

Kettenverlängerung von 1-Desoxy-1-nitroalditolen durch Nitriloxid-Cycloaddition. Synthese von 4-*N*-substituierten 3,4-Didesoxy-2-ulosonsäuren

Hans Mack* und Reinhard Brossmer

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

Received 6 August 1997; revised 9 February 1998; accepted 16 February 1998

Abstract: Treatment of protected nitroalditols **1a** or **2** with silylenolpyruvate (**3**) or methyl acrylate leads via nitrile oxide cycloaddition to *cyclo*-tautomers of oximes, **5** or **4**, respectively 4,5-dihydro-isoxazole **6**. *N*-Acetyl-4-deoxy-4-(*E/Z*)-hydroxyimino-neuraminic acid (**7**) is obtained by deprotection of **4**. Hydrogenation of **7** yields *N*-acetyl-4-amino-4-deoxy-neuraminic acid (**9**) and pentahydroxy-nononic acids **12a,b**. The synthesis is useful for the chain extension of protected nitroalditols **13a** and **20a**, to give the corresponding oximes **15** and **22**. This work provides a general method for the extension of sugar chains by three C-atoms and thus a novel synthesis of α -keto acids containing an oxime and amino function. © 1998 Elsevier Science Ltd. All rights reserved.

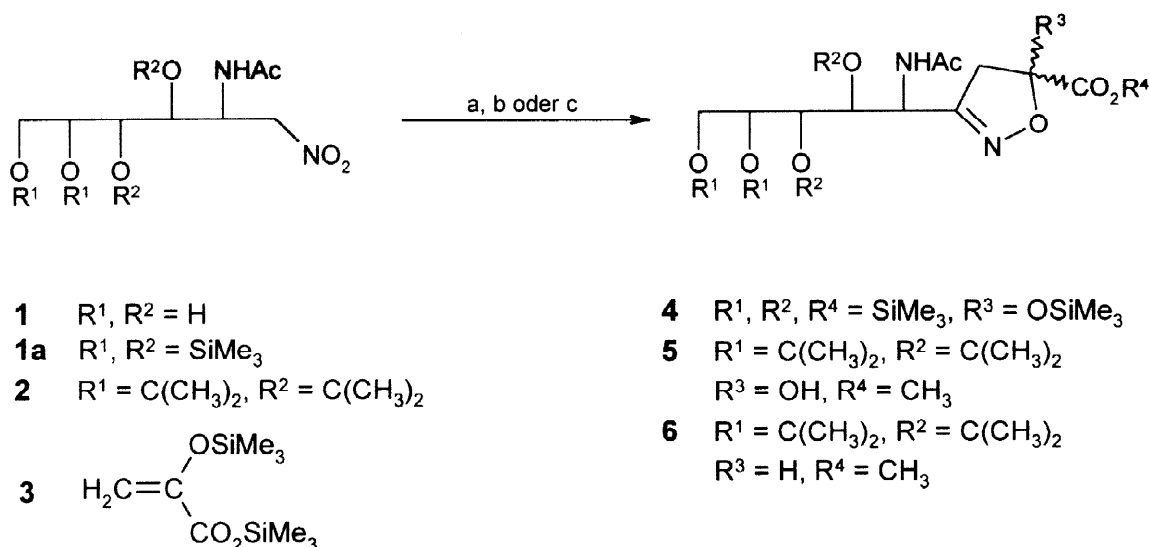
Über Strukturanaloga von *N*-Acetylneuraminsäure (Neu5Ac)^{1a} und 3-Desoxy-D-*manno*-2-octulosonsäure (KDO) gibt es eine große Zahl von Untersuchungen, da solche Verbindungen potentielle Inhibitoren gegenüber den Schlüsselenzymen des Sialinsäure-^{1b} und KDO-Metabolismus² sind. Unter der großen Zahl von Sialinsäure- und KDO-Analoga seien besonders die entsprechenden drei Ringhomologen von Neu5Ac^{3a-c,16} und KDO^{3b,4} hervorgehoben, welche sämtlich in den letzten Jahren synthetisiert wurden. Die Phosphonat-Analoga sowohl von 2-Desoxy-Neu5Ac^{5a}, als auch von Neu5Ac^{5b} sind seit einiger Zeit bekannt. Über Transformationen in der 4-Position von Neu5Ac ist verschiedentlich berichtet worden, wobei in der Regel konventionelle Methoden der Schutzgruppenchemie angewendet wurden. Die Entfernung der 4-OH-Funktion ist nicht in allen Fällen mit einem Verlust der biologischen Aktivität gegenüber Sialidasen verbunden. So wird das α -Glykosid von *N*-Acetyl-4-desoxy-neuraminsäure (4-Desoxy-Neu5Ac) nicht durch bakterielle Sialidasen, jedoch durch tierische Sialidasen gespalten⁶. Andererseits wird 4-Desoxy-Neu5Ac zu Cytidin-5'-monophospho-4-desoxy-Neu5Ac (CMP-4-desoxy-Neu5Ac) aktiviert und auf Asialoglykoprotein übertragen⁷. *N*-Acetyl-4-*epi*-neuraminsäure (4-*epi*-Neu5Ac) wurde auf verschiedenartige Weise synthetisiert^{8a,8b}. Trotz der Axialposition der 4-Hydroxyfunktion werden α -Glykoside von 4-*epi*-Neu5Ac durch bakterielle Sialidasen gespalten⁹; die entsprechende Verbindung mit freiem anomeren Zentrum ist aber ein Inhibitor gegenüber CMP-Sialat-Synthase⁹. *N*-Acetyl-4-acetamido-4-desoxy-neuraminsäure wurde durch doppelte Inversion an der 4-Position mit Hilfe konventioneller Methoden der Schutzgruppenchemie synthetisiert und wird durch CMP-Sialat-Synthase zum CMP-Derivat aktiviert^{10a}. Das gleiche Enzym wird aber durch das β -Methylglykosid von *N*-Acetyl-4-desoxy-4-C-methylen-neuraminsäure stark gehemmt¹¹. Vor allem aus den letzteren Befunden ist ersichtlich, in welchem Ausmaß die Beschaffenheit und die sterische Anordnung des Substituenten an C-4 die Wechselwirkung mit den oben erwähnten Schlüsselenzymen beeinflussen kann. *N*-Acetyl-4-amino- (und -4-guanidino)-2,3-didehydro-2,4-didesoxy-neuraminsäure [4-Amino- (und 4-Guanidino)-4-desoxy-Neu5Ac-2-en]^{10a,12b} sind sehr starke Inhibitoren von Influenza-Virus-Sialidase^{12a}; beide Verbindungen hemmen außerdem *in vivo* signifikant die Vermehrung von Influenza-Viren^{12a}. Die Entwicklung dieser Inhibitoren basiert auf der Kenntnis der Kristallstruktur von Influenza-Virus-Sialidase^{12a}. Die Einführung der Stickstoff-Funktion an der 4-Position von Neu5Ac ist daher von besonderem Interesse, ist aber bei Verwendung konventioneller Methoden sowohl durch das teure Ausgangsmaterial, als auch durch die aufwendige Schutzgruppenchemie

erschwert^{10a,12b,12c}. Zur Umgehung dieser Schwierigkeiten wurde eine allgemein anwendbare Methode zur Kettenverlängerung von Kohlenhydraten entwickelt, bei welcher gleichzeitig mit der C-C-Verknüpfung an der Verknüpfungsstelle (= 4-Position) eine Stickstoff-Funktion eingeführt wird, wobei konventionelle Schutzgruppenchemie überflüssig wird. Auf diese Art ist auch auf einfachem Weg die Einführung der Stickstoff-Funktion bei anderen langkettigen Kohlenhydraten, wie 3-Desoxy-D-glycero-D-galakto-2-nonulosonsäure (KDN) und KDO, möglich.

Die am häufigsten verwendete Methode zur Kettenverlängerung von Kohlenhydraten zu den entsprechenden 3-Desoxy-2-ulosonsäuren, wie z.B. Neu5Ac, KDN, KDO oder deren Strukturanaloga, ist die Aldolkondensation einer Aldose mit einem Pyruvat-Äquivalent ("aktiviertes Pyruvat"), wie Oxalacetat/ Ni^{++} -Komplex¹³ oder das Kaliumsalz des Di-O-*t*butyl-oxalessigesters¹⁴. Die Anwendung dieser Methode führt jedoch häufig zu Epimerengemischen oder versagt gänzlich, entweder weil die Zuckerkomponente unreaktiv ist, oder infolge sterischer Behinderung z.B. durch Syndiaxial-Wechselwirkung. Während 2-C- oder 3-C-kettenverzweigte *N*-Acetylmannosamin-Derivate durch Aldolkondensation^{14,15} nicht zu den entsprechenden Nonulosonsäuren kettenverlängert werden können, führt häufig eine enzymatische Umsetzung zum Ziel¹⁵. Wenn der unreaktive Zucker in eine hochreaktive Spezies, nämlich in die Furanose- oder Aldehydo-Form übergeführt werden kann, ist in der Regel eine Umsetzung möglich. Auf diese Art gelingt die Synthese von *N*-Acetyl-6-thioneuraminsäure (6-Thio-Neu5Ac)¹⁶, 6-*epi*-Neu5Ac¹⁷ und von 5-*epi*-Neu5Ac¹⁸. Bei der Verwendung β -C-lithierter Acrylamid-Derivate als Pyruvat-Äquivalent muß der Zucker in der reaktiven offenkettigen Aldehydo-Form, wie z.B. bei neueren KDO-Synthesen, eingesetzt werden¹⁹. Eine andere Art der Aktivierung erfolgt durch Einführung einer Nitrofunktion. Vasella et al. haben gezeigt, daß die am anomeren Zentrum von Aldosen eingeführte Nitrofunktion²⁰ als Vehikel zur Kettenverlängerung dienen kann. Die durch Nitronatbildung am anomeren Zentrum erzeugte negative Ladung ("Umpolung") ermöglicht eine Kettenverlängerung durch Michael-Addition^{8b} oder Henry-Reaktion²¹. Diese Methode der Kettenverlängerung kann jedoch auf langkettige 1-Desoxy-1-nitroalditole nicht ohne weiteres angewendet werden. Geschützte 1-Desoxy-1-nitroalditole können jedoch in hochreaktive Zuckernitriloxide übergeführt werden²². Die bei der Cycloaddition von Nitriloxiden, Nitronen oder Nitronaten an Olefine entstehenden Cycloaddukte²³ können mit Hilfe der reduzierenden Spaltung in β -Hydroxyamine übergeführt werden^{23,24}. Diese Methode der Kettenverlängerung ist auf alle die $-\text{CH}_2\text{NO}_2$ -Gruppierung enthaltenden Kohlenhydrate übertragbar, wobei die an der Verknüpfungsstelle eingeführte Stickstoff-Funktion von der Nitrogruppe stammt. Bei Verwendung eines Pyruvat-Äquivalents, wie **3**²⁵ als olefinische Komponente der Cycloaddition gelangt man so zu den entsprechenden 3,4-Didesoxy-2-ulosonsäuren.

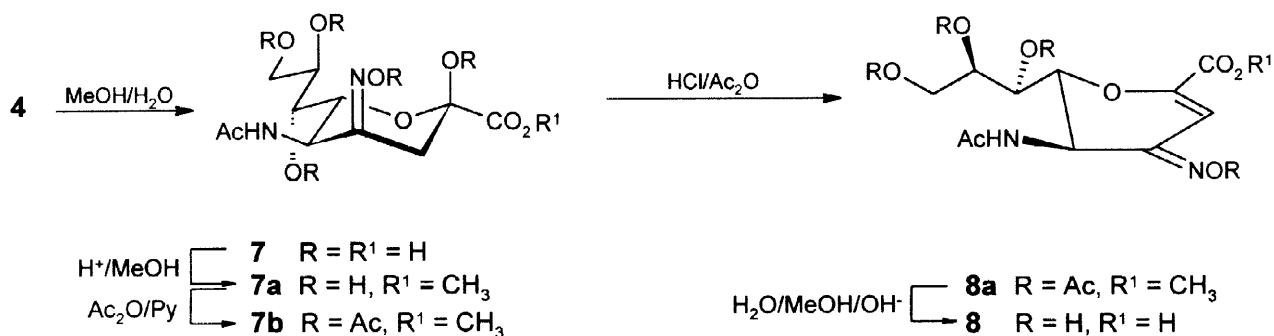
Zunächst wurde die Frage geprüft, ob länger-kettige Nitroalditole, wie 2-Acetamido-1,2-didesoxy-3,4:5,6-di-O-isopropyliden-1-nitro-D-mannitol (**2**), zur Bildung eines Nitriloxids befähigt sind. Daher wurde die Verbindung **2**, welche aus **1**²⁶ nach bekannten Methoden leicht zugänglich ist, nach Mukaiyama-Hoshino²⁷ in Gegenwart eines C-3-Bausteins, wie Acrylsäuremethylester, umgesetzt. Die Bildung des Isoxazolins **6** in Form zweier Diastereoisomerer im Verhältnis 4:5 und mit einer Ausbeute von 74% zeigt, daß das Nitriloxid von **2** in hoher Ausbeute entstanden war. Durch Umkristallisieren konnte ein Diastereoisomeres angereichert werden. Die Kopplungskonstante $J_{3a,3b}$ zeigte den erwarteten hohen Wert von 17.4 Hz. Versuche zur reduktiven Spaltung des Isoxazolinrings durch Hydrogenolyse waren unbefriedigend, da die Reaktion uneinheitlich verlief. Als olefinische Komponente der Nitriloxid-Cycloaddition kann auch der Silylenolether des Brenztraubensäuresilylestere (**3**) verwendet werden, welcher leicht aus Brenztraubensäure zugänglich ist²⁵. So ergibt die Umsetzung von **3** mit **2** nach Bedingungen wie zuvor, nachfolgender Desilylierung und Veresterung mit Diazomethan Verbindung **5**, welche ein offenkettiges Neuraminsäure-4-oxim-derivat ist. Aus der Verdoppelung eines Teils der ^1H und ^{13}C NMR-Signale und aus dem Fehlen eines Signals bei $\delta \sim 190$ im ^{13}C NMR-Spektrum folgt, daß **5** in Form eines $-(2R/2S)$ -*cyclo*-Tautomeren (Verhältnis etwa 1:1) vorliegt. Die Einführung der Trimethylsilylschutzgruppe, deren Abspaltung unter sehr viel schonenderen Bedingungen als die Deblockierung von **5** erfolgt, ermöglicht jetzt eine einfache Synthese von **7**. Die Silylierung von **1** ergab das Tetra- oder Pentasilylderivat **1a**, welches wie zuvor beschrieben, mit **3** umgesetzt wurde. Das persilylierte Isoxazolin **4** wurde nicht isoliert, sondern durch Einwirkung von Methanol/Wasser direkt in Verbindung **7**

(72% Ausbeute) umgewandelt. Die Abtrennung von Pyruvat erfolgte durch Anionenaustauschchromatographie.



Schema 1: (a) **3**/PhNCO/NEt₃; (b) **1. 3**/PhNCO/NEt₃, **2. CH₂N₂**; (c) $H_2C=CHCO_2Me$ /PhNCO/NEt₃

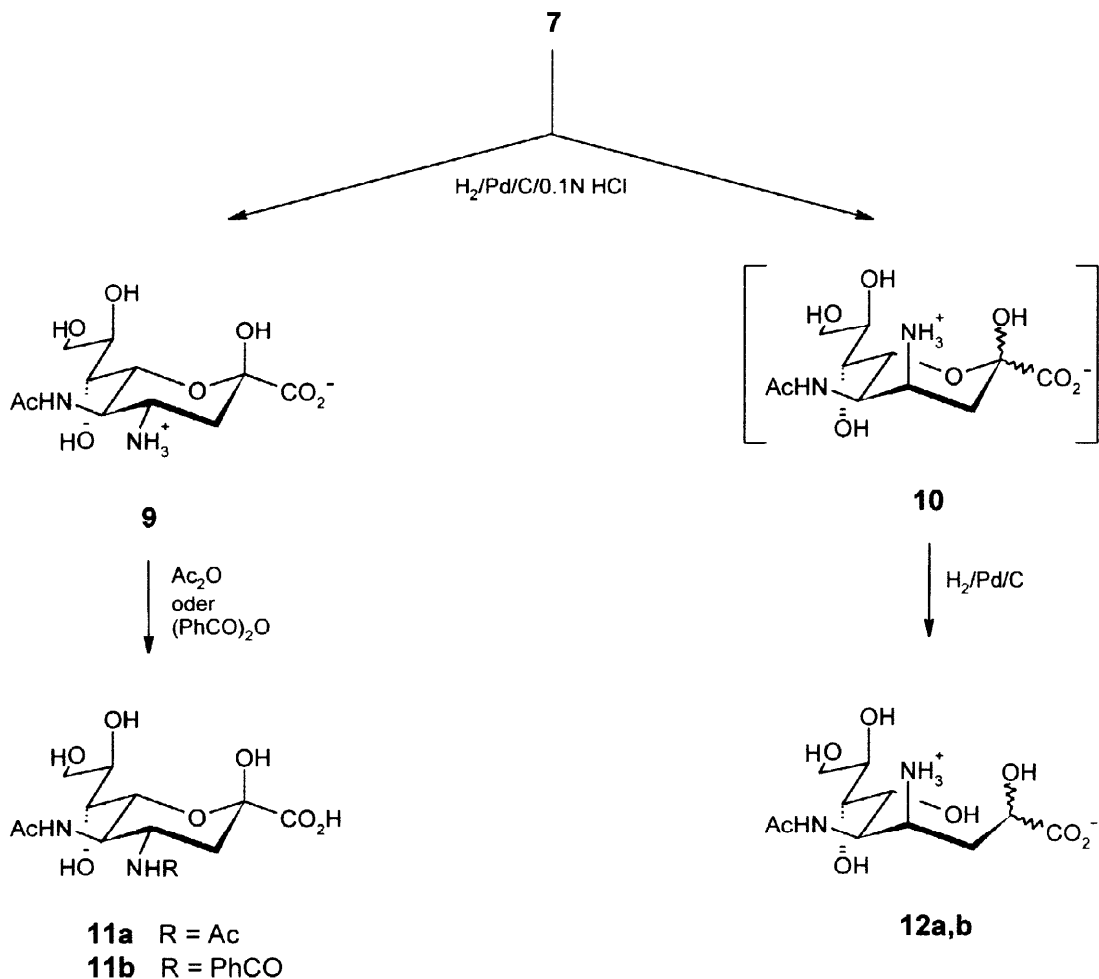
Damit steht eine sehr einfache "Eintopfsynthese" zur Verfügung, wodurch **7** im Multigramm-Maßstab zugänglich ist. Sowohl die ¹H und ¹³C NMR-Daten zeigen eine teilweise Aufspaltung, was durch das Vorliegen von 2 *E/Z*-Isomeren (1:1) erklärt werden kann; das ¹H NMR-Spektrum kann durch Entkopplungsexperimente vollständig interpretiert werden. Beim Erhitzen einer wässrigen Probe von **7** auf +90 °C wird die Koaleszenztemperatur überschritten und das ¹³C NMR-Spektrum vereinfacht sich zu 11 Signalen. Aus den Kopplungskonstanten von **7** folgt, daß kein *cyclo*-Tautomeres wie bei **5**, sondern eine pyranoide Struktur vorliegt. Eine mögliche Epimerisierung der Acetamidofunktion des Nitriloxids von **1a** kann unter den Reaktionsbedingungen auf Grund der obigen Befunde ausgeschlossen werden. Die Deblockierung von **5** mit Säuren ergibt ein mit **7** identisches Produkt, jedoch werden zusätzlich 2 Nebenprodukte beobachtet.



