

Untersuchungen in der Glycerinsäurereihe.

(III. Mitteilung.)¹⁾

Die Konfiguration der Glycerinsäure.²⁾

(Ein Beitrag zur Frage der Beziehung zwischen Zuckern und Aminosäuren.)

Von

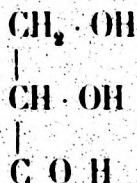
Carl Neuberg und Martin Silbermann.

Aus dem chemischen Laboratorium des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.

Der Redaktion zugegangen am 10. Februar 1905.

Theoretischer Teil.

Wie bei den Zuckerarten, so beanspruchen auch in andern Gruppen die Substanzen der 3-Kohlenstoffreihe ein besonderes Interesse, da eine große Anzahl physiologisch wie rein chemisch wichtiger Substanzen hierhingehört. Als besonderes Attribut tritt gerade bei diesen Substanzen in den betreffenden Gruppen vielfach zuerst optische Aktivität auf, die ja untrennbar mit dem Baumaterial der belebten Natur verknüpft ist. Diese in der Asymmetrie dieser Verbindungen begründete Erscheinung hängt andererseits aufs engste mit Konstitution und Konfiguration der betreffenden Substanzen zusammen. Das erste Glied der Reihe ist daher für eine rationelle Nomenklatur, sowie für eine schematische Ableitung der Konfigurationsbeziehungen in der ganzen Reihe von ausschlaggebender Wichtigkeit. Das hat E. Fischer³⁾ z. B. für den Glycerinaldehyd



¹⁾ Die früheren Veröffentlichungen siehe: 1. Ber. der Deutschen chem. Gesellsch., Bd. XXXVII, S. 339 (1904) und 2. Ber., Bd. XXXVII, S. 342 (1904).

²⁾ Vorgetragen in der Sitzung der Deutschen chemischen Gesellschaft vom 11. Juli 1904.

³⁾ Ber., Bd. XXIII, S. 2125.

im Hinblick auf die Kohlehydrate wiederholt und ausdrücklich betont, und deshalb die Darstellung des bisher unbekanntes optisch aktiven Glycerinaldehyds als ein Problem von keineswegs untergeordneter Bedeutung gekennzeichnet.

Durch die Arbeiten desselben Autors sind die konfigurativen Beziehungen der Kohlehydratreihe experimentell zur Grundlage aller Betrachtungen über Spiegelbildisomerie erhoben, da diese Relationen hier mit beispielloser Klarheit festgelegt, auf mehrfache Weise abgeleitet und untereinander kontrolliert sind.

Eine noch viel großartigere Mannigfaltigkeit als in der Kohlehydratreihe besteht hinsichtlich der konfigurativen Formen in der physiologisch so bedeutungsvollen Gruppe der Protein-
stoffe, resp. der diese zusammensetzenden Molekülverbände und Bausteine, der Aminosäuren.

Da für die Stereochemie der Zuckerarten in letzter Linie die Konfiguration des Traubenzuckers den Ausgangspunkt bildet, ist es chemisch von Interesse und pysiologisch reizvoll, eine Beziehung der Konfiguration der Aminosäuren mit derjenigen der Glukose herzustellen, die in vieler Hinsicht eine zentrale Stellung einnimmt.

Die in der 3-Kohlenstoffreihe vornehmlich in Betracht kommenden Substanzen sind:

1. Alanin



2. Serin



3. Steincystein



4. Proteincystein



5. Milchsäure



6. Diaminopropionsäure



7. Isoserin



8. Glycerinsäure



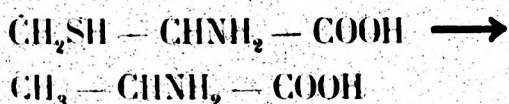
Davon sind die vier ersten als direkte Bausteine des Eiweißes zu betrachten, die Milchsäure als eine diesen nahe verwandte im Stoffwechsel¹⁾ z. T. wohl aus dem Alanin hervorgehende Verbindung.

