

whether of single organs or of a population of organisms. The survival statistics of the latter may be interpreted according to PÜTTER as the result of the combat between damage and resistance. The connection between the change of adaptive and regenerative capacity and the

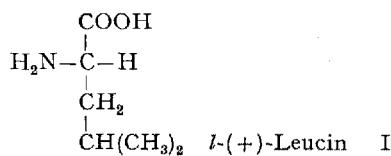
diseases of old age is mentioned. Finally, the psychological and mental aspects are emphasised. In addition to statistical studies on senescence, prolonged observation on single individuals is afforded and suitable tests to follow the ageing processes have to be elaborated.

Mögliche Beziehungen der optischen Aktivität zum Problem des Alterns¹

Von W. KUHN², Basel

1. Vorkommen und Bedeutung optisch aktiver Stoffe im Organismus

Es ist bekannt, dass optisch aktive Stoffe stets in zwei Formen, einer rechtsdrehenden und einer linksdrehenden, auftreten und dass sich (nach PASTEUR) die Moleküle der rechts- und der linksdrehenden Form wie Bild und Spiegelbild zueinander verhalten. Die zueinander spiegelbildlichen Modifikationen einer optisch aktiven Substanz werden auch als optische Antipoden bezeichnet.



Ebenso ist es bekannt und sehr merkwürdig, dass die lebenden Organismen zu ihrem Aufbau in der Regel und gerade in den wichtigsten Fällen nicht beide Antipoden, sondern *nur die eine der möglichen spiegelbildlichen Formen* verwenden. Von den beiden Formen von Leucin, einer der im Eiweiss vorkommenden Aminosäuren, wird beispielsweise in den pflanzlichen und tierischen Organismen nur oder fast nur die in Formel I wiedergegebene Form, das *l*-(+)-Leucin, verwendet. Analoges gilt für andere optisch aktive, in den Proteinen vorkommende, Aminosäuren und für die in den Organismen vorkommende Glukose, Fruktose usw. Die Aminosäuren werden in den Organismen in so hohem optischem Reinheitsgrade verwendet, dass der Nachweis einer Unvollkommenheit des optischen Reinheitsgrades dieser Stoffe schwierig ist und erst in neuerer Zeit in ganz wenigen Fällen, so im Falle des Leucins und der Glutaminsäure, sichergestellt wurde. Im Falle der Glukose fehlt bisher jede Andeutung einer Unvollkommenheit des optischen Reinheitsgrades.

Um die Bedeutung der optisch aktiven Stoffe und die Besonderheiten, die sich bei Verwendung optisch

aktiver Stoffe für den Organismus ergeben, klarzumachen, betrachten wir die Verhältnisse, welche beim Zusammenbringen von *l*-(+)-Leucin-methylester (dem Methylester der Verbindung I) mit der positiv und der negativ drehenden Form von 1,1'Dinaphtyl-2,2'-dioxy-3,3'-dicarbonsäure beobachtet werden. Die Formel der eben genannten Säure ist für das Folgende von untergeordneter Bedeutung und braucht daher nicht wiedergegeben zu werden. Wesentlich ist, dass die Kombination *l*-(+)-Leucinmethylester mit *positiv* drehender Dioxydinaphtyldikarbonsäure [abgekürzt die Kombination (+)-L, (+)-S] ein *schwerlösliches Salz* liefert, ein Salz, von dem sich bei 28,5°C in 100 g Methanol 0,44 g lösen, während die Kombination *l*-(+)-Leucinmethylester mit *negativ* drehender Dioxydinaphtyldikarbonsäure [abgekürzt die Kombination (+)-L, (-)-S] ein *leichtlösliches Salz* liefert, ein Salz, von dem sich bei 28,5°C in 100 g Methanol 101 g lösen¹.

Es ergibt also die Kombination (+)-L, (-)-S eine Löslichkeit, welche rund 200mal grösser ist als die Löslichkeit der Kombination (+)-L, (+)-S. Analoge, aber quantitativ nicht immer so ausgeprägte Unterschiede treten auf, wenn anstatt (+)-Leucinmethylester ein anderer Aminosäureester mit dem positiv oder negativ drehenden Antipoden irgendeiner andern optisch aktiven Säure zusammengebracht wird.

Aus dem Beispiel und dessen Verallgemeinerung ersehen wir, dass die Löslichkeitsverhältnisse der etwa aus Leucin und *d*-Weinsäure entstehenden Salze ganz andere wären, wenn wir das in Wirklichkeit vom Organismus verwendete *l*-(+)-Leucin ganz oder teilweise durch den Antipoden ersetzen würden. Neben den Löslichkeiten würden auch andere Gleichgewichte sowie alle Reaktionsgeschwindigkeiten geändert werden². Es ist auf Grund solcher Tatsachen durchaus zu verstehen, dass ein geordneter Ablauf der im Organismus stattfindenden Reaktionen nur bei Verwendung

¹ W. KUHN und K. VOGLER, Z. Naturforsch. 6b, 232 (1951).

² Für eine Zusammenstellung von Verschiedenheiten diastereoisomerer Verbindungen siehe zum Beispiel W. KUHN, Ergebn. Enzymforsch. 5, 1 (Leipzig 1936); ebenso in F. F. NORD und R. WEIDENHAGEN, Handbuch der Enzymologie (Leipzig 1940), S. 188.

¹ Vortrag, gehalten vor der Schweizerischen Gerontologischen Gesellschaft in Basel am 11. Dezember 1954.

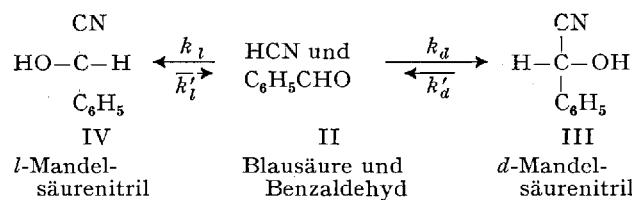
² Physikalisch-chemisches Institut der Universität Basel.

der vom Organismus in Wirklichkeit eingesetzten optischen Antipoden möglich ist. Das Vorhandensein eines hohen optischen Reinheitsgrades der genannten optisch aktiven Stoffe in allen lebenden Organismen kann darauf zurückzuführen sein, dass der hohe Reinheitsgrad für den geordneten Ablauf der Lebensvorgänge notwendig ist, so dass Individuen, bei welchen der Reinheitsgrad eine winzige Einbusse erlitten hat, absterben. Wenn dies der Fall ist, werden nämlich, wie es den Beobachtungen entspricht, Individuen mit unvollkommenem optischem Reinheitsgrad in einer an lebenden Organismen durchgeführten Untersuchung nicht vorkommen.

