

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Allgemeine Darstellungsvorschrift der Kupfersalze: Die wäbr. Lösungen (jeweils 5 ccm) der β -Aminosäuren bzw. β -Aminosäure-dipeptide wurden mit Kupfercarbonat gekocht und nach dem Abfiltrieren des überschüssigen Kupfercarbonats das noch heiße Filtrat mit Aceton bis zur auftretenden Trübung versetzt. Nach Stehenlassen bei 0° schieden sich die jeweiligen Kupfersalze ab. Sie wurden i. Vak. über P_2O_5 getrocknet (nähere Angaben s. Tab. 2 auf vorhergehender Seite). Zur Gewinnung der Kupfersalze von *DL*- β -Amino- γ -phenyl-buttersäure und *DL*- β -Amino- β -naphthyl-(2)-propionsäure wurden die Säuren in 2 n Ammoniak gelöst, mit einer ammoniakalischen Kupferhydroxydlösung versetzt und i. Vak. bei 40° eingengt. Die dabei ausfallenden Kupfersalze wurden zur Reinigung in verd. Salzsäure gelöst und nach dem Filtrieren ammoniakalisch gemacht. Nach dem Einengen fielen die Kupfersalze aus.

RICHARD KUHN und GERD KRÜGER

DAS CHROMOGEN III DER MORGAN-ELSON-REAKTION

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

(Eingegangen am 3. Dezember 1956)

Aus *N*-Acetyl-D-glucosamin läßt sich kristallisiertes Chromogen III in einer Ausbeute von 40% d. Th. gewinnen. Dieselbe Verbindung wird, wie es die Theorie verlangt, auch aus *N*-Acetyl-D-galaktosamin erhalten. Es handelt sich um *D*(+)-5-Dihydroxyäthyl-3-acetamino-furan (I). Diese Konstitution wird gesichert durch eine Synthese der DL-Verbindung, die von Äpfelsäure (4 kg) ausgeht und 17 Reaktionsschritte erforderlich gemacht hat. Das synthet. Racemat stimmt mit dem Chromogen III, das wir aus einem künstlichen Gemisch von 50% D- und 50% L-Acetylglucosamin erhalten haben, genau überein. Aus dem Chromogen III wurde durch katalytische Hydrierung, Abspaltung der Acetylgruppe und Umsetzung mit Methyljodid ein quartäres Ammoniumsalz erhalten, das sich vom Muscarin durch Austausch der endständigen CH_3 -Gruppe gegen CH_2OH unterscheidet; die sterischen Verhältnisse an 2 C-Atomen sind noch unbekannt.

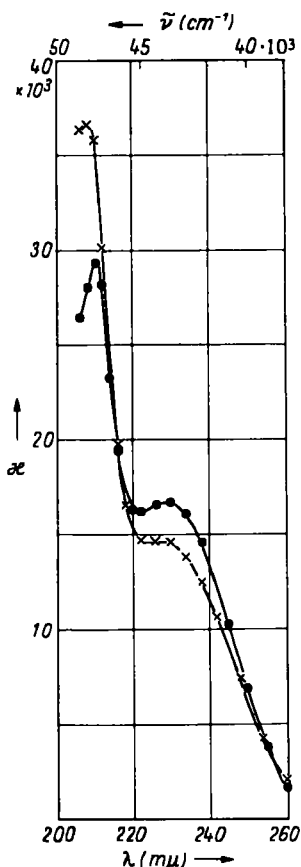
Erhitzt man *N*-Acetyl-D-glucosamin mit sehr verd. Natriumcarbonatlösung, so bildet sich ein „Chromogen“, das mit *p*-Dimethylamino-benzaldehyd in saurer Lösung einen violetten Farbstoff bildet. W. T. J. MORGAN und L. A. ELSON¹⁾ haben darauf eine vielbenutzte Methode zur quantitativen Bestimmung von *N*-Acetyl-aminozuckern gegründet. Wir fanden papierchromatographisch, daß nebeneinander 3 Chromogene gebildet werden, die wir mit I, II, III bezeichnet und durch die R_F -Werte 0.54; 0.73; 0.82 charakterisiert haben²⁾. Das Chromogen III entsteht aus *N*-Acetyl-D-glucosamin mit heißer, sehr verd. Natriumcarbonatlösung nur in geringer Menge. Nach der folgenden Vorschrift läßt es sich bequem in größeren Mengen gewinnen.

¹⁾ Biochem. J. **28**, 988 [1934].

²⁾ R. KUHN und G. KRÜGER, Chem. Ber. **89**, 1473 [1956]; nach zahlreichen neueren Bestimmungen sind die R_F -Werte in wassergesätt. sek.-Butanol bei 22–23° auf Schleicher & Schüll-Papier 2043 b: 0.54 (Chromogen I), 0.68 (Chromogen II) und 0.78 (Chromogen III) \pm 0.03.

DARSTELLUNG UND EIGENSCHAFTEN

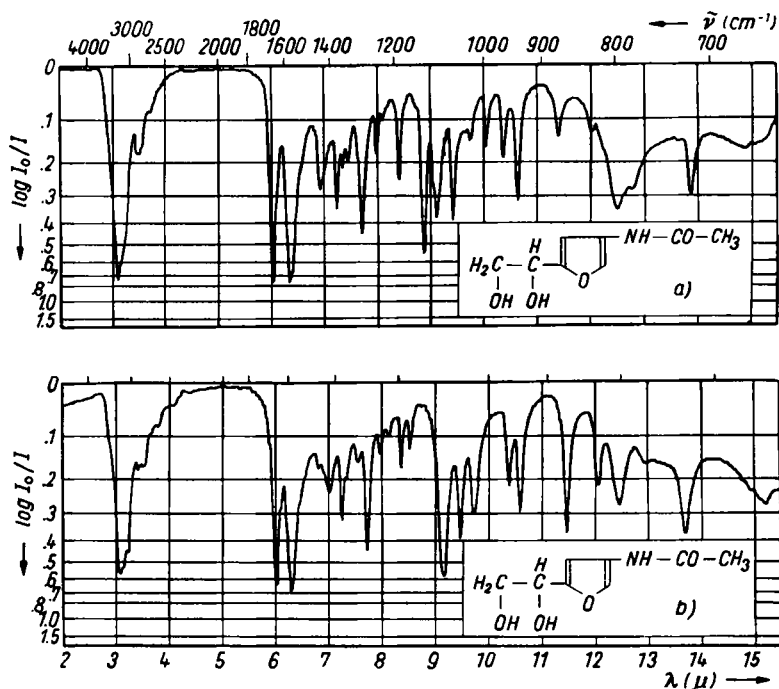
Man kocht 100g *N*-Acetyl-*D*-glucosamin mit 4l Pyridin 48 Std. unter Rückfluß. Die dunkelbraune Lösung liefert unverändertes Ausgangsmaterial (10g) und, nach Reinigung an Al_2O_3 , neben krist. 3-Acetamino-furan (0.5g, Misch-Schmp.) das Chromogen III in einer Ausbeute von 40% d.Th. (30.5g). Die Substanz kristallisiert aus wenig Äthanol in derben Prismen vom Schmp. 115–116°. Ihre Zusammensetzung $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{O}_4\text{N}$ entspricht der Abspaltung von 2 H_2O aus Acetylglucosamin $\text{C}_8\text{H}_{15}\text{O}_6\text{N}$. Das UV-Spektrum zeigt Abbild. 1, das IR-Spektrum Abbild. 2.



Abbild. 1. UV-Absorption (Beckman, DU) in Methanol: x — x Chromogen III, ● — ● Di-O-acetyl-chromogen III

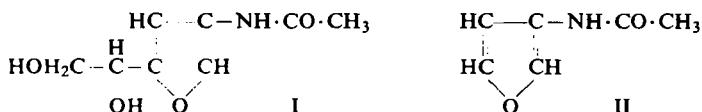
Die Acetaminogruppe, welche die IR-Banden bei 6.0 und 6.35 μ bedingt, liefert bei Verseifung mit *p*-Toluolsulfonsäure 1.0 Mol. Essigsäure. Bei katalytischer Hydrierung werden 2.0 Moll. H_2 aufgenommen. Die Einwirkung von Perjodsäure, von der 1 Mol. sehr rasch verbraucht wird, führt zu Formaldehyd (Dimedon-Verbindung). Das Chromogen III ist rechtsdrehend ($[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: +12° in Wasser, ohne Mutarotation). Mit Ehrlichs Aldehyd in saurer Lösung bildet sich ein bläulich violetter Farbstoff (sehr intensiv).

