

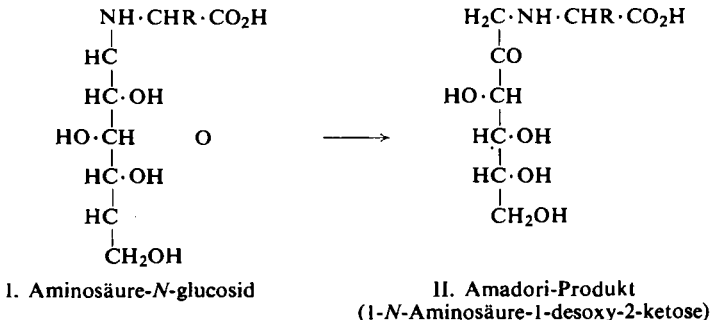
GÜNTHER WEITZEL, HANS-ULRICH GEYER und ANNA-MARIA FRETZDORFF
 DARSTELLUNG UND STABILITÄT DER SALZE
 VON AMINOSÄURE-*N*-GLYKOSIDEN

Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut der Justus-Liebig-Hochschule Gießen und der Medizinischen Forschungsanstalt (Biochem. Abt.) der Max-Planck-Gesellschaft Göttingen
 (Eingegangen am 7. März 1957)

Herrn Professor Dr. B. Helferich zum 70. Geburtstag

Salze von Aminosäuren werden mit reduzierenden Zuckern in wasserfreiem Methanol umgesetzt und die Kondensationsprodukte als Metallkomplexe isoliert. Das Verfahren gestattet erstmalig die Gewinnung kristallisierter *N*-Glykoside aliphatischer Aminosäuren in Form ihrer Komplexsalze. Mg-, Ca-, Fe-, Co-, Cu- und Zn-*N*-Glykoside von Glycin, Alanin, Glutaminsäure und Methionin werden in z.T. annähernd quantitativen Ausbeuten erhalten. Das zentrale Kation des Komplexes stabilisiert die *N*-glykosidische Bindung; z.B. ist der hydrolytische Zerfall des *N*-Glykosids in wäßriger Lösung stark verzögert.

Aliphatische *N*-Glykoside sind in wäßriger Lösung weitgehend hydrolysiert und daher wenig beständig. EULER und Mitarbb.¹⁾ bestimmten schon vor mehr als 30 Jahren mit polarimetrischer und kryoskopischer Methodik das Gleichgewicht zwischen Glucose und Glycin oder Alanin in wäßriger Lösung und fanden, daß die *N*-Glucosidbildung bei neutralem p_H sehr gering ist, mit steigender Alkalität der Lösung jedoch stark zunimmt. Beim Zerfall des aliphatischen *N*-Glykosids in wäßriger Lösung gehen Zucker und Aminosäure unverändert aus ihm hervor, so daß man derartige *N*-Glykoside zu den „ersten Kondensationsprodukten“ rechnen muß. Dagegen hat in den sogen. *Amadori-Produkten* (II) eine Umwandlung des *N*-Glykosids stattgefunden, die zugleich mit der Überführung der eingesetzten Aldose in die Ketoform das Kondensationsprodukt gegen Hydrolyse stabilisiert^{2, 3)}.



¹⁾ H. v. EULER und K. JOSEPHSON, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **153**, 1 [1926]; H. v. EULER, E. BRUNIUS und K. JOSEPHSON, ebenda **155**, 259 [1926]; H. v. EULER und E. BRUNIUS, Ber. dtsh. chem. Ges. **59**, 1581 [1926].

²⁾ R. KUHN und F. WEYGAND, Ber. dtsh. chem. Ges. **70**, 769 [1937].

³⁾ S. a. J. E. HODGE, The Amadori Rearrangement, Advances Carbohydrate Chem. **10**, 169 [1955].

Da die präparative Darstellung analysenreiner und einheitlicher *N*-Glykoside aliphatischer Aminosäuren wegen der Labilität der Verbindungen erhebliche Schwierigkeiten bietet und kristallisierte Verbindungen bisher überhaupt nicht zugänglich waren, stellten wir uns die Frage, ob durch Überführung der *N*-Glykoside in Metallkomplexe eine Stabilisierung der Zucker-Aminosäure-Bindung erfolgt. Wir berichten nachstehend über die Darstellung verschiedener Salze aliphatischer Aminosäure-*N*-glykoside, die wir zum Teil auch kristallin gewinnen konnten, und über deren Stabilität. Als Aminosäuren dienten Glycin, Alanin, Glutaminsäure und Methionin, als Zucker hauptsächlich Glucose, daneben Ribose, Arabinose, Galaktose, Mannose und Maltose.

