

Herrn Professor PAUL KARRER in Verehrung zu seinem siebzigsten Geburtstag gewidmet

Peptidstruktur und ihre Bedeutung für katalytische und biochemische Vorgänge¹

Aus dem Institut für Organische Chemie der Freien Universität Berlin, Berlin-Dahlem

Inhalt

Teil I: Die Bedeutung der Peptidkonfiguration für katalytische und photochemische Vorgänge. Von W. LAUTSCH, R. PASEDAG, I. SOMMER, H. J. JULIUS und E. BOEDEFELD	129
Teil II: Oberflächenstruktur und Einschlußsysteme. Von W. LAUTSCH, G. BOROSCHEWSKI, J. GANTE, R. SHINGTE, H. RAUHUT, W. GRIMM, M. RIMPLER, G. SCHULZ und I. PAETZKE	142
Teil III: Oberflächenstruktur und sterische Spezifität. Von W. LAUTSCH und D. HEINICKE	153

I. Die Bedeutung der Peptidkonfiguration für katalytische und photochemische Vorgänge

Im Rahmen unserer Arbeiten über Fermentmodelle stießen wir frühzeitig auf die Tatsache, daß die Polypeptidkette unserer Oxydasemodelle in zwischenmolekulare Wechselbeziehungen sowohl mit dem Substrat wie auch mit der prosthetischen Gruppe tritt². Derartige Wechselwirkungen zwischen *prosthetischer Gruppe* und der Polypeptidkette³ sowie ganz allgemein mit dem makromolekularen Träger⁴ gaben sich häufig durch Verschiebung der *Bandenmaxima*, Veränderungen der Redoxgleichgewichtskonstanten und Säuredissoziationskonstanten zu erkennen⁵. Wir konnten die zu beobachtenden Erscheinungen auf die Bildung von *Einschlußsystemen* in Lösung zurückführen⁶ und konnten weiter

zeigen, daß auch das *Substrat* mit dem makromolekularen Träger in Zwischenstoffbeziehungen treten muß⁷, denn die zu beobachtenden Katalysehemmungen durch zugesetzte Polypeptide ließen keine andere Deutung zu^{8,9}, zumal gezeigt werden konnte, daß das Semichinon des *p*-Phenylendiamins mit Polypeptiden sowie ganz allgemein mit typischen Einschlußsystembildnern derartige Zwischenstoffe in Lösung bildet⁹. Frühzeitig wurden daher die genannten Befunde zur α - bzw. β -Konfiguration der Peptidkette unserer Oxydasemodelle in Beziehung gebracht¹⁰. Die Gewinnung α - und β -konfigurierter Oxydasemodelle war demnach ein vordringliches Problem, um die Frage nach der katalytischen Wirksamkeit der beiden Formen beantworten zu können¹¹.

1. α - und β -konfigurierte Oxydase-Modelle

a) Die Gewinnung α - bzw. β -strukturierter Oxydase-Modelle setzte die Synthese geeigneter, die Polykondensation initiiierender Porphyrin-Derivate voraus. Funktionelle Derivate mit gesättigten und ungesättigten Seitenketten vom Proto-, Meso-, Pyrro- und Phylloporphyrin-Typ sind in Abb. 1 zusammengestellt.

¹ 34. Mitteilung von W. LAUTSCH und Mitarbeitern über Fermentmodelle, vorgetragen vor der Zürcher Chemischen Gesellschaft am 18. Februar 1959, auszugsweise vorgetragen am 7. April 1959 vor dem wissenschaftlichen Colloquium des Fritz-Haber-Instituts der Max-Planck-Gesellschaft; 33. Mitteilung: Neue Untersuchungen über Fermentmodelle, Teil I bis Teil IV, *Kolloid-Z.* 161 (1958) 1. Manuskript eingegangen am 31. März 1959.

² W. LAUTSCH und Mitarbeiter, Über Fermentmodelle der Atmungskette, *Kolloid-Z.* 144 (1955) 82, vgl. insbesondere III, Zwischenstoffwirkungen, S. 90.

³ W. LAUTSCH und Mitarbeiter, Über Katalysatoren und Fermentmodelle, *Kolloid-Z.* 138 (1954) 129.

⁴ W. LAUTSCH und Mitarbeiter, Über Fermentmodelle und ihre Beziehungen zu den Einschlußverbindungen, *Angew. Chem.* 66 (1954) 123.

⁵ W. LAUTSCH, W. BROSER, W. BIEDERMANN, U. DÖHRING und H. ZOSCHKE, *Kolloid-Z.* 125 (1952) 72; *Angew. Chem.* 66 (1954) 123; W. BROSER und W. LAUTSCH, *Z. Naturforsch.* 8b (1953) 711; W. BROSER, *Z. Naturforsch.* 8b (1953) 722; W. BROSER und CH. BAHR, *Z. Naturforsch.* 10b (1955) 121; W. LAUTSCH, W. BANDEL und W. BROSER, *Z. Naturforsch.* 11b (1956) 282.

⁶ W. LAUTSCH, W. BROSER und KL. BECKER, *Z. Elektrochem.* 61 (1957) 174.

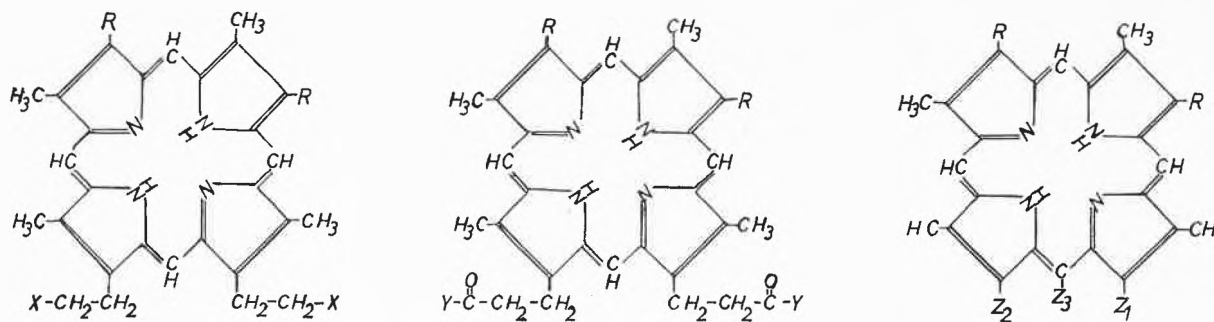
⁷ W. LAUTSCH, H. GNICHTEL, I. GNICHTEL und E. HÖPLING, *Kolloid-Z.* 141 (1955) 132.

⁸ W. LAUTSCH und E. SCHRÖDER, *Z. Naturforsch.* 9b (1954) 277.

⁹ W. LAUTSCH, W. BROSER, W. BIEDERMANN und H. GNICHTEL, *J. Polymer Sci.* 17 (1955) 479.

¹⁰ W. LAUTSCH und Mitarbeiter, *Kolloid-Z.* 138 (1954) 129, vgl. insbesondere S. 133, ferner ebenda 144 (1955) 82, vgl. insbesondere S. 88.

¹¹ W. LAUTSCH und Mitarbeiter, *Kolloid-Z.* 161 (1958) 1, vgl. insbesondere Teil II, S. 17.



Derivate des Meso- und Protoporphyrins

- I: Protoporphyrin-diamid
 $R = -CH=CH_2$; $X = -CO-NH_2$
- II: Protoporphyrin-bis-(phenylalanin-methylester)
 $R = -CH=CH_2$;
 $X = -CO-NH-CH-CH_2-C_6H_5$
- III: Protoporphyrin-bis-(leucinmethylester)
 $R = -CH=CH_2$;
 $X = -CO-NH-CH-CH_2-CH(CH_3)_2$
- IV: Mesoporphyrin-diamid
 $R = -CH_2-CH_3$; $X = -CO-NH_2$
- V: Mesoporphyrin-di-(propanol)
 $R = -CH_2-CH_3$; $X = -CH_2OH$
 F. 261°
- VI: Mesoporphyrin-di-(propylbromid)
 $R = -CH_2-CH_3$; $X = -CH_2Br$
 F. 209–211°
- VII: Mesoporphyrin-di-(propyl-Mg-Br)
 $R = -CH_2-CH_3$; $X = -CH_2MgBr$

Säurehalogenide und -anhydride des Meso- und Protoporphyrins

- VIII a: Protoporphyrin-bis-(kohlen-säure-äthylester-anhydrid)
 $R = -CH=CH_2$;
 $Y = -O-COOC_2H_5$
 SZ = 7,5
- VIII b: Mesoporphyrin-bis-(kohlen-säure-äthylester-anhydrid)
 $R = -CH_2-CH_3$;
 $Y = -O-COOC_2H_5$
- IX: Mesoporphyrin-dibromid
 $R = -CH_2-CH_3$; $Y = -Br$

Prothetische Gruppen von Oxydase-Modellen

- X: Mesoporphyrin-di-hydrazid
 $R = -CH_2-CH_3$
 $Z_1 = Z_2 = -(CH_2)_2-CO-NH-NH-$
 $Z_3 = H$
- XI: Pyrroporphyrin-6-acrylsäure-diamid
 $R = -CH_2-CH_3$
 $Z_1 = -CH=CH-CO-NH-$
 $Z_2 = -(CH_2)_2-CO-NH-$
 $Z_3 = H$
- XII: Phylloporphyrin-6-acrylsäureamid
 $R = -CH_2-CH_3$
 $Z_1 = -CH=CH-CO-NH-$
 $Z_2 = -(CH_2)_2-CO-NH-$
 $Z_3 = -CH_3$
- XIII: Phylloporphyrin-methylester-6-acrylsäureamid
 $R = -CH_2-CH_3$
 $Z_1 = -CH=CH-CO-NH-$
 $Z_2 = -(CH_2)_2-CO-OCH_3$
 $Z_3 = -CH_3$

Abb. 1. Funktionelle Derivate des Meso-, Proto-, Pyrro- und Phylloporphyrins

Zur Synthese des Mesohämin-Typs (X in Bild 1) verwendeten wir wie bisher das Mesoporphyrin-Dihydrazid⁴, für den Protöhämin-Typ das Protoporphyrin-bis-(Kohlensäure-äthylesteranhydrid) (VIIIa)¹², für den Aufbau von Modellen mit kernkonjugierter Polypeptidkette (XI, XII, XIII)¹², die Pyrro- und Phylloporphyrin-6-Acrylsäureamide sowie das Phylloporphyrinmethylester-6-acrylsäureamid, auch die Initiierung mit Grignard-Verbindungen erwies sich als vorteilhaft [Mesoporphyrin-di-(propylmagnesium-bromid)] (VII). Zum Aufbau dieser Verbindungen sei bemerkt, daß wir die reaktionsfähigen gemischten Anhydride VIIIa und VIIIb durch Umsetzung von Protoporphyrin bzw. Mesoporphyrin nach R. A. BOISSONAS¹³ erhielten; die den α, β -ungesättigten Porphyrinpolypeptiden XI und XII zugrunde liegenden Amide wurden nach H. FISCHER und A. SCHWARZ¹⁴ erhalten, das Modell XIII (von R. PASEDAG) durch Umsetzung des 6-Formyl-Phylloporphyrins nach G. WITIG und H. POMMER¹⁵ mit dem Carbamidomethyl-triphenylphosphoniumchlorid zum Esteramid und Verwendung als Initiator gewonnen. Zur Darstellung der Grignard-Verbindung VII wurde Mesoporphyrin IX mit Lithiumaluminiumhydrid nach KALOJANOFF¹⁶ zum Mesoporphyrindipropanol

(V) reduziert, in das Dibromid VI verwandelt und letzteres in die Grignard-Verbindung übergeführt.