Alle angeführten Ergebnisse sprechen dafür, daß dem Chromogen III die Formel des *D*(+)-5-Dihydroxyäthyl-3-acetamino-furans (I) zukommt, zumal wir aus dem Gemisch



Abbild. 2. IR-Spektren (in KBr): a) D-Chromogen III, b) DL-Chromogen III

der Chromogene durch thermischen Abbau bereits das optisch inaktive 3-Acetamino-furan (II) erhalten und mit einem aus Furan-carbonsäure-(3) dargestellten Präparat identifiziert haben ²⁾.



Die optische Aktivität von Chromogen III kann nur durch das C-Atom 5 des *N*-Acetyl-D-glucosamins bedingt sein, da alle übrigen Asymmetriezentren bei der doppelten Wasserabspaltung verloren gehen. Es war daher zu erwarten, daß auch das *N*-Acetyl-D-galaktosamin beim Kochen mit Pyridin das Chromogen III liefern werde, da es am C-Atom 5 mit dem D-Glucosamin übereinstimmt. Dank der neuen Synthese des D-Galaktosamins ³⁾ ließ sich dieser Versuch leicht durchführen; er lieferte in einer Ausbeute von 20% d. Th. reines Chromogen III, das nach Schmp. (Mischprobe) und allen sonstigen Eigenschaften mit dem aus *N*-Acetyl-D-glucosamin hergestellten identisch ist (Tab. 1).

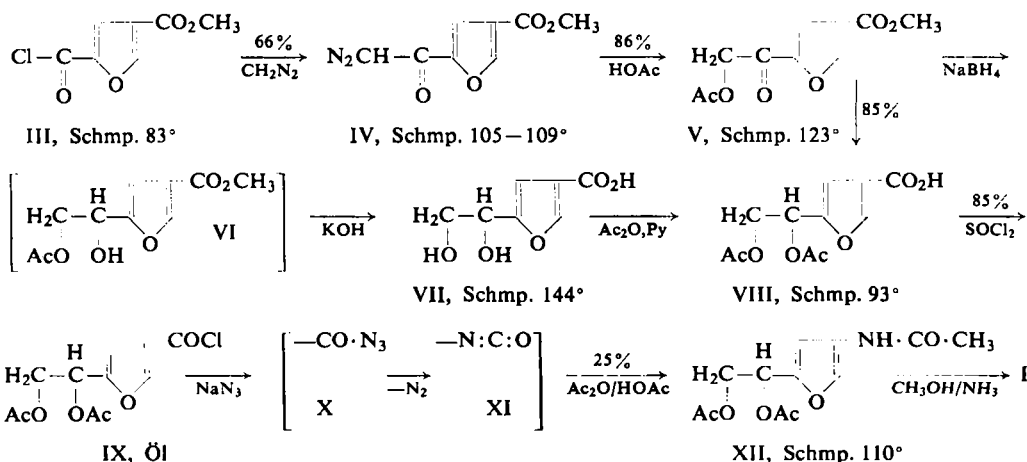
³⁾ R. KUHN und W. KIRSCHENLOHR, D-Galaktosamin: Liebigs Ann. Chem. **600**, 126 [1956]; L-Glucosamin: ebenda **600**, 115 [1956].

Die basische Natur des Pyridins scheint für den Ablauf der Reaktion nicht entscheidend zu sein; auch beim Kochen mit Dimethylformamid, Acetanhydrid, mit Wasser (in Glas, z. B. 60 Std.) und anderen Lösungsmitteln entsteht Chromogen III aus *N*-Acetyl-D-glucosamin, wie papierchromatographisch nachgewiesen wurde. Chromogen I geht beim Kochen mit Pyridin sowie beim trockenen Erhitzen i. Vak. auf 100° in Chromogen III über. In all diesen Fällen entsteht in geringen Mengen auch 3-Acetamino-furan. Auf Grund seines guten Lösungsvermögens und seines Siedepunktes erfüllt kochendes Pyridin die Voraussetzungen, die für die Umwandlung des pyranosid gebauten *N*-Acetyl-D-glucosamins in die Furanoseform²⁾ und für die anschließende Wasserabspaltung erforderlich sind.

Die aus *N*-Acetyl-D-glucosamin durch Kochen mit Pyridin gewonnenen Lösungen enthalten auch das *Chromogen I* (4–5% d. Th.), das wir durch Chromatographie in analysenreiner Form als hygroskopische, glasige Masse gewinnen konnten. Es entsteht aus Acetylglucosamin unter Abspaltung von *nur 1 Mol. Wasser* und hat demgemäß die Zusammensetzung $C_8H_{13}O_5N$ (203.2) (Ber. C 47.28; H 6.45; N 6.89; COCH₃ 21.32; Gef. C 47.09; H 6.06; N 7.24; COCH₃ 21.06). $R_F = 0.54$. $[\alpha]_D^{25} + 4.5^\circ$ (Wasser).

SYNTHESE DER DL-FORM AUS ÄPFELSÄURE

Zur Synthese des 3-Acetamino-furans waren wir von der Furan-carbonsäure-(3) ausgegangen, deren $-\text{COOH}$ in $-\text{NH}\cdot\text{CO}\cdot\text{CH}_3$ verwandelt wurde²⁾. Für eine entsprechende Synthese des Chromogens III war die noch unbekannte 5-Dihydroxyäthyl-furan-carbonsäure-(3) (VII) erforderlich. Sie ließ sich, ausgehend von Äpfelsäure über Cumalinsäure und Furan-dicarbonssäure-(2.4) in 11 Stufen gewinnen, von denen die ersten 7, bis zum 4-Carbomethoxy-brenzschleimsäure-chlorid(III), in der Literatur beschrieben waren. Die vom Säurechlorid III weiterführenden 10 Reaktionsfolgen waren:



Das Azid X und das Isocyanat XI sind nicht in Substanz isoliert worden. Nach dem Vorbild von C. NAEGELI und A. TYABI⁴⁾ ließ sich das Isocyanat mit Eisessig/Acetan-

⁴⁾ Helv. chim. Acta 16, 349 [1933].

hydrid 1:1 in das 5-Diacetoxyäthyl-3-acetamino-furan (XII) verwandeln, dessen Ammonolyse zur *DL-Form des 5-Dihydroxyäthyl-3-acetamino-furans* (I) führte. Diese stimmt im R_F -Wert, im UV-Spektrum und in den Absorptionsbanden des mit Ehrlichs Aldehyd entstehenden Farbstoffs mit Chromogen III überein (Tab. 1). Zum genaueren Vergleich haben wir das Chromogen III mit Acetanhydrid in Pyridin in die *N,O,O*-Triacetylverbindung (*D-Form* von XII) verwandelt und diese mit dem synthet. Racemat XII verglichen. Es ergab sich, daß die synthet. *DL*-Verbindung höher als die *D-Form* schmilzt; beim Vergleich der IR-Spektren wurden deutliche Unterschiede der relativen Intensitäten einiger Banden gefunden, wenn die Substanzen in KBr gepreßt untersucht wurden. Für die Lösungen in Chloroform wurde jedoch völlige Übereinstimmung der IR-Spektren gefunden. Dasselbe gilt für die UV-Spektren und für die Farbstoffbildung mit *p*-Dimethylamino-benzaldehyd.

