

pulvertes Diäthylaminomethyl-antipyrin-jodmethylat zugegeben und mit einer Lösung von 200 mg Natrium in 20 ccm absol. Alkohol versetzt. Nach $2\frac{1}{2}$ stdg. Erhitzen am Rückflußkühler war aus dem milchigen Reaktionsgemisch eine klare Lösung entstanden. Es wurde noch 1 Stde. lang weiter erhitzt, dann i. Vak. stark eingengt, unter Zusatz von Diäthylamin mit Wasser verdünnt und mit Äther ausgeschüttelt. Aus der wässrigen Lösung fiel nach dem Ansäuern mit verd. Essigsäure ein gelbes Öl (V) aus. Dieses wurde mit Äther extrahiert, die äther. Lösung mit Natriumsulfat getrocknet und durch Zusatz von Diäthylamin ein zunächst öliges Produkt ausgefällt, das im Eis-Kochsalzbad beim Reiben mit dem Glasstab zu einem Kristallbrei erstarrte. Es wurde abgesaugt, mit Äther gewaschen und getrocknet. Ausb. 1.7 g (48% d. Th.). Nach Umkristallisieren aus etwa der zehnfachen Menge Essigester Schmp. 112°.

$C_{20}H_{30}O_5N_4$ (406.5) Ber. C 59.1 H 7.4 N 13.8 Gef. C 59.1 H 7.5 N 13.8

Piperidiniumsalz des α -Nitro- β -antipyrinyl-propionsäure-äthylesters (VII): Das Diäthylammoniumsalz (Schmp. 112°) wurde in Wasser gelöst und die Nitroverbindung mit verd. Salzsäure unter Kühlung ausgefällt. Das farblose Öl wurde mit Äther ausgeschüttelt, die äther. Lösung mit Natriumsulfat getrocknet und i. Vak. eingedampft. Als Rückstand blieb ein sehr zähes, farbloses Öl (V), das nicht zur Kristallisation zu bringen war. Es wurde in absol. Äther gelöst und eine äther. Lösung von Piperidin zugesetzt. Aus der klaren Lösung fiel beim Reiben mit dem Glasstab und Kühlen im Eis-Kochsalzbad das Salz rasch in Form eines farblosen Kristallpulvers aus. Schmp. 113-114° (Essigester).

$C_{21}H_{30}O_5N_4$ (418.5) Ber. C 60.3 H 7.2 N 13.4 Gef. C 60.0 H 6.9 N 13.5

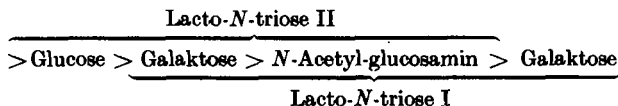
150. Richard Kuhn, Adeline Gauhe und Hans Helmut Baer: Lacto-*N*-triose I und Lacto-*N*-triose II

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

(Eingegangen am 22. Dezember 1955)

Die beiden N-haltigen Trisaccharide, die bei partieller Säurehydrolyse des Tetrasaccharids der Frauenmilch gebildet werden, ließen sich kristallisiert gewinnen und durch schöne Phenyllosazone kennzeichnen. Ihr Verhalten gegen Enzyme und gegen verd. Alkali steht in Übereinstimmung mit den bereits ermittelten Konstitutionsformeln.

Erwärmt man krist. Lacto-*N*-tetraose mit $n/1$ Schwefelsäure 30 Min. im siedenden Wasserbad, so treten neben D-Glucose, D-Galaktose und *N*-Acetyl-D-glucosamin noch 3 Disaccharide (Lactose, Lacto-*N*-biose I = 3- β -D-Galaktosido-*N*-acetyl-D-glucosamin, Lacto-*N*-biose II = 3- β -*N*-Acetyl-D-glucosaminido-D-galaktose) sowie 2 Trisaccharide (Lacto-*N*-triose I und Lacto-*N*-triose II) auf¹). Die Trisaccharide stehen zur Tetraose in folgender Beziehung²):



Die Lacto-*N*-triose I ist, wie wir bei durchgreifender Säurehydrolyse feststellten, frei von Glucose und papierchromatographisch die langsamer wan-

