

245. **Richard Kuhn, Hans Helmut Baer und Adeline Gauhe: Die Konstitution der Lacto-N-biose I**

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

(Eingegangen am 2. August 1954)

Das Osazon der aus Frauenmilch gewonnenen Lacto-N-biose I ist identisch mit dem Osazon der synthetisch erhaltenen 3- β -*d*-Galaktosido-*d*-fructose (3- β -*d*-Galaktosido-*d*-glucose). Daraus folgt, daß die Lacto-N-biose I 3- β -*d*-Galaktosido-*N*-acetyl-*d*-glucosamin ist. In geringer Menge konnte aus Frauenmilch auch das isomere 4- β -*d*-Galaktosido-*N*-acetyl-*d*-glucosamin erhalten werden.

Durch partielle Säurehydrolyse des Oligosaccharid-Gemisches der Frauenmilch (Kohle-Eluat) sowie durch partielle Säurehydrolyse der krist. Lacto-*N*-tetraose ließ sich ein Disaccharid $C_{14}H_{25}O_{11}N$ in farblosen Nadeln vom Schmp. 166–167° gewinnen, das als Lacto-*N*-biose I bezeichnet wurde¹⁾. Das Drehungsvermögen beträgt $[\alpha]_D^{25} : +32^{\circ} \rightarrow +14^{\circ}$ (Wasser). Die außerordentliche Empfindlichkeit gegen verd. Alkali (0.025 *n* Na₂CO₃), welches schon bei 20° mit einer Halbwertszeit von etwa 30 Min. in *d*-Galaktose + Anhydro-*N*-acetyl-*d*-glucosamin (AAG) spaltet, hat die Konstitutionsaufklärung dieses Disaccharids sehr erschwert. Es erschien nicht nur aussichtslos, eine Permethylierung mit Dimethylsulfat + Lauge oder mit Methyljodid + Silberoxyd durchzuführen; es sind sogar alle Versuche fehlgeschlagen, mit Hypojodit eine Oxydation zur Lacto-*N*-bionsäure I durchzuführen, deren Hydrolyse darüber Aufschluß geben sollte, ob die Galaktose oder das *N*-Acetyl-glucosamin den reduzierenden Baustein darstellt. Denn auch unter Verwendung milder Alkalien + Jod wurde die Disaccharid-Bindung gespalten.

