

CHROM. 6028

ZUM PAPIERCHROMATOGRAPHISCHEN VERHALTEN
VON HOMOLOGEN LINEARPOLYMERENDIE ISOMALTOSE-, MALTOSE-, UND CELLOBIOSE-REIHE UND
IHRE 1-(*m*-SUBSTITUIERTEN PHENYL)-FLAVAZOLE

B. TEICHMANN

Institut für Krebsforschung der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Lindenberger Weg 80, Berlin-Buch 1115 (D.D.R.)

(Eingegangen am 8. November 1971; geänderte Fassung am 6. März 1972)

SUMMARY

*Paper chromatographic behaviour of homologous linear polymers. The isomaltodextrin, maltodextrin, and cellodextrin series and their 1-(*m*-substituted phenyl)-flavazoles*

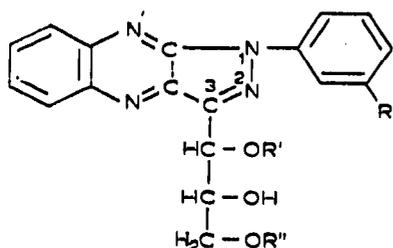
The R_F values of saccharides of the isomaltodextrin series (α -1,6-binding), maltodextrin series (α -1,4-binding), and cellodextrin series (β -1,4-binding), and the corresponding 1-(*m*-nitrophenyl)-flavazole-, 1-(*m*-aminophenyl)-flavazole-, and 1-(*m*-hydroxyphenyl)-flavazole derivatives were estimated under various conditions. It can be seen from the figures, that in all cases the R_M values calculated from these data show a linear dependence upon the degree of polymerization of the saccharides, or of the sugar residues of flavazole derivatives, respectively. The individual and average ΔR_M values for the glucose units of each saccharide series and flavazole derivative series were estimated.

EINLEITUNG

Für den Prozess der Verteilung einer Substanz zwischen zwei Phasen ist bekanntlich nach MARTIN¹ das chemische Potential $\Delta\mu$ in erster Annäherung gleich der Summe der Potentialdifferenzen der verschiedenen Gruppen in einem Molekül. Unterscheidet sich ein Molekül B von einem Molekül A nur insoweit, als es zusätzlich eine bestimmte Gruppe C trägt, wird der Verteilungskoeffizient um einen bestimmten Faktor $\Delta\mu_C$ verändert, der von der Grösse C und den angewandten Phasen, nicht aber vom Molekülrest abhängig ist. Dies ermöglicht die Berechnung z.B. von Verteilungskoeffizienten von oligomeren Molekülen, wenn die Verteilungskoeffizienten der Monomeren bekannt sind¹⁻⁴.

Aus den von MARTIN¹ und BATE-SMITH UND WESTALL⁵ aufgestellten Beziehungen ergibt sich andererseits direkte Proportionalität der Grössen $\Delta\mu$ und ΔR_M einer organischen Gruppe. Auf Grund dieser Betrachtungen müssten die R_M -Werte einer linearpolymeren homologen Reihe, die gegen die Anzahl gleichartiger Gruppen (Polymerisationsgrad) aufgetragen werden, Punkte auf einer Geraden darstellen⁶⁻⁹.

Aus immunchemischen Arbeiten, bei denen Modell-Immunogene bzw. -Antigene mit oligosaccharidspezifischen Determinanten eingesetzt wurden^{10,11}, stand eine grössere Anzahl von Zuckern, speziell der Isomaltose-, Maltose- und Cellobiose-Reihe als Repräsentanten für Oligoglucoside mit α -1,6-, α -1,4-, und β -1,4-Bindungen zur Verfügung. Ausserdem wurden für diese Arbeiten (a) 1-(*m*-Nitrophenyl)-, (b) 1-(*m*-Aminophenyl)-, und (c) 1-(*m*-Hydroxyphenyl)-1*H*-pyrazolo-[3,4-*b*]-chinoxaline, die im weiteren entsprechend OHLE UND MELKONIAN¹² als Flavazol-Derivate* bezeichnet werden, von Zuckern der Isomaltose-, Maltose- und Cellobiose-Reihe hergestellt.



- R = —NO₂ (a); —NH₂ (b); —OH (c);
 R' = R'' = H (Glucose-Derivate);
 R' = H, R'' = Glucose-, Isomaltose-, Isomaltoundekaosc-Rest (Isomaltose-Reihe);
 R' = Glucose, Maltose-, Maltoheptaosc-Rest, R'' = H (Maltose-Reihe);
 R' = Glucose-, Cellobiose-, Cellotetraosc-Rest, R'' = H (Cellobiose-Reihe).

Damit war die Möglichkeit gegeben, an einer genügend grossen Anzahl von individuellen Zuckern bzw. Derivaten dieser Zucker als Glieder linearpolymerer homologer Reihen Untersuchungen über ihr papierchromatographisches Verhalten durchzuführen. Besonders interessierte es, ob die lineare Abhängigkeit der R_M -Werte vom Polymerisationsgrad sich über einen relativ weiten Bereich (Polymerisationsgrade von 1–12) erstreckt und wie stark sich der Einfluss von Substituenten am Flavazol-Gerüst, der verschiedenen glucosidischen Bindungen, der Papiersorten, und der Lösungsmittel auf den Verlauf der Chromatographie bemerkbar macht.

