

Note

Synthese von verzweigten Oligosacchariden durch perchlorsäurekatalysierte Dehydratisierung

ALMUTH KLEMER UND BURCKHARD KRASKA

Organisch-Chemisches Institut der Universität Münster, 44 Münster (Deutschland)

(Eingegangen am 5. Juni 1973; angenommen in revidierter Form am 22. August 1973)

In 1969 berichteten wir¹ über eine einfache Synthese der Octa-*O*-methyl- α,α -trehalose (Ausb. 65 %) durch Umsetzung von 2,3,4,6-Tetra-*O*-methyl-D-glucose mit katalytischen Mengen Perchlorsäure in wasserfreiem Toluol unter Zusatz von Drierite.

Micheel und Pick² setzten 2,3,4,6-Tetra-*O*-benzyl-D-glucose in einem Gemisch aus Benzol und wäßriger Perchlorsäure um. Dabei entstand Octa-*O*-benzyl- α,α -trehalose (bis zu 50 %), die sich durch katalytische Hydrierung in die α,α -Trehalose überführen ließ. In Fortführung dieser Arbeiten prüften wir, ob sich auch primäre und sekundäre Hydroxylgruppen der D-Glucose mit dem durch Perchlorsäure erzeugten C-1-Carboniumion einer zweiten Zuckerkomponente zu Disacchariden oder höheren Oligosacchariden umsetzen lassen.

Für erste Versuche setzten wir als Hydroxylkomponente Methyl- α -D-glucopyranosid mit 2,3,4,6-Tetra-*O*-methyl-D-glucopyranose im Verhältnis 1:4 in 1,4-Dioxan in Gegenwart von Perchlorsäure und Drierite um. Um die Bildung von Octa-*O*-methyl-trehalosen zu unterdrücken, legten wir Methyl- α -D-glucopyranosid mit dem Katalysator vor und ließen die 2,3,4,6-Tetra-*O*-methyl-D-glucopyranose im Verlauf von 4 h bei Raumtemperatur zutropfen. Zur qualitativen und quantitativen Erfassung des Reaktionsgemisches wählten wir die Gaschromatographie, z.T. in Verbindung mit der Massenspektrometrie. Dazu mußten zunächst alle freien Hydroxylgruppen der Komponenten methyliert werden. Kuhn-Methylierung mit Methyljodid-Silberoxyd in *N,N*-Dimethylformamid⁵ und anschließende Umsetzung mit Methyljodid-Natriumhydrid-*N,N*-Dimethylformamid⁶ führte zu einem vollständig verätherten Produkt. Die gaschromatographische Analyse ergab einen Anteil von ca. 60 % Di- und 20 % Trisacchariden, wie aus Retentionsdaten und Integration ermittelt werden konnte. Höhere Oligosaccharide waren nur unter 1 % nachzuweisen.

Die Zuordnung der Kondensationsprodukte erfolgte durch Kombination von Gaschromatographie und Massenspektrometrie. Hierzu wurde das permethylierte Reaktionsgemisch hydrolysiert, mit Natriumborhydrid reduziert, acetyliert und die entstandenen partiell methylierten Alditol-Acetate anhand ihrer Retentionsdaten und charakteristischen Fragmentierung bestimmt³ (Tab. I). Die analytischen Daten

TABELLE I

BESTIMMUNG DER METHYLÄTHER IM HYDROLYSAT DES PERMETHYLIERTEN OLIGOSACCHARID-GEMISCHES

<i>O</i> -Methyl-D-glucose	R_T -Wert ^a	Molverhältnisse ^b	<i>M.s.</i> -Primärfragmente
2,3,4,6-Tetra-	1,00	8,0	45, 89, 117, 161, 205
3,4,6-Tri-	1,67	0,4	45, 161, 189
2,3,4-Tri-	2,06	1,3	117, 161, 189, 233
2,6-Di-	3,30	0,1	45, 117
3,4-Di-	4,15	1,0	189
4-Mono-	6,46	0,1	189, 261
2(3)-Mono-	7,45	0,1	117

