



NORGE

(19) [NO]

[B] (12) UTLEGNINGSSKRIFT (11) NR. 155694

STYRET FOR DET
INDUSTRIELLE RETTSVERN

(51) Int. Cl.⁴ C 07 H 3/06

(21) Patentsøknad nr. 823520

(22) Inngivelsesdag 22.10.82

(24) Løpedag 22.10.82

(62) Avdelt/utskilt fra søknad nr.

(71)(73) Søker/Patenthaver SVENSKA SÖCKERFABRIKS AB,
S-200 10 Malmö 17,
Sverige.

(86) Internasjonal søknad nr. -

(86) Internasjonal inngivelsesdag -

(85) Videreføringsdag -

(41) Alment tilgjengelig fra 25.04.83

(44) Utlegningsdag 02.02.87

(72) Oppfinner JAN ERLAND DAHMEN, Rkarp,
HANS GÖRAN MAGNUSSON, Staffanstorp,
KAJ BENNEDICK MÄRTENSSON, Lund,
Sverige.

(74) Fullmektig Tandbergs Patentkontor A-S, Oslo.

(30) Prioritet begjært 23.10.81, 02.04.82, Sverige,
nr 8106279, 8202144.

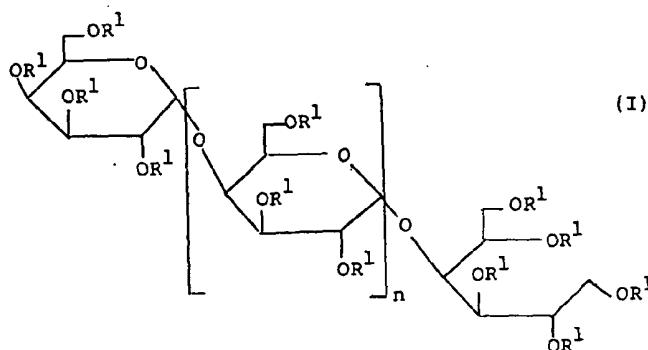
(54) Oppfinnelsens benevnelse FREMGANGSMÅTE VED FREMSTILLING AV
GALACTOSEHOLDIGE OLIGOSACCHARIDER.

(57) Sammendrag

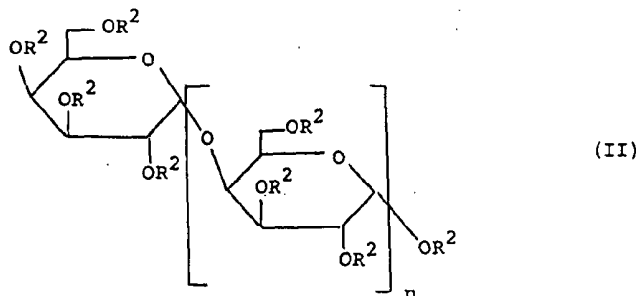
Nye forbindelser av generell formel (I):

(56) Anførte publikasjoner

Carbohydr. Res., 62(2), s. 245-52, 1978.
C.A. 64: 16282f, C.A. 89: 441002.



hvor R^1 er hydrogen eller en acylgruppe; og n er et helt tall opp til 10, innbefattende 0; nye forbindelser av generell formel (II):

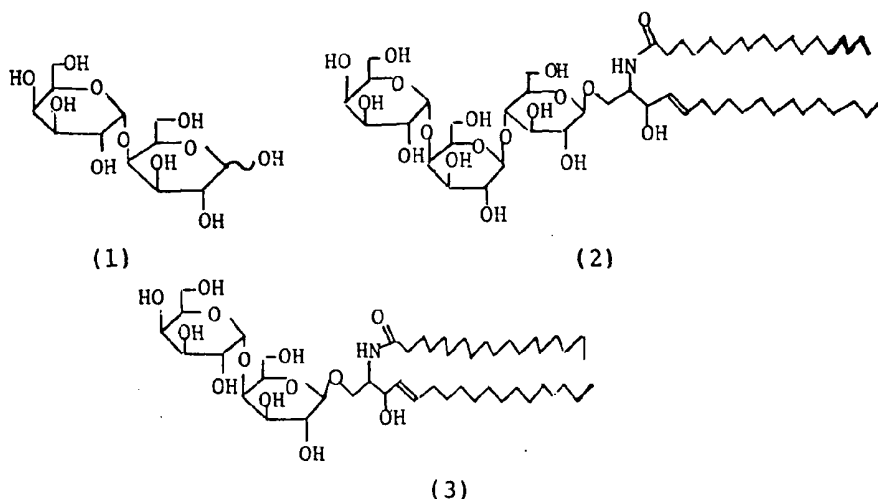


hvor R^2 er hydrogen eller en acylgruppe og hvor gruppen OR^2 ved C-atom 1 i molekylets reduserende ende foreligger i α - eller β -konfigurasjon; og n er et helt tall fra og med 2 til og med 10; og fremgangsmåte for fremstilling av forbindelsene (II).

Foreliggende oppfinnelse angår en ny fremgangsmåte for fremstilling av carbohydrater med en oligosaccharid-karakter.

I løpet av de siste år har fenomenet med bakterievek-
heftning på epiteliale vertsceller vunnet stor interesse
(ref. 1). To svenske grupper (ref. 2 og 3) har foreslått at
di-galactoseforbindelsen av formel 1 nedenfor bør virke som
reseptor ved fiksering av fimbrierte uropatogene colibakterier
til overflaten av epitelceller i urinveien hos mennesker.
Dessuten antas di-galactoseenheten å være tilstede på
overflaten av epitelcellene i form av trihexosylceramid
(formel 2 nedenfor) og globosid.

Dessuten er det di-galactoseholdige glycolipid "gala-
biosylceramid" (formel 3 nedenfor) tilstedeværende i nyrevev
(ref. 4), skjønt forbindelsens funksjon ikke er kjent.

