

## Zum biologischen Ab- und Aufbau der Aminosäuren

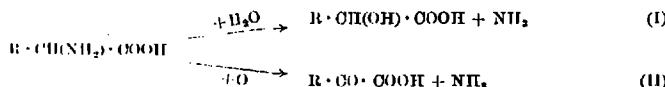
Von Dozent Dr. WILHELM FRANKE

Chem. Laboratorium der Bayrischen  
Akademie der Wissenschaften, München

*Inhalt:* Problemstellung und ältere Arbeiten (bis 1930). — Auffindung und Isolierung aminosäure-oxydierender Enzyme („Aminosäure-Oxhydrasen“). — Die Glutaminsäure-Dehydrase. — Die Uraminierung. — Carboxylatische Aminbildung, ein Nebenweg des biologischen Aminosäure-Abbaus. — Die Aminosäure-Dismutierung anaerover Bazillen. — Anhang: Pathogener und pathologischer Eiweißumsatz.

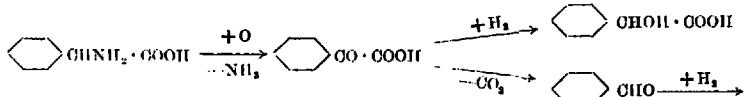
### Problemstellung und ältere Arbeiten (bis 1930).

Vor rund 30 Jahren, wenige Jahre nachdem Knoop (1) für den biologischen Fettsäureabbau das Schema der  $\beta$ -Oxydation aufgestellt hatte, ist auch der Hauptweg des Aminosäureabbaus in der Zelle in seinen Grundzügen richtig erkannt worden. Was man vorher schon wußte, war, daß fast der gesamte Stickstoff der Eiweißbruchstücke in einem sehr frühen Stadium des Abbaus entfernt wird und daß die verbleibenden N-freien Ketten dann nach den für die Verbrennung der Fettsäuren geltenden Regeln weiteroxydiert werden. Die noch zu entscheidende Frage war, ob die Entfernung des  $\text{NH}_3$ -Stickstoffs auf hydrolytischem (I) oder oxydativem Wege (II) erfolgte:



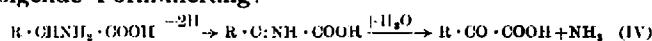
Manches sprach dabei für Reaktionsweg I; so hatte schon 1903 Neuberg (2) gezeigt, daß bei der Verfütterung von Alanin an Kaninchen Milchsäure im Harn auftritt, und auch in zahlreichen Versuchen der Folgezeit — teils an höheren Tieren, teils an Mikroorganismen ausgeführt — wurde sehr häufig die der eingesetzten Aminosäure entsprechende Oxysäure als Reaktionsprodukt gefunden. Zum Zwecke der besseren Kennzeichnung und leichteren Isolierbarkeit der Stoffwechselprodukte wurde dabei meist — in Anlehnung an das Verfahren Knoops bei den Fettsäuren — von phenylsubstituierten Aminosäuren (z. B. Phenylglykoll, Phenylalanin, Phenylaminobuttersäure) ausgegangen.

Es waren Neubauer (3) und seine Mitarbeiter (4), denen um 1910 zuerst die Isolierung von Ketosäuren in Stoffwechselversuchen mit Aminosäuren in einer Reihe von Fällen gelang. Sie konnten z. B. bei der Verfütterung von m-Tyrosin m-Oxyphenyl-brenztraubensäure im Harn der Tiere nachweisen, und im Gärungsversuch mit Hefe wurde aus Phenylglykoll in erheblicher Menge Phenylglyoxylsäure (neben Mandelsäure) erhalten. Der Schluß Neubauers auf die primäre Entstehung der Ketosäure war allerdings indirekter Natur: im zuletzt genannten Beispiel mit Hefe läßt sich Phenylglyoxylsäure leicht in Mandelsäure, letztere aber viel schlechter in die Ketosäure überführen. Außerdem läßt sich über die Ketosäure leichter die gleichzeitige Entstehung von Decarboxylierungsprodukten, wie Benzaldehyd und Benzylalkohol, verstehen:



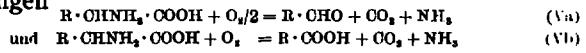
Daß die sekundäre Reduktion der Ketosäure nicht zwangsläufig auf der Oxysäurestufe Halt machen muß, war bereits durch Versuche Neubergs (5) (1908/09) an Fäulnisbakterien erwiesen: in Anaerobiose werden hier aus Aminosäuren sogar gesättigte Fettsäuren erhalten.

