

Über die Geschwindigkeit enzymatischer Reaktionen.

Von

R. O. Herzog.

(Der Redaktion zugegangen am 30. März 1904.)

1. G. Tammann¹⁾ war durch eingehende Versuche zu dem Schluß geführt worden, daß «im Gegensatz zu anderen katalytischen Reaktionen, deren Verlauf durch eine logarithmische Kurve darstellbar ist, die Fermentreaktionen komplizierteren Gesetzen gehorchen.» Seither ist zunächst eine Reihe für die Kinetik katalytischer Vorgänge grundlegender Arbeiten zumal aus Ostwalds Schule hervorgegangen; aber auch die Kinetik der enzymatischen Reaktionen hat experimentell und theoretisch solche Förderung erfahren, daß G. Bredig²⁾ zehn Jahre später sagen konnte: «Die Enzymwirkungen unterscheiden sich nicht wesentlich von den gewöhnlichen Kontaktwirkungen anderer Katalysatoren.»

Nach Sjöqvist³⁾ kann wenigstens ein Teil der Pepsinwirkung,⁴⁾ nach V. Henri und Languier des Bancels⁵⁾ auch der Trypsinwirkung⁶⁾ formuliert werden:

$$k = \frac{1}{t} \ln \frac{a}{a-x} \quad 1)$$

(k die Geschwindigkeitskonstante, a die Konzentration an umwandelbarem Stoff, x die zur Zeit t umgesetzte Menge.)

Nach Senter⁷⁾ ist auch die Katalyse des Wasserstoff-superoxyds durch Hämase in erster Annäherung eine Reaktion erster Ordnung.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XVI, S. 313 (1892).

²⁾ Ergebnisse d. Biochemie, I, S. 209 (1902).

³⁾ C. f. Physiol., Bd. 9, S. 460 (1895).

⁴⁾ Allerdings im heterogenen System. — Vgl. auch Spriggs-Wade, Diese Zeitschr., Bd. XXXV, S. 492 (1902).

⁵⁾ Soc. d. biologie, Bd. 55, S. 563, 787, 788, 789, 866 (1903).

⁶⁾ Wahrscheinlich liegen bei der Hydrolyse der Eiweißkörper komplizierte Verhältnisse vor. Vgl. Pflügers Arch., Bd. 80, S. 470 (1900).

⁷⁾ Zeitschr. f. physik. Chem., Bd. 44, S. 257 (1903).

Henri¹⁾ hat in Ostwalds Laboratorium gefunden, daß die Wirkung von Rohrzucker durch die Gleichung

$$\frac{d x}{d t} = (k_1 - k_2 x) (a - x) \quad 2)$$

(k_1 und k_2 Geschwindigkeitskonstante)

gut dargestellt werden kann. Nach H. T. Brown und Glendinning²⁾ gehorcht die Stärkehydrolyse derselben Gleichung; auch die alkoholische Gärung³⁾ dürfte so auszudrücken sein.

Vor kurzem konnte ich zeigen, daß die Spaltung von Salicin und Amygdalin durch Emulsin⁴⁾ durch die Form

$$\frac{d x}{d t} = (k_1 - k_2 x) (a - x) \quad 3)$$

beschrieben werden kann. Weitere Versuche haben es mir sehr wahrscheinlich gemacht, daß auch andere enzymatische Vorgänge demselben Ausdruck gehorchen.

Demnach verlaufen sämtliche bisher studierten Fermentreaktionen (bei Einhaltung gewisser Kautelen: mäßige Temperatur, vielleicht auch mittlere Enzymmengen) nach dem Schema:

$$k (1 \pm \epsilon) = \frac{1}{t} \ln \frac{a \pm \epsilon x}{a - x} \quad 4)$$

$$\left(\epsilon = \frac{a k_2}{k_1} \right),$$

¹⁾ Zeitschr. f. physik. Chemie, Bd. 39, S. 194 (1902).