DL-FORM AUS DL-GLUCOSAMIN

Angesichts der Verschiedenheit der IR-Spektren (im festen Zustand) sowie der Debye-Scherrer-Diagramme von synthet. *DL*-Chromogen und der *D*-Verbindung sowie im Hinblick auf den großen Schmp.-Unterschied zwischen *DL*- und *D*-Di-*O*-acetylverbindung (über 40°) erschien uns eine genaue Identifizierung wichtig, die zwischen einer optisch aktiven Verbindung und dem entsprechenden Racemat nicht zu erbringen ist.

Wir hätten versuchen können, eine Spaltung in optische Antipoden an einem der Zwischenprodukte im Laufe der Synthese durchzuführen. Viel einfacher für uns war jedoch der folgende Weg: Nachdem *L*-Glucosamin aus *L*-Arabinose leicht zugänglich geworden ist³⁾, haben wir 50% *D*- mit 50% *L*-Glucosamin-hydrochlorid gemischt und das mit Acetanhydrid gewonnene *N*-Acetyl-*DL*-glucosamin mit Pyridin gekocht. Die so erhaltene *DL*-Form des Chromogens III war mit der aus Äpfelsäure gewonnenen identisch (Tab. 1), insbesondere stimmten nun auch die IR-Spektren der festen Sub-

Tab. 1. Vergleich der optisch-aktiven mit den racemischen Verbindungen

Chromogen III	R_F	$[\alpha]_D$	Schmp.	Misch-Schmp.
<i>D</i> (+)-Form aus <i>N</i> -Acetyl- <i>D</i> -galaktosamin	0.78	+12°*)	111–114°	111–113°
<i>D</i> (+)-Form aus <i>N</i> -Acetyl- <i>D</i> -glucosamin	0.78	+12°	112–114°	
<i>DL</i> -Form aus <i>DL</i> -Glucosamin	0.78	±0°	111–113°	
<i>DL</i> -Form aus Äpfelsäure	0.78	±0°	112–114°	112–113°
<i>O</i> -Diacetyl- <i>DL</i> -chromogen III	—	±0°	107–110°	60–105°
<i>O</i> -Diacetyl- <i>D</i> -chromogen III	—	+112°**)	62–64°	

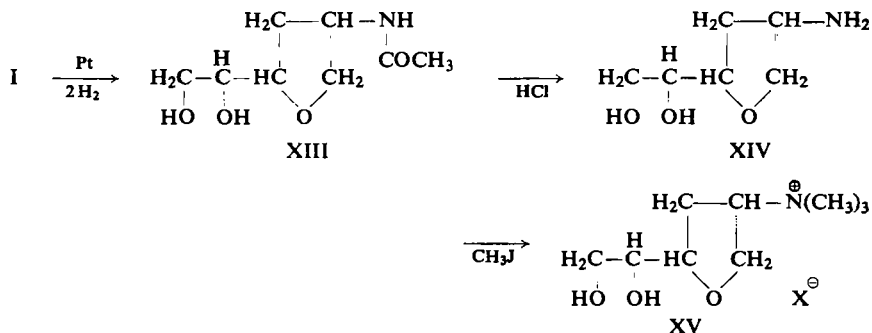
*) in Wasser **) in Methanol

stanzen sowie die Debye-Scherrer-Diagramme genau überein. Damit ist kein Zweifel an der Konstitution des Chromogens mehr möglich.

D(—)-5-DIHYDROXYÄTHYL-TETRAHYDROFURYL-(3)-TRIMETHYLAMMONIUMCHLORID

Das Chromogen III (I) nimmt mit PtO_2 in Äthanol leicht genau 2 Moll. H_2 auf. Die Tetrahydro-Verbindung (XIII) läßt sich durch Kochen mit 18-proz. Salzsäure zum

primären Amin XIV spalten, das wir mit Methyljodid und Natriumcarbonat in das quartäre Salz XV verwandelt haben.



Im Gegensatz zum Amin XIV gibt die *quartäre Ammoniumverbindung* XV ein schwer lösliches Phosphorwolframat und ein schwer lösliches, in Nadelchen kristallisierendes Tetraphenylborat, dessen analytische Zusammensetzung der angegebenen Formel entspricht. Durch Zugabe von Salzsäure und Ausäthern der Borverbindung läßt es sich in das Chlorid überführen.

Für das Muscarin, das Gift des Fliegenpilzes, hat C. H. EUGSTER⁵⁾ eine Formel vorgeschlagen, die sich von XV nur dadurch unterscheidet, daß in 5-Stellung an Stelle von HOCH₂—CHOH— der Rest CH₃—CHOH— steht. Über die räumlichen Verhältnisse an den 3 Asymmetrie-Zentren liegen noch keine Angaben vor. In unserem Falle ist die sterische Anordnung in der Seitenkette HOCH₂—CHOH— bekannt: sie entspricht derjenigen am C-Atom 5 der D-Glucose. Unsere Verbindung XV ist als Chlorid in wäßriger Lösung linksdrehend, während Muscarinchlorid rechtsdrehend ist.

Herrn Dr. W. OTTING danken wir für die Aufnahme und Interpretation der IR-Spektren, Hrn. W. DAFELDECKER für eifrige präparative Unterstützung.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Sämtliche Schmelzpunkte wurden, falls nicht anders angegeben, im „Monoskop“ (H. BOCK, Frankfurt/Main) bestimmt. Die Bestimmung der Misch-Schmelzpunkte erfolgte im Berl-Block.

Die papierchromatographischen Untersuchungen sind alle auf Schleicher & Schüll-Papier 2043 b mit wassergesätt. sek.-Butanol nach der aufsteigenden Methode durchgeführt worden. Entwickelt wurde mit Anilinhydrogenphthalat in der üblichen Weise bzw. mit einer Lösung von 1 g *p*-Dimethylamino-benzaldehyd in 30 ccm konz. Salzsäure und 180 ccm n-Butanol in der Kälte.

Zur Prüfung der Säulen-Fractionen versetzten wir 1–3 Tropfen des Eluats mit dem nach D. AMINOFF, W. T. J. MORGAN und W. M. WATKINS⁶⁾ bereiteten „DMAB-Reagens“.

Zur Analyse wurde, wenn nicht anders angegeben, über P₂O₅ bei 20°/1 Torr über Nacht getrocknet.

Chromogen III (Formel I) aus *N*-Acetyl-D-glucosamin: 50 g *N*-Acetyl-D-glucosamin wurden in 2 l Pyridin 48 Stdn. lang unter Rückfluß gekocht. Anschließend destillierte man etwa 1.5 l

⁵⁾ Helv. chim. Acta **39**, 1023 [1956].

⁶⁾ Biochem. J. **51**, 379 [1952].

Pyridin unter Normaldruck ab. Die schwarzbraunen Lösungen von 2 solchen Ansätzen wurden vereinigt und auf dem Dampfbad i. Vak. zum Sirup eingeengt. Diesen löste man in 100 ccm wassergesätt. n-Butanol unter Erwärmen und versetzte mit 100 ccm n-Butanol. Man ließ einige Stdn. im Eisschrank stehen und entfernte dann das auskristallisierte, nicht in Reaktion getretene *N*-Acetyl-D-glucosamin (10 g) durch scharfes Absaugen. Die Kristallmasse wurde 2 mal in 50 ccm halb-wassergesätt. n-Butanol (wassergesätt. n-Butanol + gleiches Vol. n-Butanol) suspendiert, jeweils scharf abgesaugt und schließlich mit 50 ccm dieses Lösungsmittels nachgewaschen.

Papierchromatographisch zeigte das Filtrat neben etwas unverändertem *N*-Acetyl-D-glucosamin und Chromogen I hauptsächlich Chromogen III sowie zwei noch schneller wandernde, Ehrlich-positive Flecken. Von diesen konnte der fast mit der Lösungsmittelfront wandernde als 3-Acetamino-furan identifiziert werden (s. u.); die Natur des anderen ist nicht bekannt. Außerdem treten noch langsamer als Chromogen I laufende Verunreinigungen auf, die ebenfalls Ehrlich-Reaktion geben, aber keine scharfen Flecken zeigen; vermutlich handelt es sich um Kondensationsprodukte.

