

Papierchromatographische Untersuchungen wurden nach L. HOUGH¹¹⁾ ausgeführt. Auf Whatman Papier No. 1 wurden aus einer 3—4-proz. wäßrigen Lösung 0.002—0.003 ccm aufgetragen. Nach aufsteigendem Chromatographieren mit n-Butanol/Äthanol/Wasser (4:1.1:1.9) wurde das bei 100° getrocknete Papier mit 5-proz. ammoniakalischer Silbernitrat-Lösung bespritzt und 20 Min. bei 100° erwärmt. Die R_F -Werte des D-Sorbits, D-Mannits und L-Idits (0.20—0.22) unterscheiden sich kaum. Die R_F -Werte der alkalischen Hydrolysenprodukte (1,6-Anhydro-hexite X, XI, XII) und der sauren Hydrolysenprodukte (2,5-Anhydro-L-idit (XVII)) sind untereinander ebenfalls nahezu gleich, 0.30—0.31, bzw. 0.36 (Abbildung 1).

¹¹⁾ Nature [London] 165, 400 [1950].

KURT HEYNS und WERNER BALTES

Über die Umsetzung von D-Glucuronsäure mit Aminen (Die Amadori-Umlagerung von N-Glucuroniden)

Aus dem Chemischen Staatsinstitut, Institut für Organische Chemie,
Universität Hamburg

(Eingegangen am 24. März 1960)

Herrn Prof. Dr. Fritz Micheel zum 60. Geburtstag gewidmet

N-Alkylglykoside der Glucuronsäure lassen sich über eine Amadori-Umlagerung in N-Alkyl-isoglucosaminuronsäuren (1-Desoxy-1-alkylamino-D-fructuronsäuren) überführen. Die Darstellung erfolgt entweder durch Umsetzung von Kaliumglucuronat mit primären und sekundären aliphatischen Aminen oder durch Reaktion der Amine mit freier Glucuronsäure in wasserfreiem Methanol. — Der Lactonring des Glucurons wird bei der Umsetzung mit aliphatischen Aminen aufgespalten, wobei die N-Alkyl-glucuronide in Gegenwart von Wasser als Aminsalze, in wasserfreiem Milieu als N-Alkyl-säureamide erhalten werden, die sich als solche umlagern lassen. Umsetzungen von Glucuron mit aromatischen Aminen, die den Lactonring nicht aufspalten, führen zur Bildung dunkel gefärbter Abbauprodukte. — Hydrierende Spaltung der N,N-Dibenzyl-isoglucosaminuronsäure liefert die freie Isoglucosaminuronsäure.

Durch Umsetzung von Kaliumglucuronat mit aromatischen Aminen lassen sich, wie wir kürzlich zeigen konnten¹⁾, die entsprechenden N-Glucuronide gewinnen, die verhältnismäßig leicht mittels Säurekatalyse einer Amadori-Umlagerung zu 1-Desoxy-1-arylamino-D-fructuronsäure-Verbindungen unterliegen. Die N-arylsubstituierten Verbindungen können durch hydrierende Abspaltung des Tolyl- oder Phenyl-Restes nach R. KUHN und H. J. HAAS²⁾ in die freie 1-Desoxy-1-amino-D-fructuronsäure (Isoglucosaminuronsäure) übergeführt werden. Amino-uronsäuren haben gewisse

¹⁾ K. HEYNS und W. BALTES, Chem. Ber. 91, 622 [1958].

²⁾ Liebigs Ann. Chem. 600, 148 [1956].

Bedeutung erlangt, nachdem die von uns gleichfalls synthetisierte 2-Desoxy-2-amino-D-galakturonsäure³⁾ als Hauptbaustein des Vi-Antigens der Kapselsubstanzen verschiedener Bakterien erkannt worden ist⁴⁾; ferner werden N-Glucuronide bei Entgiftungsvorgängen im tierischen Organismus im weiteren Umfang gebildet.

Untersuchungen über den Verlauf der Amadori-Umlagerung der N-Glykoside von Aldosen unter verschiedensten Reaktionsbedingungen und über Unterschiede in der Umlagerungstendenz bei Variation der Ausgangskomponenten, sowohl der Amino- als auch der Kohlenhydrat-Komponente, sind bisher Gegenstand zahlreicher Arbeiten gewesen⁵⁻¹⁰⁾. Ketosen können gleichfalls über eine Ketosylamin-Umlagerung ihrer N-Glykoside in Derivate von 2-Amino-aldosen übergeführt werden¹¹⁾.

In der vorliegenden Mitteilung wird vorwiegend die Umsetzung von Glucuronsäure und Glucuron mit aliphatischen Aminen behandelt und die Reaktivität der Glucuronsäure mit der anderer Zucker verglichen. Mit Aminosäuren als aliphatischer Aminkomponente reagiert Kaliumglucuronat, wie wir bereits berichteten¹²⁾, glatt zu 1-N-Aminosäure-1-desoxy-D-fructuronsäuren (Fructuron-Aminosäuren), die wir inzwischen in kristallisierter Form erhalten konnten.

REAKTION VON KALIUMGLUCURONAT MIT AMINEN

Während sich die N-Glykoside von Glucose mit genügend basischen aromatischen Aminen leicht in Amadori-Verbindungen umlagern, ist die Umlagerung von Verbindungen mit aliphatischen Aminen oft schwierig und nur unter besonderen Bedingungen zu erreichen¹³⁾. Die Isolierung wird dabei meist erschwert durch die unter den stärker alkalischen Bedingungen sich reichlich bildenden dunkel gefärbten Produkte. Nach F. MICHEEL und A. FROWEIN⁷⁾ verläuft die Umlagerung von 4,6-Benzal-glucose sowohl mit aromatischen wie auch aliphatischen Aminen sehr viel übersichtlicher. Kaliumglucuronat reagiert gleichfalls leichter als Glucose. Es lässt sich ohne wesentlichen Unterschied mit aromatischen und aliphatischen Aminen zu den entsprechenden Verbindungen III umsetzen und ist daher in seiner Reaktionsfähigkeit mit Aminen nicht mit der Glucose, sondern eher mit der 4,6-Benzal-glucose zu vergleichen. Kaliumglucuronat muß, wie wir bereits bei der Reaktion mit aromatischen Aminen beschrieben haben, in einer Mischung aus Wasser/Äthanol (1 : 1) umgesetzt werden, da das Salz in reinem Äthanol völlig unlöslich ist. Bei Gegenwart eines Umlagerungskatalysators ließen sich aliphatische Amine unter diesen Bedingungen zu 1-Desoxy-1-alkylamino-fructuronsäuren (III) umsetzen. In einem Vergleichsversuch haben wir Glucose unter völlig analogen Bedingungen mit aliphatischen Aminen behandelt. Die Lösungen

³⁾ K. HEYNS und M. BECK, Chem. Ber. **90**, 2443 [1957].

⁴⁾ K. HEYNS, G. KISSLING, W. LINDBERG, H. PAULSEN und M. E. WEBSTER, Chem. Ber. **92**, 2435 [1959].

⁵⁾ F. WEYGAND, Ber. dtsch. chem. Ges. **72**, 1663 [1939]; **73**, 1259 [1940].

⁶⁾ F. MICHEEL und B. SCHLEPPINGHOFF, Chem. Ber. **89**, 1702 [1956].

⁷⁾ F. MICHEEL und A. FROWEIN, Chem. Ber. **90**, 1599 [1957].

⁸⁾ E. MITTS und R. M. HIXON, J. Amer. chem. Soc. **66**, 483 [1944].

⁹⁾ L. ROSEN, J. W. WOODS und W. PIGMAN, Chem. Ber. **90**, 1038 [1957].

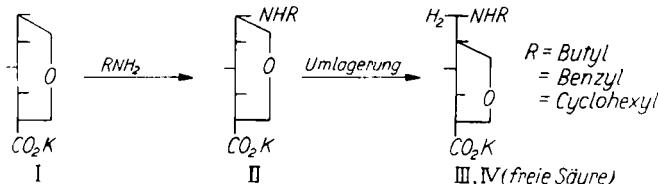
¹⁰⁾ L. ROSEN, J. W. WOODS und W. PIGMAN, J. Amer. chem. Soc. **80**, 4697 [1958].

¹¹⁾ Siehe z. B. K. HEYNS, H. BREUER und H. PAULSEN, Chem. Ber. **90**, 1374 [1957].

¹²⁾ K. HEYNS und W. SCHULZ, Chem. Ber. **93**, 128 [1960].

¹³⁾ J. E. HODGE und C. E. RIST, J. Amer. chem. Soc. **74**, 1494 [1952]; **75**, 316 [1953].

zeigten in alkalischer Lösung mit *o*-Dinitro-benzol nur eine sehr schwache Reaktion, in keinem Fall waren Umlagerungsprodukte chromatographisch nachzuweisen.



