

(short list) based on partial structural information (reflexions were included in the starting set only if $|E(\text{calc})| > 0.5 E(\text{obs})$). The 14-atom model then led to an E -map showing 28 reasonably related atoms, and repetition of the process to recognition of the entire monensin molecule plus its attached water molecule. The resulting R value of 0.31 was reduced to 0.08 in a series of least-squares refinements (5 cycles full matrix with isotropic B values, 1 cycle in 2 blocks with 12 atoms anisotropic, 36 isotropic). In the final cycle 58 H atoms (located from difference synthesis) were included in the structure model.

The above account is incomplete insofar as it passes over several initial approaches based on different E -lists and starting sets.

This work was carried out with the financial support of the 'Schweizerischer Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung'.

We are also indebted to *Eli Lilly & Co.*, Indianapolis, for the generous gift of a sample of monensin Na-salt (370–559–AD–291).

BIBLIOGRAPHY

- [1] *S. N. Graven, S. Estrada-O. & H. A. Lavdy*, Proc. natl. Acad. Sci. USA *56*, 654 (1966).
- [2] *A. Agtarap, J. W. Chamberlin, M. Pinkerton & L. K. Steinrauf*, J. Amer. chem. Soc. *89*, 5737 (1967).
- [3] *M. Pinkerton & L. K. Steinrauf*, J. mol. Biol. *49*, 533 (1970).
- [4] *H. Diebler, M. Eigen, G. Ilgenfritz, G. Maas & R. Winkler*, Pure appl. Chemistry *20*, 93 (1969).
- [5] *B. C. Pressman*, Fed. Proc. *27*, 1283 (1968).
- [6] *W. K. Lutz, H.-K. Wipf & W. Simon*, Helv. *53*, 1741 (1970).
- [7] *J. Karle & I. L. Karle*, Acta crystal. *21*, 849 (1966).

113. Vernetzung von Phenolcarbonsäureestern von Polysacchariden durch oxydative phenolische Kupplung

von **T. Geissmann** und **H. Neukom**

Agrikulturchemisches Institut der Eidg. Technischen Hochschule Zürich, 8006 Zürich

(2. IV. 71)

Summary. Guaran, a watersoluble polysaccharide, was esterified with various phenolic acids. Solutions of these esters formed gels upon oxidation. In these gels the phenolic ester groups were crosslinked by oxidative phenolic coupling, the corresponding dimeric phenolic acids being liberated by saponification.

Wässrige Lösungen von Pentosanen aus Weizenmehl haben die ungewöhnliche Eigenschaft bei Zugabe von Spuren von Oxydationsmitteln (H_2O_2 , NaClO_2 usw.) zu gelieren [1]. Für diese sog. oxydative Gelierung wurde ihr Gehalt an Ferulasäure [2] verantwortlich gemacht [3]. Eine ähnliche Gelierung ist auch bei der Oxydation gewisser Proteine beobachtet worden [4]. Dabei tritt wahrscheinlich eine oxydative Kupplung der Tyrosinreste benachbarter Peptidketten zu Dimeren (Dityrosin) ein, wodurch eine kovalente Vernetzung der Proteinmolekeln stattfindet [5].

Bereits früher ist versucht worden, die Gelierung der Pentosane in Modellsystemen nachzuahmen, um den Geliermechanismus abklären zu können. Veresterung von Guaran, einem wasserlöslichen Polysaccharid ähnlich den Mehlpentosanen, mit Kaffeesäure führte zu gelierfähigen Produkten [6]. Als Geliermechanismus wurde die

Bildung von Metallchelaten zwischen den zu Hydroxychinonen oxydierten Kaffeesäureresten vorgeschlagen, wobei die Oxydation vorgängig eine Hydroxylierung des Benzolringes bewirken sollte.

