

p-Nitro-phenylglykoside von 3-Desoxy-D-arabino-, -D-ribo- und -D-xylo-hexose

von Günther Fahrenheim¹⁾ und Otto Westphal

Aus dem Chemischen Laboratorium der Universität Freiburg i. Br. und dem Max-Planck-Institut für Immunbiologie, Freiburg-Zähringen

Eingegangen am 4. April 1968

Aus Methyl-3-desoxy- α -D-arabino-hexopyranosid (1) wurde fast reines Tetraacetyl-3-desoxy- α -D-arabino-hexopyranosid (3) und daraus durch Schmelze mit *p*-Nitro-phenol + Zinkchlorid sowie anschließende Entacetylierung *p*-Nitro-phenyl-3-desoxy- α -D-arabino-hexopyranosid (5) hergestellt. Analog wurden die *p*-Nitro-phenyl-3-desoxy- α - und - β -D-ribo-hexopyranoside (11 bzw. 12) synthetisiert. Die Acetylierung der aus 1.2;5.6-Diisopropyliden-3-desoxy- α -D-xylo-hexofuranosid (13) erhaltenen 3-Desoxy-D-xylo-hexose (14) ergab — je nach der angewendeten Methode — die bekannten Tetraacetyl-3-desoxy- α - und - β -D-xylo-hexopyranoside (15 bzw. 16), Tetraacetyl-3-desoxy-D-xylo-hexofuranosid (17) und 1.1.2.4.5.6-Hexaacetyl-3-desoxy-D-xylo-hexose (18), deren Struktur durch analytische Daten wahrscheinlich gemacht wird. Aus 15 wurden *p*-Nitro-phenyl-3-desoxy- α - und - β -D-xylo-hexopyranosid (22 bzw. 23), aus 17 wurde das β -Furanosid 24 dargestellt.

Im Rahmen immunchemischer Untersuchungen stellen wir künstliche (sog. chemospezifische) Antigene mit Hexosen als determinante Gruppen her²⁾. Hierzu werden die entspr. Hexosen über ihre *p*-Nitro-phenylglykoside in die entsprechenden *p*-Amino-phenylglykoside übergeführt und diese nach dem Landsteinerschen Azoverfahren³⁾ an ein Trägerprotein gekuppelt.

In serologischen Hemmungsversuchen lassen sich sowohl die beständigen *p*-Nitro-phenylglykoside⁴⁾ als auch die *p*-Amino-phenylglykoside als Haptene verwenden. Auch farbige Haptene⁵⁾, zugänglich aus den *p*-Amino-phenylglykosiden durch Diazokupplung an Aromaten, werden benutzt.

¹⁾ G. Fahrenheim, Auszug aus der Dissertation Univ. Freiburg i. Br. 1968.

²⁾ Siehe z. B.: ^{2a)} S. Stirm, A. M. Staub, B. Leluc, H. Mayer, O. Lüderitz und O. Westphal, Biochem. Z. 344, 401 (1966). — ^{2b)} A. M. Staub, S. Stirm, L. le Minor, O. Lüderitz und O. Westphal, Ann. Inst. Pasteur 111, 47 (1966).

³⁾ K. Landsteiner und H. Lampl, Biochem. Z. 86, 343 (1918); K. Landsteiner, ebenda 93, 106 (1919).

⁴⁾ F. Karush, J. Amer. chem. Soc. 78, 5519 (1956).

⁵⁾ F. Karush, J. Amer. chem. Soc. 78, 3380 (1956).

Wir haben eine Reihe von Versuchen⁶⁾ unternommen, um die serologische Spezifität einer Hexose (als determinante Gruppe eines künstlichen Antigens) mit der Spezifität von entsprechenden Desoxy- und Didesoxy-hexosen (als Haptene) zu vergleichen; in diesen Versuchen soll z. B. D-Galaktose mit 2-, 3-, 4- und 6-Desoxy-D-galaktose sowie mit 2.6-, 3.6- und 4.6-Didesoxy-D-galaktose verglichen werden. Aus den thermodynamischen Größen solcher Gleichgewichtsreaktionen⁷⁾ können dann die Anteile der einzelnen Hydroxylgruppen an der Gesamtbindung des Haptens bestimmt werden.

Im Rahmen dieser Untersuchungen berichten wir in der vorliegenden Arbeit⁸⁾ über die Darstellung der *p*-Nitro-phenylglykoside folgender Hexosen:

3-Desoxy-D-*arabino*-hexose = 3-Desoxy-D-mannose = 3-Desoxy-D-altrose

3-Desoxy-D-*ribo*-hexose = 3-Desoxy-D-glucose = 3-Desoxy-D-allose

3-Desoxy-D-*xyl*o-hexose = 3-Desoxy-D-galaktose = 3-Desoxy-D-gulose⁹⁾.

p-Nitro-phenyl-3-desoxy- α -D-*arabino*-hexopyranosid (5)

3-Desoxy-D-*arabino*-hexose enthält in saurer Lösung bis zu 29% ihres 1.6-Anhydrids¹⁰⁾. Da dieses bei der Herstellung der Zuckeracetate stört, umgingen wir die Stufe des „freien“ Zuckers.

Methyl-3-desoxy- α -D-*arabino*-hexopyranosid^{11, 12)} (1) wurde in Methyl-2.4.6-triacetyl-3-desoxy- α -D-*arabino*-hexopyranosid (2) übergeführt und dieses anschließend der Acetolyse¹³⁾ unterworfen. Dabei erhielten wir in hohen Ausbeuten (vgl. Lit.¹⁴⁾) die sirupöse, dünn-schichtchromatographisch einheitliche Tetraacetyl-Verbindung 3 mit $[\alpha]_D^{25} = +62.6^\circ$ (Chloroform). Da reines 1.2.4.6-Tetraacetyl-3-desoxy- α -D-*arabino*-hexopyranosid eine spezifische Drehung von $+69.5^\circ$, das reine β -Isomere eine solche von $+17^\circ$ (Chloroform) zeigt¹⁴⁾, ist 3 als fast reines α -Isomeres anzusprechen.

