

kristallines Pulver, das unlöslich in Äther, Petroläther und Benzol, wenig löslich in Methanol ist und über 400° schmilzt. Zur Analyse wurde die Substanz i. Hochvak. bei 100° getrocknet.

$C_{31}H_{26}O_2N_2 \cdot C_6H_5O_7N_3$ (687.6) Ber. C 64.62 H 4.25 N 10.18
Gef. C 64.11 H 4.26 N 10.70

p-p'-Bis-{oxy-bis-[4-amino-biphenyl-(4')]-methyl}-azobenzol (XVI)

Man extrahiert den Rückstand der Acetonextraktion mit Dioxan, engt die tiefrote Lösung ein und versetzt mit der 4–5fachen Menge Äther. Nach 1–2 Tagen hat sich eine schmierige kirschrote, an der Oberfläche metallisch glänzende Substanz abgeschieden, die abgesaugt und in Eisessig gelöst wird. Man verdünnt mit Wasser und versetzt mit konz. Ammoniumoxalat-Lösung, wobei sich nach 1–2 Tagen feine dunkelrote, grün glänzende Nadeln abgeschieden haben, die sich durch Umfällen aus Pyridin-Lösung mit Chloroform reinigen lassen. Die Substanz ist unlöslich in Chloroform, Schwefelkohlenstoff, Butylacetat und Dekalin, wenig löslich in Alkoholen, Eisessig und Tetrahydrofuran, sehr leicht löslich in Anilin und Pyridin und schmilzt über 400°. Zur Analyse wurde sie i. Hochvak. bei 80° getrocknet.

$C_{62}H_{50}O_2N_8 \cdot 2C_5H_5N \cdot 2C_2H_2O_4$ (1249.4) Ber. C 73.06 H 5.16 N 8.97
Gef. C 72.80 H 4.62 N 9.02

p-Amino-*p'*-{oxy-bis-[4-amino-biphenyl-(4')]-methyl}-azobenzol (XVII)

Der Rückstand der Dioxanextraktion wird weiter mit Methanol erschöpfend extrahiert, der kirschrote Methanolextrakt trockengedampft, der erhaltene Rückstand in sehr wenig Methanol gelöst und die Lösung mit Benzol bis zur beginnenden Trübung versetzt. Nach kurzem Stehenlassen scheiden sich dunkel gefärbte grünschillernde Blättchen (0.9 g) ab, die durch Lösen in Methanol und Fällen mit Benzol gereinigt werden. Die Substanz ist unlöslich in Chloroform, Butylacetat, Benzol und Tetralin, schwer löslich in Aceton und Cyclohexanon, leicht löslich in Alkoholen mit tieferer Farbe. Sie wurde zur Analyse i. Hochvak. getrocknet.

$C_{37}H_{31}ON_5 \cdot 2HCl$ (634.5) Ber. C 70.03 H 5.24 N 11.04 Cl 11.17
Gef. C 70.26 H 6.21 N 11.09 Cl 10.99

29. Fritz Micheel und Egon Dinkloh: Kohlenhydrat-Eiweißverbindungen aus Proteinen und 1-Fluor-*d*-glucose (Kohlenhydrat-Eiweißverbindungen, VIII. Mittel.*)

[Aus dem Chemischen Institut der Universität Münster/Westf.]

(Eingegangen am 16. Oktober 1950)

Durch Umsatz von 1-Fluor-*d*-glucose mit verschiedenen Proteinen werden Kohlenhydrat-Eiweißverbindungen erhalten.

Vor einiger Zeit wurden mehrere Methoden beschrieben, mit deren Hilfe es gelingt, Mono-, Oligo- und Polysaccharide bzw. deren Derivate durch biologisch mögliche Bindungen mit verschiedenen Proteinen zu kondensieren*). Von der gebräuchlichsten Methode, Amino- oder Oxygruppen mit Hilfe von

*) Frühere Mitteilungen: I.: F. Micheel u. H. Dörner, Ztschr. physiol. Chem. **280**, 92 [1944]; II.: F. Micheel, Angew. Chem. [A] **59**, 212 [1947]; III.: F. Micheel u. J. Ewers, Makromol. Chem. **3**, 200 [1949]; IV.: F. Micheel u. K. Schmidt, Makromol. Chem. **3**, 210 [1949]; V.: F. Micheel u. U. Heuer, Makromol. Chem. **3**, 217 [1949]; VI.: F. Micheel u. A. Beckmann, Makromol. Chem. **3**, 247 [1949]; VII.: F. Micheel u. B. Herold, Naturwiss. **36**, 157 [1949].

