

Helmut Simon und Wolfgang Moldenhauer \*)

## Über den Einfluß von Alkali auf Zuckerosazone und Phenylhydrazone

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

(Eingegangen am 11. März 1967)

Verdünte äthanolische Kalilauge bewirkt an C-1 von Glucosazon (**1**) raschen Wasserstoffaustausch. Daneben findet Spaltung zu Glyoxalosazon (**5**) und Bildung von 2.4-Dihydroxybuttersäure (**6**) statt. In geringem Umfang bildet sich 3.6-Anhydroallosazon (**3**). Glucose- und Mannose-phenylhydrazon zeigen neben Wasserstoffaustausch an C-1 und Abspaltung von Anilin die Bildung von *N*-Phenyl-pyrazol (**10**). Der relativ leichte Austausch  $\alpha$ -ständiger Wasserstoffatome von Phenylhydrazonen<sup>3)</sup> wird durch eine ebenfalls  $\alpha$ -ständige Hydroxylgruppe verhindert. Im Falle des Mannose-phenylhydrazons (**7**) scheint das Enol-hydrazin **8** irreversibel zu zerfallen.

Bei unseren mechanistischen Studien am System Zucker-Amin<sup>1,2)</sup> und über die Tautomerieverhältnisse von Hydrazonen<sup>3)</sup> untersuchten wir auch den Einfluß von Alkali auf Zuckerosazone und Phenylhydrazone. Hierüber ist offensichtlich bisher noch sehr wenig gearbeitet worden<sup>4,5)</sup>. Es interessierte uns u. a., ob es möglich ist, durch den eventuell reversiblen Übergang **1**  $\rightleftharpoons$  **2** in Äthanol, dessen Hydroxylgruppe tritiummarkiert ist, zu Glucose- und/oder Allosephenylosazon zu kommen, das an C-3 ein Wasserstoffisotop trägt. Dabei stellte sich heraus, daß der Einfluß von Alkali auf Zuckerosazone vielfältig ist. Im Schema sind unsere Befunde im Falle des Glucosazons (**1**) zusammengestellt. Der Übergang **1**  $\rightarrow$  **2** findet nur in sehr geringem Umfang statt. Nach Abbau des Glucosazons<sup>6,7)</sup> über das Phenylsotriazol zu 2-Phenyl-1.2.3-triazol-aldehyd-(**4**) und 2-Phenyl-1.2.3-triazol-carbonsäure-(**4**) stellte sich heraus, daß an C-3 nur wenige Prozent Tritium fixiert worden sind (vgl. Tab.).

Ein Austausch des an C-3 gebundenen Wasserstoffs würde dem Austausch  $\alpha$ -ständiger Wasserstoffatome entsprechen, den wir an Acetaldehyd-phenylhydrazon und anderen Hydrazonen festgestellt haben<sup>3)</sup>. Ist jedoch bei einem Osazonsystem neben einem  $\alpha$ -ständigen Wasserstoff auch noch eine  $\alpha$ -ständige Hydroxylgruppe vorhanden, so kann das an Sauerstoff gebundene Proton bevorzugt abgespalten werden, und es

\*) Die Untersuchungen über die Osazone sind in der Diplomarb. *W. Moldenhauer*, Techn. Hochschule München 1964, beschrieben.

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

2) *H. Simon*, *G. Heubach* und *H. Wacker*, Chem. Ber. **100**, 3106 (1967), vorstehend.

3) *H. Simon* und *W. Moldenhauer*, Chem. Ber. **100**, 1949 (1967).

4) *H. El Khadem*, „Chemistry of Osazones“ in *Advances Carbohydrate Chem.* **20**, 139 (1965).

5) *D. Diels*, *R. Meyer* und *O. Onnen*, Liebigs Ann. Chem. **525**, 94 (1936).

6) *H. Simon* und *J. Steffens*, Chem. Ber. **95**, 358 (1962).

7) *H. Simon*, *H. D. Dorrer* und *K. H. Ebert*, Z. Naturforsch. **18b**, 360 (1963).

kommt zu einer der Dealdolisierung analogen Spaltung der C—C-Bindung (Übergang **1** → **5**), auf die weiter unten noch eingegangen wird. Außerdem könnte ein intermediär gebildetes Enol-hydrazin-hydrazon (**2**) irreversibel in anderer Richtung weiterreagieren, wie dies bei einem intermediär gebildeten Enol-hydrazin **8** des Mannose-phenylhydrazons zu sein scheint (vgl. hierzu weiter unten).

