

ALMUTH KLEMER und FRIEDHELM GUNDLACH

**Synthese eines verzweigten Tetrasaccharides:
6.6'-Bis-[β -D-glucosido (1.5)]-maltose**

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

(Eingegangen am 7. Januar 1963)

Ausgehend von β -Benzyl-maltosid wird 6.6'-Bis-[β -D-glucosido(1.5)]-maltose auf zwei verschiedenen Wegen synthetisiert. Die Struktur des Tetrasaccharides ergibt sich aus der Methylierung, anschließender Hydrolyse und Identifizierung der Spaltprodukte.

Die Frage, warum verzweigte Oligosaccharide so selten unter den Bedingungen der partiellen sauren Hydrolyse verzweigter Polysaccharide auftreten, ist noch nicht geklärt. Die Vermutung, daß die Hydrolysegeschwindigkeit der an *einem Zuckerrest* angreifenden glykosidischen Bindungen anomal groß sei, hat sich nicht bestätigen lassen^{1,2)}.

In Fortführung dieser Arbeiten beschreiben wir die Synthese des dem Trisaccharid 4 α .6 β -Bis-D-glucosido-D-glucose nahestehenden verzweigten Tetrasaccharides: 6.6'-Bis-[β -D-glucosido(1.5)]-maltose, dessen partielle Hydrolyse wir später untersuchen wollen.

Ausgangsprodukt war das β -Benzyl-maltosid, welches sich glatt zum 6.6'-Ditryl-äther umsetzen ließ. Ohne Isolierung wurde dieser in der üblichen Weise in 6.6'-Ditryl-2.3.2'.3'.4'-pentaacetyl- β -benzyl-maltosid (I) übergeführt. Mit Eisessig/Bromwasserstoff wurden die Tritylreste entfernt, und wir erhielten 2.3.2'.3'.4'-Pentaacetyl- β -benzyl-maltosid (II).

II hat in den gewünschten Positionen freie Hydroxylgruppen, die nach KOENIGS und KNORR mit einem Überschuß an α -Acetobrom-D-glucose kondensiert wurden (vgl. I. c.³⁾). Es resultierte das β -Benzyl-tetrasaccharid-acetat neben den zu erwartenden Nebenprodukten. 2.3.4.6-Tetraacetyl-D-glucose ließ sich mit wäßrigem Äthanol weitgehend entfernen. Ohne weitere Reinigung wurde nun zur Entfernung des Benzylrestes hydriert und die Acetylgruppen nach ZEMPLÉN verseift. Man erhielt das freie Tetrasaccharid (III) neben wenig D-Glucose und Maltose, sowie 2 Trisacchariden, die durch die Reaktion von II mit nur 1 Mol. α -Acetobrom-D-glucose entstanden waren⁴⁾. Die chromatographische Trennung an Cellulosepulver lieferte III in chromatographisch und analysenreiner Form. Zur Charakterisierung überführten wir III in sein

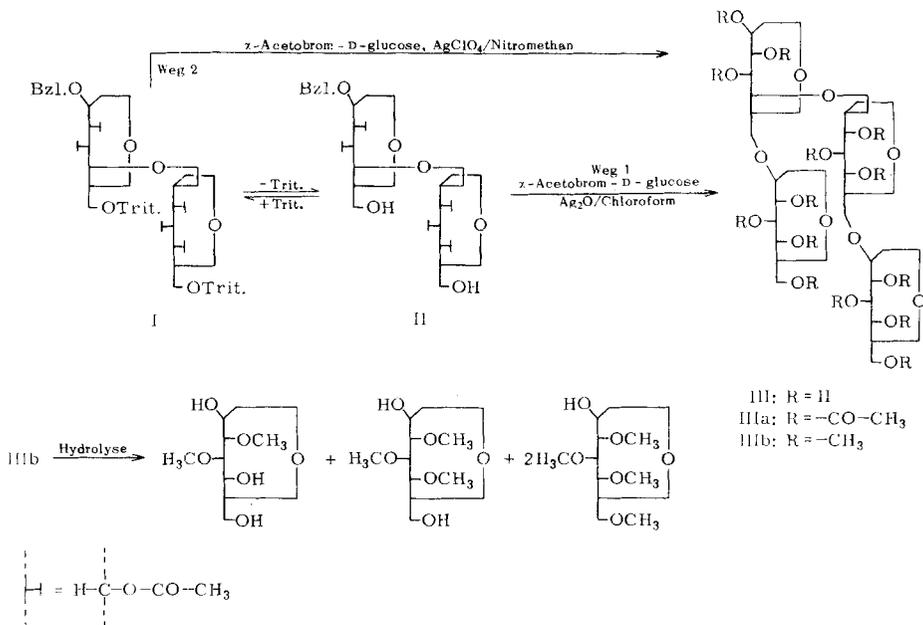
1) A. KLEMER, Chem. Ber. **92**, 218 [1959].

