

28. Kurt Heyns und Hans Paulsen: Synthese der D-Glucosaminuronsäure (2-Amino-2-desoxy-D-glucuronsäure) und einige ihrer Derivate (IX. Mitteil. über Oxydative Umwandlungen an Kohlenhydraten¹⁾)

[Aus dem Chemischen Institut der Universität Hamburg]

(Eingegangen am 20. November 1954)

α -Benzyl-N-carbobenzoxy-D-glucosaminid (II), welches aus N-Carbobenzoxy-D-glucosamin (I) und chlorwasserstoffhaltigem Benzylalkohol erhältlich ist, läßt sich mit Sauerstoff am Platinkontakt zum α -Benzyl-N-carbobenzoxy-D-glucosaminuronid (III) oxydieren. Die Abdehydrierung des Benzyl- und Carbobenzoxy-Restes liefert die freie D-Glucosaminuronsäure (IV). α -Methyl-D-glucosaminuronid wird über α -Methyl-N-carbobenzoxy-D-glucosaminuronid aus α -Methyl-N-carbobenzoxy-D-glucosaminid erhalten.

D-Glucosamin und D-Glucuronsäure sind als Bausteine zahlreicher Naturstoffe (Mucopolysaccharide, Hyaluronsäure) weit verbreitet. Die D-Glucosaminuronsäure, welche beide funktionellen Gruppen der beiden Substanzen in sich vereinigt, erschien uns von Interesse, auch im Zusammenhang mit einer Gruppe chemisch nahestehender saurer Polyoxyamino-Verbindungen noch unbekannter Struktur: der Lactaminsäure von R. Kuhn²⁾, der Neuraminsäure von E. Klenk³⁾ und der Sialinsäure von G. Blix⁴⁾. In dem von E. T. Krebs⁵⁾ aus Aprikosenkernen und Reiskleie isolierten Vitamin B₁₅ soll ein Aminoderivat der Glucuronsäure vorliegen.

Zur Darstellung der D-Glucosaminuronsäure wurde die katalytische Oxydation mittels Sauerstoffs bei Gegenwart von Platinkatalysatoren in wäßriger Lösung nach K. Heyns und Mitarbb.^{6, 7)} herangezogen. Bei Blockierung der Aldehydgruppe am C-Atom 1 von Aldosen durch Glykosid-Bindung oder Acetalbrücke erfolgt die Oxydation spezifisch an der primären Alkoholgruppe am C-Atom 6 unter Bildung von Uroniden, deren Spaltung zu den freien Säuren jedoch vielfach Schwierigkeiten bereitet⁸⁾.

In gewissen Fällen werden auch sekundäre Alkoholgruppen zu Ketogruppen spezifisch dehydriert, so liefert meso-Inosit z.B. scyllo-meso-Inosose¹⁾. Die direkte katalytische Oxydation von D-Glucosamin unter milden Bedingungen liefert D-Glucosaminsäure⁷⁾. Zur Darstellung der D-Glucosaminuronsäure muß neben der Aldehydgruppe am C-Atom 1 auch die freie Aminogruppe am C-Atom 2 blockiert werden, da diese für die chemische Instabilität des freien Glucosamins verantwortlich gemacht werden muß⁹⁾.

¹⁾ VIII. Mitteil.: K. Heyns u. H. Paulsen, Chem. Ber. 86, 833 [1953].

²⁾ R. Kuhn u. R. Grossmer, Chem. Ber. 87, 123 [1954].

³⁾ E. Klenk u. K. Lauenstein, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 291, 147 [1952].

⁴⁾ Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 240, 43 [1936]. ⁵⁾ C. 1952, 4960; 1953, 2952.

⁶⁾ K. Heyns, Liebigs Ann. Chem. 558, 177 [1947] und folgende Arbeiten.

⁷⁾ K. Heyns u. W. Koch, Chem. Ber. 86, 110 [1953].

⁸⁾ Vergl. C. L. Mehlretter, B. H. Alexander, R. L. Mellies u. C. E. Rist, J. Amer. chem. Soc. 73, 2424 [1951]; Amer. Pat. 2472168, 2562200; C. A. 48, 7506 [1949]; 46, 3561 [1952]; N. R. Trenner, Amer. Pat. 2428438, 2483251; C. A. 42, 929 [1948]; 44, 3521 [1950]; C. A. Marsh, J. chem. Soc. [London] 1952, 1578; Kwan-Chung Tsou u. A. M. Seligman, J. Amer. chem. Soc. 75, 1042 [1953].

⁹⁾ K. Heyns, Ch.-M. Koch u. W. Koch, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 296, 121 [1954].