Ein starker Wasserstoffaustausch erfolgt jedoch an C-1 von **1** (vgl. Tab.). Dafür dürfte nach unseren Untersuchungen<sup>3)</sup> an einer größeren Reihe von Phenylhydrazonen der reversible Übergang **1** → **4** verantwortlich sein. Es ist anzunehmen, daß der molare T-Gehalt an C-1, der 55–60% des molaren T-Gehalts des Äthanolts entspricht, wegen eines hohen Gleichgewichts-isotopeneffekts bereits die maximal mögliche T-Fixierung darstellt<sup>3)</sup>. Unter gleichen Bedingungen bauen **5** und Methylglyoxalosazon nach 90 Min. nur zu 56.7 und 28.0% Tritium ein. Der 68.7-proz. T-Gehalt von aus **1** hervorgehendem **5** rührt von dem der Spaltung vorausgehenden H,T-Austausch, der T-Fixierung bei der Spaltung und dem Austausch in Form von **5** her.

Prozentualer Wasserstoffaustausch einiger Osazone bzw. deren Abbauprodukte nach verschiedenen Zeiten (Osazone wurden in 0.1 *m* T-markierter äthanol. KOH-Lösung in Stickstoffatmosphäre unter Rückfluß erhitzt)

Substanz	30 Min.	60 Min.	90 Min.
Glucosazon ( <b>1</b> ) (gemessen als Phenylsotriazol)	45.0	51.8	60.4
2-Phenyl-1.2.3-triazol-aldehyd-(4)	45.0	51.0	57.3
2-Phenyl-1.2.3-triazol-carbonsäure-(4)	41.0	48.4	55.5
Glyoxalosazon ( <b>5</b> )	—	—	56.7 <sup>a)</sup>
<b>5</b> aus Spaltung von <b>1</b>	42.8	61.2	68.7 <sup>b)</sup>
Methylglyoxalosazon	—	—	27.7; 28.0
Glucose-methylphenylosazon	—	—	0.9
Glyoxal-methylphenylosazon	—	—	0.7
Allose-3.6-anhydroosazon ( <b>3</b> ) aus <b>1</b>	36.1	50.5	55.2

a) Dieser Wert ist im Vergleich mit dem des Glucosazons und Methylglyoxalosazons zu halbieren, da im Glyoxalosazon zwei austauschbare Positionen vorhanden sind.

b) vgl. hierzu Text.

Bei der Bildung der C—H-Bindung nach der Spaltung tritt ein starker Isotopeneffekt auf, wie aus dem Vergleich der T-Fixierung an **1** sowie **5**, das als solches zum Austausch eingesetzt wurde, mit dem aus der Spaltung entstandenen ersichtlich ist.

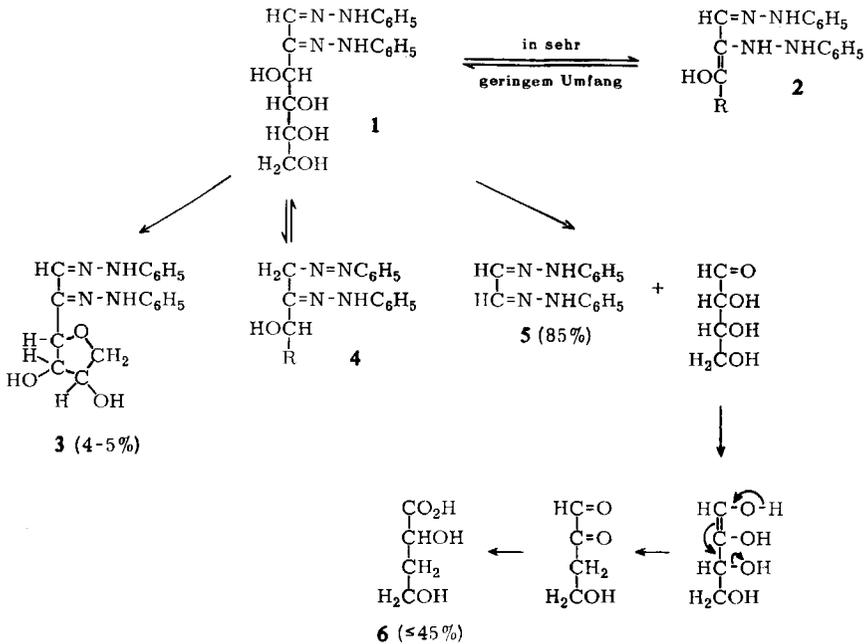
Methylphenylosazone zeigen keinen Austausch. Dies zeigt ebenfalls, daß eine  $\alpha$ -ständige OH-Gruppe den Austausch eines  $\alpha$ -ständigen, an Kohlenstoff gebundenen Wasserstoffs verhindert. Bei einer Reihe von Methylphenylhydrazonen ohne  $\alpha$ -ständige OH-Gruppe haben wir die Hydrazon/En-hydrazin-Tautomerie festgestellt<sup>3)</sup>.

