

Verbindungen übergeführt werden kann, während in anderen (und zwar bei den Pentosen) der bisher als α -Form bezeichnete Zucker leicht direkt acetonisierbar ist. In den Fällen, wo die Acetonisierung der α -Zucker nur äußerst langsam verläuft, ist indessen der β -Zucker der Acetonisierung leicht zugänglich. Da die Acetonisierung in allen untersuchten Fällen zuerst an den zwei ersten C-Atomen eines Zuckers erfolgt, so liegt die Vermutung nahe, daß diejenigen Formen der Zuckerarten, welche direkt acetonisiert werden, betreffend ihren zwei ersten C-Atomen übereinstimmende Konfiguration besitzen und also eine übereinstimmende Bezeichnung als α - oder β -Zucker verdienen.

α -Glucose wird von Aceton-Salzsäure nicht angegriffen, β -Glucose wird indessen, in dieser Weise behandelt, in Mono- und Di-aceton-glucose übergeführt^{5) 6) 7)}. Von der entsprechenden Pentose, Xylose, wird der bisher als α -Zucker bezeichnete durch Aceton-Salzsäure oder Aceton-Schwefelsäure leicht in Mono- und Di-aceton-Verbindung verwandelt. α -D-Galaktose läßt sich, wie neuerdings Freudenberg und Nixon⁸⁾ festgestellt haben, sowohl von Aceton-Salzsäure wie Aceton-Schwefelsäure acetonisieren, aber die Reaktion erfolgt sehr langsam und unvollständig, während β -Galaktose etwa 20-mal schneller und zwar quantitativ unter Bildung ihrer Di-aceton-Verbindung reagiert⁹⁾. Auch hier wird indessen die entsprechende Pentose, die Arabinose, in α -Form schnell und vollständig acetonisiert.

Was die Übereinstimmung der Resultate betrifft, so finden wir zunächst, daß nur für das Paar Glucose-Xylose das Studium der beiden Erscheinungsgebiete eine Ähnlichkeit der Schlußfolgerungen erlaubt. Zu einem umfassenden Vorschlag über die Bezeichnung der α - und β -Formen der Zucker sind unsere Versuchsergebnisse also noch ungenügend und müssen mit weiteren Studien, besonders an den β -Formen der Pentosen, ergänzt werden, um so mehr, als besonders bei diesen Zuckern unsere Anschauungen über die Lage der Sauerstoffbrücke noch ziemlich mangelhaft sind.

50. H. v. Euler und K. Josephson: Saccharase (III.).

[Aus d. Biochem. Laboratorium d. Universität Stockholm.]

(Eingegangen am 1. Dezember 1923.)

In den vorhergehenden Mitteilungen über das Enzym Saccharase^{1) 2) 3)} haben wir Versuche beschrieben, welche eine Orientierung über die chemische Zusammensetzung des Saccharase-Komplexes bezweckten, wie er in den reinsten damals erhaltenen Präparaten vorlag. Die Reinheitsgrade der Präparate waren durch die If-Werte 100—220 gekennzeichnet. In einer späteren Mitteilung⁴⁾ über die Bezeichnungsweise der Aktivität der Enzyme hatten wir vorgeschlagen, zwecks genauere Umrechnung des Minuten-Wertes in den If-Wert zur Berechnung des letzteren die Inversionskonstante bei Spaltung auf 75.75%₀ (Drehung 0°) anzuwenden. Auf diese Weise berechnet, hatte unser früher beschriebenes Präparat XIIa AKA den Wert If⁰ = 238, während früher If = 220 angegeben worden war.

⁵⁾ E. Fischer, B. 28, 1145 [1895].

⁶⁾ E. Fischer u. Rund, B. 49, 83 [1916].

⁷⁾ Irvine u. Macdonald, Soc. 107, 1701 [1915]. ⁸⁾ B. 56, 2119 [1923].

⁹⁾ Svanberg und W. Bergman, Arkiv för Kemi 9, 3 [1924].

¹⁾ B. 56, 446 [1923]. ²⁾ B. 56, 453 [1923]. ³⁾ B. 56, 1097 [1923].

⁴⁾ B. 56, 1749 [1923].

Bei weiteren Versuchen über die Reinigung der Saccharase haben wir eine Reihe von Präparaten von ähnlichem Reinheitsgrad wie das eben erwähnte erhalten. Die folgende Tabelle enthält eine Zusammenstellung der Aktivitäten unserer in letzter Zeit erhaltenen und näher untersuchten Präparate.

