

# ANGEWANDTE CHEMIE

HERAUSGEGEBEN VON DER GESELLSCHAFT DEUTSCHER CHEMIKER

69. Jahrgang · Nr. 12 · Seite 405–444 · 21. Juni 1957

FORTSETZUNG DER ZEITSCHRIFT »DIE CHEMIE«

Dieses Heft und seine Beiträge sind

## BURCKHARDT HELFERICH

zum 70. Geburtstag am 10. Juni 1957 gewidmet

### Zur Entwicklung der Chemie der Kohlenhydrate und der Glykosid-spaltenden Enzyme

Burckhardt Helferich zum 70. Geburtstag

Am 10. Juni 1957 begeht *Burckhardt Helferich*, o. Professor an der Universität Bonn und Direktor des Chemischen Instituts, seinen 70. Geburtstag.

Als langjähriger Schüler komme ich der Bitte der „Angewandten Chemie“, einen Überblick über die wissenschaftlichen Arbeiten des Jubilars zu geben, mit Freuden nach. 16 Jahre war es mir vergönnt, als Doktorand, Privatassistent, Vorlesungsassistent und Unterrichtsassistent unter *B. Helferich* arbeiten zu dürfen. Bis zum heutigen Tage verbinden mich enge persönliche Beziehungen mit ihm.

*Burckhardt Helferich* wurde am 10. Juni 1887 in Greifswald geboren. Sein Vater war zu dieser Zeit Professor für Chirurgie und Direktor der chirurgischen Universitätsklinik. In Kiel besuchte er das humanistische Gymnasium (Gelehrten-Schule). Nach dem Abitur (1906) studierte er ein Semester in Lausanne, leistete dann aber zunächst seinen Militärdienst in Schwerin ab. Nach 3-semestrigem Chemiestudium in München kam er 1909 nach Berlin, wo er als Doktorand von *Emil Fischer* 1911 promovierte. Anschließend war er 2 Jahre Privatassistent bei *Emil Fischer*, dann Unterrichtsassistent, zunächst im anorganischen, dann im organischen Saal des Berliner Instituts. Nach dem 1. Weltkrieg, an dem er von Herbst 1914 bis zum Ende als Batterieführer teilnahm, habilitierte er sich 1920 in Berlin. Bereits 1922 wurde er zum Abteilungsvorstand am Kaiser-Wilhelm-Institut für

Faserstoffchemie in Dahlem berufen. Aber noch vor Amttritt dieser Stelle folgte er einem Ruf an die Universität Frankfurt als Abteilungsleiter für organische Chemie in dem damals von *Julius v. Braun* geleiteten Frankfurter Institut. 3 Jahre später wurde er als Nachfolger von *R. Pummerer* als o. Professor und Direktor des Chemischen Instituts an die Universität Greifswald berufen. Im Sommersemester 1930 übernahm er als Nachfolger von *A. Hantzsch* die Leitung des Leipziger Chemischen Instituts. Dort wirkte er über 15 Jahre bis zu dem Abtransport durch die US-Armee im Juni 1945. Nach vorübergehendem Aufenthalt in Weilburg (Lahn) erhielt er bereits Ende 1945 eine Gastprofessur in Bonn, wo ihm dann 1947 die Nachfolge von *P. Pfeiffer* übertragen wurde. Als o. Professor und Direktor des Bonner Chemischen Instituts ist er bis zum heutigen Tage in unverminderter Arbeitskraft eine der markantesten Persönlichkeiten der deutschen Chemie.

In den annähernd 250 Veröffentlichungen *Helferichs* lassen sich drei Hauptrichtungen erkennen: Seine Arbeiten über Oxyaldehyde, die Untersuchungen in der Reihe der Kohlenhydrate und seine Beiträge über die glykosid-spaltenden Enzyme. Alle diese Arbeitsrichtungen sind wiederum durch zahlreiche Übergänge eng miteinander verknüpft. Hinzu kommen eine große Zahl von Einzelarbeiten aus verschiedenen Gebieten der organischen, aber auch der anorganischen Chemie.

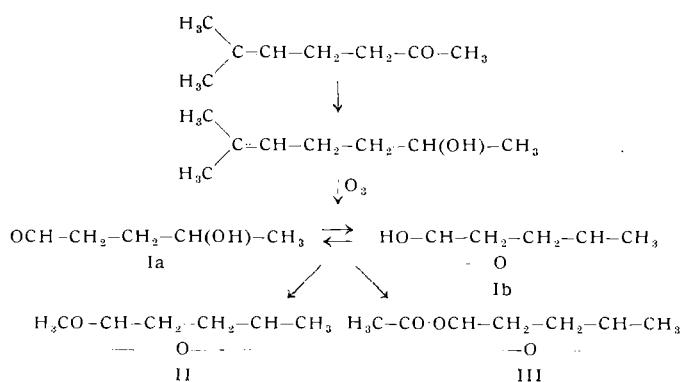


Photo: Tita Binz

## Untersuchungen über Oxyaldehyde

Als *Helperich* 1919 seine Untersuchungen über Oxyaldehyde in Angriff nahm, waren nur  $\alpha$ - und  $\beta$ -Oxyaldehyde bekannt. Zunächst versuchte er die Darstellung von  $\gamma$ -Oxyaldehyden. Die Kenntnis dieser Verbindungen war erwünscht, um sie mit den  $\gamma$ -Oxysäuren bzw. den  $\gamma$ -Lactonen vergleichen zu können. Insbesondere wollte er prüfen, „ob die Eigenschaften, die man im Molekül der Aldosen dem  $\gamma$ -Hydroxyl beilegt“ auch bei den  $\gamma$ -Oxyaldehyden eindeutig zu erkennen wären.

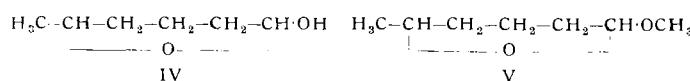
Aus dem durch Reduktion des Methylheptenons dargestellten Methylheptenol gewann er durch Ozon-Spaltung den  $\gamma$ -Oxy-valeraldehyd (Ia), für den er auf Grund der Mol-Refraktion die cyclo-Form (Ib) annahm. Diese Annahme wurde dadurch gestützt, daß fuchsinschweißige Säure nur langsam gefärbt und *Fehlingsche* Lösung erst beim Kochen reduziert wird.



Auf Grund des Vorliegens der cyclo-Form lässt sich der Aldehyd mit HCl-haltigem Methanol in die Methyl-Verbindung II, mit Essigsäureanhydrid in das Acetat III überführen. Bei II handelt es sich um ein gemischtes Acetal vergleichbar einem Methylglykosid.

In weiteren Arbeiten beschrieb Helferich die Darstellung des  $\gamma$ -Oxy-capronaldehyds, des  $\gamma$ -Oxy-butyrinaldehyds, des  $\gamma$ -Oxy- $\gamma$ -phenyl-butyrinaldehyds, des  $\gamma$ -Oxy- $\gamma$ -phenyl-valeraldehyds sowie des  $\gamma$ -Oxy-nonadecyl-aldehyds. Alle diese Oxvaldehyde liegen vorwiegend in der cyclo-Form vor.

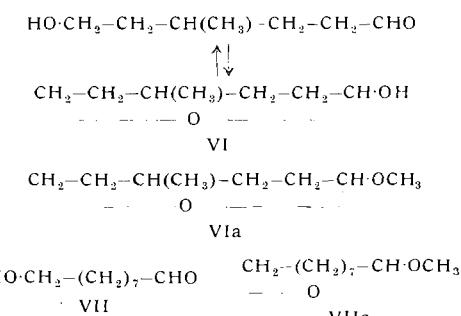
Aber nicht nur für  $\gamma$ -Oxyaldehyde, sondern auch für Oxyaldehyde mit entfernter stehender Oxy-Gruppe konnte die cyclo-Form bewiesen werden. So wurden der  $\delta$ -Oxy-capronaldehyd (IV) und seine Methyl-Verbindung (V) gewonnen.