Nach der Aufstellung der Dehydrierungstheorie war es naheliegend, den Primärorgang der oxydativen Desaminierung als eine Wasserstoffentziehung zu interpretieren, die nicht notwendig an die Gegenwart von  $\text{O}_2$  geknüpft ist. Dementsprechend gab Wieland (6) 1922 folgende Formulierung:



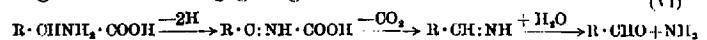
Ähnlich wie beim Abbau der höheren Fettsäuren, anders als beim Kohlenhydratabbau, hat es auch beim Aminosäureabbau noch rund ein Vierteljahrhundert gedauert, bis dem Stoffwechsel- der Enzymversuch folgte. Als Thunberg (7) 1920 seine klassischen Untersuchungen über die Dehydrasen des gewaschenen Muskelbreis begann, da zeigte sich, daß von den einfachen Fettsäuren nur die niederen Glieder bis etwa  $\text{C}_8$  mit teilweise schon recht geringer Intensität von Methylenblau dehydriert wurden, während von den Aminosäuren lediglich Glutaminsäure ein regelmäßiges und kräftiges Entfärbungsvermögen gegenüber dem Farbstoff aufwies. Die etwas späteren systematischen Untersuchungen Quastels (8) an Bakterien-dehydrasen ergaben ein damit übereinstimmendes Bild. Wenn man von einer vereinzelten Angabe Meyerhofs (9) (1925) absieht, wonach Zusatz verschiedener Aminosäuren bei Leberschnitten (nicht bei Muskel) erhebliche Mehraufnahme an  $\text{O}_2$  und Mehrbildung von  $\text{NH}_3$  bewirkt, so wußte man bis 1930 so gut wie nichts über die enzymatische Seite des Aminosäureabbaus.

Lange Zeit im Gegensatz zur Dürftigkeit der an biologischem Material gewonnenen Ergebnisse stand die Leichtigkeit, mit der Aminosäuren im Modellversuch unter physiologischen Bedingungen des  $\text{pH}$  und der Temperatur oxydiert werden konnten. Warburg u. Negelein (10) hatten zuerst 1921 angegeben, daß Aminosäuren an Feuchtiger Tierkohle verbrannt würden, Wieland u. Bergel (11) zeigten drei Jahre später, daß von einer vollständigen Verbrennung dabei nicht die Rede sein könne, daß vielmehr im wesentlichen die beiden einfachen Gleichungen



den Reaktionsverlauf beschreiben.

Man konnte sich zunächst vorstellen, daß der Chemismus der Reaktion einer Kombination der Gleichungen IV und III entspräche, wenngleich Wieland später aus guten Gründen, auf die nachher z. T. noch in anderem Zusammenhang zurückzukommen sein wird, zu folgender Auffassung gelangte:



Wesentlich und unabhängig von Einzelheiten in der Reihenfolge der späteren Reaktionsphasen erschien jedenfalls die Wielandsche Formulierung des Primärorgangs als einer Dehydrierung,

und diese Formulierung fand eine weitere Stütze in der Beobachtung, daß sich der Sauerstoff in Reaktion Va und Vb durch andere Wasserstoffacceptoren, z. B. Chinon, Alloxan, Isatin, ersetzen ließ und daß diese anaeroben Reaktionen sich außer durch Tierkohle auch durch den typischen Dehydrierungskatalysator Palladium beschleunigen ließen.

Um die gleiche Zeit gab ferner Ellinger (12) (1922) an, daß in nicht mehr atmenden Zelltrümmer-suspensionen, die durch Kältezerstörung von Vogelblutkörperchen und anschließende Auswaschung gewonnen sind — wobei aus den ohnedies dehydrasearmen Zellen auch noch Substrate und Coenzyme entfernt werden —, gerade Aminosäuren in ähnlichem Ausmaß wie an Tierkohle abgebaut werden. Diese Ergebnisse veranlaßten z. B. noch 1926 Oppenheimer (13) in seiner großen Fermentmonographie dazu, an der enzymatischen Natur des biologischen Aminosäure-

abbaus überhaupt zu zweifeln und dafür Fe-haltige Zellstrukturen, u. U. auch homogene Chinonkatalysen in der Zelle verantwortlich zu machen.

Katalytische aerobe Modellsysteme der letzteren Art sind bald darauf fast gleichzeitig (1927—1929) von Oparin (14) aus dem pflanzlichen Atmungsschroben Chlorogensäure, von Edlbacher (15) und Blas (16) aus dem der tierischen Zelle vertrauten Adrenalin aufgebaut worden.

