

99. Recherches sur l'amidon 44.

Le glycogène de *Zea maïs*, variété « Golden bantam »

par Kurt H. Meyer et Maria Fuld.

(27 XII 48)

Le nom de glycogène a longtemps été réservé aux « glucosanes » de foie ou de muscle. Actuellement, on désigne sous le nom générique de glycogène tous les polysaccharides à base de glucose qui donnent une coloration rouge avec l'iode, mais ne forment pas de granules comme l'amidon et restent dispersés dans le protoplasme. Ainsi, l'un des glucosanes de la levure appartient à ce groupe. C'est donc avec raison que *Morris* et *Morris*¹⁾ ont donné le nom de glycogène à un polysaccharide qu'ils ont isolé des grains de maïs de la variété « Golden bantam » qui constitue une des formes connues sous le nom de maïs sucré. Les propriétés chimiques de ce glycogène ont été étudiées par *Morris* et *Morris*¹⁾²⁾ et *Hassid* et *Mc Cready*³⁾. D'après ces auteurs, la molécule a le même degré de ramification (pourcentage de groupes terminaux) que celle du glycogène animal, soit 9%. Ce glycogène n'est cependant dégradé qu'à 20% par la β -amylase de malt²⁾, alors que les glycogènes de levure, de foie ou de muscle sont dégradés à 40% ou plus. Ce comportement particulier du glycogène de maïs sucré vis-à-vis de la β -amylase nous a incités à étudier ce glucosane au moyen des diverses méthodes utilisées maintenant dans nos laboratoires.

Alors que les auteurs américains précités ont extrait le glycogène des grains secs, qui contiennent en outre une quantité considérable de granules d'amidon, nous avons préféré utiliser comme matière première, des grains qui ne sont pas parvenus à maturité complète. A ce moment, le grain est rempli d'un suc laiteux, riche en glycogène, contenant très peu de granules d'amidon et de protéines. Les grains, grossièrement broyés, sont suspendus dans l'eau, puis centrifugés. On obtient ainsi un lait de glycogène dont les protéines sont facilement éliminées par l'acide trichloracétique, et dont le polysaccharide est isolé par précipitation au méthanol. Nous avons ainsi obtenu de 5 à 10% du poids des grains frais en glycogène sec. Les solutions aqueuses de ce glycogène sont fortement opaques. L'addition d'alcali diminue cette opacité, sans toutefois rendre la solution limpide. La neutralisation rétablit le trouble primitif. Par électrodécantation, environ

¹⁾ *D. L. Morris* et *C. T. Morris*, J. Biol. Chem. **130**, 535 (1939).

²⁾ *D. L. Morris*, ibidem **154**, 503 (1944).

³⁾ *W. Z. Hassid* et *R. M. Mc Cready*, Am. Soc. **63**, 1632 (1941).

80 % du glycogène se déposent sous forme de suspension concentrée, recouverte d'une solution limpide du reste. Ces phénomènes démontrent que la plus grande partie du glycogène est dispersée dans l'eau sous forme de grandes particules dont le diamètre atteint le pouvoir de résolution de l'ultramicroscope. Leur poids moléculaire doit donc être de plusieurs millions. En effet, par osmométrie du glycogène et de ses dérivés acétylés et méthylés, on a trouvé des valeurs très élevées pour le poids moléculaire¹).

Cependant, le pouvoir réducteur de la fraction trouble du glycogène correspond à un poids moléculaire d'environ 80 000 (un groupe réducteur par 500 restes de glucose). Comme il nous paraît exclu qu'une molécule de glycogène ait plusieurs groupes réducteurs, nous devons admettre que les particules en solution sont des agrégats polymoléculaires. Leur degré d'association diminuerait lors de l'alcalinisation.

Cette agrégation des molécules du glycogène présente beaucoup d'analogie avec le comportement de l'amylose; cependant, les agrégats d'amylose consistent en cristallites submicroscopiques, composés de molécules juxtaposées; on peut les solubiliser dans différents solvants. Les agrégats de glycogène, par contre, n'ont pas une structure cristalline; leur incapacité de passer en solution vraie s'explique par la structure ramifiée des molécules. Cette structure empêche, dans un agrégat enchevêtré, la scission en molécules individuelles.

