

Für die Historische Sammlung wurden gestiftet:

Von Hrn. F. Emich, Prag:

61. J. Gottlieb, Photographie.

Von Hrn. M. Delbrück:

62. Ehrendenkmünze der Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei in Berlin v. Felderhoff.

63. Maercker-Gedenkblatt, Radierung von Klinger.

64. A. v. Ostade, kleines Bild, einen Arzt oder Chemiker darstellend.

Der Vorsitzende bringt den Spendern den Dank der Gesellschaft zum Ausdruck.

In der Sitzung wurde von Hrn. H. Simonis folgender Vortrag gehalten:

H. Simonis: Aufbau und Abbau von Chromonen.

Der Vorsitzende:

H. Wichelhaus.

Der Schriftführer:

F. Mylius.

Mitteilungen.

98. Gertrud Woker: Die Theorie der Benzidin-Oxydation in ihrer Bedeutung für Peroxydase-Untersuchungen. Bemerkungen zu der gleichnamigen Mitteilung von Hrn. Madelung.

(Eingegangen am 21. März 1917.)

Im 1. Heft des Jahrganges 1917 dieser Berichte hat Hr. Madelung zu meiner Mitteilung¹⁾ über den im Titel erwähnten Gegenstand einige Bemerkungen veröffentlicht, die ich mir gestatte, im Folgenden in Diskussion zu ziehen.

Wenn mir Hr. Madelung zum Vorwurf macht, daß ich auf seine Arbeit über den Chemismus der Peroxydase-Reaktion des Blutfarbstoffes²⁾ nur eingegangen sei, um mich gegen einen Nebenbefund zu wenden, so muß ich ausdrücklich betonen, daß es mir vollständig fern gelegen hat, damit etwa die Verdienste des Hrn. Madelung um das in Frage stehende Gebiet irgendwie zu verkleinern. Ich hätte selbst gewünscht, daß nicht zufällig der einzige Punkt, der mich der

¹⁾ B. 49, 2319 [1916]. ²⁾ H. 71, 204 [1911].

Natur der Sache nach in Berührung mit der erwähnten Arbeit brachte, eben jener Nebenfund gewesen wäre. Denn zu diesem mußte ich kritisch Stellung nehmen, da die damalige Annahme von Hrn. Madelung, daß stark blau gefärbte *holo*-chinoide Imoniumsalze des Benzidins existieren, im Gegensatz zu der Auffassung von Willstätter, Kehrman, Schlenk und Knorr steht, daß es sich bei den hierhergehörigen blauen Farbsalzen um partiell-chinoide Verbindungen handelt, und auf diese letztere Auffassung gründeten sich ja meine sämtlichen weiteren Schlüsse. Da nunmehr Hr. Madelung selbst für seine Befunde eine *meri*-chinoide Struktur der in Frage kommenden Verbindungen nicht mehr von der Hand weist, so fällt alles, was mich zu dieser kritischen Stellungnahme veranlaßt hat, dahin. Der prinzipiellen Übereinstimmung gegenüber ist es von nebensächlicher Bedeutung, wie man im besonderen den Prozeß auffaßt, der zur Bildung des *meri*-Chinoides führt, ob man also der von Madelung erwähnten, von M. M. Richter vertretenen Deutungsweise zuneigt, oder ob man ein Reaktionsschema ähnlich dem von mir aufgestellten annehmen will. Wenn es mir auch in meiner Arbeit lediglich darauf ankam, auf eine Möglichkeit hinzuweisen, um den erwähnten Befund von Madelung im Sinne der Willstätter-Kehrmannschen Auffassungsweise zu deuten, so scheinen mir doch die Gründe von Hrn. Madelung gegen den von mir ins Auge gefaßten Reaktionsmechanismus nicht überzeugend zu sein. Die Möglichkeit für die Bildung eines Halogenimins besteht unter allen Umständen, unabhängig davon, wie die Auffassung von Hrn. Piccard über den Modus der Substitution gewesen sein mag.

