

DIE HEMICELULOSEN VON *CORDYLINE INDIVISA*

ROBERT SIEBER

Institut für Botanische Biologie und Phytochemie der Universität Fribourg, Fribourg, Schweiz

(Eingegangen 12 November 1971)

Zusammenfassung—Aus dem 'Holz' des tropischen Liliaceenbaums *Cordyline indivisa* (Steud.) wurden ein 4-*O*-Methylglucuronoxylan und in sehr geringen Mengen ein Glucomannan isoliert. Die Hydrolyse des methylierten und mit LiAlH_4 reduzierten Xylans ergab 2,3,4-Tri-, 2,3-Di- und 3-Mono-*O*-methyl-D-xylose sowie 2,3,4-Tri-*O*-methyl-D-glucose im Verhältnis von 1:102,3:8,4:8,4. Im Partialhydrolysat des Xylans wurden D-Xylose, eine homologe Reihe von $\beta(1 \rightarrow 4)$ -verknüpften Oligosacchariden, nämlich Xylobiose, -triose, -tetraose, -pentaose und -hexaose sowie 2-*O*-(4-*O*-Methyl- α -D-glucopyranosyluronsäure)-D-xylose nachgewiesen. Der Polymerisationsgrad beträgt nach osmometrischen Messungen am acetylierten Xylan 142. Das Xylan besitzt demnach eine lineare Hauptkette von $\beta(1 \rightarrow 4)$ -verknüpften D-Xylopyranoseresten; an durchschnittlich 8 bis 9 Xylosereste pro Molekül ist in C₂-Stellung ein 4-*O*-Methyl- α -D-glucopyranosyluronsäurerest gebunden. Die Hydrolyse des methylierten Glucomannans ergab 2,3,4,6-Tetra-, 2,3,6-Tri- und 2,3-Di-*O*-methyl-D-mannose, 2,3,4,6-Tetra-, 2,3,6-Tri- und 2,3-Di-*O*-methyl-D-glucose sowie 2,3,4,6-Tetra-*O*-methyl-D-galactose und 2,3,4-Tri-*O*-methyl-D-xylose im Verhältnis von 0,5:15,5:2,0:0,5:10,8:0,5; 2,0:0,5. Das Glucomannan besitzt eine Hauptkette von $\beta(1 \rightarrow 4)$ -verknüpften D-Mannose- und D-Glucoseresten; an einige derselben sind wahrscheinlich in C₆-Stellung Galactose- und Xylosereste gebunden.

Abstract—A 4-*O*-methylglucuronoxylan and a very small amount of a glucomannan have been isolated from the 'wood' of the tropical liliaceous tree *Cordyline indivisa* (Steud.). Hydrolysis of the methylated, LiAlH_4 -reduced xylan released 2,3,4-tri-, 2,3-di-, 3-mono-*O*-methyl-D-xylose and 2,3,4-tri-*O*-methyl-D-glucose in the molar ratio of 1:102.3:8.4:8.4. Partial hydrolysis of the xylan gave a homologous series of $\beta(1 \rightarrow 4)$ linked D-xylo-oligosaccharides ranging from the biose to the hexaose, and 2-*O*-(4-*O*-methyl- α -D-glucopyranosyluronic acid)-D-xylose. The fully acetylated xylan had a DP_n of 142 as determined osmotically. The xylan has linear backbone of $\beta(1 \rightarrow 4)$ linked D-xylose residues; on average each molecule carries 8 to 9 4-*O*-methyl-D-glucopyranosyluronic acid residues linked $\alpha(1 \rightarrow 2)$ to xylose. Hydrolysis of the methylated glucomannan gave 2,3,4,6-tetra-, 2,3,6-tri- and 2,3-di-*O*-methyl-D-mannose, 2,3,4,6-tetra-, 2,3,6-tri- and 2,3-di-*O*-methyl-D-glucose as well as 2,3,4,6-tetra-*O*-methyl-D-galactose and 2,3,4-tri-*O*-methyl-D-xylose in the ratio of 0.5:15.5:2.0:0.5:10.8:0.5. The glucomannan possesses a main chain of $\beta(1 \rightarrow 4)$ linked D-mannose and D-glucose residues to some of which galactose and xylose residues are probably attached at position 6.

EINLEITUNG

VON DEN Hemicellulosen der Monocotyledonen wurden bis jetzt am eingehendsten die der Gräser^{1,2} untersucht. Es zeigte sich, dass sie im wesentlichen aus neutralen und sauren Xylanen bestehen, die in ihren Seitenketten eine grosse Vielfalt an Zuckerbausteinen aufweisen: Glucuronsäure oder 4-*O*-Methylglucuronsäure, Arabinose, seltener Galactose und Glucose. Innerhalb der Klasse der Monocotyledonen gibt es einige baumartige Liliaceen, Amaryllidaceen und Iridaceen, die ein sekundäres Dickenwachstum³ aufweisen. Die Cambialzone des primären Maristemmantels bleibt bei diesen Arten erhalten und liefert in den rückwärtigen Sprosssteilen einen sekundären Zuwachs, der als 'Holz' bezeichnet wird. Es werden dabei vom Cambium vorwiegend nach innen neue Zellen abgesondert, die sich

¹ G. O. ASPINALL, *Advan. Carbohydr. Chem.* **14**, 429 (1959).

² R. J. MCILROY, *Herbage Abstracts* **37**, 79 (1967).