Zur Chromatographie verwendeten wir Al_2O_3 (Merck, standard. nach Brockmann) und als Lösungsmittel halb-wassergesätt. n-Butanol. Etwa 1500–1600 g Al_2O_3 wurden zu einem leicht gießbaren Brei aufgeschlämmt, in ein Chromatographierohr gefüllt (50×1300 mm) und nach dem Absetzen des Al_2O_3 (Höhe 100 cm) mit 1 l Lösungsmittel vorgewaschen. Dann brachte man die vereinigten Filtrate (etwa 350 ccm) vorsichtig auf die Säule, ließ einsickern und eluierte. Sobald das goldgelbe Eluat Ehrlich-Reaktion zeigte, wurden 50-ccm-Fractionen aufgefangen. Die ersten 6 Fractionen enthielten neben sehr wenig Chromogen III das 3-Acetamino-furan und die etwas langsamer wandernde Substanz; in den Fractionen 7–27 fand sich der Hauptteil an Chromogen III; ab Fraction 28 erschien neben letzterem bereits Chromogen I. Aus diesen Fractionen ließ sich Chromogen I (3–4 g) nach nochmaliger Reinigung an Al_2O_3 als hygroskopischer Sirup in papierchromatographisch einheitlicher Form gewinnen.

Die Fractionen 7–27 wurden vereinigt, i. Vak. vom Lösungsmittel befreit, in 500 ccm Wasser aufgenommen und mit 5 g Carboraffin 30 Min. lang behandelt (Vibromischer). Dann saugte man scharf ab und wusch mit 100 ccm Wasser nach. (Das Carboraffin nimmt etwa die Hälfte seines Eigengewichtes an Substanz auf). Das fast farblose Filtrat wurde i. Vak. zum Sirup eingeengt und durch mehrmaliges Abdampfen mit absol. Äthanol vom Wasser befreit. Dann löste man unter Erwärmen in 100 ccm absol. Äthanol und ließ zur Kristallisation 24 Stdn. bei -20° stehen. Die schwach bräunlichen Kristalle wurden mit tiefgekühltem absol. Äthanol, absol. Äthanol/Äther und schließlich mit absol. Äther nachgewaschen: 18 g. Schmp. $107-109^\circ$, $[\alpha]_D^{23}$: $+11.45^\circ$.

Die vereinigten Filtrate brachte man i. Vak. zur Trockne. Den ausgeschiedenen Kristallbrei digerierten wir mit 60 ccm absol. Äthanol und ließen 48 Stdn. bei -20° stehen. Dann wurde abgesaugt und wie oben nachgewaschen: 8 g. Schmp. $112-114^\circ$, $[\alpha]_D^{23}$: $+11.1^\circ$.

Man engte Filtrat und Waschlösungen abermals i. Vak. ein, löste den sirupösen Rückstand in 100 ccm Wasser und behandelte ihn mit 3 g Carboraffin 30 Min. lang am Vibromischer. Dann wurde filtriert, i. Vak. zum Sirup eingeengt, in 25 ccm wassergesätt. n-Butanol gelöst und mit dem gleichen Vol. n-Butanol versetzt. Diese Lösung wurde wie beim ersten Mal an einer Säule aus 550 g Al_2O_3 (50×300 mm) chromatographiert. Nach papierchromatographischer Kontrolle vereinigte man die Chromogen III enthaltenden Fractionen (2–12), entfernte i. Vak. das Lösungsmittel und destillierte einige Male mit absol. Äthanol nach. Dann wurde mit 50 ccm absol. Äthanol gelöst, mit dem gleichen Vol. trockenem Äther versetzt, angeimpft und 3 Tage bei -20° aufbewahrt. Nach dem Absaugen und Waschen er-

hielten wir nochmals 4.5 g; Schmp. 112–114°, $[\alpha]_D^{23}$: + 11.1°. Die Gesamtausbeute an fast analysenreinem *Chromogen III* betrug somit 30.5 g (40% d. Th.). Der Eindampfdruckstand der Mutterlauge betrug nur noch 1 g.

Durch verlustreiches Umkristallisieren aus möglichst wenig heißem absol. Äthanol (mit etwas Carboraffin) erhielten wir Chromogen III in farblosen, manchmal zu Büscheln vereinigten, derben Prismen. Die Verbindung schmeckt bitter. Sie gibt mit DMAB-Reagens eine intensiv bläustichig-violette Lösung. Diese zeigt (nach 1.5 Stdn.) im Spektrophotometer (Beckman, Modell DU) 2 schwach ausgeprägte Maxima bei 516 m μ (ϵ = 4.76 · 10³) und 588 m μ (ϵ = 3.72 · 10³).

C₈H₁₁O₄N (185.2) Ber. C 51.88 H 5.98 N 7.56 Acetyl 23.24

Gef. C 51.85 H 5.79 N 7.45 Acetyl 23.57

Die Substanz schmilzt bei 115–117°, $[\alpha]_D^{20}$: + 12.1° ± 1.0° (H₂O, c = 1.32), $[\alpha]_D^{20}$: + 15.7° (absol. Äthanol, c = 5.0). Sie ist in Wasser und den niedrigen Alkoholen leicht löslich, unlöslich in Chloroform, Äther und Kohlenwasserstoffen.

Isolierung von 3-Acetamino-furan: Der Eindampfdruckstand der Fraktionen 1–6 der ersten Al₂O₃-Säule (0.7 g) wurde bei 10⁻² Torr auf 100–120° (Luftbadtemp.) erhitzt. Das fast farblose Destillat kristallisierte beim Erkalten sofort in schönen Prismen. Es wurde bei etwa 100°/10⁻² Torr sublimiert und aus Benzol/Petroläther (30–40°) umkristallisiert. Man erhielt 354 mg 3-Acetamino-furan vom Schmp. 119–120°.

C₆H₇O₂N (125.1) Ber. C 57.59 H 5.63 N 11.19 Gef. C 57.41 H 5.76 N 11.67

Der Misch-Schmp. mit einem synthet. Präparat²⁾ (offene Kapillare) lag bei 117–118° (Sintern ab 115°). Aus der Mutterlauge ließen sich noch 150 mg isolieren, so daß die Gesamtausbeute 1% d. Th. betrug (0.50 g aus 90 g *N*-Acetyl-D-glucosamin).

Chromogen III aus N-Acetyl-D-galaktosamin: Das *N*-Acetyl-D-galaktosamin haben wir aus synthet. D-Galaktosamin · HCl³⁾ in 60-proz. Ausbeute nach der Vorschrift von Y. INOUE und Mitarbb.⁷⁾ erhalten. Schmp. 150–155°, $[\alpha]_D^{23}$: + 70.3° (Enddrehung, in Wasser). Ber. N 6.33, Gef. N 6.05.

Es wurden 430 mg *N*-Acetyl-D-galaktosamin in 25 ccm Pyridin 40 Stdn. unter Rückfluß gekocht und dann wie bei der Bereitung aus *N*-Acetyl-D-glucosamin aufgearbeitet. Die Chromogen III enthaltenden Säulen-Fractionen hinterließen einen gelblichen Sirup (145 mg), der mit möglichst wenig warmem absol. Äthanol aufgenommen wurde. Diese Lösung versetzten wir mit trockenem Äther bis zur beginnenden Trübung und impften mit Chromogen III an. Wir ließen zunächst bei + 5° stehen und vervollständigten die Kristallisation bei – 20°. Wir erhielten 63.7 mg schwach bräunliche Kristalle. Schmp. 111–114°, $[\alpha]_D^{23}$: + 11.5° (H₂O, c = 1.04).

C₈H₁₁O₄N (185.2) Ber. C 51.88 H 5.98 N 7.56 Gef. C 51.23 H 6.14 N 7.57

Durch Zusatz von weiterem absol. Äther zur farblosen Mutterlauge und längeres Aufbewahren bei – 20° konnten wir noch 19.6 mg farblose Kristalle erhalten. Schmp. 112–113°. Gesamtausbeute 83.3 mg (23% d. Th.).

