

82. Quantitative Trennung von Oligogalakturonsäuren an Ionenaustauschern

von R. Derungs und H. Deuel.

(4. II. 54.)

Polygalakturonsäure lässt sich leicht enzymatisch zu oligomeren Bruchstücken abbauen. Aus solchen Abbaulösungen konnten Mono-, Di-, Tri- und Tetragalakturonsäuren als NaSr-, Pb- und Brucin-Salze abgetrennt und rein isoliert werden¹⁾. Kürzlich wurde die Isolierung einzelner Oligogalakturonsäuren durch Chromatographie an dickem Filterpapier mitgeteilt²⁾.

In der vorliegenden Arbeit wird die quantitative Trennung von Mono-, Di-, Tri- und Tetragalakturonsäuren an Ionenaustauschharzen beschrieben. Für die Versuche wurde der schwach basische Anionenaustauscher Dowex 3 in der Formiatform angewendet. Die Säuren konnten rein und in einer Ausbeute von 89,0–97,8 % zurückgewonnen werden (Tab.; Fig. 1).

Die verwendeten Uronsäuren wurden einer enzymatisch abgebauten Pektinsäurelösung entnommen, als NaSr- und Pb-Salze isoliert und mit dem Kationenaustauscher Dowex 50 in die freien Säuren übergeführt³⁾. Der Anionenaustauscher Dowex 3⁴⁾ wurde trocken in der Schlagmühle vermahlen und gesiebt. Die Fraktion mit einem Korndurchmesser von 0,5–0,7 mm wurde durch Behandlung mit 1,0-n. NaOH in die OH-Form und anschliessend mit 0,5-n. Ameisensäure in die Formiatform übergeführt. Der Austauscher wurde in ein Perkolationsrohr mit einem inneren Durchmesser von 1 cm in einer Höhe von 7,5 cm eingefüllt. Nun wurde die Kolonne mit 10 cm³ einer Mischlösung, enthaltend Mono-, Di-, Tri- und Tetragalakturonsäure, beladen. Anschliessend wurde mit Ameisensäure steigender Konzentration (0,1–2,5-n.) mit einer Durchflussgeschwindigkeit von 1 cm³ pro Min. bei 22° perkoliert. Die Eluate wurden in Fraktionen von je 10 cm³ aufgefangen. Nachdem jeweils in den Eluaten mit Carbazol⁵⁾ keine Uronsäure mehr nachgewiesen werden konnte, wurde mit der nächsthöher konzentrierten Ameisensäure eluiert. Etwa je 10 Fraktionen wurden vereinigt und bei 40° am Vakuum eingengt. Nach Entfernung der Ameisensäure durch Vakuumdestillation wurden diese Lösungen in Messkolben je auf 10 cm³ aufgefüllt. An aliquoten Teilen der Lösungen wurden die Uronsäuren kolorimetrisch mit phenolischer Dinitrosalicylsäure bestimmt⁶⁾. Für die einzelnen Oligogalakturonsäuren wurden Eichkurven aufgenommen. — Ausserdem wurde jede Fraktion papierchromatographisch auf ihre Einheitlichkeit geprüft. Die papierchromatographischen Un-

1) H. J. Phaff & B. S. Luh, Arch. Biochem. **36**, 231 (1952); H. Altermatt & H. Deuel, Helv. **35**, 1422 (1952); **36**, 340 (1953); A. Ayres, J. Dingle, A. Phipps, W. W. Reid & G. L. Solomons, Nature **170**, 834 (1952); J. Ozawa, J. Agr. Chem. Soc. Japan **26**, 505 (1952).

2) R. M. McCready & E. A. McComb, Agr. Food Chem. **1**, 1165 (1953).

3) Die Di- und die Tetragalakturonsäure wurden uns in verdankenswerter Weise von Herrn Dr. H. Altermatt am hiesigen Institut zur Verfügung gestellt.

4) Wir danken der Firma Hydro-Chemie AG., Zürich, bestens für die Überlassung des Anionenaustauschers.

5) Z. Dische, J. Biol. Chem. **167**, 189 (1947); **183**, 489 (1950).

6) J. B. Sumner, J. Biol. Chem. **65**, 393 (1925); E. Borel, F. Hostettler & H. Deuel, Helv. **35**, 115 (1952).

tersuchungen wurden an *Whatman*-Papier Nr. 4 mit wassergesättigter Isobuttersäure¹⁾ als Elutionsmittel und mit Phtalsäure-Anilin-Reagens²⁾ als Entwickler vorgenommen.

Quantitative Trennung von Mono-, Di-, Tri- und Tetragalakturonsäuren am Anionenaustauscher Dowex 3 in der Formiatform.

Galakturon-säuren	Zusammen-setzung der Mischung mg	Ameisensäure		Rückgewonnene Galakturonsäuren	
		Normalität	Volumina cm ³	mg	%
Mono-	10,00	0,1	400	9,63	96,3
Di-	13,54	0,5	1200	13,12	97,8
Tri-	12,18	1,0	1300	11,24	92,1
Tetra-	13,98	2,5	1000	12,54	89,0

Da die kolorimetrischen Bestimmungen nur für Mengen von 250–800 γ brauchbare Werte liefern, konnten die teilweise flach auslaufenden Elutionskurven nicht ganz erfasst werden. Diesem Umstand sowie den Verlusten beim Eindampfen der Elutionsflüssigkeit ist es zuzuschreiben, dass die Rückgewinnung nicht ganz zu 100% erfolgen konnte.