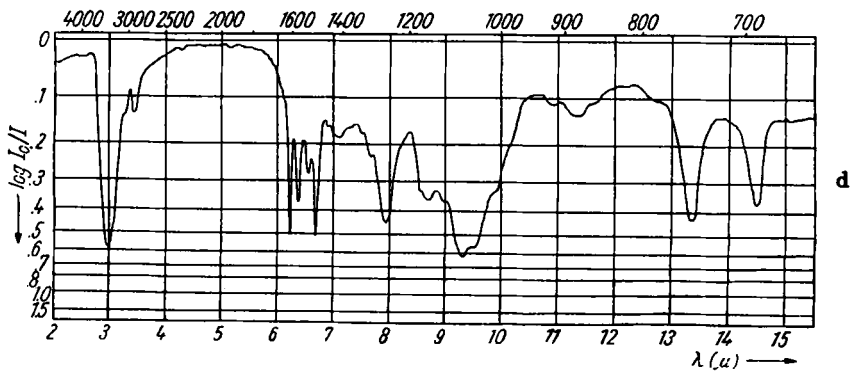
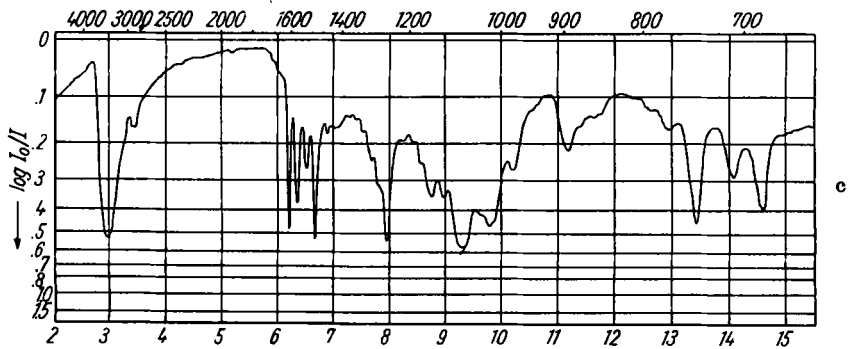
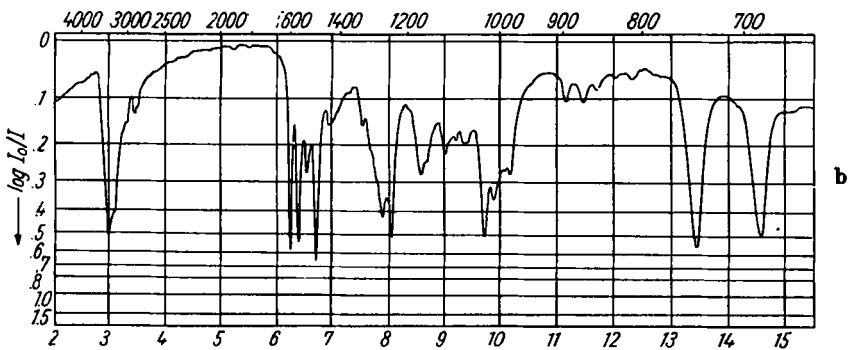
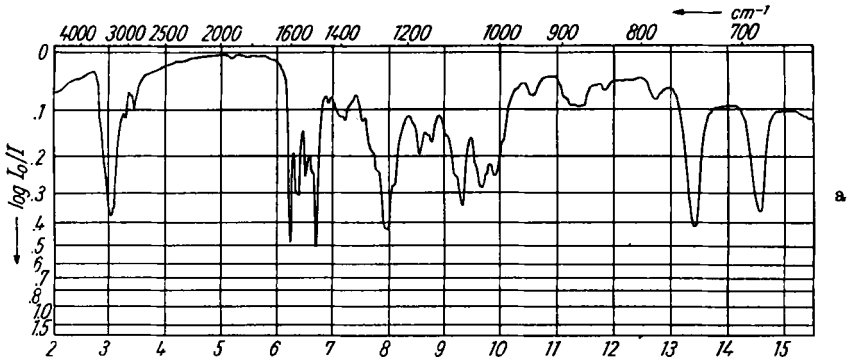
Eine Klärung der Konstitution erschien erst aussichtsreich, als sich zeigte, daß die Lacto-*N*-biose I mit Phenylhydrazin unter Eliminierung der Acetaminogruppe in einer Ausbeute von 14 % d. Th. ein in gelben Nadeln kristallisierendes Osazon $C_{24}H_{32}O_9N_4$ vom Schmp. 183.5–184° (Zers.) liefert. Denn dadurch ergab sich einerseits, daß der Acetyl-glucosamin-Rest der reduzierende ist, also ein Galaktosido-*N*-acetyl-glucosamin vorliegt. Andererseits mußte das erhaltene Osazon identisch sein mit dem einer Galaktosido-glucose (Galaktosido-fructose), die man hoffen durfte synthetisch gewinnen zu können. Die Osazone der Lactose²⁾ (Schmp. 210–212°) und der Allo-lactose³⁾ (Schmp. 192 bis 194°) gaben mit dem Osazon der Lacto-*N*-biose I starke Schmelzpunkts-Erniedrigungen (20–40°). Das aus Frauenmilch gewonnene Disaccharid konnte also nicht 4- β -Galaktosido- und auch nicht 6- β -Galaktosido-*N*-acetyl-glucosamin sein. Diese beiden Disaccharide sind zudem in jüngster Zeit als solche bekannt geworden und von der Lacto-*N*-biose I durchaus verschieden^{4, 5, 1)}.

¹⁾ R. Kuhn, A. Gauhe u. H. H. Baer, Chem. Ber. 87, 289 [1954].

²⁾ E. Fischer, Ber. dtsh. chem. Ges. 41, 76 [1908].

