

Helmut Simon, Günther Heubach und Hans Wacker

Zum Mechanismus der Osazonbildung¹⁾

Aus dem Chemischen Institut der Fakultät für Landwirtschaft und Gartenbau in Weihenstephan und dem Organisch-Chemischen Institut der Technischen Hochschule München

(Eingegangen am 20. Januar 1967)

Zu den verschiedenen in letzter Zeit postulierten Mechanismen der Osazonbildung wird Stellung genommen. Die Geschwindigkeit der Osazonbildung von Glykolaldehyd und sechs Derivaten sowie von Glucose, Mannose und Derivaten wird verglichen. Es wird gezeigt, daß eine intermolekulare Oxydoreduktion unter Beteiligung von Phenylhydrazin höchstwahrscheinlich auszuschließen ist und daß das Anilin keine entscheidende Rolle bei der Osazonbildung spielt. Die sogenannte intramolekulare Oxydoreduktion wird an verschiedenen Phenylhydrazonen studiert und in Analogie zum Mechanismus bei der Reduktonbildung von Zuckern mit Amininen als Anilin-Eliminierung aus einem „Azaallylsystem“ gedeutet. Diese Eliminierung ist auch basisch katalysierbar. Der reaktionsgeschwindigkeitsbestimmende Schritt der Osazonbildung ist sehr wahrscheinlich intramolekular. Phenylhydrazino-acetaldehyd-phenylhydrazon (**8a**) bildet auch in wasserfreiem Medium mit Essigsäure ohne Phenylhydrazin rasch Osazon in hoher Ausbeute. Daneben reagiert es vermutlich zu Benzolazoäthylen. Aus den acetylierten Formen von Mannose- und Glucose-phenylhydrazon bildet ersteres ca. zweimal rascher 1-Benzolazo-tetraacetoxy-*trans*-hexen-(1). Dieses läßt sich mit weiterem Phenylhydrazin zum Osazon umsetzen.

Dem Mechanismus der seit über 80 Jahren bekannten Reaktion von Phenylhydrazin mit α -Hydroxy-carbonylverbindungen zu den sog. Osazonen²⁾ wurden zahlreiche Untersuchungen gewidmet^{3–15)}. Die Diskussion dreht sich zur Zeit um drei Fragen (s. Formelschema). Vgl. auch l. c.¹⁶⁾

- 1) Die wesentlichen Ergebnisse dieser Arbeit wurden am 8. 7. 1966 in Tübingen vorgetragen, vgl. *H. Simon*, *Angew. Chem.* **79**, 65 (1967).
- 2) *E. Fischer*, *Ber. dtsch. chem. Ges.* **17**, 579 (1884); **20**, 821 (1887).
- 3) *F. Weygand, H. Simon und J. F. Klebe*, *Chem. Ber.* **91**, 1567 (1958).
- 4) *M. M. Shemyakin, V. I. Maimind, K. M. Ermolaev und E. M. Bamdas*, *Ber. Akad. Wiss. UsbekSSR* **128**, 564 (1959); *Chem. and Ind.* **1959**, 1195.
- 5) *H. Simon, K.-D. Keil und F. Weygand*, *Chem. Ber.* **95**, 17 (1962).
- 6) *F. Micheel und I. Dijong*, *Liebigs Ann. Chem.* **669**, 136 (1963).
- 7) *S. Kitaoka und Onodera*, *Kagaku-no-Ryoiki [J. Jap. Chem.]* **18**, 475 (1964).
- 8) *I. Dijong und F. Micheel*, *Liebigs Ann. Chem.* **684**, 216 (1965).
- 9) *M. M. Shemyakin, V. I. Maimind, K. M. Ermolaev und E. M. Bamdas*, *Tetrahedron [London]* **21**, 2771 (1965).
- 10) *H. Simon, H. D. Dorrer und A. Trebst*, *Chem. Ber.* **96**, 1285 (1963).
- 11) *W. C. Stickler*, Hauptversammlung der Gesellschaft Deutscher Chemiker Bonn, Sept. 1965.
- 12) *H. J. Haas und A. Seeliger*, *Chem. Ber.* **96**, 2427 (1963).
- 13) *F. Weygand*, *Ber. dtsch. chem. Ges.* **73**, 1284 (1940).
- 14) *V. C. Barry und P. W. D. Mitchell*, *Nature [London]* **175**, 220 (1955).
- 15) *C. J. Bloink und K. H. Pausacker*, *J. chem. Soc. [London]* **1952**, 661.
- 16) *H. El. Khadem*, *Advances Carbohydrate Chem.* **20**, 139 (1965).

1. Welcher der beiden von *Weygand*¹³⁾ vorgeschlagenen Wege (A bzw. B) wird beschritten?

2. Verläuft die „Oxydoreduktion“, falls **8** und/oder **9** Zwischenprodukte sind, *intramolekular* zu **10** bzw. **11** oder verläuft sie zwischen **8** oder **9** und einem 3. Molekül Phenylhydrazin *intermolekular* direkt zum Osazon **6**? Letzteres ist im wesentlichen die Ansicht von *Barry* und *Mitchell*¹⁴⁾, *Bloink* und *Pausacker*¹⁵⁾ sowie *Kitaoka* und *Onodera*⁷⁾. Eine Variante schlugen *Dijong* und *Micheel*⁸⁾ vor: **15** bzw. dessen tautomere Form **16** soll durch ein Molekül Phenylhydrazin *intermolekular* zu **17** dehydriert werden (Experimente mit 1-Anilino-4,6-*O*-benzyliden-1-desoxy-fructose-phenylhydrazon).

3. Erleidet das Phenylhydrazon **2** die Amadori-Umlagerung zu **7** oder bildet sich zunächst ein Anil **12** und daraus unter Amadori-Umlagerung **14**? Diesen Verlauf glauben *Micheel* und *Dijong* bewiesen zu haben⁶⁾. Sie nehmen an, daß schon geringe Mengen Anilin, die spontan aus Phenylhydrazin entstehen, die Reaktion einleiten; weiteres Anilin wird dann nachgeliefert.

*Stickler*¹¹⁾ schlug kürzlich aufgrund seiner Untersuchungen am Benzoin-phenylhydrazon vor, daß **2** intermediär in ein Kation mit einem „elektronenarmen Stickstoffatom“ **3** übergeht, und erblickte einen wesentlichen Beweis für **3** in der Bildung einer geringen Menge *p*-Nitro-phenylhydrazon aus Benzoin-phenylhydrazon in Gegenwart von *p*-Nitrilanilin.

Es ist nun für die derzeitige Situation kennzeichnend, daß *Shemyakin* und Mitarbb.⁹⁾ zu dem Schluß kommen, daß nur Weg A abläuft, während *Kitaoka*⁷⁾ das nur im Weg B vorkommende **9** als Schlüsselverbindung betrachtet, und *Dijong* und *Micheel*⁸⁾ die Produkte **12** bis **16**, die in beiden Wegen nicht vorkommen, als Zwischenprodukte annehmen.

Zu dem Ergebnis, daß zumindest teilweise Weg B beschritten wird, kommen *Haas* und *Seeliger*¹²⁾ aufgrund des bei der Osazonbildung aus Glucose, Mannose und Galaktose als Nebenprodukt entstehenden 3-[1.2.3.4-Tetrahydroxy-butyl]-cinnolins.

