

Die Aldosylamin- und Ketosylamin-Umlagerung schwach basischer *N*-Glycoside¹⁾

Kurt Heyns* und Wolfgang Beilfuß

Institut für Organische Chemie und Biochemie der Universität Hamburg,
D-2000 Hamburg 13, Papendamm 6

Eingegangen am 19. April 1973

Folgende *N*-Glycoside der schwach basischen Amine konnten erstmals dargestellt werden: kristallines **3a** sowie in sehr geringer Menge ein Isomeres desselben, vermutlich das β -D-Furanosylamin; α -**1e**, β -**1e** sowie die entsprechenden Tetraacetate. Die Bildung von **1f** direkt aus den Komponenten konnte wahrscheinlich gemacht werden. Die α -Hydroxycarbonyl-Umlagerung der schwach basischen *N*-Glycoside konnte erfolgreich durchgeführt werden mit **1a**, **3a**, **1b** und **1d**. Während die Ketosylamin-Umlagerung von **3a** ein nichttrennbares Gemisch dreier Umlagerungsprodukte (**2a**, **4a**, **5a**) lieferte, erhielt man bei der Aldosylamin-Umlagerung von **1a**, **1b** und **1d** jeweils nur ein Produkt: kristallines **2a**, kristallines **2b** und sirupöses **2d**. Eine Umlagerung von **1e** und **1f** gelang bisher noch nicht. Aus den NMR-Spektren der anomeren **1e**-Derivate läßt sich die Zuordnung treffen, die Konformation des Pyranoseringes bestimmen (4C_1) und eine Aussage über die bevorzugte Konformation des Aglycons im α -**1e** machen, die in Übereinstimmung mit Vorstellungen über den *exo*-anomeren Effekt steht. In den anomeren **1b**- und **1e**-Verbindungen wurde ein starker Einfluß auf die chemische Verschiebung des zur Aminofunktion *ortho*-ständigen aromatischen Protons in Abhängigkeit von der Stellung des Aglycons am anomeren Zentrum gefunden.

Aldosylamine and Ketosylamine Rearrangement of Weakly Basic *N*-Glycosides

The following glycosylamines of weakly basic amines have been prepared for the first time: crystalline **3a** and in small quantity an isomer, probably the β -D-furanosylamine, α -**1e**, β -**1e** and the corresponding tetraacetates. Formation of **1f**, directly from the components has been substantiated. α -Hydroxycarbonyl rearrangement of the weakly basic glycosylamines has been verified with **1a**, **3a**, **1b** and **1d**. While the ketosylamine rearrangement of **3a** gives an inseparable mixture of **4a**, **5a** and **2a**, the aldosylamine rearrangement of **1a**, **1b**, and **1d** in each case gives only one product: crystalline **2a**, crystalline **2b**, and **2d** as a sirup. Rearrangement of **1e** and **1f** failed so far. From the n.m.r. spectra of the anomeric **1e**-derivatives there can be made an assignment, as well as a determination of the pyranose conformation (4C_1) and that of the aglycon of α -**1e**, which is in accord with the concept of the *exo*-anomeric effect. In the anomers of **1b** and **1e** there was found a pronounced influence on the chemical shift of the aromatic proton in *ortho* position to the amino N depending on the position of the aglycon at the anomeric center.

In der vorhergehenden Mitteilung¹⁾ wurde gezeigt, daß kein prinzipieller Unterschied zwischen der Ketosylamin- und der Aldosylamin-Umlagerung bezüglich der Aminkomponente besteht. Als Aminkomponente kann ein breites Spektrum von

¹⁾ K. Heyns und W. Beilfuß, Chem. Ber. 106, 2680 (1973), vorstehend.

Verbindungen eingesetzt werden^{2,3)}; z.B. Ammoniak, primäre und sekundäre aliphatische und aromatische Amine, alicyclische Amine, Aminosäuren, Amino-sulfonsäuren⁴⁾, Peptide, Proteine, Aminozucker⁵⁾, Polyvinylamin⁶⁾, Hydrazinderivate⁷⁾. Betrachtet man die Vielzahl der Aminverbindungen unter dem Gesichtspunkt: Umlagerung in Abhängigkeit von der Basizität des Amins (Tab. 1), so findet man, daß ausgehend von den stark basischen Aminen ($pK_A \approx +11$) bis zu Aminen mit einem pK_A -Wert von etwa +2 Umlagerungsprodukte isoliert bzw. nachgewiesen werden konnten. D.h. alle bisher noch nicht umgelagerten Amine^{*)} mit einem pK_A -Wert $> +2$ sollten nach Überwindung etwaiger experimenteller Schwierigkeiten umgelagert werden können.

Tab. 1. pK_A -Werte einiger Amine und ihre Beziehung zur α -Hydroxycarbonyl-Umlagerung;
+ positiv, -- negativ, + ? fraglich, 0 keine Literaturangaben

Verbindung	pK_A -Wert ⁸⁾	Umlagerungsprodukt ^{2,3)} isoliert	nachgewiesen
Pyrrolidin	11.27	+	
Äthylamin	10.63	+	
α -Alanin	9.97	+	
Ammoniak	9.25	+	
Morpholin	8.70	+	
Glycinester	7.7	+	
<i>p</i> -Aminophenol	5.50	+	
Anilin	4.58	+	
<i>p</i> -Chloranilin	3.98		+ 11, 12)
<i>m</i> -Nitranilin	2.50		+ 12, 13)
<i>p</i> -Aminobenzoësäure	2.41		+ 12, 13)
Anthränsäure	2.11	+ 14)	
<i>p</i> -Nitranilin	1.02		+ ? 13)
Diphenylamin	0.9		+ ? 12)
Harnstoff	0.18		-- 12)
<i>o</i> -Nitranilin	-0.29		+ ? 13)
Acetamid	-0.51		-- 15)
Indol	-- 2.49)		0
2,4-Dinitroanilin	-- 4.33 ¹⁰⁾		0

*) Eine Umlagerung tertärer Amine ist nach den bisherigen mechanistischen Vorstellungen über die Heyns- und Amadori-Umlagerung nicht möglich.

2) H. Paulsen und K.-W. Pflugkaupt in: W. Pigman und D. Horton (Herausgeber), The Carbohydrates, Bd. 1B, Kapitel 20, Academic Press, New York, im Druck.

3) L. M. J. Verstraeten, Advan. Carbohyd. Chem. **22**, 229 (1967).

4) K. Heyns, H. Behre und H. Paulsen, Carbohyd. Res. **5**, 225 (1967).

5) F. Micheel, K. H. Heinemann, K. H. Schwieger und A. Frowein, Tetrahedron Lett. **1965**, 3769.

6) F. Micheel und R. Büning, Chem. Ber. **90**, 1606 (1957).

7) H. Simon und A. Kraus, Fortschr. Chem. Forsch. **14**, 430 (1970).

8) A. Albert und E. P. Serjeant, Ionization Constants of Acids and Bases, Methuen & Co. Ltd., London 1962.

9) A. R. Katritzky, Physical Methods in Heterocyclic Chemistry, Bd. 1, Academic Press, New York 1963.

10) J. O. Schreck, C. K. Hancock und R. Hedges, J. Org. Chem. **30**, 3504 (1965).

11) L. Rosen, J. W. Woods und W. Pigman, Chem. Ber. **90**, 1038 (1957).

12) K. Heyns und W. Baltes, Chem. Ber. **93**, 1616 (1960).

13) F. Micheel und B. Schleppinghoff, Chem. Ber. **89**, 1702 (1956).

14) F. Lingens und E. Schraven, Liebigs Ann. Chem. **655**, 167 (1962).

15) E. Mitts und R. Hixon, J. Amer. Chem. Soc. **66**, 483 (1944).

Aminoverbindungen mit pK_A -Werten $< +2$ ließen sich bisher nicht umlagern, dazu gehören insbesondere die schwach basischen aromatischen Amine, die Amide und die Nucleosidbasen. Von verschiedenen Autoren wurde auf die Beziehung zwischen Basizität und Umlagerungstendenz des aromatischen Amins hingewiesen, wonach die Umlagerungstendenz mit der Basizität abnimmt^{11–13, 16, 17)}. Es wird allgemein angenommen, daß die Umlagerung säure- und basenkatalysiert verläuft, wobei als erster Schritt eine säurekatalysierte Ringöffnung des *N*-Glycosids und anschließend eine basenkatalysierte Protonabspaltung vom benachbarten C-Atom und Bildung einer Enaminol-Zwischenstufe stattfindet, die sich dann zum umgelagerten Produkt stabilisiert. Während bei den stärker basischen *N*-Glycosiden ein breites Spektrum von Reaktionsbedingungen zur Umlagerung führt, dürfte das Problem bei den schwach basischen *N*-Glycosiden darin bestehen, den engen Bereich von Reaktionsbedingungen zu finden, in dem beide katalytischen Effekte gemeinsam wirksam werden. Die α -Hydroxycarbonyl-Umlagerung der schwach basischen *N*-Glycoside beansprucht nicht nur Interesse wegen möglicher Folgerungen für den Umlagerungsmechanismus. Von den *N*-*o*-Nitranilin-Glycosiden ausgehend erschließen sich z.B. interessante Wege zu wichtigen Naturstoffen. Von großem Interesse ist außerdem die Frage, ob sich Nucleoside wie *N*-Glycoside verhalten oder nicht. Bezüglich der Bildung und Hydrolyse dieser beiden Verbindungsklassen ist diese Frage umstritten. Eine mögliche Umlagerung der Nucleoside oder von Verbindungen, die in ihrem Verhalten zwischen Nucleosiden und *N*-Glycosiden stehen, wie z.B. die *N*-Indolglycosylamine, könnte — abgesehen von der großen biochemischen Bedeutung dieser Tatsache — dieses Problem helfen.

