

3-fluorid durch Elektrolyse von geschmolzenem, wasserfreiem Ammoniumbifluorid zu gewinnen.

Eine Lösung von Ammoniumbifluorid in wasserfreiem Fluorwasserstoff haben wir auch früher schon der Elektrolyse unterworfen, in den abziehenden Gasen damals aber nur Fluor gefunden. Offensichtlich ist in einer HF-Lösung das Ammonium wesentlich fester komplex gebunden als in einer Bifluoridschmelze, die nach kurzer Frist erhebliche Mengen von neutralem Ammoniumfluorid enthält.

Solange Spuren Wasser im Ammoniumbifluorid enthalten sind oder von außen in dieses eindringen, entsteht an Stelle von Stickstoff-3-fluorid bzw. neben diesem Stickoxydul und Ozon, und zwar letzteres in solchen Mengen, daß das gebildete Stickstoff-fluorid, wenn es verflüssigt worden ist, explosive Eigenschaften hat. Indem man die Gase über Braunstein leitet, ist es möglich, das Ozon zu zerstören, ohne das Stickstoff-3-fluorid zu beeinträchtigen. Durch Verflüssigen und sorgfältiges Fraktionieren läßt es sich vom Stickoxydul und den sonstigen Verunreinigungen (SiF_4 , CO_2 , N_2 , O_2) trennen und in praktisch reiner Form erhalten.

Das Stickstoff-3-fluorid ist eine merkwürdig temperaturbeständige, aber doch reaktionsfähige Verbindung,

bei Zimmertemperatur ein farbloses Gas, das sich unter Atmosphärendruck bei -119° zu einer Flüssigkeit verdichtet bzw. siedet, und unter -210° erstarrt. Mit Wasserstoff explodiert es wie Knallgas, wenn es mit einem elektrischen Funken gezündet wird. Mit Wasserdampf gemischt, reagiert es nach Zündung mit einem elektrischen Funken gleichfalls; man sieht bei passenden Mischungsverhältnissen eine gelbe Flamme, die in der Gasmischung verhältnismäßig langsam fortschreitet, und es entsteht ein braunes Gemisch von NO_2 und $\text{NO}_2(\text{N}_2\text{O}_5)$ neben Fluorwasserstoff. Aus der Tatsache, daß diese Reaktion freiwillig vor sich geht, läßt sich schließen, daß das NF_3 eine exotherme Verbindung ist. Über den Betrag der Bildungswärme Genaueres anzugeben, ist uns noch nicht möglich.

Der Erfolg beim Stickstoff-fluorid hat uns ermutigt, auch andere alte Versuchsreihen in der Richtung auf ein Sauerstoff- und Chlorfluorid wieder aufzunehmen. Einen wesentlichen Fortschritt haben wir bis jetzt dabei nicht erzielt. Um so dankbarer dürfte sich die Fortführung unserer Untersuchung der neuen Verbindungen erweisen, die uns noch für längere Zeit beschäftigen wird.

[A. 104.]

Über Ähnlichkeiten in der katalytischen Wirkung von Fermenten und von definierten organischen Stoffen.

Von Priv.-Doz. Dr. WOLFGANG LANGENBECK, Münster i. W.
(Eingeg. 24. Mai 1928.)

Das letzte Jahrzehnt hat uns die groß angelegten Untersuchungen über die Enzyme von R. Willstätter und seinen Schülern gebracht. Durch Anwendung von fein abgestimmten Adsorptionsmethoden ist es gelungen, eine Anzahl der wichtigsten Fermente weitgehend von unwirksamen Begleitstoffen zu befreien. Für die Physiologie war es fast noch wichtiger, daß es möglich war, die Enzyme von ihren Begleitstoffen abzutrennen, also Präparate von einheitlicher Wirkung zu gewinnen, an denen man exakt ihre physiologische Bedeutung studieren kann.

Eine bescheidenere Aufgabe ist es, auf synthetischem Wege Katalysatoren darzustellen, die in ihrer Wirkung den Enzymen ähnlich sind. Solche Stoffe kennen wir in der anorganischen Chemie bereits in großer Zahl. Seit G. Bredigs Untersuchungen über „anorganische Fermente“ wurde oft auf die Analogien zwischen der Wirkung der Fermente und der anorganischen Katalysatoren hingewiesen.

Dagegen ist die Untersuchung organischer Stoffe auf ihre enzymähnliche Wirkung merkwürdigerweise sehr vernachlässigt worden, während es doch naheliegt, gerade den organischen Katalysatoren im Hinblick auf die Enzyme ein besonderes Interesse zu widmen. Bisher sind darüber so wenige Arbeiten erschienen, daß es möglich ist, in einem kurzen Referat, wie dem vorliegenden, alle wichtigeren Ergebnisse zusammenzustellen. Hier wurden nur diejenigen Reaktionen berücksichtigt, die wenigstens äußerlich den Enzymreaktionen gleichen. Es muß aber betont werden, daß damit nicht etwa in allen Fällen eine Wesensverwandtschaft zwischen Katalysator- und Enzymwirkung angenommen werden darf. Überhaupt wird man sich vor einer Überschätzung von Modellversuchen hüten, wenn man sich klar macht, daß sie im besten Falle Möglichkeiten für den Mechanismus der entsprechenden Enzymwirkung geben. Streng genommen würde nur dann eine gewisse Wahrscheinlichkeit für eine solche Analogie bestehen, wenn es gelänge, Katalysatoren darzustellen, welche die Wirksamkeit der En-

zyme quantitativ wenigstens großenordnungsmäßig erreichen. Das ist bisher aber nicht im entferntesten gelungen. Auch die aktivsten Katalysatoren sind um viele Zehnerpotenzen schwächer wirksam als die Enzyme.

Es ist deshalb zweckmäßig, die organischen Katalysatoren nicht in zu enge Beziehung zu den Enzymen zu setzen und sie vorläufig nur vom rein chemischen Standpunkt aus zu studieren. Vielleicht gelingt es der synthetischen Chemie, die Eigenschaften der organischen Katalysatoren allmählich so zu verbessern, daß sie den Enzymen in ihrer Wirkung immer ähnlicher werden.

