

243. Richard Kuhn und Gerd Krüger: 1-Acetamino-lactose

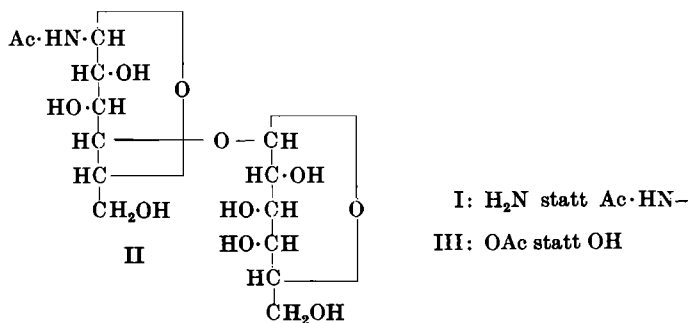
[Aus dem Max-Planck-Institut für Medizinische Forschung, Heidelberg,
Institut für Chemie]

(Eingegangen am 2. August 1954)

Aus 1-Amino-lactose läßt sich durch Einwirkung von Keten sowie durch Peracetylierung und anschließende Ammonolyse 1-Acetamino-lactose gewinnen, deren Eigenschaften mit denen der bekannten 2-Acetamino-lactose verglichen werden.

Durch Umsetzung von Milchzucker mit 40-proz. methanol. Ammoniaklösung unter Druck (50°) ist 1-Amino-lactose-hydrat (I) leicht erhältlich¹⁾. Läßt man darauf in wäßrig-methanol. Lösung Keten²⁾ einwirken, so erhält man das Dihydrat der 1-Acetamino-lactose(II) in centimeterlangen, farblosen Nadeln (65 % d.Th.). Das Drehungsvermögen $[\alpha]_D^{25}$: +1.5° (in Wasser, ohne Mutarotation) macht es wahrscheinlich, daß die Acetaminogruppe an die Stelle der 1-ständigen Oxygruppe der β -Lactose getreten ist, so daß 1-Desoxy-1-acetamino- β -lactose vorliegt.

Man gelangt zu derselben Verbindung, wenn man 1-Amino-lactose mit Pyridin-Acetanhydrid acetyliert und die schön kristallisierende, bitter schmeckende Oktaacetyl-Verbindung III (68 % d.Th.) mit halbgesättigter methanol. Ammoniaklösung bei etwa 20° verseift (85 % d.Th.). Reacetylierung von II führt zur Oktaacetyl-Verbindung III zurück.



Die 1-Acetamino-lactose ist geschmacklos. Sie gibt die für *N*-Acetylglucosamin bekannte Farbreaktion mit *p*-Dimethylamino-benzaldehyd (Morgan-Elson) nicht, läßt sich jedoch nach Rydon-Smith (Chlor, dann Benzidin) leicht nachweisen. Mit Anilinhydrophthalat erhält man keine Farbreaktion.

¹⁾ F. Micheel, R. Frier, E. Plate u. A. Hiller, Chem. Ber. 85, 1092 [1952]. Wir selbst erhielten nach dem Trocknen über Diphosphorpentoxyd bei 65° (12 Torr) stets Analysen, die nicht auf ein Hydrat, sondern auf ein Halbydrat stimmten:

C₁₂H₂₃O₁₀N + 1/2 H₂O (350.3) Ber. C 41.14 H 6.90 N 3.99 Gef. C 41.29 H 7.20 N 4.05

²⁾ Keten-Generator: G. Quadbeck, Chemie-Ing.-Techn. 24, 210 [1952].

Papierchromatographisch (Pyridin:Essigester:Wasser = 35:50:15) fanden wir auf Schleicher & Schüll-Papier Nr. 2043 b folgende Werte:

Substanz	R_{Glucose}	Mutarotation	Fehlingsche Lösung, NaOJ
1-Acetamino-lactose	0.53	keine (+1.5°)	reduziert nicht
2-Acetamino-lactose	0.70	+51.5° → +28.5°	reduziert

Im Gegensatz zur 2-Acetamino-lactose reduziert 1-Acetamino-lactose weder Hypojodit noch siedende Fehlingsche Lösung und zeigt keine Mutarotation.