DARSTELLUNG VON METALL-AMINOSÄURE-N-GLYKOSIDEN

Kondensation in wäßriger Lösung

F. MICHEEL und A. KLEMER⁴⁾ gewannen die Natriumsalze der *N*-Glucoside aliphatischer Aminosäuren (Glycin, Sarkosin, Alanin, Serin, Lysin) auf folgendem Wege: Längeres Aufbewahren der Glucose/Aminosäure-Mischung in wäßriger Natriumhydrogencarbonat-Lösung bei 37°, Abdestillieren des Wassers i. Vak., vollständige Trocknung des sirupösen Rückstandes, Ausziehen mit absol. Methanol, Fällung des Rohproduktes mit Äther, Reinigung durch Umfällen mit Methanol/Äther. Die Analysen der amorphen Fällungsprodukte entsprachen den gesuchten *N*-Glucosiden.

Wir konnten auf diesem Wege Natriumsalze der *N*-Glucoside von Glycin, Alanin, Methionin, Asparagin- und Glutaminsäure mit zufriedenstellenden Analysenwerten erhalten; dagegen war bei den Glucosiden anderer Aminosäuren die Reinigung der Rohprodukte von nicht umgesetzten Glucose- oder Aminosäureresten oft nicht vollständig zu erreichen.

Übereinstimmend mit den Angaben der Literatur^{1, 5, 6)} hat man daher im System Aminosäure/Glucose/Wasser nur mit geringfügiger Bildung von *N*-Glucosiden zu rechnen; dies gilt auch für den obengenannten Darstellungsweg von MICHEEL⁴⁾. Andererseits fanden wir, daß die methanolischen Auszüge der zur Trockne gebrachten Hydrogencarbonat-Ansätze viel höhere *N*-Glucosid-Mengen enthielten, als in wäßriger Lösung entstanden sein konnten. Denn durch Behandlung der Methanol-Auszüge mit methanolischen Metallchlorid-Lösungen ließen sich analysenreine, bisher nicht bekannte Metall-Aminosäure-*N*-glucoside in beträchtlichen Ausbeuten abscheiden, obwohl die Darstellung von wäßrigen Glucose-Aminosäure-Mischungen ausgegangen war. Wir bringen hierzu im Versuchsteil Darstellung und Analysenwerte von Calcium-, Eisen(III)- und Zink-glycinat-*N*-glucosid sowie von Eisen(III)- und Zink-alaninat-*N*-glucosid.

Daraus ist zu schließen, daß die Hauptmenge der Aminosäure-*N*-glucoside erst während des Trocknungsprozesses der wäßrigen Ansatzlösungen oder erst im methano-

4) Chem. Ber. **84**, 212 [1951]; **85**, 1083 [1952].

5) M. FRANKEL und A. KATCHALSKY, Biochem. J. **31**, 1595 [1937].

6) W. PIGMAN, E. A. CLEVELAND, D. H. COUCH und J. H. CLEVELAND, J. Amer. chem. Soc. **73**, 1976 [1951].

lischen Extrakt gebildet wird. Der Trockenrückstand des wäßrigen Ansatzes enthält neben dem *N*-Glucosid hohe Anteile an nicht umgesetztem Natriumsalz der Aminosäure und an Glucose. Wir fanden nun, daß der Methanolauszug des Trockenrückstandes neben Glucose überraschenderweise *auch die Natriumsalze der Aminosäuren* aufnimmt, welche sehr viel besser methanollöslich sind als die freien Aminosäuren. Dadurch kamen wir zu dem im folgenden Abschnitt beschriebenen Darstellungsweg für Metall-Aminosäure-*N*-glucoside.