Die Stabilität des in der Methyl-Verbindung (V) vorhandenen Tetrahydropyran-Ringes erwies sich als nicht wesentlich verschieden von der des Tetrahydrofuran-Ringes wie er in den Methyl-Verbindungen der  $\gamma$ -Oxyaldehyde (z. B. III) vorliegt. Aus diesen Tatsachen folgerte *Helferich* für die Chemie der Zucker, „daß man nicht mehr berechtigt ist, ohne besonderen Beweis den 1.4-Ring für die cyclo-Form der freien Zucker und ihrer Derivate (besonders auch Glucoside und Disaccharide) anzunehmen, daß mehr als bisher die Möglichkeit für die Bildung eines 1.5-Rings in Betracht gezogen werden muß“. Nur wenige Jahre später wurde durch *Haworth*, *Hirst*, *Irvine* u. a. für die Mehrzahl der Zucker die Pyranose-(= 1.5-Ring)-Form bewiesen.

Daß die Neigung zur Ausbildung von O-Brücken zwischen Carbonyl- und Hydroxyl-Gruppe auch vorhanden ist, wenn zwischen beiden Gruppen mehr als 3 C-Atome stehen bzw. wenn die so entstehenden Ringe mehr als 6 Glieder

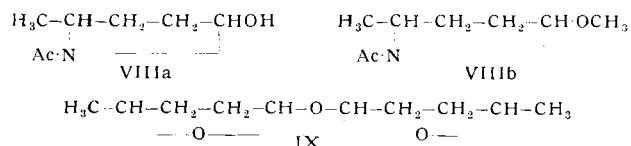
enthalten, ließ sich durch die Darstellung eines  $\epsilon$ -Oxyaldehyds, des Methyl-(4)-hexanol-(6)-al-(1) (VI) und des  $\omega$ -Oxy-nonylaldehyds (VII) zeigen. Während der freie  $\epsilon$ -Oxyaldehyd wohl als desmotropes Gemisch vorliegt, dürfte der  $\omega$ -Oxyaldehyd — zumindest in ätherischer Lösung — nur in der Aldehyd-Form vorliegen. Beide Oxyaldehyde geben jedoch eine Methyl-Verbindung (VIa, VIIa), der die cyclo-Form zu Grunde liegt.



Mit einer Ausnahme sind alle  $\gamma$ - und  $\delta$ -Oxyaldehyde Flüssigkeiten, bei denen zwar der Nachweis der Desmotropie gelang, bei denen aber eine Isolierung reiner Formen infolge der großen Umlagerungsgeschwindigkeit unmöglich war. Um das zu verhindern, wurde der bereits erwähnte  $\gamma$ -Oxy-nonadecyl-aldehyd dargestellt. Hier konnte in einer bei 64 °C schmelzenden Form die reine cyclo-Form isoliert werden, die aber bereits beim Schmelzen und Wiedererstarren in das tiefer und unscharf schmelzende desmotrope Gemisch (37–45 °C) überging.

Für die cyclo-Formen der Oxyaldehyde hat *Helperich* wegen ihrer Ähnlichkeit mit den Lactonen die Bezeichnung „Lactole“ vorgeschlagen, für die Alkyläther der Lactole die Bezeichnung „Lactol-alkyläther“ oder „Lactolide“.

Im Zusammenhang mit den Oxyaldehyden wurden auch  $\gamma$ -Acylamino-valeraldehyde -- als Acyl-Reste wurden Formyl, Acetyl und Propionyl gewählt -- dargestellt. Auch diese Acylaminoaldehyde und ihre Methylverbindungen (VIIIa bzw. VIIIb) liegen zumindest teilweise in der cyclo-Form vor.



Die Oxyaldehyde lassen sich durch Kochen in ätherischer Lösung mit wasserfreiem Kupfersulfat in Verbindungen überführen, deren Eigenschaften weitgehend mit denen eines Disaccharids vom Typ der Trehalose übereinstimmen. Z. B. ergab der  $\gamma$ -Oxy-valeraldehyd den Bis-[methyl-5-(tetrahydrofuryl)-2-äther (IX).

## Untersuchungen in der Reihe der Kohlenhydrate

## Die Tritylierungsreaktion und die Synthese von Oligosacchariden

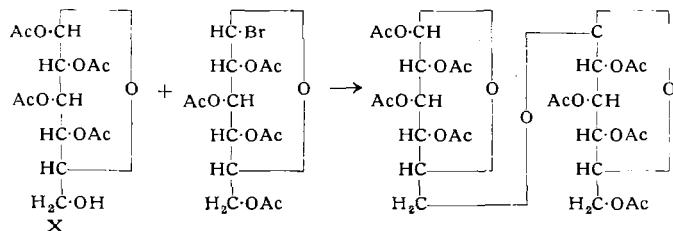
Das Ziel der Charakterisierung einzelner Zuckerhydroxyle durch partielle Acylierung der Zucker lag bereits den Arbeiten von *Emil Fischer* zu Grunde. „Vielleicht werden solche partiell acylierten Zucker einmal das Ausgangsprodukt zu Synthesen von Disacchariden, einem Problem, das noch immer seiner wirklichen Lösung harrt“, — so schrieb *Helferich* 1922.

Aus diesen Gedankengängen heraus beginnen in dieser Zeit die Untersuchungen über die Einwirkung von Tritylchlorid (= Triphenylchlormethan) auf Oxy-Verbindungen

sowie Amine und Amide in Gegenwart von Pyridin. 1923 werden die ersten so dargestellten Tritylather zahlreicher ein- und mehrwertiger Alkohole beschrieben. In der gleichen Arbeit findet sich der Hinweis, daß Umsetzungen an Glucosiden, Disacchariden und Polysacchariden in größerem Umfang im Gange sind. Ein Jahr später wird über die Trityl-Verbindung von Cellulose und Stärke berichtet, in denen jeweils auf einem Glucose-Baustein ein Trityl entfällt. Und noch im gleichen Jahr beschreibt eine in den „Annalen“ erschienene Arbeit die Darstellung des Trityl- $\alpha$ -methylglucosids und seiner Tribenzoyl-Verbindung und ihre Verwendung zur Synthese des ersten Disaccharids: Aus dem Tribenzoyl-trityl- $\alpha$ -methylglucosid wird mit HCl in Chloroform der Trityl-Rest abgespalten und das erhaltene Tribenzoyl- $\alpha$ -methyl-glucosid mit Acetobromglucose in Chloroform bei Gegenwart von Silberoxyd gekuppelt. Das erhaltene Tetracetyl- $\beta$ -glucosido-tribenzoyl- $\alpha$ -methylglucosid läßt sich durch Verseifung der Acyl-Gruppen in das Methylglykosid einer 6-Glucosido-glucose überführen, dessen Identität mit  $\alpha$ -Methyl-gentiosid wenig später bewiesen wurde. Damit war gleichzeitig der Beweis erbracht, daß das Tritylchlorid mit der primären OH-Gruppe am C-Atom 6 in Reaktion getreten war.

Noch stand die Synthese eines freien Disaccharids aus. In einer umfangreichen Arbeit berichtet Helferich 1925 „Über den Ersatz reaktionsfähiger Wasserstoffatome in Zuckern, Oxy- und Aminosäuren durch den Triphenylmethyl-Rest“. Die Trityl-Verbindungen freier Zucker (Glucose, Galaktose), von Zucker-Derivaten, von Phenolen, Aminosäuren, Dipeptiden, Harnstoff und Thioharnstoff werden beschrieben. Damit scheint die Voraussetzung zur Synthese eines freien Disaccharids gegeben. Aber noch einmal muß ein Umweg eingeschlagen werden: Da die Abspaltung des Trityl-Restes aus der Trityl-tetracetyl-glucose noch nicht ohne gleichzeitige Beeinflussung der Acetyl-Gruppe am C-Atom 1 gelingt, wird zunächst aus der bereits bekannten Acetofluorglucose durch Acetyl-Abspaltung das Glucosylfluorid, daraus durch Tritylierung und Benzoylierung das Trityl-tribenzoyl-glucosyl-fluorid gewonnen. In dieser Verbindung sitzt das Fluor fest genug, um mit HCl in Methanol die Trityl-Gruppe abspalten zu können. Durch Kondensation des dabei erhaltenen Tribenzoyl-glucosyl-fluorids mit Acetobromglucose in Chloroform bei Gegenwart von Silberoxyd und anschließende Abspaltung der Acyl-Gruppen mit  $\text{NH}_3$  in Methanol wird das Gentiosyl-fluorid und daraus mit Calciumcarbonat in Wasser die freie Gentiosidose, das erste in der Natur vorkommende synthetische Disaccharid, erhalten.