MATERIAL UND METHODEN

Die Zucker der Isomaltosereihe (Glucose-Einheiten in α -1,6-Bindung) wurden durch saure Partialhydrolyse von Dextran (Polyglucose mit ca. 96 % α -1,6-Bindungen, Knoll AG Chemische Fabrik, Ludwigshafen a.Rh., B.R.D.) nach TAYLOR UND WHELAN¹³ modifiziert¹⁴ mit anschliessender Trennung der Oligosaccharide auf einer Kohle-Celite-Säule mittels Ameisensäure-Wasser-Gradienten erhalten.

Die Zucker vom Maltose-Typ (Glucose-Einheiten durch α -1,4-Bindungen miteinander verknüpft) wurden durch saure Partialhydrolyse von Amylose (Koch-Light Laboratories Ltd., Colnbrook, England) nach WHELAN und Mitarbeitern⁶ erhalten. Die Trennung erfolgte nach FRENCH und Mitarbeitern¹⁵ auf einer mit Stearinsäure (2.5 % in abs. Äthanol, G/V) präparierten Kohle-Celite-Säule mit einem Butanol-Wasser-Gradienten als Elutionsmittel.

* Der besseren Übersicht wegen werden die Flavazol-Derivate entsprechend dem Zucker, von dem sie sich ableiten, benannt; z.B. wird ein Flavazol-Derivat, das durch Umsetzung von Glucose erhalten wurde, als Glucose-Flavazol-Derivat bezeichnet und nicht als Derivat des 3-(D-Erythro-trihydroxypropyl)-flavazols^{10,18}.

Die Zucker der Cellobiose-Reihe (Glucose-Einheiten durch β -1,4-Bindungen miteinander verbunden) wurden durch saure Partialhydrolyse von Cellulose (Whatman Cellulose Powder CF-11 bzw. Whatman Cellulose Ashless, H. Reeve Angel & Co., London, England) nach MILLER und Mitarbeitern^{16,17} erhalten und gleichfalls mittels einer Stearinsäure-präparierten Kohle-Celite-Säule unter Verwendung eines Äthanol-Wasser-Gradienten fraktioniert.

D-Glucose, Maltose und Cellobiose wurden von der Fluka AG Chemische Fabrik Buchs, Schweiz, bezogen.

Die Zucker-1-(*m*-Nitrophenyl)-flavazole wurden wie bereits früher beschrieben^{10,18} analog des von OHLE und Mitarbeitern¹⁹⁻²³ erstmalig angewandten Verfahrens durch Umsetzung der Zucker mit *o*-Phenylendiamin und *m*-Nitrophenylhydrazin gewonnen. Die entsprechenden 1-(*m*-Aminophenyl)-flavazole wurden durch katalytische Reduktion der Nitroverbindungen^{10,24} erhalten, und die 1-(*m*-Hydroxyphenyl)-flavazole durch schonendes Verkochen der diazotierten Aminoderivate^{10,25}.

Die Lösungsmittel waren handelsübliche Produkte für analytische Zwecke (z.B. Pyridin vom VEB Teerdestillation und Chemische Fabrik Erkner, D.D.R.; Butanol vom VEB Berlin-Chemie, Berlin-Adlershof, D.D.R.).

TABELLE I

R_F-WERTE VON ZUCKERN DER ISOMALTOSE-, MALTOSE- UND CELLOBIOSE-REIHE, ERMITTELT UNTER VERWENDUNG VON ZWEI PAPIERSORTEN UND ZWEI LÖSUNGSMITTEL-GEMISCHEN

Papier: (I) und (III) Whatman 1; (II) und (IV) FN7. Lösungsmittel: (I) und (II) Butanol-Pyridin-Wasser (6:4:3); (III) und (IV) Butanol-Pyridin-Wasser (6:5:5).

Zucker	I	II	III	IV
Glucose	0.45	0.38	0.46	0.41
Isomaltose	0.31	0.28	0.34	0.32
Isomaltotriose	0.18	0.17	0.25	0.22
Isomaltotetraose	0.10	0.10	0.15	0.173
Isomaltopentaose	0.05 ⁿ	0.057 ⁿ	0.10	0.122
Isomaltohexaose	0.025 ⁿ	0.033 ⁿ	0.06 ⁿ	0.09
Isomaltoheptaose	0.013 ⁿ	0.019 ⁿ	0.037 ⁿ	0.06 ⁿ
Isomaltooctaose	0.006 ⁿ	0.011 ⁿ	0.025 ⁿ	0.042 ⁿ
Isomaltononaose		0.009 ⁿ	0.014 ⁿ	0.03 ⁿ
Isomaltodekaose			0.008 ⁿ	0.02 ⁿ
Isomaltoundekaose				0.014 ⁿ
Isomaltododekaose				0.006 ⁿ
Maltose	0.27	0.25	0.31	0.30
Maltotriose	0.17	0.15	0.20	0.20
Maltotetraose	0.08	0.08	0.12	0.12
Maltopentaose	0.04 ⁿ	0.045 ⁿ	0.07	0.08
Maltohexaose	0.02 ⁿ	0.025 ⁿ	0.04 ⁿ	0.04 ⁿ
Maltoheptaose	0.01 ⁿ	0.011 ⁿ	0.02 ⁿ	0.025 ⁿ
Maltooctaose	0.004 ⁿ	0.006 ⁿ	0.011 ⁿ	0.01 ⁿ
Cellobiose	0.26	0.23	0.27	0.27
Cellotriose	0.13	0.12	0.14	0.15
Cellotetraose	0.05 ⁿ	0.06 ⁿ	0.07	0.08
Cellopentaose	0.025 ⁿ	0.03 ⁿ	0.03 ⁿ	0.045 ⁿ

ⁿ Diese Bestimmungen wurden auf Chromatographiepapier von der Rolle durchgeführt.

