

Fortschritte der physiologischen Chemie seit 1929.

I. Naturstoffe)*.

Eiweißstoffe.

Von Prof. Dr. E. WALDSCHMIDT-LEITZ,

Institut für Biochemie der Deutschen Technischen Hochschule Prag.

(Eingeg. 27. April 1934.)

Der Stand der Eiweißforschung¹⁾ hat seit den Zeiten *Emil Fischers* verschiedene Wandlungen zu verzeichnen. Die Ansicht, daß die Eiweißstoffe hochmolekularer Natur seien, ist eine Zeitlang unter dem Einfluß der sich entwickelnden physikalischen und Kolloidchemie und ihrer Beobachtungen starken Zweifeln begegnet: man hielt die Proteine für Aggregationsprodukte einfacher, niedermolekularer Bausteine. Allein die Deutung der Beobachtungen war nicht immer zutreffend. Heute hat man fast allgemein zu der *Fischerschen* Ansicht zurückgefunden, wonach die Proteine hochmolekulare, ganz oder überwiegend aus Peptidketten aufgebaute Naturstoffe darstellen. Meinungsverschiedenheiten, wo solche noch bestehen, betreffen mehr die Feinstruktur der einzelnen Eiweißkörper, beispielsweise die Verknüpfungsart der einzelnen ein Protein aufbauenden Polypeptide.

Eine größere Anzahl wichtiger Untersuchungen über das **Molekulargewicht** der Proteine sind von *Svedberg* und seiner Schule in der Berichtszeit ausgeführt worden; seine Bestimmung erfolgte mittels der bekannten Methode der Ultrazentrifugierung²⁾, sei es auf Grund der Sedimentationsgeschwindigkeit, sei es auf Grund des Sedimentationsgleichgewichtes. Unter den einzelnen Ergebnissen seien folgende hervorgehoben: Man fand für das Molekulargewicht von

Eieralbumin	34 500 ³⁾
Bence-Jones-Eiweiß	35 000 ⁴⁾
Serumalbumin	67 500 ⁵⁾
Serumglobulin	103 800 ⁵⁾
Legumin	208 000 ⁶⁾
Edestin	212 000 ⁷⁾
Cocosin	208 000 ⁸⁾
Hämocyanin aus Octopus vulgaris . . .	2 000 000 ⁹⁾
Lactalbumin	12–25 000 ¹⁰⁾
Casein	75–375 000 ¹¹⁾

Die Methode der Ultrazentrifugierung erlaubt auch eine Beurteilung der Einheitlichkeit von Eiweißpräparaten. So findet man für das nach *Hammarsten* dargestellte Roh-Casein ein Gemisch verschiedener Teilchengrößen, mit salzsäurehaltigem Alkohol fraktioniertes Casein¹²⁾ erwies sich dagegen als homogen. Auch das Albumin der Milch ist inhomogen; in der Milch selbst hat das Albumin ein Molekulargewicht von nicht über 1000, erst bei der Reinigung entstehen daraus Produkte mit höherem Molekulargewicht, zwischen 12 000 und

25 000, vor allem unter dem Einfluß von Ammonsulfat. Ein ähnliches Verhalten zeigt auch das Casein, dies scheint für die Milchproteine charakteristisch zu sein; denn bei den übrigen untersuchten Eiweißstoffen findet man das Molekulargewicht im natürlichen und im gereinigten Zustande übereinstimmend¹³⁾.

Nach *Svedberg*¹⁴⁾ hat man unter den Proteinen nach ihrem Molekulargewicht zwei große Gruppen zu unterscheiden, die eisenhaltigen Hämocyanine mit einem Molekulargewicht in der Größenordnung von Millionen und daneben die übrigen Proteine mit Molekulargewichten zwischen 34 000 und 210 000. Die letzteren weisen vier Untergruppen auf, bei welchen die Molekulargewichte auseinander durch Multiplikation mit 2, 3 und 6 hervorgehen; sie stellen also Vielfache von 34 000 dar. Die Moleküle der ersten und vierten Untergruppe haben sphärische Gestalt, die der zweiten und dritten dagegen nicht; die der vierten Gruppe zerfallen leicht bei steigendem pH. Es scheint danach, daß die zahlreichen Proteine nach einem allgemeinen Bauplane aufgebaut sind, der in wässriger Lösung für sie nur eine beschränkte Anzahl molekularer Massen und Größen zuläßt. Zur Erklärung des Auftretens der angeführten Vielfachen von 34 000 bei den Molekulargewichten der einzelnen Proteine vertreten *Astbury* und *Woods*¹⁵⁾ die Annahme, daß die Multiplikationsfaktoren 1, 2, 3 und 6 die Anzahl von Molekülen in einer Elementarzelle angeben, sich also nur auf die Kristallstruktur der Proteine beziehen. Die Zahl 34 000 selbst für das Mindestmolekulargewicht ist danach auch keine wirkliche Konstante; sie ist dadurch bedingt, daß beim Überschreiten einer gewissen Kettenlänge, etwa der Molekülgröße 34 000 entsprechend, die Peptidketten instabil werden.

