

# Zur Synthese von $\alpha$ -D-Glucopyranosyl-Derivaten

Burckhardt Helferich\* und Walter Manfred Müller

Organisch-Chemisches Institut der Universität Bonn,  
D-5300 Bonn, Meckenheimer Allee 168

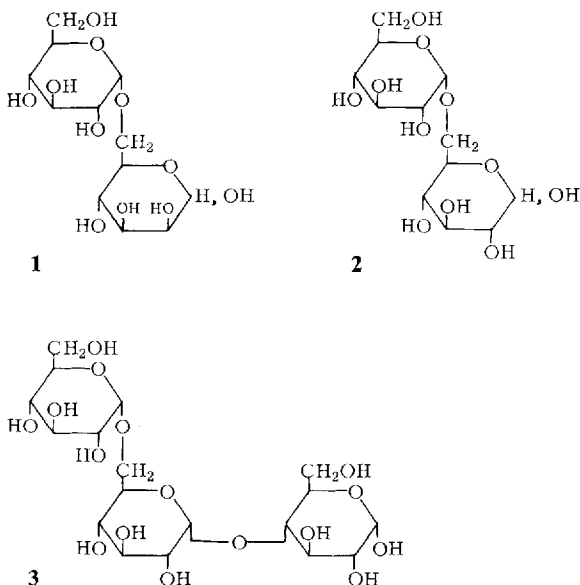
Eingegangen am 10. April 1973

Es wird die Synthese der 6-O- $\alpha$ -D-Glucopyranosyl-D-mannose (**1**), der Isomaltose (**2**)<sup>1)</sup> und der Panose (**3**)<sup>2)</sup> beschrieben.

## The Synthesis of $\alpha$ -D-Glucopyranosyl Derivatives

The synthesis of 6-O- $\alpha$ -D-glucopyranosyl-D-mannose (**1**), of isomaltose (**2**)<sup>1)</sup>, and of panose (**3**)<sup>2)</sup> is described.

Zur Darstellung der Glucopyranosyl-Derivate wurde als Kondensationsmittel wie früher<sup>3)</sup> Quecksilber(II)-succinat verwendet. Da die Wirksamkeit dieses Kondensationsmittels stark von seinen Eigenschaften abhängt, wird seine Darstellung genau beschrieben.



<sup>1)</sup> R. W. Bailey, *Oligosaccharides*, Pergamon Press, Oxford 1965.

<sup>2)</sup> M. L. Wolfrom und K. Koizumi, *J. Org. Chem.* **32**, 656 (1967); S. C. Pan, L. W. Nicholson und P. Kolachov, *J. Amer. Chem. Soc.* **73**, 2547 (1951).

<sup>3)</sup> B. Helferich und W. M. Müller, *Chem. Ber.* **104**, 671 (1971); **106**, 715, 941 (1973).

Die Kondensation von 3,4,6-Tri-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl-chlorid<sup>4)</sup> mit 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl-D-mannose<sup>5)</sup> führt zu einem Gemisch des  $\alpha$ -Derivats mit wenig des  $\beta$ -Derivats. Nach Entacetylierung und Spaltung des  $\beta$ -Derivats mit  $\beta$ -Glucosidase wird das Gemisch von Glucose, Mannose und dem  $\alpha$ -Disaccharid acetyliert und einer Säulenchromatographie unterworfen. Es lassen sich 55% des Octaacetyl- $\alpha$ -disaccharids abtrennen. Nach Entacetylierung gewinnt man fast 55% des reinen Disaccharids **1** als amorphes farbloses Pulver ( $\alpha$ , $\beta$ -Gemisch).

Auf die gleiche Weise konnte Isomaltose (**2**)<sup>1)</sup> hergestellt werden.

Die Kondensation von 3,4,6-Tri-*O*-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl-chlorid<sup>4)</sup> mit Benzyl-2,2',3,3',4,6'-hexa-*O*-acetyl- $\beta$ -D-maltosid<sup>6)</sup> führt zum 6-*O*- $\alpha$ -D-Glucosyl-Derivat neben wenig des  $\beta$ -Derivats. Nach Acetylieren wird säulenchromatographiert. Dabei läßt sich eine kleine Menge Bis(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl)-succinat als Nebenprodukt abtrennen. Die Hauptmenge liefert nach Entacetylieren das Benzylpanosid, nach Abhydrieren der Benzylgruppe erhält man die reine kristallisierte Panose (**3**)<sup>2)</sup> in einer Ausbeute von 40%.