³ P. B. TOMLINSON und M. H. ZIMMERMANN, *J. Arnold Arboretum* **50**, 159 (1969).

zu Parenchym und zu perixylematischen Leitbündeln differenzieren. Letztere bestehen hauptsächlich aus Tracheiden und Xylemparenchym und aus wenig phloematischem Gewebe. Bis heute sind noch keine Untersuchungen über die Zellwandpolysaccharide dieser sekundären Monocotyledonengewebe durchgeführt worden. In der vorliegenden Arbeit wurde das 'Holz' des Liliaceenbaumes *Cordyline indivisa* (Steud.) untersucht, dessen sekundärer Zuwachs zu etwa 2/3 aus stark verholzten Leitbündeln und zu etwa 1/3 aus Parenchym besteht. Es wird über die Hauptbestandteile der Hemicellulosenfraktion berichtet, die durch alkalische Extraktion aus der Holocellulose gewonnen worden sind.

RESULTATE

Fein gemahlenes 'Holz' des tropischen Liliaceenbaumes *Cordyline indivisa* wurde mit Aceton behandelt, nach der Chloritmethode⁴ delignifiziert und schliesslich mit heissem Wasser, Alkali und Alkali-Borsäure extrahiert. Aus dem Alkali- resp. dem Alkali-Borsäure-Rohextrakt konnten durch verschiedene Fraktionierungen ein saures 4-*O*-Methylglucuronoxylan und ein neutrales Glucomannan erhalten werden (Abb. 1). Ausbeute und Zusammensetzung der einzelnen Rohextrakte und der reinen Fraktionen sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

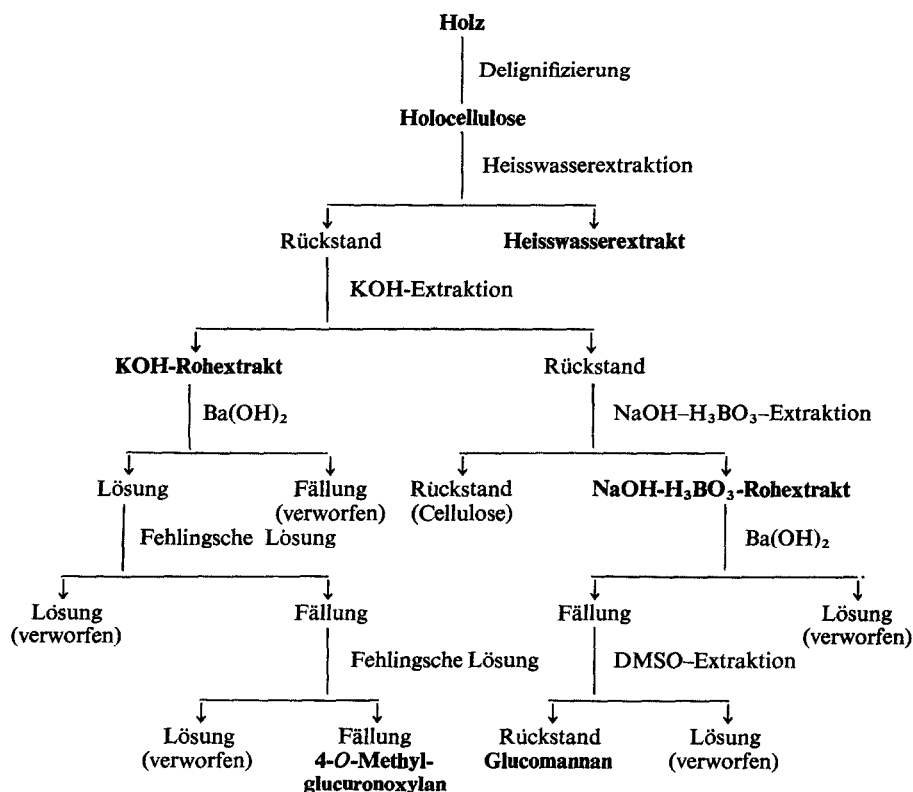


ABB. 1. EXTRAKTIONS- UND FRAKTIONIERUNGSSCHEMA ZUR GEWINNUNG VON HEMICELLULOSEN AUS *Cordyline indivisa*

⁴ L. E. WISE, M. MURPHY und A. A. D'ADDIECO, *Paper Trade J.* 122, 35 (1946).

TABELLE 1. AUSBEUTE UND ZUSAMMENSETZUNG DES 'HOLZES', DER ROHEXTRAKTE UND DES RÜCKSTANDES SOWIE EINES XYLANS UND EINES GLUCOMANNANS VON *Cordyline indivisa*

	Ausbeute in (g)	(%)	Lignin (%)	Glc	Gal	Aldosereste (%)		Ara	Rha
						Man	Xyl		
'Holz'	93,3	100	25,2	65	2	3	27	2	1
Holocellulose	72,8	78,0	0,7	64	2	2	29	2	1
Heisswassereextrakt	3,6	3,8		1	5	1	83	9	1
KOH-Rohextrakt	24,6	26,3	0,3	3	2	1	91	2	1
4-O-Methylglucuronoxylan									
aus KOH-Rohextrakt	12,5	13,4		Sp	Sp	—	100	Sp	—
NaOH-H ₃ BO ₃ -Rohextrakt	0,65	0,7		23	6	23	40	6	2
Glucomannan aus									
NaOH-H ₃ BO ₃ -Rohextrakt	0,1	0,1		39	4	50	7	Sp	Sp
Rückstand (Cellulose)	37,9	40,6		100	—	Sp	—	—	—

Sp = Spuren.