Entsprechend der Auffassung, daß die Proteine aus großen Molekülen bestehen, ist man mehr und mehr dazu übergegangen, auch viele ihrer **kolloidalen Eigenschaften** und deren Veränderungen mit chemischen Veränderungen der Proteinmoleküle in Verbindung zu bringen. So wird versucht, die Quellung beispielsweise des Kollagens auf Änderungen seiner inneren Struktur, auf eine Aufspaltung geschlossener Ringsysteme zurückzuführen, durch welche neue wasserbindende Gruppen freigelegt werden¹⁶⁾. Die Hydratation der Proteine wird als eine Koordination von Wassermolekülen mit den O-, N- und H-Atomen der freien Oxy-, Carboxyl- und Aminogruppen, auch der Peptidbindungen selbst erklärt¹⁷⁾; sie ist mit keiner nennenswerten Energieänderung verknüpft, kommt daher auch als Quelle der Arbeitsleistung im Muskel kaum in Frage¹⁸⁾. Nach *Pauli*¹⁹⁾ hat man zwischen reversiblen und irreversiblen Veränderungen des Kolloidzustandes zu unterscheiden; die letzteren, zu denen beispielsweise die Erscheinungen der Denaturierung ge-

*) Bereits erschienen: Kohlenhydrate, diese Ztschr. 47, 247 [1934]; Lipide, ebenda 47, 271 [1934].

¹⁾ Vgl. P. Karrer, diese Ztschr. 46, 37 [1933].

²⁾ Vgl. ebenda 44, 121 [1931].

³⁾ J. B. Nichols, Journ. Amer. chem. Soc. 52, 5176 [1930].

⁴⁾ Th. Svedberg u. B. Sjögren, ebenda 51, 3594 [1929].

⁵⁾ Th. Svedberg u. B. Sjögren, ebenda 50, 3318 [1928].

⁶⁾ B. Sjögren u. Th. Svedberg, ebenda 52, 3279 [1930].

⁷⁾ Th. Svedberg u. A. J. Stamm, ebenda 51, 2170 [1929].

⁸⁾ B. Sjögren u. R. Spychalski, ebenda 52, 4400 [1930].

⁹⁾ Th. Svedberg u. I. B. Eriksson, ebenda 54, 4730 [1932].

¹⁰⁾ B. Sjögren u. Th. Svedberg, ebenda 52, 3650 [1930].

¹¹⁾ Th. Svedberg, L. M. Carpenter u. D. C. Carpenter, ebenda 52, 241, 701 [1930].

¹²⁾ Nach K. Linderstroem-Lang, Compt. rend. Lab. Carlsberg 17, Nr. 9, S. 1; Chem. Ztrbl. 1929, II, 2784.

¹³⁾ Th. Svedberg, Nature 128, 999 [1931].

¹⁴⁾ Th. Svedberg, ebenda 123, 871 [1929].

¹⁵⁾ W. T. Astbury u. H. J. Woods, ebenda 127, 663 [1931].

¹⁶⁾ J. Knaggs, Biochem. Journ. 23, 1308 [1930].

¹⁷⁾ D. J. Lloyd u. H. Phillips, diese Ztschr. 45, 771 [1932].

¹⁸⁾ H. H. Weber, diese Ztschr. 42, 487 [1929].

¹⁹⁾ W. Pauli u. R. Weiß, Biochem. Ztschr. 233, 381 [1931].

hören, sind mit konstitutiven Veränderungen ursächlich verknüpft.

Die Denaturierung durch Alkohol besteht nach *Spiegel-Adolf*²⁰⁾ hauptsächlich in einer Entziehung von Hydratwasser, welche die Ursache weitergehender Veränderungen sein kann; es scheint keine Hydrolyse, sondern eine Anhydridbildung, vielleicht unter Ringschluß, bei der Denaturierung, sei es durch Alkohol, sei es durch Hitze²¹⁾, zu erfolgen. Auch weisen andere Beobachtungen darauf hin, daß der Denaturierung durch Säure eine Reaktion der freien Amino- und Carboxylgruppen in den Proteinen zugrunde liegt²²⁾. In Übereinstimmung mit dieser Auffassung vom Wesen der Denaturierung stehen auch die Betrachtungen von *Rimington*²³⁾, in welchen die Möglichkeit erörtert wird, daß die Eiweißdenaturierung auf einer inneren Konfigurationsänderung (Tautomerie) beruhe, beispielsweise auf einer Änderung der Affinität zu Wasser infolge der Bildung von Ringsystemen; dies wird auch aus der veränderten Verteilung des Stickstoffs in den denaturierten Proteinen, z. B. des auf Diaminoäuren entfallenden Stickstoffanteils, geschlossen²⁴⁾. Dagegen wird von *Wu*²⁵⁾ eine Zunahme des Säure- und Basenbindungsvermögens bei der Denaturierung durch Säure, nur bei der Hitzekoagulation eine Abnahme desselben beschrieben, die beiden Vorgänge wären also prinzipiell zu unterscheiden; es wird die Vorstellung entwickelt, daß Denaturierung erfolge, wenn die in den genuinen Proteinen vorliegende geordnete Struktur, auf der Wirkung der Anziehungskräfte zwischen den polaren Gruppen in den Peptidketten beruhend, verlorengehe²⁶⁾. Von anderer Seite wiederum wird die Hitzekoagulation von Eiweiß mit einer Umwandlung ionisierter Salzketten in echte Peptidketten erklärt²⁷⁾; denn die der Menge endständiger Carboxylgruppen entsprechende Laugenmenge stellt die geringste, zur Verhinderung der Koagulation ausreichende Laugenmenge dar²⁸⁾. Erfolgreiche Versuche über die Rückgängigmachung der Denaturierung durch Säure haben *Anson* und *Mirsky*²⁹⁾ ausgeführt; diese gelingt bei Eieralbumin, Serumalbumin wie bei Globin zu einem hohen Anteile durch Neutralisation. Der für die denaturierten Proteine beobachtete charakteristische Gehalt an freien Sulfhydryl- und Disulfidgruppen kommt bei der Umkehr der Denaturierung gleichfalls wieder zum Verschwinden.

