

Kohlenhydrate

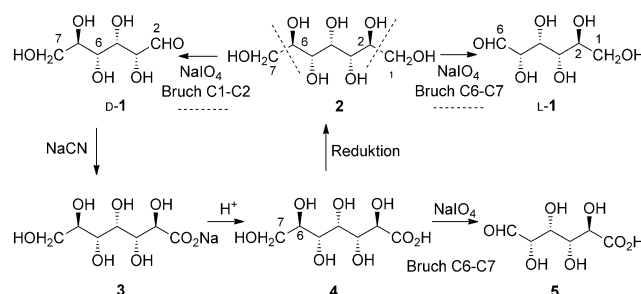
Kurz und knapp: L-Glucose und L-Glucuronsäure aus D-Glucose**

R. Fernando Martínez, Zilei Liu, Andreas F. G. Glawar, Akihida Yoshihara, Ken Izumori, George W. J. Fleet und Sarah F. Jenkinson*

Abstract: Das seltene Vorkommen und die Kosten der Herstellung von L-Zuckern und anderen seltenen Zuckern haben die volle Ausschöpfung ihres biologischen Potenzials bisher verhindert; zum Beispiel D-Psicose, erst seit kurzem verfügbar, ist schon als wichtiges neues Nahrungsmittel anerkannt. Hier stellen wir die preiswerte Synthese von 99,4 % reiner L-Glucose aus D-Glucose vor, die keinerlei Aufbereitung von Zwischen- oder Endprodukten, abgesehen von der Extraktion in und dem Entfernen von Lösungsmitteln, benötigt. Durch einfache Umkristallisation wird die Reinheit auf > 99,8 % erhöht.

L-Zucker sind von großer Bedeutung, jedoch teuer und schwierig in der Herstellung.^[1] Die Umwandlung von D-Glucose (D-1) in die L-Glucose (L-1) bei einer Reinheit von 99,4 % und in das Lacton der L-Glucuronsäure 5 über eine kurze und höchst skalierbare Sequenz, die weder Säulenchromatographie noch Kristallisation der Zwischenprodukte benötigt, wird hier beschrieben. Zur Herstellung von Komplexbildnern in industrieller Größenordnung wird D-Glucose (D-1) in einer diastereoselektiven Felkin-Anh-Kiliani-Reaktion mit Natriumcyanid zum hydratisierten Natriumsalz 3 der D-glycero-D-gulo-Heptonsäure 4^[2] zu einem Preis von ungefähr 5000 \$ pro Tonne umgesetzt^[3] (Schema 1); D-gulo ist das Fischer Äquivalent von L-gluco. Spaltung des C6-C7-Diols durch Periodat in 4 führt zur Bildung der L-Glucuronsäure 5. Reduktion der Säure 4 führt zur Bildung des meso-Heptitols 2. Regiospezifische Oxidation des C6-C7-Diols durch Periodat in einem geschützten Derivat von 2 führt zur L-Glucose (L-1), während eine ähnliche Spaltung des C1-C2-Diols wieder D-Glucose (D-1) ergibt.

Ein einziger Schutzgruppenschritt mit 2,2-Dimethoxypropan (DMP) bildete das neue Triacetonid 6 des Methylglucoheptanoats (Schema 2), wobei die alternativen Triacetonide 7 oder 8 nicht nachweisbar waren. Der einzige Schritt bei dem Wasser benötigt wird, ist die finale Entschützung durch Hydrolyse der Diacetonid-Zwischenprodukte der Glucose 9 und der Glucuronsäure 10.



Schema 1. Umwandlung von D-Glucose (D-1) in L-Glucose (L-1) und L-Glucuronsäure 5.