Konfigurative Beziehungen zwischen diesen Körpern anzubahnen, war der Zweck der vorliegenden Untersuchung; diese kann nur an den optisch aktiven Formen ausgeführt werden, wie in der Natur der Sache liegt, doch konnten bisher nur einige Etappen der zahlreich nötigen Umwandlungen verwirklicht werden.²⁾

In für konfigurative Betrachtungen verwertbarer Weise sind von den genannten fünf Substanzen untereinander nur d-Alanin und d-Milchsäure verknüpft,³⁾ indem salpetrige Säure ersteres in letztere überführt; für die anderen Substanzen bestehen keine durchsichtigen Beziehungen, denn die Verwandlung z. B. des Cysteins in Serin auf dem Wege über die Cysteinsäure⁴⁾



vollzieht sich bei Temperaturen, die Razemisierung zur Folge haben, und die Verwandlung des natürlichen Cysteins in i-Alanin



durch einfaches Erhitzen mit rauchender Salzsäure nach K. A. H. Mörner⁵⁾ stellt eine komplexe Reaktion dar, und überdies bleibt auch hierbei die optische Aktivität nicht erhalten.

Das weitere Ziel, die genannten Substanzen mit dem Traubenzucker in Verbindung zu bringen, ist nur auf einem Umwege lösbar. Hierzu geeignet erscheint die Glycerinsäure.

¹⁾ C. Neuberg und L. Langstein, Chem. Zentralblatt, Bd. II, S. 1453 (1903).

²⁾ Versuche zur Verwandlung von Cystein in aktive Glycerinsäure und von letzterer in aktive Milchsäure, sowie zur Spaltung von Diaminopropionsäure sind im Gange.

³⁾ E. Fischer und A. Skita, Diese Zeitschrift, Bd. XXXIII, S. 130 (1901).

⁴⁾ E. Friedmann, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol., Bd. III, S. 41 (1903).

⁵⁾ K. A. H. Mörner, Diese Zeitschrift, Bd. XLII, S. 360 (1904).

von der alle die genannten Substanzen in mehr oder minder einfacher Weise abzuleiten sind. Dabei mußten noch zwei weitere Substanzen, die α - β -Diaminopropionsäure und das Isoserin, als Zwischenglieder in den Gang der Untersuchung eingeführt werden. Die inaktiven Formen dieser beiden Substanzen sind durch die Salpetrigsäure-Reaktion mit der Glycerinsäure verknüpft,¹⁾ die Diaminopropionsäure auch noch durch das Tierexperiment.²⁾

Zwar sind im Gegensatz zum Glycerinaldehyd bei der Glycerinsäure optisch aktive Formen bekannt, aber so wenig für den 3-Kohlenstoffzucker selbst, ist für seine Monokarbonsäure die Konfiguration experimentell ermittelt. Die Festlegung derselben war daher die erste Aufgabe bei unseren Untersuchungen. Da aber die optisch aktiven Glycerinsäuren bisher nur auf dem etwas unsicheren Wege des biologischen Verfahrens³⁾ erhalten sind, und überhaupt nur die rechtsdrehende Säure von Frankland und seinen Mitarbeitern näher untersucht ist, so war zunächst die rein chemische Bereitung dieser Substanzen wünschenswert. Die Spaltung der inaktiven Säure⁴⁾ gelang leicht mit Hilfe der Alkaloidmethode mittels Brucin. Aus dem Alkaloidsalz konnte durch Zersetzung mit Barytwasser die Säure freigemacht werden, und zwar wurde die rechtsdrehende Säure rein, ihr optischer Antipode nicht völlig frei vom Racemkörper erhalten.

Die experimentelle Verknüpfung der Glycerinsäure mit den Zuckerarten ist ein bisher ungelöstes Problem. Zwar haben C. Neuberg und W. Neimann bei der Einwirkung von Kalk auf d-Glukuronsäure⁵⁾ neben Saccharonsäuren rechtsdrehende Glycerinsäure (s. S. 105) erhalten, allein bei dem komplexen Charakter der Reaktion, insbesondere bei der eventuell umlagernden Wirkung des Kalkes, ist es zweifelhaft, ob in der Tat eine Relation im Sinne der Konstitutionsformeln:

¹⁾ O. Klebs, Diese Zeitschrift, Bd. XIX, S. 330 (1894).

