

Abb. 3. Der Zusammenhang der μ -Werte mit dem O_2 -Verbrauch der Leber des Frosches (in verschiedenen Körpergewichtsklassen). Q_{O_2} bei 25 °C angegeben.

Höhe der Gewebsatmung ist jedoch von anderer Art, wenn jeweils nur ein einziges Gewebe betrachtet wird, wie es z. B. in Abb. 3 für die Leber des Frosches geschieht. Mit Erhöhung des O_2 -Verbrauchs kommt es hier auch zu einer Erhöhung des μ -Wertes, die im angeführten Beispiel mit $t = 3.75$ und $P < 0.01$ signifikant ist. Der gleiche Befund läßt sich

auch an der Hautatmung des Frosches erheben. Dieser Zusammenhang ist jedoch nur ein präziserer Ausdruck für die schon bekannte Tatsache, daß der μ -Wert der Gewebsatmung mit Zunahme der Körpergröße abnimmt⁸, in bezug auf welchen Parameter sich auch der O_2 -Verbrauch der Gewebe (im intraspezifischen Vergleich) vermindert. Weil nun der O_2 -Verbrauch der Kaltblütorgewebe im allgemeinen niedriger ist als der der homologen Warmblütorgewebe, könnte eine gleichartige, sich über Kalt- und Warmblütorgewebe gemeinsam erstreckende Beziehung zwischen μ -Wert und Höhe der Gewebsatmung erwartet werden. Die für die verschiedenen Gewebe von Ratte und Frosch vorgelegten Befunde zeigen demgegenüber, daß die Beziehung zwischen μ -Wert und O_2 -Verbrauch nicht einfach unter dem Gesichtspunkt einer positiven Regression verstanden werden kann.

Die Untersuchung wurde durch Verleihung des Förderungspreises der Theodor-Körner-Stiftung an den einen von uns (A. L.) unterstützt.

⁷ A. LOCKER, Biol. Zbl. **78**, 383 [1959].

⁸ A. LOCKER, Experientia [Basel] **14**, 326 [1958].

Die indirekte Wirkung von Röntgenstrahlen auf Lysin

VON GERNOT PETER*, THEODOR WIELAND UND BORIS RAJEWSKY

Aus dem Organischen Institut der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main und dem Max-Planck-Institut für Biophysik Frankfurt am Main

(Z. Naturforsch. **16b**, 198–206 [1961]; eingegangen am 4. Oktober 1960)

Es wird versucht, Beweise für die indirekte Strahlenwirkung zu erbringen und die einzelnen Reaktionsschritte, die bei Röntgenstrahlen-Wirkung auf wäßrige Lysinlösungen ablaufen, zu erkennen. Zur Untersuchung der durch HO_2 oder OH-Radikale ausgelösten Wirkungen wurden 2 Versuchsreihen durchgeführt:

1. Bestrahlung bei Anwesenheit von Sauerstoff,
2. Bestrahlung bei Sauerstoffmangel.

Außerdem wurde der Einfluß der Dosis, Dosisleistung, Temperatur und verschiedener Substratkonzentrationen untersucht.

Schließlich wurde versucht, die experimentell gewonnenen Ergebnisse mit Hilfe von Radikalwirkungen, die sich auf

- a) Decarboxylierungen,
 - b) Desaminierungen,
 - c) und Veränderungen des Kohlenstoff-Gerüsts
- erstrecken, zu deuten.

Über die Einwirkung von Röntgenstrahlen auf Aminosäuren liegen bereits mehrere Untersuchungen vor^{1–7}, die jedoch nicht zu einem vollen Ver-

ständnis des äußerst komplexen Geschehens geführt haben. Wir versuchen mit der vorliegenden Abhandlung einen weiteren Beitrag zu liefern, der in einer

* Dissertation, Universität Frankfurt a. M. 1960, D 30.

¹ N. E. SHARPLESS, A. E. BLAIR u. C. R. MAXWELL, Rad. Res. **2**, 135 [1955].

² E. S. G. BARRON, J. AMBROSE u. P. JOHNSON, Rad. Res. **2**, 145 [1955].

³ N. E. SHARPLESS, D. C. PETERSON u. C. R. MAXWELL, Rad. Res. **1**, 530 [1954].

⁴ A. BABICKY, J. LIEBSTER u. J. KOLOUSEK, Nature [London] **179**, 521 [1957].

⁵ R. A. JOHNSON, G. SCHOLES u. J. WEISS, Science [Washington] **114**, 412 [1951].

⁶ G. STEIN u. J. WEISS, J. chem. Soc. [London] **1949**, 3256.

⁷ W. M. DALE u. V. DAVIES, Biochem. J. **48**, 129 [1951].

genauen Analyse der Bestrahlungsprodukte von Lysin in wäßriger Lösung besteht.

Physikalische Charakterisierung

a) Der Mechanismus des Energieverlustes

Jede Strahlung stellt eine Energie dar, die auf das bestrahlte System übertragen wird. Der quantitative Ausdruck für die Energieaufnahme des Systems wird durch das Ausmaß der Strahlenschwächung beherrscht, d. h. die Schwächungsphänomene sind es, die Art und Größe der Energieübertragung auf das bestrahlte System bedingen.

Obwohl es sich bei den benutzten Röntgenstrahlen um weiche Strahlen (45 und 56 kV Scheitelspannung), d. h. um Strahlengemische handelt, behält das für monochromatische Strahlungen aufgestellte Schwächungsgesetz seine Gültigkeit, da mit Hilfe der ermittelten Werte für die Halbwertsschicht (HWS) in Wasser diejenige monochromatische Röntgenstrahlung, welche die gleiche HWS besitzt, ermittelt wurde. Eine Übersicht über die gewonnenen Daten wird in nachstehender Tabelle gegeben.

Röhrentyp	HWS [mm]	Scheitelspannung U_s [kV]	Effektive Energie E_{eff} [keV]	Mittlerer linearer Energieverlust ⁸ der ausgelösten Elektronen in Wasser dE/dx [keV/ μ]
Dermopan-Röhre von Siemens	10,2	45	10	3
Hochleistungs-Röhre	11	56	22	1,17

Tab. 1. Physikalische Daten der berechneten monochromatischen Röntgenstrahlen.

