

Äthyl-[α -benzyloxy-äthyl]-sulfid: Aus 21.5 g Benzylalkohol und 24.2 g Dimethylanilin in 25 ccm Äther mit 25.0 g Äthyl- α -chloräthyl-sulfid in 25 ccm Äther. Sdp.₁₂ 128–129°, Ausb. 15 g (38% d. Th.).

$C_{11}H_{16}OS$ (196.3) Ber. C 67.30 H 8.22 Gef. C 67.65 H 8.26

Spaltung mit $HgCl_2$: 0.2862 g Sbst.: Gef. 14.1 ccm 0.1 *n* KOH, ber. 14.6 ccm; gef. 0.4350 g $ClHgSC_2H_5$, ber. 0.4333 g.

Phenyl-[α -äthoxy-äthyl]-sulfid: Aus 22 g Thiophenol, 36 g Dimethylanilin und 25 ccm Äther mit 21.7 g Äthyl- α -chloräthyl-äther in 25 ccm Äther. Sdp.₁₃ 114–115°, Ausb. 15 g (41% d. Th.).

$C_{10}H_{14}OS$ (182.3) Ber. C 65.89 H 7.74 Gef. C 66.36 H 7.92

Spaltung mit $HgCl_2$: 0.3240 g Sbst.: Gef. 17.7 ccm 0.1 *n* KOH, ber. 17.8 ccm; gef. 0.6115 g $ClHgSC_2H_5$, ber. 0.6137 g.

C_6H_5ClSHg (345.2) Ber. C 20.87 H 1.46 Hg 58.11 Gef. C 20.82 H 1.67 Hg 57.32

Benzyl-[α -äthoxy-äthyl]-sulfid: Aus 24.8 g Benzylmercaptan, 36 g Dimethylanilin und 25 ccm Äther mit 21.7 g Äthyl- α -chloräthyl-äther in 25 ccm Äther. Sdp.₁₃ 129–132°, Ausb. 17 g (43% d. Th.).

$C_{11}H_{16}OS$ (196.3) Ber. C 67.30 H 8.22 Gef. C 67.96 H 8.53

Spaltung mit $HgCl_2$: 0.2853 g Sbst.: Gef. 14.4 ccm 0.1 *n* KOH, ber. 14.5 ccm; gef. 0.5143 g $ClHgSC_2H_5$, ber. 0.5221 g.

C_7H_7ClSHg (359.3) Ber. C 23.40 H 1.96 Hg 55.84 Gef. C 23.52 H 2.03 Hg 55.43

210. Richard Kuhn und Gerd Krüger: 3-Acetamino-furan aus *N*-Acetyl-D-glucosamin; ein Beitrag zur Theorie der Morgan-Elson-Reaktion

[Aus dem Max-Planck-Institut für Medizinische Forschung, Institut für Chemie, Heidelberg]

(Eingegangen am 3. März 1956)

Ausgehend vom chromatographisch gereinigten Gemisch der Chromogene, die bei der Einwirkung von verd. Alkali auf *N*-Acetyl-D-glucosamin entstehen und mit *p*-Dimethylamino-benzaldehyd Rotfärbung geben, ließ sich eine schön kristallisierende optisch inaktive Substanz der Formel $C_6H_7O_2N$ gewinnen, welche die Farbreaktion mit Ehrlichs Aldehyd intensiv gibt. Es handelt sich, wie eine von Furan-carbonsäure-(3) ausgehende Synthese zeigt, um das noch unbekannte 3-Acetamino-furan.

Zum qualitativen Nachweis und zur quantitativen Bestimmung von *N*-Acyl-2-amino-zuckern, die als Bausteine zahlreicher Naturstoffe erkannt wurden, hat die Farbreaktion mit *p*-Dimethylamino-benzaldehyd (Ehrlichs Aldehyd) große Bedeutung erlangt. Die Substanz wird zunächst mit verd. Natriumcarbonatlösung erwärmt, wobei sich das „Chromogen“ bildet; dann wird in saurer Lösung der Aldehyd zugegeben, wobei schon in der Kälte der violettstichig rote Farbstoff entsteht.

Die am Pentaacetyl-D-glucosamin gemachte grundlegende Beobachtung von F. Müller¹⁾ haben zuerst F. Zuckerkandl und L. Messiner-Klebermass²⁾ zu einem analytischen Verfahren ausgestaltet, dem dann W. T. J. Morgan und L. A. Elson³⁾ die heute meistgebrauchte Ausführungsform gegeben haben. Weder das Chromogen noch der Farbstoff konnten bisher rein dargestellt und in ihrer Konstitution geklärt werden. Von verschiedenen

¹⁾ Z. Biol. 42, 561 [1901]. ²⁾ Biochem. Z. 236, 19 [1931]. ³⁾ Biochem. J. 28, 988 [1934].

Bearbeitern sind weit divergierende Mutmaßungen geäußert und durch chemische Formelbilder erläutert worden. So hat man angenommen, daß bei der Einwirkung von verd. Alkali auf *N*-Acetyl-D-glucosamin ein Pyrrol, ein Pyrrolin²⁾, ein Oxazolin^{3, 4)} oder ein *N,N*-Diacetyl-glucopyrazin⁵⁾ entstehe. Aber keine dieser Theorien, denen die neue Monographie von P. W. Kent und M. W. Whitehouse⁶⁾ ein besonderes Kapitel widmet, und auf die deshalb hier nicht näher eingegangen werden soll, ist experimentell hinlänglich begründet und frei von Widersprüchen.

Die chromatographische Reinigung des Chromogens, das aus *N*-Acetyl-D-glucosamin mit Hilfe des stark basischen Austauschers Amberlite IRA-400 (OH[⊖]) oder mit Hilfe von Bariumhydroxydlösung in der Wärme oder aus Pentaacetyl-D-glucosamin in Methanol mit basischen Agenzien in der Kälte gewonnen wurde, hat ergeben, daß in allen Fällen 3 Chromogene gebildet werden. Diese zeigen, wenn man in *sek.*-Butanol, das mit Wasser gesättigt ist, auf Schleicher & Schüll-Papier 2043 b aufsteigend chromatographiert und mit *p*-Dimethylamino-benzaldehyd oder mit Anilin-hydrogenphthalat besprüht, folgende R_{N-Agl} -Werte, die auf die Wanderungsgeschwindigkeit von *N*-Acetyl-glucosamin bezogen sind:

Chromogen I (sehr stark)	$R_{N-Agl} = 1.55$	$R_F = 0.54$
Chromogen II (schwach)	$R_{N-Agl} = 2.10$	$R_F = 0.73$
Chromogen III (schwach)	$R_{N-Agl} = 2.31$	$R_F = 0.82$

Das in überwiegender Menge gebildete Chromogen I zeigt im Ultraviolett bei 230 m μ eine Absorptionsbande⁷⁾. Die Bildung von zwei Chromogenen bei der Einwirkung von verd. Alkali auf Ovomucin und auf *N*-Acetyl-glucosamin war bereits P. G. Stanley⁸⁾ aufgefallen. Unter allen von uns versuchten Bedingungen, eine maximale Chromogenausbeute zu erzielen, blieben mindestens 50 % des *N*-Acetyl-glucosamins unverändert, das sich kristallisiert zurückgewinnen ließ. Das durch Kohle-Celite-Säulen gereinigte I,II,III-Gemisch macht 10–15 % des eingesetzten bzw. 20–30 % des in Reaktion getretenen *N*-Acetyl-glucosamins aus.

Die Komponente I konnte in papierchromatographisch einheitlicher Form durch wiederholte Säulenchromatographie an Aluminiumoxyd (nach H. Brockmann standardisiert, E. Merck), wobei als Lösungsmittel *sek.*-Butanol-Wasser sowie Pyridin-Essigester-Wasser dienten, frei von den Komponenten II und III gewonnen werden. Sie stellt eine nur schwach gelb-

⁴⁾ T. White, J. chem. Soc. [London] 1940, 428.

