

Dipolmessungen

Bezüglich Durchführung und Auswertung der Messungen wird auf die II. Mitteil.¹⁾ verwiesen.

N-Trimethyl-B-monochlor-borazan

| x_2 | $\Delta \rho_{1,2}$ | $\Delta \epsilon_{1,2}$ | $\Delta Dn^2_{1,2}$ | | |
|----------|---------------------|-------------------------|---------------------|---------------|----------|
| 0.001872 | -0.00120 | 0.06830 | 0.0000 | <i>a</i> | = 40.500 |
| 0.003093 | -0.00155 | 0.12521 | 0.0001 | <i>b</i> | = 0.055 |
| 0.002154 | --0.00114 | 0.09420 | 0.000 | <i>c</i> | = 0.000 |
| | | | | $P_{2\infty}$ | = 629.49 |
| | | | | DPE | = 34.27 |

$$\mu_{15\%} = 5.37 \pm 0.04 \text{ D}$$

N-Mono-tert.-butyl-B-monochlor-borazan

| x_2 | $\Delta \rho_{1,2}$ | $\Delta \epsilon_{1,2}$ | $\Delta Dn^2_{1,2}$ | | |
|----------|---------------------|-------------------------|---------------------|---------------|----------|
| 0.001161 | -0.00043 | | 0.000 | <i>a</i> | = 40.000 |
| 0.002565 | -0.00015 | | | <i>b</i> | = 0.526 |
| 0.002152 | -0.00009 | 0.08855 | 0.000 | <i>c</i> | = 0.000 |
| 0.001282 | | 0.05754 | 0.000 | $P_{2\infty}$ | = 627.34 |
| 0.000921 | | 0.04019 | 0.000 | DPE | = 33.91 |

$$\mu_{15\%} = 5.37 \pm 0.05 \text{ D}$$

— — — — —

GEORG JAYME und KNUST KRINGSTAD

Über eine kristalline Dimannuronsäure

Aus dem Institut für Cellulosechemie mit Holzforschungsstelle
der Technischen Hochschule in Darmstadt

(Eingegangen am 2. Juni 1960)

Durch partielle Hydrolyse von Alginsäure mit Oxalsäure und Trennung der entstehenden Oligomannuronsäuren mit Hilfe kontinuierlicher Elektrophorese konnte kristallisierte α -Mannopyranosiduron- β -1.4-mannopyranosiduronsäure isoliert werden.

W. L. NELSON und L. H. CRETCHER¹⁾ sowie G. LUNDE, H. KRINGSTAD, E. HEEN und E. ÖY²⁾ fanden, daß Alginsäure als eine Polymannuronsäure aufzufassen ist, in der die Mannuronsäure-Einheiten in β -1.4-glykosidischer Bindung vereinigt sind. Es sollte daher möglich sein, durch partielle Hydrolyse der Alginsäure u.a. auch das dimere Spaltstück zu finden.

¹⁾ Science [New York] 67, 537 [1928]; J. Amer. chem. Soc. 52, 2130 [1930].

²⁾ Kolloid-Z. 83, 196 [1938].

Für eine partielle Hydrolyse der Alginäure in diesem Sinne erwies sich 30-gew.-proz. Oxalsäure als geeignet. Die Alginäure konnte damit soweit hydrolysiert werden, daß das Hydrolysenspaltstück Dimannuronsäure stark angereichert wurde. Der Verlauf der Hydrolyse wurde durch Drehwertmessungen verfolgt:

| Hydrolysendauer (Std.) | 1 | 2 | 5 | 8 | 11 |
|------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Drehwert | 0.08° | 0.56° | 0.67° | 0.77° | 0.75° |

Aus der Tabelle geht hervor, daß die Hydrolyse nach 10 Std. vollständig war. Interpoliert man nach F. KLAGES³⁾ auf 65% des maximalen Drehwertes, so ergibt sich die für einen maximalen Gehalt an Dimannuronsäure erforderliche Hydrolysendauer von 2.5 Std. Auch papierchromatographische Intensitätsvergleiche bestätigen dieses Ergebnis.

Die Hydrolyse wurde nach 2.5 stdg. Kochdauer durch Neutralisation der Oxalsäure mit CaCO_3 unterbrochen. Nach Abfiltrieren des entstandenen Calciumoxalats, konnte die Dimannuronsäure von den großen Mengen beigemischter Monomannuronsäure und Monomannuronsäurelacton mit Hilfe kontinuierlicher Elektrophorese präparativ getrennt werden. Die Elektrolysierspannung betrug 750 Volt, als Elektrolyt diente eine wäßrige Lösung von $n/40$ Kaliumhydrogenphthalat. Die wäßrige Dimannuronsäurefraktion wurde mit einem Kationenaustauscher entionisiert und zur Befreiung von den letzten Resten Phthalsäure kontinuierlich mit Äther extrahiert.

