

(Aus dem physiol.-chemischen Institut der Universität Budapest.)

Untersuchungen über die Wärmetönung von Enzymreaktionen.

I. Mitteilung.

Bemerkungen über die biologische Bedeutung der Wärmetönung von Enzymreaktionen und Prinzip der Versuchsanordnung.

Von

Franz Tangl.

Vor einiger Zeit hat R. O. Herzog¹⁾ in einer interessanten kurzen theoretischen Erörterung auf die grosse biologische Bedeutung der Wärmetönung der Fermentreaktionen hingewiesen. Wenn schon zur vollen Kenntnis irgendeines chemischen oder physikalischen Vorganges die volle Einsichtnahme in die begleitenden Energieumwandlungen unerlässlich ist, so erst recht bei biologischen Vorgängen, welche — wenigstens die der naturwissenschaftlichen Beobachtung zugänglichen Lebenserscheinungen — zweifellos als Energieumwandlungen, und zwar als unmittelbare oder mittelbare Umwandlungen der chemischen Energie, betrachtet werden müssen. Sind nun die in so grosser Mannigfaltigkeit in den Geweben und Säften der Organismen vorkommenden Enzyme von solcher Wichtigkeit für die Stoffwechselvorgänge innerhalb und ausserhalb der Zellen, dass sie — als Katalysatoren — nicht nur gewisse Prozesse beschleunigen oder verlangsamen, also die Reaktionsgeschwindigkeit auf den zweckmässigsten Wert bringen, sondern auch, wie es durch die Untersuchungen von C. Hill, Emmerling, Kastle und Loewenhardt, Hanriot u. a. wahrscheinlich gemacht wurde, die Richtung derselben bestimmen, so ist das Verständnis des Prozesses ohne die Kenntnis der Wärmetönung der mitwirkenden Enzymreaktionen un-

1) R. O. Herzog, Fermentreaktion und Wärmetönung. Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 37 S. 383. 1903.

E. Pflüger, Archiv für Physiologie. Bd. 115.

möglich. Nach dem van't Hoff'schen Prinzip des beweglichen Gleichgewichtes verschiebt sich nämlich letzteres mit der Temperatur nur bei solchen Reaktionen, deren Wärmetönung positiv oder negativ ist. Erfolgt der Prozess mit Wärmebildung, also mit positiver Wärmetönung, so begünstigt die Erhöhung der Temperatur die umgekehrt verlaufende Reaktion; bei negativer Wärmetönung ist das Entgegengesetzte der Fall. Nur wenn die Wärmetönung gleich Null ist, ist die Gleichgewichtskonstante unabhängig von der Temperatur und nur eine Funktion der Konzentration der an der Reaktion teilnehmenden Körper. Die Beantwortung der Frage, ob und wie weit der unter den gegebenen physiologischen Bedingungen durch irgendein Enzym beschleunigte katalytische Vorgang reversibel ist, oder durch welche Veränderung der Bedingungen er begünstigt oder verzögert werden kann, ist ohne Kenntnis der Wärmetönung unmöglich. Würde z. B. eine Fermentreaktion in irgendeinem Organe mit einer bedeutenden Wärmeproduktion einhergehen, so würde die Tendenz des Organismus, die Temperatur auf konstanter Höhe zu erhalten, also eine Temperaturerhöhung zu verhüten, die fragliche Reaktion begünstigen, das Gleichgewicht zuungunsten der umgekehrten Reaktion verschieben. Dagegen würden synthetische Fermentreaktionen mit bedeutender negativer Wärmetönung *ceteris paribus* schon durch die Konstanz der Körpertemperatur im Verhältnis zur umgekehrten Reaktion begünstigt werden.

Aber nicht nur darin liegt die biologische Bedeutung der Wärmetönung der Enzymreaktionen. Sind diese an den Umwandlungen der chemischen Energie in Lebenserscheinungen mittelbar oder unmittelbar beteiligt, so ist es jedenfalls vom ökonomischen Standpunkte von nicht untergeordneter Bedeutung, ob diese Mitwirkung der Enzyme mit Energieverbrauch verbunden ist, ob die Beschleunigung der Reaktion nur auf Kosten von chemischer Energie möglich ist oder nicht?