Sur le glycogène total, non fractionné, nous avons effectué le dosage des groupes terminaux au moyen de l'acide periodique, d'après la méthode décrite récemment²). Nous trouvons 10 % de groupes terminaux. Ceci correspond au résultat de *Hassid* qui en trouve environ 9 % d'après la méthode de dosage du tétraméthylglucose. La réaction de ce glycogène avec l'acide periodique est beaucoup plus lente que la réaction de l'amylopectine dans les mêmes conditions. Nous attribuons cette différence à l'empêchement stérique dû à la structure des agrégats: le réactif ne peut pénétrer que lentement à l'intérieur de la particule. En ce qui concerne la dégradation par la β -amylase, *Morris* constate qu'elle est de 20 %. Comme nous supposons que cette faible valeur était due au phénomène d'agrégation, nous avons alcalinisé la solution de glycogène et versé la liqueur dans un excès de β -amylase en solution tamponnée³). Dans ces conditions, la dégradation atteint 47,5 %; elle est ainsi égale à la dégradation du glycogène du muscle⁴).

La dextrine résiduelle (52,5 % du glycogène) contient 22 % de groupes terminaux (d'après le dosage à l'acide periodique); le nombre

¹) *K. H. Meyer*, *Advances in Enzymology* **3**, 114 (1943).

²) *K. H. Meyer* et *P. Rathgeb*, *Helv.* **31**, 1545 (1948).

³) *P. Bernfeld* et *P. Gürtler*, *Helv.* **31**, 106 (1948).

⁴) *K. H. Meyer* et *M. Fuld*, *Helv.* **24**, 375 (1941).

des groupes terminaux est le même qu'avant la dégradation β -amylatique. Ce comportement est également analogue à celui du glycogène animal. Nos considérations sur la constitution du glycogène animal¹⁾ s'appliquent donc tout à fait à celle du glycogène de maïs: la molécule est fortement ramifiée; les branches extérieures se composent de 6 à 7 restes de glucose, dont 5 en moyenne se détachent sous l'action de la β -amylase. Les tronçons de chaînes se trouvant à l'intérieur, entre les points de ramifications, ne contiennent en moyenne que 3 restes de glucose environ. L'hypothèse²⁾ que nous avons émise à propos de la genèse de l'amylopectine s'applique dès lors également à la formation du glycogène: c'est l'action simultanée de la phosphorylase et de l'isophosphorylase sur le glucose-1-phosphate qui donne naissance à un glucosane ramifié dont les branches sont nécessairement plus longues que les chaînons internes.

Nous arrivons à la conclusion que le glycogène de maïs est, chimiquement parlant, un vrai glycogène. Comme on peut l'extraire aussi des grains de «Golden bantam» mûrs, vendus comme semence, ce polysaccharide est certainement le glycogène le plus facile à obtenir. Par contre, une autre variété de maïs sucré — Pop corn — ainsi que le maïs ordinaire, sont totalement exempts de glycogène.

Les granules d'amidon se trouvant dans les grains mûrs ont un diamètre deux fois plus petit que ceux de maïs ordinaire. Ils contiennent 10% d'amylose.

Partie expérimentale.

Extraction du glycogène de maïs.

330 g de grains provenant de 4 épis de *Zea maïs*, variété „Golden bantam“, presque mûrs, sont hâchés au grand couteau d'une machine à hâcher, triturés avec 350 cm³ d'eau, centrifugés et filtrés. La solution laiteuse (275 cm³) donne avec l'iode une coloration rouge-brun. On ajoute 150 cm³ d'acide trichloracétique à 10%, élimine par centrifugation les protéines précipitées, lave le précipité avec 25 cm³ d'acide trichloracétique à 5% et réunit les solutions. Le glycogène est précipité à 0° par 225 cm³ de méthanol. On le dissout dans 65 cm³ d'eau, neutralise à la soude caustique n. et dialyse contre l'eau distillée à 3° pendant 5 jours. La solution est congelée et évaporée au vide sur du silicagel. On obtient 22 g d'une poudre blanche contenant 0,05% N et environ 10% H₂O.

Détermination du poids moléculaire.

Le dosage est effectué selon la méthode décrite auparavant³⁾.

a) Glycogène total, non fractionné: P.M. 75000 (degré de polymérisation D. P. = 460).

b) Glycogène fractionné par électrodécantation (solution de glycogène à 1%, 70 V, 2 mA; durée: 64 heures):

1° Couche supérieure limpide: (15% du glycogène) P.M. 25000 (D.P. = 150).

2° Couche inférieure opaque (85% du glycogène) P.M. 80000 (D.P. = 500).

¹⁾ K. H. Meyer et M. Fuld, *Helv.* **24**, 375 (1941).

²⁾ K. H. Meyer et P. Bernfeld, *Helv.* **25**, 399 (1944); P. Bernfeld et A. Meutémédian, *Helv.* **31**, 1724 (1948).

³⁾ K. H. Meyer, G. Noelting et P. Bernfeld, *Helv.* **31**, 103 (1948).

Dosage des groupes terminaux (exécuté d'après la méthode décrite antérieurement¹⁾).

