

SYNTHETISCHE POLYSACCHARIDE MIT D-GLUCOSE- UND 3,6-ANHYDRO-D-GLUCOSERESTEN*

URSULA KRASKA UND FRITZ MICHEEL†

Organisch-Chemisches Institut der Universität, Orléans-Ring 23, D 44 Münster (Deutschland)

(Eingegangen am 1. Dezember 1975; angenommen am 17. Februar 1976)

ABSTRACT

D-Glucopyranose in anhydrous hydrogen fluoride at 20° forms oligosaccharides and low-molecular-weight polysaccharides composed of D-glucose and 3,6-anhydro-D-glucose residues in ratios of 10:1 to 5:1 depending on reaction conditions.

ZUSAMMENFASSUNG

In einer Lösung von D-Glucopyranose in wasserfreiem flüssigem Fluorwasserstoff bei 20° bilden sich Oligo- und niedermolekulare Polysaccharide. Diese enthalten als Bausteine Reste der D-Glucose und der 3,6-Anhydro-D-glucose im Verhältnis 10:1 bis 5:1 je nach den Reaktionsbedingungen.

EINLEITUNG

Aus D-Glucose und einkernigen Aromaten (Benzol¹, Toluol², Xylol³, Anisol⁴ u.a.) entstehen in wasserfreiem Fluorwasserstoff neben chiralen Kohlenwasserstoffen eine Reihe sauerstoffärmerer Zwischenprodukte, deren C-Atome sowohl aus der D-Glucose als auch aus dem Aromaten stammen. Deshalb war es wichtig, das Verhalten der D-Glucose für sich allein in wasserfreiem Fluorwasserstoff unter analogen Bedingungen zu untersuchen.

Helferich und Böttger⁵ berichteten, daß aus D-Glucose in wasserfreiem Fluorwasserstoff ein „Roh-Poly-Glucosan“ entstehe, das in Abhängigkeit von der Reaktionszeit ein Molekulargewicht von ~ 1200 (nach 15 min) bis 2300 (nach 15 min bis 5 h) aufweist und in seinen Eigenschaften weitgehend einem aus Cellulose unter analogen Bedingungen erhaltenen Reaktionsprodukt entspricht. Die Autoren nahmen daher an, daß es sich in beiden Fällen um „Polymerisations- bzw. Reversionsprodukte der D-Glucose“ handelt. Zur Überprüfung dieser Hypothese und zum Vergleich mit

*Dem Gedenken von Herrn Professor E. J. Bourne gewidmet.

†An diesen Korrespondenz richten.

den oben aufgeführten Reaktionen haben wir daher die Produkte aus D-Glucose in wasserfreiem Fluorwasserstoff sowohl unter den angegebenen⁵ (Teil 1) als auch den für die Umsetzung mit Aromaten notwendigen Bedingungen¹⁻⁴ (Teil 2) untersucht.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Bei den ersten Versuchsreihen wurden jeweils Proben von D-Glucose mit wasserfreiem Fluorwasserstoff zur Umsetzung gebracht. Nach unterschiedlichen Reaktionszeiten wurde der Fluorwasserstoff abgeblasen, der erhaltene Sirup neutralisiert und das Filtrat gefriergetrocknet. Nach einer Reaktionszeit von 10 min wurde ein weißes Produkt erhalten, das bereits in der Kälte Fehling'sche Lösung reduzierte und nach mehrtagigem Stehen stark nach Fluorwasserstoff roch. Durch Gaschromatographie wurde bestimmt, dass die starke Reduktionswirkung auf D-Glucose beruhte. Bei einer Erhöhung der Reaktionszeit auf 24 h fiel das Reaktionsprodukt als brauner Sirup an, der Fehling'sche Lösung nur noch schwach reduzierte. Die Möglichkeit, daß die Braunfärbung auf den im Fluorwasserstoff in geringem Maße enthaltenen Eisenionen beruhen könnte, ließ sich ausschließen. Zur Reinigung des Produktes von eventuell vorhandenen niedermolekularen Abbauprodukten (kondensierte Furfurol-derivate) wurde eine Trennung an Sephadex G 75 (Fraktionsbereich MG: 1000-50000) vorgenommen. Es ließen sich jedoch keine gefärbten niedermolekularen Substanzen abtrennen; die kontinuierliche Elution des braunen Produktes vom Ausschlußvolumen an über einen sehr weiten Bereich zeigte eine große Heterogenität der untersuchten Substanz bezüglich des Molekulargewichtes an. Es wurde deshalb nach Eichen eines Molekularsiebs (Sephadex G 75) mit Dextranblau und verschiedenen Dextranen anhand einer empirischen Formel⁶ für das vorliegende Produkt ein mittleres Molekulargewicht von $\bar{M} \sim 1800 \pm 15\%$ ermittelt. Zur Isolierung der Bausteine wurden die Reaktionsprodukte hydrolysiert und im KH-Analysator (Technicon) untersucht. Die Hydrolysate enthielten neben Glucose in geringen Mengen ($\sim 5\%$) eine weitere Substanz mit kleinerer Retentionszeit. Die Nebenkomponente ließ sich von D-Mannose, die eine ähnliche Retentionszeit zeigt, im Analysator eindeutig unterscheiden und wurde als 3,6-Anhydro-D-glucose erkannt (siehe unten). Aufgrund der ungünstigen Mengenverhältnisse schien eine Isolierung dieser Komponente aus dem Rohprodukt wenig zweckmäßig.

