

IN VIVO BIOSYNTHESIS OF GLUCOFRUCTOSANS IN AGAVE AMERICANA

K. S. NANDRA and I. S. BHATIA

Department of Biochemistry, Punjab Agricultural University, Ludhiana, India

(Received 10 August 1979)

Key Word Index—*Agave americana*; Agavaceae; glucofructosans; biosynthesis.

It has been previously [1] reported from these laboratories that under *in vitro* conditions glucofructosans containing up to 10 fructose residues ($F_{10}G$) can be synthesized by the action of fructosyl transferase from *Agave americana* on sucrose. Intermediate oligosaccharides could not serve as a substrate for this enzyme. Even though the presence of fructosyl transferase has been reported from a number of plants, e.g. *A. vera* cruz [2], *Helianthus tuberosus* [3], *Chicorium intybus* [4] and *Crinum longifolium* [5], no work, except on certain Asteraceae [6–9] appears to have been done to elucidate the role of this enzyme in the biosynthesis of glucofructosans under *in vivo* conditions. In the present paper data are presented on the *in vivo* synthesis of glucofructosans in *A. americana* by the action of fructosyl transferase on sucrose-[$U-^{14}C$].

RESULTS AND DISCUSSION

The autoradiogram of the chromatogram of stem extract showed the synthesis of 6 oligosaccharides from sucrose-[$U-^{14}C$] along with the liberation of free glucose and fructose. *A. americana*, therefore, has the capacity to synthesize oligosaccharide from sucrose, even though, due to the presence of a hydrolytic enzyme, some free fructose is also liberated. Individual oligosaccharides were eluted from the preparative chromatogram in order to study their composition and distribution of radioactivity. 20 μ l of each oligosaccharide was hydrolysed in a capillary tube. PC of the acid hydrolysates showed that these oligosaccharides are made up of glucose and fructose. Radioactivity of glucose and fructose in the hydrolysates from these oligosaccharides was determined and the ratios of fructose to glucose were calculated from these values. The ratio for oligosaccharides 1–6 was 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1 and 15:1 indicating that these oligosaccharides correspond to F_2G , F_3G , F_4G , F_5G , F_6G and $F_{15}G$, respectively (Table 1). PC and autoradiography of the hydrolysates of individual oligosaccharide by invertase also showed the presence of glucose and fructose only. It is therefore concluded that the linkage in these oligosaccharides is of the inulin type, i.e. β (2 $\rightarrow$ 1).

These results together with those obtained earlier from *in vitro* studies [1] confirm that fructosyl transferase is the only enzyme responsible for the *in vivo* biosynthesis of oligosaccharides from sucrose in *A. americana*.

The following mechanism for the *in vivo* biosynthesis of glucofructosans in *A. americana* is, therefore,

Table 1. Radioactivity of glucose and fructose in acid hydrolysates of oligosaccharides

Oligosaccharide having R_f value less than sucrose	Activity (counts/min)		Fructose/glucose ratio
	Fructose	Glucose	
1	151	72	2.09:1
2	224	80	2.80:1
3	288	75	3.84:1
4	363	67	5.19:1
5	391	62	6.31:1
6*	993	67	14.82:1

* Did not move from origin.

essentially identical to the one already proposed from the *in vitro* studies,

F-G + fructosyl transferase

$\rightarrow$ F-fructosyl transferase + G

F-fructosyl transferase + F-G

$\rightarrow$ F-F-G + fructosyl transferase

and this process is continued by stepwise transfructosylation reaction to give rise to higher glucofructosans in *A. americana*.

EXPERIMENTAL

Fresh plants of *A. americana* were collected from the forest area of Phillaur (Punjab). The outer skin of the stem and extremities were discarded. The stem was cut into strips of 5 gm each and kept in 1–7% sucrose solns. Up to 3% sucrose was hypotonic, and between 5 and 7% was hypertonic. 5% sucrose was chosen for uptake studies by the stem discs. Sucrose-[$U-^{14}C$] (5 μ Ci in 0.25 ml) was added in a cavity of about 2.5 cm dia and 1.5 cm deep made in the stem of *A. americana* (10 $\times$ 10 $\times$ 10 cm). The stem was placed in 25 ml of 5% sucrose in such a manner that the cavity remained above the level of the soln. Equilibrium was established between the radioactive sucrose in the cavity and cold sucrose in the medium. The system was incubated at 37° for 48 hr. The stem was thoroughly washed, dried and the material ground for further analysis. The carbohydrates were extracted in hot H_2O and concd to 1 ml. The procedures for qualitative chromatography, preparative chromatography, micro-elution technique, hydrolysis of oligosaccharides, autoradiography and measurement of radioactivity were as reported earlier [1].

