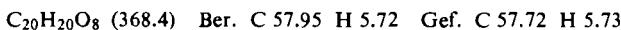


Nach der Aufnahme des zweiten Mol. H₂ wurde noch immer langsam Wasserstoff aufgenommen (in 30 Min. 14.2 ccm). Dessenungeachtet wurde die Hydrierung nach 75 Min. abgebrochen und aufgearbeitet. Der nach dem Abdampfen des Äthanols erhaltene Rückstand lieferte bei der Destillation (0.1 Torr) zwei Anteile:

1. sehr wenig eines bei 70° übergehenden Sublimats vom Schmp. 67—71° (identisch mit *Mesitol*). Die Bildung dieses Produktes ist somit für die schleppende Weiterhydrierung verantwortlich zu machen.

2. Hauptmenge, ein viskoses Öl, dessen Identität mit dem *2,4-Dimethyl-6-hydroxymethyl-phenol*²²) wir durch Papierchromatographie feststellten.

Die *Dienon-Phenol-Umlagerung* führten wir analog zu der Reaktion bei Ia durch. Nach 12 Stdn. goß man in Wasser, ließ noch 2 Stdn. stehen und arbeitete wie üblich auf. Man erhielt XVII als farbloses, sehr zähflüssiges Öl, das bei 150—160°/0.005 Torr überging.



Reaktionen von XIa

Die *katalyt. Hydrierung* unter denselben Bedingungen wie bei Ia, IIa, IXa ergab 80% XI.

Sämtliche Mikroanalysen wurden von Herrn J. ZAK im Mikroanalytischen Laboratorium des Anorganisch- und Physikalisch-Chemischen Institutes der Universität Wien sowie von Herrn H. BIELER im Organisch-Chemischen Institut durchgeführt.

HERMANN RUDY, FRIEDRICH KRÜGER, JOHANNES MIKSCH,
LIESELOTTE BAUER und JOSEPH KIMMIG

Über N-Glykoside von N-Acyl-D-glucosaminen. [N-Acyl-D-glucosaminyll]-isonicotinsäurehydrazide

Aus dem Allgemeinen Laboratorium der Firma Joh. A. Benckiser GmbH, Ludwigshafen/Rh.
und der Universitäts-Hautklinik Hamburg-Eppendorf

(Eingegangen am 2. Juli 1960)

Herrn Professor Dr. Richard Kuhn zum 60. Geburtstag gewidmet

Durch Kondensation von aliphatischen und aromatischen N-Acyl-D-glucosaminen mit Isonicotinsäurehydrazid wurde eine Anzahl [N-Acyl-D-glucosaminyll]-isonicotinsäurehydrazide hergestellt. Die erhaltenen Verbindungen stellen im allgemeinen ein Gemisch der α - und β -Formen dar und zeigen teils Aufwärts-, teils Abwärtsmutation. Die tuberkulostatische Wirksamkeit wird kurz erörtert.

D-Glucosamin und seine Derivate haben mit der Entdeckung von R. KUHN und P. GYÖRGY¹⁾ und ihren Mitarbeitern über das Vorkommen von Aminozucker enthaltenden Oligosacchariden mit Wuchsstoffeigenschaften für *Lactobacillus bifidus* var. *Penn* in der Frauenmilch erneut starke Beachtung gefunden. Die Tatsache, daß

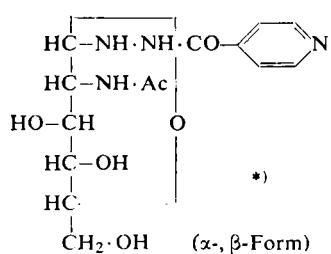
¹⁾ Lit. s. R. KUHN, Angew. Chem. **64**, 493 [1952]; **69**, 23 [1957].

α -Glucosamin einen Bestandteil dieser Oligosaccharide darstellt, war für den einen von uns (H. R.) Veranlassung, das bei der großtechnischen Herstellung von Citronensäure in beachtlichen Mengen anfallende, Chitin enthaltende *Aspergillus niger*-Mycel eingehender zu untersuchen. Zusammen mit J. RAUCH, J. MIKSCH und L. BAUER wurde dabei gefunden, daß bei gelinder Hydrolyse dieses Pilzes Wuchsstoffe für Mikroorganismen, u. a. auch für *Lactobacillus bifidus*, gebildet werden²⁾, deren Konstitution wir nicht näher untersucht haben.

Die Verwendung des durch Totalhydrolyse des Pilzmycels mit Salzsäure gebildeten α -Glucosamin-hydrochlorids ermöglichte außerdem in den letzten Jahren die Herstellung einer Anzahl neuartiger Verbindungen³⁾.

