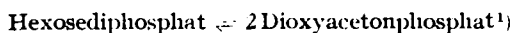


## VERSAMMLUNGSBERICHTE

Colloquium des Kaiser-Wilhelm-Instituts  
für medizinische Forschung.

Heidelberg, den 7. Dezember 1936.

Vorsitzender: Geheimrat von Krehl.

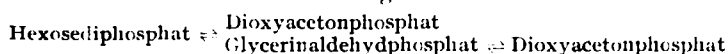
O. Meyerhof und K. Lohmann „Über die umkehrbare  
Reaktion zwischen Hexosediphosphorsäure und Triosephosphor-  
säure.“ (Vorgetragen von O. Meyerhof):Bei der von O. Meyerhof und K. Lohmann aufgefundenen  
Fermentreaktion

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  $K = \frac{c_{\text{Diox.}}^2}{c_{\text{Hex.}}}$ ; andererseits ist aber auch  $K$ , die Gleichgewichtskonstante, abhängig von der Temperatur,  $\log K$  ist eine lineare Funktion der reziproken absoluten Temperatur; die Gültigkeit der *van't Hoff'schen* Isochoren-  
gleichung

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

wurde experimentell bestätigt<sup>2)</sup>. Die Berechnung aus der Zunahme von  $K$  ergab für den Fermentvorgang Hexosediphosphat  $\rightarrow$  2 Dioxyacetonphosphat 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 (2 Dioxyacetonphosphat  $\rightarrow$  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 monomolekular verlaufenden Zwischenreaktion verständlicher, die von *Emden*<sup>3)</sup> gefordert wurde, und an der die von *Fischer* und *Baer*<sup>4)</sup> synthetisierte Glycerinaldehydphosphorsäure wie folgt beteiligt ist. Dioxyacetonphosphorsäure wandelt sich enzymatisch in Glycerinaldehydphosphorsäure um<sup>5)</sup> und diese geht mit Dioxyacetonphosphorsäure enzymatisch eine Aldolkondensation ein. Daher bekommt das Gesamtgleichgewicht die nachstehende Formulierung:



Diese Annahme folgt aus der analogen enzymatischen Aldolkondensation von Dioxyacetonphosphat mit Glycerinaldehyd, die mittels der sogenannten „Aldolase“<sup>6)</sup> zum Fructose-1-phosphat von *Rubisc* und *Tankó* zusammenzutreten.

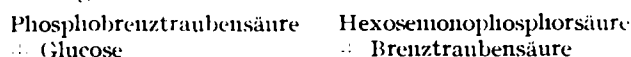
Es fragt sich nun, in welchem Maße die genannten calorimetrischen und kinetischen Messungen auf diese einzelnen Reaktionen zu beziehen sind. Von der Reaktion Glycerinaldehydphosphorsäure  $\rightarrow$  Dioxyacetonphosphorsäure ist nach dem Vergleich der Verbrennungs- und Lösungswärmen der freien Zucker ein Beitrag zu der negativen Wärmetönung zu vermuten. Zum Vergleich wurde die Wärme der chemischen Aldolkondensation von Dioxyaceton bzw. Glycerinaldehyd in Alkali gemessen<sup>7,8)</sup>. 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 Dioxyacetonphosphat + 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

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) entfiel also auf die Reaktion Glycerinaldehydphosphat  $\rightarrow$  Dioxyacetonphosphat.

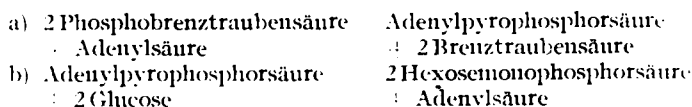
Die Bedeutung der Reaktion: Glycerinaldehydphosphorsäure  $\rightleftharpoons$  Dioxyacetonphosphorsäure für die Kinetik der Hexosediphosphat-Synthese liegt darin, daß das Gleichgewicht der Isomerisierungsreaktion unter gewöhnlichen Bedingungen sehr weit nach rechts liegt. Die Nachlieferung von Glycerinaldehydphosphorsäure 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 Hexosediphosphat  $\rightleftharpoons$  2 Dioxyacetonphosphat. 2. Umesterungen von Phosphorsäure, für sie ist ein Coferment unentbehrlich, z. B. die Gleichung



muß durch Einsetzung des Adenylsäuresystems als Coferment folgendermaßen zerlegt werden:



3. Oxydoreduktionen; als Beispiel sei die Dismutation von Hexosediphosphat zu Glycerinphosphorsäure und Glycerinsäurephosphorsäure 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 Warburg<sup>9)</sup>, daß der Übergang Pyridin  $\rightleftharpoons$  Dihydropyridin die Oxydoreduktionswirkung der Cozymase ausmacht. Die Reduktion mit Hyposulfit, die enzymatische Abspaltung von Adenylsäure<sup>10)</sup>, 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 Gärung<sup>11)</sup>, bei der aus Glucose und Acetaldehyd in Gegenwart von Phosphat Phosphoglycerinsäure und Alkohol entstehen, ist erwiesen<sup>12)</sup>. Dagegen für die Hauptreaktion im stationären Zustand der Milchsäurebildung, bei der aus Triosephosphorsäure und Brenztraubensäure Phosphoglycerinsäure und Milchsäure entstehen, die also zur Gärungsgleichung in vollkommener Analogie steht, war über die Beteiligung der Cozymase bisher nichts Sicheres 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 48 h dialysierter Muskelextrakt kann nämlich schon mit 5  $\gamma$  eim.s zu 40 % reinen Cozymasepräparates so reaktiviert werden, daß in 1 cm<sup>3</sup> 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  $\gamma$  Adenylsäure schon mit 1,2  $\gamma$  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 auto lysierten Muskelextrakt glykolytisch wirksam ist, ist in der genannten Anordnung ebenso wirkungslos wie Adenylsäure ohne Cozymase.

<sup>1)</sup> Biochem. Z. 271, 89 [1934].

<sup>2)</sup> O. Meyerhof, ebenda 277, 77 [1935].

<sup>3)</sup> Emden, Deuticke u. Kraft, Klin. Wschr. 1933, 213.

<sup>4)</sup> H. O. L. Fischer u. E. Baer, Ber. dtsh. chem. Ges. 65, 337 u. 1040 [1932].

<sup>5)</sup> O. Meyerhof u. W. Kießling, Biochem. Z. 279, 40 [1935].

<sup>6)</sup> O. Meyerhof, K. Lohmann u. Ph. Schuster, ebenda 286, 319 [1936].

<sup>7)</sup> E. Fischer u. Tafel, Ber. dtsh. chem. Ges. 20, 1092, 2566, 3384 [1887]; 23, 388 [1890].

<sup>8)</sup> H. O. L. Fischer u. E. Baer, diese Ztschr. 49, 30 [1936].

<sup>9)</sup> Biochem. Z. 287, 291 [1936]. <sup>10)</sup> P. Ohlmeyer, ebenda 287, 212 [1936].

<sup>11)</sup> Vgl. diese Ztschr. 49, 129 [1936].

<sup>12)</sup> P. Ohlmeyer, l. c.