

## **Bedeutung der Stereochemie für die Physiologie.**

Von  
**Emil Fischer.**

(Der Redaction zugegangen am 15. August 1898.)

Die räumliche Betrachtung des chemischen Moleküls, welche mit der von Pasteur bei den Weinsäuren erkannten Asymmetrie begann, hat durch die Theorie des asymmetrischen Kohlenstoffatoms von van't Hoff und Le Bel für die organische Chemie längst eine fundamentale Bedeutung gewonnen. Da ihre Resultate in den Kreisen der Physiologen weniger bekannt zu sein scheinen, so will ich es versuchen, an den wichtigsten Beispielen zu zeigen, wie nützlich dieselben bei der Erforschung mancher biologisch-chemischer Erscheinungen verwerthet werden können.

Dass der Organismus optisch active Kohlenstoffverbindungen, welche man nach Pasteur als asymmetrische Moleküle zu betrachten hat, mit Vorliebe bereitet, ist seit den Untersuchungen von Biot aus dem Anfang dieses Jahrhunderts bekannt, und umgekehrt weiss man auch seit dem berühmten Versuch von Pasteur über die Vergärung der Traubensäure durch Schimmelpilze,<sup>1)</sup> wobei zuerst die Rechts-Weinsäure verbrannt wird, dass zwei optische Antipoden von dem Organismus mit verschiedener Geschwindigkeit verarbeitet werden. Diese Methode.

<sup>1)</sup> Eine umfassende und sehr lehrreiche Untersuchung dieses Phänomens hat vor einigen Jahren W. Pfeffer angestellt. Jahrb. f. wissenschaftl. Botanik 28. 205.

aus einer racemischen Verbindung durch partielle Vergahrung die eine optisch active Hälfte zu isoliren, ist seitdem in zahlreichen Fällen mit Hilfe von Schimmel-, Spross- oder Spaltpilzen benutzt worden. Dass derselbe Unterschied bei den sterisch verschiedenen ungesättigten Verbindungen besteht, wurde in einem Falle, an dem verschiedenen Verhalten der Fumar- und Maleinsäure gegen *Penicillium glaucum* und *Aspergillus niger* von E. Buchner<sup>1)</sup> bewiesen.

Die erste Beobachtung, dass auch der höher entwickelte Organismus auf zwei optische Antipoden verschieden reagirt, machte Piutti<sup>2)</sup> bei den beiden Asparaginen, von welchen das eine süss und das andere fade schmeckt, und Pasteur<sup>3)</sup> erklärte diese Erscheinung durch die chemische Asymmetrie der Nervensubstanz.

Ein viel grössere thatsächliches Material für das Studium dieser Beziehungen zwischen räumlichem Aufbau des Moleküls oder, wie man jetzt gewöhnlich sagt, Configuration des Moleküls und biologischer Wirksamkeit hat die neuere Untersuchung der Kohlenhydrate und Glucoside geliefert. Sie bot mir insbesondere Gelegenheit, den von jeher als typisch geltenden Gahrprocess, die alkoholische Gährung, vom stereochemischen Standpunkt zu studiren. Da die betreffenden Beobachtungen in einer Reihe von Einzelabhandlungen<sup>4)</sup> zerstreut und häufig durch den überwiegend chemischen Inhalt verdeckt sind, so scheint es mir zweckmässig, sie hier im Zusammenhang darzustellen und zugleich einige Missverständnisse zu beseitigen, welche die frühere knappe Form der Publication veranlasst hat.

### Configuration und alkoholische Gährung der Monosaccharide.

Obschon durch das Eingreifen der Synthese jetzt Monosaccharide der verschiedensten Zusammensetzung d. h. mit einem

---

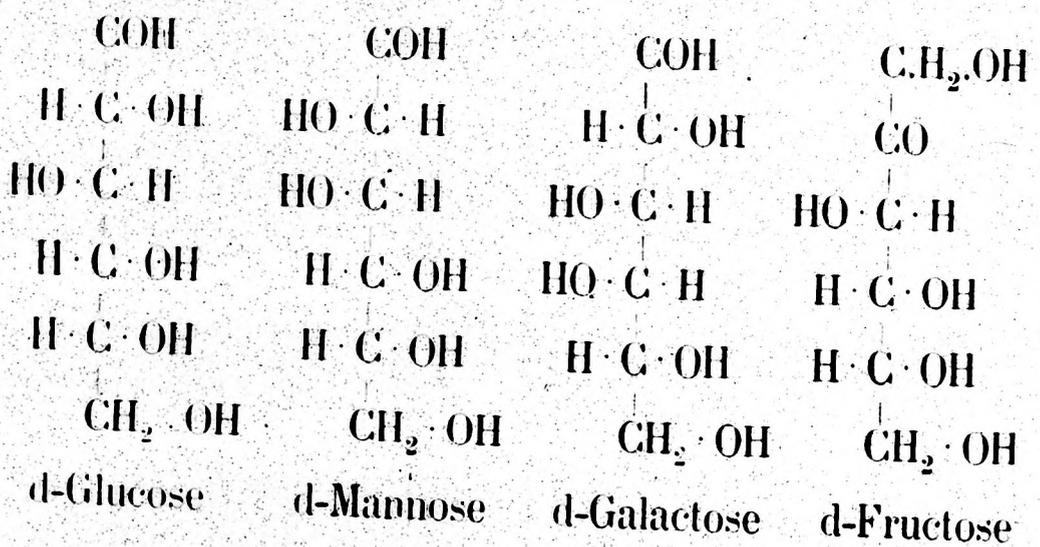
1) Ber. d. d. chem. Ges. **25**, 1161.

2) Compt. rend. **103**, 134.

3) ibid. **103**, 138.

4) Berichte d. d. chem. Ges. 1894 und 1895.

Gehalte von zwei bis neun Kohlenstoffatomen bekannt sind, so kommen doch für die vorliegende Frage vorzugsweise die Hexosen  $C_6H_{12}O_6$ , welche bekanntlich wieder in Aldosen und Ketosen zerfallen, in Betracht. Von den elf bekannten Aldohexosen haben sich nur drei, d-Glucose (Traubenzucker), d-Mannose und d-Galactose gärfähig gezeigt, und von den Ketohexosen, deren Zahl durch die Arbeiten von L. de Bruyn und van Ekenstein in neuester Zeit sehr gewachsen ist, zeichnet sich nur die d-Fructose durch dieselbe Eigenschaft<sup>1)</sup> aus. Dass die optischen Antipoden dieser vier Zucker von der Hefe nicht verändert werden und dass in Folge dessen bei der Behandlung der racemischen Verbindungen mit Hefe nur die eine Hälfte verschwindet, entspricht der alten Pasteur'schen Regel. Da für alle Aldohexosen und die Fructose die Configuration des Moleküls im Sinne der Theorie des asymmetrischen Kohlenstoffatoms festgestellt ist, so lässt sich ihr Einfluss auf die Gährbarkeit an der Hand der chemischen Formeln discutiren. Es wird genügen, dieselben nur für die vier gährbaren Zucker anzuführen:

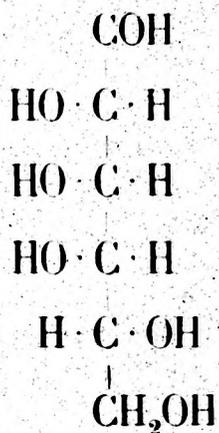


Man ersieht daraus, dass die d-Fructose dem Traubenzucker und der Mannose sterisch völlig gleicht; denn an den drei asymmetrischen Kohlenstoffatomen, welche sie noch enthält, ist die Anordnung genau dieselbe wie bei den beiden anderen

<sup>1)</sup> Da die Existenz der Pseudofructose, welche ebenfalls gärfähig sein soll, noch nicht ganz sicher ist.

Zuckern, und diese sterische Verwandtschaft ist offenbar für die Thätigkeit der Hefe massgebend. Denn alle bisher geprüften Saccharomycceten, welche alkoholische Gährung erzeugen, verarbeiten diese drei Zucker mit annähernd gleicher Leichtigkeit. Aber auch in chemischen Metamorphosen kommt diese Aehnlichkeit zum Ausdruck, denn Glucose, Mannose und Fructose konnten durch mehrere Uebergänge miteinander verknüpft werden. Weiter entfernt sich von ihnen auch in Bezug auf die Configuration die d-Galactose. Dem entspricht das Verhalten gegen Hefe: denn sie wird durchgehends langsamer als der Traubenzucker und von einigen Hefenarten, wie Sacch. apiculatus und Sacch. productivus, überhaupt nicht vergohren.