Vor allem interessierten wir uns für Kondensationsprodukte von α -Glucosamin und seinen Derivaten mit dem als Tuberkulostatikum auch heute noch unübertroffenen Isonicotinsäurehydrazid. Über eine erste Verbindung aus dieser Reihe, nämlich das [*N*-Acetyl- α -glucosaminyl]-isonicotinsäurehydrazid, haben J. KIMMIG, F. KRÜGER und J. MEYER-ROHN⁴⁾ vor einigen Jahren kurz berichtet und dabei vor allem auf die gute Verträglichkeit und tuberkulostatische Wirkung hingewiesen. Im folgenden berichten wir eingehender über die chemischen und physikalischen Eigenschaften derartiger Verbindungen von *N*-Acyl- α -glucosaminen mit Isonicotinsäurehydrazid. Wir haben im allgemeinen verdünnte Essigsäure⁴⁾ im wäßrigen oder alkoholischen Medium als Kondensationsmittel verwendet, da sie sich leicht entfernen läßt und sich ebenso wie andere Säuren oder NH_4Cl ^{5,6,7)} für die Darstellung unserer *N*-Glykoside eignet. Ohne derartige schwach saure Katalysatoren verlief die Kondensation im allgemeinen sehr langsam.

Nach dieser Methode wurden unter Variation des Säurerestes an der Aminogruppe folgende *N*-Acyl- α -glucosamine mit Isonicotinsäurehydrazid umgesetzt: *N*-Formyl-,



N-Acetyl-, *N*-Butyryl-, *N*-Oleoyl-, *N*-Stearyl-, *N*-Carbäthoxy-, *N*-Succinyl-, *N*-Benzoyl-, *N*-Phenylacetyl-, *N*-Phthalyl-, *N*-Cinnamoyl- α -glucosamin (sowie einige mehr, die wir später noch beschreiben werden). Von diesen waren die Bernstein-, Öl-, Zimt- und Phthalsäureverbindungen bisher nicht bekannt gewesen. Wir stellten fest, daß die Anfangsglieder der Reihe mit kurzem aliphatischem Acylrest sehr rasch reagieren und gute Ausbeuten (70–90%) an

Isonicotinsäureverbindung geben. Bei den (langkettigen) *N*-Oleoyl- und *N*-Stearylverbindungen erreicht man ähnlich gute Ausbeuten erst nach längerem Kochen (bis

²⁾ JOH. A. BENCKISER, Dtsch. Bundes-Pat. 1000572, angem. 7. 7. 1952; Dtsch. Bundes-Pat. 1082371, angem. 10. 8. 1956.

³⁾ JOH. A. BENCKISER, Belg. Pat. 552488 (D. P. A.) B 37892 IVb/12 p. v. 12. 11. 1955; DAS 1052387, angem. 14. 3. 1957; Dtsch. Bundes-Pat. 1049844, angem. 14. 3. 1957.

⁴⁾ Arzneimittel-Forschung 7, 157 [1957].

⁵⁾ R. KUHN und R. STRÖBELE, Ber. dtsch. chem. Ges. 70, 773 [1937].

⁶⁾ R. KUHN, A. GAUHE und H. H. BAER, Chem. Ber. 87, 289 [1954]; Fußn. 11).

⁷⁾ A. BERTHO und D. KOZIOLLEK, Chem. Ber. 87, 934 [1954].

^{*)} Anm. b. d. Korr.: Mit 1,2-Naphthochinon-4-sulfonsäurem Natrium tritt im Gegensatz zum Isonicotinsäurehydrazid keine Farbreaktion ein. Somit dürfte erwiesen sein, daß tatsächlich das endständige $-\text{NH}_2$ der Hydrazingruppe in Reaktion getreten ist.

zu 30 Stdn.). Die dazwischen liegenden aliphatischen Acylderivate ($C_8 - C_{14}$), die wir nicht rein dargestellt haben, haben kürzere Reaktionszeiten, nämlich etwa 8–20 Stdn. Bei den von uns bisher verwendeten aromatischen N-Acyl-D-glucosaminen konnten keine Unterschiede in der Kondensationsfreudigkeit beobachtet werden.

Je nach den Bedingungen der Kristallisation erhält man kristallwasserhaltige oder -freie [N-Acyl-D-glucosaminyl]-isonicotinsäurehydrazide.

Die niederen Glieder sind in Wasser und Methanol bei Raumtemperatur gut löslich, die höheren aliphatischen und aromatischen erwartungsgemäß schlecht oder gar nicht.

Wie schon früher berichtet⁴⁾, gelingt die Kondensation von Glucosaminbase oder Hydrochlorid mit Isonicotinsäurehydrazid nicht. Somit liegen hier also ganz analoge Verhältnisse vor wie bei der Kondensation mit aromatischen Aminen⁷⁾.

Die dargestellten Verbindungen sind ziemlich leicht hydrolysierbar. Die Spaltstücke N-Acyl-D-glucosamin und Isonicotinsäurehydrazid sind bereits nach 72 stdg. Stehenlassen der wäßrigen Lösung bei 40° neben unverändertem Ausgangsmaterial papierchromatographisch leicht nachweisbar.

Starke Säuren spalten im Vergleich zu Wasser sehr schnell. Da unter p_H 4 undefinierbare Zersetzungspprodukte neben den Ausgangsstoffen auftreten, haben wir in Tab. 1 lediglich die Spaltungsgeschwindigkeit im p_H -Bereich 5–8 zusammengestellt. Dabei wurde als Kriterium für die eingetretene Spaltung das erste Auftreten des Isonicotinsäureflecks im Chromatogramm gewählt, was etwa 5% Spaltung bedeutet.

