,9'} = 6 \text{ Hz}$ ,  $J_{9,9'} = 12 \text{ Hz}$ , 9'- $\text{H}\alpha$ ), 4.26 (dd, 0.5 H,  $J_{8,9} = 3 \text{ Hz}$ , 9- $\text{H}\beta$ ), 4.31 (dd, 0.5 H,  $J_{8,9} = 3.5 \text{ Hz}$ , 9- $\text{H}\alpha$ ), 4.44 (ddd, 0.5 H,  $J_{4,5} = 9 \text{ Hz}$ ,  $J_{\text{NH},5} = 9 \text{ Hz}$ , 5- $\text{H}\alpha$ ), 5.16 (ddd, 0.5 H,  $J_{7,8} = 7.5 \text{ Hz}$ ,  $J_{8,9} = 3 \text{ Hz}$ , 8- $\text{H}\beta$ ), 5.50 (dd, 0.5 H,  $J_{6,7} = 2.3 \text{ Hz}$ , 7- $\text{H}\beta$ ), 5.55 (d, 0.5 H,  $J_{\text{NH},5} = 9 \text{ Hz}$ ,  $\text{NH}\beta$ ), 5.64 (dd, 0.5 H,  $J_{6,7} = 5.2 \text{ Hz}$ , 7- $\text{H}\alpha$ ), 5.85 (d, 0.5 H,  $J_{\text{NH},5} = 9 \text{ Hz}$ ,  $\text{NH}\alpha$ ). - Die Zuordnung der Signale ist möglich, da das  $^1\text{H NMR}$  der  $\beta$ -Form (**22 $\beta$** ) bekannt ist. - **22 $\beta$** : Die Säure **21** (550 mg, 1.69 mmol) wird in Essigsäureanhydrid/Pyridin (20 ml, 8:12, v/v) gelöst und 2 d bei 0 °C stehen gelassen. Die dünnschichtchromatographische Kontrolle des Reaktionsansatzes [ $R_f = 0.37$  (n-Propanol/Wasser, 27:3, v/v)] zeigt, daß die Umsetzung nach 20 h beendet ist. Man entfernt die Reagentien i. Vak., kodestilliert dreimal mit Toluol, löst in Wasser, entfernt mit saurem Ionenaustauscher (Amberlite IR 120,  $\text{H}^+$ ) restliches Pyridin und lyophilisiert; 790 mg, dünnschichtchromatographisch (wie oben) einheitlich. Die Veresterung erfolgt durch Lösen in absol. Methanol (5 ml) mit einem Überschuss einer etherischen Diazomethanol-Lösung. Nach Zugabe eines Tropfens Eisessig wird i. Vak. eingedampft. Man erhält 807 mg (87%)  $\beta$ -Acetat **22 $\beta$** , Harz, dünnschichtchromatographisch und  $^1\text{H NMR}$ -spektroskopisch einheitlich;  $R_f = 0.47$  [Chloroform/Methanol (10:1, v/v)]. Die Substanz ist genügend rein zur weiteren Umsetzung. Eine Probe von ca. 30 mg wird zusätzlich über Kieselgel gereinigt [Chloroform/Methanol (50:1, v/v) 50 ml und (30:1, v/v) 100 ml]; Harz,  $[\alpha]_D^{20} = -96.5$  ( $c = 1.7$ ,  $\text{CHCl}_3$ ). -  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,

