

kommt noch dazu, daß bei den Pyrrolderivaten die Methingruppen gelegentlich mit reagieren, und wir glauben, daß der vorsichtige Standpunkt, der in der I. Mitteilung bei der Beurteilung der Zerewitinoff-Werte beim Hämin eingenommen wurde, durchaus berechtigt war und ist. Auch die hohen Werte der Xanthoporphinogene können wir nur so deuten, daß diese Körper außer mit Imidgruppen auch mit Methingruppen reagieren oder als „Katalysatoren“ der Blindreaktion dienen. Sonstige katalytische Fähigkeiten haben wir bis jetzt allerdings nicht finden können; z. B. kann man bei der Blut-Benzidin-Reaktion das Wasserstoffsuperoxyd durch Ätio-xanthoporphinogen nicht ersetzen.

### 192. Karl Josephson:

#### **Bemerkung zu den Arbeiten von E. Waldschmidt-Leitz und W. Klein: Über Spezifität und Wirkungsweise von Erepsin, Trypsin und Trypsin-Kinase, sowie von E. Waldschmidt-Leitz und Gertrud Rauchalles: Zur Spezifität der Peptidasen, II.: Vergleich der Peptid-Zucker-Kondensation mit der Wirkungsweise des Erepsins.**

[Aus d. Chem. Laborat. d. Universität Stockholm.]

(Eingegangen am 19. April 1928.)

Die im April-Heft der „Berichte“ erschienenen Mitteilungen aus dem Laboratorium der Bayerischen Akademie der Wissenschaften von E. Waldschmidt-Leitz und Mitarbeitern<sup>1) 2)</sup> müssen wir mit um so größerer Freude begrüßen, als sie ausgezeichnete Bestätigungen der im hiesigen Laboratorium vorher experimentell begründeten Vorstellungen über die Art der Bindung zwischen dem Darm-Erepsin und seinen Substraten ausmachen. Die in Arbeiten von H. v. Euler und K. Josephson<sup>3)</sup> zuerst nachgewiesene, ausschlaggebende Bedeutung der freien Aminogruppe in den Dipeptiden, sowie in den einfachen Amino-säuren für die Bindung an das Darm-Erepsin und weiter die in der Mitteilung von Josephson und Euler „Über die Wirkungsweise des Darm-Erepsins“<sup>4)</sup> beschriebenen Versuche hatten es wahrscheinlich gemacht, daß die gesuchte substrat-bindende Gruppe (Affinitätsgruppe), welche die Bindung der Aminogruppe des Substrats vermittelt, „tatsächlich Aldehyd-Eigenschaften besitzt“: „Von den in Frage kommenden, in der organischen Chemie bekannten Atomgruppen dürfte die Carbonylgruppe  $>C:O$  (Aldehyd- oder Ketogruppe) oder eventuell eine in ähnlicher Weise wie bei den reduzierenden Zuckern vorkommende umgestaltete Carbonylgruppe mit den vorliegenden Erfahrungen am besten in Einklang stehen“.

Nachdem nun E. Waldschmidt-Leitz und W. Klein<sup>1)</sup> neue Erfahrungen mitteilen, welche unsere Vorstellung, „wonach es zur Wirkung des Darm-Erepsins auf ein Peptid, zu seiner Anlagerung, der Gegenwart einer freien Aminogruppe bedarf“, bestätigen, und weiter einige scheinbar gegen diese Vorstellung sprechende, früher mitgeteilte Beobachtungen erledigen, machen E. Waldschmidt-Leitz und Gertrud Rauchalles<sup>2)</sup>

1) E. Waldschmidt-Leitz und W. Klein, B. **61**, 640 [1928].

2) E. Waldschmidt-Leitz und Gertrud Rauchalles, B. **61**, 645 [1928].

3) Ztschr. physiol. Chem. **157**, 122 [1926]; B. **60**, 1341 [1927].

4) Ztschr. physiol. Chem. **162**, 85 [1926].

einen Vergleich der Kondensations-Reaktion zwischen Glucose und dem Peptid mit der Wirkungsweise des Erepsins. Die Autoren finden, daß die  $p_H$ -Kurve der Glycyl-glycin-Spaltung durch Darm-Erepsin mit der  $p_H$ -Kurve der Kondensations-Geschwindigkeit von Glycyl-glycin mit Glucose innerhalb der Bestimmungsfehler vollständig übereinstimmt, und bringen damit eine sehr bemerkenswerte Bestätigung und Erweiterung unserer früher in anderer Weise begründeten Vorstellung über die Rolle einer Carbonylgruppe in dem Erepsin.