2. Synthese optisch aktiver Substanz im Organismus

Da alle in den Organismen verwendete organische Substanz letzten Endes aus der Kohlensäure der Luft sowie aus einfachen Verbindungen, wie Ammoniak usw., herrührt, ist es klar, dass die Organismen die von ihnen benötigte optisch aktive Aufbausubstanz selbst aus inaktivem Material herstellen. Es ist von Interesse, die Bedingungen, unter denen das geschehen kann und tatsächlich geschieht, zu präzisieren. Diese Diskussion wird zeigen, dass eine Synthese praktisch genommen reiner optisch aktiver Substanz aus inaktivem Material tatsächlich möglich ist, dass aber in einem gegebenen Organismus mit fortschreitender Zeit zwangsläufig eine gewisse Minderung des optischen Reinheitsgrades der Aufbausubstanzen stattfinden muss¹.

Wir machen das Wesentliche am Beispiel der Synthese von optisch aktivem Mandelsäurenitril aus Benzaldehyd und Blausäure klar. Aus den inaktiven Ausgangsprodukten (Formel II) kann sich, wie durch nachstehendes Schema angedeutet ist, *d*- oder *l*-Mandelsäurenitril (Formel III und IV) bilden:



Da *d*- und *l*-Mandelsäurenitril Spiegelbilder voneinander sind, besitzen sie genau dieselbe Energie, und sie bilden sich gleich gut, das heißt mit derselben Gleichgewichtskonstante K aus den optisch inaktiven Ausgangsprodukten.

Trotz der Übereinstimmung der Gleichgewichtskonstanten beim Übergang von II zu III oder IV ist es verständlich, dass bei Anwendung eines optisch aktiven Katalysators, eines Enzyms, das dem Organismus zur

Verfügung steht, zunächst eine fast vollständige Umsetzung des Ausgangsproduktes II zu praktisch genommen reinem *d*-Nitril (III) möglich ist. Bei Anwendung eines optisch aktiven Katalysators bilden sich bei der Synthese von *d*-Nitril einerseits, von *l*-Nitril anderseits Zwischenverbindungen, welche den in Abschnitt 1 besprochenen Verbindungen (+)-L, (+)-S und (+)-L, (-)-S analog und somit hinsichtlich der Energie und der Reaktionsgeschwindigkeit ganz verschieden sind. Im jetzigen Fall wäre (+)-L der optisch aktive Katalysator und (+)-L, (+)-S, bzw. (+)-L, (-)-S eine der Zwischenstufen auf dem Wege der Bildung von *d*- bzw. *l*-Mandelsäurenitril. Um im vorliegenden Falle anzudeuten, dass sich das *d*-Nitril bei Benutzung des optisch aktiven Katalysators viel rascher als das *l*-Nitril bildet, dass also trotz Gleichheit der Gleichgewichtskonstanten durch den aktiven Katalysator eine verschieden grosse Reaktionsgeschwindigkeit bewirkt wird, deuten wir die Bildungsgeschwindigkeit des *d*-Nitrits durch einen langen Pfeil k_d die Bildungsgeschwindigkeit des *d*-Nitrits durch einen viel kürzeren Pfeil k_l an. Die Tatsache, dass eine, wenn auch wenig hervortretende Rückreaktion des *d*- oder *l*-Nitrits in die Ausgangsprodukte stattfindet, deuten wir durch einen entsprechend kürzeren Pfeil k_d' und k_l' an. Für die Katalyse charakteristisch und wesentlich ist es, dass die Gleichgewichtskonstante

$$K = \frac{k_d}{k_d'} = \frac{k_l}{k_l'} \quad (1)$$

durch den Katalysator nicht beeinflusst wird, das heißt, dass der Katalysator, der k_d gross macht, auch die Geschwindigkeitskonstante k_d' der inversen Reaktion erhöht. Dieses auch für Enzyme gültige Gesetz ist im Falle der enzymatischen Nitritsynthese durch unmittelbare Beobachtung bestätigt worden¹.

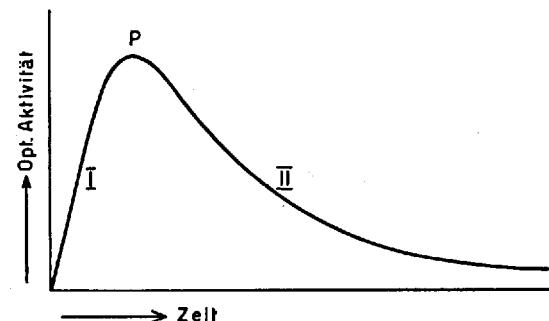


Abb. 1. Katalytische Synthese optisch aktiver Stoffe. Beobachtbare Aktivität als Funktion der Zeit bei andauernder Berührung von Reaktionsgut und Katalysator.

Nachdem wir festgestellt haben, dass bei Anwendung eines optisch aktiven Katalysators k_d grösser als

¹ L. ROSENTHALER, Biochem. Z. 26, 1, 7 (1909); Arch. Pharm. 248, 105 (1910). — K. FEIST, Arch. Pharm. 247, 226, 542 (1909); 248, 101 (1910). — M. W. BAYLISS, J. Physiol. 46, 236 (1913). — E. NORDEFELDT, Biochem. Z. 118, 15 (1921); 131, 390 (1923); 137, 489 (1923); 159, 1 (1925). — H. ALBERS und K. HAMANN, Biochem. Z. 255, 44 (1932).

¹ W. KUHN, Ergeb. Enzymforsch. 5, 1 (1936); Z. angew. Chem. 49, 215 (1936); Z. Altersforsch. 1, 325 (1939).

k_l sein kann, verstehen wir, dass sich, wenn wirklich $k_d > k_l$ ist, das Gleichgewicht bei der Synthese aus den Ausgangsstoffen hinsichtlich der Bildung von *d*-Nitril rascher als hinsichtlich der Bildung von *l*-Nitril einstellt. Diese Phase des Reaktionsablaufs ist durch den zwischen den Punkten *O* und *P* verlaufenden Kurvenast I von Abbildung 1 wiedergegeben. In diesem Versuchsstadium (Kurvenast I von Abb. 1) erfolgt die chemisch gesehen fast vollständige Bildung von optisch nahezu reinem *d*-Nitril. Eine ganz geringe Bildung von *l*-Nitril findet insofern statt, als k_l nicht absolut gleich *O* ist.

