

Diacetylverbindung: Aus verd. Essigsäure lehmfarbenes, amorphes Pulver, das bei 235° schmilzt.

$C_{13}H_{18}O_4N_5S_2$  (367.4) Ber. N 19.08 Gef. N 18.70

Reduktive Spaltung des 4.4'-Dimethyl-azothiazol-(2.2')-dicarbonsäure-(5.5')-diäthylesters (XIII) durch Phenylhydrazin: 3.7 g ( $1/100$  Mol) des Esters XIII werden in 10.8 g Phenylhydrazin ( $1/10$  Mol) in einem 50-ccm-Rundkolben mit aufgesetztem Rückflußkühler vorsichtig im Schwefelsäurebad erhitzt. Bei etwa 150–160° entsteht eine klare Lösung und bei 180° setzt eine sehr stürmische Reaktion ein, die von geringer  $H_2S$ -Entwicklung begleitet ist. Sie läuft trotz Entfernung des Heizbades in 5 Min. zu Ende. Am nächsten Tage saugt man den entstandenen Kristallbrei ab und kristallisiert aus Alkohol oder Benzol um. Man gewinnt so farblose Nadeln des 2-Amino-4-methyl-5-carbäthoxy-thiazols<sup>17)</sup> vom Schmp. 175–176°; Ausb. 2.9 g (78% d.Th.).

Spaltung des 2-Phenylazo-4-methyl-5-carbäthoxy-thiazols (XV): 1.38 g ( $1/200$  Mol) des Esters XV erhitzt man mit 2 g Phenylhydrazin ( $1/50$  Mol). Bei 100° tritt klare Lösung ein. Man hält bei 170° etwa 5 Min. in stetigem Sieden. Nach dem Erkalten kristallisieren rhombische Blättchen des 2-Phenylhydrazino-4-methyl-5-carbäthoxy-thiazols<sup>11)</sup> vom Schmp. 194° aus; Ausb. 1.25 g (90% d.Th.). Erneutes Erhitzen dieser Hydrazoverbindung mit 2 g Phenylhydrazin führt bei 200° zu einer heftigen Reaktion. Aus dem Reaktionsgemisch lassen sich in der Kälte durch Zugabe von 1 ccm Benzol farblose Nadeln des 2-Amino-4-methyl-5-carbäthoxy-thiazols isolieren; Ausb. 72%, bez. auf den gesamten Reaktionsablauf.

Spaltung des 2-Phenylazo-4.5-diphenyl-thiazols (XVI): Die Reaktion tritt, wie oben beschrieben, kurz unterhalb 200° unter  $H_2S$ -Entwicklung ein und liefert in 50-proz. Ausbeute 2-Amino-4.5-diphenyl-thiazol<sup>18)</sup> vom Schmp. 186°.

Spaltung des 4.4'-Diphenyl-azothiazols (XIV) und des 2-Phenylazo-4-phenyl-thiazols (XVII): Bei beiden Verbindungen bewirkt Phenylhydrazin bei 180° Reduktion zur entsprechenden Hydrazoverbindung. Erst oberhalb 220° tritt unter erheblicher  $H_2S$ - und  $NH_3$ -Entwicklung die Spaltung der Azobrücke zum 2-Amino-4-phenyl-thiazol<sup>19)</sup> vom Schmp. 147° ein; Ausb. nur 18 bzw. 14% d.Theorie.

## 161. Fritz Micheel und Almuth Klemmer: Zur Frage der Umsetzung von 1-Fluor- $\beta$ -glucose mit Aminosäuren in wäßriger Lösung

[Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Münster (Westf.)]

(Eingegangen am 29. April 1952)

Die früher beschriebene Darstellung von *N*-Glykosiden verschiedener Aminosäuren mit Hilfe von 1-Fluor- $\beta$ -*D*-glucose wurde polarimetrisch und potentiometrisch überprüft. Es wurde gefunden, daß nicht die Fluorglucose, sondern die bei der Hydrolyse entstehende Glucose mit den Aminosäuren in Reaktion tritt. Demgemäß wurden aus Glucose und Aminosäuren die *N*-Glucoside des Glykokolls, *d,l*-Serins und *d,l*-Lysins als Natriumsalze in reiner Form gewonnen. Das *d,l*-Lysin reagiert mit beiden Aminogruppen.

