

Verzweigte Zucker, VIII¹⁾

Synthese von 3-C-Hydroxymethyl-D-riburonsäure

Hans Paulsen* und Wolfgang Stenzel

Institut für Organische Chemie und Biochemie der Universität Hamburg,
D-2000 Hamburg 13, Papendamm 6

Eingegangen am 18. April 1974

Der verzweigte Dithianzucker **1** wurde über **3** durch Entschwefelung, Reduktion und Perjodatabbau in die am C-3 verzweigte *ribo*-Dialdose **9** übergeführt, die mit Brom zum Uronsäurelacton **10** oxidiert werden kann. Hydrolyse von **10** liefert freie 3-C-Hydroxymethyl-D-riburonsäure (**12**), die im Gleichgewichtsgemisch zweier Furanoselactone **11** und **13** vorliegt.

Branched-chain Sugars, VIII¹⁾

Synthesis of 3-C-Hydroxymethyl-D-riburonic Acid

Desulfurisation, reduction, and periodate degradation of the branched-chain dithiane sugar **3** leads to the *ribo*-dialdose **9**, branched at C-3, which in turn can be oxidized by bromine with formation of the uronic acid lactone **10**. Hydrolysis of **10** yields free 3-C-hydroxymethyl-D-riburonic acid (**12**) which exists as an equilibrium mixture of the two furanolactones **11** and **13**.

Aus Gallenflüssigkeit wurde kürzlich von *Kuenzle*²⁾ ein Bilirubinkonjugat isoliert, das nach Abbau und hydrolytischer Spaltung verschiedene Saccharide lieferte. Unter ihnen befand sich eine bisher unbekannte Uronsäure. Aufgrund der massenspektroskopischen Daten wird für diese Verbindung die Struktur einer 3-C-Hydroxymethyl-D-riburonsäure vorgeschlagen. Es wäre dies das erste Auftreten einer verzweigten Uronsäure in der Natur³⁾. Im Rahmen unserer Untersuchungen über verzweigte Zucker⁴⁾ haben wir eine Synthese dieser Uronsäure ausgeführt⁵⁾.

Als Ausgangsprodukt wählten wir den von uns bereits dargestellten Dithianzucker **1**⁶⁾ der *allo*-Konfiguration, der leicht aus 1,2:5,6-Di-*O*-isopropyliden- α -D-*ribo*-hexofuranos-3-ulose und 2-Lithio-1,3-dithian⁷⁾ erhältlich ist. Die direkte Entschwefelung von **1** zu einer Verbindung, die am C-3 eine Aldehydseitenkette trägt, gelingt nicht, da hierbei die äußerst hydrolyseempfindliche 5,6-*O*-Isopropylidengruppe teilweise mit abgespalten wird und die Reaktion dann unübersichtlich abläuft. **1** wurde

¹⁾ VII. Mitteil.: H. Paulsen und W. Greve, Chem. Ber. 107, 3013 (1974), vorstehend.

²⁾ C. C. Kuenzle, Biochem. J. 119, 411 (1970).

³⁾ H. Grisebach und R. Schmid, Angew. Chem. 84, 192 (1972); Angew. Chem., Int. Ed. Engl. 11, 159 (1972).

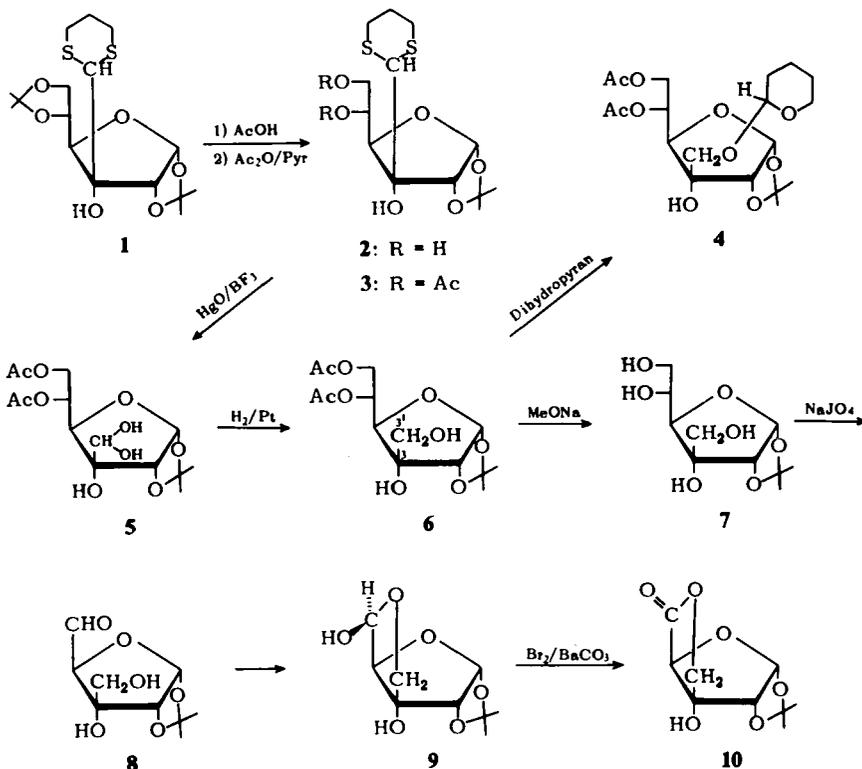
⁴⁾ H. Paulsen, Stärke 25, 389 (1973).