Durch Initiierung der Polykondensation der N-Carboxyanhydride des Glutaminsäure- γ -benzylesters bzw. des Phenylalanins wurden mit dem Hydrazid X⁴ die Fermentmodellester (Abb. 2) F₁ und F₂, mit den reaktionsfähigen Anhydriden¹⁷ VIIIa und VIIIb die Modellester F₃ und F₄ erhalten. Die Molgewichtsbestimmung erfolgte viskosimetrisch nach Ermittlung der K_m-Konstante für die STAUDINGERSCHE Gleichung unter Anlehnung an Molgewichtsbestimmungen mit Hilfe der Ultrazentrifuge¹⁸.

b) Zur Strukturierung und Strukturbestimmung wurden α -Filme aus Benzol durch Verdunstenlassen des Lösungsmittels auf ebenen Glasgefäßen und anschließendem Verstrecken der Folien erzeugt. Die Strukturbestimmung erfolgte röntgenoptisch durch Ermittlung der Äquator- und Polreflexe (vgl. B, Abb. 2). Die Werte stehen in guter Übereinstimmung mit den Angaben von C. H. BAMFORD, W. E. HANBY und F. HAPPEY²⁰.

Das röntgenoptische Ergebnis wurde bestätigt durch die Untersuchungen im Infrarot:

¹² Vgl. W. LAUTSCH, W. GEHRMANN, R. PASEDAG und KL. PRATER, *Chem. Ber.* 90 (1957) 470.

¹³ *Helv. Chim. Acta* 34 (1951) 874.

¹⁴ *Liebigs Ann. Chem.* 512 (1934) 239.

¹⁵ *Liebigs Ann. Chem.* 580 (1953) 48.

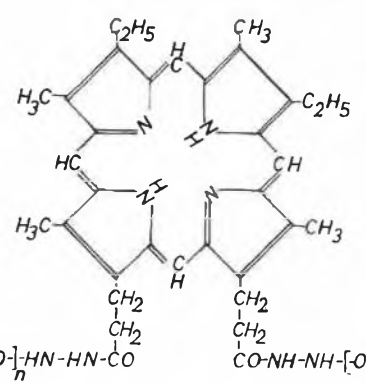
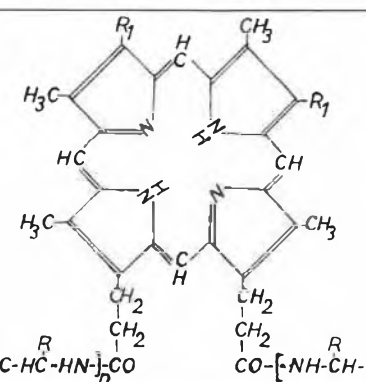
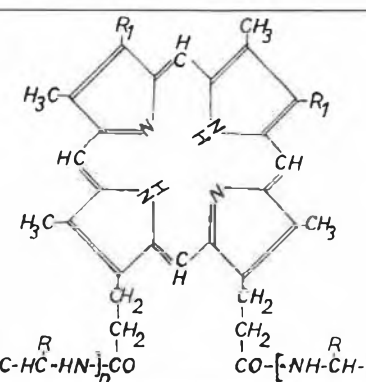
¹⁶ *Liebigs Ann. Chem.* 577 (1952) 147.

¹⁷ Zur Anhydrid-Initiierung (Azid) vgl. W. LAUTSCH und Mitarbeiter, *Kolloid-Z.* 125 (1956) 72.

¹⁸ W. LAUTSCH und Mitarbeiter, *Kolloid-Z.* 161 (1958) 1.

¹⁹ W. LAUTSCH und E. SCHRÖDER, *Mh. Chem.* 88 (1957) 432.

²⁰ *Nature* 164 (1949) 138, ferner *Proc. Roy. Soc. A* 205 (1951) 30.

	Fermentmodellester	Molgewicht ⁵	Optische Drehung ⁶	
			α -Form (Pyridin)	β -Form (Cl ₂ HCCOOH)
	<i>F</i> ₁ : Mesoporphyrin-dihydrazid-poly-L-glutaminsäure- γ -benzylester ¹ R = -CH ₂ -CH ₂ -COOCH ₂ -C ₆ H ₅	33 100	+ 20°	- 24°
	<i>F</i> ₂ : Mesoporphyrin-dihydrazid-poly-(L-glutaminsäure- γ -benzylester-L-phenylalanin) ² (Molverhältnis 2:1) R = -CH ₂ -CH ₂ -COOCH ₂ -C ₆ H ₅ ; -CH ₂ -C ₆ H ₅	22 600	+ 34°	- 11°
	<i>F</i> ₃ : Protoporphyrin-poly-L-glutaminsäure- γ -benzylester ³ R = -CH ₂ -CH ₂ -COOCH ₂ -C ₆ H ₅ R ₁ = -CH=CH ₂	14 300	nicht bestimmt	nicht bestimmt
	<i>F</i> ₄ : Mesoporphyrin-poly-L-glutaminsäure- γ -benzylester ⁴ R = -CH ₂ -CH ₂ -COOCH ₂ -C ₆ H ₅ R ₁ = -C ₂ H ₅	24 200	nicht bestimmt	nicht bestimmt

A. Molgewicht und optische Drehung

Fermentmodell	Röntgenoptisch ⁷ ; α -Film ⁸						Infrarot-Absorptionen	
	Äquatorreflexe			Polreflexe			α -Film ⁸	β -Film ⁹
	mm	Å	Intensität	mm	Å	Intensität		
<i>F</i> ₁ : Mesoporphyrin-dihydrazid-poly-L-glutaminsäure- γ -benzylester	5,03 8,84 10,03 17,75 20,75 26,70 32,65 34,75	25,0 14,3 12,6 7,21 6,21 4,87 4,07 3,85	schwach schwach äußerst stark sehr stark stark diffus diffus diffus	24,7 28,7 32,65	5,26 4,48 4,08	sehr stark diffus diffus	3,03 μ (NH) 6,03 μ (Amid I) 6,42 μ (Amid II)	
<i>F</i> ₂ : Mesoporphyrin-dihydrazid-poly-(L-glutaminsäure- γ -benzylester- ι -phenylalanin)							3,03 μ (NH) 6,03 μ (Amid I) 6,42 μ (Amid II)	6,11 μ 6,52 μ

B. Strukturbestimmung

¹ Aus Mesoporphyrin-dihydrazid(X) + L-Glutaminsäure- γ -benzylester-N-carboxyanhydrid in Nitrobenzol, Verhältnis 1:200
² Wie ¹, unter Mitverwendung von ι -Phenylalanin-N-carboxyanhydrid in Nitrobenzol im Verhältnis 2:1
³ Aus Protoporphyrin-äthylkohlen säureesteranhydrid(VIII a) + L-Glutaminsäure- γ -benzylester-N-carboxyanhydrid in Chloroform
⁴ Aus Mesoporphyrin-äthylkohlen säureesteranhydrid(VII b) + L-Glutaminsäure- γ -benzylester-N-carboxyanhydrid in Chloroform
⁵ Viskosimetrisch bestimmt in Pyridin, für $c \rightarrow 0$ (aus Messungen für $c = 1,0; 0,5; 0,1$ und $0,05\%$)
⁶ 20°; $c = 0,5\%$; für $\lambda = 680$ nm
⁷ Abstand Präparat-Film 40,80 mm, Cu K α I
⁸ Aus Benzol-Lösung durch Verdunsten auf Glasoberfläche und anschließendem Strecken
⁹ Aus Dichloressigsäure

Abb. 2. Fermentmodellester: Molgewicht, optische Drehung und Struktur

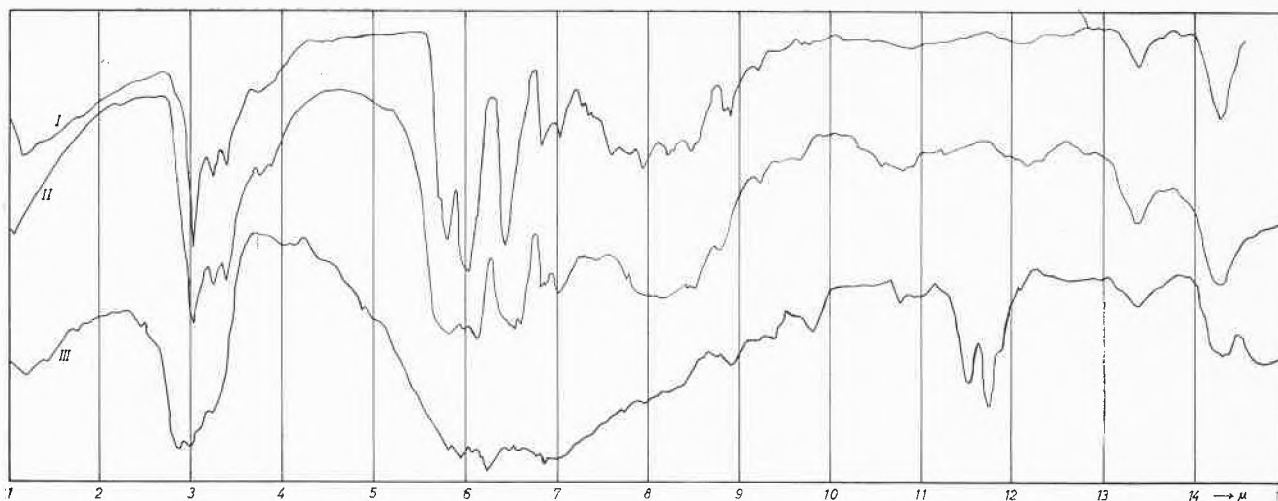


Abb. 3. Infrarotspektren von Mesoporphyrin-poly-(L-glutaminsäure-L-phenylalanin) (Molverhältnis 2:1)
I: α -Form (aus Dioxan-Wasser); II: β -Form (aus Dichloressigsäure); III: Na-Salz (in KBr)