Auch die weiteren Einwände sind mir nicht recht klar. Einerseits gibt Hr. Madelung an, daß er selbst gezeigt habe, daß »Diphenochinon-halogenimine mit überschüssigem Benzidin unter Bildung des entsprechenden halb-chinoiden Imoniumsalzes reagieren«, und andererseits hält er es für unwahrscheinlich, »daß zwei Verbindungen von so verschiedenem Energiegehalt wie Benzidin und Diphenochinon-halogenimin mit einander vereinigt sein können, ohne daß irgend ein Energieausgleich zwischen den beiden Teilen der entstehenden Doppelverbindung einträte.«

Wenn Hr. Madelung solche Verbindungen dargestellt hat, so hat er damit doch selbst ihre Existenzfähigkeit bewiesen, und wenn er annimmt, daß sie ein hohes Maß von Selbstzersetzlichkeit besitzen, so dürfte dies doch dem tatsächlichen Verhalten der meisten partiell-chinoiden Verbindungen nicht allzufern liegen. Gesetzt den Fall, man würde sich auf den Boden der von Hrn. Madelung vertretenen Auffassung stellen, so wäre immerhin für die Geschwindigkeit des

»Energieausgleichs zwischen den beiden Teilen der entstehenden Doppelverbindung« keine zeitliche Schranke gesetzt. Derselbe könnte rasch oder langsam erfolgen, und es wäre auch in Betracht zu ziehen, daß durch intramolekulare Hemmungen irgend welcher Art ein solcher im übrigen hypothetischer Energieausgleich hintangehalten werden kann. Doch möchte ich es überhaupt bezweifeln, daß eine Verknüpfung von strukturellen und energetischen Momenten zur Klärung in diesem Gebiete beizutragen vermag. Damit soll jedoch nicht gesagt sein, daß nicht spekulativer veranlagte Köpfe als der meinige sich irgend etwas unter einem Produkt vorzustellen vermögen, von dem Hr. Madelung angibt, daß es in energetischer Hinsicht »nicht einer echten chinoiden Verbindung« entspreche, während dafür »möglicherweise vom rein strukturellen Standpunkt aus betrachtet, die *holochinoide* Formulierung die richtigste sein kann insofern, als vielleicht (was Hr. Madelung für wahrscheinlich hält) jedes Jodatome zu einem Stickstoffatom in nächster und von der aller übrigen Jodatome zu den zugeordneten Stickstoffatomen nicht abweichender Affinitätsbeziehung steht.«

Was nun die Deutung der von mir erwähnten Ergebnisse der in Pflügers Archiv demnächst erscheinenden Arbeiten des Hrn. Dr. med. et med. vet. Kjöllnerfeldt betrifft, so wären diese Ergebnisse nach Hrn. Madelung eine Folge der ja auch von mir selbst in weitestem Umfang in Rechnung gezogenen hydrolytischen Spaltung der Benzidinsalze. Hierbei wird von Hrn. Madelung zuerst die Benzidinbase, dann auch das basische Benzidin-chlorhydrat als das aktive Benzidin betrachtet. Hiergegen sprechen nun aber die folgenden Tatsachen:

Um die Benzidinbase kann es sich bei den beschriebenen aktiven Produkten nicht handeln, da diese um ungefähr 220° höher schmelzen als das freie Benzidin. Auch die vor dem Schmelzen einsetzende Schwärzung kann nicht durch eine Verunreinigung mit Benzidin verursacht sein, da sie bei dem aktivsten Produkt erst bei 160° (also ca. 40° höher als der Benzidin-Schmelzpunkt) eben beginnt. In einem Fall traten allerdings an der Substanz Zersetzungserscheinungen schon bei 117° auf, die ich auf eine Verunreinigung mit Benzidin zurückgeführt habe¹⁾, aber sie waren von keiner Schwärzung begleitet, und das Produkt war von relativ geringer Aktivität. Der Gehalt an freier Benzidinbase vermochte demnach die Aktivität des Produktes nicht zu erhöhen, und dies spricht auch gegen die Annahme von Hrn. Madelung, »daß immer nur der vollständig hydrolytisch zerfallene Anteil eines (Benzidin-)Salzes an der Reaktion teilnimmt« Hiergegen

¹⁾ Vergl. die Fußnote zu der Tabelle S. 2330 meiner Arbeit.

spricht aber auch, daß sich durch partielle Neutralisation der Benzidinbase mittels Salzsäure (oder auch einer anderen Säure) die Aktivität bis zu einem Maximum steigern läßt.