Im Bereich der hier benutzten Röntgenstrahlen treten zwei verschiedene Mechanismen in Erscheinung, durch welche Strahlungsenergie auf das bestrahlte System übertragen wird, nämlich

1. der Photoeffekt,
2. der Compton-Effekt.

Der Anteil des Photo- und Compton-Effektes am Energieverlust ist in Abb. 1 wiedergegeben.

Neben dem Energieunterschied der Elektronen, die durch Photo- und Compton-Effekt ausgelöst werden, besteht noch ein wichtiger Unterschied in der Energieumsetzung, wie aus Abb. 2 und Tab. 2 ersichtlich wird.

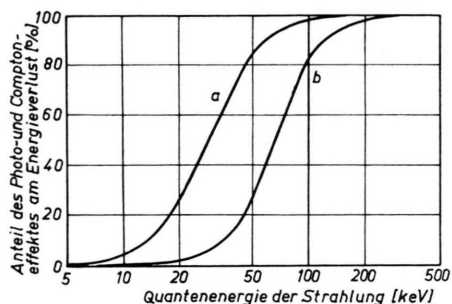


Abb. 1. Relative Bedeutung des Photo- und Compton-Effektes für den Energieverlust von Röntgenstrahlen in Wasser: a) Anteil der durch den Compton-Effekt erzeugten Elektronen an der Gesamtzahl der Elektronen; b) Prozentsatz der Gesamtenergie, der in den Compton-Elektronen erscheint (die Differenz zwischen den eingezeichneten Werten und 100% ist den Photoelektronen zuzuschreiben).

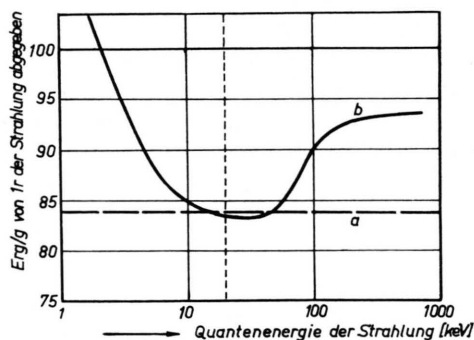


Abb. 2. Absorbierter Energiebetrag, bezogen auf 1 g verschiedener Strahlungen (nach LEA⁹). Kurve a) in Luft (festgelegt durch die Definition des Röntgen); b) in Wasser.

Quantenenergie $h\nu$ in keV	an der Gesamtzahl der Elektronen beteiligte		Anteil der Gesamtenergie, der erscheint in	
	Photo-Elektronen	Compton-Elektronen	Photo-Elektronen	Compton-Elektronen
10	0,955	0,045	0,999	0,001
22	0,650	0,350	0,967	0,033

Tab. 2. In Wasser durch Röntgenstrahlen ausgelöste Photo- und Compton-Elektronen.

Man sieht, daß bei Bestrahlung mit der Dermopanröhre die durch die Compton-Elektronen hervorgerufenen Wirkungen vernachlässigt werden können, während bei Bestrahlung mit der Hochleistungs-röhre der an der Gesamtzahl der Elektronen beteiligte Anteil der Compton-Elektronen nicht mehr unberücksichtigt bleiben kann.

b) Die Ionisationsdichte

Alle gewonnenen Erkenntnisse über die Ionisationsdichte beziehen sich fast ausschließlich auf

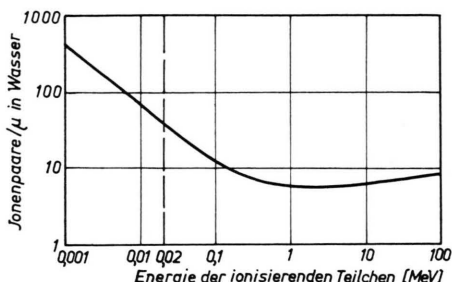


Abb. 3. Ionisationsdichte (Ionenpaare pro μ) von Elektronen unterschiedlicher Energie in Wasser.

Gase. Für die Interpretation der Werte der spezifischen Ionisation in Wasser (Abb. 3) nimmt man an, daß sich ein kondensiertes System gegenüber ionisierenden Teilchen genauso verhält wie ein Gas derselben atomaren Zusammensetzung.

Zur Bestimmung der Ionisationsdichte eignen sich im Prinzip die von GRAY¹⁰ sowie von CORMACK und JOHNS¹¹ entwickelten Methoden, deren Ergebnisse zu dem in Abb. 4 skizzierten Kurvenverlauf führen.

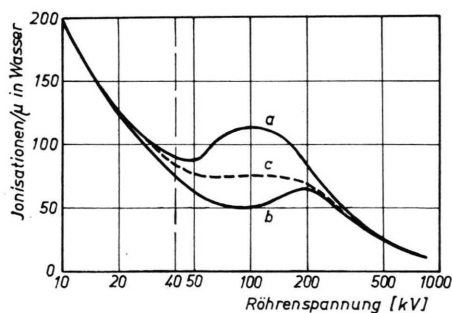


Abb. 4. Anzahl der Ionisationen pro μ in Wasser in Abhängigkeit der Röhrenschnung; a) berechnet nach der Methode von Gray, b) nach Cormack und Johns, c) Mittelwert von a und b.

Kurze Beschreibung der Versuchsführung

Je 1 cm³ einer Lysin-Stammlösung wurde in ein V4A-Schälchen abpipettiert, in ein Bestrahlungsgefäß aus Kupfer gesetzt, das seinerseits auf einem Kupferblock ruhte und anschließend bestrahlt. Das Bestrahlungsgefäß war mit einer Hostaphanfolie von 15 μ überspannt, um die Schwächung der Röntgenstrahlen gering zu halten. Die bestrahlten Lösungen wurden ge-

sammelt, im Vakuum zur Trockne gebracht und mit 1 cm³ 6-fach dest. Wasser aufgenommen.

