

## Das Zymophosphat und die alkoholische Gärung.

Von Prof. BROR HVISTENDAHL.

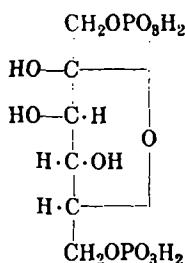
Aus dem Karolinischen Institut zu Stockholm.

(Eingeg. 30. März 1933.)

Seitdem im Jahre 1905 *L. Iwanoff* sowie *A. Harden* und *W. J. Young*<sup>1)</sup> die interessante Beobachtung gemacht hatten, daß Hefe in einer Mischung von Hexosen und Alkaliphosphaten letztere unter Umständen zum Verschwinden bringen und in eine organische Phosphorsäureverbindung überführen kann, ist der dabei entstehende Zuckerphosphorsäureester der Gegenstand zahlreicher Untersuchungen gewesen, ohne daß man über seine Bedeutung für den Vorgang bei der alkoholischen Gärung Klarheit gewonnen hat.

*Iwanoff*<sup>2)</sup>), dem im Jahre 1906 die Isolierung des Kohlenhydratphosphorsäureesters in Form seiner Kupferverbindung gelang, betrachtete ihn als den Monophosphorsäureester einer Triose oder eines Methylglyoxalhydrats. Da aber weder *Iwanoff*<sup>3)</sup> noch *Lebedew*<sup>4)</sup> bei der Einwirkung von Hefe und Phosphaten auf eine wirkliche Triose überhaupt einen Zuckerphosphorsäureester der Dreikohlenstoffreihe abzuscheiden vermochten, *Lebedew* dagegen bei dem Studium der Phenylhydrazinverbindungen der fraglichen Substanz zeigen konnte, daß Phosphorsäure bei der Osazonbildung abgespalten wurde und weiter *Neuberg*<sup>5)</sup> mit seiner seither viel benutzten Methode, die in der Überführung der Triosen in Methylglyoxal besteht, zeigen konnte, daß in isoliertem Zymophosphat keine Triosen vorhanden sind, wurde das Zymophosphat ganz allgemein als Hexosediphosphorsäure aufgefaßt. *Neuberg*<sup>6)</sup> erhielt direkt Fructose in Substanz aus Zymophosphat, was *Harden* später bestätigt hat.

Da die freie Säure sich als schwach dextrogyr erwies, durch saure Hydrolyse aber eine linksdrehende, Fruchtzucker enthaltende Lösung ergab, sowie nach den elementaranalytischen Daten und ihrem Verhalten gegenüber Phenylhydrazin, wurde sie schließlich allgemein als eine 2,5-Fructose-1,6-di-Phosphorsäure angesehen.



Die Tatsache, daß die drei vergärbaren Hexosen, Glucose, Fructose und Mannose, immer denselben Hexose-di-Phosphorsäureester ergaben, wurde durch die gemeinsame Enolform<sup>7)</sup> dieser drei Zuckerarten erklärt. Seitdem es aber *R. Nilsson*<sup>8)</sup> gelungen war, nachzuweisen, daß auch bei der Galactosevergärung Zymophosphat gebildet wurde, das nicht allein den Reservekohlehydraten entstammen konnte, muß auch noch eine sterische Umlage-

<sup>1)</sup> Proceed. Chem. Soc. London 21, 189 [1905]. <sup>2)</sup> *C. Neuberg*, Die Gärungsvorgänge und der Zuckerumsatz der Zelle, Monogr. Jena 1913, bei G. Fischer, S. 10.

<sup>3)</sup> Ztschr. physiol. Chem. 50, 281 [1906].

<sup>4)</sup> Ztschr. Bakter., Parasitenk., II. Abt., 24, 1 [1909].

<sup>5)</sup> Biochem. Ztschr. 28, 213 [1910]; 83, 244 [1917].

<sup>6)</sup> Ebenda 83, 262 [1917].

