

Mit dem aus Diacetyl-anhydro-cevadin gewonnenen Anhydro- α -cevin geben die Kristalle keine Smp.-Depression.

9. Tetraacetyl-anhydro- α -cevin. Die Lösung von 2,0 g Anhydro- α -cevin in 20 cm³ Essigsäureanhydrid wird vorsichtig mit 0,5 cm³ 70-proz. Perchlorsäure versetzt, wobei sich das Reaktionsgemisch allmählich auf 50° erwärmt. Nach 20stündigem Stehen lassen bei Zimmertemperatur fügt man unter Kühlung langsam 20 cm³ Methanol hinzu und engt die Lösung nach zweistündigem Stehen bei 20° im Vakuum auf ein kleines Volumen ein. Nach Zugabe von Wasser bis zur beginnenden Trübung kristallisiert das perchlorsaure Salz des Tetraacetyl-anhydro- α -cevin in Prismen aus. Die noch feuchten Kristalle werden in 30 cm³ Chloroform gelöst und mit 10 cm³ 2-n. Ammoniak geschüttelt. Nach dem Waschen der Chloroformlösung mit Wasser und Eindampfen im Vakuum bleibt ein farbloser, amorpher Rückstand, aus welchem nach dem Lösen in 20 cm³ Äther das Tetraacetyl-anhydro- α -cevin in langen, feinen Nadeln auskristallisiert. Einmaliges Umkristallisieren aus heissem Äther liefert Kristalle, die sich von 220° an braun färben und zwischen 284 und 290° unter Zersetzung schmelzen.

C₃₅H₄₉O₁₁N (659,74) Ber. C 63,71 H 7,49% Gef. C 63,79 H 7,60%
 $[\alpha]_D^{20} = +91,6^{\circ}$ (in Chloroform; $c = 1,01$; $l = 2$ dm)

Zusammenfassung.

Aus der Alkaminfraktion, die nach der schonenden alkalischen Hydrolyse von Cevadin bzw. Veratridin erhalten wird, liess sich ausser dem Cevagenin ein neues, instabiles, kristallisiertes Alkamin, das γ -Cevin gewinnen, das sich im kristallisierten Zustand allmählich in ein drittes bisher ebenfalls unbekanntes Isomeres, in δ -Cevin umlagert. Alle drei isomeren Alkamine geben beim Erwärmen mit alkoholischer Kalilauge das schon bekannte α -Cevin.

Cevagenin, α -, γ - und δ -Cevin unterscheiden sich nach unserer Auffassung voneinander nur durch die Lage der Doppelbindung im Ring F. Für die vier Isomeren C₂₇H₄₃O₈N werden Konstitutionsformeln angegeben, die durch das chemische Verhalten dieser Alkamine bei der Acetylierung und durch die UV.- und IR.-Spektren gestützt werden.

Pharmazeutisch-Chemisches Laboratorium „Sandoz“, Basel.

26. Sur l'inhomogénéité des amylopectines de tapioca et de waxy maize.

Recherches sur l'amidon 52¹)

par Kurt H. Meyer † et W. Settele.

(9 XII 52)

On sait que l'amidon est constitué de deux polysaccharides très voisins, l'amylose et l'amylopectine, qui diffèrent du fait que le premier est plutôt linéaire alors que le second est ramifié. Il résulte pourtant de cette simple différence de constitution un comporte-

¹) Précédente communication: Helv. 34, 308 (1951).

ment très divers des deux substances vis-à-vis de certains agents chimiques. C'est ainsi que l'amylose, contrairement à l'amylopectine, forme avec des alcools tels le butanol ou le cyclohexanol, des composés d'addition qui cristallisent facilement: cette propriété a été mise à contribution par la majorité des expérimentateurs pour sa séparation¹⁾.

Une autre méthode de séparation des deux composants de l'amidon repose sur l'extraction d'une partie de l'amylose par de l'eau à 70°, directement à partir des grains. Toutefois, le produit ainsi obtenu, d'un poids moléculaire relativement bas, contient toujours de faibles quantités d'amylopectine. Il est probable que cette dernière est représentée par une fraction peu ramifiée, également de poids moléculaire bas pour avoir pu diffuser à travers la couche externe des grains.