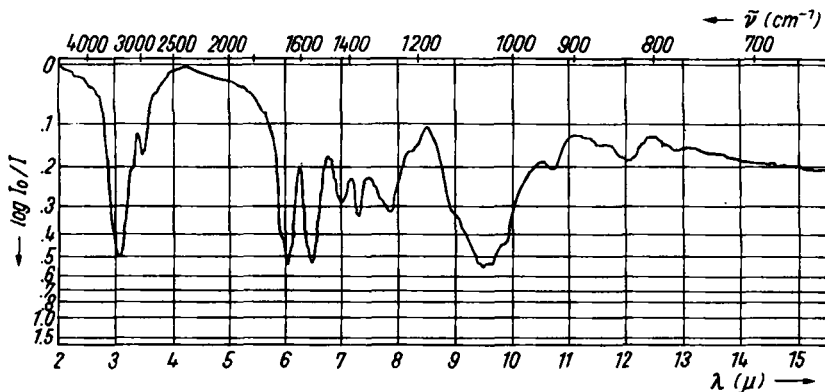
⁵⁾ W. T. J. Morgan, Chem. and Ind. 16, 1191 [1938]; vergl. A. Gottschalk, Nature [London] 167, 845 [1951].

⁶⁾ P. W. Kent u. M. W. Whitehouse, Biochemistry of the Aminosugars, Butterworth, London 1955, S. 175–184; A. B. Foster u. M. Stacey, Advances Carbohydrate Chem. 7, 259–261 [1952].

⁷⁾ D. Aminoff, W. T. J. Morgan u. W. M. Watkins, Biochem. J. 51, 379 [1952].

⁸⁾ Austral. J. exp. Biol. med. Sci. 31, 187 [1953]; siehe auch P. W. Kent u. M. W. Whitehouse, Biochemistry of the Aminosugars, S. 178; bei der Reaktion von Glucosamin mit Acetylaceton beobachtete B. Schloss, Analytic. Chem. 23, 1321 [1951], die Bildung von mehreren Ehrlich-positiven Substanzen.

stichige schaumartige, äußerst hygroskopische Substanz dar. Das so gewonnene Chromogen I ist in wäßriger Lösung rechtsdrehend, $[\alpha]_D^{20}$ etwa 54° , und reduziert heiße Fehlingsche Lösung. Mit Ehrlichs Aldehyd erhält man eine violettstichige intensiv rote Lösung, die bei $512\text{ m}\mu$ eine ganz schwache und zwei sehr starke Absorptionsbanden bei 542 und $584\text{ m}\mu$ zeigt. Das IR-Spektrum zeigt die für —NH—CO— charakteristischen zwei Banden, Amid I bei 6.0 und Amid II bei $6.45\text{ }\mu$. Dieser Befund (Abbild. 1) machte die Formulierungen



Abbild. 1. IR-Spektrum des Chromogens I (Sirup zwischen Steinsalzplatten)

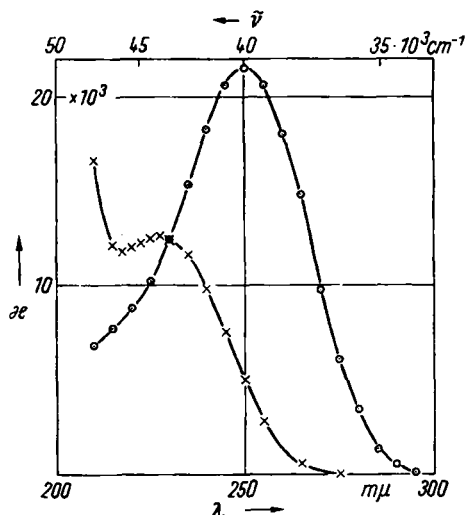
als Pyrrol, als Oxazolin und als Diacyl-pyrazin, die eingangs erwähnt wurden, sehr unwahrscheinlich, da in keinem dieser Fälle eine —NH—CO— -Gruppierung vorliegen konnte. Das IR-Spektrum sprach auch gegen die Pyrrolinformel, da diese wohl eine —NH—CO— -Gruppe aufweist, die aber Bestandteil eines 5-Ringes ist und demgemäß nur eine starke, nämlich die Amid-I-Bande, in diesem Bereich bedingen sollte. Nach der von Hrn. Dr. W. Otting gegebenen Interpretation des IR-Spektrums war zu schließen, daß die $\text{H}_3\text{C—CO—NH—}$ -Gruppierung des Acetylglucosamins — im Gegensatz zu allen bisher geäußerten Mutmaßungen — bei der Chromogenbildung unverändert bleibt.

In Übereinstimmung mit dieser Schlußfolgerung stehen weitere analytische Befunde. Bei der Verseifung mit *p*-Toluolsulfonsäure wurden 0.97 Moll., bei der Oxydation mit Chromsäure 1.05 Moll. flüchtige Säure (Essigsäure) erhalten. Das Chromogen I, das unter Wasserabspaltung aus *N*-Acetyl-D-glucosamin entsteht, nimmt bei der katalytischen Hydrierung mit PtO_2 in Eisessig 0.95 Moll. H_2 auf. *N*-Acetyl-D-glucosamin zeigt unter diesen Bedingungen keine Wasserstoffaufnahme. Da die Acetamino-Gruppe unverändert bleibt, ist zu schließen, daß die Wasserabspaltung zu einer Kohlenstoff-Kohlenstoff-Doppelbindung führt.

Die Dihydroverbindung I gibt mit Ehrlichs Aldehyd keine Farbreaktion mehr, reduziert aber noch Fehlingsche Lösung beim Kochen. Sie verbraucht nur noch 1.0 Mol. Perjodsäure, während für das Chromogen I ein Verbrauch von 2.9 Moll. gefunden wurde. Sie gibt eine schön blaue Farbreaktion mit Chlor/Benzidin nach H. N. Rydon und P. W. G. Smith⁹⁾, im

⁹⁾ Nature [London] 169, 922 [1952].

Gegensatz zur unhydrierten Verbindung, die schon bei Einwirkung des Chlors unter Braunfärbung zersetzt wird. Auch die Dihydroverbindung besitzt demnach noch die Acetamino-Gruppe, womit der gefundene Gehalt an C-Methyl (1.04 Moll.) übereinstimmt. Nach Th. Zerewitinoff wurden 3.2 aktive H-Atome gefunden. Der Erwartung gemäß zeigt die Dihydroverbindung im

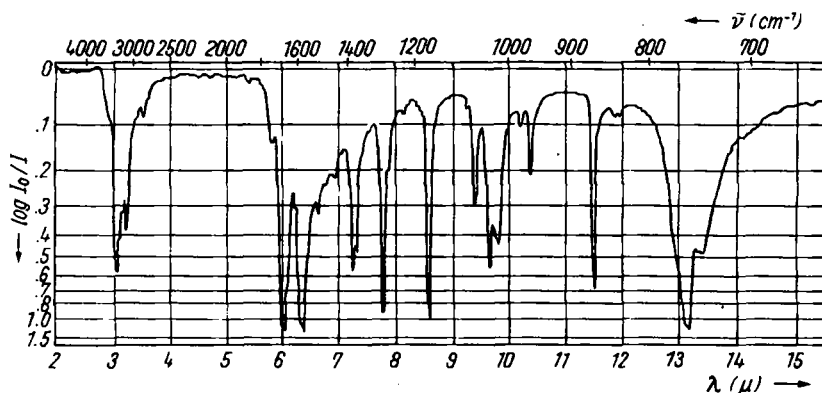


Abbild. 2. UV-Absorption (Zeiss-Opton M 4 Q), Lösungsmittel: Methanol; x-x-x 3-Acetaminofuran (synthet. und aus N-Acetyl-D-glucosamin); o-o-o 2-Acetaminofuran

UV keine Absorption bis herab zu 214 mμ. Sie ist gegen verd. Mineralsäure viel beständiger als das Chromogen I, das bereits in der Kälte unter Bildung huminartiger Stoffe zersetzt wird.

