

Biochemische Vortragsveranstaltung

Berlin, 21. — 22. Mai 1943 im Langenbeck-Virchow-Haus.

Dir. Dr. H. Ramstetter, Westeregeln, Vorsitzender des VDCh, begrüßte die Teilnehmer (510), insbesondere die Vertreter des Reichserziehungsministeriums, des Reichsärztekörpers — und mit ihm viele Ärzte — sowie zahlreiche Leiter von Forschungsstellen des Staates und der Wehrmacht. Er führte u. a. aus, daß sich der VDCh entschlossen habe, während des Krieges in ortsgesetzten Tagungen Fachgenossen und Freunde der Chemie mit den neuesten Erkenntnissen der Forschung bekannt zu machen, und daß er auf diesem Wege fortfahren werde, um Anregungen für eigene Arbeiten und Gelegenheit für den gerade im Kriege so wichtigen Meinungsaustausch zu geben. Nach einem Hinweis auf die Wichtigkeit der Biochemie für Wehrkraft und Volksgesundheit und einer Gefallenen- und Führer-Ehrung leitete der Vorsitzende über zur

Verleihung des Preises der Duisberg-Gedächtnissstiftung

und führte aus

Der Preis der Duisberg-Gedächtnissstiftung des VDCh wird alljährlich demjenigen jüngeren Chemiker verliehen, der, wie Duisberg, an einer der Hochschulen Jena, München oder Göttingen arbeitet und nach dem Urteil der drei Chemie-Ordinarien dieser Universitäten die beste wissenschaftliche Leistung des Jahres vollbracht hat. Göttingen hat bisher schon zwei Preisträger gestellt, die Herren Dr. Tschesche und Prof. Brockmann, die wir übrigens zu unserer Freude in diesem Saal begrüßen dürfen.

Den Preis des Jahres 1942 verliehen wir Herrn Prof. Dr. Hans Lettré, Göttingen,

für seine Arbeiten über Mitosegifte im Rahmen der Krebsforschung.

Er hat eine wertvolle Testmethode mit Hilfe des Mäuse-Ascites-Tumor ausgearbeitet und hat mit Erfolg versucht, die Gewebezüchtung zur Lösung der Aufgaben, die er sich gestellt hatte, heranzuziehen. Chemisch am interessantesten sind seine Arbeiten über die Abhängigkeit der Mitosegiftwirkung von der Konstitution des Colchicins. Im Rahmen dieser Arbeiten ist es ihm gelungen, Derivate des Colchicins darzustellen, die stärkere Mitosegifte sind als das Colchicin selbst. Zurzeit ist Prof. Lettré damit beschäftigt, zu untersuchen, wie weit Oxydationsprodukte des Adrenalin, östrogene Stoffe und gewisse Sterin-Derivate als Mitosegifte wirksam sind.

Über seine letzten Arbeitsergebnisse wird Prof. Lettré nachher selbst zu Ihnen sprechen. Wir freuen uns besonders, daß das im Rahmen einer Veranstaltung geschehen kann, in welcher so viele junge deutsche biochemische Forscher vortragen. Möge dieser Preis Ihnen, lieber Herr Lettré, und darüber hinaus allen Ihren Fachgenossen Anregung zu weiteren erfolgreichen Arbeiten geben.“

Nach Dankesworten von Prof. Lettré sprach der Präsident der Deutschen Chemischen Gesellschaft und Vorsitzende der VDCh-Arbeitsgruppe für organische Chemie, Direktor des KWI für medizinische Forschung

Prof. Dr. R. Kuhn, Heidelberg, *Einleitende Worte*. Alle Forschung steht heute im Zeichen von drei großen Aufgaben. Der Reichsmarschall hat sie durch die Worte Rüstungswissenschaft, Volternährung und Volksgesundheit gekennzeichnet. Für die Biochemie ergeben sich hieraus besonders weitverzweigte Verpflichtungen. Denn sie ist nicht nur für zahllose Probleme auf dem Gebiete der Ernährung sowie des militärischen und zivilen Sanitätswesens von der unmittelbarsten Bedeutung, sondern sie greift mit einer ganzen Reihe von Industriewerken, in denen biochemische Prozesse Grundlage der Erzeugung sind, auch weit in den Sektor der Rüstungswissenschaften über.

Vorsitzender: Prof. Dr. Butenandt, Berlin-Dahlem.

Prof. Dr. H. Lettré, Göttingen: *Über Mitosegifte*¹⁾.

Die normalerweise rasch verlaufende Teilung der Zellen wird durch die Gegenwart kleiner Mengen von Mitosegiften gehemmt, und je nach der Konzentration des Mitosegiftes kann der Hemmung sofort der Tod der Zelle folgen oder aber ein stundenlang verfolgbarer Kampf zwischen dem Mitosegift und dem Teilungsbestreben der Zelle stattfinden, wie Vortr. au in Gewebekultur gezüchteten Zellen in einem Zeitrafferfilm zeigt. Mit Hilfe dieses Testobjektes wurde der Zusammenhang zwischen der Konstitution chemischer Faktoren und dieser Wirkung geprüft, wobei bis jetzt 670 Versuche an über 16000 einzelnen Gewebekulturen durchgeführt wurden.

Diese Untersuchungen führten zu der Auffindung einer Reihe von neuen Stoffen mit dieser Wirkung, die rein synthetisch sind oder aber aus dem Pflanzen- und Tierreich stammen. Von den synthetischen Produkten haben α, β -Diphenyl-äthylamine und 3-Phenyl-tetrahydro-isochinolin-Derivate besondere Bedeutung.

¹⁾ Vgl. a. diese Ztschr. 55, 80, 265 [1942].

Neben einigen wirksamen Derivaten des Colchicins wurde im Narcotin, einem Bestandteil des Opiums, ein zweites Alkaloid mit gleicher Wirkung gefunden. Es zeigte sich weiter, daß auch Hormone, also körpereigene Wirkstoffe des tierischen Organismus, eine gleiche Wirkung entfalten können: ein Umwandlungsprodukt des Adrenalin, weiter Östradiol und Amino-Derivate der Sterin-Reihe.

Nach dieser Wirkung von Hormonen und ihren Umwandlungsprodukten muß man annehmen, daß diese Stoffe als Mitose-Regulatoren eine Rolle für das physiologische, geordnete Wachstum spielen. Während Colchicin und seine Derivate auch auf die Teilung der Krebszelle hemmend wirken, besitzt das Umwandlungsprodukt des Adrenalin keine Wirkung auf diese Zellart. Danach kann das bösartige, ungehemmte Wachstum dadurch ermöglicht sein, daß die Krebszelle sich auf Grund ihres veränderten Stoffwechsels der Wirkung der körpereigenen Mitose-Regulatoren entzieht, indem sie diese unwirksam macht. An ihrer Stelle könnten therapeutisch nun Mitosegifte treten, die auch auf die Krebszelle hemmend wirken und deren Teilung unterbinden. Klinische Untersuchungen von Prof. Dr. H. Cramer und Dr. H. Brodersen, Allgemeines Institut gegen die Geschwulstkrankheiten im Rudolf-Virchow-Krankenhaus, Berlin, haben gezeigt, daß äußerlich zugängliche Tumoren durch Behandlung mit Colchicin-Derivaten tatsächlich in ihrem Wachstum gehemmt werden können. Diese Anwendungsmöglichkeit beschränkt sich auf äußere Tumoren, während die zahlenmäßig weit größere Klasse der inneren Tumoren mit den bisher bekannten Mitosegiften noch nicht erfaßt werden kann, da diese eine zu hohe Toxizität besitzen. Hier liegen die weiteren chemischen Aufgaben der Auffindung von Substanzen, die spezifisch auf die Krebszellen wirken²⁾.

Neben der Wirkung auf die tierische Zelle haben Mitosegifte auch eine Wirkung auf pflanzliche Zellen, die zu einer Polyploidisierung, d. h. einer Vervielfachung des Chromosomensatzes einer Zelle, führt (Blakeslee, 1937). Diese Befunde haben für die Pflanzenzüchtung und die Vererbungsforschung eine große Bedeutung. Auch an Hefe haben sich ähnliche Effekte erzielen lassen (R. Bauch, 1941), bei der durch Einwirkung chemischer Faktoren Gigasformen³⁾ erzeugt wurden, die vielleicht polyploide Formen entsprechen. Mitosegiftwirkung, polyploidisierende Wirkung und Bildung von Gigashefe laufen nicht bei allen Stoffen parallel, in vielen Punkten erhalten aber die einzelnen Forschungsrichtungen Anregungen aus neuen Ergebnissen an den einzelnen Testobjekten.

Aussprache: Die Frage von Schoeller, Berlin, ob der Sauerstoff im Colchicin und den anderen Mitose-hemmenden Substanzen für die Wirkung notwendig ist oder ob man die Methoxy-Gruppen gegen Alkyl vertauschen kann, ohne die Wirkung herabzusetzen, wird vom Vortr. verneint. — Lynen, München: Ist es möglich, daß der Unterschied in der Wirkung von Adrenalin auf Hühnerherz und Tumor darauf zurückzuführen ist, daß im Hühnerherz das Adrenalin zum wirksamen Oxydationsprodukt oxydiert werden kann, im Tumor dagegen nicht? Es ist bekannt, daß im Tumorgewebe nur wenig Cytochrom vorliegen ist, im Herzmuskel dagegen sehr viel. — Im gleichen Sinne hat Vortr. diese Unterschiede in seinen Arbeiten gedeutet. Hinzuweisen ist dabei besonders auf Befunde von Kisch (1931), wonach oxydiertes Adrenalin die Atmung von Tumorgewebe nicht beeinflußt, wohl aber die normale Gewebe steigert, also ein gleichartiger Unterschied wie hinsichtlich der Mitosegiftwirkung. — Bredereck, Jena: Hat man irgendwelche Anhaltspunkte über den Wirkungsmechanismus bei Einwirkung der Mitosegifte auf die Zelle? — Vortr.: Nach morphologischen Befunden wird die Mitosegiftwirkung als eine Unterdrückung der Spindelbildung angesehen, wodurch die geordnete Trennung der Chromosomen unterbleibt. Was diesem Vorgang chemisch zugrunde liegt, ist unbekannt. Andere grob-mechanische Erklärungen sehen die Wirkung in einer Beeinflussung des Sol-Gel-Übergangs während der Mitose. Auch wäre an eine Erhöhung der Oberflächenspannung zu denken. Nach den Befunden von R. Kuhn über den Wirkstoff-Hemmstoff-Antagonismus bei Bakterien wäre auch hier nach einem Antagonismus zu einem noch unbekannten Wirkstoff zu suchen. Mit der Erweiterung der Zahl der Mitosegifte tritt zugleich die Möglichkeit der Beeinflussung der Mitose in verschiedenen Phasen in den Vordergrund, wofür möglicherweise verschiedene Mechanismen anzunehmen sind. — Knoop, Tübingen: Sind auch Substanzen, die wie Adrenalin und Ephedrin eine OH-Gruppe in der Seitenkette aufweisen, auf ihre Wirkung untersucht worden? — Vortr.:

²⁾ Nachtrag bei der Korrektur: Prof. Lettré distanziert sich von mißverständlich Berichten über seinen Vortrag, die in Rundfunk und Tagespresse erfolgt sind und Anlaß zu der irrtümlichen Auffassung im Publikum geben könnten, als habe er bereits ein endgültiges Krebsheilmittel aufgefunden.

³⁾ Vgl. auch diese Ztschr. 55, 16, 176, 281 [1942].

