

Amadori-Umlagerung und der mit ihr eng zusammenhängenden Osazonbildung der Aldosen haben wir das Verhalten des D-Glucosamins gegenüber Phenylhydrazin erneut geprüft.

Dabei haben wir festgestellt, daß das D-Glucosamin bei völligem Ausschluß von Luftsauerstoff *kein* D-Glucosazon bildet, sondern lediglich ein Phenylhydrazon [Fp = 118 bis 120 °C (unkorr.), $[\alpha]_D^{25} = -13,2$ (nach 10 min) $\rightarrow -72,3$ (c = 1, Wasser)]. Dieser bisher nicht bekannte Stoff wurde über die N-Tosylverbindung abgetrennt. Man erhält ihn aus den Komponenten ohne Säurezusatz in guter Ausbeute. Die N-Formyl-, N-Acetyl-, N-Benzoxycarbonyl- und N-Tosyl-Derivate des D-Glucosamins bilden unter Abspaltung des am N-Atom sitzenden Acylrestes ebenfalls das Phenylhydrazon. Beim N-Tosyl-Derivat wird dabei als Zwischenprodukt das N-Tosyl-D-glucosamin-phenylhydrazon erhalten.

Arbeitet man jedoch in Gegenwart von Luftsauerstoff, so bildet sich das D-Glucosazon, und zwar hängt die Ausbeute von der Menge des zugeführten Sauerstoffs ab. Wir haben bisher maximal eine Ausbeute von 61 % erhalten. Offenbar muß vor Eintritt des zweiten Phenylhydrazin-Restes eine Dehydrierung durch den Luftsauerstoff und wahrscheinlich die Abspaltung von Ammoniak aus einer Iminogruppe eintreten.

Daß das D-Glucosamin bei Sauerstoffausschluß kein Osazon bildet, steht in Übereinstimmung mit dem Verhalten seiner N-Glykoside. Es gelingt unter keinen Umständen, diese N-Glykoside einer Amadori-Umlagerung zu unterwerfen^[2]. Da der Osazonbildung eine Amadori-Umlagerung vorausgeht, ist es verständlich, daß die Osazonbildung beim D-Glucosamin in Abwesenheit von Sauerstoff ausbleiben muß.

Eingegangen am 27. Mai 1966 [Z 251]

[1] F. Tiemann, Ber. dtsch. chem. Ges. 19, 50 (1886).

[2] K. H. Heinemann, Dissertation, Universität Münster, 1966; K. H. Schwieger, Diplom-Arbeit, Universität Münster, 1959.

Zur Sekundärstruktur serin-spezifischer Transfer-Ribonucleinsäure^[1]

Von Dipl.-Chem. H. Doepner, Dr. H. Seidel und Prof. F. Cramer

Max-Planck-Institut für Experimentelle Medizin, Göttingen

Wir beschrieben kürzlich^[2] eine Beziehung zwischen der thermischen Hyperchromie verschieden vorbehandelter s-RNS^[3] unterschiedlicher Herkunft und dem jeweils chemisch durch N-Oxidation ermittelten Basenpaarungsgrad.

Wir untersuchten jetzt ser-t-RNS aus Bierhefe, deren Nucleotidsequenz von Zachau et al.^[4] aufgeklärt worden ist.

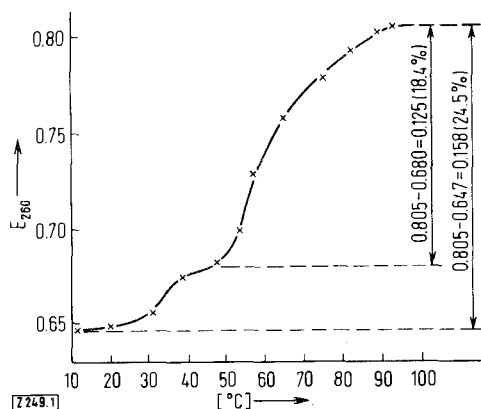


Abb. 1. Änderung der Absorption bei 260 mμ bei der thermischen Denaturierung von ser-t-RNS in 0,4 M Phosphatpuffer (pH = 7,0) ohne Mg²⁺. Ordinate: Extinktion bei 260 mμ. Abszisse: Temperatur [°C].

