

Kurt Heyns, Karl-Werner Pflughaupt und Dietrich Müller

Ketosylamin-Umlagerung bei der Umsetzung von D-Fructose mit Pyrrolidin¹⁾

Aus dem Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg

(Eingegangen am 6. März 1968)

Durch Umsetzung von D-Fructose mit Pyrrolidin und Ketosylamin-Umlagerung wird 2-Pyrrolidino-2-desoxy-D-glucose (**2**) erhalten. Die D-*gluco*-Konfiguration von **2** wird durch Analyse der NMR-Spektren des Tetraacetats **4** und des Tetrabenzoates **5** bewiesen. Der massenspektrometrische Fragmentierungsmechanismus des Tetraacetates **4** wird mit den Fragmentierungswegen anderer Aminozucker verglichen.

Primäre aliphatische Amine lassen sich mit D-Fructose unter milden Bedingungen glatt zu *N*-Alkyl-D-glucosamin-Derivaten umsetzen²⁾. Häufig erfolgt diese Ketosylamin-Umlagerung spontan, in einigen Fällen wurde die Reaktion mit Säuren katalysiert.

Bei Einwirkung sekundärer aliphatischer Amine wie Piperidin oder Morpholin auf D-Fructose wird eine Isomerisierung zu D-Glucose und D-Psicose beobachtet. Mit Dicyclohexylamin läßt sich D-Fructose zu 20—25% in D-Psicose umlagern, die als kristalline Diisopropyliden-D-psicose gewinnbar ist³⁾. Als Reaktionsprodukte der Umsetzung von D-Fructose mit Piperidin konnten das Piperidino-hexose-reduktion (*N*-[2.3.4-Trihydroxy-4-methyl-cyclopenten-(2)-yliden]-piperidiniumbetain) sowie durch Amadori-Umlagerung von *N*-D-Glucosyl-piperidin gebildete 1-Piperidino-1-desoxy-D-fructose isoliert werden³⁾. Eine weitere, vermutlich durch Ketosylamin-Umlagerung von D-Fructose mit Piperidin gebildete Aminoverbindung erwies sich als sehr instabil und war daher nicht isolierbar³⁾.

Die Umlagerungsversuche von Fructose mit L-Prolin hatten gezeigt, daß D-Fructose prinzipiell in gleicher Weise wie mit anderen Aminosäuren⁴⁾ unter Ketosylamin-Umlagerung zu den drei Zuckerosaminosäuren D-Glucose-L-Prolin, D-Mannose-L-Prolin

1) Vorhergehende Mitteil.: K. Heyns, K.-W. Pflughaupt und H. Paulsen, Chem. Ber. **101**, 2800 (1968), vorstehend.

2) K. Heyns, R. Eichstedt und K. Meinecke, Chem. Ber. **88**, 1551 (1955); J. F. Carson, J. Amer. chem. Soc. **77**, 1881, 5957 (1955); **78**, 3728 (1956).

3) K. Heyns, H. Paulsen und H. Schroeder, Tetrahedron [London] **13**, 247 (1961).

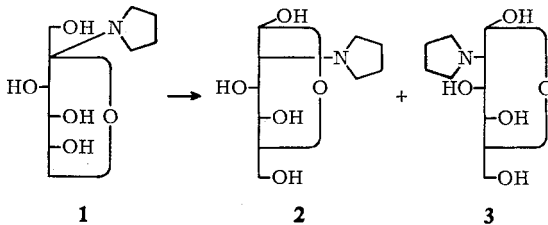
4) K. Heyns, H. Breuer und H. Paulsen, Chem. Ber. **90**, 1374 (1957).

und D-Fructose-L-Prolin reagieren kann³⁾. Die Ausbeuten an Hexose-Aminosäuren sind jedoch recht niedrig, womit gezeigt wird, daß auch unter günstigsten Bedingungen D-Fructose mit sekundären Aminen nur schwierig reagiert.

