

CHROM. 9338

PRÄPARATIVE ZUGÄNGE ZU MANNOBIOSE UND LAMINARIBIOSE

JOACHIM THIEM*, AXEL SIEVERS und HORST KARL

Institut für Organische Chemie und Biochemie der Universität, Martin-Luther-King-Platz 6, D-2000 Hamburg 13 (B.R.D.)

(Eingegangen am 4. März 1976; geänderte Fassung eingegangen am 22. April 1976)

SUMMARY

Preparative approach to mannobiose and laminaribiose

For synthetic purposes mannobiose is isolated from the polysaccharide mannan of ivory nut flower. The chain length of mannan A is determined to approximately 15 mannose units on average with a definite distribution from 5 to 25 mannose units. Acetolysis is optimized and yields 41% mannobiose. The separation on Sephadex G-15 yields pure mannobiose, and in addition its higher homologues in gram amounts. Detection of the eluates is performed using a differential refractometer. Correspondingly laminaribiose can be obtained from the polysaccharides laminaran (brown algae *Laminaria hyperborea*) and pachyman (fungus *Poria cocos* Wolf, Bukuryo) by selectively optimized acetolysis in 30% yield. Depending on the starting material separations are favourably performed on silica gel or on Sephadex G-15. Laminaribiose and its higher homologues are obtained in gram amounts.

EINLEITUNG

Für die Synthese bestimmter, modifizierter Disaccharide in Antibiotika wie Chlorothricin und Olivomycin erschien die präparative Gewinnung gut zugänglicher Disaccharide und deren gezielte Umwandlung sinnvoll.

Als Ausgangsmaterial wird in dem einen Fall Mannobiose, 4-O-(β -D-Mannopyranosyl)-D-mannose, benötigt, in der eine 1,2-*cis*-Verknüpfung vorliegt. Wir haben daher Untersuchungen zur Isolierung dieses Disaccharids aus dem Steinnussmannan (*Phythelepas macrocarpa*) in präparativem Massstab unternommen.

Ein synthetischer Zugang zu Laminaribiose, 3-O-(β -D-Glucopyranosyl)-D-glucose, ist zwar vorhanden¹⁻³, doch auch in neueren Untersuchungen⁴ können die Ausbeuten nicht wesentlich verbessert werden. Demnach erscheinen die vorliegenden Methoden weniger geeignet, um präparativ handhabbare Mengen Laminaribiose für synthetische Arbeiten zu gewinnen. Wir haben daher nach Möglichkeiten gesucht, Laminaribiose aus gut verfügbaren Naturstoffen in präparativen Mengen zu isolieren.

Als Ausgangsmaterial dient einerseits Laminaran, ein (1 \rightarrow 3)- β -D-Glucan, das in den Phylloiden von *Laminaria hyperborea* vorkommt^{5,6} und andererseits Pachyman⁷⁻¹⁰, ein langkettiges (1 \rightarrow 3)- β -D-Glucan, das im Pilz *Poria cocos* Wolf, Bukuryo zu über 90% enthalten ist.

* Korrespondenzautor.

EXPERIMENTELLER TEIL

Materialien

*Mannan A und Mannan B aus Steinnussmehl*¹¹⁻¹³. 150 g Steinnussmehl werden 10 Stunden mit Methanol-Benzol (1:1) extrahiert und bei 50° im Vakuum getrocknet. 100 g des entfetteten Mehls werden zu einer 65° heissen Lösung von 500 g Natriumchlorid in 5 l Wasser gegeben, 500 ml Eisessig zugesetzt und 24 Stunden bei 30° gerührt. Nach Abfiltrieren wird der Rückstand mehrmals mit Wasser und Methanol gewaschen und bei 50° im Vakuum getrocknet. 50 g des so behandelten Materials werden mit 2 l 6%iger Natronlauge 3 Tage gerührt. Der Rückstand, bestehend aus Mannan B, wird abfiltriert, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Das Filtrat wird mit 200 ml Eisessig versetzt und durch Zugabe von 2 l Methanol Mannan A ausgefällt. Der Niederschlag wird abfiltriert, mit Wasser und Methanol gewaschen und getrocknet. Die Ausbeute an reinweissem Mannan A beträgt 22 g (44%). $[\alpha]_D^{20} = -50.0^\circ$ (*c* 1.2, 1 *N* NaOH); Lit. 14: $[\alpha]_D^{20} = -44.7^\circ$.

