

III. Apparatur zur mikro-gasanalytischen Bestimmung organischer Peroxyde

Mitbearbeitet von G. Damköhler und H. Schüler.

Mit den bisherigen Methoden ist es nur möglich, etwa $2 \cdot 10^{-7}$ mol Peroxyd oder mehr zu bestimmen. Polarographisch lassen sich zwar etwa $1 \cdot 10^{-8}$ mol bestimmen, jedoch sind die Wellen sehr flach. Die Empfindlichkeit der polarographischen Methode läßt sich durch eine andere physikalische Methode erreichen, nämlich durch Bestimmung eines kleinen Gasvolumens. Diese Methode, die also auf einer Druckmessung basiert, ist bisher für analytische Zwecke kaum verwendet worden. Durch Entwicklung einer Apparatur, in der es noch möglich ist, Gasmengen von $1 \cdot 10^{-6}$ mol zu bestimmen, können also für analytische Zwecke Reaktionen verwendet werden, die Gas liefern. Im vorliegenden Fall wurde die von Criegee gefundene Reaktion von Bleitetraacetat mit Alkyl-hydroperoxyden angewendet. In dieser Reaktion wird Sauerstoff gebildet. Es wurde untersucht, welche Gasmengen von den einzelnen Peroxyden der verschiedenen Peroxyd-Gruppen entwickelt wurden. Die Dialkylperoxyde und Persäuren (außer Perameisensäure) reagieren nicht mit Bleitetraacetat. Außer den Alkyl-hydroperoxyden reagieren auch die Anlagerungsprodukte von Aldehyden an Wasserstoffsuperoxyd und an Alkylhydroperoxyde. Die entwickelten Gasmengen sind jedoch nur bei den Alkyl-hydroperoxyden einigermaßen definiert, und es lassen sich deshalb diese durch die Criegee-Reaktion bestimmen.

Die verwendete Mikrogas-Apparatur besteht aus einem Destillations- und einem Meßteil. In dem Destillationsteil werden die Peroxyd-Lösungen im Hochvakuum gasfrei destilliert und in einer Ampulle abgeschmolzen. In dieser Ampulle kann dann das Peroxyd mit dem im Hochvakuum umkrystallisierten Bleitetraacetat zur Reaktion gebracht werden, ohne daß Peroxyd entweichen kann. In dem Meßteil der Apparatur wird dann diese Ampulle mit einem Eisenstempel zertrümmert und die entwickelte Gasmenge durch Druckmessung mit Hilfe eines *McLeod's* bestimmt. Da hier sehr kleine Gasmengen bestimmt werden müssen, war es erforderlich, die Blindwerte durch besondere Maßnahmen niedrig zu halten (Verwendung von Quecksilberventilen statt Hähnen, Ausheizen der Abschmelzstelle der Ampulle vor dem Abschmelzen u.s.w.). Zur genauen Bestimmung der entwickelten Gasmengen sind besondere Korrekturen bei der Berechnung des Druckes erforderlich.

IV. Erfahrungen bei der Darstellung organischer Peroxyde

Mitbearbeitet von W. Schütt.

Bei der Darstellung von organischen Peroxyden für die obigen Arbeiten wurden einige grundsätzliche Erfahrungen gesammelt. *Hock* alkylierte Tetralin-hydroperoxyd in annähernd neutralem Medium (Indikator Thymolblau). Wir übertrugen diese Methode ganz allgemein auf die Alkylierung des Wasserstoffsuperoxyds zur Darstellung sowohl der Alkylhydroperoxyde als auch der Dialkylperoxyde. Als Indikator verwendeten wir Bromthymolblau. Durch Erhöhung der Reaktionstemperatur z. B. bei Äthylhydroperoxyd wurde die Reaktionszeit von 20 auf $2\frac{1}{2}$ Stunden reduziert. Die höhere Reaktionstemperatur ist nur deshalb möglich, weil das Reaktionsgemisch ständig praktisch neutral ist.

D'Ans und *Frey* stellten Peressigsäure aus Pyroboracetat dar und deuteten an, daß auch höhere Persäuren über die Borcarbonsäure-anhydride darstellbar seien. Um eine Verunreinigung der höheren Persäuren mit Peressigsäure zu vermeiden, ist es erforderlich, bei der Umsetzung des Pyroboracetates mit anderen Säuren auch die letzten Spuren der Essigsäure zu vertreiben. Es gelang uns, durch mehrfaches Destillieren in Xylol die höheren Borcarbonsäure-anhydride rein zu erhalten. Zur Darstellung der aliphatischen Persäuren ist es also nur nötig, Pyroboracetat darzustellen, dieses mit den gewünschten Säuren umzusetzen und das erhaltene reine Borcarbonsäureanhydrid zu perhydrolysieren. Die Darstellung der Perameisensäure erfolgte wie üblich aus Ameisensäure, Wasserstoffsuperoxyd und etwas Schwefelsäure.

Besondere Beachtung wurde der gefahrlosen Darstellung und Handhabung der besonders leicht explosiblen Peroxyde gewidmet. (Dimethylperoxyd, Methyläthylperoxyd und Perameisensäure).

Die Oxyalkyl-hydroperoxyde, Dioxy-dialkylperoxyde und die Monoxy-dialkylperoxyde wurden in wasserfreiem Äther dargestellt. Es wurden auch einige Peroxyde dargestellt, die unseres Wissens bisher noch nicht beschrieben wurden (α -Oxypropylhydroperoxyd, α -Oxybutylhydroperoxyd, α -Oxyisovalerylhydroperoxyd, α -Oxyhexylhydroperoxyd, Dioxyhexylperoxyd, α -Oxybutyl-äthylperoxyd, α -Oxyisovaleryl-äthylperoxyd).

Eingeg. am 4. Februar 1950.

[A 244]

Systeme des Energietransports in der lebendigen Substanz¹⁾

Von Dr. TH. BÜCHER

Institut für physiologische Chemie der Universität Hamburg

Unsere Kenntnisse über den verschiedenartigen Energietransport in der lebenden Zelle, für den zahlreiche Modellvorstellungen entwickelt wurden, sind in den letzten Jahren weitgehend ausgebaut worden. Die vorliegende Arbeit gibt einen Überblick und teilt einige neue Befunde mit.

Der Energiewechsel und seine Hilfsfunktionen

Der Strom von Energie, welcher die lebendige Substanz auf unserem Erdball erhält, stammt bekanntlich aus einer einzigen Erscheinungsform der freien Energie, den Strahlungsquanten, die von der Sonne eingestrahlt und in den Chloroplasten der grünen Pflanzen aufgefangen werden. Der lebenerhaltende Strom entspringt also aus einer Quelle und letzten Endes mündet er wieder einförmig im Meer der gebundenen Energie. Sein Lauf aber ist so mannigfaltig verzweigt, wie es Erscheinungsformen der freien Energie und Funktionen der lebendigen Substanz gibt: Leben bedeutet andauernden und vielfältigen Wechsel zwischen den verschiedenen Erscheinungsformen freier Energie.

Die Grundgesetze, die diesen Energiewechsel determinieren, sind die gleichen Naturgesetze, die auch die energetischen Abläufe der unbelebten Welt beherrschen: so, wie der Stoffwechsel in der lebendigen Substanz sich fügt den Grundgesetzen der Chemie, dem Gesetz von der Erhaltung der Masse, dem Gesetz der konstanten und multiplen Proportionen und dem Massenwirkungsgesetz, wird deren Energiewechsel geregelt nach den Hauptsätzen der Thermodynamik.

Die Voraussetzungen, unter denen diese Naturgesetze sich auswirken, sind in den lebenden Zellen allerdings andere; sie sind,

und das ist die entscheidende Eigenart der lebendigen Substanz, in vielerlei Beziehung geordneter und eindeutiger als in der unbelebten Welt.

So ist für das angeschnittene Problem von Bedeutung, daß man vom thermodynamischen Standpunkt die lebendige Substanz als ein isothermes System betrachten kann. Für den Energieumsatz in einem isothermen System gibt der zweite Hauptsatz der Thermodynamik besonders eindeutige Vorschriften: In einem isothermen System ist der Übergang von freier Energie in Wärme nicht umkehrbar. Das bedeutet, daß derjenige Anteil der freien Energie, der zu Wärme wird, für das Spiel des Wechsels in der lebendigen Substanz verlorengeht.

Der Energiewechsel geht also in der lebendigen Substanz andere Wege als der Energiewechsel unserer Technik, bei dem die Wärme in zentraler Stellung steht – andere, und man darf wohl sagen, intelligentere Wege, denn sie erzielen Wirkungsgrade, die in einer Wärmemaschine Temperaturgefälle erforderten, welche die Siedetemperatur des Wassers erheblich überschritten.