Ganz ähnlich war die Lage hinsichtlich der biologischen Aminosäuresynthese. Hier hat insbes. Knoop schon frühzeitig den Gedanken vertreten, daß die Wege des Aufbaus in der Zelle weitgehend denen des Abbaus entsprechen würden. Schon 1910 ist eine reduktive Synthese von Aminosäuren aus Ketosäuren im lebenden Organismus bzw. am überlebenden Gewebe experimentell verwirklicht worden: von Knoop (17) im Fütterungsversuch, wobei der Übergang von Benzylbrenztraubensäure in Benzylalanin nachgewiesen wurde, von Embden (18) im Durchblutungsexperiment, wobei Brenztraubensäure in Alanin überging. In der Folgezeit ist auch hier der Modellversuch dem Enzymversuch vorausgegangen: nach Versuchen von Knoop u. Oesterlin (19) (1927) gelingt die Darstellung von Aminosäuren aus der entsprechenden Ketosäure + NH<sub>3</sub> in vitro bei Gegenwart der verschiedensten Reduktionsmittel (Pd + H<sub>2</sub>, FeSO<sub>4</sub>, Cystein) in überraschend guter Ausbeute.

#### Auffindung und Isolierung aminosäure-oxydierender Enzyme („Aminosäure-Oxyhydrasen“).

Eine Änderung an diesem Stand der Dinge wurde angebahnt durch zwei unabhängige Untersuchungen von Glover (20) und Kisch (21) aus dem Jahre 1931. Beide Autoren stellten fest — teils durch Messung der NH<sub>3</sub>-Bildung, teils durch Verfolgung der O<sub>2</sub>-Aufnahme —, daß Leber- und ganz besonders Nierenschnitte Aminosäuren oxydativ abzubauen vermögen.

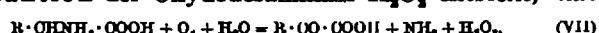
Die bisherigen negativen Befunde an tierischem Gewebe waren also wesentlich darauf zurückzuführen, daß man, nach dem Vorgang Thunbergs, fast ausschließlich mit dem für die Aminosäuredehydrierung tatsächlich recht ungeeigneten, weil am entsprechenden Enzym sehr armen Muskel gearbeitet hatte. (Ähnliches ergab sich um die gleiche Zeit übrigens auch für den enzymatischen Abbau der höheren Fettsäuren, der gleichfalls nicht im Muskel, sondern nach Quagliariello (22) u. Mazza (23) vorwiegend in der Leber — neben dem Fettgewebe — erfolgt.)

Eine Bestätigung und Erweiterung vor allem im Hinblick auf die enzymatische Seite der Abbauvorgänge fanden die Befunde Gloves und Kischs durch Krebs (24a-f), der in einer Reihe von schönen Untersuchungen dieses Gebiet seit 1932 mit teilweise überraschenden Ergebnissen bearbeitete.

Krebs fand zunächst, daß die oxidative Desaminierung der Aminosäuren durch Nierenschnitte mit viel — bisweilen um das 10—20fache — größerer Geschwindigkeit erfolgt als durch Leber. Für die Regulation des Säure-Basen-Gleichgewichts durch die Niere ist das wahrscheinlich sehr bedeutungsvoll, da dann jederzeit ausreichende Mengen NH<sub>3</sub> zur Neutralisation auszuscheidende Säuren bereitgestellt werden können. Für den Eiweißabbau insgesamt dürfte aber wegen ihrer viel erheblicheren Größe die Leber als Stätte der Desaminierung der Aminosäuren eine ungleich größere Bedeutung haben. London (25) und Neber (26) konnten etwas später zeigen, daß außer Niere und Leber auch die Darmschleimhaut eine gewisse Desaminierungsfähigkeit besitzt. Nach Krebs werden so gut wie alle Aminosäuren durch Leber und Niere oxydativ desaminiert, der Glutaminsäure kommt keinerlei Sonderstellung zu. Auffallend im Hinblick auf die sonst so betonte stereochemische Spezifität der meisten Enzyme gerade des höheren Organismus war nun die Tatsache, daß beide Stereoisomeren der Aminosäuren angegriffen werden, ja die Glieder der nicht natürlich vor-

kommenen d-Serie sogar in vielen Fällen weit rascher als die natürlichen optischen Antipoden. Stellt man Gewebeextrakte, etwa durch Verreiben mit Quarzsand oder durch Ausziehen von acetongetrockneter Leber oder Niere mit Wasser oder Pufferlösungen, her, so vermögen diese überhaupt nur mehr die nichtnatürlichen d-Aminosäuren zu oxydieren. Nach Krebs liegen in den Geweben zwei verschiedene „Aminosäure-Oxydodesaminasen“ vor: 1. ein System, das von der Zelle abgetrennt werden kann und weder durch Trocknen noch durch HCN oder Octylalkohol gehemmt wird; diese „d-Aminosäure-desaminase“ oxydiert nur die nichtnatürlichen Aminosäuren, vorzugsweise die einbasischen Monoaminoäuren. 2. Ein nicht aus der Zelle extrahierbares System, zerstört durch Trocknen, wie die Zellatmung hemmbar durch HCN, ferner durch Octylalkohol: „l-Aminosäure-desaminase“, die natürlichen Aminosäuren oxydierend. Krebs hält es für wahrscheinlich, daß die beiden Systeme gewisse gemeinsame Komponenten haben mögen, daß z. B. das lösliche d-Enzym eine Komponente des l-Enzymsystems sein mag.