2) A. KLEMER, Tetrahedron Letters [London] Nr. **22**, 5 [1960].

3) A. KLEMER, Chem. Ber. **89**, 2583 [1956]; W. T. HASKINS, R. M. HAN und C. S. HUDSON, J. Amer. chem. Soc. **63**, 1725 [1941].

4) Eines der Trisaccharide gleicht in seinem R_F -Wert der 4 α .6 β -Bis-D-glucosido-D-glucose (I. c.¹⁾).

Acetat (IIIa), dessen Molekulargewicht (nach BECKMANN) und analytische Zusammensetzung einem Tetrasaccharid entsprechen.



Da eine Acetylwanderung in II unter den Bedingungen der Kondensation nicht völlig ausgeschlossen ist und zudem III und IIIa nicht kristallin erhalten werden konnten, wurde die Einheitlichkeit und die Struktur von III durch Methylierung, anschließende Hydrolyse und sorgfältige Identifizierung der entstandenen Spaltprodukte bewiesen. Wir erhielten den Methyläther IIIb, in dem durch das IR-Spektrum keine Hydroxylbande nachgewiesen werden konnte.

Seine Hydrolyse führte in Übereinstimmung mit der Struktur nur zur 2.3.4.6-Tetramethyl-D-glucose, 2.3.4-Trimethyl-D-glucose und 2.3-Dimethyl-D-glucose, die an Cellulosepulver getrennt wurden. Die 2.3.4.6-Tetramethyl-D-glucose wurde durch ihr Anilid charakterisiert. Die 2.3.4-Trimethyl-D-glucose ließ sich zu ihrem sehr gut kristallisierenden *N*-Benzyl-*N*-D-glucosid umsetzen (vgl. I. c.⁵⁾). Sein Schmelz- und Misch-Schmelzpunkt stimmt mit dem *N*-Glucosid einer auf anderem Wege dargestellten 2.3.4-Trimethyl-D-glucose überein.

Die 2.3-Dimethyl-D-glucose wurde in Substanz durch Schmelz- und Misch-Schmelzpunkt mit authentischem Material und durch die optische Drehung identifiziert.

Ausgehend von I haben wir ferner die von BREDERECK⁶⁾ gefundene Modifizierung zur Synthese C-6-verknüpfter Disaccharide angewendet. Die direkte Kondensation

⁵⁾ A. KLEMER und K. HOMBERG, Chem. Ber. 94, 2747 [1961]; F. MICHEEL und G. HAGEMANN, ebenda 92, 2836 [1959].

⁶⁾ H. BREDERECK, A. WAGNER, G. FABER, H. OTT und J. RAUTHER, Chem. Ber. 92, 1135 [1959]; vgl. E. HUSEMANN und M. REINHARDT, Angew. Chem. 71, 429 [1959].

von I mit α -Acetobrom-D-glucose unter Mitwirkung von Silberperchlorat ließ sich bequem durchführen. Die weitere Aufarbeitung wurde, wie oben beschrieben, vorgenommen und III in reiner Form erhalten.

Wir danken dem LANDESAMT FÜR FORSCHUNG DES LANDES NORDRHEIN-WESTFALEN sowie dem Verband der CHEMISCHEN INDUSTRIE, FONDS DER CHEMIE, für die Unterstützung dieser Arbeit.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

6.6'-Ditrityl-2.3.2'.3'.4'-pentaacetyl- β -benzyl-maltosid (I): 10 g i. Vak. getrocknetes β -Benzyl-maltosid werden in 60 ccm absol. Pyridin gelöst, mit 15.5 g (20-proz. Überschuß) *Tritylchlorid* versetzt und unter Feuchtigkeitsausschluß 8 Stdn. bei 90–100° gehalten. Man läßt auf 0° abkühlen, gibt ein gekühltes Gemisch aus 50 ccm *Acetanhydrid* und 40 ccm absol. Pyridin hinzu und läßt 2 Stdn. bei 0° und 35 Stdn. bei Raumtemperatur stehen.

