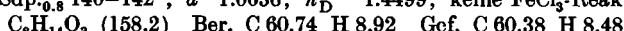


gegebene Verbesserung der Methode von Lund zur Entfernung des überschüss. Alkohols durch azeotrope Destillation mit Hilfe von Benzol wurde dahin abgeändert, daß das zu Beginn der Reaktion sehr störende Benzol erst nach vollständiger Auflösung des Magnesiums zugesetzt und dann destilliert wurde. Bei einer Kopftemperatur von 70° war die Lösung frei von Alkohol. Dann wurden 0.75 Mol Adipinsäure-methylesterchlorid in Benzol unter Röhren und Kühlen innerhalb von 30 Min. zugesetzt und 1 Stde. weiter erhitzt. Nach der Aufarbeitung wurde der überschüss. Malonester bei 0.5 Torr bis 100° abgetrennt. Es resultierte 212 g roher Acylmalonester mit einer gelbroten FeCl_3 -Reaktion (Theorie 202 g = $\frac{3}{4}$ Mol). $\frac{1}{3}$ dieses Rohproduktes wurden mit 1.86 Mol Propionsäure unter Zusatz von 1 Gew.-% konz. Schwefelsäure 3 Stdn. rückfließend gekocht. Danach ließ man etwas abkühlen und unterzog das Gemisch einer Nachhydrolyse mit 4n H_2SO_4 , bis sich kein Kohlendioxyd mehr entwickelte. Die erhaltene Ketosäure wurde mit Methanol-Chlorwasserstoff verestert. 16 g (41% d. Th.) ϵ -Keto- α -anthsäure-methylester (XIII) vom Sdp._{0.8} 140–142°; d^{20} 1.0636; $n_{D}^{18.5}$ 1.4499; keine FeCl_3 -Reaktion.



10. Hermann Mix, Werner Tittelbach-Helmrich und Wolfgang Langenbeck: Organische Katalysatoren, XXXVI. Mitteil.¹⁾: Chelatkatalysen I

[Aus dem Institut für Katalyseforschung, Rostock, der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin]

(Eingegangen am 13. Oktober 1955)

Die Katalasewirkung von Kupfer-, Eisen- und Kobaltionen in Gegenwart von Arginin und Histidin wurde in Abhängigkeit vom p_{H} untersucht. Es wurde gefunden, daß Kupfer(II) durch die komplexe Bindung an Arginin stark, durch Histidin schwach aktiviert wird. Kobalt(II) wurde durch beide Aminosäuren verschieden stark inaktiviert, Eisen(III) zeigte keinen merklichen Aktivierungseffekt.

Es ist eine wichtige Erkenntnis der Enzymchemie, daß sehr viele Apofermente Schwermetallionen enthalten²⁾. Diese Ionen sind zweifellos komplex an die Bausteine der Fermentproteine gebunden. Es ist auch einwandfrei nachgewiesen worden, daß sie für die Enzymwirkung unentbehrlich sind, denn wenn man sie entfernt, hört die Wirkung auf. So erwächst dem Katalyse-Chemiker die Aufgabe, zu untersuchen, wie die katalytischen Eigenschaften der Schwermetallionen durch Aminosäuren, Polypeptide, Proteine und ihre Derivate verändert werden. Besonderes Interesse verdienen dabei natürlich dienigen Fälle, bei denen eine Erhöhung der Reaktionsgeschwindigkeit beobachtet wird. Man beginnt dieses umfangreiche Arbeitsgebiet am besten mit ganz einfachen Reaktionen, die schon von Schwermetallionen allein merklich beschleunigt werden. Sehr geeignet ist z. B. die Katalasewirkung von Schwermetallen. Anfänge dieser Arbeitsrichtung liegen schon vor. So hat L. A.

¹⁾ XXXV. Mitteil.: H. Mix, Liebigs Ann. Chem. 592, 146 [1955].

²⁾ Lit. vergl. z. B.: A. E. Martell u. M. Calvin, Chemistry of the Metal Chelate Compounds, New York 1953, S. 404, 405; M. Calvin in: W. D. McElroy u. B. Glass, The Mechanism of Enzyme Action, Baltimore 1954, S. 221.