Als Produkt der Desaminasewirkung konnte Krebs mit aller Schärfe die entsprechenden  $\alpha$ -Ketosäuren nachweisen, womit die Gültigkeit des alten Neubauerschen Schemas endgültig auch in vitro erwiesen ist. Arbeitet man mit Gewebeschnitten, so geht der O<sub>2</sub>-Verbrauch allerdings erheblich über den der Ketosäure entsprechenden hinaus. Es gelingt aber, die Oxydation der Ketosäuren durch Zusatz von m/1000-As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> selektiv zu hemmen, und unter diesen Umständen lassen sie sich in vielen Fällen praktisch quantitativ, z. B. als 2,4-Dinitrophenylhydrazone erfassen. Noch viel einfacher liegen die Verhältnisse beim isolierten Enzym, bei dem ohne weitere Hemmungsmittel die O<sub>2</sub>-Aufnahme bei der Ketosäure stoppt. Für eine ganze Reihe von Enzympräparaten verschiedener Herkunft hat Krebs so gezeigt, daß das Verhältnis O<sub>2</sub>:NH<sub>3</sub>:Ketosäure in unmittelbarer Nähe von 1:2:2, also den von Neubauer geforderten Proportionen liegt. In einigen Fällen liegt der Quotient O<sub>2</sub>:NH<sub>3</sub> allerdings erheblich tiefer und erreicht bei einigen Kaltblütern den unteren Grenzwert 1:1. Es handelt sich hier aber nicht, wie man annehmen könnte, um die Wirkung einer gleichzeitig in den Präparaten vorhandenen Keton-oxydase, sondern höchstwahrscheinlich um sog. „sekundäre Oxydationen“ von Stoffen, die gleichzeitig in den Enzymlösungen vorhanden sind. Auf indirektem Wege ist nämlich einerseits von Keilin u. Hartree (27), andererseits von Bernheim (28) (1936) wahrscheinlich gemacht worden, daß bei der Primärreaktion der Oxydodesaminase H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> entsteht, nach



das normalerweise zwar durch die stets vorhandene Katalase zersetzt wird, unter geeigneten Bedingungen aber

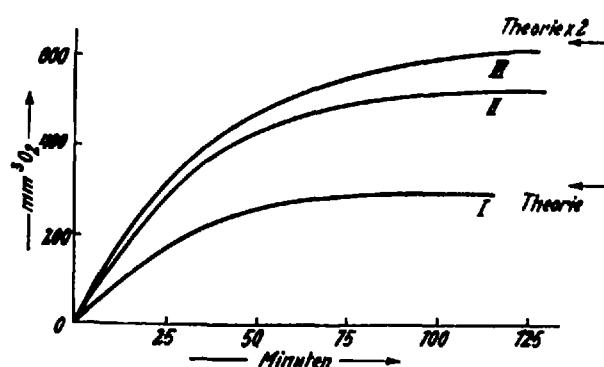
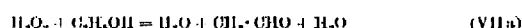


Abb. 1. Sekundäroxydation von Alkohol im System Aminosäure-oxhydrase + Alanin.

Nach Keilin und Hartree (27), 1936.

I Aminosäure-oxhydrase + Alanin, II Aminosäure-oxhydrase + Alanin + Alkohol, III Aminosäure-oxhydrase + Alanin + Alkohol + Katalase.

auch peroxydatisch in einer Sekundärreaktion verbraucht werden kann. So hat Bernheim die gleichzeitige Oxydation von Hämoglobin zu Methämoglobin — allerdings nur qualitativ — und Keilin die gleichzeitige Oxydation von Alkohol zu Acetaldehyd, entsprechend der Sekundärreaktion

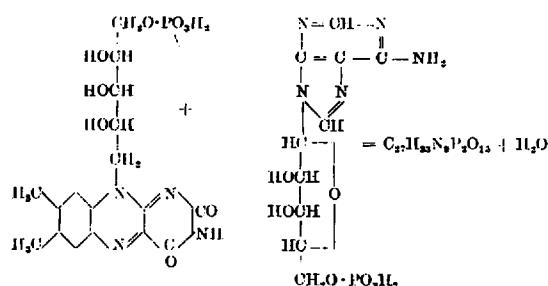


sogar quantitativ festgestellt (Abb. 1).

Auf den überraschenden Befund, daß bei dieser und ähnlichen Sekundärreaktionen die sonst so spezifische Katalase als Peroxidase fungiert, kann hier nur kurz hingewiesen werden.

