

KURT HEYNS und WERNER BALTES
Die Synthese der Isoglucosaminuronsäure
(1-Amino-1-desoxy-D-fructuronsäure)
über *N*-Aryl-glykoside der D-Glucuronsäure

Aus dem Chemischen Staatsinstitut, Universität Hamburg, Abteilung für organische Chemie
(Eingegangen am 23. Dezember 1957)

Das Kaliumsalz der D-Glucuronsäure liefert bei der Umsetzung mit aromatischen Aminen *N*-Glykoside, die mit zusätzlichem Amin oder Wasser Anlagerungsverbindungen ergeben. Durch Säurekatalyse lassen sich die *N*-Glykoside in die entsprechenden *N*-Aryl-isoglucosaminuronsäuren (1-Arylamino-1-desoxy-D-fructuronsäuren) umlagern. Hydrierung von *N*-Phenyl- und *N-p*-Tolyl-isoglucosaminuronsäure mit PdO/BaSO₄ führt zur freien Isoglucosaminuronsäure.

Die Uronsäuren von Aminozuckern lassen sich, wie wir zeigen konnten^{1,2)}, durch katalytische Oxydation der entsprechend blockierten Aminozucker und anschließende Abspaltung der blockierenden Gruppen darstellen. Ein ähnlicher Syntheseweg würde sich auch für die Darstellung der Isoglucosaminuronsäure anbieten. Diese Uronsäure des Isoglucosamins erscheint von einigem Interesse, nachdem Derivate des Isoglucosamins in den vor einigen Jahren in Lebersubstraten nachgewiesenen, aus Glucose und Aminosäuren entstehenden „Fructose-Aminosäuren“ vorliegen, die eine stimulierende Wirkung auf die Proteinsynthese ausüben sollen³⁾ und die mit den von uns untersuchten „Glucose-Aminosäuren“ isomer sind⁴⁾.

Es schien uns jedoch im vorliegenden Falle der Weg über die Glucuronsäure und deren Umsetzung mit Aminen mit anschließender Amadori-Umlagerung von allgemeinem Interesse, da die *N*-Glykoside der D-Glucuronsäure im Zusammenhang mit den Entgiftungsvorgängen im tierischen Organismus in neuerer Zeit bereits mehrfach in Erscheinung getreten sind⁵⁾.

Über die Umsetzung von Glucuronsäuren mit Aminen ist nur wenig bekannt. H. THIERFELDER⁶⁾ hat das *N*-Phenyl-glykosid des Kaliumsalzes durch Erhitzen von Anilin mit Kaliumglucuronat in wäßrig-alkoholischer Lösung als „schneeweiße, glitzernde Flitterchen“ erhalten. M. BERGMANN und W. WOLFF⁷⁾ beschrieben das Natriumsalz der gleichen Verbindung als Halbhydrat.

1) K. HEYNS und H. PAULSEN, Chem. Ber. **88**, 188 [1955].

2) K. HEYNS und M. BECK, Chem. Ber. **90**, 2443 [1957].

3) H. BORSOOK, A. ABRAHMS und P. H. LOWY, J. biol. Chemistry **215**, 111 [1955]; J. Amer. chem. Soc. **77**, 4794 [1955]; **78**, 3175 [1956].

4) K. HEYNS, H. PAULSEN und H. BREUER, Angew. Chem. **68**, 334 [1956]; K. HEYNS, H. BREUER und H. PAULSEN, Chem. Ber. **90**, 1374 [1957].

5) J. N. SMITH und R. T. WILLIAMS, Biochem. J. **44**, 239 [1949]; E. BOYLAND und D. MANSON, Biochem. J. **67**, 275 [1957].

6) Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **13**, 275 [1889].

7) Ber. dtsch. chem. Ges. **56**, 1060 [1923].

Wir konnten unter den angegebenen Bedingungen jedoch keine Reaktionsprodukte mit eindeutigen Analysendaten erhalten. Dies rührt daher, daß die *N*-Arylglykoside der Alkaliglucuronate außerordentlich leicht in ihre Ausgangsstoffe zerfallen, viel leichter als beispielsweise die entsprechenden Verbindungen der Glucose. So gelingt es nicht, selbst unter milden Bedingungen eine Umkristallisation ohne Zerfall des Produktes durchzuführen. Die Vorschrift von H. THIERFELDER⁶⁾ konnte nicht zu analysenreinen Substanzen führen, da in der heißen Reaktionslösung selbst bei hohem Aminüberschuß ein Zerfall in die Ausgangsprodukte unvermeidlich ist.

Die gesuchten *N*-Glykoside ließen sich statt dessen durch vorsichtige Umsetzung der Komponenten in der Kälte unzersetzt gewinnen. Hierbei zeigte sich deren Neigung, zusammen mit Wasser oder Amin bzw. mit beiden Komponenten in Form von definierten Anlagerungskomplexen zu kristallisieren. Das *N*-Phenyl- und *N-p*-Tolylglykosid (II) des Kaliumglucuronates (I) enthalten zusätzlich je ein Mol. Amin und ein Mol. Wasser, während das *N*-Phenylglykosid des Natriumsalzes mit einem halben Mol. Anilin kristallisiert.

