Carbohydrate Research
Elsevier Publishing Company, Amsterdam
Printed in Belgium

SYNTHESE VON 2,4-DINITROPHENYLGLYKOSIDEN*

W. HENGSTENBERG UND K. WALLENFELS
Chemisches Laboratorium der Universität Freiburg, Alberstr. 21 (Deutschland)
(Eingegangen den 18. Dezember, 1968; modifiziert den 10. Februar, 1969)

ABSTRACT

2,4-Dinitrophenyl α- and β-D-galactoside, β-D-glucoside, α-D-mannoside, α- and β-L-arabinoside, β-D-xyloside, and 2-chloro-2-deoxy-β-D-galactoside have been synthesized from the respective *O*-trimethylsilylglycosyl halides by the Koenigs–Knorr reaction; all of the glycosides are assumed to have the pyranoid structure. The glycosyl halides were prepared by treatment of the trimethylsilyl derivatives of the ethyl 1-thioglycosides with bromine. The relative amounts of the anomeric forms of the glycosides produced in these syntheses are discussed in the context of mechanistic considerations.

EINFÜHRUNG

Bei der enzymatischen Spaltung von Glykosiden wird ausnahmslos die Bindung zwischen dem glykosidischen Heteroatom und dem C-1 des Glykons gelöst. Man kann sich fragen, ob dies auf der "Spezifität" des Proteins, d.h. der speziellen relativen Position von funktionellen Gruppen am Katalysator zu korrespondierenden am Substrat beruht, oder auf einer unter allen Umständen bevorzugten chemischen Reaktivität der Glykoside. Aus diesem Grunde schien es interessant, Glykoside herzustellen, die nukleophil bevorzugt auf der aglykonischen Seite des glykosidischen Heteroatoms gespalten werden. 2,4-Dinitrophenylglykoside sollten diese interessante Eigenschaft aufweisen. Die Tatsache, daß ihre Herstellung aus den schon vor längerer Zeit beschriebenen Acetylderivaten bisher nicht gelang, mag ein Hinweis hierauf sein. Sie kann aber auch darauf beruhen, daß 2,4-Dinitrophenolat eine extrem gute Austrittsgruppe ist. Die Untersuchung der Solvolyse dieser Verbindungen unter verschiedenen Bedingungen, einschließlich der enzymatischen, machte die Ausarbeitung einer neuen Synthese wünschenswert, bei welcher der Schutz der Hydroxylgruppen unter milderen Bedingungen entfernt werden kann als sie für Entacetylierung und -benzylierung gebraucht werden. Wir berichten in dieser Arbeit über eine Methode, die im Prinzip der Synthese nach Koenigs und Knorr entspricht und als Schutzgruppe für die Herstellung der Halogenzucker die Trimethylsilylgruppe[2,3]

*Kurzmitteilung: Angew. Chem., 77 (1965) 623.

verwendet. Die erhaltenen Trimethylsilyl-glykoside ließen sich hydrolytisch in die freien Glykoside überführen[4], ohne daß ein nennenswerter Angriff an der Glykosidbindung erfolgte.

ERGEBNISSE

Zur Herstellung der Trimethylsilylhalogenosen muß man am C-1 Halogen einführen, ohne daß die extrem säurelabilen Trimethylsilylgruppen[4] entfernt werden. Eine solche Methode hat Bonner[5] zuerst angegeben, sie wurde von Weygand und Ziemann[6], sowie von Wolfrom und Groebke[7] weiter ausgearbeitet und angewendet. Hierbei werden an den Hydroxylfunktionen geschützte 1-Thioglykoside in unpolaren Lösungsmitteln mit elementarem Brom umgesetzt, wobei unter Substitution der Thioalkylfunktion die geschützten Halogenosen entstehen.

Der Mechanismus dieser Reaktion wurde an mehreren Beispielen untersucht. Bonner[5] und Weygand[6] formulieren bei Glucosederivaten einen S_N2 Mechanismus am C-1 des Pyranoserings. Bei den acetylierten 1-Thioglukosiden kann, wie Wolfrom und Groebke[7] zeigen konnten, die Acetylgruppe am C-2 durch Nachbargruppenbeteiligung die Bildung einer β-Acetohalogenose verursachen. Bei der Chlorierung von acetylierten Äthyl-1-thiomannosiden isolierten dieselben Autoren Gemische von anomeren Acetochlormannosen.