Schema 2

Die katalytische Hydrierung von **7** in Gegenwart von Säuren zeigte ein komplexes Reaktionsbild. Neben der biologisch interessanten 4-Amino-4-desoxy-Neu5Ac **9** wurde nicht die epimere Verbindung **10**, sondern die beiden C-2-epimeren Pentahydroxy-nonansäuren **12a,b** in Form eines Epimerengemischs isoliert (Gesamtausbeute an hydrierten Produkten **9**, **12a,b**: 62%). Zusätzlich wurde ein weniger polares, nicht

einheitliches Nebenprodukt (38%) isoliert, welches vermutlich durch weitergehende Hydrierung einer intermediär auftretenden 2,3-Didehydroverbindung von **7** entstand. Die Verteilung von **9**, **12a** und **12b** kann nach Abtrennung von Chlorid-Ionen und Nebenprodukten über Anionenaustausch und Cellulose-Säulenchromatographie ^1H NMR-spektroskopisch durch Integration der gut getrennten 3-H- und 5-H-Reportersignale



Schema 3

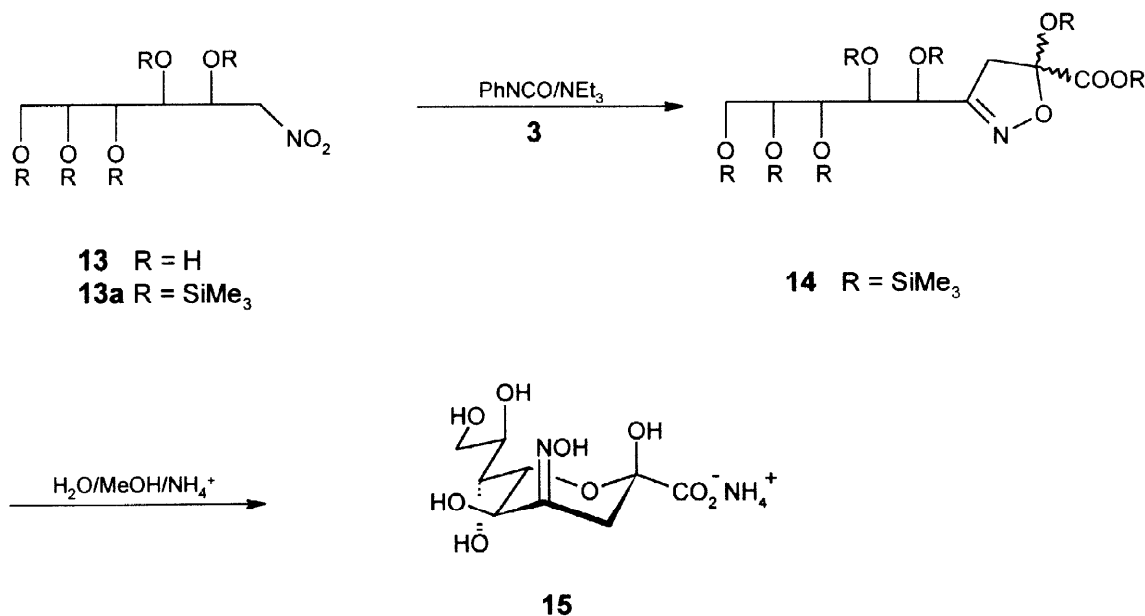
bestimmt werden und ergab (Molprozent): **9:12a:12b** = 43:39:17. Daraus ergibt sich die Ausbeute von **9** mit 27% und von **12a,b** mit 35%. Aus dem obigen Befund folgt, daß die Hydrierung von **7** nicht stereoselektiv erfolgt und **10** durch 2,4-Syndiaxialwechselwirkung so destabilisiert ist, daß die 2-Ketofunktion von **10** schnell hydriert wird und **12a,b** entsteht; **10** wurde selbst in geringen Mengen nicht nachgewiesen. **9** konnte durch kombinierten Anionen-Austausch von **12a,b** leicht abgetrennt und rein isoliert werden, da die Nonansäuren nicht gebunden wurden.

Damit steht ein einfaches Verfahren zur Synthese von *N*-Acetyl-4-amino-4-desoxy-neuraminsäure (**9**) zur Verfügung. Das Epimerengemisch **12a,b** wurde durch Cellulose-Säulenchromatographie isoliert; die einzelnen Epimeren konnten nicht getrennt werden. Die Aminosäure **9** zeigte ein sialinsäureähnliches ^1H NMR-Spektrum; das Spektrum von **12a,b** konnte mit Hilfe von Entkopplungsexperimenten und 2D(^1H , ^1H -COSY)-Spektren vollständig analysiert werden. Bei **12a** findet man für die beiden 3-H-Protonen eine sehr charakteristische dreifache Aufspaltung im Reporterbereich von $\delta = 1.6 - 2.3$, wie sie auch für **19a** und **27a**

gefunden werden. Unter Zugrundelegung einer angenähert gestreckten Anordnung sind die Kopplungskonstanten $J_{2,3a}$, $J_{2,3b}$, $J_{3a,3b}$, $J_{3a,4}$ und $J_{3b,4}$ mit der Konfiguration -D-erythro-L-*allo* für **12a** und -D-erythro-L-*altro* für **12b** in Übereinstimmung. Die Strukturen von **9** und **12a,b** wurden zusätzlich durch massenspektrometrische Untersuchungen abgesichert. So zeigt das FAB(-)-MS von **9** das erwartete Pseudomolekülion bei m/z : 307 (M-1) und von **12a,b** bei m/z : 309 (M-1). Wie durch FAB(+)-Ms gezeigt wurde, entstand durch Peracetylierung von **9** eine Hexaacetylverbindung mit fünf zusätzlich eingeführten Acetylgruppen (m/z : 519, M+H⁺), als auch ein peracetyliertes Lactam (m/z : 459, M+H⁺), welches vier zusätzliche Acetylgruppen enthält. Über die intramolekulare Bildung von Lactonen durch Einwirkung von Eisessig auf neuraminsäurehaltige Verbindungen wurde berichtet²⁸. Entsprechend ergab die Peracetylierung von **12a,b** ein Lactam, welches fünf zusätzliche Acetylgruppen enthält (m/z : 503, M+H⁺). Durch Peracetylierung des Methylesters von **12a,b** wurden sechs zusätzliche Acetylgruppen eingeführt, wie durch FAB(+)-MS gezeigt wurde (m/z : 577, M+H⁺). **9** wurde nach bekannten Methoden in **11a** und **11b** übergeführt; die biologisch interessante Verbindung **11a** ist mit dem von Zbiral^{10a} auf unabhängigem Weg hergestellten Produkt identisch. Versuche zur Synthese eines α -Glykosids von **7** scheiterten, da ausschließlich unter Eliminierung das konjugiert ungesättigte Produkt **8a** entstand (siehe Schema 2). Zu diesem Zweck wurde **7** mit saurem Ionenaustauscher in Gegenwart von Methanol zu **7a** verestert und anschließend peracetyliert. **7b** besteht aus zwei Anomeren und zwei *E/Z*-Isomeren (vier Substanzen), von welchem ein Anomer in Form eines *E/Z*-Isomerengemischs teilweise abgetrennt werden konnte und durch 2D (¹H, ¹H-COSY)-NMR-Spektroskopie aufgeklärt wurde. Die Umsetzung mit HCl ergab kein Glykosylchlorid, sondern unter Eliminierung ausschließlich **8a** und nach Entacetylierung **8**, welche keine Gemische aus *E/Z*-Isomeren, sondern einheitlich sind.

Synthese der KDN-Analoga **15**, **16** und **18**.

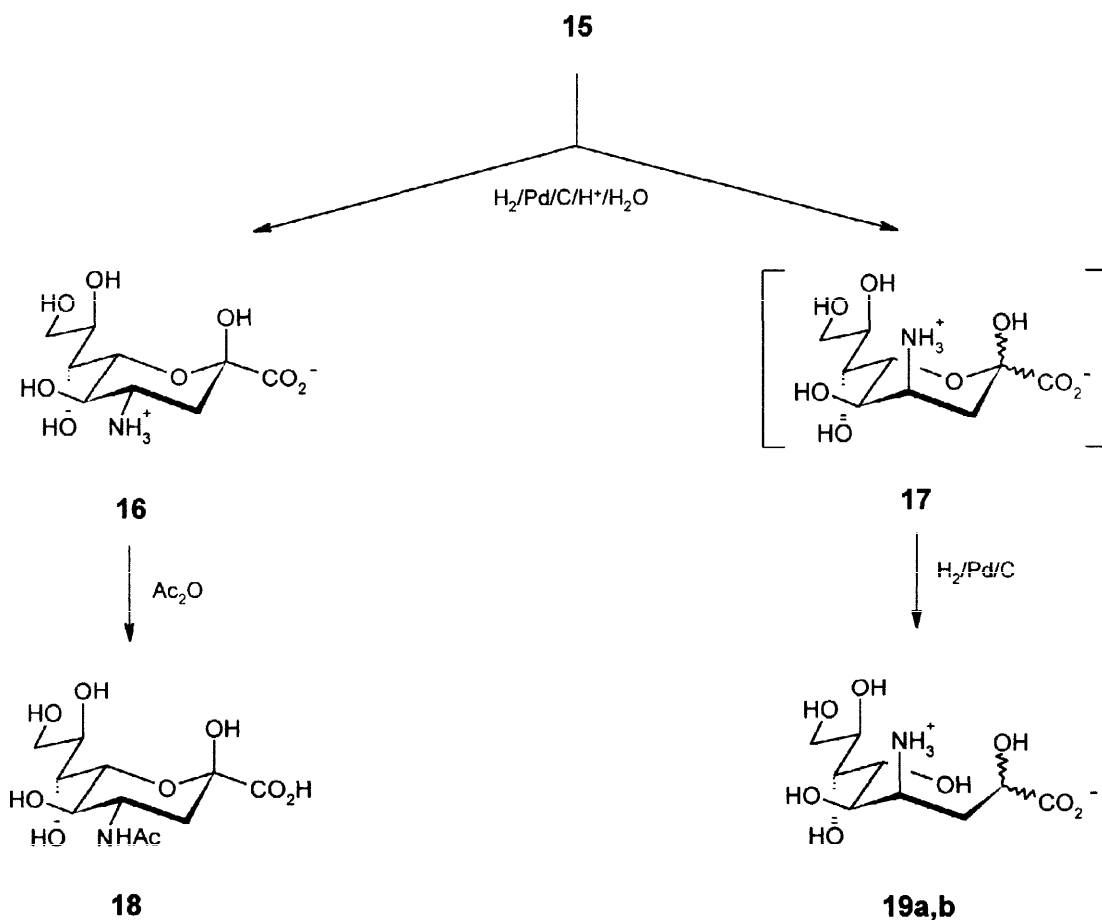
Die Anwendbarkeit des oben geschilderten Verfahrens auf 1-Desoxy-1-nitro-alditole, wie **13**, wurde durch die Synthese des KDN-Analogen **15** demonstriert. KDN²⁹ selbst dient in der Natur als Schutz gegen Sialidasen³⁰; 2- α -Umbelliferylglykoside von KDN sind resistent gegen *Vibrio cholerae* Sialidase^{31a}. Über die Synthese von KDN-Analoga ist bisher nur in vereinzelt Fällen berichtet worden^{31a-c}. 4-Desoxy-4-hydroxyimino-KDN (in Form des β -Methylglykosids) wurde über eine vielstufige Synthese mittels konventioneller Methoden erhalten^{31e}. 1-Desoxy-1-nitro-D-mannitol³² (**13**) wurde durch Silylierung in **13a** übergeführt. Die Umsetzung mit **3**, wie zuvor beschrieben, ergab das Cycloadditionsprodukt **14**, welches nicht



Schema 4

isoliert wurde und nach Desilylierung **15** in einer Ausbeute von 70% (Ammoniumsalz) ergab. Sowohl die ^1H NMR- als auch die ^{13}C NMR-Signale sind fast alle aufgespalten, was durch *E/Z*-Isomere (1:1) verursacht wird.

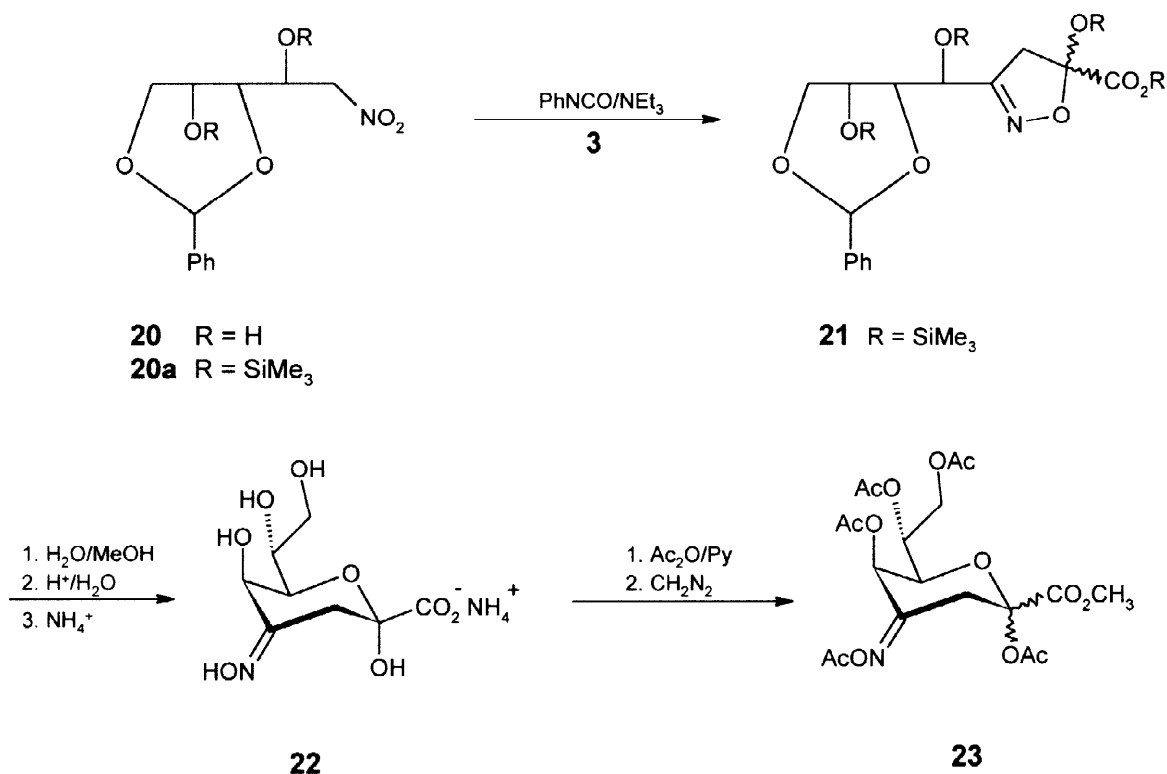
Um **15** unter sauren Bedingungen zu hydrieren, wurde das Ammoniumsalz durch Entionisierung in die freie Säure übergeführt, welche instabil ist und sich langsam zersetzt. Die Hydrierung verlief nach dem gleichem Schema, wie bei **7**; die Aminosäure **17** wurde unter den Reaktionsbedingungen schnell zu **19a,b** weiterhydriert und daher nicht isoliert. Durch mehrfachen Anionenaustausch lassen sich die Nebenprodukte größtenteils abtrennen. Aufgrund der Integration der 3-H-Reportersignale im ^1H NMR-Spektrum von Produktgemischen von **16** und **19a,b** läßt sich die Gesamtausbeute an hydrierten Produkten (**16**, **19a,b**) auf etwa 50 - 60% und von 4-Amino-4-desoxy-KDN **16** auf etwa 25% schätzen. Die Abtrennung von **16** bzw. **19a,b** gelingt durch Cellulose-Säulenchromatographie; die epimeren Nonansäuren **19a** und **19b** konnten nicht getrennt werden. Während **16** ein sialinsäureähnliches ^1H NMR-Spektrum zeigt, findet man bei der Nonansäure **19a** für die 3-H-Reportersignale die gleichen charakteristischen Multiplizitäten wie für **12a** und **27a**, welche unter der Annahme einer angenähert gestreckten Anordnung mit der Konfiguration -D-erythro-L-allo- in Übereinstimmung stehen. Bei der epimeren Nonansäure **12b** fallen die 3-H-Signale zusammen und sind nicht analysierbar. N-Acetylierung von **16** führt zu 4-Acetamido-4-desoxy-KDN **18**, welches als ein Isomeres von Neu5Ac aufgefaßt werden kann und auf unabhängigem Wege synthetisiert wurde^{31b,31c}.