Kondensation in Methanol

Als einfaches und ergiebiges Darstellungsverfahren für Metallsalze von Aminosäure-*N*-glykosiden erwies sich der folgende Weg: Der Zucker wird in Methanol mit den Alkalisalzen von Aminosäuren umgesetzt und das Kondensationsprodukt durch Zugabe von in Methanol gelösten Metallsalzen in doppelter Umsetzung als Metallkomplex abgeschieden. Auf diese Weise konnten wir z. B. Magnesium-, Calcium-, Kobalt-, Kupfer- und Zink-Salze der *N*-Glykoside von Glycin, Alanin, Glutaminsäure und Methionin analysenrein gewinnen. Die Versuchsbedingungen sind so angelegt, daß die während der doppelten Umsetzung als Nebenprodukte entstandenen Alkalisalze (NaCl, Natriumacetat etc.) im Methanol gelöst bleiben und das abgeschiedene Metall-Aminosäure-*N*-glykosid nicht verunreinigen. Die Kondensation erfolgt in Methanol bereits bei Zimmertemperatur, rascher in siedendem Methanol. Dabei ist durch die Verwendung der Natriumsalze der Aminosäuren *Amadori-Umlagerung ausgeschlossen*, da hierfür die Anwesenheit saurer Gruppen erforderlich ist. Während die meisten Metall-Aminosäure-*N*-glykoside nach Zugabe des Halogenids aus der methanolischen Lösung sofort ausfallen, müssen die methanollöslichen *Natrium-Aminosäure-N*-glucoside durch Ätherzusatz gefällt werden. Auch dabei erhält man hohe Ausbeuten analysenreiner Produkte. Beimengungen nicht umgesetzter Anteile von Glucose und von Natriumsalz der Aminosäure treten kaum auf, da die Kondensation unter den gewählten Bedingungen praktisch *quantitativ* verläuft.

Kristalline Metall-Aminosäure-N-glucoside: Die vorstehend beschriebene Abscheidung der *N*-Glucoside als Schwermetallkomplexe in Methanol führte in einigen Fällen zu *kristallinen* Produkten, z. B. beim Zink-glycinat-*N*-glucosid. Als besonders geeignetes Ausgangsmaterial zur Gewinnung kristalliner Metall-Aminosäure-*N*-glucoside erwiesen sich die analysenreinen Metallkomplexe von Aminosäuren. So fanden wir z. B., daß Zink-diglycinat (1:2; wasserfrei) oder Zink-dialaninat (1:2) durch längeres Kochen mit methanolischer Glucoselösung praktisch vollständig in den kristallinen Zinkkomplex des Aminosäure-*N*-glucosids übergehen.

Die Analysen der Kristalle sprachen überraschenderweise sowohl im lufttrockenen Produkt wie auch nach Aufbewahrung über CaCl_2 bei $20^\circ/1$ Torr für die *Anwesenheit von 2 Moll. Methanol*. Erst nach Behandlung in der Trockenpistole bei $100^\circ/1$ Torr zeigten die Analysen die für den methanolfreien Komplex berechneten Werte. Die Anwesenheit des Kristall-Methanols bewiesen wir auf folgende Weise: Aus kristallisiertem Zink-glycinat-*N*-glucosid ließ sich bei 95° Badtemperatur und 1 Torr fast die gesamte zu erwartende Methanolmenge herausdestillieren und in einer stark gekühlten Vorlage auffangen. Durch Rektifikation (Sdp.₇₅₀ 65°) und Überführung in zwei Derivate (*p*-Nitrobenzoat und Phenylurethan) wurde das Destillat als Methanol identifiziert.

Die glatte Bildung des kristallinen, in Methanol sehr schwer löslichen Zinkkomplexes des *Glycin-N-glucosides* läßt sich in verschiedener Weise zur Kontrolle des Kondensationsvorganges ausnutzen. So prüften wir z. B. die Geschwindigkeit und das Ausmaß der Kondensation bei der Umsetzung von Glucose und Natrium-glycinat in siedendem Methanol durch Entnahme aliquoter Proben der Reaktionsmischung in bestimmten Zeitabständen. Die Fällung dieser Proben mit $ZnCl_2$ zeigte, daß in dem gewählten Verhältnis (Natrium-glycinat : Glucose = 1:1) die maximale, praktisch *vollständige* Umsetzung nach etwa $2\frac{1}{2}$ stdg. Reaktionsdauer erreicht ist. Denn nach dieser Zeit führt die Zinkfällung zu einem kristallisierten Produkt, welches den für das Dimethanolat berechneten Zink- und Stickstoffgehalt (10.87% bzw. 4.66%) besitzt. Wäre danach nicht umgesetztes Natrium-glycinat noch vorhanden, so würde es als Zink-diglycinat mit einem Zinkgehalt von 30.7% ebenfalls ausfallen und den Zinkwert erhöhen. Dementsprechend zeigen die Zn- und N-Werte der entnommenen, mit $ZnCl_2$ gefällten Proben zu Beginn der Reaktion die Zusammensetzung des Zink-glycinates und nähern sich im Verlauf der Reaktion immer mehr der Zusammensetzung des Zink-glycinat-*N-glucosid*-dimethanolates, welche sie nach $2\frac{1}{2}$ Stdn. erreichen.