Zur Blockierung wählten wir die *N*-Carbobenzoxy-Gruppe, die sich als stabil genug erwies, um die erforderlichen Reaktionsbedingungen (etwa 10stdg. Erhitzen auf 95° bei p_H 7–8) zu überstehen. Die so substituierten Verbindungen waren in der Hitze genügend wasserlöslich, um in Reaktion treten zu können und zeichneten sich in der Kälte durch Schwerlöslichkeit und ausgezeichnete Kristallisationsfähigkeit aus. Es zeigte sich ferner, daß sich die Carbobenzoxygruppe schonend wieder abspalten läßt. Eine Blockierung durch die *N*-Acetyl-Gruppe erwies sich als ungünstig.

Die Darstellung des α -Methyl-*N*-carbobenzoxy-D-glucosaminids durch direkte Glykosidierung von *N*-Carbobenzoxy-D-glucosamin mit methanolischer Salzsäure ist bereits von A. Neuberger und R. P. Rivers¹⁰⁾ beschrieben worden. Bei der Nacharbeitung dieser Vorschrift fanden wir für die Enddrehung der Reaktionslösung einen wesentlich höheren Wert, und auch das von uns in besserer Ausbeute isolierte α -Methyl-glykosid zeigte eine um 24° höhere Drehung und einen höheren Schmelzpunkt. Es ist anzunehmen, daß das von Neuberger und Rivers beschriebene Produkt noch β -Glykosid enthielt. Über eine ähnliche Beobachtung berichtete kürzlich R. Kuhn¹¹⁾ beim α -Methyl-*N*-acetyl-D-glucosaminid. Auch diese, bisher von verschiedenen Autoren beschriebene Verbindung, erwies sich nach papierchromatographischer Untersuchung als β -glykosidhaltig und konnte noch weiter gereinigt werden.

α -Methyl-*N*-carbobenzoxy-D-glucosaminid lieferte bei 14stdg. katalytischer Oxydation bei 75° α -Methyl-*N*-carbobenzoxy-D-glucosaminuronid. Bei einem Teil der Versuche zeigte der Katalysator im Verlaufe der Oxydation eine fortschreitende Inaktivierung. Durch laufende Zugabe frischen Katalysators ließen sich auch diese Oxydationen zum Abschluß bringen.

Durch Abhydrierung des Carbobenzoxy-Restes mit Palladium in Methanol wurde das α -Methyl-D-glucosaminuronid erhalten. Diese Verbindung reagiert in wäßriger Lösung als Aminosäure neutral. Mit halbkonz. Salzsäure erhitzt, liefert sie reduzierende Substanzen; der Naphthoresorcin-Test ist jedoch negativ, ebenso die Reaktionen mit Bials- und Ehrlichs Reagens.

Die Hydrolyse des Glykosids zur D-Glucosaminuronsäure führte nicht zum Erfolg. Es ist bekannt, daß die Glykoside des Glucosamins und insbesondere das Methylglykosid wesentlich schwerer spaltbar sind, als die der Glucose^{12,13)}. Entsprechend der langsamen Spaltungsgeschwindigkeit ist auch die Bildungsgeschwindigkeit für Glucosaminide sehr gering. So lassen sich D-Glucosamin und auch *N*-Acetyl-D-glucosamin praktisch nicht mit Chlorwasserstoff enthaltendem Alkohol direkt glykosidieren. Beide Eigenschaften sollen nach R. C. G. Moggridge¹⁴⁾ ihre Ursache in einer Abschirmung der Wasserstoffionen durch die in der sauren Lösung vorliegende positive Ammoniumgruppe am C-Atom 2 haben. Man kann hingegen auch annehmen, daß der starke induktive Effekt (-I-Effekt) der Ammoniumgruppe sich bis auf das C-Atom 1 auswirkt und die hier induzierte positive Ladung den Angriff kationischer Reagenzien, z.B. von Wasserstoffionen, zu den Glykosidierungszentren behindert. Wenn man ferner bedenkt, daß Glucuronide schwieriger zu spalten sind als Glucoside, so ist beim Methyl-D-glucosaminuronid ein Maximum an schwerer Spaltbarkeit zu erwarten, und es war kaum damit zu rechnen, daß eine noch isolierbare Menge D-Glucosaminuronsäure die notwendigen starken Hydrolysenbedingungen überstehen würde.

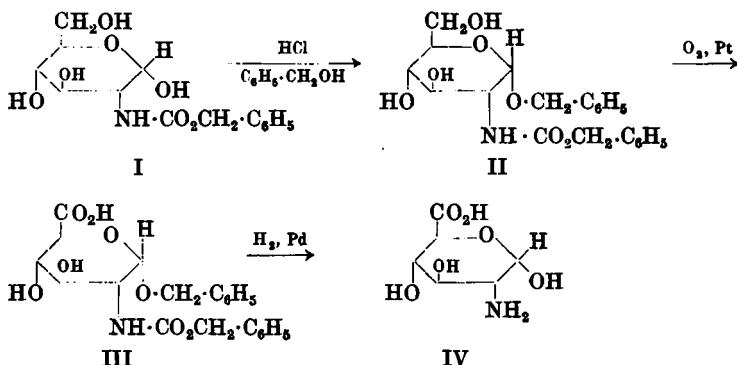
¹⁰⁾ J. chem. Soc. [London] 1939, 122.

