

ALMUTH KLEMER und KURT HOMBERG

Die Bildung von 6-[β -D-Glucosido]-, α ''- und -, β ''-D-glucometasaccharinsäure aus 3.6-Bis-[β -D-glucosido(1.5)]-D-glucose(1.5)

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Münster (Westf.)

(Eingegangen am 4. August 1962)

Die Einwirkung von $0.05\,n\,\text{Ba(OH)}_2$ auf 3.6-Bis-[β -D-glucosido(1.5)]-D-glucose(1.5) führt unter Abspaltung des D-Glucose-Restes am C-3 zu der 6-[β -D-Glucosido]-, α ''- und -, β ''-D-glucometasaccharinsäure. Die Struktur ergibt sich aus der Hydrolyse zu D-Glucose sowie α ''- und β ''-D-Glucometasaccharinsäure. Letztere wird in Form des kristallinen Anilides identifiziert.

Wie früher beobachtet, liefert die Acetylierung von 3.6-Bis-[β -D-glucosido]-D-glucose (I)^{1,2} sowohl mit Natriumacetat/Acetanhydrid als auch mit Pyridin/Acetanhydrid neben dem erwarteten Trisaccharid-undeca-acetat kleine Mengen Pentaacetyl-D-glucose. Überraschend war, daß dabei in keinem Falle eines der beiden möglichen Disaccharid-acetate auftrat. Dieses Ergebnis ließ auf eine ungewöhnliche Reaktionsfähigkeit der beiden glucosidischen Bindungen des Trisaccharides schließen.

I ist außerordentlich alkaliempfindlich. Schon in schwach basischer Lösung wird unter Abspaltung des D-Glucose-Restes am C-3 rasch 6- β -D-Glucosido-, α ''- und -, β ''-D-glucometasaccharinsäure gebildet. Diese Reaktion findet — wenn auch in sehr geringem Umfange — schon bei der Acetylierung statt, bedingt durch die Basizität des Natriumacetates oder Pyridins. Arbeitet man die Acetylierungsgemische in der üblichen Weise auf, so geht die acetylierte Saccharinsäure beim Ausschütteln der Chloroformlösung der Acetate mit Natriumhydrogencarbonatlösung verloren. Daher findet man schließlich nur das Trisaccharid-acetat und die der Saccharinsäure äquivalente Menge an Pentaacetyl-D-glucose. Im Gegensatz zum Verhalten des Trisaccharids unterbleibt jedoch die Saccharinsäurebildung bei der 3-[β -D-Glucosido]-D-glucose unter diesen Bedingungen. Dieses Ergebnis deutet auf eine größere Reaktionsfähigkeit des Trisaccharides hin. Der Befund steht in Übereinstimmung mit den Beobachtungen von J. KENNER und Mitarb., die in den letzten Jahren umfassende Arbeiten über die Bildung von Saccharinsäuren aus freien und substituierten Hexosen durchgeführt haben³. Danach wird die Metasaccharinsäurebildung aus C-3-substituierten Zuckern durch eine zusätzliche Substitution am C-6 gefördert⁴. Wir haben I mit $0.05\,n\,\text{Ba(OH)}_2$ in die nach dem Reaktionsmechanismus zu erwartende, bisher unbekannte 6-[β -D-Glucosido]-, α ''- und -, β ''-D-glucometasaccharinsäure (IIIa und IIa)

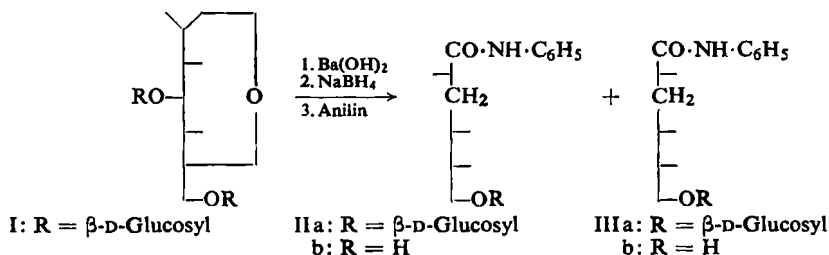
1) A. KLEMER und K. HOMBERG, Chem. Ber. **93**, 1643 [1960].

2) A. KLEMER und K. HOMBERG, Chem. Ber. **94**, 2747 [1961].

3) Vgl. J. C. SOWDEN, Advances in Carbohydrate Chem. **12**, 36 [1957], „The Saccharinic Acids“.