Die vorliegende Arbeit beschreibt die Herstellung verschiedener Phenolcarbonsäureester des Guarans sowie deren Verhalten gegenüber verschiedenen Oxydationssystemen. Einerseits waren, wie bei der erwähnten Oxydation gewisser Proteine, ebenfalls Dimerisierungen zu erwarten, anderseits sollten mögliche Hydroxylierungsreaktionen [6] nachgewiesen werden. Sollten sich durch oxydative Kupplung dimere Phenolcarbonsäuren bilden, so können diese durch alkalische Esterspaltung aus den Polysacchariden abgespalten und nachgewiesen werden. Neben der in den Pentosanen vorkommenden Ferulasäure wurden Vanillin- und Homovanillinsäure für die Veresterungsversuche verwendet, deren Dimere ebenfalls bekannt sind. *p*-Cumarsäureester wurden hergestellt, weil im Falle einer Hydroxylierung die leicht nachweisbare Kaffeesäure entstehen könnte, auch mit *p*-Hydroxybenzoesäure- und Protocatechusäureester würden sich bekannte Hydroxylierungsprodukte bilden.

Die in der Tabelle aufgeführten Ester wurden über die Säurechloride gewonnen, wobei die phenolischen Hydroxylgruppen mit der leicht abspaltbaren Methoxycarbonylgruppe geschützt werden mussten. Zur Oxydation wurden 1-proz. Lösungen dieser Ester mit den ebenfalls in der Tabelle aufgeführten Oxydationssystemen versetzt. Falls Gelierung auftrat, liessen sich die gebildeten Gele weder durch Reduktion und Zusatz von EDTA noch durch Elektrodialyse verflüssigen. Elektrodialyse vor der Oxydation zur möglichst quantitativen Entfernung mehrwertiger Metall-Ionen beeinflusste die Gelierung nicht. Die Gelierung kommt daher wahrscheinlich durch kovalente Vernetzung und nicht durch eine Metall-Komplexbildung zustande.

Oxydative Gelierung von Phenolcarbonsäureestern

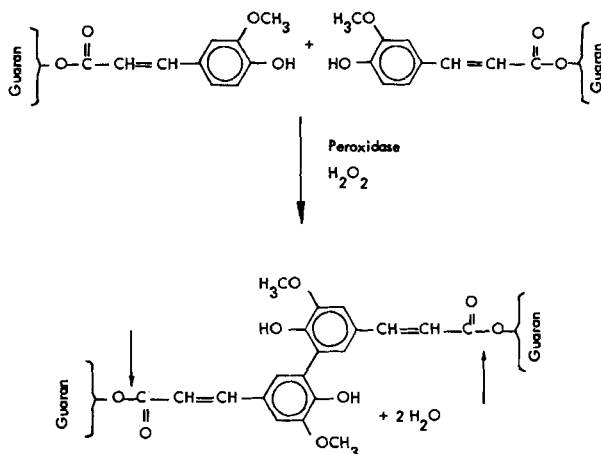
Phenolcarbonsäureester	Oxydationssystem				
	1	2	3	4	5
Kaffeesäure	+	+	+	+	+
Ferulasäure	+	+	+	–	–
<i>p</i> -Cumarsäure	+	+	–	–	–
Homovanillinsäure	+				
Vanillinsäure	+				
Protocatechusäure	+	+	+	+	+
<i>p</i> -Hydroxybenzoesäure	–	–	–	–	–

Oxydationssysteme: 1 = H_2O_2 + Peroxidase, 2 = $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3$, 3 = FeCl_3 , 4 = O_2 + Tyrosinase + CaCl_2 , 5 = O_2 + CaCl_2 .

Gelierung: + positiv, – negativ.

Lösungen von Feruloyl-, Homovanilloyl- und Vanilloylguaran wurden mit H_2O_2 und Peroxidase oxydiert. Die gebildeten Gele wurden zur Abspaltung der Phenolcarbonsäure bzw. eventuell gebildeter dimerer Phenolcarbonsäuren mit KOH verseift und nach Ansäuern der Lösung mit Äthylacetat oder *n*-Butanol extrahiert. Nach Entfernung des Lösungsmittels wurden die Rückstände dünnschichtchromatographisch untersucht. Neben unbekanntem Verbindungen und den monomeren Phenolcarbonsäuren konnten dimere Phenolcarbonsäuren nachgewiesen werden, die mit den synthetisch gewonnenen identisch waren. Die Oxydation mit H_2O_2 und Peroxidase

bewirkt demnach eine C-C-Kupplung der phenolischen Reste in *ortho*-Stellung zur Hydroxylgruppe (siehe Fig.). Dadurch wird ein kovalentes, dreidimensionales Netzwerk ausgebildet, wodurch die Lösung zu einem Gel erstarrt.