Fermentmodellsäuren	Mol- gewicht	Struktur der festen Präparate		Struktur in Lösung ⁴			
		α -Form ²	β -Form ³	α -Form		β -Form	
				Pyridin (680 nm)	H ₂ O (690 nm)	Dichlor- essigsäure	H ₂ O (690 nm)
Mesoporphyrin-dihydrazid- poly-L-glutaminsäure ¹ «F ₁ -Säure»	19 560	3,03 6,03 6,43	3,03 6,13 6,55		+ 10° pH < 5,3		- 90° pH > 6,5
Mesoporphyrin-dihydrazid- poly-(L-glutaminsäure-L- phenylalanin) (Molver- hältnis 2:1) «F ₂ -Säure»	13 300			+ 36°	+ 5° pH < 6,6	- 11,5°	- 50° pH > 7,5

¹ Verseift mit HBr-SO₂, nach E. R. BLOUT und M. IDELSON, *J. Amer. Chem. Soc.* 78 (1956) 497, als Ester-Hämin

² Aus Pyridin oder Dioxan

³ Aus Dichloressigsäure

⁴ c = 0,5%, 20°

Abb. 4. Fermentmodellsäuren: Molgewicht, optische Drehung und Struktur

In Übereinstimmung mit den Untersuchungen von S. E. DARMON und G. B. B. M. SUTHERLAND²¹, W. T. ASTBURY, C. A. DALGLEISH, S. E. DARMON und G. B. B. M. SUTHERLAND²² sowie E. J. AMBROSE, A. ELLIOTT und Mitarbeitern²³ zeigt die α -Form Maxima bei 3,03, 6,03 und 6,42 μ , die β -Form bei 6,11 und 6,52 μ . Im polarisierten Infrarot fanden wir bei parallelem Vektor für die α -Form Banden bei 3,03 und 6,03 μ , bei senkrechtem Vektor bei 6,42 μ ; für die β -Form bei 3,03 und 6,15 μ . Dies gilt auch für die Fermentmodellsäuren bzw. für ihre Alkalisalze (Abb. 3) mit der Einschränkung, daß die undissoziierte Säure bevorzugt in der α -Form vorliegt (Abb. 3, I), jedoch aus Dichloressigsäure auch in der β -Form erhältlich ist (Abb. 3, II) (Absorptionsmaxima bei 3,03; 6,13 und 6,55 μ), das polymere Anion (Na-Salz, Abb. 3, III) liegt erwartungsgemäß²⁴ infolge der elektrostatischen Abstoßungskräfte der Carboxylanionen in der («zufallsgeknäuelten») β -Form vor. Charakteristisch ist die Carboxylion-Absorption bei 6,25 μ .

²¹ *J. Amer. Chem. Soc.* 69 (1947) 2074.

²² *Nature* (London) 162 (1948) 596.

²³ *J. Chem. Physics* 16 (1948) 877; *Nature* 163 (1949) 483, 859, ebenda 165 (1950) 921; *Proc. Roy. Soc. A* 205 (1951) 47.

²⁴ W. LAUTSCH und Mitarbeiter, *Kolloid-Z.* 144 (1955) 88.

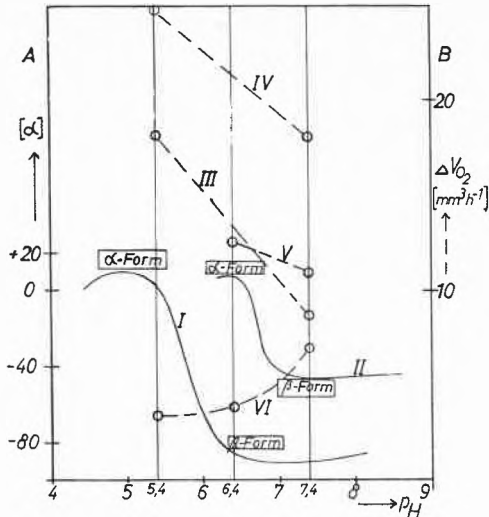
Nach P. DOTY²⁵ ist die optische Drehung *konfigurationsabhängig*: aus Abb. 2 (A) entnimmt man die Drehungsbeträge für die α -Form (Pyridin) sowie für die β -Form (Dichloressigsäure) bei $\lambda = 680 m\mu$ der Fermentmodellester (F₁, F₂). Wir beschränken uns auf die Angabe der optischen Drehung außerhalb des Absorptionsgebiets der prosthetischen Gruppe (680 m μ), es wurde jedoch auch die Rotationsdispersion ermittelt.

Aus Abb. 4 entnimmt man für die Fermentmodellsäuren die Beziehung zwischen der Struktur im festen Zustand bzw. in Lösung: Die rechtsdrehende α -Form (Pyridin) geht in die linksdrehende β -Form (Dichloressigsäure) über, der Vorgang ist reversibel. In Wasser sind beide Strukturen möglich²⁶.

Da die optische Drehung konfigurationsabhängig ist, folgt zwangsläufig, daß die optische Drehung pH-ab-

²⁵ P. DOTY, A. M. HOLTZER, J. H. BRADBURY und E. R. BLOUT, *J. Amer. Chem. Soc.* 76 (1954) 4493.

²⁶ J. T. YANG und P. DOTY, *J. Amer. Chem. Soc.* 79 (1957) 764.



- A: Abhängigkeit der optischen Drehung vom pH-Wert für:
 I Mesoporphyrin-dihydrasid-poly-L-glutaminsäure ($c = 0,5\%$; $\lambda = 589\text{ nm}$)
 II Mesoporphyrin-dihydrasid-poly-(L-glutaminsäure-L-phenylalanin) ($\lambda = 690\text{ nm}$)
 B: Strukturabhängigkeit der katalytischen Wirkung¹ für α -Pyridoin von:
 III Mesohämmin-dihydrasid-poly-L-glutaminsäure² («F₁-Säure»)
 IV Protohämmin-poly-L-glutaminsäure («F₂-Säure»)²
 V Mesohämmin-dihydrasid-poly-(L-glutaminsäure-L-phenylalanin) («F₂-Säure»)²
 VI Mesohämmin²

¹ Verbrauch von O₂ in mm³/h (nach Abzug des Blindwertes) für 5 γ Fe bei 20°.
² 20 mg α -Pyridoin in 7,4 ml Phosphatpuffer + 0,3 ml Pyridin + H₃PO₄ zur elektrometrischen Einstellung der pH-Werte: 5,4, 6,4, 7,4 (je Meßgefäß).

	pH 7,4	pH 6,4	pH 5,4
ohne Zusatz	28,0	19,3	17,4
mit Poly-L-glutaminsäure . . .	27,2	—	23,9
mit Poly-(L-glu-L-phe)	26,6	22,8	—
mit Mesohämmin	35,0	23,2	20,8
mit Mesohämmin + Poly-L-glu . .	34,5	—	30,4
mit Mesohämmin + Poly-(L-glu-L-phe)	32,4	27,3	—
mit Mesohämmin-poly-L-glu . . .	36,7	—	35,6
mit 6-Acrylsäurepyrrohämin-poly-L-glu	38,4	—	33,0
mit Mesohämmin-poly-(L-glu-L-phe)	38,9	31,9	—
mit Protohämmin-poly-L-glu . . .	46,0	—	42,2

C: O₂-Verbrauch (mm³/h) von α -Pyridoin durch Fermentmodelle und Mesohämmin sowie durch gewichtsidentische Mischungen aus unsubstituierten Polypeptiden + Mesohämmin (für je 5 γ Hämmin-Fe)

Abb. 5 A-C. Strukturabhängigkeit der optischen Drehung und der katalytischen Wirkung von Fermentmodellen

hängig ist. Deshalb liegen die Fermentmodell-Säuren in der α -Form, ihre Anionen in der β -Form vor, wie man den Rechtsdrehungen im sauren und den Linksdrehungen am Neutralpunkt bzw. im alkalischen Gebiet entnimmt (Abb. 4). Der Drehungsumschlagpunkt ist abhängig vom Peptidkettenaufbau: Die Phenylalanin-Reste im copolymeren Fermentmodell F₂ bewirken

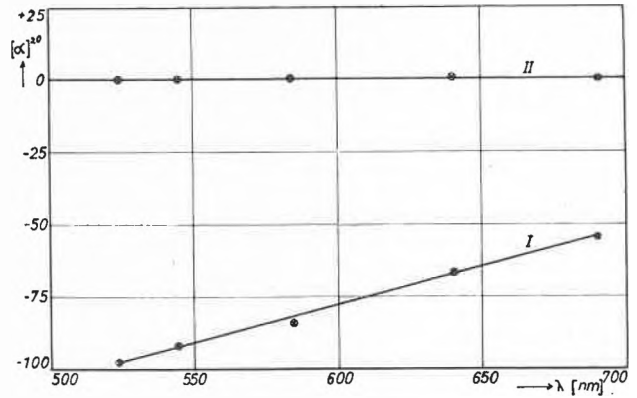


Abb. 5 D. Rotationsdispersion des Cyclo-glycyl-L-phenylalanyl-glycyl-L-phenylalanyl-glycyl in Dimethylformamid (I) und Dichloressigsäure (II) ($c = 1$)

eine Verschiebung des Umschlagpunktes zum Neutralpunkt hin, bedingt durch die Verringerung der elektrostatischen Abstoßungskräfte der Carboxyl-anionen. Dies geht besonders deutlich aus Abb. 5 hervor, in welcher gleichzeitig die Abhängigkeit der optischen Drehung (A-Ordinate) und der katalytischen Wirkung (B-Ordinate) von der Struktur, d. h. vom pH-Wert wiedergegeben ist.

Die Kurven I und II zeigen die Abhängigkeit der optischen Drehung vom pH-Wert; es ist ersichtlich, daß die Mesohämmin-poly-L-glutaminsäure (I) bei $\text{pH} \leq 5,4$ in der α -Form, bei $\text{pH} > 6,4$ in der β -Form vorliegt. Die entsprechenden pH-Werte liegen für Mesohämmin-poly(L-glutaminsäure-L-phenylalanin) (II) bei $\text{pH} 6,4$ bzw. $7,4$.

Für die katalytische Wirkung findet man eine entsprechende Abhängigkeit vom pH-Wert. Aus Abb. 5 B entnimmt man, daß die α -Form wirksamer ist als die β -Form (vgl. III, IV und V). Die katalytischen Wirkungen, die als Differenzbeträge für die betreffenden pH-Werte aus dem Sauerstoffverbrauch des Fermentmodells und dem Blindwert für das betreffende Substrat (α -Pyridoin) bei demselben pH-Wert gewonnen wurden (vgl. Abb. 5 C), sind strukturgebunden. Dies wird besonders deutlich beim Vergleich von III bis V mit dem Kurvenverlauf für die prosthetische Gruppe (Mesohämmin, VI). Dieser Tatsache begegnet man häufig bei den Enzymen, die Denaturierung ist meist mit dem Verlust oder einer starken Verminderung der Enzym-Aktivität verbunden. Sie besteht in einer $\alpha \rightarrow \beta$ -Umwandlung, wie E. J. AMBROSE, A. ELLIOTT und Mitarbeiter²⁷ am Insulin gezeigt haben.

