

### 23. Yukihiro Nakamura und Kurt Hess: Zur Kenntnis der chemischen Zusammensetzung von Mais-Koleoptilen.

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Chemie, Abt. Hess, Berlin-Dahlem.]

(Eingegangen am 2. Dezember 1937.)

Für die Untersuchung des Streckungsmechanismus pflanzlicher Zellwände, dessen Behandlung durch die Entdeckung der Wuchshormone zugänglich geworden ist, ist die Kenntnis der stofflichen Zusammensetzung der jungen Zellwand von grundlegender Bedeutung. Vor kurzem wurde nachgewiesen<sup>1)</sup>, daß am Aufbau von Zellwänden junger, im Stadium der Zellstreckung befindlicher Baumwollhaare auch wachsartige Stoffe beteiligt sind, was für das Verständnis der Wandstreckung von Bedeutung sein dürfte. Die Objekte, an denen bisher die Wirkung von Wuchsstoffen untersucht wurde, sind die Koleoptilen keimender Getreidekörner. Wir berichten im folgenden über die Zusammensetzung von Mais-Koleoptilen.

Die Schwierigkeit, die grundsätzlich bei der Analyse von frischem Zellwandmaterial hinsichtlich der Zuordnung der Bestandteile zu Zellwand und Zellinhalt besteht, ist bei vielzelligen Geweben wie den Koleoptilen besonders groß. Während es bei den einzelligen Baumwollhaaren keine allzu große Mühe machte, verhältnismäßig saubere Zellwandstücke herauszupräparieren, deren Zusammensetzung sich vergleichsweise durch Mikroreaktionen, Röntgenaufnahmen u. a. kontrollieren ließ, ist bei den vielzelligen Pflanzengeweben die Auswertung präparativer Ergebnisse unsicher. Bei der mechanischen Zertrümmerung des Materials z. B. im Mörser, in der Kugelmühle, Hackmaschine usw., die bei den vielzelligen Geweben zwecks Abführung der Zellinhaltsstoffe durch Auswaschen mit Wasser usw. besonders energisch erfolgen muß, ist nicht auszuschließen, daß Teile des Plasmas usw. in die Wand hinein- oder umgekehrt auch Stoffe aus der Wand herausgebracht werden. Die Zuordnung der Stoffe kann in diesen Fällen nur auf Grund von Wahrscheinlichkeitsbetrachtungen mit einer für die verschiedenen Bestandteile verschiedenen Sicherheit erfolgen. Eine genauere Untersuchung ist um so erwünschter, als man bei den Erörterungen über die Zellstreckung auf Angaben über die Zusammensetzung von Koleoptilen-Wänden angewiesen war, die zweifellos der Ergänzung bedürfen<sup>2)</sup>.

K. P. Link<sup>3)</sup> hat in den ganzen Mais-Keimlingen nach Abtrennung nur des Samenkorns ausschließlich Cellulose und Xylan in der bei Zellwand-Analysen üblichen Weise bestimmt. K. V. Thimann und J. Bonner<sup>4)</sup> geben als Zusammensetzung für die Zellwände von Hafer-Koleoptilen die in Tab. 1 zusammengestellten Werte an. In einer späteren Untersuchung hebt J. Bonner<sup>5)</sup> hervor, daß in den Wänden ätherlösliche Phosphatide nicht nachweisbar seien. Zur Durchführung der Analyse waren die frischen

<sup>1)</sup> K. Hess, C. Trogus u. W. Wergin, *Planta* **25**, 419 [1936]; K. Hess, Vortrag Hauptversammlung Verein d. Zellstoff- und Papier-Chemiker und -Ingenieure, Berlin, 10. 12. 1936; J. Gundermann, W. Wergin u. K. Hess, *B.* **70**, 517 [1937], Berichtsheft vom 3. März. Die Befunde sind inzwischen von W. A. Sisson (Boyce Thompson Institute for Plant Research **8**, 389 [1937]; Heft 5, in Berlin eingegangen am 14. Juni 1937) bestätigt worden.