Nach diesen experimentellen Befunden sind exakte Voraussagen über den sterischen Verlauf der Halogenierung von 1-Thioglykosiden nicht mit Sicherheit möglich, da diese Reaktion sowohl durch konformative, als auch durch sterische und Nachbargruppeneffekte beeinflußt werden kann.

So konnten bei der Bromierung oder Chlorierung von Äthyl-1-thio-tetra-*O*-trimethylsilyl-β-D-galaktosid und anschließender Glykosidsynthese nach Koenigs und Knorr mit 2,4-Dinitrophenol und Silberoxyd in Benzol nach dem Entfernen der Schutzgruppe säulenchromatographisch 2,4-Dinitrophenyl α- und β-D-galaktosid* (α:β = 1:1) in zusammen 22%iger Ausbeute isoliert werden. Das Reaktionsprodukt der Bromierung des acetylierten Äthyl-1-thio-β-D-galaktosids wurde ebenfalls mit 2,4-Dinitrophenol glykosidiert und lieferte 2,4-Dinitrophenyl-β-D-galaktosidtetraacetat, das gleiche Produkt, das man bei der Glykosidierung von α-Acetobromgalaktose erhält. Die Bromierungsreaktion auf Äthyl-1-thio-tetra-*O*-trimethylsilyl-β-D-glukosid angewandt, liefert nur 2,4-Dinitrophenyl-β-D-glukosid in 10%iger Ausbeute.

Diese Art der Glykosidsynthese wurde auf weitere Hexosen und Pentosen ausgedehnt. Aus Äthyl-1-thio-α-L-arabinosid erhält man ein Gemisch der anomeren 2,4-Dinitrophenyl-L-arabinoside. Äthyl-1-thio-β-D-xylosid liefert nur 2,4-Dinitrophenyl-β-D-xylosid. Aus Äthyl-1-thio-α- und β-D-mannosid konnten wir in beiden Fällen nur das 2,4-Dinitrophenyl-α-D-mannosid aus der Reaktionsmischung isolieren.

Untersuchungen über die Beteiligung der Hydroxylgruppe am C-2 des Galakto-

*Bei diesen und allen weiteren dargestellten Glykosiden wird die Pyranosidstruktur angenommen.

sidmoleküls bei der Spaltung durch Alkali und β-Galaktosidase veranlaßten uns dazu, ein 2,4-Dinitrophenyl-β-D-galaktosid zu synthetisieren, dessen Hydroxylfunktion am C-2 durch eine "schlechte Nachbargruppe" z.B. durch H, OCH_3 oder durch Halogen ersetzt ist. Wir entschieden uns für das Halogen Chlor, da Tri-*O*-acetyl-2-chlor-2-desoxy-α-D-galaktopyranosyl-chlorid [8] (**1**) leicht aus Tri-*O*-acetyl-D-galaktal durch Chlorierung darzustellen ist.

Die Struktur von **1** wurde von Lemieux[8] aus dem Kernresonanzspektrum abgeleitet. Die Glykosidierung dieser Verbindung verläuft unter Bildung des entsprechenden β-D-Glykosids. Denselben Verlauf nimmt die Glykosidierung des Chlorierungsproduktes von Tri-*O*-trimethylsilyl-D-galaktal. Die eindeutige Struktur des 2,4-Dinitrophenyl-2-chlor-2-desoxy-β-D-galaktosids wurde durch das Kernresonanzspektrum festgelegt (Abb. 1).