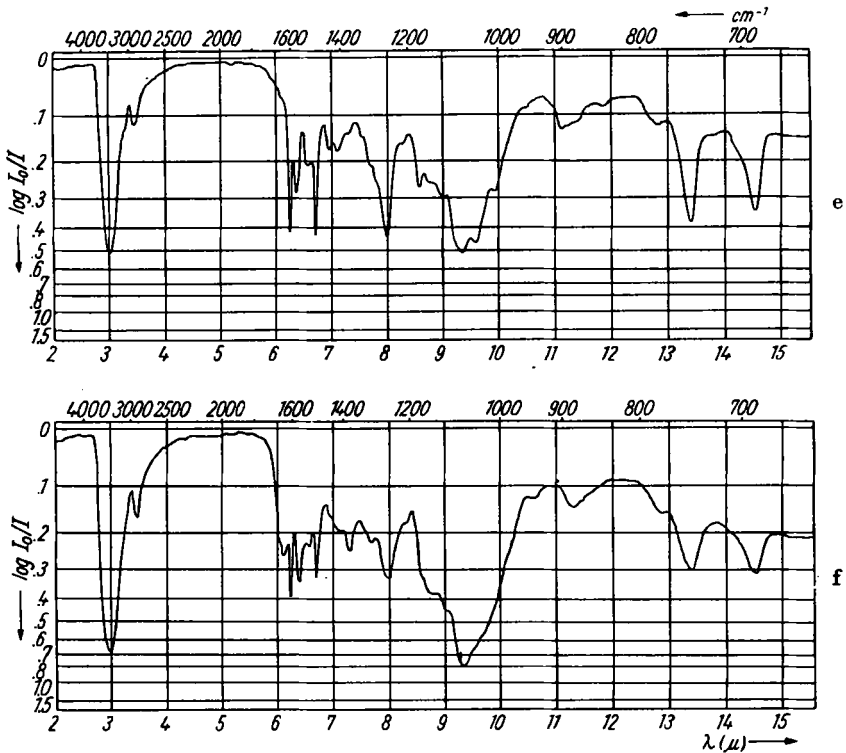
³⁾ Dargestellt nach B. Helferich u. G. Sparmberg, Ber. dtsh. chem. Ges. 66, 806 [1933]. ⁴⁾ R. Kuhn u. W. Kirschenlohr, Chem. Ber. 87, 560 [1954].

⁵⁾ R. Kuhn, A. Gauhe u. H. H. Baer, Chem. Ber. 87, 1138 [1954].



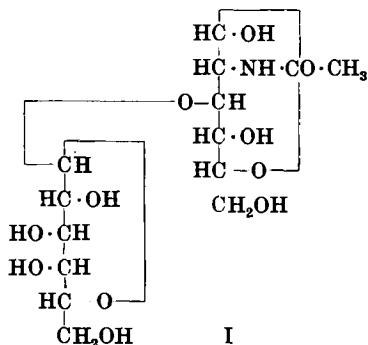
Da auch 5- β -Galaktosido-*N*-acetyl-glucosamin kaum in Betracht kam – die zentrale glykosidische Bindung der Lacto-*N*-tetraose hätte in diesem Falle entsprechend der furanosiden Struktur des N-haltigen Bausteins besonders leicht hydrolysierbar sein sollen – und *N*-Galaktosido-*N*-acetyl-glucosamin wegen der Biase-osazon-Bildung mit Sicherheit auszuschließen war, konnte man *per exclusionem* folgern, daß die Lacto-*N*-biose I 3- β -Galaktosido-*N*-acetyl-glucosamin ist. Dies sind die Gründe, die uns veranlaßt haben, die noch unbekannte 3- β -Galaktosido-glucose und 3- β -Galaktosido-fructose zu synthetisieren, worüber die nachstehende Arbeit berichtet.

Das Osazon dieser beiden synthet. Disaccharide hat sich nach Kristallform (Debye-Scherrer-Aufnahmen), nach Schmelzpunkt und Misch-Schmelzpunkt sowie im Ultrarot-Spektrum (s. Abbild.) als identisch mit dem Osazon der Lacto-*N*-biose I erwiesen. Das aus Frauenmilch isolierte Disaccharid ist somit 3- β -Galaktosido-*N*-acetyl-glucosamin(I).



Ultrarot-Spektren der Phenyllosazone von Glucose (a), Galaktose (b), 3- β -Galaktosido-glucose (c), 4- β -Galaktosido-glucose (Lactose, d), 6- β -Galaktosido-glucose (Allolactose, e) und Lacto-*N*-tetraose (f). Nur f zeigt die für die Acetaminogruppe charakteristische Bande bei 6.1 μ . Im Spektrum c ist die Bande bei 14.1 μ auffallend. Synthetische und aus Frauenmilch isolierte 3- β -Galaktosido-glucose (c) stimmen im gesamten Spektralbereich genau überein.