Eher noch könnte man die zweite Deutungsart von Hrn. Madelung akzeptieren, die allerdings in Widerspruch steht zu seiner eigenen, soeben behandelten Annahme, daß nur der vollständig hydrolytisch gespaltene Benzidinanteil der aktive sei. Die Vorstellung, daß das basische Benzidin-chlorhydrat die aktive Benzidinform repräsentiere, würde namentlich dem Optimum der Farbenaktivität gerecht, welches Hr. Dr. Kjöllnerfeldt bei der Wegneutralisation von 1HCl aus dem Benzidin-dichlorhydrat feststellen konnte. Diese Theorie versagt aber andererseits vollkommen für die Erklärung einer von unserer Seite beim Benzidin festgestellten Tatsache, die sich mit Befunden deckt, die früher schon Bach bei einer Anzahl Chromogenen zur Erkenntnis der Bedeutung von Substratbeeinflussungen bei Fermentreaktionen geführt haben¹⁾. Es ist die Tatsache, daß die schädigende Wirkung, welche Säuren sowohl wie Basen auf die Aktivität des Benzidins auszuüben vermögen, durch Neutralisation vor Zusatz der weiteren Komponenten des Peroxydase-Systems, also auch vor Bildung des Benzidinblaus nur zum Teil wieder rückgängig gemacht werden kann.

Zur Erklärung dieser Tatsache zugleich mit den früher genannten (die sich ev. auch anderweitig deuten ließen), habe ich mich eben veranlaßt gesehen, in der aktiven Form Doppelmoleküle des Benzidins anzunehmen, die das Ringsystem des Chinhydrons enthalten und daher besonders leicht der Oxydation verfallen, — Doppelmoleküle, die die Tendenz zeigen, durch Säuren wie durch Basen eine katalytische Umlagerung in eine stereoisomere, wenig reaktionsfähige Form zu erleiden. Die Annahme eines Leukochinhydrons (Dibenzidin-chlorhydrat) von den erwähnten Eigenschaften ergibt sich ohne weiteres aus meiner Chinhydronformel, die sich nur durch die Einführung der einen Doppelbindung zwischen den Stickstoffatomen von der durch ein so umfangreiches Tatsachenmaterial gestützten Willstätterschen Formulierung der Chinhydronen unterscheidet. Daß Hr. Madelung, der doch die Assoziation der Benzidinmoleküle für durchaus wahrscheinlich hält, an den aus der Fünfwertigkeit des Stickstoffs sich ergebenden Folgerungen und dieser Fünfwertigkeit selbst Anstoß nimmt, ist mir unverständlich, da er ja auch beim basischen Benzidin-chlorhydrat und dem Dichlorhydrat mit fünfwertigem Stickstoff arbeitet und bei

¹⁾ Siehe Punkt 3 meiner Zusammenfassung in der früheren Arbeit über diesen Gegenstand.

der angeführten Assoziation der Benzidinmoleküle doch ebenfalls mit dieser Fünfwertigkeit rechnen muß, wenn er nicht die noch hypothetischere Vorstellung von Partialvalenzen vorziehen will.

Es hätte mich gefreut, wenn von Hrn. Madelung für die in Frage kommenden Tatsachen eine einfachere Erklärung angegeben worden wäre, als sie meine Vorstellung einer *cis-trans*-Isomerie polymerer Benzidine darstellt. Da dies aber nicht geschehen ist, so habe ich vorläufig keinen Grund, irgend einen meiner Schlüsse mit Rücksicht auf die letzte Publikation von Hrn. Madelung zu modifizieren. Dies hätte erst dann zu geschehen, wenn von mir selbst oder von anderer Seite der wohl eher auf Molekulargewichtsbestimmungen als auf »Analysen« gestützte Beweis erbracht würde, daß unter den angegebenen Bedingungen keine polymeren Formen des Benzidins existenzfähig sind.

Zum Schluß sei mir gestattet, auf einige Punkte der Fußnote 7 auf S. 105 der Arbeit von Hrn. Madelung einzugehen. Hr. Madelung berührt hier die schon so oft und mit wechselndsten Ergebnissen diskutierte Frage über die Bedeutung des Eisens und seiner Bindung für die Peroxydase-Reaktion des Hämoglobins. Da es Hrn. Kjöllnerfeldt nicht möglich war, irgend ein organisches Eisenpräparat aufzufinden, mit Peroxydase-Wirkungen von der Größenordnung, wie sie das Hämoglobin besitzt, so ist er hier wie in einzelnen andern Punkten zu einem entgegengesetzten Schluß gelangt wie Hr. Madelung; d. h. Hr. Kjöllnerfeldt betrachtet gewisse Gruppen des Peroxydase-Moleküls (und es gibt bekanntlich nach Bach auch metallfreie Peroxydasen) als Voraussetzung für die Peroxydanlagerung, die zu dem energisch wirkenden oxydativen Prinzipie führt, entsprechend meiner in diesen Berichten entwickelten Vorstellung über das Zustandekommen von peroxydierend und Wasserstoffperoxyd katalysierend wirkenden Aldehydperoxyden von der Form $R.CH < \begin{smallmatrix} O.OH \\ OH \end{smallmatrix}$.