<sup>7)</sup> *Neuberg*, Monographie „Der Zuckerumsatz der Zelle“, Jena 1913, S. 13. <sup>8)</sup> Ark. Kemi, Mineral., Geol. 10 A, Nr. 7.

nung angenommen werden. Da nun aber vor allem *C. Neuberg*<sup>9)</sup> wiederholt darauf hingewiesen hatte, daß die Zymophosphatbildung kein zwangsläufiges Durchgangsstadium beim Kohlehydratabbau darzustellen braucht, sondern ein pathologisches Geschehnis sein kann, bei dem der normalerweise in mäßigem Umfange eintretende und mit dem Aktivatoren-System in Beziehung stehende Vorgang der Phosphatbindung unter dem Einflusse der entfesselten Enzymkräfte von ausgetrockneten Hefen zur Hauptreaktion wird, lag es nahe bei der Hand, den gemeinsamen, aus den vier verschiedenen Hexosen entstandenen Kohlehydratbestandteil unter den Verbindungen zu suchen, welche durch Hefe unter solchen „abnormen“ Bedingungen entstehen können.

## Synthese durch Hefe.

Schon frühzeitig wurden die synthetischen Eigenschaften der Hefenenzyme beobachtet. *Cremer*<sup>10)</sup> konstatierte, daß Presssaft, aus frischer Hefe dargestellt, einen geringen Glykogengehalt besitzt, der nach etwa 6 bis 12 Stunden verschwindet. Wenn man nun solchen glycogenfreien resp. glycogenarmen Pressäften 10—20% Zucker zufügt, so wird nach 12—14 Stunden Glykogen wieder nachweisbar. Die beste Ausbeute erzielte man mit Fructose (30%). Nach *Cremer*<sup>11)</sup> bildet sogen. „Carenzhefe“ bei 28° binnen einigen Stunden Glykogen aus Glucose, Fructose und Rohrzucker, dagegen erst nach mehreren Tagen aus Mannose und Galactose. *Harden*<sup>12)</sup> fand, daß rechtsdrehende Polysaccharide aus Glucose oder Fructose aufgebaut werden können. Man könnte daher annehmen, daß Zymophosphat sei ein Tetraphosphat der Maltose, um so mehr, als *Hill*<sup>13)</sup> mit Extrakt aus Trockenhefe eine enzymatische Synthese der Maltose aus Glucose durchführen konnte. Bei einer gewissen Zuckerkonzentration erhielt er immer denselben Gleichgewichtszustand, ganz gleich, ob Maltose oder Glucose als Ausgangsmaterial dienten.

In einer 60%igen Glucoselösung wurden durch maltasehaltige Takadiastase etwa 2% Maltose erzielt<sup>14)</sup>. *Emmerling*<sup>15)</sup> hat in einer konzentrierten Lösung von Mandelsäurenitrilglucosid, Glucose und Hefemaltase kleine Mengen Amygdalin erzeugen können. Dem Maltosetetraphosphat sollte demgemäß folgende Formel zukommen:  $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}_7(\text{PO}_4\text{H}_2)_4$ . Sehr interessant ist der von *Euler* und *Brunius*<sup>16)</sup> gemachte Befund, daß die Phosphorylierung schneller mit der Maltose als mit der Glucose vor sich geht.

Da mithin die Zymophosphatbildung als ein synthetisch verlaufender Prozeß aufgefaßt werden muß, durch welchen die Hefe überflüssiges (nach *Hägglund* schädliches) Phosphat bindet, könnte man erwarten, daß die tragen Glykogenbilder (Mannose und Galactose) weniger Zymophosphat ergeben sollten. Dies wurde auch von

<sup>9)</sup> Biochem. Ztschr. 83, 244; 103, 334; 154, 494; 161, 244; 174, 480; 179, 451; 191, 451.

<sup>10)</sup> Ber. Dtsch. chem. Ges. 32, 2062.

<sup>11)</sup> Biol. 31, 188, 211.

<sup>12)</sup> Biochemical Journ. 7, 630.

<sup>13)</sup> Trans. Chem. Soc. 73, 655 [1898].

<sup>14)</sup> Chem. Ztschr. 25, 602.

<sup>15)</sup> Ber. Dtsch. chem. Ges. 34, 3810.

<sup>16)</sup> Ztschr. physiol. Chem. 160, 242.

Nilsson<sup>17)</sup>) bei der Galactosevergärung beobachtet. Bei der Mannosevergärung erhielten Irene St. Neuberg und Cl. Ostendorf<sup>18)</sup> nur geringe Mengen Zymophosphat (gelegentlich nur Spuren), dagegen erhebliche Mengen, wenn Glucose und Fructose ceteris paribus vergoren wurden.