<sup>2)</sup> J. Bonner, *Jahrb. wissensch. Bot.* **82**, 378 [1935]; A. Frey-Wyssling, *Protoplasma* **25**, 278 [1936]; *Ber. dtsh. bot. Ges.* **54**, 445 [1936].

<sup>3)</sup> *Journ. Amer. chem. Soc.* **51**, 2506, 2516 [1929].

<sup>4)</sup> *Proceed. Roy. Soc. London, Ser. B.*, **113**, 126 [1933].

<sup>5)</sup> *Jahrb. wissensch. Bot.* **82**, 383 [1935].

Koleoptilen zunächst mit kaltem und heißem Wasser verrieben und extrahiert worden. Die bei 95° getrockneten Präparate wurden mit Äther extrahiert (kein Rückstand), nach D. R. Nanji und A. G. Norman<sup>6)</sup> auf Pektin und anschließend durch „Rohfaserbestimmung“ auf Cellulose und Hemicellulose untersucht. Der Eiweiß-Gehalt ist durch N-Bestimmung ermittelt worden (F = 6.2).

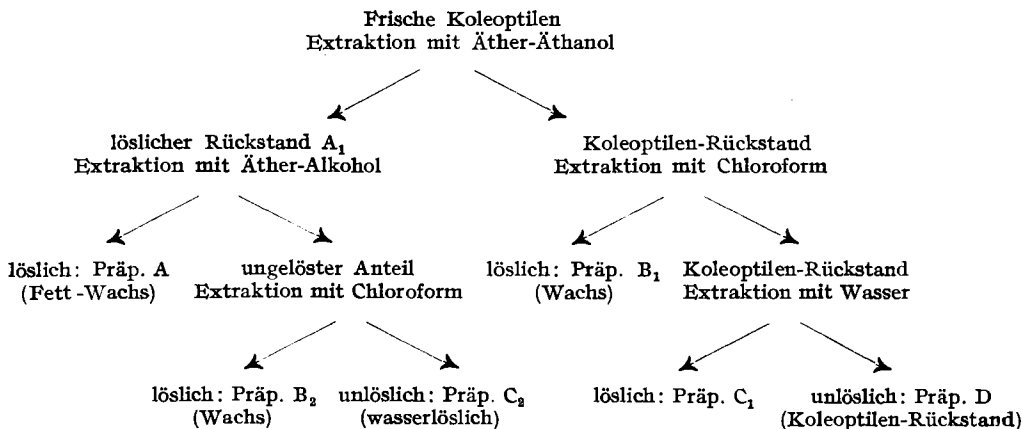
Tabelle 1.

Zusammensetzung der Zellwände von Hafer-Koleoptilen nach Thimann und Bonner.

Substanz	Prozent der Zellwand, bezogen auf trockne Substanz
Cellulose .....	42
Pektin .....	8
Hemicellulose .....	38
Eiweiß .....	12

Um keine Komponenten zu übersehen, haben wir zunächst alle Bestandteile der Koleoptilen zu erfassen versucht und bei den Aufteilungs-Versuchen nur milde wirkende Lösungsmittel verwendet. Wegen der leichteren Beschaffung genügend großer Mengen wurden gegenüber den sonst üblichen Hafer-Koleoptilen Mais-Koleoptile bevorzugt.