Dem Landesamt für Forschung des Landes Nordrhein-Westfalen sind wir für die entscheidende Unterstützung der Arbeit (Personal- und Sachmittel) zu großem Dank verpflichtet.

## Experimenteller Teil

**Dünnschichtchromatographie** (= DC): I Kieselgel (Sil-G-Fertigfolien, Macherey & Nagel, Düren), Anfärbereagens: 20proz. methanolische Schwefelsäure. — II Cellulose, mikrokristallin, F 1440, Fertigfolien (Schleicher & Schüll, Dassel), Anfärbereagens: Anilinphthalat.

**Papierchromatographie** (= PC): Papier Schleicher & Schüll Nr. 2043 a, Anfärbereagens: Anilinphthalat. Laufmittel für DC und PC: a) Benzol/Aceton (4:1), b) Chloroform/Methanol/Wasser (5:4:1), c) Pyridin/Essigester/Essigsäure/Wasser (5:5:1:3), d) n-Butanol/Pyridin/Wasser (6:4:3).

**Säulenchromatographie**: 48  $\times$  1000 mm-Säule, 700 g Kieselgel 60 (Merck 7734, 70—230 mesh), 10-ml-Faktionen.

Schmelzpunkte: Kupferblock, unkorrigiert. I. Vak. eindampfen bedeutet stets im Rotationsverdampfer bei 35°C Badtemp.

**Quecksilber(II)-succinat**: Eine 70°C warme Lösung von 5 g Bernsteinsäure-anhydrid und 4 g NaOH in 30 ml Wasser wird unter Rühren langsam in eine 70°C warme Lösung von 16 g  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 + 1$  ml konz. Salpetersäure in 200 ml Wasser getropft. Nach 30 min bei Raumtemp. wird der Niederschlag abgesaugt, mit 1 Liter 70°C warmem Wasser, 1 Liter kaltem Wasser und 200 ml absol. Äther gewaschen und im Exsikkator bei Raumtemp. über  $\text{P}_4\text{O}_{10}$  vollständig getrocknet: 14.5 g (über 91%). Das trockne Präparat sollte bald verbraucht werden, da es nach 2—3 Wochen an Wirksamkeit verliert. Größere Ansätze lassen sich schlechter trocknen.

$\text{Hg}[\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4]$  (316.7) Ber. Hg 63.21 Gef. Hg 62.98 (jodometrisch)

**6-*O*- $\alpha$ -D-Glucopyranosyl-D-mannose (**1**)**: Eine Mischung von 3.5 g 1,2,3,4-Tetra-*O*-acetyl-D-mannopyranose (10 mmol)<sup>5)</sup>, 0.9 g Quecksilber(II)-succinat (2.84 mmol), 1.63 g 3,4,6-Tri-

<sup>4)</sup> R. U. Lemieux und J. Howard, *Methods Carbohydr. Chem.* **2**, 400 (1963).

<sup>5)</sup> B. Helferich und J. F. Leete, *Ber. Deut. Chem. Ges.* **62**, 1549 (1929).

<sup>6)</sup> B. Helferich und W. Speicher, *Liebigs Ann. Chem.* **579**, 106 (1953).

O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl-chlorid<sup>4)</sup> (Schmp. 157–158.5°C) in 20 ml absol. Benzol wird nach Zusatz von 10 Glasperlen (zur Verstärkung der Rührung) 4 Tage bei 40°C intensiv gerührt. Das Reaktionsgemisch wird nach Verdünnen mit 50 ml Chloroform über Kieselgur abgesaugt, der Rückstand 3 mal mit je 10 ml Chloroform nachgewaschen, und die vereinigten Filtrate werden einmal mit 30 ml Wasser, 3 mal mit je 25 ml N KBr-Lösung, 2 mal mit je 25 ml gesätt. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und 2 mal mit je 30 ml Wasser gewaschen, kurz mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, i. Vak. eingedampft und der Rückstand, ein farbloser Sirup, im Exsikkator über Blaugel getrocknet: 5 g.