Zur Auftrennung der Bestrahlungsprodukte mittels der Hochspannungs-Elektrophorese¹² wurden folgende Pufferlösungen verwendet:

- Pyridin-Eisessig-Puffer: 100 cm³ Pyridin + 10 cm³ Eisessig mit Wasser auf 1000 cm³ auffüllen (p_H 6,0),
- Eisessig-Ameisensäure-Puffer: 150 cm³ Eisessig + 50 cm³ Ameisensäure mit Wasser auf 1000 cm³ auffüllen (p_H 1,9),
- Borat-Puffer: Lösung A: 10,1 g Na₂B₄O₇ · 10 H₂O/l; Lösung B: 6,81 g Kaliumbiphosphat/l; 830 cm³ von Lösung A werden mit 170 cm³ der Lösung B vermischt (p_H 9,0).

Bei der papierchromatographischen Trennung gelangten folgende Fließmittel zur Anwendung:

- Fließmittel für freie Aminosäuren
Phenol : Wasser = 100 : 20,
n-Butanol : Eisessig : Wasser = 40 : 10 : 50,
n-Butanol : Eisessig : Wasser = 250 : 60 : 250,
n-Butanol : Ameisensäure : Wasser = 600 : 50 : 50,
2,6-Lutidin : Collidin : Wasser = 1 : 1 : 1
+ 1% Diäthylamin.
- Fließmittel für Diamine
100 g Phenol werden mit einer wäßrigen Lösung, die 6,3% Natriumcitrat und 3,7% Natriumdihydrogenphosphat enthält, gesättigt.
- Fließmittel für DNP-Aminosäuren¹³.

Die zum Vergleich erforderlichen DNP-Aminosäuren wurden nach GLICK¹⁴ und RAO und SOBER¹⁵ hergestellt. Für die quantitativen Bestimmungen wurden die Elektropherogramme bei 90 °C getrocknet und mit einer Lösung von 0,5% Ninhydrin in n-Butanol : Pyridin = 100 : 5 gleichmäßig besprüht. Nach Entwicklung der Farbstoffe durch 30-minütiges Erhitzen in einem Trockenschrank bei 90 °C wurden die einzelnen Fraktionen herausgeschnitten und mit einer gesättigten methanolischen Kupferacetat-Lösung eluiert. Die Bestimmung der Extinktion erfolgte mit dem Beckman-Spektralphotometer bei 510 m μ . Durchführung einer Kontrollanalyse eines Aminosäuregemisches bekannter Zusammensetzung ist erforderlich.

Die Keto-Aminosäure wurde durch Überführung in 2,4-Dinitrophenylhydrazon¹⁶ und durch Besprühen mit o-Phenylendiamin¹⁷ nachgewiesen.

Der Nachweis der Polyhydroxyamine erfolgte nach einer von BUCHANAN¹⁸ angegebenen Methode.

Die Bestrahlungen wurden mit der Dermopan-Anlage von Siemens und einer im MPI für Biophysik aufgestellten Hochleistungs-Röntgenröhre durchgeführt. Daten der Apparaturen unter Versuchsbedingungen: a) 45 kV, 25 mA; Eigenfilterung: 1 mm Be; Dosis-

⁸ W. HEITLER, The Quantum Theory of Radiation, Oxford University Press, 1954.

⁹ D. E. LEA, Actions of Radiation on Living Cells, Cambridge Univ. Press, 1946.

¹⁰ L. H. GRAY, Brit. J. Radiol., Suppl. No 1, 1957, p. 7.

¹¹ A. CORMACK u. B. JOHNS, Brit. J. Radiol. 25, 369 [1952].

¹² TH. WIELAND u. Mitarb., Angew. Chem. 67, 257 [1955].

¹³ D. GLICK, Methods of biochemical Analysis, Vol. II, Interscience Publishers, Inc., New York, p. 360–382.

¹⁴ ibid.

¹⁵ K. R. RAO u. H. A. SOBER, Amer. chem. Soc. 76, 1328 [1954].

¹⁶ F. A. ISHERWOOD u. D. H. CRUICKSHANK, Nature [London] 173, 211 [1954].

¹⁷ TH. WIELAND u. E. FISCHER, Naturwissenschaften 36, 219 [1949].

¹⁸ J. G. BUCHANAN, C. DECKER u. A. LONG, J. chem. Soc. [London] 1950, 3162.

leistung in Luft und Sauerstoffatmosphäre: 83 kr/min; Dosisleistung in Argonatmosphäre: 58 kr/min; b) 56 kV, 80 mA; Filterung: 0,5 mm Al+2 mm Wasser; Dosisleistung: $5,5 \cdot 10^5$ r/min.

Ergebnisse

1. Einfluß der Dosis

In 0,02-m. wäßriger Lösung war bis zu einer Dosis von $1,1 \cdot 10^6$ r keine sichtbare Veränderung des Lysinmoleküls zu erkennen. Mit steigender Dosis nimmt die Zahl der papierelektrophoretisch trennbaren, strahlenchemisch gebildeten ninhydrinpositiven Verbindungen zu, die nur zu einem Teil mit den in der 1. Mitteilung¹⁹ angegebenen Substanzen identisch sind. Die erhaltenen qualitativen Ergebnisse werden in nachstehender Tabelle dargestellt:

Dosis [10 ⁶ r]	Gebildete Verbindungen
1,1	—
1,2	Basische Aminosäure [1] und ein Polyhydroxyamin [2]
2,5	Neutrale Aminosäuren [3]: a) Glycin b) α-Alanin c) β-Alanin d) γ-Aminobuttersäure e) Norvalin
5,0	Keto-Aminosäure [4] *
7,5	Polyhydroxyamine [5] und Cadaverin [6]

Tab. 3. Übersicht über die strahlenchemisch gebildeten Verbindungen durch verschiedene Röntgenstrahlendosen. * Die Verbindung gibt gelbe Ninhydrin-Reaktion und reagiert mit Dinitrophenylhydrazin. Es könnte sich um α-Amino-δ-oxo-capronsäure handeln. Die in eckigen Klammern stehenden Zahlen stimmen mit den in Abb. 5 angeführten Zahlen überein.

