

A diszaharid kötés stabilitásának vizsgálata

KISFALUDY LAJOS, BUDAPEST

Érkezett: 1958. december 20.

A keményítő meghatározások többségének lényege, hogy a keményítő molekulát savas hidrolízisnek vetik alá és a keletkezett glükóz mennyiségét határozzák meg. A meghatározások azonban figyelmen kívül hagyják egy igen lényeges és nem elhanyagolható tény: a keményítő molekula glükóz-egységekre történő hasítása nem játszódhat le quantitative, mert sav hatására a már meglévő glükóz molekulák újból reakcióba lépnek és különböző diszaharidok, anhidridek és magasabb tagszámú oligoszaharidok bonyolult keverékét szolgáltatják. Ezt a tény számos kutató igazolja (1—5). Már 1926-ban *Berlin* (6) a keményítőből előállított kristályos glükóz anyalúgijából, az úgynevezett hidrolból kismennyiségű gentiobiozt állított elő kristályosan okta-acetátja formájában.

Vizsgálataink részben a hidrolból előállítható gentiobiozra, részben a diszaharid kötés savakkal szemben tanúsított ellenállóképességének tanulmányozására vonatkoznak.

I. A gentiobioz előállítása

Mint ismeretes, a gentiobioz amigdalin nevű glikozidja alakjában a keserű mandulában és számos *Prunus*-félése magjában fordul elő. Előállítása régebben főleg a *Bourquet*-féle emulzinos szintézissel történt, mely jó enzim készítmény esetén 4—5%-os kitermeléssel szolgált gentiobiozt. *Bergmann* és *Freudenberg* vizsgálatai nyomán vált ismeretessé, hogy glikozidjából, az amigdalinból katalitikus hidrálással is előállítható. Ok hepta-acetil-amigdalinból indultak ki és ennek megfelelően, heptaacetyl gentiobiozt preparáltak ki 30%-os termeléssel. Módszerüknek számos hátránya van. Kézencsekvő volt ezért a hidrálás körülményeit megváltoztatni. A hidrálást vizes oldatban végeztük Pd-katalizátor jelenlétében, amigdalinból kiindulva. A hidrogén felvétel a hidrálás előrehaladtával erősen csökkent és mint a mellékelt diagrammból látható kb. 1,5 mol felvétele után gyakorlatilag megállt. A jelenség magyarázata: a vízben nem oldódó aglükon kicsapódik a katalizátor felületére és utóbbi hatását teljesen megszünteti. Ezért célszerű már 1/3-mol H₂ felvétele után 96%-os alkohol adagolni a hidrálendő elegyhez. Így a hidrálás szinte percek alatt lejátszódik és közel 3 mol hidrogén fogy el. (*Bergmann*ék 2,4 mol hidrogén felvételét észlelték.) Számos kísérletet végeztünk a hidrálás optimumának megállapítására és azt tapasztaltuk, hogy a víz-alkohol arányának a hidrálás végén legalább 1:1,5 kell lennie. A gentiobioz kiperarálása igen egyszerű, a katalizátor leszűrése után kapott oldatot alkoholmentesítjük, az aglükont éterrel kirázzuk és a vizes részt bepároljuk. A maradék a gentiobioz, melyet legjobb oktaacetátja formájában tisztítani.

A gentiobioz, mely a legrégebben ismert diszaharid (7—8) arról is nevezetes, hogy az egyetlen diszaharid, mely frakcionált kristályosítással kiperarálható abból a bonyolult reakció keverékből, mely glükóz vizes oldatában keletkezik ásványisavak, vagy kationcserélő műgyanta jelenlétében (9). Ebből a tényből az a következtetés vonható le, hogy olyan kísérleti feltételek mellett is, mint amilyenek pl. a keményítő hidrolízisének is fennállnak, a keletkezett glükóz molekulák készségesen kapcsolódnak beta 1—6-os kötéssel.

II. A diszaharid kötés stabilitásának vizsgálata

Ismert tény, hogy a különböző diszaharidok hasítása különböző sebességgel játszódik le. A nem redukáló diszaharidok, mint pl. a szaharóz már kationcserélő gyantával melegítve is felhasad. Jóval erősebb kötést mutatnak az úgynevezett redukáló diszaharidok. Itt is különbség van azonban az alfa és beta kötéstípus között.

Kísérleteinket úgy végeztük, hogy a diszaharid acetátot kloroformban oldottuk és jégecetets hidrogénbromiddal elegyítve kezeltük. A reakció keverékben bekövetkezett változásokat a forgatóképesség és redukálóképesség változásával követtük oly módon, hogy utóbbinál a keverék savmentesre történt mosása után ezüst-acetáttal mindig a megfelelő acetátot állítottuk elő, tekintettel arra, hogy az acetobrom-származékok redukálóképességének meghatározása bizonytalan.