Diese Feststellungen decken sich mit Befunden von J. N. SMITH und R. T. WILLIAMS⁵⁾, die nach Verfütterung von *p*-Toluidin an Kaninchen u. a. ein labiles *N-p*-Tolylglucuronid als Ammoniumsalz aus deren Harn isolierten, das zusammen mit je einem zusätzlichen Mol. *p*-Toluidin und Wasser kristallisierte. Der gleiche Komplex konnte auch *in vitro* hergestellt werden.

Die *N*-Glykoside der Alkaliglucuronate stellen ausgezeichnet kristallisierende Verbindungen dar, woraus sich die Möglichkeit ergibt, Glucuronate aus Zuckergemischen in Form von *N*-Glykosiden abzuscheiden, da diese Verbindungen schon in der Kälte bei Einwirkung verdünnter Säuren in Glucuronsäure und das Aglykon spaltbar sind.

Die Umlagerung von *N*-Glucuroniden zu den entsprechenden *N*-substituierten Derivaten der Isoglucoaminuronsäure erfolgt, wie sich chromatographisch nachweisen läßt, beim Erhitzen der *N*-Arylglykoside in wäßrig-alkoholischer Lösung nach Zufügen geringer Mengen Säure. Der größte Teil des *N*-Glykosides zerfällt dabei allerdings bereits vor der Umlagerung in seine Ausgangsstoffe, so daß es sich als günstiger erwies, beide Reaktionsstufen, nämlich *N*-Glykosidbildung und Umlagerung zur *N*-Aryl-isoglucoaminuronsäure, in einem Gang nebeneinander ablaufen zu lassen. Da das Gleichgewicht: Kaliumglucuronat + arom. Amin \rightleftharpoons *N*-Glykosid stark nach links verschoben ist, wird vorteilhaft mit vierfachem Aminüberschuß gearbeitet.

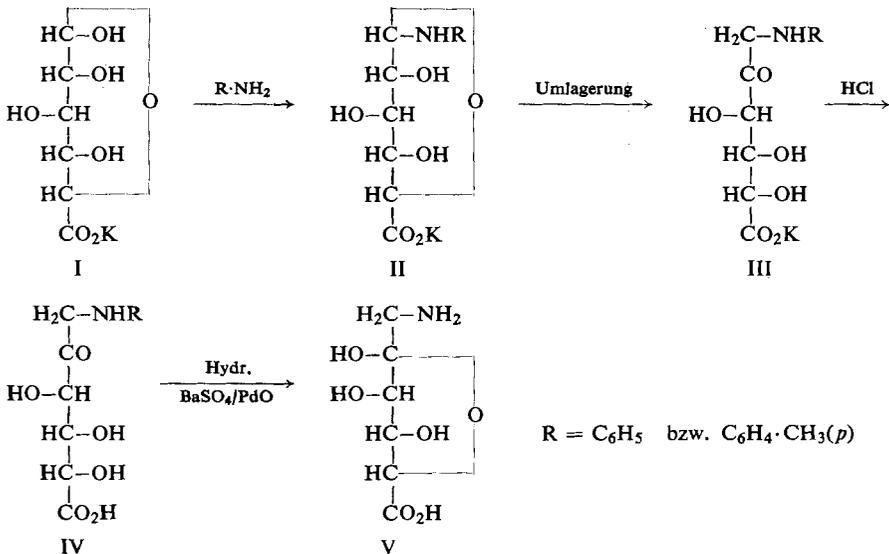
Die Bildung von Huminstoffen ist bei der Amadori-Umlagerung von *N*-Glykosiden der Glucuronsäure erheblich stärker als bei anderen Zuckern. Der von F. WEYGAND⁸⁾ beschriebene Weg zur Darstellung von 1-Arylamino-1-desoxy-fructosen, das Zusammenschmelzen der beiden Komponenten in Gegenwart von wenig Wasser und Säure, führt bei der Glucuronsäure zu stürmischer Zersetzung unter Kohlendioxid-Entwicklung. Deshalb wurde die Umlagerung in wäßrigem Alkohol bei niedrigen Konzentrationen und Temperaturen zwischen 70–80° vorgenommen. Als bester Umlagerungskatalysator bewährte sich hierbei Eisessig. Die Huminstoffbildung konnte merklich durch Zufügen von Hydrogensulfit zurückgedrängt werden. Nach vor-

⁸⁾ Ber. dtsch. chem. Ges. 73, 1259 [1940].

sichtiger Aufarbeitung gelang es, die Kaliumsalze der *N-p*-Tolyl- und *N*-Phenyl-isoglucosaminuronsäure (III) zu isolieren. In kristallisiertem Zustand lassen sich diese Verbindungen jedoch nur gewinnen, wenn die Reaktionslösung nicht zu viel Huminateile und dunkelgefärbte Zersetzungsprodukte enthält, da diese leicht anhaften und jegliche Kristallisation unterbinden. Die gleichzeitig im Reaktionsgemisch vorliegenden *N*-Glykoside ließen sich durch fraktionierte Kristallisation vorher abtrennen.