Besonders eindrucksvoll geht die Abhängigkeit der optischen Drehung von der räumlichen Struktur hervor an Cyclopeptiden. Mit R. SHINGTE wurde gefunden, daß der Übergang der α -Form des Cyclo-glycyl-L-phenylalanyl-diglycyl-L-phenylalanyl-glycins in die β -Form (Bild 19) mit einer starken Änderung [von α] verbunden ist; Abb. 5 D zeigt dies. Der Vorgang ist reversibel.

²⁷ A. ELLIOTT, E. J. AMBROSE und C. ROBINSON, *Nature* 166 (1950) 194; ferner E. J. AMBROSE und A. ELLIOTT, *Proc. Roy. Soc. A* 208 (1951) 75.

Ein Vergleich der katalytischen Wirksamkeiten der Fermentmodelle vom Mesohämin-(III)- und Protohämin-Typ (IV) führt zu einer wesentlich höheren Aktivität des Vinylgruppen tragenden Prototyps. Vermutlich sind die beiden Vinylgruppen an der Elektronenfortleitung beteiligt, wie dies bereits vor mehreren Jahren angenommen wurde²⁸. Auch diese Tatsache ist aus der Enzymchemie bekannt: H. THEORELL und Mitarbeiter²⁹ zeigten, daß die Wirkung der Peroxydase beim Austausch der prosthetischen Gruppe (Protohämin) gegen Mesohämin stark absinkt, gegen die Hämine des Hämatoporphyrins, Pyrro- und Rhodoporphyrins sogar Null wird.

Offensichtlich findet auch die kernkonjugierte Verknüpfung der prosthetischen Gruppe mit der Polypeptidkette³⁰ (Abb. 1, XI) in der katalytischen Wirksamkeit ihren Ausdruck, wie man der Zahlentafel in Abb. 5 C entnehmen kann.

Schließlich sei noch auf die bereits früher häufig beobachteten Zwischenstoffwirkungen der Polypeptidkette⁷ und der prosthetischen Gruppe hingewiesen, wie dies aus den Werten für den Sauerstoffverbrauch (Abb. 5 C) hervorgeht. Der Struktureffekt geht auch aus der pH-Abhängigkeit des Redoxpotentials hervor, wie der Vergleich des Redoxpotentials von Wirkungsgruppe (I) und Modell (II) in Abb. 4 b [Kolloid-Z. 161 (1958) 12] zeigt.

2. Energiefortleitung: α - und β -Leitung

In früheren Untersuchungen³¹ wurde an Fermentmodellen vom Oxydase-Typ gezeigt, daß eine Energiefortleitung über die Peptidkette wie in den hochgeordneten Systemen natürlicher Eiweißkörper und Enzyme (O. WARBURG und Mitarbeiter³²) erfolgt. Die Kohlenoxydverbindung der Mesohämin-poly-phenylalanin-glutaminsäure – die im Verhalten dem CO-Myoglobin (Quantenausbeute 1) entspricht, im Gegensatz zum CO-Hämoglobin (Quantenausbeute 4)^{32a} – erleidet bei intermittierender Einstrahlung von monochromatischem Licht der Wellenlänge von $\lambda = 254$ nm in das Absorptionsgebiet der Phenylalanin-Reste eine Dissoziation, die mit annähernd derselben Quantenausbeute von 1 verläuft, unabhängig davon, ob man in das Absorptionsgebiet der Wirkungsgruppe oder der Polypeptidkette bzw. beider einstrahlt. Die Versuchsanordnung ließ jedoch keine Aussage zu über Weg und Entfernung der Energieleitung; es blieb auch offen, welche Form der Polypeptidkette (α - oder β -Form) leitungs befähigt ist.

²⁸ Vgl. Formelbild 2 in Kolloid-Z. 144 (1955) 100.

²⁹ H. THEORELL, S. BERGSTRÖM und A. AKESON, Ark. Kem. Mineralog. Geol. 16 A (1943) Nr. 13; siehe auch H. THEORELL, Z. physik. Chem. 272 (1942) 219.

³⁰ Vgl. Formelbild 1 in Kolloid-Z. 144 (1955) 100.

³¹ W. LAUTSCH und Mitarbeiter, Kolloid-Z. 144 (1955) 82, vgl. II, Energiefortleitung, S. 83; ferner W. BROSER und W. LAUTSCH, Naturwiss. 42 (1955) 513, ferner Z. Naturforsch. 11b (1956) 453.

³² Biochem. Z. 193 (1928) 339, 214 (1929) 64; Angew. Chem. 45 (1932) 1; Biochem. Z. 255 (1932) 247.

^{32a} T. BÜCHER und E. NEGELEIN, Biochem. Z. 311 (1942) 163.

a) Nachweis der α -Leitung durch Impulzzählung

Aus diesen Gründen wurde – wie bereits berichtet^{32b} – die endständige Aminogruppe des Mesohämin-substituierten Polypeptids mit einer absorbierenden Gruppe, dem Chlorin e durch Umsetzung mit seinem gemischten Anhydrid konjugiert verknüpft (CO-Hämochromogen,

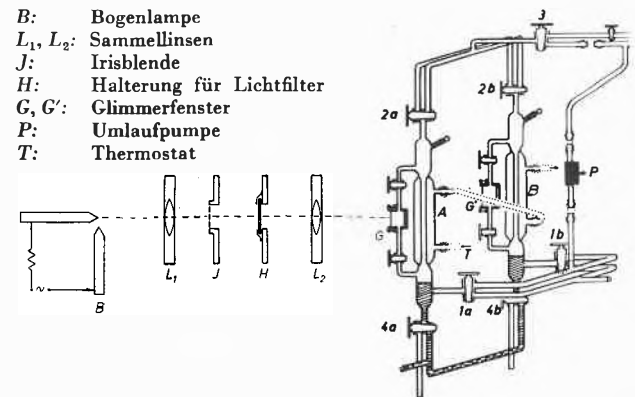


Abb. 6 A. Versuchsanordnung zur photochemischen Spaltung und Messung

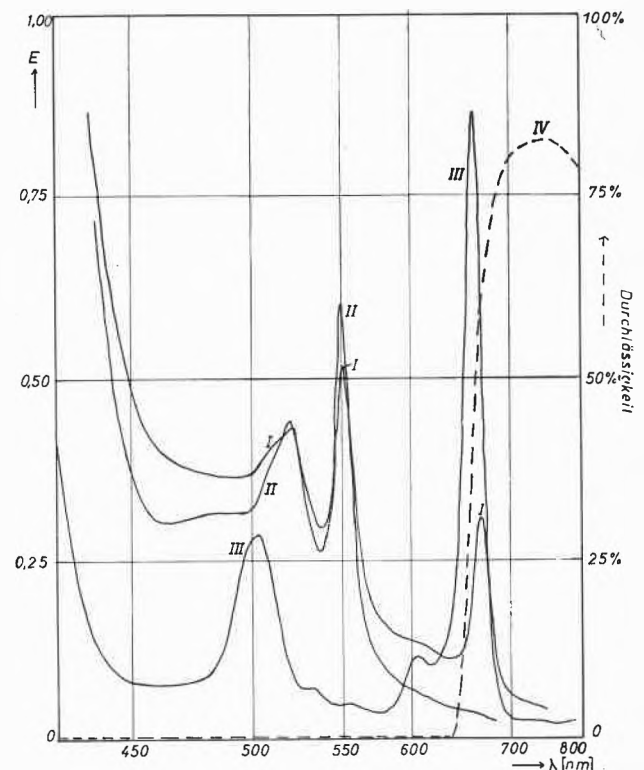
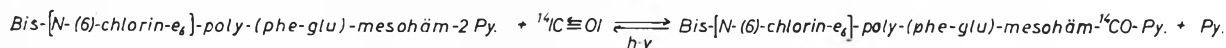
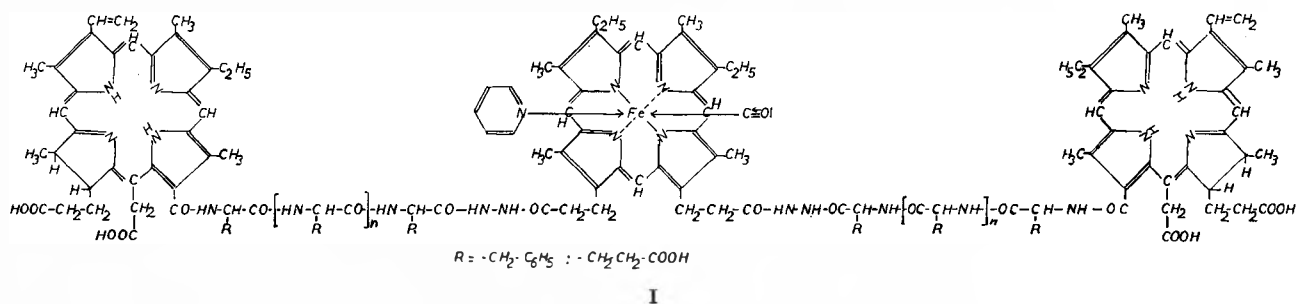


Abb. 6 B. Absorptionsspektren der Pyridinhämochromogene von Bis-[N-(6)-chlorin- e_6]-mesohämin-IX-poly-DL-(phenylalanin-glutaminsäure) (I) ($c = 0,27\%$) und Mesohämin-IX-poly-DL-(phenylalanin-glutaminsäure) (II) ($c = 0,112\%$), und von Chlorin- e_6 -(propionsäure; γ -essigsäure)-dimethylester (III) ($c = 2,53 \cdot 10^{-5}$ m) in Pyridin-Wasser (1:7); $d = 1$. Leybold-Filter > 640 nm (IV)

^{32b} W. LAUTSCH und Mitarbeiter, Neue Untersuchungen über Fermentmodelle, Teil II: Das Aktivierungsproblem, S. 17.



Energieleitung von Endgruppe zur Wirkungsgruppe

Formelbild I in Abb. 6). Das Spektrum des Chlorin-substituierten Oxydase-Modells (als Pyridin-Hämochromogen Kurve I, vgl. Abb. 6 B) setzt sich zusammen aus dem Spektrum des Chlorins e (III) und dem Oxydase-Hämochromogen (II). Die Absorptionsmaxima von I sind nach Rot verschoben: die Hämochromogen-Maxima von I gegenüber II um 12 bzw. 18 nm. Dasselbe gilt für die (hier nicht wiedergegebenen) CO-Hämochromogene. Es ist ersichtlich, daß das Pyridin-Hämochromogen des Oxydase-Modells oberhalb 640 nm keine nennenswerte Absorption besitzt im Gegensatz zu dem Chlorin-e-substituierten Hämochromogen I. Durch Einstrahlung von Licht der Wellenlänge $\lambda > 640$ nm werden demnach die absorbierten Lichtquanten ausschließlich von der Endgruppe aufgenommen [vgl. (gestrichelte) Filterdurchlässigkeitskurve (Leybold-Filter Nr. 46801 $\lambda = 620$ nm : 0%; 640 nm = 40%; 700 nm = 80%)], während bei Einstrahlung von Licht im Bereich von 505 bis 545 nm (Leybold-Filter Nr. 46831) die Absorption in der Hauptsache auf die CO-Verbindungen der Mesohämin-Wirkungs-

gruppe, bei Einstrahlung von Licht im Bereich 370 bis 420 nm (Leybold-Filter Nr. 46833) auf Wirkungsgruppe + Endgruppe entfällt.

