

Enzymatischer Aufbau von Polysacchariden in Gräsern

Untersuchungen über Polyfructosane XL¹⁾

Von Prof. Dr. H. H. SCHLUBACH
und Dipl.-Chem. HENNING LÜBBERS

Aus dem Chemischen Staatsinstitut der Universität Hamburg

Die Untersuchung des Polymerisationsgrades der in *Lolium perenne* gebildeten Polyfructosane zeigte²⁾, daß dieser im Laufe der Vegetationsperiode zunimmt. Die gleiche Erscheinung wurde beim *Phleum pratense*³⁾ festgestellt. Für ihre Deutung wurden drei Möglichkeiten in Betracht gezogen. An anderer Stelle wird auseinandergesetzt, daß eine ungleichartige Fraktionierung nicht vorrangig und andererseits die Erhöhung des Durchschnittspolymerisationsgrades nicht durch einen selektiven enzymatischen Abbau erklärt werden kann. Am wahrscheinlichsten ist, daß der Polymerisationsgrad durch eine enzymatische Transfructosidation zunimmt. Eine solche konnte jetzt nachgewiesen werden. Als eine wesentliche Voraussetzung für eine Transfructosidation wurde schon von anderen Forschern eine hohe Konzentration der die Fructose liefernden Komponente erkannt. Eine weitere ist eine verhältnismäßig geringe Konzentration des Enzyms. Da der Polymerisationsgrad der Gras-Polyfructosane der Molekulardrehung proportional ist⁴⁾, konnte seine Erhöhung direkt an der Drehungsänderung abgelesen werden.

Bei Einwirkung einer 0,58 m Rohrzucker-Lösung auf eine 0,012 m Lösung eines Phleins 25 von der Drehung $-42,7^\circ$ wurde in Gegenwart von 0,2 Vol.-% Invertin des Konzentrates „Merck“

und bei einem 0,05 m Phosphat-Puffer vom pH 6,5 bei $20^\circ C$ nach 5 h ein Phlein 34 von der Drehung $-46,2^\circ$ erhalten. Unter sonst gleichen Bedingungen, bei denen jedoch der Rohrzucker durch Fructose ersetzt war, wurde die gleiche Erhöhung des Polymerisationsgrades gemessen. Bei einem anderen Versuch unter gleichen Bedingungen, bei dem anfangs Invertin in einer Konzentration von 0,2%, nach 24 h weiterhin 0,1% und nach nochmals 24 h erneut 0,1% zugegeben wurde, konnte ein Phlein 34 von der Drehung $-46,2^\circ$ in ein Phlein 41 von der Drehung $-48,0^\circ$ umgewandelt werden. In allen Fällen machte sich das Ansteigen des Polymerisationsgrades auch in einer Abnahme der Wasserlöslichkeit bemerkbar. Es ist also gelungen, in zwei Stufen ein Phlein 25 zu einem Phlein 41 aufzubauen.

Eine 1,2 m Fructose-Lösung ergab bei Einwirkung auf eine 0,020 m Lösung eines Phleins 25 von der Drehung $-42,7^\circ$ mit 0,4% Invertin ein Phlein 29 von der Drehung $-44,5^\circ$. Bei einem Kontrollversuch unter gleichen Bedingungen ohne Invertin-Zusatz blieb das Phlein 25 unverändert.

Da wir die gleiche Wirkung wie mit Phosphat-Puffer auch mit Citrat-Puffer erzielen konnten, scheint bei dieser Transfructosidation die Gegenwart anorganischen Phosphats ebenso wenig notwendig zu sein, wie dies von anderen Forschern auch bei anderen Transfructosidationen angenommen wird.

Diese Beobachtungen geben nicht nur eine Deutung des Anstieges des Polymerisationsgrades bei Gras-Polyfructosanen im Laufe der Vegetationsperiode, sondern sie zeigen auch einen Weg zu ihrer Entstehung in den Gräsern unter zellmöglichen Bedingungen, da alle Komponenten des Systems in der Pflanzenzelle vorkommen können. Die Unterschiede, die bei den verschiedenen Grasarten in der Kettenlänge ihrer Polyfructosane angetroffen wurden, lassen sich auf Unterschiede in den Konzentrationsverhältnissen bei ihrer Bildung zurückführen.