Es hat bislang nicht an Versuchen gefehlt, auch die *N*-Glycoside schwach basischer Amine umzulagern. Bei einer kritischen Durchsicht des Materials muß man jedoch prüfen, ob die Umlagerung eindeutig nachgewiesen ist (z.B. durch Isolierung und Charakterisierung des Umlagerungsproduktes) oder ob sie durch (unspezifische) Nachweisreaktionen nur wahrscheinlich gemacht worden ist. Im letzteren Fall darf man z.B. aus einem positiven Test mit alkalischer *o*-Dinitrobenzollösung nicht ohne weiteres den Schluß ziehen, daß eine Amadori-Umlagerung stattgefunden hat, denn wie später zu zeigen sein wird, können sich aus den *N*-Glycosiden unter Umlagerungsbedingungen stark reduzierende Substanzen bilden, obwohl mit anderen Methoden eindeutig kein Umlagerungsprodukt nachweisbar ist. Das kann bedeuten, daß sich das Umlagerungsprodukt quantitativ zersetzt hat unter Bildung stark reduzierender Substanzen; es ist aber auch möglich, daß sich die stark reduzierenden Substanzen auf anderen Abbauwegen gebildet haben. Dieser Befund ist insofern von Bedeutung, als damit 1. die Möglichkeit eines einfachen und schnellen Nachweises der Amadori-Umlagerung stark eingeschränkt wird und 2. die quantitative Bestimmung des Amadori-Produktes^{11, 17, 18, 19)} direkt aus dem Reaktionsansatz nur nach Bestimmung des reduzierenden Anteils, der nicht vom Amadori-Produkt herrührt, möglich ist.

¹⁶⁾ B. N. Stepanenko, N. I. Kaletina und V. V. Zelenkova, Dokl. Akad. Nauk SSSR **200**, 609 (1971) [C. A. **76**, 14838k (1972)].

¹⁷⁾ L. Rosen, J. W. Woods und W. Pigman, J. Amer. Chem. Soc. **80**, 4697 (1958).

¹⁸⁾ K. Heyns, T. Chiemprasert und W. Baltes, Chem. Ber. **103**, 2877 (1970).

¹⁹⁾ J. Yoshimura, M. Funabashi und H. Simon, Carbohydr. Res. **11**, 276 (1969).

Die Amadori-Umlagerung der schwach basischen *N*-Glycoside wurde bereits 1938 untersucht; damals gelang es *Kuhn* und *Birkofe²⁰⁾ nicht, *N*-(*o*-Nitrophenyl)-aldosylamine umzulagern. Auch *Weygand* et al.²¹⁾ und *Pigman* et al.¹¹⁾ konnten die *N*-(*p*-Nitrophenyl)aldosylamine nicht umlagern. *Micheel* und *Schleppinghoff¹³⁾ untersuchten die Amadori-Umlagerung der *N*-*o*-, *N*-*m*- und *N*-*p*-Nitrophenyl-D-glucosylamine. Sie schlossen bei den schwach basischen *o*- und *p*-Nitranilinderivaten aufgrund des Reduktionsvermögens auf die Bildung von wenig Amadori-Produkt und konnten die *N*-Glucoside in hoher Ausbeute zurückgewinnen. Beim *m*-Nitranilinderivat konnten sie nur wenig *N*-Glucosid zurückgewinnen, der Ansatz zeigte starkes Reduktionsvermögen. Eine Isolierung der Umlagerungsprodukte gelang den Autoren nicht.**

Im Vergleich zu D-Glucose gehen 4,6-Benzylidenglucose und Glucuronsäure leichter eine Umlagerung ein. Während es *Micheel* und *Frowein²²⁾ nicht gelang, 4,6-Benzylidenglucose mit *m*-Nitranilin umzulagern, konnten *Heyns* und *Baltes¹²⁾ dünnenschichtchromatographisch das Umlagerungsprodukt des *m*-Nitranilins mit Kaliumglucuronat nachweisen; eine Umlagerung des *o*- und *p*-Nitranilins wurde weder mit Glucose noch mit Kaliumglucuronat festgestellt. Erst kürzlich berichtete eine russische Forschergruppe¹⁶⁾, daß ihnen die Amadori-Umlagerung der *N*-Glycoside des *o*-, *m*- und *p*-Nitranilins nicht gelungen sei.**

Im folgenden soll nun über die Ergebnisse berichtet werden, die bei der α -Hydroxycarbonyl-Umlagerung einiger schwach basischer Amine erhalten wurden. Es wurde die Amadori-Umlagerung bevorzugt, weil

1. die Aldosylamine leichter zugänglich sind als die entsprechenden Ketosylamine und weil
2. bei der Amadori-Umlagerung nur ein Aminozucker zu erwarten ist, während bei der Heyns-Umlagerung bis zu drei Umlagerungsprodukte zu trennen und zu charakterisieren sind.

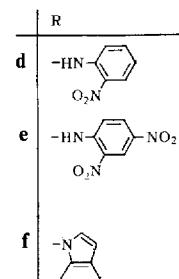
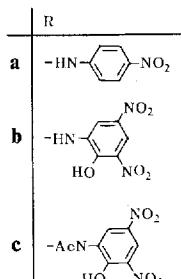
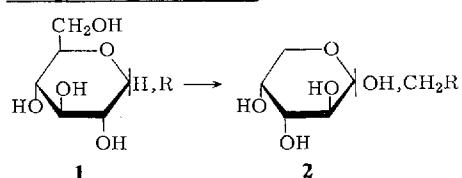
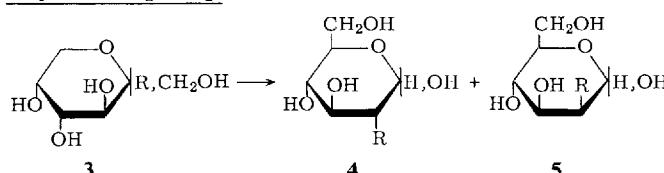
Umlagerung von *N*-(*p*-Nitrophenyl)-D-glucosylamin (1a)

1a ist in 96 proz. Ausbeute aus den Komponenten darstellbar²¹⁾. Die schwach basischen *N*-Glycoside sind relativ stabil, und unter Umlagerungsbedingungen beobachtet man im Gegensatz zu den stärker basischen *N*-Glycosiden kaum Bräunung. Nach einigen Vorversuchen konnte durch Erhitzen von **1a** in Dioxan/Eisessig ein säurestabiles, gelbes und silbernitrat-positives Reaktionsprodukt nachgewiesen werden. Dünnenschichtchromatographisch unterscheidet sich das Umlagerungsprodukt **2a** nur unwesentlich vom Aldosylamin. **2a** ist jedoch intensiver gelb als **1a** und besitzt ein stärkeres Reduktionsvermögen: auf der entwickelten Dünnenschichtplatte färbt sich **2a** wesentlich schneller und intensiver braun mit ammoniakalischer AgNO_3 -Lösung als **1a** und es reagiert positiv mit alkalischer *o*-Dinitrobenzollösung.

²⁰⁾ R. Kuhn und L. Birkofe, Ber. Deut. Chem. Ges. **71**, 621 (1938).

²¹⁾ F. Weygand, W. Perkow und P. Kuhner, Chem. Ber. **84**, 594 (1951).

²²⁾ F. Micheel und A. Frowein, Chem. Ber. **90**, 1599 (1957).

Amadori-UmlagerungHeyns-Umlagerung

2a ist unter verschiedenen Reaktionsbedingungen nachweisbar, es ist jedoch stets Säurekatalyse erforderlich (am geeignetsten Eisessig in wasserfreiem Medium). Der Einsatz stärkerer Säuren wie Trichlor- bzw. Trifluoressigsäure führt nicht zu einer Erhöhung der Ausbeute.

