

this work. Thanks are also due to the Council of Scientific and Industrial Research, Government of India, for financing this work and to Mr. B. BHATTACHARYYA of this Department for microanalyses.

Department of Applied Chemistry, University Colleges of Science and Technology, Calcutta-9, India

P. ROY-BURMAN, DOLLY ROY and D. SEN

Eingegangen am 26. August 1960

¹⁾ HITCHINGS, G. H., E. A. FALCO, H. VANDERWERFF, P. B. RUSSELL and G. B. ELION: J. Biol. Chem. 199, 43 (1952). — ²⁾ ROSE, F. L.: J. Chem. Soc. [London] 2770 (1951). — ³⁾ GHOSH, S., D. ROY and B. C. GUHA: Nature [London] 182, 187 (1958). — ⁴⁾ ROY, D., S. GHOSH and B. C. GUHA: Naturwissenschaften 45, 392 (1958).

Nachweis der Bildung von Hydroxy-p-benzochinon als Zwischenprodukt bei der Autoxydation von Hydrochinon in schwach alkalischer Lösung

Nach ELLER¹⁾ bzw. JAMES, SNELL und WEISSBERGER²⁾ verläuft die Autoxydation von Hydrochinon in alkalischer Lösung über p-Benzochinon und Hydroxy-p-benzochinon. SCHEFFER, ZIECHMANN und SCHMIDT³⁾ schreiben die zu Anfang der Reaktion in schwach alkalischer Lösung auftretende Rotfärbung einem hypothetischen Radikal zu, dessen Polymerisation zu den Huminsäuren führen soll. Ein exakter Beweis ist weder für die eine noch für die andere Auf-

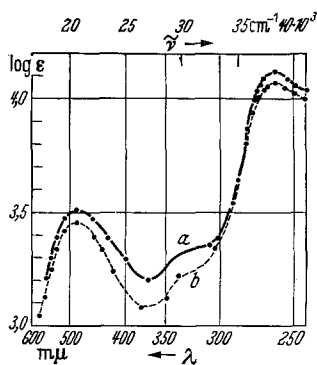


Fig. 1. Spektren von Hydroxy-p-benzochinon (a) und der aufgearbeiteten Autoxydationslösung von Hydrochinon (b) in 1 m wäßriger Natriumbicarbonatlösung

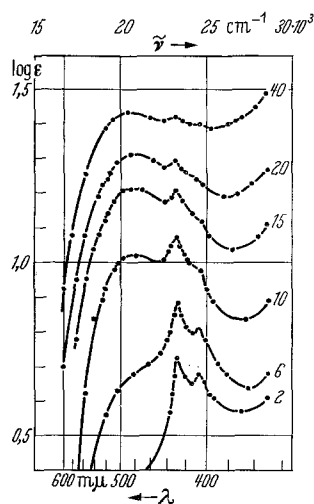


Fig. 2. Absorptionskurven einer 2, 6, 10, 15, 20 und 40 min mit Sauerstoff geschüttelten 0,1 m Hydrochinonlösung in 1 m wäßriger Natriumacetatlösung. Die Zahlen geben die Minuten an

fassung bisher erbracht worden. Hydroxy-p-benzochinon, das sich in wäßriger Lösung in verschiedenen Richtungen rasch verändert, konnte aus der Reaktionslösung noch nicht isoliert werden. Es läßt sich jedoch spektrographisch zeigen, daß Hydroxy-p-benzochinon bei dieser Reaktion gebildet wird und die zu Anfang auftretende Rotfärbung bedingt. Das Absorptionsspektrum von Hydroxy-p-benzochinon im Bereich von 220 bis 700 mμ zeigt in wäßriger Natriumacetat- oder Natriumbicarbonatlösung Maxima bei 261 und 488 mμ (Fig. 1). Die Schulter bei 320 bis 325 mμ gehört bereits zu einem Umwandlungsprodukt, wie die Veränderung des Spektrums mit der Zeit zeigt.

Im kurzwelligen Bereich läßt sich Hydroxy-p-benzochinon unter den in der Reaktionslösung vorliegenden Konzentrationsbedingungen neben Hydrochinon und p-Benzochinon wegen der Überlagerung der Banden nicht eindeutig nachweisen. Die langwellige Bande von Hydroxy-p-benzochinon (488 mμ) wird jedoch kaum durch Hydrochinon und p-Benzochinon überdeckt. Hydrochinon besitzt keine Absorption in diesem Gebiet. Die langwellige, dritte Bande des Spektrums von p-Benzochinon zeigt unter den vorliegenden Bedingungen (im Gemisch mit Hydrochinon in 1 m Natriumacetatlösung) 2 Maxima (407 und 429 mμ).

Fig. 2 zeigt die Änderung des Spektrums einer mit Sauerstoff geschüttelten 0,1 m Lösung von Hydrochinon in 1 m wäßriger Natriumacetat im Bereich von 350 bis 600 mμ. Zu Anfang erscheinen die Banden von p-Benzochinon, dann bildet sich das breite Maximum von Hydroxy-p-benzochinon bei 488 mμ aus. Im weiteren Verlauf der Oxydation wird die Absorption zunehmend uncharakteristisch.