L'amylose et l'amylopectine ainsi séparés peuvent à leur tour être divisés en sous-fractions. Par précipitations ou cristallisations fractionnées²⁾, on peut obtenir une série d'amyloses de degré de polymérisation variable. De plus, ceux-ci peuvent être légèrement ramifiés, comme l'ont montré des mesures comparatives de viscosité effectuées par *Kerr*³⁾, *Schock*⁴⁾ et *Hassid*⁵⁾. L'existence de fractions ramifiées dans l'amylose est encore confirmée par l'étude de leur dégradation par la β -amylase et l'amylo-glucosidase⁶⁾. En effet, la vitesse initiale de dégradation par ces enzymes étant proportionnelle au nombre de groupes terminaux, des polyholosides linéaires de même degré de polymérisation devraient être dégradés à la même vitesse. Une vitesse double ou triple indique alors la présence d'une ou deux ramifications — comme ce fut le cas pour l'amylose de pomme de terre et de tapioca.

Le fractionnement de l'amylopectine semble présenter plus de difficultés que celui de l'amylose, et seulement deux tentatives ont été effectuées jusqu'à présent. Par des précipitations fractionnées au mélange méthanol-butanol, *Kerr*³⁾ obtient trois fractions qui diffèrent par leur viscosité et leur coloration à l'iode. Il est cependant probable que son amylopectine contenait encore un peu d'amylose, car nous savons aujourd'hui⁷⁾ que la purification sur coton qu'il utilisait pour éliminer ce polysaccharide est assez inefficace. *Meyer & Gibbons*⁸⁾ ont tenté de fractionner l'amylopectine de pomme de terre en électrodécantant le complexe qu'elle forme avec l'iode. Mais les fractions obtenues présentaient toutes à peu près le même poids moléculaire et ne purent être distinguées l'une de l'autre par voie chimique.

Dans le présent travail, nous nous sommes proposé d'examiner de l'amidon de waxy maize et de tapioca, afin de voir si nous pouvions obtenir des amylopectines de poids moléculaires bas pour en déterminer les propriétés.

Produits de départ et fractionnement. Par définition, l'amidon de waxy maize est de l'amylopectine pure, mais les produits commerciaux contiennent toujours 4–5% d'amylose provenant d'une pollinisation croisée. Nous avons utilisé un amidon de waxy maize commercial⁹⁾ autoclavé, puis purifié sur de l'acide stéarique pour adsorber l'amy-

¹⁾ *K. H. Meyer*, «Adv. in colloid science», Interscience Publ. Inc. New-York 1942, p. 143.

²⁾ *K. H. Meyer, P. Bernfeld & E. Wolff*, *Helv.* **23**, 854 (1940).

³⁾ *R. W. Kerr*, *Arch. Biochem.* **1**, 377 (1945); *F. C. Cleveland & R. W. Kerr*, *Am. Soc.* **71**, 16 (1949).

⁴⁾ *S. Lansky, M. Kooi & T. J. Schock*, *Am. Soc.* **71**, 4066 (1949).

⁵⁾ *A. L. Potter & W. Z. Hassid*, *Am. Soc.* **70**, 3774 (1948).

⁶⁾ *R. W. Kerr & F. C. Cleveland*, *Am. Soc.* **74**, 4036 (1952).

⁷⁾ *T. J. Schock*, *Adv. in carbohydrate chemistry*, **1**, 247 (1945); *R. S. Higginbotham & G. A. Morrison*, *J. Textile Inst.* **40**, 208 (1949).

⁸⁾ *K. H. Meyer & G. C. Gibbons*, *Helv.* **33**, 210, 213 (1950).

⁹⁾ *Corn Products*, New-York.

lose. L'amylopectine ainsi obtenue a été fractionnée par électrodécantation et centrifugation poussée.

Quelques essais ont été effectués sur une amylopectine de waxy maïze génétiquement pure¹⁾. Les trop faibles quantités dont nous disposons ne permettant aucun fractionnement, nous avons utilisé tel quel le produit brut que nous désignons par « waxy maïze Schoch ».

L'amidon de tapioca commercial²⁾ a été fractionné d'après les méthodes de Meyer & Rathgeb³⁾ et de Schoch⁴⁾. Après passage sur de l'acide stéarique, l'amylopectine purifiée a encore été électrodécantée. La centrifugation poussée de cette solution n'a pas été utilisée, ne conduisant pas à une séparation suffisante des produits.

Pour les différentes fractions d'amylopectine obtenues, nous avons déterminé le poids moléculaire, l'allure de la dégradation β -amylatique, le degré de ramification, la longueur moyenne des branches et la viscosité des triacétates.

Les poids moléculaires (v. tableau) ont été déterminés par la méthode de Meyer, Noelting & Bernfeld⁵⁾ à l'acide dinitro-3,5-salicylique, légèrement modifiée.