Micheel et al.²²⁾ hatten berichtet, daß die Umlagerung mit 4,6-Benzylidenglucose bessere Ergebnisse liefern soll als mit Glucose. Dieser Befund konnte bestätigt werden. Da jedoch das 4,6-Benzyliden-Umlagerungsprodukt nicht aus dem Reaktionsansatz kristallisiert und nur durch saure Hydrolyse des Ansatzes und Säulentrennung isoliert werden kann, bietet diese Methode keinen Vorteil. Die Ausbeute an Umlagerungsprodukt beträgt bis zu 30%, bezogen auf eingesetztes Aldosylamin, d.h. *N*-(*p*-Nitrophenyl)-D-glucosylamin ist keineswegs ein sehr schwer umzulagerndes *N*-Glycosid, und es muß — entgegen der Annahme von Weygand et al.²¹⁾ und Honeyman et al.²³⁾ — bei einer Reihe von Reaktionen des Aldosylamins mit der Möglichkeit einer Umlagerung gerechnet werden.

2a läßt sich nach quantitativer Hydrolyse von **1a** durch säulenchromatographische Trennung an stark saurem Ionenaustauscher isolieren (Elutionsmittel Wasser). Die ersten Eluate enthalten D-Glucose und Zersetzungsprodukte, die stark positiv mit alkalischer *o*-Dinitrobenzollösung reagieren. **2a** kristallisiert aus der wäßrigen Lösung beim Einengen. Während die kristalline Substanz praktisch unbegrenzt haltbar ist, findet in Lösung langsame Zersetzung statt. Die spezifische Drehung ($[\alpha]_D^{25} = -49.4^\circ$) spricht für ein D-Fructosaminderivat. Das NMR-Spektrum zeigt ein typisches nicht auflösbares Fructose-Spektrum, man findet das erwartete Verhältnis von 4 aromatischen : 7 nicht austauschbaren Zuckerringprotonen. Die Hydrierung mit Pd/Kohle in salzsaurer Lösung gibt D-Fructosamin, das mit Hilfe des Aminosäureanalysators nachgewiesen wurde.

Umlagerung von *N*-(*p*-Nitrophenyl)-D-fructosylamin (3a)

Um zu zeigen, daß auch die Heyns-Umlagerung schwach basischer Ketosylamine möglich ist, wurde versucht, D-Fructose mit *p*-Nitranilin umzulagern. Dazu war es

²³⁾ R. D. Guthrie und J. Honeyman, J. Chem. Soc. 1960, 1598.

zunächst erforderlich, das noch nicht beschriebene **3a** darzustellen. Honeyman et al.²³⁾ gelang die Darstellung dieses Ketosylamins und des entsprechenden L-Sorbosylamins nicht. Dünnschichtchromatographisch ließen sich in D-Fructose-p-Nitranilin-Ansätzen zwei neue, gelbe, silbernitrat-positive und hydrolysierbare Produkte nachweisen, wenn man den Ansätzen einen sauren Katalysator (H_3BO_3 , HCl) zusetzte. Nach der Methode von Knotz²⁴⁾ konnte in 3.5 proz. Ausbeute reines **3aP** isoliert werden. **3aP** kristallisiert beim Abkühlen des Ansatzes zusammen mit p-Nitranilin aus und kann von letzterem durch Digerieren mit Äther getrennt werden. Aus der Mutterlauge läßt sich durch präparative Dünnschichtchromatographie in sehr geringer Ausbeute ein isomeres Ketosylamin (**3aF**) isolieren, das nach längerer Zeit aus Äthanol kristallisiert. Es konnten bisher nur 4.7 mg **3aF** isoliert werden.

Bei **3aP** und **3aF** handelt es sich offensichtlich wie bei den entsprechenden N-Phenyl-D-fructosylamin-Isomeren¹⁾ um die β -D-Pyranose- bzw. β -D-Furanoseform. **3aP** mutarotiert in Lösung nicht. Die spezifische Drehung von **3aF** konnte nicht genau bestimmt werden, die Substanz besitzt jedoch ebenfalls einen negativen Drehwert. Die Bildung von *N*-(*p*-Nitrophenyl)-L-sorbosylamin wurde dünnschichtchromatographisch nachgewiesen.

Die Umlagerung von **3a** gelingt unter denselben Bedingungen wie bei **1a** beschrieben. Nach Aufarbeitung des Ansatzes und Isolierung der Umlagerungsprodukte über Ionenaustauscher wird ein gelber Sirup erhalten, der nicht zur Kristallisation gebracht werden kann. Erwartungsgemäß sind alle drei möglichen Umlagerungsprodukte entstanden: *N*-(*p*-Nitrophenyl)-D-glucosamin (**4a**), -D-mannosamin (**5a**) und -D-fructosamin (**2a**), letztere Verbindung durch Rück-Umlagerung der Heyns-Produkte. Obwohl sich alle drei Umlagerungsprodukte dünnschichtchromatographisch in verschiedenen Laufmitteln kaum unterscheiden, kann man ihre Anwesenheit durch katalytische Hydrierung zu den freien Aminozuckern und Nachweis auf dem Aminosäureanalysator zeigen. **2a** läßt sich wiederum durch die positive Reaktion mit alkalischer *o*-Dinitrobenzollösung nachweisen. Damit ist erneut gezeigt worden, daß kein Unterschied zwischen der Heyns- und Amadori-Umlagerung besteht und daß bei der Heyns-Umlagerung drei Umlagerungsprodukte auftreten¹⁾.

Reaktion von D-Glucose mit Pikraminsäure

Pikraminsäure (2-Amino-4,6-dinitrophenol) als Vertreter der *m*-Nitraniline gibt mit D-Glucose in ca. 90 proz. Ausbeute das *N*-Glycosid **1b**^{25, 26)}. Die Basizität der Aminogruppe der Pikraminsäure ist nicht bekannt, man kann sie jedoch grob abschätzen, wenn man die Beziehung $\text{p}K_A = 4.57 - 2.81 (\Sigma\sigma)$ von Perrin et al.²⁷⁾ zugrunde legt, worin $\Sigma\sigma$ die Summe der Substituentenkonstanten der Hammett-Beziehung bedeutet. Danach erhält man einen $\text{p}K_A$ -Wert der Aminogruppe der Pikraminsäure von +0.8 (der $\text{p}K_A$ -Wert der phenolischen OH-Gruppe beträgt 4.75)²⁸⁾; d.h. Pikraminsäure liegt in der Basizität zwischen *p*- und *o*-Nitranilin.

²⁴⁾ F. Knotz, Monatsh. Chem. **88**, 703 (1957).

²⁵⁾ B. Helferich und A. Mitrowsky, Chem. Ber. **85**, 1 (1952).

²⁶⁾ B. Helferich und D. Nachtsheim, Monatsh. Chem. **88**, 460 (1957).

²⁷⁾ D. D. Perrin und J. Clark, Quart. Rev. **18**, 295 (1964).

²⁸⁾ P. Hemmerich, C. Veeger und H. C. S. Wood, Angew. Chem. **77**, 699 (1965); Angew. Chem., Int. Ed. Engl. **4**, 671 (1965).

Bei der Untersuchung des Systems D-Glucose/Pikraminsäure wurden Ergebnisse erhalten, die nicht mit früheren Angaben von *Helperich et al.*²⁶⁾ übereinstimmen. *Helperich et al.*²⁶⁾ beschrieben 1957 die Bildung des *N*-Acetyl-*N*-pikraminsäure-D-glucosids (**1c**) direkt aus den Komponenten D-Glucose und *N*-Acetyl pikraminsäure. Eine Ausbeute wurde nicht angegeben. Bei einer Wiederholung des Versuchs unter den angegebenen Bedingungen wird ein *N*-D-Glucosid in ca. 33 proz. Ausbeute erhalten. Die Bildung des beschriebenen **1c** direkt aus den Komponenten ist recht unwahrscheinlich, wenn man die sehr geringe Basizität der Aminkomponente betrachtet. Durch folgende Versuche konnte gezeigt werden, daß es sich bei dem entstandenen Produkt in Wirklichkeit um **1b** und nicht um **1c** handelt: Erhitzt man reine *N*-Acetyl pikraminsäure in absolutem Methanol unter Zusatz von etwas NH₄Cl, so findet in beträchtlichem Maße Spaltung in Pikraminsäure statt. Dünnschichtchromatographisch lassen sich „beide“ Produkte in verschiedenen Laufmitteln nicht unterscheiden. Die Elementaranalyse stimmt überein, wobei zu berücksichtigen ist, daß **1b** mit einem mol Methanol kristallisiert. Der Schmelzpunkt von **1b** beträgt nicht wie in der Literatur angegeben 168°C, sondern 182°C. *Helperich et al.*²⁶⁾ gaben für **1c** ebenfalls 182°C an. Da es sich bei dem isolierten **1b** um ein α /β-Anomerengemisch handelt (s. u.), ist es möglich, daß der angegebene Schmelzpunkt von 168°C dem des reinen β -**1b** entspricht (die β-anomeren *N*-Aryl-D-glucosylamine schmelzen niedriger als die α-anomeren)²⁹⁾. Im NMR-Spektrum (DMSO-D₆) von *N*-Acetyl pikraminsäure findet man das Signal der Acetylprotonen bei δ = 2.10 ppm, im NMR-Spektrum von **1c** findet man keine Acetylprotonen mehr, es ist vielmehr vollkommen identisch mit dem von **1b**. **1b** ist gut löslich in Wasser (unter teilweiser Hydrolyse), Dimethylsulfoxid und Dimethylformamid; in Pyridin ist **1b** in der Kälte zwar auch löslich²⁶⁾, beim kurzen Erwärmen fällt aus der tiefdunkelroten Lösung jedoch ein ziegelroter Niederschlag aus, bei dem es sich um das Pyridin-(*N*-D-glucosylamin)-pikramat handelt.