Zur Frage nach der Ursache der Racemisierung der Proteine bei der Einwirkung von Lauge, die von *Dakin* auf Enolisierung der Peptidbindungen zurückgeführt war, hat *Csonka*³⁰⁾ neue Versuche mitgeteilt, deren Ergebnisse die Ansicht von *Dakin* zu widerlegen scheinen; die optische Aktivität bleibt danach bei der Einwirkung von Alkali zunächst erhalten, erst bei einer darauffolgenden Hydrolyse mit Säure findet Racemisierung statt.

Versuche über die Substitution von Eiweiß (Globin) mit Jod und über Nitrierung liegen von *Bauer* und

*Strauß*³¹⁾ vor. Danach wird viel mehr Jod aufgenommen, als dem Tyrosingehalte entspricht, Jod tritt also anscheinend auch mit den Iminogruppen der Peptidbindungen in Reaktion. Bemerkenswerterweise wird durch diese Jodierung am Stickstoff das Protein für den Angriff des Pepsins blockiert, erst nach Wiederablösung des Jods durch schweflige Säure kehrt die Pepsinspaltbarkeit zurück.

Als neuartiger Eiweißbaustein wird das Citrullin³²⁾, δ -Carbamyl-ornithin, beschrieben, in geringer Ausbeute aus den tryptischen Verdauungsprodukten von Casein isoliert, ferner ein Pro-Lysin³³⁾, α -Amino- ϵ -hydantoin-capronsäure, aus den Säurehydrolysaten von Casein und Gelatine.

Über die Frage der Stellung der Phosphorsäure in den Phosphoproteinen geben Untersuchungen von *Levene*³⁴⁾ nähere Auskunft; mit der Isolierung einer Serin und Glutaminsäure enthaltenden Dipeptidphosphorsäure aus Casein in Form ihres kristallisierten Brucinsalzes wird gezeigt, daß der Phosphorsäurerest esterartig an Serin gebunden und einem Glutaminsäurerest benachbart vorliegt. Ferner ist über die Isolierung einer Verbindung von Glucosamin und Mannose in äquimolekularem Verhältnis aus Serumprotein³⁵⁾ sowie über den Nachweis von Chitosamin in weitgehend gereinigtem Fibroin aus Tussah-Seide³⁶⁾ berichtet worden. Beim stufenweisen Abbau von Seidenfibroin hat man weiterhin Penta- und Tetrapeptide, darunter ein Glycylseryl-prolyl-tyrosyl-prolin, erhalten³⁷⁾. Von der Analyse von Keratinen verschiedenster Herkunft ist ferner zu erwähnen, daß für ihre Zusammensetzung ein bestimmtes Mengenverhältnis der basischen Aminosäuren Histidin, Lysin und Arginin, nämlich wie 1 : 4 : 12, charakteristisch zu sein scheint³⁸⁾.

Die Frage nach der Ursache des „Sauerstoff-Restes“ in den Proteinen, des durch die Zusammensetzung nach Bausteinen nicht gedeckten Überschusses an Sauerstoff, der bei der Hydrolyse verschwindet, hat eine, wie es scheint, endgültige Aufklärung gefunden; nach *Slary*³⁹⁾ reicht zu seiner Erklärung nur die Annahme aus, daß im nichthydrolisierten Eiweiß Wasser, bzw. dessen Bestandteile, in noch unbekannter Weise chemisch gebunden ist. Die Bildung von Acetaldehyd bei der alkalischen Spaltung von Eiweißkörpern, auch von kohlenhydratfreien, wie dem Clupein, hat *Rießler*⁴⁰⁾ beobachtet und in Destillaten daraus mittels Dimedon nachgewiesen (in Mengen bis zu 3%); mit dem Gemisch der Produkte vollständiger Hydrolyse, auch der enzymatischen, bleibt die Aldehydbildung dagegen aus. Sie erfolgt auch nach der unvollständigen Hydrolyse durch Pankreatin, nicht dagegen nach Pepsineinwirkung⁴¹⁾. Die Bildung des Aldehyds, dessen Herkunft noch ungeklärt ist, scheint mit der Eiweißstruktur als solcher zusammenzuhängen.

Für den Abbau von Eiweißkörpern mit chemischen Mitteln ist eine Reihe neuer Verfahren zur Anwendung

²⁰⁾ M. Spiegel-Adolf, ebenda 204, 1 [1929].

²¹⁾ M. Spiegel-Adolf, ebenda 213, 475 [1929].

²²⁾ H. K. Cubin, Biochem. Journ. 23, 25 [1929].

²³⁾ Cl. Rimington, Nature 127, 440 [1931].

²⁴⁾ A. v. Kuthy, Biochem. Ztschr. 259, 432 [1933].

²⁵⁾ H. Wu u. T. Chen, Chinese Journ. Physiol. 3, 7 [1929]; Chem. Ztbl. 1930, II, 929.

²⁶⁾ H. Wu, ebenda 5, 321 [1931]; Chem. Ztbl. 1932, II, 228.

²⁷⁾ J. B. Speakman, Journ. Int. Soc. Leather Trades Chemists 17, 229 [1933]; Chem. Ztbl. 1933, II, 2682.

²⁸⁾ L. Nasch, Biochem. Ztschr. 237, 343 [1931].

²⁹⁾ M. L. Anson u. A. E. Mirsky, Journ. gen. Physiol. 14, 597, 725 [1931]; Chem. Ztbl. 1932, I, 240, 2437.

³⁰⁾ F. A. Csonka u. M. J. Horn, Journ. biol. Chem. 93, 677 [1931].

³¹⁾ H. Bauer u. E. Strauß, Biochem. Ztschr. 211, 163 [1929].

³²⁾ M. Wada, ebenda 257, 1 [1933].

³³⁾ M. Wada, ebenda 262, 57 [1933].

³⁴⁾ P. A. Levene u. D. W. Hill, Journ. biol. Chemistry 101, 711 [1933].