Das 4-O-Methylglucuronoxylan

Durch mehrfaches Fällern und Umfällern des KOH-Rohextraktes mit Ba(OH)₂⁵ und mit Fehlingscher Lösung⁶ wurde ein fast reines 4-O-Methylglucuronoxylan erhalten: $[\alpha]_D^{22} -70^\circ$ (c, 1,0 in 4% KOH), Uronsäuregehalt 14,9% (bestimmt mit der Decarboxylierungsmethode), $\overline{DP}_n$ des acetylierten Xylans 142. Nach saurer Hydrolyse einer Probe dieses Xylans konnten Xylose und eine Aldobiuronsäure nebst Spuren von Glucose, Galactose und Arabinose nachgewiesen werden (Tabelle 1). Ein Teil des Hydrolysats wurde mit methanolischer HCl behandelt, silyliert,⁷ mit LiAlH₄ reduziert, hydrolysiert, mit NaBH₄ reduziert⁸ und acetyliert.⁸ Das Gemisch der Alditolacetate wurde gaschromatographisch⁸ und massenspektrometrisch⁹ analysiert. Es konnten Xylose und 4-O-Methylglucose im Verhältnis von 9,8:1,0 nachgewiesen werden, was einem Uronsäuregehalt von 10,2% entspricht.

Eine Probe des Xylans wurde mit NaH und CH₃I in Dimethylsulfoxyd nach der Methode von Hakomori¹⁰ methyliert. Das vollständig methylierte Polysaccharid wurde mit methanolischer HCl behandelt und mit LiAlD₄¹¹ reduziert. Nach der Hydrolyse des reduzierten Produkts wurde das resultierende Gemisch von partiell methylierten Zuckern mit NaBH₄ reduziert,⁸ acetyliert⁸ und gaschromatographisch⁸-massenspektrometrisch⁹ untersucht. Die Resultate sind in Tabelle 2 zusammengestellt.

Die Komponente in Peak A hatte die gleiche Retentionszeit (T-Wert) und das gleiche Massenspektrum wie das Alditolacetat der 2,3,4-Tri-O-methyl-D-xylose. Durch ihren T-Wert und durch ihr Massenspektrum konnte die Komponente in Peak B als Alditolacetat einer Di-O-methylxylose identifiziert werden. Nach Reduktion der partiell methylierten Zucker mit NaBD₄¹¹ anstelle der Reduktion mit NaBH₄ konnte massenspektrometrisch⁹ gezeigt werden, das es sich um 2,3-Di-O-methyl-D-xylose handelte (Anwesenheit der Primärfragmente *m/e* 118 und 189, Abwesenheit von *m/e* 117 und 190).¹¹ Das Massenspektrum

⁵ H. MEIER, *Acta Chem. Scand.* **12**, 144 (1958).⁶ S. K. CHANDA, E. L. HIRST, J. K. N. JONES und E. G. V. PERCIVAL, *J. Chem. Soc.* 1289 (1950).⁷ G. O. ASPINALL, B. GESTETNER, J. A. MOLLOY und M. UDDIN, *J. Chem. Soc. C*, 2554 (1968).⁸ H. BJÖRNDAL, B. LINDBERG und S. SVENSSON, *Acta Chem. Scand.* **21**, 1801 (1967).⁹ H. BJÖRNDAL, B. LINDBERG und S. SVENSSON, *Carbohydr. Res.* **5**, 433 (1967).¹⁰ S. HAKOMORI, *J. Biochem. Tokyo* **55**, 205 (1964).¹¹ H. BJÖRNDAL, C. G. HELLERQVIST, B. LINDBERG und S. SVENSSON, *Angew. Chem.* **82**, 643 (1970).

TABELLE 2. GASCHROMATOGRAPHISCHE TRENNUNG DER ALDITOLACETATE DER METHYLÄTHER IM HYDROLYSAT DES METHYLIERTEN, REDUZIERTEN XYLANS

Peak	Alditolacetate von	T^*	mol %
A	2,3,4-Tri- <i>O</i> -methyl-D-xylose	0,68	0,83
B	2,3-Di- <i>O</i> -methyl-D-xylose	1,54	84,9
C	2,3,4-Tri- <i>O</i> -methyl-D-glucose	2,48	7,1
D	3-Mono- <i>O</i> -methyl-D-xylose	2,92	7,1

* Relative Retentionszeiten der Alditolacetate auf einer ECNSS-M-Kolonnen bezogen auf 1,5-Di-*O*-acetyl-2,3,4,6-tetra-*O*-methyl-D-glucitol.

von Peak C zeigte, dass es ein an C₆ deuteriertes Alditolacetat einer 2,3,4-Tri-*O*-methylhexose mit dem T-Wert 2,48 war, welches mit jenem des Alditolacetats der 2,3,4-Tri-*O*-methyl-D-glucose übereinstimmte. Die Komponente in Peak D hatte die gleiche Retentionszeit wie das Alditolacetat einer Mono-*O*-methylxylose. Das Massenspektrum besaß die Massenspektren m/e 43 (100%), 87 (47%), 117 (11%), 129 (95%) und 189 (31%) und nach Reduktion der partiell methylierten Zucker mit NaBD₄¹¹ anstelle der Reduktion mit NaBH₄ m/e 43 (100%), 87 (23%), 88 (21%), 118 (11%), 129 (46%), 130 (46%), 189 (15%) und 190 (15%). Diese Massenspektren deuten daraufhin, dass es sich bei Peak D im wesentlichen um das Alditolacetat der 3-Mono-*O*-methyl-D-xylose handelt mit kleinen Mengen von vermutlich 2-Mono-*O*-methyl-D-xylose (m/e 117 resp. 118).