¹¹⁾ R. Kuhn, F. Zilliken u. A. Gauhe, Chem. Ber. 86, 466 [1953].

¹²⁾ J. C. Irvine, D. McNicoll u. A. Hynd, J. chem. Soc. [London] 99, 250 [1911].

¹³⁾ R. C. G. Moggridge u. A. Neuberger, J. chem. Soc. [London] 1938, 745.

Wir übertrugen daher die Oxydationsreaktion auf Benzylglykoside, die sich unter Wiederherstellung der Aldehydgruppe durch Hydrierung leicht spalten lassen¹⁴⁾. Es ergab sich somit folgender Reaktionsweg:



Benzylglykoside des *D*-Glucosamins sind bisher nur über das Tetraacetyl- oder Triacetyl-bromglucosamin^{15), 16)} dargestellt worden. Wir setzten das *N*-Carbobenzoxy-*D*-glucosamin (I) direkt mit chlorwasserstoffhaltigem Benzylalkohol um und erhielten in guter Ausbeute α -Benzyl-*N*-carbobenzoxy-*D*-glucosaminid (II). Nach den Ergebnissen von W. O. Cutler und S. Peat¹⁵⁾ kann β -Benzyl-*N*-acetyl-trimethyl-*D*-glucosaminid mit chlorwasserstoffhaltigem Benzylalkohol in der Wärme quantitativ und irreversibel in das entsprechende α -Benzylglykosid umgelagert werden. Da bei der obigen Glykosidierungsreaktion in der Wärme gearbeitet werden muß, entsteht auch hier praktisch nur das α -Benzylglykosid.

Das Glykosid II ließ sich durch katalytische Oxydation bei 95° glatt in α -Benzyl-*N*-carbobenzoxy-*D*-glucosaminuronid III überführen. Da das Glykosid II in Wasser nur wenig löslich ist, mußte in Suspension oxydiert werden; das Uronid III geht dann als Natriumsalz in Lösung und kann aus der eingesengten Lösung durch Ansäuern ausgefällt werden. Während der Oxydation tritt Geruch nach Benzaldehyd auf.

Mit β -Benzyl-*N*-acetyl-*D*-glucosaminid¹⁶⁾ konnte die entsprechende Uronsäure nicht dargestellt werden. Neben unverändertem Ausgangsmaterial konnten nur niedere Säuren als Bruchstücke eines weitergehenden Abbaus festgestellt werden. Die *N*-Acetyl-Blokierung ist offenbar nicht so stabil wie die *N*-Carbobenzoxy-Konfiguration.

Das Uronid III hat Pyranosestruktur, da es etwa 1 Mol. Perjodsäure verbraucht, während die Furanoseform keine Perjodsäure verbrauchen würde. Die Oxydation verläuft langsam¹⁷⁾ und wird durch Methanol, welches hinzugegeben werden muß, um das schwer lösliche Uronid in Lösung zu bringen, stark verzögert, so daß der Verbrauch von 1 Mol. erst nach 2–3 Tagen erreicht wird.

Bei der Perjodsäurespaltung des Glycosids II wäre bei beiden Formen ein Verbrauch von 1 Mol. zu erwarten.

¹⁴⁾ C. E. Ballou, S. Roseman u. K. P. Link, J. Amer. chem. Soc. **73**, 1140 [1951].

¹⁵⁾ W. O. Cutler u. S. Peat, J. chem. Soc. [London] 1939, 274.

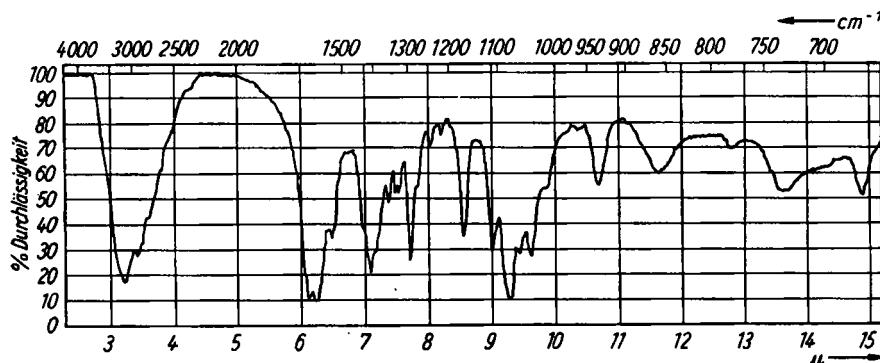
¹⁶⁾ R. Kuhn u. W. Kirschenlohr, Chem. Ber. **86**, 1331 [1953].