Die photochemische Dissoziation der Kohlenoxydverbindungen der Pyridin-Hämochromogene von I und II erfolgte durch Impulsvergleich unter Verwendung einer Versuchsanordnung, wie sie zur Messung von Gaseinschlußsystemen bzw. von Komplexbildungsreaktionen³³ diente (Abb. 6 A). Die Einstrahlung erfolgte bei den Glimmerfenstern G bzw. G' unter Verwendung von Leybold-Filtern unter Verwendung von ¹⁴CO oder eines ¹⁴CO-N₂-Gemisches, welches mit Hilfe der Pumpe P bis zur Gleichgewichtseinstellung umläuft. Es wurden Impulsvergleiche bei G (Dunkel) und G' (Licht) oder nacheinander in nur einem (G oder G') Reaktionsgefäß durchgeführt. Bei einer Fehlergrenze von etwa 1 bis 2% müssen mindestens 10000 Impulse gezählt werden. Aus den Impulsdifferenzen (Abb. 6 C) entnimmt man, daß die eingestrahlenen Lichtquanten von $\lambda > 640$ nm am Oxydase-Modell wirkungslos sind, während im Falle des Chlorin-e-substituierten Oxydase-Modells auch bei ausschließlicher Einstrahlung in die Chlorin-Endgruppe Spaltung an der Wirkungsgruppe erfolgt.

Bei der vorliegenden Versuchsanordnung (Durchführung der photochemischen Spaltung in Pyridin-Wasser* = 1:1) handelt es sich um die Energieleitung der α -Form, denn in diesem Lösungsmittelgemisch liegt überwiegend diese Form vor, wie aus der Strukturuntersuchung der Fermentmodellsäuren im festen und gelösten Zustand hervorgeht (vgl. Bild 4).

Die Untersuchungen zeigen, daß eine photochemische Leitung über lange Peptidketten sowohl in der α - wie in der β -Form möglich ist, bei der α -Form über mehrere hundert Aminosäure-Reste [Molgewicht der (bisher un-

Einstrahlungsgebiet	Mesohäm- ¹⁴ CO-Pyridin-poly-(phe-glu) ¹ Impuls/Minute			Bis-[N-(6-chlorin-e ₆)]-poly-(phe-glu)-mesohäm- ¹⁴ CO-Pyridin ¹ Impuls/Minute		
	dunkel	hell	Differenz	dunkel	hell	Differenz
370-420 nm (Wirkgruppe + Endgruppe)	145	115	30	137,9	116,8	21,1
505-545 nm (Wirkgruppe)	145	125	20	137,9	127,0	10,9
> 640 nm (Endgruppe)	145	143	2	137,9	124,5	13,4

Abb. 6 C. Meßprotokoll

¹ ¹⁴CO: 30 Vol. % (aus H¹⁴COONa 1 mC/mM). CO (inaktiv): 56 Vol. %. N₂: 14 Vol. %.

Einwaage: 250 mg Mesohämin-poly-(phe-glu) bzw. 300 mg Bis-[N-(6-chlorin-e₆)]-mesohämin-poly-(phe-glu) in 15 ml Pyridin-Wasser (1:1) + Na-Dithionit

* Bedeutung für die Gleichgewichtslage^{33 a} [Fe(Py)₂] + CO \rightleftharpoons [Fe(Py)CO] + Py.

³³ Vgl. Abb. 19 in *Kolloid-Z.* 161 (1958) 33, bzw. Abb. 1 in W. LAUTSCH, H. RAUHUT, W. GRIMM und W. BROSER, *Z. Naturforsch.* 12b (1957) 307.

^{33 a} H. KREBS, *Biochem. Z.* 193 (1928) 347; ebenda 204 (1929) 322; ferner L. E. CLIFCORN, V. W. MELOCHE und C. A. ELVEHJEM, *J. Biol. Chem.* 111 (1935) 399.

tersuchten) Präparate 20000 bis 50000]. Eine direkte Übertragung (durch Knäuelung) von der absorbierenden Endgruppe zur Wirkungsgruppe entfällt aus strukturellen Gründen (α -Form), sie entfällt jedoch auch für die zufallsgeknäuelte β -Form auf Grund der statistischen Untersuchungen von W. KUHN und Mitarbeitern³⁴. Intermolekulare Energieübergänge müssen jedoch in Betracht gezogen werden (Konzentrationsabhängigkeit der photochemischen Leitung).

Das Kalottenmodell* der chlorin-substituierten Oxydase zeigt Abb. 6D: Die Leitung erfolgt über die beiderseitig der Wirkungsgruppe angegliederte α -Helix von der Chlorin-Endgruppe, welche in 6-Stellung konjugiert mit der Helix verknüpft ist, sowie über den benachbarten Phenylalanin-Rest (vgl. auch die räumliche Nachbarschaft der H-Atome der (Benzyl-)CH₂-Gruppe zur Peptid-Wendel, wie auch die Radikalotropie kerngebundener Methylgruppen^{34a} durch eine π -Komplex-Wechselbeziehung, welche in entsprechender Weise zwischen

dem Pyridin-Kern (Hämochromogenbildner) der Wirkungsgruppe ebenfalls zu der benachbarten Phenylalanin-Seitenkette die Leitung herstellt [Bedeutung der π -Komplexe für die Energieleitung (BRIEGLEB)^{34b}; die



Abb. 6D. Kalottenmodell des Bis-[N-(6-chlorin-e₆)]-poly-(phenylglu)-mesohäm-IX-2-Pyridin

Wirkungsgruppe ist mit der Polypeptidkette nicht konjugiert]. Die engen Wechselbeziehungen des Chlorin-Systems mit der Peptid-Struktur gehen auch aus der Existenz des (kristallisierten) Addukts des Mesochlorin e mit dem zyklischen Lysin-Peptiddisulfid (vgl. Abb. 24)

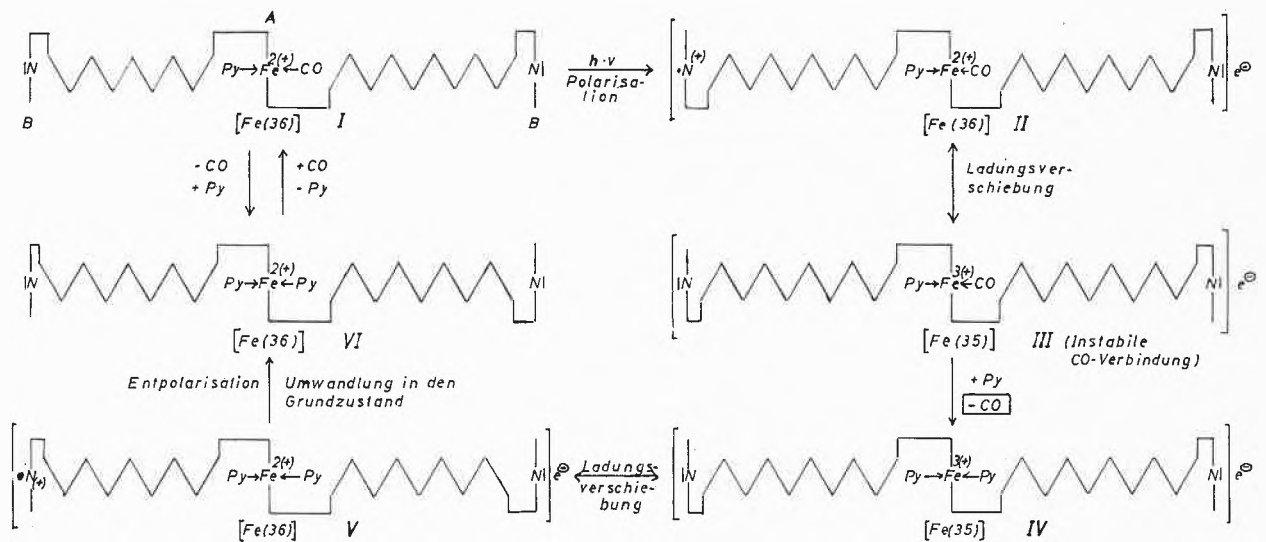
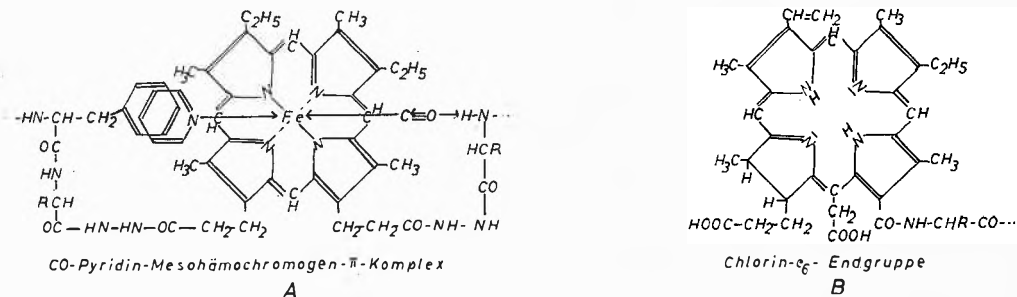


Abb. 6E. Mechanismus der photochemischen Dissoziation der CO-Verbindung des Bis-[N-(6)-chlorin-e₆]-poly-phenylalanin-glutaminsäure)-mesohäm-IX-pyridin-hämochromogens

* Von den (in Bild 6 D) Phe + Glu-Seitenketten der hier wiedergegebenen Wendelgänge der α -Helix sind aus Gründen der Übersichtlichkeit auf jeder Helix-Seite nur drei Phe-Seitenketten berücksichtigt und abgebildet. In der CO-Verbindung wird 1 Pyridin durch 1 CO ersetzt.

³⁴ W. KUHN und Mitarbeiter, Z. angew. Physik 4 (1952) 108.

^{34a} B. VENKATARAMAN und G. K. FRAENKEL, J. Amer. Chem. Soc. 77 (1955) 2707; vgl. Zahl der Spitzen der paramagnetischen Resonanzspektren des Hydrochinon-Semichinonions (5) sowie des Durochinon-Semichinonions (13).

^{34b} G. BRIEGLEB, Zwischenmolekulare Kräfte und Molekülstruktur, Stuttgart 1937.

hervor (Auflageaddukt). Die Entdeckung der α -Leitung war durch diese besonderen Glücksumstände begünstigt.

