

KURT HEYNS und WILHELM SCHULZ

**1-N-Aminosäure-1-desoxy-fructuronsäuren
(„Fructuron-Aminosäuren“¹⁾
aus Glycin, Alanin und D-Glucuronsäure**

Aus dem Chemischen Staatsinstitut, Institut für Organische Chemie der Universität Hamburg
(Eingegangen am 10. August 1959)

Natrium-D-glucuronat läßt sich mit Aminosäuren, wie Glycin, Alanin, zu N-D-Glucuronyl-aminosäuren umsetzen, die sich spontan zu 1-N-Aminosäure-1-desoxy-D-fructuronsäuren (Fructuron-Aminosäuren) umlagern. Die N-D-Glucuronyl-aminosäuren lassen sich als leicht spaltbare Metallkomplexe fassen.

D-Glucuronsäure läßt sich, wie wir zeigen konnten²⁾, mit aromatischen und aliphatischen Aminen zu den entsprechenden N-Glykosiden umsetzen, die durch Säurekatalyse auf dem Wege einer Amadori-Umlagerung zu N-substituierten 1-Amino-1-desoxy-D-fructuronsäuren umgelagert werden können. Aus der N-Phenyl- und N-Tolyl-Verbindung ließ sich durch Abhydrierung der Arylreste³⁾ der gut kristallisierende Grundkörper dieser Verbindungsklasse, die freie 1-Amino-1-desoxy-D-fructuronsäure (Isoglicosaminuronsäure) gewinnen²⁾.

Wir haben nunmehr die Reaktionen zwischen D-Glucuronsäure und Aminosäuren näher untersucht. Über die Umsetzung von D-Glucose mit Aminosäuren liegen bereits Erfahrungen vor^{4,6)}. Danach lagern sich die primär gebildeten N-Aminosäure-Glycoside leicht in kristallisierte 1-N-Aminosäure-1-desoxy-D-fructose (Fructose-Aminosäuren) um. Diese Verbindungen sind in der Lage, den Einbau von Aminosäuren in die Proteine von Reticulocyten zu stimulieren⁵⁾. Sie sind kurze Zeit nach dem Tode in Leber nachweisbar, jedoch nicht in lebender Leber⁶⁾, so daß ihre biochemischen Funktionen noch ungeklärt sind.

Die bei der Umsetzung von D-Glucuronsäure mit Aminosäuren primär zu erwartenden N-Glycoside sind frei nicht faßbar, da sie wie die entsprechenden D-Glucose-Verbindungen sehr leicht hydrolysiert und andererseits die freie Carboxylgruppe der

¹⁾ Die 1-N-Aminosäure-1-desoxy-D-fructuronsäuren sind N-substituierte Derivate der Isoglicosaminuronsäure (1-Amino-1-desoxy-D-fructuronsäure), bei denen Aminozucker und Aminosäure über ein gemeinsames Stickstoffatom verbunden sind; sie werden im weiteren Teil dieser Abhandlung vereinfacht „Fructuron-Aminosäuren“ genannt. Die spezielle Verbindung 1-N-L-Alanino-1-desoxy-D-fructuronsäure erhält nach dieser vereinfachten Benennung die Bezeichnung D-Fructuron-L-Alanin.

²⁾ K. HEYNS und W. BALTES, Chem. Ber. **91**, 622 [1958].

³⁾ R. KUHN und H. J. HAAS, Liebigs Ann. Chem. **600**, 148 [1956].

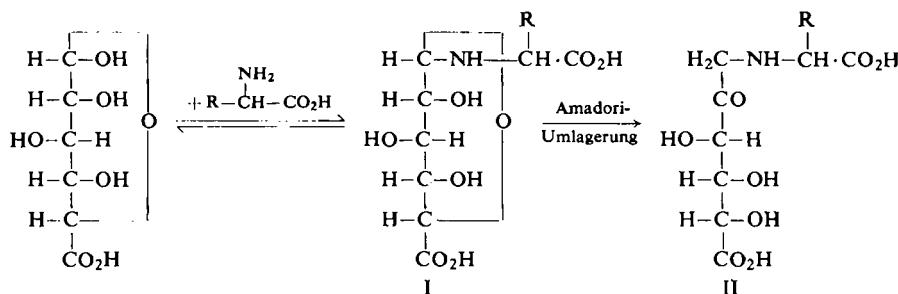
⁴⁾ H. v. EULER und E. BRUNIUS, Liebigs Ann. Chem. **467**, 201 [1928]; **487**, 163 [1931]; A. AGREN, Acta physiol. scand. **1**, 105 [1940]; F. MICHEEL und A. KLEMER, Chem. Ber. **84**, 212 [1951]; A. GOTTSCHALK, Biochem. J. **52**, 455 [1952]; A. ABRAMS, P. M. LOWY und H. BORSOOK, J. Amer. chem. Soc. **77**, 4794 [1955]; A. KLEMER und F. MICHEEL, Chem. Ber. **89**, 1242 [1956]; E. F. L. J. ANET und T. M. REYNOLDS, Austral. J. Chemistry **10**, 182, 193 [1957]; F. MICHEEL und A. FROWEIN, Chem. Ber. **90**, 1599 [1957]; **92**, 304 [1959].