Eine erhebliche Vereinfachung dieser ersten Gentiosidose-Synthese ergab sich durch einfache Darstellung der 1.2.3.4-Tetracetylglucose (X): Behandelt man 6-Trityl-tetracetylglucose mit Bromwasserstoff in Eisessig bei etwa 0 °C, so scheidet sich fast momentan Tritylbromid ab und aus dem Filtrat läßt sich die Tetracetylglucose (X) gewinnen. Ihre Kupplung mit Acetobromglucose führt direkt zur Octacetylgentiosidose.



Nach dieser Methode wurden in den folgenden Jahren zahlreiche Disaccharide hergestellt: Aus Acetobrom-

galaktose und Tetracetylglucose wurde das Octacetat der 6- $\beta$ -D-Galaktosido-glucose gewonnen. Das freie Disaccharid wurde später als wahrscheinlich identisch mit der aus Frauenmilch isolierten Allolactose erkannt. Aus den gleichen Komponenten wurde durch Erhitzen mit Chinolin statt Silberoxyd als Kondensationsmittel das Octacetat der 6- $\alpha$ -D-Galaktosido-glucose, der Melibiose, isoliert. Aus Acetobrom-xylose und Tetracetylglucose wurde im Gegenwart von Silberoxyd nach Abspaltung der Acyle die 6- $\beta$ -D-Xylosido-glucose erhalten, die sich als identisch erwies mit der Primverose, die als Glykosid mit verschiedenem Aglucon in der Natur weit verbreitet ist. Die Kupplung von Acetobromarabinose und Tetracetylglucose führte zur 6- $\beta$ -L-Arabinosido-glucose, der Vicianose.

Unter Anwendung der gleichen Kondensationsmethode wurden auch Tri- und Tetrasaccharid-acetate hergestellt, z. B. das Acetat der Gentiosido-gentiosidose, in dem eine fortlaufende 1-6- $\beta$ -glucosidische Verknüpfung vorliegt. Schließlich gelang auch die Darstellung des Acetats einer Glucosido-fructose: Tritylierung der Fructose und anschließende Acetylierung führte zu einer Trityl-tetracetyl-fructose, die Abspaltung des Trityl-Restes zu einer Tetracetylfructose, die vor kurzem als 3.4.5.6-Tetracetyl-keto-fructose identifiziert wurde. Ihre Kupplung mit Acetobromglucose führte zur Octacetyl-1- $\beta$ -D-glucosido-keto-fructose.

Die Ausbeuten der bei den verschiedenen Synthesen erhaltenen Oligosaccharid-acetate – die heute allgemein übliche Bezeichnung „Oligosaccharid“ und später die analoge Bezeichnung „Oligopeptid“ wurde von Helferich vorgeschlagen – lagen ursprünglich nur bei etwa 20–30% d.Th. Das hatte seine Ursache darin, daß das bei der Kupplung in Gegenwart von Silberoxyd entstehende Wasser die Acetobrom-Verbindung z.T. hydrolytisch spaltet. Durch Zusatz von Calciumchlorid und wenig Jod ließ sich die Ausbeute etwa verdoppeln.

Die Tritylierungsreaktion ist seitdem zu einer in vielen Gebieten der organischen Chemie häufig angewendeten Reaktion geworden. Nur kurz sei erwähnt, daß zwar in der Reihe der Zucker die primäre Hydroxyl-Gruppe bevorzugt in Reaktion tritt, daß aber unter etwas energischeren Arbeitsbedingungen auch sekundäre Hydroxyl-Gruppen sowie das Lactolhydroxyl mit Tritylchlorid reagieren.

#### Über Acyl-Wanderungen

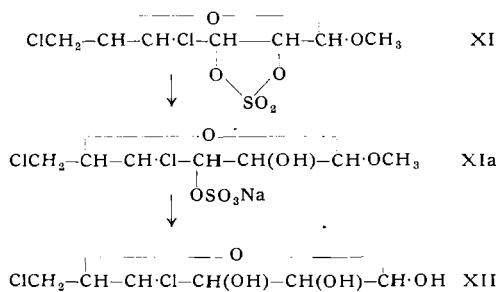
Die aus der 6-Trityl-tetracetylglucose erhaltene 1.2.3.4-Tetracetylglucose unterliegt in Gegenwart von Spuren von Alkali einer Acyl-Wanderung. Dabei wandert die in 4-Stellung sitzende Acetyl-Gruppe bis zu einem Gleichgewicht nach Stellung 6. Die entstehende 1.2.3.6-Tetracetylglucose läßt sich aus dem Gemisch der Acetate isolieren. Die gleichen Acyl-Wanderungen zeigen auch 2.3.4-Triacetyl- $\alpha$ - bzw.  $\beta$ -methylglucosid. Die Hoffnung, durch Kupplung der neuen Acetate mit Acetobromglucose zur Cellulose bzw. den Methylcellulosiden zu gelangen, erfüllte sich nicht oder nur sehr unvollkommen. Lediglich aus 2.3.6-Triacetyl- $\beta$ -methylglucosid und Acetobromglucose ließ sich das Heptacetat des  $\beta$ -Methylcellulosids in sehr geringer Menge isolieren.

#### Halogenzucker

Neben anderen Reaktionen war die Tritylierungsreaktion Veranlassung zur Gewinnung zahlreicher Zucker-halogen-Verbindungen, von denen einige genannt seien: Aus Acetodibromglucose (mit den beiden Brom in Stellung 1 und 6) ließ sich das Tetracetylglucose-6-bromhydrin gewinnen, das freie Glucose-6-bromhydrin jedoch

nur in Form des Äthylmercaptals. Als beständiger erwies sich das Glucose-6-chlorhydrin. Zu seiner Darstellung wird in dem Triacetyl-6-trityl- $\alpha$ -methylglucosid durch eine  $\text{PCl}_5$ -Schmelze Trityl gegen Chlor ausgetauscht, anschließend die Acetyle abgespalten und in dem  $\alpha$ -Methylglucosid-6-chlorhydrin die Glucosid-Bindung mit Salzsäure gespalten. Aus den acetylierten 6-Bromhydrinen oder den 6-p-Toluolsulfosäureestern bzw. den 6-Methansulfosäureestern (s. u.) ließen sich mit Natriumjodid in Aceton die 6-Jodhydrate gewinnen, die wiederum die Ausgangsstoffe für weitere Reaktionen waren.

Zu neuen Halogenzuckern führte auch die Einwirkung von Sulfurylchlorid auf Methylglucoside. Bei dieser interessanten Reaktion entsteht z. B. aus  $\alpha$ -Methylglucosid in Pyridin/Chloroform das  $\alpha$ -Methyl-glucosid-dichlorhydrin-sulfat (XI). In alkalischer Lösung öffnet sich der „Sulfat-Ring“ unter Bildung des Natriumsalzes der  $\alpha$ -Methyl-glucosid-dichlorhydrin-schwefelsäure (XIa). In salzsaurer Lösung läßt sich die Ester- und Glucosid-Bindung spalten und so das  $\alpha$ -Methylglucosid-4,6-dichlorhydrin (XI) (von Helferich unter Annahme des Furan-Ringes noch als 5,6-Dichlorhydrin formuliert) gewinnen.

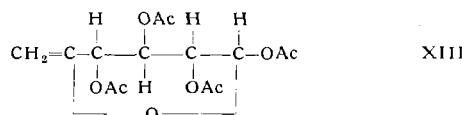


Auch die ersten freien Fluor-Zucker wurden von Helferich dargestellt. So führte die Entacetylierung der  $\alpha$ -Tetracetyl-fluoroglucose zum  $\alpha$ -Glucosylfluorid. Aus der bekannten  $\alpha$ -Acetobromglucose ließ sich mit Silberfluorid in Acetonitril  $\beta$ -Acetofluoroglucose gewinnen, aus der die Darstellung des  $\beta$ -Glucosylfluorids allerdings nur in amorphem Zustand gelang. Im Rahmen der Arbeiten über Mesyl-Verbindungen konnte in der 6-Mesyl-1,2-aceton-3,5-benzal-glucofuranose mit Kaliumfluorid die Mesyl-Gruppe gegen Fluor ersetzt und anschließend durch saure Hydrolyse der Benzal- und Isopropyliden-Gruppe Glucose-6-fluorhydrin dargestellt werden.