Oxydative Vernetzung (Gelierung) von Feruloylguaran mit H_2O_2 und Peroxidase durch Bildung von Diferuloylguaran

Die Pfeile zeigen die bei der Verscifung des Gels gespaltenen Bindungen

Vorläufige Gelierversuche mit dem N-Acetyltyrosinester von Guaran ergaben mit H_2O_2 und Peroxidase ebenfalls Gelbildung.

In den Gelen der *p*-Cumar- und Protocatechusäureester konnten keine Hydroxyderivate nachgewiesen werden. Auch in einem Gel des Protocatechusäureesters, oxydiert mit Tyrosinase und O_2 in Anwesenheit von CaCl_2 [6] [7], fanden sich keine Trihydroxybenzoesäuren. Sofern Hydroxylierungen überhaupt stattfinden, reagieren die Produkte wegen ihrer erhöhten Reaktivität [8] offenbar sofort weiter zu Kondensationsprodukten.

Es bleibt abzuklären, ob die beobachtete Vernetzung phenolhaltiger Polysaccharide durch oxydative Kupplung auch in natürlichen Systemen eine Rolle spielt.

Die Ausführung dieser Arbeit wurde z.T. durch Mittel des *US Department of Agriculture* ermöglicht (PL 480).

Experimentelles. – *Darstellung der Phenolcarbonsäureester des Guarans.* Die Einführung der Methoxycarbonyl-Schutzgruppe erfolgte nach *Fischer & Hoesch* [9]. Eine Lösung von 0,1 Mol der Phenolcarbonsäure in der doppelten Menge (bei 2 phenolischen Hydroxylgruppen dreifache Menge) 1 N NaOH wurde auf 0° gekühlt. Unter Stickstoff und unter kräftigem Schütteln wurden während 30 Min. pro Hydroxylgruppe 0,11 Mol (10,4 g) Chlorameisensäure-methylester zuge tropft. Es wurde 10 Min. weiter kräftig geschüttelt und anschliessend mit verdünnter Salzsäure auf pH 3,5 angesäuert. Der ausgeflockte Brei wurde abgenutscht, in Aceton gelöst und aus Aceton-Wasser umkristallisiert. Die Ausbeute betrug jeweils über 90%.

Die Methoxycarbonylderivate der Kaffee-, Ferula-, *p*-Cumar- und Homovanillinsäure wurden nach *Thewis* [10] mit Thionylchlorid in die entsprechenden Säurechloride übergeführt. Die Chloride der Vanillin-, *p*-Hydroxybenzoe- und Protocatechusäure wurden nach *Fischer* [11] mit PCl_5 dargestellt.

Die Darstellung des Chlorids von Methoxycarbonyl-N-acetyltyrosin gelang erst mit Oxalylchlorid. 2,4 g Methoxycarbonyl-N-acetyltyrosin [12] wurden zu 20 ml trockenem Chloroform ge-

geben. Die Mischung wurde auf -20° abgekühlt, mit 0,9 ml Oxalylchlorid (25% Überschuss) versetzt und bei 2° belassen, wobei alles Ausgangsmaterial in Lösung ging. Nach 3 Std. wurde das überschüssige Reagens und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Zur möglichst vollständigen Beseitigung des Flüchtigen wurde mehrmals in Chloroform aufgenommen und eingeeengt. Das Säurechlorid wurde über NaOH im Wasserstrahl- und anschliessend im Hochvakuum getrocknet. Smp. 76° , Kristallisationsversuche blieben erfolglos. IR.-Spektrum (KBr): 1800 cm^{-1} ($-\text{COCl}$).

