

HELMUT SIMON und GÜNTHER HEUBACH

# Zur Bildung alicyclischer und offenkettiger, stickstoffhaltiger Reduktone durch Einwirkung sekundärer Aminsalze auf Monosaccharide<sup>1)</sup>

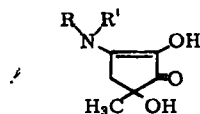
Aus dem Organisch-Chemischen Institut München und dem Chemischen Institut  
Weihenstephan der Technischen Hochschule München

(Eingegangen am 3. April 1965)

Einzelheiten im Bildungsmechanismus der Reduktone **1**, **2** und **3** aus Hexosen und sek. Aminsalzen werden mit [1-<sup>14</sup>C]- und [6-<sup>14</sup>C]Glucose geklärt. Versuche mit [3-<sup>3</sup>T]Glucose zeigen, daß die Enolisierung des Amadori-Umlagerungs-Produktes **6** von C-2 nach C-3 irreversibel und geschwindigkeitsbestimmend, die zwischen C-1 und C-2 jedoch rasch und reversibel erfolgt. — Das als Zwischenprodukt postulierte Diacetylformoin (**13**) läßt sich in das Redukton **1** überführen. Aus [4-<sup>14</sup>C]Erythrose und *N*-Methyl-benzylamin entsteht sehr rasch **3**, in dem die Methylgruppe zu 97% aus der Carbonylgruppe des Zuckers stammt. Im System  $\text{>N}-\underset{\text{OH}}{\text{CH}}-\underset{\text{OH}}{\text{C}}=\underset{\text{OH}}{\text{C}}-\underset{\text{OH}}{\text{CH}}-\text{OH}$  wird somit das Amin viel schneller

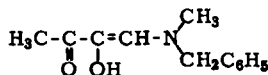
eliminiert als die allylständige Hydroxylgruppe.

Vor einigen Jahren wurde ein Mechanismus für die Bildung des alicyclischen Reduktions *N*-[1.2.3-Trihydroxy-1-methyl-cyclopenten-(2)-yliden-(4)]-piperidiniumbetain(*N*→2 oder 3)<sup>2)</sup> (**1**) aus Hexosen und Piperidinacetat durch Erhitzen in Äthanol unter Luftausschluß<sup>3)</sup> vorgeschlagen<sup>4)</sup>.



**1:** R, R' = -[CH<sub>2</sub>]<sub>5</sub>-\*)

**2:** R = CH<sub>3</sub>, R' = C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>2</sub>\*)



**3**

Aufgrund einer Reihe von Befunden mit <sup>14</sup>C-markierter Glucose und Derivaten wurde der Schluß gezogen, daß **1** über das Glykosylamin und die 1-Desoxy-1-piperidino-ketose (Amadori-Umlagerungs-Produkt = AUP), ohne Bruch der Zuckerkette, durch eine Reihe von intramolekularen Oxydoreduktionen über das Diacetylformoin (**13**) entsteht (vgl. Schema 2). Dabei stammte die Methylgruppe zu ca. 28%

\*) Über mesomere und tautomere Formen siehe die vorstehende Arbeit.

1) Teilweise vorgetragen auf dem Internationalen Symposium für Kohlenhydrate Münster, Juli 1964.

2) F. Weygand, H. Simon und W. Bitterlich sowie J. E. Hodge und B. E. Fisher, *Tetrahedron* [London] **6**, 123 (1959).

3) J. E. Hodge und C. E. Rist, *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 316 (1953).

4) H. Simon, *Chem. Ber.* **95**, 1003 (1962).

von C-1 und zu ca. 72% von C-6 der Glucose. Entsprechend entstanden die anderen C-Positionen von 1 aus je 2 C-Atomen des Zuckers.

Inzwischen haben *Hodge* und Mitarbb.<sup>5,6)</sup> gezeigt, daß beim Erhitzen von je 1 Mol Glucose, *N*-Methyl-benzylamin und Eisessig in Triäthylamin unter Luftausschluß neben einem alicyclischen Redukton 2 ein weiteres Aminoredukton 3 entsteht.

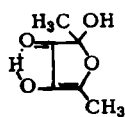
Die Struktur 3 wurde von *Hodge* und Mitarbb.<sup>5,6)</sup> aus Abbaureaktionen erschlossen und von uns durch Synthese aus Bromdiacetyl und *N*-Methyl-benzylamin bestätigt<sup>1,7)</sup>.

