

nol i. Vak. entfernt. Der Rückstand wird in Äther aufgenommen und mit Hydrogensulfatlösung durchgeschüttelt. Nach dem Trocknen wird die Ätherlösung fraktioniert destilliert. Mandelsäure-methylester siedet bei 134–135°/14 Torr; Schmp. 54°. Er wird in Schwefelkohlenstoff gelöst und die Drehung bestimmt ($c = 0.25$). (+)-Mandelsäure-methylester, $[\alpha]_D: +214^\circ$, in CS_2 .

Gefundene Werte von $[\alpha]_D$ mit den Katalysatoren I und II

Zeit (Std.n.)	2	4	6	8	24	48
I	+6.0°	+10.6°	+15.4°	+15.8°	+19.4°	+19.2°
II	+0.4°	+1.4°	+0.8°	+1.8°	+3.4°	+3.8°

KURT HEYNS, HANS PAULSEN, ROLF EICHSTEDT und MANFRED ROLLE

ÜBER DIE GEWINNUNG VON 2-AMINO-ALDOSEN DURCH UMLAGERUNG VON KETOSYLAMINEN

Aus dem Chemischen Institut der Universität Hamburg

(Eingegangen am 25. März 1957)

Aus Ketosen und Ammoniak entstehende Ketosylamine wurden auf ihr Verhalten bei der Umlagerung zu 2-Amino-aldosen untersucht. L-Sorboseylamin ist erheblich schwerer umlagerungsfähig als D-Fructoseylamin; D-Tagatoseylamin läßt sich leichter umlagern, während D-Psicoseylamin sich wie D-Fructoseylamin verhält. — D-Fructoseylamin liefert nur D-Glucosamin neben Spuren D-Mannosamin. Aus D-Tagatoseylamin entsteht bevorzugt D-Galaktosamin neben wenig D-Talosamin. L-Sorboseylamin ergibt mit Oxalsäure als Umlagerungskatalysator gleiche Teile L-Gulosamin und L-Idosamin, die an Kohle-Celite-Säulen präparativ getrennt und bezüglich ihrer Konfiguration zugeordnet werden konnten.

D-Psicoseylamin liefert D-Allosamin und D-Altrosamin.

Aldosen unterscheiden sich in ihrem Reaktionsvermögen gegenüber aromatischen und aliphatischen Aminen erheblich von Ketosen. Eine Glykosylamin-Bildung findet in beiden Fällen statt, jedoch bei der Folgereaktion — der Amadori-Umlagerung der N-Glykoside — zeigt sich ein unterschiedliches Verhalten. Aldosylamine von aromatischen Aminen lagern sich glatt bei Gegenwart katalytischer Mengen von Säure zu 1-Desoxy-1-arylamino-ketosen um¹⁾, während bei aliphatisch N-substituierten Aldosylaminen nur unter besonderen Bedingungen unter dem Einfluß von aktiven Methylengruppen²⁾, Oxalsäure³⁾ oder intramolekular gebundenen Carboxylgruppen⁴⁾ Umlagerungsprodukte isolierbar sind. Ketosen verhalten sich im Vergleich dazu gegenläufig. Ketosylamine von aliphatischen Aminen lagern sich meist leicht, zum

1) F. WEYGAND, Ber. dtsch. chem. Ges. **73**, 1259 [1940].

2) J. E. HODGE und C. E. RIST, J. Amer. chem. Soc. **75**, 316 [1953].

3) B. HELFERICH und A. PORCK, Liebigs Ann. Chem. **582**, 233 [1953].

4) A. ABRAMS, P. H. LOWY und H. BOROOK, J. Amer. chem. Soc. **77**, 4794 [1955]; **78**, 3175 [1956]; A. KLEMER und F. MICHEEL, Chem. Ber. **89**, 1242 [1956].

Teil sogar spontan zu 2-Desoxy-2-alkylamino-aldosen um. Bei den entsprechenden aromatisch *N*-substituierten Ketosylaminen ist eine Umlagerung bisher nicht gelungen. Es ist zu bemerken, daß die Umlagerung eines Aldosylamins stets nur ein Produkt, die 1-Aminoketose, liefert. Die Ketosylamin-Umlagerung kann zur Bildung der beiden am C-Atom 2 isomeren 2-Amino-aldosen führen. Es zeigte sich, daß die Umlagerung bei den meisten Ketosen bevorzugt in einer Richtung verläuft, die endgültige Anordnung der Aminogruppe also durch den übrigen Molekülrest sterisch gelenkt wird.

Die Ketosylamine von D-Fructose, L-Sorbose, D-Tagatose und D-Psicose wurden nunmehr bezüglich ihrer Umlagerungstendenz gegenübergestellt und untersucht, welche Aminosucker bei der Umlagerung bevorzugt entstehen. Am leichtesten, im wesentlichen spontan, lagert sich D-Tagatosylamin um, während L-Sorbosylamin nur unter Einwirkung organischer Säuren umzulagern ist. D-Fructosylamin und D-Psicosylamin nehmen zwischen beiden eine Mittelstellung ein.

Die Umsetzung von D-Fructose mit flüssigem Ammoniak führt über das D-Fructosylamin nach K. HEYNS und K. H. MEINECKE⁵⁾ zu D-Glucosamin, wobei das gleichfalls zu erwartende D-Mannosamin papierchromatographisch nur in Spuren nachweisbar ist. Auch Amine liefern mit D-Fructose nur *N*-substituierte Derivate des D-Glucosamins^{6, 7)}. Bei der Umlagerung von *N*-D-Fructosylaminosäuren⁸⁾ wird dagegen neben den D-Glucosaminderivaten auch ein beträchtlicher Anteil an D-Mannosaminderivaten gebildet, da die Carboxylgruppen der Aminosäuren die sterische Orientierung beeinträchtigen.

Die Fructosylamin-Umlagerung ist auch für die Biosynthese des D-Glucosamins von erheblicher Bedeutung. Nach L. F. LELOIR und C. E. CARDINI^{9, 10)} katalysieren Nierenenzyme die Bildung von *N*-Acetyl-D-glucosamin-6-phosphat aus D-Fructose-6-phosphat, Ammoniak und Acetat sowie von D-Glucosamin-6-phosphat aus D-Fructose-6-phosphat und Ammoniak. Als Zwischenverbindung wird das *N*-Acetyl-D-fructosylamin-6-phosphat angenommen, welches auf dem Wege einer Ketosylamin-Umlagerung in *N*-Acetyl-D-glucosamin-6-phosphat übergeht.

