

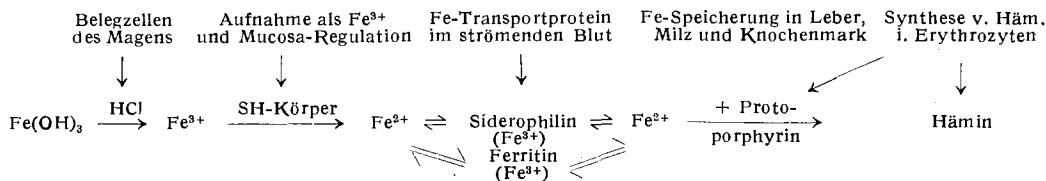
II. Internationaler Kongreß für Biochemie

Paris, 21. bis 27. Juli 1952

Nach der feierlichen Eröffnung im Grand Amphithéâtre der Sorbonne und der Begrüßung durch den französischen Kultusminister begannen die Vorträge, die in sieben Symposien und 23 Sektionen eingeteilt waren. Bei dieser Aufnahme des Standes der Biochemie auf verschiedenen Gebieten ist es nur möglich, eine Auswahl der wichtigsten der über 1000 Vorträge und Referate im Zusammenhang zu bringen.

Mineralstoffwechsel

S. Granick (New York) gab einen Überblick über den Stoffwechsel der an der Hämatopoiese beteiligten Metalle Eisen, Kupfer, Cobalt, Mangan und Zink. Eisen hat zwei Hauptfunktionen im Körper: einmal als Wirkgruppe der Hämin-Fermente des oxydativen Stoffwechsels, dann als spezifisches Hämoglobin-Eisen zum Transport des Sauerstoffs. Um genügend Eisen zur Verfügung stellen zu können, besitzt der Wirbeltierorganismus spezielle Mechanismen, die im folgenden Diagramm skizziert sind:



Das Protein Siderophilin¹⁾ hat ein Mol.-Gew. von 90 000. Es bildet mit 2 Molekülen Fe³⁺ einen noch bei $3 \cdot 10^{-5}$ m Fe stabilen orangefarbenen Komplex. Die Regulation des Eisenspiegels geschieht durch das Nebennieren-Rinden-Hormon. Die anderen Metalle werden nur in kleinen Mengen vom Organismus benötigt. Kupfer wird durch das Protein Hämocuorein transportiert. Es scheint für oxydative Vorgänge, die Melanin- und Keratin, Bildung notwendig zu sein. Die erste Reaktion in vitro untersuchte M. Polonowsky (Paris). Sie besteht aus zwei Schritten, der Oxydation des Dopa und der eigentlichen Melanin-Bildung. Reaktion 1 wird durch Cu, Fe, Ni, Co und Mn aktiviert, während die zweite durch Cu und Fe gehemmt, aber durch Mn gefördert wird. Die katalytische Wirkung des Kupfers wird beträchtlich verstärkt durch Zusatz von Protein. Kobalt stimuliert, wie auch Molybdän, die Erythropoese, und wird daher zur Behandlung der Anämie verwendet. Es kommt im Vitamin B₁₂ vor, in dem es die Übertragung von C₁-Verbindungen, möglicherweise aus dem darin enthaltenen Cyanid, bewirkt. Zink ist das Coferment der Carboanhydrase.

Unter den übrigen Bio-Metallen ist Calcium für die Knochenbildung wichtig. Muschelschalen bestehen aus Aragonit-CaCO₃, dessen Synthese durch eine transformierte Carboanhydrase erreicht wird (J. Stolkowsky (Paris)). In Knochen, Zahnschmelz und Dentin liegt nach A. E. Sobel (New York) die anorganische Substanz in der Form [Ca₃(PO₄)₂]_{2.1-0.3} · CaCO₃ vor; darin können bis zu 6% des Calciums durch Magnesium, Natrium oder Blei ersetzt sein während an Stelle von Carbonat Citrat, Fluorid, Hydroxyl oder Sulfat treten können. Die Kristallstruktur ist trotzdem stets die eines Apatits. Das Verhältnis CO₃²⁻/PO₄³⁻ ist von der Nahrung abhängig. Die Verkalkung der Knorpelmatrix kann in vitro reversibel inaktiviert werden durch Be > Cu > Mg > Na > Sr > K. Reaktiviert wird durch überschüssiges Ca-Ion²⁾.