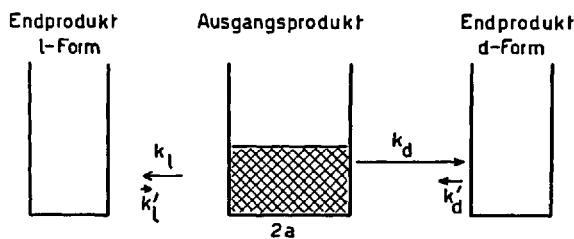


Abb. 2a. Ausgangslage bei optisch aktiver Synthese. Es ist Ausgangsprodukt vorhanden, jedoch noch keinerlei Endprodukt. Die Geschwindigkeitskonstanten für die Bildung der *d*-Form und der *l*-Form aus dem Ausgangsprodukt sind durch verschiedene lange Pfeile k_d und k_l angegeben, ebenso die Geschwindigkeitskonstanten für Rückbildung von Ausgangsprodukt aus dem Endprodukt durch die Pfeile k'_d und k'_l .

Den Ausgangszustand (entsprechend Koordinaten-Nullpunkt in Abb. 1) veranschaulichen wir in Abb. 2a dadurch, dass wir ein Gefäß, welches die Ausgangssubstanz enthält (in der Mitte) andeuten neben 2 zunächst leeren Gefäßen, welche für die Aufnahme von *d*- und *l*-Nitril bestimmt sind. Nach dem Ablauf der ersten Reaktionsphase, also in dem Zeitpunkt, welcher dem Punkt *P* von Abbildung 1 entspricht, ist die Menge von vorhandenem Ausgangs- und Endprodukt durch Abbildung 2b angedeutet: das Ausgangsprodukt ist nahezu (aber nicht ganz vollständig) zu *d*-Nitril umgesetzt worden, während sich nur sehr wenig *l*-Nitril gebildet

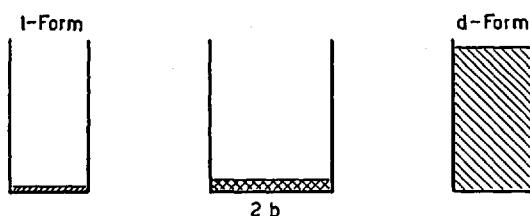


Abb. 2b. Ausgangs- und Endprodukt nach Durchlaufung von Kurventeil I von Abbildung 1, entsprechend Punkt *P* von Abbildung 1. Das Ausgangsprodukt ist beinahe, jedoch, weil die Gleichgewichtskonstante K , Gleichung (1), endlich ist, nicht ganz verschwunden. Aus dem Ausgangsprodukt hat sich, da k_d grösser als alle anderen in Frage kommenden Geschwindigkeitskonstanten ist, fast nur die *d*-Form gebildet.

hat. In diesem Zeitpunkt herrscht zwischen dem wenigen verbliebenen Ausgangsprodukt und dem entstandenen *d*-Nitril Gleichgewicht, indem sich (im Punkt *P* von Abb. 1) gemäss den Gleichgewichtskonstanten k_d und k'_d [Gleichung (1)] je Zeiteinheit gleichviel *d*-Nitril aus Ausgangsprodukten bildet, wie sich

infolge der inversen Reaktion in die Ausgangsprodukte rückverwandelt. Während jetzt hinsichtlich *d*-Nitrils dynamisches Gleichgewicht herrscht, so ist zu erkennen, dass in dem in Abbildung 2b angedeuteten Versuchsstadium *kein* Gleichgewicht hinsichtlich der Bildung von *l*-Nitril aus dem in kleiner, aber endlicher Menge verbliebenen Ausgangsprodukt vorhanden ist. Da die Gleichgewichtskonstanten für die Bildung von *d*- und *l*-Nitril dieselben sind, wäre hinsichtlich der Bildung von *l*-Nitril nur dann Gleichgewicht vorhanden, wenn *l*-Nitril in gleicher Menge wie *d*-Nitril gebildet worden wäre. Da dies im Zustand nach Abbildung

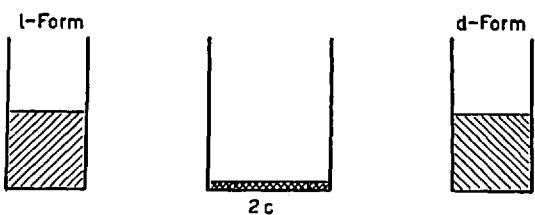


Abb. 2c. Endzustand, das heißt Zustand nach Erreichung des Gleichgewichtes hinsichtlich der Bildung von *d*- und *l*-Form aus dem Ausgangsprodukt. *d*- und *l*-Form liegen in je gleicher Menge neben einer geringen Menge des Ausgangsproduktes vor. Der Endzustand ist razemisch.

2b nicht der Fall ist, findet entsprechend der verbliebenen Konzentration der Ausgangsprodukte (mittleres Gefäß in Abbildung 2b) und entsprechend der zwar kleinen, aber endlichen Reaktionsgeschwindigkeitskonstante k_l , ein langsamer Umsatz des Ausgangsproduktes zum *l*-Nitril statt. Offenbar wird durch diesen Vorgang ein Teil der zunächst verbliebenen Ausgangssubstanz verbraucht, so dass die Konzentration im mittleren Gefäß von Abbildung 2b absinkt. Das vorhandene Gleichgewicht mit *d*-Nitril wird dadurch gestört in dem Sinne, dass vorhandenes *d*-Nitril sich in die Ausgangsprodukte zurück umsetzen muss. In der nächsten Phase wird sich das so wieder entstandene Ausgangsprodukt nach Massgabe der Geschwindigkeitskonstante k_l zu *l*-Nitril umsetzen. Dieser Vorgang wird so lange andauern, bis das am Schluss vorhandene Ausgangsprodukt sowohl mit *d*- als auch mit *l*-Nitril im Gleichgewicht steht. Letzteres ist wegen der Identität der Gleichgewichtskonstanten dann der Fall, wenn die Menge an vorhandenem *d*- und *l*-Nitril dieselbe ist (Abb. 2c). Im Endzustand werden wir also gleiche Mengen an *d*- und *l*-Nitril, also ein Razemat, das die optische Drehung *O* besitzt, vorfinden. Der langsame Abfall der zu beobachtenden optischen Drehung des synthetisierten Nitrils ist durch den Kurvenast II von Abbildung 1 wiedergegeben.

