

Zur Biogenese des Cyanidins

II. Mitt.: Über die Bropikrinspaltung des Trinitrophenolglucins

VON HANS GRISEBACH

Organisch-chemisches Institut der Technischen Universität
Berlin-Charlottenburg

(Z. Naturforschg. 12 b, 597–598 [1957]; eingegangen am 18. Juni 1957)

In der ersten Mitt.¹ wurde u. a. über den Abbau des radioaktiven Cyanidins berichtet. Das durch Alkalischmelze aus dem Cyanidin erhaltene Phloroglucin wurde dabei in Trinitrophenolglucin übergeführt und dieses mit Bariumhypobromid in Tribromnitromethan und Kohlendioxyd gespalten. Nach dem Ergebnis der Bropikrinspaltung bei der Pikrinsäure² wäre hierbei zu erwarten gewesen, daß das gebildete Kohlendioxyd ausschließlich aus den C-Atomen 2, 4 und 6 des Trinitrophenolglucins* stammt, während das Tribromnitromethan aus den C-Atomen 1, 3 und 5 entsteht. Dies wurde nun mit Hilfe von synthetischem Trinitrophenolglucin-[2.4.6-¹⁴C] geprüft. Phloroglucin-[1.3.5-¹⁴C] erhielt man aus Malonester-[1-¹⁴C] nach einer Synthese von BAEYER³ durch Kondensation mit Na und anschließende Decarboxylierung des dabei gebildeten Phloroglucin-dicarbonsäureesters. Die Bropikrinspaltung wurde mit Calciumhypobromid⁴ oder Bariumhypobromid², in einer Acetyl-Bestimmungs-Apparatur nach WIESENBERGER⁵ ausgeführt. Diese Apparatur eignet sich besonders gut für den Abbau, da das gebildete Tribromnitromethan gleich durch eine 3-fache Wasserdampfdestillation gereinigt wird. Nach weiterer Reinigung durch mehrfaches Waschen mit Wasser wurde das Tribromnitromethan im Platinschiffchen im Luftstrom verbrannt und das CO₂ im Gaszählrohr gemessen. Das während der Bropikrin-Reaktion gebildete CO₂ erhält man durch Ansäuern der Reaktionslösung. Um dabei freies Brom zurückzuhalten, wird beim Überspülen des

CO₂ mit Stickstoff in eine Waschflasche mit Natronlauge eine Waschflasche mit Phenol von 50° dazwischen geschaltet. Tab. 1 zeigt die Ergebnisse der radioaktiven Messungen.

Die Ergebnisse zeigen, daß die spez. Aktivität des Kohlendioxyds um 25 bis 30% zu niedrig liegt, wenn man den Abbau unter den Bedingungen von EHRENSVÄRD² in der Siedhitze durchführt. Verzichtete man auf das Abdestillieren des Tribromnitromethans und ließ die Reaktion bei 70° ablaufen, so lag die spez. Aktivität des CO₂ nur noch um 17% zu niedrig. Man könnte zunächst annehmen, daß die Synthese des Phloroglucins-[1.3.5-¹⁴C] nicht eindeutig verlaufen ist und sich auch Aktivität in den C-Atomen 1, 3 und 5 befindet. Dies ist aber nicht der Fall, da das gebildete Tribromnitromethan (Ausbeute etwa 60%) inaktiv ist. Man kann die zu geringe spez. Aktivität des CO₂ daher nur so erklären, daß bei der Reaktion auch ein Teil der C-Atome 1, 3 und 5 zu CO₂ oxydiert werden und somit eine Verdünnung des radioaktiven CO₂ eintritt. Diese Oxydation ließe sich möglicherweise vermeiden, wenn man die Reaktion bei tieferer Temperatur durchführt. Wegen Mangel an radioaktivem Trinitrophenolglucin konnte dies nicht mehr geprüft werden. Auf jeden Fall erhält man richtige Werte für die Aktivitätsverteilung im Phloroglucinring, wenn man sich nur auf die Aktivität des Tribromnitromethans bezieht, da dieses eindeutig aus den C-Atomen 1, 3 und 5 stammt.

Nach BIRCH und MOYE⁶ entsteht bei der Bropikrin-Reaktion mit *o*-, *m*- und *p*-Nitrophenol neben dem Tribromnitromethan auch Bromoform, was ir-spektroskopisch nachgewiesen wurde. Das Tribromnitromethan aus dem Trinitrophenolglucin enthält nach dem IR-Spektrum kein Bromoform.

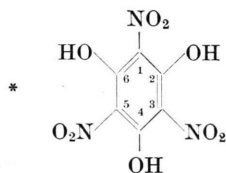
Da die in der ersten Mitt.¹ veröffentlichten Werte für die Aktivität der C-Atome 2, 4 und 6 des Trinitrophenolglucins aus dem Cyanidin aus einem Bropikrin-Abbau mit Bariumhypobromid bei Siedhitze erhalten

Trinitrophenolglucin [Imp./Min./mMol]	Kohlendioxyd [Imp./Min./mMol]	Aktivität von Trinitrophenolglucin [%]	Tribromnitromethan [Imp./Min./mMol]	Temp.
31039	23800	75	keine	Siedhitze
30810	21800	71	—	„
15873	11050	70	—	„
15873	13650	86	4 ± 2	70°

Tab. 1. Bropikrin-Reaktion mit Trinitrophenolglucin-[2.4.6-¹⁴C].

¹ H. GRISEBACH, Z. Naturforschg. 12 b, 227 [1957].

² L. REIO u. G. EHRENSVÄRD, Ark. Kemi 5, 301 [1953].