$\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 1.94, 2.04, 2.05, 2.09, 2.10, 2.17 (6 s, 18 H, 6 Ac), 2.33 (dd, 1 H,  $J_{3a,3b}$  = 13.7 Hz,  $J_{3a,4}$  = 11 Hz, 3- $\text{H}_a$ ), 2.76 (dd, 1 H,  $J_{3b,4}$  = 4.9 Hz, 3- $\text{H}_b$ ), 3.58 (dd, 1 H,  $J_{6,7}$  = 2.2 Hz, 6-H), 3.80 (s, 3 H,  $\text{OCH}_3$ ), 4.04 (dd, 1 H,  $J_{9,9'}$  = 12 Hz, 9'-H), 4.13 (dd, 1 H,  $J_{5,6}$  = 9.7 Hz, 5-H), 4.26 (dd, 1 H, 9-H), 5.17 (ddd, 1 H,  $J_{8,9}$  = 3 Hz,  $J_{8,9'} = 6$  Hz, 8-H), 5.35 (ddd, 1 H,  $J_{4,5}$  = 9 Hz, 4-H), 5.51 (dd, 1 H,  $J_{7,8}$  = 7.5 Hz, 7-H), 5.55 (d, 1 H,  $J_{\text{NH},5}$  = 9 Hz, NH). - MS (100 eV),  $m/z$  (%): 489.1307 (16) [ $\text{M}^+ - \text{AcOH}$ ,  $\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{NO}_{11}\text{S}^+$ ],  $m/z$ :<sub>ber.</sub> 489.1304. -  $\text{C}_{22}\text{H}_{31}\text{NO}_{13}\text{S}$  (549.5) Ber. C 48.08 H 5.68 N 2.54 S 5.83. - Gef. C 47.86 H 5.82 N 2.30 S 5.81.