Eingeg. am 22. November 1954 [Z 136]

¹⁾ XXXIX. Mitt. Liebigs Ann. Chem. 588, 192 [1954].

²⁾ H. H. Schlubach u. K. Holzer, Liebigs Ann. Chem. 587, 117 [1954].

³⁾ Unveröff. Beobachtung.

⁴⁾ H. H. Schlubach u. H. Lübbes, im Druck.

Versammlungsberichte

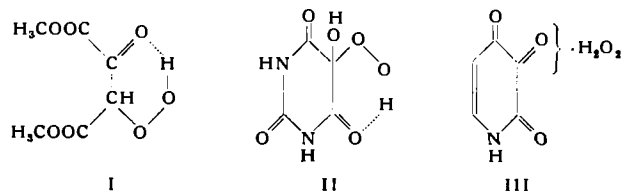
6. Sommer-Seminar zur Chemie der Naturprodukte

Universität von Neu Braunschweig, Fredericton (Canada) 17.—21. August 1954

B. WITKOP, Bethesda, Maryland (USA): *Neuere Ergebnisse zur Kenntnis der Endiole.*

In dem von S. Udenfriend und Mitarbeitern¹⁾ modifizierten Wielandschen System²⁾ vermögen Endiole (Ascorbinsäure, Dioxyfumar-säure) oder ihre Oxydationsprodukte (Dehydroascorbinsäure, Diketobersteinsäure) in Gegenwart von Metall-Ionen (Fe^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} , Cu^+ , Co^{3+}) und Wasserstoffperoxyd sowie einem Komplexbildner (Äthylendiamin-tetraessigsäure) verschiedene Substrate (Chinolin, Phenylalanin, Tyramin usw.) zu hydroxylieren³⁾. Auch Alloxan und Nihydrin übertragen Sauerstoff in diesen Oxydationen. Da sowohl *cis*-(Ascorbinsäure) als auch *trans*-Endiole (Dihydroxyfumar-säure⁴⁾, ⁵⁾ wirksam sind, wurde versucht, isomere *cis-trans*-Endiole in der Dihydroxyfumar-Maleinsäure-Reihe darzustellen. Die Öffnung der Diacyl-dioxy-maleinsäure-anhydride mit Methanol und nachfolgende Reaktion mit Diazomethan führte jedoch nicht zu *cis*-Isomeren der gut charakterisierten Diacyl-dioxy-fumar-säureester, sondern zu Verbindungen, in denen eine Acetoxy- gegen eine Methoxy-Gruppe ausgetauscht war. Da die maximale Oxydationswirkung im modifizierten Wielandschen System erreicht wird, wenn das Verhältnis Endiol zu Wasserstoffperoxyd 1:2 ist¹⁾, war man versucht, erst Oxydation zur Dehydroverbindung anzunehmen, die anschließend Wasserstoffperoxyd anlagert. Solche intermediären Hydroperoxyde wurden hergestellt, indem man zu den gelben Lösungen von Dimethyl-diketosuccinat, wasserfreiem Alloxan oder Pyromekazon⁶⁾ die äquimolare Menge wasserfreien Wasserstoffperoxyds in ab-

solutem Äther bis zur Entfärbung zugab. Die erhaltenen Hydroperoxyde (I, II, III) waren äußerst labil und unbeständig, möglicherweise ein Grund, warum I im Wielandschen System nicht



die Wirksamkeit von Dioxyfumar-säure-Wasserstoffperoxyd zeigte und II nicht zur Prüfung auf Diabetes-Erregung geeignet war. II erwies sich im Desensibilisierungstest gegen Tuberkelbazillen (BCG)⁷⁾ verschieden von Alloxan. Stickstoff-haltige Endiole vom Typ $-C=NH_2-$ ⁸⁾ und $-C=NH_2-$ ⁹⁾ verdienen besonderes Inter-

esse, weil sie sich wie Endiole leicht oxydieren und in peri-Anordnung in bicyclischen Systemen (8-Oxychinolin, Xanthurensäure¹⁰⁾) diabetogen wirken.