³ A. BAEYER, Ber. dtsch. chem. Ges. 18, 3454 [1885].

wurden, bedürfen diese Zahlen einer Korrektur. Die Abbauten wurden wiederholt und die Radioaktivitäts-Verteilung im Phloroglucinring nur aus der Aktivität des Tribromnitromethans berechnet. Die neuen Meßergebnisse sind in Tab. 2 zusammengestellt.

⁴ S. ARANOFF, Techniques of Radiobiochemistry, S. 189, Iowa State College Press 1956.

⁵ E. WIESENBERGER, Mikrochem. verein. Mikrochim. Acta 33, 51, [1948].

⁶ A. J. BIRCH u. C. I. MOYE, Privatmitteilung.

Versuch mit Acetat-[1- ¹⁴ C]			Versuch mit Acetat-[2- ¹⁴ C]	
[Imp./Min./mMol]		Aktivität von Trinitrophloroglucin [%]	[Imp./Min./mMol]	Aktivität von Trinitrophloroglucin [%]
Trinitrophloroglucin	836 ± 18	100	1285 ± 26	100
Br ₃ CNO ₂	16 ± 5	2	1071 ± 25	83
(C _{1,3,5})				
C _{2,4,6}	—	98		17

Tab. 2. Bropikrinabbau mit Trinitrophloroglucin aus Cyanidin.

Die Aktivität der C-Atome 2, 4 und 6 erhielt man nur durch Differenzbildung, was aber bei der Genauigkeit der Aktivitätsmessung in der Gasphase zulässig ist. Die neu erhaltenen Werte zeigen noch eindeutiger als die verfälschten Werte der ersten Mitt., daß die eine Sauerstoff-Funktion tragenden C-Atome des Phloro-

glucinringes des Cyanidins aus den Carboxylgruppen und die anderen 3 C-Atome aus den Methylgruppen des Acetats stammen.

Herrn Professor WEYGAND danke ich für die Förderung dieser Arbeit. Weiterhin danke ich Herrn G. BIESSALSKI für die radioaktiven Messungen.

Über den Stoffwechsel von *meso*-Inosit

Von H. HERKEN, D. MAIBAUER und F. WEYGAND

Pharmakol. Institut der Freien Universität Berlin
und Organ.-chem. Institut der Techn. Universität Berlin
(Z. Naturforschg. **12** b, 598—599 [1957]; eingegangen am 11. Juli 1957)

In den bisherigen Untersuchungen über den Stoffwechsel von *meso*-Inosit wurde die kontinuierliche Freisetzung dieses Stoffes aus Schnitten von Gehirngewebe durch HERKEN und MAIBAUER¹ nachgewiesen. Weiterhin konnte die intrazelluläre Verteilung des *meso*-Inosits bestimmt werden, wobei eine Anreicherung im Zellplasma, besonders des Gehirns, gegenüber dem Blut

gefunden wurde². Diese Untersuchungen wurden jetzt mit Hilfe von uniform ¹⁴C-markiertem *meso*-Inosit, der von WEYGAND und SCHULZE³ synthetisiert wurde, nachgeprüft und erweitert.

Einer männlichen Ratte von 250 g Gewicht wurde 1 mg ¹⁴C-markierten *meso*-Inosits in wäßriger Lösung i.v. injiziert und 24 Stdn. später die Zellen von Gehirn und Leber in der früher beschriebenen Weise fraktioniert und neben der Menge *meso*-Inosit/mg N auch die Aktivität/mg N in den Fraktionen bestimmt.

Bei der Aufarbeitung der Zellfraktionen stellte sich heraus, daß die Aktivität 0,1 — 1,6% der gesamten Inositmenge in der jeweiligen Zellfraktion entsprach (Tab. 1). Das Verhältnis der Aktivität der einzelnen Zellfraktio-

Organ	Zellfraktion	γ <i>meso</i> -Inosit/mg N	Aktivität entspr. γ <i>meso</i> -Inosit- ¹⁴ C/ mg N	Aktivität entspr. % <i>meso</i> -Inosit- ¹⁴ C d. Gesamt-Inositmenge	Mengen bezogen auf Kernfraktion = 1,	
					<i>meso</i> -Inosit	Aktivität entspr. <i>meso</i> -Inosit- ¹⁴ C
Leber	Kerne	4	0,04	1,0	1	1
	Mitochondrien	15	0,19	1,3	3,75	4,75
	Mikrosomen	32	0,36	1,1	8,0	9,0
	Plasma	9	0,14	1,6	2,25	3,5
Gehirn	Kerne	37	0,04	0,1	1	1
	Mitochondrien	18	0,04	0,2	0,5	1
	Mikrosomen	35	0,1	0,3	1,0	2,5
	Plasma	137	0,33	0,2	3,7	8,25

Tab. 1. Die Bestimmung des *meso*-Inosits erfolgte mikrobiologisch in der bereits beschriebenen Weise (MAIBAUER und HERKEN²) mit Hilfe von *Saccharomyces Carlsbergensis* 4228 ATCC 9080, die ¹⁴C-Bestimmung durch Trockenverbrennung und Messung der CO₂-Aktivität im Gaszählrohr (F. WEYGAND, Naturwissenschaften **44**, 169 [1957]).

¹ H. HERKEN u. D. MAIBAUER, Naturwissenschaften **42**, 166 [1954].

² D. MAIBAUER u. H. HERKEN, Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Pathol. Pharmacol. **227**, 456 [1956].

³ F. WEYGAND u. E. SCHULZE, Z. Naturforschg. **11** b, 370 [1956].