

Die Verwandlung von d-Glucuronsäure in l-Xylose.

Von

E. Salkowski und C. Neuberg.

Aus dem chemischen Laboratorium des pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

Der Redaction zugegangen am 4. August 1902.)

Die Abspaltung von Kohlensäure aus organischen Säuren durch geformte oder ungeformte Fermente ist ein öfters beobachteter Vorgang.

E. Baumann¹⁾ führte die Bildung des p-Kresols bei der Eiweissfäulniss auf die Abspaltung von CO₂ aus der Oxyphenylelessigsäure zurück.²⁾ K. Spiro³⁾ erkannte die zuerst von M. Nencki⁴⁾ bei der fauligen Zersetzung des Leims beobachtete Base als Phenyläthylamin, das zweifelsohne aus der Phenylalanin-Gruppe der Gelatine hervorgegangen ist. Hierhin gehört vor Allem auch die direct beobachtete Verwandlung von Lysin in Cadaverin und von Ornithin in Putrescin, die A. Ellinger⁵⁾ durch Fäulniss-

1) E. Baumann, Ber. d. deutsch. chem. Ges., Bd. 7, S. 282 und 553. (1883.)

2) Dahin gehört wohl auch die Bildung von Indol und Skatol bei der Eiweissfäulniss aus den betreffenden Carbonsäuren; allerdings gelang dem Einen von uns (E. S.) in Gemeinschaft mit H. Salkowski in direct darauf gerichteten Versuchen die Spaltung der Skatolcarbonsäure durch Fäulniss nicht. (Diese Zeitschr., Bd. IX, S. 20.) Dies zeigt indessen nur, dass die Spaltung allein unter bestimmten, nicht so leicht realisirbaren Bedingungen erfolgt.

3) K. Spiro, Hofmeister's Beiträge Bd. 1, S. 350 (1901.)

4) M. Nencki, Journal f. pract. Chemie, Bd. 26, S. 47. (1882.)

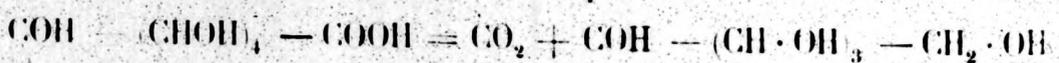
5) A. Ellinger, Ber. d. deutsch. chem. Ges., Bd. 31, S. 3183 und diese Zeitschr., Bd. XXIX, S. 334.

bakterien bewirkt hat. Auf dem gleichen Vorgange beruht auch die Entstehung von Methylamin, das O. Emmerling¹⁾ bei bacterieller Zersetzung von Eiweissstoffen mit einer Glycocolgruppe beobachtet hat.

Das älteste Beispiel einer CO₂-Abspaltung durch einen rein enzymatischen Process ist der Befund von Lawrow, dass bei der Autodigestion (Autolyse) von Schweinemagen die unzweifelhaft aus den Diaminosäuren entstehenden Basen Putrescin und Cadaverin auftreten. Später beobachtete Emerson²⁾ die Verwandlung von Tyrosin in p-Oxyphenyläthylamin mit Hilfe von Trypsin und constatirte eine ähnliche Bildung der letztgenannten Substanz bei der peptischen Verdauung von Serumalbumin.

Die einigermaassen sicher gestellten Fälle einer fermentativen Kohlensäureabspaltung — es handelt sich hier selbstverständlich nur um den glatten Austritt von CO₂ aus Carbonensäuren ohne gleichzeitige Oxydation oder Reduction — betreffen neben aromatischen Monohydroxysäuren vorwiegend cyclische, aliphatische oder aromatische Aminosäuren; bei ihnen nimmt die Amino- (resp. Imido-)Gruppe die α-Stellung zur Carboxylgruppe ein, und es erweckt den Anschein, als ob die bei fermentativem Angriff zunächst gebildeten sehr beständigen ringförmigen oder offenen Mono- und Diamine ebenso wie die Phenole besonders vor weiterer Zertrümmerung geschützt seien.

Im Folgenden fügen wir zu den bisherigen Beobachtungen einen neuen Fall von fermentativer Kohlensäureabspaltung; derselbe repräsentirt einen neuen Typus, da hier die Reaction weder zu einem Amin noch Alkohol (Phenol), sondern zu einem Aldehyd führt. Unter Bedingungen, die im experimentellen Teile präcisirt sind, ist es uns gelungen, relativ glatt Glucuronsäure durch Fäulnissbakterien unter CO₂-Verlust in die um ein Kohlenstoffatom ärmere Aldopentose überzuführen:

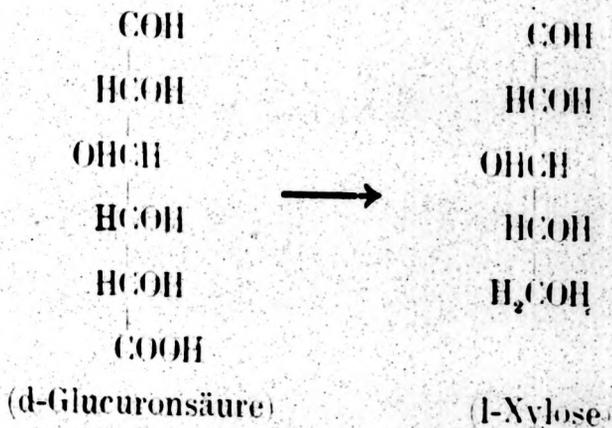


1) O. Emmerling, Ber. d. deutsch. chem. Ges., Bd. 30, S. 1866 (1897).

