

**DIE ORGANISCHEN
KATALYSATOREN
UND IHRE BEZIEHUNGEN ZU DEN
FERMENTEN**

VON

DR. WOLFGANG LANGENBECK

PROFESSOR AN DER UNIVERSITÄT GREIFSWALD

MIT 6 ABBILDUNGEN



**BERLIN
VERLAG VON JULIUS SPRINGER
1935**

ISBN-13: 978-3-642-90015-0 e-ISBN-13: 978-3-642-91872-8
DOI: 10.1007/978-3-642-91872-8

**ALLE RECHTE, INSBESONDERE DAS DER ÜBERSETZUNG
IN FREMDE SPRACHEN, VORBEHALTEN
COPYRIGHT 1935 BY JULIUS SPRINGER IN BERLIN**

Vorwort.

Die vorliegende Monographie ist aus dem Gedanken heraus entstanden, daß die allgemeine Chemie der organischen Katalysatoren eine notwendige Grundlage der Enzymchemie ist. Das Lehrgebäude der organischen Katalyse soll so beschaffen sein, daß die Fermente als komplizierte Spezialfälle später darin ihren Platz finden können. Tatsächlich ist, besonders in den letzten Jahren, von verschiedenen Seiten unter diesem Gesichtspunkt gearbeitet worden, und es war ein Bedürfnis, die allmählich anwachsende Literatur zusammenzufassen. Dabei mußte allerdings eine Auswahl getroffen werden, um die Übersichtlichkeit nicht verloren gehen zu lassen. Ferner wollte ich die Gedanken und Ziele, die meine Schüler und mich bei unseren Arbeiten geleitet haben, einmal in einer etwas breiteren Form darstellen. Endlich soll die Schrift auch als Hilfsbuch für das Laboratorium dienen. Deshalb sind die wichtigsten Meßmethoden so ausführlich aufgenommen worden, daß man danach arbeiten kann.

Meiner Frau danke ich für ihre Mitarbeit bei der Niederschrift des Manuskripts, Herrn Dr. HEINZ WREDE für seine Hilfe beim Lesen der Korrekturen und bei der Herstellung des Namen- und Sachverzeichnisses.

Greifswald, im Juni 1935.

W. LANGENBECK.

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
I. Wesen und Ziele der organischen Katalyse	1
II. Daten zur Geschichte der organischen Katalyse	5
III. Organische Schwermetall-Katalysatoren	8
1. Die katalytischen Wirkungen von Eisen- und Kupferionen bei Gegenwart organischer Komplexbildner (mit Ausnahme der Porphyrine)	8
Allgemeines	8
Kettentheorie	10
Oxydasewirkung	12
Peroxydasewirkung	17
Katalasewirkung	18
2. Katalytische Wirkungen der Hämine	19
Oxydasewirkung	19
Peroxydasewirkung	24
Katalasewirkung	27
Aktivierung des Hämins durch organische Basen	28
IV. Hauptvalenzkatalysatoren	32
1. Additionsreaktionen	32
a) Hydratisierung von Dicyan	32
b) Anlagerung von Alkohol an Diphenylketen	35
c) Addition von Sauerstoff an ungesättigte Verbindungen	38
2. Spaltungsreaktionen	40
a) Die KNOEVENAGELschen Aldehydkondensationen	40
b) Die Dehydrierung der Aminosäuren	43
c) Die Spaltung der α -Ketosauren	48
d) Esterverseifung	59
3. Allgemeines über Hauptvalenzkatalysatoren und ihre Beziehungen zu den Fermenten	63
a) Kinetik	63
b) Spezifität	74
c) Über den Nachweis aktivierender Gruppen in Fermenten	81

	Seite
V. Basische Katalysatoren	82
1. Die Decarboxylierung der β -Ketosauren	83
2. Anlagerung von Cyanwasserstoff	86
3. Autoxydation von ungesättigten Fettsäuren und Phenolen	87
4. Stereochemische Spezifität basischer Katalysatoren	88
5. Anwendung der Modellversuche auf die stereochemische Spezifität der Enzyme	93
VI. Katalysen mit unbekanntem Mechanismus	97
1. Die angebliche Hydrolyse der Stärke	97
2. Autoxydationen usw. bei Gegenwart autoxydabler Stoffe .	99
3. Verschiedene Reaktionen	100
4. Die Vulkanisationsbeschleuniger	101
Ansichten über den Wirkungsmechanismus der Vulkanisationsbeschleuniger	104
Namenverzeichnis	107
Sachverzeichnis	109

I. Wesen und Ziele der organischen Katalyse.

Unter organischen Katalysatoren verstehen wir heute definierte organische Stoffe von bekannter Konstitution, die katalytisch wirksam sind. Durch diese Definition werden die natürlichen Fermente ausgeschlossen. Ihre gesonderte Behandlung ist schon wegen des großen Umfanges der Enzymchemie notwendig.

Während die wissenschaftliche Untersuchung und technische Verwendung anorganischer Katalysatoren seit Beginn dieses Jahrhunderts einen ungeheuren Aufschwung erfahren hat, sind demgegenüber ihre organischen Analogen sehr vernachlässigt worden, und zwar so sehr, daß sie erst seit wenigen Jahren überhaupt in der chemischen Literatur als selbständiger Begriff auftreten. Das muß um so merkwürdiger erscheinen, als in den übrigen Zweigen der Chemie die Entwicklung und das allgemeine Interesse durchaus die organischen Stoffe begünstigt hat. Es kann sich also wohl nicht um eine zufällige Übergehung handeln, und in der Tat ist es nicht schwer, die Ursachen aufzudecken.

Die katalytischen Fähigkeiten anorganischer Stoffe liegen viel offener zutage, als dies bei organischen der Fall ist. Zahlreiche Elemente wirken schon für sich katalytisch, ohne daß weitere Zusätze nötig sind. Es genügt, sie in eine feinverteilte Form zu bringen, was meistens keine besonderen Schwierigkeiten bereitet. Unter den organischen Stoffen haben dagegen nur wenige Körperklassen, wie etwa die Stickstoffbasen, durchgehend katalytische Eigenschaften. Gerade die interessantesten Beschleuniger müssen in den verschiedensten Körperklassen durch mühsames Tasten aufgesucht werden. Ferner kommen die meisten Katalysen erst bei höheren Temperaturen in Gang, gegen die zwar die anorganischen, nicht aber die organischen Stoffe widerstandsfähig sind. Deshalb sind nur stark wirksame Verbindungen brauchbar, die besonders schwer aufzufinden sind. Dazu kommt, daß ein Bedürfnis nach organischen Katalysatoren von seiten der Technik früher kaum bestand, vielmehr schien es, als würden sich alle Aufgaben mit entsprechend modifizierten anorganischen Beschleunigern — vor allem Mischkatalysatoren — bewältigen lassen.

Ein allgemeineres Interesse für unser Gebiet hat sich erst in den letzten Jahren gezeigt, und zwar kam der stärkste Impuls von der Enzymchemie her. Je intensiver man sich der Aufgabe widmete, Fermente zu reinigen, um sie der Analyse und Konstitutionsaufklärung unterwerfen zu können, desto deutlicher wurde es, daß die Schwierig-

keiten noch größer sind, als man ursprünglich wohl geglaubt hatte. Bekanntlich kommen die Enzyme in der Natur nur in allergeringster Konzentration vor. Das würde an sich noch kein unüberwindliches Hindernis bedeuten, denn wir erleben es heute, daß auf dem Gebiet der Vitamine und Hormone mit kleinsten Substanzmengen ganze Konstitutionsbeweise durchgeführt werden. Bei den Enzymen kommt aber erschwerend hinzu, daß sie unbeständig sind. Immer wieder hat sich gezeigt, daß sie dem Forscher gewissermaßen unter den Händen zergehen, wenn er die Reinigung soweit als möglich treibt. Von einem gewissen Reinheitsgrad ab nimmt die Unbeständigkeit ganz bedeutend zu, und sobald man die letzten Schutzkolloide zu entfernen sucht, geht die Wirksamkeit der Präparate verloren. Ferner sind die Fermente hochmolekulare Stoffe, das erschwert einerseits ihre Reindarstellung und andererseits, falls sie gelingen würde, ihre Konstitutionsaufklärung. Auch seit man gelernt hat, einige Enzyme in kristalliner Form zu gewinnen, hat sich an der Lage wenig geändert. Die chemische Untersuchung dieser Präparate hat bisher zu keinen neuen Ergebnissen geführt, da sich bei der Hydrolyse nur Aminosäuren fassen lassen, und immer mehr wächst die Überzeugung, daß die Krystalle zum weit überwiegenden Teil aus unwirksamen Proteinen bestehen, an welche die eigentlichen Enzyme gebunden sind. Es bleibt noch die spektroskopische Methode, die bei einigen Fermenten zum Nachweis eines Hämingehaltes geführt hat. Aber der Wirkungskreis dieser Methode ist eng begrenzt. Sie ist nur auf wenige Enzyme anwendbar und geht auch nicht über den Häminnachweis hinaus. Hemmungs- und Aktivierungsversuche können wohl etwas über die chemische Natur gewisser Enzymgruppen aussagen, aber deren Funktion erschließt sich erst auf Grund einer neuen Methode¹.

Die organische Chemie hat sich schon früher ähnlichen Lagen gegenüber gesehen, ohne daß deswegen Resignation nötig gewesen wäre. Am lehrreichsten ist in dieser Beziehung vielleicht die Geschichte der Eisweißchemie. Hier waren die Aussichten für die analytische Aufklärung an sich viel günstiger als bei den Enzymen, da Proteine in beliebigen Mengen zur Verfügung stehen und bei vorsichtiger Arbeitsweise auch nicht denaturiert werden. Trotzdem war es nicht etwa die Isolierung kristalliner Proteine, die den entscheidenden Erfolg brachte, sondern der kühne Griff EMIL FISCHERS, der die synthetische Methodik in das Gebiet einführte. FISCHER erkannte, daß es nicht die wichtigste Auf-

¹ Vgl. S. 81. Betrachtet man Chlorophyll, Cytochrom und das sogenannte „gelbe Atmungsferment“ (Vitamin B₂) als echte Enzyme, so sind bereits einige natürliche Fermente der partiellen Synthese zugänglich. Indessen kann man darüber verschiedener Ansicht sein, weil alle drei Verbindungen ohne die Gegenwart anderer Fermente unwirksam sind. Deshalb hat man beim Chlorophyll und Cytochrom die Bezeichnung Ferment mit Recht meist vermieden.

gabe war, alle Einzelheiten in der Struktur eines bestimmten Eiweißmoleküls kennenzulernen, sondern daß zunächst das *allgemeine Bauprinzip* der langen Ketten und Peptidbindungen zu beweisen war. Das gelang bekanntlich durch den systematischen Aufbau solcher Kettenmoleküle, die sich dann in ihren Eigenschaften (Löslichkeit, Fällungsreaktionen, Angreifbarkeit durch Enzyme) den natürlichen Eiweißabkömmlingen sehr ähnlich zeigten. Wir werden diese beiden Komponenten der Methode: 1. Synthese nach einem hypothetisch angenommenen Bauprinzip, 2. Vergleich des synthetischen Produkts mit dem Naturstoff, auch bei den synthetischen Versuchen zur Aufklärung der Enzymstruktur wiederfinden.

Interessant ist es, die modernen Arbeiten über den Blutfarbstoff unter diesem Gesichtspunkt zu betrachten. Auch hier hat die analytische Untersuchung nicht vermocht, zur richtigen Häminformel zu führen. Diese ist vielmehr intuitiv aufgestellt und durch die Synthese schließlich bewiesen worden. Der Aufwand an analytischer Arbeit tritt hier schon weit zurück gegenüber der synthetischen Gesamtleistung.

Es muß also möglich sein, auch bei den Enzymen den synthetischen Weg einzuschlagen. Das würde, wie wir gesehen haben, kein Bruch mit den Traditionen unserer Wissenschaft sein, sondern im Gegenteil ihre sinnvolle Weiterführung. Allerdings wird man mit Recht einwenden, daß sowohl bei den Proteinen wie beim Blutfarbstoff doch auch eine sehr gründliche analytische Untersuchung vorhergegangen ist, die für die Synthese wichtige Anhaltspunkte gegeben hat. Bei den Enzymen liegen solche Versuche bekanntlich auch in größtem Umfang vor, aber sie haben keine einfachen Bruchstücke von Fermentmolekülen auffinden lassen. Es ist deshalb verständlich, daß wir mit der Synthese noch nicht so tief in den Bau der Fermentmoleküle eindringen können, wie bei den genannten Naturstoffen. Wir müssen uns vielmehr vorläufig auf die beiden Grundfragen der Enzymchemie beschränken, welche lauten: 1. Welches ist die Natur der Gruppen, die unmittelbar mit den Substraten in Reaktion treten? 2. Worauf ist die hohe Aktivität dieser Gruppen zurückzuführen? Wenn wir diese Fragen beantworten können, so verdanken wir das der eigenartigen und charakteristischen Wirksamkeit der Fermente, die eine besonders glückliche Handhabe für den Vergleich mit den synthetischen Produkten bietet. Kinetik und Spezifität sind die beiden wichtigsten Vergleichsmomente, die uns zur Verfügung stehen. Machen wir die sehr wahrscheinliche Annahme, daß beide in ihrer Eigenart hauptsächlich von der Natur derjenigen Gruppe abhängig sind, die mit dem Substrat in Reaktion tritt (der „aktiven Gruppe“), so folgt daraus, daß wir von einer Ähnlichkeit im Verhalten auf die Identität der aktiven Gruppe im Ferment und seinem Modell schließen dürfen.

Die aktiven Gruppen sind für sich meist wenig reaktionsfähig, aber sie lassen sich durch Einführung bestimmter Substituenten aktivieren. Aus diesen Versuchen kann man folgern, daß der Aktivierungsmechanismus im Fermentmolekül ein ähnlicher ist, zumal sich gewisse Hemmungen durch Fermentgifte mit dieser Annahme gut deuten lassen.

Bisher hat sich bei zwei Fermenten ein solcher Vergleich mit ihren Modellen durchführen lassen, bei der Carboxylase und bei der Esterase¹, und in zahlreichen voneinander völlig unabhängigen Punkten hat sich eine ganz auffallende Ähnlichkeit gezeigt. Bei diesen beiden Enzymen sind wir also über die chemische Natur der aktiven Gruppe und über das Prinzip der Aktivierung unterrichtet. Schon jetzt sind die besten Fermentmodelle nicht viel weniger wirksam als manche hochgereinigten Enzympräparate, und alles deutet darauf hin, daß sich die Modelle fast unbegrenzt weiter aktivieren lassen. Man mag sie deshalb als „künstliche Fermente“ bezeichnen, etwa in dem Sinne, wie man von künstlichen organischen Farbstoffen spricht, im Gegensatz zu natürlichen Pflanzenfarbstoffen. Beide brauchen in ihrer Konstitution nicht völlig übereinzustimmen, haben aber ähnliche Eigenschaften. Selbstverständlich muß man sich bewußt bleiben, daß die künstlichen Fermente nur in der aktiven Gruppe, nicht aber in ihrem übrigen Molekül mit den natürlichen übereinstimmen.

Wenn somit die wissenschaftliche Erforschung der organischen Katalysatoren in erster Linie von der Enzymchemie Anregung empfing, so dürfen wir doch nicht vergessen, daß die Technik von sich aus auf vereinzelt Gebieten organische Katalysatoren zu entwickeln beginnt. Die moderne Kautschukindustrie hat heute schon ein ganzes Heer von Vulkanisationsbeschleunigern zur Verfügung, die überwiegend organischer Natur sind. Mit Hilfe dieser Stoffe wird nicht nur bei der Vulkanisation Zeit gespart, sondern was wichtiger ist, ein besonders lagerbeständiger und zäher Kautschuk erhalten.

Wenn schon jetzt, wo die wissenschaftliche Durchbildung der organischen Katalyse erst in den Anfängen steht, sich ein so bedeutungsvolles Anwendungsgebiet erschlossen hat, so dürfen wir für die Zukunft in dieser Richtung noch Großes erwarten. Die organischen Katalysatoren besitzen ja auch zwei Eigenschaften, die sie für die Anwendung auf empfindliche Rohstoffe besonders geeignet machen: Sie sind spezifisch wirksam, greifen also nur bestimmte Gruppen der Substratmoleküle an, und sie haben den Vorzug, in organischen Mitteln löslich zu sein. Daß die Fermente sich nur in Wasser lösen, ist wohl einer der Gründe, die ihre Verwendung in der Technik einschränken. Zum Beispiel könnte sich der Veredlung von Textilfasern und Nahrungsmitteln durch geeignete organische Beschleuniger neue Möglichkeiten eröffnen.

¹ Siehe S. 70.

Da die organische Katalyse sehr vielgestaltig ist, wird es zweckmäßig sein, sie nach bestimmten Gebieten zu gliedern. Bis jetzt heben sich drei solcher Gruppen scharf ab, sie werden als organische Schwermetallkatalysatoren, basische Katalysatoren und Hauptvalenzkatalysatoren unterschieden. Während die beiden ersten Klassen chemisch ähnliche Stoffe enthalten — einerseits organische Schwermetallkomplexe, andererseits Stickstoffbasen —, setzt sich die dritte aus sehr verschiedenen Stoffen zusammen. Trotzdem ist sie innerlich einheitlich, da alle ihre Glieder einen ähnlichen Wirkungsmechanismus besitzen. Sie vereinigen sich nämlich mit ihren Substraten durch organische Hauptvalenzen zu Zwischenstoffen, woraus der Name abgeleitet ist. Daneben gibt es noch eine Reihe von Außenseitern, deren Reaktionsmechanismus nicht sicher aufgeklärt ist und die sich auch nicht nach ihrer Struktur zusammenfassen lassen.

Unmittelbare Strukturbeziehungen zu den Fermenten haben sich bei den Schwermetall- und Hauptvalenzkatalysatoren ergeben, während die basischen Katalysatoren präparativ wichtig geworden sind und sich außerdem besonders zu Modellversuchen über die stereochemische Spezifität von Fermenten eignen.

II. Daten zur Geschichte der organischen Katalyse.

1858.

CHRISTIAN FRIEDRICH SCHÖNBEIN findet, daß die Bläuung von Guajak tinktur mit Wasserstoffsuperoxyd bei Gegenwart von roten Blutkörperchen beschleunigt wird¹. Da sich später gezeigt hat, daß diese Reaktion auf den roten Blutfarbstoff zurückzuführen ist², hat somit SCHÖNBEIN die erste organische Katalyse beobachtet. Statt Wasserstoffsuperoxyd läßt sich „ozonisiertes“, d. h. mit Luft geschütteltes peroxydhaltiges Terpentinöl benutzen, dessen Gehalt an reaktionsfähigem Sauerstoff SCHÖNBEIN schon 1851 entdeckt hat³. In dieser Form wird die Reaktion bald darauf für forensische Zwecke zum Blutnachweis benutzt, z. B. von dem holländischen Arzt VAN DEEN (1861)⁴.

¹ Verh. d. Naturforsch.-Ges. Basel **2**, 9 (1858); J. f. prakt. Chem. **75**, 78 (1858); **89**, 323 (1863).

² WILLSTÄTTER, R. und A. POLLINGER: Z. physiol. Chem. **130**, 281 (1923). Streng genommen ist Hämoglobin kein organischer Katalysator im Sinne der Definition, weil die Struktur des Globins nicht bekannt ist. Da aber auch das Hämin für sich wirksam ist, dürfen wir das Hämoglobin dazu nehmen. — ³ J. prakt. Chem. **53**, 71 (1851).

⁴ Nach O. v. FÜRTH: Probleme der physiologischen und pathologischen Chemie, **2**, 527 (1913).

1859.

Am 29. November 1859 schreibt J. v. LIEBIG an FR. WÖHLER: „Ich habe in der Zwischenzeit einige Versuche gemacht, die ganz verrückte Resultate gegeben haben, d. h. solche, die kein vernünftiger Mensch sich denken konnte. Ich dachte unter anderem, daß es vielleicht nicht unmöglich sei, aus Aldehyd und Oxalsäure im Entstehungszustande Äpfelsäure zu machen, und sättigte zu diesem Zweck Wasser mit Cyangas, setzte diesem Wasser (etwa 2 l) eine Unze Aldehyd zu und ließ die Flüssigkeit an einem warmen Ort stehen. Nach 24 Stunden war der Cyangeruch fort, und auf dem Boden und an den Wänden der Flasche hatte sich ein dicker weißer Absatz gebildet, welcher aus reinstem Oxamid bestand¹“.

Damit war der erste metallfreie organische Katalysator entdeckt.

In einer Veröffentlichung in den *Annalen* heißt es dann weiter: „Das Cyan schien sich ganz und gar in Oxamid durch Verbindung mit Wasser umgesetzt und das Aldehyd ganz ähnlich wie ein Ferment dabei eingewirkt zu haben²“.

LIEBIG ist ganz nahe daran, den Reaktionsmechanismus dieser Katalyse und darüber hinaus den der Fermente richtig zu erkennen, denn er beobachtet zum erstenmal einen Zwischenstoff bei einer organischen Katalyse: „Bei der Destillation der von dem Oxamid abfiltrierten Flüssigkeit verhielt sie sich gerade so, wie wenn Aldehyd und Oxamid eine Verbindung miteinander gebildet hätten, die sich in der Siedehitze zersetzt³“. Indessen sieht er in der Reaktion vielmehr eine Bestätigung seiner bekannten Theorie der Fermente: „Es ist offenbar, daß das Aldehyd, von dem ein Teil in einen acroleinartigen Körper verwandelt wird, während dieses Überganges eine Wirkung ausübt, die darin bestand, daß sich die Elemente des Cyans mit denen des Wassers in einer neuen Weise ordneten⁴“.

1900—1901.

W. OSTWALD schreibt in einer Bücherbesprechung: „... doch erscheint es durchaus nicht ausgeschlossen, daß man später Fermente oder organische Katalysatoren auffinden wird, welche auch höhere Temperaturen vertragen⁵“. In einem berühmten Vortrag findet sich der Satz: „Ich möchte meine Überzeugung dahin aussprechen, daß bei eingehenderer Forschung Übergänge zwischen den eiweißartigen

¹ JUSTUS LIEBIGS und FRIEDRICH WÖHLERS Briefwechsel (herausgegeben von A. W. HOFMANN, 1888) 2, 77—81. Briefe vom 29. November, 4. und 25. Dezember 1859. — ² Liebigs *Ann.* 113, 15 (Anm.) (1860).

³ Liebigs *Ann.* 113, 246 (1860). — ⁴ Liebigs *Ann.* 153, 9 (1870).

⁵ *Z. physik. Chem.* 34, 510 (1900).

Produkten, an denen bisher Enzymwirkungen nachgewiesen worden sind, und den einfacher zusammengesetzten Stoffen der organischen Chemie sich werden finden lassen¹“.

1907.

E. FISCHER sagt in einem Vortrag: „... ich halte es schon heute für kein zu gewagtes Unternehmen, ihre (der Fermente) künstliche Bereitung aus den natürlichen oder synthetischen Proteinen zu versuchen²“.

1908

erscheint die erste Arbeit von G. BREDIG und K. FAJANS über optisch auswählende organische Katalysatoren³. Sie enthält die ersten Versuche, mit Hilfe von organischen Modellen die Eigentümlichkeiten von Fermentreaktionen aufzuklären. So wird zunächst festgestellt, daß Nicotin die beiden Antipoden der Camphocarbonsäure verschieden rasch spaltet.

1912.

FRITZ HOFMANN und K. GOTTLÖB finden die ersten organischen Vulkanisationsbeschleuniger und damit die ersten technisch brauchbaren organischen Katalysatoren⁴.

1926.

R. KUHN und L. BRANN⁵ veröffentlichen ihre Arbeit „Über die Abhängigkeit der katalytischen und peroxydatischen Wirkung des Eisens von seiner Bindungsweise“. Unter anderem wird die Katalasewirkung des Hämins beschrieben.

1927

erscheint die Abhandlung von W. LANGENBECK „Über organische Katalysatoren I⁶“. Isatin wird als erstes metallfreies Dehydrasenmodell untersucht und sein Wirkungsmechanismus aufgeklärt.

1930.

W. LANGENBECK, R. HUTSCHENREUTER und R. JÜTTEMANN entdecken das Prinzip der systematischen Aktivierung⁷. Methylamin läßt sich durch dreimalige Substitution in einen Katalysator (Amino-oxindol) verwandeln, der als Carboxylase 1000mal so wirksam ist, wie der Grundkörper.

¹ Vortrag auf der 73. Versammlung deutscher Naturforscher und Ärzte in Hamburg am 26. September 1901. Z. Elektrochem. **7**, 1003 (1901).

² Untersuchungen über Aminosäuren, Polypeptide und Proteine **2**, 17 (1923). — ³ B. **41**, 752 (1908). — ⁴ D.R.P. 265221.

⁵ B. **59**, 2370 (1926). — ⁶ B. **60**, 930 (1927).

⁷ Liebigs Ann. **469**, 16 (1930).

III. Organische Schwermetall-Katalysatoren.

1. Die katalytischen Wirkungen von Eisen- und Kupferionen bei Gegenwart organischer Komplexbildner (mit Ausnahme der Porphyrine).

Allgemeines.

Seit SCHÖNBEIN seine ersten Versuche über die Sauerstoffübertragung mit Eisensalzen anstellte, ist dieses Thema sehr häufig, und gerade in der neuesten Zeit wieder sehr ausführlich bearbeitet worden. Es würde viel zu weit führen, hierin eine vollständige Literaturübersicht anzustreben. Andererseits müssen wir uns aber mit den wichtigsten modernen Arbeiten vertraut machen, da die Wirkung der organischen Eisenkomplexe selbstverständlich eng mit der einfachen Eisenkatalyse zusammenhängt.

Eisen-Ionen beschleunigen dieselben Reaktionen, die auch durch organische Eisenkomplexe und durch eisenhaltige Fermente ausgelöst werden. Es sind dies: 1. Oxydationen mit molekularem Sauerstoff (Oxydasewirkung), 2. Oxydationen mit Wasserstoffperoxyd und anderen Peroxyden (Peroxydasewirkung) und 3. Zersetzung des Wasserstoffperoxyds (Katalasewirkung).

Die einfachste Erklärung für alle diese Wirkungen ist die Annahme, daß die Katalyse lediglich durch den Valenzwechsel des Eisens bedingt ist. Das Substrat reduziert in der ersten Teilreaktion das dreiwertige Eisen zum zweiwertigen, in der zweiten führt das Oxydationsmittel das Eisen wieder in die dreiwertige Stufe über. Tatsächlich kommen Fälle vor, bei denen diese primitivste Deutung völlig ausreicht (z. B. bei der Oxydation der Phenole mit Sauerstoff): Andere Versuchsergebnisse stehen dazu im schroffsten Widerspruch. Die beiden wichtigsten sind die fast stets gefundene Überlegenheit des zweiwertigen gegenüber dem dreiwertigen Eisen und die Erscheinung des sogenannten Primärstoßes. Man versteht darunter den Fall, daß Oxydationen bei Gegenwart von Eisen II-Ionen in den ersten Augenblicken bedeutend rascher verlaufen als in der Folgezeit. Geht Eisen II dabei in Eisen III über, so werden viel mehr Äquivalente des Substrats umgesetzt, als den Eisenäquivalenten entspricht. Mit diesen beiden Tatsachen muß sich jede Theorie der Eisenwirkung in erster Linie auseinandersetzen.

Bevor wir auf die verschiedenen Arbeitshypothesen eingehen, müssen wir hervorheben, daß eine eindeutige Entscheidung zwischen ihnen bis jetzt nicht durchgeführt werden konnte. Der Grund ist, daß die wirksamen Zwischenstoffe sehr labile Gebilde sind, die sich nicht immer mit Sicherheit nachweisen lassen. Nach den drei wichtigsten Theorien

können es entweder Peroxyde (MANCHOT), Komplexverbindungen (WIELAND), oder Radikale (HABER) sein. Ferner besteht noch die Möglichkeit, mehrere dieser Theorien zu kombinieren, derart etwa, daß man gleichzeitig Peroxyde und Radikale oder Komplexe und Radikale annimmt. Es ist zwar sicher, daß z. B. bei der Oxydation von organischen Oxysäuren mit Eisen-Ionen Komplexe auftreten, aber wir wissen nicht, ob sie die eigentlich wirksamen Zwischenstoffe sind. Ebenso sind Peroxyde zwar bei organischen Induktoren, nicht aber beim Eisen isoliert worden. Manche Photoreaktionen lassen sich nur mit Hilfe von Kettenreaktionen erklären, und es ist aus spektroskopischen Daten sicher, daß Radikale vom Typus OH vorübergehend auftreten können. Aber man hat keine Möglichkeit, sie bei Eisenkatalysen eindeutig nachzuweisen. Immerhin ist das Auftreten von Kettenreaktionen in vielen Fällen sehr wahrscheinlich gemacht worden.

Theorie von W. MANCHOT¹. Nur das zweiwertige Eisen ist befähigt, Peroxyde vom Typus Fe_2O_5 zu bilden. Nach den neuesten Arbeiten wird ein Anlagerungsprodukt $\text{Fe II} \cdot \text{H}_2\text{O}_2$ angenommen. Solche Zwischenstoffe können entweder zwei Äquivalente Substrat oxydieren und unmittelbar darauf mit überschüssigem H_2O_2 unwirksames Fe III bilden, oder das Peroxyd liefert mit überschüssigem H_2O_2 Sauerstoff und wird wieder zu Fe II reduziert, ähnlich etwa wie H_2O_2 auch Permanganate oder Mangandioxyd zu reduzieren vermag.

Theorie von H. WIELAND². Fe II bildet mit dem Substrat oder mit besonders zugesetzten Stoffen („kombinierte Systeme“) einen Komplex, in den vielleicht zugleich auch das Oxydationsmittel eintritt. Durch die Komplexbildung wird der Wasserstoff des Substrats aktiviert und für den Angriff des Oxydationsmittels zugänglich³. Der Primärstoß kommt dadurch zustande, daß das wirksame Fe II im Komplex kurze Zeit gegen den Übergang in unwirksames Fe III geschützt ist. So ist ein Fe II-Ion imstande, eine größere Zahl von Substratmolekülen zu oxydieren, indem die oxydierten Moleküle abdissoziieren und durch neue Substratmoleküle ersetzt werden.

¹ MANCHOT, W.: Z. anorg. Chem. **27**, 404 (1901); Liebigs Ann. **325**, 102 (1902); Z. anorg. u. allg. Chem. **211**, 1 (1933). Vgl. auch GOLDSCHMIDT, ST. und ST. PAUNCZ, Liebigs Ann. **502**, 1 (1933), dagegen BACH, A.: B. **65**, 1788 (1932).

² WIELAND, H. und W. FRANKE: Liebigs Ann. **464**, 101 (1928); **457**, 1 (1927); **475**, 1, 19 (1929). WIELAND, H. und K. BOSSERT: Liebigs Ann. **509**, 1 (1934).

³ Vgl. den Nachweis des aktivierten Wasserstoffs mittels der „polarographischen Methode“, BRDIČKA, R.: Biochem. Z. **272**, 104 (1934), ferner den Beweis der Substraktivierung durch KÜCHLIN, A. TH.: Rec. Trav. chim. Pays-Bas et Belg. (Amsterd.) **51**, 887 (1932). Glucose liefert bei der Oxydation mit H_2O_2 bei Gegenwart von Eisen ganz andere Reaktionsprodukte als ohne dieses.

Die Kettentheorie.

Mit der Theorie der Reaktionsketten haben wir uns etwas eingehender zu beschäftigen, weil sie gegenwärtig im Vordergrund des Interesses steht und manche Versuche am befriedigendsten zu deuten vermag. CHRISTIANSEN¹ war der erste, der Kettenreaktionen in flüssigem Medium annahm, und zwar um die Erscheinungen der negativen Katalyse zu deuten. Nach CHRISTIANSEN besitzen die Moleküle der Reaktionsprodukte unmittelbar nach der Reaktion einen Energieinhalt, der weit höher ist als der durchschnittliche Energieinhalt bei der betreffenden Temperatur. Die freie Energie der Reaktion erscheint zum Teil in Form erhöhter kinetischer Energie der Reaktionsprodukte. Diese können ihre überschüssige Energie auf andere Moleküle übertragen, die ihrerseits dadurch reaktionsfähig werden. So wird eine neue Reaktion ausgelöst, wodurch wieder Reaktionsprodukte mit hoher Energie gebildet werden, usw. Die negativen Katalysatoren wirken so, daß sie die überschüssige Energie der Reaktionsprodukte übernehmen und damit die thermische Kette abbrechen. BÄCKSTRÖM² unterwarf die Theorie von CHRISTIANSEN einer eingehenden experimentellen Prüfung. Er fand, daß die Autoxydation von Benzaldehyd, Önanthaldehyd und Natriumsulfit durch Belichtung beschleunigt werden kann, und zwar werden durch jedes Lichtquant 10000—50000 Moleküle aktiviert. Die Lichtreaktion ist also bestimmt eine Kettenreaktion. Daß auch die Dunkelreaktion in Form von Ketten abläuft, folgt daraus, daß Licht- und Dunkelreaktion durch dieselben negativen Katalysatoren in gleichem Maße gehemmt werden. Als solche „Inhibitoren“, die früher von MOUREU und DUFRAISSE³ entdeckt worden waren, dienten Diphenylamin, Anthracen, Phenol, Benzylalkohol u. a.

Der Fall der Sulfit-Autoxydation wurde von F. HABER und J. FRANCK⁴ erneut untersucht, die als neue Theorie die Vorstellung der Radikalketten einführten. Die Kettenglieder sollen nicht Moleküle mit besonders hoher kinetischer Energie sein, sondern valenzmäßig ungesättigte Moleküle, also Radikale. Aus zahlreichen Versuchen ist bekannt, daß freie Radikale besonders reaktionsfähig sind, was auch durch Überlegungen von LONDON theoretisch verständlich gemacht worden ist. Nach FRANCK und HABER tritt bei der Sulfitoxydation das Radikal SO_3H , die sogenannte Monothionsäure auf. Als solche ist sie nicht

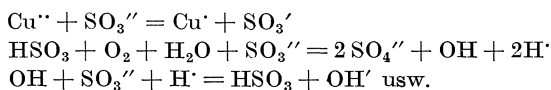
¹ CHRISTIANSEN, J. A. und H. A. KRAMERS: Z. physik. Chem. **104**, 451 (1923); CHRISTIANSEN, J. A.: J. physic. Chem. **28**, 145 (1924).

² BÄCKSTRÖM, H. L. J.: Am. Soc. **49**, 1460 (1927); **51**, 90 (1929).

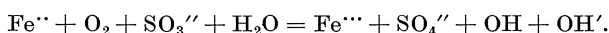
³ Compt. rend. **174**, 258 (1922) und spätere Arbeiten.

⁴ HABER, F.: Naturw. **19**, 450 (1931); FRANCK, J. und F. HABER: Sitzungsber. preuß. Akad. Wiss., Physik.-math. Kl., Berlin **1931**, 250; HABER, F.: Z. angew. Chem. **46**, 51 (1933).

isolierbar, aber ihr Dimeres, die Dithionsäure $\text{H}_2\text{S}_2\text{O}_6$, wird immer dann gefunden, wenn die Autoxydation des Sulfits durch besondere Umstände ausgelöst wird. Sie tritt z. B. auf bei Zusatz von Kupfer II-Ionen, bei Bestrahlung mit ultraviolettem Licht und bei der anodischen Oxydation. Die Kette soll dann über folgende Stufen verlaufen:



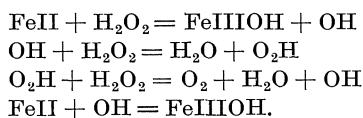
Danach wird abwechselnd das Radikal HSO_3 und OH gebildet. Fe III löst in diesem Falle keine Radikalketten aus, wohl aber Fe II, vielleicht nach dem Schema:



Die Sulfid-Autoxydation bei Gegenwart von Nickel und Kobalt ist dagegen keine Kettenreaktion.

An diese Untersuchung schließt sich eine Arbeit von W. BOCKEMÜLLER und TH. GÖTZ¹ an, die sich mit der Autoxydation von Natriumhypophosphit beschäftigt. Auch hier muß eine Kette vorliegen, weil die Reaktion durch Oxydationsmittel wie Ozon oder F_2O bei Gegenwart von Sauerstoff in Gang gebracht wird, wobei pro Molekül Oxydationsmittel zahlreiche Moleküle Sauerstoff aufgenommen werden. Auch durch Silber-Ionen lassen sich Reaktionsketten auslösen. Man darf deshalb annehmen, daß allgemein die Autoxydation von Hypophosphit bei Gegenwart von Schwermetallen eine Kettenreaktion ist. Dabei nimmt man auch Radikale als Zwischenstoffe an.

HABER² hat dann die Radikalkettentheorie auch auf die Zersetzung des Wasserstoffperoxyds angewandt. Bringt man Wasserstoffperoxyd mit einer kleinen Menge Eisen II-salz zusammen, so wird Fe II zu Fe III oxydiert und gleichzeitig Sauerstoff frei. Bei genügend intensiver Vermischung wurde z. B. das molekulare Verbrauchsverhältnis $\frac{\Delta \text{H}_2\text{O}_2}{\Delta \text{FeII}} = 15,6$ gefunden. Es muß sich also um eine Kettenreaktion handeln, HABER und WEISS formulieren sie folgendermaßen:



Durch die letzte Teilreaktion wird die Kette abgebrochen. Ist alles Fe II oxydiert, so kommt die Reaktion zum Stehen, es liegt also keine echte Katalyse vor. Aber ähnliche Ketten könnten bei der katalytischen Zersetzung des Wasserstoffperoxyds auftreten.

¹ Liebigs Ann. 508, 263 (1934).

² HABER, F. und J. WEISS: Naturw. 20, 948 (1932).

Auf die Verallgemeinerung der Theorie durch F. HABER und R. WILLSTÄTTER¹ sei hier nur hingewiesen, da sie im einzelnen nicht experimentell gestützt ist. Zusammenfassend ist zu sagen, daß das Auftreten von Ketten bei mehreren Schwermetallkatalysen nachgewiesen ist, doch darf man dies Ergebnis nicht verallgemeinern. Auch ist bei der Formulierung von Kettengliedern der Phantasie noch ein weiter Spielraum gelassen.

Nach allen drei Theorien kommt die Reaktion zum Stillstand, wenn alles Fe II in Fe III übergegangen ist. Eine dauernd fortschreitende Katalyse ist nur dann möglich, wenn das Substrat imstande ist, Fe III wieder zu Fe II zu reduzieren, entweder als freie oder komplexe Eisen-Ionen.

Wenn wir im folgenden die wichtigsten experimentellen Ergebnisse über organische Schwermetallkatalysatoren beschreiben, so werden wir uns auf diejenigen Versuche beschränken, bei denen man eindeutig von einer organischen Katalyse sprechen kann, d. h. wenn entweder zugesetzte organische Fremdstoffe oder Reaktionsprodukte durch Komplexbildung beschleunigend auf die reine Schwermetallkatalyse wirken. Komplexbildung zwischen Schwermetall-Ion und Substrat wird dagegen in den meisten Fällen auftreten, ohne daß sich feststellen ließe, wieweit das Substrat zugleich als Katalysator wirkt.

Oxydasewirkung.

Die Autoxydation der Weinsäure. Die gründlichsten Untersuchungen über Autoxydation organischer und anorganischer Substrate bei Gegenwart von organischen Eisenkomplexen wurden von H. WIELAND und W. FRANKE² durchgeführt. Diese Autoren bezeichnen solche Systeme als kombinierte Autoxydationssysteme. Gewisse organische Verbindungen besitzen die Eigenschaft, durch Komplexbildung mit Eisen II-salzen einerseits die Oxydation zu Eisen III-salzen zu verzögern und dadurch echte Katalysatoren zu erzeugen, andererseits die Aktivität gegenüber den einfachen Eisensalzen bedeutend zu steigern.

WIELAND und FRANKE stießen auf diese Systeme zuerst bei der Autoxydation der Weinsäure mit Eisen II-salzen. Weinsäure wird beim Schütteln mit Sauerstoff und Eisen III-salzen nicht angegriffen, kräftig dagegen mit Eisen(II)-salzen, die Reaktion hört aber auf, sobald alles Fe II in Fe III umgewandelt ist. Unter gewissen Bedingungen kann man sich aber einer echten Katalyse nähern. Je saurer die Lösung ist,

¹ B. 64, 2844 (1931).

² WIELAND, H. und W. FRANKE: Liebigs Ann. 464, 101 (1928); 475, 19 (1929).

desto größer wird das Verhältnis der Sauerstoffmengen, die zur Oxydation der Weinsäure und des Fe II verbraucht werden. Dieser Quotient

$$\frac{\text{O}_2 \text{ für Weinsäure}}{\text{O}_2 \text{ für FeII}}$$

steigt nun auch während der Reaktion an, man beobachtet einen auto-katalytischen Verlauf. Ein Oxydationsprodukt der Weinsäure muß dafür verantwortlich sein, wie sich später zeigte, ist es die Dioxymaleinsäure oder die Dioxyweinsäure.

Die Induktionswirkung der Dioxymaleinsäure wird gestört, wenn man mit zu großen Eisenkonzentrationen arbeitet. Offenbar wird dann der organische Katalysator rasch zu weitgehend oxydiert. Durch Zusatz von genügend großen EisenIII-mengen kann man die Induktionswirkung vollständig unterdrücken. Tatsächlich wird Dioxymaleinsäure durch Fe III glatt oxydiert. Setzt man dagegen von Anfang an Dioxy-maleinsäure zu, so wird die Autoxydation sofort beschleunigt und der Gesamtumfang der Sauerstoffaufnahme gesteigert. Dieselben Erscheinungen findet man wieder, wenn man Dioxyweinsäure verwendet, diese ist also wohl der eigentliche Katalysator, in den die Dioxymaleinsäure erst durch eine sekundäre Reaktion verwandelt wird. An kinetischen Eigentümlichkeiten der Reaktion ist noch zu erwähnen, daß Neutralsalze teils hemmen (NaCl, NaBr, NaJ), teils beschleunigen (Na₂SO₄, NaNO₃). Dadurch wird es weiter wahrscheinlich, daß Komplexbildungen eine wesentliche Rolle spielen. Eintritt von Cl', Br' oder J' führt offenbar zu unwirksameren Komplexen.

Dioxymaleinsäure und Dioxyweinsäure sind keine idealen organischen Katalysatoren, denn sie werden selbst bei Gegenwart von FeII-salzen durch Sauerstoff oxydiert. Auch ohne Eisen unterliegt die Dioxymaleinsäure der Autoxydation¹. Als Oxydationsprodukte wurden Dioxyweinsäure, Malonaldehydsäure und schließlich Oxalsäure gefunden. Dioxyweinsäure wird von Fe II und Fe III mit der gleichen Geschwindigkeit katalytisch oxydiert, da ja Fe III von der Säure sofort zu Fe II reduziert wird.

Reaktionsfremde Beschleuniger. Während bei der Autoxydation der Weinsäure mit Fe II im System selbst der beschleunigende Komplexbildner auftritt, kann man kombinierte Autoxydationssysteme auch herstellen durch Zusatz anderer organischer Stoffe². Außer der Dioxymaleinsäure und Dioxyweinsäure wirken als Beschleuniger Acetessigsäure, Oxalessigsäure, Acetondicarbonsäure, Benzoylessigsäure und Thioglykolsäure.

Die Autoxydation der unterphosphorigen Säure mit FeII-salzen ist an sich keine Katalyse. Die Reaktion ist nach kurzer Zeit beendet,

¹ WARBURG, O.: Z. physiol. Chem. **92**, 249 (1914).

² WIELAND, H. und W. FRANKE: Liebigs Ann. **475**, 19 (1929).

wenn alles Fe II oxydiert ist. Dabei werden nur zwei Äquivalente Sauerstoff aktiviert und zur Oxydation von H_3PO_2 verwendet. Das Bild ändert sich vollständig, wenn man kleine Mengen Dioxymaleinsäure zusetzt, die Reaktion wird dann zu einer katalytischen. Unter den Versuchsbedingungen macht sich ein Zusatz von 0,05 mg des organischen Katalysators bereits bemerkbar, Mengen von etwa 1 mg ergeben die beste Wirkung, aber überraschenderweise nimmt bei größeren Mengen, z. B. 5 mg die Wirkung wieder stark ab. Die gleiche Erscheinung findet man mit Thioglykolsäure.