¹⁷⁾ A. Neuberger, J. chem. Soc. [London] 1941, 47.

Da nach P. Fleury¹⁸⁾ bei sehr langer Perjodsäureeinwirkung teilweise auch die Gruppierung -CHOH-COOH angegriffen wird, wurde zum Vergleich der Perjodsäureverbrauch beim Glykosid II und beim β -Benzyl-N-acetyl-D-glucosaminid, dessen Pyranosestruktur eindeutig bestimmt ist, unter gleichen Bedingungen gemessen. Beide Glykoside verbrauchen mit der gleichen geringen Geschwindigkeit wie das Uronid je 1 Mol. Perjodsäure. Eine Furanoseform würde in diesem Fall sehr viel schneller unter Bildung von Formaldehyd reagieren, wie z.B. 1,3,2,4-Diäthylensorbit. β -Benzyl-N-acetyl-D-glucosaminid reagiert in reinem Wasser ohne Methanol in wenigen Stunden.

Aus dem α -Benzyl-N-carbobenzoxy-D-glucosaminuronid III erhielten wir unter gleichzeitiger Abhydrierung des Benzyl- und Carbobenzoxyrestes unter milden Bedingungen die freie D-Glucosaminuronsäure (IV) in analysenreiner Form. Dabei reagierte bevorzugt der Carbobenzoxyrest, doch war es nicht möglich, die Hydrierung nur bis zur Stufe des α -Benzyl-D-glucosaminurons zu führen. Schon bald war neben dem Benzyluronid die freie Säure IV papierchromatographisch nachweisbar.

Die D-Glucosaminuronsäure ist in reinem Wasser überraschend schwer löslich. Die wäßrigen Lösungen sind hitzeempfindlich. In Säuren und Basen ist die Säure IV äußerst leicht löslich. Die Lösungen in Säure sind beständiger als die in Wasser. Einstündiges Erwärmen in n HCl auf 70° ist ohne Einfluß; eine Lactonisierung läßt sich papierchromatographisch nicht nachweisen, im Gegensatz zur entsprechenden N-Acetylverbindung der Säure IV. Bei 30 Min. langem Erwärmen in n HCl auf 100° färbt sie sich unter Huminabscheidung braun. Gegen Alkali ist die Säure wie D-Glucosamin äußerst empfindlich. 15 Min. langes Erwärmen in n NaOH auf 70° oder mehrtägiges Aufbewahren mit n NaOH bei Raumtemperatur bewirkt einen weitgehenden Abbau. In derartigen Lösungen können papierchromatographisch mindestens 7 mit ammoniakalischer Silbernitratlösung anfärbbare schnell laufende Komponenten gefunden werden.



IR-Spektrum der wasserfreien D-Glucosaminuronsäure, 2.4 mg in 1 g KBr gepreßt

Die Glucosaminuronsäure ist ninhydrin-positiv. Sie läuft auf dem Papierchromatogramm, wie erwartet, langsamer als D-Glucosamin. Sie reagiert nicht mit Orcin (Bial-Test), nicht direkt und auch nicht nach Alkalibehandlung mit

¹⁸⁾ P. Fleury, G. Poiret u. Y. Fievet, C. R. hebd. Séances Acad. Sci. 220, 664 [1945].

Dimethylamino-benzaldehyd (Ehrlich-Test) und zeigt mit Säuren keine sofortige Huminabscheidung. Für die Lactamin-, Neuramin- und Sialinsäure²⁾ werden die letzten drei Reaktionen als stark positiv beschrieben. Die Naphthoresorcinreaktion (Tollens) ist negativ. Dagegen ist die Elson-Morgan-Reaktion¹⁹⁾, bei der nach alkalischer Behandlung mit Acetylaceton mit Dimethylamino-benzaldehyd ein roter Farbstoff entsteht, wie beim D-Glucosamin positiv. Der Farbstoff wurde nach der Schlossschen Modifikation²⁰⁾ dieser Reaktion hergestellt, die Absorptionskurve gemessen und mit einer in entsprechender Weise gewonnenen Kurve des D-Glucosamin-hydrochlorids verglichen. Das Absorptionsmaximum, welches beim D-Glucosamin bei 512 m μ liegt, ist bei der Säure IV nach 532 m μ verschoben. Die Farbintensität bei der Säure IV liegt nur etwa 6 % unter der des D-Glucosamins.

