

## Wesen und Wirkung der Fermente.

Von Dozent Dr. habil. H. ALBERS.

Institut für organische Chemie der Technischen Hochschule Hannover.

(Eingeg. 5. Juni 1936.)

### I. Fermenttheorien.

Die Frage nach dem Wesen der Fermente ist seit den Zeiten *Liebig's* gestellt und von den verschiedensten Betrachtungsrichtungen aus recht verschieden beantwortet worden. Die bald erkannte kolloide Eigenschaft der Fermente legte es nahe, ihr katalytisches Wirken gleich dem der heterogenen Katalysatoren in Oberflächenkräften zu suchen. So begründet diese Theorie auch schon durch das eingehende Studium der Reaktionen an Phasengrenzflächen, so wenig war sie doch geeignet, die weitgehende Spezifität der Wirkungen zu erklären. Eine Verdichtung der Substrate an den Kolloidteilchen oder elektrische Ladungen sollten für die katalytische Fähigkeit verantwortlich sein. Gewiß liegt in der Annahme spezifischer Oberflächenkräfte ähnlich denen der anorganischen Mischkatalysatoren ein Weg, „aktive Zentren“, die in ein großes Molekül eingebaut sind, für die Wirkungs- und Substratspezifität verantwortlich zu machen, und es ist schließlich nur ein gradueller Unterschied, ob die Bindungen aktives Zentrum—Substrat durch spezifische Adsorptionskräfte oder nach den Begriffen der Valenzlehre zustande kommen. Wesentlich für diese Auffassung ist, daß jene aktiven Zentren eingebaute Teile eines großen Moleküls sind, daß sie sich also nicht von ihm abtrennen lassen. Ob man als solche aktive Zentren chemisch charakterisierte Einzelgruppen (etwa ein Metallatom, auch CO- oder NH<sub>2</sub>-Gruppen) annimmt, oder ob man eine Summe von Gruppen (1) annimmt, die als der charakteristische Querschnitt verschiedener Moleküle eine „Fermentfläche“ (2) an einem Riesenmolekül bilden, ist in diesem Fall gleichsinnig, denn beiden Annahmen ist die wesentliche Auffassung gemein, das Fermentmolekül als unteilbares Ganzes zu betrachten: Die aktiven Zentren werden nicht als diskrete Gruppen, sondern als eingebaute Teilbezirke eines Makromoleküls aufgefaßt. Die spezifischen Oberflächen- oder Adsorptionskräfte, die zur spezifischen Bindung des Substrates und zu seiner spezifischen Umsetzung führen, werden auf die Betätigung von Restaffinitäten dieser Gruppen zurückgeführt. Man kann sich vorstellen, daß in einem als Ferment aktiven Eiweißmolekül etwa der in die Peptidkette eingebaute Baustein Tryptophan diese besondere Wirkung entfaltet. Es wäre dann nur unter Zerschlagung des ganzen Moleküls möglich, die „aktive Gruppe“, wir nennen sie aus noch zu besprechenden Erwägungen besser Wirkungsgruppe, zu isolieren; ein Wiedereinbau in den übrigen Molekülrest ist jedenfalls durch einfaches Zusammengehen der Komponenten nicht möglich.

Demgegenüber läßt die sogen. „Trägertheorie“ die Möglichkeit offen, die Wirkungsgruppe von ihrem „Träger“-Komplex zu lösen.

Der Gedanke, daß ein Ferment aus einem kolloiden Trägermolekül und einer diesem verhafteten aktiven Gruppe besteht, wurde bereits 1907 von *Perrin* (3) erwogen und einige Jahre später von *Mathews* und *Glenn* (4) in eindeutiger Form ausgesprochen; bekannt und ausgebaut worden ist die Trägertheorie hauptsächlich durch die Arbeiten *Willstätters* und seiner Mitarbeiter (5) (6). Wesentlich ist, daß die Wirkungsgruppe ein diskreter Teil des Gesamt-Fermentmoleküls ist, der dessen molekularem Gefüge nicht untrennbar eingebaut (wie das genannte Tryptophan dem Peptidmolekül), sondern auswechselbar angebaut ist, so wie etwa die Häminkomponente einen Teil des Hämoglobinemoleküls bildet und durch geeignete Maßnahmen

von dem Globin-„Träger“ getrennt werden kann, ohne daß beide Komponenten chemisch eine Änderung erleiden, die ihrer Wiedervereinigung zum natürlichen Hämoglobin im Wege stünde. Nicht immer ist diese Auffassung der Trägertheorie, die Wirkungsgruppe als ein selbständiges Molekül aufzufassen, in der Literatur klar zum Ausdruck gekommen. Die „auf dem Träger verankerte spezifische aktive Gruppe“ wurde z. B. als eine in einem hochmolekularen Gebilde vorliegende aktive CO- oder NH<sub>2</sub>-Gruppe beschrieben<sup>1)</sup>.

Danach wäre aber das Fermentmolekül ein unteilbares Ganzes, während gerade *Willstätters* (5) (6) verschiedentlich betont hatte, daß der Träger ausgewechselt werden könne, falls ein anderer geeigneter zur Verfügung stünde. Der kolloide Träger soll für die Beständigkeit der eigentlichen „spezifischen aktiven Gruppe“ nicht entbehrlich sein, in einigen Fällen, wenn der Zustand des Trägers (z. B. seine Verteilung) die Wirksamkeit beeinflusst, soll er auch die Bindung des Substrats beeinflussen können. Eine ausgesprochene Spezifität des Trägers wird nicht angenommen.

Einen entscheidenden Anstoß erhielten die Arbeiten über das Wesen der Fermente durch die Gewinnung kristallisierter Fermentpräparate, die von der Urease (7), dem Pepsin (8), dem Trypsin (9), der Amylase (10), dem Flav ferment (11), der Lipase (12) und neuerdings auch von der Carboxypolypeptidase (13) erhalten wurden. Diese Präparate zeigten durchaus das Verhalten einheitlicher Körper: sie ändern beim Umkristallisieren weder ihre Zusammensetzung noch ihre Aktivität, sie zeigen eine konstante Löslichkeit in Salzlösungen, der Kristalltypus ist einheitlich. Das chemische Verhalten sowie die analytische Zusammensetzung ließen schließen, daß die Fermente einheitliche Eiweißkörper wären (*Northrop*). Damit schien die alte Annahme *Emil Fischers* (14), die Fermente seien eiweißähnliche Körper, eine exakte Stütze gefunden zu haben, und in der Tat war diese Annahme bei dem Fehlen sichtbarer Anzeichen für das Vorhandensein einer aktiven Gruppe naheliegend. Nun ist aber die Molgröße der Wirkungsgruppe im Verhältnis zur Molgröße des Trägers sicher sehr klein, so daß aus der analytischen Zusammensetzung kein Schluß etwa auf das Nichtvorhandensein einer Wirkungsgruppe gezogen werden darf. Es könnte sein, daß die kristallisierten Fermentproteine zur Hauptsache aus den bevorzugten Trägern von Wirkungsgruppen bestehen, welche sich nur wegen ihrer relativ geringen Menge der Beobachtung entziehen. Im Sinne der Anschauungen *Willstätters* und seiner Schule (5) (6) sollte dann die Möglichkeit bestehen, die Wirkungsgruppen zu übertragen auf einen dargebotenen anderen, geeigneten Träger. Unter nommene Versuche schienen diese Aussicht zu bestätigen; es schien, als ob die kristallisierte Urease (15) wie auch das Pepsin (16) unempfindlich gegen einen fermentativen Abbau ihres eiweißartigen Trägermoleküls seien, und als ob die aktive Gruppe des Pepsinproteins (ebenso die des Labferments) übertragbar wäre auf andere Proteine (16) (17). Die eingehende Nachprüfung dieser grundsätzlichen, wichtigen Versuche hat jedoch ergeben, daß ein fermentativer Abbau der Fermentproteine nur unter Einbuße der Wirksamkeit stattfindet (18) (19), daß also der Träger nicht „verkleinert“ werden kann, und daß eine Adsorption nicht der Wirkungsgruppe allein, sondern des gesamten Fer-

<sup>1)</sup> *Bredig*, *Biochem. Z.* **250**, 414 [1932]; **282**, 88 [1935].

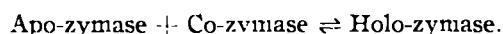
mentproteins an die zugegebenen Eiweiße<sup>2)</sup> stattfindet (19). Aus diesen Versuchen auf die Nichtexistenz von Wirkungsgruppen überhaupt zu schließen, ist nach dem oben Dargelegten unzulässig, wohl aber bilden sie eine Stütze für die Annahme, daß nur das intakte natürliche Fermentprotein die beobachtete spezifische Wirkung auszuüben vermag. Die Möglichkeit des Vorhandenseins einer Wirkungsgruppe bestreitet auch *Northrop* (20), nicht, — so vergleicht er einmal die kristallisierten Fermente mit kristallisiertem Hämoglobin —; aber ebenso wie dieses als ein Eiweiß gilt, will er auch die Fermente als spezifische Eiweißkörper aufgefaßt wissen. Im Sinne seiner Auffassung liegt es, daß die oft beschriebenen vermeintlich eiweißfreien Fermentpräparate (21) tatsächlich, wie sich bei kritischer Prüfung der Nachweismethoden zeigen ließ (22), sämtlich eiweißhaltig sind.