Ostwald hat schon darauf hingewiesen, dass Katalysen ohne Aufwand von Energie sich vollziehen können; inwiefern aber dies bei den im Organismus ablaufenden Enzymreaktionen der Fall ist, wissen wir noch nicht, weil wir die Wärmetönung dieser Prozesse nicht kennen. A priori lässt sich die Möglichkeit nicht ausschliessen, dass die Katalyse der verschiedenen Nährstoffe mit verschiedenem Energieverbrauch verbunden ist, dass die eine oder die andere ohne Wärmetönung verläuft. Sehen wir doch, dass die Verwertung des

„physiologischen Nutzeffektes“ der einzelnen Nährstoffe durchaus nicht in gleichem Masse erfolgt. So kann z. B. die Energie des resorbierten Eiweisses im Stoffwechsel zu anderen biologischen Zwecken nur so verwertet werden, wenn gleichzeitig im Laufe seiner chemischen Umwandlung ein grosser Teil (etwa 30 %) seines „physiologischen Nutzeffektes“ (Rubner) oder, wie es Armsby nennt, seiner „umwandelbaren Energie“ unter allen Umständen unmittelbar in Wärme umgesetzt wird. Dieser für andere biologische Zwecke natürlich stets verlorene Teil des physiologischen Nutzeffektes ist bei den anderen Nährstoffen viel geringer. Es wäre nun denkbar, dass dieser Unterschied bereits bei der hydrolytischen Spaltung der Eiweisskörper durch die Verdauungsfermente hervortritt. Herzog hat es versucht, die Wärmetönung einiger Fermentreaktionen zu berechnen, was natürlich nur bei jenen Reaktionen möglich ist, bei welchen die Reaktionsprodukte qualitativ und quantitativ bekannt sind. Er teilt sie ein in solche: „1. sehr geringer (Polyosen-, Glykosid-, Fett- und Eiweisskörper spaltende Fermente), 2. mit deutlich positiver (Gärungsfermente und Oxydasen), 3. mit negativer Wärmetönung (Reduktasen [?])“¹⁾. In diese Zusammenstellung hat Herzog auch die eiweissspaltenden Fermente aufgenommen, trotzdem deren Wärmetönung unbekannt und auch nicht berechenbar ist, weil man weder die Konstitution der Eiweisskörper noch die der Spaltungsprodukte der Verdauung genügend kennt und über die quantitativen Verhältnisse der Spaltung hinlänglich unterrichtet ist. Es ist also bisher noch gar nicht festgestellt, dass die hydrolytische Spaltung der Eiweisskörper „mit sehr geringer“ Wärmetönung verläuft, wenn auch ohne weiteres zugegeben werden muss, dass nach den Untersuchungen von Emil Fischer, auf die sich auch Herzog beruft, „sich voraussagen lässt, dass die Spaltung eine geringe Wärmetönung aufweisen wird“. Auch die experimentelle Bestätigung der berechenbaren Wärmetönung jener anderen Fermentreaktionen, die, wie z. B. die Spaltung der Stärke, nicht so einfach verlaufen, ist keine überflüssige Arbeit.

Denkt man ferner an die komplizierten Vorgänge der Eiweisspaltung, deren stoffliche Seite noch durchaus nicht vollständig bekannt ist, so ist es a priori nicht unmöglich, dass es im Verlaufe derselben nicht nur zu Spaltungen, sondern auch zu — vielleicht nur

1) Herzog, l. c. S. 394.

vorübergehenden — Synthesen kommt. Ich denke da an die „Plastein“-Bildung. Wenn man diese jetzt auch nicht mehr als Regenerierung des Eiweisses ansprechen kann, so ist es, selbst wenn es sich bloss um Albumosenniederschläge handelt, möglich, dass Synthesen dabei eine Rolle spielen. Solche könnten aber auch schon in früheren Stadien der Verdauung — ohne Niederschlagsbildung — stattfinden. Darüber könnten nun systematische Untersuchungen der Wärmetönung in verschiedenen Stadien der Fermentwirkung auch Aufschluss geben und auf diese Weise einen tieferen Einblick in diese Vorgänge gewähren.

Nach dem Gesagten bedürfen wohl Untersuchungen über die Wärmetönung von Enzymreaktionen, in erster Reihe der fermentativen Eiweisspaltungen, keiner weiteren Begründung.

Die unter meiner Leitung begonnenen Arbeiten sollten vor-derhand die gestellte Frage in einer nach demselben Prinzipie getroffenen Versuchsanordnung lösen, nach welchem meine Untersuchungen über die Entwicklungsarbeit im Vogel- und Fischei und in Bakterienkulturen ausgeführt wurden¹⁾.

