

Fermentproblem und organische Katalyse¹⁾.

Von Priv.-Doz. Dr. W. LANGENBECK, Münster i. W.

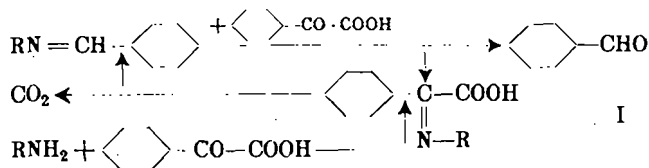
(Eingeg. 22. Oktober 1931.)

In diesen Tagen werden es gerade 30 Jahre, daß Wilhelm Ostwald hier in Hamburg seinen bekannten Vortrag über Katalyse hielt, in dem er das Gebiet zum erstenmal mit den Denkmethode der physikalischen Chemie beleuchtete. Die Rede bedeutete damals einen Wendepunkt für die Wissenschaft der Katalyse, und sie ist immer noch ungemein lesenswert, denn sie berührt fast alle katalytischen Probleme, die uns noch heute, nach einem Menschenalter, beschäftigen. Auch das Thema, über das ich Ihnen heute berichten möchte, hat Ostwald damals schon angedeutet²⁾, wenn er seiner Überzeugung Ausdruck gab, daß es bei eingehender Forschung gelingen würde, Übergänge zwischen den Fermenten und den einfachen Stoffen der organischen Chemie zu finden. Es war das gewiß ein kühner Gedanke von Ostwald, denn das Wesen der Fermentwirkung gilt von jeher als das tiefste und rätselhafteste Problem der organischen Chemie, und es würde eine weitgehende Aufklärung erfahren, wenn es wirklich gelänge, solche Übergänge zu finden.

In den letzten Jahren sind nun die fermentähnlichen Wirkungen einfacher organischer Stoffe intensiver untersucht worden als früher, und zwar in verschiedenen Laboratorien. Wegen der Kürze der Zeit, die mir zur Verfügung steht, kann ich aber nur auf unsere eigenen Arbeiten eingehen, soweit sie zum Fermentproblem in näherer Beziehung stehen.

Als meine Mitarbeiter und ich vor 5 Jahren angingen, uns mit dem neuen Gebiet zu beschäftigen, interessierten uns hauptsächlich die organischen Hauptvalenzkatalysen, d. h. diejenigen katalytischen Vorgänge, bei denen als Zwischenstoffe organische Hauptvalenzverbindungen auftreten. Daß es gelingen würde, zwischen solchen Hauptvalenzkatalysatoren und den Fermenten Beziehungen zu finden, war damals durchaus nicht sicher und nicht einmal wahrscheinlich, und doch können wir jetzt sagen, daß mindestens ein Ferment, die Carboxylase, zu den Hauptvalenzkatalysatoren gehört. Wie wir zu dieser Ansicht gekommen sind, möchte ich kurz schildern.

Primäre Amine sind ganz allgemein befähigt, α -Ketosäuren in Aldehyd und Kohlendioxyd zu spalten. Die Reaktion verläuft am Beispiel der Phenylglyoxyssäure in folgenden Phasen (I):



Die Phenylglyoxyssäure verbindet sich mit dem Amin zu einer substituierten Iminosäure. Dies ist die einleitende Reaktion, von da ab beginnt die eigentliche Katalyse. Die Iminosäure spaltet nämlich Kohlendioxyd ab, geht dabei in ein Aldehyd-imin über, und dieses

setzt sich mit überschüssiger Ketosäure wieder zur Iminosäure um. Das Aldehyd-imin wird also stets regeneriert und ist der eigentliche Katalysator.

Wenn man einen organischen Katalysator mit einem Ferment vergleichen will, so muß man zuerst seine Eigenschaften denen des Ferments möglichst annähern, vor allem also seine Aktivität so weit erhöhen als irgend möglich. Wir haben das erreicht durch systematische Einführung aktivierender Gruppen³⁾. Es ist eine altbekannte Erscheinung in der organischen Chemie, daß man die Reaktionsfähigkeit organischer Gruppen erhöhen kann, wenn man in das Molekül neue aktivierende Gruppen einführt. Ich erinnere nur an ein Beispiel; die Methylgruppe des Toluols wird zu Kondensationen geeignet, wenn man mehrere Nitrogruppen in den Benzolkern hineinbringt. Ähnliche Fälle sind zahllos, aber man hatte bisher noch nie versucht, diese Erscheinungen auf die organische Katalyse anzuwenden. Wir haben das nun mit Erfolg getan, und, was noch wichtiger ist, wir haben den Vorgang der Aktivierung mehrmals wiederholen können, wodurch wir eine aufsteigende Reihe von immer aktiveren Katalysatoren bekommen haben.