Fragen wir uns nun, ob Hinweise vorhanden sind, die einen hämoglobinartigen Aufbau der Fermentmoleküle, also einen Aufbau aus einer diskreten Wirkungsgruppe als selbständigem Molekülverband und dem hochmolekularen Träger, rechtfertigen, und ob Hinweise vorhanden sind, die auf das Vorliegen einer in ein Makromolekül chemisch eingebauten reaktionsfähigen kleinen Molekülgruppe ( $\text{NH}_2$ , CO-Gruppe) bzw. auf das Vorliegen mehrerer solcher Gruppen („Fermentfläche“) schließen lassen. — Man sollte annehmen, daß sich ein aus selbständiger Wirkungsgruppe und selbständigem Träger bestehendes Fermentmolekül ähnlich dem Hämoglobin durch milde Eingriffe in solcher Weise in die Komponenten zerlegen lasse, daß deren Wiedervereinigung wieder das vollständige und aktive Fermentmolekül ergibt. Bei einer chemisch eingebauten Wirkungsgruppe ist eine solche Trennung nicht möglich.

## II. Cofermente, Aktivatoren und Komplemente.

Schon frühzeitig hatte man bemerkt, daß häufig aktive Fermentlösungen ihre Fähigkeit zu katalytischem Umsatz verlieren, wenn sie einer Dialyse unterworfen werden, und daß sie diese Fähigkeit bei Wiedervereinigung des niedermolekularen dialysierten Anteils mit dem nichtdialysierten hochmolekularen Anteil zurückerhalten. Das in dieser Hinsicht am besten untersuchte Beispiel gründet sich auf das Fermentsystem der Gärung, welches daher den folgenden Besprechungen zur Hauptsache als Grundlage dienen soll.

*Harden* und *Young* (23) fanden 1904, daß sich gärfähiger Hefepreßsaft durch Dialyse aufteilen ließ in zwei für sich gärungs-inaktive Anteile, die beim Zusammengeben wieder die ursprüngliche Aktivität zurückerhielten. Den niedermolekularen (nicht mit den Gärungszusatzstoffen wie Phosphat, Magnesium identischen) Anteil, dessen Vorhandensein sich für den Gärungsablauf als unbedingt erwies, bezeichneten *Harden* und *Young* als „Coferment der alkoholischen Gärung“. Später schlugen *v. Euler* und *Myrbäck* (24) dafür den kürzeren Namen „Cozymase“ vor, der sich logisch aus dem Sammelbegriff „Zymase“ für die Gärungsfermente ableitet. Die cozymasefreie Zymase wird „Apo-zymase“ genannt (eine Zymase, der man etwas weggenommen hat) und Apo-zymase + Co-zymase bilden zusammen die „Holo-zymase“ (25) (die ganze Zymase). Diese Vereinigung geschieht in einem von beiden Seiten einstellbaren (24) (also durch das Massenwirkungsgesetz bedingten) Gleichgewicht:

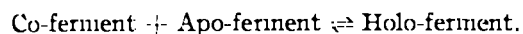


Wenn wir bedenken, daß die Apozymase allein keine

fermentativen Eigenschaften zeigt, und daß sie durch die Bindung an Cozymase überhaupt erst zum Ferment wird, so liegt kein Grund vor, die Cozymase nicht als einen integrierenden Bestandteil des Fermentmoleküls aufzufassen. In diesem Sinne bezeichnete *v. Euler* (26) die Cozymase als die Wirkungsgruppe („kathetische Gruppe“) bestimmter Fermentsysteme, deren Substratspezifität durch den Apofermentanteil (damals einfach z. B. „Dehydrogenasen“ genannt) bedingt sei. Damit war die Aufteilung eines Holofermentmoleküls in zwei selbständige Anteile klar erkannt<sup>3)</sup> (vgl. 42, 82).

Die Cozymase ist nicht das einzige bekannte Coferment; ähnlich sind andere Fermentsysteme beschrieben worden, die nur bei Gegenwart eines niedermolekularen Anteils ihre Wirksamkeit entfalten. Um diese Fälle und die spezifische Wirksamkeit des Coferment- und des Trägeranteils im Fermentmolekül klar zu umgrenzen, ist es notwendig, zunächst einige Nomenklaturfragen zu klären. In der Literatur werden die Begriffe Coferment, Aktivator, Kinase, Komplement, Regulator bei der Beschreibung enzymatischer Reaktionen recht verschiedenartig angewendet. Es dürfte daher von Nutzen sein, diese Begriffe zum Zweck einer leichter verständlichen Beschreibung zu scheiden durch folgende Definitionen (28):

- a) Das vollständige Molekül eines Fermentes, das Holoferment, entsteht in einer Gleichgewichtsreaktion durch Vereinigung einer niedermolekularen Komponente, des die Wirkungsgruppe bzw. die Wirkungsgruppen enthaltenden Cofermentes, mit einer spezifischen hochmolekularen Trägerkomponente, dem Apoferment:



Die Cofermente sind wirkliche Bestandteile des Fermentmoleküls.

- b) Die Aktivatoren oder Regulatoren sind Stoffe, die das Fermentsystem begleiten oder ihm zugesetzt werden, und die durch Reaktion mit dem Coferment- oder mit dem Apofermentanteil das Fermentsystem positiv oder negativ aktivieren bzw. dasselbe steuern. Sie sind keine Bestandteile des Fermentmoleküls.

- c) Die Komplemente sind ebenfalls keine Bestandteile des Fermentmoleküls; sie vermögen die reagierenden Gruppen aufzulockern durch Bindung entweder an die Substratmoleküle oder an die Moleküle des Ferments bzw. an die der Zwischenverbindung Ferment—Substrat.

Zu den Komplementen eines Fermentsystems werden zweckmäßig auch die Stoffe („Kinasen“) gerechnet, die durch Reaktion mit dem Apofermentanteil eine Erweiterung des Spezifitätsbereiches des Fermentes bewirken.

Die Begriffe Coferment<sup>4)</sup>, Apoferment und Holoferment werden in Anlehnung an die allgemein eingeführten Namen Cozymase, Apozymase und Holozymase vorgeschlagen.

Der Begriff Coferment ist nicht ohne weiteres identisch mit dem Begriff der Wirkungsgruppe („aktive Gruppe“, katheptische Gruppe, prothetische Gruppe); vielmehr ist es, wie wir sehen werden, oft möglich, die Wirkungsgruppe im Molekül des Coferments noch näher zu charakterisieren.

Unter die Aktivatoren oder Regulatoren wären z. B. Disulfid-Sulphydryl-Systeme und andere Redoxsysteme zu rechnen, die, durch das Sauerstoffpotential der Zelle

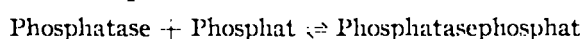
<sup>3)</sup> Im gleichen Jahre bezeichneten *Kraut* und *Pantschenko-Jurewicz* (27) ein von der Pankreaslipase abtrennbares „Agon“ als Wirkungsgruppe der Esterasen und den hochmolekularen Trägeranteil („Phoron“) der untersuchten Pankreas- und Leberesterase als verantwortlich für die Substratspezifität. Auf diese Arbeit wird später eingegangen.

<sup>4)</sup> Von einem „Coferment“ hat schon 1897 *Bertrand* (Compt. rend. Acad. Sciences 124, 1032) gesprochen anlässlich einer Untersuchung der „Laccase“.

<sup>2)</sup> Die Beobachtung von *Willstätter* und *Rohdewald* (*Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.* 225, 103 [1934]), daß die Fermente stark zur Bildung von „Symplexen“ neigen (Ly- und Desmo-Enzyme), findet damit eine Bekräftigung.

bedingt, bestimmte Stoffwechselumsätze in ihr regeln (29) und schließlich sogar eine Koppelung zwischen zwei Systemen herbeiführen können, wie es für die Zusammenhänge zwischen Kohlenhydrat- und Eiweißstoffwechsel (29) erörtert wurde. Die Stoffwechselvorgänge steuern sich durch die Regulatoren wechselseitig in ihrem Ausmaß, d. h. sie sind mindestens zum Teil so aufeinander eingespielt, daß nervöse Anregungen für jeden Einzelvorgang im normalen Ablauf des Zellgeschehens nicht notwendig erscheinen.

Ein Komplementstoff wäre z. B. das Magnesium für die durch Nierenphosphatase<sup>5)</sup> bewirkten Spaltungen (31): Das bei der Spaltung von Glycerophosphat freigelegte anorganische Phosphat hemmt die Spaltung, es bildet sich ein „Phosphatase-phosphat“, welches nur langsam in freies Ferment und Phosphat dissoziiert. Bei Zufügung von Magnesiumionen wird gegen den magnesiumfreien Ansatz eine im Laufe der Reaktion sich steigernde Erhöhung der Reaktionsgeschwindigkeit beobachtet (28, 31); das im Laufe der Reaktion mehr und mehr entstehende Fermentphosphat wird als Magnesiumsalz schneller wieder aufgespalten als als freies Phosphat, oder: in der Reaktion



wird durch die Salzbildung das Gleichgewicht stark zugunsten der zum aktiven Ferment zurückführenden Reaktion nach links verschoben. — Fermentreaktionen, die als Komplemente anorganischer Ionen bedürfen (z. B. Amylase-Cl'), sind genugsam bekannt.

Die zu den Komplementen gerechneten Kinasen werden später bei der Besprechung der spezifischen Funktionen der Apofermente behandelt.