K. WIESNER, Fredericton, N. B., Canada: *Neuere Ergebnisse zur Kenntnis der Aconitum Alkaloide.*

Für die aus der Rinde von *Garrya veatchii* isolierten Alkaloide Veatchin und Garryin werden die (partiell projizierten) Strukturformeln I und II vorgeschlagen. Das Grundgerüst dieser Verbindungen offenbart sich bei der Selen-Dehydrierung, bei welcher

⁷⁾ Vgl. D. A. Long, A. A. Miles u. W. M. L. Perry, Lancet 1951, 902, 1085.

⁸⁾ Th. Wieland, G. Pfeleiderer u. J. Franz, diese Ztschr. 66, 290 [1954].

⁹⁾ Vgl. P. L. Julian und Mitarb., J. Amer. chem. Soc. 67, 1203 [1945].

¹⁰⁾ Y. Kotake, Jr., T. Inada u. Y. Matsumura, J. Biochemistry [Japan] 41, 255 [1954].

¹⁾ S. Udenfriend, C. T. Clark, J. Axelrod u. B. B. Brodie, J. biol. Chemistry 208, 731 [1954].

²⁾ H. Wieland, On the Mechanism of Oxidation, Yale University Press, New Haven, Conn., 1932, p. 86.

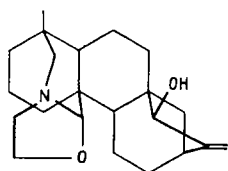
³⁾ Vgl. die Rolle, die das System Ascorbinsäure-Dehydroascorbinsäure bei der Biosynthese der Corticosterole spielt: H. Schmidt u. H. Staudinger, Biochem. Z. 325, 288 [1954].

⁴⁾ W. Franke u. G. Brathuhn, Liebigs Ann. Chem. 487, 1 [1931]; E. F. Hartree, J. Amer. chem. Soc. 75, 6244 [1953].

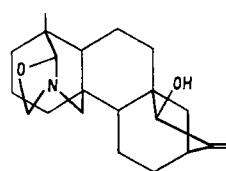
⁵⁾ S. Goodwin u. B. Witkop, ebenda, im Druck.

⁶⁾ Vgl. N. Allegretti, K. Balenović, V. Fišter u. R. Munk, Experientia 9, 416 [1953].

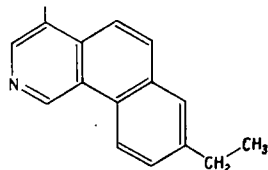
neben 1-Methyl-7-äthylphenanthren das auch synthetisch dargestellte 3-Aza-1-methyl-7-äthylphenanthren (III) erhalten wurde.



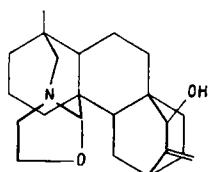
Veatchin (I)



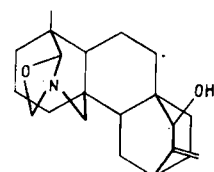
Garryin (II)



3-Aza-1-methyl-7-äthylphenanthren (III)



Atisin (IV)



Isoatin (V)

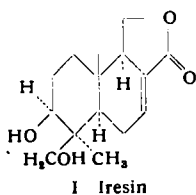
Überraschend ist die unterschiedliche Basizität, Veatchin pK 11,5, Garryin pK 7,8, die nicht ohne weiteres mit dem isomeren Oxazolidinring-System erklärlich ist. Als Folge dieser Strukturklärungen werden für die von Jacobs und Mitarbeitern bearbeiteten Aconitbasen Atisin und Isoatin die Strukturen IV und V vorgeschlagen¹¹). Eine Verknüpfung von Veatchin-Garryin mit den Atisin-Alkaloiden durch gemeinsame Abbauprodukte scheint durch diese Erkenntnisse in den Bereich des Möglichen gerückt.