Unsere Versuche zur Osazonbildung aus 1-T-Glucose und 1-T-Mannose⁵⁾ bzw. aus nichtmarkierten Zuckern in HOT zeigten eine ausgeprägte Abhängigkeit des T-Verlustes bzw. des T-Einbaus von den nur wenig variierten Versuchsbedingungen. Wir schlossen daraus, daß nur die Reaktionsbedingungen bestimmen, ob Weg A, Weg B oder beide zugleich beschritten werden. Weiterhin nehmen wir an, daß die Formen **7** und **9** direkt aus **4** entstehen, wodurch Weg A und B verbunden werden.

Nach Beendigung unserer Experimente publizierten *Caglioti* und Mitarbb.¹⁷⁾ ohne experimentelle Einzelheiten die Osazonbildung aus 2-Phenylhydrazino-cyclohexanon-phenylhydrazon, das sie in reversibler Reaktion durch Addition von Phenylhydrazin an 1-Benzolazo-cyclohexen-(1) erhalten hatten. Letzteres entstand aus 2-Acetoxy-cyclohexanon-phenylhydrazon durch Essigsäure-Eliminierung. α,β -Ungesättigte Azoalkene wurden kürzlich¹⁸⁾ auch als Zwischenprodukte der Osazonbildung aus α -Halogenketonen erkannt. Wir postulierten ein solches Zwischenprodukt bei der Osazonbildung von **8a** in wasserfreiem Medium ohne Phenylhydrazin¹⁾. Hierauf wird weiter unten näher eingegangen.

¹⁷⁾ L. Caglioti, G. Rosini und F. Rossi, J. Amer. chem. Soc. **88**, 3865 (1966).

¹⁸⁾ J. Buckingham und R. D. Guthrie, Chem. Commun. [London] **1966**, 781.

Wir fragten uns nun, inwieweit die verschiedenen geäußerten Vorstellungen durch weitere Experimente geprüft werden können. Als Modellsubstanz wählten wir Glykolaldehyd (**1a**) und sechs Derivate (vgl. Tab. 1). Wir entschlossen uns insbesondere deshalb zu dieser Reihe, da **8a** dem Zwischenprodukt **8** entspricht und vor Abschluß unserer Untersuchungen ein solcher Verbindungstyp noch nicht untersucht wurde.

Tab. 1. Übersicht über die dargestellten und zur Osazonbildung verwendeten Glykolaldehydderivate



Verbindung	X	Y
1a	OH	O
1b	OCOCH ₃	O
1c	Cl	O
1d	OCOCH ₃	N-NHC ₆ H ₅
2a	OH	N-NHC ₆ H ₅
8a *)	NH-NHC ₆ H ₅	N-NHC ₆ H ₅
12a	OH	N-C ₆ H ₅

*) Die Struktur von **8a** wurde durch das NMR-Spektrum und Protonenaustausch ermittelt: H. Simon, G. Heubach und H. Wacker, Chem. Ber. 100, 3101 (1967), vorstehend.

Die Darstellung der Glykolaldehydderivate ist mit Ausnahme von **8a**, über das in der vorstehenden Arbeit berichtet wird, im Versuchsteil beschrieben.

Zunächst prüften wir, wieweit die Osazonbildung aus Glykolaldehyd bzw. seinen Derivaten brauchbare Modelle z. B. für die Glucosazonbildung sind. Geschwindigkeitsmessungen unter streng vergleichbaren Bedingungen zeigten ein Verhältnis $RG_{\text{gluc}} : RG_{\text{1a}}$ ¹⁹⁾ nahe 1 : 2. Da aufgrund unserer früheren Erfahrungen⁵⁾ der T-Einbau aus markierten Lösungsmitteln auf Unterschiede der Versuchsbedingungen stark anspricht, untersuchten wir die Osazonbildung mit **1a** und Glucose in Eisessig/Äthanol, dessen OH-Gruppe T-markiert war. Unter diesen Bedingungen fanden wir in beiden Fällen keinen Tritium-Einbau. In wäßriger Lösung, die an Glykolaldehyd bzw. Glucose 0.03*m*, an Phenylhydrazinhydrochlorid 1.0*m* und an Natriumacetat 1.6*m* war, wurden dagegen 16.5%²⁰⁾ Tritium im Glykolaldehydosazon und 30% im Glucosazon inkorporiert. Die maximale Osazonausbeute beträgt 78–82% beim Glykolaldehyd und 60–65% bei der Glucose. Offensichtlich bestehen also zwischen Glucose und Glykolaldehyd keine wesentlichen Unterschiede.

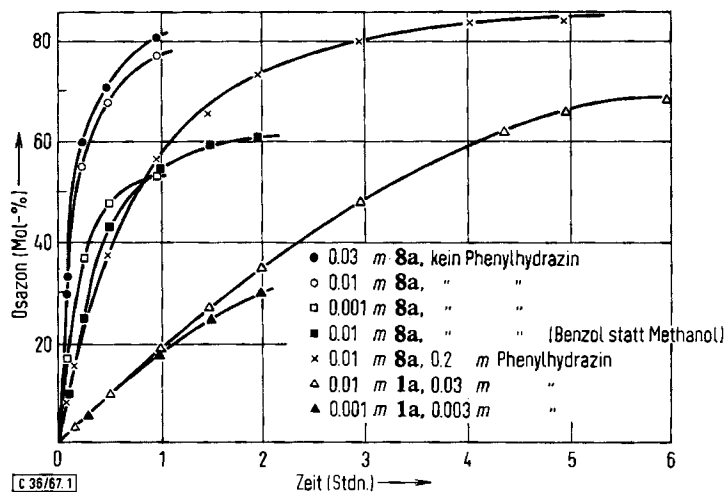
Zur Frage der Oxydoreduktion

a) Kinetische Untersuchungen an Glykolaldehyd und Derivaten

Die Geschwindigkeiten der Osazonbildung von **1a** und **8a** in Methanol/Eisessig (1 : 1 v/v), unter streng vergleichbaren Bedingungen UV-spektroskopisch bei 40° unter Luftausschluß bestimmt, sind in Abbild. 1 wiedergegeben. Dabei ist berücksichtigt, daß aus 1 Mol **8a** ohne weiteren Phenylhydrazin-Zusatz aus stöchiometrischen Gründen nur 0.66 Mol Osazon gebildet werden können. Diese sind gleich 100% gesetzt.

¹⁹⁾ RG = Reaktionsgeschwindigkeit.

²⁰⁾ Der maximal mögliche T-Gehalt pro austauschbarem Wasserstoff im System wird 100% gesetzt.



