

Eine neue Acetylierungsmethode für Zucker

Von

V. Prey und A. Aszalos

Aus dem Institut für Organische Chemie der Technischen Hochschule
Wien

Mit 4 Abbildungen

(Eingegangen am 30. Juni 1960)

Die Acetylierung von Zuckern in wäßriger Lösung mit Essigsäureanhydrid in Gegenwart von Alkali wurde studiert.

Es zeigte sich, daß aus Hexosen Tetraacetate, aus Hexiten Pentaacetate und aus Saccharose ein Hexaacetat entsteht.

Glucose gibt ein Tetraacetat, das näher untersucht wurde und das mit der aus der Literatur bekannten 1,3,4,6-Tetraacetylglucose identisch sein dürfte.

Die Methode gibt die Möglichkeit, in einfacher Weise zu Zuckerderivaten zu kommen, die in den gebräuchlichen organischen Lösungsmitteln mehr oder minder löslich sind.

Für die Durchführung verschiedener präparativer Methoden mit Zuckern ist es oft notwendig, diese in nichtwäßrigen Lösungsmitteln zur Umsetzung zu bringen.

Dafür stehen, wie in neuerer Zeit bekannt wurde, eine Reihe von Lösungsmitteln, wie Dimethylformamid, Dimethylsulfoxyd, Pyridin, Methylpyrrolidon usw. zur Verfügung.

Manche Reaktionen kann man aber in diesen Medien nicht durchführen. Nun kann man auch durch Acetylieren, Methylieren, Acetonieren eine Löslichkeit der Zucker in organischen Lösungsmitteln herbeiführen. Diese Methoden sind aber meist zeitraubend und kostspielig.

Wir stellten uns daher die Aufgabe eine Methode zu suchen, um Zucker möglichst einfach und billig in eine Form zu bringen, die gut in organischen Solventien löslich ist, so daß sie so weiteren Umsetzungen zugeführt werden können.

Im Zuge unserer Arbeiten versuchten wir verschiedene Acetylierungsmethoden an Kohlehydraten. Unter diesen haben wir auch die Methode von *G. G. Caldwell* und *O. B. Wurzburg*¹ (Acylierung von Stärke) und von *I. S. Ioffe*² (Acetylierung von aromatischen Aminen mit Essigsäureanhydrid in wäßriger Lösung) mit Glucose versucht.

Diese Methoden verwenden neben Essigsäureanhydrid (Ac_2O) in wäßriger Lösung noch Katalysatoren zur Regelung der Reaktion.

Die Reaktion wird so durchgeführt, daß zur wäßrigen Lösung oder Suspension des Substrates Ac_2O zugegeben wird, wobei das pH durch ständige Zugabe von Alkalien [NaOH oder $\text{Ca}(\text{OH})_2$] schwach alkalisch gehalten ist.

Bei der Acetylierung von Zuckern muß besonders darauf geachtet werden, daß kein Abbau und keine sterische Umlagerung eintritt.

Zur Durchführung der Reaktion lösten wir den Zucker in Wasser und kontrollierten das pH ständig mit einem pH-Meter. Aus einer Bürette wurde nach Bedarf NaOH und aus einem Tropftrichter Ac_2O so zugegeben, daß das pH in gewissen Grenzen gehalten wurde.

Bei Fortschreiten der Reaktion fiel aus der Lösung ein weißes Pulver aus. Dieses wurde von uns abfiltriert und einigemal aus Wasser umkristallisiert.

Um sicher zu sein, daß wir immer dasselbe Produkt erhielten, wurde die Reaktion unter den verschiedensten Bedingungen mit Glucose durchgeführt. Wir variierten das pH, die Konzentration des Zuckers und den Überschuß des verwendeten Essigsäureanhydrids.

Ausgehend von Glucose erhielten wir in allen Fällen in einer Ausbeute von 60—65% ein Produkt vom Schmelzpunkt 97—99° und einer Drehung von $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +63^\circ$. Es ist entsprechend einer Acetylgruppenbestimmung³ als Tetraacetylglucose anzusprechen.

