

CHEMISCHE BERICHTE

Fortsetzung der

BERICHTE DER DEUTSCHEN CHEMISCHEN
GESELLSCHAFT

97. Jahrg. Nr. 4

S. 921—1216

KURT HEYNS, ARTHUR L. BARON und HANS PAULSEN

Über katalytische Oxydationen, XXI¹⁾

Die Darstellung von 4-Ketozuckern durch selektive katalytische Oxydation von 6-Desoxy-galaktopyranosiden und Galaktopyranosid-Derivaten

Aus dem Chemischen Staatsinstitut, Institut für Organische Chemie, Universität Hamburg
(Eingegangen am 4. November 1963)

Hexopyranoside mit einer axialen Hydroxylgruppe am C-Atom 4 wie Benzyl-6-desoxy- α -D-galaktopyranosid und Methyl-6-desoxy- α -L-galaktopyranosid lassen sich mittels Platins und Sauerstoffs selektiv zu Benzyl-6-desoxy- α -D-xylohexopyranosid-4-ulose bzw. Methyl-6-desoxy- α -L-xylohexopyranosid-4-ulose oxydieren.

Thymidindiphosphat-6-desoxy-D-xylohexopyranosid-4-ulose wurde von OKAZAKI und Mitarbb.²⁾ als Zwischenprodukt der Umwandlung von TDP-D-Glucose in TDP-L-Rhamnose in *Escherichia coli* isoliert. Die notwendige Umkehr der Konfiguration am C-Atom 3 und 5 soll über eine zweimalige Enolisierung der jeweiligen 4-Keto-Verbindung erfolgen. Derartige Isomerisierungen laufen, wie wir bereits an der Benzyl- β -D-threo-pentopyranosid-4-ulose feststellen konnten, äußerst leicht ab³⁾. V. GINSBURG⁴⁾ gibt für die Umwandlung von GDP-D-Mannose in GDP-L-Fucose den gleichen Reaktionsverlauf, über die entsprechende 4-Keto-Verbindung an. Die Biosynthese der Streptose soll über eine 4-Keto-Verbindung verlaufen⁵⁾. Da außerdem für die 4-Epimerisierung von UDP-Glucose zu UDP-Galaktose ein über eine Keto-Verbindung verlaufender Mechanismus vermutet worden ist, besitzen Verfahren zur Darstellung von 4-Keto-glykosiden besonderes Interesse.

Selektive Oxydationen von unblockierten Glykosiden lassen sich bisher nur durch katalytische Oxydation⁶⁾ oder bakterielle Oxydation durchführen, wie z. B. bei der

1) XX. Mitteil.: K. HEYNS, W. P. TRAUTWEIN und H. PAULSEN, Chem. Ber. 96, 3195 [1963].

2) R. OKAZAKI, T. OKAZAKI, J. L. STROMINGER und A. M. MICHELSON, J. biol. Chemistry 237, 3014 [1962].

3) K. HEYNS, J. LENZ und H. PAULSEN, Chem. Ber. 95, 2964 [1962].

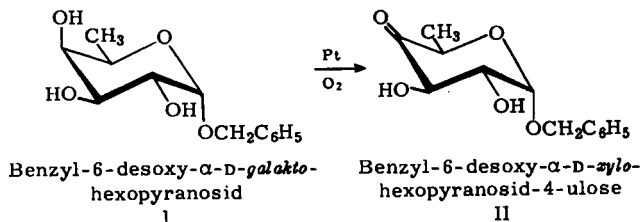
4) J. biol. Chemistry 235, 2196 [1960]; 236, 2389 [1961].

5) N. L. BLUMSON und J. BADDILEY, Biochem. J. 81, 114 [1961].

6) K. HEYNS und H. PAULSEN, Advances Carbohydrate Chem. 17, 169 [1962].

Darstellung von 3-Keto-glykosiden aus Disacchariden⁷⁾. Oxydationen mit Chromtrioxyd machen in der Regel eine vollständige Blockierung aller Hydroxylgruppen notwendig, an denen ein oxydativer Angriff nicht beabsichtigt ist⁸⁾.