A kísérletek eredményei:

a) Maltóz esetén a forgatóképesség és redukálóképesség változásából megállapítható 1.) az alfa-brómhepta-acetát keletkezése azonnal bekövetkezik, 2.) a diszaharid kötés felhasadása csak 12 órai állás után kezdődik, 3.) az ismeretlen alfa-bróm—2,3,6-triacetilglükóz fajlagos forgatóképessége alacsony pozitív értéket mutat. Preparatív beta-oktaacetil-maltózt, kevés heptaacetil-maltózt és bonyolult, nem kristályosodó reakció keveréket kaptunk.

b) Gentiobioz esetében a reakciókeverék maximális redukálóképességét 48 óra alatt éri el és a forgatási értékekből következik, hogy az ismeretlen alfa bróm-2,3,4-triacetilglükóz fajlagos forgatási értéke magasabb pozitív értéket ad.

c) A szaharóz hasítása sokkal rövidebb idő alatt következik be, és a reakció keverékből az egyik monoszaharid, a glükózpenta-acetát ki is preparálható.

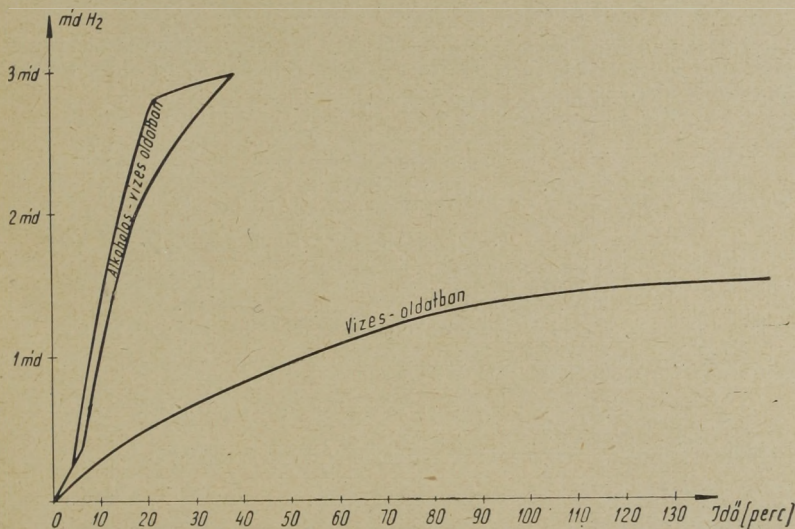
Fenti kísérletek egybehangzóan bizonyítják, hogy az adott kísérleti körülmények között először, az egyszerű inverzióval kapott bróm-heptaacetil-diszaharid keletkezik, ezt követi a diszaharid kötés felhasadása; a reakció keverékben azonban a megfelelő monoszaharid származékok közül egyedül a szaharóz esetében sikerült beta-pentaacetil-glükózt kiperarálni, mert a reakció során részleges dezacetilezés is bekövetkezik. Éppen ezért a fenti hasítási módszert megkíséreltük erősebb acilsoporttal védett diszaharidokon elvégezni. E célból előállítottuk az irodalomban nem ismert klórheptametánsulfonil-maltózt és oktametánsulfonil-szaharózt. Sajnos már a kiindulási anyagok sem voltak kristályosíthatók és ennek megfelelően hasítás után kapott reakciókeverékből sem sikerült kristályos vegyület előállítani.

KÍSÉRLETI RÉSZ

1. Gentiobioz előállítása

5,0 g amigdalin 100 ml vizes oldatát előzőleg hidrogénnel telített csontszenes palládium katalizátor vizes szuszpenziójához szívatjuk be hidrálokacsába. Ezután elkezdjük a hidrálást és kb. 250 ml H_2 fogyása után a hidrálás ütemének megfelelően kis részletekben 150 ml etanolt szívatunk a készülékbe. A hidrálás 30 perc alatt gyakorlatilag befejeződik a fogyott H_2 mennyisége 680 ml, ami 2,8 molnak felel meg. A katalizátorról leszűrt alkoholos vizes oldatot vákuumban bepárooljuk míg alkoholmentes lesz, a

vizes részt 3×50 ml éterrel kirázzuk és a vizes oldatot vákuumban szárazra pároljuk. A visszamaradó szirup súlya 3,4 g (90%). A szokásos módon nátriumacetát, ecetsavanhidriddel acetilezve 5,95 g nyers oktaacetát nyerhető, mely egyszeri átkristályosítással $191-2^\circ$ olvadáspontú anyagot szolgáltat.



