

**293. Fritz Micheel und Götz Baum: Synthese von Zuckeranhydriden aus Hexoseestern einer sterisch behinderten Carbonsäure; zur Kenntnis des Reaktionsmechanismus der Anhydridbildung und der Carbonsäureester-Verseifung**

[Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Münster (Westf.)]  
(Eingegangen am 12. September 1955)

Zur Bildung von Zuckeranhydriden im alkalischen Milieu ist nach den bisherigen Erfahrungen die Bildung eines Carboniumions am glykosidischen C-Atom erforderlich. Um dies eindeutig zu beweisen, werden die  $\beta$ -1-[2,4,6-Trimethyl-benzoyl]-Derivate der D-Glucose und D-Galaktose der Anhydrisierungsreaktion unterworfen. Auf Grund des andersartigen Spaltungsmechanismus dieser Ester von sterisch behinderten Säuren gegenüber dem von normalen Carbonsäureestern bildet das C<sup>1</sup>-Atom ein Carboniumion, und man erhält Lävoglucosan bzw. D-Galaktosan <1.5><1.6> in guter Ausbeute. 1-Carbonsäureester der Zucker mit nicht sterisch behinderten Säuren geben unter diesen Bedingungen keine Anhydride.

In früheren Mitteilungen<sup>1,2,3)</sup> wurde die Synthese von Zuckeranhydriden des <1.5>-<1.6>-Typs durch Alkalibehandlung von 1-Fluor- oder 1-Azidozuckern beschrieben. Dabei wurde eine einfache Methode ausgearbeitet<sup>3)</sup>, um mit Hilfe der Umsetzung von Hydroxyl-Ionenaustauschern unmittelbar zu sehr reinen Anhydriden zu gelangen.

Als Ausgangsmaterial für die Synthese von Zuckeranhydriden sind damit folgende Stofftypen bekannt:

- |  |                                       |
|--|---------------------------------------|
| 1. Phenyl-glykoside <sup>4)</sup>          | 4. Thiophenyl-glykoside <sup>7)</sup> |
| 2. 1-Trimethyl-ammoniumverb. <sup>5)</sup> | 5. 1-Fluor-zucker <sup>1)</sup>       |
| 3. 1-Salpetersäure-ester <sup>6)</sup>     | 6. 1-Azido-zucker <sup>2)</sup>       |

Bisher war kein Beispiel für die Anhydrisierung eines Zucker-1-carbonsäure-esters bekannt. Dies hat man darauf zurückgeführt, daß als Grundbedingung für eine Anhydrisierung der austretende Rest unmittelbar am C<sup>1</sup>-Atom des Zuckers als negatives Ion abgespalten werden muß, der Zuckerrest also als positives Carboniumion zurückbleibt<sup>2)</sup>.

Gewöhnliche Carbonsäureester (Acetate, Benzoate u. a.) werden jedoch bekanntlich zwischen dem C-Atom der Carboxygruppe und dem O-Atom des Alkohols gespalten:



- 
- <sup>1)</sup> F. Micheel u. A. Klemer, Chem. Ber. 85, 187 [1952].  
<sup>2)</sup> F. Micheel, A. Klemer u. G. Baum, Chem. Ber. 88, 475 [1955].  
<sup>3)</sup> F. Micheel u. G. Baum, Chem. Ber. 88, 479 [1955].  
<sup>4)</sup> C. Tanret, Bull. Soc. chim. France [3] 11, 949 [1894]; s. auch E. M. Montgomery, N. K. Richtmyer u. C. S. Hudson, J. Amer. chem. Soc. 65, 3 [1943].  
<sup>5)</sup> P. Karrer u. A. P. Smirnoff, Helv. chim. Acta 4, 817 [1921]; s. auch F. Micheel, Ber. dtsch. chem. Ges. 62, 687 [1929].  
<sup>6)</sup> E. K. Gladding u. C. B. Purves, J. Amer. chem. Soc. 66, 76 [1944].  
<sup>7)</sup> E. M. Montgomery, N. K. Richtmyer u. C. S. Hudson, J. org. Chemistry 10, 194 [1945].