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

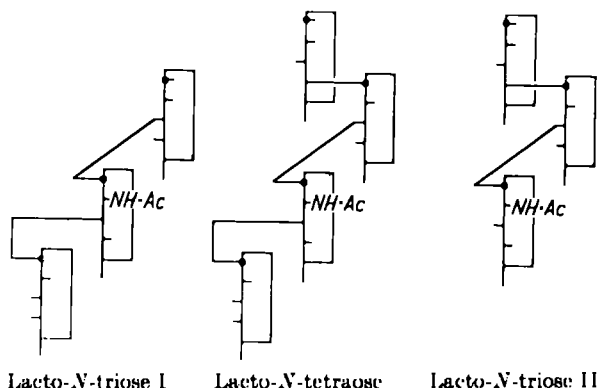
²) R. Kuhn u. H. H. Baer, Chem. Ber. 89, 504 [1956].

dernde ($R_{\text{Lactose}} = 0.51$). Die Lacto-*N*-triose II enthält Glucose und wandert rascher ($R_{\text{Lactose}} = 0.70$). Um größere Mengen der beiden Trisaccharide zu gewinnen, haben wir 120 g eines Oligosaccharidgemisches aus Frauenmilch der partiellen Säurehydrolyse unter den angegebenen Bedingungen unterworfen. Durch Trennung der Spaltstücke, zunächst an Kohle-Celite-Säulen und anschließend an Cellulose-Säulen, ließen sich die beiden Trisaccharide in chromatographisch einheitlicher Form gewinnen.

Die glucose-freie Lacto-*N*-triose I kristallisiert in farblosen kristallwasserhaltigen Nadelchen, die bei 183–185° unter Zersetzung schmelzen. Die Drehung beträgt $[\alpha]_{\text{D}}^{25} : +19.3^{\circ}$ ($c = 2$, in Wasser, Endwert). Mit Phenylhydrazin liefert sie ein Phenylsazon, das sich aus Wasser auf Zusatz von Aceton in gelben feinen Nadeln vom Zersp. 267–268° abscheidet. Das IR-Spektrum des Osazons, das 5 N-Atome enthält, zeigt deutlich die der Acetaminogruppe zugehörigen Banden bei 6.08 und 6.38 μ .

Die glucose-haltige Lacto-*N*-triose II läßt sich ebenfalls in kristallwasserhaltigen Nadelchen gewinnen. Der Schmp. ist 201–202° (Zers.), die Drehung beträgt $[\alpha]_{\text{D}}^{25} : +40.7^{\circ}$ ($c = 2$, in Wasser). Das Phenylsazon erhielten wir in hellgelben Nadeln vom Zersp. 230°, deren IR-Spektrum Banden bei 6.05 und 6.36 μ zeigt.

Die ausführlichen Konstitutionsformeln der beiden Lacto-*N*-triosen sind bereits im Zusammenhang mit der Strukturaufklärung der Lacto-*N*-tetraose³⁾ mitgeteilt worden. In abgekürzter Schreibweise stellen sie sich wie folgt dar:



Der Erwartung entsprechend ist die Triose I gegen verd. Natriumcarbonatlösung in der Wärme viel empfindlicher und liefert viel reichlicher AAG^{1,3)} (Chromogen der Farbreaktion mit *p*-Dimethylamino-benzaldehyd nach Morgan-Elson) als die Triose II. Denn nur sie enthält als Baustein das hoch alkaliempfindliche 3- β -D-Galaktosido-*N*-acetyl-D-glucosamin (Lacto-*N*-biose I). Zudem ist diese Gruppierung in der Triose I nur durch die gleichfalls, wenn auch weniger, alkalilabile 1,3-Bindung der Lacto-*N*-biose II vom reduzierenden Ende her (wo der alkalische Angriff einsetzt) geschützt.

³⁾ R. Kuhn, A. Gauhe u. H. H. Baer, Chem. Ber. 87, 1138 [1954].