Präparat	If ⁰	Zeitwert = 58.6/If ⁰
XIIa AKA	238	0.246
XV _{a1} AKA	242	0.242
XV _{a2} AKKA	245	0.239
10a AKA	241	0.243

Das letzte Präparat war von Hrn. Assistenten K. Myrbäck dargestellt worden. Wie man sieht, führen die angewandten Reinigungsmethoden zu Präparaten von nahe übereinstimmendem Reinheitsgrad; auch das Präparat XVa AKKA, welches einer weiteren Kaolin-Adsorption unterworfen worden war, zeige eine annähernd gleiche Aktivität, wie die übrigen Präparate. Mit diesem Sorptions-Verfahren dürfte somit eine Reinigungsgrenze erreicht sein, und ein If-Wert von etwa 250 würde demnach die angenäherte Grenze der Reinigung mit diesen Methoden bedeuten. Unsere vorhergehenden Berechnungen über die Äquivalent-Werte der Saccharase sind unter Verwendung des Wertes If = 230 ausgeführt worden. Umgerechnet auf If⁰ würde 230 etwa dem Wert 250 entsprechen, da die Abweichungen zwischen If und If⁰ im allgemeinen bei der normalen Erhöhung der Reaktionskonstanten etwa 5—10% ausmachen. Die bisher angegebenen Äquivalent-Werte der Saccharase können wir somit einstweilen unverändert beibehalten.

Es verdient nochmals betont zu werden, daß unsere Werte für den Reinheitsgrad (If⁰ bzw. Zeitwert) sich immer auf die Aktivität der nicht eingeeengten, aber dialysierten Lösungen beziehen. Der etwaige Gehalt an inaktivierter Saccharase kommt somit nicht zum Vorschein. Wir halten es für wahrscheinlich, daß der N-Gehalt unserer reinsten Präparate wenigstens zum größten Teil dem Enzym zuzuschreiben ist. Eine gleichzeitige Bestimmung der Aktivität und des N-Gehaltes würde somit, wenn unsere Voraussetzung richtig ist, eine Vorstellung geben über den relativen Gehalt verschiedener Präparate an inaktiviertem Enzym⁵⁾.

Was die chemische Natur dieser Präparate betrifft, so ist wieder zu betonen, daß die Bindungsart des Stickstoffs im Saccharase-Komplex in hohem Grade an diejenige in gewöhnlichen Eiweißstoffen erinnert. (Die aktive Saccharase enthält den Stickstoff nur in geringem Grade in freien Aminogruppen; dagegen beträgt nach der Hydrolyse mit Salzsäure der Gehalt an Amino-Stickstoff, bestimmt nach der Methode von van Slyke, 60—70% des totalen N-Gehaltes. Sowohl der N- als der S-Gehalt stimmt der Größenordnung nach mit dem Gehalt gewisser Eiweißkörper an diesen Grundstoffen überein.) In vieler Hinsicht, besonders hinsichtlich der sog. typischen Eiweißreaktionen weichen unsere Saccharase-Präparate indessen erheblich von den bis jetzt näher untersuchten Proteinen ab. Da wir trotzdem mehrfach von der Saccharase als einem Protein gesprochen haben, so ist zu betonen, daß die Eiweißstoffe unserer Ansicht nach den Eigenschaften der hochaktiven Saccharase-Präparate am nächsten kommen. Wenn Willstätter und Kuhn⁶⁾ schreiben: »Die Fortschritte der präparativen

⁵⁾ vergl. hierzu Willstätter, Graser und Kuhn, H. 123, 1 [1923].

⁶⁾ Willstätter und Kuhn, H. 125, 28, 31 [1923].

Methodik, die es ermöglichen, Invertin frei von Eiweiß, Kohlenhydrat und Phosphor . . . zu erhalten«, dürfte dies mit unserer Auffassung der Saccharase als einer »protein-ähnlichen« Substanz kaum in eigentlichem Widerspruch stehen. Die nähere Untersuchung der Bausteine der stickstoff-haltigen Saccharase-Komponente ist unserer Auffassung nach somit von um so größerer Bedeutung, als nach unserer Meinung die spezifische Enzym-Wirkung der Saccharase nahe mit den amphoterer Eigenschaften des Enzym-Proteins zusammenhängt.

Zu dieser Auffassung sind wir gelangt zunächst auf Grund von Ergebnissen neuerer Untersuchungen, besonders über einige physikalisch-chemische Eigenschaften unserer reinsten Präparate, ferner auf Grund der guten Übereinstimmung zwischen der theoretischen Berechnung der Aktivitäts- p_H -Kurve der Saccharase und ihrem experimentell festgestellten Verlauf. Im Folgenden wollen wir einige in letzter Zeit ausgeführte Versuche zusammenstellen, da sie die experimentellen Ausgangspunkte bilden für die von uns vertretene Auffassung über die Wirkungsweise der Saccharase⁷⁾.

Molekulargewicht (Dispersitätsgrad) der Saccharase.

