

## Die Bildung von Cellulose und Xylan aus radioaktiven Monosacchariden in Weizenpflanzen

Von Dr. H. ALTERMATT\* und Dr. A. C. NEISH

National Research Council, P. R. L., Saskatoon (Kanada)

Über die Bildung der Zellwandpolysaccharide Cellulose und Xylan und ihre Beziehungen zueinander weiß man sehr wenig. Anhand von Pflanzenanalysen wurden verschiedene Theorien aufgestellt und immer wieder verworfen. Wohl die wichtigste Spekulation über die Bildung des Xylans ist die Decarboxylierungstheorie<sup>1</sup>. Durch Oxydation der Cellulose soll ein Polyuronid erhalten werden, das unter CO<sub>2</sub>-Abspaltung in Xylan übergeht. Die Hauptstütze dieser Vermutung ist die Ähnlichkeit der chemischen Struktur der beiden Polysaccharide, wie sie aus der Abb. 1 ersichtlich ist.

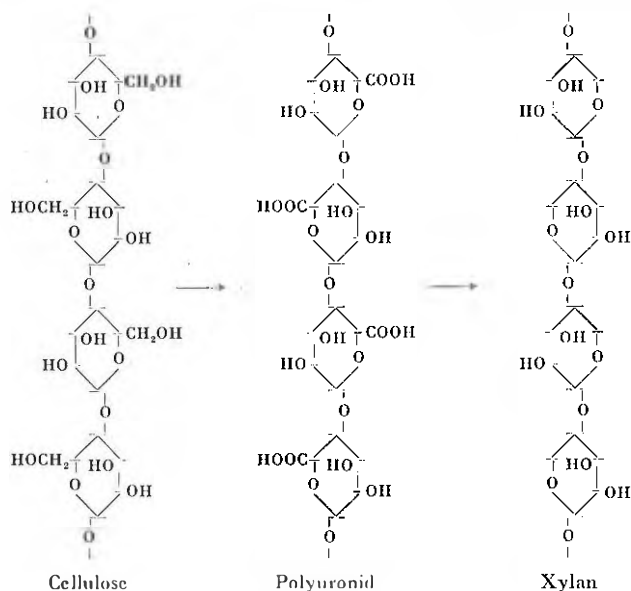


Abb. 1

Als Argument gegen diese Theorie möchten wir das Fehlen der Polyglucuronsäure in größeren Mengen nennen, denn es ist kaum anzunehmen, daß die Oxydation und die CO<sub>2</sub>-Abspaltung momentan verlaufen. Es können jedoch Hemicellulosen isoliert werden, die, wie anhand des sauren Hydrolysates festgestellt wurde, aus Glucose, Glucuronsäure und Xylose bestehen<sup>2</sup>. Über die Zusammenhänge dieser Spaltprodukte ist noch nichts Sicheres bekannt.

Um die Bildung der beiden wichtigen Zellwandpolysaccharide aus Monosacchariden und ihre gegenseitigen Beziehungen abzuklären, unternahmen wir ausgedehnte

\* Jetzige Adresse: Wissenschaftliche Laboratorien des Farbdepartementes Ciba Aktiengesellschaft, Basel.

<sup>1</sup> J. BONNER, *Plant Biochemistry*, Academic Press, Inc., New York 1950, S. 97. A. G. NORMAN, *The Biochemistry of Cellulose, Polyuronides, Lignins etc.*, The Clarendon Press, Oxford 1937, Kap. VII, S. 183.

<sup>2</sup> A. G. NORMAN, *The Biochemistry of Cellulose* . . . , S. 36.

Versuche mit radioaktiven Zuckern<sup>3</sup>. Für diese an Weizenpflanzen ausgeführten Experimente wurden die folgenden radioaktiven Zucker benützt: D-Arabit-1- und -5-C<sup>14</sup>, D-Mannit-1-C<sup>14</sup>, D-Sorbit-1-C<sup>14</sup>, D-Arabinose-1-C<sup>14</sup>, D-Ribose-1-C<sup>14</sup>, D-Xylose-1-, -2- und -5-C<sup>14</sup>, D-Allose-1-C<sup>14</sup>, D-Glucose-1- und -2-C<sup>14</sup>, D-Glucuronsäure-1-C<sup>14</sup> und D-Sedoheptulose-2-C<sup>14</sup>. Diese Substanzen wurden von uns zum Teil erstmalig synthetisiert, und Abb. 2 gibt einen Überblick über die gebräuchlichsten Reaktionen, die zur Synthese der Zucker führen.

Aldosen, die am C-Atom 1 radioaktiv sind, werden nach der Methode von KILIANI hergestellt<sup>4</sup>. D-Arabinose z. B. wird mit einer äquivalenten Menge NaC<sup>14</sup>N (1 mc/m Mol) in Gegenwart einer äquivalenten Menge Natriumbicarbonat und Natronlauge bei Raumtemperatur umgesetzt. Man erhält vorerst das Gemisch der beiden epimeren Nitrile, die zu den betreffenden Onsäuren verseift werden. Das Ba-Salz der D-Glucuronsäure läßt sich durch Kristallisation aus dem Gemisch trennen, wogegen das Salz der D-Mannonsäure nicht kristallin ist. Die so getrennten Säuren werden lactonisiert und mit Natriumamalgam sauer zu den betreffenden Hexosen D-Glucose und D-Mannose reduziert. Durch Veränderung des pH-Wertes während der Cyanidsynthese kann das Mengenverhältnis der epimeren Nitrile verschoben werden.