G. D. NOVELLI, Cleveland, Ohio (USA): Abbau und Biosynthese von Coenzym A¹²).

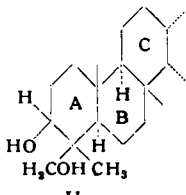
C. DJERASSI, Detroit, Michigan (USA): Naturprodukte aus latein-amerikanischen Pflanzen.

Dem neuen Sesquiterpen-Lacton Iresin, das aus einem in Mexiko heimischen, zur Familie der *Amarantaceae* gehörenden Strauch isoliert wurde¹³), wird auf Grund von ausführlichen Abbaustudien und ultrarot-spektrophotometrischen Vergleichen die Struktur I zuerteilt.

Die in I angedeuteten stereochemischen Verhältnisse bedürfen noch weiterer Beweise. Falls die Struktur I für Iresin unzweifelhaft festliegt, dann ist hier zum erstenmal in der Natur der noch fehlende Sesquiterpen-Typ aufgefunden worden, der als Zwischenglied zwischen Isopren und den Di- und Triterpenen (II) wie Abietinsäure, Hederagenin usw. aufzufassen ist¹⁴).



I Iresin



II

A. ESCHENMOSER, Zürich (Schweiz): Einige neue Verbindungen vom Benzotropin-Typ¹⁵).

I. A. SOLOMONS, Brooklyn, N. Y. (USA): Struktur und Chemie des Thiolutins.

Das orange-gelbe kristalline Antibiotikum Thiolutin, das 1950 aus *Streptomyces albus* isoliert worden war¹⁶), hat die Zusammen-

¹¹) Vgl. S. W. Pelletier u. W. A. Jacobs, J. Amer. chem. Soc. 76, 4496 [1954].

¹²) Vgl. D. Novelli, J. Cellular Comparat. Physiology 41, Suppl. 1, pp. 67-87 [1953]; Feder. Proc. 72, 675-681 [1953].

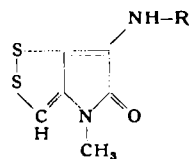
¹³) C. Djerassi, P. Sengupta, J. Herran u. F. Walls, J. Amer. chem. Soc. 76, 2966 [1954].

¹⁴) Vgl. L. Ruzicka, Experientia 9, 357 [1953].

¹⁵) Vgl. A. Eschenmoser u. H. H. Rennhard, Helv. chim. Acta 36, 290 [1953]; E. Heilbronner u. A. Eschenmoser, ebenda 36, 1101 [1953].

¹⁶) W. D. Celmer, F. W. Tanner, Jr., M. Harfenist., T. M. Lees u. I. A. Solomons, J. Amer. chem. Soc. 74, 6304 [1952].

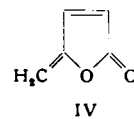
setzung $C_8H_8N_2O_2S_2$. Die Strukturformel (I), die vor kurzem ermittelt wurde, zeigt ein neuartiges bicyclisches System, das sich von einem 3-Acetamino-N-methyl- α -pyrrolidon ableitet. Das doppelt ungesättigte mit der cyclischen Disulfid-Gruppe konjugierte Amid zeigt eine starke Absorptionsbande im UV bei 388 m μ . Phylogenetisch ist eine gewisse Verwandtschaft mit dem ebenfalls antibiotischen Protoanemonin (IV) zu erkennen. Das in Japan isolierte Aureothricin ist N-Propionyl-desacetyl-thiolutin (III).