Tab. 1. Zeitdauer bis zur einwandfreien Nachweisbarkeit von Isonicotinsäurehydrazid (INH) (≈ 5% Spaltung) bei 40° in Abhängigkeit vom p_H , eingestellt mit HCl bzw. NaOH

-D-glucosaminyl-INH	p_H -Werte der wäßrigen Lösung		
	5	6	7
<i>N</i> -Formyl- <i>N</i> -Acetyl- <i>N</i> -Butyryl- <i>N</i> -Succinyl- <i>N</i> -Benzoyl-	6–36 Stdn.	2–4 Tage	6–8 Tage
	96 Stdn.		

Kurzes Erwärmen der Verbindungen in Fehlingscher Lösung zeigt sehr rasch die Abscheidung von Cu_2O . Somit verhalten sie sich wie die aromatischen [N-Acetyl-D-glucosamin]-N-glykoside⁷⁾.

Die MORGAN-ELSON-Reaktion fiel bei allen von uns dargestellten N-Glykosiden positiv aus. Während die Acylglucosamine eine rotviolette Färbung ergeben, tritt bei Isonicotinsäurederivaten infolge einer Gelbfärbung durch das Isonicotinsäurehydrazid eine Verschiebung nach Weinrot ein.

In diesem Zusammenhang ist auch die Spaltbarkeit durch Pikrinsäure zu erwähnen. In wäßriger Lösung scheidet sich bei Raumtemperatur bereits nach kurzer Zeit ein schön gelber Niederschlag des Isonicotinsäurehydrazid-dipikrates ab⁸⁾.

Die Reaktion nach VONGERICHTEN mit Chlordinitrobenzol (in Alkohol unter Zusatz von Borax)⁹⁾, mit der man freies Isonicotinsäurehydrazid gut nachweisen kann, ist bei den beschriebenen [N-Acyl-D-glucosaminyl]-isonicotinsäurehydra-

⁸⁾ J. CYMERMAN-CRAIG und D. WILLIS, J. chem. Soc. [London] 1955, 4315.

⁹⁾ C. W. BALLARD und P. G. W. SCOTT, Chem. and Ind. 1952, 715.

ziden zunächst negativ. Erst nach Zugabe von Wasser (Spaltung!) wird sie positiv. Diese Reaktion ist ebenso wie die mit Fehlingscher Lösung für die Ermittlung der Konstitution solcher Verbindungen von Bedeutung.

Konstitutionsfragen. Für die Kondensationsprodukte aus Aldosen und Isonicotinsäurehydrazid nehmen H. ZINNER und W. BOCK¹⁰⁾ ein Gleichgewicht von α - und β -N-Glykosiden mit der Hydrazonform an. Die von uns erhaltenen entsprechenden Verbindungen des D-Glucosamins zeigen wie die der Glucose¹⁰⁾ Mutarotation. Der Endwert in Wasser wird im allgemeinen erst nach mehr als 24 Std. erreicht. Schwach alkalische Reaktion (NH_3 bei $p\text{H}$ 8.5–9.0) beschleunigt die Einstellung der Enddrehung¹¹⁾. Die einschlägigen Werte sind in Tab. 2 zusammengefaßt. Wie daraus hervorgeht, fallen die N-Glykoside des D-Glucosamins im allgemeinen nicht in einheitlich drehender Form an; teils überwiegt die α -Form, teils die β -Form.

Tab. 2. Spezif. Drehung $[\alpha]_D^25$ und Mutarotation einiger [N-Acyl-D-glucosaminyl]-isonicotinsäurehydrazide. I = N-Formyl-, II = N-Acetyl-, III = N-Butyryl-, IV = N-Succinyl-, V = N-Carbäthoxy-, VI = N-Benzoyl-D-glucosaminyl-INH

Substanz	Wasser ($p\text{H} = 7$)				währ. Ammoniak ($p\text{H} = 9.0$)			
	0	18	24	48	0	3	18	24
I ($c = 1$)	+ 1.5°	+ 12.0°	+ 13.0°	+ 14.5°	+ 3.5°	+ 14.0°	+ 14.0°	+ 14.0°
II ($c = 9$)	- 9.6°	- 1.3°	+ 0.8°	+ 3.8°	- 9.6°	- 1.0°	+ 4.8°	+ 4.8°
III ($c = 2$)	+ 118.0°	+ 61.0°	+ 50.6°	+ 26.5°	+ 98.0°	+ 13.4°	+ 10.5°	+ 10.8°
IV ($c = 2$)	- 7.8°	+ 5.7°	+ 6.5°	+ 9.0°	- 7.5°	- 2.25°	- 2.25°	- 2.25°
V ($c = 1$)	+ 126.0°	+ 64.0°	+ 50.5°	+ 35.0°	+ 98.0°	+ 11.0°	+ 14.0°	+ 14.0°
Methanol								
Substanz	0	4	24	48	0	4	18	24
II ($c = 0.9$)	- 92.8°	- 82.9°	- 77.3°	- 62.5°	- 92.8°	- 47.8°	- 28.1°	- 25.3°
VI ($c = 0.25$)	- 79.0°	- 77.5°	- 77.0°	- 77.0°	- 73.0°	- 73.2°	- 73.0°	- 73.0°

Wir haben — analog dem Vorgehen von ZINNER und BOCK¹⁰⁾ — versucht festzustellen, ob in Lösung auch die Hydrazonform im Gleichgewicht mit vorliegt, erhielten bei der Acetylierung mit Acetanhydrid in Pyridin jedoch Verbindungen, die weder auf Fehlingsche Lösung noch auf das Reagenz von VONGERICHTEN ansprachen und wahrscheinlich eine andere Konstitution haben. Wir werden auf diese Frage später zurückkommen.