Die Abbildung zeigt die Änderung der Absorption bei der thermischen Denaturierung dieser t-RNS.

Man erkennt einen zweistufigen Verlauf der Kurve. Die erste Stufe (zwischen 30 und 45 °C) hat an der Gesamthyperchromie nur einen geringen Anteil (Aufhebung einer Tertiärstruktur?^[5,6]). Die zweite Stufe dürfte der Zerstörung der Sekundärstruktur (Helix-Knäuel-Umwandlung) entsprechen. Die Gesamthyperchromie beträgt, wie die Abbildung zeigt, 24,5 %. Nach der von uns beschriebenen Beziehung^[2] entspricht das ca. 27 Basenpaaren pro Molekül ser-t-RNS. Die Hyperchromie der zweiten Denaturierungsstufe hat einen Wert von 18,4 %. Nach^[2] entspricht das 24 bis 25 Basenpaaren pro Molekül ser-t-RNS.

Dieses Ergebnis steht in guter Übereinstimmung mit dem von Zachau et al.^[4] angegebenen optimalen Basenpaarungsgrad in ser-t-RNS, der bei Anordnung der Nucleotidsequenz in fünf helicalen Bereichen erreicht werden kann.

Eingegangen am 25. Mai 1966 [Z 249]

[1] Wir danken Herrn Prof. Zachau für eine Probe ser-t-RNS.

[2] H. Doepner, H. Seidel u. F. Cramer, Angew. Chem. 78, 601 (1966); Angew. Chem. internat. Edit. 5, 591 (1966).

[3] Folgende Abkürzungen werden verwendet:

s-RNS = lösliche Ribonucleinsäure

ser-t-RNS = serin-spezifische Transfer-Ribonucleinsäure

Hyperchromie = Anstieg der Extinktion bei 260 mμ bei Erhöhung der Temperatur.

[4] H. G. Zachau, D. Dütting u. H. Feldmann, Angew. Chem. 78, 392 (1966); Angew. Chem. internat. Edit. 5, 422 (1966).

[5] P. S. Sarin, P. C. Zamecnik, P. L. Bergquist u. J. F. Scott, Proc. nat. Acad. Sci. USA 55, 579 (1966).

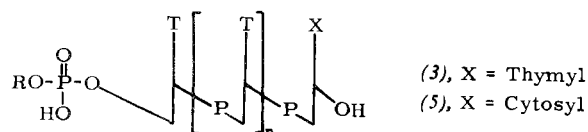
[6] D. D. Henley, T. Lindahl u. J. R. Fresco, Proc. nat. Acad. Sci. USA 55, 191 (1966).

Synthese von Oligodesoxynucleotiden mit terminaler 5'-Phosphatgruppe

Von Dr. F. Eckstein

Max-Planck-Institut für Experimentelle Medizin, Chemische Abteilung, Göttingen

Alle bis jetzt über die Dinucleotidstufe hinaus synthetisierten Oligodesoxynucleotide tragen, soweit sie nicht enzymatisch gewonnen wurden, am 5'-Ende eine freie Hydroxygruppe^[1]. Uns gelang es, Oligodesoxynucleotide mit einer terminalen 5'-Phosphatgruppe schrittweise zu synthetisieren.



	R	n	Ausb. (%) [a]	Rf-Wert im System [b]		
				A	B	C
(3a)	CCl ₃ -CH ₂ -	0	53	0,57	0,61	
(3b)	CCl ₃ -CH ₂ -	1	56	0,39	0,57	
(3c)	CCl ₃ -CH ₂ -	2	43	0,20	0,42	
(3d)	H-	0				0,35
(3e)	H-	1				0,25
(3f)	H-	2				0,19
(5a)	CCl ₃ -CH ₂ -	0	42	0,53	0,66	
(5b)	CCl ₃ -CH ₂ -	1	40	0,31	0,55	
(5c)	CCl ₃ -CH ₂ -	2	43	0,18	0,45	
(5d)	H-	0				0,33
(5e)	H-	1				0,27
(5f)	H-	2				0,23

[a] Bezogen auf eingesetztes Oligonucleotid.

[b] A: Äthanol/1 M Ammoniumacetat (7:3).

B: Isopropanol/konz. NH₃/Wasser (7:1:2).

