

Herstellung der 6,6'-Dideoxy-lactose

I. JEŽO und J. ZEMEK

Chemisches Institut, Zentrum für Chemische Forschung der Slowakischen Akademie der Wissenschaften, CS-842 38 Bratislava

Eingegangen am 4. November 1983

Es wird die Herstellung der obenerwähnten Verbindung aus Methyl-2,2',3,3'-tetra-*O*-acetyl-6-desoxy- β -lactosid via 6'-*O*-Methansulfonyl-, 6,6'-Dideoxy-6'-jod- und 6,6'-Dideoxy-derivat beschrieben.

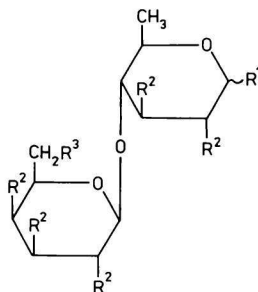
The preparation of the above compound from methyl 2,2',3,3'-tetra-*O*-acetyl-6-deoxy- β -lactoside via 6'-*O*-methanesulfonyl, 6,6'-dideoxy-6'-iodine, and 6,6'-dideoxy derivatives is described.

Описано получение вышеназванного соединения из метил-2,2',3,3'-тетра-*O*-ацетил-6-дезоксид- β -лактозида через 6'-*O*-метансульфонил-, 6,6'-дидезокси-6'-иод- и 6,6'-дидезокси-производные.

In [1] haben wir die Herstellung der 6- und 6'-Desoxy-lactose beschrieben. Als Ergänzung zu dieser Arbeit führen wir jetzt die Synthese bisher unbeschriebener 6,6'-Dideoxy-lactose an.

Die Synthese der gewünschten Verbindung haben wir folgend durchgeführt:

Durch Reaktion des Methyl-2,2',3,3'-tetra-*O*-acetyl-6-desoxy- β -lactosids mit Methansulfonylchlorid und nachfolgender Acetylierung entsteht Methyl-2,2',3,3',4'-penta-*O*-acetyl-6-desoxy-6'-*O*-methansulfonyl- β -lactosid (I). Nach Austausch der Methansulfonylgruppe gegen Jod gewinnt man das zugehörige 6,6'-Dideoxy-6'-jod-derivat (II) und nach nachfolgender Abhydrierung des Jods den Methyl-2,2',3,3',4'-penta-*O*-acetyl-6,6'-dideoxy- β -lactosid (III). Nach Zemplenscher Deacetylierung gewonnener Dihydrat des Methyl-6,6'-dideoxy- β -lactosids (IV) ergibt nach Acetylierung, verbunden mit gleichzeitiger Acetolyse 1,2,2',3,3',4'-Hexa-*O*-acetyl-6,6'-dideoxy- α -lactose (V) und schließlich nach wiederholter Deacetylierung die gewünschte 6,6'-Dideoxy-lactose (VI).



I	R ¹ = —OCH ₃ (β)	R ² = —OAc	R ³ = OMs
II	R ¹ = —OCH ₃ (β)	R ² = —OAc	R ³ = —I
III	R ¹ = —OCH ₃ (β)	R ² = —OAc	R ³ = —H
IV	R ¹ = —OCH ₃ (β)	R ² = —OH	R ³ = —H
V	R ¹ = —OAc (α)	R ² = —OAc	R ³ = —H
VI	R ¹ = —OH	R ² = —OH	R ³ = —H

(Ms = Methansulfonyl; Ac = Acetyl)

Schließlich widmeten wir unsere Aufmerksamkeit auch der enzymatischen Hydrolyse der Lactose und ihren 6-, 6'- und 6,6'-Desoxy-derivaten. Die Hydrolyse haben wir unter den in [2] angeführten Bedingungen mit β -Galactosidase durchgeführt und wir verfolgten diese auch chromatographisch [3]. Erzielte Resultate haben wir in Tabelle 1 zusammengefaßt.

