

Damit ist eine weite Verbreitung eines bisher in der Natur nicht vermuteten Farbstofftypes aufgewiesen. Neben die Frage nach der Konstitution der hierher gehörenden

Vertreter tritt die nach ihrer physiologischen Bedeutung, über die wir noch nichts Gesichertes wissen. Das geordnete Vorkommen in den Augen von *Arthropoden* und *Cephalopoden* läßt daran denken, daß den Farbstoffen eine Bedeutung beim Sehvorgang zukommen könnte.

Die Konstitutionsermittlung der Ommochrome ist einen nicht alltäglichen Weg gegangen: Vor der Kenntnis ihres Baues lag das Wissen um ihre Genese; die Ergebnisse der chemischen Genetik haben den sonst üblichen Weg des Naturstoffchemikers umkehren lassen: während man üblicherweise auf Grund der zunächst ermittelten Struktur eines Naturstoffes nach seiner Genese im Organismus fragt, waren im vorliegenden Fall die Bausteine bekannt, bevor man die Struktur der Farbstoffe ahnte, die letzten Endes aus dem chemischen Verhalten der Chromogene erschlossen wurde.

Eingegangen am 10. Oktober 1956 [A 777]

Aminozucker

Von Prof. Dr. RICHARD KUHN

nach Untersuchungen mit H. H. BAER, WALTRAUT BISTER, R. BROSSMER, A. GAUHE, H. J. HAAS, F. HABER, GERD KRÜGER, H. TIEDEMANN und D. WEISER

Aus dem Max-Planck-Institut für Medizinische Forschung, Institut für Chemie, Heidelberg*)

Die einleitenden Abschnitte handeln von der Entdeckung des Glucosamins, von der Verbreitung der Aminozucker in der Natur und von Einblicken, die man in die Biosynthese dieser Verbindungen gewonnen hat. Am Beispiel der Blutgruppensubstanzen wird auf die Bedeutung für Fragen der Genetik hingewiesen. Im Anschluß daran wird über eigene Untersuchungen berichtet: Synthese von D-Glucosamin, D-Galaktosamin, N-Acetyl-lactosamin und von weiteren 2-Desoxy-2-aminozuckern durch katalytische Halbhydrierung von Aminonitrilen; Isolierung und Konstitutionsaufklärung von N-haltigen Oligosacchariden der Frauenmilch; Darstellung von D-Isoglucosamin durch katalytische Hydrierung von Amadori-Verbindungen; Isolierung der O-Acetyl-lactaminsäure-lactose aus Milch (Colostrum) und deren Hydrolyse durch Influenza-Virus sowie durch ein Enzym aus Cholera-Vibionen; Abbau der D(-)-Lactaminsäure zu N-Acetyl-D-glucosamin; Bildung von 3-Acetaminofuran und verwandter Verbindungen aus 2-Aacetaminozuckern.

1. Die Entdeckung

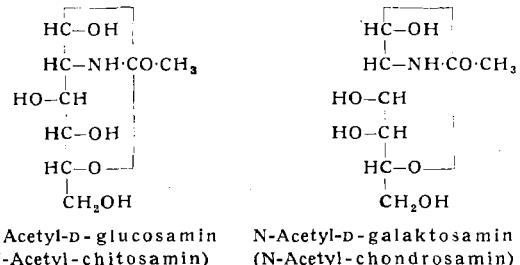
Im Sommersemester des Jahres 1875 ist ein junger Mediziner, der in Göttingen im Institut von Prof. Friedrich Wöhler gearbeitet hat, von seinem Onkel zum Essen eingeladen worden. Von dieser Mahlzeit hat er die Überreste eines Hummers mit ins Laboratorium genommen und festgestellt, daß sich die Scheren bzw. der Panzer in heißer konz. Salzsäure lösen. Beim Eindampfen solcher Lösungen beobachtete er die Bildung glitzernder Kristalle. Bald darauf ist der junge Mediziner, sein Name war Georg Ledderhose, an die Universität Straßburg im Elsaß gezogen, wo ihm Prof. F. Hoppe-Seyler, das war nämlich sein Onkel, Gelegenheit gab, seine Beobachtung weiter zu verfolgen. Und so ist im darauffolgenden Jahr 1876, d. h. vor 80 Jahren, der erste Aminozucker in der Literatur beschrieben worden: das D-Glucosamin-hydrochlorid, wie wir es heute nennen**). Seither hat sich die Kenntnis dieser Körperklasse gewaltig verbreitert und vertieft.

*) Vortrag auf der 99. Versammlung der Gesellschaft Deutscher Naturforscher und Ärzte in Hamburg am 25. September 1956.

**) Als Assistent von F. Hoppe-Seyler, der die Zeitschrift für Physiologische Chemie gegründet und herausgegeben hat, war damals in Straßburg H. Thierfelder tätig. Nach der Überlieferung die H. Thierfelder an seinen Schüler K. Thomas weitergegeben hat, soll F. Hoppe-Seyler während des Essens zu seinem Neffen gesagt haben: „Koch sie mal mit Salzsäure und enge ein, dann soll ein Kristallbrei von Glykokoll-chlorhydrat in der Schale zurückbleiben.“ G. Ledderhose, der kein Glykokoll fand, ist später Psychiater und Direktor einer Heil- und Pflegeanstalt geworden. Thierfelder blieb sein Leben lang mit ihm befreundet. Herrn Prof. Dr. K. Thomas, Göttingen, habe ich für diese Angaben aufrichtig zu danken.

2. Verbreitung in der Natur

Die wichtigsten Aminozucker, die im Tierreich sowie im menschlichen Organismus vorkommen, sind das D-Glucosamin und das D-Galaktosamin. Beide findet man, praktisch ausschließlich, als N-Acetyl-Verbindungen:



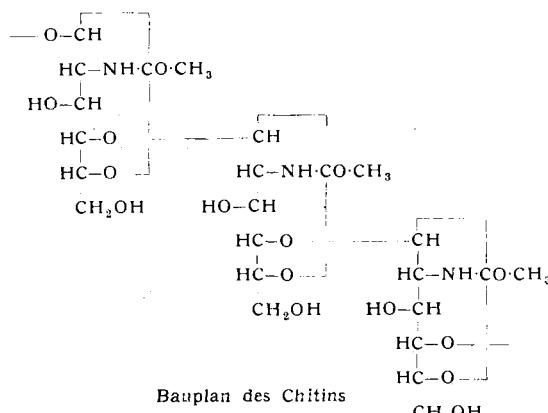
N-Acetyl-D-glucosamin N-Acetyl-D-galaktosamin
(N-Acetyl-chitosamin) (N-Acetyl-chondrosamin)

Aber auch diese am N-Atom acetylierten Aminozucker sind in der Natur kaum als solche, d. h. in freiem Zustand, zu finden, sondern fast nur als Bausteine von hochmolekularen Stoffen.

Das hochmolekulare Chitin, das man im Panzer des Hummers und bei Insekten sowie im Steinpilz gefunden hat, ist ausschließlich aus N-Acetyl-D-glucosamin-Resten aufgebaut. Diese sind β-glykosidisch durch 1,4-Brücken verknüpft.

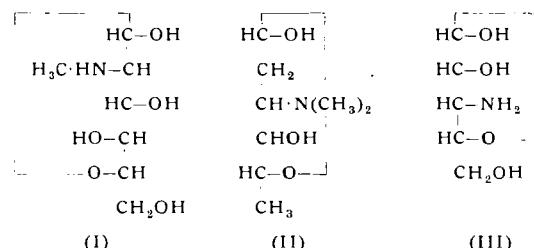
Sehr viel größer ist die Zahl physiologisch interessanter höhermolekularer und hochmolekularer Naturstoffe, in denen die Aminozucker nur einen Teil der Bausteine

darstellen. Hier zeigt sich eine gewisse Einseitigkeit in der stammesgeschichtlichen Entwicklung der Lebewesen. Während die Glucose in tierischen und in pflanzlichen Zellen gleichrangige Bedeutung besitzt, treten die aus



Aminozuckern aufgebauten Verbindungen bei den höheren Pflanzen sehr zurück gegenüber den Mengen und der Mannigfaltigkeit dieser Substanzen bei den höheren Tieren und beim Menschen. So kommt es, daß die Chemie der Aminozucker vor allem für die tierische und für die menschliche Physiologie von Bedeutung zu werden verspricht.

Auf der Stufe der Mikroorganismen hat die Natur mit synthetischen Leistungen „herumexperimentiert“. So sagt man gelegentlich auf dem Gebiete der Antibiotica, um seltene Atomgruppierungen zu kennzeichnen, die bei höheren Pflanzen und Tieren nicht angetroffen werden. Hinsichtlich der Aminozucker liegen die Verhältnisse nicht anders. Im Streptomycin aus *Streptomyces griseus* hat man das N-Methyl-L-glucosamin¹⁾ (I), im Erythromycin aus *Streptomyces erythreus* eine Dimethyl-amino-pentose²⁾ (II) und im Puromycin aus *Streptomyces alboniger* die 3-Desoxy-3-amino-D-ribose³⁾ (III) aufgefunden:



Als Bausteine von N-haltigen Polysacchariden sind aus Mikroorganismen noch weitere seltene Aminozucker isoliert worden, deren chemische Konstitution noch nicht geklärt ist⁴⁾.

3. Zur Biosynthese

Im Eiklar des Hühnereies findet man das hochmolekulare Ovomucin, an dessen Aufbau Glucosamin beteiligt ist. Setzt man dem Hühnerfutter Glucose zu, deren C-Atom 1 durch ¹⁴C markiert ist, dann legen die Hühner radioaktive Eier, aus deren Ovomucin man radioaktives D-Glucosaminhydrochlorid kristallisiert gewinnen kann. Setzt man dem

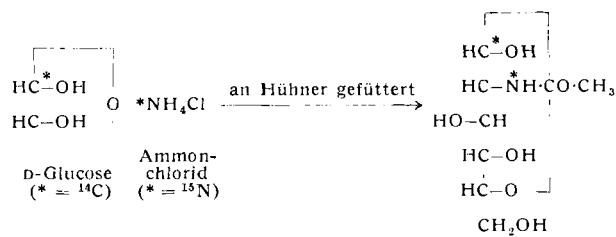
¹⁾ F. A. Kuehl jr., E. H. Flynn, F. W. Holly, R. Mozingo u. K. Folkers, J. Amer. chem. Soc. 69, 1847 [1947].

²⁾ R. K. Clark, Antibiotics and Chemotherapy 3, 663 [1953]; P. F. Wiley u. Mitarbb., J. Amer. chem. Soc. 76, 3121 [1954]. — Weitere Dimethylamino-zucker: Pikrocín aus Pikromycin: H. Brockmann, H. B. König u. R. Oster, Chem. Ber. 87, 856 [1954]; Rhodosamin aus Rhodomycin: H. Brockmann u. E. Spohler, Naturwissenschaften 42, 154 [1955]; Mycaminozose aus Magnamycin: F. A. Hochstein u. P. P. Regner, J. Amer. chem. Soc. 77, 3353 [1955].

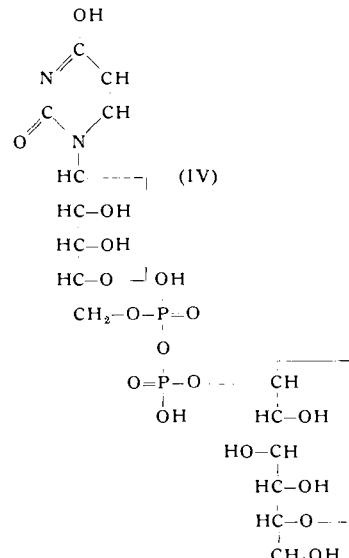
³⁾ C. W. Waller u. Mitarbb., J. Amer. chem. Soc. 75, 2025 [1953].

⁴⁾ R. E. Strange u. F. A. Dark, Nature [London] 177, 186 [1956]; M. J. Crumpton u. D. A. L. Davies, Biochem. J. 64, 22p [1956]; R. E. Strange, Biochem. J. 64, 23p [1956].

Hühnerfutter Ammoniumsalz zu, dessen N-Atom schweren Stickstoff (¹⁵N) enthält, so läßt sich aus dem Ovomucin der gelegten Eier Glucosamin isolieren, das ¹⁵N-haltig ist. Es ergibt sich, daß das Huhn den Aminozucker aus Glucose und aus Ammonium-Ionen aufzubauen vermag⁵⁾.