Eine Säurekatalyse, am wirksamsten ein Zusatz von Essigsäure, ist zur Umlagerung der zumeist nicht kristallisiert erhaltenen *N*-Glucuronide II zu III unbedingt erforderlich. Mineralsäuren katalysieren die Umlagerung ebenfalls, beschleunigen jedoch gleichzeitig die Folgereaktionen zu Huminstoffen derart, daß keine Reaktionsprodukte isolierbar sind. Verbindungen mit aktiven Methylengruppen, wie Acetylaceton oder Malonester¹³⁾, haben auf die Umlagerungsgeschwindigkeit keinen Einfluß.

Bei den Reaktionen in Äthanol/Wasser ist es störend, daß infolge der gegenüber den aromatischen Aminen erheblich stärkeren Basizität der aliphatischen Amine die Huminstoffbildung während der Umlagerungsreaktion erheblich vermehrt wird. Zugabe von Natriumhydrogensulfit verzögert die Dunkelfärbung, kann sie aber auf die Dauer nicht verhindern. Bei allen Ansätzen tritt Isonitrilgeruch auf.

Um die Huminstoffbildung durch Sekundärreaktionen in Grenzen zu halten, muß die Reaktion vorzeitig abgebrochen werden. Dabei wird ein erheblicher Teil des Kaliumglucuronats nicht umgesetzt, die Ausbeuten bleiben daher gering. Zur Isolierung der *N*-Alkyl-isoglicosaminuronsäuren IV werden die Verbindungen zur Abtrennung der dunkel gefärbten Begleitstoffe an sauren Ionenaustauschern adsorbiert und durch zweifache Säulentrennung gereinigt. Durch vorsichtiges Einengen der Eluate können die empfindlichen freien Säuren IV in gut kristallisierter Form erhalten werden. Sie kristallisieren wesentlich besser als die *N*-Arylverbindungen der Iso-glicosaminuronsäure und auch besser als die *N*-Alkylverbindungen des Isoglicosamins.

Nach HODGE und RIST¹³⁾ lassen sich auch *N*-Glucoside von sekundären Aminen zu Amadori-Verbindungen umlagern. Wir haben Kaliumglucuronat gleichfalls mit sekundären Aminen umgesetzt. Mit aromatischen sekundären Aminen, wie Diphenylamin, ließ sich nur sehr wenig Umlagerungsprodukt durch eine schwache Färbung der Lösung mit *o*-Dinitro-benzol nachweisen. Der mesomere Effekt der Phenylsubstituenten schwächt offenbar das freie Elektronenpaar am Stickstoff, wodurch das Amin nicht mehr zur Amadori-Umlagerung befähigt ist. Ähnliche Einflüsse konnten MICHEEL und SCHLEPPINGHOFF⁶⁾ bei Umsetzung mit am Ring substituierten Anilinen nachweisen.

Dibenzylamin dagegen reagiert gut mit Kaliumglucuronat. Die Huminstoffbildung ist auch bei stärkerem Erhitzen bemerkenswert gering. Die *N,N*-Dibenzyl-isoglicosaminuronsäure wird direkt als in Wasser schwer lösliches, gut kristallisierendes Dibenzylaminsalz V erhalten.

Die Umsetzung von Piperidin und Morpholin mit Kaliumglucuronat führte nur zu Huminstoffen neben unverändertem Kaliumglucuronat. Nach G. P. ELLIS und

J. HONEYMAN¹⁴⁾ sind speziell *N*-Glykoside aliphatischer Amine in alkalischem Medium zersetzungsfähiger als bei Einwirkung von Säure. *N*-Butyl-glucosid wird bereits durch 0.01 *n* NaOH leichter zersetzt als durch 0.5 *n* HCl. Aromatische *N*-Glucoside sind gegen Alkali beständig. Bei allen Umsetzungen des Kaliumglucuronats in äthanolischem wäßriger Lösung mit stark basischen aliphatischen Aminen wirkt eine zu hohe OH-Ionen-Konzentration hemmend auf die *N*-Glucuronidbildung.

REAKTION VON FREIER GLUCURONSÄURE MIT AMINEN

Günstiger und mit besseren Ausbeuten verläuft die Reaktion von freier Glucuronsäure mit aliphatischen Aminen in Methanol, worin glucuronsaure Aminsalze gut löslich sind. Darüber hinaus besitzt Methanol eine geringere Protonenaktivität, wodurch die Basizität der Amine nicht so stark zur Wirkung kommt.

Ohne Zusatz eines Umlagerungskatalysators wurden durch Umsetzung von Benzylamin und Cyclohexylamin mit Glucuronsäure in der Kälte die entsprechenden *N*-Glucuronide als Benzylamin- bzw. Cyclohexylaminsalze in kristallisierter Form erhalten. Die Verbindungen sind wenig beständig und zersetzen sich an der Luft, wobei Isonitrilgeruch auftritt. Die *N*-Glucuronide von Butylamin und Piperidin waren als Sirupe erhältlich.

Offenbar unter dem Einfluß der Carboxylgruppe lagern sich diese *N*-Glucuronide beim Erwärmen in Alkohol um. Auf Zusatz von Eisessig wird die Umlagerung stark beschleunigt.

Die Umlagerungsprodukte wurden nach Reinigung mittels Kationenaustauscher (Dowex 50, H⁺-Form) als freie Säuren (IV) erhalten, während die *N,N*-Dibenzyl-isogluconaminuronsäure als kristallisiertes Dibenzylaminsalz (V) rein aus dem Reaktionsgemisch erhalten werden kann.

Tab. 1. Ausbeuten in % d. Th. bei Umsetzung von

	Kaliumglucuronat in Äthanol/Wasser (1 : 1) (Rohprodukt)	freier Glucuron- säure in Methanol (Rohprodukt)
<i>N</i> -Butyl-isogluconaminuronsäure	3.3	30.4
<i>N</i> -Cyclohexyl-isogluconaminuronsäure	8.7	40.4
<i>N</i> -Benzyl-isogluconaminuronsäure	7.2	43.4
<i>N,N</i> -Dibenzyl-isogluconaminuronsäure (als Dibenzylaminsalz isoliert)	19.2	42.0
<i>N,N</i> -Pentamethylen-isogluconaminuronsäure (1-Desoxy-1-piperidino-D-fructuronsäure)	—	74.2

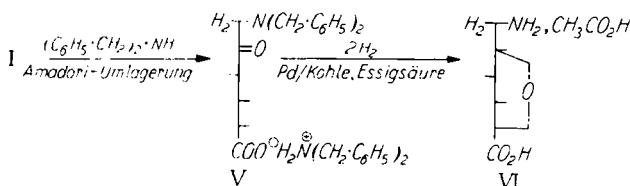
Die Bräunungsreaktionen sind bei Umsetzung mit aliphatischen primären Aminen in Methanol ebenso ausgeprägt wie in wäßrig-äthanolischer Lösung. Dagegen gelingt die Umlagerung des *N*-Glucuronids von Piperidin ohne Bildung von Nebenprodukten. Die Reaktionen mit primären Aminen müssen bei 60° nach 90 Min. abgebrochen werden, da sich die Lösungen dunkelbraun färben und starker Isonitrilgeruch auftritt, während die Umsetzung mit Piperidin unter gleichen Bedingungen auch nach 4 Stdn. keine Humusbildung zeigt. Das gleiche Verhalten wurde bei Umsetzung mit Dicyclohexylamin und Morphin beobachtet. Dibenzylamin läßt jedoch bei Reaktion mit Glucuronsäure auch in methanolischer Lösung Huminstoffbildung erkennen, so daß das

¹⁴⁾ Advances Carbohydrate Chem. 10, 95 [1955].

Ausbleiben der Huminstoffbildung bei der Reaktion mit sekundären Aminen keine generelle Eigenschaft der sekundären Amine sein kann. Im Gegensatz zu den primären aliphatischen Aminen wurde jedoch bei Umsetzung mit sekundären aliphatischen Aminen in keinem Falle Isonitrilbildung nachgewiesen, selbst nicht bei 4stdg. Erhitzen im Einschlußrohr.

Die Ergebnisse zeigen, daß die *N*-Alkyl-glucuronide unter gleichen Bedingungen wie die entsprechenden *N*-Arylverbindungen der Amadori-Umlagerung unterliegen. In beiden Fällen ist Essigsäure als Umlagerungskatalysator wirksam. Die geringen Ausbeuten an *N*-Alkyl-isoglicosaminuronsäuren in wäßrig-alkoholischem Milieu beruhen lediglich auf den hemmenden Einflüssen von OH-Ionen auf die *N*-Glykosidbildung, die bei Umsetzung in methanolischer Lösung umgangen werden. Die Umsetzung von freier Glucuronsäure mit aromatischen Aminen in wasserfreiem Methanol bietet keine Vorteile gegenüber der Umsetzung des Kaliumsalzes in Wasser/Äthanol.