Um D-Xylose-2-C<sup>14</sup> mit Hilfe der KILIANI-Reaktion aufzubauen, müßte man vom D-Glyceraldehyd ausgehen, und man erhielte so alle vier Pentosen der D-Serie. Durch Abspaltung des C-Atoms 6 von D-Glucose-2-C<sup>14</sup> konnte in etwa 60prozentiger Ausbeute D-Xylose-2-C<sup>14</sup> erhalten werden<sup>5</sup>.

D-Xylose-5-C<sup>14</sup> wurde in 15prozentiger Ausbeute aus L-Arabinose gewonnen<sup>5</sup>.

Ketosen können, ausgehend von der um ein C-Atom tieferen Onsäure, mit Diazomethan nach REICHISTEIN<sup>6</sup> aufgebaut werden. Aus Altronsäure-1-C<sup>14</sup> konnte so Sedoheptulose-2-C<sup>14</sup> gewonnen werden<sup>7</sup>.

D-Glucuronsäure-1-C<sup>14</sup> wurde durch katalytische Oxydation von Glucose-1-C<sup>14</sup> erhalten<sup>8</sup>.

Die Zuckeralkohole wurden durch Natriumborhydrid-Reduktion in wässriger Lösung aus den betreffenden Zuckern oder Onsäuren gewonnen<sup>9</sup>.

Die zu diesen Versuchen benötigten Weizenpflanzen wurden im Treibhaus auf Erde gezogen. Starke junge

<sup>3</sup> S. A. BROWN und A. C. NEISH, *Canad. J. Biochem. Physiol.* 32 (1954) 170. A. C. NEISH, *Canad. J. Biochem. Physiol.* 33 (1955) 658. H. A. ALTERMATT und A. C. NEISH, *Canad. J. Biochem. Physiol.* 34 (1956) 405.

<sup>4</sup> A. C. NEISH, *Canad. J. Chem.* 32 (1954) 334. H. S. ISBELL, J. V. KARABINOS, H. L. FRUSH, N. B. HOLT, A. SCHWEBEL und T. T. GAL-KOWSKI, *J. Res. Nat. Bur. Stand.* 49 (1952) 163. A. C. NEISH und A. C. BLACKWOOD, *Canad. J. Biochem. Physiol.* 33 (1955) 323.

<sup>5</sup> H. A. ALTERMATT, F. J. SIMPSON und A. C. NEISH, *Canad. J. Biochem. Physiol.* 33 (1955) 615.

<sup>6</sup> K. GÄTZI und T. REICHISTEIN, *Helv. Chim. Acta* 21 (1938) 186.

<sup>7</sup> A. C. NEISH und A. C. BLACKWOOD, *Canad. J. Biochem. Physiol.* 33 (1955) 323.

<sup>8</sup> C. L. MEHLTRETTER, B. H. ALEXANDER und R. L. MELLIES, *J. Amer. Chem. Soc.* 73 (1951) 2424.

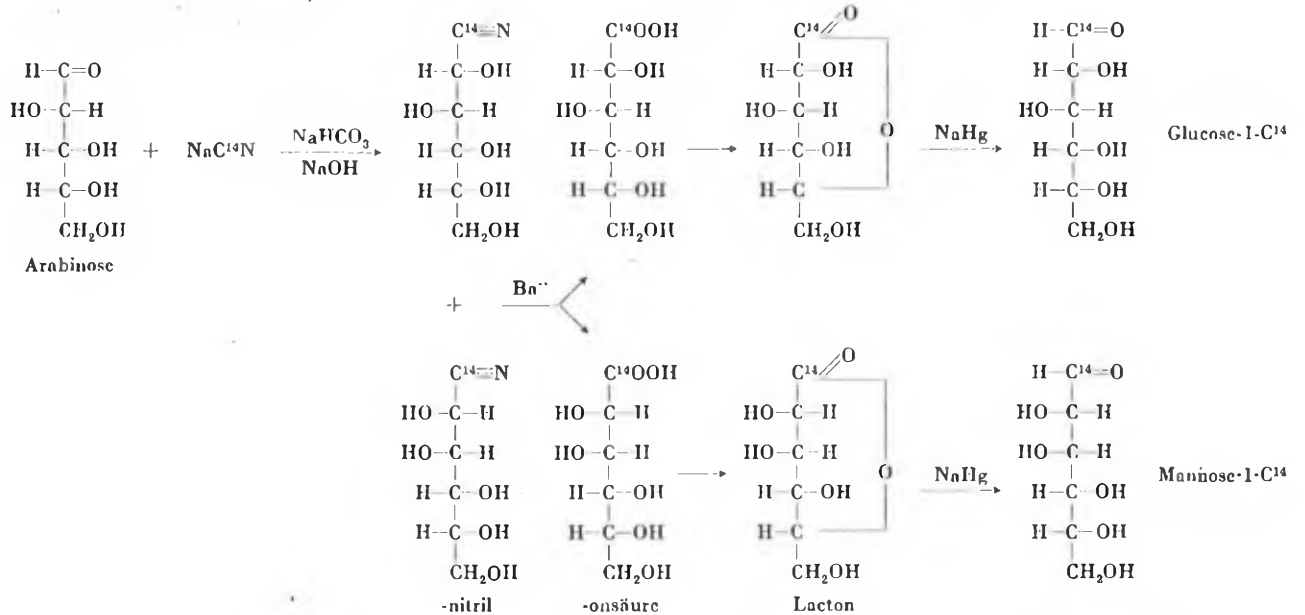
<sup>9</sup> M. L. WOLFROM und H. B. WOOD, *J. Amer. Chem. Soc.* 73 (1951) 2933. A. C. NEISH, *Canad. J. Chem.* 32 (1954) 334.

