

BURCKHARDT HELFERICH und ADELHEID BERGER

ÜBER DIE SYNTHESE VON GLUCURONIDEN¹⁾

Aus dem Chemischen Institut der Universität Bonn

(Eingegangen am 30. Juli 1957)

Ausgehend von Acetobrom-D-glucuronsäure-methylester wurde durch Kondensation mittels $Hg(CN)_2$ eine Reihe von D-Glucuroniden synthetisiert.

Derivate der Uronsäuren spielen seit einiger Zeit in der Chemie der natürlichen Oligosaccharide eine interessante Rolle. Ausgehend von Acetobrom-D-glucuronsäure-methylester²⁾ lassen sich Acetyl-D-glucuronido-methylester von Alkoholen mit $Hg(CN)_2$ als Kondensationsmittel³⁾ meist in glatter Reaktion herstellen. Es wurden in der vorliegenden Arbeit die Verbindungen des Methyl-, des Äthyl-, des Isopropyl-, des Cyclohexyl- und des Benzylalkohols beschrieben. Durch Zusammenschmelzen der Acetobromverbindung mit Phenolen unter Zugabe von $Hg(CN)_2$ ⁴⁾ gelang die Synthese der Triacetyl-D-glucuronido-methylester von Phenol, p-Kresol und o-Hydroxy-acetophenon. Vorwiegend wurden die β -Verbindungen erhalten, doch konnten auch kleine Mengen des α -Phenylderivates isoliert werden. Zum Teil sind die Verbindungen erstmalig hergestellt, bei den schon früher beschriebenen Verbindungen sind die Ausbeuten nach der neuen Methode meist höher.

Durch Entacytylierung mit Natriummethylat in Methanol kommt man zu den entsprechenden D-Glucuronido-methylestern. Bei den Verbindungen des Cyclohexanols, des Benzylalkohols, des Phenols und des p-Kresols konnten diese Ester kristallin gewonnen werden. Bei den Derivaten des Äthyl-, des Methyl- und des Isopropylalkohols wurden die amorphen Methylester durch Behandlung mit NH_3 in Methanol in die kristallisierten D-Glucuronido-amide übergeführt.

Die D-Glucuronido-methylester des Cyclohexyl- und des Benzylalkohols, des Phenols und des p-Kresols konnten durch vorsichtige Verseifung in die freien kristallisierten D-Glucuronide übergeführt werden.

Ein Teil der Substanzen wurde Herrn Prof. MONOD im Institut Pasteur in Paris zu bakteriologischen Untersuchungen zur Verfügung gestellt.

An zwei Beispielen haben wir uns davon überzeugt, daß nach der angegebenen Methode sich auch Uronsäuren von Disacchariden herstellen lassen. Die Kondensation des Acetobrom-D-glucuronsäure-methylesters mit $Hg(CN)_2$ in Nitromethan ergab mit 1.2.3.4-Tetraacetyl- β -D-glucose den Heptaacetyl-gentiobiuronsäure-methylester⁵⁾, mit 2.3.4.6-Tetraacetyl-D-glucose den Heptaacetyl- β , β -trehaluronsäure-methylester.

1) Siehe auch Dissertat. A. BERGER, Bonn 1957.

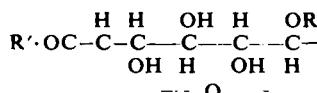
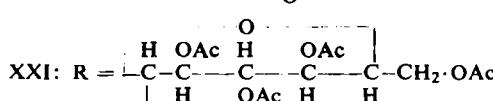
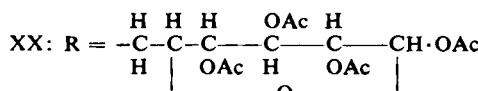
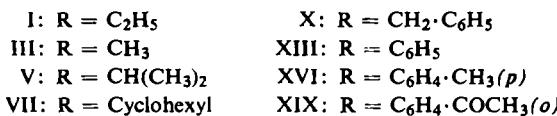
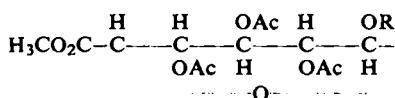
2) G. N. BOLLENBACK, J. W. LONG, D. G. BENJAMIN und J. A. LINDQUIST, J. Amer. chem. Soc. 77, 3310 [1955].