Die biologische Exkretion bestimmter Ionen in hohen Konzentrationen kommt nach E. J. Conway (Dublin) dadurch zu stande, daß Wasserstoff aus dem Stoffwechsel von einem niedrigeren Redox-System (E₁) an einen Metall-Katalysator in der Zellwand mit höherem Redoxpotential (E₂) übertragen wird. Dort wird er zu H-Ionen durch den Elektronenacceptor reduziert. Die Elektronen werden in das Zellinnere abgeleitet, während die H⁺-Ionen eine Potentialdifferenz durch die Membran schaffen, durch die diffusible Anionen ausgeschieden werden. So werden in den Belegzellen des Magens H⁺- und Cl⁻-Ionen angereichert, bis deren osmotischer Druck höher ist, als der des Blutes und HCl sezerniert.

¹⁾ Schade, Science [New York] 104, 240 [1946].

²⁾ Vgl. diese Ztschr. 63, 75 [1951].

wird. Im stationären Zustand läßt sich die Elektronen-Energie des Redoxsystems ausdrücken durch:

$$F(E_2 - E_1) - \xi = RT \ln \frac{a_{H_a^+}}{a_{H_i^+}} \quad \left. \begin{array}{l} a_{H_a^+} = \\ a_{H_i^+} \end{array} \right\} \text{H-Ionenaktivitäten} \\ \left. \begin{array}{l} \\ \end{array} \right\} \text{außer- und inner-} \\ \left. \begin{array}{l} \\ \end{array} \right\} \text{halb der Membran}$$

Man sieht, daß bei $\xi = 0$ die Konzentration der ausgeschiedenen H-Ionen ein Maximum erreicht und die gesamte Elektronenenergie in beiden Systemen in osmotische verwandelt wird. Dies Prinzip der „Redox-Pumpe“ läßt sich auch auf die Kalium-Exkretion übertragen, wenn man ein Redox-System annimmt, das selektiv Na⁺-Ionen adsorbiert. Experimentell wurde es bei der aktiven Exkretion von Natrium durch Kalium-arm gezüchtete Hefe von E. J. Conway und P. T. Moore (Dublin) verwirklicht. Der Reaktionsablauf ist durch Gifte von Oxydationskatalysatoren, wie Cyanid, Azid und Sauerstoff-Mangel, hemmbar³⁾, außerdem auch durch Dioxycortieosteron-acetat, während Cortison und eine Anzahl anderer Steroide unwirksam sind. Über einen ähnlichen Mechanismus ist die Muskelzellmembran permeabel für K⁺- und Cl⁻-Ionen, nicht aber für Na⁺ und PO₄³⁻-Ionen. Dadurch muß sich ein Donnan-Gleichgewicht einstellen $K_i^+ \cdot Cl_i^- = K_a^+ \cdot Cl_a^-$.

H. Netter (Kiel) zeigte am durchströmten Froschschenkel, daß diese Annahmen richtig sind und Kalium-Aufnahme und -Abgabe von der Cl-Ionen-Konzentration der Lösung abhängen. Die K⁺-Änderungen verlaufen gradlinig mit der Konzentration, was von der Conway-Theorie verlangt wird. Aus der Neigung der Kurve $\Delta K_i^+ / \Delta K_a^+$ läßt sich bei Kenntnis der Cl⁻-Konzentration auch die K⁺-Konzentration oder Aktivität errechnen nach

$$K_i^+ f_i = Cl_a f_a \frac{f_a \Delta K^+ a}{f_a \Delta K^+ i}$$

F. Crescitelli (Los Angeles) fand, daß die nervenblockierende Wirkung des Kaliums erst dann hervortritt, wenn die Na⁺-Konzentration unter den Normalwert von 0,11 M im Nerven sinkt. Von allen Metallen kann nur Lithium das Natrium ersetzen. Es besteht ein für die Funktion wichtiger Antagonismus zwischen Natrium und Kalium. Dieses hemmt ein Fermentsystem noch nicht bekannter Art.