In Übereinstimmung mit dieser Formel verbraucht das Disaccharid in schwach saurer Lösung rasch 2 Moll. Perjodat (durch die beiden Glykolgruppierungen des Galaktose-Restes an C²-C³-C⁴) und langsam nur 2 weitere Moll., die von den Glykol-Gruppierungen des in der offenkettigen Gleichgewichtsform reagierenden *N*-Acetyl-glucosamin-Restes an C⁴-C⁵-C⁶ verbraucht werden⁶⁾. An Formaldehyd-dimedon-Verbindung wurde, wie es



der Formel entspricht, nach Verbrauch von 4 Moll. Perjodat in schwach saurer Lösung etwa 1 Mol. gefunden, wobei der Formaldehyd dem C-Atom 6 des Acetylglucosamin-Restes entstammt.

Vergleicht man die drei nunmehr bekannten Galaktosido-*N*-acetyl-glucosamine mit den entsprechenden Galaktosiden der Glucose und Fructose, so ergibt sich das Bild der Tafel 1.

Tafel 1. Vergleich zwischen den Galaktosiden des *N*-Acetyl-glucosamins und den entspr. Galaktosiden der Glucose und Fructose

Die R_{Glucose} -Werte beziehen sich auf Essigester: Pyridin:Wasser = 2:1:2 (obere Schicht)⁷⁾ auf Papier Schleicher & Schüll 2043b (absteigend)

Substanz	Schmp.	$[\alpha]_{\text{D}}$ (Wasser)	R_{Glucose}	Osazon Schmp.
3-β-Galaktosido- <i>N</i> -acetyl-glucosamin	166–167°	+14.0°	0.76	} 184–185°
3-β-Galaktosido-glucose	202–204°	+41.2°	0.70	
3-β-Galaktosido-fructose	197–199°	-27.1°	0.72	
4-β-Galaktosido- <i>N</i> -acetyl-glucosamin	170–171°	+30.9°	0.71	} 210–212°
4-β-Galaktosido-glucose	223°	+54.9°	0.53	
4-β-Galaktosido-fructose	158°	-51.5°	0.61	
6-β-Galaktosido- <i>N</i> -acetyl-glucosamin	~	+18.2°	0.59	} 192–194°
6-β-Galaktosido-glucose	174–176°	+30.7°	0.41	

Die Erkenntnis, daß die außerordentliche Alkali-Labilität der Lacto-*N*-biose I durch die Substitution des Acetylglucosamins in 3-Stellung bedingt wird, erweitert die Feststellungen von H. S. Isbell⁸⁾ über die Hydrolyse von

⁶⁾ Kinetik: Abbild. 2, Chem. Ber. 87, 292 [1954].

⁷⁾ Vergl. M. A. Jermyn u. F. A. Isherwood, Biochem. J. 44, 402 [1949].

⁸⁾ J. Res. nat. Bur. Standards 26, 35 [1941].

Turanose (3- α -Glucosido-fructose) in alkalischer Lösung sowie von J. Kenner⁹⁾, der vor kurzem die 3-Methyläther der Glucose und Fructose sowie die 3- β -Glucosido-glucose (Laminaribiose) als alkali-empfindlich erkannt hat. Vergleichende Versuche (Tafel 2) haben ergeben, daß das 3- β -Galaktosido-*N*-acetyl-glucosamin von 0.05*n* Na₂CO₃ noch leichter gespalten wird als die entsprechenden Galaktoside der Glucose und Fructose.

Tafel 2. Spaltungsversuche mit 0.05 *n* Na₂CO₃

Zucker	Grad der Spaltung, %	
	30 Min. bei 22°	5 Min. bei 98°
Lactose	völlig unversehrt, 0	unvollständig gespalten, 70 ^{*)}
3-Galaktosido-glucose	kaum gespalten, 1 ^{*)}	völlig gespalten, 100
3-Galaktosido-fructose	wenig gespalten, 5 ^{*)}	völlig gespalten, 100
Lacto- <i>N</i> -biose I	beträchtlich gespalten, 20 ^{**)}	völlig gespalten, 100

^{*)} Diese Zahlenangaben sind Schätzungen: sie beanspruchen nur grob näherungsweise Gültigkeit.
^{**)} Aus Versuchen mit Hypojodit ist sogar auf etwa 50 % Spaltung zu schließen.