In auffallendem Gegensatz zu dieser  $H_2O_2$ -Bildung, die doch für typische Dehydrasen von der Art des Schardinger-Enzyms charakteristisch schien, steht nun der Befund, daß sich der Sauerstoff nicht oder nur äußerst mangelhaft durch andere Acceptoren — untersucht wurde allerdings nur Methylenblau — ersetzen läßt (24d). Selbst bei den Aminosäuren, wo dies möglich ist — wie z. B. beim Leucin — reagiert der Farbstoff rund 50mal langsamer als  $O_2$ . In den letzten Jahren hat sich allerdings die Zahl dieser besonders acceptorspezifischen Dehydrasen stark vermehrt, so daß man sie heute als eigene Gruppe — die der Oxhydrasen oder Aerodehydrasen — führt (29). Man könnte sie auch als Pseudo-oxydasen bezeichnen. Dazu gehören u.a. Glucose-oxydase, Oxal-oxydase, Ascorbinsäure-oxydase, Monoamin-oxydase (Tyraminase), Diamin-oxydase (Histaminase), Uricase und schließlich auch unsere Aminosäure-oxydase. (Genauer wäre jeweils die Zusammensetzung mit -oxydase oder -aerodehydrase.) Gemeinsam ist ihnen die direkte und ausschließliche oder (im Vergleich zu anderen Acceptoren) ungewöhnlich bevorzugte Reaktion mit molekularem  $O_2$  unter nachweisbarer  $H_2O_2$ -Bildung, die Unabhängigkeit von der Gegenwart eines dialysierbaren Coferments und die Unempfindlichkeit gegen die schwermetallbindende Blausäure. (Letzteres Kriterium scheint allerdings in einigen Fällen — Ascorbinoxidase, Diaminoxidase und Uricase — nicht oder nur bedingt zu gelten.)

Vor kurzem ist nun die Krebs'sche Aminosäure-oxhydrase als erste Vertreterin dieser Enzymgruppe durch Warburg u. Christian (30) hinsichtlich ihres Bauplans aufgeklärt worden. Sie fanden, daß das Ferment aus einem unwirksamen Proteinteil und einem reversibel abtrennbaren unwirksamen Nichtproteinteil — der prosthetischen Gruppe — besteht, die sich dissoziierend zu dem wirksamen Ferment verbinden. Die prosthetische Gruppe des Enzyms konnte kristallisiert erhalten werden, sie hat das Molekulargewicht 785 und enthält 2 Moleküle Phosphorsäure; bei der sauren Hydrolyse wird ein Molekül Adenin, bei der alkalischen Photolyse ein Molekül Luminoflavin frei. Die elementare Zusammensetzung  $C_{27}H_{33}N_9P_2O_{16}$  ist die eines Alloxazin-adenin-dinucleotids, das man sich entstanden denken kann durch Vereinigung von Riboflavin-phosphorsäure mit Adenylsäure unter Austritt von  $H_2O$ :



Die Trennung des Fermentproteins von der gelben prosthetischen Gruppe gelingt durch Ansäuern des Fer-

ments in 20%ig gesättigter Ammonsulfat-Lösung auf  $p_{H_2}$  2,8: das Protein fällt, stabilisiert durch das Ammonsulfat, nichtdenaturiert aus, das Nucleotid bleibt in Lösung und kann nach einer Reihe von Reinigungsoperationen als Bariumsalz gefällt werden. Auch das Protein lässt sich -- nach einer späteren Veröffentlichung von *Negelein* u. *Brömel* (31) (1939) — sehr weitgehend (rd. 400fach) anreichern, im wesentlichen durch Ammonsulfat-Fraktionierungen bei bestimmtem  $p_H$ . Nach den Angaben der Autoren ist der erreichte Reinheitsgrad des Fermentproteins 70%, da sich gegenüber der prosthetischen Gruppe ein Verbindungsgewicht von 100000 ergibt, nach den bekannten Gesetzmäßigkeiten der Eiweißchemie jedoch ein solches von 70000 zu erwarten ist.

Die Aminosäure-oxhydrase gehört nach Warburg u. Christian in die Gruppe der „gelben Fermente“. Von dem alten, durch die gleichen Autoren 1932 entdeckten gelben Ferment (32) — heute gewöhnlich als Flavin-ferment schlechthin bezeichnet — unterscheidet es sich sowohl durch den Proteinanteil als auch durch die prosthetische Gruppe (vgl. auch die Spektren der beiden prosthetischen Gruppen in Abb. 2). Das alte gelbe Ferment kann keine Aminosäuren, das neue keine hydrierten Pyridin-nucleotide oxydieren. Dagegen ist in beiden Fällen das Wirkungsprinzip das gleiche, nämlich die reversible Hydrierung und Dehydrierung des Alloxazinrings; erstere erfolgt beim neuen Ferment durch die Aminosäuren, letztere durch den molekularen Sauerstoff. Negelein u. Brömel konnten zeigen, daß nur das ans Protein gebundene Alloxazin-adenin-dinucleotid in seinem Alloxazinring durch die Aminosäure hydriert wird. Die Verbindung zwischen Protein und prosthetischer Gruppe ist in der Aminosäure-oxydase nicht so fest wie im alten gelben Ferment, aber fester als in den bisher isolierten Pyridin-proteiden, in denen der Pyridinkörper Nicotinsäureamid die Rolle des Alloxazins als reversibel hydrierbare Wirkgruppe ersetzt.