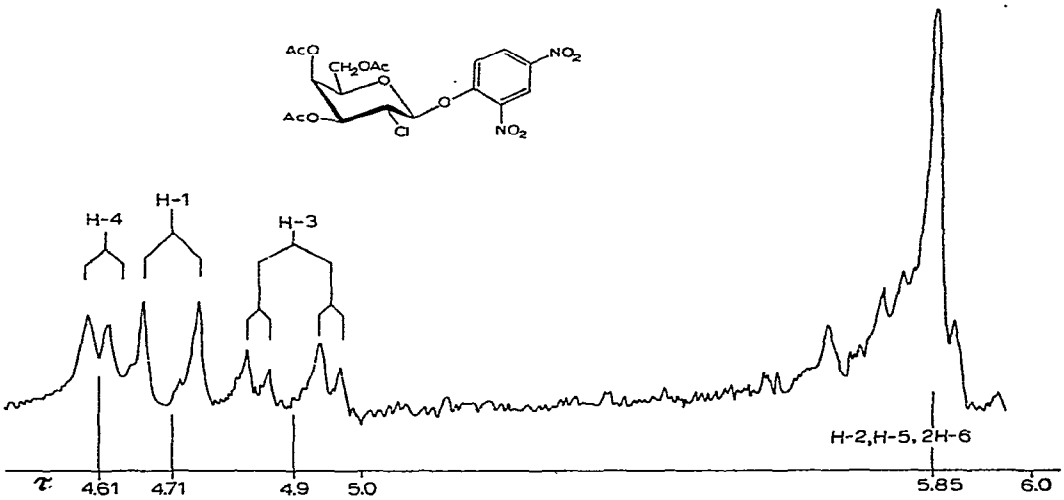

Abb. 1. Kernresonanzspektrum des 2,4-Dinitrophenyl-3,4,6-tri-*O*-acetyl-2-chlor-2-desoxy-β-D-galaktosids bei 100 Megahertz in Deuterochloroform.

Zur Deutung des Spektrums (s, Tabelle I) wurde das analoge Spektrum des Methyl-tri-*O*-acetyl-2-chlor-2-desoxy-β-D-galaktopyranosids herangezogen[8]. Das anomere Proton im entsprechenden 2,4-Dinitrophenyl-galaktosid ist von $\tau \sim 5.5$ nach $\tau = 4.71$ verschoben, während H-4, H-3, H-5, und H-6 unverändert blieben. H-2, das in ein Quadruplett aufspalten sollte, ist schlecht zu vermessen, da es von

TABELLE I

WERTE DER PYRANOSIDISCHEN RINGPROTONEN IN 2,4-DINITROPHENYL-TRI-*O*-ACETYL-2-CHLOR-2-DESOXY-β-D-GALAKTOSID GEGEN TMS ALS INNERER STANDARD

Protonen	1a	2a	3a	4e	5a	6
τ-Werte	4.71	5.80	4.90	4.61	5.85	5.85
	1a 2a	3a 2a	3a 4e	4e 3a	4e 5a	
J (Hz)	8.5	10.5	3.5	3.5	3.5	

TABELLE II

PHYSIKALISCHE EIGENSCHAFTEN DER SYNTHETISCHEN 2,4-DINITROPHENYL-GLYKOSIDE

2,4-Dinitrophenyl-glykosid[a]	*F.P. Zers.*, °	*Ausbeute*[b], %	$[\alpha]_D^{22}$, °
α-D-Galaktosid	158[e]	22	+322 (*c* 0.66, Methanol)
β-D-Galaktosid	150–151[e]		−105 (*c* 1, Methanol)
β-D-Glukosid[c]	100–101[e]	10	−92.8 (*c* 1.06, Methanol)
α-D-Mannosid[d]	149[f]	28	+161 (*c* 1.00, Methanol)
α-L-Arabinosid	167[e]	32	−103 (*c* 1.05, DMF)
β-L-Arabinosid	158[e]		+367 (*c* 0.69, DMF)
β-D-Xylosid	158–159[e]	17	−105 (*c* 1.1, Methanol)
2-Chlor-2-desoxy-β-D-galaktosid	156–157[e]	20[h]	−127 (*c* 0.89, Methanol)
Tri-*O*-acetyl-2-chlor-2-desoxy-β-D-galaktosid	176–177[g]		−52 (*c* 0.98, Chloroform)
Tetra-*O*-acetyl-β-D-galaktosid	174–176[g]		+74 (*c* 1.44, Chloroform)
Tetra-*O*-acetyl-α-D-mannosid	175–176[g]		+137 (*c* 1.69, Chloroform)

Äthyl-1-thio-α-L-arabinosid: Gef.: C, 43.40; H, 7.30; S, 16.10. $C_7H_{14}O_4S$. Ber.: C, 43.20; H, 7.26; N, 16.50%.