Unter den Spaltprodukten fanden wir in allen Fällen Galaktose (und, bei den Spaltungen in der Hitze, deren Lobry-de-Bruyn-Umlagerungsprodukt Tagatose); die reduzierenden Komponenten der Disaccharide traten als solche nicht oder höchstens spurenweise auf, sie scheinen weitergehende Umwandlungen zu erleiden. Aus Lactose bildete sich überdies Lactulose.

Die Aufklärung der Lacto-*N*-biose I dürfte zum Verständnis der Alkalilabilität der Blutgruppensubstanzen beitragen. Denn aus diesen konnte neben dem recht stabilen 4- β -Galaktosido-*N*-acetyl-glucosamin in geringer Menge auch das hoch alkali-empfindliche 3- β -Galaktosido-*N*-acetyl-glucosamin in krist. Form gewonnen werden¹⁰⁾. Umgekehrt erhielten wir aus rohem, durch Partialhydrolyse des Frauenmilch-Oligosaccharid-Gemisches¹¹⁾ (nicht der krist. Lacto-*N*-tetraose!) gewonnenen 3- β -Galaktosido-*N*-acetyl-glucosamin in geringer Menge die isomere 4- β -Galaktosido-Verbindung (*N*-Acetyl-lactosamin) durch fraktionierte Kristallisation. Die 4- β -Biose ist in Methanol schwerer löslich als die 3- β -Biose. Aus 15 g Kohle-Eluat sind durch partielle Säurehydrolyse durchschnittlich 0.9 g chromatographisch (Kohle-Celite) von anderen Komponenten weitgehend befreites Galaktosido-*N*-acetyl-glucosamin erhalten worden, das zur Hauptsache aus 3- β -Biose bestand und 5–10 % krist. 4- β -Biose lieferte.

1.3-glykosidische Bindungen sind in natürlich vorkommenden Polysacchariden schon mehrfach angetroffen worden. Aus dem Laminarin

⁹⁾ W. M. Corbett, J. Kenner u. G. N. Richards, *Chem. and Ind.* **1953**, 154; J. Kenner u. G. N. Richards, *J. chem. Soc. [London]* **1953**, 2240; W. M. Corbett u. J. Kenner, ebenda **1953**, 2245; J. Kenner u. G. N. Richards, ebenda **1954**, 278. Eine Zusammenfassung über alkalilabile Glucoside gab H. S. Isbell, *Annu. Rev. Biochem.* **12**, 214 [1943].

¹⁰⁾ R. Kuhn u. W. Kirschenlohr, *Chem. Ber.* **87**, 1547 [1954], vorstehend.

¹¹⁾ A. Gauhe, P. György, J. R. E. Hoover, R. Kuhn, C. S. Rose, H. W. Ruehli u. F. Zilliken, *Arch. Biochem. Biophysics* **48**, 214 [1954].

der Braunalge *Laminaria*¹²⁾ sowie aus dem Glucan der Hefe¹³⁾ ist durch partielle Säurehydrolyse die 3- β -Glucosido-glucose (Laminaribiose) erhalten worden, deren Synthese K. Freudenberg und K. v. Oertzen¹⁴⁾ gelang. Auch in Agar¹⁵⁾ und anderen Algenpolysacchariden¹⁶⁾, ferner in mehreren Pflanzengummen (z. B. im Gummi arabicum) und Pflanzenschleimen sind 1,3-Bindungen enthalten¹⁷⁾. Nach R. E. Reeves und W. F. Goebel¹⁸⁾ besteht das Polysaccharid aus Pneumokokken Typ III aus 1,3-verknüpften Cellobiuronsäure-Resten. Aus der im Glaskörper des Auges, in der Haut, der Nabelschnur sowie in der Synovialflüssigkeit vorkommenden Hyaluronsäure erhielten M. M. Rapport, B. Weißmann, A. Linker und K. Meyer¹⁹⁾ durch partielle Säurehydrolyse die Hyalobiuronsäure, die als 3- β -*d*-Glucuronido-*d*-glucosamin erkannt wurde²⁰⁾. Es ist von Interesse festzustellen, daß diese Gruppierung in ihrer *N*-acetylierten Form, wie sie im Tierkörper verbreitet vorliegt, sich von dem aus Frauenmilch sowie – in geringerer Menge – aus den Blutgruppensubstanzen des Mekoniums isolierten Disaccharid nur dadurch unterscheidet, daß im einen Falle *d*-Glucuronsäure, im anderen *d*-Galaktose mit *N*-Acetyl-glucosamin in 3-Stellung verknüpft ist. Auch sei bemerkt, daß die bisher nur in Polysacchariden bekannten 1,3-Bindungen in der Frauenmilch in Form von Oligosacchariden (krist. Lacto-*N*-tetraose u. a.) vorkommen.