Neben Adrenalin wurde auch Ephedrin untersucht, das aber wirkungslos ist. Synthetische α, β -Diphenyl-äthylamine mit einer OH-Gruppe in der Seitenkette wurden noch nicht geprüft. — Butenandt, Berlin: Die physiologische Wirkungsgröße der einzelnen Stoffe wird vom Vortr. in γ/cm^3 angegeben; es ist wohl anzunehmen, daß damit γ/cm^3 der gesamten Kulturflüssigkeit gemeint ist. Wie groß sind die absoluten Mengen der zugesetzten Stoffe je Kultur? Ist es möglich, Größenordnungsmäßig anzugeben, wieviel Moleküle des aktivsten Mitosegiftes je Zelle wirksam sind? — Für das Oestradiol wurde angegeben, daß es unter 40 γ/cm^3 in der Gewebekultur keine Wirkung entfaltet. Bedeutet es, daß keine Mitosegiftwirkung zu beobachten ist, oder ist überhaupt keine Wirkung feststellbar? Diese Frage hat im Hinblick auf Arbeiten v. Möllendorf's Interesse, der unter dem Einfluß von 0,1 γ Oestradiol je Kultur Chromosomenabspaltungen in den Zellen beobachtete. — Vortr.: Mit der Angabe γ/cm^3 ist die in der Kulturflüssigkeit wirklich vorhandene Menge angegeben. Eine Überschlagsrechnung ergibt, daß in dem Volumen einer einzelnen Zelle bei den bestwirksamen Mitosegiften etwa 70 000 einzelne Moleküle enthalten sind, unter der Annahme, daß der Verteilungskoeffizient Zelle-Medium gleich 1 ist. Theoretisch wäre danach noch eine Wirkungssteigerung um 4 Zehnerpotenzen möglich. v. Möllendorf beobachtet Chromosomenabspaltungen mit Konzentrationen von Oestradiol, die noch keine Hemmung der Kern- und Zellteilung bewirken. An Hühnerherzfibroblasten haben wir diese Effekte nicht untersucht, die in unserem Testverfahren nicht zum Ausdruck kommen. Mit einer Untersuchung dieser Erscheinungen an anderen Zellarten sind wir beschäftigt.

Prof. Dr. K. Lohmann, Berlin: Über das Vorkommen von d-Glutaminsäure in der Krebszelle.

Das tierische und pflanzliche Eiweiß ist fast ausnahmslos aus Aminosäuren aufgebaut, die sterisch zur L-Reihe gehören. 1939 untersuchten nun Kögl und Erxleben auch das Eiweiß bösartiger Geschwülste auf ihre sterische Zugehörigkeit und stellten fest, daß verschiedene Aminosäuren nach der Säurehydrolyse racemisiert vorlagen, insbesondere die Glutaminsäure, in geringerem Maße auch Leucin, Lysin und Valin. An diesen Befund schlossen Kögl und Erxleben interessante Betrachtungen über die Aetiologie des Krebses. Danach sollte die gemeinsame „innere Ursache“ des Krebses, der bekanntlich durch die verschiedensten Schädigungen ausgelöst werden kann, darin bestehen, daß die Krebszelle die Fähigkeit verloren hat, ihr Struktureiweiß wie die normale Zelle aus den „natürlichen“ L-Aminosäuren aufzubauen. Für die Glutaminsäure, die im tierischen Körper synthetisiert werden kann, ist eine Entstehung der D-Form und ihr Einbau in das Zelleiweiß (falls die Aufrechterhaltung der sterischen Reinheit aus irgendeinem Grunde gestört ist) theoretisch durchaus verständlich. Es wird darauf hingewiesen, daß diese Annahme für die lebensnotwendigen Aminosäuren Leucin, Valin und Lysin, die also vom Körper nicht aufgebaut werden können, jedoch nur mit besonderen Hilfsannahmen fundiert werden kann.

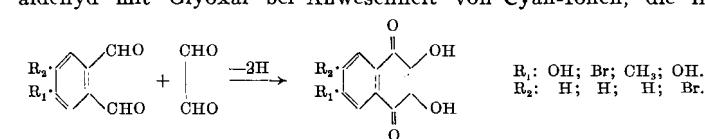
Die Nachprüfung der Kögl'schen Befunde über das z. T. stark vermehrte Vorkommen der unphysiologischen d-Glutaminsäure, die von Dr. Klingmüller ausgeführt wurde, hatte, wie zahlreiche Nachprüfungen in anderen Laboratorien, ein negatives Ergebnis. Die d-Glutaminsäure fand sich in verschiedenen primären Geschwülsten und in Lebermetastasen nur in Mengen, die 2—4% des Gehaltes an L-Glutaminsäure nicht überschritten. Dieser Gehalt kann durch die Racemisierung bei der Säurehydrolyse weitgehend erklärt werden. Für die Isolierung der Glutaminsäure wurde der Einfluß verschiedener Hydrolysearten (20- und 36%ig. HCl, 7- und 20—22stündige Hydrolyse) sowie verschiedener Reinigungsverfahren untersucht. Sowohl die von Kögl wie die von Chibnall angewandten Verfahren erwiesen sich als geeignet. Bei dem Kögl'schen Verfahren konnten z. B. von der zu normalem Eiweiß zugesetzten d-Glutaminsäure (als d,L-Glutaminsäure) bis 76% wiedergefunden werden, bei der von Chibnall angewandten Reinigung über die Calciumsalze der Dicarbonsäuren bis 80%; bei der Butanolmethode wurden gut 50% der zugesetzten d-Glutaminsäure wiedergefunden. Aus den zahlreichen negativ verlaufenen Nachprüfungen geht wohl hervor, daß die etwa in das Krebseiweiß eingegebene d-Glutaminsäure nicht die „innere Ursache“ der Krebsentstehung sein kann.

Eine einwandfreie Erklärung der verschiedenen Befunde ist nicht eindeutig zu geben. Das Problem, ob die unphysiologische d-Glutaminsäure überhaupt im Krebseiweiß vorkommt, muß jedoch noch als ungelöst bezeichnet werden, da Kögl in einer neueren Arbeit⁴⁾ seine früher erhobenen Befunde mit einer neuen Methodik bestätigen konnte. Hierfür wurde den Hydrolyseansätzen mit Deuterium markierte d-Glutaminsäure zugesetzt. Allerdings steht diese Angabe in Widerspruch zu Ergebnissen von Graff, Rittenberg und Foster, die für ihre Versuche mit Isotopenverdünnung ^{15}N verwandten. Es ist ungewöhnlich eigenartig und andererseits sehr lehrreich, daß die Isolierung der doch verhältnismäßig leicht isolierbaren Glutaminsäure nach einem halben Jahrhundert Eiweißchemie solche Schwierigkeiten bereitet. Eine Klärung über das Vorkommen von d-Glutaminsäure im Krebseiweiß ist offensichtlich nur von weiteren Versuchen mit Isotopenverdünnung zu erwarten.

Aussprache: Butenandt, Berlin: Es ist außerst überraschend, daß der von Kögl erhobene experimentelle Befund über das Vorkommen der d-Aminosäuren, besonders der d-Glutaminsäure, in Tumoren, in so vielen Laboratorien nicht bestätigt werden kann, um so mehr, als die Befunde des Utrechter Instituts ausnahmslos und immer wieder positiv verliehen und nicht etwa statistisch gewonnen wurden. Bis vor wenigen Wochen haben wahrscheinlich viele unter dem Eindruck der sich häufenden negativen Ergebnisse der Nachprüfer das Empfinden gehabt, Kögl's Resultate könnten auf einem Irrtum beruhen. Nachdem jedoch kürzlich die, auch vom Vortr. zitierte⁴⁾, neue Veröffentlichung von Kögl erschienen ist, nach der unter Verwendung von deuterierter Glutaminsäure zum Nachweis und zur quantitativen Bestimmung der d-Glutaminsäure in Tumorhydrolysat eine volle Bestätigung und Erhärting der früheren Angaben erzielt wurde, und in der auch die Gründe für die abweichenden Ergebnisse anderer Autoren erörtert werden, scheint mir ein Zweifel an der Richtigkeit der von Kögl erhobenen Befunde nicht mehr möglich. Damit ist die Frage ausschließlich zu einer methodischen geworden. Unter diesem Gesichtspunkt sei an den Vortr. die Frage gerichtet, ob keinerlei entscheidend wirkende Unterschiede zwischen seiner Methode und der jetzt bis in alle Einzelheiten veröffentlichten Arbeitsvorschrift von Kögl zu entdecken sind. Wie groß sind insbes. die absoluten Ausbeuteziffern an Glutaminsäure? Sind sie so hoch, daß sie eine zumeist erst jenseits eines Glutaminsäure-Gehalts von 10% auftretende Racemisierung sicher erfassen würden? — Vortr.: Entscheidende Unterschiede in der Methodik bestehen nicht. Wie die Zusatzversuche mit d,L-Glutaminsäure ergaben, kann ein d-Glutaminsäure-Gehalt über 10% sicher erkannt werden. Die absolute Ausbeute scheint auch nicht von wesentlichem Einfluß zu sein, da Kögl bei seinen früheren verhältnismäßig geringen Ausbeuten zumindest den gleichen Gehalt an d-Glutaminsäure fand wie jetzt bei den von ihm angegebenen wesentlich höheren Ausbeuten an Glutaminsäure. Es bleibt abzuwarten, ob es in den Versuchen der amerikanischen Autoren der entscheidende Fehler war (wie von Kögl angenommen wird), daß die mit ^{15}N markierte Glutaminsäure nur 3 h mithydrolysiert wurde und nicht von Anfang an. — Windaus, Göttingen: Wurden die Versuche von Kögl über die Verfütterung von Brown-Pearce-Tumoren nachgemacht? Kögl hat in diesem Fall aus den Faeces ein Eiweiß isoliert, das sogar einen Überschuß von d-Glutaminsäure enthielt. — Vortr.: Der Versuch wurde nicht wiederholt, da er für sich allein nicht beweisend sein kann, wenn die direkte Aufarbeitung von Tumoreiweißen ein negatives Ergebnis hat. Kögl fand bei dieser direkten Aufarbeitung von Brown-Pearce-Tumoren statt einer spezifischen Drehung von etwa $+31^\circ$ bei der Glutaminsäure aus normalem Gewebe den Wert von $+3,5^\circ$; so starke Racemisatgrade könnten auch direkt nachgewiesen werden. — Hinsberg, Berlin: Zur Klärung der methodischen Fragen wird vorgeschlagen, dasselbe Material an Tumoreiweiß an verschiedenen Stellen zu untersuchen. Bei abweichenden Ergebnissen muß alsdann die Diskrepanz an methodischen Differenzen liegen. Der Fehler, der durch verschiedenes Ausgangsmaterial entstehen könnte, wird dadurch ausgeschaltet. — Letré, Göttingen: Es wird vorgeschlagen, die Analysenmethoden zur Isolierung von d-Glutaminsäure aus Eiweißhydrolysaten mit Hilfe von Proteinen zu prüfen, die durch Umsetzung mit Oxazolonen aus racem. Glutaminsäure markiert sind. Die d-Glutaminsäure würde hierbei die ganze Vorgeschichte der Hydrolyse mitmachen. — Knoop, Tübingen, diskutiert die Frage der symmetrischen Synthese von Aminosäuren im Tierkörper, die durch die von Kögl gefundenen Tatsachen sowie durch die Existenz von d-Aminosäure-Oxydases wahrscheinlich gemacht wird. — Wieland, Heidelberg: Der große Unterschied in den Werten des Gehalts an Glutaminsäure von Tumoren, den die Anwendung von mit ^{15}N markierter Glutaminsäure einerseits (10%) und mit Deuterium markierter Glutaminsäure andererseits (15—17%) zeigt, ist vielleicht auf die Tatsache zurückzuführen, daß Deuterium im Gegensatz zu ^{15}N während der Hydrolyse leicht ausgetauscht werden kann. Dadurch schließt man auf höhere Werte an Glutaminsäure. Die Stabilisierung der deuterierten Glutaminsäure, die Kögl durch Kochen mit konz. Salzsäure bis zum konstanten D-Gehalt vorgenommen hat, hätte vielleicht durch Kochen der „stabilen“ Deuteroglutaminsäure in einem (glutaminsäure-freien) konzentriert salzsäuren Proteinhydrolysat kontrolliert werden sollen.

Doz. Dr. F. Weygand, Heidelberg: Über eine Synthese von 2,3-Dioxy-chinonen.

Die bereits kurz mitgeteilte⁵⁾ Kondensation von o-Phthalaldehyd mit Glyoxal bei Anwesenheit von Cyan-Ionen, die in

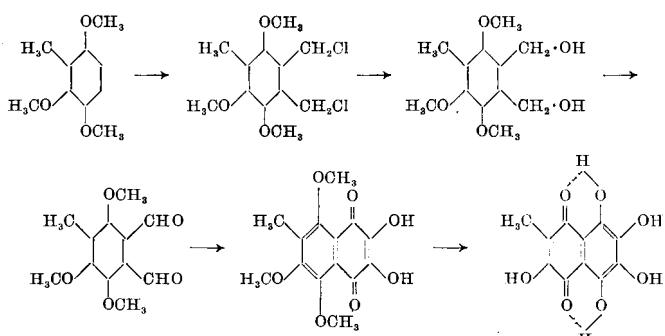


schwach alkalischem Medium bei Gegenwart von Luft-Sauerstoff zum Isonaphthazarin führt, konnte auf eine Reihe substituierter o-Phthalaldehyde ausgedehnt werden, nämlich auf: 4-Oxy-

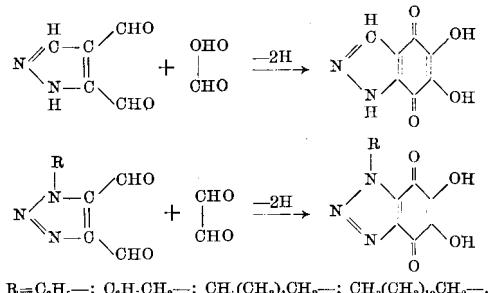
⁴⁾ Vgl. Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 277, 251 [1943].

