

FRANZ GOTTWALT FISCHER und HELMUT SCHMIDT

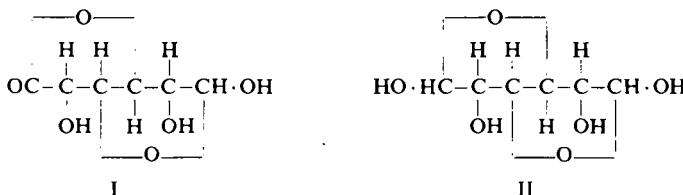
### D-gluco-Hexodialdose

Aus dem Chemischen Institut der Universität Würzburg

(Eingegangen am 19. November 1959)

Durch Reduktion von D-Glucuron mit Natriumamalgam entsteht außer D-Glucose und L-Gulose als Hauptprodukt die bisher unbekannte D-gluco-Hexodialdose. Nach chromatographischer Abtrennung wird die Dialdose kristallisiert als Monohydrat erhalten. Einige ihrer Reaktionen und Derivate werden beschrieben. Die Dialdose wird von Hefe nicht vergoren. — Die zur Amalgam-Reduktion von Onsäure-lactonen optimale Acidität wird zweckmäßig (statt durch Zugaben von Schwefelsäure) durch Pufferung mit Natriumhydrogenoxalat eingehalten.

Wir fanden, daß die Reduktion von Hexuronsäure-lactonen mit Natriumamalgam gut geeignet ist, um die entsprechenden Hexodialdosen darzustellen, und haben, vom leicht zugänglichen D-Glucuron I ausgehend, die bisher nicht bekannte D-gluco-Hexodialdose II (6-aldo-D-Glucose, D-gluco-Dialdose) gewonnen.



Bei derartigen Reduktionen in der Zuckergruppe läßt man bekanntlich nach den Angaben von E. FISCHER<sup>1)</sup> das Natriumamalgam in schwach kongosaurer Lösung auf das Lacton einwirken, da einerseits dessen Hydrolyse im Alkalischen, anderseits die Entwicklung von elementarem Wasserstoff im stärker Sauren vermieden werden muß. Bisher wurde das von mehreren Autoren<sup>2)</sup> häufig angewandte Verfahren stets so ausgeführt, daß man der bewegten Reaktionsmischung Schwefelsäure zu tropfen ließ und durch Tüpfelproben laufend die Acidität kontrollierte<sup>3)</sup>. Wir fanden es zweckmäßiger, durch Zugabe von Natriumhydrogenoxalat die optimale Acidität ( $\text{pH } 3\text{--}4$ ) vom Anfang bis zum Ende der Reduktion einzuhalten und haben diese Ausführung auch durch die Amalgam-Reduktion anderer Onsäure-lactone erprobt. Man erhält so in einfacher Weise Ausbeuten von 60–70% der Theorie. Das Natrium-

<sup>1)</sup> E. FISCHER, Ber. dtsch. chem. Ges. **22**, 2204 [1889]; **23**, 370, 799, 930, 2611 [1890]; E. FISCHER und O. PILOTY, ebenda **24**, 521, 4214 [1891].

<sup>2)</sup> Z. B.: C. NIEMANN und K. P. LINK, J. biol. Chemistry **100**, 407 [1933]; C. NIEMANN, S. A. KARIALA und K. P. LINK, ebenda **104**, 189 [1934]; M. STEIGER, Helv. chim. Acta **19**, 189 [1936]; W. BOSSHARD, ebenda **18**, 482 [1935]; C. GLATTHAAR und T. REICHSTEIN, ebenda **21**, 3 [1938].

<sup>3)</sup> N. SPERBER, H. E. ZAUGG und W. M. SANDSTROM, J. Amer. chem. Soc. **69**, 915 [1947], kontrollieren laufend die Acidität potentiometrisch. Hier weitere Literaturangaben.

oxalat läßt sich durch Fällung mit Äthanol ebensogut aus der Reaktionsmischung entfernen wie das Natriumsulfat. Die vollständige Entsalzung der Lösungen wird durch Ionenaustauscher erreicht. Vor ihrer Einwirkung müssen jedoch die kleinen Anteile von unverändertem Lacton zur Säure hydrolysiert werden.

Die D-gluco-Hexodialdose ist außerordentlich alkaliempfindlich; bei der Aufarbeitung der Reaktionsmischung (Entfernung des nichtreduzierten D-Glucurons durch Hydrolyse) ist daher stärkere Alkalität zu vermeiden. Die Dialdose ist zu 45–50% d. Th. entstanden, daneben in kleiner Menge durch Überreduktion der Lactongruppe am C-6 D-Glucose, durch Reduktion der Glucosid-Gruppe am C-1 L-Gulose.