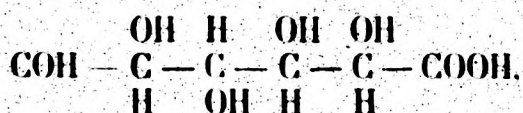
²⁾ P. Mayer, Diese Zeitschrift, Bd. XLII, S. 59 (1904).

³⁾ Levkowitzsch, Ber., Bd. XVI, S. 2720 (1889).

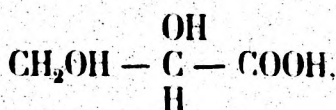
Frankland und Frew, Chem. Soc., Bd. LIX, S. 96 (1891).

⁴⁾ C. Neuberg und M. Silbermann, Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XXXVII, S. 339 (1904).

⁵⁾ Vergl. Ber., Bd. XXXVII, S. 339 (1904).



(d-Glukuronsäure)

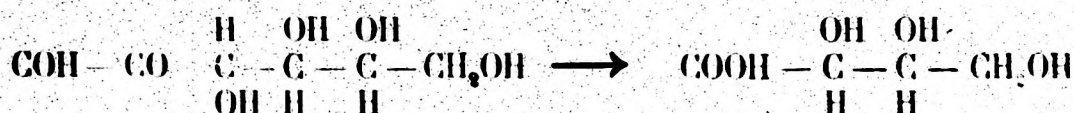


(linksdrehende Glycerinsäure)

besteht.

Für die exakte Herstellung einer Beziehung zwischen Glycerinsäure und den Zuckerarten schienen sich a priori eine Reihe von Möglichkeiten zu ergeben, allein ihre praktische Ausführung bot beträchtliche Schwierigkeiten. Die bewährten Abbaumethoden in der Kohlehydratreihe, das Verfahren von Wohl, das über die Oxime führt, und das von Ruff, das von den Kohlehydratsäuren ausgeht, versagen bekanntlich bei den niederen Gliedern der Kohlehydratreihe, entweder weil praktisch die Beschaffung des Materials unausführbar wird oder die Reaktion anders verläuft.

Einen neuen Weg schien der vor 4 Jahren von Morrel und Crofts¹⁾ ausgeführte Abbau des d-Glykosons mit Brom zu eröffnen, der d-Erythronsäure liefert:



Allein die Beschaffung eines Pentosons in den erforderlichen Quantitäten ist ungemein mühselig, und hinzu kommt, daß die Reaktion:



eine Ausbeute von 1—2% liefert, sodaß alle Schlüsse bezüglich der Konfiguration der in minimaler Menge entstehenden Verbindung der Beweiskraft entbehren.

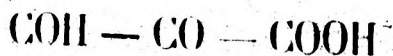
Ein ganz anderer Weg hat schließlich zum Ziel geführt. Vor 14 Jahren hat Will²⁾ durch Behandlung der Nitrocellulose mit Alkali eine als Oxybrenztraubensäure bezeichnete Verbindung erhalten, für die er, dem Stande des damaligen Wissens entsprechend, die Formeln:

¹⁾ Journ. of Chem. Soc., Bd. LXXVII, S. 1219, und Proc. Chem. Soc., Bd. XVIII, S. 55.

