

FRITZ MICHEEL und ALBERT HEESING

Über die Stabilität der *N*-Glykoside, insbesondere der Guanidin-glykoside und der Nucleoside

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Münster i.W.

(Eingegangen am 28. November 1960)

Die Stabilität der *N*-Glykoside ist in hohem Maße abhängig von der Substitution des *N*-Atoms. Einbeziehung des glykosidischen *N*-Atoms in ein Resonanzsystem, wie es insbesondere im folgenden an Guanidinsystemen gezeigt wird, erhöht die Stabilität so stark, daß weitgehende Resistenz gegen durch H-Ionen katalysierte Hydrolyse eintritt. Dies erklärt auch die relativ hohe Stabilität der *N*-glykosidischen Bindung in den Ribo- und 2-Desoxyribo-nucleosiden.

Die gegenüber den einfachen aliphatischen und aromatischen *N*-Pyranosiden und *N*-Furanosiden der Zucker ungewöhnlich hohe Stabilität der Purin- und Pyrimidinykoside der *D*-Ribose und sogar der 2-Desoxy-*D*-ribose in den Nucleosiden gegenüber Säuren ist im wesentlichen auf eine Einbeziehung des glykosidischen *N*-Atoms in das Resonanzsystem der Ringsysteme von deren Aglykonen zurückzuführen. Dies wurde bereits früher¹⁾ von dem einen von uns betont (F. M.). Wir berichten im folgenden eingehender über die Befunde.

Tab. 1. Bedingungen für vollständige Hydrolyse von β -*N*-Glykosiden bei 100°, wenn nicht anders angegeben.

Zucker	Adenin-9-glykoside	Uracil-3-glykoside
2-Desoxy- <i>D</i> -ribofuranose	0.002 <i>n</i> HCl; 1 Stde. ^{a)}	0.2 <i>n</i> HCl; 2 Stdn. ^{b)}
<i>D</i> -Ribofuranose	0.1 <i>n</i> HCl; 1 Stde. ^{c)}	125°; 3 <i>n</i> HCl; 4 Stdn. ^{d)}
<i>D</i> -Ribopyranose	1 <i>n</i> HCl; 6 Stdn. ^{e)}	„stabil“ ^{f)}
<i>D</i> -Glucopyranose	1 <i>n</i> HCl; 6 Stdn. ^{g)}	stabil gegen 25-proz. Schwefelsäure bei 150° ^{h)}

a) C. TAMM, M. E. HODES und E. CHARGAFF, *J. biol. Chemistry* 195, 49 [1951].

b) H. S. SHAPIRO und E. CHARGAFF, *Biochim. biophysica Acta* [Amsterdam] 23, 451 [1957].

c) P. A. LEVENE und W. A. JACOBS, *Ber. dtsh. chem. Ges.* 42, 2469, 2703 [1909].

d) P. A. LEVENE und W. A. JACOBS, *Ber. dtsh. chem. Ges.* 44, 1027 [1911].

e) J. BADDILEY, G. W. KENNER, B. LYTHGOE und A. R. TODD, *J. chem. Soc. [London]* 1944, 657.

f) G. E. HILBERT und C. E. RIST, *J. biol. Chemistry* 117, 371 [1937].

g) E. FISCHER und B. HELFERICH, *Ber. dtsh. chem. Ges.* 47, 210 [1914].

h) G. E. HILBERT und T. B. JOHNSON, *J. Amer. chem. Soc.* 52, 4489 [1930].

Die Säurebeständigkeit der *N*-Glykoside ist in gleicher Art von der Konstitution des Zuckerrestes (pyranoid, furanoid, ketosid u. a.) abhängig wie bei den *O*-Glykosiden²⁾. Kinetische Messungen fehlen hier aber weitgehend oder beschränken sich auf die Beobachtung des Drehwerts bei der Hydrolyse. Da aber fast immer mehrere Reaktionen — oft mit ähnlicher Geschwindigkeit — nebeneinander verlaufen, ist

¹⁾ Diskussionsbemerkung zum Vortrag TH. REICHSTEIN auf dem Internat. Kongreß für Biochemie, Symposium über Kohlenhydratchemie biologischer Substanzen, Wien, 1.—6. September 1958.

²⁾ F. SHAFIZADEH, *Advances Carbohydrate Chem.* 13, 24 [1958].

dies Verfahren nicht eindeutig. Häufiger findet man Angaben über Bedingungen für die vollständige Hydrolyse von *N*-Glykosiden, die zumindest eine näherungsweise Einstufung ermöglichen. Dies zeigt Tab. 1 für zwei Aglykon-Typen und verschiedene Zuckerreste. Es handelt sich um β -*N*-Glykoside; die α -Formen sind meist unbekannt.

Auch bei den *N*-Glykosiden verringert das Fehlen einer Hydroxylgruppe am C-2 des Zuckers die Stabilität am meisten. Der Unterschied zwischen *N*-Furanosiden und *N*-Pyranosiden ist kleiner als bei den entsprechenden *O*-Glykosiden, derjenige zwischen verschiedenen *N*-Pyranosiden ist nicht zu erkennen.

Der Einfluß des Aglykons auf die Hydrolysenbeständigkeit ist schwieriger zu deuten. Eine empirische Regel³⁾ forderte eine Parallelität von Basizität des Aglykons und Hydrolysegeschwindigkeit, da letztere folgende Abstufung zeigt: *N*-Glykosid eines aliphatischen Amins \cong Aminosäure und deren Ester \gg aromatisches Amin $>$ Säureamid \cong Harnstoff, Thioharnstoff. Die Regel setzt somit voraus, daß die Einführung des Zuckerrestes die Basizität aller Aglykone in gleicher Weise herabsetzt. Sie versagt bei den *N*-Glykosiden der tertiären Amine, deren gegen Säuren beständige Glykoside⁴⁾ ein quartäres N-Atom enthalten, das kein freies Elektronenpaar mehr besitzt.