Kohlenhydrate und Kohlenhydratstoffwechsel

H. Hérissey und Mitarbb. (Paris) untersuchten die Konstitution der Stachyose, eines Tetrasaccharids, das in verschiedenen Leguminosen und der Zuckerrübe vorkommt, durch Perjodat-Oxydation und fermentative Spaltungen. Stachyose ist eine Galacto-(1,6)-galacto-(1,6)-gluco-(1,2)-fructose. Nach J. E. Courtois (Paris) wird das Oligosaccharid durch Glucosidase-aktive Extrakte von Aspergillusarten und Darmbakterien hydrolysiert. Bei der fermentativen Spaltung der Disaccharide fand K. Wallenfels (Tutzing) Tri- und Tetrasaccharide als Intermediärprodukte, unter denen er Lactotriose (Galactosidolactose, Heudekaacetat, Fp 121°) Dextrantriose und Pannose (Isomalto-pyranosyl-glucose⁴⁾) papierchromatographisch identifizieren konnte.

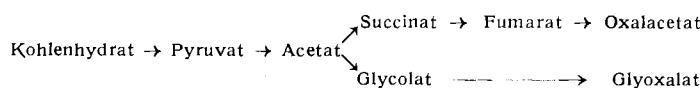
J. Bourdillon (New York) extrahierte aus Tuberkelbazillen ein Hapten-Polysaccharid, das in Wasser, Pyridin und Diäthylenglykol löslich ist. Mit organischen Basen gibt es unlösliche Niederschläge, die ein Äquivalent-Gewicht von 700 anzeigen. Die Seroaktivität beträgt bei immunisierten Kaninchen 10⁻⁶. Sie wird durch starke Säuren und Perjodat zerstört.

Durch Extraktion von Holz mit siedendem Wasser erhielten K. Kratzl und Mitarbb. (Wien) einen Lignin-Polysaccharid-Komplex, deren Lignin-Anteil bereits unter diesen milden Bedingungen aromatische Struktur hat. Er ergibt beim Abbau 23%

³⁾ Conway u. Breen, Biochemic. J. 39, 368 [1945].

⁴⁾ Pan u. Mitarbb., Science [New York] 112, 115 [1950].

Vanillin und hat ein für aromatische C—C-Bindungen charakteristisches IR-Spektrum, wie es auch bereits das unveränderte Kiefernholz zeigt. Daher wird die Anschauung von Schütz und Sartor⁵⁾, daß das Lignin ein aus ursprünglich nicht aromatisch vorliegenden Kohlenhydrat-Derivaten entstandenes Kunstprodukt sei, abgelehnt. Natives Lignin, das durch alkoholische Extraktion oder nach enzymatischem Abbau der Cellulose erhalten wird, ist aus allen Holzarten identisch. Der Mechanismus der Bildung solcher aromatischen Ringe aus Kohlenhydraten wird von F. F. Nord (New York) über Oxalsäure angenommen, die auf folgendem gegebenem Weg entsteht:



Der holzzerstörende Pilz *Lentinus lepideus* bildet über diese Reaktionsfolge Acetaldehyd und p-Methoxyzimtsäure-Ester aus Kohlenhydraten, Alkohol oder aus Kiefernholz. Er weist einen starken Anisgeruch auf („Anistrichterling“).

Energiestoffwechsel

Die drei Hauptprobleme der Bildung, Verwendung und Übertragung chemischer Energie in biologischen Systemen sind die Transglycosidierung, der Citronensäure-Cyclus und die Kohlenoxyd-Fixierung.

Synthese und Abbau von Glycosid-Bindungen.

Die Eigenschaften der Kartoffelphosphorylase wurden von E. H. Fischer (Genf) untersucht. Das Ferment konnte weitgehend gereinigt werden. Es wird durch Glucose, kompetitiv gegen Glucose-1-phosphat, nicht aber gegen Polysaccharide gehemmt. Die Affinität des Ferments gegen diese beiden Substrate ist von einander unabhängig. Sie müssen sich also an zwei verschiedenen Wirkungszentren des Fermentes anlagern. Glykogen wird nicht abgebaut, es kann aber als „primer“ für die phosphorylatische Synthesen dienen. Die Bildung von Verzweigungen bei solchen Synthesen wird durch das Q-Enzym von Bourne und Peat⁶⁾ bewirkt. Amylose, das lineare Polymere der α -Glucose wird durch dieses Enzym in das stark verzweigte Amylopektin umgewandelt. In ihm liegen 50 % der Glucose-Reste als kurze Seitenketten vor. Wenn diese Reaktion intramolekular abläuft, dürfte keine Änderung des Molekular-Gewichtes eintreten. G. A. Gilbert und Mitarbb. (Birmingham) behandelten Amylose mit Q-Enzym, acetylierten das Reaktionsprodukt und maßen Mol-Gew. und Viscosität. Das Verhältnis der beiden Größen wird für die Acetate zu