Schema 5

Synthese der KDO-Analoga **22**, **24** und **26**.

Eine weitere Anwendung der Nitriloxyd-Cycloaddition von Zuckernitriloxiden an **3** sei durch die Synthese der KDO-Analoga **22**, **24** und **26** demonstriert. Strukturelle Veränderungen von KDO wurden sowohl in der Seitenkette³³, an C-6 (Ringhomologe)^{3b,4}, C-5³⁴, C-4³⁵ und am anomeren Zentrum^{36,37b} durchgeführt. Solche KDO-Analoga, wie z.B. 5-Azido-5-desoxy-KDO³⁴ oder 2-Desoxy-KDO^{37a}, sind als Inhibitoren der CMP-KDO-Synthase² bzw. zur Hemmung der Lipopolysaccharid-Biosynthese gramnegativer Bakterien^{34,37} von Interesse. Über die Synthese von KDO-2-en und 4-Acetamido-4-desoxy-KDO-2-en (in Form der peracetylierten Methylester) wurde von v. Itzstein et al.^{31d} berichtet. Als Ausgangsprodukt wurde 4,6-Di-O-

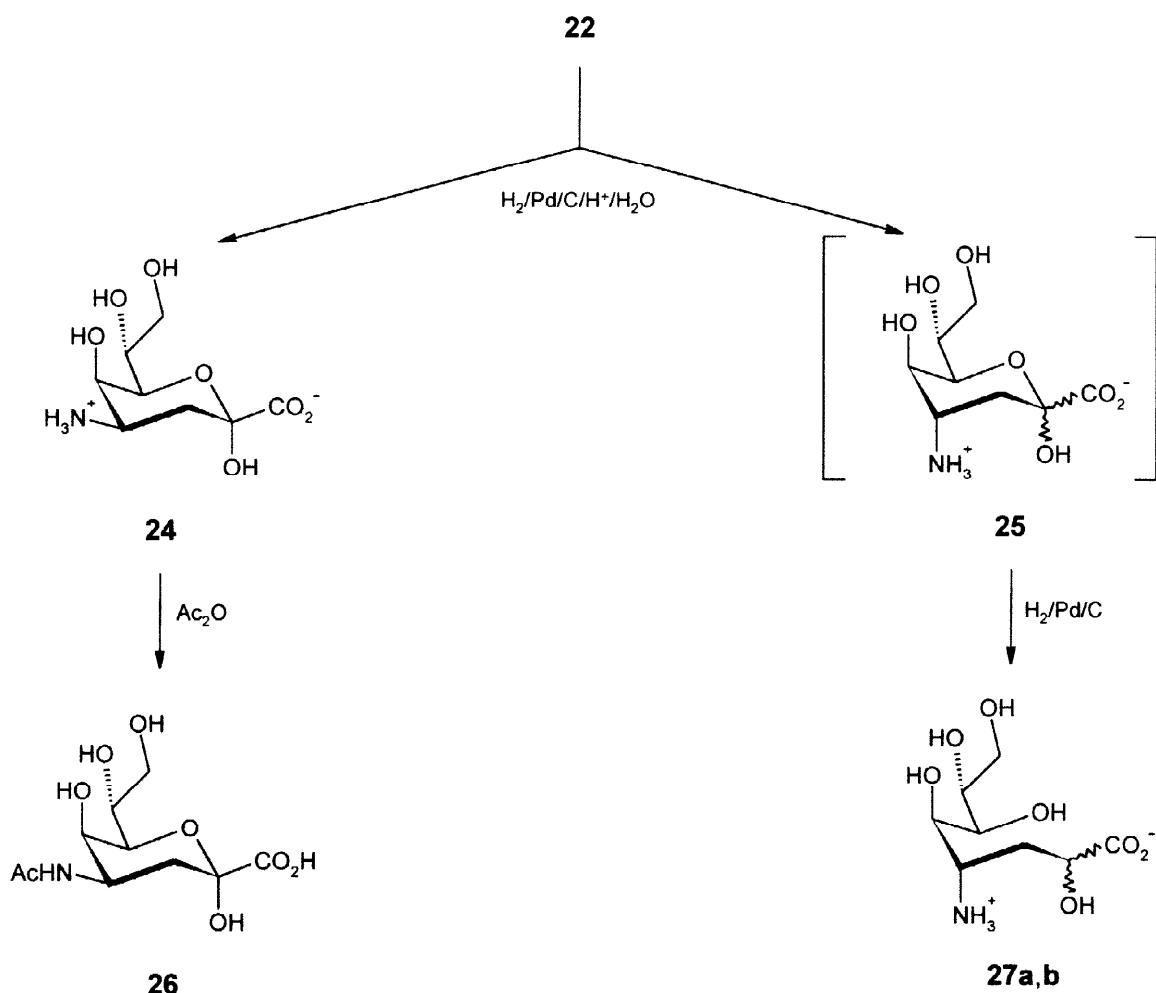


Schema 6

benzyliden-1-desoxy-1-nitro-D-arabinitol³⁸ (**20**) verwendet und zu **20a** silyliert. Die Umsetzung mit **3**, wie zuvor beschrieben, ergab ein Cycloadditionsprodukt **21**, welches nicht isoliert, sondern durch Wasser/Methanol und sauren Ionenaustauscher deblockiert wurde. 4-Desoxy-4-(*E/Z*)-hydroxyimino-KDO **22** wurde nach Anionenaustauschchromatographie in hoher Ausbeute (95%) als Ammoniumsalz isoliert. Das ¹H NMR-Spektrum, welches teilweise höherer Ordnung ist, wurde durch Entkopplungsexperimente nach angenähert 1. Ordnung analysiert und zeigte, wie auch das ¹³C NMR-Spektrum, eine Aufspaltung der Signale, da zwei *E/Z*-Isomere vorliegen. Um die Struktur von **22** abzusichern, wurde die freie Säure durch Acetylierung mit Pyridin/Essigsäureanhydrid in die Pentaacetylverbindung übergeführt und anschließend mit Diazomethan verestert. Das Pentaacetat **23** konnte in Form eines Anomeren (Mischung von zwei *E/Z*-Isomeren) isoliert werden. Zusätzlich entstand ein zweites anomeres Pentaacetat und die 2,3-Didehydroverbindung. Unter der Annahme einer Pyranose-Struktur stehen die ¹H NMR-Parameter der beiden *E/Z*-Isomeren mit der geforderten D-*arabino*-Konfiguration in Übereinstimmung (*J*_{5,6} = 2.8 Hz bzw. 3.6 Hz; *J*_{6,7} = 9.1 Hz bzw. 7.9 Hz). Eine Besonderheit zeigt die C-2 Resonanz im ¹³C NMR-Spektrum von **23**, welche im Vergleich zu den

entsprechenden Werten bei KDO³⁹, **24** und **26** (Pyranoseform) zu tieferem Feld verschoben ist [δ C-2 (*E/Z*-Isomere) = 104.6, 105.3]; bei den Pyranose-oximen **7**, **15** und **22** findet man für die C-2 Resonanzen eine ähnliche Verschiebung (δ = 105 - 107).

Die Hydrierung von **22** verläuft nach dem gleichen Schema, wie zuvor beschrieben; nur bei kurzer Hydrierdauer von ca. 20 Minuten erhält man mit 37% Gesamtausbeute die Aminosäuren **24** und **27a,b** im Verhältnis 53:37:10 (Molprozente). Ähnlich wie bei **10** und **17** wird auch hier die Aminosäure **25** schnell zu **27a,b** weiterhydriert und daher nicht isoliert. Die Abtrennung der Chlorid-Ionen und Nebenprodukte gelingt mittels zweifachem Anionenaustausch, wobei sich nur **24** und **27a,b** im wässrigen Durchlauf finden und Nebenprodukte gebunden werden. Die Zusammensetzung des Produktgemischs aus **24** und **27a,b** kann durch Integration der 3-H-Reportersignale im Bereich δ = 1.80 - 2.25 ermittelt werden. Die mäßige Gesamtausbeute ist wahrscheinlich durch die Instabilität der freien Säure von **22** verursacht. Infolge der Destabilisierung des Zuckerrings durch die axiale 5-OH-Gruppe wird bei längerer Hydrierdauer auch die Ketofunktion von **24** weiterhydriert; dieser Vorgang läßt sich jedoch bei kurzer Hydrierdauer weitgehend unterdrücken. 4-Amino-4-desoxy-KDO **24** konnte mittels Cellulose-Säulenchromatographie und Anionenaustausch von **27a,b**



Schema 7

abgetrennt werden und wurde mit wechselnden Ausbeuten (20 - 29%) isoliert. Nach der 1H NMR-Analyse enthält **24**, ähnlich wie bei KDO^{39a} ca. 25% Furanosen in Form eines Isomerengleichgewichts. Dafür spricht auch die Tieffeldverschiebung von schwachen Signalen im ^{13}C NMR-Spektrum von **24** gegenüber den C-2-

und C-5-Signalen der α -Pyranoseform^{39b}. Wie bei KDO^{39a}, wo ähnliche Verschiebungen beobachtet werden, können diese Signale C-2 und C-5 der Furanoseform zugeordnet werden (C-2: $\delta = 105$, C-5: $\delta = 83$). Eine ähnliche Tieffeldverschiebung wird bei der Furanoseform von **26** beobachtet. Eine Besonderheit tritt bei den Protonen der 3-Desoxy-Position (Pyranoseform) auf. Das Signal von 3-H_{ax} erscheint bei tieferem Feld, als das von 3-H_{eq}, d.h. die Differenz von $\delta(3\text{-H}_{eq}) - \delta(3\text{-H}_{ax})$ wird negativ. Das Epimerengemisch **27a,b** kann durch Cellulose-Säulenchromatographie von **24** abgetrennt werden. Zumindest für die Aminosäure **27a**, welche von dem Epimeren **27b** nicht getrennt wurde, stehen die Kopplungskonstanten der 3-H-Protonen unter Zugrundelegung einer angenähert gestreckten Anordnung mit der Konfiguration -D-glycero-D-gulo in Übereinstimmung. Für das C-2-Epimere **27b** läßt sich die Konfiguration -D-glycero-D-ido nicht beweisen, da die Signale der 3-H-Protonen zusammenfallen und nicht analysierbar sind. 4-Acetamido-4-desoxy-KDO **26** wurde durch N-Acetylierung eines Produktgemischs von **24** und **27a,b** und Abtrennung der starken Säure **26** von den entsprechenden N-acetylierten Pentahydroxy-octansäuren durch zweifachen Anionenaustausch erhalten. Das komplizierte ¹H NMR-Spektrum wurde durch 2D(¹H,¹H-COSY)-Spektroskopie analysiert. Danach enthält **26** ca. 26% Furanosen (α/β) und ca. 5% β -Pyranoseform in Art eines Isomeren- und Anomerengleichgewichts [α -Pyranose: 69%, β -Pyranose: 5%, Furanosen: 12%, 14% (Molprozent)]. Im Vergleich dazu enthält KDO ca. 29% Furanose-Anteil^{39a}. Im ¹³C NMR-Spektrum von **26** findet man Signale schwacher Intensität, welche den Furanosen zugeordnet werden können. Auch hier, wie bei KDO^{39a} und bei KDO-Derivaten mit freiem 2-OH (α -Anomeres) wird die Differenz $\delta(3\text{-H}_{eq}) - \delta(3\text{-H}_{ax})$ negativ⁴⁰. Diese Besonderheit wird auch bei einigen 2- α -glykosidisch verknüpften KDO-Derivaten beobachtet⁴¹.

Experimenteller Teil

Wo nicht anders erwähnt, wurden alle Reaktionen dünnenschichtchromatographisch auf Aluminiumfertigfolien (Merck oder Riedel-de Haën, Kieselgel 60 F₂₅₄) verfolgt. Für Cellulose-Dünnenschichtchromatographie wurden DC-Fertigfolien (Schleicher und Schüll, F₁₄₄₀ LS₂₅₄ Cellulose, ohne Bindemittel) verwendet. Die Detektion erfolgte durch Ansprühen mit Lösungen von Schwefelsäure (10 proz.) oder Ninhydrin (0.2 proz.) in Ethanol und anschließende Wärmebehandlung. Bei den Verbindungen **9**, **12a,b**, **16**, **19a,b**, **24** und **27a,b** empfiehlt sich zum Zweck der Detektion vorsichtiges Erhitzen des Dünnenschichtchromatogramms über einer Bunsenbrennerflamme. Für die verwendeten Laufmittelsysteme gelten die folgenden Abkürzungen: Laufmittel A = Pyridin/Ethylacetat/Essigsäure/Wasser (3:3:1:2.5, v/v/v/v), B = Pyridin/Ethylacetat/Essigsäure/Wasser (4:4:1:2.5, v/v/v/v); C = Pyridin/Ethylacetat/Essigsäure/Wasser (5:5:1:2.5, v/v/v/v); D = n-Propanol/Ammoniak konz. (1:1, v/v); E = n-Propanol/Ammoniak konz. (2:1, v/v); F = n-Propanol/Wasser/Ammoniak konz. (2:1:0.1, v/v/v); G = n-Propanol/Wasser/Ammoniak konz. (2.5:1:0.1, v/v/v); H = Chloroform/Methanol (30:1, v/v); I = Ethylacetat/Methanol/Wasser (10:2:1, v/v/v); J = Chloroform/Ethylacetat/Methanol/Wasser (30:10:20:5, v/v/v/v); K = Ethylacetat/Methanol (10:1, v/v). Adsorptionschromatographische Trennungen erfolgten an Kieselgel 60 (Merck, 70-230 mesh), verteilungschromatographische Trennungen über eine Cellulose-Säule (Länge: 50 cm, Durchmesser: 25 mm, Cellulose-Material: Whatman CF₁₁, eine möglichst dichte Packung des Cellulose-Materials ist erforderlich). Die Fraktionen wurden in der Regel dünnenschichtchromatographisch auf Kieselgelfolie entweder mit Hilfe des verwendeten Laufmittelsystems oder eines anderen Laufmittels ausgetestet. - Die nach Cellulose-Säulenchromatographie erhaltenen und nach DC-Test entsprechend vereinigten Fraktionen wurden schonend (Wasserbadtemperatur maximal 35-40 °C) mehrfach i. Vak. in einem Büchi- oder Heidolph-Rotationsverdampfer eingengt, um z.B. Essigsäure, Pyridin oder n-Propanol vollständig zu entfernen. Sofern die Substanzen keine freie Aminogruppe enthielten, wurden Reste von Pyridin mittels Amberlite IR 120, H', entfernt und/oder durch mehrfaches Lyophilisieren. - Hydrierungen über Palladium/Aktivkohle wurden unter Normaldruck durchgeführt. -

Drehwerte wurden mit einem Perkin-Elmer 141 Polarimeter (1-dm-Küvette) gemessen. - Die Messung der Schmelzpunkte (nicht korrigiert) erfolgte mit einem Totolli-Büchi-Apparat. - Zur Aufnahme der NMR-Spektren wurden die Spektrometer Bruker AC 300 (300 MHz) oder Bruker 500 (500 MHz) benutzt. Bei Messungen in organischen Lösungsmitteln diente Tetramethylsilan als innerer Standard, bei Messungen in D₂O wurde auf $\delta_{\text{HOD}} = 4.8$ bezogen, bei ¹³C-Spektren auf Methanol. Die Auswertung der Kopplungskonstanten erfolgte nach erster Ordnung. Bei folgenden Verbindungen wurde die Analyse der ¹H NMR-Spektren vorgenommen a) durch Entkopplungsexperimente: **6**, **7**, **9**, **12a,b**, **22** und b) durch zweidimensionale (¹H, ¹H-COSY) Spektren: **2**, **7**, **12a,b** und **26**. - Für die FAB-Massenspektrometrie wurde ein VG ZAB-HF Massenspektrometer benutzt. Als Ionenquelle diente eine Xenon-Kanone. Bei FAB(-) Massenspektren wurde Triethanolamin (TEA) und bei FAB(+) Massenspektren Thioglycerol (Tgl) als Matrix benutzt⁴².