Wir setzten unsere Untersuchungen wegen der allgemeinen Bedeutung des Systems Zucker/Amin (Browning Reaction, Maillard Reaction)<sup>5,8,9)</sup> mit folgenden speziellen Fragestellungen fort: 1. Hängt das Verhältnis, in dem die Methylgruppe in 1 oder 2 aus C-1 bzw. C-6 der Hexose gebildet wird, von den Reaktionsbedingungen ab? 2. Welche weiteren Beweise lassen sich für den vorgeschlagenen Reaktionsmechanismus<sup>4)</sup>, bei dem die Enolisierung des Amadori-Umlagerungs-Produkts (AUP) von C-2 nach C-3 eine Schlüsselstellung einnimmt und Diacetylformoin ein postuliertes Zwischenprodukt ist, erbringen? 3. Aus welchem Teil der Hexose stammen die 4 Kohlenstoffatome von 3 und läßt sich dessen Bildung im Rahmen eines allgemeinen Reaktionsschemas verstehen, bzw. welche weiteren Informationen gibt es dafür? 4. Was läßt sich über das Schicksal des Zuckerteils aussagen, der nicht in das Redukton eingebaut wird?

#### ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Zunächst wurde 1 in Äthanol bzw. 2 in Triäthylamin je aus [1-<sup>14</sup>C]Glucose und [6-<sup>14</sup>C]Glucose dargestellt. Der Abbau zur Ermittlung der <sup>14</sup>C-Verteilung erfolgte, wie bereits beschrieben<sup>4)</sup>. (Über die Entfernung der bei der Kuhn-Roth-Oxydation von 2 gebildeten Benzoesäure siehe Versuchsteil.) Dabei bestätigte sich, daß in jedem Fall nur 2 C-Atome des Reduktons Radioaktivität aufweisen und auch das Verhältnis, in dem C-1 und C-6 der Glucose die Methylgruppe bilden, trotz der unterschiedlichen Darstellungsbedingungen von 1 und 2 wieder etwa 1:2 bis 1:3 ist.

Um festzustellen, ob 1 aus dem als Zwischenprodukt postulierten Diacetylformoin (13)<sup>4)</sup> tatsächlich dargestellt werden kann, erhitzen wir letzteres zusammen mit



Piperidinacetat unter den Bildungsbedingungen von 1. Die Ausbeute an 1 betrug 10%. Dies ist erstaunlich, da sich 1 aus Zuckern mit Ausbeuten bis 35% gewinnen läßt. Verantwortlich dafür ist evtl. eine chelatartige Cyclohalbacetalform, in der das freie

Diacetylformoin vorliegt (*Steinbauer* und *Waldmann*<sup>10)</sup>).

Das bei der Bildung von 1 aus Hexosen intermediär entstehende Diacetylformoin bildet evtl. diese Cyclohalbacetalform wegen der Anwesenheit desamins nicht aus und dadurch könnte es zu einer wesentlich besseren Ausbeute an 1 kommen.

<sup>5)</sup> J. E. Hodge, B. E. Fisher und E. C. Nelson, Amer. Soc. Brewing, Proceedings 1963, 84.

<sup>6)</sup> Privatmitteil.

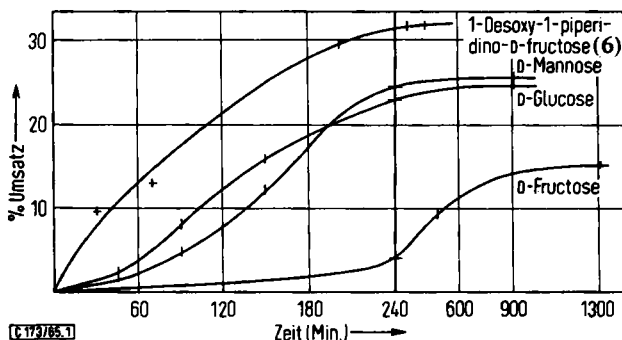
<sup>7)</sup> H. Simon, G. Heubach, W. Bitterlich und H. Gleinig, Chem. Ber. 98, 3692 (1965), vorstehend.

<sup>8)</sup> G. P. Ellis, Advances Carbohydrate Chem. 14, 63 (1959).

<sup>9)</sup> L. C. Maillard, C. R. hebdom. Séances Acad. Sci. 154, 66 (1912).

<sup>10)</sup> E. Steinbauer und E. Waldmann, Mh. Chem. 89, 570 (1958).

Da sich **1** bzw. **2** aus allen unverzweigten Hexosen bilden, schien uns ein Vergleich der Bildungsgeschwindigkeit von **1** aus Glucose, Mannose, Fructose und 1-Desoxy-1-piperidino-D-fructose von Interesse. Wir bestimmten die in der Abbild. dargestellten Zeit-Umsatz-Kurven, indem die gebildete Menge von **1** durch Isotopenverdünnungsanalyse ermittelt wurde.