4-Brom-, 4-Methyl- sowie auf 4-Oxy-5-brom-phthalaldehyd-(1,2). Es wurden in allen Fällen in guter Ausbeute und sogleich vorzüglichem Reinheitsgrad die entsprechend substituierten Isonaphthazarine erhalten.

Durch Chlormethylierung konnte aus 1,3,4-Trimethoxy-2-methyl-benzol das 1,3,4-Trimethoxy-2-methyl-5,6-dichlormethylbenzol dargestellt werden. Nach Austausch der Cl-Gruppen gegen OH-Gruppen wurde der so erhaltene Trimethoxy-methyl-phthalalalkohol der Oxydation mit Natriumbichromat in Eisessig unterworfen, wobei der Trimethoxy-methyl-phthalaldehyd — allerdings nur in sehr geringer Ausbeute — erhalten wurde. Er wurde unter den für Phthalaldehyd angegebenen Bedingungen mit Glyoxal kondensiert, wobei sich das 2,3-Dioxy-5,6,8-trimethoxy-7-methyl-naphthochinon-(1,4) bildete. Die Entmethylierung zum niederen Homologen des Echinochroms gelang mit AlCl_3 in Nitrobenzol. Die so erhaltene Verbindung zeigte im Löwe-Schumm-Spektroskop die gleichen Banden wie Echinochrom: 531, 492 und 457 μm in ätherischer Lösung.



Auch mit heterocyclischen α -Dialdehyden des Pyrazols und des Triazols, die mit Dr. K. Henkel hergestellt wurden, erfolgte die Kondensation mit Glyoxal glatt. Durch Dehydrierung unter den Versuchsbedingungen, die in diesen Fällen ebenfalls schon durch Luft-Sauerstoff bewirkt wird, entstehen heterocyclische Dioxychinone. Man erhält z. B. aus dem Pyrazol-dialdehyd-(4,5) ein Dioxyindazol-chinon oder aus dem 1-Phenyl-, 1-Benzyl-, 1-n-Hexyl- und 1-n-Dodecyl-triazol-dialdehyd-(4,5) die entsprechend substituierten Dioxy-benzotriazolchinone:

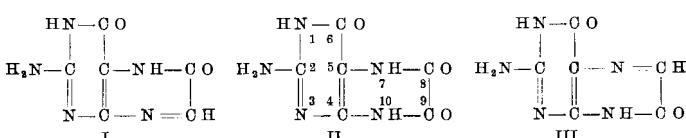


Die neue Dioxychinon-Synthese vollzieht sich schon bei 20° und von p_H 7 an (nicht mehr in ätzalkalischer Lösung) mit so großer Leichtigkeit, daß man in Erwägung ziehen muß, ob sie nicht bei der biologischen Synthese von Polyoxynaphthochinonen eine Rolle spielt.

Vorsitzender: Prof. Dr. Kuhn, Heidelberg.

Dr. R. Purmann, München: *Die Pterine.*

Die hellen Schuppenpigmente der Schmetterlinge sind ein Gemisch aus Purinen und einigen roten, gelben und farblosen, stickstoff-reichen, purin-ähnlichen Körpern, von denen drei, das gelbe Xanthopterin (I) und die farblosen Leukopterin (II) und Isoxanthopterin (III) aufgeklärt und synthetisiert werden konnten.



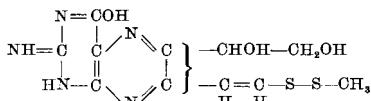
Diese drei Pterine machen neben dem noch nicht untersuchten roten Erythropterin und neben Harnsäure, Xanthin und Isoxanthin die Hauptmenge der untersuchten Pigmente aus. Sie leiten sich von einem Grundgerüst ab, das sich von dem der Flavine durch das Fehlen des Benzol-Ringes unterscheidet. Naturstoffe mit diesem Gerüst waren bisher nicht bekannt. Alle drei Pterine enthalten den 2-Amino-6-oxo-pyrimidin-Ring, während auffallenderweise das entsprechende Purin, das sonst weit verbreitete Guanin, in den Pigmenten nicht vorkommt. Das ist ein Argument dafür, daß die biologischen Purin-Synthesen (und die Pterin-Synthesen) vom Pyrimidin-Ring ausgehen. Xanthopterin und Isoxanthopterin sind Desoxyleukopterine, die sich durch die

Stellung der Oxy-Gruppe im Azin-Ring unterscheiden. Die Oxydation des Xanthopterins zum Leukopterin gelingt auf viele Arten, während Isoxanthopterin bisher nur unter gleichzeitiger Desaminierung zu Desiminoleukopterin oxydiert und so mit Leukopterin verknüpft werden konnte. Leukopterin hat reinen Purin-Charakter und ist der Harnsäure höchst ähnlich, der Dioxazin-Ring tritt bei Umsetzungen kaum in Erscheinung. Zur Konstitutionsaufklärung konnten manche Harnsäure-Reaktionen auf Leukopterin übertragen werden, die alle am Pyrimidin-Ring ansetzen. Auch Isoxanthopterin hat vorwiegend Purin-Charakter, ist aber als Azin reversibel hydrierbar. Beiden gegenüber steht jedoch das gelbe Xanthopterin. Das charakteristische Maximum des Absorptionsspektrums ist um 50 μm zum langwelligen hin verschoben und entspricht dem der Flavine. Es hat die Eigenschaften eines biologischen Redoxfarbstoffs und addiert z. B. SO_2 unter Entfärbung. Ähnlich verhalten sich alle anderen bisher dargestellten Derivate des 8-Oxy-pteridins, während die des 9-Oxy-pteridins ganz dem zu ihnen zählenden, farblosen, purin-ähnlichen Isoxanthopterin gleichen. Zur Synthese der Pterine dienen Orthodiaminopyrimidine, die von Traube zu Purin-Synthesen eingeführt worden sind, und α -Dicarbonyl-Verbindungen. Leukopterin und andere 8,9-Dioxy-pteridine entstehen aus den Traubenschen Basen mit Oxalsäure. Mit α -Oxosäuren entstehen in neutralem Milieu 9- und in mineralsaurem vorwiegend 8-Oxy-pteridine, die letzteren sind (Xanthopterin gehört zu ihnen) stets gelb und stärker basisch, was ihre Abtrennung von den 9-Oxy-Derivaten erleichtert.

Leukopterin findet sich außer in Schmetterlingen auch noch in anderen Insekten. Xanthopterin aber nicht nur da, sondern auch in Organen und im Harn der Säugetiere und des Menschen. Während die Pterine in Schmetterlingen, wie die Purine, als Endstufe des Stickstoff-Stoffwechsels während der Puppenruhe anzusehen sind, ist die Funktion des Xanthopterins im Säugern noch ganz unbekannt.

Die Pterine schieben sich chemisch und wohl auch physiologisch in die Lücke zwischen Purinen und Flavinen. Sicher sind die — außer der prachtvollen Fluorescenz ihrer Lösungen — unscheinbaren Körper noch vielerorts zu finden. Das neuerdings von Hüttel isolierte Ichthyopterin aus Fischen⁶⁾ scheint zu den 9-Oxy-pteridinen zu gehören.

Aussprache: Lynen, München: Die enzymatische Dehydrierbarkeit von Xanthopterin zu Leukopterin läßt es möglich erscheinen, daß beide Pterine einem Redoxsystem angehören, in dem Xanthopterin die hydrierte Stufe darstellt. — Koschara, Berlin: Xanthopterin ist reversibel hydrierbar durch physiologische Wasserstoff-Donatoren (Glutathion). Für die Annahme, daß es aus mit der Nahrung aufgenommenem Leukopterin entsteht, fehlt die Grundlage. Weder ist es in Nahrungsmitteln nachgewiesen worden, noch auch wurde vermehrte Xanthopterin-Ausschüttung nach peroraler Zufuhr von Leukopterin festgestellt. — Zu den bisher im menschlichen Organismus gefundenen 2 Pteridinen, dem Lactoflavin und dem Xanthopterin, tritt als 3. natürlicher Vertreter der neuen Stoffklasse das Urothion. Urothion besitzt nach den bisher vorliegenden Ergebnissen folgende Strukturformel:



— Lettré, Göttingen: Das Haar der weißen Ratte (nicht der Maus und des Angorakaninchens) enthält einen blau fluorescierenden Stoff, der nach alkalischer Hydrolyse mit Äther extrahiert werden kann, also kein Leukopterin darstellt. — Butenandt, Berlin: Vortr. führte aus, daß unter den Farbstoffen der Schmetterlinge außer den Pterinen noch Melanine vorkommen und daß manche Färbungen physikalische Ursachen haben. Zur Ergänzung sei darauf hingewiesen, daß es nach den Untersuchungen von Erich Becker, Dahlem, unter den Schmetterlingsfarbstoffen außerdem noch Vertreter der im Insektenreich weit verbreiteten Ommochrome gibt; sie finden sich besonders bei den Yanessen. Im Gegensatz zu den Melaninen leiten sich die Ommochrome nicht vom Dioxyphenylalanin, sondern vom Tryptophan ab. Sie gewannen entwicklungsphysiologisches Interesse durch die Feststellung, daß ihre Bildung von der Gegenwart bestimmter Gene abhängig ist, die dem Organismus die Fermente zum oxydativen Abbau des Tryptophans zu den Chromogenen α -Oxy-tryptophan, Kynurenin u. a. zur Verfügung stellen. Dieser Hinweis erinnert zugleich daran, daß die Insekten — im Gegensatz zu der eingangs geäußerten Meinung des Vortr. — in hohem Maße zum Studium physiologisch-chemischer Fragen geeignet sind und für viele Probleme die Objekte der Wahl darstellen. — Knoop, Tübingen: Als Koschara im Tübinger Institut bei seinen ergebnisreichen Untersuchungen über Harnfarbstoffe aus 5000 l Harn zunächst 500 mg, später mehr, „Uropterin“ isolieren konnte, fand er weiter, daß diese Substanz im Tierkörper selber gebildet werden muß, da sie weder durch Schmetterlingsflügel noch durch die üblichen Nahrungsmittel dem Körper zugeführt war, aber stets im Harn zu finden ist. In solchem Fall ist doch wohl irgendeine wichtige

⁶⁾ Vgl. Liebigs Ann. Chem. 554, 69 [1943] u. diese Ztschr. 56, 110 [1943].