Pflanzen (etwa vier Wochen alt) mit vier Blättern wurden oberhalb des Wurzelansatzes unter Wasser scharf abgeschnitten. Je vier Pflanzen wurden in ein Reagensglas gestellt, worin sich 0,5 cm<sup>3</sup> Lösung des radioaktiven Zuckers befand. Die radioaktive Lösung wurde innert

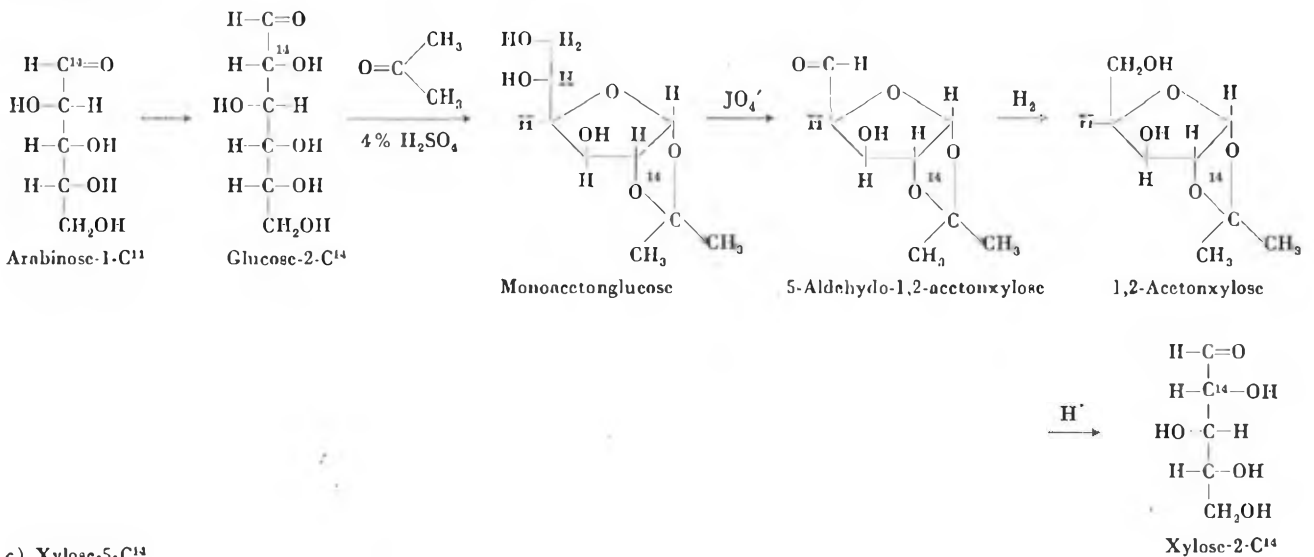
kurzer Zeit durch die Pflanze aufgesogen und wurde wiederholt durch wenig Wasser ersetzt. Je nach Experiment wurde der Stoffwechsel nach 5 oder 20 Stunden unterbrochen, indem die Pflanzen zerkleinert und getrocknet und anschließend fein gemahlen wurden. Cel-

a) Aldosen mit 1-C<sup>14</sup>

(Glucose-1-C<sup>14</sup>, Mannose-1-C<sup>14</sup>)



b) Xylose-2-C<sup>14</sup>



c) Xylose-5-C<sup>14</sup>

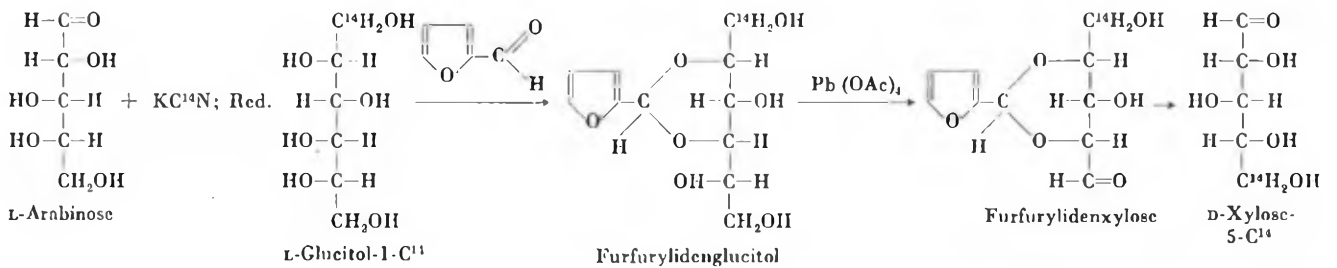
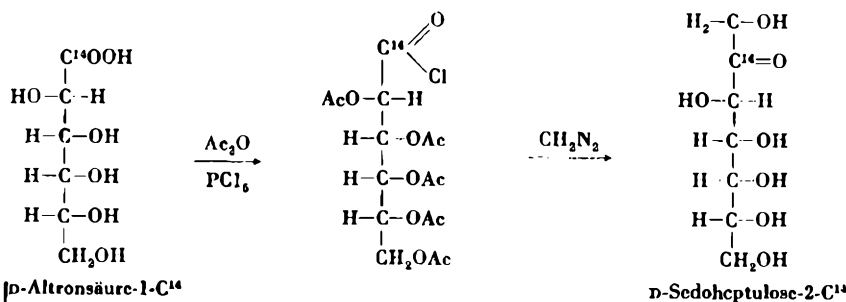


