

Über die Geschwindigkeit enzymatischer Reaktionen.

(Zweite Mitteilung.)

Von

R. O. Herzog.

(Aus dem zoologischen Institut zu Kiel.)

(Der Redaktion zugegangen am 25. September 1904.)

1. Vor kurzem habe ich unter gleichem Titel¹⁾ die Mitteilung gemacht, daß «die Annahme eines heterogenen, kapillaren Systems gestatte, die Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Substratkonzentration (bei enzymatischen Vorgängen) auf innere Reibung zurückzuführen».

Da die Hypothese der direkten Prüfung unzugänglich ist, wurde der Gedanke, welcher zur mathematischen Formulierung geführt hat, möglichst knapp mitgeteilt; zu knapp, wie scheint; denn so erklärt sich wohl ein Teil der kritischen Bemerkungen von seiten Herrn V. Henris,²⁾ welche zeigen, daß dem Verfasser der Grundgedanke nicht klar geworden ist.³⁾ Es besteht daher die Aufgabe, jenen Gedanken soweit auszuführen, bis sich ergibt, daß die Einwände Herrn Henris ihn nicht berühren. Gleichzeitig soll die Gelegenheit zu einigen weiteren Bemerkungen ergriffen werden.

2. Um die Beziehung, welche zwischen Substratkonzentration (bei großen Unterschieden) und Reaktionsgeschwindigkeit besteht, kennen zu lernen, wurde davon ausgegangen, daß die Enzymbildung ein heterogenes Medium vorstelle, indem die Kol-

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLI, S. 416 (1904).

²⁾ R. r. de soc. biol., Bd. 57, S. 173 (1904).

³⁾ Vielleicht hätte sich das geändert, wenn H. Henri eine ausführlichere Mitteilung hätte abwarten wollen, die demnächst erscheinen dürfte.

loidlösung als feine Suspension gedacht wird.¹⁾ Findet nun der Umsatz an der Oberfläche der suspendierten Fermentteilchen statt, und zwar sehr schnell, dann wird seine Geschwindigkeit davon abhängen, wie rasch die nicht umgesetzten Moleküle an die Enzymoberfläche gelangen. Da man sich nun überaus viele Fermentteilchen und zwar von nicht zu geringer Größe²⁾ in der Lösung denken muß, kann man sich eine Art Kapillarnetz, von den Zwischenräumen der suspendierten Teilchen gebildet, vorstellen, in welchem «molekulare Kräfte» den Lösungsstrom zirkulieren lassen werden. Je größer die Zirkulationsgeschwindigkeit, desto größer die Zahl der noch nicht umgesetzten Moleküle, welche an die Fermentoberfläche kommen und daselbst umgewandelt werden. Je viskoser aber die Flüssigkeit ist, desto langsamer wird der Strom zirkulieren.

Um diesen Gedanken in eine rechnerisch zu verwertende Form zu bringen, wurde angenommen, daß die Reaktionsgeschwindigkeit (genauer: Diffusionsgeschwindigkeit³⁾ in einem solchen Fall als Exponentialfunktion der Viskosität auftreten kann. Um die innere Reibung als Funktion der Konzentration darzustellen, wurde nicht die bekannte Formel von Arrhenius, sondern die allgemeinere von Rudorf⁴⁾ benutzt; einmal, weil die ältere Formel auf die neuere zurückgeführt werden kann, welche sich auch innerhalb viel weiterer Grenzen als brauchbar erweist, und weil sie zweitens rechnerisch bequemer zu behandeln war; allerdings wurde die Formel etwas weiter gefaßt, als Rudorf angab, indem auch die dritten Potenzen der Substratkonzentration in Rechnung gezogen sind, was mir aber nicht unzulässig scheint. Die so erhaltene Formel paßt sich den gefundenen Werten in allen untersuchten Fällen gut an.

3. Herr Henri macht nun zuerst den Einwand, daß die Annahme, die Viskosität spiele eine hervorragende Rolle bei

¹⁾ Litteratur l. c.

²⁾ Vgl. E. Raehimann, Münch. med. Wochenschrift, Bd. 50, S. 2089 (1903).

³⁾ l. c.

