

# ANGEWANDTE CHEMIE

45. Jahrgang, S. 1-32

Inhaltsverzeichnis: Siehe Anzeigenteil S. 5

2. Januar 1932, Nr. 1

## Das sauerstoffübertragende Ferment der Atmung.

Von Prof. Dr. OTTO WARBURG,

Kaiser Wilhelm-Institut für Zellphysiologie, Berlin-Dahlem.

Nobelvortrag, Stockholm, 10. Dezember 1931.

(Eingeg. 7. Dezember 1931.)

Wenn in der älteren biochemischen Literatur von Sauerstoffübertragung durch Eisen die Rede ist, so ist im allgemeinen das Blutfarbstoffeisen gemeint, das den molekularen Sauerstoff von den Lungen nach anderen Teilen des Körpers überträgt. Der Irrtum, Blutfarbstoffeisen verbrenne die Nahrungsstoffe, übertrage also Sauerstoff nicht nur räumlich, sondern auch katalytisch-chemisch, ist der Inhalt der Liebigschen Theorie der Respiration. „Die Blutkörperchen“ — sagt Liebig — „enthalten eine Eisenverbindung, kein anderer Bestandteil der lebendigen Substanz enthält Eisen.“

Daß Eisen in allen Zellen vorkommt, daß es lebenswichtig ist, und daß es der Oxydationskatalysator der Zellatmung ist, wurde erst in der neueren Zeit erkannt. Es ist der Valenzwechsel einer Eisenverbindung — des sauerstoffübertragenden Ferments der Atmung —, auf dem die katalytische Oxydation in der lebendigen Substanz beruht.

Die Konzentration des Fermenteisens in der lebendigen Substanz ist sehr klein, von der Größenordnung 1 g : 10 Millionen g Zellsubstanz. Da die Wirkungen des Eisens groß sind, so folgt, daß Oxydation und Reduktion des Fermenteisens außerordentlich schnell verlaufen. In der Tat reagiert fast jedes Sauerstoffmolekül, das in der atmenden Zelle mit einem Fermenteisenatom zusammenstößt. Das Fermenteisen erfüllt so seine Aufgabe in fast vollkommener Weise. Der für einen gegebenen Umsatz notwendige Reaktionsraum ist auf das physikalisch mögliche Minimum reduziert, und nur die räumliche Ausdehnung der Moleküle setzt eine Grenze für die Scheidung von Reaktion und Nichtreaktion in der Mikrostruktur des Lebendigen. Dies ist der physiologische Sinn der großen Reaktionsfähigkeit der Zellfermente oder der Tatsache, daß die Fermentkonzentrationen in der Zellsubstanz sehr klein sind.

### Mechanismus der Zellatmung.

Von den beiden an der Sauerstoffübertragung beteiligten Vorgängen, der Oxydation des Fermenteisens und der Reduktion des Fermenteisens, ist der erste nicht problematisch. Wie in der Zelle, so reagiert komplex gebundenes zweiwertiges Eisen im Reagensglas mit molekularem Sauerstoff. Die Primärreaktion der Atmung kann mit reinen Stoffen bekannter Zusammensetzung im Reagensglas nachgeahmt werden. Indessen ist es heute noch nicht möglich, dreiwertiges Eisen durch die Brennstoffe der Zelle im Reagensglas zu reduzieren. Immer braucht man dazu noch einen Stoff unbekannter Zusammensetzung, ein Ferment, das die Brennstoffe für den Angriff des Eisens aktiviert. Es ist daraus zu schließen, daß in der atmenden Zelle dem Angriff des Fermenteisens eine Aktivierung der Brennstoffe vorausgeht, ein Vorgang, der in der Theorie von Wieland und Thunberg die „Wasserstoffaktivierung“ ist, und der, nach einer Arbeit mit

W. Christian, eine Spaltung ist, vergleichbar den als Gärung bekannten Spaltungen.

Es kann sein, daß mit dem Zusammenspiel von spaltendem Ferment und sauerstoffübertragendem Ferment der Mechanismus der Zellatmung noch nicht vollständig erfaßt ist; daß dasjenige Eisen, das mit dem molekularen Sauerstoff reagiert, die aktivierte Brennstoffe nicht direkt oxydiert, sondern auf dem Umweg über noch andere Eisenverbindungen, die drei nicht autoxydabeln MacMunnischen Zellhämme, die nach den spektroskopischen Beobachtungen von MacMunn und von Keilin in lebenden Zellen vorkommen und bei Abschluß von Sauerstoff in der Zelle reduziert werden. Ob die MacMunnischen Hämme auf dem normalen Weg der Atmung liegen — ob also die Atmung nicht eine einfache, sondern eine vierfache Eisenkatalyse ist —, ist eine Frage, die wir heute nicht beantworten können. Die vorliegenden spektroskopischen Beobachtungen sind auch mit der Auffassung vereinbar, daß die MacMunnischen Hämme nur dann in der Zelle reduziert werden, wenn infolge von Sauerstoffmangel die Konzentration der aktivierten Brennstoffe über das physiologische Maß hinausgeht.

Damit ist zur Genüge hervorgehoben, daß die Sauerstoffübertragung durch das Eisen des sauerstoffübertragenden Ferments nicht der Inbegriff der Atmung ist. Zur Atmung gehört nicht nur sauerstoffübertragendes Ferment und Brennstoff, sondern sauerstoffübertragendes Ferment und die lebende Zelle.

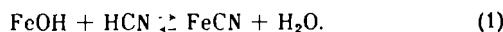
### Hemmungstechnik.