Dieses Produkt wird in 30 ml absol. Methanol gelöst, mit 2.5 ml 2proz. Natriummethylatlösung entacetyliert und das Gemisch — nach ca. 3 min beginnt sich ein Niederschlag abzuscheiden — noch 1 h bei Raumtemp. gerührt. DC-Probe nach I b: Gemisch von Monosen und Disacchariden. Nach Lösen in Wasser wird mit Kationen-Austauscher Dowex 50 W X 8 (H<sup>+</sup>) neutralisiert (5 min Rühren), filtriert, mit Wasser gewaschen und i. Vak. eingedampft. Der Rückstand wird kurz mit P<sub>4</sub>O<sub>10</sub> getrocknet, in 40 ml Acetatpuffer, pH 4.6, gelöst und durch Zusatz von 0.15 g  $\beta$ -Glucosidase (1.01 EE<sup>7)</sup>) aus Süßmandelemulsin (EC 3.2.1.21) und einigen Tropfen Toluol 3 Tage bei 30°C das in kleiner Menge vorhandene  $\beta$ -Disaccharid gespalten. Nach 20 min Erhitzen auf dem siedenden Wasserbad, Abkühlen auf Raumtemp., Entsalzen mit Mischbett-Ionenaustauscher Amberlite MB-3, Filtrieren, 10maligem Waschen mit je 10 ml Wasser, Eindampfen i. Vak. und Trocknen über P<sub>4</sub>O<sub>10</sub> verbleiben 2.7 g eines glasigen Rückstandes (Gemisch von  $\alpha$ -Disaccharid, Glucose und Mannose). Dieser wird in 10 ml absol. Pyridin und 9.5 ml Acetanhydrid 15 h bei +4°C acetyliert. Nach Zusatz von 8 ml Wasser wird 1 h bei +4°C gehalten und i. Vak. eingedampft. Der gewonnene Sirup wird in 150 ml Chloroform gelöst und die Lösung einmal mit 40 ml Wasser, 2 mal mit je 40 ml 20proz. KHSO<sub>4</sub>-Lösung, 3 mal mit je 40 ml gesätt. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und 2 mal mit je 40 ml Wasser gewaschen, mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und i. Vak. eingedampft. Nach Lösen in 50 ml absol. Benzol wird nochmals eingedampft. Der sirupöse Rückstand wird in 4 ml absol. Benzol aufgenommen und mit Benzol/Aceton (8.5:1.5) über Kieselgel chromatographiert. Die Fraktionen 185–290 liefern nach Eindampfen i. Vak. 1.89 g (55.4%) Octaacetyl-disaccharid (DC nach I a nur ein Fleck). Der amorphe Rückstand wird in 19 ml absol. Methanol und 1 ml 2proz. Natriummethylat unter Rühren 1 h bei Raumtemp. entacetyliert (DC-Kontrolle I b), der entstandene Niederschlag durch Zusatz von 5 ml Wasser in Lösung gebracht, die Lösung mit Dowex 50 W X 8 (H<sup>+</sup>) entionisiert, nach Filtrieren durch ein mit A-Kohle abgedichtetes Ederol-Filter (Nr. 95.5, Fa. J. C. Binzer, Hatzfeld-Eder) mit Wasser gewaschen, i. Vak. eingedampft und noch dreimal mit je 20 ml absol. Äthanol aufgenommen und wieder eingedampft. Nach Trocknen über P<sub>4</sub>O<sub>10</sub> hinterbleiben 0.94 g (55%) als amorphes weißes Pulver.  $[\alpha]_D^{20} = +96^\circ$  (in Wasser,  $c = 0.5$ ). Keine Mutarotation:  $\alpha,\beta$ -Gemisch. DC nach I b und II c: ein Fleck. PC, d: ein Fleck.

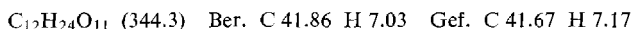
C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>O<sub>10</sub> (342.3) Ber. C 42.11 H 6.48 Gef. C 41.99 H 6.59

Nach Hydrolyse mit N HCl, 1 h bei 90°C, PC, d: Mannose und Glucose.  $\beta$ -Glucosidase aus Süßmandelemulsin (EC 3.2.1.21) hat keine Wirkung.  $\alpha$ -Glucosidase aus Hefe (EC 3.2.1.20) spaltet nach 5 Tagen, Dextrin- $\alpha$ ,1,4; $\alpha$ ,1,6-glucosidase aus *Aspergillus niger* (EC 3.2.1.?) nach 24 h.