2) R. L. Emerson, Hofmeister's Beiträge I, S. 501, (1901).

Diese Verwandlung besitzt nach verschiedenen Richtungen hin ein weitergehendes Interesse.

Ein Blick auf die Formel der Glucuronsäure, deren Constitution von Emil Fischer und Piloty¹⁾ bewiesen ist, zeigt, dass die Abspaltung von CO₂ aus dieser Verbindung zur (gewöhnlichen) l-Xylose führen muss:



Diese Forderung der Theorie ist durch den Versuch voll auf bestätigt. Da die Glucuronsäure unzweifelhaft ein einfaches Oxydationsproduct der d-Glucose ist, mit der sie genetisch durch die d-Zuckersäure verknüpft ist, stellt die Kohlensäureabspaltung, die zur l-Xylose führt, einen Uebergang der d-Reihe in die l-Reihe der Zuckerarten dar.

Das physiologisch wichtige Problem der Verwandlung von Kohlehydraten der d- in solche der l-Reihe ist hiermit glücklich zum ersten Male gelöst, und noch dazu auf einem Wege, der die weitgehendste Analogie mit den natürlichen Vorgängen bietet. Nachdem in neuester Zeit Magnus-Levy²⁾ beobachtet hat, dass bei der Autodigestion (Autolyse) eine Reihe von Processen, die wir bisher gewohnt sind, als ausschliesslich von der Lebensthätigkeit der Bacterien abhängig anzusehen, auch durch ungeformte Fermente bewirkt werden können, ist es ausserdem gar nicht so undenkbar, dass die Kohlensäureabspaltung aus der Glucuronsäure durch Enzyme auch im Thierkörper stattfinden kann, sich auf diesem Wege

1) E. Fischer u. O. Piloty. Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 24. S. 522. (1891.)

2) A. Magnus-Levy. Hofmeister's Beiträge II. S. 261. (1902.)

also der Organismus die l-Xylose darstellt, deren er zum Aufbau der Nucleoproteide bedarf.¹⁾

Experimenteller Theil.

Bei den Fäulnisversuchen haben wir uns in Anbetracht der geringen Wachstumsenergie und Wirksamkeit von Reinculturen einer gewöhnlichen Mischung von Fäulnisbakterien bedient: überdies sind Mikroorganismen, deren Wirkung allein in einer Kohlensäureabspaltung besteht, noch nicht rein gezüchtet. Zur Isolirung der gebildeten Xylose und ihrer Trennung von unveränderter Glucuronsäure haben wir das Verhalten dieser Substanzen zu Bleisubacetat benutzt. Durch dieses Reagens wird eine neutrale oder schwach essigsäure Glucuronsäurelösung in der Wärme vollständig als basisches Salz gefällt, während Xylose dadurch nicht niedergeschlagen wird. Durch besondere Versuche haben wir uns davon überzeugt, dass auch bei einem Gemisch von Säure und Zucker diese Verhältnisse nicht geändert werden: die Fällung des basischen Bleiglucuronats ist, wenn sie in der Wärme erfolgt, so vollständig, dass im Filtrat dieses Salzes nicht mehr die empfindliche Tollens'sche Orcinprobe erhalten wird. Ihr positiver Ausfall hat uns deshalb als willkommenes Hilfsmittel gedient, den Eintritt des gewünschten Reactionsverlaufes zu erkennen. Denn letzterer lässt sich — das ist ein Nachtheil, den der Mangel einer geeigneten Reincultur bedingt — nicht mit vollständiger Sicherheit beherrschen, doch kann er im Vergleich zu analogen biochemischen Processen nicht allzu schwer erreicht werden.

Die Bedingungen der Kohlensäureabspaltung haben wir durch Veränderung in der Alkalität und der Menge der Fäulnismischung verschiedentlich variirt: intensive Fäulnis bei mässig alkalischer Reaction hat sich als am günstigsten erwiesen.

¹⁾ C. Neuberg, Berichte d. deutsch. chem. Ges., Bd. 35, S. 1467. (1902.)

Versuch I.