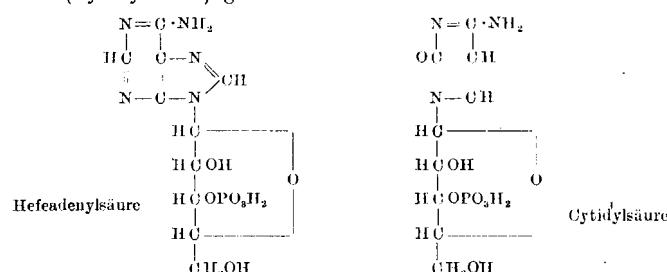
Funktion, vermutlich katalytischer Art, an diese Substanz gebunden. Aus Göttingen wurde später beschrieben, daß das Pterin Ziegenmilchanämie günstig beeinflussen könnte. Die Angabe wurde von anderer Seite bestritten, aber bei der geringen Menge des schwer zugänglichen Materials nicht zu einer Entscheidung gebracht. Wenn jetzt nach den schönen Untersuchungen des Vortr. über die Konstitution die Substanz der Synthese zugänglich geworden ist, sollte nunmehr von den Kliniken erneut bei Störungen ähnlicher Art nach einer therapeutischen Wirkung gefahndet werden. — Weygand, Heidelberg, bezweifelt, daß die Konstitution des sog. Toxoflavins, die von *van Veen* angegeben wird, richtig ist; es soll sich um eine mit dem Methyl-xanthin tautomere Verbindung handeln. — Vortr.: Nach der Beweisführung der holländischen Forscher ist das Toxoflavin ein Isomeres des 1-Methyl-xanthins. Es ist richtig, daß gemäß der Erfahrung an anderen Körpern eine Substanz mit der vorgeschlagenen Formel dem 1-Methyl-xanthin vielleicht sogar tautomer sein müßte. Das ist aber nicht der Fall, d. h. ein Übergang in der einen oder anderen Richtung ist nicht realisiert. Trotzdem scheint mir die angegebene Formel mit den beschriebenen Umsetzungen ausreichend begründet. Da der Giftstoff vom Bacterium cocovenenans unter speziellen Bedingungen produziert wird, ist die analytische Arbeit vorerst nicht nachzuprüfen. Man muß sich einstweilen synthetisch um die Klärung dieser interessanten Frage bemühen. — Schwarz, Heidelberg: Sind die Pterine auf ihre Toxizität hin untersucht? Man könnte aus ihrem Verhalten in derartigen Versuchen vielleicht Rückschlüsse auf ihr physiologisches Verhalten ziehen. — Vortr.: Nur Xanthopterin wurde von *Hörlein* pharmakologisch geprüft. Pankreas und Niere werden bei parenteraler Zufuhr geschädigt, aber erst bei sehr hohen Dosen, die weit außerhalb der physiologischen Konzentration liegen. Für die Niere z. B. ist aber schon der Durchlaß der Harnsäure die schwerste Aufgabe, und es ist daher nicht erstaunlich, daß sie große Xanthopterin-Menge nicht bewältigen kann. Aber auch aus den anderen Schädigungen konnte bisher noch nicht auf eine physiologische Funktion geschlossen werden.

Prof. Dr. H. Bredereck, Jena: *Neuere chemische und pharmakologische Untersuchungen an Nucleinsäuren und ihren Abbauprodukten.*

Nucleinsäuren spielen im biologischen Geschehen eine zentrale Rolle. Bei der Zellteilung, bei der Eiweißsynthese im Zellkern und auch im Cytoplasma sind sie von entscheidender Bedeutung. Zahlreiche Fermente zeigen in ihrem Coferment-Anteil nucleinsäureartigen Aufbau, ebenso verschiedene Vitamine.

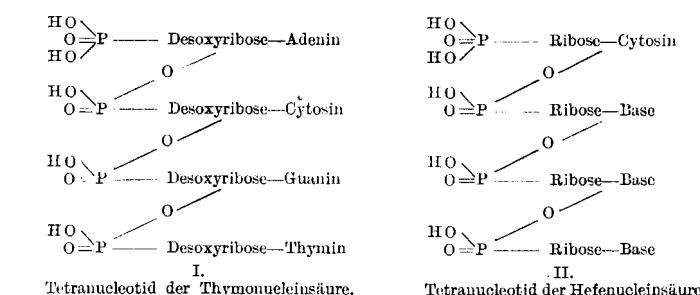
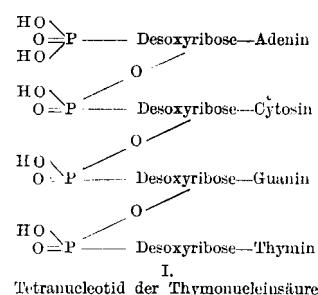
Nucleinsäuren sind aus Phosphorsäure, einem Kohlenhydrat (der d-Ribose bzw. 2-Desoxy-ribose) und einer Purin- bzw. Pyrimidinbase zusammengesetzt. Die Verbindungen der einfachen Zusammensetzung (Phosphorsäure-Kohlenhydrat-Base)₁ bezeichnet man als Mononucleotide, während die eigentlichen Nucleinsäuren Polynucleotide sind. So sind in der Thymonucleinsäure einige 1000 Mononucleotide scheibenförmig aneinander gefügt, während diese Zahl in der Hefenucleinsäure sicher wesentlich geringer ist. Chemische und fermentative Abbaumethoden haben ergeben, daß beide Nucleinsäuren einen Grundbaustein besitzen, der aus 4 Mononucleotiden aufgebaut ist, mithin ein Tetranucleotid darstellt. Im Molekül der Thymo- und Hefenucleinsäure sind zahlreiche dieser Tetranucleotide untereinander verknüpft.

Die Konstitution der Mononucleotide ist heute weitestgehend bekannt. Als Beispiel sei die Formel der Adenosin-3-phosphorsäure (Hefadenylsäure) und die Cytidin-3-phosphorsäure (Cytidylsäure) genannt.



Das Tetranucleotid der Thymonucleinsäure enthält folgende 4 Mononucleotide: Adenin-desoxyribose-phosphorsäure, Guanin-desoxyribose-phosphorsäure, Cytosin-desoxyribose-phosphorsäure und Thymin-desoxyribose-phosphorsäure, die untereinander verknüpft sind. Durch Titration, Desaminierungs- und Methylierungsversuche konnte sichergestellt werden, daß die Verknüpfung der Mononucleotide ester-artig jeweils zwischen einem Phosphorsäure-Rest und der einzigen freien OH-Gruppe am Kohlenstoff-Atom 5 der Desoxyribose des Nachbar-Nucleotids erfolgt. Die Reihenfolge der Nucleotide ist noch nicht völlig geklärt. Durch alkalischen Abbau wird zunächst Adenin-desoxyribose-phosphorsäure abgespalten, und es verbleibt ein Trinucleotid, bestehend aus Guanin-, Cytosin- und Thymin-desoxyribose-phosphorsäure, das sich als solches charakterisieren läßt. Im Zusammenhang mit fermentativen Abbauversuchen, aus denen hervorgeht, daß das Adenin- und Thyminnucleotid jeweils an den beiden

Enden steht, ergibt sich folgendes Schema I für das Tetranucleotid der Thymonucleinsäure, wobei die Reihenfolge der beiden mittleren Nucleotide noch unklar ist, aber auch das Adenin- und das Thyminnucleotid vertauscht sein kann.



Die bisherigen Versuche haben auch für das Tetranucleotid der Hefenucleinsäure ergeben, daß die Mononucleotide (Hefadenylsäure, Guanylsäure, Cytidylsäure, Uridylsäure) ester-artig zwischen dem Phosphorsäure-Rest eines Nucleotids und einem freien OH an der Ribose des Nachbar-Nucleotids verknüpft sind. Die Unterschiede in der Aufspaltungsgeschwindigkeit zwischen dem Tetranucleotid der Thymonucleinsäure und dem der Hefenucleinsäure deuten darauf hin, daß zum Unterschied vom Tetranucleotid der Thymonucleinsäure in dem der Hefenucleinsäure das Hydroxyl am Kohlenstoff-Atom 2 an der Verknüpfung beteiligt ist. Die Versuche hinsichtlich der Reihenfolge zeigen bisher, daß Cytidylsäure an einem Ende steht, so daß das Tetranucleotid nach Schema II aufgebaut ist.

Über die Bindungen zwischen den Tetranucleotiden innerhalb des Moleküls der Thymo- bzw. Hefenucleinsäure läßt sich folgendes sagen: Durch eine für beide Nucleinsäuren spezifische Polynucleotidase werden beide Nucleinsäuren unter Freilegung eines Säureäquivalents (je Tetranucleotid berechnet) nur bis zu den entsprechenden Tetranucleotiden aufgespalten. Die Bindungen müssen somit über die Phosphorsäure-Gruppen gelten. Diese fermentativen Abbaureaktionen sowie die durch alkalischen Abbau möglichen Darstellungsmethoden der Tetranucleotide würden an und für sich zwischen den Tetranucleotiden für eine andere Bindung (Stickstoff-Phosphor?) als zwischen den Nucleotiden des Tetranucleotids sprechen. Vorläufige Versuche jedoch mit höher molekularer Thymonucleinsäure durch Methylierung und Isolierung der methylierten Basen die Stickstoff-Phosphor-Bindung zu beweisen, verliefen bis jetzt negativ. Erhalten wurden die gleichen, durch Methylierung des Tetranucleotids erhältlichen methylierten Basen.

Durch fermentativen und chemischen Abbau gelingt es heute leicht, aus Hefenucleinsäure in guter Ausbeute die entsprechenden Nucleoside (Guanosin, Adenosin, Cytidin und Uridin) zu erhalten. Eine Reihe Unsetzungen mit diesen Nucleosiden sei angeführt:

Die schwach saure Hydrolyse des Guanosins führt z. B. zu Guanin, das sich leicht zu Xanthin desaminieren läßt, und d-Ribose, dem nächst der Glucose biologisch wichtigsten Zucker, der somit bequem zugänglich geworden ist. Guanosin läßt sich leicht zu Xanthosin desaminieren. Geeignete Phosphorylierung führt über die Trityl-Verbindungen von Cytidin zur Cytidylsäure, vom Uridin zur Uridylsäure. Während die chemische Phosphorylierung des Adenosins (bzw. eines Derivates) nur in schlechter Ausbeute zur Muskeladenylsäure führt, gelingt es, fermentativ in sehr guter Ausbeute aus Adenosin Adenosintriphosphorsäure und daraus Muskeladenylsäure zu erhalten. Methylierungen an Nucleosiden wurden nach folgenden Methoden durchgeführt:

1. Mit Diazomethan in ätherischer Lösung in Gegenwart von Methanol, wobei der besseren Löslichkeit wegen die im Zucker acetylierten Nucleoside verwendet wurden. Dabei liefert z. B. Triacetylguanosin in einer Reaktion 1-Methyl-guanosin, Triacetyl-xanthosin das 1,3-Dimethyl-xanthosin. Bemerkenswert ist die Fähigkeit des Diazomethans zu entacylieren.

2. Mit Dimethylsulfat bei verschiedenem p_H . Z. B. liefert Adenosin in stark alkalischem Milieu N^6 -Methyl-adenosin, bei p_H 8–10 1-N⁶-Dimethyl-adenosin, bei p_H 7–8 1-Methyl-adenosin. Guanosin liefert im stark alkalischen Milieu N^2 -Methyl-guanosin, bei p_H 8–10 1-N²-Dimethyl-guanosin, bei p_H 4–5 1-Methyl-guanosin. Diese Befunde sind in jeder Richtung ausbaufähig. Z. B. liefert Xanthin (über seine leichte Zugänglichkeit s. o.) bei p_H 8–9 praktisch quantitativ Coffein, Harnsäure ebenfalls bei p_H 8–9 Tetramethylharnsäure.

Methylierte Purine, Nucleoside, methylierte Nucleoside und Nucleotide wurden pharmakologisch auf ihre Diurese (Ratten) und Blutdruck-Eigenschaften (dekapitierte Katze) untersucht. Wesentlich für eine Diuresewirkung hinsichtlich der Stellung der Methyl-Gruppen am Xanthin ist die 3-Stellung, wozu jedoch außerdem noch eine andere Stelle mit CH_3 besetzt sein muß. Gegenüber dem diuretisch stark wirksamen Theophyllin zeigt das Theophyllinribosid (Dimethylxanthosin) bzw. Theophyllinglucosid ein Absinken der Wirkung. Zeigt schon Xanthylsäure (Xanthosin-3-phosphorsäure) gegenüber Xanthosin eine erhebliche Steigerung

der diuretischen Wirkung, so findet sich auch in der diuretisch unspezifischen Adenin-Reihe eine starke Zunahme der Diuresewirkung beim Übergang vom Adenosin zur Adenosin-5-phosphorsäure (Muskeladenylsäure) und erreicht ihr Maximum in der Adenosintriphosphorsäure. Die für die Adenin-Reihe spezifische blutdrucksenkende Wirkung steigt vom Adenosin zur Muskeladenylsäure und erreicht ihr Maximum in der Adenosintriphosphorsäure. Allgemein zeigt sich eine Wirkungsparallele zwischen Diurese und Blutdrucksenkung. Auf Grund der vorgenannten Ergebnisse wurden neue Substanzen entwickelt.