*Wasserunlösliches Laminaran (I) und wasserlösliches Laminaran (II) aus Laminaria hyperborea*¹⁵. 1 kg luftgetrockneter Phylloide von *Laminaria hyperborea* (Ernte im Oktober 1974 in ca. 2 m Wassertiefe auf den Nathurnklippen in der Helgoländer Bucht) werden in einem Hammerschlagwerk zerkleinert, in einer Kugelmühle gemahlen und das trockene Algenpulver gesiebt (Maschendurchmesser 0.2 mm). Die analytische Bestimmung des Gesamtlaminarangehaltes¹⁶ gibt 23% Laminaran I und II in den verwendeten Phylloiden.

50 g Algenpulver werden mit 500 ml 0.09 *N* Salzsäure 35 Min bei Raumtemperatur mit 800-1000 U/min gerührt. Die unlöslichen Algenreste werden abzentrifugiert, mit je 100 ml 70° warmer 0.09 *N* Salzsäure und zweimal 100 ml Wasser nachgewaschen, die vereinigten Filtrate auf 500 ml eingengt und eine Woche bei Raumtemperatur belassen. Wasserunlösliches Laminaran I kristallisiert aus, wird abfiltriert, mit Äthanol und Äther gewaschen und im Vakuum getrocknet. Die Ausbeute beträgt 4 g Laminaran I (8%). Das Filtrat wird mit 3 l Aceton versetzt und zwei Tage belassen. Wasserlösliches Laminaran II fällt aus, wird abfiltriert, mit Äthanol und Äther gewaschen und im Vakuum getrocknet. Die Ausbeute beträgt 6 g Laminaran II (12%).

Pachyman aus Poria cocos Wolf. 1 kg halbgetrockneter Pilze wird geschält, gemörsert und über Calciumchlorid im Vakuum bei 50° getrocknet. Anschließend wird das Pilzpulver je 15 Stunden mit Toluol und Äthanol extrahiert und der Rückstand nochmals 3 Tage getrocknet. Die Ausbeute an Pachyman beträgt 900 g (90%).

Kettenlängenbestimmung von Mannan A. Die Gelchromatographie wird auf einer 2.5 × 46 cm Säule mit Sephadex G-25 superfine in 1%iger Natronlauge durchgeführt. Einige Kristalle Blaues Dextran ($M > 2 \cdot 10^6$) werden in 0.1 ml 1 *N* Natronlauge gelöst auf die Säule aufgetragen. Nach 10 ml Elutionsvolumen werden 10 mg Mannan A mit 10 mg Polyäthylenglykol 500 ($M = 450-500$) in 0.2 ml 1 *N* Natronlauge gelöst und ebenfalls auf die Säule aufgetragen. Eluiert wird mit 1%iger Natronlauge bei einer Flussgeschwindigkeit von 11 ml/h. Die Aufnahme des Elutionsdiagramms erfolgt mit einem Durchfluss-UV-Spektrometer (LKB, Uvicord III) bei 206 nm, wo Blaues Dextran, Mannan A und Polyäthylenglykol absorbieren.

Zur Überprüfung werden die einzelnen Fraktionen zusätzlich untersucht. Blaues Dextran ist direkt zu erkennen; zum Nachweis von Polyäthylenglykol werden

die Fraktionen auf Kieselgelfolie getüpfelt, mit Essigsäure neutralisiert und mit Draggendorf-Reagenz¹⁷ angefärbt. Polyäthylenglykol zeigt sich durch intensiv orange Flecken. Die Reaktion der Fraktionen mit Phenol-Schwefelsäure¹⁸ und Messung der Absorption bei 480 nm dient der Detektion der saccharidhaltigen Eluate. Polyäthylenglykol stört diesen Nachweis nicht.

Acetolysen

Acetolyse von Mannan A. 50 g Mannan A werden mit 500 ml Acetanhydrid, 500 ml Eisessig und 12.5 ml konz. Schwefelsäure 20 Stunden bei 80° gerührt. Die warme Lösung wird mit 45 g Natriumacetat in 100 ml Eisessig versetzt und das Reaktionsgemisch im Vakuum mehrmals mit Toluol azeotrop abgezogen. Es wird in 500 ml Chloroform aufgenommen, von den Salzen abfiltriert und im Vakuum zur Trockne eingedampft.

Das peracetylierte Oligosaccharidgemisch wird in 300 ml absol. Methanol gelöst und mit 0.2 N methanolischer Natriummethylatlösung auf pH 8 eingestellt. Über Nacht wird bei Raumtemperatur belassen, dann mit 200 ml Wasser versetzt, mit Amberlite IR 120 (H⁺) neutralisiert und mit Aktivkohle entfärbt. Einengen im Vakuum gibt das deacetylierte Oligosaccharidgemisch als weissen festen Schaum. Die Ausbeute ist 45 g (90%).