Für die mit Hilfe eines optisch aktiven Katalysators bewirkte asymmetrische Synthese ist es somit charakteristisch, dass zunächst nahezu vollständige Umsetzung des Ausgangsmaterials zu optisch nahezu reinem Endprodukt (*d*-Nitril) stattfindet, dass aber anschliessend ein Absinken des optischen Reinheitsgrades des Endproduktes stattfindet, indem das zunächst gebildete,

nahezu reine *d*-Nitril auf dem Wege einer Rückverwandlung ins Ausgangsprodukt zu *l*-Nitril umgesetzt wird. Es ist charakteristisch, dass diese Umsetzung des *d*-Nitrils in *l*-Nitril *durch denselben optisch aktiven Katalysator*, welcher in der ersten Phase die *d*-Nitril-Synthese beschleunigt hatte, vermittelt wird, insofern als der Katalysator, welcher einen grossen Wert von k_d bewirkt, gemäss Gleichung (1) auch ein grosses k'_d erzeugt, also die Rückumwandlung des *d*-Nitrils in die Ausgangsprodukte beschleunigt. Wir stehen vor der merkwürdigen Tatsache, dass die Razemisierung des gebildeten *d*-Nitrils zum Teil wenigstens durch denselben Katalysator, welcher zunächst die Erzeugung von fast reinem optisch aktivem Stoff ermöglicht hatte, beschleunigt wird. Die beschriebene Razemisierung ist aber *unausweichlich*, und es ist die Bildung reiner, optisch aktiver Stoffe aus inaktivem Ausgangsmaterial mit Hilfe von optisch aktiven Katalysatoren ein *vorübergehender Effekt*.

Die quantitativen Verhältnisse werden in dem vorigen Beispiel sowie in ähnlichen Fällen durch die *Haltbarkeitsgleichung* wiedergegeben. Verstehen wir unter τ_{rac} die «Razemisierungszeit», genauer gesagt die Zeit, während welcher der Katalysator mit dem Substrat in Berührung bleiben muss, damit die optische Aktivität von ihrem Höchstwert (Punkt *P* in Abb. 1) auf etwa einen Drittel dieses Betrages absinkt, und unter τ_{akt} die *Aktivierungszeit*, das heisst die Zeit, innerhalb welcher sich etwa zwei Drittel der Ausgangssubstanz in das optisch fast reine Endprodukt umsetzen, und unter der *Haltbarkeit* des aktiven Zustandes den Quotienten aus τ_{rac} und τ_{akt} , so erhalten wir für die «Haltbarkeit» des aktiven Zustandes die Beziehung

$$H = \frac{\tau_{rac}}{\tau_{akt}} = \frac{1}{2} \frac{k_d}{k_l} K. \quad (2)$$

Wäre entsprechend τ'_{rac} die Zeit, innerhalb welcher der optische Reinheitsgrad der synthetisierten Substanz von nahezu 100% auf den Wert α , zum Beispiel auf 99%, absinkt, so wäre die für das Absinken auf den Reinheitsgrad α charakteristische Haltbarkeit H' gegeben durch

$$H' = \frac{\tau'_{rac}}{\tau_{akt}} = g_\alpha \frac{k_d}{k_l} K, \quad (2a)$$

wobei g_α eine für die Grenze α (zum Beispiel für $\alpha = 0,99$) charakteristische Konstante bedeutet.

Die Haltbarkeit des aktiven Reinheitsgrades (Zeit, innerhalb derer eine bestimmte Razemisierung eintritt, geteilt durch die für den Aufbau der optisch aktiven Substanz benötigte Zeit) ist also erstens proportional der Gleichgewichtskonstante K , welche chemisch gesehen die Umsetzung der inaktiven Ausgangsstoffe in die optisch aktiven Endprodukte regelt, und zweitens proportional der optischen Spezifität des Katalysators, welche im Verhältnis k_d/k_l zum Ausdruck kommt.

Wäre die Haltbarkeit H gleich unendlich, so könnten wir in einer bestimmten Zeit τ_{akt} die aktive Substanz am Katalysator erzeugen und dieselbe nachher für un-

beschränkte Zeit im reinen aktiven Zustand erhalten. Hierzu wäre aber nach Gleichung (2) notwendig, dass entweder k_d/k_l , das heisst die optische Spezifität des Katalysators, oder aber K , das heisst die bei der Synthese obwaltende chemische Gleichgewichtskonstante, unendlich gross wäre. In Wirklichkeit ist bei allen chemischen Reaktionen die Gleichgewichtskonstante K endlich, weil einem unendlich grossen K eine unendlich grosse Bildungsaaffinität entsprechen würde; aber auch die Selektivität k_d/k_l ist bei allen *in vitro* bekannten Reaktionen endlich. Dies heisst, es wird wohl *H* recht gross, aber nicht unendlich gross werden, auch nicht bei den aktiven Synthesen im Organismus¹.

Es ist interessant, dass die Gültigkeit der Haltbarkeitsgleichung im Falle der enzymatisch katalysierten Mandelsäurenitrit-Synthese vor einiger Zeit von H. und E. ALBERS experimentell bestätigt werden konnte².

3. Massnahmen zur Verzögerung der Razemisierung

Wenn gemäss diesen Überlegungen die allmähliche Abnahme des optischen Reinheitsgrades der mit Hilfe eines optisch aktiven Katalysators erzeugten optisch aktiven Substanz *zwangsläufig* erfolgt, so gibt es doch verschiedene Massnahmen, durch welche die *Geschwindigkeit*, mit welcher die Abnahme des Reinheitsgrades erfolgt, herabgesetzt wird oder welche die Auswirkungen der Abnahme auf den Gesamtorganismus mildern und zeitlich hinausschieben. Es ist interessant, zu sehen, in wie ausgezeichneter Weise die sich bietenden Möglichkeiten vom Organismus ausgenutzt werden.

a) *Wahl von K sowie von k_d/k_l*. Eine erste Massnahme zur Verzögerung der Razemisierung besteht gemäss der Haltbarkeitsgleichung (2) darin, dass bei den für die optische Aktivität wichtigsten Synthesen Reaktionen gewählt werden, bei welchen K gross ist, das heisst solche Reaktionen, bei welchen die Ausgangsprodukte, chemisch gesehen, praktisch genommen vollständig in die Endprodukte umgesetzt werden. Man stellt tatsächlich fest, dass die Reaktionen, bei denen im Organismus die Glukose oder die Aminosäuren gebildet werden, dem Typus der fast einseitig verlaufenden Reaktionen angehören.