⁵⁾ H. BORSOOK, A. ABRAMS und P. H. LOWY, J. biol. Chemistry **215**, 111 [1955].

⁶⁾ K. HEYNS und H. PAULSEN, Liebigs Ann. Chem. **622**, 160 [1959].

Aminosäuren bereits die Amadori-Umlagerung katalysiert. Aus Natriumsalzen von Aminosäuren und Glucose lassen sich jedoch die gesuchten *N*-Glucoside gewinnen⁷⁾, die nach WEITZEL⁸⁾ als kristallisierte Metallkomplexe isolierbar sind. Wir haben nach dieser Vorschrift durch Umsetzung von Natriumglucuronat mit Natriumglycinat einen Eisen-Komplex des *D*-Glucuronyl-glycins mit nicht stöchiometrischem Eisengehalt erhalten. Bei der Spaltung des Glykosid-Komplexes durch schwache Säuren ließ sich eine teilweise Amadori-Umlagerung zu *D*-Fructuron-Glycin nachweisen. Verhältnismäßig stabile *N*-Glucuronyl-guanyl-aminosäuren wurden kürzlich von F. MICHEEL und R. HABENDORF⁹⁾ beschrieben.

Wird Natrium-*D*-glucuronat mit Aminosäuren in siedendem Methanol umgesetzt, so werden die primär gebildeten *D*-Glucuronyl-aminosäuren I sofort zu *D*-Fructuron-Aminosäuren II umgelagert.



Ein Umlagerungskatalysator ist hierbei nicht erforderlich. Mit Glycin und Alanin verläuft diese Reaktion in übersichtlicher Weise und führt nur zu einem Umlagerungsprodukt. Die Huminstoffbildung lässt sich in Grenzen halten. Die Isolierung und Reinigung der *D*-Fructuron-Aminosäuren erfolgte durch Adsorption an einem stark sauren Austauscher (Lewatit S 100, Dowex 50) und Elution mit verdünnter Trichloressigsäure.

D-Fructuron-Glycin, *D*-Fructuron-*D,L*-Alanin und *D*-Fructuron-*L*-Alanin wurden als einheitliche, aber amorphe farblose Pulver erhalten, die in gut getrocknetem Zustand haltbar sind. Die Substanzen halten hartnäckig Lösungsmittel zurück, sie sind hygroskopisch und gehen in leicht zersetzbare Sirupe über. Vom *D*-Fructuron-Glycin und *D*-Fructuron-*D,L*-Alanin sowie *D*-Fructuron-*L*-Alanin lassen sich kristallisierte Brucinsalze gewinnen.

In Lösung oder als Sirupe werden die Fructuron-Aminosäuren vor allem bei höherer Temperatur zu Huminstoffen abgebaut. Das von C. NEUBERG und H. COLLATZ¹⁰⁾, die zuerst Aminosäuren mit *D*-Glucuronsäure umsetzten, beobachtete Auftreten von Aldehyden infolge Desaminierung nach Decarboxylierung der Aminosäuren lässt sich ebenfalls bei Fructuron-Aminosäuren feststellen. Die amorphen Substanzen verlieren bereits bei 60° Stickstoff und CO₂, zwischen 100° und 110° zersetzen sie sich unter Aufschäumen.

7) A. KLEMER und F. MICHEEL, Chem. Ber. **89**, 1242 [1956].

8) G. WEITZEL, H. U. GEYER und A. M. FRETZDORF, Chem. Ber. **90**, 1153 [1957].

9) Chem. Ber. **90**, 1590 [1957].

10) Schweiz. med. Wschr. **62**, 4 [1932]; C. 1932 II, 1431.