Durch Einstrahlung noch höherer Energien (bis $27,3 \cdot 10^6$ r) war keine weitere signifikante strahlenchemische Veränderung der Lysinmolekel erkennbar.

2. Einfluß der Dosisleistung

Zahlreiche in den letzten Jahren durchgeführte Untersuchungen lassen erkennen, daß bei chemischen Reaktionen in wäßrigen Lösungen kein Intensitätseinfluß existiert. Abgesehen von Polymerisationen und anderen Kettenreaktionen treten bei allen Dosen im Bereich von 0,1 r/min bis 10^7 r/min keine

¹⁹ G. PETER, Z. Naturforsch. 14 b, 135 [1959].

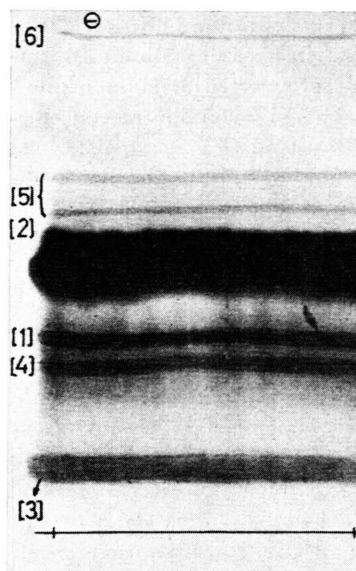


Abb. 5. Hochspannungs-Pherogramm von bestrahltem Lysin; pH 6,0; — Puffer: 10% Pyridin, 1% Eisessig in Wasser; 40 V/cm; Dosis: $7,5 \cdot 10^6$ r; Konz. der Lösung: 0,02-molar.

unterschiedlichen Reaktionen infolge der verschiedenen Intensitäten auf.

Um die genannten Tatsachen beim Lysin zu prüfen, wurde die gleiche Dosis, nämlich $7,5 \cdot 10^6$ r, nicht in einem Zeitraum von 90 min, wie es mit der Dermopanlage geschehen ist, sondern mittels einer Hochleistungsröhre in der relativ kurzen Zeitspanne von 12 min eingestrahlt. Wie aus Abb. 6 entnommen werden kann wurde mit Ausnahme des Cadaverins, eine gute Übereinstimmung mit den in Abb. 5 aufgeführten Bestrahlungsprodukten des Lysins erzielt.

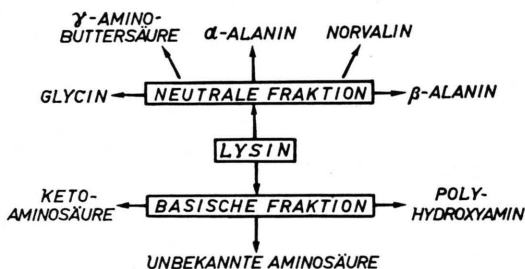


Abb. 6. Bestrahlungsprodukte des Lysins mit der Hochleistungsröhre; Dosisleistung: $5,5 \cdot 10^5$ r/min; Dosis $7,5 \cdot 10^6$ r; Konz. der Lösung: 0,02-molar.

3. Einfluß der Konzentration, Beweis für indirekte Strahlung

In Wasser wird durch eine gegebene Strahlendosis eine bestimmte Anzahl freier Radikale er-

zeugt. Wenn die Wirkung auf diese zurückzuführen, also indirekt, ist, wird deshalb die Anzahl der strahlenchemisch veränderten Lysinmoleküle in weitem Bereich unabhängig von ihrer Konzentration sein, da die strahlenchemisch erzeugten Radikale nur eine bestimmte Zahl von Lysinmolekülen verändern können. Diese Vorstellung gilt jedoch nicht mehr für Substrat-Konzentrationen $< 10^{-3} \%$, wie später zu beweisen sein wird, da dann ein Großteil der Radikale miteinander rekombiniert und infolgedessen nicht mit dem gelösten Material zu reagieren vermag.

Daraus ergibt sich, daß die prozentuale Umwandlungsrate mit zunehmender Lysinkonzentration abnimmt, d. h. die größte relative Änderung wird in der stark verdünnten Lösung beobachtet. Eine graphische Beziehung zwischen der prozentualen Umwandlung und der Konzentration erhält man, indem man auf der Abszisse die Konzentration des gelösten Lysins und auf der Ordinate die prozentuale Umwandlungsrate durch eine gegebene Dosis ($7,5 \cdot 10^6$ r) einzeichnet (Abb. 7).

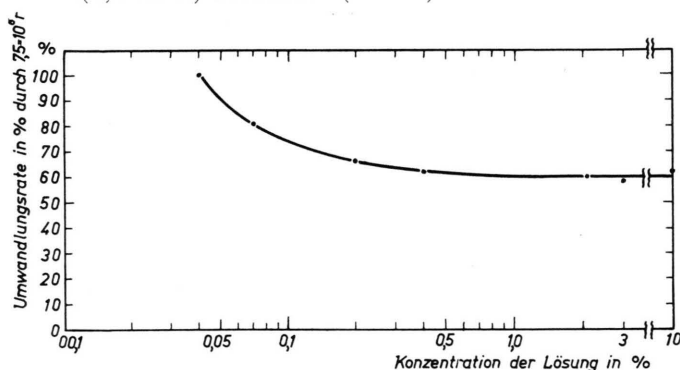


Abb. 7. Beziehung zwischen Konzentration der Lysin-Lösung und Umwandlungsrate.

Diese von DALE, GRAY und MEREDITH²⁰ gefundene Beziehung ist die einzige Methode, die zur eindeutigen Entscheidung, ob direkte oder indirekte Wirkung vorliegt, herangezogen werden kann. Der in Abb. 7 gezeichnete Kurvenverlauf steht in guter Übereinstimmung mit der Annahme einer indirekten Wirkung auf das Lysin.