Abbild. 1. Osazonbildung von Glykolaldehyd (**1a**) und Phenylhydrazino-acetaldehyd-phenylhydrazon (**8a**) bei verschiedenen Konzentrationen in Methanol/Eisessig (1:1 v/v) bei 40°

Aus den Ergebnissen ist folgendes zu ersehen bzw. zu schließen: Aus **8a** bildet sich mit und ohne Phenylhydrazin rasch und in guter Ausbeute Osazon. Variiert man die Konzentration von **8a** ohne Phenylhydrazin-Zusatz um den Faktor 30, unterscheidet sich die Initialgeschwindigkeit der Osazonbildung um weniger als den Faktor zwei. Dies gilt auch, wenn man Phenylhydrazin in 20fachem Überschuß zusetzt. (Jetzt kann aus 1 Mol **8a** 1 Mol Osazon entstehen.) Unter diesen Bedingungen geht Phenylhydrazin nicht in die Geschwindigkeitsgleichung ein. (Auf die Frage, wie aus **8a** ohne Phenylhydrazin-Zusatz Osazon entsteht, wird weiter unten eingegangen.) Geht man von **1a** aus und variiert dessen Konzentration und die von Phenylhydrazin je um den Faktor 10, so ist die Initialgeschwindigkeit gleich. Damit ist die von verschiedenen Autoren postulierte intermolekulare Oxydoreduktion unter Beteiligung von Phenylhydrazin recht unwahrscheinlich, da anzunehmen ist, daß die Dehydrierung von **8a** durch das äußerst schwache Oxydationsmittel Phenylhydrazin bei sehr geringen Konzentrationen *RG*-bestimmend werden sollte.

b) Versuche zur Dehydrierung von **8a** mit Oxydationsmitteln

Falls **8a** durch Dehydrierung mit Phenylhydrazin in das Osazon übergehen würde, sollte es auch durch andere Oxydationsmittel ins Osazon zu überführen sein. **8a** war jedoch mit Sauerstoff, Jod, *p*-Benzochinon oder Kaliumhexacyanoferrat(III) nicht zu dehydrieren, denn durch Dünnschichtchromatographie ließ sich keine Spur Osazon nachweisen. Aus dem gelben, schmierigen Produkt der Jod-Dehydrierung war auch durch Kochen mit verdünnter Säure oder verdünnter Lauge kein Osazon zu erhalten. Dies entspricht dem Befund von *Caglioti* und Mitarbb.¹⁷⁾, wonach 2-Phenylhydrazino-cyclohexanon-phenylhydrazon durch Sauerstoff nicht zum Osazon dehydriert werden kann.

Schlüsselreaktion der Osazonbildung

Aufgrund der oben dargelegten Ergebnisse sollte ein intramolekularer Schritt *RG*-bestimmend sein. Hierfür kämen die Übergänge $2 \rightarrow 3$, $2 \rightarrow 4$, $4 \rightarrow 5$, $8 \rightarrow 9$ und $9 \rightarrow 10$ bzw. $9 \rightarrow 11$ in Frage. (Die intramolekularen Schritte zwischen **13** und **17** werden nicht diskutiert, da weiter unten gezeigt wird, daß sie keine wesentliche Rolle spielen können.) Bei den Übergängen $2 \rightarrow 4$ und $8 \rightarrow 9$ werden u. a. CH-Bindungen gelöst. Wir studierten daher die Osazonbildung mit [1.2- T_2]Glykolaldehyd, den wir durch Decarboxylierung von Dihydroxymaleinsäure in HOT darstellten. Den T-Gehalt an C-2 bestimmten wir durch Darstellung des Formazans aus Glykolaldehyd-phenylhydrazon und Benzoldiazoniumsalz. Der durch Probenentnahme nach verschiedenen Zeiten ermittelte T-Gehalt im Osazon zeigt einen Isotopeneffekt an. Seine Berechnung ist aber nicht möglich, da der Verlauf des T-Gehalts in Abhängigkeit vom Umsatz nicht monoton ist (vgl. Versuchsteil). Da unter sonst gleichen Bedingungen kein T inkorporiert wird, wenn in der Hydroxylgruppe T-markiertes Äthanol verwendet wird, sind die Übergänge $2 \rightarrow 4$ und $8 \rightarrow 9$ irreversibel. Reversibilität wäre jedoch zu erwarten, wenn sie sich vor dem *RG*-bestimmenden Schritt befänden. Wir können daher annehmen, daß im *RG*-bestimmenden Schritt C—H-Bindungen gelöst werden.

Zwei weitere Versuchsserien sollten nun klären, ob sich für die Übergänge $2 \rightarrow 3$, $4 \rightarrow 5$ und/oder $9 \rightarrow 10$ direkte Beweise erbringen lassen.

1. Da nach *Stickler*¹¹⁾ aus Benzoin in Gegenwart von *p*-Nitranilin etwas Benzoin-*[p*-nitro-phenylhydrazon] gebildet wird, setzten wir ^{14}C -Anilin bei der Osazonbildung von **1a** unter verschiedenen Bedingungen zu. Bei einer Konzentration von 0.125 *m* an Glykolaldehyd und ^{14}C -Anilin in Äthanol/Eisessig (9:1 v/v) (0.375 *m* Phenylhydrazin) befanden sich nach 15, 30 und 60 Min. 0.6, 0.3 und 0.2% des markierten Anilins im Osazon. Wurde das Verhältnis Alkohol/Eisessig in 2:9 geändert und die Konzentration des ^{14}C -Anilins nahezu verdoppelt, so ergab sich ein Einbau von ca. 0.3%. Über die Reinigung und Kontrollexperimente siehe Versuchsteil. Danach scheint der Weg von *Stickler* hier keine wesentliche Rolle zu spielen.

2. Bei den postulierten Übergängen von **2** bzw. **4** nach **5** und **8** nach **10** bzw. **11** wird Anilin frei, ohne daß damit zwangsläufig ein Molekül Osazon pro Mol entstehendes Anilin gebildet wird. Bei den Übergängen $9 \rightarrow 6$ oder $16 \rightarrow 6$ müssen dagegen äquivalente Mengen Anilin und Osazon gebildet werden. Wir setzten **2a**, **8a**, Glucose-phenylhydrazon und Mannose-phenylhydrazon ohne Phenylhydrazin-Zusatz unter den Bedingungen der Osazonbildung um und bestimmten durch Verdünnungsanalyse mit ^{14}C -markiertem Anilin die gebildete Anilinnmenge. Die Menge des entstandenen Osazons wurde gravimetrisch und spektroskopisch ermittelt, was zu befriedigenden Übereinstimmungen führte. Das markierte Anilin wurde einmal zu Beginn der Reaktion und das andere Mal nach Reaktionsende zugesetzt, wobei sich herausstellte, daß Anilin während der Umsetzung z. T. verbraucht wird und seine Bildung daher nur mit der ersten Methode bestimmt werden kann. Wie Tab. 2 zeigt, wird mehr Anilin gebildet als Osazon, besonders stark ausgeprägt bei Glucose- und Mannose-phenylhydrazon. Dies zeigt, daß aus Verbindungen des Typs **2** und **8** Anilin eliminiert werden kann. Diese Eliminierung kann auch durch Basen kata-

Tab. 2. Vergleich der gebildeten Osazon- und Anililmengen beim 6stündigen Erwärmen einiger Phenylhydrazone ohne Phenylhydrazin-Zusatz in Eisessig/Methanol (1 : 1) auf 40°

Eingesetzte Verbindung	mMol gebildetes Osazon pro mMol Ausgangsmaterial	gebildetes Anilin (mMol)		Verhältnis Anilin/Osazon
		¹⁴ C-Anilinzusatz vorher	nachher	
2a	0.23	0.42	—	1.8
2a	0.20		0.07	0.35
2a (30 Min. 60°)	0.16	0.38	—	2.4
8a	0.45	0.63	—	1.4
	0.43		0.58	1.3 ₅
Glucose-phenylhydrazon	<0.07	0.23	—	>3
Mannose-phenylhydrazon	<0.03	0.18	—	>6
Glucose + 3 Mol Phenylhydrazin	0.43	0.52	—	1.2
	0.52		0.47	0.9

lysiert werden: In 0.3 *m* äthanolischer Kalilauge werden aus Glucose- bzw. Mannose-phenylhydrazon 30.2% bzw. 20.3% Anilin gebildet²¹⁾; Osazon tritt dabei nicht auf.