In Gegenwart von Zinkchlorid wurde 3 mit *p*-Nitro-phenol analog Lit.¹⁵⁾ geschmolzen, wobei rohes *p*-Nitro-phenyl-2.4.6-triacetyl-3-desoxy- α -D-*arabino*-hexo-

6) O. Westphal und H. Schmidt, Liebigs Ann. Chem. **575**, 84 (1952); O. Westphal und H. Feier, Chem. Ber. **89**, 582 (1956); H. Feier und O. Westphal, ebenda **89**, 589 (1956); O. Westphal und S. Stirm, Liebigs Ann. Chem. **620**, 8 (1959); S. Stirm, O. Lüderitz und O. Westphal, ebenda **696**, 180 (1966).

7) Vgl. F. Karush, Adv. Immunology **2**, 1 (1962), sowie A. Froese, A. H. Sehon und M. Eigen, Canad. J. Chem. **40**, 1786 (1962).

8) Vgl. G. Siewert und O. Westphal, Liebigs Ann. Chem. **720**, 188 (1968), nachstehend.

9) Zur Nomenklatur vgl. J. org. Chemistry **28**, 281 (1963).

10) J. W. Pratt und N. K. Richtmyer, J. Amer. chem. Soc. **79**, 2597 (1957).

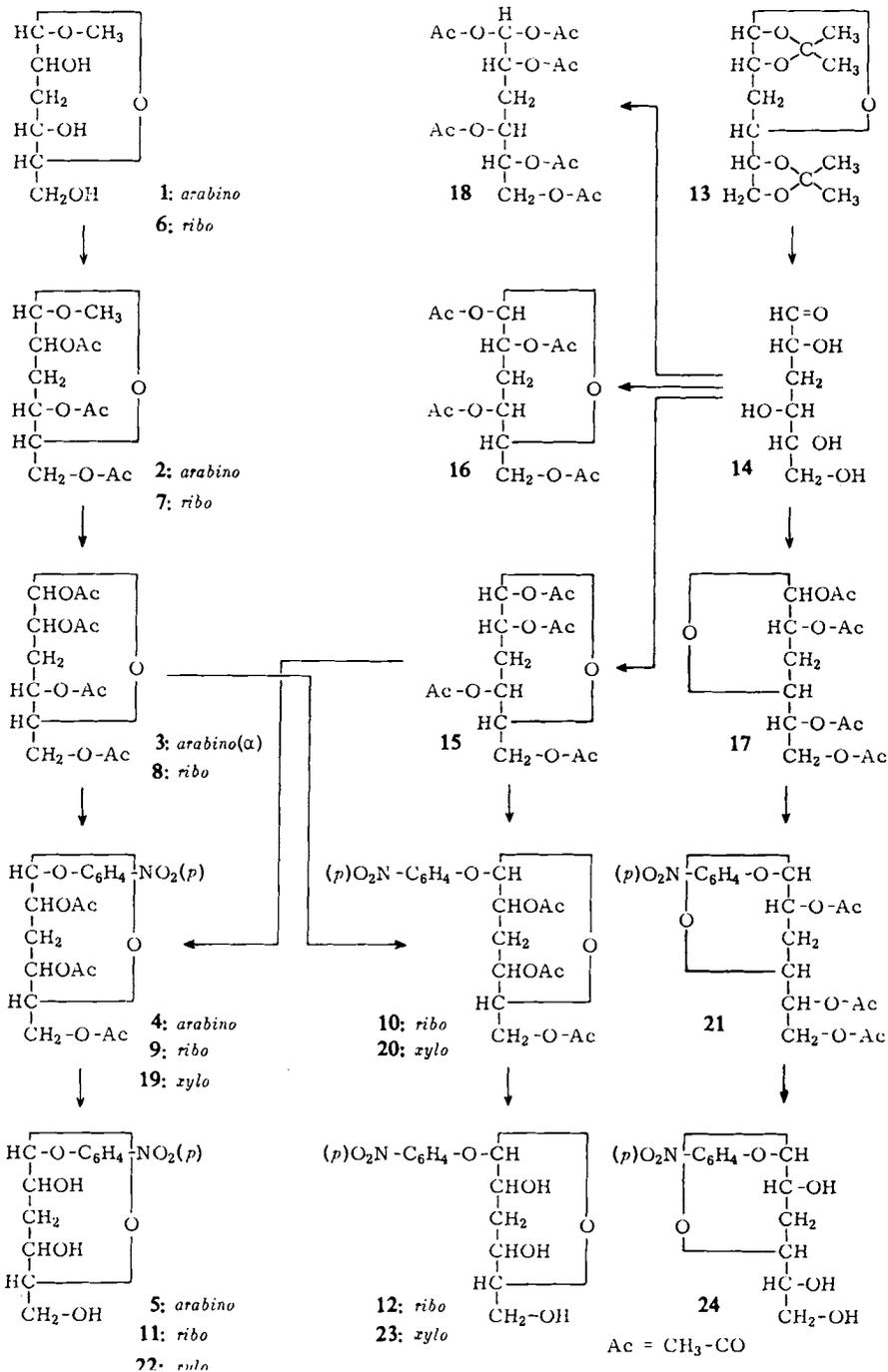
11) D. A. Prins, J. Amer. chem. Soc. **70**, 3955 (1948).

12) G. Rembarz, Chem. Ber. **93**, 622 (1960).

13) Vgl. Lit.⁸⁾ sowie R. M. Hann und C. S. Hudson, J. Amer. chem. Soc. **56**, 2465 (1934).

14) G. Rembarz, Chem. Ber. **94**, 414 (1961).

15) B. Helferich und E. Schmitz-Hillebrecht, Ber. dtsch. chem. Ges. **66**, 378 (1933).



pyranosid (4) entstand. Da dieses dünn-schichtchromatographisch einheitlich war, wurde es direkt durch methanol. Bariummethylat¹⁶⁾ entacetyliert. Wir erhielten 5 in einer Ausbeute von 32% (bez. auf 3).

***p*-Nitro-phenyl-3-desoxy- α - und - β -D-ribo-hexopyranosid (11 bzw. 12)**

Ähnlich wie 3-Desoxy-*arabino*-hexose steht auch 3-Desoxy-*ribo*-hexose im Gleichgewicht mit ihrem 1.6-Anhydrid¹⁰⁾. Dessen Anteil beträgt jedoch nur 10%. Man muß außerdem noch mit pyranosiden und furanosiden Ringstrukturen rechnen. So isolierte *Anet*¹⁷⁾ zwei Kristallformen der freien 3-Desoxy-D-*ribo*-hexose. Neuerdings wiesen *Angyal* und *Pickles*¹⁸⁾ durch Kernresonanzspektren nach, daß im Gleichgewicht 40% β -Pyranose, 26% α -Pyranose, 26% β -Furanose und 6% α -Furanose vorliegen.