Aus Eisessig kristallisierte die Dimannuronsäure in sternförmig gruppierten Nadeln vom Schmp. 182° (Zers.). In wäßriger Lösung zeigte sie negative Mutarotation von -4.2° bis -46.5° , und lag demzufolge in der α -Form vor. Nach der Hydrolyse mit 90-proz. Ameisensäure⁴⁾ zeigte die papierchromatographische Analyse nur Mannuronsäure.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Herstellung des Hydrolysats: Alginäure⁵⁾ wurde 1 Woche über P_2O_5 i. Vak. getrocknet und in einer Wiley-Laboratoriumsmühle zu Staub gemahlen. 10 g davon wurden in kleinen Portionen zu einer Lösung von 75 g $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ in 125 ccm Wasser gegeben und 2.5 Std. unter Rückfluß gekocht. Das Hydrolysat wurde mit CaCO_3 neutralisiert, und das entstandene Calciumoxalat abfiltriert.

Papierchromatographische Analyse: Die beste Trennung der Hydrolysenspaltstücke ergab sich bei Verwendung von unimprägniertem Schleicher & Schüll-Papier Nr. 2043a, mit Butanol/Eisessig/Wasser (4:1:5) als Lösungsmittel, 24 Std. Laufzeit, absteigend. Als Entwickler diente eine wäßrige Lösung von Anilinphthalat.

Die R_f -Werte waren:

| | | | |
|------------------------|---------|--------------------------|---------|
| Trimere Mannuronsäure | : 0.043 | Dimere Mannuronsäure | : 0.086 |
| Monomere Mannuronsäure | : 0.187 | Monomeres Mannuronlacton | : 0.270 |

³⁾ Liebigs Ann. Chem. 535, 175 [1938].

⁴⁾ H. A. SPOEHR, Arch. Biochemistry 14, 153 [1947].

⁵⁾ Wir danken der Firma AS PROTAN, Drammen, Norwegen, für die freundliche Überlassung der Alginäure.

Kontinuierliche Elektrophorese: Die Dimannuronsäure wurde von den großen Mengen monomerer Mannuronsäure durch kontinuierliche Elektrophorese abgetrennt. Dies gelang nach der Methode von W. GRASSMANN und K. HANNIG⁶⁾ mit dem von der Firma Beckman Instruments Inc. Spinco Division, Belmont (Kalifornien) gelieferten Modell „Spinco CP“. Durch einen Filterbogen fließt von oben nach unten mit konstanter Geschwindigkeit eine Pufferlösung. Der Filterbogen wird auf einer Kühlplatte gekühlt. Die zu trennende Mischung der Uronsäuren wird oben an einem Punkt nahe der Kathode mit konstanter Geschwindigkeit zugegeben und fließt mit dem Puffer in Form eines schmalen Streifens nach unten. Quer zu dieser Laufrichtung wird ein Spannungspotential angelegt. Dadurch werden die Anionen der Uronsäuren von der Anode angezogen. Die Wanderungsrichtung der Komponenten ergibt sich nun als Resultante der Strömungsgeschwindigkeit der Pufferlösung und der dazu senkrecht erfolgenden elektrophoretischen Bewegung.

Die elektrophoretische Bewegungsgeschwindigkeit der Dimannuronsäure ist auf Grund der beiden Carboxylgruppen pro Molekül größer als bei der monomeren Mannuronsäure. Sie wandert näher zu der Anode als die monomere Komponente.

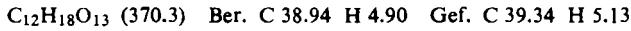
Der Grad der Trennung hängt außerdem von der Zusammensetzung der Pufferlösung, der Spannung, der Pufferlaufgeschwindigkeit und der Zulaufgeschwindigkeit der zu trennenden Mischung ab. Die endgültige Wahl der Betriebsbedingungen erfolgte nach einer gegenseitigen Abstimmung aller dieser Faktoren. Die beste Trennung trat ein bei der Verwendung einer *n*/40 wäßrigen Lösung von Kaliumhydrogenphthalat als Puffer, Schleicher & Schüll-Papier, Nr. 2668, und einer Elektrolyspannung von 750 Volt = 23 Volt/cm, die eine Stromstärke von 100 mA lieferte. Ein Probebogen wurde nach einiger Laufzeit mit Anilinphthalat entwickelt, um die Dimannuronsäurefraktion zu identifizieren.

Abtrennung der Elektrolytsalze von der Dimannuronsäure: Die wäßrige Lösung der Dimannuronsäure enthielt noch Kaliumhydrogenphthalat. Die Lösung wurde mit dem Kationenaustauscher Amberlite Ir-120 (H^+ -Form) entionisiert. Daraufhin fiel der größte Teil der in Wasser wenig löslichen Phthalsäure aus. Der letzte Rest der Phthalsäure wurde durch kontinuierliche Ätherextraktion quantitativ entfernt.

Dimannuronsäure: Die wäßrige Lösung von Dimannuronsäure wurde bei 40° bis zur Trockne eingedampft und in 50 ccm absol. Äthanol von 50° aufgenommen. Nach längerem Stehenlassen bei -10° kristallisierte die Substanz.

Nach mehrmaligem Umkristallisieren und Behandeln mit Aktivkohle in viel heißem Eisessig kristallisierten 270 mg *Dimannuronsäure* in sternförmig gruppierten Nadeln aus; Schmp. 182°.

$[\alpha]_D^{20,5}$: -4.2° (10 Min.) — → -46.5° (20 Stdn. Endwert, *c* = 5.7, in Wasser)



⁶⁾ Naturwissenschaften 37, 397 [1950].