Das aus *N*-Acetyl-D-galaktosamin gewonnene Chromogen III unterscheidet sich weder im R_F-Wert noch im IR-Spektrum von dem aus *N*-Acetyl-D-glucosamin gewonnenen Präparat. Der Misch-Schmp. zeigt keine Depression.

DL-Chromogen III aus D- und L-Glucosamin · HCl: 3.000 g *D*-Glucosamin · HCl ($[\alpha]_D^{24}$: + 71°) und 3.000 g *L*-Glucosamin · HCl ($[\alpha]_D^{24}$: – 70°) wurden in 100 ccm Methanol, in dem 640 mg Natrium gelöst waren, ohne Entfernung des abgeschiedenen NaCl mit 10 ccm *Acetanhydrid*

⁷⁾ Y. INOUE, K. ONODERA, S. KITAOKA und T. KIRII, Bull. Inst. chem. Res., Kyoto Univ. 33 [6], 270 [1955]; J. Amer. chem. Soc. 78, 4722 [1956].

behandelt. Nach $\frac{1}{2}$ Stde. (negative Ninhydrin-Probe) brachte man das gesamte Reaktionsgemisch i. Vak. zur Trockne. Den Abdampfrückstand kochte man mit 250 ccm trockenem Pyridin 48 Stdn. unter Rückfluß. Die dunkle Reaktionslösung wurde i. Vak. vom Lösungsmittel befreit und in üblicher Weise an Al_2O_3 mit halb wassergesätt. n-Butanol gereinigt. Die Chromogen III enthaltenden Fraktionen haben wir i. Vak. zum Sirup eingengt, in Wasser gelöst und mit Carboraffin behandelt. Nach abermaliger Entfernung des Lösungsmittels i. Vak. erhielten wir aus absol. Äthanol/Äther/Petroläther (Sdp. 30–40°) insgesamt 100 mg (2.5% d. Th., ber. auf Glucosamin·HCl) vom Schmp. 111–113°. Der Misch-Schmp. sowohl mit synthet. DL-Chromogen III als auch D-Chromogen III zeigte keine Depression.

$\text{C}_8\text{H}_{11}\text{O}_4\text{N}$ (185.2) Ber. C 51.88 H 5.98 N 7.56 Gef. C 51.53 H 5.93 N 7.30

Di-O-acetyl-chromogen III: 2.0 g *Chromogen III* wurden mit 20 ccm *Acetanhydrid* und 6 ccm trockenem Pyridin übergossen. Man ließ die Lösung über Nacht im geschlossenen Gefäß bei etwa 20° stehen, erwärmte dann mit aufgesetztem CaCl_2 -Rohr 15 Min. auf dem Dampfbad und versetzte nach dem Abkühlen mit 100 g Eisflocken. Nach 30 Min. wurde mit 2 n H_2SO_4 bis etwa pH 2 angesäuert und 5 mal mit je 20–30 ccm Chloroform extrahiert. Die vereinigten Extrakte wusch man je einmal mit 2 n H_2SO_4 und Wasser und trocknete mit Na_2SO_4 . Dann entfernte man i. Vak. das Lösungsmittel möglichst vollständig. Der zurückbleibende bräunliche Sirup wurde in 10 ccm Chloroform gelöst und mit 10 ccm Benzol versetzt. Man ließ diese Lösung in eine aus Al_2O_3 (Merck, standard. nach Brockmann) mit Chloroform/Benzol 1:1 bereitete Säule (40 × 450 mm) einsickern und eluierte ohne Drosselung der Tropfengeschwindigkeit (5–6 Tropfen/Sek.) mit dem gleichen Lösungsmittel. Der Ehrlich-positive Anteil der ausfließenden Lösung (600 ccm) wurde mit etwas Carboraffin behandelt und i. Vak. zum Sirup eingengt. Diesen löste man unter Erwärmen in möglichst wenig absol. Äther, versetzte mit einigen Tropfen Petroläther (Sdp. 30–40°) und ließ bei –20° auskristallisieren. Ausbeute 380 mg (Schmp. 62–64°).

Durch mehrfaches, verlustreiches Umkristallisieren aus Äther/Petroläther erhält man rein weiße, zu Halbkugeln vereinigte Prismen.

$\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{O}_6\text{N}$ (269.2) Ber. C 53.52 H 5.61 N 5.20 Acetyl 47.95
Gef. C 53.65 H 5.62 N 5.38 Acetyl 47.51*)

*) Verseifung mit H_3PO_4 .

Das acetylierte Chromogen III gibt eine noch intensivere Färbung mit DMAB-Reagens als Chromogen III selbst. Im Spektralphotometer findet man zwei wenig ausgeprägte Maxima bei 540 m μ ($\epsilon = 6.6 \cdot 10^3$) und 586 m μ ($\epsilon = 7.25 \cdot 10^3$).

Synthese von DL-5-Dihydroxyäthyl-3-acetamino-furan(I): Für die in der Literatur beschriebenen ersten 7 Schritte geben wir, soweit danach gearbeitet wurde, nur die von uns erzielten Ausbeuten und den zur Weiterverarbeitung benötigten Reinheitsgrad an. Was aus Mutterlaugen gewonnen wurde, ist in den angegebenen Ausbeuten mit enthalten.

a) *Cumalinsäure*⁸⁾: Aus 4 Ansätzen mit je 1 kg DL-Äpfelsäure erhielten wir insgesamt 1600 g Rohprodukt (~ 75% d. Th.), das direkt weiter verarbeitet wurde.

b) *5-Brom-cumalinsäure*⁹⁾: 40–50% d. Th. Rohprodukt.

c) *5-Brom-cumalinsäure-methylester*^{9,10)}: Sowohl bei der Darstellung durch Sättigen der methanol. Lösung mit Chlorwasserstoff als auch durch 18 stdg. Kochen in Äthylenchlorid mit Methanol und konz. H_2SO_4 ¹¹⁾ betrug die Ausbeute bei kleineren Ansätzen (10 g) 50–55%,

⁸⁾ Org. Syntheses 31, 23 [1951].

⁹⁾ A. v. PECHMANN, Ber. deutsch. chem. Ges. 17, 2396 [1884].

¹⁰⁾ F. FEIST, Ber. deutsch. chem. Ges. 34, 1992 [1901].

¹¹⁾ R. O. CLINTON und S. C. LASKOWSKI, J. Amer. chem. Soc. 70, 3135 [1948].

bei größeren Ansätzen (80–100 g) nur 40–45% d. Th. Bei Veresterung mit Diazomethan ist mit Kernsubstitution¹²⁾ zu rechnen. Das nach den beiden angeführten Methoden erhaltene Rohprodukt wurde direkt weiterverarbeitet.

d) *Furan-dicarbonsäure-(3.5)*^{13,14)}: Die von F. FEIST¹⁰⁾ angegebene, beinahe quantitative Ausbeute konnten wir nie erreichen, so daß wir der von GILMAN und BURTNER¹³⁾ beschriebenen Methode den Vorzug geben. Nach einmaligem Umkristallisieren des Acetonextrakt-Rückstandes aus Wasser mit Hilfe von Carboraffin erhielten wir so Ausbeuten von 40–45% d. Th.

e) *Furan-dicarbonsäure-(3.5)-dimethylester*¹⁰⁾: 9.2 g *Furan-dicarbonsäure-(3.5)* wurden in etwa 100 ccm absol. Methanol gelöst und unter kräftigem Rühren bei 0° mit äther. *Diazomethan*-Lösung (aus 45 g Nitroso-methylharnstoff) bis zur bleibenden Gelbfärbung in dem Maße versetzt, daß die Temperatur nicht über 10° anstieg. Dann ließ man 1 Stde. bei 20° stehen. Zwei solche Ansätze wurden gemeinsam i. Vak. zur Trockne gebracht. Aus etwa 100 ccm Methanol erhielten wir 18.1 g (83% d. Th.) *Dimethylester* vom Schmp. 104–107°; aus den Mutterlaugen weitere 1.7 g.