Das Verhältnis von gebildetem Anilin zu Osazon bei **2a** ist bei 40° und 60° verschieden, d. h., das Verhältnis, in dem zwei unabhängige Reaktionen ablaufen, ändert sich mit den Bedingungen.

Die Anilin-Abspaltung **2** → **4** → **5**, **8** → **10** bzw. **11** (bisher intramolekulare Oxydoreduktion genannt), die nach unserer Auffassung als die Schlüsselreaktion der Osazonbildung zu betrachten ist, kann man in Parallele setzen mit der leichten Amin-Abspaltung, die wir²²⁾ bei der Bildung N-haltiger Reduktone aus Aldohexosen bzw. Tetrosen und Aminen (Amin-Eliminierung aus der Allylstellung eines „Azaallylsystems“) gefunden haben.

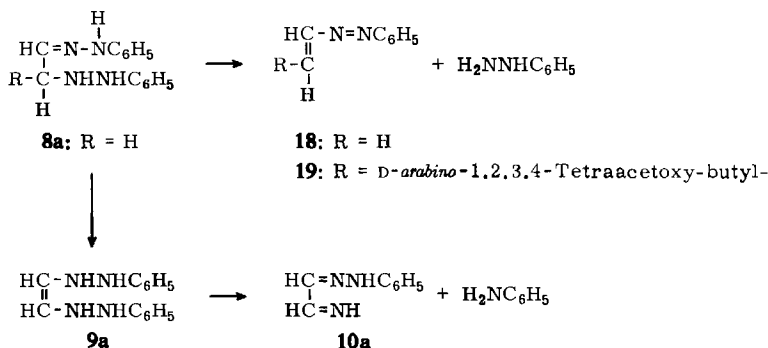


Weiter erhebt sich noch die Frage, wie aus **8a** ohne Phenylhydrazin-Zusatz in wasserfreiem Medium Osazon entsteht. Zusammen mit den in der vorstehenden Arbeit mitgeteilten Befunden, wonach **8a** bereits beim Erwärmen Phenylhydrazin abspaltet, und dem oben Gesagten kann dies wie folgt formuliert werden (S. 3113).

Aus **8a** entsteht über **9a** unter Anilin-Abspaltung das **10** bzw. **11** entsprechende Produkt. Daneben reagiert **8a** unter Phenylhydrazin-Abspaltung zu einer allerdings nicht faßbaren α,β -ungesättigten Azoverbindung **18**. Das freigewordene Phenyl-

21) H. Simon und W. Moldenhauer, Chem. Ber. **100**, 3121 (1967), nachstehend.

22) H. Simon und G. Heubach, Chem. Ber. **98**, 3703 (1965).



hydrazin setzt sich mit **10a** um. Kann **18** in Umkehr seiner Bildung wieder Phenylhydrazin addieren? Wir stellten das von *Wolfrom* und Mitarbb.^{23, 24}) beschriebene 1-Benzolazo-D-arabino-3.4.5.6-tetraacetoxy-hexen-(1) (**19**) her. Unter den allgemein in dieser Arbeit angewandten Bedingungen ließ sich daraus das Osazon erhalten. Nach Verseifung der vier *O*-Acetylreste erhielten wir 10% Glucosazon. Bei der Osazonbildung verschiebt sich das für **19** charakteristische UV-Maximum bei 304 m μ fast augenblicklich zu 278 m μ , was der Absorption von **2a**, **8a** und Mannose-phenylhydrazon entspricht. Es ist zu vermuten, daß dies durch die rasche Phenylhydrazin-Addition an **19** zu einem **8** entsprechenden Produkt bewirkt wird. Bereits nach 30 Min. taucht ein für Osazone typisches langwelliges Maximum bei 380 m μ auf, das jedoch vom Spektrum einer bei ca. 350 m μ absorbierenden Verbindung überlagert wird.

Da *Guthrie* und Mitarbb.²⁵) das sogenannte Phenylhydrazon von 3 β .5 α -Dihydroxy-cholestanon-(6) als 6-Benzolazo-cholesten-(5)-ol-(3 β) erkannt haben und weiterhin gezeigt wurde, daß α . β -ungesättigte Azoverbindungen Zwischenprodukte bei der Osazonbildung aus cyclischen α -Acetoxy-¹⁷) bzw. α -Halogen-ketonen sind, bleibt die Frage bestehen, ob solche Produkte auch bei der Osazonbildung von Zuckern auftreten und eventuell bei Vorhandensein freier Hydroxylgruppen zu Nebenreaktionen Anlaß geben, wie intramolekularen Additionen an das Doppelbindungssystem.

Mannose-phenylhydrazon in Pyridin reagiert mit Acetanhydrid ca. zweimal rascher zu **19** als Glucose-phenylhydrazon. Bei dem Versuch wurden gleiche Mengen Glucose-phenylhydrazon und [1-¹⁴C]Mannose-phenylhydrazon in derselben Lösung umgesetzt und der ¹⁴C-Gehalt des isolierten **19** gemessen. Da andererseits Mannose langsamer und wesentlich weniger Osazon bildet (Abbild. 3) als Glucose, kann hier ein Zusammenhang vermutet werden.

Spielen Anilinverbindungen eine Rolle bei der Osazonbildung?

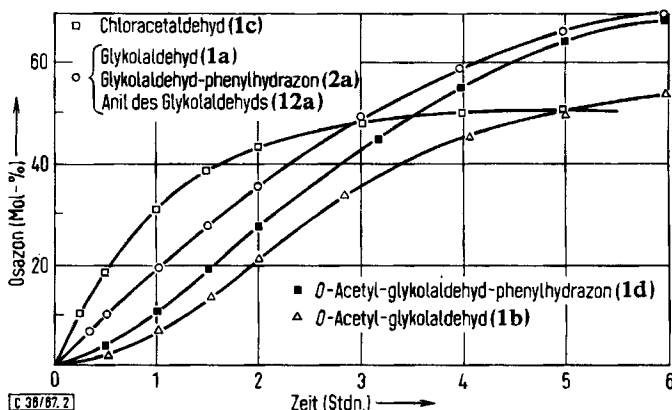
Da nach *Micheel* und *Dijong*⁶) bei der Bildung von Phenylsazonen Anilin für den Reaktionsstart eine entscheidende Rolle spielt, bestimmten wir, wieviel Anilin aus Phenylhydrazin entsteht. Bei der Disproportionierung von Phenylhydrazin müssen

²³) *M. L. Wolfrom, A. Thompson und D. R. Lineback, J. org. Chemistry* **27**, 2563 (1962).

²⁴) *M. L. Wolfrom, G. Fraenkel, D. R. Lineback und F. Komitzky jr., J. org. Chemistry* **29**, 457 (1964).