Die vom Hypokotyl und Keimblatt abgetrennten Mais-Hüllen wurden ohne weiteres in Äther-Alkohol (1 : 1) eingelegt, im Mörser zerrieben, erschöpfend mit Äther-Alkohol (1 : 1) bei Raumtemperatur (Lösungs-Rückstand Präparat A<sub>1</sub>), dann mit Chloroform (Lösungs-Rückstand Präparat B<sub>1</sub>) und schließlich mit Wasser (Lösungs-Rückstand Präparat C<sub>1</sub>) extrahiert. Präparat A<sub>1</sub> (55% bezogen auf Trockensubstanz) enthielt neben den Fett-Wachs-Substanzen noch erhebliche Mengen an wasserlöslichen Stoffen, die durch nochmalige Extraktion des getrockneten Präparates mit Äther-Alkohol abgetrennt wurden (Lösungs-Rückstand Präparat A). Zur Entfernung geringer Wachs-Anteile (Präparat B<sub>2</sub>) wurde der wasserlösliche Anteil noch mit Chloroform extrahiert (Rückstand der wäßrigen Lösung Präparat C<sub>2</sub>). Der Arbeitsgang geht übersichtlich aus folgender Zusammenstellung hervor:



<sup>6)</sup> Biochem. Journ. 22, 596 [1928].

Die Löslichkeitseigenschaften der verschiedenen Präparate ergeben sich aus Tab. 2, Ausbeute und Zusammensetzung aus Tab. 3.

Tabelle 2.  
Löslichkeit der Fraktionen von Mais-Koleoptilen.

Fraktion	Äther	Äthanol	Aceton	Chloroform	Benzol	Wasser
A (Äther-Alkohol-Extrakt) .....	+	+	+) )	+	+	—
B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> (Chloroform-Extrakt) .....	—	—	—	+	—	—
C <sub>1</sub> (Wasser-Extrakt) ..	—	—	—	—	—	+
C <sub>2</sub> (Wasser-Extrakt) ..	—	—**)	—	—	—	+
D (Unlösliches) .....	—	—	—	—	—	—

\*) Bis auf geringen Rückstand.

\*\*) Bis auf sehr kleine Mengen.

Tabelle 3.  
Ausbeute und Analysenergebnisse (%) an lipoidlöslichen, wasserlöslichen und wasserunlöslichen Bestandteilen von Mais-Koleoptilen.

Fraktion	Ausbeute		Asche	OCH <sub>3</sub>	Pentosan	Hexose
	in g	in %				
A .....	5.19	2.40	1.49	—	—	—
B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> .....	0.075	0.034	—	—	—	—
C <sub>1</sub> .....	19.0	8.77	21.90	2.72	3.69	10.92
C <sub>2</sub> .....	113.9	52.57	6.04	4.17	1.62	41.65
D .....	78.5	36.23	1.28	1.24	22.47	31.04

Fraktion	Hexosan	Rückstand bei Totalhydrolyse	P	N	Eiweiß	insgesamt
A .....	—	—	1.39	1.45	8.99	—
B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> .....	—	—	—	—	—	—
C <sub>1</sub> .....	9.82	—	3.44	5.45	33.79*)	69.20
C <sub>2</sub> .....	37.48	—	0.56	2.97	18.41	63.55
D .....	27.94	2.21	0.06	4.90	30.38	84.28

\*) Bei der Berechnung blieb vorläufig in allen Fällen der Phosphatidgehalt unberücksichtigt, was bei Fraktion C<sub>1</sub> zu einem erheblich zu hohen Eiweißgehalt führt.

Die Aufteilung stellt nur eine erste Näherung dar und gewährleistet nicht, daß die Trennung in die verschiedenen Stoffgruppen vollständig ist. Es ist möglich, daß in dem wasserlöslichen Anteil sowie in dem unlöslichen Rückstand noch Anteile der Fett-Wachstumsphase zurückgehalten sind. Ebenso können im wasserlöslichen Anteil noch geringe Anteile in Wasser suspendierter Partikel des wasserunlöslichen Rückstandes vorhanden sein und umgekehrt wasserlösliche Anteile im Rückstand.