Eine wesentliche Stütze für die Auffassung, daß die aktive Saccharase ein hochmolekularer Stoff ist, bzw. daß die Aktivität der Saccharase mit einem hochmolekularen Stoff fest verbunden ist, liefern die direkten Versuche, das Molekulargewicht durch Diffusionsmessungen zu bestimmen. Diese Versuche zeigen unzweideutig, daß sich »die aktive Gruppe« an oder in einer hochmolekularen Verbindung vom Molekulargewicht rund 20000 befindet. Dieser Wert kann allerdings die Größe einer Anzahl mit einander assoziierter Saccharase-Moleküle kennzeichnen, aber Versuche mit Präparaten von verschiedenen Reinheitsgraden zeigen, daß der Dispersitätsgrad sich mit dem Reinheitsgrad nicht merkbar ändert, wie aus folgender Tabelle hervorgeht:

If	Präparat von	Diffusions-Koeffiz. D (20°)	M = 49 : D ²
11; 5-7; 7	Euler, Hedelius, Svanberg	0.047	22000
84.0; 34.2	Euler-Ericson	0.0488	20600
168	Euler-Josephson	0.0476	21600
198 (220)	Euler-Josephson	0.0500	19600

Bei einer Steigerung des Reinheitsgrades im Verhältnis von 1:20 wurde die Diffusionsgeschwindigkeit vom Reinheitsgrad unabhängig gefunden. Somit sind es nicht die in der Hefe vorkommenden hochmolekularen Verunreinigungen, welche sich bei den älteren Versuchen mit Saccharase verbunden hatten, sondern das hohe Molekulargewicht 20000 ist für den aktiven Saccharase-Komplex charakteristisch. Der Dispersitätsgrad der Saccharase scheint, wie aus unseren Diffusionsmessungen hervorgeht, nur unerheblich zu variieren.

Der Aschengehalt der Saccharase.

Die bisher beschriebenen Saccharase-Präparate haben einen nicht unbedeutenden Aschengehalt gezeigt. An unseren Präparaten ist im allge-

⁷⁾ Euler und Josephson, Arkiv för Kemi 9, Nr. 4 [1924]. — H, 133 [1924], im Druck.

meinen der Aschengehalt zu 2—5% bestimmt worden. Die von Willstätter und seinen Mitarbeitern dargestellten Präparate weisen hinsichtlich des Aschengehaltes starke Variationen auf. Die besten Präparate, welche von Willstätter, Graser und Kuhn beschrieben worden sind, hatten somit die Aschengehalte 3.90, bzw. 15.37%, während ein anderes Präparat vom Minutenwert 0.5 nur 1.34% Asche enthielt. Wir finden somit, daß die Verunreinigungen den Aschengehalt auch bei hohen Reinheitsgraden stark beeinflussen. Bei der Anstellung spezieller physikalisch-chemischer Untersuchungen war es für uns notwendig, ein möglichst aschenfreies Präparat zu benutzen, und bei der Reinigung wurde deshalb die schließliche Dialyse besonders lange fortgesetzt.

Das Präparat XVa AKA, welches nach der letzten Elution 11 Tage dialysiert worden war, zeigte hierauf einen If-Wert von 242 und einen Aschengehalt von 5%. Nach Eindunsten im Vakuum veränderte sich die Aktivität nicht, sondern If war immer noch 242. Die 2.2-proz. Lösung wurde hierauf während einer weiteren Woche der Dialyse unterworfen. Dadurch sank die Aktivität auf 213. Ein Teil der aktiven Saccharase konnte in der äußeren Flüssigkeit nachgewiesen werden. Die nunmehr 1.56-proz. Lösung war indessen nun in so hohem Grad von verunreinigenden Salzen befreit worden, daß der Aschengehalt nur mehr 0.13% betrug. Hieraus geht deutlich hervor, daß der bisher gefundene hohe Aschengehalt der Saccharase-Präparate auf Verunreinigungen zurückzuführen ist; die Saccharase selbst hat in den bisher erhaltenen Reinheitsgraden einen minimalen Aschengehalt. Ob derselbe ganz oder teilweise verunreinigenden Salzen zuzuschreiben ist, können wir noch nicht entscheiden. Wir haben unser von den verunreinigenden Elektrolyten zum größten Teil befreites Präparat zur orientierenden Bestimmung der bisher noch unbekanntes sauren und basischen Dissoziationskonstante, K_a und K_b der Saccharase benutzt, und geben die bis jetzt erhaltenen Werte an:

$$K_a = 10^{-7} \quad K_b = 10^{-11}.$$

Daraus würde sich der iso-elektrische Punkt der Saccharase für 20° zu $\text{pH} = 5$ berechnen.

51. S. Gabriel, Leo Kornfeld und Carl Grunert:

Zur Kenntnis ungesättigter Lactone.

[Aus d. Berl. Univ.-Laborat.]

[Eingegangen am 11. Dezember 1923.]

Es ist seit langem¹⁾ bekannt, daß unter dem Einfluß des Na-Alkohols ungesättigte Lactone (I) in Diketo-hydrinden (II) sich



umlagern. Wir haben untersucht, wie sich unter gleichen Umständen derartige in der Seitenkette bromierte Lactone verhalten, und haben Körper gewählt, welche für X ein Phenyl resp. *p*-Xylyl oder ein Methyl enthalten.

¹ B. 26, 951 [1893].