In einer früheren Mitteilung<sup>1)</sup> wurden *N*-Glucoside verschiedener Aminosäuren beschrieben, die durch Umsetzung von 1-Fluor- $\beta$ -*D*-glucose mit Aminosäuren (Glykokoll, *d,l*-Alanin, *d,l*-Serin, *l*-Lysin und Sarkosin) in wäßrigem

<sup>17)</sup> Vergl. H. Zürcher, A. 250, 289 [1888]. <sup>18)</sup> Vergl. K. Hubacher, A. 259, 243 [1890].

<sup>19)</sup> Vergl. V. Traumann, A. 249, 38 [1888]. <sup>1)</sup> B. 84, 212 [1951].

Medium bei  $p_H$  7.8–8.5 erhalten wurden. Seinerzeit war infolge der durch Kriegsschäden bedingten Verluste eine polarimetrische Verfolgung der Reaktionen nicht durchzuführen; wir haben dies nunmehr nachgeholt, um ein genaueres Bild von deren Ablauf zu erhalten. Ferner wurde die Hydrolyse der 1-Fluor- $\alpha$ -*D*-glucose und der 1-Fluor- $\beta$ -*D*-glucose bei verschiedenen  $p_H$ -Werten in wäßriger Lösung sowohl bei Gegenwart von Glykokoll als auch ohne dieses fortlaufend polarimetrisch und potentiometrisch<sup>2)</sup> verfolgt. Es zeigte sich, daß der Verlauf der optischen Drehung in den wäßrigen Lösungen bei Gegenwart von Glykokoll und Serin nicht mit den Drehungen der isolierten Endprodukte übereinstimmte, sondern dem einer Hydrolyse der Fluor-glucosen zu Glucose entsprach (Enddrehwert etwa  $+46^\circ$ , ber. auf Glucose-Gehalt). Demgemäß war zwischen den Drehwerts-Kurven der 1-Fluor- $\beta$ -glucose bei Gegenwart und bei Abwesenheit von Aminosäure kein Unterschied festzustellen (1-Fluor- $\alpha$ -glucose ist sehr viel stabiler als 1-Fluor- $\beta$ -glucose und wird nur außerordentlich langsam hydrolysiert). Im Gegensatz dazu zeigten die isolierten *N*-Glykoside der Aminosäuren eine negative Drehung.

Eine eingehende Überprüfung der Reaktionen zwischen 1-Fluor- $\beta$ -glucose und den Aminosäuren zeigte nun, daß nicht der Fluorzucker mit letzteren in Reaktion tritt, sondern erst die bei der Hydrolyse entstandene freie Glucose, und daß diese Reaktion nicht oder nur sehr wenig in der verhältnismäßig verdünnten wäßrigen Lösung, sondern erst beim Eindampfen dieser stattfindet. Demgemäß kommt man zu den gleichen Endprodukten, wenn man von vorneherein statt der  $\beta$ -Fluorglucose freie Glucose unter gleichen Bedingungen ( $p_H$  7.8–8.5) zur Umsetzung bringt.

In wäßriger Lösung besteht offenbar ein von der Konzentration abhängiges Gleichgewicht zwischen den Reaktionspartnern, wie die langsame hydrolytische Spaltung der isolierten Produkte zeigt. Befunde, die dies anzeigen, ohne daß *N*-Glykoside von Aminosäuren isoliert wurden, sind mehrfach in der Literatur beschrieben<sup>3)</sup>.