Beschreibung der Versuche

Darstellung des Katalysators: 10 g Platin als Platinchlorwasserstoffsäure werden in 2 l Wasser gelöst; die Lösung wird mit Natriumcarbonatlösung schwach alkalisch gemacht und auf 80° erhitzt. Nach Zugabe von 90 g Carboraffin lässt man während 30 Min. 45 ccm 40-proz. Formaldehydlösung unter Röhren zutropfen und röhrt noch 2 Stdn. bei 80°; dann wird der Katalysator abgesaugt, chlorionen-frei gewaschen und bei 60° getrocknet.

Das an sich bewährte Verfahren der Oxydation im Kluyverschen Belüftungskolben unter Durchblasen oder Durchsaugen von Sauerstoff bzw. Luft erweist sich bei den hier angeführten Substanzen als undurchführbar, weil die Lösungen stark schäumen.

Durchführung der Oxydation: Als Reaktionsgefäß dient ein normaler Dreihalskolben mit kräftigem schnellaufenden Rührer (1800 Umdrehungen/Min.) und Rückflußkühler. Der Kolben wird durch einen Thermostaten auf der gewünschten Temperatur gehalten. In die Lösung wird ein Sauerstoffstrom von etwa 5–10 Blasen pro Sek. eingeleitet. Ein typischer Reaktionsverlauf ist unter α -Benzyl-N-carbobenzoxy-D-glucosaminid beschrieben.

α -Methyl-N-carbobenzoxy-D-glucosaminid: 40 g N-CARBObENZOXY-D-glucosamin²¹⁾ werden in 2.5 l absol. Methanol, welches 0.7% HCl enthält, suspendiert und auf 42° gehalten. Nach Auflösen der Substanz wird die Drehung verfolgt: $[\alpha]_D$: +65° (98 Stdn.), +73° (148 Stdn.), +84° (172 Stdn.), +87° (244 Stdn.), Drehung bleibt konstant. Die Lösung wird mit Bleicarbonat neutralisiert, von den Bleiniederschlägen abfiltriert und i. Vak. zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird in 175 ccm heißem Wasser aufgenommen und mit Tierkohle entfärbt. Beim Abkühlen kristallisieren 25 g des Glykosids (59% d.Th.) in langen Nadeln vom Schmp. 160–161° aus. Nach Umkristallisieren aus Wasser hat das Produkt den Schmp. 162°. Es ist sehr leicht löslich in heißem Wasser, Pyridin, leicht löslich in Methanol, Aceton, wenig löslich in kaltem Wasser (1% bei 4°). $[\alpha]_D^{20}$: +104.7° (c = 2.5 in Pyridin).

C₁₅H₂₁O₇N (327.3) Ber. C 55.03 H 6.47 N 4.28 Gef. C 54.78 H 6.58 N 4.33

A. Neuberger und R. T. Rivers¹⁰⁾, die die gleiche Verbindung herstellten, fanden den Enddrehwert der Reaktionslösung zu $[\alpha]_D$: +65°. Das von ihnen isolierte Produkt hatte Schmp. 154–155°, $[\alpha]_D$: +80° (Pyridin).

α -Methyl-N-carbobenzoxy-glucosaminuronid: 10 g α -Methyl-N-carbobenzoxy-D-glucosaminid werden mit 5 g 10-proz. Platin-Katalysator und 2.7 g

¹⁹⁾ L. A. Elson u. W. Th. I. Morgan, Biochem. J. 27, 1824 [1933].

²⁰⁾ B. Schloss, Analytic. Chem. 28, 1321 [1951].

²¹⁾ E. Chargaff u. M. Bovarnick, J. biol. Chemistry 118, 421 [1937].