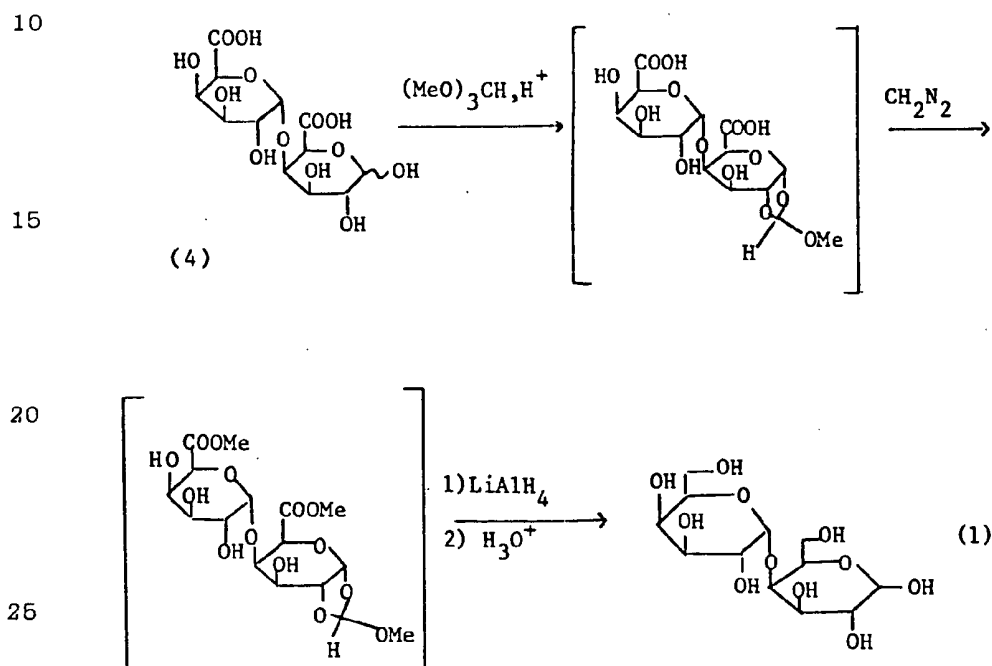


Enkle glycosider (eksempelvis methyl- og p-nitrofenyl-) av forbindelsen 1 og av trisaccharidenheten i forbindelse 2 har vært kjent for å inhibere agglutinasjonen av uropatogene coli-
bakterier med visse røde blodlegemer (ref. 1). Dette indi-
kerer anvendelsen av forbindelse 1 for fremstilling av nye
typer av diagnostisk reagens og også av terapeutiske midler
med ny type av aktivitet sammenlignet med tradisjonelle

- . antibiotika, dvs. inhibering av bakteriefiksering til epitel istedenfor å drepe bakteriene.

I litteraturen er det blitt rapportert metoder for fremstilling av 4-O- α -D-galactopyranosyl-D-galactose (1) og 5 derivater derav.

Forbindelse 1 er blitt fremstilt fra di-galacturonsyre (4) ifølge reaksjonsskjema 1 nedenfor (ref. 5).

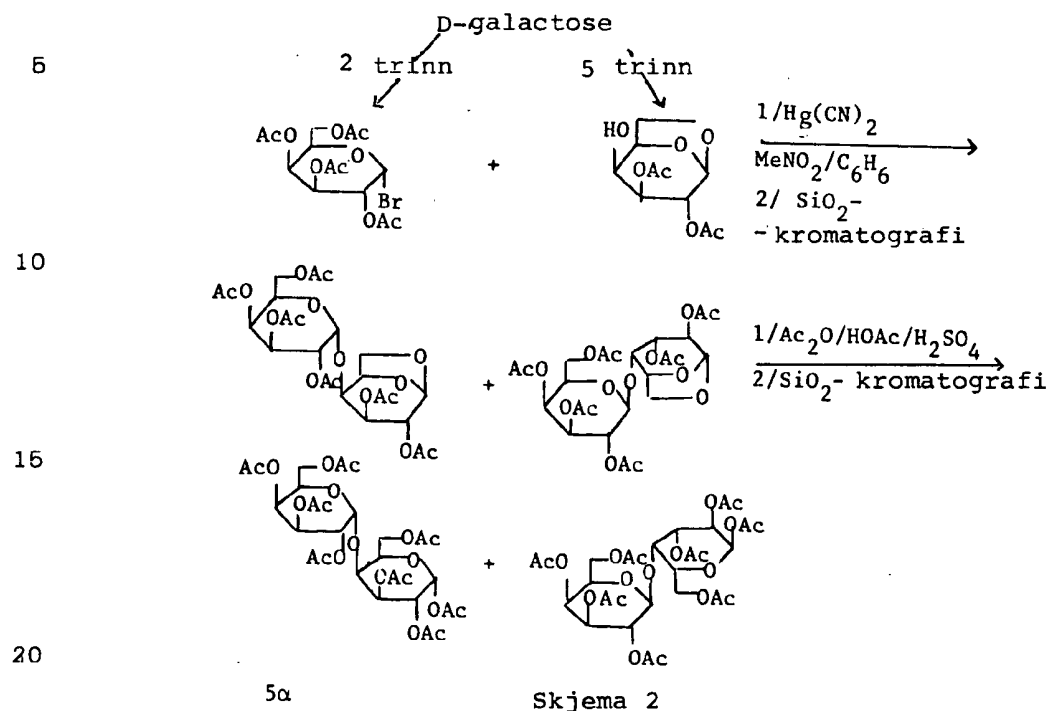


Skjema 1

30 De uegnede reagenser som anvendes (eksempelvis diazomethan, lithium-aluminiumhydrid) forhindrer imidlertid fremstilling av forbindelse 1 i stor målestokk på denne måte. En variasjon av denne reaksjonssekvens er også blitt rapportert (ref. 6).