Eine weitere Probe des Xylans wurde einer partiellen sauren Hydrolyse unterworfen. Aus der neutralen Zuckerfraktion des Hydrolysats konnten D-Xylose und eine homologe Reihe von Oligosacchariden mit $\beta(1 \rightarrow 4)$ -verknüpften D-Xyloseresten isoliert und charakterisiert werden (Tabelle 3). Aus der sauren Fraktion des Partialhydrolysats wurde eine

 TABELLE 3. FRAKTIONIERUNG DER NEUTRALEN ZUCKER EINES PARTIALHYDROLYSATS DES 4-*O*-METHYL-GLUCURONOXYLANS AUF EINER SÄULE VON DOWEX 50-X₄ Li⁺

Fraktionsnummern	Ausbeute (mg)	R_{Xyl} in (b)	(d)	Verbindung	$[\alpha]_D^{23}$ (c 1,0, H ₂ O)	Kristallisiert als	Schmp.
7-25	197,8	1,00	1,00	X_1	+20,7	D-Xylose	143-144°
28-45	102,8	0,69	0,57	X_2	-24,6	Xylobiosazon	206-207°
51-85	76,1	0,43	0,26	X_3	-42,0	Xylotri-ose-octaacetat	108-109°
89-111	35,8	0,24	0,11	X_4	-56,3	—	—
117-139	23,0	0,08	0,03	X_5	-64,6	Xylopentaose-dodecaacetat	245-246°
146-170	16,0	0,02	—	X_6	—	—	—

X_1 = D-Xylose.

X_2 - X_6 = homologe Reihe von $\beta(1 \rightarrow 4)$ -verknüpften Xylose oligosacchariden.

Aldobiuronsäure isoliert und identifiziert als 2-*O*-(4-*O*-Methyl- α -D-glucopyranosyluron-säure)-D-xylose durch Herstellung des kristallinen Methyl- α -D-glycosidmethylestertetraacetats nach Timell.¹² Die hohe spezifische Drehung des kristallinen Aldobiuronsäure-

¹² T. E. TIMELL, *Can. J. Chem.* 37, 827 (1959).

derivats (+99°, c, 0,5 in Chloroform) deutet auf die Anwesenheit einer α -glycosidischen Bindung hin.

Das Glucomannan

Aus dem NaOH-H₃BO₃-Rohextrakt wurde durch Fällern mit Ba(OH)₂⁵ eine an Glucose- und Mannoseresten reiche Hemicellulosefraktion erhalten. Diese wurde getrocknet und dann mit Dimethylsulfoxyd extrahiert. Die Zuckeranalyse des Rückstands ergab Xylose, Mannose, Galactose und Glucose im Verhältnis von 0,2:1,3:0,2:1,0 nebst Spuren von Arabinose. Die Methylierung einer Probe dieses Polysaccharids erfolgte zuerst nach Haworth¹³ und anschliessend nach Hakomori¹⁰ mit NaH/CH₃I in Dimethylsulfoxyd. Das methylierte Produkt wurde formolysiert, hydrolysiert und dann wie das methylierte Xylan weiterbehandelt und analysiert. Die Resultate sind in Tabelle 4 zusammengestellt.

TABELLE 4. GASCHROMATOGRAPHISCHE TRENNUNG DER ALDITOLACETATE DER METHYLÄTHER IM HYDROLYSAT DES METHyliERTEN GLUCOMANNANS

Alditolacetate von	<i>T</i> [*]	mol %	<i>T</i> [†]	mol %
2,3,4-Tri- <i>O</i> -methyl-D-xylose	0,67	1,7	0,54	1,8
2,3,4,6-Tetra- <i>O</i> -methyl-D-hexosen	1,00	2,9	1,00	3,4
2,3,4,6-Tetra- <i>O</i> -methyl-D-galactose	1,22	5,7	1,18	6,4
2,3,6-Tri- <i>O</i> -methyl-D-mannose	2,20	47,4	2,04	48,6
2,3,6-Tri- <i>O</i> -methyl-D-glucose	2,50	34,2	2,34	32,3
2,3-Di- <i>O</i> -methyl-D-mannose	4,67	6,7	3,95	5,6
2,3-Di- <i>O</i> -methyl-D-glucose	5,34	1,4	4,54	1,9

^{*},[†] Relative Retentionszeiten der Alditolacetate auf einer ECNSS-M-Kolonne* resp. auf einer OV-225-Kolonne[†] bezogen auf 1,5-Di-*O*-acetyl-2,3,4,6-tetra-*O*-methyl-D-glucitol.

Die partiell methylierten Alditolacetate konnten durch ihre Retentionszeiten auf einer ECNSS-M⁸- und auf einer OV-225¹⁴-Kolonne sowie durch ihre Massenspektren identifiziert werden. Durch Trennung auf einer OV-225-Scotsäule konnte nachgewiesen werden, dass die in Tabelle 4 als 2,3,4,6-Tetra-*O*-methylhexosen bezeichnete Fraktion zu ungefähr gleichen Teilen aus dem Derivat der D-Mannose (*T* = 0,98) und der D-Glucose (*T* = 1,00) besteht.

Eine Probe des Glucomannans wurde einer partiellen sauren Hydrolyse unterworfen. Es wurden neben grossen Mengen von Xylose, Mannose, Glucose und Galactose folgende Disaccharide isoliert und chromatographisch mit Hilfe ihrer *R*_{Gl}-Werte¹⁵ und der *R*_f-Werte ihrer durch Hydrolyse vor und nach NaBH₄-Reduktion erhaltenen Bestandteile charakterisiert: 4-*O*-β-D-Mannopyranosyl-D-Mannose, 4-*O*-β-D-Glucopyranosyl-D-Glucose und 4-*O*-β-D-Mannopyranosyl-D-Glucose.

DISKUSSION

Das 4-*O*-Methylglucuronoxylan

Die Methylierungsanalyse und die Untersuchung des Partialhydrolysats des 4-*O*-Methylglucuronoxylans sowie seine negative spezifische Drehung (−70°) deuten daraufhin,

¹³ W. N. HAWORTH, *J. Chem. Soc.* **107**, 8 (1915).

¹⁴ J. LÖNNGREN und Å. PILOTTI, *Acta Chem. Scand.* **25**, 1144 (1971).