f) *3-Carbomethoxy-furan-carbonsäure-(5)*¹⁵⁾: Zu der noch warmen Lösung von 27.1 g *Furan-dicarbonsäure-(3.5)-dimethylester* in 90 ccm absol. Methanol gab man 8.232 g KOH in 90 ccm absol. Methanol. Das sofort durch ausgeschiedenes Kaliumsalz erstarrende Reaktionsgemisch wurde noch 1 Stde. unter Rückfluß gekocht und dann auf 0° abgekühlt. Man saugte das Kaliumsalz ab und wusch mit etwas Methanol. Das Filtrat wurde i. Vak. zur Trockne eingengt und mit 100 ccm kaltem Wasser versetzt. Man filtrierte vom nicht umgesetzten, in kaltem Wasser unlöslichen Di-ester (4.0 g) ab, verdünnte das Filtrat mit 100 ccm Wasser und löste darin das lufttrockene Kaliumsalz. Durch vorsichtiges Ansäuern mit 2 n HCl unter kräftigem Rühren bei 0° wurde der Mono-ester der Dicarbonsäure ausgefällt. Man kristallisierte ihn aus 400 ccm Wasser um: 21.2 g (99% d. Th., bez. auf umgesetzten Di-ester). Schmp. 126–130°. Das Präparat ist zur Weiterverarbeitung genügend rein. Der zurückgewonnene Di-ester wurde bei einem späteren Ansatz weiter verarbeitet.

g) *3-Carbomethoxy-furan-carbonsäure-(5)-chlorid(III)*¹⁵⁾: Zur Verarbeitung auf das Diazoketon IV empfiehlt es sich, das Säurechlorid einmal aus CCl₄ umzukristallisieren. Die Ausbeuten (Schmp. 83°) betrugen 80–85% d. Th.

h) *3-Carbomethoxy-furyl-(5)-diazoketon (IV)*: Zu 400 ccm einer lebhaft gerührten äther. *Diazomethan*-Lösung (aus 40 g Nitroso-methylharnstoff) ließen wir 11.1 g *III* in 100 ccm Äther unter Eiskühlung so zutropfen, daß die Temperatur nicht über 10° stieg. Die gelbe Lösung wurde bis zum Ende der lebhaften N₂-Entwicklung bei 20° stehengelassen (etwa 1 Stde.) und dann i. Vak. (Badtemp. 20–30°) auf etwa 150 ccm eingengt (beginnende Kristallisation). Man bewahrte mehrere Stdn. bei –20° auf, saugte die ausgeschiedenen, hellgelben Prismen ab und wusch sie mit wenig kaltem Äther. Die Mutterlauge brachte man i. Vak. zur Trockne und kristallisierte aus Äther um. Gesamtausbe. 9.5 g (82.5% d. Th.). Das Produkt ist zur Weiterverarbeitung genügend rein. Durch einmaliges Umkristallisieren der zuerst isolierten Kristalle erhielten wir ein analysenreines Präparat.

C₈H₄O₆N₂ (194.1) Ber. C 49.48 H 3.11 N 14.43 Gef. C 49.35 H 3.40 N 14.49

3-Carbomethoxy-furyl-(5)-diazoketon bildet blaßgelbe, zu Büscheln angeordnete Prismen, die unscharf bei 105–109° (Zers.) schmelzen.

¹²⁾ J. FRIED und R. C. ELDERFIELD, J. org. Chemistry 6, 577 [1941].

¹³⁾ H. GILMAN und R. R. BURTNER, J. Amer. chem. Soc. 55, 2903 [1933].

¹⁴⁾ Um den Zusammenhang mit 3-Acetamino-furan deutlich werden zu lassen, bezeichnen wir hier und im folgenden auch die bereits in der Literatur beschriebenen 2.4-substituierten Furanderivate als 3.5-Furane.

¹⁵⁾ H. GILMAN, R. R. BURTNER und E. W. SMITH, J. Amer. chem. Soc. 55, 403 [1933].

i) *3-Carbomethoxy-furyl-(5)-acetoxymethyl-keton (V)*: 16.5 g *IV* wurden unter Umschwenken portionsweise in 75 ccm auf 60–70° erwärmten Eisessig eingetragen. Dabei ging die Verbindung unter lebhafter N₂-Entwicklung in Lösung. Sobald diese nachgelassen hatte, erhitzte man 10 Min. zum gelinden Sieden, versetzte dann die dunkelbraune Lösung mit 1 g Kaliumacetat und kochte noch 1 Stde. unter Rückfluß. Die noch heiße Lösung wurde mit etwa dem doppelten Vol. heißem Wasser versetzt und auf dem Dampfbad mit Carboraffin behandelt. Die im Eisschrank abgeschiedenen, hellgelben, derben Kristalle wurden mit 2 *n* Essigsäure und Wasser gewaschen (7.5 g). Aus der Mutterlauge ließen sich noch 2.5 g gewinnen. Ausb. 10 g (52.5% d. Th.). In kleineren Ansätzen, z. B. mit 2 g, wurden Ausbeuten bis zu 86% d. Th. erzielt. Aus 30-proz. Essigsäure oder aus Methanol erhielten wir rein weiße Prismen, die bei 123–126° schmolzen. Zur Analyse wurde über P₂O₅/KOH bei 20°/1 Torr getrocknet.

C₁₀H₁₀O₆ (226.1) Ber. C 53.10 H 4.45 Acetyl 19.03 Gef. C 52.91 H 4.38 Acetyl 18.60

k) *DL-5-Dihydroxyäthyl-furan-carbonsäure-(3) (VII)*: 1 g *V* wurde in 100 ccm Methanol durch leichtes Erwärmen in Lösung gebracht und auf ~20° abgekühlt. Hierzu gab man im Verlauf von 10 Min. in 5 Portionen unter Umschwenken die Lösung von 65 mg NaBH₄ (1.1 Moll.) in 10 ccm Wasser. Man ließ noch etwa 1/2 Stde. stehen, brachte mit 2 *n* Essigsäure etwa auf *p*_H 6 und entfernte i. Vak. das Lösungsmittel. Der Rückstand wurde mit 1 g KOH in 50 ccm Methanol versetzt und 4 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Sollte sich dabei etwas Kaliumsalz abscheiden, so wird nach Abkühlen durch Zugabe von Wasser alles wieder gelöst.

Zur Entfernung der Kationen ließen wir diese Lösung durch eine Säule (27 × 75 mm) mit Amberlite IR-120 (H⁺) laufen und wuschen mit 50-proz. Methanol nach. Der Austauscher war auf der Säule mit 300–400 ccm 50-proz. Methanol vorgewaschen worden. Die Tropfgeschwindigkeit betrug 1–2 Tropfen/Sek. Die sauer reagierenden Fraktionen (Universalindikatorpapier, MERCK) wurden gesammelt und i. Vak. zur Trockne gebracht. Den krist. Rückstand löste man in wenigen ccm absol. Methanol, fügte das doppelte Vol. absol. Äther hinzu und versetzte bei ~30° vorsichtig mit Petroläther (Sdp. 40–50°) bis zur eben beginnenden Trübung. Man beließ über Nacht im Eisschrank und dekantierte von den abgeschiedenen Kristallen, die mit Äther und Petroläther (Sdp. 30–40°) gewaschen wurden: 380 mg (50% d. Th.), Schmp. 122–124°.

Die nicht kristallisationsfreudige Verbindung läßt sich durch mehrfaches, verlustreiches Umkristallisieren aus Methanol/Äther/Petroläther in farblosen kleinen, kugelförmigen Kristallaggregaten analysenrein gewinnen. Schmp. 144°.