Auch auf die Guanidin-glucoside, die, wie wir früher fanden, bei 20° zwischen pH 1 und pH 12 beständig sind⁵⁾, trifft sie nicht zu. Die vollständige Spaltung dieser letzteren, wie sie zur Kohlenhydratbestimmung nach der Orcin-Methode⁶⁾ erforderlich ist, wird erst durch vierstündiges Erhitzen in 2*n* H₂SO₄ („Vorhydrolyse“, vgl. l. c.⁵⁾) erreicht, nicht durch die bei der Orcin-Methode sonst angewandte 60-proz. Schwefelsäure. Wir führen diese außerordentliche Stabilität auf das Einbeziehen des glykosidischen N-Atoms in das Resonanzsystem des Guanidinium-Ions zurück (siehe weiter unten). Die einzelnen experimentellen Befunde zeigt Tab. 2.

Tab. 2. Nach der Orcin-Methode⁶⁾ gefundener Kohlenhydratgehalt in % d. Th.

	ohne Vorhydrolyse ⁵⁾	mit Vorhydrolyse ⁵⁾
[1- α -D-Glucosyl-guanyl]-glycin	84	90
[1- β -D-Glucosyl-guanyl]-glycin (I)	74	84
[1- β -D-Glucosyl-guanyl]-glycyl-glycin ⁷⁾	82	88
[1- β -D-Glucosyl-guanyl]- β -alanin	95	96
3-[1- β -D-Glucosyl]-4-oxo-2-imino- imidazolidin (VIII b)	2 bis 3	38
3-[1- β -D-Glucosyl]-4-oxo-2-imino-hexahydro- pyrimidin (X b)	8	68

Da selbst das Verfahren der „Vorhydrolyse“ beim [1- β -D-Glucosyl-guanyl]-glycin (I)⁷⁾ nur zu einer teilweisen Spaltung der *N*-glykosidischen Bindung führte (Tab. 2 und Anm.⁵⁾), wurden die Reaktionsprodukte chromatographisch an Kohle/Kieselgur- und an Cellulose-Säulen getrennt. Neben den erwarteten Spaltstücken — D-Glucose

³⁾ E. MITTS und R. M. HIXON, J. Amer. chem. Soc. **66**, 483 [1944].

⁴⁾ P. KARRER und J. TER KUILE, Helv. chim. Acta **5**, 870 [1922].

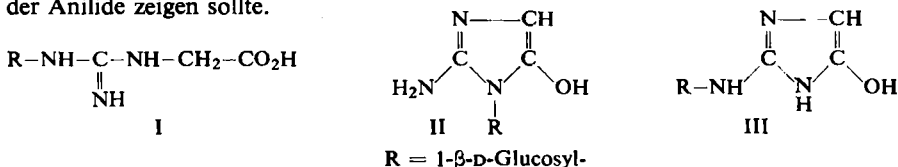
⁵⁾ F. MICHEEL und A. HEESING, Liebigs Ann. Chem. **604**, 34 [1957].

⁶⁾ M. SÖRENSEN und G. HAUGAARD, Biochem. Z. **260**, 247 [1933], modifiziert nach: F. MICHEEL und F.-P. VAN DE KAMP, Chem. Ber. **85**, 1096 [1952].

⁷⁾ F. MICHEEL und W. BERLENBACH, Chem. Ber. **85**, 189 [1952].

und Guanidino-essigsäure bzw. deren Anhydrid Glykocyamidin — wurden unverändertes Ausgangsmaterial (I) und ein Isomeres hiervon isoliert. Seine Struktur als α -Form von I ergab sich insbesondere aus dem Verlauf der Drehwertsänderung bei der Säurehydrolyse. Diese durchläuft zunächst ein Minimum, was durch die relativ schnelle Inversion bewirkt wird, um bei fortschreitender Hydrolyse demselben Endwert wie I zuzustreben.

Wie schon früher gezeigt⁵⁾, entstand bei dieser Reaktion auch ein Anhydrid von I. Seine hohe Beständigkeit gegen Säuren (Tab. 2) sprach für die Formel II, die an die der Nucleoside erinnert, während ein Stoff der Formel III die viel schnellere Hydrolyse der Anilide zeigen sollte.



Die Struktur II konnte durch Synthese folgendermaßen bewiesen werden: Die Cyclisierung des Ausgangsstoffes, der *N'*-[1- β -D-Glucosyl]-thioureidoessigsäure (IV) nach gebräuchlicher Methode mit heißer Säure⁸⁾ führte zu weitgehender Hydrolyse. Dagegen bildete sich aus IV mit Acetanhydrid/Pyridin unter Ringschluß das Pentaacetat V. Die Abspaltung der Acetylgruppen mit Ammoniak in Methanol führte unter Ringöffnung zum *N'*-[1- β -D-Glucosyl]-thioureido-acetamid (VI a). Bei der Zemplén-Verseifung trat die alkoholische Ringspaltung zum Methylester VI b von IV zurück und das 3-[1- β -D-Glucosyl]-2-thiohydantoin (VII) ließ sich gut abtrennen.

Die Methylierung am Schwefel erfolgte durch Methyljodid über das mit Natrium-methylat gebildete Natriumsalz. Die Umsetzung des cyclischen Isothioharnstoff-Derivats mit Ammoniak erforderte höhere Temperaturen und führte, wie von einfacheren Beispielen bekannt⁹⁾, zu starker Verharzung. Das durch Chromatographie isolierte 3-[1- β -D-Glucosyl]-4-oxo-2-imino-imidazolidin (VIII b) war mit dem bei der Säurebehandlung von I entstehenden Anhydrid identisch.

Zur präparativen Darstellung von VIII b erwiesen sich die Behandlung von I mit Acetanhydrid/Pyridin, die zum 3-[Tetraacetyl-1- β -D-glucosyl]-4-oxo-2-imino-imidazolidin (VIII a) führte, und dessen Entacetylierung mit Ammoniak in Methanol zu VIII b als geeignet, da hier im Gegensatz zu der analogen Behandlung von V der Ring erhalten blieb.