NaHCO_3 in 500 ccm Wasser bei 75° oxydiert. Zu Beginn der Oxydation wird die Lösung mit $\frac{1}{5}$ der NaHCO_3 -Menge auf p_{H} 8.0 gebracht. Das p_{H} wird dann während der Reaktion laufend kontrolliert und, sobald es auf p_{H} 7.0 abgesunken ist, durch weitere NaHCO_3 -Gaben wieder auf p_{H} 7.8–8.0 eingestellt. Wenn nach etwa 3 Stdn. die Hälfte des Glucosids oxydiert ist, wird mit dem Alkali auch laufend frischer Katalysator zugeführt, so daß insgesamt etwa 10 g Katalysator zur Anwendung kommen. Normalerweise ist die Reaktion nach 14 Stdn. beendet; es ist dann alles Alkali verbraucht. Der Katalysator wird abgesaugt, mit heißem Wasser gründlich ausgewaschen und die braungefärbte Lösung i. Vak. auf 25 ccm eingeeengt. Mit 3.5 ccm konz. Salzsäure wird unter kräftigem Rühren die Säure in Freiheit gesetzt, die sofort zu einer breiigen Masse erstarrt. Nach 1 stdg. Stehenlassen im Eisschrank wird abgesaugt, getrocknet, gepulvert und mehrmals mit Äther ausgewaschen. In den meisten Fällen enthält diese Rohsäure (6.4 g) noch unverändertes Ausgangsprodukt, welches auch durch häufiges Umkristallisieren nicht abgetrennt werden kann. Zur Reinigung wird die Säure mit der äquivalenten Menge NaHCO_3 (1.7 g) in 15 ccm Wasser in das Natriumsalz übergeführt. Die Lösung wird i. Vak. zur Trockne eingedampft, das trockene Salz fein gepulvert und fünfmal mit absol. Essigester ausgezogen. Der Rückstand wird in 15 ccm Wasser gelöst, mit 2.5 ccm konz. Salzsäure versetzt und die ausgeschiedene Säure wird unter Zusatz von Tierkohle aus etwa 40 ccm Wasser umkristallisiert; Ausb. 3.3 g (33% d. Th.), lange Nadeln, sehr leicht löslich in Methanol, Äthanol und heißem Wasser, mäßig löslich in kaltem Wasser (2% bei 4°) und Essigester, wenig löslich in Äther. Schmp. 183 – 184° (Zers.). $[\alpha]_D^{20} : +89.9^\circ$ ($c = 2.5$ in Methanol).

$\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_8\text{N}$ (341.3) Ber. C 52.78 H 5.61 N 4.10 Gef. C 53.04 H 5.73 N 4.04
Säureäquivalent, ber. 341, gef. 338.

α -Methyl-*D*-glucosaminuronid: 1 g α -Methyl-*N*-carbobenzoxy-*D*-glucosaminuronid werden mit 650 mg Palladium-Katalysator (10-proz. auf Kohle) in 25 ccm Methanol unter Wasserstoff-Durchleiten hydriert. Die Reaktion ist beendet, sobald kein Kohlendioxid mehr entweicht (etwa 6 Stdn.). Die Hauptmasse der hydrierten Säure hat sich am Katalysator niedergeschlagen, während die Reste des Ausgangsmaterials im Methanol verbleiben. Mit einigen ccm Wasser wird die Säure vom Katalysator gelöst und zur Entfärbung der braun gefärbten Lösung durch eine kleine Aluminiumoxyd-Säule (Merck) gegeben. Nach Eindunsten der Lösung und Trocknen des Rückstandes über Diphosphorpanoxyd hinterbleibt ein farbloser Lack, der beim Berühren mit dem Spatel in Blättchen abspringt. Die so erhaltene Substanz (475 mg, d.s. 78% d. Th.) ist bereits analysenrein. Aus viel heißem Methanol ist sie durch vorsichtige Zugabe von absol. Äther in Form feiner verfilzter Nadelchen erhältlich. Sie ist äußerst leicht löslich in Wasser, wenig in Methanol und unlöslich in Äthanol. Der Tollen's-Test mit Naphthoresorcin ist negativ. Nach Erhitzen mit halbkonzentrierter Salzsäure wird Fehlingsche Lösung reduziert, *D*-Glucosaminuronsäure konnte aus der salzauren Lösung nicht isoliert werden. Das Glykosid sintert bei 196° und zersetzt sich bei 203 – 207° unter Aufblähen. $[\alpha]_D^{20} : +126.3^\circ$ ($c = 2.0$ in Wasser).

$\text{C}_7\text{H}_{12}\text{O}_6\text{N}$ (207.2) Ber. C 40.58 H 6.33 N 6.78 Gef. C 40.66 H 6.42 N 6.50

α -Benzyl-*N*-carbobenzoxy-*D*-glucosaminid (II): In 750 ccm einer frisch hergestellten Lösung von 2% HCl in Benzylalkohol werden unter kräftigem Rühren (ein Zusammenklumpen ist möglichst zu vermeiden) 30 g feinst gepulvertes *N*-Carbobenzoxy-*D*-glucosamin (I)²¹ eingetragen. Nach $\frac{1}{2}$ stdg. Erwärmen auf 60° ist alles in Lösung gegangen, nach einer weiteren Stunde ist der Höchstwert der Drehung α : $+5.20^\circ$ (1-dm-Rohr) erreicht. Die Salzsäure wird durch Schütteln mit PbCO_3 neutralisiert, der Bleiniederschlag abfiltriert und das Lösungsmittel bei etwa $80^\circ/1$ –2 Torr abdestilliert. Die sofortige Entfernung des Benzylalkohols ist erforderlich, da sich das mitentstandene Benzylchlorid bei längerer Einwirkung mit dem Glucosaminderivat zu höhermolekularen schwerlöslichen Verbindungen kondensiert. Der feste glasige Rückstand wird mehrmals mit Äther verrieben (Ausb. 35 g) und zweimal aus 500 ccm absol. Äthanol umkristallisiert.