Bestimmt man in einem Gemische, in welchem die Enzymreaktion vor sich geht, auf thermochemischem Wege, mit der kalorimetrischen Bombe, den Gehalt an chemischer Energie vor und nach der Enzymwirkung, so kann man aus der Differenz der zwei Bestimmungen den Verbrauch — oder eventuell Zuwachs — an chemischer Energie, also die Wärmetönung, erkennen und bemessen. Diese Differenzbestimmung lässt aber diesen Schluss ohne Einschränkung nur dann zu — (wie ich das schon in meinen zitierten Mitteilungen auseinandersetze) —, wenn weder während der Reaktion noch während der Vorbereitungen zu den kalorimetrischen Bestimmungen chemische Energie verbraucht wird oder als solche verloren geht. Finden z. B. beim Verdampfen der Verdauungsgemische Zersetzungen mit positiver Wärmetönung statt, so wird natürlich chemische Energie verbraucht, die nicht mehr auf Rechnung der Enzymwirkung zu setzen ist. Wenn weiter während der Enzymreaktion oder auch während der nachfolgenden Eindampfung organische Verbindungen gasförmig entweichen, so geht mit diesen auch chemische Energie verloren, was ebenfalls nicht als positive Wärmetönung gelten kann. Die Versuche müssen also in einer Weise angeordnet sein, dass man in jedem

1) Pflüger's Arch. Bd. 93 S. 327; Bd. 98 S. 475 u. 490; Bd. 104 S. 624.

Stadium derselben sich einesteils davon unterrichten kann, ob energiehaltige, flüchtige Verbindungen verloren gehen oder nicht, und dass anderseits die Vorbereitungen zu den kalorimetrischen Verbrennungen so getroffen werden, dass weitere Zersetzungen vermieden oder wenigstens auf ein Minimum reduziert werden und man sich auch hier davon überzeugen kann, ob und in welchem Masse flüchtige organische Körper verloren gehen.

In welchem Masse die Versuche diesen Anforderungen genügen, wird aus den Berichten über die einzelnen Untersuchungen hervorgehen.

Was mit solchen Versuchen entschieden werden kann, ist einzig und allein die Frage, ob chemische Energie verbraucht wird oder nicht, bzw. ob chemische Energie sich in eine andere Energieart umgewandelt hat oder nicht. Es muss aber ausdrücklich betont werden, dass damit die energetische Seite des Problems noch durchaus nicht erschöpft ist, dass man damit auch nicht den gesamten Energieumsatz, der während der Enzymwirkung im Reaktionsgemisch selbst stattfindet, und der sich nicht auf Umwandlungen chemischer Energie beschränken muss, erfährt. Die Energiemenge, welche als Lösungs- und Quellungswärme in Erscheinung tritt, die osmotische Energie, die bei fortschreitender hydrolytischer Spaltung zunimmt, — sind alles Energiearten, die ohne Mitbeteiligung der chemischen Energie des Systems auf Kosten der vorhandenen Wärme entstehen bzw. diese vermehren können. Darüber gibt die Energiebestimmung mit der kalorimetrischen Bombe keinen Aufschluss. Nur wenn alle diese Energieumwandlungen mitberücksichtigt und gemessen werden, kann die Frage nach der vollen Reaktionswärme der Enzymreaktion oder — wie man sie vielleicht richtiger nennen könnte — nach der Ferment- oder Enzymarbeit beantwortet werden. Die klassischen Versuche Rubner's mit der von ihm so genannten „thermischen Methode“¹⁾, die er neuestens zur Bestimmung der Umsetzungswärme bei der Alkoholgärung verwendete, zeigen den Weg, wie man dies mit Benutzung empfindlicher Kalorimeter, in welchen man den ganzen Prozess ablaufen lässt, erzielen kann.

Die ersten Versuche, die in der folgenden Arbeit mitgeteilt sind, hat mein früherer Assistent, Herr Dr. R. von Lengyel, ausgeführt.

1) M. Rubner, Die Umsetzungswärme bei der Alkoholgärung. Arch. f. Hygiene Bd. 49 S. 355.

Leider kam er über die ersten orientierenden Versuche über die Wärmetönung der Pepsinverdauung nicht hinaus, da er seine Arbeit äusserer Verhältnisse wegen abbrechen musste. Er hat aber die Absicht, sie weiterzuführen. Dagegen konnte mein gegenwärtiger Assistent, Herr Dr. P. Hári, seine Untersuchungen über die Wärmetönung der Trypsinverdauung zu einem gewissen Abschlusse bringen. Er berichtet darüber in der zweitnächsten Arbeit.