Die verhältnismäßig große Alkalistabilität der Lacto-*N*-tetraose führen wir darauf zurück, daß in ihr die 1.4-Bindung der reduzierenden Hälfte (Lactose) das Fortschreiten der im Glucoserest beginnenden alkalischen Zerstörung auf die alkaliempfindlichen 1.3-Bindungen wesentlich erschwert.

Im Verhalten gegen Enzyme unterscheiden sich Lacto-*N*-triose I und Lacto-*N*-triose II in charakteristischer Weise. Die gefundenen Unterschiede sind auf Grund der Konstitutionsformeln gut verständlich.

Die Triose I sollte, da sie einen endständigen β -D-Galaktopyranosido-Rest enthält, von β -Galaktosidasen unter Bildung von D-Galaktose und Lacto-*N*-biose II gespalten werden. In der Tat fanden wir, daß Mandelemulsin (E. Merck) und ein aus den Milchdrüsen eines laktierenden Schweines gewonnenes Enzympräparat (das Lactose und β -Phenyl-D-galaktosid zu spalten vermochte) die Lacto-*N*-triose I in Galaktose und Lacto-*N*-biose II zerlegten. Im Falle des Emulsins, das β -*N*-Acetyl-D-glucosaminidase enthält, wurde etwas von der gebildeten Lacto-*N*-biose II weiter unter Bildung von *N*-Acetyl-D-glucosamin gespalten. Geringe Mengen von höheren Transgalaktosidierungsprodukten traten in jedem Falle auf. Ganz anders verhielt sich ein β -Galaktosidase-Präparat aus *Escherichia coli*⁴⁾, von dem uns bekannt war, daß es weder 3- β -D-Galaktosido-*N*-acetyl-D-glucosamin, d. h. Lacto-*N*-biose I, noch die isomere 4- β -Verbindung, d. h. *N*-Acetyl-lactosamin⁵⁾, zu hydrolysieren vermag, trotz starker Wirkung auf Lactose und 3- β -D-Galaktosido-D-glucose⁶⁾. Der Erwartung entsprechend ergab sich, daß auch die Lacto-*N*-triose I von diesem Präparat aus *E.coli* nicht angegriffen wird.

Die Triose II sollte, da sie einen endständigen β -*N*-Acetyl-D-glucosaminido-Rest enthält, im Gegensatz zur Triose I von β -*N*-Acetyl-D-glucosaminidase hydrolysiert werden unter Bildung von Lactose und *N*-Acetyl-D-glucosamin. Diese Erwartung fanden wir bei Anwendung eines Enzympräparates aus *Aspergillus oryzae*⁷⁾ bestätigt. Mit einem lactase-haltigen Präparat, das aus *Dymal* gewonnen war⁷⁾, verlief die Spaltung der Triose II bis zu Glucose + Galaktose + *N*-Acetyl-glucosamin. Auch Emulsin (E. Merck), das Lactose sowie β -Glykoside des *N*-Acetyl-D-glucosamins spaltet, vermochte langsam die Triose II bis zu den 3 Monosacchariden zu zerlegen.

Hrn. Dr. W. Otting danken wir für die Aufnahme der IR-Spektren, Frl. D. Tschampel und Hrn. W. Dafeldecker für präparative und analytische Unterstützung.

Beschreibung der Versuche

Partialhydrolyse des Tetrasaccharids; Isolierung der Lacto-*N*-triosen I und II: Die partielle Säurehydrolyse der krist. Lacto-*N*-tetraose und die Trennung der mono- und disaccharidischen Hydrolysenprodukte auf einer Kohle-Celite-Säule haben wir bereits früher¹⁾ beschrieben. Nach Elution der Lacto-*N*-biose I erhielten wir mit 10- und 20-proz. Alkohol Gemische der beiden Lacto-*N*-triosen (185 mg aus 1.897 g Tetrasaccharid), welche allerdings ziemlich viel unverändertes Tetrasaccharid enthielten.

⁴⁾ R. Kuhn, H. H. Baer u. A. Gauhe, Chem. Ber. 88, 1713 [1955].

⁵⁾ R. Kuhn u. W. Kirschenlohr, Chem. Ber. 87, 1547 [1954].