Mit den Einrichtungen des Energiewechsels sind in den lebenden Zellen gewisse Systeme funktionell eng verknüpft, die essentielle Hilfsfunktionen erfüllen. So dienen zum Beispiel Mechanismen der Energiespeicherung der lebenswichtigen

¹⁾ Vorgetr. in Kiel 3. 6. 1948 auf dem Höber-Abend der medizin. u. naturwiss. Fakultät.

Aufrechterhaltung konstanter Abläufe bei schwankender Beeinflussung und Belastung durch die Umwelt. Von besonderer Bedeutung sind die Funktionen des Energietransports, denen die Verbindung der erzeugenden und verbrauchenden Abläufe des Energiwechsels obliegt, denn die Zelle ist ein Gebilde von – relativ zu den Abmessungen ihrer Elemente – beträchtlicher räumlicher Ausdehnung.

Wie für den Energiwechsel ist auch für diese Hilfsfunktionen die oben erwähnte, durch den thermischen Ordnungszustand bedingte, Eigenart bestimmend. Auch die Mechanismen des Energietransports vermögen der Ordnung der Abläufe in der lebenden Substanz nur zu dienen, wenn der Verlust, den sie verursachen, nicht ins Gewicht fällt. Die Frage nach der Art und Weise, in der dies verwirklicht sein mag, wie freie Energie in zum Teil beträchtlicher Konzentration vom Ort ihrer Erzeugung im Energiwechsel zu den Stätten der Verwendung getragen wird, ohne daß sie zu Wärme versickert, brachte und bringt bedeutende physikalische und chemische, theoretische und experimentelle Probleme zu Tage.

Energieüberführung, Energieleitung und Energiewanderung

Unsere Kenntnisse darüber, wie in den lebenden Zellen diese Funktionen des Energietransports erfüllt werden, sind noch lückenhaft. Wir dürfen jedoch vermuten, daß die lebendige Substanz nicht nur über einen einzigen, sondern – entsprechend der Vielfalt der Erscheinungsformen der Energie, die ihrem Getriebe dienen, – verschiedenartige Mechanismen des Energietransports verfügt.

Diese Vermutung findet Anregung und Stütze in der Mannigfaltigkeit der Modelle, die in den letzten Jahren am unbelebten Objekt entdeckt und zu den Vorgängen in lebenden Zellen in Beziehung gesetzt worden sind²⁻⁵). Man kennt aber seit den Arbeiten von Emerson und Arnold⁶), Gaffron und Wohl⁸⁻⁹) zum Problem der Kohlensäureassimilation in grünen Pflanzen auch eine Reihe von Beobachtungen am lebendigen Objekt selbst. Schließlich sind in den letzten Jahren „in vitro“-Versuche mit Komponenten der lebendigen Substanz bekannt geworden, die zwar zu den Modellversuchen zählen, aber doch den Verhältnissen der lebendigen Substanz in mancher Beziehung angenähert sind. Die Ergebnisse der letzten beiden Kategorien seien im folgenden in den Vordergrund gestellt.

Um ein ordnendes Prinzip zu gewinnen, sei der Erörterung des Details eine Einteilung – schematisch nach den Möglichkeiten der gegenseitigen Beziehung von Materie und Energie beim Transport – vorangestellt.

Ich nenne in Folgendem

Energieüberführung einen Mechanismus, bei dem die Energie gebunden an einen materiellen Träger, der sich als Ganzes mit der Energie bewegt, transportiert wird;

Energieleitung einen Mechanismus, bei dem die Materie als Ganzes ruht, aber Teile der Atome und Molekeln sich als Träger der Energie bewegen;

Energiewanderung einen Mechanismus, bei dem „die Energie ohne Bindung an einen materiellen Träger irgendwelcher Art¹⁰⁾“ transportiert wird.

Energieüberführung durch dissoziierende Kofermente

Energieüberführung ist im Grunde die Diffusion aller Stoffwechselzwischenprodukte, und es wäre müßig, auf diese Möglichkeit des Energietransports näher einzugehen, wenn nicht Arbeiten der letzten Jahre gezeigt hätten, daß die lebenden Zellen besondere Systeme besitzen, die keinem anderen Zwecke dienen, als der Überführung chemisch gebundener Energie. Es ist dies die Energieüberführung durch dissoziierende Kofer-

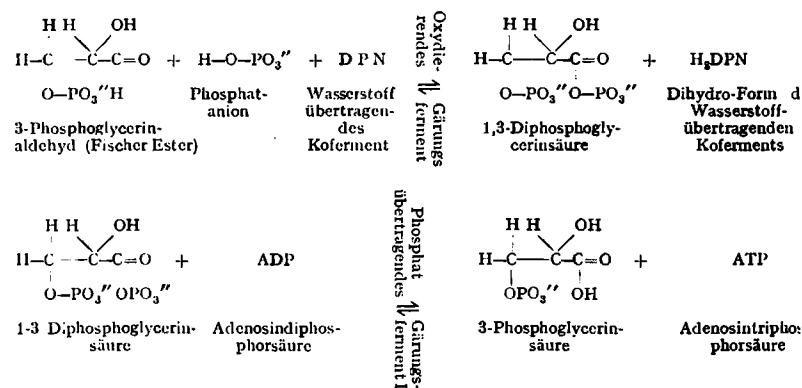
mente, bei der die Energie, welche bei bestimmten Stoffwechselreaktionen frei wird, auf Kofermente übergeht. Dabei entstehen Bindungen, die Otto Meyerhof entdeckt und die Lipmann¹¹⁾ mit der Bezeichnung „Energy-rich bonds“ belegt hat.

Die bedeutungsvollste bis jetzt bekannte energiereiche Bindung ist die Anhydrid-Bindung der Phosphorsäure und das wichtigste Energie-überführende Koferment, die seit 1928 bekannte¹²⁾ Adenosintri-phosphorsäure. Der Mechanismus sei am Beispiel desjenigen Systems erklärt, an dem die Entstehung energiereicher Bindung als Ergebnis der Arbeit einer Generation von Biochemikern¹³⁻²¹⁾ entdeckt worden ist. Dies ist die Bindung anorganischen Phosphats bei der oxydierenden Reaktion der Gärung.

Louis Pasteur, der Entdecker der Anaerobiose, hat die Funktion der Gärung im Zellgeschehen mit den Worten umrissen: „Gärung ist innere Atmung“. In der Tat ist in allen Gärungsmechanismen z. B. bei der Glykolyse, der Milchsäuregärung der Muskeln, wenn auch sie in Abwesenheit von Sauerstoff verlaufen, in einem komplizierten aber sinnvollen Mechanismus vorbereitender und abschließender Reaktionen eine Oxydationsreaktion eingebaut. Bei dieser Oxydationsreaktion, dem eigentlichen energieliefernden Schritt in der Kette der Glykolyse-Reaktionen, wird ein Aldehyd zu einer Carbonsäure oxydiert und zwar durch den Entzug von Wasserstoff nach dem Mechanismus einer sogen. Dehydrierung²²⁾.

Dabei wirken eine Reihe von Katalysatoren, hochmolekulare Fermente und niedermolekulare Kofermente zusammen, die von O. Warburg und seinen Mitarbeitern^{17, 20, 21)} aus lebenden Zellen isoliert und in reiner Form gewonnen worden sind. Mit ihnen war es möglich, die in der Zelle stattfindenden Reaktionen *in vitro* stufenweise ablaufen zu lassen und – durch Erfassung eines bisher unbekannten Zwischenprodukts – einen neuen und höchst interessanten Reaktionstypus zu entdecken: Die Dehydrierung eines Aldehyds zum Säureanhydrid.

Das neue Zwischenprodukt ist 1,3-Diphosphoglycerinsäure, das gemischte Säureanhydrid von Phosphorsäure und Phosphoglycerinsäure^{21a)}; die Einzelheiten des Reaktionsablaufs sind aus der ersten Zeile des Schemas 1 zu entnehmen.



Schema 1

Reaktionsschema der Entstehung einer energiereichen Phosphatbindung bei der oxydierenden Reaktion der Gärung und deren Übertragung auf das energieüberführende Koferment Adenosintri-phosphorsäure

Diphospho-glycerinsäure, das gemischte Säureanhydrid, ist wesentlich energiereicher als eine Mischung der beiden freien Säuren. Dies beruht, wie Kalckar¹¹⁾ gezeigt hat, darauf, daß in den freien Säuren Mesomeriemöglichkeiten gegeben sind, die

²⁾ N. Riehl, Ann. Physik (5) 11, 103 [1931]; 29, 640 [1937]; Naturwiss. 28, 601 [1940]; diese Ztschr. 51, 301 [1938].
³⁾ G. Scheibe, diese Ztschr. 50, 51 [1937]; G. Scheibe, A. Schöntag u. F. Kather, Naturwiss. 27, 499 [1939].
⁴⁾ Th. Förster, Naturwiss. 33, 166 [1946]; Z. Naturforsch. 2b, 174 [1947].
⁵⁾ F. Mögliche, R. Rompe u. N. W. Timofeef-Ressovsky, Naturwiss. 30, 409 [1942].
⁶⁾ J. gen. Physiol. 15, 311 [1932]; 18, 191 [1932]; R. Emerson, Erg. Enzymforsch. 5, 305 [1936]; W. Arnold, J. gen. Physiol. 17, 135, 145 [1933].
⁷⁾ Biochem. Z. 264, 251 [1933], bes. S. 271.
⁸⁾ Hoppe-Seyler's Z. physik. Chem. 331, 152 [1935].
⁹⁾ Naturwiss. 24, 82 [1936].
¹⁰⁾ Th. Förster, Naturwiss. 33, 166 [1946].