I: R = CH_3CO : Thiolutin

II: R = H: Desacetylthiolutin (Pyrrothion)

III: R = CH_3-CH_2-CO : Aureothricin

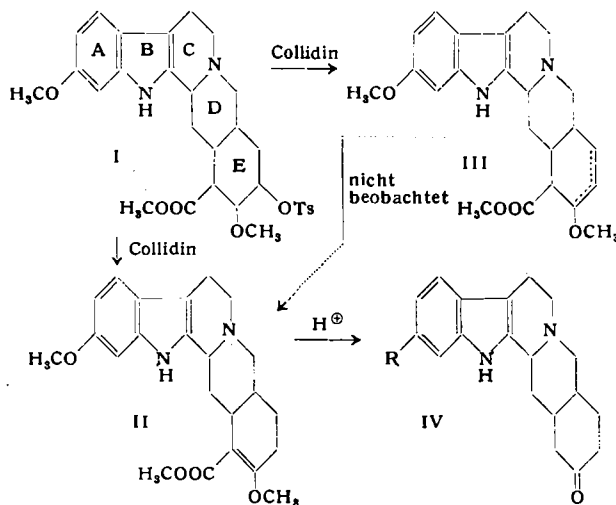


IV

B. R. BAKER, Pearl River, New York (USA): Die Totalsynthese des Antibiotikums Puromycin¹⁷).

E. SCHLITTLER, New Jersey (USA): Einige Probleme aus der Chemie der Rauwolfia-Alkaloide¹⁸).

Zur Chemie des therapeutisch in der psychiatrischen Praxis und bei Hypertonikern so erfolgreich verwandten Alkaloids Reserpin läßt sich nachtragen, daß bei der Dehydrierung von Reserpinsäuremethylester-tosylat(I) mit Collidin neben Anhydro-reserpinsäuremethylester (II) ein isomeres Dehydrierungsprodukt entsteht, bei dem die Doppelbindung mit der Carbomethoxy-Gruppe nicht konjugiert ist (vorläufige Formel III). III entsteht in geringer Ausbeute und wird durch Kochen mit Collidin offenbar nicht in II verwandelt. Der Enoläther II geht beim Behandeln mit Säure in den β -Ketoester über, der Kohlendioxyd verliert und 17-Ketoreserpon (IV, R = OCH_3) bildet. Hier ist zum erstenmal



ein Abbauprodukt des Reserpins erhalten, das sich entweder durch Entfernung der Methoxy-Gruppe im Ring A oder aber durch die beim Yohimbon benutzte Synthese (G. A. Swan) mit Yohimbon (IV, R = H) selbst stereochemisch verknüpfen lassen wird. Solche Versuche sind im Gange.

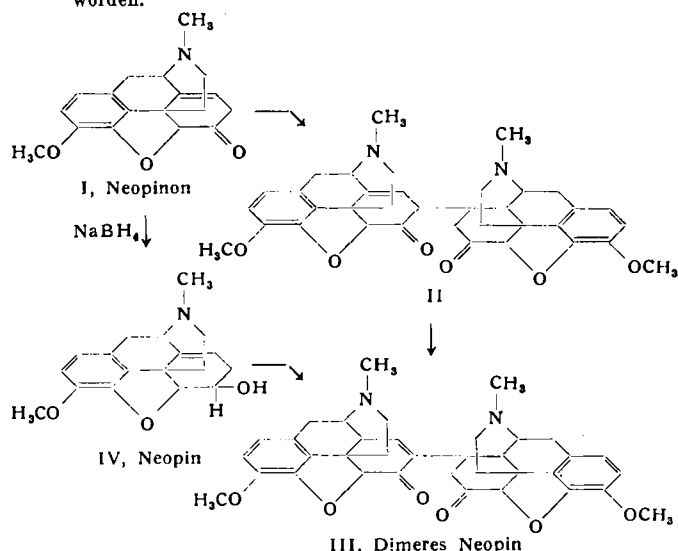
H. CONROY, Rahway, New Jersey (USA): Neopinin.