35 Det fullt ut acetylerede derivat av forbindelse 1 er blitt fremstilt (ref. 7, 8, 9) ved reaksjonssekvenser i flere trinn ut fra galactose, slik som eksemplifisert i reaksjonsskjema 2 nedenfor (ref. 7). Også i dette tilfelle gjør de anvendte reagenser (eksempelvis kvikksølv(II)-cyanid) i kombinasjon

- med lavt totalutbytte fremstilling i stor skala upraktisk.

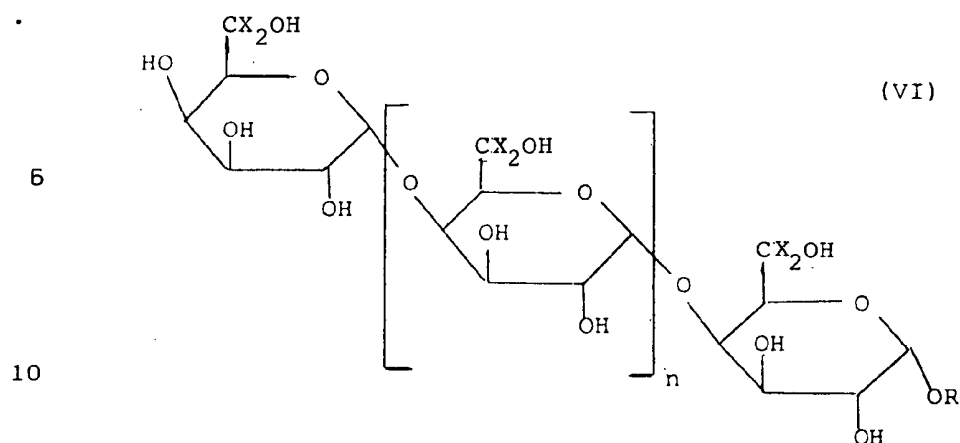


Det fremgår av den ovenfor angitte kjente teknikk at det foreligger et behov for nye metoder for syntetisering av oligosaccharider av forskjellig type ut fra lett tilgjengelige utgangsmaterialer. Et hovedmål ved oppfinnelsen er således å tilveiebringe en ny fremgangsmåte for fremstilling av mellomprodukter for fremstilling av forbindelser som er anvendbare for medisinske og diagnostiske formål, som ovenfor angitt.

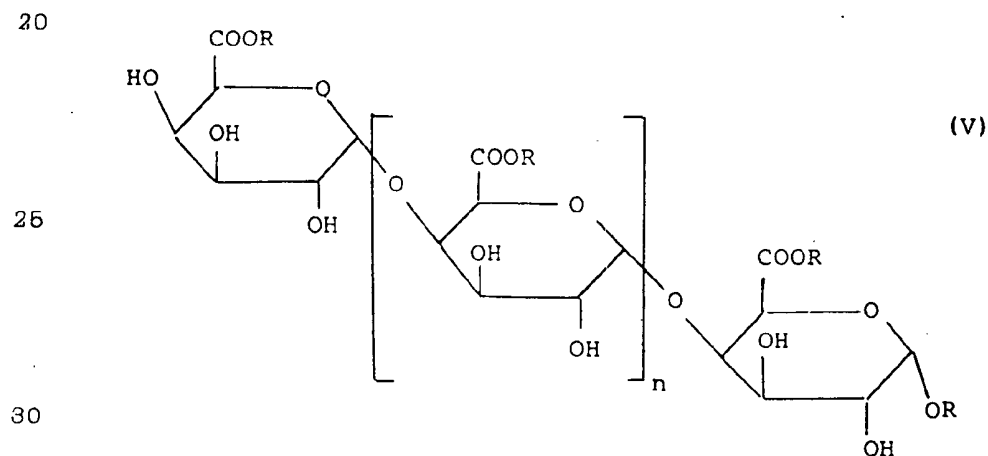
Ifølge oppfinnelsen tilveiebringes en fremgangsmåte for fremstilling av forbindelser av formel (VI):

155694

4



15 hvori n er et helt tall opp til 10, innbefattende 0, R er hydrogen eller en alkylgruppe, fortrinnsvis med fra 1 til 6 carbonatomer, og X er hydrogen, deuterium eller tritium, hvilken fremgangsmåte innbefatter reduksjon av en forbindelse av formel (V):



35 hvori n har den ovenfor angitte betydning og R er en alkylgruppe, fortrinnsvis med fra 1 til 6 carbonatomer, hvorefter eventuelt den dannede forbindelse av formel (VI) hvori R er en alkylgruppe, fortrinnsvis med fra 1 til 6 carbonatomer, hydrolyseres under dannelsen av en forbindelse av formel (VI), hvori R er hydrogen.

Den første del av angitte fremgangsmåte utføres fortrinnsvis i vannløsning, og reduksjonen av den fullt forestrede forbindelse (V) utføres hensiktsmessig under anvendelse av natriumborhydrid eller natriumcyanoborhydrid som reduksjonsmiddel.

En av fordelene med fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen som ovenfor angitt, er det forhold at pektin kan anvendes som opprinnelig utgangsmateriale. Som kjent er pektin en av de få naturlig forekommende forbindelser som inneholder ønsket α -1,4-binding, og det er dessuten et billig og lett tilgjengelig utgangsmateriale. Pektin er egnet for fremstilling av forbindelsene med formel (VI) i industriell skala, og nedenfor er det i reaksjonsskjema 5 vist en sammenstilling av totalprosessen for fremstilling av α - og β -glycosider for interessante medisinske og andre anvendelser. I skjema 5 eksemplifiseres hydrolyseproduktet av pektin ved digalacturonsyre, men det bør observeres at hydrolyse av pektin også kan resultere i andre oligomerer, eksempelvis fra trimerer opp til dekamerer.