⁵⁾ H. Paulsen und W. Stenzel, Tetrahedron Lett. 1974, 25.

⁶⁾ H. Paulsen, V. Sinnwell und P. Stadler, Angew. Chem. 84, 112 (1972); Angew. Chem., Int. Ed. Engl. 11, 146 (1972); Chem. Ber. 105, 1978 (1972).

⁷⁾ D. Seebach, Synthesis 1, 17 (1969).

daher mit Essigsäure partiell hydrolysiert zur Mono-1,2-*O*-isopropyliden-Verbindung **2**, die bei Nachacetylierung das Diacetat **3** liefert. Dieses läßt sich gut mit Bortrifluorid-Ätherat/Quecksilberoxid⁸⁾ spalten zum freien Aldehyd, der als kristallines Hydrat **5** isoliert werden kann.



Durch katalytische Hydrierung mit Adams-Katalysator in Wasser ist **5** in die Hydroxymethyl-Verbindung **6** zu überführen. Nach Untersuchungen von *Ball*⁹⁾ an der *D*-Apiose können Diolgruppierungen, wie sie in **6** am C-3/C-3' vorliegen, mit Perjodat zu entsprechenden Ketoverbindungen oxidiert werden. Es erschien daher notwendig, diese Gruppierung für die weiteren Reaktionsschritte alkalistabil zu schützen. Eine Umsetzung mit Aceton oder 2,2-Dimethoxypropan zur C-3/C-3'-*O*-Isopropyliden-Verbindung, wie sie bei der *D*-Apiose gelingt,^{9,10)} war bei **6** in vernünftigen Ausbeuten nicht möglich. Mit 3,4-Dihydro-2*H*-pyran reagiert **6** dagegen leicht zur Tetrahydropyranylverbindung **4**. Hierbei entsteht überwiegend eines der beiden möglichen Diastereomeren, das in kristalliner Form isolierbar ist. Die absolute Konfiguration am Tetrahydropyranylring der kristallinen Hauptkomponente von **4** konnte nicht bestimmt werden.

⁸⁾ *E. Vedejcs* und *P. L. Fuchs*, *J. Org. Chem.* **36**, 366 (1971).

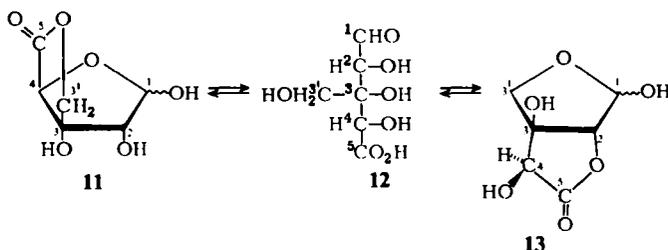
⁹⁾ *F. A. Carey*, *D. H. Ball* und *L. Long jr.*, *Carbohydr. Res.* **3**, 205 (1966).

¹⁰⁾ *D. H. Ball*, *F. A. Carey*, *J. L. Klundt* und *L. Long jr.*, *Carbohydr. Res.* **10**, 121 (1969).