Im folgenden werden die mit $7,5 \cdot 10^6$ r gebildeten Bestrahlungsprodukte bei wäßrigen Lysinlösungen verschiedener Konzentrationen angegeben.

a) In $2 \cdot 10^{-4}$ -m. Lösung kann im Papier-Elektropherogramm außer dem Lysin keine nin-

²⁰ W. M. DALE, L. H. GRAY u. W. J. MEREDITH, Phil. Trans. Roy. Soc. London Ser. A 242, 33 [1949].

hydrin-positive Substanz festgestellt werden. Dieses Phänomen kann in einfacher Weise gedeutet werden, wenn man die Ionenausbeute (G -Faktoren) in Betracht zieht.

Die Ionenausbeute strahleninduzierter Reaktionen in wäßriger Lösung ist in weitem Bereich von der Konzentration der gelösten Substanz unabhängig. In hinreichend stark verdünnten Lösungen ist der G -Wert jedoch nicht mehr konstant, sondern wird mit abnehmender Lysinkonzentration kleiner, wie aus Abb. 8 zu ersehen ist.

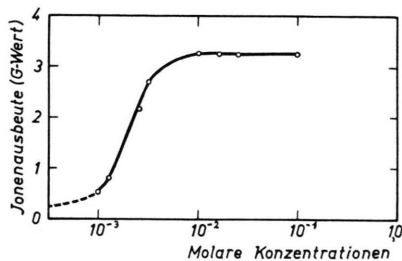


Abb. 8. Zusammenhang zwischen Reaktionsausbeute und Substratkonzentration.

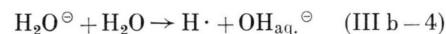
Dieser Effekt kann dahin gedeutet werden, daß in konzentrierteren Lösungen die H und OH-Radikale mit der gelösten Substanz reagieren bevor sie Zeit haben miteinander zu rekombinieren, während die genannten Radikale in verdünnten Lösungen gemäß der Reaktion $H \cdot + \cdot OH \rightarrow H_2O$ miteinander rekombinieren, bevor sie Zeit haben, mit den Lysinmolekülen zu reagieren.

Die quantitative Behandlung erfordert, zunächst die Kenntnis der räumlichen Verteilung der Radikale, die, wie wir wissen, keineswegs gleichmäßig erfolgt.

Die OH-Radikale, welche nach folgendem Mechanismus



gebildet werden, sind zunächst längs der Bahn der ionisierenden Teilchen lokalisiert, während die nach folgender Reaktion



erzeugten H-Radikale in einer gewissen Entfernung (etwa $15 \text{ m}\mu$) vom Bildungsort der OH-Radikale entstehen. Die Verteilung der H und OH-Radikale stimmt demgemäß mit der Verteilung der positiven und negativen Ionen im Anfangsstadium überein.

Schon nach kurzer Zeit (Bruchteil einer sec) tritt infolge Diffusion eine Verbreiterung der Ionensäule ein, womit die Voraussetzung zur Überlappung benachbarter Säulen gegeben ist.

Die Zeit, in der sich benachbarte Säulen überlappen, und der Radius der Säule können nach LEA²¹ berechnet werden. Die Überlappungszeit unter Versuchsbedingungen errechnet sich nach folgendem Ansatz:

$$t = 10^{-6} \cdot \sqrt{N_0 / 8 \pi D I} \quad (\text{III b - 5})$$

wobei

- N_0 = Zahl der Ionen jeden Vorzeichens = $6 \cdot 10^5$ Ionisationen pro cm,
- D = Diffusionskonstante für H und OH-Radikale bei Zimmertemperatur = $2 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{sec}^{-1}$,
- I = Dosisleistung in r/sec = $1,4 \cdot 10^3 \text{ r/sec}$.

Setzt man die Zahlenwerte in die obige Gleichung (III b - 5) ein, dann erhält man für die Überlappungszeit benachbarter Säulen einen Wert von $t = 9 \cdot 10^{-4}$ Sekunden.

Die Gleichung zur Berechnung des Säulenradius lautet:

$$\sqrt{4 D t + b^2} = 10^{-3} \cdot (2 N_0 D / \pi I)^{1/4}. \quad (\text{III b - 6})$$

Durch Lösung der Gl. (III b - 6) erhält man einen Radius von $2,7 \cdot 10^{-3} \text{ cm}$.

Aus diesen beiden Werten kann man die Zahl der nicht rekombinierten Radikalpaare nach folgender Gleichung berechnen:

$$N_0 / N = 1 + \frac{\alpha N_0}{8 \pi D} \cdot \ln \frac{4 D t + b^2}{b^2}, \quad (\text{III b - 7})$$

wobei

- $\alpha = 4 \cdot 10^{-10}$ (unter der Voraussetzung, daß jede Kollision von H und OH-Radikalen zu Wasser führt),
- $b = 1,5 \cdot 10^{-6}$ (Maß für den Radius der Ionensäule).

Dabei ergibt sich, daß der Anteil der nicht rekombinierten Radikale während der Überlappungszeit von $9 \cdot 10^{-4} \text{ sec}$ nur etwa 15% beträgt. Die zu erwartende Konzentration der Strahlungsprodukte dürfte in der hochverdünnten Lysinlösung unterhalb der Nachweisbarkeit liegen.

b) In $2 \cdot 10^{-3} \text{ m}$. Lösung konnten mit Hilfe der Hochspannungs-Elektrophorese und Papierchromatographie 4 verschiedene Bestrahlungsprodukte nachgewiesen werden (Abb. 9).

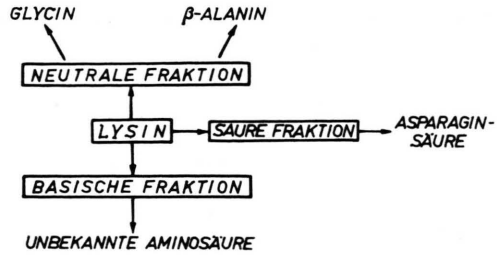


Abb. 9. Bestrahlungsprodukte in $2 \cdot 10^{-3} \text{ m}$. Lösung.

Man findet Asparaginsäure, Glycin, β -Alanin und eine basische Verbindung, deren Konstitution nicht aufgeklärt werden konnte. Auf Grund ihrer Empfindlichkeit gegen Perjodat könnte es sich um ein Polyhydroxyamin handeln. Die Tatsache, daß kein unverändertes Lysin mehr nachgewiesen werden kann, steht in guter Übereinstimmung mit der Theorie, nach der die größte relative Änderung in der stark verdünnten Lysinlösung beobachtet werden muß.