³⁵⁾ Cl. Rimington, Biochemical Journ. 23, 430 [1929].

³⁶⁾ E. Abderhalden u. K. Heyns, Ztschr. physiol. Chem. 202, 37 [1931].

³⁷⁾ E. Abderhalden u. A. Bahn, ebenda 219, 72 [1933].

³⁸⁾ R. J. Block u. H. B. Vickery, Journ. biol. Chemistry 93, 113 [1931].

³⁹⁾ Z. Slary, Ztschr. physiol. Chem. 186, 137 [1930].

⁴⁰⁾ O. Rießler, ebenda 196, 201 [1931].

⁴¹⁾ A. Hoffmeister, ebenda 205, 183 [1932].

gekommen. Der Abbau durch Hypobromit vollzieht sich nach Goldschmidt⁴²) an Polypeptiden unter Abspaltung der die freie Aminogruppe tragenden Aminosäure in Form des um ein Kohlenstoffatom ärmeren Nitrils; bei Dipeptiden erfolgt außerdem eine Umsetzung der zweiten Aminosäure zur Carbaminoverbindung, bei höheren Peptiden eine Umsetzung derselben über das Hydantoin zum Dehydrohydantoin, darauf ihre hydrolytische Abspaltung als Ketosäure mit gleicher Anzahl von Kohlenstoffatomen. Abbauversuche mit Essigsäureanhydrid, ferner mit wasserfreiem Glycerin und mit Resorcin sind von Fodor⁴³) durchgeführt worden. Dabei wurden aus Gelatine Assoziate eines Hexapeptids mit kleineren Komplexen erhalten, aus Glykokoll, Alanin und Prolin bzw. Oxyprolin bestehend; ein solches Hexapeptid wird als der Grundkörper der Gelatine angesehen. Bemerkenswert erscheinen auch die Versuche Gränachers über eine Alkylierung der Gelatine mit Brombenzyl⁴⁴); die Hydrolyse der einheitlichen, hochmolekularen Brombenzylgelatine mit Baryt lieferte als eines der Spaltprodukte Tribrombenzylharnstoff, anscheinend gebildet aus einer in der Gelatine vorhandenen tautomeren Form des Arginins. Einige der bei dem Troensegaardschen Abbauverfahren der Acetylierung und Hydrierung aus Gliadin entstehenden Basen endlich haben eine Konstitutionsaufklärung erfahren, nämlich als Methyl- bzw. Isopropyl-piperazin bzw. Pyrrolidyl-carbinol⁴⁵).

Unsere Kenntnis von dem allgemeinen Verlauf und den Reaktionsprodukten des enzymatischen Eiweißabbaus⁴⁶) ist durch eine Reihe von Einzelbeobachtungen gefördert worden. Nach Rona⁴⁷) wäre in den ersten Stadien des Abbaus nativer Proteine (Casein, Eieralbumin) durch Pepsin und Trypsin eine Veränderung ihrer Eigenschaften (Zunahme der Adsorbierbarkeit durch Kolloidummembran, Zunahme des osmotischen Druckes) ohne gleichzeitige Hydrolyse zu beobachten; es wird eine Vermehrung der Teilchenzahl, eine Desaggregation, als erste Stufe des Abbaus angenommen. Beim peptischen Abbau des Caseins entsteht in erster Reaktion ein den gesamten Phosphor enthaltendes Pepton von hoher Viscosität; dies erklärt den beim Abbau des Caseins durch Pepsin anfänglich zu beobachtenden Anstieg der Viscosität⁴⁸). Nach Svedberg⁴⁹) erfolgt der Abbau des Eieralbumins durch Papain in der Weise, daß eine allmähliche Verkleinerung des Moleküls unter Abspaltung kleiner Bruchstücke sich vollzieht. Der fraktionierte enzymatische Abbau dieses Proteins⁵⁰) andererseits läßt erkennen, daß zwischen den Leistungen der einzelnen am Abbau beteiligten Enzyme einfache, ganzzahlige Verhältnisse bestehen; bei der Hydrolyse

durch Pepsin entstehen hauptsächlich Tripeptide, beim Abbau durch Trypsin dagegen auch höhere Peptide. Für die Beurteilung der Eiweißstruktur, nämlich eine mögliche Beteiligung von Dioxopiperazinen am Eiweißaufbau, ist die Beobachtung von Bedeutung, daß carboxylierte Dioxopiperazine wie das Glycyl-glutaminsäureanhydrid im Gegensatz zu den einfachen Dioxopiperazinen enzymatisch, nämlich durch Trypsin-Kinase, zerlegbar gefunden werden⁵¹).

Als neuartige proteolytische Enzyme^{51a}) sind eine Protaminase in der Pankreasdrüse⁵²), zur spezifischen Abspaltung basischer Eiweißbausteine befähigt, sowie eine Dehydro-dipeptidase in der Niere⁵³) aufgefunden worden. Es erscheint danach möglich, daß beim biologischen Abbau der Eiweißstoffe die Dehydrierung und Desaminierung nicht oder nicht ausschließlich über die Aminosäurestufe, sondern schon auf der Peptidstufe erfolgt. Von Bergmann⁵⁴) wurden ferner interessante Modellversuche angestellt, nach denen es gelingt, acyierte Aminosäuren durch Essigsäureanhydrid katalytisch zum Abbau durch Dehydrierung, und ähnlich aus gesättigtem und ungesättigtem Aminosäurerest bestehende Dioxopiperazine durch OH-Ionen im Sinne der Dehydrierung, durch H-Ionen in dem der Hydrierung zu aktivieren. Auf das Vorkommen noch weiterer unbekannter proteolytischer Enzyme in der Pankreasdrüse endlich scheinen Beobachtungen von Abderhalden⁵⁵) hinzuweisen.