²⁾ Ber., Bd. XXIV, S. 406 (1891).



zur Diskussion stellte. Die Verbindung ist optisch aktiv und zwar lävogyr. Wegen dieser äußerlichen Ähnlichkeit mit dem Fruchtzucker bevorzugte der Entdecker seiner Zeit die Ketoformel (II): allein heute wissen wir, daß diese gerade kein symmetrisches Kohlenstoffatom enthält und keine optisch aktive Substanz repräsentieren kann. Bezüglich der als Aldehydglycerinsäure aufzufassenden Verbindung sei noch bemerkt, daß sie bisher selbst oder in Salzen nur amorph gewonnen ist bis auf das Osazon, das aber nicht mehr das unveränderte Molekül der Säure enthält, ein Derivat des entsprechenden nicht mehr aktiven Osons



darstellt und keine Regenerierung gestattet. Eine zur Isolierung geeignete, schön kristallisierende Verbindung haben wir nun im Brucinsalz gefunden. Hinsichtlich der Fähigkeit, gut kristallisierende Alkaloidsalze zu bilden, gleicht die Verbindung der Glukuronsäure,¹⁾ mit der sie überhaupt viel Ähnlichkeit hat.

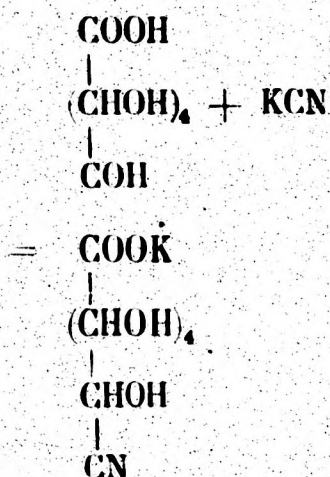
Allerdings entsteht die Aldehydglycerinsäure auch nur in kleiner Menge aus der Nitrocellulose, aber dieser Umstand ist belanglos, da die durch die Cellulose mit dem Traubenzucker vorhandenen Beziehungen **nicht** zur Grundlage unserer Beweisführung dienen.

Die Aldehydglycerinsäure läßt sich nun experimentell in einfacher Weise einmal mit der Weinsäure, deren Konfiguration E. Fischer²⁾ ermittelt hat, ferner mit der Glycerinsäure in Beziehung setzen. Das erste gelingt am leichtesten so, wie Neuberg und W. Neimann³⁾ früher die homologe Glukuronsäure in das um ein Kohlenstoffatom reichere Pentaoxypimelinsäuremononitril

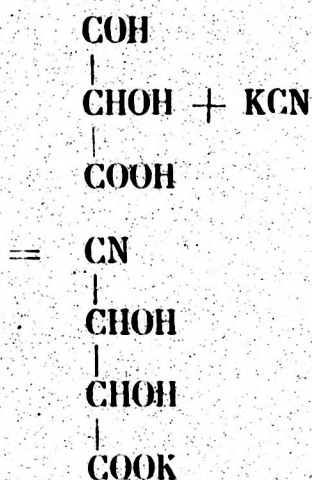
¹⁾ C. Neuberg, Ber., Bd. XXXIII, S. 3320 (1900).

²⁾ Ber., Bd. XXIX, S. 1377 (1896).

³⁾ Siehe Seite 106.



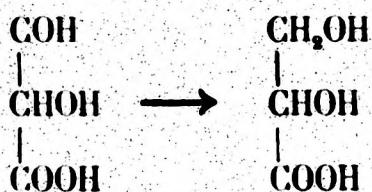
übergeführt haben, durch Einwirkung von Cyankali auf die freie Säure:



Durch Verseifung des primär entstehenden Mononitrils und Verwandlung in das Kaliumsalz erhält man Links-Weinstein, dessen physikalische und analytische Daten völlige Reinheit anzeigen, während in der Mutterlauge wegen der bekannten doppelseitigen Anlagerung der Blausäure noch Meso-weinsäure zugegen war.

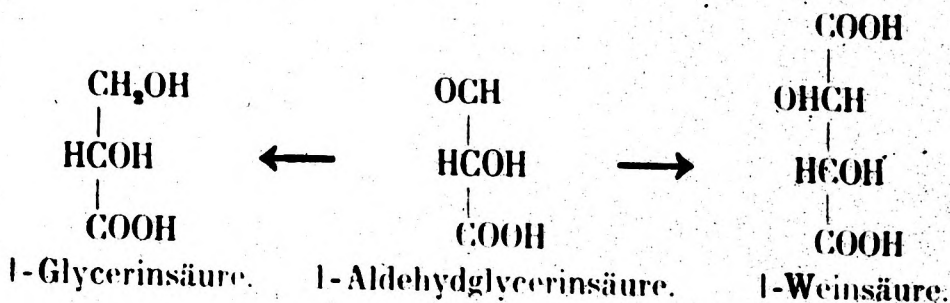
Behufs Lösung des zweiten Teiles der Aufgabe, d. h. zwecks Überführung in Glycerinsäure, wurde die Aldehydglycerinsäure in schwach saurer Lösung mit Natriumamalgam reduziert¹⁾

