

## 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

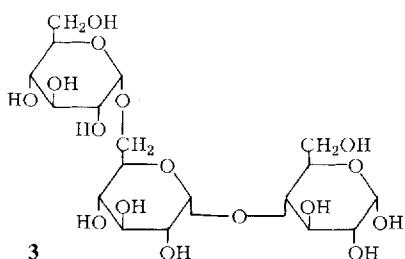
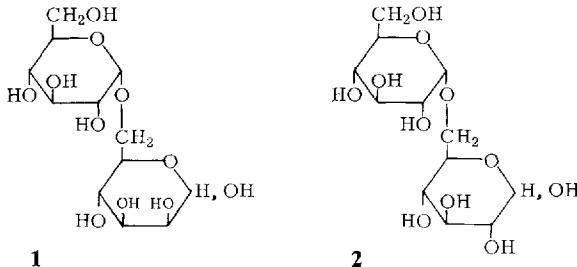
Eingegangen am 10. April 1973

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).*

3) 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: 20 proz. 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 × 1000 mm-Säule, 700 g Kieselgel 60 (Merck 7734, 70—230 mesh), 10-mL-Fraktionen.

*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  $Hg(NO_3)_2$  + 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  $P_4O_{10}$  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.

Hg[C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O<sub>4</sub>] (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 Carbohyd. 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 2 proz. Natriummethylat-Lösung 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 Süßmandellemulsin (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, 10 maligem 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 20 proz. 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 2 proz. 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 **1** (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.

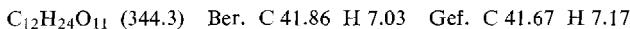


Nach Hydrolyse mit n HCl, 1 h bei 90°C, PC, d: Mannose und Glucose.  $\beta$ -Glucosidase aus Süßmandellemulsin (EC 3.2.1.21) hat keine Wirkung.  $\alpha$ -Glucosidase aus Hefe (EC 3.2.1.20) spaltet nach 5 Tagen, Dextrin- $\alpha$ -1,4; $\alpha$ -1,6-glucosidase aus *Aspergillus niger* (EC 3.2.1.?) nach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

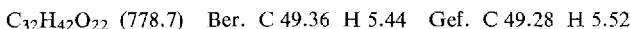
Durch zweimaliges Lösen (unter Rückfluß) in 15 ml absol. Methanol und Abkühlen auf 0°C erhält man 0.18 g durchscheinende Blättchen (kristallin?), die borfrei sind. DC nach I b: nur ein Fleck. Reduziert Fehlingsche Lösung erst nach saurer Hydrolyse: PC, d: nur Glucose.  $[\alpha]_D^{20} = +87.3^\circ$  (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>3)</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 (99 proz.) 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 3 mal mit N KBr-Lösung, 2 mal mit je 30 ml gesätt. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und 3 mal mit je 40 ml Wasser gewaschen, mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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, 3 mal mit je 20 ml 20 proz. KHSO<sub>4</sub>-Lösung, 3 mal mit gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und 2 mal mit je 30 ml Wasser gewaschen, mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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, C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>, Succinat), 7.92, 7.98 (24H, Acetylgruppen).

Die vereinigten Methanollösungen werden i. Vak. eingedampft. Der glasige Rückstand – 2.75 g, DC nach I a: ein Fleck – wird in 30 ml absol. Methanol + 1 ml 2 proz. Natrium-methylat-Lösung 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 ( $H^{\oplus}$ ) entionisiert (5 min Röhren), filtriert, i.Vak. eingedampft, 2mal mit je 10 ml absol. Äthanol aufgenommen, wiederum eingedampft und der Rückstand über  $P_4O_{10}$  getrocknet: 1.6 g. DC nach 1b: 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 2mal mit je 80 ml absol. Äthanol aufgenommen, erneut wird eingedampft und über  $P_4O_{10}$  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,  $c = ca. 0.8$ ) (Lit.<sup>2)</sup>  $[\alpha]_D^{20} = +161-151^\circ$ , Schmp. 220–221°C, Schmp. 220–222°C. DC nach 1b und 1c: 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]