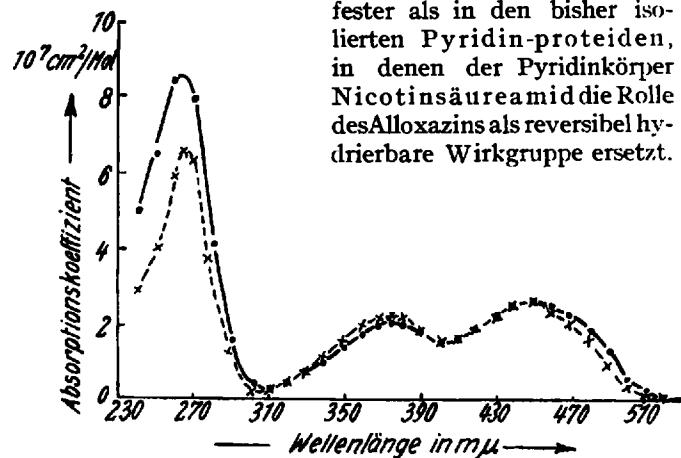


Abb. 2. Absorptionsspektren der Riboflavin-phosphorsäure ( $\text{---} \times \text{---} \times \text{---}$ ) und des Alloxazin-adenin-dinucleotids ( $\text{---} \bullet \text{---} \bullet \text{---}$ ).

Nach Werbury und Christian (30), 1938.

Letztere sind die typischen Anaero-dehydrasen, von denen weiter unten — im Zusammenhang mit der Besprechung der Glutamino-dehydrase — noch die Rede sein wird. Leider besteht hinsichtlich der Nomenklatur auf diesem Gebiet der Enzymchemie eine dem Fernerstehenden leicht verwirrende Uneinheitlichkeit: auf der einen Seite steht *Warburg* und seine Schule, auf der anderen v. *Euler* mit der Mehrzahl der übrigen Fermenforscher. Nach *Warburg* (33) ist  $\text{Proteid} \rightleftharpoons \text{Protein} + \text{prosthetische Gruppe}$ , z. B.  $\text{Diphosphopyridin-proteidAlkohol} \rightleftharpoons \text{Protein} + \text{Diphosphopyridin-nucleotid}$ ; nach der meist verwendeten Bezeichnungsweise von v. *Euler u. Albers* (34) gilt  $\text{Holoferment} \rightleftharpoons \text{Apoferment} + \text{Coferment}$ , für das obige Beispiel:  $\text{Alkoholdehydrase} \rightleftharpoons \text{Alkohol-apodehydrase} + \text{Coferment I}$ .

Kehren wir nun zur Frage der Festigkeit der einzelnen „Fermentsymplexe“ (Willsstätter) zurück, so ergibt sich nach Negelein u. Brömel für die Dissoziationskonstanten K (zahlenmäßig gleich den Konzentrationen an prosthetischer Gruppe, bei denen die Hälfte des Proteins

mit der prosthetischen Gruppe verbunden ist) im Fall der nichthydrierten Formen:

	K (in Mol/l)
Alloxazin-proteid <sub>O<sub>2</sub></sub> , Dihydropyridin (Flavinferment) . . .	sehr klein
Alloxazin-adenin-proteid <sub>O<sub>2</sub></sub> , d-Alanin (d-Aminosäure-oxydase) . . . . .	0,025 · 10 <sup>-5</sup>
Triphosphopyridin-proteid Robisonester (Hexosemono-phosphat-dehydrase) . . . . .	1 · 10 <sup>-5</sup>
Diphosphopyridin-proteid Alkohol (Alkoholdehydrase) . . . . .	9 · 10 <sup>-6</sup>

Diese Zahlen erklären, warum die beiden erstgenannten Fermente der Dialyse im Gegensatz zu den letztgenannten widerstehen und nur durch Säurespaltung in die beiden Komponenten aufgetrennt werden können.

Die Wirkungsstärke des Symplexes ist übrigens nach Negelein u. Brömel bei der Aminosäure-oxydase erheblich kleiner als bei den Pyridinproteiden: im ersten Falle bringt ein Eiweißmolekül pro Minute 2000 Moleküle O<sub>2</sub> oder Alanin zur Reaktion, im Falle z. B. der Alkoholdehydrase jedoch 28500 Moleküle Acetaldehyd.