Die zweiten Versuchsreihen, die die Umsetzungen von D-Glucose für sich allein unter den Bedingungen der Kondensationsreaktionen von D-Glucose mit Aromaten zum Ziele hatten, unterschieden sich in der Art der Aufarbeitung von den oben beschriebenen wie folgt: Proben von D-Glucose wurden bei unterschiedlicher Reaktionsdauer (siehe Versuchsteil) mit wasserfreiem Fluorwasserstoff umgesetzt und nach Abblasen des Fluorwasserstoffs mit Kohlendioxid das Reaktionsprodukt in Äther suspendiert, filtriert, mit Äther neutralgewaschen und getrocknet. Zur Anreicherung der höhernmolekularen Polymeren wurde das erhaltene Produkt in Wasser gelöst und $\sim 4-5$ Tage lang gegen destilliertes Wasser dialysiert. Für weitere Untersuchungen wurde das Lyophilisat des Dialyseninnenraumes eingesetzt. Es wurde

hydrolysiert und aufgearbeitet (siehe Versuchsteil); von aliquoten Teilen wurden Kohlenhydrat-Spektren aufgenommen. Die von den Hydrolysaten aufgenommenen Kohlenhydrat-Spektren zeigten, wie bei den im ersten Teil des Berichtes beschriebenen Analysen, als Hauptkomponente D-Glucose und daneben 3,6-Anhydro-D-glucose im Verhältnis von 5:1 bis 10:1. Tabelle I zeigt, daß eine Verlängerung der Reaktionszeit ein Produkt liefert, das nur noch spurenweise in Wasser löslich ist. Zugabe von Kaliumfluorid brachte keine Vorteile, so daß eine Reaktionszeit von 3 Tagen ohne weitere Zugabe von Salzen sich als die beste Methode erwies.

TABELLE I

POLYMERISATIONSVERSUCHE MIT D-GLUCOSE^a IN
WASSERFREIEM FLUORWASSERSTOFF BEI RAUMTEMPERATUR

Reaktionszeit (Tage)	Ätherunlös. Produkt (g)	Dialysenrückstand (g)	Hydrolysat (mg)
3	4.5	1.56	270 ^b ; 286 ^b ; 236 ^b ; 264 ^b
3	4.6	1.22	264 ^b
3	3.0	0.30	
3	3.1	1.2	
3	4.6	1.23	1800
3	5.0	1.3	750
6	c		
2 ^d	5.8 ^e	0.30	

^a6.0 g D-Glucose in 100 ml Fluorwasserstoff. ^bAus je 400 mg Dialysenrückstand. ^cProdukt nur spurenweise in Wasser löslich. ^dUnter Zusatz von 3.5 g KF. ^eNach Abzug des KF.

Die präparative Abtrennung von 3,6-Anhydro-D-glucose über den Kohlenhydrat-Analysator war wegen der geringen Kapazität der Austauschersäulen (maximale Belastbarkeit 300–500 γ pro Trennung) nicht möglich. Nach Vergärung mit Hefe zeigte das Hydrolysat im Kohlenhydrat-Spektrum jetzt als Hauptkomponente nur 3,6-Anhydro-D-glucose neben Spuren von D-Glucose. Versuche, das Produkt direkt oder nach Acetylierung (mit Acetanhydrid in Pyridin) zu kristallisieren, schlugen jedoch fehl. Dünnschichtchromatographisch ließen sich D-Glucose und 3,6-Anhydro-D-glucose gut unterscheiden, und schließlich konnte 3,6-Anhydro-D-glucose präparativ an einer Kieselgelsäule abgetrennt und danach kristallin erhalten werden.