An den enzymatischen Schritten, die zu diesem Ergebnis führen, sind Phosphorsäureester beteiligt. Aus Glucose-6-phosphat und Glutamin kann z. B. mit Hilfe eines Enzyms aus *Neurospora crassa* D-Glucosamin-6-phosphat gewonnen werden⁶⁾.



Die enzymatische Umwandlung von D-Glucose in D-Galaktose ist bereits in Einzelheiten geklärt. An diesem Vorgang ist die Uridin-diphosphoglucose (UDPG) (IV) als Coenzym beteiligt. Es ist damit zu rechnen, daß für die Bildung von D-Galaktosamin dies eine vorbereitende Reaktion ist, oder daß in entsprechender Weise D-Glucosamin in D-Galaktosamin verwandelt werden kann⁷⁾.

Den letzten Schritt der Biosynthese hat man sich wohl so vorzustellen, daß an S gebundene Acetyl-Gruppen⁸⁾ auf die Amino-Gruppen der Aminozucker übertragen werden; die „aktivierte Essigsäure“ vollzieht die Bildung der Acetamino-Gruppen.

4. Von der Mannigfaltigkeit der Verbindungen und ihren Wirkungen

Neben dem Chitin, das eine sogen. Gerüstsubstanz darstellt, zeichnen sich viele Naturstoffe, an deren Aufbau Aminozucker beteiligt sind, durch eine große Mannigfaltigkeit von Funktionen und Wirkungen aus, die nicht nur für das normale physiologische Geschehen, sondern auch für die Pathologie bedeutungsvoll sind.

Stoffe dieser Art spielen eine Rolle in zahlreichen Sekreten; die Muco-polysaccharide und Muco-proteine,

⁵⁾ S. V. Rieder, Federation Proc. 12, 258 [1953].

⁶⁾ L. F. Letoir u. C. E. Cardini, Biochim. biophysica Acta 12, 15 [1953].

⁷⁾ Vgl. auch J. T. Park, Federation Proc. 9, 213 [1950]; J. biol. Chemistry 194, 877, 885, 897 [1952]; E. Cabib, L. F. Letoir u. C. E. Cardini, ebenda 203, 1055 [1953].

⁸⁾ F. Lynen u. E. Reichert, diese Ztschr. 63, 47 [1951]; F. Lynen, E. Reichert u. L. Rueff, Liebigs Ann. Chem. 574, 1 [1951].

d. h. die meisten Schleimstoffe des Tierkörpers, gehören hierher; im Glaskörper des Auges und in den Gelenkschmieren (Synovial-Flüssigkeiten) findet man sie in hoher Konzentration; sie sind am Aufbau der Blutgefäße, der Luftröhren und der Nabelschnur beteiligt. Bestimmte Stoffe dieser Gruppe regulieren die Gerinnungsfähigkeit unseres Blutes (Heparin) und die Bildung unserer roten Blutkörperchen (intrinsic factor der Magenschleimhaut). Andere, die man in der Frauennmilch, aber nicht in der Kuhmilch findet, sind für die Darmflora des menschlichen Säuglings wesentlich und wiederum andere bestimmen darüber, welcher Blutgruppe wir angehören. Manche von ihnen werden im Harn ausgeschieden.

Für die Pathologie, insbesondere für das Verständnis gewisser Infektionskrankheiten, sind sie nicht minder bemerkenswert. So findet man sie in den Kapselsubstanzen zahlreicher *Pneumococcus*-Stämme und in weiteren Zellsubstanzen zahlreicher Bakterien. Das Pyrogen, d. h. die fiebererzeugende Substanz von *Coli*-Stämmen gehört hierher. Auf vielen Gebieten der Immunchemie sind sie im Spiel. Am Aufbau des Influenza-Virus sind sie beteiligt, aber auch an den Zellstrukturen bzw. Substraten der normalen Zellen, die von diesem Virus oder von Cholera-Vibionen angegriffen werden.

5. Probleme der Vererbung

Für Fragen der Genetik sind bereits eine ganze Zahl von Naturstoffen, an deren Aufbau Aminozucker beteiligt sind, von Interesse geworden. Hierzu gehören insbesondere diejenigen Substanzen, welche beim Menschen die Zugehörigkeit zu den Blutgruppen A, B und AB bestimmen. Von welcher Art die Fragestellungen sind, möchte ich an Hand von Untersuchungen, die T. W. J. Morgan⁹⁾ am Lister-Institut in London vorgenommen hat, erläutern.

Am Aufbau der Blutgruppensubstanzen sind 2 Zucker (*D*-Galaktose und *L*-Fucose), 2 Aminozucker (*D*-Glucosamin und *D*-Galaktosamin) sowie 11 Aminosäuren beteiligt. Das Verhältnis *D*-Glucosamin : *D*-Galaktosamin scheint bei den einzelnen Blutgruppensubstanzen in charakteristischer Weise verschieden zu sein.

Wir stellen uns vor, daß ein Mann mit der Blutgruppe AB eine Frau der Blutgruppe 0, d. h. der genetischen Konstitution OO, heiratet. Die Kinder werden phänotypisch entweder der Gruppe A oder der Gruppe B angehören; genotypisch können die Kinder nur AO oder BO sein. Eine Frage, die man hier stellen kann, lautet: hat in diesem Falle die Mutter überhaupt nichts, was den Aufbau von solchen Aminozucker-haltigen Stoffen steuert und gibt sie auch nichts diesbezüglich ihren Kindern weiter? Die Antwort lautet: Das Symbol 0 bedeutet nur für die Methoden der Serologie eine Null; mit chemischer Methodik läßt sich dagegen aus Personen der Blutgruppe 0 eine serologisch unwirksame Substanz isolieren, die den Blutgruppensubstanzen A und B sehr ähnlich ist und die man als Substanz H bezeichnet hat. Die Mutter besitzt also sehr wohl Gene, die den Aufbau von Aminozucker-haltigen Polysacchariden von der Art der Blutgruppensubstanzen steuern, auch wenn sie der Blutgruppe 0 angehört, und sie gibt dieses Merkmal ihren Kindern weiter.

Eine andere Frage betrifft den Vater mit der Blutgruppe AB: hat dieser in seinen Blutkörperchen und seinen Körperflüssigkeiten nebeneinander die Blutgruppensubstanzen A und B, die ihm von seinen Eltern vererbt wurden? Es hat sich herausgestellt, daß man künstliche Gemische der Blutgruppensubstanzen A und B leicht durch serologische Fä-

lungsreaktion quantitativ trennen kann. Mit den aus AB-Personen gewonnenen Präparaten ist eine solche Trennung nicht möglich. Es spricht alles dafür, daß hier die von den beiden Eltern bestimmten Merkmale in ein und derselben chemischen Moleköl vereinigt sind¹⁰⁾. Vermutlich hängt das mit der Größe der Moleküle zusammen (das Teilchengewicht der A-Substanz beträgt $2,6 \cdot 10^5$, dasjenige der B-Substanz $1,8 \cdot 10^6$; für die H-Substanz wurde $3,2 \cdot 10^5$ gefunden).

Es ist hervorzuheben, daß eine solche Vereinigung von genabhängigen Atomgruppierungen in ein und derselben Moleköl durchaus nicht allgemein bei heterozygoten Individuen gefunden wird. Von der Sichelzellen-Anämie z. B. weiß man, daß diejenigen Menschen, die auf Grund ihrer genetischen Konstitution sowohl normales Hämoglobin als auch Sichelzellen-Hämoglobin bilden sollten, dies auch wirklich tun: Man kann den Farbstoff ihrer roten Blutkörperchen unschwer in normales Hb und in Sichelzellen-Hb zerlegen; zur Bildung eines „Misch-hämoglobins“ kommt es nicht.

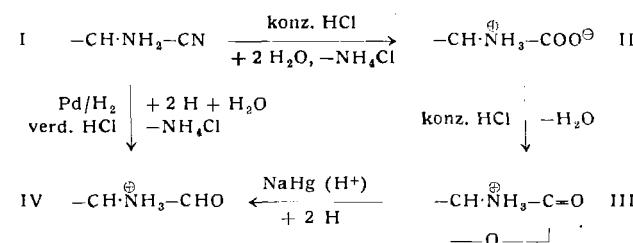
6. Zeittafel

Um die historische Entwicklung der Chemie der Aminozucker leichter verfolgen zu können, seien einige Jahreszahlen angeführt. Insbesondere für die Entwicklung in den letzten Jahren ist es kaum möglich, die wichtigsten Fortschritte in Kürze festzuhalten. Einige seltene Aminozucker, die in antibiotischen und anderen Substanzen von Mikroorganismen aufgefunden wurden, sind bereits in Abschnitt 2 erwähnt. Am Ende der Zeittafel (s. S. 26) werden Monographien angeführt.¹¹⁾

Nach diesem Überblick wollen wir uns einzelnen Problemen näher zuwenden. Im folgenden wird über Untersuchungen berichtet, die im Laufe des letzten Jahres im Max-Planck-Institut für Medizinische Forschung in Heidelberg ausgeführt worden sind.

7. Eine neue Synthese

Vor 53 Jahren haben E. Fischer und H. Leuchs¹²⁾ die erste Synthese des *D*-Glucosamins mitgeteilt. Sie haben aus *D*-Arabinose und Ammoniak zunächst das *D*-Arabinosamin hergestellt und an dieses HCN angelagert. Das in Substanz nicht isolierte Amino-nitril (I) wurde mit konz. Salzsäure zur *D*-Glucosaminsäure (II) verseift, die sich durch weitere Einwirkung von HCl in eine Lösung des Lactons (III) verwandeln ließ. Das Lacton lieferte bei Reduktion mit Na-Amalgam in saurer Lösung den Aminozucker. Als Hydrochlorid konnte das synthetische *D*-Glucosamin nicht erhalten werden. Das Umsetzungsprodukt mit Phenyl-isocyanat war mit demjenigen des natürlichen Aminozuckers identisch. Die Ausbeute daran betrug etwa 1,5%. Nach diesem Verfahren ist später von P. A. Levene¹³⁾ auch das



Alter Weg: I → II → III → IV, Ausbeuten: 0,3 bis 1,5%

Neuer Weg: I → IV, Ausbeuten: 70–75% d. Th.

⁹⁾ Kurze Zusammenfassung s. W. T. J. Morgan: The chemical basis of blood group specificity in man, Lectures on the scientific basis of medicine 4, 92 [1954/55].

¹⁰⁾ W. T. J. Morgan u. W. M. Watkins, Nature [London] 177, 521 [1956].

¹¹⁾ Ber. dtsh. chem. Ges. 36, 24 [1903].

¹²⁾ P. A. Levene u. F. B. La Forge, J. biol. Chemistry 20, 433 [1915].

| | | |
|---------|---------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| 1876 | Entdeckung von D-Glucosamin im Hydrolysat von Hummerschalen (G. Ledderhose) | Ber. dtsch. chem. Ges. 9, 1200 |
| 1886 | D-Isoglucosamin durch Reduktion von Phenyl-D-glucosazon (E. Fischer) | Ber. dtsch. chem. Ges. 19, 1920 |
| 1902 | N-Acetyl-D-glucosamin durch mildere Hydrolyse von Chitin (S. Fränkel u. A. Kelly) | Mh. Chemie 23, 123 |
| 1903 | Erste Synthese von D-Glucosamin (E. Fischer u. H. Leuchs) | Ber. dtsch. chem. Ges. 36, 24 |
| 1914 | Entdeckung von D-Galaktosamin (P. A. Levene u. F. B. La Forge) | J. biol. Chemistry 18, 123 |
| 1923 ff | Polysaccharide der Pneumococcen (M. Heidelberger, O. T. Avery, W. F. Goebel u. a.) | J. exp. Medicine 38, 73 |
| 1928 | Röntgenographische Strukturbestimmung des Chitins (K. H. Meyer u. H. Mark) | Ber. dtsch. chem. Ges. 61, 1936 |
| 1934 | Colorimetrische Bestimmung der N-Acetyl-Aminozucker (W. T. J. Morgan u. L. A. Elson) | Biochem. J. 28, 988 |
| 1934 ff | Hyaluronsäure (K. Meyer u. J. W. Palmer) | Amer. J. Ophthalmol. 19, 859 |
| 1935 | Heparin, eine Chondroitin-polyschwefelsäure (E. Jorpes) | Naturwissenschaften 23, 196 |
| 1936 | Sialinsäure aus Submaxillaris-mucin (G. Blix) | Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 240, 43 |
| 1937 | Amadori-Umlagerung von N-Glucosiden (R. Kuhn u. F. Weygand) | Ber. dtsch. chem. Ges. 70, 769 |
| 1939 ff | Aminozucker in gonadotropen Hormonen der Hypophyse (H. Evans u. Mitarbb.) | Science [London] 89, 249 |
| 1942 | Glucosamin als Spaltstück von Blutgruppensubstanzen (K. Freudenberg, H. Watch u. H. Molter) | Naturwissenschaften 30, 87 |
| 1947 | Aminozucker im Influenza-Virus (C. A. Knight) | J. exp. Medicine 85, 99 |
| 1952 | Glucosamin als Baustein des Pyrogens von <i>Bact. coli</i> (O. Westphal u. Mitarbb.) | Z. Naturforsch. 7b, 536 |
| 1953 | Aminozucker im „intrinsic factor“ (A. L. Latner u. E. McEvoy-Bowe) | Biochem. J. 55, XXIII. |
| | Monographien | |
| 1925 | P. A. Levene: Hexosamines and Mucoproteins | Longmans, London |
| 1939 | J. E. Jorpes: Heparin in the Treatment of Thrombosis, 2. Aufl. 1946 | Oxford Univ. Press, London |
| 1955 | P. W. Kent u. M. W. Whitehouse: Biochemistry of the Aminosugars | Butterworth, London |
| 1956 | E. A. Kabat: Blood group substances. Their Chemistry and Immunochemistry | Academic Press, New York |

Tabelle 1. Zeittafel

D-Galaktosamin und von K. Folkers¹⁾) das N-Methyl-L-glucosamin aufgebaut worden. Die Ausbeute an letzterem betrug 0,3% d. Th.