N,N-Dibenzyl-isoglicosaminuronsäure (V) ist ein geeignetes Ausgangsmaterial zur Darstellung von Isoglicosaminuronsäure (VI), da V als schwerlösliches Dibenzylaminsalz leicht kristallisiert isoliert werden kann. Die Benzylreste lassen sich mit Pd/Kohle-Katalysator in methanolischer Essigsäure unter Aufnahme von 2 Moll. Wasserstoff als Toluol abhydrieren, wobei VI als Acetat in guter Ausbeute gewonnen werden kann. Auf ähnliche Art konnten J. DRUEY und G. HUBER¹⁵⁾ kürzlich Isoglicosamin aus der entsprechenden *N,N*-Dibenzylverbindung gewinnen.



REAKTION VON GLUCURONSÄURELACTON MIT AMINEN

Durch Umsetzung von Glucuron mit Aminen konnten bisher in keinem Falle die entsprechenden, durch Amadori-Umlagerung entstehenden Verbindungen des Lactons isoliert werden. Da es auch nicht gelang, die oben dargestellten freien *N*-substituierten Isoglicosaminuronsäuren in die Lactonform überzuführen, nehmen wir an, daß die Lactone dieser Verbindungen nicht gebildet werden können.

Die Umsetzung von aromatischen Aminen mit Glucuron führt sehr schnell zur Bildung von Bräunungsprodukten. Beim Zusammenschmelzen mit Anilin oder *p*-Toluidin in Gegenwart von wenig Wasser färbt sich Glucuron rasch dunkel, im Chromatogramm ist neben den Bräunungsprodukten, die in Butanol/Eisessig/Wasser-Gemisch mit der Front wandern, keine andere Verbindung mehr nachweisbar. In wasserfreiem Methanol war es möglich, Glucuron durch Umsetzung mit Anilin in der Kälte in das entsprechende *N*-Phenylglykosid überzuführen. Diese Verbindung ist leicht zersetzblich und geht an der Luft in einen roten Sirup über.

Im Gegensatz zu den aromatischen Aminen vermögen die aliphatischen Amine den Lactonring aufzuspalten, und es entstehen, je nach Reaktionsbedingungen, die

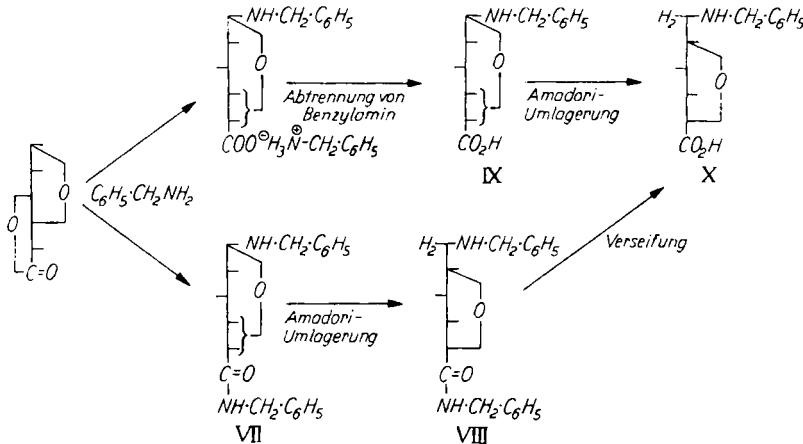
¹⁵⁾ Helv. chim. Acta 40, 342 [1957].

N-Glucuronide des am Stickstoffatom entsprechend substituierten Glucuronsäureamids oder, in wasserhaltiger Lösung, das Aminsalz des *N*-Glucuronids.

Die Umsetzung von Glucuron mit Benzylamin bzw. Cyclohexylamin in 50-proz. wäßrigen Alkohol liefert die Aminsalze der entsprechenden *N*-Glucuronide, die in die bereits oben beschriebenen *N*-Benzyl- bzw. *N*-Cyclohexyl-isoglicosaminuronsäuren (IV) umgelagert werden konnten.

In wasserfreiem Methanol führt die Umsetzung von Glucuron mit aliphatischen Aminen in glatter Reaktion zu den entsprechenden *N*-Glucuroniden der substituierten Säureamide, wobei vor allem das *N*-Benzylglykosid des Glucuronsäure-benzylamids (VII) in guter Ausbeute isolierbar ist.

Benzylamin nimmt insofern eine Sonderstellung ein, als mit Glucuronsäurelacton auch aus wäßrig-alkoholischer Lösung Derivate des Amids erhalten werden. Aus einem mit Essigsäure behandelten Reaktionsgemisch lassen sich umgelagerte *N*-Benzyl-isoglicosaminuronsäure (X), nicht umgelagertes *N*-Benzylglykosid der freien Glucuronsäure (IX) sowie VII isolieren und *N*-Benzyl-isoglicosaminuronsäure-benzylamid (VIII) nachweisen.



Die glykosidische Bindung der *N*-Benzylglykoside VII und IX ist bemerkenswert stabil. Beide Verbindungen lassen sich gut umkristallisieren und sind ohne Zersetzung in einem Gemisch aus n-Butanol/Eisessig/Wasser chromatographierbar. Sie reduzieren ammoniakalische Silbernitratlösung nicht. Mit 1 n H₂SO₄ erfolgt Abspaltung des glykosidisch gebundenen Amins und Rückbildung von Glucuron neben anderen Spaltprodukten. Durch Einwirkung von Essigsäure ist die glykosidische Bindung nicht spaltbar, es tritt teilweise Amadori-Umlagerung zu VIII bzw. X ein.

Die Säureamidbindung in VIII ist gegen Einwirkung von Säure wenig beständig. Um eine Umwandlung von VIII in X durch hydrolytische Abspaltung des Amidrestes zu verhindern, muß die Verbindung über schwach saure Ionenaustauscherharze gereinigt werden.

Bei Umsetzung von Piperidin mit Glucuron bildet sich in wasserfreiem Methanol das leicht zersetzbare *N*-Glykosid des Glucuronsäure-piperidids, das in essigsaurer Methanol in die Amadori-Verbindung des Amids umgelagert werden kann (entspr.

VII und VIII). Durch Hydrolyse entsteht leicht *N,N*-Pentamethylen-isoglicosaminuronsäure (1-Desoxy-1-piperidino-D-fructuronsäure).

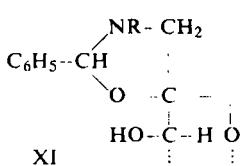
EIGENSCHAFTEN UND VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNGEN

Die *N*-Alkyl- und *N,N*-Dialkyl-isoglicosaminuronsäuren zeigen in ihrem chemischen Verhalten keine wesentlichen Unterschiede zur Isoglicosaminuronsäure und ihren *N*-Arylderivaten¹⁾.

Die *N*-Alkyl-isoglicosaminuronsäuren werden beim Erhitzen mit 12-proz. Salzsäure schneller dunkel als Glucuronsäure. Sie sind aber noch nach 3 stdg. Erhitzen auf 100° chromatographisch nachweisbar, wenn die Glucuronsäure bereits restlos abgebaut ist. Beim Erhitzen mit Essigsäure tritt die Verfärbung wesentlich langsamer ein. Durch Chromatographie können dabei geringe Mengen an rückgebildeter Glucuronsäure nachgewiesen werden. — Die *N,N*-Dialkyl-isoglicosaminuronsäuren sind gegenüber Säuren in der Hitze stabiler, da die Braunfärbung unter gleichen Bedingungen in geringerem Maße eintritt. Besonders die *N,N*-Pentamethylen-isoglicosaminuronsäure zeigt sich recht resistent gegen Säurebehandlung. Rückbildung von Glucuronsäure wird bei den *N,N*-Dialkyl-isoglicosaminuronsäuren nach Erhitzen in essigsaurer Lösungen nicht beobachtet. Eine Lactonbildung tritt bei Einwirkung von Säuren in keinem Fall ein, da die Stabilisierung durch Zwitterionstruktur offenbar größer ist. — Gegen thermische Einflüsse sind die *N*-Alkyl- und *N,N*-Dialkyl-isoglicosaminuronsäuren wesentlich unempfindlicher als die Isoglicosaminuronsäure und ihre *N*-Aryl-abkömmlinge.

Die Elson-Morgan-Reaktion¹⁶⁾ ist bei den *N*-Alkyl- und *N,N*-Dialkyl-isoglicosaminuronsäuren negativ, ebenso bildet sich beim Naphthoresorcintest nach B. TOLLENS¹⁷⁾ nur eine schwach bräunliche Färbung.