2. Oktaacetilszaharóz hasítása, jégecetes brómhidrogénnel

a.) A hasítás ellenőrzése forgatással.

6,0 g oktaacetilszaharózt (op.: 87°) analitikai mérlegben 15 ml-es normál lombikba mérünk be és 6 ml kloroformban oldjuk. Hozzáadunk 3 ml 70%-os jégecetes hidrogénbromidot és jelig töltjük kloroformmal. Összeöntés után azonnal, majd meghatározott időközönként 1 ml-t kipipetázunk, normál lombikban jelig töltjük, előbb kloroformmal, majd jégecettel.

Összeöntés után: $[\alpha]_{D}^{20} = 10 \times 2,03/0,4 = + 50,7^\circ$ (kloroform)

1 óra múlva	$[\alpha]$	$= 10 \times 2,15/0,4 = + 53,7^\circ$ (kloroform)
2,5 óra múlva	$[\alpha]$	$= 20 \times 0,88/0,4 = + 44,0^\circ$ (jégecetben)
3,5 óra múlva	$[\alpha]$	$= 20 \times 1,045/0,4 = + 52,2^\circ$ (jégecetben)
21 óra múlva	$[\alpha]$	$= 20 \times 1,65/0,4 = + 82,2^\circ$ (jégecetben)
24 óra múlva	$[\alpha]$	$= 20 \times 1,64/0,4 = + 82,0^\circ$ (jégecetben)

b.) A hasítás ellenőrzése preparatív.

20,0 gr. oktaacetil szaharózt (op. 87°) 15 ml. absz. kloroformban oldunk 15 ml. jégecetes hidrogénbromidot adunk hozzá és $+2^\circ$ -on tartjuk 4 óráig. 5 ml-t kiveszünk belőle, jeges vízzel savmentesre mossuk, szárítjuk és fölös mennyiségű Ag-acetáttal a bróm reakció megszűntéig rázatjuk. Az ezüst csapadék leszűrése után a kloroformos oldatot vákuumban bepároljuk és a

maradékot kétszeres metanolban oldjuk. Másnapra kristályos kiválás.
 űlya: 0,5 g Op: 132—3° $[\alpha]_D^{20} = + 3,0^\circ$, keverék op. beta-pentaacetil-
 glükózzal 133—4°.

3. Oktaacetilmaltóz hasítása jégecetes brómhidrogénnel

a.) *A hasítás ellenőrzése forgatással és redukióval.*

3,3118 g beta-oktaacetilmaltózt (op: 158—9°) 4 ml kloroformban oldunk,
 hozzáadunk 2 ml 70%-os jégecetes hidrogénbromidot és 10 ml-re töltjük.
 Összeöntés után

$$5' \text{-el } [\alpha]_D^{20} = + 4,705 \times 10/0,3318 = + 142,0^\circ$$

Redukálóképesség: 19,6 ml 0,1 n KMnO_4

Összeöntés után 13,5 óra múlva $[\alpha]_D^{20} = + 5,836 \times 10/0,3318 = +$
 $+ 176,3^\circ$

Redukálóképesség 18,45 ml 0,1 n KMnO_4

Összeöntés után 21,5 óra múlva $[\alpha]_D^{20} = + 5,555 \times 10/0,3318 = +$
 $+ 167,7^\circ$

Redukálóképesség 25,0 ml 0,1 n KMnO_4

Összeöntés után 38,5 óra múlva $[\alpha]_D^{20} = + 5,580 \times 10/0,3318 = +$
 $+ 148,8^\circ$

Redukálóképesség 24,2 ml 0,1 n KMnO_4

Összeöntés után 40 óra múlva $[\alpha]_D^{20} = + 4,93 \times 10/0,3318 = +$
 $+ 148,8^\circ$

Redukálóképesség 22,2 ml 0,1 n KMnO_4

b.) *A hasítás ellenőrzése preparative.*

10,0 g beta-oktaacetilmaltózt 10 ml kloroformban oldunk és hozzá-
 adunk 10 ml 70%-os jégecetes hidrogénbromidot. Becsiszolt dugós Erlens-
 meyerben hagyjuk állni, jégsezkrényben és 24 óránként mintákat veszünk ki.
 A minták feldolgozása a következő. A kloroformos oldatot kétszeresére
 hígítjuk, jegesvízzel savmentesre mossuk, kalcium-kloriddal szárítjuk és
 főlős ezüstacetáttal a halogén reakció megszűntéig rázatjuk. Az ezüst
 csapadék leszűrése után kapott oldatot csökkentett nyomáson bepároljuk
 és 4 ml metanolban oldjuk. Másnapra kristályos kiválás.