Pro Säulentrennung von \sim 600 mg Hydrolysat wurden \sim je 20 mg 3,6-Anhydro-D-glucose erhalten. Die Substanz stimmte im KH-Analysator sowie nach Schmelzpunkt, Drehwert, Dünnschichtchromatogramm und Massenspektrum mit authentischer, nach Angaben der Literatur⁷ synthetisierter 3,6-Anhydro-D-glucose überein. Die aus D-Glucose in flüssigem Fluorwasserstoff erhaltenen Polymerisate sind also keine Poly-(D-glucose), sondern enthalten auf je 5–10 D-Glucosereste einen 3,6-Anhydro-D-glucopyranoserest. Aus dieser Tatsache könnte sich für die Umsetzung von D-Glucose und Aromaten in flüssigem Fluorwasserstoff ergeben, daß der z.B. aus D-Glucose und Anisol zu 13% gebildete 3,6-Anhydro-1-desoxy-1,1-di-(*p*-anisyl)-

D-glucitol⁴ nicht über das 1-Desoxy-1,1-di-(*p*-anisyl)-D-glucitol gebildet wird, sondern daß die Anhydrisierung der D-Glucose zu 3,6-Anhydro-D-glucose der Primärschritt ist, dem sich die Kondensation zum Glucitolderivat anschließt. Die Frage läßt sich jedoch auf Grund des vorliegenden Versuchsmaterials noch nicht eindeutig beantworten. 1-Desoxy-1,1-di-(*p*-anisyl)-D-glucitol bildet sich bereits nach 300 min in einer Ausbeute von über 60% der Theorie.

EXPERIMENTELLER TEIL

Polymerisation von D-Glucose in flüssigem Fluorwasserstoff. — Wasserfreie D-Glucose (6,0 g) wurde in einer 250-ml Polyäthylen-Flasche bei Raumtemperatur mit wasserfreiem Fluorwasserstoff (~ 100 ml) versetzt. Zur Erzielung maximaler Ausbeuten an wasserlöslichem Polymeren erwies sich eine Reaktionszeit von 3 Tagen als günstig. Nach Entfernen des Fluorwasserstoffs durch Abblasen mit Kohlendioxid bei 30° wurde der dunkelbraune Rückstand mit Äther (200 ml) digeriert, die Lösung filtriert, der Rückstand bis zur Neutralität mit Äther gewaschen und getrocknet; Ausbeute (Mittelwert): 4,30 g (72%, bezogen auf eingesetzte D-Glucose). Das so erhaltene Produkt wurde in Wasser (100 ml) gelöst und zur Entfernung von niedermolekularen Anteilen 4–5 Tage durch Cellophan gegen destilliertes Wasser dialysiert. Anschließende Gefrieretrocknung gab das Polymere in einer Ausbeute (Mittelwert) von 1,30 g (22% bezogen auf eingesetzte D-Glucose).

Hydrolyse des Polymeren. — Je 400 mg der so erhaltenen Substanz wurden mit m Schwefelsäure (30 ml) im zugeschmolzenen Rohr 5–7 h bei 100° hydrolysiert. Das auf Raumtemperatur abgekühlte Hydrolysat (es enthielt stets einen dunkelbraun gefärbten Niederschlag) wurde mit Bariumcarbonat neutralisiert, zentrifugiert oder filtriert und die Lösung *in vacuo* bei 40° zur Trockne gebracht. Nach Aufnahme des Rückstandes in wenig Wasser wurde erneut filtriert und die Lösung gefriergetrocknet; Ausbeute (Mittelwert): 260 mg (14% bezogen auf eingesetzte D-Glucose).

Zur Untersuchung im automatischen Kohlenhydrat-Analysator (Technicon) wurden jeweils 3 mg des gefriergetrockneten Hydrolysats in Startpuffer (1 ml) gelöst und pro Analyse 0,1 ml verwendet. Es traten D-Glucose (Retentionszeit 5 h 35 min) und 3,6-Anhydro-D-glucose (Retentionszeit 3 h 30 min) im Mengenverhältnis 5:1 auf.