#### Analysen<sup>19)</sup>.

##### Bariumsalz.

$C_6H_{10}O_4(PO_4Ba)_2$ .	Ber.: Ba 44,92; P 10,16.
$C_{12}H_{18}O_7(PO_4Ba)_4$ .	Ber.: Ba 45,58; P 10,31.
	Gef.: Ba 45,16; P 10,33.

##### Phenylhydrazonphenylhydrazinsalz.

$C_{24}H_{38}O_{11}N_6P_2$ .	Ber.: C 44,58; H 5,57; N 13,00; P 9,60.
$C_{45}H_{70}O_{21}N_{12}P_4$ .	Ber.: C 45,21; H 5,49; N 13,19; P 9,73.
	Gef.: C 44,81; H 5,86; N 13,36; P 9,70.

##### Osazonphenylhydrazinsalz<sup>20)</sup>.

$C_{24}H_{31}O_7N_6P$ .	Ber.: C 52,75; H 5,68; N 15,38; P 5,68.
$C_{45}H_{60}O_{13}N_{12}P_2$ <sup>21)</sup> .	Ber.: C 53,63; H 5,59; N 15,64; P 5,78.
	Gef.: C 52,98; H 5,24; N 15,78; P 5,79.

Die analytischen Daten zeigen, daß eine bessere Übereinstimmung zwischen gefundenen und berechneten Werten erhalten wird, wenn das Zymophosphat als eine tetraphosphorylierte Maltose angesehen wird. Dies geht noch klarer aus den Untersuchungen von Robison und Morgan<sup>22)</sup> hervor. Diese Forscher stellten zuerst eine „Methylhexosiddiphosphorsäure“ aus Zymophosphat her, darauf wurde die Phosphorsäure durch Knochenphosphatase abgespalten und das so erhaltene „Methylhexosid“ einer erschöpfenden Methylierung unterworfen, wobei ihrer Auffassung nach die Verbindung  $C_{11}H_{22}O_6$  (I) entstehen sollte. Der entsprechenden Verbindung als Derivat einer Disaccharid-tetra-phosphorsäure sollte die Formel  $C_{20}H_{38}O_{11}$  (II) zukommen.

$CH_3O$ .	I. Ber.: 62.
	II. Ber.: 54,7.
	Gef.: 54,9.

Morgan<sup>23)</sup> methylierte das Zymophosphat erschöpfend und berechnete für eine Verbindung mit  $7CH_3O$  die Formel  $C_{13}H_{28}O_{12}P_2$  (I).

Faßt man das Methylierungsprodukt als das Derivat einer Maltosetetraphosphorsäure  $C_{24}H_{50}O_{23}P_4$  (II) auf, so ist die Übereinstimmung zwischen berechneten und gefundenen Werten eine bessere:

I. Ber.: P 14,1; $CH_3O$ 49,5.
II. Ber.: P 14,9; $CH_3O$ 44,8.
Gef.: P 14,5; $CH_3O$ 42,5.

##### Trehalosemonophosphorsäure.

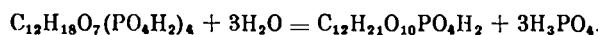
Da Gray<sup>24)</sup> nachgewiesen hat, daß *Bacterium coli* in einem frühzeitigen Stadium der Gärung nichtreduzierende Kohlehydrate bildet, könnte man auch bei der Hexosevergärung mit gewöhnlicher Hefe die Entstehung solcher Kohlehydrate erwarten<sup>25)</sup>. Hiermit in Übereinstimmung gelang es Robison und Morgan<sup>26)</sup>, bei der Fructosevergärung eine Trehalosemonophosphorsäure  $C_{12}H_{21}O_{10}(PO_4H_2)$  zu isolieren.

Durch Einwirkung von Knochenphosphatasen wurde Trehalose erhalten. Von Trockenhefe wird die Säure leicht vergoren, langsamer von Presssaft. Da die benutzte Trockenhefe weder Trehalose noch Trehalosephosphorsäureester in derartigen Mengen enthält, daß die Bildung der Ester dadurch erklärlieh ist, wird durch diese Syn-

these<sup>27)</sup> mit großer Wahrscheinlichkeit nachgewiesen, daß auch die Entstehung des Zymophosphates in derselben Weise vor sich geht.