Die Chromatographien wurden auf Papieren der Qualitäten Whatman 3MM und Whatman 1 (H. Reeve Angel & Co, London, England) mit den Abmessungen 46×57 cm bzw. FN 7 (VEB Spezialpapierfabrik, Niederschlag, Erzgebirge, D.D.R.) der Grösse 58×60 cm bei $25 \pm 2^\circ$ durchgeführt.

R_F -Werte ≤ 0.06 wurden in einer speziellen Apparatur auf Chromatographiepapier von der Rolle ermittelt: Es wurden auf Chromatographiepapier-Streifen der Abmessungen 9.5×160 cm jeweils ein Zucker und Isomaltotetraose als Kontroll-Substanz absteigend chromatographiert. Das Chromatographie-Gefäss, ein senkrecht ausgerichtetes 170-cm langes Glasrohr mit 10 cm I.D., stand in einem Gefäss, in dem sich entsprechendes Laufmittel befand. Die Laufmittel-Wanne war über einen Teflonschlauch mit einem Laufmittel-Vorratsgefäss (Rührer) verbunden, so dass durch Heberwirkung das Niveau in der Wanne nahezu konstant gehalten wurde und genügend Zufluss gewährleistet war. Das Chromatographiepapier wurde durch am unteren Ende angeheftetes Bleiband gestrafft.

Die Entwicklung der Chromatogramme der Zucker der drei Typen-Reihen erfolgte mit alkalischem Silbernitrat-Reagenz nach TREVELYAN, PROCTER UND HAR-

TABELLE II

R_F -WERTE DER ZUCKER-1-(*m*-NITROPHENYL)-FLAVAZOLE, ZUCKER-1-(*m*-AMINOPHENYL)-FLAVAZOLE UND ZUCKER-1-(*m*-HYDROXYPHENYL)-FLAVAZOLE ERMITTELT UNTER VERWENDUNG VON DREI PAPIERSORTEN

Zucker-Flavazol-Derivate: (Fl-NO₂) = 1-(*m*-Nitrophenyl); (Fl-NH₂) = 1-(*m*-Aminophenyl); (Fl-OH) = 1-(*m*-Hydroxyphenyl)-flavazol-Derivate. Lösungsmittelgemisch: Butanol-Pyridin-Wasser (6:4:3). Papier: (I) Whatman 3MM; (II), (IV) und (VI) Whatman 1; (III), (V) und (VII) FN7.

Ausgangszucker	Fl-NO ₂			Fl-NH ₂		Fl-OH	
	I	II	III	IV	V	VI	VII
Glucose	0.88	0.90	0.92	0.79	0.81	0.86	0.87
Isomaltose	0.78	0.83	0.85	0.69	0.72	0.76	0.78
Isomaltotriose	0.64	0.73	0.76	0.57	0.60	0.62	0.64
Isomaltotetraose	0.45	0.60	0.63	0.43	0.46	0.47	0.48
Isomaltopentaose	0.31	0.44	0.48	0.33	0.35	0.31	0.33
Isomaltohexaose	0.18	0.30	0.33	0.20	0.23	0.19	0.21
Isomaltoheptaose	0.11	0.20	0.21	0.13	0.15	0.11	0.12
Isomaltooctaose		0.12	0.13	0.08	0.09	0.06 ^a	0.065 ^a
Isomaltononaose		0.07 ^a	0.07 ^a	0.05 ^a	0.06 ^a	0.03 ^a	0.035 ^a
Isomaltodekaose		0.04 ^a	0.04 ^a	0.028 ^a	0.03 ^a	0.017 ^a	0.022 ^a
Maltose		0.84	0.86	0.70	0.73	0.78	0.79
Maltotriose		0.78	0.80	0.58	0.63	0.68	0.70
Maltotetraose		0.69	0.70	0.47	0.51	0.55	0.57
Maltopentaose		0.58	0.59	0.35	0.40	0.42	0.43
Maltohexaose		0.46	0.47	0.25	0.31	0.30	0.31
Maltoheptaose		0.35	0.35	0.17	0.22	0.20	0.22
Maltooctaose		0.25	0.25	0.12	0.15	0.13	0.14
Cellulose		0.79	0.81	0.68	0.70	0.74	0.75
Cellotriose		0.64	0.66	0.53	0.56	0.55	0.56
Cellotetraose		0.43	0.45	0.38	0.41	0.36	0.38
Cellopentaose		0.25	0.26	0.25	0.28	0.22	0.23

^a Diese Bestimmungen wurden auf Chromatographiepapier von der Rolle durchgeführt.

RISON²⁶. Die Chromatogramme der Zucker-Flavazol-Derivate brauchten nicht entwickelt zu werden, da diese Verbindungen intensiv gelbgefärbt sind und ausserdem im UV-Licht stark fluoreszieren.

