

Über die equatoriale oder axiale Anknüpfung der Hydroxylgruppe bzw. der Alkoxygruppe am glycosidischen Kohlenstoffatom der  $\alpha$ - und  $\beta$ -D-Glucopyranosen und der  $\alpha$ - und  $\beta$ -D-Galactopyranosen

JAKOB BLOM

Laboratorium der Brauerei Tuborg,  
Kopenhagen, Dänemark

In sechsgliedrigen Ringsystemen, ob carbocyclisch oder heterocyclisch, sind die stabileren Strukturen als Stuhl-Konformationen aufgebaut. In einer Stuhl-Konformation können die Substituenten entweder eine axiale  $a$ - oder eine equatoriale  $e$ -Anknüpfung am Ring haben<sup>1</sup>. Die stabilere Stuhl-Konformation ist diejenige, welche die grösste Anzahl von  $e$ -Substituenten trägt. In einer Stuhl-Konformation des Cyclohexans oder des Tetrahydropyrans stehen 1-4, 2-5, 3-6, also *para* Substituenten paarweise in *cis* Stellung, wenn die Anknüpfung  $e, a$  oder  $a, e$  ist, in *trans* Stellung, wenn die Anknüpfung  $e, e$  oder  $a, a$  ist<sup>2</sup>.

I. Physikalisch - chemische Methoden

*Schmelzpunkte* (Tab. 1). Bekanntlich hat eine *trans*-Äthylenverbindung einen höheren Schmelzpunkt als die isomere *cis*-Verbindung. Erweitert man die Doppelbindung zu einem Cyclohexanring hat man dasselbe Bild. Selbst bei hexa- und penta-substituierten Cyclohexanen gilt diese Regel: Eine Verbindung mit einer höheren Anzahl von *para-trans*-Substituenten hat einen höheren Schmelzpunkt als die isomere Verbindung mit einer geringeren Anzahl. In Verbindungen mit einem Tetrahydropyranring wie Methyl- und Äthyl-Glycoside der  $\alpha$ - und  $\beta$ -D-Glucose und der  $\alpha$ - und  $\beta$ -D-Galactose gilt dieselbe Regelmässigkeit, wenn man der Alkoxygruppe in den  $\alpha$ -Derivaten eine equatoriale, in den  $\beta$ -Derivaten eine axiale Anknüpfung gibt. Alle  $\alpha$ -Methyl-Glycoside der D-Aldopyranosen haben dieselbe Konfiguration bei C<sub>1</sub>, alle  $\beta$ -Methyl-Glycoside dieselbe aber umgekehrte Konfiguration bei C<sub>1</sub><sup>3</sup>. D-Glucose und D-Galactose unterscheiden sich nur durch die  $e$ - bzw.  $a$ -Anknüpfung der Hydroxylgruppe bei C<sub>4</sub>. Diese beiden Facta bedingen, dass von den Glycosiden der D-Glucose das Glycosid mit equatoriale Alkoxygruppe den höheren Schmelz-

Tabelle 1. Schmelzpunkte.

Äthylen							Anzahl <i>trans</i>	COOH		
Fumarsäure	C=C						1	287		
Maleinsäure	C=C						0	130		
Cyclohexan	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>5</sub>	C <sub>6</sub>	Anzahl <i>para</i> <i>trans</i>	OH	Cl	COOH
Di-	$e$	C	C	$e$	C	C	1	143	309	
Di-	$a$	C	C	$e$	C	C	0	112	171	
<i>Scyllo</i> -Inositol	$e$	$e$	$e$	$e$	$e$	$e$	3	352	300	
<i>Neo</i> -	$a$	$e$	$e$	$a$	$e$	$e$	3	315	217	
<i>Myo</i> -	$a$	$e$	$e$	$e$	$e$	$e$	2	227	137	
Deoxy- <i>scyllo</i> -I	$e$	$e$	$e$	$e$	$e$	C	2	235		
Deoxy- <i>myo</i> -I	$a$	$e$	$e$	$e$	$e$	C	1	181		
Tetrahydropyran	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>5</sub>	O	—CH <sub>3</sub> —C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>			
D-Glucose- $\alpha$	$e$	$e$	$e$	$e$	$e$	O	2	166	114	
D-Glucose- $\beta$	$a$	$e$	$e$	$e$	$e$	O	1	105	90	
D-Galactose- $\beta$	$a$	$e$	$e$	$a$	$e$	O	2	178	161	
D-Galactose- $\alpha$	$e$	$e$	$e$	$a$	$e$	O	1	116	141	

Tabelle 2.  $[M]_D$ .