I. Ester- und Amidbildung.

Für unsere Aufgabe, nach veresternden, organischen Katalysatoren zu suchen, kommen natürlich nur solche Fälle in Betracht, die nicht auf einer katalytischen Wirkung der Wasserstoffionen beruhen. Heinrich Goldschmidt hat nun in einer Reihe von Arbeiten gezeigt¹⁾), daß bei der Veresterung mit schwachen Säuren als Katalysatoren nicht nur die Wasserstoffionen, sondern auch die undissoziierten Säuremoleküle katalytisch wirken.

Über die Amidbildung mit organischen Katalysatoren liegen bisher nur sehr wenige Arbeiten vor, eigentlich nur die kinetischen Untersuchungen von Heinrich Goldschmidt²⁾ über die Anilidbildung mit organischen Säuren als Katalysatoren. Goldschmidt fand, daß die Anilidbildung bei Einwirkung organischer Säuren auf Anilin ohne Katalysator eine Reaktion zweiter Ordnung ist, daß sie dagegen bei Zusatz eines Katalysators, wie Pikrinsäure, zu einer Reaktion erster Ordnung wird. Die Reaktionsgeschwindigkeit ist dann angenähert proportional der Katalysatorkonzentration. Aus dieser Proportionalität schließt Goldschmidt³⁾,

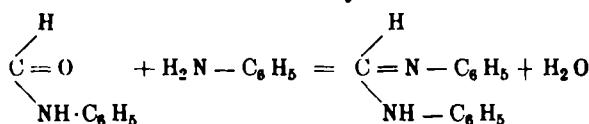
¹⁾ Ber. Dtsch. chem. Ges. 39, 711 [1906]; Ztschr. physikal. Chem. 70, 627 [1910]; Ztschr. Elektrochem. 17, 684 [1911]; Ztschr. physikal. Chem. 94, 233 [1920].

²⁾ Ztschr. physikal. Chem. 24, 353 [1897]; Ber. Dtsch. chem. Ges. 39, 97 [1906].

³⁾ Ztschr. physikal. Chem. 70, 642 [1910].

daß der katalytisch wirksame Stoff das undissozierte Anilinsalz der Katalysatorsäure ist. Wäre nämlich das Anion oder das Kation des Anilinsalzes der eigentliche Katalysator, so würde dessen Konzentration nicht proportional der Konzentration der Katalysatorsäure zunehmen, da in Anilinbasen gelöste Anilinsalze nur schwach dissoziert sind, ihr Dissoziationsgrad sich also mit der Konzentration ändert.

Von Interesse ist, daß ein organischer Katalysator nicht nur quantitativ die Geschwindigkeit der Anilinbildung erhöhte, sondern in einem Falle auch die Reaktion in Bahnen lenkte, die ohne Katalysator praktisch nicht nachzuweisen waren. Bei Anwesenheit von Pikrinsäure bleibt nämlich die Reaktion zwischen Anilin und Ameisensäure nicht beim Formanilid stehen, sondern es entsteht als Hauptprodukt Diphenylformamidin. Pikrinsäure ist also ein starker Katalysator für die Reaktion:



Diese Tatsache soll deshalb nicht unerwähnt bleiben, weil ein Enzym bekannt ist, das eine ähnliche Reaktion im umgekehrten Sinne auszulösen vermag, die Arginase⁴). Diese spaltet Arginin in Ornithin und Harnstoff, also ein Amidin der Kohlensäure in das Amid der Kohlensäure. Die Pikrinsäure bildet umgekehrt aus dem Phenylamid der Ameisensäure das entsprechende Diphenylamidin.

II. Hydrolyse der Kohlehydrate.

Außer der Saccharose ist bisher kein organischer Stoff bekannt, der Rohrzucker zu invertieren vermöchte. Die Wirkung der organischen Säuren in verdünnter Lösung ist vielmehr der Konzentration der Wasserstoffionen proportional. In der älteren Literatur findet sich nur eine vereinzelte Ausgabe von Sv. Arrhenius⁵), daß Aceton die Wasserstoffionenkatalyse etwas beschleunigt.

Dagegen sind in den letzten Jahren einige Arbeiten von W. Biedermann⁶) und H. Haehn⁷) erschienen, die sich mit der Hydrolyse der Stärke durch organische Katalysatoren bei Gegenwart von anorganischen Salzen beschäftigen.

Biedermann ging von der Tatsache aus, daß schon einfache Salzlösungen eine schwache analytische Wirkung ausüben, aber merkwürdigerweise nur dann, wenn sie durch Schütteln in möglichst innige Berührung mit Sauerstoff gebracht werden. Welche Rolle der Sauerstoff hierbei spielt, ist nicht recht verständlich, wie denn überhaupt alle in diesem Abschnitt erwähnten Arbeiten noch der Klärung bedürfen.

Die Wirkung der Salze läßt sich nun erheblich verstärken durch Zusatz von Aminosäuren, wie Glykokoll, Alanin oder Leucin. Sehr wirksam war das Gemisch von Aminosäuren, das man bei der Trypsinverdauung von Fibrin erhält. Die stärkste Förderung erfährt die Salzhydrolyse durch die albumosenähnlichen Spaltprodukte, die R. Neumeister⁸) durch Behandlung von Eiweißstoffen mit überhitztem Wasserdampf er-

⁴) A. Kossel u. H. D. Dakin, Ztschr. physiol. Chem. 41, 321 [1904].

⁵) Ztschr. physikal. Chem. 4, 235 [1889].

⁶) Biochem. Ztschr. 135, 283 [1923]; 137, 35 [1923]; Ztschr. angew. Chem. 37, 71 [1924]; Biochem. Ztschr. 150, 477 [1924].

⁷) H. Haehn, Biochem. Ztschr. 135, 587 [1923]; Ztschr. angew. Chem. 39, 1148 [1926]. H. Haehn u. H. Berentzen, Chemie Zelle Gewebe 12, 286 [1925].

⁸) Ztschr. Biol. 26, 57 [1890].

halten und als „Atmidalbumosen“ bezeichnet hat. Die Atmidalbumosen zeigen übrigens auch in ihren Fällungsreaktionen auffallende Ähnlichkeit mit den Speichelalbumosen, denen Biedermann die amylatische Wirkung des Speichels zuschreibt.

