

Der Körper scheidet aus Jodnatrium sofort Jod ab. Längeres Stehen mit schwefliger Säure macht ihn nicht bromfrei: Beim Kochen mit Wasser ist Brompikrin zu riechen.

Hydrolyse des bromierten Körpers.

Man kochte 10 g davon mit 50 ccm Wasser bis zum Verschwinden des Brompikrin-Geruches, behandelte dann mit Tierkohle und engte das hellgelbe Filtrat im Exsiccator stark ein. Dabei schieden sich 0.2—0.25 g gelbliche Nadeln ab. Zur Reinigung löste man sie in 60 Tln. heißem Wasser unter Zusatz von Tierkohle und erhielt durch Eindunsten im Exsiccator nun weiche, farblose Nadeln oder harte, flächenreiche, kurze, derbe Prismen und Polyeder.

Die lufttrocknen Nadeln verloren bei 130° und 15 mm 11.0 und 10.44% H_2O . (Ber. $3H_2O$ 10.63.)

$C_{19}H_{22}O_9N_2S$ (45%). Ber. C 50.22, H 4.85, N 6.17, S 7.05,
Gef. » 49.90, 50.56, 50.23, » 4.94, 4.94, 5.27, » 6.28, 6.50, » 6.95.

Proben der Prismen verloren 3.3 und 3.9% Wasser. (Ber. 1 Mol. 3.8% .)

Die Sulfonsäure ist in kaltem Wasser mit stark saurer Reaktion schwer löslich, leichter in verd. Mineralsäuren, besonders Salpetersäure, leicht in wäßrigem Bicarbonat. Salzsäure fällt aus der nicht zu verdünnten Lösung farblose Polyeder oder flächenreiche Prismen.

Der in der Hitze und der in der Kälte hergestellte Bromkörper verhielten sich bei der Hydrolyse gleich.

69. Richard Willstätter und Richard Kuhn: Über Maßeinheiten der Enzyme.

[Aus d. Chem. Laborat. d. Bayer. Akad. d. Wissensch. in München.]

(Eingegangen am 28. Dezember 1922.)

Für die Bestimmung der Mengen (Ausbeuten) und Konzentrationen (Reinheitsgrade) verschiedener Enzyme dienen Maßeinheiten, die auf Grund der Messung von Reaktionsgeschwindigkeiten festgesetzt wurden. Sie waren willkürlich zu wählen, da die Enzyme noch nicht in reinem Zustand vorliegen. Diese Maße empfiehlt es sich einheitlich und gleichsinnig so aufzustellen, daß

1. die Ausbeuten in »Enzymeinheiten« angegeben,
2. die enzymatischen Konzentrationen durch »Enzymwerte«, nämlich durch die Anzahl der Enzymeinheiten in gewissen Substanzmengen

bestimmt werden. Dadurch soll erreicht werden, daß in allen Fällen die Zahlen direkt proportional werden den Mengen und enzymatischen Konzentrationen der Präparate, während bisher in einem Teil der Fälle die Konzentration von Enzympräparaten durch den Zeitwert ausgedrückt wird, der ihr umgekehrt proportional ist.

Im Sinne der Proportionalität sind für Pankreas-Lipase¹⁾ und Pankreas-Amylase²⁾ und für Peroxydase³⁾ Maße gewählt worden, nämlich Enzymeinheiten und Enzymwerte:

Lipase-Einheit = Lipasemenge, in 1 Stde. 24% von 2.5 g Olivenöl spaltend;

Amylase-Einheit, d. i. das 100-fache der Enzymmenge von $k = 0.01$;

Peroxydase-Einheit = 1 g von der Purpurogallin-Zahl 1;

Lipasewert = Anzahl Einheiten in 1 cg;

Amylasewert = Anzahl Einheiten in 1 cg.

Hingegen sind in den Untersuchungen unseres Laboratoriums für Invertin⁴⁾ und Emulsin⁵⁾ (auch für Maltase und Lactase) die enzymatischen Konzentrationen durch die mit zunehmender Reinheit sinkenden Zeitwerte, die Enzym-Ausbeuten aber durch die Menge-Zeit-Quotienten, die Quotienten des in Form von Hefe, Autolysat oder Präparat gewogenen Materials und seiner Wirkungszeit, ausgedrückt worden. Es dürfte zweckmäßig sein, die Maße für Invertin-Menge und -Reinheit im Sinne der Proportionalität von Zahl und Wirksamkeit zu ändern.

Der Ausdruck M. Z. Q. wird ersetzt durch »Saccharase-Einheit« (S.-E.). Die Saccharase-Einheit ist die Enzymmenge in 50 mg invertin-haltiger Substanz vom Zeitwert 1 unter den Bedingungen der Definition von C. O'Sullivan und F. W. Tompson.

Der Reinheitsgrad eines Invertinpräparates (S.-W.) wird statt durch den Zeitwert (Zeit bis zur Nulldrehung von 4 g Rohrzucker in 25 ccn) gekennzeichnet durch das Reziproke desselben, mit anderen Worten, der Saccharase-Wert gibt die Anzahl der Saccharase-Einheiten in 50 mg Substanz an.