##### Maltosemonophosphat.

Durch systematische Untersuchungen der dephosphorylierenden Einwirkung von Bakterien auf das Zymophosphat entdeckten Neuberg und Leibowitz<sup>28)</sup>, daß das Milchsäurebakterium *B. Delbrücki* in 14 bis 26 Stunden diese in ein Disaccharidmonophosphat umwandelte. Da die Bildung sich mit großer Schnelligkeit in verdünnten wässrigen Lösungen in einer Ausbeute von 30% vollzieht, kann es sich nicht um einen typischen Aufbau handeln, wie etwa durch Fermente des Emulsins (*Bourquelot, Bridel*) oder der Hefe (*A. C. Hill, Pringsheim* und *Leibowitz*). Bei dem so bewirkten Aufbau von Glucosebiosen kommt ein Zusammenschluß nur in hochkonzentrierten Lösungen ganz allmählich zustande. Die Ausbeute beträgt immer nur einen kleinen Bruchteil von der Menge der Ausgangsmaterialien, weil eben das Gleichgewicht sehr zugunsten der hydrolytischen Spaltung liegt. Der Vorgang spielt sich vielmehr in folgender Weise ab:



##### Maltosediphosphat.

Aus dem Gesagten geht hervor, daß sowohl Mono- als auch Tetraphosphat bei der hefenenzymatischen Synthese isoliert worden sind. Man könnte deshalb auch erwarten, unter gewissen Umständen die Diphosphate als Zwischenprodukte isolieren zu können.

Von Harden<sup>29)</sup> wurde angenommen, daß gerade der Robisonester als ein Intermediärprodukt bei der Zymophosphatbildung angesieht werden muß, was eindeutig von Neuberg und Leibowitz<sup>30)</sup> bewiesen ist. Diese Annahme wird durch seine Synthese aus der Fructose und durch seine Entstehung aus Zymophosphat bei der Einwirkung von Phosphatasen aus Pferdenieren<sup>31)</sup> in hohem Grade gestützt.

Da die Bildung der Neubergschen Ester aus Zymophosphat mit Hilfe der im *Aspergillus oryzae* vorhandenen Pilz-phosphatase und die Bildung durch verdünnte Oxalsäure wahrscheinlich ohne Aufspaltung der Disaccharidbindung vor sich geht, ist der Neubergsche Ester ein Isomeres des Robisonschen. Bei der Dephosphorylierung mit gewöhnlicher Hefe wird übrigens, wie Neuberg und Leibowitz entdeckten, eine Mischung beider erhalten.

Da Raymond und Levene<sup>32)</sup> gefunden haben, daß Glucose-6-phosphorsäure (aus Monoacetoglucose hergestellt) dasselbe Osazon ergibt, welches sich aus dem Zymophosphat und dem Neubergschen Ester bildet, muß bei dieser Reaktion eine partielle Spaltung des Disaccharids angenommen werden.

##### Phosphorsäurederivate aus Stärke und Glykogen.

Aus dem oben Erwähnten geht hervor, daß sowohl der Neubergsche als auch der Harden-Youngsche Ester als Maltosederivate aufgefaßt werden müssen, obwohl sie ihres optischen Verhaltens wegen als Derivate einer Fructose angesehen worden sind.

Kerb<sup>33)</sup> ist es in Neubergs Institut nun aber gelungen, beim Abbau künstlich phosphorylierter Stärke durch

<sup>17)</sup> Ark. Kemi, Mineral., Geol. 10 A, Nr. 7.

<sup>18)</sup> Biochem. Ztschr. 221, 154.

<sup>19)</sup> Ebenda 32, 177.

<sup>20)</sup> Ein P wird abgespalten.

<sup>21)</sup>  $H_{58}$ ,  $H_{56}$ ?

<sup>22)</sup> Biochemical Journ. 22, 1275.

<sup>23)</sup> Ebenda 21, 675.

<sup>24)</sup> Proceed. Roy. Soc., London (B) 90, 75.

<sup>25)</sup> Biochemical Journ. 22, 1277.

<sup>26)</sup> Chem.-Ztg. 25, 602.

<sup>27)</sup> S. Veibel, Biochem. Ztschr. 239, 350 [1931].