Toxizität und tuberkulostatische Wirksamkeit. In Anbetracht der günstigen Resultate von J. KIMMIG, F. KRÜGER und J. MEYER-ROHN⁴⁾ untersuchten wir das Verhalten der anderen N-Acyl-Derivate. In Tab. 3 sind in vitro-Wirksamkeit und akute Toxizität zusammengestellt.

¹⁰⁾ Chem. Ber. 89, 1124 [1956].

¹¹⁾ Eine erkennbare, d. h. über 0.1% liegende Aufspaltung, konnte dabei nicht beobachtet werden, so daß also mit Sicherheit noch die ungespaltene Verbindung vorliegt und nicht etwa das N-Acyl- α -glucosamin. (Diese Bestimmungen (INH) verdanken wir Fr. Dipl-Chem. L. GIEFER in unserem Analytischen Laboratorium; vgl. W. NIELSCH und L. GIEFER, Arzneimittel-Forschung 9, 636 [1959].)

Tab. 3. In vitro-Wirksamkeit. Nährmedium: Ho-Du; über die Zusammensetzung des Ho-Du-Nährbodens finden sich nähere Angaben bei KIMMIG und MEYER-ROHN. Impfstamm: *Mycobact. tubercul.* var. hum. „Greifswald“. Einsatz: 1 Tropfen Aufschwemmung (1 mg Tuberkelbact./1 ccm NaCl-Lösung). Bebrütung: 6 Wochen bei 37°. 0 = kein Wachstum. + = gehemmtes Wachstum (wenige Einzelkolonien). ++ = normales Wachstum

-D-glucosaminyl-INH	2	Konzentration (γ/ccm)				Akute Toxizität LD50 (mg Subst./kg Maus) p. o.	i. p.
		1	0.5	0.2	0.1		
N-Formyl-	0	0	+	++	++	5000	5000
N-Acetyl-	0	0	0	+	++	5000	10000
N-Butyryl-	0	0	++	++	++	6000	5000
N-Stearyl-	0	0	++	++	++		
N-Oleoyl-	0	0	++	++	++		
N-Succinyl-	0	+	++	++	++	2000	1000
N-Carbäthoxy-	0	0	0	+	++	5000	5000
N-Benzoyl-	0	0	+	++	++		
N-Phthalyl-	0	0	+	++	++		

Bei dieser in vitro-Untersuchung ergab sich also, daß nur geringe graduelle Unterschiede hinsichtlich Wirksamkeit (etwa die Hälfte derjenigen von Isonicotinsäurehydrazid) vorliegen. Es fällt auf, daß die akute Verträglichkeit in allen Fällen sehr gut und weit besser als die von Isonicotinsäurehydrazid ist. Wir haben daher vor etwa 3 Jahren auf Grund der ersten Ergebnisse von J. KIMMIG, F. KRÜGER und J. MEYER-ROHN die N-Acetyl-Verbindung in den klinischen Versuch gegeben. H. D. RENOVANZ¹²⁾ konnte am Menschen gute Resultate erzielen. Im chronischen Toxizitätsversuch^{*)} und bei der weiteren klinischen Anwendung^{**)} ergaben sich jedoch nicht die großen Vorteile des [N-Acetyl-D-glucosaminyl]-INH gegenüber dem Isonicotinsäurehydrazid selbst, wie wir anfangs angenommen hatten. Aus diesen und anderen Gründen wurde davon abgesehen, das eine Zeitlang für klinische Zwecke hergestellte Acetyl-Derivat (INHASAN[®]) als therapeutisches Tuberkulosepräparat in den Handel zu bringen.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

[N-Formyl-D-glucosaminyl]-isonicotinsäurehydrazid: 20.7 g *N-Formyl-D-glucosamin*¹³⁾ und 14.0 g *Isonicotinsäurehydrazid* werden in 18 ccm Wasser und 1.5 ccm Eisessig etwa 10 Min. lang auf dem siedenden Wasserbad erhitzt. Anschließend wird die Lösung gekühlt und mit 45 ccm Aceton versetzt. Nach kurzer Zeit beginnt Kristallabscheidung, die sich beim Aufbewahren im Eisschrank noch vermehrt. Der Kristallbrei wird abgesaugt, mit Aceton und Äther gewaschen. Das Rohprodukt (25.0 g, entspr. 70% d. Th.) wird durch Umfallen aus Wasser/Aceton gereinigt. Schmp. 106–108° (Zers.). Die Substanz ist gut löslich in Wasser und Methanol, schwerer in Äthanol und Pyridin, unlöslich in Aceton, Chloroform, Äther und

^{*)} Die Werte für die akute und chronische Toxizität verdanken wir Herrn Prof. Dr. F. HAHN, Pharmakol. Institut der Universität Freiburg.