Alkalische Spaltung einer Probe von **4** zum 5,6-Diol und anschließende Perjodat-spaltung zeigte, daß die Diolgruppierung am C-5/C-6 sehr viel schneller mit Perjodat reagierte als es von einer Diolgruppierung am C-3/C-3' bekannt war⁹⁾. Ein Schutz der Hydroxylgruppen in **6** war somit nicht notwendig. **6** wurde daher mit Natrium-methylat zu **7** gespalten und dann selektiv mit einem Moläquivalent Perjodat zum 5-Aldehyd **8** abgebaut. Die Aldehydgruppe schließt sofort den Halbacetalring mit 3'-OH zur tricyclischen Form **9**. Die neue anomere Hydroxylgruppe am C-5 kann *exo*-(α' -Form) und *endo*-(β' -Form)ständig angeordnet sein. Nach dem NMR-Spektrum von **9** liegt nur eine Form stark bevorzugt vor. Die gefundene kleine Kopplung $J_{4,5}$ 0.5 Hz entspricht einem Diederwinkel von etwa 90° , der, wie das Modell zeigt, nur bei *endo*-ständigem 5-H möglich ist. Die 5-OH-Gruppe ist somit *exo*-ständig angeordnet, was der α' -Form entspricht, in der **9** auch auskristallisiert. Die Verbindung **9** ist als 3-C-Hydroxymethyl-1,2-O-isopropyliden- α, α' -D-ribo-dialdofurano-furanose-(5,3') zu bezeichnen.

Der Dialdehyd **9** kann durch Oxidation mit Brom bei Gegenwart von Barium-carbonat¹¹⁾ direkt in das Lacton **10** übergeführt werden. Der Lactonring ist leicht spaltbar, so daß sich teilweise ein Bariumsalz bildet. Nach Entfernung der Barium-Ionen und guter Trocknung ergibt sich das Lacton **10** kristallin. Diese Verbindung ist, wie wir jetzt erfahren, von *Blackstock*, *Kuenzle* und *Eugster*¹²⁾ nach einer ganz anderen Reaktionsfolge ebenfalls erhalten worden. Die auf beiden Wegen erhaltenen Produkte erweisen sich als identisch.

Das Lacton **10** ist mit Trifluoressigsäure oder Salzsäure leicht zur freien 3-C-Hydroxymethyl-D-riburonsäure zu spalten, die in **12** in der offenen Form geschrieben wurde. Es ist ersichtlich, daß jetzt zwei Arten von Ringkombinationen des Lacton- und Halbacetalringes möglich sind. Der Furanosering kann zwischen C-1/C-4 und der Lactonring zwischen C-3'/C-5 geschlossen werden zu **11**. Andererseits kann der Furanosering sich auch zwischen C-1/C-3' und der Lactonring dann zwischen C-2/C-5 ausbilden, wobei die Form **13** entsteht. Offenbar stellt sich nach der Hydrolyse ein Gleichgewicht zwischen **11** und **13** ein. Jedes Lacton kann ferner noch eine α - und β -Form ausbilden.



Von *Kuenzle*¹²⁾ und uns wurde das Lactongemisch **11** + **13** in die Trimethylsilyl-äther übergeführt und gaschromatographisch und massenspektrometrisch untersucht. Eine völlige Auftrennung des TMS-Äthergemisches konnten wir jedoch nicht erreichen.

¹¹⁾ C. S. Hudson und H. S. Isbell, J. Amer. Chem. Soc. **51**, 2225 (1929).

¹²⁾ W. P. Blackstock, C. C. Kuenzle und C. H. Eugster, Helv. Chim. Acta **57**, 1003 (1974).
Dr. C. C. Kuenzle, Zürich, danken wir sehr für die Übermittlung dieser Ergebnisse.

*Kuenzle*¹²⁾ gelang es, das TMS-Äthergemisch gaschromatographisch voll aufzutrennen und jeden Peak massenspektrometrisch zu untersuchen. Hiernach erscheinen bei kürzerer Retentionszeit zunächst als zwei Peaks die α - und β -Form des Lactons 13 in kleinerer Menge und anschließend die α - und β -Form des Lactons 11. Die Massenspektren der α - und β -Form sind jeweils identisch. Beide Massenspektren von 11 und 13 weichen jedoch deutlich ab von den entsprechenden Massenspektren der aus Bilirubinkonjugaten isolierten unbekanntem Uronsäure¹²⁾. Die Struktur dieser Verbindung bleibt somit weiterhin offen¹²⁾.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie danken wir für die Unterstützung bei den Untersuchungen.