Bei der früher von uns beschriebenen Umsetzung von D-Fructose mit flüssigem Ammoniak⁵⁾ wurde nur das durch spontane Umlagerung des D-Fructosylamins entstandene D-Glucosamin erhalten. Die Ausbeute war daher verhältnismäßig gering. Ein Zusatz von Ammoniumchlorid katalysiert hierbei wohl die *N*-Glucosid-Bildung, nicht jedoch die Umlagerung. Führt man die Reaktion in methanolischem Ammoniak durch, so läßt sich das in der Hauptmenge nicht umgelagerte D-Fructosylamin als schwerlösliches Oxalat ausfällen, das mit einem Überschuß von Oxalsäure wieder in Lösung geht, wobei dann die Oxalsäure die Umlagerung des gebildeten D-Fructosylamins stark fördert, so daß damit eine präparative Gewinnung des Aminosuckers gegeben ist.

Diese katalytische Wirkung auf die Umlagerung haben wir beim D-Fructosylamin für eine Reihe organischer Säuren untersucht. Die Tab. zeigt, daß es bei der Katalyse

⁵⁾ K. HEYNS und K. H. MEINECKE, Chem. Ber. **86**, 1453 [1953].

⁶⁾ K. HEYNS, R. EICHSTEDT und K. H. MEINECKE, Chem. Ber. **88**, 1551 [1955].

⁷⁾ J. F. CARSON, J. Amer. chem. Soc. **77**, 1881, 5957 [1955]; **78**, 3728 [1956].

⁸⁾ K. HEYNS, H. BREUER und H. PAULSEN, Chem. Ber. **90**, 1374 [1957].

⁹⁾ Biochim. biophysica Acta [Amsterdam] **20**, 33 [1956].

¹⁰⁾ Vgl. auch zusammenfassende Übersicht von L. HOUGH und J. K. N. JONES, Advances Carbohydrate Chem. **11**, 247 [1956].

auf die Säurestärke ankommt, da Bernsteinsäure und Benzoesäure mit gleichen Dissoziationskonstanten auch gleiche Wirkung zeigen. Es überlagern sich jedoch zwei Reaktionen: Die hydrolytische Spaltung des Ketosylamins und dessen Umlagerung zum Aminosucker. Mit zunehmender Säurestärke des Katalysators nimmt die Hydrolyse zu und die Menge des Umlagerungsproduktes wird geringer (z. B. bei der Trichloressigsäure). Andererseits ist für die Umlagerungskatalyse eine gewisse Säurestärke notwendig, denn die wenig schwächere Essigsäure liefert kaum Umlagerungsprodukt. Auch bei der Anwendung von Bernsteinsäure ist durch die konkurrierende Hydrolysenreaktion die Ausbeute an Umlagerungsprodukt noch begrenzt.

Einfluß der Dissoziationskonstanten organischer Säuren auf die Umlagerung von D-Fructosylamin

	Dissoziationskonstante	Katalytische Wirksamkeit auf die Ausbeute an Umlagerungsprodukt
Trichloressigsäure	$2 \cdot 10^{-1}$	keine
Oxalsäure (I. Stufe)	$6.5 \cdot 10^{-2}$	zum Teil
Malonsäure (I. Stufe)	$1.6 \cdot 10^{-3}$	zum Teil
Ameisensäure	$1.76 \cdot 10^{-4}$	gut
Bernsteinsäure (I. Stufe)	$6.6 \cdot 10^{-5}$	sehr gut
Benzoesäure	$6.3 \cdot 10^{-5}$	sehr gut
Essigsäure	$1.75 \cdot 10^{-5}$	sehr wenig

Für die Umlagerungstendenz ist außer der Struktur des Zuckers die Basizität des angelagerten Amins von Einfluß. Die Umlagerung bei Ketosen erfolgt umso besser, je stärker die Basizität des Amins ist. Bei der Umsetzung mit Butylamin und Cyclohexylamin konnte J. F. CARSON⁷⁾ gleich die Umlagerungsprodukte erhalten. Die als Zwischenprodukt isolierbaren Verbindungen *N*-Benzyl-fructosylamin und *N*-Äthyl-fructosylamin sind mit Essigsäure zu den *N*-substituierten D-Glucosaminen umzulagern, während dies beim D-Fructosylamin nicht möglich ist. Eine Umlagerung von *N*-Phenyl-D-fructosylamin¹¹⁾ war uns unter verschiedensten Bedingungen nicht möglich, da die Umlagerungstendenz beim Anilin wegen seiner schwachen Basizität nur gering ist und zur Katalyse eine erheblich stärkere Säure erforderlich wäre, die aber dann wiederum vorwiegend die Hydrolyse bewirkt.

D-Tagatose reagiert in methanolischem Ammoniak bei Gegenwart katalytischer Mengen Ammoniumchlorid erheblich leichter als D-Fructose. Das entstehende D-Tagatosylamin lagert sich spontan vorzugsweise zu D-Galaktosamin und in geringer Menge zu D-Talosamin um. Das Mengenverhältnis beider Aminosucker beträgt etwa 2:1. Ein Zusatz von organischen Säuren als Katalysator erweist sich nicht als Vorteil, denn die Gesamtmenge an Umlagerungsprodukt wird dadurch keineswegs vermehrt. Es steigt nur der Anteil an D-Talosamin, so daß dann beide Aminosucker zu etwa gleichen Teilen vorliegen. Das durch Umlagerung entstandene D-Galaktosamin konnte nach Reinigung mit Ionenaustauschern infolge seiner besseren Kristallisationsfähigkeit vom D-Talosamin getrennt und isoliert werden.

¹¹⁾ C. P. BARRY und J. HONEYMAN, J. chem. Soc. [London] 1952, 4147.