3) B. HELFERICH und K. WEIS, Chem. Ber. 89, 314 [1956].

4) B. HELFERICH und K.-H. JUNG, Liebigs Ann. Chem. 589, 77 [1954].

5) R. D. HOTCHKISS und W. F. GOEBEL, J. biol. Chemistry 115, 285 [1936].

ester, immerhin in einer Ausbeute von 24 % d. Th. Dieser ließ sich mit einer Ausbeute von 68 % d. Th. in das kristalline β,β -Trehaluronsäure-amid überführen.



| R | R' = OH | R' = OCH ₃ | R' = NH ₂ |
|---|---------|-----------------------|----------------------|
| C_2H_5 | — | — | II |
| CH_3 | — | — | IV |
| $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ | — | — | VI |
| Cyclohexyl | IX | VIII | — |
| $\text{CH}_2\cdot\text{C}_6\text{H}_5$ | XII | XI | — |
| C_6H_5 | XV | XIV | — |
| $\text{C}_6\text{H}_4\cdot\text{CH}_3(p)$ | XVII | XVII | — |
| β -D-Glucosyl | — | — | XXII |

Der DEUTSCHEN FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT sind wir für die wertvolle Unterstützung dieser Arbeit zu großem Dank verpflichtet.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

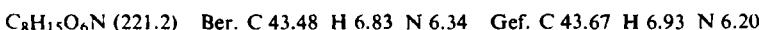
Die Schmelzpunkte sind durchweg unkorrigiert.

Triacetyl-äthyl- β -D-glucuronsäure-methylester (I): 3.54 g (0.0141 Mol) $\text{Hg}(\text{CN})_2$ und 11.91 g *Acetobrom-D-glucuronsäure-methylester*²⁾ werden bei Ausschluß von Feuchtigkeit in 69 g absol. Äthanol unter Röhren und Erwärmen auf dem Wasserbad gelöst. Aus der Lösung beginnt schon nach 2–3 Stdn. die Abscheidung des Kondensationsproduktes I. Es wird nach etwa 20 Stdn. von der stark nach HCN riechenden Mutterlauge abgesaugt, mit etwas absol. Alkohol gewaschen und im Exsikkator getrocknet. Die Ausbeute an diesem schon recht reinen Produkt beträgt 9.3 g vom Schmp. 144–146°. Durch Umkristallisieren aus absol. Alkohol erhält man 8.7 g vom Schmp. 146.5–147.5° (80% d.Th.). Die Substanz sublimiert schon unterhalb des Schmelzpunktes. $[\alpha]_D^{\text{D}}: -1.85 \times 2/0.1088 \times 1 = -34.0^\circ$ (in CHCl_3).

$\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$ (362.3) Ber. C 49.72 H 6.08 Gef. C 49.66 H 6.26

Die Substanz ist leicht löslich in CCl_4 , CHCl_3 , Benzol und Aceton, schwer in Methanol und Äthanol, unlöslich in Wasser.