Bei der Untersuchung der chemischen Konstitution des sauerstoffübertragenden Ferments ist auf die gebräuchlichen Methoden der analytischen Chemie verzichtet worden, da sie bei der fast unendlich kleinen Konzentration des Ferments und der Empfindlichkeit des Ferments aussichtslos schienen. An ihre Stelle trat die „Hemmungstechnik“. Man sucht Substanzen, die spezifisch und reversibel die Wirksamkeit des sauerstoffübertragenden Ferments — das heißt die Oxydation der lebendigen Substanz — hemmen. Da es nicht anders sein kann, als daß ein Stoff, der das Ferment inaktiviert, mit dem Ferment chemisch reagiert, so lassen sich aus der Art der hemmenden Stoffe und aus den Bedingungen, von denen die Hemmung abhängt, Schlüsse ziehen auf die chemische Natur des Ferments. Man untersucht also chemische Reaktionen des Ferments, benutzt aber als Indikator, nicht wie üblich, Farbreaktionen oder Niederschlagsbildung, sondern die Hemmung einer katalytischen Wirkung. Es ist klar, daß dabei die Fermentkonzentration beliebig klein sein kann, wenn nur die Fermentwirkungen groß sind. Und es ist günstig, daß man dabei das Ferment unter den natürlichen Bedingungen, in der intakten atmenden Zelle, untersucht.

Ich führe hier zwei Substanzen an, die die Atmung der lebendigen Substanz spezifisch und reversibel

hemmen: die Blausäure, aus historischen Gründen, und das Kohlenoxyd, aus andern Gründen.

Die Blausäurehemmung der Zellatmung ist vor etwa 50 Jahren von Claude Bernard entdeckt worden und hat seitdem Chemiker und Biologen interessiert. Sie kommt zustande durch eine Reaktion der Blausäure mit dem sauerstoffübertragenden Fermenteisen, und zwar mit dem Fermenteisen im dreiwertigen Zustand. Bezeichnen wir mit Fe das zweiwertige Fermenteisen, so können wir die Reaktion, die der Blausäurewirkung zugrunde liegt, schreiben



Die oxydierend wirkende OH-Gruppe des dreiwertigen Fermenteisens wird durch die nichtoxydierend wirkende CN-Gruppe ersetzt, wodurch die Sauerstoffübertragung zum Stillstand kommt. Blausäure hemmt die Reduktion des Fermenteisens.

Die Kohlenoxydhemmung der Atmung ist erst vor wenigen Jahren entdeckt worden. Ist die Primärreaktion der Atmung



so kommt bei Gegenwart von Kohlenoxyd die konkurrierende Reaktion



hinzu, und je nach den Drucken des Kohlenoxyds und des Sauerstoffs wird ein größerer oder kleinerer Teil des Fermenteisens durch Bindung an Kohlenoxyd für die Katalyse ausgeschaltet. Anders als die Blausäure also greift Kohlenoxyd an dem zweiwertigen Eisen des Ferments an. Kohlenoxyd hemmt die Oxydation des Fermenteisens. Deshalb ist die Kohlenoxydhemmung der Atmung, im Gegensatz zur Blausäurehemmung der Atmung, abhängig vom Partialdruck des Sauerstoffs.

Die giftige Wirkung der Blausäure auf den Menschen röhrt von der Hemmung der Zellatmung durch Blausäure her. Die giftige Wirkung des Kohlenoxyds auf den Menschen hat mit der Hemmung der Zellatmung durch Kohlenoxyd nichts zu tun, sondern röhrt her von einer Reaktion des Kohlenoxyds mit dem Bluteisen. Denn die Wirkung des Kohlenoxyds auf das Bluteisen tritt bei Kohlenoxyddrucken auf, die bei weitem nicht genügen, um die Zellatmung zu hemmen.

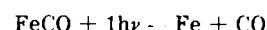
#### Wirkung des Lichts auf die Kohlenoxydhemmung der Zellatmung.

Wie die Zellatmung, so werden einfachere Eisenkatalysen durch Kohlenoxyd und Blausäure reversibel gehemmt. Vergleicht man solche Eisenkatalysen und ihre Hemmungen mit der Zellatmung und ihren Hemmungen, so zeigt sich, daß sich der Katalysator der Zellatmung verhält wie eine Eisenverbindung, in der das Eisen an Stickstoff gebunden ist. Doch wäre es nie möglich gewesen, hier zu dem sicheren Ende zu kommen, hätte nicht die Natur den Kohlenoxydverbindungen des Eisens die nerkwürdige Eigenschaft verliehen, bei Belichtung unter Abspaltung von Kohlenoxyd zu dissoziieren.

Setzt man dem Sauerstoff, in dem lebende Zellen atmen, Kohlenoxyd zu, so hört, wie schon erwähnt, die Atmung auf. Belichtet man (mit Ultraviolet oder mit Licht des sichtbaren Spektralgebiets) so kehrt die Atmung zurück. Indem man lebende atmende Zellen in Kohlenoxyd-Sauerstoff-Gemischen abwechselnd belichtet und verdunkelt, kann man Atmung entstehen lassen und zum Verschwinden bringen. Im Dunkeln ist das Eisen des sauerstoffübertragenden Ferments an Kohlenoxyd gebunden, im Licht wird das Kohlenoxyd von dem Eisen abgespalten und damit das Eisen für die Sauerstoffüber-

tragung wieder frei. Dies wurde im Jahre 1926 mit Fritz Kubowitz gefunden.

Die photochemische Dissoziation der Eisencarbonylverbindungen ist im Jahre 1891 von Mond und Langer, bei Belichtung von Eisenpatentcarbonyl, entdeckt worden. Die Reaktion ist spezifisch für die Carbonylverbindungen des Eisens, von denen, wie es scheint, die meisten im Licht dissoziieren, z. B. Kohlenoxyd-Hämoglobin (John Haldane 1897), Kohlenoxyd-Hämochromogen (Anson und Mirsky 1925), Kohlenoxyd-Pyridin-Hämochromogen (H. A. Krebs 1928), Kohlenoxyd-Ferrocystein (W. Cremers 1929). Untersucht man die photochemische Dissoziation der Eisen-carbonylverbindungen quantitativ — die photochemischen Versuche von Emil Warburg waren hierbei unser Vorbild —, indem man monochromatisch bestrahlt und die absorbierte Lichtenergie mit der abgespaltenen Kohlenoxydmenge vergleicht, so findet man, daß das Einstein'sche photochemische Äquivalentgesetz sehr genau gilt. Unabhängig von der Wellenlänge ist die Zahl der photochemisch gespaltenen FeCO-Gruppen gleich der Zahl der absorbierten Lichtquanten. So ist die Gleichung der Lichtreaktion für Kohlenoxyd-Pyridin-Hämochromogen:



Die photochemische Dissoziation der Eisencarbonylverbindungen kann man benutzen, um das Absorptionspektrum einer katalytisch wirkenden sauerstoffübertragenden Eisenverbindung zu bestimmen. Man bindet den Katalysator im Dunkeln an Kohlenoxyd, wodurch die sauerstoffübertragende Wirkung des Eisens aufgehoben wird. Bestrahlt man dann monochromatisch mit Licht verschiedener Wellenlängen gemessener Quantenintensität, und mißt dabei die Lichtwirkungen W — den Geschwindigkeitszuwachs der Katalyse —, so stehen die Lichtwirkungen im Verhältnis der absorbierten Quanten.