Acetohalogenzuckern umzusetzen, wurde jedoch noch nicht Gebrauch gemacht, weil bei der nach erfolgter Kondensation erforderlichen Abspaltung der Essigsäuregruppen mit einer Denaturierung der nativen Proteine gerechnet werden müßte. Es müssen also von vornherein die acetylfreien 1-Halogenzucker zur Verwendung gelangen. Während die Essigsäurereste in den Acetobrom- und Acetochlorzuckern nicht ohne gleichzeitige Abspaltung der Halogenatome verseift werden können, ist dies bei den Aceto-fluorzuckern möglich. Wir verwandten bisher die β -1-Fluor-d-glucose¹⁾ und mußten zunächst auf die α -1-Fluor-d-glucose²⁾ mit Rücksicht auf das Fehlen geeigneter Platinapparaturen verzichten. Die 1-Fluor-d-glucose setzt sich in wäßriger Lösung bei 40° mit verschiedenen Proteinen um. Mit Rücksicht auf die Stabilität der Fluorglucose und der erhaltenen *N*-Glykoside der Aminosäuren wurde ein pH-Wert von etwa 7–8 aufrechterhalten. Bei Zimmertemperatur blieb die Reaktion aus. Nicht umgesetzte Fluorglucose bzw. durch Hydrolyse daraus entstandene Glucose wurden durch Dialyse entfernt. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tafel 1 zusammengefaßt:

Tafel 1. Umsetzung von β -1-Fluor-d-glucose mit Proteinen

Protein	% Kohlenhydrat im Ausgangsmaterial	% Kohlenhydrat im Umsetzungsprodukt	% Aufnahme an Kohlenhydrat
Gelatine	0.9	1.6	0.7
Serum-albumin(Rind)	0.05	1.0	1.0
Zein	0.4	1.1	0.7

Für die Reaktion mit der Fluorglucose kommen in erster Linie die freien Aminogruppen von Lysin-Resten oder endständigen Aminosäuren und die Oxygruppen von Tyrosin- und Serin-Resten in Betracht. Da das Zein keine Lysin-Reste enthält, scheiden ϵ -Aminogruppen in diesem Falle aus. Wie die Tafel zeigt, kann man nach diesem Verfahren auch in das Zein Zuckerreste einführen, während dies nach der auf Lysin-Reste ansprechenden Methode des Umsatzes mit Zucker-cyanamiden³⁾ nicht gelang. Zum Vergleich mit den Proteinen wurde auch der Umsatz von Aminosäuren mit β -1-Fluor-d-glucose studiert. Darüber wird in der anschließenden Mitteilung berichtet⁴⁾.

Der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft danken wir für ihre Unterstützung.

Beschreibung der Versuche

Die zu den Umsetzungen zu verwendende 1-Fluor-d-glucose<1.5> wird jeweils frisch durch Verseifung von β -Aceto-fluor-glucose nach der Methode von G. Zemplén hergestellt¹⁾.

Die Kohlenhydratbestimmung in den Umsetzungsprodukten erfolgt nach einem colorimetrischen Verfahren von M. Sörensen u. G. Haugaard²⁾ in einem zweistufigen Vergleichscolorimeter (Leitz). Hierbei tritt mitunter die Schwierigkeit auf, daß eine durch

1) B. Helferich u. R. Gootz, B. **62**, 2505 [1929]; diese Präparate enthalten wechselnde Mengen α -Form, die bei der Verseifung der Essigsäurereste entstehen.

2) B. Helferich, K. Bäuerlein u. F. Wiegand, A. **447**, 27 [1926].

3) F. Micheel u. K. Schmidt, Makromol. Chem. **3**, 210 [1949].

4) F. Micheel u. A. Klemer, anschließende Mitteilung.