⁶⁾ R. Kuhn u. H. H. Baer, Chem. Ber. 87, 1560 [1954].

⁷⁾ R. Kuhn u. H. Tiedemann, Chem. Ber. 87, 1141 [1954].

Die Isolierung größerer Mengen der beiden Trisaccharide erfolgte aus Partialhydrolysaten^{1,2)} von Frauenmilch-Oligosaccharidgemisch („Kohle-Fluaten“³⁾). Die Hydrolysate wurden an Kohle-Celite-Säulen fraktioniert, die hierbei erhaltenen unreinen Gemische der Lacto-*N*-triosen an Cellulose-Säulen chromatographisch getrennt. Als Beispiel beschreiben wir die Fraktionierung eines Partialhydrolysats von 7.5 g lactose-haltigem Oligosaccharidgemisch – 30 Min. mit 750 ccm 1*N*-H₂SO₄ bei 98° hydrolysiert und nach Entfernung der Schwefelsäure mittels Bariumhydroxydlösung auf 250 ccm eingengt – an einer Säule (ø 4.7 cm) aus 120 g Carboraffin-Celite-Gemisch 1:1. Der Verlauf der Elution geht aus Tafel I hervor.

Tafel I. Fraktionierung eines Partialhydrolysats aus 7.5 g Oligosaccharidgemisch. (Die papierchromatographisch nur in geringen Mengen nachgewiesenen Komponenten sind eingeklammert)

Fraktion	Lösungsmittel	ccm	mg	Substanzen
1–20	Wasser	2000	verworfen	Monosaccharide (etwa 4 g)
21–25	2% Alk.	500	36	Höhere Saccharide ($R_{\text{Lactose}} < 1.0$)
26–38	2% Alk.	1300	795	Lactose, Lacto- <i>N</i> -biose II, (höhere Saccharide)
39–56	2% Alk.	1800	313	Lactose, Lacto- <i>N</i> -biose II, AAG
57–64	2% Alk.	800	38	Lactose, Lacto- <i>N</i> -biose II, (AAG), (höhere Saccharide)
65–72	4% Alk.	800	36	Lactose, Lacto- <i>N</i> -biose II, <i>N</i> -Acetyl-lactosamin
73–74	4% Alk.	200	37	(Lactose), <i>N</i> -Acetyl-lactosamin
75–82	4% Alk.	800	94	(Lactose), (<i>N</i> -Acetyl-lactosamin), Lacto- <i>N</i> -biose I
83–97	4% Alk.	1500	72	Lacto- <i>N</i> -biose I, (höhere Saccharide)
98–109	4% Alk. + 6% Alk.	600 600	160	(Lacto- <i>N</i> -biose I), höhere Saccharide
110–125	6% Alk.	1600	7	–
126–147	6% Alk.	2200	127	unbekannte Saccharide ($R_{\text{Lactose}} \sim 0.45$)
148–162	10% Alk. 15% Alk. 20% Alk.	500 500 500	663	Lacto- <i>N</i> -triose I, Lacto- <i>N</i> -triose II, Lacto- <i>N</i> -tetraose, höhere Saccharide
163–172	25% Alk. 30% Alk.	500 500	589	(Lacto- <i>N</i> -triose I), Lacto- <i>N</i> -tetraose, höhere Saccharide

Die 16 derartigen Ansätzen entstammenden Trisaccharid-Mischfraktionen (7.3 g aus 120 g Oligosaccharidgemisch) haben wir auf 2 Cellulose-Säulen⁴⁾ verteilt und mit je 12 l *n*-Butanol-Pyridin-Wasser 6:1:1 entwickelt. Das durchgelaufene Lösungsmittel wurde verworfen. Die ausgepressten Säulen zerlegten wir in eine Anzahl von Abschnitten. Durch Elution kleiner Proben und Papierchromatographie lokalisierten wir die getrennten Komponenten, die daraufhin durch Elution der entsprechenden Säulenabschnitte mit Wasser gewonnen wurden. Eindampfen i. Vak. ergab so 0.84 g rohe Lacto-*N*-triose II, 0.47 g einer Mischfraktion der beiden Triosen, 1.31 g rohe Lacto-*N*-triose I sowie 3.45 g eines

³⁾ R. Kuhn, H. H. Baer u. A. Gauhe, Chem. Ber. 87, 1553 [1954].