6-O- $\alpha$ -D-Glucopyranosylmannitol: 0.2 g **1** in 20 ml Wasser werden portionsweise mit 0.2 g NaBH<sub>4</sub> versetzt und nach ca. 15 h bei Raumtemp. mit Dowex 50 WX 8 (H<sup>+</sup>) bis zur sauren Reaktion behandelt. Nach Filtrieren und Nachwaschen wird i. Vak. eingedampft, der Rückstand dreimal mit je 25 ml absol. Methanol aufgenommen und wieder eingedampft: 0.2 g.

<sup>7)</sup> B. Helferich und T. Kleinschmidt, Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. **324**, 211 (1961).

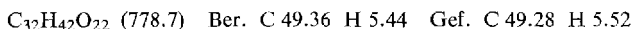
Durch zweimaliges Lösen (unter Rückfluß) in 15 ml absol. Methanol und Abkühlen auf 0°C erhält man 0.18 g durchscheinende Blättchen (kristallin?), die borfrei sind. DC nach I b: nur ein Fleck. Reduziert Fehlingsche Lösung erst nach saurer Hydrolyse: PC, d: nur Glucose.  $[\alpha]_D^{20} = +87.3^\circ$  (in Wasser,  $c = 0.2$ ). Schmp. 122–125°C (unscharf).



Durch Acetylieren und Entacetylieren ändert sich die Substanz nicht.  $\beta$ -Glucosidase aus Süßmandeln hat keine Wirkung,  $\alpha$ -Glucosidase aus Hefe spaltet langsam.

*6-O- $\alpha$ -D-Glucopyranosyl-D-glucose (Isomaltose) (2)<sup>1)</sup>*: Die Kondensation des 3,4,6-Tri-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl-chlorids<sup>4)</sup> mit 1,2,3,4-Tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranose<sup>8)</sup> und die Aufarbeitung der Reaktionsprodukte werden wie beim Mannosederivat durchgeführt. Ausb. an freiem Disaccharid (amorph) 49.7%.  $[\alpha]_D^{20} = +119^\circ$  (in Wasser,  $c = 1$ ). DC nach I b und II c: nur ein Fleck. PC, d: ein Fleck. Die HCl-Hydrolyse ergab nur Glucose.  $\beta$ -Glucosidase (EC 3.2.1.21) aus Süßmandel hatte keine Wirkung.  $\alpha$ -Glucosidase aus Hefe (EC 3.2.1.20) spaltet nur sehr langsam. Dextrin- $\alpha$ -1,4; $\alpha$ -1,6-glucosidase (aus *Aspergillus niger*, EC 3.2.1.?) spaltet im Lauf von 2 h. Die Jodtitration<sup>9)</sup> ergab eine Aldehydgruppe: Ber. 8.48, gef. 8.18%. Ein Vergleich mit Isomaltose von der Firma SIGMA (99proz.) ergab keine Unterschiede.