C: n-Propanol/konz. NH₃/Wasser (55:10:35)

Kondensiert man Thymidin-5'-phosphorsäure- β,β,β -trichloräthylester (1)^[2] und 3'-O-Acetylthymidin-5'-phosphorsäure (2) mit Dicyclohexylcarbodiimid in Pyridin, so erhält man nach Abspaltung der Acetylgruppe und Trennung an einer DEAE-Cellulose-Säule das Dinucleotid (3a). Dieses kann analog mit (2) umgesetzt werden zum Trinucleotid (3b). Wir haben diese Kondensation bis zum Tetranucleotid (3c) durchgeführt. An Stelle von (2) kann man für den letzten Kondensationsschritt auch N(6),3'-O-Diacetyldesoxycytidin-5'-phosphorsäure (4) verwenden. Man erhält dann die Oligonucleotide (5a)–(5c).

Die β,β,β -Trichloräthylgruppe läßt sich bei allen Verbindungen nach Überführung in das Pyridiniumsalz mit aktivier-

tem Cu/Zn^[3] in Dimethylformamid (50 °C, 1 Std.)^[2] abspalten. Die Ausbeuten an Oligonucleotid betragen dabei 85–90 % bei (3a)–(3c), 65 % bei (5a) und (5c), 90 % bei (5b). Nach Überführung in das Ammoniumsalz lassen sich die Oligonucleotide mit Schlangengift-Phosphodiesterase zu den Mononucleotiden spalten.

Eingegangen am 27. Mai 1966 [Z 250]

[1] H. G. Khorana, T. M. Jacob, M. W. Moon, S. A. Narang u. E. Ohtsuka, J. Amer. chem. Soc. 87, 2954 (1965).

[2] F. Eckstein, Angew. Chem. 77, 912 (1965); Angew. Chem. internat. Edit. 4, 876 (1965).

[3] E. LeGoff, J. org. Chemistry 29, 2048 (1964).

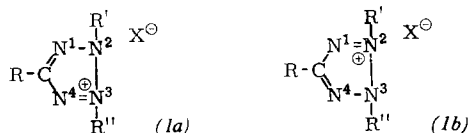
VERSAMMLUNGSBERICHTE

Über Tetrazoliumsalze und Formazane

C. Schiele, Ulm/Donau

GDCh-Ortsverband Isny/Allgäu, am 20. April 1966

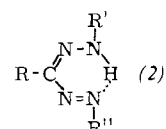
Von Nineham^[1] wurden die vorherrschenden Ansichten dahingehend zusammengefaßt, daß Tetrazoliumsalze als Resonanzhybride der Strukturen (1a) und (1b) angesehen werden müssen. Durch den Nachweis definierter $\nu(\text{C}=\text{N}^1)$ - und $\nu(\text{C}-\text{N}^4)$ -Schwingungen (1527–1544 cm^{-1} bzw. um 1150 cm^{-1}) konnte von uns jedoch abgeleitet werden, daß das System nicht als Resonanzhybrid, sondern in der Struktur (1a) vorliegt.



Es war ferner ein klarer Einfluß des Substituenten des Arylrestes am Ring-C-Atom auf das Reduktionsverhalten (Bestimmung der Zersetzungsspannung an Ag/Pt) nachzuweisen, durch den in einigen Fällen ($\text{R}=\text{R}'=\text{p-Tolyl}$ oder p-Chlorphenyl , $\text{R}'=\text{Phenyl}$ und $\text{R}=\text{R}'=\text{p-Tolyl}$ oder p-Chlorphenyl , $\text{R}'=\text{Phenyl}$) selbst eine Unterscheidung N^2 - und N^3 -substituierter Tetrazoliumsalze möglich wurde. Diese Befunde führten zum Modell eines Heterocyclus mit variabler Bindungslänge zwischen N^2 - und N^3 -Atom je nach dem Arylsubstituenten am Ring-C-Atom. Aus dem Auftreten von zwei Modifikationen bei acht festen Tetrazoliumperchloraten konnte die Existenz von hinsichtlich der Anordnung der Arylreste stereoisomeren Tetrazoliumsalzen abgeleitet werden. Diese unterscheiden sich IR-spektroskopisch im Bereich ihrer Gerüst-, $\gamma(\text{CH})$ - und Ringdeformationsschwingungen, des weiteren in ihren Debye-Scherrer-Diagrammen und in ihren Extinktionswerten im UV- und sichtbaren Spektralbereich.