Das bei der Autoxydation in 0,5 m Natriumbicarbonatlösung gebildete Hydroxy-p-benzochinon läßt sich vom überschüssigen Hydrochinon und gleichzeitig gebildeten p-Benzochinon durch Ätherextraktion der angesäuerten Reaktionslösung, durch Aufnehmen in Natriumacetatlösung und durch mehrfache Wiederholung dieser Operation abtrennen. Anschließend wird die Fraktion wieder in 0,5 m Natriumbicarbonatlösung aufgenommen. Das Spektrum dieser Lösung ist mit demjenigen von Hydroxy-p-benzochinon identisch (Fig. 1). Auf die Bedeutung dieses Befundes für die Vorstellungen über die Bildung von Huminsäuren aus Polyphenolen wird an anderer Stelle eingegangen.

Institut für Biochemie des Bodens der Forschungsanstalt für Landwirtschaft, Braunschweig-Völkenrode.

W. FLAIG und J. CHR. SALFELD

Eingegangen am 8. August 1960

¹⁾ ELLER, W.: Liebigs Ann. Chem. 431, 133 (1923). — ²⁾ JAMES, T. H., S. M. SNELL u. A. WEISSBERGER: J. Amer. Chem. Soc. 60, 2084 (1938). — ³⁾ SCHEFFER, F., W. ZIECHMANN u. S. SCHMIDT: Z. Pflanzenernähr., Düng. Bodenkunde 80, 127 (1958).

Darstellung von Oligosacchariden des Glucosamins und Acetylglucosamins und deren Spaltung durch Lysozym

Für das Ferment Lysozym gab es bisher kein Substrat bekannter Konstitution. Da Chitin durch Lysozym — zu nicht identifizierten Produkten — abgebaut wird¹⁾, wurden Oligomere des wichtigsten Grundbausteins des Chitins, also des N-Acetylglucosamins und außerdem des Glucosamins hergestellt und als Substrate untersucht²⁾. [Ansatz: Substrat 0,5%; Lysozym 0,15%; NaCl 0,015%; Phosphat-Puffer (pH=7,0) 5 mm]. Die Tri- und Pentamere des Acetylglucosamins lassen sich durch Lysozym gut spalten. Als Produkte wurden hauptsächlich Acetylglucosamin, daneben in geringerer Menge dessen Dimere, beim Pentasaccharid außerdem das Trimere nachgewiesen. Das Pentamere des Glucosamins zeigte wesentlich geringere Spaltbarkeit. Hier wurde Glucosamin und dessen

Tabelle

Substanz	nicht acetyliert (Hydrochloride)				NH ₂ - Gruppen acetyliert
	Aus- beute (mg)	Cl-Gehalt (%)		³ R _{GA}	
		ber.	gef.		³ R _{AcGA}
Chitobiose . .	1151	17,2	16,9	0,42—0,46	0,63—0,65
Chitotriose . .	735	17,4	17,0	0,18—0,21	0,43—0,45
Chitotetraose .	482	17,5	17,2	0,08—0,11	0,27
Chitopentaose .	153	17,6	16,9	0,05—0,06	0,22

Di- und Trimeres gefunden, beim Tetrameren nur unsicher Glucosamin und dessen Dimere. Nach diesen Versuchen wirkt Lysozym auf Poly-N-acetylglucosamin als β-Glucosidase.

Oligosaccharide des D-Glucosamins wurden bisher nur als Gemisch der Oligomeren³⁾ oder als Lösung⁴⁾ beschrieben. Es konnten jetzt einzelne Oligosaccharide dargestellt werden. Dazu wurde Chitin aus Hummerschalen isoliert⁵⁾ und durch Erhitzen mit festem KOH unter N₂ zu Chitosan entacetyliert und depolymerisiert³⁾. Dieses ergab nach Hydrolyse mit verdünnter HCl³⁾ eine Lösung von Oligomeren. Sie wurde mit Di-n-octyl-methyl-amin entsäuert, im Vakuum eingengt und gefriergetrocknet. 10 g des Gemisches der Aminosaccharide wurden an einer Säule von Dowex 50 durch Gradienten-Elution mit 0,1 n- bis 4,15 n- HCl getrennt⁴⁾. Die einzelnen peaks wurden mit der Anthron-Methode ermittelt. Die entsprechenden Fraktionen wurden mit Di-n-octyl-methyl-amin entsäuert, im Vakuum eingengt und gefriergetrocknet. Es hinterblieben ganz schwach gelbe bis weiße Substanzen. Der Cl-Gehalt dieser Hydrochloride der Oligomeren des Glucosamins wurde potentiometrisch in jeweils etwa 1 mg Substanz bestimmt. Die Oligomeren konnten mit dem Gemisch Pyridin: n-Pentanol: Wasser = 8:8:7 durch aufsteigende Dreifachchromatographie getrennt werden. Anfärbung erfolgte mit Ninhydrin oder alkalischem ammoniakalischem AgNO₃. ³R_x-Werte (= R_x-Werte nach dreimaligem Laufen), bezogen auf Glucosamin (GA) = 1 (Tabelle). — Durch Acetylieren mit Acetanhydrid⁶⁾ wurden die oligomeren Glucosamine in die bereits bekannten³⁾ N-Acetyl-Derivate überführt. Sie waren chromatographisch rein. ³R_x-Werte in dem o.a. Gemisch, bezogen auf Acetylglucosamin (AcGA) = 1 (Tabelle).