Es bleibt also bei der Alkalispaltung eines Zucker-1-carbonsäureesters das die Estergruppe tragende C-Atom des Zuckers nicht als Carboniumkation zurück, während dies bei den genannten Beispielen der Fall ist. Somit wäre das Ausbleiben der Anhydrisierung von Zucker-1-carbonsäureestern ein wesentliches Argument dafür, daß die Möglichkeit zur Bildung eines Carboniumkations Grundbedingung für die Anhydridbildung ist.

In Übereinstimmung damit erhält man bei der Alkalieinwirkung auf voll veresterte Hexosen stets die freien Hexosen bzw. ihre Umlagerungsprodukte, jedoch keine Anhydride.

Nun ist zur Anhydrisierung aber auf jeden Fall auch das Vorhandensein einer freien OH-Gruppe an demjenigen C-Atom nötig, das den zweiten Brückenkopf bilden soll, also in diesen Fällen das Hydroxyl am C<sup>6</sup>-Atom. Man könnte also die Nichtanhydrisierbarkeit der voll acylierten Zucker-carbonsäureester auch dadurch erklären, daß bei ihnen die Esterbindung am C<sup>1</sup> lediglich schneller verseift werde als die an den anderen C-Atomen, so daß damit die Möglichkeit zur Anhydridbildung entfällt. Anhydrisierbarkeit und Nichtanhydrisierbarkeit von C<sup>1</sup>-Derivaten könnte in solchem Falle nicht die Folge verschiedener Verseifungsmechanismen, sondern lediglich die von Unterschieden in der Verseifungsgeschwindigkeit des Restes am C<sup>1</sup>-Atom sein.

Wie A. Dyfverman und B. Lindberg<sup>8)</sup> für den Fall im Benzolring verschieden substituierter Phenylglucoside untersucht haben, ist bei diesen der Grad der Anhydrisierung eine eindeutige Funktion der Acidität des Aglykons, und man könnte versucht sein, eine solche Beziehung auch für die C<sup>1</sup>-Zuckerester anzunehmen.

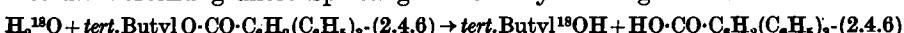
Der Vergleich der  $p_K$ -Werte der vier Säuren:

Fluorwasserstoffsäure .....	3.45	Stickstoffwasserstoffsäure ...	4.67
Benzoësäure .....	4.17	Essigsäure .....	4.76

zeigt jedoch, daß die Unterschiede der Acidität ohne Einfluß darauf sind, ob der Zuckerester der betr. Säure ein Anhydrid gibt oder nicht. Die  $p_K$ -Werte sind, wie man sieht, nur wenig verschieden; ferner wechselt in jeder Gruppe jeweils eine Säure, deren Ester anhydriert wird, mit einer solchen ab, deren Ester kein Anhydrid bildet.

Alle diese Tatsachen lassen wenig Zweifel daran, daß die Anhydrisierbarkeit vom Ort der Esterspaltung abhängt; nur wenn diese unmittelbar am C<sup>1</sup>-Atom unter Bildung eines Carboniumions möglich ist, kann auch Anhydridbildung eintreten.

Es ist bekannt, daß es auch innerhalb der Reihe der Carbonsäureester zwei verschiedene Verseifungsmechanismen gibt: die Ester von sterisch behinderten Carbonsäuren zeigen einen Reaktionsmechanismus der alkalischen Verseifung, der von dem normaler Carbonsäureester abweicht und dem der Mineralsäureester entspricht. So wurde durch Verseifung eines *tert.* Butylesters der 2.4.6-Triphenyl-benzoësäure in <sup>18</sup>O-haltigem Wasser bewiesen<sup>9)</sup>, daß hier die Verseifung unter Spaltung der O-Alkybindnung eintritt:



<sup>8)</sup> Acta chem. scand. 4, 878 [1950].