Auffallend ist das Verhalten gegenüber Phenylhydrazin. Es scheidet sich kein Osazon ab, während die 1-Amino-lactose in derselben Ausbeute wie Milchzucker Lactosazon liefert. Die Acetylierung der 1-ständigen Amino-gruppe verhindert also die Osazonbildung. Bei 2-ständiger Aminogruppe ist ein gleichartiger Einfluß der *N*-Acetylierung festgestellt worden, aber doch nicht so ausgeprägt: *N*-Acetyl-glucosamin³⁾ und *N*-Acetyl-lactosamin⁴⁾ geben unter den Bedingungen E. Fischers⁵⁾ immerhin 8–10% d. Th. an Glucosazon bzw. Lactosazon. Der Unterschied im Verhalten gegenüber Phenylhydrazin kommt dadurch zustande, daß 1-Amino-lactose sehr viel leichter als 1-Acetamino-lactose, nämlich schon durch sehr verd. Säure in der Kälte, zu Lactose + Ammoniumsalz hydrolysiert wird. Das Drehungsvermögen in 2*n* Essigsäure/Natriumacetat = 1:1 (p_{H} 4.63) steigt von $[\alpha]_{\text{D}}^{25} : +37^{\circ}$ (für $t=0$ extrap., für wasserfreie 1-Amino-lactose ber.) mit einer Halbwertszeit von ~ 10 Min. auf den Endwert von $[\alpha]_{\text{D}}^{25} : +55.5^{\circ}$, der dem der α, β -Lactose entspricht. Papierchromatographisch war nach Ablauf der Drehungsänderung nur noch Lactose erkennbar. 1-Acetamino-lactose ändert dagegen ihr Drehungsvermögen in 2*n* Standard-Acetatpuffer nach 15 Stdn. und selbst nach 5 Min. langem Erhitzen mit 2*n* $\text{CH}_3 \cdot \text{CO}_2\text{H}$ auf 100° nicht.

Beschreibung der Versuche

1. 1-Acetamino-lactose aus 1-Amino-lactose und Keten: 5 g 1-Amino-lactose-halbhydrat wurden in 25 ccm Wasser gelöst und mit 225 ccm Methanol versetzt. Dann leitete man unter Eiskühlung solange Keten ein, bis die Ninydrin-Reaktion negativ war (etwa 1.5 Stdn.; die Ketenlampe lieferte etwa 0.6 Mol/Stde.). Gegen Ende der Reaktion schieden sich feine Kristalle ab. Man versetzte die Lösung mit dem dreifachen Volumen Aceton und ließ sie 3 Stdn. im Eisschrank stehen. Nun wurde abgesaugt, in 100 ccm warmem Wasser (40–50°) gelöst und mit dem vierfachen Volumen gleich temperiertem Aceton versetzt. Beim langsamen Abkühlen schieden sich große, farblose Nadelbüschel ab. Nach einmaligem Umkristallisieren aus Wasser + Aceton mit Hilfe von Tierkohle war die Substanz analysenrein. Weiteres Umkristallisieren änderte weder den Schmelzpunkt noch die Drehung. Ausb. 3.77 g 1-Acetamino-lactose-dihydrat (65% d. Th.). Schmp. 246–248° (Zers.). Zwischen 220 und 230° tritt bereits Verfarbung ein.

Zur Analyse wurde bei 78°/15 Torr über Diphosphorpentoxyd getrocknet.

$\text{C}_{14}\text{H}_{25}\text{O}_{11}\text{N} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (419.4) Ber. C 40.09 H 6.97 N 3.34 Gef. C 40.48 H 7.01 N 3.11

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} : +0.056^{\circ} \cdot 100/2 \cdot 1.90 = +1.5^{\circ} \pm 0.5^{\circ}$ (Wasser)

Die Substanz zeigt keine Mutarotation; sie ist geschmacklos.

³⁾ R. Kuhn, A. Gauhe u. H. H. Baer, Chem. Ber. 87, 289 [1954].

⁴⁾ R. Kuhn u. W. Kirschenlohr, Chem. Ber. 87, 560 [1954].

⁵⁾ Unter den Bedingungen von F. Weygand (Ber. dtsh. chem. Ges. 73, 1290 [1940]) sind hier die Ausbeuten keineswegs besser.