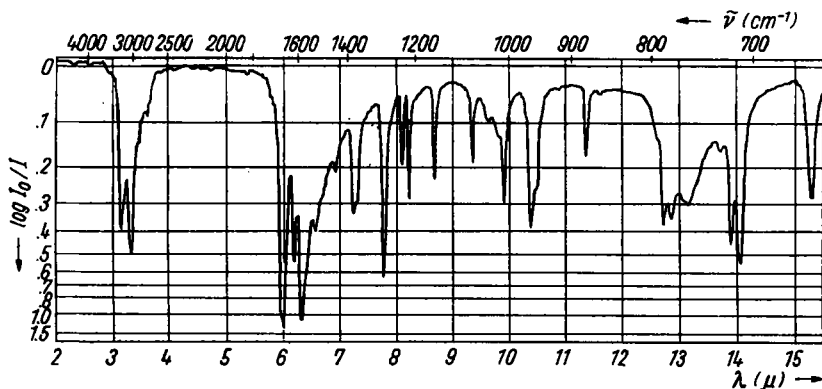
Bei einem Versuch, das Gemisch der Chromogene I, II und III i. Hochvak. zu fraktionieren, wurde bei 110–140°/0.0001–0.001 Torr ein Sublimat von farblosen Kristallen erhalten. Die Ausbeute daran betrug in wiederholten Versuchen 4–5 %. Die Substanz schmolz bei 112–115°, war optisch inaktiv und gab intensive Rotfärbung mit Ehrlichs Aldehyd. Die Analysen stimmten auf C₆H₇O₂N. Das UV-Spektrum ist in Abbild. 2, das IR-Spektrum in Abbild. 3 dargestellt.

Unsere Vermutung, daß es sich um das noch unbekannte 3-Acetaminofuran handelt, ließ sich durch Vergleich mit einem aus Furan-carbonsäure-(3)



Abbild. 3. IR-Spektrum von 3-Acetaminofuran (Kaliumbromid-Preßling)

synthetisch dargestellten Präparat als richtig erweisen. Wir haben diese Säure über das Chlorid und Azid ins Isocyanat verwandelt, das mit Methylmagnesiumjodid umgesetzt wurde. Das so gewonnene 3-Acetamino-furan stimmt mit dem aus *N*-Acetyl-D-glucosamin erhaltenen im IR-Spektrum, UV-Spektrum sowie in den Debye-Scherrer-Linien genau überein. Dasselbe gilt für Kristallform, Schmelzpunkt, Löslichkeit und Farbreaktionen. Zum Vergleich haben wir auch das bereits bekannte 2-Acetamino-furan, ausgehend von Brenzschleimsäure, dargestellt, da dieses nahezu denselben Schmelzpunkt zeigt. Dabei haben sich große Unterschiede im UV-Spektrum, eine starke Schmelzpunktsdepression und weitere Verschiedenheiten ergeben (IR-Spektrum der 2-Acetamino-Verbindung in Abbild. 4).

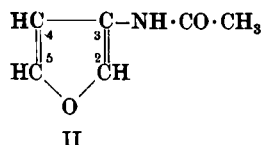
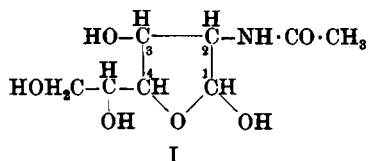


Abbild. 4. IR-Spektrum von 2-Acetamino-furan (Kaliumbromid-Preßling)

Furan	Absorptions- banden (Ehr- lich-Reaktion)	Schmp.	Misch- Schmp.
3-Acetamino- aus <i>N</i> -Acetyl-D-glucosamin	500, 537, 576	112–115°	112–115° 91–94°
3-Acetamino- aus Furan-carbonsäure-(3)	500, 537, 576	112–115°	
2-Acetamino- aus Furan-carbonsäure-(2)	553, 593	110–112°	

Für die Theorie der Morgan-Elson-Reaktion kommen wir auf Grund der vorliegenden Ergebnisse zu den folgenden Vorstellungen, die einer Überprüfung durch einwandfreie Konstitutionsaufklärung der drei Chromogene bedürfen:

1. Die Bildung der Chromogene erfolgt aus der Furanose-Form des *N*-Acetyl-D-glucosamins (I). Die bekannte Tatsache, daß α - und β -Alkyl- sowie α - und β -Aryl-*N*-acetyl-D-glucosaminide (mit Pyranosestruktur) im



Gegensatz zum freien *N*-Acetyl-D-glucosamin mit verdünntem Alkali kein Chromogen liefern, hat immer wieder dazu verleitet, Kondensationsreaktionen am C-Atom 1 anzunehmen. Im Lichte der Furan-Theorie, die hier zur Diskussion gestellt wird, ist zu sagen, daß die genannten Glykoside vermutlich nur deshalb kein Chromogen bilden können, weil ihnen in Analogie zu zahlreichen Erfahrungen an N-freien Glykosiden die Fähigkeit abgeht, aus der Pyranose- in die Furanose-Form überzugehen. Die von R. Kuhn, A. Gauhe und H. H. Baer¹⁰⁾ gemachte Feststellung, daß auch manche Oligosaccharide mit nicht-reduzierendem *N*-Acetyl-D-glucosamin-Rest die Morgan-Elson-Reaktion geben (Lacto-*N*-tetraose, Lacto-*N*-biose II, Lacto-*N*-triose I und II), beruht auf deren Alkalilabilität. Dadurch wird das Hydroxyl am C-Atom 1 freigelegt und die Bildung der Furanose aus der Pyranose ermöglicht. Daß bei der Wasserabspaltung, die zu den Chromogenen führt, die $-\text{CH}(\text{OH})-\text{O}-$ Gruppierung am C-Atom 1 unverändert bleibt, ist anzunehmen, da das Chromogen sich gegen Fehlingsche Lösung und gegen Anilin-hydrogenphthalat wie ein reduzierender Zucker verhält.

2. Hinsichtlich der Substituenten am N-Atom in 2-Stellung stehen die vorliegenden Erfahrungen mit der Furan-Theorie in Einklang: an Stelle der Acetylgruppe kann auch Benzoyl⁶⁾, *p*-Toluolsulfonyl¹¹⁾ oder Alkyl⁶⁾ am Stickstoff haften. Für die Mehrzahl der bisherigen Mutmaßungen über das Wesen der Morgan-Elson-Reaktion haben diese Erfahrungen eine unüberwundene Schwierigkeit bedeutet. Daß D-Glucosamin in heißer alkalischer Lösung sehr leicht andersartigen Kondensations- und Zersetzungsreaktionen anheimfällt, ist bekannt.

3. Überraschend ist die Leichtigkeit, mit der in 3-Stellung substituierte *N*-Acetyl-D-glucosamine das Chromogengemisch liefern. Im Falle des 3-Methyläthers und des 3-β-D-Galaktopyranosyl-*N*-acetyl-D-glucosamins (Lacto-*N*-biose I) genügt, wie mit A. Gauhe und H. H. Baer¹⁰⁾ gezeigt wurde, schon verd. Natriumcarbonatlösung in der Kälte¹²⁾. Dabei wird Methanol bzw. D-Galaktose abgespalten¹⁰⁾. Auch α- und β-Pentaacetyl-D-glucosamin, bei denen das Hydroxyl am C-Atom 3 acyliert ist, liefern schon in der Kälte mit den verschiedensten basischen Agenzien Chromogen. Diese Befunde sprechen dafür, daß der OH-Gruppe in 3-Stellung bei der Wasserabspaltung aus der Furanose (I) besondere Bedeutung zukommt und die in den Chromogenen nachgewiesene Doppelbindung primär zwischen C³ und C⁴ oder zwischen C³ und C² zu liegen kommt.

4. Sofort verständlich wird die Blockierung der Morgan-Elson-Reaktion durch Substituenten in 4-Stellung, sofern diese durch das verd. Alkali nicht abgespalten werden. Verbindungen von der Art des α- oder β-Pentaacetyl-D-glucosamins sind Morgan-Elson-positiv, weil neben anderen Acylresten auch

¹⁰⁾ Chem. Ber. 87, 1138 [1954].