Die Chromatographie<sup>4)</sup> kleiner Proben der Lösung auf dem Papierbogen (mit einem Pyridin/Essigester/Eisessig/Wasser-Gemisch) läßt das Ergebnis der Reduktion erkennen: Die beiden Hexosen werden als scharfumrissene Flecke abgetrennt, die weiter wandernde Dialdose als langgezogener Streifen. Falls noch Spuren von D-Glucuron vorhanden sind, findet man sie am weitesten vom Startstrich.

Nach präparativer chromatographischer Abtrennung in der Cellulosesäule ist die D-gluco-Dialdose so rein, daß sie aus der zum Sirup eingedickten wäßrigen Lösung im Laufe einiger Tage als Monohydrat kristallisiert. Ihre optische Aktivität ( $[\alpha]_D^{25}$ : + 49.9°) unterscheidet sich kaum von jener der D-Glucose (im Gleichgewichtszustand  $[\alpha]_D$ : + 52.8°). Sie reduziert schnell Silbernitrat in ammoniakalischer Lösung schon bei 30° und rötet fuchsinschweißige Säure. Die Rotfärbung tritt sofort ein, wenn wäßrige Lösungen oder sirupöse Präparate geprüft werden, erst im Laufe einiger Minuten, wenn Dialdose-Kristalle in der Reagenzflüssigkeit gelöst werden. Die Titration der Dialdose mit Hypojodit zeigt genau zwei oxydierbare Gruppen an. Je nach den Fällungsbedingungen entstehen aus D-gluco-Hexodialdose Bisphenylhydrazone, die sich im Zers.-P. und Drehwert unterscheiden: Aus älteren wäßrigen Lösungen ein Bisphenylhydrazon vom Zers.-P. 172–173°, aus den wäßrigen oder äthanolischem-wäßrigen Lösungen, die sofort nach der Amalgam-Reduktion erhalten werden, ein solches vom Zers.-P. 152–153°.

Das leicht zu gewinnende, in farblosen Nadeln schön kristallisierende Tetraäthylmercaptal schmilzt bei 73°.

D-gluco-Dialdose wird weder durch Bierhefe noch durch Bäckerhefe vergoren; sie hemmt auch die Vergärung von D-Glucose nicht.

Das Vorliegen von zwei Fünfringen im Trimethylglucuron ist nachgewiesen worden<sup>5)</sup> und ist daher auch im D-Glucuron selbst anzunehmen (wie in I). Es ist sehr wahrscheinlich, daß auch die D-gluco-Hexodialdose ebenfalls zwei Fünfringe enthält (wie in II), da die Verschränkung von zwei Fünfringen spannungsärmer ist als die von einem Fünfring mit einem Sechsring<sup>6)</sup>. Jedoch bedarf die Feststellung der Ringstruktur der Dialdose noch experimenteller Beweise. Ihre sehr leichte Oxydierbarkeit und ihre Reaktion mit fuchsinschweißiger Säure erinnern an die Reaktionsfähigkeit der Anhydrozucker mit zwei Fünfringen<sup>6)</sup>; vermutlich liegt in wäßriger Lösung auch die

<sup>4)</sup> F. G. FISCHER und H. DÖRFEL, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 297, 164 [1954].

<sup>5)</sup> F. SMITH, J. chem. Soc. [London] 1944, 584.

<sup>6)</sup> W. N. HAWORTH, L. N. OWEN und F. SMITH, J. chem. Soc. [London] 1941, 88.

(hydratisierte) Aldehydform in höherem Prozentsatz vor. Da die Lösungen des kristallinen Monohydrats der *D-gluco*-Hexodialdose keine Mutarotation zeigen, ist weiterhin anzunehmen, daß schon in ihm die möglichen anomeren Formen im Gleichgewicht vorliegen.