Die Verknüpfung der Wirkungsgruppe mit der Chlorin-Endgruppe über die α -Helix führt demnach zu einer (scheinbaren) *Verschmelzung* der Elektronensysteme beider farbgebenden Gruppen infolge von (durch die Helix fortgeleiteten) Polarisationswirkungen: Das Molekül verhält sich wie ein *mesomeriefähiges* System, wie es für die Funktion von Redoxasen entworfen wurde [vgl. Schema 3 in *Kolloid-Z. 161* (1958) 24]. Wir erblicken in dem Nachweis der α -Leitung gleichzeitig den Beweis für einen Elektronenaustausch zwischen Wirkungsgruppe und Substrat-Wirkungs(einschluß)bereich (vgl. Schema 5, ebenda, S. 34).

Auch *optisch* läßt sich der Nachweis führen:

Jede Änderung an der Wirkungsgruppe ($\text{Fe}^{2+} \rightleftharpoons \text{Fe}^{3+}$) führt zu einer Extinktionsveränderung der Rotbande der Chlorin-Endgruppen [vgl. in Abb. 9, *Kolloid-Z. 161* (1958) 18] Veränderung der Extinktionen beim Übergang der Hämi-(I) in die Hämo-(II)chromogen-Stufe]. Ähnliches gilt auch beim Vergleich der (hier nicht wiedergegebenen) Kohlenoxydverbindung mit dem Pyridin-Hämochromogen des Modells.

Aus der *Extinktion* der Rotbande läßt sich deshalb *keine Angabe* über die *Konzentration* an Chlorin-End-

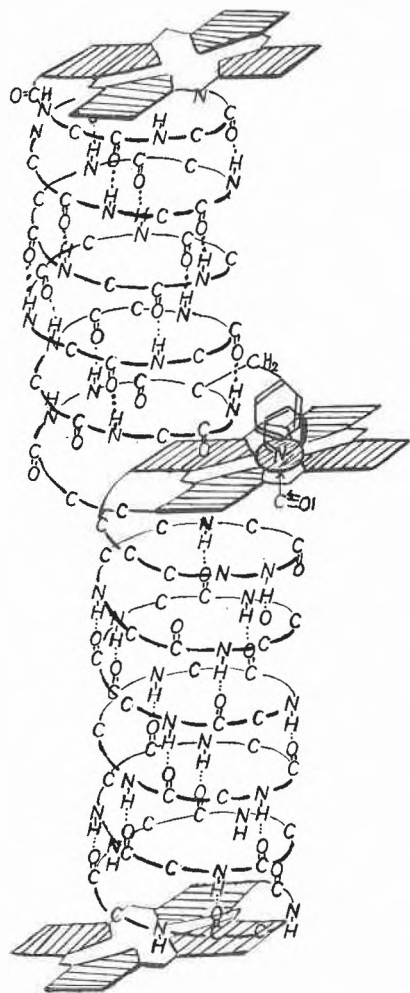


Abb. 6 F

gruppen herleiten. Dies ist vermutlich auch der Grund, warum die pK -Werte aus magnetischen und spektrophotometrischen Messungen von Gleichgewichten, z. B. Hämoglobin-HCN, voneinander abweichen^{34c}.

Der Vorgang beruht auf *Elektronenverschiebung*: Stabilisierung durch Ausbildung der Edelgaskonfiguration an der Wirkungsgruppe beim Übergang des Hämi-chromogens in das Hämochromogen. Dies hat zur Folge, daß das Molekül Radikalcharakter annimmt. Vermutlich ist das einsame Elektron nicht zu lokalisieren, da die Elektronenanordnung zwischen den beiden Grenz-anordnungen «hängen» bleibt.

Der Ladungsausgleich entspricht dem bei der Berliner-Blau-Gruppe^{34d}, welcher sich hier zwischen Liganden und Zentralatom, in unserem Fall über lange Bereiche geordneter Peptidstrukturen, vollzieht. Nach R. S. MULLIKEN^{34e} ist die durch *Anregung* erzeugte *Polarisation* der π -Elektronen mit einem Ladungstransport verknüpft. Wir stellen uns deshalb die *photochemische Dissoziation* wie folgt vor:

Das Kohlenoxyd-Hämochromogen (Abb. 6 E, I) [$[\text{O} \rightleftharpoons \text{C} \rightarrow \text{Fe}^{2(+)} (\bar{\text{N}} <) _5 (3d 10, 4s 2, 4p 6)]$] unseres chlorin-substituierten Oxydase-Modells unterliegt bei Einstrahlung von Licht in die Rotbande der Endgruppe einer durch die Helix verlaufenden *Polarisation*; der Grenzzustand II wird dabei nicht erreicht. Dies hat eine Ladungsverschiebung zur Folge (II \rightarrow III): da CO-Hämichromogene [$[\text{O} \rightleftharpoons \text{C} \rightarrow \text{Fe}^{3(+)} (\bar{\text{N}} <) _5 (3d 10, 4s 2, 4p 5)]$] *unstabil* sind, zerfällt das Molekül spontan (III \rightarrow IV). Dies hat zur Herstellung der Kryptonkonfiguration eine erneute Ladungsverschiebung zur Folge (IV \rightarrow V). Nach Rückkehr in den Grundzustand (VI) [$[\text{Fe}^{2(+)} (\bar{\text{N}} <) _6 (3d 10, 4s 2, 4p 6)]$] erfolgt Bildung der Ausgangsverbindung I (vgl. Ergebnisse magnetischer Messungen: CO-Hämoglobin^{34f} sowie Äthylcarbylamin-hämoglobin^{34g} (keine ungepaarten Elektronen) im Gegensatz zum Hämoglobin^{34h} (5 ungepaarte Elektronen), Hämoglobincyanid (ein ungepaartes Elektron).

Es läßt sich vorerst nicht entscheiden, ob der Weg der Leitung über die ebene α -Helix-Oberfläche (drei Leitungsbahnen, vgl. Abb. 6 F) oder über die hyperkonjugierte Struktur der Helix-Einheiten verläuft. Beide Wege sind offenbar möglich, denn sowohl die α - wie auch die β -Form zeigen Leitungseffekte, wie die früheren Untersuchungen bei Einstrahlung in die aromatischen Seitenketten der Phenylalanin-Reste gezeigt haben (Messungen an der β -Form, pH 9,45³¹).

^{34c} C. D. CORYELL, F. STITT und L. PAULING, *Amer. Chem. Soc.* 59 (1937) 633; R. HAVEMANN, *Biochem. Z.* 314 (1943) 118, ebenda 316 (1943) 138.

^{34d} FR. HEIN, *Chemische Koordinationslehre*, Leipzig 1950, vgl. S. 296.

^{34e} *J. Chem. Physics* 7 (1939) 14, 20, 21.

^{34f} L. PAULING und C. D. CORYELL, *Proc. Nat. Acad. Sci.* 22 (1936) 210.

^{34g} CH. D. RUSSEL und L. PAULING, ebenda 25 (1939) 517.

^{34h} C. D. CORYELL und L. PAULING, *J. Biol. Chem.* 132 (1940) 769; C. D. CORYELL, F. STITT und L. PAULING, *J. Amer. Chem. Soc.* 59 (1937) 633.

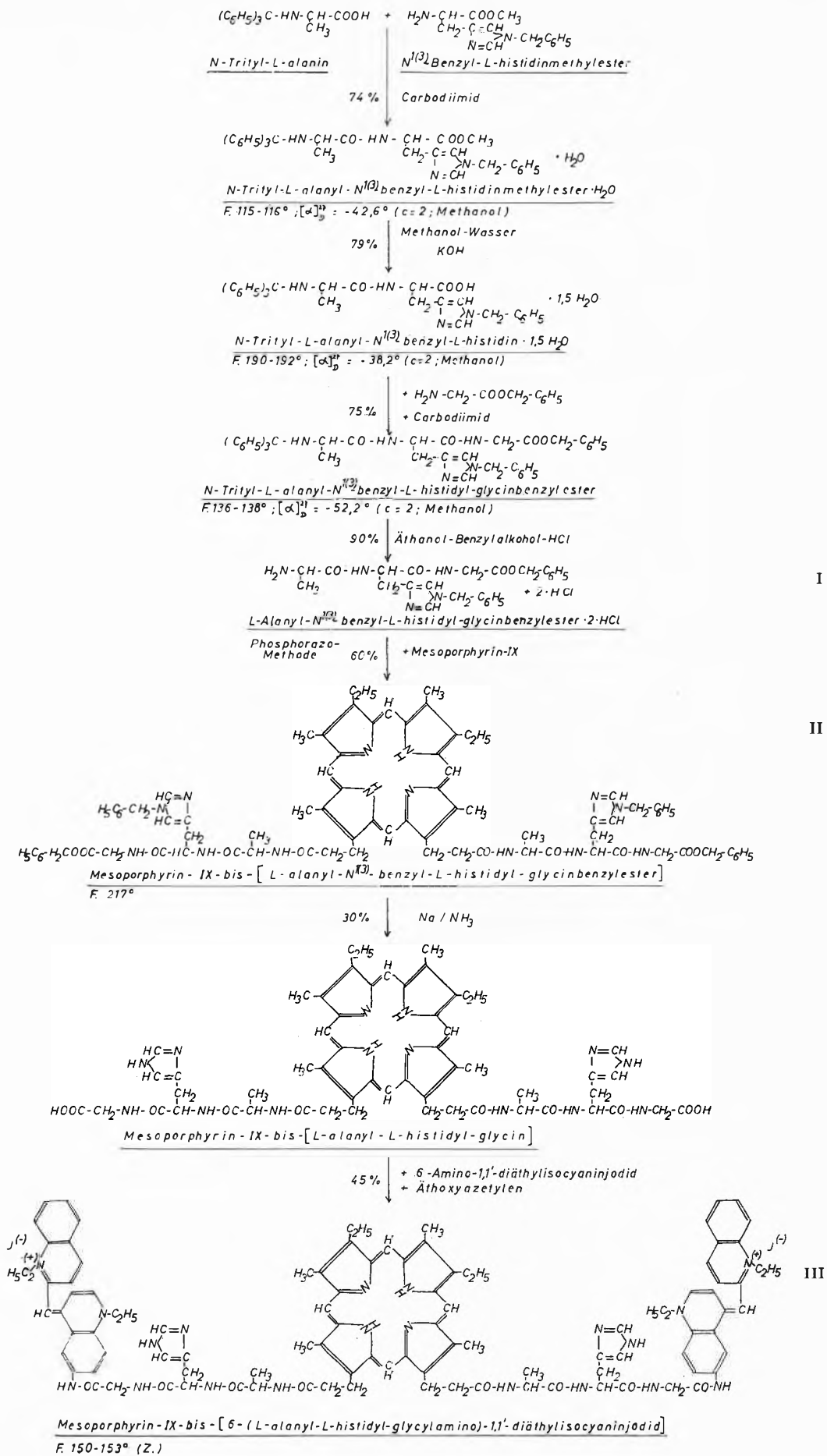


Abb. 7

b) Nachweis der β -Leitung auf optischem Wege

Kürzlich konnten wir bei der Bearbeitung des Problems der *Energieübertragung* zwischen *getrennten* Polypeptidketten wahrscheinlich machen, daß *aromatische* bzw. *heterozyklische* Seitenketten der die Peptidketten aufbauenden Aminosäure-Reste erforderlich sind, denn der Poly-alanin-Typ war zur Energieübertragung nicht befähigt: die zu erwartende Vervielfachung der photochemischen Zerfallskonstante bei der Spaltung des Kohlenoxydkomplexes des Mesohämin-poly-(phenylalanin-glutaminsäure)-pyridin-hämochromogens blieb bei Einstrahlung in die Isocyaningruppe des Polyalanyl-6-amino-diäthyl-isocyanin-jodids³⁵ aus.