⁴⁾ A. Gauhe, P. György, J. R. E. Hoover, R. Kuhn, C. S. Rose, H. W. Ruelius u. F. Zilliken, Arch. Biochem. Biophysics 48, 214 [1954].

Gemisches aus Lacto-*N*-tetraose und höheren Oligosacchariden. Alle Fraktionen stellten, gegebenenfalls nach Behandlung mit etwas Aktivkohle und Abdampfen mit absol. Äthanol, weiße amorphe Pulver dar.

Acetolyse: 5 g lactose-freies Oligosaccharidgemisch wurden in eine eisgekühlte Mischung von 100 ccm Acetanhydrid, 100 ccm Eisessig und 10 ccm konz. Schwefelsäure eingetragen und 48 Stdn. verschlossen bei 20° stehengelassen. Nach Entfernung geringfügiger ungelöster Reste (Glasfritte!) ließen wir die bräunliche Lösung in 900 ccm Eiswasser unter Rühren einlaufen. Anschließend wurde mit Natriumcarbonat versetzt, bis die Lösung gerade noch kongosauer war, und, nach 15 Stdn., 6mal mit je 50 ccm Chloroform ausgeschüttelt. Die Chloroformextrakte wurden 3mal mit 25 ccm Wasser gewaschen, filtriert, mit Natriumsulfat getrocknet und i. Vak. eingedampft. Nach mehrmaligem Abdampfen mit Toluol und absol. Methanol wurde der Rückstand in 200 ccm absol. Methanol aufgenommen. Diese Lösung versetzten wir unter Kühlung mit 200 ccm einer bei 0° gesättigten absol.-methanolischen Ammoniaklösung. Nach 6stdg. Stehenlassen bei 20° wurde die Lösung durch Einengen i. Vak. (Badtemp. 20°) auf 50 ccm vom Ammoniak weitgehend befreit. Auf Zusatz von ca. 250 ccm Essigester fielen die entacetylierten Acetolysenprodukte in Form von hygroskopischen weißen Flocken aus, die abgesaugt, mit Essigester gewaschen und im Exsiccator getrocknet wurden. Ausb. 4.3 g. Die papierchromatographische Prüfung zeigte die Anwesenheit von Fucose, Glucose, Galaktose, Lacto-*N*-biose I, Lacto-*N*-biose II, Lacto-*N*-triose I und Lacto-*N*-tetraose. Ferner waren Spuren von Acetyl-glucosamin und Lacto-*N*-triose II sowie geringe Mengen höherer Saccharide zu erkennen. Mit Hilfe der Chromatographie an Cellulose-Pulver gelang uns die Isolierung von 170 mg Lacto-*N*-triose I. Wie wir uns an einem kleineren Ansatz überzeugten, läßt sich die Ausbeute an Lacto-*N*-triose I steigern, wenn man nur 24 statt 48 Stdn. acetolysiert. Hierbei treten Galaktose und Lacto-*N*-biose I noch kaum in Erscheinung.

Lacto-*N*-triose I: Zur Kristallisation lösten wir 500 mg rohes Trisaccharid in 5 ccm Wasser und filtrierten heiß unter Zusatz von Tierkohle; das Filter wurde mit 2 ccm Wasser gewaschen. Das etwas trübe Filtrat wurde auf dem Wasserbad erwärmt und mit 12 ccm absol. Äthanol versetzt. Nach Entfernung der hierbei abgeschiedenen Flocken gaben wir eine Spatelspitze reines Cellulosepulver zu der opaleszierenden Lösung und ließen vorsichtig einige Minuten sieden. Das klare Filtrat lieferte zusammen mit der wäbrig-alkoholischen Waschlösung beim langsamen Eindunsten in der Kristallisationsschale einen weißen Rückstand, der auf dem Wasserbad mit Methanol digeriert wurde. Hierbei trat sofort Kristallisation zu feinen mikroskopischen Nadelchen ein. Der Kristallbrei wurde etwa 15 Min. lang mit mehreren kleinen Portionen siedenden Methanols sorgfältig verrieben, dann abgesaugt und mit kaltem absol. Methanol gewaschen. Die luftgetrocknenen Nadeln (320 mg) zersetzen sich bei 183–185° unter Braunfärbung und Sintern. Eine Probe verlor beim Trocknen bei 80°/3 Torr über Diphosphorpentoxyd 6.8% ihres Gewichts. Erhöhung der Temperatur auf 110° bewirkte keinen weiteren Gewichtsverlust; dennoch wird anscheinend $\frac{1}{2}$ Mol. Kristallwasser hartnäckig zurückgehalten.