<sup>28)</sup> Biochem. Ztschr. 193, 237.

<sup>29)</sup> Biochemical Journ. 16, 809 [1922].

<sup>30)</sup> Biochem. Ztschr. 187, 481 [1927].

<sup>31)</sup> Ebenda 193, 237.

<sup>32)</sup> Journ. biol. Chemistry 91, 751.

<sup>33)</sup> Biochem. Ztschr. 100, 3; 219, 364.

Takadiastase einen Hexosemonophosphorsäureester zu isolieren, welcher auch der „Fructosereihe“ angehört, obwohl die Fructosekonfiguration hier sehr unwahrscheinlich ist. Dagegen muß angenommen werden, daß die Phosphorsäureradikale einen erheblichen Einfluß auf die optische Drehung und die Reduktion ausüben.

Sehr interessant ist der von *Pringsheim*<sup>34)</sup> gemachte Befund, daß von den vier assimilatorischen Polysacchariden, Stärke, Glykogen, Rohrzucker und Inulin, nur die beiden ersten, welche sich aus einer labilen Form des Traubenzuckers aufbauen, als Phosphorsäureester aus ihren natürlichen Lagerstätten hervorgehen, nämlich die Stärke und das Glykogen, wohingegen der Rohrzucker und das Inulin, deren labile Natur im Fructose teil ruht, unverestert als Assimilate erscheinen.

Demgemäß können nicht die „Fructosemonophosphorsäureester“, welche durch Abbau einer aus Keimlingen isolierten phosphorylierten Oktamylose<sup>35)</sup> durch Takadiastase erhalten wurden, sowie der direkt aus *Elodea canadensis*<sup>36)</sup> erhaltene Ester als Fructosederivat angesehen werden. Obwohl die analytischen Daten eine völlige Übereinstimmung zwischen berechnetem und gefundenem Werte zeigen und für eine Monophosphorsäure sprechen, muß angenommen werden, daß

<sup>34)</sup> Biochem. Ztschr. 156, 109.

<sup>35)</sup> Ebenda 219, 364.

<sup>36)</sup> Ebenda 219, 364.

es sich um Disaccharide handelt, da die gefundenen Werte für Ba sonst immer niedriger sind als die theoretischen.

Die Bildung des Zymophosphats aus Glykogen<sup>37)</sup> zeigt deutlich, daß die *Harden*-Säure ein Maltosederivat ist; denn hierbei erhält man viel bessere Ausbeute als aus Glucose und Fructose. Aus den Untersuchungen von *Brugsch* und *Horsters*<sup>38)</sup> geht hervor, daß auch im Muskel die Disaccharidtetraphosphatbildung (Myophosphat) ein von der Glykolyse (Zerlegung des Zuckers in Milchsäure) zu trennender Vorgang ist. Die Tetraphosphatbildung (Glykometamorphose) wird auch hier durch höhere Phosphatkonzentrationen begünstigt. *O. Meyerhof*<sup>39)</sup> hat sogar beobachtet, daß sowohl die Polysaccharide der Stärkegruppe als auch die Zymophosphate eine erkennbare Sonderstellung bei der Glykolyse einnehmen. Da nun *Pringsheim*<sup>40)</sup> geradezu einen strukturellen Zusammenhang zwischen dem Grundzucker des Zymo-di-phosphats und dem der Stärke, des Glykogens und der ihnen nahestehenden Polyhexosane nebst Polyamylosen angenommen hat, kann man nicht darüber im Zweifel sein, daß auch das Zymophosphat jener Gruppe zugehört.

[A. 34.]

<sup>37)</sup> Biochem. Ztschr. 222, 366. Biochemical Journ. 23, 583.

<sup>38)</sup> Biochem. Ztschr. 175, 108.

<sup>39)</sup> Ebenda 178, 462.

<sup>40)</sup> Ebenda 193, 237.

## Alchemie in Spanien.

Von Prof. Dr. JULIUS RUSKA, Berlin-Wilmersdorf.

(Eingeg. 11. April 1933.)

Institut für Geschichte der Medizin und der Naturwissenschaften (Abteilung für Geschichte der Naturwissenschaften).  
Vorgetragen in der Fachgruppe für Geschichte der Chemie auf der 46. Hauptversammlung des V. d. Ch. zu Würzburg, 8. Juni 1933.