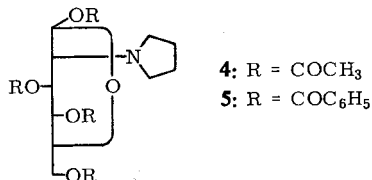
Wir haben gefunden, daß das dem Prolin entsprechende sekundäre Amin Pyrrolidin überraschend glatt und in guter Ausbeute mit D-Fructose zur 2-Pyrrolidino-2-desoxy-D-glucose (**2**) umgelagert werden kann. Andere cyclische Amine wie Piperidin und Hexamethylenimin sowie offenkettige Amine wie Dimethyl-, Diäthyl- oder Methylbenzyl-amin reagieren dagegen nicht. Ein Grund für die Sonderstellung des Pyrrolidins ist nicht erkennbar.

Kristalline 2-Amino-aldosen lassen sich aus D-Fructose und aliphatischen Aminen allgemein derart gewinnen, daß man die Ketose in einem Überschuß des Amins längere Zeit in der Kälte reagieren läßt. Bei der Umsetzung von D-Fructose mit Pyrrolidin führt diese Methode zu dunkelbraunen, nicht kristallisierbaren sirupösen Produkten. Als vorteilhafter erwies es sich, D-Fructose in einer ätherischen Pyrrolidinlösung unter Zusatz einer katalytischen Menge Essigsäure umzusetzen. Beim Erhitzen unter Rückfluß wird die D-Fructose im Verlauf der Reaktion gelöst und das Reaktionsprodukt scheidet sich in schwach gefärbten Nadeln ab.

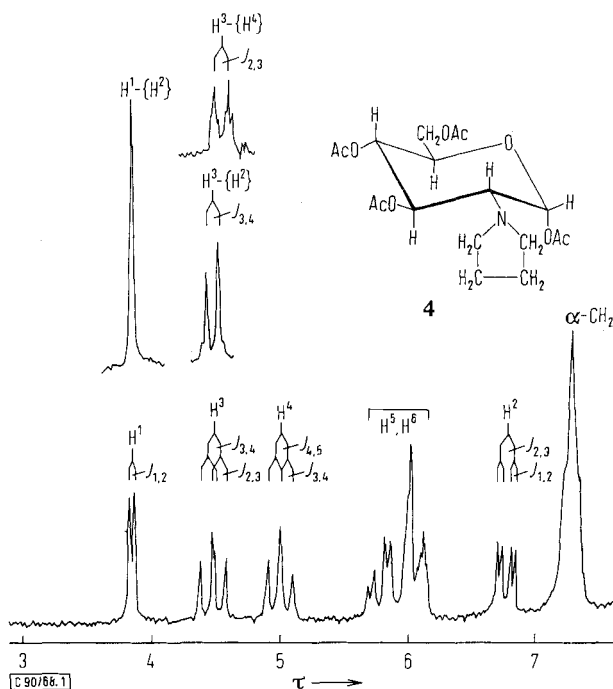
Zwischenprodukt der Umsetzung von D-Fructose mit Pyrrolidin dürfte das labile N-Fructosid **1** sein, das unter Säurekatalyse zu einem Gemisch von 2-Pyrrolidino-2-desoxy-D-glucose (**2**) und -D-mannose (**3**) umgelagert wird. Der Nachweis, daß es sich bei dem isolierten Umlagerungsprodukt um eine Verbindung in der *gluco*-Konfiguration handelt, wurde mit Hilfe der NMR-Spektroskopie erbracht.



Da erfahrungsgemäß peracylierte Kohlenhydrate weit besser aufgelöste Kernresonanzspektren als die freien Kohlenhydrate liefern, wurden das Tetraacetat **4** und das Tetrabenzoat **5** der 2-Pyrrolidino-2-desoxy-D-glucose synthetisiert. Für **4** ließen sich die Signale aller Ringprotonen des Kohlenhydratgerüsts zuordnen und alle entsprechenden Kopplungskonstanten entnehmen, wodurch die Konfiguration und Konformation des Umlagerungsproduktes als eines substituierten D-Glucosamins festgelegt werden konnten.