Als Ausgangsmaterial diente Methyl-3-desoxy- α -D-*ribo*-hexopyranosid¹⁹⁾ (6). Mit Pyridin/Acetanhydrid wurde 6 in die Triacetyl-Verbindung 7 übergeführt und diese durch Acetolyse¹³⁾ zum sirupösen 1.2.4.6-Tetraacetyl-3-desoxy-D-*ribo*-hexopyranosid (8) umgesetzt. Das dünn-schichtchromatographisch (Chloroform) einheitliche Produkt²⁰⁾ konnte ohne weitere Reinigung zur Glykosidierung mit *p*-Nitro-phenol und Zinkchlorid¹⁵⁾ benutzt werden. Diese Reaktion führte zu einem Gemisch von *p*-Nitro-phenyl-2.4.6-triacetyl-3-desoxy- α - und - β -D-*ribo*-hexopyranosid (9 bzw. 10). Entacetylierung mit Bariummethylat ergab daraus ein Gemisch von 11 und 12, das an Kieselgel mit Essigester/Äthanol (9:1) aufgetrennt wurde und krist. 11 bzw. 12 ergab. Die spezif. Drehungen betragen +217.2° bzw. -119.4° (Methanol).

***p*-Nitro-phenylglykoside der 3-Desoxy-D-xylo-hexose**

Während unserer Arbeiten berichtete *Antonakis*²¹⁾ über die Synthese der acetylierten α - und β -*p*-Nitro-phenylglykoside der 3-Desoxy-D-*xylo*-hexopyranose (19 bzw. 20). Die folgenden Ausführungen erweitern diese Arbeiten.

Zur Synthese der Glykoside wählten wir den Weg über den „freien“ Zucker 14, da 3-Desoxy-D-*xylo*-hexose kaum 1.6-Anhydrid bildet²²⁾; es war allerdings vorauszusehen, daß sich bei der Acetylierung von 14 neben Pyranosid-Acetaten auch Furanosid-Acetate bilden.

Die vorhergehende Überführung des Diisopropyliden-3-desoxy- α -D-*xylo*-hexofuranosides²³⁾ (13) in 14 wurde in Anlehnung an eine beschriebene Methode²⁴⁾ mit

¹⁶⁾ A. Thompson und M. L. Wolfröm, *Methods Carbohydrate Chem.* 2, 218 (1963). Diese Vorschrift wurde modifiziert (vgl. S. 183).

¹⁷⁾ E. F. L. J. Anet, *Chem. and Ind.* 1960, 345.

¹⁸⁾ S. J. Angyal und V. A. Pickles, *Carbohydrate Res.* 4, 269 (1967).

¹⁹⁾ E. Vis und P. Karrer, *Helv. chim. Acta* 37, 378 (1954).

²⁰⁾ Über ein krist. Acetat berichten M. Černý und J. Pacák, *Chem. Listy* 49, 1848 (1955), sowie D. H. Murray und J. Prokop, *J. pharmac. Sci.* 54, 1637 (1965).

²¹⁾ K. Antonakis, *Bull. Soc. chim. France* 1966, 3780.

²²⁾ M. Dahlgard, B. H. Chastain und R.-J. Lee Han, *J. org. Chemistry* 27, 929 (1962).

²³⁾ F. Weygand und H. Wolz, *Chem. Ber.* 85, 256 (1952).

²⁴⁾ A. Neuberger, *J. chem. Soc. [London]* 1941, 50.

50proz. Essigsäure bei 100° durchgeführt. Die Hydrolyse war bereits nach 10 Min. vollständig. Längere Reaktionszeit ist ungünstig, da sich bereits nach 30 Min. Nebenprodukte bilden, die im Dünnschichtchromatogramm schneller als **14** laufen.

*Antonakis*²⁵⁾ benutzte zur Abspaltung der Isopropyliden-Gruppen von **13** 0.1 *n* HCl, die er 15 Stdn. bei Raumtemperatur einwirken ließ. Das auf diesem Wege synthetisierte 3-Desoxy-D-xylo-hexose-Präparat ist von unserem verschieden.

Wie schon *Antonakis*²⁵⁾ feststellte, liefert die Acetylierung von 3-Desoxy-D-xylo-hexose je nach den angewendeten Bedingungen verschiedene Ergebnisse. So erhielt er durch Acetylierung des „freien“ Zuckers a) mit *Acetanhydrid*/*Pyridin* das krist. Tetraacetyl-β-pyranosid **16** (Ausbeute 32% d. Th.), b) mit *Acetanhydrid*/*Schwefelsäure* jedoch das entsprechende krist. Tetraacetyl-α-pyranosid **15** (Ausbeute 19% d. Th.).

Wir untersuchten die aus **14** erhaltenen Acetat-Gemische dünn-schichtchromatographisch. Dabei zeigte sich, daß durch Äther/Petroläther (3 : 1) die α- und β-Isomeren der Tetraacetyl-3-desoxy-D-xylo-hexopyranose sowie die pyranosiden und furanosiden Ringformen der Tetraacetyl-3-desoxy-D-xylo-hexose zu trennen sind.

Bei der Acetylierung von 3-Desoxy-D-xylo-hexose (**14**) mit *Pyridin*/*Acetanhydrid* wurde ein Gemisch erhalten, das im Dünnschichtchromatogramm 3 Flecke zeigte. Diese entsprachen (in der Reihenfolge ihrer *R_F*-Werte) dem 1.2.5.6-Tetraacetyl-3-desoxy-D-xylo-hexofuranosid (**17**), dem bekannten²⁵⁾ 1.2.4.6-Tetraacetyl-β-D-xylo-hexopyranosid (**16**) und dem gleichfalls bekannten²⁵⁾ 1.2.4.6-Tetraacetyl-α-D-xylo-hexopyranosid (**15**). Wie die Säulenchromatographie an Kieselgel mit Äther/Petroläther (3 : 1) zeigte, hatten sich **17**, **16** und **15** etwa im Verhältnis 52 : 35 : 13 gebildet. — **16** konnte aus dem Gemisch kristallin abgetrennt werden; Ausbeute 12% d. Th. Die vollständige Reinigung des am langsamsten laufenden Produktes **17** gelang erst durch 6malige Chromatographie an Kieselgel; aber auch dann blieb es sirupös. Während die Frage offen bleiben muß, ob es sich bei **17** um ein α- oder β-Acetat handelt, ist seine Furanosid-Struktur gesichert. Wir erhielten nämlich aus **17** das *p*-Nitro-phenylglykosid **24**, das sich nicht nur von den beiden aus **15** zugänglichen *p*-Nitro-phenylglykosiden **22** und **23** unterschied, sondern das auch um etwa 60° stärker nach links drehte als das linksdrehende *p*-Nitro-phenylglykosid **23**.