Vergleich der Bildungsgeschwindigkeit von **1** aus verschiedenen Zuckern. (Bei 240 Min. Maßstabänderung)

Im Falle von Glucose und Mannose ist bei kurzen Zeiten eine Induktionsperiode zu erkennen, dagegen steigt bei dem AUP 1-Desoxy-1-piperidino-D-fructose (**6**) die Kurve sofort an. Die Fructosekurve zeigt einen deutlich anderen Verlauf. Nach 90 Min. Reaktionszeit ließ sich noch Fructose in kristalliner Form isolieren. Wahrscheinlich muß die Fructose erst eine Lobry de Bruyn-van Eckenstein-Umlagerung zur Glucose erleiden. Entsprechendes wurde von Heyns und Mitarbb.<sup>11)</sup> beobachtet.

Die Bildung von **1** aus Glucose, die weitgehend an C-3 tritiummarkiert war<sup>12)</sup>, wurde nach 50 und 100 Min. unterbrochen und etwas AUP **6** isoliert. Die eingesetzte Glucose hatte an C-3 eine T-Aktivität von  $59 \cdot 10^4$  ipm/mMol, das nach 50 Min. isolierte **6**  $69 \cdot 10^4$  ipm/mMol und das nach 100 Min. isolierte  $86 \cdot 10^4$  ipm/mMol. Das Ansteigen der Radioaktivität zeigt klar, daß das AUP keine reversible Enolisierung von C-2 nach C-3 erleidet (Übergang **6** → **7** in Schema 2) und weiterhin, daß die Enolisierung reaktionsgeschwindigkeitsbestimmend ist (Primärer Isotopeneffekt). Dies stimmt mit dem in der Abbild. dargestellten zeitlichen Verlauf der Produktbildung aus Glucose bzw. Mannose und dem AUP **6** überein. Falls man von **6** ausgeht, nimmt die Geschwindigkeit der Produktbildung ständig ab, während sie von Glucose und Mannose ausgehend nach etwa 50 Min. deutlich ansteigt, d. h. die Bildung des AUP **6** ist rascher als die **6** verbrauchende Folgereaktion.

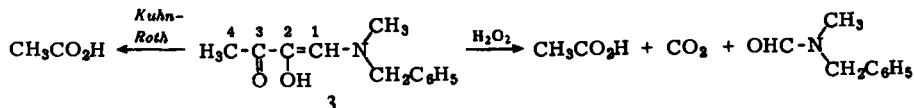
Während die Enolisierung des AUP **6** von C-2 nach C-3 irreversibel ist, ist die nach C-1 im Vergleich zur Reduktonbildung rasch und reversibel. Dies wurde auf folgende Weise gezeigt: Das AUP 1-Desoxy-1-piperidino-D-fructose (**6**) wurde unter den Bildungsbedingungen von **1** in Äthanol, dessen Hydroxylgruppe T-markiert war, erhitzt. Nach 30 und 60 Min. wurde nicht umgesetztes AUP isoliert und nach „Auswaschen“

<sup>11)</sup> K. Heyns, H. Paulsen und H. Schroeder, Tetrahedron [London] **13**, 247 (1961).

<sup>12)</sup> H. Simon, H. D. Dorrer und K. H. Ebert, Z. Naturforsch. **18b**, 360 (1963).

der Hydroxylgruppen auf den T-Gehalt analysiert. Das AUP hatte bereits nach 30 Min. das 1.4-fache der molaren T-Aktivität des Äthanols und nahm nicht mehr weiter zu.

Zur Frage der Bildung des offenkettigen Reduktions 3 wurde dieses aus [1-<sup>14</sup>C]-Glucose und [6-<sup>14</sup>C]Glucose hergestellt.



Zur Ermittlung der <sup>14</sup>C-Verteilung oxydierte man 3 nach Kuhn-Roth. Durch Oxydation mit Wasserstoffperoxyd entstand neben Essigsäure fast ein Mol Kohlendioxyd und ein Mol *N*-Benzyl-methylformamid (Tab. 1).

Tab. 1. Radioaktivitätsverteilung in 3 nach Darstellung aus [1-<sup>14</sup>C]Glucose und [6-<sup>14</sup>C]Glucose

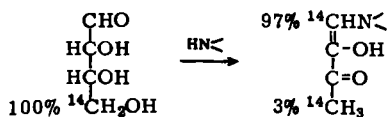
Darstellung von 3 aus	% der molaren Radioaktivität vom Ausgangszucker	Prozentuale Verteilung der Radioaktivität			
		H <sub>3</sub> C—	CO—	C(OH)=	CH—N<
[1- <sup>14</sup> C]Glucose 567 ipm/μMol	0.53	—	—	—	—
[6- <sup>14</sup> C]Glucose 200 ipm/μMol	105	79	—	0	21 <sup>a)</sup>
[6- <sup>14</sup> C]Glucose 187.5 ipm/μMol	98	81	—	0	19 <sup>a)</sup>

a) Aus der Differenz zu 100% bestimmt.