Auch zur *Reinheitskontrolle* der *methanollöslichen*, durch Ätherzusatz ausfällbaren, amorphen Salze von Aminosäure-*N-glykosiden* läßt sich das Zink-glycinat-*N-glucosid* verwenden. So ergab z. B. die Behandlung einer in Methanol gelösten Probe des Natrium-glycinat-*N-glucosides* mit $ZnCl_2$, daß die sofort einsetzende Abscheidung zu dem kristallinen Zinkkomplex des *N-Glucosyl-glycins* mit dem theoretischen Zink- und Stickstoff-Wert führte. Hätte die bei der Darstellung des Natriumsalzes erforderliche Ätherfällung zugleich nicht umgesetztes Natrium-glycinat mit abgeschieden, so hätte die „Zinkprobe“ neben dem Glucosidkomplex auch Zink-glycinat mit wesentlich höherem Zinkgehalt entstehen lassen.

Variation der Zuckerkomponente

Andere Zucker verhalten sich grundsätzlich gleich wie Glucose, vorausgesetzt, daß sie eine freie glykosidische Hydroxylgruppe besitzen. Als Beispiele bringen wir im Versuchsteil Aminosäure-*N-glykoside* von Ribose, Arabinose, Galaktose, Mannose und Maltose. Auch diese *N-Glykoside* ließen sich als Alkali-, Erdalkali- und Schwermetall-Verbindungen rein darstellen. Dagegen gelang es erwartungsgemäß nicht, Zucker und ihnen ähnliche Polyhydroxylverbindungen ohne glykosidische OH-Gruppe in der beschriebenen Weise mit Aminosäuren umzusetzen. So waren z. B. α -Methylglucosid, Saccharose, Raffinose, Mannit, Mesoinosit und Gluconsäure nicht befähigt, mit Natrium-glycinat in siedendem Methanol zu reagieren. Nach Zusatz von Zinkchlorid fiel daher reines Zink-glycinat aus.

*Stabilität der Salze von Aminosäure-*N-glykosiden* in Wasser*

N-Glykoside aliphatischer Aminosäuren sind, wie oben dargelegt wurde, als Natriumsalze in wäßriger Lösung nicht beständig und zerfallen weitgehend unter Spaltung der *N-glykosidischen* Bindung in ihre Komponenten. Es war nun zu prüfen, wie sich die in der vorliegenden Arbeit beschriebenen, bisher unbekanntenen Metallkomplexe von Aminosäure-*N-glykosiden* in wäßriger Lösung verhalten. Dabei sind

zwei gleichzeitig ablaufende Vorgänge zu berücksichtigen: 1. Die Dissoziation Ligand/Metall. 2. Die Hydrolyse der *N*-glykosidischen Bindung. Hinsichtlich des letzteren Vorganges war zu vermuten, daß die koordinative Bindung von Zucker-Hydroxylen und Amino-Stickstoff an das gleiche zentrale Kation die Stabilität der *N*-glykosidischen Bindung erhöht.

Bringt man Glycin-*N*-glucoside als Salze zweiwertiger Metalle in wäßrige Lösung, so kommt es zunächst nicht zum Ausfallen von Metallhydroxyd. Für Zink-glycinat-*N*-glucosid ergibt sich dabei ein deutlicher Unterschied gegenüber Zink-glycinat (1:2). Dieses wird durch Wasser (auch in Gegenwart von freier Glucose) sofort hydrolysiert, während der Zinkkomplex des Glycin-*N*-glucosids erst nach tagelangem Aufbewahren Zinkhydroxyd abscheidet. Dies spricht für eine gegenüber Glycin erhöhte Zinkaffinität des *N*-Glucosyl-glycins, zugleich aber auch für eine *Stabilisierung der N-glykosidischen Bindung*. Denn nach dem Zerfall des *N*-Glucosids müßte das entstehende Zink-glycinat durch Hydrolyse Zinkhydroxyd abscheiden. Dieser Vorgang tritt zwar in wäßriger Lösung ein, jedoch mit sehr starker Verzögerung. Löst man nämlich kristallines Zink-glycinat-*N*-glucosid in Wasser und *fällt anschließend mit Aceton*, so scheidet sich in wenigen Minuten das *krist. Tetrahydrat* des Zinkkomplexes analysenrein ab. Eine Hydrolyse des Zinkkomplexes oder der *N*-glykosidischen Bindung ist somit nicht bemerkbar. Führt man jedoch die Fällung erst nach mehrstündigem Stehenlassen der Lösung durch, so zeigt sich die beginnende Zersetzung durch erhöhte Zinkwerte der Fällung. Erfolgt die Acetonfällung erst nach 4 Tagen, so besitzt der Niederschlag mit Zinkwerten über 25% kaum noch *N*-Glykosid. Fast der gesamte Zucker ist abgespalten und in Lösung geblieben.