Die Bedeutung der älteren Beobachtungen über eine enzymatische Synthese von Eiweiß aus einem Gemische von Spaltprodukten durch Pepsin, der sogen. „Plastein“-Bildung, ist erschüttert worden durch den Nachweis, daß das bei der Pepsinwirkung ausfallende „Plastein“ ein niedriges Molekulargewicht, um 1000, besitzt, also sicherlich kein Protein darstellt⁵⁶). Die synthetischen Verfahren zur Darstellung von Peptiden endlich sind durch eine neue, elegante Methode von Bergmann⁵⁷) bereichert worden; sie bedient sich der Benzylesterkohlensäureverbindungen der Aminosäuren, aus welchen die Aminogruppe besonders leicht durch Hydrierung regeneriert werden kann.

In der Frage des allgemeinen Aufbaus der Eiweißkörper herrscht heute fast unumstritten die Anschauung vor, daß die gewöhnlichen, enzymatisch spaltbaren Proteine, also die große Mehrzahl von ihnen, aus längeren Peptidketten bestehen; eine Beteiligung von Dioxopiperazinen an ihrem Aufbau ist z. B. auch nach dem Verhalten der Proteine bei der Einwirkung racemisierender Mittel, das dem von Peptiden, aber nicht dem von Anhydriden ähnlich ist, nicht anzunehmen⁵⁸). Nach Sörensen⁵⁹) sind die löslichen, hochmolekularen Ei-

⁴²) St. Goldschmidt u. K. Strauß, LIEBIGS Ann. 471, 1 [1929].

⁴³) A. Fodor u. Ch. Epstein, Biochem. Ztschr. 210, 24 [1929]; 228, 310 [1930]; 240, 140 [1931]. A. Fodor u. S. Kuk, ebenda 245, 350 [1932].

⁴⁴) Ch. Gränacher, diese Ztschr. 42, 1010 [1929].

⁴⁵) F. Wrede, E. Bruch u. W. Keil, Ztschr. physiol. Chem. 200, 133, 203, 279 [1931].

⁴⁶) Vgl. W. Graßmann, diese Ztschr. 43, 560 [1930]. E. Waldschmidt-Leitz, ebenda 43, 622 [1930]; 44, 485 [1931]; 45, 284 [1932].

⁴⁷) P. Rona u. E. Mislowitzer, Biochem. Ztschr. 200, 152 [1928]. P. Rona u. H. A. Ökers, ebenda 217, 50 [1930].

⁴⁸) H. Holter, K. Linderström-Lang u. J. B. Funder, Ztschr. physiol. Chem. 206, 85 [1932].

⁴⁹) Th. Svedberg u. I. B. Eriksson, Biochem. Ztschr. 258, 1 [1933].

⁵⁰) H. O. Calvery, E. Waldschmidt-Leitz u. A. Schäffner, Naturwiss. 21, 316 [1933]. H. O. Calvery, Journ. biol. Chemistry 102, 73 [1933].

⁵¹) T. Ishiyama, Journ. Biochemistry 17, 285 [1933]; Chem. Ztrbl. 1933, II, 396. Siehe auch E. Abderhalden u. E. Schwab, Ztschr. physiol. Chem. 212, 61 [1932].

^{51a}) Vgl. auch den Beitrag „Proteasen“ im Kapitel II „Enzyme“.

⁵²) E. Waldschmidt-Leitz, Fr. Ziegler, A. Schäffner u. L. Weil, Ztschr. physiol. Chem. 197, 219 [1931]. E. Waldschmidt-Leitz u. E. Kofranyi, ebenda 222, 148 [1933].

⁵³) M. Bergmann, diese Ztschr. 45, 282 [1932]. M. Bergmann u. H. Schleich, Ztschr. physiol. Chem. 205, 65 [1931/32].

⁵⁴) M. Bergmann, diese Ztschr. 43, 522 [1930].

⁵⁵) E. Abderhalden u. E. Schwab, Fermentforschung 11, 92, 127 [1930]; Chem. Ztrbl. 1930, I, 3794, 3795.

⁵⁶) S. J. Folley, Biochemical Journ. 26, 99 [1932].

⁵⁷) M. Bergmann, Naturwiss. 20, 420 [1932]; diese Ztschr. 45, 282 [1932].

⁵⁸) P. A. Levene u. L. W. Bass, Journ. biol. Chemistry 82, 171 [1929]. M. Bergmann, Naturwiss. 17, 314 [1929].

⁵⁹) S. P. L. Sörensen, Kolloid-Ztschr. 53, 102, 170, 306 [1930].

weißstoffe, aus Peptidketten bestehend, als reversibel dissoziable Komponentensysteme aufzufassen, deren gegenseitige Bindung eine verhältnismäßig schwache ist, so daß ihre Fraktionierung leicht gelingt. Durch welche Kräfte der Zusammenhalt der einzelnen Peptidketten bewirkt wird, ob, wie es wahrscheinlich ist, durch Nebenvalenzen oder aber durch *van der Waalssche Kräfte*, ist noch nicht zu entscheiden; letzteres wird für die Vereinigung der Polypeptidketten in der Gelatine in deren mittleren Teilen angenommen, während die Enden der Ketten als Fransen durch Nebenvalenzkräfte den intermicellaren Zusammenhang des Gelatinegels vermitteln sollen⁶⁰).

An den Peptidbindungen im Eiweißmolekül scheint die ϵ -Aminogruppe des Lysins nicht beteiligt zu sein⁶¹), während die NH-Gruppe des Prolins, wenigstens in der Gelatine, an den Peptidbindungen teilnimmt⁶²).