Aussprache: Th. Wieland, Heidelberg: Bei der Aufarbeitung von Thunfischleberkonzentraten fielen uns große Mengen Uridin in die Hand (etwa 200 mg/kg), dessen Auftreten rätselhaft ist. Es mußten bei einer Genese aus Hefenucleinsäuren auch die anderen Nucleoside gefunden werden. Hat Uridin vielleicht eine biologische Bedeutung, da z. B. Uracil für bestimmte Mikroorganismen einen Wuchsstoff darstellt? — **Vortr.:** Es ist mir bisher nichts darüber bekannt. — **Frl. Holzapfel, Berlin:** Bei der Diskussion der verschiedenen Verknüpfungsmöglichkeiten der Nucleinsäuren wurde die Bindungsmöglichkeit der Phosphorsäuren untereinander (Polyphosphorsäuren) nicht erwähnt; bestehen prinzipielle Gegenargumente gegen eine solche Annahme? — **Vortr.:** Die Tatsache, daß die Tetranucleotide 5-basische Säuren sind, bei deren Aufspaltung in die Nucleotide 3 Aciditätsstufen frei werden, schließt die Bindungsmöglichkeit von Phosphorsäure-Resten untereinander aus. Die gleiche Möglichkeit schiedet auch für die Verknüpfung der Tetranucleotide untereinander aus, da bei der Aufspaltung der höhermolekularen Nucleinsäuren in die Tetranucleotide nur eine Aciditätsstufe freigelegt wird. — **Schramm, Berlin:** Im Zusammenhang mit Untersuchungen über die Nucleinsäure des Tabakmosaikvirus haben wir auch einige Versuche mit Hefenucleinsäure (Boehringer) durchgeführt. In der Ultrazentrifuge ist eine deutliche Sedimentation der Hefenucleinsäure wahrzunehmen, so daß es sich sicher um ein hochmolekulares Produkt handelt, dessen mittleres Molekulargewicht über 10000 liegt. Eine genaue Messung der Sedimentationskonstante konnte noch nicht durchgeführt werden, da das Präparat sehr polydispers ist. Bei der Elektrophorese verhält sich hingegen diese Hefenucleinsäure vollkommen einheitlich und zeigt in dem untersuchten p_{H} -Gebiet von 4—7 eine scharfe Grenzzone. Die auf dem üblichen Wege dargestellte Hefenucleinsäure ist damit als eine polydisperse polymer-einheitliche Verbindung anzusprechen. Unter milden Bedingungen wird es vielleicht gelingen, aus einheitlichen Nucleoproteiden völlig einheitliche Polyribonucleotide zu gewinnen. — **Freudenberg, Heidelberg:** Bei den Gallo-tanninen⁷⁾ hat die ester-spaltende Wirkung des Diazomethans eine Rolle gespielt. Sie wurde damit gedeutet⁸⁾, daß kleine Mengen von Aminen entstehen, die in Gegenwart von Methanol eine Umeisterung katalysieren. — **Bücher, Berlin:** Ribonucleose von Kuntz wird durch Pyrophosphat gehemmt, wir nehmen an, daß eine Verdrängung der Nucleinsäure am Ferment durch Pyrophosphat stattfindet. Dies legt nahe, an das Vorkommen von $\text{P}-\text{O}-\text{P}$ -Bindungen im Nucleinsäure-Molekül zu denken.

Dr. G. Schramm, Berlin-Dahlem: Über die Konstitution des Tabakmosaikvirus.

Von den tierischen und pflanzlichen Virusarten, die bisher in Form einheitlicher Eiweißstoffe dargestellt wurden, ist das Tabakmosaikvirus am besten untersucht. Am Beispiel dieses Virus soll daher gezeigt werden, wie es mit Hilfe biologischer, serologischer, chemischer und physikalischer Methoden möglich ist, Einblick in den Aufbau der Virusarten zu erhalten.

Zur Festlegung der Größe und Gestalt des Tabakmosaikvirus sind besonders Untersuchungen in der Ultrazentrifuge, Diffusionsmessungen, Röntgen-Untersuchungen sowie die Elektronenmikroskopie geeignet. Messungen der Strömungsdoppelbrechung und der Viscosität sind für quantitative Aussagen bisher weniger aufschlußreich gewesen, da die Theorie dieser Erscheinungen noch nicht genügend gesichert ist. Jedoch geben gerade die Strömungsdoppelbrechung und das viscosimetrische Verhalten von Tabakmosaikviruslösungen den ersten Hinweis, daß das Virusmolekül eine langgestreckte Gestalt besitzen muß. Den unmittelbaren Beweis für das Vorliegen stäbchenförmiger Moleküle erbrachte die elektronenmikroskopische Abbildung des Tabakmosaikvirus durch Kausche, Pfankuch und H. Ruska. Der Durchmesser des Stäbchens konnte auf röntgenographischem Wege sehr genau ermittelt werden. Das Virus besitzt einen hexagonalen Querschnitt mit einem Durchmesser von 152 Å. Über die Länge des Stäbchens können Röntgenuntersuchungen keinen näheren Aufschluß geben. Hier hilft das Elektronenmikroskop weiter. Die Länge der Virusmoleküle ist auf den elektronenmikroskopischen Abbildungen starken Schwankungen unterworfen, so daß die von den einzelnen Arbeitskreisen ermittelten Werte von einander abweichen. Neuere Untersuchungen von H. Friedrich-Freksa zeigten, daß die Größenverteilung der abgebildeten Teilchen stark von der Art der Aufzocknung des Virus auf die Trägerfolie abhängt. Die Virusteilchen zerbrechen hierbei leicht, so daß

Bruchstücke verschiedener Länge entstehen. Unter bestimmten Bedingungen gelingt es, das Zerbrechen weitgehend zu vermeiden und Teilchen einheitlicher Länge zu erhalten mit einem Maximum von 2500 Å. Aus dem Querschnitt und der Länge sowie dem spezifischen Gewicht der Teilchen ergibt sich für diese ein Molekulargewicht von 40000000. Das Molekulargewicht der Virusmoleküle läßt sich nun unabhängig hier von auch aus der Senkungsgeschwindigkeit in der Ultrazentrifuge und der Diffusionsgeschwindigkeit berechnen. Nach im Gange befindlichen Untersuchungen des Vortr. in der Ultrazentrifuge und nach Diffusionsmessungen von G. Bergold ergibt sich nach dieser Methode ein Molekulargewicht von 46000000; damit stimmt der elektronenmikroskopisch ermittelte Wert gut überein.

Das Tabakmosaikvirus besteht aus Eiweiß und Nucleinsäure. Andere Bausteine sind bisher nicht nachgewiesen. Jedoch sind in den bisher besten Analysen nur 68% der Gesamtbausteine im einzelnen festgelegt (F. Röß). Durch Verbesserung der Methodik der Eiweißanalyse, z. B. durch Anwendung chromatographischer Verfahren, wird es möglich sein, zu erheblich genaueren Werten zu gelangen. Es wird nötig sein, die Analysenwerte durch Untersuchungen am unverzweiten Molekül zu kontrollieren. So z. B. durch elektrochemische Messungen sowie eine genauere Analyse des Absorptionsspektrums des Virus, aus dem der Gehalt an Nucleinsäure und den aromatischen Aminosäuren abzulesen ist.

Durch systematische Abwandlungen des Virusmoleküls ist es möglich, in die biologische Funktion der Einzelbausteine Einblick zu erhalten. Es ließ sich zeigen (Schramm u. Müller), daß man die freien Amino-Gruppen des Virus ohne Verlust der Wirksamkeit blockieren kann. Auch bei der Abwandlung der Sulfhydryl-Gruppen durch Oxydation bis zur Sulfon-Stufe bleibt die Vermehrungsfähigkeit erhalten (Anson u. Stanley). Jede Veränderung am Tyrosin-Rest führt dagegen zur Inaktivierung. Von wesentlicher Bedeutung ist auch die Nucleinsäure, die bisher in jedem näher untersuchten Virus aufgefunden wurde; ihre Spaltung oder Entfernung aus dem Virus führt zur Unwirksamkeit. Wichtig ist auch die Untersuchung der Veränderung, die das Virus bei der Mutation erleidet. Es ließ sich zeigen, daß im Tabakmosaikvirus eine Reihe verschiedener Wirkungsbereiche vorliegt, die unabhängig voneinander mutieren können. Die biologische Wirkung des Virus ist daher nicht an eine einzige, engbegrenzte Wirkgruppe geknüpft (Melchers u. Schramm).

Physikalische und chemische Untersuchungen zeigen, daß die Einzelbausteine des Virus in einer außerordentlich regelmäßigen Anordnung vorliegen. Diese Tatsache ist neben der Einheitlichkeit der Größe und der elektrochemischen Eigenschaften der einleuchtendste Beweis dafür, daß das Tabakmosaikvirus ein Molekül im chemischen Sinne, und nicht ein strukturierter Organismus komplizierter Zusammensetzung ist. Untersuchungen mit polarisiertem ultravioletten Licht an gerichteten Virusteilchen (Butenandt, Friedrich-Freksa, Hartwig u. Scheibe) zeigen, daß die Nucleinsäure und der Eiweißbaustein Tryptophan in ganz regelmäßiger Anordnung in dem Virusmolekül vorliegen. Auch die Röntgenuntersuchungen (Bernal u. Fankuchen) beweisen die Regelmäßigkeit der Struktur. Hiernach besteht das Virus aus Elementarzellen gleicher Größe und Gestalt mit einem Molekulargewicht von 370000, die wiederum eine definierte innere Struktur besitzen. Die Unterteilung des Virus in gleichartige Einheiten kann auch auf chemischem Wege nachgewiesen werden (G. Schramm). Unter milden Bedingungen zerfällt das Tabakmosaikvirus in biologisch inaktive Teilchen, die das gleiche Molekulargewicht wie die röntgenographisch ausgemessenen Elementarzellen besitzen. Die Spaltstücke sind nicht nur in ihrer Größe und Gestalt, sondern auch in ihren elektrochemischen und serologischen Eigenschaften unter sich gleich. Die Fähigkeit zur Bindung der spezifischen Virusantikörper ist bei ihnen in vollem Maße erhalten geblieben, ja sogar wege der vergrößerten Oberfläche gegenüber dem intakten Virus noch verstärkt (H. Friedrich-Freksa u. G. Schramm). Dies beweist, daß bei der Spaltung die Eiweißstruktur unversehrt geblieben ist. Es gelang unter bestimmten Bedingungen, die Spaltproteine wieder zu einem stäbchenförmigen Eiweißstoff zusammenzusetzen, der in seiner Größe und Gestalt mit dem Tabakmosaikvirus übereinstimmt, jedoch keine biologische Wirksamkeit besitzt. Aus der Untersuchung der bei der Synthese auftretenden Erscheinungen lassen sich Rückschlüsse auf die Struktur des Virus sowie auf die Entstehungsweise in der Pflanze ziehen.

Aussprache⁹⁾: Pfankuch, Berlin: Inaktivierungen pflanzlicher Viren mit Hilfe einer Phosphatase wurden bereits vor vier Jahren beschrieben. In Übereinstimmung mit den Versuchen des Vortr. wurde dabei keine Freilegung von Phosphor oder Nucleinsäure beobachtet, obwohl das Ferment zur vollkommenen Aufspaltung befähigt war. Gefragt wird daher nach dem Nachweis der Spaltung der im übrigen an das Tabakmosaik-Virus gebundenen bleibenden Nucleinsäure, die Vortr. bei der Einwirkung von Kälberdarm-Fermenten auf das Tabakmosaik-Virusprotein beobachtet hat. — **Vortr.:** Für die Hydrolyse der an das Virusprotein gebundenen Nucleinsäure sprechen folgende Tatsachen: 1. Die biologische Aktivität verschwindet, 2. es entstehen freie Säuregruppen, 3. man

⁷⁾ Herzig, ferner E. Fischer u. Mitarb. um 1912.
⁸⁾ Freudenberg. Chemie der nat. Gerbstoffe, 1920.