Ein ähnliches Bild ergibt z. B. die wäßrige Lösung des Magnesium-glutamat-*N*-glucosides: Hier waren nach 6 Stdn. etwa 25%, nach 24 Stdn. etwa 40% des *N*-Glucosides gespalten. Nach 4 Tagen war die Hydrolyse ebenfalls praktisch vollständig.

DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Außer den oben zitierten Befunden von MICHEEL⁴⁾ über Natriumsalze aliphatischer Aminosäure-*N*-glykoside konnten wir nur zwei Literaturangaben finden: Russische Autoren⁷⁾, welche die Zucker-Aminosäure-Kondensation in stark alkalischer, wäßriger Lösung untersuchten, isolierten die als Zwischenprodukte auftretenden *N*-Glykoside in Form von Barium- und Calcium-Salzen. Erfahrungsgemäß ist jedoch wegen der weitgehenden Umwandlungsvorgänge am Zuckermolekül in starkem Alkali die Gewinnung *reiner N*-Glykosidsalze auf diesem Wege kaum möglich. L. PETIT⁸⁾ teilte mit, daß während der Maillard-Reaktion zwischen Glucose und Glycin oder Alanin papierchromatographisch nach Kupferzusatz ein Komplex nachzuweisen ist, bei dem es sich wahrscheinlich um das Kupfersalz eines *N*-Glucosides handelt.

Bei unserem vorstehend beschriebenen Verfahren kam es darauf an, den Kondensationsvorgang auf der *N*-Glykosidstufe anzuhalten. Weiterführende Reaktionen werden durch das wasserfreie neutrale Medium und durch den Verschluß der Carboxylgruppe mit Metallionen ausgeschlossen. Die letztere Maßnahme verhindert

⁷⁾ A. KUSIN und O. POLIAKOWA, *Biochimia* 6, 113 [1941]; C. 1942 I, 2860.

⁸⁾ C. R. hebd. Séances Acad. Sci. 242, 829 [1956].

sowohl die Veresterung des Carboxyls als auch die Amadori-Umlagerung. Bei Verwendung von Glutaminsäure gehen wir daher von Dinatrium-glutamat aus (s. Versuchsteil), da Mononatrium-glutamat folgerichtig zur Bildung des Amadori-Produktes führt. Daß die von uns dargestellten *N*-Glykoside in der Tat frei von Amadori-Produkten sind, geht nicht nur aus der Papierchromatographie, sondern auch aus dem negativen Ausfall der Reaktionen mit Hexacyanoferrat(III), *o*-Dinitrobenzol und Methylenblau bei Zimmertemperatur hervor.

Da die Natriumsalze der benutzten Aminosäuren ausreichend methanollöslich sind, läßt sich die Kondensation mit Zuckern in echter Lösung durchführen. Jedoch zeigt die glatte Umsetzung des in Methanol praktisch unlöslichen Zink-glycinates oder -alaninates mit Glucose oder Mannose, daß die Kondensation ebenso gut auch im heterogenen Milieu abläuft. Dabei kommt es in bestimmten Fällen vor, daß der an sich unlösliche Metall-Aminosäure-Komplex während der Reaktion als Bodenkörper verschwindet, weil das gebildete Metall-Aminosäure-*N*-glykosid im Methanol löslich ist. Wird z. B. Mannose mit Zink-glycinat umgesetzt, so entsteht — im Gegensatz zur Kondensation mit Glucose — das *methanollösliche* Zink-glycinat-*N*-mannosid. Beispiele für den Einfluß der Konstitution der Zuckerkomponente auf die Methanol-löslichkeit der Glycinat-*N*-glykoside gibt die folgende Zusammenstellung:

<i>N</i> -Glykosid	Löslichkeit in Methanol	
	Natriumsalz	Zinksalz
Glycin- <i>N</i> -D-ribosid	leicht löslich	leicht löslich
Glycin- <i>N</i> -D-glucosid	leicht löslich	schwer löslich
Glycin- <i>N</i> -D-mannosid	schwer löslich	leicht löslich
Glycin- <i>N</i> -D-maltosid	schwer löslich	schwer löslich

Die Formulierung der gewonnenen *N*-Glykosidsalze verlangt bei zweiwertigen Kationen die Berücksichtigung nebenvalenter Bindungen durch den Stickstoff und durch ein oder mehrere Zuckerhydroxyle. Die oben beschriebenen Stabilitätsbefunde sowie noch unveröffentlichte Stabilitätsmessungen lassen erkennen, daß das Metallbindungsvermögen der Aminosäuren durch die *N*-glykosidische Verknüpfung mit einem Zuckerrest verstärkt wird.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Die benutzten Aminosäuren waren chromatographisch einheitlich. Die Metallbestimmungen wurden komplexometrisch durchgeführt⁹⁾. Stickstoffbestimmungen nach DUMAS in der Modifikation von H. GYSEL¹⁰⁾ oder durch Kjeldahl-Methode nach Permanganat-Aufschluß¹¹⁾.

Darstellung von Aminosäure-N-glycosiden

a) *Ansätze in Wasser* (siehe hierzu l. c.⁴⁾): Äquimolare Mengen von D-Glucose und α -Aminosäure, jedoch mit Überschuß von ca. 10 Gew. % Aminosäure, werden in soviel Wasser gelöst, daß, ber. auf Aminosäure, eine etwa 20-proz. Lösung vorliegt. Zugabe von NaHCO₃ in der zur Aminosäure äquimolaren Menge, gegebenenfalls NaHCO₃-Überschuß, so daß p_{H} 7.2—7.3 erreicht wird. Die Lösung wird 1—2 Tage bei 40° aufbewahrt, das Wasser i. Vak.

⁹⁾ G. SCHWARZENBACH, Die komplexometrische Titration, Verlag Enke, Stuttgart 1955.

¹⁰⁾ Helv. chim. Acta 35, 802 [1952].

¹¹⁾ A. E. BEET, Nature [London] 175, 514 [1955].

abdestilliert und über P_2O_5 völlig zur Trockne gebracht. Das Kondensationsprodukt wird mit kleinen Portionen absol. Methanols bei Zimmertemperatur extrahiert, bis die Masse trüb milchig-grau wird. Die gesammelten Methanolauszüge werden filtriert und in die gewünschten Metallsalze umgewandelt durch Zutropfen der methanolischen Metallchlorid-Lösungen ($ZnCl_2$, $CaCl_2$, $FeCl_3$ usw. wasserfrei) bis zur Beendigung der Niederschlagsbildung. Der Niederschlag wird abzentrifugiert, mit wenig Methanol und Äther gewaschen und i. Vak. über P_2O_5 getrocknet.

Auf diese Weise wurden z. B. die folgenden amorphen Verbindungen dargestellt:

Calcium-glycinat-N-D-glucosid (1:2-Komplex)

$C_{16}H_{28}O_{14}N_2Ca$ (512.5) Ber. N 5.47 Ca 7.82 Gef. N 5.67 Ca 7.81

Eisen(III)-glycinat-N-D-glucosid (1:3-Komplex)

$C_{24}H_{42}O_{21}N_3Fe$ (764.5) Ber. N 5.50 Fe 7.31 Gef. N 5.50 Fe 7.25

Zink-glycinat-N-D-glucosid (1:2-Komplex)

$C_{16}H_{28}O_{14}N_2Zn$ (537.8) Ber. N 5.21 Zn 12.16 Gef. N 5.40 Zn 12.50

Eisen(III)-L-alaninat-N-D-glucosid (1:3-Komplex)

$C_{27}H_{48}O_{21}N_3Fe$ (806.6) Ber. Fe 6.93 Gef. Fe 6.89

Zink-L-alaninat-N-D-glucosid (1:2-Komplex)

$C_{18}H_{32}O_{14}N_2Zn$ (565.9) Ber. Zn 11.56 Gef. Zn 11.56

b) *Ansätze in wasserfreiem Methanol*: Das völlig wasserfreie Natriumsalz der Aminosäure wird mit einer äquimolaren Glucosemenge in absol. Methanol mehrere Stunden geschüttelt, die methanol. Lösung abfiltriert, der Rückstand erneut mit glucosehaltigem Methanol geschüttelt und abfiltriert. Dies wird wiederholt, falls noch keine praktisch vollständige Umsetzung des Rückstandes erreicht ist. Die vereinigten methanol. Filtrate werden zur Gewinnung der Metallkomplexe wie unter a) mit der methanol. Lösung des betreffenden Chlorides tropfenweise versetzt. Der entstehende dicke Niederschlag wird abzentrifugiert, mit Methanol, Aceton und Äther gewaschen und über $CaCl_2$ oder P_2O_5 i. Vak. aufbewahrt.