¹¹⁾ Adv. Enzymology 1, 99 [1941]; vgl. a. H. M. Kalckar, Chem. Reviews 28, 71 [1941].
¹²⁾ K. Lohmann, Naturwiss. 17, 624 [1929]; C. H. Fiske u. Y. Subbarow, Science [New York] 15, 381 [1929].
¹³⁾ A. Harden u. W. Young, Proc. Chem. Soc. 21, 189 [1905].
¹⁴⁾ Ragnar Nilsson, Ark. Kem. Mineral. Geol., J. Parnas, Ergebn. Enzymforsch. 6, 64 [1937].
¹⁵⁾ K. Lohmann, Naturwiss. 22, 401 [1934].
¹⁶⁾ Lennerstrand u. J. Runnström, Biochem. Z. 283, 12 [1935].
¹⁷⁾ O. Warburg u. W. Christian, Biochem. Z. 286, 81 [1936]; 287, 291 [1936].
¹⁸⁾ D. M. Needham u. R. K. Pillai, Biochem. J. 31, 1837 [1937].
¹⁹⁾ O. Meyerhof, W. Kippling u. W. Schultz, Biochem. Z. 292, 25 [1937]; O. Meyerhof, P. Ohlmeyer u. W. Möhle, ebenda 297, 90 [1938].
²⁰⁾ O. Warburg, W. Christian, ebenda 303, 40 [1939].
²¹⁾ E. Negelein u. H. Brömel, ebenda 301, 132 [1939].
^{21a)} Fast alle Zwischenprodukte des Gärungszyklus sind an einer oder sogar mehreren Hydroxyl-Gruppen mit Phosphorsäure verestert. Diese Eigenheit, die etwas verwirren mag, aber nicht ohne tieferen Sinn ist, ist für die hier besprochenen Reaktionsabläufe ohne Belang.
²²⁾ H. Wieland, Ber. dtsh. chem. Ges. 45, 448 [1912]; 46, 3325 [1913].

bei einer Bindung der Hydroxyl-Gruppen im Säureanhydrid fehlen. Die Bindung, welche die beiden Säurereste vereint, ist also energiereich. Sie enthält die Energiemenge, die bei der oxydierenden Gärungsreaktion verfügbar geworden ist.

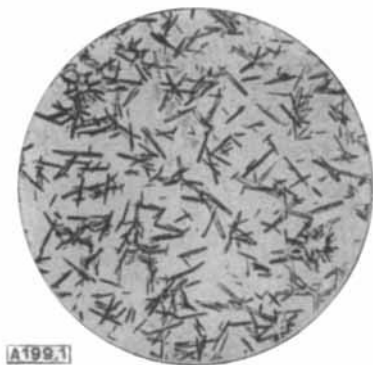


Bild 1
Krystalle des oxydierenden Gärungsferments²⁹⁾

In der Kette der 13 Gärungsreaktionen folgt auf den soeben beschriebenen Prozeß der Arbeitsgang eines spezifischen und sehr wirksamen phosphat-übertragenden Ferments²³⁾ (Schema 1, Bild 2). Dies katalysiert die Spaltung des Säureanhydrids und überträgt die Phosphatgruppe unter Aufrechterhaltung ihres Bindungszustandes (und des darin verankerten Energiebetrages) auf sein Koferment Adenosindiphosphorsäure: Es entsteht Adenosintriphosphorsäure, das energie-überführende Koferment.

Wasserstoff und Carbonsäure setzen ihren Weg in der Gärungskette fort und verlassen letzten Endes als Milchsäure die Zelle. Die bei der Oxydation gewonnene Energie dagegen bleibt im energiereichen Koferment für die lebendige Substanz erhalten. Adenosin-triphosphorsäure ist um 12 Kal pro Mol energiereicher^{24, 25)} als die um eine Phosphat-Gruppe ärmere Verbindung.

Als dissoziierendes Koferment nur locker an das Ferment gebunden, kann Adenosintriphosphat durch Diffusion zu beliebigen Orten innerhalb der Zelle gelangen. Für die Verwertung der so gewonnenen Energie im Zellgeschehen, nicht nur als chemische Energie, sondern auch in Gestalt anderer Erscheinungsformen der freien Energie wie mechanischer, ja sogar elektrischer Energie eröffnet die Weltliteratur immer weitere Aspekte.

Die Reaktionsfolge des Schemas 1, die umkehrbar ist, mag als Modell für das Prinzip dienen, nach dem Adenosintriphosphat als Spender chemischer Energie (hier bei der Reduktion einer Carbonsäure zum Aldehyd) wirksam sein kann. Phosphorylierte Zwischenstufen bzw. die Mitwirkung von Adenosintriphosphor-

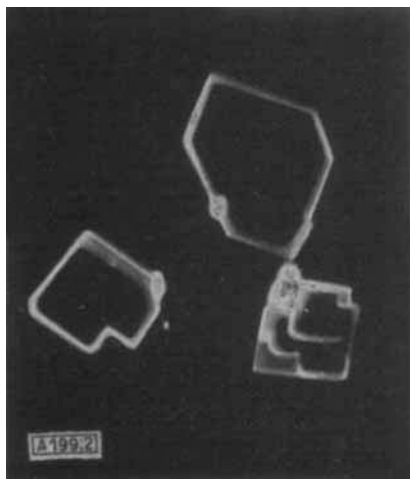


Bild 2
Krystalle des phosphat-übertragenden Gärungsferments²³⁾

- ²³⁾ Th. Bücher, *Biochimica Biophysica Acta*, 1, 292 [1947]; *Naturwiss.* 30, 756 [1942].
²⁴⁾ O. Meyerhof u. K. Lohmann, *Biochem. Z.* 253, 431 [1932].
²⁵⁾ P. Ohlmeyer, *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* 282, 38 [1944].
²⁷⁾ U. A. Engelhardt u. M. N. Ljubimowa, *Nature* [London] 144, 668 [1939]; vgl. auch ²⁸⁾, bes. S. 312.
²⁸⁾ Vgl. aber B. D. Polis u. O. Meyerhof, *J. biol. Chemistry* 169, 389 [1947].
²⁹⁾ Studies Instit. Medical Chemistry Unvers. Szeged 3 [1943].
^{30a)} J. T. Edsall und A. v. Muralt, *J. biol. Chemistry* 89, 315 [1930].
^{30b)} H. H. Weber, *Pflügers Arch.* 235, 206 [1934].

säure wurden bislang entdeckt bei der Synthese von Nucleotiden³⁰⁾, Oligo³¹⁾- und Polysacchariden³²⁾, einfachen und substituierten Säureamiden^{33, 34)}.

Besonders bemerkenswert ist die Mitwirkung von Adenosintriphosphorsäure bei der Synthese von Peptidbindungen^{35, 36)}.

Spender mechanischer Energie ist Adenosintriphosphat bei der Muskelkontraktion²⁴⁾. Ein Modell ist die Kontraktion⁴²⁾ künstlich erzeugter Fäden^{39a)} von Myosin^{39b)}, der kontraktiblen Substanz der Skelettmuskulatur unter gleichzeitiger Spaltung des energie-überführenden Koferments zu Adenosindiphosphat und anorg. Phosphat^{27, 28)}.

Elektrische Energie entsteht unter Mitwirkung von Adenosintriphosphorsäure im sogenannten Acetylcholinzyklus in den elektrischen Organen gewisser Fische^{42a)}. Diese werden als Modelle für die Vorgänge in der nervösen Substanz angesehen.

Andere Entdeckungen zeigen die Fruchtbarkeit des beim Studium der Gärungsmechanismen gefundenen Prinzips der oxydativen Phosphorylierung. Bereits 1941 zeigten Colowick, Kalckar und Cori³⁷⁾, daß bei der aeroben Verbrennung eines Mols Glucose im Herzmuskel mindestens 10 Phosphationen verestert werden³⁸⁾. Lehninger³⁹⁾ fand die Mitwirkung von Adenosintriphosphorsäure beim oxydativen Abbau von Fettsäuren.