Gegen diese letztere Annahme macht nun Hr. Madelung geltend, daß quantitative Differenzen im Verhalten dieser Aldehyde und demjenigen der natürlichen Peroxydasen (inkl. Blutfarbstoff) bestehen. Wenn solche Differenzen bestehen würden, wäre es nicht wunderbar, denn es ist anzunehmen, daß die Tendenz, H_2O_2 anzulagern, bei den Aldehyden in sehr verschiedenem Maße ausgeprägt ist, und ich habe mich, nachdem gleich der erste auf Peroxydase-Modelleigenschaften geprüfte Aldehyd, der Formaldehyd, ein positives Resultat ergab, nicht sonderlich bemüht, noch stärker wirkende Aldehyde aufzufinden. Die Organismen dürften dagegen im Kampf ums Dasein usw. nur die wirkungskräftigsten herangezogen haben. Doch abgesehen davon, daß

ein solcher Einwand nicht stichhaltig wäre, besitzt der Formaldehyd, wenn er nicht allzusehr mit Ameisensäure verunreinigt ist, starke peroxydierende Fähigkeiten, die diese Reaktion zu einer den besten Formaldehyd- und Wasserstoffperoxyd-Nachweismethoden an Empfindlichkeit kaum nachstehenden gestalten. Es ist daher nicht richtig, wenn Hr. Madelung sagt, daß die Reaktion in verdünnter wäßriger Lösung nicht stattfinde; das kann nur dann der Fall sein, wenn mit einer alkoholischen Lösung der Benzidinbase statt mit wasserlöslichen Benzidinsalzen gearbeitet wird. Endlich ist es wohl ein Mißverständnis, wenn Hr. Madelung glaubt, daß ich ganz verschiedene Mechanismen für die Wirkung des Formaldehyds (und anderer einfacher Aldehyde) und die Wirkung der mehr oder weniger kompliziert gebauten aldehydischen Fermente mit Peroxydase- und Katalase-Eigenschaften postuliere. Ich bin im Gegenteil der Meinung, daß der Mechanismus in beiden Fällen durchaus der gleiche sei, indem in beiden Fällen eine Aldehydgruppe (oder wenigstens eine Gruppierung, die gewisse Eigenschaften mit der Aldehydgruppe gemein hat) in das wirksame Aldehydperoxyd übergeht. Warum die Peroxydase-Reaktion dann in dem einen Fall eine Katalyse, in dem andern Fall keine Katalyse mehr sein sollte, verstehe ich nicht; denn auch die natürlichen Peroxydasen erschöpfen sich infolge der konkurrierenden Katalase-Reaktion sehr rasch, und ohne diese konkurrierende Nebenreaktion würde andererseits auch der Formaldehyd als ein regenerationsfähiger, unter den Reaktionsprodukten nicht erscheinender Katalysator fungieren.

Laboratorium für physikalisch-chemische Biologie der Universität Bern.

99. Gertrud Woker: Bemerkungen zu der Erwiderung des Hrn. van der Haar.

(Eingegangen am 21. März 1917.)

Im Februarheft dieser Berichte hat es Hr. van der Haar für nötig befunden, auf Fußnote 3, S. 2317 meiner Arbeit (B. 49 [1916]) eine Erwiderung zu schreiben. Ich möchte daher ausdrücklich feststellen, daß jene Fußnote einzig mit Rücksicht auf Hrn. van der Haar geschrieben worden ist, um mich nicht nochmals dem in seiner Arbeit in den Archives des sciences phys. et nat. 41, 312 [1916] erhobenen Vorwurf, ihn nicht zitiert zu haben, auszusetzen. Wenn ein solcher Vorwurf gegenüber Publikationen, wie denjenigen in den Berichten und in den Archives des sciences phys. et nat., erhoben wird, die nur die in unmittelbarstem Zusammenhang mit der betreffenden Arbeit stehende