Gemeinsam mit W. Kirschenlohr¹³⁾) wurde gefunden, daß man die aus Aldosen, prim. Aminen und Blausäure leicht erhältlichen Aminonitrile (I) durch katalytische Hydrierung in verd. saurer Lösung sehr leicht und mit guten Ausbeuten direkt in die Aminozucker (IV) verwandeln kann.

Die auf dem neuen Wege erzielten Ausbeuten sind in Tabelle 2 verzeichnet. An D-Glucosamin bzw. an L-Glucosamin-hydrochlorid (das noch unbekannt war), erhält man 74–75% d. Th. in reinster Form. Beim N-Methyl-L-glucosamin, dem Spaltstück des Streptomycins, ist die Ausbeute (75% d. Th., W. Bister¹⁴⁾) etwa 100 mal größer als nach dem Verfahren von E. Fischer. Was den neuen Weg zusätzlich auszeichnetet, ist die Vermeidung der konz. Salzsäure. Dadurch ist es jetzt möglich, glykosidische Bindungen zu schonen und z. B. aus 1 kg Milchzucker 150–160 g N-Acetyl-lactosamin¹⁵⁾ herzustellen. Das N-Acetyl-lactosamin, das ein starker Wuchsstoff für den *Lactobacillus bifidus* var. *Pennsylvanicus* ist, war bis vor kurzem eine rechte Kostbarkeit. Man war zu seiner Gewinnung z. B. auf die partielle Säurehydrolyse von Blutgruppensubstanzen oder auf eine enzymatische Synthese angewiesen, die nur unter Heranziehung chromatographischer Methoden

zum reinen Disaccharid führten. Die Darstellung von D-Galaktosamin aus D-Lyxose ist ergiebig geworden¹⁶⁾.

Das Beispiel des D-Galaheptosamins, das aus D-Galaktose aufgebaut wurde, zeigt, daß außer den natürlich vorkommenden noch viele weitere Aminozucker sich werden aufbauen lassen, deren Kenntnis sowohl für die Physiologie wie für die praktische Medizin von Interesse werden kann.

8. Reaktionsmechanismus; Modellversuche

Auffallend für den Organiker muß es sein, daß bei unseren Synthesen a) die C≡N-Gruppe nur 1 Mol H₂ aufnimmt, während die Nitril-Gruppe im allgemeinen bei katalytischen Hydrierungen unter Aufnahme von 2 Mol H₂ in –CH₂·NH₂ übergeht; b) unter den angeführten Beispielen auch solche für die Umwandlung von Aryl-aminonitrilen –CH·NH·Aryl-CN in α-Amino-aldehyde –CH·NH₂·CHO zu finden sind, bei denen also im Laufe der katalytischen Hydrierung die Bindung des N-Atoms an den Aryl-Rest gesprengt wird; c) im Falle des N-Benzyl-D-galaktosaminsäure-nitrils überhaupt kein Aminozucker erhalten wurde. Zu diesen 3 Punkten möchte ich nähere Ausführungen machen.

a) Die katalytische Halbhydrierung von Nitrilen zu Aldehyden ist im allgemeinen nur möglich, wenn man dem Hydrieransatz Stoffe zusetzt, die wie Phenylhydrazin, Semicarbazid oder 1,2-Dianilinoäthan die Aldehyd-Stufe abfangen. Dieses Verfahren ist in jüngster Zeit von H. Plieninger¹⁷⁾ erfolgreich ausgestaltet worden. Bei der geschilderten Synthese von Aminozuckern bedarf es nicht eines derartigen Zusatzes. Die Aminozucker liegen nicht als echte Aldehyde, sondern als cyclische Halbacetale vor, die erst unter sehr viel energischeren Bedingungen weiteren Wasserstoff aufnehmen. Man kann sagen, daß es sich auch in unserem Falle um ein „Abfangverfahren“ handelt; nur brauchen wir kein besonderes Abfangmittel zuzusetzen, da die abfangenden Hydroxyl-Gruppen der eigenen Moleköl angehören.

Damit erhebt sich die Frage, welche relative Stellung zur Nitril-Gruppe diese Hydroxyle einnehmen können. Die bisherigen Erfahrungen zeigen, daß sowohl γ- wie δ-Hydroxy-nitrile bei katalytischer Hydrierung leicht in

| Aminozucker | aus | Amin | Ausb. % d. Th. |
|---------------------------------------------------|----------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|
| D- bzw. L-Glucosamin | D- bzw. L-Arabinose | NH ₃ Benzylamin Anilin p-Toluidin | 74 75 68 71 |
| L-Mannosamin D-Galaktosamin | L-Arabinose D-Lyxose | Benzylamin NH ₃ Benzylamin Anilin | 1 70 0 35 |
| D-Galaheptosamin N-Ac-lactosamin | D-Galaktose 3-β-D-Galakt.- D-arabinose | Benzylamin Benzylamin Anilin | 60 42 42 |
| N-Methyl-L-glucosamin N-Isopropyl-L-glucosamin | L-Arabinose L-Arabinose | CH ₃ ·NH ₂ (H ₃ C) ₂ CH·NH ₂ | 75 60 |

Tabelle 2

¹³⁾ R. Kuhn u. W. Kirschenlohr, diese Ztschr. 67, 786 [1955]; Liebigs Ann. Chem. 600, 115 [1956].

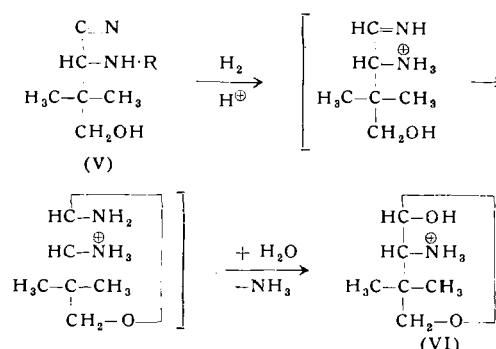
¹⁴⁾ R. Kuhn u. W. Bister, Liebigs Ann. Chem., im Druck.

¹⁵⁾ R. Kuhn u. W. Kirschenlohr, Liebigs Ann. Chem. 600, 135 [1956].

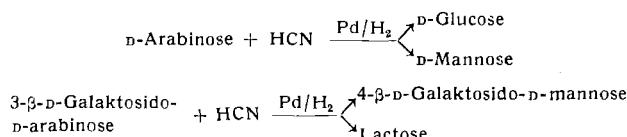
¹⁶⁾ R. Kuhn u. W. Kirschenlohr, ebenda 600, 126 [1956].

¹⁷⁾ H. Plieninger u. G. Werst, diese Ztschr. 67, 156 [1955].

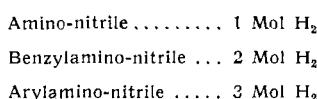
γ - und δ -Hydroxy-aldehyde übergehen. Bei der Synthese des N-Acetyl-lactosamins¹⁵⁾ ist nur das δ -Hydroxyl frei; bei der mit D. Weiser¹⁶⁾ ausgeführten Synthese des α -Amino- β , β -dimethyl- γ -hydroxy-butyraldehyds (VI) ist nur ein γ -Hydroxyl vorhanden:



Die α -ständigen Amino-, Benzylamino- oder Arylamino-Gruppen der Nitrile sind nicht wesentlich. Man kann, wie mit W. Kirschenlohr¹³⁾ gefunden wurde, auch die nach H. Kiliani und E. Fischer aus gewöhnlichen Aldosen + Blausäure erhältlichen Cyanhydrine durch katalytische Hydrierung, unter unseren Bedingungen, in die um 1 C-Atom reicherden Aldosen überführen:



b) Vergleicht man die Wasserstoff-Aufnahme bei der katalytischen Hydrierung von Amino-, Benzylamino- und Arylamino-nitrilen der Zuckerreihe, so findet man:



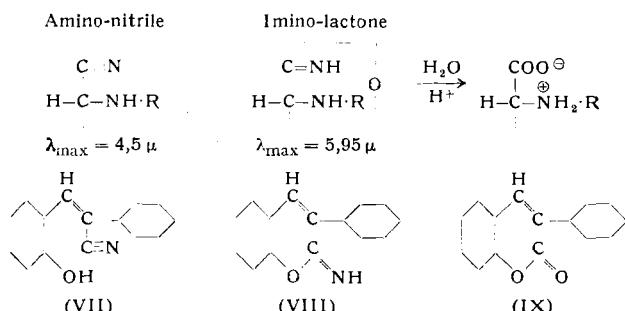
Der Mehrverbrauch von 1 Mol bei den Benzylamino-Verbindungen ist ohne weiteres verständlich; es kommt in bekannter Weise zur Bildung von Toluol. Der Mehrverbrauch von 2 Molen bei den Arylamino-Verbindungen kommt dadurch zustande, daß freie NH₂-Gruppen und Cyclohexanon (Ausbeuten an krist. Oxim bzw. 2,4-Dinitrophenylhydrazone: 60 bis 80 % d.Th.) gebildet werden. Bei der Synthese des D-Isoglucosamins (Abschn. 9) wird auf diese unerwartete katalytisch-hydrolytische Entarylierung von Aminen noch näher eingegangen. c) das Versagen der Synthese beim N-Benzyl-D-galaktosaminsäure-nitril und ihr gutes Gelingen beim N-Benzyl-D-glucosaminsäure-nitril beruht offenbar darauf, daß ersteres laut IR-Spektrum ein cyclisches Iminolacton, letzteres dagegen ein echtes Nitril ist (W. Otting). Das Imino-lacton wird so leicht von Wasser bzw. verd. Salzsäure verseift, daß es nur 1 Mol H₂ (unter Toluol-Bildung) verbraucht und praktisch quantitativ D-Galaktosaminsäure, aber kein D-Galaktosamin, liefert.

So verhält sich auch das als Modellsubstanz herangezogene 3-Phenyl-cumarinimid. Laut Literatur sollte diese Substanz sowohl in der offenen (VII), wie in der cyclischen Form (VIII) kristallisiert erhältlich, und nur letztere in Säure löslich sein. Nach Versuchen mit D. Weiser¹⁹⁾ existiert jedoch nur das Imino-lacton (VIII). Dieses ist allerdings sehr leicht hydrolysierbar. Wenn Präparate das dabei entstehende 3-Phenylcumarin (IX) enthalten, sind sie in verd. Säure natürlich nicht mehr klar löslich. Die

¹⁸⁾ R. Kuhn u. D. Weiser, Liebigs Ann. Chem., im Druck.

¹⁹⁾ R. Kuhn u. D. Weiser, Liebigs Ann. Chem. 600, 144 [1956].

Aufgabe, derartige Hydroxynitrile sowohl in der offenen wie in der cyclischen Form kristallisiert zu gewinnen, erscheint noch ungelöst.