Die Größe des Maßes werde durch zwei Beispiele veranschaulicht. 1 S.-E. ist in 15 g einer getrockneten Brauereihefe (vom Zeitwert 300) oder in 10 mg des bis jetzt besten Invertinpräparates enthalten. Der Reinheitsgrad desselben wurde durch den Minutenwert 0.2 ausgedrückt⁶⁾ und soll nun durch den S.-W. 5 ausgedrückt werden.

Zu dem von H. v. Euler und O. Svanberg⁷⁾ eingeführten rationalen Maße »Inversionsfähigkeit« steht der Saccharasewert in einer einfachen Beziehung. Nach H. v. Euler und O. Svanberg ist nämlich:

$$I_f = \frac{k \times g \text{ Zucker}}{g \text{ Präparat}},$$

worin k die Inversionskonstante ist, die nach der Gleichung (darin R die Anfangsdrehung, L die Enddrehung und α die Drehung zur Zeit t) berechnet wird:

¹⁾ R. Willstätter, E. Waldschmidt-Leitz und F. Memmen, Bestimmung der pankreatischen Fettspaltung, H., im Druck [1922/23].

²⁾ R. Willstätter, E. Waldschmidt-Leitz und A. R. F. Hesse, Über Pankreas-Amylase, H., im Druck [1922/23].

³⁾ R. Willstätter und A. Pollinger, Dritte Abh. über Peroxydase, A. im Druck [1922/23].

⁴⁾ R. Willstätter und F. Racke, A. 425, 1 [1920/21].

⁵⁾ R. Willstätter und W. Csányi, H. 117, 172 [1921].

⁶⁾ R. Willstätter, J. Graser und R. Kuhn, Dritte Abh. über Invertin, H. 123, 1 [1922].

⁷⁾ H. 107, 269 und zwar 273 [1919] und H. v. Euler, Chemie der Enzyme, II. Teil, 1. Abschnitt, S. 202 [1922].

$$k = \frac{1}{t} \log \frac{R + L}{a + L}.$$

»Aus dem O'Sullivan-Tompsonschen Zeitwert $\pm 0^0 = t$ Minuten (berechnet für 4 g Rohrzucker und 0.05 g Präparat) ergibt sich If für 18°¹⁾ durch die Gleichung:

$$\text{If} = \frac{46.176}{t}.$$

$$\text{Also ist S. W.} = \frac{\text{If}}{46.176}.$$

Das Maß für die Menge und Konzentration von Invertin und anderen Enzymen hat aber nicht strenge allgemeine Gültigkeit, sondern es gilt nur für den Vergleich der Enzymmengen, die z. B. in manchen Hefen, ihren Autolysaten und manchen daraus gewonnenen Präparaten gemessen werden. Für die Konstanz, die Unveränderlichkeit des Maßes, wäre nach einer Untersuchung von R. Kuhn²⁾ »Zur Theorie der Zeitwert-Quotienten« die Voraussetzung, daß unter denselben äußeren Umständen gleichen Reaktionsgeschwindigkeiten auch gleiche Enzymmengen zugrunde liegen, und zwar unabhängig vom Reinheitsgrad des angewandten Enzyms. Diese Voraussetzung wurde bisher erst am Beispiel des Hefe-Invertins eingehend geprüft in einer zweiten Arbeit³⁾ »Saccharase- und Raffinase-Wirkung des Invertins«. Es hat sich ergeben, daß die rohrzucker-spaltenden Enzyme verschiedener Hefen, z. B. der Brauerei- und Brennereihefen, identisch sind; aber das Verhältnis der Reaktionsgeschwindigkeiten entspricht nicht dem Verhältnis der vorhandenen Saccharasemengen, da das Enzym in seinen verschiedenen Vorkommnissen mit wechselnden Mengen von Körpern assoziiert ist, die seine Affinität zum Rohrzucker zu beeinflussen vermögen.

Unter der von V. Henri⁴⁾, L. Michaelis⁵⁾ und anderen Forschern gemachten Annahme, daß die Inversionsgeschwindigkeit der Konzentration der Enzym-Zucker-Verbindung proportional sei, wurde z. B. die Dissoziationskonstante:

$$k = \frac{[\text{Rohrzucker}] \times [\text{Saccharase}]}{[\text{Rohrzucker-Saccharase}]}$$

für eine Kopenhagener Oberhefe = 0.016, eine amerikanische Brauereihefe = 0.020 und für eine Hefenprobe aus der Löwenbrauerei in München = 0.040 gefunden.