Gegenüber Säuren sind Fructuron-Aminosäuren in der Kälte stabil, bei 80° tritt durch 12-proz. Salzsäure Zersetzung ein, während 2*n* Essigsäure im Gegensatz zum Verhalten von Fructose-Aminosäuren und Glucose-Aminosäuren¹¹⁾ ohne Einwirkung ist. Eine Lactonisierung durch Säureeinwirkung findet nicht statt. Durch Umsetzung von Glucuronsäurelacton mit Aminosäuren konnten keine entsprechenden Amadori-Verbindungen nachgewiesen werden. Diese Reaktion führt sehr schnell unter teilweiser Decarboxylierung zu stark dunkel gefärbten Huminsubstanzen.

Fructuron-Aminosäuren, die gegen Alkalien sehr empfindlich sind, liegen vermutlich wie alle 1-Amino-1-desoxy-zucker in alkalischer Lösung in reduktionartigen Endiol-formen vor¹¹⁾ und besitzen daher ein starkes Reduktionsvermögen; $K_3[Fe(CN)_6]$ wird in der Kälte zu $K_4[Fe(CN)_6]$ reduziert, *o*-Dinitrobenzol bildet einen intensiv violetten Farbstoff. Der Naphthoresorcintest auf Glucuronsäure nach B. TOLLENS¹²⁾ ist bei den Fructuron-Aminosäuren negativ.

Die Infrarotspektren zeigen trotz des amorphen Charakters der Verbindungen beim Alanin und Glycin deutlich die Carbonylbande bei 5.76 μ neben der Carboxylbande bei 6.18 μ . Die Fructuron-Aminosäuren liegen somit offensichtlich in der offenen Form und nicht in einer Furanosestruktur vor. Kleine positive Drehwerte ohne Mutarotation weisen bei den Fructuron-Aminosäuren ebenfalls auf eine offene Struktur hin.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

1-N-DL-Alanino-1-desoxy-D-fructuronsäure (D-Fructuron-DL-Alanin) (II, R = CH₃): 10 g *DL-Alanin* wurden in 3.5 l Methanol auf dem Wasserbad zum Sieden erhitzt, 20 g *Natrium-glucuronat* zugegeben und 4 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Während die Lösung sich langsam braun färbte, lösten sich *DL-Alanin* und *Na-Glucuronat* vollständig auf. Die methanolische Lösung wurde mit 500 ccm Wasser versetzt und i. Vak. bei ca. 30° zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde in Wasser aufgenommen und auf eine Ionenaustauschersäule Lewatit S 100 H[⊖]-Form (35 × 350 mm) gegeben. Das nicht umgesetzte *Na-Glucuronat* und die gefärbten Huminstoffe wurden mit 2.5 l Wasser ausgewaschen. Ein zu reichliches Waschen mit Wasser ist zu vermeiden, da das nur mäßig fest haftende Fructuron-*DL-Alanin* dann bereits eluiert wird. Man eluierte mit 0.25 *n* Trichloressigsäure (TCE) und prüfte die einzelnen Fraktionen im Reagenzglas mit *o*-Dinitrobenzol, das in alkalischer Lösung mit Fructuron-Aminosäuren einen violetten Farbstoff bildet. Auf Glucuronsäurefreiheit wurde mit Naphthoresorcin nach TOLLENS¹²⁾ untersucht. Die vereinigten, gegen *o*-Dinitrobenzol positiven Fraktionen (ca. 1.5 l) wurden zur Entfernung der Trichloressigsäure im Perforator ausgeäthert, i. Vak. auf 100 ccm cingeengt, mit etwas Tierkohle entfärbt und zur weiteren Reinigung auf eine Austauschersäule mit Dowex 50 H[⊖], 200–400 mesh, gegeben. Waschen (1 l Wasser), Eluieren (0.25 *n* TCE) und Ausäthern erfolgte wie oben. — Nach Eindampfen der farblosen wässr. Lösung i. Vak. wurde Fructuron-*DL-Alanin* als farbloser Sirup erhalten, der nicht zur Kristallisation zu bringen war und beim Anreiben mit absol. Aceton glasig amorph erstarrte. Der sirupöse Rückstand wurde in absol. Methanol gelöst und Fructuron-*DL-Alanin* sofort mit absol. Äthanol und Petroläther fraktioniert gefällt. Die ersten Anteile wurden verworfen und die Hauptfällung nochmals wie vorstehend aus Methanol umgefällt. Längere Einwirkungszeit von Methanol auf Fructuron-*DL-Alanin* führt zu Sekundärprodukten mit

¹¹⁾ R. KUHN und L. BIRKHOFER, Ber. dtsch. chem. Ges. **71**, 621 [1938].

