

(12)

Patentschrift

(21) Anmeldenummer: A 561/2006
(22) Anmeldetag: 31.03.2006
(45) Veröffentlicht am: 15.12.2011

(51) Int. Cl. : **C07H 5/06** (2006.01)

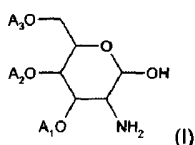
(56) Entgegenhaltungen:
US 2884411A CH 344402A

(73) Patentinhaber:
SPREITZ JOSEF DIPL.ING. DR.
A-8020 GRAZ (AT)
SPRENGER FRIEDRICH DIPL.ING.
A-8010 GRAZ (AT)

(72) Erfinder:
SPREITZ JOSEF DIPL.ING. DR.
GRAZ (AT)
SPRENGER FRIEDRICH DIPL.ING.
GRAZ (AT)

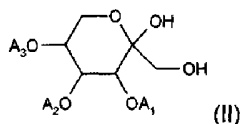
(54) VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG VON AMINOZUCKERN

(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel I

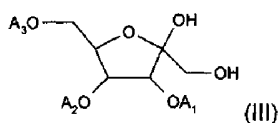


oder eines Salzes dieser Verbindung, umfassend folgende Schritte:

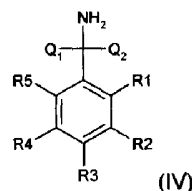
a) Reaktion einer Verbindung der Formel II



oder der Formel III



mit einer Verbindung der Formel IV



unter Entfernung gebildeten Wassers;

b) Reaktion des durch Schritt a) erhaltenen Produktes mit Säure;

c) nachfolgend Hydrieren des durch Schritt b) erhaltenen Produktes;

d) ein- oder mehrfache Umfällung des durch Schritt c) erhaltenen Produktes, um Anteile der Verbindung der Formel IV zu entfernen;

e) Umsetzung des durch Schritt d) erhaltenen Produktes mit

2-Dimethylaminomethylen-5,5-dimethylcyclohexan-1,3-dion und Freisetzung der Verbindung der Formel I aus dem so erhaltenen Produkt,

wobei zumindest einer der Reste A₁, A₂, A₃ ein Kohlenhydratrest ist und die übrigen Reste Wasserstoff darstellen und

wobei die Reste R₁, R₂, R₃, R₄, R₅ unabhängig voneinander H, F, Cl, Br, I ein C₁- bis C₆-Alkyl, ein O-Alkyl, OH, NO₂, CF₃ oder ein Aryl sind und wobei Q₁, Q₂ unabhängig voneinander H, ein C₁- bis C₆-Alkyl oder ein Aryl sind.

Beschreibung

VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG VON AMINOZUCKERN

[0001] Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung eines Aminosuckers oder eines Salzes eines Aminosuckers.

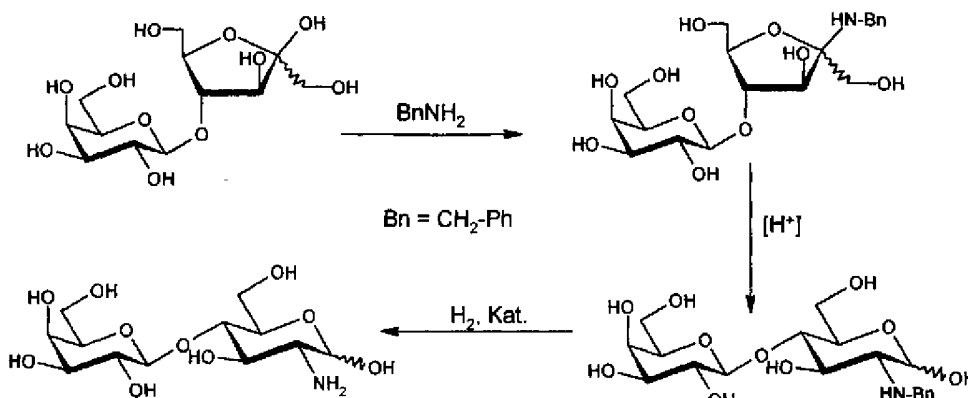
[0002] Weiter betrifft die Erfindung ein Derivat eines Aminosuckers, an dessen Stickstoffatom eine Schutzgruppe gebunden ist.

[0003] Derivate von Aminosuckern können wichtige biologische Bausteine darstellen, welche in Lebewesen an unterschiedlichen Stellen anzutreffen sind. Beispielsweise findet sich das N-Acetylglucosamin, das 4-O- β -D-Galactopyranosylderivat des Glucosamins, in Blutgruppenteterminanten, in Glycolipiden, in Membrangangliosiden und der core-Struktur von Glycoproteinen. Verbindungen wie N-Acetylglucosamin spielen daher bei der Zellerkennung, Steuerung von Entzündungsprozessen, Blutgerinnung und Metastasenbildung eine bedeutende Rolle.

[0004] Für eine Untersuchung der beispielhaft genannten und weiteren biologischen Vorgänge stellen Aminosucker oftmals ein unverzichtbares Hilfsmittel dar. Daneben sind Aminosucker wertvolle Synthesebausteine in der Oligosaccharidsynthese und werden unter anderem zur Herstellung von Antibiotika eingesetzt.

[0005] Viele Aminosucker und davon abgeleitete Derivate, insbesondere Lactosamin, sind zwar kommerziell erhältlich, jedoch sehr teuer, da vielstufige Synthesen erforderlich sind, welche Produkte nur in geringen Ausbeuten liefern. Aus diesen Gründen wird gegenwärtig intensiv nach kurzen und billigen Synthesewegen für Aminosucker geforscht, welche größere Mengen der Aminosucker kostengünstig zugänglich machen. Ein Kriterium dabei ist, dass zur Abtrennung eines Produktes chromatographiefrei gearbeitet werden kann, so dass ein im Labormaßstab entwickeltes Verfahren aufskaliert werden kann.