Im Anschluß an seine Beobachtung, daß molekularer Sauerstoff die Amylasewirkung fördert, hat Biedermann dann auch eine Reihe von peroxydatisch wirkenden Stoffen⁹) auf ihre amylatische Wirkung hin untersucht. Er fand, daß Hämoglobin, Hämatin und Hämin bei Gegenwart von molekularem Sauerstoff tatsächlich Stärke bis zum Verschwinden der Jodfärbung zu hydrolysierten vermögen, und zwar auch bei Abwesenheit von anorganischen Salzen. Diese Stoffe scheinen also anders zu wirken als Aminosäuren und Albumosen, die nur die Wirkung der Salze verstärken.

Zu ähnlichen Resultaten kam etwa gleichzeitig H. Haehn. Er fand ebenfalls, daß ein Gemisch von Alanin und Leucin, noch besser bei Gegenwart von Peptonen, die amylatische Wirkung von Salzlösungen erhöht. Dagegen sollen andere Aminosäuren, wie Glykokoll und Tyrosin, keine Wirkung haben. Auch scheint bei Haehns Versuchen der Sauerstoff keine Rolle zu spielen.

III. Cyanhydrin- und Acyloinbildung.

Die Cyanhydrin- und Benzoinbildung in vitro stehen in einem engen Zusammenhang, insofern, als die erstere die Vorstufe für das Zustandekommen der letzteren bildet. Unter den Fermenten vermag das Emulsin, bzw. eine seiner Komponente, die Anlagerung von Cyanwasserstoff an Benzaldehyd zu beschleunigen¹⁰). Auch die Acyloinkondensation hat eine physiologische Bedeutung bekommen, seit C. Neuberg¹¹) fand, daß Aldehyde, welche in eine gärende Zuckerlösung eingetragen werden, Acyloine bilden.

Die beschleunigende Wirkung von Ammoniak auf die Addition von Blausäure an Carbonylverbindungen hat wohl zuerst H. Kiliani¹²) beobachtet. Er fand, daß die Einwirkung von Cyanwasserstoff auf Galactose erheblich schneller stattfindet, wenn Ammoniak zugegen ist. Die analoge Beschleunigung der Blausäureaddition an ungesättigte Kohlenstoffbindungen durch organische Basen studierte E. Knoevenagel¹³). Z. B. zeigte sich, daß bei der Addition von Cyanwasserstoff an α -Phenyl-zimtsäurenitril die katalytische Wirksamkeit der organischen Basen in der nachstehenden Reihenfolge stieg: Chinolin, Amylamin, Äthylamin, Diäthylamin, Piperidin. Genaue Messungen liegen darüber bisher nicht vor.

Mit der Blausäureaddition an Benzaldehyd, die ebenfalls durch organische Basen stark beschleunigt wird, beschäftigt sich eine Arbeit von G. Bredig und Fiske¹⁴).

Die Benzoinbildung aus Benzaldehyd bei Gegenwart von Cyaniden ist von G. Bredig und E. Stern¹⁵)

⁹) Über die angeblich amylatische, peroxydatische und katalytische Wirkung des Formaldehyds vgl. G. Woker u. H. Maggi, Ztschr. allgem. Phys. 16, 340 [1914]; Ber. Dtsch. chem. Ges. 47, 1024 [1914]; 49, 2311 [1916]; 50, 679, 1188, 1189 [1917]; 51, 790 [1918]; 52, 1594 [1919]; Helv. chim. Acta 1, 433 [1918]; dazu H. Wieland, LIEBIGS Ann. 431, 306 [1923].

¹⁰) L. Rosenthaler, Biochem. Ztschr. 14, 238 [1908].

¹¹) C. Neuberg u. Hirsch, ebenda 115, 282 [1921].

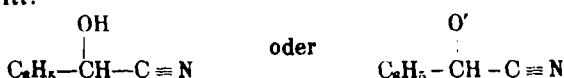
¹²) Ber. Dtsch. chem. Ges. 21, 916 [1888].

¹³) Ebenda 37, 4065 [1904]; vgl. auch A. Lapworth, Proceed. chem. Soc. 19, 189 [1903].

¹⁴) Biochem. Ztschr. 46, 7 [1912].

¹⁵) G. Bredig u. E. Stern, Ztschr. Elektrochem. 10, 582 [1904]. E. Stern, Ztschr. physikal. Chem. 50, 513 [1906].

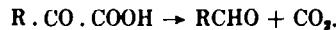
einer gründlichen kinetischen Untersuchung unterzogen worden, die über den Reaktionsmechanismus wenigstens in der Hauptsache Aufschluß gibt. Die Reaktion erwies sich, wie zu erwarten, als bimolekular. Die Reaktionskonstante war der Konzentration des Cyankaliums in weiten Grenzen proportional¹⁶⁾. Blausäure allein beschleunigte die Benzoinbildung nicht, ebensowenig Alkalien allein. Um eine starke, katalytische Wirkung hervorzubringen, ist also die gleichzeitige Anwesenheit von Cyanwasserstoff und Alkali erforderlich. Bredig und Stern glauben deshalb, daß die Cyan-*ionen* das katalytisch wirksame Agens sind. Sie lassen die Frage offen, ob das Benzaldehyd-cyanhydrin oder das entsprechende Cyanhydrin-*ion* als Zwischenprodukt auftritt:



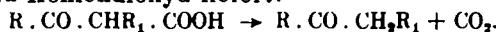
Die letztere Auffassung halten sie für die wahrscheinlichere. Mit ihr steht auch eine Arbeit von Lapworth¹⁷⁾ in Einklang, dem es gelang, ein Additionsprodukt von Benzaldehyd und Cyankalium, also das Kaliumsalz des Mandelsäurenitrils, zu isolieren.