Det som utgangsmateriale anvendte pektin hydrolyseres ved enzymatisk eller sur hydrolyse under dannelse av polygalacturonsyre (α -1,4), som deretter, også her ved enzymatisk eller sur hydrolyse, hydrolyseres til eksempelvis digalacturonsyre, dvs. forbindelse 13 i skjema 5.

En erholdt blanding av oligogalacturonsyrer kan lett separeres i stor skala ved ionebytterkromatografi (ref. 10).

Den erholdte di-galacturonsyre (forbindelse 13 i skjema 5) underkastes deretter samtidig forestring og glycosidering med methanol (eller andre enkle alkoholer) og syre på i og for seg kjent måte for andre uronsyrer (ref. 14) under dannelse av tilsvarende nye methylesterglycosider (forbindelse 14 i skjema 5). Forbindelse 14 er en anomer blanding (α/β , 3/1).

Methylesterglycosidet 14 reduseres deretter med en vannløsning av natriumborhydrid under dannelse av methylglycosidet (forbindelse 15 i skjema 5).

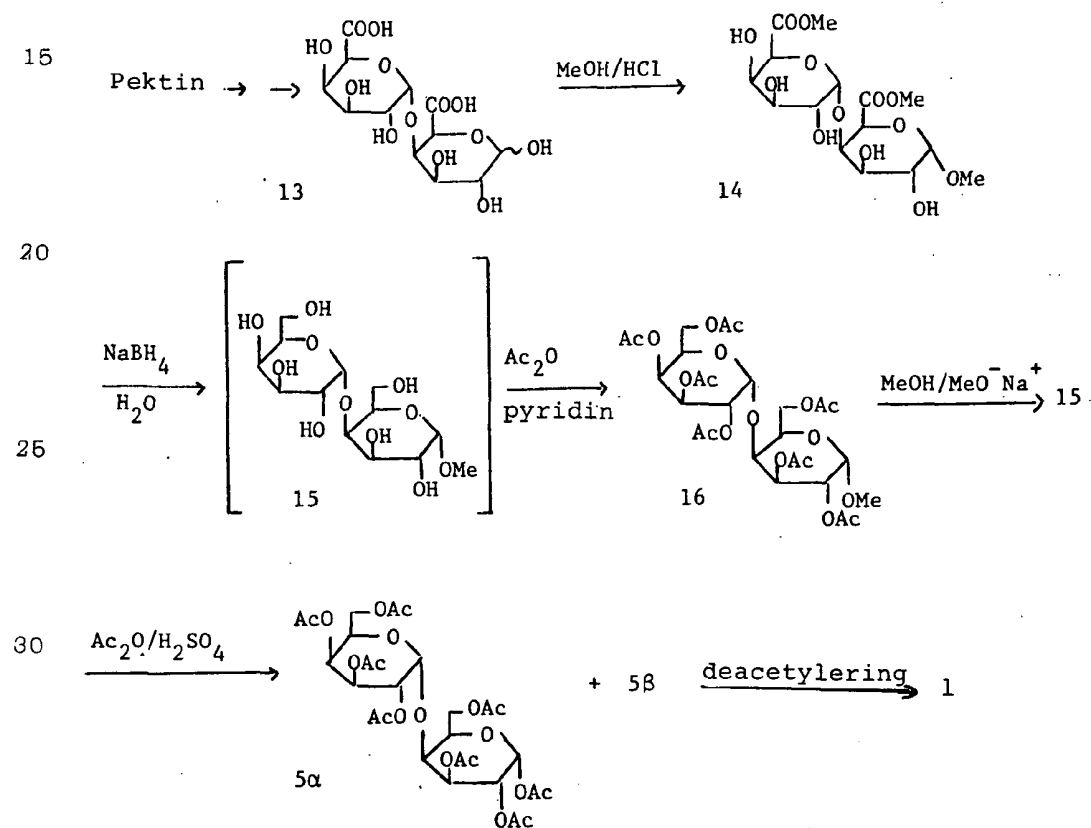
Denne forbindelse 15 kan acetyleres under anvendelse av eddiksyreanhydrid under dannelse av et per-O-acetylert glycosid (forbindelse 16 i skjema 5)

155694

6

- Angitte forbindelse 16 behandles deretter med eddiksyreanhydrid inneholdende konsentrert svovelsyre, hvilket resulterer i spaltning av methylaglyconet uten vesentlig nedbrytning av resten av molekylet, under dannelse av den fullt
- ut acetylte di-galactose (forbindelse 5 i skjema 5). Alternativt kan forbindelse 5 dannes i ett trinn fra forbindelse 15 under anvendelse av eddiksyreanhydrid og konsentrert svovelsyre.

Den per-O-acetylte di-galactose 5 isoleres under anvendelse av den skisserte prosedyre og anvendes for fremstilling av forbindelse 1 og forskjellige glycosider derav.



Skjema 5

Eksempler

Oppfinnelsen illustreres ytterligere i de etterfølgende konkrete eksempler.

5

Eksempel I

Hydrolyse av polygalacturonsyre

50 g poly-D-galacturonsyre (Sigma) ble suspendert i natriumacetatbuffer (1000 ml, 20 mM, pH 4,5), og pH ble justert med natriumhydroxyd (5 M). Suspensjonen ble omrørt ved 40°C, og pektinase (1,0 g, PV 8, Miles) ble tilsatt. Hydrolysen ble fortsatt i 24 timer ved 40°C og ble deretter avsluttet ved oppvarmning til 100°C i 5 minutter. Prøver ble tatt ut med intervaller og analysert ved tynnskiktskromatografi. Silicagel 60, Merck. Elueringsmiddel: butanol/maursyre/vann 4/6/1. Fremkalling: platene ble tørket, sprøytet med svovelsyre i ethanol (5%) og ble oppvarmet (105°C). Hoveddelen av hydrolysatet besto av di-, tri-, tetra- og pentamerer.