2. 1-Amino-oktaacetyl-lactose: 5 g 1-Amino-lactose-halbhydrat wurden bei Zimmertemperatur mit einem Gemisch aus 40 ccm Acetanhydrid und 40 ccm trockenem Pyridin übergossen. Nach 2 stdg. Schütteln auf der Maschine war alles in Lösung gegangen. Man beließ die Lösung während der Nacht bei Zimmertemperatur und erhitze dann noch $\frac{1}{2}$ Stde. auf dem Dampfbad. Nach dem Abkühlen versetzte man vorsichtig und unter Kühlung mit 100 ccm absol. Methanol und engte i. Vak. zum Sirup ein. Dies wurde nochmals wiederholt. Dann fügte man 25 ccm trockenes Toluol hinzu und engte zur Vertreibung der letzten Reste Pyridin erneut i. Vak. ein. Nun wurde der Sirup in 200 ccm Methanol gelöst, die Lösung mit Tierkohle geklärt und bei tiefer Temperatur (Bad 20–30°) i. Vak. solange eingedampft, bis eine starke Trübung auftrat. Durch Erwärmen brachte man alles wieder in Lösung, versetzte noch warm mit dem gleichen Volumen trockenen Äthers und ließ im Eisschrank auskristallisieren. Farblose Nadelchen; Ausb. 6.35 g (67.5% d. Th.). Die Substanz zeigt auch nach vielfachem Umkristallisieren (sowohl aus viel Wasser wie aus Methanol + Äther) keinen scharfen Schmelzpunkt. Zunächst Sintern (ab 135°), dann Schmelzen von 142–146°. Die Tröpfchen laufen nicht zusammen, sondern haften an der Kapillarwand.

Zur Analyse wurde bei 78°/15 Torr über Diphosphorpentoxyd getrocknet.

$C_{28}H_{30}O_{18}N \cdot H_2O$ (695.6) Ber. C 48.34 H 5.94 N 2.02 Gef. C 48.35 H 6.16 N 2.25

$[\alpha]_D^{25}$: +0.112° · 100/2 · 2.10 = +2.7° (in Chloroform)

$[\alpha]_D^{25}$: +0.223° · 100/2 · 1.51 = +7.4° (in Methanol)

Aus den Mutterlaugen läßt sich noch ein wenig weitere Substanz gewinnen.

3. Verseifung von 1-Amino-oktaacetyl-lactose zu 1-Acetamino-lactose:

a) 700 mg 1-Amino-oktaacetyl-lactose wurden in 50 ccm absol. Methanol gelöst, auf 0° abgekühlt und mit 50 ccm methanol. Ammoniaklösung (bei 0° gesättigt) versetzt. Man ließ unter Feuchtigkeitsausschluß über Nacht bei Zimmertemperatur stehen. Dann verdampfte man das Lösungsmittel i. Vak. bis auf 5 ccm, brachte den ausgefallenen Niederschlag durch Erwärmen wieder in Lösung und ließ im Eisschrank auskristallisieren. Der Niederschlag wurde abgesaugt, in 4 ccm Wasser (40–50°) gelöst und mit 16 ccm warmem Aceton versetzt. Die ausgefallenen farblosen Nadeln wurden abgesaugt und mit Aceton und trockenem Äther nachgewaschen; Ausb. 285 mg. Durch Aufarbeitung der Mutterlauge erhielt man weitere 50 mg, insgesamt also 335 mg (85% d. Th.). Schmelzpunkt, Misch-Schmelzpunkt und Drehung waren identisch mit dem nach 1. dargestellten Produkt.

$C_{14}H_{25}O_{11}N \cdot 2H_2O$ (419.4) Ber. C 40.09 H 6.97 N 3.34 Gef. C 40.29 H 6.89 N 3.10

b) 670 mg 1-Amino-oktaacetyl-lactose wurden in 15 ccm absol. Methanol gelöst und mit 1 ccm etwa $n_{10}^{20} CH_3ONa$ versetzt. Nach 5 Min. Erhitzen auf dem Dampfbad unter Feuchtigkeitsausschluß beließ man die Lösung 3 Tage im Eisschrank. Die ausgeschiedenen Kristalle saugte man ab und wusch mit absol. Methanol und trockenem Äther nach. Ausb. 265 mg *N*-Acetyl-1-amino-lactose (66% d. Th.). Nach einmaligem Umkristallisieren aus Wasser + Aceton zeigte das Präparat die gleichen Eigenschaften wie das nach 1. hergestellte Produkt.