Auch hinsichtlich k_d/k_l , welches ebenfalls einen hohen Wert besitzen soll, damit die Haltbarkeit H gross wird, stehen dem Organismus gute Möglichkeiten, aber voraussichtlich keine unendlich grossen Werte zur Verfügung.

b) *Baldiges Wegführen des Substrats vom Katalysator nach vollzogener Synthese*. Da die in Kurvenast II von

¹ Auf Grund von Angaben, die einer Arbeit von A. MEISTER, L. LEVINTOW, R. B. KINGSLEY und J. P. GREENSTEIN [J. Biol. Chem. 192, 535 (1951)] entnommen werden können, wäre k_d/k_l für die Einwirkung von *d*-Aminosäureoxydase auf *d*- bzw. *l*-Alanin und *d*- bzw. *l*-Serin mindestens gleich 10^4 . Für die obenerwähnte Mandelsäurenitritsynthese mit Emulsin als Katalysator ist der Quotient mindestens 100mal kleiner, zu einem grossen Teil wohl deswegen, weil hier die unkatalysierte Reaktion schon eine messbare Geschwindigkeit besitzt.

² H. und E. ALBERS, Z. Naturforsch. 9b, 122, 133 (1954).

Abbildung 1 erfolgende Razemisierung nach den Abbildungen 2b und 2c dadurch zustande kommt, dass bereits gebildetes *d*-Nitril unter Mitwirkung des Katalysators (Geschwindigkeitskonstante k'_d) in die Ausgangsprodukte zurückzerlegt wird, kann der Abfall der optischen Aktivität zu einem grossen Teil verhindert werden, wenn die synthetisierte Substanz nach ihrer Entstehung vom Katalysator entfernt wird. Wir wissen, dass diese Möglichkeit im Organismus tatsächlich in hohem Masse ausgenutzt wird. Die Enzyme finden sich im Organismus meist räumlich lokalisiert, an bestimmten Oberflächen verankert. Die synthetisierten Stoffe werden stets rasch der Wirkung des Katalysators entzogen, indem sie entweder chemisch weiterverarbeitet oder räumlich vom Katalysator entfernt werden. Es ist von Interesse, festzustellen, dass diese Massnahme, wenn wir sie als eine zur Aufrechterhaltung des optischen Reinheitsgrades und damit zur Aufrechterhaltung eines ungestörten Ablaufs der biochemischen Reaktionen notwendige Vorkehrung betrachten, den biochemischen Vorgängen von selbst und *zwangsläufig das Gepräge des Einmaligen, in bestimmtem Sinne Ablaufenden, die Eigentümlichkeit des nicht oder beschränkt Umkehrbaren aufzwingen*. Der Katalysator darf nicht unbeschränkt lange mit dem Substrat in Berührung bleiben: es ist wesentlich, dass in bestimmter Hinsicht das Gleichgewicht nicht abgewartet wird. Von Interesse ist es, dass hier die Einmaligkeit und Einsinnigkeit des biochemischen Geschehens nicht eine von aussen gemachte Feststellung, sondern eine von innen heraus erwachsende Notwendigkeit ist.

Bemerkung über weitere, den Charakter des Einsinnigen tragende Vorgänge im Organismus

Es ist interessant, dass es im Organismus ausser der katalytischen optisch aktiven Synthese weitere einfache Vorgänge gibt, welche den Charakter des Einmaligen, nicht Umkehrbaren tragen. Dazu gehört insbesondere der Vorgang der *Harnkonzentrierung in der Niere*¹. Das ist ein Vorgang, welcher in einem *Haarnadelgegenstromsystem* erzielt wird. Es ist kennzeichnend, dass die in solchen Systemen hervorgebrachte Vervielfachung von Konzentrereffekten nur zustande kommt, wenn eine minimale Geschwindigkeit des Haarnadelstromes aufrecht erhalten bzw. überschritten wird.

Dass in den Organismen die beispielsweise bei der Verbrennung der Glukose freiwerdende Energie nicht auf einmal, sondern stufenweise umgesetzt wird, ist längst bekannt. Die Tatsache, dass es aber beim Ablauf der biochemischen Vorgänge Effekte gibt (optische Aktivität; Konzentrereffekte in der Niere), welche bei Unterschreitung einer untern Grenze der Geschwindigkeit des Ablaufs überhaupt nicht mehr zustande

¹ B. HARGITAY und W. KUHN, Z. Elektrochem. u. angew. physikal. Chem. 55, 589 (1951). — H. WIRZ, B. HARGITAY und W. KUHN, Helv. physiol. acta 9, 196 (1951); siehe auch W. KUHN und R. RYFFEL, Hoppe Seylers Z. physiol. Chem. 276, 146 (1942).

kommen, stellt Forderungen, welche über die der Einhaltung einer Reihenfolge von Reaktionsstufen hinausgehen. Es ist die Forderung eines einsinnig gerichteten minimalen Grundumsatzes. Diese Forderung an die Lebensvorgänge kann und muss also auf Grund einfacher Vorgänge gestellt werden.

c) *Elimination unerwünschter Antipoden*. Eine weitere Möglichkeit zur Erhaltung des optischen Reinheitsgrades besteht in einer laufenden Entfernung unerwünschter Antipoden. Es ist in diesem Zusammenhang bedeutungsvoll, dass in der Leber eine *d*-Aminosäure-Oxydase vorhanden ist, deren einzige Aufgabe darin zu bestehen scheint, die unerwünschten Antipoden der Aminosäuren (die *d*-Aminosäuren) laufend zu verbrennen¹. Es ist auch denkbar, dass die unerwünschten Antipoden durch weitere Mechanismen unschädlich gemacht werden, so etwa durch Einbau unerwünschter Aminosäuren in die Epidermis oder ins Haar, also in Organe, in welchen eine Unvollkommenheit des optischen Reinheitsgrades voraussichtlich wenig stören würde. Alle Ausscheidungsmechanismen dieser Art wirken aber nur dann, wenn die unerwünschten Antipoden eine gewisse Konzentration erreicht haben. Die Entfernung wird nie eine quantitative sein.

d) *Verlegung der wichtigen Lebensfunktionen in junges Gewebe*. Eine weitere Möglichkeit, die Auswirkung des Vorhandenseins der unerwünschten Antipoden einzudämmen, besteht darin, dass aus der Gesamtsubstanz des Organismus einzelne Bereiche ausgeschieden werden, in welchen der Reinheitsgrad grösser ist, als es dem Mittel des Gesamtorganismus entsprechen würde. So ist es bekanntlich möglich, aus einer Lösung, welche zum Beispiel *d*-Mandelsäure neben einer grösseren oder kleineren Menge von razemischer Mandelsäure enthält, durch fraktionierte Kristallisation kleine Mengen an reiner *d*-Mandelsäure zu erhalten. Im Rest der Lösung sinkt dann der mittlere Reinheitsgrad der dort vorhandenen aktiven Substanz entsprechend. In ähnlicher Weise wird es dem Organismus möglich sein, beispielsweise für die Keimzellen und für die Stellen, an welchen die enzymatischen Synthesen stattfinden, ganz besonders reine optisch aktive Substanz anzuwenden und zum Beispiel die Nachkommenschaft mit einwandfreier optisch aktiver Substanz auszustatten. Eine in diesem Sinne geeignete Massnahme besteht darin, dass die besonders lebenswichtigen Funktionen in frisch erzeugte Zellen verlegt werden. Es scheint, dass der Organismus auch von dieser Möglichkeit weitgehend Gebrauch macht. Es sei in diesem Zusammenhang daran erinnert, dass zum Beispiel die Blutkörperchen im Mittel nach etwa 4 Wochen erneuert werden.