Das 100-MHz-Kernresonanzspektrum des 2-Pyrrolidino-2-desoxy-D-glucose-tetraacetates (**4**) zeigt Abbild. 1. Das Signal für das anomere Proton zeigt den kleinsten τ -Wert (τ 3.85) und ist durch Kopplung mit dem benachbarten Proton am C-2 zu einem Dublett mit der kleinen Kopplungskonstante $J_{1,2} = 3.5$ Hz aufgespalten, wie sie für eine syn-clinale Anordnung des äquatorialen Protons am C-1 und des axialen Protons am C-2 in der α -D-glucopyranose-Konfiguration zu erwarten ist. Das Signal für das Proton am C-2 ergibt von allen Ringprotonen den größten τ -Wert. Da H^2 nicht nur mit dem Proton am C-1, sondern auch mit dem axial stehenden Proton am C-3 koppelt, findet man für H^2 ein Quartett bei τ 6.78. Die Diaxialkopplung beträgt $J_{2,3} = 10.6$ Hz. Das Proton am C-3 bei τ 4.48 zeigt infolge der beiden Diaxialkopplungen mit H^2 und H^4 wiederum ein Quartett mit $J_{3,4} = 9.5$ Hz.



Abbild. 1. NMR-Spektrum der 2-Pyrrolidino-1.3.4.6-tetra-O-acetyl-2-desoxy- α -D-glucose (**4**) (CDCl₃, TMS als innerer Standard, Raumtemperatur)

Die vorgenommene Zuordnung der Signale wurde durch die Einstrahlung der Resonanzfrequenz von H^2 gesichert, wobei man für H^1 ein scharfes Singulett findet, während das Quartett für H^3 in ein Dublett übergeht. Für das Proton am C-4 sind Diaxialkopplungen mit H^3 und H^5 zu erwarten. Man findet für H^4 bei τ 5.01 ein Triplet, da die Kopplungen H^4/H^5 und H^4/H^3 beide 9.5 Hz betragen. Strahlt man die Resonanzfrequenz von H^4 ein, dann geht das Quartett für H^3 in ein Dublett mit $J_{2,3} = 10.6$ Hz über. Das Proton am C-5 und die Protonen am C-6 sind nicht zu analysieren.

Die in der Tab. aufgeführten Kopplungskonstanten zeigen eindeutig, daß das 2-Pyrrolidino-2-desoxy-D-glucose-tetraacetat (**4**) in der C1-Sesselkonformation vorliegt. Die großen, für eine Diaxialkopplung typischen Konstanten für H² und H³, H³ und H⁴ sowie H⁴ und H⁵ sind nur mit der C1-Sesselform vereinbar. Die α -Konfiguration am Kohlenstoffatom 1 folgt aus dem kleinen Wert für eine a-e-Kopplung von H¹ und H². Diese Zuordnung stimmt mit der für eine α -Glucoform zu erwartenden hohen positiven spezifischen Drehung des Tetraacetates **4** von $[\alpha]_D^{20}$: +120° überein.

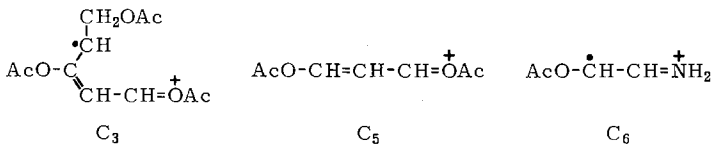
NMR-Daten für das Tetraacetat **4** und das Tetrabenzoat **5**

	Chemische Verschiebung (τ)				Kopplungskonstanten (Hz)			
	H ¹	H ²	H ³	H ⁴	$J_{1,2}$	$J_{2,3}$	$J_{3,4}$	$J_{4,5}$
4	3.85	6.78	4.48	5.01	3.5	10.6	9.5	9.5
5	3.42	6.34	3.77		3.6	9.8	10.0	

Ein weiteres gut kristallisierendes Derivat von **2** wurde durch Benzoylierung erhalten. Auch dieses Tetrabenzoat **5** zeigt ein analysierbares NMR-Spektrum, das dem von **4** entspricht. Wie aus der Tab. hervorgeht, stimmen Lage und Aufspaltungen der Signale der Protonen H¹ bis H³ mit denen des Tetraacetates **4** weitgehend überein.