Aufarbeitung: Die gelbrote Lösung wird unter kräftigem Rühren in 2 l Eiswasser getropft. Nach 3stdg. Rühren wird das Rohprodukt scharf abgesaugt, in 30 Tln. Pyridin gelöst und durch erneutes Fällen mit der 15fachen Menge Eiswasser gereinigt. Rohausb. 23.9 g (92% d. Th.). Man löst das Produkt in der 5fachen Menge heißem Äthanol; beim Abkühlen auf 0° erhält man I in amorpher Form, das zur Weiterverarbeitung genügend rein ist. Nochmaliges Umfällen liefert die analysenreine Substanz. Ausb. 18.4 g (70.8% d. Th.). $[\alpha]_D^{20}$: +39° (Chlf.; $c = 1$).

$C_{67}H_{66}O_{16}$ (1127.2) Ber. C 71.35 H 5.90 Gef. C 71.38 H 5.88

I ist leichtlöslich in Chloroform, Benzol und Pyridin, ziemlich gut löslich in Äther und schwerlöslich in Äthanol.

2.3.2'.3'.4'-Pentaacetyl- β -benzyl-maltosid (II): 18 g I werden in 70 ccm Eisessig gelöst und unter Eiskühlung mit 10.7 ccm (10-proz. Überschuß) einer bei 0° gesättigten Lösung von *Bromwasserstoff* in Eisessig versetzt. Es scheidet sich nach einigen Sek. Tritylbromid aus, von dem rasch abgesaugt wird. Man tropft das Filtrat in 200 ccm Chloroform von 0° und schüttelt ca. 5 mal mit je 70 ccm Eiswasser aus, trocknet mit Natriumsulfat und dampft i. Vak. bei max. 35° Badtemperatur ein. Der zurückbleibende Sirup kristallisiert beim Verreiben mit Äther. Das Rohprodukt wird in 10 Tln. Chloroform gelöst und durch vorsichtige Zugabe des doppelten Volumens an absol. Äther in reiner Form erhalten. Schmp. ca. 167°, Ausb. 7.5 g (75% d. Th.). Das Produkt ist zur Weiterverarbeitung genügend rein. Zur Analyse ist mehrmals aus Äthanol umzukristallisieren. Ausb. 4.9 g (49.3% d. Th.). Schmp. 174–175°. $[\alpha]_D^{20}$: +26° (Chlf.; $c = 1$).

$C_{29}H_{38}O_{16}$ (642.6) Ber. C 54.20 H 5.96 Gef. C 54.10 H 5.77

II ist leichtlöslich in Chloroform und Benzol, weniger gut löslich in Alkoholen und schwerlöslich in Äther und Petroläther.

6.6'-Ditrityl-2.3.2'.3'.4'-pentaacetyl- β -benzyl-maltosid (I) aus II: 250 mg II werden in 1.0 ccm absol. Pyridin mit 260 mg *Tritylchlorid* 8 Stdn. bei 90–100° umgesetzt, nach dem Abkühlen in Eiswasser getropft und unter häufigem Umrühren 3 Stdn. stehengelassen. Die weitere Aufarbeitung erfolgt wie bei I beschrieben. Ausb. 235 mg (53.4% d. Th.). $[\alpha]_D^{20}$: +40° (Chlf.; $c = 1$).