Ein Punkt erscheint noch bemerkenswert: Oxydiert man mit Aminosäureoxydase Alanin, so ist das Endprodukt der Oxydation Brenztraubensäure, wenn man die rohen Fermentlösungen von Krebs benutzt, aber Essigsäure, wenn man die reinen Fermentlösungen von Negelein u. Brömel benutzt; die Erklärung dieser paradoxen Erscheinung liegt darin, daß intermediär bei der Wirkung des Ferments — und zwar bei der Reoxydation des Dihydro-

alloxazins — Hydroperoxyd gebildet wird. In den rohen katalasehaltigen Lösungen wird es normalerweise zersetzt, und die Reaktion bleibt bei der Brenztraubensäure stehen. In den reinen katalasefreien Fermentlösungen bleibt es erhalten und oxydiert nach der bekannten Hollemanschen Reaktion Brenztraubensäure zu Essigsäure + CO<sub>2</sub>.

(Fortsetzung folgt.)

#### Schrifttum.

- (1) P. Knoops, Hofm. Beitr. **6**, 150 [1904]. — (2) C. Neuberg u. Langstein, Arch. Anat. Physiol. **1908**, Suppl. 514. — (3) O. Neuberg u. Fromherz, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **70**, 326 [1911]. — (4) L. Platow, ebenda **64**, 307 [1910]. — (5) C. Neuberg, Biochem. Z. **7**, 178 [1908], **18**, 435 [1909]. — (6) H. Wieland, Erg. Physiol. **20**, 477 [1922]. — (7) T. Thunberg, Skand. Arch. Physiol. **40**, 1 [1920]. — (8) J. H. Quastel u. Wetham, Biochemical J. **19**, 520, 646 [1925]. — (9) H. Quastel u. Wooldridge, ebenda **19**, 652 [1925]. — (10) O. Warburg u. Negelein, ebenda **11**, 257 [1921]. — (11) H. Wieland u. Bergel, Liebigs Ann. Ch. n. **388**, 196 [1924]. — (12) P. Ellinger, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **119**, 11; **123**, 246, 264 [1922]. — (13) C. Oppenheimer: Die Fermente u. ihre Wirkungen, Leipzig 1926. — (14) A. Oparin, Biochem. Z. **184**, 90 [1921]; **189**, 155 [1927]. — (15) S. Edlbacher u. Kraus, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **178**, 239 [1928]. — (16) G. Bliz, Skand. Arch. Physiol. **56**, 181 [1929]. — (17) P. Knoops, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **67**, 480 [1910]. — (18) G. Embden u. Schmitz, Biochem. Z. **29**, 423 [1910]. — (19) P. Knoops, Oesterlin, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **170**, 186 [1927]. — (20) E. C. Gorer, C. R. Schneec. Soc. Biol. Filiales Associes **107**, 1603 [1921]. — (21) B. Kisch, Biochem. Z. **237**, 226; **238**, 351 [1931]. — (22) G. Quagliariello u. Scos, Arch. Scienze biol. **17**, 530 [1932]; **18**, 202 [1933]; Atti R. Accad. naz. Lincei, Rend. **18**, 552 [1932]. — (23) F. P. Mazza u. Stolti, ebenda **19**, 476 [1933]; F. P. Mazza u. Zumbo, ebenda **18**, 461 [1933]. — (24) H. A. Krebs, a) Klin. Wochs. **11**, 1744 [1932], b) Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **217**, 101 [1932]; c) ebenda **218**, 157 [1933]; d) Biochemical J. **29**, 1020 [1935]; e) ebenda **29**, 1951 [1935]; f) ebenda **29**, 2077 [1935]. — (25) E. S. London, Dubinsky, Wasilewskaja u. Prochorowa, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **297**, 223 [1934]. — (26) M. Neber, ebenda **240**, 59 [1936]. — (27) D. Keilin u. Hartree, Proc. Roy. Soc. London B **119**, 114, 141 [1936]. — (28) P. Bernheim, Bernheim u. Villiers, J. biol. Chemistry **114**, 657 [1936]. — (29) C. Oppenheimer: Die Fermente u. ihre Wirkungen, Suppl. S. 115ff., Den Haag 1938. — (30) O. Warburg u. Christian, Biochem. Z. **298**, 150 [1938]. — (31) E. Negelein u. Brömel, ebenda **300**, 225 [1939]. — (32) Zusammenfassungen: T. Wagner-Jauregg, Eng. Enzymforsch. **4**, 538 [1935]; H. Theorell, ebenda **6**, 111 [1937]. — (33) O. Warburg, ebenda **7**, 210 [1938]. — (34) H. Albert, diese Ztschr. **40**, 448 [1936].

(Eingeg. 30. Juni 1939.)

[A. 57.]

## Über die durch Pervanadinsäure katalysierte Wasserstoffperoxyd-Oxydation cyclischer Verbindungen\*

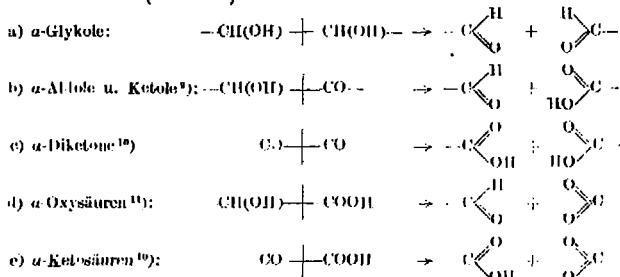
Von Dr. WILHELM TREIBS, Freiburg i. Br.

