

Herstellung des Methyl-3-D,L-alanyl-amido-3,6-dideoxy- α -D-glucopyranosids

I. JEŽO und J. ZEMEK

Chemisches Institut, Zentrum für Chemische Forschung der Slowakischen Akademie der Wissenschaften, CS-842 38 Bratislava

Eingegangen am 20. Juni 1983

Es wird die Herstellung der obenerwähnten Verbindung durch die Reaktion des Methyl-3-amino-3,6-dideoxy- α -D-glucopyranosids mit *N*-Benzyloxycarbonyl-D,L-alanin und nachfolgender Hydrogenolyse des gewonnenen Produkts beschrieben. Gleichzeitig wird die antibakterielle Aktivität der forschenden Verbindung beschrieben.

The preparation of the above compound by the reaction of methyl 3-amino-3,6-dideoxy- α -D-glucopyranoside with *N*-benzyloxycarbonyl-D,L-alanine and the subsequent hydrogenolysis of the obtained product is reported. Simultaneously the antibacterial activity of the investigated compound is described.

Описано получение вышеназванного соединения путем реакции метил-3-амино-3,6-дидезокси- α -D-глюкопиранозиды с *N*-бензилоксикарбонил-D,L-аланином и последующим гидрогенолизом полученного продукта. Описана также и антибактериальная активность исследуемого соединения.

Aus einem antigenen Polysaccharid, anwesenden in *Eubacterium suburneum* (Stamm V5) kann man 3,6-Dideoxy-3-(L-glyceroylamido)-D-glucopyranose (galacto-?) [1] gewinnen. Neuerlich wurde festgestellt, daß aus *O*-spezifischem Polysaccharid, anwesenden in *Escherichia coli* (0 114) kann man wieder 3-(*N*-Acetyl-L-seryl-amido)-3,6-dideoxy-D-glucopyranose [2] gewinnen, d. h. eine Verbindung, die biogenetisch sichtlich mit der obenerwähnten Substanz verwandt ist. (Gleichzeitig wird dort behauptet, daß die in [1] beschriebene Verbindung nicht Gluco- sondern Galacto-stereoisomer ist.)

In [3] haben wir die Herstellung des Methyl-3,6-dideoxy-3-(L-glyceroylamido)- α -D-glucopyranosids beschrieben. Im Hinblick zur Tatsache, daß sich diese Verbindung mit sehenswürdiger antibakterieller Aktivität äußert, widmeten wir unsere Aufmerksamkeit der Herstellung und antibakterieller Aktivität bisher in Fachliteratur unbeschriebenem Methyl-3-D,L-alanyl-amido-3,6-dideoxy- α -D-glu-

copyranosid, d. h. einer Verbindung die ein Analogon der beiden obenerwähnten Verbindungen ist.

Die Synthese der gewünschten Verbindung haben wir durch die Reaktion des Methyl-3-amino-3,6-dideoxy- α -D-glucopyranosids mit *N*-Benzyloxycarbonyl-D,L-alanin bei Anwesenheit des *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimids und nachfolgender Hydrogenolyse des gewonnenen Methyl-3-(*N*-benzyloxycarbonyl-D,L-alanyl-amido)-3,6-dideoxy- α -D-glucopyranosids (*I*) auf das Hydrochlorid des Methyl-3-D,L-alanyl-amido-3,6-dideoxy- α -D-glucopyranosids (*II*) durchgeführt.

Die antibakterielle Wirkung von *II* haben wir mittels einer Eprovettenverdünnungsmethode im Kultivierungsmedium verfolgt. Wir haben festgestellt, daß sich die erhöhte antibakterielle Wirkung der prüfenden Substanz ausschließlich bei grampositiven Bakterien, die in Membranwänden die Teichinsäure mit wiederholten Ribitol-Einheiten, mit gebundenem *N*-Acetyl-D-glucosamin und mit Esterverbindung verbundenem D-Alanin [4—7] enthalten, äußert. Die biologische Aktivität von *II* erklären wir uns deshalb als kompetitive Inhibitionswirkung auf die Bildung der Zellenwände bei der Biosynthese der Ribitol-Teichinsäure.

Experimenteller Teil

Methyl-3-(N-benzyloxycarbonyl-D,L-alanyl-amido)-3,6-dideoxy- α -D-glucopyranosid (I)

In eine abgekühlte Lösung ($\theta = 0^\circ\text{C}$) von 0,5 g Methyl-3-amino-3,6-dideoxy- α -D-glucopyranosids [8] und 1,0 g *N*-Benzyloxycarbonyl-D,L-alanins (hergestellt nach [9]) in 13 cm³ Pyridins wird 0,85 g *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimid zugefügt und das Reaktionsgemisch 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Der unlösliche Anteil wird abgesaugt und das Filtrat gießt man ins Eiswasser. Den ausgeschiedenen Anteil saugt man ab, lößt ihn im Chloroform, die Lösung schüttelt man mit gesättigter Lösung von NaHCO₃, ferner mit 1 M-HCl und schließlich mit Wasser um. Nach Abtrocknen über Na₂SO₄ wird das Filtrat im Wasserstrahl-pumpenvakuum abgedampft und der Destillationsrückstand umkristallisiert (Ausbeute: 0,50 g; 46,3 %). Schmp. (CHCl₃ + Petroläther): 134—135 °C; α (20 °C, D, resp. 589 nm, $\rho = 1$, MeOH) = +2,1° (IUPAC); IR: $\tilde{\nu}_{\text{max}}$ (KBr)/cm⁻¹: 695, 735 (Ph), 830 (α -Glycosid), 920, 950 (CH₃), 1050 (HO—), 1115, 1220 (Acetal), 1385, 1455 (CH₃), 1535, 1645, 1690 (Amid), 1735 (CO), 2920 (CH—), 3040 (Ph?), 3290 (NH—).