Zur Darstellung der Ester wurden 5 g im Hochvakuum getrocknetes Guarani¹⁾ in 60 ml Dimethylformamid²⁾ und 20 ml Pyridin während 2 Std. bei 80° vorgequollen, mit 1 g Säurechlorid, gelöst in 10 ml Dimethylformamid, versetzt und bei 80° während 6 Std. gerührt. Nach dem Abkühlen wurde mit Aceton gefällt, der Niederschlag abgentscht, mit Aceton und mit Äther gewaschen und über Nacht im Wasserstrahlvakuum über CaCl_2 getrocknet. Zur Entfernung der Schutzgruppe wurde 1 g des Produktes mit Alkohol angefeuchtet, in 100 ml H_2O dispergiert und unter Stickstoff mit dem gleichen Volumen 0,05N Ammoniaklösung versetzt. Je nach Art des Esters entstand eine farblose oder hellgelbe bis grüngelbe Lösung, die sich nach dem Ansäuern nach 30 Min. wieder entfärbte. Die Lösung wurde im Vakuum eingeeengt, elektrodialysiert und auf 1% eingestellt. Sie wurde direkt für die Gelierversuche verwendet.

Die Veresterung mit Homovanillinsäure und N-Acetyltyrosin verlief nur wenig befriedigend. Zwar wurden dabei gelierende Produkte erhalten, die Lösungen waren aber auch im neutralen oder sauren Bereich leicht verfärbt (Abbaureaktionen?).

Oxydation und Nachweis der Oxydationsprodukte. Je 400 ml der dialysierten Guaraneester wurden mit 3 bis 20 ml (Überschuss) einer 0,1M Lösung des betreffenden Oxydationsmittels versetzt. Nach frühestens 4 Std. wurde mit Ascorbinsäure oder Na-Metabisulfit reduziert. Entweder wurde EDTA zugefügt, oder das Produkt nach vorausgehender Dialyse gegen H_2O der Elektrodialyse unterworfen.

Lösungen von unsubstituiertem Guarani bilden mit Fe^{3+} bei neutralem pH ebenfalls gelartige Komplexe. Diese verflüssigen sich augenblicklich beim Ansäuern (Ascorbinsäure) oder bei Elektrodialyse. Das gleiche Phänomen ist mit Ca^{2+} oberhalb pH 10 zu beobachten. Dieser Befund ist – um Fehlinterpretationen auszuschliessen – bei den Oxydationsversuchen zu beachten.

Die entionisierten Gele bzw. Lösungen wurden unter Stickstoff, der vorgängig durch Pyrogallol geleitet wurde, in 0,5N KOH während 90 Min. bei 60° verseift; nach Ansäuern auf pH 3,5 wurde dreimal mit Äthylacetat oder n-Butanol extrahiert. Die Extrakte wurden mit Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde in Methanol oder Dimethylformamid aufgenommen und auf *Merck*-Kieselgelfertigplatten F254 chromatographiert. Laufmittel: a) Benzol:Dioxan:Eisessig = 90:25:4 [13], b) n-Butanol:Pyridin: H_2O = 14:4:5 [14]. Sprühmittel: Diazotiertes Benzidin [13], 50% H_2SO_4 .

In den Laufmitteln a und b wurden folgende Rf-Werte der monomeren und dimeren Phenolcarbonsäuren gefunden:

	a	b		a	b
Ferulasäure	0,5	0,55	Dihomovanillinsäure	0,10	0,23
Diferulasäure	0,23	0,29	Vanillinsäure	0,64	0,47
Homovanillinsäure	0,41	0,54	Divanillinsäure	0,31	0,25

Dimere Phenolcarbonsäuren. Diferula- [15] und Divanillinsäure [16] wurden aus Divanillin hergestellt³⁾. Dihomovanillinsäure wurde durch Oxydation von Homovanillinsäure gewonnen [14].

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] H. C. Baker, H. K. Parker & M. D. Mize, *Cereal Chemistry* 20, 267 (1943); W. Kündig, H. Neukom & H. Deuel, *Helv.* 44, 969 (1961).
- [2] H. Fausch, W. Kündig & H. Neukom, *Nature* 199, 287 (1963).
- [3] W. Kündig & H. Neukom, *Helv.* 46, 1423 (1963).

¹⁾ «Meypro Rein-Guarin» der *Meyhall Chemical AG*, Kreuzlingen, Asche: 0,5%, Protein: 0,4%.

²⁾ Mit Dimethylsulfoxid als Lösungsmittel [6] konnten keine gelierenden Ester erhalten werden.