Nach verschiedenen Methoden wurden außerdem mehrere Halogen-Verbindungen von Disacchariden gewonnen.

### Über Glucoseene

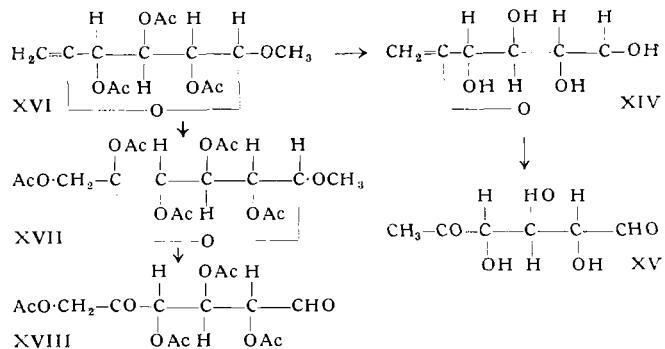
Eine neue interessante Verbindungsklasse ergab sich aus den 6-Jodhydrinen durch Abspaltung von Jodwasserstoff. Dies gelingt z. B. in Pyridin unter dem Einfluß von Silberfluorid. So entsteht aus  $\alpha$ -Tetracetylglucose-6-jodhydrin das  $\alpha$ -Tetracetyl-glucoseen (XIII). Die Bezeichnung „Glucoseen“ wurde von Helferich vorgeschlagen.



Das aus  $\alpha$ - bzw.  $\beta$ -Triacetyl-methyl-glucoseenid (XVI) dargestellte  $\alpha$ - bzw.  $\beta$ -Methylglucoseenid (XIV) reduziert Fehlingsche Lösung nicht. Damit war ein weiterer Beweis erbracht, daß in den Methylglucosiden und damit in allen „normalen“ Glucose-Derivaten ein Pyran-Ring vorliegt.

Bei einem Furan-Ring im Glucoseenid hätte infolge der Struktur eines Oxygenols (am C-Atom 5 und 6) Fehlingsche Lösung direkt reduziert werden müssen.

Es handelt sich bei den Glucoseenen um sehr reaktionsfähige Verbindungen. So geht das  $\beta$ -Methyl-glucoseenid (XIV) mit Säure in eine Methyl-keto-aldopentose (XV) über, für die die Bezeichnung Iso-rhamnonose vorgeschlagen wurde.



Mit Bleitetraacetat geht das Triacetyl- $\beta$ -methyl-glucoseenid (XVI) in Pentacetyl- $\beta$ -methyl-gluconosid (XVII) über, das mit Wasser bereits bei Raumtemperatur die Tetracetyl-gluconose (XVIII) ergibt. Die freie Gluconose, die nur als Sirup erhalten wurde, stellt ein Oxydationsprodukt der Glucose dar.

### Glykosid-Synthesen

Bereits in den ersten Arbeiten, die z.T. noch gemeinsam mit Emil Fischer veröffentlicht wurden, beschäftigte sich Helferich mit Synthesen von Glykosiden. War es zunächst nur die bekannte Methode der Umsetzung von Acetobromzucker mit dem jeweiligen Alkohol — bzw. zur Darstellung von Puringlykosiden mit dem Silbersalz der Purine — die angewendet wurde, so wurde mit Beginn der dreißiger Jahre, vornehmlich zur Herstellung von Phenolglykosiden, ein Verfahren entwickelt, das den Umweg über den Acetobromzucker vermeidet: Die Acetate der reduzierenden Zucker setzen sich mit Phenolen unter der Einwirkung saurer Katalysatoren, vornehmlich Zinkchlorid oder p-Toluolsulfosäure, zu den Acetaten der Phenolglykoside um. Wenn auch wohl stets die  $\alpha$ - und  $\beta$ -Formen nebeneinander entstehen, so gelingt es doch häufig durch die Art und Menge des Katalysators und die Bedingungen der Kondensation die Reaktion bevorzugt in die eine oder andere Richtung zu lenken. So läßt sich z. B. aus  $\alpha$ - oder  $\beta$ -Pentacetyl-glucose bei Verwendung von Zinkchlorid vorwiegend das Acetat des Phenol- $\alpha$ -D-glucosids, bei Verwendung von p-Toluolsulfosäure das des Phenol- $\beta$ -D-glucosids, gewinnen. Nach dieser Methode wurden in großer Zahl Glykoside (Glucoside, Galaktoside, Mannoside, Fructoside, Maltoside) mit phenolischem Aglucon, vornehmlich zur Untersuchung ihrer fermentativen Spaltbarkeit (s. u.), dargestellt.

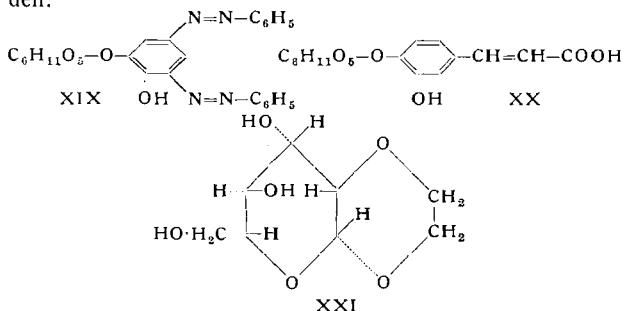
Im Rahmen der Arbeiten über Glykosidasen ergab sich die Notwendigkeit auch zahlreiche Alkylglykoside herzustellen. Diese Arbeiten führten zu einer Überprüfung der lange bekannten Glykosid-Synthese aus Acetobromzucker und Alkohol in Gegenwart von Silberoxyd. Zunächst ließ sich durch Abfangen des bei der Reaktion entstehenden Wassers mittels Drierit die Glykosid-Ausbeute wesentlich steigern. Auf der Suche nach anderen Kondensationsmitteln wurde an Stelle von Silberoxyd Quecksilbercyanid, vornehmlich in Gegenwart von Quecksilberbromid, als wertvolles Kondensationsmittel erkannt. Dabei bildet sich  $\text{Hg}(\text{Br})\text{CN}$ , das eine stärkere katalytische Wirkung als  $\text{Hg}(\text{CN})_2$  besitzt. Das neue Kondensationsmittel erwies sich

auch für die Darstellung von Phenolglykosiden von Vorteil. So führt das Zusammenschmelzen von Acetohalogenzuckern mit Phenolen in Gegenwart von  $Hg(CN)_2$  unter Cyanwasserstoff-Entwicklung zu einem Gemisch von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Glykosidacetaten, in denen das  $\alpha$ -Isomere überwiegt. Derart lassen sich besonders die Phenol- $\alpha$ -D-galaktoside mit guten Ausbeuten herstellen.

Interessant erscheint der Befund, daß zur Darstellung der Acetate von Alkyl- $\beta$ -glykosiden abgesehen von Ag-, Hg- sowie Zn-Salzen als Katalysatoren der Glykosid-Bildung auch Salze wie LiCl, NiCl<sub>2</sub>, FeCl<sub>3</sub>, CrCl<sub>3</sub>, BF<sub>3</sub>, Quecksilberbenzamid, Silber-diphenylphosphat, ja sogar TiO<sub>2</sub> verwendet werden können. Als sehr gute Kondensationsmittel in homogener Lösung erwiesen sich Aryl-Quecksilberacetate.

Wohl der größte Fortschritt hinsichtlich der Glykosid-Synthesen ergab sich, als unter Verwendung von  $Hg(CN)_2$  die Kondensation in Nitromethan vorgenommen wurde. So wurde aus Benzobromglucose und Benzylalkohol in Nitromethan in Gegenwart von  $Hg(CN)_2$  Tetrabenzoyl-benzyl- $\beta$ -D-glucosid in 90% Ausbeute erhalten. Unter den gleichen Bedingungen führte die Kondensation von Acetobromglucose und 2.3.4.6-Tetracetylglucose zu  $\beta$ . $\beta$ -Octacetyl-trehalose (31,5%) neben wenig  $\alpha$ . $\beta$ -Isomerem (9%).