Cyclohexan		C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>5</sub>	C <sub>6</sub>	$[M]_D$
<i>Myo</i> -Inositol		a	e	e	e	e	e	0
<i>Myo</i> -2-deoxy-Inositol		a	C	e	e	e	e	- 81
<i>l</i> -Inositol		a	a	e	e	e	e	-117
Tetrahydropyran		C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>5</sub>	O	
D-Glucose	$\alpha$ -CH <sub>3</sub>	a	e	e	e	e	O	+309
D-Glucose-2-deoxy	$\alpha$ -CH <sub>3</sub>	a	C	e	e	e	O	+246
D-Mannose	$\alpha$ -CH <sub>3</sub>	a	a	e	e	e	O	+154
D-Glucose	$\beta$ -CH <sub>3</sub>	$\beta$	e	e	e	e	O	- 66
D-Glucose-2-deoxy	$\beta$ -CH <sub>3</sub>	$\beta$	C	e	e	e	O	- 86
D-Mannose	$\beta$ -CH <sub>3</sub>	$\beta$	a	e	e	e	O	-136
D-Galactose	$\alpha$ -CH <sub>3</sub>	a	e	e	a	e	O	+381
D-Galactose-2-deoxy	$\alpha$ -CH <sub>3</sub>	a	C	e	a	e	O	+303
D-Galactose	$\beta$ -CH <sub>3</sub>	$\beta$	e	e	a	e	O	0
D-Galactose-2-deoxy	$\beta$ -CH <sub>3</sub>	$\beta$	C	e	a	e	O	0
D-Glucose	$\alpha$	e	e	e	e	e	O	+202
D-Glucose-1-deoxy		C	e	e	e	e	O	+ 70
D-Glucose	$\beta$	a	e	e	e	e	O	+ 34
D-Galactose	$\alpha$	e	e	e	a	e	O	+272
D-Galactose-1-deoxy		C	e	e	a	e	O	+126
D-Galactose	$\beta$	a	e	e	a	e	O	+ 95

punkt haben muss, während von den Glycosiden der D-Galactose das Glycosid mit axialer Alkoxygruppe diese Position einnimmt.

*Molekulare Drehung,  $[M]_D$ .* (Tab. 2). Ersetzt man in der Ring-Methylen-Gruppe, von Monodeoxy-*Myo*inositol oder von 2-Deoxy-Glycosiden<sup>4</sup> von D-Glucose und D-Galactose ein Wasserstoffatom mit einer Hydroxylgruppe so steigt  $[M]_D$  bei Einführung einer e-Hydroxylgruppe und fällt bei Einführung einer a-Hydroxylgruppe. Dieser Schluss lässt sich ziehen, da die e- bzw. die a-Anknüpfung der Hydroxylgruppe bei C<sub>2</sub> in den gebildeten Inositolen und Zuckerderivaten bekannt ist. Um ein entsprechendes Steigen oder Fallen von  $[M]_D$  bei Einführung einer Hydroxylgruppe in der Ring-Methylengruppe von 1-Deoxy-D-Glucose und 1-Deoxy-D-Galactose zu erreichen, muss in der  $\alpha$ -D-Glucose und in der  $\alpha$ -D-Galactose die Hydroxylgruppe bei C<sub>1</sub> equatorial, in der  $\beta$ -D-Glucose und in der  $\beta$ -D-Galactose axial gebunden sein.

## II. Biochemische und chemische Methoden

*Oxydation.* Bei der chemischen Oxydation einer sekundären Alkoholgruppe in ei-

nem Cyclohexan-Ringsystem werden Verbindungen, welche eine a-Hydroxylgruppe tragen, schneller oxydiert als ihre Epimere, welche eine e-Hydroxylgruppe tragen<sup>5</sup>. Man ist der Ansicht, dass dieses Faktum darauf beruht, dass ein e-Wasserstoffatom sterisch leichter zugänglich ist als ein a-Wasserstoffatom. Bei der Oxydation von Inositolen und Monodeoxy-Inositolen durch *Acetobacter suboxydans* hat man gewisse Relationen zwischen Oxydabilität und Konstitution ableiten können<sup>6</sup>. In diesem Zusammenhang ist der wichtigste Punkt, dass in der vorgezogenen Konformation nur sekundäre Alkoholgruppen mit einer a-Hydroxylgruppe oxydiert werden. Durch Sauerstoff und Platinoxid wird in *Myo*inositol dieselbe sekundäre Alkoholgruppe oxydiert als durch *Acetobacter suboxydans*.

Glucoseoxydase<sup>7</sup> ist ein spezifisch wirkendes Enzym, es oxydiert  $\alpha$ -D-Glucose zu D-Glucono- $\delta$ -Lacton, während es  $\alpha$ -D-Glucose kaum angreift<sup>8</sup>. Die Oxydation von D-Aldohexosen durch Bromwasser zu  $\delta$ -Lactonen, verläuft bei den  $\beta$ -Anomeren weit schneller als bei den  $\alpha$ -Anomeren<sup>9</sup>.  $\beta$ -Methylglycoside werden bei C<sub>1</sub> durch Chlorwasser oxydiert,  $\alpha$ -Methylglycoside langsam oder nicht<sup>10</sup>.

Wenn es die leichtere Zugänglichkeit eines e-Wasserstoffatoms ist, welche die Oxydationsgeschwindigkeit von Derivaten von sowohl *Cyclohexan* als von *Tetrahydropyran* bestimmt, müssen  $\beta$ -Verbindungen der Zucker am glycosidischen Kohlenstoffatom ein e-Wasserstoffatom tragen, da  $\beta$ -Verbindungen ja weit schneller oxydiert werden als die anomeren  $\alpha$ -Verbindungen.  $\beta$ -D-Glucose und  $\beta$ -Methylglucosid haben demnach eine axiale Hydroxylgruppe oder Methoxylgruppe bei C<sub>1</sub>.