¹⁵ H. MEIER, *Acta Chem. Scand.* **14**, 749 (1960).

dass es aus einer linearen Hauptkette mit $\beta(1\rightarrow4)$ -verknüpften D-Xylopyranoseresten besteht. Im Massenspektrum des Peaks *D* (Tabelle 2) wurde eine Massenlinie bei m/e 117, nach Reduktion mit NaBD₄ eine solche bei m/e 118 gefunden. Es ist möglich, dass diese Massenlinien von 2-Mono-*O*-methyl-D-xylose herkommen. Unter der Annahme, dass im methylierten Xylan nur ein einziger 2,3,4-Tri-*O*-methyl-D-xyloserest pro Molekül vorhanden ist, lässt sich aus der Methylierungsanalyse ein $\overline{DP}$ von 120 errechnen. Dieser Wert stimmt gut mit dem osmometrisch bestimmten $\overline{DP}_n$ des acetylierten Xylans (142) überein, was gegen eine Verzweigung der Hauptkette spricht, wie sie von Zinbo und Timell¹⁶ in den Xylanen einiger Laubhölzer nachgewiesen wurde. Auch die sehr ähnlichen Mengen von Mono-*O*-methyl-D-xylose und Tri-*O*-methyl-D-glucose (Tabelle 2) sprechen gegen eine Verzweigung der Hauptkette.

Die Identifizierung der 2,3,4-Tri-*O*-methyl-D-glucose mit einem Massenspektrum, das auf eine Deuterierung am C₆ hinweist und die Isolierung der 2-*O*-(4-*O*-Methyl- α -D-glucopyranosyluronsäure)-D-xylose zeigen, dass die 4-*O*-Methyl-D-glucopyranosyluronsäurereste im Xylan als monomere Seitenketten auftreten, die $\alpha(1\rightarrow2)$ -glycosidisch an Xylosereste gebunden sind. Es ist allerdings möglich, dass ein kleiner Teil der 4-*O*-Methyl-D-glucuronsäurereste an das C₃ von Xyloseresten gebunden ist.

Die Struktur des untersuchten *Cordyline*-4-*O*-methylglucuronoxylans weist somit grosse Ähnlichkeit mit Xylanen aus Dicotyledonenhölzern¹⁷ und aus Fasern von Agaven^{18,19} auf. Allerdings scheinen die Agaven-Xylane leicht verzweigte Hauptketten zu besitzen. Die Xylane von Gramineen^{1,2} unterscheiden sich von dem in der vorliegenden Arbeit untersuchten Monocotyledonenxylan vor allem dadurch, dass sie meist Arabinoseseitenketten besitzen und dass ihr $\overline{DP}$ relativ niedrig ist (40–70).

Das Glucomannan

Der Nachweis der grossen Mengen von 2,3,6-Tri-*O*-methyl-D-mannose und 2,3,6-Tri-*O*-methyl-D-glucose sowie die Untersuchung des Partialhydrolysats deuten daraufhin, dass das Glucomannan aus einer linearen Hauptkette von $\beta(1\rightarrow4)$ -verknüpften D-Manno- und D-Glucopyranosylresten besteht. Der prozentuale Anteil der 2,3-Di-*O*-methyl-D-mannose und der 2,3-Di-*O*-methyl-D-glucose einerseits und der 2,3,4,6-Tetra-*O*-methyl-D-galactose und der 2,3,4-Tri-*O*-methyl-D-xylose andererseits lassen vermuten, dass die Galactose- und Xylosereste an das C₆ von Mannose- und Glucoseresten gebunden sind. Aus dem prozentualen Anteil an 2,3,4,6-Tetra-*O*-methyl-D-glucose und -mannose lässt sich bei Annahme einer linearen Hauptkette von Mannose- und Glucoseresten berechnen, dass das Glucomannan einen Polymerisationsgrad von etwa 32 besitzt.

Die quantitativen Analysen des methylierten, hydrolysierten Glucomannans auf den beiden Gas-Flüssigkeits-Chromatographie-Säulen (ECNSS-M und OV-225) stimmen gut überein. Vergleicht man jedoch die Methylierungsanalyse mit der Zuckeranalyse des nativen Polysaccharids, so ist bei der ersteren das Verhältnis Mannose/Glucose grösser als bei letzterer (1,5 resp. 1,3).

Unseres Wissens sind bisher bei Monocotyledonen Glucomannane nur aus Reservegeweben isoliert worden (Samen von *Iris ochroleuca* und *Iris sibirica*,²⁰ Knollen von Lilien²¹).

¹⁶ M. ZINBO und T. E. TIMELL, *Svensk Papperstid.* **68**, 647 (1965).

¹⁷ T. E. TIMELL, *Advan. Carbohydr. Chem.* **19**, 247 (1964).

¹⁸ P. C. DAS GUPTA und P. P. MUKHERJEE, *J. Chem. Soc. C*, 1179 (1967).

¹⁹ N. BANERJI, V. L. N. MURTY und A. K. MUKHERJEE, *Indian J. Chem.* **3**, 457 (1965).

²⁰ P. ANDREWS, L. HOUGH und J. K. N. JONES, *J. Chem. Soc.* 1186 (1953).

²¹ P. ANDREWS, L. HOUGH und J. K. N. JONES, *J. Chem. Soc.* 181 (1956).

In den Fasern von *Agave sisalana*¹⁸ ist auf Grund der Zuckeranalyse des NaOH-H₃BO₃-Extraktes zu vermuten, dass ein Glucomannan vorhanden ist. Aus zahlreichen Angiospermenhölzern¹⁷ sind mit NaOH-H₃BO₃ Glucomannane in einer Ausbeute von 2–3 % erhalten worden. Das Verhältnis Mannose/Glucose beträgt in den meisten Fällen etwa 2:1, der Polymerisationsgrad wird für einige Arten mit 70 angegeben. Das *Cordyline*-Glucomannan (Ausbeute des rohen Polysaccharids 0,7 %, Mannose/Glucose 1,5:1, $\overline{DP}$ 32) ist ihnen strukturell sehr ähnlich mit dem Unterschied allerdings, dass es noch monomere Seitenketten von Xylose und Galactose besitzt.