Wie man sieht, ist C-1 der Glucose nur zu einem unwesentlichen Teil, C-6 dagegen zu 100% in 3 enthalten. Daraus kann man schließen, daß auch C-2 der Glucose nicht zur Bildung von 3 beiträgt. Das C-6 der Glucose bildet zu 80% C-4 und zu 20% C-1 von 3.

Demnach könnte man annehmen, daß die Hexose zunächst durch eine Dealdolierung in Erythrose umgewandelt wird, die dann mit *N*-Methyl-benzylamin zu 3 reagiert. Tatsächlich gewannen wir beim Einwirken von *N*-Methyl-benzylamin auf D-Erythrose 3 in 42-proz. Ausbeute. 3 kann man bereits 1–2 Min. nach dem Zusammenbringen der Komponenten nachweisen, d. h. daß die zu 3 führenden Umlagerungsreaktionen wesentlich rascher erfolgen als in der Hexosereihe. Dies dürfte auf die in geringerem Umfang vorhandene Stabilisierung durch intramolekulare Halbacetalbildung zurückzuführen sein.

Nach diesem Ergebnis prüften wir, ob bei der Darstellung von 3 aus [4-<sup>14</sup>C]Erythrose auch die aus [6-<sup>14</sup>C]Glucose gefundene intramolekulare Isotopen-Verteilung auftritt. Wir stellten durch Bleitetraacetatspaltung<sup>13)</sup> aus [6-<sup>14</sup>C]Glucose [4-<sup>14</sup>C]Erythrose her und setzten diese mit *N*-Methyl-benzylamin zu 3 um. Das Abbauergebnis war zu-



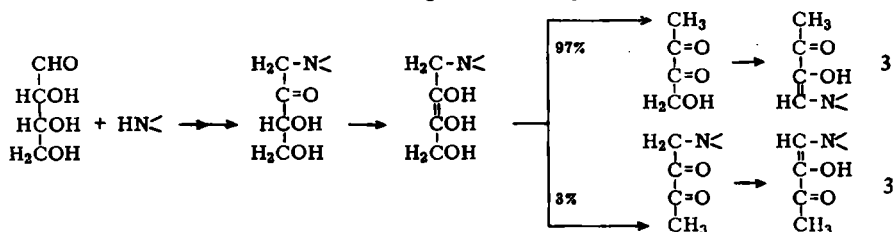
<sup>13)</sup> A. S. Perlin und C. Brice, Canad. J. Chem. 33, 1216 (1955).

nächst sehr überraschend. Die Methylgruppe zeigt nur 3% der Radioaktivität und C-1 97%.

Eine Wiederholung ergab genau das gleiche Ergebnis.

Wir erklären das Zustandekommen dieser  $^{14}\text{C}$ -Verteilung, wie in Schema 1 dargestellt:

Schema 1. Bildung von 3 aus Erythrose



Dieses Versuchsergebnis besagt, daß 3 von Hexosen offensichtlich nicht aus intermediär entstehender freier Tetrose gebildet wird. Die gefundene  $^{14}\text{C}$ -Verteilung in 3 aus  $[4\text{-}^{14}\text{C}]$ Erythrose ist jedoch unseres Erachtens auch in anderer Hinsicht von Interesse. Sie zeigt, daß bei der intramolekularen Konkurrenzreaktion ein allylständiges Amin wesentlich schneller eliminiert wird als eine in Allylstellung stehende OH-Gruppe.

Bei den vorstehend beschriebenen Umwandlungen der Zucker ist die Bildung von Methylgruppen charakteristisch. Mit Hilfe von  $[1\text{-}^{14}\text{C}]$ Glucose,  $[6\text{-}^{14}\text{C}]$ Glucose,  $[1\text{-}^{14}\text{C}]$ Ribose und  $[4\text{-}^{14}\text{C}]$ Erythrose wurde dieser Prozeß verfolgt. In Tab. 2 ist der Prozentsatz angegeben, zu dem C-1 und C-6 von Glucose unter Reduktonbildungsbedingungen in verschiedene  $\text{CH}_3$ -haltige Verbindungen übergehen.