Für C₁₈H₂₆N₂O₇ ($M_r = 382,40$) w_i (berechnet): 56,53 % C, 6,85 % H, 7,32 % N; w_i (gefunden): 56,60 % C, 6,93 % H, 7,27 % N.

Hydrochlorid des Methyl-3-D,L-alanyl-amido-3,6-dideoxy- α -D-glucopyranosids (II)

In die Lösung von 0,5 g *I* in 25 cm³ Äthanol wird 1 cm³ 0,5 M-HCl zugegeben und bei Anwesenheit von Pd/C (5 %) unterwirft man das Reaktionsgemisch der Hydrogenolyse (ca.

6 h). Nach Beseitigung des Katalysators wird das Filtrat im Wasserstrahlpumpenvakuum abgedampft, der Destillationsrückstand wird in min. Menge Methanol gelöst und dann in die Lösung Äther bis zur Trübung zugefügt (Ausbeute: 0,26 g; 69,8 %). Schmp. (Zersetz.) 219—222 °C; α (20 °C, D, resp. 589 nm, $\rho = 1$, MeOH) = + 1° (IUPAC); IR: $\tilde{\nu}_{\max}$ (Nujol)/ cm^{-1} 845 (α -Glycosid), 1020, 1060, 1125 (Acetal), 1375, 1450 (CH_3), 1500, 1620 (Amid), 3380 (NH—).

Für $\text{C}_{10}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_5 \cdot \text{HCl}$ ($M_r = 284,74$) w_i (berechnet): 42,18 % C, 7,43 % H, 9,83 % N, 12,45 % Cl; w_i (gefunden): 42,27 % C, 7,54 % H, 9,72 % N, 12,37 % Cl.

Bestimmung der antibakteriellen Wirkung

Den Inhibitionseffekt der geprüften Substanz haben wir unter den in [3] erwähnten Bedingungen durchgeführt und die Resultate in Tabelle 1 zusammengefaßt.

Tabelle 1

Die minimale Inhibitionskonzentration ($\rho/(\text{mg dm}^{-3})$), die das Wachstum der gebrauchten Mikroorganismen verhindert

Stamm	A	B	C Standard
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			} > 3000
I	} > 300	} > 3000	
II			
III			
<i>Staphylococcus aureus</i>			
I	43	46	
II	43	93	
III	21	93	
<i>Escherichia coli</i>	> 3000	1500	
<i>Micrococcus luteus</i>	187	46	
<i>Bacillus licheniformis</i>	375	186	
<i>Bacillus subtilis</i>	187		

A — Methyl-3-D,L-alanylamido-3,6-dideoxy- α -D-glucopyranosid.

B — Methyl-3,6-dideoxy-3-(L-glyceroylamido)- α -D-glucopyranosid (Daten sind aus [3] übernommen).

C — N-Acetyl-D-glucosamin.

Wir danken O. Juríková, B. Leščáková und K. Paule für die Durchführung der Elementaranalysen, G. Košícký für die optischen Messungen und R. Justhová für die Registrierung der IR-Spektren.

Die Stämme von *Pseudomonas aeruginosa* und *Staphylococcus aureus* waren aus klinischem Material (P. a. I — Patient: coma; P. a. II — Gangrän; P. a. III — Sepsis; S. a. I—III — Meningitis) und waren gegen Grundantibiotika resistent. Die Stämme von *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus licheniformis* und *Bacillus subtilis* hat uns liebenswürdig die Tschechoslowakische Mikroorganismensammlung, Brno zur Verfügung gestellt, wofür wir sehr dankbar sind.

Literatur

1. Kondo, W., Nakazawa, F. und Ito, T. *Carbohydr. Res.* 83, 129 (1980).
2. L'vov, V. L., Tochtamysheva, N. V., Shashkov, A. S., Dmitriev, B. A. und Čapek, K., *Carbohydr. Res.* 112, 233 (1983).
3. Ježo, I. und Zemek, J., *Chem. Zvesti* 37, 91 (1983).
4. Baddiley, J., Buchanan, J. G., RajBhandary, U. L. und Sanderson, A. R., *Biochem. J.* 82, 439 (1962).
5. Baddiley, J., Buchanan, J. G., Marin, R. O. und RajBhandary, U. L., *Biochem. J.* 85, 49 (1962).
6. Davison, A. L. und Baddiley, J., *J. Gen. Microbiol.* 32, 271 (1963).
7. Mirelman, D., Beck, B. D. und Shaw, D. R. D., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 39, 712 (1970).
8. Richardson, A. C. und McLauchlan, K. A., *J. Chem. Soc.* 1962, 2758.
9. Carter, H. E., Frank, R. L. und Johnston, H. W., *Org. Syn. Col. Vol. III* 1955, 167.

Übersetzt von I. Ježo