¹⁾ Die Reduktion der Aldehydglycerinsäure zur Glycerinsäure



verläuft vollkommen analog der von Thierfelder (Diese Zeitschrift,

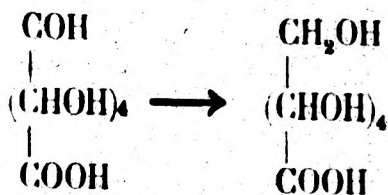
und schließlich die entstandene Säure über das Bleisalz gereinigt: die Zerlegung des letzteren ergab die linksdrehende, in ihren Salzen dextrogyre Glycerinsäure. Es bestehen also folgende Beziehungen:



Hierdurch ist die Konfiguration der aktiven Glycerinsäuren eindeutig festgelegt und damit die Grundlage für die konfigurativen Relationen aller auf die Glycerinsäure beziehbaren stickstoffhaltigen Substanzen geschaffen. Die bisher allein nach dem Drehungsvermögen ohne Rücksicht auf die Konfiguration gewählte Bezeichnungsweise der aktiven Glycerinsäuren ist beizubehalten, da sie zufällig im Einklange mit den Konfigurationsermittlungen steht.

Besonders hingewiesen sei noch auf den eigentümlichen Umstand, daß man von der Cellulose, diesem unzweifelhaften Derivat der d-Glukose, auf dem Weg über Nitrocellulose, Aldehydglycerinsäure, l-Glycerinsäure aus der d-Reihe der Kohlehydrate in die l-Reihe gelangt. Solche Übergänge sind zwar schon bekannt, zählen aber immerhin zu den Seltenheiten. Dieser neue Fall reiht sich den Beobachtungen Salkowskis und Neubergs¹⁾ über die Verwandlung von d-Glukuronsäure in l-Xylose, sowie der Feststellung Lobry de Bruyns und Alberda v. Ekensteins²⁾ an, daß d-Galaktose in l-Sorbose übergeführt werden kann.

Bd. XV. S. 71) ausgeführten Verwandlung der d-Glukuronsäure in d-Gulonsäure:



¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXVI, S. 26.

²⁾ Rec. d. trav. chim. des Pays-Bas, Bd. XIX, S. 1.

Experimenteller Teil.

1. Darstellung der Aldehydglycerinsäure.

Zur Bestimmung der Konfiguration der Glycerinsäure wurde, wie im theoretischen Teil erörtert, zunächst die Willsche Oxybrenztraubensäure dargestellt. Da keine ausführlicheren Literaturangaben hierfür existieren, sei folgendes Verfahren angegeben:

10 g Kollodiumwolle werden in der zur Lösung gerade nötigen Menge Alkohol und Äther gelöst und mit 50 g 10%iger Natronlauge längere Zeit (5 Tage) unter häufigem Durchschütteln stehen gelassen, bis eine Probe mit Schwefelsäure versetzt nur eine schwache Trübung ergibt. Alsdann wird die vom Alkohol und Äther mechanisch getrennte Flüssigkeit mit Essigsäure neutralisiert, zirka eine Stunde auf dem Wasserbade bis zum Aufhören der lebhaften Gasentwicklung gelinde erwärmt und in der Kälte mit Bleiessig gefällt. Nach einigem Stehen wird der Niederschlag abgesaugt, achtmal mit destilliertem Wasser gewaschen, in einer Reibschale zerrieben und mit etwa 100 ccm Wasser in ein Kölbchen gespült. Darauf wird zuerst in der Kälte, dann in der Wärme Schwefelwasserstoff eingeleitet, filtriert, mit heißem Wasser gewaschen und auf dem Wasserbad auf ein kleines Volumen eingedampft. Die so erhaltene reduzierende Lösung gibt mit überschüssigem Barytwasser¹⁾ sowie mit Chlorcalcium + Ammoniak in Wasser unlösliche Niederschläge, die sich in Essigsäure lösten. Sie dreht schwach links und liefert das bekannte Osazon.