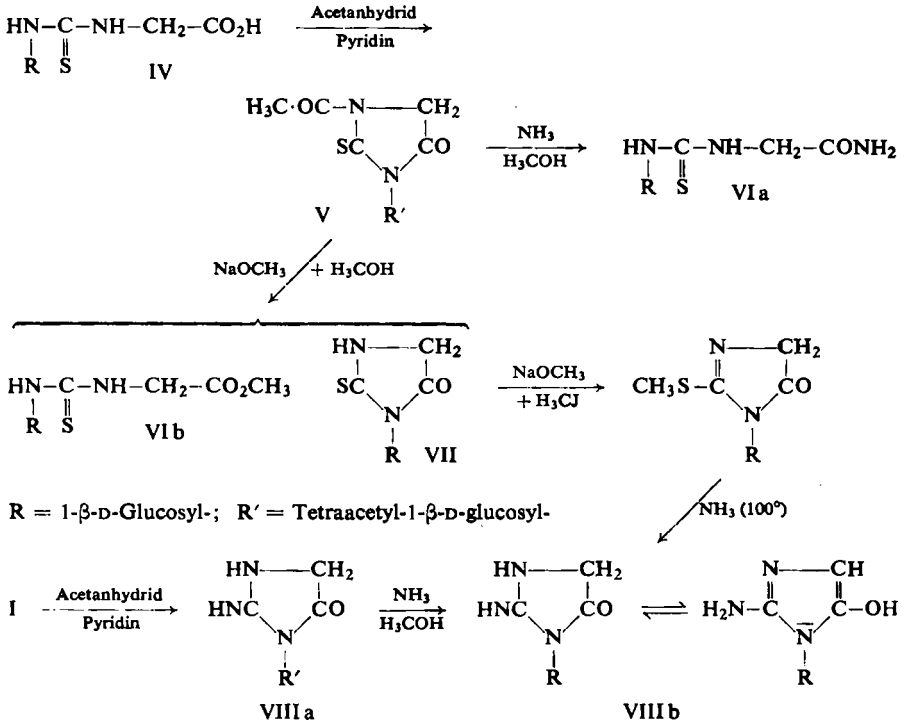
Neben hydrolytischer Abspaltung des Glucoserestes, Inversion und Ringschluß erfolgte bei der Säurebehandlung von I auch Hydrolyse des Guanidinsystems selbst. Das dabei gebildete Glycin wurde als *N*-[2,4-Dinitro-phenyl]-glycin¹⁰⁾ isoliert. Diese Reaktion mußte am intakten *N*-Glucosid erfolgt sein, da Guanidino-essigsäure unter diesen Bedingungen nicht reagiert (Tab. 3). Wie die anderen Beispiele zeigen, setzen besonders hydroxylgruppenhaltige Substituenten die Stabilität der Guanidinogruppe gegenüber Säuren herab.

⁸⁾ K. M. HARING und T. B. JOHNSON, J. Amer. chem. Soc. 55, 395 [1933].

⁹⁾ T. B. JOHNSON und B. H. NICOLET, J. Amer. chem. Soc. 37, 245 [1915].

¹⁰⁾ F. SANGER, Biochem. J. 39, 507 [1945].

Die diesen Befunden widersprechende ältere Angabe¹¹⁾, daß die *N'*-Phenyl-guanidinoessigsäure durch verd. Salzsäure vollständig zu Glycin abgebaut wird, ist nach unseren Befunden wohl auf eine Verwechslung der Hydrochloride des Glycins und des bei der Säurebehandlung durch Ringschluß im wesentlichen entstehenden Phenylglykocyamidins zurückzuführen.



R = 1-β-D-Glucosyl-; R' = Tetraacetyl-1-β-D-glucosyl-

Zur Synthese der substituierten Guanidinoessigsäuren versuchten wir, Thioureidoessigsäure-äthylester aus Glycin-äthylester-hydrochlorid und Kaliumrhodanid in siedendem Äthanol herzustellen^{12,13)}. Das Reaktionsprodukt vom Schmp. 65° erwies sich jedoch als der rhodanwasserstoffsäure Glycinäthylester, wie die Rotfärbung mit

Tab. 3. Bildung von Glycin bei der Säurebehandlung („Vorhydrolyse“) von Guanidino-essigsäure-Derivaten des Typs $\text{R} \cdot \text{NH} \cdot \text{C} \cdot \text{NH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO}_2\text{H}$

R	Glycin in % d. Th.	R	Glycin in % d. Th.
H	0	Phenyl	0.7
Methyl	Spur	β-Hydroxy-äthyl	3.5
n-Butyl	Spur	1-β-D-Glucosyl (I)	7

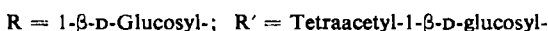
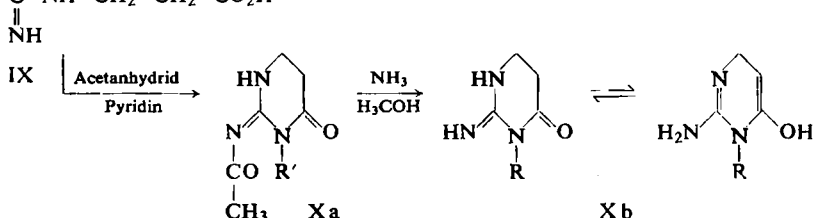
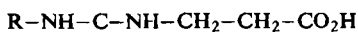
11) F. BERGER, Ber. dtsch. chem. Ges. 13, 992 [1880].

12) C. HARRIES und M. WEISS, Liebigs Ann. Chem. 327, 355 [1903].

13) Methoden d. organ. Chemie (Houben-Weyl), 4. Aufl., Bd. IX, S. 889, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1955.

Eisen(III)-Ionen, die Reaktion mit Äthylbromid zu Äthylrhodanid und die Identität des erhaltenen Pikrats mit dem des Glycinäthylesters bewiesen. Die Umlagerung gelang erst bei etwa 170° in der Schmelze, wobei gleichzeitig Ringschluß zum 2-Thiohydantoin eintrat.