[0006] Im Zusammenhang mit den vorstehend erwähnten intensiven Bemühungen neue Synthesewege für Aminosucker zu finden, wurde ein kurzer, dreistufiger Syntheseweg zur Herstellung von Lactosamin aus Lactulose vorgeschlagen (Angewandte Chemie, International Edition, 38(6) 1999, Seiten 827 bis 828). Bei diesem Verfahren wird Lactulose mit Benzylamin umgesetzt, das so erhaltene Produkt anschließend mit Säure versetzt, um eine Heyns-Umlagerung durchzuführen, und das Produkt der Heyns-Umlagerung schließlich hydriert, so dass im Reaktionsgemisch Lactosamin erhalten wird. Das Reaktionsschema ist nachstehend formelmäßig dargestellt.



[0007] Wenngleich mit diesem Verfahren Lactosamin und andere Aminosucker aus O-glycosylierten D-Fructosen mit einem kurzen Syntheseverfahren und daher in vergleichsweise hohen Ausbeuten erhalten werden können, weist es den Nachteil auf, dass sich die Aminosucker, insbesondere Lactosamin, aus dem Produkt des Hydrierungsschrittes nur äußerst umständlich in hochreiner Form abtrennen lassen, da sie nicht oder nicht zufriedenstellend zur Kristallisation gebracht werden können. Folglich ist es auch äußerst schwierig, kostengünstig

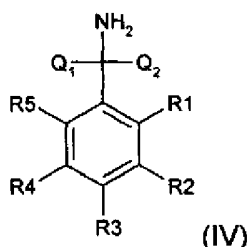
kristallines und hochreines Lactosamin zu erhalten, das am Stickstoffatom eine Schutzgruppe trägt und für weitere Reaktionen eingesetzt werden kann.

[0008] Hier setzt die Erfindung an und setzt sich zum Ziel, ein Verfahren der eingangs genannten Art anzugeben, das eine Abtrennung der Aminosucker oder ihrer Salze aus dem Verfahrensprodukt in hochreiner, kristalliner Form auf einfache Weise ermöglicht.

[0009] Ein weiteres Ziel der Erfindung ist die Angabe einer Verbindung der eingangs genannten Art, welche auf einfache Weise in hochreiner und kristalliner Form gewonnen werden kann.

[0010] Das verfahrensmäßige Ziel der Erfindung wird durch ein Verfahren gemäß Anspruch 1 erreicht. Vorteilhafte Varianten eines erfindungsgemäßen Verfahrens sind Gegenstand der Ansprüche 2 bis 6.

[0011] Die Erfindung fußt auf der Erkenntnis, dass eine Kristallisation von Aminosuckern, insbesondere Lactosamin, gehemmt bzw. erschwert ist, wenn in der Reaktionsmischung, aus der das gewünschte Produkt abzutrennen ist, noch Reaktanden vorliegen. Wird nun, wie erfindungsgemäß vorgesehen, bei Reaktion einer Ketose bzw. einem Ketozucker mit einer Verbindung der Formel IV,

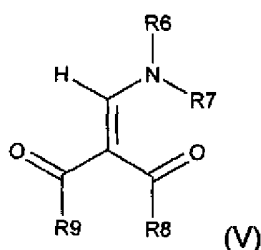


[0012] wobei die Reste R1, R2, R3, R4, R5 unabhängig voneinander H, F, Cl, Br, I, ein C₁- bis C₆-Alkyl, ein O-Alkyl, OH, NO₂, CF₃ oder ein Aryl sind und wobei Q₁, Q₂ unabhängig voneinander H, ein C₁- bis C₆-Alkyl oder ein Aryl sind, gebildetes Wasser entfernt, so wird das Reaktionsgleichgewicht in Richtung des Produktes verschoben. In der Folge finden sich unter den Produkten der nachfolgenden Reaktionsschritte weniger der ursprünglichen Edukte, was eine einfachere Abtrennung des Aminosuckers bzw. eines Salzes davon aus der Produktmischung in hochreiner, kristalliner Form erlaubt.

[0013] Ein anderer Vorteil liegt darin, dass nun auch kostengünstige wasserhaltige Edukte, z.B. Lactulose-tri-hydrat, eingesetzt werden können.

[0014] Günstig und im Rahmen der Erfindung vorgesehen ist es, dass nach einer Reaktion eines Eduktes mit einer Verbindung der Formel IV wie vorstehend beschrieben und Ansäuern und Hydrieren des so erhaltenen Produktes eine ein- oder mehrfache Umfällung des Hydrierproduktes erfolgt, um Anteile der Verbindung der Formel IV zu entfernen. Wie nämlich gefunden wurde, können auch merkliche Anteile einer Verbindung der Formel IV kristallisationshemmend wirken und dazu führen, dass ein Aminosucker äußerst schwierig in kristalliner und damit auch in hochreiner Form zu erhalten ist.

[0015] In besonders reiner Form lässt sich ein Aminosucker oder eines seiner Salze aus einem Reaktionsgemisch abtrennen, wenn dieses mit einer Verbindung der Formel V

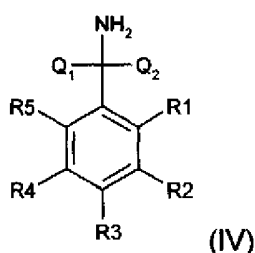


[0016] umgesetzt und anschließend der Aminosucker bzw. sein Salz freigesetzt wird, da die

entsprechend gebildeten Zwischenprodukte eine besonders hohe Kristallisationsneigung aufweisen und daher hochrein isoliert werden können. Im Rahmen der Erfindung wird diesbezüglich 2-Dimethylaminomethylen-5,5-dimethylcyclohexan-1,3-dion eingesetzt.