Auf der Suche nach Methoden, das kommerziell weniger wertvolle Thebain in Codein zu verwandeln, wurde γ -Bromocodeinon, das durch die Einwirkung von Brom in Essigsäure auf Thebain zugänglich ist, mit Palladium in Chloroform-Lösung hydriert. Dabei entstand das noch nicht bekannte Neopinin (I), das beim Stehen sich leicht zu einer dimeren Verbindung $C_{36}H_{38}N_2O_6$ (III) umwandelt in einer Reaktion, die als Michael-Addition aufzufassen ist und die wahrscheinlich über das nicht isolierte Zwischenprodukt (II) führt. Durch Reduktion von Neopinin mit Natriumborhydrid wurde in hoher Ausbeute Neopin (IV) erhalten. Damit ist dieses

¹⁷) B. R. Baker, R. E. Schaub, J. P. Joseph u. J. H. Williams, J. Amer. chem. Soc. 76, 4044 [1954] u. ausführl. Mitt. im Druck.

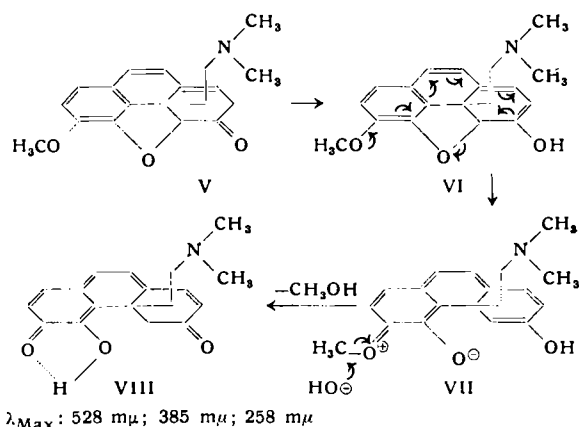
¹⁸) Vgl. diese Ztschr. 66, 386 [1954].

aus den Restmutterlaugen der Opiumbereitung 1911 isolierte natürliche Alkaloid zum ersten Mal teilsynthetisch dargestellt worden.



Bei der Einwirkung von Säure (Bisulfat-Lösung bei Zimmertemperatur) läßt sich nach eintägigem Stehen 85 % des Ausgangsmaterials zurückgewinnen; nach 14tägiger Einwirkungsdauer

lassen sich 35 % Codeinon und 35 % 8-Oxydihydrocodeinon, entstanden aus Codeinon durch säure-katalysierte Wasseranlagerung, isolieren. Das Jodmethylat des Neopinons erleidet schon in Berührung mit Bicarbonat eine interessante Umwandlung in eine



tief-violette Verbindung der Zusammensetzung C₁₈H₁₉NO₃, der die Struktur VIII beigelegt und deren Entstehung über die Zwischenstufen V, VI und VII gedeutet wird. Diese Umwandlungen erinnern an ähnliche Beobachtungen von Schöpf beim Codeinonjodmethylat. [VB 612]

Schweizerische Chemische Gesellschaft

Altdorf, 25. bis 26. September 1954

J. SOLMS, Zürich: *Kontinuierliche Papierchromatographie.*

Vortr. beschreibt eine Methode zur präparativen Papierchromatographie, die sich an die präparative Papierelektrophorese von Durrum anlehnt. Die beiden Bewegungskomponenten bestehen einerseits in der papierchromatographischen Wanderung der Substanz (vertikal), andererseits in einer horizontalen Verschiebung des Papiers. Das Papier wird zu einem Zylinder gerollt und taucht mit dem oberen umgebogenen Ende in den Trog mit der mobilen Phase. Zunächst soll das ablaufende Lösungsmittel das Papier gut tränken. Hierauf setzt man den Zylinder mittels eines Synchronmotors um dessen vertikale Achse in sehr langsame Bewegung, während gleichzeitig das zu trennende Substanzgemisch in Lösung kontinuierlich aus einer Kapillare aufgetragen wird.

An farbigen Testproben zeigt sich sehr schön, wie die einzelnen Komponenten in Spiralen verschiedener Neigung dem untern Rand des Papiers zustreben, wo sie in kleine Glaspföfchen abtropfen. Der Papierzylinder dreht sich beliebig oft über den stationären Kreis der Auffang-Gefäße hinweg.

Der Vorteil der Methode liegt in der wartungsfreien Ausführung eines präparativen Papierchromatogramms. Die vorliegenden Resultate berechtigen zu großen Erwartungen hinsichtlich Trennwirkung und Kapazität.