Die übrigen, nicht gährbaren Hexosen unterscheiden sich von den vorigen Formen dadurch, dass einzelne oder auch alle Hydroxyle auf der entgegengesetzten Seite stehen. Wie geringe Verschiedenheiten schon genügen, um die Wirkung der Hefe auszuschliessen, beweist das Beispiel der d-Talose, welche folgende Configuration hat:



Sie steht zur d-Galactose in demselben Verhältniss, wie die Mannose zur Glucose, die Stellung der beiden obersten Hydroxyle ist dieselbe wie in der d-Mannose, die der beiden mittleren die gleiche wie in der Galactose und die des unteren identisch mit derjenigen der Glucose, Mannose und Galactose. Wenn trotzdem die d-Talose nicht gährfähig ist, so geht daraus hervor, dass nicht die Stellung der einzelnen Hydroxyle, sondern erst ihre Combination d. h. die gesammte Configuration ausschlaggebend ist. Ob unter den 5 von der Theorie noch vorgesehenen, aber bisher unbekanntem Aldohexosen gährfähige

Formen vorhanden sein werden, lässt sich nicht voraussagen, ist aber auch principiell für unsere Betrachtung gleichgiltig.

Die zuvor geschilderten Erscheinungen wurden von mir beobachtet vor der wichtigen Entdeckung von E. Buchner, dass die alkoholische Gärung von der Hefezelle getrennt werden kann, dass mit anderen Worten ein lösliches Ferment, die Zymase, existirt, welches dieselbe hervorruft. Ich zweifelte damals nicht daran, dass zwischen der Configuration der Hexosen und den bei der Gärung in Kraft tretenden chemischen Agentien der Hefezelle eine bestimmte Relation bestehen müsse, und gab dieser Ueberzeugung in Gemeinschaft mit Thierfelder durch Aufstellung einer Hypothese über die stereochemische Verwandtschaft von Zucker und Gärungsferment Ausdruck.<sup>1)</sup>

Um diesen Betrachtungen aber eine bessere Grundlage zu verschaffen, schien es mir vor allen Dingen nothwendig, die Untersuchung auf die vom Organismus abgetrennten Fermente auszudehnen, was für die alkoholische Gärung damals noch nicht möglich war. Die Gelegenheit dazu boten mir indessen die künstlichen Glucoside der Alkohole, und die hier gewonnenen Resultate liessen sich zum Theil auch auf die natürlichen Polysaccharide übertragen.

### Configuration und enzymatische Spaltung der Glucoside.<sup>2)</sup>

Durch Erhitzen der Aldosen mit sehr schwacher alkoholischer Salzsäure entstehen, wie ich an vielen Beispielen gezeigt habe, in der Regel gleichzeitig zwei isomere Glucoside, welche als  $\alpha$ - und  $\beta$ -Verbindung unterschieden wurden. In der Voraussetzung, dass sie stereoisomer sind, habe ich für die beiden

1) Ber. d. d. chem. Ges. **27**, 2031.

2) Vergl. meine Mittheil. Ber. d. d. chem. Ges. **27**, 2985, 3479 u. **28**, 1429, 1508, 1145.



10 Theilen einer Fermentlösung, welche durch 15stündiges Auslaugen von 1 Theil lufttrockener Bierhefe (Reincultur Typus Froberg) mit 15 Theilen Wasser bei 30° bereitet war, 20 Stunden im Brutschrank bei 30—35° behandelt. Die Titration mit Fehling'scher Lösung ergab, dass die Hälfte des Glucosids in Zucker verwandelt war. Unter den gleichen Bedingungen wurde das  $\beta$ -Methylglucosid gar nicht verändert.

Derselbe Unterschied zeigte sich bei dem bisher nur in einer Form bekannten Aethyl- und Phenol-Glucosid.<sup>1)</sup> Zweifellos besteht also in dem Verhalten gegen die beiden Enzyme ein ganz scharfer Unterschied der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Derivate des Traubenzuckers, so dass wir auf diesem Wege die beiden Arten leicht erkennen können, während chemische Agentien für diesen Zweck fehlen.

Da aber, wie zuvor erwähnt, die Möglichkeit einer Structur-isomerie für  $\alpha$ - und  $\beta$ -Glucoside bisher nicht sicher ausgeschlossen werden konnte, so liefern alle diese Beobachtungen keinen strengen Beweis für die Abhängigkeit der Enzymwirkung von der Configuration. Glücklicher Weise fallen solche Bedenken weg bei den zwei Methylderivaten der l-Glucose, welche ich  $\alpha$ -Methyl-l-glucosid und  $\beta$ -Methyl-l-glucosid genannt habe, und welche zweifellos die Spiegelbilder der entsprechenden d-Verbindungen sind. Da diese beiden l-Glucoside weder von Emulsin noch von Hefenzym angegriffen werden, so haben wir hier genau denselben Unterschied wie bei der verschiedenen Vergärbbarkeit von d- und l-Glucose resp. anderen optischen Antipoden durch Hefe oder sonstige Gährungserreger.

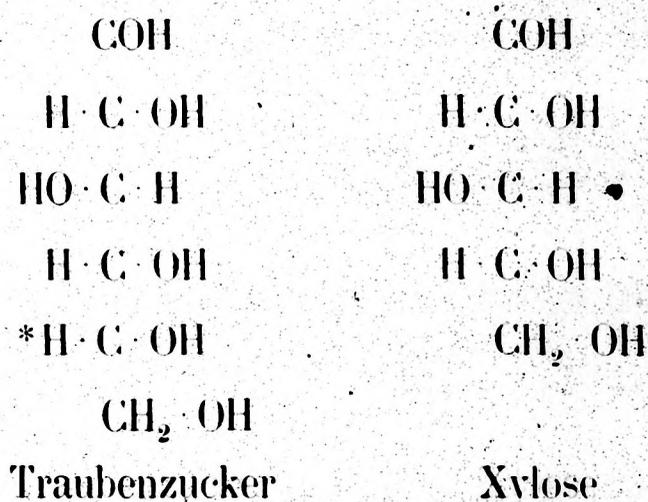
Nicht minder interessant ist das Verhalten der Glucoside, welche sich von den übrigen Hexosen ableiten. Hier kommen zunächst die Derivate der gährbaren Zucker in Betracht. Von der d-Galactose sind beide Methylverbindungen bekannt, und wieder wird die eine nur von Emulsin und die andere von Hefenzym hydrolysiert. Aber der Vorgang findet langsamer statt als bei den d-Glucosiden, so dass der Unterschied annähernd der verschiedenen Schnelligkeit bei der alkoholischen Gährung von Trauben-

<sup>1)</sup> Siehe die Tabelle Seite 69.

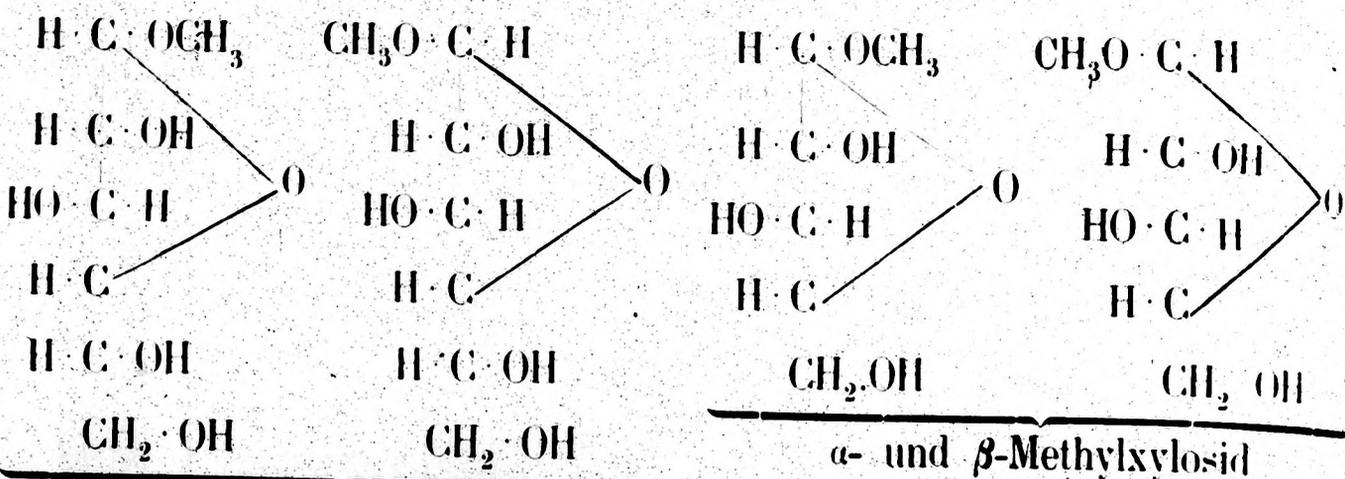
zucker und Galactose entspricht. In auffallendem Gegensatz dazu ist das Methylderivat der ebenfalls gährbaren d-Mannose sowohl gegen Emulsin wie gegen Hefenzym beständig, und dasselbe gilt von seinem optischen Antipoden, dem Methyl-l-mannosid. Leider wurde das zweite Methyl-d-mannosid bisher nicht gefunden.