Nous avons remarqué⁶⁾ qu'à 65° la réaction entre l'acide dinitrosalicylique et les groupes aldéhydiques de l'amylopectine est loin d'être terminée en 30 minutes, temps prescrit par la méthode originale: alors que la coloration formée en présence de maltose ou d'amylose atteint son intensité finale après une chauffe d'une heure, cette valeur n'est atteinte qu'après 4 1/2 h. dans le cas d'une amylopectine. La méthode a donc été modifiée en ceci que maltose, amylose et amylopectine sont maintenus pendant 4 1/2 h. à 65° au cours de dosage⁶⁾.

L'amylopectine de tapioca apparaît comme dépourvue de produits à poids moléculaires bas. Cela peut provenir soit de leur élimination avec l'amylose A₁ lors de l'extraction à 70°, soit de ce que le fractionnement que nous avons fait subir à l'amylopectine n'a pas été suffisamment poussé pour qu'on puisse mettre ces produits en évidence. En effet, alors que l'électrodécantation du waxy maïze conduit à la formation de deux couches bien distinctes, celles-ci sont à peine séparées lorsqu'on soumet l'amylopectine de tapioca au même traitement.

En dissolvant directement les grains d'amidon dans la solution alcaline de Meyer et coll.⁵⁾, nous avons obtenu une solution d'amylopectine dont le poids moléculaire moyen (67,000, soit un DP⁷⁾ de

¹⁾ Nous exprimons notre sincère reconnaissance à M. T. J. Schoch pour avoir mis ce produit à notre disposition. ²⁾ Blattmann, Wädenswil (Suisse).

³⁾ K. H. Meyer & P. Rathgeb, Helv. 31, 1533 (1948).

⁴⁾ T. J. Schoch, Cereal Chem. 18, 121 (1941); Adv. in carbohydrate chemistry, I, 247 (1945).

⁵⁾ K. H. Meyer, G. Noelting & P. Bernfeld, Helv. 31, 103 (1948).

⁶⁾ Kurt H. Meyer & Chen-Piao Feng, Helv. à paraître.

⁷⁾ Degré de polymérisation.

410) était identique à celui de l'amylopectine totale après fractionnement. Cela prouve qu'aucune dégradation n'a eu lieu ni au cours de ce dernier traitement, ni lors de l'autoclavage qui l'a précédé.

Signalons enfin une petite anomalie: lors de l'électrodécantation de solutions d'amidons on constate généralement la formation d'un dépôt plus épais au voisinage de la membrane anodique qu'à celui de la membrane cathodique¹⁾, mais le contraire se produit avec de l'amylopectine de waxy maize.

Dégradations β -amylatiques. Elles ont été effectuées selon la méthode perfectionnée de *Bernfeld & Görtler*²⁾. On trouvera dans le tableau 1 les pourcentages de dégradation obtenus par action d'une β -amylase de blé cristallisée³⁾; l'allure de cette dégradation est représentée dans la fig. 1.

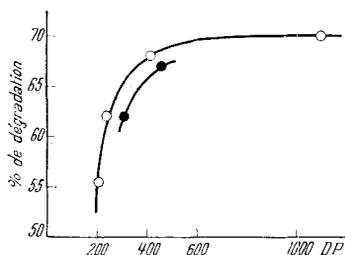


Fig. 1.

La dégradation β -amylatique en fonction du degré de polymérisation.

- waxy maize
- tapioca

Degré de ramification et longueur moyenne des branches (v. tableau).

Nous avons déterminé le degré de ramification de nos produits par la méthode de *Meyer & Rathgeb*⁴⁾, par titrage de l'acide formique libéré au cours d'une oxydation au periodate (fig. 2). La méthode n'est pas extrêmement sûre et de plus, elle est un peu délicate; nous l'avons néanmoins choisie, car elle est rapide.

Connaissant le degré de polymérisation, le pourcentage de dégradation β -amylatique et le nombre total de groupes terminaux, on calcule aisément le nombre total des chaînes ainsi que leur longueur moyenne. Notons toutefois que, sans en avoir la preuve absolue, nous avons admis *a priori* que la β -amylase de blé cristallisée dégrade les chaînes externes de ces amylopectines jusqu'aux points de ramification (ou à un reste de glucose près, selon que la chaîne est paire

¹⁾ *M. Samec & H. Haerdli*, *Kolloidchem. Beih.* **12**, 283 (1920); *M. Samec*, *Kolloid-Z.* **94**, 350 (1941).

²⁾ *P. Bernfeld & P. Görtler*, *Helv.* **30**, 751 (1947); *K. H. Meyer, P. Bernfeld, P. Rathgeb & P. Görtler*, *Helv.* **31**, 1536 (1948).

³⁾ *Ed. H. Fischer & F. Spahr*, à paraître.

