

die der Enol-Form. Dies Ergebnis, obschon formal korrekt, wirkt einigermaßen paradox, da die wirkliche Acidität, d. h. die Proton-Beweglichkeit, der Enol-Form größer ist als die der Keto-Form. Gustafsson ist daher gezwungen, die Protonen-Beweglichkeit nicht zu der Dissoziations-Konstanten, sondern zu der Geschwindigkeit der Dissoziation in Beziehung zu setzen; dies hat zur Folge, daß der eigentlich treibende Faktor bei der Enolisierung, nämlich der „elektromere Effekt der Molekel“³¹⁾

$$\ln \frac{[E^-]}{[C^-]}$$

(wobei $[E^-]$ die Konzentration an wirklichem Enol-Anion, $[C^-]$ die an wirklichem Keto-Anion bedeutet) in seinem Ansatz überhaupt nicht auftritt. Rechnet man dagegen wie Arndt und Martius²⁹⁾ mit den getrennten (instabilen) Anionen von Keto- und Enol-Form entsprechend obiger Formel vor ihrem Übergang in das stabile mesomere „Syn-Ion“, so ist die so definierte Dissoziations-Konstante im selben Grade ein Maß für die Acidität wie bei jeder sauren Verbindung.

40. Burckhardt Helferich und William Ward Pigman: Die fermentative Spaltung von Lactose, Lactulose und Neolactose (Über Emulsin, XXXVI. Mitteil.*).

[Aus d. Chem. Laborat. d. Universität Leipzig u. d. National Bureau of Standards, Washington.]

(Eingegangen am 24. Dezember 1938.)

Die Wirksamkeit von Süßmandel-Emulsin (und anderen Glykosidasen) auf Glykoside wird nicht nur durch Konstitution und Konfiguration des Zuckeranteils im Glykosid entscheidend bestimmt, sondern auch durch den Bau des glykosidisch gebundenen Teils, des „Aglykons“, in ihrer Stärke beeinflußt¹⁾.

Es schien uns interessant, zu untersuchen, ob und inwieweit dies auch für Disaccharide gilt, d. h. für Glykoside, deren glykosidisch gebundener Anteil selbst ein (zweiter) Zucker ist. Für eine solche Untersuchung stehen nur wenige Oligosaccharide zur Verfügung. Für die vorliegende Arbeit wurden Lactose, Lactulose und Neolactose angewandt. Lactose, als β -d-Galaktosid, ist durch Süßmandelemulsin spaltbar²⁾. Die Überführung der Lactose in Lactulose³⁾ und Neolactose⁴⁾ ändert an der β -d-Galaktose nach den bisherigen Annahmen nichts (siehe auch unten). Dagegen wird der glykosidisch gebundene Teil

³¹⁾ F. Arndt u. C. Martius, a. a. O. 252/253; „Tautomerie und Mesomerie“, S. 42 u. 125.

^{*)} XXXV. Mitteil. s. A. 534, 276 [1938]. ¹⁾ z. B. A. 518, 211 [1935].

²⁾ E. Fischer, B. 28, 1155 [1895].

³⁾ E. M. Montgomery u. C. S. Hudson, Journ. Amer. chem. Soc. 52, 2101 [1930].

⁴⁾ N. K. Richtmyer u. C. S. Hudson, Journ. Amer. chem. Soc. 57, 1716 [1935].

des Disaccharids, die Glucose, bei der Lactulose in *d*-Fructose, bei der Neolactose sogar, unter Änderung der Konfiguration an den Kohlenstoffatomen 2 und 3, in *d*-Altrose umgewandelt⁵⁾.

Die Ergebnisse der Fermentspaltungsversuche dieser Arbeit (s. d. folgende Tafel 1) lassen sich folgendermaßen zusammenfassen: Qualitativ werden alle drei Disaccharide durch Süßmandel-Emulsin, entsprechend der in diesem Ferment vorhandenen β -*d*-galaktosidatischen Wirksamkeit gespalten. Bei allen drei Substraten steigt die Wirksamkeit des Fermentes erheblich an, wenn statt Rohferment (β -Glucosidasewert 1.16) ein mittels Silberfällung⁶⁾ gereinigtes Ferment vom β -Glucosidasewert 6.7 angewandt wird. Da bei dieser „Silberreinigung“ die α -*d*-Galaktosidase des Süßmandel-Emulsins so gut wie vollständig entfernt wird⁶⁾, so ist diese Steigerung der Spaltbarkeit der Lactulose und der Neolactose von Rohferment zum reinen Ferment ein Beweis dafür, daß in beiden Zuckern, der Lactulose und der Neolactose, die β -Konfiguration der Galaktose erhalten geblieben ist.