<sup>9)</sup> C. K. Ingold, Structure and Mechanism in Org. Chemistry S. 765 (1953); persönliche Mitteilung von J. Graham, E. D. Hughes u. I. R. Quayle an C. K. Ingold.

Jedoch handelt es sich bei diesem einzigen uns bekannten mit  $^{18}\text{O}$  untersuchten Beispiele um den Ester eines tertiären Alkohols. Mit Rücksicht auf den verschiedenartigen Reaktionsmechanismus der Substitution am primären und sekundären C-Atom einerseits, am tertiären andererseits, dürfte die Bildung eines Carboniumions auch durch das Vorliegen dieses tertiären Alkoholrestes mitbedingt sein<sup>9a)</sup>.

Trotzdem erwarteten wir, daß 1-Zucker-ester einer sterisch behinderten Carbonsäure bei der Alkalibehandlung zwischen dem C<sup>1</sup>-Atom des Zuckers und dem Sauerstoff der Carboxygruppe gespalten würden. Damit bliebe der C<sup>1</sup>-Kohlenstoff als Carboniumkation zurück, und es sollten nach der oben dargelegten Hypothese auch die 1-Hexose-ester einer solchen Säure im alkalischen Milieu zu den entsprechenden Hexosanen führen.

Jedoch war zunächst zu beweisen, daß durch Alkalibehandlung eines 1-Hexose-esters einer sterisch nicht behinderten Carbonsäure kein Anhydrid gebildet wird. Wir haben zur Prüfung dieser Überlegungen einerseits die  $\beta$ -1-Benzoyl-D-glucose<sup>10)</sup>, andererseits die  $\beta$ -1-[2.4.6-Trimethyl-benzoyl]-D-glucose und die  $\beta$ -1-[2.4.6-Trimethyl-benzoyl]-D-galaktose dargestellt und der Alkalibehandlung unterworfen. Zur Darstellung der beiden letzteren Verbindungen (im folgenden als  $\beta$ -1-Mesitoyl-D-glucose bzw. -galaktose bezeichnet) wurden Acetobromglucose bzw. -galaktose mit dem Silbersalz der 2.4.6-Trimethyl-benzoësäure (Mesitylen-carbonsäure) umgesetzt. Die erhaltenen Tetraacetate der 1-Mesitoyl-hexosen sind stabile, gut kristallisierende Verbindungen, die, ihrer Darstellung und ihrem schwach positiven Drehwerte entsprechend, als  $\beta$ -Verbindungen angesehen werden müssen. Durch vorsichtige Verseifung der Acetylreste erhält man die freien  $\beta$ -1-Mesitoyl-D-hexosen als ebenfalls beständige, gut kristallisierende, wasserlösliche Verbindungen. Sie zeigen ebenfalls eine schwach positive Drehung.

Da die zu erwartenden Anhydride sich durch stark negative Drehungen auszeichnen, wurden zur Prüfung auf ihre Anhydrisierbarkeit die Verbindungen zunächst in  $n/_{10}$  bis  $n/_{1}$  NaOH bei verschiedenen Temperaturen auf ihre Drehwertsveränderung untersucht.

Bei der in Wasser negativ drehenden  $\beta$ -1-Benzoyl-D-glucose zeigte sich unmittelbar nach Auflösen in der Natronlauge ein positiver Drehwert (wahrscheinlich Verseifung zu D-Glucose), der im Verlauf von 24 Stdn. gegen 0° zurückging (Zersetzung des freien Zuckers). Auch in der Hitze erfolgte keinerlei Anhydrisierung: eine Lösung von  $\beta$ -1-Benzoyl-glucose in  $n/_{1}$  NaOH hatte nach 10 Min. langem Erhitzen auf 100° den Drehwert 0°.