6.6'-Bis-[β -D-glucosido<1.5>]-maltose (III)

1. *Die Kondensation von 2.3.2'.3'.4'-Pentaacetyl- β -benzyl-maltosid (II) mit α -Acetobrom-D-glucose*: In einer braunen Schlißflasche werden 4.5 g II (i. Vak. bei 56° über Phosphor-

pentoxyd getrocknet) in 20 ccm absol. Chloroform gelöst. Nach Zugabe von 11 g Silberoxyd, 23 g wasserfreiem Calciumsulfat und einigen Glasperlen wird 3 Stdn. auf der Maschine geschüttelt. Sodann werden 900 mg Jod und 7.2 g α -Acetobrom-D-glucose in 10 ccm absol. Chloroform in drei Anteilen innerhalb von 24 Stdn. hinzugefügt. Nach zweitägigem Schütteln ist die Lösung bromfrei. Es wird von den anorganischen Salzen abgesaugt, die mehrmals mit Chloroform gewaschen werden. Die vereinigten Filtrate werden je 1 mal mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung und dest. Wasser im Scheidetrichter ausgeschüttelt, mit Natriumsulfat getrocknet, das Filtrat i. Vak. bei 30–35° Badtemperatur eingedampft und der erhaltene Sirup in 50 ccm Äthanol in der Wärme gelöst. Man läßt abkühlen und rührt diese Lösung zur Reinigung tropfenweise in die 15fache Menge Wasser ein. Die entstandenen Oligosaccharid-Derivate fallen aus, während Tetraacetyl-D-glucose weitgehend in Lösung bleibt. Der Niederschlag wird abgesaugt, getrocknet und die obige Reinigungsoperation wiederholt. Das Produkt wird im Exsikkator über Phosphorpentoxyd getrocknet. Ausb. 7.5 g.

2. *Die hydrierende Abspaltung der Benzylgruppe:* In einer Hydrierbirne wird aus 400 mg PdCl_2 Pd-Mohr hergestellt¹⁾, die Lösung von 7.5 g Kondensationsprodukt in 150 ccm Methanol/Essigester (1 : 1) hinzugefügt und hydriert. Die Wasserstoffaufnahme ist im Durchschnitt nach 8 Stdn. beendet. Die Lösung wird dekantiert, der Katalysator mit Methanol gewaschen und die vereinigten Lösungen i. Vak. eingedampft. Ausb. 5.1 g Sirup.

3. *Die Abspaltung der Acetylgruppen:* 5.1 g trockner Sirup werden in 21 ccm absol. Methanol gelöst und mit 7.5 ccm $n/10$ Natriummethylat versetzt. Während der Verseifung fallen die freien Zucker zum Teil aus. Die Suspension wird 20 Stdn. bei Raumtemperatur belassen. Man engt i. Vak. auf das halbe Volumen ein und vervollständigt die Fällung der freien Zucker durch Zugabe von Essigester. Der Niederschlag wird abgesaugt und im Exsikkator getrocknet. Ausb. 3.2 g.

4. *Die säulenchromatographische Trennung der freien Zucker:* 3.2 g des Gemisches werden in wenig Wasser gelöst und mit etwas Cellulosepulver angeteigt, im Exsikkator getrocknet und anschließend gepulvert. Ein Chromatographier-Rohr (\varnothing 2.8 cm) wird 40 cm hoch mit Cellulosepulver (Schleicher & Schüll Nr. 123) gleichmäßig und fest gefüllt (vgl. l. c.⁷⁾). Nach dem Vorwaschen der Säule mit 80 ccm eines Gemisches aus n-Butanol/Dimethylformamid/Wasser (3 : 1 : 1) wird bei einem Flüssigkeitsstand von ca. 5 mm Höhe über dem oberen Rand des Füllmaterials das Gemisch aus Substanz und Cellulosepulver gleichmäßig als Schicht (Höhe ca. 1.5 cm) aufgetragen. Darauf gibt man eine dünne Schicht von gereinigtem Cellulosepulver und etwas Watte. Entwickelt wird mit dem gleichen Lösungsmittelgemisch, nach der Durchlaufmethode mit Hilfe eines Fraktionssammlers. Nach einem Durchlauf von ca. 1.1 l Lösung erscheint III, schwach verunreinigt durch Trisaccharide. Nun wird in 12-ccm-Fraktionen aufgefangen und der Beginn der reinen Tetrasaccharid-Fraktion (im Durchschnitt nach 8–12 Röhrchen) auf papierchromatographischem Wege ermittelt (Whatman I, aufsteigend, n-Butanol/Dimethylformamid/Wasser (2 : 1 : 1); Reagenz: Silbernitrat/Ammoniak). Da die Säule jetzt nur noch das reine Tetrasaccharid enthält, kann der Fraktomat außer Betrieb gesetzt und die Säule eluiert werden.