Nach Zugabe von Salzsäure zu dem Reaktionsgemisch und Eindampfen der Lösung schied sich Kaliumchlorid ab. Die freigesetzten *N*-Aryl-isoglucosaminuronsäuren (IV) wurden von der nicht umgesetzten Glucuronsäure und den Nebenprodukten auf Grund der basischen Gruppe am Kohlenstoffatom 1 durch saure Austauscher getrennt.

Die freien Säuren bilden in Wasser sehr leicht übersättigte Lösungen und kristallisieren im Gegensatz zu ihren Kaliumsalzen sehr schlecht. Nur ein kleiner Teil der *p*-Toluidinverbindung konnte in kristallisiertem Zustand gewonnen werden, während der Rest amorph erhalten wurde. Die freien Säuren sind vor allem als Sirupe thermisch sehr instabil und zersetzen sich beim Eindampfen ihrer Lösungen bereits bei einer Wasserbadtemperatur von 26° zu rot- bis braungefärbten Produkten.



Die Abspaltung der *N*-Phenyl- bzw. *N-p*-Tolyl-Reste zur Gewinnung der freien Isoglucosaminuronsäure erfolgte mittels eines speziellen von R. KUHN und H. J. HAAS⁹⁾ entwickelten Hydrierverfahrens mittels PdO/BaSO₄-Katalysators¹⁰⁾ in salzsaurer Lösung. *N*-Aryl-isoglucosamine werden dabei unter Verbrauch von 2 Moll. Wasserstoff in Isoglucosamin und Cyclohexanonderivate gespalten, ohne daß die Carbonylgruppe des Zuckers angegriffen wird. Sowohl *N-p*-Tolyl- als auch *N*-Phenyl-isoglucosamin-

⁹⁾ Liebigs Ann. Chem. **600**, 148 [1956].

¹⁰⁾ R. KUHN und H. J. HAAS, Angew. Chem. **67**, 785 [1955].

uronsäure lassen sich auf diese Weise glatt umsetzen. Es ist dabei zweckmäßig, die *N*-Aryl-isoglucoaminuronsäuren als Zwischenstufe nicht zu isolieren, da die freie Isoglucoaminuronsäure wesentlich besser kristallisiert gewinnbar ist. In sirupöser Form ist jedoch auch die freie Säure thermisch sehr instabil.

Die Isoglucoaminuronsäure V sowie ihre *N*-Derivate besitzen starkes Reduktionsvermögen, indem sie in alkalischer Lösung Methylenblau und Tillmans Reagenz entfärben; *o*-Dinitrobenzol bildet einen intensiven violetten Farbstoff. Wahrscheinlich liegen in alkalischen Lösungen reduktionartige Endiolformen vor¹¹⁾.

Der Naphthoresorcin-Test nach B. TOLLENS¹²⁾ ist bei der Isoglucoaminuronsäure negativ. Ihre *N*-Arylabkömmlinge bilden dagegen geringe Mengen eines blauen Chromophors, das mit Äther ausschüttelbar ist.

Die ELSON-MORGAN-Reaktion¹³⁾, die wir in einer Modifikation nach B. SCHLOSS¹⁴⁾ durchgeführt haben, lieferte bei den *N*-Aryl-isoglucoaminuronsäuren eine schwach rote Färbung; Isoglucoaminuronsäure reagiert dagegen stark positiv. Ferner ist die freie Säure ninhydrinpositiv und reduziert Fehlingsche Lösung und ammoniakalische Silbernitratlösung.

Gegen Säuren sind die vorliegenden Umlagerungsprodukte bemerkenswert stabil. Während *D*-Glucuronsäure bei Einwirkung von Salzsäure rasch in das Lacton umgewandelt wird und sich anschließend zersetzt, konnte bei den umgelagerten Verbindungen keine Lactonisierung nachgewiesen werden. Ähnliche Verhältnisse fanden K. HEYNS und H. PAULSEN¹⁾ bei der *D*-Glucosaminuronsäure, die gleichfalls bei Erwärmen mit Säure nicht lactonisiert wurde. Auch *D*-Galaktosaminuronsäure²⁾ zeigte unter diesen Bedingungen keine Veränderungen. Offenbar verhindert die Zwitterionbildung zwischen basischen und sauren Gruppen die Lactonisierung. Dementsprechend ist auch die Zerfallsgeschwindigkeit in Salzsäure gering, während die leichte Decarboxylierbarkeit der *D*-Glucuronsäure geradezu zur quantitativen Bestimmung aus Zuckergemischen herangezogen wird¹⁵⁾. Obwohl die Lösungen der Amino-uronsäuren in halbkonzentrierter Salzsäure beim Erhitzen im Wasserbad auf 100° recht bald dunkel gefärbt wurden und sich Huminstoffe abschieden, war ein chromatographischer Nachweis noch nach Stunden möglich; vergleichsweise eingesetzte Glucuronsäure war dann längst restlos abgebaut.