20

Rensing av hydrolyseproduktene (jfr. ref. 10)

En del av hydrolysatet inneholdende 1,4- α -koblede oligomerer av D-galacturonsyre ble ledet gjennom en kolonne av "Zerolite" 225 (H⁺) kationbytterharpiks (600 ml harpiks pr. 1000 ml hydrolysat), og eluatet ble lyofilisert. Den erholdte blanding av oligomerer (6 g) ble oppløst i 20 ml destillert vann, og løsningen ble overført på en kolonne av anionbytterharpiks (Dowex® 1 x 2, 50-100 mesh, formiatform, brakt i likevekt med destillert vann). Kolonnen ble eluert med maursyreløsning (vasking: 350 ml, 0,2M) etterfulgt av en konkav gradient (0,2 M, 2000 ml til 0,65 M, 1200 ml) under dannelsen av fraksjoner inneholdende di- og tri-galacturonsyre. Tetragalacturonsyre ble eluert med 1 M maursyreløsning. Frysetørking ga forbindelsene i temmelig ren form (>90%). Utvinningen av D-galacturonsyreoligomerene er angitt i tabell 1.

35

Tabell 1

Utbytte av D-galacturonsyreoligomerer etter ionebytter-kromatografi av råhydrolysat fra 6 g poly-D-galacturonsyre.

n i		Volum av	
(1,4- α -D-Gal) _n	(Oligomer)	Utbytte g (%)	elueringsm. (ml)
1	(mono)	0,2 (3)	200
2	(di)	1,0 (17)	500-1250
3	(tri)	2,0 (34)	1650-3750
4	(tetra)	1,4 (23)	3950-4850

Fremstilling av 1,2,3,6-tetra-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- α -D-galactopyranosyl)- α -D-galactopyranose (forbindelse 5a i skjema 5).

- 20,0 g di-D-galacturonsyre (13) ble tilsatt til en løsning av 20 g calciumklorid i 1,0 l methanol. 15 g Duolite® (H^+) ble tilsatt, og blandingen ble kokt under tilbakesløpskjøling i 18 timer, ble filtrert og inndampet under dannelse av den urene forbindelse 14 (skjema 5). Residuet ble oppløst i 200 ml vann, og en løsning av 6,0 g natriumborhydrid i 30 ml vann ble tilsatt i løpet av 3 minutter under omrøring. Reaksjonsblandingen ble holdt ved omgivelsestemperatur i 20 timer og ble deretter surgjort (Dowex® 50 W-X(2)), filtrert, inndampet med methanol flere ganger og deretter tørket (0,1 torr). Residuet (den urene forbindelse 15; skjema 5) ble suspendert i en blanding av eddiksyreanhydrid og pyridin (1:1, 600 ml), omrørt ved romtemperatur i 24 timer og ble deretter inndampet sammen med toluen flere ganger til et tykt, halvfast residuum uten lukt av pyridin. Residuet ble fordelt mellom 0,5 l ether og 0,2 l vann. Vannfasen ble ekstrahert med 2 x 100 ml ether, og de kombinerte etherfaser ble vasket med 50 ml vann, tørket (natriumsulfat) og inndampet. Inndampning sammen med toluen og tørking (0,1 torr) ga et blekgult residuum (31,5 g, hovedsakelig forbindelse 16, skjema 5). 320 ml eddiksyreanhydrid inneholdende 1% konsentrert svovelsyre ble tilsatt til det tørre residuum, og reaksjonsblandingen ble omrørt ved romtemperatur. Reaksjonen ble overvåket med TLC (SiO_2 ether/toluen, 3/1). Etter omrøring

- i 50 minutter ble reaksjonsblandingen helt over i 1 liter ether, og etherløsningen ble deretter vasket med 150 ml isvann, 150 ml mettet natriumhydrogencarbonatløsning og 150 ml isvann, og ble tørket (natriumsulfat) og inndampet sammen med toluen og tørket (0,1 torr) under dannelse av 32 g av et amorft residuum. Krystallisering fra ethanol ga den angjeldende forbindelse (12,3 g, 33% fra di-galacturonsyre). Kromatografi (SiO_2 , EtOAc/isooctan, 1/1) av modervæsken etterfulgt av krystallisering fra ethanol økte utbyttet til 55%.

Tabell 2

Fysikalske data for α -D-Galp-1-4- α -D-Galp(Ac) $_8$ (forbindelse 5a)

Kilde	Smp. ($^{\circ}\text{C}$)	$(\alpha)_D^t$
15 Ifølge oppfinnelsen	151-154	+ 135 ²¹ (c 0,5, CHCl_3)
Totalsyntese	157-159	+ 137 ²² (c 1,6, CHCl_3)
Ref. 7	153-154	+ 138 ²⁴ (c 2, CHCl_3)
Ref. 9	150-151	+ 141 ²⁰ (c 1,0, CHCl_3)

