

dem Tod des Lebewesens entstandene Äußerung zu sehen, die dem lebenden Organ nicht eigentümlich wäre. So besteht auch meines Erachtens nicht der geringste Anlaß, dem lebenden Muskelgewebe die Fähigkeit abzusprechen, Bernsteinsäure aerob zu dehydrieren, um so mehr, als diese Säure aus Muskelfleisch isoliert worden ist. Gerade in dieser Reaktionsreihe ist die Stabi-

lität der dem Gesamtprozeß dienenden Einzelsysteme in besonders deutlicher Weise abgestuft.

Die gesamte Fermentforschung steht auf der Voraussetzung, daß die *in vitro* studierten Erscheinungen im Grunde das Abbild in der Zelle sich abspielender Vorgänge sind. Warum sollte diese Voraussetzung für die Enzyme der biologischen Oxydation nicht gelten?

[A. 77.]

Neuere enzymchemische Resultate.

Von H. v. Euler, Stockholm.

Vorgetragen in der Fachgruppe für organische Chemie auf der Hauptversammlung des V. d. Ch. in Wien am 27. Mai 1931.

(Eingeg. 13. Juni 1931.)

Buchners Annahme eines einzigen zentralen Gärungsenzyms mußte bald durch die Auffassung ersetzt werden, daß ein Komplex von Teilenzymen den Gärungsabbau der Hexosen vermittelt. Vor 25 Jahren entdeckte Harden, daß dieser Komplex nicht in Wirksamkeit treten kann, wenn er nicht durch einen besonderen Stoff, der den Namen Cozymase erhalten hat, aktiviert wird. Damit war der erste organische Aktivator bzw. nichtenzymatische Biokatalysator aufgefunden, welcher in den Zuckerabbau eingreift. In den letzten Jahren hat sich nun unsere Kenntnis über die nichtenzymatischen Anteile des Enzymsystems der Atmung und Gärung durch Beiträge von verschiedenen Seiten wesentlich erweitert, und einige neuere, an diesen Stoffen gewonnene Ergebnisse möchte ich Ihnen heute mitteilen.

Der Mechanismus der Atmung und Gärung, das alte Problem, um dessen Lösung sich seit mehr als 100 Jahren viele führende Chemiker bemüht haben, ist noch recht weit entfernt von der endgültigen Klarstellung. Was in den letzten Dezennien ausgearbeitet wurde, sind Bausteine, aber es ist noch nicht gelungen, diese zu einem einheitlichen Ganzen zusammenzufügen. Wenn ich mit diesen Bausteinen Ihre Aufmerksamkeit in Anspruch nehme, so kann ich dies nur wagen, weil die ganze Lehre vom Zuckerabbau, in welche unsere Spezialforschungen eingefügt werden, eine so wichtige Rolle im chemischen Geschehen aller Zellen spielt.

Der zur Verbrennung führende Angriff des Zuckers im Muskel und in anderen tierischen und auch pflanzlichen Geweben beginnt bekanntlich mit einer Serie anaerober Vorgänge, welche der bei der alkoholischen Gärung eintretenden ganz analog ist. Erst nachdem die Zymohexosen in zwei Teilmoleküle zu je drei C-Atomen gespalten sind, setzt der oxydative Teil des Zuckerabbaues ein, der zum Endprodukt CO_2 führt.

Die Gärwirkung des Zymase-Systems (Pan-Zymase) in der Hefe.

Manche Tatsachen sprechen dafür, daß in der lebenden Hefe die Zymase ganz oder wenigstens überwiegend an das Plasma gebunden ist, wodurch die Eigenschaften der Zymase in mancher Hinsicht modifiziert werden. Diese Modifikationen halten manche Gärungsschemiker für so wesentlich, daß sie die enzymatische Gärung in Gegensatz zu derjenigen in der lebenden Zelle stellen, und diese Frage möchte ich mit ein paar Worten berühren, ehe ich auf die nichtenzymatischen Biokatalysatoren der Gärung eingehe.

Man hat früher nur einen kleinen Teil der Gärkraft der Hefe von der lebenden Zelle abtrennen können, und andererseits haben Preßsäfte, Trockenhefen und Dauerpräparate immer noch eine gewisse Zahl lebender Zellen enthalten.

Vor einigen Jahren haben der Bakteriologe Barthel und ich¹⁾ eine Versuchsanordnung beschrieben, nach welcher bei gründlicher Entwässerung mit Alkohol, Äther und Chloroform mehr als 70% der ursprünglichen Gärkraft beibehalten wird, während 99,98% der gesamten Gärleistung auf die nichtfortpflanzungsfähigen Zellen zurückgeführt werden konnte. Dieses Resultat ist nun in diesem Jahr noch verbessert worden²⁾. Durch Anwendung einer Apparatur, welche jede Infektion ausschloß, wurde durch die Entwässerung und Entfettung die Fortpflanzungsfähigkeit der Hefe total aufgehoben; sie lieferte, auf besten Nährboden übergeführt, keine einzige Kolonie und war also vollkommen tot. Dabei war die Gärkraft noch besser als früher erhalten und unterschied sich nicht wesentlich von derjenigen der lebenden Hefe. Unabhängig davon, ob die Zymase der frischen Hefezellen an das Plasma oder sonstwie gebunden ist, so steht nunmehr jedenfalls fest, daß man die Hefe durch geeignete Entwässerung vollkommen fortlaufungsunfähig machen und dabei wenigstens 80% der normalen Gärwirkung bewahren kann.