Auf Abb. 1 ist das Ergebnis dieser systematischen Aktivierung graphisch dargestellt. Die Länge der schwarzen Stäbe gibt den Logarithmus der Anfangsgeschwindigkeiten, gemessen in Mol Kohlenoxyd pro Mol Katalysator in den ersten 5 min bei 100°. Beim Methylamin ist dieses Verhältnis noch kleiner als 1, der Logarithmus ist negativ. Führt man in die Methylgruppe Substituenten ein, so wächst die Aktivität mehr oder weniger, je nach der Natur des Substituenten. Einführung der Carboxylgruppe bewirkte die stärkste Aktivierung.

Beim Glykokoll ist die Anfangsgeschwindigkeit schon erheblich größer als 1. Nun wurde an der Methylengruppe weiter substituiert. Die Phenylaminoessigsäure zeigte das günstigste Ergebnis. In die Phenylgruppe ließen sich leicht neue aktivierende Gruppen einführen. Am wirksamsten erwies sich eine Aminogruppe in o-Stellung. Diese Substitution ist verknüpft mit einer intramolekularen Wasserabspaltung, sie führt

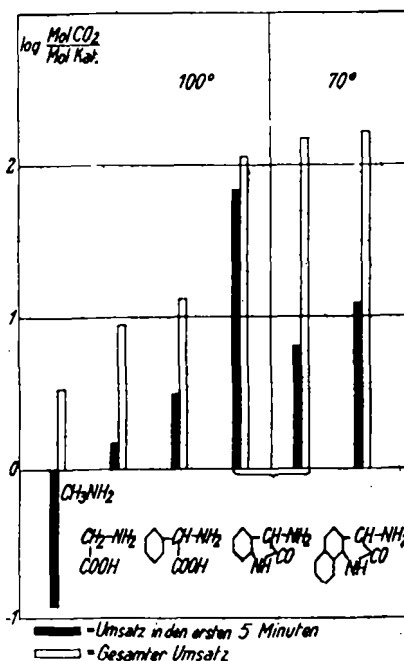


Abb. 1. Systematische Aktivierung der Aminogruppe.

¹⁾ Vorgetragen auf der Tagung der Nordwestdeutschen Chemiedozenten in Hamburg am 23. Oktober 1931.

²⁾ Ztschr. Elektrochem. 7, 1003 [1901].

³⁾ W. Langenbeck, R. Hutschenreuter und R. Jüttemann, LIEBIGS ANN. 485, 53 [1931].

zum 3-Amino-oxindol. Dabei ist der Aktivitätssprung besonders groß, Amino-oxindol ist etwa 20mal so wirksam wie Phenylaminoessigsäure. Vom Amino-oxindol haben wir sieben verschiedene Derivate neu dargestellt, von denen einige aktiver, andere weniger aktiv sind als der Grundkörper. Ein wenig aktiver ist das 5-Bromderivat. Das Amino-naphthoxindol, das sich vom α -Naphthylamin ableitet, ist schon sehr temperaturempfindlich, wir haben es deshalb bei 70° mit Amino-oxindol verglichen und die doppelte Aktivität gefunden. Die gesamte Aktivierung ist recht erheblich, so ist Amino-naphthoxindol 2000mal so wirksam wie Methylamin. Wir sind uns darüber klar, daß die Carboxylase im reinen Zustand wahrscheinlich noch um eine Reihe von Zehnerpotenzen aktiver ist als unsere Katalysatoren, aber wir sind auch nach unseren bisherigen Erfahrungen überzeugt, daß sich diese Spanne mit Hilfe der systematischen Aktivierung allmählich wird überwinden lassen. Denn bei jeder Aktivierung findet unter günstigen Umständen eine Steigerung auf einen mehrfachen Wert statt, und man kann in das Katalysatormolekül eine beliebige Zahl von aktivierenden Gruppen einführen, diese brauchen nämlich nicht in unmittelbarer Nähe der aktiven Gruppe zu stehen, da sich die Aktivierung bekanntlich durch Benzolkerne hindurch übertragen läßt.