W. BUSER, W. FEITKNECHT und P. GRAF, Bern: *Ionenaustauschreaktionen in anorganischen Festkörperverbindungen* (vorgetr. von W. Buser).

Manganoxyde wechselnder Zusammensetzung an Mn^{II} und Mn^{IV} wurden durch Messung des Ionenaustausches dieser Oxyde in radioaktiv markierter Mangan-Salzlösung untersucht. Bei Verwendung von radioaktiven zweiwertigen Mangan-Ionen in der Lösung bleibt der Austausch auf das zweiwertige Mangan der Festkörper beschränkt. Aus dem großen Untersuchungsmaterial seien einige Vergleichswerte herausgegriffen: Der Austausch verläuft bei β-MnO₂ zu 1 %, bei γ-MnO₂ zu 20 %, bei α-MnO₂ zu 68 % und bei Mn₂O₃ zu 104 %. Die Interpretation dieser Ergebnisse steht in engem Zusammenhang mit der bereits früher referierten Strukturaufklärung der verschiedenen Manganoxyde. Bei β-MnO₂ findet der Ionenaustausch nur an der Oberfläche der Kristalle statt, die vorwiegend durch vierwertiges Mangan gebildet wird. Die Austauschzahl des α-MnO₂ läßt sich gut mit dessen kettenförmigem Aufbau erklären, dessen Kanalsystem große Austauschfähigkeit bedingt.

Die Messung des Ionenaustausches ermöglicht die weitere Charakterisierung dieser Substanzen durch ihren Ordnungs- und Dispersitätsgrad, welche ihrerseits von der Herstellungsart und Vorbehandlung abhängen.

W. FEITKNECHT und F. BLATTER, Bern: *Einlagerungsverbindungen von Nitrophenolen in Zinkhydroxyd.*

Verschiedene Verbindungen der Mono- und Dinitrophenole mit Zinkhydroxyd können durch saure Fällung von Zink-Ionen enthaltenden Phenolat-Lösungen erhalten werden. Es ist gelungen, neun mikrokristalline Substanzen zu isolieren, deren stöchiometrisches Verhältnis Zink: Nitrophenol entweder 2:1 oder 3:1 beträgt. Die Verbindungen besitzen mehr oder weniger deformierte Zn(OH)₂-Gitter. Die röntgenographische Bestimmung der Gitterkonstanten erlaubt, die Lage der eingebauten Nitrophenol-Molekeln anzugeben. Diese befinden sich in den Zwischenräumen der Zn(OH)₂-Schichten und stehen bei den einzelnen Präparaten senkrecht hierzu oder sind etwas geneigt.

Eine Sonderstellung unter den untersuchten Substanzen nimmt die Verbindung p-Nitrophenol-zinkhydroxyd ein. Hier ergibt die Strukturanalyse den teilweisen Ersatz der Sauerstoff-Atome der Zn(OH)₂-Schichten durch ein Phenolat-Ion des p-Nitrophenols.

H. DAHN, Basel: *Neue Reduktone.*

Durch Kondensation von aromatischen Aldehyden mit Glyoxal und KCN wurden Oxy-tetronimide der Formel I hergestellt. Die Umsetzung verläuft möglicherweise über ein intermediäres Oson (R-CHOH-CO-CHO), das über ein Cyanhydrin (R-CHOH-CO-CHOH-CN) das Oxytetronimid (I) bildet.

Die Eigenschaften dieser Verbindungen, welche Analoga der Ascorbinsäure (III) darstellen, stehen mit der Formel I in Übereinstimmung. Sie nehmen bei der katalytischen Hydrierung 2 Mole Wasserstoff auf, wobei die entsprechenden aliphatischen 2,3-Dioxyssäureamide entstehen, deren Konstitution sich ihrerseits durch Abbau mit Perjodsäure ergibt.

Interessant ist das Verhalten der Oxytetronimide gegen Säure. Bei dieser Reaktion bilden sich α-Oxysäuren (II), deren Entstehung wie folgt erklärt wird:

