

FRITZ MICHEEL und WILHELM GRESSER

Chemische Synthese von Oligo- und Polysacchariden, I

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

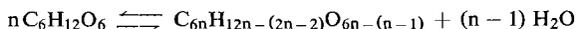
(Eingegangen am 24. März 1958)

Freie Zucker lassen sich, gelöst in Dimethylsulfoxyd, durch H-Ionen-Katalyse in ein Gemisch von Oligo- und Polysacchariden überführen: beschrieben am Beispiel der D-Glucose. Die Polysaccharide werden von den Oligosacchariden durch Dialyse (Cellophan) befreit und in der Ultrazentrifuge untersucht.

Durch totale Hydrolyse wird D-Glucose zurückgewonnen.

Es ist seit langem bekannt, daß bei der Einwirkung von wäßriger Säure auf Monosaccharide oder bei der Hydrolyse von Polysacchariden in kleinen Mengen die angewandten bzw. gebildeten Monosaccharide sich zu niederen Oligosacchariden kondensieren können¹⁾. Soweit bisher untersucht, treten jedoch unter diesen Bedingungen nur zwei oder wenige^{1,2)} Monosaccharidreste zusammen. Man erhält so keine Polysaccharide. Um das Gleichgewicht in Richtung der Polykondensation zu verschieben, hat man die Konzentration des Wassers bei Verwendung von wäßriger Säure als Kondensationsmittel auf verschiedenen Wegen herabgesetzt³⁾ oder auch ganz wasserfrei mit Thionylchlorid gearbeitet⁴⁾. Wir beschreiben im folgenden eine unter äußerst milden Bedingungen verlaufende Synthese von höheren Oligosacchariden und von Polysacchariden, und zwar zunächst am Beispiel der D-Glucose.

Das Gleichgewicht, das der Reaktion



zugrunde liegt, erreicht bei Gegenwart von Wasser als Lösungsmittel nur kleine Werte von n . Unser Verfahren geht von der Beobachtung aus, daß Monosaccharide, Di- und Oligosaccharide in Dimethylsulfoxyd⁵⁾ gut löslich sind. Durch H-Ionen-Katalyse kann man nun schon bei Zimmertemperatur eine Glykosidbildung zwischen den Hexosemolekülen erreichen, die zu einem polymer-homologen Gemisch von niederen und höheren Polysacchariden führt. Dabei werden hohe Werte von n erreicht, weil das Gleichgewicht weitgehend im Sinne der Polymerisation liegt. Die Molekulargewichte der höchsten Polymeren sind beträchtlich; letztere dialysieren nicht mehr durch Cellophanmembranen. Ihr Verhalten in der Ultrazentrifuge beweist das Vorliegen echter Polysaccharide (Abbild. 1). Die chromatographische Trennung der dia-

¹⁾ Z. B. E. FISCHER, Ber. dtsh. chem. Ges. **23**, 3687 [1890]; A. THOMPSON, KOMIKO ANNO, M. L. WOLFROM und M. INATOME, J. Amer. chem. Soc. **76**, 1309 [1954]; D. K. BALL und J. K. N. JONES, J. chem. Soc. [London] **1958**, 33; J. K. N. JONES und W. H. NICHOLSEN, ebenda **1958**, 27.

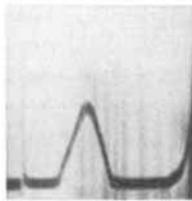
²⁾ Untersuchungen der techn. Endlösungen der D-Glucosegewinnung („hydrol“), vgl. J. C. SOWDEN und S. SPRIGGS, J. Amer. chem. Soc. **78**, 2503 [1956].

³⁾ E. PACSU und P. T. MORA, J. Amer. chem. Soc. **72**, 1045 [1950]; G. R. RICKETTS, J. chem. Soc. [London] **1954**, 4031; G. R. RICKETTS und C. F. ROWE, ebenda **1955**, 3809.

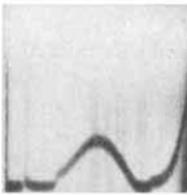
⁴⁾ P. W. KENT, Biochem. J. **55**, 361 [1953].

⁵⁾ Wir danken der KOHLEWERTSTOFF A. G. (Wesseling b. Köln) für die Überlassung dieses Lösungsmittels.

lysierenden Oligosaccharide zeigt Abbild. 2, die der Polysaccharide Abbild. 3 vor und nach der Reinigung durch Dialyse.



a



b

Abbild. 1. Ultrazentrifugendiagramme eines Polysaccharids (Ansatz B, Subst. III), Ultrazentrifuge „Phywe“, 49000 U/Min., Unterschichtungszelle, 1.5 % Substanz, 0.2 *n* NaCl.
a) 15 Min., Kantenwinkel 20°
b) 75 Min., Kantenwinkel 20°
 $s_{20} = 0.90$ S



Abbild. 2. Chromatogramm eines Oligosaccharid-Gemisches, absteigend, Butanol/Pyridin/Wasser (3:1:1).
1 Gentiobiase,
2 Glucose und Maltose,
3 Oligosaccharide (Dialyse-Außenraum),
4 Isomaltose,
5 Cellobiose



Abbild. 3. Chromatogramm eines Polysaccharids, absteigend, Butanol/Pyridin/Wasser (3:1:1).
1 Gentiobiase,
2 Polysaccharid (Dialyse-Innenraum),
3 Polysaccharid (methanolunlöslich, nicht dialysiert),
4 Glucose und Maltose,
5 Cellobiose