*6-O- $\alpha$ -D-Glucopyranosyl- $\beta$ -D-maltose (Panose) (3)<sup>2)</sup>*: Ein Gemisch von 6.85 g Benzyl-2,2',3,3',4,6'-hexa-O-acetyl- $\beta$ -D-maltosid<sup>6)</sup> (10 mmol), 0.9 g Quecksilber(II)-succinat (2.84 mmol) und 1.63 g 3,4,6-Tri-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl-chlorid<sup>4)</sup> (5 mmol) in 40 ml absol. Benzol wird nach Zusatz von 10 Glasperlen (zur Verstärkung der Rührung) 5 d bei 40°C intensiv gerührt. Nach Verdünnen mit 60 ml Chloroform, Filtrieren über Kieselgur und dreimaligem Nachwaschen mit je 15 ml Chloroform werden die vereinigten Filtrate 3mal mit  $\approx$  KBr-Lösung, 2mal mit je 30 ml gesätt.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung und 3mal mit je 40 ml Wasser gewaschen, mit  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und i. Vak. eingedampft. Zur Acetylierung wird der sirupöse Rückstand in 10 ml absol. Pyridin + 9.5 ml Acetanhydrid 15 h bei Raumtemp. aufbewahrt und die Lösung nach Zusatz von 5 ml Wasser (Eiskühlung, 1 h) i. Vak. eingedampft. Die Lösung des Rückstandes in 150 ml Chloroform wird einmal mit 30 ml Wasser, 3mal mit je 20 ml 20proz.  $\text{KHSO}_4$ -Lösung, 3mal mit gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung und 2mal mit je 30 ml Wasser gewaschen, mit  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet, i. Vak. eingedampft und der Rückstand in 80 ml absol. Benzol gelöst und die Lösung erneut i. Vak. eingedampft. Der sirupöse Rückstand wird in 5 ml absol. Benzol über Kieselgel mit Benzol/Aceton (8.5:1.5) säulenchromatographiert. Nach Eindampfen der Fraktionen 207–320 i. Vak. wird der Rückstand (2.9 g) in 15 ml absol. Methanol gelöst. Es scheiden sich im Lauf von 15 h bei Raumtemp. 0.1 g Bis(2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl)-succinat ab. Es wird abgesaugt und mit Methanol nachgewaschen.  $[\alpha]_D^{20} = +121.1^\circ$  (in Chloroform,  $c = 0.1$ ), Schmp. 178–179°C.



NMR:  $\tau$  3.69 (d, 2H an C-1,  $J = 3.5$  Hz), 7.22 (4H,  $\text{C}_2\text{H}_4$ , Succinat), 7.92, 7.98 (24H, Acetylgruppen).

Die vereinigten Methanollösungen werden i. Vak. eingedampft. Der glasige Rückstand – 2.75 g, DC nach Ia: ein Fleck – wird in 30 ml absol. Methanol + 1 ml 2proz. Natrium-methylatlösung 1 h bei Raumtemp. entacetyliert, nach Zusatz von 3 ml Wasser zur klaren

<sup>8)</sup> B. Helferich, L. Moog und A. Jünger, Ber. Deut. Chem. Ges. **58**, 877 (1925); R. L. Whistler, L. W. Doner und M. Kosik, Methods Carbohyd. Chem. **6**, 411 (1972).

<sup>9)</sup> F. Auerbach und E. Bodländer, Angew. Chem. **36**, 602 (1923).

Lösung wird mit Dowex 50 WX 8 (H<sup>⊕</sup>) entionisiert (5 min Rühren), filtriert, i. Vak. eingedampft, 2 mal mit je 10 ml absol. Äthanol aufgenommen, wiederum eingedampft und der Rückstand über P<sub>4</sub>O<sub>10</sub> getrocknet: 1.6 g. DC nach Ib: ein Fleck.

Die Benzylgruppe wird durch Hydrieren in 250 ml 90proz. Äthanol bei Raumtemp. und Normaldruck mit 0.5 g 10proz. PdO/A-Kohle (Degussa) abgespalten. Nach Filtration und 10maligem Nachwaschen mit je 20 ml Wasser werden die vereinigten Filtrate i. Vak. eingedampft, der Rückstand wird noch 2 mal mit je 80 ml absol. Äthanol aufgenommen, erneut wird eingedampft und über P<sub>4</sub>O<sub>10</sub> getrocknet. Beim Lösen in 20 ml absol. Methanol (Erhitzen unter Rückfluß) und Abkühlen auf 50°C kristallisiert das Trisaccharid aus. Ausb. 1.01 g (40.5%),  $[\alpha]_D^{20} = +161.1^\circ$  (Anfangsdrehung; Enddrehung  $+151^\circ$ , in Wasser,  $c = \text{ca. } 0.8$ ) (Lit.<sup>2)</sup>  $[\alpha]_D^{20} = +161-151^\circ$ , Schmp. 220–221°C), Schmp. 220–222°C. DC nach Ib und Ic: ein Fleck, nach Hydrolyse mit HCl: PC, d: ein Fleck, Glucose. Jodtitration<sup>9)</sup> CHO ber. 5.74, gef. 5.60.

$\beta$ -Glucosidase und  $\alpha$ -Glucosidase aus Hefe spalten nicht, Dextrin- $\alpha$ -1,4; $\alpha$ -1,6-glucosidase spaltet nach ca. 2 h.

[132/73]