Äthyl- β -D-glucuronsäure-amid (II): 3.62 g (0.01 Mol) des *Triacetyl-methylesters I* werden in 50 ccm absol. Methanol suspendiert und nach Zusatz von 0.5 ccm 1.16*n* Natriummethylat durch Schütteln in Lösung gebracht. Nach etwa 15 stdg. Aufbewahren im Kühlschrank wird die schwach gefärbte und durch Flöckchen getrübe Lösung mit Kohle bis zur vollständigen Klärung und Entfärbung gerührt. Das glasklare Filtrat wird mit 40 ccm einer bei 0° gesättigten Lösung von NH_3 in Methanol etwa 15 Stdn. im Kühlschrank aufbewahrt, unbeschadet einer manchmal auftretenden Abscheidung des Amids i. Vak. zur Trockne eingedampft und der Rückstand in der gerade genügenden Menge heißen Wassers gelöst. Die heiße Lösung wird mit Kohle geklärt und das Filtrat i. Vak. zu einem steifen Kristallbrei eingeengt. Das in feinen Nadelchen auskristallisierte *Amid II* wird nach mehrstündigem Aufbewahren im Kühlschrank abgesaugt und nochmals aus möglichst wenig Wasser umkristallisiert. Nach dem Absaugen und Waschen mit wenig Methanol beträgt die Ausb. 1.4 g (64% d. Th.). Aus der Mutterlauge lässt sich noch ein weiterer Anteil der Substanz durch Verdünnen mit etwa der 10fachen Menge Methanol gewinnen. Die reine Substanz schmilzt bei 211–212°, unter starkem Sublimieren. $[\alpha]_D^{20} : -1.21^\circ \times 2/0.0359 \times 1 = -67.4^\circ$ (in Wasser).



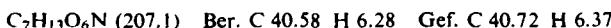
Das Amid ist löslich in Wasser, schwerer in Methanol und Äthanol, so gut wie unlöslich in anderen gewöhnlichen organischen Lösungsmitteln.

Nach der gleichen Methode wurden noch die folgenden Verbindungen hergestellt:

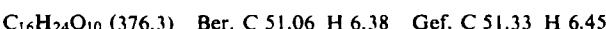
Triacetyl-methyl- β -D-glucuronsäure-methylester (III)⁶⁾: Ausb. an reiner nicht umkristallisierter Substanz 72% d. Th., Schmp. 151–152° (unter starkem Sublimieren). $[\alpha]_D^{25} : -28.1^\circ$.

Methyl- β -D-glucuronsäure-amid (IV): Ausb. an einmal umkristallisierter Substanz 77% d. Th., Schmp. 198–200° (unter starkem Sublimieren). $[\alpha]_D^{20} : -1.27^\circ \times 2/0.0411 \times 1 = -61.9^\circ$ (in Wasser).

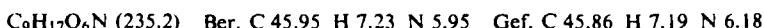
Die lufttrockne Substanz enthält etwa 7% Kristallwasser, das bei 80° über P_2O_5 i. Vak. entweicht. Die getrocknete Substanz ist sehr hygroskopisch.



Triacetyl-isopropyl- β -D-glucuronsäure-methylester (V): Ausb. 76% d. Th., Schmp. 138–139° (unter starkem Sublimieren). $[\alpha]_D^{20} : -1.60^\circ \times 2/0.0848 \times 1 = -37.8^\circ$ (in CHCl_3).



Isopropyl- β -D-glucuronsäure-amid (VI): Ausb. an 2 mal aus Methanol umkristallisierter Substanz 64% d. Th., Schmp. 212–213°. $[\alpha]_D^{21} : -0.85^\circ \times 2/0.0235 \times 1 = -72.3^\circ$ (in Wasser).



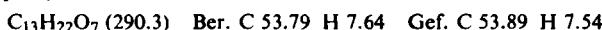
Triacetyl-cyclohexyl- β -D-glucuronsäure-methylester (VII)⁷⁾: Die Kondensation von 11.91 g (0.03 Mol) *Acetobrom-D-glucuronsäure-methylester*⁴⁾ mit 84 g (0.84 Mol) *Cyclohexanol* unter Zusatz von 3.54 g (0.0141 Mol) $\text{Hg}(\text{CN})_2$ wird zunächst ebenso vorgenommen wie bei den beschriebenen Verbindungen. Manchmal scheidet sich das Kondensat (VII) schon aus der Lösung aus. Die Lösung (oder das Filtrat) wird i. Vak. (Badtemp. bis etwa 70°) möglichst vollständig zur Trockne verdampft und der Rückstand (zusammen mit den evtl. ausgeschiedenen Kristallen) mit CHCl_3 aufgenommen. Nach dem Waschen mit Wasser, mit NaHCO_3 -Lösung und wieder mit Wasser und nach dem Trocknen mit Na_2SO_4 wird erneut i. Vak. zur

⁶⁾ W. F. GOEBEL und F. H. BARBERS, J. biol. Chemistry 111, 347 [1935].