Tabelle 1

Relative enzymatische Hydrolysegeschwindigkeit (v_r) und chromatographische Wanderungsgeschwindigkeit (R_{Glc}) der studierten Verbindungen

Verbindung	v_r	R_{Glc}
Lactose	1,00	0,41
6-Desoxy-lactose	0,58	0,90
6'-Desoxy-lactose	0,46	0,93
6,6'-Didesoxy-lactose	0,23	1,12

Experimenteller Teil**Methyl-2,2',3,3',4'-penta-O-acetyl-6-desoxy-
-6'-O-methansulfonyl- β -lactosid (I)**

In eine Lösung von 3,2 g Methyl-2,2',3,3'-tetra-O-acetyl-6-desoxy- β -lactosid [1]* in 20 cm³ Pyridin gibt man 0,6 cm³ (0,87 g) Methansulfonylchlorid zu und das Reaktionsgemisch läßt man 48 h bei Raumtemperatur stehen. Nach Zugabe von 2 cm³ Acetanhydrid und 24 h Stehen bei Raumtemperatur gießt man das Reaktionsgemisch ins Wasser (0 °C, 100 cm³) ein, das ausgeschiedene Produkt wird abgesaugt und gründlich mit Wasser durchgewaschen. Nach Abtrocknen und Umkristallisierung aus Äthanol-Wasserlösung ($\Phi = 50\%$) gewinnt man ein Produkt (2,30 g, Ausbeute = 58,1 %). Schmp. = 135—137 °C; $[\alpha](\lambda_D, \theta = 20\text{ °C}, \rho = 10\text{ g dm}^{-3}\text{ in CHCl}_3) = -16,1^\circ$; IR: $\tilde{\nu}_{\max}(\text{Nujol})/\text{cm}^{-1}$: 730, 830 (Mesyl), 905 (β -Glykosid), 965 (CH₂=), 1060, 1175 (Acetal), 1230, 1380 (Mesyl), 1460 (CH₃), 1740 (—OAc).

Für C₂₄H₃₆O₁₇S ($M_r = 628,59$) w_i (berechnet): 45,85 % C, 5,77 % H, 5,10 % S; w_i (gefunden): 45,92 % C, 5,86 % H, 4,97 % S.

**Methyl-2,2',3,3',4'-penta-O-acetyl-6,6'-
-didesoxy-6'-jod- β -lactosid (II)**

Ein Gemisch von 2,0 g I, 2,0 g NaI (wasserfrei) und 10 cm³ Aceton erwärmt man 10 h auf 110—120 °C. Nach Abdestillierung des Lösungsmittels suspendiert man den Destillationsrückstand in verdünnter Na₂S₂O₃-Wasserlösung ($w = 5\%$), wäscht ihn mit Wasser durch und nach Abtrocknen kristallisiert man ihn aus einem Gemisch von Äther + Petroläther um (1,90 g, Ausbeute = 90,4 %). Schmp. = 117—119 °C; $[\alpha](\lambda_D, \theta = 20\text{ °C}, \rho = 10\text{ g dm}^{-3}\text{ in CHCl}_3) = -8\text{ °C}$.

Für C₂₃H₃₃IO₁₄ ($M_r = 660,41$) w_i (berechnet): 41,83 % C, 5,03 % H, 19,22 % I; w_i (gefunden): 41,75 % C, 5,10 % H, 19,10 % I.

**Methyl-2,2',3,3',4'-penta-O-acetyl-
-6,6'-didesoxy- β -lactosid (III)**

In eine Lösung von 1,8 g II in 50 cm³ Essigsäureäthylester und 4 cm³ Triäthylamin wird 1 g Pd/C ($w(\text{Pd}) = 10\%$) zugegeben und das Reaktionsgemisch dann bei Raumtemperatur bis zum Aufhören der Wasserstoffabsorption ($V(\text{H}_2) \approx 66\text{ cm}^3$, $\theta = 20\text{ °C}$) hydriert. Nach Beseitigung des Katalysators dampft man das Filtrat ab, den Destillationsrückstand wäscht