Experimenteller Teil

Alle Reaktionen wurden dünn-schichtchromatographisch auf Kieselgel PF₂₅₄ (Merck) verfolgt. Laufmittel: (A) Benzol/Aceton (1:1), (B) Äther, (C) Benzol/Äthanol (3:1). Anfärbung mit Anilin/Diphenylamin in äthanolischer Phosphorsäure. Lactone wurden durch Hydroxamsäuretest mit 10proz. wäbr. Hydroxylaminhydrochloridlösung und 20proz. Natronlauge (1:1) und anschließende Behandlung mit 4proz. Eisen(II)-nitratlösung in Wasser/Eisessig (3:2) und konz. Salzsäure (10:1) nachgewiesen. Optische Drehungen: Perkin-Elmer-Polarimeter 141 in 10-cm-Küvetten. IR: Perkin-Elmer-Infracord-Spektrometer. NMR: Varian T-60 und HA 100. Gaschromatographie: Perkin-Elmer F 20; 2-m-Glassäule; Trennphase Silikonöl XE 60; Säulentemp. 170°C; Trägergas Stickstoff. Massenspektrometrie: Varian SM 1; Elektronenenergie 70 eV. GC-MS-Kombination: Varian MAT 111 (GNOM); Gaschromatographische Bedingungen wie oben; Trägergas Helium; Elektronenenergie 70 eV.

3-C-Formyl-1,2-O-isopropyliden- α -D-allofuranose-trimethylendithioacetal (2): 9,0 g 3-C-Formyl-1,2:5,6-di-O-isopropyliden- α -D-allofuranose-trimethylendithioacetal (1)⁶⁾ in 30 ml Dioxan wurden mit 60 ml 60proz. Essigsäure versetzt. Das Gemisch wurde 2 d bei Raumtemp. stehengelassen, danach am Rotationsverdampfer eingeengt und zur vollständigen Entfernung der Essigsäure zweimal mit Toluol nachdestilliert, wobei eine weiße Kristallmasse zurückblieb, die sich aus Essigester/Hexan umkristallisieren ließ. Schmp. 117°C. Ausb. 7,38 g (92%). $[\alpha]_D^{20} = +6^\circ$ ($c = 1.0$ in CHCl₃).

C₁₃H₂₂O₆S₂ (338,4) Ber. C 46.13 H 6.55 S 18.95 Gef. C 46.22 H 6.77 S 18.89

5,6-Di-O-acetyl-3-C-formyl-1,2-O-isopropyliden- α -D-allofuranose-trimethylendithioacetal (3): 7,2 g 2 wurden in 50 ml Pyridin gelöst, mit 9 ml Acetanhydrid versetzt und 4 h bei Raumtemp. stehengelassen. Die schwach gelb gefärbte Lösung wurde am Rotationsverdampfer eingeengt und dreimal mit Toluol nachdestilliert. Die dabei anfallende kristalline Masse wurde aus Essigester/Hexan umkristallisiert. Schmp. 136°C. Ausb. 7,90 g (88%). $[\alpha]_D^{25} = +25^\circ$ ($c = 1$ in CHCl₃).

C₁₇H₂₆O₈S₂ (422,5) Ber. C 48.33 H 6.20 S 15.18 Gef. C 49.02 H 6.16 S 15.12

5,6-Di-O-acetyl-3-C-formyl-1,2-O-isopropyliden- α -D-allofuranose-hydrat (5): 90 ml Tetrahydrofuran, 10 ml Wasser, 11 g rotes Quecksilber(II)-oxid und 2,5 ml Bortrifluorid-Ätherat wurden bei Raumtemp. unter Rühren zusammengegeben und dann portionsweise mit 3,7 g 3 versetzt. Nach 6 h war dünn-schichtchromatographisch (A) kein Ausgangsprodukt mehr nachweisbar. Die Suspension wurde mit 150 ml Chloroform versetzt, wobei ein schleimiger weißer Niederschlag ausfiel. Durch Schütteln mit gesättigter K₂CO₃-Lösung wurde neutral-

siert und anschließend zentrifugiert. Die klare Chloroformphase wurde zweimal mit je 20 ml gesättigter NaCl-Lösung geschüttelt und am Rotationsverdampfer zum farblosen Sirup eingengt. Ausb. 2.2 g (75%). Aus dem Dünnschichtchromatogramm war ersichtlich, daß ein Gemisch von Aldehyd mit seinem Hydrat vorlag. Um die Substanz vollständig in das kristalline Hydrat zu überführen, wurde der Sirup mit wenig Wasser verrieben und anschließend mit trockenem Äther versetzt, wobei nach wenigen Minuten das farblose, kristalline Hydrat ausfiel, das aus Äther umkristallisiert werden konnte. Schmp. 98°C. $[\alpha]_D^{20} = +47.5^\circ$ ($c = 0.59$ in Methanol).