Verschiedene Verbindungen von Dialdose-Charakter sind schon dargestellt worden: Die 2.3.4.5-Tetraacetyl-*galakto*-hexodialdose durch katalytische Hydrierung des Dichlorids acetylierter Schleimsäure<sup>7)</sup>; die tetraacetylierten *DL-ido*-Hexodialdose und *allo*-Hexodialdose durch Bleitetraacetat-Oxydation von Tetraacetyl-*myo*-inosit und Tetraacetyl-*allo*-inosit<sup>8)</sup>; die 2.3;4.5-Diisopropyliden-*D-manno*-hexodialdose durch Bleitetraacetat-Oxydation von 1.2;5.6-Diisopropyliden-*D-inosit*<sup>9)</sup>; aus dem Diaceton-Derivat wurde auch die freie *D-manno*-Hexodialdose amorph erhalten und ein kristallisiertes Dimethylglykosid<sup>10)</sup>; die 1.2-Isopropyliden-*D-xylo*-pentodialdose durch Perjodat-Oxydation von 1.2-Isopropyliden-*D-glucose*<sup>11)</sup>; die 2.3-Isopropyliden-*D-threo*-tetradialdose durch Bleitetraacetat-Oxydation von 3.4-Isopropyliden-*D-mannit*<sup>12)</sup>.

Unseres Wissens ist jedoch die *D-gluco*-Hexodialdose die erste Dialdose, die (als Monohydrat) kristallisiert erhalten wurde.

### BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

#### Die Reduktion von *D-Glucuron*

In einem weithalsigen 500-ccm-Rundkolben wird durch Vermischen von 63 g Oxalsäure (mit 2 H<sub>2</sub>O), 40 ccm Wasser und 125 ccm 4*n* NaOH und 1/2 stdg. erwärmen eine Suspension von NaHC<sub>2</sub>O<sub>4</sub> bereitet. Dann führt man eine an der Kolbenwand anliegende, mit einem schnellaufenden Rührmotor verbundene Schleife aus nichtrostendem Stahldraht ein, die ein intensives Quirlen der Mischung ermöglicht. Der Kolbeninhalt wird durch ein Kältebad und durch Einwerfen einiger Stückchen Eis auf 0–3° gekühlt, dann mit 10 g *D-Glucuron* und, nach einigen Minuten, auf einmal mit 150 g frischbereitetem Natriumamalgam (2.5-proz.) versetzt. Durch schnelles Rühren soll das alsbald sich verflüssigende Amalgam in der weiterhin auf 0–5° gekühlten Mischung heftig geschleudert werden. Nach 15–20 Min. ist es völlig verbraucht. Das Reaktionsgemisch wird vom Quecksilber abgegossen, mit dem gleichen Vol. Äthanol versetzt und vom Na-Oxalat durch Absaugen oder Abzentrifugieren befreit. In der Lösung muß nach Abdestillieren des Äthanols und eines Teils des Wassers i. Vak. bis auf ein Vol. von 80–100 ccm das unverändert gebliebene *D-Glucuron* vor Entfernung der Ionen hydrolysiert werden. Da die Anwendung eines basischen Ionenaustauschers nach unseren Erfahrungen zu größeren Verlusten der gegen Alkalien sehr empfindlichen Dialdose führen kann, wird die Hydrolyse durch vorsichtige, tropfenweise Zugabe von 4*n* NaOH vorgenommen. Kresolrot (*p*<sub>H</sub> 7.0–8.8) dient als Indikator; nach jedem Tropfen wird abgewartet, bis der Umschlag nach Rot den Verbrauch der zugesetzten Lauge anzeigen. Diese Operation erfordert bei 20° etwa 1 Stde. und maximal 6 ccm 4*n* NaOH. Die Lösung wird anschließend mit einem Gemisch aus je 10 g feuchtem Dowex-50-Harz (H-Form) und Do-

<sup>7)</sup> F. MICHEEL, Chemie der Zucker und Polysaccharide, S. 176, Akadem. Verlagsges., Leipzig 1939.

<sup>8)</sup> G. DANGSCHAT und H. O. L. FISCHER, Naturwissenschaften 27, 756 [1939]; G. DANGSCHAT, ebenda 30, 146 [1942].

<sup>9)</sup> C. E. BALLOU und H. O. L. FISCHER, J. Amer. chem. Soc. 75, 3673 [1953].

<sup>10)</sup> C. E. BALLOU und H. O. L. FISCHER, J. Amer. chem. Soc. 75, 4695 [1953].

<sup>11)</sup> J. C. SOWDEN, J. Amer. chem. Soc. 73, 5496 [1951].

<sup>12)</sup> H. O. L. FISCHER und H. APPEL, Helv. chim. Acta 17, 1574 [1934].