¹¹⁾ Die Darstellung des *N*-*p*-Toluolsulfonyl-D-glucosamins wird im Versuchsteil beschrieben.

¹²⁾ Die Kinetik der Chromogenbildung aus 3-β-D-Galaktosido-*N*-acetyl-D-glucosamin mit 0.05 *n* Na₂CO₃ bei 20° ließ sich an Hand der bei 230 mμ auftretenden Absorptionsbande leicht messen (Versuchsteil).

die in 4-Stellung befindlichen Acyle der Verseifung anheimfallen und damit die Voraussetzungen für den Übergang der Pyranose in die Furanose gegeben sind. Ist jedoch das Hydroxyl in 4-Stellung veräthert oder durch eine glykosidische Bindung in Anspruch genommen, so bleibt die Morgan-Elson-Reaktion völlig aus. Die Entdeckung dieser Tatsache gelang mit W. Kirschenlohr¹³⁾ durch Konstitutionsaufklärung des *N*-Acetyl-lactosamins, dessen Struktur auch synthetisch gesichert ist¹⁴⁾. Es handelt sich um 4- β -D-Galaktopyranosyl-*N*-acetyl-D-glucosamin, das die Farbreaktion nicht gibt. Erweitert wurde diese Erkenntnis durch eine Untersuchung mit A. Gauhe und H. H. Baer¹⁵⁾, wobei sich zeigte, daß auch die *N,N'*-Diacetyl-chitobiose (4- β -*N*-Acetyl-D-glucosaminido-*N*-acetyl-D-glucosamin) und das 3,4,6-Trimethyl-*N*-acetyl-D-glucosamin Morgan-Elson-negativ sind. In all diesen Fällen wird durch die alkali-beständige Substitution in 4-Stellung der Übergang in die Furanose unmöglich gemacht.

5. Über *N*-Acetyl-glucosamin-Derivate, die in 5-Stellung unverseifbare Substituenten tragen, liegen noch keine einschlägigen Erfahrungen vor. Versuche in dieser Richtung versprechen wichtige Aufschlüsse.

6. Das Hydroxyl am C-Atom 6 spielt bei der Morgan-Elson-Reaktion nicht mit. Ist es in alkali-stabiler Weise substituiert, so wird ein substituiertes AAG („Anhydro-acetyl-glucosamin“ = Chromogen) gebildet. 6- β -D-Galaktosido-*N*-acetyl-D-glucosamin^{10, 15)} z. B. liefert mit verd. Alkali in der Wärme ein Galaktosido-AAG vom R_{Glucose} -Wert 1.04, während für das unsubstituierte AAG $R_{\text{Glucose}} = 1.70$ ist. *N*-Acetyl-D-xylosamin, in dem das C-Atom 6 fehlt, ist Morgan-Elson-positiv¹⁶⁾. Auch das zeigt, daß die Hydroxylgruppe in 6-Stellung für die Chromogenbildung unwesentlich ist.

Überblickt man die bekannten Einflüsse von Substituenten, die wir der Reihe nach vom C-Atom 1 bis zum C-Atom 6 abgehandelt haben, so erkennt man, daß sie nunmehr einfach und zwanglos zu verstehen sind.

An Hand des Formelbildes I (Furanoseform des *N*-Acetyl-D-glucosamins) erkennt man, daß die Wasserabspaltung in mannigfacher Weise stattfinden kann. Wir nehmen an, daß die Ausbildung der Doppelbindung zwischen den C-Atomen 3 und 4 primär erfolgen kann, aber nicht unmittelbar zum AAG I, d. h. zur Hauptkomponente des Chromogengemisches führen muß. Zugunsten dieser Auffassung spricht: a) Die Doppelbindung muß im Heteroring liegen; sie kann nicht zwischen den C-Atomen 4 und 5 zu suchen sein, weil AAG I und Dihydro-AAG I, wie wir beim Abbau mit Perjodsäure festgestellt haben, Formaldehyd liefern, der durch die krist. Dimedonverbindung identifiziert wurde; die Seitenkette $\text{HOH}_2\text{C}-\text{CHOH}-$ der Acetamino-furanose bleibt also unverändert. Damit stimmt überein, daß katalytisch hydriertes AAG I bei der Ringweiten-Bestimmungsmethode nach M. Viscontini, D. Hoch und P. Karrer¹⁷⁾ kein Glycerin liefert (auch kein

¹³⁾ R. Kuhn u. W. Kirschenlohr, Chem. Ber. 87, 560 [1954].

¹⁴⁾ R. Kuhn u. W. Kirschenlohr, Chem. Ber. 87, 1547 [1954].

¹⁵⁾ R. Kuhn, H. H. Baer u. A. Gauhe, Chem. Ber. 88, 1713 [1955].

¹⁶⁾ M. L. Wolfson u. K. Anno, J. Amer. chem. Soc. 75, 1038 [1953].

¹⁷⁾ Helv. chim. Acta 38, 642 [1955].

Äthylenglykol). b) Wegen der UV-Absorption der Hauptkomponente (AAG I) ist die katalytisch hydrierbare Doppelbindung vermutlich in Konjugation zur Acetamino-Gruppe, d. h. entweder zwischen C² und C³ oder zwischen C² und C¹. c) Bei Annahme der primären Bildung der Doppelbindung zwischen C³ und C⁴ würde die erste Stufe der AAG-Bildung, die sich in natriumcarbonat-alkalischer Lösung vollzieht, vergleichbar sein der Bildung von 1.2; 5.6-Diisopropyliden-3-desoxy-D-glucose-en-(3), das man nach F. Weygand und H. Wolz¹⁸⁾ aus 1.2; 5.6-Diaceton-3-tosyl-D-glucose durch Erhitzen mit Natronkalk erhält¹⁹⁾.

Theoretisch ist mit 6 Produkten der Abspaltung von Wasser aus der 2-Acetamino-furanose (I) zu rechnen, bei denen die Seitenkette HOH₂C-CHOH- unverseht bleibt: je eine α - und β -Form mit Doppelbindung zwischen C² und C³ bzw. zwischen C³ und C⁴ sowie 2 am C-Atom 3 epimere Formen, wenn die Doppelbindung zwischen C¹ und C² liegt; papierchromatographisch betrachtet reduziert sich die Zahl auf 4, da α - und β -Zucker nur 1 Fleck geben; etwaige Epimerisierung am C-Atom 2 ist bei den eben angegebenen Zahlen nicht berücksichtigt. Die noch ungelöste Aufgabe sehen wir somit darin, unter diesen Formelbildern diejenigen ausfindig zu machen, die den bekannten Chromogenen eindeutig zuzuordnen sind*). Voraussichtlich wird die Chemie der Chromogene in vielem an die von E. Fischer entdeckten Glykale erinnern, die gleichfalls unter der Einwirkung von verd. Säuren leicht huminartige Stoffe liefern. In den Glykalen ist der ungesättigte Heteroring 6-gliedrig, in den Chromogenen 5-gliedrig und durch die Acetamino-Gruppe zusätzlich ausgezeichnet.

Diese zusätzliche Auszeichnung tritt auch in Erscheinung, wenn 2 Doppelbindungen im 5-Ring liegen, d. h. bei den Furanen. Die intensive Ehrlich-Reaktion, die wir für das 3-Acetamino-furan festgestellt haben, ist keineswegs, wie bei den Pyrrolen, eine allgemeine Eigenschaft von Furanen mit einer unsubstituierten Methingruppe in α -Stellung. - Auch in dieser Hinsicht bedarf es der Sammlung weiterer Erfahrungen. Daß 2-Acetamino-furan mit Diazoniumsalzen unter Bildung von Azofarbstoffen kuppelt, hat bereits O. Dann²⁰⁾ erkannt.