Die quantitativen Werte sind in Tab. 4 aufgeführt:

Substanz	Glycin	β -Alanin	Asparaginsäure	Unbekannte Verbindung
gebildete Verbindung [%]	35,0	19,0	23,0	23,0

Tab. 4. Prozentuale Anteile der gebildeten Verbindungen.

c) In $2 \cdot 10^{-2} \text{ m}$. Lösung zeigen die durch Bestrahlung gebildeten Verbindungen im Gegensatz zu den in den beiden vorhergehenden Abschnitten beschriebenen Ergebnissen eine größere Mannigfaltigkeit. Die erhaltenen Bestrahlungsprodukte sind in Abb. 10 zusammengestellt.

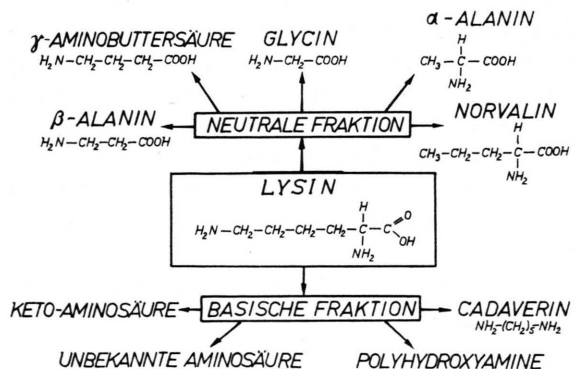


Abb. 10. Bestrahlungsprodukte in $2 \cdot 10^{-2} \text{ m}$. Lösung.

²¹ D. E. LEA, Actions of Radiation on Living Cells, Cambridge Univ. Press, 1956, p. 49-52.

Die quantitative Auswertung führte zu den in Tab. 5 aufgeführten Werten:

Substanz	Anteil [%]	Substanz	Anteil [%]
Glycin	1,6	Keto-Aminosäure	18,4
α -Alanin	1,1	Unbekannte	
β -Alanin	0,3	Diaminomonocarbonsäure	20,2
γ -Aminobuttersäure	0,3		
Norvalin	1,3	Polyhydroxyamine	15,9
		Cadaverin	2,5

Tab. 5. Prozentuale Anteile der gebildeten Verbindungen.

d) In $5 \cdot 10^{-1}$ -m. Lösung ergab sich in qualitativer Hinsicht zum Versuch in $2 \cdot 10^{-2}$ -m. Lösung kein Unterschied, während die quantitative Auswertung der Versuchsergebnisse besonders bei der neutralen Fraktion zu signifikant höheren prozentualen Anteilen führt (Tab. 6).

Substanz	Anteil [%]	Substanz	Anteil [%]
Glycin	3,5	Keto-Aminosäure	11,0
α -Alanin	1,7	Unbekannte	
β -Alanin	3,0	Diaminomonocarbonsäure	20,3
Norvalin	5,3		
		Polyhydroxyamine	17,2
		Cadaverin	5,0

Tab. 6. Quantitative Werte der strahlenchemisch erzeugten Verbindungen.

Die größeren Mengen, die bei fast allen Bestrahlungsprodukten zu beobachten sind, können nicht treffertheoretisch gedeutet werden, sondern finden vermutlich ihre Erklärung in den vorerst noch nicht übersehbaren verschiedenen Mechanismen, nach denen die Intermediärprodukte weiterreagieren.

4. Einfluß der Temperatur

Eine Information darüber, ob die Strahlenwirkung auf direktem Wege oder über freie Radikale erfolgt, kann auch dadurch erhalten werden, daß man die Wirksamkeit einer gegebenen Dosis ($7,5 \cdot 10^6$ r) bei Zimmertemperatur mit derjenigen bei eingefrorener Lösung vergleicht. Im eingefrorenen Zustand ist bekanntlich die Diffusion der freien Radikale behindert. Dies hat zur Folge, daß die indirekten Prozesse stark reduziert sind. Das Ergebnis dieses Testes, der bei der Temperatur der flüssigen Luft durchgeführt wurde, besteht darin, daß die Bestrahlung im eingefrorenen Zustand zu keiner strahlenchemischen Veränderung des Lysinmoleküls führt.

5. Reaktionen in belüfteter $2 \cdot 10^{-2}$ -m. wäßriger Lysinlösung

Allgemein konnte festgestellt werden, daß die Anwesenheit von O_2 in bestrahlter wäßriger Lösung zu Reaktionen führt, die sich von denen in O_2 -freiem Milieu in qualitativer und quantitativer Hinsicht deutlich unterscheiden. Eine weitere interessante Beobachtung ergab, daß O_2 während der Bestrahlung vorhanden sein muß; die Einwirkung von O_2 vor oder nach der Bestrahlung beeinflusst die Vorgänge nicht. Zur experimentellen Durchführung wurde demgemäß ein hochgereinigter O_2 -Strom während der Bestrahlung durch das Bestrahlungsgefäß geleitet.

Der Grenzwert für den nachstehend beschriebenen O_2 -Effekt liegt bei 10^{-4} -m.; das entspricht etwa der Größenordnung der O_2 -Konzentration in reinem Wasser, die sich ihrerseits im Gleichgewicht mit Luft ($4 \cdot 10^{-4}$ -m.) befindet. In diesem Konzentrationsbereich reagiert O_2 infolgedessen mit allen verfügbaren H-Atomen oder Elektronen unter quantitativer Umbildung in HO_2 -Radikale.

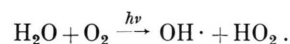
Die elektrophoretische Untersuchung der Bestrahlungsprodukte unter reinem O_2 zeigte eine weitgehende Übereinstimmung mit den in Luft erhaltenen. Zusätzlich beobachtet man aber die Bildung der beiden Monoamino-dicarbonsäuren: Asparagin- und Glutaminsäure. Beim Vergleich mit den in Tab. 6 angegebenen prozentualen Anteilen wird ersichtlich, daß besonders die durch Bestrahlung in O_2 -Atmosphäre strahlenchemisch gebildeten neutralen Aminosäuren und Cadaverin deutlich höhere Werte aufweisen (Tab. 7).