Wird die Kondensation nicht, wie vorstehend beschrieben, bei Zimmertemperatur, sondern in siedendem Methanol durchgeführt, so erhält man dieselben Reaktionsprodukte. Störende Nebenreaktionen scheinen dabei nicht abzulaufen, die Ansätze bleiben farblos.

Auf diese Weise wurden die folgenden amorphen Metall-Aminosäure-*N*-glucoside dargestellt:

Magnesium-glycinat-N-D-glucosid (1:2-Komplex)

$C_{16}H_{28}O_{14}N_2Mg$ (496.7) Ber. Mg 4.90 Gef. Mg 4.87

Calcium-glycinat-N-D-glucosid (1:2-Komplex)

$C_{16}H_{28}O_{14}N_2Ca$ (512.5) Ber. N 5.47 Ca 7.82 Gef. N 5.56 Ca 7.63

Kobalt(II)-glycinat-N-D-glucosid (1:2-Komplex)

$C_{16}H_{28}O_{14}N_2Co$ (531.4) Ber. N 5.27 Co 11.08 Gef. N 5.62 Co 11.30

Kupfer(II)-glycinat-N-D-glucosid (1:2-Komplex)

$C_{16}H_{28}O_{14}N_2Cu$ (537.1) Ber. N 5.21 Cu 11.85 Gef. N 5.11 Cu 11.61

Das in Methanol lösliche *Natrium-glycinat-N-D-glucosid* wird in folgender Weise dargestellt: 0.97 g (10 mMol) Natrium-glycinat werden 3 Stdn. bei 20° mit 1.8 g (10 mMol) wasserfreier Glucose in 250ccm absol. Methanol geschüttelt, wobei alles gelöst wird. Nach Fällung mit der gerade eben zureichenden Menge Äther wird abzentrifugiert und mit Äther gewaschen.

Farblose, amorphe, kaum hygroskopische Substanz, deren Reinheit sich durch Überführung in krist. Zink-glycinat-*N*-glucosid-dimethanolat (s. u.) erweist.



Ausgehend vom Dinatrium-glutamat erhält man nach der Methode b) die folgenden *Glutaminsäure-N-glucoside* (sämtlich amorph):

Magnesium-L-glutamat-N-D-glucosid (1:1-Komplex)



Calcium-L-glutamat-N-D-glucosid (1:1-Komplex)

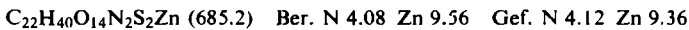


Zink-L-glutamat-N-D-glucosid (1:1-Komplex)



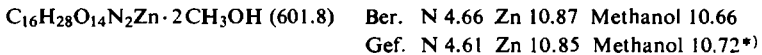
Ebenfalls nach b) erhält man in siedendem Methanol aus Natrium-methioninat und Glucose das

Zink-L-methioninat-N-D-glucosid



Kristalline Metallkomplexe des Glycin-N-glucosids

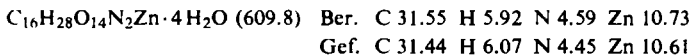
Das *Zink-glycinat-N-D-glucosid-dimethanolat* (1:2-Komplex) erhält man aus der methanol. Lösung der Natriumverbindung (s. o.) durch tropfenweises Zugeben methanol. ZnCl_2 -Lösung in Nadeln.



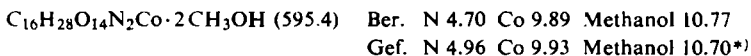
^{*)} Gew.-Verlust nach 4 Tagen bei 90°/0.5 Torr



Das *Zink-glycinat-N-D-glucosid-tetrahydrat* (1:2-Komplex) scheidet sich beim Auflösen der vorstehenden Verbindung in Wasser und sofortiger Zugabe von Aceton bis zur starken Trübung in Nadeln ab.