Wir konnten bei unseren Versuchen beobachten, daß die Ausbeute und die Fällungsform des Tetraacetates sehr von den Reaktionsbedingungen abhängig sind. Wir variierten daher die Konzentration der Glucoselösung, das pH von 6—12 und die Menge von Ac_2O , die wir berechnet für Tetraacetat, Penta- und Hexaacetat zum Einsatz brachten. In allen Fällen erhielten wir nur Tetraacetat, also (TAG). In der Übersichtstabelle über die Versuche finden wir in Spalte 2 die Konzentration der Glucoselösung, in Spalte 3 die angewandte Menge Ac_2O . Es entsprechen 2,25 g Ac_2O der Menge, die zur Bildung von Tetraacetat aus 1 g Glucose notwendig ist. Dementsprechend sind für das Pentaacetat 2,83 g und für die Acylierung von 6 OH-Gruppen 3,4 g Ac_2O notwendig. Spalte 5 zeigt die theoret. Ausbeute, berechnet aus dem Verbrauch von NaOH ,

¹ *G. G. Caldwell* und *O. B. Wurzburg*, U. S. Pat. **2**, 668 156 (1954).

² *I. S. Ioffe*, J. Gen. Chem. (USSR) **14**, 812 (1944).

³ *Gattermann-Wieland*: Praxis des organ. Chemikers, Berlin 1956.

Spalte 6 die tatsächlich erhaltene Ausbeute an (TAG) aus den Gewichten der Spalte 8 (Kristallisat + Chloroformextrakt).

Diskussion der Versuchsergebnisse der Übersichtstabelle:

Wie wir beobachteten, ist die theoret. Ausbeute (Vers. Nr. 2, 3) bei nicht zu hoher Verdünnung und pH 7—10 80%, dies entspricht der Bildung von Tetraacetat aus der zur Darstellung von Pentaacetat vorgesehenen Menge Ac_2O .

Bei Verwendung noch höherer Überschüsse von Ac_2O (ber. für 6 OH-Gruppen) ist die Ausbeute nur ca. 60%, wieder entsprechend der Bildung von Tetraacetat. Dies würde bedeuten, daß unter den gewählten Acetylierungsbedingungen nur 4 Hydroxylgruppen acetylierbar sind.

Während der Reaktion fällt der größte Teil der (TAG) aus und nur ein Teil, welcher durch Chloroform ausgeschüttelt werden kann, bleibt in Lösung.

Unter pH 7 (Vers. Nr. 1) ist die theoretische Ausbeute viel kleiner, ebenso in starker Verdünnung (Vers. Nr. 8).

Über pH 10 ist die Ausbeute sehr schlecht (Vers. Nr. 4, 12). Die theoret. Ausbeute wäre 50%, während die tatsächliche nur 10% ist. Die Glucoselösung färbt sich braun und zersetzt sich.

Daß unter pH 7 die Ausbeute schlecht ist, könnte damit erklärt werden, daß ohne Alkali eine Komplexbildung zwischen Ac_2O und Katalysator nicht eintritt und daher die Acetylierung nur langsam vor sich geht.

Über pH 10 treten dann schon Nebenreaktionen durch Zuckerabbau ein, die die Ausbeute beeinflussen.

Abb. 1 zeigt, daß mit zunehmendem pH bis 10 auch die Ausbeuten ansteigen.

Abb. 2 macht die Zusammenhänge zwischen Glucosekonzentration und Ausbeute ersichtlich. Wir haben schon erwähnt, daß bei zu hoher Konzentration der Glucose die (TAG) nur amorph ausfällt, so daß die Filtration schlecht ist. Man arbeitet daher am besten in einer Lösung von 1 g Glucose in 40 ccm Wasser.

Abb. 3 zeigt den Einfluß der Menge des verwendeten Ac_2O auf die Ausbeute bei einem pH 8—10.

Zur Identifizierung unseres Acetylierungsproduktes aus Glucose führten wir noch eine Reihe Untersuchungen durch.

Bei weiterer Behandlung der (TAG) mit Essigsäureanhydrid und konz. Schwefelsäure erhielten wir reine Pentaacetyl- α -D-glucose Schmp. 111° , $[\alpha]_D^{20} = +101^\circ$ in CHCl_3 . (Lit. Schmp. 110 — 111° , $[\alpha]_D^{20} = 101,6^\circ$).

Wir führten unser Produkt (TAG) auch in die entsprechende Tosylverbindung über, welche einen Schmp. von 111 — 113° und eine Drehung von $[\alpha]_D^{20} = +113^\circ$ in CHCl_3 zeigte.

Unsere TAG gab keine Reaktion mit Phenylhydrazin, ist also verschieden von der 2,3,4,6-Tetraacetyl- α -D-glucose, wie sie von *A. Georg*⁴ beschrieben wurde, obwohl sie denselben Schmelzpunkt zeigt.