### III. Wesen und Wirkung der Cofermente und der Apofermente.

Die Reindarstellung der Cofermente wird besonders behindert durch ihre sehr geringen physiologischen Konzentrationen, die die Aufarbeitung bedeutender Materialmengen veranlassen, sowie durch ihre geringere Beständigkeit, die ein Einhalten ganz bestimmter Bedingungen (Temperatur, pH) verlangt. Hinzu kommt, daß die mit milden Mitteln erreichbare Loslösung der Cofermente vom Apoferment oft so schwierig ist<sup>6)</sup>, (schließlich sogar unmöglich werden kann bei einem sehr weit zugunsten des Holoferments verschobenen Gleichgewicht), daß es den Anschein haben kann, als ob Cofermente bei bestimmten Fermentsystemen überhaupt nicht existieren.

Vier Cofermente sind bisher in einer chemisch und der Wirkung<sup>7)</sup> nach einheitlichen Form dargestellt worden<sup>8)</sup>: das Flavinphosphat (34) als Coferment des Flavinfermentes (35), die Cozymase (36) (= Codehydrase I) als universelles Coferment vieler Dehydrierungs-, Phosphorylierungs- und Dismutationsvorgänge, die Codehydrase II (37) (Warburgs „wasserstoffübertragendes“ Coferment) als Coferment der Hexosemonophosphatdehydrierung und das Proto-Haematin (38) als Coferment der Katalase. Für Phosphorylierungsvorgänge ist außerdem das Adenosintriphosphat (39) als Coferment anzusprechen. Die Cozymase, die Codehydrase II, das Adenosintriphosphat und das Flavinphosphat haben einen nucleinsäureartigen Aufbau. — Durch spektroskopische Untersuchungen ist der chemische Aufbau einer Reihe weiterer (bisher aber nicht in Substanz isolierter) Cofermente aus der Gruppe der sogenannten Oxydationsfermente erwiesen worden: das „Atmungs“-ferment (40)

sowie die Peroxydase (41) enthalten als wirksame Komponente einen Häminkörper. Von der Katalase war ein gleiches durch die grundlegende Entdeckung von Zeile und Hellström (42) schon früher erwiesen worden.

Auch das Cytochrom (43) gehört offenbar als Coferment zu einem in allen Zellen gegenwärtigen — wohl dem wichtigsten — häminhaltigen Oxydationssystem.

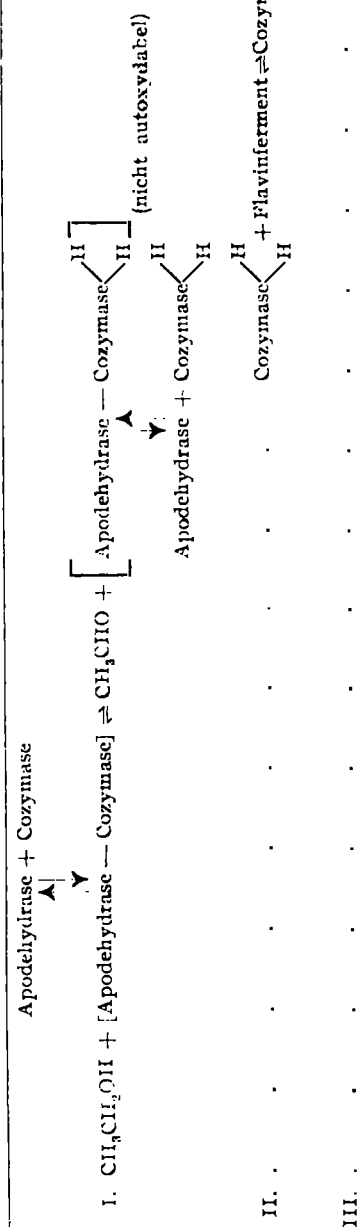
Wir wollen nun versuchen, uns ein Bild von den Aufgaben des Cofermentes und des Apofermentes zu machen. Als Beispiel wählen wir das System der Dehydrasen, welches von v. Euler und seinen Mitarbeitern besonders eingehend und unter dem Gesichtspunkt sowohl der Cofermente als auch der Apofermente nahezu erschöpfend durchgearbeitet wurde<sup>9)</sup>. Aus diesen Arbeiten können Gesetzmäßigkeiten abgeleitet werden, die für die allgemeine Fermentchemie von grundsätzlicher Bedeutung sind<sup>10)</sup>.

Die Dehydrierung von Alkohol zu Acetaldehyd geht in der Weise vor sich, daß zwei Wasserstoffatome des Alkohols zunächst auf die Holo-dehydrase (bestehend aus dialysierter Apodehydrase + Cozymase (44)) und von dieser aus weiter auf Flavinferment übertragen werden: das Flavinferment reagiert mit molekularem Sauerstoff, es bildet sich gemäß der Wielandschen Dehydrierungstheorie Wasserstoffperoxyd.

Ersetzt man den Sauerstoff durch den Acceptor Methylenblau, so tritt bei Be-

<sup>8)</sup> Das Ineinandergreifen der Zelloxydationsvorgänge, von Wieland und seiner Schule aufgeklärt, muß in diesem Zusammenhang unbesprochen bleiben.

<sup>10)</sup> Betont sei, daß mit Bezug auf den Cofermentanteil die gleichen der im folgenden referierten Ergebnisse z. T. auch aus den aufschlußreichen Arbeiten Warburgs und seiner Mitarbeiter (37), (46) entnommen werden können, daß aber wegen der Universalität der Cozymase als Coferment und wegen der gleichzeitigen eingehenden Prüfung auch der Apofermente die Eulerschen Arbeiten zugrunde gelegt wurden.



<sup>5)</sup> Über die Einteilung der Phosphatasen siehe (31).

<sup>6)</sup> Die Cozymase ist an die Muskel-Apofermente (32) und an die Hefe-Apofermente (33) nur locker gebunden.

<sup>7)</sup> Oft ist die Wirkung vermeintlicher Cofermente nur durch die Ausschaltung hemmender Begleitstoffe zu erklären (30).

<sup>8)</sup> Es besteht durchaus die Möglichkeit, daß sich weitere, bereits bekannte Stoffe als Cofermente herausstellen können.

lichtung des Systems eine Wasserstoffübertragung auf das Methylenblau auch ohne Flavinferment ein (44); im Dunkelversuch wird das Methylenblau nur bei gleichzeitiger Gegenwart des Flavinfermentes (45) reduziert. Aus diesen Versuchen ergibt sich die angegebene Reihenfolge der gekoppelten Fermentvorgänge.

Die reduzierte Holodehydrase ist nicht autoxydabel, sie vermag den von ihr übernommenen Wasserstoff erst durch die Vermittlung des Flavinfermentes<sup>11)</sup> an den Sauerstoff oder an das Methylenblau abzugeben. So ergibt sich das Schema (Seite 450) gekoppelter (45) Reaktionen (46).

Die Teilvorgänge I, II und III<sup>12)</sup> sind einzeln realisierbar (47). Damit ist einmal die Reihenfolge der Vorgänge erneut bewiesen und, da das Apoferment am Vorgang II nicht mehr teilnimmt, der Nachweis geliefert, daß der Cofermentanteil und nicht der Apofermentanteil des Holodehydrasemoleküls der wirkungsspezifische Anteil ist. Das hydrierte Coferment ist das Substrat für das Flavinferment.

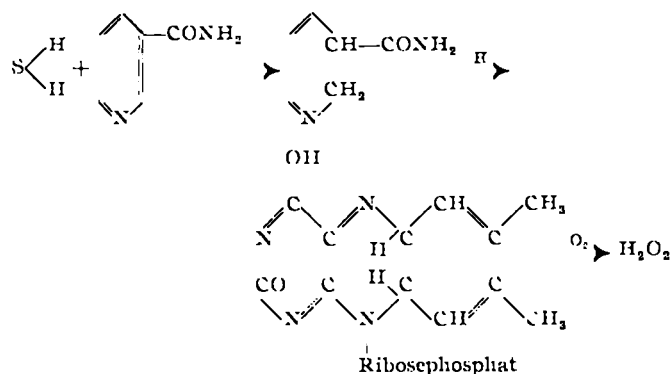
Die beiden bekannten Codehydrasen Cozymase und Codehydrase II verteilen sich spezifisch auf die Aktivierung verschiedener Dehydrierungssysteme, in einigen Fällen können sie einander auch ersetzen (Tabelle I).

Tabelle I.  
Ergänzung der Apofermentsysteme durch

Cozymase ( = Codehydrase I)	Codehydrase II	Adenosintriphosphat u. alkalibehandelte Cozymase
Alkohol. Gärung (23)	Hexosemono-phosphat-Dehydrierung (Hefe, Muskel) (37)	Glykolyse (39,54)
Glykolyse (54)		Phosphorylierung bei der Glykolyse (54)
Phosphorylierung bei Gärung (53) u. Glykolyse (54)		
Alkohol-Dehydrierung (Hefeferment, Apozymase) (50)		
Milchsäure-Dehydrierung (Herzmuskel) (50), (56)		
Äpfelsäure-Dehydrierung (Herzmuskel) (50), (56)		
Aldehyd-Dismutation (60)		
Glucose-Dehydrierung (Leber) (55)		
Hexosediphosphat-Dehydrierung (Hefe) (57).		