Acetylierte man **14** mit *Schwefelsäure*/*Acetanhydrid*, dann verschob sich das Verhältnis der Reaktionsprodukte zugunsten von **15**. Nach der Säulenchromatographie ergab sich ein Verhältnis von ca. 62% **17**, 4% **16** und 24% **15**.

Am meisten Tetraacetyl-α-pyranosid **15** (41%, bez. auf die Gesamtausbeute des Ansatzes) entstand bei der Acetylierung von **14** mit *Perchlorsäure*/*Acetanhydrid*. Allerdings konnten davon nur 24% kristallin abgetrennt werden. **16** und **17** entstanden etwa zu 7% (bei Parallelansätzen 10–15%) bzw. 12%. Daneben bildeten sich noch 12% langsamer als **17** und 11% schneller als **15** laufende Produkte; beide Fraktionen wurden nicht näher untersucht. Direkt aus dem Reaktionsgemisch ließ sich ferner ein

²⁵⁾ *K. Antonakis*, Bull. Soc. chim. France **1965**, 2112.

dunkler Niederschlag isolieren, der nach Reinigung kristalline Plättchen ergab. Diese wiesen im Dünnschichtchromatogramm den gleichen R_F -Wert auf wie **17**. Nach analytischen Daten (C, H, Acetyl, geringe spezif. Drehung) handelt es sich dabei vermutlich um 1.1.2.4.5.6-Hexa-*O*-acetyl-3-desoxy-*D*-xylo-hexose²⁶⁾ (**18**).

Vergleicht man die von uns erhaltenen Ausbeuten mit denen von *Antonakis*²⁵⁾, dann zeigt sich, daß bei der Acetylierung mit Schwefelsäure/Acetanhydrid in beiden Fällen etwa 18% Tetraacetyl- α -pyranosid **15** isoliert werden konnten. Katalyse durch Perchlorsäure ist noch günstiger, da weniger Verkohlung auftritt und auch etwas höhere Ausbeuten an **15** gewonnen werden (ca. 24%). – Bei Acetylierungen mit Pyridin/Acetanhydrid erhielt *Antonakis*²⁵⁾ das Tetraacetyl- β -pyranosid **16** jedoch in höheren Ausbeuten (32%) als wir (12%). Diese Diskrepanz ist vermutlich auf die verschiedenartige Darstellung von 3-Desoxy-*D*-xylo-hexose (**14**) aus **13** zurückzuführen. Wir nehmen an, daß bei der von uns angewendeten Spaltung mit Essigsäure die Furanosid-Struktur von **13** auch in **14** in stärkerem Maße erhalten bleibt und durch Acetylierung mit Acetanhydrid/Pyridin fixiert wird²⁷⁾. Bei Anwendung saurer Katalysatoren dagegen gleichen sich die Unterschiede des Ausgangsmaterials offenbar aus.

Für die Herstellung der *p*-Nitro-phenylglykoside von 3-Desoxy-*D*-xylo-hexopyranose wurde das Tetraacetyl- α -pyranosid **15**²⁸⁾ mit *p*-Nitro-phenol und Zinkchlorid¹⁵⁾ geschmolzen. Dabei erhielten wir ein Gemisch der triacetylierten α - und β -*p*-Nitro-phenylglykoside **19** und **20** (Gesamtausbeute 59%). Diese konnten durch Säulenchromatographie an Kieselgel mit Äther/Petroläther (3:1) praktisch quantitativ getrennt werden. **19** wurde ohne weitere Charakterisierung weiterverarbeitet. **20** kristallisierte leicht und zeigte einen Schmelzpunkt von 124° und eine spezifische Drehung von $[\alpha]_D^{25} = -66.5^\circ$ (Chloroform)²⁹⁾.

Die Entacetylierung von **19** mit Bariummethylat lieferte gute Ausbeuten an *p*-Nitro-phenyl-3-desoxy- α -*D*-xylo-hexopyranosid (**22**) mit $[\alpha]_D^{25} = +218.8^\circ$ (Methanol). **20** ergab nach Entacetylierung *p*-Nitro-phenyl-3-desoxy- β -*D*-xylo-hexopyranosid (**23**). Dieses schmolz nach Kristallisation aus Äthanol/Benzol bei 148° und nach Umkristallisation aus Äthanol/Petroläther bei 133°³⁰⁾. Durch Erhitzen der niedriger schmelzenden Kristalle i. Vak. auf 129 und 132° wandelten sich diese in das höher schmelzende Produkt um. Aus analytischen Daten folgt, daß die Präparate vom Schmp. 133° Kristallwasser enthalten. Die spezif. Drehung von **23** beträgt, unabhängig vom Schmelzpunkt, $[\alpha]_D^{25} = -143^\circ$ (Methanol).

²⁶⁾ Zur Darstellung von *al*-Acetaten mit Acetanhydrid/Perchlorsäure vgl. *H. Bredereck, A. Wagner, G. Hageloch und G. Faber*, Chem. Ber. **91**, 515 (1958).

²⁷⁾ Vgl. *F. Micheel*, Chemie der Zucker und Polysaccharide, Akad. Verlagsges., Leipzig 1956, besonders S. 102–104.

²⁸⁾ *Antonakis*²¹⁾ benutzte **16** als Ausgangsmaterial für seine Glykosidierungen.

²⁹⁾ *Antonakis*²¹⁾ erhielt sowohl **19** als auch **20** kristallin. Für letzteres gibt er folgende Daten an: Schmp. 119–120°; $[\alpha]_D^{20} = -84^\circ$ (Methanol).

³⁰⁾ Vgl. *O. Westphal und H. Feier*, Chem. Ber. **89**, 585 (1956); *B. Helferich und K.-H. Jung*, Liebigs Ann. Chem. **589**, 77 (1954); **595**, 242 (1955). – Ein weiteres Beispiel lieferten *F. G. Loontjens und C. K. De Bruyne*, Naturwissenschaften **51**, 359 (1964).