Wir versuchten noch, ob unsere (TAG) Acylwanderung zeigt. Wir behandelten nach *Helferich* und *Klein*⁵ mit $n/1000$ NaOH während einer Stunde in der Hitze und konnten feststellen, daß die Drehung gegenüber einer mit Wasser unter denselben Bedingungen behandelten (TAG) nicht verändert war. Wir können daher annehmen, daß keine Acylwanderung eingetreten war und unsere Verbindung nicht mit der 1,2,3,4-Tetraacetyl- α -D-glucose identisch sein kann.

Wir methylierten unsere (TAG) mit Methyljodid und Silberoxyd (Katalysator)⁶ und erhielten nach einmaligem Methylieren und Umkristallisieren ein Methylierungsprodukt Schmp. 96–98°, $[\alpha]_D^{20} = 50^\circ$.

Eine Methoxylgruppenbestimmung³ ergab nur 26% des theoretisch erwarteten Wertes für eine Tetraacetyl-methyl-glucose. Dies weist auf eine schwer methylierbare freie Hydroxylgruppe hin.

Aus den von uns durchgeführten Untersuchungen zur Aufklärung des Standortes der freien Hydroxylgruppe können noch keine endgültigen Aussagen gemacht werden.

⁴ *A. Georg*, *Helv. Chim. Acta* **15**, 924 (1932).

⁵ *B. Helferich* und *W. Klein*, *Ann. Chem.* **455**, 178 (1927).

⁶ *P. Brigl* und *R. Schinle*, *Ber. dtsch. Chem. Ges.* **62**, 1716 (1929).

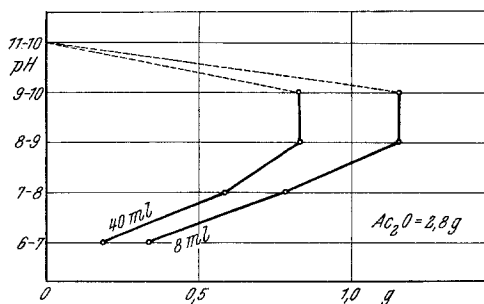


Abb. 1

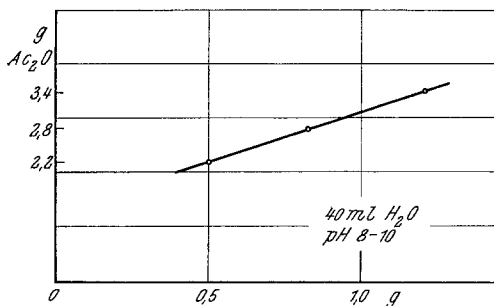


Abb. 2

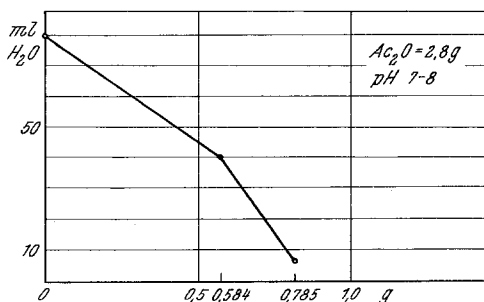


Abb. 3

Wir versuchten dann, auch andere Zucker nach derselben Methode zu acetylieren. Unter den Bedingungen, die wir für Glucose angegeben haben, erhielten wir aus Mannose ein Tetraacetat. Leider konnten wir dieses Produkt nur in amorpher Form durch Ausschütteln der Reaktionsflüssigkeit mit CHCl_3 in 60proz. Ausbeute gewinnen.

Galactose gibt nur eine sehr geringe Ausbeute an Tetraacetat (ca. 25% d. Th.), das durch Ausschütteln mit CHCl_3 ebenfalls nur amorph gewonnen werden kann.

Wir möchten diese geringe Ausbeute bei Galactose gegenüber Glucose und Mannose auf die verschiedene sterische Lage der Hydroxylgruppen in den drei Zuckern zurückführen.

Nach *C. T. Greenwood* und *H. Rossotti*⁷ ist die kristallisierte Glucose (wahrscheinlich auch in Lösung) in der unten im Bild (Abb. 4) angegebenen sterischen Konfiguration vorhanden. Diese Konfiguration hat die größte Wahrscheinlichkeit von 8 verschiedenen Möglichkeiten. Wenn wir vom C—6 absehen, liegt die Hydroxylgruppe am C—3 an der äußersten Position und ist aus dem Molekül herausragend sehr leicht reaktionsfähig. Die Hydroxylgruppe am C—4, die für Glucose und Mannose dieselbe sterische Lage hat, ragt ebenfalls aus dem Molekül heraus und ist dadurch leicht acetylierbar. Im Gegensatz dazu steht die Hydroxylgruppe am C—4 der Galactose und kann durch die Hydroxylgruppe am C—6 stark behindert werden; daher ist sie schwer acetylierbar, was die schlechte Ausbeute an Tetraacetat im Falle der Galactose erklären würde.