* In ursprünglicher Mitteilung ist für Methyl-2,2',3,3'-tetra-O-acetyl-6-desoxy- β -lactosid irrtümlich ein Zahlwert $[\alpha](\lambda_D, \theta = 22\text{ °C}, \rho = 10\text{ g dm}^{-3}\text{ in CHCl}_3) = +23^\circ$ angegeben; richtig ist es $[\alpha](\lambda_D, \theta = 20\text{ °C}, \rho = 10\text{ g dm}^{-3}\text{ in CHCl}_3) = -6,7^\circ$.

man mit Wasser durch und nach Abtrocknen kristallisiert man ihn aus Chloroform und Petroläther um (1,23 g, Ausbeute = 84,4 %). Schmp. = 114—117 °C; $[\alpha](\lambda_D, \theta = 20\text{ °C}, \rho = 10\text{ g dm}^{-3}\text{ in CHCl}_3) = -12,5^\circ$; IR: $\tilde{\nu}_{\max}(\text{Nujol})/\text{cm}^{-1}$: 895 (β -Glykosid), 1060, 1215 (Ester), 1375, 1440 (CH_3), 1750 ($-\text{OAc}$).

Für $\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{O}_{14}$ ($M_r = 534,50$) $w_i(\text{berechnet})$: 51,68 % C, 6,41 % H; $w_i(\text{gefunden})$: 51,80 % C, 6,45 % H.

Dihydrat des Methyl-6,6'-didesoxy- β -lactosids (IV)

In eine Lösung von 1,15 g III in 25 cm^3 Methanol gibt man 1 cm^3 0,1 M- CH_3ONa zu und das Reaktionsgemisch läßt man 24 h bei Raumtemperatur stehen. Nach Abdampfen wird der Destillationsrückstand in Wasser gelöst, deionisiert (Ionenaustauscher-V, Merck) (5 min), das Filtrat wird abgedampft und durch Umfällen aus Äthanol und Äther gereinigt, womit man ein hygroskopisch-amorphes Produkt (0,73 g, Ausbeute = 94,1 %) mit $[\alpha](\lambda_D, \theta = 20\text{ °C}, \rho = 10\text{ g dm}^{-3}\text{ in H}_2\text{O}) = +10,3^\circ$ erhält.

Für $\text{C}_{13}\text{H}_{24}\text{O}_9 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ($M_r = 360,35$) $w_i(\text{berechnet})$: 43,33 % C, 7,83 % H; $w_i(\text{gefunden})$: 43,29 % C, 7,92 % H.

1,2,2',3,3',4'-Hexa-O-acetyl-6,6'-didesoxy- α -lactose (V)

In 3 cm^3 eines Gemisches von Acetanhydrid + Essigsäure + konz. H_2SO_4 (10:10:1) gibt man bei 0 °C 0,7 g IV zu und läßt das Reaktionsgemisch 45 min bei Raumtemperatur stehen. Nach Eingießen in gesättigte NaHCO_3 -Lösung (0 °C, 100 cm^3) und 1 h Stehen bei Raumtemperatur extrahiert man das ausgeschiedene Produkt mit CHCl_3 und nach Abtrocknen (Na_2SO_4) und Entfärbung (Aktivkohle) dampft man das Extrakt ab. Das gewonnene Produkt (0,5 g, Ausbeute = 40,8 %) hat Schmp. 108—111 °C (Äther + Petroläther); $[\alpha](\lambda_D, \theta = 20\text{ °C}, \rho = 10\text{ g dm}^{-3}\text{ in CHCl}_3) = +44,4^\circ$; IR: $\tilde{\nu}_{\max}(\text{KBr})/\text{cm}^{-1}$: 690, 760 ($\text{CH}-$), 1050 (Acetal), 1430 (CH_3), 1745 ($-\text{OAc}$), 2900 ($\text{CH}-$), 3440 ($\text{HO}-$); TLC (Silufol-Kavalier, ČSSR; Elution: $\text{EtOH} + \text{H}_2\text{O}$ (Volumenverhältnis = 1:1); Detektion: $\text{EtOH} + 5\% \text{-H}_2\text{SO}_4$) bestätigte die Einheit des Produktes.