$C_{20}H_{35}O_{16}N \cdot \frac{1}{2}H_2O$ (554.5) Ber. C 43.32 H 6.54 N 2.53 Äquiv.-Gew. 554.5
Gef. C 43.18 H 6.27 N 2.68 „ „ 555*)

*) jodometrisch nach Macleod-Robison.

Die getrocknete Substanz ist hygroskopisch. Eine Probe nahm an feuchter Luft wieder 6.9% an Gewicht zu, was einer Aufnahme von etwa 2 Moll. H_2O (ber. 6.5%) entspricht. Die Analyse stimmt jedoch besser auf 2 als auf 2.5 Moll. Kristallwassergehalt:

$C_{20}H_{35}O_{16}N \cdot 2H_2O$ (581.5) Ber. C 41.30 H 6.76 Gef. C 41.47 H 6.75
[α]_D²⁰: +21.5° (4 Min.) → +19.3° (1 und 15 Stdn., luftgetrockene Triose in Wasser, $c = 2$).

5 mg krist. Lacto-*N*-triose I wurden in verschlossener Ampulle 12 Stdn. bei 98° mit 2 ccm $n H_2SO_4$ hydrolysiert. Nach Neutralisation mit Bariumhydroxydlösung zeigte das Papierchromatogramm Galaktose und Glucosamin.

Lacto-*N*-triose I-phenylosazon: Etwa 500 mg Lacto-*N*-triose I (aus der Mutterlauge von der Kristallisation eines chromatographisch einheitlichen Präparats)

wurden mit 1.5 g Phenylhydrazin-hydrochlorid und 1.5 g Natriumacetat-3H₂O in 10 ccm Wasser 2 Stdn. im siedenden Wasserbad erhitzt. Aus der mit wenig Tierkohle heiß filtrierten Lösung schied sich nach dem Abkühlen das Osazon in gelben Flocken ab. Sie wurden abgetrennt, 3mal durch Zentrifugieren mit Wasser gewaschen und wogen exsiccator trocken 95 mg (15% d. Th.). Nach zweimaligem Waschen des gelben Pulvers mit wenig trockenem Aceton erhielten wir es aus Wasser auf Acetonzusatz kristallisiert (2 Tage bei +4°): sehr feine Nadeln, die sich bei 267–268° zersetzen ohne zu schmelzen. Im IR-Spektrum erkennt man die Banden der Acetaminogruppe bei 6.08 und 6.38 μ .

Zur Analyse wurde bei 80° i. Vak. über Diphosphorpentoxyd getrocknet.