Wenn aber E. Waldschmidt-Leitz und Gertrud Rauchalles meinen, daß „die Kondensation von Glucose mit Peptiden... sich von der Reaktion des Aldehyd-Zuckers mit einfachen Amino-säuren, mit der sie in vielem Übereinstimmung zeigt, beispielsweise in ihrem stöchiometrischen Verlauf oder in ihrer Abhängigkeit von der Konzentration der Komponenten, in einer bemerkenswerten Beziehung unterscheidet“, nämlich so, daß sie durch eine ganz andere Abhängigkeit von der  $H^+$ -Ionen-Konzentration, von der Alkalität der Versuchslösung, gekennzeichnet ist, so kann ich den genannten Autoren nicht ohne weiteres beistimmen. Auch bei der Kondensation zwischen Glucose und Glykokoll fand ich nämlich ein ausgeprägtes  $p_H$ -Optimum der Anfangs-Geschwindigkeit der Kondensation, gemessen durch die Drehungsabnahme, obwohl das Gleichgewicht zwischen der Glucose und der Amino-säure keine solche  $p_H$ -Abhängigkeit zeigte, sondern lediglich bei vergrößerter Alkalität sich zugunsten der Kondensation verschob. Die folgenden, aus der ersten Mitteilung von H. v. Euler und K. Josephson über die Kondensation zwischen Glucose und Glykokoll<sup>5)</sup> entnommenen, von mir bestimmten Zahlen mögen hier als Illustration des oben Gesagten wiedergegeben werden.

$p_H$	Min.	Drehung	Drehungs-Abnahme
5.9	0	21.64	—
	10	21.52	0.12
	20	21.40	0.24
	30	21.34	0.30
8.1	0	21.40	—
	10	21.00	0.40
	20	20.68	0.72
	30	20.51	0.89
8.4	0	21.61	—
	5	21.12	0.49
	15	20.80	0.81
	30	20.43	1.18
9.6	0	21.04	—
	6	20.85	0.19
	10	20.81	0.23
	30	20.35	0.69

Nach diesen Ergebnissen scheint also die Anfangs-Geschwindigkeit der Reaktion zwischen Glucose und Glykokoll ebenso wie die von E. Waldschmidt-Leitz und Gertrud Rauchalles gemessene Geschwindigkeit

<sup>5)</sup> Ztschr. physiol. Chem. **153**, 1 [1926].

der Kondensation der Glucose mit einem Dipeptid ein  $p_H$ -Optimum zu besitzen. Für die Gleichgewichtslage gilt dagegen die von H. v. Euler und E. Brunius<sup>6)</sup> ermittelte Kurve.

Daß die beiden  $p_H$ -Optima bei der Kondensation von Glucose mit Glykoll einerseits und mit Glycyl-glycin andererseits nicht zusammenfallen, ist natürlich nebensächlich; die verschiedenen Lagen der Optimalbedingungen der Kondensations-Geschwindigkeit dürften die verschiedenen Dissoziationskonstanten der Amino-säure und des Peptids erklärt werden können. Inwieweit die Wasserstoff-Zahl für die Lage des Gleichgewichts zwischen Glucose und Peptid in ähnlicher Weise wie für die Geschwindigkeit der Kondensation bestimmend ist, wie E. Waldschmidt-Leitz und Gertrud Rauch alles es für wahrscheinlich halten, läßt sich aus den von diesen Autoren mitgeteilten Zahlen kaum entnehmen. Vielleicht liegen die Verhältnisse bezüglich des Gleichgewichts wie bei der Amino-säure

Schließlich möchte ich auch hinsichtlich der von E. Waldschmidt-Leitz und Gertrud Rauchalles gemachten Annahme, „daß der Einfluß der Wasserstoff-Ionen in dem vorliegenden Falle die Bildungs-Geschwindigkeit der Enzym-Substrat-Verbindung, nicht ihre Zerfalls-Geschwindigkeit betrifft, und daß die Geschwindigkeit der Erepsin-Wirkung durch die Bildungs-Geschwindigkeit der Enzym-Substrat-Verbindung bestimmt wird“, betonen, daß der von den zitierten Autoren gemachte Vergleich mit der enzymatischen Rohrzucker-Spaltung meine Ergebnisse über die Abhängigkeit des Gleichgewichtes zwischen Rohrzucker und Saccharase von der Wasserstoff-Zahl nicht berücksichtigt. Wie ich schon 1923 festgestellt habe<sup>7)</sup>, hat nämlich die von R. Kuhn<sup>8)</sup> ausgesprochene (und von den genannten Autoren zitierte) Vermutung, daß das Gleichgewicht zwischen Rohrzucker und Saccharase unabhängig von der Wasserstoff-Zahl ist, jedenfalls nur eine beschränkte Gültigkeit: der Satz kann jedenfalls nur am alkalischen Ast der  $p_H$ -Kurve gültig sein, nicht aber am sauren, da bei Vergrößerung der Acidität gegenüber dem Optimum das Gleichgewicht zwischen Rohrzucker und Saccharase in hohem Maße beeinflusst wird. Der Satz von Kuhn: „Die Wasserstoff-Ionen bestimmen die Zerfalls-Geschwindigkeit des Saccharase-Komplexes“, ist aber auch am alkalischen Ast der  $p_H$ -Kurve der Saccharase nach einer von H. v. Euler, K. Josephson und K. Myrbäck<sup>9)</sup> auch im Jahre 1923 entwickelten Theorie dahin abgeändert worden, daß die Gleichgewichte zwischen den verschiedenen reaktionsfähigen Molekülen und Ionen des Enzyms und der Substrat-Verbindung von der Wasserstoff-Ionen-Konzentration beeinflusst werden<sup>10)</sup>. Auch bei der  $\beta$ -Glucosidase des Emulsins liegen ähnliche Verhältnisse vor<sup>11)</sup>.