*Azido 5-acetamido-2,3,5-tridesoxy-6-thio-D-glycero- $\alpha$ -D-galacto-2-nonulopyranosonsäure (25) und 5-Acetamido-2,6-anhydro-3,5-didesoxy-6-thio-D-glycero-D-galacto-non-2-ensäure (27)*: Das  $\beta$ -Acetat **22 $\beta$**  (640 mg, 1.17 mmol) wird mit absol. Toluol i. Vak. dreimal kodestilliert und in einer Mischung aus Essigsäureanhydrid (9.0 ml) und Eisessig (18.0 ml) gelöst. Unter Eiskühlung wird trockenes HCl-Gas bis zur Sättigung eingeleitet und 24 h bei 0 °C unter Ausschluß von Feuchtigkeit stehengelassen. Die Reagentien werden i. Vak. schonend unter Toluolzusatz vollständig abdestilliert; das erhaltene, teilweise verschäumte Harz ist die 2-Chloro-Verbindung **23**, die ohne Reinigung sofort weiter umgesetzt wird. Dazu löst man in absol. Aceton (25 ml), gibt unter Kühlung Natriumazid (800 mg) zu und rührt 12 h bei Raumtemp. Nach Verdünnen mit trockenem Ethylacetat auf das doppelte Volumen wird von den Salzen abfiltriert. Ein zweidimensionales DC des eingengten Filtrats [1. Toluol/Ethanol (30:2, v/v), 2. Chloroform/Methanol (30:1, v/v), zweifache Entwicklung] zeigt die Verbindungen **24** und **26**, sowie eine Beimengung unbekannter Natur. Eine teilweise Abtrennung derselben gelingt durch Säulenchromatographie über Kieselgel. Elution mit Toluol/Ethanol (30:2, v/v) ergibt Fraktion 1, 241 mg (**24**, **26** und Beimengung), sowie Fraktion 2, 170 mg (**24** und **26**). Fraktion 1 wird erneut über Kieselgel mittels Gradienten-Elution von der restlichen Beimengung abgetrennt: Toluol  $\rightarrow$  Toluol/Ethanol (15:1, v/v). Man erhält 190 mg, vereinigt mit Fraktion 2 insgesamt 360 mg einer Mischung, bestehend aus **24** und **26**. -  $^1\text{H}$  NMR von **24** und **26** (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 2.05, 2.06, 2.07, 2.10, 2.12, 2.12 [6 s, 15 H, 10 Ac (**24**, **26**)], 2.18 [dd, 0.5 H,  $J_{3a,3b}$  = 13.7 Hz,  $J_{3a,4}$  = 10.6 Hz, 3- $\text{H}_a$  (**24**)], 2.60 [dd, 0.5 H,  $J_{3b,4}$  = 4.9 Hz, 3- $\text{H}_b$  (**24**)], 3.82, 3.88 [2 s, 3 H, 2  $\text{OCH}_3$  (**24**, **26**)], 5.34 [ddd, 0.5 H,  $J_{4,5}$  = 10 Hz, 4-H (**24**)], 6.88 [d, 0.5 H,  $J_{3,4}$  = 4.5 Hz, 3-H (**26**)]. - Das Gemisch von **24** und **26** (360 mg) wird in Methanol (5.0 ml) gelöst und 1 N wässrige Natronlauge (25 ml) unter Eiskühlung zugegeben. Man läßt 12 h bei Raumtemp. rühren, verdünnt mit Wasser auf 150 ml und behandelt in der Kälte mit saurem Ionenaustauscher (Amberlite IR 120,  $\text{H}^+$ ). Nach Abfiltrieren und Auswaschen wird lyophilisiert; man erhält 190 mg eines Gemischs von **25** und **27**, sowie 2 Nebenprodukte in geringen Mengen. Die Trennung erfolgt über eine Cellulose-Säule, man eluiert mit folgenden Laufmittelsystemen: 1. Pyridin/Ethylacetat/Eisessig/Wasser (6:10:2:3, v/v/v/v) 150 ml, 2. (3:5:1:2, v/v/v/v) 100 ml, 3. (3:5:1:2.5, v/v/v/v) 100 ml. Die Detektion erfolgt durch DC auf Kieselgelfolie, Laufmittelsystem wie zuvor (5:5:1:2.5, v/v/v/v). Die Isolierung erfolgt, wie zuvor beschrieben. Nach Lyophilisieren erhält man **25** (90 mg, 22%), Zers.P. 160–170 °C (aus  $\text{H}_2\text{O}$ ),  $R_f$  = 0.62 [Laufmittel wie zuvor (5:5:1:2.5, v/v/v/v)],  $[\alpha]_D^{20}$  = -28 ( $c$  = 0.7,  $\text{H}_2\text{O}$ ) und **27** (90 mg, 25%), Schmp. 175 °C,  $R_f$  = 0.43 (Laufmittel wie zuvor),  $[\alpha]_D^{20}$  = +5.7 ( $c$  = 0.45,  $\text{H}_2\text{O}$ ). - **25**: IR (KBr):  $\nu$  = 2110  $\text{cm}^{-1}$  ( $\text{N}_3$ ), 1720 (COOH), 1630/1540 (NHAc/II). -  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  = 2.11 (dd, 1 H,  $J_{3a,3b}$  = 13.2 Hz,  $J_{3a,4}$  = 10 Hz, 3- $\text{H}_a$ ), 2.14 (s, 3 H, NAc), 2.84 (dd, 1 H,  $J_{3b,4}$  = 4.2 Hz, 3- $\text{H}_b$ ), 3.56 (dd, 1 H,  $J_{5,6}$  = 10.6 Hz,  $J_{6,7}$  = 1.7 Hz, 6-H), 3.65 (dd, 1 H,  $J_{9,9'}$  = 11.5 Hz, 9'-H), 3.73 (ddd, 1 H,  $J_{8,9}$  = 5.7 Hz,  $J_{8,9'} = 2.3$  Hz, 8-H), 3.86 (dd, 1 H, 9'-H), 3.91 (dd, 1 H,  $J_{7,8}$  = 9.2 Hz, 7-H), 4.06 - 4.18 (m, 2 H, 4-H, 5-H). - FAB(-)-MS,  $m/z$ :<sub>ber.</sub> 350,  $m/z$ :<sub>gef.</sub> 349 (M-1). -  $\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_7\text{S}$  (350.3) Ber. C 37.71 H 5.17 N 15.99 S 9.15. - Gef. C 37.46 H 5.32 N 15.81 S 9.34.

Veresterung und Silylierung von **25**: Die Säure **25** (5 mg) wird in absol. Methanol (1.5 ml) gelöst und analog **21** verestert und silyliert. MS (70 eV),  $m/z$  (%): 636.2358 (6) [ $\text{M}^+ - \text{SiMe}_3$ ,  $\text{C}_{23}\text{H}_{48}\text{N}_4\text{O}_7\text{SSi}^+$ ],  $m/z$ :<sub>ber.</sub> 636.2321.