Acetolyse von Pachyman. 29 g Pachyman werden mit 180 ml Acetanhydrid, 180 ml Eisessig und 9 ml konz. Schwefelsäure 5.5 Stunden bei 80° gerührt. Das heisse Reaktionsgemisch wird mit 27 g Natriumacetat versetzt und Acetanhydrid sowie Eisessig mit Toluol azeotrop im Vakuum abgezogen. Das Acetolysegemisch wird mit 60 ml absol. Pyridin aufgenommen, 10 ml Acetanhydrid hinzugefügt und 14 Stunden bei Raumtemperatur belassen. Acetanhydrid und Pyridin werden im Vakuum mit Toluol abgezogen, der Rückstand in 400 ml Chloroform aufgenommen, mit Aktivkohle behandelt und von den Salzen und Kohle abfiltriert und eingengt.

Das peracetylierte Acetolysegemisch wird in 450 ml 0.04 N methanolischer Natriummethylatlösung gelöst und 2.5 Stunden bei 20° gerührt, bis die dünnschichtchromatographische Kontrolle (Laufmittel, Äther) kein acetyliertes Produkt zeigt. Nach Zugabe von 200 ml Wasser wird mit Amberlite IR 120 (H⁺) neutralisiert. Nach dem Einengen und mehrmaligen Abziehen mit Methanol verbleibt das deacetylierte Oligosaccharidgemisch als weisser fester Schaum. Die Ausbeute beträgt 24.5 g (85%).

Acetolyse von Laminaran I. Die Acetolyse von Laminaran I und die nachfolgende Deacetylierung wird in der gleichen Weise wie bei Pachyman vorgenommen.

Trennungen

4-O-(β-D-Mannopyranosyl)-β-D-mannopyranose (β-D-Manniose). 4 g deacetyliertes Acetolysegemisch aus Mannan A werden in 12 ml Wasser gelöst und über flow-adaptor auf eine 5 × 100 cm Säule (K 50/100; Pharmacia, Uppsala, Schweden) mit Sephadex G-15 aufgetragen. Es wird mit Wasser bei einer Fliessgeschwindigkeit von 58 ml/h eluiert. Die Fraktionierung wird mittels Differentialrefraktometer (R 404, Waters, Königstein, B.R.D.) und dünnschichtchromatographisch auf Kieselgelfolie (KG 60 F₂₅₄, Merck, Darmstadt, B.R.D.) mit Laufmittel Isopropanol-Methanol-Wasser (5:1:1) (Detektion durch Sprühen mit 20%iger Schwefelsäure und Wärmebehandlung) überprüft. Ausbeuten über alle Fraktionen, 3.65 g (91%); 1.24 g Man-

nose (34%), 1.5 g Mannobiose (41%) und 0.91 g Tri-, Tetra- und höhere Mannooligomere (zusammen 25%).

β -D-Mannobiose wird aus Methanol-*n*-Butanol umkristallisiert. Ausbeute kristallin, 1.1 g (73%). Fp, 198° (Lit. 19: Fp, 202–203°); $[\alpha]_D^{20} = -8.0^\circ$ (*c* 1, H₂O) [Lit. 19: $[\alpha]_D^{19} = -8.5^\circ$ (H₂O)]. C₁₂H₂₂O₁₁ (342.3): berechnet, C 42.11%, H 6.48%; gefunden, C 41.97%, H 6.60%.

3-*O*-(β -D-Glucopyranosyl)-D-glucopyranose (D-Laminaribiose). 4 g deacetyliertes Acetolysegemisch aus Pachyman oder Laminaran I werden in 12 ml Wasser gelöst und über flow-adaptor auf eine 5 × 100 cm Säule (K 50/100, Pharmacia) mit Sephadex G-15 aufgetragen. Als Laufmittel wird Wasser verwendet, die Elutionsgeschwindigkeit beträgt 58 ml/h. Die Untersuchung der einzelnen Fraktionen erfolgt dünnschichtchromatographisch auf Kieselgelfolie (KG 60 F₂₅₄; Merck) mit Laufmittel *n*-Butanol-Methanol-Wasser (3:1:1) und mittels Differentialrefraktometer (R 404; Waters). Ausbeute über alle Fraktionen, 3.3 g (82.5%); 0.92 g Glucose (28%), 1.0 g Laminaribiose (30%) und 1.38 g Tri-, Tetra- und höhere Oligomere (zusammen 42%).