Tab. 2. Umwandlung von C-1 und C-6 von Glucose in Methylgruppen unter Reduktonbildungsbedingungen

in Form von	Methylgruppen aus 1 Mol Glucose aus C-1	Methylgruppen aus 1 Mol Glucose aus C-6
alicycl. Redukton (1)	7%	15%
Essigsäure	17%	5%
andere $\text{CH}_3$ -haltige Verbindungen	29%	14%
Summe	53%	34%

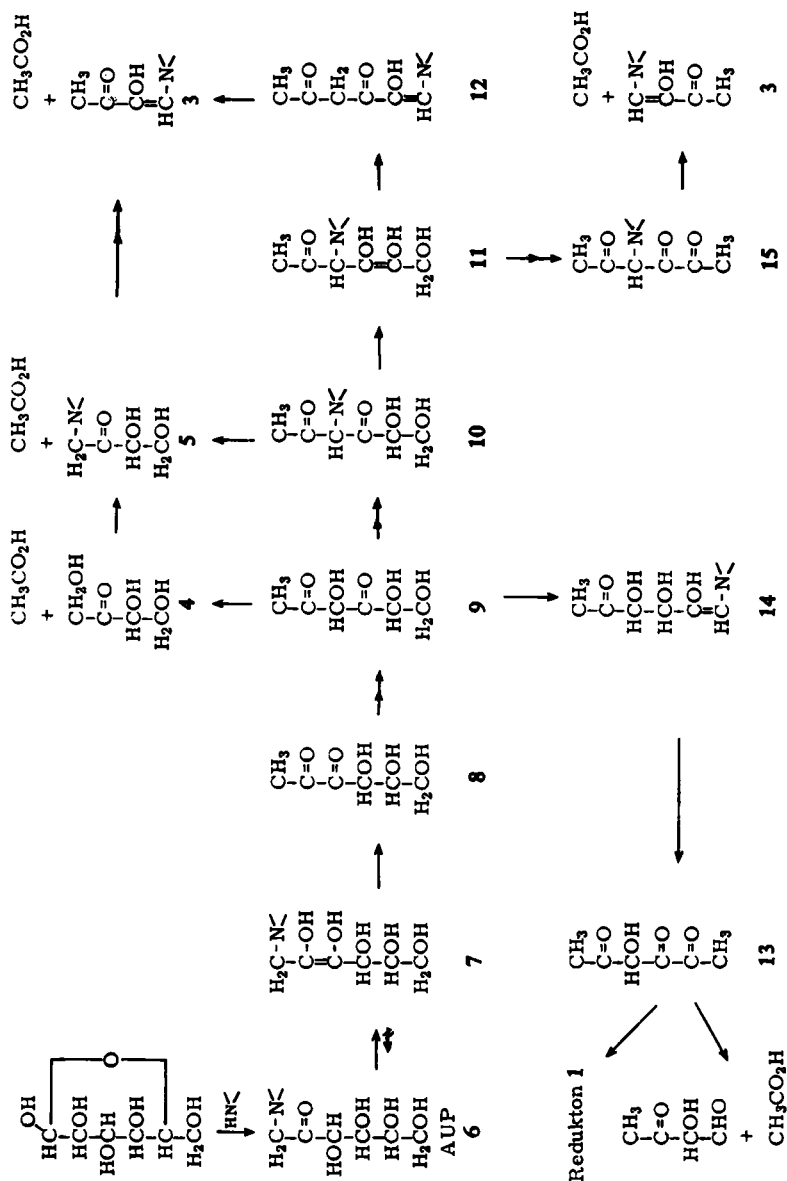
Während bei der Glucose unter Reduktonbildungsbedingungen aus 53% aller C-1-Atome eine  $\text{CH}_3$ -Gruppe wird, sind es bei der Ribose bereits 70%. Bei der Erythrose sind es vermutlich noch mehr, da bereits 41% von C-1 zur Methylgruppe in 3 werden. Unter den nicht identifizierten  $\text{CH}_3$ -haltigen Verbindungen befanden sich keine Milchsäure und Brenztraubensäure.

Die Zuckerumwandlungen und die Rolle, die das Amin bei den hier besprochenen Umwandlungen spielt, kann man wie in Schema 2 zusammenfassen.

Die durch das Amin bewirkte Amadori-Umlagerung ist die Voraussetzung für die wahrscheinlich ebenfalls durch das Amin katalysierte irreversible Enolisierung zwi-

schen C-2 und C-3 des Zuckers (7 in Schema 2). Dies ist der eigentlich entscheidende Schritt. Das in Allylstellung befindliche Amin wird leicht abgespalten (vgl. Bildungsmechanismus von 3 aus [4-<sup>14</sup>C]Erythrose) und aus der zunächst entstehenden  $\alpha$ -Dicarbonylverbindung 8 kann die  $\beta$ -Dicarbonylverbindung 9 gebildet werden, die in Essigsäure und eine C-4-Ketose 4 zerfallen kann oder durch mehrere Schritte über 14 und