Abb. 2 a-c. Synthese radioaktiver Zucker

d) Ketose (Sedoheptulose-2-C<sup>14</sup>)



e) Glucuronsäure-1-C<sup>14</sup>

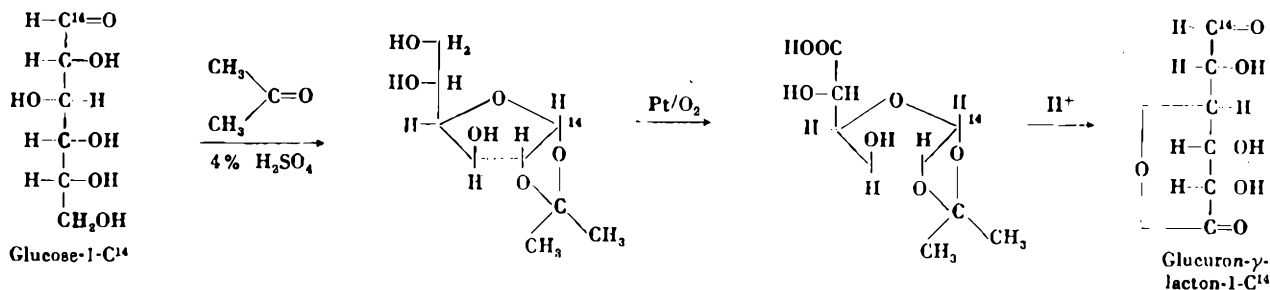


Abb. 2 d-e. Synthese radioaktiver Zucker

lulose und Xylan konnte, wie es in Abb. 3 zusammen- gestellt ist, aus diesem Trockenpulver abgetrennt werden. Diese beiden Polysaccharide wurden einzeln zu Glucose bzw. Xylose hydrolysiert.

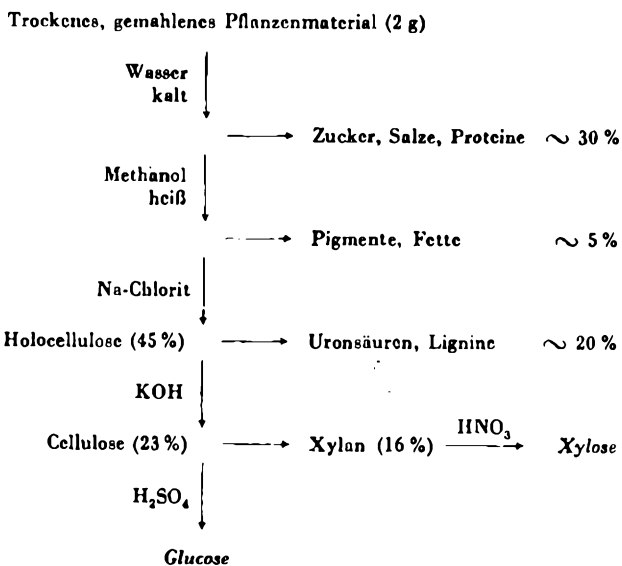


Abb. 3. Aufarbeitung des Pflanzenmaterials

Das Pflanzenpulver wurde in wenig Wasser aufgeschlämmt, filtriert und nachgewaschen. Das Filtrat enthält Zucker, Salze und Proteine, die zusammen 30 % des Trockengewichtes ausmachen. Diese Fraktion war sehr radioaktiv, herrührend von nicht assimilierten radioaktiven Monosacchariden. Der getrocknete grüne Rückstand wurde im Soxhlet mit Methanol

extrahiert, wobei Pigmente und Fette in Lösung gingen. Durch Behandeln des Rückstandes mit Natriumchlorit konnten Lignine, Uronsäuren und Hemicellulosen abgespalten werden<sup>10</sup>. Die Menge der so gewonnenen weißen Holocellulose betrug 45 % des Pflanzenmaterials. Die Holocellulose wurde mit 10-prozentiger Kalilauge extrahiert, wobei Xylan in Lösung ging. Das gelöste Xylan wurde mit Alkohol gefällt und mit Salpetersäure zu Xylose hydrolysiert<sup>11</sup>. Das Hydrolysat wurde über Aktivkohle-Kieselgur chromatographiert<sup>12</sup>. Die Xylose konnte aus der Monosaccharidfraktion kristallisiert werden. Die Cellulose, 23 % des Ausgangsmaterials, wurde mit 72-prozentiger Schwefelsäure hydrolysiert und chromatographiert<sup>10</sup>. Die Glucose wurde kristallin isoliert.

Zur Bestimmung der Verteilung der Radioaktivität in der isolierten Glucose bzw. Xylose entwickelten wir ein chemisches<sup>13,14</sup> und ein biologisches<sup>15</sup> Verfahren. Diese Verfahren gestatten, die Hexosen und Pentosen schrittweise und eindeutig abzubauen (Abb. 4, 5).

Im chemischen Verfahren wird α-Methylglucosid der Perjodoxydation unterworfen, wobei unter Abspaltung des C-Atoms 3 als Ameisensäure ein Dialdehyd entsteht<sup>13</sup>. Dieser Dialdehyd wird mit Brom oxydiert, und das kristalline Strontium-Salz isoliert. Säure spaltet das Salz in Glyoxylsäure, die

<sup>10</sup> M. A. JERMYN, *Cellulose and Hemicellulose, in Moderne Methoden der Pflanzenanalyse*, Bd. II, Springer-Verlag, Wien 1955.