Wesentlich schwerer als bei der D-Fructose verläuft die Umsetzung von L-Sorbose mit Ammoniak. Bei der Einwirkung von methanolischem Ammoniak auf L-Sorbose bei 60° lassen sich nur geringe Aminosuckermengen nachweisen. Dagegen läßt sich aus dieser Lösung beim Einengen das schön kristallisierte stabile L-Sorboseylamin in guter Ausbeute gewinnen. Bei verkürzter Einwirkungszeit des Ammoniaks entsteht nebenher Di-[L-sorbosyl]-amin. Auch mit den stärker basischen aliphatischen Aminen reagiert L-Sorbose nicht weiter zu den entsprechenden Aminosuckern. So sind die von uns⁶⁾ dargestellten gut kristallisierten *N*-Alkyl-L-sorboseylamine verhältnismäßig stabil und zeigen nicht die geringste Neigung zur spontanen Umlagerung.

L-Sorboseylamin läßt sich aber durch Erhitzen in Methanol mit Oxalsäure als Umlagerungskatalysator, also unter relativ kräftigen Bedingungen, umlagern. Es entstehen die beiden bisher unbekannten Aminosucker L-Gulosamin und L-Idosamin zu gleichen Teilen. Sie lassen sich gemeinsam mit Hilfe von Kationenaustauschern abtrennen und ergeben nach Entfernung des Ammoniumchlorids einen schwach gelb gefärbten Zuckersirup. Im Papierchromatogramm läuft L-Idosamin etwas schneller als L-Gulosamin. Das Aminosuckergemisch läßt sich nach dem Verfahren von P. J. STOFFYN und R. W. JEANLOZ¹²⁾ mit Ninhydrin abbauen, wobei einheitliche L-Xylose entsteht, wodurch bewiesen ist, daß es sich tatsächlich um die beiden isomeren Zucker handelt. Auch *N*-substituierte L-Sorboseylamine wie *N*-Butyl-L-sorboseylamin und *N*-Benzyl-L-sorboseylamin sind unter Einwirkung von Oxalsäure zu den entsprechenden Aminosuckergemischen umzulagern. Nicht umzulagern waren dagegen, wie bei der D-Fructose, aromatisch substituierte Verbindungen wie *N*-*p*-Phenetyl-L-sorboseylamin¹³⁾ und *N*-*p*-Tolyl-L-sorboseylamin, welches wir neu dargestellt haben.

Die Trennung der Epimeren L-Gulosamin und L-Idosamin bereitete Schwierigkeiten, da Ionenaustauschersäulen nach S. GARDELL¹⁴⁾ sowie Cellulosesäulen nur unbefriedigende Ergebnisse lieferten. Eine Trennung erfolgte schließlich auf einer Kohle-Celite-Säule¹⁵⁾. Bei der Elution mit Wasser erscheint in den ersten aminozuckerhaltigen Fraktionen L-Gulosamin, welches im Gegensatz dazu auf dem Papierchromatogramm der langsamere Bestandteil ist. Aus methanolischer Salzsäure ist das L-Gulosamin-hydrochlorid leicht kristallisiert zu gewinnen. Nach diesem Verfahren ist auch aus den Mittelfractionen weiteres kristallisiertes Material erhältlich. Es zeigt eine aufwärtssteigende Mutarotation von $[\alpha]_D^{20}$: $-8.5^\circ \rightarrow +17.8^\circ$, was innerhalb der L-Reihe auf das Vorliegen einer α -Form hindeutet.

L-Idosamin ist von der Kohlesäule infolge der Schwanzbildung nicht frei von L-Gulosamin zu gewinnen. Das angereicherte Produkt läßt sich jedoch über eine Cellulosesäule durch Elution mit Butanol-Wasser reinigen. Jetzt erscheint in den ersten Fraktionen reines L-Idosamin. Das L-Idosamin-hydrochlorid wurde als amorphes weißes Pulver erhalten. Dieser Aminosucker ist recht empfindlich und neigt zur Zersetzung, wie sich auch seine Lösungen bei längerem Aufbewahren immer dunkler färben; er ist daher schwer analysenrein erhältlich.

¹²⁾ Arch. Biochem. Biophysics **52**, 373 [1954].

¹³⁾ R. KUHN und L. BIRKOFER, Ber. dtsh. chem. Ges. **71**, 621 [1938].

¹⁴⁾ Acta chem. scand. **7**, 207 [1953].

¹⁵⁾ R. L. WHISTLER und D. F. DURSO, J. Amer. chem. Soc. **72**, 677 [1950]; **74**, 5740 [1952].

Zur sterischen Zuordnung der beiden gewonnenen Aminosucker hinsichtlich der Struktur am C-Atom 2 wurde die LEVENESche Salzregel¹⁶⁾ herangezogen, da die zur Anwendung der HUDSONSchen Regel^{17,18)} notwendigen Drehwerte der α - und β -Form der neuen Aminosucker nicht zur Verfügung standen. Die LEVENESche Salzregel¹⁶⁾ hat nach CARSON⁷⁾ auch für *N*-Alkyl-D-glucosamine allgemeine Gültigkeit. Eine einzige Ausnahme wurde kürzlich von HEYNS, BREUER und PAULSEN⁸⁾ bei der 2-*N*-Glycino-2-desoxy-D-gluconsäure („Gluconsäure-Glycin“) gefunden.

Die LEVENESche Salzregel¹⁶⁾ besagt, daß beim Vorliegen einer der D-Glucose entsprechenden Konfiguration am C-Atom 2 die Salze der Hexonsäuren der entsprechenden Zucker stärker nach rechts drehen als die freien Säuren. Bei einer Übertragung dieser Regel auf die L-Reihe der Zucker wird die Drehungsänderung in umgekehrter Richtung verlaufen, so daß bei einer der L-Glucose entsprechenden Konfiguration am C-Atom 2 das Salz der entsprechenden Hexonsäure stärker nach links dreht als die freie Säure. Bei dem einzigen bisher beschriebenen Beispiel der L-Galaktonsäure¹⁹⁾ verläuft die Drehungsänderung in der nach der Leveneschen Regel zu erwartenden Richtung. Wir haben nun den kristallisiert erhaltenen Aminosucker nach M. L. WOLFROM und M. J. CRON²⁰⁾ mit Quecksilberoxyd zur entsprechenden Hexonsäure oxydiert und die Drehung in saurer und alkalischer Lösung gemessen. Es zeigte sich, daß die Säure in alkalischer Lösung nach links, in saurer Lösung nach rechts dreht, woraus sich ergibt, daß der Aminosucker eine L-Glucose-Konfiguration am C-Atom 2 besitzen muß. Damit ist erwiesen, daß der kristallisiert erhaltene Aminosucker die Struktur des L-Gulosamin-hydrochlorids, der nicht kristallisierte dagegen die des L-Idosamin-hydrochlorids besitzt.