[0017] In einem erfindungsgemäßen Verfahren kann eine Entfernung von gebildetem Wasser grundsätzlich auf jede dem Fachmann bekannte Art, z.B. Abdestillieren, durchgeführt werden. Von Vorteil ist es jedoch, wenn der Reaktionsmischung ein Alkali- oder Erdalkalihydrid oder ein Alkalihydroxid, insbesondere Calciumhydrid, zugesetzt wird. Diese Substanzen sind einerseits wasserentziehend und andererseits in üblichen organischen Lösungsmitteln nicht löslich, so dass sie auf einfache Art aus der Reaktionsmischung durch Filtration abgetrennt werden können. Calciumhydrid eignet sich in diesem Zusammenhang besonders, da es eine hohe Reaktivität gegenüber Wasser aufweist.

[0018] Besonders bevorzugt ist es weiter, wenn bei einer Verbindung der Formel IV



[0019] Q₁ und Q₂ für H stehen und einer der Reste R₁, R₂, R₃, R₄, R₅ Cl, Br oder I und die übrigen dieser Reste H sind. Dadurch kann insbesondere bei einer Herstellung von Lactosamin im Wege über eine Heyns-Umlagerung sichergestellt werden, dass sich auf Grund sterischer Gegebenheiten hauptsächlich das gluco-Derivat bildet und eine Bildung des manno-Derivats, welches ebenfalls kristallisationshemmend wirkt, unterdrückt ist. Diesbezüglich haben sich monosubstituierte Benzylaminderivate, insbesondere 2-Chlorbenzylamin, als günstige Reaktionspartner erwiesen.

[0020] Eine ein- oder mehrfache Umfällung des nach einer Heyns-Umlagerung und Hydrierung erhaltenen Produktes wird bevorzugt mit einem Alkohol oder einem Alkoholgemisch durchgeführt. Kristallisationshemmende Nebenprodukte wie beispielsweise 2-Chlorbenzylamin lassen sich auf diese Weise einfach und effektiv abtrennen.

[0021] Zur Entfernung des Aminoszuckers aus dem Reaktionsgemisch kann der Aminoszucker wie erwähnt mit 2-Dimethylaminomethylen-5,5-dimethylcyclohexan-1,3-dion umgesetzt und anschließend der Aminoszucker, z.B. Lactosamin, aus der so erhaltenen Verbindung freigesetzt werden. Ein Vorteil dieser Verfahrensführung liegt insbesondere darin, dass das entsprechende Derivat eine besonders hohe Kristallisationsneigung aufweist, was die Gewinnung eines besonders reinen, hochkristallinen Aminoszuckers bzw. Lactosamins ermöglicht.

[0022] Wiewohl das vorstehend erläuterte erfindungsgemäße Verfahren grundsätzlich auf Ketosen aller Art anwendbar ist, eignet es sich doch besonders, wenn als Ausgangsprodukt Lactulose als Zucker eingesetzt wird.

[0023] Das weitere Ziel der Erfindung wird durch eine Verbindung nach Anspruch 7 erreicht.

[0024] Vorteile einer erfindungsgemäßen Verbindung sind insbesondere darin zu sehen, dass diese in hochreiner, kristalliner Form gewonnen und in dieser Konstitution für weitere Reaktionen eingesetzt werden kann. Beispielsweise lassen sich auf Basis dieser Verbindung hochreine Kohlenhydrat-Derivate gewinnen, wonach bei Bedarf die am Stickstoff lokalisierte Schutzgruppe abgespalten werden kann.

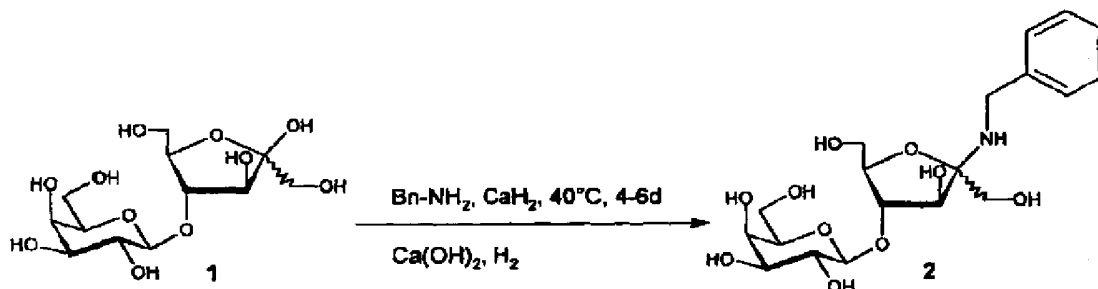
[0025] Insbesondere eine Reihe von Lactosamin-Derivaten können auf Basis dieser Verbindung auf einem einfachen Weg in hochreiner Form erhalten werden. Dabei erweist es sich als besonders zweckmäßig, einer äußerst hohen Kristallisationsneigung wegen, wenn es sich um 2-Desoxy-2-[(4,4-dimethyl-2,6-dioxocyclohexylydenmethyl)amino]-d-Lactose handelt.

[0026] Weitere Vorteile und Wirkungen der Erfindung ergeben sich aus dem Zusammenhang der Beschreibung sowie den nachfolgenden Ausführungsbeispielen.

[0027] Beispiel I

[0028] Schritt a):

[0029] 2-N-Benzyl-4-O-(β-D-galactopyranosyl)-D-fructosamin (2)



[0030] In einem Reaktionsgefäß wurden 240 ml (235,7 g bzw. 2200 mmol) wasserfreies Benzylamin vorgelegt und in diesem 24,6 g (584 mmol) Calciumhydrid dispergiert. Nach 10 Minuten wurden 100 g wasserfreie Lactulose 1 (292 mmol) zugesetzt und diese Reaktionsmischung bei 40 °C Badtemperatur bis zum vollständigen Verschwinden des Eduktes (vier Tage) gerührt.