IV. Decarboxylierung.

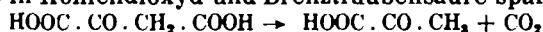
Die Abspaltung von Kohlendioxyd aus organischen Carbonsäuren hat ein besonderes physiologisches Interesse gewonnen durch die Entdeckung von Neuberg, daß ein Kohlendioxyd abspaltendes Ferment, die Carboxylase, eine Komponente des Gärungsenzyms darstellt. Die Carboxylase vermag α -Ketosäuren, wie Brenztraubensäure, in Aldehyde und Kohlendioxyd zu spalten:



Wir kennen auch definierte, organische Stoffe, welche die Abspaltung von Kohlendioxyd aus Ketosäuren beschleunigen, nämlich die organischen Basen. Allerdings darf man dabei nicht vergessen, daß es sich hier um die Spaltung von β -Ketosäuren handelt, die Ketone und Kohlendioxyd liefert:



Es ist durchaus nicht sicher, daß die Spaltung von α - und β -Ketosäuren in ihrem Mechanismus verwandt ist. Die decarboxylierende Wirkung organischer Basen ist eher der Wirkung jener Fermente analog, die Oxalessigsäure in Kohlendioxyd und Brenztraubensäure spalten¹⁸⁾:



Aber da wir über den Mechanismus der enzymatischen Decarboxylierung von α -Ketosäuren nichts wissen, so ist es wichtig, zuerst die einfachere, katalytische Spaltung der β -Ketosäuren zu studieren.

Hierin ist ein wertvoller Anfang von G. Bredig, R. W. Balcom und R. A. Joyner¹⁹⁾ gemacht wor-

¹⁶⁾ S. F. Acree (Amer. Chem. Journ. 48, 368 [1912]) schließt daraus, daß das undissozierte Cyankalium-Molekül der eigentliche Katalysator ist.

¹⁷⁾ A. Lapworth, Journ. chem. Soc. London 85, 1206 [1904].

¹⁸⁾ C. Neuberg u. Karczag, Biochem. Ztschr. 36, 73 [1911]. P. Mayer, ebenda 50, 283 [1913]; 62, 402 [1914]. H. Wieland u. A. Winger, LIEBIGS Ann. 436, 231 [1924].

¹⁹⁾ Ber. Dtsch. chem. Ges. 41, 740 [1908]; Ztschr. Elektrochem. 24, 265 [1918]. — Über die Spaltung der Oxalessigsäure bzw. Acetondicarbonsäure durch Anilin: Claußner, Dissertation, Danzig 1907, S. 42. R. Willstätter, LIEBIGS Ann. 422, 6, 14 [1921]. — Über die analoge Spaltung der Phenolcarbonsäuren: Kupferberg, Journ. prakt. Chem. (2) 16, 441 [1877]. Lauth, Bull. Soc. chim. France (3) 9, 971 [1893]. Cazeneuve, ebenda (3) 7, 550 [1892]; 15, 72 [1896]. A. Reissert, Ber. Dtsch. chem. Ges. 44, 867 [1911]. v. Hemmelmayr, Monatsh. Chem. 34, 365 [1913]. L. Claisen, LIEBIGS Ann. 418, 76 [1918].

den. Sie untersuchten die katalytische Wirkung einer größeren Anzahl von organischen Basen auf Campho-carbonsäure, und zwar in verschiedenen Lösungsmitteln.

Die Arbeit von Bredig und Joyner hatte das wichtige Ergebnis, daß die katalytische Wirkung der organischen Basen anscheinend mit ihrer Fähigkeit parallel geht, saure Salzkomplexe zu bilden. Danach ist auch die katalytische Wirkung in denjenigen Lösungsmitteln am stärksten, in denen die Bildung der sauren Salze am meisten begünstigt ist.

V. Stereochemische Spezifität.

Die Fermente haben die Eigenschaft, die beiden Antipoden eines asymmetrischen Stoffes im allgemeinen mit verschiedener Geschwindigkeit anzugreifen. Ebenso bilden sie bei der Synthese von asymmetrischen Stoffen aus symmetrischem Material gewöhnlich den einen Antipoden in überwiegender Menge. Man nennt diese Eigenschaft der Fermente bekanntlich ihre „stereochemische Spezifität“ und glaubte lange Zeit, daß sie eins der wesentlichen Merkmale wäre, welche die Fermente von den einfachen Katalysatoren unterschieden. Erst G. Bredig und seinen Schülern gelang es, die stereochemische Spezifität auch an chemisch definierten Katalysatoren nachzuweisen.

Als Beispiele dienten die asymmetrische Spaltung der Campho-carbonsäure und der Brom-campho-carbonsäure mit Hilfe optisch aktiver Basen²⁰⁾, ferner der Fall einer asymmetrischen Synthese, nämlich die Bildung von optisch aktivem Mandelsäurenitril, ebenfalls unter der katalytischen Wirkung optisch aktiver Basen²¹⁾.

VI. Peroxydatische und katalytische Wirkung.

Die peroxydatische Wirkung des Oxyhämoglobins ist viel untersucht worden²²⁾ und besitzt sogar eine gewisse praktische Bedeutung zum Blutnachweis. Das Verhältnis des Blutfarbstoffes zu den peroxydatischen Enzymen ist aber erst durch eine genaue, quantitative Untersuchung von R. Willstätter festgestellt worden.

Die Übertragung von peroxydischem Sauerstoff durch Oxyhämoglobin mehrerer Tierarten wurde an dem System Hydroperoxyd + Pyrogallol gemessen, das auch bei den Aktivitätsmessungen der pflanzlichen Peroxydase verwandt worden war. Bei Gegenwart des Enzyms oder des Oxyhämoglobins wird das Pyrogallol zu einem Farbstoff, dem Purpurogallin, oxydiert, das sich leicht colorimetrisch bestimmen läßt.

Wenn 100 mg Oxyhämoglobin mit 50 mg Hydroperoxyd auf 5 g Pyrogallol 5 Minuten lang einwirkt, so ergab

Oxyhämoglobin aus Pferdeblut . .	15,2 mg	Purpurogallin
" Hundeblut . .	11,5 mg	"
" Rinderblut . .	11,4 mg	"
" Schweineblut . .	9,3 mg	"

Die verschieden starke Wirkung von Oxyhämoglobinen beruht wahrscheinlich auf Unterschieden im Bau der Globine. Diese zeigen sich auch sonst in charakteristischen Besonderheiten der Kristallform und der Löslichkeit. Es wäre wichtig, zu wissen, welche konsti-

²⁰⁾ G. Bredig u. K. Fajans, Ber. Dtsch. chem. Ges. 41, 752 [1908]. K. Fajans, Ztschr. physikal. Chem. 73, 25 [1910]. H. I. M. Creighton, ebenda 81, 543 [1913].