Aus diesen Ergebnissen folgt schon, daß die Wirksamkeit der kombinierten Autoxydationssysteme ein recht komplizierter Vorgang sein muß. WIELAND und FRANKE betrachten die Hemmung bei höheren Katalysatorkonzentrationen als ein Anzeichen dafür, daß die unterphosphorige Säure in den Eisenkomplex eintreten muß, um oxydiert zu werden. Bei zu hohen Konzentrationen des Komplexbildners wird die Säure aus dem Komplex verdrängt. Der katalytische Charakter der Reaktion wird wohl dadurch bedingt, daß der organische Komplex des Fe III-Ions durch Hypophosphit leichter reduziert wird als das einfache Fe III-Ion, das gegen Hypophosphit beständig ist. W. BOCKEMÜLLER und Th. GÖTZ¹ haben gezeigt, daß die Autoxydation des Hypophosphits eine Kettenreaktion ist und daß die Kettenlänge durch Zusatz von Acetondicarbonsäure verringert wird, die also als Inhibitor wirkt. So erklärt sich die optimale Konzentration des organischen Katalysators, abweichend von WIELAND und FRANKE, aus seiner Eigenschaft, einerseits die Katalyse zu beschleunigen, andererseits bei höherer Konzentration die Ketten abzubrechen.

Von allen β -Ketosäuren wirkt die Acetondicarbonsäure bei weitem am stärksten. Beispielsweise beschleunigen 0,001 mg ($3,4 \cdot 10^{-7}$ Mol) unter den gewählten Bedingungen die Autoxydation von Hypophosphit auf das Dreifache. Wie bei allen organischen Katalysatoren, so ist auch hier ein Einfluß bestimmter aktivierender Gruppen (COOH) zu bemerken. In diesem Falle aktiviert die Carboxylgruppe das Molekül der Acetessigsäure.

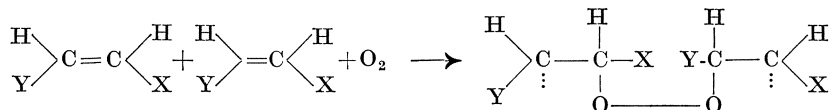
Außer bei der unterphosphorigen Säure läßt sich, wenn auch in geringerem Maße, bei der Ameisensäure², Milchsäure und Weinsäure die Autoxydation durch Zusatz von β -Ketosäuren oder Thioglykolsäure beschleunigen.

Die Autoxydation der ungesättigten Fettsäuren ist sehr häufig untersucht worden, weil sie das Trocknen des Leinöls bedingt und dadurch für die gewerbliche Verwendung von Anstrichfarben und für die Malerei von größter Bedeutung ist. Bekanntlich werden dabei die Sauerstoff-

¹ Liebigs Ann. 508, 263 (1934).

² Vgl. SZENT-GYÖRGYI: Biochem. Z. 146, 257 (1924); 149, 189 (1924).

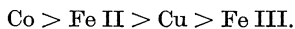
moleküle als solche addiert, es entstehen Peroxyde. Die Struktur der Reaktionsprodukte ist in einer kürzlich erschienenen Arbeit von ST. GOLDSCHMIDT und K. FREUDENBERG¹ aufgeklärt worden. Linolensäure und deren Methylester wurden bei Gegenwart von Kobaltsalzen mit Sauerstoff geschüttelt und der Reaktionsverlauf verfolgt, einerseits durch Messung des absorbierten Sauerstoffs, andererseits durch Bestimmung der verschwundenen Kohlenstoffdoppelbindung mit Hilfe der Jodzähl und durch Festlegung der gebildeten Peroxydgruppen —O—O— mit Jodwasserstoff. Es zeigte sich, daß für jedes aufgenommene Sauerstoffmolekül eine Doppelbindung verschwindet und eine Peroxydgruppe neu entsteht. Es findet also keine gleichzeitige Polymerisation der Äthylenbindungen statt. Da aber die Reaktionsprodukte hochmolekular sind, müssen die peroxydischen Bindungen zwischen den Fettsäuremolekülen stehen und sie zu größeren Molekülen vereinigen. Allgemeine Formulierung:



OTTO MEYERHOF² entdeckte 1923, daß Thioglykolsäure die Sauerstoffaufnahme von Lecithin oder Linolensäure stark fördert. Setzt man außerdem ein Schwermetallsalz (z. B. CuSO_4) zu, so wird der Gesamtumsatz größer. Es scheint, daß die Katalysen mit und ohne Schwermetall nicht unmittelbar etwas miteinander zu tun haben³. Das geht schon daraus hervor, daß die metallfreie Reaktion mit der Umwandlung der Thioglykolsäure in Dithioglykolsäure zu Ende ist, während der Vorgang mit Schwermetall eine echte, lange Zeit laufende Katalyse ist. Wir werden deshalb die metallfreie Katalyse erst in einem späteren Kapitel behandeln.

Das System Fe II-Thioglykolsäure-Linolensäure ist ein kombiniertes Autoxydationssystem⁴, denn die Thioglykolsäure läßt sich durch Dioxymaleinsäure und Dioxyweinsäure ersetzen. Die organischen Katalysatoren blieben dabei im Eisenkomplex überraschend gut gegen Autoxydation geschützt.

Die organischen Komplexbildner wirken auf verschiedene Schwermetalle recht verschiedenartig. Ordnet man die Metalle nach absteigender Aktivität, so findet man ohne Zusatz die Reihe:



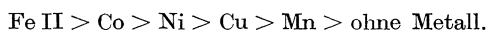
Kobalt überragt alle anderen Metalle bei weitem, während Mangan und Nickel völlig inaktiv sind. Dioxymaleinsäure beschleunigt die Katalyse

¹ Ber. 67, 1589 (1934). — ² Pflügers Arch. 199, 531 (1923); 200, 1 (1923).

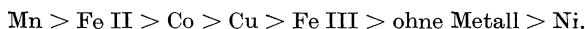
³ FRANKE, W.: Liebigs Ann. 498, 129 (1932).

⁴ WIELAND und FRANKE: l. c.; FRANKE, W.: l. c.

mit Fe II auf den 7fachen Wert, man findet nunmehr die Reihenfolge:



Mit Thioglykolsäure verändert sich bei Zusatz von Fe II oder Cu die Geschwindigkeit kaum, während Nickel, Kobalt und Mangan ausgesprochen hemmen! Verwendet man endlich α, α' -Dipyridyl als komplexbildende Komponente, so bekommt man wieder eine andere Reihe:



Hier hemmt also nur das Nickel, während Mangan, das sonst immer am Ende stand, diesmal an die Spitze tritt. Aus diesen komplizierten Verhältnissen folgt schon, daß es vorläufig aussichtslos ist, solche Systeme theoretisch behandeln zu wollen.

Von älteren Arbeiten ist die Beobachtung von H. v. EULER und I. BOLIN¹ bemerkenswert, daß Salze aliphatischer Oxyssäuren mit ManganII-salzen bei Gegenwart von Sauerstoff Hydrochinon zu Chinon oxydieren. Sehr wahrscheinlich bilden sich auch hierbei organische Mangankomplexe. Die Messungen wurden bei neutraler oder schwach saurer Reaktion durchgeführt, denn in alkalischer Lösung werden ja Phenole schon von Mangansalzen allein oxydiert. Die Autoren fanden später, daß die von G. BERTRAND beschriebene „Laccase“ aus Luzerne (*Medicago sativa*) nichts weiter ist, als ein Gemisch von Calciumsalzen verschiedener Oxy- und Oxosäuren. Glykolsäure, Äpfelsäure und Mesoxalsäure wurde nachgewiesen. H. WIELAND und F. G. FISCHER² zeigten dann, daß bei der Reaktion in fast quantitativer Ausbeute Wasserstoffperoxyd entsteht, es liegt also eine Dehydrierung im Sinne von WIELAND vor.

Will man die Cyankomplexe zu den organischen Katalysatoren zählen, so ist erwähnenswert, daß man bei Gegenwart von Natriumpentacyano-ammino-ferroat und Natriumpentacyano-aquo-ferroat³ gewisse Pyrimidine (Isobarbitursäure, 5-Amino-uracil, Thymin), ferner Hydanthoin mit Luft oxydieren kann. Aus Thymin entsteht dabei Harnstoff und Brenztraubensäure⁴.

Y. SHIBATA und Mitarbeiter⁵ haben die stereochemisch auswählende Wirkung von organischen optisch aktiven Kobaltkomplexen untersucht. Die Erscheinung der stereochemischen Spezifität werden wir erst bei den

¹ Z. physiol. Chem. **57**, 80 (1908); **61**, 1, 72 (1909); Z. physik. Chem. **69**, 187 (1910). — ² B. **59**, 1188 (1926).

³ Dargestellt von HOFMANN, K. A.: Liebig's Ann. **312**, 1 (1900).

⁴ BAUDISCH, O.: J. of biol. Chem. **71**, 501 (1927); BAUDISCH, O. und L. W. BRASS: Am. Soc. **46**, 184 (1924); BAUDISCH O. und D. DAVIDSON: J. of biol. Chem. **75**, 247 (1927).

⁵ SHIBATA Y. und R. TSUCHIDA: Bull. chem. Soc. Japan **4**, 142 (1929); C. 29 II 2043; SHIBATA, Y., Y. TANAKA und S. GODA: Bull. chem. Soc. Japan **6**, 210 (1931); C. 32 I 532.

basischen Katalysatoren näher betrachten, wo sie besonders genau bearbeitet worden ist. Dort handelt es sich stets um Katalysatoren, die asymmetrische Kohlenstoffatome besitzen. Daß auch die Molekülasymmetrie stereochemisch spezifisch wirkt, ist eine wertvolle Ergänzung unserer Kenntnisse. l-Diäthylendiamin-monoammino-monochloro-cobaltibromid beschleunigt die Autoxydation des l-Dioxy-phenylalanins mehr als die der d-Form, ferner wird d-Catechin durch die d-Form desselben Komplexsalzes viel rascher oxydiert als durch die l-Form.

Peroxydasewirkung.

Im Rahmen der Untersuchungen von WIELAND und FRANKE¹ über den Mechanismus der Eisenwirkung ist auch die sogenannte FENTONSche Reaktion² untersucht worden. Man versteht darunter die Oxydation der Weinsäure mit Wasserstoffperoxyd bei Gegenwart von FeII-salzen. EisenIII-salze sind völlig unwirksam. Man muß annehmen, daß hierbei die primären Oxydationsprodukte der Weinsäure, nämlich Dioxymaleinsäure und Dioxyweinsäure, eine ähnliche Rolle spielen, wie bei der Autoxydation der Weinsäure. Die Dioxyweinsäure bildet einen FeII-Komplex, dadurch werden die katalytischen Eigenschaften der FeII-Ionen verstärkt und zugleich der Übergang in Fe III verhindert, da die dreiwertige Stufe im Komplex leicht zur zweiwertigen reduziert wird. Daß es sich wirklich so verhält, zeigen Versuche über die Oxydation der unterphosphorigen Säure mit Wasserstoffperoxyd und EisenII-salz unter Zusatz von Dioxymaleinsäure³. Der starke Primäreffekt, der schon ohne Dioxymaleinsäure auftritt und sehr wahrscheinlich durch Kettenreaktionen zu erklären ist, wird durch den organischen Katalysator noch wesentlich verstärkt. Gleichzeitig erhält die Reaktion den katalytischen Charakter, der ihr vorher fehlte. Die Beschleunigung ist bei kleinen Konzentrationen proportional dem Zusatz an Dioxy-maleinsäure.

R. KUHN und L. BRANN⁴ haben einige organische Eisenkomplexe auf ihre peroxydatische Wirksamkeit untersucht. Die Aktivität des Natrium-pentacyano-aquo-ferroats, die zuerst von O. BAUDISCH⁵ gefunden worden war, wurde bestätigt bei Verwendung von Benzidin und p-Phenylendiamin als Substrat. Dagegen erwies sich der Katalysator als unbrauchbar bei der Oxydation von Jodwasserstoff mit Wasserstoffperoxyd. Peroxydatisch unwirksam waren auch Tri- α, α' -dipyridylferrobromid, Nitroprussidnatrium und die Komplexsalze, die man aus EisenII-salzen mit Barbitursäure und Isonitroso-dimedon erhält.

¹ Liebigs Ann. 457, 1 (1927). — ² FENTON: Soc. 65, 892 (1894).

³ WIELAND, H. und W. FRANKE: Liebigs Ann. 475, 1 (1929).

⁴ Ber. 59, 2370 (1926). — ⁵ Naturw. 13, 752 (1925).

Katalasewirkung.

Die katalatische Spaltung des Wasserstoffperoxyds mit Natriumpentacyano-aquo-ferroat ist von R. KUHN und L. BRANN¹ untersucht worden. Die Autoren fanden die Verbindung ohne Wirkung, während sie nach einer späteren Arbeit von St. GOLDSCHMIDT und St. PAUNZ² aktiv ist. Das abweichende Ergebnis ist wohl durch die verschiedene Empfindlichkeit der Meßmethoden zu erklären.

Nach H. WIELAND und W. FRANKE³ wird Wasserstoffperoxyd durch EisenII-salze rascher zersetzt, wenn Aminosäuren, besonders Alanin, zugegen sind. H. v. EULER und B. JANSSON⁴ fanden, daß KupferII-salze im Komplex mit Alkoholen, Oxysäuren oder Aminosäuren keine oder nur eine sehr geringe katalatische Wirkung entfalten. Besser ist die Aktivität komplexer Kupferkationen. Eine 0,02 molare Lösung von Pyridin beschleunigt gegenüber einfachen KupferII-salzen auf den 3fachen Wert. Die Beschleunigung steigt stark mit wachsender Pyridinkonzentration. Indessen bietet der organische Katalysator keinen Vorteil gegenüber Ammoniak, vielmehr wird er von diesem übertroffen, was wohl an der höheren Affinität des Ammoniaks zum KupferII-Ion liegt.

W. MANCHOT und W. PFLAUM⁵ machten die interessante Beobachtung, daß EisenII-salze von Wasserstoffperoxyd nicht vollständig zum EisenIII-salz oxydiert werden, wenn α , α' -Dipyridyl zugegen ist. Stets erhält man die charakteristische rote Farbe der komplexen EisenII-tri-dipyridyl-Ionen. R. KUHN und A. WASSERMANN⁶ verfolgten die Erscheinung quantitativ und kamen zu dem überraschenden Ergebnis, daß EisenIII-salze bei Gegenwart von Dipyridyl von Wasserstoffperoxyd vollständig zur zweiwertigen Stufe reduziert werden. Eine einfache Erklärung wäre, daß durch die Komplexbildung das Oxydationspotential des EisenIII-Ions so weit verändert wird, daß Reduktion durch H_2O_2 stattfinden kann. KUHN und WASSERMANN erklären die Erscheinung etwas abweichend so, daß im Gleichgewicht von Eisensalz und Wasserstoffperoxyd stets etwas EisenII-Ion vorhanden ist und vom Dipyridyl fortlaufend abgefangen wird. Die Reduktion findet auch mit o-Phenantrolin statt, wenn auch bedeutend langsamer. Für die Deutung des katalatischen Reaktionsmechanismus ergibt sich so die Möglichkeit, daß der Wertigkeitswechsel des Eisens eine Rolle spielen kann.

An diesen Komplexsalzen haben nun KUHN und WASSERMANN sehr eigenartige Vorgänge beobachtet. Bringt man Mischungen von EisenIII-salzen und Wasserstoffperoxyd mit Dipyridyl zusammen, so findet man in der ersten Reaktionsphase einen kräftigen „Katalasestoß“. Die Sauer-

¹ Ber. **59**, 2370 (1926). — ² Liebigs Ann. **502**, 1 (1933).

³ Liebigs Ann. **457**, 1 (1927). — ⁴ Monatsh. **53/54**, 1014 (1929).

⁵ Z. anorg. u. allg. Chem. **211**, 1 (1933).

⁶ Liebigs Ann. **503**, 203 (1933).

stoffentwicklung läßt dann nach und geht in eine langsamere gleichmäßige Katalyse über. Denselben Primäreffekt erhält man, wenn man Dipyridyl und Wasserstoffperoxyd mit Eisenalaun oder eine Mischung von Eisenalaun und Dipyridyl mit Wasserstoffperoxyd versetzt. Dagegen bleibt der Effekt aus, wenn das fertige Komplexsalz $\text{Fe}(\text{Dipyridyl})_3\text{SO}_4$ mit Wasserstoffperoxyd zusammentrifft. Offenbar kommt es darauf an, daß der Tri-dipyridyl-eisenII-Komplex im Entstehungszustande mit dem Wasserstoffperoxyd reagiert, und es ist eine einleuchtende Erklärung, daß die Vorstufen des fertigen Komplexsalzes als Katalase besonders wirksam sind. Es könnte sich z. B. um die Ionen $[\text{Fe}(\text{dipyridyl})]^{2+}$ oder $[\text{Fe}(\text{Dipyridyl})_2]^{2+}$ handeln.

Wie aus der vorstehenden Zusammenstellung ersichtlich ist, sind die katalytischen Eigenschaften von einfachen organischen Schwermetallkomplexen nur sehr lückenhaft untersucht worden. Die meisten Arbeiten, die sich mit dem Gebiet beschäftigen, verfolgen in der Hauptsache andere Ziele. Nur gelegentlich sind Ansätze zu einer systematischen Bearbeitung zu erkennen. Umfassende Untersuchungen über die Beziehungen zwischen der Konstitution des Komplexbildners und der Aktivität des Komplexes würden wahrscheinlich über den Mechanismus der Aktivierung durch Komplexbildung wertvolle Aufschlüsse bringen. Viel besser als die einfachen Eisenverbindungen sind die Eisen-Porphyrin-Komplexe untersucht worden.

2. Katalytische Wirkungen der Hämine.

Durch die bekannten Versuche von O. WARBURG, K. ZEILE, R. KUHN und ihren Mitarbeitern, denen es gelang, in gewissen Fermenten Eisen-Porphyrin-Komplexe nachzuweisen, ist das allgemeine Interesse besonders auf die katalytischen Wirkungen der Hämine gelenkt worden. Dadurch ist es bedingt, daß seit dem Jahre 1928 eine umfangreiche Literatur über Häminkatalysen entstanden ist. Die Erkenntnis, daß der Blutfarbstoff und seine Abkömmlinge besonders starke katalytische Wirkungen entfalten, ist aber schon sehr alt. Sie beginnt mit SCHÖNBEINS¹ Versuchen an roten Blutkörperchen (1858). Von bleibendem Wert sind aber erst diejenigen Arbeiten, die sich quantitativer Meßmethoden bedienen. Wir wollen deshalb unsere Darstellung mit diesem Zeitpunkt beginnen lassen.

Oxydasewirkung.

Meßmethode. Das eleganteste Verfahren, den Verbrauch an Sauerstoff zu messen, ist die manometrische Methode. Sie ist zuerst von BARCROFT angewandt und besonders von O. WARBURG durchgearbeitet worden. Das Prinzip der Methode besteht darin, in kleinen Gefäßen

¹ Vgl. S. 5.

von 10—20 ccm Inhalt bei konstantem Volumen die Druckabnahme durch das Sinken einer Flüssigkeitssäule zu messen. Aus dem Volumen des „Atmungsstoges“ und der angewandten Flüssigkeitsmenge läßt sich, unter Berücksichtigung der Löslichkeit des Sauerstoffs in der Flüssigkeit, leicht das verbrauchte Sauerstoffvolumen berechnen. Da das Verfahren wiederholt in Handbüchern beschrieben worden ist¹, brauchen wir nicht auf Einzelheiten einzugehen. In neueren Arbeiten wird der Sauerstoffverbrauch fast stets auf diese Weise gemessen. Die Vorteile sind z. B. der geringe Materialverbrauch, der bei kostbaren Substanzen eine wesentliche Rolle spielen kann, ferner die bequeme gleichzeitige Durchführung von Reihenversuchen mit mehreren Manometern und besonders die Möglichkeit, zu jedem beliebigen Zeitpunkt Ablesungen vornehmen zu können, ohne daß man dabei die Reaktion zu unterbrechen brauchte.

Die Substrate, die sich bei Gegenwart von Hämin mit molekularem Sauerstoff oxydieren lassen, können sehr verschiedener Art sein. Untersucht sind in erster Linie ungesättigte Kohlenwasserstoffe oder Fettsäuren, Thiolverbindungen und Aldehyde.

a) Ungesättigte Verbindungen. M. E. ROBINSON² hat zum erstenmal beobachtet, daß Hämoglobin, Methämoglobin und Hämin brauchbare Katalysatoren bei der Autoxydation von Leinöl sind. Die Katalyse beruht auf dem Eisengehalt, da Hämatoporphyrin unwirksam ist. Auf gleiche Eisenmengen berechnet, ist Blutfarbstoff viel aktiver als anorganische Eisensalze. Die Messungen wurden später von R. KUHN und K. MEYER³ wiederholt und auf andere ungesättigte Verbindungen ausgedehnt. Der Autoxydation mit Hämin waren zugänglich: Sorbinsäure, Ölsäure (50mal schneller als Elaidinsäure), Ölsäure-äthylester 8mal langsamer, Olivenöl 2mal langsamer als Ölsäure. Linolsäuremethylester wurde 14,5mal so schnell angegriffen wie Ölsäure-äthylester. Resistent gegen Sauerstoff waren Crotonsäure, Decensäure und Undecensäure (endständige Doppelbindungen!), ferner Stearolsäure (3fache Bindung!). Dagegen wird die Autoxydation von Norbixin, einer hochungesättigten Säure aus der Gruppe der Carotinoide, durch Hämin in verdünnter Natronlauge beschleunigt. Alle diese Katalysen, mit Ausnahme der letztgenannten, werden, wie schon ROBINSON fand, durch Blausäure kaum gehemmt.

Endlich sind auch Vitamin A-haltige Leberextrakte untersucht worden⁴. Die Autoxydationsbeschleunigung durch Hämin scheint parallel zu gehen dem Gehalt an Vitamin A.

¹ Vgl. z. B. KREBS, H. A. in OPPENHEIMER-PINKUSSEN: Die Methodik der Fermente 1929, 635. — ² Biochemic. J. 18, 255 (1924).

³ Z. physiol. Chem. 185, 193 (1929).

⁴ v. EULER, H. und L. AHLSTRÖM: Z. physiol. Chem. 204, 168 (1932).

W. FRANKE¹ verglich die Wirkung verschiedener Hämine bei der Autoxydation der Leinölsäure. Die Katalysatoren kamen in Pyridin gelöst zur Anwendung. Deuterohäminester² war aktiver als Mesohämin, dieses wieder wirksamer als Hämin, aber die Unterschiede waren nicht groß. $0,5 \cdot 10^{-6}$ mg Hämineisen in 1 ccm Reaktionslösung geben schon einen deutlichen katalytischen Effekt.

Heterogene Oxydasen. Adsorbiert man Hämin an Tierkohle oder Fasertonerde, so wird die Wirkung gegenüber Leinöl geschwächt. Adsorption an Metazinnsäure läßt die Aktivität unverändert³.

b) Thiolverbindungen. D. C. HARRISON⁴ wies zuerst darauf hin, daß die Autoxydation von Cystein zu Cystin durch Spuren Hämatin katalysiert wird. Nach C. VORGLIN, J. M. JOHNSON und S. M. ROSENTHAL⁵ ist die Wirkung auf SH-Glutathion viel geringer. Die Reaktion erhielt ihre allgemeinere Bedeutung durch Versuche von O. WARBURG und Mitarbeitern, die sie als Modellreaktion benutzten, um daran die Hemmung des Atmungsferments durch Kohlenoxyd und die Beseitigung dieser Hemmung durch Licht zu demonstrieren. Einige Versuche seien als Beispiele genannt⁶:

Löst man 0,0125 mg Hämin in 2 ccm 5%iger wäßriger Nicotinlösung, fügt 12 mg Cystein hinzu und schüttelt in einer Atmosphäre von 95 Vol.-% N₂ und 5% O₂ bei 20°, so überträgt 1 mg Hämineisen 150000 cmm Sauerstoff pro Stunde. Hämin ohne Nicotin ist bei gleichem p_H und Sauerstoffdruck 15mal weniger wirksam.

Ersetzt man den Stickstoff durch Kohlenoxyd, so wird die Reaktion um 60% gehemmt. Belichtet man mit einer 75-Wattlampe aus 6 cm Entfernung, so verschwindet die Hemmung zum größten Teil, im Dunkeln erscheint sie wieder.

Die Ursache dieser merkwürdigen Erscheinungen ist folgende: Hämin wird zunächst durch das Cystein zum Häm reduziert, das mit dem Nicotin eine Molekülverbindung, ein sogenanntes Hämochromogen bildet. Dieses Hämochromogen ist der wirksame Katalysator. Kohlenoxyd besitzt nun die Fähigkeit, sich unter Verdrängung der organischen

¹ Liebigs Ann. **498**, 129 (1932).

² Deuterohämin ist ein Protohämin, in dem die beiden Vinylgruppen durch H ersetzt sind [FISCHER, H.: Z. physiol. Chem. **161**, 17 (1926); FISCHER, H. und A. KIRSTAHLER, Liebigs Ann. **466**, 178 (1928)]. Es läßt sich am bequemsten darstellen nach SCHUMM, O.: Z. physiol. Chem. **178**, 1 (1928), der es als „Pyratin“ bezeichnet.

³ KUHN, R. und R. WASSERMANN: Ber. **61**, 1550 (1928).

⁴ Biochemic. J. **18**, 1009 (1924).

⁵ Publ. Health Rep. **46**, 2234 (1934); C. **34** I 872.

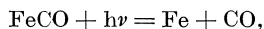
⁶ KREBS, H. A.: Biochem. Z. **193**, 347 (1928); Einwendungen von DIXON, M.: [Biochemic. J. **22**, 902 (1928)] wurden von KREBS als nicht stichhaltig zurückgewiesen [Biochem. Z. **201**, 489 (1928)].

Base an das Eisen des Komplexes anzulagern. Kohlenoxyd-Hämochromogen ist katalytisch unwirksam, es läßt sich aber durch Belichten spalten, ähnlich wie Kohlenoxyd-Hämoglobin und Eisen-pentacarbonyl. Dadurch wird katalytisch wirksames Hämochromogen zurückgebildet. Das Atmungsferment verhält sich ähnlich, und bekanntlich hat WARBURG das photochemische Verhalten des Kohlenoxydferments benutzt, um dessen relatives und absolutes Spektrum auf indirektem Wege zu messen¹. Später zeigte sich, daß die Katalyse nur dann mit brauchbarer Geschwindigkeit verläuft, wenn neben dem Hämin noch Spuren EisenII-salze zugegen sind².

Durch Messung der eingestrahlten Energie ergibt sich das Verhältnis³:

$$\frac{\text{abgespaltene Mole CO}}{\text{eingestrahlte Mole Lichtquanten}}$$

bei der Wellenlänge γ 546 zu 0,79, bei γ 436 zu 0,82. Die Zahlen nähern sich dem Werte 1, es gilt daher die photochemische Gleichung:



wobei FeCO der vereinfachte Ausdruck für das Kohlenoxyd-nicotin-hämochromogen ist, das in Wirklichkeit aus 1 Mol. Häm, 1 Mol. Nicotin und 1 Mol. Kohlenoxyd besteht.

Für den Mechanismus der Hämin-Cystein-Katalyse ist die Beobachtung von KREBS⁴ bemerkenswert, daß Hämin bei p_{H} 5,9 fast unwirksam ist, reduziertes Hämin dagegen kräftig beschleunigt. Käme die Katalyse durch einen Wertigkeitswechsel des zwei- und dreiwertigen Hämineisens zustande, so müßten oxydiertes und reduziertes Hämin die gleiche Wirkung entfalten. Da ein Unterschied besteht, scheint das gegen diesen einfachsten Mechanismus zu sprechen. Es könnte sich allerdings auch um eine Kettenreaktion handeln, derart etwa, daß bei Oxydation von 1 Mol. Häm eine größere Anzahl Cysteinmoleküle umgesetzt wird. Dann müßte, wie es tatsächlich der Fall ist, die Reaktion mit der größten Geschwindigkeit ablaufen, wenn alles Hämin in der reduzierten Form vorliegt. Da Hämin bei p_{H} 5,9 durch Cystein nur noch sehr langsam reduziert wird, wäre die geringe Oxydationsgeschwindigkeit mit Hämin verständlich.

e) **Aldehyde.** R. KUHN und K. MEYER⁵ haben gefunden, daß die Autoxydation des Benzaldehyds eine Schwermetallkatalyse ist. Reinigt man den Aldehyd durch Destillation und Ausfrieren vollständig, so ist er gegen Sauerstoff beständig. Hämin beschleunigt die Autoxydation 50mal stärker als EisenII-salze, aber nur bei Gegenwart von Pyridin.

¹ WARBURG, O.: Naturw. **16**, 245, 856 (1928).

² WARBURG, O. und E. NEGELEIN: Biochem. Z. **200**, 414 (1928).

³ WARBURG, O. und E. NEGELEIN: Biochem. Z. **200**, 414 (1928); **204**, 495 (1929). — ⁴ Zitiert auf S. 21.

⁵ Naturwiss. **16**, 1028 (1928); MEYER, K.: J. of biol. Chem. **103**, 25 (1933).

In sekundärem Phosphat gelöstes Hämin ist unwirksam. Die Katalyse ist äußerst empfindlich gegen Blausäure, sie wird dabei etwa ebenso stark gehemmt, wie das WARBURGSche Atmungsferment.

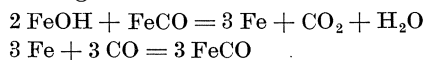
Demgegenüber ist die Beschleunigung bei Aldehyden, die als Zwischenprodukte der Gärung auftreten, nur gering¹. Schüttelt man 17,1 mg Methylglyoxal mit 8,2 mg Hämin, gelöst in Pyridin, so steigt der Sauerstoffverbrauch auf den 3fachen Wert gegenüber dem Blindversuch. Die Autoxydation des Dioxyacetons wird unter diesen Bedingungen nur um 43%, die des Glycerinaldehyds nur um 29% beschleunigt. Zum Unterschied von der Oxydation des Benzaldehyds hemmt Cyankali nicht, sondern beschleunigt sogar noch etwas. Bei diesen Substraten wirkt Hämin bedeutend schwächer als EisenII-sulfat.

Es ist also nicht so, daß die Komplexbildung des Eisens mit Porphyrinen immer eine Erhöhung der Aktivität zur Folge hätte. Das kommt auch darin zum Ausdruck, daß Porphyrine wie Deuteroporphyrinester oder Mesoporphyrin stark hemmen.

Es gibt sogar Fälle, bei denen Hämine ausgesprochen negative Katalysatoren sind², z. B. Oxyhämoglobin, Kohlenoxyd-Hämoglobin, Methämoglobin und Hämin, gegenüber Furfurol und Acrolein.

d) **Verschiedene Substrate.** Gewisse „grüne“ und „mischfarbene“ Hämine, die sich zum Teil vom Chlorophyll ableiten, haben die interessante Eigenschaft, in alkalischer Lösung Kohlenoxyd katalytisch zu verbrennen³. Brauchbar sind hierzu Diacetyl-deuterohämin, Phäohämin-a, Phäohämin-b, Spirographishämin, Phäophorbid-a-hämin, Phäophorbid-b-hämin.

Der Reaktionsverlauf ist so, daß sich zunächst durch innermolekulare Reaktion eine kleine Menge Kohlenoxydverbindung des reduzierten Hämins (FeCO) bildet. In dieser Bindung ist das Kohlenoxyd aktiviert und kann durch 1 Mol. Oxyhäm (FeOH) zu Kohlendioxyd oxydiert werden. Das entstandene reduzierte Hämin (Fe) kann sich dann wieder mit Kohlenoxyd vereinigen:



Summengleichung: $2 \text{FeOH} + 3 \text{CO} = \text{CO}_2 + 2 \text{FeCO} + \text{H}_2\text{O}$.

Die Katalyse kommt dadurch zustande, daß sich mit Sauerstoff wieder FeOH bildet. Daß es wirklich die Kohlenoxydverbindung des reduzierten Hämins ist, die oxydiert wird, muß man daraus schließen, daß bei zu hohem Sauerstoffdruck die Katalyse versagt. Dann geht nämlich die Rückoxydation des reduzierten Hämins so rasch vor sich, daß in Lösung praktisch kein FeCO mehr vorhanden ist. Die Katalyse

¹ AHLSTRÖM, L. und H. v. EULER: Z. physiol. Chem. **200**, 233 (1931).

² DUFRAISSE, CH. und R. HORCLOIS: C. r. **191**, 1126 (1930).

³ NEGELEIN, E.: Biochem. Z. **243**, 386 (1931).

beginnt erst einige Zeit nach Zugabe des Katalysators, in Übereinstimmung mit der Annahme, daß sich zunächst eine kleine Menge Häm bilden muß.

Überraschend ist auch, daß tertiäre Aminosäuren, wie N-Dimethyl-leucin oder N-diäthyl-alanin, bei Gegenwart von Häm in einer Lösung von sekundärem Natriumphosphat Sauerstoff aufnehmen und in Aldehyd, CO₂ und sekundäres Amin zerfallen¹, während die natürlichen primären Aminosäuren unter diesen Bedingungen nicht der Autoxydation unterliegen².

Die physiologische Bedeutung des Oxyhämoglobins ist bekanntlich nicht die eines Sauerstoffüberträgers, sondern eines Transportmittels für den Sauerstoff. Trotzdem sind gelegentlich auch schwache Oxydasewirkungen des Hämoglobins, z. B. gegenüber Hydrochinon, Hydrazobenzol und Phenylhydroxylamin beobachtet worden³.

Peroxydasewirkung.

Meßmethode. Für die Übertragung von peroxydischem Sauerstoff sind sehr verschiedenartige Substrate verwendbar und auch tatsächlich zu Aktivitätsmessungen benutzt worden. Nach A. BACH und R. CHODAT⁴ nimmt man Jodwasserstoff. Das entstandene Jod kann bequem titrimetrisch bestimmt werden. F. BATELLI und L. STERN⁵ messen die Oxydation von Ameisensäure. Von Leukoverbindungen kommen als Substrate nach KASTLE und SHED⁶ Phenolphthalin (reduziertes Phenolphthalein), nach R. und O. ADLER⁷ Leukomalachitgrün in Frage. Auch die Oxydation von Benzidin zu Purpurobenzidin ist brauchbar⁸. R. WILLSTÄTTER und A. STOLL⁹ bevorzugten bei Enzymversuchen die Pyrogallol-Methode, bei der das entstandene gelbe Purpurogallin ausgeäthert und kolorimetriert wurde. Mit kleinen Abänderungen hat sich das Verfahren auch für Häminkatalysen gut bewährt, es sei deshalb etwas näher beschrieben:¹⁰

¹ BERGEL, F. und K. BOLZ: Z. physiol. Chem. **215**, 25 (1933).

² Ber. **61**, 1566 (1928).

³ HEUBNER, W. und R. MAIER: Arch. f. exper. Path. **100**, 137 (1923); HEUBNER, W., R. MEIER und H. RHODE: ebenda **100**, 149 (1923); HEUBNER, W.: Naturwiss. **16**, 515 (1928).

⁴ Ber. **36**, 603 (1903); KUHN, R. und L. BRANN: Ber. **59**, 2370 (1926).

⁵ Biochem. Z. **13**, 44 (1908).

⁶ Amer. chem. Journ. **26**, 26 (1904); v. EULER, H., H. NILSSON und D. RUNEHJELM: Sv. kem. Tidskr. **41**, 85 (1929).

⁷ Z. physiol. Chem. **41**, 58 (1904); v. FÜRTH, O.: Probleme der physiol. und pathol. Chemie **2**, 528 (1913).

⁸ ZIRM, K. L., F. REUTER und H. WILLSTAEDT: Biochem. Z. **245**, 290 (1932); Liebigs Ann. **500**, 61 (1932). — ⁹ Liebigs Ann. **416**, 21 (1918).

¹⁰ LANGENBECK, W., R. HUTSCHENREUTER und W. ROTTIG: Ber. **65**, 1750 (1932).

50 mg reines, nach der Pyridin-Methode umkrystallisiertes Hämin werden mit 50 ccm $\frac{m}{10}$ Na_2HPO_4 30 Minuten unter häufigem Umschütteln auf dem Wasserbade erwärmt. Das Hämin geht dabei in Lösung. 0,25 ccm Häminlösung versetzt man mit 4,75 ccm Wasser und gegebenenfalls mit 0,001 Mol. einer organischen Base (siehe unten), und verwendet von dieser Mischung für jeden Versuch 2 ccm (0,1 mg Hämin). In einen 100 ccm-Meßkolben gibt man 4 ccm $\frac{n}{10}$ Wasserstoffperoxyd und 20 ccm $\frac{m}{10}$ Phosphatpuffer (z. B. $p_{\text{H}} = 6$). Der Kolben wird mit CO_2 -freiem Wasser auf 100 ccm aufgefüllt und 1 Stunde in Eis auf 0_0 abgekühlt. Währenddessen wägt man 0,25 g reines Pyrogallol in einen trockenen Kolben von 200 ccm Inhalt ein und stellt diesen kurz vor Beginn der Messung in Eis. Das Pyrogallol wird dann mit dem gekühlten Inhalt des Meßkolbens übergossen und durch Umschütteln rasch in Lösung gebracht. Dazu kommt unter raschem Mischen die Häminlösung. Das Ganze bleibt genau 15 Minuten (gerechnet vom Zeitpunkt des Katalysatorzusatzes) in Eis stehen. Die gelbe Mischung wird in 20 ccm 10%ige Schwefelsäure gegossen und sofort 3mal ausgeäthert¹, so daß das Gesamtvolumen des Äthers etwa 50 ccm beträgt. Die Ätherlösung wird kolorimetrisch bestimmt gegen eine Standardlösung, die 10 mg Purpurogallin in 1 l Äther enthält.

Die früher von A. BACH, A. BUCKMASTER, WOLFF und DE STOECKLIN, O. v. FÜRTH² u. a. vielfach diskutierte Frage, ob Hämoglobin und Hämatin als echte Peroxydase zu betrachten sind oder nicht, ist durch Arbeiten von R. WILLSTÄTTER und Mitarbeitern³ entschieden worden. Ein Vergleich der peroxydatischen Wirkungen des Oxyhämoglobins mit derjenigen gereinigter pflanzlicher Peroxydase zeigte, daß qualitativ die Wirkung ähnlich ist, daß aber der Blutfarbstoff ein viel schwächerer Katalysator ist.

Hämoglobine verschiedener Tiere verhalten sich nicht ganz gleich, wie sie ja auch sonst in Krystallform und Löslichkeit ausgeprägte Unterschiede zeigen, die auf den verschiedenen Bau der Globine zurückzuführen sind. Wenn 100 mg Oxyhämoglobin mit 50 mg Wasserstoffperoxyd auf 5 g Pyrogallol 5 Minuten einwirkten, so ergibt sich in nachfolgender Tabelle 1.

Abspaltung des Globins unter Bildung von Hämin hat eine Verminderung der peroxydatischen Wirksamkeit gegenüber Jodwasserstoff

¹ Den Äther bewahrt man längere Zeit vorher über einer schwefelsauren Lösung von EisenII-sulfat auf.

² Vgl. v. FÜRTH, O.: Probleme der physiol. u. pathol. Chemie **2**, 531 (1913).

³ WILLSTÄTTER, R. und A. POLLINGER: Z. physiol. Chem. **130**, 281 (1923); WILLSTÄTTER, R. und A. STOLL: Liebigs Ann. **416**, 62 (1927); vgl. auch BACH, A. und A. KULTJUGIN: Biochem. Z. **167**, 227 (1926).

zur Folge, wenn man Lösungen von gleichem Eisengehalt vergleicht¹. Dabei spielt die Art, wie man das Hämin in Lösung bringt, eine Rolle. In wäßriger Pyridinlösung ist es stärker aktiv, als in wäßriger Dinatriumphosphatlösung. Anlagerung von 2 Mol. Wasserstoff an das Hämin (Mesohämin) bewirkt eine starke Verlagerung des p_H -Optimums. Während Hämin bei p_H 5 seinen Optimalpunkt hat, wirkt Mesohämin bei dieser Acidität fast gar nicht, bei p_H 6,5 dagegen stärker als Hämin. Bei Veresterung der Carboxylgruppen (Monomethyl-chlorhämin nach W. KÜSTER) oder bei Herausnahme des Eisens (Porphyrine) erlischt die Wirkung fast völlig.

Tabelle 1. Peroxydatische Wirkung verschiedener Hämoglobine.

Oxyhämoglobin aus	mg Purpurogallin
Pferdeblut	15,2
Hundeblut	11,5
Rinderblut	11,4
Schweineblut	9,3

Nach H. v. EULER und Mitarbeitern² ist die Aktivität von Hämin, Mesohämin und Deuterohämin gegenüber Pyrogallol schwach und etwa gleich. Gegenüber Phenolphthalin zeigen sich Unterschiede. Setzt man die Wirkung des Hämins = 100, so findet man für Deuterohämin 200, für Mesohämin 125.

F. REUTER, H. WILLSTAEDT und K. L. ZIRM³ untersuchten die Peroxydasewirkung verschiedener Hämine gegenüber Benzidin beim p_H -Optimum und bei optimaler Wasserstoffperoxyd-Konzentration. Sie fanden folgende Zahlen:

Tabelle 2. Peroxydatische Wirkung verschiedener Hämine.

Nr.	Katalysator	Optimum		Relative Farbintensität
		p_H	mg H_2O_2	
1	Phäophytin-FeCl	3,6	2,55	59
2	Methylphäophorbid-FeCl	3,6	15	59
3	Phäophorbid-FeCl(b)	3,2	11	97
4	Phylloerythrin-FeCl	3,2	15	87
5	Desoxophylloerythrin-FeCl	3,2	60	132
6	Cl-Hämin	3,6	90	114

¹ KUHN, R. und L. BRANN: Ber. **59**, 2370 (1926); Z. physiol. Chem. **168**, 27 (1927).

² v. EULER, H., D. RUNEHJELM und Sv. STEFFENBURG: Ark. Kemi, Mineralog. Geol. Abt. B. **10**, 1 (1929); C. **29** II 2053; v. EULER, H., H. NILSSON und D. RUNEHJELM: Sv. kem. Tidskr. **41**, 85 (1929); v. EULER, H. und B. JANSSON: Monatsh. Chem. **53/54**, 1014 (1929).

³ Biochem. Z. **261**, 353 (1933).

Es gelang also nicht, sehr weit über die Aktivität des Chlorhämins hinauszukommen.

Verschiedene Substrate. Bei der Oxydation des Schwefelwasserstoffs mit Hydroperoxyd ist Hämin ein schwächerer Katalysator als Eisensalze¹.

Die bekannte Chemilumineszenz bei der Autoxydation des Lophins läßt sich steigern, wenn man etwas Wasserstoffperoxyd und Hämin der alkalischen Lösung zusetzt².

Nach R. L. MAYER³ läßt sich auch der Sauerstoff des Kaliumchlorats mit Hämoglobin auf Substrate wie Jodkalium oder Natriumsulfit übertragen.

Katalasewirkung.

Meßmethode. Am bequemsten ist die Titration des unzersetzten gebliebenen Wasserstoffperoxyds mit Kaliumpermanganat, wie sie z. B. KUHN und BRANN beschreiben⁴. Mit einer kleinen Abänderung kann man den Verlauf der Katalyse zu mehreren Zeitpunkten verfolgen⁵: Als Katalysator dient die bei der Peroxydasemessung beschriebene Lösung von 50 mg Hämin in 50 ccm $\frac{m}{10}$ Na_2HPO_4 . 5 ccm davon werden mit 5 ccm Wasser, das gegebenenfalls 0,002 Mol. einer organischen Base enthält (siehe unten), versetzt. Von dieser Mischung verwendet man 2 ccm für jede Messung (1 mg Hämin). In einen 100 ccm-Meßkolben werden 20 ccm $\frac{n}{10}$ Wasserstoffperoxyd und 20 ccm $\frac{m}{10}$ Phosphatpuffer gegeben, dann wird mit kohlensäurefreiem Wasser auf 100 ccm aufgefüllt. Den gefüllten Kolben kühlt man durch 1stündiges Stehen in Eis auf 0° ab. Dann fügt man die gekühlte Häminlösung hinzu, schüttelt schnell um, entnimmt sofort 25 ccm der Mischung und läßt sie in 10 ccm 10%ige Schwefelsäure einfließen. Man titriert mit $\frac{n}{10}$ Permanganat. Nach 15, 30 und 60 Minuten werden wieder je 25 ccm Lösung entnommen und titriert.

KUHN und BRANN⁶ fanden, daß Hämin bei 0° eine verhältnismäßig starke katalatische Wirkung ausübt, Monomethyl-chlorhämin und Porphyrine waren wirkungslos.