Wie erwähnt, wird dadurch, dass an bestimmten Stellen des Organismus besonders reine aktive Substanz zur Ausscheidung gelangt, der Reinheitsgrad im Rest des Organismus heruntergesetzt, und die im Mittel

¹ H. A. KREBS, Z. physiol. Chem. 217, 191 (1933); Biochem. I 29, 1620 (1935).

fortschreitende Abnahme des Reinheitsgrades ist damit nicht behoben. Der Chemiker beseitigt Lösungen wie zum Beispiel Mutterlaugen, in denen sich zu viel Verunreinigungen angesammelt haben. Dem Organismus ist das nicht oder nur beschränkt möglich, da er, etwa nach Bereitstellung von Keimzellen, nicht die ganze verbleibende Substanz verlören geben kann. Die unter c erwähnte Elimination unerwünschter Antipoden ist daher für den Organismus aktuell und notwendig.

4. Mögliche Beziehung der Haltbarkeitsgleichung zur Lebensdauer des Individuums

Die in Abschnitt 3 erwähnte Massnahme zur Verzögerung des Auftretens unerwünschter Antipoden kann die Bildung und die allmähliche Zunahme der Menge derselben im Organismus nicht völlig verhindern.

Die Möglichkeit der Verlegung lebenswichtiger Funktionen in junges Gewebe zeigt auch, dass die Bildung kleiner Mengen unerwünschter Antipoden noch nicht gleichbedeutend ist mit dem Auftreten derselben an den entscheidend wichtigen Stellen des Organismus. Man erkennt aber, dass die allmähliche Abnahme des mittleren Reinheitsgrades der optisch aktiven Substanz schliesslich *doch* das Eindringen unerwünschter Antipoden an die Schlüsselstellungen des Stoffwechsels zur Folge haben muss. Man sieht ferner, dass, sobald die Reinheit der in den Schlüsselstellungen, zum Beispiel in den synthetisierenden Enzymen, vorhandenen aktiven Substanz gelitten hat, die optische Spezifität der Synthese leiden wird und dass es dadurch, wenn die Verunreinigung ein gewisses Mass überschritten hat, zu einem raschen Zusammenbruch des optischen Reinheitsgrades kommen wird.

Wir haben in Abschnitt 1 gesehen, dass eine Abnahme des optischen Reinheitsgrades Störungen im Ablauf der biochemischen Reaktionen im Organismus zur Folge haben *muss*. Es ist in diesem Sinne möglich, dass die Lebensdauer des Individuums durch die Einbusse des optischen Reinheitsgrades bestimmter, besonders wichtiger Aufbausubstanzen¹ begrenzt wird. Nehmen wir in diesem Sinne an, dass die Begrenzung der Lebensdauer erreicht ist, sobald der Reinheitsgrad der wichtigsten optisch aktiven Substanzen von 100% auf einen bestimmten Betrag, etwa auf α abgesunken ist, wobei die Grösse α an der Grenze oder sogar jenseits der Grenze der derzeitigen Nachweisbarkeit liegen kann. Es muss dann die Lebensdauer des Individuums ungefähr gleich der in Gleichung (2a) definierten Zeit τ'_{rac} und damit gleich $\tau_{akt} g_{\alpha} (k_d/k_i) K$

¹ Eine Einbusse an optischem Reinheitsgrad braucht sich nicht bei allen Aufbausubstanzen gleich stark auszuwirken. Ausserdem ist gezeigt worden, dass gewisse Aufbausubstanzen des Organismus stereoautonom, das heisst in ihrem optischen Reinheitsgrad vom Reinheitsgrad fremder Begleitsubstanzen unabhängig sind, während der Reinheitsgrad anderer, nämlich der stereo-stabilisierten Substanzen, auf dem Wege der Bildung diastereomerer Verbindungen durch die stereo-autonomen Substanzen gewährleistet wird. Für Einzelheiten kann auf die zitierten Arbeiten verwiesen werden.

sein. τ_{akt} war die Zeit, welche bei der optisch aktiven Synthese für den Aufbau der aktiven Substanz benötigt wird. Beim Organismus können wir τ_{akt} irgendwie proportional zur Wachstumszeit des Individuums setzen. Falls die Substanzen, deren optischer Reinheitsgrad die Lebensdauer limitiert, und falls auch die Reaktionen, durch welche diese Substanzen gebildet werden, bei verschiedenen Organismen übereinstimmen, wären g_{α} , k_d , k_i , K in Gleichung (2a) für die verschiedenen Organismen annähernd gleich. Im Sinne von Gleichung (2a) wäre dann zu erwarten, dass der Quotient

$$\frac{\text{Lebenszeit}}{\text{Wachstumszeit}} = \text{const } H = C \quad (3)$$

für Individuen verschiedener Art einigermassen übereinstimmt. Es ist bekannt, dass letzteres in grober Näherung zutrifft. Diese biologische Regel könnte somit eine Folge der kinetischen Gesetze sein, welche die katalytische Erzeugung optisch aktiver Stoffe und die Haltbarkeit des Reinheitsgrades der so erhaltenen Substanzen beherrschen.

Auch die von RUBNER¹ gefundene Regel, wonach die Zahl der je Kilogramm Körpergewicht während des gesamten Lebens eines Individuums umgesetzten Kalorien für Individuen verschiedener Art *ungefähr* übereinstimmt, dürfte dem in der Haltbarkeitsgleichung niedergelegten Sachverhalt entsprechen: die Lebensdauer ist klein, wenn der Stoffwechsel intensiv und damit die für den Aufbau der aktiven Substanzen verwendete Zeit kurz ist, und umgekehrt.

5. Versuche zum Nachweis eines beschränkten optischen Reinheitsgrades der Aufbausubstanzen von Organismen

Die Frage nach den Grenzen des optischen Reinheitsgrades der Aufbausubstanzen von Organismen muss grundsätzlich *experimentell* entschieden werden, ebenso die Frage, ob die auf Grund der theoretischen Betrachtungen zu erwartende Abnahme des Reinheitsgrades tatsächlich auftritt und ob sie wirklich ein die Lebensdauer der Individuen limitierender Faktor ist. Schon 3 Jahre nach dem erstmaligen Erscheinen der vorstehenden kinetischen Betrachtungen erschien eine Anzahl Arbeiten von KÖGL und Mitarbeitern², nach welchen im Tumoreiweiss neben der üblichen L-Form auch die D-Form der Glutaminsäure vorkommt und wonach die Malignität der Tumoren mit dem Vorkommen der unerwünschten Antipoden im Zusammen-

¹ M. RUBNER, *Das Problem der Lebensdauer und seine Beziehung zu Wachstum und Ernährung* (Verlag R. Oldenbourg, München und Berlin 1908). Siehe auch M. BÜRGER, *Altern und Krankheit*, 2. Aufl. (Verlag G. Thieme, Leipzig 1954), insbes. S. 9.

² F. KÖGL, *Klin. Wschr.* 1939, 1, 801; *Exper.* 5, 173 (1949). F. KÖGL und H. ERXLEBEN, *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* 258, 57, 154 (1939); *Naturwissenschaften* 27, 486 (1939). — F. KÖGL, H. ERXLEBEN und A. M. AKKERMANN, *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* 261, 141 (1939). — F. KÖGL, H. ERXLEBEN und G. J. VAN VEERSEN, *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* 277, 251 (1943). — F. KÖGL, H. HERKEN und H. ERXLEBEN, *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* 264, 108, 220 (1940).

hang stehen soll. Dem experimentellen Befund ist von verschiedener Seite widersprochen worden¹.

Unabhängig von solchen Versuchen, eine bestimmte Krankheitserscheinung mit dem Abfall des optischen Reinheitsgrades in Zusammenhang zu bringen, haben wir uns, ebenfalls im Anschluss an die kinetischen Beobachtungen, bemüht, die Grenzen des optischen Reinheitsgrades von Aminosäuren, welche in mehr oder weniger normalem Eiweiß vorkommen, festzustellen bzw. aufzufinden. Da der Reinheitsgrad der in den Organismen vorkommenden optisch aktiven Substanzen hoch ist, sind die Messungen schwierig. Bisher haben wir erst eine Methode zur Feststellung sehr kleiner Mengen von *d*-Leucin neben grossen Mengen des natürlich vorkommenden *l*-Leucins (Formel I) ausgearbeitet², und wir haben sie auf eine Reihe von natürlichen Eiweißstoffen angewendet³.

Auf Grund der Erwagung, dass eine Ausscheidung in den Haaren eine Möglichkeit zur Beseitigung des unerwünschten Antipoden sein könnte, wurden zunächst die Schweifhaare von einer Anzahl von Pferden verschiedenem Alters, später aber auch der Huf eines 35jährigen Elefanten, ein Jensen-Sarkom von Mäusen sowie Kasein aus Milch auf das Vorhandensein von «unnatürlichem» *d*-Leucin geprüft. Die Ergebnisse, von denen ein Teil in Zusammenarbeit mit K. WEIL (l.c.), ein anderer Teil in Zusammenarbeit mit K. VOGLER (noch unveröffentlicht) erhalten wurden, sind in der nachstehenden Tabelle zusammengestellt.

Prozentgehalt des im Eiweiß vorhandenen Leucins an *d*-(-)-Leucin

| | |
|----------------------------------|-------|
| Etwa 30jähriges Pferd | 3,3 % |
| 7jähriges Pferd | 0 % |
| 24jähriges Pferd | 1,6 % |
| 39jähriges Pferd | 0 % |
| 4jähriges Pferd | 3 % |
| 9jähriges Pferd | 3,5 % |
| 18jähriges Pferd | 0 % |
| Elefantenhuf, 35jährig | 0 % |
| Jensen-Sarkom-Mäuse | 3 % |
| Kasein aus Milch | 0 % |

Die Zahlenwerte der Tabelle zeigen, dass der «falsche» Antipode von Leucin in verschiedenen Fällen tatsächlich gefunden wurde. Der Antipode wurde in Form des Salzes des *d*-(-)-Leucinmethylesters mit (-)-dioxydinaphthydkarbonsäure (siehe Abschnitt 1) in Substanz isoliert und gewogen, so dass am Vorhandensein dieses Antipoden nicht zu zweifeln ist. Anderseits zeigt es sich, dass ein Zusammenhang der Menge des vorhandenen *d*-Leucins mit dem Alter der Individuen auf Grund der Zahlenwerte der Tabelle nicht bewiesen, aber auch nicht ausgeschlossen werden kann.

¹ A. C. CHIBNALL, M. W. REES, E. F. WILLIAMS und E. BOYLAND, Biochem. J. 34, 285 (1940). — TH. WIELAND und W. PAUL [B] 77, 34 (1944). — D. RITTENBERG und D. SHEMIN, Ann. Rev. 15, 250 (1946). — G. R. TRISTRAM, Biochem. Soc. Symp. Nr. 1, S. 33 (1948).

² K. WEIL und W. KUHN, Helv. chim. Acta 29, 784 (1946).

³ K. WEIL und W. KUHN, Helv. chim. Acta 27, 648 (1944).

Es scheint, dass durch neuere Versuche von HILLMANN und Mitarbeitern¹ der Nachweis von kleinen Mengen von *d*-Glutaminsäure ebenfalls sichergestellt ist. Nach diesen Versuchen können kleine Mengen von *d*-Glutaminsäure bei Ratten nach Verfütterung normaler pflanzlicher und tierischer Proteine nachgewiesen werden, während, in Bestätigung eines von KÖGL angegebenen Befundes grössere Mengen dieser *d*-Aminosäure nach Verfütterung von Lebermetastasen an die Versuchstiere auftreten. Auch die Analyse des Harns von hungernden Ratten ergibt nach HILLMANN und Mitarbeitern das Auftreten von *d*-Glutaminsäure.

Wenn es hiernach möglich ist, bei einigen Aminosäuren die Grenze des optischen Reinheitsgrades unter mehr oder weniger normalen Bedingungen festzustellen, so stehen wir vor weittragenden neuen Möglichkeiten. Es wäre allerdings, auch im Falle des Leucins, erwünscht, ein verfeinertes und wenn irgend möglich rascheres Messverfahren als das bisher von uns angewandte zu finden. Es wäre auch für die Klärung der angeschnittenen Fragen wichtig, nicht nur eine grössere Anzahl von Individuen, sondern bei jedem Individuum auch verschiedene Organe zu untersuchen. Das letztere wäre deswegen notwendig, weil Unterschiede im Reinheitsgrad der optisch aktiven Substanzen innerhalb des selben Individuums zu erwarten sind. Ebenso wäre es interessant, nicht nur den Reinheitsgrad des Leucins und der Glutaminsäure, sondern auch anderer, für den Organismus wesentlicher optisch aktiver Verbindungen in den Kreis der Betrachtungen zu ziehen.