Es wurde versucht, die *N*-Pikraminsäure-ketosylamine von D-Fructose und L-Sorbose darzustellen. Dünnschichtchromatographisch ließ sich deren Bildung in geringer Menge nachweisen, infolge der großen Hydrolysegeschwindigkeit wurde jedoch kein reines Produkt erhalten.

Die Umlagerung von **1b** wurde unter den verschiedensten Bedingungen versucht. Beim Erhitzen mit Essigsäure und Trichloressigsäure als Katalysator wurden Zersetzungprodukte erhalten, die positiv mit alkalischer *o*-Dinitrobenzollösung reagierten, es konnte jedoch kein Umlagerungsprodukt nachgewiesen werden. Erst 8 bis 10ständiges Erhitzen in Dioxan mit Trifluoressigsäure als Katalysator lieferte in geringerer Ausbeute das gewünschte Umlagerungsprodukt **2b**, welches nach quantitativer Hydrolyse von nicht umgesetztem **1b**, Ausäthern der freien Pikraminsäure und Abtrennung über einen stark sauren Ionenaustauscher (Elutionsmittel H₂O) dünnschichtchromatographisch rein erhalten werden konnte. Aus Aceton kristallisiert nach einiger Zeit **2b** aus. Die Kristallisation ist jedoch nur mit einem Teil von **2b** zu erreichen, da **2b**-Lösungen sich mit der Zeit zersetzen. **2b** ist leicht löslich in Wasser und Äthanol, löslich in Aceton, weniger in Isopropylalkohol und kaum löslich in Äther und Benzol. Für das Vorliegen eines Amadori-Produktes sprechen die Säure-

²⁹⁾ B. Capon und B. E. Connell, J. Chem. Soc. 1965, 4492.

stabilität, die positive Reaktion mit alkalischer *o*-Dinitrobenzollösung, die spezifische Drehung ($[\alpha]_D^{25} = -10^\circ$) und der Nachweis von D-Fructosamin auf dem Aminosäureanalysator nach der katalytischen Hydrierung in HCl-saurer Lösung. Das NMR-Spektrum zeigt kein anomeres Proton mehr, sondern 2 scharfe Dubletts der aromatischen Protonen und ein Multiplett von 7 Zuckerringprotonen.

Umlagerung von *N*-(*o*-Nitrophenyl)-D-glucosylamin (1d)

1d lässt sich nach der Vorschrift von Kuhn et al.³⁰⁾ bzw. Mamalis et al.³¹⁾ darstellen. Beide Verfahren erfordern säulenchromatographische Abtrennung des *N*-Glucosids. Durch eine geringfügige Variation der Aufarbeitung gelang es, **1d** ohne Säulentrennung zur Kristallisation zu bringen. Wie aus dem NMR-Spektrum hervorgeht, liegt **1d** als α / β -Anomerengemisch vor.

Setzt man das *N*-Glycosid **1d** unter Bedingungen um, die beim entsprechenden *p*-Nitranilinderivat zur Umlagerung führen, nämlich längeres Erhitzen in Dioxan/Eisessig, so findet man keine Spur eines säurestabilen Umlagerungsproduktes. Erst mit den wesentlich stärkeren Säuren Trichloressigsäure und Trifluoressigsäure als Katalysator kann man auch beim sehr schwach basischen **1d** eine Umlagerung erzielen. Die Isolierung des säurestabiles **2d** gelingt wiederum durch Ionenaustauschertrennung. **2d** konnte bisher noch nicht zur Kristallisation gebracht werden. Das Produkt reagiert positiv mit alkalischer *o*-Dinitrobenzollösung. In Lösung ist **2d** relativ zersetzblich, das erklärt die nur geringe Ausbeute von 8%. Die spezifische Drehung des reinen Produktes ist positiv ($[\alpha]_D^{25} = +68^\circ$), was für ein *N*-Aryl-D-fructosaminderivat ungewöhnlich ist. Es sind jedoch eine Reihe *N*- und *O*-(*o*-Nitroaryl)-zuckerderivate bekannt, die eine Drehwert-Anomalie zeigen³²⁾. Die katalytische Hydrierung von **2d** führt zu geringen aber deutlich nachweisbaren Mengen von D-Fructosamin, in der hydrierten Lösung liegen eine Reihe UV-positiver Substanzen vor, es überwiegt offensichtlich eine intramolekulare Reaktion zwischen der *o*-Aminogruppe des Arylkerns und der Zuckercarbonylgruppe. Das NMR-Spektrum zeigt wiederum ein typisches Ketosespektrum mit einem Protonenverhältnis von 4 aromatischen : 7 nicht austauschbaren Zuckerprotonen.

Reaktion von 2,4-Dinitroanilin mit D-Glucose

Die *N*-Glycosidbildung aus 2,4-Dinitroanilin und reduzierenden Zuckern ist bisher noch nicht beschrieben worden. Infolge der extrem geringen Basizität ist eine *N*-Glycosidbildung direkt aus den Komponenten, wenn überhaupt, nur in sehr geringer Ausbeute zu erreichen. Dünnschichtchromatographisch ließ sich nun in der Tat feststellen, daß beim Erhitzen der Komponenten in Äthanol mit HCl als Katalysator ein neuer, gelber und silbernitrat-positiver Fleck entsteht, der durch Säuren wieder hydrolysiert werden kann. Andere Methoden zur Darstellung von **1e**, z. B. durch Reaktion von 2,4-Dinitroanilin mit 4,6-Benzylidenglucose, β -Pentaacetyl-D-glucose oder α -Acetobromglucose, ergaben zwar auch Hinweise auf die Bildung

³⁰⁾ R. Kuhn und R. Stöbele, Ber. Deut. Chem. Ges. **70**, 773 (1937).

³¹⁾ P. Mamalis, V. Petrow und B. Sturgeon, J. Pharm. Pharmacol. **2**, 491 (1950).

³²⁾ S. Gubermann und D. Horton, J. Org. Chem. **32**, 294 (1967).

von **1e**-Derivaten, doch ebenfalls nur in geringer Ausbeute und mit mehr Nebenprodukten. Auch die Reaktion von D-Glucosylamin mit 1-Fluor-2,4-dinitrobenzol ergab kein besseres Ergebnis.

Obwohl die direkte Kondensation nur eine Gesamtausbeute von ca. 1% N-Glucosid ergibt, ist die Isolierung von **1e** relativ einfach, und es lassen sich gleichzeitig reines α -**1e** (10%) und β -**1e** (90%) gewinnen. Die Zuordnung der beiden Anomeren ergibt sich im wesentlichen aus den NMR-Spektren; eine Zuordnung aufgrund der spezifischen Drehung alleine dürfte nicht ausreichen, da bei Zuckerderivaten mit einer Nitrogruppe *ortho*-ständig zur Aryl-Zucker-Bindung eine Reihe Ausnahmen der Hudsonschen Isorotationsregel bekannt sind³²⁾. Die beiden Anomeren sind in Aceton und Alkohol löslich, in Wasser und Pyridin ist das α -Anomere bedeutend schwerer löslich als das β -Anomere. Entsprechend der geringen Basizität ist **1e** gegen Hydrolyse relativ stabil; durch 2 N HCl wird die Verbindung bei Raumtemperatur nur langsam hydrolysiert. Eine direkte Kondensation von 2,4-Dinitroanilin mit D-Fructose bzw. L-Sorbose konnte unter den verschiedensten Bedingungen nicht beobachtet werden.

Eine chemische Veränderung (außer Hydrolyse) von **1e** ist nur mit stark sauren Katalysatoren unter drastischen Bedingungen zu erreichen. Eine deutliche Farbveränderung des Ansatzes trat z.B. erst nach 30minütigem Erhitzen unter Rückfluß in reiner Trifluoressigsäure auf. Es ließen sich zahlreiche gelbe, teilweise auch silbernitrat-positive Reaktionsprodukte nachweisen, keines besaß jedoch die (chromatographischen) Eigenschaften des Umlagerungsproduktes **2e**, welches durch Reaktion von D-Fructosamin mit 2,4-Dinitrofluorbenzol zugänglich ist³³⁾. Es muß jedoch erwähnt werden, daß auch die **2e**-Vergleichssubstanz nicht sehr stabil ist und sich selbst bei trockenem Aufbewahren langsam zersetzt. Auch unter anderen Umlagerungsbedingungen ließ sich bisher kein Umlagerungsprodukt nachweisen.