⁷⁾ B. LYTHGOE und S. TRIPETT, J. chem. Soc. [London] 1950, 1983.

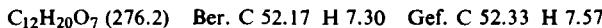
Trockne verdampft und der meist rasch kristallisierende Rückstand aus 50ccm heißem 99-proz. Alkohol umkristallisiert. Ausb. an seidig glänzenden Nadelchen 9.1g (73 % d.Th.). Die Substanz schmilzt bei 137.5–139°. $[\alpha]_D^{20} : -0.71^\circ \times 5/0.1020 \times 1 = -34.8^\circ$.

Cyclohexyl-β-D-glucuronsäure-methylester (VIII): Eine Suspension von 8.32g (0.02 Mol) des *Triacetyesters VII*, in 100ccm absol. Methanol, wird nach Zusatz von 0.5ccm 1.16*n* Natriummethylat gerührt, bis eine klare (gelbliche) Lösung entstanden ist. Nach etwa 15 stdg. Aufbewahren im Kühlschrank und nach Klären mit Kohle wird das glasklare Filtrat i. Vak. zur Trockne verdampft. Der sirupöse Rückstand wird mit 25ccm heißem Essigsäure-butylester aufgenommen und nach Zusatz von etwa der gleichen Menge Petroläther abgekühlt. Die Substanz *VIII* kristallisiert in feinen Nadelchen aus. Aus der Mutterlauge läßt sich durch Petroläther noch eine weitere Portion gewinnen. Durch Lösen in etwa 10ccm heißem Butylacetat, Zusatz von Petroläther bis zur eben beginnenden Trübung und Abkühlen wird die Substanz rein erhalten. Aus der Mutterlauge wird ein weiterer Anteil gewonnen. Um das sehr hartnäckig anhaftende Lösungsmittel vollständig zu entfernen, muß bei 80° i. Vak. über Kieselgel getrocknet werden. Ausb. 4.9g (84 % d.Th.). Schmp. 134–135°. Es wurde auch eine bei 116–118° schmelzende (vielleicht nicht ganz reine) Modifikation erhalten, die sich beim langsamem Erhitzen in die höher schmelzende umwandelt. $[\alpha]_D^{20} : -1.19^\circ \times 2/0.0398 \times 1 = -59.7^\circ$ (in CH₃OH).



Der Ester ist leicht löslich in Wasser, Methanol, Äthanol und Aceton, schwerer in Essigester und Butylacetat, so gut wie unlöslich in Äther, Petroläther, CHCl₃ und Benzol.

Cyclohexyl-β-D-glucuronid (IX): Eine Lösung von 4.35g (0.015 Mol) des *Methylesters VIII* in 38ccm 0.43*n* Ba(OH)₂ wird nach etwa 1stdg. Aufbewahren bei Raumtemperatur mit der ber. Menge Oxalsäure (8.42ccm einer 2*n* Lösung) langsam unter Rühren versetzt. Nach etwa 1stdg. Aufbewahren im Kühlschrank wird vom Bariumoxalat abgesaugt und i. Vak. (Badtemp. 40°) zur Trockne verdampft. Der Rückstand wird in absol. Alkohol aufgenommen, nach etwa 15stdg. Aufbewahren im Kühlschrank weiteres Bariumoxalat abgesaugt, das Filtrat über Kohle und Kieselgur filtriert und i. Vak. bis zur reichlichen Kristallisation eingeengt. Durch Erwärmen bis zur Auflösung und Abkühlen, zuletzt mehrere Stdn. im Kühlschrank, erhält man das freie Glucuronid. Durch ein- bis zweimaliges Umkristallisieren aus 99-proz. Alkohol und Trocknen bei 80° i. Vak. über P₂O₅ gewinnt man 3.7g (88 % d.Th.) an reiner Substanz vom Schmp. 169–171° (unter Gasentwicklung und, falls die Substanz nicht ganz trocken war, geringem Sintern bei etwa 130°). $[\alpha]_D^{21} : -1.93^\circ \times 2/0.0626 \times 1 = -61.6^\circ$ (in Wasser).