EXPERIMENTELLER TEIL

Allgemeine Methoden. Die Lösungen wurden auf einem Rotationsverdampfer bei 40° eingedampft. Die Schmelzpunkte sind korrigiert. Die absteigende Papierchromatographie erfolgte auf Schleicher und Schuell 2043b- und Whatman 3MM-Papier mit den folgenden Laufmittelgemischen (v/v): (a) ÄtOAc-Pyridin-H₂O (8:2:1), (b) wie (a) (2:1:2, obere Phase), (c) ÄtOAc-HOAc-HCOOH-H₂O (18:3:1:4), (d) *n*-BuOH-ÄtOH-H₂O (4:1:5, obere Phase), (e) *n*-BuOH-ÄtOAc-HOAc-H₂O (4:3:2:5:4). Zur Sichtbarmachung der Komponenten diente entweder alkalisches AgNO₃²² oder *p*-Anisidin-HCl²³ für die quantitative Zuckerbestimmung 2-Aminodiphenyl-HCl²⁴. Lignin wurde nach Adams²⁵ der Gehalt an Uronsäure wurde sowohl mit der Decarboxylierungsmethode nach Anderson²⁶ als auch im Hydrolysat (siehe unten) bestimmt. Die Gas-Flüssigkeits-Chromatographie erfolgte bei 170° (partiell methylierte Alditolacetate) oder bei 200° (Alditolacetate). Die verwendeten Glaskolonnen (200 × 0,3 cm) enthielten 3 % ECNSS-M oder 3 % OV-225 auf GasChrom Q (100–120 mesh). Für die Gas-Flüssigkeits-Chromatographie⁸-Massenspektrometrie⁹ wurden die Alditolacetate in CHCl₃ gelöst und in ein Perkin-Elmer 270 Gaschromatograph-Massenspektrometer injiziert. Die Massenspektren wurden bei einer Einlasstemperatur von 200°, einem Ionisationspotential von 60 eV, einem Ionisationsstrom von 80 µA und einer Temperatur der Ionenquelle von 80° aufgenommen.

Isolierung der Polysaccharide (Abb. 1 und Tabelle 1). Ein 50–60 jähriger Stamm von *Cordyline indivisa* (Steud.) wurde entrindet, vom Mark befreit und in einer Schlagmühle zerkleinert. Das Holzmehl (20–70 mesh) wurde mit Aceton auf dem Soxhletapparat erschöpfend extrahiert und anschliessend nach der Chloritmethode⁴ delignifiziert (3 mal je 1 lt Extraktionsmittel). Die Extraktion der Holocellulose erfolgte bei 100° mit H₂O (2 × 2 Stdn. mit je 1 lt), dann bei Raumtemperatur unter N₂ mit 10% (2 mal), 17% (2 mal), und 24% (3 mal) KOH (je 1 Std. mit je 1 lt) und schliesslich mit 24% NaOH und 3% H₃BO₃ (2 mal je 1 Std. mit je 1 lt). Der Rückstand wurde mit essigsaurem H₂O und dann mit H₂O gewaschen und getrocknet. Die Extrakte wurden mit Eisessig angesäuert und in das vierfache Volumen ÄtOH gegossen. Die gefällten Polysaccharide wurden abzentrifugiert, mit abs. ÄtOH und mit Ät₂O gewaschen und luftgetrocknet.

Fraktionierung der rohen Hemicellulosen. Die vereinigten KOH-Extrakte wurden in 10% NaOH gelöst und mit Ba(OH)₂⁵ behandelt. Die Fällung wurde abzentrifugiert, das Zentrifugat mit HOAc angesäuert und in das vierfache Volumen ÄtOH gegossen. Die entstandene Fällung wurde zentrifugiert, gewaschen und getrocknet. Dieses Produkt liess sich erneut in 10% NaOH lösen und wurde mit Fehlingscher Lösung⁶ gefällt, der Komplex in H₂O suspendiert, mit dem gleichen Volumen 2 N HCl während 30 Min. dekomplexiert und mit Aceton ausgefällt. Der Niederschlag wurde zentrifugiert, mit 50% Aceton, abs. Aceton und Ät₂O gewaschen und getrocknet. Die Fraktionierung mit Fehlingscher Lösung wurde noch einmal wiederholt, und es wurde ein fast reines 4-O-Methylglucuronoxylan erhalten (Tabelle 1). Das mit NaOH-H₃BO₃ extrahierte Polysaccharidgemisch wurde in 10% NaOH gelöst und mit Ba(OH)₂⁵ behandelt. Die Fällung wurde mit 2 N HOAc gelöst und mit ÄtOH gefällt, gewaschen und getrocknet. Dieses Produkt wurde mit Me₂SO während 6 Stdn. bei 60° behandelt. Der Rückstand wurde abzentrifugiert, gewaschen und getrocknet und ergab ein Glucomannan, das auch geringe Mengen Galactose- und Xylosereste enthielt (Tabelle 1).

Zuckeranalysen. Für die allgemeinen Zuckeranalysen wurden das Xylan und das Glucomannan (je 10 mg) nach Saeman *et al.*²⁷ hydrolysiert. Die quantitativen Zuckerbestimmungen erfolgten nach Simson und Timell²⁴ (Tabelle 1).

Zur Bestimmung der 4-O-Methylglucuronsäure im Xylan wurde wie folgt verfahren: Das Xylan (10 mg) wurde in 72% H₂SO₄ (0,2 ml) während 30 Min bei 0° gelöst und dann mit 0,5 N H₂SO₄ während 14 Stdn.

²² W. E. TREVELYAN, D. P. PROCTER und J. S. HARRISON, *Nature, Lond.* **166**, 444 (1950).