DISKUSSION

Wie aus den Tabellen I und II hervorgeht, wurden die R_F -Werte nicht nur vom Lösungsmittel, sondern auch von der verwendeten Papiersorte abhängig gefunden. Dabei wurden, wenn auch nur geringfügig, so doch eindeutig verschiedene

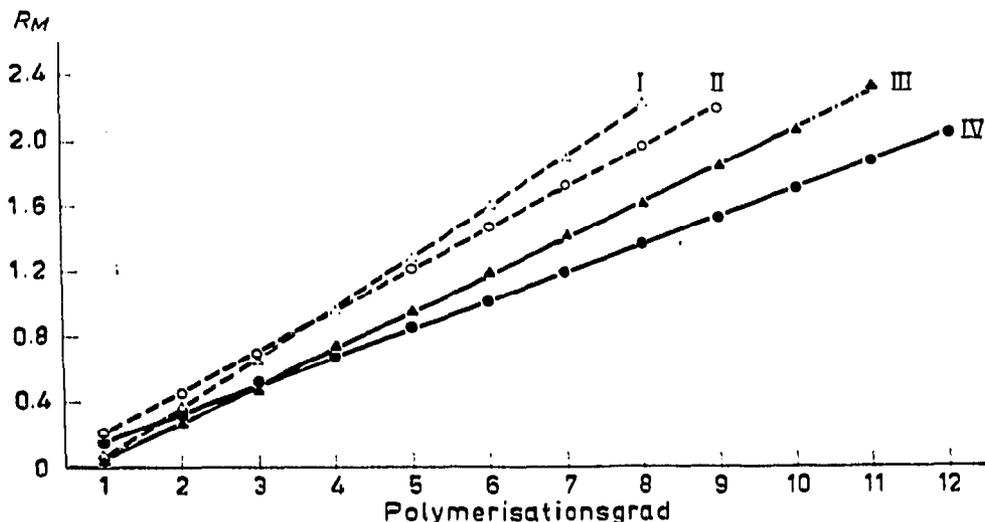


Fig. 1. R_M -Werte von Zuckern der Isomaltose-Reihe, erhalten durch Berechnung aus den experimentell ermittelten R_F -Werten auf zwei Papiersorten mit zwei Lösungsmittelgemischen. (Siehe Tabelle I). (I) Whatman 1; (II) FN 7; (I) und (II) Butanol-Pyridin-Wasser (6:4:3). (III) Whatman 1; (IV) FN 7; (III) und (IV) Butanol-Pyridin-Wasser (6:5:5).

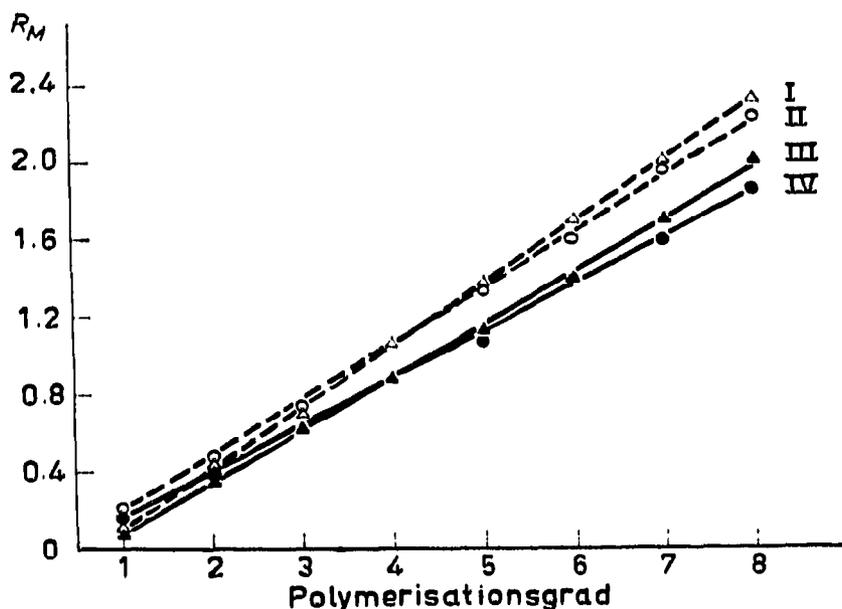


Fig. 2. R_M -Werte von Zuckern der Maltose-Reihe (analog Fig. 1).

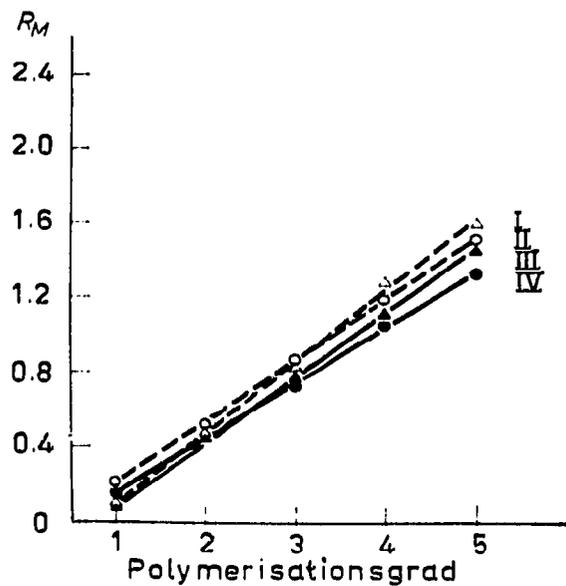


Fig. 3. R_M -Werte von Zuckern der Cellobiose-Reihe (analog Fig. 1).