Die Spaltung **1** → **5** im alkalischen Medium wurde bereits von *Diels* und Mitarbb.<sup>5)</sup> beschrieben. Die von *Kuhn* und *Bär*<sup>8)</sup> aufgefundene Spaltung von 2-[1.2.3.4-Tetrahydroxy-butyl]-chinoxalin in 0.8 *n* NaOH unter Belichtung ist dieser Spaltung analog. Ihr Mechanismus scheint jedoch von dem der Osazonspaltung verschieden zu sein, da letztere, wie wir feststellten, durch UV-Licht nicht zu beeinflussen ist. Erhitzt man **1** 30, 60 und 90 Min. in 0.1 *n* alkoholischer Kalilauge, so lassen sich nach diesen Zeiten noch  $45 \pm 2$ ,  $26 \pm 2$  und  $16 \pm 2\%$  **1** zurückgewinnen. Die entsprechenden Zahlen für

<sup>8)</sup> R. Kuhn und F. Bär, Ber. dtsch. chem. Ges. 67, 898 (1934).

Galaktoseosazon sind 64, 52 und 21 %. Bei einer schichtchromatographischen Trennung eines solchen Ansatzes auf Silicagel treten 5 Banden auf. Am Start bleiben undefinierbare Zersetzungsprodukte zurück, sodann folgt **1**, darüber befindet sich eine schmale Doppelbande, deren stärkere 3.6-Anhydroallosazon (**3**) und die schwächere vermutlich 3.6-Anhydroglucosazon darstellt und schließlich folgt **5**. Die Identifizierung des 3.6-Anhydroallosazons erfolgte durch Vergleich mit authentischem Material, das wir nach *Diels* und Mitarbb.<sup>5)</sup> durch Säureeinwirkung auf **1** darstellten. Nach *El Khadem*, *Hardegger* und Mitarbb.<sup>9)</sup> ist das von *Diels* beschriebene Produkt das 3.6-Anhydroosazon der Allose. Die Bildung von Anhydroosazonen wurde unseres Wissens bisher im alkalischen Medium noch nicht beobachtet.

Umwandlung von Glucosazon in äthanolischer Kalilauge

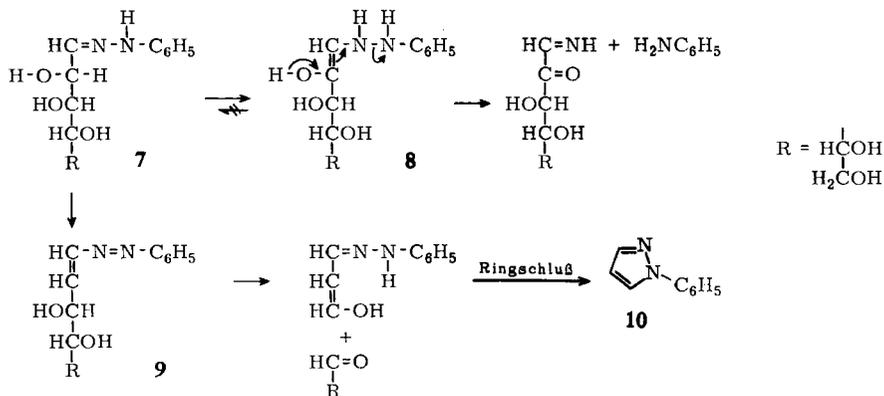


R = D-glycero-1,2,3-Trihydroxy-propyl. In Klammern Ausbeuten nach 4 Stdn.