Die *N*-substituierten Derivate der Isoglicosaminuronsäure kommen z. T. in der offenen Form, z. T. als Furanosen vor. Die Isoglicosaminuronsäure selbst weist einen Halbketalring auf¹⁸⁾, ebenso die *N*-Butyl-, *N*-Benzyl-, *N*-Cyclohexyl- und *N,N*-Pentamethylen-isoglicosaminuronsäure, sowie deren Piperidid. Setzt man diese Verbindungen mit Benzaldehyd in Gegenwart von ZnCl₂ um, so verschwindet das für Amadori-Verbindungen charakteristische Reduktionsvermögen gegenüber *o*-Dinitrobenzol in alkalischer Lösung, indem eine Oxazolidinverbindung (XI) gebildet wird¹⁸⁾, die einer Endiobildung nicht mehr fähig ist. Bei Säureeinwirkung wird diese leicht ge-



spalten, wobei die rückgebildete Amadori-Verbindung wieder die typischen Reduktionseigenschaften zeigt. In den IR-Spektren dieser Verbindungen fehlt die Carbonylbande, die für offenkettige Verbindungen dieses Typs charakteristisch ist. Der Nachweis von Halbketalstrukturen bei der Isoglicosaminuronsäure und einigen ihrer am Stickstoff substituierten Abkömmlinge deckt sich nicht mit den Beobachtungen von F. MICHEEL und A. FROWEIN¹⁹⁾ sowie von R. KUHN und G. KRÜGER¹⁹⁾, wonach 1-Desoxy-1-

¹⁶⁾ L. A. ELSON und W. TH. J. MORGAN, Biochem. J. 27, 1824 [1933].

¹⁷⁾ Ber. dtsch. chem. Ges. 41, 1788 [1908].

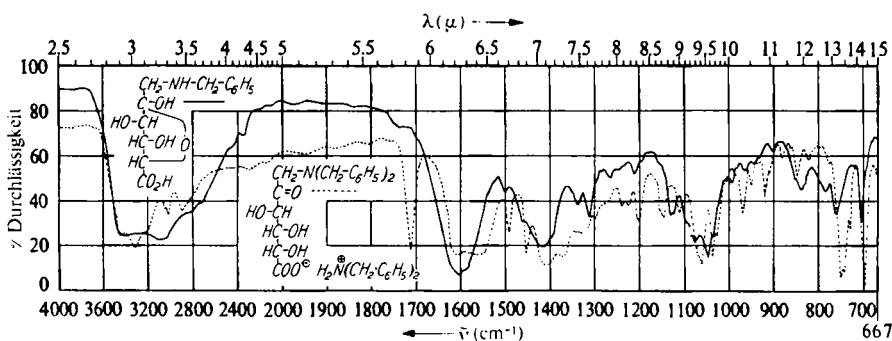
¹⁸⁾ R. KUHN und G. KRÜGER, Liebigs Ann. Chem. 618, 82 [1958].

¹⁹⁾ Liebigs Ann. Chem. 628, 240 [1960].

amino-fructosen bei nicht möglicher Ausbildung des Pyranoseringes die offene Carbonylform vorziehen.

N,N-Pentamethylen-isoglucosaminuronsäure sowie ihr Piperidid weisen ebenso wie 1-Desoxy-1-piperidino-D-fructose²⁰⁾ eine Halbketalstruktur auf. WEYGAND, SIMON und v. ARDENNE²⁰⁾ zeigten kürzlich, daß *N*-Methyl-*N*-phenyl-isoglucosamine in der offenkettigen Form vorliegen. Nach ihren Feststellungen an Atomkalottenmodellen sind für das Auftreten derartiger offenkettiger Carbonylverbindungen sterische Beeinflussungen nicht gegeben. Es konnte bislang noch nicht geklärt werden, in welchen Fällen bei Amadori-Verbindungen eine offenkettige, wann eine cyclische Struktur erwartet werden darf.

Im Gegensatz zur Isoglucosaminuronsäure und einer Anzahl ihrer *N*-alkylsubstituierten Abkömmlinge liegen die *N*-Phenyl-, *N,p*-Tolyl-¹⁾ sowie *N,N*-Dibenzyl-isoglucosaminuronsäure in der offenen Form vor. Sie setzen sich mit Benzaldehyd nicht um, die IR-Spektren weisen bei 1721/cm die charakteristische Carbonylbande auf.



IR-Spektren der *N*-Benzyl-isoglucosaminuronsäure (1.3 mg in 200 mg KBr gepreßt) (—) und des Dibenzylaminsalzes der *N,N*-Dibenzyl-isoglucosaminuronsäure (2.1 mg in 200 mg KBr gepreßt) (-----)

Die von MICHEEL und SCHLEPPINGHOFF⁶⁾ in den IR-Spektren der 1-Desoxy-1-arylamino-fructosen gefundenen Banden, die als charakteristisch für Amadori-Produkte angesehen wurden, treten in den Spektren der *N*-Alkyl-isoglucosaminuronsäuren einheitlich nicht auf. Die Hauptbande bei 3570/cm, die möglicherweise der glykosidischen Hydroxylgruppe der Fructosereste zuzuschreiben wäre, ließ sich nicht beobachten. Nach den bisherigen Ergebnissen scheint es uns noch nicht vertretbar zu sein, daß bestimmte Banden in den IR-Spektren der Amadori-Produkte für alle Vertreter dieser Stoffklasse charakteristisch sind.

Unsere Versuche haben gezeigt, daß *N*-Alkyl- und *N*-Aryl-isoglucosaminuronsäuren unter gleichen Umlagerungsbedingungen dargestellt werden können, während bei Glucose die Umlagerung mit aromatischen Aminen eindeutig bevorzugt ist. *N*-Glucuronide können offenbar leichter einer Amadori-Umlagerung unterworfen werden als die entsprechenden Verbindungen der Glucose. Wir haben daher einen halbquantitativen Vergleich zwischen der Umlagerungsbereitschaft von *N*-Aryl-glucosiden und den entsprechenden *N*-Glucuroniden durchgeführt und mit den Ergeb-

²⁰⁾ F. WEYGAND, H. SIMON und R. v. ARDENNE, Chem. Ber. 92, 3117 [1959].

nissen von MICHEEL und SCHLEPPINGHOFF⁶⁾ verglichen, die gefunden hatten, daß Substituenten am Phenylkern von *N*-Arylglykosiden, je nachdem, ob sie das freie Elektronenpaar am Aminstickstoffatom stärken oder schwächen, eine Amadori-Umlagerung begünstigen bzw. verhindern. Es wurden Glucose und Glucuronsäure unter den gleichen Bedingungen mit den drei isomeren Nitranilinen und Chloranilinen sowie mit *p*-Amino-benzoësäure und *m*-Toluidin in 50-proz. Alkohol und mit Essigsäure als Katalysator umgesetzt. Hierbei ergab Glucose mit *m*-Chloranilin, *m*-Toluidin und den drei isomeren Nitranilinen überhaupt kein Umlagerungsprodukt, während aus der Reduktionsfähigkeit der Lösungen gegen *o*-Dinitro-benzol bei Umsetzung mit *o*- und *p*-Chlor-anilin sowie mit *p*-Amino-benzoësäure auf eine Amadori-Umlagerung in geringem Umfange geschlossen werden konnte.

Kaliumglucuronat reagiert unter diesen Bedingungen sowohl mit den drei isomeren Chloranilinen als auch mit *m*-Nitranilin, *m*-Toluidin und *p*-Amino-benzoësäure unter Bildung der Amadori-Produkte. Lediglich nach Umsetzung mit *o*- und *p*-Nitranilin konnte keine Umlagerung nachgewiesen werden (Tab. 2). Hieraus ist zu ersehen, daß

Tab. 2. Ergebnisse der Umsetzung von Glucose (a) bzw. Glucuronat (b) mit Aminen

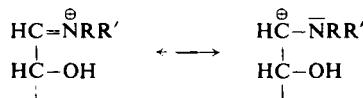
Amin	<i>pK_b</i> -Wert	Umlagerung mit a	Umlagerung mit b	<i>R_F</i> -Wert der <i>N</i> -Aryl- isoglucoamin- uronsäure ^{a)}
<i>p</i> -Amino-benzoësäure	11.64	gering	+	0.47
Anilin	9.37	+	+	0.60
<i>o</i> -Chlor-anilin	12.05	gering	+	0.75
<i>m</i> -Chlor-anilin	10.40	—	+	0.75
<i>p</i> -Chlor-anilin	12.0	gering	+	0.75
3,4-Dimethyl-anilin	—	—	—	0.67
Diphenylamin	13.12		gering	—
Harnstoff	13.82	—	—	—
<i>o</i> -Nitranilin	13.82	—	—	—
<i>m</i> -Nitranilin	11.40	—	—	0.70
<i>p</i> -Nitranilin	12.0	—	—	—
<i>p</i> -Phenetidin	8.70	—	+	0.63
<i>m</i> -Toluidin	9.31	—	+	0.63
<i>p</i> -Toluidin	9.92	—	—	0.63

^{a)} in Butanol/Eisessig/Wasser.

Glucuronsäure sich noch mit einer Anzahl von Aminen zu Amadori-Produkten umlagern läßt, deren Umsetzung mit Glucose unter gleichen Bedingungen auf der Stufe der *N*-Glucoside stehen bleibt. Glucuronsäure geht bei Umsetzung mit Aminen leichter eine Amadori-Umlagerung ein als Glucose.