D-Laminaribiose wird aus wässrigem Methanol kristallisiert. Ausbeute kristallin, 0.77 g (77%). Fp, 202–204° (Lit. 1–3: Fp, 202–204°); $[\alpha]_D^{20} = +24.9^\circ$ nach 20 Min; +19° nach 24 Stunden (*c* 0.85, H₂O) [Lit. 1–3: $[\alpha]_D^{22} = +24.9^\circ$ nach 15 Min; +18.6° nach 12 Stunden (*c* 2.5, H₂O)]. C₁₂H₂₂O₁₁ (342.3): berechnet, C 42.11%, H 6.48%; gefunden, C 41.60%, H 6.53%.

1,2,4,6-Tetra-*O*-acetyl-3-*O*-(2',3',4',6'-tetra-*O*-acetyl- β -D-glucopyranosyl)- α -D-glucopyranose (α -D-Laminaribioseoctaacetat). 3 g peracetyliertes Oligosaccharidgegemisch aus der Acetolyse von Pachyman oder Laminaran I werden in 5 ml Äther gelöst und an 130 g Kieselgel G 60 (Merck) auf einer 3 × 100 cm Säule mit Äther als Elutionsmittel fraktioniert. Die Fraktionen werden dünnschichtchromatographisch identifiziert. Laufmittel, Äther oder Toluol-Aceton (3:1); Anfärbung mit konz. Schwefelsäure und Wärmebehandlung. Ausbeuten: 800 mg α -D-Glucosepentaacetat (26.6%) und 900 mg α -D-Laminaribioseoctaacetat (30%); die höheren Oligosaccharidperacetate wurden nicht isoliert.

Die Disaccharidfraktion wird aus Äthanol kristallisiert. Ausbeute kristallin, 810 mg (90%). Fp, 82.5°, (Lit. 1–3: Fp, 77°); $[\alpha]_D^{20} = +21.9^\circ$ (*c* 1.02, CHCl₃) [Lit. 1–3: $[\alpha]_D^{25} = +20^\circ$ (CHCl₃)]. C₂₈H₃₈O₁₉·C₂H₅OH (724.7): berechnet, C 49.72%, H 6.12%; gefunden, C 49.99%, H 6.37%.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Die Kettenlänge des Mannan A ist verschiedentlich durch Permethylierung und nachfolgenden hydrolytischen Abbau zu 80¹⁴ bzw. 10–15²⁰ Mannoseeinheiten je Kette bestimmt worden. Eine erneute Untersuchung der Verteilung der Kettenlängen in dem vorliegenden Mannan A zur Erzielung günstiger Spaltungsbedingungen erscheint erforderlich. Die Molekulargewichtsverteilungsbestimmung von Mannan A mit Blauem Dextran und Polyäthylenglykol an Sephadex G-25 in 1%iger Natronlauge (Fig. 1) gibt nach der Auftragung des Logarithmus des Molekulargewichts (log M) gegen den Verteilungskoeffizienten K_{av} (Fig. 2) eine Molekulargewichtsverteilung für Mannan A von 840 bis 4100. Damit enthält das vorliegende Mannan A Kettenlängen von 5 ± 1 bis 25 ± 3 Mannoseeinheiten, im arithmetischen Mittel demnach 15 ± 2

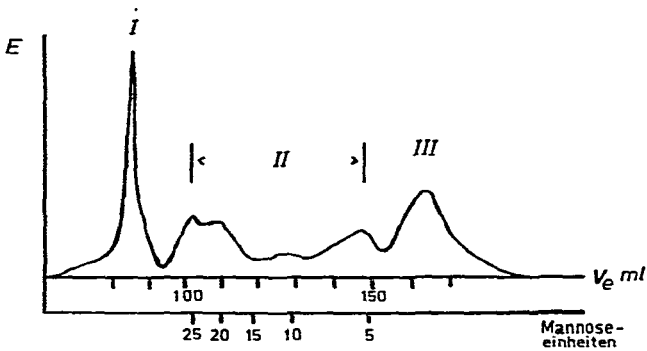


Fig. 1. Elutionsdiagramm der Trennung von (I) blauem Dextran, (II) Mannan A und (III) Polyäthylenglykol. Säule, 2,5 × 46 cm Sephadex G-25 superfine. Probevolumen, 0,2 ml; Fließgeschwindigkeit, 11 ml/h. Ordinate, Extinktion; obere Abszisse, Elutionsvolumen (ml); untere Abszisse Mannoseeinheiten (berechnet).