Sehr einfach wird die Anordnung, wenn der Katalysator — wie es in der Regel der Fall ist — in verschwindend kleiner Konzentration in dem bestrahlten System vorliegt. Dann sind die Schichtdicken in bezug auf die Lichtabsorption als unendlich dünn zu betrachten, die Zahl der absorbierten Quanten ist proportional der Zahl der eingeschalteten Quanten, und das Verhältnis der Lichtabsorptionskoeffizienten  $\beta$  ist:

$$\frac{\beta_1}{\beta_2} = \frac{W_1}{W_2} \cdot \frac{i_2}{i_1}. \quad (4)$$

Hier stehen rechts die Lichtwirkungen W, das heißt die Geschwindigkeitszuwachse der Katalyse, und die auffallenden Quantenintensitäten i, beides leicht bestimmbar experimentelle Größen. Links steht das gesuchte Verhältnis der Lichtabsorptionskoeffizienten  $\beta$ , so daß man also das relative Absorptionsspektrum des Katalysators, die Lage der Absorptionsbanden und das Intensitätsverhältnis der Banden, bestimmen kann.

Nach diesem Prinzip wurde mit E. Neglein das relative Absorptionsspektrum des sauerstoffübertragenden Ferments der Atmung gemessen. Die Atmung lebender Zellen wurde durch Kohlenoxyd, das dem Sauerstoff beigemischt war, gehemmt. Dann wurde monochromatisch mit Licht verschiedener Wellenlänge von gemessener Quantenintensität bestrahlt, der Zuwachs der Atmung bestimmt, und das relative Absorptionsspektrum nach Gleichung (4) berechnet. Für solche Versuche eignen sich nur Zellen, die praktisch farblos sind. Voraussetzung der Gleichung (4) ist ja eine in bezug auf die Lichtabsorption unendlich dünne Schichtdicke. Es scheiden also beispielsweise rote Blutzellen und grüne Pflanzenzellen aus.

## Methode zur Bestimmung des absoluten Absorptionsspektrums.

Mit der Bestimmung des relativen Absorptionsspektrums ist die Leistungsfähigkeit der Methode noch nicht erschöpft, vielmehr kann man sie so ausbauen, daß sie auch die absoluten Absorptionskoeffizienten des Ferments liefert.

Man denke sich lebende Zellen, deren Atmung durch Kohlenoxyd gehemmt ist. Bestrahlen wir, so steigt die Atmung nicht sofort von dem Dunkelwert auf den Hellwert, sondern es dauert eine gewisse, wenn auch sehr kurze Zeit, bis die Kohlenoxydverbindung des Ferments durch das Licht gespalten ist. Auch ohne Rechnung sieht man leicht ein, daß der zeitliche Anstieg der Lichtwirkung zusammenhängen muß mit der Farbtiefe des Ferments. Absorbiert das Ferment stark, so wird die Kohlenoxydverbindung schnell gespalten und umgekehrt.

Die Zeit des Anstiegs der Lichtwirkung können wir messen. Wir können messen, wie lange es dauert, bis eine gegebene Lichtintensität etwa die Hälfte der Kohlenoxydverbindung des Ferments dissoziiert hat, und aus dieser Zeit und der wirkenden Lichtintensität können wir den absoluten Absorptionskoeffizienten des Ferments für jede Wellenlänge berechnen.

Das Absorptionsvermögen des Ferments, nach diesem Prinzip gemessen, wurde von derselben Größenordnung gefunden wie das Lichtabsorptionsvermögen unserer stärksten Farbstoffe. Denken wir uns eine Fermentlösung von molarer Konzentration, so würde eine Schichtdicke  $\frac{2}{1000000}$  cm das Licht der blauen Quecksilberlinie  $436 \mu\mu$  auf die Hälfte schwächen. Daß man trotzdem das Ferment in den Zellen nicht sieht, hängt mit der kleinen Konzentration zusammen, in der das Ferment in den Zellen vorkommt.

## Absorptionsspektrum des Ferments.

Wir haben die Absorptionskoeffizienten des Ferments für das Spektralgebiet zwischen der ultravioletten Linie  $254 \mu\mu$  und der roten Linie  $660 \mu\mu$  bestimmt. Monochromatisches Licht verhältnismäßig hoher Intensität —  $\frac{1}{100}$  bis  $\frac{1}{10}$  Grammcalorien pro Minute — war dafür notwendig. In den ersten Versuchen, mit Erwin Neglein, standen uns 16 Wellenlängen zur Verfügung. Fritz Kubowitz und E. Haas haben 15 weitere Wellenlängen genügender Intensität und Reinheit isoliert, so daß wir heute 31 Punkte des Fermentspektrums bestimmen können. Unsere Lichtquellen waren die Quecksilberdampflampe, eine von Dr. Haus Boas gebaute besonders leistungsfähige Funkenstrecke, Effektkohlen der Siemens-Plania-Werke<sup>1)</sup> und schließlich die neuen Pirani-Lampen der Osram-Studiengesellschaft<sup>2)</sup>. Aus diesen Lichtquellen wurden die Linien mit Monochromatoren und mit Farbfiltern isoliert. Tabelle 1 enthält ein Verzeichnis der bisher isolierten Wellenlängen und daneben die Zahlen-

werte der absoluten Absorptionskoeffizienten der Kohlenoxydverbindung des Ferments.