<sup>11</sup> A. C. NEISH, *Canad. J. Biochem. Physiol.* 33 (1955) 658.

<sup>12</sup> R. L. WHISTLER und D. F. DURSO, *J. Amer. Chem. Soc.* 72 (1950) 677.

<sup>13</sup> B. BOOTHROYD, S. A. BROWN, J. A. THONN und A. C. NEISH, *Canad. J. Biochem. Physiol.* 33 (1955) 62.

<sup>14</sup> S. A. BROWN, *Canad. J. Biochem. Physiol.* 33 (1955) 368.

<sup>15</sup> H. A. ALTERMATT, A. C. BLACKWOOD und A. C. NEISH, *J. Biochem. Physiol.* 33 (1955) 622.



Wird Glucose-1-C<sup>14</sup> fermentiert, so können 99 % der Aktivität im CO<sub>2</sub> festgestellt werden, d.h. das isolierte CO<sub>2</sub> entspricht dem C-Atom 1 der Glucose. Glucose-2-C<sup>14</sup> wurde so aufgespalten, das 97,7 % des C<sup>14</sup> in der Methylgruppe des Äthanolis lokalisiert waren. Diese Methylgruppe entspricht demnach dem C-Atom 2 der Glucose. Nach den Arbeiten von GUNSAUS<sup>17</sup> verteilt sich die Aktivität der Glucose-3,4-C<sup>14</sup> nach der Fermentation auf die Carbinolgruppe des Äthanolis und auf die Carboxylgruppe der Milchsäure. Die Carboxylgruppe entspricht also dem C-Atom 4 der Glucose.

Wir nahmen an, daß *Leuconostoc mesenteroides* ebenfalls Xylose in wohldefinierte Bruchstücke zerlegt, und fanden dann auch nach der anaeroben Fermentation nur Essigsäure und Milchsäure in äquivalenten Mengen<sup>15</sup> (Abb. 5).

Aus den Experimenten mit Xylose-1-, -2- und -5-C<sup>14</sup> ist ersichtlich, daß *Leuconostoc mesenteroides* die Xylose zwischen den C-Atomen 2 und 3 spaltet, wobei die Carboxylgruppe der isolierten Essig- bzw. Milchsäure dem C-Atom 2 bzw. 3 entspricht. Die aus der Fermentationslösung extrahierte und chromatographisch gereinigte Milchsäure wurde mit Permanganat in CO<sub>2</sub> und Acetaldehyd gespalten<sup>18</sup>. Der Acetaldehyd wie auch der isolierte Äthanol wurden durch Bichromat zu Essigsäure oxidiert, und das erhaltene Natriumacetat konnte mit Natriumazid in Gegenwart von Schwefelsäure quanti-

tativ in Methylamin und CO<sub>2</sub> gespalten werden<sup>19</sup>. Das Methylamin wurde anschließend mit Permanganat zu CO<sub>2</sub> oxidiert.

Mit Hilfe dieser biologischen Methode ist es nun möglich, Glucose und Xylose eindeutig in die einzelnen C-Atome zu zerlegen, wobei als Endprodukt CO<sub>2</sub> entsteht. Die Aktivität des CO<sub>2</sub> wurde nach der Methode von BUCHANAN in einem Proportionalzähler bestimmt<sup>20</sup>.

Die verschiedenen radioaktiven Zucker wurden einzeln, wie geschildert, den Weizenpflanzen verabreicht. Die Zellwandpolysaccharide wurden isoliert, ihre Aktivität gemessen, und damit konnte die Isotopenverdünnung berechnet werden. Diejenigen Zucker, die die kleinste Verdünnung aufwiesen, waren als Ausgangsverbindung zu Polysaccharidsynthesen besonders gut geeignet. Es zeigte sich, daß von den Zuckeralkoholen nur der D-Sorbit zu Cellulose und zu Xylan aufgebaut werden konnte. Die aus der Cellulose bzw. dem Xylan durch Hydrolyse gewonnene Glucose bzw. Xylose wurde biologisch abgebaut. Die nun folgenden Tabellen gehen die gefundenen Meßresultate wieder.

Aus Tab. 1 ist ersichtlich, daß D-Arabinose kein Ausgangsmaterial zur Biosynthese von Cellulose und Xylan ist. Dies ist weiter nicht verwunderlich, da D-Arabinose – im Gegensatz zu L-Arabinose – kein natürlicher Zucker ist.

Tab. 1. Einbau von C<sup>14</sup> in Cellulose und in Xylan durch Weizenpflanzen

Verabreichter Zucker	Menge pro g trockenes Pflanzenmaterial		Dauer der Behandlung in Std.	C <sup>14</sup> in der Holocellulose in %	mµc / mMC		Verdünnung des C <sup>14</sup>	
	µM Zucker	mµc C <sup>14</sup>			Cellulose	Xylan	Cellulose	Xylan
D-Arabinose-1-C <sup>14</sup> . . . . .	60,6	3650	5	0,89	0,24	2,85	50 000	4230
D-Ribose-1-C <sup>14</sup> . . . . .	14,2	620	5	6,90	2,17	2,43	403	360
D-Xylose-1-C <sup>14</sup> . . . . .	9,1	630	5	6,20	1,61	2,06	860	670
D-Xylose-2-C <sup>14</sup> . . . . .	87,5	11010	5	3,10	1,64	2,26	1410	980
D-Xylose-5-C <sup>14</sup> . . . . .	58,6	2110	5	3,03	2,59	3,35	2780	2140