Im Laufe dieser Untersuchung sind die folgenden Substanzen dargestellt worden, bei denen es nicht ausgeschlossen schien, daß sie mit *p*-Dimethylamino-benzaldehyd Farbstoff geben würden, die sich jedoch alle als Ehrlich-negativ erwiesen haben: Pentaacetyl-D-glucosaminsäure-nitril²¹⁾, das in der

¹⁸⁾ Chem. Ber. 85, 256 [1952].

*) Zusatz b. d. Korr. (16. April 1956): Das Chromogen II wurde aus Methanol/Äther in glitzernden Prismen, die nicht hygroskopisch sind, erhalten. Die Analysen stimmen auf C₈H₁₁O₄N + CH₃OH, d. h. auf Abspaltung von 2 Moll. Wasser. Bei der katalyt. Hydrierung werden 2.0 Moll. H₂ aufgenommen. $[\alpha]_D^{25}$: etwa + 5° (CH₃OH). Vermutlich handelt es sich um 3-Acetamino-5-dihydroxyäthyl-furan, bei dem nur noch das C-Atom 5 des N-Acetyl-D-glucosamins asymmetrisch ist.

¹⁹⁾ Ein trockenes Gemisch von 2 g N-Acetyl-D-glucosamin und 10 g Natronkalk gibt beim Erhitzen (bis auf 180° unter 10⁻³ bis 10⁻⁴ Torr) eine geringe Menge Ehrlich-positives Destillat. ²⁰⁾ Chem. Ber. 82, 72 [1949].

²¹⁾ Dargestellt nach C. Neuberg, H. Wolff u. W. Neimann, Ber. deutsch. chem. Ges. 85, 4017 [1902].

Literatur als Ehrlich-positiv verzeichnet ist²²⁾; α -Acetamino-acrylsäure²³⁾, Diisopropyliden-glucose-en¹⁸⁾, α -Pyrrolon²⁴⁾, μ -Hydroxy-glucosazolin²⁵⁾ und Chitose.

Für die Überlassung von *N*-Acetyl-D-glucosamin haben wir Herrn Prof. Dr. H. Rudy aufrichtig zu danken. Herrn Dr. W. Otting danken wir für die Aufnahme und Diskussion der IR-Spektren, Herrn Dr. H. H. Baer für die Perjodsäure-Versuche und Herrn H. Trischmann für die Ausführung von Mikro-Hydrierungen.

Beschreibung der Versuche

Darstellung des Chromogengemisches

a) Mit stark basischem Anionenaustauscher: 40 g *N*-Acetyl-glucosamin werden in 4 l Wasser bei 85–90° auf dem Dampfbad mit 250 ccm stark basischem Anionenaustauscher (Amberlite IRA-400, OH-Form) 1 Stde. unter Rühren erwärmt. Anschließend dekantiert man vom Austauscher ab, spült diesen mit wenig Wasser in eine kurze Chromatographiersäule und wäscht solange mit Wasser nach, bis das Eluat keine Rotfärbung mit *p*-Dimethylamino-benzaldehyd (DMAB-Reagens⁷⁾) gibt (etwa 1000 ccm).

Der Austauscher wird zu weiterer Verwendung noch in der Säule mit 2 *n* HCl in die Cl-Form übergeführt und mit Wasser neutral gewaschen. Er kann bei Bedarf durch 2 *n* NaOH und erneutes Neutralwaschen wieder in die OH-Form gebracht werden. Bei Einhaltung dieses Verfahrens haben wir auch nach mehrmaligem Gebrauch keine wesentliche Abnahme der Aktivität des Austauschers feststellen können.

Die vereinigten ionenfreien, goldgelben Lösungen (p_H etwa 6.5) werden i. Vak. zu einem dunkelbraunen Sirup eingengt. Man löst diesen unter Erwärmen in möglichst wenig Methanol und verdampft erneut. Meist kristallisiert dabei ein Teil des unveränderten *N*-Acetyl-glucosamins aus. Man kocht den Rückstand mit etwa 300 ccm Methanol auf, bis alle sirupösen Anteile in Lösung gegangen sind, und läßt über Nacht im Eisschrank stehen. Das ausgeschiedene *N*-Acetyl-glucosamin (etwa 10 g) wird gründlich mit Methanol gewaschen.

Der nach Verjagen des Methanols i. Vak. hinterbleibende, manchmal noch etwas Kristalle enthaltende Rückstand wird in 150 ccm Wasser aufgenommen und zur Entfernung der letzten Reste an Methanol nochmals zum dünnen Sirup eingengt. Man nimmt mit 100 ccm Wasser auf und füllt vorsichtig auf eine aus je 150 g Carboraffin/Celite bereitete Chromatographiersäule (Länge des Rohres 100 cm, \varnothing 45 mm) auf²⁶⁾. Man wäscht solange mit dest. Wasser nach, bis eine Probe der austretenden Lösung nach Erwärmen mit einigen Tropfen 0.5 *n* Na₂CO₃ auf Zusatz von DMAB-Reagens keine Rotfärbung mehr gibt (etwa 10–15 l, Tropfgeschwindigkeit 3–4 l/Tag). Wenn man die gesammelten wäßrigen Lösungen i. Vak. zur Trockne bringt, so kann durch Kristallisation aus Methanol/Aceton ein weiterer Teil des unveränderten *N*-Acetyl-glucosamins (10 g) zurückgewonnen werden.

Eluiert wird mit je 2 l 5-proz. und 10-proz. wäßr. Äthanol und anschließend solange mit 15-proz. Äthanol, bis die austropfende Lösung ohne Vorbehandlung mit Alkali und in der Kälte auf Zugabe von DMAB-Reagens eine positive Ehrlich-Reaktion zeigt. Dann eluiert man die Chromogene mit 15-proz. Äthanol, bis diese Farbreaktion nur noch sehr schwach ausfällt (3–4 l). Durch weitere Steigerung der Alkoholkonzentration lassen sich nur noch sehr geringe Mengen an Chromogen gewinnen. Die aufgefangenen farblosen

²²⁾ A. Orgler u. C. Neuberg, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 37, 425 [1903].

²³⁾ Dargestellt nach M. Bergmann u. K. Grafe, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 187, 187 [1930].

²⁴⁾ Dargestellt nach W. Langenbeck u. H. Boser, Chem. Ber. 84, 526 [1951].

²⁵⁾ Dargestellt nach G. Zemplén, Á. Gerecs u. M. Rados, Ber. dtsh. chem. Ges. 69, 748 [1936]; vergl. J. C. P. Schwarz, J. chem. Soc. [London] 1954, 2644.

²⁶⁾ Carboraffin und Celite wurden mit soviel Wasser verrührt, daß gerade ein gut fließender Brei entstand, und dieser noch 15 Min. mit einem Vibromischer innigst vermischt.

Ehrlich-positiven Fraktionen werden i.Vak. zu einem hellgelben Sirup eingeengt. Zur Beseitigung von mitgerissenem Celite wird je einmal in wenig Wasser bzw. Methanol gelöst, filtriert und wieder i.Vak. verdampft. Zur Entfernung des Lösungsmittels wird an der Gasballastpumpe bei 50° Badtemperatur 1 Stde. abgesaugt. Man erhält etwa 5 g (14% d.Th., Durchschnitt von 6 Versuchen) einer fast farblosen, schaumigen, spröden Masse, die stark hygroskopisch ist. Sie löst sich sehr leicht aber immer noch etwas trüb in Wasser und Methanol, schwieriger in Äthanol mit hellgelber Farbe und gibt noch mit 5 γ in 1 ccm Wasser + 1 ccm DMAB-Reagens + 8 ccm Eisessig eine wahrnehmbare direkte Ehrlich-Reaktion. Beim Erwärmen i. Hochvak. läuft der Schaum zwischen 80 und 100° in sich zusammen. Die Substanz ist in Wasser und Methanol sehr leicht, in Äther, Chloroform, Essigester, Aceton und Kohlenwasserstoffen unlöslich. Sie läßt sich auch nicht spurenweise mit Chloroform oder Äther aus wäßrigen Lösungen ausschütteln.

b) Mit wäßriger Bariumhydroxydlösung: Nach dem Vorbild von T. White⁴⁾ wurden 11.8 g *N*-Acetyl-glucosamin in 2670 ccm 0.02 *n* Ba(OH)₂ auf dem Dampfbad 30 Min. auf 90° erwärmt. Noch heiß wurde CO₂ eingeleitet und nach dem Erkalten das BaCO₃ abfiltriert.