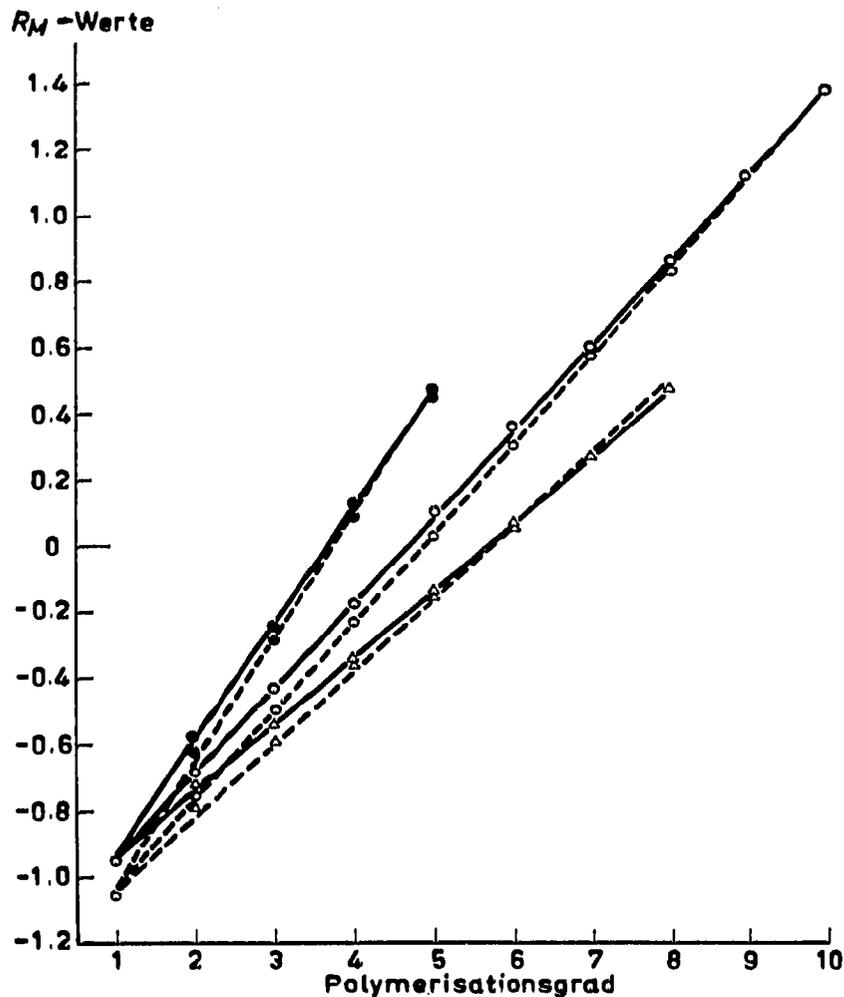


Fig. 4. R_M -Werte von Zucker-1-(*m*-Nitrophenyl)-flavazol-Derivaten, erhalten durch Berechnung aus den experimentell ermittelten R_F -Werten auf zwei Papiersorten mit Butanol-Pyridin-Wasser (6:4:3). (Siehe Tabelle II). Cellobiose-Reihe: ●—●, Whatman 1; ●---●, FN7. Isomaltose-Reihe: ○—○, Whatman 1; ○---○, FN7. Maltose-Reihe: △—△, Whatman 1; △---△, FN7.

Wanderungsgeschwindigkeiten gleicher Substanzen festgestellt. Auf Whatman 1-Papier wurden im Vergleich zu FN 7-Papier fast durchweg höhere Wanderungsgeschwindigkeiten der niederpolymeren Zucker und etwas geringere der höherpolymeren Zucker aller drei Typen gefunden. Erwartungsgemäss⁸ waren die Wanderungsgeschwindigkeiten der Zucker der Isomaltose-, Maltose- und Cellobiose-Reihe bei Verwendung des Gemisches Butanol-Pyridin-Wasser (6:5:5) grösser als bei dem Verhältnis der Komponenten von (6:4:3). Die Umwandlung der Zucker in 1-(*m*-substituierte Phenyl)-flavazol-Derivate ist allgemein bei allen drei Reihen mit einer erhöhten Löslichkeit in der mobilen Phase und damit mit einem Anstieg der R_F -Werte entsprechender Substanzen verbunden. Mit dem Lösungsmittelgemisch Butanol-Pyridin-Wasser (6:4:3), das hauptsächlich für Trennungen im präparativen Massstab eingesetzt wurde, wurden innerhalb der drei Zuckertypen-Reihen aller Flavazol-Derivate befriedigende Trennungen der einzelnen Glieder erzielt. Wie aus Tabelle II ersichtlich ist, besitzen jedoch einzelne Homologe der verschiedenen Reihen sehr ähnliche oder gleiche R_F -Werte.