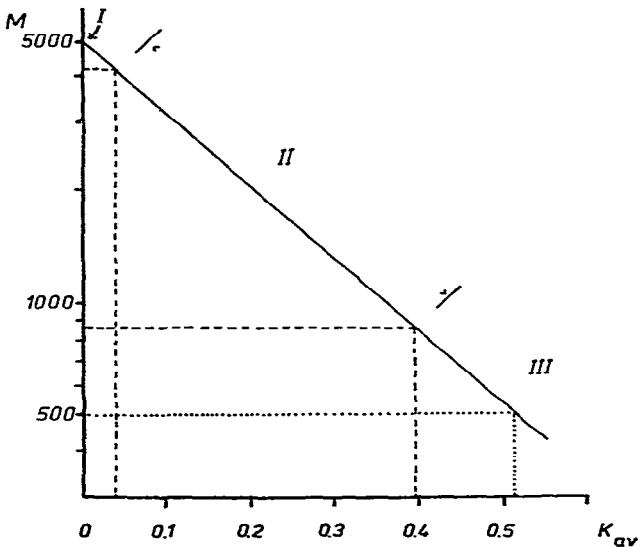


Fig. 2. Darstellung von Verteilungskoeffizient K_{av} gegen Molekulargewicht (M) an Sephadex G-25 superfine. Ordinate, M logarithmisch. I, Blaues Dextran; II, Eichpunkt der oberen Trenngrenze Mannan A; III, Polyäthylenglykol.

in guter Übereinstimmung mit früheren Befunden²⁰. Die niederen (5–7) und die höheren (17–25) überwiegen gegenüber den mittleren Ketten (7–17) wie Fig. 1 zeigt.

Zur Spaltung des Mannan A erweist sich die Acetolyse verschiedenen anderen, sauren hydrolytischen Spaltungen erheblich überlegen. Dies liegt an der besseren Löslichkeit von Mannan A im Acetolysegemisch, sowie an der gegenüber der sauren Hydrolyse gesteigerten Spaltungsgeschwindigkeit^{21,22} von vereinzelt in Steinnussmannan auftretenden unerwünschten glykosidischen 1 → 6-Verknüpfungen²⁰.

Durch sorgfältige Reihenversuche gelingt eine Optimierung der Acetolysebedingungen, so dass 41% Mannobiose neben 34% Mannose und 25% Mannotriose,

Mannotetraose und höheren Oligomeren gewonnen werden. Bei geringen Änderungen dieser Bedingungen nehmen durchweg die Bildung des Monosaccharids oder ein geringerer Abbau des Oligosaccharids überhand. Offenbar wird hier der theoretische Maximalwert von 30% Disaccharid²³ unter der Voraussetzung einer gleichen Spaltungsgeschwindigkeit der Glykosidbindungen in allen vorliegenden Oligomeren überschritten. Eine geringere Spaltungsgeschwindigkeit der Glykosidbindungen in den Mannooligomeren mit abnehmender Kettenlänge dürfte hierfür massgebend sein.

Eine Peracetylierung der Mannane verbessert die Ausbeuten bei der Acetolyse gegenüber den optimierten Versuchsbedingungen nicht. Die der Acetolyse vorgelagerte Peracetylierung hat also keinen Einfluss auf den Verlauf des Spaltungsvorganges selbst. In Anlehnung an die bestehenden Vorstellungen²⁴ über die Acetolysemechanismen bei Sacchariden wäre auch die Bildung α -verknüpfter Mannooligomere zu erwarten. Unter den milden Acetolysebedingungen lassen sich in keinem Versuch derartige Isomere nachweisen, weshalb andere, bisher ungeklärte Abläufe der Spaltung der glykosidischen Bindungen anzunehmen sind.

Hydrolysen von Laminaran I und II, die sich in der Kettenlänge sowie in der Art der Verzweigung der Ketten und mithin der Wasserlöslichkeit unterscheiden^{25,26}, sind schon früher durchgeführt worden und ergaben bis zu 15% Laminaribiose^{15,27-29}, während Acetolysen^{21,22,30} zu etwas günstigeren Ergebnissen führten. Wir haben für Laminaran I und Pachyman gleichermaßen Acetolysebedingungen entwickelt, nach denen 30% Laminaribiose neben 28% Glucose und 42% Tri-, Tetra- und höhere (1 \rightarrow 3)- β -D-Glucane gewonnen werden. Die übereinstimmenden Ausbeuten an Disaccharid bei den Acetolysen von Laminaran I und Pachyman deuten daraufhin, dass in beiden Oligosacchariden und den aus ihnen entstehenden Bruchstücken die vorliegenden Glykosidbindungen mit vergleichbarer Geschwindigkeit gespalten werden. Damit ist auch in Anlehnung an die Ableitung von Kuhn³¹ mit diesen Acetolysebedingungen das Ausbeuteoptimum von 30% erreicht.