9. Das D-Isoglucosamin und die Amadori-Umlagerung

Durch Reduktion von Glucosazon mit Zinkstaub und Essigsäure hat 1886 E. Fischer das D-Isoglucosamin in Form seines schön kristallisierenden essigsauren Salzes erhalten. Es handelt sich um eine Amino-ketose, nämlich um 1-Desoxy-1-amino-fructose. Bis vor kurzem hat sich das Interesse an dieser Verbindung auf die systematische organische Chemie beschränkt. Das hat sich gewandelt, seit H. Borsook²⁰⁾ in Pasadena die Entdeckung gemacht hat, daß Derivate des D-Isoglucosamins in der Leber von Säugetieren vorkommen, und daß diese Verbindungen bereits in γ -Mengen einen interessanten physiologischen Vorgang, nämlich die Aufnahme bzw. den Einbau von Aminosäuren in lebende Zellen zu katalysieren vermögen.

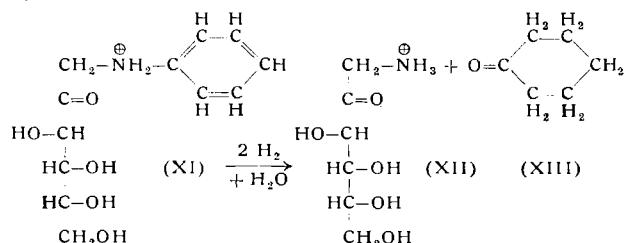
Die von H. Borsook aus Leber isolierten Substanzen sind chromatographisch einheitlich, aber nicht kristallisiert erhalten worden. Er konnte sie, in geringen Mengen, auch durch Kondensation von D-Glucose mit verschiedenen natürlichen Aminosäuren gewinnen. Sie entstehen dabei offenbar durch eine sogen. Amadori-Umlagerung.

M. Amadori, Professor für Chemie an der Universität Modena, hatte bei der Kondensation von Anilin und anderen Arylaminen mit D-Glucose 2 Reihen von Verbindungen erhalten. Die durch verd. Säure leicht hydrolysierbaren sprach er richtig als N-Glucoside an; die nicht hydrolysierbaren betrachtete er als Schiff'sche Basen. R. Kuhn und F. Weygand haben gezeigt, daß die stabilen Verbindungen in Wirklichkeit N-Aryl-D-isoglucosamine sind, die durch eine molekulare Umlagerung entstehen, und sie haben dieser den Namen Amadori-Umlagerung gegeben. Die aus natürlichen Aminosäuren R-CH-NH₂-COOH und D-Glucose gebildeten Amadori-Verbindungen (X, die Spannweite der O-Brücke ist noch unbekannt, deshalb als echtes Keton formuliert) zeigen, wie die entsprechenden N-Aryl-Verbündungen, bei schwach alkalischer Reaktion starkes Reduktionsvermögen; sie können unter Enolisierung die Gruppierung $-\text{C}(\text{OH})=\text{C}(\text{NH}\cdot\text{R})-$ ausbilden, die an die der Ascorbinsäure, $-\text{C}(\text{OH})=\text{C}(\text{OH})-$, erinnert. Voraussichtlich werden Verbindungen dieser Art bald leichter zugänglich sein, nachdem es gelungen ist, eine neue ergiebige Darstellungsmethode für das D-Isoglucosamin (XII) zu finden²¹⁾. Sie beruht darauf, daß man die leicht zugänglichen N-Aryl-D-isoglucosamine (XI) in essigsaurer Lösung kata-

²⁰⁾ H. Borsook, A. Abrams u. P. H. Lowy, J. biol. Chemistry 215, 111 [1955]; A. Abrams, P. H. Lowy u. H. Borsook, J. Amer. chem. Soc. 77, 4794 [1955]; P. H. Lowy u. H. Borsook, ebenda 78, 3175 [1956].

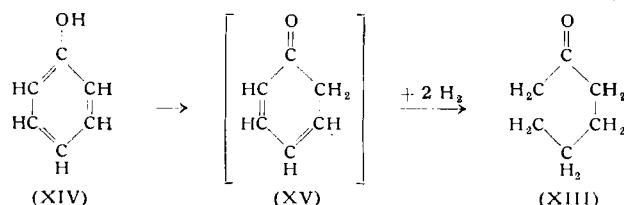
²¹⁾ R. Kuhn u. H. J. Haas, Liebigs Ann. Chem. 600, 148 [1956].

lytisch hydriert; man erhält 83 % d.Th. Der hierfür entwickelte Katalysator ist ein braunes Palladiumoxydhydrat-Bariumsulfat²²⁾.



Der Phenyl-Rest wird vom N-Atom als Cyclohexanon (**XIII**) abgespalten; die Keto-Gruppe bleibt unangegriffen. Auch in stereochemischer Hinsicht ist diese Reaktion bemerkenswert. Wird nämlich N-o-Tolyl-d-isoglicosamin hydriert, so wird optisch aktives 2-Methyl-cyclohexanon (optische Reinheit: ~10%) erhalten.

Zu den besonderen Eigenschaften des Pd-Katalysators mit dem wir hydrieren, gehört es, daß er sowohl Keto-Gruppen als auch echte *Kekulé*-Strukturen in Aromaten praktisch unangegriffen läßt. Damit hängt es offensichtlich zusammen, daß man mit seiner Hilfe Phenol (**XIV**) in wäßriger Lösung gut, wenn auch nur langsam, zu Cyclohexanon (**XIII**) hydrieren kann:



Das Phenol verhält sich dabei so, wie wenn es als Cyclohexadienon (**XV**) reagieren würde und nimmt nur 2 Mol Wasserstoff auf; die Reaktionsträgheit der Keto-Gruppe, die schon bei der Hydrierung der *Amadori*-Verbindungen auftrat, verhindert die weitere Hydrierung zu Cyclohexanol.

10. Oligosaccharide der Frauenmilch; Bifidus-Faktoren

Es ist bereits in Abschnitt 2 gezeigt worden, wie sich in der stammesgeschichtlichen Entwicklung der Lebewesen die höheren Pflanzen von den höheren Tieren und vom Menschen hinsichtlich der Aminozucker differenziert haben und welche Sonderstellung in dieser Hinsicht gewisse Gruppen von Mikroorganismen einnehmen. Es ist nun sehr auffallend, daß innerhalb der Säugetiere eine weitere Differenzierung erfolgte. Anhaltspunkte hierfür haben bereits Untersuchungen über die Blutgruppensubstanzen ergeben, die man [keineswegs so wie bei den Primaten allgemein im Tierreich findet. Mit besonderer Deutlichkeit sind chemische Unterschiede bei vergleichenden Untersuchungen über die Milch zu Tage getreten. Am reichsten an Aminozuckern ist das Colostrum der Frau, d. h. das erste Sekret der Milchdrüsen nach der Geburt. Die normale Frauenmilch enthält neben dem Milchzucker durchschnittlich pro Liter 4 g N-haltige Oligosaccharide, an deren Aufbau etwa 0,7 g N-Acetyl-D-glucosamin und geringe Mengen von N-Acetyl-D-galaktosamin beteiligt sind. In der Kuhmilch ist weniger als $1/100$ davon enthalten.

Der Weg in dieses Gebiet ist von Mikrobiologen und Kinderärzten gebahnt worden. In der Darmflora des normalen brustgefütterten Säuglings überwiegt der *Lactobacillus bifidus*, den *H. Tissier*²³⁾ sowie *E. Moro*²⁴⁾ zuerst beschrieben; bei Ernährung mit Kuhmilch tritt er meist ganz zurück. Dieser *Lactobacillus* baut den Milchzucker zu

²²⁾ R. Kuhn u. H. J. Haas, diese Ztschr. 67, 785 [1955].

²³⁾ "Recherches sur la flore intestinale et pathologique du nourrisson", Paris 1900.

²⁴⁾ Klin. Wschr. 13, 114 [1900].

Essigsäure + Milchsäure ab. Nach Versuchen mit radioaktivem Zucker, die mit *H. Tiedemann*²⁵⁾ ausgeführt wurden, vollzieht sich dieser Abbau entsprechend dem Schema von *O. Meyerhof*. Die gebildete Säure bewirkt, daß der Darminhalt des brustgefütterten Säuglings viel stärker sauer reagiert als der von Flaschenkindern. Dies scheint für die höhere Resistenz des Brustkindes gegenüber intestinalen Infektionen nicht unwe sentlich zu sein. Die von japanischen Kinderärzten (*N. Homma* u. a.) festgestellte Schutzwirkung von Frauenmilch gegen Typhus-Infektionen des Säuglings könnte z. B. mit der besonderen Säureempfindlichkeit der Typhus-Bazillen zusammenhängen.

In einer sehr gründlichen Arbeit aus der *Bessauschen Klinik* in Leipzig hat 1926 *H. Schönfeld*²⁶⁾ an Säuglingen gezeigt, daß die für das *Bifidus*-Wachstum wesentliche Substanz der Frauenmilch, der *Bifidus*-Faktor, wie er später genannt wurde, sich im eiweißfreien Teil der Molke neben der Lactose findet; daß er weder in der Sahne, d. h. unter den fettlöslichen Bestandteilen, noch unter den Eiweißstoffen zu suchen ist, und daß es sich auch nicht um einen Mineralbestandteil der Asche handelt. Anscheinend ohne Kenntnis dieser Arbeit haben 1933 *M. Polonovski* und *A. Lespagnol*²⁷⁾ in der Frauenmilch neben Lactose die „Gynolactose“ gefunden, die auf *Fehlingsche* Lösung nur schwach reduzierend wirkte, N-haltig und amorph war.

Seit von *R. F. Norris*, *T. Flanders*, *R. M. Tomarelli* und *P. György*²⁸⁾ erneute Untersuchungen über den *L. bifidus* in Angriff genommen wurden, ist das vorliegende Problem intensiver bearbeitet und insbesondere durch *P. György* gefördert worden, dem es gelang, einen Stamm von *L. bifidus* zu isolieren und zu züchten, der die bemerkenswerte Eigenschaft besitzt, nicht auf Kuhmilch, wohl aber auf Frauenmilch zu gedeihen, den *Lactobacillus bifidus var. Pennsylvanicus* (*L. bifidus var. Penn*)²⁹⁾. Damit war ein mikrobiologischer Test gewonnen, der mit geringen Substanzmengen ausführbar war.

In diesem Test erweisen sich die N-haltigen Oligosaccharide der Frauenmilch, aber auch noch viele weitere hoch- und niedermolekulare, natürlich vorkommende und synthetische Derivate des N-Acetyl-D-glucosamins als wirksam. Die im var. *Penn*-Test gefundenen Aktivitäten entsprechen jedoch vielfach nicht der *Bifidus*-fördernden Wirksamkeit, die man am menschlichen Säugling mit denselben Präparaten findet (*E. Walch*, Univ.-Frauenklinik Heidelberg). Die N-haltigen Oligosaccharide der Frauenmilch sind sowohl in vitro wie bei Neugeborenen wirksam. Über klinische Ergebnisse mit dem von uns synthetisierten β -Äthyl-N-acetyl-D-glucosaminid³⁰⁾ hat *E. Walch*³¹⁾ berichtet.

Hier soll nur auf die chemische Natur der Aminozuckerhaltigen Kohlehydrate der Frauenmilch näher eingegangen werden, d. h. auf die Zersetzung der sogen. Gynolactose in ihre Komponenten sowie auf deren Konstitution, soweit sie mit *H. H. Baer* und *A. Gauhe* ermittelt wurde.

Die durchschnittliche Zusammensetzung des Oligosaccharid-Gemisches, das sich chromatographisch aufteilen läßt, ist etwa:

| | |
|----------------------------------|-----------------------------|
| 10% Fucosido-lactose | $R_{\text{Lactose}} = 0,73$ |
| 15% Lacto-N-tetraose..... | = 0,36 |
| 8% Lacto-N-fucopentaose I | = 0,27 |
| 4% Lacto-N-fucopentaose II | = 0,19 |
| 7% Lacto-N-difucohexaose | = 0,11 |
| 56% höhere Saccharide | < 0,10 |

²⁵⁾ R. Kuhn u. H. Tiedemann, Z. Naturforsch. 8b, 428 [1953].

²⁶⁾ Jahrbuch Kinderheilkunde 113, 19 [1926].

²⁷⁾ Bull. Soc. Chim. biol. 15, 320 [1933].

²⁸⁾ J. Bacteriol. 60, 681 [1950].