Tabelle 1.  
(Messungen von F. Kubowitz und E. Haas.)

Wellenlänge $\mu\mu$	Lichtquelle	Absoluter Absorptionskoeffizient der Kohlenoxydverbindung des Ferments $\text{cm}^2$	Grammatom Eisen
		$\text{cm}^2$	
253	Zinkfunke	$0,70 \times 10^8$	
283	Magnesiumfunke	$2,00 \times 10^8$	
309	Effektkohle (Aluminiumsalz)		
313	Quecksilberdampflampe	$0,55 \times 10^8$	
326	Effektkohle (Kupfersalz)		
333	Zinkfunke	$0,51 \times 10^8$	
344	Cadmiumfunke	$0,50 \times 10^8$	
356	Effektkohle (Thalliumsalz)	$0,59 \times 10^8$	
366	Quecksilberdampflampe	$0,51 \times 10^8$	
383	Effektkohle (Magnesiumsalz)	$0,85 \times 10^8$	
405	Quecksilberdampflampe	$0,90 \times 10^8$	
422	Effektkohle (Strontiumsalz)	$3,05 \times 10^8$	
430	Effektkohle (Calciumsalz)	$3,70 \times 10^8$	
436	Quecksilberdampflampe	$3,60 \times 10^8$	
448	Magnesiumfunke	$1,30 \times 10^8$	
460	Effektkohle (Lithiumsalz)	$0,40 \times 10^8$	
494	Effektkohle (Magnesiumsalz)	$0,15 \times 10^8$	
517	Effektkohle (Magnesiumsalz)	$0,19 \times 10^8$	
524	Effektkohle (Strontiumsalz)	$0,18 \times 10^8$	
535	Thalliumdampflampe	$0,30 \times 10^8$	
546	Quecksilberdampflampe	$0,30 \times 10^8$	
553	Effektkohle (Magnesiumsalz)	$0,26 \times 10^8$	
560	Effektkohle (Calciumsalz)	$0,23 \times 10^8$	
578	Quecksilberdampflampe	$0,30 \times 10^8$	
589	Natriumdampflampe	$0,54 \times 10^8$	
596	Effektkohle (Strontiumsalz)	$0,38 \times 10^8$	
603	Effektkohle (Calciumsalz)	$0,20 \times 10^8$	
610	Effektkohle (Lithiumsalz)	$0,12 \times 10^8$	
652	Effektkohle (Strontiumsalz)	$0,02 \times 10^8$	
670	Effektkohle (Lithiumsalz)	$0,005 \times 10^8$	

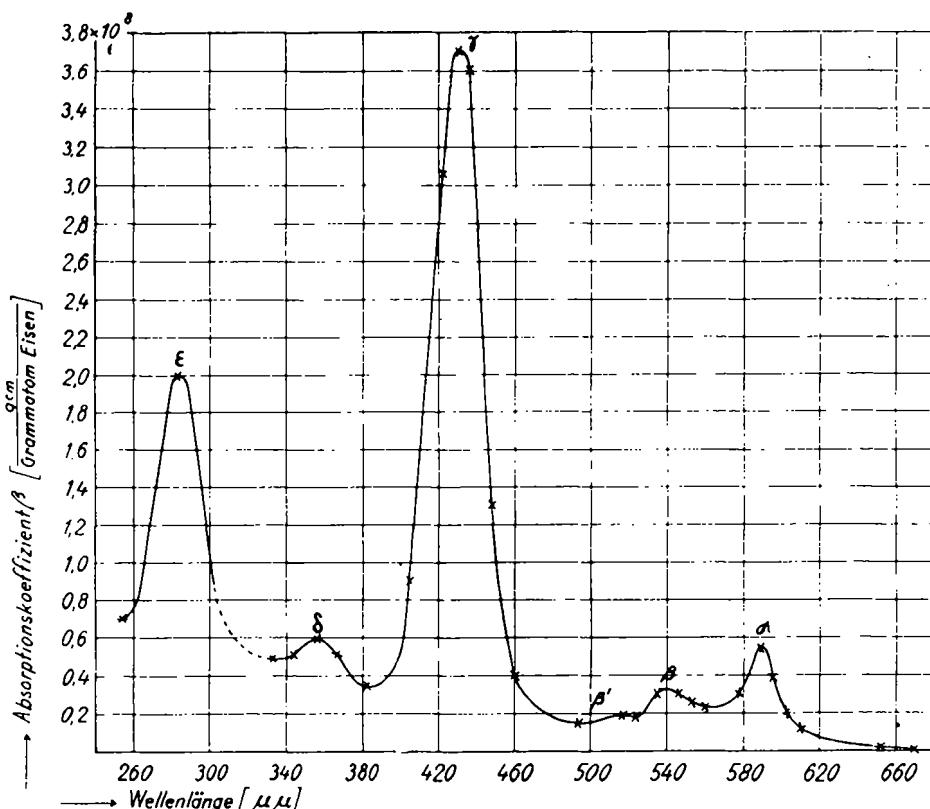


Abb. 1. Kohlenoxydverbindung des sauerstoffübertragenden Fermentes der Atmung.

<sup>1,2)</sup> Den Herren Dr. Patzelt von den Siemens-Plania-Werken und Dr. Kreft von der Osram-Studiengesellschaft danken wir für ihre wertvollen Ratschläge.