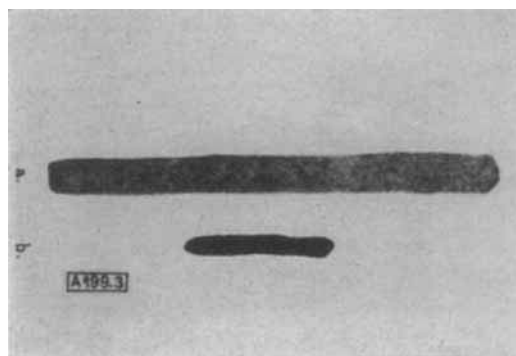


Bild 3
Kontraktion eines Myosinfadens beim Einwirken von Adenosin-triphosphorsäure³⁹⁾. a) Ausgangszustand, b) Endzustand

Schließlich sei darauf hingewiesen, daß Adenosintriphosphorsäure nicht die einzige phosphathaltige energiereiche Substanz im Zellgeschehen ist. Nach ähnlichen Prinzipien sind wirksam Kreatinphosphorsäure, die energiespeichernde Substanz des Muskels und die – in ihrer Konstitution noch unklaren Phosphatfraktionen^{42b)}, die im Verlaufe des Elektronentransports in der Atmungskette (vgl. folgenden Abschnitt) verestert werden.

Nach Lynen⁴⁰⁾ ist die Konkurrenz um verfügbares anorganisches Phosphat überhaupt das regulierende Prinzip des energieerzeugenden Stoffwechsels.

Die besondere Bedeutung der Mechanismen der Energieüberführung liegt darin, daß durch sie eine Möglichkeit gegeben ist, Energie zu fangen, die bei Umsetzung in Lösung frei wird. Seit Buchners berühmter Entdeckung weiß man z. B., daß der Gärungsmechanismus nirgends in den Strukturen der lebenden Zelle verankert ist, sondern sich intakt aus dem Zellgefüge lösen läßt. Man kann daraus schließen, daß Energieüberführung durch das dissoziierende und diffundierende Koferment Adenosintriphosphorsäure die Brücke ist, die den Gärungsmechanismus energetisch mit den anderen Abläufen in der lebendigen Substanz verknüpft.

Zudem gibt das geschilderte System ein Beispiel, wie sich die Eigenheiten des Stoffwechsels aus den Erfordernissen des Energiewechsels verstehen lassen.

- ³⁰⁾ I. Parnas, *Erg. Enzymforsch.* 6, 64 [1937].
³¹⁾ H. A. Barker, W. Z. Hassid u. M. Doudoroff, *J. Amer. Chem. Soc.* 66, 1416 [1944]; M. Doudoroff u. R. O'Neal, *J. biol. Chemistry* 159, 585 [1945].
³²⁾ C. F. Cori, S. P. Colowick u. G. T. Cori, *J. biol. Chemistry* 121, 465 [1937]; Kiefling, *Naturwiss.* 27, 129 [1939]; C. F. Cori, G. Schmidt u. G. T. Cori, *Science* 89, 464 [1939]; C. S. Hanes, *Nature* [London] 145, 348 [1940]; vgl. a. Schäffer u. Speck, *Naturwiss.* 26, 494 [1938].
³³⁾ Speck, *J. biol. Chemistry* 168, 403 [1947].
³⁴⁾ Lipmann, ebenda 160, 173 [1945].
³⁵⁾ H. Borsook u. W. Dubnoff, *J. biol. Chemistry* 168, 397 [1947].
³⁶⁾ P. P. Cohen, R. W. Mee, *Givory*, ebenda 169, 119, 171, 121 [1947].
³⁷⁾ Ebenda 137, 343 [1941].
³⁸⁾ V. R. Potter, *Arch. Biochem.* 6, 439 [1945]; *J. biol. Chemistry* 169, 17 [1947].
³⁹⁾ *J. biol. Chemistry* 161, 432 [1945]; ebenda 162, 333 [1946].
⁴⁰⁾ *Naturwiss.* 30, 398 [1942].

Leitung von Elektronen in der Atmungskette

Anders als bei der Energieüberführung sind die Mechanismen der Energieleitung und Energiewanderung an gewisse Ordnungs- und Kontinuitätsbedingungen der Materie gebunden. Dies schließt aus, daß diese Mechanismen des Energietransports in Lösung stattfinden können: Energieleitung und Energiewanderung sollten, falls sie existieren, in den Strukturen der lebendigen Substanz zu finden sein.

In einer „Towards a New Biochemistry“⁴¹⁾ betitelten Mitteilung hat während des Krieges der Nobelpreisträger A. Szent-Györgyi Anschauungen zur Diskussion gestellt, nach denen Energieleitungsmechanismen in der lebendigen Substanz fundamentale Funktionen erfüllen. Elektronen, die in den Strukturen der Zelle geleitet werden, seien das eigentliche Agens der Lebensfunktionen.

Die Richtung der Szent-Györgyischen Gedanken wird durch folgende Sätze charakterisiert, in denen er von den Viren schreibt⁴²⁾: „The highest degree of symbiosis would be that where one organism is devoid of the whole metabolic apparatus and feeds simply by touching upon another living structure, taking its excited electrons. Possibly this highest degree of parasitism is found in viruses“.

Dies ist eine Spekulation^{43a)}, aber der Ausgangspunkt liegt in einer neuen Deutung gesicherter Experimentalergebnisse auf einem der bestuntersuchten Gebiete des Zellstoffwechsels: der Atmungskette.

In der Kette der Atmungsfermente, die in den lebenden Zellen zwischen Sauerstoff und Substrat gespannt ist, arbeiten eine Reihe von Fermentreaktionen Hand in Hand. Die Verbrennung des Substrats geschieht also nicht durch unmittelbare Reaktion mit dem Sauerstoff, sondern der Sauerstoff reagiert mit dem Substrat mittelbar durch die Kette derart, daß das reduzierende Agens des Substrats, das Elektron, gebunden an ein Proton als Wasserstoff, herausgebrochen wird. Dem Sauerstoff zustrebend durchläuft es zunächst wasserstoffübertragende Fermente. Später wird dann allein das Elektron übertragen.

Dabei vermitteln elektronenübertragende Fermente, die Cytochrome⁴³⁾, deren Kofenzyme Hämine und deren Wirkungsgruppen valenzwechselnde Eisenatome sind. Deren letztes ist das Atmungsferment von Warburg⁴⁴⁾, das die Reaktion des Elektrons mit dem Sauerstoff katalysiert.

Anders als bei der Wasserstoff-Übertragung sind die Kofenzyme der elektronenübertragenden Fermente fest in der Molekel verankert. Die Fermente selbst sind größtenteils wiederum fest an die Struktur der Zelle gebunden. Es ist daher wenig wahrscheinlich, daß der Transport des Elektrons in der Kette der elektronenübertragenden Atmungsfermente durch unmittelbaren Kontakt der Wirkungsgruppen vonstatten geht. Infolgedessen erscheint es berechtigt, wenn Szent-Györgyi fordert, daß der Transport des Elektrons in der Atmungskette durch einen besonderen Mechanismus der Energieleitung geschieht⁴⁵⁾. Er diskutiert in diesem Zusammenhang die Kontinuum-Theorie.

⁴¹⁾ Science 93, 609 [1941].

⁴²⁾ A. Szent-Györgyi, Chemistry of Muscular Contraction, New York 1947.

^{43a)} D. Nachmansohn, Vitamins and Hormones 3, 337 [1945].

^{43b)} Vortrag F. Lynen, Physiologen-Tagung, Frankfurt 1948, diese Ztschr. 61, 253 [1949]; A. L. Schwinger, J. biol. Chem. 170, 757 [1948]; vgl. auch die Arbeiten von A. V. Hill, H. H. Weber, M. Dubuisson, A. Szent-Györgyi u. D. M. Needham, Biochimica Biophysica Acta 4, 4–52 [1950], (Meyerhof-Geburtsbands-Band).

⁴³⁾ D. Kellin, Soc. de Biologie Paris, Réunion Pleniére 27/28. Mai 1927; Proc. Royal Soc. B. 96, 312 [1925]; O. Warburg, Naturwiss. 15, 546 [1927].

^{43a)} S. z. B. im vorigen Abschnitt über die Mitwirkung von Adenosintri-phosphorsäure bei der Bildung der Nucleotide eines wesentlichen Bestandteils der Viren.

⁴⁴⁾ O. Warburg, diese Ztschr. 45, 1 [1932].

⁴⁵⁾ Vgl. a. N. Riehl, Naturwiss. 31, 590 [1943].

Kontinuums-Theorie

Die wohlbegründete Theorie⁴⁶⁾ der Energieleitung in Kristallphosphoren⁴⁷⁾ sagt, daß unter gewissen Voraussetzungen in Kristallen Elektronen durch Anregung auf Niveaus gehoben werden können, die nicht mehr den einzelnen Atomen, sondern dem ganzen Kristall angehören. Auf diesen Niveaus sind die Elektronen in sogenannten Leitfähigkeitsbändern innerhalb des ganzen Kristalls beweglich und können den Energiebetrag, den sie durch die Anregung tragen, an gewissen anderen als den Absorptionsorten in Freiheit setzen.

Die Kontinuum-Theorie überträgt diese Eigenschaft der Kristalle auf die semi-kristalline Substanz Eiweiß⁴⁸⁾. Die Begründung ist allerdings bislang nur qualitativer Art und lückenhaft^{48a)}. Immerhin hat sie die Anregung zu interessanten Experimenten Szent-Györgyis und seiner Mitarbeiter gegeben. Objekt dieser Untersuchung waren die seit Ausgang des vorigen Jahrhunderts bekannten Gelatine-Phosphore. Diese Substanzen, Adsorbate fluoreszierender Farbstoffe an Eiweißkörpern⁴⁹⁾, zeigen, wie die anorganischen Kristall-Phosphore, Phosphoreszenz.

Die Analogie scheint in der Tat, wie Szent-Györgyis Mitarbeiter J. Boros⁵⁰⁾ in einer ersten Untersuchung gezeigt hat, weitgehend zu sein, denn Filme solcher Gelatine-Phosphore zeigen den inneren photoelektrischen Effekt, d. h.: ihre Leitfähigkeit steigt bei Belichtung. Dies macht wahrscheinlich, daß es in den Gelatinephosphoren Leitfähigkeitsbänder gibt. Wenn, wie Szent-Györgyi ausführt, die Farbstoffmolekeln in so großer Verdünnung am Eiweiß adsorbiert sind, daß die Kontinuität des Körpers durch den Eiweißträger allein hergestellt wird, dann spricht dies für die oben zitierte Theorie.

Umlagerungstheorien der Elektronenleitung

Eine andere theoretische Möglichkeit der Fortleitung von Energie im Eiweißkörper ist die der kettenartigen Fortpflanzung von Störungen durch die Molekel infolge von Umlagerungen und zwar sowohl von Atomen, also Tautomerievorgängen, als auch von Valenzen, d. h. Mesomerieerscheinungen.

Eine Theorie der Energieleitung auf Grund von Tautomerieerscheinungen ist 1942 von O. Schmidt⁵¹⁾ für die Nervenleitung angegeben worden. Dabei wird die Anregung längs der Peptidketten geleitet. Elektronenleitung durch „Konjugationen“ längs der Peptidkette hält K. G. Denbigh⁵²⁾ für möglich. Neuere Hypothesen von K. Wirtz^{52, 52a)} und W. Schmitt⁵³⁾ gründen sich auf Mesomerieerscheinungen in dem von Linus Pauling geforderten System von Wasserstoffbindungen⁵⁴⁾ quer zu den Peptidketten. Die Anschauungen von Wirtz und Schmitt weisen äußerlich gewisse Ähnlichkeit auf, differieren aber in wesentlichen Punkten^{52b)}. Einen Mechanismus des Transports von Elektronen auf Grund

⁴⁶⁾ S. z. B. N. Riehl, u. M. Schön, Z. Physik. 114, 682 [1939].

⁴⁷⁾ N. Riehl, Ann. Physik (5), 29, 640 [1937]; diese Ztschr. 51, 301 [1938].

⁴⁸⁾ F. Möglich u. M. Schön, Naturwiss. 26, 199 [1938]; P. Jordan, ebenda 26, 693 [1938]; N. Riehl, ebenda 28, 601 [1940].

^{48a)} Eine quantitative Diskussion ist inzwischen versucht worden: M. G. Evans u. J. Gergely, Biochimica Biophysica Acta 3, 188 [1949].

⁴⁹⁾ Fröhlich u. Mischung, Kolloid.-Z. 108, 30 [1944].

⁵⁰⁾ A. Szent-Györgyi, Chemistry of Muscular Contraction, New York 1947.

⁵¹⁾ O. Schmidt, Naturwiss. 30, 644 [1942].

⁵²⁾ Z. Naturforsch. 2b, 94 [1947].

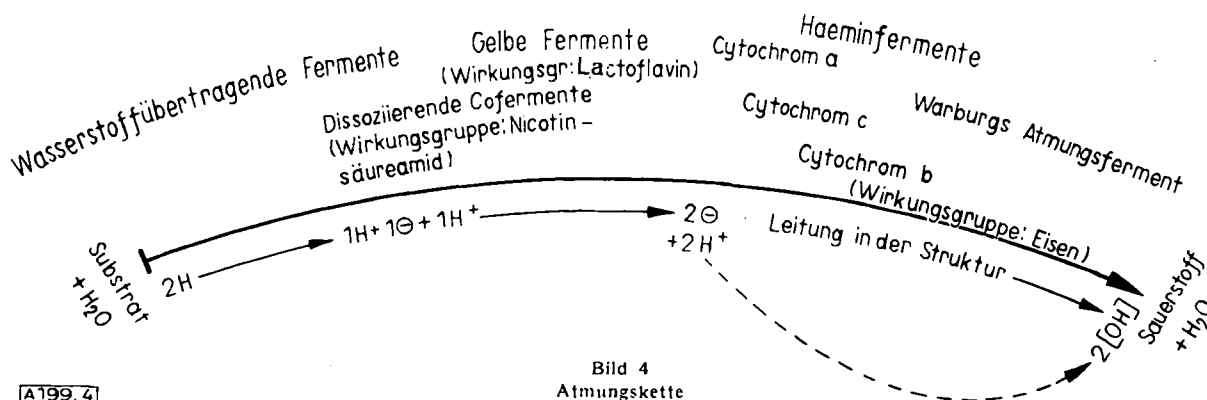
^{52a)} K. Wirtz, Z. Naturforsch. 2b, 94 [1947].

^{52b)} K. Wirtz, Z. Naturforsch. 3b, 131 [1948].

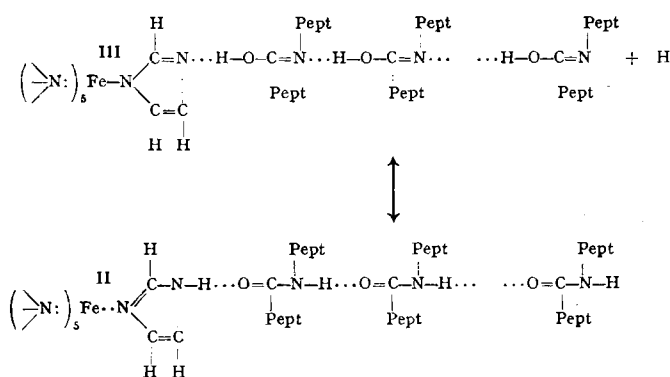
⁵³⁾ W. Schmitt, Z. Naturforsch. 2b, 97 [1947]; W. Schmitt u. R. Purrmann, Z. Naturforsch. 3b, 411 [1948].

⁵⁴⁾ L. Pauling, J. Amer. Chem. Soc. 62, 2643 [1940]; vgl. auch Huggins, J. chem. Physics 8, 598 [1940]; Chem. Rev. 32, 195 [1943]; R. Brill, Naturwiss. 29, 220 [1941].

⁵⁵⁾ K. G. Denbigh, Nature 160, 41 [1944].



von Mesomerieerscheinungen innerhalb einer kleinen Molekel hat schon *Hugo Theorell* für die Wirkungsgruppe des Cytochroms c angegeben^{56a}). Dieser Mechanismus läßt sich mit den Mechanismen von *Schmitt* kombinieren, so daß damit der Transport eines Elektrons von einem elektronenübertragenden Ferment der Atmungskette zum anderen formell erklärbar wird⁵³).



Schema 2

Elektronenleitung durch eine Kette von Wasserstoffbindungen zur Wirkungsgruppe eines Haemferments⁵³)

Es fehlen jedoch bislang Versuche oder Voraussagen, die diesen Hypothesen größeres Gewicht verleihen. Insbesondere liegen noch keine Angaben darüber vor, welche Energiebeträge durch diese Mechanismen transportiert werden können.

Energiewanderung bei der Kohlensäureassimilation

Mit steigender Intensität der Energieeinheiten wächst die Tendenz zum Übergang in ungeordnete Energie und zu Zerstörungen in der transportierenden Substanz. Dies trifft speziell auf die Strahlungsquanten zu, die im Sichtbaren und Ultraviolett bedeutende Energiemengen repräsentieren. Es ist daher sinnvoll, bei photobiologischen Prozessen nach Mechanismen der Energiewanderung zu forschen, bei denen die Beziehung zwischen Materie und Energie am wenigsten intim ist.

Die eingangs zitierten Theorien von *Emerson* und *Arnold*⁶), *Gaffron* und *Wohl*⁷⁻⁹) haben zwei Wurzeln:

Einerseits hat *Otto Warburg* schon vor vielen Jahren gefunden^{57, 60}) und kürzlich bestätigt⁵⁸), daß in „Schattenzellen“ von *Chlorella* (einer einzelligen Grünalge), die auf sparsamen Energiehaushalt trainiert worden sind, die Energieausbeute bei der photochemischen Reduktion von Kohlendioxyd zur Kohlenhydratstufe nahezu das theoretische Soll erreicht.

Andererseits haben *Emerson* und *Arnold* mit einer ebenso einfachen wie genialen Versuchsanordnung gezeigt⁶), daß in solchen Zellen keineswegs alle lichtabsorbierenden Chlorophyllmolekeln, sondern nur ein ganz geringer Bruchteil – etwa ein Promille – in direkter (chemischer) Verbindung mit Kohlendioxyd steht.

Zur Diskussion der Einwände⁵⁸) gegen diese Deutung der *Emersonschen* Versuche vgl. z. B. die Arbeit von *Th. Förster*⁵⁹).

In der letzten Zeit hat *Th. Förster*⁴) eine Theorie für die Energiewanderung in den Chloroplasten gegeben, die nicht nur qualitativ die Erscheinung plausibel macht, sondern quantitative Angaben zu leisten imstande ist, die einem Vergleich mit den Experimentaltatsachen gewachsen sind.

Förster hat die Theorie vervollkommenet, welche von *I. und F. Perrin*⁶¹) ursprünglich zur Erklärung der Erscheinungen in fluoreszierenden Farbstofflösungen entwickelt worden ist. Diese sagt aus, daß eine Energiewanderung durch Kopplung der Molekeloszillatoren über das *Coulomb*-Feld stattfinden kann; d. h. durch Übertragung der Schwingung der elektrischen Elementarereinheiten auf diejenigen einer benachbarten Molekel durch elektrostatische Wechselwirkung. Das Ausmaß dieses Vorgangs ist an gewisse Bedingungen geknüpft. Diese Bedingungen sind durch das Chlorophyll, wie es im Chloroplasten vorliegt, wahrscheinlich erfüllt.

⁵⁶) *O. Warburg*, *Biochimica Biophysica Acta* 4, 335 [1950].

^{56a}) *H. Theorell*, *Erg. Enzymforsch.* 9, 231 [1943].

⁵⁷) *O. Warburg*, *Biochem. Z.* 100, 230 [1919]; 166, 386 [1925].

⁵⁸) *Frank u. Herzfeld*, *J. chem. Physiol.* 5, 493 [1935].

⁵⁹) *Th. Förster*, *Z. Naturforsch.* 2b, 174 [1947]; bes. S. 179.

⁶⁰) *O. Warburg*, *Z. Physik. Chem.* 102, 236 [1922].

⁶¹) Vgl. die Literaturangaben b. *Th. Förster*⁴).

Das Gesetz der Ausbreitung dieser Anregung ist das der *Brownischen* Molekularbewegungen. Diese Vorstellung führt zu einem Ansatz für die Abhängigkeit von Intensität und Assimilationsgeschwindigkeit, der mit den Experimentalbefunden von *Emerson* und *Arnold* vortrefflich übereinstimmt, wenn man der numerischen Berechnung die Annahme zugrundelegt, daß jedes Exciton zwei Wirkungsstellen zu erreichen imstande ist, ehe seine Energie unter das erforderliche Maß sinkt. Diese letztere Tatsache läßt, wenn man sie mit den vorstehend angeführten Befunden von *Emerson* und *Warburg* kombiniert, auf einen sehr hohen Wirkungsgrad des Transportmechanismus in den Chloroplasten schließen.

Somit ist die Theorie des von *Emerson* entdeckten Mechanismus am weitesten fortgeschritten. Dennoch sind damit bei weitem nicht alle Probleme des Energietransports bei der Kohlensäureassimilation gelöst.

So ist es nach den oben geschilderten Versuchen *Emersons* nicht wahrscheinlich, daß Kohlendioxyd oder ein statt seiner reagierendes Zwischenprodukt, unmittelbar mit Chlorophyll verbunden ist. Man muß vielmehr annehmen, daß die eigentliche photochemische Reaktion der Mitwirkung einer spezifischen Wirkungsgruppe, der *Emersonschen* Komponente, bedarf, zu der die von den Chlorophyllmolekeln eingefangene Energie wiederum transportiert werden muß. Hier greifen möglicherweise Mechanismen ein, wie sie im folgenden Abschnitt beschrieben werden.

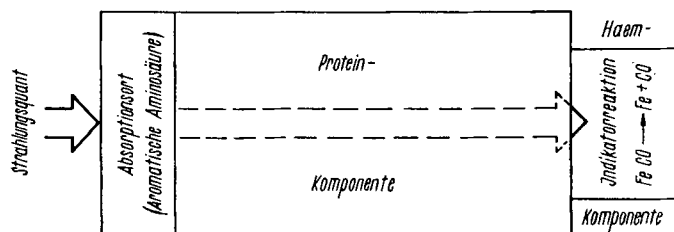
Noch völlig ungeklärt ist es, wie vier Quanten bzw. vier Excitonen, die zu der Reduktion einer einzigen Kohlendioxydmolekel erforderlich sind, zusammenzuwirken vermögen⁶²).

Energietransport in Eiweiß

In ihren aufschlußreichen „Bemerkungen zu physikalischen Modellvorstellungen über Energieausbreitungsmechanismen“ haben *Möglich*, *Rompe* und *Timofeef-Ressovsky* darauf hingewiesen, daß der Nachweis für einen Energietransportmechanismus um so schlüssiger ist, je schärfer es gelingt, den Ort der Energieaufnahme und den Ort des Energieumsatzes auseinanderzuhalten. Es sei hinzugefügt, daß der ideale Versuch außerdem Auskunft über den Wirkungsgrad des untersuchten Systems geben sollte.

Mit Ausnahme der geschilderten Untersuchungen zur Energieüberführung werden die bisher angeführten Beobachtungen und Versuche an lebenden Zellen diesen Prämissen nur unvollkommen gerecht. Etwas weiter fortgeschritten sind in dieser Hinsicht einige „in vitro“-Experimente mit isolierten Eiweißkörpern.

In Versuchen von *Bücher* und *Kaspers*⁶³) zur photochemischen Spaltung von Kohlenoxydmyoglobin werden in einem Eiweißkörper an bekannter Stelle Strahlungsquanten absorbiert. Die Wirkung dieser Energiebeträge wird an einem räumlich getrennten Umsatzort mit Hilfe einer Indikatorreaktion nachgewiesen (Bild 5).



[A 199.6]

Bild 5

Schema zum Versuch von *Bücher* und *Kaspers*

Myoglobin, das sauerstoffspeichernde Pigment der roten Muskeln, ein Chromoprotein, das *Hugo Theorell*⁶⁴) in kristallisierter, chemisch einheitlicher Form aus Herzmuskeln zu gewinnen gelehrt hat, besteht aus einer hochmolekularen spezifischen Eiweißkomponente und einer niedermolekularen Wirkungsgruppe, dem Haem Eisen(II)-protoporphyrin. Die letztere bewirkt die tiefrote Färbung der Substanz, während die bedeutend umfangreichere Eiweißkomponente im sichtbaren Bereich und im langwelligeren Ultraviolett farblos ist. Myoglobin ist also in seinem Aufbau äußerst verwandt dem roten Pigment der Erythrozyten, dem Haemo-

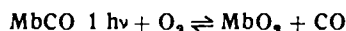
⁶²) Vgl. *Th. Bücher u. E. Negelein*, *Naturwiss.* 29, 591 [1941]; *Biochem. Z.* 311, 163 [1942].

⁶³) *Th. Bücher u. J. Kaspers*, *Naturwiss.* 32, 93 [1946]; *Biochimica et Biophysica Acta* 1, 21 [1947].

⁶⁴) *A. H. T. Theorell*, *Biochem. Z.* 252, 1 [1932].

globin: Myoglobin vermag molekularen Sauerstoff reversibel zu binden; wie beim Haemoglobin wird dieser Sauerstoff durch Kohlenoxyd verdrängt.

Wie alle Eisen-Carbonyl ist Kohlenoxyd-Myoglobin photochemisch aktiv. Bestrahlt man die rosenrote Kohlenoxyd-Verbindung des Chromoproteids, so werden die am Eisenatom des Hämkerns gebundenen Kohlenoxydreste abgespalten. Bei Anwesenheit von Sauerstoff entsteht ziegelrotes Sauerstoff-Myoglobin. Die Quantenausbeute ist dabei theoretisch: jedes Lichtquant, das die absorbierenden Bereiche der Hämingruppe trifft, spaltet ein Kohlenoxyd-Molekel heraus⁶⁵⁾.



Man kann diese photochemische Reaktion benutzen, um das „Wirkungsspektrum“ zu bestimmen. Bestrahlt man nämlich optisch dünne Kohlenoxyd-Myoglobin-Lösungen mit einfarbigem Licht, so kann man aus der photochemischen Wirkung, d. h. der Zahl der abgespaltenen Kohlenoxyd-Molekeln, und der Zahl der durch die Lösung schießenden Lichtquanten, den photochemisch wirksamen Querschnitt der Molekel errechnen. Dieser Wirkungsquerschnitt stimmt im Sichtbaren und im nahen Ultraviolett bis 320 m μ mit dem spektralphotometrisch bestimmten molaren Absorptionskoeffizienten überein (Bild 6). Das bedeutet: in diesem Bereich sind photochemisch wirkender und lichtabsorbierender Querschnitt gleich, im Grunde der bereits weiter oben ausgesprochene Befund, daß jedes Lichtquant, das die absorbierenden Bereiche der Hämingruppe trifft, eine Kohlenoxydmolekel photochemisch herauspaltet.

Im Versuch von *Bücher* und *Kaspers* wurde nun die photochemische Wirkung im Ultraviolett unterhalb 320 m μ gemessen.

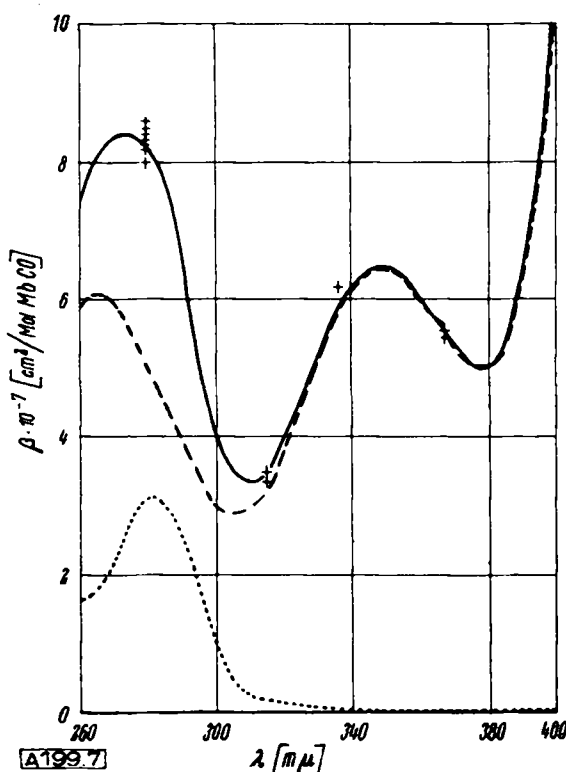


Bild 6

Photochemisches Wirkungsspektrum des Kohlenoxydmyoglobins (Kreuze), sowie molare Absorptionsspektren des Kohlenoxydmyoglobins (ausgezogen) und seiner Komponenten (Kohlenoxydhaem gestrichelt; Eiweiß punktiert)

Unterhalb dieser Wellenlänge beginnt nämlich sich zu der Absorption des Haems in steigendem Maße die Absorption der Eiweißkomponente des Chromoproteids zu addieren (Bild 6: punktiert). Diese hat bei 280 m μ ein erstes Maximum, das einwandfrei den Kernen der aromatischen Aminosäuren zugeordnet werden kann. Zwar hat auch bei dieser Wellenlänge die Haemkomponente noch eine gewisse Absorption, aber von zehn Strahlungsquanten, die das Chromoprotein bei 280 m μ treffen, bleiben immerhin vier in den aromatischen Kernen des Proteinteils. Dieser Prozentsatz liegt außerhalb der Fehlergrenzen des Experiments.

⁶⁵⁾ E. Negelein u. Th. Bücher, Naturwiss. 29, 672 [1941]; Th. Bücher u. E. Negelein, Biochem. Z. 311, 163 [1942].

Zur Versuchsausführung wurde eine Methode verwandt, die von *Bücher* und *Negelein*⁶⁶⁾ auf der Basis der *Warburg*schen Theorie der photochemischen Spaltung der Carbonyl⁶⁷⁾ entwickelt worden ist. Dabei wurden Lösungen von Kohlenoxydmyoglobin im Gleichgewicht mit Kohlenoxyd-Sauerstoff-Gasgemischen in optisch dünner Schicht mit monochromatischem Licht zureichender Intensität durchstrahlt. Die Stärke der spaltenden Strahlung wurde mit dem Thermoelement gemessen und nach der *Planck*schen Formel der Quantenfluß errechnet. Die Lichtwirkung, nach dem obengesagten eine Verschiebung der Verteilung des Myoglobin zwischen Kohlenoxyd- und Sauerstoff-Verbindung im Sinne der obenstehenden Reaktionsgleichung, wurde spektrophotometrisch gemessen.

Das Ergebnis des Experiments ist in Bild 6 wiedergegeben. Darin wurde den Wirkungsquerschnitten, wie sie sich bei den verschiedenen Wellenlängen aus dem photochemischen Spaltungsversuch ergaben, das spektralphotometrisch gemessene molare Absorptionsspektrum des Kohlenoxydmyoglobins und seiner beiden Komponenten gegenübergestellt. Zugrundegelegt ist der oben erörterte Experimental-Befund, daß jedes Strahlungsquant bei der Indikatorreaktion Effekt hat.

Es ist nur der UV-Teil der Spektren (linksseitig der *Soret*-Bande) dargestellt. Man sieht, daß bei den Wellenlängen 366 m μ , 334 m μ und 313 m μ , bei denen die Proteinkomponente des Pigments noch keinen Anteil an der Gesamtaborption des Kohlenoxydmyoglobins hat, der photochemisch wirkende Querschnitt der Molekeln gleich ist dem Licht absorbierenden Querschnitt der Haem-Komponente. Anders bei 280 m μ , hier ist der photochemisch wirkende Querschnitt größer als der absorbierende Querschnitt der Wirkungsgruppe allein und zwar um so viel größer, als die bei dieser Wellenlänge zusätzlich absorbierende Fläche der aromatischen Aminosäuren ausmacht.

Es sind bei dieser Wellenlänge 8 Versuchsergebnisse eingetragen. Man erkennt, daß die Fehlerbreite klein ist gegen den Effekt. Dies bedeutet eine klare Antwort auf die Fragestellung: jedes in den aromatischen Resten der Proteinkomponente des Kohlenoxydmyoglobins absorbierte Strahlungsquant vermag aus der weit entfernten Wirkungsgruppe der Molekel ein Kohlenoxyd abzuspalten. Keines geht verloren.

Bei der Wellenlänge 280 m μ beträgt die Energie eines Strahlungsquants $1,7 \times 10^{-19}$ cal. Dieser Energiebetrag wird ungeteilt aufgenommen, wenn ein solches Quant absorbiert wird. Konzentriert sich dieser Betrag auf einen Freiheitsgrad, dann entspricht dies nach der kinetischen Theorie der Wärme einer Temperaturerhöhung um 100000 Grad. Die Dissoziationsenergie des Kohlenoxydmyoglobins ist von *Theorell*⁶⁸⁾ gemessen worden. Sie beträgt 22500 cal./Mol. oder $0,37 \times 10^{-19}$ cal./Molekel. Der Wirkungsgrad des Energietransportmechanismus in der Eiweißkomponente des Kohlenoxydmyoglobins ist also mindestens 22,5%, wahrscheinlich aber sehr viel besser, und es durchläuft dabei die Molekel ein Energiepaket, das einer Temperaturerhöhung der beteiligten Freiheitsgrade von der Größenordnung 10^4 – 10^5 Grad entspricht.

Fragt man, ob diese Fähigkeit zum Transport von Energieeinheiten eine spezielle Eigenschaft des Myoglobins oder ein allgemeines Charakteristikum aller Eiweißkörper*) sei, so ist an die Deutung zu erinnern, die *Jordan*⁶⁹⁾ dem Zerstörungsspektrum der Urease gegeben hat. *Kubowitz* und *Haas*⁷⁰⁾ hatten die Inaktivierung dieses Ferments durch monochromatische ultraviolette Strahlung gemessen und gefunden, daß die Quantenausbeute bei dieser Inaktivierung zwar klein, aber über den ganzen durchmessenen Bereich innerhalb der Fehlergrenze des Versuchs konstant ist. So ist zum Beispiel die Quantenausbeute bei λ 280 m μ gleich derjenigen bei λ 196 m μ , obgleich die Absorptionskoeffizienten sich wie 1:177 verhalten. Dies bedeutet, daß es für die Inaktivierung der Urease gleichgültig ist, ob die inaktivierenden Quanten in einigen wenigen (Tyrosin und Tryptophan) oder allen Aminosäure-Resten absorbiert werden.

Weiterhin sind hier die vielerörterten Berechnungen von *Timofeef-Ressovsky*⁷¹⁾ und Mitarbeitern über den Wirkungs-

⁶⁶⁾ Vgl. z. B. O. Warburg, E. Negelein u. W. Christian, Biochem. Z. 214, 26 [1928].