Die Stereochemie der stabileren C 1-Sesselform des 6-Desoxy-D-galaktopyranosids (-D-fucopyranosids) entspricht völlig der 1 C-Sesselform des L-Arabopyranosids. In beiden Verbindungen befindet sich nur die Hydroxylgruppe am C-Atom 4 in axialer Stellung. L-Arabopyranosid wird mit Sauerstoff bei Gegenwart eines Platinkatalysators selektiv am C-Atom 4 oxydiert³⁾. Diese Reaktion sollte auf 6-Desoxy-hexopyranoside unmittelbar übertragbar sein, da hier an C-6 keine Oxydation eintreten kann.



Tatsächlich wird bei der katalytischen Oxydation mit Sauerstoff bei Gegenwart eines Adams-Katalysators in verdünnt wässriger Lösung von Benzyl-6-desoxy- α -D-galaktopyranosid (I) und Methyl-6-desoxy- α -L-galaktopyranosid ausschließlich die Hydroxylgruppe am C-Atom 4 unter Bildung von Benzyl-6-desoxy- α -D-xylo-pyranosid-4-ulose (II) bzw. Methyl-6-desoxy- α -L-xylo-pyranosid-4-ulose oxydiert. Die Oxydation führt bei 40° innerhalb einer Stunde zu einem 50–60-proz. Umsatz, gemessen am Reduktionswert. Die Struktur der erhaltenen Ketoglykoside ergibt sich durch Reduktion mit Natriumamalgam, bei der nach Hydrolyse der Glykoside ein Gemisch von 6-Desoxy-glucose und 6-Desoxy-galaktose erhalten wurde, womit die 4-Stellung der Ketogruppe bewiesen ist.

Die Isolierung der Hexopyranosidulosen erfolgte durch Adsorption an basischem Ionenaustauscher (Hydrosulfit-Form) und Elution mit Wasser steigender Acetonkonzentration. Die Hydrosulfitkomplexe erwiesen sich als erheblich schwächer als die der Pentopyranosidulosen³⁾. In Tab. 1 sind die Wanderungsgeschwindigkeiten M_V verschiedener Ketoglykoside bei papierelektrophoretischer Untersuchung im Hydrosulfitpuffer zusammengestellt. Die M_V -Werte erlauben eine Aussage über die Stabilität dieser Komplexe.

Tab. 1. Papierelektrophoretische Wanderungsgeschwindigkeiten M_V in Hydrosulfitpuffer, pH 4.70, bez. auf Vanillin ($M_V = 1$)

Ketoglykosid	M_V -Werte
Methyl- β -D-threo-pentopyranosid-4-ulose	1.00
Benzyl- β -D-threo-pentopyranosid-4-ulose	0.85
Benzyl- β -D-threo-pentopyranosid-3-ulose	0.72
Benzyl- β -D-erythro-pentopyranosid-3-ulose	0.70
Methyl-6-desoxy- α -L-xylo-hexopyranosid-4-ulose	0.65
Benzyl-6-desoxy- α -D-xylo-hexopyranosid-4-ulose	0.45

⁷⁾ M. J. BERNAERTS und J. DELEY, J. gen. Microbiol. 22, 129, 137 [1960].

⁸⁾ J. W. BIRD und J. K. N. JONES, Canad. J. Chem. 41, 1877 [1963].

Aus der Tabelle ergibt sich, daß die Stabilität der Hydrogensulfitkomplexe durch sterische Effekte beeinflußt wird. Methyl-pentopyranosid-4-ulosen zeigen die geringste sterische Hinderung und ergeben daher den stabilsten Komplex. Die Einführung einer glykosidischen Benzylgruppe führt bereits zu einer Abnahme der Stabilität. Pentopyranosid-3-ulosen geben, wie aus der geringeren Laufgeschwindigkeit zu ersehen ist, einen schwächeren Komplex als 4-Ulosen, da die raumerfüllende glykosidische Gruppe näher an die Ketogruppe gerückt ist. Bei den 6-Desoxy-hexopyranosid-4-ulosen bewirkt die CH_3 -Gruppe am C-Atom 5 eine direkte sterische Hinderung. Ketoglykoside mit einem M_V -Wert von 0.4–0.8 können mittels der Hydrogensulfit-Ionenaustauscher-Methode isoliert werden. Bei kleineren M_V -Werten (geringe Komplexstabilität) erfolgt keine, bei höheren M_V -Werten (große Komplexstabilität) eine irreversible Adsorption am Hydrogensulfit-Ionenaustauscher-System.