Indifferent gegen die beiden Enzyme sind endlich alle bisher geprüften Glucoside der Pentosen, Methylpentosen und Heptosen. Da die Glucosidgruppe in diesen Verbindungen zweifellos die gleiche Structur besitzt, wie bei den Derivaten des Traubenzuckers und der Galactose, so liegt der Grund für die verschiedene Angriffskraft der Enzyme offenbar in der Configuration des Zuckermoleküls.

Besonders lehrreich ist das Beispiel der beiden Xyloside. Die Xylose selbst hat eine ganz ähnliche Configuration wie der Traubenzucker, wie die folgenden Formeln zeigen:



Nur fehlt in ihr das beim Traubenzucker mit \* bezeichnete Kohlenstoffatom. Da nun letzteres offenbar bei der Glucosidbildung keine massgebende Rolle spielt, dieselbe sich vielmehr nach allen bisherigen Erfahrungen an den vier oberen Kohlenstoffatomen des Moleküls vollzieht, so darf man annehmen, dass die Glucosidgruppe bei den Derivaten der Xylose und des Traubenzuckers structur- und stereochemisch gleich gebaut ist. Um das zu veranschaulichen, stelle ich die Configurationsformeln der vier Verbindungen zusammen, bei welchen die von mir bevorzugte allgemeine Structurformel der Glucoside benutzt ist:



Die Indifferenz der Xyloside gegen Emulsin und Hefenzym zeigt mithin, welche feine Unterschiede für den Angriff dieser Stoffe massgebend sind, oder mit anderen Worten, wie grob die Vorstellungen noch sind, welche wir trotz aller Fortschritte der Structur- und Stereochemie von dem Aufbau des chemischen Moleküls haben. Das weitere Studium der enzymatischen Prozesse scheint mir deshalb berufen zu sein, auch die Anschauungen über den molekularen Bau complicirter Kohlenstoffverbindungen zu vertiefen.

Viel dürftiger als bei den Aldosiden sind die bisherigen Erfahrungen bei den Ketosiden. Das einzige krystallisirte Produkt dieser Art, das Methylsorbosid, wird von Emulsin und Hefenzym nicht verändert. Dagegen wurde bei einem syrupförmigen Präparat, welches aus d-Fructose und Methylalkohol gewonnen war, eine partielle Spaltung durch Hefe beobachtet, so dass auch hier aller Wahrscheinlichkeit nach ähnliche Verhältnisse wie bei den Aldosiden bestehen.

In der folgenden Tabelle (S. 69) ist das Verhalten der verschiedenen Glucoside gegen Emulsin und Hefenzym übersichtlich zusammengestellt. Die von anderen Autoren herrührenden Beobachtungen sind durch Sternechen markirt. Auf die synthetischen Produkte folgen die natürlichen Glucoside, von denen aber die beiden ersten, Salicin und Helicin, bekanntlich auch von Michael künstlich dargestellt wurden. Ein halb künstliches Produkt ist das von mir aus dem Amygdalin gewonnene Mandelnitrilglucosid.

Die natürlichen Glucoside sind zum grösseren Theil Derivate der Phenole und gehören offenbar zur  $\beta$ -Reihe, da sie

| Synthetische Glucoside |          | Emulsin                                | Hefenzym |   |
|------------------------|----------|--|----------|---|
| Aldoside               | Hexoside | α-Methyl-d-glucosid . . . . .          | —        | + |
|                        |          | β-Methyl-d-glucosid . . . . .          | +        | — |
|                        |          | α-Methyl-l-glucosid . . . . .          | —        | — |
|                        |          | β-Methyl-l-glucosid . . . . .          | —        | — |
|                        |          | α-Aethyl-d-glucosid . . . . .          | —        | + |
|                        |          | Phenol-d-glucosid . . . . .            | +*)      | — |
|                        |          | α-Methyl-d-galactosid . . . . .        | —        | + |
|                        |          | β-Methyl-d-galactosid . . . . .        | +        | — |
|                        |          | Methyl-d-mannosid . . . . .            | —        | — |
|                        |          | Methyl-l-mannosid . . . . .            | —        | — |
|                        |          | Methylarabinosid . . . . .             | —        | — |
|                        |          | α-Methylxylosid . . . . .              | —        | — |
|                        |          | β-Methylxylosid . . . . .              | —        | — |
|                        |          | Methylrhamnosid . . . . .              | —        | — |
|                        |          | Methylglucoheptosid . . . . .          | —        | — |
| Ketoside               | (        | Methylsorbosid . . . . .               | —        | — |
|                        |          | Methylfructosid (nicht krystallisirt.) | —        | + |

| Natürliche Glucoside                             |     | Emulsin   | Hefenzym |   |
|--|-----|---|----------|---|
| Einfache Derivate der d-Glucose                  | }   | Salicin . . . . .                                   | +*)      | — |
|  |     | Helicin . . . . .                                   | +*)      | — |
|  |     | Aesculin . . . . .                                  | +*)      | — |
|  |     | Arbutin . . . . .                                   | +*)      | — |
|  |     | Coniferin . . . . .                                 | +*)      | — |
|  |     | Phillyrin . . . . .                                 | —*)      | — |
|  |     | Apiin . . . . .                                     | —        | — |
|  |     | Syringin . . . . .                                  | +*)      | — |
|  |     | Saponin . . . . .                                   | —        | — |
|  |     | Phloridzin . . . . .                                | —*)      | — |
|  |     | Mandelnitrilglucosid<br>(halb künstlich.) . . . . . | +        | — |
| (Derivat eines Disaccharids) Amygdalin . . . . . | +*) | +   |          |   |
| (Derivat d. Rhamnose) Quercitrin . . . . .       | —   | —   |          |   |

+ bedeutet Hydrolyse.

— " " keine Hydrolyse.

\*) bedeutet, dass die Angabe von anderen Autoren herrührt.

von Emulsin, aber nicht von Hefenzym angegriffen werden. Einige derselben, wie Phillyrin, Apiin, Saponin und Phloridzin, sind auch gegen Emulsin beständig, obschon sie sich vom Traubenzucker ableiten. Wodurch diese Indifferenz verursacht wird, lässt sich vorläufig nicht ermitteln. Manche anderen complicirten Glucoside können mit den Enzymen nicht geprüft werden, weil sie in Wasser unlöslich sind.

Einen eigenartigen Fall haben wir bei dem Amygdalin. Dasselbe ist kein einfaches Derivat des Traubenzuckers, sondern leitet sich von einem Disaccharid, wahrscheinlich von der Maltose, ab. Es wird sowohl von Emulsin wie von Hefenzym angegriffen, aber in ganz verschiedener Weise gespalten. Ersteres erzeugt bekanntlich Bittermandelöl, Blausäure und Traubenzucker. Die Wirkung des Hefenzym beschränkt sich dagegen auf die Abspaltung von einem Molekül Traubenzucker; daneben entsteht das Mandelnitrilglucosid, welches gegen Hefe beständig ist, dagegen von Emulsin weiter in Bittermandelöl, Blausäure und Traubenzucker zerlegt wird.<sup>1)</sup>

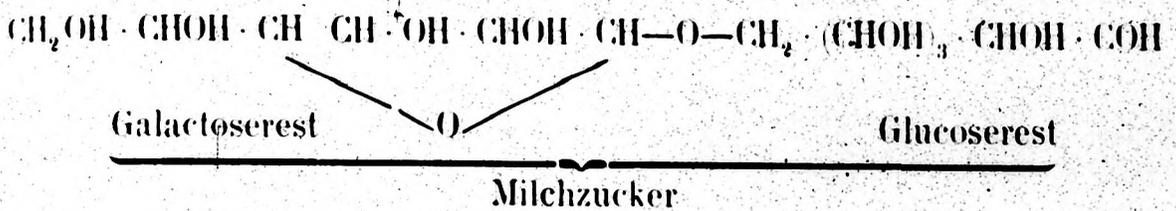
### Configuration und Enzymwirkung bei den Polysacchariden.