Es sei auf zwei Umwandlungen von Phenolglykosiden hingewiesen: So lassen sich aus geeigneten Phenolglykosiden durch Kupplung mit einem Diazoniumsalz glykosidische Azofarbstoffe, z. B. das 3,5-Bis-[benzolazo]-brenzkatechin- $\beta$ -D-glucosid (XIX), herstellen. Aus Phenolaldehydglykosiden können durch Kondensation mit Malonester Zimtsäureglykoside (z. B. XX) gewonnen werden.



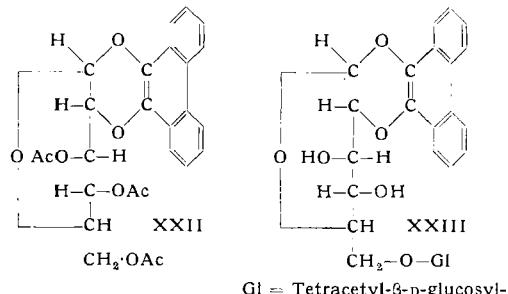
Ebenfalls ihren Ursprung in den Glykosid-Synthesen haben die Glykol-glykosid-anhydride. Glykolhalogenhydrin- $\beta$ -D-glykoside (bzw. die Acetate) gehen in alkalischer Lösung unter Abspaltung von Halogenwasserstoff in Anhydride über, in denen am C-Atom 1 und 2 des Zuckers in trans-Stellung ein Dioxan-Ring angegliedert ist. Als Beispiel sei genannt das Glykol- $\beta$ -D-glucosid-anhydrid (XXI). In diesen Verbindungen hat sich der Charakter der Glykosid-Bindung erheblich verändert. Selbst 24 h Erhitzen mit n-HCl führt noch nicht zu einer Freilegung der Aldehyd-Gruppe.

Zur Darstellung von N-Glykosiden wurde nach einer bereits bekannten Methode der Zucker mit der Amino-Verbindung in Methanol in Gegenwart von Zinkchlorid umgesetzt. Interessante Folgerungen ergaben sich aus der Beobachtung, daß Pentacetylglucose mit Benzylamin neben N-Acetyl-benzylamin ein kristallisiertes Addukt von 2.3.4.6-Tetracetylglucose und Benzylamin liefert. Mit Säure entsteht daraus neben dem Benzylaminsalz 2.3.4.6-Tetracetyl- $\beta$ -D-glucose, die so bequem zugänglich geworden ist. Bei höherer Temperatur bildet sich aus dem Addukt das Tetraacetyl-benzylamin-D-glucosid, aus dem durch Palladiumoxyd/Wasserstoff unter Toluol-Abspaltung Tetraacetyl-D-glucosylamin entsteht, das auf diesem Wege bequem dargestellt werden kann. N-Methyl- und N-Äthyl-

benzylamin liefern zwar mit Pentacetylglucose kein Addukt, jedoch mit 2,3,4,6-Tetracetylglucose, aus dem die N-Glucoside durch Schmelzen oder Erhitzen in Lösung leicht erhältlich sind. Von den beiden Antipoden des 1-Amino-1-phenyläthans,  $C_6H_5CH(NH_2)CH_3$  liefert nur die D(+)-Verbindung das kristalline Addukt, nicht jedoch die L(-)-Verbindung. Daraus ergibt sich eine besonders einfache Methode, das Racemat der Base in die optisch aktiven Komponenten zu spalten.

### Addition von Phenanthrenchinon an Glykale

Während die Glykol-glykosid-anhydride außerordentlich stabil und damit für Zucker-Synthesen ungeeignet sind, ergab sich auf anderem Wege die Möglichkeit einer vorübergehenden Maskierung der Hydroxyle am C-Atom 1 und 2: Triacetyl-glucal gibt mit Phenanthrenchinon unter UV-Bestrahlung — und Zusatz einer kleinen Menge Azo-diisobuttersäure-dinitril — Phenanthrenhydrochinon-triacetyl- $\alpha$ -glucopyranosid-anhydrid (XXII). Die acetyl-freie Verbindung lässt sich mit Acetobromglucose in Nitrobenzol bei



Gegenwart von Silberoxyd zum entspr. Derivat der Gentio-biose (XXIII) umsetzen. Aus XXIII läßt sich dann nach Acetylierung durch Spaltung mit Ozon in 90 proz. Essigsäure — die C=C-Bindung wird unter Abspaltung von Diphenosäure aufgespalten —, anschließende alkalische Verseifung und Reacetylierung Octacetyl-gentiobiose gewinnen. Bemerkenswert ist, daß die Kondensation, obwohl die OH-Gruppen an den C-Atomen 3.4 und 6 frei sind, infolge der größeren Reaktionsfähigkeit der primären OH-Gruppe bevorzugt an dieser Gruppe eintritt.

Beschrieben wurde auch die analoge Verbindung aus Phenanthrenchinon und Triacetylgalaktal bzw. Diacetyl-xylal bzw. Hexacetylcellobial.

## *Mesyl-Verbindungen von Kohlenhydraten*

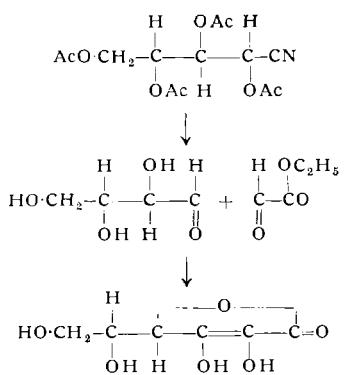
Für zahlreiche Umsetzungen haben sich die Toluolsulfo(- Tosyl)-Verbindungen von Zuckern als besonders wertvoll erwiesen (K. Freudenberg). In der Erwartung, durch Verwendung der kleineren Methansulfosäure zu neuen Effekten zu kommen, wurden von Helferich in größerem Umfang Methansulfo(- Mesyl)-Verbindungen von Zuckern dargestellt. Analog der Tosylierung ist zunächst bei zahlreichen partiell substituierten Zuckern die Mesylierung möglich. Als Beispiele seien genannt: 4- bzw. 6-Mesyl-tetracetyl- $\beta$ -D-glucose, 6-Mesyl-1,2-aceton-3,5-benzal-glucouranose, 1,2,5,6-Diaceton-3-mesyl-glucouranose (daraus 3-Mesylglucose), mehrere Mesyl-Derivate der Acetonfructosen. Die bevorzugte Reaktionsfähigkeit des primären Hydroxyls gegenüber den sekundären OH-Gruppen führt bei Verwendung von einem Mol Mesylchlorid zur Mesylierung in 6-Stellung. Ohne Isolierung der 6-Mesyl-Verbindung lassen sich durch anschließende Acetylierung die 6-Mesyl-acetylzucker, z. B. 6-Mesyl-tetracetyl- $\alpha$ - bzw. - $\beta$ -D-glucose, 6-Mesyl-triacetyl- $\alpha$ -methylglucosid, in einfacher Operation und guter Ausbeute darstellen. Die Einführung

mehrerer Mesyl-Gruppen macht keine Schwierigkeit. So werden z. B. Tetramesyl- $\alpha$ -methylglucosid oder Octamesyltrehalose nahezu quantitativ gewonnen. Aus Glucose und einem Überschuß an Mesylchlorid entsteht glatt Tetramesyl-1-chlorglucose. In diesen Reaktionen zeigt sich der Unterschied und die Überlegenheit des kleinen Mesyl-Restes gegenüber dem sehr viel größeren Tosyl-Rest.

Ähnlich den Tosyl-Verbindungen lassen sich auch die Mesylester mit Natriumjodid zu den Jodhydrinen umsetzen. Dabei reagiert besonders glatt — leichter und rascher als bei den Tosylestern — die 6-Mesyl-Gruppe. Die größere Reaktionsfähigkeit der Mesyl-Gruppe lässt auch sekundär gebundene Mesyl-Gruppen mit Natriumjodid reagieren, z. B. 4-Mesyl-tetracetylglucose zum 4-Jodhydrin. Die primär gebundene Mesyl-Gruppe lässt sich mit Kaliumacetat in Essigsäureanhydrid auch glatt durch Acetyl ersetzen. Allgemein sind mit Mesyl-Verbindungen Umsetzungen möglich, die bei den Tosyl-Verbindungen weniger rasch oder unvollkommen oder überhaupt nicht eintreten.