Aus der unterschiedlichen Bereitschaft der Zucker, eine Amadori-Umlagerung einzugehen, muß geschlossen werden, daß nicht nur die Reaktionsbedingungen am Aminrest entscheidend sind, sondern daß darüber hinaus Einflüsse des Kohlenhydratanteils wirksam sind. Dies wurde auch von MICHEEL und FROWEIN nachgewiesen⁷⁾, die zeigten, daß 4,6-Benzal-*N*-glucoside wesentlich leichter eine Amadori-Umlagerung eingehen als *N*-Glucoside. Während sich jedoch *N*-*m*-Nitrophenyl- und *N*-*p*-Carboxyphenyl-4,6-benzal-glucosid nicht umlagern ließen, konnte nach Umsetzung von Kaliumglucuronat mit den gleichen Aminen eindeutig die Bildung von

Amadori-Produkten nachgewiesen werden. Man kann annehmen, daß die Leichtigkeit, mit der der Halbacetalring geöffnet wird, für den Ablauf der Amadori-Umlagerung von Bedeutung ist, indem über die Bildung eines Carbenium-Immonium-Ions die Wasserstoffverschiebung und damit die Umlagerung ausgelöst wird:



Ein derartiges Immonium-Ion wird von H. S. ISBELL und H. L. FRUSH²¹⁾ nicht nur bei der Mutarotation der Glykosylamine vermutet, sondern auch bei ihrer Hydrolyse, der Transglykosylierung sowie bei der Amadori-Umlagerung als Zwischenstufe angenommen.

Wahrscheinlich begünstigen im Falle der 4,6-Benzal-glucose sterische Effekte die Ringöffnung und damit die Amadori-Umlagerung, indem der Benzylidenring eine Ringspannung ausübt und die Bildung der Carbonylform erleichtert. Die Amadori-Verbindungen der Glucuronsäure können jedoch, wie die vorliegende Arbeit zeigt, durchaus in der Furanoseform vorkommen. Man kann damit rechnen, daß bei der Glucuronsäure elektronische Effekte wirksam werden, die eine solche Ringöffnung begünstigen und die Amadori-Umlagerung fördern. Eine Begünstigung durch Nachbargruppeneffekte zwischen Carboxylgruppe und Aminrest ist auszuschließen, da Glucuronsäure ebenso wie die Glucose in der C-1-Form vorliegt und sich alle großen Substituenten in äquatorialer Lage befinden. Ähnliche Unterschiede in den Reaktivitäten von Glucose und Glucuronsäure fanden kürzlich auch F. G. FISCHER und H. SCHMIDT²²⁾.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

(Die angegebenen Schmelzpunkte sind, soweit nicht anders angegeben, korrigiert.)

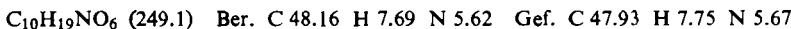
1. *N-Butyl-D-isoglucosaminuronsäure*: 34.8 g *Kalium-D-glucuronat* ($^{3/20}$ Mol) wurden in 1.7 l 50-proz. Äthanol durch Rühren im Wasserbad bei 75° gelöst, mit 21.9 g *n-Butylamin* ($^{3/10}$ Mol) und 1.5 g Eisessig versetzt und das Gemisch weiterhin unter Rühren bei 75° gehalten. Nach 30 Min. wurde das dunkle und grün fluoreszierende Reaktionsgemisch, das stark nach Isonitril roch, im Eisbad unter Rühren abgekühlt und anschließend i. Vak. auf 200 ccm eingeengt, wobei dunkle Schmieren ausfielen. Sie wurden abgetrennt und die Lösung durch dreimaliges Ausäthern mit je 200 ccm Äther von überschüss. Butylamin befreit. Nach 16 stdg. Aufbewahren bei -2° waren 9.5 g Kaliumglucuronat ausgefallen. Sie wurden abgesaugt und das Filtrat auf eine mit 400 ccm Ionenaustauscher Lewatit S-100 (H^\oplus -Form) beschickte Säule gegeben. Die *N-Butyl-isoglucosaminuronsäure* wurde dann nach einem Vorlauf von 1.2 l mit 2 l 0.5 n Trichloressigsäure eluiert, die Trichloressigsäure mit Äther im Extraktionsapparat nach Kutscher-Steudel extrahiert, die wäßrige Lösung auf 100 ccm eingeengt, nochmals im gleichen Apparat mit Äther extrahiert und anschließend i. Vak. zur Trockne gedampft. Nach Aufnehmen des Sirups in 200 ccm absol. Äthanol wurden 4.9 ccm 4n methanol. HCl bis $\text{pH } 1$ zugegeben. Die Lösung wurde über Nacht bei 2° gehalten und nach Absaugen des ausgefallenen KCl i. Vak. eingeengt, der Rückstand mit 30 ccm Wasser aufgenommen und die Lösung nach Beseitigung überschüss. Salzsäure mit Silbercarbonat auf-

²¹⁾ J. org. Chemistry 23, 1309 [1958].

²²⁾ Chem. Ber. 92, 2184 [1959].

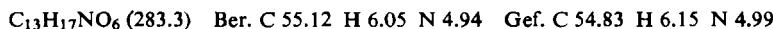
eine Säule mit 100 ccm Ionenaustauscher Dowex 50×4 (H^{\oplus} -Form) gegeben. Die *N*-Butyl-D-isoglucoaminuronsäure wurde mit 260 ccm 1 n Trichloressigsäure eluiert, die Trichloressigsäure wie oben mit Äther extrahiert und die währ. Lösung i. Vak. zur Trockne eingedampft. Der Sirup wurde in wenig Methanol gelöst und das Produkt, *N*-Butyl-D-isoglucoaminuronsäure, mit Äther amorph gefällt. Ausb. 1.47 g (3.3% d. Th.).

Das Produkt wurde in Methanol gelöst, die gleiche Menge Essigester zugegeben, so daß die Lösung sich gerade nicht trübte. Nach Eindampfen der Lösung i. Vak. auf die Hälfte des Volumens trat Trübung ein, nach 24 stdg. Aufbewahren bei Raumtemperatur wurden 470 mg krist. Produkt abgesaugt und i. Vak. bei 55° getrocknet. Schmp. 103° (Zers.). $[\alpha]_D^{20}$: +24.3°, keine Mutarotation ($c = 1.15$, in Wasser).



2. *N*-Butyl-D-isoglucoaminuronsäure aus freier Glucuronsäure: Die Lösung von 2.16 g Natrium-D-glucuronat ($1/100$ Mol) in 30 ccm Wasser wurde auf einer Säule mit 40 ccm Ionenaustauscher Lewatit S-100 (H^{\oplus} -Form) behandelt. Die freie Glucuronsäure wurde i. Vak. zum Sirup eingedampft, mit Methanol aufgenommen, nochmals eingedampft und das Produkt in 50 ccm Methanol gelöst. Nach Zugabe von 2 ccm *n*-Butylamin ($1/50$ Mol) wurde das Gemisch im Wasserbad von 60° erwärmt, nach 15 Min. 1 ccm Eisessig zugegeben und anschließend noch 2 Stdn. bei 60° gehalten. Die Lösung wurde abgekühlt, i. Vak. eingeengt und der dunkle Sirup mit 50 ccm Wasser aufgenommen. Nach Abtrennen der ausgefallenen dunklen Bestandteile wurde nochmals mit wenig Aktivkohle geschüttelt, filtriert und die gelbe Lösung auf eine Säule mit 60 ccm Dowex 50 (H^{\oplus} -Form) gegeben. Nach Waschen mit 200 ccm Wasser wurde mit 120 ccm 1 n Trichloressigsäure eluiert, wobei die Elutionsgeschwindigkeit 1 Tropfen/20 Sek. betrug. Nach Extraktion der Trichloressigsäure im Apparat nach Kutscher-Steudel wurde die *N*-Butyl-D-isoglucoaminuronsäure, wie oben beschrieben, isoliert. Ausb. an Rohprodukt: 758 mg (30.4% d. Th.). Misch-Schmp. mit reinem Produkt: 100°.