Nach BATE-SMITH UND WESTALL⁵ wurden aus den experimentell ermittelten R_F -Werten die R_M -Werte berechnet. Die Fig. 1-6 lassen deutlich erkennen, dass durch das Auftragen der R_M -Werte gegen den Polymerisationsgrad der Glucose-

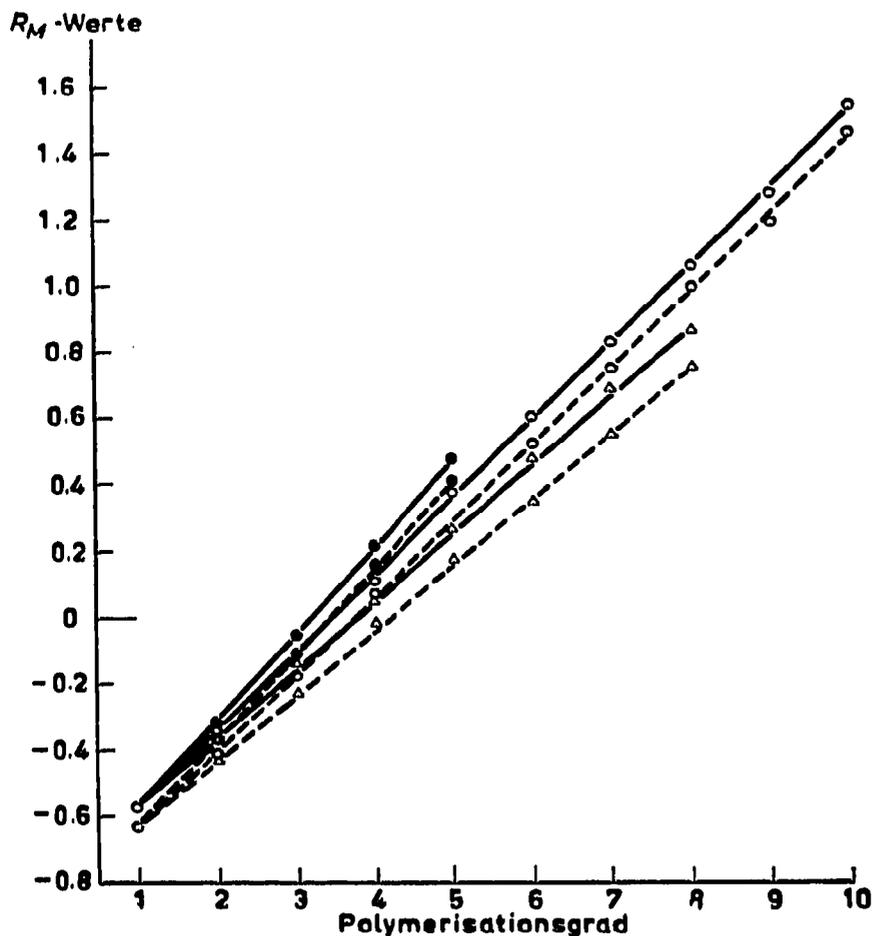


Fig. 5. R_M -Werte von Zucker-1-(*m*-Aminophenyl)-flavazol-Derivaten (analog Fig. 4).

Einheiten sowohl bei den Reihen der freien Zucker als auch bei den Reihen der 1-(*m*-Nitrophenyl)-, 1-(*m*-Aminophenyl)- und 1-(*m*-Hydroxyphenyl)-flavazol-Derivate der Zucker aller drei Grundtypen Punkte erhalten wurden, die nahezu alle auf Geraden liegen und somit weitgehend der Forderung für homologe linearpolymerische Reihen genügen. Abweichungen vom linearen Verhalten mit steigendem Polymerisationsgrad oder Auseinanderziehen der Flecken wurden nicht beobachtet.

Ausgehend von Glucose bzw. vom jeweiligen Glucose-Flavazol-Derivat als Basis wurde für jede der drei homologen Zucker-Reihen und die neun homologen Reihen der Flavazol-Derivate aus den individuellen R_M -Werten die ΔR_M -Werte pro Glucoseeinheit berechnet und daraus die ΔR_M -Durchschnittswerte pro Glucoseeinheit für die einzelnen Reihen ermittelt. Parallel dazu wurden die aus dem Verlauf der Kurven (R_M -Werte gegen den Polymerisationsgrad der Zucker aufgetragen, Fig. 1-6) erhaltenen, den individuellen ΔR_M -Werten entsprechenden Werte auf ΔR_M -Durchschnittswerte umgerechnet. Ein Vergleich der nach diesen beiden Verfahren erhaltenen ΔR_M -Werte (Tabelle III, Spalten a und b) für eine homologe Reihe lässt nur relativ geringe Differenzen erkennen. Interessant sind die im Vergleich zu den Fla-