Hrn. Dr. W. Otting danken wir sehr für die Aufnahme der UR-Spektren, Hrn. E. Röhm für die Röntgenogramme, Fr. A. Seeliger und Fr. D. Tschampel für ihre eifrige Hilfe bei der Aufarbeitung der Frauenmilch und der chromatographischen Gewinnung der Oligosaccharide.

Beschreibung der Versuche

Lacto-*N*-biose I und *N*-Acetyl-lactosamin aus Kohle-Eluat von Frauenmilch

Die Darstellung reiner Lacto-*N*-biose I aus krist. Lacto-*N*-tetraose wurde bereits früher¹⁾ beschrieben. Unterwirft man an Stelle der krist. Tetraose das gesamte Oligosaccharid-Gemisch (Kohle-Eluat) aus Frauenmilch (15 g) der partiellen Säure-

¹²⁾ V. C. Barry, Sci. Proc. Roy. Dublin Soc. **22**, 423 [1941]; **22**, 59 [1939]; J. J. Connell, E. L. Hirst u. E. G. V. Percival, J. chem. Soc. [London] **1950**, 3494; E. G. V. Percival u. A. G. Ross, ebenda, **1951**, 720.

¹³⁾ L. Zechmeister u. G. Tóth, Biochem. Z. **270**, 309 [1934]; vergl. W. Z. Hassid, M. A. Joslyn u. R. M. McCready, J. Amer. chem. Soc. **63**, 295 [1941].

¹⁴⁾ Liebigs Ann. Chem. **574**, 37 [1951].

¹⁵⁾ W. G. M. Jones u. S. Peat, J. chem. Soc. [London] **1942**, 225; C. Araki, J. chem. Soc. Japan **58**, 1362 [1937]. Nach C. Araki u. S. Hirase (Bull. chem. Soc. Japan **27**, 109 [1954]) enthält Agar 1,3-verknüpfte Agarbiose-Reste (4- β -*d*-Galaktosido-3,6-anhydro-*l*-galaktose).

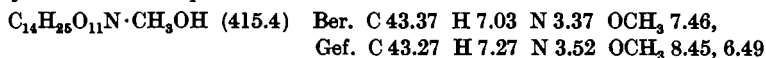
¹⁶⁾ Siehe hierzu T. Mori, Advances Carbohydrate Chem. **8**, 315 [1953].

¹⁷⁾ J. K. N. Jones u. F. Smith, Advances Carbohydrate Chem. **4**, 243 [1949].

¹⁸⁾ J. biol. Chemistry **139**, 511 [1941]; H. Markowitz u. M. Heidelberger, J. Amer. chem. Soc. **76**, 1313 [1954]. Über weitere Bakterien- und Pilzpolysaccharide siehe T. H. Evans u. H. Hibbert, Advances Carbohydrate Chem. **2**, 203 [1946] sowie M. Stacey u. P. W. Kent, ebenda **3**, 311 [1948]. ¹⁹⁾ Nature [London] **168**, 996 [1951].

²⁰⁾ B. Weißmann u. K. Meyer, J. Amer. chem. Soc. **74**, 4729 [1952]; **76**, 1753 [1954]. Über weitere Mucopolysaccharide siehe M. Stacey, Advances Carbohydrate Chem. **2**, 161 [1946].