Nach den mechanistischen Vorstellungen über die Acetolyse^{32,33} sollte man ebenfalls anomerisierte Disaccharide erwarten, wie auch in einigen Fällen beschrieben wurde^{34,35}. Während jedoch die Acetolyse von Laminaribiose selbst 37% Nigeroseoctaacetat liefern soll²⁴, werden hier ausschliesslich β -(1 \rightarrow 3)-verknüpfte Glucane aufgefunden, wie sich durch Überprüfung aller analytischen Daten (Festpunkt, optische Drehung und ¹H-NMR-Spektren) zeigen lässt. Dieser Befund dürfte eine Überprüfung der mechanistischen Vorstellungen der Acetolyse unter den angewandten Bedingungen nahelegen.

Zur Trennung der deacetylierten Acetolysemischungen können Celite-Kohlesäulen mit Wasser-Äthanol-Gemischen¹⁹ als Eluens eingesetzt werden. Die Trennungen lassen sich zwar gut durchführen, erweisen sich aber als sehr zeit- und arbeitsaufwendig und erscheinen für präparative Trennungen wenig geeignet, da zudem nur ca. 50% der aufgetragenen Substanz zurückgewonnen wird. Besonders vorteilhaft gestaltet sich, auch wegen des geringen Substanzverlustes, die gelchromatographische Trennung der Oligosaccharidgemische an Sephadex G-10 oder G-15. Bei den Typen G-25 konnte früher bei vergleichbaren Problemen im analytischen Massstab^{36,37} keine Basislinientrennung erreicht werden. Der Typ G-10 trennt Mono- und Disaccharide gut, nicht jedoch die höheren Oligomeren. Da neben dem Di- auch das Trisaccharid gewonnen werden sollte, werden die Trennungen erfolgreich mit Sephadex G-15 vorgenommen.

Als besonders günstig erweist sich die Detektion der Eluate mittels Differentialrefraktometrie. Diese ist den recht aufwendigen und weniger genauen, bisher allgemein verwendeten Anfärbeverfahren mit nachfolgender UV-Messung^{38,39}, bei denen zusätzlich komplizierte Eluatstromaufspaltungen und dosierte Zuführung von Reagenzlösung verlangt werden⁴⁰, überlegen. Die angezeigten Fraktionen (vgl. Fig. 3) sind direkt verwendbar.

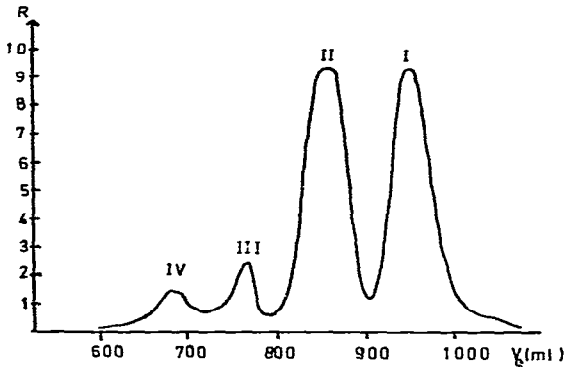


Fig. 3. Elutionsdiagramm der Trennung von β -(1 \rightarrow 4)-Mannanen an Sephadex G-15. I, Mannose; II, Mannobiose; III, Mannotriose; IV, Mannotetraose. Ordinate, Brechungsindex (relativ); Abszisse, Elutionsvolumen (ml). Säule, 5×100 cm. Fließgeschwindigkeit, 58 ml/h.

Die Trennung der peracetylierten Oligomeren aus dem Acetolysegemisch an Kieselgel lässt sich gut bei den Acetolysaten aus Laminaran I anwenden. Man gewinnt dabei aus der reinen Disaccharidfraktion α -D-Laminaribioseoctaacetat in 90% Ausbeute kristallin, die restlichen 10% sind 2,3,4,5,6-Penta-O-acetyl-1-O-(2',3',4',6'-tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranosyl)-D-mannit, dessen Bildung durch Acetolyse auf die Anwesenheit von Mannitresten am Ende der Glucanketten im Laminaran^{41,42} zurückgeht.