Wenn auch eine sichere Zuordnung der auf diesem Wege erhaltenen Präparate zur Zellwand bzw. zum Zellinnern aus dem angegebenen Grund noch nicht gegeben werden kann, so liegt es doch nahe, anzunehmen, daß in

erster Linie die wasserunlöslichen Anteile (36.2%) der Zellwand, die wasserlöslichen Anteile (62.0%) dem Zellinnern entstammen, während sich die Fett-Wachs-Anteile zunächst in unbekannter Weise auf Zellwand und Zellinneres verteilen. Aus Röntgen-Untersuchungen der Mais-Koleoptilen<sup>7)</sup>, die zu ähnlichen Ergebnissen wie bei den Hafer-Koleoptilen<sup>8)</sup> geführt haben, ist zu folgern, daß ein wesentlicher Anteil der Fett-Wachs-Phase in der Zellwand steckt. Bezogen auf ausschließlich den wasserunlöslichen Rückstand, d. h. auf die vornehmlich die Zellwandbestandteile enthaltende Fraktion, beträgt die Fett-Wachs-Komponente 6.71%, ein Betrag, der auch dann noch erheblich erscheint, wenn größere Anteile davon auf das Zellinnere entfallen.

Die wasserunlösliche Fraktion enthält auffallend viel Eiweiß-Stoffe<sup>8a)</sup> und verhältnismäßig wenig Polysaccharide der Glucose-Reihe. Daneben fällt der (allerdings nur geringe) Phosphorsäure-Gehalt dieser Fraktion auf, der andeutet, daß in der Wand schwer lösliche Phosphatide stecken. Die Anwesenheit von Phosphatiden steht in Übereinstimmung mit den wichtigen Befunden von B. Hansteen-Cranner<sup>9)</sup>, nach denen bei den Blütenpflanzen Phosphatide „neben Cellulose und Pektin-Substanzen konstante Bestandteile der Zellwände aller lebenden Pflanzenzellen darstellen“. Im Rahmen der Auffassung von Hansteen-Cranner ist übrigens zu berücksichtigen, daß auch Phosphatid-Anteile der wäßrigen Fraktionen (vergl. unten) der Zellwand entstammen.

Addiert man die für den wasserunlöslichen Rückstand ermittelten Mengen der verschiedenen Bestandteile (Asche, Pentosan, Hexosan, Eiweiß und bei der Totalhydrolyse Unangegriffenes), wobei der Wert für Eiweiß nur eine grobe Schätzung bedeutet<sup>10)</sup>, so ergeben sich insgesamt 84.3% Material (vergl. letzte Spalte Tab. 3). Neben den unvermeidlichen mechanischen Verlusten, die aber nur klein sind, dürfte ein erheblicher Teil des Fehlenden zugunsten des Kohlehydrat-Komplexes in Rechnung zu stellen sein. Es wurde festgestellt, daß bei der Hydrolyse zur Ermittlung des Kohlenhydrat-Gehaltes nach Bertrand Verluste durch Zersetzung von Kohlenhydrat-Anteilen auftreten, die gegen Säure empfindlich sind. Außerdem wurden bisher die Uronsäuren noch nicht ermittelt sowie die Bestandteile, die neben Eiweiß von Bleiacetat niedergeschlagen werden (Phosphatide).

Der verhältnismäßig geringe Gehalt an Polysacchariden der Glucose-Reihe in dem wasserunlöslichen Rückstand, der also auch nur einen mäßigen Gehalt an Cellulose in der Wand der Koleoptilen anzeigt, steht in Überein-

<sup>7)</sup> Die Untersuchung wurde von Hrn. Dr. Kiessig durchgeführt, worüber später berichtet wird.

<sup>8)</sup> K. Hess, C. Trogus u. W. Wergin, *Planta* **25**, 429 [1936]; W. Wergin, *Angew. Chem.* **49**, 844 [1936]; J. Gundermann, W. Wergin u. K. Hess, *B.* **70**, 525 [1937].