Umlagerungsversuch von N-D-Glucosylindol (1f)

Da die bisher untersuchten schwach basischen N-Glycoside zwar von der Basizität her, nicht aber strukturell den Nucleosiden ähneln, wurde das System Indol/D-Glucose untersucht, das beiden Ansprüchen eher gerecht wird. N-Indol-glycosylamine lassen sich auf elegante Weise nach der Indolin-Indol-Methode darstellen³⁴⁾. Dazu werden die Tetraacetyl-N-indolin-glycosylamine, die man z.B. durch Reaktion von Pentaacetylglucose mit Indolin erhält, mit 2,3-Dichlor-5,6-dicyanbenzochinon zu den entsprechenden Indolderivaten oxidiert (dehydriert); die Ausbeuten betragen bis zu 90%.

Eine direkte Kondensation von Indol mit Kohlenhydratderivaten analog den gängigen Nucleosidsynthesen gelingt nicht³⁵⁾. Es konnte in der vorliegenden Arbeit jedoch gezeigt werden, daß die direkte Kondensation von D-Glucose mit Indol unter HCl-Katalyse zu einem Produkt führt, das sich dünnenschichtchromatographisch

³³⁾ G. Henseke und R. Jacobi, Liebigs Ann. Chem. **684**, 146 (1965).

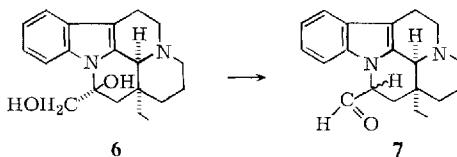
³⁴⁾ N. N. Suvorov und M. N. Preobrazhenskaya, Zh. Obshch. Khim. **30**, 2434 (1960) [C. A. **55**, 3838g (1961)]; **31**, 2839 (1961) [C. A. **56**, 14386c (1962)].

³⁵⁾ E. Walton, F. W. Holly und S. R. Jenkins, J. Org. Chem. **33**, 192 (1968).

sowohl hinsichtlich des R_F -Wertes als der Anfärbbarkeit mit verschiedenen Sprühreagentien wie *N*-Indol-D-glucosylamin verhält. Die Ausbeute ist nicht sehr hoch, und eine Isolierung des bisher nur in amorpher Form bekannten *N*-D-Glucosids gelingt nur schwer. Eine präparative Darstellung erscheint also nicht sinnvoll. Die Reaktion zeigt aber wiederum, daß eine direkte Kondensation auch sehr schwach basischer (nucleosidbasen-ähnlicher!) Amine mit reduzierenden Zuckern möglich ist. Die direkte Kondensation von Nucleosidbasen mit reduzierenden Zuckern analog der *N*-Glycosidsynthese ist bisher noch nicht verwirklicht worden²⁾.

Es wurde versucht, das durch Entacetylierung von Tetraacetyl-D-glucosylinol dargestellte amorphe und hygroskopische D-Glucosylinol unter verschiedenen Bedingungen umzulagern. Da es nicht gelang, im Reaktionsgemisch eindeutig das unbekannte Umlagerungsprodukt *N*-Indol-D-fructosamin nachzuweisen, wurde versucht, dieses als Vergleichssubstanz ebenfalls nach der Indolin-Indol-Methode darzustellen. Aber auch diese Versuche verliefen bisher ergebnislos. Es gelang zwar, das bisher noch nicht beschriebene Amadori-Produkt des Indolins in guter Ausbeute zu erhalten (als sehr stabiles 4,6-Benzyliden-*N*-indolin-D-fructosamin). Bei verschiedenen Reaktionen in Lösung färbt sich 4,6-Benzyliden-*N*-indolin-D-fructosamin nach kurzer Zeit jedoch intensiv blau, und es gelingt nicht, ein definiertes Reaktionsprodukt zu isolieren.

In der Literatur ist eine Reaktion beschrieben, die formal der α -Hydroxycarbonyl-Umlagerung einer Indolverbindung entspricht, es handelt sich um die Umlagerung des Vincaminols (**6**) in die Verbindung **7**³⁶⁾.



NMR-Spektren von **1b** und **1e**

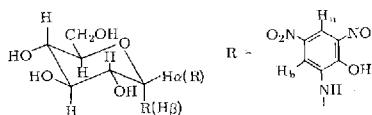
Die NMR-Spektren von **1b** und **1e** sind von Interesse, weil sich aus ihnen die Zuordnung der erhaltenen Anomeren nicht nur aus den Signalen der anomeren Protonen, sondern auch aus denen der aromatischen Protonen treffen läßt.

Das NMR-Spektrum von **1b** (DMSO-D₆) (Tab. 2) zeigt im Bereich der Zuckerprotonen ein nicht auflösbare Multiplett ($\delta = 3.3$ –3.7 ppm) für die Protonen 2-H bis 6-H (6 Protonen) und zwei Doublets für das anomere Proton bei $\delta = 4.50$ ppm ($J_{1,2} = 8.0$ Hz) und $\delta = 5.03$ ppm ($J_{1,2} = 4.0$ Hz) im Verhältnis 65:35, d.h. **1b** liegt als Anomerengemisch vor mit einem α/β -Verhältnis von 35:65.

Das aromatische Proton H_a erscheint bei niedrigstem Feld ($\delta = 8.15$ ppm), da es aufgrund der beiden benachbarten NO₂-Gruppen am stärksten entschirmt wird; es liegt als Dublett vor ($J_{ab} = 3.0$ Hz). Für das Proton H_b sollte man ein Dublett mit einer Kopplungskonstanten von $J_{ab} = 3.0$ Hz bei etwas höherem Feld als H_a

³⁶⁾ L. Olivier, J. Lévy und J. Le Men, C. R. Acad. Sci., Ser. C, **268**, 1442 (1969).

Tab. 2. NMR-Spektroskopische Daten des Pikraminsäure-*N*- β -glucosids;
Lösungsmittel DMSO-D₆



	Chem. Verschiebung δ [ppm]	Kopplungskonstante [Hz]
OH und NH	6.0	
H _a	8.15	$J_{ab} = 3.0$
H _{bα}	7.95	$J_{ab} = 3.0$
H _{bβ}	7.70	$J_{ab} = 3.0$
H _{α}	5.03	$J_{1,2} = 4.0$
H _{β}	4.50	$J_{1,2} = 8.0$
2-H bis 6-H	3.3 - 3.7	

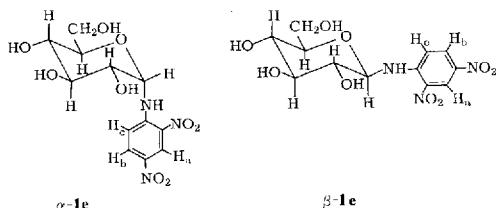
erwarten. Man findet jedoch zwei Doublets ($H_b \delta = 7.95$ ppm; $H_b \delta = 7.70$ ppm; $\Delta\delta = 0.25$ ppm) mit einer Kopplungskonstanten J_{ab} von jeweils 3.0 Hz. Das Integral über diese beiden Doublets entspricht einem Proton. Das Verhältnis $H_{b\alpha} : H_{b\beta}$ beträgt etwa 35:65 und entspricht dem Anomerenverhältnis, wie es aus dem Intensitätsverhältnis der Signale der anomeren Protonen erhalten wurde. Daß es sich bei den beiden Doublets des Protons H_b tatsächlich einmal um das Proton H_b des α -Anomeren und das andere Mal um das Proton H_b des β -Anomeren **1b** handelt, wird bewiesen durch das analoge Verhalten von **1e**, bei dem eine präparative Trennung der beiden Anomeren gelungen ist.

Im NMR-Spektrum von **1e** (DMSO-D₆) erscheint das anomere Proton der einen Form bei $\delta = 4.78$ ppm. Die gefundene Kopplungskonstante ($J_{1,2} = 8.0$ Hz) entspricht einer diaxialen Stellung der Protonen 1-H und 2-H und ist nur vereinbar mit der Struktur von **β-1e** in der 4C_1 -Konformation. Auch das α -Anomere sollte 4C_1 -Konformation besitzen (ein inverser anomerer Effekt³⁷⁾ tritt bei dieser Verbindung offensichtlich nicht auf), man findet eine kleine Kopplungskonstante $J_{1,2} = 4.5$ Hz, entsprechend einer axial-äquatorialen Stellung von 1-H und 2-H. Die Tetraacetyl-derivate von **α-1e** und **β-1e** lassen sich vollständig analysieren und sprechen für die vorgenommene Zuordnung.