Zur Anwendung der Gelchromatographie an Sephadex G-15 wird die Deace-

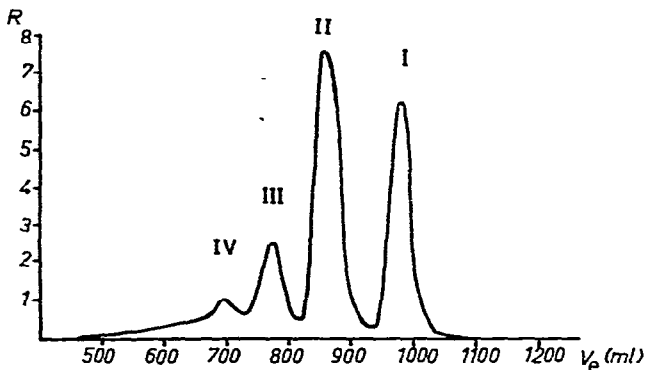


Fig. 4. Elutionsdiagramm der Trennung von β -(1 \rightarrow 3)-Glucanen an Sephadex G-15. I, Glucose; II, Laminaribiose; III, Laminaritriose; IV, Laminaritetraose. Ordinate, Brechungsindex (relativ); Abszisse, Elutionsvolumen (ml). Säule, 5×100 cm. Fließgeschwindigkeit, 58 ml/h.

tylierung des Peracetatgemisches aus der Acetolyse wegen der Alkalilabilität der β -(1 \rightarrow 3)-Glykosidbindung^{43,44} sehr schonend bei Raumtemperatur über einige Stunden vorgenommen. Die Trennung (Fig. 4) ist hier im Wesentlichen auf die Acetolysate aus Pachyman beschränkt, da bei den Laminaranacetolysaten das Glycosylmannit in den Disaccharidfraktionen mit auftritt und schwierig durch fraktionierte Kristallisation von Laminaribiose abgetrennt werden kann.

DANK

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die Förderung der Untersuchungen. Herrn Dr. K. Lüning, Helgoland, danken wir für die Bereitstellung von *Laminaria hyperborea*, Herrn Dr. Y. I. Park, Hamburg, Herrn Dr. R. J. Sturgeon, Edinburgh, und Herrn Prof. Dr. K. Nisizawa, Tokyo, für die Beschaffung und Überlassung von Proben Bukuryo.

ZUSAMMENFASSUNG

Zur Gewinnung präparativ nutzbarer Mengen Mannobiose, 4-O-(β -D-Mannopyranosyl)-D-mannose, für synthetische Zwecke wird vom Polysaccharid Mannan aus Steinnussmehl ausgegangen. Die Kettenlängenbestimmung von Mannan A ergibt im Mittel ca. 15 Mannoseeinheiten mit einer bestimmten Verteilung von 5 bis 25 Einheiten. Die Acetolyse wird optimiert und gibt 41% Mannobiose. Die Trennung an Sephadex G-15 liefert reine Mannobiose neben höheren Homologen im Grammassstab. Die Detektion der Eluate mittels Differentialrefraktometer erweist sich als sehr vorteilhaft. Laminaribiose, 3-O-(β -D-Glucopyranosyl)-D-glucose, wird entsprechend aus den Polysacchariden Laminaran (der Braunalge *L. hyperborea*) und Pachyman (des Pilzes *Poria cocos* Wolf, Bukuryo) durch gezielt optimierte Acetolyse in 30%iger Ausbeute zugänglich. Je nach Art des Ausgangsmaterials werden Trennungen an Kieselgel oder an Sephadex G-15 bevorzugt. Laminaribiose und ihre höheren Homologen lassen sich in Grammengen gewinnen.