Bemerkenswert ist weiter, daß die Spaltbarkeit der Neolactose sehr viel kleiner ist — nur ein Siebentel — als die der Lactose oder der Lactulose. Die Konfigurationsänderung am 3-Kohlenstoffatom, die (neben der am 2-Kohlenstoffatom) beim Übergang von Lactose in Neolactose eintritt, liegt eben unmittelbar neben der Verknüpfungsstelle zwischen Galaktose und Altrose, hat also wohl deshalb einen stärkeren Einfluß auf die fermentative Spaltbarkeit als die weiter entfernt liegende Änderung. Es erinnert an den oft stärkeren Einfluß *ortho*-ständiger Substituenten — gegenüber den gleichen in *meta*- oder *para*-Stellung — bei Phenol-glucosiden⁷⁾, ein besonderes Charakteristikum gerade des Süßmandel-Emulsins.

Tafel 1.

| Substrat | Reaktionskonstante $k \times 10^4$ ⁸⁾ der Fermentspaltungen für Süßmandel-Emulsin vom β -Glucosidase-Wert | | Verhältnis |
|--|---|------|------------|
| | 6.7 | 1.16 | |
| Lactose (= 4- β - <i>d</i> -Galaktosido- <i>d</i> -glucose) | 4.9 | 1.0 | 5 : 1 |
| Lactulose (= 4- β - <i>d</i> -Galaktosido- <i>d</i> -fructose) | 6.5 | 1.3 | 5 : 1 |
| Neolactose (= 4- β - <i>d</i> -Galaktosido- <i>d</i> -altrose) | 0.73 | 0.25 | 3 : 1 |

Hr. Pigman ist der L. alor Foundation, Wilmington, Ver. St. v. Am., für die Ermöglichung dieser Arbeit durch Gewährung eines Stipendiums zu großem Dank verpflichtet.

⁵⁾ Hr. Pigman arbeitet zurzeit die fermentative Spaltung der Neolactose zu einer ergiebigen präparativen Darstellung der *d*-Altrose aus.

⁶⁾ Ztschr. physiol. Chem. **208**, 91 [1932].

⁷⁾ Ztschr. physiol. Chem. **226**, 272 [1934].

⁸⁾ berechnet mit Briggschen Logarithmen.

Beschreibung der Versuche.

Die Fermentspaltung wurde bei 30.0° durchgeführt. Das pH wurde mit etwa $m/5$ -Acetatpuffer auf 5.0 eingestellt (Pufferkonzentration im Bestimmungsgemisch etwa $m/30$). Zur Verwendung kamen Süßmandel-Emulsin vom β -Glucosidasewert⁹⁾ 1.16 (durch Tanninfällung gereinigt, II) in einer Lösung, die 0.0367, bei den letzten Versuchen 0.0340 g Trockenrückstand in 5.00 ccm enthielt, und 6.7 (durch „Silberfällung“ gereinigt, I) in einer Lösung, deren Trockenrückstand auf 5.00 ccm 0.0278 g betrug⁶⁾.

Die Drehungen wurden im 2-dm-Rohr bei 20° gemessen. Abgestoppt wurde die Spaltung durch Zusatz von Kaliumcarbonat zum Bestimmungsgemisch (0.1 g auf je 10 ccm). Bei Neolactose war wegen der langsamen Spaltung ein Abstoppen nicht nötig.

Die Konzentration der Substrate betrug 2.9312 g Lactose (mit 1 Mol. Krystallwasser) in 50 ccm Lösung, 2.7802 g Lactose (wasserfrei), ebenfalls in 50 ccm Lösung und 1.3902 g Neolactose (wasserfrei) in 25 ccm Lösung. Zu 40.0 ccm (bzw. 20.0 ccm Neolactose) dieser Lösungen wurden 5 ccm (bzw. 2.5 ccm) der Fermentlösung (s. o.) zu Beginn der Spaltung zugesetzt ($t = 0$) und nach jeweils t Minuten Proben zur Drehungsbestimmung entnommen.