Első minta súlya 1,65 g op: 150—151°

Második minta súlya 1,15 g op: 149—151°

Harmadik minta súlya 0,65 g op: 148—151°

Keverék op: beta-oktaacetil-maltózzal 149—151°. Az anyaglúgokból
 0,2 g ugyancsak kristályos anyagot sikerült izolálni, mely op. és forgatás
 alapján heptaacetil-maltóznak bizonyult.

4. Beta-oktaacetilgentiobioz hasítása brómhidrogénnel

a.) *A hasítás ellenőrzése forgatással és redukióval.*

20 ml normál lombikba bemérünk 2,072 g beta-oktaacetilgentiobiózt
 (op: 194°) 5 ml kloroformban oldjuk és 2 ml 70%-os jégecetes hidrogén-
 bromidot adunk hozzá. Jelig töltjük és az említett módon mérjük a forgató-
 képesség és redukálóképesség változását.

Összeöntés után 5 perc múlva $[\alpha]_D^{20} = + 48,2^\circ$

Redukálóképesség 7,31 ml 0,1 n KMnO_4

Összeöntés után 2 óra múlva $[\alpha]_D^{20} = + 85,6^\circ$

Redukálóképesség 7,35 ml 0,1 n KMnO_4

Összeöntés után 4 óra múlva $[\alpha]_D^{20} = + 111,5^\circ$

Redukálóképesség 7,86 ml 0,1 n KMnO_4

Összeöntés után 6 óra múlva $[\alpha]_D^{20} = + 111,9^\circ$

Redukálóképesség 9,81 ml 0,1 n KMnO_4

Összeöntés után 18 óra múlva $[\alpha]_D^{20} = + 140,9^\circ$

Redukálóképesség 10,4 ml 0,1 n KMnO_4

Összeöntés után 27 óra múlva $[\alpha]_D^{20} = + 121,6^\circ$

Redukálóképesség 10,9 ml 0,1 n KMnO_4

Összeöntés után 41 óra múlva $[\alpha]_D^{20} = + 124,5^\circ$

Redukálóképesség 11,0 ml 0,1 n KMnO_4

Összeöntés után 48 óra múlva $[\alpha]_D^{20} = + 133,2^\circ$

Redukálóképesség 11,6 ml 0,1 n KMnO_4

Összeöntés után 95 óra múlva $[\alpha]_D^{20} = + 135,1^\circ$

Redukálóképesség 8,9 ml 0,1 n KMnO_4

b.) Preparative a bonyolult reakciókeverékből kristályos terméket izolálni nem tudtunk.

5. Klórheptamezil-maltóz előállítása

1,0 g vákuumban szárított maltózt 10 ml absz. piridinban melegítéssel oldunk, majd jeges hűtés mellett 3,2 g (20% felesleg) metánszulfonil-kloridot adunk hozzá. Jégszekrényben áll 24 óráig. Ezután 100 ml jeges vízbe öntjük és a jól tömörülő kissé rózsaszínű csapadékot leszívátjuk, szárítjuk. A nyers termék súlya 2,28 g (86%). A termék jól oldódik piridin, etilacetát, dioxán és jégcetben, nem oldódik alkoholokban, vízben, kloroformban, benzolban. Átszapható jégcet-vízből. Fehér amorf por. Op.: 120° körül bomlik.
 $\text{C}_{12} \text{H}_{14} (\text{OMz})_7 \text{O}_3 \text{Cl}$ (907,39) S(elméleti): 24,73%
S(talált): 23,92%, 24,02%

6. Oktamezil-szaharóz előállítása

1,0 g szaharózt oldunk 15 ml absz. piridinben, majd jeges hűtés mellett 2,5 g metánszulfonilkloridot adunk hozzá. Egy éjen át jégszekrényben á

100 ml jeges-vízbe öntjük, a kivált csapadékot leszívátjuk, szárítjuk. Súlya 2,56 g (90,7%). Jégecet-vízből átcsapható. Fehér amorf por.

$C_{12}H_{14}O_3$ (OMz)₈ (967,03) S (elméleti): 26,5%
S (talált): 26,1% 25,93%

Hálás köszönetemet fejezem ki néhai Zemplén Géza professzor úrnak a téma irányításáért, értékes tanácsaiért.