Die Aktivatoren der Zymase.

Ich wende mich jetzt den Aktivatoren zu. Die bereits erwähnte Entdeckung der Cozymase machte Harden am Hefepreßsaft, den er in einen enzymatischen, thermolabilen Teil, die Zymase, und einen hitzebeständigen Teil, das Coenzym der alkoholischen Gärung oder die Cozymase, zerlegen konnte. Getrennt sind beide Stoffe bekanntlich unwirksam, durch ihre Vereinigung wird die ursprüngliche Gärkraft des Preßsaftes wiederhergestellt.

Die Cozymase ist in fast allen Zellen und Geweben, in welchen Zucker abgebaut wird, vorhanden, denn sie ist ja zu dieser Spaltung unentbehrlich, aber sie findet sich stets nur in sehr kleinen Mengen. Ihre Anreicherung und Isolierung, mit der wir uns in Stockholm seit etwa acht Jahren beschäftigen, ist um so schwieriger, als dieser Aktivator selbst, wie auch viele seiner Salze einen ausnehmend hohen Grad von Wasserlöslichkeit besitzt.

In welcher Weise die Anreicherung der Lösungen bei der Reinigungsarbeit verfolgt wird, ist in den Arbeiten von Myrbäck und mir^{2a)} mehrmals erwähnt worden. Die Wirksamkeit per Trockengewicht, A Co, mißt man an ausgewaschenen, cozymasefreier Trockenunterhefe. Der Reinheitsgrad eines Cozymasepräparates wird durch den Ausdruck definiert:

$$A \text{ Co} = \frac{\text{Anzahl Co-Einheiten}}{\text{g Trockengewicht}}$$

Hinsichtlich der Reinigung der Cozymaselösungen ist in Ergänzung früherer Angaben folgendes zu sagen:

¹⁾ Ztschr. physiol. Chem. 159, 85 [1926]; 183, 237 [1929].

²⁾ Barthel, Euler u. Nilsson, ebenda 198, 251 [1931].

^{2a)} Ztschr. physiol. Chem. 190, 93 [1930]; 198, 219, 236 [1931].

Ausgangsmaterial bildet Hefe, die man in Wasser von 70–80° extrahiert. Man dialysiert und fällt mit Blei-acetat.

Quecksilbernitrat in salpetersaurer Lösung fällt die Cozymase fast vollständig. Sie wird durch H_2S wieder befreit. Da aber das Zersetzen der Niederschläge im großen Maßstabe sehr zeitraubend ist, benutzen wir seit einiger Zeit eine neue, von Myrbäck ausgearbeitete Methode, und zwar fällen wir nun mit Aluminium in alkalischer Lösung. Dabei tritt eine Bindung der Cozymase an das Tonerdehydrat ein.

Bei geeigneten Mengenverhältnissen der Reagenzien ist die Bindung der Cozymase an das Tonerdehydrat vollständig. Durch Waschen des Sorbates mit Wasser wird keine Cozymase abgelöst, dagegen gelingt dies mit Phosphorsäure.

Man befreit nun die Cozymaselösungen mittels Baryt von Phosphorsäure und fällt dann mit Quecksilbernitrat. Der die Cozymase enthaltende Niederschlag wird mit H_2S versetzt. Die gelüfteten Lösungen, die dann eine Wirksamkeit von $A_{Co} = 20'000$ haben, werden in schwefelsaurer Lösung solange mit Phosphorwolframsäure gefällt. Der Niederschlag wird dann zersetzt, und die Phosphorwolframsäure wird mit Äther und Amylalkohol ausgeschüttelt. Die letzte Reinigung besteht aus einer ammoniakalischen Silberfällung. Befreit man dann die Cozymase vom Silber, so erhält man Präparate mit A_{Co} -Werten zwischen 100'000 und 160'000.

Die Lösungen dieser Präparate sind farblos und werden von $PbAc_2$, $AgNO_3$ sowie von $CuAc_2$ nicht gefällt. Die Barium- und Calciumsalze sind in Wasser sehr löslich.

Präparate vom Reinheitsgrad A_{Co} über 100'000 sind nun teils direkt analysiert worden, teils führte man sie in Salze über und brachte diese zur Analyse.