C₇H₈O₅ (172.1) Ber. C 48.83 H 4.68 Äquiv.-Gew. 172

Gef. C 49.02 H 4.96 Äquiv.-Gew. 172

l) *DL-5-Diacetoxyäthyl-furan-carbonsäure-(3) (VIII)*

1. Aus *DL-5-Dihydroxyäthyl-furan-carbonsäure-(3) (VII)*: 1 g der *Säure VII* wurde fein verrieben und mit 10 ccm *Acetanhydrid* und 4 ccm trockenem Pyridin übergossen. Man ließ im geschlossenen Kolben über Nacht bei ~20° stehen. Die dunkelbraune Lösung wurde auf 50 ccm Eiswasser gegossen und nach 1/2 Stde. mit 25 ccm 2 *n* H₂SO₄ angesäuert. Dann extrahierte man 4 mal mit je 25 ccm CHCl₃, wusch die vereinigten Extrakte einmal mit Wasser und trocknete mit Na₂SO₄. Man entfernte das CHCl₃ i. Vak. und destillierte den Rückstand bei 10⁻² bis 10⁻³ Torr. Bei einer Luftbadtemp. von 130–150° ging ein zäher, fast farbloser Sirup über, der beim Anreiben kristallin erstarrte. Aus Chloroform/Petroläther (Sdp. 60 bis 70°) erhielt man 985 mg farblose, feine Prismen, die bei 91–93° schmolzen.

C₁₁H₁₂O₇ (256.2) Ber. C 51.56 H 4.72 Acetyl 33.60

Gef. C 51.73 H 4.45 Acetyl 31.48

2. Aus 3-Carbomethoxy-furyl-(5)-acetoxymethyl-keton (V): Nachdem die Schritte von V nach VIII analytisch gesichert waren, entschlossen wir uns, auf eine Reinigung der schlecht kristallisierenden Verbindung VII zu verzichten und direkt zur Di-O-acetyl-Verbindung VIII weiterzuarbeiten. Wir erreichten dadurch eine Steigerung der Ausbeute um mehr als das Doppelte.

2 g Acetoxy-ketoester V wurden, wie unter k) angegeben, in 200 ccm Methanol mit 130 mg NaBH_4 reduziert, mit 2 g KOH in 50 ccm Methanol verseift und mit Amberlite IR-120(H^\oplus) von Na^\oplus - und K^\oplus -Ionen befreit. Der Abdampfrückstand der sauer reagierenden Fraktionen wurde i. Vak. gründlich getrocknet und dann mit 20 ccm Acetanhydrid und 8 ccm trockenem Pyridin bei $\sim 20^\circ$ über Nacht behandelt. Die Aufarbeitung erfolgte entsprechend der unter 1. angegebenen Methode. Der nach Destillation i. Hochvak. ($140-150^\circ$) erhaltene Sirup erstarrte nach einigen Tagen zu einer harten, farblosen Kristallmasse. Ausb. 1.95 g (86% d. Th.). Schmp. $89-91^\circ$. Die Substanz wurde direkt weiterverarbeitet.

m) DL-5-Diacetoxyäthyl-furan-carbonsäure-(3)-chlorid (IX): 1.95 g der Säure VIII wurden mit 10 ccm absol. Benzol und 20 ccm Thionylchlorid (MERCK, puriss.) übergossen und 3 Stdn. unter Rückfluß gekocht (CaCl_2 -Rohr). Dann entfernte man bei $\sim 40^\circ$ Badtemp. i. Vak. alles Flüchtige. Die Destillation unter 10^{-2} bis 10^{-3} Torr lieferte bei $90-110^\circ$ Luftbadtemp. 1.79 g (85% d. Th.) eines farblosen, dünnflüssigen Öles, das nicht weiter gereinigt wurde.

$\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{O}_6\text{Cl}$ (274.6) Ber. Cl 12.91 Gef. Cl 14.03

n) DL-5-Diacetoxyäthyl-furan-carbonsäure-(3)-azid (X): 1.79 g des Säurechlorids IX wurden in 20 ccm Aceton gelöst und unter Umschwenken bei 0° mit einer Lösung von 0.470 g Natriumazid in 12 ccm Wasser versetzt. Wir ließen die klare Lösung 2 Stdn. bei 20° stehen, schieden dann durch 40 ccm Wasser das gebildete Säureazid als Öl ab und engten i. Vak. bei 40° (Badtemp.) etwa auf die Hälfte ein. Das abgeschiedene Öl wurde mit 20 ccm Äther aufgenommen und die wäßr. Schicht noch 3 mal mit je 25 ccm Äther ausgezogen. Den gesammelten Extrakt wusch man je einmal mit eiskalter 10-proz. NaHCO_3 -Lösung und Eiswasser und trocknete gründlich über Na_2SO_4 . Dann entfernten wir bei 20° i. Vak. den Äther und trockneten den sirupösen Rückstand 2 Stdn. über $\text{P}_2\text{O}_5/\text{KOH}$ bei $20^\circ/1$ Torr: 1.7 g ($\sim 96\%$ d. Th.). Eine kleine Probe, in die Flamme gebracht, verpuffte lebhaft. Das Präparat wurde nicht weiter gereinigt.

o) DL-5-Diacetoxyäthyl-3-acetamino-furan (XII)

1. Isocyanat XI: Das sirupöse Säureazid X (~ 1.7 g) wurde in einem mit Rückflußkühler versehenen Kolben in 15 ccm absol. Benzol gelöst. Zum Abschluß gegen die Atmosphäre schlossen wir den Kühler an eine mit absol. Benzol gefüllte Waschflasche an. Dann erwärmten wir mäßig schnell auf $50-60^\circ$ (langsame N_2 -Entwicklung) und weiter im Verlaufe von 30 Min. auf 95° . Diese Temperatur hielten wir bis zur Beendigung der Reaktion (~ 1 Stde.). Die benzolische Lösung des Isocyanats XI gab als erste Verbindung der gesamten Synthese mit DMAB-Reagens eine, allerdings sehr unbeständige, Rotfärbung.

2. Acetamino-Verbindung XII⁴⁾: Die Lösung des Isocyanats XI wurde sofort nach Aufhören der Stickstoffentwicklung mit 30 ccm Acetanhydrid/Eisessig (1:1, p. a.) versetzt und unter Feuchtigkeitsausschluß und Rückflußkühlung noch $1\frac{1}{2}$ Stdn. lang auf $95-100^\circ$ erhitzt. Sie färbte sich schon nach kurzer Zeit dunkler und war am Ende der Reaktion tief schwarzrot. Ein Tropfen gab mit DMAB-Reagens eine intensive Ehrlich-Reaktion. Man entfernte i. Vak. das Lösungsmittel möglichst vollständig und destillierte zur Beseitigung von Acetanhydrid mehrmals mit Benzol nach.

Den Abdampfrückstand lösten wir in 10 ccm Chloroform und versetzten mit dem gleichen Vol. Benzol. Die Reinigung an Al_2O_3 erfolgte wie bei der Darstellung von Di-O-acetyl-chro-

mogen III beschrieben. Das Ehrlich-positive Eluat (etwa 500 ccm) befreite man i. Vak. vom Lösungsmittel und bewahrte den braunen Sirup (0.90 g) über Nacht bei $\sim 20^\circ/1$ Torr über P_2O_5 auf, wobei er größtenteils kristallisierte. Man löste unter Erwärmen in 50 ccm Benzol, behandelte mit Carboraffin und versetzte noch warm mit Petroläther (Sdp. $70-80^\circ$) bis zur beginnenden Trübung. Beim Abkühlen schied sich zunächst etwas Öl ab, von dem dekantiert wurde; bei weiterem Abkühlen erhielt man 380 mg schwach gelbliche Kristalle (21% d. Th., bez. auf IX), die mit Petroläther gewaschen, dann aus 10 ccm Benzol umkristallisiert und je zweimal mit wenig Benzol und absol. Äther gewaschen wurden. 200 mg farblose, feine Nadelchen (11% d. Th., bez. auf IX).

$C_{12}H_{15}O_6N$ (169.2) Ber. C 53.52 H 5.61 N 5.20 Acetyl 47.95
Gef. C 53.51 H 5.91 N 5.30 Acetyl 47.10*)

*) Verseifung mit H_3PO_4 .