Nach *Fodor*⁶³) stellt das Eiweißmolekül keine Peptidkette von sehr großer Länge dar, sondern wird durch Aneinanderlagerung vieler relativ einfacher Polypeptide gebildet. Man hätte in den Proteinen drei Arten von Bindungen zu unterscheiden, gewöhnliche Peptidbindungen, ferner sogen. „Akropeptidbindungen“, welche unter Enolisierung der Peptidbindungen die einzelnen Ketten durch Hauptvalenzen miteinander verknüpfen, und endlich intramolekulare Kräfte, die die micellare Struktur der Proteine bedingen⁶⁴).

Im Gegensatz zu den enzymatisch verdaulichen und löslichen Eiweißstoffen, für die heute offene Peptidstruktur fast allgemein angenommen wird, wird für die enzymatisch nicht spaltbaren und unlöslichen **Gerüst-eiweißstoffe**, die Skleroproteine, vielfach die Annahme einer Ringstruktur vertreten. Auf das Vorliegen größerer Ringsysteme in ihnen, nicht einfacher Dioxopiperazine, wird z. B. aus ihrem Verhalten bei der Auflösung in Amiden in der Hitze⁶⁵) und aus der enzymatischen Spaltbarkeit der Produkte ihrer partiellen hydrolytischen Aufspaltung⁶⁶) geschlossen; es scheinen in ihnen längere Peptidketten vorzuliegen, welche an den Enden miteinander verknüpft zu denken sind. Nach *Astbury* und *Woods*⁶⁷) erlaubt die röntgenographische Analyse der Haarkeratine folgende Deutung ihrer Struktur wie ihrer elastischen Eigenschaften: bei der Dehnung tierischen Haares findet eine reversible Umwandlung des Keratins in eine andere Form statt, welche ein abweichendes Faserdiagramm liefert; bei Berücksichtigung der elastischen Eigenschaften läßt sich für das Keratin ein Gerippe konstruieren, das im wesentlichen aus Dioxopiperazinringen besteht, welche durch ihrer Natur nach noch unbekannte Seitenketten zusammengehalten werden. Von *Speakman*⁶⁸) wird dagegen angenommen, daß die Micellen der Wolffaser aus langen Peptidketten mit

⁶⁰) *W. Abitz, O. Gerngross u. K. Herrmann*, Naturwiss. 18, 754 [1930].

⁶¹) *St. Goldschmidt u. A. Kinsky*, Ztschr. physiol. Chem. 183, 244 [1929].

⁶²) *M. Bergmann, L. Zervas u. H. Schleich*, Ber. Dtsch. chem. Ges. 65, 1747 [1932].

⁶³) *A. Fodor u. Ch. Epstein*, Biochem. Ztschr. 228, 315 [1930].

⁶⁴) *A. Fodor*, Biochem. Ztschr. 240, 140 [1931]; *Kolloid-Ztschr.* 63, 203 [1933].

⁶⁵) *E. Cherbuliez u. G. de Mandrot*, Helv. chim. Acta 14, 163 [1931].

⁶⁶) *E. Waldechmidt-Leitz u. G. v. Schuckmann*, Ber. Dtsch. chem. Ges. 62, 1891 [1929].

⁶⁷) *W. T. Astbury u. H. J. Woods*, Nature 126, 913 [1930]. *W. T. Astbury*, diese Ztschr. 45, 771 [1932].

⁶⁸) *J. B. Speakman u. M. C. Hirst*, Nature 128, 1073 [1931]. *J. B. Speakman*, diese Ztschr. 45, 771 [1932].

salzartigen Brückenbindungen vom Typus R_1-COO-
 NH_2-R_2 , aus Glutaminsäure oder Asparaginsäure einerseits und Arginin, Lysin oder Histidin andererseits, bestehen. Diese Ansicht wird indessen von *Rimington*⁶⁹) mit dem Hinweis erschüttert, daß in der Wolle viermal soviel freie Aminogruppen wie freie Carboxyle vorhanden seien, da die Amino-dicarbonsäuren meist in Form ihrer Amide vorliegen. Bemerkenswerterweise zeigen Fibrin und Kreatin trotz ganz verschiedener Zusammensetzung in gedecktem Zustand das nämliche Röntgenspektrum⁷⁰); dies weist auf eine Identität der Strukturperiode in den beiden Gerüsteiweißstoffen hin.

Eingehendere Untersuchungen über die **Anordnung der Bausteine** liegen nur für einige der einfachsten Eiweißkörper vor⁷¹), die der Gruppe der Protamine angehören, nämlich Clupein aus Heringsmilch und Salmin aus Rheinlachs. Nach *Waldechmidt-Leitz*⁷²) enthalten diese Protamine am Carboxylende mindestens zwei Argininreste, welche durch Protaminase abgespalten werden; das Molekulargewicht der beiden Protamine liegt zwischen 2000 und 3000, die Peptidkette in ihnen wird anscheinend durch einen Prolinrest eröffnet. Die Aussagen über die endständige Anordnung der Argininreste sind in Untersuchungen von *Felix*⁷³) an Clupein auf anderem Wege bestätigt worden. Da aus partiellen Hydrolysaten von Clupein einerseits Dipeptide aus Monoaminoäuren, andererseits ein Triarginyl-arginin gewonnen wurde, wird geschlossen, daß die „Proton“-Gruppen, aus je zwei Arginin- und einem Monoaminoäurerest bestehend, wenigstens in einem Teil des Clupeinmoleküls derart miteinander abwechseln, daß zwei Monoaminoäure- und vier Argininreste aufeinanderfolgen. Die Fraktionierung der in den rohen Protaminpräparaten vorliegenden Komponentengemische wird nach *Waldechmidt-Leitz* durch Umscheidung der Sulfate aus konzentrierter wässriger Lösung, nach *Felix* durch Fraktionierung der Methylester in salzsäurehaltigem Methylalkohol erreicht. Dieses Verfahren der Veresterung hat ferner für einige andere Eiweißkörper, *Sturin*⁷⁴), *Histon*⁷⁵) und *Gliadin*⁷⁶), analytische Anwendung gefunden, um aus dem Methoxylgehalte der Ester Rückschlüsse auf die Anzahl der im Protein vorliegenden freien Carboxylgruppen zu ziehen.