Massenspektrometrische Fragmentierung der 2-Pyrrolidino-1.3.4.6-tetra-O-acetyl-2-desoxy- α -D-glucopyranose (**4**)

Die massenspektrometrischen Untersuchungen peracetylierter Hexopyranosen^{5,6)} und peracetylierter Hexosamine⁷⁾ haben gezeigt, daß die Ringgröße der Halbacetalform eines Monosaccharids und die Stellung einer eingeführten Amino-Gruppe aus dem Massenspektrum bestimmt werden können. Charakteristisch für die Pyranoseform einer Hexose sind die Folgeprodukte der Primärsplaltung C, der Trennung der Bindung zwischen den C-Atomen 1 und 2 im Molekül-Ion. Mit hohen Intensitäten findet man bei den Pentaacetyl-hexopyranosen das Radikal-Ion C₃ mit den C-Atomen 2, 3, 4, 5 und 6 und dessen Folgeprodukte und das Allyl-Ion C₅ mit den C-Atomen 2, 3 und 4.



Bekannt ist, daß Acetoxy-Gruppen leicht Keten verlieren. Man findet daher mit vergleichbarer Intensität auch Signale bei um je 42 Masseneinheiten (ME) niedrigeren Massenzahlen (MZ). Das Intensitätsverhältnis dieser Bruchstücke hängt in starkem Maße von der Stabilisierung der positiven Ladung oder des einsamen Elektrons durch den Substituenten am C-Atom 2 ab. So ist bei den peracetylierten Hexopyranosen das Ion C₅ nach dem Acetyl-Ion mit höchster Intensität vertreten. Das Massenspektrum des Pentaacetyl-D-galaktosamins ist dem der Hexose-pentaacetate sehr ähnlich. Entsprechend der Acetamido-Gruppe an C-2 sind

⁵⁾ K. Biemann, D. C. De Jongh und H. K. Schnoes, J. Amer. chem. Soc. **85**, 1763 (1963).

⁶⁾ K. Heyns und D. Müller, Tetrahedron Letters [London] **1966**, 6061.

⁷⁾ K. Heyns, G. Kießling und D. Müller, Carbohydr. Res. **4**, 452 (1967).

die Massenzahlen der stickstoffhaltigen Fragmente um 1 *ME* nach unten verschoben. In dem Massenspektrum des 1.3.4.6-Tetra-*O*-acetyl- β -D-glucosamins beobachtet man neben den Allyl-Ionen C_5 und C'_5 mit vergleichbarer Intensität die Radikal-Ionen C_6 und C'_6 (C_6 -Keten) mit den C-Atomen 2 und 3.

Radikal-Ionen vom Typ C_6 sind charakteristisch für permethylierte Methyl-hexopyranoside⁸⁾. Methoxy-Gruppen stabilisieren die positive Ladung oder das einsame Elektron gleich gut. Eine freie oder alkylierte Amino-Gruppe besitzt ähnliche Eigenschaften. Die Bildung der Radikal-Ionen C_3 und C_6 ist nur bei den Pyranosen ein günstiger Abbauweg, da bei diesen als Nebenprodukte neutrale Moleküle entstehen. Die wichtigsten Produkte des durch Elektronenstoß induzierten Zerfalls der Pentaacetyl-hexofuranosen⁵⁾ sind neben den Allyl-Ionen C_5 und C'_5 die Bruchstücke der Bindungsspaltung C-4/C-5. Mit hoher Intensität findet man das Seitenketten-Ion $\text{AcO}-\text{CH}_2-\text{CH}=\overset{+}{\text{O}}\text{Ac}$ der *MZ* 145. Dieses Ion charakterisiert eindeutig die Furanoseform einer peracetylierten Hexose.