²⁹⁾ P. György, R. F. Norris u. C. S. Rose, Arch. Biochem. Biophysics 48, 193 [1954].

³⁰⁾ R. Kuhn u. W. Kirschentohr, Chem. Ber. 86, 1331 [1953].

³¹⁾ E. Walch, Dtsc. med. Wschr. 81, 661 [1956].

Als Bausteine findet man N-Acetyl-D-glucosamin, L-Fucose, D-Glucose und D-Galaktose in folgenden mola ren Verhältnissen:

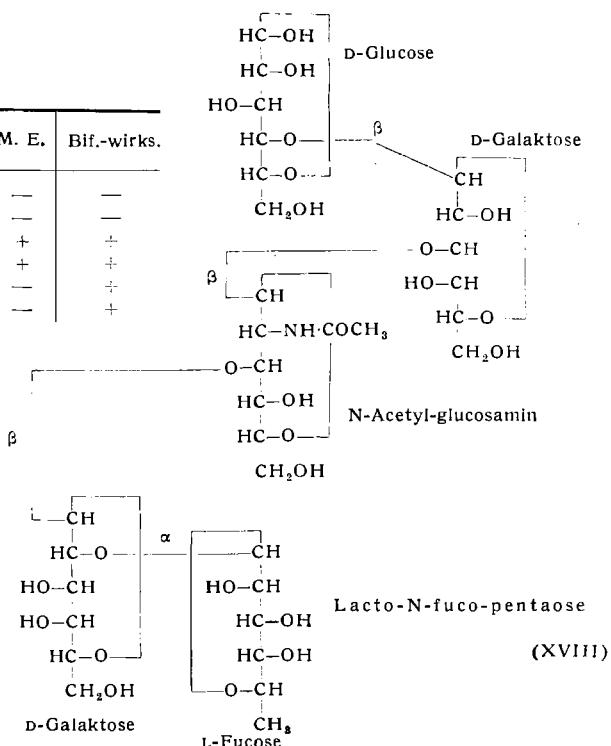
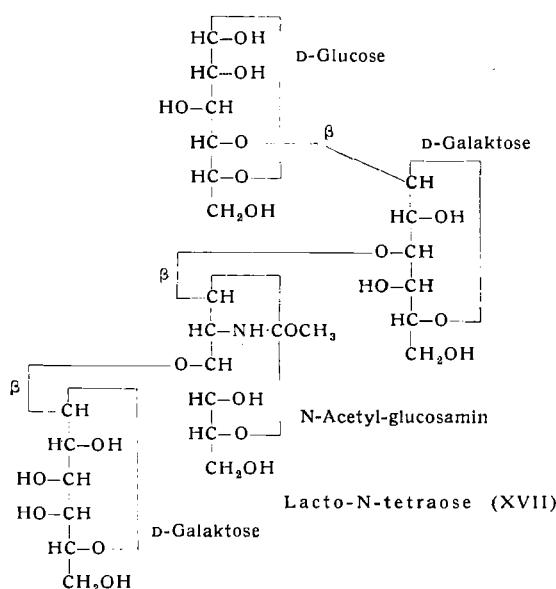
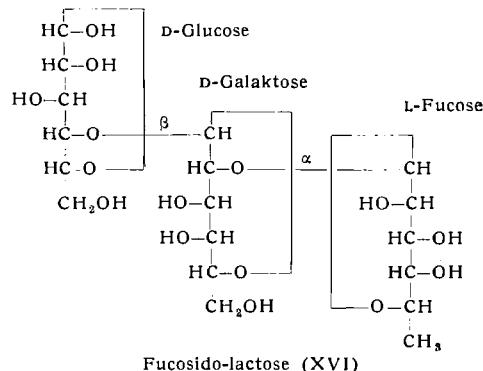
| R _{Lactose} | D-Glucose | D-Galak- | N-Ac.- | L-Fucose | $[\alpha]_D^{20}$ | M. E. | Bif.-wirks. |
|----------------------|-----------|----------|--------|----------|-------------------|-------|-------------|
| 1,0 | 1 | 1 | — | — | + 54,9 ° | — | — |
| 0,73 | 1 | 1 | — | 1 | - 57 ° | — | — |
| 0,36 | 1 | 2 | 1 | — | + 25,5 ° | + | + |
| 0,27 | 1 | 2 | 1 | 1 | - ~ 19 ° | + | + |
| 0,19 | 1 | 2 | 1 | 1 | - ~ 28 ° | — | + |
| 0,11 | 1 | 2 | 1 | 2 | - ~ 66 ° | — | + |

Tabelle 3

In der vorletzten Spalte ist unter M. E. der Ausfall der Farbreaktion nach Morgan-Elson (Abschn. 13) angegeben; in der letzten Spalte das Ergebnis der mikrobiologischen Wuchsstoff-Teste, die P. György und C. S. Rose in Philadelphia/Pa mit dem *L. bifidus var. Penn.* ausgeführt haben. Man erkennt, daß nur die L-Fucose enthaltenden Oligosaccharide linksdrehend sind und nur die N-haltigen als Wuchsstoff wirken.

Weitere Komponenten, die nur in sehr geringen Mengen vorkommen, enthalten auch etwas Galaktosamin. Zu einer besonderen Gruppe gehören saure Oligosaccharide, die 2 N-Atome und 1 COOH-Gruppe enthalten und direkt Ehrlich-positiv sind (vgl. Abschn. 11).

Besonders leicht kristallisiert die Lacto-N-tetraose. Neuerdings gelang es auch, die Fucosido-lactose und die Lacto-N-fucopentaose I zur Kristallisation zu bringen. Die Konstitutionsermittlung (Hydrierung, Permethylierung, Säure-Hydrolyse, Isolierung und Identifizierung der kristallisierten Spaltstücke) führte zu folgenden Formelbildern:



Man erkennt, daß all diese Verbindungen Lactose als Baustein enthalten, die ja auch im freien Zustand in der Milch in großen Mengen gefunden wird. In der Fucosido-lactose (XVI) ist die L-Fucose α -glykosidisch mit dem Hydroxyl am C-Atom 2 des Galaktose-Restes im Milchzucker verknüpft. Die N-haltigen Oligosaccharide leiten sich von einem Tetrasaccharid ab, der Lacto-N-tetraose (XVII), in der man die Lactose als die reduzierende Hälfte der Molekel findet. Zu diesem Tetrasaccharid, das als eine Grundsubstanz erscheint, lassen sich die beiden Pentasaccharide und das Hexasaccharid durch Abspaltung ihrer L-Fucose-Reste mit Hilfe von verd. Säure abbauen.

Im Rahmen dieser Untersuchungen sind bisher die folgenden Aminozucker-haltigen Disaccharide und höheren Saccharide teils isoliert, teils chemisch oder enzymatisch synthetisiert und in ihrer Konstitution geklärt worden:

O- β -D-Galaktopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-2-desoxy-2-acetamino- α -D-glucose (3- β -D-Galaktosido-N-acetyl-D-glucosamin, Lacto-N-biose I)³²⁾,

O- β -D-Galaktopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-2-desoxy-2-acetamino- α -D-glucose (4- β -D-Galaktosido-N-acetyl-D-glucosamin, N-Acetyl-lactosamin)³³⁾,

O- β -D-Galaktopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-2-desoxy-2-acetamino-D-glucose (6- β -D-Galaktosido-N-acetyl-D-glucosamin, N-Acetyl-allolactosamin)³⁴⁾,

³²⁾ Isolierung aus Frauenmilch (Partialhydrolyse): R. Kuhn, A. Gauhe u. H. H. Baer, Chem. Ber. 87, 289 [1954]. Konstitution: R. Kuhn, H. H. Baer u. A. Gauhe, ebenda 87, 1553 [1954]; s. a. R. Kuhn, A. Gauhe, u. H. H. Baer, ebenda 87, 1138 [1954]. Enzymat. Synthese: A. Alessandrini, E. Schmidt, F. Zilliken u. P. György, J. biol. Chemistry 220, 71 [1956].

³³⁾ Isolierung: Z. Yosizawa, Tohoku J. exp. Med. 51, 51 [1949], aus Schweinemagen-mucin. R. M. Tomarelli, J. B. Hassinen, E. R. Eckhardt, R. H. Clark u. F. W. Bernhart, Arch. Biochem. Biophys. 48, 225 [1954], aus Schweinemagen-mucin; R. Kuhn u. W. Kirschenlohr, Chem. Ber. 87, 560 [1954], aus Meconium; R. Kuhn, H. H. Baer u. A. Gauhe, Chem. Ber. 87, 1553 [1954], aus Frauenmilch (Partialhydrolyse v. Oligosacch.). — Konstitution: R. Kuhn u. W. Kirschenlohr, Chem. Ber. 87, 560 [1954]. F. Zilliken, P. N. Smith, R. M. Tomarelli u. P. György, Arch. Biochem. Biophys. 54, 398 [1955]. Z. Yosizawa, Tohoku J. exp. Med. 52, 111 [1950]. Chem. Synth.: R. Kuhn u. W. Kirschenlohr, Chem. Ber. 87, 1547 [1954]; Liebigs Ann. Chem. 600, 135 [1956]; s. a. Z. Yosizawa, Tohoku J. exp. Med. 52, 145 [1950]. — Enzymat. Synth.: F. Zilliken, P. N. Smith, C. S. Rose u. P. György, J. biol. Chemistry 208, 299 [1954]; 217, 79 [1955].

³⁴⁾ Chem. Synthese: R. Kuhn, H. H. Baer u. A. Gauhe, Chem. Ber. 88, 1713 [1955]. — Enzymat. Synthese: K. Wallenfels, diesz. Ztschr. 65, 137 [1953]; F. Zilliken, P. N. Smith, C. S. Rose u. P. György, J. biol. Chemistry 208, 299 [1954]; R. Kuhn, H. H. Baer u. A. Gauhe, Chem. Ber. 88, 1713 [1955].

2-Desoxy-2-acetamino-O- β -D-glucopyranosyl-(1 → 6)-D-glucose (6- β -N-Acetyl-glucosaminido-D-glucose)³⁵⁾,
 2-Desoxy-2-acetamino-O- β -D-glucopyranosyl-(1 → 6)-D-galaktose (6- β -N-Acetyl-glucosaminido-D-galaktose)³⁶⁾,
 2-Desoxy-2-acetamino-O- β -D-glucopyranosyl-(1 → 4)-2-desoxy-2-acetamino- α -D-glucopyranose (N,N'-Diacetyl-chitobiose)³⁷⁾,
 2-Desoxy-2-acetamino-O- β -D-glucopyranosyl-(1 → 3)-D-galaktose (3- β -N-Acetyl-glucosaminido-D-galaktose, Lacto-N-biose II)³⁸⁾,
 O- β -D-Galaktopyranosyl-(1 → 4)-1-desoxy-1-acetamino- β -D-glucose (1-Acetamino- β -lactose)³⁹⁾,
 α -L-Fucopyranosyl-(1 → 2)- β -D-galaktopyranosyl-(1 → 4)- α -D-glucopyranose (Fucosido-lactose)⁴⁰⁾,
 O- β -D-Galaktopyranosyl-(1 → 3)-2-desoxy-2-acetamino-O- β -D-glucopyranosyl-(1 → 3)-D-galaktose (Lacto-N-triose I)⁴¹⁾,
 2-Desoxy-2-acetamino-O- β -D-glucopyranosyl-(1 → 3)-O- β -D-galaktopyranosyl-(1 → 4)-D-glucopyranose (Lacto-N-triose II)⁴²⁾,
 O- β -D-Galaktopyranosyl-(1 → 3)-2-desoxy-2-acetamino-O- β -D-glucopyranosyl-(1 → 3)-O- β -D-galaktopyranosyl-(1 → 4)-O- α -D-glucopyranose (Lacto-N-tetraose)⁴³⁾,
 O- α -L-Fucopyranosyl-(1 → 2)-O- β -D-galaktopyranosyl-(1 → 3)-2-desoxy-2-acetamino-O- β -D-glucopyranosyl-(1 → 3)-O- β -D-galaktopyranosyl-(1 → 4)-O- α -D-glucopyranose (Lacto-N-fucopentaose I)⁴⁴⁾,
 Lacto-N-fucopentaose II⁴⁵⁾,
 Lacto-N-difucohexaose⁴⁶⁾,