Trägt man den Absorptionskoeffizienten als Funktion der Wellenlänge auf, so erhält man das in Abb. 1 abgebildete Absorptionsspektrum der Kohlenoxydverbin-

dung des Ferments. Die Hauptabsorptionsbande oder  $\gamma$ -Bande liegt im Blau, rechts davon im Grün und Gelb liegen die langwelligen Nebenbanden  $\alpha$  und  $\beta$ , links von der Hauptbande liegen die ultravioletten Nebenbanden

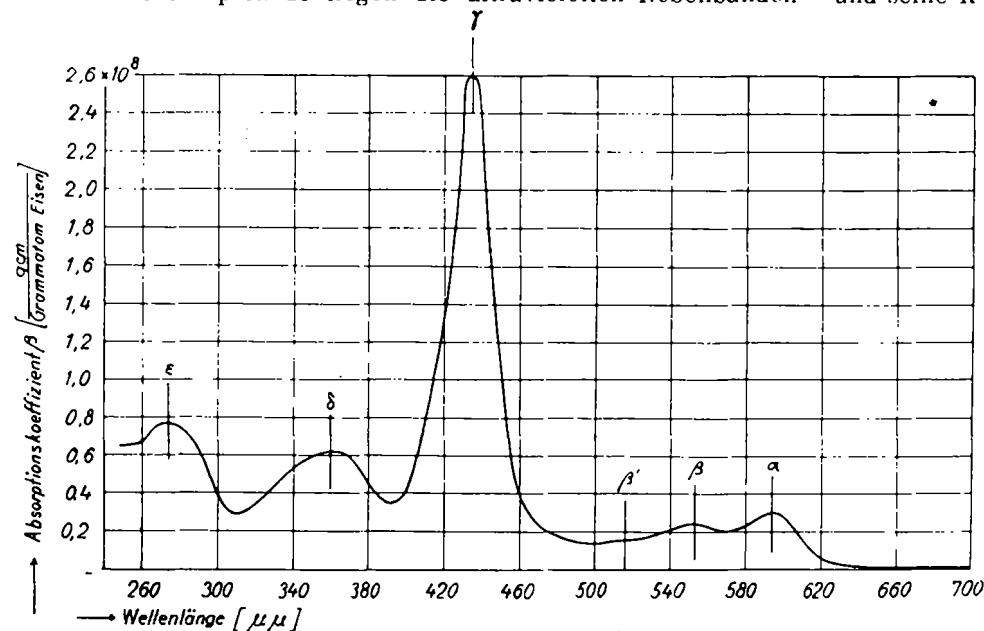


Abb. 2. Kohlenoxyd-Spirographishämoglobin.

$\delta$  und  $\epsilon$ . Dies ist das Spektrum einer Häminverbindung, nach der Lage der Banden, nach dem Intensitätsverhältnis der Banden und nach der absoluten Größe der Absorptionskoeffizienten. Die Absorptionsspektren anderer Kohlenoxydhäminverbindungen sieht man in den Abb. 2, 3 und 4.

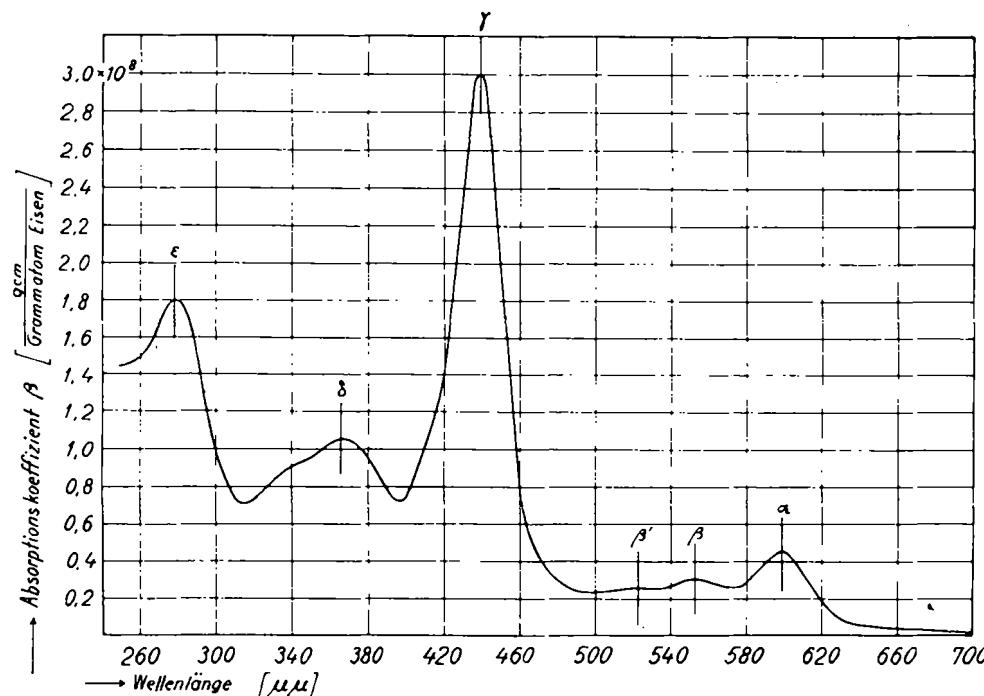


Abb. 3. Kohlenoxyd-Chloroeruorin.

#### Hämin-Modellkatalyse.

Eine Kontrolle schien erwünscht, ob sich Hämin als Oxydationskatalysator gegen Kohlenoxyd und Blausäure wirklich so verhält wie das Ferment. Löst man Cystein in pyridinhaltigem Wasser, fügt eine Spur Hämin hinzu und schüttelt mit Luft, so wird das Cystein durch die sauerstoffübertragende Wirkung des Hämins katalytisch oxydiert. Nach Versuchen von H. A. Krebs wird die Katalyse durch Kohlenoxyd im Dunkeln gehemmt, die

Hemmung verschwindet, wenn man bestrahlt. Auch Blausäure wirkt auf das Modell wie auf die Zellatmung, indem sie sich mit dem dreiwertigen Hämineisen verbindet und seine Reduktion verhindert. Ganz wie im Leben ist hier die Kohlenoxydhemmung vom Sauerstoffdruck abhängig, die Blausäurehemmung vom Sauerstoffdruck unabhängig.

Mit Erwin Negelein wurde das Modell benutzt, um die Fermentversuche auch quantitativ zu prüfen. Die Häminkatalyse des Modells wurde durch Kohlenoxyd im Dunkeln gehemmt. Dann wurde monochromatisch mit Licht gemessener Quantenintensität bestrahlt und aus der Lichtwirkung das Absorptionsspektrum des Katalysators berechnet, das hier durch direkte Messung der reinen Substanz bekannt war. Die Rechnung ergab das Absorptionsspektrum desjenigen Hämins, das als Katalysator zugesetzt worden war, womit die Methode zur Bestimmung des Fermentenspektrums verifiziert war, sowohl die Meßmethode als auch die Rechenmethode.