4. 1-Amino-oktaacetyl-lactose aus 1-Acetamino-lactose: 400 mg 1-Acetamino-lactose wurden mit 20 ccm Essigsäureanhydrid + Pyridin (1:1) übergossen und bei Zimmertemperatur über Nacht stehengelassen. Dann versetzte man zweimal mit je 20 ccm absol. Methanol und einmal mit 10 ccm trockenem Toluol und engte jeweils i. Vak. zum Sirup ein. Nun löste man warm mit wenigen Tropfen Methanol und fügte trockenen Äther bis zur bleibenden Trübung hinzu. Man ließ die Lösung über Nacht im Eisschrank stehen und saugte dann die abgeschiedenen Kristalle ab. Sie wurden einmal aus 50 ccm kochendem Wasser unkristallisiert. Ausb. 520 mg (78% d. Th.). Schmelzpunkt und Misch-Schmp. waren identisch mit dem nach 2. dargestellten Präparat.

Die Substanzen wurden in kleinen Erlenmeyer-Kolben mit 5 ccm Wasser übergossen und dann im Dampfbad unter Aufsatz eines Trichterchens die angegebene Zeit lang erhitzt. Dann ließ man im Eisschrank erkalten, saugte ab, trocknete, wog und kristallisierte schließlich wie angegeben um

5. Osazon-Bildung von Lactose, 1-Amino-lactose und 1-Acetamino-lactose

	Lactose	1-Amino-lactose	1-Acetamino-lactose
Substanzmenge	301 mg	297 mg	300 mg
Phenylhydrazin-HCl	370 mg	350 mg	350 mg
Natriumacetat	1 g	1 g	1 g
Wasser	5 ccm	5 ccm	5 ccm
Dauer des Erhitzens	3 Stdn.	3 Stdn.	3 Stdn.
Rohprodukt	176 mg	172.5 mg	—
Ausbeute	33%	34%	—
Umkristallisiert aus	30 ccm H ₂ O	30 ccm H ₂ O	—
Schmelzp.	203–205° (Zers.)	202–204° (Zers.)	—
Misch-Schmp.	203–205° (Zers.)		

244. **Richard Kuhn und Werner Kirschenlohr: Synthese der 2-Acetamino-lactose**

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

(Eingegangen am 2. August 1954)

Durch katalytische Hydrierung von Lactosazon erhält man nebeneinander Lactosamin (2-Desoxy-2-amino-lactose) und Isolactosamin (1-Desoxy-1-amino-lactulose). Nach Peracetylierung und anschließender Ammonolyse wurden *N*-Acetyl-lactosamin (2-Acetamino-lactose) und *N*-Acetyl-isolactosamin (1-Acetamino-lactulose) chromatographisch getrennt. Die so synthetisch gewonnene 2-Acetamino-lactose ist in allen Eigenschaften identisch mit dem durch partielle Hydrolyse von Blutgruppen-Substanzen erhaltenen Disaccharid.

Im Jahre 1886 hat E. Fischer¹⁾ Glucosazon in alkohol.-wässriger Lösung mit Zinkstaub + Eisessig reduziert und dabei das linksdrehende Isoglucosamin (1-Desoxy-1-amino-fructose) erhalten, dessen Acetat und Oxalat schön kristallisierten. „Ich habe mich,“ so schrieb E. Fischer, „bereits überzeugt, daß das Phenyllactosazon bei der Behandlung mit Zinkstaub und Essigsäure neben Anilin und Ammoniak eine Verbindung liefert, welche ganz ähnliche Reaktionen wie die Glucosamine zeigt, und man darf also hoffen, auf diesem Wege eine größere Zahl von Ammoniakderivaten der Zuckerarten zu gewinnen. Für die Physiologen wird die Kenntnis solcher Verbindungen nicht ohne Interesse sein...“.

Seit 68 Jahren scheint die reduktive Spaltung des Phenyllactosazons nicht mehr studiert worden zu sein. Wir haben sie erneut in Angriff genommen und sind dabei – der Vermutung E. Fischers entsprechend – zu einer physiologisch hoch wirksamen Substanz gelangt.

Die Darstellung von Isoglucosamin konnten K. Maurer und B. Schiedt²⁾ dadurch wesentlich verbessern, daß sie *d*-Glucosazon mit Palladium katalytisch hydrierten. Die Ausbeute an krist. Acetat erreichte 60 % d.Theorie.

¹⁾ Ber. dtsh. chem. Ges. 19, 1920 [1886]. ²⁾ Ber. dtsh. chem. Ges. 68, 2187 [1935].