11. D(-)-Lactaminsäure (Sialinsäuren; Neuraminsäure)

Im Jahre 1901 hat Friedrich Müller⁴⁷⁾ festgestellt, daß zahlreiche Mucine, wenn man sie zunächst mit verd. Alkali erhitzt hat, auf Zusatz von p-Dimethylamino-benzaldehyd (*Ehrlichs* Aldehyd) und Säure schon in der Kälte

- ³⁵⁾ Chem. Synth.: R. Kuhn u. W. Kirschenlohr, Chem. Ber. 87, 384 [1954].
³⁶⁾ Chem. Synth.: R. Kuhn u. W. Kirschenlohr, Chem. Ber. 87, 384 [1954].
³⁷⁾ Kristallisation: F. Zilliken, G. A. Braun, C. S. Rose u. P. György, J. Amer. chem. Soc. 77, 1296 [1955].
³⁸⁾ Bildung: R. Kuhn, A. Gauhe u. H. H. Baer, Chem. Ber. 87, 289 [1954]; 89, 1027 [1956]. — Konstitution: R. Kuhn u. H. H. Baer, Chem. Ber. 89, 504 [1956].
³⁹⁾ Chem. Synth.: R. Kuhn u. G. Krüger, Chem. Ber. 87, 1544 [1954].
⁴⁰⁾ Vorkommen (in Frauenmilch): R. Kuhn, A. Gauhe u. H. H. Baer, Chem. Ber. 86, 827 [1953]; 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]; M. Polonovski u. J. Montrœuil, C. R. hebdo. Séances Acad. Sci. 238, 2263 [1954]; J. Montrœuil, ebenda 239, 510 [1954]. — Isolierung, Konstitution, Kristallisation: R. Kuhn, H. H. Baer u. A. Gauhe, Chem. Ber. 88, 1135 [1955]; 89, 2513 [1956].
⁴¹⁾ Bildung: R. Kuhn, A. Gauhe u. H. H. Baer, Chem. Ber. 87, 289 [1954] (Partialhydrolyse v. Frauenmilch-sacch.). — Isolierung u. Konstitution: R. Kuhn u. H. H. Baer, Chem. Ber. 89, 504 [1956]; R. Kuhn, A. Gauhe u. H. H. Baer, ebenda 89, 1027 [1956].
⁴²⁾ Bildung: R. Kuhn, A. Gauhe u. H. H. Baer, Chem. Ber. 87, 289 [1954] (Partialhydrolyse v. Frauenmilch-sacch.). — Isolierung u. Konstitution: R. Kuhn u. H. H. Baer, Chem. Ber. 89, 504 [1956]; R. Kuhn, A. Gauhe u. H. H. Baer, ebenda 89, 1027 [1956].
⁴³⁾ Vorkommen: 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]; R. Kuhn, H. H. Baer u. A. Gauhe, Chem. Ber. 88, 1135 [1955]. — Isolierung u. Konstitution: R. Kuhn, A. Gauhe u. H. H. Baer, Chem. Ber. 86, 827 [1953]; 87, 289 [1954]; R. Kuhn u. H. H. Baer, ebenda 89, 504 [1956].
⁴⁴⁾ Vorkommen (in Frauenmilch): 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]; R. Kuhn, H. H. Baer u. A. Gauhe, Chem. Ber. 88, 1135 [1955]. — Isolierung u. Konstitution: R. Kuhn, H. H. Baer u. A. Gauhe, Chem. Ber. 89, 2514 [1956].
⁴⁵⁾ Vorkommen (in Frauenmilch): 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]; R. Kuhn, H. H. Baer u. A. Gauhe, Chem. Ber. 88, 1135 [1955]. — Isolierung u. Konstitution: R. Kuhn, H. H. Baer u. A. Gauhe, Chem. Ber. 89, 2514 [1956].
⁴⁶⁾ Vorkommen (in Frauenmilch): 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]; R. Kuhn, H. H. Baer u. A. Gauhe, Chem. Ber. 88, 1135 [1955]. — Isolierung u. Konstitution: R. Kuhn, H. H. Baer u. A. Gauhe, Chem. Ber. 89, 2514 [1956].
⁴⁷⁾ Z. Biol. 42, 561 [1901].

einen violetttönig roten Farbstoff liefern. In Abschnitt 13 (*Morgan-Elson*-Reaktion) wird auf diese indirekte *Ehrlich*-Reaktion näher eingegangen; sie ist durch den Gehalt der Mucine an N-Acetyl-aminozuckern bedingt. Manche Mucine zeichnen sich nun dadurch aus, daß sie auch ohne Vorbehandlung mit verd. Alkali beim Erwärmen eine solche Farbreaktion geben; sie sind, wie man sagt, direkt *Ehrlich*-positiv. Aus den direkt Farbstoff liefernden Mucinen und aus weiteren Naturstoffen gelang es, niedermolekulare, saure, N-haltige Bausteine abzuspalten und kristallisiert zu erhalten, die diese Eigenschaft der direkten Farbstoffbildung unverändert besitzen. Sie sind im Laufe der letzten Jahre in zahlreichen Instituten bearbeitet worden*).

Als erster hat G. Blix⁴⁸⁾ aus Submaxillaris-Drüsen des Rindes eine solche Substanz kristallisiert erhalten. Die von ihm später aus Submaxillaris-Drüsen des Schafes, des Schweines und des Pferdes isolierten Verbindungen⁴⁹⁾ haben sich als verschieden davon erwiesen:

| Substanz | $[\alpha]_D^{20}$ | Acyl-Gruppen |
|--------------------------------------|-------------------|------------------------------------------------|
| Rinder-Sialinsäure (B-sialic acid) | + 8 ° | -NH-CO-CH ₃ , -O-CO-CH ₃ |
| Schaf-Sialinsäure (O-sialic acid) | -31 ° | -NH-CO-CH ₃ |
| Schweine-Sialinsäure (P-sialic acid) | -32 ° | -NH-CO-CH ₂ OH |
| Pferde-Sialinsäure (E-sialic acid) | -59 ° | 2 Acyl-Reste |

Unter den von E. Klenk⁵⁰⁾ angegebenen Bedingungen (Methanol/HCl im Rohr bei 105 °C) geht jede dieser Sialinsäuren so wie die N-Acetyl-neuraminsäure von E. Klenk⁵¹⁾ in die Methoxy-Verbindung der Neuraminsäure über⁴⁹⁾.

Bei diesen Verbindungen, wozu auch die Hämataminsäure⁵²⁾ und die Gynaminsäure⁵³⁾ gehören, handelt es sich um Abbauprodukte von meist hochmolekularen Substanzen noch unbekannter Zusammensetzung, die daraus mit verd. Säuren bzw. mit Enzymen in Freiheit gesetzt worden sind. Der erste hierher gehörige Naturstoff, der als solcher isoliert wurde und dessen Zusammensetzung ermittelt werden konnte, ist die O-Acetyl-lactaminsäure-lactose von R. Kuhn und R. Brossmer⁵⁴⁾. Sie wurde in Frauenmilch, Kuhmilch, Schafmilch und Schweinemilch aufgefunden. Zur Darstellung größerer Mengen ist Kuh-colostrum das beste Ausgangsmaterial. Aus 16 l sind 3,6 bis 4,6 g reine Substanz erhältlich ($[\alpha]_D^{20} = + 16^\circ$).

Die O-Acetyl-lactaminsäure-lactose ist sowohl gegen verd. Säuren wie gegen verd. Alkalien überaus empfindlich. Neutrale Lösungen sind sehr stabil. Die freie

* Im Rahmen dieses Kurzberichtes sind die Ergebnisse der einzelnen Arbeitskreise nicht leicht zu würdigen. Je nach dem Ausgangsmaterial, aus dem derartige Substanzen isoliert wurden, haben sie verschiedene Namen erhalten; vielfach gleich, nachdem sie in kristallisierter Form gewonnen waren, aber noch ehe richtige Bruttoformeln ermittelt und die funktionellen Gruppen erkannt waren. Teilweise damit hängt es zusammen, daß die Namen Neuraminsäure und Sialinsäure mehrdeutig gebraucht worden sind, worauf man beim Lesen der Literatur zu achten hat. Neuraminsäure war ursprünglich (E. Klenk, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 268, 50 [1941]) die Bezeichnung für ein Methoxy-haltiges Abbauprodukt eines noch nicht isolierten Naturstoffes; der Methoxy-Gehalt wurde erst später (E. Klenk, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 273, 77 [1942]) erkannt und dann der Name Neuraminsäure auf die Methoxyl-freie Substanz übertragen, die als solche noch unbekannt ist. Die Neuraminsäure enthält eine freie NH₂-Gruppe, während die von G. Blix (G. Blix, E. Lindberg, L. Odén u. I. Werner, Acta Soc. Med. Upsaliensis 61, 1 [1956]) als Sialinsäuren bezeichneten Verbindungen die Gruppierung -NH-CO-CH₃ bzw. NH-Acyl enthalten und demgemäß der N-Acetyl-neuraminsäure entsprechen. Neuerdings (L. Svennerholm, Acta Soc. Med. Upsaliensis 61, 75 [1956]) wird aber der Name Sialinsäure ebenso wie Neuraminsäure für die entacylierte Substanz mit freier Amino-Gruppe gebraucht und von N-Acetyl-sialinsäure gesprochen, so daß die Eindeutigkeit dieser Bezeichnung verloren gegangen ist.

⁴⁸⁾ Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 240, 43 [1936].
⁴⁹⁾ G. Blix, E. Lindberg, L. Odén u. I. Werner, Acta Soc. Med. Upsaliensis 61, 1 [1956].

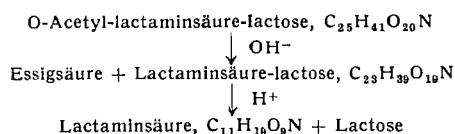
⁵⁰⁾ E. Klenk, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 268, 50 [1941].
⁵¹⁾ E. Klenk u. H. Faillard, ebenda 298, 230 [1954].

⁵²⁾ T. Yamakawa u. S. Suzuki, J. Biochemistry (Tokyo) 38, 199 [1951]; 39, 175 [1952].

⁵³⁾ F. Zilliken, G. A. Braun u. P. György, Arch. Biochem. Biophysics 54, 564 [1955].

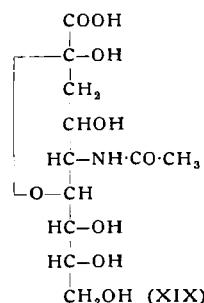
⁵⁴⁾ R. Kuhn u. R. Brossmer, diese Ztschr. 68, 211 [1956].

Säure ist eine so starke Säure, daß sie in wäßriger Lösung der „Eigenhydrolyse“ anheimfällt. Die Versuche sie zu isolieren haben daher erst nach Überwindung zahlreicher Schwierigkeiten zu einer sicheren Vorschrift⁵⁵⁾ geführt. Wie der Name besagt, entstehen durch Hydrolyse 1 Mol Essigsäure + 1 Mol Lactaminsäure + 1 Mol Lactose:



Die so aus einer niedermolekularen, leicht dialysierbaren Substanz der Milch gewonnene Lactaminsäure ist identisch mit dem Verseifungsprodukt des Lactaminsäure-methylesters (Methoxy-Verbindung der Lactaminsäure), die aus einem hochmolekularen, nicht dialysierbaren Muco-protein des Kuh-Colostrums erhalten worden war⁵⁶⁾.

Die Substanz enthält 1 COOH, 1 CH₃CO-NH-Gruppe und gibt mit Perjodsäure 1 Mol CH₂O. Ein für die Konstitutionsfrage wichtiges Spaltstück, das 8 C-Atome enthält, konnte vor kurzem mit R. Brossmer⁵⁷⁾ gewonnen werden. Erhitzt man Lactaminsäure mit Pyridin und Nickel(II)-acetat⁵⁸⁾, so wird CO₂ abgespalten und unter Verlust von 2 weiteren C-Atomen N-Acetyl-D-glucosamin (23% d.Th.) erhalten. Nach einer von A. Gottschalk⁵⁹⁾ begründeten Vorstellung könnte man sich die Schaf-Sialinsäure bzw. N-Acetyl-neuraminsäure durch Aldol-Kondensation von Brenztraubensäure mit einer Acetamino-hexose



noch unbekannter Konstitution entstanden denken. Unser Abbauergebnis zeigt, daß es sich um N-Acetyl-D-glucosamin handelt. Legt man die Vorstellung A. Gottschalks zugrunde, so läßt sich die Konstitution und Konfiguration der Lactaminsäure bis auf die räumliche Lage des Hydroxyls am C-Atom 4 angeben (XIX). Da die OH-Gruppe am C-Atom 8 nach rechts zu schreiben ist, hat man die natürlich vorkommende, linksdrehende α -Ketosäure im Sinne von E. Fischer als D(-)-Lactaminsäure zu bezeichnen.