**27**:  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  = 2.17 (s, 3 H, NAc), 3.71 (dd, 1 H,  $J_{9,9'}$  = 11.5 Hz, 9'-H), 3.79 (ddd, 1 H,  $J_{8,9}$  = 6 Hz,  $J_{8,9'} = 2.2$  Hz, 8-H), 3.86 (dd, 1 H,  $J_{6,7}$  = 1.7 Hz, 6-H), 3.92 (dd, 1 H, 9'-H), 4.01 (dd, 1 H,  $J_{7,8}$  = 9.5 Hz,



7-H), 4.23 (dd, 1 H,  $J_{5,6} = 10.5$  Hz, 5-H), 4.58 (dd, 1 H,  $J_{4,5} = 8.5$  Hz, 4-H), 6.92 (d, 1 H,  $J_{3,4} = 3.1$  Hz, 3-H). - FAB(-)-MS,  $m/z$ :<sub>ber.</sub> 307,  $m/z$ :<sub>gef.</sub> 306 (M-1). -  $C_{11}H_{17}NO_7S$  (307.3) Ber. C 42.99 H 5.57 N 4.55 S 10.43. - Gef. C 43.16 H 5.27 N 4.55 S 10.36.

**Veresterung und Silylierung von 27:** Die Säure **27** (5 mg) wird analog **21** verestert und silyliert. - MS (70 eV),  $m/z$  (%): 593.2176 (3) [ $M^+ - SiMe_4$ ,  $C_{23}H_{47}NO_7SSi_4^+$ ],  $m/z$ :<sub>ber.</sub> 593.2150.

**Azido 5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-2,3,5-tridesoxy-6-thio-D-glycero-β-D-galacto-2-nonulopyranosonsäure-methylester (28):** Das β-Acetat **22β** (200 mg, 0.364 mmol) wird in absol. Dichlormethan (4.0 ml) gelöst und Trimethylsilylazid (0.17 ml), sowie Zinntetrachlorid (0.14 ml) zugegeben. Man läßt 12 h bei Raumtemp. stehen, verdünnt mit der fünffachen Menge Dichlormethan und gibt unter Rühren und Eiskühlung zu einer ges. Natriumbicarbonat-Lösung (20 ml). Nach dreifacher Extraktion mit Chloroform werden die organischen Phasen vereinigt, eingengt und über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Entfernung der Lösungsmittel wird das erhaltene Harz über Kieselgel chromatographiert. Elution mit Toluol/Ethanol (30:1, v/v) 600 ml und (30:2, v/v) 500 ml ergibt **28** (171 mg, 88%), Zers.P. 90-100 °C (Diethylether),  $R_f = 0.13$  [Toluol/Ethanol (15:1, v/v)],  $[\alpha]_D^{20} = -211$  ( $c = 0.5$ ,  $CHCl_3$ ). - IR (KBr):  $\nu = 2120$   $cm^{-1}$  ( $N_3$ ), 1740 (C=O), 1660/1530 (NHAc/II). -  $^1H$  NMR (300 MHz,  $CDCl_3$ ):  $\delta = 1.93, 2.03, 2.06, 2.11, 2.13$  (5 s, 15 H, 5 Ac), 2.35 (dd, 1 H,  $J_{3a,3b} = 13.5$  Hz,  $J_{3b,4} = 4.8$  Hz, 3- $H_b$ ), 2.46 (dd, 1 H,  $J_{3a,4} = 11.5$  Hz, 3- $H_a$ ), 3.59 (dd, 1 H,  $J_{5,6} = 11$  Hz,  $J_{6,7} = 2.2$  Hz, 6-H), 3.87 (s, 3 H,  $OCH_3$ ), 4.02 (dd, 1 H,  $J_{8,9} = 5.3$  Hz,  $J_{9,9'} = 12.5$  Hz, 9'-H), 4.23 - 4.37 (m, 2 H, 8-H, 9-H), 5.11 - 5.21 (m, 2 H, 4-H, 5-H), 5.45 (d, 1 H,  $J_{NH,5} = 10$  Hz, NH), 5.63 (dd, 1 H,  $J_{7,8} = 8.5$  Hz, 7-H). -  $C_{20}H_{28}N_4O_{11}S$  (532.5) Ber. C 45.10 H 5.30 N 10.52 S 6.02. - Gef. C 44.95 H 5.10 N 10.37 S 6.24.