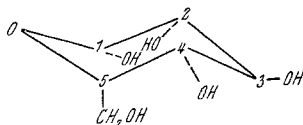


Abb. 4

Wenn wir die sterische Formel in obigem Bild betrachten, so gilt eine sterische Behinderung für die Hydroxylgruppe am Kohlenstoffatom 2 der Glucose, ebenso wie für die Hydroxylgruppe am C—4 der Galactose. Nach diesen Überlegungen und unter der wohl selbstverständlichen Annahme, daß die glykosidische OH-Gruppe am C—1 zuerst acetyliert wird, muß die Hydroxylgruppe am C—2 nur schwer acetylierbar sein.

Es ist interessant, daß ein Methylglucosid, das ebenso gut in Wasser löslich ist wie Glucose, unter den von uns gewählten Bedingungen kein Tetraacetat gibt; dies deutet ebenfalls darauf hin, daß eine Hydroxylgruppe (durch sterische Hinderung) auf diese Weise nicht acetyliert werden kann.

Wir vermuten daher, daß es sich bei unserer (TAG) um die 1,3,4,6-Tetraacetyl- α -D-glucose (Lit. Schmp. 97°) handeln könnte⁸.

⁷ *C. T. Greenwood* und *H. Rossotti*, *J. Polym. Sci.* **27**, 481 (1958).

⁸ *Canad. J. Chem.* **33**, 134 (1955).

Nach der oben beschriebenen Acetylierungsmethode können auch Sorbit und Mannit acetyliert werden und geben beide ein Pentaacetat. Sorbit-pentaacetat: Schmp. 98—99°, $[\alpha]_D^{20} = +9,2^\circ$ (in CHCl_3) wurde in 65proz. Ausbeute erhalten. Penta-acetylmannit erhielten wir in 60proz. Ausbeute, Schmp. 124—125°, $[\alpha]_D^{20} = +24^\circ$ in CHCl_3 .

Wir acetylierten auch Saccharose in wäßriger Lösung und erhielten ein amorphes Produkt, $[\alpha]_D^{20} = +50^\circ$ (in 95proz. Alkohol). Eine Acetylgruppenbestimmung zeigt das Vorliegen von Saccharose-hexaacetat.

Experimenteller Teil

1 g Glucose werden in 40 ml Wasser gelöst und die Lösung mittels eines magnetischen Rührers gerührt. In diese Lösung tauchen die Elektroden eines Beckman-pH-Meters. Dazu läßt man gleichzeitig etwa 6proz. NaOH und Ac_2O so zufließen, daß das pH zwischen 8 und 10 gehalten wird. Zu Beginn läßt man nur langsam zutropfen, bis man das pH gut zwischen 8 und 10 eingestellt hat. Später kann man rascher arbeiten; nachdem zwei Drittel des Ac_2O zugefügt sind, fallen weiße Kristalle. Nach vollständiger Zugabe des Anhydrids soll das pH zwischen 6,8—7,4 erhalten bleiben. Man läßt 6 Stdn. bei Raumtemp. stehen, während dieser Zeit fällt neue (TAG). Es wird abfiltriert und über Nacht bei 65° getrocknet. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus heißem Wasser erhält man 60—70% Ausb. an (TAG). Schmp. 98°, $[\alpha]_D^{18} = +63^\circ$ (absol. CHCl_3).

Durch Ausschütteln der Mutterlauge mit CHCl_3 kann man zusätzlich (TAG) gewinnen.

Übersichtstabelle über die durchgeführten Versuche

| 1 Vers. Nr. | 2 ml H_2O pro 1 g Glucose | 3 g Ac_2O | 4 pH | 5 % d. Th. bez. auf NaOH | 6 Ausb. % | 7 g (TAG) kristall. | 8 g (TAG) gesamt |
|-------------------|--|------------------------------|---------|-----------------------------------|-----------------|---------------------------|------------------------|
| 1 | 40 | 2,83 | 6—7 | 66 | 38 | 0,184 | 0,710 |
| 2 | 40 | 2,83 | 7—8 | 80 | 52 | 0,584 | 1,172 |
| 3 | 40 | 2,83 | 8—10 | 82 | 67 | 0,825 | 1,250 |
| 4 | 40 | 2,83 | 10—11,6 | 48 | 10 | 0,000 | 0,180 |
| 5 | 40 | 3,40 | 8—10 | 58 | 85 | 1,203 | 1,580 |
| 6 | 40 | 2,25 | 8—10 | 75 | 49 | 0,501 | 0,920 |
| 7 | 8 | 2,83 | 7—8 | 81 | 67 | 0,785 | 1,250 |
| 8 | 80 | 2,83 | 7—8 | 68 | 30 | 0,000 | 0,57 |
| 9 | 8 | 2,83 | 6—7 | 74 | | 0,333 | |
| 10 | 8 | 2,83 | 7—8 | 83 | | 0,713 | |
| 11 | 8 | 2,83 | 8—10 | 83 | | 1,148 | |
| 12 | 8 | 2,83 | 10—11,6 | 55 | | 0,000 | |