²⁵) In l. c.¹⁸) als unveröffentlichter Befund angegeben.

Anilin und Benzol in äquimolekularen Mengen entstehen. In einer 0.3 m Lösung von Phenylhydrazin in Methanol/Eisessig (1:1 v/v, 10fache Konzentration gegenüber unseren Standardbedingungen), die 2 Stdn. auf 40° gehalten wurde, bestimmten wir gaschromatographisch weniger als 0.06% Benzol, d. h., in einem Ansatz unter Standardbedingungen werden in 20 Min. Reaktionszeit weniger als 0.01 mg Anilin aus 2 mMol Phenylhydrazin gebildet. In Abbild. 2 sind u. a. die Bildungsgeschwindig-



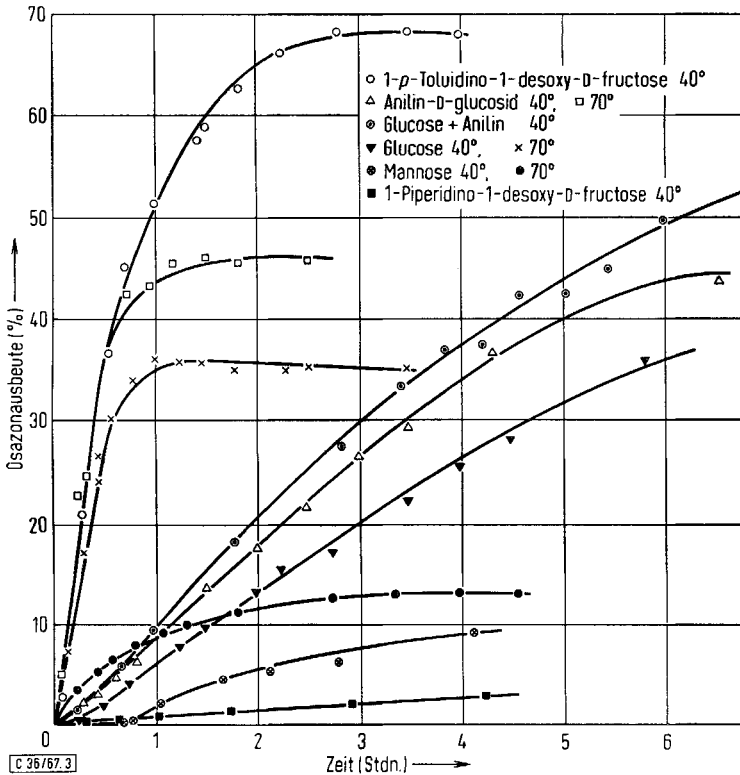
Abbild. 2. Osazonbildung von Glykonaldehyd (1a) und 5 Derivaten in 0.01 m Lösung mit 6.6fachem stöchiometrischem Überschuß Phenylhydrazin in Methanol/Eisessig (1:1 v/v)

keiten von Glyoxalosazon aus Glykonaldehyd (1a), Glykonaldehyd-phenylhydrazon (2a) und dem Anil des Glykonaldehyds (12a) unter den angegebenen Bedingungen dargestellt. Die Kurven sind völlig deckungsgleich! d. h., das Anil 12a reagiert nicht rascher als 1a, was zu erwarten wäre, wenn nach *Dijong* und *Micheel*²⁶⁾ Anilin die Reaktion einleiten würde.

Da für die Amadori-Umlagerung nach *Micheel* und *Dijong*²⁶⁾ eine Bis-amino-Verbindung (13) postuliert wurde, setzten wir bei der Osazonbildung aus 12a Anilin zu, erwärmten 30 Min. bei 40° (entspricht den sonstigen Bedingungen) und starteten mit 3 Mol Phenylhydrazin. Die Initialgeschwindigkeit war weniger als 10% von der von 1a und 12a verschieden.

In Abbild. 3 sind u. a. die Bildungsgeschwindigkeiten aus Glucose mit und ohne Anilin, aus Mannose und einer Reihe von Derivaten unter streng vergleichbaren Bedingungen wiedergegeben. Wie man sieht, spielt bei den gewählten Bedingungen das Anilin kaum eine Rolle. Die Geschwindigkeit der Osazonbildung aus Anilin-D-glucosid, Glucose + Anilin bzw. Glucose allein unterscheidet sich um weniger als den Faktor zwei. Die geringe Erhöhung der *RG* in Gegenwart von Anilin ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß sich aus einem Teil der Glucose das Amadori-Umlagerungsprodukt bildet und dieses dann rascher Osazon bildet. Wie man sieht, reagiert 1-*p*-Toluidino-1-desoxy-D-fructose als Amadori-Umlagerungsprodukt eines aromatischen Amins tatsächlich wesentlich rascher.

²⁶⁾ F. *Micheel* und I. *Dijong*, *Liebigs Ann. Chem.* **658**, 120 (1962).



Abbild. 3. Vergleich der Osazonbildung von Mannose und Glucose sowie einer Reihe von Derivaten bei 40 bzw. 70° in Methanol/Eisessig (1 : 1 v/v), Konzentration 0.01 *m* für Zuckerkomponente und 0.03 *m* für Phenylhydrazin

Der von *Micheel* und *Dijong*⁶⁾ postulierte Mechanismus ist damit u. E. aus folgenden Gründen als Hauptweg wenig wahrscheinlich: 1. Der zeitliche Verlauf der Osazonbildung sollte eine deutliche Induktionsperiode und anschließend wegen der wachsenden Anilin-Konzentration eine autokatalytische Phase zeigen. Wie aus Abbild. 2 und 3 zu ersehen ist, tritt jedoch beides nicht auf. 2. Das Anil 12a oder das Anilinguosid sollten rascher reagieren als die Stamm-Aldehyde, was nicht der Fall ist. 3. Dem postulierten Mechanismus widerspricht die Tatsache, daß sich aus Glucose bzw. Glykolaldehyd und *p*-Nitro-phenylhydrazin das entsprechende Osazon darstellen läßt. Im Falle der Glucose müßte eine Amadori-Umlagerung von *p*-Nitranilinguosid ablaufen, die jedoch nicht beobachtet werden konnte²⁷⁾. Sobald durch die Osazonreaktion Anilin gebildet ist, könnte in einem Nebenweg die Osazonbildung den von *Micheel* und *Dijong*⁶⁾ vorgeschlagenen Verlauf nehmen. Wegen der intermolekularen Oxydoreduktion vgl. jedoch das bereits oben Gesagte.

²⁷⁾ F. Weygand, W. Perkow und P. Kuhner, Chem. Ber. 84, 594 (1951).