Um einen Überblick zu geben, erwähne ich, daß unsere Reaktion nunmehr mit etwa derselben Geschwindigkeit verläuft wie die Sauerstoffübertragung auf ungesättigte Fettsäuren mit Hilfe von Hämin. Auch von den anderen Häminkatalysen ist sie in der Größenordnung nicht mehr weit entfernt. Auf die Methode der systematischen Aktivierung möchte ich besonderen Wert legen, denn sie scheint mir der Schlüssel zu sein zu einer größeren Entwicklung der organischen Katalyse. Es gibt zahlreiche Reaktionen in der organischen Chemie, die sich über Zwischenstoffe leiten lassen, derart, daß der vermittelnde Stoff dabei stets regeneriert wird. In den meisten Fällen bedeutet der Umweg keine Beschleunigung und deshalb keine Katalyse. Aber man kann solche Folgereaktionen mit Hilfe der systematischen Aktivierung wahrscheinlich in Katalysen verwandeln.

Unsere Katalysatoren werden nach einer gewissen Zeit durch Nebenreaktionen verbraucht, die Katalyse kommt allmählich zum Stehen. Es ist deshalb wichtig, in jedem Falle das Verhältnis zwischen insgesamt umgesetzter Substratmenge und Katalysatormenge zu kennen. Dieses Verhältnis wird auf Abb. 1 durch die Länge der weißen Stäbe dargestellt. Man erkennt, daß das Verhältnis im allgemeinen um so größer wird, je aktiver der Katalysator ist. Theoretisch läßt sich das leicht verstehen. Wenn die katalytische Reaktion spezifisch aktiviert wird, werden die Nebenreaktionen im allgemeinen nicht mit aktiviert, sie werden also verhältnismäßig um so mehr zurücktreten, je weiter die Aktivierung getrieben wird. Zum Beispiel spaltet Brom-amino-oxindol im ganzen 220 Mole Ketosäure. Ich möchte gleich hier bemerken, daß auch die Wirkung der Carboxylase beschränkt ist. So entnehme ich aus Versuchen von W. Dirscherl⁴⁾, daß die Carboxylasemenge, die in 1 g Trockenhefe enthalten ist, nur etwa 2 Millimol Brenztraubensäure zu spalten vermag.

Die Kinetik unserer Katalysatoren haben wir bei 70° in verdünnter Phenollösung untersucht. Es zeigte sich dabei zweierlei: Die Geschwindigkeit der CO₂-Entwicklung ist nicht sehr abhängig von der Substratkonzentration, erst bei stärkerer Verdünnung macht sich eine Verlangsamung geltend. Ferner ist charakteristisch,

daß der entstehende Aldehyd die Reaktion hemmt. Nach Versuchen von Hägglund⁵⁾ und von Dirscherl⁶⁾ beobachtet man das gleiche bei der Carboxylase. Es lohnt sich, den Ursachen dieser beiden Erscheinungen nachzugehen, was bei unseren Katalysatoren ja ohne weiteres möglich ist. Wenn die Reaktionsgeschwindigkeit von der Konzentration fast unabhängig ist, so bedeutet das, daß eine monomolekulare Teilreaktion die langsamere ist, also die Geschwindigkeit der Gesamtreaktion bestimmt. Das ist in unserem Falle die zweite Teilreaktion, die Decarboxylierung. Dagegen ist für die Hemmung durch den Aldehyd die erste Teilreaktion verantwortlich zu machen. Sie ist eine Gleichgewichtsreaktion, das Gleichgewicht wird durch den Aldehyd nach links verschoben (vgl. Formel 1). Dadurch wird die Konzentration der Iminosäure vermindert, von der wiederum die Geschwindigkeit der CO₂-Entwicklung abhängt. Daß ein Teil dieser Hemmung reversibel ist, geht aus Versuchen mit erhöhter Substratkonzentration

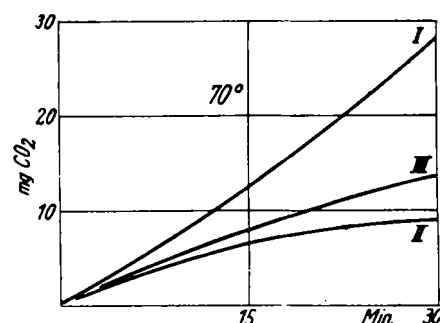


Abb. 2. Kinetik der Carboxylase-Modelle.

Kurve 1: 10⁻⁵ Mol. Amino-naphthoxindol + 0,5 g Phenylglyoxyssäure + 0,25 g phenylglyoxyssaures Kalium + 9,5 g Phenol.

Kurve 2: Dasselbe + 1 cm³ Benzaldehyd.

Kurve 3: Dieselbe Menge Katalysator, aber 1 g Phenylglyoxyssäure + 0,5 g phenylglyoxyssaures Kalium + 9 g Phenol + 1 cm³ Benzaldehyd.

hervor (Abb. 2, Kurve 3). Dabei wird die Hemmung teilweise rückgängig gemacht, die Ketosäure drängt den Aldehyd von der aktiven Gruppe ab. Es ist ihnen allen bekannt, daß man ganz analoge Erscheinungen häufig bei den Fermenten beobachtet.