Die Lösung war wesentlich dunkler als nach Anwendung des Anionenaustauschers, da letzterer gefärbte Zersetzungsprodukte zurückhält. Es wurde an Carboraffin-Celite-Säulen chromatographiert. Die Ausbeuten bei diesem Verfahren lagen etwas über 10% d. Theorie. In Papierchromatogrammen unterschieden sich die entstandenen Produkte in keiner Weise von den mit Anionenaustauscher erhaltenen.

c) Aus α-Pentaacetyl-glucosamin: Im Gegensatz zu *N*-Acetyl-glucosamin reagieren α- und β-Pentaacetyl-glucosamin mit methanol. Bariumhydroxyd (Ba(OH)₂ · 8 H₂O in 99-proz. Methanol) sowie mit einer Lösung von Bariummetall in absol. Methanol unter Verseifung der Acetylgruppen bereits in der Kälte zu *N*-Acetyl-glucosamin und Chromogengemisch. Colorimetrische Vorversuche ergaben, daß mit steigender Verdünnung der Bariumhydroxydlösung die Farbstärke zunimmt und bei einem Verhältnis von 1/2 Mol. Ba auf 1 Mol. Pentaacetat die stärkste Färbung auftritt.

9.725 g α-Pentaacetyl-glucosamin (25 mMol) wurden in 5000 ccm einer 0.005 *n* Lösung von Ba(OH)₂ · 8 H₂O in Methanol gelöst und über Nacht bei ~ 20° stehen gelassen. Dann leitete man bis zur neutralen Reaktion (Mercksches Universalindikator-Papier) CO₂ durch die zunächst noch alkalische, farblose Lösung, die dabei vollständig klar blieb. Zum Verjagen des Lösungsmittels beschickte man einen 4-l-Rundkolben mit etwa 500 ccm Wasser und dampfte unter zeitweiligem Nachfüllen der methanol. Lösung auf etwa 400 ccm ein. Dann saugte man von dem ausgeschiedenen BaCO₃ ab. Ein zweiter ebensolcher Ansatz wurde entsprechend aufgearbeitet. Die vereinigten Filtrate engte man i.Vak. auf etwa 150 ccm ein, filtrierte erneut und brachte dann i.Vak. zur Trockne: 14 g hellgelber, teigiger Rückstand. Im Papierchromatogramm waren die gleichen Chromogene wie bei den Verfahren a) und b) sichtbar. Es wurden keine partiell acetylierten und somit schneller wandernden Chromogene festgestellt. Den Rückstand löste man in möglichst wenig Wasser und trennte, wie unter a) angegeben, an einer Carboraffin/Celite-Säule (je 150 g) das nicht umgesetzte *N*-Acetyl-glucosamin vom gebildeten Chromogengemisch ab. Ausbeute an Chromogengemisch: etwa 10%.

3-Acetamino-furan durch Pyrolyse des Chromogengemisches: 1.2 g Chromogengemisch werden in einem aus 3 Kugeln bestehenden Kugelrohr zunächst bei ~ 20° an der Gasballastpumpe von Lösungsmittelresten befreit, wobei sich die Substanz zu einer schaumigen Masse aufbläht. Dann verbindet man das Kugelrohr mit einer Kühlfalle (Aceton/CO₂). Man schließt an eine Quecksilberdampfpumpe an und erwärmt bei 10⁻³ bis 10⁻⁴ Torr im Luftbad. Etwa von 80° an beginnt der Schaum in sich zusammenzufallen und haftet als gelbbrauner Sirup an der Kugelwand. Man erwärmt weiterhin mäßig schnell auf 110°. Dabei wird die erste Kugelvorgabe durch Eiswasser gekühlt. Von 110° an sammeln sich dort einige Öltröpfchen, die bald kristallin erstarren. Gleichzeitig scheiden sich beim Eintritt in die Kühlfalle viel leichter flüchtige Kristalle ab (Acetamid?). Man geht nun im Verlauf von 15 Min. auf 120°, wobei der größte Teil des gebildeten 3-

Acetamino-furans übergeht, und schließlich innerhalb einer weiteren halben Stunde auf 140°, bis man keine Zunahme der sich abscheidenden Kristalle mehr feststellen kann.

Man läßt abkühlen und erwärmt nun die zweite Kugel zunächst rasch auf 50°, bei welcher Temperatur die Substanz zu sublimieren beginnt, und bringt langsam auf 80°. Man hält die Temperatur so lange auf dieser Höhe, bis alle Kristalle in die dritte Kugel hinübersublimiert sind. Bei diesem Verfahren gelingt es, schon fast analysenreines 3-Acetamino-furan (frei von gleichzeitig entstandenen wesentlich leichter flüchtigen Zersetzungsprodukten) zu erhalten. Ausb. 26 mg.

Der in der ersten Kugel verbliebene, dunkle, lackartige Rückstand löst sich größtenteils in Methanol und ist noch Ehrlich-positiv. Bei einer erneuten Hochvak.-Destillation bis 200° Luftbadtemperatur läßt sich noch etwas weiteres 3-Acetamino-furan daraus gewinnen (4 mg). Die Ausbeute beträgt somit 30 mg (4% d.Th.). Zur Analyse wurde noch zweimal wie angegeben i. Hochvak. sublimiert: Schmp. (im zugeschmolzenen Röhrchen): 112–115° (Sintern ab 105°).

$C_6H_7O_2N$ (125.1) Ber. C 57.59 H 5.63 N 11.19 Acetyl 34.39

Gef. C 57.66 H 5.64 N 11.12 Acetyl 34.57

Die Verbindung gibt mit DMAB-Reagens eine intensive Rotfärbung. Die Absorptionsbanden der erhaltenen Farbstofflösung liegen im Gittermeß-Spektroskop nach Loewe-Schumm bei 500 m μ , 537 m μ und 576 m μ (Mittelwerte aus je 5 Messungen). $[\alpha]_D^{25} : \pm 0.5^\circ$ ($c = 1$, in Wasser).

Synthese von 3-Acetamino-furan

a) Furantetracarbonsäure-tetraäthylester (32 g), dargestellt aus Oxalessigester²⁷⁾, wurde verseift²⁷⁾ zu

b) Furantetracarbonsäure (19 g rohe Tetracarbonsäure = 87% d.Th.).

c) Furan-carbonsäure-(3): Aus 19 g roher Tetracarbonsäure konnten wir 3.94 g reine Furan-carbonsäure-(3)²⁸⁾ gewinnen (45% d. Th.). Schmp. 121–123°.

d) 3-Furfuroyl-chlorid^{29, 33)}: 3.9 g Furan-carbonsäure-(3) wurden mit 10 ccm über Leinöl gereinigtem Thionylchlorid unter Rückflußkühlung (CaCl₂-Rohr) 3 Stdn. auf 110–120° erwärmt. Dann destillierte man das überschüss. Thionylchlorid bei Normaldruck ab, ließ abkühlen und trieb den Rückstand im Wasserstrahlvak. über. Sdp.₁₂ 46–47°. Die bereits im Kühler erstarrende Substanz wurde mit warmem Wasser und Fächeln mit leuchtender Flamme in die Vorlage übergetrieben, wo sie zu großen Kristallen erstarrte. Ausb. 2.95 g (60% d.Th.).

e) 3-Furfuroyl-azid: Aus 2.95 g 3-Furfuroyl-chlorid erhielten wir in Anlehnung an die für 2-Furfuroyl-azid von H. M. Singleton und W. R. Edwards jr.³⁰⁾ angegebene Vorschrift 2.49 g fast farbloser Kristalle (80% d.Th.). Eine kleine Probe, auf dem Spatel erhitzt, verpuffte lebhaft knapp nach Eintritt des Schmelzens.

f) 3-Furyl-isocyanat: Auf Grund der von Singleton und Edwards³⁰⁾ gemachten Erfahrungen, entschlossen wir uns, das Isocyanat in Substanz zu isolieren. Da sich bei Vorversuchen gezeigt hatte, daß 2-Furyl-isocyanat aus seiner Lösung in Diphenyläther nur schwer herauszudestillieren war, benützten wir an Stelle der von den amerikanischen Autoren angegebenen Apparatur eine Klein-Apparatur mit einfachem Destillationsaufsatz und möglichst kurzen Schlift-Verbindungen. Zum Abschluß gegen die Atmosphäre diente eine Waschflasche mit Benzol.