³⁾ Wir danken Herrn J. Baumgartner, dipl. chem. ETHZ, für die Herstellung dieser beiden Substanzen.

- [4] C. Earland & J. P. P. Stell, *Biochim. biophys. Acta* **23**, 97 (1957); F. La Bella, P. Waycole & G. Queen, *Biochim. biophys. Res. Commun.* **30**, 333 (1968).
 [5] S. O. Andersen, *Acta physiol. scand.* **66**, Suppl. 263 (1966).
 [6] T. J. Painter & H. Neukom, *Biochim. biophys. Acta* **158**, 363 (1968).
 [7] S. Lissitzky, M. Rolland, J. Reynoud & S. Lasry, *Biochim. biophys. Acta* **65**, 481 (1962).
 [8] L. F. Fieser, *J. Amer. chem. Soc.* **52**, 5204 (1930).
 [9] E. Fischer & K. Hoesch, *Liebigs Ann. Chem.* **391**, 357 (1912).
 [10] B. H. Thewlis, *J. Food Technol.* **2**, 83 (1967).
 [11] E. Fischer, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **41**, 2878 (1908).
 [12] V. Du Vigneaud & C. E. Meyer, *J. biol. Chemistry* **98**, 295 (1932).
 [13] K. Randerath, *Dünnschicht-Chromatographie*, S. 214 ff, Verlag Chemie, Weinheim 1965.
 [14] H. Corrodi & B. Werdinus, *Acta chem. scand.* **19**, 1854 (1965).
 [15] H. Richtzenhain, *Chem. Ber.* **82**, 447 (1949).
 [16] K. Elbs & H. Lerch, *J. prakt. Chem.* [2] **93**, 1 (1916).

114. Über Oxidhydroxide des vierwertigen Mangans mit Schichtengitter

3. Mitteilung

Reduktion von Mangan(III)-manganat(IV) mit Zimtalkohol

von R. Giovanoli, W. Feitknecht und F. Fischer

Laboratorium für Elektronenmikroskopie der Universität Bern, Freiestrasse 3, CH-3000 Bern
und

Institut für anorganische, analytische und physikalische Chemie der Universität Bern, Freiestr. 3,
CH-3000 Bern

(2. IV. 71)

Summary. Manganese(III) manganate(IV), one of the synthetic varieties of the birnessite group, is readily reduced in xylene suspension by cinnamyl alcohol. At moderate temperatures, including room temperature, γ -MnOOH (manganite) forms topotactically in extremely thin needles and is therefore easily overlooked in the X-ray examination. At higher temperatures further reduction occurs ($\text{Mn}^{\text{III}} \rightarrow \text{Mn}^{\text{II}}$), and Mn_3O_4 (hausmannite) appears in comparatively large, equant crystallites which are less distinctly oriented. For comparison $\text{Na}_4\text{Mn}_{14}\text{O}_{27} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, which has also been investigated, is much more stable than $\text{Mn}_7\text{O}_{13} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. The same holds for finely divided synthetic varieties of the birnessite group precipitated from KMnO_4 solutions; by their behaviour they are related to $\text{Na}_4\text{Mn}_{14}\text{O}_{27} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ rather than to $\text{Mn}_7\text{O}_{13} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ which is consistent with their substantial alkaline ion content.

These results raise the question: is the so-called 'todorokite' a pure crystal species. According to present data 'todorokite' could be regarded as a transition product, *i.e.* as half decomposed buserite admixed with birnessite and substantial amounts of manganite.

1. Einleitung. – Mangan tritt im *exogenen Stoffkreislauf* in Erscheinung. Chemische Verwitterung von Mineralen wie Braunit, Rhodonit u. a. m. setzt es in Form einfacherer Verbindungen frei. Das Mangan wird als Mn^{2+} (meist als Hydrogencarbonat) in wässriger Lösung transportiert. Im Gefolge von pH- und Eh-Schwankungen treten Anreicherungen bestimmter, meist feinteiliger oder kolloidaler Ausfällungen des Mangans mit den Oxydationsstufen +3 und +4 auf. Das Mangan bewegt sich mithin geochemisch mit dem Eisen.