Bariumsalze wurden hergestellt, welche teils $\frac{1}{2}$ und teils 1 Bariumatom pro 1 Atom P enthielten. Der Stickstoffgehalt stimmt sowohl bei den Cozymasepräparaten selbst als bei den daraus gewonnenen Salzen recht gut auf Adenylsäure oder eine damit verwandte Substanz. Der allergrößte Teil des Stickstoffs konnte nach Hydrolyse des Nucleotids als Adenin wiedergefunden werden, welches als wohlkristallisierendes Pikrat identifiziert wurde.

Es bestätigt sich also, daß unsere Präparate vom Reinheitsgrad 100'000 bis 160'000 im wesentlichen aus einer einheitlichen Substanz bestehen⁸⁾.

Freilich wird erst durch die Synthese der Cozymase endgültig die Möglichkeit ausgeschlossen, daß der gesuchte aktive Körper nur eine der Menge nach verschwindende Beimengung der isolierten Substanz ist. Immerhin sprechen schon jetzt viele Tatsachen dafür, daß dem isolierten Nucleotid selbst die Cozymasewirkung zukommt. Nicht nur, daß alle bisher aus hochgereinigten Lösungen gewonnenen Präparate sehr nahe dieselbe Zusammensetzung gehabt haben, daß die Substanz in Salze übergeführt und mit gleicher Zusammensetzung und annähernd gleicher Aktivität daraus zurückgewonnen werden konnte, sondern es hat sich auch herausgestellt, daß Eingriffe, die zu einer Zersetzung des Nucleotids führen, wie etwa enzymatische Abspaltung von PO_4 , von einer parallel laufenden Abnahme der Aktivität begleitet sind. — Auch bei der Hydrolyse in normaler Säure wird die Phosphorsäure freigesetzt.

⁸⁾ Vgl. Myrbäck u. Euler, Ztschr. physiol. Chem. 198, 236 [1931].

Min.	mg Strychnin-phosphormolybd.	mg P	monomol. k
10	4,0	0,045	$2 \cdot 10^{-3}$
120	46,4	0,520	$2,3 \cdot 10^{-3}$
240	69,0	0,774	$2,2 \cdot 10^{-3}$

Man sieht, daß die Spaltungskurve vollkommen kontinuierlich verläuft, nichts deutet auf einen Pyrophosphatgehalt der Lösung. Als Mittel für die Spaltungsgeschwindigkeit finden wir $k = 2,2 \cdot 10^{-3}$. Zum Vergleich seien Spaltungsversuche von Yamagawa, Embden und Schmidt, Levene und Jorpes angeführt, aus welchen für die Spaltung bei 100° für Mononucleotide sich folgende Werte ergaben:

Nucleotid	Yamagawa 0,1 norm. Säure	Emden-Schmidt 0,3 norm. Säure	Levene-Jorpes
			1 norm. Säure
Hefen-Adenosinphosphorsäure	$1,7 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-3}$	etwa $50 \cdot 10^{-3}$
Guanosinphosphorsäure	$1,7 \cdot 10^{-3}$	$0,5 \cdot 10^{-3}$	etwa $50 \cdot 10^{-3}$
Inosinphosphorsäure	$0,5 \cdot 10^{-3}$	$0,3 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-3}$
Muskeladenylsäure		$0,3 \cdot 10^{-3}$	

Die Cozymase (bzw. unser Präparat) gehört also zur gleichen Gruppe wie die Inosinsäure und die Muskeladenylsäure und unterscheidet sich deutlich von der aus Hefe gewinnbaren Adenosin-Phosphorsäure.

Vergleichen wir die Geschwindigkeit der Adeninabspaltung durch Säuren ($k = 49 \cdot 10^{-3}$) mit der Geschwindigkeit der Phosphorsäurebildung ($k = 2 \cdot 10^{-3}$), so finden wir also, daß das Adenin etwa 25mal schneller frei gemacht wird als die Phosphorsäure. Das Nucleotid wird also bei der sauren Hydrolyse anfangs in Base und Kohlenhydratphosphorsäure gespalten.

Ein Vergleich zwischen der Hydrolyse unserer Cozymase mit derjenigen anderer Nucleotide (Levene und Jorpes) zeigt, daß unser aus Hefe gewonnenes Mononucleotid auch in dieser Beziehung zu derselben Gruppe wie die Inosinsäure (und Muskeladenylsäure) gehört, und in scharfem Gegensatz nicht nur zu den Pyrimidin-nucleotiden, sondern auch zu den durch Hydrolyse von Hefe- und Pancreasnucleinsäure gewonnenen Purinmononucleotiden steht.

Unsere reinsten Präparate mit einem Wirksamkeitswert von 100'000 bis 160'000, die der Analyse zufolge beinahe ausschließlich aus einer Adenylsäure bestehen, stimmen auch ihrem chemischen Verhalten nach weitgehend mit der Muskeladenylsäure überein und stehen im scharfen Gegensatz zu der Hefenadenylsäure.

Jedenfalls haben wir aus Hefe eine Adenylsäure gewonnen, die von der früher bekannten sogenannten Hefenadenylsäure stark verschieden ist und der Muskeladenylsäure sehr nahesteht.