#### Fermentbanden.

Wir wollen die Fermentbanden benutzen, um die chemische Konstitution des Fermenthämins näher zu bestimmen. Einiges über Hämine und ihre Banden sei vorausgeschickt.

Die absolute Höhe der Banden schwankt — für ein und dasselbe Hämin — in gewissen Grenzen. Salzkonzentration, Lösungsmittel usw. spielen hierbei eine Rolle. Sinkt aus irgendeinem Grunde die Höhe einer Bande, so nimmt im allgemeinen ihre Breite zu, wobei die von der Bande umgrenzte Fläche konstant zu bleiben scheint. Auf die absolute Höhe der Banden ist also nur insofern Wert zu legen, als die Größenordnung stimmen muß.

Die ultravioletten Häminbanden sind in den freien Häminen zwar angedeutet, gut ausgebildet aber nur dann, wenn die Hämine an Eiweiß gebunden sind. Die in den Abb. 1–4 links von den Hauptbanden liegenden ultravioletten Banden hängen mit den Eiweißkomponenten der Häminverbindungen zusammen und interessieren hier, wo es auf die Konstitution der Häminkomponente ankommt, nicht.

Geeignet zur chemischen Klassifizierung der Häminkomponente sind die Hauptabsorptionsbande im Blau und die langwelligste Nebenbande, die  $\alpha$ -Bande. Später wird auch die zweite langwellige Bande, die  $\beta$ -Bande, hinzugenommen werden müssen, doch ist ihre Lage in dem Ferment aus methodischen Gründen noch nicht hinreichend genau bestimmt.

Die Lagen der Haupt- und  $\alpha$ -Bande des Ferments sind:

Hauptbande  $\alpha$ -Bande  
Kohlenoxydverbindung des Ferments  $433 \mu\mu$   $590 \mu\mu$

Wir wollen diese Banden, weil das Ferment das erste war, für das sie gefunden wurden, „Fermentbanden“ nennen.

## Klassifizierung der Hämine.

Hämine sind die komplexen Eisenverbindungen der Porphyrine, in denen das Eisen mit zwei Valenzen an Stickstoff gebunden ist. Die Porphyrine, deren chemische Konstitution Hans Fischer aufgeklärt hat, sind Tetrapyrrolverbindungen, deren vier Pyrrolkerne durch vier in  $\alpha$ -Stellung eingreifende Methingruppen zusammengehalten werden.

Es gibt grüne, rote und mischfarbene Hämine. Entfernt man aus dem Chlorophyll das Magnesium und führt

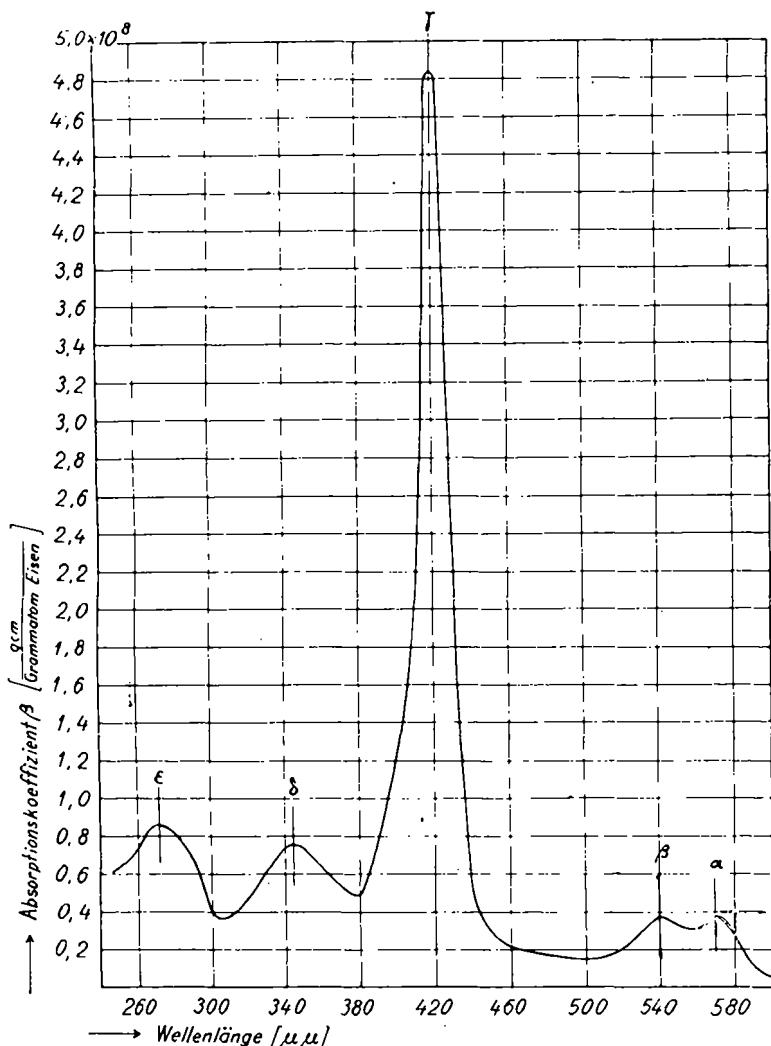


Abb. 4. Kohlenoxyd-Hämoglobin.

an seine Stelle Eisen ein, so entstehen die grünen Hämine. Ihre Farbe verdanken sie einer im Rot liegenden starken Bande, die vom Chlorophyll her bekannt ist. Das Ferment absorbiert nicht im Rot und kann deshalb kein grünes Hämin sein.