⁹⁾ Vgl. dazu auch den Bericht über das Virus-Colloquium der Biolog. Reichsanstalt, diese Ztschr. 58, 77 [1943].

erhält bei der Fällung des enzymatisch behandelten Virusproteins durch Trichloressigsäure bei Zimmertemperatur ein phosphorfrees Protein, während das unbehandelte Virus unter diesen Bedingungen seinen Phosphor nicht abgibt. Die ursprüngliche Deutung, die wir diesen experimentellen Tatsachen gaben, ist nicht richtig. Es handelt sich nicht um eine Abspaltung der Nucleinsäure, sondern nur um eine Spaltung und Lockerung. — Kiesig, Berlin: Die Mutanten des Tabak-Mosaik-Virus können durch verschiedene physikalische und chemische Daten unterschieden werden. Nach unseren Untersuchungen ist auch das Röntgendiagramm charakteristisch für die Mutante. Es geben zwar alle bisher untersuchten Mutationen, die mir von Dr. Kausche übergeben wurden, die von Bernal u. Fankuchen bestimmte hexagonal dichteste Anordnung der länglichen Teilchen mit einem Abstand von 150—152 Å, aber die Intensitätsfolge der Interferenzen ist verschieden. Schon Bernal u. Fankuchen fanden für die natürlich vorkommenden Mutationen Aucuba und Enation Intensitätsunterschiede der Interferenzen gegenüber dem normalen Tabakmosaik-Virus, möglicherweise durch den Feuchtigkeitsgehalt bedingt. Wir nehmen aber an, daß der Intensitätsfolge eine tiefere Bedeutung zukommt. Allgemein werden die Intensitäten der verschiedenen Interferenzen durch die Dichteverteilung der Massen beeinflußt. Im Virusteilchen besitzen die Nucleinsäure-Gruppen ein höheres Streuvermögen wegen ihres P-Gehaltes, und es müssen daher die Intensitäten der Interferenzen abhängig sein von der Gruppierung der Nucleinsäure-Gruppen im Virusproteinteilchen. Es scheint mir daher das Röntgendiagramm besonders wichtig, da es auf das Bauschema der funktionellen Gruppen anspricht. Anschließend werden einige Aufnahmen gezeigt und besprochen, die die Kleinwinkelinterferenzen enthalten, und mit der eigens entwickelten Langkamera mit 400 mm Filmabstand aufgenommen worden sind.

Vorsitzender: Prof. Dr. H. Fink, Berlin.

Dr. Th. Bücher, Berlin-Dahlem: Über die Isolierung und Kristallisation eines phosphat-übertragenden Gärungsfermentes. (Mit Versuchen.)

Die Gärung wird bewirkt durch eine Kette von 12 hintereinander geschalteten Fermentreaktionen. Für den Nachweis und die Bestimmung der Fermente sind von O. Warburg und Mitarbeitern besondere optische Teste ausgearbeitet worden. Für diese hat Vortr. eine einfache Vorrichtung entwickelt, die er benutzt, um das Zusammenwirken zweier Gärungsfermente — den zusammengesetzten optischen Test für das phosphat-übertragende Ferment — zu demonstrieren.

Bei zusammengesetzten optischen Testen läuft parallel zur untersuchten Reaktion eine optisch meßbare Hilfsreaktion. Im vorliegenden Test ist dies die Oxydationsreaktion der Gärung. Bei dieser entsteht aus dem Coferment Diphosphopyridinucleotid ein langwelliges UV-absorbierendes Dihydropyridin-Derivat:

3-Glycerinaldehyd-phosphat + anorg. Phosphat + Pyridinnucleotid
↓
1,3-Diphospho-glycerinsäure + Dihydropyridinucleotid. (I)

Die Reaktion kann qualitativ durch das Entstehen einer Fluoreszenz sichtbar gemacht werden (Versuch). Quantitativ verfolgt wird sie lichtelektrisch: Durch ein Reaktionsgefäß (kleiner Quarztröpfchen) fällt auf ein Photoelement spektralreines Licht der Hg-Linie 334, das mittels eines besonderen Filters erzeugt wird. Im Photoelement fließt ein der Lichtintensität proportionaler Strom; er wird von einem Spiegelgalvanometer angezeigt auf einer Skala, die so eingeteilt ist, daß man mit dem Ausschlag den Molengehalt der Lösung an dem Dihydropyridin abliest. Die Geschwindigkeit, mit der sich das Reaktionsgleichgewicht einstellt, mit der sich also der Zeiger auf der Skala bewegt, wird zwischen zwei Marken abgestoppt (Vorführung des Versuchs). Sie ist ein Maß für die zugesetzte Menge an Ferment.

Im Ablauf der Gärung folgt auf die Oxydationsreaktion eine Phosphat-Übertragung. Das phosphat-übertragende Ferment, dessen Eiweißkomponente aus Hefesaft kristallisiert wurde, ist ein Mg-Protein; sein Koferment ist das Adenosindiphosphat von Lohmann. Es katalysiert die Reaktion:

1,3-Diphospho-glycerinsäure + Adenosindiphosphat
↓
3-Phospho-glycerinsäure + Adenosintriphosphat. (II)

Die Reaktion kann durch ihr Zusammenwirken mit der Oxydationsreaktion optisch verfolgt werden (Versuch):

Im Reaktionströpfchen befinden sich 3-Glycerinaldehyd-phosphat, anorganisches Phosphat, Pyridinnucleotid, Adenosindiphosphat sowie Mg-Ionen. Bei Zusatz einer verhältnismäßig großen Menge des oxydierenden Gärungsfermentes stellt sich Gleichgewicht I ein.

Wird die zu testende Menge phosphat-übertragenden Fermentes in den Tröpfchen gegeben, dann reagiert 1,3-Diphosphoglycerinsäure nach Gleichung II mit Adenosindiphosphat. Die mit dem Verbrauch der Diphosphosäure aus dem Oxydationsgleichgewicht Schritt haltende Neubildung von Dihydropyridinucleotid kann optisch verfolgt werden (s. o.). Bei der Einstellung des neuen Gleichgewichtes ist das phosphat-übertragende Ferment geschwindigkeitsbestimmend, da das Hilfsferment in großem Überschuss zugesetzt wurde.

Aussprache: Lynen, München: Kann das phosphat-übertragende Ferment die Phosphat-Gruppe der Glycerinsäure-1-phosphorsäure auf Adenosindiphosphorsäure übertragen? — Vortr.: Hierüber liegen noch keine Versuche vor.

Doz. Dr. F. Lynen, München: Zum biologischen Abbau der Essigsäure.

Die Essigsäure stellt ein wichtiges Zwischenprodukt des Zellstoffwechsels dar. Wieland und Sonderhoff isolierten beim Abbau der Essigsäure durch Hefe, der hauptsächlich zu den Endprodukten der vollständigen Oxydation, zu Kohlendioxyd und Wasser führt, in beträchtlicher Menge auch die Zwischenprodukte Bernsteinsäure und Citronensäure. Die Beziehungen zwischen Essigsäure und diesen Reaktionsprodukten wurden durch Versuche mit Deutero-Essigsäure $\text{CD}_3\text{-COOH}$ zum Teil aufgeklärt (Sonderhoff und Thomas). In beiden Säuren bestanden etwa die Hälfte der direkt an Kohlenstoff gebundenen Wasserstoff-Atome aus Deuterium. Dies beweist für Citronensäure ihre Bildung aus Essigsäure und Oxalessigsäure durch Aldolkondensation, wobei ja im Falle des Deutero-Acetats eine Citronensäure: $\text{HO}_2\text{C}-\text{CH}_2-\overset{|}{\text{C}}(\text{OH})-\text{CD}_2-\text{CO}_2\text{H}$ entstehen muß. Im Gegensatz



dazu konnte der Deuterium-Gehalt der Bernsteinsäure von Sonderhoff und Thomas nicht erklärt werden. In der Folgezeit konnte nachgewiesen werden, daß die Bernsteinsäure nicht, wie früher angenommen, durch Dehydrierung aus zwei Molekülen Essigsäure entstanden ist, sondern erst beim Abbau der als erstes Reaktionsprodukt gebildeten Citronensäure in Erscheinung tritt. Die erfolglosen Versuche, mit lebender Hefe einen Umsatz von zugesetzter Citronensäure nachzuweisen, sind darauf zurückzuführen, daß Citrat durch die Membran der intakten Hefe nur sehr langsam diffundieren kann. Wird nämlich die Membran der Hefe durch Einfrieren in flüssiger Luft zerstört, dann wird die Citronensäure mit großer Geschwindigkeit zu Bernsteinsäure dehydriert. Die Essigsäure wird also über einen Kreisprozeß abgebaut, der in der Kondensation von Essigsäure mit Oxalessigsäure seinen Ausgang nimmt, und über cis-Aconitsäure, Isocitronensäure, α -Ketoglutaräure, Bernsteinsäurehalbaldehyd, Bernsteinsäure, Fumarsäure und Äpfelsäure wieder zurück zur Oxalessigsäure führt, wonach das Spiel mit einer neuen Molekel Essigsäure von neuem beginnen kann. Durch Malonsäure wird dieser Cyclus auf der Stufe der Bernsteinsäure unterbrochen. Fumarsäure hebt diese Malonat-Hemmung teilweise wieder auf. In diesem Fall tritt an die Stelle der Fumarsäure, die im Versuch ohne Malonsäure aus der Bernsteinsäure durch Dehydrierung entsteht, die von außen zugesetzte Fumarsäure. Die Folge davon ist, daß Fumarsäure verschwindet und gleichzeitig Bernsteinsäure gebildet wird. Wird diese Abbaufolge über Citronensäure dem Umsatz der Essigsäure zugrunde gelegt, dann müßte man erwarten, daß in der Bernsteinsäure von Sonderhoff und Thomas nur 25% der direkt an Kohlenstoff gebundenen H-Atome aus Deuterium bestehen. Die Wasserabspaltung an der teilweise deuterierten Citronensäure sollte nach beiden Seiten, d. h. nach der CH_2 - bzw. CD_2 -Gruppe mit nahezu gleicher Geschwindigkeit vor sich gehen, so daß die isolierte Säure eine Mischung aus gleichen Teilen leichter Bernsteinsäure $\text{HO}_2\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CO}_2\text{H}$ und „halbschwerer“ Bernsteinsäure $\text{HO}_2\text{C}-\text{CH}_2-\text{CD}_2-\text{CO}_2\text{H}$ darstellen sollte. Eine Klärung dieser Diskrepanz brachte die eingehende Untersuchung der „Induktionszeit“, die beim Abbau von Essigsäure durch weitgehend „verarmte“ Hefe in Erscheinung tritt. In einer solchen Hefe ist die Wirksamkeit gegen Acetat sehr stark verringert; erst nach einem mehr oder weniger langen Zeitraum, einer „Induktionszeit“, kehrt die normale Aktivität wieder zurück. Diese „Induktionszeit“ führt zum Teil davon her, daß die Hefe während der Verarmung ihre C_4 -Dicarbonsäuren, die ja beim Abbau der Essigsäure die Rolle eines Katalysators spielen, zum größten Teil verbrannt hat. Die Folge davon ist, daß in einer solchen Hefe die für den Übergang der Essigsäure in Citronensäure notwendige Oxalessigsäure fehlt und es einige Zeit dauert, bis diese Säure aus den Reservestoffen der Hefe nachgeliefert wird. Substanzen wie Bernsteinsäure, Glucose, Milchsäure, Brenztraubensäure, Äthyl-, Propyl- oder Butylalkohol, deren Oxydation direkt oder indirekt zur Bildung von Oxalessigsäure den Anlaß gibt, verkürzen daher diese „Induktionszeit“. Sie kann aber völlig zum Verschwinden gebracht werden, wenn gleichzeitig die Dehydrierung eines Aldehyds zur Säure abläuft. Zur Erklärung dieses Aldehydeffekts wird angenommen, daß die Kondensation von Essigsäure mit Oxalessigsäure zur Citronensäure mit der Dehydrierung eines Aldehyds zur Säure gekoppelt ist. Für den Mechanismus dieser Koppelung muß man annehmen, daß als Folge der Dehydrierungsreaktion einer der beiden Kondensationspartner eine stoffliche Veränderung erfährt, d. h. mit einem noch unbekannten Rest R substituiert wird, und daß erst diese abgewandelten Essigsäure- bzw. Oxalessigsäure-Moleküle die Kondensation eingehen. Dabei entsteht dann zunächst eine Vorstufe der Citronensäure, d. h. eine Citronensäure, die irgendwie mit dem Rest R substituiert ist. Für diese, im Gegensatz zur Citronensäure selbst, unsymmetrisch gebaute Vorstufe müssen zwei verschiedene Umsetzungsmöglichkeiten angenommen werden

Einmal kann der Rest R direkt abgespalten werden und dabei normale Citronensäure entstehen. Zum zweiten muß aber an dieser Vorstufe schon vor Abspaltung dieses Restes ein Entzug von Wasser einsetzen können, der zu einer Vorstufe der Aconitsäure führt, und erst dann die Umwandlung in normale cis-Aconitsäure erfolgen. Von dort nimmt dann der Abbau über Isocitronensäure usw. seinen Fortgang. Dabei ermöglicht es die Dehydrierung des intermediär entstehenden Bernsteinsäurehalbaldehyds, daß eine neue Moleköl Essigsäure an die Stelle der oxydierten Moleköl in den Cyclus eintritt. Wie die Versuche von Sonderhoff und Thomas verlangen, tritt bei der Wasserabspaltung an der Vorstufe der Citronensäure nur die CH_2 -Gruppe in Reaktion, die ursprünglich aus der Oxalessigsäure stammt, während die CH_2 -Gruppe aus der Essigsäure, im Falle der deuterierten Verbindung also die CD_2 -Gruppe, unangegriffen bleibt. Der Abbau führt dann ausschließlich zur Bernsteinsäure $\text{HO}_2\text{C}-\text{CH}_2-\text{CD}_2-\text{CO}_2\text{H}$, bei der in Übereinstimmung mit der Beobachtung die Hälfte der direkt an Kohlenstoff gebundenen Wasserstoff-Atome schwer sind. Daß diese Vorstellungen außer bei Hefe auch bei anderen Zellen ihre Gültigkeit haben, geht aus Versuchen von Wood, Werkmann, Hemingway und Nier mit schwerem Kohlenstoff als Indicator hervor.