Obschon die Beobachtungen über die Hydrolyse der Polysaccharide durch Enzyme ausserordentlich zahlreich sind, so beschränkt sich doch das Material, welches für die vorliegende Frage in Betracht kommt, auf wenige Fälle bei den Disacchariden und gestattet auch hier nicht einmal so sichere Schlüsse, wie bei den Glucosiden.

Disaccharide der Hexosen sind bisher sieben genauer bekannt, vier natürliche — Rohrzucker, Maltose, Milchzucker und Trehalose —, ferner drei künstliche, die Melibiose, welche aus der Melitriose durch partielle Hydrolyse entsteht, die Turanose, welche auf dieselbe Art aus der Melicitose gewonnen wird, und endlich die synthetisch aus Traubenzucker dargestellte Isomaltose, welche aber in reinem Zustand nicht bekannt ist. Maltose und Milchzucker sind structurchemisch so ausserordentlich ähnlich,

<sup>1)</sup> E. Fischer, Ber. d. d. chem. Ges. 28, 1508.

wie die Bildung der Osazone und das Verhalten gegen Essigsäureanhydrid beweist, dass ich ihre Stereoisomerie für recht wahrscheinlich halte, wenn auch der definitive Beweis dafür schwer zu liefern ist. Unter der Voraussetzung, dass diese Zucker eine glucosidähnliche Gruppe enthalten, habe ich deshalb für beide vorläufig die gleiche Strukturformel:



aufgestellt. Die Isomerie liegt nun einerseits darin, dass die auf der linken Seite stehende Hälfte des Moleküls in einem Falle die Configuration des Traubenzuckers, im anderen Falle diejenige der Galactose besitzt. Dazu tritt aller Wahrscheinlichkeit nach noch ein Unterschied in der Configuration der Glucosidgruppe: denn die beiden Zucker unterscheiden sich wieder ähnlich dem  $\alpha$ - und  $\beta$ -Methylglucosid ganz scharf in ihrem Verhalten gegen Emulsin und Hefenzym. Von dem ersteren wird der Milchzucker recht leicht gespalten, während die Maltose gegen dieses Enzym ganz beständig ist. Umgekehrt erfolgt die Hydrolyse der Maltose durch das Enzym der Hefe, während der Milchzucker unter denselben Bedingungen intact bleibt. Analog dem Emulsin verhalten sich ferner, wie ich nachgewiesen habe, die sogenannten Lactasen, welche im Kefir und den Milchzuckerhefen enthalten sind.<sup>1)</sup>

Stereoisomer mit der Maltose ist vielleicht auch die synthetische Isomaltose. Meine Beobachtungen beschränken sich hier auf das Verhalten gegen die Hefenzyme, wovon der Zucker nicht angegriffen wird.

Die Melibiose ist bekanntlich ähnlich dem Milchzucker das Anhydrid von einem Molekül Traubenzucker und einem Molekül Galactose. Ob sie mit der Maltose und dem Milchzucker stereoisomer ist, lässt sich nach den bis jetzt vorliegenden dürftigen Beobachtungen nicht entscheiden. Nach dem Verhalten gegen Enzyme dürfte das aber wahrscheinlich sein; sie wird nämlich von einem Enzym, welches in der unter-

1) Ber. d. deutsch. chem. Ges. 27. 2991. 3481.

gährigen Hefe enthalten ist, gespalten, während sie gegen Emulsin beständig ist.

So dürftig diese Beobachtungen auch sind, so deuten sie doch darauf hin, dass hier ähnliche Verhältnisse bestehen wie bei den Glucosiden, und wenn es erst gelungen sein wird, die Disaccharide synthetisch zu bereiten und dadurch eine grössere Anzahl von stereoisomeren Formen zu erzeugen, so wird man unzweifelhaft ebenso scharfe Unterschiede der enzymatischen Spaltung beobachten.

### Enzyme der Hefe und Gährbarkeit der Polysaccharide.<sup>1)</sup>

Bei den zuvor erwähnten Versuchen hatte ich Gelegenheit, die Enzyme der Hefe genauer kennen zu lernen und dabei gleichzeitig eine allgemeinere biologische Frage, die Vergährbarkeit der Polysaccharide, von neuen Gesichtspunkten aus zu betrachten. Da die hierbei erlangten Resultate auch in einer Reihe von Abhandlungen zerstreut sind, so scheint es mir nützlich, sie ebenfalls in übersichtlicher Gruppierung zusammenzustellen. Vor Beginn meiner Untersuchungen war mit Sicherheit nur ein Enzym der gewöhnlichen Bierhefe bekannt, das Invertin, welches in neuerer Zeit von manchen Autoren im Interesse einer einheitlichen Nomenclatur Invertase genannt wird. Dasselbe spaltet bekanntlich den Rohrzucker in Glucose und Fructose, ferner erzeugt es aus der Melitriose die Melibiose und Fructose. Die Gährbarkeit des Rohrzuckers wurde dementsprechend schon lange dahin interpretirt, dass er zunächst hydrolysiert und dann erst die Spaltungsprodukte in Alkohol und Kohlensäure zerlegt werden. Für die Maltose und alle übrigen vergärbaren Polysaccharide nahm man dagegen fast allgemein eine direkte Vergärung durch die Hefe an. Nur ganz vereinzelt waren Zweifel an dieser Auffassung, speciell bezüglich der Maltose, geäussert worden. So hatte namentlich E. Bourquelot die primäre Spaltung der Maltose durch Enzyme der Hefe zu beweisen versucht, aber die Schwierigkeit, Trauben-

<sup>1)</sup> Ber. d. deutsch. chem. Ges. 27, 2986, 3479; 28, 1429.

zucker neben Maltose sicher zu erkennen, war bei seinen Versuchen so störend, dass sie keinen Anspruch auf völlige Entscheidung der Frage erheben konnten, und da seiner Beobachtung viele andere negative Versuche von anderer Seite entgegenstanden, so sind auch seine Schlussfolgerungen meines Wissens von keinem Zymochemiker anerkannt worden. Eine andere Beobachtung über die Spaltung der Maltose durch einen Auszug von getrockneter Hefe war von C. Lintner gemacht, aber in so beiläufiger Form und ohne alle Discussion ihrer Bedeutung beschrieben worden, dass sie ebenfalls keine Beachtung gefunden hatte.<sup>1)</sup>

Durch die Benutzung des Phenylhydrazins, welches die Erkennung des Traubenzuckers neben unveränderter Maltose oder, allgemein gesprochen, den Nachweis der Monosaccharide neben den Polysacchariden so sehr erleichtert, konnte ich diese Frage sicher entscheiden. Es zeigte sich, dass man aus getrockneter Hefe leicht einen wässerigen Auszug bereiten kann, welcher nicht allein den Rohrzucker, sondern ebenso gut die Maltose hydrolysirt. Das Enzym, welches die letztere Wirkung ausübt, ist aber durchaus verschieden von der Invertase, denn es fehlt in einzelnen Hefenarten, welche Invertase enthalten, und ausserdem besitzt die durch mehrmalige Fällung mit Alkohol gereinigte Invertase nicht die Fähigkeit, Maltose anzugreifen. Für die Maltose spaltenden Enzyme hat die Mehrzahl der Zymochemiker den Namen Glucase angenommen. Im Interesse einer einheitlichen Bezeichnungsweise ist es jedoch viel zweckmässiger, das Wort Maltase, welches Bourquelot zuerst für ein die Maltose spaltendes Enzym von *Aspargillus niger* vorgeschlagen hat, zu acceptiren. Da es nun eine Reihe von solchen Maltasen gibt, so habe ich es zweckmässig gefunden, dieselben nach dem Ursprung, d. h. nach dem Organismus oder einzelnen Organ, in welchem sie sich finden, zu unterscheiden und dementsprechend das Enzym der Hefe als Hefenmaltase zu bezeichnen.