⁴⁾ *K. H. Meyer & P. Rathgeb*, *Helv.* **31**, 1540 (1948); **32**, 1102 (1949).

ou impaire¹). Aussi, la longueur des chaînes externes, que nous avons déduite de la quantité de maltose libérée lors de cette attaque, doit être considérée comme une valeur minimum.

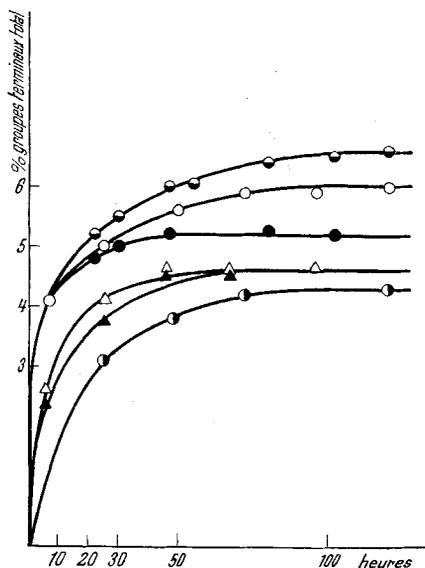


Fig. 2.

Dosage des groupes terminaux.

○ amylopectine centrifugée	} waxy maize
○ amylopectine électrodécantée	
● amylopectine totale	} waxy maize
○ amylopectine totale	
△ amylopectine électrodécantée	} tapioca
▲ amylopectine totale	

Le tableau montre que le pourcentage des groupes terminaux non-réducteurs croît au fur et à mesure que le poids moléculaire diminue, ce qui signifie que le degré de ramification de ces fractions est plus élevé que celui de l'amylopectine totale. D'autre part, la longueur des chaînes externes augmente avec le degré de polymérisation des différentes fractions; ceci n'est pas le cas avec les chaînes internes (Fig. 3). Enfin, l'on voit que le nombre des chaînes externes et internes croît proportionnellement avec le poids moléculaire du produit étudié.

Viscosité des triacétates de waxy maize. Les triacétates des produits 2 et 3 ont été préparés selon Meyer, Bernfeld & Hohenemser²).

¹) K. H. Meyer, R. M. Weil & Ed. H. Fischer, Helv. **35**, 247 (1952).

²) K. H. Meyer, P. Bernfeld & W. Hohenemser, Helv. **23**, 885 (1940).

Les mesures de viscosité ont été effectuées à 20° dans des viscosimètres d'*Ostwald*, avec de l'alcool benzylique et du tétrachloroéthane comme solvant (v. tableau).

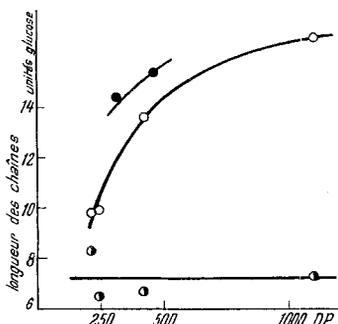


Fig. 3.

Longueur des chaînes en fonction du degré de polymérisation.

chaînes externes { \circ waxy maize
 • tapioca
 chaînes internes \circ waxy maize

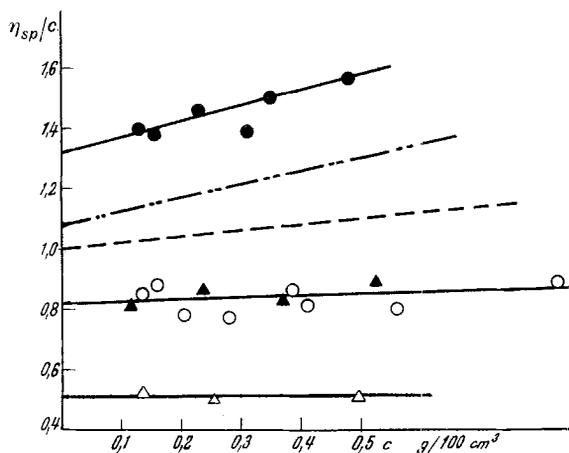


Fig. 4.

Viscosités des triacétates d'amylose et d'amylopectine (20°).

Solvant: alcool benzylique

▲ amylopectine totale (DP = 420) } waxy maize
 △ amylopectine centrifugée (DP = 240) }

Solvant: tétrachloro-éthane

● amylopectine totale (DP = 420) } waxy maize
 ○ amylopectine centrifugée (DP = 240) }
 - - - amylose de maïs (DP = 230) Meyer et coll.¹⁾
 - · - · amylose de pomme de terre (DP = 680) J. C. Bochet²⁾

¹⁾ K. H. Meyer, P. Bernfeld & W. Hohenemser, Helv. **23**, 885 (1940).