Die auffallende Erhöhung der Hydrolysenbeständigkeit beim Übergang der offenkettigen Form I zum cyclischen Derivat VIII b wurde auch beim nächst höheren Homologen, dem Derivat des β -Alanins gefunden. Das [1- β -D-Glucosyl-guanyl]- β -alanin (IX), aus *S*-Äthyl-*N*-[1- β -D-glucosyl]-isothioharnstoff⁷⁾ und β -Alanin zugänglich, wurde bei der Hydrolyse vollständig gespalten. Bildung eines 6gliedrigen Ringes war hier zunächst, wie bei der unsubstituierten β -Guanidino-propionsäure, nicht zu erwarten. Man kann den Ringschluß jedoch wie bei I mit Acetanhydrid/Pyridin erreichen. Über das cyclische Pentaacetat Xa (die Stellung der fünften Acetylgruppe ist unbekannt) erhält man nach Abspaltung der Acetyl-Reste das 3-[1- β -D-Glucosyl]-4-oxo-2-imino-hexahydro-pyrimidin (Xb). Dies *N*-Glucosid zeigt fast die gleiche hohe Säurebeständigkeit wie das Imidazolidin-Derivat VIII b (Tab. 2), woraus auf die Verknüpfung des D-Glucose-Restes mit dem N-3 des Ringes zu schließen ist.



Aus diesen Ergebnissen und älteren Befunden ist es möglich, eine Deutung des Zusammenhanges zwischen der Substitution und Bindungsart des glykosidischen N-Atoms mit der Hydrolysen-geschwindigkeit zu geben. Die Bindung des katalysierenden Protons erfolgt primär durch das einsame Elektronen-paar am Stickstoff (XI); bei der Ringöffnung wird es aber wieder abgespalten. Wird es vom Stickstoff sehr fest gebunden, so tritt keine oder nur sehr langsame Hydrolyse ein. Deshalb werden z. B. die Glykosyl-amine bei pH 4 schneller als im stärker sauren Gebiet gespalten, in dem sie vollständig als Ammoniumsalze vorliegen¹⁴⁾.

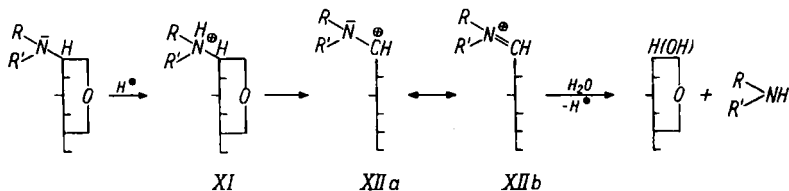
Entscheidend ist aber die Stabilisierung des intermediär gebildeten Ions XII¹⁵⁾, dessen mesomere Grenzstrukturen XIIa und XIIb sind. Diese Mesomerie wird umso weniger ins Gewicht fallen, je stärker das freie Elektronen-paar am Stickstoff durch Mesomerie in ein Elektronensystem des Aglykons einbezogen ist.

Die Einführung eines aromatischen Substituenten am N-Atom, besonders aber einer Acylgruppe ($\text{C}=\text{O}$) wird das Elektronen-paar des Stickstoffs weitgehend in die Mesomerie einbeziehen, so daß z. B. die Anilide und die Harnstoff-glykoside gegen Säuren in wachsendem Maße beständig sind.

¹⁴⁾ H. S. ISBELL und H. L. FRUSH, J. org. Chemistry **23**, 1309 [1958].

¹⁵⁾ R. KUHN und L. BIRKOFER, Ber. dtsh. chem. Ges. **71**, 1535 [1938].

Die erwähnte ältere empirische Regel³⁾, die eine Parallelität von Basizität des *N*-Aglykons und Hydrolysesgeschwindigkeit fordert, ist hierin enthalten. Eine Beteiligung des Elektronenpaares am Stickstoff an einem Resonanzsystem im Aglykon setzt nämlich sowohl seine Tendenz, ein Proton zu binden herab als auch die Möglichkeit, sich an der Mesomerie XII a \leftrightarrow XII b zu beteiligen. Bei rein aliphatischen Substituenten am N-Atome tritt keine Mesomerie mit dessen Elektronenpaar auf: diese *N*-Glykoside werden am leichtesten hydrolysiert.



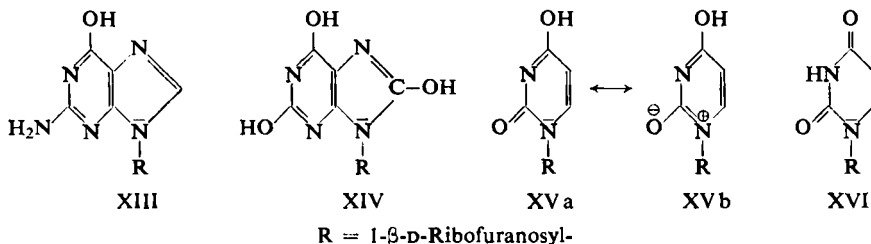
Als Sonderfall sind die *N*-Glykoside der tertiären Amine anzusehen, die als quartäre Basen kein Proton an den Stickstoff anlagern können. Die zu ihrer Hydrolyse erforderliche Addition des Protons an den Ringsauerstoff des Zuckerrestes wird durch die positive Ladung am Stickstoff unmöglich gemacht; die Mesomerie XII a \leftrightarrow XII b ist ausgeschlossen. Dementsprechend sind diese *N*-Glykoside gegen Säuren beständig⁴⁾. Die hier untersuchten offenkettigen Guanidin-glucoside liegen schon in schwach saurer Lösung vollständig als Guanidiniumsalze vor mit infolge der hohen Mesomerie im Ion (im Gegensatz zum nichtprotonierten Guanidin) geringer Tendenz zur Abspaltung eines Protons, die zur Ringöffnung und zur Stabilisierung des Ions XII durch Mesomerie erforderlich ist. Sie sind nächst den quartären Basen die stabilsten *N*-Glykoside mit acyclischem Aglykon.

Das heterocyclische Guanidin-Derivat VIII b kann in der einen tautomeren Form als acyliertes Guanidin, in der anderen als aromatisches Imidazol aufgefaßt werden. Diese Beanspruchung des Elektronenpaares am Stickstoff durch Einbeziehung in das Acylguanidin bzw. aromatische System erklärt die von allen Guanidin-glucosiden höchste Säure-resistenz dieses Stoffes (Tab. 2). Beim Pyrimidin-Derivat X b wird dagegen eine Aromatisierung auch in den tautomeren Formen nicht erreicht, doch bewirkt die Einbeziehung des glykosidischen N-Atoms in die Mesomerie mit der Carbonylgruppe einen erheblichen Anstieg der Beständigkeit gegenüber den offenkettigen Derivaten (Tab. 2).