2-Acetamido-1,2-didesoxy-3,4:5,6-di-O-isopropyliden-1-nitro-D-mannitol (2): Das Nitromannitol **1**²⁶ (1.75 g, 6.94 mmol) wird in absol. Tetrahydrofuran (2 ml) suspendiert und Acetondimethylacetal (5 g) und getrocknete p-Toluolsulfonsäure (0.16 g) zugegeben. Die Mischung wird 1 d gerührt und 40 min. auf +55 °C erwärmt. Nach Zugabe von Triethylamin (0.5 ml) werden i. Vak. die Lösungsmittel abdestilliert und der Rückstand in Dichlormethan (200 ml) gelöst. Nach Auswaschen mit Wasser (20 ml) wird über Magnesiumsulfat getrocknet und die Lösungsmittel abdestilliert. Der kristalline Rückstand wird aus wenig Diethylether-Hexan umkristallisiert; Ausb. 1.89 g (82%) **2**, Schmp. 133 - 135 °C, $R_f = 0.49$ (Ethylacetat), $[\alpha]_D^{20} = -17$ ($c = 1.1$, CHCl₃). - ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): $\delta = 1.34, 1.35, 1.36, 1.40$ (4 s, 12 H, 4 CH₃), 1.98 (s, 3 H, COCH₃), 3.78 (dd, 1 H, $J_{6,6'} = 8.8$ Hz, 6-H), 3.86 (dd, 1 H, $J_{4,5} = 8.2$ Hz, 4-H), 4.00 (dd, 1 H, $J_{5,6} = 5.7$ Hz, $J_{5,6'} = 6.6$ Hz, 5-H). - C₁₄H₂₄N₂O₇ (332.3) Ber. C 50.59 H 7.27 N 8.42. - Gef. C 50.31 H 7.23 N 8.32.

N-Acetyl-4-desoxy-4-(E)-hydroxyimino-6,7:8,9-di-O-isopropyliden-neuraminsäure-methylester-(2R,2S)-cyclo-Tautomer (5): Das Nitrohexitol **2** (1.0 g, 3.0 mmol) löst man in Dichlormethan (10 ml) und gibt Verbindung **3** (1.39 g, 6 mmol) und anschließend Phenylisocyanat (1.07 g, 9 mmol) zu. Durch Zugabe von Triethylamin (0.03 g) wird die Umsetzung gestartet. Die DC-Kontrolle (Ethylacetat/Methanol/Wasser, 25:5:2, v/v/v) des Ansatzes zeigt nach 15 h das Verschwinden des Edukts und ein Produkt mit $R_f = 0.25$. Man gibt absol. Methanol (20 ml) zu und entfernt nach 5 h Triethylamin durch Behandlung mit saurem Ionenaustauscher unter Kühlung (Amberlite IR 120, H⁺; mit absol. Methanol ausgewaschen). Die eingeeengte methanolische Lösung wird unter Kühlung mit etherischem Diazomethan bis zum Verschwinden des sauren pH-Wertes versetzt. Nach Abdestillieren der Lösungsmittel wird der Rückstand über Kieselgel (80 g) chromatographiert. Elution mit Diethylether/Ethylacetat-Gradient (Diethylether 500 ml; Diethylether/Ethylacetat, 2:1, v/v, 500 ml; 1:1, v/v, 500 ml; Ethylacetat, 500 ml) ergibt 0.47 g kristalline Verbindung **5**; aus der Mutterlauge werden durch Umkristallisieren aus Diethylether weitere 0.31 g erhalten. Gesamtausbeute: 0.78 g (62%) **5**; Schmp. 162 °C (Diethylether), $R_f = 0.22$ (Ethylacetat), $[\alpha]_D^{20} = 0$ ($c = 1.0$, CHCl₃). - ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 1.37, 1.38$ (2 s, 6 H, 2 CH₃), 1.41, 1.42, 1.44, 1.45 (4 s, 6 H, 4 CH₃), 2.03, 2.04 (2 s, 3 H, 2 NAc), 2.03 (s, 1.5 H, NAc), 2.04 (s, 1.5 H, NAc), 3.16 (d, 0.5 H, $J_{3a,3b} = 18.2$ Hz, 3-H_a), 3.21 (d, 0.5 H, $J_{3a,3b} = 18.2$ Hz, 3-H_b), 3.73 (d, 0.5 H, 3-H_b), 3.74 (d, 0.5 H, 3-H_b), 3.87, 3.88 (2 s, 3 H, 2 OCH₃), 3.89 - 3.95 (m, 2 H, 9-H, 9'-H), 4.05 (ddd, 1 H, $J_{8,9} = 8.5$ Hz, $J_{8,9'} = 2$ Hz, 8-H), 4.18 (dd, 0.5 H, $J_{6,7} = 6.6$ Hz, 6-H), 4.19 (dd, 0.5 H, 6-H), 4.21 (dd, 1 H, $J_{7,8} = 6.7$ Hz, 7-H), 4.95 (d, 0.5 H, $J_{5,6} = 7.0$ Hz, 5-H), 4.97 (d, 0.5 H, 5-H). - ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): $\delta = 23.09, 25.24, 26.55, 26.97$ (4 C, 4 CH₃), 27.24, 27.30 (2 C, 2 CH₃), 45.90, 46.04 (1 C, 2 CH₃), 49.74, 49.85 (1 C, 2 C-5), 53.68, 53.70 (1 C, 2 OCH₃), 67.83 (1 C, C-9), 79.40, 79.45, 81.31 (3 C, C-6, C-7, C-8), 103.11 (1 C, C-2), 110.10, 110.15, 110.79, 110.84 (2 C, 4 OCO), 158.01, 158.06 (1 C, 2 C-4), 168.45, 168.56, 169.86, 169.97 (2 C, 4 CO). - MS(70 eV): m/z (%): 416.1786 (57.5) [M⁺], m/z : ber. 416.1795. - C₁₈H₂₈N₂O₉ (416.1) Ber. C 51.91 H 6.77 N 6.72. - Gef. C 52.05 H 6.96 N 6.61.

(*R*)- und (*S*)-3-[(1*R*)-1-Acetylamino-2,3:4,5-di-*O*-isopropyliden-*D*-arabinitol-1-yl]-4,5-dihydro-isoxazol-5-carbonsäure-methylester (**6**): Das Nitrohexitol **2** (1.0 g, 3.0 mmol) löst man in Dichlormethan (12 ml) und gibt nacheinander Acrylsäuremethylester (1.7 g, 20 mmol), Phenylisocyanat (1.07 g, 9 mmol) und Triethylamin (0.03 g) zu. Nach 15 h zeigt der DC Test (Ethylacetat) das Verschwinden des Edukts und ein neues Produkt mit $R_f = 0.3$. Nach Zugabe von Methanol (10 ml) werden die Lösungsmittel abdestilliert, in Dichlormethan gelöst und von kristallinem Produkt abfiltriert. Der nach Einengen des Filtrats erhaltene kristalline Rückstand wird über Kieselgel (90 g) chromatographiert. Mit Chloroform/Ethylacetat (1:1, v/v) eluiert man **6** (0.89 g, 74%) in Form zweier Diastereoisomere im Verhältnis 4:5. Umkristallisieren aus Diethylether/Chloroform ergab Anreicherung eines Epimeren auf ca. 85%; Schmp. 158 - 167 °C (Diethylether/Chloroform), $R_f = 0.15$ (Chloroform/Ethylacetat 4:6, v/v), $R_f = 0.3$ (Ethylacetat), $[\alpha]_D^{20} = +25$ ($c = 1.1$, CH₃OH). - ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 1.34, 1.35, 1.39, 1.42$ (4 s, 12 H, 4 CH₃), 2.00 (s, 3 H, NAc), 3.35 (A-Teil von ABX, 1 H, 3-H_a), 3.40 (B-Teil von ABX, 1 H, $J_{3a,3b} = 17.4$ Hz, 3-H_b), 4.00 (ddd, 1 H, 8-H), 4.94 (dd, 1 H, $J_{5,6} = 7.5$ Hz, $J_{5,NH} = 7.5$ Hz, 5-H), 5.02 (X-Teil von ABX, 1 H, $J_{2,3a} = 11.4$ Hz, $J_{2,3b} = 7.2$ Hz, 2-H). - ¹³C NMR (75.47 MHz, CDCl₃): $\delta = 23.06, 25.23, 26.49, 26.91, 27.15$ (5 C, 5 CH₃), 40.81 (1 C, C-3), 49.58 (1 C, C-5), 52.65 (1 C, OCH₃), 67.82 (1 C, C-9), 77.07, 77.39, 79.45, 81.41 (4 C, C-2, C-6, C-7, C-8), 109.99, 110.62 (2 C, 2 OCO), 157.35 (1 C, C-4), 169.57, 170.55 (2 C, 2 C=O). - C₁₈H₂₈N₂O₈ (400.4) Ber. C 53.99 H 7.05 N 6.99. - Gef. C 53.90 H 7.03 N 7.22.

5-Acetamido-3,4,5-tridesoxy-4-(*E/Z*)-hydroxyimino-*D*-manno-2-nonulopyranosonsäure (**7**): Das Nitromannitol **1**²⁶ (4.53 g, 18 mmol) wird in DMF (20 ml) durch Zugabe von Hexamethyldisilazan (25 g, 155 mmol) und *N,O*-Bis(trimethylsilyl)acetamid (0.5 ml) unter Erwärmen auf 80 °C silyliert. Aus der erhaltenen, klaren Lösung werden unter wiederholter Zugabe von DMF im Ölpumpenvakuum Silylierungsreagentien und Lösungsmittel vollständig abdestilliert und der erhaltene Sirup (**1a**) in Dichlormethan (60 ml) gelöst. Verbindung **3** (8.34 g, 36 mmol) und anschließend Phenylisocyanat (6.42 g, 54 mmol) werden schnell zugegeben. Nach Zugabe von Triethylamin (0.2 g) läßt man 2 d stehen. Durch Einwirkung von Methanol (50 ml) und Wasser (50 ml) werden sämtliche Silylgruppen abgespalten und das Zwischenprodukt **4** in die Nonulosonsäure **7** umgewandelt. Die DC - Kontrolle (Laufmittel *E*) des Ansatzes zeigt ein Produkt mit $R_f = 0.25$. Nach schonendem Abdestillieren der organischen Lösungsmittel wird die wässrige Phase mit Ammoniak neutralisiert und mit Ethylacetat extrahiert. Die Abtrennung von Pyruvat erfolgt durch Anionenaustauschchromatographie über AG MP-1-Ionenaustauscher (200-400 mesh, Firma BIO-RAD, HCO₃⁻-Form, 300 ml) mittels Bicarbonat-Gradient: Wasser → 0.4 M Ammoniumbicarbonat-Lösung. Aus den die Verbindung **7** enthaltenden Fraktionen wird durch wiederholtes Einengen i. Vak. NH₄HCO₃ entfernt und der Rückstand aus Wasser lyophilisiert, farbloses Pulver (Ammoniumsalz), 4.12 g (72%) **7**, *E/Z*-Isomere = 1:1, $R_f = 0.25$ (Laufmittel *E*). Die Überführung in die freie Säure erfolgt durch Behandlung mit einem Überschuß an saurem Ionenaustauscher (Amberlite IR 120, H⁺) unter Kühlung und anschließendem Lyophilisieren; Zers.P. 175-179 °C (Wasser/Ethanol), $[\alpha]_D^{20} = -71$ ($c = 1.1$, Wasser). - ¹H NMR (500 MHz, D₂O, NH₄⁺-Salz): $\delta = 2.04, 2.05$ (2 s, 3 H, Ac), 3.12 (d, 1 H, $J_{3a,3b} = 18.4$ Hz, 3-H_a), 3.56 (d, 1 H, 3-H_b), 3.61 (dd, 1 H, $J_{7,8} = 9.0$ Hz, 7-H), 3.66 (dd, 1 H, $J_{9,9'} = 11.8$ Hz, 9'-H), 3.77 (ddd, 1 H, $J_{8,9} = 2.8$ Hz, $J_{8,9'} = 6.2$ Hz, 8-H), 3.86 (dd, 1 H, 9-H), 4.15 (dd, 0.5 H, $J_{6,7} = 1.2$ Hz, 6-H), 4.17 (dd, 0.5 H, 6-H), 4.99 (d, 0.5 H, $J_{5,6} = 9.5$ Hz, 5-H), 5.00 (d, 0.5 H, 5-H). - ¹H NMR (300 MHz, D₂O, Säure): $\delta = 1.90$ (s, 3 H, NAc), 3.07 (d, 0.5 H, 3-H_a), 3.08 (d, 0.5 H, 3-H_b), 3.50 (d, 1 H, $J_{3a,3b} = 18.9$ Hz, 3-H_b), 3.51 (dd, 1 H, $J_{8,9'} = 6$ Hz, 9'-H), 3.71 (dd, 1 H, $J_{8,9} = 2.7$ Hz, $J_{9,9'} = 11.7$ Hz, 9-H), 4.01 (dd, 0.5 H, $J_{6,7} = 1$ Hz, 6-H), 4.03 (dd, 0.5 H, 6-H), 4.85 (d, 0.5 H, $J_{5,6} = 10$ Hz, 5-H), 4.86 (d, 0.5 H, 5-H). - ¹³C NMR (75.47 MHz, D₂O, NH₄⁺-Salz): $\delta = 24.72, 24.74$ (1 C, 2 CH₃), 47.36, 47.71 (1 C, 2 C-3), 51.36, 51.46 (1 C, 2 C-5), 65.88 (1 C, C-9), 71.23, 71.52, 71.75, 71.84, 73.39 (3 C, C-6, C-7, C-8), 107.21, 107.27 (1 C, 2 C-2), 161.69, 161.74 (1 C, 2 C-4), 176.57, 176.70 (2 C, 2 C=O). - C₁₁H₁₈N₂O₉ (322.3, Säure) Ber. C 40.99 H 5.63 N 8.69. - Gef. C 40.91 H 5.71 N 7.99.

5-Acetamido-3,4,5-tridesoxy-4-(E/Z)-hydroxyimino-D-manno-2-nonulopyranosonsäure-methylester (7a): Die Säure **7** (200 mg, 0.62 mmol) wird in absol. Methanol (65 ml) suspendiert und saurer Ionenaustauscher (10 ml, Amberlite, IR 120, H⁺, ausgewaschen mit absol. Methanol) zugegeben. Die Mischung wird bei Raumtemp. gerührt, nach 2 h zeigt das DC (Laufmittel I) völligen Umsatz zu einem Produkt mit $R_f = 0.28$. Nach Abfiltrieren, Zugabe von Wasser und Abdestillieren von Methanol wird aus Wasser lyophilisiert; 195 mg (94%) **7a**. Gemäß dem ¹H NMR-Spektrum liegt ein Gemisch von E/Z-Isomeren im Verhältnis 1:1 vor. - ¹H NMR (300 MHz, D₂O): $\delta = 1.92$ (s, 3 H, NAc), 3.12 (d, 0.5 H, 3-H_a), 3.13 (d, 0.5 H, 3-H_a), 3.47 - 3.74 (m, 4 H, 7-H, 8-H, 9-H, 9'-H), 3.53 (d, 1 H, $J_{3a,3b} = 18.9$ Hz, 3-H_b), 3.76 (s, 3 H, OCH₃), 4.04 (dd, 0.5 H, 6-H), 4.06 (dd, 0.5 H, $J_{6,7} = 1$ Hz, 6-H), 4.87 (d, 0.5 H, 5-H), 4.88 (d, 0.5 H, $J_{5,6} = 10$ Hz, 5-H).

5-Acetamido-4-NO-acetyl-2,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,4,5-tridesoxy-4-(E/Z)-oximino- α,β -D-manno-2-nonulopyranosonsäure-methylester (7b): Verbindung **7a** (195 mg, 0.583 mmol) wird unter Kühlung mit einer Mischung aus Pyridin (25 ml) und Essigsäureanhydrid (25 ml) acetyliert. Nach 24 h zeigt die DC-Kontrolle (Ethylacetat) vollständigen Umsatz und ein Produktgemisch mit $R_f = 0.40$ und 0.33, welche den beiden isomeren α,β -Acetaten von **7b** entsprechen. Pyridin und Essigsäureanhydrid werden i. Vak. abdestilliert und der Rückstand über Kieselgel chromatographiert. Mit Diethylether/Ethylacetat (6:4, v/v), 300 ml und (1:1, v/v) 300 ml als Laufmittel isoliert man **7b** (86 mg), Harz, $R_f = 0.4$ (Ethylacetat), nach ¹H NMR-Spektrum 2 isomere Oximacetate von 1 Anomeren (siehe unten), sowie 178 mg einer Mischung bestehend aus 2 Anomeren und 2 isomeren Oximacetaten (4 Substanzen), gesamt: 264 mg (83%), **7b**, Harz. - ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 1.99$, 2.00, 2.05, 2.08, 2.13, 2.14 (6 s, 18 H, 1 NAc, 5 OAc), 3.39 (d, 0.33 H, $J_{3a,3b} = 18.9$ Hz, 3-H_a), 3.83 (d, 0.33 H, 3-H_b), 3.83 (s, 2 H, OCH₃), 3.96 (s, 1 H, OCH₃), 4.07 (dd, 1H, $J_{9,9'} = 12.3$ Hz, 9'-H), 4.27 (dd, 1 H, H-9), 5.09 (d, 0.33 H, $J_{5,6} = 9.0$ Hz, 5-H), 5.10 (ddd, 1 H, $J_{8,9} = 3.1$ Hz, $J_{8,9'} = 5.7$ Hz, 8-H), 5.44 (dd, 0.33 H, $J_{7,8} = 8.0$ Hz, 7-H), 5.46 (d, 0.66 H, $J_{5,6} = 8.3$ Hz, 5-H), 5.51 (dd, 0.66 H, $J_{7,8} = 7.7$ Hz, 7-H), 5.57 (dd, 0.33 H, $J_{6,7} = 2.5$ Hz, 6-H), 5.60 (dd, 0.66 H, $J_{6,7} = 2.8$ Hz, 6-H). - MS (70 eV), m/z (%): 546.169940 (6) [M⁺], m/z :_{ber} 546.1697; m/z (%): 487.153946 (10) [M⁺-AcO⁻], m/z :_{ber} 487.1564. - C₂₂H₃₀N₂O₁₄ (546.5) Ber. C 48.35 H 5.53 N 5.12. - Gef. C 48.26 H 5.59 N 5.34.