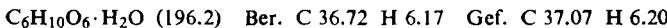
wex-1-Harz ( $\text{CO}_3$ -Form) versetzt, heftig geschüttelt und abfiltriert. Diese Behandlung wird zweimal wiederholt. Die Lösung ist dann völlig frei von Ionen, neutral, farblos und enthält 6 g Monosaccharide. Ihre papierchromatographische Trennung und Bestimmung<sup>4)</sup> ergibt etwa 80% D-gluco-Dialdose, mehr als 10% L-Gulose und etwas weniger D-Glucose. D-Glucuron darf höchstens in Spuren vorhanden sein, da sonst die Abtrennung der Dialdose in der Cellulosesäule (durch Überlappung mit Glucuron enthaltenden Eluatsfraktionen) gestört wird.

Die Lösung wird i. Vak. auf wenige ccm eingeengt, mit 30 g trockenem, gereinigtem Cellulosepulver aufgesogen und darauf im Exsikkator über  $\text{KOH}$  und  $\text{P}_2\text{O}_5$  vollends eingetrocknet.

#### *Die chromatographische Abtrennung der D-gluco-Dialdose*

Cellulosepulver wird mit Wasser gründlich gewaschen, bei 80° getrocknet, im Trenngemisch (n-Butanol/Eisessig/Wasser 4:1:1) aufgeschlämmt, in die Säule gegossen, dort mit dem Trenngemisch gründlich nachgewaschen und dann festgedrückt (5 × 32 cm). Die Hälfte des mit den Monosacchariden beladenen Cellulosepulvers aus dem oben angegebenen Ansatz wird als 1 cm dicke Schicht auf die Cellulosesäule festgestampft und mit 20 g Cellulosepulver zugedeckt. Der Durchfluß des Trenngemisches wird derart geregelt, daß in 20 Min. Fraktionen von je 7 ccm abtropfen; diese werden in den Gefäßen eines Fraktometers aufgefangen. Nach Ausfluß von 1.5 l ist die Chromatographie beendet. Der Nachweis der reduzierenden Saccharide in den Fraktionen läßt sich in neutralisierten 0.5-ccm-Proben mit BENEDIKS Reagenz führen. Von den reduzierenden Fraktionen werden je 20 cmm auf Whatman-Papier Nr. 1 chromatographiert (Trenngemisch: Pyridin/Essigester/Eisessig/Wasser 5:5:1:3, Startstriche von 2 cm) und mit Triphenyltetrazoliumchlorid entwickelt<sup>4)</sup>. Den ersten, leeren 630 ccm Eluat folgen 190 ccm mit Spuren von Glucuron, dann 350 ccm mit gluco-Dialdose, dann 140 ccm, die sowohl Dialdose als auch L-Gulose enthalten, und schließlich 75 ccm mit D-Glucose und Spuren von Gulose und Dialdose. Die vereinigten Fraktionen mit der reinen gluco-Dialdose werden mit 300 ccm Wasser versetzt, im guten Wasserstrahlvak. eingeengt (Badtemp. unter 40°), zur völligen Vertreibung des Butanols mit weiteren 100 ccm Wasser verdünnt, weiter eingeengt und schließlich in einer Schale im Exsikkator zum farblosen Sirup eingedickt, der nach einigen Tagen durchkristallisiert. Es bilden sich glänzende, breite und zugespitzte, zu Rosetten vereinigte Nadeln vom Schmp. 80–83°. Diese enthalten auch nach Verreiben mit wasserfreiem Aceton 1 Mol.  $\text{H}_2\text{O}$ .

Wenn der Sirup sofort mit Aceton p.a. verrieben wird, erhält man die Dialdose als farbloses, hygroskopisches Pulver (1.2 g aus dem angegebenen, von 5 g D-Glucuron ausgehenden Ansatz), ebenfalls mit 1 Mol. Kristallwasser.



Beim Erhitzen verflüssigt sich die Kristallwasser enthaltende D-Glucodialdose bei 80–83° unter Aufschäumen ohne sichtbare Zersetzung. Erst bei 140–145° tritt Braunfärbung unter erneutem Aufschäumen ein. Im Hochvak. auf 65°, dann auf 80° erhitzt, verliert die Dialdose Gewicht, entspr. 1 Mol. Wasser. Sie backt jedoch teilweise zusammen und ihr Schmp. ist nicht über 100° gestiegen.

Das Drehvermögen des krist. D-gluco-Dialdose-monohydrats ist sofort nach dem Auflösen in Wasser nicht merklich verschieden von dem nach einigen Stunden.