Ebensowenig wie Ozon bildet Wasserstoffperoxyd bei Oxydationen organischer Verbindungen eigene störende Reduktionsprodukte, so daß sich die Aufarbeitung der Reaktionsgemische einfach gestaltet. Trotzdem ist es präparativ und analytisch nur in wenig Fällen zu allgemeinerer Anwendung gelangt. Ohne Katalysatoren verläuft der Angriff, auch bei höheren Temperaturen, meist langwierig, wodurch vermehrter H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Verbrauch bewirkt wird, Nebenreaktionen auftreten und weitere Veränderungen primärer Oxydationsprodukte begünstigt werden. Daher sind die Ergebnisse tagelanger Einwirkung von H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> auf Terpene in Eisessig bei 60° von G. G. Henderson u. Mitarb. (1) unübersichtlich und nicht verallgemeinerungsfähig. Carbeniumverbindungen (2) lassen sich dagegen in Eisessig durch H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> spalten, wobei die anstehenden aromatischen Gruppen eine Aktivierung bewirken.

Die meisten Wasserstoffperoxydreaktionen wurden in Gegenwart von Metallsalzkatalysatoren vorgenommen, besonders von Ferro- und Ferrisalzen (3). In erster Linie, oder vielleicht ausschließlich, sind Ferrosalze (4) wirksam. Nach Wieland u. Francke (5) ist diese Metallionenkatalyse kein reiner Dehydrierungsvorgang, sondern sowohl eine Wasserstoffmobilisierung der Substratmoleküle als auch eine Aktivierung des Sauerstoffs des Oxydans. Unter die Beschleuniger sind auch die Laugen bei der Darstellung von Ketoxydoverbindungen aus α,β-ungesättigten Ketonen (6) und von Glycidsäuren aus α,β-ungesättigten Aldehyden (7) zu zählen. Schließlich ist hier der direkte Abbau von Olefinen mittels H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> und Osmiumtetroxyd in Ätherlösung zu Aldehyden und Ketonen (8) zu erwähnen.

Spaltungen von C—C-Bindungen durch H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> und Reagentien peroxydischen Charakters sind möglich, wenn zwei benachbarte Kohlenstoffatome Sauerstoff tragen. Durch die folgenden fünf Reaktionsschemata werden alle in Betracht kommenden Möglichkeiten wiedergegeben. Während die Abwandlungen b—e mittels H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> verwirklicht werden konnten, sind die α-Glykole, die durch Bleitetacetat (12) und durch Überjodsäure (13) leicht spaltbar sind, gegen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> i. allg. sehr beständig. Besonders wichtig

für die folgenden Versuchsergebnisse ist die Spaltbarkeit der α-Ketole (Fall b).



Zur Feststellung des primären Oxydationsvorganges mußten die Umsetzungen in homogener Phase vorgenommen werden, um tunlichst zu verhindern, daß die leichter löslichen Reaktionsprodukte weitgehend verändert wurden, während ein Teil des Kohlenwasserstoffs unangegriffen blieb. Bei der großen Menge an Verdünnungswasser aus dem zur Verwendung gelangenden 30%igen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> und an Reaktionswasser bewiesen nur Aceton und Methanol genügend Lösungsfähigkeit. Lediglich die einfachsten Ringketone und -alkohole konnten in wäßriger Lösung umgesetzt werden. Obwohl Aceton weniger widerstandsfähig ist als Methanol und langsam zu Essigsäure und Ameisensäure abgebaut wird, kam es infolge seiner großen Lösungskraft für die Oxydation der schwerlöslichen Cycloolefine fast ausschließlich in Frage. Diese Kohlenwasserstoffe werden durch H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> leichter angegriffen als Aceton, ihre Oxydationsprodukte aber schwerer. Daher führte ein H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Überschuß nach erfolgtem Verbrauch des Olefins zum vorzugsweisen Abbau des Lösungsmittels. Dies Verhalten wirkt also gewissermaßen als willkommene Bremse der Oxydation. Der Umsatz der cyclischen Sauerstoffverbindungen wurde stets in Methanol vorgenommen.

An den Katalysator waren folgende Forderungen zu stellen: Er mußte in den erwähnten Verdünnungsmitteln löslich sein, durch H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in einen überoxydierten Zustand versetzt werden und den peroxydischen Sauerstoff leicht wieder abgeben. Von den in Frage kommenden Persäuren des Vanadins, Molybdäns und Wolframs (14) erfüllte nur

\* Vorgesessen als Vortrag auf der 52. Hauptversammlung des VDCh in Salzburg.