C₃₂H₄₅O₁₄N₅ (723.7) Ber. C 53.10 H 6.27 N 9.68 Gef. C 52.80 H 6.65 N 9.73

Lacto-N-triose II: Wir lösten 800 mg rohe Triose II in 12 ccm Wasser und klärten die Lösung durch Erhitzen mit Tierkohle. Zum Filtrat fügten wir in der Hitze absol. Äthanol, bis sich Flocken abzuschcheiden begannen. Diese wurden nach längerem Stehenlassen bei +4° abzentrifugiert. Da aus der überstehenden Lösung auf weiteren Alkoholzusatz keine Kristallisation zu erzielen war, dampften wir sie i. Vak. zur Trockne. Das zurückbleibende weiße amorphe Pulver lösten wir in der hinreichenden Menge heißen Methanols, behandelten nochmals mit wenig Tierkohle und fügten zum Filtrat in der offenen Kristallisierschale tropfenweise bis zur beginnenden Trübung absol. Äthanol. Langsames Verdunsten an der Luft, wobei die sich bildenden Krusten und Gallerten häufig mit der Mutterlauge verrieben wurden, und schließlich völliges Eintrocknen im Exsiccator (Normaldruck) lieferte ein weißes mikrokristallines Pulver vom Schmp. 195 bis 197°, welches ein schönes Debye-Scherrer-Diagramm ergab. Beim Verreiben mit wenig Methanol auf dem Dampfbad bildeten sich feine, verfilzte Nadeln, die abgesaugt, mit Methanol gewaschen und im Exsiccator getrocknet wurden. Es waren 340 mg vom Schmp. 199–200° (Zers.); weitere 172 mg erhielten wir aus der Mutterlauge. Zur Umkristallisation lösten wir in feuchtem heißem Methanol, versetzten mit Äthanol und ließen an der Luft eindunsten. Der noch feuchte Rückstand wurde mit wenig heißem Methanol verrieben. Schmp. der lufttrockenen Lacto-N-triose II 202° (Zers.); $[\alpha]_D^{25}$: +40.7° ($c = 2$, in Wasser, lufttrockene Substanz). Das Trisaccharid kristallisiert mit Kristallwasser, dessen genaue Menge zu bestimmen uns noch nicht möglich war. Es verliert seinen Wassergehalt bei 110°/3 Torr über Diphosphorpentoxyd nur teilweise; an feuchter Luft erfolgt Rehydratisierung.

1. Probe (lufttrocken) $\xrightarrow[3 \text{ Torr}]{110^\circ}$ Gew.-Verlust 4.6% $\xrightarrow[\text{Luft}]{\text{feuchte}}$ Gew.-Zunahme 5.6%.

2. Probe (lufttrocken) $\xrightarrow[3 \text{ Torr}]{110^\circ}$ Gew.-Verlust 5.0% $\xrightarrow[\text{Luft}]{\text{feuchte}}$ Gew.-Zunahme 5.7%.

Ber. für Dihydrat \rightleftharpoons Semihydrat: Gew.-Verlust 5.6%, Gew.-Zunahme 5.95%.

Die C,H-Bestimmungen dagegen deuten auf einen Übergang Sesquihydrat \rightleftharpoons Semihydrat hin:

Bei 110°/3 Torr bis zur Gewichtskonstanz getrocknete Substanz:

C₂₆H₃₅O₁₆N^{1/2}H₂O (554.5) Ber. C 43.32 H 6.54 Äquiv.-Gew. 554.5 OCH₃ –
 Gef. C 43.36 H 6.45 „ „ 557 OCH₃ –
 „ Gef. C 42.88 H 6.78 „ „ 548

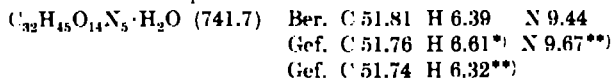
Nach der Wiederaufnahme von Wasser an feuchter Luft:

C₂₀H₃₅O₁₆N^{1/2}H₂O (572.5) Ber. C 41.96 H 6.69 Gef. C 42.17 H 6.67

Die Lacto-N-triose II wurde unter den gleichen Bedingungen wie die Triose I durchgreifend hydrolysiert. Das Papierchromatogramm ergab die Anwesenheit von Glucose, Galaktose und Glucosamin.