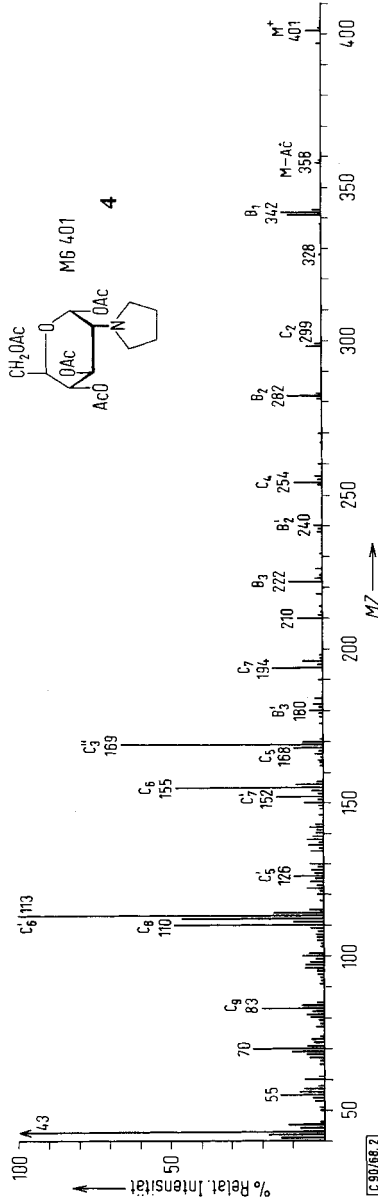
Das Massenspektrum der Verbindung **4** zeigt die Abbild. 2. Überraschend für ein Kohlenhydrat-Derivat ist das Auftreten eines relativ intensiven Molekül-Ions. Die Signale im oberen Massenbereich sind typisch für acetylierte Zucker. Der Peak der *MZ* 358 entspricht der Abspaltung einer Acetyl-Gruppe an C-1. Zu einer Fragmentreihe cyclischer Ionen führt die Primärspaltung B, bei der die Acetoxy-Gruppe an C-1 entfernt wird. Das Primär-Ion B_1 der *MZ* 342 kann durch Eliminierung von Essigsäure und Keten weiter zerfallen. Mit geringer Intensität beobachtet man ein Signal der *MZ* 328, das der Abspaltung einer AcOCH_2 -Gruppe entspricht.

Charakteristisch für das Massenspektrum von **4** sind die Signale bei den Massenzahlen 169, 155, 113 und 110.

Das Haupt-Ion hat die *MZ* 113. Ein metastabiles Ion der *MZ* 82.4 beweist die Reaktion $155^+ \rightarrow 113^+ + 42$. Die beiden Bruchstücke stellen die Radikal-Ionen C_6 und C'_6 dar. Dieser Ionen-Typ tritt nur bei geradzahigen Ringformen mit höherer Intensität auf. Bei Furanosen würde neben den C-C-Radikal-Ionen entweder ein Cyclopropan-Derivat oder ein Äthylen-Derivat und ein Carben entstehen, so daß dieser Prozeß eine geringe Wahrscheinlichkeit besitzt. Damit ist allein durch das Auftreten des Radikal-Ions C'_6 als Haupt-Ion die Pyranoseform von **4** massenspektrometrisch nachgewiesen. Die Allyl-Ionen C_5 und C'_5 haben wegen der Pyrrolidino-Gruppe die *MZ* 168 und 126. Sie werden mit geringer Intensität gefunden.

Das erste Schema gibt einen Überblick über die Fragmentierungsmechanismen. Das Primär-Ion C_1 kann durch eine einfache Elektronenverschiebung in das Radikal-Ion C_6 übergehen; als Nebenprodukte entstehen 1.3-Diacetoxy-propen und das Anhydrid der Ameisen- und Essigsäure. Das Ion C_6 kann Keten eliminieren zum Haupt-Ion C'_6 oder ein Acetyl-Radikal abgeben (*MZ* 112). In einer anderen Reaktion kann die Acetoxy-Gruppe von C-3 zum C-Atom 1 wandern⁶⁾. Die geminalen Acetoxy-Gruppen verlieren leicht Acetanhydrid. Es bildet sich das Radikal-Ion C_2 *MZ* 299. Dieses Fragment kann einmal Acetoxy-acetaldehyd und ein Formyl-Radikal verlieren und in das Allyl-Ion C_5 übergehen. Ein weiterer wichtiger Zerfallsweg des Ions C_2 beginnt mit einer McLafferty-Umlagerung des Wasserstoffs an C-4 an die Carbonyl-