Chemisch sind die Cozymase (36) und die Codehydrase II (37) durch einen nahe verwandten Bau gekennzeichnet. In den Dinucleotidmolekülen beider ist ein bestimmter Molekülteil als eigentliche Wirkungsgruppe<sup>13)</sup> anzusprechen, nämlich die in beiden vorkommende<sup>14)</sup> basische

Komponente Nicotinsäureamid. Die Wirkungsgruppe des Flavinfermentes ist das Flavinphosphat (34) (6,7-Dimethyl-iso-alloxazin-ribityl-phosphorsäure (49)), so daß wir das Reaktionsschema der Dehydrierung mit Hilfe der Wirkungsgruppen schreiben können (46):



Alle Dehydrierungsvorgänge, die als Redox-System Cozymase (50) bzw. Codehydrase II enthalten, benötigen gleichzeitig Flavinferment (51). Dehydrierungsvorgänge, die keines Cofermentes bedürfen, brauchen für ihren Ablauf auch kein Flavinferment (52). Sie arbeiten offenbar nach einem anderen uns noch nicht bekannten Reaktionsschema. In diesem Sinn müßten auch die mit Cytochrom arbeitenden Oxydationsvorgänge gesondert betrachtet werden (43).

Versucht man, das Apoferment der Alkoholdehydrase für die Dehydrierung eines anderen Substrates, etwa der Glucose oder der Äpfelsäure, anzuwenden, so zeigt es sich als völlig inaktiv. Für diese Dehydrierungen sind andere spezifische Apofermente notwendig, die sich gegenseitig nicht ersetzen können. Die Tabelle zeigt, daß die Cofermente hingegen ungleich universeller sind: die Mehrzahl der Dehydrasen ist spezifisch auf Cozymase als Coferment eingestellt, seltener bildet Codehydrase II bzw. wahlweise Codehydrase II oder Cozymase die vollständigen Holofermentmoleküle. Die Apodehydrasen besitzen also eine sehr weitgehende Spezifität für die Bindung der Substrate und eine eng begrenzte für die Auswahl der beiden Cofermente. Nun enthalten beide Cofermente die gleiche Wirkungsgruppe der Dehydrierung, das Nicotinsäureamid. So entsteht die Schlußfolgerung:

Die *Wirkungsspezifität* eines Fermentsystems wird ausschließlich durch die im Coferment enthaltene Wirkungsgruppe bestimmt. Die *Substratspezifität* wird allein durch das Apoferment bestimmt<sup>15)</sup>.

Dem Sinne nach sind diese Aussagen bereits in der Eulerschen „Zweiaffinitätstheorie“ (58) enthalten: Das Substrat wird durch ein bestimmtes Zentrum des Ferments gebunden; die Umsetzung wird durch Bindung an ein zweites „aktives“ Zentrum bewirkt.

Die Unterscheidung der Trägertheorie (5, 6) zwischen wichtigeren „aktiven Gruppen“ (den „eigentlichen Fermentmolekülen“ (59)) und nur für die Stabilität wichtigen, auswechselbaren Trägermolekülen trägt den tatsächlichen Spezifitätsverhältnissen keine Rechnung. Gewiß sind die Trägermoleküle, die Apofermente, auswechselbar, aber sie sind es nur unter Änderung der Substratspezifität<sup>16)</sup>. Weder die Cofermente noch die Apofermente zeigen für

<sup>15)</sup> Wobei vorerst zuzugeben ist, daß eine begrenzte Beeinflussung der Substratspezifität durch die begrenzte Cofermentenspezifität des Apofermentes statthaben könnte.

<sup>16)</sup> Mit der Einschränkung, daß in wenigen Ausnahmefällen (s. S. 453) aus verschiedenem Ausgangsmaterial verschiedenartige Apofermente gleicher Substratspezifität gewonnen werden können. Ob diese Verschiedenheit chemisch bedingt ist oder ob sie nicht vielmehr auf angelagerte Fremdstoffe, etwa Komplemente, zurückzuführen ist, wissen wir noch nicht.

<sup>11)</sup> Vielleicht treten im Zellgeschehen noch Aktivierungen auf, die das Eingreifen des Flavinfermentes entbehrlich machen. Vgl. Wagner-Jauregg und Möller, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **236**, 216 (1935).

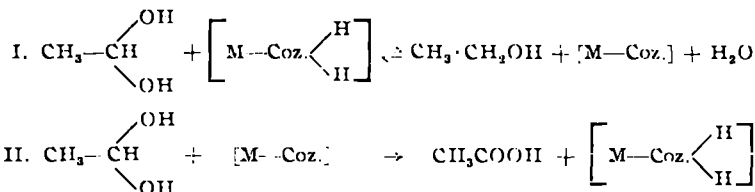
<sup>12)</sup> Das Wasserstoffperoxyd als Zellgift wird durch die in den Zellen allgegenwärtige Katalase sofort zerstört. In katalasefreien Zellen jedoch läßt sich die theoretische Menge Wasserstoffperoxyd nachweisen (48), eine ausgezeichnete Bestätigung der Wielandschen Dehydrierungstheorie.

<sup>13)</sup> Vgl. die Definition eines Cofermentes auf S. 449: Cofermente und Wirkungsgruppen brauchen nicht identisch zu sein, die Cofermente enthalten die Wirkungsgruppen.

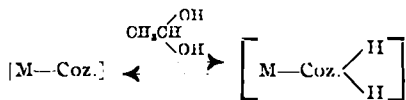
<sup>14)</sup> Der kürzlich erhobene Anspruch Warburgs (Biochem. Z. **285**, 156 [1936]), erstmalig auch in der Cozymase das Nicotinsäureamid nachgewiesen zu haben, beruht ersichtlich auf einem Irrtum. Die Isolierung des Nicotinsäureamids aus der Cozymase mit Hilfe eines eigenen Verfahrens und seine eindeutige Kennzeichnung durch v. Euler, Albers u. Schlenk (36) erfolgte ohne Kenntnis des (damals überhaupt noch nicht veröffentlichten) Verfahrens von Warburg und zeitlich vor ihm.

sich irgendeine fermentative Aktivität<sup>17)</sup>, erst gemeinsam entfalten sie eine Wirksamkeit, und zwar eine sowohl substratspezifische als auch wirkungsspezifische.

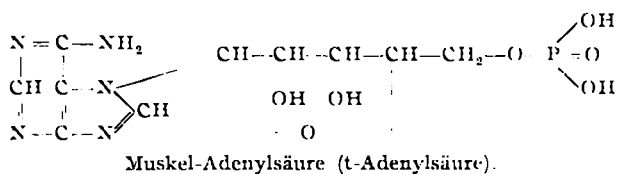
Die Rolle der Cofermente als Träger der Wirkungsspezifität kann am Beispiel der Cozymase weiter beleuchtet werden durch deren gleichzeitige Funktion als Codismutase (60) und als Coferment der Phosphorylierung (53, 54). Bei der Aldehyddismutation (61) wirkt sie in einem Redox-Gleichgewicht ähnlich wie bei den Dehydrierungen mit ihrem Nicotinsäureamidteil: Die auf S. 450 beschriebenen Reaktionen I und II sind rückläufig; die rückläufige Reaktion I stellt aber die eine Hälfte der *Cannizzaroschen* Dismutierungsreaktion dar. Unter Mithilfe der Cozymase wäre die gesamte Reaktion zu formulieren<sup>18)</sup>:



Die Menge der bei der Dismutation von Acetaldehyd im Laufe der Gärung jeweils entstehenden Essigsäure und des Alkohols<sup>19)</sup> wird damit zurückgeführt auf spezifische Reaktionsgeschwindigkeiten und spezifische Affinitäten, die zwischen der Holodismutase M—Co, ihrer hydrierten Form M—CoH<sub>2</sub> und dem Acetaldehyd bestehen, also auf ein Gleichgewicht, welches über den Weg des Aldehyds zwischen beiden Fermentformen besteht:



Die Rolle der Cozymase (53, 54) als Coferment der Phosphorylierung<sup>20)</sup> und ebenso ihre Rolle als Coferment der Glykolyse ist auf einen t-adenylsäure-ähnlichen Teil ihres Moleküls zurückzuführen. Ähnliche Wirkungen entfaltet bei der Glykolyse das Adenosintriphosphat (39, 63); in beiden Fällen dürften sie zurückzuführen sein auf die Abgabe und die Wiederaufnahme<sup>21)</sup> labiler Phosphatgruppen, die durch Salzbildung mit dem Komplement Magnesium noch reaktionsfähiger werden<sup>22)</sup>.



Wir treffen auf die für die Fermentchemie völlig neuartige Tatsache, daß ein Coferment zwei spezifische

Wirkungsgruppen in sich vereinigen und in gekoppelten Umsetzungen, wie bei der Gärung, auch betätigen kann. Die Substratspezifität wird für beide Wirkungsgruppen durch spezifische Apofermente veranlaßt. Wie bei den (reinen) Dehydrierungsvorgängen in der Cozymase nur der oxydoreduktiv wirksame Nicotinsäureamidanteil in Funktion tritt, wird bei der Glykolyse offenbar nur der Adenylsäureanteil ausgenutzt, denn eine als Codehydrase untüchtige, alkalibehandelte Cozymase wirkt noch als Co-Glykolase (54) (Co-„phosphatase“). Daher ist auch bei der Glykolyse ein für die Wirkung des Nicotinsäureamidteiles notwendiges Flavinenzymssystem (welches hier möglicherweise durch ein Cytochromsystem<sup>23)</sup> ersetzt wird) nicht vorhanden (54).

#### IV. Die Abtrennung von Cofermenten.

Es ist nun notwendig, die an der Cozymase für das Wirken eines Cofermentes und eines Apofermentes abgeleiteten Gedankengänge auf ihre Anwendbarkeit auf andere Fermentsysteme zu prüfen. Die Herstellung von „Cofermenten“ ist schon häufig und schon sehr früh beschrieben worden. Jedoch bedarf es in den meisten Fällen der Nachprüfung, ob es sich tatsächlich um Cofermente, um Bestandteile des Holofermentmoleküls, handelte, oder ob nicht die beschriebenen Effekte folgerichtiger unter den Begriffen Aktivator, Regulator oder Komplement beschrieben werden sollten.