5-Acetamido-4-NO-acetyl-7,8,9-tri-O-acetyl-2,6-anhydro-3,4,5-tridesoxy-4-oximino-D-manno-non-2-ensäure-methylester (8a): Verbindung **7b** (0.254 g, 0.483 mmol) wird in Eisessig (4 ml) und Essigsäureanhydrid (2 ml) gelöst und unter Eiskühlung trockenes HCl-Gas bis zur Sättigung eingeleitet. Nach 12 h (Eisbad) wird schonend i. Vak. unter Ausschluß von Luftfeuchtigkeit HCl abrotiert und anschließend unter Toluol-Zusatz restliche Essigsäure und Essigsäureanhydrid abdestilliert. Den in absol. Methanol (10 ml) gelösten Rückstand läßt man nach Zugabe von Molekularsieb 3 Å bei 0 °C 1 d stehen. Nach Abfiltrieren und schonendem Einengen des Filtrats wird der Rückstand durch Lösen in Pyridin/Essigsäureanhydrid (40 ml, 1:1, v/v) nachacetyliert (24 h) und die Aufarbeitung wie bei **7b** vorgenommen. Der in Chloroform (100 ml) gelöste Rückstand wird zweimal mit Wasser extrahiert. Nach Abdestillieren des Lösungsmittels wird der Rückstand über Kieselgel (30 g) chromatographiert. Mit Laufmittel H (600 ml) eluiert man **8a** (0.197 g, 84%), Harz; $R_f = 0.22$ (Laufmittel H), $[\alpha]_D^{20} = +9$ ($c = 1.0$, CHCl₃). Aus den ¹H- und ¹³C NMR-Daten folgt, daß **8a** einheitlich ist. - ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): $\delta = 1.96$, 1.98, 2.02, 2.11 (5 s, 15 H, 4 OAc, 1 NAc), 3.93 (s, 3 H, OCH₃), 4.03 (dd, 1 H, $J_{9,9'} = 12.6$ Hz, 9'-H), 4.23 (dd, 1 H, 9-H), 5.07 (ddd, 1 H, $J_{8,9} = 2.6$ Hz, $J_{8,9'} = 5.4$ Hz, 8-H), 5.44 (dd, 1 H, $J_{5,6} = 8.8$ Hz, 5-H), 5.48 (dd, 1 H, $J_{7,8} = 7.9$ Hz, 7-H), 5.57 (dd, 1 H, $J_{6,7} = 2.8$ Hz, 6-H), 6.62 (d, 1 H, $J_{NH,5} = 9.3$ Hz, NH), 6.92 (s, 1 H, 3-H). - ¹³C NMR (75.47 MHz, CDCl₃): $\delta = 20.53$, 20.66, 20.70, 20.80, 23.04 (5 C, 5 CH₃), 46.03 (1 C, C-5), 52.97 (1 C, OCH₃), 61.91 (1 C, C-9), 68.03, 68.69, 70.37 (3 C, C-6, C-7, C-8), 108.93 (1 C, C-3), 156.85 (1 C, C-2), 160.42 (1 C, C-4), 162.29 (1 C, C-1), 169.75, 169.90, 169.97, 170.04, 170.60 (5 C, 5 C=O). - MS (70 eV), m/z (%): 486 (2) [M⁺], m/z :_{ber} 486.4; m/z (%): 426.128606 (4) [M⁺-

HOAc], m/z :_{ber.} 426.1274. - $C_{20}H_{22}N_2O_{12}$ (486.4) Ber. C 49.38 H 5.38 N 5.75. - Gef. C 49.06 H 5.53 N 5.86.

5-Acetamido-2,6-anhydro-3,4,5-tridesoxy-4-hydroxyimino-D-manno-non-2-ensäure (8): Verbindung **8a** (60 mg, 0.12 mmol) löst man in Methanol (3 ml) und gibt unter Eiskühlung 0.5 N Natronlauge (8 ml) zu. Nach 12 h zeigt die DC-Kontrolle (Laufmittel E, UV-Detektion) ein Produkt mit $R_f = 0.22$. Nach Verdünnen mit Wasser wird mit Ionenaustauscher, (Amberlite IR 120, H⁺), entionisiert, das wässrige Filtrat eingengt und lyophilisiert, man erhält 31 mg (85%) Verbindung **8**. Eine zusätzliche Reinigung kann durch Anionenaustausch und Elution mit einem Ameisensäuregradienten erreicht werden; $[\alpha]_D^{20} = -71$ ($c = 0.75$, H₂O). Aus den ¹H NMR-Daten folgt, daß **8** einheitlich und kein Gemisch von *E/Z*-Isomeren ist. - ¹H NMR (300 MHz, D₂O): $\delta = 1.95$ (s, 3 H, NAc), 3.60 (dd, 1 H, $J_{9,9'} = 12.8$ Hz, 9'-H), 3.65 (d, 1 H, $J_{7,8} = 8$ Hz, 7-H), 3.69 (ddd, 1 H, $J_{8,9} = 2.4$ Hz, $J_{8,9'} = 6$ Hz, 8-H), 3.76 (dd, 1 H, 9-H), 4.14 (d, 1 H, $J_{6,7} = 1$ Hz, 6-H), 5.19 (d, 1 H, $J_{5,6} = 9.3$ Hz, 5-H), 6.96 (s, 1 H, 3-H). - FAB(-)-MS: m/z :_{ber.} 304, m/z :_{gef.} 303 (M-1). - $C_{11}H_{16}N_2O_8 + H_2O$ (304.2) Ber. C 41.03 H 5.38 N 8.70. - Gef. C 40.82 H 5.86 N 8.57.

5-Acetamido-4-amino-3,4,5-tridesoxy-D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosonsäure (9) und Epimerengemisch 12a,b [**5-Acetamido-4-amino-3,4,5-tridesoxy-D-erythro-L-allo-nonansäure (12a)** und **-D-erythro-L-altro-nonansäure (12b)**]: Die Säure **7** (400 mg, 1.24 mmol, Säure) wird in 0.1 N Salzsäure (30 ml) gelöst, 10% Palladium/Kohle (50 mg) zugegeben und 2-3 h hydriert. Die DC-Kontrolle (Laufmittel A) zeigt das Verschwinden des Edukts und 1-2 sehr ähnliche Spots mit $R_f = 0.2 - 0.25$, welche **9** und **12a,b** entsprechen, sowie 1-2 Spots mit $R_f = 0.4 - 0.45$, welche einem nicht einheitlichen Nebenprodukt zugeordnet werden. Der Hydrieransatz wird über Celite von Palladium/Kohle abfiltriert und das Filtrat auf 100 ml eingengt. Zwecks Entfernung der Chlorid-Ionen gibt man die kalte Lösung über Anionen-Austauscher (Dowex 1x4, Acetatform, 25 ml) und eluiert mit Wasser (500 ml). Während sich **9** und **12a,b** im wässrigen Durchlauf finden, wird das Nebenprodukt zum Teil gebunden. Nach Einengen der wässrigen Lösung wird lyophilisiert; man erhält 340 mg Produkt, welches **9**, **12a,b** und restliches Nebenprodukt enthält. - a) Eine Abtrennung der polaren Aminosäuren **9** und **12a,b** von dem Nebenprodukt kann durch Cellulose-Säulenchromatographie mit dem Laufmittel A durchgeführt werden. Der DC-Test der Fraktionen (Laufmittel A, Kieselgelfolie) und nachfolgende Aufarbeitung durch Abdampfen der Lösungsmittel i. Vak. ergibt aus Fr.Nr. 54-66: 100 mg Lyophilisat (Fraktion a) und aus Fr.Nr. 67-88: 150 mg Lyophilisat (Fraktion b). Die ¹H NMR-Analyse (500 MHz, D₂O) zeigt in Fraktion a ca. 70% Verbindung **9** und 30% Epimerengemisch **12a,b**, in Fraktion b weitgehend **12a,b**. Gesamtausbeute an hydrierten Produkten **9**, **12a,b**: 250 mg (62% bez. auf **7**). Durch Integration der gut getrennten Signale von 3-H_a, 3-H_b und 5-H im ¹H NMR-Spektrum von **9** und **12a,b** kann das Molverhältnis annähernd geschätzt werden: **9:12a:12b** = 43:39:17. Dies entspricht 107 mg (27%) Ausbeute an **9** und 143 mg (35%) Ausbeute an **12a,b**. - b) Die Abtrennung von reinem **12a,b** (Epimerengemisch) gelingt besser, wenn die zuvor erhaltenen 340 mg Produktgemisch zuerst mit Laufmittel B und dann mit Laufmittel A über eine Cellulose-Säule getrennt werden; **12a,b** erscheint in den höheren Fraktionen stark angereichert, Reste von **9** können leicht durch Anionenaustausch entfernt werden. Zu diesem Zweck werden aus den entsprechenden, vereinigten Fraktionen durch wiederholtes, schonendes Abdestillieren unter Wasserzusatz die Lösungsmittel i. Vak. abdestilliert und die gekühlte, wässrige Lösung über Dowex 1x4, Bicarbonatform (20 ml), gegeben, wobei Reste von **9** und Essigsäure gebunden werden. **12a,b** befindet sich im wässrigen Durchlauf und wird durch Lyophilisieren isoliert: 80 mg, Epimerengemisch aus **12a** und **12b** im Verhältnis 7:3 (Integration der 3-H-Reportersignale). Die beiden Epimeren konnten nicht getrennt werden. - **12a,b**: $R_f = 0.2$ (Laufmittel A). - ¹H NMR (500 MHz, D₂O): $\delta = 1.70$ (ddd, 0.7 H, $J_{3a,3b} = 14.8$ Hz, $J_{3a,4} = 10.1$ Hz, 3-H_a), 1.90 (ddd, 0.3 H, $J_{3a,3b} = 14.8$ Hz, $J_{3a,4} = 10.8$ Hz, 3-H_a), 1.99 (ddd, 0.3 H, $J_{3b,4} = 2.2$ Hz, 3-H_b), 2.06, 2.07 (2 s, 3 H, 2 NAc), 2.19 (ddd, 0.7 H, $J_{3b,4} = 2.6$ Hz, 3-H_b), 3.47 (dd, 0.3 H, $J_{7,8} = 9$ Hz, 7-H), 3.48 (dd, 0.7 H, $J_{7,8} = 9.1$ Hz, 7-H), 3.64 (dd, 0.3 H, $J_{9,9'} = 11.6$ Hz, 9-H), 3.65 (dd, 0.7 H, $J_{9,9'} = 11.8$ Hz, 9-H), 3.73 (ddd, 0.3 H, $J_{8,9} = 6.2$ Hz, $J_{8,9'} = 2.7$ Hz, 8-H), 3.74 (ddd, 0.7 H, $J_{8,9} = 6.2$ Hz, $J_{8,9'} = 2.8$ Hz, 8-H), 3.84 (dd, 0.3 H, 9'-H), 3.85 (dd, 0.7 H, 9'-H), 3.89 (ddd, 0.7 H, $J_{4,5} = 3.4$ Hz, 4-H), 3.92 (dd, 0.3 H, $J_{6,7} = 0.6$ Hz, 6-H), 3.96 (dd, 0.7 H,

$J_{6,7} = 0.7$ Hz, 6-H), 4.21 (dd, 0.7 H, $J_{2,3a} = 10$ Hz, $J_{2,3b} = 3.8$ Hz, 2-H), 4.23 (dd, 0.3 H, $J_{2,3a} = 4.1$ Hz, $J_{2,3b} = 7.4$ Hz, 2-H), 4.35 (dd, 0.3 H, $J_{4,5} = 3.7$ Hz, $J_{5,6} = 10.2$ Hz, 5-H), 4.39 (dd, 0.7 H, $J_{5,6} = 10.2$ Hz, 5-H). - ^{13}C NMR (125 MHz, D_2O): $\delta = 24.82$ (CH_3), 33.62, 33.71 (2 C-3), 53.49, 54.09, 55.65 (C-4, C-5), 65.99 (C-9), 70.71, 71.86, 72.34, 73.31, 74.24 (C-2, C-6, C-7, C-8), 177.88, 177.93, 182.71, 182.85 (2 C-1, 2 C=O). - FAB(-)-MS, m/z :_{ber.} 310, m/z :_{gef.} 309 (M-1). - c) Die Abtrennung von 4-Amino-4-desoxy-Neu5Ac **9** gelingt leicht durch Anionenaustausch. Durch Hydrierung von **7** (960 mg) und Entionisierung über Dowex 1x4, Acetatform, werden, wie zuvor beschrieben, 820 mg Lyophilisat erhalten, welches **9**, **12a,b** und einen Teil der Nebenprodukte enthält. Die wässrige Lösung gibt man auf Dowex 1x4, Bicarbonatform (70 ml), und eluiert mit Wasser (500 ml); der wässrige Durchlauf enthält **12a,b** und Nebenprodukte. Gradientenelution mit Ammoniumbicarbonatgradient: Wasser \rightarrow NH_4HCO_3 in Wasser (0.4 M) ergibt (DC-Test mit Laufmittel *E*) 285 mg Lyophilisat, welches erneut über Anionenaustausch getrennt wird: 1. Wässriger Durchlauf (400 ml) wird verworfen; 2. NH_4HCO_3 -Gradient: a) Wasser \rightarrow NH_4HCO_3 in Wasser (0.05 M); b) NH_4HCO_3 in Wasser (0.05 M \rightarrow 0.15 M). DC-Test und Aufarbeitung der Fraktionen erfolgt, wie zuvor beschrieben und ergibt: Fraktion *a* (Fr.Nr. 1-12): 39 mg (Lyophilisat), Fraktion *b* (Fr.Nr. 13-28): 48 mg, Fraktion *c* (Fr.Nr. 29-49): 62 mg. Nach der ^1H NMR-Analyse sind Fraktion *a* und *b* nahezu reines **9**, Fraktion *c* ist nicht einheitlich und kann für eine erneute Trennung verwendet werden. **9**: $R_f = 0.2$ (Laufmittel *A*), $[\alpha]_D^{20} = -35$ ($c = 0.8$, H_2O). - ^1H NMR (500 MHz, D_2O): $\delta = 2.06$ (dd, 1 H, $J_{3a,3b} = 13$ Hz, $J_{3a,4} = 12.4$ Hz, 3- H_a), 2.09 (s, 3 H, NAc), 2.31 (dd, 1 H, $J_{3b,4} = 4.5$ Hz, 3- H_b), 3.57 (dd, 1 H, $J_{7,8} = 9.2$ Hz, 7-H), 3.64 (dd, 1 H, $J_{9,9'} = 11.9$ Hz, 9-H), 3.75 (ddd, 1 H, $J_{4,5} = 10.2$ Hz, 4-H), 3.79 (ddd, 1 H, $J_{8,9} = 6.2$ Hz, $J_{8,9'} = 2.6$ Hz, 8-H), 3.86 (dd, 1 H, 9'-H), 4.17 (dd, 1 H, $J_{6,7} = 0.6$ Hz, 6-H), 4.21 (dd, 1 H, $J_{5,6} = 10.2$ Hz, 5-H); α -Form: $\delta = 1.81$ (dd, $J_{3a,3b} = 13.2$ Hz, $J_{3a,4} = 11.8$ Hz, 3- H_a), 2.78 (dd, $J_{3b,4} = 4.5$ Hz, 3- H_b). Verbindung **9** enthält etwa 7% von der α -Form. - ^{13}C NMR (75.47 MHz, D_2O): $\delta = 24.99$ (1 C, CH_3), 38.23 (1 C, C-3), 50.81, 52.26 (2 C, C-4, C-5), 66.02 (1 C, C-9), 71.07, 72.59, 72.97 (3 C, C-6, C-7, C-8), 97.93 (1 C, C-2), 177.84, 178.57 (2 C, 2 C=O). - FAB(-)-MS: m/z :_{ber.} 308, m/z :_{gef.} 307 (M-1). - $\text{C}_{11}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_8 + 0.5 \text{H}_2\text{O}$ (308.3) Ber. C 41.64 H 6.67 N 8.82. - Gef. C 41.32 H 6.83 N 8.57.

Die Aminosäure **9** wird nach bekannten Methoden peracetyliert; nach FAB(+)-MS entstehen unter Einführung von fünf Acetylgruppen das Hexaacetylderivat von **9** (m/z :_{ber.} 518, m/z :_{gef.} 519 (M+1)). Das Epimerengemisch **12a,b** wird ebenfalls, wie oben, nach bekannten Methoden peracetyliert. Nach FAB(+)-MS entsteht unter Einführung von vier Acetylgruppen ein peracetyliertes Lactam (m/z :_{ber.} 502, m/z :_{gef.} 503 (M+1)). **12a,b** wird nach bekannten Methoden in den Methylester überführt und anschließend peracetyliert, wodurch gemäß FAB(+)-MS zusätzlich sechs Acetylgruppen eingeführt werden (m/z :_{ber.} 576, m/z :_{gef.} 577 (M+1)).