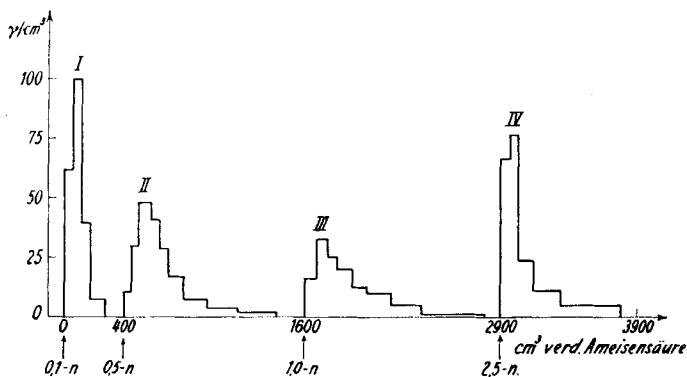


Fig. 1.

Quantitative Trennung von Mono-, Di-, Tri- und Tetragalakturonsäuren am Anionenaustauscher Dowex 3 in der Formiatform. I: Mono-; II: Di-; III: Tri-; IV: Tetragalakturonsäure.

Die Trennung der Uronsäuren wurde auch an anderen Austauschharzen (Dowex 1 und Dowex 2) und mit anderen Elutionsmitteln (Essigsäure) versucht. Die beschriebene Trennungsmethode (Verwendung von Dowex 3 in der Formiatform, Perkolations mit Ameisensäure) wurde aus folgenden Gründen gewählt: Keine alkalische Zersetzung der Uronsäuren im Austauscherharz, scharfe Trennung und leichte Entfernung des Elutionsmittels. Die Elution der einzelnen Fraktionen ist auch schon mit niedrigeren Säurekonzentrationen (0,1-n.,

¹⁾ M. A. Jermyn & R. G. Tomkins, *Biochem. J.* **47**, 437 (1950); W. W. Reid, *J. Sci. Food Agr.* **1950**, 234; H. Altermatt & H. Deuel, *Helv.* **35**, 1422 (1952).

²⁾ S. H. Partridge, *Nature* **164**, 443 (1949).

0,3-n., 0,8-n. und 1,3-n.) möglich, erfolgt bei den höheren Konzentrationen jedoch mit kleineren Volumina. Durch eine Verlangsamung der Durchflussgeschwindigkeit (0,5 cm³/Min.) kann das Volumen der Elutionsflüssigkeit noch weiter verkleinert werden. Es gelang auch Penta- und Hexagalakturonsäuren abzutrennen, bisher jedoch nicht quantitativ. Die angegebene Trennungsmethode dürfte sich für präparative Zwecke in grösserem Maßstab eignen.

Das Haftvermögen der Oligagalakturonsäuren am Ionenaustauscher Dowex 3 steigt in der Reihenfolge von Mono- bis Hexagalakturonsäure sehr stark an. Die Elutionskurven zeigen keine symmetrische Gestalt. Zur Abklärung dieser Verhältnisse sollen die Adsorptionsisothermen der einzelnen Uronsäuren am Ionenaustauscher noch eingehender untersucht werden.

Wir danken Herrn *A. Denzler* für die Mitarbeit bei diesen Untersuchungen. — Die vorliegende Arbeit wurde durch Mittel aus den *Arbeitsbeschaffungskrediten* des Bundes ermöglicht. Wir danken bestens für diese Unterstützung.

Zusammenfassung.

Ein Gemisch von Mono-, Di-, Tri- und Tetragalakturonsäure konnte am Anionenaustauscher Dowex 3 in der Formiatform durch Elution mit wässriger Ameisensäure steigender Konzentration quantitativ getrennt werden.

Agrikulturchemisches Institut
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

83. Synthese der 3 β ,16 α -Dioxy-ätiansäure. Beitrag zur Kenntnis der Konfiguration der Hydroxylgruppe an C-16 im Gitoxigenin.

Glykoside und Aglykone 126. Mitteilung^{1) 2)}

von **James A. Moore**³⁾.

(11. II. 54.)

Die Konstitution des Gitoxigenins entspr. Formel I ist weitgehend gesichert⁴⁾; hingegen bestehen bezüglich der Konfiguration noch einige Unsicherheiten.

¹⁾ 125. Mitteilung: *K. Mohr, O. Schindler & T. Reichstein*, *Helv.* **37**, 462 (1954).

²⁾ Die mit Buchstaben bezeichneten Fussnoten siehe Seite 663.

³⁾ Derzeitige Adresse: *Parke, Davis & Co.*, Research Dept., Detroit 32, Mich., USA.

⁴⁾ Vgl. *L. F. Fieser & M. Fieser*, „Natural Products related to Phenanthrene“, S. 536—539 (3. Aufl., New York 1949).