$$[n] = 6,4 \cdot 10^{-6} \text{ M}^{10} \text{ (Amylose) und}$$

$$[n] = 4,5 \cdot 10^{-6} \text{ M}^{10} \text{ (verzweigtes Polysaccharid, Rk-Produkt)}$$

gefunden. Diese gute Übereinstimmung der beiden Werte beweist die intramolekulare Entstehung von Amylopektin aus Amylose.

Über Transglycosidierungen durch Pilzglucosidasen und das allgemeine Prinzip der Transglycosidierung bei der Bildung und Spaltung der Saccharide berichtete K. Wallenfels (Tutting). Diese Gruppenübertragung bildet eine Analogie zu der Wirkung der Phosphatasen, Hydrolasen usw. Aus einem Disaccharid AB entstehen durch Umglycosidierung Isomere und höhere Oligosaccharide nach dem Schema

- (1) A—O—B + Enzym-H \rightleftharpoons A-Enzym + BOH
- (2) A-Enzym + C—OH \rightarrow A—O—C + Enzym-H (Saccharolyse)

C—OH kann Wasser, Alkohol oder ein Zucker sein, der eine größere Affinität zu A haben muß als das Enzym, während Reaktion (1) streng spezifisch und reversibel ist. Es entstehen aus Lactose: Isolactose und Lac-totriose. Durch Schnecken- β -glucosidase ein α -Zucker, Melibiose; aus Maltose: Isomaltose, Maltotriose und Pannose; aus Cellobiose noch nicht konstitutionell geklärte Di- und Trisaccharide. Diese Reaktionen sind im Zusammenhang mit der Bildung der primären Assimilationsstärke in den Chloroplasten besonders interessant.

E. F. Woods und J. M. Gillespie (Melbourne) trennten die komplexe Enzym-Mischung aus den Kulturfiltraten von *Aspergillus oryzae* durch Papier-Elektrophorese und Papier-Chromatographie. Sie fanden Esterasen, Amylasen, β -Glucosidasen, Sucrase, Cellulase und Proteasen. Die Enzymaktivität wurde aus Abschnitten des Elektrophorese-Streifens bestimmt. Man erhielt eine Auftrennung der Protease bei pH 5,0 in zwei verschiedenen wirksame Substanzen, die im Gemisch wieder die ursprüngliche Aktivität gaben. Bei den Amylasen konnte gezeigt werden, daß der

⁵⁾ Vgl. diese Ztschr. 60, 115 [1948].

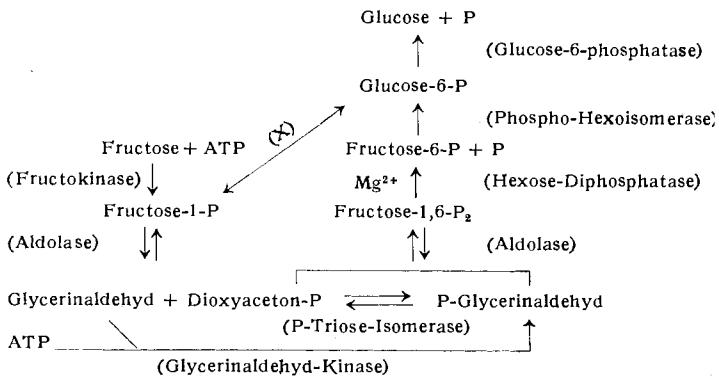
⁶⁾ J. Chem. Soc. [London] 1945, 877.

Extrakt sechs verschiedene amylatisch wirksame Fermente enthält, deren Trennung präparativ durch Alkohol-Fraktionierung bei tiefen Temperaturen und geringer Ionenstärke vorgenommen wurde.