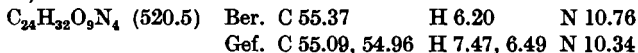
hydrolyse (n H₂SO₄, 30 Min., 98°), so erhält man nach der Chromatographie an Kohle-Celite 0.8–1 g rohe Lacto-*N*-biose I, welche wechselnde Mengen (5–10%) des isomeren *N*-Acetyl-lactosamins enthält. Infolge der Ähnlichkeit der R_{Glucose} -Werte der beiden Disaccharide (3- β -Biose = 0.76, 4- β -Biose = 0.71) überdecken sich ihre Flecke im Papierchromatogramm weitgehend. Besser als mit Anilinphtalat, welches mit Lacto-*N*-biose I eine dunklere, mit *N*-Acetyl-lactosamin eine gelblichere Braunfärbung ergibt, gelingt die Unterscheidung mittels der Morgan-Elson-Reaktion²¹). Hierbei färbt sich ein „Überlagerungsleck“ der beiden Disaccharide in seiner ganzen Ausdehnung blaßgelb, wenn man mit Alkali in der Hitze behandelt. Beim nachfolgenden Besprühen mit salzsaurem Dimethylamino-benzaldehyd tritt Violettfärbung auf, von der jedoch die langsame Randzone („Mondsichel“) nicht erfaßt wird. Bei der Kristallisation¹) der rohen Lacto-*N*-biose I fiel das begleitende *N*-Acetyl-lactosamin, das viel schwerer in Methanol löslich ist, in quadratischen Plättchen an, die 1 Mol. Kristallmethanol enthielten. Es kann allerdings in der Mutterlauge verbleiben, wenn es an Impfkristallen fehlt. Nach einmaligem Umkristallisieren aus Methanol lagen Schmelzpunkt und Misch-Schmelzpunkt mit *N*-Acetyl-lactosamin aus Mekonium bei 167–168° (ohne Braunfärbung). Im Gemisch mit Lacto-*N*-biose I trat Sintern ab etwa 130° ein, das bei 155–160° in unscharfes Schmelzen überging. Die Morgan-Elson-Reaktion war negativ⁵). Die UR-Spektren der *N*-Acetyl-lactosamin-Präparate aus Frauenmilch und aus Mekonium sind identisch.



3- β -Galaktosido-glucosazon aus Lacto-*N*-biose I: 350 mg krist., chromatographisch einheitliche Lacto-*N*-biose I, 2 g Phenylhydrazin-hydrochlorid und 1.2 g Natriumacetat + 3 H₂O wurden in 15 ccm Wasser heiß gelöst und nach einigen Minuten unter Zusatz von wenig Tierkohle heiß filtriert. Das Filtrat erhitzen wir 1 $\frac{3}{4}$ Stdn. auf dem Dampfbad. Danach wurde wenig dunkles Öl, welches sich abgeschieden hatte, durch Dekantieren der heißen Lösung abgetrennt und verworfen. Die abgegossene gelbe Lösung wurde auf 25 ccm verdünnt, heiß filtriert und im Eisschrank der Kristallisation überlassen. Nach mehreren Stdn. hatte sich ein rötlichgelber Niederschlag ausgeschieden, der abzentrifugiert und 3mal durch Verreiben mit Wasser im Zentrifugenglas gereinigt wurde. Wir erhielten so das Osazon als gelbes Pulver, das exsiccator trocken 67 mg wog (14% d. Th.) und bei 178–180° schmolz (Zers.).

Es wurde aus Wasser unter Zusatz von wenig Äthanol umkristallisiert, noch feucht in Aceton gelöst, mit trockenem Äther gefällt und erneut aus alkoholhaltigem Wasser umkristallisiert. Gelbe, nadelförmig zugespitzte, in Rosetten angeordnete Prismen vom Schmp. 183.5–184° (Zers.; Kupferblock auf 175° vorgeheizt).

Der Misch-Schmelzpunkt mit authent. 3- β -Galaktosido-glucosazon zeigte keine Erniedrigung: 184–185° (Zers.). Dagegen betrug der Misch-Schmelzpunkt mit gleichartig umkristallisiertem, bei 210–211° schmelzendem Lactosazon etwa 160–163° (Zers.). Der Misch-Schmelzpunkt mit Allolactosazon vom Schmp. 192–194° lag bei 152 bis 157° (Zers.).