Nikolajew³⁾ u. a. gezeigt, daß die Katalasewirkung der Kupferionen durch α -Aminosäuren weniger aktiviert wird, als durch β -Aminosäuren.

Wir haben uns die Aufgabe gestellt, natürliche α -Aminosäuren $\text{RCH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{CO}_2\text{H}$ mit charakteristischen komplexbildenden Gruppen R sowie deren Peptide für die katalytischen Messungen heranzuziehen. In dieser Arbeit bringen wir Messungen am Arginin und Histidin in Kombination mit Kupfer-, Eisen- und Kobaltionen. Besonderer Wert wurde dabei auf die Abhängigkeit der Katalasewirkung vom p_{H} gelegt. Hierfür waren aber, wie sich alsbald herausstellte, die gebräuchlichen Pufferlösungen nicht ohne weiteres zu verwenden. Die in ihnen vorliegenden Anionen können zum Teil mit Schwermetallionen Komplexe bilden und damit deren katalytische Wirksamkeit beeinflussen (Phosphat, Chlorid u. a.). Ferner kam hinzu, daß mit der starken Aktivität des komplex gebundenen Metallions eine irreversible Zersetzung des Komplexes unter Abscheidung von Oxyhydraten parallel ging. Dabei erniedrigte sich das p_{H} der Reaktionslösung kontinuierlich, so daß die Kapazität des Puffers schließlich nicht mehr ausreichte, eine Konzentrierung an Wasserstoffionen zu verhindern. Zuverlässige und vergleichbare Aussagen über die Aktivität der einzelnen Chelate ließen sich somit nicht machen.

Dieser Mangel wurde dadurch behoben, daß die Reaktionslösung neben dem zu untersuchenden Schwermetall und der Aminosäure nur noch Natrium- und Sulfationen enthalten sollte. Die ursprüngliche Absicht, die Aminosäure gleichzeitig im Überschuß als Puffersubstanz zu verwenden, ließ sich allerdings nicht uneingeschränkt verwirklichen. Es war vielmehr zu berücksichtigen, daß die Katalasewirkung, wie auch schon Nikolajew³⁾ gefunden hatte, weitgehend von der Konzentration des Komplexbildners abhängt. So konnten wir uns davon überzeugen, daß z. B. Kupfer(II)-Ionen bei einem sechsfachen Überschuß an Arginin Wasserstoffperoxyd bei p_{H} 8 nur noch mit großer Verzögerung zersetzen.

Die Messungen wurden schließlich in der Weise ausgeführt, daß zunächst eine abgemessene Metallsulfat-Aminosäurelösung hergestellt wurde, die durch verd. Natronlauge bzw. Schwefelsäure auf das gewünschte p_{H} gebracht worden war und in der auf 1 Mol. Metall 2 Moll. Aminosäure kamen. Nach dem Temperaturausgleich im Thermostaten wurden diesem Gemisch unter gutem, während der vollen Meßzeit fortgesetztem Rühren 10 ccm einer 1 m Wasserstoffperoxydlösung zugefügt und damit die Reaktion gestartet. Der mit der Katalyse einsetzende p_{H} -Abfall wurde durch entsprechende Zugaben an verd. Natronlauge abgefangen. Es machte keine Schwierigkeiten, die Wasserstoffionenkonzentration der Reaktionslösung innerhalb eines Bereiches von ± 0.1 p_{H} zu halten. Für die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse war dies völlig ausreichend.

³⁾ L. A. Nikolajew (Moskow State Univ.), *Vestnik Moskov. Univ.* **1946**, Nr. 2, 105, C. A. **42**, 3653b [1948]; *Vestnik Moskov. Univ. (Bull. Univ. Moskow)* **1947**, Nr. 1, 71, C. A. **42**, 1617c [1948]; L. A. Nikolajew u. N. J. Kobozev (Moskow Univ.), *J. Physik. Chem. (U.S.S.R.)* **19**, 323 [1945], C. A. **40**, 514 [1946]; L. A. Nikolajew, *Vestnik Moskov. Univ.* **3**, Nr. 10, 169 [1948], C. A. **44**, 5689g [1950]; *Zhur. Fiz. Khim.* **25**, 1437 [1951], C. A. **49**, 1416a [1955]; *J. chim. physique Physico-Chim. biol.* **51**, 752 [1954]; C. A. **49**, 7350b [1955].