REFERENCES

1. Bhatia, I. S. and Nandra, K. S. (1979) *Phytochemistry* **18**, 923.
2. Bhatia, I. S., Satyanarayana, M. N. and Srinivasan, M. (1955) *Biochem. J.* **61**, 171.
3. Edelman, J. and Bacon, J. S. D. (1951) *Biochem. J.* **49**, 529.
4. Singh, R. and Bhatia, I. S. (1971) *Phytochemistry* **10**, 495.
5. Bhatia, I. S., Satyanarayana, T. and Giri, K. V. (1959) *Indian Sci. Congr. Abstr. Part IV*, 155.
6. Chandorkar, K. R. and Collins, F. W. (1972) *Can. J. Botany* **50**, 295.
7. Collins, F. W. and Chandorkar, K. R. (1973) *Can. J. Botany* **51**, 1931.
8. Chandorkar, K. R. and Collins, F. W. (1974) *Can. J. Botany* **52**, 181.
9. Chandorkar, K. R. and Collins, F. W. (1974) *Can. J. Botany* **52**, 1369.

Phytochemistry, 1980, Vol. 19, pp. 966–967. © Pergamon Press Ltd. Printed in England.

0031-9422/80/0501-0966 \$02.00/0

FLÜCHTIGE INHALTSSTOFFE VON *ADOXA MOSCHATELLINA*

ERNST-JOACHIM BRUNKE und FRANZ-JOSEF HAMMERSCHMIDT

DRAGOCO GmbH, Forschungslaboratorien, D-3450 Holzminden, West Germany

(Eingegangen am 16 August 1979)

Key Word Index—*Adoxa moschatellina*; Adoxaceae; moschatel; volatile constituents of flowers.

Abstract—The flowers of *Adoxa moschatellina* contain, as volatile constituents, *trans*-2-hexenal, *cis*-3-hexenol, *trans*-2-hexenol, *n*-hexanol and benzylic alcohol. Fragrance compounds of the musk type could not be detected.

EINFÜHRUNG

Als Riechstoffe vom Moschus-Typ, die Pflanzen entstammen, sind die makrocyclischen Lactone Ambretolid (aus *Hibiscus abelmoschus* L.) und Cyclopentadecanolid (aus *Archangelica officinalis* Hoffm.) bekannt [1]. Es erscheint uns von Interesse, weitere Pflanzen auf das Vorkommen von Verbindungen mit olfaktorischen Eigenschaften vom Moschus-Typ zu überprüfen. Das von uns zunächst untersuchte Moschuskraut (*Adoxa moschatellina* L.) ist auf der nördlichen Erdhälfte zirkumpolar verbreitet, bevorzugt jedoch als subozeanische Art montane bis boreale Gebiete der meridionalen Zone. Als Frühjahrsblüher anspruchsvoller Standorte ist es Charakterart von Pflanzengesellschaften der Ordnungen Fraxinetalia (Edellaubholz-Mischwälder) und Prunetalia (Schlehen-Gebüsche) [2]. *A. moschatellina* ist ein kleines (5–15 cm) fleischiges Kraut mit grünlichen Blüten mit 4–6 spaltiger Krone, welche zu 5 bis 7 in kopfigen, endständigen Blütenständen vereinigt sind. Die Insektenbestäubung erfolgt vor allem durch Fliegen. Über die Inhaltsstoffe dieser einzigen bekannten Adoxacea ist bislang nur wenig bekannt [3]; lediglich die Polyphenole der Blätter [4] und die Iridoid-glucoside des Krautes [5] sind untersucht worden. Die vorliegende Notiz soll zur weiteren Kenntnis dieser taxonomisch schwierigen Art [3, 5] beitragen.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Nur die Blüten von frisch aufgeblühten Exemplaren verbreiten einen intensiven Geruch, der als 'aldehydisch, grün, fettig, metallisch, mit Cumin-Note' charakterisiert werden kann. Dieser starke, aber nicht angenehme, etwas an Wanzen erinnernde Geruchskomplex dürfte die Namengebung der Pflanze beeinflussen.

Die für diese Untersuchung verwendeten Blüten wurden im nördlichen Vorland des Harzes (FRG) gesammelt. Der durch Perforation des frischen, unzerkleinerten Materials gewonnene Extrakt, der auch den typischen Geruch von *A. moschatellina* aufwies, wurde mit Hilfe der Kombination Gaschromatographie/Massenspektrometrie analysiert. Anhand der Massenspektren und der Retentionszeiten wurden die in Tabelle 1 aufgeführten Verbindungen unter Bezugnahme auf authentische Proben identifiziert.

Eine dieser Tabelle folgende Mischung von Riechstoffen (1–5) ergab in Verdünnungen von mindestens 1:10³ weitgehende Übereinstimmung mit dem Geruchskomplex von *A. moschatellina*.

Die olfaktorisch interessanten Verbindungen der Tabelle 1 sind bereits mehrfach im Pflanzenreich—allerdings meistens als Bestandteile der Blätter bzw. der grünen Teile—nachgewiesen worden [6]. Ein makrocyclisches Lacton oder andere Verbindungen