Die getrocknete Substanz ist hygroskopisch. Auch Alkohol wird (beim Umkristallisieren) hartnäckig festgehalten. In Wasser und Methanol ist die Substanz leicht löslich, schwerer in Alkohol und Aceton, so gut wie unlöslich in den sonstigen gebräuchlichen organischen Lösungsmitteln.

Nach der gleichen Methode wie die Cyclohexylderivate (*VII*, *VIII* und *IX*) wurden auch die Benzyllderivate hergestellt:

Triacetyl-benzyl-β-D-glucuronsäure-methylester (X): Ausb. an zweimal aus Methanol umkristallisierter Substanz 46.5 % d.Th., Schmp. 135–136°. $[\alpha]_D^{20} : -66.2^\circ$ (in CHCl₃).



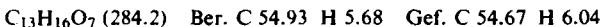
Benzyl-β-D-glucuronsäure-methylester (XI): Ausb. an zweimal aus Butylacetat kristallisierter Substanz 68 % d.Th., Schmp. 131–132°. Das hartnäckig haftende Lösungsmittel wird

durch Trocknen bei 80° i. Vak. über Kieselgel entfernt. $[\alpha]_D^{25} = -1.12^\circ \times 2/0.0303 \times 1 = -73.8^\circ$ (in Methanol).



Benzyl-β-D-glucuronid (XII): 2.98 g (0.01 Mol) Ester XI werden in 25 ccm einer gesätt. Ba(OH)₂-Lösung (0.43 n) gelöst und die leicht trübe Lösung 1 Stde. bei Raumtemperatur aufbewahrt. Nach langsamem Einröhren von 5.55 ccm 2n Oxalsäure und nach 1stdg. Aufbewahren im Kühlschrank wird das ausgefallene Bariumoxalat abgesaugt und das Filtrat i. Vak. (Badtemp. 40°) zum Sirup eingeengt. Dieser wird in Methanol aufgenommen und nach etwa 10 stdg. Aufbewahren im Kühlschrank dann weiteres Bariumoxalat durch ein mit Kohle und Kieselgur gedichtetes Filter abgesaugt. Das Filtrat wird erneut eingedampft, der Rückstand mit 99-proz. denat. Alkohol aufgenommen, die Lösung nochmals über Kohle und Kieselgur filtriert und dann erneut i. Vak. zum Sirup eingedampft. Dieser wird beim Anreiben mit einigen Tropfen Wasser und Trocknen über P₂O₅ i. Vak. z. Tl. kristallin.

Die Substanz wird zur Reinigung mehrfach aus Isopropylalkohol umkristallisiert. Ausb. 74% d. Th. Die Substanz schmilzt unscharf. Sie beginnt bei etwa 75° zu erweichen, fließt bei etwa 90° und ist bei 108° klar geschmolzen. Die Substanz ist stark hygroskopisch. Zur Analyse und Drehwertsbestimmung wurde sie i. Vak. bei 36° über P₂O₅ getrocknet. $[\alpha]_D^{20} = -74.0^\circ$ (in Wasser).



Die Substanz ist leicht löslich in Wasser, Methanol und Äthanol, schwer in Isopropylalkohol, so gut wie unlöslich in den sonstigen gebräuchlichen organischen Lösungsmitteln.