Die Muskeladenylsäure ist in erster Linie durch die Beobachtung von Embden als wichtige Komponente im enzymatischen Stoffwechsel erkannt worden. Embden zeigte, daß diese Substanz im lebenden Muskel unter Abspaltung von Ammoniak in Inosinsäure übergeht. In Rücksicht auf ihre Verwandtschaft mit der Cozymase, dem Gärungs- und Atmungsaktivator, gewinnt diese Reaktion noch besonderes Interesse. Die Vermutung liegt nämlich nahe, daß es die schnelle, enzymatische NH_2 -Abspaltung aus Cozymase ist, welche diesen Aktivator außer Aktion setzt und wieder regeneriert. Wie allerdings dieser Austausch von NH_2 gegen OH unter Einwirkung von Hefeenzymen erfolgt, ist noch

nicht festgestellt, und ich gehe auf diese NH_2 -Abspaltung hier nicht weiter ein.

Nun glaubte Lohmann im Meyerhofschen Institut gefunden zu haben⁴⁾, daß die Muskeladenylsäure als Cozymase wirkt, d. h. daß der von Cozymase befreite Enzymkomplex der Gärung durch die Adenylsäure aktiviert werden kann. Nach unseren Erfahrungen ist dagegen die gewöhnliche Muskel-Adenylsäure nicht imstande, die Cozymase bei der Glucosegärung der Hefe zu ersetzen. Nur in Gegenwart von größeren Mengen Hexosediphosphorsäure beobachtete Nilsson eine schwache Aktivierung der Gärung durch Muskeladenylsäure⁵⁾. Daß die gewöhnliche Hefadenylsäure auf die Gärung keinen Einfluß ausübt, zeigten schon unsere früheren Arbeiten und wurde in letzter Zeit wieder bestätigt.

Außer der Adenylsäure existiert auch noch im Muskel ein Abkömmling derselben, welcher ebenfalls biochemisches Interesse beansprucht: Es ist die Substanz, deren Wirkung Lohmann⁶⁾ gefunden hatte und später als Adenosintriphosphorsäure erkannte; sie ist dann von seiten der Meyerhofschen und der Embdenischen Schule studiert worden.

Nach Lohmann⁷⁾ kann nun die Cozymase bei Gärung und Glykolyse durch Adenosintriphosphat + Mg ersetzt werden. Die Frage, ob die Cozymasewirkung unserer Präparate auf einem Gehalt an Adenosintriphosphat beruht, ist für die Arbeiten des Stockholmer Instituts von wesentlicher Bedeutung. Ein Vergleich zwischen der Wirkung dieser Präparate und der angeblichen Wirkung von Muskeladenylsäure bzw. Adenosintriphosphat war also notwendig und ist von Myrbäck durchgeführt worden. Seine Untersuchung ergab folgendes:

Bei kleineren Mengen von Triphosphat zeigt sich keine Aktivierung der Apozymase. Bei Versuchen mit größeren Mengen tritt eine unzweifelhafte Cozymasewirkung des Adenosintriphosphatpräparates zutage. Sie ist recht klein, nur etwa so groß wie die Wirkung einer 20mal geringeren Menge eines unserer Cozymasepräparate^{7a)}.

Würden wir das angewandte Adenosintriphosphatpräparat als Cozymasepräparat betrachten, so würde ihm der A Co - Wert 11'000 zukommen. Gegenüber dem höchsten Cozymasewert 160'000 finden wir, daß dies nur 6% der Wirkung unserer reinsten Cozymasepräparate ist.

Die Vermutung liegt nahe, daß die von Lohmann gefundene Cozymasewirkung des Adenosintriphosphates durch Verunreinigungen des Präparates mit Cozymase vorgetäuscht wurde. Selbst wenn dem ganz reinen Adenosintriphosphat eine Cozymasewirkung zukommt, so kann unter keinen Umständen die Wirkung unserer Präparate durch einen Gehalt an Adenosintriphosphat erklärt werden.

⁴⁾ Siehe Meyerhof, Die chemischen Vorgänge im Muskel; Springer, Berlin 1930.

⁵⁾ Euler u. Nilsson, Sv. Vet. Akad. Arkiv f. Kemi 10 B, Nr. 14 [1931].

⁶⁾ Lohmann, Naturwiss. 16, 298 [1928]. Biochem. Ztschr. 202, 466; 203, 164 [1928].

⁷⁾ Lohmann, Naturwiss. 17, 624 [1929].

^{7a)} Vgl. Euler u. Myrbäck, Ztschr. physiol. Chem. 199 [1931].

Zeichnet man die Kurven der Gärungsgeschwindigkeit-Aktivatormenge sowohl für Triphosphat als für Cozymase, so fallen sie vollkommen zusammen und haben vor allem dasselbe Maximum. Dies wird am einfachsten gedeutet, wenn wir annehmen, daß das von Lohmann angewandte Adenosintriphosphat Cozymase enthalten hat, und daß also in beiden Fällen derselbe Aktivator wirksam war.