^{**) Die Versuche wurden durchgeführt im Krankenhaus Rohrbach, Thorax-Chirurgische Spezialklinik GmbH, Heidelberg-Rohrbach, unter der Leitung von Herrn Obermedizinalrat Dr. med. A. HECHT, und in der Tuberkulose-Heilstätte Falkenstein-Taunus unter der Leitung des Direktors, Herrn Chefarzt Dr. med. von KROGH, Herrn Dr. med. GÖCHT und Herrn Dr. med. VIRCHOW (persönliche Mitteilungen).}

¹²⁾ Münchener med. Wschr. 100, 1852 [1958].

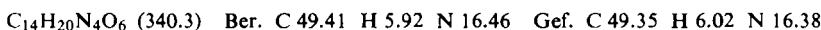
¹³⁾ F. HABER, Dissertat. Univ. Heidelberg 1955 (bei R. KUHN).

Benzol. Sie reduziert Fehlingsche Lösung beim Erwärmen. $[\alpha]_D^{25}: +1.5^\circ \rightarrow +13.0^\circ$ (nach 24 Stdn., $c = 1$, in Wasser).



[N-Acetyl-D-glucosaminyl]-isonicotinsäurehydrazid: 22.1 g *N-Acetyl-D-glucosamin* und 14.0 g *Isonicotinsäurehydrazid* werden in 15 ccm Wasser und 1.5 ccm Eisessig bis zur klaren Lösung auf dem siedenden Wasserbad erhitzt. Die Reaktionslösung wird gekühlt und mit Aceton bis zur beginnenden Trübung versetzt. Nach Anreiben scheidet sich beim Stehenlassen im Kühlschrank das Umsetzungsprodukt ab. Es wird abgesaugt und mit Aceton und Äther gewaschen. Das Rohprodukt (30.0 g, entspr. 80% d. Th.) wird durch Lösen in Wasser und langsames Fällen aus Aceton gereinigt. Schmp. 121° (Zers.). Die Substanz ist gut löslich in Wasser, Methanol, warmem Äthanol, unlöslich in Äther, Aceton, Chloroform und Benzol. $C_{14}H_{20}N_4O_6 + 2 H_2O \text{ (376.4) Ber. C 44.67 H 6.43 N 14.89 Gef. C 44.65 H 6.42 N 14.91}$

Vorstehend beschriebenes Dihydrat geht beim Kochen mit Äthanol quantitativ in die wasserfreie Verbindung über. Schmp. 196° (Zers.). Die Substanz ist im Gegensatz zum Dihydrat schwer löslich in heißem Methanol. *

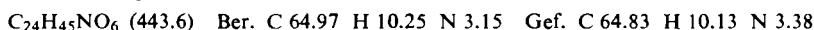


Beide Verbindungen reduzieren Fehlingsche Lösung beim Erwärmen und zeigen Mutarotation. $[\alpha]_D^{25}: -9.6^\circ \rightarrow +0.8^\circ$ (nach 24 Stdn., $c = 9$, in Wasser).

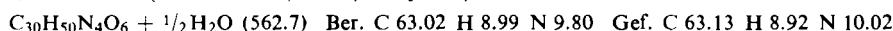
[N-Butyryl-D-glucosaminyl]-isonicotinsäurehydrazid: 25.0 g *N-Butyryl-D-glucosamin*^{13,14)} und 14.0 g *Isonicotinsäurehydrazid* werden in 30 ccm Wasser und 3 ccm Eisessig 20 Min. auf dem siedenden Wasserbad erhitzt. Es wird gekühlt und so lange Aceton zugegeben, bis Trübung auftritt. Nach einiger Zeit beginnt die Abscheidung des Umsetzungsproduktes in kristalliner Form. Das Rohprodukt (ca. 24 g, entspr. 62% d. Th.) wird zweimal aus Methanol umkristallisiert. Schmp. 179° (Zers.). Die Substanz ist löslich in Wasser, Dimethylformamid und Methanol, schwer löslich in Äthanol, unlöslich in Aceton, Äther und Benzol. Sie reduziert Fehlingsche Lösung beim Erwärmen. $[\alpha]_D^{25}: +118.0^\circ \rightarrow +50.6^\circ$ (nach 24 Stdn., $c = 2$, in Wasser).



N-Oleoyl-D-glucosamin: Zu 4.3 g *D-Glucosamin-hydrochlorid* in 20 ccm 1n NaOH werden unter Kühlung 6.0 g *Ölsäurechlorid* und 20 ccm 1n NaOH gleichzeitig hinzugegeben. Beim Durchrühren scheidet sich das Umsetzungsprodukt ab. Es wird abgesaugt und mit Wasser und Aceton gewaschen. Das Rohprodukt (7.0 g, entspr. 80% d. Th.) wird aus Alkohol umkristallisiert. Schmp. 189–190° (Zers.). Die Substanz ist löslich in Pyridin, heißem Alkohol und heißem Eisessig, unlöslich in Wasser, Aceton und Äther. $[\alpha]_D^{25}: +47^\circ \rightarrow +53^\circ$ (nach 24 Stdn., $c = 1$, in Pyridin).