²¹⁾ B. Bredig u. P. S. Fiske, Biochem. Ztschr. 46, 7 [1912].

²²⁾ R. Willstätter u. A. Stoll, LIEBIGS Ann. 416, 62 [1917]. R. Willstätter u. A. Pollinger, Ztschr. physiol. Chem. 130, 281 [1923]; dort ist auch die ältere Literatur angeführt.

tutionellen Eigentümlichkeiten im Globinmolekül eine Verstärkung der peroxydatischen Wirkung des Hämoglobinmoleküls hervorrufen.

Ein Vergleich der peroxydatischen Wirkung des Oxyhämoglobins mit derjenigen gereinigter, pflanzlicher Peroxydäsen zeigte, daß qualitativ die Wirkung ähnlich ist, daß aber der Blaufarbstoff ein viel schwächerer Katalysator ist als die Peroxydäsen.

R. Kuhn und L. Brann²³⁾ haben dann Willstätters Untersuchungen fortgesetzt. Sie fanden, daß chemische Veränderungen im Molekül des Hämoglobins eine große Änderung in der katalytischen Wirkung hervorrufen. Abspaltung des Globinrestes unter Bildung von Häm hat eine starke Verminderung der peroxydatischen Wirksamkeit zur Folge, wenn man Lösungen von gleichem Eisengehalt vergleicht. Dabei spielt die Art, wie man das Häm in Lösung bringt, eine Rolle. In wässriger Pyridinlösung ist es stärker aktiv als in wässriger Dinatriumphosphatlösung. Kohlenoxyd-hämoglobin hat merkwürdigerweise dieselbe peroxydatische Wirkung wie Oxyhämoglobin. Dies kann entweder darauf beruhen, daß das Wasserstoffperoxyd das Kohlenoxyd verdrängt, oder daß es sich an eine andere Stelle an das Hämoglobinkernmolekül anlagert.

Anlagerung von zwei Mol. Wasserstoff an das Häm (Übergang in Mesohäm) bewirkt eine starke Verlagerung des pH-Optimums. Während Häm bei pH = 5 seinen Optimalpunkt hat, wirkt Mesohäm bei dieser Wasserstoffionenkonzentration fast gar nicht, bei pH = 6,5 dagegen stärker als Häm. Endlich bei der Veresterung der Carboxylgruppen (Übergang in Monomethylchlorhäm nach W. Küster) oder bei der Herausnahme des Eisens (Porphyrine) erlischt die peroxydatische Wirkung fast völlig.

Während reines Oxyhämoglobin keine Spur Hydroperoxyd zersetzt, tritt beim Häm eine starke katalytische Wirkung zutage. Häm wirkt also sowohl peroxydatisch wie katalatisch. Monomethylchlorhäm und die Porphyrine vermögen dagegen kein Wasserstoffperoxyd zu zersetzen.

Endlich ist noch eine Arbeit von H. v. Euler und K. Josephson²⁴⁾ zu erwähnen, in der die Affinitätskonstante der intermediären Häm-hydroperoxyd-verbindung berechnet und mit derjenigen einer gereinigten Katalase verglichen wird. Aus der Abhängigkeit der katalytischen Aktivität von der Konzentration des Hydroperoxyds wird berechnet, daß Wasserstoffperoxyd zum Häm eine größere Affinität hat als zur Katalase. Die viel schwächere katalytische Wirksamkeit des Hämins erklären die Autoren durch die Annahme, daß die Häm-hydroperoxyd-verbindung reaktionsträger ist als die entsprechende Katalase-hydroperoxyd-verbindung.

VII. Dehydrierung.

In diesem Abschnitt sollen Reaktionen besprochen werden, die in Übereinstimmung mit der Wielandschen Dehydrierungstheorie²⁵⁾ zweifellos auf einer Aktivierung von organisch gebundenem Wasserstoff beruhen.

Definierte, organische Substanzen, welche Dehydrierungsvorgänge katalysieren, fanden zum ersten Male

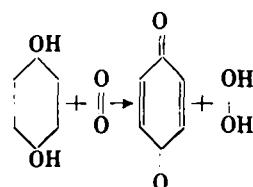
²³⁾ Ber. Dtsch. chem. Ges. 59, 2370 [1926]; Ztschr. physiol. Chem. 168, 27 [1927]. Vgl. ferner A. Bach u. A. Kultjugian, Biochem. Ztschr. 167, 227 [1926].

²⁴⁾ LIEBIGS Ann. 456, 111 [1927].

²⁵⁾ Zusammenfassungen: H. Wieland, Ber. Dtsch. chem. Ges. 55, 3639 [1922]. Ergebnisse d. Physiol. 20, 477 [1922]. Oppenheimer, Handbuch d. Biochemie, 2. Aufl., Bd. II, S. 252 [1925].

H. v. Euler und I. Bolin²⁶⁾. Neutralsalze von aliphatischen Oxsäuren, zusammen mit Mangansalzen, vermögen Hydrochinon zu Chinon zu dehydrieren, wenn Sauerstoff als Akzeptor zugegen ist. Kurze Zeit darauf berichteten dieselben Autoren, daß die von G. Bertrand beschriebene „Laccase“ aus *Medicago sativa* nichts weiter ist als ein Gemisch von Calciumsalzen verschiedener aliphatischer Oxy- und Oxosäuren. Glykolsäure, Äpfelsäure und Mesoxalsäure wurden nachgewiesen. Bei den Messungen der Sauerstoffabsorption wurde besonderer Wert auf neutrale oder schwach saure Reaktion gelegt. In alkalischer Lösung vermögen ja schon Mangansalze allein, ohne weiteren Katalysator, Hydrochinon durch Sauerstoff zu oxydieren.

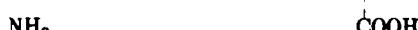
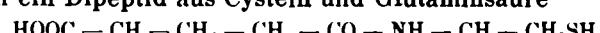
H. Wieland und F. G. Fischer²⁷⁾ wiesen dann nach, daß bei der Umsetzung von Hydrochinon mit Sauerstoff bei Gegenwart von Calciumglykolat und Mangansalzen in fast quantitativer Ausbeute Hydroperoxyd entsteht. Dadurch wurde diese Reaktion eindeutig den Dehydrierungen zugeordnet. Sie verläuft also nach folgendem Schema:



Außer dieser Umsetzung der Phenole kennt man noch zwei Gruppen von Dehydrierungen²⁸⁾, die durch organische Katalysatoren beschleunigt werden. Es sind die Reaktionen des Glutathions und die katalytische Dehydrierung der Aminosäuren nach dem Schema der Streckerschen Reaktion. Beiden Katalysen ist gemeinsam, daß die Aktivierung des Wasserstoffs besonders anschaulich beobachtet werden kann.