Aussprache: Fink, Berlin, weist auf den Widerspruch hin, daß Citronensäure nicht von verarmter Hefe umgesetzt wird, wohl aber von vielen Mikroorganismen als gute Kohlenstoff-Quelle verwertet wird. Bezuglich der Erklärung dieser Tatsache durch Vortr. mit einer Permeabilitätsstörung erwähnt er die Möglichkeit, die Permeabilität der lebenden Hefezellen, z. B. für gewisse Farbstoffe, durch Suspension in elektrolytfreier Zuckerklösung völlig zu ändern. — Knoop, Tübingen: Die von Martius im Tübinger Institut gefundene Aufklärung über Synthese und Abbau der Citronensäure hat eine ganz ungewöhnliche Bedeutung erlangt. Wenn Vortr. jetzt annimmt, daß Acetaldehyd bei der Synthese eine Rolle spielt, so ist das der gleiche Gedanke, der Martius geleitet hat, als er zu diesem Zweck Brenztraubensäure verwandt hat. Daß eine irgendwie aktivierte Essigsäure, z. B. eine solche in statu nascendi, bei der Citronensäure eine Rolle spielt, wird wahrscheinlich gemacht durch Untersuchungen von Breusch, die ich einer privaten Mitteilung verdanke. Er gibt an, daß die Acetessigsäure sich mit Oxalessigsäure zu Citronensäure kondensiert, und glaubt so den ungeklärten Abbau dieses letzten nach der β -Oxydation gebildeten Abbauprodukts der Fettsäuren erklärt zu haben. Er denkt, damit vielleicht überhaupt eine Lösung der Frage gefunden zu haben, was aus den nach diesem Prinzip aus den Fettsäuren abgespaltenen C_2 -Stücken wird. Bestätigen sich diese Befunde, so wäre damit der Abbau der Fettsäuren ziemlich restlos geklärt. Die gleiche Versuchsanordnung (die vor allen anderen auch Simola schon bearbeitet hatte) war im Tübinger Institut bereits vor längerer Zeit in Arbeit, mußte aber durch die Einberufung von Martius unterbrochen werden. Im übrigen ist es wünschenswert, bei Untersuchungen über den intermediären Stoffwechsel möglichst auch die Oxydations- oder Reaktionsprodukte zu fassen und sich nicht darauf zu beschränken, O_2 und CO_2 oder den Entfärbungsgrad von Farbstoffen wie Methylenblau zu messen. Oft haben interessante Beobachtungen über diese Daten den letzten Beweis dadurch vermissen lassen, daß die gebildeten Produkte gar nicht gesucht wurden. Das sollte nach Möglichkeit immer angestrebt werden. — Thomas, Leipzig, fragt an, ob auch höhere Fettsäuren in ähnlichen Kondensationsreaktionen reagieren, und weist auf Agaricinsäure — Cetylcitronensäure hin. — Vortr.: Eine solche Reaktion ist zwar noch nicht nachgewiesen; sie liegt aber durchaus im Bereich des Möglichen.

Vorsitzender: Prof. Dr. H. Lettré, Göttingen.

Dr. E. F. Möller, Heidelberg: Tyrosin als Aneurin-Vertreter bei Bakterien.

Nachdem Werkman, Wood u. Mitarb. sowie R. J. Williams und seine Schule und später auch Kögl erkannt hatten, daß sich gelegentlich einige Wuchsstoffe bei den Mikroorganismen ganz oder teilweise durch andere Wuchsstoffe oder auch durch Aminosäuren ersetzen lassen, haben auch wir bei unseren Untersuchungen mit Bakterien, insbes. mit Streptobacterium plantarum (Sbm. pl.) dieser Erscheinung Beachtung geschenkt.

Schon früher konnte gezeigt werden, daß bei diesem Bakterium der Wuchsstoff Nicotinsäure durch m-Inositol in hohen Konzentrationen ersetztbar ist. Es konnte ausgeschlossen werden, daß die Wirkung auf einer Verunreinigung des natürlichen Inositol-Präparats mit Nicotinsäure beruht.

Eingehender haben wir uns mit der Ersetzbarkeit des als Wuchsstoff bei Sbm. pl. (Stamm 10S) wirkenden Aneurins (optimale Konzentration $\sim 2 \times 10^{-5} \text{ g/cm}^3$) durch andere biologisch wichtige Substanzen befaßt. Keiner der chemisch bekannten Wuchsstoffe war in der Lage, Aneurin zu vertreten. Unter allen uns zugänglichen Aminosäuren hatte nur Tyrosin diese Eigenschaft, allerdings erst in etwa 1000fach höherer Dosierung. Es wird aber mit Tyrosin die volle Wachstumswirkung wie mit Aneurin erreicht.

Um zu beweisen, daß die Wirkung bei relativ so hohen Konzentrationen ($\sim 2 \times 10^{-5} \text{ g/cm}^3$) nicht einer Verunreinigung des verwendeten natürlichen L-Tyrosins durch Spuren von Aneurin zuzuschrei-

ben ist, wurde Tyrosin aus Seigeeiern geprüft, dessen Überlassung wir der Freundlichkeit von Herrn Dr. Wallenfels verdanken. Die Aktivität war die gleiche wie bei den Präparaten der Firmen Merck und Schuchardt. Auch mehrfaches Umkristallisieren oder Reinigen über das Cu-Salz änderten die Aktivität nicht im geringsten. Wichtiger war die Prüfung eines synthetischen Präparats, das durch Oxydation von synthetischem d,L-Phenylalanin mit Wasserstoffperoxyd und FeSO_4 dargestellt worden war. Die Wirksamkeit betrug etwa die Hälfte derjenigen der natürlichen Tyrosin-Präparate. Die aktive Komponente scheint also L-Tyrosin zu sein.

Da nach unseren Erfahrungen aber selbst synthetische Aminosäuren noch minimale Mengen biologisch hochaktiver Substanzen enthalten können — z. B. enthält synthetische ϵ -Aminocapronsäure Spuren von p-Amino-benzoësäure oder eine Substanz mit gleichartiger Wirkung —, suchten wir nach weiteren Beweisen für die „Echtheit des Tyrosin-Effekts“. Deshalb wurde geprüft, ob Tyrosin auch bei einem anderen Bakterium Aneurin ersetzen kann. *Staphylococcus aureus*, der sich nach Knight auf rein synthetischem Medium züchten läßt und zum Wachstum unbedingt Aneurin (10^{-7} g/cm^3) benötigt, ist ein geeignetes Versuchsstoff. Bei dem von uns benutzten Stamm vR war Tyrosin selbst in Konzentrationen bis zu 0,05% nicht fähig, eine Aneurin-Wirkung hervorzurufen. Damit ist völlig einwandfrei bewiesen, daß die Wirkung des Tyrosins bei Sbm. pl. nicht auf eine Verunreinigung mit Aneurin zurückzuführen ist.

Staph. aureus benötigt nach Knight, Fildes u. Mitarbeitern Tyrosin zusätzlich zum Wachstum. Bei näherer Analyse zeigt sich, daß Tyrosin eine Aneurin-„sparende“ Wirkung hat. Ohne Tyrosin benötigt der *Staphylococcus* mindestens 4mal mehr Aneurin zu optimalem Wachstum. Es besteht also auch hier eine Beziehung zwischen Tyrosin und Aneurin.

Sowohl bei Sbm. pl. als auch bei *Staph. aureus* läßt sich Aneurin durch eine Mischung seiner Komponenten ersetzen (optimale Konzentration für Sbm. pl.: „Pyrimidin“ $1 \times 10^{-8} \text{ g/cm}^3$, „Thiazol“ $0,5 \times 10^{-8} \text{ g/cm}^3$; für *Staph. aureus*: „Pyrimidin“ $5 \times 10^{-8} \text{ g/cm}^3$, „Thiazol“ $2,5 \times 10^{-8} \text{ g/cm}^3$). Auch die Thiazol-Komponente allein kann, wenn auch erst in sehr hoher Dosierung (10^{-5} g/cm^3), Aneurin völlig ersetzen. Es wäre nun denkbar gewesen, daß Tyrosin die Thiazol-Komponente bei Sbm. pl. vertreten kann. Dann müßte aber ein Zusatz von „Pyrimidin“ die Wirkung des Tyrosins um Zehnerpotenzen steigern. Dies ist nicht der Fall. Auch „Thiazol“ beeinflußt die Wirkung des Tyrosins in keiner Weise. Tyrosin vertritt also das Aneurin selbst.

Es wurden die verschiedenen theoretischen Möglichkeiten erörtert, die zur Deutung des neuen Effekts in Frage kommen. Schließlich wurde die Frage aufgeworfen, ob nicht auch bei höheren Tieren und beim Menschen einzelne Vitamine durch bestimmte Aminosäuren teilweise ersetztbar sind.

Aussprache: Lettré, Göttingen: Für die Beurteilung allgemeiner Wachstumsprobleme wäre es erwünscht, wenn die Untersuchungen über das Bakterienwachstum in synthetischen Medien unter Messung des Stoffwechsels durch eine Bilanz abgerundet würden, welche Verbrauch an Nährstoffen und Sauerstoff im Bezug auf aufgebauten Bakterienmenge und ihren Stoffwechselprodukten setzt. Speziell für den vorgetragenen Fall wäre es wissenschaftlich, in welcher Menge das Tyrosin in den Bakterien enthalten ist. Deckt sich diese Menge mit der des zugesetzten Tyrosins? Es wäre denkbar, daß das bei Fehlen des Tyrosins notwendige Aneurin eine Reaktion katalysiert, die direkt oder indirekt an der Bildung des Tyrosins beteiligt ist. Möglicherweise läßt sich die Wirkstoffeinsparung so deuten, daß der Katalysator durch sein Reaktionsprodukt ersetzt wird. — Vortr.: Versuche in dieser Richtung sind bereits im Gange, jedoch liegen noch keine Ergebnisse vor. — Tschesche, Berlin: Wie weit kann das Tyrosin durch Phenylalanin ersetzt werden? — Vortr.: Tyrosin kann nicht durch Phenylalanin ersetzt werden. Der Nährboden enthält Phenylalanin (10^{-4} g/cm^3). Auch 3,4-Dioxy-phenylalanin ist unwirksam.

Doz. Dr. E. Werle, Düsseldorf: Über das Schicksal der Hormone im Organismus. (Verlesen von Dr. Hohlweg, Berlin.)

Die Hormone sind hochwirksame Stoffe des tierischen Organismus, die von innersekretorischen Drüsen als Produkte eines Stoffwechsels höherer Ordnung gebildet und direkt an das Blut abgegeben werden, um die Funktion von Organen, auch die der hormonproduzierenden selbst, zu regeln und aufeinander abzustimmen. Nach Reizung der Drüse auf humoralem oder nervösem Wege erfolgt Ausschüttung des Hormons, Zuleitung zum Wirkungs-ort, Ablauf der regulatorischen Reaktion, Zersetzung und gegebenenfalls Ausscheidung des Hormons (Koller). Die chemischen Umwandlungen, welche die Hormone bei diesen Vorgängen erleiden, beginnen schon mit ihrer Ausschüttung, bei der mehr oder weniger lockere Bindungen an Kolloide des Drüsengewebes gelöst werden. Zu den Erfolgsorganen werden die Hormone durch das Blut transportiert, das wahrscheinlich durch Vehikelfunktion (Benhold) verhindert, daß die winzigen Stoffmengen abgefangen werden, ehe sie ihre Erfolgsorgane erreicht haben (gezielter Transport). An diesem Transport können Plasma, Eiweiße oder auch die Formelemente des Blutes beteiligt sein.