²³ L. HOUGH, J. K. N. JONES und W. H. WADMAN, *J. Chem. Soc.* 1702 (1950).

²⁴ B. W. SIMSON und T. E. TIMELL, *Tappi* **50**, 473 (1967).

²⁵ G. A. ADAMS, *Methods in Carbohydrate Chemistry* (edited by R. L. WHISTLER), Vol. 5, p. 185, Academic Press, New York (1965).

²⁶ D. M. W. ANDERSON, *Talanta* **2**, 73 (1959).

²⁷ J. F. SAEMAN, W. E. MOORE, R. L. MITCHELL und M. A. MILLETT, *Tappi* **37**, 336 (1954).

bei 100° hydrolysiert, mit BaCO₃ neutralisiert, filtriert und zur Trockenheit eingedampft. Nach der Behandlung des Hydrolysats mit 2% methanolischer HCl (5 ml) während 2 Stdn. unter Rückfluss und nach Neutralisierung mit Ag₂CO₃ wurde das eingedampfte Produkt silyliert.⁷ Die Reduktion erfolgte mit LiAlH₄ (0,1 g) in Tetrahydrofuran (10 ml) während 4 Stdn. unter Rückfluss. Das reduzierte Produkt wurde mit 0,5 N H₂SO₄ (5 ml) während 14 Stdn. bei 100° hydrolysiert und mit BaCO₃ neutralisiert. Die Zucker wurden mit NaBH₄ reduziert,⁸ mit Ac₂O-Pyridin 1:1 acetyliert⁸ und gaschromatographisch⁸-massenspektrometrisch analysiert. Das Massenspektrum der Xylose konnte nach Chizhov *et al.*,²⁸ das der 4-O-Methylglucose nach Bjørndal *et al.*⁹ interpretiert werden und stimmte mit dem von Sjöström *et al.*²⁹ überein.

Methylierungsanalyse der Polysaccharide. Die Methylierungsanalyse erfolgte im wesentlichen nach der Methode von Hakomori.¹⁰ Das Xylan (10 mg) wurde mit trockenem Me₂SO (3 ml) in 10 ml-Serumfläschchen gebracht und auf dem Ultraschallbad (40 kHz) während 10 Min gelöst. Unter N₂-Atmosphäre wurde NaH (55%ige Suspension in Öl, 50 mg) hinzugegeben. Darauf wurden die Fläschchen mit einer Gummikappe fest verschlossen. Das Gemisch wurde im Ultraschallbad während 30 Min behandelt, und die Reaktion konnte während weiteren 6 Stdn. bei Raumtemperatur ablaufen. Unter Kühlen mit Eiswasser wurde CH₃I (1,0 ml) tropfenweise mit einer Spritze hinzugegeben, das Gemisch erneut auf dem Ultraschallbad während 30 Min behandelt, darauf mit ÄtOH (10 ml) versetzt, in H₂O (30 ml) gegossen, über Nacht gegen fließendes Leitungswasser dialysiert und zur Trockenheit eingedampft. Das methylierte Polysaccharid wurde mit CHCl₃ extrahiert und mit Mg₂SO₄ getrocknet, dann mit 2% methanolischer HCl (5 ml) während 8 Stdn. unter Rückfluss behandelt und mit Ag₂CO₃ neutralisiert. Die Reduktion erfolgte mit LiAlH₄ (0,1 g) in Tetrahydrofuran (10 ml) während 4 Stdn. unter Rückfluss. Nachher wurde das reduzierte Produkt mit 90% HCOOH (5 ml) während 3 Stdn. bei 100° behandelt und eingedampft, mit 0,5 N H₂SO₄ (5 ml) während 14 Stdn. bei 100° hydrolysiert und mit BaCO₃ neutralisiert. Die partiell methylierten Zucker wurden mit NaBH₄ resp. NaBD₄ reduziert, acetyliert und mit Hilfe der Gas-Flüssigkeits-Chromatographie⁸-Massenspektrometrie⁹ analysiert. Das Glucomannan (30 mg) wurde zuerst nach Haworth¹³ partiell methyliert, dann in Me₂SO gelöst und wie oben weitermethyliert. Das methylierte Produkt wurde formolysiert und hydrolysiert, und die Methyläther wurden in die Alditolacetate überführt und wie oben analysiert. Die Resultate sind in Tabelle 2 (für das methylierte Xylan) und 4 (für das methylierte Glucomannan) zusammengestellt.

Partialhydrolyse des Xylans. Das Xylan (4 g) wurde mit 4% H₂SO₄ (400 ml) während 30 Min bei 100° behandelt und der unlösliche Rückstand abzentrifugiert. Die Lösung wurde mit BaCO₃ neutralisiert, zentrifugiert und im vierfachen Volumen ÄtOH gefällt. Der unlösliche Rückstand und die in ÄtOH gefällten Polymere wurden vereinigt und noch zweimal gleich behandelt. Alle Lösungen wurden vereinigt, lyophilisiert (3,5 g) und auf eine Kolonne von Dowex 1-X4 (Acetatform) gegeben. Die neutralen Zucker (2,1 g) konnten mit H₂O und die sauren (0,85 g) mit 3N HOAc eluiert werden. Die Papierchromatographie der neutralen Zucker in (a) und (b) zeigte Xylose und ihre höheren Homologen, die der sauren in (c) Aldotriuronsäure und höhere Homologe.