[a]Die Zuordnung der Konfiguration am C-1 erfolgte entsprechend den Hudson'schen Regeln. [b]Ausbeute bezogen auf Äthyl-1-thioglykosid. [c]Kristallisiert mit einem Mol Aceton. [d]Enthält nichtstöchiometrische Mengen Aceton. (Acetongehält < 1 mol pro Formeleinheit). [e]Aus Methanol. [f]Aus Aceton. [g]Aus Äthanol. [h]Ausbeute bezogen auf D-Galaktal.

$\tau \sim 6.15$ in die Region von H-5 und H-6 verschoben worden ist. Die Verschiebung von H-1 und H-2 ist wahrscheinlich auf den starken Abschirmungseffekt des 2,4-Dinitrophenyl-Rests am C-1 zurückzuführen. Eine Aufnahme des 2,4-Dinitrophenyl-2-chlor-2-desoxygalaktosids bei 100 Megahertz war nötig, da im 60 Megahertz-Spektrum die Region H-4, H-1, und H-3 nur unvollständig in 6 peaks anstelle von 8 peaks aufgespalten war.

Über die Natur und Eigenschaften der erhaltenen neuen Glykoside unterrichtet Tabelle II.

DISKUSSION

Der sterische Ablauf der Koenigs–Knorr-Reaktion mit Trimethylsilylhalogenosen ist verschieden von dem Reaktionsablauf mit den entsprechenden Acetylhalogenosen. Eine Reaktionslenkung durch einen der Acetylgruppenwirkung entsprechenden Nachbargruppeneffekt ist für die TMS-Gruppe auszuschließen. In welchem Ausmaß sterische Effekte, der anomere Effekt und gegebenenfalls der $\Delta 2$-Effekt[9] für die Bildung von α- und β-Glykosiden verantwortlich gemacht werden können, hängt nicht nur von der Stabilität der Intermediärprodukte, sondern auch von der kinetischen Situation ab, welche sich für die Umsetzung an der Silberoxydoberfläche nur schwer voraussagen läßt.

Die Bildung von α- und β-Glykosiden beim Arabinosid und Galaktosid, sowie das Auftreten des α-D-Mannosids ist wohl durch sterische Effekte kombiniert mit dem anomeren Effekt bedingt[10].

Summenformel Molgewicht	*Ber.*				*Gef.*			
	C	*H*	*N*	*Cl*	*C*	*H*	*N*	*Cl*
$C_{12}H_{14}N_2O_{10}$	41.65	4.08	8.10		41.52	4.04	8.23	
					41.71	4.12	8.21	
$C_{15}H_{20}N_2O_{11}$	44.60	4.98	6.95		44.46	4.94	7.24	
$C_{12}H_{14}N_2O_{10}.0.7C_3H_6O$	43.76	4.74	7.24		43.81	4.63	7.32	
$C_{11}H_{12}N_2O_9$	41.80	3.83	8.86		42.14	4.03	8.86	
					41.92	4.10	8.91	
$C_{11}H_{12}N_2O_9$	41.80	3.83	8.86		41.98	3.95	8.89	
$C_{12}H_{13}ClN_2O_9$	39.47	3.59	7.86	9.72	39.41	3.96	7.83	9.6
$C_{18}H_{19}ClN_2O_{12}$	44.10	3.90	5.71	7.23	44.35	3.91	5.81	7.0
$C_{20}H_{22}N_2O_{14}$	46.65	4.31	5.44		46.80	4.60	5.2	
$C_{20}H_{22}N_2O_{14}$	46.65	4.31	5.44		46.77	4.51	5.67	