3. *N*-Benzyl-D-isoglucoaminuronsäure (X): 23.2 g Kalium-D-glucuronat ($1/10$ Mol) wurden in 1 l 50-proz. Äthanol unter Röhren suspendiert und nach Erwärmen im Wasserbad auf 65° 22 ccm Benzylamin ($1/5$ Mol) und 1.5 ccm Eisessig zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde noch weitere 100 Min. unter Röhren bei 65° belassen, anschließend im Eisbad abgekühlt und die tiefrotbraune Lösung i. Vak. auf 200 ccm eingedampft, wobei Schmieren ausfielen. Das überschüssige Amin wurde mit 3 × 200 ccm Äther entfernt, und nach 12 stdg. Aufbewahren der Lösung wurden 4.8 g Kaliumglucuronat zurück erhalten. Das Filtrat wurde nun auf eine Säule mit 600 ccm Lewatit S-100 (H^{\oplus} -Form) gegeben und die *N*-Benzyl-D-isoglucoaminuronsäure nach einem Vorlauf von 2.2 l mit 2.5 l 0.5 n Trichloressigsäure eluiert. Nach zweimaliger Extraktion der Trichloressigsäure im Apparat nach Kutscher-Steudel wie unter 1. wurde i. Vak. zur Trockne eingedampft, in 500 ccm absol. Alkohol und 10 ccm 4 n methanol. HCl aufgenommen und nach 12 stdg. Stehenlassen bei -7° das ausgefallene KCl abgetrennt. Das Filtrat wurde i. Vak. eingedampft (Wasserbadtemperatur = 30°), mit 50 ccm Wasser aufgenommen und nach Entfernen überschüss. Salzsäure durch Schütteln mit Silbercarbonat auf eine Säule mit 120 ccm Dowex 50 × 4 (H^{\oplus} -Form) gegeben. Nach Elution mit 280 ccm 1 n Trichloressigsäure (Vorlauf = 300 ccm) wurde die Trichloressigsäure im Extraktionsapparat nach Kutscher-Steudel mit Äther extrahiert, die Lösung i. Vak. zur Trockne eingedampft und mit wenig Methanol aufgenommen. Durch Zufügen von Äther wurden 2.05 g *N*-Benzyl-D-isoglucoaminuronsäure (7.2% d. Th.) erhalten. Das Produkt wurde in Äthanol gelöst, die Lösung bis zur ersten Trübung i. Vak. eingeengt. Nach 4 wöchigem Aufbewahren bei -2° und Trocknen i. Vak. bei 55° betrug die Ausbeute an kristallisiertem Produkt 830 mg. Schmp. 128–129° (Zers.). $[\alpha]_D^{20}$: +13.1°, keine Mutarotation ($c = 2.9$, in Wasser).



4. *N-Benzyl-D-isoglucosaminuronsäure (X) aus freier Glucuronsäure:* 2.16 g *Natrium-D-glucuronat* wurden durch Behandlung auf einer Ionenaustauschersäule, die mit 40 ccm Lewatit S-100 (H^{\oplus} -Form) beschickt war, in die freie Säure verwandelt. Nach Eindampfen der wäßrigen Lösung i. Vak. bei einer Wasserbadtemperatur von 40° wurde in 100 ccm Methanol gelöst, nochmals eingedampft und wiederum in 100 ccm Methanol aufgenommen. Dann wurden 2.2 g *Benzylamin* und 1 ccm Eisessig zugegeben und das Gemisch 90 Min. im Wasserbad auf 60° erwärmt. Nach Abkühlen und Eindampfen der dunklen Reaktionslösung i. Vak. wurde mit 200 ccm Wasser aufgenommen; die ausgefallenen Huminstoffe wurden abgetrennt. Anschließend wurde die mit Aktivkohle gereinigte, nun hellgelbe Lösung auf eine mit 60 ccm Ionenaustauscher Dowex 50 (H^{\oplus} -Form) beschickte Säule gegeben. Die *N-Benzyl-D-isogluco-*
aminuronsäure wurde mit 150 ccm 1 n Trichloressigsäure bei einer Tropfgeschwindigkeit von 1 Tropfen/20 Sek. eluiert. Sie wurde als Rohprodukt nach Ätherextraktion im Apparat nach Kutscher-Steudel durch Fällung mit Äther aus einer konzentrierten äthanolischen Lösung erhalten. Die Substanz war chromatographisch einheitlich. Ausb. 1.23 g (43.4% d. Th.). Schmp. 124–125° (Zers.).

5. *N-Cyclohexyl-D-isogluco-*
aminuronsäure: 23.2 g *Kalium-D-glucuronat* ($1/_{10}$ Mol) wurden in 1.5 l 50-proz. wäßrigem Äthanol unter Röhren suspendiert, das Gemisch mit 20 g *Cyclo-*
hexylamin ($1/_{5}$ Mol) versetzt und im Wasserbad auf 65° erhitzt. Nach 1 Stde. wurde die dunkle Lösung abgekühlt, i. Vak. auf 360 ccm eingeengt, von den ausgefallenen Schmieren befreit und dreimal mit je 300 ccm Äther behandelt. Die gelbe Lösung wurde dann mit Äthanol auf 2 l aufgefüllt, wobei eine intensive Trübung eintrat. Nach 12stdg. Stehenlassen bei –1° wurden 14.25 g *Kalium-D-glucuronat* zurückgewonnen. Das Filtrat wurde i. Vak. auf 200 ccm eingeengt und anschließend die Lösung auf eine Ionenaustauschersäule mit Lewatit S-100 (H^{\oplus} -Form) gegeben. Nach einem Vorlauf von 1 l wurde die *N-Cyclohexyl-D-isogluco-*
aminuronsäure mit 2 l 0.5 n Trichloressigsäure eluiert. Die Extraktion der Trichloressigsäure wurde, wie bereits beschrieben, durchgeführt und die wäßrige Lösung i. Vak. bei einer Badtemperatur von 30° zur Trockne eingedampft, der Sirup in 300 ccm absol. Alkohol gelöst und durch Zugabe von 7 ccm 4 n methanol. HCl das noch nicht abgetrennte Kalium als KCl gefällt. Nach Absaugen, Eindampfen der Lösung und Aufnehmen des Sirups in Wasser wurde die überschüss. Salzsäure durch Schütteln mit Silbercarbonat entfernt und die Nachreinigung durch Behandlung auf einer Austauschersäule mit Dowex 50 (H^{\oplus} -Form) vorgenommen. Die *N-Cyclohexyl-D-isogluco-*
aminuronsäure wurde nach einem Vorlauf von 170 ccm mit 290 ccm 1 n Trichloressigsäure eluiert, die Trichloressigsäure mit Äther im Kutscher-Steudel-Extraktor herausgelöst und die wäßrige Lösung i. Vak. wie oben zur Trockne eingedampft. Nach Aufnehmen in wenig Methanol wurden mit Äther 2.4 g eines amorphen Produktes gefällt (8.72% d. Th., berechnet auf die Ausgangsmenge an eingesetztem Kaliumglucuronat). Dieses wurde wiederum in absol. Alkohol gelöst und i. Vak. vorsichtig, bis die erste Trübung eintrat, eingeengt. Nach 2 Tagen wurden 1.2 g kristallisierte *N-Cyclohexyl-D-isogluco-*
aminuronsäure abgesaugt. Schmp. 157–159° (Zers.). $[\alpha]_D^{20}:$ +24°, keine Mutarotation ($c = 4$, in Wasser).

$C_{12}H_{21}NO_6$ (275.3) Ber. C 52.35 H 7.69 N 5.08 Gef. C 52.21 H 7.86 N 4.91

6. *N-Cyclohexyl-D-isogluco-*
aminuronsäure aus freier Glucuronsäure: 2.16 g *Natrium-*
D-glucuronat ($1/_{100}$ Mol) wurden durch Behandlung mit Ionenaustauscher Lewatit S-100 (H^{\oplus} -Form) in die freie Säure übergeführt. Nach Eindampfen der wäßrigen Lösung wurde in Methanol gelöst, nochmals i. Vak. eingedampft und anschließend in 50 ccm Methanol aufgenommen. Die Lösung wurde mit 2 g *Cyclohexylamin* 15 Min. im Wasserbad auf 60° erhitzt, dann mit 1 ccm Eisessig versetzt und noch weitere 90 Min. bei dieser Temperatur gehalten. Die dunkle Lösung wurde anschließend i. Vak. zur Sirupkonsistenz eingedampft und mit

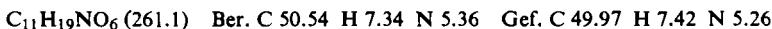
200 ccm Wasser aufgenommen, wobei schwarze Schmieren ausfielen und abgetrennt wurden. Nach weiterer Reinigung durch Schütteln mit Aktivkohle wurde die nun hellgelbe Lösung auf 50 ccm i. Vak. eingeengt und auf eine Säule mit 60 ccm Dowex 50 (H^{\oplus} -Form) gebracht. Durch Waschen des Austauschers mit 1 n Trichloressigsäure (Tropfgeschwindigkeit = 1 Tropfen/20 Sek.) wurde das Produkt eluiert und, wie bei 2. und 4. beschrieben, als Rohprodukt isoliert. Ausb. 1.11 g (40.4% d. Th.). Die Verbindung lässt sich gut aus Äthanol umkristallisieren; die Ausbeute an so gereinigtem Produkt betrug 750 mg; Schmp. 156–159° (Zers.).

7. *N,N-Dibenzyl-D-isoglucosaminuronsäure (Dibenzylaminsalz) (V)*: Die Suspension von 23.2 g *Kalium-D-glucuronat* ($1/10$ Mol) in 1.3 l 50-proz. Äthanol wurde mit 40 g *Dibenzylamin* ($1/5$ Mol) und 5 ccm Eisessig unter Rühren 3 Stdn. im Wasserbad bei 100° erhitzt. Die dunkle Lösung wurde nach Abkühlen durch Vakuumdestillation auf 200 ccm eingeengt, wobei beträchtliche Mengen eines Niederschlages ausfielen, der abgetrennt und zweimal mit je 200 ccm Wasser und dreimal mit je 150 ccm Äther gewaschen wurde. Zurück blieben 10.9 g (19.2% d. Th.) farbloses *V*, welches aus viel Methanol umkristallisiert wurde. $[\alpha]_D^{20}$: +11.4°, keine Mutarotation ($c = 1.05$, in Methanol). Schmp. 148.5–150.5° (Zers.).