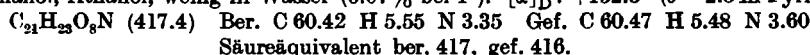
siert. Ausb. 22 g (57% d.Th.) lange verfilzte Nadeln vom Schmp. 174°, wenig löslich in Methanol, Äthanol, heißem Wasser, unlöslich in kaltem Wasser. $[\alpha]_D^{20}$: +144.8° (c = 2.1 in Pyridin).



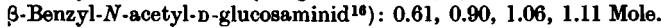
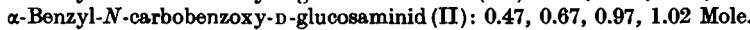
α -Benzyl-N-carbobenzoxy-D-glucosaminuronid(III): 15 g α -Benzyl-N-carbobenzoxy-D-glucosaminid(II) werden mit 8 g Platinkatalysator in 1500 ccm Wasser suspendiert und unter kräftigem Rühren und Sauerstoffeinblasen sowie Zugabe von 4.1 g NaHCO₃ bei 95° oxydiert. Das Natriumhydrogencarbonat wird in 50 ccm Wasser gelöst und jeweils zugegeben, wenn das p_H auf 7.0 abgesunken ist. Ein typischer Oxydationsansatz verläuft wie folgt:

Zeit (Stdn.)	0	1/4	2/3	1 1/2	2	3	4 1/2	6	9
p_H	7.0	7.0	7.1	7.2	7.1	7.0	7.1	7.2	7.1
zugegebene NaHCO ₃ -Menge (ccm)	10	10	5	5	5	5	5	5	beendet
p_H nach der Zugabe	7.6	8.0	7.8	7.9	7.8	7.7	8.0	7.9	—

Nach 3 Stdn. wird gleichzeitig frischer Katalysator zugegeben. Die Reaktion ist beendet, wenn alles Glykosid in Lösung gegangen ist und eine herausgenommene Probe nicht mehr in der Kälte gelartig erstarrt. Nach dem Absaugen und Auswaschen des Katalysators wird die Lösung auf 300 ccm eingeeengt. Dabei scheidet sich noch wenig Ausgangsprodukt kolloidal ab, wodurch die Lösung schleimig und stark viscos wird. Durch Zugabe von (NH₄)₂SO₄ und Schütteln mit Quarzsand lässt sie sich in eine zentrifugier- oder filtrierbare Form bringen. Aus dem Filtrat wird die Säure mit 6 ccm konz. Salzsäure ausgefällt und aus etwa 1 l heißem Wasser unter Entfärbung mit Tierkohle umkristallisiert. Gelingt es nicht, die oben erwähnten schleimigen Bestandteile zu entfernen, so muß die Säure mit NaHCO₃ in das Natriumsalz übergeführt, getrocknet und gepulvert werden. Bei anschließendem Wiederaufnehmen in Wasser bleibt das nicht umgesetzte Glykosid zurück und kann abgetrennt werden. Die Uronsäure kristallisiert in langen Nadeln vom Schmp. 186° (Zers.); Ausb. 6 g (40% d.Th.); sie ist leicht löslich in Methanol, Äthanol, wenig in Wasser (0.07% bei 4°). $[\alpha]_D^{20}$: +132.3° (c = 2.5 in Pyridin).



Perjodsäure-Verbrauch: 25 mg Glykosid werden in 20 ccm Methanol gelöst, mit 10 ccm Wasser verdünnt und mit 10 ccm einer Lösung versetzt, die 40 mg NaJO₄ und die äquivalente Menge Essigsäure enthält. Die Lösungen werden bei Raumtemperatur stehengelassen und jeweils die verbrauchte Perjodsäure am 1., 2., 3. und 4. Tag titrimetrisch bestimmt.



1,3,2,4-Diäthyliden-sorbit verbraucht nach 1 Stde. 0.91, nach 1 Tag 0.97 Moll. Perjodsäure. β -Benzyl-N-acetyl-D-glucosaminid, welches im Wasser gut löslich ist, reagiert in reinem Wasser ohne Alkoholzusatz viel schneller. Bereits nach 6 Stdn. ist der Wert von 1 Mol. erreicht.