¹²⁾ B. TOLLENS, Ber. dtsch. chem. Ges. **41**, 1788 [1908].

höherem C-Gehalt. Ester, wie sie bei einigen Glucose-Aminosäuren in salzsaurer methanolischer Lösung entstehen¹³⁾, ließen sich hierbei nicht nachweisen. Das gefällte amorphe Pulver wurde abgesaugt, wobei das Fällungsprodukt stets unter Lösungsmittel gehalten wurde, mit absol. Alkohol und Petroläther gewaschen und i. Vak. über P_2O_5 bei 37° getrocknet. Trocknen bei 50° und höher führt zu Stickstoffverlusten.

D-Fructuron-DL-Alanin wird als weißes, amorphes Pulver erhalten, das Reste an Wasser, Lösungs- oder Fällungsmittel sehr fest gebunden hält. Ausb. 4.67 g (21% d. Th.); Schmp. 107° (Zers.). $[\alpha]_D^{25}$: +13.9°, keine Mutarotation ($c = 2$, in Wasser).

$C_9H_{15}NO_8$ (265.3) Ber. C 40.70 H 5.72 N 5.29 Gef. C 40.37 H 6.00 N 5.17

D-Fructuron-DL-Alanin-Brucinsalz: Die Lösung von 0.13 g *Fructuron-DL-Alanin* in Methanol wurde mit 10 ccm 0.1 m methanol. *Brucinlösung* versetzt. Nach Zugabe von Propanol-(2) bis zur Eintrübung, die durch etwas Methanol eben wieder beseitigt wurde, kristallisierte bei langsamem, vorsichtigem Einengen i. Vak. das Brucinsalz mit 1 Mol. Kristallwasser aus.

$C_{23}H_{26}N_2O_4 \cdot C_9H_{15}NO_8 \cdot H_2O$ (677.5) Ber. C 56.70 H 6.41 N 6.21
Gef. C 56.34 H 6.70 N 6.19

D-Fructuron-Glycin: 10.0 g *Glycin* wurden wie im Falle des *DL-Alanins* in 3.5 l Methanol suspendiert und mit 20.0 g *Na-Glucuronat* versetzt. Zwecks besserer Lösung wurde dem Ansatz 10% (350 ccm) Wasser zugegeben und insgesamt 5 Stdn. auf dem Wasserbad zum Sieden erhitzt. Die Aufarbeitung und Isolierung erfolgte wie beim *DL-Alanin*. Nach Umfällung aus Methanol wurde das *Fructuron-Glycin* als amorphes, weißes Pulver erhalten, das ebenfalls nicht zur Kristallisation zu bringen war. Ausb. 1.495 g (14.0% d. Th.); Schmp. 109° (Zers.). $[\alpha]_D^{25}$: +13.8°, keine Mutarotation ($c = 2$, in Wasser).

$C_8H_{13}NO_8$ (251.3) Ber. C 38.25 H 5.23 N 5.58 Gef. C 38.04 H 5.55 N 5.32

D-Fructuron-Glycin-Brucinsalz: Wie beim Alaninderivat aus 0.13 g *Fructuron-Glycin* und 10 ccm 0.1 m *Brucinlösung*. Nach Zugabe von Propanol-(2) und vorsichtigem Einengen i. Vak. erfolgte die Kristallisation des Brucinsalzes wie im Falle des *DL-Alanins*. Das Brucinsalz des *Fructuron-Glycins* kristallisierte ohne Wasser.

$C_{23}H_{26}N_2O_4 \cdot C_8H_{13}NO_8$ (645.4) Ber. C 57.60 H 6.10 N 6.51
Gef. C 57.68 H 6.30 N 6.54

D-Fructuron-L-Alanin: 3.0 g *L-Alanin* wurden wie im Falle des *DL-Alanins* in 1.25 l Methanol suspendiert, mit 7.0 g *Na-Glucuronat* versetzt und 6 Stdn. auf dem Wasserbad zum Sieden erhitzt. Nach Aufarbeitung und Isolierung wurden 1.574 g (18% d. Th.) amorphes, pulveriges *D-Fructuron-L-Alanin* erhalten; Schmp. 108° (Zers.). $[\alpha]_D^{25}$: 16.1°, keine Mutarotation ($c = 2$, in Wasser).

$C_9H_{15}NO_8$ (265.3) Ber. C 40.70 H 5.72 N 5.29 Gef. C 40.54 H 6.10 N 5.36

D-Fructuron-L-Alanin-Brucinsalz: 0.13 g *Fructuron-L-Alanin* wurden wie beim *Fructuron-DL-Alanin* in methanol. Lösung mit 0.46 g *Brucin* versetzt und aufgearbeitet.