Glycogène total, non fractionné.

D.P. = 460; P.M. = 75000; 25,7 mg de glycogène hydraté par 10 cm³ de solution.

Durée en heures	cm ³ NaOH 0,01-n.	mol. HCOOH /mol. de polysaccharide	Groupes terminaux non réducteurs /mol. de polysacch.	Groupes terminaux %
18	0,87	28,4	27,4	6,0
26	0,95	31,0	30,0	6,5
44	1,03	33,7	32,7	7,1
68	1,15	37,6	36,6	8,0
90	1,20	39,2	38,2	8,7
115	1,26	41,2	40,2	8,75
145	1,31	42,9	41,9	9,1
241	1,49	48,7	47,7	10,4
288	1,46	47,8	46,8	10,2
362	1,50	49,2	48,2	10,5

Dextrine résiduelle.

2,14 mg de dextrine hydratée 2 cm³

Durée en heures	NaOH 0,01-n. cm ³	Groupes terminaux %
27	0,147	12,4
90	0,190	16,0
360	0,258	21,7
500	0,262	22,0

Dégradation par la β-amylase²⁾.

124 mg de glycogène hydraté/2 cm³ de prise.

Durée en heures	mg de maltose libérés/2 cm ³ de sol. de glycogène	Dégradation %
3	0,33	26,6
7	0,43	34,7
11	0,50	40,3
22	0,59	47,6
30	0,58	46,7
46	0,59	47,8

¹⁾ K. H. Meyer et P. Rathgeb, Helv. **31**, 1540 et 1545 (1948).

²⁾ Helv. **31**, 106 (1948).

Dosage d'amylose dans les granules d'amidon.

Les granules ont été purifiés par lévignations répétées et dissous directement dans la soude à chaud, selon *Mc Cready* et *Hassid*¹⁾. La „blue value“ a été déterminée dans la solution acidulée contenant 0,001% d'amidon. La lecture au photocolorimètre de *Klett-Summerson* (filtre K 66) donne 80, ce qui correspond d'après ces auteurs à une teneur en amylose d'environ 10%.

RÉSUMÉ.

Le glucosane de *Zea maïs*, variété «Golden bantam», a été étudié au point de vue constitution, poids moléculaire et dégradation β -amylatique. Il ne se distingue pas du glycogène animal.

Laboratoires de Chimie organique et inorganique
de l'Université de Genève.

100. Über Steroide.

85. Mitteilung²⁾.

Beitrag zur Farbreaktion auf 17 α -Oxy-steroide

von **K. Miescher** und **H. Kägi**.

(29. XII. 48.)

Vor mehreren Jahren haben wir³⁾ eine neue Farbreaktion auf 17-Oxy-steroide, besonders auf solche mit „eisoider“ 17-Oxy-Gruppe beschrieben, die u. a. auf einer Abspaltung dieser Hydroxylgruppe in Form von Wasser beruht. Es wurde schon damals die Vermutung ausgesprochen, dass sich dabei primär durch Retropinakolin-Umlagerung Derivate eines isomeren Androstens bilden, das wir ψ -Androsten nannten. Im einfachsten Fall entstand aus 17 α -Androstanol (IXa)⁴⁾ das ψ -Androsten selbst. Eine sehr verdünnte Lösung dieses Kohlenwasserstoffes in Eisessig und einem Tropfen konz. Schwefelsäure färbt sich, wie wir zeigen konnten, z. B. bei Zusatz von wenig Brom in Eisessig sofort intensiv blauviolett, während das Δ^{16} -Androsten (I) unter gleichen Bedingungen nur eine sehr schwache Färbung ergibt.

V. Prelog, *L. Ruzicka* und *P. Wieland*⁵⁾ sind inzwischen aber auf andere Weise, ebenfalls zum Δ^{16} -Androsten sowie zu dessen 3-Oxo-Derivat (II) und den beiden in 3-Stellung hydroxylierten Verbindungen III und IIIa gelangt. Sie erwähnen, dass alle diese Substanzen einen stark positiven Ausfall unserer Farbreaktion zeigten, was mit obigem Befund nicht übereinstimmt.

¹⁾ *R. M. Mc Cready* et *W. Z. Hassid*, *Am. Soc.* **65**, 1154 (1943).

²⁾ 84. Mitt. siehe *Helv.* **32**, 564 (1949).

³⁾ *H. Kägi* und *K. Miescher*, *Helv.* **22**, 683 (1939).

⁴⁾ α und β stehen hier für die früher mit *c* bzw. *t* bezeichnete sterische Lage der Substituenten.

⁵⁾ *V. Prelog*, *L. Ruzicka* und *P. Wieland*, *Helv.* **27**, 66 (1944).