Vergleich der Osazonbildungsgeschwindigkeit einer Reihe von Glykolaldehyd-Derivaten sowie von Mannose, Glucose und Derivaten

Die Geschwindigkeit und Ausbeute der Osazonbildung hängt bei streng gleichen Bedingungen stark von der Struktur der α -Hydroxy-carbonylverbindung ab. In Abbild. 2 ist die Bildungsgeschwindigkeit von Glykolaldehyd und einer Reihe von Derivaten dargestellt. Tritt an die Stelle der OH-Gruppe eine Acetoxygruppe oder Chlor, so spielt dies für die Osazonbildung keine sehr wesentliche Rolle. Von größerem Einfluß ist dagegen die Stereochemie an C-2, wie der Vergleich von Mannose und Glucose in Abbild. 3 zeigt. Geht man von den Amadori-Umlagerungsprodukten (1-Amino-1-desoxy-D-fructosen) aus, so spielt das an C-1 fixierte Amin eine ausschlaggebende Rolle, wie der Vergleich von 1-Piperidino-1-desoxy-fructose mit 1-*p*-Toluidino-1-desoxy-fructose zeigt. Vergleicht man die Osazonbildung aus Glucose bei 40° und 70°, so bricht bei 70° die Bildung bei ca. 35% Ausbeute nahezu abrupt ab, während die Reaktion bei 40° (allerdings erst nach ca. 20 Stdn.) zu einer Ausbeute von 50% führt. Eine wesentliche Nebenreaktion hat eine höhere Aktivierungsenergie.

Die Arbeit wurde dankenswerterweise durch die *Deutsche Forschungsgemeinschaft* und den *Fonds der Chemischen Industrie* gefördert. Frau *M. Roth* danken wir für zuverlässige und fleißige Mitarbeit.

Beschreibung der Versuche

Sämtliche Schmelzpunkte sind unkorrigiert; die NMR-Spektren wurden in Deuteriochloroform gegen TMS als inneren Standard mit einem Varian A-60 Spektrometer vermessen, die UV-Spektren mit dem Gerät UV 137 der Fa. Perkin-Elmer.

Alle Lösungsmittel wurden, soweit es keine p.a.-Präparate waren, über Kolonnen destilliert, das Phenylhydrazin wurde nach Vakuumdestillation unter Stickstoff aufbewahrt. Glykolaldehyd und Chloracetaldehyd-dimethylacetal stammten von der Fa. C. Roth, Karlsruhe. Aus dem Acetal wurde der Chloracetaldehyd (**1c**) durch wasserfreie Oxalsäure nach *Natterer*²⁸⁾ gewonnen. Die Darstellung von **8a** erfolgte in Anlehnung an *Freer*²⁹⁾ und ist in der vorstehenden Arbeit beschrieben. *D*-Anilin-glucosid und 1-*p*-Toluidino-1-desoxy-*D*-fructose wurden nach *Weygand*^{30,31)} dargestellt.

Zur Radioaktivitätsmessung wurden die Substanzen in Schöniger-Kolben verbrannt und die Lösungen in einem Flüssigkeits-Szintillations-Zähler Marke Tri Carb vermessen. Es wurden 5 ccm der anfallenden 10 ccm Absorptionslösung (4proz. Äthanolamin in Methanol) mit 15 ccm einer Lösung von 5 g 2,5-Diphenyl-oxazol und 0,3 g 1,4-Bis-[5-phenyl-oxazolyl-(2)]-benzol pro 1 Toluol vermischt. Häufig wurden Doppelbestimmungen durchgeführt.

1. *Acetoxyacetaldehyd-phenylhydrazon (1d)*: 102 mg (1,0 mMol) *Acetoxyacetaldehyd*, dargestellt aus 1-Äthoxy-1,2-diacetoxy-äthan^{32,33)}, in 0,5 ccm Methanol wurden mit 108 mg (1,0 mMol) *Phenylhydrazin* versetzt. Nach 2 Stdn. bei 4° konnten 108 mg (56%) farblose Kristalle isoliert werden. Aus Toluol/Hexan Schmp. 67–68°.

$C_{10}H_{12}N_2O_2$ (192,2) Ber. C 62,50 H 6,30 N 14,57 Gef. C 62,70 H 6,32 N 14,25

28) *K. Natterer*, Mh. Chem. **3**, 446 (1882).

29) *P. C. Freer*, Amer. chem. J. **21**, 59 (1899); C. **70** I, 560 (1899).

30) *F. Weygand*, Ber. dtsh. chem. Ges. **72**, 1663 (1939).

31) *F. Weygand*, Ber. dtsh. chem. Ges. **73**, 1259 (1940).

32) *K. Alder*, *F. H. Flock* und *W. Zimmermann*, Chem. Ber. **94**, 1864 (1961).

33) *B. S. Gorton* und *J. A. Reeder*, J. org. Chemistry **27**, 2920 (1962).

In der Literatur^{33,34}) wird ohne Analysenwerte als Schmp. 128° angegeben. Wir erhielten das für **1d** erwartete NMR-Spektrum: s 7.92 τ (3 H), d 5.28 τ (2 H), m 2.8 τ (7 H). Die Schmp. des 2,4-Dinitrophenylhydrazons des Acetoxyacetaldehyds (155°)³¹⁾ und des Semicarbazons (170°)³⁴⁾ stimmten mit den Literaturangaben überein.

2. *Glykolaldehyd-phenylhydrazon (2a)*: 120.1 mg (2.0 mMol) *Glykolaldehyd* in 10 ccm Wasser wurden mit 216.2 mg (2.0 mMol) *Phenylhydrazin* versetzt. Das ausfallende farblose Öl kristallisierte nach kurzer Zeit im Kühlschrank: 282 mg (94%) Rohprodukt, aus Toluol Schmp. 79.5–80°. In der Literatur³⁵⁾ wird ohne CH-Analyse der Schmp. 162° angegeben. NMR-Spektrum (d für 2 H bei 5.32 τ und m für 8 H bei 2.8 τ) und Elementaranalyse waren im Einklang mit der Struktur.

C₈H₁₀N₂O (150.2) Ber. C 63.90 H 6.72 N 18.65 Gef. C 64.20 H 6.61 N 18.45

3. *Glykolaldehyd-anil (12a)*: 300 mg (5.0 mMol) *Glykolaldehyd* wurden in 5 ccm Methanol unter Erwärmen gelöst, mit 558 mg (6.0 mMol) *Anilin* versetzt und kurz aufgeköcht. Nach 10 Stdn. im Kühlschrank waren 350 mg (52%) farblose Nadelchen ausgefallen. Der Schmp. von 136° änderte sich beim Umkristallisieren aus Methanol nicht mehr.

C₈H₉NO (135.2) Ber. C 71.08 H 6.71 N 10.36 Gef. C 71.10 H 6.65 N 10.29

4. *N,N'-Diphenyl-C-hydroxymethyl-formazan*: 300.4 mg (2.0 mMol) *Glykolaldehyd-phenylhydrazon* in 5 ccm Äthanol und 5 ccm Pyridin wurden bei –5° unter heftigem Rühren mit 2 ccm *Benzoldiazoniumchlorid*-Lösung in Analogie zu *Mester* und *Major*³⁶⁾ versetzt. Nach 10 Min. bei –5° und Eingießen in 60 ccm Wasser wurden 427 mg (84%) tiefrote Kristalle abgesaugt. Zur Entfernung von evtl. nicht umgesetztem Hydrazon wurde das Formazan im Soxhlet mit Hexan extrahiert. Beim Abkühlen der Extraktionslösung fielen tiefrote Kristalle aus, Schmp. 118°.

C₁₄H₁₄N₄O (254.3) Ber. C 66.12 H 5.56 N 22.03 Gef. C 66.33 H 5.73 N 21.96

NMR: s (breit) 7.1 τ (1 H), s (scharf) 5.32 τ (2 H), m 2.8 τ (11 H).