Lacto-N-triose II-phenylosazon: Aus 220 mg Triose II + 500 mg Phenylhydrazin-hydrochlorid + 500 mg Natriumacetat erhielten wir in der üblichen Weise das Osazon, welches sich direkt aus der Reaktionslösung nach dem Abkühlen in sehr feinen gelben Kriställchen abschied. Es waren nach 3maligem Waschen und Trocknen 66 mg (23% d. Th.). Zur Analyse haben wir das bräunlich-gelbe Kristallpulver zweimal mit wenig Aceton gewaschen und dann aus 95-proz. Äthanol umkristallisiert. Wir er-

hielten so rein hellgelbe Nadeln vom Schmp. 230° (Zers., Kupferblock auf 220° vorgeheizt). Das IR-Spektrum zeigt die $\text{NH} \cdot \text{CO}$ -Banden bei 6.05 und 6.36μ ; es ist im übrigen dem Spektrum des Osazons der Lacto-*N*-triose I recht ähnlich. Insbesondere zeigen die übereinstimmenden Extinktionen der meisten Banden, daß die Molekulargrößen der beiden Osazone und damit der Zucker gleich sind. Das Lacto-*N*-triose II-phenylosazon hält auch bei erhöhter Temperatur 1 Mol. Kristallwasser zurück.



*) 15 Stdn. bei $80^{\circ}/3$ Torr über P_2O_5 getrocknet.

**) 60 Stdn. bei $110^{\circ}/3$ Torr über P_2O_5 getrocknet.

Verhalten der Lacto-*N*-triosen gegen verdünntes Alkali

Beide Trisaccharide sind gegen $0.05n\text{Na}_2\text{CO}_3$ bei 22° während 30 Min. völlig beständig. Bei 98° erleiden sie schon innerhalb von 5 Min. beträchtliche Veränderungen. Die angewandte Methodik haben wir in einer früheren Arbeit¹⁾ beschrieben.

Die Triose I ist erheblich alkaliempfindlicher als die Triose II und liefert unter den angegebenen Bedingungen viel mehr AAG (Chromogen der Farbreaktion mit *p*-Dimethylamino-benzaldehyd mit $R_{\text{Glucose}} = 1.70$).

Papierchromatographisch fanden wir als Spaltstücke der Triose I: Galaktose, Tagatose und AAG; ferner Spuren von 2 weiteren Umwandlungsprodukten, die sich wie die Tagatose mit Naphthoresorcin-Trichloressigsäure rot färbten; das eine von diesen zeigte den R_F -Wert der Fructose; das andere wanderte nur wenig schneller als die praktisch verschwundene Triose I und ist vermutlich das der Triose I entsprechende N-haltige Keto-trisaccharid $>$ Tagatose $>$ *N*-Acetyl-glucosamin $>$ Galaktose.

Als Umwandlungsprodukte der Triose II, die durch Alkalieinwirkung gebildet wurden, fanden wir: ein mit Naphthoresorcin-($\text{CCl}_3 \cdot \text{CO}_2\text{H}$ sich rot färbendes Keto-trisaccharid (zwischen den Flecken der Lacto-*N*-triose II und der Lacto-*N*-biose II), das vermutlich 3'-Acetylglucosaminido-lactulose darstellt; ferner Lacto-*N*-biose II, *N*-Acetylglucosamin und wenig AAG.

151. Joachim Goerdeler und Albrecht Fincke¹⁾: Über 1.2.4-Thio-diazole, V. Mitteil.²⁾: Darstellung und Eigenschaften des 3-Amino-5-phenyl-1.2.4-thiodiazols

[Aus dem Chemischen Institut der Universität Bonn]

(Eingegangen am 24. Dezember 1955)

Durch Dehydrierung des aus Thionbenzoesäure-äthylester und Guanidin hergestellten Thiobenzoylguanidins wurde 3-Amino-5-phenyl-1.2.4-thiodiazol gewonnen und in seinen Eigenschaften mit dem isomeren 5-Amino-3-phenyl-1.2.4-thiodiazol verglichen.

In früheren Veröffentlichungen dieser Reihe wurden Verfahren angegeben, die die Herstellung von 5-Amino-1.2.4-thiodiazolen gestatten. Nicht bekannt waren bisher die isomeren 3-Amino-Verbindungen ohne funktionelle Gruppen in der 5-Stellung. Wir erhielten das 3-Amino-5-phenyl-1.2.4-thiodiazol in Aus-

¹⁾ Diplomarb., Bonn 1953.

²⁾ IV. Mitteil.: J. Goerdeler u. M. Willig, Chem. Ber. **88**, 1071 [1955].