Da die Säure keine charakteristischen Salze ergibt, so wurde versucht, Verbindungen mit den Alkaloiden darzustellen. Während die Cinchoninverbindung nicht erhalten werden konnte, kristallisierte das Brucinsalz in schönen Nadeln. Es wurde einmal aus Wasser und einmal aus Alkohol umkristallisiert.

¹⁾ Ebenso verhält sich die Glykuronsäure, deren Ähnlichkeit mit der Oxybrenztraubensäure schon betont ist. Auch bei ihr sind die Salze mit anorganischen Basen fast ausnahmslos amorph, dagegen die mit Alkaloiden ebenfalls kristallisiert.

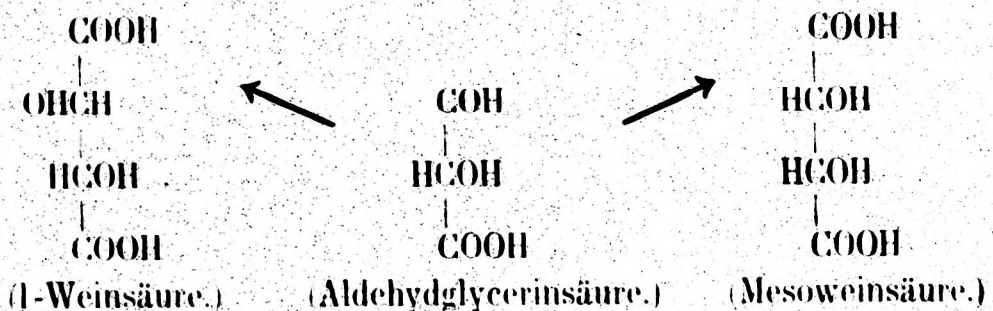
Die Bestimmung der optischen Drehung ergab:

0,5139 g Substanz ergaben in 10 ccm 15%iger K_2CO_3 -Lösung
 $[\alpha]_D = -1^\circ 48'$.

Zur Probe wurden 0,5181 g gewöhnlichen d-Weinsteins in 10 ccm K_2CO_3 -Lösung gelöst. Der Betrag der optischen Drehung war der entsprechende.¹⁾

Die zur Polarisation verwendete Lösung wurde mit Essigsäure angesäuert und lieferte nach der Konzentration wieder reinen l-Weinstein.

Genau wie bei den Aldehydzuckern kann auch bei den Aldehydsäuren die Cyanhydrinreaktion asymmetrisch verlaufen, d. h. sie kann Anlaß zur Bildung von 2 Stereoisomeren geben. Neben l-Weinsäure könnte in diesem Fall Mesoweinsäure entstehen:



deren leicht lösliches Kalisalz sich in der ersten Mutterlauge des schwer löslichen l-Weinsteins finden mußte. In der Tat ergab die Flüssigkeit nach Neutralisation mit Ammoniak in der Hitze mit Chlorcalcium eine weiße Fällung. Beim Absaugen hinterblieb ein weißes Pulver, das getrocknet und analysiert wurde. Es erwies sich als Calciumsalz der Mesoweinsäure.

Analyse.

0,1183 g Substanz verloren 0,0266 g H_2O und ergaben 0,0272 g CaO
 (= 0,0194 g Ca)

Für $C_4H_4O_6Ca + 3H_2O$

Berechnet:		Gefunden:	
22,31%	H_2O	22,54%	
16,53%	Ca	16,41%	

¹⁾ Bei Auerlicht drehten beide Lösungen, die ja fast absolut gleiche Konzentrationen besaßen, in einem für Glukose geeichten Polarisationsapparat gleich $-1,7\%$, resp. $+1,7\%$.