8. *N,N-Dibenzyl-D-isoglucosaminuronsäure (V) aus freier Glucuronsäure*: 2.16 g *Natrium-D-glucuronat* wurden durch Behandeln auf einer Ionenaustauschersäule (Lewatit S-100, H^{\oplus} -Form) von Natriumionen befreit. Die freie Säure wurde nach Abdampfen des Wassers in Methanol gelöst, die Lösung nochmals i. Vak. eingedampft und der Rückstand anschließend in 50 ccm Methanol aufgenommen. Nach Versetzen mit 4.5 ccm *Dibenzylamin* (doppelt molare Menge) und 1 ccm Eisessig wurde 70 Min. im Wasserbad auf 53° erwärmt, anschließend mit Wasser 1:1 verdünnt und i. Vak. zur Hälfte eingeengt. Nach 2 Stdn. war ein helles Produkt ausgefallen, das abgesaugt und mit Äther und Wasser gewaschen wurde. Ausb. 2.43 g (42% d. Th.) *Dibenzylaminsalz*.

9. *N,N-Pentamethylen-D-isoglucosaminuronsäure*: 9 g *D-Glucuron* ($1/20$ Mol) wurden in 200 ccm Methanol unter Eiskühlung suspendiert, mit 8.5 g *Piperidin* ($1/10$ Mol) zur Lösung gebracht und weitere 3 Stdn. im Eisbad gerührt. Dann wurde zur Trockne eingedampft, in 150 ccm Methanol und 50 ccm Eisessig aufgenommen und 4 Stdn. im Wasserbad auf 50° erhitzt. Nach Eindampfen der Lösung i. Vak. und Aufnehmen in 100 ccm Wasser wurde die Lösung auf eine Säule mit 300 ccm Ionenaustauscher Lewatit S-100 (H^{\oplus} -Form) gegeben und das Produkt nach geringem Vorlauf mit 1.3 l 0.5 n Trichloressigsäure eluiert. Die Trichloressigsäure wurde im Apparat nach Kutscher-Stedel mit Äther extrahiert und die Lösung nach Einengen auf 50 ccm auf eine Säule gegeben, die mit 100 ccm Ionenaustauscher Dowex 50 (H^{\oplus} -Form) beladen war. Nach Elution mit 300 ccm 1 n Trichloressigsäure wurde erneut mit Äther extrahiert und anschließend die Lösung i. Vak. auf 10 ccm eingeengt. Hieraus wurden nach 2 Tagen 4.52 g *N,N-Pentamethylen-D-isoglucosaminuronsäure* erhalten (34.6% d. Th.). Das Produkt ließ sich gut aus Alkohol umkristallisieren. Es wurde i. Vak. bei 55° getrocknet. Schmp. 157–158.5° (Zers.). $[\alpha]_D^{20}$: +33.9°, keine Mutarotation ($c = 1.18$, in Wasser).



10. *N,N-Pentamethylen-D-isoglucosaminuronsäure-piperidid*: Die wie unter 9. erhaltene Reaktionslösung wurde nach erfolgter Amadori-Umlagerung und Eindampfen über ein schwach saures Austauscherharz Amberlite CG-50-I (auf 100–200 mesh vermahneltes Harz IRC-50) gegeben. Nun wurde mit 800 ccm 0.25 n Trichloressigsäure eluiert, die Trichloressigsäure wie üblich im Apparat nach Kutscher-Stedel mit Äther extrahiert und die Lösung zur Trockne eingedampft. Der Sirup wurde in einem Gemisch aus Äther/Essigester aufgenommen, aus dem innerhalb weniger Stunden lange, verfilzte Nadeln auskristallisierten. *N,N-*

Pentamethylen-D-isoglucoaminuronosäure-piperidid wird zusammen mit 1 Mol. Trichloressigsäure erhalten. Die Substanz ist an der Luft leicht zerfließlich. Sie wurde i. Vak. bei 35° getrocknet. Schmp. 87–88° (Zers., unkorrig.). $[\alpha]_D^{20}$: +31.0°, keine Mutarotation ($c = 1.45$, in Methanol).

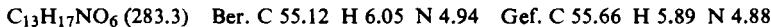


11. *N,N-Pentamethylen-D-isoglucoaminuronosäure durch Umsetzung von freier Glucuronsäure:* Die durch Behandlung von 2.16 g Natrium-D-glucuronat ($1/100$ Mol) erhaltene *Glucuronsäure* wurde in 100 ccm Methanol mit 1.7 g *Piperidin* ($1/50$ Mol) 15 Min. im Wasserbad auf 60° erwärmt. Dann wurde 1 ccm Essigsäure zugegeben und noch 4 Stdn. bei dieser Temperatur belassen. Die Lösung wurde i. Vak. eingeengt, der hellgelbe Sirup mit 50 ccm Wasser aufgenommen und auf eine Säule mit 100 ccm Dowex 50 (H^{\oplus} -Form) gegeben. Nach Elution mit 150 ccm 1 n Trichloressigsäure, Ätherextraktion und Eindampfen der Lösung wurden 1.94 g *N,N-Pentamethylen-D-isoglucoaminuronosäure* (74.2% d. Th.) erhalten. Nach Umkristallisation aus Äthanol betrug die Ausbeute 1.27 g. Schmp. 156–157° (Zers.). $[\alpha]_D^{20}$: +34°, keine Mutarotation ($c = 2$, in Wasser).

12. *Umsetzung von D-Glucuron mit Benzylamin:* 35.2 g *D-Glucuron* ($1/5$ Mol) wurden in 700 ccm 50-proz. Äthanol unter Röhren gelöst und mit 42.8 g *Benzylamin* ($2/5$ Mol) und 2 ccm Eisessig 7 Stdn. auf 40° erhitzt. Die dunkle Lösung wurde i. Vak. auf 300 ccm eingeengt, überschüss. Amin mit 3 mal 250 ccm Äther extrahiert und die Lösung anschließend auf 250 ccm eingeengt. Aus dem Äther fielen farblose Nadeln aus, die auch nach 12 stdg. Aufbewahren der wäßrigen Reaktionslösung bei –1° zusammen mit einem anderen Produkt erhalten wurden. Ein Teil des anderen Produktes wurde auch erhalten, als nach Behandeln der Reaktionslösung auf einer mit 600 ccm Lewatit S-100 (H^{\oplus} -Form) beschickten Säule der Säulendurchlauf i. Vak. eingeengt wurde. Die beiden Nebenprodukte wurden durch Behandlung mit Äther bzw. Äthanol getrennt und umkristallisiert. Das in Äther lösliche Produkt wurde als *N-Benzylglykosid des D-Glucuronsäure-benzylamids* (VII), das in Alkohol lösliche als *N-Benzylglykosid der Glucuronsäure* (IX) erkannt. VII: Ausb. 1.1 g farblose Nadeln (2% d. Th.). Schmp. 139–140°. Schwer löslich in Wasser und Petroläther, löslich in Alkohol, Äther usw. $[\alpha]_D^{20}$: –30.0°, keine Mutarotation ($c = 0.5$, in Methanol im 2-dm-Rohr).



IX: Ausb. 3.41 g farblose Säulen (6.0% d. Th.). Schmp. 171.5–174° (Zers.). Löslich in Wasser, Methanol, schlecht löslich in Äther. $[\alpha]_D^{20}$: –70.0°, keine Mutarotation ($c = 3.5$, in Methanol).



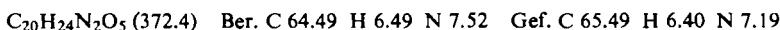
Die bei diesem Versuch gebildete *N-Benzyl-D-isoglucoaminuronosäure* wurde nach einem Vorlauf von 1750 ccm mit 2.2 l 0.5 n Trichloressigsäure eluiert. Nach zweimaliger Extraktion mit Äther im Apparat nach Kutscher-Steuvel wurde das Produkt nochmals über eine Säule mit 90 ccm Dowex 50 (H^{\oplus} -Form), wie oben beschrieben, gereinigt. Nach Eindampfen wurden 1.87 g Rohprodukt (3.3% d. Th.) erhalten. $[\alpha]_D^{20}$: +13.2°, keine Mutarotation ($c = 2$, in Wasser).