Rote Hämine sind das gewöhnliche Blutfarbstoffhämin und seine Verwandten, wie Mesohämin, Deuterohämin. Ein rotes Hämin ist auch Koprohämin, die Eisenverbindung des von H. Fischer im Körper entdeckten Koproporphyrins. Rote Hämine sind ferner Pyrröhämin, Phyllohämin und Rhodolämmin, deren Porphyrine Willstätter durch tiefgreifenden, reduktiven Abbau des Chlorophylls dargestellt hat. Die Lagen der Hauptabsorptionsbande und der  $\alpha$ -Bande der Kohlenoxydverbindungen der roten Hämine sind

	Hauptbande	$\alpha$ -Bande
Kohlenoxydverbindung der roten Hämine . . . . .	420 $\mu\mu$	570 $\mu\mu$ und kurzwelliger und kurzwelliger.

Die Fermentbanden sind gegen die Banden der roten Hämine um mindestens 13 bis 20  $\mu\mu$  nach Rot verschoben. Deshalb kann das Ferment kein rotes Hämin sein.

Zwischen den grünen und roten Häminen stehen die mischfarbenen Hämine, die ihren Namen dem Umstand verdanken, daß ihre Lösungen bei verhältnismäßig geringfügigen Änderungen der Schichtdicke grün oder rot aussehen. Die entsprechenden Porphyrine — von ihrem Entdecker Hans Fischer Phäoporphyrine genannt — entstehen, wenn man Chlorophyll vorsichtig mit Jodwasserstoff reduziert. Ein Phäoporphyrin ist auch Phylloerythrin, das sich durch Reduktion von Chlorophyll im Verdauungskanal der Wiederkäuer bildet und von Löbisch und Fischer aus Rindergalle isoliert worden ist. Chemisch sind die Phäoporphyrine nahe Verwandte des Blutfarbstoffs, ist doch, wie H. Fischer fand, Phäoporphyrin a nichts anderes als Mesoporphyrin, dessen eine Propionsäure oxydiert und damit zum Ringschluß mit dem Porphyrinkern befähigt worden ist. Phäoporphyrin a ist ein Reduktionsprodukt des Chlorophylls a oder ein Oxydationsprodukt des Blutfarbstoffs und verknüpft in wunderbar einfacher Weise die Hauptpigmente der organischen Welt, den Blutfarbstoff und den Blattfarbstoff.

Die Banden der Fischerschen Phäoporphyrine sind gegen die Blutfarbstoffbanden nach Rot, in der Richtung der Fermentbanden, verschoben, jedoch nicht so weit, daß ihre Banden Fermentbanden sind. Da Chlorophyll b im allgemeinen langwelligere Banden hat als Chlorophyll a, so wandte ich mit W. Christian die Reduktionsmethode Fischers auf Chlorophyll b an. Wir erhielten ein Phäohämin b, das, an Eiweiß gekoppelt, mit dem Ferment in bezug auf die Lage der Hauptbande übereinstimmt. Die Banden des Kohlenoxyd-Phäohämaglobins b sind

Hauptbande  $\alpha$ -Bande

Kohlenoxydverbindung des Phäohämaglobins b . . . . .	435 $\mu\mu$	598 $\mu\mu$
--	--------------	--------------

Während die Hauptbande des Phäohämaglobins innerhalb der erlaubten Grenzen mit der Fermentbande übereinstimmt, schießt die  $\alpha$ -Bande insofern über das Ziel hinaus, als sie zu weit nach Rot liegt. Immerhin ist es interessant, daß bei der Reduktion von Chlorophyll b ein Phäoporphyrin entsteht, dessen Hämin von allen bisher dargestellten Phäohäminen dem Ferment am nächsten steht.

Noch näher steht dem Ferment in bezug auf das Spektrum ein in der Natur vorkommendes Hämin, Spirographishämin, das mit Neglein und Haas aus Chloroeruorin, dem Blutfarbstoff des Borstenwurms Spirographis, isoliert wurde. Die Banden von Spirographishämin, an Globin gekoppelt, sind

Hauptbande  $\alpha$ -Bande

Kohlenoxydverbindung des Spirographishämaglobins . . . . .	434 $\mu\mu$	594 $\mu\mu$
--	--------------	--------------

## Konstitution von Spirographishämin.

Nach dem Gesagten ist die chemische Konstitution des Spirographishämins wichtig. Da es schwer ist, genügende Mengen an kristallisiertem, analysenreinem Hämin zu gewinnen, so sind die Versuche darüber noch nicht abgeschlossen. Bisher wurde, mit E. Neglein, gefunden: Spirographishämin und das gleichfalls kristallisierte und analysierte Spirographisphosphorhyn enthält zwei Carboxylgruppen und fünf Sauerstoffatome, also ein überzähliges Sauerstoffatom. Dieses gibt mit Hydroxylamin ein Oxim und ist damit als Ketonsauer-

stoff charakterisiert. Durch das überzählige oder Keton-sauerstoffatom unterscheidet sich Spirographishämin von den roten Häminen und ist klassifiziert als Phäohämin. Wie die Fischer'schen Phäohämine steht Spirographishämin in bezug auf den Oxydationsgrad der Seitenketten zwischen Chlorophyll und Blutfarbstoff.

#### Entstehen und Verschwinden der Fermentbanden.

Die beiden Hämine, die dem Ferment nach ihrem Spektrum am nächsten stehen — Phäohämin b und Spirographishämin — haben eine merkwürdige Eigenschaft. Löst man sie — als Ferroverbindungen — in verdünnter Natronlauge, so wandern ihre Absorptionsbanden langsam nach Blau, in die Nähe der Bluthäminbanden. Aus den mischfarbenen Häminen sind rote Hämine geworden. Säuert man an, so geht die Umlagerung zurück, die „Blutbanden“ verschwinden, die Fermentbanden erscheinen. Dieser Versuch zeigt, daß die Oxydation der Seitenkette noch nicht genügt, um die Fermentbanden zu erzeugen, sondern es muß noch ein Vorgang von der Art einer Anhydridbildung hinzukommen.

Näheres soll über diese Reaktion, die die chemische Ursache für die Entstehung der Fermentbanden ist, hier nicht gesagt werden, nur das Prinzip, nach dem wir vorgehen, sollte angedeutet werden. Die Physik liefert die Fermentbanden, die organische Chemie ist notwendig, um die Fermentbanden zu identifizieren oder zu erzeugen. Das Verfahren gleicht, wie Anson und Mirsky gesagt haben, der spektralanalytischen Untersuchung der Sterne. In der Tat ist die Substanz des Ferments, wenn auch noch so nah, für uns unerreichbar wie die Substanz der Sterne.