Im Gegensatz hierzu zeigte eine Lösung der zunächst schwach positiv drehenden  $\beta$ -1-Mesitoyl-D-glucose in Alkali schon bei Zimmertemperatur langsame, bei 100° schnelle Drehwertsänderung zu negativen Werten mit einem Enddrehwert, der auf ca. 70-proz. Anhydrisierung (Lävoglucosanbildung) schließen ließ (Tafel 1).

<sup>9a)</sup> S. G. Cohen u. A. Schneider, J. Amer. chem. Soc. **63**, 3382 [1941]; J. F. Bunnett, M. M. Robison u. F. C. Pennington, ebenda **72**, 2378 [1950].

<sup>10)</sup> L. Zervas, Ber. dtsch. chem. Ges. **64**, 2289 [1931].

Tafel 1. Drehwertsverlauf der 1-Glucose-ester in  $n/_{10}$  NaOH

$\beta$ -1-Benzoyl-D-glucose Einwaage 0.0258 g auf 3 ccm	$\beta$ -1-Mesitoyl-D-glucose Einwaage 0.0278 g auf 3 ccm
$[\alpha]_D$ (Wasser) $-26.7^\circ$	$[\alpha]_D$ (Wasser) $+9.25^\circ$
„ ( $n/_{10}$ NaOH) n. 5 Min. $+26.7^\circ$	„ ( $n/_{10}$ NaOH) n. 5 Min. $-1.1^\circ$
„ „ n. 30 Min. $+25.6^\circ$	„ „ n. 30 Min. $-4.3^\circ$
„ „ n. 60 Min. $+24.4^\circ$	„ „ n. 60 Min. $-10.8^\circ$
„ „ n. 3 Stdn. $+16.3^\circ$	„ „ n. 3 Stdn. $-18.4^\circ$
„ „ n. 7 Stdn. $+1.2^\circ$	„ „ n. 6 Stdn. $-20.5^\circ$
„ „ n. 24 Stdn. $\pm 0^\circ$	„ „ n. 24 Stdn. $-22.7^\circ$

Zur präparativen Darstellung der Anhydride wurde wiederum die Austauscherkatalyse angewandt. Wie im Versuchsteil näher erläutert, wird nach einem verbesserten Verfahren eine ca.  $m/_{50}$  Lösung des Zuckerderivates durch eine mit Austauscher gefüllte Säule geschickt, die von einem Heizmantel umgeben ist. Für die hier beschriebenen Versuche wird dieser Heizmantel mit Wasser von  $50^\circ$  aus einem Thermostaten gespeist. Man erzielt mit dieser Arbeitsweise einen besseren Umsatz. Durch laufende Verfolgung des Drehwertes der ablaufenden Lösung können die Fraktionen, die kein Anhydrid enthalten, ausgeschieden werden. Es hat sich nämlich gezeigt, daß das Harz in beträchtlichem Maße Anhydrid adsorbiert, und daß man zur restlosen Elution das Mehrfache des Harzvolumens an Wasser benötigt; dabei wird das Galaktosan stärker adsorbiert als das Lävoglucosan. Man erhält so aus den Lösungen nach dem Abdampfen die beiden Anhydride in fast schmelzpunktsreiner Form in einer Ausbeute von etwa 74 % d. Theorie.

Im Gegensatz dazu wird die  $\beta$ -1-Benzoyl-D-glucose, wie zu erwarten, bei analoger Behandlung z. T. in Säuren umgewandelt, die im Austauscher verbleiben, z. T. zu D-Glucose, D-Mannose und D-Fructose verseift bzw. isomerisiert.

Die Versuche zeigen:

- der 1-Hexose-ester der Benzoesäure wird in alkalischem Milieu normal verseift und die freie Hexose durch Alkali z. T. abgebaut, z. T. isomerisiert.
- die 1-Hexose-ester der 2.4.6-Trimethyl-benzoesäure werden in alkalischem Milieu mit guter Ausbeute zu Anhydriden umgesetzt.