<sup>8a)</sup> Man vergl. dazu R. M. Trupper-Carey u. J. H. Priestley, *Proceed. Roy. Soc. London (B)* **95**, 109 [1923]; A. Dauphiné, *Bull. Soc. bot. France* **81**, 328 [1934]; H. Söding, *Jahrb. Wiss. Bot.* **77**, 627 [1933]; **79** 231 [1934].

<sup>9)</sup> „Zur Biochemie und Physiologie der Grenzschichten lebender Pflanzenzellen“, Oslo 1922 (*Ber. dtsh. bot. Ges.* **37**, 380 [1919]); vergl. ferner A. Weis, *Planta* **1**, 145 [1926]; G. Klebs, *Sitz.-Ber. Heidelberg. Akad. Wiss. Math.-nat. Kl. Abt. B.* Abhandlg. 18 [1919] u. a. Autoren.

<sup>10)</sup> Der Wert des Eiweiß wurde vorläufig ebenso wie bei den anderen Präparaten aus dem Stickstoffwert ohne Berücksichtigung der Phosphatide ermittelt.

stimmung mit dem Röntgenbild dieses Präparates, in dem die Interferenzen der Cellulose überhaupt nicht erkennbar sind<sup>11)</sup>.

In den wasserlöslichen Fraktionen fällt neben den erheblichen Anteilen an Eiweiß, das hier im wesentlichen dem Plasma entstammen dürfte, die überraschend große Menge an Polysacchariden der Hexose-Gruppe auf, die man eher im unlöslichen Rückstand erwartet hätte (Cellulose). In Übereinstimmung mit den Folgerungen der vorangehenden Untersuchung an Baumwollhaaren deutet dies auf die Möglichkeit hin, daß Vorstufen für die Cellulosebildung in erster Linie im Plasma zu suchen sind. Dem hohen Pentosan-Gehalt (Hemicellulose) des wasserunlöslichen Rückstandes steht nur ein niedriger Pentosan-Gehalt in den wasserlöslichen Fraktionen gegenüber. Erheblich ist der Phosphorsäure-Gehalt der wasserlöslichen Bestandteile, der auf die Anwesenheit beträchtlicher Mengen von Phosphatiden schließen läßt.

Vergleicht man diese Ergebnisse mit den von Thimann und Bonner angegebenen Werten für die Zusammensetzung von Koleoptilen-Wänden (Tab. 1), so ergeben sich sehr erhebliche Unterschiede. Wir nehmen an, daß diese Unterschiede weniger durch das verschiedene Pflanzenmaterial bedingt sind als vielmehr durch die Verschiedenheit in den Versuchsführungen. Wesentliche Bestandteile des Koleoptilen-Materials sind infolge der Arbeitsweise von Thimann und Bonner bereits bei der Vorbehandlung des Materials abgeführt worden, so daß Fett-Wachs und Phosphatide überhaupt nicht gefunden wurden.

Um einen Anhalt über die Menge von Fett-Wachs-Substanzen auch in Hafer-Koleoptilen zu gewinnen, wurden frische im Dunkeln wie oben herangezogene 4—5 Tage alte Koleoptilen mit Methanol bei Raumtemperatur erschöpfend extrahiert. Der Rückstand der Methanol-Lösung wurde im Soxhlet mit Äther extrahiert (Äther-Rückstand 9% bezogen auf Koleoptilen-Trockensubstanz). Außerdem wurden die mit Methanol extrahierten Koleoptilen nacheinander erschöpfend mit warmem Benzol und Tetrachlorkohlenstoff behandelt. Die in dieser Weise gewonnenen Präparate von Fett-Wachs ergaben insgesamt etwa 10% bezogen auf die Trockensubstanz der Koleoptilen.

Wir bezweifeln nicht, daß die Hafer-Koleoptilen auch bezüglich der anderen Komponenten eine ähnliche Zusammensetzung wie die Mais-Koleoptilen besitzen, worüber gelegentlich weiteres berichtet wird.