Die Koenigs–Knorr-Reaktion verläuft nach Newth und Haynes[11] über einen S_N1 Mechanismus. Das Carboniumion in der E1-Konformation wird im Falle des Galaktosids und Arabinosids durch die voluminöse TMS(Trimethylsilyl)-Gruppe am C-4 so abgeschirmt (Abb. 2), daß der Angriff von der β-D-Seite bzw. von der α-L-Seite leicht gehindert ist. Der anomere Effekt führt dazu, daß das stabilere α-D-Glykosid (β-L-Glykosid) entsteht, wenn am C-1 ein stark polarer Substituent eintritt. Der anomere Effekt wird jedoch beeinträchtigt durch die TMS-Gruppe am C-2, so daß im Falle des Glukosids und Xylosids keine α-D-Glykoside isoliert wurden. Im Falle der 2,4-Dinitrophenyl-α-D-mannosidsynthese können der anomere Effekt und die sterische Beeinflussung des Reaktionsablaufs durch die axiale TMS-Gruppe am C-2 zusammenwirken (Abb. 2).

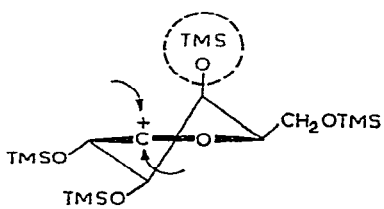

Abb. 2.

EXPERIMENTELLER TEIL

Die als Ausgangsmaterial dienenden 1-Thioglykoside wurden nach oder analog zu Literaturvorschriften hergestellt[12–16]. 2,4-Dinitrophenyl-tetra-*O*-acetyl-

β-D-galaktosid wurde nach Latham *et al.*[1] dargestellt. Das entsprechende Mannosidtetraacetat sowie das Acetat des 2,4-Dinitrophenyl-2-chlor-2-desoxy-β-D-galaktosids wurden aus den freien Glykosiden durch Acetylierung in Pyridin mit Acetanhydrid bei 0° erhalten.

Säulenchromatographie. — Zur Chromatographie eines 10^{-2} molaren Ansatzes benötigt man ungefähr 100 g Kieselgel. 2,4-Dinitrophenol eluierten wir mit Benzol, die 2,4-Dinitrophenyl-glykoside mit Äthylacetat. Die α-D-Verbindungen bzw. die β-L-Verbindungen wandern rascher als die β-D- bzw. α-L-Verbindungen.

Dünnschichtchromatographie. — Trennungen werden auf Glasplatten durchgeführt, die mit Kieselgel G (Merck) beschichtet waren. Für freie 2,4-Dinitrophenylglykoside ist das Laufmittel Benzol–Methanol = 2:1 gut geeignet. Auch Anomerenpaare können so leicht getrennt werden. Entwickelt wurde mit Äthylatlösung oder mit Schwefelsäure im Trockenschrank.

Trimethylsilylierung von Äthyl-1-thioglykosiden und D-Galaktal. — 10^{-2} Mole Substrat werden in 50 ml abs. Pyridin gelöst und mit 2×10^{-2} Mol Hexamethyldisilazan und 2×10^{-2} Mol Chlortrimethylsilan pro freie Hydroxylgruppe versetzt. Die Reaktionsmischung erwärmt sich auf ungefähr 50°. Man läßt 2–3 Stunden stehen und engt am Rotationsverdampfer unter Feuchtigkeitsausschluß ein. Man löst den durch Ammonchlorid getrübten Sirup in Tetrachlorkohlenstoff auf, filtriert ab und entfernt das Lösungsmittel. Es bleibt ein farbloses Öl zurück. Ausbeute: quantitativ.

Bromierung von trimethylsilylierten 1-Thioglykosiden. — 10^{-2} Mole trimethylsilyliertes 1-Thioglykosid werden in 30 ml abs. Tetrachlorkohlenstoff gelöst. Unter Rührung läßt man 1.5×10^{-2} Mole trockenes Brom, gelöst in 10 ml abs. Tetrachlorkohlenstoff unter Feuchtigkeitsausschluß bei Zimmertemperatur zutropfen. Die Bromfarbe verschwindet anfangs rasch, dann bildet sich im Reaktionsgefäß eine gelbe Trübung. Wenn alles Brom zugetropft ist, läßt man noch 45 min weiterrühren. Man engt am Rotationsverdampfer ein. Es bleibt ein von Brom schwach angefärbter, etwas trüber Sirup zurück, der stark nach Äthylsulphenylbromid riecht, das im Ölpumpenvakuum bei 50° abgezogen wird. Der Sirup wird am besten sofort für die Glykosidsynthese weiterverwendet.