Die *N*-Aryl-isoglucoaminuronsäuren werden jedoch von Essigsäure wesentlich leichter angegriffen. Das zeigte sich schon bei der Chromatographie dieser Substanzen in Butanol-Eisessig-Wasser, deren Flecken Schwanzbildung ergaben, was darauf zurückgeführt werden muß, daß ein Zerfall in langsamer laufende Stoffe, insbesondere Glucuronsäure, eintritt. Beim Erhitzen in halbkonzentriert essigsaurer Lösung im Wasserbad auf 100° war *N*-*p*-Tolyl-isoglucoaminuronsäure bereits nach 30 Min. zerfallen. Freie Isoglucoaminuronsäure zerfällt in Essigsäure nicht schneller als in Salzsäure und liefert daher auf dem Chromatogramm einen sauberen Fleck.

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

12) Ber. dtsh. chem. Ges. 41, 1788 [1908].

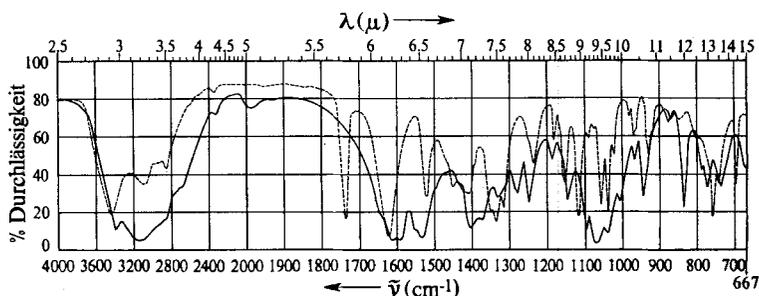
13) L. A. ELSON und W. TH. J. MORGAN, Biochem. J. 27, 1824 [1933].

14) Analytic. Chem. 23, 1321 [1951].

15) S. MACHIDA, Bulletin of the Faculty of Textile Fibers, Kyoto University of Industrial Arts and Textile Fibers, Vol. 1, Nr. 2, Kyoto, Japan.

Die *N*-Glykoside drehen die Ebene des polarisierten Lichtes stark nach links, während die *N*-Aryl-isoglucoaminuronsäuren sehr geringe positive Drehwerte ergeben. Mutarotation konnte im Gegensatz zu den *N*-Glykosiden nicht beobachtet werden.

Die Infrarotspektren der *N*-Aryl-isoglucoaminuronsäuren zeigen bei 5.76μ (1736 cm^{-1}) deutliche Carbonylbanden, die bei der *N*-Phenyl-isoglucoaminuronsäure (Abbild.) intensiver ausgeprägt sind als bei der entsprechenden *N*-*p*-Tolylverbindung. Da jedoch die Werte für die spezifische Drehung bei beiden Aminozuckern fast gleich sind ($+2.45^\circ$ und $+2.71^\circ$), muß angenommen werden, daß die *N*-Aryl-isoglucoaminuronsäuren sowie ihre Salze in der offenen Form vorliegen. Diese Form ist demnach stabiler als eine Furanosestruktur. Im Spektrum der Isoglucoaminuronsäure tritt diese Carbonylbande nicht auf (Abbild.). Auch hier liegt keine Mutarotation vor; der spezifische Drehwert ist jedoch höher ($+51.8^\circ$) als die der *N*-Arylderivate, so daß man hier eine Furanoseform annehmen kann.



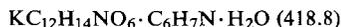
IR-Spektren von *K-N*-Phenyl-*D*-isoglucoaminuronat (-----) und *D*-Isoglucoaminuronsäure (—); 1.0 mg_1 bzw. 1.3 mg in *KBr* gepreßt

Die von F. MICHEEL und B. SCHLEPPINGHOFF¹⁶⁾ in den Infrarotspektren von umgelagerten *N*-Glucosiden gefundenen Banden bei 3570 cm^{-1} konnten in den Spektren unserer Produkte nicht festgestellt werden. Lediglich die *N-p*-Tolyl-isoglucoaminuronsäure zeigt eine ähnliche Bande bei 3530 cm^{-1} .

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

(Die Schmelzpunkte sind unkorrigiert.)

K-Anilin-*D*-glucuronid (*II*, $R = C_6H_5$): Die Lösung von 1.4 g Kaliumglucuronat in 20 ccm dest. Wasser wurde mit einer Lösung von 3 g Anilin in 20 ccm Äther überschichtet und das Gemisch $\frac{1}{2}$ Stde. intensiv geschüttelt. Nach 2–3tägigem Aufbewahren im Kühlschrank fielen 1.31 g kristallines *N*-Glykosid aus (52% d. Th.). Es wurde abgesaugt und intensiv mit Essigester gewaschen. Trocknung im Vakuumexsikkator über Kieselgel. Zers.-P. 175° . $[\alpha]_D^{17}$: $-78.5^\circ \rightarrow -30.0^\circ$ ($c = 2$, in Wasser).