NMR (CDCl_3): 1-H δ 5.82 d ppm, 2-H 4.44 d, 5-H 5.38 m, 6-H 4.21 4.38 m, 3'-Formyl (Aldehydform) 9.85 s; $J_{1,2}$ 4.8 Hz.

$\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$ (350.3) Ber. C 48.00 H 6.33 Gef. C 48.11 H 6.54

5,6-Di-O-acetyl-3-C-hydroxymethyl-1,2-O-isopropyliden- α -D-allofuranose (6): 2.0 g 5 wurden in 400 ml Wasser gelöst, mit 1 g vorhydriertem PtO_2 (Adams-Katalysator) versetzt und in einer Schüttelente 8 h bei Normaldruck und Raumtemp. hydriert. Nach dünnschichtchromatographischer Kontrolle (A) wurde der Katalysator abfiltriert und die Lösung am Rotationsverdampfer eingengt. Der verbleibende farblose Sirup wurde in Chloroform aufgenommen und wiederum eingedampft. Bei Zusatz von wenig Benzol erfolgte Kristallisation zu farblosen Nadeln. Schmp. 92°C. Ausb. 1.38 g (69%). $[\alpha]_D^{20} = +20.4^\circ$ ($c = 1$ in CHCl_3).

NMR (CDCl_3): 1-H δ 5.75 d ppm, 2-H 4.43 d, 3'- und 3''-H 4.34 q, Acetyl 2.08, Isoprop. 1.38 s und 1.58 s. $J_{1,2}$ 4.0, $J_{3',3''}$ 12.0 Hz.

$\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{O}_9$ (334.3) Ber. C 50.30 H 6.62 Gef. C 50.00 H 6.58

5,6-Di-O-acetyl-3-C-hydroxymethyl-1,2-O-isopropyliden-3'-O-(2-tetrahydropyranyl)- α -D-allofuranose (4): 200 mg 6 wurden in 5 ml trockenem Dioxan gelöst und mit 0.2 ml 3,4-Dihydro-2-H-pyran sowie 5 mg *p*-Toluolsulfonsäure versetzt. Nach 3 h war dünnschichtchromatographisch (B) kein Ausgangsprodukt mehr nachweisbar. Das Reaktionsgemisch wurde an der Wasserstrahlpumpe, dann i. Hochvak. bei 50°C Badtemp. eingengt, in 10 ml Chloroform aufgenommen, mit wenig verdünnter NaHCO_3 -Lösung geschüttelt und wiederum eingengt. Der farblose Sirup kristallisierte über Nacht bei Raumtemp. und konnte aus Äther/Pentan umkristallisiert werden. Schmp. 95°C. Ausb. 183 mg (73%). $[\alpha]_D^{20} = +5^\circ$ ($c = 1$ in CDCl_3).

$\text{C}_{19}\text{H}_{30}\text{O}_{10}$ (418.4) Ber. C 54.54 H 7.23 Gef. C 54.70 H 7.03

3-C-Hydroxymethyl-1,2-O-isopropyliden- α -D-allofuranose (7): 450 mg 6 in 10 ml absol. Methanol wurden mit 3 ml einer Lösung von 125 mg Natrium in 25 ml absol. Methanol versetzt. Nach 30 min war dünnschichtchromatographisch (C) kein Ausgangsprodukt mehr nachweisbar. Die Lösung wurde mit Ionenaustauscher Amberlite IR 120 H^+ neutralisiert, am Rotationsverdampfer zum Sirup eingengt und an der Ölpumpe über P_4O_{10} getrocknet. Ausb. 320 mg Sirup (96%). $[\alpha]_D^{20} = +30^\circ$ ($c = 1$ in CDCl_3).