20 Spektroskopiske data for forbindelse 5a: ^1H NMR (CDCl_3 , TMS):
 δ 6,40 (d, 1H, $J=3,5\text{Hz}$, H-1), 5,59 (d/d, 1H, $J_1=3,0\text{Hz}$, $J_2=1\text{Hz}$, H-4'), 5,44 (d/d, 1H, $J_2=11,0\text{Hz}$, $J_2=3,5\text{Hz}$, H-2), 5,40 (d/d, 1H, $J_1=11,0\text{Hz}$, $J_2=3,0\text{Hz}$, H-3'), 5,25 (d/d, 1H, $J_1=11,0\text{Hz}$, $J_2=3,5\text{Hz}$, H-2'), 5,23 (d/d, 1H, $J_1=11,0\text{Hz}$, $J_2=2,5\text{Hz}$, H-3), 5,03 (d, 1H, $J=3,5\text{Hz}$, H-1'), 4,54 (d/t, 1H, $J_1=J_2=7,0\text{Hz}$, $J_3=1\text{Hz}$, H-5'), 4,36 (d/d, 1H, $J_1=10\text{Hz}$, $J_2=6\text{Hz}$, H-6), 4,23 (t, 1H, $J=6\text{Hz}$, H-5), 4,21 (d, 2H, $J=7\text{Hz}$, H-6'), 4,08 (d/d, 1H, $J_1=10\text{Hz}$, $J_2=6\text{Hz}$, H-6), 2,15, 2,14, 2,11, 2,10, 2,06, 2,03, 2,02, 1,98 (s, 3H hver).

25 ^{13}C NMR (CDCl_3): δ 170,58, 170,50, 170,32, 170,25, 170,11, 169,84, 169,49, 168,87, 99,15 (d, $J=173\text{Hz}$, C-1'), 89,81 (d, $J=178\text{Hz}$, C-1), 77,02, 70,37, 69,26, 68,22, 67,79, 67,29, 67,12, 66,21, 61,74, 60,62, 20,95, 20,90, 20,72 (2c), 20,62 (3c), 20,51.

Eksempel II

Methyl-2,3,6-tetra-O-acetyl-4-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl- α -D-galactopyranosyl)- α -D-galactopyranosid (forbindelse 16, skjema 5)

- 5 En del av den urene forbindelse 16 (eksempel I, blekgult residuum) ble krystallisert fra methanol under dannelse av angjeldende forbindelse 16 som nåler. Smp. 176-178,5°; $[\alpha]_D^{22} + 159,7^\circ$ (c 0,9, CHCl₃); ¹H-NMR (CDCl₃, TMS): δ 5,57 (bred d, 1H, J=3Hz, H-4'), 5,40 (d/d, 1H, J₁=11Hz, J₂=3Hz, H-3'), 5,30-5,19 (3H, H-3, H-2, H-2'), 5,00 (bred s, 2H, H-1, H-1'), 4,54 (bred t, 1H, J=7Hz, H-5'), 4,36 (d/d, 1H, J₁=13Hz, J₂=9Hz, H-6), 4,24-4,04 (5H), 3,42 (s, 3H, CH₃O-), 2,15 (s, 6H), 2,11, 2,10, 2,09, 2,05, 2,01 (s, 3H hver).
- 10 ¹³C-NMR (CDCl₃, TMS): δ 170,54, 170,50, 170,42, 170,30, 170,17, 169,99, 169,40, 99,03 (d, J=172Hz, C-1'), 97,19 (d, J=175Hz, C-1), 77,71, 69,44, 68,28, 67,80 (3C), 67,40, 66,97, 62,37, 60,64, 55,39 (CH₃O), 20,96, 20,80, 20,78, 20,77, 20,73, 20,66 (2C).

20

Methyl-4-O-(α -galactopyranosyl)- α -D-galactopyranosid
(forbindelse 15, skjema 5).

- Angjeldende forbindelse 5 (skjema 5 og eksempel I), ble fremstilt i ren form ved deacetylering av forbindelse 16 etter følgende prosedyre:
- 25 2,5 g av forbindelse 16 ble oppløst i 10 ml varm tetrahydrofuran. 20 ml methanol ble tilsatt, og blandingen ble avkjølt til romtemperatur. 3 ml (0,1M) methanolisk natrium-methylat ble tilsatt, og reaksjonsblandingen ble omrørt i
- 30 24 timer, hvorefter forbindelsen ble utfelt som nåler. Reaksjonsblandingen ble filtrert, og bunnfallet ble vasket med methanol og tørket (0,1 torr) under dannelse av 1,08 g (79%) av forbindelse 15.
- Smp. 210-211°C; $[\alpha]_D^{22} + 228,3^\circ$ (c 0,5, H₂O). ¹H-NMR (DMSO-D₆, D₂O tilsatt, 50°C, TMS) bl.a.: δ 4,82 (1H, d, J=3,5Hz, H-1'), 4,59 (1H, d, J=2,5Hz, H-1), 3,27 (dH, s, CH₃O).
- 35 ¹³C-NMR (D₂O, TSP): δ 103,33 (d, J=170Hz, C-1), 102,33 (d, J=170Hz, C-1'), 81,73, 73,94, 73,85, 72,07, 72,00, 71,85, 71,47, 71,26, 63,47 (t, 2c, J=144Hz, C-6, C-6'), 58,05 (q, J=144Hz, CH₃O).

Eksempel III

Methylesterglycosid av di-D-galacturonsyre (mellomprodukt)
(forbindelse 14, skjema 5)

Angjeldende forbindelse 14 (skjema 5 og eksempel I),

- 5 ble fremstilt ved kromatografisk rensning av rå-
materialet dannet ved første reaksjonstrinn, slik som be-
skrevet i eksempel III, metode B. Forholdet mellom α - og β -
isomerene var ca. 3:1 (bestemt ved NMR).