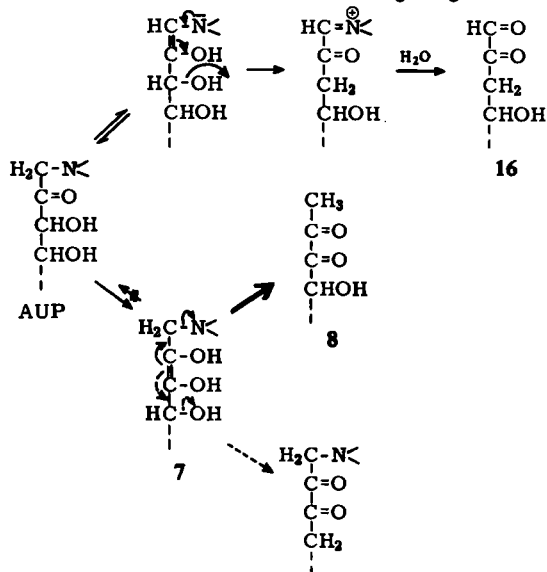
Schema 2. Bildung von 1, 3 und Essigsäure aus Hexosen und Aminacetat



Diacetylformoin (13) in 1 übergeht. 13 kann außerdem auch zerfallen, wodurch u. a. aus C-6 der Hexose Essigsäure wird. Bei diesen Umwandlungen dürfte das Amin sowohl die Enolisierungen wie die Spaltungen der Dicarbonylverbindungen katalysieren. Durch Reaktion desamins mit einer enolischen OH-Gruppe kann 10 gebildet werden, das über 5 bzw. über 11 und 12 zu 3 werden kann, das den Aminrest an C-6 der Hexose trägt. Der Weg 10  $\rightarrow$  11  $\rightarrow$  15 dagegen kann zu dem 3 führen, das das Amin an C-3 der ursprünglichen Hexose gebunden hat (Hauptbildungsweg für 3).

Wie Hodge et al.<sup>5,14)</sup> festgestellt haben, bilden sich aus Lactose oder Maltose unter den Reduktonbildungsbedingungen Maltol bzw. Isomaltol. In diesen Fällen ist der Übergang 8  $\rightarrow$  9 nicht möglich, da der Wasserstoff der Hydroxylgruppe an C-4 durch einen Glucosyl- bzw. Galaktosylrest ersetzt ist. Daher cyclisiert 8 zu [3-Hydroxyfuryl-(2)]-methyl-keton (Isomaltol) bzw. zu 3-Hydroxy-2-methyl-4H-pyranon-(4) (Maltol)<sup>5,14)</sup>.

Schema 3. Reaktionen des Amadori-Umlagerungs-Produktes



Hauptsächlich durch die Arbeiten von Anet<sup>15)</sup> wurde gezeigt, daß für die bei der Einwirkung von Aminosäuren auf Zucker gebildeten Produkte (z. B. substituierte Furane) das 3-Desoxy-hexoson 16 als Zwischenprodukt auftritt. Dieses wurde auch beim Erhitzen von AUP wie 1-Desoxy-1-toluidino-D-fructose und 1-Desoxy-1-morpholino-D-fructose in verdünnter wäßriger Essigsäure nachgewiesen<sup>15b)</sup>. Damit ergeben sich für die Reaktion zwischen Zuckern und Aminen zwei unterschiedliche Wege, die vom AUP ausgehen. Dies wird in Schema 3 wiedergegeben: Das AUP kann nach C-1 und nach C-3 eine Enolisierung erleiden. Die Enolisierung nach C-1 ist rasch und reversibel, die Abspaltung einer OH-Gruppe in Allylstellung führt zum 3-Desoxy-

<sup>14)</sup> B. E. Fisher und J. E. Hodge, J. org. Chemistry 29, 776 (1964).

<sup>15)</sup> E. F. L. J. Anet, Austral. J. Chem. a) 12, 280 (1959); b) 13, 396 (1960); c) 14, 295 (1961); d) 15, 503 (1962).

hexoson, das zu Furanderivaten weiterreagiert. Die Enolisierung nach C-3 ist irreversibel und führt, stark bevorzugt durch Eliminierung des Amins, zu einem 1-Desoxyhexoson, das sich dann, wie in Schema 2 gezeigt, weiter umsetzt.

Wir bedanken uns hiermit bei der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* und dem *Fonds der Chemischen Industrie* für großzügige Unterstützung sowie bei Herrn Prof. Dr. F. Weygand für sein großes Interesse und seine Förderung. Fräulein H. Pflaumer und Fräulein F. Bacher danken wir für sorgfältige Analysen bzw. geschickte Mitarbeit.