Für die meisten Versuche mit Hefenenzymen, besonders

<sup>1)</sup> Vergl. meine Mittheilung, Ber. d. deutsch. chem. Ges. 28, 1433.

wenn es auf die Invertase und Maltase ankommt, kann man sich einer guten Brauereihefe bedienen, sicherer aber ist es, eine Reincultur anzuwenden, wie sie heutzutage käuflich sind. Ich habe mich für alle entscheidenden Versuche einer *Saccharomyces cerevisiae* Typus Froberg bedient. Die möglichst frische, scharf abgepresste Hefe, wie sie direkt für Brauereien im Grossen hergestellt wird, muss zunächst 2—3 mal mit der 10fachen Menge Wasser verrieben und durchgeschüttelt werden. Die Entfernung der Mutterlauge geschieht am besten durch Filtration mit dem Pukall'schen Ballonfilter, welches allgemein für derartige Zwecke sehr zu empfehlen ist. Die möglichst scharf abgeseigene Hefe wird dann auf porösen Thontellern in dünner Schicht ausgebreitet und bei Zimmertemperatur an der Luft getrocknet. Sie schrumpft dabei zusammen und nimmt eine dunkelgraue Farbe an. Nach 1—2 Tagen wird sie durch Zerreiben möglichst zerkleinert und abermals an der Luft getrocknet, bis sie ein lockeres Pulver bildet. Die letzte Trocknung kann auch bei einer Temperatur von 30—35° ausgeführt werden. In diesem Zustand lässt sich die Hefe monatelang aufheben, ohne dass die Maltase zerstört wird. Soll das Enzym dann zur Anwendung kommen, so wird die getrocknete Hefe mit der 10—15fachen Menge destillirten Wassers übergossen, bei 30—35° unter zeitweisem Umschütteln 12—20 Stunden ausgelaugt und die Flüssigkeit durch Papier filtrirt. Um in dieser Lösung die Entwicklung von Organismen zu verhindern, ist es nöthig, ein Antisepticum zuzusetzen. Nach meinen Erfahrungen eignet sich Toluol für diesen Zweck am meisten, weil es die Enzyme der Hefe am wenigsten schädigt. 1 Procent des Kohlenwasserstoffs ist völlig ausreichend, nur muss man durch gutes Umschütteln denselben in der Flüssigkeit möglichst vertheilen. Aber auch in diesem Zustand lässt sich die Enzymlösung nicht länger als einige Tage unbeschadet ihrer Wirksamkeit aufheben. Man thut deshalb gut, sie für jeden Versuch frisch zu bereiten.

An Stelle des Enzymauszugs kann man auch die getrocknete Hefe direkt verwenden, wie ich das in manchen Fällen gethan. Wenn man wiederum durch Zusatz von Toluol

die Gährthätigkeit derselben verhindert oder wenigstens so weit beschränkt, dass die aus den Glucosiden bezw. Polysacchariden entstehenden gährbaren Monosaccharide nur zum kleinsten Theil weiter vergohren werden.

Im Gegensatz zur getrockneten Hefe hält die frische ihre Enzyme so fest, dass sie unter den obigen Bedingungen von Wasser nicht ausgelaugt werden. Diese Beobachtung ist zuerst für die Invertase von O. Sullivan gemacht, das Gleiche habe ich für die Maltase festgestellt. Verwendet man ganz frische Culturen in völlig unversehrtem Zustand, so ist der wässerige Auszug gegen Maltose ganz indifferent. Diese Beobachtung hat zu der Vermuthung geführt, dass die Maltase erst beim Trocknen der Hefe gleichsam als pathologisches Produkt entstehen könne. Das wurde noch wahrscheinlicher durch den von Morris<sup>1)</sup> zuerst gelieferten Nachweis, dass eine solche ganz frische Hefe in einer Lösung von Maltose keine Hydrolyse bewirkt, wenn man ihre Gährthätigkeit durch Zusatz von Chloroform aufhebt. Aber ich konnte zeigen, dass es sich hier um eine spezifische schädliche Wirkung des Chloroforms handelt: denn bewirkt man die Anästhesirung der frischen Hefe durch Thymol, eine kleine Menge von Aether oder am besten durch Toluol, so wird die Maltose fast ebenso gut gespalten, wie bei Benutzung von trockener Hefe.<sup>2)</sup> Es scheint mir deshalb nicht mehr zweifelhaft zu sein, dass die Maltase auch in der ganz unversehrten Hefe enthalten ist, und es steht also der Auffassung nichts mehr im Wege, dass auch hier die Maltose vor der eigentlichen Vergärung zuerst durch Hydrolyse in Traubenzucker verwandelt wird. Allerdings kann das nur innerhalb der Zelle selber geschehen, welche ja im unversehrten Zustand das Enzym nicht abgibt. Ob dasselbe hier auf irgend eine Weise gebunden ist, oder ob nur bei unverletzter Zelhülle seine Diffusion nach aussen gehindert ist, lässt sich auf Grund der bisherigen Erfahrungen nicht entscheiden.

Dank den grossen Fortschritten der Bakteriologie und

1) Proc. chem. Soc. 1895 p. 46.

2) Ber. d. deutsch. chem. Ges. 28, 1436

besonders den ausgezeichneten Untersuchungen von Hansen kennen wir jetzt eine sehr grosse Anzahl von morphologisch und physiologisch scharf unterschiedenen *Saccharomyces*-arten, und die Benutzung dieses Materials erlaubt eine eingehendere Prüfung der eben entwickelten Anschauung. War dieselbe richtig, so musste in einzelnen Hefen, welche die Maltose oder den Rohrzucker nicht vergähren, auch keine Maltase bezw. Invertase nachweisbar sein. Die Bestätigung dafür liefern folgende Beobachtungen.

Der wässrige Auszug von Kefirkörnern, welche in Maltose keine Gärung erzeugen, übte auch keine hydrolysirende Wirkung auf den Zucker aus.<sup>1)</sup> Ebenso indifferent verhielt sich eine von mir untersuchte Reincultur von Milchzuckerhefe: ferner haben P. Lindner und ich<sup>2)</sup> gezeigt, dass *Saccharomyces Marxianus*, welcher nach Hansen die Maltose nicht vergährt, weder im getrockneten noch im frischen Zustand das Disaccharid zu spalten vermag und mithin keine Maltase enthält. Ebenso liess sich bei *Schizo-Saccharomyces octosporus*, welcher nach seinem Entdecker Beyerinck wohl die Maltose, aber nicht den Rohrzucker vergährt, zeigen, dass er zwar Maltase, aber keine Invertase enthält. Einen besonders interessanten Fall bot endlich *Monilia candida*.<sup>3)</sup> Sie vergährt sowohl den Rohrzucker wie die Maltose, dagegen gibt sie, wie Hansen beobachtet hat, an Wasser keine Invertase ab. Hier schien also eine Ausnahme von der eben erwähnten Regel vorzuliegen und eine direkte Vergärung des Rohrzuckers stattzufinden. Die genauere Prüfung des Falles hat aber das Gegentheil bewiesen. Die Beobachtung von Hansen ist zwar ganz richtig, denn weder aus der frischen, noch der getrockneten *Monilia* kann ein den Rohrzucker spaltendes Enzym extrahirt werden. Lässt man aber die getrocknete Hefe bei Gegenwart von Toluol auf Rohrzucker einwirken, so findet eine kräftige Hydrolyse statt, und selbst bei der frischen Hefe tritt dieselbe, wenn auch in

<sup>1)</sup> E. Fischer, Ber. d. deutsch. chem. Ges. **27**, 2991.

<sup>2)</sup> Ber. d. deutsch. chem. Ges. **28**, 984.

<sup>3)</sup> E. Fischer und P. Lindner *ibid.* **28**, 3037.

schwächerem Maasse, ein, wenn die Zellen durch Zerreiben mit Glaspulver zerrissen werden. Die Monilia ist also unzweifelhaft im Stande, den Rohrzucker unabhängig von der Gährthätigkeit zu invertiren, nur ist das hierbei wirksame Agens in Wasser nicht löslich. Vielleicht wird es durch die sinnreiche Methode von E. Buchner, durch Anwendung hohen Druckes auch hier gelingen, das invertirende Enzym von der Zelle zu trennen.

Der Milchzucker wird bekanntlich von den Bierhefen gar nicht angegriffen, dagegen von den Milchzuckerhefen (Sacch. Kefir und Sacch. Tyrocola) vergohren. Dass diese beiden Organismen ein Enzym, die Lactase, enthalten sollen, war schon vor Beginn meiner Untersuchungen von Beyerinck<sup>1)</sup> behauptet worden, weil er beobachtet hatte, dass auf Milchzucker-Nährgelatine nur dann Leuchtbakterien zum Leuchten kamen, wenn Impfstriche mit diesen Saccharomycesarten zuvor erzeugt waren. Solche Methoden für den Nachweis chemischer Spaltungen haben auf den ersten Blick etwas Bestechendes, und die Bakteriologen sind in der That geneigt gewesen, dieselben als beweiskräftig anzusehen. Der Chemiker wird aber mit gerechtem Misstrauen derartige Schlüsse betrachten, denn es ist doch gewiss nicht die Möglichkeit ausgeschlossen, dass ganz andere Zersetzungsprodukte des Milchzuckers hier das Aufleuchten der Bakterien zur Folge haben, und so ist denn auch gerade die Behauptung von Beyerinck von seinem Landsmann Schnurmans Stekhoven<sup>2)</sup> auf das Bestimmteste bestritten worden. Von einer wirklichen Kenntniss der Lactase konnte somit auch nach der Beyerinck'schen Beobachtung keine Rede sein.