Bei der Einwirkung von Alkali auf die Phenylsazone der Arabinose und Xylose wird in gleicher Zeit weniger **5** gebildet als aus **1**. Bei Einsatz von [1-<sup>14</sup>C]Glucosephenylsazon zusammen mit dem Osazon der Arabinose bzw. Xylose stammten nach 90 Min. nur 15 bzw. 18% des gebildeten **5** aus den Pentoseosazonen. Nach *Diels* und Mitarbb.<sup>5)</sup> entsteht aus **1** außer **5** vermutlich eine „C<sub>3</sub>-Säure“. Nach unseren Befunden tritt jedoch eine C<sub>3</sub>-Säure, wenn überhaupt, nur in geringen Mengen auf. Dagegen konnten wir die 2.4-Dihydroxybuttersäure (**6**) isolieren, deren Entstehung leicht verständlich ist (vgl. Schema). Wie zu erwarten, zeigt sie keine optische Aktivität.

<sup>9)</sup> *El Khadem, E. Schreier, G. Stöhr und E. Hardegger, Helv. chim. Acta 35, 993 (1952).*

Die Einwirkung von Alkali auf Glucose- und Mannose-phenylhydrazon zeigt ebenfalls einen komplexen Verlauf. Beide spalten, wie von uns bereits berichtet und diskutiert<sup>2)</sup>, Anilin ab. Daneben entsteht noch eine sehr schwach basische Verbindung, die wir aufgrund der Elementaranalyse, des Brechungsindex, des NMR-Spektrums und der Nitrierung zu 4-Nitro-1-[2.4-dinitro-phenyl]-pyrazol als *N*-Phenyl-pyrazol (**10**) identifizieren konnten. Chromatographisch konnten in den Ansätzen außerdem noch Ameisensäure und Essigsäure nachgewiesen und Milchsäure wahrscheinlich gemacht werden. **10** bildet sich aus Mannose-phenylhydrazon (**7**) (35%) und  $\beta$ -Glucose-phenylhydrazon im Verhältnis 1.0 : 0.57. Das Verhältnis der Anilin-Eliminierung in alkalischem Medium aus Mannose- und Glucose-phenylhydrazon steht im Verhältnis 0.67 : 1.0 (vgl.<sup>2)</sup>). Hier ist ein Zusammenhang zu vermuten. Der Wasserstoffaustausch an **7**<sup>3)</sup> erfolgt nur an C-1. Stellt man nämlich nach einem Austauschversuch aus **7** mit Phenyldiazoniumchlorid das Formazan her, so geht der gesamte T-Gehalt verloren. Da man sich aber die erwähnte Anilinabspaltung ohne Bildung einer intermediären Enol-hydrazin-Form **8** nicht gut vorstellen kann, muß man den Schluß ziehen, daß der Übergang **7**  $\rightarrow$  **8** irreversibel ist. (Vgl. die in l. c.<sup>2,1)</sup> angegebene Analogie.)



Bei der Bildung des *N*-Phenyl-pyrazols (**10**) könnte das  $\alpha,\beta$ -ungesättigte Azoprodukt **9** Zwischenprodukt sein. Der erste Schritt wäre in diesem Fall die Protonenabstraktion am Stickstoff. Es ist auffallend, daß die Bildung von 1-Benzolazo-D-*arabino*-3.4.5.6-tetraacetoxy-hexen-(1) in Pyridin und Acetanhydrid aus Mannose- und Glucose-phenylhydrazon ebenfalls im Verhältnis 1 : 0.58 erfolgt<sup>2)</sup>.

Das für diese Versuche verwendete  $\beta$ -Glucose-phenylhydrazon wurde nach einem wesentlich einfacheren Verfahren gewonnen (vgl. Beschreibung der Versuche), bei dem es nicht notwendig ist, zunächst eine Additionsverbindung aus Glucose-phenylhydrazon und Phenylhydrazin und sodann eine aus Glucose-phenylhydrazon und Pyridin zu isolieren, wie von *Behrend* und *Lohr*<sup>10)</sup> angegeben.

Wir danken der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* für eine großzügige Sachbeihilfe.

<sup>10)</sup> R. *Behrend* und F. *Lohr*, *Liebigs Ann. Chem.* **362**, 100 (1908).