Die Zuordnung der aromatischen Protonen, die sehr scharfe Signale geben, kann relativ leicht unter Berücksichtigung der anisotropen Wirkung der Nitrogruppen erfolgen. Danach sind die Protonen $H_c < H_b < H_a$ zunehmend zu tiefem Feld verschoben. Vergleicht man die chemische Verschiebung der aromatischen Protonen der beiden Anomeren bzw. ihrer Tetraacetate in verschiedenen Lösungsmitteln (Tab. 3), so findet man, daß sich nur die chemische Verschiebung der H_c -Protonen jeweils stark unterscheidet (maximal um 0.35 ppm), und zwar ist das H_c des α -Anomeren stets zu tieferem Feld verschoben. Aus einem α/β -Gemisch kann man das

³⁷⁾ R. U. Lemieux und A. R. Morgan, Can. J. Chem. **43**, 2205 (1965).

Tab. 3. Chemische Verschiebung δ [ppm] der aromatischen Protonen der anomeren N-DNP-D-Glucosylamine (*Pyridin-D*₅, DMSO-D₆) bzw. ihrer Tetraacetate (*CDCl*₃)



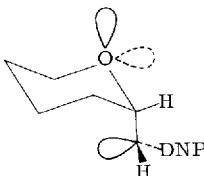
		CDCl ₃	Pyridin-D ₅	DMSO-D ₆
H _a	α	9.09	8.98	8.88
	β	9.08	8.98	8.88
H _b	α	8.32	8.12	8.35
	β	8.31	8.11	8.33
H _c	α	7.42 $\Delta = 0.35$	7.66 $\Delta = 0.22$	7.56 $\Delta = 0.18$
	β	7.07	7.44	7.38

Mischungsverhältnis genauer aus dem Integral über die beiden H_c-Protonen als aus dem über die anomeren Protonen entnehmen. Die Anomerisierung der **1e**-Tetraacetate unter dem Einfluß starker Säuren (z. B. Trifluoressigsäure) läßt sich nur an Hand der H_c-Protonen verfolgen, da die anomeren Protonen im Gemisch nicht mehr zu analysieren sind. Untersucht man ein Gemisch von 2,4-Dinitroanilin, **α-1e**, **β-1e** und **2e**, so lassen sich die H_c-Protonen aller 4 Verbindungen nebeneinander bestimmen. Da entsprechendes auch für die Pikraminsäurederivate gilt, kann man die Kinetik der Hydrolyse (Bildung), Mutarotation, Umlagerung o.ä. dieser Verbindungen untersuchen unter gleichzeitiger (!) Bestimmung aller (!) Reaktionsprodukte, die ein H_c (bzw. H_b)-Proton besitzen, und zwar ohne Aufarbeitung des Reaktionsansatzes.

Es sind zahlreiche Fälle bekannt, in denen sich die chemische Verschiebung der Protonen an äquatorialen und axialen Substituenten von Pyranosen unterscheiden. Eine Erklärung für die unterschiedliche chemische Verschiebung der anomeren H_c-Protonen dürfte in der Anisotropiewirkung des Ringsauerstoffs bzw. der C-1—O-Bindung zu suchen sein. Man kann am Modell zeigen, daß das H_c-Proton im α -Anomeren stärker (bzw. häufiger) im Bereich des anisotropen Ringsauerstoffs liegt als im β -Anomeren. Von den 6 möglichen Konformeren (3 Rotamere und 3 Invertomere) des Aglycons im α -Anomeren resultiert aus Modellbetrachtungen *) als meist begünstigte Form **8**.

*) Es werden die Konformeren verglichen, die resultieren aus einer Drehung um die Einfachbindung zwischen zwei sp³-hybridisierten (C und N) Atomen. Die pyramidale Konfiguration des Aminstickstoffs in **1e** dürfte jedoch relativ stark eingebebt sein durch den mesomeren elektronenziehenden Effekt der Nitrogruppen. Es läßt sich aber am Modell zeigen, daß auch bei sp²-Hybridisierung des N-Atoms die günstigste Konformation des α -Anomeren die ist, in der 1-H und NH gauche zueinanderstehen und H_c sich in der Nähe des Ringsauerstoffs befindet.

In dieser Konformation ist H_c dem Ringsauerstoff eng benachbart und man beobachtet in Analogie zur Acylierungsverschiebung der *N*-DNP-Amide³⁸⁾ eine Entschirmung von $H_{c\alpha}$ gegenüber $H_{c\beta}$; bei β -1e ist keine Konformation bevorzugt, in der H_c und Ringsauerstoff benachbart sind.



8

Bei der Modellbetrachtung werden folgende plausible Annahmen gemacht: In den bevorzugten Konformeren des Aglycons wird eine Anordnung vorliegen, in der die *o*-Nitrogruppe und der Ringsauerstoff möglichst weit voneinander entfernt sind, was auf Dipol-Wechselwirkung zurückzuführen ist. Außerdem dürfte in ihnen eine Wasserstoffbrückenbindung zwischen NH und *o*-NO₂ vorliegen. Einen Hinweis darauf gibt der Grad der chemischen Verschiebung des α -anomeren H_c -Protons in Abhängigkeit vom Lösungsmittel. Man beobachtet, daß die Differenz $\Delta\delta H_{c\alpha} - H_{c\beta}$ in der Reihenfolge CDCl₃ (0.35 ppm) > Pyridin-D₅ (0.22 ppm) > DMSO-D₆ (0.18 ppm) = CDCl₃ + Trifluoressigsäure (0.18 ppm) > Trifluoressigsäure (0.13 ppm) abnimmt. In CDCl₃ überwiegen intramolekulare Wasserstoffbrückenbindungs Kräfte, die beim Übergang zum DMSO-D₆ gelockert werden. Die Versteifung des *N*-DNP-Restes in CDCl₃ führt dazu, daß bei vorgegebener Population der Rotameren bzw. Invertomeren der Ringsauerstoff seinen maximalen Abschirmungseffekt ausüben kann, weil eine Drehung um die N-Aryl-Achse nicht mehr so leicht möglich ist wie z. B. in DMSO-D₆.

Das NH-Signal erscheint in den 1e-NMR-Spektren als relativ scharfes Dublett bei niedrigem Feld. Die Kopplungskonstante $J_{1\text{-H}, \text{NH}}$ des β -Anomeren ist doppelt so groß wie die des α -Anomeren. Da sich der Wert der Kopplungskonstanten $J_{1\text{-H}, \text{NH}}$ aus dem arithmetischen Mittel der Kopplungskonstanten der einzelnen Rotameren bzw. Invertomeren zusammensetzt, spiegelt die unterschiedliche Größe der Kopplungskonstanten $J_{1\text{-H}, \text{NH}}$ in Abhängigkeit von der Stellung am anomeren Zentrum die unterschiedliche Population der einzelnen Spezies wieder. Die Gültigkeit einer der Karplus-Beziehung analogen Beziehung für die vicinale Kopplung HC-NH ist an zahlreichen Beispielen untersucht worden³⁹⁾. Bei freier Drehbarkeit um die C-1—N-Achse in 1e sollte in Analogie zur freien Drehbarkeit um die C—C-Achse ein Wert für $J_{1\text{-H}, \text{NH}}$ von etwa 6—7 Hz resultieren ($J_{\text{beob}} = 2/3 J_{\text{gauche}} + 1/3 J_{\text{trans}}$, $J_{\text{trans}} > J_{\text{gauche}}$); dies ist offenbar im β -Anomeren der Fall. Der kleinere Wert $J_{1\text{-H}, \text{NH}}$ des α -Anomeren spricht dafür, daß die Population der *trans*-Konformation offenbar gering ist. Die günstigste Konformation des α -1e (8) weist eine *gauche*-Beziehung zwischen H-1 und NH auf.

³⁸⁾ J. M. Appleton, B. D. Andrews, I. D. Rae und B. E. Reichert, Aust. J. Chem. **23**, 1667 (1970).

³⁹⁾ W. F. Reynolds und T. Schaefer, Can. J. Chem. **42**, 2119 (1964).

Die gefundenen Ergebnisse über die bevorzugte Konformation des α -1e stehen in Übereinstimmung mit den Vorstellungen über den *exo*-anomeren Effekt⁴⁰⁾, der besagt, daß sich das Aglycon in den anomeren Glycosiden bevorzugt jeweils anti-parallel zu C-2 orientiert.

Experimenteller Teil

Die Reaktionen wurden dünnsschichtchromatographisch auf Kieselgel GF₂₅₄- bzw. auf borsäure-imprägnierten (30 g Kieselgel GF₂₅₄ + 60 ml 0.1 M H₃BO₃-Lösung) Kieselgel GF₂₅₄-Platten verfolgt. Als Laufmittel (LM) wurden hauptsächlich verwendet: LM A: Essigester/Isopropylalkohol/Wasser (7:3:1) und das saure LM B: n-Butanol/Essigester/Isopropylalkohol/Eisessig/Wasser (3:10:6:6:3). Zum Sichtbarmachen diente UV-Licht, ammoniakalische AgNO₃- und alkalische *o*-Dinitrobenzollösung.