4,5-Diacetamido-3,4,5-tridesoxy-D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosonsäure (11a): Die Aminosäure **9** (8 mg, 0.026 mmol) wird in Wasser (0.5 ml) und Methanol (0.1 ml) gelöst und portionsweise Essigsäureanhydrid und Natriumhydrogencarbonat unter Kühlung und Rühren zugegeben, bis der DC-Test das völlige Verschwinden des Edukts und ein Produkt mit $R_f = 0.38$ (Laufmittel *E*) zeigt. Nach Verdünnen mit Wasser wird mehrfach i. Vak. schonend eingengt, die verdünnte, gekühlte Lösung über Kationen-Austauscher (Amberlite IR 120, H^+) gegeben und lyophilisiert, 7.9 mg (85%) **11a**, $[\alpha]_D^{20} = -49$ ($c = 0.65$, H_2O). Die ^1H NMR-Daten stimmen mit den von Zbiral angegebenen Werten überein^{10a}. - ^1H NMR (500 MHz, D_2O): $\delta = 1.93$ (ddd, 1 H, $J_{3a,3b} = 13.3$ Hz, $J_{3a,4} = 12.9$ Hz, 3- H_a), 1.96, 1.99 (2 s, 6 H, 2 NAc), 2.17 (dd, 1 H, $J_{3b,4} = 4.5$ Hz, 3- H_b), 3.58 (dd, 1 H, $J_{7,8} = 9.4$ Hz, 7-H), 3.62 (dd, 1 H, 9-H), 3.76 (ddd, 1 H, $J_{8,9} = 6.3$ Hz, $J_{8,9'} = 2.6$ Hz, 8-H), 3.84 (dd, 1 H, $J_{9,9'} = 11.8$ Hz, 9'-H), 4.00 (dd, 1 H, $J_{5,6} = 10.7$ Hz, 5-H), 4.18 (dd, 1 H, $J_{6,7} = 0.6$ Hz, 6-H), 4.35 (ddd, 1 H, $J_{4,5} = 10.7$ Hz, 4-H).

5-Acetamido-4-benzamido-3,4,5-tridesoxy-D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosonsäure (11b): Die Aminosäure **9** (39 mg, 0.126 mmol) wird in Wasser (1.0 ml) und Methanol (1.0 ml) gelöst und Triethylamin

(100 mg) zugegeben. Man gibt portionsweise unter Kühlung und Rühren Benzoesäureanhydrid zu, bis der DC-Test (Laufmittel *E*) vollständigen Umsatz und ein Produkt mit $R_f = 0.36$ zeigt. Die mit Wasser verdünnte Lösung wird i. Vak. eingeeengt, die gekühlte Lösung kalt über Kationen-Austauscher (wie bei **11a**) gegeben, mit viel Wasser nachgewaschen und die wässrige Lösung zweimal mit Ethylacetat extrahiert, um Benzoesäure zu entfernen. Eine zusätzliche Reinigung kann durch Anionenaustausch und Elution mit Ameisensäuregradient erfolgen. Nach Lyophilisieren 42 mg (81%) **11b**, $[\alpha]_D^{20} = -18$ ($c = 0.9$, H_2O). - 1H NMR (500 MHz, D_2O): $\delta = 1.90$ (s, 3 H, NAc), 2.05 (dd, 1 H, $J_{3a,3b} = 12.8$ Hz, $J_{3a,4} = 12.8$ Hz, 3- H_a), 2.23 (dd, 1 H, $J_{3b,4} = 4.6$ Hz, 3- H_b), 3.61 (dd, 1 H, $J_{7,8} = 9.4$ Hz, 7-H), 3.62 (dd, 1 H, $J_{9,9'} = 11.8$ Hz, 9'-H), 3.77 (ddd, 1 H, $J_{8,9} = 2.6$ Hz, $J_{8,9'} = 7.4$ Hz, 8-H), 3.84 (dd, 1 H, 9-H), 4.16 (dd, 1 H, $J_{5,6} = 10.6$ Hz, 5-H), 4.25 (dd, 1 H, $J_{6,7} = 0.6$ Hz, 6-H), 4.58 (ddd, 1 H, $J_{4,5} = 10.6$ Hz, 4-H), 7.47 - 7.69 (m, 5 H, arom. H). - FAB(-)-MS, m/z :_{ber.} 412, m/z :_{gef.} 411 (M-1). - $C_{18}H_{24}N_2O_9$ (412.4) Ber. C 52.42 H 5.86 N 6.79. - Gef. C 52.11 H 5.70 N 6.56.

1-Desoxy-1-nitro-D-mannitol (**13**): Nach Literaturvorschrift³² wird aus D-Arabinose, Natriummethanolat und Nitromethan ein Epimerengemisch aus 1-Desoxy-1-nitro-D-mannitol und 1-Desoxy-1-nitro-D-glucitol erhalten. Zur Gewinnung von reinem **13** wird zunächst mehrfach aus Ethanol umkristallisiert; durch Lösen in wenig warmen Wasser, Zugabe von Ethanol und langsame Kristallisation wird schließlich (laut 1H NMR-Spektrum) epimerenfreies **13** erhalten, Schmp: 130-133 °C (Lit.³² 133-134 °C). - 1H NMR (300 MHz, D_2O): $\delta = 3.60$ -3.87 (m, 5 H, 3-H, 4-H, 5-H, 6-H, 6'-H), 4.38 (ddd, 1 H, 2-H), 4.62 (dd, 1 H, $J_{1,1'} = 12.9$ Hz, $J_{1,2} = 8.9$ Hz, 1'-H), 4.92 (dd, 1 H, $J_{1,2} = 2.8$ Hz, 1-H).

3,4-Didesoxy-4-(E/Z)-hydroxyimino-D-manno-2-nonulopyranosonsäure (NH_4^+ -Salz, **15**): 1-Desoxy-1-nitro-D-mannitol **13**³² (3.0 g, 14.2 mmol) wird in Hexamethyldisilazan (14 g, 85 mmol, 18 ml) suspendiert und nach Zugabe von N,O-Bis-trimethylsilylacetamid (0.5 ml) und DMF auf 60-70 °C erhitzt. Nach 30 min werden alle flüchtigen Komponenten im Ölpumpenvakuum abdestilliert und zweimal mit DMF kodestilliert. Den erhaltenen Sirup (**13a**) löst man in Dichlormethan (50 ml) und gibt **3** (6.6 g, 28.4 mmol), Phenylisocyanat (5.1 g, 42.6 mmol) und Triethylamin (0.1 g) zu. Nach 15 h wird Wasser (20 ml) zugegeben und 2 d gerührt. Über Celite wird von schwerlöslicher Substanz abfiltriert, mit Wasser nachgewaschen und nach Abtrennung der wässrigen Phase diessselbe mit Ethylacetat extrahiert. Abtrennung von Pyruvat erfolgt durch Anionenaustausch-Chromatographie über AG MP-1-Ionenaustauscher (200-400 mesh, BIO-RAD, Bicarbonatform, 250 ml) mittels Bicarbonatgradient: Wasser $\rightarrow NH_4HCO_3$ in Wasser (0.4 M). Die Fraktionen werden mit dem Laufmittel *D* ausgetestet. Nach schonendem Einengen der vereinigten Fraktionen und zweifachem Lyophilisieren erhält man 2.88 g (70%) **15**, Ammoniumsalz, Harz. Aus den 1H NMR-Daten folgt, daß **15** als Isomerengemisch ($E:Z = 1:1$) vorliegt. $R_f = 0.37$ (Laufmittel *D*), $[\alpha]_D^{20} = +15$ ($c = 3.65$, H_2O). Die durch Entionisierung von **15** (Ammoniumsalz) erhaltene freie Säure ist laut 1H NMR-Analyse instabil. - 1H NMR (500 MHz, D_2O , NH_4^+ -Salz): $\delta = 3.15$ (d, 0.5 H, $J_{3a,3b} = 18.5$ Hz, 3- H_a), 3.21 (d, 0.5 H, $J_{3a,3b} = 18.5$ Hz, 3- H_a), 3.58 (d, 0.5 H, 3- H_b), 3.62 (d, 0.5 H, 3- H_b), 3.70 (dd, 0.5 H, $J_{8,9'} = 6.2$ Hz, $J_{9,9'} = 11.8$ Hz, 9'-H), 3.71 (dd, 0.5 H, $J_{8,9'} = 6.2$ Hz, $J_{9,9'} = 11.8$ Hz, 9'-H), 3.79 (ddd, 1 H, 8-H), 3.85 (dd, 0.5 H, $J_{7,8} = 8.9$ Hz, 7-H), 3.86 (dd, 0.5 H, $J_{7,8} = 8.9$ Hz, 7-H), 3.89 (dd, 0.5 H, $J_{8,9} = 3.3$ Hz, 9-H), 3.895 (dd, 0.5 H, $J_{8,9} = 3.3$ Hz, 9-H), 3.99 (dd, 0.5 H, $J_{6,7} = 1.2$ Hz, 6-H), 4.01 (dd, 0.5 H, $J_{6,7} = 1.2$ Hz, 6-H), 4.62 (d, 0.5 H, $J_{5,6} = 9.2$ Hz, 5-H), 4.63 (d, 0.5 H, $J_{5,6} = 9.2$ Hz, 5-H). - ^{13}C NMR (75.47 MHz, D_2O , NH_4^+ -Salz): $\delta = 45.42$, 45.25 (1 C, 2 C-3), 64.82 (1 C, C-9), 68.00, 68.12, 70.46, 70.50, 71.20, 71.43, 72.35 (4 C, C-5, C-6, C-7, C-8), 105.94, 105.99 (1 C, 2 C-2), 162.64, 162.82 (1 C, 2 C-4), 175.46, 175.56 (1 C, 2 C-1). - FAB(-)-MS, m/z :_{ber.} 281, m/z :_{gef.} 280 (M-1). - $C_9H_{15}NO_9 + NH_3$ (298.2, Ammoniumsalz) Ber. C 36.24 H 6.08 N 9.39. - Gef. C 35.91 H 6.22 N 9.21.

4-Amino-3,4-didesoxy-D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosonsäure (**16**) und Epimerengemisch **19a,b** [*4-Amino-3,4-didesoxy-D-erythro-L-allo-nonansäure* (**19a**) und *-D-erythro-L-altro-nonansäure* (**19b**)]: Ver-

bindung **15** (NH_4 -Salz, 268 mg, 1 mmol) löst man in Wasser (100 ml) und überführt durch Einwirkung von saurem Ionenaustauscher (Amberlite IR-120, H^+ , 15 ml) unter Kühlung in die freie Säure. Nach Filtration vom Austauscher wird umgehend auf 50 ml eingeeengt, 1 N Salzsäure (1.1 ml) sowie 10% Palladium/Kohle (30 mg) zugegeben und 12–14 min (bis zur Beendigung der schnellen H_2 -Aufnahme) hydriert. Die DC-Kontrolle (Laufmittel A) zeigt vollständigen Umsatz und einen starken, verbreiterten Spot mit $R_f = 0.16$ – 0.37 , welcher **16** und **19a,b** entspricht, sowie einen Spot mit $R_f = 0.58$, welcher einem nicht einheitlichen Nebenprodukt zugeordnet wird. Der Hydrieransatz wird über Celite filtriert, mit Wasser nachgewaschen und die gekühlte Lösung über Dowex 1x4, Acetatform, (60 ml), gegeben. Der Durchlauf (700 ml) wird eingeeengt und über Dowex 1x4, Bicarbonatform, (50 ml) gegeben. Im Durchlauf (600 ml) findet man unpolares Nebenprodukt und **19a**, zusammen 53 mg Lyophilisat. Die Elution mit NH_4HCO_3 -Gradient: Wasser \rightarrow NH_4CO_3 -Lösung in Wasser (0.3 M) ergibt eine Mischung von **16** und **19b**, sowie wenig Nebenprodukt, zusammen 160 mg Lyophilisat. Aus der Integration der 3-H Reportersignale im ^1H NMR-Spektrum ($\delta = 1.7$ – 2.3) entsprechender Produktgemische läßt sich die Ausbeute an hydrierten Produkten **16** und **19a,b** mit etwa 50–60% abschätzen; 4-Amino-4-desoxy-KDN **16** entsteht mit etwa 25% Ausbeute. - Da eine Abtrennung und Reinisolierung von **16** durch Anionenaustausch nicht gelingt, muß Cellulose-Säulenchromatographie verwendet werden, welche jedoch verlustreich ist und zu einer Ausbeuteverminderung führt. **15** (NH_4^+ -Salz, 560 mg, 2.1 mmol) wird, wie zuvor beschrieben, hydriert und weiterverarbeitet; nach Lyophilisieren 407 mg. Die Abtrennung von restlichen Nebenprodukten erfolgt durch Cellulose-Säulenchromatographie mit Laufmittel A. Man isoliert 180 mg Lyophilisat, welches aus **16** und **19a,b** im Verhältnis 40:33:23 besteht (^1H NMR). Zwecks Abtrennung von reinem **16** wird Cellulose-Säulenchromatographie mit dem Laufmittel G durchgeführt. Ausgehend von 180 mg Lyophilisat erhält man eine Fraktion a: 17 mg, bestehend aus **19a,b**; b: 22 mg, bestehend aus 70% **16** und 30% **19a,b**; c: 39 mg reine Verbindung **16**, $R_f = 0.25$ (Laufmittel F), $R_f = 0.18$ (Laufmittel A), $[\alpha]_D^{20} = -33$ ($c = 0.5$, H_2O). - ^1H NMR (500 MHz, D_2O): $\delta = 2.06$ (dd, 1 H, $J_{3a,3b} = 12.9$ Hz, $J_{3a,4} = 12.7$ Hz, 3- H_a), 2.32 (dd, 1 H, $J_{3b,4} = 4.5$ Hz, 3- H_b), 3.68 (ddd, 1 H, $J_{4,5} = 10.1$ Hz, 4-H), 3.73 (dd, 1 H, $J_{9,9'} = 11.8$ Hz, 9-H), 3.82 (ddd, 1 H, $J_{8,9} = 2.7$ Hz, $J_{8,9'} = 6.1$ Hz, 8-H), 3.86 (dd, 1 H, $J_{5,6} = 9.7$ Hz, 5-H), 3.88 (dd, 1 H, $J_{7,8} = 9.1$ Hz, 7-H), 3.91 (dd, 1 H, 9'-H), 4.08 (dd, 1 H, $J_{6,7} = 1.0$ Hz, 6-H). - α -Anomeres: $\delta = 2.80$ (dd, $J_{3a,3b} = 11.8$ Hz, $J_{3b,4} = 4.5$ Hz, 3- H_b). - Verbindung **16** enthält etwa 7% α -Anomeres. - ^{13}C NMR (75.47 MHz, D_2O): $\delta = 36.98$ (1 C, C-3), 52.39 (1 C, C-4), 64.84 (1 C, C-9), 68.05, 69.53, 71.86, 73.18 (4 C, C-5, C-6, C-7, C-8), 96.73 (1 C, C-2), 177.47 (1 C, C-1). - FAB(-)-MS: m/z :_{ber.} 267, m/z :_{gef.} 266 (M-1). - $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{NO}_8 + \text{H}_2\text{O}$ (267.2) Ber. C 37.92 H 6.72 N 4.91. - Gef. C 37.60 H 6.88 N 4.98.

19a,b: ^1H NMR (500 MHz, D_2O): $\delta = 1.82$ (ddd, 0.63 H, $J_{3a,3b} = 15.1$ Hz, $J_{3a,4} = 10.2$ Hz, 3- H_a), 2.08–2.13 (m, 0.74 H, 3- H_a , 3- H_b), 2.28 (ddd, 0.63 H, $J_{3b,4} = 2.7$ Hz, 3- H_b). Der Rest des Spektrums ist nicht nach 1. Ordnung interpretierbar. - ^{13}C NMR (75.47 MHz, D_2O): $\delta = 31.41$, 31.64 (2 C, C-3), 52.93, 54.91 (2 C-4), 64.80 (C-9), 70.59, 70.66, 70.98, 71.02, 72.18 (C-2, C-5, C-6, C-7, C-8), 181.54, 181.72 (2 C-1). - FAB(-)-MS, m/z :_{ber.} 269, m/z :_{gef.} 268 (M-1).

4-Acetamido-3,4-didesoxy-D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosonsäure (**18**)^{31b,31c}: Die Aminosäure **16** (10 mg, 0.037 mmol) löst man in Wasser (10 ml) und gibt Methanol (0.5 ml) und Essigsäureanhydrid (0.3 ml) unter Rühren zu. Nach mehrfacher Zugabe von Natriumhydrogencarbonat und Essigsäureanhydrid zeigt der DC-Test (Laufmittel C) das völlige Verschwinden des Edukts und eine schnellerlaufende Substanz. Nach Verdünnen mit der zehnfachen Menge Wasser wird mehrfach schonend eingeeengt und kalt über einen Kationenaustauscher (10 ml, Amberlite IR 120, H^+) gegeben. Der wässrige Durchlauf wird bis auf 2 ml eingeeengt und lyophilisiert; 13.4 mg (86%) **18**. Eine zusätzliche Reinigung kann durch Anionenaustausch und Elution mit Ameisensäuregradient erreicht werden. $R_f = 0.22$ (Laufmittel C), $[\alpha]_D^{20} = -15$ ($c = 0.95$, H_2O). - ^1H NMR (300 MHz, D_2O): $\delta = 1.74$ (dd, 1 H, $J_{3a,3b} = 12.7$ Hz, $J_{3a,4} = 12.7$ Hz, 3- H_a), 1.92 (s, 3 H, NAc), 2.06 (dd, 1 H, $J_{3b,4} = 3.7$ Hz, 3- H_b), 3.55 (dd, 1 H, $J_{5,6} = 10.0$ Hz, 5-H), 3.60 (dd, 1 H, $J_{9,9'} = 11.6$ Hz, 9'-H), 3.67 (ddd, 1 H, $J_{8,9} = 2.5$ Hz, $J_{8,9'} = 6.3$ Hz, 8-H), 3.77 (dd, 1 H, 9-H), 3.78 (dd, 1 H, $J_{7,8} = 9.0$ Hz, 7-H), 3.98 (dd, 1 H, $J_{6,7} =$

1.0 Hz, 6-H), 4.16 (ddd, 1 H, $J_{4,5} = 10.0$ Hz, 4-H). - FAB(-)-MS, m/z :_{ber} 309, m/z :_{gef} 308 (M-1). - $C_{11}H_{19}NO_9 + 0.5 H_2O$ (309.3) Ber. C 41.51 H 6.33 N 4.40. - Gef. C 41.25 H 6.56 N 4.31.