Aus einer großen Zahl von Einzelproblemen, die *Heifnerich* bearbeitete, seien zwei herausgegriffen. Das eine betrifft eine Ascorbinsäure-Synthese, das andere ein Verfahren zur Darstellung der acetylierten Aldehydозucker.

Eine einfache Synthese von Ascorbinsäuren ergibt sich durch Kondensation von Glyoxylsäure- bzw. Mesoxalsäure-ester mit Aldozuckern in alkalischem Medium. Diese Reaktion ist vergleichbar einer Benzoin-Kondensation, wobei gleichzeitig unter Abspaltung von Alkohol die Bildung des Lactonringes eintritt. An Stelle der freien Aldosen kann man von Derivaten z. B. Acetylzuckern oder acetylierten Cyanhydrinen ausgehen, die zunächst unter den Bedingungen der Kondensation in die gewünschten Aldosen übergehen. So entsteht aus Tetracetyl- $\alpha$ -threosecyanhydrin in alkalischem Milieu unter Acetyl- und HCN-Abspaltung und Kondensation mit Glyoxylsäureester  $\alpha$ -Xyloascorbinsäure, der optische Antipode des Vitamins C:



Zur Darstellung der Acetate der Aldehydوزucker stellt man zunächst aus dem jeweiligen Zucker (z. B. Galaktose, Glucose oder Arabinose) mit Formylhydrazin das N-Formylhydrazen dar. Durch Acetylierung der Hydroxyl- und der NH-Gruppe und anschließende Oxydation in Eisessig mit Selendioxyd lassen sich die acetylierten Aldehydوزucker — im Fall der Pentacetyl-al-D-galaktose mit 80% Ausbeute — einfach darstellen.

## Über glykosid-spaltende Enzyme

Seit etwa 125 Jahren bezeichnet man nach einem Vorschlag von *Liebig* und *Wöhler* ein von *Robiquet* in den Mandeln gefundenes Enzym-Präparat als „Emulsin“. Es spaltet ein gleichfalls in den Mandeln vorkommendes Glykosid, das Amygdalin, in Glucose, Benzaldehyd und Blausäure. Im Laufe der Zeit wurde eine große Zahl von natürlichen

und synthetischen Glykosiden gefunden, die durch Emulsin in Zucker und Aglukon gespalten werden. Nachdem *Emil Fischer* 1894  $\beta$ -Methyl-glucosid, durch Mandel-Emulsin gespalten hatte, faßte man alle durch Emulsin spaltbaren Glucoside als  $\beta$ -D-Glucoside auf. Im Laufe der Zeit mehrten sich die Fälle, daß auch Glykoside anderer Zucker als  $\beta$ -D-Glucose durch Emulsin gespalten wurden. So drängten sich folgende Fragen auf:

1. Welche Glykoside werden durch Emulsin gespalten?
  2. Erfordern die Spaltungen dieser verschiedenen Glykoside jeweils ein besonderes im Emulsin-Präparat enthaltenes Enzym oder lassen sich die Spaltungen durch die Annahme einiger weniger Enzyme oder sogar nur eines einzigen Enzyms erklären?

Diesen und weiteren sich daraus ergebenden Problemen hat sich *Helferich*, nachdem er bereits früher die Spaltbarkeit bzw. Nichtspaltbarkeit einzelner Glykoside festgestellt hatte, etwa vom Jahre 1930 an zugewendet.

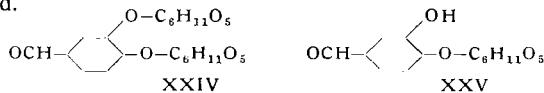
Benutzt wurde in der Hauptsache Emulsin aus süßen Mandeln (= Süßmandelémulsin). Zur Gewinnung eines möglichst hochwertigen Präparates wird der wässrige Extrakt einer Reihe verschiedener, meist fraktionierter Fällungsreaktionen unterworfen. Genannt seien hier die fraktionierten Fällungen mit Aceton sowie mit Tannin, die Fällungen als Silber-Verbindung und anschließendem Zersetzen mit Schwefelwasserstoff. Später wurde festgestellt, daß aus einer wässrigen Emulsin-Lösung durch eine geringe Menge Adsorptivkohle, z. B. Carboraffin, unwirksame Begleitstoffe adsorbiert werden. Aus der Lösung läßt sich dann durch Fällung mit Tannin ein Enzym-Präparat hoher Reinheit gewinnen.

Zur Prüfung, ob ein Glykosid durch die  $\beta$ -Glucosidase des Emulsins oder eine andere Glykosidase gespalten wird, wurde die von *Willstätter* angewendete Methode des „Zeitwertquotienten“ herangezogen. Dazu wird mit Emulsin-Präparaten verschiedener Reinheit einmal die Spaltung eines  $\beta$ -Glucosids, z. B. des Phenol- $\beta$ -D-glucosids, zum anderen die des Phenol-glykosids, dessen Spaltung geprüft werden soll, z. B. des Phenol- $\beta$ -D-galaktosids, quantitativ — entweder polarimetrisch oder reduktometrisch — verfolgt. Ist bei den Enzym-Präparaten unterschiedlicher Reinheit das Verhältnis der Spaltung verschiedener Phenolglykoside das gleiche, so darf man für die Spaltung der beiden Glykoside das gleiche Enzym oder zumindest zwei in ihrem Bau und damit ihrer Wirksamkeit sehr ähnliche Enzyme annehmen. Wenn in der folgenden Betrachtung für die Spaltung mehrerer Glykoside, die sich in ihrem Zuckeranteil unterscheiden, nur ein Enzym angenommen wird, so soll damit nicht — auch ohne daß es besonders erwähnt ist — die Möglichkeit der Spaltung durch mehrere untereinander sehr ähnliche Enzyme ausgeschlossen sein.

In früheren Jahren prüfte man die Spaltbarkeit an den leicht zugänglichen Methylglykosiden. Diese erwiesen sich aber wegen ihrer besonders langsamem Spaltbarkeit als wenig geeignet. Es wurde daher eine große Zahl von Glykosiden mit verschiedenem Aglukon hergestellt und untersucht. Dabei ergaben sich mit wechselndem Aglukon große Unterschiede in der Spaltungsgeschwindigkeit. So werden die Phenol-glykoside etwa 10mal schneller als die Methylglykoside gespalten. Die Untersuchung einer großen Zahl der verschiedensten Phenol-glykoside zeigte die höchste Spaltungsgeschwindigkeit beim Vanillin- $\beta$ -D-glucosid, das etwa 400mal schneller als  $\beta$ -Methyl-glucosid und noch 40mal schneller als das eigentliche Phenol- $\beta$ -D-glucosid gespalten wird. Gegenüber der außerordentlich geringen Spaltbarkeit des  $\beta$ -Glucosids des Trimethylcarbinols wird das Vanillin-glucosid sogar 40000mal schneller gespalten. In-

teressant sind auch die Unterschiede in der Spaltungs geschwindigkeit bei den drei Kresol- $\beta$ -D-glucosiden. Sie ver halten sich wie 4,3 (o-Kresol-Derivat) : 0,5 (m-Kresol-Derivat) : 0,12 (p-Kresol-Derivat).

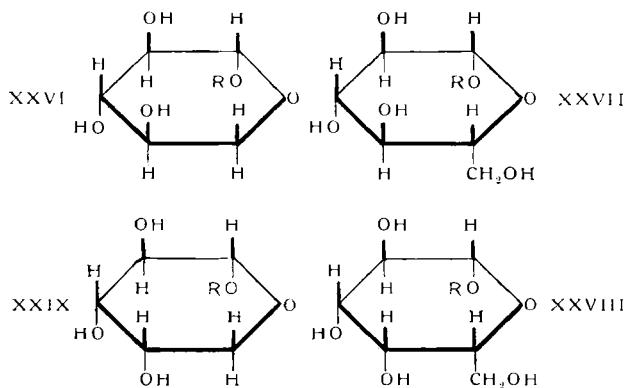
Eine erhebliche Änderung der Spaltungsgeschwindigkeit ergibt sich, wenn im Aglykon ein zweiter glykosidisch gebundener Zucker auftritt. Obgleich in einem solchen Bis-glykosid zwei Stellen für den Angriff des Enzyms zur Verfügung stehen, tritt dennoch eine erhebliche Erniedrigung der Spaltungsgeschwindigkeit ein. Z. B. wird das Bis-glucosid des Protocatechualdehyds (XXIV) 35 mal langsamer als das Monoglucosid (XXV) gespalten. Möglicherweise besteht durch eine gegenseitige Beeinflussung der beiden Glucosid-Reste eine Art Absättigung, so daß die zur Spaltung notwendige Bindung vom Enzym an das Substrat erschwert wird.