Fraktionierung und Charakterisierung der neutralen Zucker. Ein Teil der neutralen Zucker (457,6 mg) wurde auf eine Säule von Dowex 50-X4 (Li⁺)³⁰ (114 × 1,3 cm) gegeben, mit 90% ÄtOH (1,5 lt) und einem linearen Gradienten 90–80% ÄtOH (je 1 lt) eluiert und in 20 ml Fraktionen aufgefangen. Die Ergebnisse der Fraktionierung zeigt Tabelle 3. In X₁ wurden neben Xylose noch Spuren von Glucose und Galactose gefunden. Die Fraktionen von X₂ bis X₆ wurden einer Totalhydrolyse mit 2 N Trifluoressigsäure bei 120° während 1 Std. unterworfen. Die Chromatographie der Hydrolysate in (a) und (b) zeigte nur Xylose. Von X₂ wurde das Osazon,³¹ von X₃ bis X₅ das Acetat³² hergestellt, X₄ konnte nicht kristallin erhalten werden.

Isolierung und Charakterisierung der Aldobiuronsäure. Die saure Fraktion des Partialhydrolysats wurde mit 0,5 N H₂SO₄ während weiteren 10 Stdn. bei 100° hydrolysiert und dann mit BaCO₃ neutralisiert. Die neutralen und sauren Zucker wurden auf einer Kolonne von Dowex 1-X4 (Acetatform) getrennt. In Laufmittel (c) liessen sich Uronsäure, Aldobi- und Aldotriuronsäure feststellen. Ein Teil der Aldobiuronsäure wurde chromatographisch (Laufmittel (c)) auf Whatman 3MM-Papier von den übrigen Uronsäuren getrennt, mit H₂O aus dem Papier eluiert (58,3 mg) und in das Methyl-2-O-(methyl-2,3-di-O-acetyl-4-O-methyl-α-D-glucopyranosyluronsäure)-3,4-di-O-acetyl-D-xylopyranosid¹² überführt, aus Äthyläther kristallisiert und aus ÄtO-ÄtOH (1:1) rekristallisiert (6,8 mg). Schmp. und Mischschmp. 200–201°, [α]_D²⁵ +99° (c, 0,5 in CHCl₃). Das IR-Spektrum war identisch mit demjenigen von authentischem Material.¹²

Partialhydrolyse des Glucomannans. Das Glucomannan (0,5 g) wurde mit 0,5 N H₂SO₄ (50 ml) während 30 Min auf dem kochenden Wasserbad behandelt und der unlösliche Rückstand abzentrifugiert. Die Lösung wurde mit BaCO₃ neutralisiert, zentrifugiert und im vierfachen Volumen ÄtOH gefällt. Der unlösliche Rückstand und die im ÄtOH gefällten Polymere wurden vereinigt und noch zweimal gleich behandelt.

²⁸ O. S. CHIZHOV, L. S. GOLOVKINA und N. S. WULFSON, *Izv. Akad. Nauk SSSR, Otd. Khim. Nauk* 1915 (1966).

²⁹ E. S. SJÖSTRÖM, S. JUSLIN und E. SEPPÄLÄ, *Acta Chem. Scand.* **23**, 3610 (1969).

³⁰ O. SAMUELSON und H. STRÖMBERG, *Z. Anal. Chem.* **236**, 506 (1968).

³¹ C. C. TU, *Methods in Carbohydrate Chemistry* (edited by R. L. WHISTLER and M. L. WOLFROM), Vol. 1, p. 357, Academic Press, New York (1962).

³² R. L. WHISTLER und C. C. TU, *J. Am. Chem. Soc.* **74**, 4334 (1952).

Chromatographie in (b) und (c) zeigte, dass neben grossen Mengen von Xylose, Mannose, Glucose und Galactose verschiedene Oligosaccharide vorhanden waren. Aus diesem Gemisch (0,12 g) konnten nach chromatographischer Trennung in (c) auf Whatman 3MM-Papier drei Disaccharide mit 50% ÄtOH aus dem Papier eluiert werden. Diese wurden mit NaBH₄ (je 20 mg in 10 ml H₂O) über Nacht reduziert und dann einer Hydrolyse mit 0,1 N H₂SO₄ (10 ml) während 30 Min bei 100° unterworfen. Die chromatographischen Daten liessen es als wahrscheinlich erscheinen, dass es sich bei den drei Disacchariden um 4-O-β-D-Mannopyranosyl-D-Mannose, 4-O-β-D-Glucopyranosyl-D-Glucose und um 4-O-β-D-Mannopyranosyl-D-Glucose handelte.

Bestimmung des Polymerisationsgrads. Für die osmometrische $\overline{DP}$ -Bestimmung wurde das Xylan acetyliert³³ und in CHCl₃-ÄtOH (9:1, v/v) gelöst. Die Messungen erfolgten bei verschiedenen Konzentrationen in einem Einkammerosmometer nach Hellfritz³⁴ bei $25 \pm 0,1^\circ$. Als semipermeable Membranen wurden 'Ultracellafilter allerfeinst' der Fa. Sartorius, Göttingen, verwendet.

Anerkennungen—Die vorliegende Arbeit wurde unter der Leitung von Herrn Professor H. Meier durchgeführt, dem ich an dieser Stelle für seine wohlwollende Förderung und die vielen Diskussionen herzlich danke. Herrn Professor B. Lindberg, Organisch-chemisches Institut der Universität Stockholm (Schweden), bin ich zu Dank verpflichtet, da er mich als Gast in seinem Institut aufgenommen und mir ermöglicht hat, die Methylierungen und die gaschromatographisch-massenspektrometrischen Untersuchungen durchzuführen. Herrn Professor T. E. Timell, Syracuse, New York, danke ich für die Überlassung einer kristallinen Probe des Aldobiuronsäurederivates. Die Arbeit wurde durch den Schweiz. Nationalfonds unterstützt.

³³ S. K. BANERJEE und T. E. TIMELL, *Tappi* **43**, 849 (1960).

³⁴ H. HELLFRTZ, *Makromol. Chem.* **7**, 184 (1951).

Key Word Index—*Cordyline indivisa*; Liliaceae; hemicelluloses; 4-O-methylglucuronoxylan; glucomannan.