Das neuartige Triacetonid 6 wurde durch Behandlung des hydratisierten Salzes 3 mit DMP in Gegenwart von HCl in Methanol unter Rückfluss nach 1 h gebildet. Neben dem Hauptprodukt 6 waren weitere Produkte von höherer Polarität durch Dünnschichtchromatographie (DC) erkennbar. Entfernen des Lösungsmittels, gefolgt von einer Extraktion des Rückstandes mit Cyclohexan ermöglicht die Isolierung von reinem Triacetonid 6; der Reinheitsgrad konnte durch den Einsatz von Säulenchromatographie nicht gesteigert werden. Die Reaktion von 100 g des Salzes 3 ergaben 71 g des Triacetonids 6 (54 % Ausbeute). Die Prozedur wurde in einem 1-L-Kolben unter Verwendung eines magnetischen Rührfisches durchgeführt. Obwohl der Rückstand der Reaktion wiederverwendbar war, um mehr 6 zu bilden, war dies aufgrund des geringen Preises von 3 in diesem Maßstab nicht sinnvoll. Das ¹H-NMR-Spektrum des rohen Cyclohexan-Extraktes ist identisch mit einer per Säulenchromatographie gereinigten Probe von 6 (siehe die Hintergrundinformationen).

Zwei weitere mögliche Triacetonide 7 und 8 hätten auch gebildet werden können; beide würden sechsgliedrige Acetonid-Ringe enthalten. Die Signale für die drei quartären Kohlenstoffatome der Isopropylidenketal-Schutzgruppen finden sich im ¹³C-NMR-Spektrum bei $\delta = 109.8\text{--}110.7$, was die Anwesenheit von fünfgliedrigen (anstelle von sechsgliedrigen) Acetoniden bestätigt.^[4] Die chemische Verschiebung des quartären Kohlenstoffatoms aller in dieser Zuschrift erwähnten Acetonide liegt bei $\delta = 109.7\text{--}112.1$.

In der Regel ist die selektive Abspaltung von terminalen Acetoniden in Anwesenheit anderer Isopropylidenketal-Gruppen durch partielle säurekatalysierte Hydrolyse ein verlässliches Vorgehen. Das Triacetonid 6 reagiert zunächst sauber mit Schwefelsäure in Methanol zu dem Diacetonid 11 (Schema 2); die Reaktion wurde, wenn DC das Erscheinen anderer Produkte nachwies, durch die Zugabe von Triethylamin gestoppt. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels erhielt man eine Mischung aus Tri- und Diacetoniden (6 bzw.

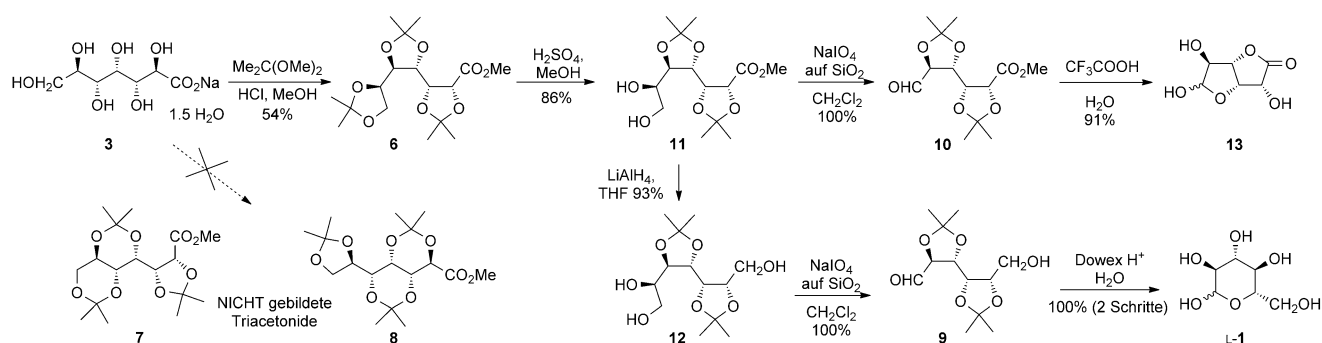
[*] Dr. R. F. Martínez, Z. Liu, Dr. A. F. G. Glawar, Prof. G. W. J. Fleet, Dr. S. F. Jenkinson

Chemistry Research Laboratory, Department of Chemistry
University of Oxford
Mansfield Road, Oxford, OX1 3TA (Großbritannien)
E-Mail: sarah.jenkinson@chem.ox.ac.uk

Dr. A. Yoshihara, Prof. K. Izumori
Rare Sugar Research Center, Kagawa University
2393 Ikenobe, Mikicho, Kita-gun, Kagawa 761-0795 (Japan)

[**] Für finanzielle Unterstützung danken wir der Fundación Ramón Areces (R.F.M.) und dem Leverhulme Trust (G.W.J.F.).

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201309073> zu finden.



