

*3-Phenyl-4,7-dihydroxy-cumarin* C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>

6 g (1 Mol) Phenylmalonsäure-äthylester und 3 g (1,1 Mol) Resorcin werden zusammen in einem mit einem 100 cm langen Glasrohr versehenen Kolben während 3 Stdn. auf 250° erhitzt. Die Kondensation verläuft in diesem Falle besonders gut und es ist nicht notwendig, den Alkohol stets abzudestillieren. Deshalb kann man auch die *Gadaskin*-Kolonnen durch ein gewöhnliches Glasrohr, das zur Kondensation der Esterdämpfe ausreicht, ersetzen. Ausbeute 77%; Schmp. 285°.

C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>. Ber. C 70,86, H 3,96. Gef. C 70,69, H 3,98.

UV-Spektrum: Max. bei 321 m $\mu$ .

Die Identität der in diesem Versuchsteil beschriebenen Körper wurde durch Vergleich (Mischschmp. und UV-Spektrum) mit Versuchsproben von nach bekannten Methoden hergestellten Substanzen geprüft. Weitere Einzelheiten über die Herstellung und Eigenschaften dieser und anderer 4-Hydroxycumarine befinden sich in der Doktorarbeit des einen von uns<sup>5</sup>.

## Über die Isolierung von Rohrzucker (Saccharose) aus Inulin

VI. kurze Mitteilung: Über Inhaltsstoffe der Zichorie

Von

K. Holzer, H. Wittmann-Zinke und A. Zinke

Aus dem Institut für Organische und Pharmazeutische Chemie der Universität Graz

Mit 2 Abbildungen

(Eingegangen am 28. Februar 1957)

In der vorhergehenden Mitteilung<sup>1</sup> konnten wir zeigen, daß die in Inulinhydrolysaten stets auffindbare Glukose nicht aus einer Verunreinigung des Inulins bzw. aus epimerisierter Fruktose stammen kann, sondern im Molekül glykosidisch eingebaut ist. Einen weiteren Beweis für diese Annahme können wir jetzt durch die Isolierung eines einwandfrei als Rohrzucker erkannten Oligosaccharides aus dem in einem Inulin-Teilhdrolysat auftretenden Kohlehydratgemenge erbringen.

*Pazur* und *Gordon*<sup>2</sup> gelang auf papierchromatographischem Wege erstmalig die präparative Isolierung eines Zwischenproduktes des hydrolytischen Inulinabbaues, das nach ihren Angaben ein nur aus Fruktose-resten aufgebautes Disaccharid ist und das sie als Inulobiose bezeichnen. *Schlubach* und *Scheffler*<sup>3</sup> gewannen dieses Disaccharid durch Fraktionierung auf Kohle-Celite-Säulen in Mengen von mehreren Grammen und bewiesen die von *Pazur* und *Gordon* angenommene Konstitution einer

<sup>1</sup> K. Holzer, H. Wittmann-Zinke und A. Zinke, Mh. Chem. 88, 11 (1957).

<sup>2</sup> J. H. Pazur und A. L. Gordon, J. Amer. Chem. Soc. 75, 3458 (1953).

<sup>3</sup> H. H. Schlubach und A. Scheffler, Ann. Chem. 188, 192 (1954).

1-( $\beta$ -D-Frukto-furanosyl)-D-fruktose mit Hilfe der Methylierungsmethode. Die Substanzen beider Autoren<sup>2, 3</sup> erwiesen sich papierchromatographisch als einheitlich und besaßen denselben  $R_f$ -Wert. *Schlubach* fand jedoch für seine Verbindung und ihr Acetylderivat wesentlich negativere Drehwerte als *Pazur* und *Gordon* für die Inulobiose und deren Acetat und vermutete in dem Präparat dieser Autoren inaktive oder positiv drehende Begleitstoffe.

In der Annahme, daß die im Inulinmolekül gebundene Glukose bei dessen partieller Hydrolyse in einem Oligosaccharid auffindbar sein sollte, arbeiteten wir die mittels des Verfahrens von *Whistler* und *Durso*<sup>4</sup> durch selektive Desorption aus Kohlesäulen durchgeführten Versuche von *Schlubach* und *Scheffler* nach, um auch die Fraktionen zu untersuchen, die auf die Inulobiose mit 15%igem Alkohol als Elutionsmittel folgen. Hierbei stellten wir fest, daß unmittelbar nach dem Auslaufen der Inulobiose noch mit 5%igem Alkohol als Elutionsmittel der Drehwert schwach positive Werte annimmt (Abb. 1). Bei der Reinigung dieser positiven Fraktionen durch nochmalige Fraktionierung an der Kohlesäule stieg der Drehwert stark ins Positive an (Abb. 2). Aus dem Rückstand der schonend eingedampften positiven Fraktionen kristallisierte nach dem Lösen in heißem Alkohol die Saccharose in einer Ausbeute von 1,2% des eingesetzten Inulins.