Bei den Chromatogrammen ist zu berücksichtigen, daß mit wachsendem Mol.-Gew. die Intensität der Färbung mit Anilinphthalat abnimmt und nur noch im UV-Licht wahrnehmbar ist. Vergleiche mit Gentiobiase, Maltose und Cellobiose im Chromatogramm zeigen, daß ein Saccharid vom R_F -Werte der Gentiobiase (6-[β -D-Glucosido(1.5)]-D-glucose) und Isomaltose in erheblichen Mengen gebildet wird. Die hochmolekularen Polysaccharide wandern praktisch nicht. Da das Polysaccharidgemisch spezif. Drehwerte von $[\alpha]_D^{20}$: +70° bis +90° (in Wasser) zeigt, das Gemisch der dialysierbaren Oligosaccharide $[\alpha]_D^{20}$: +60° bis +70°, muß mit einem Überwiegen von α -Bindungen gerechnet werden. Die spezif. Drehwerte (Gleichgewicht) der Gentiobiase (6-[β -D-Glucosido(1.5)]-D-glucose(1.5)) und der Isomaltose (6-[α -D-Glucosido(1.5)]-D-glucose(1.5)) liegen bei +9.6° bzw. +120°. Die bisher erhaltenen höchstmolekularen Polysaccharide sind in Methanol unlöslich und in Wasser löslich. Die höheren Oligo- und die Polysaccharide reduzieren Fehlingsche Lösung nicht. Die

in Arbeit befindliche weitere Auftrennung des dialysierenden und des hochmolekularen, nichtdialysierenden Anteils ist langwierig und noch nicht abgeschlossen.

Erwähnt sei, daß sich durch Zugabe wasserentziehender Mittel der Anteil an Polysacchariden entsprechend der Verschiebung des Gleichgewichtes sehr wesentlich steigern läßt⁶⁾. Darüber wird alsbald berichtet werden. Bei Verwendung eines Disaccharids, z. B. Maltose als Ausgangsstoff, werden andersartige Oligo- und Polysaccharide gewonnen⁶⁾.

Die Synthese weiterer Polysaccharide, die Auftrennung der Gemische der Polymerhomologen und die Ermittlung ihrer Struktur befinden sich in Bearbeitung.

Für die Untersuchungen fanden Mittel des WIRTSCHAFTSMINISTERIUMS DES LANDES NORDRHEIN-WESTFALEN und des FONDS DER CHEMIE Verwendung. Wir danken auch an dieser Stelle dafür.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Poly-Kondensation von D-Glucose

In die Lösung von 10 g wasserfreier *D-Glucose* in 75 ccm trockenem Dimethylsulfoxyd⁵⁾ werden unter Kühlung und häufigem Umschütteln 6.5 g trockner Chlorwasserstoff eingeleitet. Die Lösung bleibt je nach dem gewünschten Polymerisationsgrade 2 bis 8 Tage bei Zimmertemperatur stehen. Mit längerer Reaktionsdauer steigt die Menge an Polysaccharid.

Die *Aufarbeitung* geschieht am besten folgendermaßen: Die Reaktionslösung wird i. Vak. der Ölpumpe (< 0.3 Torr) bei 35–40° auf ca. 30 ccm eingengt. Dabei wird das gebildete Wasser aus der Lösung entfernt und das Gleichgewicht weiterhin zugunsten der Polysaccharidbildung verschoben. Das Rohprodukt wird sodann mit 300 ccm Dioxan ausgefällt. Aus dem erhaltenen Sirup gewinnt man beim Behandeln mit Methanol ein amorphes Pulver, das abgesaugt und mehrfach mit Methanol bis zur neutralen Reaktion gewaschen wird (Subst. I). Es wird in Wasser gelöst und dialysiert: Außenraum (Subst. II), Innenraum (Subst. III). Die Präparate reduzieren Fehlingsche Lösung nicht.

Die niederen Oligosaccharide werden aus den Mutterlaugen erhalten.

Beispiele für so hergestellte Polysaccharide:

Ansatz	Glucose	Reaktionsdauer	Ausbeute			[α] _D ²⁰		
			I	II	III	I	II	III
A	10 g	2 1/2 Tage	1 g	0.8 g	0.1 g	+88°	+77°	+77°
B	10 g	5 Tage	2 g	1.4 g	0.4 g	+78°	+75°	+76°

Analysen:

(C₆H₁₀O₅)_n (162.1)_n Ber. C 44.44 H 6.22 A III Gef. C 44.40 H 6.39

B I Gef. C 43.90 H 6.48

Die Substanzen sind schwefelfrei.

Die in Abbild. 1 wiedergegebenen Ultrazentrifugendiagramme wurden mit Substanz B III gewonnen⁷⁾.

Hydrolysen: Alle Produkte wurden in 1-proz. Lösung mit *n*HCl auf dem Wasserbade hydrolysiert. Bei der chromatographischen Analyse (Whatman-Papier Nr. 1) mit Butanol/Pyridin/Wasser (3:1:1) wurde ausschließlich *D-Glucose* erhalten.

⁶⁾ Diplomarb. ROLF PUCHTA, Univ. Münster (Westf.) 1958.

⁷⁾ Ausgeführt von Dipl.-Chemiker HANS RUDOLPH.