Tab. 2. Verteilung der Aktivität in der isolierten Glucose und Xylose

Verabreichter Zucker	Isolierter Zucker	Prozentualer Anteil von C <sup>14</sup> im Glucose- bzw. Xylose-Molekül C-Atom Nr.					
		1	2	3	4	5	6
D-Ribose-1-C <sup>14</sup> . . . . .	G	38,1	10,9	15,5	8,4	4,7	22,5
	X	49,5	12,6	14,1	8,3	15,5	—
D-Xylose-1-C <sup>14</sup> . . . . .	G						
	X	36,3	19,0	12,1	9,5	23,1	—
D-Xylose-2-C <sup>14</sup> . . . . .	G	5,6	47,0	20,2	5,6	16,0	5,6
	X	21,5	40,1	11,5	9,3	17,6	—
D-Xylose-5-C <sup>14</sup> . . . . .	G	25,6	9,2	6,9	3,4	3,1	51,8
	X	28,6	18,1	6,9	12,8	33,6	—

<sup>18</sup> A. C. NEISH und A. C. BLACKWOOD, *Canad. J. Biochem. Physiol.* 33 (1955) 323.

<sup>19</sup> E. F. PHARES, *Arch. Biochem. Biophys.* 33 (1951) 173.

<sup>20</sup> D. L. BUCHANAN und A. NAKAO, *J. Amer. Chem. Soc.* 74 (1952) 2389.

Tab. 3. Einbau von C<sup>14</sup> in Cellulose und in Xylan durch Weizenpflanzen

Verabreichter Zucker	Menge pro g trockenes Pflanzenmaterial		Dauer der Behandlung in Std.	C <sup>14</sup> in der Holocellulose in %	m $\mu$ c / mM		Verdünnung des C <sup>14</sup>	
	$\mu$ M Zucker	m $\mu$ c C <sup>14</sup>			Cellulose	Xylan	Cellulose	Xylan
D-Allose-1-C <sup>14</sup> . . . . .	1,55	1140	5	1,4	0,28	0,61	43500	20000
D-Glucose-1-C <sup>14</sup> . . . . .	8,4	870	5	16,1	8,8	8,5	198	202
D-Glucose-2-C <sup>14</sup> . . . . .	55,9	2340	5	10,7	15,7	16,1	443	433

Tab. 4. Verteilung der Aktivität in der isolierten Glucose und Xylose

Verabreichter Zucker	Isolierter Zucker	Prozentualer Anteil von C <sup>14</sup> im Glucose- bzw. Xylose-Molekül C-Atom Nr.					
		1	2	3	4	5	6
D-Glucose-1-C <sup>14</sup> . . . . .	G	81,9	2,2	2,0	1,4	0,2	12,3
	X	88,0	2,1	3,2	2,0	4,7	—
D-Glucose-2-C <sup>14</sup> . . . . .	G	4,2	69,3	11,3	1,4	11,6	2,2
	X	4,7	86,7	4,4	0,5	3,7	—

Tab. 2 zeigt die Verteilung der Aktivität in der isolierten Glucose und in der isolierten Xylose. Auffallend ist, daß sich die Aktivität über das ganze Molekül verteilt, das bedeutet, daß die Pentosen nicht ohne vorhergehende Umwandlung zu den Polysacchariden aufgebaut werden. Da die Verteilung der Aktivität in der isolierten Glucose und in der isolierten Xylose sehr ähnlich ist, darf angenommen werden, daß die Pflanze Cellulose und Xylan aus demselben Umwandlungsprodukt der Pentose synthetisiert.

Tab. 3 und 4 zeigen die Verhältnisse für Hexosen. Wir können sehen, daß zur Biosynthese von Cellulose und Xylan D-Allose nicht geeignet ist. D-Glucose wird dagegen gleich gut zu Cellulose als auch zu Xylan aufgebaut.

Die Verteilung der Aktivität (Tab. 4) in der isolierten Glucose und Xylose ist auch hier wiederum sehr ähnlich. 82 bzw. 70% der totalen Aktivität der isolierten Glucose befinden sich an derselben Stelle wie in den verabreichten Zuckern; das bedeutet, daß die Ausgangsglucose als Ganzes – ohne vorhergehende Umwandlung – zu Cellulose aufgebaut wird. Die Verteilung der Aktivität in Xylose, isoliert aus mit Glucose behandelten Pflanzen, zeigt, daß die Xylanbausteine wahrscheinlich aus Glucose durch Verlust des C-Atoms 6 hervorgegangen sind.

Aus diesen Versuchsreihen mit Pentosen und Hexosen ist ersichtlich, daß Glucose in der Weizenpflanze ohne größere Umwandlung direkt zu Cellulose polykondensiert werden kann, im Gegensatz zur Xylose, die nur nach tiefer Veränderung zur Xylansynthese befähigt ist. Da die Verteilung der Aktivitäten in der isolierten Glucose und in der isolierten Xylose sehr ähnlich ist und da die Glucose direkt zu Cellulose aufgebaut wird, darf angenommen werden, daß Xylose zuerst zu Glucose um-

gewandelt werde und daß aus dieser dann Cellulose bzw. Xylan gebildet werde.

Kurz vorher untersuchten wir den Stoffwechsel einiger Bakterien und fanden, daß Pentosen und Hexosen zu einer Heptose, wahrscheinlich Sedoheptulose, umgewandelt werden<sup>21</sup>. Die Vermutung lag nun nahe, daß Xylose über Sedoheptulose zu Glucose aufgebaut werde. Deshalb wurden Versuche mit Sedoheptulose-2-C<sup>14</sup> angestellt, und die erhaltenen Resultate bestätigten unsere Annahme (Tab. 5 und 6).

