

VERSAMMLUNGSBERICHTE

**Colloquium des Kaiser-Wilhelm-Instituts
für medizinische Forschung.**

Heidelberg, den 7. Dezember 1936.

Vorsitzender: Geheimrat von Kreil.

O. Meyerhof und K. Lohmann „Über die umkehrbare Reaktion zwischen Hexosediphosphorsäure und Triosephosphorsäure.“ (Vorgetragen von O. Meyerhof):

Bei der von O. Meyerhof und K. Lohmann aufgefundenen Fermentreaktion

Hexosediphosphat \rightleftharpoons 2 Dioxyacetonphosphat¹⁾

handelt es sich um ein echtes thermodynamisches Gleichgewicht. Das heißt: einerseits ist die Gleichgewichtslage abhängig von der Konzentration, es gilt das Massenwirkungsgesetz nach der Beziehung $K = \frac{c^2 \text{Diox}}{c_1 c_2}$. Andererseits ist aber auch K

$$\ln K_{T_2} - \ln K_{T_1} = \frac{Q}{R} \left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right)$$

wurde experimentell bestätigt²⁾. Die Berechnung aus der Zunahme von K ergab für den Fermentvorgang Hexose-diphosphat \rightarrow 2 Dioxyacetouphosphat bemerkenswerterweise eine negative Wärmetönung, nämlich eine molare Spaltungswärme von ~ 11300 cal. Gemessen wurden ~ 14000 cal für die Spaltung und ein ebenso großer positiver Wert für die Synthese (2Dioxyacetouphosphat \rightarrow Hexosediphosphat).

Messungen der Reaktionskonstanten ergaben jedoch, daß die Geschwindigkeit beiderseits im Hauptteil des Umsatzes nach monomolekularer Reaktionsordnung verläuft. Diese merkwürdige Tatsache wird durch die Auffindung einer monomolekulär verlaufenden Zwischenreaktion verständlicher, die von *Emden*³⁾ gefordert wurde, und an der die von *Fischer* und *Baer*⁴⁾ synthetisierte Glycerinaldehydphosphorsäure wie folgt beteiligt ist. Dioxyacetonphosphorsäure wandelt sich enzymatisch in Glycerinaldehydphosphorsäure um⁵⁾ und diese geht mit Dioxyacetonphosphorsäure enzymatisch eine Aldolkondensation ein. Daher bekommt das Gesamtgleichgewicht die nachstehende Formulierung:

$$\text{Hexosediphosphat} \rightleftharpoons \text{Dioxyacetophosphat} \\ \text{Glycerinaldehydphosphat} \rightleftharpoons \text{Dioxyacetophosphat}$$

Diese Annaline folgt aus der analogen enzymatischen Aldolkondensation von Dioxyacetophosphat mit Glycerinaldehyd, die mittels der sogenannten „Aldolase“⁽⁶⁾ zum Fructose-1-phosphat von *Rubison* und *Tankó* zusammentreten.

Es fragt sich nun, in welchem Maße die genannten calorimetrischen und kinetischen Messungen auf diese einzelnen Reaktionen zu beziehen sind. Von der Reaktion Glycerinaldehydphosphorsäure \rightarrow Dioxyacetophosphorsäure ist nach dem Vergleich der Verbrennungs- und Lösungswärmen der freien Zucker ein Beitrag zu der negativen Wärmetönung zu vermuten. Zum Vergleich wurde die Wärme der chemischen Aldolkondensation von Dioxyaceton bzw. Glycerinaldehyd in Alkali gemessen^{7,8)}. Die Wärmetönungen der beiden Kondensationen ergeben, voneinander subtrahiert, die Wärmetönung der Reaktion Glycerinaldehyd (gel.) \rightarrow Dioxyaceton (gel.), die etwa 2000 cal pro Mol beträgt. Ferner wurde die enzymatische Reaktion Dioxyacetophosphat + Glycerinaldehyd \rightarrow Hexose-1-phosphat calorimetrisch untersucht, wobei sich eine Wärmetönung von +14500 cal pro Mol Hexose-1-phosphat ergab. Dieser Wert bedarf einer Korrektur, die durch die Anwendung des freien Glycerinaldehyds bedingt ist, er liegt nach der Analogie zur Kondensation von freiem Dioxyaceton etwas

¹⁾ Biochem. Z. 271, 89 [1934].

²⁾ O. Meyerhof, ebenda 277, 77 [1935].

³⁾ Embden, Deuticke u. Kraft. Klin. Wschr. 1933, 213.

⁴⁾ H. O. L. Fischer u. E. Baer, Ber. dtsch. chem. Ges. **65**, 337 [1932].

⁵⁾ O. Meyerhof u. W. Kießling, Biochem. Z. **279**, 40 [1935].
⁶⁾ O. Meyerhof, K. Lohmann u. Ph. Schuster, ebenda **286**, 319 [1936].
⁷⁾ E. Fischer u. Tafel, Ber. dtsch. chem. Ges. **20**, 1092, 2566,
 16077, 28, 220, 16023.