*Hydrolyse von 1,2-Anhydro-D-Glucose.* 1,2-Anhydro-D-Glucose-3,4,6-triacetat wird Brigl-Anhydrid<sup>11</sup> genannt. Es enthält einen Äthylenoxyd- oder Epoxyd-Ring. Sowohl in *Cyclohexan*- als in *Tetrahydropyran*-systemen haben Epoxydringe einen  $\alpha$ - und einen e-Brückenkopf. 1,2-Anhydro-D-Glucose hat bei C<sub>2</sub> einen e-Brückenkopf und muss daher bei C<sub>1</sub> einen  $\alpha$ -Brückenkopf haben. Bei lang andauerndem Erhitzen (16–104 St.) auf 100° oder 120° addiert das Brigl-Anhydrid verschiedene Verbindungen unter Bildung von  $\alpha$ -Glucosiden (*Maltose*,  $\alpha$ , $\alpha$ -*Trehalose*, *Saccharose*). Die Ausbeute ist meistens nur gering. Das Brigl-Anhydrid addiert Alkohole mit ausserordentlicher Leichtigkeit. Die Reaktionsprodukte sind sterisch einheitliche  $\beta$ -D-Glucoside. Aus dem Brigl-Anhydrid werden also einerseits  $\alpha$ -Glucoside andererseits  $\beta$ -Glucoside gebildet. Eine der Reaktionen muss unter Umlagerung verlaufen; die Frage ist: Welche? Die Umsetzung mit *Carbinol* verläuft schon bei Zimmertemperatur in wenigen Stunden quantitativ<sup>12</sup>. Unter diesen milden Bedingungen erscheint eine Umlagerung unwahrscheinlich. Es gibt nur eine plausible Erklärung:  $\beta$ -Methyl-D-Glucosid wird ohne Umlagerung gebildet; es hat eine axiale Methoxylgruppe.

Das *Resultat* dieser Untersuchungen steht im Widerspruch mit der heutigen Anschauung. Auf Grund der Übereinstimmung der Ergebnisse mehrerer von einander unabhängigen Methoden möchte ich schon jetzt die *Resultate* meiner Untersuchungen als "kurze Mitteilung" veröffentlichen. Ein ausführlicher Bericht wird in *Acta Chem. Scand.* erscheinen.

1. Hassel, O. *Tidsskr. Kjemii, Bergvesen, Met.* **3** (1943) 32.
2. Hassel, O. und Ottar, B. *Acta Chem. Scand.* **1** (1947) 929.
3. Jackson, E. L. und Hudson, C. S. *J. Am. Chem. Soc.* **59** (1937) 994.

4. Overend, W. G. und Stacey, M. *Advances in Carbohydrate Chem.* **8** (1953) 94.
5. Barton, D. H. R. *J. Chem. Soc.* **1953** 1035.
6. Magasanik, B., Franzl, R. E. und Chargaff, E. *J. Am. Chem. Soc.* **74** (1952) 2618.
7. Müller, D. *Biochem. Z.* **199** (1928) 136.
8. Keilin, D. und Hartree, E. F. *Biochem. J.* **50** (1952) 331.
9. Isbell, H. S. und Pigman, W. W. *J. Research Natl. Bur. Standards* **18** (1937) 141.
10. Dyfverman, A., Lindberg, B. und Wood, D. *Acta Chem. Scand.* **5** (1951) 253; Lindberg, B. und Wood, D. *Ibid.* **6** (1952) 791.
11. Brigl, P. *Z. physiol. Chem. Hoppe-Seyler* **122** (1922) 245.
12. Hardegger, E. und de Pascual, J. *Helv. Chim. Acta* **47** (1948) 281.

Eingegangen am 21. Januar 1959.

## Column Electrophoresis of Nucleotides from Ribonucleic Acid of Brain Microsomes

NORA FRONTALI\*

*Institute of Biochemistry, University of Uppsala, Sweden*

**A**nalysis of the nucleotide composition of ribonucleic acids (RNA) is usually accomplished by ion exchange chromatography or by paper electrophoresis. This latter technique is extremely simple and quick, but it allows the handling of only limited amounts of material. In the present work column electrophoresis has been used, and has proved a good tool for this purpose. It has been employed for analysing the nucleotide composition of RNA from brain microsomes, which are similar to liver and pancreas microsomes in showing a high content of RNA<sup>1</sup>.

The separations were performed on a cellulose powder column according to Porath<sup>2</sup>, and with elution beginning before the end of the electrophoretic run for better resolution<sup>3</sup>. Samples of hydrolysates from about 6 mg RNA were handled in the present experiments, but at least four times higher amounts can be as well separated on the same column (2 cm diameter, 70 cm length). Microsomes were prepared by

\* Permanent adress: Istituto Superiore di Sanità, Rome.