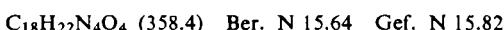
$$[\alpha]_D^{25}: +45.5^\circ \quad (c = 3.0, \text{ Wasser}) \quad \text{Auf wasserfreie gluco-Dialdose berechnet: } +49.9^\circ$$

Eine Lösung von fuchsinschweifiger Säure wird durch D-gluco-Dialdose sofort gerötet, eine ammoniakalische Lösung von Silbernitrat wird schon bei 30° schnell reduziert. Auf den Papierchromatogrammen erscheint die Dialdose nach Entwicklung (mit dem oben ange-

gebenen Trenngemisch) nach Färbung mit Triphenyltetrazoliumchlorid nicht als scharfer Fleck (wie D-Glucose und L-Gulose) sondern als langgezogener Streifen. Ältere oder erhitzte Präparate bilden außerdem einen scharfumrissenen Fleck, der weniger weit als D-Glucose wandert. Das *UV-Spektrum* ihrer wäßrigen Lösung zeigt keine Carbonylbande. Auch im *IR-Spektrum* ihres Monohydrates (in KBr-Scheibchen) tritt keine Carbonylbande auf.

Die *Titration nach Willstätter und Schudel* in der Modifikation nach F. AUERBACH und E. BODLÄNDER<sup>13)</sup> (in Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>/NaHCO<sub>3</sub>-Pufferlösung) ergibt genau den für 2 Aldehydgruppen berechneten Wert, wenn nach 1 Stde. zurücktitriert wird (nach 1/2 Stde. 93% d. Th., nach 2 Stdn. 106% d. Th.).

Wir erhielten zwei, sich im Zers.-P. und Drehwert unterscheidende *Bis-phenylhydrazone* der D-Glucohexodialdose, je nachdem ob gleich nach der Amalgam-Reduktion die wäßrige oder äthanolischem-wäßrige Lösung mit Phenylhydrazinacetat (aus gleichen Teilen 50-proz. Essigsäure und Phenylhydrazin) versetzt wurde, oder die wäßrige Lösung nach Abdestillieren des Äthanol. Im ersten Falle scheidet sich in farblosen Blättchen ein *Bis-phenylhydrazon* vom Zers.-P. 152–153° aus. Es ist schon rein und in 50-proz. wäßrigem Äthanol so schwer löslich, daß seine Fällung in einem aliquoten Teil der Lösung sich eignet zur Bestimmung der durch die Reduktion erzielten Ausbeute (45–48% d. Th.).



$[\alpha]_D^{22} = -24.4^\circ$  ( $c = 3.0$ , Pyridin). Der Drehwert ist nach 1 Stde. unverändert.

Das *Bis-phenylhydrazon* aus der wäßr. Lösung scheidet sich ebenfalls in farblosen Blättchen aus. Zers.-P. 165–166°, nach Umkrist. aus Äthanol Zers.-P. 170–172°. Auch aus der kristallinen Dialdose wird dieses höher schmelzende Hydrazon erhalten.

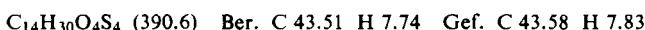


$[\alpha]_D^{22} = -16.0^\circ$  ( $c = 1.5$ , Pyridin). Auch dieser Drehwert war nach 1 Stde. unverändert.

Beide Bis-phenylhydrazone sind in Methanol, Äthanol und Aceton schwerlöslich, in Pyridin und heißem Eisessig leichtlöslich. Die Umkrist. aus wäßrigem Äthanol ist verlustreich. Beide zeigen im UV-Spektrum  $\lambda_{\max} = 278 \text{ m}\mu$ .

Die Rückgewinnung der D-gluco-Hexodialdose aus den Bis-phenylhydrazenen durch Umsetzung mit Benzaldehyd gelingt nicht, da sie bei 20° nicht erfolgt, bei 80° jedoch nur zersetzte Dialdose-Präparate liefert.

*D-gluco-Hexodialdose-tetraäthylmercaptal*: 0.10 g *Dialdose* wird in 1 ccm eiskalter konz. Salzsäure gelöst und die Lösung sofort mit 0.5 ccm *Äthylmercaptan* geschüttelt, dann mit Eiswasser gekühlt. Nach wenigen Minuten scheidet sich das Bismercaptal in feinen, farblosen Nadeln aus. Umkristallisation durch Lösen in Äthanol und Zugabe von Wasser bis zur Trübung. Schmp. 73°.



*Gärversuche* wurden mit frischer und „verarmer“ Bierhefe und Bäckerhefe (in WARBURG-Gefäßen) ausgeführt. Sie ergaben, daß D-gluco-Hexodialdose nicht vergoren wird und (in Konzentrationen bis 2%) die Vergärung von D-Glucose nicht hemmt.

<sup>13)</sup> Z. angew. Chem. 36, 602 [1923].