Ber. C 51.70 H 5.50 N 6.70 K 9.33 Anilin 44.40 H₂O 4.13

Gef. C 51.25 H 5.64 N 6.56 K 9.18 Anilin 44.38 H₂O 4.47

¹⁶⁾ Chem. Ber. **89**, 1702 [1956].

Na-Anilin-D-glucuronid: 1.2 g *Natriumglucuronat* wurden in 20 ccm dest. Wasser gelöst, mit 3 g *Anilin* in 20 ccm Äther überschichtet und $1/2$ Stde. in der Schüttelmaschine geschüttelt. Aus der wäßrigen Lösung fiel nach 2–3 Tagen ein Niederschlag aus (1.16 g, entspr. 64% d. Th.), der mit Essigester gewaschen und i. Vak. über Kieselgel getrocknet wurde. Schmp. 201–203° (Zers.). $[\alpha]_D^{25}$: $-74.6^\circ \rightarrow -20.1^\circ$ ($c = 2$, in Wasser).

$\text{NaC}_{12}\text{H}_{14}\text{NO}_6 \cdot 1/2 \text{C}_6\text{H}_7\text{N}$ (337.8) Ber. C 53.49 H 5.20 N 6.24 Gef. C 53.31 H 5.12 N 6.36

K-p-Toluidin-D-glucuronid (II, R = C₆H₄·CH₃(p)): Eine Lösung von 1.4 g *Kaliumglucuronat* in 20 ccm Wasser wurde mit 3.2 g *p-Toluidin* in 20 ccm Äther überschichtet, $1/2$ Stde. geschüttelt und 2–3 Tage lang im Kühlschrank bei +3° stehengelassen. Die isolierten Kristalle wurden mit Essigester gewaschen und i. Vak. über Kieselgel getrocknet. Ausb. 1.23 g (47% d. Th.). Schmp. 155–156° (Zers.). $[\alpha]_D^{25}$: $-61.4^\circ \rightarrow -24.5^\circ$ ($c = 2$, in Wasser).

$\text{KC}_{13}\text{H}_{16}\text{NO}_6 \cdot \text{C}_7\text{H}_9\text{N} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (446.5) Ber. C 53.81 H 6.05 N 6.28 K 8.74
Gef. C 53.66 H 6.12 N 6.28 K 8.67

K-N-Phenyl-D-isoglycosaminuronat (III, R = C₆H₅): 10 g *Kaliumglucuronat* wurden in einer Lösung von 25 g *Anilin* (dest.) in 700 ccm 77-proz. Alkohol suspendiert und das Gemisch in einem Dreihalskolben unter Rühren auf 80–85° erhitzt. Nach 20 Min. wurden 0.5 ccm Eisessig zugefügt und unter Rühren 50 Min. lang weitererhitzt. Nach 15 stdg. Aufbewahren im Tiefkühlschrank bei –16° wurden aus der orangefarbenen Lösung 2.34 g *K-Anilin-D-glucuronid* ausgeschieden. Die Lösung wurde i. Vak. auf 400 ccm eingedampft und anschließend 400 ccm absol. Alkohol bis zur Trübung der Lösung zugefügt. Nach 24 stdg. Stehenlassen im Tiefkühlschrank konnten 3.81 g eines gelben, amorphen Niederschlages, der durch Huminstoffe verunreinigtes *K-N-Phenyl-D-isoglycosaminuronat* darstellt, isoliert werden. Nach Eindampfen des Filtrates auf 400 ccm wurden nach 3 Tagen 1.38 g weißes, kristallines Produkt erhalten. Es liegt als Halbhydrat vor. Schmp. 145° (Zers.). $[\alpha]_D^{25}$: +2.45°, keine Mutarotation ($c = 2$, in Wasser).

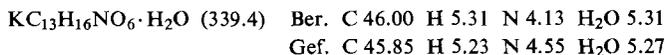
$\text{K}_{12}\text{H}_{14}\text{NO}_6 \cdot 1/2 \text{H}_2\text{O}$ (316.3) Ber. C 45.55 H 4.74 N 4.43 H₂O 2.59
Gef. C 45.14 H 4.67 N 4.42 H₂O 2.51

Eine Reinigung des amorphen Produktes ist möglich, falls es nicht zu dunkel ist, indem man seine wäßrige Lösung mit viel Bleicherde schüttelt, filtriert und die umgelagerte Verbindung mit absol. Alkohol fällt. Nach vollständiger Reinigung kann so ein kristallines Produkt erhalten werden.