Während man früher glaubte, daß Hämoglobin nicht im geringsten Wasserstoffperoxyd zersetzt⁷, zeigte F. HAUROWITZ⁸, daß ein mehrmals bis zur konstanten Katalasewirkung umkrystallisiertes Hämoglobin in der Größenordnung die gleiche Aktivität entfaltet wie Hämin, wenn

¹ WASSERMANN, A.: Liebigs Ann. **503**, 249 (1933).

² VILLE, J. und E. DERRIEN: C. r. **156**, 2021 (1913); C. 13 II 651.

³ Arch. f. exper. Path. **95**, 351 (1922). — ⁴ Zitiert auf S. 26.

⁵ LANGENBECK, W., R. HUTSCHENREUTER und W. ROTTIG: Ber. **65**, 1750 (1932). — ⁶ Zitiert auf S. 26.

⁷ Vgl. z. B. KULTJUGIN, A.: Biochem. Z. **167**, 238 (1926).

⁸ Z. physiol. Chem. **198**, 9 (1931).

man gleiche Eisenmengen verglich. Dasselbe Bild ergab ein nach HILL und HOLDEN synthetisch aus Globin und Hämin dargestelltes Hämoglobin.

Bemerkenswert ist der starke Anstieg der katalatischen Wirkung vom Hämin zum Mesohämin und Deuterohämin¹. Bezieht man die Reaktionskonstanten k auf gleiche Eisenmengen, nämlich 1 Millimol Fe, so findet man $k/\text{Millimol Fe}$ für Hämin = 0,06, für Mesohämin bei $p_{\text{H}} 6,74 = 1,1$, bei $p_{\text{H}} 8,54 = 1,7$, für Deuterohämin = 1,0. Das bedeutet eine Beschleunigung bis zum fast 30fachen Wert. Beim Deuterohämin fällt die Reaktionskonstante infolge oxydativer Zerstörung des Katalysatormoleküls sehr rasch ab.

In einer Arbeit von H. v. EULER und K. JOSEPHSON² wird die Affinitätskonstante der intermediären Hämin-Hydroperoxyd-Verbindung berechnet und mit der einer gereinigten Katalase verglichen. Aus der Abhängigkeit der katalatischen Aktivität von der Konzentration des Hydroperoxyds wird abgeleitet, daß Wasserstoffperoxyd zum Hämin eine größere Affinität besitzt als zur Katalase. Die viel geringere Aktivität des Hämins erklären die Autoren durch die Annahme, daß der Zwischenstoffreaktionsträger ist als bei der Katalase. Es erscheint aber zweifelhaft, ob der gefundenen Konstante eine reelle chemische Bedeutung zukommt. Wir wissen ja nichts Sicheres über den Mechanismus der Häminkatalyse. Außerdem wird bei höheren Peroxydkonzentrationen das Hämin sehr rasch zerstört, dadurch werden die Werte für die Aktivität unsicher.

Heterogene Häminkatalase. Adsorbiert man Hämin an Tierkohle, so steigt seine Katalasewirkung auf das Doppelte³. An Metazinsäure ist die Aktivität unverändert, an Fasertonerde stark vermindert.

Aktivierung des Hämins durch organische Basen. Die bisherige Literaturübersicht der Häminkatalysen zeigt, daß das Gebiet heute noch einen fast rein beschreibenden Charakter besitzt. Trotz eines großen experimentellen Materials wissen wir nichts Sicheres über den Mechanismus der Katalysen. Wenn es richtig ist, was in der Einleitung zum Ausdruck gebracht wurde, daß die organische Katalyse der Erkenntnis der Enzyme zu dienen hat, so werden wir es als eine große Aufgabe empfinden, aus Häminen künstliche Fermente zu gewinnen, z. B. künstliche Peroxydasen und Katalasen. Der wesentliche Unterschied zwischen dem Hämin und den genannten Enzymen liegt aber in dem

¹ KUHN, R., L. BRANN, C. SEYFFERT und M. FURTER: Ber. **60**, 1151 (1927); v. EULER, H., H. NILSSON und D. RUNEHJELM: Sv. kem. Tidskr. **41**, 85 (1929). — ² Liebigs Ann. **456**, 111 (1927).

³ KUHN, R. und R. WASSERMANN: Ber. **61**, 1550 (1928).

Grade der Wirksamkeit. Von Hämin brauchen wir nach KUHN¹, um die gleiche Reaktionsgeschwindigkeit zu erzielen, die 10⁷-fache Menge, wie von reiner Peroxydase, bezogen auf den Gehalt von Hämineisen.

Nun sind wir in den letzten Abschnitten schon wiederholt Fällen begegnet, bei denen organische Basen, besonders Pyridin, eine wesentliche Beschleunigung der Häminkatalysen bewirkten². Wenn auch die Peroxydase und Katalase in manchen Eigenschaften, besonders in der Festigkeit des Komplexes, wesentlich von den bisher bekannten Häm-Basen-Verbindungen abweichen, so ist es doch heute immer noch die wahrscheinlichste Annahme, daß auch die häminhaltigen Fermente durch Vereinigung des Hämins mit einer unbekanntem hochwirksamen Base entstehen³.

Die Fähigkeit des Hämineisens, organische Basen zu binden, ist in zwei- und dreiwertigem Zustand sehr verschieden. Komplexverbindungen des reduzierten Hämins sind schon seit längerer Zeit in krystalliner Form bekannt⁴. Sie sind verhältnismäßig beständig und enthalten auf 1 Mol. Häm 2 Mol. Base. Man nennt sie Hämochromogene, wobei man den Namen der Base voranstellt (z. B. Pyridin-Hämochromogen). Daß auch das Hämin mit Basen sich verbindet, erkannte man zunächst an der Veränderung, die das Häminspektrum bei Zusatz von Basen erleidet⁵. KEILIN prägte für die neuen Verbindungen den Namen Parahämatine. H. FISCHER, A. TREIBS und K. ZEILE⁶ gelang es zum erstenmal, Pyridin-Parahämatin in krystalliner Form darzustellen. Die Verbindung war aber so labil, daß sie schon bei 40⁰ ihren gesamten Pyridingehalt abgab, bei Zimmertemperatur einen Teil, so daß sie nicht völlig analysenrein gewonnen werden konnte. Die ersten ganz reinen Parahämatine wurden von W. LANGENBECK⁷ erhalten unter Verwendung von Imidazol und seinen Derivaten. Die Imidazol-Parahämatine sind so beständig, daß man sie bei 100⁰ im Vakuum ohne Zersetzung trocknen kann, auch in Lösung sind sie viel stabiler als alle andern Parahämatine. Sie enthalten genau 2 Mol. Imidazol auf 1 Mol. Hämin.

Diese Zusammensetzung ist, wie auch bei den Hämochromogenen, zu verstehen als eine Absättigung des koordinativ ungesättigten Häminkomplexes zu einer Verbindung mit der Koordinationszahl 6. Räumlich

¹ KUHN, R., D. B. HAND und M. FLORKIN: *Naturwiss.* **19**, 771 (1931).

² Z. B. KUHN, R. und L. BRANN: Zitiert auf S. 26.

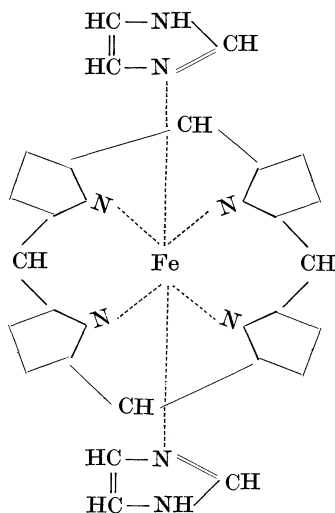
³ Daneben wird von TH. BERSIN die sehr beachtenswerte Hypothese aufgestellt, daß in der Katalase der Proteinschwefel mit dem Hämineisen verbunden ist [*Erg. Enzymforsch.* **4**, 96 (1935)].

⁴ v. ZEYNEK, R.: *Z. physiol. Chem.* **70**, 224 (1910); vgl. auch H. FISCHER, A. TREIBS und K. ZEILE: *Z. physiol. Chem.* **195**, 23 (1931).

⁵ KEILIN, D.: *Proceed. Roy. Soc. (B)* **100**, 129 (1926).

⁶ *Z. physiol. Chem.* **193**, 138 (1930). — ⁷ *Ber.* **65**, 842 (1932).

betrachtet, werden wir sehr wahrscheinlich die bekannte Oktaederstruktur annehmen müssen. Wir erhalten dann folgendes schematisches Bild für ein Imidazol-Parahämatin:



Über die mit Pyridin und Imidazol erzielten Aktivierungen gibt die Tabelle 3 Aufschluß¹.

Tabelle 3. Aktivierende Wirkungen von Pyridin und Imidazol.

Katalysator	Peroxydase-Wirkung mg Purpurogallin	Katalase-Wirkung, ccm verbrauchtes $\frac{n}{10}$ H ₂ O ₂			
		P _H	15 Min.	30 Min.	60 Min.
Häm in ohne Base . .	0,04	8	0,36	0,58	0,92
Häm in + Pyridin . .	0,20	6	0,91	1,32	1,60
		7	0,73	0,97	1,11
Häm in + Imidazol .	0,50	8	0,50	0,67	0,82
		6	1,53	2,24	3,05
		7,5	1,32	1,92	2,40

Von den Basen wurden stets äquivalente Mengen, wie bei den Bestimmungsmethoden angegeben, zur Anwendung gebracht. Da die Bildung der Parahämatine eine Zeitreaktion ist², die in verdünnter Lösung sehr langsam verlaufen kann, wurde Wert darauf gelegt, Häm in und Base zunächst in konzentrierter Lösung zusammen zu bringen, und die Mischung dann erst zur stark verdünnten Substratlösung zu geben.

Das Imidazol erweist sich dem Pyridin sowohl bei der Peroxydase-, wie bei der Katalasemessung um ein mehrfaches überlegen. Es erscheint deshalb nicht aussichtslos, nach Derivaten des Imidazols zu suchen, die

¹ LANGENBECK, W., R. HUTSCHENREUTER und W. ROTTIG: Ber. 65, 1750 (1932). — ² LANGENBECK, W.: Ber. 65, 842 (1932).

den Grundkörper in der aktivierenden Wirkung noch übertreffen. Substitution am Imidazolkern ist aussichtsreicher, als wenn man etwa Veränderungen am Porphyrinkern durchführen wollte. Die katalytischen Eigenschaften hängen zwar, wie wir gesehen haben, auch vom Bau des Porphyrinkerns ab, aber Imidazolsynthesen sind einfacher durchzuführen, und aus der spektroskopischen Untersuchung der Peroxydase und Katalase scheint auch hervorzugehen, daß das zugrunde liegende Hämin vom Bluthämin nicht sehr verschieden oder sogar mit ihm identisch ist.

Die bisherigen Versuche haben tatsächlich zu Derivaten geführt, die dem Imidazol deutlich überlegen sind. Von Interesse sind vor allem die Stoffe, die eine Spezifität des Hämins hervorbringen, wie 4(5)-Phenylimidazol-p-sulfosäure und p-Methoxy-4(5)-phenylimidazol. Sie beschleunigen die Katalasereaktion nicht, die Peroxydasereaktion dagegen sehr stark. Die Parahämatine verhalten sich also ganz ähnlich wie Hämoglobin. Das ist auch für die Enzymtheorie von Bedeutung. Man braucht nun die absolute Spezifität der Peroxydase und die relative Spezifität des Hämoglobins nicht mehr auf den kolloiden Zustand dieser Katalysatoren zurückzuführen, sondern, da eindeutig molekular gelöste Verbindungen dieselbe Spezifität besitzen können, wird man vielmehr die besondere chemische Bindungsart des Eisens dafür verantwortlich machen.

Die folgenden Werte (Tab. 4) wurden teils der erwähnten Arbeit von LANGENBECK, HUTSCHENREUTER und ROTTIG entnommen, teils der Dissertation von W. ROTTIG¹.

Tabelle 4. Aktivierende Wirkungen von Imidazolderivaten.

Katalysator, Hämin +	Peroxydase- wirkung mg Purpurogallin	Katalasewirkung, ccm $\frac{n}{10}$ H ₂ O ₂			
		p _H	15 Min.	30 Min.	60 Min.
Imidazol	0,50	6	1,53	2,24	3,05
4(5)-Methylimidazol	0,28	6	0,88	1,37	1,82
		7	1,94	2,40	2,86
		7,5	2,13	3,00	3,55
		8	1,61	2,15	2,52
4(5)-Phenylimidazol- p-sulfosäure ² . . .	0,55	6	0,42	0,54	0,67
		7,5	0,39	0,53	0,60
p-Methoxy-4(5)- phenylimidazol . .	0,61	6	0,24	0,31	0,33
		7,5	0,12	0,13	0,15
Pilocarpidin	0,66	6	1,02	1,52	1,83
		7,5	0,76	1,12	1,31

¹ Dissertation Münster i. W. 1934.² Zur Konstitutionsaufklärung vgl. Dissertation von W. ROTTIG.

Die Autoxydation des Cysteins wird besonders stark durch tertiäre Imidazole beschleunigt. Pilocarpin-Parahämatin übertrifft Pyridin-Parahämatin um das Doppelte. Doch ist man nicht ganz sicher, ob nicht trotz Pufferung kleine p_H -Verschiebungen hierbei eine Rolle spielen.

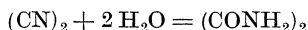
Im Anschluß an diese Versuche wurden von anderer Seite¹ eine Anzahl von Parahämatinen und Hämochromogenen auf Katalasewirkung untersucht. Von Imidazolderivaten erwies sich das Histamin-Parahämatin als doppelt so aktiv wie Imidazol-Parahämatin.

IV. Hauptvalenzkatalysatoren.

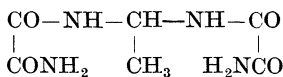
Die Hauptvalenzkatalysen ordnet man zweckmäßig in zwei Gruppen ein, nämlich in Additions- und Spaltungsreaktionen. Jede Gruppe besitzt, wie wir sehen werden, ihre eigentümliche Kinetik. Als Additionsreaktionen wollen wir solche bezeichnen, die aus zwei oder mehr Substraten nur ein einziges Reaktionsprodukt entstehen lassen ($A + B = AB$), während bei den Spaltungsreaktionen aus einem oder mehreren Substraten zwei Reaktionsprodukte gebildet werden ($AB = A + B$). Innerhalb dieser Gruppen werden die Katalysen im folgenden nach ihrer Entdeckung (nicht nach ihrer Aufklärung) chronologisch geordnet.

1. Additionsreaktionen.

a) **Hydratisierung von Dicyan.** Die schon erwähnte² Beobachtung von J. v. LIEBIG, daß Dicyan bei Gegenwart von Acetaldehyd glatt zu Oxamid hydratisiert wird



ist deswegen so interessant, weil die Umsetzung in vollkommen neutralem Medium bei niedriger Temperatur vor sich geht. Es ist deshalb verständlich, daß man sich in der Folgezeit wiederholt mit der Reaktion beschäftigt hat. A. LIEBEN³ fand die Gegenwart von Wasser für das Eintreten der Reaktion unbedingt erforderlich. Dann glaubte man definierte Zwischenprodukte gefaßt zu haben. M. BERTHELOT und PÉAN DE SAINT-GILLES⁴ beschrieben einen Stoff, der bei der Einwirkung von Dicyan auf rohen Aldehyd entstand und der nach heutiger Schreibweise die Zusammensetzung $C_6H_{10}O_4N_4$ besitzen sollte. H. SCHIFF⁵ schrieb ihm folgende Struktur zu:



¹ STERN, K. G.: Z. physiol. Chem. **215**, 35 (1933); **219**, 105 (1933).

² Zitiert auf Seite 6. — ³ Liebigs Ann. Spl. **1**, 115 (1861).

⁴ Liebigs Ann. **128**, 338 (1863); Compt. rend. **56**, 1172 (1863).

⁵ Liebigs Ann. **151**, 211 (1869).

und glaubte, daß diese Verbindung die Bildung des Oxamids vermittele. Dann wurde die Reaktion lange Zeit völlig vergessen und ist erst 60 Jahre später von neuem untersucht worden. W. LANGENBECK¹ konnte zeigen, daß BERTHELOT nicht den einheitlichen Zwischenstoff in Händen gehabt hatte. Das war nicht verwunderlich, denn die Substanz erwies sich als außerordentlich empfindlich. Immerhin gelang es nun, sie in kristallinem und reinerem Zustand zu isolieren. Ihr Verhalten zeigte, daß sie einer anderen Verbindungsklasse angehört als SCHIFF annahm.

Apparatur. Ein Jenenser Rundkolben von etwa 1 Liter Inhalt wird mit einem Tropftrichter und einem Apparat für Cyanentwicklung verbunden. Dieser besteht aus einem einseitig zugeschweißten Eisenrohr von etwa 100 ccm Inhalt, dessen offenes Ende mit fließendem Wasser gekühlt und mittels Gummistopfen und Glasrohr an den Rundkolben angesetzt wird. Das Eisenrohr beschickt man nach A. KEMP² mit einem innigen Gemisch von 6 g wasserfreiem Ferrocyankalium und 9 g QuecksilberII-chlorid und spannt es ein, nach dem geschlossenen Ende zu etwas geneigt. Dann schließt man noch ein offenes Quecksilbermanometer und einen KIPPSchen Apparat für CO₂-Entwicklung an und evakuiert die ganze Apparatur mit der Wasserstahlpumpe. Mit einem Bunsenbrenner wird das Eisenrohr zu ganz schwacher Rotglut erhitzt, indem die Flamme allmählich von der Mitte des Rohres bis zum geschlossenen Ende geschoben wird. Nach Beendigung der Gasentwicklung liest man die Druckdifferenz und die Temperatur ab und gibt durch den Tropftrichter die gewünschte Menge Aldehyd und Wasser zu. Endlich gleicht man den noch verbleibenden Unterdruck mit Kohlendioxyd aus³. Auf diese Weise gelingt es, definierte Mengen Dicyan und Aldehyd miteinander in Reaktion zu bringen. Unter den angegebenen Bedingungen entsteht in dem Kolben ein Druck von etwa 350—400 mm Dicyan bei etwa 20°.

Alle experimentellen Tatsachen lassen darauf schließen, daß der Acetaldehyd in seiner Enolform, als Vinylalkohol, mit dem Dicyan reagiert. Diejenigen Aldehyde nämlich, die keine Enolform zu bilden vermögen, wirken auch nicht hydratisierend auf Dicyan. So sind z. B. unwirksam: Formaldehyd, Benzaldehyd, Chloralhydrat und Glucose. Genau wie Acetaldehyd wirkt dagegen der Propionaldehyd.

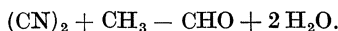
Daß die Enolform des Aldehyds der eigentlich wirksame Katalysator ist, zeigt auch eine andere, auf den ersten Blick sehr überraschende Beobachtung: Die Hydratisierung des Dicyans mit Acetaldehyd gelingt

¹ Liebigs Ann. 469, 16 (1929). — ² Liebigs Ann. 48, 150 (1843).

³ Durch die Gegenwart der Kohlensäure wird die Bildung von Cyanwasserstoff und eine Braunfärbung der Dicyanlösung vermieden. Vgl. ZETTEL: Monatsh. 14, 227 (1893).

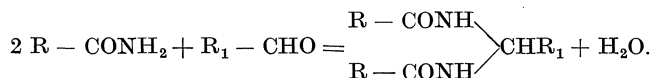
nicht in schwach saurer Lösung. Während also sonst die Wasserstoff-Ionen beschleunigend auf die Verseifung der Nitrile wirken, machen sie in diesem Falle den organischen Katalysator unwirksam. Betrachten wir nun den Vinylalkohol als Katalysator, so wird auch diese Erscheinung verständlich. Säuren wirken ja antikatalytisch auf die Umwandlung der Keto- in die Enolform¹. Da im gewöhnlichen Acetaldehyd nur wenig Vinylalkohol enthalten ist, und in saurer Lösung sich das Gleichgewicht nicht sofort wieder einstellt, wird die Reaktion aufhören, sobald die Spuren der Enolform verbraucht sind.

Die Isolierung des Zwischenstoffes ist möglich, da er sich viel schneller bildet als er zerfällt. Man braucht also nur das Dicyan in der Kälte mit wäßriger Aldehydlösung einige Zeit reagieren zu lassen und die Lösung dann bei 30° im Vakuum einzuengen. Die Reinigung des Stoffes gelingt wegen seiner Empfindlichkeit nicht vollständig. Durch Eindunsten einer Acetonlösung erhält man farblose Krystalle, deren Analysenzahlen noch 1—2% von den theoretischen Werten abweichen. Sie stimmen, zusammen mit dem Ergebnis der Molekulargewichtsbestimmung, am besten auf die Formel $C_4H_8O_3N_2$, die sich zerlegen läßt in



In der Tat zerfällt die Verbindung beim Erhitzen mit Wasser in 1 Mol. Oxamid und 1 Mol. Acetaldehyd. Damit ist auch der katalytische Charakter der Reaktion bewiesen, der Acetaldehyd wird bei der Umsetzung vollständig zurückgenommen.

Besonders charakteristisch ist das Verhalten der Verbindung gegen Alkalien. Versetzt man die wäßrige Lösung bei Zimmertemperatur mit einigen Tropfen $n/10$ Natronlauge, so tritt fast augenblicklich Zerfall in Oxamid und Acetaldehyd ein. Langsamer wirkt Sodalösung, viel langsamer wird die Verbindung durch starke Säuren gespalten. Auch die Zersetzung mit Säuren liefert Oxamid und Acetaldehyd, daneben entsteht Oxalsäure. Dieses Verhalten unterscheidet sich scharf von dem der bisher bekannten Amid-Aldehydverbindungen. Solche Stoffe entstehen durch Einwirkung von Aldehyden auf Säureamide²:

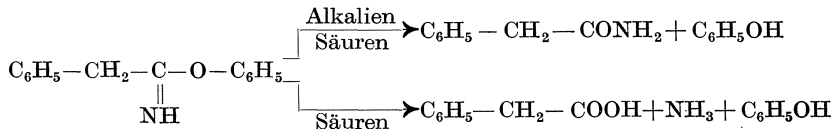


Sie sind verhältnismäßig beständig in neutraler und alkalischer Lösung und zerfallen erst beim Erhitzen mit Säuren. Der Zwischenstoff ist dagegen gerade in alkalischer Lösung viel unbeständiger als in saurer. Er verhält sich analog wie die Imino-phenyläther, die von J. HOUBEN und

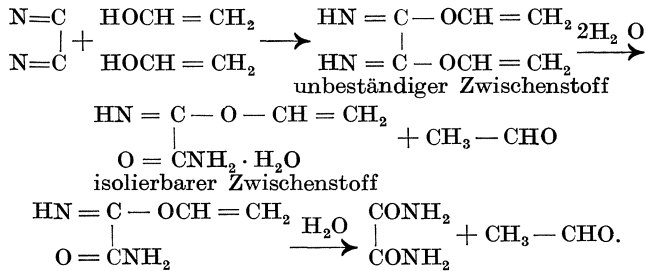
¹ DIECKMANN, W.: Ber. 49, 2206 (1916).

² Literatur bei K. BEAUCOURT: Monatsh. 49, 1 (1928).

G. BLAËSE¹ beschrieben worden sind. Z. B. zerfällt der Phenyl-acetimino-phenyläther beim Erhitzen mit Salzsäure in Phenylacetamid, Phenyl-essigsäure, Ammoniumchlorid und Phenol, beim Versetzen mit Alkalien entsteht dagegen schon bei gewöhnlicher Temperatur momentan Phenylacetamid und Phenol.



Es ist bekannt, daß sich Phenole und Enole oft analog verhalten, man kann deshalb die Bildung und den Zerfall des Zwischenstoffes folgendermaßen formulieren:



Danach würden sich zunächst an das Dicyan zwei Moleküle Vinylalkohol anlagern. Dabei entsteht Oxalimino-divinyläther, der besonders leicht mit Wasser in Oxalimino-monovinyläther und Acetaldehyd zerfällt. Daß der Monoäther nicht der primäre Zwischenstoff ist, geht schon daraus hervor, daß das Rohprodukt und sogar noch die gereinigten Krystalle bei der Zersetzung etwas mehr als 1 Mol. Acetaldehyd liefern. Ein Molekül Wasser des Oxalimino-monovinyläthers wäre also als Krystallwasser aufzufassen. Es ist auch bekannt, daß Iminoäther gern Krystallwasser binden².

Es läßt sich zeigen, daß bei der Katalyse nicht etwa Quecksilber-Ionen als Hilfskatalysatoren wirksam sind, denn ein Dicyan, das unter Ausschluß von Quecksilbersalzen aus Oxamid und Phosphorpentoxyd dargestellt und mit Silbernitrat sorgfältig von Blausäure befreit worden war, setzte sich mit Acetaldehyd ebenso glatt um.

b) Anlagerung von Alkohol an Diphenylketen³. Bringt man tertiäre heterocyclische Basen wie Pyridin, Chinolin, p-Toluchinaldin oder Acridin mit Ketenen zusammen, so bilden sich definierte Verbindungen

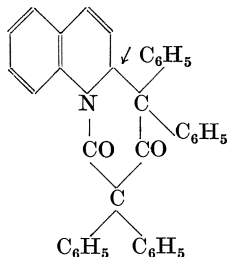
¹ Ber. 59, 2884 (1926).

² Über das Hydrat des Oxalimino-diäthyläthers vgl. NEF, J. U.: Liebigs Ann. 287, 284 (1895).

³ STAUDINGER, H.: Liebigs Ann. 356, 64, 87 (1907); Z. Elektrochem. 40, 487 (1934) (Diskussionsbemerkung).

der Zusammensetzung 1 Mol. Base + 2 Mol. Keten. Je nach der Natur des angewandten Ketens erhält man zwei verschiedene Arten von Additionsverbindungen. „Die erste Gruppe, die Dimethylketenbasen, sind meist feste, gut charakterisierte, recht beständige Körper, die keine Reaktionen von freiem Keten mehr zeigen. Sie zerfallen erst bei energischer Behandlung mit starken Säuren in 1 Molekül Base und 2 Moleküle Isobuttersäure. Zur zweiten Gruppe von Ketenbasen gehört das Diphenylketen-Chinolin. Es zeigt noch alle Reaktionen der freien Ketene und reagiert leicht mit Wasser, Alkohol, Aminen usw. unter Bildung von Diphenyllessigsäure bzw. ihrem Ester oder ihren Amiden. Das Diphenylketen-Chinolin, ein gut kristallisierter Stoff vom Schmelzpunkt 121 bis 122°, ist in heißer Chloroform- oder Benzollösung völlig in zwei Mol. Diphenylketen und 1 Mol. Base zerfallen, in kalter Benzol- oder Nitrobenzollösung nur teilweise, zu etwa 30%, wie durch Molekularbestimmungen nachgewiesen werden konnte. Aus dieser Tatsache schien es sich leicht zu erklären, daß das Keten-Chinolin die Reaktionen des freien Ketens zeigt.“

STAUDINGER formulierte diese Verbindung ursprünglich so, daß er annahm, der Stickstoff sei mit fünf Valenzen an Kohlenstoff gebunden. Später bevorzugte er ein anderes Strukturbild, z. B. beim Diphenylketen-Chinolin:

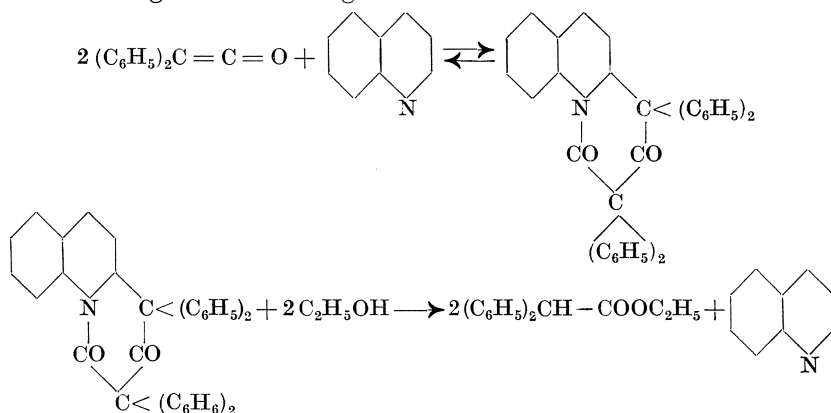


Daß diese Verbindung leichter dissoziiert als Dimethylketen-Chinolin ist zweifellos durch die Phenylgruppen bedingt, die eine Schwächung der mit einem Pfeil bezeichneten Bindung zwischen Keten und Base hervorrufen, ähnlich wie im Hexaphenyläthan. Es besteht wohl nicht die Möglichkeit, die Diphenylketen-Basen als Molekülverbindungen aufzufassen, woran man wegen ihrer Zerfallstendenz zunächst denken könnte, denn dann müßte man erwarten, daß auch die Dimethylketen-Basen leicht zerfallen, was sie nicht tun.

Die Ketenbasen sind nun, wie STAUDINGER zeigte, Zwischenstoffe bei der katalytischen Anlagerung von Alkohol an Diphenylketen. Es wurden die Geschwindigkeiten verglichen, mit der sich Alkohole an reine Ketenlösungen und an gleichkonzentrierte chinolinhaltige Ketenlösungen anlagern. „Beruhte die Reaktionsfähigkeit der Keten-Chinolinlösungen auf ihrem Gehalt an freiem Keten, so müßte die Anlagerungsgeschwindig-

keit dieser Körper in beiden Lösungen gleich, oder in der chinolinhaltigen sogar kleiner sein. Tatsächlich aber reagieren die Alkohole mit den chinolinhaltigen Lösungen bedeutend schneller als mit den reinen Ketenlösungen. Da bei der Bildung der Ester aus dem Alkohol und Keten das Chinolin nicht beteiligt ist, so können schon geringe Mengen, z. B. $\frac{1}{20}$ Mol., eine Veränderung der Reaktionsgeschwindigkeit hervorrufen. Das Chinolin ist für diese Reaktionen also ein Katalysator.“

Man könnte nun das Chinolin noch als basischen Katalysator betrachten. Die Keten-Base würde dann nicht der wirksame Zwischenstoff sein. Tatsächlich bekommt man auch mit Basen, die keine Additionsverbindung bilden, eine Beschleunigung (z. B. Phenylchinolin oder Dimethylanilin)¹, aber es handelt sich dabei nur um sehr schwache Katalysatoren. Eine kräftige Beschleunigung ließ sich nur mit solchen Basen erzielen, bei denen die Molekulargewichtsbestimmung eine Reaktion mit Diphenylketen anzeigte. Diese Basen stehen also gewissermaßen in der Mitte zwischen den basischen und Hauptvalenz-Katalysatoren, in ähnlicher Weise, wie wir es später bei den Katalysatoren der Aldehydkondensationen finden werden. Ein kleiner Teil der Wirkung ist den basischen Eigenschaften der Katalysatoren zuzuschreiben, der Hauptteil aber ihrem Vermögen, Hauptvalenzverbindungen mit den Substraten zu bilden. Wir werden also die Katalyse im wesentlichen nach der folgenden Gleichung zu formulieren haben:



Meßmethode. 20 ccm ätherische Ketenlösung (entsprechend 17,7 ccm n_{10}^{NaOH}) werden unter Kohlendioxyd mit 10 ccm 0,2 n-ätherischer Alkohollösung und 10 ccm 0,1 n-ätherischer Basenlösung versetzt. In

¹ Vgl. auch die Beschleunigung von Anlagerungen an Phenylisocyanat durch Chinolin und Pyridin, wobei sich keine definierten Zwischenstoffe nachweisen ließen. [DIECKMANN und KÄMMERER: Ber. **38**, 2977 (1905); DIECKMANN: Ber. **37**, 4627 (1904); STAUDINGER, H.: Liebigs Ann. **356**, 68 (1907)].

den Blindversuchen werden statt der Basenlösung 10 ccm Äther hinzugegeben. Nach 60 Minuten führt man das unveränderte Keten durch 10 ccm Wasser in Diphenyllessigsäure über. Nach dem Abdestillieren des Äthers wird die Kohlensäure durch Evakuieren entfernt und die in 20 ccm Alkohol gelöste Säure titriert.

Tabelle 5 gibt die Prozentzahlen des umgesetzten Ketens mit und ohne Chinolin bei verschiedenen Alkoholen an. Die Werte beziehen sich anscheinend auf die Reaktion bei Zimmertemperatur.

Tabelle 5. Anlagerung von Alkohol an Diphenylketen.

Alkohol	% des umgesetzten Ketens	
	ohne Chinolin	mit Chinolin
Methanol	20,5	97,7
Äthylalkohol	21,0	96,0
Isobutylalkohol	24,5	97,0
Isopropylalkohol	18,6	18,3
Benzhydrol	13,0	92,5

Die Anlagerung von Isopropylalkohol wird also durch Chinolin nicht beschleunigt.

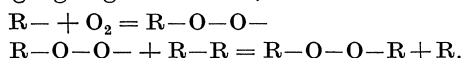
Die Wirksamkeit der Katalysatoren hängt deutlich von der Konstitution der Base ab. So ist p-Toluchinaldin etwas aktiver als Chinolin, obgleich seine Ketenverbindung stärker dissoziiert ist.

e) Addition von Sauerstoff an ungesättigte Verbindungen¹. Vergleicht man die Autoxydationsgeschwindigkeit von Lösungen des Hexaphenyläthans und anderer dissoziierender Äthane mit ihrer Dissoziationsgeschwindigkeit, so kommt man zu dem überraschenden Ergebnis, daß die Lösungen viel schneller oxydiert werden als sie dissoziieren². Daraus folgt streng, daß nicht nur die freien Radikale, sondern auch die undissoziierten Äthane der Autoxydation zugänglich sind. Es läßt sich nun weiter zeigen, daß die Äthane sehr wahrscheinlich nicht vom molekularen Sauerstoff angegriffen werden, sondern von sehr reaktionsfähigen primären Reaktionsprodukten des Triphenylmethyls mit Sauerstoff. Daß solche labilen Zwischenstoffe existieren, folgt aus einem Versuch von ZIEGLER und ORTH: Bindet man ein Radikal an ein Chinon, z. B. Chloranil, so ist die Verbindung gegen Sauerstoff beständig. Sie wird aber von Sauerstoff glatt in ein Radikalperoxyd verwandelt, wenn gleichzeitig etwas freies Radikal im Überschuß zugegen ist. Dann kann sich aus Radikal und Sauerstoff der reaktionsfähige Zwischenstoff bilden, der die beständige Chinon-Radikalverbindung zu oxydieren vermag. Ein ähnlicher Vorgang muß sich bei

¹ ZIEGLER, K. und L. EWALD: Liebigs Ann. 504, 162 (1933).

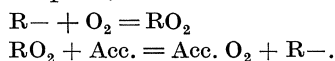
² ZIEGLER, K. und L. EWALD: Liebigs Ann. 479, 277 (1930); ZIEGLER, K. und PH. ORTH: Ber. 65, 628 (1932).

der Autoxydation von Triphenylmethyl-Lösungen abspielen. ZIEGLER formuliert den Vorgang folgendermaßen, wobei R das Radikal bedeutet:



Die Zerlegung der Autoxydation des Triphenylmethyls in zwei Teilvorgänge erklärt die rasche Autoxydation, sie ist aber auch deshalb anzunehmen, weil die direkte Bildung des Triphenylmethylperoxyds nach $2 R- + O_2 = R-O-O-R$ einen unwahrscheinlichen Dreierstoß einschließen würde.

Setzt man nun besonders leicht oxydierbare Fremdstoffe zu, so wird der Sauerstoff in der Hauptsache nicht mehr zur Bildung von Triphenylmethyl-Peroxyd verbraucht, sondern zur Oxydation des zugesetzten Sauerstoffacceptors, nach der Gleichung:



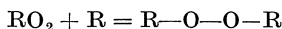
Zunächst wurden Versuche mit Hydrazobenzol angestellt. Die Übertragungseffekte sind hier allerdings nicht erheblich. Auch bei großem — bis zu 270fachem — Überschuß der Hydrazoverbindung gelang es nur, maximal $2\frac{1}{2}$ Mol. Sauerstoff pro Mol. Triphenylmethyl zu übertragen. Dabei wurde ein großer Prozentsatz des Sauerstoff-Mehrverbrauchs als Wasserstoffperoxyd wiedergefunden. Der im Molekül RO_2 aktivierte Sauerstoff wird also durch die Wasserstoffatome des Hydrazobenzols zu Hydroperoxyd hydriert.

Die katalytische Wirkung des Triphenylmethyls kommt viel stärker zum Ausdruck, wenn man es als Katalysator bei der Autoxydation von Aldehyden und ungesättigten Kohlenwasserstoffen benutzt und für möglichst hohe Konzentrationen der Sauerstoffacceptoren sorgt. Die folgende Tabelle 6 ist einer Arbeit von ZIEGLER und EWALD entnommen.

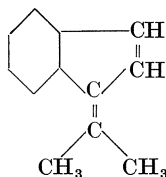
Tabelle 6. Sauerstoffübertragung durch Triphenylmethyl.

Acceptor	Acc. Normalität	Rad. Norm. n_{1000}	Kettenlänge $\frac{\text{Mole } O_2}{\text{Mole Rad.}}$	1 mg Triphenylmethyl überträgt cem O_2
Crotonaldehyd	12	0,92	35	3,5
Anisaldehyd	7,4	0,2—0,4	49—43	4,9—4,3
1,4-Dihydronaphtalin	5	0,3—0,4	20—16	2,0—1,6
Styrol	10	0,3—0,4	20—16	2,0—1,6
Inden	8,6	3,9	9	0,9
		0,184	51	5,1
Diphenylfulven . . .	1,2	0,53	17	1,7
		0,27	25	2,5
Dimethylfulven . . .	8,5	12,8	14	1,45
		3,5	35	3,5
		0,4	65	6,5

Die Tabelle zeigt am Beispiel des Indens und der Fulvene, daß die „Kettenlänge“, d. h. die Anzahl Mole O_2 , die durch 1 Mcl. Triphenylmethyl auf das Substrat übertragen werden, stark von der Radialkonzentration abhängt. Das ist durchaus verständlich, wenn man annimmt, daß die Reaktionskette durch den Vorgang



abgebrochen wird. Besonders deutlich zeigt sich das am Dimethylbenzofulven



das sich zugleich als der geeignetste Acceptor erwies. Aus Tabelle 7 geht hervor, daß man die Kettenlänge durch genügende Verkleinerung der Radikalkonzentration auf über 2000 steigern kann. Bei diesen Versuchen wurde eine Mischung von Dimethylbenzofulven mit der halben Menge Toluol und der angegebenen Menge Triphenylmethyl geschüttelt.

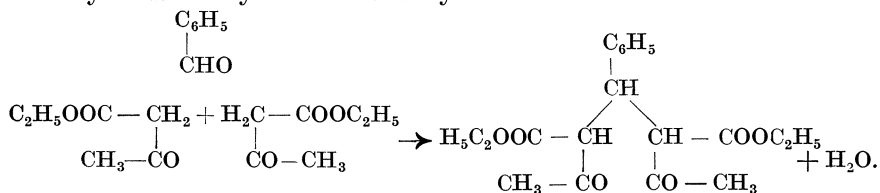
Tabelle 7. Dimethyl-benzofulven als Acceptor.

Radikalkonzentration $n/1000$	25,2	13,6	4,19	1,83	0,40	0,13
Kettenlänge	35,4	61,4	191	378	1175	2230

Durch sorgfältige Reinigung des Substrats und durch Verwendung von Tetrachlorkohlenstoff als Lösungsmittel gelang es sogar, die Kettenlänge auf die enorm hohe Zahl von 55000 Gliedern zu bringen. Die Wirkung des Radikals ist so stark, daß noch 1 γ Triphenylmethyl eine sehr deutliche Autoxydation hervorrufen würde.

2. Spaltungsreaktionen.

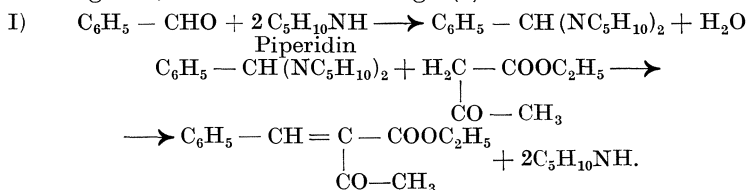
a) Die KNOEVENAGELSchen Aldehydkondensationen. A. HANTZSCH¹ war wohl der erste Forscher, der — im Anschluß an seine bekannten Synthesen von Dihydropyridin-Derivaten — die Kondensation von Aldehyden mit reaktionsfähigen Methylenverbindungen bei Gegenwart von organischen Aminen durchführte. Das erste Beispiel war die Synthese des Benzyliden-acet-essigesters aus Acetessigester und Benzaldehyd mit Methylamin als Katalysator:



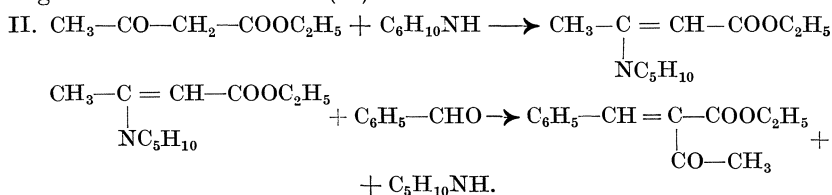
¹ Ber. 18, 2579, 2583 (1885).

Ebenso gut wirksam war Äthyl- und Allylamin. E. KNOEVENAGEL¹ gab der Synthese die Form, in der sie heute meistens durchgeführt wird. Als Katalysatoren dienten sekundäre Amine wie Diäthylamin oder Piperidin, die in kleinen Mengen, etwa $\frac{1}{100}$ Mol., angewandt wurden. Da bei der Reaktion stets zwei Endprodukte (Kondensationsprodukt und Wasser) entstehen, gehört der Vorgang in unserem Sinne zu den Spaltungsreaktionen.

VON KNOEVENAGEL selbst und auch von anderen Forschern sind sehr zahlreiche Synthesen mit Hilfe seiner Methode durchgeführt worden², dagegen ist es erst in neuerer Zeit gelungen, einen Einblick in den Mechanismus der Reaktion zu gewinnen. KNOEVENAGEL³ hatte ihn bereits sehr eingehend studiert und festgestellt, daß die Kondensationen ebenso glatt verlaufen, wenn man nicht Aldehyd und Piperidin getrennt anwendet, sondern deren Reaktionsprodukt, z. B. Benzyliden-dipiperidin. Er schloß hieraus zunächst, daß die Umsetzung, z. B. mit Acetessigester, in zwei Stufen erfolge (I):



Später fand er indessen, daß sich auch der Acetessigester mit Piperidin zu einem Zwischenstoff verbindet, der ebenfalls mit Benzaldehyd Benzyliden-acetessigester liefert. Danach konnte die Reaktion auch folgenden Verlauf nehmen (II):



Die Reaktionsfolge II gibt allerdings schlechtere Ausbeuten.

An einem anderen Beispiel haben vor einigen Jahren W. DILTHEY und Mitarbeiter⁴ zeigen können, daß die zuerst genannte Formulierung I die eigentliche Katalyse zum Ausdruck bringt, daß demnach bei II

¹ Liebigs Ann. **282**, 25, 29 (1894).

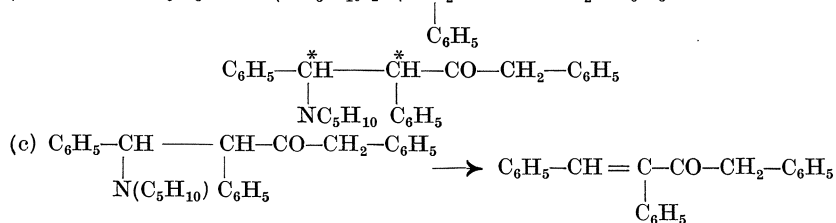
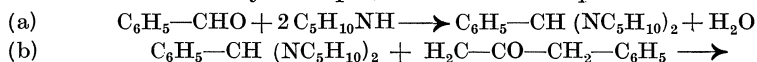
² Wir sehen davon ab, die überaus umfangreiche Literatur über Aldehydkondensationen anzuführen, und beschränken uns auf die Versuche, die eine Aufklärung des Reaktionsmechanismus anstreben.

³ Ber. **29**, 172 (1896); **31**, 738 (1898).

⁴ DILTHEY, W. und W. STALLMANN: Ber. **62**, 1603 (1929); DILTHEY, W.: Ber. **62**, 1606 (1929); DILTHEY, W. und W. NAGEL: J. pr. Chem. (2) **130**, 147 (1931).

wahrscheinlich durch Spuren Wasser zunächst freies Piperidin abgespalten wird, das sich mit Benzaldehyd zu Benzyliden-dipiperidin verbindet. Der weitere Verlauf ist dann wie bei I.