Die Meßzeiten konnten auf 1 Stde. beschränkt bleiben, da sich alles wesentliche in diesem Zeitraum abspielte. Die Aktivität des Katalysators wurde durch den prozentualen Umsatz an Wasserstoffperoxyd ausgedrückt, der im gegenwärtigen Fall zufällig mit der Molzahl des durch 1 Mol Katalysator zersetzen Substrats übereinstimmte, da die Lösung pro Messung 1×10^{-4} Mol Metall und 1×10^{-2} Mol Wasserstoffperoxyd enthielt.

Wie aus den Abbildungen 1 und 2 ersichtlich ist, wird Kupfer (II) durch Histidin deutlich, durch Arginin sehr stark aktiviert. Dazu im Gegensatz steht

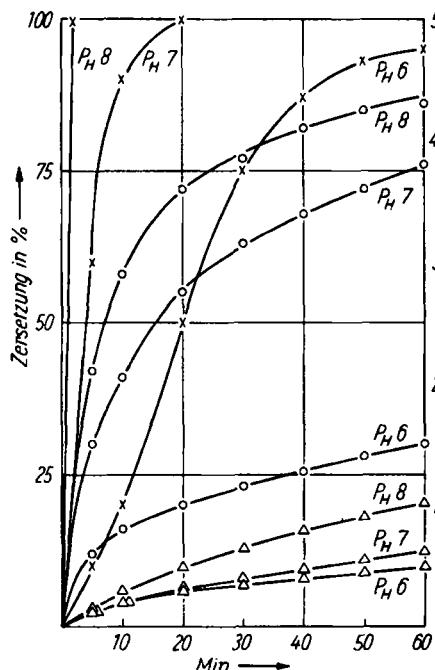


Abbildung 1. Aktivitäten von Cu, Cu + Arginin und Cu + Histidin bei der Zersetzung von H_2O_2 . $\triangle-\triangle-\triangle$ Cu; $x-x-x$ Cu + Arginin; $\circ-\circ-\circ$ Cu + Histidin

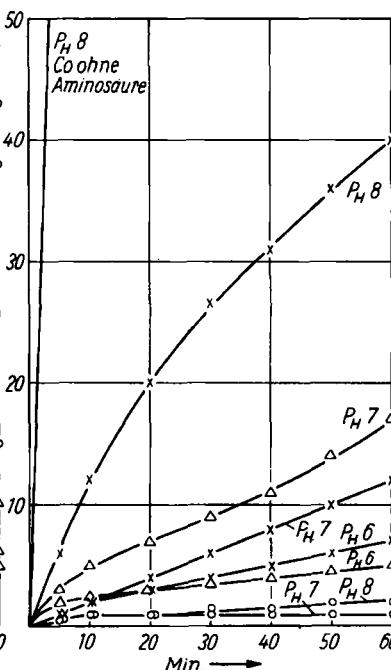


Abbildung 2. Aktivitäten von Co, Co + Arginin und Co + Histidin bei der Zersetzung von H_2O_2 . $\triangle-\triangle-\triangle$ Co; $x-x-x$ Co + Arginin; $\circ-\circ-\circ$ Co + Histidin

ihre Wirkung auf Kobalt, das in beiden Fällen stark gehemmt wird. Während die Komplexbildung zwischen Kupfer und Histidin im günstigsten Fall nach 15 Min. zu einer 15 mal stärkeren Wasserstoffperoxydzersetzung führt als im Blindversuch, hat der Einbau des Kupferions in den Argininkomplex bei höherem p_{H} eine stürmische Sauerstoffentwicklung zur Folge. Diese ist sogar erheblich intensiver als mit freien Kobaltionen bei p_{H} 8. Andererseits ist die Inaktivierung der Kobaltionen durch Histidin vollkommen, dagegen durch Arginin nur unvollständig. Nicht dargestellt wurden die Verhältnisse am Eisen, da dieses sowohl im Blindversuch als auch in Gegenwart der Aminosäuren nur wenig wirksam war. Messungen ohne Metall zeigten, daß durch die Aminosäuren allein kein H_2O_2 bzw. KMnO_4 verbraucht wird.