N-Phenyl-D-isoglycosaminuronsäure (IV, R = C₆H₅): 2.32 g *Kaliumglucuronat* ($1/100$ Mol) wurden in einer Lösung von 3.7 g *Anilin* ($4/100$ Mol) in 150 ccm 50-proz. Alkohol unter Zusatz von 0.2 g KHSO_3 im Wasserbad auf 80° erhitzt. Nach 20 Min. wurden 0.2 ccm Eisessig zugefügt, weitere 3 Stdn. auf 80° gehalten und nach Abkühlung i. Vak. auf etwa 80 ccm eingeeengt, wodurch sich der größte Teil der gebildeten Huminstoffe als schwarzer Sirup abschied und abgetrennt wurde. Aus der wäßrigen Lösung wurde das überschüssige Anilin mit 4×100 ccm Äther extrahiert. Zur Abspaltung des Kaliums wurden 15 ccm 2*n* HCl zugefügt und i. Vak. zur Trockne gedampft. Da das sich an der Kolbenwand sirupös abscheidende Produkt thermisch außerordentlich instabil ist (sofortige Rotfärbung), wurde das Wasserbad auf höchstens 25° gehalten. Zur Beschleunigung des Eindampfprozesses wurde das Destillat in einem mittels einer Umlaufpumpe mit Eiswasser von 0° gespeisten Dimroth-Kühler kondensiert, dessen Mantel ebenfalls gekühlt werden konnte. Der Rückstand wurde durch Schütteln in $1/2$ l absol. Alkohol aufgenommen, wobei Kaliumchlorid und ein Teil der nicht verarbeiteten Glucuronsäure ungelöst blieben. Die meist hellrot gefärbte Lösung wurde wiederum fast zur Trockne eingedampft, das Produkt in 200 ccm Wasser aufgenommen, die Salzsäure durch Schütteln mit Silbercarbonat beseitigt und die Lösung nach Abfiltrieren der Silber-

salze so lange durch eine mit saurem Austauschere (Lewatit S 100, H^{\oplus} -Form) beladene Säule gegeben, bis die alkalische Lösung *o*-Dinitrobenzol nicht mehr anfärbte. Nach Waschen mit 2 l Wasser wurde die vom Austauscherharz absorbierte Amadori-Verbindung mit 0.2*n* Trichloressigsäure eluiert und aus dem fast farblosen Eluat die Trichloressigsäure in einer kontinuierlich arbeitenden Apparatur nach Kutscher-Stuedel mit Äther extrahiert. Nach Eindampfen der Lösung i. Vak. unter den oben beschriebenen Vorsichtsmaßnahmen wurden 763 mg *N*-Phenyl-*D*-isoglucoaminuronsäure (28.4 % d. Th.) als schwach hellgelber Sirup erhalten, der auch nach Trocknung im Vakuumexsikkator nicht kristallisierte. Statt dessen läßt sich das Produkt aus einer konzentriert wäßrigen Lösung durch Zugabe von absol. Alkohol amorph ausfällen.

K-N-p-Tolyl-D-isoglucoaminuronat (III, $R = C_6H_4 \cdot CH_3(p)$): 10 g Kaliumglucuronat wurden in einem Gemisch aus 140 ccm Wasser und 260 ccm Alkohol in einem Dreihalskolben suspendiert, 25 g *p*-Toluidin in 300 ccm Alkohol zugefügt und unter Rühren auf 85° gehalten. Nachdem sich nach 40 Min. der größte Teil des Kaliumglucuronates gelöst hatte, wurden 0.5 ccm Eisessig zugefügt und 50 Min. bei der gleichen Temperatur unter Rühren weiter erhitzt. Die orangefarbene Lösung wurde dann 15 Stdn. im Tiefkühlschrank stengelassen, wobei 2.54 g *N*-Glykosid ausfielen, die zum Teil durch umgelagertes Produkt verunreinigt waren. Nach Absaugen wurde das Filtrat auf 400 ccm i. Vak. eingengt, 400 ccm absol. Alkohol zugefügt, bis eine leichte Trübung eintrat, und nach 20stdg. Stehenlassen bei -16° 3.1 g amorphes hellgelbes Rohprodukt isoliert und gereinigt. Das Filtrat wurde i. Vak. auf 350 ccm eingengt und einen Tag lang bei +3° stengelassen. Es fiel ein weißer, kristalliner Niederschlag aus (2.39 g, entspr. 17.3 % d. Th.), der die reine Verbindung darstellt (Monohydrat). Die Gesamtausbeute an umgelagertem Produkt betrug 39.7 % d. Th.; Schmp. 139 bis 140° (Zers.). $[\alpha]_D^{25}$: +2.71°, keine Mutarotation ($c = 2$, in Wasser).



N-p-Tolyl-D-isoglucoaminuronsäure (IV, $R = C_6H_4 \cdot CH_3(p)$): 2.32 g Kaliumglucuronat ($1/100$ Mol) wurden mit 0.2 g $KHSO_3$ und 4.28 g *p*-Toluidin ($4/100$ Mol) in 150 ccm 50-proz. Alkohol auf 80° erwärmt, nach 20 Min. 0.2 ccm Eisessig zugefügt und im Wasserbad weitere 3 Stdn. bei 80° gehalten. Durch Eindampfen der Lösung i. Vak. auf 70–80 ccm konnte ein großer Teil der Huminstoffe abgetrennt werden. Das überschüssige *p*-Toluidin wurde durch Extraktion mit 4×100 ccm Äther entfernt. Das Kalium wurde ebenso wie bei der Darstellung der *N*-Phenyl-*D*-isoglucoaminuronsäure (s. o.) durch Zusatz von 2*n* HCl entfernt. Durch Adsorption an dem sauren Ionenaustauscherharz Lewatit S 100 wurde dann die Amadori-Verbindung von der noch nicht umgelagerten Glucuronsäure sowie von den Huminstoffen getrennt und anschließend wie oben mit 0.2*n* Trichloressigsäure eluiert. Nach Extraktion mit Äther wurde dann die farblose Lösung unter Einhaltung der gleichen Bedingungen, wie oben beschrieben, zur Trockne eingedampft, wobei der zunächst entstandene hellgelbe Sirup kristallisierte. Die Kristalle wurden mit einem Gemisch aus Isopropylalkohol-Aceton (1:1) aus dem Kolben herausgespült, während sirupöse Reste, die nicht kristallisiert waren, als amorphes, festes Produkt erhalten wurden. Gesamtausb. 823 mg (29.2 % d. Th.), Schmp. 137–138° (Zers.).