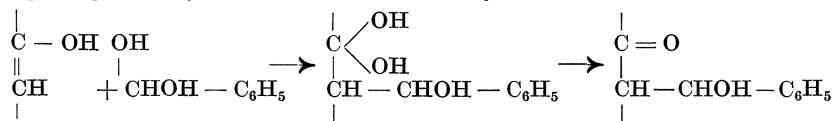
Das von DILTHEY gewählte Beispiel, die Kondensation zwischen Dibenzylketon und Benzaldehyd, war besonders geeignet, weil Dibenzylketon unter den Bedingungen der Katalyse kein Piperidin anlagert. Die Piperidinverbindung des Ketons scheidet als Zwischenstoff endgültig aus, während Benzyliden-dipiperidin notwendig als Zwischenstoff angesehen werden muß. Ein weiterer Fortschritt war es nun, daß ein zweiter Zwischenstoff isoliert werden konnte. Bei der Kondensation zwischen Benzyliden-dipiperidin und Dibenzylketon entsteht zunächst nicht der normale Äthylenkörper, sondern dessen Piperidinverbindung (b).



Die angegebene Konstitution folgt auch daraus, daß sich die beiden theoretisch zu erwartenden Racemate isolieren ließen. Die beiden asymmetrischen C-Atome sind in der Formel mit * bezeichnet. Dieser Zwischenstoff geht erst beim Erwärmen mit Eisessig in das Endprodukt Benzyliden-dibenzylketon über (c).

Alle drei Reaktionen können, jede für sich, experimentell verwirklicht werden, und alle Zwischenstoffe lassen sich isolieren. Die Katalyse kann deshalb in ihrem Mechanismus als aufgeklärt gelten.

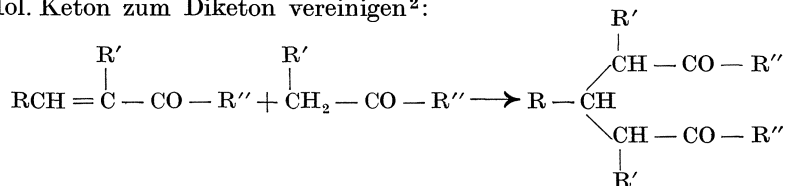
Eine Frage bleibt in diesem Zusammenhang allerdings noch zu klären. Das Benzyliden-dipiperidin könnte entweder mit der Keto- oder der Enolform des Dibenzylketons reagieren. DILTHEY und NAGEL¹ lehnen die zweite Möglichkeit ab, da sich nach F. E. FRANCIS² im Dibenzylketon keine Enolform nachweisen läßt. Andererseits hat K. H. MEYER³ gezeigt, daß sich Benzaldehyd bei Gegenwart von Piperidin nur mit der Enolform des Mesityloxyd-oxalesters kondensiert, nicht aber mit dessen Ketoform. Er deutet die Kondensation als eine Anlagerung der Hydratform des Benzaldehyds an das Enol:



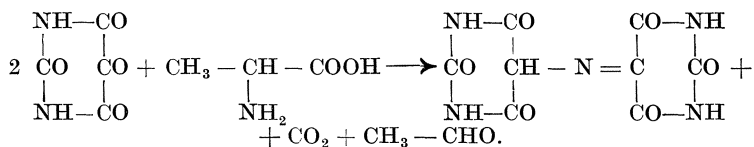
¹ Zitiert auf S. 41. — ² Soc. 75, 866 (1899). — ³ Liebigs Ann. 398, 56 (1913).

Es ist durchaus denkbar, daß auch beim Dibenzylketon bereits minimale nicht nachweisbare Spuren der Enolform genügen, um die Reaktion in Gang zu bringen. Die Einstellung des Keto-Enolgleichgewichts wird ja durch organische Basen wie Piperidin beschleunigt. So wäre es zu erklären, daß viele Kondensationen auch bei Gegenwart von Natronlauge oder sogar zuweilen von tertiären Aminen¹ durchgeführt werden können. Dann wäre die Enolisierung als die wichtigste Vorbedingung der Kondensation aufzufassen, während die Bindung des sekundärenamins an den Aldehyd nur eine weitere Beschleunigung mit sich bringt. Piperidin würde also gleichzeitig als basischer und als Hauptvalenzkatalysator wirken.

Die KNOEVENAGELsche Kondensation führt bekanntlich nicht nur zu Äthylenkörpern, sondern kann unter anderen Bedingungen auch 1,5-Diketone liefern, wobei 1 Mol. Aldehyd mit 2 Mol. Keton zusammentritt. Vielleicht bilden sich auch hierbei zunächst die Äthylenkörper, die sich unter dem katalytischen Einfluß von Basen mit einem zweiten Mol. Keton zum Diketon vereinigen²:



b) Die Dehydrierung der Aminosäuren. Nach A. STRECKER³ werden α -Aminosäuren durch Alloxan in charakteristischer Weise abgebaut. Es entsteht Kohlendioxyd und der nächst niedrigere Aldehyd, während der Stickstoff in Form von Ammoniak austritt und Murexid bildet:



W. TRAUBE⁴ berichtete, daß ebenso wie das Alloxan auch das Isatin mit Aminosäuren reagiert. Neben Ammoniak, Kohlendioxyd und Aldehyd bildet sich in wäßriger Lösung ein tiefrot gefärbter harziger Niederschlag. W. LANGENBECK⁵ untersuchte die Reaktion näher und fand, daß in Eisessiglösung ein wohldefiniertes kristallines Reduktionsprodukt des Isatins erhalten werden kann, nämlich Isatyd.

Nach dieser Feststellung war es eigentlich selbstverständlich, daß man mit einer kleinen Menge Isatin bei Gegenwart von Sauerstoff

¹ Vgl. HANN, A. L. C. und A. LAPWORTH: Soc. 85, 46 (1904); BOXER, S. E. und R. P. LINDSTEAD: Soc. 1931, 740; LOHAUS, H.: Liebigs Ann. 514, 137 (1934). — ² Vgl. DILTHEY, W. und W. NAGEL: J. pr. Chem. (2) 130, 152 (1931).

³ Liebigs Ann. 123, 363 (1862). — ⁴ Ber. 44, 3145 (1911).

⁵ Ber. 60, 930 (1927).

eine beliebige Menge Aminosäure würde abbauen können. Es ist ja seit langem bekannt, daß Isatyd sich an der Luft leicht wieder zu Isatin oxydiert. Tatsächlich kann man bei Luftzutritt glatt mehrere Moleküle Aminosäure mit 1 Mol. Isatin dehydrieren, während bei Ausschluß von Luft 2 Mol. Isatin nur 1 Mol. Aminosäure abbauen.

Besonders bemerkenswert war nun die Beobachtung, daß man die Reaktion auch bei Ausschluß von Sauerstoff mit Methylenblau als Wasserstoffacceptor durchführen kann. Das beruht auf der zuerst von LANGENBECK beobachteten Tatsache, daß Isatyd — ebenso Dioxindol — Methylenblau zur Leukoverbindung hydrieren kann. Dabei wird das Isatyd wieder zum Isatin dehydriert.

Sicher ist also, daß bei dieser Katalyse Isatyd als Zwischenstoff auftritt. Das Isatin übernimmt 2 Wasserstoffatome der Aminosäure. Der im Isatyd gebundene Wasserstoff ist reaktionsfähiger als er vorher in der Aminosäure war, denn er reagiert leicht mit Sauerstoff und Methylenblau. In der Aminosäure war er dazu nicht befähigt. Es handelt sich also um die Aktivierung des Wasserstoffs im Sinne der WIELANDSchen Dehydrierungstheorie, und zwar ist das Isatin das erste Beispiel eines organischen Katalysators mit Dehydrasewirkung, also eines Dehydrasemodells. Seit der Entdeckung des sogenannten „gelben Atmungsferments“ von O. WARBURG¹ ist ein ähnlicher Mechanismus auch für die natürlichen Dehydrasen wahrscheinlich geworden. In der ersten Arbeit von LANGENBECK aus dem Jahre 1927 ist das neue Prinzip der Dehydrasewirkung bereits ganz eindeutig ausgesprochen. Es heißt dort wörtlich:² „Die WIELANDSche Dehydrierungstheorie wird durch die mitgeteilten Versuche von einer neuen Seite beleuchtet. Es zeigt sich, daß der *Wasserstoff* organischer Verbindungen auch dadurch *aktiviert* werden kann, daß er in eine neue organische Bindung übergeht“. Auf die Beziehungen zu den Dehydrasen wird in einem späteren Abschnitt noch ausführlicher einzugehen sein.

Es ist noch zu untersuchen, ob man vielleicht die Reaktion zwischen Isatin und Aminosäure in Teilvorgänge zerlegen kann. Nach H. WIELAND und F. BERGEL³ hat man sich den Reaktionsmechanismus vielleicht so vorzustellen, daß die Aminosäure unter Abgabe von 2 Wasserstoffatomen in die entsprechende Iminosäure übergeht, die mit Wasser sofort in Aldehyd, Kohlendioxyd und Ammoniak zerfällt. Der Gesamtverlauf der Katalyse wäre demnach zu formulieren⁴:

¹ Obgleich dieser Überträger nicht als echtes Ferment aufzufassen ist, steht doch nichts im Wege, bei den echten Dehydrasen einen ähnlichen Mechanismus anzunehmen (siehe unten). — ² Ber. 60, 932 (1927).

³ Liebigs Ann. 493, 196 (1924).

⁴ Über die Struktur des Isatyds vgl. STOLLÉ, R. und M. MERKLE: J. pr. Chem. (2) 139, 329 (1934).

Da nach unveröffentlichten Versuchen von LANGENBECK das Amino-oxindol mit überschüssigem Isatin in essigsaurer Lösung tatsächlich in Isatyd übergeht, vermag dies Schema den Tatsachen wohl gerecht zu werden. Besonders erklärt sich so auch die anfängliche Rotfärbung bei der Einwirkung von Isatin auf Aminosäuren, die in gleicher Weise bei der Reaktion zwischen Amino-oxindol und Isatin auftritt.

Meßmethode. a) Dehydrierung mit Sauerstoff: 0,1 g Isatin und 1 g Alanin werden mit 50 ccm 50%iger Essigsäure 10 Stunden am Rückflußkühler gekocht. Dabei wird ein Luftstrom hindurchgesaugt, der zur Reinigung zunächst durch eine Waschflasche mit verdünnter Schwefelsäure streicht, dann durch die Reaktionslösung, den Rückflußkühler und endlich durch zwei weitere Flaschen mit verdünnter Schwefelsäure zur Absorption des Ammoniaks. Um für alle Versuche einen Luftstrom von gleicher Geschwindigkeit zu haben, wird ein Druckregler vorgeschaltet, der auf einen Unterdruck von 10 cm Wassersäule eingestellt wird. Nach 10 Stunden wird der Inhalt der beiden Waschflaschen mit der Reaktionslösung vereinigt, mit Magnesiumoxyd schwach alkalisch gemacht und das Ammoniak in eine abgemessene Menge $\frac{n}{10}$ Schwefelsäure überdestilliert.

Verbraucht wurden 52,1 ccm $\frac{n}{10}$ Schwefelsäure. Daraus berechnet sich, daß 1 Mol. Isatin 7,7 Mol. Alanin abgebaut hatte.

Auch nach der manometrischen Methode läßt sich schon bei 37° eine zwar langsame aber deutliche Sauerstoffaufnahme feststellen¹. Man verwendet Atmungsströge mit Einsatz zur Aufnahme von 0,1 ccm 10%iger Kalilauge (Absorption des entstandenen Kohlendioxyds). Lösung I: 0,5 g Alanin in 5 ccm Acetatpuffer p_H 4,7, Lösung II: 10^{-4} Mol. isatin-5-sulfonsaures Kalium in 5 ccm Acetatpuffer. Von Lösung I und II werden je 1 ccm in den Atmungsstrog eingefüllt; Temperatur 37,0°. Nach 3 Stunden waren 40 cmm O₂ aufgenommen.

b) Dehydrierung mit Methylenblau. 10^{-3} Mol. Isatin werden in einem Reagenzglas in 5 ccm Eisessig gelöst und im langsamen Strom von reinem CO₂ im Thermostaten auf 40° erwärmt. Dann gibt man 5 ccm auf 40° vorgewärmte $\frac{n}{1000}$ Methylenblau-Lösung hinzu, und notiert diesen Zeitpunkt als Beginn der Reaktion. Als Endpunkt gilt die Zeit, wo die Lösung von blau über grün in gelbrot umschlägt.

Im vorliegenden Falle trat der Umschlag nach 4 $\frac{1}{2}$ Stunden ein. Die folgenden vergleichenden Versuche mit verschiedenen Isatinderivaten wurden bei 70° durchgeführt, die Katalysatoren wurden in 10 ccm Eisessig gelöst.

Am Isatin hat LANGENBECK Versuche ausgeführt, durch Substitution zu aktiveren Katalysatoren zu gelangen. Verschiedene Substituenten

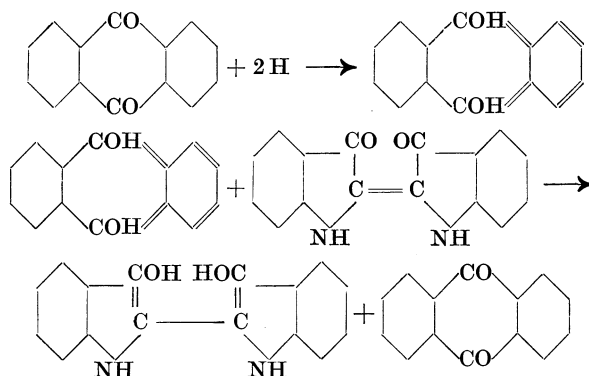
¹ LANGENBECK, W. und W. BECKER: Bisher unveröffentlicht.

— Halogene und Sulfogruppe — erhöhen die Aktivität erheblich. Die Entfärbungszeit für Methylenblau sank auf den halben und drittel Wert, wie aus der folgenden Tabelle zu ersehen ist.

Tabelle 8. Dehydrierung mit verschiedenen Isatinderivaten.

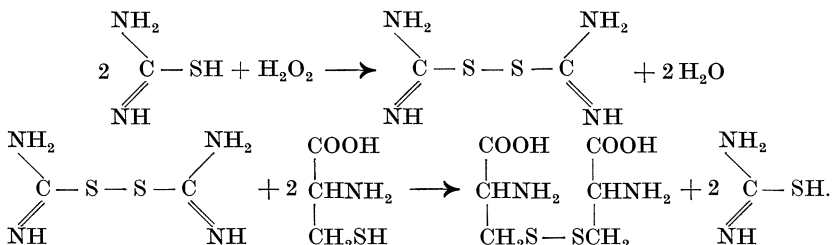
Isatin-derivat	Mol. Katalysator	°C	Entfärbungszeit in Minuten
Isatin	$5 \cdot 10^{-4}$	70	14,5
5-Brom-isatin	$5 \cdot 10^{-4}$	70	6
5,7-Dibrom-isatin	$5 \cdot 10^{-4}$	70	5,5
5-Chlor-isatin	$5 \cdot 10^{-4}$	70	5,5
Isatin-5-sulfonsaures K	$5 \cdot 10^{-4}$	70	7,5

Ein ähnlicher Mechanismus, wie bei der Dehydrierung der Aminosäuren, ist wohl bei einer Katalyse anzunehmen, die seit längeren Jahren besonders im Ätzdruck technisch verwendet wird. Im Jahre 1912 wurde den Höchster Farbwerken ein Verfahren geschützt¹, das die Verküpfung von Indigo, indigoiden Farbstoffen und anderen Küpenfarbstoffen erleichterte. Als Katalysatoren dienten Chinone des Benzols, Naphthalins und vor allem Anthrachinon. Auch Indigorubin ist ein wirksamer Katalysator. Auf seine Gegenwart im natürlichen Indigo ist dessen besonders leichte Reduzierbarkeit zurückzuführen. Ferner steht damit im Zusammenhang das alte Verfahren, der Indigoküpe Krapp zuzusetzen. Das Alizarin erleichtert als Anthrachinonderivat die Verküpfung. Es handelt sich hier um eine Hydrierung mit organischen Katalysatoren, bei der der Katalysator z. B. Anthrachinon besonders leicht reduziert wird. Der Wasserstoff im Anthrahydrochinon ist aktiver als er vorher im Reduktionsmittel war, und hydriert deshalb leicht den Küpenfarbstoff, wobei Anthrachinon regeneriert wird:

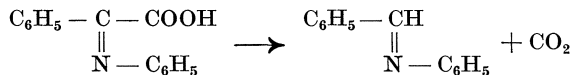


¹ D.R.P. 240 226 (F.P. 424 486); HAAGER, J.: Färberei-Zeitung **23**, 21 (1912) C. 12 I 975.

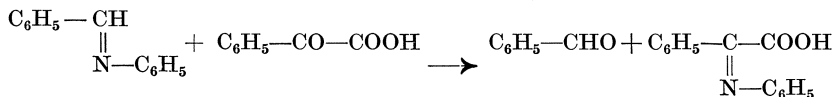
In diesem Zusammenhange sind auch die Versuche von N. W. PIRIE¹ zu nennen, bei denen die Oxydation des Cysteins mit Wasserstoffperoxyd in saurer Lösung durch Thiocarbamid oder Ergothionein beschleunigt wird, vielleicht nach folgendem Mechanismus:



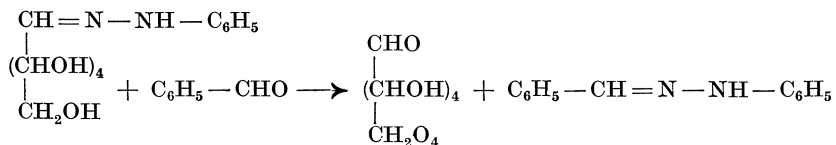
e) Die Spaltung der α -Ketosauren. L. SIMON² fand im Jahre 1896, daß das Anil der Phenylglyoxylsäure bei seinem Schmelzpunkt in Kohlendioxyd und Benzalanilin zerfällt



und in demselben Jahre benutzte L. BOUVEAULT³ diese Reaktion, um aus den α -Ketosauren die entsprechenden Aldehyde zu gewinnen. Man durfte nun erwarten, daß die Spaltungsreaktion bei Gegenwart eines Überschusses von Phenylglyoxylsäure zu einer katalytischen werden würde. Das entstandene Benzalanilin sollte sich nämlich mit Phenylglyoxylsäure zu Benzaldehyd und Phenylglyoxylsäure-anil umsetzen,



ähnlich wie man nach HERZFELD⁴ aus den Phenylhydrazonen mittels Benzaldehyd die freien Zucker gewinnt:



In beiden Fällen liefert eine Aminoverbindung A mit einer Carbonylverbindung B die Carbonylverbindung A und die Iminoverbindung B.

Die Erwartung hat sich bestätigt⁵. Erhitzt man Phenylglyoxylsäure mit Benzalanilin, z. B. auf 137°, so beobachtet man die Entwick-

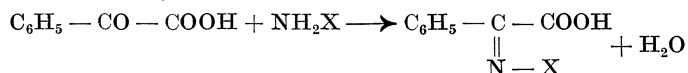
¹ Biochemic. J. **27**, 1181 (1933). — ² Ann. Chim. phys. (7) **9**, 517 (1898).

³ C. r. **122**, 1543 (1896); MAUTHNER, F.: Ber. **42**, 188 (1909).

⁴ Ber. **28**, 442 (1895).

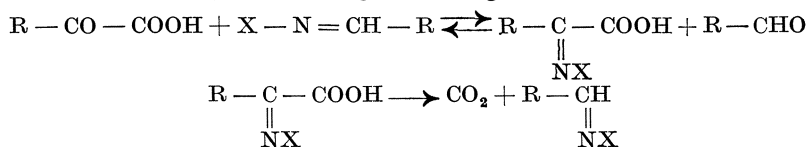
⁵ LANGENBECK, W. und R. HUTSCHENREUTER: Z. anorg. u. allg. Chem. **188**, 1 (1930).

lung von Kohlendioxyd. Phenylglyoxylsäure läßt sich mit Benzalanilin katalytisch spalten, und da alle primären Amine beim Erhitzen mit Phenylglyoxylsäure unter Abspaltung von Wasser substituierte Iminosäuren bilden,



ist grundsätzlich jedes primäre Amin zu der gleichen Katalyse befähigt.

Ferner hat sich gezeigt, daß Phenylglyoxylsäure durch andere α -Ketosäuren, z. B. Brenztraubensäure¹, ersetzt werden kann. Danach verläuft die Katalyse nach folgendem allgemeinen Schema:



Meßmethode². Zur Messung der Kohlendioxydentwicklung bei 100⁰ und darüber dient am besten ein gravimetrisches Verfahren, das sich an ein ähnliches von K. FAJANS³ anschließt. Die Zersetzung der Phenylglyoxylsäure wird in reinem Stickstoff vorgenommen. Den Stickstoff entnimmt man einer Bombe, fängt ihn in einem Gasometer auf, befreit ihn mit alkalischer Hydrosulfitlösung und glühendem Kupfer vom Sauerstoff und leitet ihn endlich durch einen Trockenturm mit Natronkalk und Chlorcalcium. Als Reaktionsgefäß dient ein Reagensglas aus Jenaer Glas, das durch einen Gummistopfen mit einem Aufsatz zum Einleiten und Abführen der Gase verbunden wird. Das Reaktionsgefäß taucht in einen Siedekolben, der je nach der gewünschten Temperatur mit Xylol (137—138⁰) oder Wasser beschickt wird. Die Temperatur hält sich während jedes Versuchs auf $\pm 0,1^0$ konstant. Der Stickstoffstrom streicht, um das entwickelte Kohlendioxyd vollständig mitzunehmen, mit einer Geschwindigkeit von 2 Litern pro Stunde (Strömungsmesser!) durch die Reaktionsflüssigkeit, dann, zur Reinigung von mitgerissenen Dämpfen, durch eine Glasrohrspirale, die in einer Eis-Koch-

¹ Eine Ausnahme macht die Reaktion von aromatischen Aminen mit Brenztraubensäure, die bekanntlich zur Methyl-chinolin-carbonsäure bzw. ihren Derivaten führt [BÖTTINGER, C.: Liebigs Ann. **191**, 321 (1878); DÖBNER, O.: Liebigs Ann. **242**, 265 (1887)]. Das haben CLAUSSNER, P.: (Dissertation Danzig 1907, S. 43) und BOKLUND, U.: [Biochem. Z. **226**, 56 (1930)] nicht beachtet und die Reaktion zwischen Anilin und Brenztraubensäure irrtümlich als katalytische bezeichnet.

² LANGENBECK, W. und R. HUTSCHENREUTER: Z. anorg. u. allg. Chem. **188**, 10 (1930); LANGENBECK, W., R. HUTSCHENREUTER und R. JÜTTEMANN: Liebigs Ann. **485**, 60 (1931).

³ Z. physik. Chem. **73**, 25, 33 (1910).

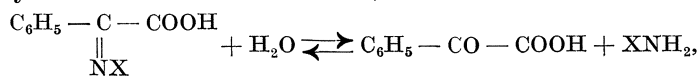
salz-Mischung auf -10^0 gekühlt wird. Daran schließt sich ein kleines U-Rohr mit Chlorcalcium, ein Dreiwegehahn, und endlich an die beiden freien Enden des Hahns je zwei U-Rohre, die in der üblichen Weise mit angefeuchtetem Natronkalk und am Ende mit einer Schicht Chlorcalcium gefüllt werden.

In das Reaktionsgefäß wägt man 0,5 g Phenylglyoxylsäure, 0,1 g phenylglyoxylsaures Kalium und 4,5 g Phenol ein, erhitzt die Flüssigkeit des Dampfbades zum Sieden und wartet 10 Minuten bis zum Temperatenausgleich. Den Katalysator (10^{-4} bis $5 \cdot 10^{-6}$ Mol) wägt man in einem kleinen Wachshütchen ein und wirft dieses zu Beginn der Reaktion in die Substratlösung. In Zeitabständen von $7\frac{1}{2}$ Minuten wird der Dreiwegehahn umgeschaltet und dadurch der Gasstrom in das andere U-Rohrpaar geleitet. In dieser Zeit lassen sich die ausgeschalteten Rohre bequem zur Wägung bringen und wieder anschalten.

Für tiefere Temperaturen (37^0) wendet man zweckmäßig die manometrische Methode an: 5 g Phenol, 5 g o-Kresol, 0,5 g Phenylglyoxylsäure und 0,1 g phenylglyoxylsaures Kalium werden unter gelindem Erwärmen in Lösung gebracht. Die Mischung bleibt auch bei Zimmertemperatur flüssig und homogen¹. Wichtig ist es, völlig wasserfreie Phenole zu verwenden. Für jeden Versuch werden 10^{-6} bis $2 \cdot 10^{-6}$ Mol Katalysator auf der Mikrowaage in den Atmungsstrog eingewogen und mit 2 ccm Phenol-Substrat-Mischung geschüttelt.

Einfluß von Zusätzen. Verdünnt man die Schmelze der Phenylglyoxylsäure mit Lösungsmitteln, so tritt im allgemeinen eine Erhöhung der Reaktionsgeschwindigkeit ein. Sie ist gering bei Zusatz von Kohlenwasserstoffen (z. B. Acenaphten) oder von Carbonsäuren (Benzoesäure), sehr beträchtlich dagegen bei hydroxylhaltigen Zusätzen (Cyklohexanol, Gallensäuren, Sterine). Am besten verwendet man Phenol als Lösungsmittel, weil seine tertiäre Hydroxylgruppe nicht der Veresterung mit Phenylglyoxylsäure unterliegt, und weil Phenol die Katalysatoren sehr leicht löst. Für manche Katalysatoren ist ferner der Zusatz von Alkalisalzen der Ketosäure erforderlich. Es handelt sich dabei wohl um die Einstellung einer günstigen H-Ionen-Konzentration.

Hemmende Zusätze sind vor allem Wasser und Aldehyde. In beiden Fällen wird die Reaktionsgeschwindigkeit vermindert, weil die Konzentration der reaktionsvermittelnden Iminosäure kleiner wird. Wasser hydrolysiert nämlich die Iminosäure, z. B.:



¹ Der BUNSENSCHE Absorptionskoeffizient von Kohlendioxyd in einer Mischung von gleichen Teilen Phenol und o-Kresol bei 37^0 , den man für die Berechnung der Gefäßkonstanten braucht, ist $a = 1,124$.

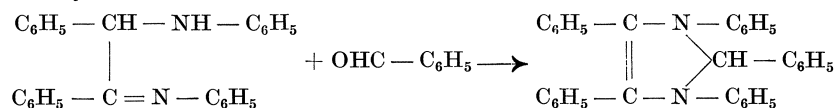
während Aldehyde den Katalysator zum Aldehydimin binden und dadurch vom Substrat abdrängen. Hierüber wird noch in dem Abschnitt über Kinetik ausführlicher zu sprechen sein.

Nebenreaktion. Erhitzt man Phenylglyoxylsäure mit Benzalanilin, so wird nicht beliebig viel Ketosäure gespalten, wie man erwarten sollte, sondern 1 Mol Benzalanilin führt zur Entwicklung von höchstens 3 Mol Kohlendioxyd. Der Katalysator wird also während der Reaktion verbraucht. Bei anderen Katalysatoren ist das Verhältnis

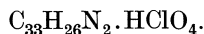
$$\frac{\text{Mole CO}_2}{\text{Mole Katalysator}}$$

zwar sehr viel günstiger, man kommt leicht auf einen Wert von mehreren Hundert, aber allmählich läßt die Katalyse stets nach, wie es auch bei dem Ferment Carboxylase der Fall ist.

Der Mechanismus der Nebenreaktionen ließ sich aufklären¹. Schon L. SIMON² hatte beobachtet, daß beim Erhitzen des phenylglyoxylsauren Anilins ein hochschmelzender Stoff in geringer Menge entsteht. Die Verbindung bildet sich unter denselben Bedingungen, bei denen Anilin die Spaltung der Phenylglyoxylsäure katalysiert. Da das Nebenprodukt stickstoffhaltig ist und auf Phenylglyoxylsäure nicht einwirkt, erklärt sich durch sein Auftreten der Verbrauch des Katalysators. Seine Konstitution folgt aus einer neuen Synthese, er entsteht nämlich in guter Ausbeute, wenn man Benzoin-anil-anilid mit Benzaldehyd erhitzt:



Die Analysenwerte standen in Übereinstimmung mit der Formel $\text{C}_{33}\text{H}_{26}\text{N}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, das Perchlorat besaß die Zusammensetzung



Die Synthese spricht für die Formel eines Pentaphenyl-Dihydro-Imidazols. Streng bewiesen ist jedenfalls, daß sich das Nebenprodukt vom Benzoin-anil-anilid ableitet. Daraus darf man schließen, daß es auch bei der katalytischen Spaltung von Phenylglyoxylsäure mit Anilin auf diesem Wege gebildet wird. Zwei Moleküle Benzalanilin treten zu Benzoin-anil-anilid zusammen, und zwar muß mindestens das eine Molekül sich in statu nascendi befinden, da sich aus Benzalanilin allein mit Benzaldehyd das Pentaphenyl-dihydro-imidazol nicht bildet. Wir werden später sehen, daß das Auftreten des Benzoin-anil-anilids für den Nachweis einer fermentähnlichen Wirkung der Car-

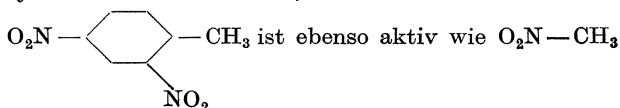
¹ LANGENECK, W., R. HUTSCHENREUTER und R. JÜTTEMANN: Liebigs Ann. 485, 53 (1931). — ² Ann. Chim. phys. (7) 9, 515 (1896).

boxylasemodelle von großer Bedeutung ist, weil sich durch diese Befunde die Carboligasewirkung erklären läßt.

Aktivierung durch Substitution. Da bereits bei den Dehydrasemodellen erfolgreiche Versuche zur Aktivierung durch Substitution vorlagen, war es naheliegend, dasselbe auch bei den Carboxylasemodellen zu versuchen. Zunächst wollen wir zwei Bezeichnungen einführen: Die „aktive Gruppe“ des Katalysators ist diejenige, die unmittelbar mit dem Substrat in Reaktion tritt, „aktivierende Gruppen“ sind solche, die während der Umsetzung unverändert bleiben, aber der aktiven Gruppe ihre hohe Wirksamkeit verleihen.

Es ist wohl allgemein bekannt, daß die gegenseitige Beeinflussung verschiedener Gruppen im Molekül zu den großen Grundlagen der organischen Chemie gehört, durch die ihr eigentümlicher Charakter bestimmt wird. Wenn das Vermögen des Kohlenstoffs, sich mit gleichartigen Atomen zu Ketten und Ringen zu vereinigen, die *strukturelle* Mannigfaltigkeit der organischen Moleküle bedingt, so ist die Tatsache, daß chemische Gruppen sich gegenseitig beeinflussen können, für die Mannigfaltigkeit der organischen *Reaktionen* verantwortlich zu machen. Ohne die Aktivierungserscheinungen wären z. B. die so vielseitigen Kondensationsreaktionen nicht möglich. Aldehyde oder Carbonsäureester kondensieren sich nie mit Kohlenwasserstoffen, sondern immer nur mit solchen Methylenverbindungen, deren Wasserstoffatome durch die Nachbarschaft ungesättigter Gruppen, z. B. Carbonyle, reaktionsfähig gemacht sind. Bereits die charakteristischen Eigenschaften der Carbonsäuren, ihre Fähigkeit, Wasserstoffionen abzuspalten, sich zu verestern usw., alles Eigenschaften, die den einfachen Hydroxylverbindungen nicht zukommen, sind der Nachbarschaft von $> \text{CO}$ und $-\text{OH}$ in der Carboxylgruppe zuzuschreiben. Bei Substitutionen im Benzolkern dirigieren die Substituenten die neu eintretende Gruppe in bestimmte Stellen, die eine erhöhte Reaktionsfähigkeit besitzen. Auch das ist eine Aktivierungserscheinung.

Es ist nun eine allgemein gültige Regel, daß in einer aliphatischen Kohlenstoffkette die Aktivierung mit wachsender Entfernung der beiden Gruppen rasch abnimmt. So ist z. B. in der Propionsäure die endständige Methylgruppe nicht mehr besonders reaktionsfähig. In aromatischen Kernen können sich dagegen auch solche Gruppen beeinflussen, die verhältnismäßig weit auseinanderstehen. Das tritt z. B. in Erscheinung beim 2,4-Dinitrotoluol, dessen Methylgruppe sich ebenso mit Aldehyden kondensieren läßt, wie die des Nitromethans:



Es leuchtet nun ohne weiteres ein, daß wir bei der Aktivierung organischer Katalysatoren die aromatischen Ringsysteme bevorzugen werden. Auf diese Weise können wir nämlich aktivierende Gruppen in größerer Zahl im Katalysatormolekül unterbringen, da sie nicht in unmittelbarer Nähe der aktiven Gruppe zu stehen brauchen. Unter den aromatischen Ringsystemen sind die mehrkernigen besonders geeignet. Sie besitzen mehr substituierbare Wasserstoffatome als das Benzol, und man kann durch geeignete Wahl der Stellung die Wirkung besonders fein abstimmen.

Bei den Carboxylasemodellen ist nun zum erstenmal von LANGENBECK und Mitarbeitern¹ die mehrstufige „systematische Aktivierung“ durchgeführt worden. Es hat sich nämlich gezeigt, dass ein Katalysatormolekül, das durch einmalige Substitution aktiviert worden ist, durch Einführung eines zweiten Substituenten an geeigneter Stelle ein zweites Mal aktiviert werden kann. Die Aktivierung läßt sich sogar anscheinend beliebig oft wiederholen. Unter günstigen Bedingungen besitzt der neue Katalysator nach der Aktivierung die mehrfache Wirksamkeit wie der vorhergehende. Die Aktivität eines organischen Katalysators ist somit keine additive, sondern eine „multiplikative“² Eigenschaft. So kommt es, daß man mit wenigen aktivierenden Gruppen zu Reaktionskonstanten kommen kann, die um mehrere Zehnerpotenzen höher liegen als bei dem Grundstoff.

Wir verdeutlichen das Verfahren durch ein allgemeines Schema (Abb. 1), in dem A den Grundkörper bedeutet, $B_1, B_2, B_3 \dots B_n$ und $C_1, C_2, C_3 \dots C_n$ usw. die aktivierenden Gruppen. B_n, C_n und D_n sind diejenigen aktivierenden Gruppen, welche die günstigste Wirkung ergeben. Sie müssen durch empirische Versuche ermittelt werden. Man sieht aus dem Schema ohne weiteres, daß bei der systematischen Aktivierung eine Art „Stammbaum“ von Katalysatoren entsteht. In der Tat hat das Verfahren viel Ähnlichkeit

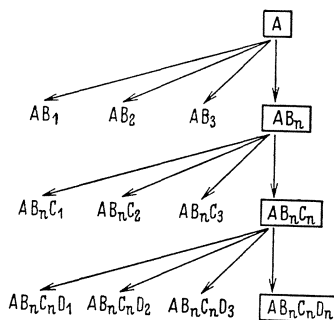


Abb. 1. Schema der systematischen Aktivierung³.

¹ LANGENBECK, W., R. HUTSCHENREUTER und R. JÜTTEMANN: Liebigs Ann. 485, 53 (1931); LANGENBECK, W., R. JÜTTEMANN und F. HELLRUNG: Liebigs Ann. 499, 201 (1932); LANGENBECK, W., F. HELLRUNG und R. JÜTTEMANN: Liebigs Ann. 512, 276 (1934); Zusammenfassungen: LANGENBECK, W.: Z. angew. Chem. 45, 97 (1932); Erg. Enzymforsch. 2, 314 (1933); Erg. d. Physiol. exp. Pharmak. 35, 470 (1933).

² Vgl. TRAUTZ, M.: Z. angew. Chem. 42, 89 (1929).

³ Z. Elektrochem. 40, 486 (1934).

mit der Methode der Tier- und Pflanzenzüchter. Die besten Exemplare jeder Generation werden jedesmal zur Weiterzucht, in unserem Falle zur weiteren Substitution verwendet.

Selbstverständlich ist dies Verfahren der Aktivierung sehr mühsam, eben weil man eine Anzahl Katalysatoren vergeblich synthetisieren muß, bis man mehr oder weniger zufällig zu einem hochaktiven Derivat kommt. Hier liegt ein außerordentlich wichtiges Problem. Die Entwicklung der organischen Katalyse könnte sehr beschleunigt werden, wenn sich theoretisch voraussagen ließe, welche Gruppen in einem speziellen Falle aktivierend wirken und welchen Platz im Katalysatormolekül sie dazu einnehmen müssen. Bekanntlich stößt die Theorie dabei bisher auf unüberwindliche Schwierigkeiten. Eine exakte quantitative Lösung des Problems ist wohl auch nicht möglich, da die organischen Strukturformeln ein viel zu rohes Bild von dem wirklichen Molekülbau geben und die quantenmechanische Behandlung auf kompliziertere Moleküle noch nicht anwendbar ist. Aber es erscheint durchaus möglich, durch weitgehende Vereinfachungen wenigstens qualitativ die voraussichtliche Wirkung eines Substituenten theoretisch zu erfassen. Für die praktische Fermentsynthese würde das vollständig ausreichen.

Einstweilen müssen wir uns mit der empirischen Methode begnügen, die, wie die Erfahrung gezeigt hat, schließlich auch zum Erfolg führt. Je systematischer man dabei zu Werke geht, desto größer ist die Aussicht auf einen Fortschritt. Es wäre aussichtslos, sofort ein Fermentmodell mit einer größeren Zahl aktivierender Gruppen aufbauen zu wollen, da die Anzahl der möglichen Kombinationen unendlich groß wäre und es deshalb nicht gelingen würde, die wenigen wirksamen Katalysatoren empirisch herauszufinden. Zunächst können wir schon mit einer größeren Wahrscheinlichkeit der Aktivierung rechnen, wenn wir sie in einzelne Stufen zerlegen. Jeder Aktivierungsstufe entspricht eine ganze Generation von Katalysatoren, und es fragt sich nun, ob wir innerhalb dieser Generationen auf ein willkürliches Tasten angewiesen sind, oder auch hierbei ein bestimmtes System verfolgen können. Neueste Versuche haben gezeigt, daß dies durchaus möglich ist¹. Die Wirkung der aktivierenden Gruppen hängt von zwei Faktoren ab, von ihrer chemischen Natur und von ihrer Stellung im Molekül. Es hat sich nun als zweckmäßig erwiesen, einen dieser Faktoren konstant zu halten, also entweder ein und dieselbe Gruppe nacheinander in alle freien Stellen des Moleküls einzuführen, oder in ein und derselben Stellung verschiedenartige Gruppen durchzuprobieren. Bis jetzt scheint es so, als sei die Stellung der Gruppe ausschlaggebend, und erst in


¹ LANGENBECK, W., F. HELLRUNG und R. JÜTTEMANN: Liebigs Ann. 512, 276 (1934).

zweiter Linie ihre chemische Natur. Beim Isatin läßt sich ja durch so verschiedenartige Gruppen wie Br und SO_3H in der 5-Stellung eine ähnliche Wirkung erzielen. Wir werden gleich sehen, daß bei den Carboxylasemodellen die phenolische Hydroxylgruppe in verschiedenen Stellungen sehr unterschiedliche Wirkungen hervorbringt, also entweder aktiviert oder auch inaktiviert.

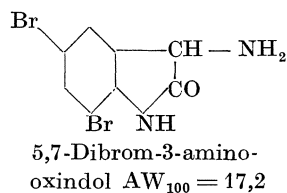
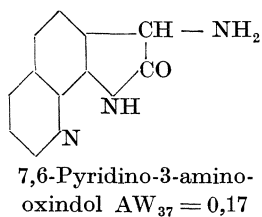
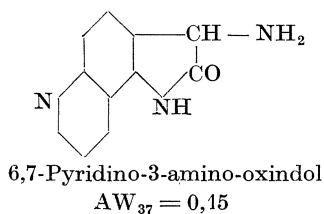
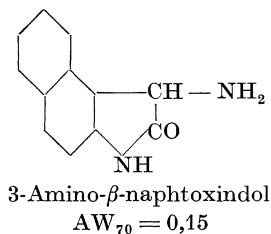
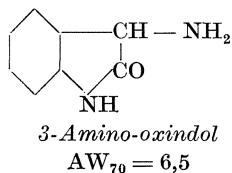
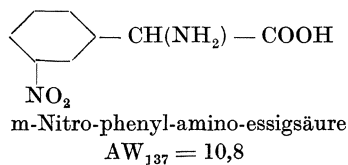
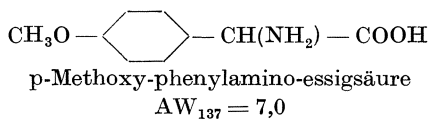
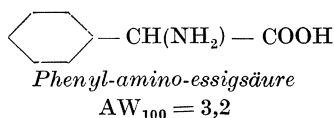
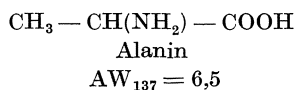
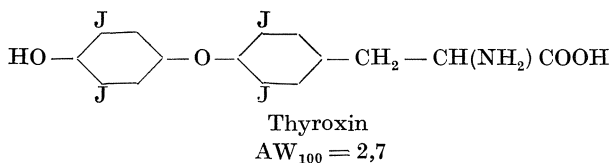
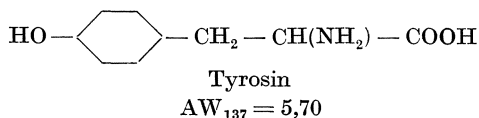
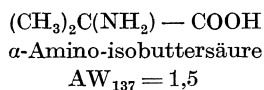
Tabelle 9 gibt einen Überblick über die Anwendung der systematischen Aktivierung auf die Carboxylasemodelle. Die Zahlen unter den Formeln bedeuten den „Aktivitätswert“, sie geben an, wieviel Mole Phenylglyoxylsäure 1 Mol Katalysator in den ersten 5 Minuten bei der betreffenden Temperatur spaltet (z. B. $\text{AW}_{37} = \text{Aktivitätswert bei } 37^\circ$). Die kursiv gedruckten Namen bedeuten die Grundstoffe jeder „Generation“, also die Katalysatoren, die als Ausgangsstoffe für eine neue Serie von Substitutionen dienen. Innerhalb der Generationen sind die Katalysatoren nach ansteigender Aktivität geordnet. In Abb. 2 sind die Aktivitätswerte der Grundstoffe durch die Länge der schwarzen Stäbe graphisch dargestellt¹, und zwar in logarithmischem Maßstab. Die weißen Stäbe bedeuten den Gesamtumsatz.

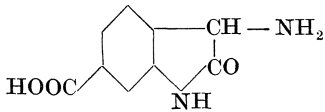
Beim einfachsten primären Amin, dem Methylamin, ist die Anfangsgeschwindigkeit noch kleiner als 1, der Logarithmus ist negativ. Führt man in die Methylgruppe Substituenten ein, so wächst die Aktivität mehr oder weniger, am stärksten aktiviert die Carboxylgruppe. Beim Glykokoll ist AW_{100} schon erheblich größer als 1. In der Methylengruppe des Glykokolls wurde weiter substituiert, die Phenylaminoessigsäure zeigte das günstigste Ergebnis. In die Phenylgruppe ließen sich leicht neue aktivierende Gruppen einführen. Am wirksamsten erwies sich eine Aminogruppe in Orthostellung. Diese Substitution ist verknüpft mit einer intramolekularen Wasserabspaltung, sie führt zum 3-Amino-

Tabelle 9. Carboxylasemodelle.

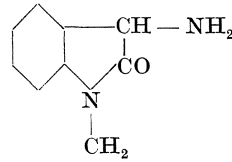
$\text{CH}_3 - \text{NH}_2$ <i>Methylamin</i> , $\text{AW}_{137} = 0,25$	$\text{CH}_3 - \text{CH}_2 - \text{NH}_2$ Äthylamin $\text{AW}_{137} = 0,25$
$\text{CH}_3 - \text{CH}(\text{NH}_2) - \text{CH}_2 - \text{COOH}$ <i>β-Amino-buttersäure</i> $\text{AW}_{137} = 0,47$	 Anilin $\text{AW}_{137} = 1,65$
	$\text{CH}_2(\text{NH}_2) - \text{COOH}$ <i>Glykokoll</i> $\text{AW}_{137} = 4,65$

¹ Einheitlich umgerechnet auf eine Reaktionstemperatur von 100° , unter der Voraussetzung, daß die Temperaturkoeffizienten aller Katalysatoren gleich sind. Die wirksamsten Katalysatoren lassen sich nicht mehr bei 100° messen, sondern am besten bei 37° . Sie sind, besonders bei Gegenwart von Sauerstoff, sehr hitzeempfindlich und auch darin den Fermenten ähnlich.