Der Schmp. liegt bei $107-110^\circ$. *DL-5-Diacetoxyäthyl-3-acetamino-furan* ist mit *Di-O-acetyl-chromogen III* im IR-Spektrum (in Chloroform) und UV-Spektrum (Wasser) *völlig identisch*. Auch die mit DMAB-Reagens in Eisessig gebildeten Farbstofflösungen stimmen spektroskopisch überein.

p) *DL-5-Dihydroxyäthyl-3-acetamino-furan (I)*: Sämtliche bei der Darstellung der *DL-Di-O-acetyl-Verbindung XII* erhaltenen nicht kristallisierten Anteile und Mutterlaugen wurden vereinigt und i. Vak. zum Sirup eingengt. Diesen löste man in 50 ccm Methanol und versetzte mit 1 ccm 1 *n* $NaOCH_3$. Man kochte 10 Min. unter Rückfluß, gab 1 ccm 2 *n* Essigsäure hinzu und entfernte das Lösungsmittel i. Vak. Der erhaltene dunkle Sirup wurde in 2 ccm Methanol aufgenommen, mit 8 ccm halb wassergesätt. *n*-Butanol verdünnt und, wie bei der Isolierung von Chromogen III angegeben, an einer Al_2O_3 -Säule (28×450 mm) chromatographisch gereinigt (eine Probe der Verseifungslösung hatte auf einem Papierchromatogramm neben dem mit Chromogen III völlig übereinstimmend laufenden Hauptprodukt als Ehrlich-positive Beimengung lediglich etwas 3-Acetamino-furan gezeigt). Die dem Chromogen III entsprechenden Fraktionen wurden i. Vak. gemeinsam zum Sirup eingengt (150 mg), in 3–4 ccm absol. Äthanol gelöst und mit 15 ccm absol. Äther versetzt. Man filtrierte von den nach einigem Stehenlassen im Eisschrank ausgeschiedenen Flocken, wusch mit etwas Äther nach und versetzte vorsichtig bei $\sim 20^\circ$ mit Petroläther (Sdp. $30-40^\circ$) bis zur eben beginnenden Trübung. Nach 24 Std. bei -20° hatten sich 26.7 mg schwach gelbliche, zu Halbkugeln angeordnete Kristalle abgeschieden. Schmp. $114-115^\circ$.

$C_8H_{11}O_4N$ (185.2) Ber. C 51.88 H 5.98 N 7.56 Gef. C 51.91 H 5.82 N 7.53

Aus der Mutterlauge konnten wir durch Zugabe von weiterem Petroläther noch 47.7 mg derselben Verbindung in glänzenden Plättchen gewinnen (Schmp. $111-114^\circ$). Die Gesamtausbeute betrug somit 74.4 mg (7% d. Th., bez. auf eingesetztes Säurechlorid IX).

Aus dem Säurechlorid IX (1.79 g) betrug also die gesamte Ausbeute über 3 bzw. 4 Stufen hinweg $11 + 7 = 18\%$ d. Th. (durchschnittlich etwa 50% d. Th. je Reaktionsschritt).

Das aus Äpfelsäure synthetisierte *DL-5-Dihydroxyäthyl-3-acetamino-furan* ist im R_F -Wert, im UV-Spektrum und im Spektrum der Farbstofflösung, die mit DMAB-Reagens in Eisessig erhalten wird, mit *Chromogen III* aus *N-Acetyl-D-glucosamin identisch*.

5-Dihydroxyäthyl-tetrahydrofuryl-(3)-trimethylammonium-tetraphenyloborat (XV)

a) *5-Dihydroxyäthyl-3-acetamino-tetrahydrofuran (XIII)*: 5 g *Chromogen III* wurden in 100 ccm 95-proz. Äthanol gelöst ($[\alpha]_D^{25} : +15.7^\circ$) und mit 1 g PtO_2 (in 50 ccm Äthanol vorhydriert) bis zur Beendigung der H_2 -Aufnahme (6 Std.) geschüttelt. Die aufgenommene H_2 -Menge betrug 1290 ccm (2.1 Moll.). Die filtrierte Lösung füllte man in einem Meßkolben auf 250 ccm mit Äthanol auf: $[\alpha]_D^{25} : -15.6^\circ$ ($c = 2.05$). Sie gab keine Ehrlich-Reaktion mit

DMAB-Reagens. Im Papierchromatogramm erwies sie sich als einheitlich: R_F 0.59 (entwickelt mit NaJO_4 /Benzidin; Ninhydrin-Reaktion negativ). Man entfernte das Lösungsmittel i. Vak. und erhielt einen hellgelben Sirup.

b) *5-Dihydroxyäthyl-3-amino-tetrahydrofuran-HCl (XIV)*: Der unter a) gewonnene Sirup von XIII wurde mit 50 ccm konz. HCl und 50 ccm Wasser 1 Stde. unter Rückfluß gekocht und die braune Reaktionslösung i. Vak. zum Sirup eingeengt. Diesen nahm man in 100 ccm Wasser auf, klärte mit etwas Carboraffin und brachte erneut i. Vak. zur Sirupkonsistenz. Auch diese Verbindung ließ sich nicht kristallisieren und gab weder mit Phosphorwolframsäure noch mit Kalignost (Natrium-tetraphenylborat) ein schwer lösliches Salz.

Im Papierchromatogramm läuft XIV einheitlich: R_F = 0.22. Entwickelt wurde sowohl mit NaJO_4 /Benzidin (Glykolgruppierung) als auch mit Ninhydrin (prim. Aminogruppe). Man spülte den Sirup mit Methanol in ein 50-ccm-Meßkölbchen und füllte auf.

c) *5-Dihydroxyäthyl-tetrahydrofuryl-(3)-trimethylammonium-tetraphenylborat (XV)*: 7.5 ccm der unter b) erhaltenen methanol. Lösung von *5-Dihydroxyäthyl-3-amino-tetrahydrofuran-HCl (XIV)*, aus 750 mg Chromogen III) wurden mit 3 g Na_2CO_3 (wasserfrei) und 25 g *Methyljodid* 1.5 Stdn. unter Rückfluß gekocht; dann fügte man nochmals die gleichen Reagensmengen hinzu und erhitze weitere 1.5 Stdn. Man verdünnte mit Methanol, filtrierte und wusch den anorgan. Rückstand gründlich mit Methanol aus. Die gesamten Filtrate wurden i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Den Rückstand nahm man mit 50 ccm Wasser auf und klärte mit Carboraffin. Die klare, beinahe farblose Lösung versetzte man unter kräftigem Rühren bei $\sim 20^\circ$ mit einer Lösung von 2.5 g *Natrium-tetraphenylborat* in 75 ccm Wasser. Zur Vervollständigung der Fällung beließ man über Nacht im Eisschrank, saugte scharf ab und wusch mit etwas Essigsäure enthaltendem Wasser und Wasser gründlich nach: 1.55 g (75% d. Th., bez. auf Chromogen III). Zur Analyse wurde aus Wasser/Aceton umkristallisiert (Prismen). Schmp. $174-176^\circ$. $[\alpha]_D^{23}$: $-2.0^\circ \pm 0.66^\circ$ (Aceton, $c = 1.5$).

$\text{C}_{33}\text{H}_{40}\text{O}_3\text{NB}$ (509.4) Ber. C 77.79 H 7.91 N 2.75 (N) CH_3 8.85

Gef. C 77.37 H 7.93 N 2.84 (N) CH_3 8.22

Auch mit Phosphorwolframsäure bildet das Jodid einen schwer löslichen, aus mikroskopisch feinen Nadelchen bestehenden Niederschlag, der sich aus heißem Wasser umkristallisieren läßt.

$(\text{C}_9\text{H}_{20}\text{O}_3\text{N})_3\text{PO}_4 \cdot 12 \text{WO}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ (3557.9) Ber. C 9.11 H 2.04 N 1.18

Gef. C 9.14 H 1.99 N 1.23

Chlorid: 1 g *Tetraphenylborat XV* wurde mit 40 ccm 18-proz. *Salzsäure* übergossen und die ausgeschiedene Tetraphenylborsäure durch mehrfaches Ausäthern entfernt. Die wäßr. Lösung dampften wir i. Vak. zu einem gelblichen, hygroscopischen Sirup ein, der nicht kristallisierte. $[\alpha]_D^{22}$: -5° (Wasser, $c = 4$).