2.49 g scharf getrocknetes 3-Furfuroyl-azid wurden in 6 ccm handwarmem Diphenyläther (Schmp. 28°) in einem 50-ccm-Destillationskolben gelöst. Zur Entfernung der Luft wurde durch die Apparatur etwa 15 Min. lang ein trockener Kohlendioxid-Strom geleitet, der bis zur Beendigung der Destillation aufrecht erhalten blieb. Man erwärmte im

²⁷⁾ T. Reichstein, A. Grüssner, K. Schindler u. E. Hardmeier, *Helv. chim. Acta* **16**, 276 [1933].

²⁸⁾ H. A. Smith, J. B. Conley u. W. H. King, *J. Amer. chem. Soc.* **73**, 4633 [1951].

²⁹⁾ Vergl. H. Gilman u. R. R. Burtner, *J. Amer. chem. Soc.* **55**, 2903 [1933].

³⁰⁾ *J. Amer. chem. Soc.* **60**, 540 [1938].

Phosphorsäurebad vorsichtig zunächst auf 70° und entspr. der Stickstoffentwicklung langsam weiter auf 100°, bis kein Stickstoff mehr entwickelt wurde (etwa 90 Min.). Erst als man das Bad auf 180° brachte, destillierte das entstandene 3-Furyl-isocyanat bei 98–100° über.

Man entfernte das Bad und trieb mit fächelnder Flamme die letzten Reste an Isocyanat über, wobei etwas Diphenyläther mitgerissen wurde. Man ließ im Kohlendioxyd-Strom erkalten und entfernte dann die Vorlage, die man sofort mit einem Schliffstopfen verschloß und bis zur weiteren Verwendung im Eisschrank aufbewahrte. Wegen der geringen Beständigkeit der Verbindung ist die nachfolgende Grignard-Umsetzung noch am gleichen Tage vorzunehmen. Ausbeute an Rohprodukt 1.5 g. Die Substanz zeichnet sich wie das 2-Derivat durch einen äußerst unangenehmen Geruch aus und reizt zu Tränen.

g) 3-Acetamino-furan: Von Burtner³¹⁾ ist die Synthese von 3-Benzoylamino- und 2-Methyl-3-acetamino-furan, von Singleton und Edwards³⁰⁾ diejenige der 2-Benzoylamino- und 2-Propionylamino-furane aus den Isocyanaten mittels Grignard-Reaktion beschrieben worden.

Wir haben in einem 250-cm-Dreihalskolben mit Thermometer, Tropftrichter, Rührer, Rückflußkühler und CaCl₂-Rohr zunächst aus 0.4 g Mg und 2.5 g Methyljodid mit insgesamt 50 ccm absol. Äther eine Grignard-Lösung bereitet. Zu dieser gaben wir unter kräftigem Rühren 1.5 g 3-Furyl-isocyanat (mit etwas Diphenyläther verunreinigt) in 15 ccm absol. Äther Tropfen für Tropfen hinzu (Dauer etwa ½ Stde.). Man rührte noch einige Zeit weiter und zersetzte dann die gebildete Grignard-Verbindung mit überschüss. 15-proz. NH₄Cl-Lösung (100 ccm). Das Reaktionsgemisch wurde in einen Scheidetrichter übergeführt, kräftig durchgeschüttelt und die äther. Phase abgetrennt. Diese gab auf Zusatz von DMAB-Reagens eine intensive Rotfärbung. Da die gleiche Probe auch bei der wäßr. Schicht positiv ausfiel, wurde letztere zunächst 5mal mit je 50 ccm, dann noch 10mal mit je 25 ccm Äther ausgezogen. Auch dann gab die wäßr. Lösung noch immer eine positive Ehrlich-Reaktion, die auch nach Sättigen des Wassers mit NaCl durch Ausschütteln mit Äther nicht restlos entfernt werden konnte. Die vereinigten Ätherextrakte wurden mit Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und nach dem Eindampfen bei Normaldruck aus dem Kugelrohr bei 70–90° Luftbadtemperatur und 10⁻⁴ Torr destilliert. Da das kristallisierte Destillat auch die Verunreinigung an Diphenyläther enthielt, wurde es mehrmals mit Petroläther (60–70°) ausgezogen, getrocknet und erneut unter den bei der Gewinnung von 3-Acetamino-furan aus dem Chromogengemisch angegebenen Bedingungen zweimal i. Hochvak. sublimiert. Ausb. 950 mg (41% d.Th., bezogen auf 3-Furfuroyl-azid). Die Verbindung schmilzt bei 112–115° (Sintern ab 105°).

C₆H₇O₂N (125.1) Ber. C 57.59 H 5.63 N 11.19 Acetyl 34.39

Gef. C 57.62 H 5.46 N 11.32 Acetyl 34.57

Die Substanz kristallisiert aus wenig Benzol auf Zugabe der gleichen Menge Petroläther (60–70°) in farblosen, sägeblattartigen flachen bis über 0.5 cm langen Prismen und gibt mit DMAB-Reagens eine intensive Rotfärbung. Auf Zusatz einer alkalischen Lösung von diazotierter Sulfanilsäure erhält man eine tief kirschrote Färbung. Das 3-Acetamino-furan ist etwas wasserdampf-flüchtig und verfärbt sich schon nach wenigen Stunden (gelblich, später orange). Es besitzt ähnliche Löslichkeitseigenschaften wie das 2-Isomere, ist jedoch wesentlich wasserlöslicher. In den UV- und IR-Spektren sind beide deutlich voneinander verschieden. Ihr Misch-Schmelzpunkt liegt bei 91–94°. Ein Tropfen einer Lösung von 3-Acetamino-furan auf Filtrierpapier gebracht, gibt nach Besprühen und Erhitzen mit Anilin-hydrogenphthalat eine den von den Chromogenen gegebene ähnliche, gelbbraune Färbung, die im Ultravioletten weißlich fluoresciert.

2-Acetamino-furan: α -Acetamino-furan war von R. Marquis³²⁾ aus Brenzschleim-säure-äthylester durch Nitrierung in α -Stellung, Reduktion zum Amin, *N*-Acetylierung,

³¹⁾ R. R. Burtner, J. Amer. chem. Soc. 56, 666 [1934].

³²⁾ Ann. Chim. Physique 8, 4, 196 [1905]; vergl. auch H. Gilman u. G. F. Wright, Iowa State Coll. J. Sci. 5, 85 [1931]; I. J. Rinkes, Recueil Trav. chim. Pays-Bas 51, 349 [1932]; O. Dann, Ber. dtsch. chem. Ges. 76, 419 [1943].

Esterverseifung und Decarboxylierung als nicht ganz farblos zu gewinnende, schwach gelbliche Verbindung hergestellt worden. O. Dann³⁰⁾ konnte später beobachten, daß diese in der Lage war, mit Diazoniumsalzen zu kuppeln, und es gelang ihm, den so erhaltenen Farbstoff kristallisiert zu gewinnen. Dieser Befund machte es wahrscheinlich, daß sowohl α -Acetamino-furan als auch besonders β -Acetamino-furan, bei dem beide α -Stellungen unsubstituiert sind, mit *p*-Dimethylamino-benzaldehyd eine Ehrlich-Reaktion geben würden.