Die Enterokinase des Trypsins (oft als „Co-trypsin“ bezeichnet (65)), sowie die Amylokinase (66) scheinen nur Hemmungstoffe zu beseitigen (67, 68). Kristallisiertes Trypsin (9) und das Trypsin der Lymphocyten (69) enthalten diese Hemmungstoffe nicht, sie sind infolgedessen nicht durch Enterokinase aktivierbar. Ebenso wirkt die Amylokinase nicht auf reine Amylasepräparate (67). — Da bei der Bindung der natürlichen Hemmungstoffe (68) des Trypsins mit Enterokinase der tryptische Spezifitätsbereich erweitert wird, darf man schließen, daß der Hemmungstoff am Apo-trypsin, dem für die Substratspezifität wesentlichen Teil, angreift. Der Aktivierung der Papainasen mit Blausäure, mit Schwefelwasserstoff oder mit Glutathion liegt aus dem gleichen Grund wahrscheinlich ebenfalls eine Reaktion am Apoferment (Reduktion von Disulfid- zu Sulfhydrylgruppen (70)) zugrunde. Jedoch liegen die Verhältnisse hier noch nicht klar<sup>24)</sup>, denn sowohl das Papain (71) als auch das Kathepsin (72) kommen in einer vollaktiven und nicht weiter aktivierbaren Form vor. Auch ist der Mechanismus der Aktivierung durch die mögliche vorherige Einwirkung des Aktivators auf das Substrat (73) unter Bildung von „Zwischenaktivatoren“ oft verwickelt.

Die Anwesenheit von Disulfid- oder Sulfhydrylgruppen in Fermenten (70) ist in den meisten Fällen durch ein schwefelhaltiges eiweißähnliches Apoferment leicht erklärlich; so kann ein natürliches Gleichgewicht mit begleitenden Redox-Systemen, etwa mit Ascorbinsäure oder mit Sulfhydryl- oder Disulfidverbindungen bestehen, und Reaktionsvermögen und Substratspezifität können verändert werden. Auf die Anwesenheit von SS- oder SH-Gruppen in der Wirkungsgruppe ließe erst die erfolgte Änderung der Wirkungsspezifität<sup>25)</sup> schließen; die Wirkungsgruppe des Papains enthält solche Gruppen wahrscheinlich nicht (73, 74).

Das „Coferment“ der Ketonaldehydmutase, das Glutathion, verbindet sich mit dem Substrat zu einem reaktionsfähigen Halbmercaptal (76). Das Glutathion ist hier danach unter die Komplemente zu rechnen. — Unter die Komplemente werden ferner zweckmäßig alle Stoffe gerechnet, die natürliche

<sup>23)</sup> Bei der  $\alpha$ -Glycerophosphatdehydrase des Muskels, die kein Coferment braucht, übernimmt das Cytochrom c die Rolle des O<sub>2</sub>-Zwischenträgers. Green, Biochemical J. **30**, 629 [1936].

<sup>24)</sup> Siehe auch die oft bearbeitete Frage der Arginaseaktivierung.

<sup>25)</sup> Vgl. in diesem Zusammenhang die Arbeiten von R. Kuhn u. Brann (75) über die katalytische und peroxydatische Wirksamkeit von Hämminen.

<sup>17)</sup> Die vorhandene, aber 10<sup>6</sup>-mal geringere katalytische oder peroxydatische Aktivität des Hämins gegenüber den Fermenten darf wohl praktisch vernachlässigt werden.

<sup>18)</sup> v. Euler und Adler (62) wählen eine etwas andere Formulierung mit 2 Apofermenten. M = Apomutase (Leber).

<sup>19)</sup> Bei einer einfachen *Cannizzaro*-Reaktion sollten sie gleich sein! Vgl. die bekannten Gärungsschemata.

<sup>20)</sup> Die Kuppelung Oxydoreduktion-Phosphorylierung hat Nilsson (Biochem. Z. **258**, 198 [1933]) eingehend besprochen. Nur das für die Oxydoreduktion tüchtige, intakte Cozymasemolekül vermag die Phosphorylierung im Gärungssystem zu übernehmen (v. Euler u. Vestin, Svensk. Kem. Tidskr. **47** [1935]).

<sup>21)</sup> Der Rephosphorylierung der Adenylsäure bei der Glykolyse durch Phosphobrenztraubensäure (Parnas, Ostern u. Mann, Biochem. Z. **272**, 64 [1934]; **275**, 74, 163, 167 [1935]) entspricht bei der Gärung ein analoger Vorgang: Bei der Vergärung von Phosphobrenztraubensäure wird das Phosphat auf Glucose umgeestert (Meyerhof u. Kieftling, Naturwiss. **23**, 501 [1935]); Zwischenträger, d. h. Coferment der Heterophosphatase, ist in diesem Prozeß die t-Adenylsäure oder die Cozymase (v. Euler u. Adler, Ark. Kem. Mineral. Geol. **12**, Ser. B, Nr. 12 [1935]).

<sup>22)</sup> Vgl. (64).

Hemmungstoffe ausschalten und die damit eine Erhöhung der Reaktionsfähigkeit des Systems bewirken (wie die erwähnten Kinasen und z. B.  $Zn^{++}$  bei der Darmpeptidase (77)), ohne aber mit dem Ferment selber zu reagieren.

Als tatsächliches Coferment ist die seit langem bekannte Co-Esterase (78) anzusprechen. Lösungen von Leberesterase lassen sich durch einfache Dialyse „in zwei Komponenten zerlegen: ein nicht dialysierendes, durch Kochen zerstörbares ‚Ferment‘ und ein dialysierendes kochbeständiges ‚Coferment‘, welche jedes für sich völlig unwirksam sind und erst bei der Wiedervereinigung die Fähigkeit der Esterspaltung zurückerlangen“ (78).

Die verhältnismäßig leichte Trennung in Apoferment und Coferment ist offenbar eine allgemeine Eigenschaft der Esterasen (79). Die Serumlipase, die freies Apoferment enthält, wird durch Zugabe von Co-Lipase in Form von erlitztem Serum (Zerstörung des Apofermentes, Freisetzung des Cofermentes) „aktiviert“ (80); Pankreaslipase ist schon durch einfaches Verdünnen, bei dem nach dem Massenwirkungsgesetz eine Dissoziation des Holofermentes in die Komponenten eintritt, in (ausflockendes) Apoferment und Coferment zerlegbar (81). In der Tatsache, daß sowohl Serum-Apolipase als auch Pankreas-Apolipase durch ein im Serum in bevorzugtem Maße vorkommendes Coferment ergänzt werden, kann bereits ein Hinweis erblickt werden, daß das jeweilig aktivierende Coferment für beide Apolipasen dasselbe ist. In der Tat konnte für Leber- und Pankreasesterase nachgewiesen werden (27), daß diese beiden Fermente dasselbe gegeneinander auswechselbare Coferment besitzen und daß die Verschiedenheit der Apofermente für die verschiedene Substratspezifität verantwortlich ist. Dieser Befund ist von grundsätzlicher Wichtigkeit für die Fermentchemie. Hinzukommt, daß durch die Abtrennung der Co-Esterase für ein zweites kristallisierbares Fermentprotein (12) (vgl. das Flavinferment) die mögliche Abtrennung eines Cofermentes bewiesen ist.

Vom Apoferment abtrennbar ist auch die Co-Carboxylase (82). Sie ist nach einer ähnlichen Methode wie die Cozymase (33) sehr weitgehend gereinigt worden; dabei zeigte sich, daß auch die Co-Carboxylase wahrscheinlich eine Nucleinsäure ist. Im Hinblick auf die schon erwähnte Bedeutung der Nucleinsäuren als Cofermente ist dieser Befund von besonderem Interesse.

Hinweise, daß die Abtrennung eines „Cofermentes“ möglich ist, lassen sich noch für manche Fermente anführen (83). Die meisten dieser Ergebnisse müssen jedoch kritisch betrachtet werden unter dem Gesichtspunkt, ob es sich bei den beobachteten Erscheinungen tatsächlich um wirkliche Cofermente handelte, oder ob nicht Aktivatoren oder Komplemente diese vortäuschten. — Die oft beobachtete Erscheinung, daß sehr hochgereinigte Fermentlösungen beim Aufbewahren inaktiv werden, ist sicher zum maßgeblichen Teil auf eine Verarmung dieser Lösungen an bindendem (und damit schützendem) Apoferment und auf eine Veränderung des abdissoziierten Cofermentes zurückzuführen (vgl. 27). In höchst gereinigten Saccharaselösungen (die diese Spontan-Inaktivierung zeigen) konnte außerdem ein mit der Verdünnung der Saccharaselösung, — also bei Dissoziation der Holo-Saccharase in Co-Saccharase und Apo-Saccharase —, deutlich hervortretendes Bandenspektrum beobachtet werden (84). Dabei zeigt sich gleichzeitig, daß außer der Veränderung des abdissoziierten Cofermentes die im Spektrum verfolgbare Aggregation des Apofermentanteils für die Inaktivierung verantwortlich zu machen ist.