Seine Lösung in Salzsäure erwies sich als inaktiv. Demnach entstehen hier beide von der Theorie vorauszusehenden Weinsäuren nebeneinander.

3. Umwandlung der Aldehydglyzerinsäure in Glycerinsäure.

Zur Ausführung der Reduktion wurde eine 5,096 g enthaltende wässrige Lösung der Aldehydglyzerinsäure unter Turbinieren in kleinen Portionen mit 230 g 3%igem Natriumamalgam (etwa das 6fache der theoretisch berechneten Menge) versetzt. Sobald die Reaktion neutral geworden war, wurde Kohlensäure eingeleitet. Nach Beendigung der Wasserstoffentwicklung reduziert die Flüssigkeit nicht mehr: es wurde nun vom Quecksilber abgegossen, mit Essigsäure neutralisiert und mit Bleiessig gefällt. Der Niederschlag, der hauptsächlich aus Bleikarbonat bestand, wurde verworfen, das Filtrat eingeeengt und in der Kälte mit Bleiessig + Ammoniak gefällt. Sodann wurde der Niederschlag abgesaugt, ausgewaschen, mit wenig Wasser angerieben und mit Schwefelwasserstoff zuerst in der Kälte, dann in der Siedehitze zerlegt. Das Filtrat vom Schwefelblei wurde eingeeengt, mit Baryumkarbonat bis zur neutralen Reaktion gekocht, filtriert und konzentriert. Aus dieser Lösung fiel durch absoluten Alkohol ein Niederschlag aus, der zur Entfernung von essigsauerm Baryum (die Essigsäure entstammt dem bei Bleifällungen mit Bleiacetat stets mit niedergerissenen basisch essigsauerm Salz) mehrere Male umgefällt werden mußte. Durch Analyse der so gereinigten und bei 100° getrockneten Substanz und durch die Bestimmung ihres optischen Drehungsvermögens wurde sie als rechtsdrehendes glyzerinsaures Baryum erwiesen.

Analyse.

- a) 0.1297 g Substanz ergaben 0.0876 g BaSO₄
 b) 0.0990 „ „ „ 0.0748 „ CO₂ und 0.0276 g H₂O

Für C₆H₁₀O₆Ba

Berechnet:		Gefunden:
20.76%	C	20.61%
2.90%	H	3.11%
39.50%	Ba	39.54%

0.3031 g der Substanz, gelöst in 10 ccm H₂O, ergaben eine spezifische Drehung¹⁾ von:

$$[\alpha]_D = + 9.9^\circ$$

$$(\alpha = 0.30^\circ, l = 1).$$

¹⁾ Für l-glyzerinsaures Baryum, dargestellt aus auf chemischem Wege gespaltener Glycerinsäure, haben wir früher (Bd. XXXVII, S. 341) den Wert

$$[\alpha]_D = + 8.75^\circ$$

gefunden: für das entsprechende d-Salz dagegen:

$$[\alpha]_D = - 17.38^\circ$$

Durch Penicilliumgärung haben Frankland und Appleyard (Chem. Soc., Bd. LXIII, S. 238) eine d-Glycerinsäure gewonnen, deren Baryumsalz eine spezifische Drehung

$$[\alpha]_D = - 10.01^\circ$$

besaß. Wir waren früher der Meinung, auf chemischem Wege ein reineres Präparat erhalten zu haben, als auf dem biologischen. Unsere frühere Angabe ist jedoch hinfällig, indem unsere optische Bestimmung infolge eines Fehlers des Polarisationsapparates (Verschiebung des O-Punktes) sich als unrichtig erwies. Bei der Wiederholung fanden wir nunmehr den Wert

$$[\alpha]_D = - 10.9^\circ$$

für d-glyzerinsauren Baryt, der von der entsprechenden Zahl Franklands und Appleyards nur unbedeutend abweicht.