

**FORSCHUNGSBERICHTE
DES WIRTSCHAFTS- UND VERKEHRSMINISTERIUMS
NORDRHEIN-WESTFALEN**

Herausgegeben von Staatssekretär Prof. Dr. h. c. Dr. E. h. Leo Brandt

Nr. 576

Prof. Dr. Fritz Micheel

Dr. Hans Georg Bussmann

**Untersuchung synthetischer Kohlenhydrat-Eiweißverbindungen
mit der Ultracentrifuge und bei der Electrophorese**

Als Manuskript gedruckt



SPRINGER FACHMEDIEN WIESBADEN GMBH

ISBN 978-3-663-03797-2 ISBN 978-3-663-04986-9 (eBook)
DOI 10.1007/978-3-663-04986-9

G l i e d e r u n g

Einführung: Allgemeines über Polysaccharid-Eiweiß-Verbindungen	
Aufgabenstellung	S. 7
A. Über die Darstellung von kovalenten Polysaccharid-Eiweiß- verbindungen mit biologisch möglicher Verknüpfungsgruppe	S. 9
I. Allgemeines und frühere Versuche	S. 9
II. Theoretisches zur Acylierung (Kupplung) von basischen Gruppen mit Carbonsäure-aziden und -halogeniden im schwach Alkalischen	S. 11
III. Eine Deutung der Spezifität verschiedener Acylier- rungsmittel für primäre Aminogruppen bei der Kupp- lung mit natürlichen α Aminosäuren und Proteinen bei pH 8 - 9 und 0 - 25° C	S. 21
B. Physikalische Untersuchungsmethoden	S. 25
I. Ultrazentrifuge	S. 25
II. Mikroelektrophorese	S. 34
III. Präparative Elektrophorese	S. 38
C. Die Auswahl der Kupplungskomponenten (Polysaccharidcarbonsäure und Eiweißstoff)	S. 41
D. Darstellung und Eigenschaften der Kupplungskomponenten .	S. 45
I. Das Rinderserumalbumin	S. 45
II. Die Arabinsäure und ihr Azid	S. 47
1. Gummi arabicum und Arabinsäure (35b)	S. 47
a Die 6-(β -D-Glucuronido $\langle 1,5 \rangle$)-D-galaktose $\langle 1,5 \rangle$	S. 52
2. Der Arabinsäure-methylester	S. 55
3. Das Arabinsäure-hydrazid	S. 58
4. Das Arabinsäure-azid	S. 62
5. Das alkalisch verseifte Arabinsäure-azid	S. 65
6. Die Ursache des Stickstoff-Gehaltes der Arabin- säure und des verseiften Arabinsäure-azids	S. 68
7. Die Infrarot-Spektren von Arabinsäure, von 6-(β - D-Glucuronido $\langle 1,5 \rangle$)-D-galaktose $\langle 1,5 \rangle$ und von Derivaten dieser Substanzen	S. 73

E. Über die Darstellung von Arabinsäure-peptiden durch Kupplung von Arabinsäure-azid mit den primären Aminogruppen natürlicher α -Aminosäuren bei pH 8-9 und die Eigenschaften der synthetisierten Arabinsäure-peptide	S. 75
I. Das Arabinsäure-peptid Poly-[L-histidyl-(N ^{α})]-arabinsäure	S. 76
1. Über einige Eigenschaften des L-Histidins und seine Kupplung mit Arabinsäure-azid	S. 76
2. Die Überprüfung der Alkalistabilität der Peptidbindungen	S. 79
3. Die Überprüfung der Säurebeständigkeit der Peptidbindungen	S. 79
4. Die Berechnung der Äquivalentausbeuten und der k_V/k_K -Werte der Kupplungen von Arabinsäure-azid mit den primären Aminogruppen des L-Histidins . .	S. 83
II. Das Arabinsäure-peptid Poly-[L-tyrosil-(N ^{α})]-arabinsäure	S. 85
F. Die Darstellung einer kovalenten Verbindung von Arabinsäure und Rinderserumalbumin mit biologisch möglicher Verknüpfungsgruppe (Arabicyl-Albumin)	S. 92
I. Ansätze mit Abscheidung der Reaktionsgemische durch Ansäuern der Reaktionslösungen mit 2n Essigsäure . .	S. 94
II. Ansätze mit Isolierung der Reaktionsgemische durch Gefriertrocknung der Reaktionslösungen	S. 106
Zusammenfassung	S. 113
Anhang	S. 117
Erläuterungen zu den Kapiteln A - F	S. 117
I. Symbole für einige Substanzen	S. 117
1. Symbole im Text und in den Diagrammen	S. 117
2. Symbole in den Reaktionsgleichungen	S. 118