Substanz	Anteil [%]	Substanz	Anteil [%]
Glycin	5,5	Unbekannte	
β -Alanin	4,3	Aminosäure	6,6
γ -Aminobuttersäure	3,2	Polyhydroxyamine	16,0
Norvalin	1,7	Cadaverin	6,0
Keto-Aminosäure	8,7	Asparaginsäure	3,5
		Glutaminsäure	2,9

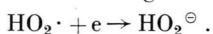
Tab. 7. Quantitative Werte der gebildeten Komponenten.

Dieser Effekt kann vorwiegend mit der erhöhten Bildung von HO_2 -Radikalen und durch die oxydative Wirkung von sekundär entstandenem H_2O_2 gedeutet werden.

Bei Gegenwart von O_2 erfolgt die Bildung von HO_2 -Radikalen vermutlich nach folgendem Mechanismus:



Über die chemische Reaktionsfähigkeit des HO₂-Radikals und inwieweit sich diese von der des OH-Radikals unterscheidet ist wenig bekannt. Wir wissen jedoch, daß es als ein Oxydationsmittel wirkt und leicht ein Elektron einfängt:



HO₂[⊖] ist das Anion von H₂O₂ und in allen genügend H[⊖]-haltigen Lösungen läuft sofort Protonisierung ab. Durch Reduktion wird das HO₂-Radikal also in Wasserstoffperoxyd umgewandelt, das dann seinerseits in der Lage ist, weitere Oxydations-Reaktionen einzugehen. In diesen Reaktionen dürfte die Erklärung für die starke oxydative Wirkung bei Bestrahlung O₂-haltiger Lösungen gesucht werden.

6. Reaktionen in 2 · 10⁻²-m. wäßriger Lysinlösung bei Abwesenheit von Sauerstoff

Zur experimentellen Durchführung der Versuche wurde nach Einengung der wäßrigen Lösung im Vakuum und Herabsetzung des Druckes auf 0,1 Torr ein gereinigter Argonstrom während der Bestrahlung durch das Bestrahlungsgefäß geleitet. Mit der Wahl von Argon als Spülgas war der Ablauf störender Nebenreaktionen, die bei Verwendung von Stickstoff prinzipiell in Betracht gezogen werden müssen, von vornherein ausgeschaltet. Mit Hilfe dieser Versuchstechnik war es möglich, die O₂-Konzentration in der Lösung unter den Wert von 10⁻⁴-m. (O₂-Konzentration in reinem Wasser im Gleichgewicht mit Luft) herabzusetzen.

Durch Hochspannungs-Elektrophorese konnten die folgenden in Abb. 11 angegebenen Bestrahlungsprodukte nachgewiesen werden.

Man sieht, daß O₂-Mangel zu Reaktionen führt, die sich von denen in aerobem Milieu in qualitativer und quantitativer Hinsicht wesentlich unterscheiden (Tab. 8).

Es fällt auf, daß in der basischen Fraktion die Keto-Aminosäure und in der neutralen Fraktion das

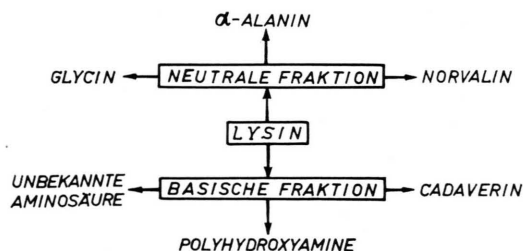


Abb. 11. Bestrahlungsprodukte in 2 · 10⁻²-m. Lösung bei Abwesenheit von Sauerstoff.

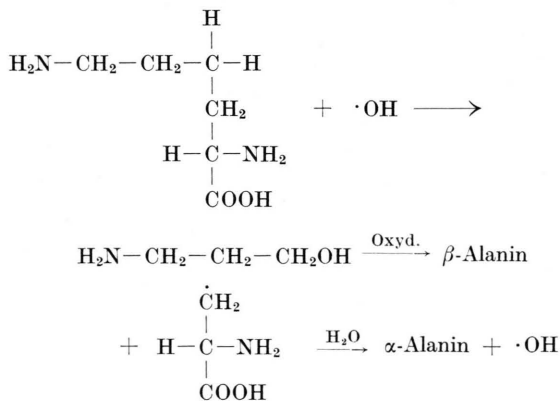
Substanz	Anteil [%]	Substanz	Anteil [%]
Glycin	1,8	Unbekannte Aminosäure	17,7
α-Alanin	1,4	Polyhydroxyamin	28,1
Norvalin	1,9	Cadaverin	6,3

Tab. 8. Prozentuale Anteile der gebildeten Verbindungen.

β-Alanin und die γ-Aminobuttersäure fehlen. Außerdem tritt keine der beiden Monoaminodicarbonsäuren auf. In quantitativer Hinsicht ist zu bemerken, daß unter O₂-Mangel und für Luft die Anteile für die neutralen Aminosäuren nahezu übereinstimmen, jedoch für die Polyhydroxyamine und Cadaverin höher liegen. Im Vergleich zu den unter reinem O₂ gewonnenen Werten wird ersichtlich, daß der Anteil für die Polyhydroxyamine höher und für die neutralen Aminosäuren niedriger ist.

Die Deutung der bei Bestrahlung in Argonatmosphäre ablaufenden Prozesse ist im Gegensatz zur Erklärung der in Anwesenheit von O₂ stattfindenden Vorgänge schwieriger, da noch erhebliche Unklarheiten über die Bildung und Reaktionsfähigkeit der H-Atome bestehen. Mit Sicherheit steht nur die Existenz des OH-Radikals fest^{22, 23}. Man kann demgemäß die bei O₂-Mangel durch ionisierende Strahlen verursachten chemischen Veränderungen in wäßriger Lösung überwiegend als OH-Radikal-Reaktionen bezeichnen.