Die Frage nach dem Einfluß von Änderungen im Zuk-  
keranteil der  $\beta$ -Glucoside auf die Spaltbarkeit hängt eng  
mit dem Problem der Annahme weiterer Glykosidasen im  
Emulsin außer der  $\beta$ -Glucosidase zusammen. Hinsichtlich  
des Einflusses von Änderungen an den einzelnen C-Atomen  
des Glucose-Restes auf die Spaltbarkeit läßt sich sagen:  
Änderungen am C-Atom 6 beeinflussen die Spaltbarkeit  
von  $\beta$ -Glucosiden durch Süßmandelemulsin sehr stark. Er-  
setzt man das 6-Hydroxyl durch Wasserstoff (= Isorham-  
nosid), so wird die Spaltbarkeit erhöht. Bei Ersatz durch F,  
Cl, Br,  $\text{OCH}_3$  und J wird in steigendem Maße, d. h. entspre-  
chend der Zunahme des Substituentenvolumens, die Spalt-  
barkeit vermindert, bei noch größeren Substituenten, wie  
Mesyl oder p-Tosyl, ist praktisch keine Spaltbarkeit mehr  
nachweisbar. Soweit eine Spaltung eintritt, zeigt sich mit  
verschieden reinen Enzym-Präparaten durchweg eine Pa-  
rallelität zwischen der Spaltung von Phenol- $\beta$ -D-glucosid  
und den am C-Atom 6 veränderten Phenol- $\beta$ -D-glucosiden.  
Diese Parallelität darf man zunächst in der Weise deuten,  
daß ein Enzym, die  $\beta$ -D-Glucosidase des Süßmandelemu-  
sins, alle diese Substrate zu spalten vermag. Damit erüb-  
rigt sich z. B. die Annahme einer besonderen  $\beta$ -D-Iso-  
rhamnosidase.

In engem Zusammenhang mit den Änderungen am C-Atom 6 steht der Ersatz der  $\text{CH}_2\text{OH}$ -Gruppe durch Wasserstoff. Es ist zweifelsfrei, daß  $\beta$ -Methyl- $\alpha$ -xylosid (XXVI), wenn auch langsam, durch Emulsin gespalten wird. Man darf annehmen, daß die Spaltung durch die  $\beta$ -Glucosidase des Süßmandelmulsins geschieht.

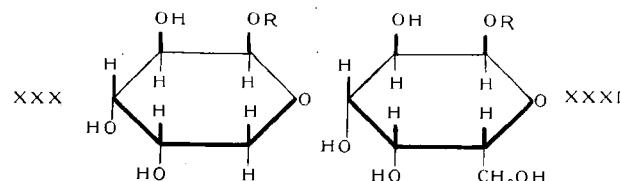
Besonders eingehend wurde geprüft, ob  $\beta$ -D-Galaktoside — in ihnen liegt gegenüber den  $\beta$ -D-Glucosiden eine konfigurative Änderung am C-Atom 4 vor — durch die  $\beta$ -Glucosidase gespalten werden. Alle Versuche lassen — mit der oben erwähnten Einschränkung — die einfachste An-



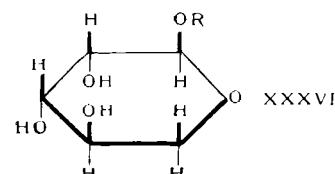
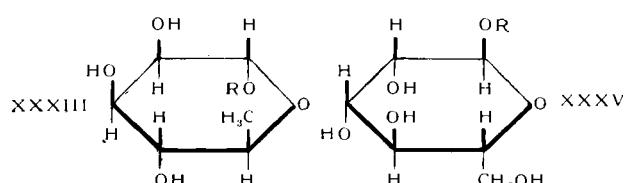
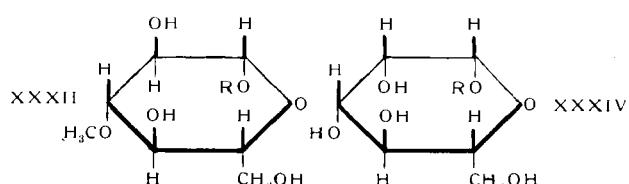
nahme zu, daß im Süßmandelemulsin ein und dasselbe Enzym, die  $\beta$ -D-Glucosidase,  $\beta$ -D-Glucoside (XXVII) und  $\beta$ -D-Galaktoside (XXVIII) spaltet. So wie in ihrem Bau die  $\beta$ -D-Glucoside (XXVII) den  $\beta$ -D-Xylosiden (XXVI) entsprechen, so auch den  $\beta$ -D-Galaktosiden (XXVIII) die  $\alpha$ -L-Arabinoside (XXIX).

Es ist daher verständlich, daß auch  $\alpha$ -L-Arabinoside, besonders rasch Phenol- $\alpha$ -L-Arabinosid, durch Süßmandel-Emulsin gespalten werden. Auch hier sprechen die Umsetzungen mit verschiedenen Emulsin-Präparaten für die Annahme eines Enzyms, das  $\beta$ -Glucoside (und  $\beta$ -Xyloside),  $\beta$ -Galaktoside und  $\alpha$ -L-Arabinoside spaltet. Seit langem ist bekannt (E. Fischer, Neuberg), daß Melibiose (= 6- $\alpha$ -D-Galaktosido-glucose) und Raffinose, beides  $\alpha$ -D-Galakto-side, durch Emulsin gespalten werden. Von Helferich wurde nun auch die Spaltbarkeit von Phenol- $\alpha$ -D-galaktosid festgestellt. Quantitative Untersuchungen ergaben, daß die Spaltung einer besonderen im Süßmandel-Emulsin vorliegenden  $\alpha$ -D-Galaktosidase zuzuschreiben ist.

Auf Grund der Spaltbarkeit der  $\beta$ -D-Xyloside und der  $\alpha$ -L-Arabinoside durch die  $\beta$ -Glucosidase ist es verständlich, daß auch die  $\beta$ -L-Arabinoside (XXX) — sie unterscheiden sich von den  $\alpha$ -D-Galaktosiden (XXXI) durch Ersatz der  $\text{CH}_2\text{OH}$ -Gruppe gegen H — durch die  $\alpha$ -D-Galaktosidase gespalten werden.



In den bisher untersuchten Fällen, in denen eine Änderung am C-Atom 3 vorgenommen wurde, dem  $\beta$ -D-Glucosid-3-methyläther (XXXI) und  $\alpha$ -L-Rhamnosid (XXXIII), ist die Spaltbarkeit aufgehoben. Das gleiche trifft für Änderungen am C-Atom 2 zu. Phenol- $\beta$ -D-mannosid (XXXIV) wird



nicht gespalten, hingegen werden  $\alpha$ -D-Mannoside (XXXV) (z. B. Methyl- bzw. Phenol- $\alpha$ -D-mannosid), in denen wie in den  $\beta$ -Glucosiden eine trans-Stellung von Aglykon am C-Atom 1 und OH am C-Atom 2 vorliegt, durch Süßmandel-Emulsin gespalten. Diese Spaltung erfolgt jedoch nicht durch die  $\beta$ -Glucosidase, sondern eine  $\alpha$ -Mannosidase des Süßmandel-Emulsins.