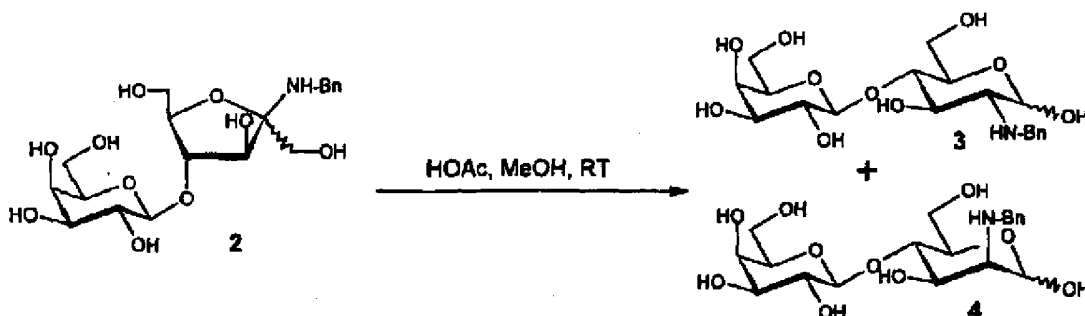
[0031] Nach dem Abkühlen der Reaktionsmischung wurde mit 1l wasserfreiem Tetrahydrofuran verdünnt und über eine Schicht Celite® filtriert. Nach dem Abziehen des Tetrahydrofurans wurde zwei Mal mit je 1l Cyclohexan und drei Mal mit je 1l Diethylether extrahiert. Nach der dritten Etherextraktion konnte das Produkt zu einem gelben pulverigen Niederschlag zermahlen werden.

[0032] Nach Filtration und Trocknung wurden 140 g eines ockergelben Pulvers erhalten, welches ohne weitere Reinigung zur Heyns-Umlagerung bzw. Schritt b) herangezogen wurde.

[0033] Dünnschichtchromatographie: CHCl₃/MeOH/H₂O = 8:4:1

[0034] Schritt b):

[0035] 2-N-Benzyl-4-O-β-D-galactopyranosyl-D-glucosamin (3) (N-Benzyl-lactosamin) und 2-N-Benzyl-4-O-β-D-galactopyranosyl-D-mannosamin (4)



[0036] Das gelbe Pulver aus Schritt a) wurde in 300 ml absolutem Methanol gelöst und die gelbe klare Lösung mit 50 ml Eisessig versetzt. Danach wurde 24 Stunden gerührt.

[0037] Anschließend wurde die klare Reaktionslösung langsam unter heftigem Rühren in 1l wasserfreien Diethylether eingegossen. Es fiel ein brauner zäher Sirup aus, der mit fortschreitendem Rühren bzw. Kneten zäher wurde und schließlich zu einem ockergelben feinen Niederschlag zerfiel. Dieser Niederschlag wurde filtriert, mit Diethylether gewaschen und getrocknet.

[0038] Es wurden 110 g eines ockergelben Pulver bestehend aus Lactulose 3, N-Benzyl-Lactosamin 3 und 2C-epimeren Mannosaminderivat 4 erhalten. Weiter war ein geringer Anteil

eines Amadori-Produktes vorhanden.

[0039] Dünnschichtchromatographie: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O} = 8:4:1$

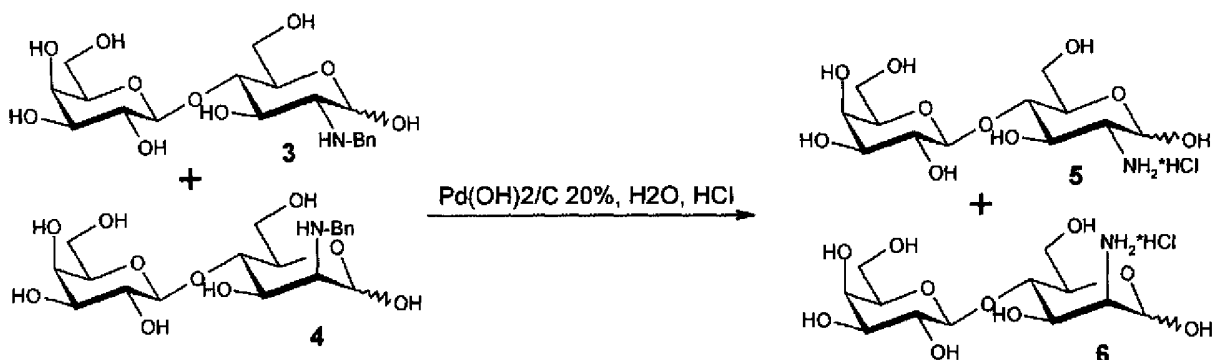
[0040] NMR (3): ^1H (D_2O) $\delta=7,25$ (m, H-Ar.); 5,15 (d, H-1 α , $J_{1,2}=3,5\text{Hz}$); 5,48 (d, H-1 β , $J_{1,2}=8,2\text{Hz}$); 4,26 (2xd, H-1', $J_{1',2}=7,8\text{Hz}$).

[0041] NMR (4): ^1H (D_2O) $\delta=7,25$ (m, H-Ar.); 5,04 (d, H-1 α , $J_{1,2}=1,4\text{Hz}$); 4,85 (d, H-1 β , $J_{1,2}=1,3\text{Hz}$); 4,26 (2xd, H-1', $J_{1',2}=7,8\text{Hz}$).

[0042] Die Aufnahme dieser und wie aller anderen NMR-Spektren erfolgte auf einem VARIAN INOVA 500 MHz (^1H) bei 499,82 MHz beziehungsweise 125,69 MHz (^{13}C).