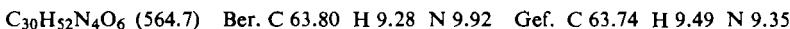


[N-Oleoyl-D-glucosaminyl]-isonicotinsäurehydrazid: 4.4 g *N-Oleoyl-D-glucosamin* und 2.8 g *Isonicotinsäurehydrazid* werden in 150 ccm Methanol und 3 ccm Eisessig 27 Stdn. lang unter Rückfluß erhitzt. Dann wird die Reaktionslösung i. Vak. eingeengt. Der ölige Rückstand erstarrt beim Anreiben zu einem Kristallbrei, der mit wenig Aceton verrieben, abgesaugt und mit Aceton gewaschen wird. Das Rohprodukt (3.7 g, entspr. 65% d. Th.) wird durch zweimaliges Umkristallisieren aus Methanol gereinigt. Schmp. 172–173° (Zers.). Die Substanz ist leicht löslich in Pyridin, heißem Methanol und heißem Äthanol, unlöslich in Aceton, Äther und Benzol. Die Verbindung reduziert Fehlingsche Lösung beim Erwärmen. $[\alpha]_D^{25}: +97^\circ \rightarrow -3^\circ$ (nach 24 Stdn., $c = 1$, in Pyridin).

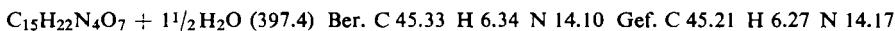


¹⁴⁾ Y. INOUYE, K. ONODERA, S. KITAOKA und S. HIRANO, J. Amer. chem. Soc. 78, 4722 [1956].

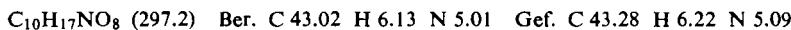
[N-Stearyl-D-glucosaminyl]-isonicotinsäurehydrazid: 8.9 g *N-Stearyl-D-glucosamin*¹⁴⁾ und 6.0 g *Isonicotinsäurehydrazid* werden in 300 ccm Methanol und 8 ccm Eisessig 70 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Dann wird die Reaktionslösung i. Vak. eingeengt, der gallertartige Rückstand abfiltriert und mit wenig Äthanol gewaschen. Das Rohprodukt (7.3 g, entspr. 66% d. Th.) wird zweimal aus Methanol umkristallisiert. Schmp. 168–171° (Zers.). Die Substanz ist unlöslich in Wasser, Aceton, Äther und Benzol, leicht löslich in Pyridin, heißem Methanol und Äthanol. Die Verbindung reduziert Fehlingsche Lösung beim Erwärmen. $[\alpha]_D^{25}$: +23° → +23° (nach 24 Stdn., $c = 1$, in Pyridin).



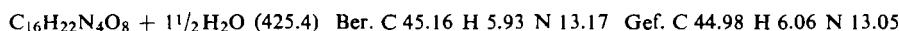
[N-Carbäthoxy-D-glucosaminyl]-isonicotinsäurehydrazid: 20.0 g *N-Carbäthoxy-D-glucosamin*¹⁵⁾ und 11.2 g *Isonicotinsäurehydrazid* werden in 16 ccm Wasser und 1.6 ccm Eisessig auf dem siedenden Wasserbad erhitzt. Sobald sich eine klare Lösung gebildet hat, wird noch 10 Min. weiter erhitzt. Anschließend wird die Reaktionslösung gekühlt und mit etwa 200 ccm Aceton versetzt. Nach einiger Zeit beginnt die Abscheidung des kristallinen Umsetzungsproduktes. Nach Aufbewahren über Nacht im Eisschrank wird filtriert und der Kristallbrei mit Aceton gewaschen. Das Rohprodukt (22.4 g, entspr. 70% d. Th.) wird zweimal aus Äthanol umkristallisiert. Schmp. 168° (Zers.). Die Substanz ist sehr leicht löslich in heißem Dimethylformamid, mäßig löslich in kaltem Wasser und heißem Äthanol, unlöslich in Aceton, Äther und Benzol. Die Verbindung reduziert Fehlingsche Lösung beim Erwärmen und zeigt Mutarotation. $[\alpha]_D^{25}$: +126.6° → +50.5° (nach 24 Stdn., $c = 1$, in Wasser).



N-Succinyl-D-glucosamin: Zu 36.0 g *D-Glucosamin* und 60 ccm Wasser werden unter Röhren 20.0 g *Bernsteinsäureanhydrid* in 150 ccm Aceton gegeben. Es bilden sich zwei Phasen, die nach längerem Röhren und weiterer Zugabe von Wasser ineinander übergehen. Nach einer Rührzeit von 60 Min. bei Raumtemperatur wird i. Vak. eingeengt und der dickflüssige Rückstand mit der 3fachen Menge Eisessig verrührt, wobei sich das Umsetzungsprodukt kristallin abscheidet. Es wird abgesaugt und der Eisessig mit Äthanol und Äther herausgewaschen. Das Rohprodukt (38.0 g, entspr. 67% d. Th.) wird aus 50-proz. Äthanol umkristallisiert. Schmp. 172° (Zers.). Die Substanz ist leicht löslich in kaltem Wasser, löslich in heißem Methanol und Eisessig, unlöslich in Aceton und Äther. $[\alpha]_D^{25}$: +46° → +34.8° (nach 24 Stdn., $c = 2$, in Wasser).