Es wurde versucht, die Methyl-6-desoxy- α -L-xylo-hexopyranosid-4-ulose unter den Bedingungen von TH. POSTERNAK⁹⁾ in stark saurer Lösung mit Adams-Katalysator durch Hydrierung in das Methyl-4.6-didesoxy- α -L-xylo-hexopyranosid zu überführen, dessen 3-O-Methyläther als Methylchalcosid aus einem Antibiotikum isoliert wurde^{10,11)}. Die Hydrierung verlief jedoch stereospezifisch nur bis zur Stufe des Methyl-6-desoxy- α -L-galaktopyranosids und nicht, wie bei den Hexopyranosid-3-ulosen¹²⁾, weiter zum Didesoxyzucker.

Galaktopyranoside lassen sich ebenfalls an der axialen C-4-Hydroxylgruppe oxydieren, wenn die primäre Hydroxylgruppe am C-Atom 6 zuvor blockiert wird, da diese andernfalls nach den bisherigen Erfahrungen über katalytische Oxydationen primär angegriffen werden würde. Die katalytische Oxydation von Methyl-6-O-tosyl- α -D-galaktopyranosid, welches in reinem Wasser keine ausreichende Löslichkeit aufweist, ist in Dioxan/Wasser durchführbar. Das Dioxan wird dabei in geringer Menge zu Carbonylverbindungen oxydiert, die die Aufarbeitung des Reaktionsansatzes erheblich erschweren. Ungünstig erwies sich die 6-O-Tosylverbindung auch deshalb, weil eine Verseifung der Tosylgruppe immer zum 3.6-Anhydrid führt.

Die Reduktion des Reaktionsproduktes aus einem Oxydationsansatz von Methyl-6-O-tosyl- α -D-galaktopyranosid mit LiAlH_4 lieferte nach der Hydrolyse ein Gemisch von 6-Desoxy-glucose und 6-Desoxy-galaktose. Damit ist gezeigt, daß auch bei Galaktopyranosiden selektiv die 4-Stellung oxydiert wird und damit die Darstellung von Hexopyranosid-4-ulosen aus Galaktose-Derivaten möglich ist, wenn diese zuvor in geeigneter Weise am C-Atom 6 blockiert worden sind.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Herstellung des Katalysators: Adams-Katalysator (Degussa) wurde in Wasser vorhydriert und das Hydriergefäß mehrmals evakuiert. Der Katalysator wurde feucht aufbewahrt und nach jeder Oxydation mit 10-proz. Salzsäure sowie Wasser gut ausgewaschen; er konnte ohne Aktivitätsverlust bis zu 7 mal benutzt werden.

9) Helv. chim. Acta 33, 350 [1950].

10) P. W. K. WOO, H. W. DION und Q. R. BARTZ, J. Amer. chem. Soc. 83, 3352 [1961]; 84, 1066 [1962].

11) W. KELLER-SCHIERLEIN und G. RONCARI, Helv. chim. Acta 45, 138 [1962].

12) B. LINDBERG und O. THEANDER, Acta chem. scand. 13, 1226 [1959].

Benzyl-6-desoxy- α -D-galaktopyranosid (I): In 125 ccm Benzylalkohol, welcher 7.5 g HCl enthält, wurden 10.0 g *D-Fucose* unter schwachem Erwärmen schnell gelöst. Nach 16 Stdn. bei Raumtemperatur wurden die Kristalle abfiltriert. Man neutralisierte das Filtrat mit NaHCO_3 und destillierte den Benzylalkohol i. Vak. ab. Der Rückstand lieferte beim Kühlen eine zweite Fraktion von Kristallen. Nach 2maliger Umkristallisation aus Methanol/Wasser (9:1) Ausb. 8.3 g (53.5% d. Th.). Schmp. 161.5–162.5°, $[\alpha]_D^{20}$: +196.6° (Methanol, $c = 1.2$).