Wir beschreiben im Versuchsteil die Darstellung folgender *N*-Glucoside:

*N*-Glucosido-glykokoll-natrium,  $[\alpha]_D^{25}$ :  $-8.0^\circ$  (Wasser),

*N*-Glucosido-serin-natrium,  $[\alpha]_D^{25}$ :  $-15.0^\circ$  (Wasser)<sup>4)</sup>,

*N,N'*-Bis-glucosido-lysin-natrium,  $[\alpha]_D^{25}$ :  $-34.5^\circ$  (Wasser)<sup>4)</sup>.

<sup>2)</sup> Enrico Engel, Diplomarbeit, Münster 1952.

<sup>3)</sup> H. v. Euler u. Mitarbb., Ztschr. physiol. Chem. **151**, 1 [1926], **155**, 259 [1926]; M. Frankel u. A. Katchalsky, Biochem. Journ. **31**, 1595 [1937]; M. L. Wolfrom u. L. u. D. Cavalieri, Journ. Amer. chem. Soc. **69**, 2411 [1947]; M. L. Wolfrom, R. D. Schuetz u. L. Cavalieri, Journ. Amer. chem. Soc. **71**, 3518 [1949]; G. Haugaard, L. Tummerman u. H. Silvestri, Journ. Amer. chem. Soc. **73**, 4594 [1951]; R. S. Hannan u. C. S. Lee, Nature (London) **168**, 744 [1951]; vergl. a. A. Gottschalk u. S. M. Partridge, Nature **165**, 684 [1950].

<sup>4)</sup> Da wir beim Serin und Lysin vom Racemat ausgingen, sind die erhaltenen *N*-Glucoside Diastereomere. Wir geben die Drehwerte der am stärksten negativ drehenden Fraktionen an, haben aber auch schwächer negativ drehende von gleicher Bruttozusammensetzung erhalten. Ob die Zuckerreste in  $\alpha$ - oder  $\beta$ -glykosidischer Form oder nach Art Schiffischer Basen gebunden vorliegen, ist Gegenstand weiterer Untersuchungen.

Aus Lysin erhält man unter diesen Bedingungen (großer Überschuß an Glucose) ein *N,N'*-Bis-glucosido-Derivat als Natriumsalz, während das früher beschriebene Mono-Derivat bei kleinem Überschuß an Glucose in geringer Ausbeute erhalten wird.

Inzwischen ist uns eine russische Arbeit von A. Kuzin und O. Polakowa<sup>5)</sup> bekannt geworden, in der Aminosäuren mit Glucose in stark alkalischer Lösung [ $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ] zu den Calciumsalzen von *N*-Glykosiden der Aminosäuren umgesetzt werden. Obwohl bei den betreffenden Reaktionen nur die Abnahme der freien  $\text{NH}_2$ -Gruppen und der Calciumgehalt der Endprodukte analytisch ermittelt wurden, halten wir es für wahrscheinlich, daß in diesen offenbar nicht ganz reinen Stoffen zum großen Teil die von uns beschriebenen *N*-Glykoside vorliegen. Auch der Drehwert eines von uns nach Kuzins Verfahren hergestellten Calciumsalzes des *N*-Glucosido-glykokolls (gef.  $\pm 0^\circ$  in Übereinstimmung mit dem Autor) gegenüber  $-8^\circ$  bei unserem Natriumsalze deutet darauf hin.

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die Unterstützung unserer Arbeiten.

### Beschreibung der Versuche

Natriumsalz des *N*-Glucosido-glykokolls: 1.8 g *d*-Glucose, 750 mg Glykokoll und 900 mg Natriumhydrogencarbonat werden in 25 ccm Wasser gelöst und im Brutschrank aufbewahrt; pH-Wert der Lösung: 8.2–8.5. Sodann wird bei einer Badtemperatur von  $35^\circ$  i. Vak. bis zum Sirup eingeeengt und im Exsiccator langsam vollständig getrocknet (Dauer etwa 3 Tage). Der glasklare, farblose Sirup wird 3 mal mit je 30 bis 40 ccm absol. Methanol mehrere Stunden unter Schütteln bei Zimmertemperatur extrahiert und aus den vereinigten Auszügen mit Äther das Rohprodukt gefällt; man reinigt den Niederschlag durch 3maliges Umfällen aus Methanol mit Äther; Ausb. 50–53% d. Th. eines amorphen, farblosen Pulvers. Die Einheitlichkeit der Substanz wurde durch fraktionierte Fällung aus Methanol mit Äther überprüft.