Wird im Phenol- $\alpha$ -D-mannosid (XXXV) die  $\text{CH}_2\text{OH}$ -Gruppe durch H ersetzt, so haben wir das Bild des Phenol- $\alpha$ -D-lyxosids (XXXVI). So wie  $\beta$ -Glucoside und  $\beta$ -Xyloside durch die gleiche  $\beta$ -Glucosidase gespalten werden, so auch  $\alpha$ -D-Mannoside (Phenol- $\alpha$ -D-mannosid) und  $\alpha$ -D-Lyxoside (Phenol- $\alpha$ -D-lyxosid) durch die im Süßmandelemulsin vorliegende  $\alpha$ -D-Mannosidase.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß im Süßmandelemulsin als Hauptenzym eine  $\beta$ -D-Glucosidase, die außer  $\beta$ -Glucosiden auch  $\beta$ -D-Xyloside,  $\beta$ -D-Galaktoside und  $\alpha$ -L-Arabinoside spaltet, vorliegt, weiter eine  $\alpha$ -D-Mannosidase, die auch  $\alpha$ -D-Lyxoside spaltet, sowie eine  $\alpha$ -D-Galaktosidase, die auch  $\beta$ -L-Arabinoside spaltet. Schließlich liegt in geringer Menge eine  $\alpha$ -D-Glucosidase vor, festgestellt an der allerdings schwachen Spaltung gegenüber Phenol- $\alpha$ -D-glucosid. Dieser Befund ist wichtig im Hinblick darauf, daß die Spaltung der Trehalose, ein  $\alpha$ -Glucosido- $\alpha$ -glucosid, durch Süßmandelemulsin schon lange bekannt ist.

Man darf also nicht, wie es geschehen ist, Emulsin als gleichbedeutend mit  $\beta$ -D-Glucosidase ansehen. *Helperich* hat daher folgende Nomenklatur vorgeschlagen: Alle Enzym-Präparate, die irgend welche Glykoside zu spalten vermögen, können als „Emulsin“ bezeichnet werden. Je nach der Herkunft spricht man dann von „Süßmandelemulsin“, „Luzerneemulsin“, „Schneckenemulsin“ usw. In jedem Emulsin können ein oder mehrere Enzyme vorliegen, deren Bezeichnung man dann vom Substrat ableitet, also z. B.  $\beta$ -D-Glucosidase,  $\alpha$ -D-Mannosidase,  $\alpha$ -D-Galaktosidase usw.

Wenn *Helperich* die Versuche auch im wesentlichen mit Süßmandelemulsin ausgeführt hat, so hat er doch auch einige Präparate anderer Herkunft in die Untersuchungen mit einbezogen. Etwas näher untersucht wurde das Luzerneemulsin und das Schneckenemulsin aus dem Darmsaft der Weinbergschnecke. Im Luzerneemulsin liegt wohl eine besondere  $\beta$ -D-Galaktosidase vor, die deutlich verschieden ist vom Enzym gleicher Spezifität im Süßmandelemulsin, das er mit Vorbehalt der  $\beta$ -D-Glucosidase gleichgesetzt hat. Im Schneckenemulsin wurde besonders die  $\beta$ -Glucosidase untersucht und mit der  $\beta$ -Glucosidase des Süßmandelemulsins verglichen. Beide Glucosidasen sind eng verwandt, wie sich aus dem Vergleich der Spaltbarkeit verschiedener Substrate ergibt. Während jedoch die  $\beta$ -glucosidatische Wirkung des Süßmandelemulsins durch verschiedene Reinigungsmethoden erheblich gesteigert werden kann, gelingt eine solche Wirkungssteigerung beim Schneckenemulsin nicht. Die für die Reinigungsmöglichkeiten wesentlichen Teile der Enzyme, vermutlich ihre Eiweißbestandteile, sind sicher verschieden, der für die spezielle Enzymwirkung wesentliche Anteil zumindest sehr ähnlich, wenn nicht gar identisch.

Das wichtigste Ziel der Enzymforschung ist auch im Falle der glykosid-spaltenden Enzyme die Aufklärung ihres chemischen Baues und damit das Verständnis ihrer Wirkung. Zum Unterschied von anderen Enzymen gelang bisher mit dem Süßmandelemulsin keine Aufspaltung in ein Apo- und ein Coferment. Die Zusammensetzung auch der reinsten Süßmandelemulsin-Präparate entspricht annähernd der gewöhnlicher Eiweißsubstanzen. Auch die qualitativen Eiweißreaktionen fallen positiv aus. Durch saure oder alkalische Reaktion wird das Enzym zerstört. Von chemischen Agentien haben Blausäure und Schwefelwasserstoff keinen Einfluß auf die Wirksamkeit. Mit Reduktionsmitteln tritt keine schädigende Wirkung ein, während Emulsin gegen Oxydationsmittel empfindlich ist. Durch Ozon tritt eine zunehmende Schädigung ein, die zur völli-

gen Zerstörung führt. Bemerkenswert ist, daß das Absinken der Wirksamkeit bei steigendem Ozon-Zusatz weitgehend parallel geht mit dem Absinken des Thryptophan-Gehaltes. Durch Ozon unwirksam gemachte Enzym-Präparate enthalten auch kein Thryptophan mehr. Die UV-Absorptionsspektren von Süßmandelemulsin und Thryptophan sind im Charakter ähnlich. Durch Ozon-Zusatz werden beide Substanzen in ihren Spektren ähnlich verändert. Möglicherweise steht das im Enzym enthaltene Thryptophan in engem Zusammenhang mit der  $\beta$ -Glucosidase-Wirkung.

Das Enzym wird auch durch Osmiumtetroxyd geschädigt. Die Art der Schädigung ist jedoch eine andere als mit Ozon. Mit Osmiumtetroxyd geschädigtes Enzym läßt sich durch Reduktionsmittel wie Schwefelwasserstoff oder Cystein in seiner Wirksamkeit zum erheblichen Teil wieder regenerieren. Diese Reaktivierbarkeit geht jedoch bei längerer Einwirkung des Oxydationsmittels zurück. Zur Deutung dieses Befundes kann man annehmen, daß zunächst das Osmiumtetroxyd sich an das Enzym anlagert und dann in einer langsam verlaufenden Reaktion den für die Wirkung wesentlichen Teil des Enzyms zerstört.

Eingehend wurde auch der Gehalt des Emulsins an gebundenen Kohlenhydraten untersucht. Auch reinstes Süßmandelemulsin zeigt einen Kohlenhydrat-Gehalt von über 3%, Schneckenemulsin sogar einen solchen von 16 bis 18%. Man kann daher als Haftstelle des Enzyms gegenüber dem Substrat einen an das Eiweiß der Glykosidase gebundenen Zucker annehmen, vielleicht einen Zucker, dessen Glykosid als Substrat durch das betreffende Enzym gespalten wird.

Groß war die Zahl der Schüler, die unter *Helperichs* Leitung an wissenschaftlichen Arbeiten beteiligt waren. Lehrer und väterlicher Berater ist er jedem gewesen, der unter ihm arbeiten durfte. Mit klaren Vorstellungen und Überlegungen an das Experiment zu gehen, den Ablauf des Experiments genau zu verfolgen, das hat er gelehrt. Aber war es nur die Chemie, die er meisterhaft vortrug und vorexperimentierte? Nicht minder groß durfte für alle seine Schüler der Gewinn gewesen sein, den sie aus der Begegnung mit ihm als einer großen und überragenden Persönlichkeit mitnehmen durften. Auch wer nicht zum engeren Kreise seiner Freunde und Schüler gehörte, spürte schon bei der ersten Begegnung diese menschliche Größe.

So ist es nur folgerichtig, daß *Helperich* Ehrungen in großem Maße zuteil wurden. Hier sei erwähnt, daß er zunächst Dekan und dann vor wenigen Jahren Rektor der Bonner Universität war. 1951 wurde ihm die *Emil-Fischer*-Medaille der Gesellschaft Deutscher Chemiker verliehen. Bereits vor dem Kriege gehörte er zum kleinen Rat des Vereins Deutscher Chemiker. Nach dem Kriege war er von 1953 bis 1955 im Vorstand der Gesellschaft Deutscher Chemiker und ist für die Jahre 1956/57 zu ihrem Präsidenten gewählt worden. Ihm haben wir es mit zu danken, wenn bald nach dem letzten Kriege die wissenschaftlichen und menschlichen Beziehungen zwischen den ausländischen und deutschen Chemikern wieder aufgenommen wurden.

Überblicken wir die wissenschaftlichen Arbeiten *Helperichs*, seine Tätigkeit als akademischer Lehrer, seine Mitarbeit in der Gesellschaft Deutscher Chemiker, so umfängt uns ein Gefühl großer Dankbarkeit für diese großen Leistungen. Deutsche und ausländische Chemiker in großer Zahl bringen ihm am Tage seines 70. Geburtstages die herzlichsten Glückwünsche dar.

H. Bredereck