## Beschreibung der Versuche

Alle Schmelzpunkte sind unkorrigiert. Die T-Analysen erfolgten in der Gasphase<sup>11)</sup>. Das T-markierte Äthanol wurde durch Zufügen von wenig hochradioaktivem Wasser zu absol. Äthanol dargestellt. Die spez. Radioaktivität des Äthanols betrug  $1.66 \cdot 10^6$  tpm/mMol.

1. *Alkalibehandlung von Glucosazon (1)*: 1.79 g (5.0 mMol) **1** wurden in 150 ccm Äthanol, das 0.1 m an KOH war, unter nachgereinigtem Stickstoff rückfließend erhitzt. Nach 30, 60 und 90 Min. wurden je 50 ccm entnommen, mit *n* HCl neutralisiert und mit 300 ccm heißem Wasser versetzt. Die auskristallisierten Osazone wurden abfiltriert, gut mit 1-proz. Essigsäure sowie Wasser gewaschen und i. Vak. scharf über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getrocknet. Anschließend wurde das Gemisch in einem Soxhlet-Extraktor mit Benzol mehrere Std. extrahiert. **1** blieb ungelöst und ließ sich durch Umkristallisieren aus Dioxan/Wasser rein gewinnen. Das T-markierte **1** wurde nach I. c.<sup>6,7)</sup> abgebaut.

Die Lösung der extrahierten Osazone wurde eingedampft, der Rückstand in etwas Methanol aufgenommen, je ca. 30 mg auf 0.5 mm dicke Kieselgelschichten (20 × 20 cm) aufgetragen und in Benzol/Petroläther (80–110°)/Äthanol (4 : 1 : 1) aufgetrennt. Die Produkte wurden aus Äthanol mehrmals bis zur Schmelzpunktskonstanz umkristallisiert. Misch-Schmp. mit authent. Material zeigten keine Depressionen. Schmp. von *Glyoxalosazon (5)* 165°, von *3.6-Anhydroallosazon (3)* 177–178°.

2. *Alkalibehandlung von Glucose-methylphenylosazon, Glyoxalosazon (5), Methylglyoxalosazon und 3.6-Anhydroallosazon (3)*: Unter den oben angegebenen Bedingungen wurden die Osazone 90 Min. erhitzt und nach Neutralisieren ausgefällt. Glucose-methylphenylhydrazon mußte zunächst schichtchromatographisch vorgereinigt werden, bevor es, wie die anderen Osazone, nach 3maligem Umkristallisieren rein war.

3. *Isolierung der 2.4-Dihydroxy-buttersäure (6)*: 10.0 g **1** (27 mMol) wurden in 400 ccm 0.12 m äthanol. KOH-Lösung 5 Std. unter gereinigtem N<sub>2</sub> rückfließend erhitzt. Der Alkohol wurde bei 30–40° Badtemp. i. Vak. abgezogen, der Rückstand mit Wasser mehrmals durchgeknetet und extrahiert. Der wäßrige Auszug wurde durch einen Kationenaustauscher geschickt, wodurch neben den Kalium-Ionen auch gelartig gelöste Zersetzungsprodukte zurückgehalten wurden. Das mit Kohle behandelte Eluat wurde zum Sirup eingeeengt. Es hinterblieben 1.45 g (45%) rohe sirupöse Säure.

*Phenylhydrazid*: 0.50 g **6** wurden mit 0.75 g Phenylhydrazin und 2 ccm Äthanol 30 Min. auf 60° erwärmt. Nach weiteren 24 Std. bei Raumtemp. fielen bei Zugabe von 5 ccm Essigester Kristalle aus, die nach Umkristallisieren aus Äthanol/Äther (3 : 1) den Schmp. 130 bis 131° zeigten (Lit.<sup>12)</sup>: 130°).

C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (210.2) Ber. C 57.02 H 6.65 N 13.32 Gef. C 57.05 H 6.72 N 13.49

4. *Bildung und Identifizierung von 1-Phenyl-pyrazol (10) aus Mannose-phenylhydrazon (7)*: 20.0 g **7** wurden in einer Lösung von 8.0 g Kaliumhydroxid p. a. (14.5% Wasser) in 400 ccm Äthanol 4 Std. unter nachgereinigtem Stickstoff rückfließend erhitzt, anschließend die dunkelbraune Reaktionsmischung mit Wasserdampf destilliert und das mit konz. Salzsäure versetzte Destillat (pH 1) i. Vak. destilliert, wobei die Vorlage auf 0° gehalten wurde. Das alkoholhaltige Destillat wurde mit 3 Tln. Wasser versetzt und mit Äther extrahiert. Nach Trocknen mit Natriumsulfat und Abdampfen des Äthers verblieben 2.9 g Rohprodukt (27%). Das bei

<sup>11)</sup> H. Simon, H. Daniel und J. F. Klebe, *Angew. Chem.* **71**, 303 (1959); H. Simon und F. Berthold, *Atomwirtschaft* **1962**, 498.