Mit H.-J. JULIUS wurde deshalb die *Synthese* des Mesoporphyrin-IX-bis-[6(L-alanyl-L-histidyl-glycyl-amino)-

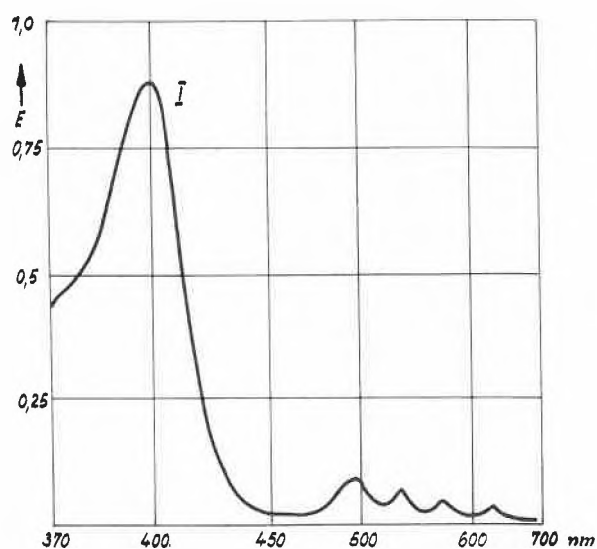
³⁵ W. LAUTSCH, W. BROSER und V. GÖDICKE, *Z. Naturforsch.* 12b (1957) 303; vgl. auch W. LAUTSCH und Mitarbeiter, *Kolloid-Z.* 161 (1958) 1, insbesondere S. 24-5.

1,1'-diäthyl-isocyanin-jodids] (Formel III in Bild 7) durchgeführt.

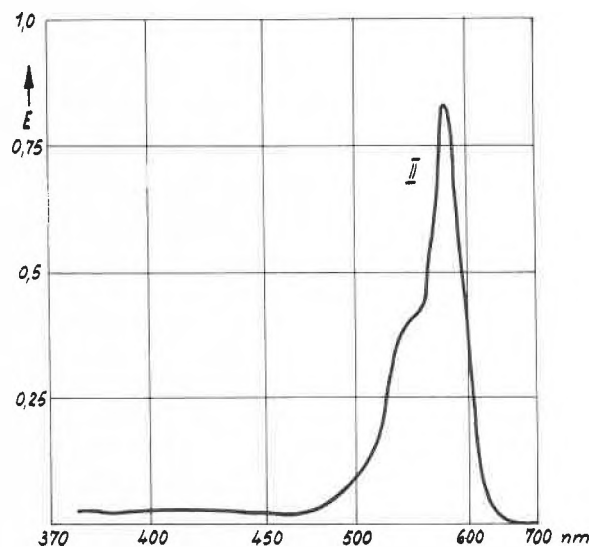
Zu diesem Zweck wurde der mit P. ZSCHENDERLEIN hergestellte L-Alanyl-N-1(3)-benzyl-L-histidyl-glycin-benzylester I nach der Phosphorazo-Methode mit Mesoporphyrin IX zum Mesoporphyrin-IX-bis(L-alanyl-N1(3)-benzyl-L-histidyl-glycin-benzylester) gekuppelt (II), ein Verfahren, das mit B. WIEMER sich als erfolgreich zur Verknüpfung von Porphinpropionsäuren mit Polypeptiden zwecks Gewinnung *linearer* Oxydase-Modelle mit elektronenfortleitenden, komplexbildenden *Histidin*-Resten erwiesen hat³⁶. Nach Abspaltung der Schutzgruppen nach DU VIGNEAUD mit Natrium in flüssigem NH_3 wurden die Carboxyl-Endgruppen des Mesoporphyrin-IX-bis-(L-alanyl-L-histidyl-glycin) mit dem 6-Amino-1,1'-diäthyl-isocyanin-jodid durch Anwendung des Äthoxy-acetylen-Verfahrens von J. F. ARENS³⁷ umgesetzt (III).

³⁶ W. LAUTSCH und Mitarbeiter, *Kolloid-Z.* 161 (1958) 1, Teil IV, Schema 7, S. 38.

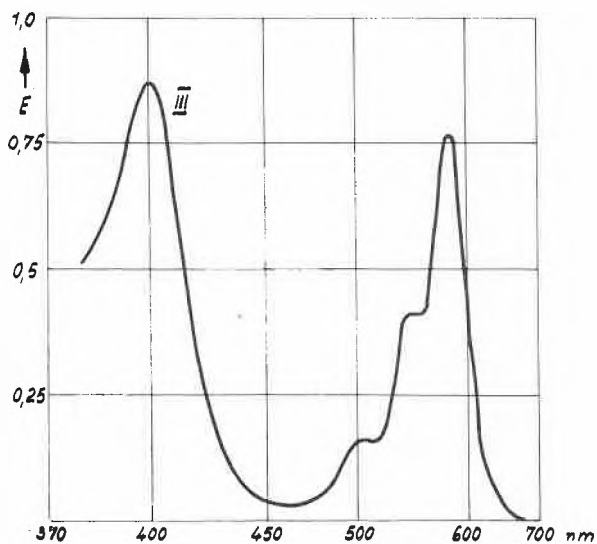
³⁷ *Recueil Trav. Chim. Pays-Bas* 74 (1954) 769.



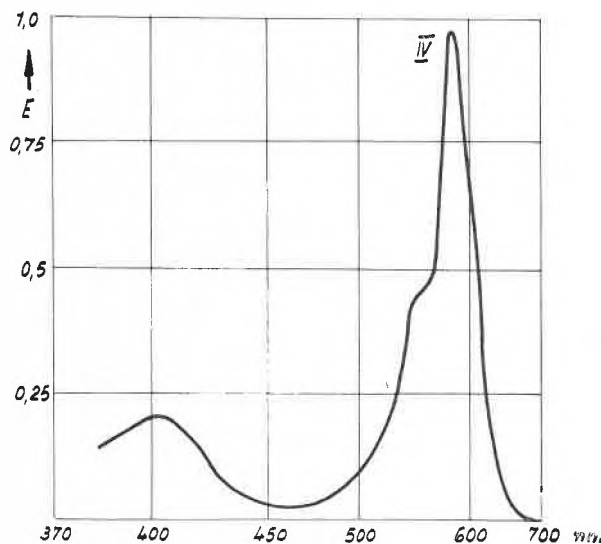
I: Mesoporphyrin-IX-dimethylester. $c = 4,952 \cdot 10^{-6}$ m;
 $\epsilon_{402} = 1,79 \cdot 10^5$



II: 6-Carbobenzoxycyclamino-1,1'-diäthylisocyaninjodid.
 $c = 2 \cdot 4,952 \cdot 10^{-6} = 9,904 \cdot 10^{-6}$; $\epsilon_{574} = 0,84 \cdot 10^5$



III: Gemisch aus I und II im Molverhältnis 1:2.
 $c_1 = 4,952 \cdot 10^{-6}$; $c_2 = 2 \cdot 4,952 \cdot 10^{-6} = 9,904 \cdot 10^{-6}$;
 $\epsilon_{402} = 1,76 \cdot 10^5$; $\epsilon_{574} = 0,78 \cdot 10^5$



IV: Mesoporphyrin-IX-bis-[6-(L-alanyl-L-histidyl-glycylamino)-1,1'-diäthylisocyaninjodid]. $c = 4,952 \cdot 10^{-6}$; $\epsilon_{402} = 0,43 \cdot 10^5$;
 $\epsilon_{573} = 1,99 \cdot 10^5$

Wie man aus den Absorptionsspektren (vergleichbare Konzentrationen) in Bild 8 entnimmt, ist das Modell III (Kurve IV) auf Grund der Lage der Absorptionsmaxima im Blau und Rot ausgezeichnet für photochemische Untersuchungen durch Messungen der CO-Dissoziation bei vergleichender Einstrahlung in die Blaubande der Wirkungsgruppe bzw. in die hohe Rotbande der Iso-cyanin-Endgruppen geeignet, wie sich dies durch Vergleich der Absorptionskurve für das acylierte Amino-isocyanin (Kurve II) mit der prosthetischen Gruppe (Mesoporphyrin IX, Kurve I) ergibt. In Kurve III liegt

Offensichtlich erfolgt der Elektronen-Übergang von der *Sensibilisator*gruppe (Elektronen-Donator) über die Peptidkette durch Vermittlung des Histidin-Rests zum *Porphin*-Gerüst (Elektronenakzeptor), also über dieselbe Gruppe (Imidazol), welche bei den Hämochromogenen die Leitung zum Zentralatom bewirkt: Der Effekt entspricht dem einer *Hydrierung* (Umwandlung in den Leukofarbstoff).

Eine unmittelbare Wechselbeziehung der π -Elektronen durch Aufeinanderlagerung von Wirkungs- und Endgruppe ist nicht auszuschließen (Bild 9), die Bildung

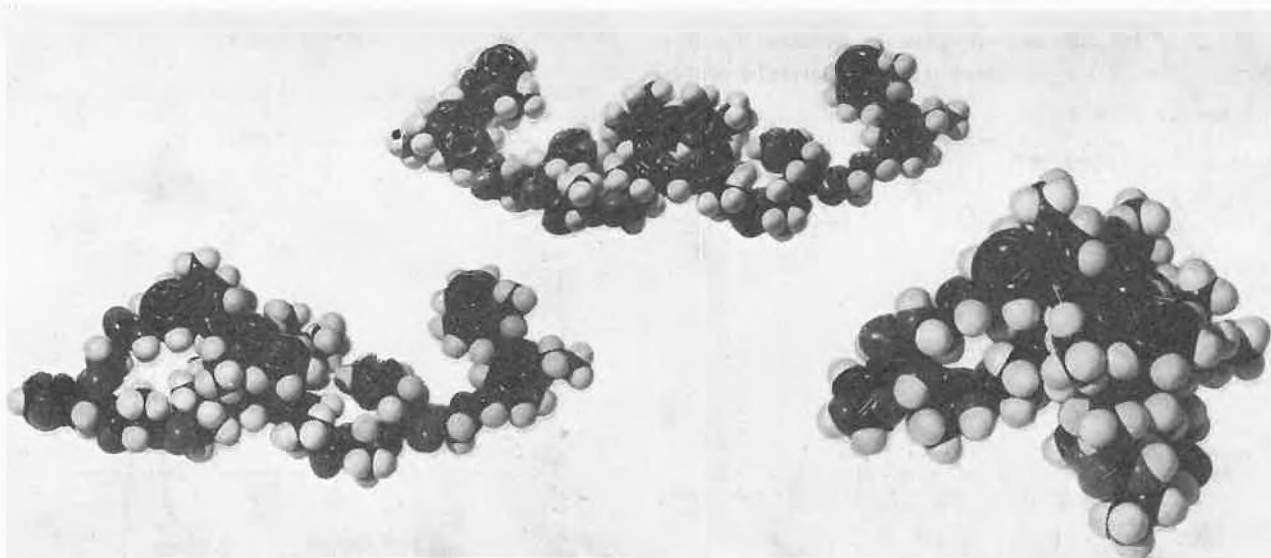


Abb. 9. Kalottenmodelle des Mesoporphyrin-IX-bis-[6(L-alanyl-L-histidyl-glycylamino)-1,1'-diäthylisocyaninjodid]