Stickstoffgehalt der erhaltenen 3 Fraktionen: Ber. N 5.40 Gef. N I. Frakt. 5.50, II. Frakt. 5.41, III. Frakt. 5.43.

$\text{C}_8\text{H}_{14}\text{O}_7\text{NNa}$  (259.2) Ber. C 37.07 H 5.44 N 5.40 Na 8.87

Gef. C 36.92 H 5.49 N 5.41 Na 8.83

$[\alpha]_D^{25}$ :  $-8^\circ$  (Wasser;  $c=1$ ) (10 Min. nach Auflösung)  $\rightarrow \sim +20^\circ$  (nach 100 Stdn.).

Die spez. Drehung erreicht in saurer Lösung einen Endwert von  $[\alpha]_D^{25}$ :  $+33^\circ$ ; aus dem Glucose-Gehalt berechnet sich ein Enddrehwert von  $[\alpha]_D^{25}$ :  $+33.8^\circ$ .

Wir geben nochmals die Daten des in der früheren Mitteilung<sup>1)</sup> beschriebenen Produktes aus 1-Fluor- $\beta$ -glucose, weil dieses jetzt in reinerer Form erhalten wurde; Ausb. 55–60% d. Theorie.

$\text{C}_8\text{H}_{14}\text{O}_7\text{NNa}$  (259.2) Ber. C 37.07 H 5.44 N 5.40 Na 8.87

Gef. C 36.40 H 5.26 N 5.36 Na 8.15

$[\alpha]_D^{25}$ :  $-5.6^\circ$  (Wasser;  $c=1$ ).

Die spez. Drehung erreicht in saurer Lösung einen Endwert von  $[\alpha]_D^{25}$ :  $+32.5^\circ$  (Wasser). Dieser entspricht der bei der Hydrolyse entstehenden *d*-Glucose-Menge (ber.  $+33.8^\circ$ ).

Natriumsalz des *N*-Glucosido-*d,l*-serins: Die Umsetzung der Glucose mit *d,l*-Serin wird analog der Umsetzung mit Glykokoll ausgeführt; Ausb. etwa 60% d. Theorie. Die Einheitlichkeit der Substanz wurde durch fraktionierte Fällung aus Methanol mit Äther überprüft.

Stickstoffgehalt der Fraktionen: Ber. N 4.86 Gef. N I. Frakt. 5.05, II. Frakt. 4.88, III. Frakt. 4.81, IV. Frakt. 5.15.

$\text{C}_9\text{H}_{16}\text{O}_8\text{NNa}$  (288.2) Ber. C 37.51 H 5.25 N 4.86 Na 7.98

Gef. C 37.38 H 5.28 N 4.88 Na 7.64

$[\alpha]_D^{20}$ :  $-15^\circ$  (Wasser;  $c=1$ ) (10 Min. nach Auflös.)  $\rightarrow [\alpha]_D^{20} \sim +19^\circ$  (nach 120 Stdn.).

Die spez. Drehung erreicht in saurer Lösung einen Endwert von  $[\alpha]_D^{25}$ :  $+29.7^\circ$ . Aus dem Glucose-Gehalt berechnet sich ein Endwert von  $[\alpha]_D^{25}$ :  $+30.4^\circ$ .

<sup>5)</sup> Biochimia (russ.) 6, 113 [1941].

Natriumsalz des *N,N'*-Bis-glucosido-*d,l*-lysins: Die Darstellung der Verbindung erfolgt analog, wie sie für das Natriumsalz des *N*-Glucosido-glykokolls angegeben ist.