Leider gestattet die Zeit nicht, näher auf die interessanten physiologischen Wirkungen der Adenylsäure einzugehen, mit deren biochemischen Aufklärung wir beschäftigt sind. Erwähnt sei nur die Entdeckung von Drury und Szent-György⁸⁾, daß die Auszüge des Herzmuskels, die das Meerschweinchenherz spezifisch beeinflussen, als wirksames Prinzip Adenylsäure enthalten. Das sogenannte Frühgift von Freund, dessen wesentliche Wirkung in einer Blutdrucksenkung besteht, ist durch Zipf's Untersuchung als Adenylsäure identifiziert. Es ist nicht ohne Interesse, daß auch die Cozymase eine starke blutdrucksenkende Wirkung ausübt, welche als eine typische, aber unspezifische Wirkung der Adenylsäure erkannt ist.

Die von mancher Seite vermutete Identität der Cozymase mit Insulin trifft sicher nicht zu, aber zusammen mit dem Insulin steigert die Cozymase, wie U. v. Euler⁹⁾ fand, die Glucoseoxydation der Muskulatur.

Außer der Adenylsäure sind unter den Biokatalysatoren der Gärung und der anaeroben Teile der Atmung Kreatinphosphorsäure (Phosphagen) und das Magnesium in den Vordergrund des Interesses getreten. Eggleton zeigte, daß das Phosphagen bei Sauerstoffmangel und Ermüdung im Muskel gespalten, bei Sauerstoffzufuhr und Erholung wieder zurückgebildet wird, und zwar schneller, als die Milchsäure verschwindet. Dieser Zusammenhang des Phosphagens und des Zuckerstoffwechsels hat uns zu der Annahme geführt, daß die Phosphorsäure mit einem intramediären Produkt des Kohlenhydratabbaues, etwa mit Methylglyoxal, um das Kreatin nach dem Massenwirkungsgesetz konkurriert, wobei an die Bindung des Kreatins an die Aldehydgruppe einer Aldose unter Bildung einer Schiffsschen Base zu denken ist.

Die Isolierung dieser Schiffsschen Base ist noch nicht durchgeführt worden. In diesem Zusammenhang ist vielleicht erwähnenswert, daß Dr. Zeile¹⁰⁾ die Isolierung des Glykokollglucosides und Dipeptidglucosides gelungen ist, welche das erste Homologe des Zwischenkörpers Zymohexose-Protein ist und wohl an der Beziehung zwischen Gärung und Synthese teilhat.

Auf die Rolle des Magnesiums bei der Gärung hat neuerdings Lohmann in einer sehr bemerkenswerten Zuschrift in den „Naturwissenschaften“¹¹⁾ hingewiesen. Vor mehreren Jahren hatte Erdtmann¹²⁾ in Stockholm gezeigt, daß die Wirkung der Phosphatase durch Zugabe von Mg stark gesteigert werden kann. Wir sind demgemäß von der Voraussetzung ausgegangen, daß die Phosphatase und Phosphatase diejenigen Enzyme sind, welche durch das Magnesium beeinflußt werden, und

⁸⁾ Drury u. Szent-György, Journ. Physiol. 68, 213 [1930].

⁹⁾ U. v. Euler, Skand. Arch. Physiol. 59, 1 [1930].

¹⁰⁾ Euler u. Zeile, LIEBIGS Ann. 487, 163 [1931].

¹¹⁾ Lohmann, Naturwiss. 19, 180 [1931].

¹²⁾ Erdtmann, Ztschr. physiol. Chem. 177, 211 u. 238 [1928].

haben demgemäß unsere Beobachtungen an diejenige: Erdtmans angeschlossen^{13).}

Tatsächlich haben Nilsson und Auhagen¹⁴⁾ zeigen können, daß die Phosphorylierung diejenige Teilreaktion ist, in welche das Magnesium unmittelbar eingreift. Auch bei der Ossifikation, wo die Phosphatase biologisch eine Rolle spielt (Robison), übt nach hiesigen Erfahrungen das Magnesium bis zum Konzentrationsmaximum 0,1 mg einen starken Einfluß aus, den wir mit der Wirkung auf den Kohlehydratumsatz in Zusammenhang setzen.

Es hat sich zunächst ergeben, daß Trockenunterhefe nicht nur von Cozymase, sondern auch von Magnesium befreit werden kann und dann diese beiden Aktivatoren zur Gärung benötigt.

Die Regeneration der Gärkraft durch Mg-Zusatz erfolgt momentan. Das Optimum der Gärungsgeschwindigkeit liegt zwischen den Mg-Konzentrationen 10^{-3} und 10^{-1} . Diese Versuche über die Regeneration des Gärvermögens der magnesiumfreien Hefe durch Mg-Zusatz wurden bei einigen Hefepräparaten durch Mg-Analysen ergänzt.