[N-Succinyl-D-glucosaminyl]-isonicotinsäurehydrazid: 8.4 g *N-Succinyl-D-glucosamin* und 4.2 g *Isonicotinsäurehydrazid* werden in 9 ccm Wasser und 0.9 ccm Eisessig auf dem Wasserbad erhitzt. Wenn sich eine klare Lösung gebildet hat, wird gekühlt und soviel Aceton hinzugegeben, daß sich die Lösung gerade trübt, worauf sich nach Aufbewahren über Nacht im Eisschrank das Umsetzungsprodukt kristallin abscheidet. Es wird abgesaugt und mit Aceton gewaschen. Das Rohprodukt (6.5 g, entspr. 52% d. Th.) wird durch Lösen in wenig Wasser und Fällen mit Aceton gereinigt. Schmp. 133° (Zers.). Die Substanz ist leicht löslich in Wasser, löslich in Methanol und heißem Äthanol, unlöslich in Aceton, Äther und Benzol. Die Verbindung reduziert Fehlingsche Lösung beim Erwärmen und zeigt Mutarotation. $[\alpha]_D^{25}$: -7.8° → +6.5° (nach 24 Stdn., $c = 2$, in Wasser).



¹⁵⁾ H. BROMUND und R. M. HERBST, J. org. Chemistry 10, 267 [1945].

{*N*-*Phenacetyl-D-glucosaminyl*}-*isonicotinsäurehydrazid*: 3.0 g *N*-*Phenacetyl-D-glucosamin*¹⁶⁾ und 1.4 g *Isonicotinsäurehydrazid* werden in 5 ccm Wasser und 0.4 ccm Eisessig auf dem Wasserbad erhitzt. Nach etwa 10 Min. hat sich eine klare Reaktionslösung gebildet, aus der sich beim Abkühlen und Anreiben das Umsetzungsprodukt kristallin abscheidet. Das Rohprodukt (3.3 g, entspr. 80 % d. Th.) wird aus Dimethylformamid umkristallisiert. Schmp. 204° (Zers.). Es ist schwer löslich in den gebräuchlichen organischen Lösungsmitteln und in Wasser, löslich in heißem Dimethylformamid. Die Verbindung reduziert Fehlingsche Lösung beim Erwärmen. Prüfung auf optische Drehung wurde wegen Schwerlöslichkeit nicht durchgeführt.

$C_{20}H_{24}N_4O_6$ (416.4) Ber. C 57.68 H 5.80 N 13.46 Gef. C 57.54 H 5.83 N 13.45

N-*Cinnamoyl-D-glucosamin*: 2.8 g *Zimtsäureanhydrid* werden in 20 ccm Pyridin durch mäßiges Erwärmen gelöst; anschließend werden bei Raumtemperatur 1.8 g *D-Glucosamin* eingebracht. Bereits nach kurzer Zeit scheidet sich ein Teil des Umsetzungsproduktes ab. Durch Zugabe von Äther wird die Abscheidung vervollständigt. Ausb. 2.6 g (84 % d. Th.). Das Rohprodukt wird aus heißem Eisessig umkristallisiert. Schmp. 213° (Zers.). *N*-*Cinnamoyl-D-glucosamin* ist löslich in Pyridin und heißem Eisessig, mäßig löslich in heißem Äthanol, unlöslich in Wasser, Aceton und Äther. $[\alpha]_D^{25}$: +102.0° → +109.0° (nach 24 Stdn., $c = 1$, in Pyridin).

$C_{15}H_{19}NO_6$ (309.3) Ber. C 58.24 H 6.19 N 4.53 Gef. C 58.29 H 6.13 N 4.52

{*N*-*Cinnamoyl-D-glucosaminyl*}-*isonicotinsäurehydrazid*: 3.1 g *N*-*Cinnamoyl-D-glucosamin* und 1.4 g *Isonicotinsäurehydrazid* werden in 40 ccm Äthanol, 8 ccm Wasser und 2 ccm Eisessig 6 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Anschließend wird die Reaktionslösung i. Vak. eingeeengt. Durch Verreiben des zurückbleibenden Öles mit Aceton kristallisiert das Umsetzungsprodukt aus, das abgesaugt und mit Aceton gewaschen wird. Das Rohprodukt (3.4 g, entspr. 75 % d. Th.) wird zweimal aus Äthanol umkristallisiert. Schmp. 182° (Zers.). Die Verbindung ist leicht löslich in Dimethylformamid, schwer löslich in heißem Äthanol, unlöslich in Wasser, Aceton und Äther. Sie reduziert Fehlingsche Lösung beim Erwärmen. $[\alpha]_D^{25}$: +41.0° → +2.5° (nach 24 Stdn., $c = 1$, in Dimethylformamid).