[0043] Schritt c):

[0044] 2-Amino-2-deoxy-4-O- β -D-galactopyranosyl-D-glucose Lactosamin (5) und 2-Amino-2-deoxy-4-O- β -D-galactopyranosyl-D-mannose (6)



[0045] 110 g des im Schritt b) gewonnenen Produktgemisches wurden ohne weitere Reinigung in 700 ml Wasser gelöst, mit konzentrierter HCl bis pH 1-2 angesäuert, mit 8 g $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ (20 %) versetzt und hydriert. Das Hydriergemisch wurde über eine Schicht Celite[®] filtriert und bei maximal 30 °C Badtemperatur einrotiert. Es wurde ein orangefarbenes Pulver erhalten.

[0046] Schritt d):

[0047] Umfällung des Produktes aus Schritt c) mit einem Alkoholgemisch

[0048] Zur Abtrennung von restlichem Benzylamin wurde das Pulver mehrmals aus Methanol/Isopropylalkohol umgefällt. Es wurde pulvriger Niederschlag erhalten, der mit Isopropylalkohol gewaschen und getrocknet wurde.

[0049] Ausbeute: 80 g einer grauweißen pulvrigen Substanz bestehend aus Lactosamin* HCl 5, Mannoderivat* HCl 6 und wenig Lactulose 1.

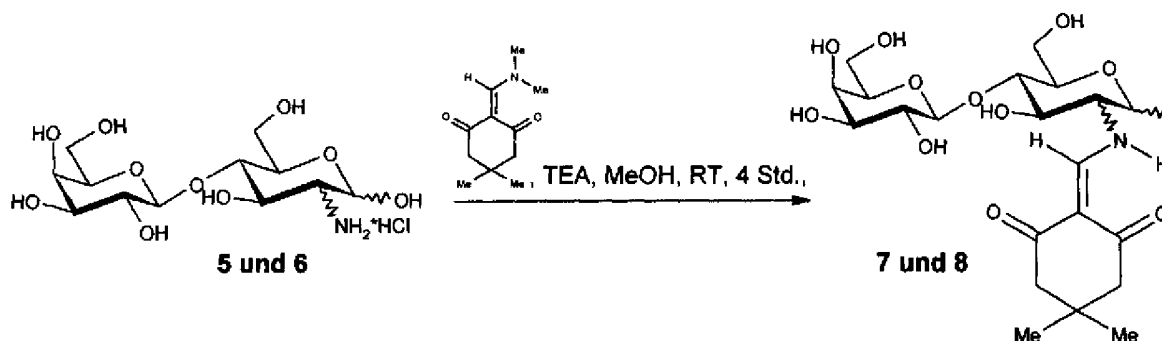
[0050] Dünnschichtchromatographie: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{NH}_3 = 1:2:1$

[0051] NMR(5): ^1H (D_2O) $\delta=5,28$ (d, H-1 α , 0,6H, $J_{1,2}=3,6\text{Hz}$); 4,81 (d, 0,4H, H-1 β , $J_{1,2}=8,6\text{Hz}$); 4,29 (2xd, 1H, H-1', $J_{1',2}=7,82\text{Hz}$); 3,87-3,47 (m, 10H); 3,39-3,35 (m, 1H); 3,17 (dd, 0,6H, $J=4\text{Hz}$, 10,6Hz); 2,87 (dd, 0,4H, $J=8,5\text{Hz}$, 10,6Hz).

[0052] NMR (6): ^1H (D_2O) $\delta=5,23$ (d, 0,4H, H-1 α , $J_{1,2}=1,95\text{Hz}$); 5,06 (d, 0,6H, H-1 β , $J_{1,2}=1,6\text{Hz}$); 4,3 (2xd, 1H, H-1', $J_{1',2}=7,6\text{Hz}$); 4,10 (dd, 0,4H, $J=4,3\text{Hz}$, 8,6Hz); 3,94 und 3,90 (dd und m, 1H, $J=4,3\text{Hz}$, 8,6Hz); 3,81-3,36 (m, 10,7H).

[0053] Schritt e):

[0054] 2-Desoxy-2-[(4,4-dimethyl-2,6-dioxocyclohexyldenmethyl)amino]-4-O- β -D-galactopyranosyl-D-glucose (7) und 2-Desoxy-2-[(4,4-dimethyl-2,6-dioxocyclohexyldenmethyl)amino]-4-O- β -D-galactopyranosyl-D-mannose (8)



[0055] 80 g des Produktgemisches aus Schritt d) wurden in 800 ml Methanol aufgenommen. In die so erhaltene Suspension wurde innerhalb von zwei Stunden eine Lösung von 70 g 2-Dimethylaminomethylen-5,5-dimethylcyclohexan-1,3-dion (beziehbar z.B. bei Ambinter, 50, avenue des Versailles, Paris 75016, Frankreich oder Interchim, 211 bis Av. J.F. Kennedy, BP 1140, Montlucon, 03103, Frankreich) und 50 ml Triethylamin (TEA) in 300 ml Methanol eingetropft. Anschließend wurde 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, danach die Reaktionslösung einrotiert und der so erhaltene Sirup zur Entfernung des TEA mehrmals mit Toluol coevaporiert. Der erhaltene Rückstand wurde in wenig Methanol gelöst und mehrmals mit Dichlormethan digeriert. Es verblieb eine blassgelbe pulvrige Substanz, welche in 1l Ethanol gelöst und zum Kristallisieren für mehrere Tage in den Kühlschrank gestellt wurde. Es wurden 40 g des Produktes 7 in Form weißer Kristalle gewonnen (28 % Ausbeute ausgehend von Lactulose 1).