IRODALOM

- (1) Fischer E.: B. 28, 3024, 1895.
- (2) Armstrong F.: Proc. Roy. Soc. London 76, B. 592, 1905.
- (3) Friedrichs O.: Arkiv. Kemi. Min. Geol. 5, 4, 1913.
- (4) Colleman, G.: Buchanan, M. Ph. Paul: J. Am. Chem. Soc. 57, 1119, 1935.
- (5) Taylor, Lifschütz, D.: J. Am. Chem. Soc. 54, 1054, 1932.
- (6) Berlin, H.: J. Am. Chem. Soc. 48. 2627, 1926.
- (7) Zemplén, G.: Ztschr. f. phys. Chem. 85, 399, 1913.
- (8) Zemplén, G.: B. 48, 915, 1915.
- (9) Zemplén, G. Kisfaludy, L.: Acta Chim. Hung. 4, 79, 1952.

ИССЛЕДОВАНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ ДИСАХАРИДНОЙ СВЯЗИ

Л. Кишфалуди

Во время гидролиза крахмала, при данных условиях исследований получается в первую очередь бром-гентаацетил-дисахарид, образующийся с однократной инверсией, после этого расщепляется дисахаридная связь, но из реакционной смеси только в случае сахарозы удалось разделить бетапентаацетил-глюкозу из моносахаридных производников, ввиду того, что во время реакции наступает также частичное деацетилирование.

Автор попробовал расщеплять дисахариды защищенные более сильными ацетильными группами. Для такой цели производил хлоргептаметансульфонил мальтозу и октаметан-сульфонил-сахарозу, не известные в литературе, но после расщепления из полученной реакционной смеси не удалось приготовить кристаллическое соединение.

STABILITÄTSPRÜFUNG DER DISACCHARID-BINDUNG

L. Kisfaludy

Bei der Stärkehydrolyse entsteht unter den gegebenen Versuchsbedingungen zuerst das bei der einmaligen Inversion erhaltene Brom-Heptaacetyl-Disaccharid, hierauf folgt die Spaltung der Disaccharidbindung; von den entsprechenden Monosaccharid-Derivaten ist es einzig und allein im Falle von Saccharose gelungen Beta-Pentaacetyl-Glykose aus der Reaktionsmischung zu gewinnen, da im Laufe der Reaktion auch eine teilweise Desacetylierung stattfindet. Der Verfasser versuchte die beschriebene Spaltungsmethode auch bei von stärkeren Acylgruppen geschützten Disacchariden anzuwenden. Zu diesem Zwecke stellte er die in der Literatur nicht bekannte Chlorheptamethansulfonyl-Maltose und die Oktamethansulfonyl-Saccharose dar, leider aber gelang es ihm auch in diesem Falle nicht aus dem nach entsprechender Spaltung erhaltenen Reaktionsgemisch eine kristallinische Verbindung zu gewinnen.

INVESTIGATION OF THE STABILITY OF THE DISACCHARIDE BOND

L. Kisfaludy

On hydrolysing starch under the given experimental conditions, first of all, bromo-heptaacetyl disaccharide formed by a single inversion is obtained. Then the disaccharide bond is splitted. However, of the corresponding monosaccharide derivatives, the isolation of beta-pentaacetyl glucose from the reaction mixture succeeded only in the case of sucrose as also a partial deacetylation occurs in the course of the reaction. It was attempted by the author to carry out the described method of splitting also with disaccharides protected by stronger acetyl group. For this purpose, chloroheptamethanesulphonyl maltose and octamethanesulphonyl sucrose, compounds so far unknown in literature were prepared. However, all attempts to isolate a crystalline compound from the reaction mixture obtained after the splitting process failed.

L'ANALYSE DE LA STABILITÉ DES SOUDURES DISACCHARIDES

L. Kisfaludy

A l'hydrolyse de la fécule, dans des circonstances données, les bromo-heptaacetyl-disaccharides résultent les premiers, reçus par l'inversion simple, suivis par la division de la soudure disaccharide, dans le mélange réactionnel cependant, parmi tous les dérivés monosaccharides, ce n'était que pour le cas du saccharose que l'on a réussi à préparer du béta-pentaacetyl-glucose, dû à la désacétylisation partielle pendant la réaction. L'auteur a essayé à pratiquer cette technique de clivage, expliquée plus haut, aux disaccharides protégés par des groupes acétyles plus efficaces. Pour cet effet, l'auteur a produit le chlore-heptaméthane-sulphonyl-maltose, de même que l'octaméthane-sulphonyl-saccharose des composés inconnus dans la littérature, mais, dans ce cas, la production d'un composé cristallin à base du mélange réactionnel, reçu après le clivage, a échoué.