Spaltung von Lactose.

| I. (Reinferment). | | | | II. (Rohferment). | | | |
|-------------------|---------------------------|---------------|-----------------|-------------------|---------------------------|---------------|-----------------|
| t Min. | α^0 nach t Min. | % Spaltung | $k \times 10^4$ | t Min. | α^0 nach t Min. | % Spaltung | $k \times 10^4$ |
| 0 | + 5.47 | ./. | | 0 | + 5.42 | ./. | |
| 126 | + 5.71 | 16.6 | 6.2 | 807 | + 5.74 | 22.4 | 1.4 |
| 365 | + 6.01 | 37.2 | 5.5 | 2402 | + 6.04 | 43.4 | 1.0 |
| 584 | + 6.13 | 45.5 | 4.5 | 5577 | + 6.37 | 66.4 | 0.85 |
| 1567 | + 6.51 | 71.7 | 3.5 | 8397 | + 6.61 | 83.3 | 0.92 |
| (∞) | (+ 6.92) | (100.0) | | (∞) | (+ 6.85) | (100.0) | |
| Mittel: 4.9 | | | | Mittel: 1.0 | | | |

Spaltung von Lactulose.

| I. (Reinferment). | | | | II. (Rohferment). | | | |
|-------------------|---------------------------|---------------|-----------------|-------------------|---------------------------|---------------|-----------------|
| t Min. | α^0 nach t Min. | % Spaltung | $k \times 10^4$ | t Min. | α^0 nach t Min. | % Spaltung | $k \times 10^4$ |
| 0 | — 4.96 | ./. | | 0 | — 4.98 | | |
| 126 | — 4.13 | 19.8 | 7.2 | 158 | — 4.74 | 5.5 | 1.6 |
| 256 | — 3.45 | 34.9 | 7.3 | 569 | — 4.27 | 16.3 | 1.4 |
| 366 | — 3.07 | 43.6 | 6.8 | 1558 | — 3.40 | 36.3 | 1.3 |
| 579 | — 2.47 | 57.5 | 6.4 | 3045 | — 2.61 | 54.5 | 1.1 |
| 1568 | — 1.39 | 82.5 | 4.8 | 4680 | — 2.05 | 67.4 | 1.0 |
| (∞) | (— 0.63) | (100.0) | | (∞) | (— 0.63) | (100.0) | |
| Mittel: 6.5 | | | | Mittel: 1.3 | | | |

⁹⁾ Ergebn. d. Enzymforschung Bd. II, S. 78.

Spaltung von Neolactose.

I. (Reinferment).

II. (Rohferment).

| t Min. | α^0 nach t Min. | % Spaltung | $k \times 10^4$ | t Min. | α^0 nach t Min. | % Spaltung | $k \times 10^4$ |
|--------------|---------------------------|---------------|-----------------|--------|---------------------------|---------------|-----------------|
| 0 | + 3.42 | ./. | | 0 | + 3.44 | | |
| 1430 | + 3.99 | 24.7 | 0.86 | 1235 | + 3.66 | 9.5 | 0.35 |
| 2995 | + 4.29 | 37.7 | 0.69 | 2485 | + 3.76 | 13.7 | 0.26 |
| 4355 | + 4.51 | 47.2 | 0.64 | 3750 | + 3.87 | 18.4 | 0.24 |
| (∞) | (+ 5.73) | (100.0) | | 7185 | + 4.02 | 24.9 | 0.17 |
| | | | Mittel: 0.73 | | (∞) | (+ 5.77) | (100.0) |
| | | | | | | | Mittel: 0.25 |

41. N. M. Shah und R. C. Shah: Nachtrag zur Mitteil.: Die Pechmannsche Reaktion mit α -Acetyl- γ -glutarsäure-äthylester*).

(Eingegangen am 17. Dezember 1938.)

In unserer Mitteilung ist die Angabe des Schmelzpunktes der 7,8-Dioxy-4-methyl-cumarin-propionsäure-(3) versehentlich unterblieben. Auf S. 2079 soll es heißen: „Nadeln aus verd. Alkohol oder Aceton, Schmp. 185°“.

*) B. 71, 2075 [1938].

Berichtigung.

Jahrg. 71 [1938], Heft 12, S. 2716, letzte Zeile lies „ $C_9H_8O_2$ (76,06).“ statt „ $C_9H_6O_2$ (74,05).“