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-D_6 , D_2O tilsatt, 50°C , TMS) bl.a.:

- 10 δ 4,96 (d, $J=1,5\text{Hz}$, H-5), 4,93^{*} (d, $J=1,5\text{Hz}$, H-5), 4,72
(d, $J=3\text{Hz}$, H-1'), 4,69 (d, $J=4\text{Hz}$, H-1), 4,32 (d, $J=1\text{Hz}$,
H-5'), 4,29^{*} (d, $J=1\text{Hz}$, H-5'), 4,18 (d/d, $J_1=3,0\text{Hz}$,
 $J_2=1\text{Hz}$, H-4'), 4,10^{*} (d, $J=7,5\text{Hz}$, H-1), 3,92 (d/d,
 $J_1=3,0\text{Hz}$, $J_2=1,5\text{Hz}$, H-4), 3,69 (s, COOCH_3), 3,63
15 (s, COOCH_3), 3,42^{*} (s, CH_3O), 3,29 (s, CH_3O).
 $^{13}\text{C-NMR}$ (D_2O , TSP): δ 174,28, 173,36, 173^{*}, 106,51^{*},
106,38, 103,29^{*}, 102,52, 81,83, 81,04^{*}, 74,17, 72,97^{*},
72,84, 72,75, 71,46, 71,40^{*}, 71,39^{*}, 70,81, 70,57,
70,75, 60,38^{*}, 58,59, 55,85^{*}, 55,78, 55,65.

- 20 ^{*}Signaler fra β -isomer.

Eksempel IV

4-O- α -D-galactopyranosyl-D-galactose

(forbindelse 1, skjema 5)

- 25 Forbindelse 5 α (5 g) fra skjema 5 ble løst ved
oppvarming i 100 ml metanol. Etter avkjøling til rom-
temperatur ble det tilsatt 12 ml av en 0,1M løsning av
natriummethoxyd i metanol (jfr. ref. 14). Etter 4 døgn ved
romtemperatur ble blandingen fortynnet med vann, og metanol
30 ble fjernet. Vannløsningen ble nøytralisert med sur ione-
bytterharpiks [Dowex^R 50W-X2 (H)], behandlet med trekull,
filtrert og inndampet. Krystallisering fra metanol-vann ga
angjeldende forbindelse 1 (2 g, 78%), som ikke kunne skilles
fra forbindelse 1 fremstilt ved totalsyntesen.
35 Smp. 211-213 $^\circ\text{C}$; $[\alpha]_{\text{D}}^{26} + 171^\circ$ (c 1, H_2O), Litt.¹⁵:
Smp. 210-211 $^\circ\text{C}$; $[\alpha]_{\text{D}}^{26} + 177^\circ$; Litt.⁷: $[\alpha]_{\text{D}}^{26} + 167^\circ$ (c 1, H_2O)

Ovenfor er det beskrevet reduksjon av en forbindelse med
formel (V) under dannelsen av en forbindelse med

- formel (VI). Ved slike reduksjoner kan deuterium- eller tritium-atomer lett innføres på substituent-carbonatomer som er bundet i 5-stilling ved anvendelse av NaBD₄ hhv. NaBT₄ som reduksjonsmiddel. Innføring av slike
- 5 tyngre isotoper på carbonatomer bundet i 5-stilling resulterer i analytiske fordeler med hensyn til tilsvarende produkt-forbindelser. Innføring av deuteriumatomer for å erstatte hydrogenatomer medfører således at den forstyrrelse som til-
- 10 veiebringes ved nærvær av lactose i massespektrometriske målinger elimineres. På den annen side vil innføring av tritiumatomer på angitte carbonatomer bevirke at de resulterende forbindelser er påvisbare ved radioaktive målinger. Begge disse faktorer letter vesentlig påvisningen av forbindelsene når de anvendes i testsystemer eller ved terapeutisk
- 15 eller diagnostisk anvendelse.

Eksempel V

6,6-di-deuterio-4-O-(6,6-di-deuterio- α -D-galactopyranosyl)-D-galactose

- Angjeldende forbindelse ble fremstilt fra di-D-galacturonsyre (13) ved den metode som er beskrevet i eksempel I, med den forskjell at natriumborhydrid ble erstattet med natriumbordeuterid. Acetylering under sure betingelser ga den tetradeutererte per-O-acetanalog av forbindelse 5.
- 20 ¹HNMR (CDCl₃, TMS): δ 6,38 (d, 1H, J=3,5Hz, H-1), 5,57 (d/d, 1H, J₁=3Hz, J₂=1Hz, H-4'), 5,41 (d/d, 1H, J₁=11Hz, J₂=3,5Hz, H-2), 5,39 (d/d, 1H, J₁=11Hz, J₂=3Hz, H-3'), 5,22 (d/d, 1H, J₁=11Hz, J₂=3,5Hz, H-2'), 5,24 (d/d, 1H, J₁=11Hz, J₂=3Hz, H-3), 5,02 (d, 1H, J=3,5Hz, H-1'), 4,52 (bred s, 1H, H-5'), 4,22 (s, 1H, H-5), 4,21 (d, 1H, J=3Hz, H-4), 2,16, 2,14, 2,11, 2,07, 2,04, 2,03, 2,00 (s, 3 H hver, CH₃CO).
- 26 ¹³CNMR (CDCl₃, TMS): δ 170,57, 170,49, 170,33, 170,28, 170,08, 169,83, 169,44, 168,86, 99,09 (d, J=171Hz, C-1'), 89,79 (d, J=178Hz, C-1), 76,93, 70,17, 69,23, 68,19, 67,70, 67,75, 66,95, 66,14, 20,93, 20,89, 20,71 (2c), 20,61 (3c), 20,49.
- 30 35