#### Gemeinsamer Ursprung von Hämoglobin und Chlorophyll.

Leitet man durch eine wäßrige Lösung von Spirographishämin unter gewissen Bedingungen bei gewöhnlicher Temperatur Sauerstoff, so wird das Hämin oxydiert. Die vorher mischfarbene Lösung färbt sich grün, und es erscheint eine chlorophyllähnliche Bande im Rot bei  $650 \mu\mu$ . Leitet man andererseits durch eine auf  $37^\circ$  erwärmte Lösung von Spirographishämin Wasserstoff bei Gegenwart von Palladium, so wird das Spirographishämin in der Seitenkette reduziert, und es entsteht ein blutähnliches Hämin, das nun beim Ansäuern nicht mehr mischfarben wird und ein wahres rotes Hämin<sup>3)</sup> ist.

Die eigentümliche Zwischenstellung der fermentähnlichen Hämine, die durch diese einfachen Versuche anschaulich wird, legt die Vermutung nahe, daß Blut- und Blattfarbstoff in der Entwicklung aus dem Ferment entstanden sind, der Blutfarbstoff durch Reduktion, der Blattfarbstoff durch Oxydation. Denn offenbar ist das Ferment früher dagewesen als Hämoglobin und Chlorophyll.

Die Arbeiten über das sauerstoffübertragende Ferment sind von der Notgemeinschaft der deutschen Wissenschaft und von der Rockefeller-Stiftung von Anfang an unterstützt worden und wären ohne diese Hilfen nicht möglich gewesen. Beiden Organisationen habe ich hier zu danken.

[A. 195.]

<sup>3)</sup> Dieses Hämin ist nach Spektrum und Salzsäurezahl seines Porphyrins dem Mesohämin sehr ähnlich, enthält aber eine freie Methingruppe in  $\beta$ -Stellung. Daher kommt es, daß Spirographishämin ( $C_{32}$ ) zwei C-Atome weniger enthält als Bluthämin ( $C_{34}$ ). (Versuche mit E. Negelein.)

### Zur Theorie der homöopolaren Valenz bei mehratomigen Molekülen.

Von Prof. Dr. M. Born, Göttingen.

Nach einem Vortrag im Bezirksverein Hannover des V. d. Ch. am 23. Juni 1931.

(Eingeg. 19. Oktober 1931.)

Unter Valenz soll im folgenden nicht die Elektrovalenz, die auf der elektrostatischen Anziehung von Ionen beruht, verstanden werden, sondern die homöopolare oder Atombindung, wie sie in extremen Fällen zwischen gleichen, ungeladenen Partnern ( $H_2$ ,  $O_2$ ,  $N_2$ ,  $Cl_2$  usw.), allgemeiner zwischen ähnlichen, polar nicht sehr verschiedenen Atomen (hauptsächlich in der organischen Chemie) eintritt. Bekanntlich ist diese Bindungsart zuerst von Heitler und London<sup>1)</sup> quantenmechanisch erklärt worden. Danach beruht sie auf den Kräften, die bei der Wechselwirkung zweier Elektronen, je eines von jedem Atom, auftreten; und zwar kann man sich diese Wechselwirkung als periodisch hin- und herschwingenden „Austausch“ der Elektronen vorstellen. Es wurde gezeigt, daß man hierdurch das Zustandekommen des Wasserstoffmoleküls  $H_2$  und seine hauptsächlichsten Eigenschaften (Kernabstand, Dissoziationsenergie, Kernschwingungszahl) quantitativ mit guter Näherung ableiten kann. Es gelang ferner auch, die Wechselwirkung beliebiger Atompaare, also das Zustandekommen zweiatomiger Moleküle mit mehreren abgesättigten Valenzen, zu behandeln. Aber bei mehratomigen Molekülen stieß man auf erhebliche Schwierigkeiten.

Zwar gibt es Arbeiten von London, Heitler und anderen, die mit gruppentheoretischen Methoden die

Wechselwirkung mehrerer Atome behandeln, aber diese sind so schwierig und undurchsichtig, daß wohl nur wenige Leute genau angeben können, was darin geleistet ist. Aus diesem Grunde habe ich mich bemüht, die gruppentheoretischen Methoden aus der Valenztheorie zu eliminieren, ähnlich, wie es Slater<sup>2)</sup> für die Atomstrukturen gemacht hat, und es ist mir auch gelungen, auf diese Weise die von Heitler<sup>3)</sup> aufgestellte Formel für die Bindungsenergie zweiatomiger Moleküle auf elementarem Wege abzuleiten<sup>4)</sup>. Dann haben Heitler und Rumer<sup>5)</sup> dieselben Methoden auf einige einfache mehratomige Moleküle übertragen. Angeregt durch diese Arbeit hat der Göttinger Mathematiker Hermann Weyl<sup>6)</sup> ein allgemeines Verfahren angegeben, mit dem man in sehr einfacher Weise die Bindungsenergie für beliebige mehratomige Moleküle im Sinne der London-Heitler'schen Näherung berechnen kann. Die charakteristische Schwierigkeit tritt schon bei ganz einfachen Beispielen hervor.

Die Hauptaufgabe der Theorie ist die Erklärung der „Absättigung“ der Valenzen. Heitler und London

<sup>1)</sup> J. C. Slater, Physical Rev. 34, 1293 [1929].

<sup>2)</sup> W. Heitler, Ztschr. Physik 47, 835 [1928]. Zusammenfassende Darstellung in Physikal. Ztschr. 31, 185 [1930].

<sup>3)</sup> M. Born, Ztschr. Physik 64, 729 [1930].

<sup>4)</sup> W. Heitler u. G. Rumer, ebenda 68, 12 [1931].

<sup>5)</sup> H. Weyl, Göttinger Nachr., Math.-phys. Kl. 1930, 285, und 1931, 33.

<sup>1)</sup> W. Heitler u. F. London, Ztschr. Physik 44, 455 [1927].