Auffallend ist wiederum die genau gleiche Verteilung der Aktivität in Glucose und in Xylose. Damit ist wohl die gegenseitige Abhängigkeit der beiden Polysaccharide bewiesen. Ungefähr gleiche Teile der Aktivität sind an den C-Atomen 2 und 5 lokalisiert, was den früher bei Bakterien gemachten Erfahrungen über die Umwandlung der Heptose zu Hexose entspricht. Dieses Experiment unterstreicht ebenfalls unsere Vermutung, daß die Xylanbausteine aus Glucose – durch Verlust des C-Atoms 6 – entstanden seien. Auf Grund dieser Resultate nahmen wir an, daß Glucose zur Glucuronsäure oxydiert werde, die unter CO<sub>2</sub>-Abspaltung aktive Xylose liefert, welche zur Xylansynthese befähigt ist. Um dies zu untersuchen, wurde ein Experiment mit Glucuronsäure-1-C<sup>14</sup> durchgeführt (Tab. 5 und 6).

Wie aus Tab. 5 ersichtlich ist, ist Glucuronsäure das bessere Ausgangsmaterial zur Bildung von Xylan als zur Bildung von Cellulose. Die Verteilung der Aktivität (Tab. 6) in der isolierten Xylose aus mit Glucuronsäure behandelten Pflanzen entspricht der Decarboxylierungstheorie, da 88% der Aktivität, die vorher am C-Atom 1

<sup>21</sup> H. A. ALTERMATT, F. J. SIMPSON und A. C. NEISH, *Canad. J. Biochem. Physiol.* 33 (1955) 615. H. A. ALTERMATT, F. J. SIMPSON und A. C. NEISH, *Canad. J. Microbiol.* 1 (1955) 473.

Tab. 5. Einbau von C<sup>14</sup> in Cellulose und in Xylan durch Weizenpflanzen

Verbreiteter Zucker	Menge pro g trockenes Pflanzenmaterial		Dauer der Behandlung in Std.	C <sup>14</sup> in der Holocellulose in %	m $\mu$ c / mM C		Verdünnung des C <sup>14</sup>	
	$\mu$ M Zucker	m $\mu$ c C <sup>14</sup>			Cellulose	Xylan	Cellulose	Xylan
D-Sedoheptulose-2-C <sup>14</sup>	2,14	1950	5	4,3	8,47	11,30	1530	1150
D-Glucose-1-C <sup>14</sup>	54,6	765	23	16,9	7,73	10,1	298	228
D-Glucuronolacton-1-C <sup>14</sup>	46,0	865	23	11,1	2,23	12,4	1400	252

Tab. 6. Verteilung der Aktivität in der isolierten Glucose und Xylose

Verbreiteter Zucker	Isolierter Zucker	Prozentualer Anteil von C <sup>14</sup> im Glucose- bzw. Xylose-Molekül C-Atom Nr.					
		1	2	3	4	5	6
D-Sedoheptulose-2-C <sup>14</sup>	G	5,1	40,0	9,4	5,4	32,8	7,3
	X	8,6	43,2	7,9	6,2	34,1	-
D-Glucose-1-C <sup>14</sup>	G	74,0	7,2	2,7	2,0	1,5	12,6
	X	86,1	2,9	3,9	3,0	4,1	-
D-Glucuronolacton-1-C <sup>14</sup>	G	13,8	64,6	3,3	2,9	6,1	9,3
	X	88,0	1,9	2,9	2,0	5,2	-

der Glucuronsäure war, sich nun am C-Atom 1 der Xylose befinden.

Die Decarboxylierungstheorie verlangt die Bildung von Polyuronid, das unter CO<sub>2</sub>-Abspaltung in Xylan übergehe. Unsere Resultate zeigen jedoch, daß die Oxydation und die Decarboxylierung mit größter Wahrscheinlichkeit in der Monosaccharidstufe erfolgen.

Aus den erhaltenen Resultaten und den gefundenen Beziehungen in Polysacchariden anderer Pflanzen wurde folgendes Schema der Polysaccharidbildung in Weizenpflanzen zusammengestellt (Abb. 6).

Es wird angenommen, daß Uridindiphosphat-D-Glucose (UDP-Glucose) der zentrale Körper des Stoffwechsels sei. Dieses Nukleotid wurde zum erstenmal von CAPUTTO (1950) bei der Umwandlung von Glucose zu Galaktose durch Hefe identifiziert<sup>22</sup>. Photosynthetische Experimente mit radioaktivem CO<sub>2</sub> zeigten, daß UDP-D-Glucose vor Sucrose radioaktiv war, und daß UDP-Galaktose auch in höheren Pflanzen gebildet wird<sup>23</sup>. Es konnte dann von CARDINI (1955) gezeigt werden, daß UDP-Glucose als Glucosylrest-Donator anzusehen ist<sup>24</sup>. Wir dürfen also annehmen, daß die Pflanze aus Glucose UDP-Glucose bildet, die den Glucosylrest zur Cellulose-synthese abgeben kann.

<sup>22</sup> R. CAPUTTO, L. F. LEOIR, C. E. CARDINI und A. C. PALADINI, *J. Biol. Chem.* 184 (1950) 333.

<sup>23</sup> J. G. BUCHANAN, V. H. LYNCH, A. A. BENSON, D. F. BRADLEY und M. CALVIN, *J. Biol. Chem.* 203 (1953) 935.