Bei der Einwirkung von Hefe auf Brenztraubensäure bildet sich, wie Neuberg zuerst fand, nicht nur Acetaldehyd und Kohlendioxyd, sondern stets auch Acetoin. Es ist bisher nicht einwandfrei gelungen, eine Aldehydbildung ohne gleichzeitige Acetoinbildung zu beobachten⁷⁾. Auf die umstrittene Frage, ob es außer der Carboxylase noch ein besonderes Ferment „Carboligase“ gibt, kann ich hier nicht eingehen. Interessanterweise hat nun Dirscherl⁸⁾ im Heidelberger Laboratorium gefunden, daß bei unserer Reaktion aus Brenztraubensäure ebenfalls Acetoin entsteht, und zwar in einer Menge von 5–10% des gebildeten Aldehyds. Nach E. Müller kann man Brenztraubensäure auch mit kolloidalem Osmium spalten. Dabei entsteht aber kein Acetoin, ein Zeichen, daß unsere Katalysatoren der Carboxylase viel näher stehen.

Ich komme nun zu dem wichtigen Problem der Spezifität. Die organischen Hauptvalenz-Katalysatoren

⁵⁾ E. Hägglund u. A. M. Augustson, Biochem. Ztschr. 170, 124 [1926]. E. Hägglund u. T. Rosenqvist, ebenda 181, 300 [1927].

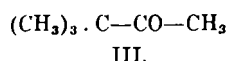
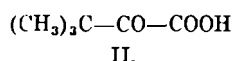
⁶⁾ W. Dirscherl, Ztschr. physiol. Chem. 201, 62 [1931].

⁷⁾ W. Dirscherl, ebenda 201, 67 [1931].

⁸⁾ W. Dirscherl, ebenda 201, 92 [1931].

⁴⁾ Ztschr. physiol. Chem. 201, 70 [1931].

sind so spezifisch auf bestimmte Substrate eingestellt, wie man es bisher nur bei den Fermenten kannte. Ich konnte früher zeigen, daß man Aminosäuren mit Isatin katalytisch dehydrieren kann. Diese Wirkung erstreckt sich nur auf Aminosäuren, nicht etwa, wie die Wirkung des Palladiums, auch auf Alkohole, Aldehyde oder Phenole. Nach Liebig wird Dicyan bei Gegenwart von Acetaldehyd katalytisch zu Oxamid hydratisiert. Der Aldehyd verändert aber nicht, wie die Wasserstoffionen, auch andere Nitrile, Ester, Amide und Acetale. Auch unsere Carboxylasemodelle wirken spezifisch. Sie spalten z. B. keine β -Ketosäuren, denn sie liegen in wirksamer Form als Aldehyd-imine vor, denen kaum mehr basische Eigenschaften zukommen. Die Spezifität ist aber noch viel weitergehend. Neuberg⁹⁾ hat kürzlich die interessante Beobachtung gemacht, daß Trimethyl-brenztraubensäure (II)



von Carboxylase nicht merklich angegriffen wird. Auch unsere Katalysatoren reagieren nicht mit dieser Säure. Diese feine strukturelle Spezifität der Carboxylase ist also bei den einfachen Katalysatoren schon vorhanden. Die Trägheit der Trimethyl-brenztraubensäure kann keinesfalls auf ihrem Unvermögen, sich zu enolisieren, beruhen, denn auch die Phenylglyoxylsäure kann keine Enolform bilden und wird doch von der Carboxylase und den Katalysatoren leicht angegriffen. Es bleibt vielmehr nur übrig, eine sterische Hinderung anzunehmen, und dafür sind auch Analoga in der Literatur bekannt. Offenbar ist die Bildung der Iminosäure behindert, ganz ähnlich, wie nach Petrenko¹⁰⁾ das Pinakolin (III) viel langsamer ein Phenylhydrazon bildet als Aceton. Das quaternäre Kohlenstoffatom behindert in beiden Fällen die Reaktionsfähigkeit der Carbonylgruppe. Somit sind unsere Carboxylasemodelle anderen Katalysatoren, z. B. dem Hämin, in der Spezifität weit überlegen. Hämin vermag bekanntlich oxydatisch, peroxydatisch und katalytisch zu wirken, wobei außerdem die Zahl der oxy-

⁹⁾ C. Neuberg u. F. Weinmann, Biochem. Ztschr. 200, 473 [1928].