### BESCHREIBUNG DER VERSUCHE<sup>16)</sup>

1. *Darstellung von 2 und 3 aus [6-<sup>14</sup>C]Glucose:* (Entsprechend erfolgte die Darstellung von 2 und 3 aus [1-<sup>14</sup>C]Glucose.) In einem Dreihalskolben mit Stickstoffeinleitungsrohr, Rückflußkühler und KPG-Rührer wurden 27.00 g (150 mMol) wasserfreie [6-<sup>14</sup>C]Glucose (spez. Radioaktivität  $1.87 \cdot 10^5$  ipm/mMol), 18.15 g *N*-Methyl-benzylamin und 23 ccm Triäthylamin unter ständigem Durchleiten von gereinigtem Stickstoff 15 Min. gerührt<sup>14)</sup>, sodann mit 8.6 ccm Eisessig versetzt und anschließend im Thermostaten 70 Stdn. auf 75° erhitzt. Nach Abkühlen wurde mit 25 ccm Aceton versetzt, das *cyclische Redukton* (2) abgesaugt und mit Aceton gewaschen. Ausb. 12.18 g (32.2%), Schmp. (aus Äthanol) 213–215°. Spez. Akt.  $1.84 \cdot 10^5$  ipm/mMol (98 % der Ausgangsaktivität der Glucose).

Aus der Mutterlauge von 2 kristallisierten nach einwöchigem Stehenlassen 1.3 g 3 (4.2%), Schmp. (aus Benzol/Petroläther) 110–111°. Spez. Akt.  $1.84 \cdot 10^5$  ipm/mMol.

2. *Abbau von 2 und 3 durch Kuhn-Roth-Oxydation bzw. durch Wasserstoffperoxyd:* 150 mg *Redukton* wurden in 80 ccm Oxydationslösung 1.5 Stdn. unter Rückfluß erhitzt und in einer Apparatur nach Wiesenberger<sup>17)</sup> die Essigsäure, die durch die vorhandene Benzylgruppe etwas Benzoessäure enthielt, abdestilliert. Nach Titration des Destillats mit  $n/10$  NaOH wurde dieses i. Vak. auf ca. 30 ccm eingengt, zur Entfernung der Benzoessäure mit 1 ccm konz. Schwefelsäure versetzt und mit 10 ccm Äther ausgeschüttelt. Die wäßr. Phase destillierte man erneut, bestimmte dann durch Titration des Destillats die Menge der Essigsäure und verdünnte mit nichtmarkiertem Natriumacetat (p. a.) genau. Nach Versetzen der konzentrierten Lösung mit Silbernitrat wurde vom ausgeschiedenen Silberacetat abgesaugt und dieses nach Umkristallisieren aus Wasser auf seinen <sup>14</sup>C-Gehalt analysiert.

Die Oxydation von 2 mit *Wasserstoffperoxyd* zu *Citramalsäure* und *Kohlendioxyd* erfolgte analog dem Abbau von 1 (Vgl. hierzu I. c.<sup>4)</sup>).

Zur Peroxydooxydation von 3 wurden 205 mg (1.0 mMol) 3 aus [6-<sup>14</sup>C]Glucose in einem Zweihalskolben in 60 ccm Wasser/Äthanol (2:1) gelöst. Nach Ausspülen mit gereinigtem Stickstoff wurden 2 ccm 30-proz. *Wasserstoffperoxyd*-Lösung zugefügt und das gebildete *Kohlendioxyd* im Stickstoffstrom in Barytlauge aufgefangen. Ausb. 171 mg Bariumcarbonat (86%). Keine nachweisbare Radioaktivität. *N*-Benzyl-methylformamid wies man gaschromatographisch nach (Säulentemp. 130°, Trägergas Wasserstoff, Polyäthylenglykol auf Sterchamol).

3. *Darstellung von 1 aus Diacetylformoin:* 1.32 g (9.6 mMol) *Diacetylformoin*<sup>10)</sup> wurden in 10 ccm Äthanol unter Stickstoff mit 2.55 g (30 mMol) *Piperidin* sowie 300 mg (5.0 mMol) Eisessig versetzt. Anschließend wurde die mit einem Quecksilberventil verschlossene Lösung 5 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Nach Entfernen des Äthanol und Aufnehmen des Rückstan-

<sup>16)</sup> Alle Radioaktivitätsanalysen wurden in der Gasphase durchgeführt. H. Simon, H. Daniel und J. F. Klebe, *Angew. Chem.* **71**, 303 (1959); ausführliche Beschreibung: H. Simon und F. Berthold, *Atomwirtschaft* **7**, 498 (1962).

<sup>17)</sup> E. Wiesenberger, *Mikrochem. verein. Mikrochim. Acta* **33**, 51 (1948).

des in 20 ccm Aceton fielen Kristalle an (85 mg), die in Schmp., Misch-Schmp. sowie IR-Spektrum mit 1 übereinstimmten. Die Gesamtausb. von 10% wurde durch Isotopenverdünnungsanalyse bestimmt.