Zusammenfassend ergibt sich, daß am Aufbau der Koleoptilen-Wände sehr verschiedenartige Stoffgruppen beteiligt sind. In Bestätigung der Untersuchungsergebnisse bei den Wänden junger Baumwoll-Haare verliert die alte, offenbar die neuzeitlichen Erörterungen<sup>12)</sup> über die Vorgänge der Zellstreckung wieder beherrschende Auffassung<sup>13)</sup>: „die jungen Zellwände sind sicher reine Cellulose-Wände“ stark an Wahrscheinlichkeit. Erörterungen über den Chemismus der Zellstreckung sollten hinsichtlich der Mitwirkung der Baustoffe der Jungwand zurückgestellt werden, bis Näheres über die komplizierten Aufbauverhältnisse der Wand bekannt ist.

<sup>11)</sup> Eine in der Nähe von 040 der Cellulose liegende Interferenz bedarf noch der näheren Untersuchung.

<sup>12)</sup> vergl. A. Frey-Wyssling u. Mitarbeiter, besonders *Protoplasma* **25**, 278 [1936].

<sup>13)</sup> vergl. F. Czapek, „*Biochemie der Pflanzen*“, 2. Aufl., Bd. 1, S. 706 [1913].

### Beschreibung der Versuche.

Ausgangsmaterial<sup>14)</sup>. Die Maiskörner, verwendet wurde Hochzucht Janetzki, wurden in Holzkästen aus feuchter Erde bei 35—40° an dunklem Ort zur Anzucht gebracht und die Keime nach 5 Tagen (etwa 50 mm lang) oberhalb des Hypocotyls mit der Schere abgeschnitten. Nach dem Herausziehen der Keimblätter mit der Pinzette wurden die Hüllen unmitelbar in Äther-Äthanol (1 : 1) eingelegt. Im ganzen wurden 3.735 kg Koleoptilen geerntet, was bei einem Feuchtigkeitsgehalt von 94.2% 216.7 g Trockensubstanz entspricht.

Extraktionsversuche: Das in Äther-Alkohol gesammelte Material wurde unter Lösungsmittel im Mörser gründlich verrieben und weiterhin durch Schütteln in Glasschliff-Flaschen auf der Maschine erschöpfend mit Äther-Alkohol extrahiert. Die vereinigten Lösungen wurden im Vak. bei 30° eingedunstet und der braune wachsartige Rückstand im Vak.-Exsiccator über Phosphorperoxyd völlig getrocknet (Präparat A<sub>1</sub>).

Der lösungsmittelfeuchte Koleoptilen-Rückstand wurde an der Luft durch Ausbreiten getrocknet und mit Chloroform extrahiert, wobei nur noch sehr geringe Mengen (Wachs, Präparat B<sub>1</sub>) abgegeben wurden.

Das vom anhaftenden Chloroform durch Abdunsten an der Luft befreite Koleoptilen-Material wurde erschöpfend mit Wasser bei Raumtemperatur extrahiert (geringer Toluolzusatz, Schütteln in Glasschliff-Flaschen). Dabei wurden vom Wasser schnell erhebliche Mengen unter Braunfärbung aufgenommen. Unter Erneuern des Wassers wurde die Extraktion so lange fortgesetzt, bis nichts mehr in Lösung ging, was bei Verwendung von 20 g trockenem Ausgangsmaterial und 200 ccm Wasser bei täglicher Erneuerung des Wassers 5—6 Tage in Anspruch nahm. Zur Gewinnung des wasserlöslichen Anteils wurden die vereinigten wäßrigen Lösungen bei 30° im Vak. eingedunstet (Präparat C<sub>1</sub>). Der wasserunlösliche Rückstand wird im folgenden als Präparat D bezeichnet.