Von einer in intensiver Fäulniss begriffenen Mischung von 500 g gehacktem Fleisch, 2 Litern Wasser und 60 ccm kalt gesättigter Sodalösung¹⁾ wurden am dritten Tage 500 ccm abgegossen und diese mit 35 g freier Glucuronsäure versetzt, die in 100 ccm Wasser gelöst waren. Nach 3tägigem Stehen im Brutschrank (bei 39°) war in einer Probe nach Entfernung des Eiweisses durch Coagulation und nach Ausfällung der unveränderten Glucuronsäure die Bildung von Xylose zu constatiren. Nach weiteren 24 Stunden wurde die Gesamtmasse ohne vorherige Filtration mit Essigsäure schwach angesäuert, dann in einem emaillirten Blechgefäss zum Sieden erhitzt, filtrirt und ausgewaschen. Das schwach gelbliche Filtrat vom coagulirten Eiweiss wurde mit normalem Bleiacetat versetzt. Hierdurch entstand nur ein minimaler²⁾ feinflockiger Niederschlag, der leicht durchs Filter ging. Das Filtrat der Bleizuckerfällung wurde zum Sieden erhitzt, mit Bleisubacetat versetzt und bis zum Absetzen des Niederschlags auf dem Wasserbade digerirt. Das Filtrat der Bleiessigfällung wurde nun Anfangs in der Kälte, zuletzt in der Wärme durch Schwefelwasserstoff von dem in der Flüssigkeit befindlichen Blei befreit; es resultirte eine wasserklare Lösung, aus der durch Kochen dann der Schwefelwasserstoff ausgetrieben wurde. Die stark reducirende und schwach rechtsdrehende Lösung wurde dann mit 6 g Phenylhydrazin und 3 ccm Essigsäure von 30° versetzt und 1¼ Stunde im bedeckten Becherglase im Wasserbade erhitzt. Auf der tief gelb gefärbten Flüssigkeit hatten sich nach dieser Zeit einige ölige Tropfen abgeschieden; dieselben wurden aus der siedenden Lösung durch Schütteln mit Knochenkohle niedergeschlagen. Das gelbgefärbte Filtrat schied beim Erkalten das Pentosazon in Form eines gelben Gerinnsels ab; die Menge desselben betrug 0,44 g.

1) Nach E. Salkowski, Practicum, 2. Aufl. Seite 219.

2) Die Fällung mit normalem Bleiacetat wurde deshalb in den folgenden Versuchen unterlassen.

Durch einmalige Krystallisation aus 5%igem Alkohol wurde das Osazon in schwefelgelben verfilzten Nadelchen erhalten, die sich durch Schmelzpunkt (159—160°), Drehungsvermögen und Analyse als 1-Xylosazon erwiesen.

0.20 g Substanz, gelöst in 4 ccm Pyridin + 6 ccm. absol. Alkohol, zeigten Linksdrehung = — 12' bis — 15'.

0.1812 g Substanz ergaben 27,0 ccm N bei 21° und 760 mm.

Berechnet für $C_{17}H_{20}N_4O_3$: N = 17.07%

Gefunden: N = 17.13%

Versuch II.

Zu einer Fäulnismischung (aus 500 g Fleisch) der angegebenen Zusammensetzung wurden 40 g Glucuronsäure als Natronsalz gesetzt. Nach 2tägiger Fäulniss war die Orcinprobe im Filtrat der Bleiessigfällung negativ, am 4. Tage war sie schwach positiv, ebenso nach weiterem 24stündigen Stehen. Nach der Coagulation des Eiweisses bei schwach essigsaurer Reaction und der weiteren Verarbeitung in der beschriebenen Weise konnte kein Osazon erhalten werden.

Aus dem Bleiessigniederschlag wurden durch Zerlegung mit Schwefelwasserstoff 11,2 g Glucuronsäure (berechnet nach der Polarisation) wiedergewonnen.

Versuch III.

Zu einer Fäulnismischung aus 500 g Fleisch und 500 ccm Wasser wurden nach 48stündigem Verweilen im Brutschrank 25 g Glucuronsäure in 250 ccm Wasser gefügt. Die Glucuronsäure¹⁾ war zuvor zur Hälfte mit Natriumcarbonat neutralisirt.

Nach 24stündigem Stehen war die Orcinprobe im Filtrat des Bleiessigniederschlags bereits positiv, nach einem weiteren Tage fiel sie recht kräftig aus.

Die entsprechende Verarbeitung lieferte uns 1,18 g Pentosazon.

0.1631 g Substanz ergaben 25,0 ccm N bei 22° und 758 mm.

Berechnet: N = 17.07%

Gefunden: N = 17.33%

1) als Lactonsäure in der Siedehitze.

Versuch IV.

Eine Fäulnismischung aus 500 g Fleisch wurde unter den Bedingungen des Versuches III mit 25 g Glucuronsäure versetzt, die in 250 ccm Wasser gelöst und vollständig mit Soda neutralisirt waren.

Auch hier trat bereits nach 24 Stunden im Filtrat des Bleiessigniederschlags die Orcinprobe auf, die nach einem weiteren Tage noch an Intensität zunahm. Nach 72 Stunden erfolgte die Verarbeitung auf Xylosazon, die 0,66 g ergab.

0,1305 g Substanz ergaben 19,4 ccm N bei 14° und 749 mm.

Berechnet: N = 17,07% Gefunden: N 17,24%

Die Leichtigkeit, mit welcher die l-Xylose selbst durch Fäulnisbakterien zersetzt wird, lässt die Auffindung grösserer Mengen derselben in den Fäulnisversuchen mit Glucuronsäure ausgeschlossen erscheinen.

Versuche zur Abspaltung von CO₂ sollen auch mit anderen Säuren der Kohlehydratreihe angestellt werden.