Die Hormone sind wahrscheinlich Katalysatoren im strengen Wort Sinn, da sie, soweit untersucht, bei den von ihnen katalysierten Reaktionen nicht verbraucht werden. Wahrscheinlich sind einige unter ihnen Wirkgruppen von Fermenten, so das Nebennierenrindenhormon Desoxycorticosteron, welches wahrscheinlich die Wirkgruppe eines Phosphorylierungsenzymes darstellt (*Verzar, Kutscher*). Auch beim gonadotropen Hormon sprechen der chemische Bau und die Eigenschaften für eine Fermentnatur (*v. Euler*). Nach ihrer Wirkung werden Hormone abgebaut und eliminiert. Nicht die ganze jeweils ausgeschüttete Hormonmenge gelangt zur Wirkung. Der Organismus verwendet zwar ein und dieselbe chemische Grundstruktur mit geringfügigen Abänderungen zu den verschiedensten hormonalen Zwecken, doch scheint sich dieses „Ökonomieprinzip im Stoffwechsel höherer Ordnung“ (*Butenandt*) nicht auch auf den quantitativen Stoffverbrauch zu beziehen. In der Schwangerschaft gilt ja der Organismus mit einigen Hormonen geradezu verschwenderisch um.

Zur Eliminierung bedient sich der Organismus der Fermente. Je nach ihrem Bau werden die Hormone oxydiert, reduziert, hydrolysiert, desaminiert oder mit Säure gepaart im Harn ausgeschieden. Man kann die Hormone unterteilen 1. in solche, die den Aminosäuren, 2. in solche, die den Eiweißen nahestehen (Proteohormone) und 3. die sich von Steroiden ableiten.

Adrenalin kommt im Blut in aktiver und inaktiver Form vor (*Lehmann*). Es wird eliminiert durch oxydative Desaminiierung durch die Monaminoxydase insbesondere in der Leber (*Richter u. a.*), durch Polyphenoloxydase und Cytochromoxydase im (Herz-)Muskel, wobei Adrenochrom entsteht (*Philpot u. a.*). Adrenochrom erhöht den Sauerstoff-Verbrauch der Gewebe. Die Weiteroxydation durch ein spezifisches Ferment führt zum Adrenoxin, welches die entgegengesetzte Wirkung des Adrenalin hat (*Baeg*). Ein großer Teil des Adrenalins wird gepaart mit Schwefelsäure im Harn ausgeschieden (*Richter*). Schilddrüsenhormon kommt im Blut und in der Drüse in aktiver und in einer Depotform vor (*Wilmanns*). Es wird wahrscheinlich in der Leber abgebaut. Das Jod zum kleineren Teil in den Harn, zum größeren Teil in die Galle, teilweise noch in organischer Bindung, nicht aber in Form von Tyroxin ausgeschieden. Das Insulin ist ein Proteohormon, das durch eiweißspaltende Enzyme abgebaut wird. Die Inaktivierung ist beendet, ehe alle lösbarer Peptid-Bindungen hydrolysiert sind. Insulin wird durch rote Blutkörperchen langsam abgebaut. Diabetikerblut baut etwas rascher ab als Blut von Gesunden, doch reicht dieser Umstand nicht aus, die Störung des Kohlenhydrat-Stoffwechsels beim Diabetiker zu erklären. Normalerweise wird Insulin nicht im Harn ausgeschieden. Es wird in der Hauptsache durch Leber abgebaut. Auch das Nebenschilddrüsenhormon ist ein Proteohormon. Über sein Schicksal ist wenig bekannt. Es ist, wie Insulin, per os unwirksam, weil es durch die Verdauungsenzyme abgebaut wird. Das gleiche gilt für das Lactationshormon des Hypophysenvorderlappens, das bei Verkürzung des Resorptionsweges 100–1000× wirksamer ist als nach intramuskulärer Injektion. Für das gonadotrope Hormon des Hypophysenvorderlappens ist erwiesen, daß es im Erfolgsorgan nicht abgebaut wird (*Selye*). Auch Blut und Organe greifen es nicht an, weshalb es im Harn ausgeschieden wird. Die Hormone des HHI, das uteruserregende Oxytocin und das blutdrucksteigernd, darmerregend und antidiuretisch wirkende Vasopressin sind in der Drüse wahrscheinlich in einer Grundsubstanz vereinigt, die durch Isolierungsmaßnahmen in ihre Komponenten zerlegt wird (*Abel, van Dyke*). Im Blut werden diese Hormone durch zwei verschiedene Fermente inaktiviert (*Werle u. a.*). Diese Fermente werden bei dem Eintritt einer Schwangerschaft stark vermehrt, jedoch nur im mütterlichen Kreislauf (*Werle u. a.*). Das gleiche gilt für das Melanophorenhormon des H-Zwischenlappens (*Dietel*). Die drei Hormone werden in vivo und in vitro durch Leber inaktiviert, etwa 25% werden nach iv. Verabreichung im Harn ausgeschieden. Von den Steroid-Hormonen wird das Keimdrüsenhormon Östron als Östradiol im Harn ausgeschieden, als physiologisch unwirksame gepaarte Schwefelsäure. Blut verändert das Hormon nicht, Leber zerstört es rasch, wahrscheinlich durch eine Phenoloxydase (*Zondek*). Die Oxydationsprodukte sind noch unbekannt. Das Progesteron wird als physiologisch unwirksames Pregnandiol, gebunden an Glucuronsäure, im Harn ausgeschieden (*Westphal u. a.*). Die Umwandlung des Hormons geschieht nicht im Erfolgsorgan. Auch der männliche Organismus wandelt Progesteron in Pregnandiol um. Die Verfolgung der Pregnandiol-Ausscheidung ist ein wichtiges diagnostisches Hilfsmittel zur Erkennung einer Reihe von Krankheiten und Anomalien der Frau (*Westphal u. a.*). Auch Desoxycorticosteron wird in Pregnandiol umgewandelt (*Westphal u. a.*). Progesteron kann in Desoxycorticosteron übergehen und umgekehrt. Das Testosteron wird als Androsteron, welches physiologisch noch stark wirksam ist, im Harn ausgeschieden (*Dandy, Callow*). Auch dieses Hormon wird in vivo und in vitro durch Leber in unwirksame Produkte übergeführt (*Biskind*).

Antihormone werden physiologischerweise zur Eliminierung von Hormonen nicht herangezogen.

Aussprache: Hohlweg, Berlin: Da Vortr. selbst nicht anwesend, seien nur einige prinzipielle Tatsachen berührt. Was die

gonadotropen Hormone betrifft, so könnte man aus dem Vortrag entnehmen, daß ihre Trennung noch nicht gelungen ist. Tatsächlich sind aber mehrere gonadotrope Wirkstoffe eindeutig zu unterscheiden. Es sind dies: Der gonadotrope Wirkstoff aus dem menschlichen Schwangerenharn, dessen offizieller Name Chorion gonadotropin lautet, der aber meist Prolan genannt wird. Dieser Stoff kommt auch im Blut der schwangeren Frau vor und in der Placenta, aus der er stammt. Beim hypophysektomierten Rattenweibchen stimuliert Prolan nur die Zwischenzellen. Es hat weder follikelstimulierende noch auch luteinisierende Wirkung. Stutenserumhormon ist ein gonadotroper Faktor, der im Blut trächtiger Stuten vorkommt. Stutenserumhormon hat hauptsächlich zwischenzellen- und follikelstimulierende Wirkung, u. zw. auch beim hypophysektomierten Tier. Aus der Drüse selbst konnte ein am hypophysektomierten Tier wirksamer luteinisierender Faktor und auch ein follikelstimulierender Faktor isoliert werden, was ich in eigenen Versuchen bestätigen konnte. Die Bemerkung im Vortrag, daß das Ausscheidungsprodukt des Progesterons, das Pregnandiol im Harn als Schwangerschaftsnachweis herangezogen werden kann, ist nur bedingt richtig, da die Pregnandiol-Werte im Harn erst etwa von der Mitte der Gravidität an stark zu steigen beginnen. Die im Vortrag erwähnte Meinung von *Hoffmann und Westphal*, daß die Corpus luteum Hormon-Wirkung des Desoxycorticosterons durch einen Übergang in Progesteron zustande kommt, ist auf Grund der vor kurzem veröffentlichten Versuche von *O. Neumann* nicht haltbar. *N.* hat nachgewiesen, daß Desoxycorticosteron auch bei intrauteriner Darreichung — u. zw. in kleineren Mengen als subcutan verabreicht — wirksam ist, und damit meine Ansicht bestätigt, daß der Stoff an sich wirksam ist.

PERSONAL-UND HOCHSCHULNACHRICHTEN

Ehrungen: Prof. Dr. H. Schmidt, Marburg, Leiter des Instituts für experimentelle Therapie „Emil von Behring“, wurde zum Auswärtigen Mitglied der Königl. Physiographischen Gesellschaft in Lund (Schweden) gewählt. — Dr. R. Zaunick¹⁾, apl. Prof. für Geschichte der Naturwissenschaften an der T. H. Dresden, wurde zum Ehrenmitglied der Akademie für Geschichte der Medizin (Accademia di Storia dell'Arte Sanitaria) in Rom ernannt.

Verliehen: Direktor K. Wrede, Leiter des Hess. Chemischen Untersuchungsamtes in Gießen, vom Verein Deutscher Lebensmittelchemiker die Joseph-König-Gedenkmünze.

Ernannt: Dr. Boek, wiss. Assistent an der T. H. Karlsruhe, wurde beauftragt, die analytische Chemie in Vorlesungen und Übungen zu vertreten. — Dr. phil. habil. W. Gabel zum Dozenten für organ. u. medizin. Chemie an der Tierärztl. Hochschule Hannover. — Prof. Dr. H. W. Kohlschütter, Leiter der Abt. f. anorg. und analyt. Chemie des Eduard-Zintl-Instituts der T. H. Darmstadt, zum kommissar. Prüfungsvorsitzenden und Vertreter der hessischen Landesregierung bei den Abschlußprüfungen der Berufsfachschule für Chemotechnik zu Darmstadt. — Dr. techn. habil. V. Prey zum Dozenten für organ. Chemie und techn. Chemie organ. Stoffe an der T. H. Wien. — Doz. Dr. A. Schneider, Stuttgart, hat die Geschäftsführung der Deutschen Bunsen-Gesellschaft aus den Händen von Dr. A. Schweizer, Stuttgart, übernommen, der sie nach achtjähriger Führung nunmehr aus beruflichen Gründen übergab.

Ausland.

Verliehen: Prof. G. Natta, Turin, Prof. für technische Chemie an der Tech. Hochschule, der Preis für Naturwissenschaft und Mathematik der Königlichen Akademie Italiens.

Gestorben: Dr. Dr. h. c. R. Geigy, Basel, bis 1931 Leiter des Verwaltungsrates der J. R. Geigy A.-G., vor kurzem im Alter von 80 Jahren.

¹⁾ Vgl. a. diese Ztschr. 56, 184 [1943].

Redaktion: Dr. W. Foerst.
Redaktion: Berlin W 35, Potsdamer Straße 111. **Fernsprecher:** Sammelnummer 219501, Nachruf 211606. — **Verlag und Anzeigenverwaltung:** Verlag Chemie, G. m. b. H., Berlin W 35, Woerishofstraße 37. **Fernsprecher:** Sammelnummer 219736. **Postcheckkonto:** Verlag Chemie, Berlin 15275.

Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit Genehmigung der Redaktion.

Am 21. Mai 1943 verschied nach schwerer Krankheit im Alter von 61 Jahren unser Betriebsleiter, Herr

Dr. Peter Kolb

Der Verstorbene gehörte unserer Betriebsgemeinschaft seit dem Jahre 1918 an. Er war in dieser Zeit in unseren Werken in Mannheim, Rauxel und Niederau als Betriebsleiter tätig. Mit seiner ganzen Kraft hat er sich stets für die ihm übertragenen Aufgaben eingesetzt. Wir verlieren in dem Entschlafenen einen treuen Mitarbeiter und geschätzten Arbeitskameraden, dem wir stets ein ehrendes Andenken bewahren werden.

Rüterswerke-Aktiengesellschaft