4) J. KENNER und G. N. RICHARDS, J. chem. Soc. [London] **1956**, 2916.

übergeführt. Da bei dieser Reaktion D-Glucose frei wird, die ihrerseits andere störende Saccharinsäuren liefert, wurden Bedingungen ermittelt, unter denen diese unerwünschte Nebenreaktion weitgehend unterbleibt.



Nach Ablauf der Reaktionszeit reduzierten wir mit Natriumborhydrid und setzten die nun im Gemisch mit den Zuckeralkoholen vorliegenden Saccharinsäuren zu ihren Aniliden um. Diese Verbindungen haben gegenüber den Zuckeralkoholen stark vergrößerte R_F -Werte. Die präparative chromatographische Auftrennung liefert das reine „ α “, „ β “-Isomerengemisch der 6-[β -D-Glucosido]-D-glucometasaccharinsäureanilide (IIIa und IIa).

Die Struktur der Saccharinsäure ergibt sich aus den Ergebnissen der Hydrolyse. Neben Anilin entstehen D-Glucose- und die bekannten „ α “- und „ β “-D-Glucometasaccharinsäuren. Letztere werden in ihre Calciumsalze übergeführt und in dieser Form durch präparative Papierchromatographie von der D-Glucose getrennt. Diese wird als kristalline β -Pentaacetyl-D-glucose identifiziert. Zur Charakterisierung der Glucometasaccharinsäuren wird mit Anilin umgesetzt. Nach dem Animpfen mit auf anderem Wege dargestelltem β -D-Glucometasaccharinsäureanilid^{5,6)} kristallisiert IIb aus. Es ist nach Schmelzpunkt und IR-Spektrum identisch mit der Vergleichssubstanz.

Wir danken dem KULTUSMINISTERIUM DES LANDES NORDRHEIN-WESTFALEN und dem VERBAND DER CHEMISCHEN INDUSTRIE für die finanzielle Unterstützung der Arbeit.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

6-[β -D-Glucosido]-, „ α “- und „ β “-D-glucometasaccharinsäureanilid (IIa und IIIa)

a) *Einwirkung 0.05 n Ba(OH)₂ auf I*: 302 mg I werden in 50 ccm sauerstofffreiem 0.05 n Ba(OH)₂ gelöst. Nach 15 Stdn. bei 23° wird die Reaktionslösung über eine IRC-50-(H⁺)-Austauscher-Säule (\varnothing 1 cm, Höhe 27 cm) filtriert. Das saure Filtrat (pH 3–4) und 150 ccm Waschwasser werden i. Vak. bei 35° bis auf 14 ccm eingeengt.

b) *Reduktion der Zucker*: 14 ccm der schwachsauren Lösung werden mit 30 mg NaBH₄ versetzt. Nach 8 Stdn. wird Fehlingsche Lösung nicht mehr reduziert. Zur Entfernung der Natrium-Ionen passiert die Lösung eine IRC-50-Kationen-Austauschersäule (\varnothing 1 cm, Länge 27 cm). Die Säule wäscht man mit 10 ccm Wasser und dampft die vereinigten Eluate i. Vak. bei 35° zur Trockne. Zur Entfernung der Borsäure wird siebenmal mit absol. Methanol i. Vak. zur Trockne gedampft. Ausb. 277 mg Sirup.

⁵⁾ J. KENNER und G. N. RICHARDS, J. chem. Soc. [London] 1954, 278.

⁶⁾ J. W. GREEN, J. Amer. chem. Soc. 78, 1894 [1956].

c) *Saccharinsäureanilide*: 277 mg Sirup werden, in wenig absol. Methanol/Äthanol (1:1) gelöst, und nach Zugabe von 0.3 ccm *Anilin* und 0.12 ccm Eisessig 1 Stde. auf dem Dampfbad erhitzt. Nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels erhält man einen Sirup, der, in wenig absol. Äthanol gelöst, abermals 1 Stde. zum Sieden erhitzt und anschließend i. Vak. bei 35° zur Trockne gedampft wird. Man erhält nach dem Trocknen über H_2SO_4 410 mg braunen Sirup, der mit wenig Cellulosepulver angeteigt und an einer Cellulosepulversäule (Länge 53 cm, \varnothing 3.0 cm) mit n-Butanol/Pyridin/Wasser (6:1:1) aufgetrennt wird. Aufgefangen wird in 8-ccm-Fractionen. Die Fractionen 35–40 enthalten die Anilide der 6- β -D-Glucosido]-D-glucometasaccharinsäuren, verunreinigt durch eine kleine Menge anderer Saccharinsäureanilide (Folgeprodukte der bei der Reaktion abgespaltenen D-Glucose). Nach dem Eindampfen wird erneut an einer Cellulosepulversäule gleicher Ausmaße, jedoch mit Lignoïn (100–120°)/n-Butanol/Wasser (60:38:2) und n-Butanol/Pyridin/Wasser (6:1:1) aufgetrennt. Die Fractionen 66–207 enthalten die chromatographisch reinen 6- β -D-Glucosido]-D-glucometasaccharinsäureanilide (IIa und IIIa).