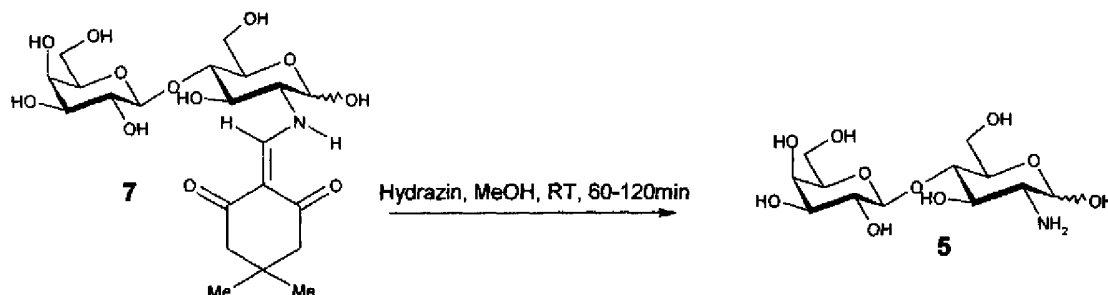
[0056] Dünnschichtchromatographie: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O} = 8:4:1$

[0057] NMR (7): ^1H (D_2O) $\delta=8,07$ (s, 0,65H, N-CH=C α); 8,06 (s, 0,35H, N-CH=C β); 5,23 (d, 0,65H, H-1 α , $J_{1-2}=4\text{Hz}$); 4,83 (d, 0,35H, H-1 β , $J_{1-2}=8\text{Hz}$); 4,35 (d, 1H, H-1', $J_{1'-2}=8\text{Hz}$); 3,9-3,1 (m, 12H); 2,29 (2xs, 4H, $2\times\text{CH}_2$); 0,89 (s, 6H, $2\times\text{CH}_3$).

[0058] Aus der Mutterlauge konnte nach Abziehen des Ethanols aus Isopropylalkohol das Manno-Derivat (8) ausgefällt werden. Die Ausbeute war 5 g eines weißen Niederschlages.

[0059] NMR (8): ^1H (D_2O) $\delta=8,05$ (s, 1H, N-CH=C); 5,18 ppm (s, 0,5H, H-1); 5,03 (s, 0,5, H-1 β); 4,25 (d, 1H, H-1', $J_{1'-2}=7,4\text{Hz}$); 4,07 (dd, 0,5H, H-6', $J_{6'a-6'b}=8,8\text{Hz}$, $J_{6'a-5'}=3,7\text{Hz}$); 3,92-3,80 (2,5H); 3,78-3,65 (2,5H); 3,60-3,44 (5,5H); 3,39-3,33 (m, 1H, H-2); 2,27 (2xs, 4H, $2\times\text{CH}_2$); 0,86 (s, 6H, $2\times\text{CH}_3$).

[0060] 2-Amino-2-deoxy-4-O- β -D-galactopyranosyl-D-glucose, Lactosamin (5)



[0061] 40 g (82 mmol) der 2-Desoxy-2-[(4,4-dimethyl-2,6-dioxocyclohexyldenmethyl)amino]- α,β -D-lactose 7 wurden in 400 ml Methanol suspendiert und zur Suspension eine Lösung von 8 ml (165 mmol Hydrazin) Hydrazinhydrat in 400 ml Methanol bei RT zugegeben. Nach 60 Minuten wurde die Reaktionsmischung auf das halbe Volumen eingeeengt. Das Produkt wurde mit Isopropylalkohol gefällt und nach dem Filtrieren und Nachwaschen mit Diethylether getrocknet.

[0062] Die getrocknete weiße pulvrige Substanz wurde in wenig Wasser gelöst, mit HCl bis pH 2-3 angesäuert und mit Aceton zur Kristallisation gebracht.

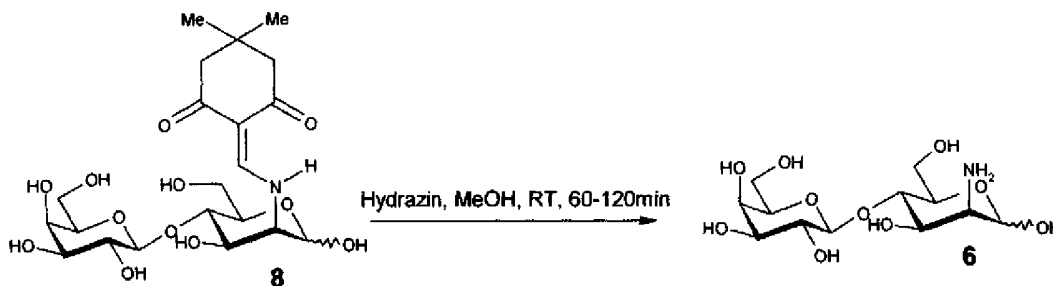
[0063] Ausbeute: 25 g (81 % der Theorie Lactulosehydrochlorid in Form hochreiner, farbloser

Kristalle (22 % bezogen auf Lactulose).

[0064] Dünnschichtchromatographie: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O} = 8:4:1$ und $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{NH}_3 = 1:2:1$
NMR(5^*HCl): ^1H (D_2O) $\delta=5,28$ (d, H-1 α , 0,6H, $J_{1-2}=3,6\text{Hz}$); 4,81 (d, 0,4H, H-1 β , $J_{1-2}=8,6\text{Hz}$); 4,29 (2xd, 1H, H-1', $J_{1'-2}=7,82\text{Hz}$); 3,87-3,47 (m, 10H); 3,39-3,35 (m, 1H); 3,17 (dd, 0,6H, $J=4\text{Hz}$, 10,6Hz); 2,87 (dd, 0,4H, $J=8,5\text{Hz}$, 10,6Hz).

[0065] ^{13}C (D_2O) $\delta=101,99$, 101,94 (C-1'); 91,51, 87,86 (C-1); 77,11, 77,02 (C-4); 74,36, 74,03 (C-5'); 71,42, 71,40 (C-3'); 69,96, 69,92 (C-2'); 69,72, 69,29 (C-5); 67,53, 67,51 (C-4'); 67,33 (C-3); 60,12, 60,10 (C-6'); 58,83, 58,71 (C-6); 55,45, 53,03 (C-2).