Die Identität mit Rohrzucker (Saccharose) ergab sich aus folgenden Eigenschaften der Substanz: *Fehlingsche* Lösung wird von ihr auch in der Siedehitze nicht reduziert. Der Schmp. lag bei 180 bis 183° und der Mischschmp. mit käuflicher Saccharose ergab keine Depression. Der Drehwert betrug  $[\alpha]_D^{24} = +65,2^\circ$  (Wasser,  $c = 3,5$ ) vor und  $[\alpha]_D^{24} = -19,8^\circ$  (Wasser,  $c = 3,4$ ) nach der Hydrolyse. Die kristallisierte Acetylverbindung zeigte  $[\alpha]_D^{22} = +59,5^\circ$  (Chloroform,  $c = 2,2$ ); ihr Schmp. lag bei 87° und der Mischschmp. mit Octaacetylsaccharose aus käuflichem Rohrzucker ergab keine Depression. Am Papierchromatogramm besitzt die Verbindung denselben  $R_f$ -Wert wie Rohrzucker und ihr Hydrolysat zeigt nur Glukose- und Fruktoseflecke in gleicher Stärke.

Diesem Befund zufolge kann die schon seit langer Zeit immer wieder vermutete Rohrzuckerstruktur der Glukose-Fruktose-Bindung im Inulinmolekül als gesichert angesehen werden. Unsere in der vorhergehenden Mitteilung<sup>1</sup> vorgeschlagene Struktur einer Glukopyranose-fruktofuranosedianhydrid-Bindung im Inulinmolekül wird dadurch hinfällig. Doch spricht das Ergebnis, daß bei der Hydrolyse von Trimethylinulin nur Trimethylglukose<sup>1</sup> gefunden wird, dafür, daß der Glukopyranoseteil des Rohrzuckers nicht das Endglied der Kette sein kann, wenn man eine unvollständige Methylierung oder eine bei der Säurehydrolyse leicht abspaltbare Methoxygruppe ausschließt.

<sup>4</sup> R. L. *Whistler* und D. F. *Durso*, J. Amer. Chem. Soc. **72**, 677 (1950).

Für die ebenfalls isolierte amorphe *Fehlingsche* Lösung stark reduzierende Inulobiose fanden wir in guter Übereinstimmung mit *Schlubach*<sup>3</sup>  $[\alpha]_D^{24} = -71^\circ - 71,5^\circ$  (Wasser,  $c = 2,9$ ). Das nur sehr schwach drehende, amorphe Acetylderivat hatte jedoch mit  $[\alpha]_D^{22} = -1,4^\circ$  (Chloroform,  $c = 1,8$ ) einen um eine Zehnerpotenz geringeren Drehwert. Die Einheit-

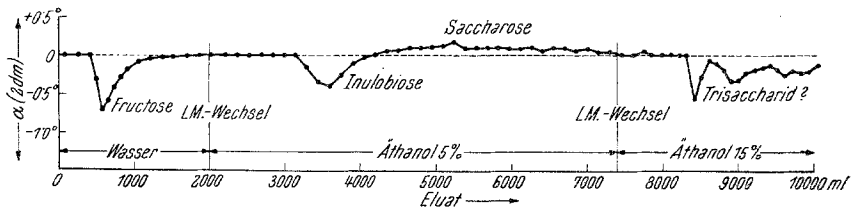


Abb. 1. Gewinnung der Fraktionen. Die Drehwerte der Fructose (bis 2000 ml) sind der Übersichtlichkeit wegen auf  $\frac{1}{10}$  ihres wirklichen Wertes verkleinert

lichkeit der Inulobiose kann jedoch auf papierchromatographischem Wege nicht überprüft werden, da ihre Untersuchung in 3 verschiedenen Lösungsmittelgemischen (Butanol-Äthanol-Wasser, Butanol-Pyridin-Wasser und Phenol-Wasser) ergab, daß sie stets denselben  $R_f$ -Wert wie