Die Struktur von 6- β -D-Glucosido]-D-glucometasaccharinsäureanilid(α,β)

a) *Hydrolyse*: 76 mg 6- β -D-Glucosido]-D-glucometasaccharinsäureanilid(α,β) werden in 4 ccm 0.1 n H_2SO_4 13 Stdn. auf dem Dampfbad hydrolysiert. Nach dem Neutralisieren mit Bariumcarbonat und anschließendem Zentrifugieren filtriert man die Lösung über eine Lewatit-S-100-Austauscher-Säule (\varnothing 1 cm, Länge 15 cm) und wäscht die Säule mit 150 ccm Wasser. Die vereinigten Lösungen werden i. Vak. bei 40° zur Trockne gedampft, der sirupöse Rückstand in etwa 4 ccm Wasser gelöst und nach Zugabe von Calciumcarbonat einige Min. auf dem Dampfbad erhitzt. Nach dem Filtrieren entfernt man das bei der Hydrolyse entstandene *Anilin* durch Wasserdampfdestillation. Die Lösung wird i. Vak. bei 35° bis auf etwa 1.5 ccm eingeengt.

b) *Isolierung von Calcium-D-glucometasaccharinat(α,β) und D-Glucose*: Die D-Glucose und Calcium-D-glucometasaccharinat(α,β) enthaltende Lösung wird an dem Papier SS 2315 der Firma Schleicher & Schüll mit n-Butanol/Pyridin/Wasser (3:1:1) absteigend chromatographiert (Sättigung 20 Stdn., Laufzeit 25 Stdn.). Zwei Rand- und einen Mittelstreifen von 2 mm Breite entwickelt man mit KJO_4 /Benzidin. Dann werden die so ermittelten, D-Glucose und Calcium-D-glucometasaccharinat(α,β) enthaltenden Zonen ausgeschnitten und in einer Soxhlet-Apparatur je 7 Stdn. mit Wasser eluiert. Die Lösungen werden i. Vak. bei 40° zur Trockne gedampft. Ausb. 31 mg D-Glucose; 40 mg Calcium-D-glucometasaccharinat(α,β).

c) *Identifizierung der D-Glucose*: 31 mg D-Glucose werden wie üblich mit 30 mg wasserfreiem Natriumacetat und 0.3 ccm *Acetanhydrid* acetyliert. Die β -Pentaacetyl-D-glucose kristallisiert nach dem Aufarbeiten der Chloroformphase und Verreiben mit Äthanol; sie wird 2mal aus Äthanol umkristallisiert. Ausb. 33 mg β -Pentaacetyl-D-glucose, Schmp. 130 bis 131°. Testsubstanz: 132°; Misch-Schmp. 131–132°.

d) *Identifizierung der Saccharinsäure. β -D-Glucometasaccharinsäureanilid*: 38 mg Calcium-D-glucometasaccharinat(α,β) werden durch eine Lewatit-S-100-Austauscher-Säule (\varnothing 1 cm, Länge 10 cm) geschickt. Beim Eindampfen der schwachsauren Lösung erhält man einen Sirup, der in wenig absol. Äthanol gelöst und nach Zugabe von 0.2 ccm *Anilin* und 0.1 ccm Essigsäure, wie oben beschrieben, in das Gemisch der sirupösen Saccharinsäureanilide übergeführt wird. Nach dem Auflösen des Sirups in Essigester und Animpfen mit authent. Material kristallisiert das β -D-Glucometasaccharinsäureanilid aus. Umkristallisiert wird aus dem gleichen Lösungsmittel. Ausb. ca. 8 mg β -D-Glucometasaccharinsäureanilid (IIb), Schmp. 121 bis 122°. Testsubstanz: 122–123° (vgl. I. c.⁶); Misch-Schmp. 121–122°. Die IR-Spektren stimmen überein.