Präparat	mg Mg in 1 g Hefe- präparat	cm ³ CO ₂ max. 1 Std. 1 g Hefepräparat ohne 10 ⁻² mol. Mg	cm ³ CO ₂ max. 1 Std. 1 g Hefepräparat mit 10 ⁻² mol. MgCl ₂
Trockenhefe I	1,8	54	
Normale Apozymase	0,9	56	74
Teilweise Mg-freie Apozymase .	0,10	7	21
Mg-freie Apozymase, aus Trockenhefe I dargestellt .	0,003	0	36

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß das Erlöschen des Gärvermögens mit einem Herabsinken des Mg-Gehaltes der Hefe parallel läuft. Der Mg-Gehalt der gewöhnlichen Trockenhefe sowie der normalen Apozymase läßt sich gut vereinigen mit der bei der Mg-freien Apozymase gefundenen optimalen Mg-Konzentration von

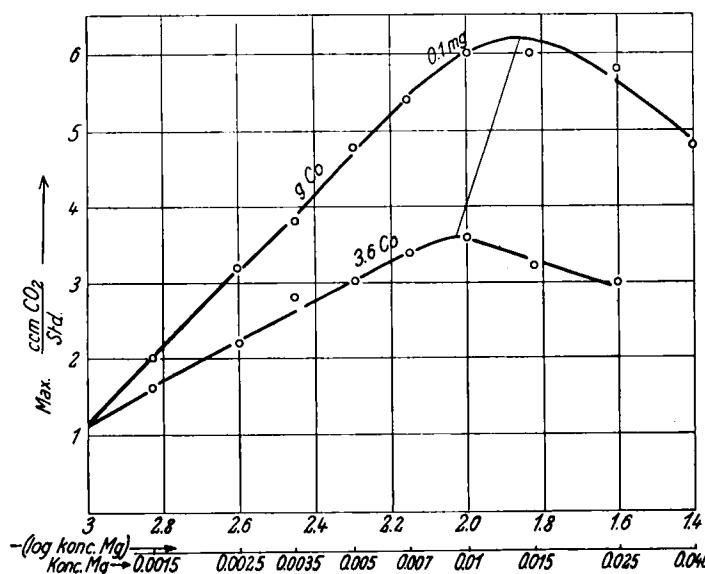


Abb. 1.

¹³⁾ Auf die hohe biologische Bedeutung des Magnesiums hat G. Bertrand in einer Reihe bemerkenswerter Arbeiten hingewiesen. Eine Übersicht über biologische Magnesiumwirkungen gab kürzlich Javillier (Bull. Soc. Chim. biol. 12, 709 [1930]).

¹⁴⁾ Euler, Nilsson u. Auhagen, Ztschr. physiol. Chem. 199 [1931].

etwa 10^{-2} n (auf 1 g Apozymase etwa 2,4 mg Mg). Keineswegs aktiviert die Gesamtmenge des anwesenden Mg, sondern nur der an reaktionsvermittelnde Moleküle gebundene Teil. Die gleiche Geschwindigkeit kann mit verschiedenen relativen Mengen Cozymase und Mg eingestellt werden. In der Trockenhefe ist das Verhältnis g Mol. Cozymase : g Mol. Mg = 100 : 1. Die von Dr. Auhagen ausgearbeiteten Kurven beziehen sich auf zwei verschiedene Cozymasekonzentrationen (Abb. 1).

Hiermit sind die in minimalen Mengen am Zuckstoffwechsel beteiligten Aktivatoren und Katalysatoren noch nicht vollkommen aufgezählt. Auch die von Cozymase und von Mg befreite Trockenhefe scheint noch einen dritten, nichtenzymatischen Aktivator zu enthalten, dem wir im Stockholmer Laboratorium lange nachgegangen sind¹⁵⁾, welcher sich aber dem eindeutigen Nachweis bisher entzogen hat. Durch neuere Versuche von Auhagen scheint es gelungen zu sein, aus der von Cozymase und Mg befreiten Trockenhefe noch einen weiteren Aktivator abzutrennen, dessen Beziehung zur Muskeladenylsäure studiert werden soll.

Die Z-Faktoren.

Die Cozymase aktiviert mit Mg und mit einem weiteren Stoff in der oben beschriebenen Weise die Zymase des Hefenpresssaftes und der ausgewaschenen Trockenhefe. Sie ist aber bekanntlich ohne Wirkung auf lebende Hefezellen. Nun enthält die Hefe andererseits einen Stoff, welcher zwar die Gärung der Trockenhefe nicht zu beschleunigen imstande ist, aber frische Hefe hinsichtlich ihrer Gärwirkung aktiviert, ohne die Zellzahl zu steigern. Diesen Stoff haben wir als Faktor Z bezeichnet, und er wurde besonders von Myrbäck¹⁶⁾ und Philipson¹⁷⁾ untersucht. Meyerhof und Iwasaki¹⁸⁾ haben ihn kürzlich bei glykolytischen Versuchen gefunden und studiert.