Unsere Befunde führen zu einer eindeutigen Klärung der Frage der ungewöhnlich großen Beständigkeit der Nucleoside. An sich sollte man bei *Ribo-furanosiden* und besonders *2-Desoxy-ribo-furanosiden* eine besonders leichte Hydrolysierbarkeit mit H-Ionen erwarten, sofern man die Ergebnisse an *O*-Glykosiden als Parallele heranziehen könnte. Dies ist jedoch nicht der Fall. Der Grund hierfür ist die Einbeziehung des einsamen Elektronenpaares am glykosidischen N-Atom in die aromatischen Purin-Systeme (z. B. XIII). Diese Resonanzstabilisierung wird durch eine Hydroxylgruppe am C-8 des Purinsystems noch gesteigert, wie das Harnsäure-9-D-ribofuranosid (XIV¹⁶⁾ zeigt, das gegenüber anderen Purin-Nucleosiden (z. B. XIII, Guanosin) in gleicher Art stabilisiert ist, wie dies beim Derivat X b besprochen wurde.

¹⁶⁾ A. R. DAVIS, E. B. NEWTON und S. R. BENEDIKT, J. biol. Chemistry 54, 595 [1922].

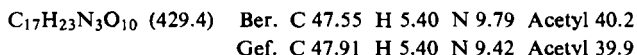
Bei den *Pyrimidin*-Nucleosiden hat der Ring, wie beim Imidazol-Derivat VIII b, aromatischen Charakter (Uridin, XV), wobei das glykosidische N-Atom in der Grenzstruktur XVb quartär ist, so daß, wie bei den *N*-Glykosiden tertiärer Amine (quartäre Basen), die Annäherung eines Protons an das O-Atom des Zuckerringes außerordentlich erschwert ist. Die *Pyrimidin*-Nucleoside zeigen deshalb die höchste Resistenz aller *N*-Glykoside gegen Säuren. Durch katalytische Hydrierung wird diese



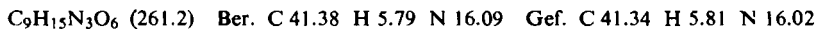
Konjugation jedoch unterbrochen. Die hydrierten Derivate (4,5-Dihydro-uridin, XVI) sind daher viel leichter spaltbar¹⁷⁾. Es ergibt sich nunmehr also ein klares Bild vom Verhalten der *N*-Glykoside, insbesondere auch der Nucleoside, bei der Hydrolyse mit Säuren.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

3-[Tetraacetyl-1-β-D-glucosyl]-4-oxo-2-imino-imidazolidin (VIIIa): 3.0 g I werden mit der Mischung von je 15 ccm absol. Pyridin, Eisessig und *Acetanhydrid* bis zur völligen Lösung etwa 15 Stdn. geschüttelt. Dann wird in Eiswasser eingerührt und das Reaktionsprodukt nach 2 Stdn. mit CHCl_3 extrahiert. Die Chloroformlösung wird mit verd. Schwefelsäure und NaHCO_3 -Lösung von Pyridin und Eisessig befreit, mit Na_2SO_4 getrocknet und i. Vak. zum Sirup eingengt, der sofort in wenig Methanol gelöst wird. Der bald auskristallisierende Stoff wird nach kurzem Aufbewahren bei 0° abgesaugt. Ausb. 2.8 g (60% d. Th.). Umkristallisiert wird aus absol. Methanol. Schmp. 168°; $[\alpha]_D^{20}$: -14.3° (in CHCl_3 , $c = 2$).



3-[1-β-D-Glucosyl]-4-oxo-2-imino-imidazolidin (VIIIb): Die Lösung von 2.0 g VIIIa in 10 ccm mit NH_3 gesättigtem absol. Methanol bleibt eine Nacht bei 20° stehen. Nach Einengen i. Vak. wird der Rückstand mehrmals mit absol. Methanol bis zur Kristallisation verrieben. Umkristallisiert wird aus Wasser unter Zusatz von Propanol-(2) und Aceton. Ausb. 2.0 g (60% d. Th.). Die Jaffé-Reaktion¹⁸⁾ ist positiv, bei der Fehlingschen Probe erfolgt unter Verfärbung eine braune Fällung; die wäßrige Lösung reagiert neutral. Schmp. 220° (Zers.); $[\alpha]_D^{20}$: -46.7° (in Wasser, $c = 2$).



[1-β-D-Glucosyl-guanyl]-β-alanin (IX): Die Lösung von 23.4 g *S-Äthyl-N-[1-β-D-glucosyl]-isothioharnstoff-hydrobromid*⁷⁾, 6.0 g β-Alanin und 2.7 g NaOH in 60 ccm Wasser wird 2 Tage bei 20° aufbewahrt, sodann mit verd. Bromwasserstoffsäure neutralisiert und i. Vak. zum Sirup eingengt. Das Reaktionsprodukt wird mit Propanol-(2) ausgefällt, in wenig Wasser

¹⁷⁾ P. A. LEVENE und F. B. LA FORGE, Ber. dtsh. chem. Ges. 45, 608 [1902].

¹⁸⁾ M. JAFFÉ, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 48, 438 [1906].

gelöst und erneut ausgefällt. Bei nochmaliger Wiederholung des Prozesses tritt Kristallisation ein. Ausb. 9.0 g (45% d. Th.); Schmp. 228° (Zers.); $[\alpha]_D^{20}$: -87.9° (in Wasser, $c = 2$).

$C_{10}H_{19}N_3O_7$ (293.3) Ber. C 40.95 H 6.53 N 14.33 Gef. C 40.92 H 6.49 N 14.67

Nach Vorhydrolyse wurden mit der Sakaguchi-Reaktion (zur Durchführung siehe l. c.⁵⁾ 45% β -Guanidino-propionsäure (ber. 45.8%) gefunden.