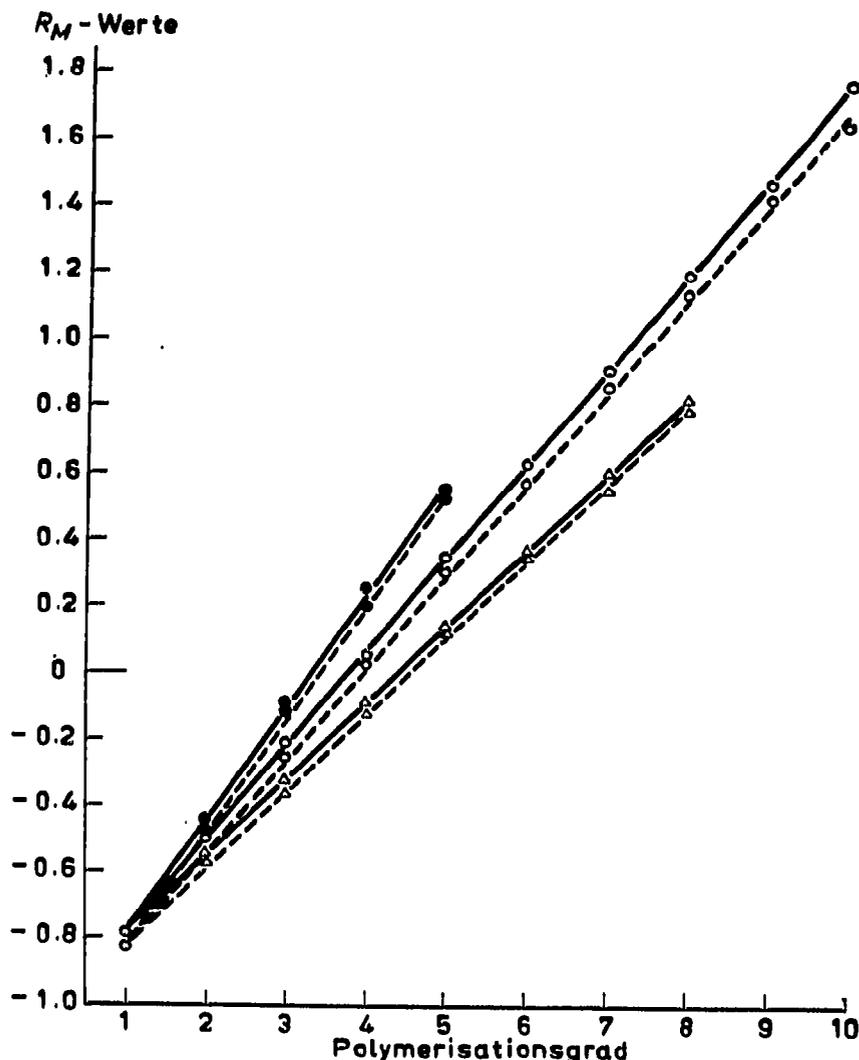


Fig. 6. R_M -Werte von Zucker-1-(*m*-Hydroxyphenyl)-flavazol-Derivaten (analog Fig. 4).

TABELLE III

DURCHSCHNITTLLICHE ΔR_M WERTE PRO GLUCOSE-EINHEIT

Ermittelt: (a) aus dem Verlauf der Kurven, die durch Auftragen der R_M -Werte gegen den Polymerisationsgrad der Zuckereinheiten erhalten wurden; (b) durch Differenzbildung aus den R_M -Werten der individuellen Glieder der homologen Reihen. Die zugrunde gelegten R_F -Werte wurden bestimmt auf den Papieren: (I), Whatman 3MM; (II) und (III), Whatman 1; (IV) und (V), FN7; Lösungsmittel: (I), (II) und (IV) Butanol-Pyridin-Wasser (6:4:3); (III) und (V), Butanol-Pyridin-Wasser (6:5:5). Abkürzungen: Fl-NO₂ = 1-(*m*-Nitrophenyl)-flavazol-Derivate; Fl-NH₂ = 1-(*m*-Aminophenyl)-flavazol-Derivate; Fl-OH = 1-(*m*-Hydroxyphenyl)-flavazol-Derivate.

Substanzklasse	I		II		III		IV		V	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
<i>Isomaltosereihe</i>										
Isomaltose			0.304	0.301	0.224	0.219	0.250	0.246	0.173	0.176
Fl-NO ₂	0.305	0.306	0.258	0.255			0.269	0.271		
Fl-NH ₂			0.235	0.235			0.230	0.230		
Fl-OH			0.282	0.283			0.279	0.279		
<i>Maltosereihe</i>										
Maltose			0.319	0.317	0.269	0.269	0.278	0.281	0.238	0.241
Fl-NO ₂	0.210	0.209	0.200	0.210			0.220	0.219		
Fl-NH ₂			0.206	0.206			0.198	0.197		
Fl-OH			0.230	0.230			0.230	0.230		
<i>Cellulobiosereihe</i>										
Cellulobiose			0.383	0.373	0.346	0.349	0.323	0.324	0.290	0.290
Fl-NO ₂	0.350	0.352	0.352	0.355			0.377	0.378		
Fl-NH ₂			0.261	0.263			0.259	0.260		
Fl-OH			0.337	0.333			0.338	0.337		

vazol-Derivaten relativ grossen ΔR_M -Werte pro Glucoseeinheit der freien Zucker und die Tatsache, dass jede Reihe der Flavazol-Derivate einen vom Durchschnitts- ΔR_M -Wert des entsprechenden Ausgangszuckers relativ stark abweichenden durchschnittlichen ΔR_M -Wert aufweist. Die individuellen und die durchschnittlichen ΔR_M -Werte pro Glucoseeinheit der Nitrophenyl-, Aminophenyl- und Hydroxyphenyl-flavazol-Derivate zeigen vergleichsweise geringe Differenzen, speziell innerhalb den von der Isomaltose und Maltose abgeleiteten Reihen.