Schema 2. Synthese von L-Glucose (L-1) und L-Glucuronsäure 13.

11); durch Extraktion mit Cyclohexan konnten 48 % des Startmaterials 6 zurückgewonnen werden, während eine nachfolgende Extraktion mit Essigsäureethylester das reine Diol 11 mit 45 % Ausbeute lieferte (86 % Ausbeute basierend auf dem zurückgewonnenen Startmaterial). Die ^1H -NMR-Spektren der Rohextrakte von 6 (mit Cyclohexan) und Diol 11 (mit Essigsäureethylester) weisen keine Unterschiede zu säulenchromatographisch gereinigten Proben auf (siehe die Hintergrundinformationen).

In der gesamten Synthesesequenz ist das Diol 11 das einzige feste Zwischenprodukt. Die Reduktion des Methyl-esters 11 mit Lithiumaluminiumhydrid in THF ergab das Triol 12 in 93 % Ausbeute. Gemäß des zur Spaltung von Diolen eingesetzten Shing-Protokolls^[5] wurde das Diacetonid-Triol 12 in Dichlormethan aufgelöst und auf Kieselgel immobilisiertem Periodat ausgesetzt, um das neue Diacetonid der L-Glucose 9 in 100 % Ausbeute zu synthetisieren; im Allgemeinen erfolgen Shing-Reaktionen schnell und quantitativ. Das entsprechende Diacetonid der D-Glucose D-9 ist bisher unbekannt. Ohne weitere Aufbereitung wurde 9 mit Dowex H^+ in Wasser behandelt, und L-Glucose (L-1) wurde in zwei Schritten mit quantitativer Ausbeute gebildet (43 % ausgehend von Salz 3; 80 % ausgehend von Triacetonid 6). Das ^1H -NMR-Spektrum der rohen L-Glucose war, nach Eindampfen des Wassers, identisch (von dem Anomerenverhältnis abgesehen) mit demjenigen einer kommerziellen Probe von L-1 (siehe die Hintergrundinformationen).

Zur Synthese der L-Glucuronsäure 5 wurde die Shing-Periodatoxidation auf den Diol-Ester 11 angewendet und das neue Diacetonid des Methylglucuronats 10 in quantitativer Ausbeute gebildet. Der Aldehyd 10 ist stabil, und eine NMR-Analyse in Lösung in Chloroform zeigt über mehrere Tage keine Veränderung; dieses stabile Zwischenprodukt wird wahrscheinlich in zukünftigen Synthesen von Bedeutung sein, obwohl sein Enantiomer D-10 noch nicht bekannt ist. L-Glucuronolacton 13 wurde in 91 % Ausbeute von 11 ausgehend, durch Entfernen der Schutzgruppen von 10 mit wässriger Trifluoressigsäure gebildet (42 % ausgehend von Salz 3; 78 % ausgehend von Triacetonid 6).

Die so hergestellte rohe L-Glucose (L-1) hatte einen durch Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) festgestellten Reinheitsgrad von 99,4 %; im Vergleich dazu wurde die Reinheit von zwei Proben aus kommerziellen Quellen durch HPLC zu 99,8 % bestimmt. (Die drei HPLC-Spektren

der Proben von (L-1) sind in den Hintergrundinformationen abgebildet.) Die hier dargelegte Synthese von L-1 macht daher keinerlei Reinigung der Zwischenprodukte oder des Endproduktes erforderlich, wenn man von der Extraktion in und dem Verdampfen von Lösungsmitteln absieht.

Sobald seltene Zucker in ausreichenden Mengen verfügbar sind, werden oft unerwartete biologische Effekte beobachtet. D-Psicose zum Beispiel, welche in Größenordnungen von mehreren Kilogramm durch die Epimerisierung von C3 in D-Fructose hergestellt wird,^[6] ist frei von Kalorien und wird sich wahrscheinlich als weit verbreitetes Nahrungsmittel durchsetzen.^[7] L-Glucose, welche fast so süß schmeckt wie D-Glucose, wird nicht metabolisiert und ist daher ebenfalls frei von Kalorien.^[8] Im Unterschied zur leicht absorbierbaren D-Psicose, ist L-Glucose allerdings kein kalorienarmer Nahrungsmittelersatz, da sie aufgrund der geringen oralen und intestinalen Absorption zur osmotischen Diarrhö führt;^[9] diese abführenden Eigenschaften machen L-1 zu einem geeigneten Kandidaten für die Vorbereitung auf eine Koloskopie.^[10] Der vereinfachte Zugang zur L-Glucose wird eine breiter angelegte Untersuchung ihrer biologischen Aktivitäten ermöglichen.