¹⁰⁾ P. Petrenko-Kritschenko, Liebigs Ann. 341, 154 [1905].

dierbaren Substrate sehr groß ist. Es befinden sich darunter so verschiedenartige Stoffe wie Ölsäure und Cystein. Allgemein kann man erwarten, daß Schwermetallkatalysatoren eine geringere Spezifität besitzen, denn schon die Bindung des Katalysators an das Substrat erfolgt bei den Hauptvalenzkatalysatoren auswählender. Organische Gruppen reagieren meist nur mit wenigen anderen Gruppen leicht, während von Schwermetallionen sehr verschiedenartige Verbindungen leicht komplex gebunden werden. Außerdem wächst bei den Hauptvalenzkatalysatoren die Spezifität im Laufe der systematischen Aktivierung.

Zusammenfassend kann man folgende Ähnlichkeiten zwischen unseren Katalysatoren und der Carboxylase feststellen:

1. Die Katalysatoren bilden aus α -Ketosäuren dieselben Reaktionsprodukte wie Carboxylase. Die Wirkung läßt sich sehr stark aktivieren.
2. Die Kinetik der Katalyse stimmt mit dem Verlauf der Fermentreaktion weitgehend überein.
3. Sowohl bei der Katalyse wie bei der Fermentreaktion findet als Nebenreaktion eine Acyloinbildung statt.
4. Die strukturelle Spezifität der Carboxylase ist schon bei den Katalysatoren zu beobachten.

Diese vier verschiedenen Wirkungen sind charakteristisch für die aktive Gruppe unserer Katalysatoren, die Aminogruppe. Es wäre sehr merkwürdig, wenn es noch andere aktive Gruppen gäbe, die genau die gleichen Erscheinungen hervorbrächten. Deshalb darf man mit großer Wahrscheinlichkeit annehmen, daß die aktive Gruppe der Carboxylase ebenfalls eine aktivierte Aminogruppe ist. Über die Natur der aktivierenden Gruppen in der Carboxylase kann man vorläufig nichts aussagen.

Zum Schluß ist es mir eine besondere Freude, den Anteil hervorzuheben, den meine Mitarbeiter an der Ausgestaltung unserer Ergebnisse haben. Es sind dies die Herren Dr. Hutschenreuter, Jüttmann und Hellrung; ihrer Geschicklichkeit und Ausdauer ist es zu verdanken, wenn wir trotz anfänglicher Enttäuschungen einen Schritt weiter gekommen sind.

[A. 181.]

Über die Beeinflussung der Brechung von Flüssigkeitsgemischen durch Nitrocellulose verschiedener Stabilität.

III. Mitteilung zur Kenntnis des Stabilisierungsvorganges¹⁾.

Von T. TOMONARI, C. TROGUS und K. HESS,

Kaiser Wilhelm-Institut für Chemie, Abteilung Heß, Berlin-Dahlem.

(Eingeg. 21. September 1931.)

A. Einleitung.

Im Rahmen einer Untersuchung, die sich mit den Vorgängen bei Quellung und Lösung von Celluloseverbindungen befaßt, interessierte das refraktometrische und interferometrische Verhalten von Nitrocellulosepräparaten. Es wurde beobachtet, daß bei fast konstantem Stickstoffgehalt in Abhängigkeit von den *Darstellungsbedingungen* und den *Nachbehandlungsoperationen* für Lösungen von Nitrocellulose in gemischten Lösungsmitteln zwei typische Brechungswerte beobachtet werden. Beide Brechungswerte sind von der Art und der Zusammensetzung des

Lösungsmittelgemisches abhängig und stellen sich oft erst nach längerer Zeit ein (vgl. die Beispiele in Tab. 1 und 2). Versuche zur Deutung dieses Befundes führten zu der Vorstellung, daß das verschiedene refraktometrische Verhalten von Nitrocellulose in Lösungen entweder durch zwei chemisch verschiedene Nitrocellulosen verursacht ist, oder daß in den Präparaten ein und dieselbe Nitrocellulose vorliegt, der eine zweite unbekannte Komponente beigemischt ist.

Das Ziel der vorliegenden Untersuchung ist die Klärung dieser Erscheinung und die Auffindung der Darstellungsbedingungen, nach denen Nitrocellulosepräparate von gleichem Brechungsexponenten sicher erhalten werden können.

¹⁾ I. Mittlg. vgl. K. Heß u. C. Trogus, Ztschr. physikal. Chem. (B) 12, 268 [1931]. II. Mittlg. vgl. K. Heß u. C. Trogus, Ztschr. angew. Chem. 44, 825 [1931].