Der Z-Komplex kommt nicht nur in der Hefe, sondern auch in vielen tierischen Geweben und Flüssigkeiten (Urin) und in höheren Pflanzen vor.

Der Faktor Z ist nicht einheitlich. Er kann in wenigstens zwei Komponenten aufgeteilt werden. Erzeugt man in einer Lösung, welche den Z-Effekt gibt, Hydroxyde von Eisen, Aluminium oder Zink, so wird die Z-Wirkung um einen gewissen konstanten Betrag vermindert, der eine Faktor wird dann durch die betreffenden Hydroxyde gebunden.

Bei der Elution des Eisen- oder Aluminiumhydroxyds mit saurem Phosphat oder Zinkhydroxyd mit H₂S wird eine Lösung erhalten, welche die Gärungsgeschwindigkeit der frischen Hefe nicht steigert, welche aber, dem Filtrat der Eisen- oder Aluminiumfällung zugesetzt, die ursprüngliche Aktivierung wiederherstellt, wie die Abb. 2 zeigt. Die Steigerung der Gärungsgeschwindigkeit a bei Zusatz von Z₁ zu Z₂-Lösungen ist in gewissen Grenzen den Logarithmen der Z-Konzentrationen proportional nach der Gleichung

$$a = k \cdot \log(q \cdot c) + L$$

wo q = zugesetztes Aktivatorvolumen und c = Trocken-

¹⁵⁾ Euler, Brunius u. Proffe, Ztschr. physiol. Chem. 177, 70 [1928].

¹⁶⁾ Euler u. Myrbäck, ebenda 141, 297 [1924]; 176, 258 [1928]. Euler, Brunius u. Proffe, ebenda 178, 202 [1928].

¹⁷⁾ Philipson, ebenda 193, 16 [1930]; 181 [1930]. Euler u. Philipson, ebenda 195, 81 [1931]; 198, 1 [1931].

¹⁸⁾ Meyerhof u. Iwasaki, Biochem. Ztschr. 226, 16 [1930].

gewicht der Aktivatorlösung in mg/cm^3 ; k und L sind Konstanten.

Beide Z-Komponenten sind wie die Cozymase leicht dialysierbar, unterscheiden sich von dieser zunächst

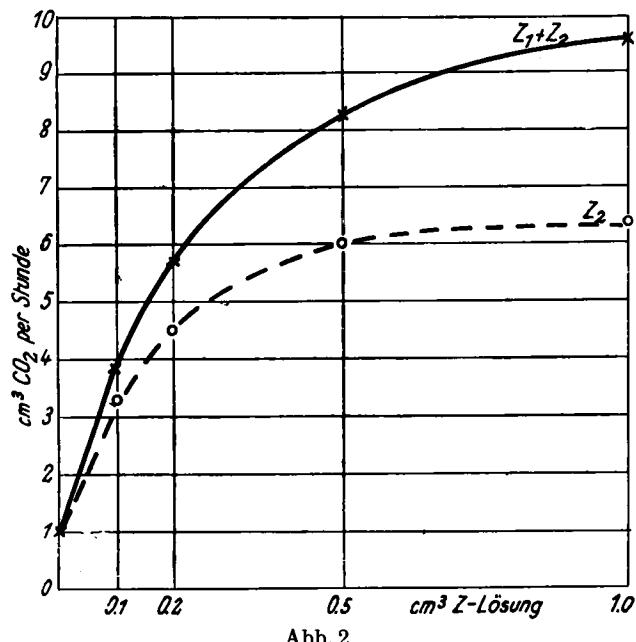


Abb. 2.

durch ihre viel größere Temperaturstabilität und durch größere Resistenz gegen chemische und enzymatische Einflüsse. Im Gegensatz zu Cozymase werden Z_1 und Z_2 durch Autolyse nicht beeinträchtigt.

Es hat den Anschein, daß die kürzlich von Chick und Coping¹⁹⁾ isolierte dritte Komponente des B-Vitamins, der Faktor Y, unserer gärungsbeschleunigenden Substanz Z chemisch verwandt ist. Ob der Faktor Y der englischen Forscher, der zunächst als ein wasserlöslicher Wachstumsstoff charakterisiert ist, auch in den Kohlenhydratumsatz eingreift, ist noch nicht bekannt.

Katalysatoren der Zucker-Oxydation.

Das eingangs besprochene Zymasesystem vermittelt zunächst den Abbau des Zuckers zu zwei Spaltprodukten mit je drei C-Atomen. Unter diesen Spaltprodukten sind 1905 von Wohl Dioxyaceton, Glycerinaldehyd und Methylglyoxal in Betracht gezogen worden, und Neuberg hat bekanntlich starke Stützen für letztere Substanz beigebracht.

Anaerob geht die Spaltung weiter zu Alkohol + CO_2 . Aerob muß die Oxydation eines oder mehrerer dieser Spaltprodukte ebenfalls durch Katalysatoren vermittelt werden.