Höchstgereinigte Fermentlösungen verlieren ihre Aktivität beim Dialysieren oft sehr schnell (84); offenbar dialysiert das niedermolekulare Coferment durch die Membran. Bei den Phosphatasen (und möglicherweise bei den Esterasen

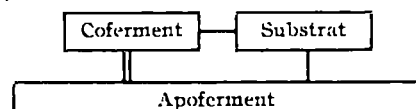
überhaupt) ist der Aktivitätsverlust während der Dialyse eine allgemein zu beobachtende Erscheinung (85); oft bleibt die Aktivität während einer gewissen Dauer der Dialyse (durch einen Überschuß an Coferment) zunächst konstant, um dann plötzlich abzufallen (86).

Bei den eiweißspaltenden Fermenten ist eine gelungene Trennung in Apoferment und Coferment bisher nicht mit Sicherheit festzustellen. Einige Versuche *Abderhaldens* (87) könnten auf die Existenz eines Co-Pepsins hinweisen<sup>26)</sup>. — Die Wichtigkeit einer Unversehrtheit des Apofermentes ergibt sich aus den Arbeiten über die Thermoinaktivierung des kristallisierten Trypsins (9, 88). Ob die inaktiven „Vorformen“ der Fermente (Pepsinogen, Propepsin (89), Trypsinogen (90), Chymotrypsinogen (91)) durch eine Änderung des Coferment- oder des Apofermentanteils aktiv werden, ist vorerst nicht zu sagen. Für eine mögliche Verschiedenheit der Apofermente<sup>27)</sup> bei verschiedenem Ausgangsmaterial sprechen die in ungleicher Weise löslichen kristallisierten Pepsine aus Rindermagensaft (92) und aus Handelspepsin (93). Beim Trypsin ist vielleicht sogar ein gewisser Abbau ohne Einbuße der Wirksamkeit möglich (94). Daß überhaupt Apofermente verschiedenen Ursprungs trotz gleicher Substratspezifität eine gewisse Verschiedenheit (durch Anlagerung von Komplementen<sup>27)</sup>) aufweisen können, zeigen deutlich kinetische Untersuchungen an Katalasen (95), bei denen trotz des nachweislich gleichen Reaktionsmechanismus Unterschiede vorliegen in den — zur Hauptsache durch das substratspezifische Apoferment bedingten — Dissoziationskonstanten der Zwischenverbindung Katalase —  $(H_2O_2)_2$  (95).

## V. Zur Frage der Fermentmodellversuche und der Zwischenverbindungen.

Nach der heute vielfach geglückten Reindarstellung von Cofermenten als den wirkungsspezifischen Teilen des Fermentmoleküls sei noch der Bedeutung der Fermentmodellversuche kurz gedacht. Man hat den Modellversuchen das Arbeiten unter unphysiologischen Bedingungen, z. B. in organischen Lösungsmitteln, vorgeworfen. Ein Modell zu finden für ein wirkungsspezifisches Coferment, ist heute durchaus möglich; der Versuch, ein gleiches zu tun für ein substratspezifisches Apoferment, ist fast aussichtslos. Durch das Fehlen des substratspezifischen Apofermentanteils sind alle Arbeiten über Fermentmodelle mehr oder minder stark mit konstruktiven Gedankengängen belastet. Und doch zeigt sich<sup>28)</sup>, daß gerade in dem Arbeiten mit einem (allerdings meistens unspezifischen) organischen Lösungsmittel ein gewisser Ausgleich für das Fehlen des Apofermentes liegt: Ebenso wie das Apoferment erst die Möglichkeit bietet zur Bildung eines reaktionsfähigen ternären Komplexes Coferment—Apoferment—Substrat, so verhindert auch das organische Lösungsmittel eine Dissoziation des reaktionsfähigen Komplexes Katalysator—Substrat in seine Bestandteile, eine Dissoziation, die in Wasser sofort eintritt.

Eine Entscheidung, ob die Zwischenverbindungen Ferment—Substrat durch hauptvalenzmäßige (59) oder durch nebenvalenzmäßige Betätigung zustande kommen, ist heute noch nicht zu geben. Bei verhältnismäßig substratunspezifischen Fermentsystemen ist eine hauptvalenzmäßige Verbindung des Substrats mit der Wirkungsgruppe des



<sup>26)</sup> Möglicherweise sind auch die Dialyseversuche von *Bechhold* u. *Keiner* (Biochem. Z. 189, 1 [1927]) als eine Auftrennung des Trypsins in Cotrypsin und Apotrypsin und nicht — wie angenommen — als eine Auftrennung in Trypsin und Enterokinase zu deuten.

<sup>27)</sup> Vgl. Fußnote 18), S. 451.

<sup>28)</sup> Noch unveröffentlichte Arbeiten aus dem Chemischen Staatsinstitut der Universität Hamburg. Versuche über ein Oxynitrilemodell: Chinin + Benzaldehyd + Blausäure reagieren in Benzol zu optisch aktivem Oxynitril (Bildung einer Zwischenverbindung Chinin-HCN); in Wasser katalysieren nur die OH-Ionen (96) die Bildung optisch inaktiven Oxynitrils.

Coferments gut vorstellbar (97). Bei sehr substratspezifischen Systemen (z. B. bei den Dehydrasen) wird man einen fernären Komplex anzunehmen haben, für dessen Zustandekommen Nebenvalenzbetätigungen (58, 98) etwa in der Art der Molekülverbindungen vorherrschen, denn Hauptvalenzbindungen etwa zwischen Alkohol oder Glucose und Nicotinsäureamid, der Wirkungsgruppe der Codehydrasen, sind schwer denkbar. Daß gerade Molekülverbindungen durch eine besonders hohe Reaktionsfähigkeit ausgezeichnet sind, ist bekannt (99). Eine adsorptive Bindung zwischen Ferment und Substrat ist auf Grund der entwickelten Spezifitätsverhältnisse recht unwahrscheinlich; manchmal erlaubt die Form der Aktivitäts- $p_s$ -Kurve, Entscheidungen zu treffen (95, 97).

Die für die Wirkungsspezifität verantwortlichen Cofermente werden sich, soweit man bis jetzt sieht, in verhältnismäßig wenige Verbindungsklassen zusammenfassen lassen. Davon sind heute zwei bekannt: Häm<sup>29)</sup> bei den mit Sauerstoff in Beziehung stehenden Fermenten (Katalase, Peroxydase, Atmungsferment, Cytochromsystem) und Nucleotide<sup>29)</sup> bei den Dehydrierungsfermenten und bei Phosphorylierungssystemen. Die Apofermente bestehen wahrscheinlich immer aus Eiweißkörpern<sup>30)</sup> bestimmten spezifischen Aufbaus; die ungeheure Mannigfaltigkeit, die dadurch möglich ist und die uns aus der medizinischen Chemie geläufig ist („artspezifische“ Eiweiße, Antigene<sup>31)</sup>), läßt die Mannigfaltigkeit der beobachteten Fermentsspezifitäten verständlich erscheinen. In dem bekannten Bild *Emil Fischers* wäre zur Aufschlüsselung eines Substrates, des Schlosses, nicht nur der Spezialschlüssel des Apoferments, sondern mit ihm gleichzeitig noch ein Hauptschlüssel, das Coferment, nötig.

Ein Blick sei in diesem Zusammenhang auf das spezifische Wirken der Vitamine und der Hormone geworfen. Indem *v. Euler* (26), anknüpfend an das Wort Enzym, die Begriffe „Vitazym“ und „Hormozym“ prägte, hat er ausgedrückt, daß ein Vitamin oder ein Hormon als Co-„ferment“ einem bestimmten hochmolekularen Zellsystem zugeordnet sein kann. Es wird ihm durch die Blut- oder durch die Lymphbahn zugeführt, nachdem es entweder von außen in den Körper eingebracht (Vitamine) oder aus den endokrinen Drüsen im Körper sezerniert wurde (Hormone). Die oft streng lokalisierte, nämlich an die Orte der betreffenden Apo-„fermente“ gebundene Wirksamkeit und das dem Sinn nach an allen diesen Orten gleichmäßige, der äußeren Erscheinung nach aber verschiedene Wirken (z. B. der Sexualhormone) fände so eine geläufige Erklärung. Auch Cofermente kreisen in der Blutbahn (Flavin, Cozymase, Codehydrase II, Co-Esterase), um an dem Orte ihrer Bestimmung von den Apofermenten abgefangen zu werden und wirksame Holofermentmoleküle zu bilden. Das Coferment Flavinphosphat wird im Körper durch Veresterung von Vitamin B<sub>2</sub> mit Phosphorsäure synthetisiert; das Vitamin A übt beim Schvorgang im gemeinsamen Wirken mit einem spezifischen Protein durchaus die Wirkungen eines Cofermentes aus (100). Der Sprung von den Hormonen und Vitaminen zu den Cofermenten dürfte nicht allzu groß sein; ihre verwandtschaftlichen Beziehungen werden hervorgehoben durch den gemeinsamen Begriff „Ergozym“ (26) — „Zellwirkstoffe“ — für ihre spezifischen Verbindungen mit den zugehörigen Trägerproteinen.

<sup>29)</sup> Die diesbezüglichen Holofermente gehören also zur Klasse der Haemoglobine und der Nucleoproteine.

<sup>30)</sup> Wenigstens sind bisher Kolloide anderer Gruppenzugehörigkeit (z. B. Kohlenhydrate) als integrierende Bestandteile nicht nachgewiesen worden.

<sup>31)</sup> Mit denen offenbar die „Anti-Enzyme“ genetisch verwandt sind.

## Schrifttum.

- (1) Vgl. *Schwab, Bamann u. Laeverenz*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **215**, 121 [1933]. — (2) *Frankenburger*, Erg. d. Enzymf. **3**, 19 [1934]. — (3) *Perrin*, J. Chim. physique **3**, 102 [1907]. — (4) *Mathews u. Glenn*, J. biol. Chemistry **9**, 29 [1911]. — (5) u. a.: *Willstätter* u. Mitarb., Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **123**, 45, 59 [1922]; **151**, 7 [1926]; **204**, 181 [1932]; **225**, 103 [1934]; **229**, 242 [1934]. — (6) *Willstätter*, Naturwiss. **15**, 588 [1927]. — (7) *J. B. Sumner*, J. biol. Chemistry **69**, 435; **70**, 97 [1926]; Ber. dtsh. chem. Ges. **63**, 582 [1930]; *Sumner u. Hand*, J. Amer. chem. Soc. **51**, 1255 [1929]. — (8) *Northrop*, Science **69**, 580 [1929]; J. gen. Physiol. **13**, 739, 767 [1930]; vgl. Erg. d. Enzymf. **1**, 302 [1932]. — (9) Vgl. *Northrop u. Kunitz*, Erg. d. Enzymf. **2**, 104 [1933]. — (10) *Caldwell u. Broder*, J. chem. Educat. **8**, 652 [1931]. — (11) *Theorell*, Biochem. Z. **275**, [1933]. — (12) *Bamann u. Laeverenz*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **223**, 18 [1934]. — (13) *Anson*, Science **81**, 467 [1935]. — (14) *E. Fischer*, Faraday-lecture, J. chem. Soc. London **91**, 1749 [1907]. — (15) *Waldschmidt-Leitz u. Steigervall*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **195**, 260 [1931]; vgl. auch *Zukowsky*, ebenda **202**, 249 [1932]. — (16) *Dyckerhoff u. Tewes*, ebenda **215**, 93 [1933]. — (17) *Waldschmidt-Leitz u. Kofranzy*, Naturwiss. **21**, 206 [1933]. — (18) *Urease: Tauber u. Kleiner*, J. gen. Physiol. **15**, 155 [1931]; *Tauber*, J. biol. Chemistry **107**, 161 [1934]; *Sumner, Kirk u. Howell*, ebenda **98**, 543 [1934]. — (19) *Pepsin: Northrop*, J. gen. Physiol. **17**, 165 [1933]; *Sumner*, Proc. Soc. exp. biol. Med. **31**, 206 [1933]; *Labferment: Tauber u. Kleiner*, J. biol. Chemistry **104**, 259 [1934]. — (20) *Northrop*, Erg. d. Enzymf. **2**, 116 [1933]. — (21) Vermutlich eiweißfreie Fermente: *Pepsin: Willstätter u. Rohdewald*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **208**, 258 [1932]; vgl. die Arbeiten von *Brücke* [1861] und *Sundberg* [1885]; *Amylase: Heß, Waldschmidt-Leitz u. Reichel*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **204**, 197 [1932]; *Emulsin: Okta*, Biochem. Z. **58**, 329 [1913]; *Nordfeldt*, Biochem. Z. **159**, 1 [1925]; *Saccharase: (tryptophanfrei): Willstätter*, Ber. dtsh. chem. Ges. **59**, 1591 [1926]. — (22) *Tauber*, J. biol. Chemistry **99**, 258 [1932]; *H. Albers u. J. Meyer*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **228**, 122 [1934]. — (23) *Harden u. Young*, J. Physiol. Proc. **1904**; Proc. chem. Soc. **21**, 189 [1905]. — (24) *v. Euler u. Myrbäck*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **131**, 180 [1923]. — (25) Vgl. *Neuberg u. v. Euler*, Biochem. Z. **240**, 245 [1931]. — (26) *v. Euler*, Ark. Kem. Mineral. Geol. Ser. A, **11**, Nr. 12 [1934]; Nord. med. Tidskr. **8**, 1696 [1934]; vgl. a. diese Ztschr. **47**, 796 [1934]. — (27) *Kraut u. v. Panteschenko-Jurewicz*, Biochem. Z. **275**, 114 [1934]. — (28) Vgl. *H. Albers*, diese Ztschr. **49**, 194, 208 [1936]; *v. Euler u. Adler*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **238**, 242 [1936]. — (29) Im Sinne von *Grafmann* u. Mitarb., Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **194**, 124 [1930]; vgl. *Bierich u. Rosenbohm*, ebenda **215**, 151 [1932]; **223**, 136 [1934]; **231**, 39 [1935]; *Waldschmidt-Leitz*, ebenda **215**, 64 [1933]; *H. Albers*, Ber. dtsh. chem. Ges. **68**, 1445 [1935]. — (30) *Klein u. Ziesse*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **201**, 23; **213**, 201 [1932]; **222**, 187 [1933]. — (31) *H. u. E. Albers*, ebenda **232**, 179; **235**, 59 [1935]. — (32) *Meyerhof*, ebenda **101**, 165; **102**, 1 [1918]. — (33) Vgl. die umfassenden Arbeiten *Myrbäcks*, Erg. d. Enzymf. **2**, 139 [1933]. — (34) *Theorell*, Biochem. Z. **272**, 155 [1934]. — (35) *Warburg u. Christian*, ebenda **254**, 438 [1932]. — (36) *v. Euler, Albers u. Schlenk*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **234**, 1; **237**, 1 [1936]; **240**, 113 [1936]. — (37) *Warburg, Christian u. Griese*, Biochem. Z. **274**, 116 [1934]; **282**, 157 [1935] (Zusammenfassende Arbeit, weitere Literaturzitate siehe dort). — (38) *Stern*, J. biol. Chemistry **112**, 661 [1935]; Vgl. *Agner*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **235**, 11 [1935]. — (39) *Lohmann*, Naturwiss. **17**, 283 [1929]; Biochem. Z. **233**, 460 [1931]. — (40) *Warburg*, ebenda **189**, 354 [1927]; *Warburg u. Negelein*, ebenda **193**, 339 [1928]; **202**, 202; **204**, 495; **214**, 64 [1929]; Vgl. die Übersicht in Erg. d. Enzymf. **1**, 323 [1932]; diese Ztschr. **45**, 1 [1932]; **47**, 515 [1934]. — (41) *R. Kuhn*, Hand u. *Florkin*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **201**, 255 [1931]. — (42) *Zeile u. Hellström*, ebenda **192**, 171 [1930]; **195**, 39 [1931]. — (43) Vgl. die Übersichten in den Erg. d. Enzymf. **2**, 239 [1933]; **4**, 348 [1935]. — (44) *v. Euler u. Adler*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **232**, 17 [1935]. — (45) Dieselben, ebenda **226**, 195 [1934]. — (46) Vgl. dazu *Warburg* u. Mitarb., Biochem. Z. **279**, 143, **282**, 157 [1935]; *Negelein u. Haas*, ebenda **282**, 206 [1935]. — (47) *v. Euler, Adler u. Hellström*, Svensk kem. Tidskr. **47**, 290 [1935]; *v. Euler u. Adler*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **238**, 233 [1936]. — (48) *Berthou u. Glück*, Naturwiss. **19**, 88 [1931]; *Liebigs Ann. Chem.* **494**, 159 [1932]. Vgl. *Dixon u. Thurlow*, Biochemical J. **18**, 971 [1924]. — (49) *Karrer* u. Mitarb., Helv. chim. Acta **18**, 426, 522 [1935]; *Kuhn* u. Mitarb., Ber. dtsh. chem. Ges. **68**, 166, 383 [1935]; Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **239**, 47 [1936]. — (50) s. u. a. *v. Euler u. Nilsson*, ebenda **160**, 234 [1926]; **162**, 72 [1926]; *v. Euler u. Myrbäck*, ebenda **165**, 28 [1927]; *C. Holmberg*, Scand. Ark. Physiol. **68**, 1 [1934]; *B. Andersson*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **217**, 186 [1933]; **225**, 57 [1934]; *Wagner-Jauregg* u. Mitarb., ebenda **228**, 273 [1934]. — (51) *v. Euler u. Adler*, ebenda **226**, 198 [1934], siehe vor allem *Wagner-Jauregg*, Erg. d. Enzymf. **4**, 333 [1935]. — (52) *Z. B. Xanthinoxidase, Green u. Dixon*, Biochemical J. **28**, 237 [1934]; *Schardinger*