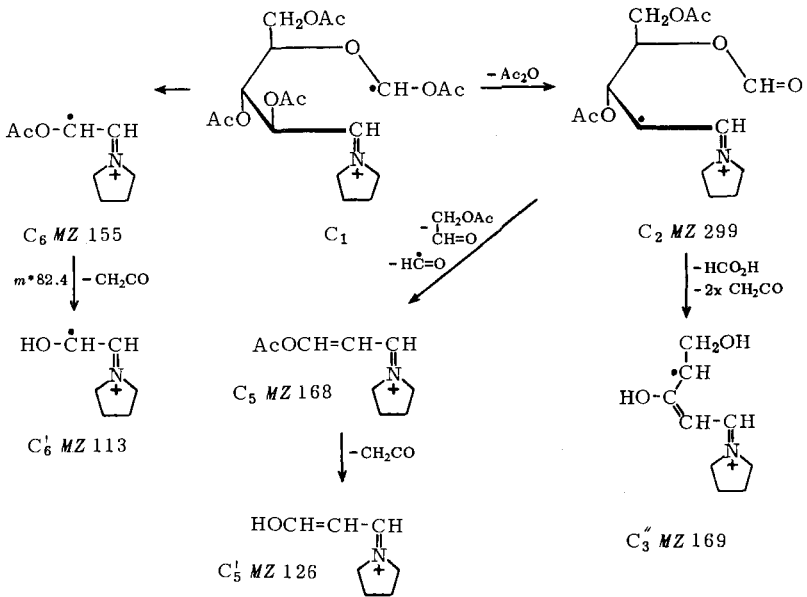
⁸⁾ N. K. Kochetkov, N. S. Wulfson, O. S. Chishov und B. N. Zolotarev, Tetrahedron [London] **19**, 2209 (1963).



Abbild. 2. Massenspektrum der 2-Pyrrolidino-1,3,4,6-tetra-O-acetyl-2-deoxy- α -D-glucose (4)

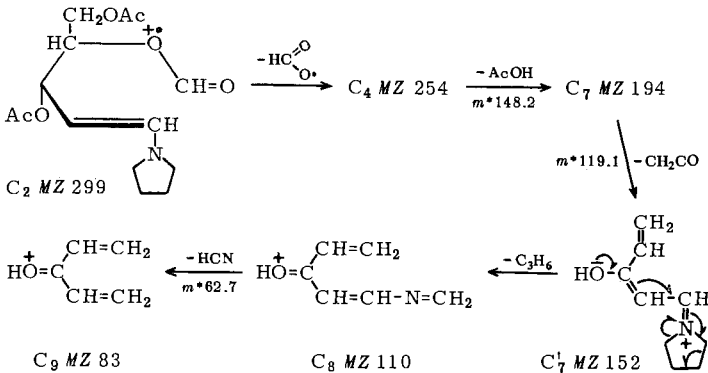
Gruppe von C-1, das dann als Ameisensäure eliminiert wird. Zweimalige Ketten-Eliminierung ergibt das Radikal-Ion C''₃ der MZ 169. Die genaue Massenbestimmung bestätigt die angegebene Fragmentzusammensetzung. Mesomeriestabilisierte Radikal-Ionen dieses Typs sind ebenfalls charakteristisch für peracetylierte Pyranosen⁶⁾.

Schema 1



Bei der Primärsplaltung C konkurrieren die C-Atome 1 und 2 um den Verbleib der positiven Ladung. Bleibt die Ladung an C-1, so stabilisiert sich das Radikal-Ion C_2 durch Abspaltung eines Formyloxy-Radikals zum Ion C_4 der MZ 254. Diese Zerfallsreaktion zeigt das zweite Schema. Das Fragment C_4 verliert Essigsäure und Keten. Metastabile Ionen der MZ 148.2 und 119.1 beweisen diese Reaktionen. Der ebenfalls

Schema 2



durch ein metastabiles Ion belegte Abbau $110^+ \rightarrow 83^+ + 27$ läßt sich nur deuten, wenn man annimmt, daß das Fragment C'_7 der MZ 152 aus dem Pyrrolidinring C_3H_6 verliert. In dem gebildeten Ion C_8 , MZ 110, ist die Ladung über das gesamte Molekül delokalisiert. Die Eliminierung von Cyanwasserstoff ergibt das Bruchstück C_9 MZ 83.

Dem Massenspektrum von **4** lassen sich folgende Aussagen entnehmen: **4** liegt als Pyranose vor. Die Pyrrolidino-Gruppe befindet sich am C-Atom 2. Eine Unterscheidung der Anomeren ist massenspektrometrisch nicht möglich, da α - und β -Formen gleiche Fragmentierungsreaktionen zeigen.