**Azido 5-acetamido-2,3,5-tridesoxy-6-thio-D-glycero-β-D-galacto-2-nonulopyranosonsäure (29):** Das Azid **28** (150 mg, 0.282 mmol) wird in absol. Methanol (4.0 ml) gelöst und unter Kühlung mit 1 N Natronlauge (8 ml) versetzt. Nach 1 h bei Raumtemp. wird mit saurem Ionenaustauscher (Amberlite IR 120,  $H^+$ ) entionisiert und lyophilisiert. Man erhält **29** (60 mg, 61%) als Lyophilisat,  $R_f = 0.58$  [Pyridin/Ethylacetat/Eisessig/Wasser (5:5:1:2.5, v/v/v/v), Kieselgelfolie],  $[\alpha]_D^{20} = -229$  ( $c = 0.51$ ,  $H_2O$ ). - IR (KBr):  $\nu = 2110$   $cm^{-1}$  ( $N_3$ ), 1720 (C=O), 1630/1540 (NHAc/II). -  $^1H$  NMR (300 MHz,  $CD_3OD + 5\% D_2O$ ):  $\delta = 2.08$  (s, 3 H, NAc), 2.23 (dd, 1 H,  $J_{3a,3b} = 13.5$  Hz,  $J_{3a,4} = 11$  Hz, 3- $H_a$ ), 2.38 (dd, 1 H,  $J_{3b,4} = 4.5$  Hz, 3- $H_b$ ), 3.50 (dd, 1 H,  $J_{6,7} = 1.7$  Hz, 6-H), 3.60 (dd, 1 H,  $J_{9,9'} = 11$  Hz, 9-H), 3.67 (ddd, 1 H,  $J_{8,9} = 5$  Hz,  $J_{8,9'} = 2.5$  Hz, 8-H), 3.77 (dd, 1 H, 9'-H), 3.84 (ddd, 1 H,  $J_{4,5} = 10.5$  Hz, 4-H), 3.85 (dd, 1 H,  $J_{7,8} = 9.2$  Hz, 7-H), 3.99 (dd, 1 H,  $J_{5,6} = 11$  Hz, 5-H). - FAB(-)-MS,  $m/z$ :<sub>ber.</sub> 350,  $m/z$ :<sub>gef.</sub> 349 (M-1). -  $C_{11}H_{18}N_4O_7S + 1 H_2O$  (350.3) Ber. C 35.87 H 5.47 N 15.22 S 8.71. - Gef. C 35.58 H 5.61 N 15.14 S 8.66.

**Danksagung:** Wir danken Herrn Prof. Friebolin und Herrn Dr. Rensch, Org. Chemisches Institut, Universität Heidelberg, für Hilfe bei der Interpretation der  $^1H$  NMR Spektren, sowie Herrn Dr. Opferkuch, Boehringer Mannheim, für die Aufnahme der 500 MHz-Spektren. Herrn Rubik, Deutsches Krebsforschungszentrum Heidelberg, sowie Frau Dr. Rentzea, Max-Planck-Institut für Medizinische Forschung, Heidelberg, schulden wir Dank für die Anfertigung von Massenspektren und Herrn Dipl. Chem. Dr. Koppert für die Durchsicht und das Anfertigen des Manuskripts.