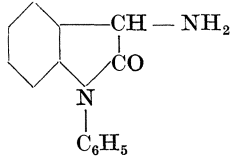




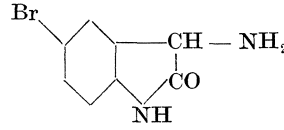
3-Amino-oxindol-
6-carbonsäure $AW_{100} = 18,0$



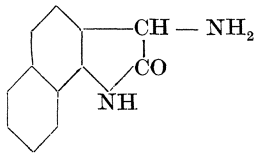
1-Methyl-3-amino-
oxindol $AW_{100} = 60$



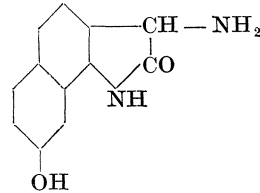
1-Phenyl-3-amino-
oxindol $AW_{70} = 5,3$



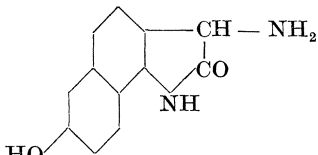
5-Brom-3-amino-oxindol
 $AW_{70} = 7,4$



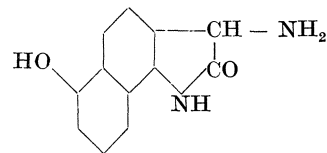
3-Amino- α -naphthoxindol
 $AW_{37} = 0,64$



3-Amino-8-oxy- α -naphthoxindol
 $AW_{37} = 0,20$



3-Amino-7-oxy- α -naphthoxindol
 $AW_{37} = 0,79$



3-Amino-6-oxy- α -naphthoxindol
 $AW_{37} = 1,48$

oxindol. Dabei ist der Aktivitätssprung besonders groß, Amino-oxindol ist etwa 20mal so wirksam wie Phenylaminoessigsäure. 6,7-Benzo-3-amino-oxindol (3-Amino- α -naphthoxindol) gab die doppelte Reaktionsgeschwindigkeit wie 3-Amino-oxindol und von den isomeren Oxy-3-amino- α -naphthoxindolen war das 6-Oxyderivat wieder doppelt so aktiv wie sein Grundkörper. Somit ist die Aktivierung bisher fünfmal gelungen, mit einer Gesamtzunahme der Wirksamkeit auf den 4000fachen Wert.

Interessant ist ein Vergleich des stärksten Carboxylasemodells mit natürlichen Enzympräparaten. 1 g der künstlichen Carboxylase setzt bei 37° in der Minute 1,25 Millimol Ketosäure um, 1 g krystallisiertes Pepsin von NORTHPROP spaltet bei 35,5° an Peptidbindungen 28 Milli-

äquivalente in der Minute¹. Es zeigt sich also, daß das kristallisierte natürliche Enzym nur 22mal so wirksam ist wie das synthetische. Das ist im Vergleich zu der 4000fachen Aktivierung nur eine kleine Spanne.

Was die Gesamtmenge an Substrat betrifft, die durch 1 Mol Katalysator umgesetzt werden kann, so zeigt Abb. 2, daß diese Zahl

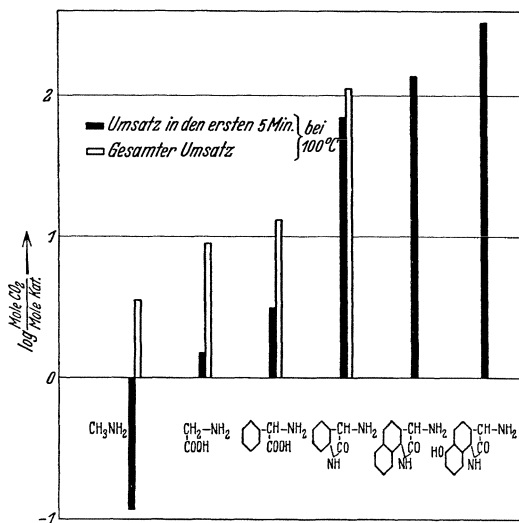


Abb. 2. Graphische Darstellung der systematischen Aktivierung von Carboxylasemodellen.

mit der Aktivität der Katalysatoren stark ansteigt. Die Katalyse nähert sich um so mehr einer idealen, je stärker die Katalysatoren sind. Theoretisch läßt sich das leicht verstehen. Wenn die Hauptreaktion spezifisch aktiviert wird, werden es die Nebenreaktionen im allgemeinen nicht, sie werden also verhältnismäßig immer mehr zurücktreten. Z. B. spaltet 1 Mol 5-Brom-3-aminoxindol schon etwa 225 Mol Ketosäure.

Heterogene Carboxylasemodelle². Ein Unterschied zwischen der natürlichen Carboxylase und ihren Modellen bestand noch darin, daß die primären Amine in wäßriger Lösung fast unwirksam sind (siehe oben), während die Carboxylase, wie alle Fermente, gerade auf das wäßrige Medium angewiesen ist. Diese Schwierigkeit ließ sich durch Anwendung eines wasserunlöslichen Trägers überwinden. Dazu erwies sich der Salicylsäuremethylester geeignet, denn er enthält eine Hydroxylgruppe — die Vorbedingung für eine kräftige katalytische Wirkung — und ist in Wasser wenig löslich. Er löst aber leicht sowohl 3-Amino- α -naphthoxindol als auch Brenztraubensäure, und so kann sich die Reaktion innerhalb des als Emulsion fein verteilten Trägers unter Ausschluß von Wasser abspielen, obgleich die Brenztraubensäure in wäßriger Lösung zur Anwendung kommt. Als Ersatz für das brenztraubensaure Natrium, das sich in dem Träger nicht lösen würde, wird zweckmäßig Lecithin beigemischt. Bringt man die Mischung mit wäßriger Brenztraubensäure zusammen, so bildet sich brenztraubensaures Lecithin. So hat

¹ NORTHROP, J. H.: *Erg. Enzymforsch.* 1, 302 (1932).

² LANGENBECK, W.: *Erg. Enzymforsch.* 2, 326 (1933).

man noch den Vorteil, daß die Ketosäure in dem Träger nicht nur gelöst, sondern auch chemisch gebunden wird.

Tabelle 10. Wirkung von heterogenen Carboxylasemodellen in wäßriger Lösung.

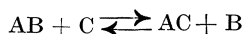
Min.	I cmm CO ₂	II cmm CO ₂
150	0,15	24,5
450	0,39	56,0

I: 1 mg 3-Amino- α -naphthoxindol-chlorhydrat, 0,2 g Brenztraubensäure, 0,2 g brenztraubensaures Natrium, 2 ccm Wasser, 37°.

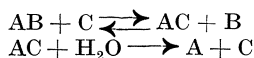
II: 1mg 3-Amino- α -naphthoxindol-chlorhydrat gelöst in einer Mischung von 0,1 g Salicylsäure-methylester und 0,05 g Lecithin. Die Mischung wurde als Emulsion suspendiert in einer Lösung von 0,2 g Brenztraubensäure und 0,2 g brenztraubensaurem Natrium in 2 ccm Wasser. 37°.

Es handelt sich hierbei um Vorversuche. Wahrscheinlich lassen sich durch Änderung des p_H oder mit anderen Trägersubstanzen viel bessere Ergebnisse erzielen.

d) **Esterverseifung.** Bringt man einen Ester AB, bestehend aus der Säure A und dem Alkohol B, mit einem Alkohol C zusammen, so findet unter dem katalytischen Einfluß von Hydroxylionen leicht ein Austausch der Alkohole statt¹. Es bildet sich ein Gleichgewicht heraus:



Dieser als Umesterung bezeichnete Vorgang ist die Grundlage einer neuen Esterverseifung mit organischen Katalysatoren². Wählt man nämlich den Alkohol C so, daß der neue Ester AC leichter durch Wasser verseift wird als AB, so wirkt C durch eine Folgereaktion als Katalysator:



Tatsächlich sind in der älteren Literatur Alkohole beschrieben, welche dieser Bedingung entsprechen. Ein solcher ist das Benzoylcarbinol, dessen Acetat schon durch Sodalösung³ und sogar durch kochendes Wasser⁴ glatt hydrolysiert wird. LANGENBECK und BALTES konnten zeigen, daß durch $5 \cdot 10^{-4}$ Mol Benzoylcarbinol in 2 ccm

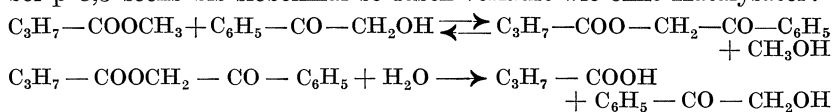
¹ Vgl. z. B. HENRIQUES, R.: Z. angew. Chem. 1898, 338; KREMANN, R.: Monatsh. 26, 783 (1905); 29, 23 (1908). Ältere Literatur bei PFANNL, M.: Monatsh. 31, 301 (1910).

² LANGENBECK, W. und J. BALTES: Ber. 67, 387, 1204 (1934).

³ HUNNIUS, H.: Ber. 10, 2010 (1877); PLÖCHL, J. und F. BLÜMLEIN: Ber. 16, 1292 (1883).

⁴ EVANS, W. L.: Amer. chem. Journ. 35, 119 (1906).

wäßriger Lösung die alkalische Verseifung des Buttersäure-methylesters bei p 8,3 sechs bis siebenmal so rasch verläuft wie ohne Katalysator:¹



Meßmethode. Man verfährt am besten ähnlich, wie es E. KNAFFL-LENZ² für die Messung der Esterasewirkung angegeben hat. In ein Reagenzglaschen von etwa 10 cm Länge werden $5 \cdot 10^{-4}$ bis $2 \cdot 10^{-4}$ Mol Katalysator eingewogen, mit 2 ccm kohlensäurefreiem Wasser, einem Tropfen einer 1%igen alkoholischen Phenolphthaleinlösung und 0,5 ccm Methylbutyrat versetzt und in einen innen weiß emaillierten Thermostaten von 80,0⁰ gebracht. Um eine gute Durchmischung zu erreichen und gleichzeitig die Kohlensäure der Luft fernzuhalten, läßt man durch ein enges Glasrohr einen langsamen Wasserstoffstrom durch die Flüssigkeit streichen. Der verdampfte Ester muß von Zeit zu Zeit ersetzt werden, damit man stets eine gesättigte Lösung hat. Das Reaktionsgefäß wird mit einer Tageslichtlampe scharf beleuchtet und aus einer fein ausgezogenen Bürette tropfenweise soviel $\frac{n}{10}$ -Barytlaug zugegeben, daß die Lösung immer rot gefärbt bleibt.

Die Messungen an Methylbutyrat sind in Tab. 11 zusammengestellt.

Tabelle 11. Verseifung von Methylbutyrat.

Katalysator	Menge in Molen	verbrauchte ccm $\frac{n}{10}$ Ba(OH ₂) nach					
		5 Min.	10 Min.	15 Min.	20 Min.	25 Min.	30 Min.
Ohne Katalysator	—	0,08	0,17	0,30	0,41	0,50	0,60
Glykolsäure-anilid	$5 \cdot 10^{-4}$	0,33	0,80	1,20	1,70	2,20	2,70
Benzoylcarbinol	$5 \cdot 10^{-4}$	1,00	1,38	1,60	2,70	3,35	3,80
„	$2 \cdot 10^{-4}$	0,30	0,55	0,79	1,30	1,80	2,18
4-Acetaminobenzoyl-carbinol	$5 \cdot 10^{-4}$	0,25	0,51	0,79	1,11	1,40	1,70
4-Aminobenzoyl-carbinol	$5 \cdot 10^{-4}$	0,40	0,80	1,15	1,55	1,98	2,40
4-Methoxybenzoyl-carbinol	$5 \cdot 10^{-4}$	0,35	0,85	1,36	1,82	2,40	3,00
ω -Oxy-acetophenon-4-carbonsäure	$5 \cdot 10^{-4}$	0,48	0,90	1,36	1,91	2,45	3,01
β -Naphthoylcarbinol ³	$3 \cdot 10^{-4}$	0,65	1,28	1,90	2,40	3,10	3,72

¹ Die negativ verlaufenen Versuche von OLIVIER, S. C. J.: [Rec. Trav. chim. Pays-Bas 54, 322 (1935)] sind durch zu geringe Konzentration des Katalysators zu erklären. Vgl. LANGENBECK, W.: Ber. 68, 776 (1935). Die Beschleunigung der Esterhydrolyse durch Aminosäuren [K. G. FALK und J. M. NELSON, Am. chem. Soc. 34, 828 (1912); M. L. HAMLIN, Am. chem. Soc. 35, 624, 1899 (1913)] beruht wahrscheinlich auf einer Art „Salzeffekt“.

² Arch. f. exper. Path. 97, 242 (1923).

³ BALTES, J.: Dissertation Münster, 1935.

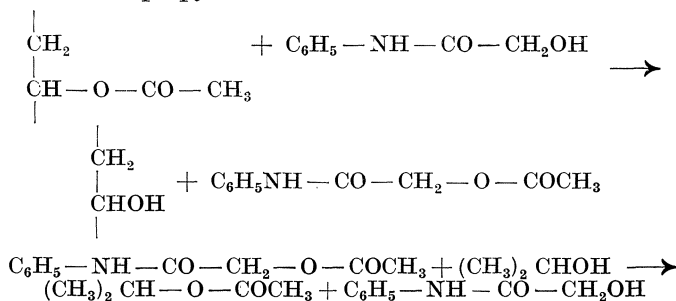
β -Naphthoylcarbinol war deutlich aktiver als Benzoylcarbinol, denn es ergab in einer Menge von $3 \cdot 10^{-4}$ Mol dieselbe Wirkung wie $5 \cdot 10^{-4}$ Mol Benzoylcarbinol.

Verseifung von Olivenöl. 2 ccm Olivenöl wurden mit 4 g gepulvertem Gummiarabicum und 1 ccm Wasser in der Reibschale fein zerrieben, bis eine zähe Paste entstanden war. Sie wurde mit 100 ccm einer 5%igen Lösung von desoxycholsaurem Natrium gemischt. Auf diese Weise ließ sich das Öl zum Teil in Lösung bringen. Von der Emulsion wurden 2 ccm zu jedem Versuch angewandt. Temperatur 80° , Indikator Phenolphthalein (Tab. 12).

Tabelle 12. Verseifung von Olivenöl.

Katalysator	Verbrauchte ccm Barytlaug nach		
	30 Min.	60 Min.	90 Min.
Ohne Katalysator	0,02	—	0,04
$5 \cdot 10^{-4}$ Mol. Benzoylcarbinol . .	0,10	0,21	0,26

Umesterung von polymerem Vinylacetat. Mit den aktiven Alkoholen lassen sich, wie zu erwarten, auch Umesterungen beschleunigen. Um den Vorgang quantitativ verfolgen zu können, verwendet man zweckmäßig einen nicht flüchtigen Ester, z. B. polymeres Vinylacetat, das sich durch Wasserdampfdestillation vom gebildeten neuen Ester — in unserem Falle Isopropylacetat — leicht trennen läßt, z. B.:



1,7 g (0,002 Mol) einer 10%igen Lösung von polymerem Vinylacetat (Mowilith N der I. G. Farbenindustrie oder Vinnapas B des Konsortiums für elektrochemische Industrie) in Chinolin wurden mit 3 ccm einer 1%igen Lösung von Kaliumacetat in Isopropylalkohol und 0,01 bis 0,002 Mol Katalysator in dickwandige Glasröhrchen eingeschmolzen und 10 bis 15 Stunden im Dampf von siedendem Cyklohexanol (etwa 160°) erhitzt. Zugleich wurde in demselben Dampfbade ein zweites Röhrchen als Blindprobe erhitzt, das dieselbe Füllung, nur ohne Katalysator enthielt.

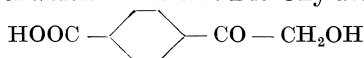
Nach dem Abkühlen wurden die Röhrchen geöffnet und der Inhalt mit Alkohol in einen Destillationsapparat gespült, wie ihn FREUDENBERG und

HARDER¹ für die Acetylbestimmung beschrieben haben. Nach Zugabe von Wasser wurde destilliert und in der Vorlage der gebildete Essigsäureisopropylester durch Verseifung mit $n/_{10}$ -Barytlauge bestimmt.

Tabelle 13. Umesterung von polymerem Vinylacetat.

Katalysator	Menge in Molen	Versuchsdauer Std.	Verbrauchte	
			ccm $n/_{10}$ Ba (OH) ₂ mitKata- lyikator	Blind- versuch
Benzylalkohol	0,01	10	4,55	2,21
α - Naphtylcarbinol . .	0,005	15	4,92	3,00
Glykolsäure-anilid . . .	0,002	15	7,40	3,00
Benzoylcarbinol	0,002	15	5,02	2,26

Verseifung von Schwefelsäureestern. Die Oxy-acetophenon-4-carbonsäure



hydrolysiert nicht nur Ester organischer Säuren, sondern hat zugleich die Eigenschaften einer Sulfatase. Während Äthylschwefelsäure und Phenylschwefelsäure in alkalischer Lösung ohne Katalysator völlig beständig sind, werden sie durch den organischen Katalysator deutlich gespalten. Titriert man mit Barytlauge, so findet man, daß am Schluß des Versuchs die entsprechende Menge Bariumsulfat ausgefallen ist. Die katalytische Wirkung beruht auf der Eigenschaft der Oxy-acetophenon-4-carbonsäure, leicht hydrolysierbare anorganische Ester zu bilden. Auch der Bromwasserstoffester (ω -Brom-acetophenon-4-carbonsäure) wird durch Wasser leicht gespalten. Die Substrate wurden als Kaliumsalze eingewogen, und zwar in einer Menge, die 0,1 g freier Säure in 2 ccm Wasser entsprach. (Tabelle 14).

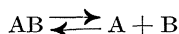
Tabelle 14. Verseifung von Schwefelsäureestern.

Katalysator	Menge inMolen	Substrat	ccm $n/_{10}$ Ba (OH) ₂ verbraucht nach					
			10Min.	20Min.	30Min.	40Min.	50Min.	60Min.
Ohne Katalysator .	—	Äthyl- schwefelsäure	—	—	—	—	—	0,0
		Phenyl- schwefelsäure	—	—	—	—	—	0,0
Benzoyl- carbinol . . .	$5 \cdot 10^{-4}$	{ Äthyl- schwefelsäure }	—	—	0,03	—	—	—
ω -Oxy-aceto- phenon-4-car- bonsäure . . .	$5 \cdot 10^{-4}$	{ OhneSubstrat }	—	—	—	—	—	—
		{ Äthyl- schwefelsäure }	0,10	0,18	0,26	0,31	0,37	0,43
		{ Phenyl- schwefelsäure }	0,08	0,16	0,23	0,30	0,38	0,44

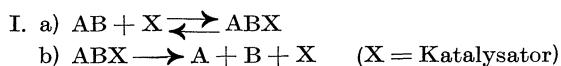
¹ Liebigs Ann. 433, 230 (1923).

3. Allgemeines über Hauptvalenzkatalysatoren und ihre Beziehungen zu den Fermenten.

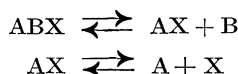
a) **Kinetik.** Der einfachste Fall einer reversiblen chemischen Reaktion wird durch die Gleichung ausgedrückt:



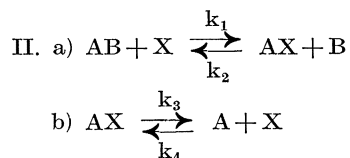
Wird eine solche Reaktion durch einen Katalysator beschleunigt, so treten neue Zwischenreaktionen auf. Man hat sie früher bei Fermentreaktionen nach HENRI¹, MICHAELIS und MENTEN² u. a. gewöhnlich so formuliert, daß sich der Katalysator zunächst locker an das Substrat anlagert. Der Zwischenstoff soll dann in die beiden Spaltprodukte und den Katalysator zerfallen: (I)



Dieses Schema schließt eine Reaktion ein, bei der gleichzeitig drei neue Moleküle (A, B und X) gebildet werden. Solche Vorgänge (wir wollen sie kurz als Drillingsreaktionen bezeichnen) sind offenbar ebenso unwahrscheinlich wie Dreierstöße, bei denen gleichzeitig drei Moleküle aufeinander prallen. Ebenso wie echte trimolekulare Reaktionen sehr selten vorkommen und sich meist in zwei bimolekulare zerlegen lassen, so dürfen wir annehmen, daß auch bei der Katalyse meist keine echten Drillingsreaktionen auftreten. Danach wäre die Teilreaktion b) zu zerlegen in:



Nun lassen sich erfahrungsgemäß bei Hauptvalenzkatalysen die primären lockeren Anlagerungsprodukte im allgemeinen nicht nachweisen. Da sie zudem für die Kinetik auch ohne Bedeutung sind, können wir die ganze Katalyse zusammenfassen in das Schema II (k_1 , k_2 , k_3 und k_4 seien die Reaktionskonstanten):



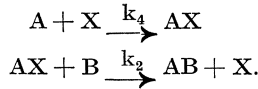
Bei den Hauptvalenzkatalysatoren sind nun besonders zwei Spezialfälle von Schema I verwirklicht:

1. $k_1 = 0$.
- $k_3 = 0$.

¹ Compt. rend. **115**, 916 (1902); Z. Elektrochem. **11**, 790 (1905).

² Biochem. Z. **49**, 333 (1913).

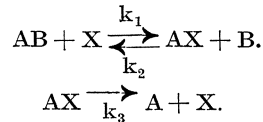
Dann nimmt das Schema die Gestalt an:



Es sind die Fälle, die wir oben als Additionsreaktionen zusammengefaßt haben.

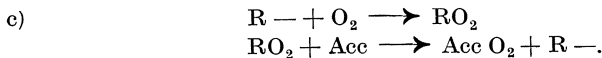
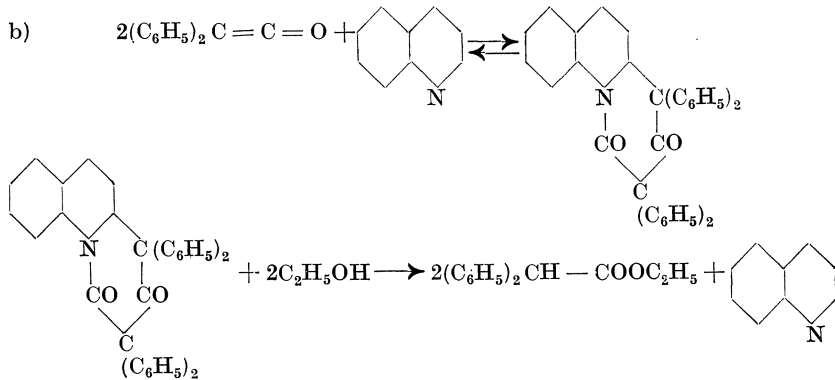
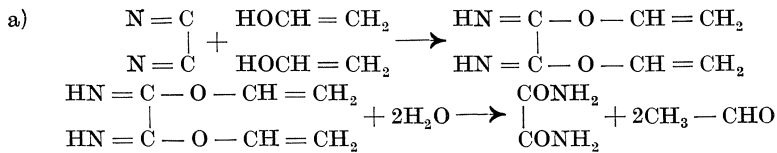
2. $k_4 = 0$.

So bekommen wir das Schema der Spaltungsreaktionen:

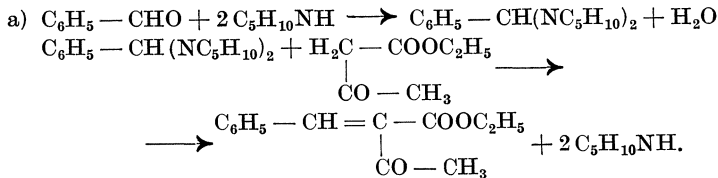


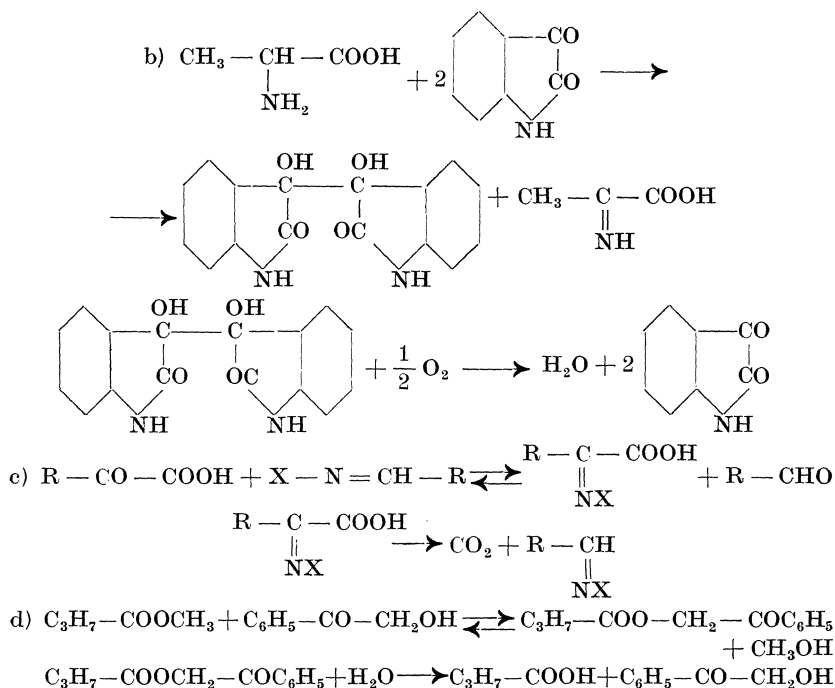
Wir stellen noch einmal alle bisher bekannten Hauptvalenzkatalysen zusammen und finden beim Vergleich, daß sie sich im wesentlichen in die einfachste Form 1. oder 2. einordnen:

1. Additionsreaktionen.



2. Spaltungsreaktionen.





Wir fassen das Ergebnis in der folgenden „Zwischenstoffregel“ zusammen: Bei *Additionsreaktionen* wird der Zwischenstoff auch durch *Addition des Katalysators an eins der Substrate* gebildet, bei *Spaltungsreaktionen* dagegen wird schon bei der *Bildung des Zwischenstoffs gleichzeitig eins der Endprodukte in Freiheit* gesetzt. Der Zwischenstoff entsteht durch eine *Substitution*.

Die Regel, die wir so theoretisch abgeleitet und experimentell bestätigt haben, ist von der größten Bedeutung, wenn es sich darum handelt, neue Katalysatoren zu finden. Es ist einleuchtend, daß man dabei leichter zum Ziel kommt, wenn man schon in großen Zügen den Reaktionsweg kennt, den der Katalysator einschlagen soll. Man hat dann gewissermaßen schon einen Konstruktionsplan in der Hand. Tatsächlich sind die esterspaltenden Katalysatoren nur durch die Kenntnis der Zwischenstoffregel entdeckt worden. Die Esterhydrolyse ist eine Spaltungsreaktion. Bei der Bildung des Zwischenstoffes muß also entweder Alkohol oder Säure frei werden. Von Stoffen, die mit Estern derart reagieren, daß Alkohol abgespalten wird, sind in erster Linie wieder Alkohole zu nennen, der Vorgang ist die Umesterung. Die einfachen Alkohole sind zwar noch keine Katalysatoren, weil der Weg über den neuen Ester im allgemeinen keine Beschleunigung bedeutet. Nun kann aber das Aktivierungsverfahren in Tätigkeit treten

und die nicht beschleunigende Zwischenreaktion zu einer Katalyse entwickeln, wie es tatsächlich gelungen ist. Das Prinzip der Umesterung wird sich vielleicht auch bei anderen hydrolytischen Spaltungsreaktionen, z. B. der Hydrolyse von Glucosiden, Polysacchariden und Polypeptiden zur Anwendung bringen lassen.

Es ist nun von Interesse, die Geschwindigkeit einer Hauptvalenzkatalyse und ihre Abhängigkeit von der Konzentration des Substrats und des Reaktionsprodukts kinetisch zu berechnen und das Ergebnis mit den Messungen an Hauptvalenzkatalysen und Fermentreaktionen zu vergleichen. Wir werden sehen, daß sich dabei eine auffallende Ähnlichkeit zwischen den Katalysatoren und Fermenten ergibt. Als Beispiel wählen wir die Spaltungsreaktion $AB \rightarrow A + B$, die nach obigem Schema 2. katalysiert wird. Diesem Schema folgen nämlich die meisten Fermentreaktionen, nicht nur einfache Spaltungen, wie die Decarboxylierung der Brenztraubensäure, sondern auch alle Hydrolysen, welche bei Überschuß von Wasser monomolekular verlaufen.

Die Theorie derartiger Zwischenstoffkatalysen ist von K. F. HERZFELD¹ begründet worden. Seine Ableitung bezieht sich ursprünglich auf gasförmige Katalysatoren, kann aber ohne weiteres auf verdünnte Lösungen übertragen werden. Die Geschwindigkeit der Katalyse muß gleich sein der Zersetzungsgeschwindigkeit des Zwischenstoffes (v_3). Nach dem Massenwirkungsgesetz ist v_3 proportional der Konzentration des Zwischenstoffes AX:

$$v_3 = k_3 [AX]$$

[AX] läßt sich berechnen auf Grund der Überlegung, daß sich bei der Katalyse rasch ein stationärer Zustand herausbilden muß, in dem die Reaktionen, die zur Bildung und Zerstörung von AX führen, sich die Waage halten. Im Verlauf längerer Zeit ändert sich [AX] zwar, aber für jeden kurzen Zeitabschnitt kann man diese Größe als konstant betrachten. Es seien v_1 , v_2 und v_3 die Geschwindigkeiten der Teilreaktionen mit den Konstanten k_1 , k_2 und k_3 . Dann wird AX mit der Geschwindigkeit v_1 gebildet, mit der Geschwindigkeit $v_2 + v_3$ verbraucht. Also ist im stationären Zustand

$$v_1 = v_2 + v_3$$

Nach dem Massenwirkungsgesetz gilt dann

$$k_1 [AB] \cdot [X] = k_2 [AX] \cdot [B] + k_3 [AX] \\ [X'] = [X] + [AX]$$

sei die Gesamtkonzentration des Katalysators, dann ist

$$[X] = [X'] - [AX] \text{ und } k_1 [AB] ([X'] - [AX]) = k_2 [AX] \cdot [B] + k_3 [AX]$$

¹ Z. physik. Chem. **98**, 161 (1921); vgl. auch SCHWABE, G. M.: Katalyse vom Standpunkt der chemischen Kinetik **1931**, 17, 18.

Daraus berechnet sich:

$$[AX] = \frac{k_1 [X'] [AB]}{k_3 + k_2 [B] + k_1 [AB]} = \frac{[X'] [AB]}{\frac{k_3}{k_1} + \frac{k_2}{k_1} [B] + [AB]}$$

$$v_3 = \frac{k_3 [X'] [AB]}{\frac{k_3}{k_1} + \frac{k_2}{k_1} [B] + [AB]} \quad (\text{III})$$

Überraschenderweise ist die Geschwindigkeitsgleichung III vollkommen analog dem Ausdruck, den man nach MICHAELIS und MENTEN¹ für Fermentreaktionen bekommt. Das war zunächst nicht zu erwarten, weil ja die Voraussetzungen dort ganz andere sind. Gemeinsam ist nur, daß die Bildung von Zwischenstoffen nach dem Massenwirkungsgesetz angenommen wird.

MICHAELIS und MENTEN machen bekanntlich noch folgende Annahmen:

1. Das Ferment bildet mit dem Substrat einerseits und mit einem Reaktionsprodukt andererseits lockere, *dissoziabile* Additionsverbindungen.

2. Die Gleichgewichte sollen sich unmeßbar rasch einstellen.

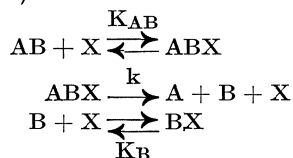
Demgegenüber haben wir bei Hauptvalenzkatalysen folgende experimentell gefundenen Grundsätze:

1. Die Bindung der Substrate an die Katalysatoren erfolgt durch feste organische Hauptvalenzen, nicht durch lockere Nebenvalezen.

2. Entsteht mehr als ein Reaktionsprodukt, so ist die Bildung der Zwischenstoffe keine Additions-, sondern eine Substitutionsreaktion (Zwischenstoffregel).

3. Sämtliche Teilreaktionen verlaufen mit vergleichbarer Geschwindigkeit, keine Gleichgewichte stellen sich unmeßbar rasch ein.

Kleiden wir die Voraussetzung von MICHAELIS und MENTEN in das Schema (K_{KB} und K_B sind Gleichgewichtskonstanten, k ist eine Geschwindigkeitskonstante):



so erhalten wir bei der Durchrechnung die Gleichung

$$v = \frac{k [X'] \cdot [AB]}{K_{AB} + \frac{K_{AB}}{K_B} [B] + [AB]} \quad (\text{IV})$$

¹ Zitiert auf S. 63, vgl. auch LANGENBECK, W.: Erg. Physiol. exper. Pharmak. **35**, 470 (1933).

Beim Vergleich von Ausdruck III und IV ergibt sich also eine völlige Analogie, nur die Konstanten haben zum Teil einen anderen Sinn bekommen. Insbesondere haben die analogen Konstanten $\frac{k_3}{k_1}$ und K_{AB} eine ganz verschiedene Bedeutung. K_{AB} ist eine *Dissoziationskonstante*, $\frac{k_3}{k_1}$ das Verhältnis der *Geschwindigkeitskonstanten zweier Folgereaktionen*. Im übrigen kann man mit den Konstanten in der gleichen Weise rechnen. Alle Vorzüge, die die Gleichung von MICHAELIS und MENTEN besitzt, sind auch der Gleichung für Hauptvalenzkatalysen eigen. Überlegen ist die letztere aber darin, daß sie nicht eine Hypothese, sondern eine *experimentell erforschte* Katalyse zum Ausdruck bringt. Besonders sind die Zwischenstoffe in den meisten Fällen isoliert und als Hauptvalenzverbindungen erkannt worden.

Die Hypothese von MICHAELIS und MENTEN ist in der Enzymchemie noch heute sehr beliebt, weil sie folgende kinetische Erscheinungen zu erklären vermag:

1. Betrachtet man die Anfangsgeschwindigkeiten bei verschiedenen Substratkonzentrationen, so gilt Gleichung IV, da $[B] = 0$, in der Form IVa:

$$v_0 = k[X'] \frac{[AB]}{K_{AB} + [AB]} \quad (\text{IV a})$$

Stellen wir diese Gleichung graphisch dar, indem wir als Abszisse den negativen Logarithmus der Substratkonzentration (p_s), auf der Ordinate die Anfangsgeschwindigkeiten v_0 auftragen, so erhalten wir eine Kurve, welche die bekannte S-Form einer „Dissoziationsrestkurve“¹ besitzt und als Aktivitäts- p_s -Kurve bezeichnet wird. Tatsächlich nähert sich bei der Rohrzuckerspaltung durch Invertin die Kurve ihrer idealen Form, bei fast allen anderen Fermenten treten allerdings große Abweichungen auf, insbesondere besitzen die experimentell gefundenen Kurven meist ein ausgesprochenes Maximum.

2. Die Reaktionsprodukte hemmen fast stets die Fermentreaktion. Es sei v_0 die Reaktionsgeschwindigkeit in Abwesenheit von B (Gleichung IVa), v_B die Geschwindigkeit der gehemmten Reaktion bei Gegenwart von B (Gleichung III). Dann wird die Größe

$$h = \frac{v_0 - v_B}{v_0}$$

nach L. MICHAELIS und P. RONA² als Hemmkoeffizient bezeichnet.

¹ MICHAELIS, L.: Die Wasserstoff-Ionen-Konzentration, Teil I, 1922, 44.

² Biochem. Z. 60, 62 (1914).

Setzt man Gleichung IV und IVa in den Ausdruck ein, so findet man¹:

$$h = \frac{\frac{K_{AB}}{K_B} \cdot [B]}{K_{AB} + \frac{K_{AB}}{K_B} [B] + [AB]}$$

Da die Größe [AB] im Nenner des Bruches steht, muß der Hemmkoeffizient mit wachsender Substratkonzentration sinken, was tatsächlich bei Fermentreaktionen häufig beobachtet worden ist.

Genau dasselbe finden wir nun auch bei Hauptvalenzkatalysen, d. h. die Theorie, daß die metallfreien Fermente Hauptvalenzkatalysatoren sind, leistet mindestens dasselbe wie die Anschauung von MICHAELIS und MENTEN. Sie ist aber darin überlegen, daß sie durch Modellversuche besser gestützt ist.

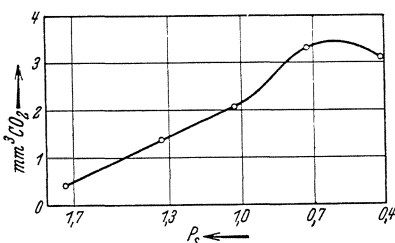


Abb. 3. Aktivitäts- p_s -Kurve des 3-Amino- α -naphthoxyindols.²

Die Aktivitäts- p_s -Kurve muß auch nach Gleichung III die Gestalt einer Dissoziationsrestkurve besitzen, denn für $B = 0$ wird

$$v_0 = k_3 [X'] \frac{[AB]}{\frac{k_3}{k_1} + [AB]} \quad (\text{IIIa})$$

Aus Gleichung III folgt, daß das Reaktionsprodukt hemmt, da [B] im Nenner steht. Die Berechnung des Hemmkoeffizienten³:

$$h = \frac{v_0 - v_B}{v_0} = \frac{k_2 [B]}{k_3 + k_2 [B] + k_1 [AB]}$$

ergibt, daß dieser mit wachsendem [AB] abnimmt, da [AB] im Nenner steht. Hemmung durch das Reaktionsprodukt muß immer dann zu beobachten sein, wenn Teilreaktion a) eine Hauptvalenzkatalyse (vgl. S. 63) reversibel ist. Das Reaktionsprodukt verschiebt dann das Gleichgewicht nach links, wodurch [AX] kleiner wird.

Wir wollen nun die bisher abgeleitete Kinetik der Hauptvalenzkatalysen an einigen Beispielen belegen.

¹ LANGENBECK, W.: Erg. Physiol. exper. Pharmak. **35**, 476 (1933).

² HELLRUNG, F.: Dissertation Münster i. W. (1934).

³ LANGENBECK, W., R. JÜTTEMANN und F. HELLRUNG: Liebigs Ann. **499**, 204 (1932).

Tabelle 15. Abhängigkeit der Aktivität des 3-Amino- α -naphthoxindols von der Substratkonzentration.

	I	II	III	IV	V
Molare Konzentration des Substrates.	0,373	0,187	0,093	0,047	0,019
cmm CO ₂ in den ersten 5 Minuten	3,15	3,29	2,06	1,35	0,39

I. $2,10^{-6}$ Mol 3-Amino- α -naphthoxindol-chlorhydrat, 2 ccm Stammlösung (0,5 g Phenylglyoxyssäure, 0,1 g phenylglyoxyssaures Kalium und 9,5 g Phenol-Kresol-Gemisch).

II. $2,10^{-6}$ Mol Katalysator, 1 ccm Stammlösung, 1 ccm Phenolmischung.

III. $2,10^{-6}$ Mol Katalysator, 0,5 ccm Stammlösung, 1,5 ccm Phenolmischung.

IV. $2,10^{-6}$ Mol Katalysator, 0,25 ccm Stammlösung, 1,75 ccm Phenolmischung.

V. $2,10^{-6}$ Mol Katalysator, 0,1 ccm Stammlösung, 1,9 ccm Phenolmischung.

Abb. 3 zeigt die Aktivitäts- p_s -Kurve eines Carboxylasemodells, des 3-Amino- α -naphthoxindols, Tab. 15 die zugehörigen Zahlenwerte nebst den Versuchsbedingungen. Es wurde die manometrische Meßmethode angewandt.

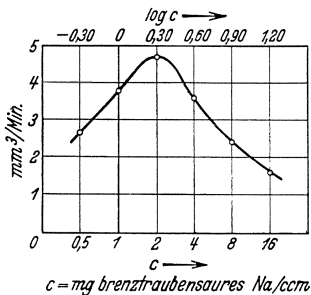


Abb. 4. Aktivitäts- p_s -Kurve der Carboxylase¹.

Abb. 4 gibt zum Vergleich die Aktivitäts- p_s -Kurve der Carboxylase wieder. Beiden Kurven ist gemeinsam, daß mit wachsender Substratkonzentration die Aktivität bis zu einem Maximalwert steigt, und dann wieder sinkt. Der fallende Ast ist besonders bei der Carboxylase selbst ausgeprägt, beim Modell ist er nur angedeutet, vielleicht auch durch unvermeidliche Meßfehler bedingt.

Die Ursache der fast allgemeinen Erscheinung, daß die Aktivitäts- p_s -Kurven bei Fermenten ein Maximum besitzen, im Gegensatz zu den Dissoziationsrestkurven, ist noch nicht mit Sicherheit aufgeklärt. Es kann sich nicht um gegenseitige Verdrängung zweier Substrate handeln, wie zuweilen angenommen wird, da die Carboxylase ja nur auf ein einziges Substrat einwirkt. Vielleicht lagert sich das Substrat bei höheren Konzentrationen an aktivierende Gruppen des Ferments locker an und vermindert dadurch die Aktivität.

¹ LANGENBECK, W., R. JÜTTEMANN, O. SCHAEFER und H. WREDE: Z. physiol. Chem. **221**, 1 (1933).

Vielleicht wird auch der Verteilungszustand des kolloidalen Trägers verändert. Auf jeden Fall darf man hoffen, durch Modellversuche auch diese noch rätselhafte Erscheinung aufzuklären¹.

Die Gleichung III gestattet es, analog wie es MICHAELIS und MENTEN bei der Konstanten K_{AB} getan haben, die Grösse von $\frac{k_3}{k_1}$ aus Versuchsdaten zu berechnen ohne daß man die Katalysatorkonzentration zu kennen braucht. Zu diesem Zweck bestimmt man die Anfangsgeschwindigkeiten bei verschiedenen Substratkonzentrationen und konstanter Katalysatorkonzentration. Zu Anfang ist stets $[B] = 0$. Der Wert für v_0

$$v_0 = k_3 [X'] \frac{[AB]}{\frac{k_3}{k_1} + [AB]}$$

nähert sich dem maximalen Werte $k_3 [X']$, wenn $[AB]$ gegenüber $\frac{k_3}{k_1}$ sehr groß wird. Ist dagegen $\frac{k_3}{k_1} = [AB]$, so erhalten wir

$$v_0 = k_3 [X'] \frac{[AB]}{2[AB]} = \frac{k_3 [X']}{2},$$

$\frac{k_3}{k_1}$ ist also gleich derjenigen molaren Substratkonzentration, bei der die Reaktionsgeschwindigkeit gleich der Hälfte der maximal möglichen ist. Praktisch setzt man in der Aktivitäts- p_s -Kurve die maximale Geschwindigkeit gleich 1, die Ordinate $\frac{1}{2}$ liefert dann die Abszisse $-\log \frac{k_3}{k_1}$.

Führen wir das an der Kurve der Abb. 3 durch, so finden wir $-\log \frac{k_3}{k_1} = 1,185$, und $\frac{k_3}{k_1} = 0,065$.

Die Konstante k_3 kann aus der Gleichung der maximalen Anfangsgeschwindigkeit berechnet werden, da, im Gegensatz zu Enzymversuchen, die Konzentration des Katalysators bekannt ist. Es ist die maximale Geschwindigkeit

$$v_{\max} = k_3 [X'] \quad \text{und} \quad k_3 = \frac{v_{\max}}{[X']} \quad (V)$$

v_{\max} muß hierin ausgedrückt werden durch die Änderung der Konzentration der Phenylglyoxyssäure in der Zeiteinheit. In 5 Minuten wurden maximal 3,29 cmm CO_2 entwickelt, bzw. $\frac{3,29}{22,4 \cdot 10^6}$ Mol Phenyl-

¹ Sinken der Reaktionsgeschwindigkeit mit wachsender Substratkonzentration ist schon bei mehreren organischen Katalysen beobachtet worden. Vgl. PASTANOGOFF, W.: Z. physik. Chem. **112**, 451 (1924); LANGENBECK, W. und R. HUTSCHENREUTER: Z. anorg. u. allg. Chem. **188**, 5 (1930).

glyoxylsäure gespalten. Für die Änderung der Konzentration an Phenylglyoxylsäure in 1 Minute ergibt sich:

$$\frac{dc}{dt} = \frac{3,29 \cdot 10^3}{22,4 \cdot 10^6 \cdot 2 \cdot 5} = 1,47 \cdot 10^{-5}$$

Angewendet wurden $2 \cdot 10^{-6}$ Mol Katalysator in 2 ccm, also ist $[X'] = 10^{-3}$. Diese Werte in Gleichung V eingesetzt ergeben:

$$k_3 = \frac{1,47 \cdot 10^{-5}}{10^{-3}} = 0,0147$$

aus $\frac{k_3}{k_1} = 6,5 \cdot 10^{-2}$ folgt: $k_1 = \frac{1,47 \cdot 10^{-3}}{6,531 \cdot 10^{-2}} = 0,22$

Die hier berechneten Werte für k_1 und k_3 können natürlich keinen Anspruch auf Genauigkeit erheben, aber sie gestatten doch einen Einblick in die Größenordnung der Konstanten.