#### Mengenverhältnisse

Präparat	Menge	
	g	%
A <sub>1</sub> (gelöst durch Äther-Alkohol) .....	119.14	54.99
B <sub>1</sub> (gelöst durch Chloroform) .....	0.027	0.012
C <sub>1</sub> (gelöst durch Wasser) .....	19.0	8.77
D (unlöslicher Rückstand) .....	78.5	36.23

Präparat A<sub>1</sub> wurde zur Entfernung der wasserlöslichen Anteile nach dem Trocknen erneut mit Äther-Alkohol (1 : 1) bei Raumtemperatur extrahiert (Schütteln in Glasschliff-Flaschen bei Gegenwart von Glaskugeln). Dabei zerfiel die wachsartige Masse z. Tl. zu einem bräunlichen Pulver, während die Fett-Wachs-Komponente vom Lösungsmittel aufgenommen wurde. Zur möglichst weitgehenden Abtrennung wurde der Lösungsmittel-Rückstand noch 4- bis 5-mal in gleicher Weise mit reichlichen Mengen Äther-Alkohol behandelt (Fett-Wachs als Präparat A bezeichnet). Der in Äther-Alkohol unlösliche Anteil löst sich leicht, aber etwas trübe in Wasser und wird zur

<sup>14)</sup> Für fachmännische Beratung bei der Beschaffung der Koleoptilen sind wir Hrn. Dr. W. Wergin dankbar.

Analyseergebnisse.

mg Sbst.			Gef. %
Präparat A:			
218.889, 259.811	mg Glührückstand	3.424	1.56
41.774, 68.492	mg Molybdat	40.1	1.39
57.303, 39.036	ccm $n_{100}^{\circ}$ -HCl	6.10	1.42
Präparat C <sub>1</sub> :			
52.260, 44.036	mg Glührückstand	11.577	22.15
11.924, 11.118	ccm $n_{100}^{\circ}$ -Thiosulfat	1.89	2.71
134.6, 616.2	mg FurfuroI-phloroglucid	5.8	3.67
80.8, 80.8	mg C <sub>4</sub> O	30.3	15.60
27.702, 14.539	mg Molybdat	65.7	3.44
22.241, 18.473	ccm $n_{100}^{\circ}$ -HCl	8.86	5.57
Präparat C <sub>2</sub> :			
44.047, 49.652	mg Glührückstand	2.666	6.05
17.974, 23.811	ccm $n_{100}^{\circ}$ -Thiosulfat	4.36	4.18
3253.2	mg FurfuroI-phloroglucid	53.8	1.62
161.6, 161.6	mg C <sub>4</sub> O	160.8	43.87
statt mit 2.5-proz. HCl mit 10-proz. HCl hydrolysiert ergaben:			
80.0	mg C <sub>4</sub> O	46.8	24.75
27.389, 24.419	mg Molybdat	10.8	0.57
19.027, 19.302	ccm $n_{100}^{\circ}$ -HCl	4.03	2.97
Präparat D:			
8.395, 9.759	mg Glührückstand	0.109	1.30
10.552, 16.359, 12.675	ccm $n_{100}^{\circ}$ -Thiosulfat	0.74	1.21
450.1, 330.0	ccm FurfuroI-phloroglucid	110.9	22.93
170.4, 170.4	ccm C <sub>4</sub> O	150.4	38.68
Totalhydrolyse			
80.0	ccm C <sub>4</sub> O	107.1	58.00
Bestimmung des Hydrolysenrückstandes:			
1000.0	mg Rückstand	22.1	2.21
199.6, 186.5	ccm Molybdat	8.5	0.062
12.550, 13.643	ccm $n_{100}^{\circ}$ -HCl	4.34	4.84

<sup>15)</sup> In Tab. 3 unter Berücksichtigung des Pentosanwertes auf Hexosan umgerechnet.

Entfernung noch geringer Anteile von Wachs (Präparat B<sub>2</sub>) noch einmal mit Chloroform durchgeschüttelt.