Das Vorliegen experimentell nachgewiesener Stereoisomere erklärte aber noch nicht das Verhalten von kristallinen Tetrazoliumsalzen, die sich im Licht gelb färben. Diese Verfärbung wird zwar von Nineham^[1] in Beziehung zur Struktur gebracht, jedoch ohne Hinweis auf das Weshalb und Wie. Beim Bestrahlen von Tetrazoliumsalz-Schichten neu auftretende Absorptionsbanden zwischen 400 und 450 m μ können jedoch interpretiert werden, wenn man eine Photoisomerie, allein bedingt durch einen Lagewechsel des Anions, annimmt. Eine Stütze für diese Interpretation lieferten IR-spektroskopische Untersuchungen.

Auch Formazane (2) zeigen in Abhängigkeit vom Arylsubstituenten am C-Atom für die CN-Valenzschwingung einen deutlichen Frequenzgang. Betrachtet man dabei Formazane, bei denen nur der C-Arylsubstituent variiert wurde, so beobachtet man beim Übergang von einem Substituenten mit



(+)-M- zu einem mit (–)-I-Effekt (z. B. von p-Methoxy- zu p-Chlor-) ein Zunehmen der Extinktion der Farbbande von $\log \epsilon = 4,1$ nach $\log \epsilon = 4,2$ und ein Zunehmen der Frequenz der CN-Valenzschwingung von 1226 cm^{-1} auf 1236 cm^{-1} , was auf eine ansteigende Elektronendichte im Molekülteil $\text{N}=\text{C}-\text{N}$ und in Verbindung mit dem Schwächerwerden der Wasserstoffbrückenbindung auf eine Aufweitung längs der $\text{N}-\text{H} \cdots \text{N}$ -Bindung hinweist. Demzufolge scheinen C-Arylreste und „Heterocyclus“ im großen und ganzen coplanar angeordnet zu sein und sowohl die Wasserstoffbrücke wie auch die N-Arylreste keine coplanare Anordnung aufzuweisen. Im Prinzip ergibt sich also für Formazane dasselbe Bild wie für Tetrazoliumsalze, daß nämlich der C-Arylsubstituent einen wesentlichen Einfluß auf Bindungsverhältnisse und Ringparameter im entfernten Molekülteil ausübt.

[VB 994]

Neue Erkenntnisse über die Biogenese von Aromastoffen

F. Drawert, Siebeldingen

GDCh-Ortsverband Südwürttemberg-Baden, am 29. April 1966 in Freiburg

Durch Gaschromatographie und Radiogaschromatographie wurde festgestellt, daß zwischen den Aromen von Früchten und den aus ihnen hergestellten Fruchtsäften ein beträchtlicher Unterschied besteht. Die Fruchtester des Apfels (u. a. Butyl-, Amylacetate und Hexylacetat) werden nach Zerstören des Zellverbandes durch Hydrolasen verschieden stark gespalten. Gleichzeitig finden in zerstörten Früchten (Homonaten) enzymatische Oxidationen statt, die zu einer Neubildung von Aromastoffen führen, unter denen 2-Hexen-1-al (1) und Hexanal (2) mengenmäßig und damit geruchlich und geschmacklich stark hervortreten. Vorstufe für (1) ist Linolensäure und für (2) Linolsäure^[1].

Zahlreiche Aromastoffe entstammen dem Stoffwechsel von Hefen. Bei vergleichbaren Zucker-, aber verschiedenen Aminosäuregehalten von Gärsubstraten werden unterschiedliche Mengen an Aromastoffen gebildet. Modellgärversuche mit konstanten Nährmedien und *Saccharomyces cerevisiae* zeigten, daß die geprüften Aminosäuren im Hefestoffwechsel verschieden stark zur Bildung von Aromastoffen beitragen. Methionin und Prolin bewirken im Vergleich zu anderen Aminosäuren eine besonders starke Bildung von Äpfel- und Weinsäure.

[VB 993]

[1] F. Drawert, W. Heimann, R. Emberger u. R. Tressl, Liebigs Ann. Chem., im Druck.

[1] A. W. Nineham, Chem. Reviews 55, 355 (1955).