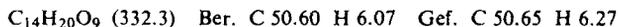
Das sirupöse Tetraacetyl-furanosid **17** wurde ebenfalls mit *p*-Nitro-phenol/Zinkchlorid¹⁵⁾ umgesetzt. Dabei ergab sich rohes *p*-Nitro-phenyl-triacetyl-3-desoxy- β -D-xylo-hexofuranosid (**21**), das ohne weitere Reinigung zu *p*-Nitro-phenyl-3-desoxy- β -D-xylo-hexofuranosid (**24**) entacetyliert wurde; $[\alpha]_D^{25} = -202.4^\circ$ (Methanol).

Fräulein Dr. I. Fromme danken wir bestens für die Ausführung der Analysen.

Beschreibung der Versuche

Alle Drehwerte wurden in einem automatischen Polarimeter (Zeiss) bei 546 und 578 $m\mu$ gemessen. Aus den Meßwerten wurden die Drehungen bei 589 $m\mu$ extrapoliert. — Die Schmelzpunkte sind unkorrigiert. — Die Dünnschichtchromatogramme wurden auf 5×20 cm großen Platten (Schichtdicke 0.25 mm) mit Kieselgel G (Merck) ausgeführt. Die Laufstrecken betragen 10 cm. Angefärbt wurde durch Besprühen mit konz. Schwefelsäure/H₂O/C₂H₅OH (1:1:1) und anschließendes Erhitzen (160°/ca. 30 Min.). — Säulenchromatographien wurden in einer Säule (42 \times 1.9 cm) mit Kieselgel (Merck; 0.05–0.2 mm) durchgeführt. Die Säule hatte einen Vorratsballon für ca. 1/4 l Lösungsmittel und ließ sich durch eine angeschlossene Druckflasche unter leichtem Überdruck setzen.

1) 1.2.4.6-Tetra-O-acetyl-3-desoxy- α -D-arabino-hexopyranosid (**3**). — 3.81 g (12.5 mMol) Methyl-2.4.6-tri-O-acetyl-3-desoxy- α -D-arabino-hexopyranosid³¹⁾ (**2**) wurden in 21.3 ccm Acetanhydrid gelöst und unter Kühlung langsam mit 0.28 ccm konz. Schwefelsäure + 5.3 ccm Eisessig versetzt. Nach 3 Tagen gab man auf Eis und neutralisierte vorsichtig mit wäbr. NaHCO₃-Lösung, extrahierte mit Chloroform, wusch mit Wasser und trocknete mit CaCl₂. Nach Eindunsten erhielt man einen Sirup, der getrocknet (Hochvak., P₂O₅) 3.86 g (92%) wog und dünnschichtchromatographisch in Benzol/Aceton (8:1) einheitlich war.



Bei Neutralisation mit festem Na₂CO₃ statt wäbr. NaHCO₃-Lösung wurden ca. 50% **3** zu einer teilweise kristallisierenden Triacetyl-Verbindung umgewandelt, die im Dünnschichtchromatogramm mit Benzol/Aceton (8:1) langsamer lief als **3** und sich durch Säulenchromatographie an Kieselgel (gleiches Laufmittel) von **3** trennen ließ. Man konnte dieses Produkt durch Reacetylierung leicht wieder in **3** überführen.



2) *p*-Nitro-phenyl-2.4.6-tri-O-acetyl-3-desoxy- α -D-arabino-hexopyranosid (**4**). — 0.68 g (2.0 mMol) **3** wurden mit 0.96 g (6.9 mMol) *p*-Nitro-phenol bei 12 Torr auf 110° erhitzt. Man wartete Auflösung der Kristalle und erstes Aufsprudeln ab, gab 0.47 g (3.5 mMol) wasserfreies Zinkchlorid dazu und erhitze noch 30 Min. Die warme Schmelze wurde in Chloroform aufgenommen und so lange mit 0.5 *n* NaOH ausgewaschen, bis die wäbr. Phase farblos war. Die Chloroformlösung wurde über CaCl₂ getrocknet und zum Sirup (0.66 g) eingedunstet. Dieser wurde ohne weitere Reinigung verwendet.

3) *p*-Nitro-phenyl-3-desoxy- α -D-arabino-hexopyranosid (**5**). — Eine Lösung von 0.66 g (1.6 mMol) rohem **4** in 18.1 ccm absol. Methanol wurde bei 4° mit 0.6 ccm 0.5 *n* Ba(OCH₃)₂

³¹⁾ H. R. Bolliger und D. A. Prins, Helv. chim. Acta **32**, 370 (1949).

versetzt. Nach 32 Stdn. bei 4° verdünnte man mit Methanol, leitete 3 Stdn. CO₂ ein und dunstete ein. Der Rückstand wurde mehrfach mit Aceton durchgerieben und abfiltriert. Das Filtrat ergab beim Eindunsten eine halbkristalline Masse, die aus Wasser kristallisiert wurde. Ausbeute 0.19 g (32%, bez. auf 3) gelbliche Schuppen von Schmp. 190.5–191.5°; $[\alpha]_D^{25} = +190.1^\circ$ ($c = 1.92$, CH₃OH).

C₁₂H₁₅NO₇ (285.3) Ber. C 50.53 H 5.30 N 4.91 Gef. C 50.34 H 5.42 N 4.92

4) *Methyl-2.4.6-tri-O-acetyl-3-desoxy- α -D-ribo-hexopyranosid* (7). — 5.61 g (31.5 mMol) *Methyl-3-desoxy- α -D-ribo-hexopyranosid*¹⁹⁾ (6) wurden unter Kühlung in 40 ccm (424 mMol) *Acetanhydrid* + 59 ccm Pyridin gelöst. Nach 1 Tag bei 20° wurde mit Eis versetzt und nach einiger Zeit mit Chloroform ausgeschüttelt. Die Chloroformschicht wusch man 3 mal mit verd. Schwefelsäure, 2 mal mit NaHCO₃-Lösung sowie 2 mal mit Wasser und trocknete zuletzt mit CaCl₂. Nach dem Eindunsten ergab sich ein Sirup, der nach weiterem gründlichem Trocknen 8.09 g (84%) wog. Dieser war im Dünnschichtchromatogramm (Chloroform) einheitlich.

5) *1.2.4.6-Tetra-O-acetyl-3-desoxy-D-ribo-hexopyranosid* (8). — Kalte (0°) Lösungen von 8.09 g (26.6 mMol) 7 in 45 ccm (477 mMol) *Acetanhydrid* und 0.59 ccm konz. Schwefelsäure in 11.3 ccm Eisessig wurden langsam vereinigt. Nach 3 Tagen bei 20° wurde auf Eis gegeben und nach einiger Zeit mit Benzol extrahiert. Die Benzollösung wurde mit NaHCO₃-Lösung und mit Wasser neutral gewaschen, über CaCl₂ getrocknet und eingedunstet. Nach Trocknen i. Hochvak. über P₂O₅ ergaben sich 7.95 g (90%) leichtflüssiger Sirup, der im Dünnschichtchromatogramm (Chloroform) nur geringe Mengen von Verunreinigungen zeigte.

6) *p-Nitro-phenyl-2.4.6-tri-O-acetyl-3-desoxy- α - und - β -D-ribo-hexopyranosid* (9 und 10). — 1.6 g (4.8 mMol) 8 wurden wie bei 2) mit 2.3 g (16.5 mMol) *p-Nitro-phenol* und 0.95 g (7 mMol) *Zinkchlorid* umgesetzt. Man erhielt 1.89 g gelblichen Sirup, der, wie die dünnschichtchromatographische Prüfung mit Äther/Petroläther (3 : 1) zeigte, vier Substanzen enthielt. Die beiden Substanzen mit den größeren R_F-Werten erwiesen sich als die gesuchten Glykoside (Gelbfärbung beim Besprühen mit alkohol. Natronlauge) und stellten den Hauptanteil dar.

7) *p-Nitro-phenyl-3-desoxy- α - und - β -D-ribo-hexopyranosid* (11 bzw. 12). — 6.18 g Gemisch von 9 und 10 wurden, wie bei 3) beschrieben, mit *Bariummethylat* entacetyliert. Man erhielt 3.42 g Sirup, der, wie die dünnschichtchromatographische Prüfung mit Essigsäureäthylester/Äthanol (9 : 1) zeigte, mehrere Substanzen enthielt. Die beiden Substanzen mit den größeren R_F-Werten erwiesen sich als die gesuchten Glykoside (Gelbfärbung bei Besprühen mit methanol. Natronlauge). Durch Chromatographie von je 1.71 g Sirup an *Kieselgel* mit Essigsäureäthylester/Äthanol (9 : 1) gelang ihre *präparative Trennung*: Die schnell laufende Substanz erwies sich als 12, das als Sirup anfiel; 1.56 g (38%, bez. auf 8). Aus Äthanol/Benzol (1 : 10) ließen sich 0.53 g Kristalle gewinnen, die nach mehrfacher Umkristallisation bei 151° schmolzen; $[\alpha]_D^{25} = -119.4^\circ$ ($c = 1.9$, CH₃OH).

C₁₂H₁₅NO₇ (285.3) Ber. C 50.53 H 5.30 N 4.91 Gef. C 50.79 H 5.58 N 4.95

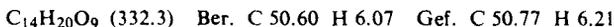
11 fiel ebenfalls zunächst als Sirup an: 0.8 g (18%, bez. auf 8). Durch Kristallisation aus Äthanol/Benzol (1 : 10) erhielt man 0.56 g Kristalle, die nach mehrfachem Umkristallisieren den Schmp. 146.0–146.5° hatten; $[\alpha]_D^{25} = +217.2^\circ$ ($c = 0.9$, CH₃OH).

C₁₂H₁₅NO₇ (285.3) Ber. C 50.53 H 5.30 N 4.91 Gef. C 50.57 H 5.61 N 4.71

8) *3-Desoxy-D-xylo-hexose* (**14**). — 13.85 g (56.7 mMol) *1.2;5.6-Di-O-isopropyliden-3-desoxy- α -D-xylo-hexofuranosid*²³⁾ (**13**) wurden zu 277 ccm heißer 50proz. *Essigsäure* gegeben; der Ansatz wurde ca. 2.5 Min. zum beginnenden Sieden erwärmt und 8.5 Min. gekocht. Danach kühlte man im Eisbad rasch ab. Bei dünn-schichtchromatographischer Prüfung mit *Essigsäureäthylester/Äthanol* (4:1) zeigte sich, daß **13** vollständig hydrolysiert war. Nach Filtrieren wurde bei 40°/12 Torr verdampft und mehrmals mit H₂O nachgedampft (Rotationsverdampfer); sirupöses **14**, das i. Vak./P₂O₅ getrocknet wurde: 9.36 g (ca. 100%).

9) *Acetylierung*: a) Mit *Acetanhydrid/Pyridin*: Zu einer Lösung von 0.92 g (5.6 mMol) **14** in 6 ccm Pyridin wurden unter Kühlung 4.6 g (45.1 mMol) *Acetanhydrid* getropft. Das Gemisch blieb 30 Min. im Eisbad und 60 Stdn. bei 20° stehen. Ein Dünnschichtchromatogramm mit *Äther/Petroläther* (3:1) zeigte nach dieser Zeit 3 Flecke. Man gab Eis zu, rührte 5 Stdn. und ließ 36 Stdn. bei 4° stehen. Der gebildete Niederschlag (nach Trocknen 0.27g) bestand größtenteils (0.23 g = 12%, bez. auf **14**) aus *1.2.4.6-Tetra-O-acetyl-3-desoxy- β -D-xylo-hexopyranosid* (**16**) und entsprach dem mittleren Flecken des Dünnschichtchromatogramms; Schmp. 102–103° (mehrfach aus *Essigsäureäthylester/Petroläther*), $[\alpha]_D^{25} = -25.5^\circ$ ($c = 2.1$, CHCl₃)³²⁾.

Das Filtrat wurde mit Chloroform extrahiert, dieses mit Wasser gewaschen, getrocknet und eingedunstet. Wir erhielten so 1.32 g Sirup, der in 3–5 ccm *Äther/Petroläther* (3:1) gelöst (gelegentlich unter Zugabe von wenig Aceton) und an *Kieselgel* säulenchromatographisch aufgetrennt wurde. Es wurden 10-ccm-Fractionen aufgefangen, wobei zunächst mit *Äther/Petroläther* (3:1), von Frakt. 6 an mit reinem *Äther* unter leichtem Überdruck eluiert wurde. Frakt. 10 enthielt 0.15 g leicht kristallisierendes *1.2.4.6-Tetra-O-acetyl-3-desoxy- α -D-xylo-hexopyranosid* (**15**). Frakt. 11 (0.48 g) enthielt wenig **15**, dafür die dünn-schichtchromatographisch langsamer laufenden *Acetyl-Verbindungen* **16** und **17** im Verhältnis 1:2. Diese waren auch in Frakt. 12 (0.25 g) und 13 (0.17 g) im Verhältnis 1:3 enthalten. Frakt. 14 (0.09 g) und 15 (0.03 g) enthielten *1.2.5.6-Tetra-O-acetyl-3-desoxy-D-xylo-hexofuranosid* (**17**). (Die angegebenen Verhältniszahlen wurden anhand der Schwärzung der Flecke im Dünnschichtchromatogramm abgeschätzt.) Die sirupös anfallende Verbindung **17** ließ sich durch 6malige Säulenchromatographie so weit reinigen, daß sie dünn-schichtchromatographisch einheitlich war. Man erhielt so einen farblosen Sirup: $[\alpha]_D^{25} = -16.0^\circ$ ($c = 1.9$, CHCl₃).



Bei dieser Trennung haben wir 1.17 g Substanz (= 100%) zurückgewonnen. Davon entfielen 0.15 + 0.03 = 0.18 g (Frakt. 10 und 11) auf Verbindung **15** (ca. 15 %); 0.26 g (Frakt. 11 und 12) auf Verbindung **16** (ca. 22%) und 0.73 g (Frakt. 11–14) auf Verbindung **17** (ca. 62%), wenn die geschätzten Verhältniszahlen berücksichtigt werden. Addierte man hierzu noch die ohne Chromatographie erhaltene Menge an reinem **16** (0.23 g), dann ergaben sich die auf S. 181 angegebenen Zahlen für das Verhältnis von **15**, **16** und **17**. — Ähnlich wurde auch bei den Berechnungen der folgenden Trennungen von Acetat-Gemischen vorgegangen.

b) Mit *Acetanhydrid/Schwefelsäure*: Zu 1.06 g (6.5 mMol) *sirupösem* **14** und 11 ccm (107 mMol) *Acetanhydrid* wurde unter Kühlung und Rühren ein Gemisch von 0.14 ccm konz. Schwefelsäure in 2.3 ccm *Essig* getropft. **14** löste sich in 10 Min. Man rührte dann das sehr bald

³²⁾ Antonakis²⁵⁾ gibt für **16** an: Schmp. 106.5°; $[\alpha]_D^{25} = -25^\circ$ ($c = 2$, CHCl₃).

schwarz werdende Gemisch 67 Stdn. bei 20°. Bei dünn-schichtchromatographischer Prüfung mit Äther/Petroläther (3:1) zeigten sich 6 Flecke, von denen die beiden schnellsten überwogen. Diesen ließen sich **17** (langsamer laufend) und **15** (schneller laufend) zuordnen. Nach Zugabe von Eis, Extraktion mit Chloroform, Waschen mit wäßr. NaHCO₃-Lösung und Wasser sowie Trocknen der Chloroformlösung mit Sikkon wurde zu einem hellen Sirup eingedunstet. Ausbeute 1.97 g (91%) nach Trocknen über P₂O₅ i. Hochvak.

Die säulenchromatographische Trennung an *Kieselgel* verlief ähnlich wie unter a) beschrieben und erbrachte die auf S. 181 angegebenen relativen Ausbeuten an **15**, **16** und **17**. Auch hier wurde **17** durch mehrfache Säulenchromatographie gereinigt. Es zeigte die gleiche spezifische Drehung wie das nach a) gewonnene Präparat.

c) Mit *Acetanhydrid/Perchlorsäure*: Zu 0.88 g (5.4 mMol) **14** und 7.6 ccm (74 mMol) *Acetanhydrid* wurden unter Rühren und Kühlen 0.06 ccm 60proz. Perchlorsäure getropft. Bei 20° wurde anschließend 3 Tage gerührt und dann unter scharfem Rühren mit viel Eis versetzt. Dabei bildete sich ein dunkler Niederschlag (0.44 g), der nach Umkristallisation aus Äthanol/Wasser 0.35 g Kristalle ergab. Diese wurden aus Äthanol/Wasser umkristallisiert, in wenig Aceton gelöst, auf eine kleine *Kieselgel*-Säule (20 ccm) gegeben und diese mit Äther eluiert. Der Eindampfrückstand des Eluats wurde aus Essigsäureäthylester/Petroläther kristallisiert: 0.17 g *1.1.2.4.5.6-Hexa-O-acetyl-3-desoxy-D-xylo-hexose* (**18**) als klobige, durchsichtige Platten, die nach weiterer Reinigung bei 107–108° schmolzen; $[\alpha]_D^{25} = +43.0^\circ$ ($c = 2$, CHCl₃).

C₁₈H₂₆O₁₂ (434.4) Ber. C 49.77 H 6.03 Acetyl 59.5 Gef. C 49.94 H 6.09 Acetyl 56.5

Die *Acetyl-Bestimmung* erfolgte durch Verseifung mit 2*n* NaOH. Testbestimmungen mit bekannten Substanzen erfaßten durchschnittlich 96% Acetyl. Der gefundene Wert liegt mit 95% innerhalb der Genauigkeitsgrenze dieser Testversuche.

Das *Filtrat des dunklen Niederschlags* ergab nach der Aufarbeitung analog a) 1.3 g hellen Sirup, der auf eine *Kieselgel*-Säule gegeben und wie bei a) aufgetrennt wurde. Man erhielt 1.17 g *Acetate* zurück. Daraus ließen sich 0.37 g **15** kristallin gewinnen. Das sind 24%, bez. auf die Gesamtausbeute von 1.52 g, die sich zusammensetzt aus 1.17 g gereinigtem Sirup und 0.35 g Rohkristallen (aus dem dunklen Niederschlag nach einmaligem Umkristallisieren). Schmp. von **15** 103.5–104.5°; $[\alpha]_D^{25} = +71.6^\circ$ ($c = 0.1$, CHCl₃)³³⁾. — Neben **15** erhielt man auch hier **16** und **17** und weitere Substanzen, die dünn-schichtchromatographisch schneller bzw. langsamer liefen. Die Anteile von **15**, **16** und **17**, bez. auf die Gesamtausbeute des Ansatzes, wurden dabei wie bei a) berechnet. Infolge unscharfer Trennungen waren die Ausbeuten niedriger als die anhand dünn-schichtchromatographischer Trennungen berechneten Werte. Einander entsprechende Fraktionen aus verschiedenen Ansätzen wurden vereinigt und erst beim Vorliegen größerer Mengen aufgearbeitet. Die Ausbeuten an **16** und **17** können deshalb nicht genau angegeben werden.

10) *p-Nitro-phenyl-tri-O-acetyl-3-desoxy- α - und - β -D-xylo-hexopyranosid* (**19** bzw. **20**). — Je 0.5 g (1.5 mMol) **15** wurden mit 0.70 g (5.1 mMol) *p-Nitro-phenol* und 0.34 g (2.5 mMol) wasserfreiem *Zinkchlorid* wie bei 2) in 40 Min. umgesetzt. Nach Aufarbeitung erhielt man aus beiden Ansätzen zusammen 1.07 g Sirup. — Ein Dünn-schichtchromatogramm mit Äther/

³³⁾ Antonakis²⁵⁾ gibt für **15** an: Schmp. 105°; $[\alpha]_D^{25} = +67.5^\circ$ ($c = 0.2$, CHCl₃).

Petroläther (3 : 1) zeigte zwei verschieden weit laufende Flecke, die **19** (schnell laufend) und **20** (langsam laufend) entsprachen. Ihre Trennung gelang durch Säulenchromatographie an *Kieselgel* (gleiches Laufmittel) und ergab 0.45 g (36%) **19** und 0.28 g (23%) **20**. Während **19** nicht näher charakterisiert wurde³⁴), besteht **20** aus feinen Nadeln, die 7–8 Stdn. bei 95° i. Ölpumpenvak. getrocknet wurden. Schmp. 124°; $[\alpha]_D^{25} = -66.5^\circ$ ($c = 0.9$, CHCl_3)³⁵).

11) *p*-Nitro-phenyl-3-desoxy- α -D-xylo-hexopyranosid (**22**). – 0.45 g (1.1 mMol) **19** wurden entsprechend 3) mit 0.72 ccm 0.5 *n* Ba(OCH₃)₂ entacetyliert. Man erhielt 0.16 g (51%, bez. auf **19**, oder 19%, bez. auf **15**) krist. **22** vom Schmp. 161–162°. Wegen der leichten Löslichkeit in den meisten Lösungsmitteln war das Umkristallisieren von **22** verlustreich. Aus Äthanol/Petroläther (2 : 1) erhielt man nach mehrfacher Umkrist. gelbliche Nadeln vom Schmp. 163.5–164.5°; $[\alpha]_D^{25} = +218.8^\circ$ ($c = 0.06$, CH₃OH).

C₁₂H₁₅NO₇ (285.3) Ber. C 50.53 H 5.30 N 4.91 Gef. C 50.43 H 5.27 N 4.75

12) *p*-Nitro-phenyl-3-desoxy- β -D-xylo-hexopyranosid (**23**). – 0.1 g (0.2 mMol) **20** wurden wie bei 3) mit 0.16 ccm 0.5 *n* Ba(OCH₃)₂ entacetyliert. Der resultierende Sirup kristallisierte aus Alkohol/Benzol: 0.03 g (ca. 40%) milchige Kuben vom Schmp. 148°; $[\alpha]_D^{25} = -143.3^\circ$ ($c = 0.88$, CH₃OH). – Beim Umkristallisieren dieser Substanz aus Alkohol/Petroläther erhielt man durchsichtige, längliche Plättchen vom Schmp. 133°. Bei einem Parallelansatz ließ sich das bei 133° schmelzende *Hydrat* direkt aus dem Rohsirup gewinnen: $[\alpha]_D^{25} = -143.4^\circ$ ($c = 0.74$, CH₃OH).

C₁₂H₁₅NO₇ · 1/3 H₂O (291.3) Ber. C 49.48 H 5.42 N 4.81 Gef. C 49.66 H 5.53 N 5.05

Zur Entwässerung wurden die Kristalle vom Schmp. 133° i. Ölpumpenvak. über P₂O₅ je 2 Stdn. bei 129, 132 und 143° erhitzt; zuletzt blieben sie über Nacht bei 139° stehen; Schmp. 146–147°, Gef. C 49.86 H 5.25; nach 16 Stdn. bei 143° Gef. C 51.27 H 5.27) (Ber. C 50.53 H 5.30).

13) *p*-Nitro-phenyl-2.5.6-tri-O-acetyl-3-desoxy- β -D-xylo-hexofuranosid (**21**). – 0.54 g (1.6 mMol) sirupöses **17** wurden mit 0.74 g (5.3 mMol) *p*-Nitro-phenol und 0.36 g (2.6 mMol) Zinkchlorid 30 Min. analog Vorschrift 2) umgesetzt. Man erhielt 0.54 g im Dünnschichtchromatogramm mit Äther/Petroläther (3 : 1) einheitlich laufenden, gelblichen Sirup.

14) *p*-Nitro-phenyl-3-desoxy- β -D-xylo-hexofuranosid (**24**). – 0.54 g **21** wurden wie bei 3) mit 0.9 ccm Ba(OCH₃)₂ entacetyliert. Aus Äthanol, dem bis fast zur Trübung Wasser zugesetzt war, erhielt man 0.12 g (32%) krist. **24**. (Bei größeren Ansätzen konnte man aus den Filtraten durch Säulenchromatographie noch ca. 8% **24** gewinnen.) Nach Umkristallisieren aus Äthanol/Wasser und Äthanol/Petroläther resultierten gelbliche Platten vom Schmp. 128 bis 129°; $[\alpha]_D^{25} = -202.4^\circ$ ($c = 0.09$, CH₃OH).

C₁₂H₁₅NO₇ (285.3) Ber. C 50.53 H 5.30 N 4.91 Gef. C 50.76 H 5.42 N 4.84

³⁴) Vgl. Lit. 21), dort S. 3781.

³⁵) Antonakis²¹⁾ gibt für **20** an: Schmp. 119–120°; $[\alpha]_D^{20} = -84^\circ$ ($c \approx 0.18$, CH₃OH).