3,5-Di-O-benzyliden-1-desoxy-1-nitro-D-arabinitol (20) und **3,5-Di-O-benzyliden-1-desoxy-1-nitro-D-ribitol (20')**: Die Nitroverbindungen **20** und **20'** werden entsprechend der Vorschrift von Sowden synthetisiert^{38a,38b}. Aus **4,6-Di-O-benzyliden-D-erythrose**^{38a} (9.6 g, 46 mmol) werden 13 g Rohprodukt erhalten, welches laut DC [$R_f = 0.2$ (**20**), $R_f = 0.3$ (**20'**), Diethylether/Hexan 3:1, v/v] die beiden Nitroverbindungen **20** und **20'** enthält. Nach Vorreinigung durch Kieselgelchromatographie (200 g, Diethylether/Hexan 3:1, v/v) werden die beiden epimeren Nitroverbindungen teilweise getrennt erhalten; Verbindung **20** kristallisiert direkt aus Diethylether: 3.8 g, Schmp. 138–140 °C (Lit.^{38a}: 138–142 °C), während das leichter lösliche **20'** nach Verdampfen der Lösemittel und Umkristallisieren (aus wenig Diethylether) erhalten wird: 1.75 g, Schmp. 106 °C (Lit.^{38a}: 106–107 °C). Zusätzlich werden 6 g einer Mischung der beiden epimeren Nitroverbindungen erhalten, welche erneut getrennt werden können. - **20**: 1H NMR (500 MHz, CD_3OD): $\delta = 3.60$ (A-Teil von ABX-System, 1 H, $J_{5,5'} = 10.4$ Hz, 5'-H), 3.61 (B-Teil von ABX-System, 1 H, 5-H), 3.92 (X-Teil von ABX-System, 1 H, $J_{4,5} = 6.0$ Hz, $J_{4,5'} = 3.7$ Hz, 4-H), 4.24 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 5.4$ Hz, 3-H), 4.61 (ABM-System, 1 H, 2-H), 4.66–4.76 (ABM-System, 2 H, 1-H, 1'-H), 5.50 (s, 1 H, PhCH), 7.30–7.36 (m, 3 H, arom. H), 7.44–7.49 (m, 2 H, arom. H). - **20'**: 1H NMR (300 MHz, CD_3OD): $\delta = 3.54$ –3.78 (m, ABC-System, 3 H, 4-H, 5-H, 5'-H), 4.21 (dd, 1 H, 3-H), 4.58–4.78 (m, ABM-System, 3 H, 1-H, 1'-H, 2-H), 5.52 (s, 1 H, PhCH), 7.31–7.37 (m, 3 H, arom. H), 7.44–7.50 (m, 2 H, arom. H).

3,4-Didesoxy-4-(E/Z)-hydroxyimino-D-arabino-2-octulopyranosonsäure (NH₄⁺-Salz, 22): Die Nitroverbindung **20** (2.0 g, 7.43 mmol) suspendiert man in Hexamethyldisilazan (6.9 ml, 30 mmol) und erwärmt unter Zugabe von DMF (3 ml) auf +70 °C, bis eine klare Lösung entsteht. Nach 30 min werden alle flüchtigen Komponenten i. Vak. abdestilliert und zweimal mit DMF kodestilliert. Den erhaltenen Sirup (**20a**) löst man in Dichlormethan (27 ml) und gibt **3** (3.44 g, 14.85 mmol), Phenylisocyanat (2.65 g, 22.3 mmol) und Triethylamin (0.2 g) zu. Nach 2 d zeigt die DC-Kontrolle im Vergleich zu nichtsilyliertem Edukt (Laufmittel J), daß weitgehender Umsatz zu **21** erfolgt ist; infolge partieller Desilylierung des Zwischenprodukts **21** erhält man 2–3 Spots. Nach Zugabe von Methanol (10 ml) und Wasser (40 ml) wird 15 h gerührt. Das DC (Laufmittel D) zeigt, daß vollständige Desilylierung erfolgt ist. Nach Verdünnen mit Wasser auf 300 ml wird über Celite filtriert und von der Dichlormethan-Lösung abgetrennt. Die wässrige Lösung (400 ml) wird mit saurem Ionenaustauscher (Amberlite IR 120, H⁺, 300 ml) gerührt, bis vollständige Deblockierung erfolgt ist (14 h, DC: Laufmittel D). Nach Abfiltrieren über Celite wird mit Ammoniak neutralisiert, i. Vak. eingengt und über Anionenaustauscher (AG MP-1, BIO-RAD Laboratories, Bicarbonatform, 100 ml) getrennt: Man eluiert mit einem Bicarbonat-Gradienten wie nachfolgend a) Wasser → b) NH₄HCO₃ in Wasser (0.4 M). Die Fraktionen werden mit dem Laufmittel D auf Kieselgelfolie ausgetestet. Nach schonendem Einengen und zweimaligem Lyophilisieren der vereinigten Fraktionen erhält man **22** (1.89 g, 95%), Ammoniumsalz, Harz. Aus den 1H NMR-Daten folgt, daß **22** als Isomerengemisch ($E:Z = 1:1$) vorliegt. DC: $R_f = 0.27$ (Laufmittel D), $[\alpha]_D^{20} = +9$ ($c = 3.1$, H₂O). - 1H NMR (500 MHz, D₂O, NH₄⁺-Salz): $\delta = 3.20$ (d, 0.5 H, $J_{3a,3b} = 18.6$ Hz, 3-H_a), 3.22 (d, 0.5 H, $J_{3a,3b} = 18.6$ Hz, 3-H_b), 3.63 (d, 1 H, 3-H_b), 3.74 (dd, 1 H, $J_{8,8'} = 11.7$ Hz, $J_{7,8} = 5.4$ Hz, 8-H), 3.82 (dd, 0.5 H, $J_{5,6} = 2.2$ Hz, $J_{6,7} = 8.4$ Hz, 6-H), 3.82–3.87 (m, 1.5 H, 6-H, 7-H), 3.90 (dd, 1 H, $J_{7,8'} = 2.5$ Hz, 8'-H), 4.87 (d, 0.5 H, $J_{5,6} = 2.0$ Hz, 5-H), 4.89 (d, 0.5 H, $J_{5,6} = 2.0$ Hz, 5-H). - ^{13}C NMR (75.47 MHz, D₂O, NH₄⁺-Salz): $\delta = 46.19$, 42.28 (1 C, 2 C-3), 63.77 (1 C, C-8), 67.90, 68.08, 71.47, 71.51, 72.81, 72.97 (3 C, 2 C-6, 2 C-7, 2 C-8), 105.31 (1 C, C-2), 162.52, 162.62 (1 C, 2 C-4), 174.79 (1 C, C-1). - FAB(-)-MS, m/z :_{ber} 251, m/z :_{gef} 250 (M-1). - $C_8H_{13}NO_8 + NH_3$ (268.2, Ammoniumsalz) Ber. C 35.82 H 6.01 N 10.44. - Gef. C 35.56 H 6.27 N 10.26.

4-NO-Acetyl-2,5,7,8-tetra-O-acetyl-3,4-didesoxy-4-(E/Z)-oximino-D-arabino-2-octulopyranosonsäure-methylester (23): a) Verbindung **22** (NH_4^+ -Salz, 200 mg, 0.746 mmol) wird in Wasser (50 ml) gelöst und mit Amberlite IR 120, H^+ , unter Kühlung in die freie Säure überführt. Das nach Lyophilisieren erhaltene Harz löst man in Pyridin/Essigsäureanhydrid (1:1, v/v, 25 ml) und läßt bei 0 °C stehen. Die DC-Kontrolle mit dem Laufmittel *J* zeigt weitgehenden Umsatz zu einem Produkt mit $R_f = 0.4$. Durch wiederholte Kodestillation mit Toluol i. Vak. werden Pyridin und Essigsäureanhydrid schonend entfernt, der Rückstand in Wasser/Methanol (1:1, v/v, 40 ml) gelöst und mit Amberlite IR 120, H^+ , Reste von Pyridin entfernt. Nach Abfiltrieren, Einengen und Lyophilisieren erhält man 270 mg pulvriges Lyophilisat. - b) Das zuvor erhaltene Lyophilisat löst man in Methanol (40 ml) und gibt unter Kühlung etherisches Diazomethan zu, bis eine bleibende Gelbfärbung erhalten wird und die Lösung keine saure Reaktion mehr zeigt. Nach Zugabe von 2-3 Tropfen Essigsäure zeigt die DC-Kontrolle völligen Umsatz zu 2 Produkten (Laufmittel *K* oder Ethylacetat). Nach Abdestillieren der Lösungsmittel i. Vak. wird der Rückstand mit Pyridin/Essigsäureanhydrid (1:1, v/v, 20 ml) nachacetyliert, und wie oben beschrieben, aufgearbeitet. Der so erhaltene Rückstand wird über Kieselgel chromatographiert; mit Diethylether als Laufmittel eluiert man zunächst eine 1. Fraktion, 61 mg, bestehend aus **23** (1 Anomeres) und einer ungesättigten 2,3-Dehydroverbindung, welche nicht abgetrennt wird, $R_f = 0.42$ (Diethylether), sodann eine 2. Fraktion, 122 mg, Pentaacetat **23** (1 Anomeres), bestehend aus 2 *E/Z*-Isomeren im Verhältnis 45:55, Gesamtausbeute: 53%; Schmp. 105-110 °C, $R_f = 0.34$ (Diethylether). - ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 2.05$, 2.05, 2.06, 2.10, 2.10, 2.11, 2.12, 2.13, 2.14, (9 s, 15 H, 9 OAc), 3.29 (d, 0.55 H, $J_{3a,3b} = 18.7$ Hz, 3- H_a), 3.34 (d, 0.45 H, $J_{3a,3b} = 18.7$ Hz, 3- H_b), 3.78 (d, 0.55 H, 3- H_b), 3.82, 3.83 (2 s, 3 H, 2 OMe), 3.88 (d, 0.45 H, 3- H_b), 4.16 (dd, 0.45 H, $J_{8,8'} = 12.4$ Hz, 8'-H), 4.18 (dd, 0.55 H, $J_{8,8'} = 12.4$ Hz, 8'-H), 4.26 (dd, 0.55 H, 8-H), 4.27 (dd, 0.45 H, 8-H), 5.19 (ddd, 0.55 H, $J_{7,8} = 4.9$ Hz, $J_{7,8} = 2.8$ Hz, 7-H), 5.24 (ddd, 0.45 H, $J_{7,8} = 4.6$ Hz, $J_{7,8} = 2.8$ Hz, 7-H), 5.50 (dd, 0.55 H, $J_{6,7} = 7.9$ Hz, 6-H), 5.51 (dd, 0.45 H, $J_{6,7} = 9.1$ Hz, 6-H), 5.81 (d, 0.45 H, $J_{5,6} = 2.8$ Hz, 5-H), 5.88 (d, 0.55 H, $J_{5,6} = 3.6$ Hz, 5-H). - ^{13}C NMR (75.47 MHz, CDCl_3): $\delta = 20.33$, 20.36, 20.42, 20.62, 20.66, 20.68, 20.71 (5 C, 7 CH_3), 45.21, 45.23 (1 C, 2 C-3), 53.65, 53.67 (1 C, 2 OCH_3), 61.30, 61.47 (1 C, 2 C-8), 66.30, 66.61, 68.00, 68.11, 68.32, 69.12, (3 C, 2 C-5, 2 C-6, 2 C-7), 104.66, 105.26 (1 C, 2 C-2), 155.86, 156.25 (1 C, 2 C-4), 164.62, 164.97, 169.26, 169.33, 169.40, 169.53, 169.55, 169.65, 170.43 (6 C, 9 C=O). - $\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{NO}_{13}$ (475.4) Ber. C 48.00 H 5.30 N 2.94. - Gef. C 48.25 H 5.27 N 2.90.

4-Amino-3,4-didesoxy-D-manno-2-octulopyranosonsäure (24) und Epimerengemisch **27a,b** [**4-Amino-3,4-didesoxy-D-glycero-D-gulo-octansäure (27a)** und **-D-glycero-D-ido-octansäure (27b)**]: Verbindung **22** (426 mg, 1.59 mmol, NH_4^+ -Salz) wird in Wasser (100 ml) gelöst und unter Kühlung mit Amberlite IR 120, H^+ , in die freie Säure überführt. Zu der auf 40 ml eingeeengten Lösung gibt man 1 N Salzsäure (1.7 ml, 1.7 mmol) und hydriert 25 min nach Zugabe von 10% Palladium/Aktivkohle (80 mg). Die DC - Kontrolle mit Laufmittel *A* zeigt den vollständigen Verbrauch des Edukts und ein schnellerlaufendes Nebenprodukt mit $R_f = 0.42$, sowie einen starken, verbreiterten Spot mit $R_f \sim 0.22$ -0.29, welcher größtenteils **24** und **27a,b** entspricht. Nach Abfiltrieren über Celite wird die gekühlte Lösung über Dowex 1x4, Acetatform, gegeben. Der wässrige Durchlauf (750 ml) ergibt nach Einengen und Lyophilisieren 270 mg Lyophilisat, welches **24** und **27a,b** und wenig Nebenprodukte enthält. Die Elution mit 0.3 N Essigsäure ergibt ausschließlich das obengenannte Nebenprodukt (105 mg), welches nicht einheitlich ist und daher nicht aufgeklärt wurde. Das zuvor erhaltene Lyophilisat (270 mg) löst man in Wasser (100 ml) und gibt über Dowex 1x4, Bicarbonatform (50 ml). Aus 700 ml wässrigem Durchlauf erhält man 140 mg Lyophilisat, welches nach ^1H NMR-Analyse (Integration der 3-H Reportersignale im Bereich von $\delta = 1.80$ -2.25) aus **24** und **27a,b** im Verhältnis 53:37:10 (Molprozent) bestand. Gesamtausbeute an **24**, **27a,b**: 37% bez. auf **22**, Anteil an 4-Amino-4-desoxy-KDO **24**: 74 mg (20%). - Isolierung von **24**: Verbindung **22** (NH_4^+ -Salz, 460 mg, 1.71 mmol) wird, wie zuvor beschrieben, in die freie Säure umgewandelt. Nach Zugabe von 1 N Salzsäure (2.0 ml) und 10% Pd/Kohle (100 mg) wird 30 min hydriert und, wie zuvor beschrieben, über Dowex 1x4 (Acetatform) und Dowex 1x4 (Bicarbonatform) entionisiert. Aus dem wässrigen Durchlauf (600 ml) erhält man 182 mg Lyophilisat, welches **24** und **27a,b** enthält. Cellulose-Säulenchromatographie unter Verwendung von Laufmittel *A* ergibt nach Lyophilisieren **24**

(110 mg, 29% bez. auf **22**); **24** wurde jedoch in wechselnden Ausbeuten (20–29%) isoliert und enthält offensichtlich ca. 25% Furanosen und ca. 7% β -Pyranose in Form eines Isomeren- bzw. Anomerengleichgewichts, wie entsprechende Signale im ^1H NMR-Spektrum zeigen. Eine erneute Cellulose-Säulentrennung (wie oben beschrieben) und ^1H NMR-Analyse ergibt keine Änderung im Vergleich zu den zuvor erhaltenen Resultaten (siehe Verbindung **26**). **24**: $R_f = 0.29$ (Laufmittel A), $R_f = 0.23$ (Laufmittel B), $[\alpha]_D^{20} = +42$ ($c = 0.6$, H_2O). - ^1H NMR (500 MHz, D_2O): $\delta = 2.01$ (dd, 0.68 H, $J_{3a,3b} = 12.9$ Hz, $J_{3b,4} = 4.8$ Hz, 3- $\text{H}_b\alpha p$), 2.15 (dd, 0.68 H, $J_{3a,4} = 12.9$ Hz, 3- $\text{H}_a\alpha p$), 3.67 (dd, 0.68 H, $J_{8,8'} = 12$ Hz, 8'- $\text{H}\alpha p$), 3.79 (ddd, 0.68 H, $J_{4,5} = 2$ Hz, 4- $\text{H}\alpha p$), 3.82 (dd, 0.68 H, 8- $\text{H}\alpha p$), 3.89 (ddd, 0.68 H, $J_{7,8} = 2.6$ Hz, $J_{7,8'} = 5.3$ Hz, 7- $\text{H}\alpha p$), 3.94 (dd, 0.68 H, $J_{6,7} = 9$ Hz, 6- $\text{H}\alpha p$), 4.17 (dd, 0.68 H, $J_{5,6} = 1.5$ Hz, 5- $\text{H}\alpha p$). Folgende Signale geringer Intensität können der β -Pyranoseform und Furanosen zugeordnet werden: $\delta = 1.87$ (dd, 0.07 H, $J_{3a,3b} = 12.5$ Hz, $J_{3a,4} = 12$ Hz, 3- $\text{H}_a\beta p$); $\delta = 2.26$ (dd, 3- H_f), 2.48 (dd, 3- H_f), 2.63 (dd, 3- H_f), Furanose-Anteil ca. 25%. - ^{13}C NMR (75.47 MHz, D_2O): $\delta = 31.00$ (C-3), 49.04 (C-4), 63.69, 63.89, 69.98 (C-5, C-6, C-7), 71.59 (C-8), 96.22 (C-2), 176.82 (C-1); schwache Signale bei $\delta = 83$ und 105 können C-5 und C-2 der Furanose-Form zugeordnet werden. - FAB(-)-MS: $m/z_{\text{ber.}}$ 237, $m/z_{\text{gef.}}$ 236 (M-1). - $\text{C}_8\text{H}_{15}\text{NO}_7 + \text{H}_2\text{O}$ (237.2) Ber. C 37.68 H 6.72 N 5.49. - Gef. C 37.45 H 6.44 N 5.63.