IR-Spektren wurden mit einem Perkin-Elmer Infrarot-Spektrometer in KBr aufgenommen. NMR-Untersuchungen wurden mit den Varian-Geräten A 60, T 60 und HA 100 durchgeführt. Aminozuckergemische wurden auf dem Aminosäureanalysator Modell 120 B der Firma Beckman untersucht.

Die katalytische Hydrierung wurde mit 10proz. Pd/Kohle bzw. mit einem PdO/BaSO₄-Katalysator⁴¹⁾ nach der Vorschrift von *Kuhn* und *Haas*⁴²⁾ in verd. HCl-saurer Lösung durchgeführt.

Umlagerung von N-(p-Nitrophenyl)-D-glucosylamin (1a): 3.4 g **1a** werden in 50 ml Dioxan und 25 ml Eisessig 3 h unter Rückfluß erhitzt. Der nur wenig verfärbte Ansatz wird i. Vak. zum Sirup eingeengt, in 50 ml 1 N HCl gelöst, filtriert und unter Röhren 30 min auf 60°C erwärmt. Dann wird 3 mal mit je 50 ml Äther ausgeschüttelt und die HCl-saure Lösung i. Vak. bei Raumtemp. zur Trockne eingeengt. Nach dem Lösen in wenig Wasser wird auf eine Ionenaustauschersäule (Dowex 50 WX8, 100–200 mesh, H⁺-Form) gegeben und mit Wasser eluiert. Es werden zunächst D-Glucose und schwach gefärbte Zersetzungspprodukte von der Säule eluiert (diese Fraktionen reagieren stark positiv mit alkalischer *o*-Dinitrobenzollösung), anschließend erscheint dünnsschichtchromatographisch reines *N*-(*p*-Nitrophenyl)-D-fructosamin. Die umlagerungsprodukt-haltigen Fraktionen werden vereinigt, eingeengt und im Kühlschrank zur Kristallisation gebracht. Ausb. 1.0 g (30%). Schmp. 82.5–84°C (Zers.); $[\alpha]_D^{25} = -79.3^\circ \rightarrow -49.4^\circ$ ($c = 1$, Pyridin).

C₁₂H₁₆N₂O₇·H₂O (318.3) Ber. C 45.28 H 5.70 N 8.80 Gef. C 44.78 H 5.74 N 8.60

N-(p-Nitrophenyl)-D-fructosylamin (3a): 6 g D-Fructose, 6 g *p*-Nitranilin und 400 mg Borsäure werden in 30 ml absol. Äthanol 15 min unter Rückfluß erhitzt. Man läßt die klare, gelbe Lösung langsam abkühlen und stellt den Ansatz zum Durchkristallisieren 24 h in den Kühlschrank. Die Kristalle werden abgesaugt, mit wenig kaltem Äthanol gewaschen und schließlich so lange mit Äther digeriert, bis alles *p*-Nitranilin entfernt ist. Das zurückbleibende gelbe Kristallat wird aus Äthanol umkristallisiert. Ausb. 350 mg (3.5%). Schmp. 197 bis 198°C (Zers.); $[\alpha]_D^{25} = -273.3^\circ$ ($c = 0.6$, Pyridin), keine Mutarotation.

C₁₂H₁₆N₂O₇ (300.3) Ber. C 48.00 H 5.37 N 9.33 Gef. C 48.13 H 5.36 N 9.07

Durch präparative Dünnschichtchromatographie läßt sich aus der Mutterlauge des Ansatzes das isomere *N*-(*p*-Nitrophenyl)fructosylamin (**3aF**) mit dem höheren *R*_F-Wert isolieren.

⁴⁰⁾ R. U. Lemieux, A. A. Pavia, J. C. Martin und K. A. Watanabe, Can. J. Chem. **47**, 4427 (1969).

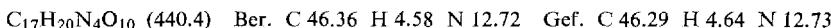
⁴¹⁾ R. Kuhn und H. J. Haas, Angew. Chem. **67**, 785 (1955).

⁴²⁾ R. Kuhn und H. J. Haas, Liebigs Ann. Chem. **600**, 148 (1956); **611**, 57 (1958).

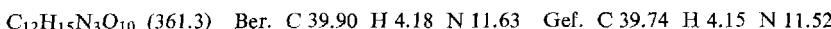
Nach längerem Stehenlassen im Kühlschrank kristallisieren aus äthanolischer Lösung insgesamt 4.7 mg aus (0.05%). Die gelbe Substanz besitzt eine negative spezif. Drehung. Schmp. 189–191°C (Zers.).

*Umlagerung von N-(*p*-Nitrophenyl)-D-fructosylamin (3a):* Die Umlagerung, die Aufarbeitung und Isolierung der Umlagerungsprodukte wurde, wie beim N-(*p*-Nitrophenyl)-glucosylamin-Umlagerungs-Ansatz beschrieben, durchgeführt. Das von der Ionenaustauschersäule eluierte Umlagerungsprodukt-Eluat gibt beim Einengen i. Vak. einen gelben Sirup, der sich nach längerem Stehenlassen etwas zersetzt. Die katalytische Hydrierung in salzsaurer Lösung gibt D-Glucosamin, D-Mannosamin und D-Fructosamin.

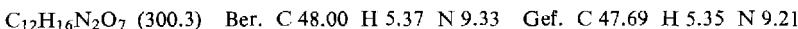
Pyridin-(N-D-glucosylamin)-pikramat: 500 mg 1b werden in der Kälte in 10 ml trockenem Pyridin gelöst. Die tiefdunkelrote Lösung wird kurz im Wasserbad auf 80°C erwärmt, wobei sich schnell ein ziegelroter Niederschlag bildet. Der Ansatz wird mit ca. 100 ml Äthanol versetzt, abgesaugt und der Niederschlag mit Äthanol gewaschen. Anschließend wird aus Äthanol umkristallisiert und i. Vak. über P₄O₁₀ getrocknet. Ausb. 570 mg (95%). Schmp. 144°C (Zers.). Das ziegelrote Produkt ist löslich in Dimethylsulfoxid und Dimethylformamid, wenig löslich in Alkohol und Aceton.



Umlagerung von Pikaminsäure-N-D-glucosid (1b): 3.5 g 1b werden in 200 ml Dioxan und 2.5 ml Trifluoressigsäure 8 h unter Rückfluß erhitzt. Der dunkelrotbraune Ansatz wird i. Vak. bei Raumtemp. zur Trockne eingeengt, mit 2 N HCl hydrolysiert und so lange mit Benzol ausgeschüttelt, bis keine freie Pikaminsäure mehr in der salzsauren Lösung vorliegt. Dann wird i. Vak. bei Raumtemp. zur Trockne eingeengt, in wenig Wasser aufgenommen und auf eine Ionenaustauschersäule gegeben (Dowex 50 WX8, 100–200 mesh, H⁺-Form). Es wird mit Wasser eluiert. Die ersten substanzhaltigen Fraktionen enthalten D-Glucose und stark reduzierende Abbauprodukte. Die später eluierten umlagerungsprodukt-haltigen Fraktionen sind dünnenschichtchromatographisch rein. Sie werden vereinigt und eingeengt zu einem roten Sirup. Ausb. ca. 200 mg (6%). Aus Aceton kristallisiert nach einiger Zeit ein Teil (ca. 50 mg) aus. Schmp. 157°C (Zers.); [α]_D²⁵ = -10° (c = 1.8, Äthanol).



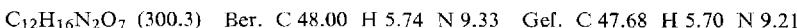
*N-(*o*-Nitrophenyl)-D-glucosylamin (1d):* 18 g wasserfreie D-Glucose werden mit 30 g o-Nitranilin und 2 g NH₄Cl in 300 ml absol. Äthanol 6 h unter Rückfluß erhitzt (analog Vorschrift Mamalis et al.³¹). Nach dem Abkühlen wird i. Vak. bei Raumtemp. zur Trockne eingeengt und in 200 ml Wasser aufgenommen. Dann wird 3 mal mit je 80 ml Benzol ausgeschüttelt, bis die wäßr. Phase weitgehend o-nitranilinfrei ist. Beim Einengen der wäßr. Lösung kristallisiert nach kurzer Zeit 1d aus, das abgesaugt und aus Äthanol umkristallisiert wird. Aus der Mutterlauge ist noch weiteres 1d erhältlich. Ausb. 13.4 g (45%). Schmp. 83–87°C (Lit.³⁰) 70–75°C; [α]_D²⁵ = -12.2° (c = 1, Pyridin).