$\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}_7$ (250.2) Ber. C 47.99 H 7.25 Gef. C 48.21 H 7.05

3-C-Hydroxymethyl-1,2-O-isopropyliden- α , α' -D-ribo-dialdo-furano-furanose-(5,3') (9): 300 mg 7 in 30 ml Wasser wurden bei 0°C unter Rühren tropfenweise (1 Tr./s) mit einer Lösung von 340 mg NaJO_4 in 20 ml Wasser versetzt. Unmittelbar nach Beendigung des Zutropfens war dünnschichtchromatographisch (A) keine Ausgangsverbindung mehr nachweisbar. Die Lösung wurde am Rotationsverdampfer bei 40°C auf etwa 20 ml eingengt, mit NaCl gesättigt und sechsmal mit je 50 ml Chloroform extrahiert. Die Chloroformphase wurde mit Na_2SO_4 getrocknet, eingedampft und der kristalline Rückstand aus Äther/Pentan umkristallisiert. Schmp. 115–116°C. Ausb. 187 mg (72%). $[\alpha]_D^{20} = +68^\circ$ ($c = 1$ in CHCl_3).

NMR (CDCl₃): 1-H δ 5.86 d ppm, 2-H 4.43 d, 3'- und 3''-H 4.04 q, 4-H 4.26 s, 5-H 5.35 s, 3-OH und 5-OH 3.20, Isoprop. 1.36 s und 1.55 s. $J_{1,2}$ 3.6, $J_{3',3''}$ 10.0, $J_{4,5}$ 0.5 Hz.

C₉H₁₄O₆ (218.2) Ber. C 49.96 H 6.47 Gef. C 50.02 H 6.52

3-C-Hydroxymethyl-1,2-O-isopropyliden-α-D-ribofuranuronsäure-(5,3')-lacton (10): Eine Lösung von 170 mg **9** in 6 ml Wasser wurde unter intensivem Rühren mit 500 mg BaCO₃ und tropfenweise bis zur bleibenden Gelbfärbung mit 4 ml Bromwasser (gesättigte Lösung) versetzt. Danach war dünnschichtchromatographisch (A) kein Ausgangsprodukt mehr nachweisbar. Es wurde filtriert und überschüssiges Brom bei Raumtemp. am Rotationsverdampfer abgezogen. Die farblose Lösung wurde zur Entfernung der Bromid-Ionen 1 h mit 600 mg Ag₂CO₃, dann mit saurem Ionenaustauscher (Amberlite IR 120 H⁺) bis zur sauren Reaktion gerührt, filtriert und eingedampft. Der Rückstand wurde mehrmals mit Benzol nachdestilliert, 1 d i. Hochvak. über P₄O₁₀ stengelassen und danach dreimal mit je 50 ml Chloroform behandelt. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer abgezogen, wobei eine farblose, kristalline Masse zurückblieb, die sich aus Äther/Pentan umkristallisieren ließ. Schmp. 134°C, Ausb. 105 mg (62%). $[\alpha]_D^{20} = +57^\circ$ (c = 1 in CHCl₃).

NMR (CDCl₃): 1-H δ 6.02 ppm d, 2-H 4.46 d, 3'- und 3''-H 4.34 q, 4-H 4.35 s, Isoprop. 1.41 s und 1.60 s. $J_{1,2}$ 3.5, $J_{3',3''}$ 10.0 Hz.

C₉H₁₂O₆ (216.2) Ber. C 50.00 H 5.58 Gef. C 50.02 H 5.72

3-C-Hydroxymethyl-D-riburonsäure (11–13): 45 mg **10** wurden in 1 ml 90proz. Trifluoressigsäure gelöst und 5 h bei Raumtemp. stengelassen. Danach wurde die Lösung am Rotationsverdampfer unter Hochvak. zum Sirup eingedampft. Ausb. 34 mg Sirup. $[\alpha]_D^{20} = -28^\circ$ (c = 0.5 in Methanol).

C₆H₁₀O₇ (194.2) Ber. C 37.10 H 5.19 Gef. C 36.48 H 4.75

Zur gaschromatographischen Untersuchung wurden 10 mg des Sirups 1 d i. Hochvak. über P₄O₁₀ aufbewahrt und dann mit Pyridin/Hexamethyldisilazan/Chlortrimethylsilan (10:2:1) trimethylsilyliert. Das Reaktionsgemisch wurde eingedampft, in Benzol aufgenommen und dann in den Gaschromatographen eingespritzt.

[156/74]