D-Glucosaminuronsäure(IV): 10 g α -Benzyl-N-carbobenzoxy-D-glucosaminuronid(III) werden in 120 ccm Wasser suspendiert und mit 7 g frisch hergestelltem 10-proz. Palladium-Katalysator unter Durchleiten von Wasserstoff hydrierend gespalten. Nach 8 Stdn. ist die CO₂-Abgabe beendet. Es wird geschlossen weiterhydriert, bis kein Wasserstoff mehr aufgenommen wird oder kein α -Benzyl-D-glucosaminuronid papierchromatographisch mehr nachzuweisen ist (weitere 8 Stdn.). Der mit feinen Kristallen der bereits ausgeschiedenen D-Glucosaminuronsäure durchsetzte Katalysator wird abfiltriert und zweimal in 150 ccm Wasser von 50° suspendiert. Die Lösungen werden

bei 15° im Ölumpfen-Vakuum auf 40 ccm eingeengt. Dabei scheidet sich die bereits reine Säure ab. Durch Einengen des Filtrats werden weitere Anteile gewonnen, insgesamt 4.6 g (84% d. Th.). Die Säure kann aus warmem Wasser umkristallisiert werden, jedoch ist nicht bis zum Sieden zu erhitzen, da schon nach 30 Min. langem Erwärmen auf 70° Gelbfärbung und eine deutlich saure Reaktion der anfänglich neutralen Lösung auftritt. Bei 100° färbt sich die Lösung schnell braun und papierchromatographisch lassen sich ein neuer schwacher Ninhydrin-Fleck, 3 deutliche Säureflecken und eine Reihe anderer verschwister mit ammoniakalischer Silbernitrat-Lösung anfärbarer Flecke nachweisen. Beim Eindampfen währ. Lösungen ist daher mögliche Schonung geboten.

Die Säure kristallisiert in Prismen mit 2 Moll. Kristallwasser und beginnt sich ab 120° unter Abspaltung des Kristallwassers und Braufärbung zu zersetzen. Bei 172° tritt vollständige Zersetzung unter Aufblähen (Kapillarrohr) ein. Die Säure ist in reinem Wasser wenig löslich (1% bei 4°), äußerst leicht löslich in Säuren und Basen, unlöslich in Methanol und Äthanol, $[\alpha]_D^{20} : +55^\circ$ (Hydrat, über CaCl_2 getrocknet, $c = 0.5$ in Wasser). Eine Mutarotation wurde nicht beobachtet, jedoch löst sich die Verbindung so langsam in Wasser, daß eine möglicherweise schnell verlaufende Drehungsänderung nicht feststellbar ist.

$\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_6\text{N} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (229.2) Ber. C 31.44 H 6.60 N 6.11 Gef. C 31.72 H 6.57 N 5.91

Über Diphosphorpenoxyd i. Vak. wird das Kristallwasser abgegeben. Die letzten Reste lassen sich erst bei 50° i. Vak. entfernen. Dabei färbt sich die Substanz bereits schwach gelblich; wasserfreie Substanz Schmp. 172° (Zers.).

$\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_6\text{N}$ (193.2) Ber. C 37.31 H 5.74 N 7.25 Gef. C 37.31 H 5.72 N 7.23

R_F -Werte: Es wurde mit Butanol-Eisessig-Wasser 7:0.7:2.3 entwickelt und mit Ninhydrin angefärbt. Folgende R_F -Werte wurden ermittelt (bezogen auf D-Glucosamin = 1 (R-Glucosamin)): D-Glucosamin: 1, D-Glucosaminuronsäure: 0.73, α -Methyl-D-glucosaminuronid: 0.90, α -Benzyl-D-glucosaminuronid: 2.04.

29. Norbert Kreutzkamp: Über Carbonyl- und Cyan-phosphonsäure-ester. I. Mitteil.: Darstellung von Phosphono-acetessigester und -malonester durch Acylierungsreaktionen

[Aus dem Pharmazeutisch-Chemischen Institut der Universität Marburg (Lahn)]

(Eingegangen am 23. November 1954)

Durch Einwirkung von Säurechloriden auf das Äthoxymagnesiumsalz des Phosphono-essigsäure-triäthylesters konnten β -Dicarbonyl-phosphonsäure-ester dargestellt werden. Durch Umsetzung mit Acetylchlorid entstand α -Diäthylphosphono-acetessigester, mit Chlorameisensäureester wurde Diäthylphosphono-malonester erhalten. Die Synthese dieser Verbindungen gelang auch durch Acylierung von Acetessigester bzw. Malonester mit Phosphorsäure-diäthylester-chlorid.

Phosphono-essigsäure-triäthylester lässt sich, wie zuerst A. E. Arbusow und A. A. Dunin¹⁾ fanden, mit Alkalimetallen in indifferenten Lösungsmitteln zu Salzen umsetzen, die ähnlich wie Natrium-malonester mit Alkyljodiden in Alkyl-phosphono-essigsäure-triäthylester übergehen. Es war zu erwarten, daß die Salze des Phosphono-essigsäure-triäthylesters noch leichter mit Säurechloriden reagieren und auf diese Weise β -Dicarbonyl-phosphonsäure-ester ergeben würden.

¹⁾ Ber. dtsch. chem. Ges. **60**, 291 [1927].