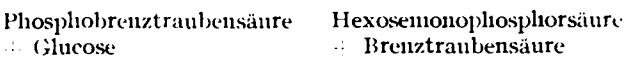
⁹⁾ H. O. L. Fischer u. F. Baer, diese Ztschr. **49**, 30 [1936].

höher als bei der Reaktion des Phosphorsäureesters. So kommt man für die Aldolasereaktion auf eine Wärmetönung von etwa 13500 cal pro Mol. Nur die kleine in der Fehlergrenze gelegene Differenz gegen den für die Gesamtreaktion gefundenen Betrag (14000 cal) entfiele also auf die Reaktion Glycerinaldehydphosphat → Dioxyacetonphosphat.

Die Bedeutung der Reaktion: Glycerinaldehydphosphorsäure \rightleftharpoons Dioxyacetonphosphorsäure für die Kinetik der Hexose-diphosphat-Synthese liegt darin, daß das Gleichgewicht der Isomerisierungsreaktion unter gewöhnlichen Bedingungen sehr weit nach rechts liegt. Die Nachlieferung von Glycerinaldehydphosphorsäure geht daher langsam vor sich, und daraus folgt die Vermutung, daß dies eben die Geschwindigkeitsbestimmende Zwischenreaktion bei der Kondensation ist.

O. Meyerhof u. P. Ohlmeyer: „Über die Rolle der Cozymase bei der enzymatischen Milchsäurebildung.“

Im Verlauf des anaeroben biologischen Zuckerabbaus kann man 3 Reaktionstypen unterscheiden: 1. Gleichgewichtsreaktionen; diese gehen noch in ausdialysierten, also cofermentfreien Enzymextrakten vor sich, so z. B. die Reaktion Hexose-diphosphat \rightleftharpoons 2 Dioxyacetophosphat. 2. Umlagerungen von Phosphorsäure, für sie ist ein Coferment unentbehrlich, z. B. die Gleichung



muß durch Einsetzung des Adenylsäuresystems als Coferment folgendermaßen zerlegt werden:

- a) 2 Phosphobrenztraubensäure Adenylpyrophosphorsäure
 | Adenylsäure | 2 Brenztraubensäure
 b) Adenylpyrophosphorsäure 2 Hexosemonophosphorsäure
 | 2 Glucose | Adenylsäure

3. Oxydoreduktionen; als Beispiel sei die Dismutation von Hexosediphosphat zu Glycerinphosphorsäure und Glycerinsäure-phosphorsäure genannt. Als Coferment der Oxydoreduktionen ist nun die *Harden-Eulersche Cozymase* von O. Warburg und H. von Euler erkannt worden, insbesondere lehrten neuere Untersuchungen von Warburg⁹⁾, daß der Übergang Pyridin \rightleftharpoons Dihydropyridin die Oxydoreduktionswirkung der Cozymase ausmacht. Die Reduktion mit Hyposulfit, die enzymatische Abspaltung von Adenylsäure¹⁰⁾, die Mikrobestimmung des Amino-N nach van Slyke und die erschöpfende katalytische Hydrierung mit Platin werden zur quantitativen Bestimmung der Cozymase verwandt.

Die Unentbehrlichkeit der Cozymase für die Hauptreaktion im stationären Zustand der alkoholischen Gärung¹¹), bei der aus Glucose und Acetaldehyd in Gegenwart von Phosphat Phosphoglycerinsäure und Alkohol entstehen, ist erwiesen¹²). Dagegen für die Hauptreaktion im stationären Zustand der Milchsäurebildung, bei der aus Triosephosphorsäure und Brenztraubensäure Phosphoglycerinsäure und Milchsäure entstehen, die also zur Gärungsgleichung in vollkommenen Analogie steht, war über die Beteiligung der Cozymase bisher nichts Sichereres entschieden, da die Dialyse von Muskelextrakt für Versuche über die Milchsäurespaltung von Glykogen entweder nicht erschöpfend gewesen war oder zur Schädigung des Enzyms geführt hatte. Jetzt ließ sich jedoch für die genannte Reaktion, ausgehend von Hexosediphosphat und Brenztraubensäure (in Fluorid) zeigen, daß auch bei ihr die Cozymase ein integrierender Bestandteil des Cofermentsystems ist. Bis zu +8 h dialysierter Muskelextrakt kann nämlich schon mit 5 γ eines zu 40% reinen Cozymasepräparates so reaktiviert werden, daß in 1 cm³ Lösung die Hälfte der maximal möglichen Milchsäure aus Brenztraubensäure gebildet wird. Adenylsäure allein ist unwirksam, indessen kann sie in Kombination mit Cozymase die Wirkung der letzteren beträchtlich erhöhen. So wird das halbe Milchsäuremaximum bei Zusatz von 180 γ Adenylsäure schon mit 1,2 γ Cozymase erreicht. Die echt katalytische Funktion der Cozymase ergibt sich aus dem Umstand, daß 1 Molekül mehr als 1000 Moleküle Brenztraubensäure reduziert. Auch die alkali-inaktivierte Cozymase nach Euler, die nach ihm im autokatalysierten Muskelextrakt glykolytisch wirksam ist, ist in der genannten Anordnung ebenso wirkungslos wie Adenylsäure ohne Cozymase.

⁹⁾ Biochem. Z. **287**, 291 [1936]. ¹⁰⁾ P. Ohlmeier, ebenda **287**, 212 [1936].

¹¹⁾ Vgl. diese Ztschr. 49, 129 [1936].