27a,b: Zur Abtrennung des Epimerengemischs **27a,b** von **24** verwendet man das anfangs erhaltene Lyophilisat (140 mg), welches **24** und **27a,b** enthält. Über zweimalige Cellulose-Säulenchromatographie mittels der Laufmittelsysteme B, G oder F isoliert man etwa 30 - 40 mg **27a,b** als Lyophilisat. Die Zusammensetzung wird ^1H NMR-spektroskopisch ermittelt (Integration der 3-H Reportersignale im Bereich $\delta = 1.80$ –2.35) und beträgt (Molprozent): **27a:27b** = 67:33. - ^1H NMR (500 MHz, D_2O): $\delta = 1.91$ (ddd, 0.67 H, $J_{2,3a} = 9.4$ Hz, $J_{3a,3b} = 15$ Hz, $J_{3a,4} = 10$ Hz, 3- H_a), 2.12–2.16 (m, 0.66 H, 3- H_a , 3- H_b), 2.27 (ddd, 0.67 H, $J_{2,3b} = 3.8$ Hz, $J_{3b,4} = 3.8$ Hz, 3- H_b). Die restlichen Signale können nicht nach 1. Ordnung ausgewertet werden. - ^{13}C NMR (75.47 MHz, D_2O): $\delta = 33.35$, 33.53 (2 C-3), 54.31, 55.75, (2 C-4), 63.53, 63.56, 68.53, 68.97, 70.80, 70.88, 70.98, 71.83 (2 C-2, 2 C-5, 2 C-6, 2 C-7, 2 C-8), 180.70, 180.79 (2 C-1). - FAB(-)-MS, $m/z_{\text{ber.}}$ 239, $m/z_{\text{gef.}}$ 238 (M-1). - $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{NO}_7 + \text{H}_2\text{O}$ (239.2) Ber. C 37.38 H 7.45 N 5.45. - Gef. C 37.05 H 7.32 N 5.51.

4-Acetamido-3,4-didesoxy-D-manno-2-octulopyranosonsäure (26): Aus Verbindung **22** (NH_4^+ -Salz, 426 mg, 1.59 mmol) werden durch Hydrierung, wie zuvor beschrieben, 140 mg Lyophilisat erhalten, welches **24** und **27a,b** im Molverhältnis 10:7:2 enthält. Man löst in Wasser (1.5 ml), gibt Methanol (1.0 ml) und portionsweise Natriumhydrogencarbonat und Essigsäureanhydrid zu, bis die DC-Kontrolle vollständigen Umsatz zeigt (Laufmittel E). Der mit Wasser (100 ml) verdünnte Ansatz wird mehrfach schonend i. Vak. eingengt, über Amberlite IR 120, H^+ , entionisiert und mit Ammoniak neutralisiert. - 1. Anionenaustausch über Dowex 1x4, Bicarbonatform (20 ml), Ammoniumbicarbonat-Gradient: Wasser \rightarrow NH_4CO_3 in Wasser, 0.15 M. Die Fraktionen werden mit Laufmittel E ausgetestet; die Aufarbeitung ergibt 99 mg Lyophilisat, welches nach ^1H NMR-Analyse (3-H-Reportersignale) aus **26** und 15–20% Beimengungen, vermutlich offenkettige Produkte, bestehen. - 2. Anionenaustausch über Dowex 1x4, Formiatform (40 ml), Ameisensäuregradient: Wasser \rightarrow Ameisensäure, 2 M. Der DC-Test mit dem Laufmittel C und Aufarbeitung ergibt 71 mg Lyophilisat, welches laut ^1H NMR-Spektrum aus nahezu reinem 4-Acetamido-4-desoxy-KDO **26** (Säure) besteht; $R_f = 0.30$, (Laufmittel C), $[\alpha]_D^{20} = +47$ ($c = 1.9$, H_2O). Entsprechend der ^1H NMR-Analyse (500 MHz, ^1H , ^1H -COSY) zeigt das Isomeren- und Anomerengleichgewicht der Pyranose- und Furanoseformen folgende Werte (Molprozent): 69(α -Py):5(β -Py):12(Fu):14(Fu), Furanoseanteil: $\sim 26\%$. - ^1H NMR (500 MHz, D_2O , Säure): $\delta = 1.88$ (dd, 0.69 H, $J_{3a,3b} = 13.3$ Hz, $J_{3b,4} = 5.0$ Hz, 3- $\text{H}_b\alpha p$), 2.00, 2.01, 2.02 (3 s, 3 NAc), 2.07 (dd, 0.69 H, $J_{3a,4} = 13.0$ Hz, 3- $\text{H}_a\alpha p$), 2.31 (dd, 0.05 H, $J_{3a,3b} = 12.5$ Hz, $J_{3b,4} = 4.7$ Hz, 3- $\text{H}_b\beta p$), 2.41 (dd, 0.12 H, $J_{3a,3b} = 13.3$ Hz, $J_{3a,4} = 7.5$ Hz, 3- H_f), 2.48 (dd, 0.12 H, $J_{3b,4} = 9.2$ Hz, 3- H_f), 2.73 (dd, 0.14 H, $J_{3a,3b} = 13.7$ Hz, $J_{3a,4} = 9.2$ Hz, 3- H_f), 3.63 (dd, 0.69 H, $J_{8,8'} = 12.1$ Hz, 8'- $\text{H}\alpha p$), 3.81 (dd, 0.69 H, 8- $\text{H}\alpha p$), 3.87 (ddd, 0.69 H, $J_{7,8} = 2.6$ Hz, $J_{7,8'} = 5.7$ Hz, 7- $\text{H}\alpha p$), 3.95 (d, 0.69 H, $J_{6,7} = 9.1$ Hz, 6- $\text{H}\alpha p$), 4.03 (d, 0.69 H, $J_{5,6} \sim 0$ Hz, 5- $\text{H}\alpha p$), 4.26 (ddd, 0.69 H, $J_{4,5} = 2.0$ Hz, 4- $\text{H}\alpha p$). - ^{13}C NMR (75.47 MHz, D_2O): $\delta = 22.85$, (CH_3), 31.45 (C-3), 46.97

(C-4), 63.78, 65.06, 70.11, 72.39 (C-5, C-6, C-7, C-8), 95.84 (C-2), 174.41 (2 C=O); schwache Signale bei $\delta = 83.27$ und 83.59 können C-5 von Furanosen zugeordnet werden. - FAB(-)-MS: $m/z_{\text{ber.}}$ 279, $m/z_{\text{gef.}}$ 278 (M-1). - $\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{NO}_8 + \text{H}_2\text{O}$ (279.2) Ber. C 40.44 H 6.44 N 4.71. - Gef. C 40.61 H 6.19 N 4.74.

Danksagung: Für die Anfertigung der NMR-Spektren sei Herrn *Grosskurth*, Max Planck-Institut für Medizinische Forschung, Heidelberg, gedankt. Auch Herrn *Dr. G. Pohlentz*, Physiologisch-Chemisches Institut der Universität Bonn, gebührt Dank für die Durchführung von massenspektrometrischen Untersuchungen, sowie Herrn Dipl. Chemiker *Dr. K. Koppert* für die Anfertigung und Durchsicht des Manuskripts.

Literatur

1. (a) von Itzstein, M.; Thomson, R.J. *Top. Curr. Chem.* **1997**, *186*, 119-170. - (b) 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.
2. Unger, M. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1981**, *38*, 378-387.
3. (a) Ogawa, S.; Yoshikawa, M.; Taki, T. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1992**, 406-408. - (b) Ogawa, S.; Yoshikawa, M.; Taki, T.; Yokoi, S.; Chida, N. *Carbohydr. Res.* **1995**, *269*, 53-78. - (c) Baumberger, F.; Vasella, A.; Schauer, R. *Helv. Chim. Acta* **1988**, *71*, 429-445.
4. Norbeck, D.W.; Kramer, J.B. *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 773-776. - Molin, H.; Pring, B.G. *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 677-680. - Classon, B.; Garegg, P.J.; Liu, Z.; Samuelsson, B. *Carbohydr. Res.* **1988**, *174*, 369-374. - Andersson, F.O.; Classon, B.; Samuelsson, B. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 4699-4704.
5. (a) Wallimann, K.; Vasella, A. *Helv. Chim. Acta* **1990**, *73*, 1359-1372. - (b) Chan, T.H.; Xin, Y.C. *Chem. Comm.* **1996**, 905-906. - Gao, J.; Martichonok, V.; Whitesides, G.M. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 9538-9540.
6. Hagedorn, H.W.; Brossmer, R. *Helv. Chim. Acta* **1986**, *69*, 2127-2132. - Baumberger, F.; Vasella, A. *Helv. Chim. Acta* **1986**, *69*, 1535-1541. - Estenne, G.; Saroli, A.; Doutheau, A. *J. Carbohydr. Chem.* **1991**, *10*, 181-195.
7. Gross, H.J.; Brossmer, R. *Glycoconjugate J.* **1987**, *4*, 145-156.
8. (a) Byramova, N.E.; Tuzikov, A.B.; Bovin, N.V. *Carbohydr. Res.* **1992**, *237*, 161-175. - Hartmann, M.; Zbiral, E. *Monatsh. Chem.* **1989**, *120*, 899-906. - Brandstetter, H.H.; Zbiral, E. *Liebigs Ann. Chem.* **1983**, 2055-2065. - (b) Baumberger, F.; Vasella, A. *Helv. Chim. Acta* **1986**, *69*, 1205-1215.
9. Gross, H.J.; Kovac, A.; Rose, U.; Watzlawick, H.; Brossmer, R. *Biochem.* **1988**, *27*, 4279-4283
10. (a) Zbiral, E.; Schreiner, E.; Christian, R. *Carbohydr. Res.* **1988**, *194*, c15-c18. - (b) Schreiner, E.; Zbiral, E.; Kleinedam, R.G.; Schauer, R. *Liebigs Ann. Chem.* **1991**, 129-134.
11. Hartmann, M.; Christian, R.; Zbiral, E. *Monatsh. Chem.* **1991**, *122*, 111-125. - Hartmann, M.; Zbiral, E. *Tetrahedron Lett.* **1990**, 2875-2878.
12. (a) von Itzstein, M.; Wu, W.Y.; Kok, G.B.; Pegg, M.S.; Dyason, J.C.; Jin, B.; Van Phan, T.; Smythe, M.L.; White, H.F.; Oliver, S.W.; Colman, P.M.; Varghese, J.N.; Ryan, D.M.; Woods, J.M.; Bethel, R.C.; Hotham, V.J.; Cameron, J.M.; Penn, C.R. *Nature* **1993**, *363*, 418-423. - (b) von Itzstein, M.; Wu, W.Y.; Jin, B. *Carbohydr. Res.* **1994**, *259*, 301-305. - (c) von Itzstein, M.; Jin, B.; Wu, W.Y.; Chandler, M. *Carbohydr. Res.* **1993**, *244*, 181-185.

13. Charon, D.; Szabo, L. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1980**, 1971-1977.
14. Kuhn, R.; Baschang, G. *Liebigs Ann. Chem.* **1962**, 659, 156-163.
15. Koppert, K.; Brossmer, R. *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 8031-8034.
16. Mack, H.; Brossmer, R. *Tetrahedron Lett.* **1987**, 28, 191-194. - Kok, G.B.; Campbell, M.; Mackey, B.; von Itzstein, M. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1996**, 2811 -2815.
17. Mack, H.; Brossmer, R. *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 1867-1870.
18. Mack, H.; Villalva-Basabe, J.; Brossmer, R. *Carbohydr. Res.* **1988**, 175, 311-316.- Villalva-Basabe, J.; Brossmer, R. *12th Internat. Carbohydr. Symp. (Utrecht)*, **1984**, Abstr. pp. 21. - Villalva-Basabe, J. *Dissertation, Universität Heidelberg*, 1987.
19. Enhnsen, A.; Schmidt, R.R. *Liebigs Ann. Chem.* **1989**, 69-74. - Esswein, A.; Betz, R.; Schmidt, R.R. *Helv. Chim. Acta* **1989**, 72, 213-223.
20. Beer, D.; Bieri, J.H.; Macher, J.; Prewo, R.; Vasella, A. *Helv. Chim. Acta* **1986**, 69, 1172-1190.
21. Vasella, A. *Pure Appl. Chem.* **1991**, 63, 507-518. - Aebischer, B.; Bieri, J.H.; Prewo, R.; Vasella, A. *Helv. Chim. Acta* **1982**, 65, 2251-2272.
22. Kozikowski, A.P.; Kitagawa, Y.; Springer, J.P. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1983**, 1460-1462. - Dawson, J.M.; Johnson, T.; Paton, R.M.; Rennie, R.A.C. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1988**, 1339-1340.
23. Übersichtsartikel über die Nitriloxid-Isoxazolin-Methode siehe: Kozikowski, A.P. *Acc. Chem. Res.* **1984**, 17, 410-416. - Curran, D. P. *Adv. Cycloaddition* **1988**, 1, 129-135. - Torsell, K.G.B. *Nitrile Oxides, Nitrones and Nitronates in Organic Synthesis*; VCH Publishers; New York, 1988, pp. 129.
24. Jäger, V.; Schohe, R. *Tetrahedron* **1984**, 40, 2199-2210. - Jäger, V.; Schröter, D. *Synthesis* **1990**, 556-560. - Curran, D.P. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, 105, 5826-5833.
25. Sekine, M.; Futatsugi, T.; Yamada, K.; Hata, T. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1982**, 2509-2513.
26. Sowden, J.C.; Oftedahl, M.L. *Methods Carbohydr. Chem.* **1962**, 1, 235-237.
27. Mukaiyama, T.; Hoshino, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, 82, 5339-5342.
28. Yu, R.K.; Koerner, T.A.W.; Ando, S.; Yohe, H.C.; Prestegard, J.H. *J. Biochem.* **1985**, 98, 1367-1373.
29. Nakamura, M.; Furuhashi, K.; Yamasaki, T.; Ogura, H. *Chem. Pharm. Bull.* **1991**, 39, 3140-3144.
30. Nadano, D.; Iwasaki, M.; Endo, S.; Kitajima, K.; Inoue, S.; Inoue, Y. *J. Biol. Chem.* **1986**, 261, 11550-11555.
31. (a) Schreiner, E.; Zbiral, E. *Liebigs Ann. Chem.* **1990**, 581-586. - (b) Dondoni, A.; Boscarato, A.; Marra, A. *Tetrahedron: Asymmetry* **1994**, 5, 2209-2212. - (c) Sun, X.; Kai, T.; Takayanagi, H.; Furuhashi, K. *Carbohydr. Res.* **1997**, 298, 181-189.- Sun, X.; Kai, T.; Tanaka, M.; Takayanagi, H.; Furuhashi, K. *Chem. Pharm. Bull.* **1995**, 43, 1654-1658. - (d) Kok, G.B.; Mackey, B.L.; von Itzstein, M. *Carbohydr. Res.* **1996**, 289, 67-75. - (e) Kai, T.; Sun, X.; Takayanagi, H.; Furuhashi, K. *J. Carbohydr. Chem.* **1997**, 16, 521-532.
32. Sowden, J.C. *Methods Carbohydr. Chem.* **1962**, 1, 132-135.
33. Pring, B.G.; Jansson, A.M.; Persson, K.; Andersson, J.; Gagner-Milchert, J.; Gustafsson K.; Claesson, A. *J. Med. Chem.* **1989**, 1069-1074. - Tadanier, J.; Lee, C.M.; Whittern, D.; Wideburg, N. *Carbohydr. Res.* **1990**, 201, 185-207.
34. Unger, F.M. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1981**, 38, 387-388.
35. Shing, T.K.M. *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 1307-1308.
36. Norbeck, D.W.; Kramer, J.B.; Lartey, P.A. *J. Org. Chem.* **1987**, 52, 2174-2179. - Luthmann, K.; Orbe, M.; Waglund, T.; Claesson, A. *J. Org. Chem.* **1987**, 52, 3777-3784. - Claesson, A. *J. Org. Chem.* **1987**, 52, 4414-4416. - Tadanier, J.; Lee, C.M.; Hengeveld, J.; Rosenbrook, W.; Whittern, D.; Wideburg, N. *Carbohydr. Res.* **1990**, 201, 209-222. - Wäglund, T.; Luthmann, K.; Orbe, M.; Claesson, A. *Carbohydr. Res.* **1990**, 206, 269-276. - Ohru, H.; Morita, M.; Meguro, H. *Carbohydr. Res.* **1992**, 224, 319-325.

37. (a) Claesson, A.; Luthmann, K.; Gustafsson, K.; Bondesson, G. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1987**, *143*, 1063-1068. - (b) Luthmann, K.; Claesson, A.; Jansson, A.M.; Pring, B.G. *Carbohydr. Res.* **1987**, *166*, 233-251.
38. (a) Sowden, J.C. *J. Am. Chem. Soc.* **1950**, *72*, 808-811. - (b) Sowden, J.C.; Thompson, R.R. *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 2236-2237.
39. (a) Cherniak, R.; Jones, R.G.; Gupta, D.S. *Carbohydr. Res.* **1979**, *75*, 39-49. - (b) Breitmaier, E.; Voelter, W. *¹³C NMR Spectroscopy*; Verlag Chemie: Weinheim-New York, 1978, pp. 255.
40. York, W.S.; Darvill, A.G.; McNeil, M.; Albersheim, P. *Carbohydr. Res.* **1985**, *138*, 109-126.
41. Kosma, P.; Schulz, G.; Brade, H. *Carbohydr. Res.* **1988**, *183*, 183-199. - Paulsen, H.; Brenken, M. *Liebigs Ann. Chem.* **1991**, 1113-1126.
42. Egge, H.; Peter-Katalinic, J. *Mass Spectrom. Rev.* **1987**, *6*, 331-393.