3-[1- β -D-Glucosyl]-4-oxo-2-imino-hexahydro-pyrimidin-pentaacetat (Xa): 3.0 g feingepulvertes IX werden mit der Mischung von je 15 ccm absol. Pyridin, Eisessig und Acetanhydrid unter Schütteln bis zur Lösung auf dem Dampfbad erwärmt. Aufgearbeitet wird wie VIIIa. Ausb. 2.5 g (50% d. Th.); Schmp. 165°; $[\alpha]_D^{20}$: -8.5° (in Chlf., $c = 2$).

$C_{20}H_{27}N_3O_{11}$ (485.4) Ber. C 49.49 H 5.61 N 8.66 Acetyl 43.3
Gef. C 49.36 H 5.60 N 8.68 Acetyl 44.6

3-[1- β -D-Glucosyl]-4-oxo-2-imino-hexahydro-pyrimidin (Xb) wird aus Xa analog wie VIII b aus VIIIa erhalten. Ausb. 60% d. Th.; Schmp. 197° (Zers.); $[\alpha]_D^{20}$: -69.0° (in Wasser, $c = 2$). Da Xb hygroskopisch ist, wurde sein Monohydrat analysiert. Dies bildet sich beim Lagern an der Luft (Gewichtszunahme: ber. 6.54%, gef. 6.79%) und gibt sein Wasser beim Trocknen über P_2O_5 bei 56°/0.1 Torr ab (Gewichtsabnahme: ber. 6.14%, gef. 6.09%).

$C_{10}H_{17}N_3O_6 \cdot H_2O$ (293.3) Ber. C 40.95 H 6.53 N 14.33
Gef. C 40.53 H 6.17 N 14.18

N'-[1- β -D-Glucosyl]-thiohydantoinensäure (IV): Die Literaturvorschrift⁸⁾ ist erst nach folgender Abänderung reproduzierbar: Zur heißen Lösung von 10 g *N'*-[Tetraacetyl-1- β -D-glucosyl]-thiohydantoinensäure-äthylester in 150 ccm Äthanol gibt man die warme Lösung von 3.0 g KOH in 40 ccm Äthanol. Nach dem Abkühlen trennt man den Niederschlag ab, wäscht mit wenig Äthanol und löst sofort in 40 ccm Wasser. Man gibt 6n H_2SO_4 bis pH 1 zu, engt die Lösung nach kurzer Zeit i. Vak. auf 20 ccm ein und gießt sie in 200 ccm absol. Äthanol. Das sofort ausfallende K_2SO_4 wird abgesaugt, die Kristallisation von IV beginnt nach einigen Minuten, sonst beim Einengen der Lösung i. Vak. Ausb. 70 bis 80% d. Th. Zers.-P. (172–179°) und Drehwert ($[\alpha]_D^{20}$: -35.2° in Wasser, $c = 2$) entsprechen den Lit.-Angaben.

1-Acetyl-3-[tetraacetyl-1- β -D-glucosyl]-2-thio-hydantoin (V): 5.0 g IV werden mit der Mischung von je 25 ccm absol. Pyridin, Eisessig und Acetanhydrid eine Nacht bis zur Lösung geschüttelt. Aufgearbeitet wird wie bei VIIIa, jedoch wird aus Essigsäure-äthylester umkristallisiert. Das farblose Rohprodukt enthält $\frac{1}{2}$ Mol. Kristall-Essigester, der oberhalb des Schmelzpunktes abgeben (Gewichtsverlust: ber. 8.27%, gef. 8.20%), und beim Aufbewahren über Essigester unter spontaner Kristallisation wieder aufgenommen wird (Gewichtszunahme: ber. 9.02%, gef. 9.61%). Ausb. 15.3 g (85% d. Th.); Schmp. 95–99°; $[\alpha]_D^{20}$: -11.0° (in Chlf., $c = 2$). Das IR-Spektrum enthält keine NH-Bande.

$C_{19}H_{24}N_2O_{11}S \cdot \frac{1}{2}C_4H_8O_2$ (532.5) Ber. C 47.36 H 5.29 N 5.26 Acetyl 44.4 Äthoxyl 4.66
Gef. C 47.36 H 5.26 N 5.29 Acetyl 43.4 Äthoxyl 4.1

N'-[1- β -D-Glucosyl]-thioureido-acetamid (VIa): 2.0 g V werden in 20 ccm mit Ammoniak gesättigtem absol. Methanol gelöst. Nach Stehenlassen über Nacht bei 20° wird die tiefrote Lösung i. Vak. zum Sirup eingedampft, der beim Verreiben mit Äthanol durchkristallisiert. Der aus Wasser umkristallisierte Stoff enthält 1 Mol. Kristallwasser, das unterhalb des Zersetzungspunktes nur langsam abgegeben wird. Ausb. 0.85 g (72% d. Th.); Schmp. 153° (Zers.); $[\alpha]_D^{20}$: -30.9° (in Wasser, $c = 2$).

$C_9H_{17}N_3O_6S \cdot H_2O$ (313.3) Ber. C 34.49 H 6.11 N 13.42 S 10.23
Gef. C 34.58 H 6.07 N 13.34 S 9.92

N'-[1- β -D-Glucosyl]-thiohydantoin-säure-methylester (VIb) und 3-[1- β -D-Glucosyl]-2-thiohydantoin (VII): 5.0 g V werden mit dem Gemisch von 75 ccm absol. Methanol und 1.0 ccm 1*n* NaOCH₃ 1 Stde. geschüttelt. Die rote Lösung wird nach Stehenlassen über Nacht i. Vak. eingengt, wobei VIb auskristallisiert. Man kühlt einige Zeit auf 0° ab, saugt den Niederschlag scharf ab und kristallisiert ihn aus Äthanol um. Er enthält 1 Mol. Kristalläthanol, das bei 110° abgegeben wird (Gewichtsabnahme: ber. 12.93%, gef. 11.6%). Methoxyl nach Entfernung des Äthanol: gef. 10.5%, ber. 10.00%. Ausb. 0.8–1.0 g (25–30% d. Th.); Schmp. 104–106°; $[\alpha]_D^{20}$: –31.7° (in Wasser, *c* = 2).

C₁₀H₁₈N₂O₇S · C₂H₅OH (356.4) Ber. C 40.44 H 6.79 N 7.86 Methoxyl*) 17.41
Gef. C 40.28 H 6.67 N 7.22 Methoxyl*) 16.0

*) Der Kristallalkohol wurde auf Methoxyl umgerechnet.

Die nach dem Abtrennen von VIb verbleibende tiefrote Lösung wird mit HBr neutralisiert, wobei die Farbe nach Braun umschlägt, mit Aktivkohle behandelt, und i. Vak. zum Sirup eingengt. Beim Verreiben mit absol. Äthanol tritt Kristallisation ein. Ausb. 1.3 g (50% d. Th.). Das Umkristallisieren aus viel heißem Äthanol ist verlustreich (vgl. l. c.⁸⁾). Farbe, Zersetzungspunkt (228°) und Drehwert ($[\alpha]_D^{20}$: +23.1°, in Wasser, *c* = 1) entsprechen den Literaturangaben⁸⁾.

C₉H₁₄N₂O₆S (278.3) Ber. C 38.83 H 5.07 N 10.07 S 11.52
Gef. C 39.15 H 5.02 N 10.00 S 10.94

Der Stoff enthält keine Acetyl- oder Methoxyl-Gruppen.

3-[1- β -D-Glucosyl]-4-oxo-2-imino-imidazolidin (VIII b): 2.0 g VII werden in 50 ccm warmem absol. Methanol gelöst. Man versetzt mit 7.2 ccm 1*n* NaOCH₃, danach mit 0.9 ccm CH₃J und erhitzt 1.5 Stdn. auf dem Dampfbad unter Rückfluß. Die grüne Lösung wird i. Vak. eingengt, mit 4 ccm konz. wäßrigen Ammoniak versetzt und im Bombenrohr 6 Stdn. auf 100° erhitzt. In der tiefgefärbten Lösung ist VIIIb zu etwa 10% d. Th. enthalten. Es wird durch Chromatographie an einer Kohlesäule angereichert und durch präparative Papierchromatographie in reiner Form isoliert. Die experimentellen Angaben entsprechen denen der Fraktionierung der Hydrolysenprodukte von I. Es ist nach chromatographischem Verhalten, Drehwert ($[\alpha]_D^{20}$: –46.2°, in Wasser, *c* = 1), Schmp. (222°, Zers.) und IR-Spektrum mit II identisch.

S-Äthyl-*N*-carboxymethyl-isothioharnstoff-hydrobromid: Das Hydrobromid wurde in der üblichen Art aus Thioureido-essigsäure und Äthylbromid in absol. Äthanol hergestellt und aus Äthanol/Äther umkristallisiert. Schmp. 138° (Zers.).

C₅H₁₁BrN₂O₂S (243.1) Ber. Br 32.87 N 11.52 S 13.19 Gef. Br 32.40 N 11.40 S 13.81

N'-Methyl-guanidinoessigsäure, *N'*- β -Hydroxyäthyl-guanidinoessigsäure, *N'*-*n*-Butyl-guanidinoessigsäure: *S*-Äthyl-*N*-carboxymethyl-isothioharnstoff-hydrobromid und 4–6 Mol. des betreffenden Amins werden in konzentrierter wäßriger oder äthanolischer Lösung einen Tag bei 20° aufbewahrt. Das ausgefallene Reaktionsprodukt wird abgesaugt und aus Wasser unter Zusatz von Aceton umkristallisiert. Ausb. 55–65% d. Th. *N'*-Methyl-guanidinoessigsäure: Schmp. 231° (Zers.) (Lit.¹⁹⁾: 220°).

N'- β -Hydroxyäthyl-guanidinoessigsäure: Schmp. 208° (Zers.).

C₅H₁₁N₃O₃ (161.2) Ber. N 26.08 Gef. N 26.60

N'-*n*-Butyl-guanidinoessigsäure: Schmp. 230° (Zers.).

C₇H₁₅N₃O₂ (173.2) Ber. N 24.26 Gef. N 24.22

¹⁹⁾ G. KORNDÖRFER, Arch. Pharmaz. Ber. dtsh. pharmaz. Ges. **242**, 638 [1904].

N'-Phenyl-guanidinoessigsäure: 10.0 g *S*-Äthyl-*N*-phenyl-isothioharnstoff-hydrobromid²⁰), gelöst in wenig Wasser, werden mit der Lösung von 1.7 g NaOH und 3.3 g Glycin in 15 ccm Wasser versetzt. Nach 6 Stdn. bei 60° und anschließendem Abkühlen auf 0° wird das Produkt abgesaugt und durch Lösen in verd. Schwefelsäure und Fällen mit Ammoniaklösung gereinigt. Ausb. 2.4 g (32% d. Th.). Schmp. 256° (Zers.) (Lit.¹¹): 260°).

Nachweis von Glycin in den Hydrolyse-Produkten von substituierten Guanidinoessigsäuren: 5.0 g I (oder die äquimolare Menge einer anderen Guanidinoessigsäure) werden in 80 ccm 2*n* H₂SO₄ 4 Stdn. im Ölbad unter Rückfluß erhitzt. Die Umsetzung mit 1-Fluor-2,4-dinitrobenzol in Gegenwart von NaHCO₃ in wäbr. Äthanol sowie die Aufarbeitung erfolgt in der üblichen Art¹⁰). Das *N*-[2,4-Dinitro-phenyl]-glycin ist mit authent. Material identisch. Tab. 3 bringt die Ergebnisse in Prozent der bei völliger hydrolytischer Spaltung der Guanidino-Gruppe zu erwartenden Menge Glycin. Bei der Behandlung nicht mit verd. Schwefelsäure erhitzter Guanidinoessigsäuren wird kein *N*-[2,4-Dinitro-phenyl]-glycin gefunden.

Kohlenhydrat-Bestimmungen

Es wird nach der Orcin-Methode⁶) gearbeitet. Die Substanzen werden sowohl direkt als wäßrige Lösungen untersucht als auch nach „Vorhydrolyse“, wobei sie 4 Stdn. in 2*n* H₂SO₄ unter Rückfluß erhitzt werden. Die Ergebnisse — berechnet als Glucose — zeigt Tab. 2.