Zum Schlusse seien die wichtigen Beobachtungen amerikanischer Forscher angeführt, nach welchen einige Enzyme in hochaktiver Form als **kristallisierte Proteine** isoliert und die Enzyme selbst als Proteine beschrieben werden; es sind dies die Urease von *Sumner*⁷⁷), *Pepsin*⁷⁸) und *Trypsin*⁷⁹) von *Northrop* sowie die Amylase von *Sherman*⁸⁰). Die umstrittene Frage, in

⁶⁹) *C. Rimington*, Nature 129, 580 [1932].

⁷⁰) *J. R. Katz u. A. de Rooy*, Naturwiss. 21, 559 [1933].

⁷¹) Vgl. *E. Waldechmidt-Leitz*, diese Ztschr. 44, 422 [1931]. *K. Linderström-Lang*, Ergebn. d. Physiologie 35, 415 [1933]. Siehe ferner die Ausführungen über die Genealogie dieser Eiweißkörper von *E. G. Schenck*, Naturwiss. 18, 824 [1930].

⁷²) *E. Waldechmidt-Leitz, Fr. Ziegler, A. Schäffner u. L. Weil*, Ztschr. physiol. Chem. 197, 219 [1931].

⁷³) *K. Felix u. Mitarb.*, ebenda 184, 111 [1929]; 193, 1 [1930]; 205, 83; 209, 5; 211, 187; 212, 50 [1932]; 218, 269 [1933].

⁷⁴) *K. Felix u. A. Lang*, ebenda 188, 96 [1930].

⁷⁵) *F. Felix u. H. Rauch*, ebenda 200, 27 [1931].

⁷⁶) *K. Felix u. H. Reindl*, ebenda 205, 11 [1932].

⁷⁷) Vgl. *J. B. Sumner*, Ber. Dtsch. chem. Ges. 63, 582 [1930].

⁷⁸) *J. H. Northrop*, Journ. gen. Physiol. 13, 739, 787 [1930]; Chem. Ztrbl. 1930, II, 2788.

⁷⁹) *J. H. Northrop u. M. Kunitz*, Journ. gen. Physiol. 16, 267 ff. [1932]; Chem. Ztrbl. 1933, I, 2708.

⁸⁰) *M. L. Caldwell, L. E. Bocher u. H. C. Sherman*, Science 74, 37 [1931]; Chem. Ztrbl. 1932, I, 959.

welcher Weise der enzymatisch aktive Anteil in ihnen verknüpft vorliegt, ob als integrierender Bestandteil des Eiweißmoleküls selbst oder mit diesem nur in mehr oder weniger fester Form assoziiert, also abtrennbar, erscheint indessen noch nicht sicher entschieden⁸¹⁾. Die spezifischen

⁸¹⁾ Siehe dazu *E. Waldschmidt-Leitz* u. *F. Steigerwaldt*, Ztschr. physiol. Chem. 195, 260 [1931]; 206, 138 [1932]; *J. B. Sumner* u. *J. St. Kirk*, ebenda 205, 219 [1932]; *E. Waldschmidt-Leitz* u. *M. Reichel*, ebenda 204, 197 [1931/32]. *H. Dyckerhoff*

Wirkungen der einzelnen Enzyme wird man jedenfalls ganz spezifischen, noch nicht gekennzeichneten aktiven Komponenten zuzuordnen haben. [A. 54.]

u. G. Tewes, ebenda 215, 93 [1933]. *E. Waldschmidt-Leitz* u. *E. Kofranyi*, Naturwiss. 21, 206 [1933]. *E. Waldschmidt-Leitz*, Science 78, 189 [1933]. *J. H. Northrop*, Journ. gen. Physiol. 17, 165 [1933]. *J. B. Sumner*, Science 78, 335 [1933]. Ferner auch die Beobachtungen von *L. Martin*, Journ. biol. Chemistry 102, 113, 131 [1933].

Nucleinsäuren.

Von Priv.-Doz. Dr. HELLMUT BREDERECK.
Chemisches Laboratorium der Universität Leipzig.

(Eingeg. 21. April 1934.)

Inhalt: Einführung. — Poly-nucleotide. — Nucleoside. — Mono-nucleotide. — Zusammenfassung.

Einführung.

Unter Nucleinsäuren versteht man eine Klasse von Verbindungen, die als saure Gruppe einen Phosphorsäurerest enthalten, außerdem eine Purin- bzw. Pyrimidinbase und ein Kohlenhydrat. Man unterscheidet solche Nucleinsäuren, die nur eine Purin- oder Pyrimidinbase mit je 1 Mol Phosphorsäure und Kohlenhydrat verbunden im Molekül enthalten, von solchen, die aus mehreren dieser drei Bestandteile bestehen. Die ersten bezeichnet man als einfache Nucleinsäuren oder Mono-nucleotide, die letzteren als echte Nucleinsäuren oder Poly-nucleotide. Zu den Poly-nucleotiden gehören als wichtigste die Hefe-Nucleinsäure und die Thymo-Nucleinsäure.