Der klassische Weg zur L-Glucose führt über die Kiliani-Reaktion von L-Arabinose zu der L-Gluconsäure und bedarf der Auftrennung der C2-Epimere; die nachfolgende Reduktion mit Borhydrid muss vorsichtig durchgeführt werden, um eine Überreduzierung und die Bildung von Boratkomplexen zu vermeiden.^[11] Die Umwandlung von D-Gluconsäure in L-Gluconsäure durch einfache Inversion der Konfiguration von allen vier Stereozentren ist bis jetzt nur in vorläufiger Form, ohne Angaben zur Ausbeute, veröffentlicht worden.^[12] Weitere Ansätze zur Herstellung von L-Glucose beinhalten D-Gulonolacton als Startmaterial,^[13] eine asymmetrische Synthese aus Komponenten^[14] und enzymatische^[15] Verfahren – aber keine Methode vermag es, größere Mengen von L-Glucose preiswert herzustellen. Obwohl die Biotechnologie von Izumoring^[16] die Verfügbarkeit von seltenen Zuckern radikal verbessert hat, ist selbst dadurch der Zugang zu L-Glucose nicht einfach.^[17] Im Jahre 1969 erkannte Sowa^[18] den Wert von D-Glucoheptonsäure für den Zugang zu L-Zuckern, aber seine Methode war nicht leicht skalierbar; eine Verbesserung der Synthese durch Benzyliden geschütztes Glucoheptonolacton benötigte die Reinigung mehrerer Zwischenprodukte.^[19] Dagegen bietet die hier gezeigte Methode einen einfa-

chen Zugang zu Multigramm-Mengen an L-Glucose und L-Glucuronsäure zur Nutzung als freier Zucker oder als Chiron für komplexe Syntheseeziele; L-Glucose wird in der industriellen, biotechnologischen Herstellung von anderen L-Zuckern von Nutzen sein. Diese Veröffentlichung beschreibt außerdem die Synthese von neuen Acetoniden gewöhnlicher Zucker, in denen C1 und C6 der Zucker ungeschützt sind.

Experimentelles

Synthese von L-Glucose (L-1): Methanolische Salzsäurelösung [hergestellt durch die tropfenweise Zugabe von Acetylchlorid (30.0 mL, 430.1 mmol) zu Methanol (200 mL) unter Argon-Atmosphäre bei 0°C] wurde einer Dispersion von Natrium α -D-Glucoheptonat Hydrat **3** (in H₂O, 1.5 mol mol⁻¹; 100.0 g, 363.6 mmol) in 2,2-Dimethoxypropan (500 mL) beigelegt. Das Reaktionsgemisch wurde 1 h unter Rückfluss erhitzt, wonach durch DC (Cyclohexan/Essigsäureethylester, 1:1) die Entstehung eines Hauptproduktes (R_f 0.66) nachweisbar war. Zur Neutralisation wurde Natriumcarbonat (160 g) zugegeben (wobei die Farbe des Reaktionsgemisches von Braun nach Schwachgelb wechselt), feste Bestandteile durch Filtration abgetrennt, das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt und der Rückstand mit Cyclohexan (500 mL) extrahiert. Die Cyclohexanlösung wurde mit destilliertem Wasser (3 × 500 mL) ausgeschüttelt, getrocknet (MgSO₄) und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt, um reines Triacetonid **6** (71.0 g, 54%) zu erhalten.