$\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_5$ (254.3) Ber. C 61.42 H 7.13 Gef. C 61.34 H 7.24

Benzyl-6-desoxy- α -D-xylo-hexopyranosid-4-ulose (II): 1.0 g *Galaktopyranosid I* wurde in 100 ccm Wasser in Gegenwart von 2 g Adams-Katalysator in einer heizbaren Schüttelente bei 40° mit Sauerstoff oxydiert. Der Reaktionsverlauf wurde durch Bestimmung der Sauerstoffaufnahme und durch Fehling-Titration von in bestimmten Zeitabständen entnommenen Proben nach l. c.³⁾ verfolgt. (1.30 ccm $n/100$ KMnO_4 entsprechen 20 mg II.) Nach einer Stde. und 40–44-proz. Umsatz beendete man die Oxydation. Es wurde bei 26–28° i. Vak. im Rotationsverdampfer bis auf 50 ccm eingengt, vom auskristallisierten Ausgangsprodukt abfiltriert, nochmals bis auf 25 ccm eingengt und weiteres Ausgangsprodukt abgetrennt (zusammen 56–60%). Das Filtrat (25 ccm) rührte man 1 Stde. unter Sauerstoffausschluß mit 10 g Amberlite IRA-400 (HSO_3^- -Form)*); danach wurde Fehlingsche Lösung nicht mehr reduziert. Den mit Ketoverbindung beladenen Austauscher füllte man in eine Säule, wusch mit 400 ccm Wasser (1 ccm/5 Min.) und eluierte mit je 200–300 ccm einer 1.0-, 2.0-, 3.0-, 5.0- und 10.0-proz. Lösung Aceton/Wasser bei einer Tropfgeschwindigkeit von 60–80 ccm/24 Stdn. 100-ccm-Fractionen wurden eingengt und auf ihre optische Aktivität geprüft. Bei schnellerer Eluiergeschwindigkeit war erheblich weniger Substanz von der Säule zu gewinnen. Die vereinigten optisch aktiven Eluate wurden im Rotationsverdampfer eingengt und mit Aktivkohle entfärbt. Ausb. 160–180 mg (16–18% d. Th. vom eingesetzten Produkt, 30 bis 40% des Ketoproduktes) farbloser Sirup. Die Substanz ist empfindlich und muß bei –20° aufbewahrt werden. $[\alpha]_D^{20}$: +102.0° (Wasser, $c = 0.95$).

$\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{O}_5$ (252.3) Ber. C 61.89 H 6.47 Gef. C 61.02 H 7.07

Strukturbeweis durch Hydrierung: 400 mg des vorstehenden *Ketoglykosids* wurden in 30 ccm Wasser unter mechanischem Rühren 2 Stdn. mit 2.7-proz. Natriumamalgam reduziert. Durch Zutropfen von Eisessig wurde der pH-Wert auf 6 gehalten und ständig mit einer Glaselektrode kontrolliert. Die nicht mehr reduzierende Lösung (Fehling) entionisierte man mit Amberlite IRA-400 (OH^- -Form) und hydrierte mit Palladiumkatalysator¹³⁾ zur Abspaltung der Benzylgruppe. Die Chromatogramme der eingengten Lösung zeigten *6-Desoxy-glucose* und *6-Desoxy-galaktose*, jedoch keine *6-Desoxy-mannose* und -allose.

Methyl-6-desoxy- α -L-xylo-hexopyranosid-4-ulose: 1.0 g *Methyl-6-desoxy- α -L-galaktopyranosid*, dargestellt durch Methanolyse von Fucoidan¹⁴⁾, wurde, wie oben beschrieben, 1 Stde. katalytisch oxydiert. Die Sauerstoffaufnahme bzw. der Reduktionswert betrug 50–55%. (Fehling-Titration³⁾: 1.80 ccm $n/100$ KMnO_4 entsprechen 20 mg *Methyl-6-desoxy- α -L-xylo-hexopyranosid-4-ulose*.) Man engte die Lösung i. Vak. bis auf etwa 20 ccm ein, rührte 1 Stde. unter Sauerstoffausschluß mit 15 g Amberlite IRA-400 (SO_3H^- -Form) und wusch den Austauscher in einer Säule mit 5 l Wasser aus. Durch Einengen des Waschwassers ließen sich 0.4–0.45 g (40–45%) Ausgangsmaterial zurückgewinnen. Anschließend wurde mit Aceton/Wasser, wie oben beschrieben, die Ketoverbindung eluiert. Die vereinigten Aceton/Wasser-

*) Der Ionenaustauscher wurde vor Verwendung mit 2*n* HCl, Aceton/Wasser (3:2), 0.1 *m* $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ und abermals mit Wasser gewaschen.

¹³⁾ J. TAUSZ und N. V. PUTNOKY, Ber. dtsh. chem. Ges. 52, 1573 [1919].

¹⁴⁾ R. G. SCHWEIGER, J. org. Chemistry 27, 4267 [1962].