⁶⁷⁾ Biochem. Z. 268, 73 [1934].

⁶⁸⁾ Es sei bemerkt, daß von Th. Bücher⁶⁵⁾ und Buu-Hoi, C. 1947 1, 840 auf die Möglichkeit der Mitwirkung von Mechanismen des Energietransports bei der Katalyse hingewiesen wurde.

⁶⁹⁾ Naturwiss. 26, 693 [1938].

⁷⁰⁾ Biochem. Z. 257, 337 [1933].

⁷¹⁾ Vgl. Zusammenfassung, Naturwiss. 29, 625 [1941].

querschnitt von Strahlungen bei der Auslösung von Genmutationen zu nennen. Der Bereich dieser erschlossenen Energietransportmechanismen erstreckt sich allerdings nur über größenordnungsmäßig zehn Kohlenstoff-Bindungen, und die Versuche werden den obengenannten Prämissen nur unvollkommen gerecht.

Interessant ist es, nach den am Kohlenoxydmyoglobin erhaltenen Ergebnissen das ultraviolette Wirkungsspektrum des Warburgschen Atmungsferments⁴⁴⁾ erneut zu betrachten. Dieses zeigt in seinem ultravioletten Teil (Bild 7) bei 280 m μ ebenfalls eine Absorption, die weit über dem Absorptionswert seiner Haemin-Komponente liegt. Dabei ist noch zu beachten, daß der von Kubowitz und Haas⁷¹⁾ in der Eiweißbande gemessene Wert aus versuchstechnischen Gründen ein Minimalwert ist. Es liegt nahe, für diesen Effekt die gleiche Erklärung zu geben, wie beim Kohlenoxydmyoglobin (Bild 6). Dann ist allerdings ein wesentlicher Unterschied in Betracht zu ziehen, denn das Warburgsche Atmungsferment ist anders als das Modell Myoglobin im Versuch unlösbar in der Zelle gebunden. Es ist ein Bestandteil der Zellstruktur. Wenn man also annimmt, daß im Wirkungsspektrum des Atmungsferments Quanten erfaßt sind, die in Resten aromatischer Aminosäuren gebunden sind, so ist zu bedenken, daß diese Aminosäuren Bestandteile der Struktur sind. Die Wirkungsbreite läßt sich aus einer Berechnung Warburgs über das „Molekulargewicht des sauerstoffübertragenden Ferments⁷²⁾“ schätzen, nach der die Quanten, die in 75000 gr Eiweiß absorbiert werden, auf ein Grammatom Fermenteisen zu wirken vermögen. Dies ist, wie gesagt, ein

⁷¹⁾ Blochem. Z. 255, 247 [1932].

⁷²⁾ Naturwiss. 32, 94 [1945].

Minimalwert, und es ist wahrscheinlich, daß die Messungen von Kubowitz und Haas bereits den Beweis für ein außerordentlich leistungsfähiges System des Energietransports in den Strukturen der lebendigen Substanz in sich tragen.

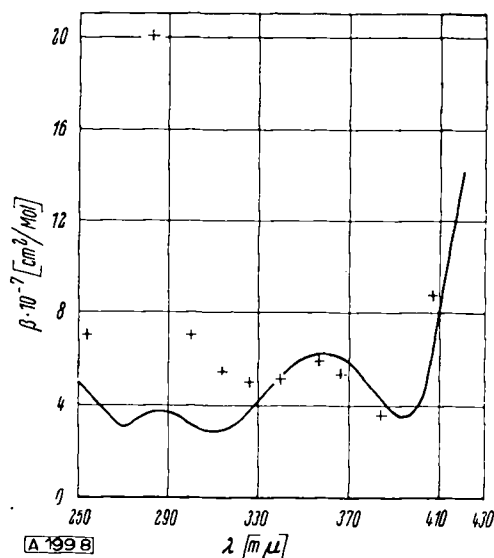


Bild 7

Photochemisches Wirkungsspektrum des Warburgschen Atmungsferments (Kreuz) und molares Absorptionsspektrum von Kohlenoxyd-Spirographis-haemochromogen (ausgezogen)

Eingeg. am 23. Dezember 1948.
Überarbeitet Februar 1950.

[A 199]

Beispiel einer Basizitätsänderung durch sterische Behinderung mesomerer Effekte

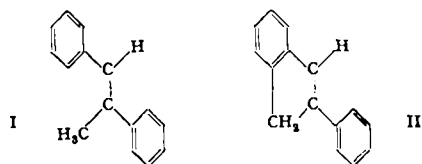
Erläutert an neu berechneten Stuart-Atomkalotten

Von Prof. Dr. G. BRIGLEB, Würzburg

Aus dem chemischen Institut der Universität Würzburg

Theoretische Überlegungen lassen erwarten, daß mesomere Effekte zwischen konjugierten π -Elektronensystemen im vollen Ausmaße nur möglich sind, wenn der Winkel zwischen den Ebenen maximaler Ladungsdichte der π -Elektronen möglichst 0° beträgt. Diese Erwartung konnte experimentell in einer Reihe von Fällen überzeugend bestätigt werden. Hier sind vor allem die Untersuchungen an Biradikalen holotroper Diphenyle zu nennen¹⁾ oder auch die optischen Untersuchungen (UV.-Absorption) an mesomeren Systemen mit gegeneinander verdrehbaren Molekelteilen aromatischer π -Elektronensysteme²⁾.

Z. B. unterscheidet sich das Absorptionsspektrum von α -Methyl-trans-Stilben (I) wesentlich von dem des 2-Phenyl-Inden (II), weil (II) eben ist, während dagegen (I), infolge der sterischen Volumenbeanspruchung der CH₃-Gruppe, nicht eben sein kann.



Man wird bei komplizierten Molekeln mit vielen Freiheitsgraden der innermolekularen Rotation der Molekelteile gegeneinander sich zweckmäßigerweise eines Modells, z. B. aus

¹⁾ Vgl. E. Müller, „Über den Radikalzustand ungesättigter Verbb. in „Fortschr. d. chem. Forschg.“, herausgeg. von F. G. Fischer, H. W. Kohlrausch u. K. Schäfer, 1. Bd. S. 325, Springer-Verlag 1949. Dort auch weitere Literatur. Ferner die kritische Betrachtung von K. Ziegler, diese Ztschr. 61, 168 [1949] u. F. Seel, Z. Elektrochem. 52, 191 [1948].
²⁾ Chr. Wiegand, diese Ztschr. 61, 448 [1949]; Liebigs Ann. Chem. 567, 242 [1947]; Naturwiss. 34, 122 [1947]; Z. Naturforsch. 3b, 94 [1948]; M. T. O. Shaughnessy u. W. H. Rodebush, J. Amer. Chem. Soc. 62, 2906 [1940]; 63, 1658, 3018 [1941].

Stuart-Atomkalotten bedienen, um entscheiden zu können, ob Molekelteile, zwischen denen Mesomerie rein formelmäßig denkbar wäre, in einer Ebene liegen können oder nicht, was ja – wie bei (I) – oft einzig und allein von der Volumenbeanspruchung gewisser Substituenten abhängt.

Es zeigt sich dabei aber, daß in gewissen Fällen, in denen z. B. durch Untersuchung der UV.-Absorption oder durch Röntgenmessungen eine gegenseitige Verdrehung zweier Molekelteile als Folge einer sterischen Behinderung durch bestimmte Substituenten festgestellt wurde, diese auf Grund der Stuart-Modelle nicht oder nur in einem geringen Grade zum Ausdruck gebracht wird. Dies zeigt z. B. das Modell des Diphenyls und in Bild 1a und b das Modell des α -Methyl-trans-Stilbens.

Während im Modell mit den bisherigen Atomkalotten nach Stuart die beiden Phenyl-Kerne im Diphenyl frei drehbar sind, zeigt das Modell mit neu berechneten dimensionsgenauen Atomkalotten, daß sich die Wirkungssphären der beiden o,o'-H-Atomkalotten überschneiden, was eine unebene Form der Molekel bedingt, die von Merkel und Wiegand³⁾ auch auf Grund des spektroskopischen Verhaltens des Diphenyls in Lösungen angenommen wird. Für diese Auffassung scheint auch zu sprechen, daß nach den neuesten Berechnungen der Mesomerieenergie von Klages³⁾ das Diphenyl gegenüber der Mesomerieenergie von zwei Benzolkernen keine Erhöhung zeigt. Jedoch werden sich unter bestimmten Bedingungen die Wirkungssphären der H-Atome relativ leicht durchdringen können. Dafür spricht die ebene Lage der Phenyl-Kerne im Kristallgitter des Diphenyls, dementsprechend ist auch im Gitter der C-C'-Abstand infolge der möglichen Mesomerie von 1,54 auf 1,48 Å verkürzt.

³⁾ F. Klages, Chem. Ber. 82, 359 [1949].