<sup>24</sup> C. E. CARDINI, L. F. LEOIR und J. CHIRIBOGA, *J. Biol. Chem.* 214 (1955) 149.

Über die Entstehung der Uronsäuren in Pflanzen weiß man wenig. Nach neueren Arbeiten sind Leberenzyme

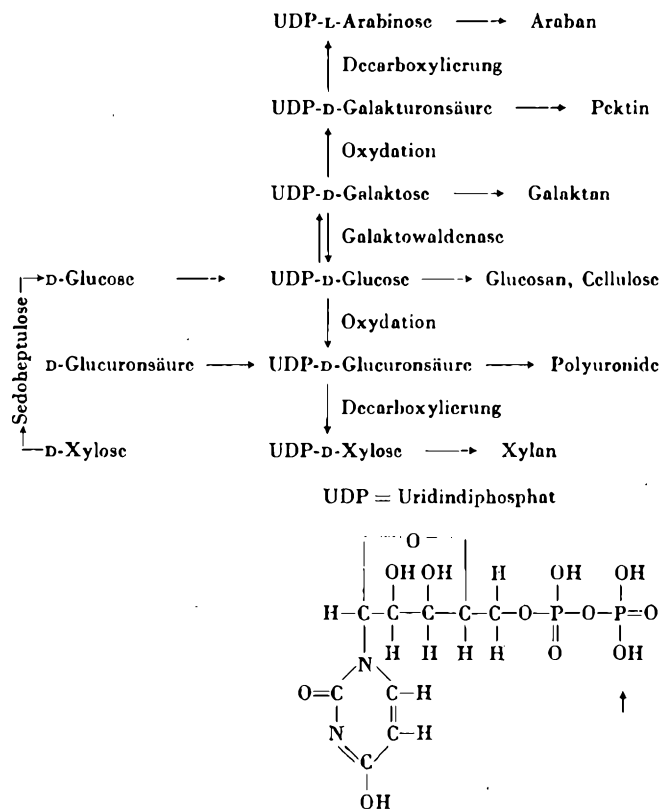


Abb. 6. Darstellung der hypothetischen Polysaccharidbildung in Pflanzen

befähigt, UDP-Glucose zu UDP-Glucuronsäure zu oxydieren<sup>25</sup>. Es ist möglich, daß auch in höheren Pflanzen solche Oxydationsenzyme existieren.

Neulich konnte von RABINOWITZ gezeigt werden, daß die Decarboxylierung der Glucuronsäure durch Enzyme aus Rattengeweben über das UDP-Nukleotid verläuft, wobei CO<sub>2</sub> und wahrscheinlich UDP-Xylose entstehen<sup>26</sup>.

Im vorgeschlagenen Schema wird angenommen, daß die Pflanze aus Glucose UDP-Glucose zu bilden vermag, die zu UDP-Glucuronsäure oxydiert wird. Es wird ebenfalls angenommen, daß aus freier Glucuronsäure UDP-Glucuronsäure gebildet werde, die durch Decarboxylierung UDP-Xylose liefert. Dagegen scheint die Pflanze nicht befähigt zu sein, aus Xylose direkt UDP-Xylose zu bilden. UDP-Xylose wird analog zur UDP-Glucose den Xylosylrest zur Xylansynthese abgeben.

Anhand der Erfahrungen, die bei Untersuchungen von Bakterienstoffwechsel gemacht wurden<sup>5</sup>, konnten die Schritte zur Synthese der Glucose aus Xylose über Sedoheptulose zusammengestellt werden. Die berechnete Verteilung der Aktivität in der isolierten Glucose

von mit Xylose behandelten Pflanzen stimmt mit den experimentellen Werten gut überein.

Analog ließe sich vielleicht auch die Bildung von Galaktan, Pektin und Araban erklären. Diese Vermutung wurde inzwischen durch SEEGMILLER bestätigt<sup>27</sup>. Experimente mit D-Glucose-1-, -2- und -6-C<sup>14</sup> an Erdbeerpflanzen zeigten, daß das Kohlenstoffgerüst der Hexose durch die Umwandlung der Glucose zur Galakturonsäure nicht verändert wird. Aus D-Galakturonsäure entsteht durch Verlust des C-Atoms 6 L-Arabinose.

Zusammenfassend können wir sagen, daß Glucose das geeignetste Ausgangsmaterial zur Biosynthese sowohl der Cellulose als auch des Xylans ist. Glucose wird ohne vorhergehende Umwandlung zu Cellulose aufgebaut. Durch Verlust des C-Atoms 6 von Glucose durch Oxydation zur Glucuronsäure und durch CO<sub>2</sub>-Abspaltung entsteht eine aktive Xylose, die zur Xylansynthese befähigt ist. Xylose wird vorgängig der Polykondensation über eine Heptulose zu Glucose aufgebaut, die dann zur Zellwandpolysaccharidsynthese befähigt ist.

<sup>25</sup> K. J. ISSELBACHER und J. AXELROD, *J. Amer. Chem. Soc.* 77 (1955) 1070.

<sup>26</sup> J. L. RABINOWITZ, *J. Amer. Chem. Soc.* 77 (1955) 5180.

<sup>27</sup> C. G. SEEGMILLER, B. AXELROD und R. M. MCCREARY, *J. Biol. Chem.* 217 (1955) 765. C. G. SEEGMILLER, R. JANG und W. MANN jun., *Arch. Biochem. Biophys.* 61 (1956) 422.