Eluate ergaben 190–210 mg farblosen Sirup (19–21 bzw. 35–38% d. Th. des Ketoglykosids). Durch Gefriertrocknung ist das Produkt amorph zu erhalten. $[\alpha]_D^{19}$: -62.0° (Wasser, $c = 1.0$).

$C_7H_{12}O_5$ (176.2) Ber. C 47.72 H 6.86 Gef. C 48.10 H 7.27

Strukturbeweis durch Hydrierung: 300 mg des *Ketoglykosids* reduzierte man, wie oben beschrieben, mit Natriumamalgam. Es wurde entionisiert, anschließend mit 0.5 *n* H_2SO_4 7 Stdn. bei 100° hydrolysiert, wiederum entionisiert und chromatographiert. Als einzige Zucker traten 6-Desoxy-glucose und 6-Desoxy-galaktose auf. Die Hydrierung des Ketoglykosids mit Adams-Katalysator in 5-proz. Schwefelsäure bei 1.5 atü H_2 lieferte ausschließlich Methyl-6-desoxy- α -L-galaktopyranosid zurück und keine 4,6-Didesoxy-zucker.

Oxydation von Methyl-6-O-tosyl- α -D-galaktopyranosid: In einem Dreihalskolben wurden 4.0 g *Methyl-6-O-tosyl- α -D-galaktopyranosid* in einem Gemisch von 240 ccm gereinigtem Dioxan und 160 ccm Wasser bei 40° mit 2.0 g Adams-Katalysator 2 Stdn. oxydiert, indem unter heftigem Rühren *Sauerstoff* eingeleitet wurde. Nach Einengen i. Vak. auf 50 ccm kristallisierten 3.2 g Ausgangsmaterial aus. Die Mutterlauge ergab einen farblosen Restsirup, der nicht kristallisierte. Im IR-Spektrum zeigte die Substanz eine starke Ketobande. Eine Säulenreinigung war nicht erfolgreich und ein hergestelltes Dinitrophenylhydrazon durch Oxydationsprodukte des Dioxans verunreinigt. Der gut getrocknete Sirup wurde, in 20 ccm absol. Dioxan gelöst, mit 2.0 g $LiAlH_4$ in 20 ccm absol. Tetrahydrofuran 24 Stdn. bei 42° reduziert. Nach Zersetzen mit Wasser, Entionisieren und anschließender Hydrolyse der Glykoside mit 0.5 *n* HCl (3 Stdn. bei 100°) ließen sich chromatographisch nur 6-Desoxy-glucose und 6-Desoxy-galaktose nachweisen.

Papierchromatographie und Elektrophorese: Für die Papierchromatographie wurde wassergesätt. *n*-Butanol/Eisessig (9:1) und ein System aus *n*-Butanol und 5-proz. Natriumdisulfid-lösung verwendet, welches beim Schütteln zwei Phasen bildet. Die obere Phase dient als Laufmittel, die untere zum Imprägnieren der Papiere (Schleicher & Schüll 2043 MG). Die Substanz muß vor dem Tränken des Papiers mit der wäßr. Phase aufgetragen werden, und die Durchfeuchtung hat so zu geschehen, daß sich die Flüssigkeit der Startlinie von beiden Seiten nähert.

Die Papierelektrophorese erfolgte in einem Puffer aus 38 g $Na_2S_2O_5$ und 34 g Natriumacetat in 4 l Wasser, welches mit etwa 10 ccm Eisessig auf pH 4.70 eingestellt wurde. Bei 575–600 V und 25 mA betrug die Laufzeit 6 Stdn. Anfärbung mit Natriumperjodat/Natriumpermanganat.

Tab. 2. Elektrophoretische Wanderungsgeschwindigkeiten M_v *) und R_F -Werte

	M_v *)	R_F	R_F
	Hydrogen-sulfit-puffer	Hydrogen-sulfit/ <i>n</i> -Butanol	Wassergesätt. <i>n</i> -Butanol/ Eisessig (9:1)
Benzyl-6-desoxy- α -D-xylo-hexopyranosid-4-ulose	0.45	0.56	0.76
Methyl-6-desoxy- α -L-xylo-hexopyranosid-4-ulose	0.65	0.15	0.70
Methyl-6-O-tosyl- α -D-xylo-hexopyranosid-4-ulose	0.48	0.39	0.89

*) Wanderungsgeschwindigkeit, bez. auf Vanillin.