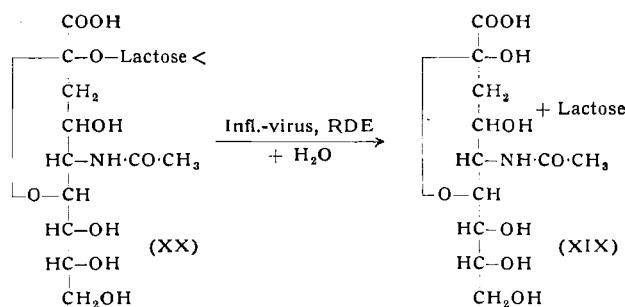
Nach einem von uns kürzlich angestellten, eingehenden direkten Vergleich ist die Schaf-Sialinsäure von G. Blix mit der D(-)-Lactaminsäure identisch. Sehr wahrscheinlich ist die N-Acetyl-neuraminsäure auch nichts anderes, doch müssen die auf C₁₂ (statt C₁₁) stimmenden Analysen sowie verschiedene Abbauergebnisse, die zur Vorstellung geführt haben, daß N-Acetyl-neuraminsäure der Erythritäther einer Acetamino-hexuronsäure sei⁶⁰⁾, erst noch überprüft werden, ehe die Identität auch in diesem Falle als gesichert gelten kann. Die seit längerer Zeit schwedende Vermutung, daß die Sialinsäuren Derivate eines auch sonst in der Natur vorkommenden Aminozuckers seien, ist durch den Abbau zu N-Acetyl-D-glucosamin als richtig erwiesen worden.

⁵⁵⁾ R. Kuhn u. R. Brossmer, Chem. Ber. 89, 2013 [1956].
⁵⁶⁾ R. Kuhn, R. Brossmer u. W. Schulz, Chem. Ber. 87, 123 [1954].
⁵⁷⁾ R. Kuhn u. R. Brossmer, ebenda 89, 2471 [1956].
⁵⁸⁾ G. Zweifel u. H. Deuel, Helv. chim. Acta 39, 662 [1956].
⁵⁹⁾ A. Gottschalk, Nature [London] 176, 881 [1955].
⁶⁰⁾ E. Klenk, H. Faillard, F. Weygand u. H. H. Schöne, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 304, 35 [1956]; E. Klenk, diese Ztschr. 68, 349 [1956].

12. Enzymatische Wirkungen von Influenza-Virus und von Cholera-Vibronen

Versetzt man eine Suspension von roten Blutkörperchen mit einer Suspension von Influenza-Virus, so kommt es zur Ausflockung (Agglutination)⁶¹⁾. Nach F. M. Burnett⁶²⁾ läßt sich diese Hämagglutination durch Zusatz vieler Mucine tierischen oder menschlichen Ursprungs verhindern. Dabei wird, wie A. Gottschalk⁶³⁾ fand, aus den Mucinen eine direkt *Ehrlich*-positive Substanz abgespalten. Die aus menschlichem Harnmucin, das die Hämagglutination sehr stark hemmt, durch Influenza-Virus in Freiheit gesetzte *Ehrlich*-positive Substanz konnten E. Klenk, H. Faillard und H. Lempfried⁶⁴⁾ kristallisiert erhalten und zeigen, daß es sich um N-Acetyl-neuraminsäure handelt. Ein von F. M. Burnett⁶⁵⁾ aus Kulturlösungen von Cholera-Vibronen gewonnenes Enzym, das sogen. *receptor destroying enzyme* (RDE), vermag die genannten Mucine auf die gleiche Art zu spalten.

In Versuchen, die R. Brossmer^{54, 55)} ausgeführt hat, hat sich nun gezeigt, daß nicht nur hochmolekulare Mucine (deren Zusammensetzung noch nicht genau bekannt ist), sondern auch die von uns isolierte niedermolekulare O-Acetyl-lactaminsäure-lactose, deren Zusammensetzung C₂₅H₄₁O₂₀N sich angeben läßt, durch Influenza-Virus B (Lee) sowie durch das *receptor destroying enzyme* aus Cholera-Vibronen bei pH ~ 6 hydrolytisch gespalten wird. Die O-Acetyl-Gruppe ist dabei nicht wesentlich. Die Lactaminsäure-lactose wird unter Freisetzung von D(-)-Lactaminsäure in gleicher Weise angegriffen. Von diesem neuen, niedermolekularen Substrat wissen wir, daß die reduzierende Gruppe der Lactose (mit < bezeichnet) frei ist, die reduzierende Gruppe der Lactaminsäure dagegen erst durch die Hydrolyse in Freiheit gesetzt wird. Dadurch sind wir in der Lage in chemischer Formelsprache anschaulich zu machen⁶⁶⁾, worin die spezifische enzymatische Wirkung dieses Virus besteht:



Über das an der Bindung beteiligte alkoholische Hydroxyl der Lactose liegen z. Zt. erst papierchromatographische Beobachtungen vor. In den Mucinen mögen es Hydroxyl-Gruppen andersartiger Zucker oder Aminozucker oder von Hydroxy-amino-säuren sein, die für die Verknüpfung dienen; doch dürfte es sich in allen Fällen um die Hydrolyse von Ketosiden, d. h. um die Wirkung von Ketosidasen handeln. Daß die zugrundeliegende Ketose eine α -Ketocarbonsäure mit 9 C-Atomen ist, die zudem noch 1 Acetamino-Gruppe enthält, macht die Spezifität der enzymatischen Wirkungen von Influenza-Virus und von Cholera-Vibronen verständlich.

⁶¹⁾ G. K. Hirst, Science [N. Y.] 94, 22 [1941]; L. McClelland u. R. Hare, Canad. J. publ. Health 32, 530 [1941].
⁶²⁾ F. M. Burnett, J. F. McCrea u. S. G. Anderson, Nature [London] 160, 404 [1947].
⁶³⁾ A. Gottschalk u. P. F. Lind, ebenda 164, 232 [1949]; A. Gottschalk, ebenda 167, 845 [1951].
⁶⁴⁾ Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 301, 235 [1955].
⁶⁵⁾ F. M. Burnett u. J. D. Stone, Austr. J. exp. Biol. med. Sci. 25, 227 [1943]; F. M. Burnett, J. F. McCrea u. J. D. Stone, Brit. J. exp. Pathol. 27, 228 [1946].
⁶⁶⁾ R. Kuhn u. R. Brossmer, unveröffentl.

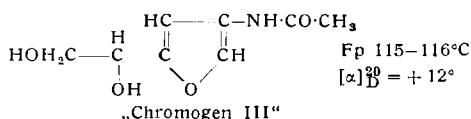
13. Die Morgan-Elson-Reaktion

Zum qualitativen Nachweis und zur quantitativen Bestimmung von N-Acetyl-aminozuckern wird die sogen. *Morgan-Elson-Reaktion*⁶⁷⁾ viel benutzt. Die Substanz wird mit verd. Natriumcarbonat-Lösung einige Minuten im Wasserbad erhitzt; nach dem Erkalten gibt man eine saure Lösung von p-Dimethylamino-benzaldehyd (*Ehrlich's Aldehyd*) zu, worauf sich ein violetttönig roter Farbstoff bildet.

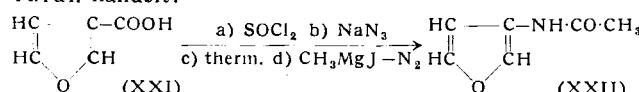
Das „Chromogen“, das sich im alkalischen Milieu bildet, konnte lange nicht in reiner Form gewonnen werden und ist seit Jahrzehnten Gegenstand weit differierender Mutmaßungen gewesen. Es wurde von verschiedenen Bearbeitern angenommen, daß es sich um ein Pyrrol oder um ein Oxazol oder um ein Pyrazin handelt. Keine dieser Vermutungen hat sich als richtig erwiesen.

Versuche mit *G. Krüger*⁶⁸⁾ ergaben, daß aus N-Acetyl-D-glucosamin 3 verschiedene Chromogene (I, II, III) gebildet werden. Am leichtesten, nämlich in einer Ausbeute von 40% d.Th., läßt sich bisher das „Chromogen III“ kristallisiert gewinnen⁶⁹⁾, das unter Abspaltung von 2 Mol Wasser entsteht. Für die Chromogen-Bildung ist wichtig, daß sich die Furanose-Form des Acetyl-glucosamins bilden kann. Aus diesem Grunde muß sowohl das Hydroxyl am C-Atom 1 wie dasjenige am C-Atom 4 frei sein oder durch das verd. Alkali freigelegt werden⁶⁸⁾.

Für die Primärprodukte, die unter Abspaltung von nur 1 Mol Wasser aus der Furanose-Form des N-Acetyl-D-glucosamins gebildet werden (Chromogen I und II), kommen je nach Lage der entstandenen Doppelbindung verschiedene Formulierungen in Betracht, zwischen denen noch nicht entschieden ist. Geklärt ist die Konstitution des krist. „Chromogens III“; es handelt sich um D-5-Dihydroxyäthyl-3-acetamino-furan, das nur noch 1 asymmetrisches C-Atom enthält:

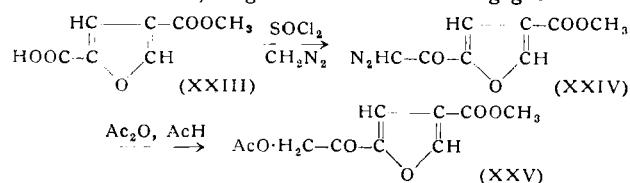


Durch thermischen Abbau des Chromogen-Gemisches konnte zunächst⁶⁸⁾ eine optisch inaktive, schön kristallisierende Substanz der Formel $\text{C}_6\text{H}_7\text{O}_2\text{N}$ gewonnen werden. Durch eine von Furancarbonsäure-(3) ausgehende Synthese (die über das Chlorid, Azid und über das 3-Furyl-isocyanat verlief) ließ sich beweisen, daß es sich um 3-Acetamino-furan handelt:



Die Acetamino-Gruppe verleiht dem Furan die Fähigkeit mit Diazonium-Salzen zu kuppeln und mit p-Dimethylamino-benzaldehyd Farbstoff zu bilden.

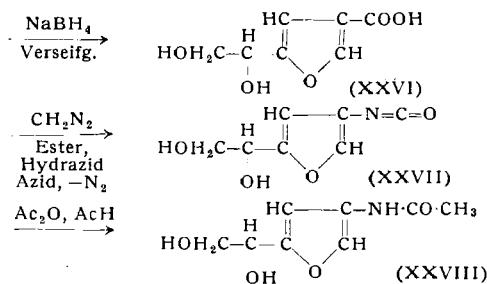
Die D,L-Form des 5-Dihydroxyäthyl-3-acetaminofurans, das wir aus Acetyl-glucosamin erhalten haben, konnte *G. Krüger*⁶⁹⁾ aus D,L-Äpfelsäure in einer Synthese, die über 17 Stufen führt, erhalten. Hier seien nur die letzten Stufen, die an das bereits beschriebene 3-Carbomethoxy-5-carboxy-furan anschließen, in gekürzter Form wiedergegeben:



⁶⁷⁾ W. T. J. Morgan u. L. A. Elson, Biochem. J. 28, 988 [1934].

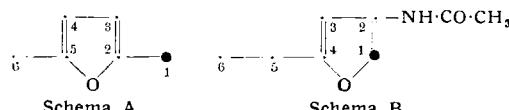
⁶⁸⁾ R. Kuhn u. G. Krüger, Chem. Ber. 89, 1473 [1956].

⁶⁹⁾ R. Kuhn u. G. Krüger, Chem. Ber., im Druck.



