

Zur Biogenese des Cyanidins

II. Mitt.: Über die Brompikrinspaltung des Trinitrophloroglucins

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 Trinitrophloroglucin übergeführt und dieses mit Bariumhypobromid in Tribromnitromethan und Kohlendioxyd gespalten. Nach dem Ergebnis der Brompikrinspaltung bei der Pikrinsäure² wäre hierbei zu erwarten gewesen, daß das gebildete Kohlendioxyd ausschließlich aus den C-Atomen 2, 4 und 6 des Trinitrophloroglucins* stammt, während das Tribromnitromethan aus den C-Atomen 1, 3 und 5 entsteht. Dies wurde nun mit Hilfe von synthetischem Trinitrophloroglucin-[2.4.6-¹⁴C] geprüft. Phloroglucin-[1.3.5-¹⁴C] erhielt man aus Malonester-[1-¹⁴C] nach einer Synthese von BAUER³ durch Kondensation mit Na und anschließende Decarboxylierung des dabei gebildeten Phloroglucin-dicarbonsäureesters. Die Brompikrinspaltung 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 Brompikrin-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 Siedehitze 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 Trinitrophloroglucin 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 Brompikrin-Reaktion mit o-, m- und p-Nitrophenol neben dem Tribromnitromethan auch Bromoform, was ir-spektroskopisch nachgewiesen wurde. Das Tribromnitromethan aus dem Trinitrophloroglucin enthält nach dem IR-Spektrum kein Bromoform.

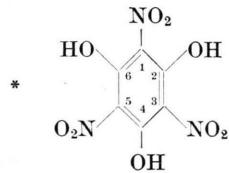
Da die in der ersten Mitt.¹ veröffentlichten Werte für die Aktivität der C-Atome 2, 4 und 6 des Trinitrophloroglucins aus dem Cyanidin aus einem Brompikrin-Abbau mit Bariumhypobromid bei Siedehitze erhalten

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

Tab. 1. Brompikrin-Reaktion mit Trinitrophloroglucin-[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. BAUER, Ber. dtsch. chem. Ges. 18, 3454 [1885].

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

⁴ S. ARANOFF, Techniques of Radiobiology, 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 Br_3CNO_2 (C _{1,3,5}) C _{2,4,6}	836 ± 18 16 ± 5 —	100 2 98	1285 ± 26 1071 ± 25 —	100 83 17

Tab. 2. Brompikrinabbau 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. Naturforsch. **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 Std. 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 Zellfraktionen

Organ	Zellfraktion	γ meso-Inosit/mg N	Aktivität entsprech. γ meso-Inosit- ¹⁴ C/ mg N	Aktivität entsprech. % meso-Inosit- ¹⁴ C d. Gesamt-Inositmenge	Mengen bezogen auf Kernfraktion = 1,	
					meso-Inosit	Aktivität entsprech. meso-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-Schmiedebergs Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **227**, 456 [1956].

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