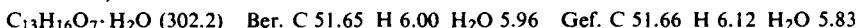
*Triacetyl-phenyl-β-D-glucuronsäure-methylester (XIII)*²⁾: 28.2 g Phenol (0.3 Mol) werden mit 3.42 g Hg(CN)₂ (0.0135 Mol) unter Ausschluß von Feuchtigkeit auf dem Wasserbad zusammengeschmolzen. In der etwa 50° warmen Schmelze werden unter Umschütteln 11.91 g (0.03 Mol) Acetobrom-D-glucuronsäure-methylester aufgelöst. Unter weiterem Schütteln wird auf dem Wasserbad langsam auf etwa 76–78° erhitzt und diese Temperatur 2 Stdn. beibehalten. Das Hg(CN)₂ geht dabei fast vollständig in Lösung, meist scheidet sich dann auch HgBr₂ ab. Die abgekühlte blutrote Schmelze wird in 150 ccm Benzol aufgenommen. Dabei scheidet sich ein manchmal feinkörniger, manchmal sirupöser Rückstand aus. Die orangefarbene milchige Lösung wird abgetrennt, der Rückstand noch zweimal mit je 20 ccm Benzol extrahiert. Die vereinigten Benzollösungen werden zunächst mehrfach mit viel 2n NaOH, dann mit Wasser bis zur neutralen Reaktion gewaschen. Die so gereinigte, fast farblose Lösung wird, nach dem Trocknen mit Na₂SO₄, mit Kohle vollständig entfärbt und i. Vak. (Badtemp. 35°) zur Trockne gedampft. Der Rückstand, ein Gemisch von α- und β-Verbindung, wird in 50 ccm absol. denat. Alkohol heiß gelöst. Beim Abkühlen kristallisiert zunächst die β-Verbindung in groben glitzernden Prismen aus. Sobald auch sehr feine Kristallhaare sich abzuscheiden beginnen (α-Verbindung), wird die überstehende Flüssigkeit von den Prismen abdekantiert und weiterhin der Kristallisation überlassen (s. unten). Die Prismen (β-Verbindung) werden abgesaugt, mit wenig absol. Alkohol gewaschen und aus absol. Alkohol umkristallisiert. Ausb. 6 g (49% d. Th.). Die Substanz schmilzt bei 126–127°. $[\alpha]_D^{25} = 33.6^\circ$. Diese Daten stimmen innerhalb der Fehlergrenzen mit den in der Literatur²⁾ angegebenen überein.

Triacetyl-phenyl-α-D-glucuronsäure-methylester: Die von den Prismen der β-Verbindung abdekantierte Lösung (s. o. bei XIII) wird zusammen mit den Mutterlaugen der β-Verbindung eingedampft, der Rückstand mit soviel absol. Alkohol aufgenommen, daß noch vorhandene β-Verbindung zurückbleibt, und dies so oft wiederholt, bis die reine α-Verbindung in feinen, langen weichen Kristallhaaren, allerdings nur in einer Ausbeute von 0.9 g (7.6% d. Th.) er-

halten wird. Sie schmilzt bei 112–113°. $[\alpha]_D^{25} : +158.4^\circ$ in CHCl_3 , in Übereinstimmung mit der Literatur²⁾.

*Phenyl-β-D-glucuronsäure-methylester (XIV)*⁸⁾ wird aus dem Triacetat XIII nach der beim Cyclohexylester VIII beschriebenen Methode gewonnen. Ausb. an zweimal aus wenig Wasser umkristallisierter Substanz 73% d.Th., mit 1 Mol. Kristallwasser. Der Schmp. 152–153° stimmt mit den Literaturangaben⁸⁾ überein. Die Drehung, $[\alpha]_D^{20} : -1.54^\circ \times 2/0.0375 \times 1 = -82.1^\circ$, war etwas stärker negativ als angegeben⁸⁾.

Phenyl-α-D-glucuronsäure-methylester wird aus dem Triacetylester nach der beim β-Ester XIV beschriebenen Methode dargestellt. Die Ausb. an zweimal aus Wasser umkristallisierter Substanz — sie ist merklich schwerer löslich in Wasser als die β-Verbindung — beträgt 73% d.Th., Schmp. 122–125°. Auch die α-Verbindung kristallisiert mit 1 Mol. Kristallwasser, das bei 80° über P_2O_5 i. Vak. abgegeben wird. $[\alpha]_D^{20} : +2.8^\circ \times 2/0.0391 \times 1 = +143.3^\circ$ (Monohydrat, in Methanol).