Um Saccharasepräparate verschiedener Herkunft mit größerer Genauigkeit zu definieren, sind daher S.-W. und S.-E. mit dem Index der Dissoziationskonstanten zu versehen (für Invertin aus Löwenbräuhefe z. B. S.-W._{0.016}). Der Vergleich von Invertin mit ungleicher Affinität geschieht durch Umrechnung der in der üblichen Weise ermittelten, für die präparative Arbeit genügend genauen Einheiten auf ein Invertin von der mittleren Affinitätskonstante = 50 ($k = 0.020$). Die »reduzierten Saccharase-Einheiten« ergeben sich auf Grund der Beziehung:

$$\text{S.-E.}_{\text{red.}} = \text{S.-E.} \frac{n + k}{n + 0.02},$$

1) Die Temperatur von 18° bezieht sich auf die polarimetrische Messung.

2) H., im Druck [1922/23]. 3) R. Kuhn, H., im Druck [1922/23].

4) Lois générales de l'action des diastases, Paris 1903.

5) L. Michaelis und M. L. Menten, Bio. Z. 49, 333 [1913].

worin n die Normalität der Saccharoselösung bedeutet, in der die Reaktionskonstanten, Saccharasewerte usw. ermittelt wurden. In 0.1- n -Rohrzuckerlösung werden nämlich durch gleiche Invertinmengen der oben angeführten bayerischen Brauerei- und dänischen Brenneriehefe Reaktionsgeschwindigkeiten beobachtet, die sich wie 1:1.2 verhalten. Würde man das Enzym durch seine Wirkung auf Raffinose messen, so wäre das Verhältnis entsprechend der 16-mal geringeren Affinität zum Trisaccharid sogar 1:2.0.

70. Hans Fischer und Friedrich Rothweiler: Über die katalytische Hydrierung von alkyl-substituierten Pyrrol-azofarbstoffen. (1. Mitteilung.)

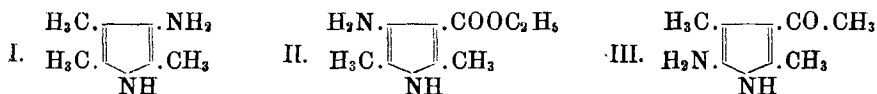
[Aus d. Organ.-chem. Institut d. Techn. Hochschule München.]

(Eingegangen am 20. Dezember 1922.)

In der Literatur sind bis jetzt wenige Pyrrol-amine beschrieben worden¹⁾. Das 2-Amino-pyrrol wurde von Piccinini und Salmoni²⁾ in Form des Urethans erhalten, jedoch konnten die Autoren das freie Amino-pyrrol nicht isolieren. Offenbar günstigere Verhältnisse liegen vor, wenn der Pyrrolkern durch den Eintritt von mehreren Benzolkernen stabilisiert wird und die Aminogruppe sich in der β -Stellung befindet.

So konnte das 2,3,5-Triphenyl-4-isonitroso-pyrrolenin von Angelico³⁾ mit Zink in alkoholischer Essigsäure zum 2,3,5-Triphenyl-4-amino-pyrrol reduziert werden. Unter den gleichen Bedingungen ist auch das 2,4-Diphenyl-3-amino-pyrrol³⁾ aus seinem Isonitrosokörper erhältlich. Von Gabriel⁴⁾ wurde dieses Amin auf einem anderen Weg dargestellt. Weiterhin wären die von Bülow und Mitarbeitern⁵⁾ dargestellten *N*-Amino-pyrrole zu erwähnen. Khotinsky und Soloweitschick⁶⁾ versuchten durch Reduktion von Azofarbstoffen freie Aminoderivate alkylierter Pyrrole darzustellen. Jedoch haben die Versuche nicht zum Ziel geführt. Pyrrol-amine mit der Amino-gruppe in der Seitenkette sind von Oddo und Moschini⁷⁾ durch Umsetzung von 2-Chloracetyl-pyrrol mit Ammoniak erhalten worden.

Wir haben nun Pyrrol-azofarbstoffe bis jetzt nur bei gewöhnlicher Temperatur der katalytischen Reduktion mit Platinschwarz und Wasserstoff unterworfen und dabei das gut krystallisierende 2,4,5-Trimethyl-3-amino-pyrrol (I), das 2,5-Dimethyl-3-carbäthoxy-4-amino-pyrrol (II) als Chlorhydrat und das 2,4-Dimethyl-3-acetyl-5-amino-pyrrol (III) erhalten.



Auch die Pyrrol-amine I und II geben gut krystallisierende Chlorhydrate, und sämtlich Pikrate. Es sind starke Basen, deren salzsaure Salze neutral reagieren. Auffallend ist, daß Versuche, die Aminogruppe durch weitere Umsetzungen zu charakterisieren, mißlangen. Acetylierung, Ben-

¹⁾ Meyer-Jacobson, II. Bd., 3. Tl., S. 179. ²⁾ G. 32, I 250 [1902].

³⁾ R. A. L. [5] 14, I 701 [1905]; 14, II 167 [1905]. ⁴⁾ B. 41, 1138 [1908].

⁵⁾ B. 35, 4311 [1902]; 37, 2424 [1904]; 38, 2366, 3914 [1905]; 39, 2618, 4106 [1906]; 41, 4163, 4167 [1908]; 42, 3311 [1909].

⁶⁾ B. 42, 2508 [1909]. ⁷⁾ G. 42, II 257 [1912].