Der Katalysator übernimmt nämlich hierbei den inaktiven Wasserstoff vom Substrat (dem sogenannten „Wasserstoffdonator“), wobei er selbst natürlich hydriert wird. In der neuen organischen Bindung am Katalysator ist der Wasserstoff aber aktiv geworden, so daß er seinerseits andere Wasserstoffakzeptoren zu hydrieren vermag. Dadurch wird der Katalysator wieder dehydriert, und das Spiel kann von neuem beginnen.

Von den Reaktionen der schwefelhaltigen Katalysatoren interessieren uns hier nur diejenigen, die sicher ohne Hilfe eines Enzyms vor sich gehen²⁹⁾. F. G. Hopkins³⁰⁾ fand, daß gekochter, also sicher enzymfreier Muskelbrei Sauerstoff aufnimmt. Bei der weiteren Untersuchung zeigte sich, daß der Katalysator dieser Reaktion ein Dipeptid aus Cystein und Glutaminsäure



²⁶⁾ Ztschr. physiol. Chem. 57, 80 [1908]; 61, 1, 72 [1909]; Ztschr. physikal. Chem. 69, 187 [1910]. Da diese Katalysatoren vor Bekanntwerden der Wielandschen Theorie entdeckt wurden, wurde ihre Wirkung als „oxydatische“ aufgefaßt.

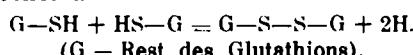
²⁷⁾ Ber. Dtsch. chem. Ges. 59, 1188 [1926].

²⁸⁾ Eine Dehydrierung ist vielleicht auch eine von H. Haeuhn u. A. Püllz (Chemie Zelle Gewebe 12, 65 [1924]; Ztschr. angew. Chem. 39, 1148 [1926]) beobachtete Reaktion, die derjenigen des Schardinger-Enzyms ähnelt. Aminosäuren und Phosphate beschleunigen die Hydrierung des Methylenblaus durch Aldehyde. Aufgeklärt ist der Reaktionsmechanismus noch nicht.

²⁹⁾ Über die verschiedenen Reaktionen der „Thiosysteme“ vgl. Oppenheimer-Kuhn, Die Fermente, 5. Aufl., Bd. II, S. 1270.

³⁰⁾ Journ. biol. Chemistry 54, 527 [1922].

ist, das von Hopkins „Glutathion“ genannt wurde. Die katalytische Wirkung des Glutathions ist ziemlich übersichtlich. Von Sauerstoff oder Methylenblau wird nämlich seine Sulfhydrylgruppe unter Austritt von zwei Wasserstoffatomen in die Disulfidgruppe umgewandelt, nach dem Schema:



Der Wasserstoff wird dabei von dem Sauerstoff oder dem Methylenblau aufgenommen, das Disulfid wird dann wieder durch den Muskelbrei hydriert.

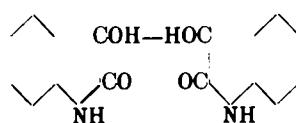
In diesem Zusammenhange ist übrigens eine Arbeit von O. Warburg und S. Sakuma³¹⁾ wichtig, aus der hervorgeht, daß die Oxydation des Cysteins zum Cystin durch Sauerstoff nur bei Gegenwart von Spuren Eisen vor sich geht. Dasselbe muß man für alle ähnlichen Stoffe mit Sulfhydrylgruppen annehmen, also auch für das Glutathion.

E. Abderhalden und E. Werteheim³²⁾ untersuchten die Dehydrierung von Eiweiß durch einen ähnlichen Katalysator, das Diglycyl-1-cystin, und fanden, daß durch gekochtes Eiweiß bei Gegenwart des Katalysators Methylenblau entfärbt wird, durch ungekochtes dagegen nicht. Dieser Unterschied beruht vielleicht auf der Gegenwart freier Sulfhydrylgruppen im gekochten Eiweiß.

Unbefriedigend bei den Modellversuchen mit Thiosystemen ist der Umstand, daß der Wasserstoffdonator kein chemisch definierter Stoff ist. Es war deshalb wünschenswert, Reaktionen aufzufinden, bei denen auch diese Bedingung erfüllt ist, um auf diese Weise die Aktivierung von organisch gebundenem Wasserstoff exakter studieren zu können.

Als Wasserstoffdonatoren schienen für diesen Zweck die α -Aminosäuren sehr geeignet, da seit langem bekannt ist, daß sie durch einige organische Stoffe leicht dehydriert werden. Solche Stoffe sind nach A. Strecke³³⁾ das Alloxan, nach W. Traube³⁴⁾ das Chinon und das Isatin und nach S. Ruhemann³⁵⁾ Triketohydrindenhydrat („Ninhydrin“).

Die Streckersche Reaktion wurde vom Verfasser³⁶⁾ weiter untersucht, und zwar an dem Beispiel der Einwirkung von Isatin auf Aminosäuren. In diesem Falle ist das Auftreten von α -Iminosäuren als Zwischenprodukte anzunehmen. Welches Reaktionsprodukt des Isatins dabei entsteht, war bisher nicht aufgeklärt worden. Traube³⁴⁾ beobachtete einen stark gefärbten, harzigen Niederschlag. Arbeitet man aber statt in wässriger in stark essigsaurer Lösung, so wird die Bildung eines amorphen Niederschlags vermieden, und es kristallisiert Isatyd aus, das pinakonartige Reduktionsprodukt des Isatins:



Nach dieser Feststellung war es eigentlich selbstverständlich, daß man mit einer kleinen Menge Isatin bei Gegenwart von Sauerstoff eine beliebige Menge von Aminosäure würde abbauen können. Es ist ja bekannt, daß Isatyd sich an der Luft leicht wieder zu Isatin oxydiert. Tatsächlich kann man bei Luftzutritt leicht

³¹⁾ O. Warburg u. S. Sakuma, Pflügers Archiv 200, 203 [1923]. S. Sakuma, Biochem. Ztschr. 142, 68 [1923].