Die Tetrasaccharid-Fraktion wird zuerst i. Vak. bei 14 Torr und schließlich zur Beseitigung der letzten Anteile Lösungsmittelgemisch i. Vak. bei 0.1 Torr bei 30–40° Badtemperatur eingedampft. Der anfallende Sirup wird in absol. Methanol aufgenommen und mit absol. Äther III in amorpher Form gefällt. Ausb. 284 mg (ca. 6% d. Th.). $[\alpha]_D^{20}$: +40° (Wasser, $c = 0.99$).

$\text{C}_{24}\text{H}_{42}\text{O}_{21}$ (666.6) Ber. C 43.24 H 6.35 Gef. C 43.44 H 6.09

⁷⁾ A. KLEMER und K. HOMBERG, Chem. Ber. 93, 1643 [1960].

6.6'-Bis-[β -D-glucosido<1.5>]-maltose (III) aus I mit α -Acetobrom-D-glucose und Silberperchlorat: 5 g I werden mit 1.86 g Silberperchlorat und 3.65 g α -Acetobrom-D-glucose in 30 ccm Nitromethan umgesetzt und aufgearbeitet⁶⁾. Die Hydrierung, Abspaltung der Acetylgruppen und Isolierung von III wird, wie vorher beschrieben, vorgenommen. Ausb. 148 mg (ca. 5% d. Th.). $[\alpha]_D^{20}$: +40° (Wasser; $c = 1$).

6.6'-Bis-[tetraacetyl- β -D-glucosido<1.5>]-hexaacetyl-maltose (IIIa): 200 mg III, 120 mg wasserfreies Natriumacetat und 1.2 ccm Acetanhydrid werden im Glycerinbad unter Feuchtigkeitsausschluß und häufigem Umschütteln im Verlaufe 1 Stde. auf 100° erhitzt. Die Badtemperatur wird 2 Stdn. auf 100°, dann 20 Min. auf 120° gehalten. Das abgekühlte Reaktionsgemisch wird in 60 ccm Eiswasser eingetropft, das im Verlaufe der folgenden 6 Stdn. durch Zugabe von etwas Natriumhydrogencarbonat neutralisiert wird. Der zuerst ausgefallene Sirup wird unter Reiben mit einem Glasstab nach einigen Stunden fest. Nach 12 Stdn. wird abgesaugt und getrocknet. Das Produkt wird in wenig warmem Äthanol gelöst und durch Eintropfen in die 10-fache Menge Wasser ausgefällt. Nach dem Absaugen und Trocknen wird diese Reinigungsoperation wiederholt. Ausb. 284 mg (ca. 76% d. Th.). $[\alpha]_D^{20}$: +32° (Chlf.; $c = 1.08$).

$C_{52}H_{70}O_{35}$ (1255.1) Ber. C 49.76 H 5.62 Gef. C 49.32 H 5.65

Die Mol.-Gew.-Bestimmung nach BECKMANN liefert für das amorphe Acetat folgende Werte: 1270, 1332, 1305.

6.6'-Bis-[tetramethyl- β -D-glucosido<1.5>]-pentamethyl-methyl-maltosid (IIIb): 665 mg III werden in 22 ccm Wasser gelöst und bei 0–5° mit 4.4 ccm Dimethylsulfat und 22 ccm 50-proz. Kalilauge, bei Raumtemperatur mit 26 ccm Dimethylsulfat und 131 ccm 50-proz. Kalilauge und bei 50–60° mit 26 ccm Dimethylsulfat und 131 ccm 40-proz. Kalilauge, wie in l. c.⁷⁾ S. 1648 genau beschrieben, methyliert und aufgearbeitet. Die zweite und dritte Methylierung wird nach KUHN und Mitarbb.⁸⁾ in 12 ccm absol. Dimethylformamid mit 3 ccm Methyljodid und 3 g Silberoxyd durchgeführt. Ausb. 566 mg (65% d. Th.) permethyliertes Tetrasaccharid, in dem durch das IR-Spektrum keine OH-Bande mehr nachzuweisen ist.