Das Ultrarot-Spektrum des Osazons aus Lacto-*N*-biose I ist identisch mit dem des Osazons aus synthet. 3- β -Galaktosido-glucose bzw. -fructose, dagegen verschieden von den Spektren des Lactosazons und des Allolactosazons. Das gleiche gilt hinsichtlich der Debye-Scherrer-Röntgenogramme. Hierbei ist zu beachten, daß die zu identifizierenden Osazone auf die gleiche Art umkristallisiert sein müssen. Die besten Röntgenogramme erhielten wir, wenn wir die Osazone in feuchtem Aceton lösten, mit Äther fällten, die abzentrifugierten amorphen Fällungen in Äther aufschlammten und durch Zusatz von etwas Methanol unter Reiben mit dem Glasstab zur Kristallisation brachten.

²¹) S. M. Partridge, *Biochem. J.* **42**, 238 [1948].

Alkalisplaltung: Je 5 mg der in der Tafel 2 aufgeführten Disaccharide wurden in je 0.9 ccm Wasser gelöst und unter Zusatz von 0.1 ccm 0.5*n* Na₂CO₃ 5 Min. im siedenden Wasserbad bzw. 30 Min. bei 22° hydrolysiert. Die Hydrolysate wurden mit Austauschern Amberlite IR-4B und IR-120 von Ionen befreit und gefrier-getrocknet. Die Rückstände untersuchten wir papierchromatographisch auf die Spaltprodukte, wobei wir die schon früher von uns benutzte¹⁾ Methodik²⁾ anwandten. Besprüht wurde mit Anilinhydrogenphthalat, zur Unterscheidung der Ketosen und Aldosen mit Naphthoresorcin-Trichloressigsäure²²⁾.

246. Richard Kuhn und Hans Helmut Baer: Synthese der 3- β -*D*-Galaktosido-*D*-glucose und der 3- β -*D*-Galaktosido-*D*-fructose

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

(Eingegangen am 2. August 1954)

1,2,5,6-Diisopropyliden-*D*-glucofuranose bzw. 1,2,4,5-Diisopropyliden-*D*-fructopyranose geben mit Acetobromgalaktose nach Koenigs-Knorr in 3-Stellung verknüpfte Disaccharid-Derivate. Nach Abspaltung der Acetonreste und Acetylgruppen konnte chromatographisch krist. 3- β -*D*-Galaktosido-*D*-glucose sowie krist. 3- β -*D*-Galaktosido-*D*-fructose erhalten werden. Die beiden Disaccharide liefern dasselbe Phenylsazon.

Ein aus Frauenmilch sowie aus den Blutgruppensubstanzen des Mekoniums isoliertes Disaccharid, das aus *N*-Acetyl-*D*-glucosamin und *D*-Galaktose aufgebaut ist, hatte unter Abspaltung der Acetaminogruppe ein schön kristallisierendes Osazon ergeben, das von Lactosazon und von Allolactosazon verschieden war. Um zu prüfen, ob es sich um 3- β -*D*-Galaktosido-*D*-glucosazon handelt, haben wir die noch unbekanntenen 3- β -*D*-Galaktoside der *D*-Glucose und *D*-Fructose aufgebaut.

Als Vorbild diente die Synthese der 3- β -*D*-Glucosido-*D*-glucose (Laminariobiose) von P. Bächli und E. G. V. Percival¹⁾.

Die 3- β -Galaktosido-*D*-glucose (I) wurde in einer Ausbeute von 6% d.Th. (über alle Stufen) erhalten. Sie kristallisiert leicht aus feuchtem Methanol in farblosen Nadeln, die das Monohydrat der α -Form darstellen und bei 202–204° schmelzen (Braunfärbung). Bei 110° i. Vak. über Diphosphorpentoxyd erhält man das wasserfreie Disaccharid, das an feuchter Luft nur 1/2 Mol. Wasser wieder aufnimmt. Zum gleichen Semihydrat gelangt man auch, wenn man das lufttrockene Disaccharid (Monohydrat) bei etwa 20° über Diphosphorpentoxyd i. Vak. trocknet. Das wasserfreie Präparat, das Semihydrat und das Monohydrat unterscheiden sich in ihren Debye-Scherrer-Diagrammen, dagegen nicht im Schmelzpunkt. Die Drehung beträgt $[\alpha]_D^{25} : +76.7^\circ \rightarrow +41.2^\circ$ (wasserfreie Substanz in Wasser). Das Disaccharid schmeckt weniger süß als der isomere Milchzucker. Von Emulsin wird es

²²⁾ D. G. Walker u. F. L. Warren, Biochem. J. 49, XXX [1951].

¹⁾ J. chem. Soc. [London] 1952, 1243.