Für die Entstehung der gefundenen Abbauprodukte gibt es mehrere plausible Erklärungen, bei denen ein primärer Angriff von OH- oder HO₂-Radikalen auf alle denkbaren Stellen der Lysinmolekel anzunehmen ist. Eine der zahlreichen Möglichkeiten ist im folgenden formuliert:



²² J. M. KOLTHOFF u. A. J. MEDALIA, J. Amer. chem. Soc. 71, 3789 [1949].

²³ W. A. WATERS, J. chem. Soc. [London] 1946, 1153.

Auf ähnliche Weise läßt sich auch Decarboxylierung, Desaminierung und Hydroxylierung formulieren. In Gegenwart von O_2 gewinnen oxydative Reaktionen, wohl durch das HO_2 -Radikal bedingt, an Be-

deutung, was sich in der Bildung von Amino-carbonsäuren und -dicarbonsäuren äußert. Von Formulierungen solcher Reaktionen, die doch nur spekulativen Charakter haben, soll hier abgesehen werden.

Anschrift: Dr. G. PETER, Kernreaktor Karlsruhe, Karlstr. 42.

Anwendung Elektrischer Leitfähigkeitsmessungen zum Studium der Radiolyse des Wassers

Von KLAUS SCHMIDT

Aus dem Max-Planck-Institut für Biophysik in Frankfurt a. M. (Dir.: Prof. Dr. B. RAJEWSKY)

(Z. Naturforschg. 16 b, 206—217 [1961]; eingegangen am 15. Oktober 1960)

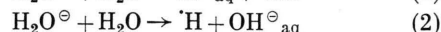
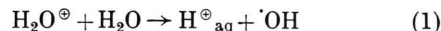
Es wurde das Leitfähigkeitsverhalten von reinem, lufthaltigem Wasser bei kontinuierlicher und impulsgetasteter Röntgenbestrahlung (60 kV_s) untersucht. Hierbei ergaben sich zwei einander überlagerte Effekte: 1. Ein der Röntgen-Dosisleistung proportionaler irreversibler Leitfähigkeitsanstieg, der vermutlich auf eine Strahlenreaktion des gelösten CO_2 zurückzuführen ist, 2. eine reversible Leitfähigkeitserhöhung während der Bestrahlung, die sich mit der Entstehung einer Ionenart mit einer mittleren Lebensdauer von ca. 0,15 sec erklären läßt. Es wird angenommen, daß es sich dabei um Radikationen $\cdot O_2^\ominus$ handelt, welche durch die Reaktion der als Strahlungsprodukt entstehenden H-Radikale mit dem gelösten Sauerstoff gebildet werden. Ein möglicher chemischer Reaktionsmechanismus wird angegeben, der zu befriedigender quantitativer Übereinstimmung der Versuchsergebnisse mit Ausbeutewerten und Reaktionskonstanten aus der Literatur führt.

Bei den biologischen Wirkungen ionisierender Strahlen spielen die sog. „indirekten“ oder „chemischen“ Treffer eine wesentliche Rolle. Schon 1929 hat RAJEWSKY¹ bei Untersuchungen an bestrahlten Eiweißlösungen auf die Möglichkeit einer Beeinflussung der Eiweißmoleküle durch oxydative Strahlungsprodukte des Wassers hingewiesen. WEISS² postulierte 1944 die Bildung von H- und OH-Radikalen bei der Bestrahlung von Wasser und wies in einer weiteren Arbeit³ darauf hin, daß diese Radikale bei der Strahlenwirkung auf wäßrige biologische Systeme vermutlich von Bedeutung seien.

Fast alle Kenntnisse, die man bis jetzt über die physikalisch-chemischen Prozesse, insbesondere die Radikalbildung bei der Bestrahlung wäßriger Systeme mit ionisierenden Strahlen besitzt, wurden durch die Untersuchung der strahlenchemischen Reaktionen des Wassers und der im Wasser gelösten Substanzen gewonnen⁴. Einen Versuch, mit Hilfe physikalischer Messungen unsere Kenntnisse auf diesem Gebiet zu erweitern, hat SIX⁵ durchgeführt. Er stellte bei der Bestrahlung hochgereinigten Wassers mit Röntgenstrahlen (50 kV_s) eine schwache

Lumineszenz mit einem Maximum bei 360 m μ fest, die er als Strahlung angeregter Radikale oder eine Art von Chemilumineszenz deutete. Im Verlauf von Vorversuchen hatte SIX einen irreversiblen Anstieg der elektrischen Leitfähigkeit des Wassers während der Bestrahlung gemessen. In Fortsetzung dieser seinerzeit von RAJEWSKY angeregten Untersuchung haben wir nun versucht, mit Hilfe von elektrischen Leitfähigkeitsmessungen vielleicht zu neuen Aussagen über diese Prozesse zu gelangen.

Nach LEA⁶ entstehen entlang der primären Elektronenbahnen und der δ -Bahnen zunächst H_2O^\ominus -Ionen und Elektronen, welche ihrerseits von einem H_2O -Molekül eingefangen werden und zur Bildung eines H_2O^\ominus -Ions führen. Bei der Hydratisierung reagieren diese Ionen innerhalb von ca. 10^{-11} sec gemäß



Nach BURTON, SAMUEL und MAGEE^{7,8} entsteht auf dem Umweg über ein angeregtes H_2O -Molekül direkt ein Radikalpaar H/OH, ohne daß gleichzeitig ein Ionenpaar gebildet wird.

¹ B. RAJEWSKY, Strahlentherapie 33, 362 [1929].

² J. WEISS, Nature [London] 153, 748 [1944].

³ J. WEISS, Nature [London] 157, 584 [1946].

⁴ F. S. DAINTON, Brit. J. Radiol. 31, 645 [1958].

⁵ E. SIX, Dissertation, Frankfurt a. M. 1954.

⁶ D. E. LEA, Brit. J. Radiol., Suppl. No. 1, 59 [1947].

⁷ M. BURTON, J. L. MAGEE u. A. M. SAMUEL, J. chem. Physics 20, 760 [1952].

⁸ A. H. SAMUEL u. J. L. MAGEE, J. chem. Physics 21, 1080 [1953].