Pentaacetyl- α -D-Glucose

5 g (TAG) wurden in 50 cem Essigsäureanhydrid suspendiert, 2 cem konz. Schwefelsäure zugegeben und die Mischung 1½ Stdn. am Wasserbad erhitzt, wobei sich die (TAG) löste. Das Reaktionsgemisch wurde in 200 cem Eis-

wasser gegossen und 30 Min. gerührt. Das ausgefallene Pentaacetat wurde abfiltriert, einmal aus Alkohol und einmal aus Wasser umkristallisiert. Schmp. 111° , $[\alpha]_D^{20} = +101^{\circ}$ (in CHCl_3); Ausb. fast quantitativ (Lit. Schmp. 110 — 119 , $[\alpha]_D^{20} = 101,6^{\circ}$).

Acylwanderung

0,1 g (TAG) in 20 ccm n/1000 NaOH wurden am Wasserbad bis zur vollständigen Lösung erhitzt. Die Lösung wurde innerhalb 40 Min. auf 30° abgekühlt und die Drehung gemessen; $[\alpha]_D^{20} = +70^{\circ}$. Derselbe Versuch wurde mit (TAG) in destilliertem Wasser (pH 7) wie oben durchgeführt und ergab dieselbe Enddrehung.

Tetraacetyl-tosyl- α -D-glucose

2 g (TAG) wurden in 15 ccm absol. Pyridin gelöst, 2,2 g p-Toluolsulfochlorid zugefügt und bei Raumtemp. über Nacht stengelassen. Dann wurde in 60 ccm Eiswasser gegossen, das ausgefallene Produkt abfiltriert und 2mal aus Wasser umkristallisiert. Schmp. 111 — 113° , $[\alpha]_D^{20} = +113^{\circ}$ (in CHCl_3).

Tetraacetyl-methylglucose:

1 g (TAG) wurde in 15 ccm CH_3J gelöst, 1 g Ag_2O und 0,5 g Na_2SO_4 zugefügt und 7 Stdn. bei Raumtemperatur geschüttelt. Dann wurde vom Rückstand filtriert, das überschüssige CH_3J im Vak. abdestilliert und der zurückbleibende Sirup in 200 ccm kochendem Wasser aufgenommen. Nach Behandlung mit Aktivkohle kristallisierte ein Produkt, das 2mal aus Wasser umkristallisiert, einen Schmp. von 96 — 98° , $[\alpha]_D^{20} = +50^{\circ}$ (in CHCl_3) zeigte.

$\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$. Ber. CH_3O 8,8. Gef. CH_3O 2,3.

Tetraacetyl-mannose

Tetraacetylmannose wurde in derselben Weise wie (TAG), aber in 10proz. Lösung hergestellt.

Pentaacetyl-sorbit und -mannit

Diese Produkte wurden in derselben Weise dargestellt wie (TAG). Bei Mannit wurde eine 10proz. und bei Sorbit eine 4proz. Lösung verwendet.

Hexaacetyl-saccharose

10 g Saccharose wurden in 15 ccm Wasser gelöst und wie (TAG) acetyliert. Das Produkt fiel zuerst kristallisiert, wurde aber später sirupös. Wenn die Reaktion unterhalb 15° durchgeführt wird, kann die Reaktionsflüssigkeit gut vom Sirup dekantiert und mit CHCl_3 ausgeschüttelt werden. Der Sirup und der Rückstand vom CHCl_3 -Extrakt werden gemeinsam in Methanol gelöst, mit Na_2SO_4 getrocknet und nachher im Vak. bei 50° eingedampft. Das erhaltene Acetylierungsprodukt ist amorph und zeigt $[\alpha]_D^{20} = +50^{\circ}$ in 95proz. Alkohol. Eine Acetylgruppenbestimmung ergibt das Vorhandensein von 6 Acetylgruppen.