Ohne weitere Reinigung wurde wässrige Schwefelsäure (1%, 300 mL) zu einer Lösung von **6** (71.0 g, 197.0 mmol) in Methanol (700 mL) über eine Zeitspanne von 15 min tropfenweise hinzugefügt. Die Reaktionslösung wurde bei RT für 4 h gerührt und anschließend mit Triethylamin neutralisiert. Das Methanol wurde unter Vakuum entfernt und der wässrige Rückstand mit Cyclohexan (3 × 150 mL) extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, getrocknet (MgSO₄) und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt, um das Startmaterial **6** (34.3 g, 95.2 mmol 48%) wiederzugewinnen. Die wässrige Phase wurde anschließend mit Essigsäureethylester (6 × 150 mL) extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, getrocknet (MgSO₄) und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt, um **11** als weißen Feststoff (28.1 g, 87.7 mmol, 45%; entspricht 86% basierend auf zurückgewonnenem Startmaterial) zu liefern. Lithiumaluminiumhydrid-Lösung (1 M in THF; 123 mL, 122.8 mmol) wurde unter Rühren einer Lösung von **11** (28.1 g, 87.8 mmol) in THF (130 mL) bei -40°C tropfenweise hinzugefügt. Die Reaktion wurde für 30 min unter Rückfluss erhitzt, wonach durch DC (Essigsäureethylester) kein verbleibendes Startmaterial (R_f 0.58) und nur ein einziges Produkt (R_f 0.17) nachweisbar war. Das überschüssige Hydrid wurde durch die tropfenweise Zugabe von ges. wässr. NH₄Cl (35 mL) bei 0°C neutralisiert und die resultierende Mischung getrocknet (MgSO₄), filtriert (mit Essigsäureethylester gewaschen) und im Vakuum konzentriert, um nach Entfernen der flüchtigen Stoffe das Triol **12** (23.9 g, 93%) zu erhalten.

Auf Kieselgel immobilisiertes NaIO₄ (164 g) wurde portionsweise unter kräftigem Rühren einer Lösung von **12** (23.9 g, 81.8 mmol) in CH₂Cl₂ (400 mL) zugefügt. Nach 30 min war durch DC (Essigsäureethylester) kein verbleibendes Startmaterial (R_f 0.17) und die Entstehung eines einzelnen Produkts (R_f 0.74) nachweisbar. Die Mischung wurde getrocknet (MgSO₄), filtriert und das Kieselgel gründlich mit CH₂Cl₂ (4 × 200 mL) gewaschen. Die Lösungsmittel wurden unter Vakuum entfernt, um den Aldehyd **9** (21.4 g, 100%) zu erhalten. Der Rohaldehyd wurde in Wasser (180 mL) aufgelöst und Dowex 50WX8-H⁺ (ca. 12 g, mit Wasser vorbehandelt) zur Lösung hinzugefügt. Nach 24 h war durch DC (Essigsäureethylester) kein Startmaterial und die Entstehung eines einzigen Produkts (Grundlinie) nachweisbar. Die Feststoffe wurden filtriert und mit Wasser gewaschen. Das Entfernen des Wassers vom Filtrat unter Vakuum lieferte reine L-Glucose (L-1; 14.8 g, 100% ausgehend von **12**, 43%

ausgehend von **3**) als einen Sirup, der sich allmählich in einen weißen Feststoff umwandelte, $[\alpha]_D^{20} = -43.6$ ($c = 1.8$, Wasser) im Vergleich zur kommerziellen Probe A $[\alpha]_D^{20} = -47.1$ ($c = 2.1$, Wasser) und kommerziellen Probe B $[\alpha]_D^{20} = -47.2$ ($c = 2.1$, Wasser) [Lit. [19]: $[\alpha]_D^{23} = -52.0$ ($c = 0.80$, Wasser)]. Das ¹H-NMR-Spektrum war mit dem von einer kommerziellen Probe von L-**1** identisch, abgesehen vom Anomerenverhältnis.

Alle Details der einzelnen Reaktionsschritte und Charakterisierung der Zwischenprodukte sind aus den Hintergrundinformationen ersichtlich.