Dass man nicht früher den Nachweis von Lactasen durch chemische Reactionen versucht hat, liegt zweifellos wieder an der Schwierigkeit, die Spaltungsprodukte des Milchzuckers neben unverändertem Disaccharid nach den alten Methoden zu erkennen. Die Anwendung des Phenylhydrazins hat auch hier unzweideutige Resultate ergeben. Zunächst gelang es mir, aus

1) Centralbl. f. Bakteriol. 6, p. 44.

2) Koch's Jahresber. über Mikroorganismen. 1891. p. 136.

den Kefirkörnern einen wässerigen Auszug zu bereiten, welcher den Milchzucker leicht spaltet. Die betreffende Lactase liess sich sogar mit Alkohol ausfällen und im trocknen Zustand bewahrte sie längere Zeit ihre Wirksamkeit. Allerdings ist das Enzym in diesem Präparate vermengt mit Invertase, welche gleichfalls in den Kefirkörnern enthalten ist, während die Maltase hier gänzlich fehlt. Aehnliche Resultate gab die Untersuchung einer reinen Milchzuckerhefe.<sup>1)</sup> Das Enzym liess sich zwar hier nur sehr unvollständig mit Wasser auslaugen, aber die Hefe selbst bewirkte bei Gegenwart von Toluol eine kräftige Spaltung des Milchzuckers und des Rohrzuckers, enthielt also sowohl Lactase wie Invertase.

Die seltene Trehalose ist bisher auf Gährfähigkeit und Hydrolyse verhältnissmässig wenig untersucht worden. Bourquelot verdanken wir die meisten darauf bezüglichen Beobachtungen. Er fand das erste Enzym für diesen Zucker in *Aspergillus niger* und nannte es Trehalase. Dieselbe Wirkung stellte er später fest für Grünmalz, und bevor mir diese Angabe Bourquelots bekannt war, fand ich die Spaltung der Trehalose durch eine aus Grünmalz bereitete Diastase. Endlich beobachtete ich noch, dass eine getrocknete Froberghefe bei Gegenwart von Thymol auch eine schwache Hydrolyse der Trehalose bewirkt, dass aber das Enzym in dem wässerigen Auszug derselben Hefe nicht mehr erkennbar ist.<sup>2)</sup>

Das letzte Disaccharid, welches mit Hefe geprüft wurde, ist die von Scheibler und Mittelmeier entdeckte Melibiose, das Spaltungsprodukt der Melitriose (Raffinose). Dieselbe wird bekanntlich von den in der Brauerei gebräuchlichen Unterhefen vergohren, dagegen von manchen Oberhefen nicht angegriffen. Dem entsprechend konnten P. Lindner und ich<sup>3)</sup> nachweisen, dass die Unterhefen vom Typus Froberg und Saaz ein Enzym enthalten, welches diesen Zucker hydrolysiert. Besonders stark war die Wirkung der Hefe selbst sowohl im frischen.

1) Ber. d. d. chem. Ges. **27**, 3481.

2) Ber. d. d. chem. Ges. **28**, 1432.

3) Ber. d. d. chem. Ges. **28**, 3034.

wie im getrockneten Zustand, erheblich schwächer dagegen der wässrige Auszug. Im Gegensatz dazu liess sich bei den Oberhefen Froberg und Saaz keine Hydrolyse der Melibiose erkennen. Gleichzeitig mit uns kam Bauer<sup>1)</sup> zu demselben Resultat und schlug für das betreffende Enzym den Namen Melibiase vor.

Von Trisacchariden ist nach den bisher vorliegenden Erfahrungen nur die Melitriose durch die Enzyme der Hefe, und zwar durch die Invertase, spaltbar. Sie zerfällt dabei bekanntlich in Melibiose und Fructose (Fruchtzucker), und es scheint darnach, dass die Fructose in diesem Trisaccharid mit der Melibiose in ähnlicher Weise verbunden ist, wie mit dem Traubenzuckerrest im Rohrzucker.

Eine besondere Betrachtung verdient endlich noch das Verhalten des  $\alpha$ -Methylglucosids und seiner Verwandten gegen die Enzyme der Hefe. Dasselbe wird von den verschiedenen Sorten Bierhefe, Typus Froberg, Typus Saaz, ferner vom Typus Brauereihefe und Brennereihefe der Berliner Versuchsbrauerei, endlich von sehr verschiedenen Sorten Weinhefe, wie die nachfolgende Abhandlung des Herrn Kalanchar zeigt, leicht gespalten. Soweit meine bisherigen Beobachtungen reichen, haben alle Hefen, welche die Maltose hydrolysiren, die gleiche Wirkung auf die  $\alpha$ -Glucoside. Es lag deshalb die Annahme nahe, dass die Hefenmaltase zugleich diese Glucoside hydrolysire. Leider lässt sich der strenge Beweis dafür nicht liefern, solange man nicht im Stande ist, das Enzym im reinen Zustand zu isoliren und dadurch die Möglichkeit auszuschliessen, dass in den Hefen noch ein besonderes, glucosidspaltendes Enzym vorhanden ist. Genau derselbe Zweifel besteht aber auch bezüglich der anderen enzymatischen Wirkungen, und es erhebt sich die principielle Frage: Soll man für jede specielle Hydrolyse eines Polysaccharids ein besonderes Ferment annehmen, oder ist es erlaubt, ein und demselben Ferment gleichzeitig die Spaltung verschiedener Körper zuzuschreiben? Die schroffe Betonung des ersten Standpunktes würde meiner Ansicht nach

<sup>1)</sup> Chemikerzeitung. 1895.

zu unhaltbaren Schlüssen führen. Man würde dadurch z. B. zu der Annahme gezwungen, dass im Emulsin, welches das  $\beta$ -Methylglucosid,  $\beta$ -Methylgalactosid, den Milchzucker und das Amygdalin spaltet, mindestens vier verschiedene Enzyme vorhanden sind, oder dass die Bierhefe, welche d-Mannose, d-Glucose, d-Fruetose und d-Galactose vergährt, auch vier verschiedene Zymasen enthält. Denn die Unterschiede zwischen Maltose, Milchzucker und Melibiose sind nicht grösser, als zwischen den eben erwähnten Substanzen. Aus diesem Grunde neige ich vielmehr zu der zweiten Annahme, dass ein und dasselbe Enzym der Hefe, die Maltase, sowohl die  $\alpha$ -Methylglucoside als auch die Melibiose und verschiedene als Dextrine bezeichneten, complicirteren Kohlehydrate angreifen kann. Die Erfahrung, dass einzelne Hefen nur die Maltose, aber nicht die Melibiose spalten, oder dass es Maltasen gibt wie z. B. im Blut der Säugethiere, welche die  $\alpha$ -Glucoside unberührt lassen, ist kein triftiger Grund dagegen. Denn manche Beobachtungen sprechen dafür, dass in verschiedenen Organismen verschiedene Maltasen d. h. chemische Verbindungen mit abweichenden Eigenschaften enthalten sind, und nun ist es wohl möglich, dass die verschiedene Wirkungscapacität, wie ich mich ausdrücken will, durch den Unterschied ihrer Constitution bedingt ist, geradeso wie wir das auch bei den gewöhnlichen chemischen Agentien, welche gleichartige Umsetzungen hervorrufen, sehen. Soviel wir bis jetzt wissen, kann man in der Bierhefe das Vorhandensein von nur zwei Enzymen als sicher bewiesen ansehen; wenn man von der Zymase absehen will, nämlich Invertase und Maltase. Deren Wirkungen erstrecken sich aber auch auf ganz verschieden constituirte Polysaccharide, denn der Rohrzucker ist zweifellos structurchemisch von der Maltose, Melibiose und den Dextrinen verschieden. Vielleicht kommt dazu noch eine Trehalase, wie die schwache Wirkung der getrockneten Hefe auf Trehalose andeutet. Denn die Trehalose ist ebenfalls von der Maltose structurell stark abweichend, und andererseits ist die Invertase ohne jede Wirkung auf sie. In den Milchzuckerhefen tritt an die Stelle der Maltase eine Lactase; das gleichzeitige Vorkommen von Maltase und Lactase

in derselben Hefe ist meines Wissens bisher noch nicht beobachtet.