Als Spaltstück der Antibiotika Streptothricin und Streptolin B ist D-Gulosamin kürzlich von E. E. VAN TAMELEN und Mitarbeitern²¹⁾ aufgefunden worden. Zur Zuordnung des Aminosuckers verglichen diese Autoren die optischen Drehungen der β -Form der Anhydro-Verbindung mit den entsprechenden β -Formen der Anhydro-Verbindungen der D-Gulose und D-Idose. Für das D-Gulosamin-hydrochlorid fanden sie eine Drehung von $[\alpha]_D^{20}$: -18.7° , welches sich mit der von uns aufgefundenen Drehung von $[\alpha]_D^{20}$: $+17.8^\circ$ für den optischen Antipoden deckt. Das D-Gulosamin wurde kürzlich auch synthetisch von R. KUHN, W. KIRSCHENLOHR und W. BISTER^{22,23)*} durch Halbhhydrierung von *N*-Phenyl-D-gulosaminsäurenitril dargestellt; es war mit dem von VAN TAMELEN²¹⁾ isolierten Aminosucker identisch.

Im Hinblick auf die Ketosylamin-Umlagerung haben wir weiterhin D-Psicose²⁴⁾ untersucht. D-Psicosylamin verhält sich in seiner Umlagerungstendenz etwa wie

¹⁶⁾ P. A. LEVENE, J. biol. Chemistry **63**, 95 [1925].

¹⁷⁾ C. S. HUDSON, J. Amer. chem. Soc. **31**, 66 [1909].

¹⁸⁾ W. KUHN und K. FREUDENBERG, Stereochemie, Leipzig und Wien 1933, S. 424.

¹⁹⁾ N. K. RICHTMYER, R. M. HANEN und C. S. HUDSON, J. Amer. chem. Soc. **61**, 340 [1939].

²⁰⁾ M. L. WOLFROM und M. J. CRON, J. Amer. chem. Soc. **74**, 1715 [1952].

²¹⁾ E. E. VAN TAMELEN, J. R. DYER, H. E. CARTER, J. V. PIERCE und E. E. DANIELS, J. Amer. chem. Soc. **78**, 4817 [1956].

²²⁾ Angew. Chem. **67**, 786 [1955].

²³⁾ R. KUHN und W. KIRSCHENLOHR, Liebigs Ann. Chem. **600**, 115, 126, 135 [1956].

^{*)} Z. TARASIEJSKA und R. W. JEANLOZ, J. Amer. chem. Soc. **79**, 2660 [1957], haben gleichfalls D-Gulosamin synthetisiert.

²⁴⁾ J. K. N. JONES und W. H. NICHOLSON, J. chem. Soc. [London] **1955**, 3050.

D-Fructosylamin. Es wird nur zum Teil spontan umgelagert, mit Katalysatoren wie Bernsteinsäure wird die Umlagerung stark gefördert. Bei der Umlagerung entsteht vorzugsweise D-Allosamin²⁵⁾, daneben D-Altrosamin etwa im Verhältnis 2:1. Das D-Allosamin ist die im Papierchromatogramm langsamer laufende Komponente. Freies D-Allosamin ist jedoch instabil²⁵⁾ und zersetzlich.

Auch Ketopentosen lassen sich mit methanolischem Ammoniak zu Aminosukcern umlagern. Aus D-Xylulose entstehen zwei Aminosucker, von denen die schneller laufende Komponente in wesentlich größerer Menge gebildet wird. Eine genaue Identifizierung dieses Aminosuckers steht jedoch noch aus.

Wir haben gefunden, daß die Ketosylamin-Umlagerung auch in rückläufiger Richtung durchführbar ist. Besonders gut verläuft die Rückspaltung bei 2-N-Aminosäure-2-desoxy-D-glucosen („Glucose-Aminosäuren“), welche sich durch Erhitzen in wäßrigen verdünnten organischen Säuren zu Fructosylamin-Verbindungen umlagern, die sofort zu Fructose und Aminosäuren hydrolysieren. Auch bei D-Glucosaminhydrochlorid, welches beim Erhitzen mit 2*n* Essigsäure auf 115°, wenn auch in geringer Ausbeute, D-Fructose bildet, ist diese Reaktion nachweisbar.

Was den Mechanismus der Ketosylamin-Umlagerung betrifft, so dürfte der erste Schritt der Reaktion, die N-Glykosid-Bildung, einer normalen Substitution an dem die reduzierende Gruppe tragenden C-Atom entsprechen, nach einem ähnlichen Mechanismus, wie er von R. U. LEMIEUX²⁶⁾ und G. HUBER²⁷⁾ angegeben worden ist. Als Zwischenzustand wird ein Oxonium- oder Carbenium-Ion angenommen, welches



auf Grund der geforderten Planar-Einstellung der C—O-Bindung, die einen gewissen Doppelbindungscharakter besitzt, in einer Semi-Sesselform vorliegen soll.

Den entscheidenden weiteren Schritt der Umlagerung weisen wir der Ringöffnung zu. Nach Modellversuchen von K. HEYNS und W. STUMME²⁸⁾ reagieren einfache offene, nicht durch Halbacetalbindungen behinderte Ketole der Formel R—CO—CHOH—R mit aliphatischen und aromatischen Aminen zunächst zum Ketimin, welches sich sofort spontan zum Aminoketon umlagert. Bei einer Ringöffnung müßte also die Umlagerung unmittelbar ablaufen. Die bekannte größere Ringlabilität der D-Fructose im Vergleich zur L-Sorbose gibt einen Hinweis für das größere Umlagerungsvermögen der D-Fructose gegenüber der L-Sorbose.