Bei einer Betrachtung der Alchemie in Spanien handelt es sich um das mittelalterliche Spanien, also um denjenigen Teil der Alchemiegeschichte, der für die europäische Entwicklung die größte Bedeutung hat: um den Zeitraum von etwa drei Jahrhunderten, in denen die Alchemie der Perser und Araber zunächst in das maurische, dann in das christliche Spanien gelangte und dadurch zum Gemeinbesitz der spätmittelalterlichen Wissenschaft wurde. Das Verständnis dieses Vorganges, der nicht nur die Alchemie, sondern die gesamten Naturwissenschaften von der Mathematik und Astronomie bis zur Medizin in gleicher Weise angeht, erfordert eine kurze Darlegung der politischen Schicksale Spaniens im Mittelalter.

Spanien war eine der blühendsten römischen Provinzen gewesen, bevor es die Stürme der Völkerwanderung trafen. Nachdem Alanen, Vandalen und Sueven sich seit 400 über die Halbinsel ausgebreitet hatten, folgt 414 die große westgotische Eroberung. Sie schuf für mehrere Jahrhunderte ein einheitliches christliches Reich, in dem Adel und Geistlichkeit mehr und mehr alle Macht an sich rissen, während die Masse der Bevölkerung rechtlos gemacht und ausgesogen wurde. Inzwischen hatte sich der Islam in einem Siegeszug ohnegleichen über Vorderasien und Ägypten ausgebreitet. In den Jahren 706 bis 709 waren den Arabern die letzten byzantinischen Besitzungen und Stützpunkte an der Nordküste von Afrika in die Hände gefallen, und der Feldherr *Musa Ibn Nusair* hatte die Berbervölker im Atlasgebiet unterworfen. Im Jahre 711 setzte sich sein Unterführer *Tarik* mit einigen Tausend Mann auf der felsigen Landzunge fest, die heute noch Gibraltar, d. h. Berg des Tarik heißt, und brachte den Goten bei Xeres de la Frontera eine schwere Niederlage bei. Drei Jahre später war fast ganz Spanien erobert, 718 wurden die Pyrenäen überschritten und das

Land bis zur Provence angegliedert. Dem weiteren Vordringen der Araber in das Frankenreich wurde erst 732 durch *Karl Martell* in der Schlacht von Tours und Poitiers Halt geboten.

Alle diese Eroberungen waren in letzter Linie von den in Damaskus residierenden Omajjadenkalifen veranlaßt. Mit ihrem Sturz und dem Übergang des Kalifats an die Abbasiden traten auch für den fernen Westen nach 750 andere Verhältnisse ein. *Abderrahman Ibn Mu'awija*, der einzige Omajjade, der dem allgemeinen Himmorden seines Geschlechtes entronnen war, rettete sich durch eine abenteuerliche Flucht nach Marokko. Es gelang ihm, in Spanien Fuß zu fassen und sich mit Hilfe einer entschlossenen Gefolgschaft zunächst ein kleines unabhängiges Fürstentum zu schaffen, bald aber seine Herrschaft über das ganze islamische Spanien auszudehnen. Es entstand das Kalifat von Cordova, das unter ihm und seinen Nachfolgern bis zum Jahre 1036 allen Stürmen standhielt und besonders im 10. Jahrhundert, unter *Abderrahman III.* und *al Hakam II.*, also zur Zeit der Sächsischen Kaiser, seine erste große Blüte erlebte.

Schwere politische Wirren führten ein anderes Herrschergeschlecht, die in Marokko zur Macht gelangten *Almorawiden*, nach Spanien und machten die Berber zu Herren des Landes. Trotz unendlicher Kriege und Kämpfe zwischen rivalisierenden Macht-habern, Volksteilen und Religionsparteien erlebte Spanien auch unter den Almorawiden im 11. Jahrhundert einen neuen Aufschwung. Ihnen folgten seit der Mitte des 12. Jahrhunderts die *Almohaden*, unter denen der muslimischen Wissenschaft und Kunst zum letzten Mal eine denkwürdige Blütezeit beschieden war. Aber in der gleichen Zeit verloren die Muslime immer größere Teile ihres Herrschaftsbereichs an die von Norden vor-drängenden Christen. Um die Mitte des 13. Jahrhunderts