Tafel 1. Wiedergabe eines Teils der Meßwerte⁴⁾, ausgedrückt in %
zersetztes Wasserstoffperoxyd bei 20°

pH	Aminosäure	Eisen(III)		Kobalt(II)			Kupfer(II)		
		Zeit in Minuten							
		5	30	60	5	30	60	5	30
6	Histidin	1.5	4	7	2	3.5	5	2	7
		2	5	8	0	0	0	12	23
	Arginin	0.5	1.5	2	1	4	7	10	95
7	Histidin	1	2	3	3	9	17	2	8
		1	2	3	0.5	1	1	30	76
	Arginin	0.5	1	1.5	1	6	12	60	100*)
8	Histidin	1.5	3	4	75	100*)		3	13
		1	2	3	0.5	1.5	2	42	86
	Arginin	1	2	3	6	26	40	100	

*) Nach 20 Min.

Ein möglicher Zusammenhang zwischen der katalytischen Aktivität und den Stabilitäts- und Gleichgewichtskonstanten der Komplexe bei den verschiedensten Wasserstoffionenkonzentrationen konnte noch nicht exakt festgestellt werden, da die entsprechenden Werte nicht oder nur lückenhaft bekannt sind. Diese zu finden, wird ebenso einer späteren Arbeit vorbehalten bleiben, wie die Konstitutionsaufklärung der gebildeten Komplexe. Über die letzte Frage liegen zum Teil schon Untersuchungen anderer Autoren vor^{5, 6, 7)}.

Beschreibung der Versuche

Das Gemisch von 1×10^{-4} Mol Metallsulfat und 2×10^{-4} Mol Aminosäure in etwa 95 ccm kohlensäurefreiem Wasser wurde in einem Becherglas unter Rühren durch $n/10$ NaOH oder $n/10$ H_2SO_4 mit Hilfe eines p_H -Meßgerätes (Glaselektrode) genau auf die gewünschte Wasserstoffionenkonzentration eingestellt. Blieb das p_H etwa 10 Min. konstant, wurde auf 100 ccm aufgefüllt und die Komplexsalzlösung 30 Min. im Thermostaten belassen. Meßtemperatur war stets 20°. Nach dem Temperaturausgleich wurden unter gutem Rühren 10 ccm 1m H_2O_2 einpipettiert und damit die Reaktion in Gang gesetzt. Zugleich titrierte man einen aliquoten Teil (5 ccm) der Reaktionslösung, den man in 20 ccm 10-proz. Schwefelsäure einfließen ließ, mit $n/10$ $KMnO_4$ und bestimmte damit die Wasserstoffperoxydkonzentration zur Zeit 0. Die Lösung wurde über die gesamte Meßzeit gerührt und ihr p_H durch ein Meßgerät ständig kontrolliert. Je nach Bedarf ließ man dabei aus Mikrobüretten verd. Natronlauge oder Schwefelsäure zutropfen. Die dadurch erfolgende Verdünnung wurde in Rechnung gesetzt. In regelmäßigen Abständen überzeugte man sich durch Titration von dem Verlauf der Katalyse. Jede Versuchsserie wurde 4- bis 6 mal wiederholt. Die Erfahrung zeigte, daß es möglich war, die Meßreihen innerhalb eines Bereiches von $\pm 5\%$ zu reproduzieren. Die Tafel gibt die Mittelwerte.

4) Bei der Einschätzung der Aktivitäten ist zu bedenken, daß Eisen(II) schon vor dem Neutralpunkt schnell oxydiert wird und als Hydroxyd ausfällt; ebenso scheidet sich auch Kupfer(II) bei seiner Neutralisierung als Hydroxyd ab.

5) N. C. Li u. E. Doody, J. Amer. chem. Soc. 74, 4184 [1952]; 76, 221 [1954].

6) L. E. Maley u. D. P. Mellor, Austral. J. sci. Res., Ser. A 2, 579 [1949], C. A. 45, 3279 [1951]. 7) A. Taurins, Canad. J. Res., Sect. B 28, 762 [1950]; C. 1952, 3960.