5. *Versuche zum Tritiumeinbau bei der Osazonbildung aus Glykolaldehyd (1a) unter zwei verschiedenen Bedingungen*

a) 600 mg (10.0 mMol) **1a** und 3.24 g (30 mMol) *Phenylhydrazin* wurden in 80 ccm Äthanol/Eisessig (9:1 v/v) gelöst. Die Hydroxylgruppe des Äthanol's war T-markiert. Auf dem siedenden Wasserbad wurden nach 15, 30, 60 und 120 Min. je 20 ccm Reaktionslösung entnommen und das *Osazon* mit Wasser gefällt. Die Ausbeuten betragen nach obigen Zeiten 14, 31, 54 und 81%. Zur Entfernung des austauschbaren Wasserstoffs wurden die Lösungen der *Osazon*fraktionen in 50 ccm Methanol zur Trockne eingengt und anschließend aus Äthanol/Wasser umkristallisiert. Der T-Einbau war in jeder Fraktion <1%.

b) (Analog zu Glucosazon in l. c.⁵⁾). 60.0 mg (1.0 mMol) **1a** wurden auf dem Dampfbad in einer Lösung von 4.77 g (33 mMol) *Phenylhydrazinhydrochlorid* und 4.35 g (53 mMol) Natriumacetat (wasserfrei) in 35 ccm *HOT* gelöst. Das nach 15, 30 und 60 Min. wie oben aufgearbeitete *Osazon* hatte 5.5, 12.0 und 16.5% des ohne Berücksichtigung von Isotopen-effekten zu erwartenden T-Gehaltes.

6. *Versuche zum Einbau von ¹⁴C-Anilin in Glyoxalosazon*: 300 mg (5.0 mMol) *Glykolaldehyd* in 20 ccm Äthanol/Eisessig (9:1 v/v) wurden mit 1.62 g (15 mMol) *Phenylhydrazin* und 647.9 mg (5.0 mMol) ¹⁴C-*Anilinhydrochlorid* in 20 ccm Äthanol/Eisessig (9:1) versetzt

³⁴⁾ H. M. Dawson und J. Marshall, J. chem. Soc. [London] **105**, 388 (1914).

³⁵⁾ H. Euler und A. Euler, Ber. dtsh. chem. Ges. **39**, 50 (1906).

³⁶⁾ L. Mester und A. Major, J. Amer. chem. Soc. **77**, 4297 (1955).

und auf dem Dampfbad erhitzt. Nach 15, 30, 60 und 120 Min. wurden je 20 ccm entnommen und das Osazon mit Wasser ausgefällt, aus Äthanol umkristallisiert, aus Äthanol/Wasser umgefällt und erneut in Methanol aufgenommen. Diesen Lösungen wurden je 0.5 ccm nicht-markiertes Anilin zugesetzt und anschließend erneut mit Wasser ausgefällt. Die molare Radioaktivität der Osazon-Fractionen betrug 0.6, 0.3, 0.2 und 0.2% von der des eingesetzten ^{14}C -Anilins. Die Messung von nichtmarkiertem Osazon täuschte keine Radioaktivität vor.

Um festzustellen, ob anhaftendes Anilin aus dem Osazon entfernbare ist, fällten wir Glyoxalosazon aus einer Äthanollösung mit Wasser aus, die die dreifache ^{14}C -Anilin-Konzentration enthielt. Nach Reinigung wie oben war der ^{14}C -Gehalt $<0.1\%$.

In einem zweiten Versuch wurden als Reaktionsmedium Methanol/Eisessig (2 : 9 v/v) und die doppelte Konzentration an ^{14}C -Anilin genommen.

7. *T-Markierter Glykolaldehyd und T-markiertes Glykolaldehyd-phenylhydrazon aus Dihydroxyfumar säure*: 20.0 g Dihydroxyfumar säure wurden in 80 ccm H₂O (1.13 · 10⁶ tpm*/mMol) suspendiert und unter gelegentlichem Umschütteln 3 Std. bei 45° belassen, wobei schwache Gasentwicklung zu beobachten war. Das H₂O wurde bei 35°/12 Torr abgezogen, der Rückstand mit Pyridin versetzt und bis zur vollständigen Lösung auf 55° erwärmt³⁷⁾. Nach Abziehen des Pyridins bei 35° Badtemp. wurde der zurückgebliebene Sirup bei 160° Badtemp. i. Vak. destilliert. Ausb. 2.1 g sirupöser Glykolaldehyd. Dessen Phenylhydrazon, dargestellt wie unter 2. beschrieben, hatte Schmp. 79.5–80° (aus Toluol) und 5.40 · 10⁵ tpm/mMol. Zur Bestimmung des T-Gehalts an C-2 wurde, wie unter 4. beschrieben, das *N,N'*-Diphenyl-*C*-hydroxymethyl-formazan dargestellt: T-Gehalt 3.02 · 10⁵ tpm/mMol. Der T-Gehalt an C-1 betrug danach 2.38 · 10⁵ tpm/mMol³⁸⁾.

8. *Osazonbildung aus T-markiertem Glykolaldehyd-phenylhydrazon (2a) zur Bestimmung des Isotopeneffekts*: 750.9 mg (5.0 mMol) T-markiertes 2a in 20 ccm Äthanol wurden mit einer Lösung von 1.62 g (15.0 mMol) Phenylhydrazin in 16 ccm Äthanol und 4 ccm Eisessig versetzt und auf dem Dampfbad erhitzt. Nach 15, 30, 60 und 120 Min. wurden je 10 ccm entnommen und das Osazon mit Wasser gefällt. Die Ausbb. des bereits sehr reinen Osazons betragen 20, 35, 55 und 78%. Nach Umkristallisation aus Äthanol betragen die Radioaktivitäten der 4 Fractionen in ipm/mMol · 10⁵ (Doppel- oder Dreifachbestimmungen mit maximaler Abweichung $<1.5\%$): 3.82, 3.89, 3.85 und 3.97. Danach besaß C-2 folgende T-Gehalte in tpm/mMol · 10⁵: 1.44; 1.55; 1.47 und 1.59³⁸⁾.

9. *UV-Spektrophotometrische Bestimmung der Osazonbildungsgeschwindigkeit*: Zur Bestimmung der Glyoxalosazon-Bildung eignet sich das UV-Maximum des Osazons bei 375 m μ . Diese längstwellige Bande tritt in keinem der Ausgangsmaterialien auf. Eine Eichkurve (Konzentration gegen Extinktion) war mindestens bis zu einer Extinktion von 1.2 linear. Die Glucosazon-Bildung wurde bei 394 m μ verfolgt. Im allgemeinen wurden 1a bzw. Glucose und deren Abkömmlinge in Methanol und Phenylhydrazin und evtl. Anilin in Eisessig bei 40.0° gelöst und beide Lösungen vereinigt. Aus den im Thermostaten befindlichen Reaktionsansätzen wurden zu gegebenen Zeiten aliquote Teile entnommen und passend verdünnt. Bei einigen Versuchsreihen wurde das UV-spektroskopische Ergebnis der RG durch gravi-

*) tpm = Transmutationen (Kernzerfälle) pro Minute.