D-Isoglucoaminuronsäure (V): 2.32 g Kaliumglucuronat ($1/100$ Mol) wurden in 150 ccm 50-proz. Alkohol mit 3.7 g Anilin ($4/100$ Mol) 15 Min. im Wasserbad auf 70° erhitzt, dann 0.2 ccm Eisessig zugefügt und weitere $1\frac{1}{2}$ Stdn. bei dieser Temperatur gehalten. Nach Eindampfen i. Vak. auf 50 ccm wurden die ausgefallenen sirupösen Huminstoffe abgetrennt, mit 4×50 ccm Äther das überschüssige Anilin extrahiert und die jetzt hellgelbe Lösung mit

halbkonzentrierter Salzsäure auf p_H 0 gebracht. Zur Hydrierung wurde sie in eine Hydrierbirne gegeben, die, in 10 ccm Wasser suspendiert, 1,0 g vorhydrierten PdO/BaSO₄-Katalysator⁹⁾ enthielt. Die Wasserstoffaufnahme betrug in 24 Stdn. 245 ccm. Nach Abzentrifugieren des verbrauchten Katalysators wurde die Lösung zur Extraktion des gebildeten *Cyclohexanons* in einer Apparatur nach Kutscher-Steudel 12 Stdn. mit Äther behandelt, anschließend i. Vak. zur Trockne eingedampft (Wasserbadtemperatur 25°), das Produkt in 400 ccm absol. Alkohol aufgenommen und das ungelöst gebliebene Kaliumchlorid abfiltriert. Der Alkohol wurde wiederum i. Vak. verdampft, das amorphe Reaktionsgemisch in 200 ccm Wasser aufgenommen, zur Entfernung der Salzsäure mit Silbercarbonat geschüttelt und nach Abscheidung der Silbersalze mit saurem Austauschharz Lewatit S 100 behandelt. Die adsorbierte Isoglucosaminuronsäure wurde nach Waschen mit 2 l Wasser mit 0.2n Trichloressigsäure eluiert, die Trichloressigsäure mit Äther extrahiert und die fast farblose Lösung bis auf 20 ccm i. Vak. eingedampft. Nach Zufügen von Isopropylalkohol bis zur Trübung fiel die *D-Isoglucosaminuronsäure* kristallin aus (meist in Säulen). Ausb. 496 mg (25.7 % d. Th.).

Die Hydrierung von *N-p-Tolyl-D-isoglucosaminuronsäure* brachte im gleichen Reaktionsgang bei einer Wasserstoffaufnahme von 230 ccm eine Ausb. von 457 mg *D-Isoglucosaminuronsäure* (23.7 % d. Th.).

Bei 153–155° wird das kristalline Produkt unter Gasentwicklung gebräunt und zersetzt sich dann kontinuierlich. Ein fester Zersetzungspunkt konnte nicht beobachtet werden. $[\alpha]_D^{20}$: +51.8°, keine Mutarotation ($c = 1.8$, in Wasser).

C₆H₁₁NO₆ (193.1) Ber. C 37.30 H 5.70 N 7.25 Gef. C 37.27 H 5.62 N 7.05

Cyclohexanon-semicarbazon: Die ätherische Cyclohexanonlösung wurde mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, der Äther abdestilliert und das *Cyclohexanon* durch Destillation gereinigt. Sdp. 156°. Das nach N. ZELINSKY¹⁷⁾ hergestellte *Semicarbazon* schmilzt bei 166°.

p-Nitrophenylhydrazon des 4-Methyl-cyclohexanons: Nach Trocknung der äther. Lösung und Abdampfen des Äthers wurde das *4-Methyl-cyclohexanon* durch Destillation rein erhalten. Sdp. 170°. Das *p-Nitrophenylhydrazon* wurde nach S. G. P. PLANT und R. J. ROSSER¹⁸⁾ dargestellt. Nach Umkristallisation aus Alkohol schmolz es bei 127–128°.