Für $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{O}_{15}$ ($M_r = 562,51$) $w_i(\text{berechnet})$: 51,24 % C, 6,09 % H; $w_i(\text{gefunden})$: 51,32 % C, 6,13 % H.

6,6'-Didesoxy-lactose (VI)

In eine Lösung von 0,4 g V in 10 cm^3 Methanol wird 0,5 cm^3 0,1 M- CH_3ONa zugegeben und das Reaktionsgemisch läßt man 48 h bei Raumtemperatur stehen. Nach Abdampfen, Auflösung des Destillationsrückstandes in 15 cm^3 Wasser, Deionisierung (Ionenaustauscher-V, Merck) und Entfärbung (Aktivkohle) wird das Filtrat abgedampft und der Destillationsrückstand aus Methanol und Äther umkristallisiert (0,20 g, Ausbeute = 90,6 %). Schmp. 160—162 °C; $[\alpha](\lambda_D, \theta = 20\text{ °C}, t = 2\text{ h}, \rho = 10\text{ g dm}^{-3}\text{ in H}_2\text{O}) = +25^\circ$.

Für $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_9$ ($M_r = 310,29$) $w_i(\text{berechnet})$: 46,45 % C, 7,14 % H; $w_i(\text{gefunden})$: 46,38 % C, 7,21 % H.

Nach 1 h Erwärmen von VI mit 0,5 M-HCl kann man im Hydrolysat chromatographisch (Elution: n-BuOH—EtOH—H₂O (Volumenverhältnis = 5:1:4); Detektion: HIO₄ + Benzidin) die Anwesenheit der D-Fucose ($R_F = 0,26$), der D-Chinovose ($R_F = 0,33$) und in Spuren der 6,6'-Didesoxy-lactose ($R_F = 0,11$) feststellen.

Enzymatische Hydrolyse

In eine Lösung von 10 mg des Stoffes in 0,5 cm³ 0,2 M-Phosphatpuffers (pH 7,25) wird 0,1 mg β -Galactosidase (0,05 cm³) (Sigma, BRD, ex *Saccharomyces fragilis*; spez. Aktivität 42 nkat/mg) zugegeben und die Hydrolyse läßt man bis 1 h [2] verlaufen. Bei durchlaufender Musterabnahme (0,1 cm³) wird die relative Hydrolysegeschwindigkeit kolorimetrisch [3] aufgrund des Reduktionsgruppenzuwachses festgesetzt. Als Kontrollproben haben wir dabei die 6- und 6'-Desoxy-lactose benützt [1, 4].

Die Hydrolyse der Lactose, 6-, 6'-Desoxy- sowie auch der 6,6'-Didesoxy-lactose verfolgten wir auch chromatographisch (Whatman 1; Elution: n-PrOH—AcOEt—H₂O (Volumenverhältnis = 7:1:2); Detektion: Diphenylamin—Anilin) [5].

Wir danken O. Juríková, K. Paule und B. Leščáková für die Durchführung der Elementaranalysen, G. Košícký für die optischen Messungen und R. Justhová für die Registrierung der IR-Spektren.

Literatur

1. Ježo, I. und Zemek, J., *Chem. Zvesti* 37, 83 (1983).
2. Hestrin, S., Feingold, D. S. und Schramm, M., *Methods in Enzymology* 1, 241 (1955).
3. Somogyi, M., *J. Biol. Chem.* 12, 195 (1952).
4. Zemek, J., Kučár, Š., Zámocký, J. und Augustin, J., *Collect. Czechoslov. Chem. Commun.* 44, 1992 (1979).
5. Kocourek, J., Tichá, M. und Košťiř, J., *J. Chromatogr.* 24, 117 (1966).

Übersetzt von I. Ježo