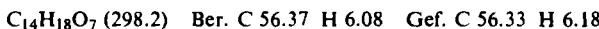
Das *Phenyl-β-D-glucuronid (XV)*, ebenso das *Phenyl-α-D-glucuronid*, wird aus dem Methyl-ester durch Verseifen mit Ba(OH)_2 , wie beim Cyclohexyl-D-glucuronid IX beschrieben, gewonnen. Beide werden zur Reinigung aus Wasser umkristallisiert. Das dann vorhandene Kristallwasser entweicht bei 80° i. Vak. über P_2O_5 . Die wasserfreien Glucuronide sind sehr hygroskopisch. Schmp. und Drehung beider Substanzen stimmen mit den Literaturangaben²⁾ einigermaßen überein. β-Verbindung: Schmp. 163–165°; $[\alpha]_D^{20} : -86.9^\circ$ (wasserfreie Substanz, in Wasser).

α-Verbindung: Schmp. 135–141°; $[\alpha]_D^{20} : +148^\circ$ (wasserfreie Verbindung, in Wasser).

Die α-Verbindung war noch nicht ganz rein.

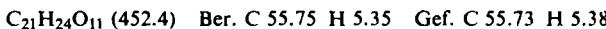
Triacetyl-p-kresyl-β-D-glucuronsäure-methylester (XVI) kann nach der gleichen Methode wie die β-Phenylverbindung XIII gewonnen werden. Ausb. 39.5% d.Th., Schmp. und Drehung stimmen mit den Literaturangaben überein²⁾.

p-Kresyl-β-D-glucuronsäure-methylester (XVII): Die Entacetylierung wird, wie beim Cyclohexylderivat VIII beschrieben, durchgeführt. Die Ausb. an zweimal aus reinem Essigester umkristallisierter und i. Vak. bei 80° über Kieselgel getrockneter Substanz beträgt über 70% d.Th., Schmp. 158–160°. $[\alpha]_D^{20} : -1.93^\circ \times 2/0.0446 \times 1 = -86.6^\circ$ (in Methanol).



p-Kresyl-β-D-glucuronid (XVIII) wird durch Verseifung mit Ba(OH)_2 aus dem *Methylester XVII* gewonnen (vgl. Cyclohexyl-glucuronid IX). Die Verbindung kristallisiert mit 1 Mol. Wasser, das durch 6stdg. Trocknen bei 80° i. Vak. über P_2O_5 entfernt wird. Der Schmp. 145–149° stimmte mit der Literaturangabe überein⁹⁾. Ausb. 79% d.Th., $[\alpha]_D^{21} : -1.79^\circ \times 2/0.0451 \times 1 = -79.4^\circ$ (in Methanol).

Triacetyl-(o-hydroxy-acetophenon)-β-D-glucuronsäure-methylester (XIX) wird nach der bei den Phenylderivaten (XIII) beschriebenen Methode hergestellt. Durch zweimaliges Umkristallisieren des Rohproduktes (α,β-Gemisch) aus absol. Alkohol wird die β-Verbindung rein, allerdings nur in einer Ausb. von 9.6% d.Th. erhalten. Sie schmilzt bei 125–126.5°. $[\alpha]_D^{20} : -0.61^\circ \times 2.5/0.0458 \times 1 = -33.3^\circ$ (in CHCl_3).



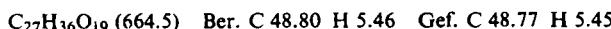
Die Substanz ist leicht löslich in CCl_4 , CHCl_3 , Benzol, Aceton und Äther, schwerer in Methanol und Alkohol, unlöslich in Wasser.

⁸⁾ D. V. PARKE und R. T. WILLIAMS, Biochem. J. **48**, 621 [1951].

⁹⁾ H. G. BRAY, W. V. THORPE und K. WHITE, Biochem. J. **46**, 275 [1950].