Hydrolyse der TMS-Schutzgruppen. — Der sirupöse Glykosidierungsansatz wird in 250 ml Methanol gelöst, man fügt noch etwas Eisessig hinzu und versetzt mit Wasser bis zur bleibenden Trübung. Nach längerem Rühren bei Zimmertemperatur verschwindet die Trübung, die dann wieder bei Zugabe von Wasser auftritt. Nach 4–5 stündigen Rühren tritt beim Zufügen von Wasser keine Trübung mehr auf, die TMS-gruppen sind abgespalten. Die Lösung wird eingeengt, mit Methanol aufgenommen und mit 25 g Hyflo-Supercel versetzt. Das auf Hyflo absorbierte Produkt wird auf eine Kieselgelsäule aufgesetzt.

Chlorierung von Tri-O-trimethylsilyl-D-galaktal. — 2×10^{-2} Mole Tri-*O*-trimethylsilyl-D-galaktal werden in 40 ml abs. Tetrachlorkohlenstoff gelöst. Bei 0° leitet man trockenes Chlor in die Lösung ein, bis eine bleibende Gelbfärbung eintritt. Man entfernt überschüssiges Chlor durch Durchleiten von trockener Luft, engt am

Rotationsverdampfer ein und erhält einen farblosen Sirup, der nach Koenigs und Knorr glykosidiert werden kann.

Glykosidierung mit 2,4-Dinitrophenol und Silberoxyd. — 1.5×10^{-2} Mole 2,4-Dinitrophenol, 6 g Gips, 6 g frisch bereitetes Silberoxyd werden 45 min. mit abs. Benzol geschüttelt. Die Suspension wird 10^{-2} Molen der TMS-halohexose vermischt und unter Feuchtigkeits- und Lichtausschluß 20 Std. gerührt. Man zentrifugiert ab und wäscht den Niederschlag 2 mal mit Benzol und 2 mal mit Methanol. Man säuert mit wenig Eisessig an. Eventuell auftretende Niederschläge werden abfiltriert, das Filtrat wird eingeengt.

LITERATUR

1 H. G. LATHAM, JR., E. L. MAY, UND E. MOSSETTIG, *J. Org. Chem.*, 15 (1950) 884.
2 C. C. SWEELEY, R. BENTLEY, M. MAKITA, UND W. W. WELLS, *J. Amer. Chem. Soc.*, 85 (1963) 2497.
3 L. BIRKOFER, A. RITTER, UND F. BENTZ, *Chem. Ber.*, 97 (1964) 2196.
4 W. G. OVEREND UND E. J. HEDGLEY, *Chem. Ind.* (London), 378 (1960).
5 W. A. BONNER, *J. Amer. Chem. Soc.*, 70 (1948) 3491.
6 F. WEYGAND UND H. ZIEMANN, *Ann*, 657 (1962) 179.
7 M. L. WOLFROM UND W. GROEBKE, *J. Org. Chem.*, 29 (1963) 2986.
8 R. U. LEMIEUX UND B. FRASER-REID, *Can. J. Chem.*, 43 (1965) 1460.
9 E. L. ELIEL, N. L. ALLINGER, S. J. ANGYAL, UND G. A. MORRISON, *Conformational Analysis*, Interscience, New York, 1966, S. 377.
10 Ref. 9, S. 375.
11 F. H. NEWTH AND L. J. HAYNES, *Advan. Carbohyd. Chem.*, 10 (1955) 207.
12 R. U. LEMIEUX, *Can. J. Chem.*, 29 (1951) 1079.
13 B. HELFERICH UND D. TÜRK, *Chem. Ber.*, 89 (1956) 2215.
14 R. U. LEMIEUX UND C. BRICE, *Can. J. Chem.*, 33 (1955) 109.
15 J. FRIED UND D. E. WALZ, *J. Amer. Chem. Soc.*, 71 (1949) 140.
16 J. STANĚK, M. SINDLEROVA, UND M. ČERNÝ, *Collection Czech. Chem. Commun.*, 30 (1965) 297; *Chem. Abstr.*, 62 (1965) 14795.