### Theoretische Betrachtungen.

Dass die Enzyme ungleich speciellere Reagentien sind, als die einfacheren Verbindungen der anorganischen und der organischen Chemie wie Säuren, Basen, Condensationsmittel u. s. w., kann von niemand, der sich mit dieser Materie näher beschäftigt hat, bezweifelt werden. Gerade in der eng begrenzten Thätigkeit liegt die Brauchbarkeit dieser Stoffe für den Organismus und für die experimentelle chemische Forschung. Ich erinnere an die häufig geübte Methode der physiologischen Chemie, Eiweisskörper durch Verdauungsfermente zu zerstören und zu beseitigen, oder an die Anwendung des Emulsins zur Spaltung von Glucosiden, bei welchen durch die Erwärmung mit Säuren secundäre Veränderungen veranlasst werden. Ein treffliches Beispiel, wie nützlich dieselben beim präparativen Arbeiten werden können, bietet die von mir ausgeführte Spaltung des Amygdalins durch die Hefenenzyme in Zucker und das Mandelnitrilglucosid.<sup>1)</sup> Ich erinnere ferner an die Trennung der verschiedenen Monosaccharide und der Disaccharide durch Vergärung mit Hefe, welche wir ja jetzt auch als enzymatischen Process betrachten dürfen. Ganz besonders werthvoll aber sind die Enzyme, wie ich zuerst betont habe, als Erkennungsmittel für stereochemische Differenzen, und damit komme ich zu dem Gegenstand zurück, welchen ich als das wichtigste thatsächliche Resultat meiner Versuche betrachte. Dieselben liefern den unanfechtbaren Beweis, dass von zwei molekularen Spiegelbildformen die eine durch Enzyme gespalten wird unter denselben Bedingungen, wo die andere intact bleibt. Dafür liegen zwei Beispiele vor, das Verhalten des  $\beta$ -Methyl-d-Glucosids und des  $\beta$ -Methyl-l-Glucosids gegen Emulsin, sowie das Verhalten des  $\alpha$ -Methyl-d-Glucosids und des  $\alpha$ -Methyl-l-Glucosids gegen die Enzyme der Hefe. Um einem von Herrn E. Bourquelot<sup>2)</sup> erhobenen Einwand zu

1) Ber. d. d. chem. Ges. 28, 1508.

2) Les ferments solubles p. 133.

begegnen, betone ich ausdrücklich, dass das Resultat ganz unabhängig von der Frage ist, welche und wie viel Enzyme in dem Produkt, das wir Emulsin nennen, und in der Hefe enthalten sind.

Der Unterschied, welcher uns hier bei den Enzymen entgegentritt, ist derselbe, wie man ihn längst für die Gährungsorganismen kennen gelernt hatte. Ferner zeigen meine Versuche, dass von den vielen künstlichen Glucosiden der Pentosen, Hexosen und Heptosen nur diejenigen des Traubenzuckers und der Galactose von Emulsin bezw. Hefenenzymen angegriffen werden.

Die Möglichkeit, dass es sich bei den  $\alpha$ - und  $\beta$ -Glucosiden nicht um Stereoisomerie, sondern um Strukturisomerie handelt, lässt sich allerdings nicht streng ausschliessen, und es ist deshalb denkbar, dass meine Betrachtungen hier nicht der Wirklichkeit entsprechen. Aber dass alle diese zahlreichen Glucoside in Bezug auf die Glucosidgruppe strukturell verschieden seien, ist nicht anzunehmen. Die Indifferenz obiger Enzyme gegen das Mannosid, gegen die Xyloside, Arabinoside, Heptoside und Rhamnoside ist deshalb offenbar auch nur stereochemisch zu begreifen, und wenn man endlich die alkoholische Gärung nach E. Buchners Entdeckung als enzymatischen Vorgang hinzuzählt, so kann die Abhängigkeit desselben von der Configuration des Monosaccharids noch viel weniger bezweifelt werden.

Der Grund dieser Erscheinungen liegt aller Wahrscheinlichkeit nach in dem asymmetrischen Bau des Enzymmoleküls. Denn wenn man diese Stoffe auch noch nicht im reinen Zustand kennt, so ist ihre Aehnlichkeit mit den Proteinstoffen doch so gross und ihre Entstehung aus den letzteren so wahrscheinlich, dass sie zweifellos selbst als optisch aktive und mithin asymmetrisch molekulare Gebilde zu betrachten sind. Das hat zu der Hypothese geführt, dass zwischen den Enzymen und ihrem Angriffsobjekt eine Aehnlichkeit der molekularen Configuration bestehen muss, wenn Reaction erfolgen soll.<sup>1)</sup> Um diesen Ge-

---

<sup>1)</sup> E. Fischer und Thierfelder, Ber. d. d. chem. Ges. **27**, 2036.

danken anschaulicher zu machen, habe ich das Bild von Schloss und Schlüssel gebraucht.<sup>2)</sup> Ich bin weit entfernt, diese Hypothese den ausgebildeten Theorien unserer Wissenschaft an die Seite stellen zu wollen, und ich gebe gern zu, dass sie erst dann eingehend geprüft werden kann, wenn wir im Stande sind, die Enzyme im reinen Zustand zu isoliren und ihre Configuration zu erforschen. Trotzdem halte ich gegenüber den Einwänden von Bourquelot<sup>3)</sup> und Duclaux eine solche Speculation nicht für unstatthaft, wenn sie auch den Thatsachen vorausseilt. Denn sie hat mich veranlasst, die bei der alkoholischen Gährung der Monosaccharide gemachten Erfahrungen bei den Glucosiden zu verfolgen; sie stellt der experimentellen Forschung weiter das ganz bestimmte und angreifbare Problem, dieselben Unterschiede, welche wir in der enzymatischen Wirkung beobachten, bei einfacheren, asymmetrisch gebauten Substanzen von bekannter Constitution aufzusuchen, und ich zweifle nicht daran, dass schon die nächste Zukunft uns hier werthvolle Resultate bringen wird.<sup>4)</sup>

2) Ber. d. d. chem. Ges. 27, 2992.

3) Les ferments solubles S. 134.

4) Einen dahin zielenden Versuch, welcher allerdings negative Resultate gab, will ich hier anführen. Obschon die Hydrolyse des Rohrzuckers durch Säuren bekanntlich dem elektrolytischen Leitvermögen derselben proportional und andererseits das Leitvermögen von zwei optischen Antipoden in reinem Wasser ganz gleich ist (z. B. Weinsäure und Traubensäure Ostwald), so schien es mir doch möglich, dass der Rohrzucker als asymmetrisches System von zwei optisch isomeren Säuren in verschiedenem Maasse angegriffen werde, wie ja auch das Leitvermögen derselben durch die Anwesenheit des Zuckers in ungleichem Maasse hätte verändert werden können. Ich wählte für den Versuch absichtlich die ziemlich hochmolekulare Camphersäure, deren linksdrehende Form Herr Ossian Aschan mir freundlichst zur Verfügung gestellt hatte. 0,05 gr. Camphersäure wurden mit 5 ccm. einer 10%igen Rohrzuckerlösung übergossen, das Glas zugeschmolzen und 1 $\frac{1}{2}$  Stunden auf 90° erhitzt. In den ersten Minuten des Erwärmens wurde geschüttelt, um die Säure möglichst rasch zu lösen. Die Proben mit der d- und l-Säure wurden parallel und ganz in der gleichen Weise behandelt. Die Bestimmung des Monosaccharids durch Fehling'sche Lösung nach Allihn ergab Folgendes: Bei der d-Säure waren 0,2343 gr. Monosaccharid und bei der l-Säure 0,2325 gr. Monosaccharid entstanden. Die Differenz liegt

Dass man die stereochemischen Betrachtungen, wie ich sie für die alkoholische Gährung und die enzymatische Spaltung der Glucoside anstellte, mit Nutzen auch auf andere Gährprocesse anwenden kann, beweisen die neuesten schönen Beobachtungen von G. Bertrand<sup>1)</sup> über die Beziehungen, welche zwischen der Configuration der mehrwerthigen Alkohole und ihrer Oxydirbarkeit durch das Sorbose-Bacterium bestehen.