²⁾ Proc. chem. soc., Bd. 18, S. 42 (1902). Vgl. dazu aber Henri, Lois générales, Thèses (Paris 1903), S. 114.

³⁾ R. O. Herzog, Diese Zeitschrift, Bd. XXXVII, S. 149 (1902); J. H. Abersson, Rec. d. travaux chim. belg., Bd. 22, S. 78 (1903). — Ich möchte bei dieser Gelegenheit bemerken, daß ich im Sommer 1903 im Laboratorium des Herrn Professors Cohen versucht habe, die Arbeit unter Anwendung von Hefepreßsaft fortzusetzen; es ist mir aber trotz reichlich aufgewendeter Mühe nicht gelungen, einen wirksamen Preßsaft zu erhalten, der arm genug an Glykogen gewesen wäre, so daß dieses für die Versuche zu vernachlässigen gewesen wäre. In Anwesenheit von reichlichem Glykogen sind die Messungen natürlich nichts weniger als einwandfrei; ebenso läßt sich der Fehler kaum rechnerisch ausgleichen, da experimentelle Anhaltspunkte fehlen. — Ich möchte auch bemerken, daß ich nur ein Zympräparat unter mehreren Proben gefunden habe, das arm genug an Glykogen war (kaum 2% des verwendeten Traubenzuckers). — Wählt man in meinen l. c. mitgeteilten Versuchen $\epsilon < 1$, so kommt man zu besseren Durchschnittswerten.

⁴⁾ Koninklijke Akad. v. Wetenschappen. Amsterdam, 31. Okt. 1903.

wird $\epsilon = 0$, dann geht 4) in 1) über. [4) erhält man durch Integration der Differentialgleichungen 2) oder 3)].

Bereits hier möge schon in aller Kürze eine Konsequenz aus 3) gezogen werden. Wird

$$k_1 = k_2 x, \text{ oder, was gleich bedeutend ist,} \\ \epsilon x = a,$$

so muß die Reaktion stille stehen, ein sogenanntes «falsches Gleichgewicht»¹⁾ tritt ein.

2. Die Differentialgleichungen 2) und 3) sind aufgestellt unter der Annahme, daß einmal die Reaktionsgeschwindigkeit (k_1) proportional ist der im Augenblick vorhandenen Menge des umwandelbaren Stoffes (Wilhelmy 1850) und daß zweitens bei der Reaktion ein Stoff entstünde, der eine neue Reaktionsgeschwindigkeit (k_2) im positiven oder negativen Sinn entsprechend seiner Menge hervorrufe.

Wären nun die gemachten Annahmen richtig, dann müßte sich k_1 als unabhängig von a erweisen; doch ist es eine bekannte Erscheinung, daß der größeren Konzentration des angreifbaren Stoffes eine relativ kleinere Geschwindigkeit bei Fermentreaktionen entspricht.²⁾ Um dies zu erklären, möge in Betracht gezogen werden, daß man es mit einem heterogenen Medium zu tun hat.

Auf diesen Umstand hat vor allen Bredig³⁾ bereits hingewiesen.

Aus neuester Zeit liegen nun eine Anzahl von Studien über die Kinetik heterogener Systeme⁴⁾ vor, welche auch Schlüsse auf die Fermentreaktionen zu gestatten scheinen. Bedeutungsvoll ist unter diesen vor allem eine Arbeit von

¹⁾ Vergl. G. Tammann, l. c., und G. Bredig, l. c.

²⁾ Nur in den Versuchen von Senter (l. c.) scheinen die Verhältnisse etwas anders zu liegen.

³⁾ Anorgan. Fermente, Leipzig, 1901. Ferner l. c.