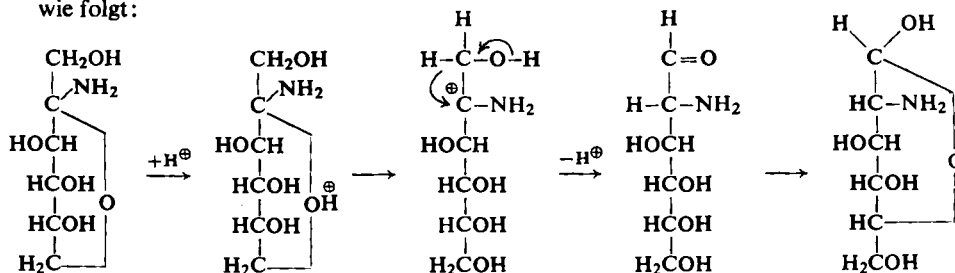
Die Ringöffnung erfolgt allgemein durch Protonenkatalyse über eine Oxoniumstruktur. Diese Reaktion wird außer durch die Struktur des Zuckers auch durch die Art des gebundenen Amins beeinflusst. Die Ringöffnungsreaktion steht mit der hydrolytischen Spaltung des N-Glykosids in gewisser Konkurrenz, die gleichfalls eine protonenkatalysierte Reaktion darstellt.

²⁵⁾ Herrn Dr. R. W. JEANLOZ, Boston, danken wir für die freundliche Überlassung einer Probe von N-Acetyl-D-allosamin. R. W. JEANLOZ, J. Amer. chem. Soc. 79, 2591 [1957].

²⁶⁾ Advances Carbohydrate Chem. 9, 1 [1954]. ²⁷⁾ Helv. chim. Acta 38, 1224 [1955].

²⁸⁾ Chem. Ber. 89, 2833, 2844 [1956].

Die eigentliche Umlagerung nach der Ringöffnung formulieren wir, soweit man für die Reaktion den Mechanismus der Hydridverschiebung in Betracht ziehen kann*), wie folgt:



Für die Umlagerung von α -Iminoaldehyd-halbmercaptalen zu Aminosäuren haben TH. WIELAND und F. JAENICKE²⁹⁾ einen entsprechenden Mechanismus nachgewiesen. Es ist damit jedoch noch nicht auszuschließen, daß im obigen Falle auch ein Protonen-Abspaltungsmechanismus beteiligt sein kann.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

D-Glucosamin-hydrochlorid: Die Suspension von 4 g gut getrockneter *D-Fructose* und 0.2 g Ammoniumchlorid in 80 ccm absol. Methanol wurde bei 0° mit *Ammoniak* gesättigt und 6 Tage in einer Druckflasche bei Zimmertemperatur stehengelassen. Die Lösung wurde dann zur möglichst weitgehenden Entfernung des überschüss. Ammoniaks i. Vak. bei 20° zum Sirup eingeengt. Der Sirup wurde in 60 ccm absol. Methanol aufgenommen, 2.7 g Bernsteinsäure hinzugefügt und die Lösung 2 Tage bei 4° im Eisschrank gehalten. Nach Einengen der Lösung i. Vak. auf etwa 20 ccm wurden 4 ccm konz. Salzsäure und Aceton bis zur Trübung hinzugefügt. Nach kurzer Zeit begann das *D-Glucosamin-hydrochlorid* auszukristallisieren. Nach einigen Stunden wurde zur Vervollständigung der Fällung weiteres Aceton zugegeben, jedoch nicht so viel, daß die Fällung flockig-klebrig wird. Ist dies der Fall, so lassen sich die flockigen Bestandteile mit einigen Tropfen konz. Salzsäure wieder in Lösung bringen. Die Glucosamin-hydrochlorid-Fällung ließ sich auch durch direktes Einleiten von HCl in die methanol. Lösung und eventuelles Füllen mit Aceton erzielen. Nach Aufbewahren im Tiefkühlschrank wurden 1.3 g Rohprodukt erhalten, welches nur wenig Ammoniumchlorid enthält. Unter Entfärbung mit Carboraffin wurde aus 2 ccm Wasser umkristallisiert. Ausb. 0.36 g, durch Einengen der Mutterlauge 0.20 g. Die zweite Fraktion enthielt wenig Ammoniumchlorid, welches sich von den grobkörnigen *D-Glucosamin-hydrochlorid*-Kristallen mit wenig Wasser leicht entfernen ließ. Gesamtausbeute 0.56 g (12 % d. Th.). $[\alpha]_D^{20}$: +72.2°.

$C_6H_{13}O_5N \cdot HCl$ (215.6) Ber. C 33.41 H 6.54 N 6.49 Gef. C 33.12 H 6.34 N 6.35

D-Fructosylamin-oxalat: Die Suspension von 4 g *D-Fructose* und 0.1 g Ammoniumchlorid in 80 ccm Methanol wurde bei 0° mit *Ammoniak* gesättigt und 2 Tage in einer Druckflasche bei Zimmertemperatur stehengelassen. Das Methanol wurde so weit wie möglich i. Vak. bei 20° entfernt und der Sirup in 60 ccm Methanol wieder gelöst. Unter kräftigem Schütteln

*) *Anm. b. d. Korr.:* Nach F. FRIEDBERG und L. KAPLAN, J. Amer. chem. Soc. 79, 2600 [1957], verliert Glucose-1-tritium bei der Osazonbildung kein Tritium. Der Wasserstoff am C-Atom 1 wird also auch während der Reaktion nicht abgespalten.

²⁹⁾ Chem. Ber. 88, 1967 [1955].

wurden 0.8 g *Oxalsäure*, in 10 ccm Methanol gelöst, hinzugefügt. Die teilweise zusammengeballte Fällung wurde einige Stdn. stehengelassen, unter mehrfachem Dekantieren mit Methanol/Äthanol 3:1 verrieben und nach dem Filtrieren alkoholflecht in den Exsikkator gebracht. Sie stellte ein fast weißes lockeres Pulver dar, daß sich allmählich unter Braunfärbung zersetzte. Es wurde über Diphosphorpentoxyd bei 50° i. Vak. getrocknet. Ausb. 1.0 g.