Eingegangen am 17. Oktober 2013

Online veröffentlicht am 5. Dezember 2013

Stichwörter: Kohlenhydrate · L-Glucose · Seltene Zucker · Synthesemethoden

- a) K. B. Sharpless, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 2126–2135; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2024–2032; b) A. M. R. Dechert-Schmitt, D. C. Schmitt, M. J. Krische, *Angew. Chem.* **2013**, *125*, 3277–3280; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 3195–3198; c) T. G. Frihed, M. Heuckendorff, C. M. Pedersen, M. Bols, *Angew. Chem.* **2012**, *124*, 12451–12454; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 12285–12288; d) M. M. L. Zulueta, Y. Q. Zhong, S. C. Hung, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 3275–3287; e) J. M. Harris, M. D. Keränen, H. Nguyen, V. G. Young, G. A. O'Doherty, *Carbohydr. Res.* **2000**, *328*, 17–36; f) M. M. Ahmed, B. P. Berry, T. J. Hunter, D. J. Tomcik, G. A. O'Doherty, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 745–748; g) A. B. Northrup, D. W. C. MacMillan, *Science* **2004**, *305*, 1752–1755.
- a) C. S. Hudson, O. Hartley, C. B. Purves, *J. Am. Chem. Soc.* **1934**, *56*, 1248–1249; b) J. Gomory, R. Kacina, S. Antalova, M. Major, European Patent, Czechoslovakia, CS257827 (B1), **1988**.
- Kosten laut Google-Suche (30.09.2013): Ein Kostenvoranschlag für eine Lieferung von 1000 kg nach Oxford belief sich auf 4.91 £ pro kg; für 50 kg lag der Preis bei 8.19 £ pro kg.
- a) J. P. Clayton, R. S. Oliver, N. H. Rogers, T. J. King, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1979**, 838–846; b) J. G. Buchanan, M. E. Chacon-Fuertes, A. R. Edgar, S. J. Moorhouse, D. I. Rawson, R. H. Wightman, *Tetrahedron Lett.* **1980**, *21*, 1793–1796.
- Y.-L. Zhong, T. K. M. Shing, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 2622–2624.
- K. Takeshita, A. Suga, G. Takada, K. Izumori, *J. Biosci. Bioeng.* **2000**, *90*, 453–455.
- a) T. Iida, N. Hayashi, T. Yamada, Y. Yoshikawa, S. Miyazato, Y. Kishimoto, K. Okuma, M. Tokuda, K. Izumori, *Metabol. Clinical Exptl.* **2010**, *59*, 206–214; b) Y. Sun, S. Hayakawa, M. Ogawa, K. Izumori, *Food Control.* **2007**, *18*, 220–227.
- a) R. S. Shallenberger, *Pure Appl. Chem.* **1997**, *69*, 659–666; b) S. W. Smith, *Toxicol. Sci.* **2009**, *110*, 4–30.
- a) T. Kimura, H. Yamano, A. Tanaka, T. Matsumura, M. Ueda, K. Ogawara, K. Higaki, *J. Pharm. Pharmacol.* **2002**, *54*, 213–219; b) P. Cunningham, I. Afzal-Ahmed, R. J. Naftalin, *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 95797–95803.
- G. S. Raymer, D. E. Hartman, W. A. Rowe, R. F. Werkman, K. L. Koch, *Gastrointest. Endoscopy* **2003**, *58*, 30–35.
- a) E. Fischer, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1890**, *23*, 2611–2624; b) J. C. Sowden, H. O. L. Fischer, *J. Am. Chem. Soc.* **1947**, *69*, 1963–1965.
- I. Lundt, R. Madsen, *Top. Curr. Chem.* **2001**, *215*, 178–191.
- H. Hajkó, A. Lipták, V. Pozsgay, *Carbohydr. Res.* **1999**, *321*, 116–120.
- M. Bednarski, S. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 7060–7067.
- a) C. R. Johnson, A. Golebiowski, D. H. Steensma, *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 9414–9418; b) R. Alajarin, E. Garcia-Junceda, C.-H. Wong, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 4294–4295.

- [16] a) K. Izumori, *Naturwissenschaften* **2002**, 89, 120–124; b) K. Izumori, *J. Biotechnol.* **2006**, 124, 717–722.
- [17] a) W. Poonperm, G. Takata, K. Izumori, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2008**, 72, 231–235; b) B. T. Menavuvu, W. Poonperm, K. Takeda, K. Morimoto, T. B. Granstrom, G. Takada, K. Izumori, *J. Biosci. Bioeng.* **2006**, 102, 436–441.
- [18] W. Sowa, *Can. J. Chem.* **1969**, 47, 3931–3934.
- [19] A. C. Weymouth-Wilson, R. Clarkson, D. Best, M.-S. Pino-Gonzalez, F. X. Wilson, G. W. J. Fleet, *Tetrahedron Lett.* **2009**, 50, 6307–6310.
-