⁴⁾ Vergl. Bredig, Anorgan. Fermente; Ernst, Z. f. physik. Chem., Bd. 37, S. 472 (1901); Bodenstein, Daselbst, Bd. 46, S. 725 (1903); R. Schenk und F. Zimmermann, Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., Bd. 36, S. 1231 (1903); A. Stock und O. Guttmann, Daselbst, Bd. 37, S. 901 (1904). — Besonders auch die Diskussion in der 10. Hauptversammlung d. d. Bunsen-Ges., Zeitschr. für Elektrochemie, Bd. 9, S. 742 (1903).

Brunner,¹⁾ die auf einer Theorie Nernsts²⁾ fußt. Nach ihr « besteht in der Grenzfläche zwischen zwei miteinander reagierenden Phasen stets Gleichgewicht; die eigentlichen chemischen Prozesse finden im Innern einer Phase statt und, wenn sie schnell genug verlaufen, so ist die Reaktionsgeschwindigkeit allein bestimmt durch die Geschwindigkeit, mit der sich die Konzentrationsunterschiede zwischen der Grenzfläche und dem Innern der Phasen durch Diffusion ausgleichen. Durch Rühren werden erst übersichtliche Verhältnisse geschaffen, indem dann das Konzentrationsgefälle auf eine dünne Schicht beschränkt wird ». Die Theorie führt bei konstantem Diffusionskoeffizienten zu einer Differentialgleichung, die 1) entspricht. Nimmt man nun an, daß die Fermentreaktionen sich wirklich im heterogenen Medium abspielen — und in der Tat ist für die Enzyme der kolloidale Zustand³⁾ charakteristisch —, dann ergibt sich eine Erklärung für die anscheinend anormalen Geschwindigkeiten.

Die Reaktion geht an der « Oberfläche des Enzyms » sehr schnell vor sich; die merkbare Geschwindigkeit wird in erster Linie « durch die Diffusionsgeschwindigkeit des an der Grenzschicht in gesättigter Lösung befindlichen Stoffes in das Innere der Lösung hinein bedingt ». ⁴⁾ Sie wird von den « geometrischen Verhältnissen und der Intensität der Konvektionsströme, welche den reinen Diffusionsvorgang unterstützen, in höchstem Maße abhängen. » ⁵⁾ Stellen wir uns vor, daß ein Kapillarsystem, bei welchem die Kapillarwände durch die Oberfläche des Enzyms gebildet werden, vorliegt; kapillare Vorgänge ersetzen die mechanische Rührung. Dann wird der inneren Reibung ein bedeutender Einfluß zufallen; der größeren Viskosität entspricht

¹⁾ Zeitschr. f. physik. Chem., Bd. 47, S. 56 (1904).

²⁾ Zeitschr. f. physik. Chem., Bd. 47, S. 52 (1904).

³⁾ Über den kolloidalen Zustand der Enzyme siehe vor allem Bredig, Anorgan. Ferm. u. Ergebn., l. c. Dasselbst auch allgem. Bemerkungen über die Kolloide und über die Enzyme als « mikroheterogene Gebilde » und « feine Suspensionen » (Ergebn. l. c., S. 183). Vgl. ferner J. Billitzer, Zeitschr. f. physik. Chem., Bd. 45, S. 307 (1903); Literatur bei A. Müller, Theorie d. Kolloide (1903).

⁴⁾ Nernst, l. c., S. 53.

⁵⁾ Dasselbst.

eine relative Abnahme der Zufuhr an umwandelbarem Stoff in der Zeiteinheit. (Die Autokatalyse kann vorläufig durch Veränderung der inneren Reibung erklärt werden.)

3. Diese Annahme erlaubt eine mathematische Formulierung. Sei k die Geschwindigkeitskonstante, a die Konzentration an umwandelbarem Stoff, η die «innere Reibung», dann setzen wir

$$k = \left(\frac{1}{\eta}\right)^m, \quad 4)$$

worin m eine Konstante bedeutet.