Summary

The solubilities and other properties of compounds made by combination of optically active components, e.g. the solubilities of the salts made from the dextro-form of an acid and the dextro- or the laevo-form of a base are in some instances *extremely different*. It is a consequence of these differences that in a living organism, containing optically active substance, the degree of optical purity of these substances is of outmost importance. The presence of «undesired» antipodes of any kind might fundamentally disturb the metabolism. It is also known that living organisms at least partly and continuously produce the optically active substances needed by synthesis from optically inactive material.

A kinetical and thermodynamical study of the conditions under which optically active substances can, with use of optically active catalysts, be synthetized from inactive material, shows that the degree of optical purity of the material synthetized is, even under the most favorable conditions, maximum in the beginning of the synthesis and is bound to decay when the synthesis is, chemically speaking, completed and if the synthetized material is left in contact with the catalyst. Thus a racemization of the synthetized active material occurs in which the catalyst which has originally produced this active substance actively accelerates the deterioration of its state of optical purity.

¹ G. HILLMANN, A. HILLMANN-ELIES und F. METHFESSEL, Z. Naturforsch. 9b, 660 (1954).

The means are discussed by which the organism is able to delay this loss of optical purity; and it is shown that all possible means to do so are indeed used by the organism. As these means can delay but never completely avoid the decay of optical purity, this decay, even if it be slow, i.e. *an ageing of optical purity, is a necessity in the course of the life* of a living organism. As a loss of optical purity must disturb the normal meta-

bolism, this must, even if no other events occur, limit the individual life.

Experimental evidence which would check the prediction of a decay of optical purity with age is incomplete; in several instances, however, the experimental technique permits us to detect and to follow the occurrence of finite small amounts of "undesired" antipodes, e.g. of some amino acids in the proteins of living organisms.

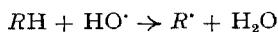
Brèves communications - Kurze Mitteilungen Brevi comunicazioni - Brief Reports

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces communications. — Für die kurzen Mitteilungen ist ausschliesslich der Autor verantwortlich. — Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. — The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed by their correspondents.

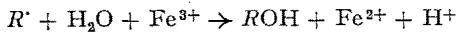
Radical Yields in X-Irradiated Aqueous Solutions

The chemical effects of high energy radiations in aqueous systems are interpreted as due largely to the ultimate formation of the species H and HO. The yields of these products per unit of energy absorbed (= G per 100 e.v.) can in principle be obtained by measuring the extent of oxidation or reduction of suitable solutes. However, with most solutes the products of reduction by H may be re-oxidized by HO and vice-versa, so that to measure the total amount of H and HO it is necessary to use a solute with which both react *entirely* to give measurable products. Formic acid¹ and hydrogen peroxide² have been used to this end.

We find that the effect of both radicals can be measured in solutions containing certain oxidizable organic compounds together with Cu²⁺ and/or Fe³⁺. In general a molecule RH will be oxidized to R':



It has been shown³ that Fe³⁺ (and more efficiently Cu²⁺) will oxidize both organic radicals:



and hydrogen atoms⁴ $H + Fe^{3+} \rightarrow H^+ + Fe^{2+}$. Provided the concentrations of RH and Fe³⁺ are sufficiently high to eliminate all reactions of R', H and HO' other than those above, then the Fe²⁺ formed will equal the sum of the H and HO' produced initially, i.e. $G_{Fe^{2+}} = G_H + G_{HO}$. The fact that hydrogen peroxide is usually produced does not affect this conclusion since it reacts with Fe²⁺ to give HO' which, by the above reactions, regenerates Fe²⁺. Hence the only change is in the amount of RH oxidized.

A criterion that all HO', H and R' does in fact react with RH or Fe³⁺ is that ultimately, at sufficiently high [RH] and [Fe³⁺], $G_{Fe^{2+}}$ should become constant. The following values of $G_{Fe^{2+}}$ were obtained when deaerated

solutions containing 0.1 N H₂SO₄, 5×10^{-4} M Fe³⁺, 2×10^{-3} M Cu²⁺ and the organic compound were irradiated with 190 kV X-rays at about 700 r/min (based on 15.6 for the Fricke dosimeter).

Table I

| Compound | Concentration M | $G_{Fe^{2+}}$ |
|--------------------------|--------------------|---------------|
| Ethyl Alcohol | 0.07 | 5.5 |
| Methyl Alcohol | 0.10 | 5.5 |
| Formic Acid | 0.10 | 5.4 |
| Ether | 0.10 | 5.6 |
| Ethyl Acetate | 0.06 | 5.6 |
| Benzene | 0.01 | 5.5 |

These yields were obtained with low doses so that the Fe²⁺ did not exceed ca. 10^{-4} M. The same values of

Table II

| Compound | Concen- tra- tion M $\times 10^2$ | $10^3[Cu^{2+}]$ | $G_{Fe^{2+}}$ |
|----------------------------|--|-----------------|---------------|
| Acetic Acid | 5.0 | 2.0 | 2.4 |
| | 2.5 | 2.0 | 2.5 |
| | 5.0 | 5.0 | 3.3 |
| Acetone | 13 | 2.0 | 0.44 |
| | 26 | 2.0 | 0.61 |
| | 13 | 5.0 | 0.89 |
| Succinic Acid | 12 | 2.0 | 3.7 |
| | 24 | 2.0 | 3.7 |
| | 12 | 5.0 | 5.0 |
| Triethylamine | 3.0 | 2.0 | 3.2 |
| | 6.0 | 2.0 | 3.8 |
| | 3.0 | 5.0 | 4.0 |
| Methacrylic Acid | 4.0 | 5.0 | 1.7 |
| | 2.0 | 5.0 | 1.3 |
| | 4.0 | 2.0 | 1.3 |
| Urea | 7.0 | 5.0 | 1.4 |
| | 3.5 | 5.0 | 1.1 |
| | 7.0 | 2.0 | 0.9 |

¹ E. J. HART, J. Amer. chem. Soc. 76, 4198 (1954).

² F. S. DAINTON and J. ROWBOTTOM, Trans. Faraday Soc. 49, 1160 (1953).

³ J. H. BAXENDALE and J. MAGEE, Trans. Faraday Soc. 51, 205 (1955).

⁴ J. H. BAXENDALE and D. SMITHIES, J. chem. Phys. 23, 604 (1955).