Daß kein Grund vorliegt, alle Katalysatoren des oxydativen Zuckerabbaus als Enzyme zu betrachten, ist bereits von mehreren Seiten hervorgehoben worden. Die erste genauere chemische Charakterisierung des eisenhaltigen Atmungsstoffes der Hefe, des Hämochromogens, verdankt man Hans Fischer (1924), und die Versuche sind von ihm mit Fink und Treibs weitergeführt worden.

Das von McMunn entdeckte, von Keilin beschriebene Cytochrom ist nach diesem Forscher ein Porphyrinderivat und steht dem Hämin hinsichtlich seiner Struktur nahe. Durch die viel eingehenderen Untersuchungen von O. Warburg, welcher unsere Kenntnisse über die Mitwirkung des Eisens an biologischen Oxydationen wesentlich erweitert hat, sind dann

¹⁹⁾ Chick u. Coping, Biochem. Journ. 24, 1764 [1930].

die Beziehungen zwischen dem Katalysator der Atmung und dem Hämin weiterverfolgt worden.

Zwei Probleme harren hier der Lösung: Erstens sind unter den Eisenporphyrinderivaten die hinsichtlich der Oxydationswirkung spezifischen hochaktiven Formen ausfindig zu machen; hier werden wohl systematische Vergleiche mit den von Hans Fischer synthetisierten Eisenporphyrinkomplexen zum Ziel führen.

Die zweite, wesentlich chemische Aufgabe ist es, diejenigen Spaltprodukte des Zuckers festzulegen, welche der direkten, durch den Eisenporphyrinkomplex katalysierten Oxydation unterliegen.

In diesem Institut hat Dr. L. Ahlström die katalytische Wirkung von Hämin auf Methylglyoxal mit denjenigen auf Dioxyaceton und Glycerinaldehyd verglichen und ist zu dem immerhin auffallenden Ergebnis gekommen, daß sowohl Glycerinaldehyd als Dioxyaceton sehr viel schneller Sauerstoff aufnehmen als das Methylglyoxal. Daraus ist zu schließen, daß die durch die Synthese zugängliche stabile Form dieses Zwischenproduktes wohl nicht der in Tier- und Pflanzenkörpern auftretenden entspricht. Auf die mögliche Existenz zahlreicher isomerer Formen hat Neuberg besonders hingewiesen. Wie aus der Abb. 3b hervorgeht, ist übrigens die Oxydationssteigerung (nach 70 min) durch Ferrosulfat größer als durch Hämin. Bei Glycerinaldehyd m/12 ist sie nämlich mit Ferrosulfat 81,6%, mit Hämin 62%.

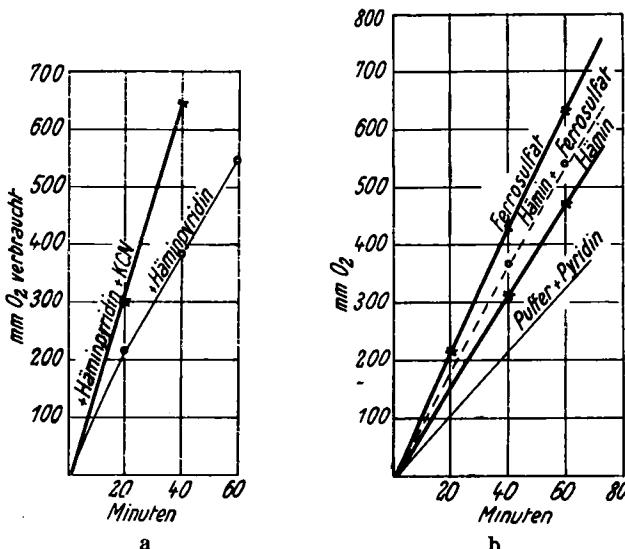


Abb. 3.

Im Zusammenhang mit dem, was über nichtenzymatische Fe-Porphyrinderivate bekanntgeworden ist, verdient der vor kurzem geführte Nachweis Interesse, daß auch das außerordentlich verbreitete und wohl an den meisten Oxydationsvorgängen der Zelle beteiligte Enzym Katalase ein Eisenporphyrinkomplex ist: Zeile²⁰⁾ konnte dies sowohl an pflanzlichem sowie an tierischem Material zeigen.

So erkennt man immer deutlicher die ganz zentralen und beherrschenden Rollen, welche neben den eigentlichen Eiweißkörpern erstens die Nucleotide einnehmen, welche zunächst den Zuckerumsatz und damit verbundene lebenswichtige Synthesen und indirekt eine Reihe physiologischer Effekte beeinflussen, dann aber besonders die Porphyrine, deren endgültige Aufklärung wir dem folgenden Herrn Vortragenden (Hans Fischer) verdanken.

[A. 80.]

²⁰⁾ Zeile u. Hellström, Ztschr. physiol. Chem. 192, 171 [1930]. Zeile, ebenda 195, 39 [1930].