$C_6H_{13}O_5N \cdot \frac{1}{2}(CO_2H)_2$ (224.2) Ber. C 37.50 H 6.30 N 6.25

Gef. C 37.24 H 6.70 N 6.37

D-Galaktosamin-hydrochlorid: 4 g *D-Tagatose* und 0.5 g Ammoniumchlorid in 80 ccm absol. Methanol wurden bei 0° mit *Ammoniak* gesättigt und 7 Tage in einer Druckflasche bei Zimmertemperatur stehengelassen. Die Lösung wurde i. Vak. weitgehend eingengt und, in Wasser gelöst, über eine Kationenaustauschersäule (Lewatit S 100, H⁺-Form) gegeben. Es wurde mit 1 / 0.2*n* Trichloressigsäure eluiert, die Säure im Perforator mit Äther extrahiert und i. Vak. zur Trockne eingengt. Der Rückstand wurde in Methanol aufgenommen, wobei Ammoniumchlorid zurückblieb. Zur Entfernung des restlichen Ammoniumchlorids wurde noch zweimal eingengt. Es blieben 1.5 g dunkler Sirup, die in 1.5 ccm verd. methanolischer Salzsäure gelöst wurden. Das auskristallisierte rohe *D-Galaktosamin-hydrochlorid* (0.17 g) wurde in wenig Wasser gelöst, mit Carboraffin entfärbt und i. Vak. eingengt. Der farblose zurückgebliebene Sirup kristallisierte sofort (0.1 g). $[\alpha]_D^{20}$: +120° (10 Min.) → +95.8° (24 Stdn.) (*c* = 2, in Wasser)³⁰). Die Substanz war mit natürlichem *D-Galaktosamin-hydrochlorid* aus Rindertracheen identisch. Die Mutterlauge der ersten Kristallisation enthielt eine Mischung von *D-Galaktosamin* und *D-Talosamin*, welches im Papierchromatogramm etwas schneller lief, und ein weiteres Sekundärprodukt. Auf einer kleinen Kohle-Celite-Säule ließ sich durch Elution mit Wasser eine weitere Menge von *D-Galaktosamin-hydrochlorid* abtrennen, da dies zuerst von der Säule eluiert wurde.

$C_6H_{13}O_5N \cdot HCl$ (215.6) Ber. C 33.41 H 6.54 N 6.49 Gef. C 33.10 H 6.45 N 6.47

L-Sorbosylamin: 200 g *L-Sorbose* und 3.5 g Ammoniumchlorid wurden unter kräftigem Rühren in 1 l Methanol suspendiert. Bei 60° Badtemperatur leitete man *Ammoniak* in kräftigem Strom durch die Reaktionsmischung. Als sich die *L-Sorbose* vollständig gelöst hatte (nach 8–9 Stdn.), wurde der Versuch abgebrochen, die Reaktionslösung mit Eis-Kochsalzmischung auf etwa 0° abgekühlt und unter starker Kühlung *Ammoniak* bis zur Sättigung der Lösung eingeleitet. Nach einwöchigem Aufbewahren dieser Lösung im Eisschrank wurden die ausgeschiedenen *L-Sorbosylamin*-Kristalle abfiltriert, die Lösung auf etwa 500 ccm eingengt und erneut unter Kühlung mit *Ammoniak* gesättigt. Nach einer weiteren Woche im Eisschrank wurde von wieder ausgeschiedenem *L-Sorbosylamin* abfiltriert. Ausbeute an krist. *L-Sorbosylamin* 60 g (30 % d. Th.). In der Mutterlauge war neben *L-Sorbose* noch weiteres *L-Sorbosylamin* vorhanden, das man, ohne es zu isolieren, mit Oxalsäure umlagern kann. Das *L-Sorbosylamin* wurde aus Methanol bei 50° umkristallisiert. Zwischen gekreuzten Nicols zeigt der Kristall schiefe Auslöschung. Schmp. 119.5° (Zers.).

$C_6H_{13}O_5N$ (179.2) Ber. C 40.22 H 7.31 N 7.82 Gef. C 40.24 H 7.33 N 7.52

L-Sorbosylamin wird durch verdünnte wäßrige Säuren völlig in *Ammoniak* und *Sorbose* zurückgespalten, eine Eigenschaft, die zur quantitativen Bestimmung des Stickstoffgehaltes dienen kann. Man löst eine genau abgewogene Menge in einem Überschuß 0.1*n* H₂SO₄, kocht etwa 20 Min. und titriert mit 0.1*n* NaOH zurück. Aus der verbrauchten Säuremenge läßt sich der Stickstoffgehalt der Substanz berechnen.

Ber. N 7.82 Gef. nach Hydrolyse N 7.64, nach DUMAS N 7.52

³⁰⁾ M. STACY (J. chem. Soc. [London] 1944, 272) gibt eine Drehung von $[\alpha]_D^{20}$: +96° an.

Di-[L-sorboseyl]-amin: Zur Darstellung wurde zunächst in gleicher Weise wie zur Gewinnung des L-Sorboseylamins verfahren. Kurz nach der vollständigen Auflösung der L-Sorbose (etwa 9 Stdn.) wurde das Ammoniak-Einleiten abgebrochen und die Lösung sofort i. Vak. eingeeengt. Es fiel zunächst eine kleinere Menge L-Sorboseylamin aus. Nach dem Abfiltrieren dieses Niederschlages wurde weiter eingedampft. Als nächster Niederschlag fiel das *Di-[L-sorboseyl]-amin* aus. Es unterscheidet sich gegenüber der einfachen Amino-Verbindung durch eine größere Löslichkeit in Methanol und läßt sich durch Lösen in Methanol und langsames Ausfällen mit Chloroform oder Tetrachlorkohlenstoff reinigen. Da das Amin gleichfalls durch Säuren leicht Hydrolyse erleidet, kann es in der oben beschriebenen Weise auf seinen Stickstoffgehalt analysiert werden. In anderen Lösungsmitteln wie Benzol, Essigester und Aceton ist die Verbindung wenig oder gar nicht löslich. Schmp. 133°.

$C_{12}H_{23}O_{10}N \cdot H_2O$ (359.3) Ber. C 40.11 H 7.01 N 3.90 Gef. C 40.08 H 7.18 N 4.08

N-p-Tolyl-L-sorboseylamin: Eine Mischung aus 4 g L-Sorbose, 3.2 g *p-Toluidin*, 3 ccm Wasser und 4 Tropfen 2*n* Essigsäure wurde mit so viel Äthanol versetzt, daß sich eine homogene Lösung bildete. Dann erhitze man 15 Min. auf dem siedenden Wasserbad. Beim Abkühlen schieden sich 3.3 g L-Sorbose wieder aus. Der aus dem Filtrat über Nacht im Eisschrank gebildete weitere Niederschlag wurde abfiltriert und zur Entfernung der Sorbose mit Wasser gewaschen. Ausb. nach Abzug der zurückgewonnenen L-Sorbose 0.34 g (32 % d. Th.); Schmp. 157°.