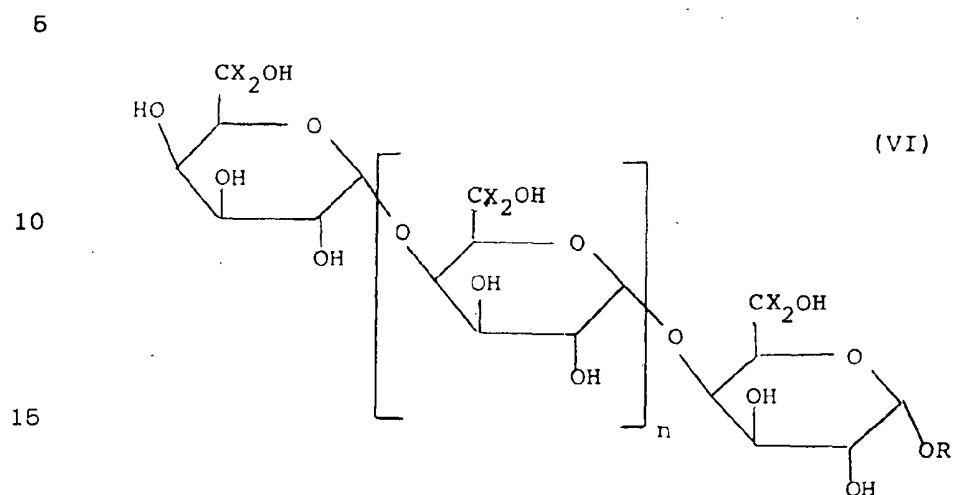
Deacetylering, opparbeidelse og krystallisering som beskrevet i eksempel IV, ga angjeldende forbindelse.

Referanser

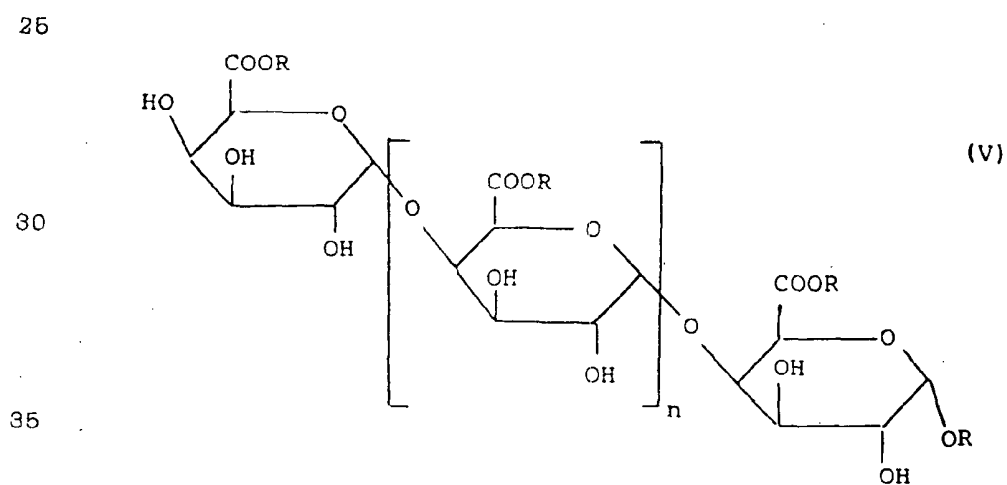
1. Advances in chemotherapy, III. Symposium on bacterial attachment, Stockholm, Sweden, January 23, 1981.
2. H. Leffler and C. Svanborg-Edén, FEMS Microbiol. Lett. 8, 127 (1980).
3. G. Källénus, R. Möllby, S.B.Svenson, J. Winberg, A. Lundblad, S. Svensson and B. Cedergren, FEMS Microbiol. Lett. 7, 297 (1980).
4. E. Mårtenson, Acta Chem. Scand., 17, 2356 (1963).
5. J.K.N. Jones and W.W. Reid, J.Chem.Soc. 1955, 1890.
6. G.O. Aspinall and R.S. Fanshawe, J.Chem.Soc. 1961, 4215.
7. M.E. Chacon-Fuertes and M.Martin-Lomas: Carbohydr. Res. 43, 51 (1975).
8. P.A. Gent, R. Gigg and A.A.E. Penglis, J.Chem.Soc. Perkin Trans. 1, 1395 (1976).
9. D.D. Cox, E.K. Metzner and E.J. Reist, Carbohydr. Res., 62, 245 (1978).
Cf. G.M. Bebault and G.G.S. Dutton, Carbohydr. Res. 37, 309 (1974).
10. M. Dejter-Juszynski and H.M. Flowers, Carbohydr. Res., 41, 308 (1975).
10. I. Ashby, J. Brooks and W.W. Reid, Chem. and Ind., 26, 360 (1955).
11. W.W. Reid; Meth.Carbohydr.Chem. I, 309 (1962).
12. C.f. B.A. Lewis, F. Smith and A.M. Stephens, Meth. Carbohydr. Chem. II, 68 (1963).
13. M.L. Wolfrom, A. Thompson and E. Pacsu, Meth. Carbohydr. Chem. II, 215 (1963).
14. J.K.N. Jones and M. Stacey, J.Chem.Soc., 1947, 1340.
15. R.L. Whistler and H.E. Conrad, J.Am.Chem.Soc., 76, 1673 (1954).

P a t e n t k r a v

1. Fremgangsmåte for fremstilling av en forbindelse av formel (VI):



20 hvori n er et helt tall opp til 10, innbefattende 0, R er hydrogen eller en alkylgruppe, fortrinnsvis med fra 1 til 6 carbonatomer, og X er hydrogen, deuterium eller tritium, karakterisert ved at man reduserer en forbindelse av formel (V):



- . hvori n har den ovenfor angitte betydning og R er en alkyl-
gruppe, fortrinnsvis med fra 1 til 6 carbonatomer, hvoretter
eventuelt den dannede forbindelse av formel (VI) hvori R er
en alkylgruppe, fortrinnsvis med fra 1 til 6 carbonatomer,
5 hydrolyseres under dannelse av en forbindelse av formel (VI),
hvori R er hydrogen.

2. Fremgangsmåte ifølge krav 1,
k a r a k t e r i s e r t v e d. at det innføres deuterium-
10 eller tritiumatomer på de i 5-stillingen bundne substituent-
carbonatomer ved å anvende NaBD_4 eller NaBT_4 som reduksjons-
middel.

15

20

25

30

35