³²⁾ Pflügers Archiv 200, 175 [1923].

³³⁾ LIEBIGS Ann. 123, 363 [1862].

³⁴⁾ Ber. Dtsch. chem. Ges. 44, 3145 [1911].

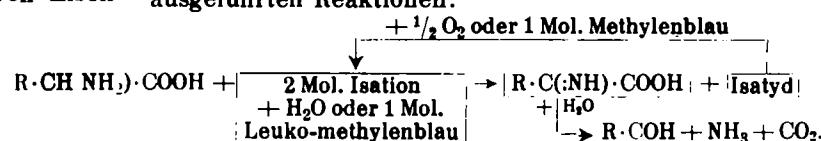
³⁵⁾ Journ. chem. Soc. London 97, 2025 [1910]; 99, 792 [1911].

³⁶⁾ Ber. Dtsch. chem. Ges. 60, 990 [1927].

mehrere Moleküle Aminosäure mit einem Mol. Isatin dehydrieren, während bei Ausschluß von Luft zwei Mol. Isatin nur ein Mol. Aminosäure abbauen.

Besonders bemerkenswert ist nun die Beobachtung, daß man die Reaktion auch bei Ausschluß von Sauerstoff mit Methylenblau als Wasserstoffakzeptor ausführen kann. Das beruht auf der Fähigkeit des Isatyd, Methylenblau zur Leukoverbindung zu hydrieren. Dabei wird das Isatyd natürlich wieder zum Isatin dehydriert. Auch Phenanthrenchinon ist als Akzeptor sehr geeignet. Es dehydriert an sich Aminosäuren nicht, vermag aber den Wasserstoff vom Isatyd zu übernehmen, wobei Phenanthrenhydrochinon bzw. -chinchydrin entsteht.

Das folgende Schema gibt eine Übersicht über die ausgeführten Reaktionen:



Als Maß für die Reaktionsgeschwindigkeit diente bei den Versuchen mit Sauerstoff als Akzeptor die Bestimmung der entstandenen Ammoniakmenge, in einem Falle auch die der Aldehydmenge. Jedem Mol. Ammoniak oder Aldehyd entspricht ein Mol. zersetzer Aminosäure. Bei den Versuchen mit Methylenblau wurde die Zeit bis zum Verschwinden der blauen Farbe gemessen. Die Entfärbungsgeschwindigkeit geht mit der Konzentration des Katalysators parallel, ist ihr aber natürlich nicht streng proportional. Die Geschwindigkeit steigt langsamer als die Konzentration des Katalysators.

Isatin erwies sich als ein verhältnismäßig schwacher Katalysator. Zum Beispiel wurden durch ein Mol. Isatin in 10 Stunden bei 100° 7,7 Mol. Alanin zersetzt, wenn ein Luftstrom durch eine Lösung geleitet wurde, die 0,2% Isatin und 2% Alanin enthielt. Mit Methylenblau als Akzeptor verläuft die Reaktion wesentlich rascher. In jedem Falle ist die Regenerierung des Katalysators, sei es durch Sauerstoff oder Methylenblau, die langsamer verlaufende Reaktion, sie bestimmt also die Geschwindigkeit der Katalyse.

Ferner wurden Versuche angestellt über den Einfluß der Substitution auf die Aktivität des Isatins als Dehydrierungskatalysator³⁷⁾. Zur Bestimmung der Reaktionsgeschwindigkeit diente dabei ausschließlich die bequeme Messung der Entfärbungsgeschwindigkeit von Methylenblau. Es ergab sich, daß Substitution des Imidwasserstoffatoms nur einen geringen Einfluß ausübt. Die Isatin-1-essigsäure ist ein etwas schwächerer Katalysator als das Isatin selbst.

Isatinderivate	g	ccm Eis- essig	g Ala- nin	ccm /100 Methbl.	t	Ent- färbungs- zeit
Isatin	0,15	5	0,5	5	40	4,5 Std.
Isatinessigsäure .	0,20	5	0,5	5	40	6 "
Isatin	0,07	10	0,5	5	70	14,5 Min.
Bromisatin	0,11	10	0,5	5	70	6 "
Bromisatin	0,11	10	0,5	5	70	6 "
Dibromisatin . . .	0,15	10	0,5	5	70	5 "
Isatin	0,073	10	0,5	5	70	18,5
Chlorisatin	0,090	10	0,5	5	70	5,5 "
Isatin	0,073	10	0,5	5	70	17
Isatinsulfosaures K	0,141	10	0,5	5	70	7,5 "

Dagegen wird zur Einführung von Halogen oder der Sulfogruppe in den Benzolkern des Isatins dessen Aktivität um das 2-3fache erhöht, wenn man äquimolekulare

³⁷⁾ Ber. Dtsch. chem. Ges. 61, 942 [1928].

Lösungen vergleicht. Die nebenstehende Tabelle enthält die experimentellen Ergebnisse.

Gewiß ist diese Steigerung der Aktivität durch Substitution bisher nur gering. Sie beweist aber, daß es grundsätzlich möglich ist, von einem Grundstoff ausgehend, zu aktiveren Präparaten zu gelangen.

Betrachten wir zum Schluß die Möglichkeiten, die für die Auffindung weiterer organischer Katalysatoren bei der Dehydrierung der Aminosäuren bestehen. Solche Stoffe müssen folgende Bedingungen erfüllen:

1. Die dehydrierte Form muß leicht mit Aminosäuren reagieren,
2. Die hydrierte Form muß leicht mit Methylenblau reagieren.

3. Die Gleichgewichte beider Reaktionen müssen weit nach der Seite der Aminosäurendehydrierung bzw. der Methylenblauhydrierung liegen.

Stoffe, die diesen drei Bedingungen zu gleicher Zeit genügen, sind natürlich selten, da die Wahrscheinlichkeit für ein solches Zusammentreffen außerordentlich gering ist. Bis jetzt konnte auch trotz zahlreicher Versuche außer dem Isatin und seinen Derivaten keine organische Verbindung gefunden werden, die als Katalysator brauchbar wäre. Die Auffindung solcher Stoffe muß auch weiter vom Zufall abhängen, wenn es nicht gelingt, Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und Dehydrierungsvermögen aufzudecken. [A. 100.]