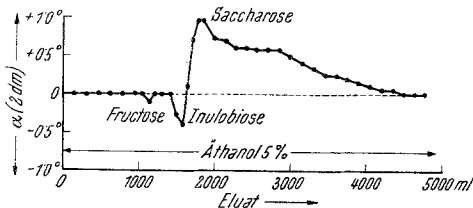


Abb. 2. Reinigung der positiven Fraktionen

Rohrzucker hat. Von diesem Gesichtspunkt aus wird auch die Diskrepanz zwischen den Drehwerten der von *Pazur* und *Gordon* einerseits und von *Schlubach* und *Scheffler* andererseits isolierten Verbindung verständlich: *Pazur* und *Gordon*, die papierchromatographisch arbeiteten, erhielten wahrscheinlich eine scheinbar einheitliche Inulobiose, die jedoch in Wirklichkeit Saccharose enthielt. Dasselbe Gemisch dürfte auch *G. Schmerlaib*<sup>5</sup> erhalten haben, als er durch präparative Säulenchromatographie auf Zellulosepulver einige Milligramm einer nicht kristallisierbaren Substanz mit dem  $R_f$ -Wert des Rohrzuckers isolierte und ihren Glukosegehalt nach der Hydrolyse erkannte.

Wir versuchen, auch die höheren, aus der Kohlesäule mit 15%igem Alkohol eluierbaren Oligosaccharide (Abb. 1) zu isolieren und ihre Natur aufzuklären.

### Experimenteller Teil

*Gewinnung der Fraktionen:* Von je 30 g Inulin puriss. der *Laevosungesellschaft*, Linz a./D., wurden nach den Angaben von *Schlubach* und *Scheffler*<sup>3</sup>

<sup>5</sup> *G. Schmerlaib*, Dissertation Univ. Graz (1954).

Teilhydrolysate an Carboraffin-Celite-Säulen mit Wasser, 5%igem und 15%igem Alkohol chromatographiert und die Eluate mittels eines stündlich transportierenden Fraktionsschneiders aufgefangen. Das Trennungsergebnis zeigt Abb. 1. Die mit 15%igem Alkohol erhältlichen Fraktionen werden derzeit untersucht.

*Reinigung der Fraktionen und Isolierung der Saccharose:* Die mit 5%igem Alkohol erhaltenen positiv drehenden Fraktionen von 11 Ansätzen (330 g lufttrockenes Inulin) wurden ebenso wie die die Inulobiose enthaltenden Fraktionen noch einmal an einer Kohle-Celite-Säule chromatographiert. Abb. 2 zeigt, daß in der positiven Fraktion nur Spuren von Fruktose, jedoch noch relativ viel Inulobiose vorhanden war. Die vereinigten, stark positiv drehenden Fraktionen wurden im Vak. bei 20 bis 30° schonend zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wog 7,6 g; er wurde in zirka 50 ml Alkohol heiß gelöst und filtriert. Beim Erkalten kristallisierten 3,6 g Saccharose aus, was einer Ausbeute von 1,2% des eingesetzten Inulins entspricht. Die Identitätsprüfung wurde bereits im theoretischen Teil beschrieben. Aus der alkohol. Mutterlauge konnten keine weiteren Kristallisate erhalten werden und ihre papierchromatographische Prüfung ergab, daß sie ein Gemisch von 6 verschiedenen Kohlehydraten enthält, das wir noch weiter untersuchen wollen.

Der *Laevosan-Gesellschaft* Linz (*Franck* und Dr. *Freudl*) sagen wir für die Bereitstellung der Ausgangsmaterialien und die fördernde Unterstützung herzlichen Dank.

## Veränderungen des Glucosestoffwechsels bei einem durch Einwirkung von Acetat sporulierenden Stamm von Bäckerhefe

(Kurze Mitteilung)

Von

**J. J. Miller, Eszter Scheiber, O. Gabriel und O. Hoffmann-Ostenhof**

Aus dem Department of Biology, Hamilton College, McMaster University, Hamilton, Ontario, und dem I. Chemischen Institut der Universität Wien

(Eingegangen am 12. März 1957)

Nach den Untersuchungen von *Winge*<sup>1</sup> stellt die Sporulierung der Hefe die Bildung von haploiden Sporen aus diploiden vegetativen Zellen dar, das heißt, der Kern einer sporulierenden Zelle ist der Meiose unterworfen, während der Kern wachsender Zellen sich durch Mitose teilt. Beim Übergang aus dem Zustand des Wachstums in denjenigen der Sporulierung erfolgen demnach Veränderungen von großer biologischer Bedeutung. Obwohl sonst die Biochemie der Hefe schon sehr intensiv

<sup>1</sup> *Ö. Winge*, C. r. trav. lab. Carlsberg, sér. physiol. 21, 71 (1935).