Kobalt(II)-glycinat-N-D-glucosid-dimethanolat (1:2-Komplex): Aus der methanol. Lösung des Natrium-glycinat-*N*-glucosides erhält man durch Zusatz von methanol. Kobalt(II)-acetat (Hydrat) den amorphen, blaß rosafarbenen Kobaltkomplex. Dieser wird abgetrennt, einmal mit kaltem Methanol gewaschen und etwa 30 Min. mit absol. Methanol gekocht. Dabei wird die Substanz stärker rosafarben und kristallin. Leicht löslich in Wasser, wenig löslich in Methanol.



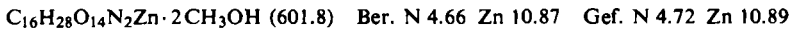
^{*)} Gew.-Verlust nach 48 Stdn. bei 90°/0.5 Torr

Metall-Aminosäure-Komplexe als Ausgangsstoffe

Als Beispiel wird die Darstellung von *krist. Zink-glycinat-N-D-glucosid* beschrieben:

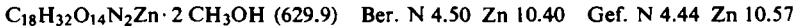
15 g Zink-diglycinat (wasserfrei, über P_2O_5 bei 90°/10 Torr getrocknet, Zn ber. 30.70%, gef. 30.50%) werden fein zerrieben und mit 50 g wasserfreier *D*-Glucose (Schmp. 146°) in 1.5 l absol. Methanol 12 Stdn. unter Rückfluß und intensivem Rühren gekocht. Der krist. Rückstand wird abzentrifugiert, zur Entfernung etwa anhaftender Glucose mit absol. Me-

thanol gründlich gewaschen und bei 20°/1 Torr über CaCl₂ getrocknet. Die Ausbeute an Dimethanolat ist fast quantitativ.

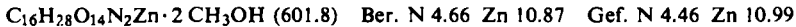


Ebenso wurden dargestellt:

Krist. Zink-DL-alaninat-N-D-glucosid-dimethanolat



und *Zink-glycinat-N-D-mannosid-dimethanolat*, Nadeln, kein Schmp.

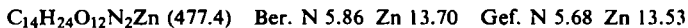


Identifizierung des Kristall-Methanols: Aus Zink-diglycinat und Glucose stellte man in siedendem Methanol rd. 150 g des Zink-glycinat-*N*-glucosides als Dimethanolat (s.o.) dar (Zn ber. 10.87, gef. 10.86; N ber. 4.66, gef. 4.65). 123 g des Produktes lieferten bei 1 Torr im Glycerinbad von 90–95° 10 g Methanol als Destillat (ber. 13.1 g). Auffangen des Destillates in 3 hintereinander geschalteten Vorlagen (1. Eis-Kochsalz, 2. wie 1., 3. Aceton-CO₂-fest). Sdp.₇₅₀ des Destillates: 65°. Mit *p*-Nitrobenzoylchlorid wurde *p*-Nitrobenzoesäure-methylester vom Schmp. 95.5–96° (Lit. 96°), mit Phenylisocyanat *Carbanilsäure-methylester* vom Schmp. und Misch-Schmp. 46° (Lit.: 47°) erhalten.

Die Stickstoffanalysen beider Derivate ergaben die richtigen Werte.

Aminosäure-N-glykoside von Ribose, Arabinose, Galaktose, Mannose und Maltose

Zink-glycinat-N-D-ribosid wird aus Natrium-glycinat und Ribose (Gew.-Verhältnis 1:6) in siedendem Methanol (1½ Stdn.) mit nachfolgender Fällung mit der ber. Menge methanol. ZnCl₂-Lösung erhalten.



Zink-glycinat-N-D-arabinosid wird wie das Ribosid dargestellt.



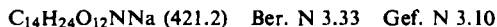
Calcium-glycinat-N-D-galaktosid wird aus Natrium-glycinat und *D*-Galaktose (Gew.-Verhältnis 1:6) in siedendem Methanol mit nachfolgender Fällung mit wasserfreier methanol. CaCl₂-Lösung erhalten.



Natrium-glycinat-N-D-mannosid fällt bei der Kondensation von Natrium-glycinat mit *D*-Mannose in siedendem Methanol wegen seiner Schwerlöslichkeit aus.



Natrium-glycinat-N-maltosid fällt aus bei 24stdg. Einwirkung von Natrium-glycinat auf Maltose in Methanol bei 37°.



Calcium-glycinat-N-maltosid: Aus einer heiß gesättigten, methanol. Lösung von Natrium-glycinat-*N*-maltosid (s. vorstehend) durch Fällung mit wasserfreier methanol. CaCl₂-Lösung.