^aRetentionszeit der entsprechenden Alditol-Acetate relativ zu 1,5-Di-*O*-acetyl-2,3,4,6-tetra-*O*-methyl-D-glucitol (1,00) an ECNSS-M bei 170°. ^bMolverhältnisse der Hydrolysenprodukte des Oligosaccharid-Gemisches bezogen auf 1,2,5,6-Tetra-*O*-acetyl-3,4-di-*O*-methyl-D-glucitol.

zeigen mit der nahezu ausschließlichen Bildung von (1→2) und (1→6) Bindungen ein einfacheres Bild, als nach der bekannten Reaktivität der Hydroxylgruppen zu erwarten wäre⁴. Aus den Anteilen der einzelnen partiell methylierten Alditol-Acetate ergibt sich die Verteilung von Di- und Trisacchariden (Tab. II). Die Ergebnisse der Umsetzung zeigen deutlich, daß mit der Methode der Perchlorsäure-katalysierten Kondensation geeigneter Monosaccharid-Derivate auch ein Weg zur Synthese 2,6-verzweigter Trisaccharide gefunden ist. Zur Zeit versuchen wir, über entsprechende *O*-Benzyl-Derivate, als Endprodukte die freien Oligosaccharide zu erhalten.

TABELLE II

PRODUKTVERTEILUNG BEI DER OLIGOSACCHARID-SYNTHESE

<i>Oligosaccharide</i>	<i>Produktverteilung (%)</i>
<i>Disaccharide</i>	
D-Gp-(1→1)-D-Gp	ca. 28
D-Gp-(1→6)-D-Gp	ca. 24
D-Gp-(1→2)-D-Gp	ca. 8
<i>Trisaccharide</i>	
D-Gp-(1→2)-D-Gp	ca. 20
$ \begin{array}{c} 6 \\ \uparrow \\ 1 \\ \text{D-Gp} \end{array} $	
Andere Trisaccharide und höhere Oligosaccharide	<1

EXPERIMENTELLER TEIL

Allgemeine Methoden. — Massenspektren wurden an einem CH_7 -Gerät (Varian-MAT) mit 70 eV aufgenommen, für die Gaschromatographie stand ein F7-Fraktometer mit elektronischem Integrator D24 zur Verfügung. Säulen waren gepackte Stahlsäulen $0,4 \times 200$ cm.

Kondensation. — Methyl- α -D-glucopyranosid (0,2 g, ca. 1 mMol) in 1,4-Dioxan (50 ml) wird mit Drierite (1 g) 2 h unter Erwärmen gerührt. Dabei geht das Glucosid fast völlig in Lösung. Man fügt 70 proz. Perchlorsäure (0,01 ml) hinzu und rührt weitere 2 h. Innerhalb von 4 h läßt man eine Lösung von 2,3,4,6-Tetra-O-methyl-D-glucopyranose (0,9 g, ca. 4 mMol) in 1,4-Dioxan (15 ml) zutropfen und rührt 48 h bei Raumtemperatur weiter. Anschließend wird die Reaktionsmischung vom Calciumsulfat abfiltriert, mit Wasser verdünnt und mit festem Natriumhydrogencarbonat neutralisiert. Nach dem Einengen *in vacuo* nimmt man in absolutem Benzol auf, saugt ab und dampft zu einem farblosen Sirup ein (Ausb.: 925 mg Kondensationsprodukt).