4. *Beispiel für die Bestimmung der Zeit-Umsatz-Kurven der Bildung von 1 aus verschiedenen Zuckern bzw. Derivaten:* Je 60 mMol nichtmarkierte *D-Glucose*, *Piperidin* und *Essigsäure* wurden in 20 ccm Äthanol im Thermostaten (100°) unter N<sub>2</sub> erhitzt. Nach 45, 90, 150 und 240 Min. wurde je 1/5 (7.9 g) des Reaktionsansatzes entnommen und nach 900 Min. 7.0 g. Die aliquoten Teile wurden zur Verdünnungsanalyse mit <sup>14</sup>C-markiertem 1 versetzt.

5. *Darstellung von 3 aus [4-<sup>14</sup>C]Erythrose:* 2.35 g (19.6 mMol) [4-<sup>14</sup>C]*D-Erythrose* wurden mit 25 ccm Triäthylamin, 2.37 g (19.6 mMol) *N-Methyl-benzylamin* und 1.18 g (19.6 mMol) *Eisessig* versetzt. Nach Füllen mit Stickstoff und Aufsetzen eines Rückflußkühlers mit Quecksilberventil wurde 70 Stdn. im Thermostaten auf 75° erwärmt. Nach Abkühlen fielen Kristalle aus, die sich nach Sublimation anhand des IR-Spektrums als identisch mit 3 erwiesen. Ausb. 1.7 g (42.2%, bestimmt durch Verdünnungsanalyse der Mutterlauge).

6. *Bestimmung der insgesamt aus C-1 und C-6 von Glucose sowie aus C-1 der Ribose gebildeten Methylgruppen in Äthanol und Piperidinacetat:* Analog 4. setzte man 100 mMol der entsprechend markierten Zucker um. Das ausgefallene cyclische Redukton 1 wurde isoliert und die in der Mutterlauge verbliebene Menge in einem aliquoten Teil durch Verdünnungsanalyse bestimmt.

Zur Ermittlung der aus dem markierten C-Atom des Zuckers entstandenen *Essigsäure-Menge* wurde 1/5 der Mutterlauge mit Kalilauge schwach alkalisch gemacht, der Alkohol i. Vak. weitgehend abgezogen und 2mal mit je 50 ccm Benzol nachdestilliert. Der verbleibende Sirup wurde mit 50 ccm Wasser und 4 ccm konz. Schwefelsäure versetzt und die Essigsäure abdestilliert. Unter Berücksichtigung der zur Reduktonbildung angewandten Essigsäure errechnete man aufgrund der Radioaktivität des Silberacetats den Anteil Essigsäure, der aus C-1 entstand.

Zur Bestimmung der C-Methylgruppen wurde mit einem anderen aliquoten Teil entsprechend verfahren. Man destillierte jedoch 4mal mit Benzol ab und erhitze den Rückstand mit Chromschwefelsäure 90 Min. unter Rückfluß.

7. *Isolierung von 1-Desoxy-1-piperidino-D-fructose aus [3-T]Glucose nach partiellem Umsatz zu 1:* 10.81 g (60 mMol) wasserfreie *Glucose*, die an C-3 eine T-Aktivität von  $59.4 \cdot 10^4$  ipm/mMol aufwies, wurden unter Stickstoff mit 25 ccm Äthanol, 3.43 ccm (60 mMol) *Eisessig* und 5.94 ccm (60 mMol) *Piperidin* versetzt. Anschließend wurde unter Rückfluß, verschlossen mit einem Quecksilberventil, erhitzt. Nach 50 Min. entnahm man die erste Hälfte der Reaktionslösung, nach 100 Min. die zweite Hälfte, engte i. Vak. bei Raumtemperatur weitgehend ein, versetzte mit Aceton und kristallisierte das AUP zweimal aus Äthanol/Aceton um.

Radioaktivitätsanalyse des AUP: 50 Min.  $69.0 \cdot 10^4$  ipm/mMol, 100 Min.  $86.0 \cdot 10^4$  ipm/mMol.

8. *Wasserstoffaustausch der 1-Desoxy-1-piperidino-D-fructose (AUP) an C-1 unter Bildungsbedingungen von 1:* 17.4 mMol (4.3 g) AUP wurden in 30 ccm C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OT ( $85.1 \cdot 10^4$  ipm/mMol) unter Stickstoff gelöst und mit 17.4 mMol (1.05 g) *Eisessig* versetzt. Anschließend wurde wie unter 7. verfahren und nach 30 bzw. 60 Min. AUP isoliert und zur Entfernung von Tritium an OH-Gruppen zweimal mit 60 ccm Methanol versetzt und dieses abdestilliert. Nach Umkristallisieren aus Äthanol/Aceton ergaben sich im AUP nach 30 Min. und 60 Min.  $114 \cdot 10^4$  ipm/mMol.

[173/65]