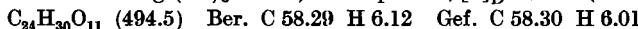
Sie beweisen damit, daß für die Anhydrisierung die Bildung eines Carboniumkations notwendig ist. Nebenbei sei darauf hingewiesen, daß die Acidität der Säuren, die bei Benzoesäure  $p_K=4.17$ , bei Mesitylen-carbonsäure  $p_K=4.43$  beträgt, für dies vollkommen verschiedene Verhalten ohne Bedeutung ist.

#### Beschreibung der Versuche

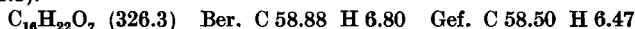
$\beta$ -1-[2.4.6-Trimethyl-benzoyl]-2.3.4.6-tetraacetyl-D-glucose: Die Mesitylen-carbonsäure wurde aus Mesitylen über das Mesitylenbromid dargestellt<sup>11)</sup>. Zur Herstellung ihres Silbersalzes wird die Säure in verd. Ammoniak gelöst, das Ammoniak verkocht und mit der äquiv. Menge Silbernitrat gefällt. Das Salz wird abgesaugt, mit Wasser gewaschen und i. Vak. über Schwefelsäure getrocknet.

<sup>11)</sup> Org. Syntheses, Coll. Vol. 2, 95 u. Vol. 21, 77.

15 g trimethyl-benzoesaures Silber und 23 g Acetobrom-glucose werden in 100 ccm Acetonitril 3 Stdn. geschüttelt. Man saugt das Bromsilber ab, engt die Flüssigkeit i. Vak. zum Sirup ein, löst diesen in absol. Äther, klärt mit etwas Kohle und engt nach Filtrieren erneut zum Sirup ein. Dieser wird in Äthanol gelöst und kristallisiert im Kühlschrank. Ausb. 19 g (69 % d. Th.). Schmp. 141°;  $[\alpha]_D^{25}$ : +5.0° (Chlf., c=1.0).



$\beta$ -1-[2.4.6-Trimethyl-benzoyl]-D-glucose ( $\beta$ -1-Mesitoyl-D-glucose): 17 g der obigen Verbindung werden mit 100 ccm absol. Methanol, in denen ca. 0.02 g Natrium gelöst sind, 2 Stdn. geschüttelt. Die Lösung wird i. Vak. zum Sirup eingeengt und dieser in 10 ccm absol. Äthanol gelöst. Nach Verdünnen mit der fünfachen Menge Äther wird mit Petroläther bis zur beginnenden Trübung versetzt. Es erfolgt nach einigen Stunden im Kühlraum Kristallisation. Ausb. 10.3 g (92 % d. Th.). Schmp. 161°;  $[\alpha]_D^{25}$ : +9.3° (Wasser, c=1.1).



#### Drehwertsänderung der 1-Mesitoyl-D-glucose in neutraler und alkalischer Lösung

Proben der obigen Verbindungen wurden in Wasser (c etwa 1),  $n/_{10}$  oder  $n/_{1}$  NaOH gelöst und der Drehwert verfolgt. In Wasser erfolgt bei Zimmertemperatur im Laufe von 24 Stdn. keine Drehwertsänderung, in  $n/_{10}$  NaOH dagegen starke Verschiebung zu negativen Werten. Der Enddrehwert wurde bei Zimmertemperatur im Laufe von 24 Stdn., bei 100° in wenigen Minuten erreicht (s. Tafel 1). In  $n/_{1}$  NaOH ergeben sich fast die gleichen Werte.