Bestimmung der Gesamtanilinmenge des K-Anilin-D-glucuronides: Eingewogene Proben des Produktes wurden in wenig 2n HCl gelöst, die Lösung wurde nach 1/4 Stde. mit Natronlauge alkalisch gemacht. Nach sorgfältigem Ausäthern wurden die vereinigten Ätherauszüge mit wasserfreiem Na₂SO₄ getrocknet und dann der Äther restlos über eine Widmer-Spirale (40 cm) abgedampft. Das im Kolben zurückgebliebene Anilin löste man in Wasser, überführte die Lösung in einen 250-ccm-Meßkolben, spülte mit etwas Alkohol nach und füllte bis zur Marke mit Wasser auf.

Die Titration wurde mit 0.1n HCl durchgeführt^{*)}. An Hand einer Standardlösung, die etwa die gleiche Menge Anilin enthielt, wie für die unbekannte Lösung angenommen wurde, konnte durch Zugabe der theoret. Menge Salzsäure der p_H -Wert des Endpunktes festgestellt werden. Er lag in unserem Falle bei 3.65^{**)}. In gleicher Verdünnung wurde die unbekannte Anilinlösung unter Rühren mit einem Magnetrührer mit der Salzsäure titriert, bis der gleiche p_H -Wert erreicht war: 1 ccm 0.1n HCl entspricht 9.3 mg Anilin.

Die Bestimmung des Kristallwassers erfolgte nach K. FISCHER¹⁹⁾.

¹⁷⁾ Ber. dtsch. chem. Ges. 30, 1541 [1897]. ¹⁸⁾ J. chem. Soc. [London] 1928, 2457.

^{*)} p_H -Meßgerät der METROHM AG., Herisau, Schweiz.

^{**)} Das verwandte dest. Wasser, das durch Ionenaustausch hergestellt worden war, erwies sich als etwas sauer. Dadurch wurde der p_H -Wert des Endpunktes etwas in den sauren Bereich verschoben. ¹⁹⁾ Angew. Chem. 48, 394 [1935].

Nach Titerstellung des Methanols und der Karl-Fischer-Lösung wurden Proben der zu untersuchenden Substanz in ein kleines Titrationskölbchen eingewogen, das vorher im Trockenschrank bei 120° getrocknet und im Exsikkator abkühlen gelassen wurde. Die Proben wurden mit wasserfreiem Methanol überschichtet und Karl-Fischer-Lösung zugefügt, bis der Umschlag von Gelb nach Braun eintrat.

	Einwaage mg	FISCHER-Lösg. ccm	H ₂ O mg	entspr. % H ₂ O
<i>K-Anilin-D-glucuronid:</i>	{ 155.45	1.83	6.94	4.47
	{ 78.00	0.89	3.51	4.54
<i>K-N-p-Tolyl-D-iso-glucosaminuronat</i>	{ 55.10	0.77	2.92	5.27
	{ 84.10	1.20	4.57	5.43
<i>K-N-Phenyl-D-iso-glucosaminuronat</i>	{ 152.0	1.07	4.06	2.67
	{ 72.8	0.49	1.82	2.51

HORST WALTHER und GERHARD ZIMMERMANN

Synthesen mit Dicarbonsäuren, XXV¹⁾

Weitere Reaktionsprodukte der Chlorierung von Adipinsäure

Aus dem Institut für Organische Chemie der Universität Leipzig

(Eingegangen am 27. Dezember 1957)

Durch radikalische Chlorierung der freien Adipinsäure in Gegenwart von Benzoylperoxyd wurde die *meso*- β,β' -Dichlor-adipinsäure, durch Photochlorierung eine höher- und eine niedrigerschmelzende Hexachloradipinsäure erhalten, deren Konstitutionen aufgeklärt wurden, sowie je ein kristallisierter Penta- und Heptachloradipinsäure-dimethylester isoliert.

W. TREIBS und H. WALTHER²⁾ erhielten bei der radikalischen Chlorierung von Adipinsäure-dichlorid bzw. -dimethylester *racem.* β,β' -Dichlor-adipinsäure vom Schmp. 126°, die sich von den beiden α,α' -Dichlor-adipinsäuren durch ihre relativ gute Benzollöslichkeit unterscheidet. Die *meso*- β,β' -Dichlor-adipinsäure (I) (Schmp. 209° [Zers.]; Dimethylester Schmp. 78–79°) wurde nun von uns durch Chlorierung der freien Adipinsäure mittels Sulfurylchlorids in Gegenwart von Benzoylperoxyd hergestellt. Die radikalische Chlorierung der freien Adipinsäure gelang jedoch nur im Gemisch mit Glutarsäure, die die Löslichkeit der Adipinsäure in Sulfurylchlorid erhöht. I konnte so durch direkte Chlorierung in ~20-proz. Ausb. erhalten und auf Grund ihrer Ätherunlöslichkeit isoliert werden.

Die Konstitution von I wurde sowohl durch die schon wiederholt beschriebene²⁾ Umsetzung des Dimethylesters mit wasserfreiem Natriumacetat in Eisessig nach

¹⁾ XXIV. Mitteil.: W. TREIBS und H. ORTMANN, Chem. Ber. **91**, 297 [1958].

²⁾ Chem. Ber. **88**, 396 [1955].