⁴⁾ Zeitschrift f. physik. Chem., Bd. 43, S. 257 (1903) und Zeitschrift f. Elektroch., Bd. 10, S. 473 (1904).

den Reaktionen im heterogenen System, nicht nur für die Enzymreaktionen, sondern auch für die Versuche von Bredig mit kolloidalem Platin und Wasserstoffsuperoxyd, für die von Bodenstein untersuchten Gasreaktionen und für die Auflösung fester Stoffe, wie sie Brunner studiert hat, gelten müßte. Man erkennt sofort, daß diese Vorgänge keineswegs auf Grund der entwickelten Hypothese vergleichbar sind, da es sich ja bei Gasreaktionen und bei der Auflösung im wesentlichen um Oberflächenerscheinungen handelt, nicht aber um Prozesse, wie sie sich in einem oben als «Kapillarnetz» geschilderten System abspielen könnten. Die Versuche von Bredig sind theoretisch natürlich direkt vergleichbar: aber es kommt in Betracht, daß mit sehr schwachen Lösungen von Wasserstoffsuperoxyd gearbeitet wurde. Gerade für diesen Fall aber hat Senter¹⁾ zeigen können, daß das Peroxyd zerstörende Enzym des Blutes sich in gewissen Grenzen ganz ebenso verhält wie Bredigs Flüssigkeit; ferner geht zum Teil auch aus der eben erschienenen Arbeit von Barendrecht²⁾ hervor, daß bei sehr schwacher Substratkonzentration die Geschwindigkeitskonstanten der Fermentreaktionen immer weniger differieren. Ein Schluß von der Wirkungsweise der Bredigschen Flüssigkeit auf die der Enzymlösung wäre erst entscheidend, wenn Konzentrationen mit deutlichen Viskositätsunterschieden verglichen würden.

Zweitens meint Herr Henri, daß die Beziehung zwischen der Diffusionsgeschwindigkeit und der Konzentration, welche sich aus der Hypothese ergäbe, nicht mit den Erfahrungen anderer Forscher korrespondiere. Der Vorwurf braucht nicht widerlegt zu werden, er folgt aus demselben Mißverständnis wie der erste.

Anders liegt es dagegen mit dem dritten Einwand. Herr Henri findet die Größenordnung der Viskositätskonstanten, die ich berechnet habe, sehr verschieden von denjenigen, welche experimentell für dieselben Lösungen festgestellt wurden. In der Tat besteht aber auch kein Zusammenhang zwischen diesen Werten.

¹⁾ Zeitschrift f. physik. Chem., Bd. 44, S. 257 (1903).

²⁾ Zeitschrift f. physik. Chem., Bd. 49, S. 456 (1904).

Seien η die Viskosität, a die Konzentration, A, B, C, D Konstante, so verwenden wir die Formel

$$\eta = A + Ba + Ca^2 + Da^3;$$

für gewöhnlich setzt man nun die Viskosität des Lösungsmittels z. B. des Wassers = 1, also

$$A = 1.$$

Wir haben die Diffusionskonstante

$$k = \eta^m$$

angenommen, wobei m eine Konstante bedeutete.

Da für

$$a = 0 \text{ auch}$$

$$\eta = 0$$

sein mußte, war also

$$A = 0$$

zu setzen.¹⁾

Viertens findet Herr Henri, daß das gegebene Formelmaterial nicht hinreicht, um den Umsatz zu einer bestimmten Zeit zu berechnen. In der Tat bedarf es mitunter der Versuche, um die Konstante ϵ zu ermitteln; aber ich habe auch selbst ausdrücklich bemerkt, daß Voraussagungen so allgemeiner Art wie in den Schulfällen der chemischen Dynamik für die Fermentreaktionen sich nicht machen lassen.

Fünftens und letztens ist Herr Henri der Ansicht, daß Versuche, die er und M. Nicloux mit einer Emulsion von Öl, Fettsäure und Wasser angestellt haben, den Grundgedanken widerlegen. Das scheint mir nicht der Fall zu sein; denn einmal liegt der Beweisführung wiederum das Mißverständnis des ersten und zweiten Einwandes zugrunde, und zweitens kann man wohl eine Emulsion nicht ohne weiteres als mikroheterogenes System einer kolloidalen Lösung vergleichen. — Somit scheint es nicht nötig, auf die Kritik Herrn Henris hin an dem Inhalt der 1. Mitteilung etwas zu verändern.