[0066] 2-Amino-2-deoxy-4-O- β -D-galactopyranosyl-D-mannose (6)



[0067] Die Abspaltung erfolgte analog Verbindung 5. Aus 5 g der Verbindung 8 wurden 3 g der Verbindung 6 als Hydrochlorid gewonnen werden, das entspricht 78 % bezogen auf 8 und 2,7 % bezogen auf 100 g Lactulose 1.

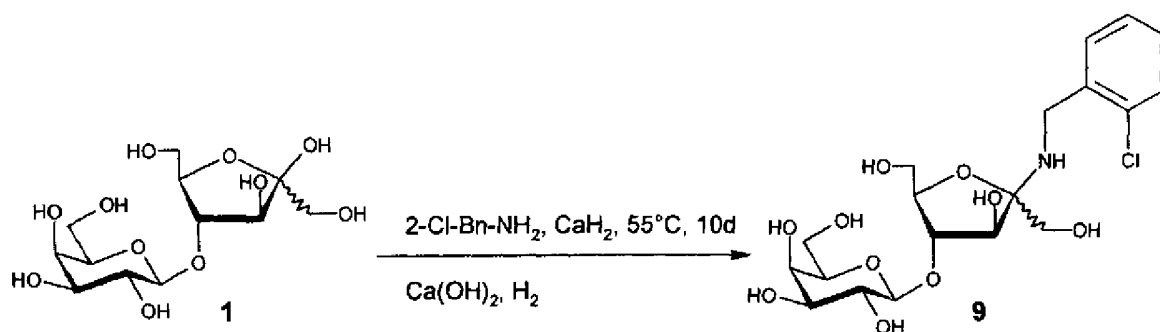
[0068] NMR (6^*HCl): ^1H (D_2O) $\delta=5,23$ (d, 0,4H, H-1 α $J_{1-2}=1,95\text{Hz}$); 5,06 (d, 0,6H, H-1 β , $J_{1-2}=1,6\text{Hz}$); 4,3 (2xd, 1H, H-1', $J_{1'-2}=7,6\text{Hz}$); 4,10 (dd, 0,4H, $J=4,3\text{Hz}$, 8,6Hz); 3,94 und 3,90 (dd und m, 1H, $J=4,3\text{Hz}$, 8,6Hz); 3,81-3,36 (m, 10,7H).

[0069] ^{13}C (D_2O) $\delta=103,29$, 103,24 (C-1'); 91,16, 90,18 (C-1); 76,22, 76,10 (C-4); 75,62, 74,86, 72,51, 72,50 70,85, 70,74, 68,56, 68,59, 68,57 66,16 (C-5', C-3', C-2, C-5, C-4'); 61,17, 61,14 (C-6'); 59,95, 59,82 (C-6), 54,78, 53,69 (C-2).

[0070] Beispiel II

[0071] Schritt a):

[0072] 2-N-(2-Chlorbenzyl)-4-O- β -D-galactopyranosyl-D-fructosamin (9)



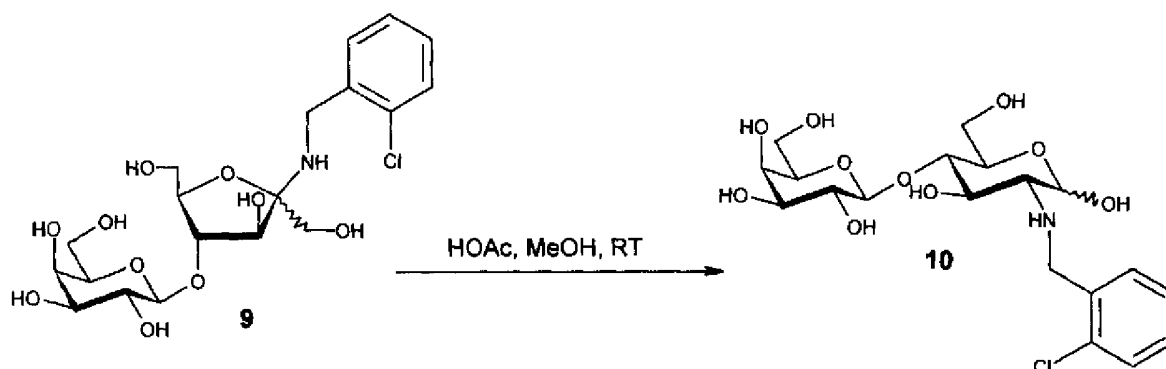
[0073] Die Reaktion und Aufarbeitung erfolgen analog Substanz 2. Auf Grund des höheren Raumbedarfes der 2-Chlorbenzyl-Funktion wurde eine höhere Reaktionstemperatur von 55 °C und eine längere Reaktionszeit von 12 Tagen gewählt.

[0074] Ausbeute: Aus 25 g Lactulose 3 konnten 32,5 g eines ockergelben Pulvers isoliert werden, welches ohne weitere Reinigung zur Heyns-Umlagerung herangezogen wurde.

[0075] Dünnschichtchromatographie: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O} = 8:4:1$

[0076] Schritt b):

[0077] 2-N-(2-Chlorbenzyl)-4-O-β-D-galactopyranosyl-D-glucosamin (10)



[0078] Die Reaktion und Aufarbeitung erfolgten analog Substanz 5 in Beispiel I.

[0079] Ausbeute: Aus 32 g der Vorstufe 10 konnten 25 g eines gelben Pulvers isoliert werden, welches ohne weitere Reinigung zur Hydrierung herangezogen wurde. Gemäß NMR-Daten war ein Anteil des mannokonfigurierten Isomers kleiner als 5 % und damit deutlich geringer als in Beispiel I und bei Verfahren gemäß dem Stand der Technik (ca. 15 bis 30 % mannokonfiguriertes Isomer).

[0080] Dünnschichtchromatographie: $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O} = 8:4:1$.

[0081] NMR (10): ^1H (D_2O) $\delta = 7,22$ und $7,09$ (2xs(b), H-Ar); $5,11$ (s(b), H-1 α); $4,55$ (d, H-1 β , $J_{1-2} = 7,8\text{Hz}$); $4,23$ (d, H-1', $J_{1'-2'} = 7,2\text{Hz}$).