Kürzlich hat nun G. Rudorf¹⁾ unter Abeggs Leitung gezeigt, daß sich die innere Reibung annäherungsweise durch die Funktion:

$$\eta = R + Aa + Ba^2 + Ca^3$$

darstellen läßt (R, A, B, C Konstante).

Führen wir diesen Wert für η in 4) ein, wobei $R = 0$ gesetzt werden kann, so folgt:

$$k = \left(\frac{1}{Aa + Ba^2 + Ca^3}\right)^m \quad 5)$$

Die Berechnung hat ergeben, daß

$$m = 1/2$$

gesetzt werden kann und daß die Anwendung von bereits zwei Konstanten genügende Übereinstimmung liefert.

4. Im folgenden sollen Belege dafür erbracht sein. Die Daten sind den Versuchen von V. Henri mit Invertin-Rohrzucker²⁾ und Emulsin-Salicin³⁾ entnommen.

Invertin-Rohrzucker.

Ist die Zuckerkonzentration (a) in zehntel Normalitäten angegeben, so dient zur Berechnung:

$$2 k = b \sqrt{\frac{1}{8 \cdot 10^{-7} \cdot a + 10^{-7} \cdot a^3}},$$

b ist ein Faktor, der die Aktivität des Enzyms angibt. Nach den Versuchen von Tammann ist aber zu schließen, daß die Gleichung nur für ein beschränktes Konzentrations-

¹⁾ Zeitschr. f. physik. Chem., Bd. 43, S. 254 (1903).

²⁾ Zeitschr. f. physik. Chem., Bd. 39, S. 215 (1902).

³⁾ Nach Thèses (Lois générales) von mir berechnet, l. c.

intervall des Enzyms gültig sein kann, und daß A, B, C sich mit der Enzymkonzentration ändern.¹⁾ (Im Sinne der gegebenen Annahme sind diese Konstanten natürlich eine Funktion der Enzymoberfläche, also wohl von Fall zu Fall variabel.)

$$b = 0,1$$

a	0,5	1	1,5	2	3	4	5	6	7	8	9	10
k gefunden	160	100	80	69	42	32,4	24,8	20	16,2	13,5	11,2	9,8
k berechnet	156	105	80,6	64,4	44,3	32,3	24,6	19,5	15,8	13,2	11,2	9,6

$$b = 0,19$$

a	1	2	3	5
k gefunden	210	112	74	53
k berechnet	200	122	84	48

$$b = 0,097$$

a	0,5	1	2	3
k gefunden	187	111	51	37
k berechnet	151	102	62,5	43

$$b = 0,226$$

a	0,5	1	2	4	5
k gefunden	373	244	124	78	58
k berechnet	353	237	145	73	56

¹⁾ So läßt sich die folgende Versuchsreihe mit der in Prozenten angegebenen, der fünften, nicht vollständig zur Deckung bringen.

Für a in Prozenten:

$$k = b \sqrt{\frac{1}{180 \cdot 10^{-8} \cdot a + 10^{-8} \cdot a^3}}$$

$$b = 1$$

a	2	5	10	20	30	40	50
k gefunden	442 ¹⁾	305	187	95	58	40	28
k berechnet	520	312	189	93	56	37	27

Daß sich die Formel mit genügender Genauigkeit dem Versuch anschließt, folgt z. B. auch aus der folgenden Tabelle, die der Mitteilung von Barth²⁾ entnommen ist. Zu je 100 ccm Rohrzuckerlösung waren 5 mg Invertin zugesetzt worden, nach einer halben Stunde (bei 40°) wurde der Versuch abgebrochen.

$$b = 0,0025$$

Konzentration der Rohrzuckerlösung	Relative Menge des gespaltenen Zuckers, gefunden	Relative Menge des gespaltenen Zuckers, berechnet	k gefunden	k berechnet
0,5 %	40	45	0,22	0,26
1 %	43	35	0,24	0,186
2,5 %	26	23,4	0,13	0,116
5 %	20	16	0,097	0,078
7,5 %	13	12	0,060	0,059
10 %	10	9,8	0,046	0,047
15 %	7	7,0	0,032	0,032
20 %	4	5,1	0,018	0,023

¹⁾ Hier liegt vielleicht ein Irrtum in der Konzentrationsangabe vor (so ist auch angegeben 2 % = 0,59 norm. statt 0,51 norm).