13. *N-Benzylglykosid des D-Glucuronsäure-benzylamids* (VII): 9 g *D-Glucuron* ($1/20$ Mol) wurden in 200 ccm wasserfreiem Methanol unter Röhren im Eisbad suspendiert und 11 g *Benzylamin* ($1/10$ Mol) zugegeben. Nach 10 Min. war vollständige Lösung eingetreten. Das Gemisch wurde anschließend 4 Stdn. lang bei Raumtemperatur stehengelassen und dann i. Vak. auf 70 ccm eingeengt. Nach 24 stdg. Aufbewahren bei –1° waren 13.7 g eines farblosen Produktes auskristallisiert. Es wurde abgesaugt, mit Wasser gewaschen und aus

Methanol umkristallisiert. Ausb. 11.3 g (60.7% d. Th.). Farblose, verfilzte Nadeln (aus Äther), Schmp. 139 – 140°.

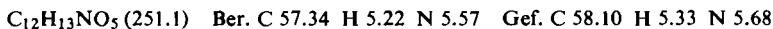


14. *N-Benzyl-D-isoglucosaminuronsäure-benzylamid (VIII)*: Die Lösung von 7.5 g *VII* in 250 ccm Methanol und 125 ccm Eisessig wurde 4 Stdn. im Wasserbad von 50° erwärmt. Da eine kristalline Abscheidung des Produktes nicht möglich war, wurde die Lösung i. Vak. fast zur Trockne eingedampft, der Sirup in 200 ccm Wasser gelöst und auf eine Säule mit 300 ccm Ionenaustauscher Amberlite CG-50 (H^+ -Form) gebracht. Nach Elution mit 600 ccm 0.25 n Trichloressigsäure wurde diese im Apparat nach Kutscher-Stedel mit Äther extrahiert und anschließend die Lösung i. Vak. zur Trockne gedampft. Nach zweimaligem Aufnehmen in absol. Äthanol und anschließendem Eindampfen wurde das amorphe Produkt i. Vak. bei 55° getrocknet. Es ist sehr hygroskopisch und wird an der Luft sirupös. Kristallisation konnte nicht erreicht werden. Ausb. 4.4 g (58.7% d. Th.).



15. *Umsetzung von D-Glucuron mit Cyclohexylamin*: Die Lösung von 10.56 g *D-Glucuron* ($\frac{1}{5.0}$ Mol) in 300 ccm 50-proz. Äthanol wurde mit 11.88 g *Cyclohexylamin* ($\frac{6}{5.0}$ Mol) $\frac{1}{4}$ Stde. im Wasserbad auf 40° erhitzt. Anschließend wurde mit 2 ccm Eisessig versetzt und das Gemisch weitere 5 Stdn. bei 40° gehalten. Nach dem Abkühlen wurde die dunkle Lösung i. Vak. auf 70 ccm eingeengt, von ausgefallenen Schmieren getrennt und das überschüssige Amin ausgeäthert. Die erste Trennung von nicht basischen Produkten wurde wiederum auf einer Säule mit 300 ccm Ionenaustauscher Lewatit S-100 (H^+ -Form) durchgeführt, von der die gebildete *N-Cyclohexyl-D-isoglucosaminuronsäure* nach einem Vorlauf von 500 ccm mit 1.3 l 1 n Trichloressigsäure eluiert wurde. Nach Ausäthern der Trichloressigsäure wie bisher wurde die wäßrige Lösung auf 50 ccm eingeengt und eine zweite Reinigung des Produktes auf einer Ionenaustauschersäule mit 100 ccm Dowex 50 (H^+ -Form) erreicht. Die von Trichloressigsäure befreite Lösung wurde i. Vak. zur Trockne eingedampft und der Rückstand in Äthanol gelöst. Mit Äther wurden 695 mg Rohprodukt (4.2% der theoret. Ausbeute) ausgefällt. Nach Umkristallisation aus Äthanol wurden 230 mg reines Produkt erhalten. Schmp. 157 – 159° (Zers.). $[\alpha]_D^{25}: + 24^\circ$, keine Mutarotation ($c = 2$, in Wasser).

16. *N-Phenylglykosid des D-Glucuronsäurelactons*: 4.5 g *Glucuron* ($\frac{1}{40}$ Mol) wurden in 100 ccm wasserfreiem Methanol mit 9.2 ccm *Anilin* ($\frac{1}{10}$ Mol) bei Raumtemperatur gerührt, bis Lösung eingetreten war. Nach Eindampfen i. Vak. auf die Hälfte wurden 150 ccm über Natrium getrockneter Äther zugegeben und der käische, weiße Niederschlag abgesaugt. Umkristallisation aus wasserfreiem Äther. Schmp. 93 – 94° (Zers., unkorri.).



17. *D-Isoglucosaminuronsäure-acetat (VI) durch Hydrierung von N,N-Dibenzyl-D-isoglucoaminuronsäure*: 1 g *V* wurde in 50 ccm Methanol suspendiert und mit 25 ccm Eisessig zur Lösung gebracht. Die Lösung wurde mit 200 mg 5-proz. Palladium/Tierkohle hydriert. Nach Beendigung der Reaktion wurde i. Vak. zur Trockne eingedampft, in wenig Eiswasser gelöst, wobei das mitgebildete Dibenzylaminacetat ungelöst blieb, und *VI* mit Isopropylalkohol gefällt. Da die Analyse vermuten ließ, daß ein Teil des Produktes als Acetat vorlag, wurde nochmals in wenig 50-proz. Essigsäure aufgenommen und wiederum mit Isopropylalkohol gefällt. Ausb. 372 mg *VI-Acetat* (84% d. Th.).



Bei Erhitzen zersetzt sich das Produkt ab 138° kontinuierlich, ein fester Zersetzungspunkt wurde nicht beobachtet.

18. Umsetzung von Glucose und Glucuronsäure mit aromat. Aminen und Harnstoff: $1/_{200}$ Mol Glucose bzw. Kaliumglucuronat wurden in 50 ccm 50-proz. wäßrigem Äthanol mit $1/_{40}$ Mol Amin 30 Min. im Wasserbad bei 80° erhitzt, mit 0.2 ccm Eisessig versetzt und weitere 90 Min. bei dieser Temperatur gehalten. Nach Abkühlen wurde eine Probe der Lösung nach Versetzen mit 2 n NaOH mit 1-proz. äthanol. o-Dinitro-benzol-Lösung auf Umlagerungsprodukte geprüft. Ferner wurden 2 Chromatogramme angefertigt (in n-Butanol/Eisessig/Wasser 70:7:23), wovon das eine mit ammoniakal. Silbernitratlösung, das andere mit einem Gemisch aus 1 n methanol. Kalilauge und 1-proz. o-Dinitro-benzol-Lösung in Äthanol (2:1) entwickelt wurde.

Die mit Glucose und Glucuronsäure unter diesen Bedingungen umgesetzten Amine sowie die dabei erzielten Ergebnisse sind der Tab. 2 zu entnehmen.

19. Die papierchromatographischen Untersuchungen wurden absteigend auf Schleicher & Schüll-Papier Nr. 602 h:p mit einem Gemisch aus n-Butanol/Eisessig/Wasser (70:7:23 Vol.-%) durchgeführt. Entwickelt wurde mit ammoniakalischer Silbernitratlösung bzw. einem Gemisch aus 1 n methanol. KOH/1-proz. alkohol. o-Dinitro-benzol-Lösung (2:1).

Tab. 3. R_F -Werte der erhaltenen Umlagerungsprodukte

<i>N</i> -[<i>p</i> -Carboxy-phenyl]-isoglicosaminuronsäure	0.47
<i>N</i> -Phenyl-isoglicosaminuronsäure	0.60
<i>N</i> -[<i>o</i> -Chlor-phenyl]-isoglicosaminuronsäure	0.75
<i>N</i> -[<i>m</i> -Chlor-phenyl]-isoglicosaminuronsäure	0.75
<i>N</i> -[<i>p</i> -Chlor-phenyl]-isoglicosaminuronsäure	0.75
<i>N</i> -[3.4-Dimethyl-phenyl]-isoglicosaminuronsäure	0.67
<i>N</i> -[<i>m</i> -Nitro-phenyl]-isoglicosaminuronsäure	0.70
<i>N</i> -[<i>p</i> -Äthoxy-phenyl]-isoglicosaminuronsäure	0.63
<i>N</i> - <i>m</i> -Tolyl-isoglicosaminuronsäure	0.63
<i>N</i> - <i>p</i> -Tolyl-isoglicosaminuronsäure	0.63
<i>N</i> -Benzyl-isoglicosaminuronsäure	0.48
<i>N</i> -Benzyl-isoglicosaminuronsäure-benzylamid	0.65
<i>N</i> -Butyl-isoglicosaminuronsäure	0.41
<i>N</i> -Cyclohexyl-isoglicosaminuronsäure	0.49
<i>N,N</i> -Dibenzyl-isoglicosaminuronsäure	0.75
<i>N,N</i> -Pentamethylen-isoglicosaminuronsäure	0.33
<i>N,N</i> -Pentamethylen-isoglicosaminuronsäure-piperidid	0.73
<i>I</i> -Desoxy- <i>I</i> -morpholino-D-fructuronsäure	0.18
Isoglicosaminurohsäure	0.15