## Literatur

1. von Itzstein, M.; Thomson, R.J. *Top. Curr. Chem.* **1997**, *186*, 119-170. - Augé, C.; David, S.; Malleron, A. *Carbohydr. Res.* **1989**, *188*, 201-205. - Zbiral, E.; Schreiner, E.; Salunkhe, M.; Schulz, G.; Kleineidam, R.; Schauer, R. *Liebigs Ann. Chem.* **1989**, 519-526. - Sharma, M.; Petrie, C.; Korytnyk, W. *Carbohydr. Res.* **1988**, *175*, 25-34. - Zbiral, E.; Brandstetter, H.; Christian, R.; Schauer, R. *Liebigs Ann. Chem.* **1987**, 781-786. - Hagedorn, H.; Brossmer, R. *Helv. Chim. Acta* **1986**, *69*, 2127-2132. - Zbiral, E.; Brandstetter, H. *Monatsh. Chem.* **1985**, *116*, 87-98. - Kumar, V.; Kessler, J.; Scott, M.; Patwardhan, B.; Tanenbaum, S.; Flashner, M. *Carbohydr. Res.* **1981**, *94*, 123-130. - Meindl, P.; Tuppy, H. *Monatsh. Chem.* **1973**, *104*, 402-414; *ibid.* **1970**, *101*, 639-647; *ibid.* **1969**, *100*, 1295-1306.
2. Corfield, A. P.; Schauer, R. *Cell Biology Monographs, Vol. 10, Sialic Acids, Chemistry, Metabolism and Function*; Springer Verlag: Wien-New York, **1982**; pp. 195-248.
3. Feather, M.; Whistler, R. *Tetrahedron Lett.* **1962**, *15*, 667-670. - Whistler, R.; Lake, W. C. *Biochem. J.* **1972**, *130*, 919-925. - Chen, M.; Whistler, R. *Arch. Biochem. Biophys.* **1975**, *169*, 392-396. - Pitts, M.; Chmielewski, M.; Chen, M.; Abd El-Rahman, M.; Whistler, R. *Arch. Biochem. Biophys.* **1975**, *169*, 384-391. - Bushway, A.; Keenan, T. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **1978**, *81*, 305-309.
4. Paulsen, H.; Sangster, J.; Heyns, K. *Chem. Ber.* **1967**, *100*, 802-815. - Inouye, S.; Tsuruoka, T.; Ito, T.; Schmidt, D.; Wingender, W. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1981**, *93*, 738-755.
5. Baumberger, F.; Vasella, A.; Schauer, R. *Helv. Chim. Acta* **1988**, *71*, 429-445.
6. Ogawa, S.; Yoshikawa, M.; Taki, T. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1992**, 406-408.
7. (a) Mack, H.; Brossmer, R. *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 191-194. - Brossmer, R.; Mack, H. *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 933-936. - (b) Kok, G.B.; Campell, M.; Mackey, B.; von Itzstein, M. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1996**, 2811-2815.
8. Mack, H.; Brossmer, R. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 1867-1870.
9. (a) Baker, B. R.; Hullar, T. L. *J. Org. Chem.* **1965**, *30*, 4038-4044. - (b) Herczegh, P.; Bogнар, R. *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.* **1978**, *98*, 321-326. - (c) Miljkovic, M.; Hagel, P. *Helv. Chim. Acta* **1982**, *65*, 477-482.
10. Richardson, A. *Methods Carbohydr. Chem.* **1972**, *6*, 218.
11. (a) Kuhn, R.; Baschang, G. *Liebigs Ann. Chem.* **1962**, *659*, 156-163. - (b) Charon, D.; Szabo, L. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1980**, 1971-1977.
12. Mack, H.; Villalva-Basabe, J.; Brossmer, R. *Carbohydr. Res.* **1988**, *175*, 311-316.
13. Villalva-Basabe, J.; Brossmer, R. *12<sup>th</sup> Internat. Carbohydr. Symp. (Utrecht)*, **1984**, Abstr. pp. 21.
14. De Jong, D.; Biemann, K. *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, *86*, 67-74.
15. Brown, E.; Brey, W.; Weltner, W. *Biochim. Biophys. Acta* **1975**, *399*, 124-130.
16. Jaques, L.; Brown, E.; Barrett, J.; Brey, W.; Weltner, W. *J. Biol. Chem.* **1977**, *252*, 4533-4538.
17. (a) Friebohn, H.; Baumann, W.; Brossmer, R.; Keilich, G.; Supp, M.; Ziegler, D.; von Nicolai, H. *Biochem. Internat.* **1981**, *3*, 321-326. - (b) Supp, M.; Rose, U.; Brossmer, R. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* **1980**, *361*, 388.
18. Meindl, P.; Tuppy, H. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* **1969**, *350*, 1088-1092.
19. Dabrowski, U.; Friebohn, H.; Brossmer, R.; Supp, M. *Tetrahedron Lett.* **1979**, *20*, 4637-4640. - Haverkamp, J.; van Halbeck, H.; Dorland, L.; Vliegthart, J.; Pfeil, R.; Schauer, R. *Eur. J. Biochem.* **1982**, *122*, 305-311.