Isolierung der 3,6-Anhydro-D-glucopyranose. — Das Hydrolysat (50 mg) wurde in Wasser (5 ml) gelöst, mit Ammoniumphosphat (20 mg) und Bäckerhefe (700 mg) versetzt und 4 Tage bei 28° inkubiert. Nach Entfernen der Hefe durch Zentrifugieren und Abtrennen der Salze über einen Mischbettaustauscher (Anionenaustauscher: Amberlite IR-45, OH[–]; Kationenaustauscher: Amberlite IR-120, H⁺) wurde die Lösung mit Kohle geklärt und anschließend *in vacuo* bei 40° zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde für die Kohlenhydrat-Analyse in Startpuffer (1 ml) gelöst und je 0,1 ml zur Bestimmung eingesetzt. Neben 3,6-Anhydro-D-glucose trat D-Glucose nur noch in Spuren auf.

Reindarstellung der 3,6-Anhydro-D-glucopyranose durch chromatographische Trennungen. — (a) *Dünnschichtchromatographie.* Eine Auftrennung des Hydrolysates

in eine am Startpunkt verbleibende unbewegliche Komponente und die beiden anderen Komponenten (D-Glucose und 1,6-Anhydro-D-glucose) gelang dünnenschichtchromatographisch mit Laufmittel A (Äthylacetat-Methanol, 4:1, v/v). Als Vergleichssubstanzen wurden aufgetragen: D-Glucose, 1,6-Anhydro-D-glucopyranose, 1,4-Anhydro-D-glucose und D-Arabinose.

(b) *Säulenchromatographie*. Nach Vergären der D-Glucose durch Hefe wurde das Hydrolysat (750 mg) in wassergesättigtem Laufmittel A (40 ml) 1 h unter Rückfluß erhitzt. Vom Ungelösten (150–200 mg) wurde abfiltriert, das Filtrat auf eine Kieselgelsäule (2,5 cm × 120 cm) gegeben und mit Laufmittel A eluiert. Man fing Fraktionen von je 10 ml auf. Die 3,6-Anhydro-D-glucose-enthaltenden Fraktionen wurden zusammengefaßt, mit Kohle geklärt und *in vacuo* bei 40° zu einem farblosen Sirup eingeengt, der beim Abkühlen kristallisierte. Umkristallisiert wurde aus Äthylacetat-Methanol (4:1 oder 1:1 unter Zusatz von Petroläther) (Ausbeute 25–30 mg), farblose Nadeln, Schmp. 122–123°, $[\alpha]_D^{20} + 52,2^\circ$ (*c* 0,25, Wasser); Lit.⁷: Schmp. 119°, $[\alpha]_D^{20} + 55,39$.

(c) *Kohlenhydrat-Analyse*. Nach Zumischen authentischer 3,6-Anhydro-D-glucose zu isolierter 3,6-Anhydro-D-glucose wurde nur ein Peak erhalten (Retentionszeit 3 h 20 min). In der Dünnschichtchromatographie zeigen authentische 3,6-Anhydro-D-glucose und isolierte 3,6-Anhydro-D-glucose den gleichen R_F -Wert. M.s.: *m/e* 163 ($M^+ + 1$), 162 (M^+), 145, 133, 126, 119, 115, 102 (Basispeak), 97, 91, 85 (Die Peaks sind identisch mit denen von authentischer 3,6-Anhydro-D-glucose).

Anal. Ber. für $C_6H_{10}O_5$ (162,1): C, 44,42; H, 6,22. Gef.: C, 44,13; H, 6,11.

DANK

Wir danken dem Landesamt für Forschung des Landes Nordrhein-Westfalen und dem Fonds der Chemie für die finanzielle Unterstützung. Für ständige Versorgung mit wasserfreiem Fluorwasserstoff sind wir der Bayer A.G., Leverkusen, zu Dank verpflichtet.

LITERATUR

- 1 F. MICHEEL UND M. PESENACKER, Diplomarbeit M. PESENACKER, Universität Münster (Westfalen), 1971.
- 2 F. MICHEEL UND H. SOBITZKAT, *Carbohydr. Res.*, 30 (1973) 71–81.
- 3 F. MICHEEL, M. PESENACKER, H. SOBITZKAT, E.-O. KILLING UND G. LOUIS, *Carbohydr. Res.*, 26 (1973) 278–281.
- 4 F. MICHEEL UND J. STANĚK, JR., *Justus Liebigs Ann. Chem.*, 759 (1972) 37–62.
- 5 B. HELFERICH UND S. BÖTTGER, *Justus Liebigs Ann. Chem.*, 476 (1929) 150–170.
- 6 H. DETERMANN, *Gelchromatographie*, Springer Verlag, Berlin, 1967, S. 118.
- 7 H. OHLE, L. VARGHA UND H. ERLBACH, *Ber.*, 61 (1928) 1211–1216; F. FISCHER UND K. ZACH, *ibid.*, 45 (1912) 456–465.