$C_{13}H_{19}O_5N$ (269.3) Ber. C 57.98 H 7.11 N 5.20 Gef. C 57.78 H 6.98 N 5.35

Umlagerung des L-Sorboseylamins: Die Lösung von 60 g L-Sorboseylamin in 800 ccm Methanol wurde mit 30 g in 200 ccm Methanol gelöster wasserfreier Oxalsäure 15 Min. unter Rückfluß gekocht, wobei Dunkelfärbung eintrat. Das Methanol wurde i. Vak. möglichst weitgehend abgedampft, der Rückstand in Wasser aufgenommen und auf eine Säule mit saurem Ionenaustauscher Lewatit S 100 (H^+ -Form) gebracht. Es wurde mit dest. Wasser nachgewaschen, bis das Waschwasser frei von Oxalationen und L-Sorbose war. Die am sauren Austauscher festgehaltenen Aminosucker (und Ammonium-Ionen) wurden mit 0.5*n* HCl so lange eluiert, bis der Durchlauf keine positive Reaktion mit Fehlingscher Lösung mehr zeigte. Das Eluat wurde i. Vak. (unterhalb von 30°) eingedampft, der Rückstand in Methanol gelöst und die Lösung wieder eingeeengt. Falls sich dabei Ammoniumchlorid ausschied, wurde dies abgetrennt und die Reinigungsoperation zur Abscheidung von weiterem Ammoniumchlorid durch Einengen und Aufnehmen in Methanol wiederholt. Große Mengen von Ammoniumchlorid waren vor allem dann vorhanden, wenn man das in der Mutterlauge vom krist. L-Sorboseylamin noch vorhandene L-Sorboseylamin umlagerte, da sich hieraus das Ammoniak nur sehr schwer vollständig entfernen läßt. Der erhaltene klare braune Sirup reagierte noch sauer und wurde am zweckmäßigsten über KOH aufbewahrt. Ausb. 37 g steifer Sirup. Papierchromatographisch ließen sich in dem Sirup drei silbernitrat- und ninhydrinpositive Substanzen nachweisen:

Hauptprodukt I (L-Idosamin-hydrochlorid): R_F 0.15

Hauptprodukt II (L-Gulosamin-hydrochlorid): R_F 0.12

Nebenprodukt III (geringe Menge): R_F 0.105

α -L-Gulosamin-hydrochlorid: 18 g des steifen Sirups, der das Gemisch der Hydrochloride der Aminosucker I, II und III enthält, wurden in konzentrierter wäbr. Lösung auf eine Kohle-Celite-Säule (Länge 50 cm, Durchmesser 4.5 cm) gebracht. Zur Herstellung der Säuleneinfüllung wurde eine innige Mischung von Carboraffin und Celite (1:1) in Wasser suspendiert und dann in die Säule eingeschlämmt. — Als Elutionsmittel diente Wasser, welches mit leichtem Preßluftdruck durch die Säule gedrückt werden mußte. Das Eluat wurde in Frak-

tionen zu ca. 10 ccm bei einer Eluierungsgeschwindigkeit von ca. 40 ccm/Stde. mit Hilfe eines Fraktionssammlers aufgefangen. Es erwies sich als zweckmäßig, bis zur 100. Fraktion jede zweite, danach jede fünfte papierchromatographisch zu untersuchen. Die Chromatogramme wurden mit Ninhydrin- oder ammoniakalischer Silbernitratlösung entwickelt. An Hand der Chromatogramme wurde entschieden, welche der aufgefangenen Fraktionen vereinigt werden konnten. Es ergab sich folgende Verteilung: In einer Vorfraktion A (etwa zwischen Fraktion 60 und 70) fand sich Ammoniumchlorid. Die folgende vereinigte Frakt. B (etwa zwischen Fraktion 70 und 80) enthielt nur den Aminosucker II, das L-Gulosamin-hydrochlorid. Weiterhin vereinigte man die Fraktionen 80–90 zur Frakt. C, die das L-Gulosamin-hydrochlorid als Hauptbestandteil neben Aminosucker I und III enthielt. Die restlichen Fraktionen von 90–280 gaben die vereinigte Frakt. D, welche den Aminosucker I (= L-Idosamin-hydrochlorid) als Hauptbestandteil neben geringen Mengen Aminosucker II und III enthielt.

Die vereinigten Fraktionen B, C und D engte man i. Vak. (unterhalb von 30°) zu sehr steifen Sirupen ein. Fraktion D wurde zur Gewinnung des L-Idosamin-hydrochlorids zurückbehalten. Die Sirupe der Fraktionen B und C wurden möglichst rasch in konzentrierter methanol. Salzsäure (hergestellt durch Einleiten von HCl in Methanol) gelöst. Bereits nach wenigen Minuten begann die Kristallisation des L-Gulosamin-hydrochlorids. Trug man auf die Säule einen Sirup auf, den man durch Umlagerung des in der Mutterlauge noch vorhandenen L-Sorboseylamins erhielt, so ließ sich reines L-Gulosamin-hydrochlorid nur aus der Fraktion C gewinnen, da die Fraktion B noch Ammoniumchlorid enthielt. Um möglichst viel krist. Produkt zu gewinnen, ließ man die Lösungen 1–2 Tage in offenen Gefäßen stehen. Nach Abfiltrieren und dreimaligem Waschen mit wenig kaltem Methanol erhielt man ca. 1.6 g weißes, krist. *L-Gulosamin-hydrochlorid*, das sich als papierchromatographisch rein erwies. Man kann das Produkt durch Auflösen in 80-proz. warmem Methanol, Versetzen der Lösung mit etwa dem gleichen Volumen Aceton und vorsichtige Ausfällung durch Zugabe von Äther reinigen, wobei es sich kristallisiert abscheidet. Schmp. 153–164° (Zers.), R_F 0.12, $[\alpha]_D^{20}$: -8.5° (4 Min.) $\rightarrow +17.8^\circ$ (Enddr.) (Wasser, $c = 2.3$).