$C_{23}H_{26}N_2O_4 \cdot C_9H_{15}NO_8 \cdot H_2O$ (677.5) Ber. C 56.70 H 6.41 N 6.21
Gef. C 56.53 H 6.88 N 5.96

Darstellung des Eisenkomplexes des Glucuronyl-glycins: 0.5 g trockenes *Natriumglycinat* und 1.1 g *Natriumglucuronat* wurden in 350 ccm absol. Methanol suspendiert und bei Raumtemperatur 5 Stdn. geschüttelt. Das ungelöste *Na-Glycinat* und *Na-Glucuronat* wurden abfiltriert und die klare Lösung tropfenweise mit einer methanol. $FeCl_3$ -Lösung versetzt, bis

¹³⁾ K. HEYNS und H. BREUER, Chem. Ber. 91, 2750 [1958].

kein Niederschlag mehr ausfiel. Der entstandene flockige, ockergelbe Niederschlag wurde abfiltriert, mit Methanol, Aceton und Äther gewaschen und über P_2O_5 i. Vak. getrocknet. Ausb. 0.665 g.

Nach der Analyse ergibt sich für den Komplex die Formel:

$C_8H_{10}NO_8Fe_{1.22} \cdot CH_3OH$ (348.4) Ber. C 31.02 H 4.06 N 4.02
Gef. C 30.46 H 4.04 N 4.02 Fe 19.3

— — —

KURT KAHR und CLAU BERTHER

Katalytische Oxydation von primären Aminen zu Oximen mit Wasserstoffperoxyd

Aus den Forschungslaboratorien der Holzverzuckerungs AG, Domat/Ems (Schweiz)
(Eingegangen am 13. August 1959)

Aliphatische, araliphatische sowie alicyclische Mono- und Diamine können katalytisch in Gegenwart von löslichen Salzen der Wolfram-, Molybdän- und Uransäure mit Wasserstoffperoxyd zu den entsprechenden Oximen oxydiert werden. Die Reaktion geht auch mit Aminen mit funktionellen Gruppen, sofern diese Gruppen durch Oxydation nicht angegriffen werden.

Von E. BAMBERGER und Mitarbeitern¹⁾ wurden erstmalig primäre Amine mittels neutralisierter Sulfomonopersäure (CAROSCHE Säure) zu Oximen oxydiert. Diese Oxydation wurde bei primären Aminen durchgeführt, deren die Aminogruppe tragende Kohlenstoffatom primär oder sekundär gebunden war. Im ersten Falle wurden Aldoxime und im letzteren Ketoxime erhalten. Als Zwischenprodukte wurden Hydroxylaminverbindungen angenommen, die aber sogleich zu Oximen weiteroxydiert wurden. Je nach den Reaktionsbedingungen ging deren Oxydation bis zu den Nitronsäuren bzw. Nitroverbindungen weiter. In allen Fällen war die oxidative Wirkung der Sulfomonopersäure so stark, daß die Oxydation zu den Oximen nicht eindeutig verlief.

In neuerer Zeit konnten besonders durch Einwirkung organischer Persäuren auf die primären Amine die den Oximen isomeren Nitrosoverbindungen erhalten werden²⁾. Wir haben nun eine neue Methode gefunden, die es erlaubt, Oxime durch Oxydation der aliphatischen, primären Amine mit Wasserstoffperoxyd in Gegenwart katalytischer Mengen von löslichen Salzen der Wolfram-, Molybdän- oder Uransäure herzustellen. Die Reaktion verläuft unter wesentlich milderden Bedingungen; es bilden sich dabei keine Nitroso- oder Nitrokörper. Bei dieser Methode werden die Amine unter exothermer Reaktion bereits bei Raumtemperatur zu den entsprechenden Aldoximen oder Ketoximen oxydiert. Von anderen Autoren³⁾ ist später gefunden worden, daß

¹⁾ Ber. dtsch. chem. Ges. **34**, 2262 [1901]; **35**, 4293 [1902]; **36**, 701 [1903].

²⁾ Dtsch. Bundes-Pat. 953069 v. 8. 6. 1952, FARBENFABRIKEN BAYER AG; C. 1957, 5706.

³⁾ Dtsch. Bundes-Pat. 1021358 v. 13. 1. 1955, BAD. ANILIN- & SODA-FABRIK AG; C. 1958, 11662.