Enzym: *Andersson*, Ark. Kem. Mineral. Geol. Ser. A 11, Nr. 17 [1934]; Milchsäuredehydrase aus Hefe: *Adler u. Michaelis*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 235, 154 [1935]. *Bertho u. v. Zychlinski*, Liebigs Ann. Chem. 512, 81 [1934], Bernsteinsäure-Dehydrase aus Hefe: *Andersson*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 217, 186 [1933], 225, 57 [1934]. Vgl. die umfassende Übersicht von *Bertho*, Chemiker-Ztg. 59, 953 [1935]; siehe dazu die S. 451<sup>1)</sup> erwähnte Einschränkung. — (53) *v. Euler u. Myrbäck*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 139, 15 [1924]. — (54) *v. Euler u. Günther*, ebenda 235, 104, 237, 221 [1935], 239, 83 [1936]; *v. Euler u. Vestin*, Svensk Kem. Tidskr. 47, [1935]. — (55) *N. Das*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 238, 269 [1936]. — (56) *Adler u. Michaelis*, ebenda 238, 261 [1936]. — (57) *v. Euler u. Adler*, ebenda 238, 245 [1936]. — (58) *v. Euler u. Josephson*, ebenda 133, 279 [1923/24], 162, 85 [1926]; Vgl. dazu *Waldschmidt-Leitz*, diese Ztschr. 44, 573 [1931]; *Balls u. Köhler*, Ber. dtsh. chem. Ges. 64, 34 [1931]; *Waldschmidt-Leitz u. Balls*, ebenda 64, 45 [1931]. — (59) Vgl. *Langenbeck*, Erg. d. Enzymf. 2, 314 [1933]. — (60) *v. Euler u. Brunius*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 175, 52 [1928]; *Myrbäck u. Jacobi*, ebenda 161, 245 [1926]; *v. Euler u. Myrbäck*, ebenda 165, 28 [1927]. — (61) Über die Verknüpfung von Dismutation und Dehydrierung s. *Wieland u. Mitarb.*, Liebigs Ann. Chem. 477, 32 [1929], 483, 217 [1930]. — (62) *v. Euler u. Adler*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 238, 251 [1936]; auch aus *Lehmans* Messungen des Redoxpotentials, Biochem. Z. 274, 321 [1934]; vgl. *Lipmann*, ebenda 274, 329 [1934], ist die Rückläufigkeit abzuleiten. — (63) *Lohmann*, ebenda 271, 264 [1934]; vgl. *v. Euler, Adler u. Petrusson*, Svensk Kem. Tidskr. 47, 249 [1935]. — (64) *v. Euler u. Adler*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 235, 122 [1935]. — (65) *Oppenheimer*: Die Fermente, 5. Aufl. — (66) *Waldschmidt-Leitz u. Purr*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 203, 117 [1931], 213, 63 [1932]; Naturwiss. 20, 254 [1932]. — (67) *Weidenhagen*, Z. Ver. dtsh. Zuckerind. 83, 505 [1933]. — (68) *Dyckerhoff, Michler u. Tadsen*, Biochem. Z. 268, 17 [1934]. — (69) *Willstätter u. Rohdewald*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 204, 181 [1932]. — (70) *Bersin*, vgl. Erg. d. Enzymf. 4, 68 [1935]. — (71) *Ambros u. Hartneck*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 189, 24 [1929]. — (72) *Maschmann u. Helmert*, ebenda 216, 141

[1933]. *Stern u. Stern*, Biochem. Z. 252, 81 [1932]. — (73) *Purr*, Biochemical J. 29, 5 [1934]. — (74) *Maschmann u. Helmert*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 219, 99 [1933]; Biochem. Z. 279, 225 [1935]. — (75) *R. Kuhn u. Brann*, Ber. dtsh. chem. Ges. 59, 2317 [1926]. — (76) *Jowett u. Quastel*, Biochemical J. 27, 486 [1933]; *Platt u. Schröder*, J. biol. Chemistry 104, 293 [1934]. — (77) *Linderström-Lang*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 224, 121 [1934]. — (78) *Magnus*, ebenda 42, 153 [1904]. — (79) Vgl. die Verhältnisse bei den Phosphatasen (85, 86). — (80) *Achard u. Clerc*, C. R. Séances Soc. Biol. Filiales Associées 1904, 812. — (81) *Rosenheim*, J. Physiology 40, Proc. XIV. [1910]; *Woodhouse*, Biochemical J. 26, 1512 [1932]. — (82) *Auhagen*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 204, 149 [1931], 209, 20 [1932]; Biochem. Z. 258, 330 [1933]. — (83) Vgl. Co-Tyrosinase: *Raper*, Biochemical J. 17, 454 [1923]; Co-Urease: *Kato*, Biochem. Z. 136, 498; 139, 352 [1923]. Vgl. *Lövgren*, ebenda 119, 260 [1921]; Coferment T der Glykolyse: *Kraut u. Mitarb.*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 232, 270 [1935]. — (84) *H. Albers u. J. Meyer*, ebenda 228, 132, 139 [1934]. — (85) *H. u. E. Albers*, ebenda 232, 165, 235, 47 [1935]; *v. Euler u. Adler*, ebenda 235, 139 [1935]. — (86) *H. u. E. Albers*, Ark. Kem. Mineral. Geol. Ser. B 12, Nr. 3 [1935]. — (87) *Abderhalden u. Mitarb.*, Fermentforsch. 14, 118 [1932], 12, 411, 13, 47 [1931]. — (88) *Anson u. Mirsky*, J. gen. Physiol. 17, 393 [1933]. — (89) *Kleiner u. Tauber*, J. biol. Chemistry 106, 501 [1934]; Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 220, 205 [1933]; *Ege u. Menck-Thygesen*, Biochem. Z. 264, 13 [1933]. — (90) *Kunitz u. Northrop*, Science 80, 505 [1934]. — (91) Dieselben, J. gen. Physiol. 18, 433 [1935]; Science 78, 558 [1934]. — (92) J. gen. Physiol. 16, 615 [1933]. — (93) ebenda 13, 739 [1930]. — (94) *Kleiner u. Tauber*, J. biol. Chemistry 104, 267 [1934]. — (95) *H. Albers*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 218, 113 [1933]. — (96) *H. Albers u. Hamann*, Biochem. Z. 255, 44 [1932]. — (97) Vgl. *Albers u. Mitarb.*, ebenda 269, 14, 26, 35, 44 [1934]. — (98) Vgl. *Willstätter*, Naturwiss. 15, 596 [1927]. — (99) Vgl. *Pfeiffer*: Organische Molekülverbindungen [1927]; diese Ztschr. 42, 907 [1929]; *Kindler u. Peschke*, Arch. Pharmaz. Ber. dtsh. pharmaz. Ges. 269, 70 [1931]; Liebigs Ann. Chem. 511, 209 [1934], 519, 291 [1935]. — (100) *Wald*, Nature 136, 832 [1935]. [A. 61]

## Die Bedeutung der alkalimetallorganischen Verbindungen für die Synthese.

Von Prof. Dr. K. ZIEGLER.

Chemisches Institut der Universität Heidelberg.

(Eingeg. 12. Juni 1936.)

Inhalt: Die Wege zur Herstellung der alkaliorganischen Verbindungen — Additionen der alkaliorganischen Verbindungen an Carbonylgruppen und verwandte Atomgruppierungen. Vergleich mit Grignardschen Verbindungen — Alkaliorganische Verbindungen und Pyridine — Alkaliorganische Verbindungen als Metallüberträger — Reaktionen zwischen alkaliorganischen Verbindungen und ungesättigten Kohlenwasserstoffen

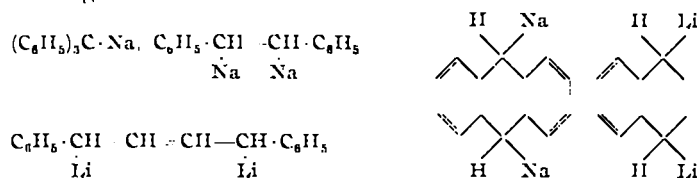
Die alkaliorganischen Verbindungen sind von allen wichtigeren Metallderivaten organischer Reste zuletzt bekanntgeworden. Dies rührte hauptsächlich daher, daß die besonderen Eigenschaften dieser Substanzen Anforderungen an die experimentelle Technik stellten, denen die ältere organisch präparative Technik nicht gewachsen war. *Wilhelm Schlenk* hat, wie allgemein bekannt ist, vor etwa 20 Jahren in bahnbrechenden Arbeiten die methodischen Schwierigkeiten in einfacher Weise gelöst, alle wichtigen Typen der alkaliorganischen Verbindungen erstmalig in reiner Form isoliert und eine Reihe ihrer Reaktionen studiert<sup>1)</sup>.

Diese ungemein interessanten Arbeiten haben zunächst keinen sehr nachhaltigen Aufschwung der „metallorganischen Synthese“ nach sich gezogen, trotzdem man erwarten durfte, daß die Verbindungen der Alkalimetalle Reaktionen ermöglichen würden, die sich mit Hilfe der am meisten zu synthetischen Versuchen verwandten Halogenmagnesiumalkylen und -arylen nicht verwirklichen ließen.

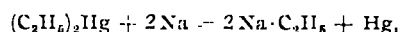
Es lag dies im wesentlichen wohl daran, daß *Schlenks* Substanzen, soweit in einfacher Reaktion zugänglich, verhältnismäßig kompliziert gebaut waren, während die einfachsten Alkaliverbindungen aliphatischer und aromatischer Reste sich nicht sonderlich bequem herstellen ließen.

### I. Die Wege zur Herstellung der alkaliorganischen Verbindungen.

Die einfachen Reaktionen waren die Metalladditionen an Radikale und gewisse ungesättigte oder aromatische Kohlenwasserstoffe. Die folgenden Substanzen sind z. B. so hergestellt worden:



Dagegen waren Substanzen wie Natriumäthyl, Lithiumphenyl, Natriumbenzyl nur unter Verwendung von Quecksilberalkylen darstellbar, z. B. im Sinne der Gleichung



ein Umstand, der ihre Verwendung in größerem Umfange ausschloß.

<sup>1)</sup> Vgl. die ausgezeichnete Darstellung des Gebiets aus *Schlenks* Feder in *Houben-Weyls*, „Methoden der organischen Chemie“, Bd. IV (2. Aufl.). — Die spätere Entwicklung der *Schlenkschen* Arbeiten ist Liebigs Ann. Chem. 463, 1–322; 464, 1–42 [1929] zu finden. Das vorstehende Referat kann die ältere Literatur nur andeuten. Ihr wesentlicher Inhalt ist von C. B. Wooster, Chem. Reviews 11, 1–91 [1932] übersichtlich dargestellt worden.