Abtrennung und Identifizierung der Hydrolysen- und Umwandlungs-Produkte von I: 3.0 g I werden im Ölbad 4 Stdn. in 45 ccm 2*n* H₂SO₄ unter Rückfluß erhitzt. Die mit Natronlauge neutralisierte Lösung wird auf eine Säule aus einem Gemisch von je 70 g Aktivkohle und Kieselgur (Merck) gegeben, die mit verd. NaCN-Lösung²¹), verd. Salzsäure und Wasser gewaschen war. Eluiert wird mit Äthanol steigender Konzentration. Mit 500 ccm Wasser wird Na₂SO₄ entfernt, danach mit 600 ccm 2-proz. Äthanol 1.24 g *D*-Glucose (ber. 1.94¹/₄g). Guanidinoessigsäure und Glykocyamidin werden mit 600 ccm 4-proz. Äthanol eluiert, anschließend mit 1200 ccm 10-proz. Äthanol etwa 0.9 g *N*-Glucosid-Gemisch. Letzteres kann an einer Cellulose-Säule mit dem Gemisch *n*-Butanol-(1)/Pyridin/Wasser (3:1:1) getrennt werden, sowie durch präparative Papierchromatographie an dem Karton Schleicher & Schüll 2071 mit dem Gemisch *n*-Butanol-(1)/Pyridin/Wasser (2:1:1). Das *N*-Glucosid-Gemisch enthält 3 Stoffe.

a) Durch Chromatographie wird das 3-[1-β-*D*-Glucosyl]-4-oxo-2-imino-imidazolidin (II) abgetrennt, das mit VIII b nach Schmp., Drehwert und IR-Spektrum identisch ist. Es ist in der Reaktionslösung zu etwa 4% d. Th. enthalten.

Eine zweite, chromatographisch kaum trennbare Fraktion läßt sich durch fraktionierte Kristallisation in zwei Stoffe zerlegen.

b₁) [*1*-α-*D*-Glucosyl-guanyl]-glycin, das in der Reaktionsmasse zu etwa 7% d. Th. vorliegt. Die hohe Kristallisationstendenz seines Monohydrats erleichtert die Isolierung. Das Kristallwasser wird beim Trocknen (P₂O₅, 0.1 Torr, 100°) abgegeben (Gewichtsabnahme: 6.06%, gef. 6.09%) und an der Luft wieder aufgenommen (Gewichtszunahme: ber. 6.45%, gef. 6.35%). Schmp. 183° (Zers.); [α]_D²⁰: +59.4° (in Wasser, *c* = 2).

C₉H₁₇N₃O₇·H₂O (297.3) Ber. C 36.36 H 6.44 N 14.14 Gef. C 36.54 H 6.37 N 13.80

b₂) unverändertes Ausgangsprodukt. Etwa 14% des eingesetzten I bleiben bei der Säurebehandlung unverändert.

α/β-Isomerisierung von I: 3.0 g I werden in 45 ccm 2*n* H₂SO₄ im Ölbad unter Rückfluß 10 Min. erhitzt. Die mit Natronlauge genau neutralisierte Lösung wird auf eine Säule

²⁰) H. GOLDSCHMIDT und K. H. GRINI, Z. Elektrochem. angew. physik. Chem. 19, 230 [1913].

²¹) G. SCHRAMM und J. PRIMOSIGH, Ber. dtsch. chem. Ges. 76, 373 [1943].

gegeben, die 200 g wie beschrieben vorbehandelter Kohle-Kieselgur-Mischung enthält. Mit 500 ccm Wasser und 600 ccm 4-proz. Äthanol werden Na_2SO_4 und geringe Mengen an Nebenprodukten eluiert, dann mit 1.2 / 10-proz. Äthanol die *N*-Glucoside. Zuerst erscheint in stark angereicherter Form das [1- α -D-Glucosyl-guanyl]-glycin, zum Schluß fast reines β -Isomeres (I), die durch Umkristallisieren aus Wasser unter Zusatz von Propanol-(2) rein erhalten werden.

GÜNTHER DREFAHL, GERHARD PLÖTNER und GÜNTHER BUCHNER

Untersuchungen über Stilbene, XL¹⁾

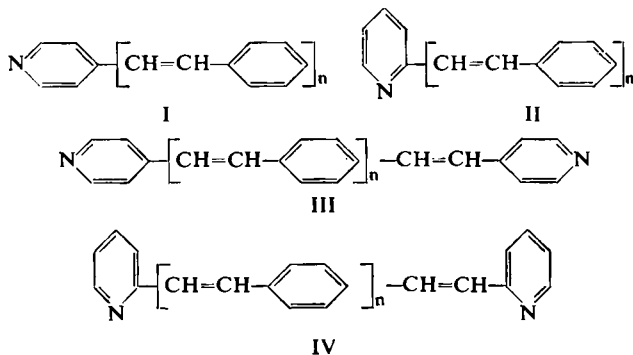
Konjugierte Stilbazole

Aus dem Institut für Organische Chemie und Biochemie der Universität Jena

(Eingegangen am 29. November 1960)

Die Darstellung von Stilbazolen auf verschiedenen Wegen wird beschrieben und das spektroskopische Verhalten dieser Verbindungen diskutiert.

Im Anschluß an die Darstellung der Polyphenylpolyene²⁾, bei denen besonders die rasche Konvergenz der Lichtabsorption mit steigender Gliederzahl auffiel, wurden höhere Homologe des Stilbazols bzw. des Bis-pyridyl-äthylens vom Bautyp I–IV



synthetisiert, um die Eigenschaftsänderungen bei Ersatz eines bzw. zweier Benzolkerne in den Polyphenylpolyenen durch Pyridin besonders hinsichtlich der Lichtabsorption und der Fluoreszenz zu untersuchen.

¹⁾ XXXIX. Mittel.: G. DREFAHL und G. PLÖTNER, Chem. Ber. 94, 907 [1961].

²⁾ G. DREFAHL und G. PLÖTNER, Chem. Ber. 91, 1274 [1958]; Chem. Ber. 94, 907 [1961].