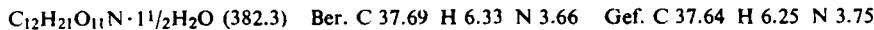
*Heptaacetyl-gentiobiuronsäure-methylester (XX)*⁵⁾: Eine Lösung von 3.97 g (0.01 Mol) *Acetobrom-glucuronsäure-methylester* und 3.48 g (0.01 Mol) *2.3.4-Tetraacetyl-D-glucose* in 12ccm absol. Nitromethan wird nach Zusatz von etwa 25ccm CHCl₃ werden die Quecksilbersalze ausgefällt. Das stark nach HCN riechende Filtrat wird i. Vak. zu einem zähen Sirup eingedampft, dieser in 30ccm CHCl₃ aufgenommen und die Lösung nach Waschen mit Wasser, mit NaHCO₃-Lösung, wieder mit Wasser und nach dem Trocknen mit Na₂SO₄ mit Kohle geklärt. Das glasklare Filtrat wird i. Vak. zur Trockne gedampft und der sirupöse Rückstand in etwa 100ccm heißem absol. Methanol aufgenommen und durch langsames Abkühlen unter Rühren das Gentiobiuronsäurederivat XX ausgefällt. Es fällt meist zunächst amorph, wandelt sich aber langsam, manchmal erst im Lauf von Tagen, in feine kurze Nadelchen um. Nach nochmaligem Umkristallisieren aus absol. Methanol beträgt die Ausb. 3.1 g (48% d. Th.). Schmp. und Drehung stimmen mit den Literaturangaben⁵⁾ überein.

Triacetyl-[2.3.4.6-tetraacetyl-β-D-glucosyl]-β-D-glucuronsäure-methylester (XXI) (Heptaacetyl-β,β-trehaluronsäure-methylester): Eine Lösung von 11.91 g (0.03 Mol) *Acetobrom-D-glucuronsäure-methylester* und 10.44 g (0.03 Mol) *2.3.4.6-Tetraacetyl-D-glucose* in 30ccm absol. Nitromethan wird nach Zusatz von 7.56 g (0.03 Mol) Hg(CN)₂ unter Ausschluß von Feuchtigkeit 4 Tage (bei kleineren Ansätzen auch kürzer) gerührt. Durch Zusatz von etwa 60ccm CHCl₃ werden Quecksilbersalze ausgefällt. Das Filtrat wird i. Vak. zur Trockne gedampft, der zurückbleibende sirupöse Rückstand in 50ccm CHCl₃ aufgenommen, die Lösung mit Wasser, mit NaHCO₃-Lösung und wieder mit Wasser gewaschen, mit Na₂SO₄ getrocknet, mit Kohle geklärt und i. Vak. zum Sirup eingedampft. Durch Aufnehmen in heißem Methanol, Klären mit Kohle und Abkühlen wird das *Heptaacetat XXI* zur Kristallisation gebracht. Nach nochmaligem Umkristallisieren aus 50 ccm absol. Methanol beträgt die Ausb. 4.8 g (24% d. Th.). Schmp. 205–206°. [α]_D⁰: -0.34° × 2/0.0302 × 1 = -22.5° (in CHCl₃).



Die Verbindung ist leicht löslich in CCl₄, CHCl₃, Benzol und Aceton, schwer in Methanol, Alkohol und Äther, unlöslich in Wasser.

β-D-Glucosyl-β-D-glucuronsäure-amid (XXII) (β,β-Trehaluronsäure-amid): Die Abspaltung der Acetylreste mit NaOCH₃ in Methanol und die Überführung der Estergruppe in das Amid mit NH₃ in Methanol wird ebenso durchgeführt, wie beim Äthyl-glucuronsäure-amid (II) beschrieben. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus wenig Wasser mit dem etwa 10fachen Vol. Methanol erhält man das entacytierte Amid in einer Ausb. von 68% d. Th., mit etwa 1 1/2 Moll. Kristallwasser, das durch Trocknen bei 100° über P₂O₅ i. Vak. abgegeben wird. Die getrocknete Substanz ist stark hygroskopisch. Die wasserhaltige Substanz beginnt bei etwa 145° zu sintern und schmilzt bei 230–231°. [α]_D²⁰: -1.42° × 2/0.0484 × 1 = -58.8° (in Wasser).



Das Amid ist leicht löslich in Wasser, schwer in Methanol und Alkohol, so gut wie unlöslich in Aceton, Äther, CHCl₃ und Benzol.