Hydrolyse: 526 mg IIIb erhitzt man mit 70 ccm 1*n* H₂SO₄ 9 Stdn. unter Rückfluß auf 100°. Nach dem Abkühlen wird mit Bariumcarbonat neutralisiert, zentrifugiert, das Bariumsulfat mehrmals mit heißem Wasser ausgewaschen und die Lösung eingedampft. Eine Probe der Lösung wird papierchromatographisch untersucht (Whatman I, aufsteigend, *n*-Butanol/Pyridin/Wasser (3 : 1 : 1); Reagenz: Anilinphthalat). Es treten 3 Flecken auf, deren R_F -Werte der 2.3.4.6-Tetramethyl-D-glucose, der 2.3.4-Trimethyl-D-glucose und der 2.3-Dimethyl-D-glucose entsprechen.

Die Methylglucosen werden an einer Cellulosepulversäule (\varnothing 2.7 cm; Höhe 50 cm) mit Lignoïn (Sdp. 100–120°)/*n*-Butanol/Wasser (60 : 38 : 2) getrennt. Die ablaufende Flüssigkeit wird in ca. 8-ccm-Fractionen aufgefangen.

Röhrchen 12– 33: 216 mg reine Tetramethyl-D-glucose

34– 37: Gemisch aus Tetramethyl-D-glucose und Trimethyl-D-glucose

38– 51: 131 mg reine Trimethyl-D-glucose

76–105: 115 mg reine Dimethyl-D-glucose.

Identifizierung der Methylzucker

1. 2.3.4.6-Tetramethyl-D-glucose-anilid: 210 mg der Tetramethyl-D-glucose werden in das Anilid⁹⁾ übergeführt. Schmp. 137°; Misch-Schmp. mit der Vergleichssubstanz 136–137°.

⁸⁾ R. KUHN, H. TRISCHMANN und I. LÖW, Angew. Chem. 67, 32 [1955].

⁹⁾ J. C. IRVINE und A. M. MOODIE, J. chem. Soc. [London] 93, 103 [1908].

2. *2.3.4-Trimethyl-N-benzyl-N-D-glucosid*: 130 mg der *Trimethyl-D-glucose* werden mit 76 mg *Benzylamin* unter Feuchtigkeitsausschluß und häufigem Umschütteln 5–10 Min. auf 60–70° erhitzt. Das Reaktionsprodukt wird bei 35° i. Vak. 2 Tage über Schwefelsäure getrocknet, mit absol. Äthanol aufgenommen, mit A-Kohle geklärt und i. Vak. auf 1–2 ccm eingeeengt. Man läßt bei 0° kristallisieren und wäscht mit Äther/Petroläther (1 : 3). Nochmaliges Umkristallisieren aus wenig Äthanol liefert die analysenreine Substanz. Ausb. 115 mg (63.0% d. Th.). Schmp. 107–108°. $[\alpha]_D^{20}$: -21° (Pyridin; $c = 1$).

$C_{16}H_{25}NO_5$ (311.4) Ber. C 61.70 H 8.08 N 4.50 Gef. C 61.33 H 7.94 N 4.66

Eine auf anderem Wege dargestellte *2.3.4-Trimethyl-D-glucose*¹⁰⁾ wird auf die gleiche Weise in das *N-Benzyl-N-D-glucosid* übergeführt. Schmp. 106–108°; Misch-Schmp. 106–108°.

3. *2.3-Dimethyl-D-glucose*: 115 mg der getrockneten *Dimethyl-D-glucose* (Sirup) werden mit absol. Essigester extrahiert und i. Vak. auf einige ccm eingeeengt. Nach dem Animpfen kristallisiert die *2.3-Dimethyl-D-glucose* bei 0° aus. Umkristallisiert wird aus wenig Essigester. Schmp. 108–110°. $[\alpha]_D^{20}$: $+49^\circ$ (nach 3 Stdn. konstant) (Wasser; $c = 1$).

Schmp., opt. Drehung und Misch-Schmp. mit authentischem Material¹¹⁾ ebenso.

¹⁰⁾ J. C. IRVINE und J. W. H. OLDHAM, J. chem. Soc. [London] **119**, 1744 [1921].

¹¹⁾ C. M. McCLOSKEY und G. H. COLEMAN, J. org. Chemistry **10**, 184 [1945].