die *Mischung* aus acyliertem Amino-Isocyanin und Mesoporphyrin-IX im Molverhältnis 2:1 vor, d. h. im selben Molverhältnis, wie es in dem Modell III (Kurve IV) unter Peptidketten-Verknüpfung enthalten ist. Der Vergleich der Extinktionen der Mischung (Kurve III) sowie der Komponenten (Kurven I und II) mit dem Modell (Kurve IV) führt zu dem überraschenden Ergebnis, daß die Extinktion der *Blaubande* des Mesoporphyrins bei 402 nm auf etwa ein Viertel gesunken ist (von $1,76 \cdot 10^5$ auf $0,43 \cdot 10^5$), während die *Rotbande* des Isocyanins eine Erhöhung erfahren hat (von $0,78 \cdot 10^5$ auf $1,99 \cdot 10^5$). Deshalb entfallen Konzentrationsbestimmungen von farbgebenden Gruppen durch Extinktionsmessung ihrer Banden. Aus demselben Grunde führt die Vermessung der Rotbande des Chlorin-Modells (Abb. 6B, I) zu falschen Aussagen über den Gehalt an Chlorin-Endgruppen.

Das Ergebnis bedeutet, daß die beiden farbgebenden Gruppen in Gestalt des Mesoporphyrins IX und der Isocyanin-Reste vermutlich über die Peptidkette in eine Wechselbeziehung getreten sind, wie dies von Polyenen her bekannt ist, d. h. die die beiden farbgebenden Gruppen verknüpfende *Polypeptidkette* verhält sich wie ein konjugiertes System.

von Scheibeschens «Polymeren» scheidet jedoch aus (Messung im Konzentrationsgebiet 10^{-5} bis 10^{-6} m).

In dieses Untersuchungsergebnis fügen sich zwanglos unsere früheren Befunde über die Energiefortleitung in Peptidketten von Oxydase-Modellen ein, die an der β -Form (bei pH 9,45) durchgeführt wurden³⁸, wie auch unsere *polarographischen* Untersuchungen an Cytochrom-Modellen, welche – ebenfalls an der β -Form (in $n/10$ NaOH) dieser Modelle zu einer Verzwanzigfachung der Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten für das Modell beim Vergleich mit dessen Wirkungsgruppe für die Reduktionsstufe des Wasserstoffperoxyds geführt hatten³⁹. Auch aus diesen Untersuchungen folgt, daß beide Strukturen (α - und β -Form) zur Energieleitung befähigt sind.

Die mit H.-J. JULIUS und I. SOMMER aufgebauten Modelle sind für die Vorgänge in der photographischen Platte sowie allgemein für photochemische Vorgänge, insbesondere für Modellreaktionen zur Assimilation, von Interesse. Wir haben bereits mit derartigen Untersu-

³⁸ W. BROSER und W. LAUTSCH, *Z. Naturforsch.* 11b (1956) 453.

³⁹ W. LAUTSCH und Mitarbeiter, *Kolloid-Z.* 144 (1955) 82, vgl. insbesondere Abb. 1 a und 1 b auf S. 82 und 83.

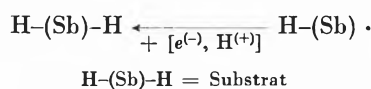
chungen, die Dissoziations-, Umlagerungs- und Kondensationsreaktionen zum Gegenstand haben, begonnen.

Auch zum Studium von Vorgängen, die den *Seh-* und *Hörvorgang* betreffen, könnten diese Modelle von Interesse sein: Die Untersuchung der Photoleitung nach Einschaltung eines Einschlußbereiches mit Disulfid- oder Cyclopeptidstruktur (in III, Abb. 7) [vgl. auch Abb. 17, S. 100, in *Kolloid-Z.* 144 (1955) 82] zur Aufnahme eines Farbstoffmolekels⁴⁰ oder eines Gasmolekels⁴¹ in die die farbgebenden Gruppen verknüpfende Peptidkette sollte zum Chemismus dieser Vorgänge beitragen, denn angeregte Zustände (Farbstoffeinschluß) und druckabhängige Gleichgewichte (Gaseinschluß) müssen durch Extinktionsveränderungen der farbgebenden Endgruppen nachweisbar und meßtechnisch verfolgbar sein.

c) Radikalotropie

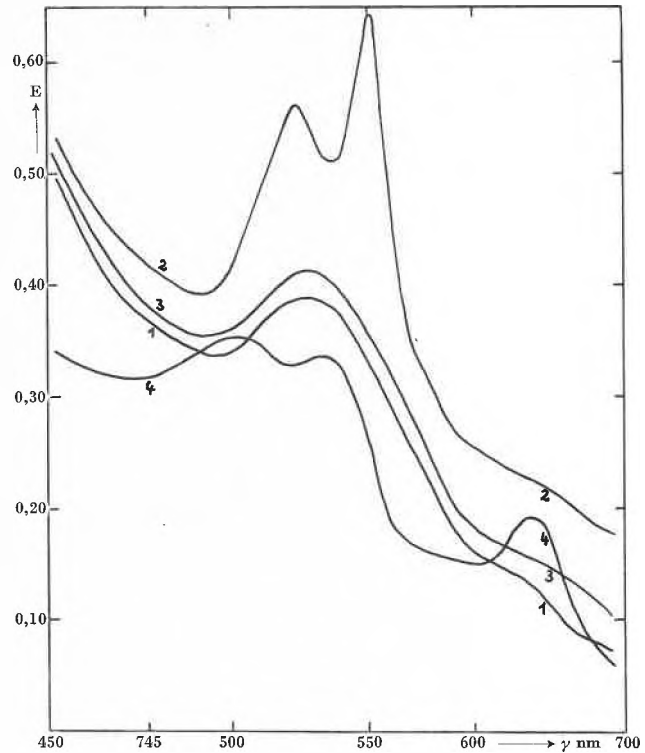
Daß eine mit einem Redoxsystem verknüpfte Peptidkette *Radikalcharakter* annehmen kann, zeigen die mit E. BOEDEFELD durchgeführten Versuche (Bild 10).

Das Mesohämin-IX-bis-[L-histidyl-L-tyrosin] (I) besitzt *Zwitterionenstruktur* und liegt sowohl in Phosphatpuffer (pH 7,3) wie auch in Dimethylformamid-Benzol als Histidin-hämichromogen (Kurve 1, Abb. 10) vor. Reduktionsmittel, wie Dithionit, überführen I in das Hämochromogen (II, Kurve 2), dessen (schwer formulierbare) polarisierte Grenzform III bzw. ein zwischen beiden Grenzformen liegender Zustand durch Zusatz von *Triphenylmethyl* einem Ladungsaustausch zum Hämichromogen (Kurve 3) unterliegt, ein Vorgang, der nur mit der Annahme eines dem *gesamten System* angehörenden *ungepaarten* Elektrons, welches an das Tritylradikal unter Bildung des Salzes IV abgegeben wird, zu verstehen ist: Ein unmittelbarer Elektronenübergang vom Zentralatom zum Tritylradikal scheidet aus *räumlichen Gründen* aus. Als *Beweis* dafür kann der Übergang des Hämichromogens (I) unter Zusatz von *Tritylchlorid* unter Tritylierung des am Aufbau von I beteiligten Histidin- und Tyrosin-Restes in das *Hämin* (V, Kurve 4) gelten, eine Umwandlungsreaktion, die auch auf Zusatz von *Triphenylmethyl* (im Überschuß) beobachtet wird. Die raumsperrende, mit dem Imidazolring in Resonanz tretende Triphenylmethylgruppe am Histidinrest löst die koordinativen Bindungen der beiden Histidinreste zum Eisen. Auch eine Addition des Tritylchlorids an das Zwitterion unter Veresterung muß in Betracht gezogen werden. Im übrigen entspricht der Hydrierungsprozeß II → IV dem von der Semichinon- zur Hydrochinonstufe verlaufenden Vorgang des im Redoxgleichgewicht stehenden Substrats [vgl. Schema 3, S. 24, *Kolloid-Z.* 161 (1958) 1]:



⁴⁰ W. LAUTSCH und D. GÜNTHER, *Naturwiss.* 44 (1957) 492.

⁴¹ W. LAUTSCH, H. RAUHUT, W. GRIMM und W. BROSER.



- 1 Hämichromogen
 - 2 Hämochromogen, aus 1 + Dithionit
 - 3 Hämichromogen, aus 2 + Triphenylmethyl
 - 4 Mesohämin-IX-bis-[L-histidyl-L-tyrosin], aus 1 + Tritylchlorid sowie 1 + Triphenylmethyl
- c = 5 · 10⁻⁵ m in Dimethylformamid/Benzol (9:1)

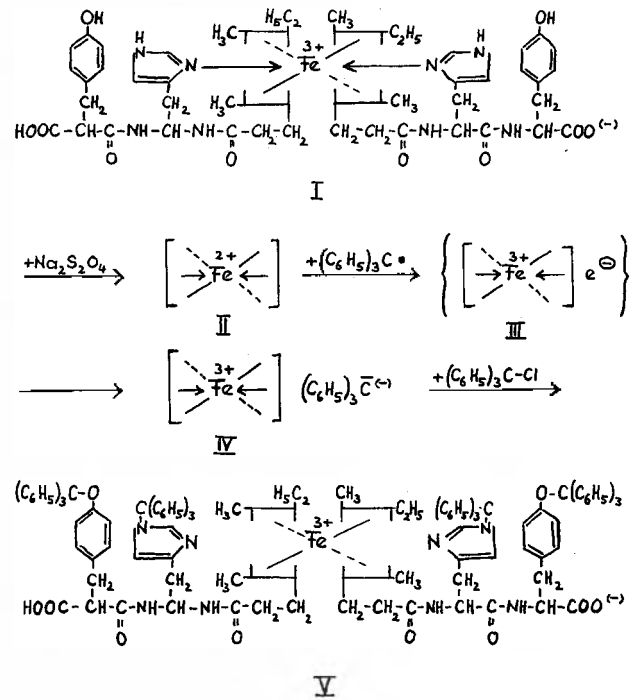


Abb. 10. Mesohämin-IX-bis-[L-histidyl-L-tyrosin] und seine Derivate