Über die Reaktion von Malonitril mit α -Naphthochinon.

Von Dr. W. KESTING.

Laboratorium der Arti-Aktiengesellschaft, Barmen.

(Eingeg. 21. Mai 1928.)

In einer früheren Mitteilung¹⁾ wurde eine Methode beschrieben, die eine Reaktion von Malonitril mit α -Naphthochinon zum Nachweis geringer Unterschiede in den Wasserstoffionenkonzentrationen zweier Lösungen verwertet. Die vorliegende Arbeit hatte das Ziel, den chemischen Verlauf dieser Reaktion aufzuklären.

Eine zusammenfassende Beschreibung der charakteristischen Einzelheiten des Reaktionsverlaufes möge voraufgeschickt werden. Wenn man Malonitril und α -Naphthochinon in wässriger Lösung zusammengibt, so tritt nach kurzer Zeit eine sehr intensive, schöne Blaufärbung der Lösung ein. Da sich sowohl Malonitril als auch α -Naphthochinon nur wenig in Wasser lösen, kann man den Versuch besser in der Weise ausführen, daß man die beiden Komponenten in Alkohol löst und die Lösungen in Wasser zusammengibt, oder auch so, daß man die Komponenten in Äther löst, das ätherische Lösungsgemisch mit Wasser unterschichtet und von Zeit zu Zeit gut durchschüttelt. Das Wasser nimmt dann allmählich die blaue Farbe an, die an Intensität immer mehr zunimmt. Auch in alkoholischer Lösung tritt die Reaktion ein. In ätherischer Lösung erfolgt hingegen die Reaktion nicht, auch nicht bei längerem Stehenlassen. Die Blaufärbung tritt in wässriger Lösung nur dann auf, wenn das Wasser ungefähr neutral reagiert. Säuert man das Wasser vorher an, so tritt die Reaktion nicht ein, auch nicht bei längerem Stehenlassen oder Erwärmen. Ist das Wasser stark alkalisch, so tritt statt der erwähnten Blaufärbung lebhafte, etwas opaleszierende Grünfärbung auf.

Wenn man die blaue neutrale Lösung nachträglich mit einer Säure versetzt, so schlägt die blaue Farbe augenblicklich nach Rot um, es scheidet sich in der Lösung danu ein roter, amorpher Niederschlag aus, der sich mit schöner, leuchtend roter Farbe leicht in Äther aufnehmen läßt. Unterschichtet man diese ätherische Lösung mit neutralem Wasser, so geht die Substanz allmählich wieder mit der ursprünglichen blauen Farbe in das Wasser. Wenn man die blaue wässrige Lösung stark alkalisch macht, so schlägt die blaue Farbe fast augenblicklich in die schon erwähnte grüne Farbe um. Durch Neutralisieren oder Ansäuren geht diese nicht mehr in die blaue über. Die grüne alkalische Lösung ist nicht lange beständig, die Lösung nimmt nach einiger Zeit intensive braune Farbe an.

Alle Versuche, die gefärbten Verbindungen aus den wässrigen Lösungen zu isolieren, führen zu keinem

brauchbaren Resultat. Auch bei ganz vorsichtigem Eindampfen erhält man immer nur mehr oder weniger stark verharzte Rückstände, die kaum als einheitliche Substanz anzusprechen sind, und aus denen sich auch durch Umkristallisieren keine einheitlichen Körper gewinnen lassen. Auch das leicht in Äther gehende rote Säureumwandlungsprodukt läßt sich, wie weiter unten ausführlicher beschrieben wird, nur unter besonderen Vorsichtsmaßregeln unverändert aus dem Äther abscheiden.

Ein wohldefiniertes Reaktionsprodukt, das in naher Beziehung zu dem wässrigen Reaktionsprodukt steht, und dessen Zusammensetzung zugleich auch Aufschluß über den Verlauf der Reaktion zwischen Malonitril und α -Naphthochinon in wässriger Lösung gibt, konnte aber erhalten werden durch Einleiten von Ammoniakgas in das ätherische Lösungsgemisch der beiden Komponenten. Wie schon erwähnt, reagiert Malonitril mit α -Naphthochinon in ätherischer Lösung nicht ohne weiteres; wenn man aber trockenes Ammoniakgas in die Lösung einleitet, so fällt eine in trocknem Zustand violette, pulverförmige, nicht kristalline Substanz aus. Dieses Reaktionsprodukt läßt sich zwar auch nicht umkristallisieren, da es bei allen diesbezüglichen Versuchen stets in beträchtlichem Maße verharzt. Bei Verwendung von reinem Ausgangsmaterial ist es aber nach gutem Auswaschen mit Äther analysenrein. Es läßt sich leicht in beliebigen Mengen gewinnen. Die Substanz ist ein Additionsprodukt von Malonitril, Naphthochinon und Ammoniak, und setzt sich nach der Elementaranalyse aus je 1 Mol dieser 3 Komponenten zusammen. Es ist anzunehmen, daß bei der Reaktion das Malonitril-Molekül sich mit einer CN-Gruppe an eines der mit Wasserstoff verbundenen C-Atome des Chinonringes anlagert, wobei es zur Bildung einer Ketiminogruppe kommt (I).

Es wäre auch an eine Anlagerung des Methylen-Kohlenstoffatoms an eines der mit Sauerstoff verbundenen C-Atome des Chinons zu denken, unter Aufführung der Doppelbildung und Chinol-Bildung, doch sprechen die Eigenschaften des Körpers nicht für eine solche Chinol-Bildung. Die Chinole sind bekanntlich farblos, während die vorliegende Substanz äußerst intensiv gefärbt ist. Für die Einlagerung in β -Stellung spricht auch die leichte Beweglichkeit der Wasserstoff-Atome im Chinonring.

Die Reaktion ist demnach im wesentlichen der von Sonn²⁾ beschriebenen Reaktion zwischen Malonitril

¹⁾ Ber. Dtsch. chem. Ges. 50, 1292 [1917].

²⁾ Ztschr. angew. Chem. 41, 958 [1928].