Abschließend sei hervorgehoben, daß die durch experimentelle Ergebnisse aus unserem Laboratorium gut begründete Theorie über die Art des Zu-

<sup>6)</sup> B. **59**, 1581 [1926].

<sup>7)</sup> K. Josephson, *Ztschr. physiol. Chem.* **134**, 50 [1923/24].

<sup>8)</sup> *Ztschr. physiol. Chem.* **125**, 28 [1922/23].

<sup>9)</sup> *Ztschr. physiol. Chem.* **134**, 39 [1923/24].

<sup>10)</sup> Siehe hierzu auch Euler und Josephson, *Ztschr. physiol. Chem.* **155**, 1 [1926]; K. Myrbäck, *Ztschr. physiol. Chem.* **158**, 160 [1926].

<sup>11)</sup> K. Josephson, *Ztschr. physiol. Chem.* **147**, 1, u. zw. S. 81 u. ff. [1925].

standekommens einer Bindung zwischen dem Darm-Erepsin und einem Dipeptid oder einer Amino-säure, durch die Ergebnisse des Münchener Laboratoriums voll bestätigt worden sind. Zum erstenmal ist also in der Arbeit von Josephson und Euler „die Bindung Enzym-Substrat auf eine rein chemische Reaktion zwischen bestimmten, experimentell nachgewiesenen Atomgruppen sowohl im Enzym wie im Substrat“ zurückgeführt worden.

### 193. F. Wessely und E. Demmer: Die Konstitution des Fraxetins.

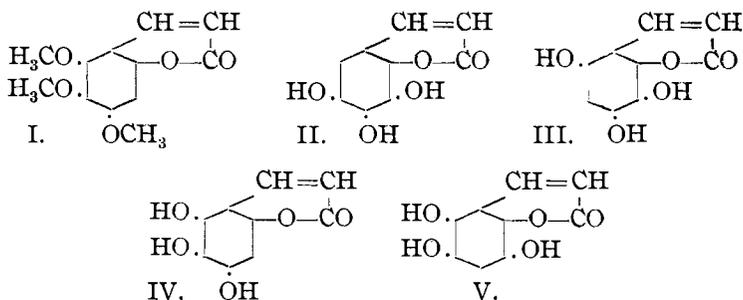
[Aus d. II. Chem. Institut d. Universität Wien.]

(Eingegangen am 20. April 1928.)

Fraxetin, das Aglucon des hauptsächlich in der Rinde von *Fraxinus excelsior* vorkommenden Glucosides Fraxin<sup>1)</sup> wurde durch die Untersuchungen von Salm-Horstmar und Rochleder<sup>2)</sup> bekannt. Körner und Biginelli<sup>3)</sup> haben später gezeigt, daß Fraxetin ein Monomethyläther eines Trioxy-cumarins ist, ohne die genaue Konstitution anzugeben. Auch spätere Untersuchungen haben keine Entscheidung über die Struktur dieser Verbindung erbracht.

Biginelli<sup>4)</sup> hat nach der Pechmannschen Cumarin-Synthese ein Trimethoxy-cumarin dargestellt, dem er die Konstitution I zuschrieb, das aber von dem Dimethyl-fraxetin, das Körner und Biginelli aus Fraxetin erhielten, verschieden ist. Bargellini<sup>5)</sup> erhielt durch Oxydation von Dimethyl-daphnetin mit  $K_2S_2O_8$  unter Eintritt einer Hydroxylgruppe einen Dimethyläther eines Trioxy-cumarins, dessen Konstitution aber nicht eindeutig festgelegt wurde.

Für das Fraxetin sind 12 verschiedene Strukturen möglich, da jedem der 4 in Frage kommenden Trioxy-cumarine II—V je 3 Monomethyläther entsprechen.



Es war also zunächst die Konstitution des dem Fraxetin entsprechenden Trioxy-cumarins und als nächster Schritt die Stellung der Methoxylgruppe festzustellen.

Wird das Dimethyl-fraxetin in die entsprechende Tetramethoxy-zimtsäure übergeführt und diese der Oxydation mit  $KMnO_4$  unterworfen,

1) Salm-Horstmar, Pogg. Ann. **100**, 607 [1857].

2) Salm-Horstmar, Pogg. Ann. **107**, 327 [1859]; Rochleder, Pogg. Ann. **107**, 331 [1859].

3) Gazz. chim. Ital. **21**, II 452 [1891].

4) Gazz. chim. Ital. **25**, II 365 [1895].

5) Gazz. chim. Ital. **46**, I 249 [1916].