Da der von den angeführten Autoren eingeschlagene Syntheseweg für das β -Isomere nicht in Betracht kam, wurde zu Vergleichszwecken und zur Erprobung der beabsichtigten Darstellung des β -Acetamino-furans eine Synthese des α -Acetamino-furans in Analogie zu den Arbeiten von Burtner³¹⁾ bzw. Singleton und Edwards³⁰⁾ durchgeführt.

2-Furfuroyl-chlorid (Sdp.₁₃ 61–62°) gewannen wir in 82.5% Ausbeute nach dem Verfahren von R. F. Holdren und W. T. Barry³²⁾. Aus diesem ließ sich nach Singleton und Edwards³⁰⁾ in 91-proz. Ausbeute das 2-Furfuroyl-azid und weiter in 52-proz. Ausbeute das 2-Furyl-isocyanat erhalten. Die Umsetzung des letzteren mit Methylmagnesiumjodid in der für das 3-Acetamino-furan angegebenen Weise ergab schließlich nach 2-maliger Hochvak.-Sublimation (80–100°/10⁻⁴ Torr) in 58-proz. Ausbeute farbloses 2-Acetamino-furan.

C₆H₇O₂N (125.1) Ber. C 57.59 H 5.63 N 11.19 Acetyl 34.39

Gef. C 57.44 H 5.59 N 11.36 Acetyl 34.75

Die 2-Verbindung schmilzt bei 110–112° (zugeschmolzene Kapillare). Sie läßt sich aus Benzol mit wenig Petroläther in fein verästelten Nadelchen gewinnen. Mit DMAB-Reagens gibt sie – langsamer und weniger intensiv als β -Acetamino-furan – eine violettstichig rote Färbung, λ_{\max} 553 m μ und 593 m μ . Eine kurzwellige Bande um 500 m μ , wie sie β -Acetamino-furan und das Chromogengemisch besitzen, ist im Gittermeß-Spektroskop (Loewe-Schumm) nicht feststellbar. Im Debye-Scherrer-Diagramm, UV- und IR-Spektrum ist sie von der isomeren β -Verbindung deutlich unterschieden.

Synthese von *N*-*p*-Toluolsulfonyl-D-glucosamin: a) 3.6 g Glucosamin-base (0.02 Mol) wurden in 200 ccm absol. Methanol unter Erhitzen und Rückflußkühlung gelöst und anschließend auf 25° abgekühlt. Hierzu gab man eine Lösung von 1.9 g *p*-Toluolsulfonsäurechlorid (0.01 Mol) in 60 ccm absol. Methanol. Man ließ 24 Stdn. bei ~ 20° stehen und brachte dann i.Vak. zur Trockne. Man nahm mit wäbrigem Methanol auf und entfernte mittels Kationenaustauscher Amberlite IR-120 (H⁺) und Anionenaustauscher Amberlite IR-45 (OH⁻) das entstandene Glucosamin-HCl und vertrieb erneut i.Vak. die Lösungsmittel. Der Rückstand wurde zunächst aus 10 ccm, dann aus 15 ccm heißem Wasser unter langsamem Abkühlen umkristallisiert: Ausb. 1 g (30% d.Th.). Zur Analyse wurde über Diphosphorpentoxyd bei 50°/12 Torr getrocknet.

C₁₃H₁₉O₇NS (333.3) Ber. C 46.83 H 5.74 N 4.20 S 9.61

Gef. C 47.06 H 5.31 N 4.18 S 10.29

N-*p*-Toluolsulfonyl-D-glucosamin kristallisiert in langen, farblosen, verfilzten dünnen Prismen. Es reduziert Fehlingsche Lösung in der Hitze und gibt keine Reaktion mit Ninhydrin. Die Morgan-Elson-Reaktion (Erhitzen mit verd. Natriumcarbonatlösung, dann DMAB-Reagens⁷⁾) fällt positiv aus. $[\alpha]_D^{25}$: + 36.3° (Gleichgewichtsdrehung nach 28 Min., Methanol, *c* = 0.565). Schmp. unscharf zwischen 156 und 165° unter Braunfärbung.

b) Auf einfacherem Weg und mit etwas besserer Ausbeute erhält man die gleiche Verbindung folgendermaßen: Man löst 21.6 g Glucosamin-HCl (0.1 Mol) in 100 ccm Wasser, versetzt unter Rühren mit 30 g KHCO₃ und dann mit 23 g *p*-Toluolsulfonsäurechlorid (0.12 Mol) in 75 ccm Aceton. Unter fortwährendem Rühren fügt man im Verlaufe von 3 Stdn. insgesamt 100 ccm weiteres Aceton in 3 Anteilen hinzu, bis eine klare, schwach gelbliche Lösung entstanden ist. Man läßt über Nacht bei ~ 20° stehen, neutralisiert mit konz. Salzsäure und engt die neutrale Lösung i.Vak. zu einem steifen Brei ein.

³³⁾ J. Amer. chem. Soc. 69, 1230 [1947].

Diesen erwärmt man auf dem Dampfbad und fügt noch soviel Wasser hinzu, daß alles in Lösung geht. Man filtriert und läßt langsam abkühlen, wobei sich 14 g Rohprodukt abscheiden (42% d.Th.). Durch Umkristallisieren, wie unter a) angegeben, oder aus absol. Äthanol läßt sich auch hier ein analysenreines Präparat erhalten.

Zur Kinetik der Chromogenbildung aus Lacto-*N*-biose I¹⁰: 4.082 mg Lacto-*N*-biose I (3-β-D-Galaktopyranosyl-*N*-acetyl-D-glucosamin)³⁴ haben wir in 10 ccm 0.05 *n* Na₂CO₃ (bereitet aus Leitfähigkeitswasser und wasserfreiem Natriumcarbonat, Merck, p.a.) gelöst und bei ~ 20° den zeitlichen Verlauf der Lichtabsorption bei 230 mμ im Spektrophotometer (Zeiss-Opton M 4 Q) verfolgt (s. die Tafel).

Tafel. Änderung des molaren Extinktionskoeffizienten ϵ
bei der Chromogenbildung aus Lacto-*N*-biose

Zeit	ϵ	Zeit	ϵ
8 Min.	0.383 · 10 ³	45 Min.	2.038 · 10 ³
9 Min.	0.438	1 Stde.	2.710
10 Min.	0.471	1 Stde. 15 Min.	3.320
11 Min.	0.514	1 Stde. 30 Min.	3.850
12 Min.	0.560	1 Stde. 45 Min.	4.300
13 Min.	0.597	2 Std.	4.660
14 Min.	0.636	2 Std. 30 Min.	5.110
15 Min.	0.678	3 Std.	5.270
20 Min.	0.757	23 Std. 45 Min.	3.510
25 Min.	1.020	25 Std. 45 Min.	3.510
30 Min.	1.262	30 Std. 25 Min.	3.450
35 Min.	1.515		

Es tritt also, wie für *N*-Acetyl-glucosamin auch schon von anderer Seite beobachtet wurde⁷), nach Erreichen einer maximalen Absorption wieder eine langsame Abnahme derselben ein.

Zur chromatographischen Untersuchung der entstandenen Substanzen entfernten wir die Na⁺-Ionen mit Kationenaustauscher Amberlite IR-120 (H⁺) und brachten die Lösung im Exsiccator zur Trockne. Der Rückstand wurde in 2 Tropfen Wasser aufgenommen. Das Chromatogramm zeigte neben hauptsächlich entstandenem AAG-I und Galaktose noch je einen schwachen Fleck für *N*-Acetyl-D-glucosamin und AAG-III. (Nach allen bisher gesammelten Erfahrungen sollte auch etwas AAG-II entstanden sein, das vermutlich nur der geringen Substanzmenge wegen auf dem Chromatogramm nicht zu entdecken war.)

³⁴) Für die Überlassung dieser kostbaren Substanz haben wir Frl. Dr. A. Gauhe herzlichst zu danken.