Die Hemmung der Carboxylasemodelle und der Carboxylase selbst durch Benzaldehyd bzw. Acetaldehyd und die Substratabhängigkeit dieser Hemmung zeigen Tab. 16 und 17¹.

Tabelle 16. Hemmung des 3-Amino- α -naphthoxindols durch Benzaldehyd.

Minuten	I	II	III	IV (mg CO ₂)
15	12,4	12,2	6,6	8,0
30	28,4	31,2	9,1	13,6

I. 10^{-5} Mol 3-Amino- α -naphthoxindol-chlorhydrat, 0,5 g Phenylglyoxylsäure, 0,25 g phenylglyoxylsaures Kalium, 9,5 g Phenol. 70⁰.

II. Dasselbe, aber 1,0 g Phenylglyoxylsäure.

III. 10^{-5} Mol 3-Amino- α -naphthoxindol-chlorhydrat, 0,5 g Phenylglyoxylsäure, 0,25 g phenylglyoxylsaures Kalium, 9,5 g Phenol, 1 ccm Benzaldehyd.

IV. Dasselbe, aber 1,0 g Phenylglyoxylsäure.

Tabelle 17. Hemmung der Carboxylase durch Acetaldehyd.

Minuten	I	II	III	IV (cmm CO ₂)
5	3,1	2,95	0,7	2,5
15	7,9	6,3	2,5	4,9
25	11,5	9,2	3,9	5,7

I. 0,2 ccm Hefe-Macerationssaft, 0,022 g brenztraubensaures Natrium, 2 ccm 0,3 mol Acetatpuffer (1:1). 20⁰. Wasserstoffatmosphäre.

¹ LANGENBECK, W.: Erg. Enzymforsch. 2, 328 (1933).

II. Dasselbe, aber 0,044 g brenztraubensaures Natrium.

III. 0,2 ccm Macerationsaft, 0,022 g brenztraubensaures Natrium, 2 ccm 0,2 mol Acetatpuffer (1:1), 0,04 g frisch destillierter Acetaldehyd. 20°. Wasserstoffatmosphäre.

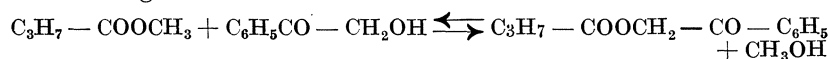
IV. Dasselbe, aber 0,044 g brenztraubensaures Natrium.

Auch die Esterasemodelle werden, genau wie die natürlichen Esterasen, durch Alkohole gehemmt¹. Bei der Modellreaktion ist die Beschleunigung durch Benzoylcarbinol in 50%igem n-Propylalkohol nur 1,3fach, in 50%igem Aceton dagegen 3,0fach. Bei den Messungen wurden 20 ccm einer 50%igen wäßrigen Lösung von n-Propylalkohol mit 2 ccm Methylbutyrat gemischt, ferner 30 ccm 50%iges Aceton mit derselben Estermenge. 2 ccm von diesen Lösungen wurden für die Messungen benutzt.

Tabelle 18. Hemmung des Benzoylcarbinols durch Propylalkohol.

Benzoylcarbinol	Lösungsmittel	Temp.	Verbr. ccm Ba(OH) ₂ nach			
			5 Min.	10 Min.	15 Min.	20 Min.
—	{50%iger Propyl- alkohol	80	0,34	0,73	1,08	1,42
5 · 10 ⁻⁴ Mol	{50%iger Propyl- alkohol					
—	50%iges Aceton	70	0,03	0,18	0,28	0,35
5 · 10 ⁻⁴ Mol	50%iges Aceton	70	0,20	0,50	0,75	1,00

Dies Beispiel zeigt besonders anschaulich, daß die Hemmung hier ganz anders zustande kommt, als nach der Theorie von MICHAELIS und MENTEN. Es wird nämlich *nicht* der Katalysator durch den Alkohol *gebunden*, sondern umgekehrt aus dem Zwischenstoff *in Freiheit gesetzt*. Das Gleichgewicht der Reaktion



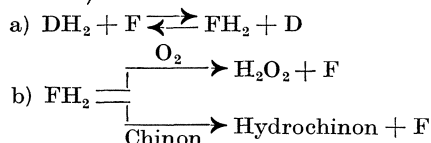
verschiebt sich nach links.

Endlich sei noch darauf hingewiesen, daß die eigentümliche Kinetik der Dehydrasen sich gut mit der Annahme in Übereinstimmung bringen läßt, daß diese Fermente ähnlich wirken, wie das Isatin bei der Dehydrierung der Aminosäuren. H. WIELAND und Mitarbeiter² haben an mehreren Beispielen gezeigt, daß bei gleichzeitiger Anwendung von zwei Wasserstoffacceptoren, nämlich Sauerstoff und Chinon, der Sauerstoffverbrauch gegenüber dem Versuch mit Sauerstoff allein stark

¹ LANGENBECK, W. und J. BALTES: Zitiert auf S. 59.

² Liebigs Ann. 467, 116, 125 (1928); 477, 17 (1929); 492, 174 (1931).

zurückgedrängt wird. Das Reaktionsschema ($D = \text{Donator}$, $A = \text{Acceptor}$, $F = \text{Ferment}$)



erklärt diese Beobachtung in einfachster Weise so, daß die Dehydrierung des Ferments durch das Chinon viel rascher erfolgt, zumal auch dessen Konzentration bedeutend höher ist, als die des Sauerstoffs. Dadurch kommt es, daß bei Gegenwart von Chinon im stationären Zustand fast nur F , aber kaum FH_2 vorliegt. Der Sauerstoff findet daher kein hydriertes Ferment mehr vor, auf das er einwirken könnte. Ist Teilreaktion a) die langsamere, also die geschwindigkeitsbestimmende, so braucht durch das Chinon die Geschwindigkeit der Gesamtreaktion keine sehr große Beschleunigung zu erfahren.

Es ist gelegentlich¹ in Diskussionen von Fachgenossen darauf hingewiesen worden, daß zwischen einer Haupt- und Nebervalenz kein grundsätzlicher Unterschied bestehe, daß ferner die Theorie von MICHAELIS und MENTEN über die Natur der Bindungskräfte zwischen Ferment und Substrat nichts aussage, also die Möglichkeit von Hauptvalenzen offen lasse und deshalb auch auf Hauptvalenzkatalysatoren anwendbar sei. Dieser Ansicht kann ich mich nicht anschließen. Es gibt zwar Fälle, wo man im Zweifel sein kann, ob eine Haupt- oder Nebervalenz vorliegt, nämlich dann, wenn man leicht dissoziabile Verbindungen betrachtet. Bezüglich der Festigkeit der Bindung unterscheidet sich Hexaphenyläthan nicht so sehr vom Chinhydron. Normale Hauptvalenzen dissoziieren aber bei Zimmertemperatur nicht, auch die Zwischenstoffe der Hauptvalenzkatalysatoren tun das nicht². Hier liegt der entscheidende Unterschied zu der älteren Theorie. Nicht dissoziierende Zwischenstoffe sind mit dem Schema von MICHAELIS und MENTEN schlechterdings unvereinbar. Ebenso unvereinbar ist es, wenn die Zwischenstoffbildung eine Substitutionsreaktion ist, wie wir es bei den Hauptvalenzkatalysatoren kennen. Solche Reaktionen finden in der älteren Theorie auf keine Weise Platz. Die Hauptvalenztheorie der Fermentwirkung ist deshalb grundsätzlich neu.

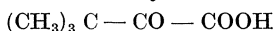
b) Spezifität. Die Hauptvalenzkatalysatoren sind auch darin den Fermenten sehr ähnlich, daß sie auf bestimmte Substrate spezifisch

¹ Vgl. z. B. die Diskussionsbemerkung von SCHWAB, G. M.: Z. Elektrochem. **40**, 487 (1934).

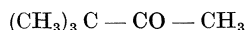
² Eine Ausnahme macht die Chinolinverbindung des Diphenylketens (siehe oben), deswegen ist es auch nicht ganz sicher, ob wirklich eine Hauptvalenzkatalyse vorliegt.

eingestellt sind. So werden durch Isatin im wesentlichen nur Aminosäuren dehydriert, nicht etwa auch Alkohole oder Aldehyde. Aldehyd hydratisiert nur Dicyan, aber keine anderen Nitrile usw. Besonders bemerkenswert ist, daß die Fermentmodelle mit dem zugehörigen Ferment in ihrer feineren Strukturspezifität auffallend übereinstimmen.

Spezifität der Carboxylase. NEUBERG und WEINMANN¹ haben die Beobachtung gemacht, daß Trimethyl-brenztraubensäure



von Carboxylase nicht merklich angegriffen wird. Auch 3-Amino- α -naphthoxindol reagiert bei 70° nicht mit dieser Säure. Die ausgeprägte strukturchemische Spezifität der Carboxylase zeigt sich also schon bei den einfachen Modellen. Die Trägheit der Trimethyl-brenztraubensäure wird man am besten als sterische Hinderung deuten können. Durch die Nachbarschaft des quaternären Kohlenstoffatoms wird die Carbonylgruppe behindert, eine Iminosäure zu bilden, ganz ähnlich, wie nach P. PETRENKO-KRITSCHENKO² das Pinakolin



viel langsamer mit Phenylhydrazin reagiert als Aceton.

Auch auf β -Ketosäuren wirken die Katalysatoren nicht ein, denn die Spaltung der β -Ketosäuren ist eine Basenwirkung (siehe unten), und die Carboxylasemodelle sind in ihrer reaktionsfähigen Form, als Aldehyd-Imine, keine Basen mehr.

Die Katalysatoren werden wahrscheinlich um so spezifischer, je mehr sie aktiviert sind, denn bei jedem Schritt der systematischen Aktivierung wird vorzugsweise eine bestimmte Reaktion beschleunigt und je öfter man die Aktivierung wiederholt, desto ausschließlicher muß sich der Katalysator auf bestimmte Substrate einstellen. Im Sinne dieser Hypothese beruht also die hohe Spezifität der Fermente auf der großen Zahl der aktivierenden Gruppen.

Das Carboligase-Problem³. Bekanntlich haben NEUBERG und HIRSCH⁴ im Jahre 1922 die Beobachtung gemacht, daß bei der Vergärung der Brenztraubensäure neben Acetaldehyd und Kohlendioxyd auch bedeutende Mengen Acetoin entstehen, besonders viel, wenn man Acetaldehyd zusetzt. Dagegen liefert Acetaldehyd allein mit Hefe kein Acetoin. Diese Nebenreaktion der Brenztraubensäuregärung schrieben NEUBERG und HIRSCH einem Ferment zu, das sie Carboligase nannten. Das Problem wurde von einer ganz neuen Seite aufgerollt, als

¹ Biochem. Z. **200**, 473 (1928). — ² Liebigs Ann **341**, 154 (1905).

³ LANGENECK, W., H. WREDE und W. SCHLOCKERMANN: Z. physiol. Chem. **227**, 263 (1934).

⁴ Biochem. Z. **115**, 282 (1921); HIRSCH, J.: Biochem. Z. **131**, 178 (1922); NEUBERG, G. und O. ROSENTHAL: Ber. **57**, 1436 (1924).

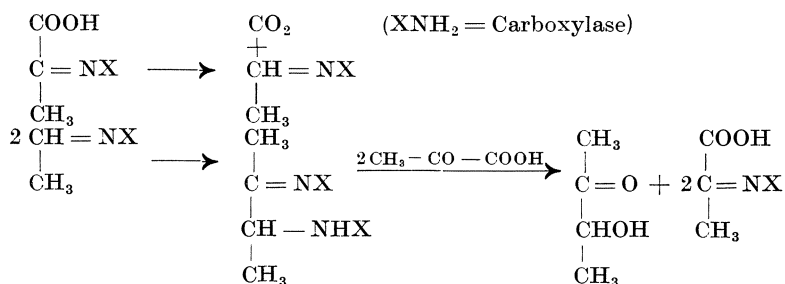
W. DIRSCHERL¹ 1930 zeigte, daß bei der Spaltung der Brenztraubensäure mit ultraviolettem Licht fast quantitativ Acetoin und Kohlendioxyd gebildet wird. Diese Arbeiten fielen zeitlich zusammen mit den ersten Versuchen über Carboxylasemodelle. Ende des Jahres 1930 fanden W. LANGENBECK, R. HUTSCHENREUTER und R. JÜTTEMANN², daß bei der Decarboxylierung der Phenylglyoxylsäure mit primären Aminen acyloinähnliche Stoffe (z. B. Benzoin-anil-anilid, siehe oben) als Nebenprodukte auftreten, und kurz darauf entdeckte DIRSCHERL³ die Bildung von Acetoin aus Brenztraubensäure bei Gegenwart von Aminosäuren. Wenn schon die einfachen Carboxylasemodelle Acetoin entstehen lassen, war es unwahrscheinlich, daß die Carboxylase dazu noch eines besonderen Hilfsfermentes, der Carboligase, bedürfen sollte. Man konnte aber noch im Zweifel sein, ob die Carboxylase bei der Acyloin-Kondensation überhaupt eine Rolle spielt, oder ob sich einfach der Aldehyd in statu nascendi an ein zweites Aldehydmolekül anlagert. Es sind also zur Deutung der Acyloinbildung drei Arbeitshypothesen denkbar.

I. Der nascierende Aldehyd lagert sich durch Vermittlung der Carboligase mit einem zweiten Molekül Aldehyd zusammen⁴.

II. Dasselbe geschieht spontan, ohne Vermittlung eines Enzyms⁵.

III. Die Carboxylase-Aldehydverbindung reagiert in statu nascendi mit einem zweiten Molekül Enzym-Aldehydverbindung oder mit dem fertigen Aldehyd⁶.

Gemäß dieser dritten Arbeitshypothese kann man sich im einzelnen den Mechanismus folgendermaßen vorstellen⁷:



Die Carboxylase ist ein primäres Amin, sie bildet mit der Brenztraubensäure eine Iminosäure. Durch Kohlendioxydabspaltung wird

¹ Z. physiol. Chem. 188, 225 (1930); 201, 47, 78 (1931); 219, 177 (1933).

² Liebigs Ann. 485, 53 (1931). — ³ Z. physiol. Chem. 201, 92 (1931).

⁴ NEUBERG, C. und J. HIRSCH: Zitiert auf S. 75.

⁵ DIRSCHERL, W.: Z. physiol. Chem. 188, 233 (1930); vgl. auch LANGENBECK, W.: Habilitationsschrift Münster i. W. 1928, 14.

⁶ DIRSCHERL, W.: Z. physiol. Chem. 188, 234 (1930); LANGENBECK, W.: Erg. Enzymforsch. 2, 333 (1933); DIRSCHERL, W.: Z. physiol. Chem. 219, 184 (1933). — ⁷ LANGENBECK, W.: Erg. Enzymforsch. 2, 332 (1933).

daraus ein Aldehydimin, das sich in statu nascendi mit einem zweiten Molekül Aldehydimin zusammenlagert. Aus dem Reaktionsprodukt entsteht mit überschüssiger Brenztraubensäure das Acetoin. Durch Modellversuche an der Phenylglyoxylsäure konnte diese Reaktionsfolge sehr wahrscheinlich gemacht werden, da tatsächlich Benzoin-anilid mit Phenylglyoxylsäure Benzoin liefert.

Aus mehreren Gründen ist die Bestätigung oder Widerlegung des Schemas von allgemeiner Bedeutung. Die Acyloinbildung ist ja besonders interessant, weil sie fast die einzige bisher bekannte Enzymreaktion ist, bei der Kohlenstoffbindungen neu geknüpft werden. Ferner würde, wenn Schema III oder ein ähnliches zutrifft, der in der Enzymchemie einzige Fall vorliegen, daß ein und dasselbe Ferment zwei ganz verschiedene Reaktionen auszulösen vermag. Da auch die Carboxylasemodelle dies tun, würde damit der schlagendste Beweis erbracht sein, daß Carboxylase und ihre Modelle eine ähnliche Struktur besitzen.

Für die folgenden Versuche ist es zweckmäßig, den Begriff des „Carboligatischen Quotienten“ (C. Q.) einzuführen¹:

$$C. Q. = \frac{\text{Anzahl Mole Acetoin}}{\text{Anzahl Mole gleichzeitig gebildetes CO}_2}$$

Bekanntlich hängt C. Q. von der Konzentration des Acetaldehyds derart ab, daß das Verhältnis mit zunehmender Aldehydkonzentration ebenfalls wächst. Ein neues Ergebnis ist es nun, daß C. Q. auch durch die Konzentration der Brenztraubensäure beeinflusst wird. Wächst diese, so nimmt bei gleichbleibendem Volumen C. Q. ab.

Diese Abhängigkeit läßt sich nach der Arbeitshypothese II kaum deuten, bei der ja die Brenztraubensäure keine Rolle mehr spielt. Schema III läßt dagegen die beobachtete Kinetik geradezu voraussehen, da um so mehr von dem carboligatisch wirksamen Aldehydimin in die unwirksame Iminosäure umgewandelt wird, je höher die Konzentration der Brenztraubensäure ist. Auf jeden Fall ist somit wohl bewiesen, daß die Acyloinbildung ein fermentativer Vorgang ist. Ganz ähnlich wie Aldehyd und Ketosäure sich an der aktiven Gruppe der Carboxylase gegenseitig verdrängen, so tun sie es auch an dem Ferment, das die Acyloinbildung vermittelt. Daraus darf man schließen, daß diese aktiven Gruppen nahe verwandt, wahrscheinlich sogar identisch sind, d. h. daß die Carboxylase auch die Acyloinbildung bewirkt.

Es ist nun eine besonders befriedigende Analogie zwischen der Carboxylase und unseren Modellen, daß man im Modellversuch genau die gleiche Kinetik der Acyloinbildung beobachtet. Auch hier findet man, daß C. Q. bei höherer Aldehydkonzentration größer, bei höherer Brenztraubensäurekonzentration kleiner wird.

¹ Von DIRSCHERL, W. als Acetoinausbeute bezeichnet.

Meßmethode. Folgende Lösungen werden angesetzt:

Lösung A: 5 ccm reiner Eisessig, 0,5 g frisch destillierter Acetaldehyd und 0,1 g d, l-Alanin.

Lösung B: 5 ccm Eisessig, 5 g reine kristallisierte Brenztraubensäure.

Lösung C: 5 ccm Eisessig, 0,25 g Brenztraubensäure.

Als Reaktionsgefäße dienen kleine Druckrohre aus dickem, schwer schmelzbarem Glas, äußere Abmessungen 25:60 mm, die an der einen Seite zugeschmolzen, an der anderen mit einem angeschmolzenen, 150 mm langen und 7 mm dicken Rohr aus demselben Glas versehen sind. Sie enthalten:

Rohr I: 1 ccm A, 4 ccm B.

Rohr II: 1 ccm A, 4 ccm C.

Beide Rohre werden zugeschmolzen, wobei die Enden zu Capillaren ausgezogen werden und 2 Stunden in ein siedendes Wasserbad gehängt. Danach wird das capillare Ende des ersten Rohres durch einen 1 m langen capillaren Druckschlauch mit dem geöffneten Hahn eines Quecksilbereudiometers verbunden. Nach der Einstellung des Quecksilberspiegels auf Atmosphärendruck kann man die Capillare innerhalb des Druckschlauches abbrechen, wobei das entwickelte Kohlendioxyd in den Eudiometer strömt. Durch Schütteln des Druckrohres wird der Gasaustausch vervollständigt und dabei fortwährend auf Einstellung des Atmosphärendrucks geachtet. Nachdem noch 30 Minuten der Temperaturengleich abgewartet worden ist, kann man das Volumen des Kohlendioxyds ablesen. Ebenso wird mit dem zweiten Rohr verfahren.

Die Rohrinhalte werden mit Wasser in eine Destillationsapparatur gespült. Im Destillierkolben befinden sich 5 ccm 10%iges Eisen-III-chlorid, in der Vorlage eine Mischung von 3 ccm 10%igem Nickelsulfat, 7 ccm 20%igem Hydroxylaminchlorhydrat und 15 ccm 20%igem Natriumacetat. Zunächst erhitzt man den Destillierkolben 15 Minuten auf fast 100°, ohne daß etwas überdestilliert, dann wird mehr als die Hälfte der wäßrigen Lösung übergetrieben. Die Vorlage wird nun 1 Stunde im siedenden Wasserbad erhitzt, ohne daß man die Apparatur auseinander nimmt. Endlich dampft man den Inhalt der Vorlage in einer Porzellanschale auf dem Wasserbad zur Trockne ein, löst wieder in heißem Wasser und bringt das Nickel-dimethylglyoxim in einem Glassintertiegel zur Wägung.

Durch Blindversuche überzeugt man sich, daß die Ausgangsmaterialien frei von jeder Spur Acetoin sind.

Ergebnisse:

Rohr I (viel Brenztraubensäure): 83,4 ccm CO₂ (22°, 750 mm), 1,5 mg Nickeldimethylglyoxim. C. Q. = 0,003.

Rohr II (wenig Brenztraubensäure): 20,2 ccm CO₂ (22°, 750 mm), 2,3 mg Nickeldimethylglyoxim. C. Q. = 0,020.

Während die enzymatische Natur der Acyloinbildung sich durch die Kinetik beweisen läßt, kann man die Frage, ob Carboxylase und Carboligase identisch sind oder nicht, nur durch Reinigungsversuche entscheiden. Nur wenn es gelingt, Enzympräparate darzustellen, die zwar eine Spaltung der Brenztraubensäure, aber keine Acetoinbildung hervorrufen, kann die Existenz der Carboligase als bewiesen gelten. Nun zeigten gereinigte Enzymlösungen zwar noch erhebliche Schwankungen der C. Q.-Werte (zwischen 0,14 und 0,34), aber diese standen in keinem erkennbaren Zusammenhange mit dem Reinheitsgrad und waren vielleicht zum Teil durch die Bestimmungsmethode bedingt. Bisher ist es auch nie gelungen, Carboxylasepräparate darzustellen, die auch nur annähernd frei von Carboligasewirkung waren. Es spricht also vorläufig alles für die Arbeitshypothese III.

Spezifität der Esterasemodelle¹. Esterasemodelle sind für Spezifitätsversuche besonders geeignet, weil bereits eingehende Versuche über die Strukturspezifität der Esterasen vorliegen. J. H. KASTLE² hat gefunden, daß die sauren Ester der Oxal-, Bernstein-, Phthal- und Fumarsäure durch Esterase nicht gespalten werden. Spätere Untersuchungen³ haben diese Beobachtung dahin ergänzt, daß auch der Halbestere der Malonsäure nicht spaltbar ist, daß die Hydrolyse aber wieder beschleunigt wird, wenn die Carboxylgruppen weiter voneinander entfernt sind, z. B. bei dem Adipinsäure-monoäthylester. Alle diese Ester tragen in ihrer Säurekomponente eine zweite Carboxylgruppe. E. BARMANN, E. SCHWEIZER und M. SCHMELLER⁴ haben gezeigt, daß auch die Einführung einer Carboxylgruppe in die alkoholische Komponente des Esters dessen Spaltbarkeit meistens zum Verschwinden bringt. Auch von Benzoylcarbinol und anderen Esterasemodellen wird Bernsteinsäuremonoäthylester nicht gespalten. Die Hydrolysegeschwindigkeit war mit und ohne Katalysator praktisch die gleiche (Tab. 19). Nur die ω -Oxy-acetophenon-4-carbonsäure beschleunigte in ganz geringem Maße.

¹ LANGENBECK, W. und J. BALTES: Ber. **67**, 1204 (1934).

² Amer. chem. J. **27**, 481 (1902).

³ Z. B. MC GINTY, D. A. und H. B. LEWIS: J. of biol. Chem. **67**, 567 (1926). — ⁴ Z. physiol. Chem. **222**, 121 (1933).

Tabelle 19. Verseifung von Bernsteinsäure-monoäthylester.

Katalysator	Mole Katalysator in 2 ccm	Verbr. ccm $n/_{10}$ Ba(OH) ₂ nach					
		5 Min.	10 Min.	15 Min.	20 Min.	25 Min.	30 Min.
Ohne Katalysator . . .	—	0,22	0,43	0,67	0,88	1,08	1,30
Benzoylcarbinol . . .	$5 \cdot 10^{-4}$	0,23	0,45	0,67	0,90	1,10	1,32
Glykolsäureanilid . . .	$5 \cdot 10^{-4}$	0,25	0,47	0,69	0,91	1,11	1,34
ω -Oxy-acetophenon-4-carbonsäure	$5 \cdot 10^{-4}$	0,30	0,56	0,82	1,08	1,33	1,60

Ebenso verhielten sich Malonsäure-monoäthylester und Acetylmandelsäure.

Überraschend ist vor allem die Analogie bei dem Adipinsäuremonoäthylester. Auch die Modelle geben hier wieder eine deutliche Beschleunigung (Tab. 20).

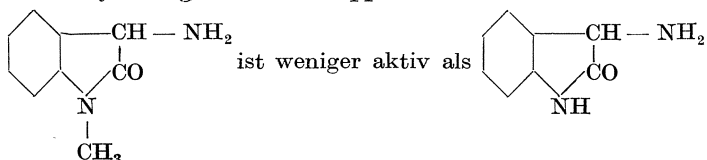
Tabelle 20. Verseifung von Adipinsäure-monoäthylester.

Katalysator	Mole Katalysator in 2 ccm	Verbr. ccm $n/_{10}$ Ba (OH) ₂ nach					
		5 Min.	10 Min.	15 Min.	20 Min.	25 Min.	30 Min.
Ohne Katalysator . . .	—	0,06	0,10	0,15	0,19	0,23	0,27
Benzoylcarbinol . . .	$5 \cdot 10^{-4}$	0,11	0,20	0,29	0,38	0,46	0,53
ω -Oxy-acetophenon-4-carbonsäure .	$5 \cdot 10^{-4}$	0,21	0,39	0,57	0,74	0,91	1,08

BAMANN und Mitarbeiter haben untersucht, ob die Beständigkeit der sauren Ester gegenüber Esterase auf mangelnder Affinität oder auf zu geringer Zerfallsgeschwindigkeit der Enzym-Substratverbindung beruht. Da die Hydrolyse von Methylbutyrat durch nicht spaltbare saure Ester nicht gehemmt wird, nehmen sie an, daß diese die Esterase nicht zu binden vermögen. Auch bei den Modellen ist keine Hemmung der Methylbutyratspaltung durch Bernsteinsäure-monoäthylester zu beobachten. Die Hydrolyse ist fast genau durch die Summe der Spaltung von Bernsteinsäure-monoäthylester und Methylbutyrat gegeben. Daraus dürfen wir schließen, daß zwischen Bernsteinsäure-monoäthylester und dem Katalysator (Glykolsäure-anilid) keine Umesterung stattfindet.

e) **Über den Nachweis aktivierender Gruppen in Fermenten¹.** Das Verfahren der systematischen Aktivierung durch Substitutionen hat bei den Carboxylasemodellen zu einer 4000fachen Aktivierung geführt. Ein ähnlicher Erfolg hat sich bisher mit keiner anderen Aktivierungsmethode erzielen lassen. Deswegen darf man es als fast sicher annehmen, daß auch die Fermente ihre hohe Wirksamkeit den aktivierenden Gruppen verdanken, die sie im Molekül tragen. Neben den synthetischen Ergebnissen sprechen auch manche Hemmungsversuche an den Fermenten selbst für diese Theorie. Wohl nur mit ihrer Hilfe zu deuten sind die Hemmungen, die in gewissen Grenzen unabhängig von der Konzentration des Hemmungskörpers sind, und bei denen nur ein ganz bestimmter Prozentsatz der Wirksamkeit verschwindet. Erepsin wird durch Phenylhydrazin nur etwa zur Hälfte gehemmt², auch Saccharase wird durch Jod momentan um 50% geschwächt, unabhängig von der zugegebenen Jodmenge; völlige Inaktivierung findet dann viel langsamer statt³. Die Hemmung der Carboxylase durch Phenylhydrazin scheint ebenfalls in diese Reihe zu gehören⁴. Im Sinne der Theorie reagieren die Hemmungskörper mit den aktivierenden Gruppen und vermindern damit deren Wirkung. So ist es verständlich, daß Hemmungen dieser Art auch bei hoher Konzentration des Hemmungskörpers nicht vollständig sind, sondern nur bis zu einem gewissen Grenzwert gehen. Da viele aktivierende Gruppen im Fermentmolekül enthalten sind, legt die Ausschaltung einer oder weniger derselben die aktive Gruppe nicht völlig lahm, sondern vermindert nur ihre Reaktionsfähigkeit.

Als Modell für diese Art Hemmung kann es gelten, daß Aminooxindol bei der Methylierung der NH-Gruppe an Wirksamkeit einbüßt:



Wenn wir die früher abgeleitete Geschwindigkeitsgleichung

$$v = \frac{k_3 [X'] [AB]}{\frac{k_3}{k_1} + \frac{k_2}{k_1} [B] + [AB]}$$

¹ Die Theorie, daß in Enzymen aktivierende Gruppen wirken, wurde zum erstenmal von LANGENBECK, W. in zwei Vorträgen am 21. Januar und 25. April 1931 ausgesprochen [Referate Z. angew. Chem. **44**, 421, 591 (1931)] und 1933 in zwei Aufsätzen [Erg. Enzymforsch. **2**, 319 (1933); Erg. Physiol. exper. Pharmak. **35**, 489 (1933)] ausführlicher entwickelt.

² JOSEPHSON, K. und H. v. EULER: Z. physiol. Chem. **162**, 92 (1926).

³ v. EULER, H. und St. LANDERGREN: Biochem. Z. **131**, 386 (1922); v. EULER, H. und K. JOSEPHSON: Z. physiol. Chem. **127**, 99 (1923).

⁴ LANGENBECK, W.: Erg. Physiol. exper. Pharmak. **35**, 489 (1933).

auf diese Hemmungen anwenden, finden wir für den Fall, daß beide Teilreaktionen gleichmäßig gehemmt werden, $\frac{k_3}{k_1}$ also unverändert bleibt, den Hemmungskoeffizienten unabhängig von der Substratkonzentration, denn dann gilt für die Anfangsgeschwindigkeiten ($[B] = 0$):

$$h = \frac{v_0 - v'}{v_0} = \frac{k_3 - k_3'}{k_3}$$

v' ist die Geschwindigkeit, k_3' die Geschwindigkeitskonstante der gehemmten Reaktion. Vielleicht gehören auch manche reversiblen „Hemmungen zweiter Art“ zu diesem neuen Hemmungstyp, soweit es sich dabei nicht um Veränderungen der Teilchengröße handelt. Man könnte dann annehmen, daß sich der Hemmungskörper locker an die aktivierenden Gruppen anlagert¹.

In neuester Zeit hat die Theorie der aktivierenden Gruppen eine willkommene Bestätigung erfahren durch den Nachweis der aktivierenden Natur von SH-Gruppen in mehreren Fermenten, insbesondere proteolytischen und ähnlichen (Papain, Kathepsin, Urease, Arginase)². Besonders eingehend ist durch Versuche von TH. BERSIN am Papain gezeigt worden, daß alle Reagenzien, die SH-Verbindungen zur SS-Form zu oxydieren vermögen, Hemmungskörper für das Ferment sind. Reduktionsmittel wie SH-Glutathion, Blausäure oder Bernsteinsäure bei Gegenwart von Succinodehydrase wirken dagegen als Aktivatoren auf das reversibel oxydierte Ferment. Da die Wirkung der SH-Gruppe als aktive Gruppe nicht verständlich wäre, ist es am einleuchtendsten, sie als aktivierende Gruppe zu betrachten, zumal anscheinend eine völlige Inaktivierung durch Übergang von SH in SS nicht erzielt wird. Dieser Punkt bedarf aber noch der Prüfung.

V. Basische Katalysatoren.

Organische Basen sind in der präparativen Chemie ungemein häufig als Katalysatoren benutzt worden, und es würde nicht leicht ein Ende zu finden sein, wollte man alle diese Fälle sammeln. Wir werden deshalb nur die Arbeiten referieren, welche sich quantitativer Meßmethoden bedienen.

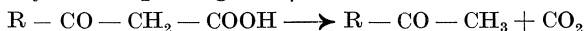
¹ Vgl. die verwandten Anschauungen anderer Forscher, z. B. GRASSMANN, W.: Neue Methoden und Ergebnisse der Enzymforschung 1928, 50; BAMANN, E. und P. LAEVERENZ: Ber. 64, 897 (1931).

² BERSIN, TH.: Z. physiol. Chem. 222, 177 (1933); BERSIN, TH. und W. LOGEMANN: Z. physiol. Chem. 220, 209 (1933); MASCHMANN und HELMERT: Z. physiol. Chem. 216, 141 (1933); 219, 99 (1933); 222, 215 (1933); HELLERMANN und Mitarbeiter: Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A. 19, 855 (1933); WALDTSCHMIDT-LEITZ, E.: Z. Elektrochem. 40, 483 (1934); Zusammenfassung: BERSIN, TH.: Erg. Enzymforsch. 4, 68 (1935).

Vgl. in diesem Zusammenhange auch die Arbeiten von K. FREUDENBERG und Mitarbeitern über Insulin, in denen die Methodik zuerst entwickelt wurde.

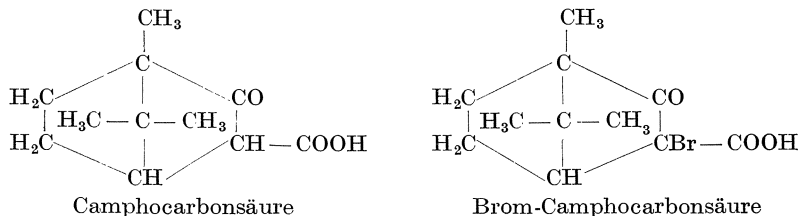
1. Die Decarboxylierung der β -Ketosäuren.

Die katalytische Spaltung der β -Ketosäuren



ist grundverschieden von der carboxylatischen Zersetzung der α -Ketosäuren. Das geht schon daraus hervor, daß β -Ketosäuren auch von sekundären und tertiären Aminen angegriffen werden, die gegen α -Ketosäuren völlig wirkungslos sind. Bei den Carboxylasemodellen handelt es sich eben um Hauptvalenzkatalysatoren, die zu der Carbonylgruppe der α -Ketosäuren Affinität besitzen, die Spaltung der β -Ketosäuren ist dagegen eine reine Basenwirkung. Aber auch sie besitzt ein biochemisches Interesse, da z. B. in der Leber Stoffe vorkommen — seien es nun organische Basen oder Fermente —, welche Oxalessigsäure zu Brenztraubensäure und Kohlendioxyd zersetzen¹.

Die erste Beobachtung, daß die Spaltung der β -Ketosäuren (Oxalessigsäure und Acetondicarbonsäure) durch Basen (Anilin) beschleunigt wird, stammt wohl von P. CLAUSNER². Eine genauere kinetische Untersuchung beginnt aber erst mit den Arbeiten von G. BREDIG und seinen Schülern³. Sie untersuchten die katalytische Wirkung einer größeren Anzahl von organischen Basen auf Camphocarbonsäure und Bromcamphocarbonsäure,



und zwar in verschiedenen Lösungsmitteln. Diese Arbeiten stehen im Zusammenhang mit Untersuchungen über die asymmetrische Spaltung der Camphocarbonsäure mit optisch aktiven Basen, worüber weiter unten berichtet wird.

¹ NEUBERG, C. und KARZAG: Biochem. Z. **36**, 73 (1911); MAYER, P.: Biochem. Z. **50**, 283 (1913); **62**, 462 (1914); WIELAND, H. und A. WINGLER: Liebigs Ann. **436**, 231 (1924).

² Dissertation Danzig (1907). Vgl. auch WILLSTÄTTER, R.: Liebigs Ann. **422**, 6, 14 (1921). Über die analoge Spaltung der Phenolcarbonsäuren vgl. KUPFERBERG: J. pr. (2) **16**, 441 (1877); LAUTH: Bl. (3) **9**, 971 (1893); CAZENEUVE: Bl. (3) **7**, 550 (1892); **15**, 72 (1896); REISSERT, A.: Ber. **44**, 867 (1911); v. HEMMELMAYR: Monatsh. **34**, 365 (1913); CLAISEN, L.: Liebigs Ann. **418**, 76 (1918).

³ BREDIG, G. und R. W. BALCOM: Ber. **41**, 740 (1908); BREDIG, G. und R. A. JOYNER: Z. Elektrochem. **24**, 285 (1918); CREIGHTON, H. J. M.: Z. physik. Chem. **81**, 543 (1913); PASTANOGOFF, W.: Z. physik. Chem. **112**, 448 (1924).

Meßmethode¹. Die Reaktion wird durch Wägung der ausgeschiedenen Menge Kohlendioxyd verfolgt. Die abgewogene Säure und Base und das abpipettierte Lösungsmittel befinden sich in einem 30 ccm fassenden Rundkölbchen, das, mit Schliff und Quecksilberverschluß versehen, eine Gas-Zu- und -Abführungsröhre besitzt; letztere ist mit einem kleinen Kühler, durch den Leitungswasser fließt, umgeben. Das Kölbchen befindet sich in einem Wasserthermostaten. Die benutzte Temperatur liegt je nach den Umständen zwischen 40 und 90°. Das sich ausscheidende Kohlendioxyd wird durch einen Stickstoffstrom, der von CO₂ und H₂O befreit ist, aus dem Reaktionskölbchen weggeblasen. Der Gasstrom passiert den Kühler, wo das verdampfende Lösungsmittel hauptsächlich kondensiert wird, dann ein Gefäß nach Art eines langen schmalen Waschfläschchens, das mit einer Eis-Kochsalz-Mischung umgeben ist. Weiter geht das Gas durch einen Dreiweghahn und zwei Natronkalkröhren, welche das CO₂ absorbieren. Nach den zwei Natronkalkröhren folgt ein Blasenähler. Zu bestimmten Zeiten wird der Gasstrom mit dem Dreiweghahn in ein zweites Paar Natronkalkröhren umgesteuert, das erste inzwischen gewogen und so fort. Alle Glasverbindungen werden mittels Druckschlauch hergestellt. Die Geschwindigkeit des Stickstoffstromes wird so gewählt, daß ihre Vergrößerung die Resultate nicht mehr ändert.

Man kann auch das Kohlendioxyd in Baryt auffangen und titrimetrisch bestimmen².

Die Arbeit von BREDIG und JOYNER³ hatte das wichtige Ergebnis, daß die katalytische Wirkung der organischen Basen anscheinend mit ihrer Fähigkeit parallel geht, saure Salzkomplexe zu bilden. Danach ist auch die katalytische Wirkung in den Lösungsmitteln am stärksten, in denen die Bildung der sauren Salze am meisten begünstigt ist.

Die Gegenwart der sauren Salze wurde z. B. durch die Zunahme der Löslichkeit von Camphocarbonsäure in Xylol bei Anwesenheit der Base nachgewiesen. Die Differenz der gelösten Säure bei Anwesenheit und bei Abwesenheit von Base ergab die Menge der Säure, die von der Base gebunden worden war. Dabei wurde die sicher zutreffende Annahme gemacht, daß das saure Salz vollständig in Lösung blieb. Aus der gebundenen Säuremenge wurde die Zahl der Säuremoleküle berechnet, die ein Molekül Base in Xylollösung zu binden vermag. Diese Zahlenwerte (A) sind in Tabelle 21 verzeichnet, die einen Auszug aus den Angaben von BREDIG und JOYNER darstellt, k ist die Geschwindigkeit

¹ FAJANS, K.: Z. physik. Chem. **73**, 33 (1910).

² RONA, P. und F. REUTER: Biochem. Z. **249**, 458 (1932).

³ Zitiert auf S. 83.

keitskonstante der katalysierten Reaktion. Die annähernde Konstanz des Quotienten $\frac{k}{A}$ deutet darauf hin, daß A und k in ursächlichem Zusammenhang stehen. Allerdings lassen sich A und k nicht streng vergleichen, da A bei Überschuß von Säure, k dagegen bei Überschuß von Base gemessen wurde.

Kinetik. Während die Zersetzung der Camphocarbonsäure und ihres Bromderivats ohne Katalysator streng monomolekular verläuft, fanden CREIGHTON und PASTANOGOFF bei Gegenwart von Basen einen eigentümlichen Reaktionsverlauf, der sich in S-förmigen Umsatzkurven ausdrückte und scheinbar auf eine Autokatalyse hindeutete. Eine Beschleunigung

Tabelle 21. Spaltung der Camphocarbonsäure mit organischen Basen.

Base	A	k	k/A
Dimethylanilin	0,08	0,00137	—
Kollidin	1,96	0,0061	0,0030
α -Pikolin	1,24	0,0043	0,0033
Piperidin	3,01	0,0134	0,004
Tripropylamin	3,3	0,0119	0,004
Chinolin	1,0	0,0034	0,0033
Diäthylbenzylamin	2,7	0,0082	0,0030
Chinaldin	0,93	0,0024	0,0026
Diisobutylamin	2,8	0,0084	0,0031
Pyridin	1,07	0,0038	0,0035
Tribenzylamin	0,14	0,00138	—
Diäthylamin	2,54	0,0068	0,0027
Triisobutylamin	0,605	0,00245	0,0035

durch den entstehenden Campher oder Bromcampher ließ sich aber nicht nachweisen. RONA und REUTER¹ fanden denselben anomalen Verlauf. Nach Erfahrungen des Verfassers² an Carboxylasemodellen haben die S-förmigen Kurven wahrscheinlich keine kinetische Bedeutung, sondern sind durch Übersättigung der Lösung an Kohlendioxyd zu erklären. Die scheinbare Autokatalyse kommt dadurch zustande, daß mit steigender Übersättigung auch die Zahl der entweichenden Gasbläschen wächst, wodurch die Übersättigung allmählich immer rascher aufgehoben wird. Das tritt aber erst nach einer scheinbaren Induktionsperiode ein. Es wird also zu Anfang weniger, gegen Ende der Reaktion aber mehr CO₂ abgegeben als entwickelt. Durchleiten von Stickstoff durch die Lösung vermag selbst bei 137⁰ die Anomalie nicht ganz zum

¹ Zitiert auf S. 84.

² LANGENBECK, W. und R. HUTSCHENREUTER: Z. anorg. u. allg. Chem. 188, 1 (1930).

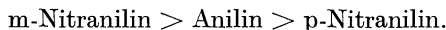
Verschwinden zu bringen, und die Versuche an Camphocarbonsäure sind ja bei viel niedrigerer Temperatur durchgeführt worden. Wendet man die manometrische Methode an, so verläuft die CO_2 -Entwicklung bei genügender Schüttelgeschwindigkeit und bei Carboxylasemodellen, die sich genügend rasch lösen, zu Anfang streng linear.

Nach G. LJUNGGREN¹ wird der Zerfall der Acetessigsäure in wäßriger Lösung hauptsächlich durch primäre Aminoverbindungen beschleunigt. Die Katalysatoren besitzen ein ausgeprägtes pH -Optimum, das mit der Natur der Katalysatoren etwas variiert, meist aber in der Nähe des Neutralpunkts liegt.

W. FRANKE und G. BRATHUHN² untersuchten eingehend die Decarboxylierung der Dioxymaleinsäure mit organischen Basen:



Dabei zeigte sich keinerlei Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Affinitätskonstanten der Base. Andererseits waren aber auch nicht alle schwachen Basen wirksam, Ammoniak, Harnstoff und Pyridin waren völlig indifferent. Die katalytische Wirkung hängt also ausgesprochen von der chemischen Konstitution des Katalysators ab. Beim Anilin und seinen Derivaten ergab sich folgende Reihe der Aktivitäten:



Durch Substitution des aromatischen Kerns in m-Stellung ließ sich also eine ausgesprochene Aktivierung erzielen, obgleich m-Nitranilin eine viel schwächere Base ist als Anilin.