$C_6H_{13}O_5N \cdot HCl$ (215.6) Ber. C 33.41 H 6.54 N 6.49 Gef. C 33.20 H 6.36 N 6.34

L-Idosamin-hydrochlorid: Auf eine Cellulosesäule (Länge 68 cm, Durchmesser 6.5 cm) wurden in konzentrierter methanol. Lösung 4.5 g des an L-Idosamin-hydrochlorid angereicherten Sirups von der Kohle-Celite-Säule (siehe unter α -L-Gulosamin-hydrochlorid, vereinigte Frakt. D!) gebracht. Zur Säulenfüllung wurde Whatman Powder, Standard Grade, verwendet, das man nach Aufquellung mit wassergesättigtem n-Butanol in die Säule einschlammte. Es empfiehlt sich, die Cellulose vor dem Auftragen der Substanz mit ca. 5 l wassergesättigtem n-Butanol zu waschen, um die Hauptmenge der Verunreinigung zu entfernen. Eluiert wurde mit wassergesätt. n-Butanol mit einer Geschwindigkeit von etwa 40 ccm/Stde., wobei das Eluat in Fraktionen von ca. 10 ccm mit Hilfe eines Fraktionssammlers aufgefangen wurde. Sobald im Eluat ninhydrinpositive Substanz erschien, wurden die aufgefangenen Fraktionen papierchromatographisch untersucht. Es genügte, nur jede 20. Fraktion zu untersuchen, wobei die Lösung mindestens vierfach auf das Chromatogramm aufzutragen war, da die Konzentration der Eluate an Aminosucker äußerst gering war. Nach den Chromatogrammen wurde entschieden, welche Fraktionen vereinigt werden konnten. Die Fraktionen 700–980 enthielten nur das zuerst austretende L-Idosamin-hydrochlorid (Aminosucker I). Man engte diese nach der Vereinigung auf ca. 50 ccm ein, wobei sich L-Idosamin-hydrochlorid ausschied. Das Produkt wurde abzentrifugiert, ätherfeucht in einen Vakuumexsikkator gebracht und über P_2O_5 getrocknet. Auswaage: ca. 1.0 g. Das Produkt ließ sich durch zweimaliges Waschen mit n-Butanol reinigen. Nach Verdrängen des n-Butanols durch Äther und anschließendes Trocknen erhielt man *L-Idosamin-hydrochlorid* als weißes Pulver, das sich

als papierchromatographisch rein, aber hygroskopisch erwies. R_F 0.15, $[\alpha]_D^{18}$: -4.8° (Wasser, $c = 3$).

$C_6H_{13}O_5N \cdot HCl$ (215.6) Ber. C 33.41 H 6.54 N 6.49 Gef. C 33.28 H 6.02 N 7.22

Oxydation des L-Gulosamin-hydrochlorids zu L-Gulosaminsäure: Die Lösung von 600 mg L-Gulosamin-hydrochlorid in 15 ccm Wasser wurde unter kräftigem Rühren mit 1.65 g gelbem Quecksilberoxyd auf dem siedenden Wasserbad erhitzt. Nach 5–10 Min. war die Suspension grau geworden. Nach 20 Min. wurde warm filtriert, das im Filtrat vorliegende Quecksilber-Salz der L-Gulosaminsäure mit Schwefelwasserstoff in der Wärme zerlegt und das Filtrat vom Quecksilbersulfid i. Vak. eingeengt. Das Ninhydrin-Chromatogramm zeigte neben wenig Ausgangsmaterial das Vorhandensein der Säure (R_F 0.05). Im Silbernitrat-Chromatogramm war eine Vielzahl von Zersetzungsprodukten erkennbar. Aus der Reaktionslösung konnte kein kristallisiertes Produkt gewonnen werden, und auch durch Umfällen mit Lösungsmittel ließ sich keine Reinigung erzielen. Die Säure mußte daher auf papierchromatographischem Wege isoliert werden. Dazu wurde die Reaktionslösung auf 6 Bogen aufgetragen und 5 Tage mit Butanol/Essigsäure/Wasser absteigend chromatographiert. Die durch Leitstreifen mit Ninhydrin markierten L-Gulosaminsäure-haltigen Zonen wurden mit Wasser extrahiert. Die Lösung wurde eingeengt, mit Carboraffin entfärbt und gefriergetrocknet. Es wurden 30 mg eines weißen voluminösen Pulvers erhalten: R_F 0.05, $[\alpha]_D^{18}$: -5.2° ($c = 2.9$, in $0.2n$ NaOH), $[\alpha]_D^{18}$: $+6.0^\circ$ ($c = 2.2$, nach Ansäuern mit $0.2n$ HCl).

$C_6H_{13}O_6N$ (195.2) Ber. N 7.18 Gef. N 7.81

Wegen der papierchromatographischen Abtrennung ist die Säure nicht vollständig analytisch rein.

Alle chromatographischen Untersuchungen wurden auf Schleicher & Schüll-Papier 602 h:p unter Verwendung von n-Butanol/Eisessig/Wasser (70:7:23) im absteigenden Verfahren durchgeführt.

FRITZ MICHEEL und WOLFGANG BUSSE

UMSETZUNGEN VON 1-FLUOR-BENZOL-TRICARBONSÄURE-(2.4.6) (FLUOR-TRIMESINSÄURE) MIT AMINEN UND AMINOSÄUREN

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Münster (Westf.)

(Eingegangen am 23. April 1957)

1-Fluor-benzol-tricarbonsäure-(2.4.6) (Fluor-trimesinsäure) wird hergestellt. Sie selbst und noch leichter ihr Trimethylester setzen sich mit primären Aminen und Aminosäuren unter Abspaltung von Fluorwasserstoff zu *N*-[2.4.6-Tricarboxy- (bzw. -Tris-carbomethoxy)-phenyl]-aminen bzw. -aminosäuren um.

In früheren Mitteilungen¹⁾ wurde gezeigt, daß sich 1-Fluor-2-nitro-benzol-carbonsäure-(4) und 1-Fluor-2-nitro-benzol-sulfonsäure-(4)²⁾ wie das bekannte 1-Fluor-2.4-dinitro-benzol mit Aminen und Aminosäuren umsetzen. Auch der 1-Fluor-

¹⁾ F. MICHEEL und K. WEICHBRODT, Angew. Chem. **64**, 397 [1952]; Chem. Ber. **88**, 468 [1955].

²⁾ F. MICHEEL, K. WEICHBRODT und J. PLENIKOWSKI, Liebigs Ann. Chem. **581**, 238 [1953]; Diplomarbeit J. PLENIKOWSKI, Münster 1953.