Analysenergebnisse: Methoxyl wurde nach F. Vieböck und C. Brecher<sup>16)</sup> bestimmt, Pentosan nach Tollens (Phloroglucid-Methode), Phosphor gravimetrisch nach H. Lieb<sup>17)</sup> und Stickstoff durch Mikro-Kjeldahl. Zur Ermittlung des Hexosan-Gehaltes wurden 1—2 g der wasserlöslichen Präparate (C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>) mit 200 ccm 2.5-proz. HCl 2.5 Stdn. unter Rückfluß gekocht, mit Natronlauge neutralisiert, zur Entfernung von Eiweiß, Phosphatid usw. mit überschüss. Bleiacetat gefällt, mit Wasser auf 250 ccm aufgefüllt und der Zucker im Filtrat nach Bertrand bestimmt. Der Hexosan-Gehalt ist in allen Fällen in üblicher Weise unter Berücksichtigung des nach Tollens ermittelten Pentosan-Gehalts berechnet worden. Zur Ermittlung des Hexosan-Gehalts im wasserunlöslichen Koloptilen-Rückstand wurden Totalhydrolysen mit 72-proz. Schwefelsäure nach E. Flechsig, H. Ost und L. Wilkening<sup>18)</sup> durchgeführt. Dabei blieben etwa 2.2% unangegriffen. Vor der Bestimmung des Zucker-Gehaltes nach Bertrand wurde die Lösung wie oben mit Bleiacetat behandelt, wobei ähnlich wie bei den wasserlöslichen Präparaten große Mengen gefällt wurden. Die Ermittlung des Hexosan-Wertes erfolgte in allen Fällen unter Berücksichtigung des Pentosan-Gehalts. Es ist bemerkenswert, daß die Hydrolyse der wasserlöslichen Präparate mit stärkeren Säure-Konzentrationen zu wesentlich kleineren Werten für den Hexosan-Gehalt führte, was offenbar auf die Gegenwart von gegen Säure empfindlichen Kohlenhydraten zurückzuführen ist.

## 24. Alberto Vercellone und Luigi Mamoli: Über biochemische Dehydrierung in der Reihe des Keimdrüsenhormons. Weiterer Beitrag zur Genese der Sexualhormone.

[Aus d. Istituto di Perfezionamento in Chimica Industriale „Giuliana Ronzoni“ u. d. Istituto Sieroterapico Milanese, Mailand.]

(Eingegangen am 1. Dezember 1937.)

L. Mamoli und A. Vercellone<sup>1)</sup> haben durch biochemische Hydrierungen auf dem Gebiet der Keimdrüsenhormone den experimentellen Beweis erbracht, daß die Möglichkeit besteht, mittels biologischer Katalysatoren alle jene Umwandlungen, welche nach allgemeiner Ansicht im Organismus stattfinden, in vitro zu erzielen. Es ist bekannt, daß die physiologische Wirksamkeit eine Änderung erfährt, wenn man bei diesen Stoffen die Ketogruppen durch alkoholische Gruppen oder umgekehrt ersetzt.

In den vorhergehenden Arbeiten<sup>1)</sup> haben wir unter anderem schon die Möglichkeit gezeigt, die Ketogruppen zu alkoholischen Gruppen zu reduzieren. In unserem weiteren Arbeitsprogramm über die Genese des Keimdrüsenhormons behandelten wir den entgegengesetzten Fall, und zwar die Oxydation alkoholischer Gruppen zu Ketogruppen. Zu diesem

<sup>16)</sup> B. **63**, 3207 [1930]; Anordnung wie bei F. Neumann, B. **70**, 734 [1937].

<sup>17)</sup> Pregl-Roth, „Die quantitative organische Mikroanalyse“, 4. Aufl., S. 156 [1935].

<sup>18)</sup> Chemiker-Ztg. **34**, 461 [1910].

<sup>1)</sup> Ztschr. physiol. Chem. **245**, 93 [1937]; **248**, 277 [1937]; B. **70**, 470, 2079 [1937].