Ueberträgt man dieselben ferner auf die chemischen Vorgänge im höher entwickelten Organismus, so gelangt man zu der Vorstellung, dass allgemein für die Verwandlungen, bei welchen die Proteinstoffe als wirksame Massen fungiren, wie das zweifellos in dem Protoplasma der Fall ist, die Configuration des Moleküls häufig eine ebenso grosse Rolle spielt wie seine Structur. Man kann deshalb gar nicht mehr überrascht sein, wenn von zwei stereoisomeren Substanzen die eine kräftig auf unsere Sinnesorgane wie Geschmack oder Geruch oder auf das Centralnervensystem reagirt, während die andere ganz indifferent ist oder doch nur eine sehr abgeschwächte Reaction hervorruft. Man wird es ebenso begreiflich finden, dass die 3 stereoisomeren Weinsäuren im Leibe des Hundes in verschiedenem Grade verbrannt werden,<sup>2)</sup> dass ferner von zwei ganz nahe verwandten Zuckerarten die eine

---

innerhalb der Versuchsfehler. Verschiedene andere Versuche, bei welchen das Monosaccharid titrimetrisch bestimmt wurde, gaben dasselbe Resultat. Ein Einfluss der Asymmetrie auf die Hydrolyse des Rohrzuckers ist also hier nicht wahrnehmbar.

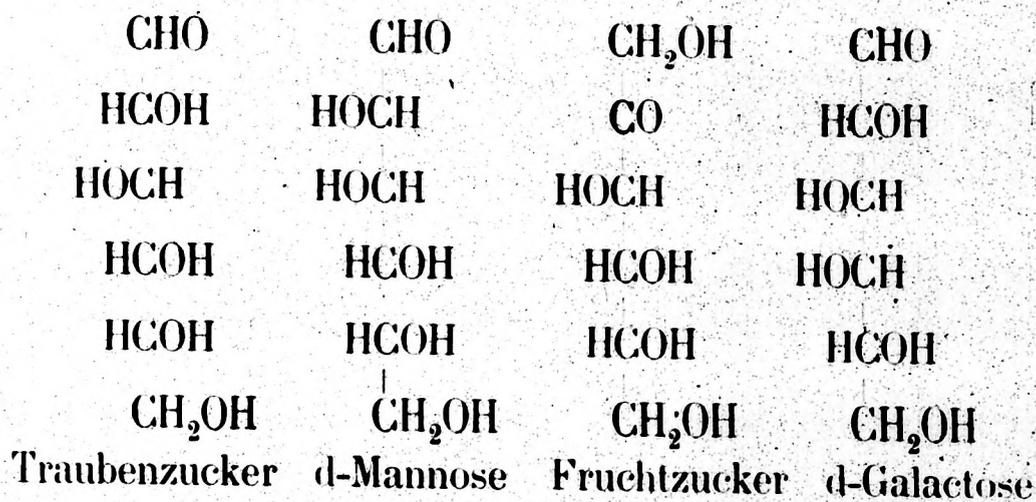
1) Compt. rend. 126, 762.

2) A. Brion, diese Zeitschrift XXV, S. 283. In den theoretischen Betrachtungen dieser Abhandlung sind einige Irrthümer enthalten, welche in weiteren Kreisen verbreitet zu sein scheinen und auf welche ich deshalb aufmerksam machen will. Dass die d-Weinsäure auch ausserhalb des Organismus d. h. durch die gewöhnlichen Agentien schwerer oxydirt werden könnte, als die l-Weinsäure, wie Brion für möglich hält, ist nach allen bisherigen Erfahrungen über das völlig gleiche Verhalten der optischen Antipoden gegen symmetrische Agentien nicht anzunehmen.

Ferner ist das Molekül der Mesoweinsäure nicht symmetrisch im gewöhnlichen Sinne des Wortes, sondern es besteht aus 2 asymmetrischen Hälften, welche sich in ihrer Wirkung aufheben. Da aber für den Angriff asymmetrischer Agentien, wie Enzyme, die Gesamtconfiguration des

überaus leicht im Organismus oxydirt oder als Glycogen aufgespeichert wird, wie der Traubenzucker, während die so nahe verwandte Xylose nur unvollkommen ausgenützt werden kann.

Aber noch in anderer Beziehung können die Resultate der Stereochemie dazu dienen, chemische Metamorphosen im Organismus unserem Verständniss näher zu bringen. Von den verschiedenen Beispielen, welche ich dafür früher gegeben habe, will ich hier nur eines wieder zur Sprache bringen, das ist die gegenseitige Verwandlung von Traubenzucker, Mannose, Fruchtzucker und Galactose. Man weiss, dass alle vier nicht allein von Hefe vergohren werden, sondern auch im Thierkörper sämmtlich in Glycogen, ein Derivat des Traubenzuckers, übergehen. Der Unterschied der vier Zucker ergibt sich aus folgenden Configurationsformeln:



Die gegenseitige Verwandlung von Traubenzucker, Mannose und Fruchtzucker ist mir zuerst mit abwechselnder Oxydation und Reduction gelungen. Denn die beiden ersten gehen über das Glucoson in Fruchtzucker über, und dieser kann durch Reduction zunächst in ein Gemenge von Sorbit und Mannit verwandelt werden, welche ihrerseits wieder durch Oxydation in Traubenzucker und Mannose übergehen. An diese Beobachtung anknüpfend, habe ich die Hypothese aufgestellt, dass auch im Organismus die wechselseitige Verwandlung der Hexosen in einander, durch gleichzeitige Oxydation und Reduction an

Moleküls massgebend ist, so kann, entgegen der Ansicht von Brion, meine Anschauung sehr wohl für die Erklärung der verschiedenen Oxydierbarkeit von d-Weinsäure und Mesoweinsäure dienen.

einzelnen asymmetrischen Kohlenstoffatomen stattfindet.<sup>1)</sup> So würde sich auch der im Organismus stattfindende Uebergang vom Traubenzucker zur Galactose, welcher künstlich bisher nicht ausgeführt wurde, erklären lassen. Später haben Lobry de Bruyn und van Ekenstein die interessante Beobachtung gemacht, dass Traubenzucker, Mannose und Fructose auch durch blosses Erwärmen mit Alkalien wechselseitig in einander verwandelt werden können, und sie glauben eine andere Erklärung des Vorganges zu geben, wenn sie annehmen, dass dabei die in Betracht kommende Gruppe des Traubenzuckers

—CHOH—COH intermediär in die Gruppe  $\begin{array}{c} \text{—CH—CHOH} \\ \quad \backslash \quad / \\ \quad \quad \text{O} \end{array}$  über-

gehe.<sup>2)</sup> Ich kann einen Vorzug dieser Betrachtung nicht anerkennen, denn der Grundgedanke abwechselnder Oxydation und Reduction ist derselbe wie bei meiner Erklärung, und die specielle Annahme der Zwischenform ist sogar unwahrscheinlich, wie meine Beobachtungen über die Bildung der künstlichen Glucoside gezeigt haben. Zudem würde auch die Erklärung der holländischen Chemiker für die Galactose gar nicht mehr zutreffen. Ich mache endlich darauf aufmerksam, dass der von L. de Bruyn und van Ekenstein beobachtete Vorgang zu vergleichen ist der Bildung der Milchsäure aus Traubenzucker durch Erhitzen mit starkem Alkali und manchen ähnlichen Processen bei Verbindungen, welche mehrere Alkoholgruppen enthalten. Sie lassen sich, wie A. Baeyer vor 28 Jahren gezeigt hat,<sup>3)</sup> unter dem einheitlichen Gesichtspunkt der Verschiebung von Sauerstoff innerhalb des Moleküls von einem Kohlenstoff zum anderen betrachten. Mit welchen Zwischenstufen das erfolgt, entzieht sich meistens unserer Kenntniss. Wie glatt und leicht aber derartige Vorgänge sich abspielen können, beweist am besten die alkoholische Gährung, wobei dasselbe wie bei der Bildung der Milchsäure, die ja als eine Carbonsäure des Aethylalkohols zu betrachten ist, stattfindet.

1) Ber. d. d. chem. Ges. **27**, 1525 und **27**, 3230.

2) Rec. trav. chim. Pays-Bas **14**, 213.

3) Ber. d. d. chem. Ges. **3**, 70.

Auch bezüglich der Assimilation der Kohlensäure, welche bekanntlich im Pflanzenleibe ausschliesslich zu activen Zuckern führt, gestatten die heutigen Kenntnisse eine neue und plausible Vorstellung. Denn die Beobachtungen in der Zuckergruppe haben ergeben, dass auch die künstliche Synthese in asymmetrischem Sinne verläuft, wenn optisch active Materialien daran betheiligt sind. Das trifft aber für die Assimilation zu, denn die Verwandlung von Kohlensäure in Zucker vollzieht sich offenbar unter Mitwirkung der optisch activen Substanzen des Chlorophyllkornes. Durch diese Beobachtung, welche ich früher ausführlich dargelegt habe, ist der scheinbar principielle Gegensatz zwischen der künstlichen und natürlichen Synthese der asymmetrischen Kohlenstoffverbindungen glücklich beseitigt.<sup>1)</sup>

---

<sup>1)</sup> Ber. d. d. chem. Ges. **27**, 3230.