Schon frühzeitig vermutete man die große biologische Bedeutung dieser Körperklasse, aber erst Untersuchungen der letzten Jahre sind es, die ein erstes Licht werfen auf die Rolle dieser Substanzen im Ablauf biologischen Geschehens. Die Kenntnis biologischer Wirksamkeit einer Natursubstanz pflegt in vielen Fällen ihrer chemischen Aufklärung voranzugehen, ja eben diese Kenntnis ist es, die uns so oft erst den Weg zeigt zur Isolierung und damit zu ihrer chemischen Erforschung. Schon frühzeitig begann man, sich der chemischen Aufklärung der Nucleinsäuren zuzuwenden in einer Unzahl von Arbeiten, die sich bis in die Gegenwart erstrecken. Wenn heute in den ersten Anfängen auch die biologische Bedeutung¹⁾ der Nucleinsäuren erkannt wird, so erscheint es wie eine Rechtfertigung für all die mühevollen chemischen Untersuchungen.

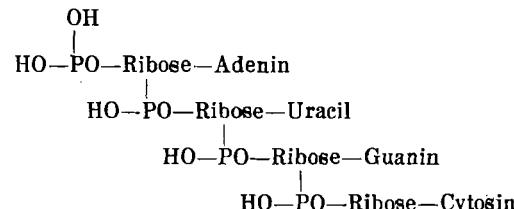
Von *Emden*²⁾ wurde aus Muskelbrei von Kaninchen eine Adenylsäure (ein Mono-nucleotid) isoliert, die sich als verschieden erwies von der aus Hefe isolierten Adenylsäure. Bei der Muskelkontraktion geht die tierische Adenylsäure unter Ammoniakabspaltung in Inosinsäure über, die bereits 1847 von *Liebig*³⁾ aus dem Fleischextrakt isoliert werden konnte. Nach Arbeiten von *Lohmann*⁴⁾ ist die Vorstufe der tierischen Adenylsäure eine Adenylpyrophosphorsäure, die unter Abspaltung von Pyrophosphorsäure in die Adenylsäure übergeht. Nucleinsäurederivate spielen weiter eine Rolle als Co-Fermente. Das Co-Ferment der Milchsäurebildung des Muskels besteht nach den Untersuchungen von *Lohmann*⁵⁾ aus einem autolysablen Bestandteil — Adenylpyrophosphorsäure — und einem nichtautolysablen, Magnesiumsalz. Aus den

umfangreichen Untersuchungen von *v. Euler* und *Myrbäck*⁶⁾ geht hervor, daß die Co-Zymase, wenn nicht identisch, so doch konstitutionell nahe verwandt mit der Muskel-Adenylsäure sein muß. Auch hier ist Magnesiumsalz als Co-Ferment-Bestandteil erforderlich. *Thannhauser*⁷⁾ und seine Schüler erforschen den Nucleinstoffwechsel im Organismus und lenken ihr Augenmerk auf die Fermentsysteme, die als Substrat Nucleinsäuren und ihre Spaltprodukte benötigen. Sie vermochten auf diese Weise, wie unten näher ausgeführt ist, die Thymo-Nucleinsäure fermentativ in einzelne Spaltstücke zu zerlegen.

Diese kurzen Hinweise sollen im Rahmen dieses Aufsatzes genügen, um die biologische Bedeutung der Nucleinsäuren darzutun, eine Bedeutung, die in der Folgezeit eine immer größere Vertiefung erfahren wird.

Poly-nucleotide.

Die Tatsache, daß die Hefe-Nucleinsäure aus vier Mono-nucleotiden — Adenylsäure, Guanylsäure, Cytidylsäure, Uridylsäure — aufgebaut ist, darf heute als gesichert hingestellt werden. Dagegen sprechende Arbeiten sind in den letzten Jahren nicht erschienen. Die Frage jedoch, wie und in welcher Reihenfolge die einzelnen Mononucleotide zum Gesamt molekül der Hefe-Nucleinsäure zusammengefügt sind, ist noch ungelöst. Auf Grund von Titrationsergebnissen hat *Levene*⁸⁾ bereits vor mehreren Jahren ein vorläufiges Konstitutionsschema aufgestellt:



Die Frage nach der Konstitution der Thymo-Nucleinsäure konnte in den vergangenen Jahren im Sinne einer „tetranucleotidischen Struktur“ beantwortet werden. Diese Struktur war ja wahrscheinlich geworden, seitdem *Steudel*⁹⁾ und *Levene*¹⁰⁾ durch Säurehydrolyse vier Basen in äquimolaren Mengen isolieren konnten. Nunmehr gelang es, durch enzymatische Hydrolyse vier Nucleoside — jedes bestehend aus Base + Kohlenhydrat — zu erhalten, die den früher isolierten Basen entsprachen. Die Hydro-

⁸⁾ *v. Euler* u. *Myrbäck*, Ztschr. physiol. Chem. 214, 184 [1933] (letzte Mitteil.).

⁹⁾ *Klein* u. *Thannhauser*, ebenda 218, 173 [1933] (letzte Mitteil.).

¹⁰⁾ *Levene* u. *Simms*, Journ. biol. Chemistry 70, 332 [1926].

¹¹⁾ *Steudel*, Ztschr. physiol. Chem. 49, 406 [1906].

¹²⁾ *Levene* u. *Mandel*, Biochem. Ztschr. 10, 215 [1908].

¹⁾ Siehe z. B. *Thannhauser*, diese Ztschr. 45, 661 [1932]. *Emden*, ebenda 45, 677 [1932]. *Lautenschläger*, ebenda 46, 202 [1933].

²⁾ *Emden* u. *Zimmermann*, Ztschr. physiol. Chem. 167, 137 [1927].

³⁾ *Liebig*, LIEBIGS Ann. 62, 257 [1847].

⁴⁾ *Lohmann*, z. B. Naturwiss. 17, 624 [1929].

⁵⁾ *Lohmann*, ebenda 19, 180 [1931].