5) Biochem. Ztschr. **260**, 247 [1933].

den Eiweißanteil bedingte Eigenfärbung die Farbtöne in den beiden Gesichtshälften des Colorimeters verschieden erscheinen läßt, so daß die Farbtintensitäten visuell nur sehr schwer zu vergleichen sind. Diesem Übelstand begegnet man durch Anwendung der Kompensationsmethode^{6,7)}.

Umsatz von 1-Fluor-*d*-glucose mit Proteinen

Im allgemeinen wurde folgendermaßen verfahren: Je 250 bzw. 500 mg Eiweiß werden mit der gleichen bis vierfachen Menge 1-Fluor-glucose in 20 bzw. 30 ccm Wasser unter wechselnden Zeit- und Temperaturbedingungen i. Ggw. von Natriumhydrogencarbonat als Puffer umgesetzt. Anschließend werden der Überschuß an Fluorglucose, durch Verseifung entstandene Glucose und die anorganischen Ionen durch Dialyse im Schnell-dialysator entfernt (2 Tage gegen fließendes Leitungswasser u. 1 Tag gegen fließendes dest. Wasser). Danach wird das Umsetzungsprodukt durch Ausfällen bzw. durch Verdampfen des Lösungsmittels isoliert, gewaschen und nach Trocknen i. Vak. bei Zimmertemperatur der Kohlenhydratbestimmung unterworfen.

Kondensation von 1-Fluor-*d*-glucose mit Gelatine: Die Einzelheiten der Versuchsbedingungen und die Ergebnisse sind aus folgender Tafel 2 zu ersehen:

Tafel 2. Kondensation von 1-Fluor-*d*-glucose mit Gelatine

Gelatine (Hollborn)	1-Fluor- glucose	Reaktions-		Kohlenhydrat-Gehalt		Zunahme des Kohlen- hydrat-Geh.
		Dauer	Tempera- tur	nach der Kupplung	vor der Kupplung	
500 mg	500 mg	24 Stdn.	40° C	1.6%	0.9%	0.7%
500 mg	900 mg	5 Tge.	Zimm.T.	0.9%	0.9%	—
250 mg	500 mg	3 Tge.	40° C	1.6%	0.9%	0.7%

Kondensation von 1-Fluor-*d*-glucose mit Rinder-Serum-albumin: 250 mg Rinder-Serum-albumin (Behring; Kohlenhydrat-Geh. 0.05%) werden mit 1 g 1-Fluor-glucose 3 Tage bei Brutschranktemperatur unter den oben angegebenen Bedingungen umgesetzt (Gesamtvolumen 40 ccm). Das Reaktionsprodukt ist ein amorphes farbloses Pulver und zeigt eine Zunahme des Kohlenhydrat-Gehalts von 1.0%.

Kondensation von 1-Fluor-*d*-glucose mit Zein: 250 mg Zein werden in warmem 90-proz. Methanol gelöst und mit einer methanol. Lösung von 1 g 1-Fluor-*d*-glucose versetzt. Nach dreitäg. Verweilen im Brutschrank bei 40° wird die Lösung gegen Wasser dialysiert, wobei das Zein bereits nach kurzer Zeit ausfällt; umgefällt wird aus Methanol mit Wasser. Das Reaktionsprodukt hat einen Kohlenhydrat-Gehalt von 1.1% (Zein 0.4%); Zunahme also 0.7%.

30. Fritz Micheel und Almuth Klemer: *N*-Glucoside von Aminosäuren

[Aus dem Chemischen Institut der Universität Münster/Westf.]

(Eingegangen am 16. Oktober 1950)

Die Darstellung von *N*-Glykosiden der α -Aminosäuren gelingt durch Umsatz von 1-Fluor-*d*-glucose mit den Aminosäuren in wäßriger Lösung bei p_H 7–8.

Die in der vorstehenden Mitteilung¹⁾ beschriebene Kondensation von 1-Fluor-*d*-glucose mit Proteinen ließ es wünschenswert erscheinen, die gleiche Reaktion mit freien Aminosäuren vorzunehmen. Da den *N*-Glykosiden von

⁶⁾ K. Bürker, Angew. Chemie **36**, 427 [1923].

⁷⁾ G. Kortüm, Colorimetrie und Spektralphotometrie, Berlin 1948.

¹⁾ F. Micheel u. E. Dinkloh, vorstehende Mitteil., B. **84**, 210 [1951].