²⁾ Communication privée.

Tableau.

Amidon	«Schock»		Amidon de waxy maize commercial		Amidon de tapioca commercial	
	Autoclavage Amylopectine totale	Autoclavage et acide stéarique Sol. surnageante de centrifugat.	Amylopectine totale	Sol. surnageante d'électrodécant.	Autoclavage, acide stéarique Amylopectine totale	Sol. surnageante d'électrodécant.
Produits	1	3	2	4	5	6
% de l'amylopectine de départ		18		17		18,4
Degré de polymérisation (DP) .	1100	240	420	210	460	310
Poids moléculaire	178000	39000	69000	34000	75000	50000
Dégradation β -amylatique (%).	70	62	68	56	67	62
% groupes terminaux (total) .	4,3	6,6	5,2	6,0	4,6	4,6
% groupes terminaux non-réd.	4,2	6,3	5,0	5,5	4,4	4,3
Nombre de groupes term. non-réd. ou nombre de chaînes externes.	46	15	21	12	20	13
Nombre de ramifications ou nombre de chaînes internes .	45	14	20	11	19	12
Longueur de chaînes externes ¹⁾	16,8	9,9	13,6	9,8	15,4	14,4
Longueur de chaînes internes ¹⁾	7,3	6,5	6,7	8,3	8,0	9,6
Viscosité des triacétates						
[η] 20°, alcool benzylique		0,51	0,82			
[η] 20°, tétrachloro-éthane		0,81	1,32			

1) En restes de glucose.

En comparant les résultats obtenus avec ceux de *Meyer* et coll¹⁾, on constate que les propriétés viscosimétriques du triacétate de la fraction à bas poids moléculaire (produit 3: p. m. = 39 000) se rapprochent nettement de celles d'un triacétate d'amylose.

Partie expérimentale.

1. *Fractionnement de l'amidon de waxy maize*. Cet amidon ne contenant que très peu d'amylose, ne doit pas être fractionné d'après *Schoch*²⁾.

Une suspension aqueuse à 2% d'amidon de waxy maize commercial préalablement dégraissé à froid par de l'acétone est autoclavée 2 h. à 109°. La solution refroidie est séparée en deux moitiés.

a) La première est centrifugée 1 h. à 19 000 t./min.; la liqueur surnageante limpide est siphonnée, débarrassée de l'amylose qu'elle contient par passage sur de l'acide stéarique selon *Meyer & Gibbons*³⁾, puis précipitée à l'acétone. Rendement: 18% en amylopectine.

b) La seconde moitié est électrodécantée à 50 V/cm² et 1—2 mA/cm² pendant deux jours. L'amylopectine de poids moléculaire élevé se dépose et la solution surnageante, nettement distincte, est traitée comme sous a). Rendement en amylopectine: 17%.

2. *Fractionnement de l'amylopectine de tapioca*. L'amidon de tapioca dégraissé à froid par de l'acétone est fractionné préalablement selon *Meyer & Rathgeb*⁴⁾. Une solution aqueuse à 2% de l'amylopectine obtenue est électrodécantée 3 jours à 70 V/cm² et 3 mA/cm². La solution surnageante est siphonnée et traitée de nouveau comme sous 1. a). Rendement: 18—19% en amylopectine.

Nous remercions M. *Ed. H. Fischer*, Privat-docent, pour les conseils et l'aide généreuse qu'il n'a cessés d'apporter à ce travail après le décès du Prof. *K. H. Meyer*.

SUMMARY.

1. From waxy maize and tapioca amylopectins, low molecular weight fractions have been obtained.

2. By β -amylatic degradation and periodate oxidation, the mean length of inner and outer chains of the different amylopectins have been determined. In the case of waxy maize, the outer chain length increases (from 9 to 17 residues of glucose) with the molecular weight of the fraction, whereas the length of the inner chains remains more or less constant ($7,5 \pm 1,5$).

3. Viscosimetric curves of the triacetates of waxy maize amylopectins of low fractions are quite similar to those obtained with amylose triacetates.

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

¹⁾ *K. H. Meyer, P. Bernfeld & W. Hohenemser*, *Helv.* **23**, 885 (1940).

²⁾ *T. J. Schoch*, *Cereal Chem.* **18**, 121 (1941); *Adv. in carbohydrate chemistry*, **1**, 247 (1945).

³⁾ *A. L. Potter & W. Z. Hassid*, *Am. Soc.* **70**, 3774 (1948).

⁴⁾ *K. H. Meyer & P. Rathgeb*, *Helv.* **31**, 1533 (1948).