2. Anlagerung von Cyanwasserstoff.

Die beschleunigende Wirkung von Ammoniak auf die Addition von Blausäure an Carbonylverbindungen hat wohl zuerst H. KILIANI³ beobachtet. Er fand, daß die Einwirkung von Cyanwasserstoff auf Galaktose erheblich schneller stattfindet, wenn Ammoniak zugegen ist. Nach LAPWORTH⁴ wird die Anlagerung von Blausäure an Campherchinon durch Basen stark gefördert. Die analoge Beschleunigung der Blausäureaddition an ungesättigte Kohlenstoffbindungen studierte E. KNOEVENAGEL⁵. Zum Beispiel zeigte sich, daß bei der Addition von Cyanwasserstoff an α -Phenyl-zimtsäurenitril die katalytische Wirksamkeit der organischen Basen in der nachstehenden Reihenfolge stieg:



Genauere Messungen liegen bisher darüber nicht vor.

¹ Ber. Physiol. **38**, 620 (1926); C. 27 I 2505.

² Liebigs Ann. **487**, 41 (1931).

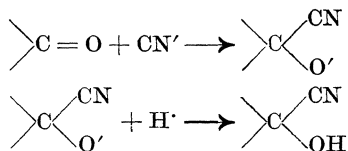
³ Ber. **21**, 916 (1888).

⁴ Chem. Soc. London **83**, 995 (1903); **85**, 1206 (1904).

⁵ Ber. **37**, 4065 (1904).

Mit der Blausäureaddition an Benzaldehyd, die ebenfalls durch organische Basen stark beschleunigt wird, beschäftigt sich eine Arbeit von G. BREDIG und P. S. FISKE¹. Sie wird in dem Abschnitt über stereochemische Spezifität besprochen werden.

Über den Mechanismus dieser Katalysen läßt sich schwer etwas Endgültiges sagen. Folgt man einer Theorie von LAPWORTH², so werden bei der Cyanhydrinbildung zunächst die Cyan-Ionen angelagert, in einer zweiten Teilreaktion vereinigt sich das Cyanhydrin-Ion mit dem Wasserstoff-Ion:



Diese Theorie wurde von H. ALBERS³ bestätigt durch den Nachweis einer Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der OH-Ionen-Konzentration. Die katalytische Wirkung der Base kann sich aber nicht in der Vermehrung der OH-Ionen erschöpfen, sonst wären die stereochemischen Wirkungen optisch aktiver Basen (siehe unten) nicht zu erklären. BREDIG und FISKE⁴ konnten feststellen, daß Alkaloide anscheinend zu Cyanhydrinen eine erhebliche Affinität besitzen. Dieser Zwischenstoff erklärt aber nicht die Synthese des Mandelsäurenitrils. Die einfachste Vorstellung ist vorläufig, daß sich in kleiner Menge auch das Salz aus Alkaloid und Blausäure bildet. Nach Versuchen von P. RABE und E. MÖLLER⁵ ist die katalysierte Cyanhydrinsynthese eine trimolekulare Reaktion, während sie ohne Katalysator nach ALBERS dimolekular ist. MÖLLER stellt folgenden katalytischen Mechanismus zur Diskussion:



Das Ammonium-Ion der Base $(\text{BH})^+$ gibt mit Cyan-Ion und Aldehyd den lockeren Komplex Base-Cyanhydrin, der dann in seine Komponenten zerfällt.

3. Autoxydation von ungesättigten Fettsäuren und Phenolen.

W. FRANKE⁶ und etwa gleichzeitig P. RONA, R. ASMUS und H. STEINECK⁷ fanden, daß die Autoxydation von Leinölsäure bzw. Linolsäure-methylester durch organische Basen auch ohne Gegenwart von Schwermetall-Ionen stark gefördert wird. Hier ergab sich ebenfalls

¹ Biochem. Z. 46, 7 (1912). — ² Zitiert auf S. 86.

³ Biochem. Z. 255, 44 (1932).

⁴ Zitiert auf S. 87; vgl. auch ALBERS, H.: Dissertation Hamburg (1928).

⁵ MÖLLER, E.: Dissertation Hamburg (1929).

⁶ Liebigs Ann. 498, 129 (1932). — ⁷ Biochem. Z. 250, 149 (1932).

keine Beziehung zwischen Dissoziationskonstante und Wirkung der Basen. Als besonders kräftiger Katalysator erwies sich das α , α' -Dipyridyl. Auch Aminosäuren, besonders aber das Prolin, sind gute Beschleuniger, was vielleicht von biologischer Bedeutung ist.

Nach H. LANGECKER¹ beschleunigen aromatische Amine die Autoxydation von o- und p-Dioxybenzolen, eine Reaktion, die bei der Kombination Novocain-Adrenalin zuerst beobachtet wurde.

4. Stereochemische Spezifität basischer Katalysatoren.

Die Fermente haben die Eigenschaft, die beiden Antipoden eines asymmetrischen Stoffes im allgemeinen mit verschiedener Geschwindigkeit anzugreifen. Ebenso bilden sie bei der Synthese von asymmetrischen Stoffen aus symmetrischem Material gewöhnlich den einen Antipoden in überwiegender Menge. Man nennt diese Eigenschaft der Fermente bekanntlich ihre „stereochemische Spezifität“ und glaubte lange Zeit, daß sie eins der wesentlichen Merkmale wäre, welche die Fermente von den einfachen Katalysatoren unterschieden. Erst G. BREDIG und seinen Schülern gelang es, die stereochemische Spezifität auch an chemisch definierten Katalysatoren nachzuweisen.

Als Beispiele dienten die asymmetrische Spaltung der Camphocarbonsäure und der Bromcamphocarbonsäure mit Hilfe optisch aktiver Basen², ferner als asymmetrische Synthese die Bildung von optisch aktivem Mandelsäurenitril³.

Die Theorie dieser Erscheinungen ist nach FAJANS kurz folgende: Es möge zuerst erörtert werden, wie allgemein mit Benutzung optisch aktiver Stoffe durch *kinetische* Methoden eine optische Aktivierung von inaktivem Material zu ermöglichen ist. Dabei muß man zwei Fälle unterscheiden, je nachdem es sich a) um die optische Aktivierung eines racemischen Gemisches oder b) um die optische Aktivierung einer symmetrischen Verbindung durch asymmetrische Synthese handelt.

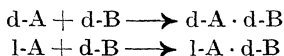
A. Bei der optischen Aktivierung eines racemischen Gemisches kommt es darauf an, mit einem optisch aktiven Hilfsstoff das Gemisch in zwei Teile zu zerlegen, wobei in dem ersten Teil das eine Isomere (oder ein konfiguratив entsprechendendes Reaktionsprodukt) im Überschuß vorhanden ist, in dem zweiten Teil das andere Isomere. Diese Trennung läßt sich auf verschiedene Weise erzielen.

¹ Arch. f. exper. Path. **129**, 202 (1928).

² BREDIG, G. und K. FAJANS: Ber. **41**, 752 (1908); FAJANS, K.: Z. physik. Chem. **73**, 25 (1910); CREIGHTON, H. I. M.: Z. physik. Chem. **81**, 543 (1913); PASTANOGOFF, W.: Z. physik. Chem. **112**, 448 (1924).

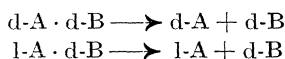
³ BREDIG, G. und P. S. FISKE: Biochem. Z. **46**, 7 (1912); BREDIG, G. und M. MINAEFF: Festschr. z. Jahrhundertfeier d. Techn. Hochschule Karlsruhe 1925, 1.

I. Man läßt das Gemisch (d-A und l-A) sich mit dem Hilfsstoff (d-B) verbinden. Dann wird im allgemeinen die Geschwindigkeit, mit der die beiden Antipoden mit dem Hilfsstoff reagieren, verschieden sein. Unterbricht man die Reaktion rechtzeitig, so wird daher in der Verbindung der eine Antipode im Überschuß vorhanden sein, im unverbrauchten Gemisch der andere. Die Reaktionen verlaufen nach folgendem Schema:

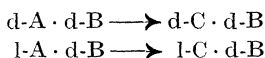


II. Umgekehrt kann man von der fertigen Verbindung des Antipodengemisches mit dem Hilfsstoff ausgehen und sie einer allmählichen Umwandlung unterziehen. Auch hierbei wird die Geschwindigkeit verschieden sein, da die Verbindungen der beiden Antipoden mit dem Hilfsstoff nicht spiegelbildisomer sind. Solche Vorgänge können verschiedener Art sein:

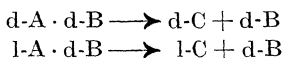
1. Die Verbindung des racemischen Gemisches mit dem Hilfsstoff zerfällt in ihre Komponenten:



2. Es kann eine Reaktion vorliegen, in der nur der zu aktivierende Stoff eine Veränderung erleidet (Übergang in d-C und l-C), während der Hilfsstoff an das Reaktionsprodukt ebenso gebunden bleibt, wie früher an das Ausgangsmaterial:



3. Gleichzeitig mit der Umwandlung von A in C wird der Hilfsstoff wieder frei, das Reaktionsprodukt vermag also den Hilfsstoff nicht mehr zu binden, dieser erscheint nicht in dem Endprodukt der Reaktion:



Von den aufgezählten Möglichkeiten kann nur die letzte als echte Katalyse aufgefaßt werden. Die stereochemische Spezifität des optisch aktiven Katalysators kommt also dadurch zustande, daß die Verbindung d-A · d-B mit einer anderen Geschwindigkeit reagiert, als l-A · d-B, wodurch d-C und l-C in verschiedener Menge entstehen, wenn man die Reaktion vor ihrem vollständigen Ablauf abbricht.

Dieser Fall ist bei der Zersetzung der Camphocarbonsäure mit optisch aktiven Basen verwirklicht worden, die nach folgendem Schema verläuft:



Bei der Zersetzung der Brom-camphocarbonsäure konnte die Reaktion auch äußerlich als katalytische gekennzeichnet werden, da eine sehr geringe Menge Base eine große Menge Säure zu zersetzen vermag.

Der Verlauf der Reaktion wird am klarsten durch die Kurven der Abb. 5. Sie lassen deutlich erkennen, daß die d-Brom-camphocarbonsäure viel rascher durch Chinidin gespalten wird, als die l-Form. Zer-

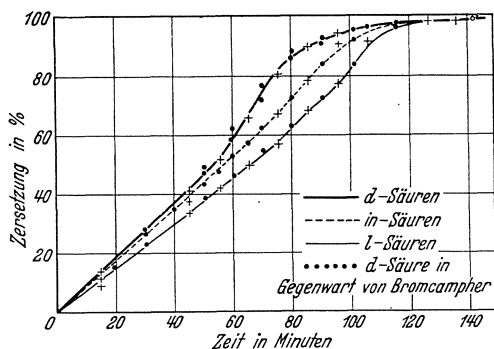


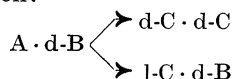
Abb. 5. Zersetzung der Brom-camphocarbonsäure mit Chinidin¹.

setzt man also das racemische Gemisch der Säure, so muß ein Überschuß der l-Form in Lösung bleiben, wenn man die Reaktion rechtzeitig unterbricht. Das hat sich auch immer bestätigt.

B. Bei der asymmetrischen Synthese soll ein symmetrischer Stoff A mit Hilfe eines optisch aktiven Hilfsstoffes (d-B) in einen asymmetrischen Stoff C

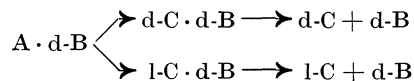
überführt werden, und zwar so, daß in dem Gemisch der Antipoden der eine überwiegt. Hierbei haben wir wieder zwei Fälle zu unterscheiden:

1. Die Verbindung des symmetrischen Stoffes mit dem optisch aktiven Hilfsstoff setzt sich um, der Hilfsstoff bleibt aber an das Reaktionsprodukt gebunden:



Die Verbindungen d-C . d-B und l-C . d-B werden sich mit verschiedener Geschwindigkeit bilden, weil sie nicht spiegelbildisomer sind.

2. Das Reaktionsprodukt vermag den Hilfsstoff nicht zu binden, dieser wird also immer wieder regeneriert, d. h. nur in diesem Falle haben wir eine echte, asymmetrische Katalyse:



Eine solche asymmetrische Synthese durch Katalyse ist die von BREDIG und FISKE durchgeführte.

Abb. 6 gibt einen solchen Versuch wieder. Der Reaktionsverlauf wurde einerseits durch die Volumkontraktion verfolgt, andererseits

¹ Z. physik. Chem. 81, 549 (1913).

durch Bestimmung der optischen Drehung des Reaktionsgemisches. Wie man aus der oberen Kurve (Kontraktion) sieht, ist die Reaktion noch nicht ganz vollendet, wenn nach der unteren Kurve die optische Drehung bereits nachläßt. Bei längerer Reaktionsdauer tritt also allmähliche Racemisierung ein. Über die mutmaßlichen Zwischenstoffe wurde oben bereits gesprochen.

Schon BREDIG und FAJANS haben die Wirkung verschiedener Alkaloide bei der Camphocarbonsäurespaltung verglichen und gefunden, daß Chinin und Chinidin die umgekehrte stereochemische Wirkung haben. Bei der Cyanhydrinsynthese sind von P. RABE, E. SCHWANHÄUSSER und H. ALBERS² eine Reihe von Alkaloiden der Chinarinde untersucht worden mit einem ähnlichen Ergebnis (Tab. 22). Die erzielten Drehungen des Cyanhydrins sind sowohl ihrem Sinne als ihrer Größe nach sehr verschiedenartig. Ein Zusammenhang zwischen der

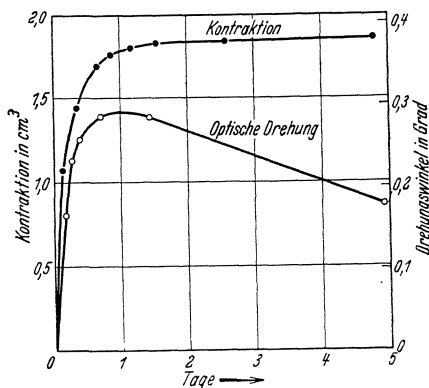


Abb. 6. Synthese des optisch aktiven Mandelsäurenitrils mit Chinin¹.

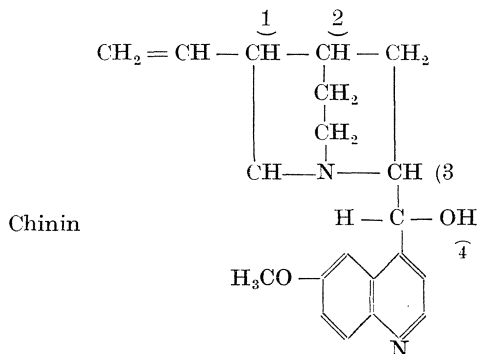
erzeugten Drehung und der Eigendrehung der Katalysatoren hat sich nicht ergeben. Er ist auch nicht zu erwarten, da Stoffe gleicher Konfiguration nicht ein ähnliches Drehungsvermögen zu besitzen brauchen.

Tabelle 22. Asymmetrische Synthese des Mandelsäurenitrils mit verschiedenen Chinaalkaloiden.

Lösungsmittel	Katalysator	Konfig. an C ₃ und C ₄	[α] _D	Erhalt. Drehung
CHCl ₃	Hydrocinchonin	dd	+ 190	+ 0,205
	Hydrocinchonidin	ll	- 98	- 0,26
C ₆ H ₆	Hydrocinchonin	dd	+ 190	+ 0,41
	Hydrocinchonidin	ll	- 98	- 0,52
C ₆ H ₆	Chinin	ll	- 158	+ 0,125
	Chinidin	dd	+ 243	- 0,165
C ₆ H ₆	Epihydrocinchonin	d1	+ 88,4	+ 0,165
	Epihydrocinchonidin	ld	+ 48,3	- 0,11
C ₆ H ₆	Hydrocinchoninchlorid	d1	+ 40	+ 0,03
	Hydrocinchonidinchlorid	ld	+ 58	- 0,02

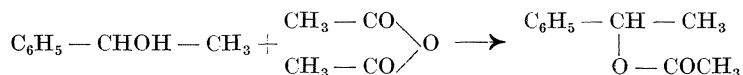
¹ BREDIG, G. und M. MINAEFF: Zitiert auf S. 88. — ² SCHWANHÄUSSER, E.: Dissertation Hamburg 1926. — ALBERS, H.: Dissertation Hamburg 1928.

Immerhin ist bemerkenswert, daß die Konfiguration am C-Atom 3 und 4 der Chinaalkaloide (siehe Formel des Chinins) einen besonderen Einfluß auf die erzeugte Drehung zu besitzen schien.



Als besonders geeignete Aldehydkomponente erwies sich der *m*-Nitro-benzaldehyd¹. Die asymmetrische Wirkung der Alkaloide ließ sich bei diesem Substrat schon bei einem Molverhältnis 1:350000 deutlich wahrnehmen.

Eine zweite Art von asymmetrischen Synthesen ist vor einigen Jahren von R. WEGLER² aufgefunden worden. α -Phenyläthylalkohol wurde mit verschiedenen Säurechloriden und Säureanhydriden bei Gegenwart von Alkaloiden verestert, z. B.



Optisch auswählend wirkten nur Brucin, Strychnin, Nicotin und Chinin.

Meßmethode. Da der Essigsäureester etwa 2,7mal so stark dreht wie der Phenyläthylalkohol, so braucht der unveränderte Alkohol nicht vom Ester getrennt zu werden. Die Veresterungsversuche wurden meist in Tetrachlorkohlenstoff vorgenommen. Nach Beendigung des Versuchs wurde die Lösung zur Entfernung des Alkaloids 5mal mit verdünnter Schwefelsäure durchgeschüttelt, dann noch 4—6mal mit Sodalösung. Polarisiert wird das im Vakuum gemeinsam siedende Gemisch des Alkohols und Esters im 1 dm-Rohr bei 20°.

Als Beispiel sei folgender Versuch angeführt: 50 g Brucin in 20 g racemischem α -Phenyläthylalkohol und 350 ccm Tetrachlorkohlenstoff gelöst, und bei 0° mit 80 ccm Essigsäureanhydrid versetzt. Nach 1 Tag war $\alpha = -17,8^\circ$, nach 13 Tagen $\alpha = -12,46^\circ$.

¹ ALBERS, H.: Zitiert auf S. 91.

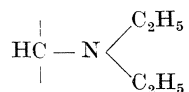
² Liebigs Ann. 498, 62 (1932); 506, 77 (1933).

Auch bei Anwendung anderer racemischer, sekundärer Alkohole bekommt man stark aktive Ester.

Diese Versuche sind, abgesehen von ihrem biochemischen Interesse, für die Kenntnis der präparativ so häufig benutzten Veresterungsreaktion von Bedeutung. Sie beweisen wohl endgültig, daß sich aus Base und Anhydrid ein Zwischenstoff bildet.

Heterogene asymmetrische Katalysatoren. G. BREDIG und F. GERSTNER¹ haben die optisch auswählende Wirkung von Diäthylamin-cellulose untersucht, die man nach P. KARRER und W. WEHRLI² durch Einwirkung von Diäthylamin auf Toluolsulfo-cellulose erhielt. Es waren dies die ersten Versuche mit heterogenen metallfreien Katalysatoren. Der Faserkatalysator beschleunigte die CO₂-Abspaltung aus Bromcamphocarbonsäure ähnlich wie organische Basen, und bei der Synthese des Mandelsäurenitrils wurden erhebliche Linksdrehungen erzielt (Tab. 23).

Man darf annehmen, daß vor allem die asymmetrischen C-Atome, die den Diäthylaminogruppen benachbart sind

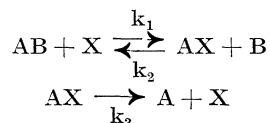


die asymmetrische Synthese bewirken.

5. Anwendung der Modellversuche auf die stereochemische Spezifität der Enzyme.

Bei den organischen Katalysatoren, die den Fermenten am nächsten stehen, nämlich den Hauptvalenzkatalysatoren, ist eine optisch auswählende Wirkung bisher nicht sicher nachgewiesen worden³, es ist aber wohl nur eine Frage der Zeit, daß sie aufgefunden wird.

Bei dem Vorgang



hängt die auswählende Wirkung des optisch aktiven Katalysators X von der Größe der Konstanten k_1 , k_2 und k_3 ab. Betrachtet man nur die Anfangsgeschwindigkeiten, so wird die stereochemische Spezifität um so größer sein, je mehr sich die Konstanten k_1 und k_3 für die optischen Antipoden d-AB und l-AB unterscheiden. Ein Grenzfall liegt vor, wenn der eine Antipode überhaupt nicht angegriffen wird, dann ist k_1 oder k_3 für den einen Antipoden praktisch gleich 0.

¹ Biochem. Z. **250**, 414 (1932). — ² Z. angew. Chem. **39**, 1509 (1926).

³ Vgl. LANGENBECK, W.: Ber. **61**, 944 (1928).

Tabelle 23. Asymmetrische Synthese des Mandelsäurenitrils mit Diäthylamino-cellulose.

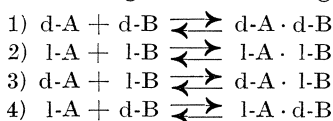
Nr.	Versuchsmischung	Zeit Std.	Kon- traktion ccm	Optischer Drehungswinkel			
				Oxynitril in Toluol	Mandel- säure mit HCl in wässe- riger Lösung	Natrium- salz in al- kalischer wässe- riger Lösung	Mit Äther extra- hierte Mandel- säure in Wasser gelöst
1	0,1 Mol Benzaldehyd mit 0,5 g <i>Diäthylamino-cel- lulosefaser</i> und toluoli- scher Blausäurelösung auf 50 ccm aufgefüllt .	71	1,5	- 0,56 ⁰	+ 0,40 ⁰	+ 0,30 ⁰	+ 0,32 ⁰
2	Wie in Nr. 1	40	0,53	- 0,43	+ 0,31	+ 0,33	+ 0,28
3	Wie in Nr. 1, aber die Faser vor Gebrauch <i>in Wasser gequollen</i> und abgeschleudert . . .	15	1,08	- 0,58	+ 0,62	+ 0,62	+ 0,61
4	Wie in Nr. 1, aber <i>ohne</i> Faser (Nullversuch) .	70	0,21				
5	Wie in Nr. 1, aber 0,5 g <i>nichtamidierte</i> , ursprüngliche Cellulose- faser als Katalysator (Nullversuch)	39	0,05	0,00			
6	Wie in Nr. 1, aber 0,5 g <i>nichtamidierte</i> , ursprüngliche Cellulose- <i>esterfaser</i> als Kataly- sator (Nullversuch) . .	39	0,05	0,00			
7	0,1 Mol Benzaldehyd mit 0,1 Mol Blausäure und 0,5 g <i>Diäthylamino- cellulosefaser</i> in Toluol auf 50 ccm aufgefüllt .	20	1,52	- 1,10 ⁰	+ 1,87, ⁰	+ 1,25 ⁰	+ 1,42 ⁰
8	Wie in Nr. 7	20	1,55	- 1,00	+ 1,84	+ 1,25	+ 1,20
9	Wie in Nr. 7, aber <i>ohne</i> Faser (Nullversuch) .	45	0,00	0,00			
10	Wie in Nr. 7, aber mit <i>Zusatz von 0,001 Mol Benzoessäure</i>	20 44	1,45 1,70	- 0,55			

Die zuerst von BREDIG und FAJANS an basischen Katalysatoren abgeleitete kinetische Erklärung für die stereochemische Spezifität der Fermente ist sehr verschieden von der Vorstellung EMIL FISCHERS, daß Enzym und Substrat wie Schlüssel und Schloß zueinander passen müssen. Dieses Gleichnis gilt nämlich nur für eine absolute, nicht aber für eine relative Spezifität. Ein Schlüssel paßt entweder, oder er tut es nicht, ein Zwischending gibt es nicht. Bei Enzymversuchen beobachten wir dagegen alle Arten von Übergängen zwischen den Extremen, daß der eine Antipode anscheinend überhaupt nicht angegriffen wird und daß sich die Antipoden in ihrer Reaktionsfähigkeit kaum unterscheiden. Auch die asymmetrischen Katalysatoren unterscheiden sich sehr in ihrer spezifischen Wirkung. Die kinetische Betrachtungsweise wird also den Tatsachen besser gerecht, wenn auch bisher Modellfälle fehlen, bei denen optisch reine Reaktionsprodukte entstehen. Das Bild vom Schloß und Schlüssel ist wohl von E. FISCHER auch nicht als strenge Theorie, sondern mehr als ein geistvolles Gleichnis gedacht gewesen, und als solches kann es ja durchaus befriedigen.

Ein wesentliches Merkmal der kinetischen Theorie ist es also, daß ein optisch reines Ferment nie ein optisch völlig reines Reaktionsprodukt erzeugen sollte, auch wenn der zweite Antipode praktisch nicht nachzuweisen ist. Verfolgen wir den Gedanken bis in seine letzten Konsequenzen, so kommen wir zu einem ganz merkwürdigen Ergebnis¹.

Die Erscheinung, daß bei der Übertragung der optischen Aktivität der optische Reinheitsgrad des Reaktionsproduktes geringer ist als der des Katalysators, wollen wir als „optische Aktivitätsverminderung“ bezeichnen. Da in der lebenden Zelle dauernd solche Vorgänge stattfinden, so müßte die optische Aktivität der Naturstoffe längst verschwunden sein, wenn nicht als Gegenwirkung auch aktivitätsverstärkende Reaktionen möglich wären.

Experimentell wissen wir über aktivitätsverstärkende Reaktionen im Organismus nichts, theoretisch läßt sich aber voraussehen, unter welchen Bedingungen sie überhaupt denkbar sind. Nehmen wir den einfachsten Fall einer Reaktion des Stoffes A mit dem Stoff B. Sie mögen sich zu dem Körper AB vereinigen. A und B sollen in optisch unreinem Zustand vorliegen. Nur um eine Bezeichnung zu haben, nehmen wir willkürlich an, daß die d-Form von A, wir nennen sie d-A, und die d-Form von B (d-B) im Überschuß gegenüber l-A und l-B vorhanden ist. Dann finden folgende Umsetzungen statt:



¹ LANGENBECK, W.: Habilitationsschrift Münster i. W., S. 20 (1928).

für diese Reaktionen gelten nach dem Massenwirkungsgesetz folgende Gleichgewichte:

$$\begin{aligned} 1) & [d-A \cdot d-B] = k \cdot [d-A] \cdot [d-B] \\ 2) & [l-A \cdot l-B] = k \cdot [l-A] \cdot [l-B] \\ 3) & [d-A \cdot l-B] = k' \cdot [d-A] \cdot [l-B] \\ 4) & [l-A \cdot d-B] = k' \cdot [l-A] \cdot [d-B] \end{aligned}$$

Gehen alle diese Reaktionen vollständig zu Ende, liegt also das Gleichgewicht praktisch ganz auf der Seite von AB, so kann niemals eine Aktivitätsverstärkung stattfinden, denn die „optischen Verunreinigungen“, l-A und l-B, gehen dann restlos in die neue Verbindung AB ein.

Anders ist es dagegen, wenn ein echtes Gleichgewicht entsteht. Da bedingungsgemäß gilt:

$$[d-A] > [l-A] \text{ und } [d-B] > [l-B]$$

können folgende zwei Grenzfälle eintreten:

I. k' sei gegen k sehr klein, so daß Reaktion 3) und 4) vernachlässigt werden kann. Dann ist der Quotient

$$\frac{[d-A \cdot d-B]}{[l-A \cdot l-B]} = \frac{[d-A] \cdot [d-B]}{[l-A] \cdot [l-B]}$$

also größer als der Quotient

$$\frac{[d-A]}{[l-A]} \text{ oder } \frac{[d-B]}{[l-B]}$$

es hat also Aktivitätsverstärkung stattgefunden.

II. Umgekehrt sei k gegen k' sehr klein, so daß Reaktion 1) und 2) vernachlässigt werden kann. Dann gilt:

$$\frac{[d-A \cdot l-B]}{[l-A \cdot d-B]} = \frac{[d-A] \cdot [l-B]}{[l-A] \cdot [d-B]}$$

Das bedeutet, daß das Verhältnis $\frac{[d-A]}{[l-A]}$, d. h. der Konzentrationen von d-A und l-A, die in die neue Verbindung AB eingegangen sind, kleiner geworden ist als das ursprüngliche Verhältnis $\frac{[d-A]}{[l-A]}$. Dasselbe gilt für das Verhältnis $\frac{[d-B]}{[l-B]}$. In diesem Fall hat also Aktivitätsverminderung stattgefunden.

Wir ersehen daraus, daß Aktivitätsverstärkung nur eintreten kann bei Reaktionen zweiter oder höherer Ordnung, und auch nur dann, wenn sie zu einem Gleichgewicht führen. Außerdem ist die Aktivitätsverstärkung noch von der Größe der Gleichgewichtskonstanten bedingt.

Da Aktivitätsverstärkung nur bei unvollständigen Reaktionen möglich ist, folgt als weiterer Satz, daß sie mit einem Verlust an der Menge des Reaktionsproduktes erkauft werden muß. Dieser Verlust

kann im Organismus aber dadurch ausgeglichen werden, daß die Fermente ihre optische Aktivität auf eine größere Menge Substrat zu übertragen vermögen.

Da bei der Bildung der Fermente Aktivitätsverstärkung auftreten kann, kann auch die optische Aktivität der Naturstoffe erhalten bleiben. Nun muß man aber noch einen Schritt weiter gehen. Es ist unwahrscheinlich, daß die Aktivitätsverminderung gerade ausgeglichen wird, sondern man muß annehmen, daß die Aktivitätsverstärkung *überwiegt*. Daraus folgt dann weiter, daß eine „optisch inaktive Welt“ instabil ist. Tritt in einem wachsenden und sich vermehrenden Organismus auch nur einmal ein schwach optisch aktives Ferment auf, so muß sich die optische Aktivität in den folgenden Generationen immer mehr verstärken. Für diese primäre optische Aktivität ist es gar nicht nötig, die Wirkung von zirkular polarisiertem Licht anzunehmen¹. Die Inaktivität der Stoffe, die wir im Reagensglas synthetisieren, beruht ja nur auf der Wahrscheinlichkeit, daß beide Antipoden gleich rasch entstehen. Im Laufe sehr langer Zeiträume kann als „Schwankungserscheinung“ plötzlich eine minimale optische Aktivität auftreten, die sich dann weiter fortpflanzt und verstärkt. Die optische Einheitlichkeit der Naturstoffe, die Tatsache also, daß von einer bestimmten Verbindung meist — nicht immer! — nur der eine Antipode in der Natur vorkommt, wäre dann durch die genetische Verwandtschaft aller Lebewesen zu erklären. So führt die Theorie der stereochemischen Spezifität zu einer Anschauung von dem *Entstehen* des optischen Drehungsvermögens in der Natur, ohne daß dabei neue Hypothesen eingeführt zu werden brauchten.

VI. Katalysen mit unbekanntem Mechanismus.

1. Die angebliche Hydrolyse der Stärke.

In den Jahren 1923 und 1924 erschienen einige Arbeiten von W. BIEDERMANN², die sich mit der Hydrolyse der Stärke durch organische Katalysatoren bei Gegenwart von anorganischen Salzen beschäftigen.

BIEDERMANN ging davon aus, daß schon einfache Salzlösungen eine schwache amylytische Wirkung ausüben sollen, aber merkwürdigerweise nur dann, wenn sie durch Schütteln in möglichst innige Berührung mit Sauerstoff gebracht werden.

¹ Vgl. KUHN, W. und E. KNOPF: Naturwiss. 18, 183 (1930); Z. physik. Chem. 7, 292 (1930).

² Biochem. Z. 135, 282 (1923); 137, 35 (1923); Z. angew. Chem. 37, 71 (1924); Biochem. Z. 150, 477 (1924); 149, 309 (1924); vgl. auch ILJIN, W. S.: Biochem. Z. 132, 511, 526 (1922).

Die Wirkung der Salze ließ sich erheblich verstärken durch Zusatz von Aminosäuren wie Glykokoll, Alanin oder Leucin. Sehr wirksam war das Gemisch von Aminosäuren, das man bei der Trypsinverdauung von Fibrin erhält. Die stärkste Förderung erfuhr die Salzhydrolyse durch die albumoseähnlichen Spaltprodukte, die R. NEUMEISTER¹ durch Behandlung von Eiweißstoffen mit überhitztem Wasserdampf erhalten und als „Atmidalbumosen“ bezeichnet hat. Die Atmidalbumosen zeigen übrigens auch in ihren Fällungsreaktionen auffallende Ähnlichkeit mit den Speichelalbumosen, denen BIEDERMANN die amy-latische Wirkung des Speichels zuschreibt.

Im Anschluß an seine Beobachtung, daß molekularer Sauerstoff die Amylasewirkung fördert, hat BIEDERMANN dann auch eine Reihe von peroxydatisch wirkenden Stoffen auf ihre amy-latische Wirkung hin untersucht. Er fand, daß Hämoglobin, Hämatin und Hämin bei Gegenwart von molekularem Sauerstoff Stärke bis zum Verschwinden der Jodfärbung zu hydrolysieren vermögen, und zwar auch bei Abwesenheit von anorganischen Salzen. Diese Stoffe sollen also anders reagieren, als Aminosäure und Albumosen, die nur die Wirkung der Salze verstärken.

Die Versuche von BIEDERMANN sind von zwei andern Forschern bestätigt worden². Dagegen haben mehrere andere Autoren³ trotz genauester Einhaltung der von BIEDERMANN angegebenen Bedingungen kein positives Ergebnis erhalten. Wegen der Bedeutung der Sache sind die BIEDERMANNschen Angaben von W. LANGENBECK und G. KOHMÜLLER⁴ nochmals genau nachgeprüft worden, ebenfalls mit *völlig negativem Ergebnis*. Neben den bisher bekannten Ursachen für ein scheinbares Gelingen der Stärkehydrolyse (Anwesenheit von Amylase oder Bakterien), ist eine Täuschung leicht möglich, weil die Blaufärbung der sehr schwachen Stärkelösung — mit konzentrierteren Lösungen sollen die Versuche auch nach den Angaben von BIEDERMANN nicht gelingen! — durch die beinahe komplementäre Färbung eines Jodüberschusses fast verdeckt werden kann. Man muß also stets mit minimalen Jodmengen arbeiten (^m/₁₀₀-Jod-Jodkaliumlösung tropfenweise zugeben), um die Blaufärbung sicher zu bekommen. Andererseits vermag die Albumosenlösung kleine Jodmengen zu entfärben, dann

¹ Z. Biol. **26**, 57 (1890).

² HAEHN, H.: Biochem. Z. **135**, 587 (1923); Z. angew. Chem. **39**, 1148 (1926); HAEHN, H. und H. BERENTZEN: Chem. Zelle **12**, 286 (1925); DOBY, G. und R. P. HIBBARD: Biochem. Z. **176**, 165 (1926).

³ TAKANE, K.: Biochem. Z. **175**, 241 (1926); GLIMM, E. und R. GRIMM: Biochem. Z. **197**, 445 (1928); MALY, N.: Biol. Zbl. **206**, 401 (1929); VASUDA, M.: J. of Biochem. **10**, 259 (1929); IWANOWSKI, N.: C. **29 II**, 1653.

⁴ Bisher unveröffentlicht.

kommt die Jodstärke nicht zur Erscheinung und eine Hydrolyse wird vorgetäuscht. In diesem Falle muß man etwas mehr Jod verwenden. Eine Violettfärbung mit Jod wird zuweilen bei Gegenwart geringer Mengen des als Desinfiziens benutzten Toluols beobachtet und kann mit der Jodfärbung teilweise abgebauter Stärke verwechselt werden. Bei längerem Durchleiten von Luft muß diese erst mit Natronlauge gewaschen werden, weil im Laboratorium häufig Säuredämpfe zugegen sind. Nur mit Wasserstoffperoxyd und Schwermetallsalzen bekommt man gemäß den Angaben von BIEDERMANN ein Produkt, das durch Jod nicht mehr blau gefärbt wird. Aber dabei handelt es sich um einen oxydativen, nicht um einen hydrolytischen Abbau¹. Durch alle diese Versuche lassen sich die scheinbar positiven Ergebnisse mancher Forscher erklären. Die Arbeiten von BIEDERMANN sind damit als *endgültig widerlegt* zu betrachten.

Die Untersuchungen von G. WOKER und H. MAGGI² über die angebliche amylytische, peroxydatische und katalatische Wirkung des Formaldehyds sind ebenfalls mehrfach widerlegt worden³.

2. Autoxydationen usw. bei Gegenwart autoxydabler Stoffe.

Es sind zahlreiche Beobachtungen bekannt geworden, daß die Autoxydation von organischen Substraten bei Gegenwart leicht oxydabler Stoffe außerordentlich beschleunigt wird⁴. Nicht in allen Fällen ist man sicher, ob es sich um eine echte Katalyse handelt, da ja der Überträger auch oxydiert wird. Meist ist auch die Anzahl der Sauerstoffmoleküle, die durch 1 Mol Überträger aktiviert werden, nicht groß. Wir wollen uns deshalb damit begnügen, die neuere Literatur möglichst vollständig anzuführen. Erwähnt sei nur, daß nach einer Annahme von W. FRANKE⁵ durch die Autoxydation des Überträgers wahrscheinlich eine Kettenreaktion ausgelöst wird.

Als Substrate haben hauptsächlich ungesättigte Verbindungen wie Leinölsäure und Lecithin gedient, ferner Aminosäuren, p-Phenylen-diamin u. a.

¹ Vgl. z. B. OMORI, T.: J. of Biochem. **14**, 331 (1931).

² WOKER, G. und H. MAGGI: Z. allgem. Physiol. **16**, 340 (1914); Ber. **47**, 1024 (1914); **49**, 2311 (1916); **50**, 679, 1188, 1189 (1927); **51**, 790 (1918); **52**, 1594 (1919); Helv. **1**, 433 (1918); vgl. auch G. WOKER, E. BLUM-SAPAS: Biochem. Z. **217**, 236 (1930).

³ v. KAUFMANN, W.: Ber. **50**, 198 (1917); WOHLGEMUTH, J.: Biochem. Z. **94**, 213 (1914); SALLINGER, H.: Ber. **52**, 651 (1919); JAKOBY, M.: Ber. **52**, 558 (1919); H. WIELAND, Liebigs Ann. **431**, 306 (1923).

⁴ Vgl. auch die oben besprochene Reaktion von ZIEGLER und EWALD, die in ihrem Mechanismus aufgeklärt ist.

⁵ Liebigs Ann. **498**, 129 (1932).

Katalysatoren: Thiolverbindungen (Cystein, Thioglykolsäure)¹, Carotinoide², Sterine³, mehrwertige Phenole. Letztere wirken auf Aminosäuren auch bei Gegenwart von Wasserstoffacceptoren⁴. Nicht nur o- und p-Dioxybenzole sind wirksam, sondern auch m-Verbindungen wie Resorcin⁵. Daraus folgt, daß die Reaktion zumindest nicht immer durch die Bildung von o- und p-Chinonen bedingt ist. Cholesterin in kolloidalem Zustand vermag auch die Zersetzung des Wasserstoffperoxyds zu beschleunigen⁶.

3. Verschiedene Reaktionen.

Eisessig, Ameisensäure, Campher und andere Ketone beschleunigen die Vereinigung von Schwefeldioxyd und Chlor zu Sulfurylchlorid⁷.

Mischungen von Aldehyden, besonders Kohlehydraten, mit Aminosäuren und Polypeptiden entfärben Methylenblau⁸. Es ist bisher nicht geklärt, ob eine Katalyse vorliegt und ob die Aminosäuren oder die Zucker dehydriert werden.

Benzoyl-acetonitril vereinigt sich mit Piperidin zu einer Base $C_{14}H_{18}ON_2$ bei Gegenwart von Salicylaldehyd und anderen Oxyaldehyden⁹.

Cholsäure und Desoxycholsäure fördern die Mutarotation der Glucose¹⁰.

¹ MEYERHOF, O.: Pflügers Arch. **199**, 531 (1923); **200**, 1 (1923); v. SZENT-GYÖGYI, A. v.: Biochem. Z. **146**, 245 (1924); HOPKINS, F. G.; Biochemic. J. **19**, 787 (1925); FRANKE, W.: Liebigs Ann. **498**, 129 (1932).

² OLCOVICH, H. S.: C. 31 I, 1781; v. EULER, H., L. AHLSTRÖM: Z. physiol. Chem. **204**, 168 (1932).

³ REMESOW, J.: Biochem. Z. **246**, 431 (1932); **248**, 256 (1932); **269**, 63 (1934); **266**, 330 (1933).

⁴ EDLBACHER, S. und J. KRAUS: Z. physiol. Chem. **178**, 239 (1928); G. BLIX, C. 30, II, 903; B. KISCH und Mitarbeiter: Biochem. Z. **220**, 84, 92, 97, 370 (1930); **236**, 380 (1931); **242**, 1, 21 (1931); **244**, 440 (1932); **247**, 371 (1932); **249**, 63 (1932); **250**, 135 (1932); **252**, 380 (1932); **257**, 89 (1933); **259**, 455 (1933); **263**, 98 (1933); **263**, 195 (1933); **268**, 158 (1934); **271**, 424, 427 (1934). Fermentforsch. **13**, 433 (1932). Zu den Anschauungen KISCHS über die Fermentwirkung vgl. LANGENBECK, W. und J. BALTES: Ber. **67**, 388 (Anm. 5) (1934). — ⁵ KISCH, B.: Biochem. Z. **249**, 63 (1932).

⁶ Biochem. Z. **266**, 330 (1933); Ber. **67**, 134 (1934).

⁷ MEISENS: C. r. **76**, 92; SCHULZE: J. pr. (2) **24**, 168 (1881); CUSMANO, G.: Atti Accad. naz. Lincei (5) **27**, II, 201 (1918); C. 19 III, 93; Gazz. chim. ital. **49**, 147 (1929); **50** II, 70 (1920); C. **21** I, 67.

⁸ HAEHN, H. und A. PÜLZ: Chem. Zelle **12**, 65 (1924); Z. angew. Chem. **39**, 1148 (1926); BORSOOK, H. und H. WASTENEYS: Biochemic. J. **19**, 1128 (1925); v. EULER, H. und E. BRUNTIUS: Liebigs Ann. **467**, 213 (1928); v. EULER, H. und Mitarbeiter: Sv. kem. Tidskr. **40**, 163, 263 (1928); **41**, 203 (1929); C. 28 II, 1428; 29 II, 2436. — ⁹ KRISHNAMURTI, P.: Soc. **1927**, 1349.

¹⁰ HATAKEYAMA, T.: J. of Biochem. **8**, 371 (1928).

Die Hydrolyse des Essigsäureanhydrids und höherer Anhydride wird durch Formiationen beschleunigt¹.

Nach H. MEERWEIN, TH. BERSIN und W. BURNELEIT² reagiert Diazomethan mit Ketonen bei Gegenwart von Lösungsmitteln mit hoher Dielektrizitätskonstante unter Bildung von Äthylenoxyden oder homologen Ketonen.

Methylglyoxal liefert mit Spuren von Blausäure $\frac{1}{2}$ Mol Brenztraubensäure, daneben ein nicht saures Produkt, das sich als Osazon isolieren läßt³.

4. Die Vulkanisationsbeschleuniger.

Wegen ihrer großen technischen Bedeutung auf einem Gebiet, das augenblicklich im Mittelpunkt des Interesses steht, sollen die organischen Vulkanisationsbeschleuniger wenigstens kurz berührt werden⁴.

Unter Vulkanisation versteht man bekanntlich die Behandlung von Kautschuk mit elementarem Schwefel in der Hitze oder mit Schwefelchlorür in der Kälte. Bei der Vulkanisation verbindet sich Kautschuk mit dem Schwefel und geht aus dem plastischen in den elastischen Zustand über. Den Grad der Vulkanisation drückt man aus durch den „Vulkanisationskoeffizienten“. Man versteht darunter den Prozentgehalt an Schwefel, der fest an den Kautschuk gebunden ist und sich nicht mit Aceton extrahieren läßt. Um für verschiedene Kautschukproben vergleichbare Zahlen zu erhalten, bezieht man den Prozentgehalt des Schwefels auf reinen Kautschukkohlenwasserstoff, nicht auf das technische Gemisch.

Die Vulkanisationsbeschleuniger haben nur für die Vulkanisation mit elementarem Schwefel Bedeutung, alle anderen Verfahren sind ja auch von geringerer Wichtigkeit. Die Vorteile einer beschleunigten Vulkanisation liegen auf der Hand. Zunächst spart man Zeit und Heizmaterial, da der Prozeß rascher und bei tieferen Temperaturen vor sich geht. Erst später fand man, daß der auf diese Weise erhaltene Kautschuk viel bessere mechanische Eigenschaften besitzt als Produkte, die ohne

¹ KILPATRICK, M.: Amer. chem. Soc. **50**, 2891 (1928); **52**, 1410 (1930); KILPATRICK, M. und M. L. KILPATRICK: Amer. chem. Soc. **52**, 1418 (1930).