3.6 g *d*-Glucose und 800 mg *d,l*-Lysin werden in 25 ccm Wasser gelöst. Durch Zugabe von 1.2 g Natriumhydrogencarbonat wird der  $p_H$ -Wert der Lösung auf 8.5–8.8 gebracht. Zur Isolierung wird der trockne Sirup mit 150 ccm absol. Methanol in 3 Fraktionen extrahiert und die vereinigten Auszüge fraktioniert gefällt.

- |   |             |             |
|---|-------------|-------------|
| 1. Frakt. (mit absol. Äthanol gefällt) . . . . .    | Gef. N 5.23 |             |
| 2. Frakt. (mit Äthanol-Äther 2:1 gefällt) . . . . . | „ N 5.18    | Ber. N 5.68 |
| 3. Frakt. (mit Äther gefällt) . . . . .             | „ N 5.40    |             |
| 4. Frakt. (mit Äther gefällt) . . . . .             | „ N 5.02    |             |

Ausb. 85–90% d. Theorie.

$C_{18}H_{33}O_{12}N_2Na$  (492.7) Ber. C 43.88 H 6.75 N 5.68 Na 4.67

Gef. C 43.95 H 6.88 N 5.40 Na 4.60 (Frakt. 3)

„ C 43.88 H 6.23 N 5.60 (Frakt. 1 u. 2 nochmals aus

Methanol und Äther umgefällt)

$[\alpha]_D^{25}$ : –34.5° (Wasser;  $c = 1.15$ ).

#### Drehwertsänderungen der Lösungen

I.) von 1-Fluor- $\beta$ -*d*-glucose i. Ggw. von Natriumhydrogencarbonat in Wasser,

II.) von 1-Fluor- $\beta$ -*d*-glucose i. Ggw. von Glykokoll bzw. *d,l*-Serin und Natriumhydrogencarbonat in Wasser,

III.) von *d*-Glucose, Glykokoll und Natriumhydrogencarbonat in Wasser

Temp.	Zeit		I	IIa	IIb	III
	Stdn.	Min.	180 mg Fluor-glucose, 90 mg NaHCO <sub>3</sub> , 5 ccm H <sub>2</sub> O [ $\alpha$ ] <sub>D</sub>	180 mg Fluor-glucose, 750 mg Glykokoll, 180 mg NaHCO <sub>3</sub> , 5 ccm H <sub>2</sub> O [ $\alpha$ ] <sub>D</sub>	180 mg Fluor-glucose, 105 mg <i>d,l</i> -Serin, 180 mg NaHCO <sub>3</sub> , 5 ccm H <sub>2</sub> O [ $\alpha$ ] <sub>D</sub>	180 mg <i>d</i> -Glucose, 750 mg Glykokoll, 90 mg NaHCO <sub>3</sub> , 5 ccm H <sub>2</sub> O [ $\alpha$ ] <sub>D</sub>
24°	0	20	+26°	+26°	+26°	+71°
	1	25	+30°	+30°	+30°	+51.8°
	3	45	+34.8°	+34.5°	+34.6°	+51.6°
	6	45	+38.5°	+38.7°	+38.5°	+51.0°
	9		+39.2°	+39.5°	+39.2°	+51.0°
	16		+43.3°	+43.0°	+42.5°	+50.2°
	21		+44.7°	+43.7°	+43.1°	+50.2°
	25		+45.5°	+44.6°	+44.8°	+50.3°
	43		+46.7°	+46.0°	+45.0°	+50.0°
	163		+46.7°	+46.0°	+45.0°	+50.0°

Die Drehwerte von I und II sind wenig, aber eindeutig geringer als die von III. Es wurde bisher nicht untersucht, ob dies auf eine in geringem Umfange aufgetretene Bildung von Lävoglucosan ( $[\alpha]_D^{25}$ : –67°) zurückzuführen ist<sup>6)</sup>.

<sup>6)</sup> F. Micheel u. A. Klemer, B. 85, 187 [1952].