Beschreibung der Versuche

Die NMR-Spektren wurden mit den Varian-Geräten A 60 und HA-100 aufgenommen. Für die Doppelresonanzversuche wurde die „frequency sweep“-Methode benutzt. Die Aufnahme des Massenspektrums erfolgte mit einem CH-4 Massenspektrometer. Die Elektronenenergie betrug 70 eV. Die Substanz wurde über den Direkteinlaß in die auf 170° geheizte Ionenquelle eingebracht. Die genaue Massenbestimmung einiger Fragmente wurde mit einem SM-1 Massenspektrometer vorgenommen.

2-Pyrrolidino-2-desoxy- α -D-glucose (2): 1.8 g getrocknete *D-Fructose* werden mit 5 ccm frisch dest. *Pyrrolidin*, 30 ccm absol. Äther und 0.1 ccm frisch dest. *Eisessig* 6 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Die *Fructose* löst sich im Verlaufe der Reaktion auf und **2** scheidet sich als gelbliche verfilzte Kristallmasse ab. Nach dem Abkühlen wird die überstehende hellbraune Lösung dekantiert. Das Reaktionsprodukt wird in methanolischer Lösung mit Aktivkohle entfärbt und aus 150 ccm Methanol umkristallisiert. Ausb. 360 mg (15.5%, bez. auf die eingesetzte *Fructose*). Aus der dekantierten Lösung kann nach Einengen zum Sirup und Aufnehmen in Methanol weitere Substanz erhalten werden. Schmp. 176–177° (vorgeheizt auf 150°, Zers.). $[\alpha]_D^{20}$: +94.8° (3 Min.) \rightarrow +87.2° (Enddrehwert; $c = 1.1$; 0.1 *n* HCl).

$C_{10}H_{19}NO_5$ (233.3) Ber. C 51.49 H 8.21 N 6.01 Gef. C 51.39 H 8.17 N 5.98

Die Substanz ist gegen verd. Mineralsäuren stabil (2 Stdn. in 2 *n* H_2SO_4 bei 80–85°), leicht löslich in verd. Mineralsäuren, dagegen schwer löslich in vielen org. Lösungsmitteln wie Pyridin, Dimethylsulfoxid, Acetonitril, Dimethylformamid, CS_2 und CH_3NO_2 .

2-Pyrrolidino-1.3.4.6-tetra-O-acetyl-2-desoxy- α -D-glucopyranose (4): 221 mg **2** werden unter Eiskühlung in 2 ccm trockenem *Pyridin* und 2 ccm *Acetanhydrid* suspendiert. Nach 20 Stdn. läßt man die nunmehr klare Lösung noch 2 Stdn. bei Raumtemp. stehen. Nach Einengen i. Vak. und zweimaligem Aufnehmen in Benzol und erneutem Einengen wird die farblose Kristallmasse aus Äthanol umkristallisiert. Ausb. 188 mg (34%), Schmp. 135–136°. $[\alpha]_D^{20}$: +120.2° ($c = 1.2$; $CHCl_3$).

$C_{18}H_{27}NO_9$ (401.4) Ber. C 53.86 H 6.78 N 3.49 Gef. C 53.74 H 6.85 N 3.46

2-Pyrrolidino-1.3.4.6-tetra-O-benzoyl-2-desoxy- α -D-glucopyranose (5): 330 mg **2** werden unter Eiskühlung mit 3 ccm *Pyridin* und 1.5 ccm *Benzoylchlorid* versetzt. **2** löst sich rasch unter leichter Braunfärbung. Nach 20 Stdn. haben sich im Kühlschränk etwa 300 mg *Tetrabenzoat 5* abgeschieden. Man saugt ab und nimmt die Mutterlauge in Chloroform auf. Dann wird wie üblich mit verd. Salzsäure, Na_2CO_3 -Lösung und Wasser ausgeschüttelt, getrocknet und eingengt. Das auskristallisierte rohe **5** (ca. 700 mg) und die oben erhaltenen 300 mg werden aus Äthanol umkristallisiert. Ausb. fast quantitativ. Schmp. 183–184°. $[\alpha]_D^{20}$: +62.9° ($c = 1.3$; $CHCl_3$).

$C_{38}H_{35}NO_9$ (649.7) Ber. C 70.25 H 5.43 N 2.16 Gef. C 70.34 H 5.13 N 2.18