II. Theoretische Ableitungen	S. 119
1. Die relative Änderung der Äquivalentausbeute mit der relativen Änderung verschiedener Größen ($k_V/k_K, K_w^1, c_g$) als Funktion der zu verändernden Äquivalentausbeute. (Ableitung der auf Abbildung 3 (S. 18) angegebenen Gleichung)	S. 119
2. Die Äquivalentausbeute für verschiedene basische Gruppen bei separater und gemeinsamer Kupplung. (Ab- leitung zu S. 25)	S. 120
III. Zur Darstellung einiger Substanzen	S. 122
1. Zur Darstellung der Arabinsäure und ihrer Derivate einschließlich der Kupplungsprodukte und Kontrollsub- stanzen	S. 122
a) Die zur Darstellung verwendeten Mengen Ausgangs- substanz und die gewichtsmäßige Ausbeute an makro- molekularer Substanz	S. 122
b) Die Messung des pH-Wertes	S. 124
c) Die Elektrodialyse	S. 124
d) Die Dialyse	S. 125
e) Die Darstellung des Arabinsäure-methylesters	S. 125
2. Darstellung der 6-(β -D-Glucuronido $\langle 1,5 \rangle$) -D-galak- tose $\langle 1,5 \rangle$	S. 126
3. Darstellung der Modellsubstanzen 6-(β -D-Glucuronido- $\langle 1,5 \rangle$ -methylester)-methyl-D-galaktosid $\langle 1,5 \rangle$ und Methyl-D-glucuronid $\langle 1,5 \rangle$ -methylester	S. 127
4. Darstellung eines Gemisches von 6-(β -D-Glucuronido- $\langle 1,5 \rangle$ -hydrazid)-methyl-D-galaktosid $\langle 1,5 \rangle$ und Me- thyl-D-glucuronid $\langle 1,5 \rangle$ -hydrazid	S. 128
IV. Analytische Bestimmungen und Untersuchungen	S. 129
1. Die Bestimmung des Stickstoff-Gehalts der Substanzen	S. 129
2. Die Bestimmung des Methoxyl-Gehalts der Substanzen .	S. 130
3. Analysendaten zur quantitativen Bestimmung der stabi- len Säureazidgruppen des Arabinsäure-azids	S. 130
4. Die quantitative Bestimmung des peptidartig gebunde- nen Tyrosins der kovalenten Arabinsäure-Tyrosin-Ver- bindungen durch UV-Absorptions-Messung	S. 130

5. Die halbquantitative Schnellbestimmung des Arabin- säure-Gehalts der Elektrophorese-Fractionen	S. 132
6. Die Darstellung von Säurehydrolysaten der Arabinsäure und ihrer Derivate zur papierchromatographischen Un- tersuchung	S. 133
a) Hydrolyse in 0,1 n bzw. 0,36 n Salzsäure	S. 133
b) Hydrolyse in halbkonzentrierter Salzsäure	S. 133
V. Die Berechnung einiger Größen aus experimentellen Daten und Tabellenwerten	S. 133
1. Die Berechnung der Äquivalentausbeute aus Analysen- daten	S. 133
2. Die Berechnung des Vergrößerungsfaktors G	S. 134
3. Die Berechnung der Sedimentationskonstanten s_{20}^c	S. 135
4. Die Berechnung des Albumin-, Histidin- oder Tyrosin- Gehalts von Verbindungen oder Gemischen dieser Sub- stanzen mit Arabinsäure aus ihrem Stickstoff-Gehalt	S. 137
5. Die Berechnung der pK-Werte des Histidins bei 4 und 22° C	S. 137
Literaturverzeichnis	S. 139