#### Anhydrisierung der $\beta$ -1-Mesitoyl-D-glucose

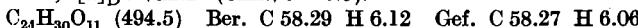
In eine Chromatographiersäule (Länge ca. 25 cm, Durchmesser ca. 1.5 cm), mit Fritte G 1, die von einem Mantelrohr mit zwei Schlauchanschlüsse umgeben ist, werden ca. 100 ccm Amberlite IRA 400, OH-Form, eingefüllt. Der Mantel wird aus einem Umlaufthermostaten mit Wasser von 50° durchspült. Damit sich während des Versuches im Austauscherbett keine Luftblasen bilden, verwendet man ausgekochtes, destilliertes Wasser. Die Säule trägt am oberen Ende eine birnenförmige Erweiterung, die etwa das gleiche Volumen wie die Säule selbst hat, damit vor dem Regenerieren des Austauschers durch einfaches Rückspülen eine gute Durchwirbelung des Austauschers und Befreiung von Luftblaschen erreicht werden kann. Durch die Säule läßt man eine Lösung von 2.54 g  $\beta$ -1-Mesitoyl-D-glucose in 250 ccm Wasser (ca.  $m/_{30}$  Lösung) mit einer Geschwindigkeit von rd. 10 ccm/Min. hindurchfließen. Die ablaufende Lösung wird in Portionen von 50 ccm gesammelt, in denen jeweils der Drehwert bestimmt wird. Nach Durchlaufen der Zuckerlösung wird solange mit Wasser nachgewaschen, bis der Drehwert im Ablauf wieder 0° ist. Die linksdrehenden Fraktionen werden vereinigt und in dieser Lösung erneut der Drehwert bestimmt (700 ccm Lösung von  $[\alpha]_D$ : -31.7° entsprechen ca. 0.9 g Lävoglucosan). Nach dem Eindampfen i. Vak. wird ein fast reines Lävoglucosan erhalten. Ausb. 0.93 g (73.7 % d. Th.); Schmp. 181°;  $[\alpha]_D^{25}$ : -64.5° (Wasser, c = 1.3).

Aus Alkohol umkristallisiert, große Prismen vom Schmp. 182°;  $[\alpha]_D^{25}$ : -65.8° (Wasser, c = 1.1).

Ein Teil wird mit Acetanhydrid/Pyridin acetyliert und wie üblich aufgearbeitet: Lävoglucosan-triacetat vom Schmp. 109°;  $[\alpha]_D^{25}$ : -62.0° (Chlf., c = 0.6).

Die Misch-Schmpp. der beiden Verbindungen mit authent. Proben ergaben keine Depressionen.

$\beta$ -1-[2.4.6-Trimethyl-benzoyl]-2.3.4.6-tetraacetyl-D-galaktose: Die Darstellung erfolgte analog der entsprechenden D-Glucose-Verbindung. Aus 20 g trimethylbenzoesaurem Silber und 30 g Acetobrom-D-galaktose werden 22.4 g (62 % d. Th.) krist.  $\beta$ -1-[2.4.6-Trimethyl-benzoyl]-2.3.4.6-tetraacetyl-D-galaktose erhalten. Schmp. 132°;  $[\alpha]_D^1$ : +22.2° (Chlf., c = 0.9).



$\beta$ -1-[2.4.6-Trimethyl-benzoyl]-D-galaktose ( $\beta$ -1-Mesitoyl-D-galaktose): Die Verseifung erfolgte wie bei der entsprechenden D-Glucose-Verbindung beschrieben. Die  $\beta$ -1-Mesitoyl-D-galaktose kristallisiert aus warmem Alkohol ohne Zusatz von Äther und Petroläther. Ausb. aus 15 g Tetraacetyl- $\beta$ -1-mesitoyl-D-galaktose 9.2 g  $\beta$ -1-Mesitoyl-D-galaktose (93% d. Th.). Schmp. 153°;  $[\alpha]_D^{25} : +28.7^\circ$  (Wasser,  $c = 0.8$ ).  
 $C_{16}H_{22}O_7$  (326.3) Ber. C 58.88 H 6.80 Gef. C 58.64 H 6.73

Anhydrisierung der  $\beta$ -1-Mesitoyl-D-galaktose: Die Anhydrisierung wurde, wie bei der Glucoseverbindung beschrieben, durchgeführt. Aus 3.22 g Mesitoyl-D-galaktose in 500 ccm Wasser (ca.  $m/50$  Lösung) wurden 700 ccm Lösung von  $[\alpha]_D : -6.5^\circ$  erhalten, entspr. ca. 1 g D-Galaktosan.