4. Im folgenden mögen einige Versuche angeführt sein, die mir vorläufig die aufgestellte Hypothese zu stützen scheinen.

Es wurde die Viskosität einer 50%igen Rohrzucker-

¹⁾ B, C, D hängen ferner natürlich von der Maßeinheit ab, in der die Konzentration a berechnet ist.

lösung bestimmt und dann versucht, eine Lösung von Wasser, Glycerin und etwa 5% Rohrzucker von möglichst gleicher Viskosität herzustellen.

Darauf wurden beide Lösungen mit gleichen Invertinmengen versetzt (worauf freilich die Viskosität etwas weiter differierte) und dann gleichmäßig behandelt. Nach 5 Stunden waren in der 50%igen Zuckerlösung 16% umgesetzt; in der äquiviskosen Lösung, die nur 5% Zucker enthielt, waren 11% Invertzucker gebildet worden, während ein Parallelversuch mit 5%iger wässriger Rohrzuckerlösung einen Umsatz von 90% aufwies.

In einem andern Fall waren eine 10- und eine 5%ige Zuckerlösung wieder durch Glycerinzusatz äquiviskos gemacht worden. Nach einer halben Stunde waren 31 und 29% Zucker invertiert. Zu ähnlichem Resultat führte das Experiment bisher immer; die Fehler bleiben innerhalb der berechneten Grenzen. Es scheint also, als wären in der Tat in äquiviskosen Lösungen die Geschwindigkeiten annähernd gleich.¹⁾ Doch muß hinzugesetzt werden, daß bisher bloß mit Invertinrohrzucker und Glycerin Versuche angestellt wurden. Im allgemeinen könnten auch wohl spezifische Einflüsse in Betracht kommen.²⁾

Weiter möge hier noch erwähnt sein, daß die Versuche, die Herr Dr. Braeuning³⁾ vor kurzem mitgeteilt hat, durchaus im Sinne der Hypothese zu deuten wären; doch soll nicht verkannt sein, daß man auch leicht andere Erklärungen für die von ihm beobachteten Erscheinungen gelten lassen kann.

5. Trotz der mitgeteilten Beobachtungen erkenne ich wohl Schwierigkeiten, die gegen die mitgeteilte Hypothese geltend gemacht werden könnten. Insbesondere auch scheint die spezifische Wirkung mancher Stoffe auf die Reaktionsgeschwindigkeit

¹⁾ Der Zusatz von kolloidal gelösten Stoffen (statt Glycerin) würde natürlich die Lösung nicht äquiviskos in unserem Sinne machen.

²⁾ Es wäre vielleicht nicht uninteressant, die Geschwindigkeit einer enzymatischen Hydrolyse in einem Fall zu verfolgen, wo die Wasserkonzentration so gering ist, daß es nicht mehr als Lösungsmittel gelten kann.

³⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XLII, S. 70 (1904).

schwer erklärbar (Autokatalyse). Dabei ist freilich zu bedenken, daß über die spezifische Katalysatorenwirkung im allgemeinen bisher keinerlei Regeln vorliegen.¹⁾ Im übrigen wurde bereits an anderer Stelle Selbstkritik geübt und gerne zugestanden, daß die gegebenen Formeln als Interpolationsformeln angesehen werden mögen, wenn sich ernstliche theoretische Bedenken einstellen oder wenn sich ergeben sollte, daß weitere Folgerungen aus ihnen nicht hervorgehen.

Das Ziel dieser Untersuchungen, welche zunächst abgebrochen werden, war in erster Linie, eine Orientierung zu gewinnen, wieweit die vorhandenen Mittel ein quantitatives Studium der chemischen Grundprobleme der Biologie gestatten.

¹⁾ Mit spezifischer Wirkung läßt sich auch deuten, daß etwa bei der Rohrzuckerinversion die Geschwindigkeit zunimmt, obwohl die Viskosität wächst. — Vgl. über das Problem der Katalyse übrigens Knoevenagel, Ber. d. d. chem. Ges., Bd. 36, S. 2843 (1903).