[0082] Schritt c):

[0083] 2-Amino-2-deoxy-4-O-β-D-galactopyranosyl-D-glucose, Lactosamin (5)

[0084] Die aus der Hydrierung resultierende Reaktionsmischung wurde über Celite® filtriert und vorhandenes Wasser restlos abgezogen. Dann wurde mehrmals aus Methanol/Isopropanol umgefällt und danach der Rückstand in Ethanol (40 ml/g Substanz) unter vorsichtigem Erwärmen bei max. 40°C gelöst. Diese Lösung wurde etwa eine Stunde stehen gelassen und der vorhandene Niederschlag abfiltriert. Anschließend wurde die Lösung bis zum ersten Auftreten eines Niederschlages eingeeengt, der unter vorsichtigem Erwärmen wieder gelöst wurde. Danach wurde mit etwas kristallinem Lactosaminhydrochlorid beimpft und bei $4-6^\circ\text{C}$ kristallisiert. Das gewünschte Produkt 5 wurde in einer Ausbeute von ca. 20 %, bezogen auf Lactulose, erhalten. NMR-Daten waren analog zu jenen in Beispiel I.

[0085] Verwendete Abkürzungen bei NMR-Daten:

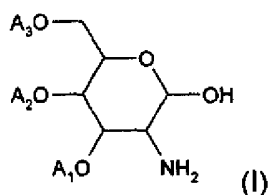
- [0086] s Singulett
- [0087] d Dublett
- [0088] t Triplett
- [0089] dd doppeltes Dublett
- [0090] m Multiplett
- [0091] n.a nicht aufgelöst
- [0092] b breites Signal
- [0093] δ chemische Verschiebung
- [0094] J Kopplungskonstante

[0095] Die Werte für die chemischen Verschiebungen δ sind in ppm, die Kopplungskonstanten J in Hertz (Hz) angegeben. Die Spektren wurden in D_2O aufgenommen, referenziert wurde

dabei auf 4,65 ppm für Restwasser in D₂O. Wurden andere Lösungsmittel verwendet, so ist dies bei den Spektraldaten angegeben. Geminale Wasserstoffatome (CH₂) werden mit a und b unterschieden, wobei H-1a das H-Atom mit höherem Shift und H-1b das H-Atom mit dem niederen Shift bezeichnet. Bei Disacchariden und ihren Derivaten wurden Atome der nichtreduzierenden Enden mit H-1' bzw. C-1' bezeichnet.

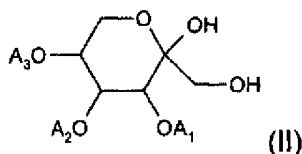
Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel I

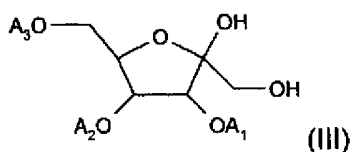


oder eines Salzes dieser Verbindung, umfassend folgende Schritte:

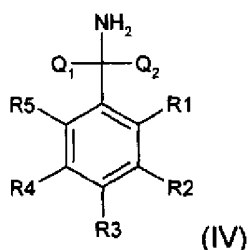
a) Reaktion einer Verbindung der Formel II



oder der Formel III



mit einer Verbindung der Formel IV



unter Entfernung gebildeten Wassers;

b) Reaktion des durch Schritt a) erhaltenen Produktes mit Säure;

c) nachfolgend Hydrieren des durch Schritt b) erhaltenen Produktes;

d) ein- oder mehrfache Umfällung des durch Schritt c) erhaltenen Produktes, um Anteile der Verbindung der Formel IV zu entfernen;

e) Umsetzung des durch Schritt d) erhaltenen Produktes mit

2-Dimethylaminomethylen-5,5-dimethylcyclohexan-1,3-dion und Freisetzung der Verbindung der Formel I aus dem so erhaltenen Produkt,

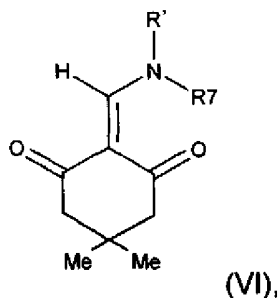
wobei zumindest einer der Reste A₂, A₃ ein Kohlenhydratrest ist und die übrigen Reste Wasserstoff darstellen und

wobei die Reste R₁, R₂, R₃, R₄, R₅ unabhängig voneinander H, F, Cl, Br, I ein C₁- bis C₆-Alkyl, ein O-Alkyl, OH, NO₂, CF₃ oder ein Aryl sind und

wobei Q₁, Q₂ unabhängig voneinander H, ein C₁- bis C₆-Alkyl oder ein Aryl sind.

2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei im Schritt a) der Reaktionsmischung ein Alkali- oder Erdalkalihydrid oder ein Alkalihydroxid, insbesondere Calciumhydrid, zugesetzt wird.

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, wobei Q_1 und Q_2 für H stehen und einer der Reste R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 Cl, Br oder I und die übrigen dieser Reste H sind.
4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei die Verbindung der Formel IV ein monosubstituiertes Benzylaminderivat, insbesondere 2-Chlorbenzylamin, ist.
5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei im Schritt d) zur Umfällung ein Alkohol oder ein Alkoholgemisch eingesetzt wird.
6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, wobei im Schritt a) Lactulose eingesetzt wird.
7. Verbindung der Formel VI



wobei R' einen Lactosylrest darstellt und R_7 für H oder ein C_1 - bis C_4 -Alkyl steht.

8. Verbindung nach Anspruch 7, wobei die Verbindung der Formel VI 2-Desoxy-2-[(4,4-dimethyl-2,6-dioxocyclohexylidenmethyl)amino]-d-Lactose ist.

Hierzu keine Zeichnungen