Die Aufarbeitung ergab 1.19 g (74.5% d. Th.) krist. D-Galaktosan <1.5> <1.6>.  $[\alpha]_D^{25} : -19.9^\circ$  (Wasser,  $c = 1.1$ ).

Umkristallisiert aus Äthanol, Platten vom Schmp. 226°.  $[\alpha]_D^{25} : -21.5^\circ$  (Wasser,  $c = 1.2$ ).

Der Misch-Schmp. mit authentischem D-Galaktosan zeigte keine Depression.

Mit Acetanhydrid/Pyridin acetyliert und wie üblich aufgearbeitet, wird D-Galaktosan-triacetat vom Schmp. 74° und  $[\alpha]_D^{25} : -5.6^\circ$  (Chlf.,  $c = 1.4$ ) erhalten.

Behandlung von  $\beta$ -1-Benzoyl-D-glucose mit Alkali:  $\beta$ -1-Benzoyl-D-glucose wurde nach Zervas<sup>10)</sup> dargestellt. Schmp. 196°,  $[\alpha]_D^{25} : -26.7^\circ$  (Wasser,  $c = 0.9$ ).

Die Substanz erfährt, in Wasser gelöst, bei Zimmertemperatur im Laufe von 24 Stdn. keine Drehwertsänderung. In  $n/10$  NaOH erfolgt augenblicklich starke Verschiebung nach rechts und später langsamer Abfall bis auf 0° in 24 Stdn. (s. Tafel). Bei 100° geht der Drehwert in wenigen Minuten auf 0° zurück.

Durch eine wie oben mit Austauscher beschickte heizbare Säule, Inhalt 10 ccm Amberlite IRA 400, läßt man bei 50° 100 ccm Wasser, in dem 0.2780 g  $\beta$ -1-Benzoyl-D-glucose gelöst sind, mit einer Geschwindigkeit von rd. 1 ccm/Min. hindurchfließen. Die ablaufende Lösung wird, wie oben beschrieben, gesammelt und der Drehwert bestimmt. Es treten neben Fraktionen ohne opt. Drehung nur positiv drehende Fraktionen auf. Sie werden gesammelt, i. Vak. konzentriert und das erhaltene Produkt papierchromatographisch untersucht. Es konnten lediglich Glucose und daneben etwas Mannose und Fructose chromatographisch nachgewiesen werden.

## 294. Gerhard Braunitzer: Bestimmung der Reihenfolge der Aminosäuren am Carboxylende des Tabakmosaikvirus durch Hydrazinspaltung

[Aus dem Max-Planck-Institut für Virusforschung, Tübingen]

(Eingegangen am 24. September 1955)

Die Methode zur Bestimmung des C-terminalen Restes einer Peptidkette nach Akabori wurde untersucht; die besten Durchführungsbedingungen werden angegeben. Modellversuche ergaben eine gute Beständigkeit der Aminosäuren gegenüber Hydrazin. Arginin wird zu Ornithin abgebaut. Die Bestimmung der C-terminalen Sequenz durch kurzzeitige Einwirkung von Hydrazin auf das native TMV ergab, daß sämtliche Peptidketten dieselbe C-terminale Sequenz: Prolin-Alanin-Threonin besitzen. Dieses Ergebnis wurde nach Einwirkung von Carboxypeptidase auf das native Virus durch totale und partielle Spaltung mit Hydrazin bestätigt.

Von Akabori und Mitarbb.<sup>1)</sup> wurde eine Methode zur Bestimmung der Carboxylenendgruppen in Peptidketten durch Umsetzung mit wasserfreiem Hydrazin ausgearbeitet. Hierbei werden alle in Peptidbindung vorliegenden

<sup>1)</sup> S. Akabori, K. Ohno u. K. Narita, Bull. chem. Soc. Japan 45, 214 [1952]; K. Ohno, J. Biochemistry [Tokyo] 40, 621 [1953]; 41, 345 [1954].