²⁾ Ber. d. d. chem Ges., Bd. 11, S. 474 (1878).

Emulsin-Salicin.

a in 0,035 Norm.

$$k = \sqrt{\frac{1}{9 \cdot 10^{-5} \cdot a + 2 \cdot 10^{-5} \cdot a^3}}$$

a	1	2	3	4
k gefunden	94	49	38	27
k berechnet	95	54	35	25

5. Wie man sieht, ist die Übereinstimmung der berechneten Werte mit den gefundenen im allgemeinen sehr gut. Man kann dies als eine Bestätigung der Annahme gelten lassen, welche zu der mathematischen Formulierung geführt hat.

Doch scheint es mir, daß man mit solchen Rückschlüssen sehr vorsichtig sein muß. Es ist klar, daß man durch mehrere Punkte in einer Ebene leicht eine kontinuierliche Kurve legen kann. Je mehr Punkte nun durch die Einführung von Konstanten gegeben sind, desto eher wird sich die Kurve mit der gesuchten decken. Sehr oft ist der Physiker genötigt, sich mit diesem Stand zu begnügen; die Formel kann zu Interpolationszwecken dienen. Wann eine Formel aber ein Naturgesetz ausdrückt oder eine «Theorie bestätigt», ist nicht immer ganz leicht zu sagen; in der Regel aber wird man mit um so größerem Mißtrauen solches aus ihr lesen, je mehr Konstante sie enthält.

Das Gesagte möchte ich auch auf V. Henris¹⁾ Theorie ausdehnen, der im Anschluß an einen Gedanken von Bodenstein annimmt, daß das Enzym sich nach dem Massenwirkungsgesetz zum Teil mit dem umwandelbaren, zum Teil mit dem umgewandelten Stoff sich verbindet und endlich zum Teil frei bleibt. Die Hypothese führt zu einer nicht ganz einfachen Gleichung mit drei Konstanten, deren dritte, die gesuchte Geschwindigkeitskonstante, übrigens deutlich einen «Gang» zeigt. Ohne Zweifel sind Annahmen von Bindungen (im weitesten Sinne des Wortes) zwischen Enzym und Substrat sehr berech-

¹⁾ Lois générales, l. c.

tigt. Daß man sie aber als auf diesem Wege erwiesen betrachten kann, ist wohl recht unwahrscheinlich.

Was man vielleicht sagen kann, ist, daß durch die Formel Henris und die obengegebene zwei Möglichkeiten vorliegen, über den Umsatz bei Fermentreaktionen Voraussagungen zu machen, freilich nicht Voraussagungen so allgemeiner Art wie in den Schulfällen der chemischen Dynamik, denn die Fermentreaktionen gehören in die Gruppe jener Vorgänge, bei welchen die Vorgeschichte des Systems einen entscheidenden Einfluß auf die Geschwindigkeit hat.

6. Zusammenfassung.

1. Die Geschwindigkeit enzymatischer Reaktionen, die durch eine logarithmische Formel ausgedrückt werden kann, wird auf Diffusionsgeschwindigkeit zurückgeführt. Damit ist auch erklärt, warum die monomolekulare Formel nach van't Hoff's Theorie auf die Vorgänge anwendbar ist, obwohl höchstwahrscheinlich Substrat und Enzym an der Reaktion beteiligt sind.

2. Die Annahme eines heterogenen, kapillaren Systems gestattet, die Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Substratkonzentration auf innere Reibung zurückzuführen. Die mathematische Behandlung führt zu einer Gleichung, die sich an die Erfahrung gut anschließt.