<sup>12)</sup> A. Nef, *Liebigs Ann. Chem.* **376**, 32 (1910).

ca. 140–145°/25 Torr destillierte Öl erstarrte im Kühlschrank.  $n_D^{20}$  1.5974 (Lit.<sup>13</sup>): 1.5976). NMR (in CCl<sub>4</sub>):  $\delta = t$  6.25, m 7.25 und m 7.70 ppm, Verhältnis 1.0 : 2.8 : 4.1.

C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub> (144.2) Ber. C 74.95 H 5.60 N 19.44 Gef. C 74.75 H 5.74 N 19.44

Die Nitrierung des *Phenylpyrazols* nach *Finar* und *Hurlock*<sup>14</sup>) ergab 4-Nitro-1-[2,4-dinitrophenyl]-pyrazol mit Schmp. 159° (Lit.<sup>14</sup>): 159–161.5°).

C<sub>9</sub>H<sub>5</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub> (279.2) Ber. N 25.02 Gef. N 24.95

5. *Bestimmung des Wasserstoffaustauschs an Mannose-phenylhydrazon* (7): 1.46 g 7 wurden in 160 ccm *T-markiertem Äthanol-OT*, in dem 1.28 g *Kaliumhydroxid* p. a. (14.5% Wasser) gelöst waren, 30 Min. unter Stickstoff rückfließend erhitzt. Aus der mit Äthanol. Salzsäure neutralisierten Lösung wurde der weiße Niederschlag abfiltriert und mit Wasser gut gewaschen. Das rohe 7 wurde 3 mal in Methanol/Wasser (9 : 1) gelöst und anschließend das Lösungsmittel wieder vertrieben. Zweimaliges Umkristallisieren aus Dioxan/Wasser (1 : 1) ergab schmelzpunktrees Produkt. Die molare T-Aktivität betrug 36.5% der des Äthanols. Das nach *Mester* und *Major*<sup>15</sup>) hergestellte Formazan zeigte eine molare Aktivität <0.5% der von 7.

6. *Vergleich der Bildung von N-Phenyl-pyrazol (10) aus  $\beta$ -Glucose-phenylhydrazon und [1-<sup>14</sup>C]Mannose-phenylhydrazon*: 41.00 mg [1-<sup>14</sup>C]Mannose-phenylhydrazon (8.3 · 10<sup>6</sup> ipm/mMol) und 1640 mg  $\beta$ -Glucose-phenylhydrazon wurden, wie unter 4. angegeben, erhitzt und 10 isoliert. Die <sup>14</sup>C-Analyse ergab eine Aktivität von 3.52 · 10<sup>5</sup> ipm/mMol.

7. *Vereinfachte Darstellung von  $\beta$ -Glucose-phenylhydrazon*: 3.96 g *Glucosemonohydrat* wurden in einem Gemisch aus 1 ccm Wasser und 1 ccm Pyridin gelöst und nach Zugabe von 2.16 g *Phenylhydrazin* in 20 ccm Äthanol 70 Min. unter Rückfluß gekocht. Beim Abkühlen wurde mit sehr wenig  $\beta$ -Glucose-phenylhydrazon angeimpft, nach 16 Stdn. Stehenlassen unter Stickstoff bei 3–4° abgesaugt und mit absol. Äthanol gewaschen. Nach Stehenlassen der Kristalle in 20 ccm absol. Äthanol für 24 Stdn. bei Raumtemp. konnten 1.70 g (31.5%) gut kristallisiertes Material vom Schmp. 138–139° isoliert werden.

<sup>13</sup>) I. I. Grandberg und A. N. Kost, Zhur. Obschei Khim 29, 658 (1959), C. A. 54, 505b (1960).

<sup>14</sup>) Z. L. Finar und R. J. Hurlock, J. chem. Soc. [London] 1957, 3025.

<sup>15</sup>) L. Mester und A. Major, J. Amer. chem. Soc. 78, 1403 (1956).