LITERATUR

- 1 P. Bächli und E. G. V. Percival, *J. Chem. Soc.*, (1952) 1243.
- 2 P. A. Finan, Galway, Irland, Privatmitteilung, 1973.
- 3 N. K. Kochetkov und A. F. Bochkov, *Meth. Carbohydr. Chem.*, 6 (1972) 480.
- 4 J. Thiem und H. Karl, in Vorbereitung.
- 5 E. Percival und M. Young, *Carbohydr. Res.*, 32 (1974) 195.
- 6 K. Lüning, *Helgoländer Wiss. Meeresuntersuch.*, 21 (1970) 271.
- 7 S. A. Warsi und W. J. Whelan, *Chem. Ind.*, (1957) 1573.
- 8 A. E. Clarke und B. A. Stone, *Rev. Pure Appl. Chem.*, 13 (1963) 134.
- 9 H. Saito, A. Misaki und T. Harada, *Agr. Biol. Chem.*, 32 (1968) 1261.
- 10 G. C. Hoffmann, B. W. Simson und T. E. Timell, *Carbohydr. Res.*, 20 (1971) 185.
- 11 S. K. Chanda, E. L. Hirst, J. K. N. Jones und E. G. V. Percival, *J. Chem. Soc.*, (1950) 1289.
- 12 H. J. Wheeler und B. Tollens, *Justus Liebigs Ann. Chem.*, 254 (1889) 306.
- 13 E. Schmidt und E. Graumann, *Ber. Deut. Chem. Ges.*, 54 (1921) 1860.
- 14 F. Klages, *Justus Liebigs Ann. Chem.*, 509 (1934) 159.
- 15 S. Peat, W. Whelan und H. G. Lawley, *J. Chem. Soc.*, (1958) 724.
- 16 M. C. Cameron, A. G. Ross und E. G. V. Percival, *J. Soc. Chem. Ind.*, 67 (1948) 161.
- 17 K. Thoma, R. Romback und E. Ullmann, *Scientia Pharmaceutica*, 32 (1964) 216.

- 18 R. K. Mauermeyer, E. M. Livingston und H. Zahnd, *J. Biol. Chem.*, 185 (1950) 347.
- 19 G. O. Aspinall, R. B. Rashbrook und G. Kessler, *J. Chem. Soc.*, (1958) 215.
- 20 G. O. Aspinall, E. L. Hirst, E. G. V. Percival und I. R. Williamson, *J. Chem. Soc.*, (1953) 3184.
- 21 K. Fujimoto, K. Matsuda und K. Aso, *Tohoku J. Agr. Res.*, 13 (1962) 55; *C.A.*, 57 (1962) 15211.
- 22 M. L. Wolfrom, A. Thompson und C. E. Timberlake, *Cereal Chem.*, 40 (1963) 82.
- 23 K. Freudenberg, W. Kuhn, W. Dürr, F. Bolz und G. Steinbrunn, *Ber. Deutsch. Chem. Ges.*, 63 (1930) 1510.
- 24 L. Rosenfeld und C. E. Ballou, *Carbohydr. Res.*, 32 (1974) 287.
- 25 E. G. V. Percival und A. G. Ross, *J. Chem. Soc.*, (1951) 720.
- 26 M. Flemming und D. J. Manners, *Biochem. J.*, 94 (1965) 17P.
- 27 V. C. Barry, *Sci. Proc. Royal Dublin Soc.*, 24 (1941) 423.
- 28 V. C. Barry und J. E. McCormick, *Meth. Carbohydr. Chem.*, 1 (1962) 328.
- 29 W. A. P. Black, E. T. Dewar und F. N. Woodward, *J. Sci. Food Agr.*, 12 (1955) 754.
- 30 N. Hada und K. Nisizawa, *Nature (London)*, 192 (1961) 1078.
- 31 W. Kuhn, *Ber. Deut. Chem. Ges.*, 63 (1930) 1503.
- 32 B. Lindberg, *Acta Chem. Scand.*, 3 (1949) 1153.
- 33 R. U. Lemieux, *Advan. Carbohydr. Chem.*, 9 (1954) 1.
- 34 B. Lindberg, *Acta Chem. Scand.*, 3 (1949) 1350.
- 35 J. Janson und B. Lindberg, *Acta Chem. Scand.*, 14 (1960) 877.
- 36 C. E. Ballou, *J. Biol. Chem.*, 245 (1970) 1197.
- 37 G. O. Aspinall, R. Begbie und J. E. McKay, *J. Chem. Soc.*, (1962) 214.
- 38 M. Dubois, K. A. Gilles, J. J. Hamilton, P. A. Rebers und F. Smith, *Anal. Chem.*, 28 (1956) 350.
- 39 H. Sinner, H. H. Dietrichs und M. H. Simatupang, *Holzforschung*, 26 (1972) 218.
- 40 H. Bauer, *Dissertation*, Universität Tübingen, Tübingen, 1975.
- 41 F. B. Anderson, E. Hirst und D. J. Manners, *Chem. Ind.*, (1957) 1178.
- 42 F. B. Anderson, E. Hirst, D. J. Manners und A. G. Ross, *J. Chem. Soc.*, (1958) 3233.
- 43 T. J. Painter, *Chem. Ind.*, (1963) 36.
- 44 W. M. Corbett und J. Kenner, *J. Chem. Soc.*, (1954) 3274.