Methylierung des Kondensationsansatzes. — Das Kondensationsprodukt (800 mg) wird in absolutem *N,N*-Dimethylformamid (10 ml) gelöst und mit Methyljodid (5 ml) versetzt. Nach anteilweiser Zugabe von Silberoxid (5 g) wird die Mischung 24 h bei Raumtemperatur gerührt und dann wie bekannt aufgearbeitet⁵. Die Methylierung wird anschließend unter gleichen Bedingungen wiederholt. Zur vollständigen Umsetzung wird in wenig absolutem *N,N*-Dimethylformamid gelöst, unter Feuchtigkeitsausschluß und Stickstoff-Begasung mit Natriumhydrid (2 g) versetzt⁶, und nach Zugabe von Methyljodid 5 h gerührt. Das überschüssige Natriumhydrid wird mit Methanol zerstört, die Lösung neutralisiert und mit Chloroform ausgeschüttelt. Das getrocknete Produkt zeigt keine Hydroxylabsorption im i.r.-Spektrum. Die gaschromatographische Untersuchung wurde unter folgenden Bedingungen vorgenommen: (a) Säule: 1% SE 30 auf Chromosorb; Ofentemperatur: 200°;

TABELLE III

RETENTIONS DATEN DER OLIGOSACCHARID-MISCHUNG

Oligosaccharide	Peak Nr.	R _T ^a
Di-	1	0,85
	2	1,00
	3	1,21
	4	1,30
	5	1,45
	6	1,56
	7	1,90
	8	2,10
Tri-	9	2,41
	10	2,73
	11	2,95

^aBezogen auf Octa-O-acetyl- α,β -trehalose (1,00).

Injektortemperatur: 230°; Trägergas: Stickstoff, 42 ml/min; Detektor: FID. (b) Säule: 1% NPGS auf Chromosorb; Ofentemperatur: 230°; Injektortemperatur: 260°; Trägergas: Stickstoff, 38 ml/min; Detektor: FID. Die Resultate sind in Tab. III zusammengestellt.

Hydrolyse des Oligosaccharid-Gemisches. — Das permethylierte Produkt (100 mg) wird in 0,5M Schwefelsäure (25 ml) 12 h auf 100° erhitzt. Man neutralisiert mit Bariumcarbonat, zentrifugiert und engt ein. Nach Aufnehmen in absolutem Methanol wird erneut zentrifugiert und zu einem Sirup eingedampft. Das Hydrolysat (50 mg) in 10 ml Wasser wird mit Natriumborhydrid (30 mg) versetzt und 3 h stehengelassen. Der Überschuß an Natriumborhydrid wird mit wenigen Tropfen Eisessig zerstört, die Lösung über einen Kationenaustauscher (Dowex 50-W X-8, 1 × 5 cm, H⁺) von Salzen befreit und mehrfach mit absolutem Methanol zur Entfernung der Borsäure *in vacuo* eingedampft. Den Rückstand löst man in Pyridin-Acetanhydrid 1:1 (5 ml) und erhitzt 20 min auf 100°. Durch Codestillation mit Toluol werden die Acetylierungsmittel entfernt, der braune Rückstand in wenig Aceton gelöst und zur gaschromatographisch-massenspektrometrischen Analyse unter folgenden Bedingungen verwendet: Gaschromatograph mit einer ECNSS-M Säule; Ofentemperatur: 170°; Injektortemperatur: 190°; Leitungstemperatur: 190°; Trägergas: Stickstoff 43 ml/min; Detektor: FID. Massenspektrometer; Einlaßtemperatur: 250°; Separatortemperatur: 260°; Schubstangentemperatur: 220°; Quellentemperatur: 270°; Kathode: 60 µA.

LITERATUR

- 1 A. KLEMER UND R. KUTZ, *Tetrahedron Lett.*, (1969) 4585.
- 2 F. MICHEEL UND E. D. PICK, *Tetrahedron Lett.*, (1969) 1695.
- 3 H. BJÖRNDAL, B. LINDBERG UND S. SVENSSON, *Acta Chem. Scand.*, 21 (1967) 1801.
- 4 A. N. DE BELDER, B. LINDBERG UND O. THEANDER, *Acta Chem. Scand.*, 16 (1962) 2005.
- 5 R. KUHN, H. TRISCHMANN UND I. LÖW, *Angew. Chem.*, 67 (1955) 32.
- 6 J. N. BEMILLER, C. L. COLLINS, E. R. DOYLE UND R. E. WING, *Carbohydr. Res.*, 16 (1971) 480.