Die unterschiedlichen R_F -Werte und dementsprechend die R_M -Werte und ΔR_M -Werte pro Glucoseeinheit der einzelnen Reihen sind primär auf die verschiedenen Verknüpfungen der einzelnen Glucoseeinheiten zurückzuführen. Zwischen der Maltose-Reihe und der Cellulobiose-Reihe wurden die grössten Differenzen festgestellt, während die Unterschiede zwischen Maltose- und Isomaltose-Reihe nicht so gravierend sind. Dies geht parallel zum immunologischen Verhalten (Kreuzreaktionen) von Antigenen, die oligosaccharidspezifische Determinanten der drei Typen tragen²⁵.

ZUSAMMENFASSUNG

Von Zuckern der Isomaltose-Reihe (α -1,6-Bindungen), Maltose-Reihe (α -1,4-Bindungen), und der Cellulobiose-Reihe (β -1,4-Bindungen) sowie deren 1-(*m*-Nitro-

phenyl)-flavazol-, 1-(*m*-Aminophenyl)-flavazol-, und 1-(*m*-Hydroxyphenyl)-flavazol-Derivaten wurden die R_F -Werte unter verschiedenen Bedingungen ermittelt. Wie aus graphischen Darstellungen hervorgeht, zeigen die aus den R_F -Werten berechneten R_M -Werte in allen Fällen eine lineare Abhängigkeit vom Polymerisationsgrad der Zucker bzw. des Zuckerrestes bei den Flavazol-Derivaten. Die individuellen Werte für ΔR_M pro Glucoseeinheit und die Durchschnittswerte für ΔR_M der einzelnen Zucker-Reihen und homologen Reihen der Zucker-Flavazol-Derivate wurden bestimmt.

LITERATUR

- 1 A. J. P. MARTIN, *Biochem. Soc. Symp.*, Cambridge University Press, London, 1949, Ch. 3, p. 4.
- 2 F. SANGER, *Advan. Protein Chem.*, 7 (1952) 1.
- 3 A. B. PARDEE, *J. Biol. Chem.*, 190 (1951) 757.
- 4 E. LEDERER UND M. LEDERER, *Chromatography — A Review of Principles and Applications*, 2nd Ed., Elsevier, Amsterdam, 1957.
- 5 E. C. BATE-SMITH UND R. G. WESTALL, *Biochim. Biophys. Acta*, 4 (1950) 427.
- 6 W. J. WHELAN, J. M. BAILEY UND P. J. P. ROBERTS, *J. Chem. Soc.*, (1953) 1293.
- 7 D. FRENCH, *Advan. Carbohydr. Chem.*, 9 (1955) 149.
- 8 J. A. THOMA UND D. FRENCH, *Anal. Chem.*, 29 (1957) 1645.
- 9 G. N. KOWKABANY, *Advan. Carbohydr. Chem.*, 9 (1955) 303.
- 10 K. HIMMELSPACH, O. WESTPHAL UND B. TEICHMANN, *Eur. J. Immunol.*, 1 (1971) 106.
- 11 B. TEICHMANN, in Vorbereitung.
- 12 H. OHLE UND G. A. MELKONIAN, *Ber. Deut. Chem. Ges.*, 74 (1941) 398.
- 13 P. M. TAYLOR UND W. J. WHELAN, in B. B. BROWN (Editor), *Biochemical Preparations*, Wiley, New York, 1963, Ch. 10, p. 86.
- 14 B. TEICHMANN, K. HIMMELSPACH UND O. WESTPHAL, *J. Prakt. Chem.*, 313 (1971) 861.
- 15 D. FRENCH, J. F. ROBYT, M. WEINTRAUB UND P. KNOCK, *J. Chromatogr.*, 24 (1966) 68.
- 16 G. L. MILLER, J. DEAN UND R. BLUM, *Arch. Biochem. Biophys.*, 91 (1960) 21.
- 17 G. L. MILLER, in R. L. WHISTLER UND M. L. WOLGROM (Editors), *Methods in Carbohydrate Chemistry*, Academic Press, 1963, New York, Ch. 3, p. 134.
- 18 B. TEICHMANN, K. HIMMELSPACH UND O. WESTPHAL, *J. Prakt. Chem.*, 313 (1971) 940.
- 19 H. OHLE UND M. HIELSCHER, *Ber. Deut. Chem. Ges.*, 74 (1941) 18.
- 20 H. OHLE UND G. A. MELKONIAN, *Ber. Deut. Chem. Ges.*, 74 (1941) 278.
- 21 H. OHLE UND R. LIEBIG, *Ber. Deut. Chem. Ges.*, 75 (1942) 1536.
- 22 H. OHLE UND A. ILTGEN, *Ber. Deut. Chem. Ges.*, 76 (1943) 1.
- 23 H. OHLE UND J. KRUYFF, *Ber. Deut. Chem. Ges.*, 77 (1944) 507.
- 24 B. TEICHMANN, K. HIMMELSPACH UND O. WESTPHAL, *Z. Chem.*, 11 (1971) 380.
- 25 B. TEICHMANN, K. HIMMELSPACH UND O. WESTPHAL, in Vorbereitung.
- 26 W. E. TREVELYAN, D. E. PROCTER UND J. S. HARRISON, *Nature*, 166 (1950) 444.

J. Chromatogr., 70 (1972) 99-108