² Ber. **62**, 999 (1929). Über den Einfluß des Lösungsmittels auf andere Reaktionen vgl. den Artikel von MEERWEIN, H. in HOUBEN-WEYL, Methoden der organischen Chemie, 2. Aufl., **2**, 390 (1923).

³ MEYERHOF, O.: Biochem. Z. **159**, 432 (1925); ARYAMA: J. of biol. Chem. **77**, 359 (1928); SMYTHE, C. V.: Ber. **65**, 819 (1932).

⁴ Da mir eigene Erfahrungen auf diesem Gebiet nicht zur Verfügung stehen, folge ich im wesentlichen der Darstellung von KINDSCHER, E. im Handbuch der Kautschukwissenschaft von MEMMLER, K. (Leipzig 1930) 350. Vgl. auch WURM, E: Chem.-Ztg. **58**, 577 (1934). Betreffs der Einzelheiten muß auf die äußerst umfangreiche Patentliteratur verwiesen werden.

organische Beschleuniger hergestellt werden. Durch die niedrigere Temperatur werden nämlich die Makromoleküle des Kautschuks geschont, während bei höheren Temperaturen leicht eine mehr oder minder große Veränderung, z. B. eine Krackung stattfinden kann. Dazu kommt, daß hervorragende mechanische Eigenschaften schon bei Vulkanisationskoeffizienten gefunden werden, die viel tiefer liegen wie bei früheren Fabrikaten. Dieser niedrigere Schwefelgehalt bringt es wieder mit sich, daß die Vulkanisate eine bessere Haltbarkeit besitzen. Das früher so lästige „Nachvulkanisieren“ beim Lagern, wobei die Elastizität sehr litt, fällt fast ganz fort. Die Vulkanisationsbeschleuniger sind also zugleich als Vulkanisationsveredler zu betrachten¹.

Über die interessante Entdeckungsgeschichte der organischen Beschleuniger berichtet einer der beteiligten Chemiker folgendermaßen²: „Es gibt gewisse Sorten von synthetischem Kautschuk, die sich an der Luft sehr rasch unter Sauerstoffaufnahme zersetzen. Man kann diese Sorten aber, wie die Farbenfabriken vorm. BAYER u. Co. gefunden haben, vor Oxydation sehr wirksam schützen, wenn man sie mit einem geringen Zusatz organischer Basen versetzt. Als solche Schutzbasen wurden Anilin, Pyridin, Chinolin, Dimethylamin und in einem Falle auch Piperidin verwendet. Während nun die zuerst genannten Basen keine wesentliche Veränderung bei der Vulkanisation der betreffenden Kautschuksorten hervorrufen, zeigte der mit etwa 1% Piperidin versehene Kautschuk nach der Vulkanisation einen ganz anderen Habitus, der auf eine sehr weit vorgeschrittene Vulkanisation schließen ließ. Die Bestimmung des aufgenommenen Schwefels ergab das erstaunliche Resultat, daß etwa achtmal soviel Schwefel aufgenommen war als unter normalen Umständen erwartet worden wäre. Diese Beobachtung (die der Chef der Kautschukabteilung der Farbenfabriken vorm. FRIEDR. BAYER und Co., F. HOFMANN und K. GOTTLOB gemeinsam gemacht haben) veranlaßte uns, die Wirkung von Piperidin auch bei der Vulkanisation natürlichen Kautschuks zu untersuchen, wobei wir auch ganz ähnliche Resultate erzielten“.

In der gleichen Arbeit wird schon festgestellt, „daß die absolute Höhe der Zerreißfestigkeit mit 12 kg etwas höher ist als die von ohne Beschleuniger vulkanisiertem Material (10,5 kg)“.

Die Chemie der Vulkanisationsbeschleuniger entwickelte sich sehr rasch, und heute kennt man schon mehrere hundert organische Verbindungen, die als Beschleuniger brauchbar sind. Nach ihrer technischen Wirksamkeit teilt man sie in folgende Gruppen ein:

¹ Vgl. HOFMANN, F.: Chem.-Ztg. 50, 1006 (1926).

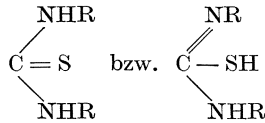
² GOTTLOB, K.: Gummi-Ztg. 30, 303, 326 (1916); die erste Veröffentlichung ist das D.R.P. 265 221 der Elberfelder Farbwerke vom Jahre 1912.

1. Ultrabeschleuniger, z. B. Dithiocarbonate und Xanthogenate. Sie wirken nur bei Gegenwart von Zinkoxyd. Vulkanisationstemperatur erheblich unterhalb 100°.

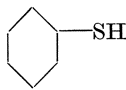
Vulkanisationszeit: Wenige Minuten.

Beispiele:

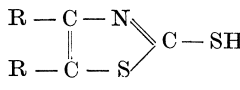
Thioharnstoffe.



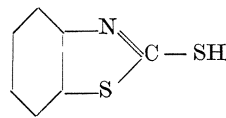
Merkaptane.



Thiophenol

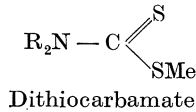


Mercapto-thiazole

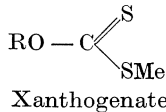


Mercaptobenzthiazole

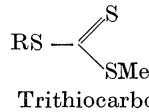
Dithiosäuren.



Dithiocarbamate

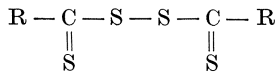


Xanthogenate

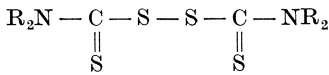


Trithiocarbonate

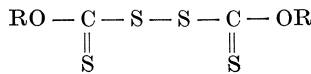
Disulfide.



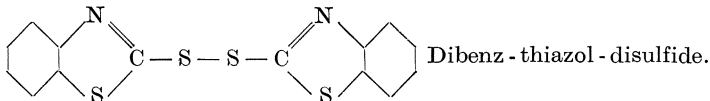
Dithio-diacyl-disulfide



Thiuram-disulfide



Dixanthogene



Dibenz - thiazol - disulfide.

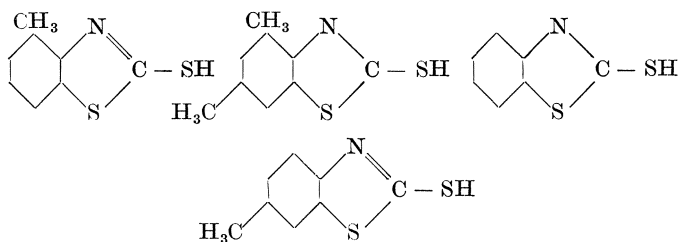
2. Rapidbeschleuniger, z. B. Diphenylguanidin, Di-o-tolyl-guanidin. Vulkanisationstemperatur über 100°, bis etwa 140°. Vulkanisationszeit 20 bis 40 Minuten.

3. Gemäßigte Beschleuniger, z. B. Aldehyd-Ammoniak, Hexamethylen-tetramin. Vulkanisationstemperatur 142°. Vulkanisationszeit 60 bis 90 Minuten.

4. Langsam wirkende Beschleuniger, z. B. Thiocarbanilid, Formaldehyd-Anilin, Triphenylguanidin. Vulkanisationstemperatur 142°, Vulkanisationszeit etwa 90 bis 120 Minuten.

Im Zusammenhang mit den Aktivierungserscheinungen bei anderen organischen Katalysatoren (siehe oben) interessiert uns hier vor allem die Tatsache, daß man durch Einführung von Substituenten auch bei Vulkanisationsbeschleunigern die Wirksamkeit erhöhen kann.

Schon K. GOTTLÖB¹ wies darauf hin, daß p-Phenylendiamin ein guter Beschleuniger ist, die o- und die m-Verbindung dagegen nicht. Die ersten eingehenden Versuche zur Aktivierung verdankt man L. B. SOBRELL und C. E. BOARD². Sie untersuchten den Einfluß von Alkylgruppen in verschiedenen Stellungen des Mercapto-benzthiazols und fanden folgende Reihe der Wirksamkeit:



Die Methylgruppe kann also je nach ihrer Stellung im Molekül sowohl aktivieren als auch inaktivieren.

Auch bei aliphatischen Beschleunigern findet man Unterschiede von Homologen. So ist Dimethylamin-dimethyl-dithiocarbamat bei Gegenwart von Zinkoxyd wesentlich aktiver als Diäthylamin-diäthyl-dithiocarbamat³.

Ansichten über den Wirkungsmechanismus der Vulkanisationsbeschleuniger. Daß die Wirkung der Beschleuniger eine Art Katalyse ist, geht aus der Tatsache hervor, daß man mit kleinen Mengen größere Gewichtsmengen Schwefel zur Umsetzung bringen kann. Über die Einzelheiten des Wirkungsmechanismus ist man sich allerdings nicht so klar. Die Beschleuniger gehören verschiedenen Körperklassen an. Man findet darunter basische, neutrale und saure Verbindungen, stickstoffhaltige und stickstofffreie. Es ist deshalb von vornherein wenig wahrscheinlich, daß alle nach demselben Prinzip wirken. Bis heute ist es auch nicht gelungen, eine einheitliche und ganz befriedigende Theorie zu finden, aber immerhin stehen einige allgemeine Gesichtspunkte in erster Linie zur Diskussion.

Fast alle modernen Anschauungen sehen die Funktion der Beschleuniger darin, daß sie den Schwefel in eine reaktionsfähigere Form bringen. Bekanntlich bildet der Schwefel sowohl in Lösung wie in

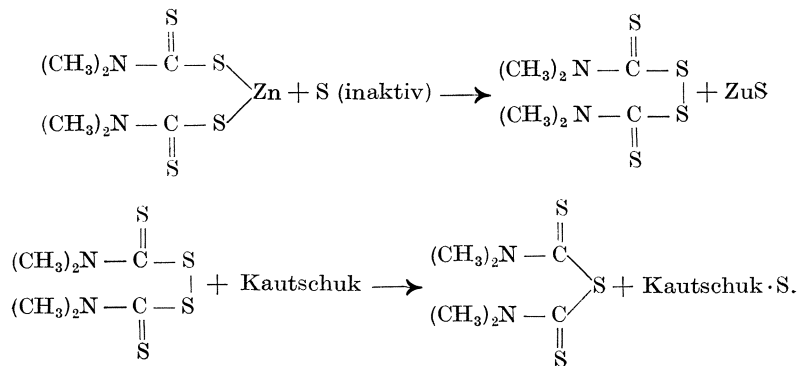
¹ Zitiert auf S. 102.

² Ind. R. J. **64**, 27, 476, 605 (1922); Ind. engin. Chem. **15**, 1009 (1923).

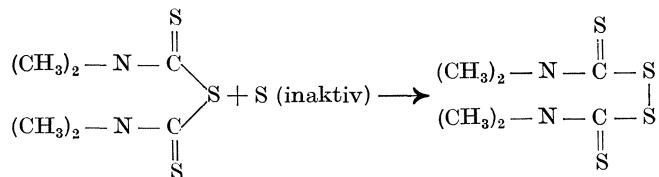
³ SCHIDROWITZ, PH., DE GOUVEA und OSBORNE: Ind. R. J. **64**, 75 (1922).

Schmelze größere Moleküle, von dem man das Molekül S_8 sicher nachgewiesen hat. Nun kann man erwarten, daß der Schwefel in statu nascenti, also in atomarer Form, viel rascher reagieren wird. In der Tat bedient sich das Peachey-Verfahren des naszierenden Schwefels, der aus Schwefelwasserstoff und Schwefeldioxyd entsteht.

Eine grundlegende Beobachtung war es¹, daß Thiuram-disulfide eine Kautschuk-Zinkoxyd-Mischung auch in Abwesenheit von elementarem Schwefel zu vulkanisieren vermögen. Dagegen ist die Wirkung der Metall-Dithiocarbamate an die Gegenwart von freiem Schwefel gebunden. Da nun BRUNI und ROMANI² fanden, daß sich Dithiocarbamate mit Schwefel zu Thiuramdisulfiden umsetzen, nehmen sie folgenden Reaktionsverlauf an:



Um die katalytische Wirkung zu verstehen, muß man allerdings noch die zusätzliche Annahme machen, daß das Sulfid mit elementarem Schwefel wieder in Disulfid übergeht:



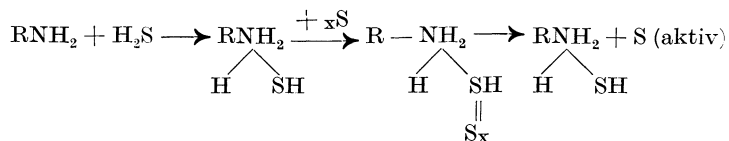
Trifft diese Anschauung das Richtige, so liegt eine regelrechte Hauptvalenzkatalyse vor mit dem normalen Mechanismus der Additionsreaktionen (siehe oben).

Gegen die Theorie von BRUNI und ROMANI spricht allerdings, daß in der Reihe der Mercapto-benzthiazole die Mercaptane und besonders die Zinksalze aktiver sind als die entsprechenden Disulfide, die doch gerade die aktiven Zwischenstoffe sein sollten.

¹ BRUNI und ROMANI: Giorn. Chim. ind. appl. **3**, 197 (1921).

² Giorn. Chim. ind. appl. **3**, 351 (1921).

Nach C. W. BEDFORD und W. SCOTT¹ soll die Wirkung der basischen Beschleuniger auf der Bildung von Polysulfiden beruhen, die ihrerseits Schwefel in aktiver Form abgeben, z. B.:



Der Schwefelwasserstoff entstammt der Einwirkung von elementarem Schwefel auf die natürlichen Begleitstoffe des Kautschuks. Tatsächlich nehmen stark basische Amine leicht Schwefelwasserstoff auf und geben mit Schwefel Polysulfide, ähnlich der bekannten Bildung von „gelbem Schwefelammonium“. Auch die Wirkung der Mercaptane erklären BEDFORD und SCOTT in ähnlicher Weise. Der Schwefel soll sich direkt an die SH-Gruppen unter Bildung von Polysulfiden anlagern.

Alle diese Erklärungsversuche versagen bei einer, allerdings technisch nicht verwendeten², Klasse von Beschleunigern, nämlich den aromatischen Nitrosoverbindungen. Vielleicht kann man nach BRUNI und ROMANI³ hier eine Aktivierung des Kautschuks annehmen. Es könnten sich Additionsverbindungen bilden, tatsächlich sind solche bei Nitrosobenzol und ungesättigten Kohlenwasserstoffen (z. B. Eugenol) bekannt.

¹ Ind. engin. Chem. **12**, 31 (1920); **13**, 125 (1921); BEDFORD und SOBRELL: Ind. engin. Chem. **13**, 1034 (1921); **14**, 25 (1922).

² Die Nitrosoverbindungen wie Nitrosobenzol oder Nitrosodimethylanilin sind Hautgifte und haben unerwünschte färbende Eigenschaften.

³ Zitiert auf S. 105.

Namenverzeichnis.

- | | | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>Adler, O. 24.
Adler, R. 24.
Ahlström, L. 20, 23, 100.
Albers, H. 87, 91, 92.
Ariyama 101.
Asmus, R. 87.</p> <p>Bäckström, H. L. J. 10.
Baudisch, O. 16, 17.
Barcroft 19.
Batelli, F. 24.
Bach, A. 9, 24, 25.
Baltés, J. 59, 60, 73, 79, 100.
Bamann, E. 79, 80, 82.
Balcom, R. W. 83.
Berthelot, M. 32, 33.
Bedford, C. W. 106.
Bertrand, G. 16.
Bergel, F. 24, 44.
Bersin, Th. 29, 82, 101.
Beaucourt, K. 34.
Becker, W. 46.
Berentzen, H. 98.
Biedermann, W. 97, 98, 99.
Blaese, G. 35.
Blümlein, F. 59.
Blum-Sapas, E. 99.
Blix, G. 100.
Boxer, S. E. 43.
Böttinger, C. 49.
Boklund, U. 49.
Borsook, H. 100.
Bouveault, L. 48.
Board, C. E. 104.
Bossert, K. 9.
Bockemüller, W. 11, 14.
Bolin, J. 16.
Bolz, K. 24.
Bredig, G. 7, 83, 84, 87, 88, 90, 91, 93, 95.
Brann, L. 7, 17, 18, 24, 26, 27, 28, 29.
Brdička, R. 9.
Brass, L. W. 16.
Brathuhn, G. 86.
Brunius, E. 100.
Bruni 105, 106.
Burneleit, W. 101.
Buckmaster, A. 25.</p> | <p>Cazeneuve 83.
Christiansen, J. A. 10.
Chodat, R. 24.
Claisen, L. 83.
Clausner, P. 49, 83.
Creighton, H. J. M. 83, 85, 88.
Cusmano, G. 100.</p> <p>Davidson, D. 16.
van Deen 5.
Derrien, E. 27.
Dieckmann, W. 34, 37.
Dilthey, W. 41, 42, 43.
Dirscherl, W. 76, 77.
Dixon, M. 21.
Doby, G. 98.
Döbner, O. 49.
Dufraise 10, 23.</p> <p>Edlbacher, S. 100.
Elberfelder Farbwerke 102.
v. Euler, H. 16, 18, 20, 23, 24, 26, 28, 81, 100.
Evans, W. L. 59.
Ewald, L. 38, 39, 99.</p> <p>Fajans, K. 7, 49, 84, 88, 91, 95.
Falk, K. G. 60.
Fenton 17.
Fischer, E. 2, 7, 95.
Fischer, H. 21, 29.
Fischer, F. G. 16.
Fiske, P. S. 87, 88, 90.
Florkin, M. 29.
Francis, F. E. 42.
Franke, W. 9, 12, 13, 14, 15, 17, 21, 45, 86, 87, 99, 100.
Franck, J. 10.
Freudenberg, K. 15, 61, 82.
Furter, M. 28.
v. Fürth, O. 5, 24, 25.</p> <p>Gerstner, F. 93.
Glimm, E. 98.</p> | <p>Goldschmidt, St. 9, 15, 18.
Goda, S. 16.
Gottlob, K. 7, 102, 104.
Götz, Th. 11, 14.
de Gouvea 104.
Grassmann, W. 82.</p> <p>Haehn, H. 98, 100.
Hamlin, M. L. 60.
Harder, M. 62.
Hatakeyama, T. 100.
Haber, F. 9, 10, 11, 12.
Harrison, D. C. 21.
Haurowitz, F. 27.
Hand, D. B. 29.
Hantzsch, A. 40.
Hann, A. L. C. 43.
Haager, J. 47.
Herzfeld, A. 48.
Herzfeld, K. F. 69.
v. Hemmelmayr 83.
Hellrung, F. 53, 54, 69.
Henriques, R. 59.
Henri, V. 63.
Helmert 82.
Hellermann 82.
Heubner, W. 24.
Hirsch, J. 75, 76.
Hibbard, R. P. 98.
Hill 28.
Hofmann, F. 7, 102.
Hofmann, K. A. 16.
Hopkins, F. G. 100.
Horeclois, R. 23.
Holden 28.
Houben, J. 34.
Höchster Farbwerke 47.
Hunnius, H. 59.
Hutschenreuter, R. 7, 24, 27, 30, 31, 45, 48, 49, 51, 53, 71, 76, 85.</p> <p>Iljin, F. S. 97.
Iwanowski, N. 98.</p> <p>Jansson, B. 18, 26.
Jakoby, M. 99.
Johnson, J. M. 21.</p> |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

- Josephson, K. 28, 81.
 Joyner, R. A. 83, 84.
 Jüttemann, R. 7, 45, 49, 51, 53, 54, 69, 70, 76.
- v. Kaufmann, W. 99.
 Kastle 24.
 Kämmerer 37.
 Kastle, J. H. 79.
 Karczag 83.
 Karrer, P. 93.
 Keilin, D. 29.
 Kemp, A. 33.
 Kisch, B. 100.
 Kilpatrik, M. 101.
 Kilpatrik, M. L. 101.
 Kindscher, E. 101.
 Kirstahler, A. 21.
 Kiliani, H. 86.
 Knoevenagel, E. 40, 41, 43, 86.
 Knopf, W. 97.
 Knaffl-Lenz, E. 60.
 Kohmüller, G. 98.
 Kramers 10.
 Kraus, J. 100.
 Krishnamurti, P. 100.
 Krebs, H. A. 21, 22, 23.
 Kuhn, R. 7, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 24, 26, 27, 28, 29.
 Küchlin, A. Th. 9.
 Kupferberg 83.
 Kuhn, W. 97.
 Kultjugin, A. 25, 27.
 Küster, W. 26.
- Langenbeck, W. 7, 24, 27, 29, 30, 31, 33, 43, 45, 46, 48, 49, 51, 53, 54, 58, 59, 60, 67, 69, 70, 71, 72, 73, 75, 76, 79, 81, 85, 93, 95, 98, 100.
- Laeverenx, P. 82.
 Lauth 83.
 Lapworth, A. 43, 87.
 Landergren, St. 81.
 Langecker, H. 88.
 Lewis, H. B. 79.
 Lieben, A. 32.
 v. Liebig, J. 6, 32.
 Ljunggren, G. 86.
 Lindstead, R. P. 43.
 Logemann, W. 82.
 Lohaus, H. 43.
 London 10.
- Manchot, W. 9, 18.
 Maier, R. 24.
 Mayer, R. L. 27.
 Mayer, P. 83.
 Mauthner, F. 48.
 Maschmann 82.
 Maly, N. 98.
 Maggi, H. 99.
 Meier, R. 24.
 Meyer, K. 20, 22.
 Meyer, K. H. 42.
 Meyerhof, O. 15, 100, 101.
 Merkle, M. 44.
 Menten, M. L. 63, 67, 68, 69, 71, 73.
 Melsens 100.
 Meerwein, H. 101.
 Memmler, K. 101.
 Michaelis, L. 63, 67, 68, 69, 71, 73.
 Mc. Ginty, D. A. 79.
 Minaeff, M. 88, 91.
 Möller, W. 87.
 Moureu 10.
- Nagel, W. 41, 42, 43.
 Negelein, E. 22, 23.
 Neef, J. U. 35.
 Nelson, J. M. 60.
 Neuberg, C. 75, 76, 83.
 Neumeister, R. 98.
 Nilsson, H. 24, 26, 28.
 Northrop, J. H. 58.
- Omori, T. 99.
 Olivier, S. C. J. 60.
 Oleovich, H. S. 100.
 Orth, P. H. 38.
 Ostwald, W. 6.
 Osborne 104.
- Pastanogoff, W. 71, 83, 85, 88.
 Pauncz, St. 9, 18.
 Pean de Saint-Gilles 32.
 Petrenko-Kritschenko, P. 75.
 Pfannl, M. 59.
 Pflaum, W. 18.
 Pirie, N. W. 48.
 Plöchl, J. 59.
 Pollinger, A. 5, 25.
 Pülz, A. 100.
- Rabe, P. 87, 91.
 Reuter, F. 24, 26, 84, 85.
 Remesow, J. 100.
 Reissert, A. 83.
 Rhode, H. 24.
 Robinson, M. E. 20.
 Romani 105, 106.
 Rona, P. 68, 84, 85, 87.
 Rosenthal, O. 75.
 Rosenthal, S. M. 21.
 Rottig, W. 24, 27, 30, 31.
 Runehjelm, D. 24, 26, 28.
- Sallinger, H. 99.
 Schaefer, O. 70.
 Szent-Györgyi 14, 100.
 Scott, W. 106.
 Schiff, H. 32, 33.
 Schidrowitz, Ph. 104.
 Schmeller, M. 79.
 Schlockermann, W. 75.
 Schönbein, Chr. Fr. 5, 19.
 Schulze 100.
 Schumm, O. 21.
 Schwab, G. M. 66, 74.
 Schwanhäusser, E. 91.
 Schweizer, E. 79.
 Shed 24.
 Shibata, Y. 16.
 Simon, L. 48, 51.
 Smythe, C. V. 101.
 Stallmann, W. 41.
 Staudinger, H. 35, 36, 37.
 Steineck, H. 87.
 Stern, L. 24.
 Stern, K. G. 32.
 Steffenburg, Sv. 26.
 Stoecklin, de 25.
 Stoll, A. 24, 25.
 Stollé, R. 44.
 Strecker, A. 43.
- Takane, K. 98.
 Tanaka, Y. 16.
 Traube, W. 43.
 Trautz, M. 53.
 Treibs, A. 29.
 Tsuchida, R. 16.
- Vasuda, M. 98.
 Ville, J. 27.
 Voegtlin, C. 21.

Waldtschmidt-Leitz, E. 82.	Weinmann 75.	Woker, G. 99.
Warburg, O. 13, 19, 21, 22, 23, 44.	Wieland, H. 9, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 44, 73, 83, 99.	Wrede, H. 70, 75.
Wasteneys, H. 100.	Willstätter, R. 5, 12, 24, 25, 83.	Wurm, E. 101.
Wassermann, A. 18, 21, 27, 28.	Willstaedt, H. 24, 26.	Zeile, K. 19, 29.
Wegler, R. 92.	Wingler, A. 83.	Zettel 33.
Wehrli, W. 93.	Wolff 25.	v. Zeynek, R. 29.
Weiss, J. 11.	Wohlgemuth, J. 99.	Ziegler, K. 38, 39, 99.
		Zirm, K. L. 24, 26.

Sachverzeichnis.

Acetaldehyd 32, 33, 34, 72, 75, 77, 78.	Amino-naphtoxindol 56, 57, 58, 59, 69, 70, 72, 75.
Acetaminobenzoylcarbinol 60.	Amino-oxindol-carbonsäure 57.
Acetessigester 40, 41.	Amino-oxy-naphtoxindol 57.
Acetessigsäure 13, 86.	Aminobenzoylcarbinol 60.
Acetoin 75, 76, 77.	Ammoniak 18, 86.
Acetondicarbonsäure 13, 83.	Amylamin 86.
Acridin 35.	Amylasewirkung 99.
Acrolein 23.	Anilin 49, 51, 55, 86, 102.
Additionsreaktionen 32, 105.	Anisaldehyd 39.
Adipinsäuremonoäthylester 79, 80.	Anthrachinon 47.
Adrenalin 88.	Atmidalbumosen 98.
Äthylalkohol 38.	Atmungsferment 22, 23.
Äthylamin 41, 55, 86.	— gelbes 2, 44.
Äthylschwefelsäure 62.	Autoxydation 10, 12, 22, 27, 87, 99.
Affinitätskonstante 28.	
Aktivierung 52, 53, 54, 58, 75, 81.	Barbitursäure 17.
— optische 88.	Basische Katalysatoren 5, 82.
Aktivierende Gruppen 52, 54, 82.	Benzaldehyd 22, 23, 33, 40, 41, 42, 72, 87, 94.
Aktivitätswert 55.	Benzidin 17, 24, 26.
Aktivitätsverminderung, optische 95.	Benzoylessigsäure 13.
Aktivitätsverstärkung, optische 95, 96, 97.	Benzhydrol 38.
Aktivitäts-ps-Kurve 68, 69, 71.	Benzalanilin 48, 51.
Aktive Gruppe 3, 4, 52, 81.	Benzoin-anil-anilid 51, 76, 77.
Alanin 18, 56, 78.	Benzoyl-carbinol 59, 60, 61, 62, 73, 80.
Aldehyde 6, 22, 23, 24, 50, 75, 100.	Benzylalkohol 61, 62.
Aldehydammoniak 103.	Benzoin 77.
Aldehydkondensation 42.	Benzoyl-acetonitril 100.
Alizarin 47.	Bernsteinsäure-monoäthylester 79, 80.
Alkohole 18, 75.	Blausäure 20, 23, 86, 87, 94, 101.
Allylamin 41.	Blutfarbstoff 3, 5, 19, 25.
Ameisensäure 14, 24, 100, 101.	Brenztraubensäure 49, 58, 72, 73, 75, 76, 77, 78.
Amino-oxindol 7, 45, 46, 55, 56, 57, 81.	Brom-amino-oxindol 57, 58.
Aminosäuren 18, 24, 43, 44, 45, 46, 75, 88, 98, 99, 100.	Brom-camphocarbonsäure 83, 88, 90.
Aminouracil 16.	Bromisatin 47.
Aminobuttersäure 55.	Brucin 92.
Amino-iso-buttersäure 56.	Buttersäuremethylester 60.

- Campher 100.
 Campherchinon 86.
 Camphocarbonsäure 7, 83, 84, 85, 88, 89, 91.
 Carboxylase 4, 7, 51, 57, 58, 70, 72, 75, 76, 77, 79, 81.
 Carboxylasemodelle 51, 53, 55, 57, 58, 59, 70, 72, 75, 76, 77, 81, 83, 86.
 Carboligase 52, 75, 76, 79.
 Carboligatischer Quotient 77.
 Carotinoide 100.
 Catechin 17.
 Chinin 91, 92.
 Chinidin 90, 91.
 Chinon 16, 74.
 Chinolin 35, 36, 37, 38, 85, 86, 102.
 Chinaldin 85.
 Chlor 100.
 Chlorophyll 2, 23.
 Chloralhydrat 33.
 Chlorisatin 47.
 Cholsäure 100.
 Cholesterin 100.
 Crotonsäure 20.
 Crotonaldehyd 39.
 Cyan 6.
 Cytochrom 2.
 Cystin 21, 22, 32, 48, 100.
- Decarboxylierung** 48, 83.
Decensäure 20.
Dehydrasewirkung 44, 73.
Dehydrierung 16, 43.
Dehydrierungstheorie 44.
Desoxophylloerythrin 26.
Desoxycholsäure 100.
Deuterohäm 21, 26, 28.
Deuteroporphyrin 23.
Diacetyl-deuterohäm 23.
Diazomethan 101.
Diäthyl-alanin 24.
Diäthylamin 41, 85, 86.
l-Diäthylendiamin-monoamino-mono-chloro-cobaltibromid 17.
l-Dioxy-phenylalanin 17.
Diäthylbenzylamin 85.
Diäthylamino-cellulose 93, 94.
Diäthylamin-diäthyl-dithiocarbamat 104.
Dibenzylketon 42, 43.
Dibromisatin 47.
Dibrom-amino-oxindol 56.
Dicyan 32, 33, 35, 75.
Dibenzthiazol-disulfid 103.
Dihydronaphtalin 39.
Diisobutylamin 85.
- Dimethylamin** 102.
Dimethylamin-dimethyl-dithiocarbamat 104.
Dimethylanilin 37, 85.
Dimethylbenzofulven 40.
Dimethylfulven 39.
Dimethyl-leucin 24.
Dioxyaceton 23.
Dioxymaleinsäure 13, 14, 15, 17, 86.
Dioxyweinsäure 13, 17.
Dipyridyl 16, 18, 19, 88.
Diphenylfulven 39.
Diphenylguanidin 103.
Diphenylketen 35, 36, 37, 38.
Disulfid 103, 105.
Dithiocarbamate 103, 105.
Dithiocarbonate 103.
Dithiosäuren 103.
Dithio-diacyl-disulfide 103.
Ditolylguanidin 103.
Dixanthogene 103.
- Eisen** 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 23, 26, 27, 28.
Elaidinsäure 20.
Epihydrocinchonin 91.
Epihydrocinchonidin 91.
Ergothionein 48.
Essigsäure 100.
Essigsäureanhydrid 101.
Esterase 4, 73, 79, 80.
Ester 59.
Esterverseifung 59, 65.
Esterasemodelle 73, 79.
- Fermente, künstliche** 4.
Fermentmodelle 4.
Fettsäure, ungesättigte 14.
Formaldehyd 33, 99.
Formaldehyd-Anilin 103.
Fumarsäure 79.
Furfurol 23.
- Galaktose** 86.
Glucose 33, 100.
Glutathion 21.
Glykokoll 55.
Glykolsäure-anilid 60, 62, 80.
Glycerinaldehyd 23.
- Hauptvalenzkatalysatoren** 5, 32, 63, 64, 67, 69, 74, 83, 105.
Häm 2, 7, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 98.
Hämoglobin 5, 20, 22, 23, 24, 25, 27, 28, 31, 98.
Hämatoporphyrin 20.

- Hämbchromogen 22, 29, 32.
 Harnstoff 86.
 Heterogene Katalysatoren 21, 28, 93.
 Hemmungskoeffizient 68, 69, 82.
 Hemmung 81, 82.
 Hexamethylenetetramin 103.
 Hydrochinon 16, 24.
 Hydrazobenzol 24, 39.
 Hydrocinchonin 91.
 Hydrocinchonidin 91.
 Hypophosphit 14.

Imidazol 29, 30, 31, 32.
 Inden 39.
 Indigo 47.
 Indigorubin 47.
 Inhibitoren 10.
 Insulin 82.
 Isatin 7, 43, 44, 45, 46, 47, 75.
 Isatin-5-sulfonsäure 47.
 Isobarbitursäure 16.
 Isobutylalkohol 38.
 Isonitroso-dimidon 17.
 Isopropylalkohol 38, 61.

Jodwasserstoff 17, 24, 25, 27.

Kaliumchlorat 27.
 Katalase 29, 31.
 Katalasewirkung 8, 18, 27, 30, 31, 32, 99.
 Kautschuk 106.
 Ketosäuren 48, 49, 50, 57, 75, 83.
 Kettentheorie 10, 22.
 Kinetik 32, 63, 73, 77, 85.
 Kobalt 15, 16.
 Kohlehydrate 100.
 Kohlenoxyd 21, 22, 23.
 Kollidin 85.

Laccase 16.
 Lecithin 15, 99.
 Leinöl 20, 21.
 Leinölsäure 87, 99.
 Leukomalachitgrün 24.
 Linolensäure 15.
 Linolsäure 20.
 Linolsäure-methylester 87.

Mandelsäurenitril 88, 91, 93, 94.
 Mangan 15, 16.
 Mercapto-benthiazole 103, 104, 105.
 Mercapto-thiazole 103.
 Merkaptane 103, 105, 106.
 Mesohämin 21, 26, 28.
 Mesoporphyrin 23.
 Metall-dithiocarbamate 105.
 Methämoglobin 20, 23.

 Methoxy-phenylamino-essigsäure 56.
 Methoxy-phenyl-imidazol 31.
 Methoxybenzoylcarbinol 60.
 Methylglyoxal 23, 101.
 Methylimidazol 31.
 Methylphäosphorbid 26.
 Methanol 38.
 Methylamin 40, 55.
 Mesityloxyd-oxalester 42.
 Methyl-amino-oxindol 57.
 Methylbutyrat 60, 80.
 Methylenblau 44, 45, 46, 47, 100.
 Milchsäure 14.
 Monomethyl-chlorhämin 26, 27.

Naphtoylcarbinol 60, 61.
Naphtylcarbinol 62.
Natrium-pentacyano-amino-ferroat 16.
Natrium-pentacyano-aquo-ferroat 16, 17, 18.
Natriumsulfit 10, 27.
 Nickel 15, 16.
 Nikotin 7, 21, 92.
 Nitranilin 86.
 Nitrile 75.
 Nitrobenzaldehyd 92.
 Nitro-phenyl-amino-essigsäure 56.
 Nitroprussidnatrium 17.
 Nitrosobenzol 106.
 Nitrosodimethylanilin 106.
 Norbixin 20.
 Novocain 88.

Ölsäure 20.
 Olivenöl 20, 61.
 Oxalsäure 79.
 Oxalessigsäure 13, 83.
 Oxydasewirkung 8, 12, 19.
 Oxy-acetophenon-carbonsäure 60, 62, 79, 80.
 Oxysäure 16, 18.

Parahämatine 29, 30, 31, 32.
 Pepsin 57.
 Peroxydasewirkung 8, 17, 24, 26, 30, 31, 99.
 Peroxydase 25, 29, 31.
 Peroxyde 9, 15.
 Phäohämin 23.
 Phäosphorbid 23, 26.
 Phäophytin 26.
 Phenantrolin 18.
 Phenyläthylalkohol 92.
 Phenylamino-oxindol 57.
 Phenylaminoessigsäure 55, 56, 57.
 Phenole 8, 100.
 Phenylchinolin 37.

- Phenylglyoxylsäure 48, 49, 50, 51, 71, 76, 77.
 Phenolphthalin 24, 26.
 Phenylhydroxylamin 24.
 Phenylisocyanat 37.
 Phenylschwefelsäure 62.
 Phenylzimtsäurenitril 86.
 Phenylendiamin 17, 99, 104.
 Phenyl-imidazol-sulfosäure 31.
 Phthalsäure 79.
 Phylloerythrin 26.
 Picolin 85.
 Pilocarpin 32.
 Pilocarpidin 31.
 Piperidin 41, 42, 43, 85, 86, 100, 102.
 Polypeptide 100.
 Porphyrine 26, 27.
 Primärstoß 8, 9.
 Prolin 88.
 Propylalkohol 73.
 Purpurogallin 24, 25, 26.
 Pyrogallol 24, 25, 26.
 Pyridin 18, 21, 22, 23, 26, 29, 30, 32, 35, 37, 85, 86, 102.
 Pyridino-amino-oxindol 56.

Quecksilber 35.

Radikalketten 10, 11.
 Resorcin 100.

 Salicylaldehyd 100.
 Sauerstoff 38, 44, 74.
 Schwefel 104, 106.
 Schwefeldioxyd 100, 105.
 Schwefelsäureester 62.
 Schwefelwasserstoff 27, 105, 106.
 Schwermetallkalalysatoren, organische 5, 8.
 Sorbinsäure 20.
 Spaltungsreaktionen 32, 40, 66.
 Spezifität 74, 75, 79.
- Spezifität, stereochemische 88, 93.
 Spirographishämin 23.
 Stärke 97.
 Stearolsäure 20.
 Sterine 100.
 Strychnin 92.

Thiocarbamid 48.
Thiocarbanilid 103.
Thioglykolsäure 13, 14, 15, 100.
Thioharnstoff 103.
Thiolverbindungen 21, 82.
Thiophenol 103.
Thiuram-disulfide 103, 105.
Thymin 16.
Thyroxin 56.
Toluchinaldin 35, 38.
Tribenzylamin 85.
Tri-dipyridyl-ferrobromid 17.
Triisobutylamin 85.
Trimethylbrenztraubensäure 75.
Triphenylguanidin 103.
Triphenylmethyl 38, 39, 40.
Trithiocarbonate 103.
Tyrosin 56.

Undecensäure 20.
Unterphosphorige Säure 14.

Vinylalkohol 33, 34, 35.
Vinylacetat 61.
Vitamin A 20.
Vulkanisationsbeschleuniger 4, 7, 101, 104.
Vulkanisationskoeffizient 101.

Wasserstoffperoxyd 16, 17, 18, 25, 26, 27, 48.
Weinsäure 12, 14, 17.

Xanthogenate 103.

Zwischenstoffregel 65.

VERLAG VON JULIUS SPRINGER / BERLIN

Untersuchungen über Enzyme. Unter Mitwirkung zahlreicher Mitarbeiter herausgegeben von **Richard Willstätter**, München. In zwei Bänden. Erster Band: XVI, 860 Seiten. 1928. Zweiter Band: XI, 915 Seiten. 1928. Beide Bände zusammen RM 124.—*

... Die strenge Folgerichtigkeit der Entwicklung und der Fragestellungen und die Klarheit des Stiles machen jedem für biologische oder chemische Probleme Interessierten das Lesen der beiden Bände zum Genuß; insbesondere jeder Chemiker wird der Fülle von Tatsachen und Zusammenhängen, die in diesen Arbeiten enthalten sind, mannigfache Anregung entnehmen können; dem Fachmann schafft das genaueste Studium dieser gesammelten Arbeiten immer neue Aufklärung. ...
„Zeitschrift für angewandte Chemie.“

Chemie der Enzyme. Von Professor Dr. **Hans v. Euler**. Dritte, umgearbeitete Auflage.

I. Teil: **Allgemeine Chemie der Enzyme.** Mit 50 Textfiguren und 1 Tafel. XI, 422 Seiten. 1925. RM 25.50*

II. Teil: **Spezielle Chemie der Enzyme.**

1. Abschnitt: Die hydrolysierenden Enzyme der Ester, Kohlenhydrate und Glukoside. Bearbeitet von **Hans v. Euler**, **K. Josephson**, **K. Myrbäck** und **K. Sjöberg**. Mit 65 Textfiguren. X, 473 Seiten. 1928. RM 39.60*

2. Abschnitt: Die hydrolysierenden Enzyme der Nucleinsäuren, Amide, Peptide und Proteine. Bearbeitet von **Hans v. Euler** und **K. Myrbäck**. Mit 47 Textfiguren. Autorenverzeichnis zum 1. und 2. Abschnitt. IX, 313 Seiten. 1927. RM 24.—*

3. Abschnitt: Die Katalasen und die Enzyme der Oxydation und Reduktion. Bearbeitet von **Hans v. Euler**, **W. Franke**, **R. Nilsson** und **K. Zeile**. Mit 134 Abbildungen. XI, 663 Seiten. 1934. RM 58.—

4. Abschnitt: Die Gärungsenzyme. In Vorbereitung.

III. Teil: **Über die enzymatischen Vorgänge im Organismus.** In Vorbereitung.

Neue Methoden und Ergebnisse der Enzymforschung.

Enzymchemische Untersuchungen aus dem Laboratorium R. Willstätters. Von Dr. **W. Graßmann**, München. (Sonderausgabe aus „Ergebnisse der Physiologie“, 27. Band.) Mit 10 Abbildungen im Text. IV, 146 Seiten. 1928. RM 12.60*

Fermentmethoden. Von Professor Dr. **Peter Rona**, Berlin. („Praktikum der physiologischen Chemie“, erster Teil.) Zweite Auflage. Mit 107 Abbildungen. XI 420 Seiten. 1931. RM 18.60

* Auf die Preise der vor dem 1. Juli 1931 erschienenen Bücher wird ein Notnachlaß von 10 % gewährt.

VERLAG VON JULIUS SPRINGER / BERLIN

Katalyse vom Standpunkt der chemischen Kinetik. Von **Georg-Maria Schwab**, Privatdozent für Chemie an der Universität München. Mit 39 Figuren. VIII, 249 Seiten. 1931.
RM 18.60; gebunden RM 19.80*

Über die katalytischen Wirkungen der lebendigen Substanz. Arbeiten aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Biologie, Berlin-Dahlem. Herausgegeben von **Otto Warburg**. Mit 83 Abbildungen. VI, 528 Seiten. 1928.
RM 36.—*

Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure. Sieben Abhandlungen aus dem Chemischen Laboratorium der Akademie der Wissenschaften in München. Von **Richard Willstätter** und **Arthur Stoll**. Mit 16 Textfiguren und einer Tafel. VIII, 448 Seiten. 1918.
RM 20.—*

Die Wasserstoffionenkonzentration. Ihre Bedeutung für die Biologie und die Methoden ihrer Messung. Von **Leonor Michaelis**, New York. Zweite, völlig umgearbeitete Auflage. 1922. Unveränderter Neudruck mit einem die neuere Forschung berücksichtigenden Anhang. Mit 32 Textabbildungen. XII, 271 Seiten. Unveränderter Neudruck 1927.
Gebunden RM 16.50*

Als zweiter Teil der „Wasserstoffionenkonzentration“ erschien:

Oxydations-Reductions-Potentiale mit besonderer Berücksichtigung ihrer physiologischen Bedeutung. Von **Leonor Michaelis**, New York. Zweite Auflage. Mit 35 Abbildungen. XI, 259 Seiten. 1933.
RM 18.—; gebunden RM 19.60

Bilden Band I und XVII der „Monographien aus dem Gesamtgebiet der Physiologie der Pflanzen und der Tiere“.

Die Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration von Flüssigkeiten. Ein Lehrbuch der Theorie und Praxis der Wasserstoffzahlmessungen in elementarer Darstellung für Chemiker, Biologen und Mediziner. Von Dr. med. **Ernst Mislowitz**, Privatdozent für Physiologische und Pathologische Chemie an der Universität Berlin. Mit 184 Abbildungen. X, 378 Seiten. 1928.
RM 24.—*

Lehrbuch der organisch-chemischen Methodik. Von Dr. **Hans Meyer**, o. ö. Professor der Chemie an der Deutschen Universität zu Prag.

Erster Band: **Analyse und Konstitutionsermittlung organischer Verbindungen.** Fünfte, umgearbeitete Auflage. Mit 180 Abbildungen im Text. XX, 709 Seiten. 1931. RM 48.—; gebunden RM 51.—*

Zweiter Band: **Nachweis und Bestimmung organischer Verbindungen.** Mit 11 Abbildungen. XII, 426 Seiten. 1933.
RM 32.—; gebunden RM 35.—

* Auf die Preise der vor dem 1. Juli 1931 erschienenen Bücher wird ein Notnachlaß von 10 % gewährt.