³⁷⁾ Biochemical Preparations, Bd. 4, S. 56, John Wiley and Sons, Inc., New York, London, Sydney 1955.

³⁸⁾ Diese Radioaktivitätsanalysen wurden in der Gasphase durchgeführt, vgl. H. Simon, H. Daniel und J. F. Klebe, Angew. Chem. 71, 303 (1959); H. Simon und F. Berthold, Atomwirtschaft 1962, 498 (1962).

metrische Bestimmung der zu verschiedenen Zeiten gebildeten Osazonmengen verglichen. Dazu wurden entsprechende aliquote Teile in Wasser gegeben, wobei die Osazone ausfielen. Die Übereinstimmung war befriedigend.

10. *Bestimmung des beim Erhitzen von 2a, 8a, Glucose- und Mannose-phenylhydrazon unter den Bedingungen der Osazonbildung freigesetzten Anilins*: 2.0 mMol der *Phenylhydrazone* wurden in 33.3 ccm Methanol von 40° gelöst und im Thermostaten mit 33.3 ccm einer ebenfalls auf 40° erwärmten Eisessiglösung von ¹⁴C-*Anilinhydrochlorid* (z. B. 150.0 mg) versetzt. Die Osazonbildung wurde UV-spektroskopisch verfolgt. Nach 6 Stdn. oder sobald das Osazon nicht mehr zunahm, wurde mit Wasser versetzt, das ausgeschiedene Osazon abgesaugt und die Lösung unter Stickstoff auf ca. 20 ccm eingeeengt. Im Falle der Zuckerhydrazone wurde die Lösung nach Ansäuern mit Schwefelsäure 2mal ausgeäthert. Nach Alkalisieren wurde wenige Min. erhitzt, um das Ammoniak zu vertreiben, und anschließend das Anilin durch Wasserdampfdestillation in verd. Salzsäure aufgefangen. Das Destillat wurde zur Trockne eingeeengt, das Anilinhydrochlorid in Acetanilid übergeführt und dieses nach Umkristallisieren gemessen.

11. *Dehydrierungsversuche von 8a mit verschiedenen Oxydationsmitteln*: 720 mg (3.0 mMol) **8a** in 50 ccm Methanol wurden tropfenweise mit 30 ccm 0.1*n* methanol. *Jod*-Lösung versetzt. Der gelbe, amorphe Niederschlag wurde abgesaugt, mit wenig Methanol und Hexan gewaschen (420 mg), in Äther gelöst und mit Methanol versetzt. Beim Einengen konnte wieder nur flockiges Material erhalten werden. Durch Dünnschichtchromatographie auf Kieselgel mit Chloroform ließ sich weder im isolierten Produkt noch in den Mutterlaugen Osazon nachweisen. Ähnlich schlecht zu charakterisierende Produkte wurden nach Dehydrierungsversuchen mit *Methylenblau*, *p-Benzochinon* und *Kaliumhexacyanoferrat(III)* erhalten. Die Reaktion mit *Methylenblau* verläuft sehr langsam. Osazon konnte in keinem Falle nachgewiesen werden.

12. *Zersetzung des Phenylhydrazins unter den Bedingungen der Osazonbildung*: 216 mg dest. *Phenylhydrazin* wurden in 6.66 ccm Methanol/Essigsäure (1:1) 2 Stdn. auf 40° erwärmt. 1.0 ccm dieser Lösung wurde mit 1.0 ccm Wasser versetzt und mit 0.50 ccm *Methylenchlorid* (reinst) ausgeschüttelt. Die *Methylenchlorid*phase wurde an einer *Siliconfett*säule (70°, Trägergas Stickstoff, F 20 der Firma Perkin Elmer) gaschromatographiert.

Zur Mengenbestimmung des Benzolpeaks wurden zu zwei Ansätzen obiger Art von vornherein 5 µl *Benzol* zugegeben. Aufgrund dieser Eichung entstanden aus dem *Phenylhydrazin* weniger als 0.5 mg *Benzol* im Verlauf von 2 Stdn.

13. *Freisetzung von Anilin aus Glucose- und Mannose-phenylhydrazon in äthanolischer Kalilauge*: 10 mMol *Hexose-phenylhydrazon* (2.703 g) (das *Glucose-β-phenylhydrazon* war nach *Behrend* und *Lohr*³⁹⁾ gewonnen worden) wurden unter Stickstoff mit 1.0 g *KOH* und 12.96 mg ¹⁴C-*Anilinhydrochlorid* in 50 ccm Äthanol 5 Stdn. auf dem Dampfbad unter Rückfluß erhitzt und sodann die dunkelbraune Lösung mit Wasserdampf destilliert. Das mit Salzsäure versetzte Destillat wurde i. Vak. zur Trockne eingedampft, der Rückstand in 30 ccm Wasser aufgenommen, mit Aktivkohle geschüttelt, filtriert und wieder eingedampft. Diese Prozedur wurde wiederholt. Aus dem Rückstand wurde *Acetanilid* dargestellt.

14. *Osazonbildung aus 1-Benzolazo-D-arabino-3.4.5.6-tetraacetoxy-hexen-(1)* (**19**): 1.0 mMol (420 mg) **19** wurden in 5 ccm Methanol suspendiert und unter Stickstoff mit einer Lösung von 2.0 mMol *Phenylhydrazin* in 5 ccm Eisessig versetzt. Nach 4 Stdn. bei 40° wurde eine Probe für das UV-Spektrum entnommen und die übrige Lösung i. Vak. eingedampft, der Sirup in Methanol aufgenommen, abermals i. Vak. zum Sirup eingedampft und über *KOH* i. Vak. von der restlichen Essigsäure befreit. Nach Umesterung mit *Natriummethylat* in Methanol

³⁹⁾ R. *Behrend* und F. *Lohr*, *Liebigs Ann. Chem.* **362**, 78 (1908).

wurde mit Dowex 50×8 in der H⁺-Form neutralisiert. Die Ausbeute an *Glucosazon* wurde durch Verdünnungsanalyse zu 9% bestimmt. Aus dem UV-Spektrum ließ sich eine Ausb. von ca. 40% an *Tetra-O-acetylglucosazon* abschätzen.

15. *Vergleich der Bildung von 19 aus Glucose- und Mannose-phenylhydrazon*: 2.0 mMol [¹⁴C]Mannose-phenylhydrazon und 2.0 mMol *Glucose-β-phenylhydrazon* (je 540.5 mg) wurden unter Stickstoff in 17.5 ccm trockenem Pyridin in der Wärme gelöst und nach Erkalten mit 6.5 ccm *Acetanhydrid* versetzt. Nach 25 und 118 Stdn. wurde je die Hälfte der Lösung auf Eis gegossen und das abgeschiedene Öl mehrmals mit Wasser gewaschen. Zur Kristallisation wurde in warmem Äthanol aufgenommen und in der Hitze gerade mit so viel heißem Wasser versetzt, daß gerade noch keine Trübung bestehen blieb. Nach Stehenlassen im Kühlschrank ließen sich Kristalle absaugen, aus Äthanol/Wasser und Aceton/Wasser Schmp. 118–121°. Die ¹⁴C-Gehalte von **19** zeigten, daß die Bildung aus Mannose-phenylhydrazon ca. doppelt so rasch erfolgt.

[36/67]