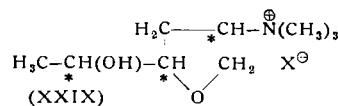
14. Der neue Weg von den Zuckern in die Furan-Reihe

Altbekannt ist die Bildung von Furfurol aus Pentosen, von 5-Methyl-furfurol aus Methylpentosen und von 5-Hydroxy-methylfurfurol aus Hexosen. Diesen Umwandlungen gemeinsam ist es, daß das aldehydische C-Atom 1 (●) außerhalb des gebildeten Heteroringes stehen bleibt (Schema A). Bei der jetzt aufgefundenen Bildung von 5-Dihydroxyäthyl-3-acetamino-furan aus einem Amino-zucker wird dagegen das aldehydische C-Atom 1 in den Hetero-Ring eingebaut (Schema B):



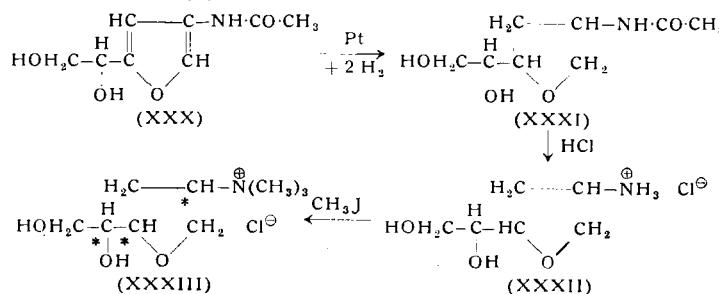
Während die zu A führenden Reaktionen der gewöhnlichen Zucker unter der Einwirkung von Säuren ablaufen, vollzieht sich die Umwandlung von Aminozuckern (2-Desoxy-2-acetaminozuckern) in B vorzugsweise unter dem Einfluß von Basen. Man beachte, daß die Numerierung der C-Atome des zugrundeliegenden Zuckers im Fall A übereinstimmt mit der üblichen Numerierung der C-Atome 2, 3, 4 und 5 des gebildeten Furans. Im Falle B ist das aber nicht der Fall. So kommt es, daß aus dem 2-Acetaminozucker ein 3-Acetamino-furan hervorgeht.

Dem Gift des Fliegenpilzes, dem Muscarin, das zuerst von *F. Kögl*⁷⁰⁾ kristallisiert erhalten wurde (370 mg Muscarin-reineckeat aus 1250 kg Fliegenpilzen), kommt nach *C. H. Eugster*⁷¹⁾ sehr wahrscheinlich die nebenstehende



Formel zu. Über die sterischen Verhältnisse an den 3 asymmetrischen C-Atomen ist noch nichts bekannt. Die Vorstellung, daß das Muscarin im Fliegenpilz aus einer 2-Desoxy-2-amino-methylpentose gebildet wird, erhält durch unsere Versuche eine gewisse Stütze.

Aus dem Chromogen III, d. h. aus N-Acetyl-D-glucosamin, konnte mit *G. Krüger*⁶⁹⁾ in glatten Reaktionsfolgen durch katalytische Hydrierung, Abspaltung des Acetys mit HCl und Methylierung der NH₂-Gruppe eine Verbindung gewonnen werden, die man als ein Hydroxy-muscarin bezeichnen könnte:



⁷⁰⁾ F. Kögl, H. Duisberg u. H. Erxleben, Liebigs Ann. Chem. 489, 156 [1931].

⁷¹⁾ Helv. chim. Acta 39, 1023 [1956].

Das Hydrochlorid ist recht hygroskopisch, die Kalignost-Verbindung schwer löslich und schön kristallisierend. Die bei der Hydrierung hinzukommenden asymmetrischen C-Atome im Ring machen die Bildung von Stereoisomeren wahrscheinlich. Über die räumliche Anordnung der Substituenten in der Seitenkette, $-CH(OH)-$, kann dagegen auf Grund der Gewinnung aus D-Glucosamin kein Zweifel bestehen. Die synthetische Substanz XXXIII ist linksdrehend, während natürliches Muscarin-chlorid rechtsdrehend ist.

Alles, wovon hier die Rede war, umfaßt nur mehr oder minder willkürlich herausgegriffene Teile unserer bereits

umfangreichen Kenntnisse auf dem Gebiete der Aminozucker. Doch ist damit, wenigstens in Umrissen, ein Bild entworfen von der Vielheit der Naturstoffe, die hierher gehören, sowie von der Mannigfaltigkeit der Fragestellungen und der Methoden, die heute im Dienste der Forschung stehen. In methodischer Hinsicht ist noch zu bemerken, daß die Synthese der Aminozucker, über die hier berichtet wurde, wenn man dazu H^4CN verwendet, zu radioaktiven Aminozuckern führt, mit deren Hilfe es möglich werden sollte, dem Schicksal dieser Substanzen in lebenden Zellen besser als bisher nachzuspüren.

Eingegangen am 5. Oktober 1956 [A 774]

Die aromatischen Erythrina-Alkaloide

Von Prof. Dr. V. PRELOG, Zürich

Aus dem Organisch-chemischen Laboratorium der ETH Zürich

Das Grundgerüst der Erythrina-Alkaloide ist das Erythrinan, ein tetracyclisches Spiran. Die Synthese entsprechender Verbindungen, die wegen ihrer peroral Curare-ähnlichen Wirkung pharmakologisch von Interesse sind, dürfte zu erwarten sein.

Einleitung

Seitdem die Curare-Wirksamkeit der Extrakte aus Erythrinen festgestellt worden war^{1,2)}, haben besonders K. Folkers und Mitarbeiter³⁻⁸⁾ diese Pflanzen-Gattung, die der Familie der Leguminosen angehört, auf ihren Alkaloid-Gehalt systematisch untersucht. Von ihnen wurden aus 51 von den 105 beschriebenen Erythrina-Arten 9 von den 11 bisher näher untersuchten sog. „freien“ und „befreiten“ Erythrina-Alkaloiden isoliert und charakterisiert. Ein weiterer Vertreter dieser Alkaloid-Gruppe ist vor kurzem von M. Tomita⁹⁾ in *Cocculus laurifolius DC.*, einer Menispermacee, gefunden worden. Acht von diesen Alkaloiden, deren Namen, empirische Formeln sowie typische Eigenschaften und funktionelle Gruppen in Tabelle 1 wiedergegeben sind, zeichnen sich dadurch aus, daß sie einen aromatischen Kern enthalten, der leicht durch die typische Absorption im UV nachgewiesen werden kann. Hier soll über die Eigenschaften, Konstitutionsaufklärung, Biogenese sowie Synthese dieser aromatischen Erythrina-Alkaloide zusammenfassend berichtet werden^{10a-d)}.

Erythrina-Alkaloide, welche phenolische Hydroxyle enthalten, kommen in der Pflanze entweder ganz oder teilweise „gebunden“ als Ester der Sulfoessigsäure oder als Glucoside vor. Einige von diesen „gebundenen“ Alkaloiden können auch in reiner Form isoliert werden: so sind die Alkaloide Erysothiovin, $C_{20}H_{23}O_7NS \cdot 2H_2O$ und Erysothiopin, $C_{19}H_{21}O_7NS \cdot H_2O$, Sulfoessigsäure-ester des Erysovins bzw. des Eryspins¹¹⁾, während das Glucoerysodin, $C_{24}H_{33}O_9N$, das Glucosid des Erysodins darstellt^{12,13)}. Die „befreiten“ Alkaloiden werden aus den „gebundenen“ leicht durch saure Hydrolyse erhalten.

Vom biogenetischen Standpunkt aus ist es interessant, daß in Erythrinen als ständiger Begleiter der eigentlichen Erythrina-Alkaloide das Hypaphorin, das Methylbetain des L-Tryptophans, vorkommt.

Eigenschaften und Konstitutionsaufklärung

UV-Absorptionsspektren¹³⁻¹⁸⁾.

Typische UV-Absorptionsspektren der „Eryso“-Alkaloide, welche freie phenolische Hydroxyle enthalten und der „Erythra“-Alkaloide, welche keine freie phenolische Hydroxyle aufweisen, sind in Bild 1 dargestellt, in dem man

die UV-Absorptions-spektren des Erysodins, des Dihydroerysodins, des Tetrahydro-erysodins, des Erythralins, des Erythramins und des Tetrahydroerythralins in saurer und alkali-scher alkoholischer Lösung findet. In

saurer Lösung ist bei allen diesen Spektren eine für substituierte Benzol-Ringe charakteristische Bande mit einem Absorptionsmaximum bei 285 bzw. 291 $m\mu$ ($\log \epsilon = 3,6$) anwesend. Neben diesem Absorptionsmaximum weisen alle aromatischen Erythrina-Alkaloide in saurer Lösung ein zweites Absorptionsmaximum bei 230 bis 242 $m\mu$ auf,

¹¹⁾ K. Folkers, F. Koniuszy u. J. Shavel, J. Amer. chem. Soc. 66, 1083 [1944].

¹²⁾ C. Laprière, J. Pharmac. Belge 6, 71 [1951].

¹³⁾ C. Laprière: Contribution à l'étude des alcaloïdes des Erythrinées, Liège, 1952.

¹⁴⁾ K. Folkers u. F. Koniuszy, J. Amer. chem. Soc. 62, 1673 [1940].

¹⁵⁾ K. Folkers, F. Koniuszy u. J. Shavel, ebenda 64, 2146 [1942].

¹⁶⁾ V. Prelog, K. Wiesner, H. G. Khorana u. G. W. Kerner, Helv. chim. Acta 32, 453 [1949].

| | Formel | [a] _D (Alk.) | pK _{MCS} | UV-Kur-ve | Doppel-bdg. | ·OH | ·OCH ₃ | ·O CH ₂ ·O | Konstitu- tion |
|----------------------------------------|--------------------|----------------------------|-------------------|-----------|-------------|-----|-------------------|---------------------------------------|-------------------|
| 1 Erysodin ⁵⁾ | $C_{18}H_{21}O_3N$ | +267 ° | 6,29 | 1 | 2 | 1 | 2 | 0 | XIIa |
| 2 Dihydro-erysodin ⁹⁾ . . . | $C_{18}H_{20}O_3N$ | +239 ° | 7,02 | 2 | 1 | 1 | 2 | 0 | XIIIa |
| 3 Erysovin ⁵⁾ | $C_{18}H_{21}O_3N$ | +252 ° | 6,45 | | 2 | 1 | 2 | 0 | XIIb |
| 4 Erysovin ⁵⁾ | $C_{17}H_{20}O_3N$ | +265 ° | 6,60 | | 2 | 2 | 1 | 0 | XIIc |
| 5 Erysonin ⁶⁾ | $C_{17}H_{19}O_3N$ | +278 ° | 6,50 | | 2 | 2 | 1 | 0 | XIIId |
| 6 Erythralin ⁶⁾ | $C_{18}H_{19}O_3N$ | +228 ° | 5,97 | 4 | 2 | 0 | 1 | 1 | XIIe |
| 7 Erythramin ³⁾ | $C_{18}H_{21}O_3N$ | +223 ° | 6,65 | 5 | 1 | 0 | 1 | 1 | XIIIe |
| (Dihydro-erythralin) | | | | | | | | | |
| 8 Erythratin ⁴⁾ | $C_{18}H_{21}O_4N$ | +146 ° | | | 1 | 1 | 1 | 1 | |

Tabelle 1. Aromatische Erythrina-Alkaloide

¹⁾ A. J. Lehman, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 33, 501 [1936].

²⁾ A. J. Lehman, J. Pharmacol. exp. Therap. 60, 69 [1937].

³⁾ K. Folkers u. F. Koniuszy, J. Amer. chem. Soc. 61, 1232 [1939].

⁴⁾ K. Folkers u. F. Koniuszy, ebenda 62, 436 [1940].

⁵⁾ K. Folkers u. F. Koniuszy, ebenda 62, 1677 [1940].

⁶⁾ K. Folkers, J. Shavel u. F. Koniuszy, ebenda 63, 1544 [1941].

⁷⁾ K. Folkers, F. Koniuszy u. J. Shavel, 102nd Meeting of the Amer. chem. Soc., September 1941. Abstracts.

⁸⁾ K. Folkers u. J. Shavel, J. Amer. chem. Soc. 64, 1892 [1942].

⁹⁾ M. Tomita, Pharamac. Bull. [Tokyo] 4, 225 [1956].

¹⁰⁾ Frühere zusammenfassende Darstellungen: a) T. A. Henry: The Plant Alkaloids, Churchill, London 1949, S. 386 ff.; b) L. Marion in H. L. Holmes u. R. H. F. Manske: The Alkaloids, Vol. 2, Academic Press, New York, 1952, S. 499; c) L. E. Craig in R. H. F. Manske: The Alkaloids, Vol. 5, Academic Press, New York, 1955, S. 281; d) V. Boekelheide u. V. Prelog in J. W. Cook: Progress in Organic Chemistry, Butterworths, London, 1955 S. 242.