$C_{21}H_{24}N_4O_6 + 1H_2O$ (428.4) Ber. C 56.50 H 5.87 N 12.55 Gef. C 56.80 H 6.15 N 11.80

N-*Phthalyl-D-glucosamin*: Zu 36.0 g *D-Glucosamin* in 60 ccm Wasser werden unter Rühren 30.0 g *Phthalsäureanhydrid* in 250 ccm Aceton gegeben. Es bilden sich zwei Schichten, die bei weiterem Rühren und Zugabe von Wasser ineinander übergehen. Nach kurzer Zeit beginnt die Abscheidung des Umsetzungsproduktes. Nach Stehenlassen über Nacht im Eisschrank wird filtriert und mit Aceton gewaschen. Ausb. 55.0 g (84 % d. Th.). Das Rohprodukt wird aus verd. Alkohol umkristallisiert. Schmp. 181° (Zers.). Das *N*-*Phthalyl-D-glucosamin* ist leicht löslich in heißem Wasser, schwer löslich in heißem Äthanol und heißem Eisessig. Prüfung auf optische Drehung wurde wegen Schwerlöslichkeit nicht durchgeführt.

$C_{14}H_{17}NO_8$ (327.3) Ber. C 51.38 H 5.24 N 4.28 Gef. C 51.52 H 5.37 N 4.40

{*N*-*Phthalyl-D-glucosaminyl*}-*isonicotinsäurehydrazid*: 13.2 g *N*-*Phthalyl-D-glucosamin* und 5.6 g *Isonicotinsäurehydrazid* werden in 10 ccm Wasser und 1.2 ccm Eisessig auf dem Wasserbad solange erhitzt, bis sich eine klare hellbraune Lösung gebildet hat. Dann läßt man die Reaktionslösung bei Raumtemperatur auskristallisieren. Durch Verreiben der ersten sich bildenden Kristalle wird die Abscheidung beschleunigt. Man verröhrt den Kristallbrei mit wenig Wasser, filtriert und wäscht mit Wasser und Aceton nach. Das Rohprodukt (11.0 g,

¹⁶⁾ O. K. BEHRENS, J. KORSE, R. G. JONES, M. J. MANN, Q. F. SOPER, F. R. VAN ABELE und MING-CHIEN CHIANG, J. biol. Chemistry 175, 751 [1948].

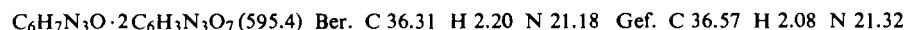
entspr. 60% d. Th.) wird zweimal aus Äthanol umkristallisiert. Schmp. 133° (Zers.). Die Verbindung ist leicht löslich in kaltem Dimethylformamid und heißem Äthanol, schwer löslich in Wasser, unlöslich in Aceton und Äther. Sie reduziert Fehlingsche Lösung beim Erwärmen. $[\alpha]_D^{25} : -65.5^\circ \rightarrow -44.0^\circ$ (nach 24 Stdn., $c = 2$, in Dimethylformamid).



[N-Benzoyl-D-glucosaminyl]-isonicotinsäurehydrazid: 21.3 g *N-Benzoyl-D-glucosamin*^{13,14)} und 10.5 g *Isonicotinsäurehydrazid* werden in 160 ccm Äthanol, 40 ccm Wasser und 8 ccm Eisessig 4 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Die Reaktionslösung wird i. Vak. eingeengt und das dabei erhaltene Öl mit Aceton verrieben. Der Kristallbrei wird abgesaugt und mit Aceton gewaschen. Das Rohprodukt (29.0 g, entspr. 92% d. Th.) wird zweimal aus Äthanol umkristallisiert. Schmp. 185° (Zers.). Die Verbindung ist löslich in Methanol und heißem Äthanol, schwer löslich in kaltem Wasser, unlöslich in Aceton und Äther. Sie reduziert Fehlingsche Lösung beim Erwärmen. $[\alpha]_D^{25} : -79^\circ \rightarrow -77^\circ$ (nach 24 Stdn., $c = 0.25$, in Methanol).



Aufspaltung von [N-Acetyl-D-glucosaminyl]-isonicotinsäurehydrazid mit Pikrinsäure: 1.7 g *[N-Acetyl-D-glucosaminyl]-isonicotinsäurehydrazid* und 1.15 g Pikrinsäure werden in Wasser bzw. Alkohol gelöst und die Lösungen zusammengegeben. Nach kurzer Zeit scheidet sich ein gelbes Reaktionsprodukt ab, das aus Alkohol umkristallisiert wird. Schmp. 185° (Zers.). Auf Grund der Analyse handelt es sich um das *Dipikrat von Isonicotinsäurehydrazid*⁸⁾.



Papierchromatographie: Man chromatographiert auf Schleicher & Schüll-Papier 2043 b aufsteigend mit Methanol/Amylalkohol/Benzol/Wasser (44.5:14.8:40.2:12.5) bei Raumtemperatur. Nach 30 Stdn. wird getrocknet und mit den Reagenzien der MORGAN-ELSON-Reaktion besprührt¹⁷⁾. Die acylierten Glucosamine erscheinen als violette Flecken, Isonicotinsäurehydrazid und die *[N-Acetyl-D-glucosaminyl]-isonicotinsäurehydrazide* als orangefarbene Flecken.

¹⁷⁾ F. CRAMER, Papierchromatographie, 4. Aufl., S. 119, Verlag Chemie, Weinheim/Bergstr., 1958.