Das Produkt ist dünnenschichtchromatographisch rein; NMR-spektroskopisch lässt sich zeigen, daß ein α/β-Anomerengemisch vorliegt: 1-H_α = 5.32 ppm, J_{1,2} = 4.0 Hz (15%); 1-H_β = 4.73 ppm, J_{1,2} = 7.5 Hz (85%).

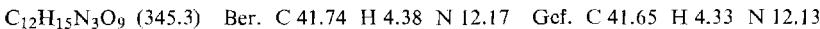
*Umlagerung von N-(*o*-Nitrophenyl)-D-glucosylamin (1d):* 5 g 1d werden in 250 ml Dioxan unter Zugabe von 3 ml Trifluoressigsäure 3 h unter Rückfluß erhitzt. Der leicht gebräunte Ansatz wird i. Vak. bei Raumtemp. zur Trockne eingeengt, in 100 ml 2 N HCl aufgenommen und 30 min bei 80°C gerührt. Dann wird 4 mal mit je 60 ml Äther ausgeschüttelt, die HCl-saure Lösung bei Raumtemp. i. Vak. zur Trockne eingeengt und in wenig Wasser gelöst.

Es wird auf eine Kationenaustauschersäule gegeben und mit Wasser eluiert. Die dünnsschicht-chromatographisch reinen, umlagerungsprodukt-haltigen Fraktionen werden vereinigt und zum Sirup eingeengt. Ausb. 400 mg (8 %); $[\alpha]_D^{25} = +68^\circ$ ($c = 1$, Methanol).



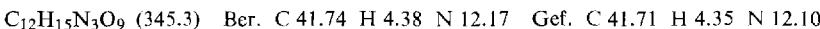
N-(2,4-Dinitrophenyl)- β -D-glucosyamin (β-1e): 36 g D-Glucose werden mit 36 g 2,4-Dinitroanilin in 500 ml absol. Äthanol unter Zusatz von 10 ml konz. Salzsäure $2\frac{1}{2}$ h unter Rückfluß erhitzt. Die abgekühlte, klare, gelbe Lösung wird mit NaHCO₃ neutralisiert und i. Vak. zur Trockne eingeengt. Dann wird in 200 ml Wasser aufgenommen, das nicht gelöste 2,4-Dinitroanilin abgesaugt und gründlich mit Wasser gewaschen. Die wäsr. Phase wird 2 mal mit je 50 ml Äther ausgeschüttelt und anschließend 5 h mit Essigester perforiert. Die Essigesterphase wird zur Trockne eingeengt und der sirupöse Rückstand in wenig heißem Aceton gelöst. Beim Abkühlen kristallisiert gelbes β-1e aus, welches abgesaugt und mit kaltem Aceton gewaschen wird. Aus der Mutterlauge lässt sich noch eine weitere Fraktion der β-Form gewinnen. Es wird aus Aceton umkristallisiert und i. Vak. über P₄O₁₀ getrocknet. Ausb. 625 mg (0.9 %). Schmp. 162.5°C; $[\alpha]_D^{25} = -102.6^\circ$ ($c = 0.6$; Methanol), keine Mutarotation.

NMR (DMSO-D₆), δ[ppm]: H_a 8.88 ($J_{ab} = 2.5$ Hz, d), H_b 8.33 ($J_{bc} = 9.5$ Hz, q), H_c 7.38 (d), NH 8.72 (J_{1-H} , NH = 6.0 Hz, d), 1-H 4.78 ($J_{1,2} = 8.0$ Hz, d, nach dem Ausschütteln mit D₂O), 2-H bis 6-H 3.20–3.80 (m).



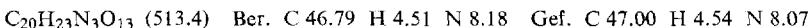
N-(2,4-Dinitrophenyl)- α -D-glucosyamin (α-1e): Die Mutterlauge des obigen Ansatzes wird mit Wasser versetzt und i. Vak. bei Raumtemp. vorsichtig eingeengt. Nach einiger Zeit fällt ein gelber, amorpher Niederschlag aus, der abgesaugt, mit wenig kaltem Wasser gewaschen und aus Aceton umkristallisiert wird. Nach dem Trocknen i. Vak. über P₄O₁₀ erhält man 60 mg (ca. 0.1 %) α-1e. Schmp. 217°C; $[\alpha]_D^{25} = +110.8^\circ$ ($c = 0.6$, Methanol), keine Mutarotation.

NMR (DMSO-D₆), δ[ppm]: H_a 8.88 ($J_{ab} = 2.5$ Hz, d), H_b 8.35 ($J_{bc} = 9.5$ Hz, q), H_c 7.56 (d), NH 8.88 (J_{1-H} , NH = 3.0 Hz, d), 1-H 5.39 ($J_{1,2} = 4.5$ Hz, d, nach dem Ausschütteln mit D₂O), 2-H bis 6-H 3.46–3.73 (m).



Tetraacetyl-N-(2,4-dinitrophenyl)- β -D-glucosyamin: 200 mg β-1e in 2 ml trockenem Pyridin werden bei 0°C tropfenweise mit 2 ml Acetanhydrid versetzt. Es wird 3 h bei 0°C und anschließend über Nacht bei Raumtemp. gerührt. Dann wird auf Eis gegossen, der gelbe Niederschlag abfiltriert und in Chloroform aufgenommen. Aus Äthanol kristallisieren 220 mg (74 %) gelbes Tetraacetat. Schmp. 171.5°C; $[\alpha]_D^{25} = -83.7^\circ$ ($c = 1$, CHCl₃).

NMR (CDCl₃), δ[ppm]: H_a 9.08 ($J_{ab} = 2.5$ Hz, d), H_b 8.31 ($J_{bc} = 9.5$ Hz, q), H_c 7.07 (d), NH 8.95 (J_{1-H} , NH = 7.0, d), 1-H 4.96 ($J_{1,2} = 8.5$ Hz, q), 2-H 5.24 ($J_{2,3} = 8.5$ Hz, q), 3-H 5.43 ($J_{3,4} = 8.5$ Hz, t), 4-H 5.10 ($J_{4,5} = 8.5$ Hz, t), 5-H 3.95 ($J_{5,6'} = 2.5$ Hz, o), 6-H 4.29 ($J_{6,6'} = 12.5$ Hz, q), 6'-H 4.09 ($J_{5,6} = 5.0$ Hz, q), OAc 2.04 (4).



Tetraacetyl-N-(2,4-dinitrophenyl)- α -D-glucosyamin: 130 mg α-1e werden wie das entsprechende β-Anomere acetyliert. Aus Äthanol kristallisieren 150 mg (78 %). Schmp. 137°C; $[\alpha]_D^{25} = +182^\circ$ ($c = 1$, CHCl₃).

NMR (CDCl₃), δ[ppm]: H_a 9.09 ($J_{ab} = 2.5$ Hz, d), H_b 8.32 ($J_{bc} = 9.5$ Hz, q), H_c 7.42 (d), NH 8.92 (J_{1-H} , NH = 3.5 Hz, d), 1-H 5.62 ($J_{1,2} = 5.0$ Hz, q), 2-H 5.20 ($J_{2,3} = 9.5$ Hz, q),

3-H 5.48 ($J_{3,4} = 9.5$ Hz, t), 4-H 5.09 ($J_{4,5} = 9.5$ Hz, t), 5-H 3.94 ($J_{5,6'} = 2.5$ Hz, o), 6-H 4.24 ($J_{6,6'} = 12.5$ Hz, q), 6'-H 4.00 ($J_{5,6} = 5.0$ Hz, q), OAc 2.06 (1), 2.02 (1), 1.98 (2).

$C_{20}H_{23}N_3O_{13}$ (513.4) Ber. C 46.79 H 4.51 N 8.18 Gef. C 46.84 H 4.54 N 8.10

4,6-Benzyliden-N-indolin-D-fructosamin: 3.0 g 4,6-Benzylidenglucose werden in 10 ml Indolin unter Zusatz von 5 Tropfen Eisessig 10 min erhitzt. Die rötlichbraune, klare Lösung kristallisiert nach dem Abkühlen durch. Der Ansatz wird mit Äther versetzt, abgesaugt, gründlich mit Äther gewaschen und aus Äthanol umkristallisiert. Man erhält 2.9 g (70%) 4,6-Benzyliden-N-indolin-D-fructosamin in schneeweissen Kristallen. Das Produkt ist in trockenem Zustand unbegrenzt haltbar. In Lösung, insbesondere in saurer Lösung, zersetzt es sich allmählich zu intensiv blau gefärbten Produkten. Das Amadori-Produkt reagiert positiv mit alkalischer *o*-Dinitrobenzollösung. Schmp. 176–177°C (Zers.); $[\alpha]_D^{25} = -116^\circ$ ($c = 1$, Pyridin).

$C_{21}H_{23}NO_5$ (369.4) Ber. C 68.27 H 6.28 N 3.79 Gef. C 68.03 H 6.25 N 3.78

[152/73]