M. Cohn (Paris) reinigte die adaptive β -Galactosidase (Lactase) (G) aus *Escherichia Coli*. Ohne Lactose gezüchtete Coli-Bakterien enthalten ein Protein (P), das mit (G)-Antikörper die Kreuzreaktion gibt, aber dabei einen spezifisch gegen das Enzym gerichteten Präzipitin-Anteil zurückläßt. In gemeinsamer Lösung wird (G) und (P) gefällt. Diese partielle Kreuzreaktion ist vermutlich sehr viel häufiger, kann aber in diesem Falle wegen der

enzymatischen Wirksamkeit des einen Partners leicht nachgewiesen werden. Sie ist theoretisch und praktisch von großer Bedeutung.

Der Mechanismus der Umwandlung von Fructose-1-phosphat in Glucose wird von H. G. Hers und T. Kusaka (Louvain, Belgien) untersucht. Er wird durch das folgende Schema wiedergegeben. Im besonderen konnte eine direkte Umwandlung von Fructose-1-phosphat in Fructose-6-phosphat durch eine Phospho-fructomutase (Reaktion X) nicht nachgewiesen werden.



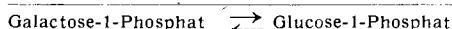
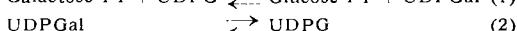
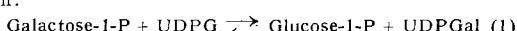
Die Hexokinase wurde von A. Sols und R. K. Crane (St. Louis) aus Hirnhomogenaten angereichert. Die Fraktion zwischen 800 und 3500 g wurde mit Lipase behandelt, dann mit Desoxycholsäure, um die Phospholipide zu entfernen. Die erhaltene Hexokinase-Lösung ist auf das 45-fache angereichert (Hexokinase-Einheiten/mg Protein) und frei von Phospho-fructokinase, ATPase, Phospho-monoesterase und Phospho-hexose-isomerase. Das Ferment hat sein pH -Optimum zwischen pH 6 und 8. Es wird durch Glucose-6-phosphat gehemmt.

Phosphorsäure-Übertragung beobachtete R. K. Morton (Cambridge) auch mit Enzymen niedriger Spezifität, wie der alkalischen und sauren Phosphatase, der Glutathionase⁷⁾ oder der Invertase⁸⁾ und sogar in gewissem Ausmaß bei der enzymatischen Hydrolyse von Proteinen oder Peptiden, Oligo- und Polysacchariden in Gegenwart von Kreatinphosphat. Die Geschwindigkeit der Reaktion:



hängt nur von der Acceptor-Konzentration ab. Diese konkurriert mit Wasser um einen Platz an der Enzym-Oberfläche, wie kinetische Studien bewiesen. Als Coenzym der Phosphoribomutase kann nach K. Klenow und B. Larsen (Kopenhagen) Ribose-1,5-diphosphat angesehen werden. Diese wird beim Bebrüten von Glucose-1,6-phosphat ($G-1,6-P_2$) mit ^{32}P -markiertem Ribosephosphat und Phosphoglyero-Mutase aus Muskel unter den verschiedenen phosphorylierten Reaktionsprodukten chromatographisch gefunden. Die Coenzym-Wirksamkeit ist fast so groß wie die des $G-1,6-P_2$; 50 % der maximalen Wirksamkeit werden bereits mit $5 \cdot 10^{-7}$ Mol der Verbindung erreicht.

Die enzymatische Umwandlung der Galactose in Glucose wird durch ein von Leloir⁹⁾ isoliertes Coenzym katalysiert, Uridin-diphosphoglucose (UDPG = Co-Waldenase) in folgenden zwei Stufen:



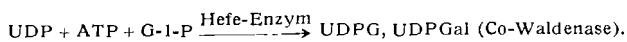
Wie H. M. Kalckar und E. Cutolo (Kopenhagen) mitteilten, nimmt UDPG in Gegenwart eines Hefe-Enzyms und markiertem anorganischem Pyrophosphat ein weiteres Mol Phosphorsäure auf.

⁷⁾ Hanes, Nature [London] 166, 288 [1950].

⁸⁾ Bacon, Biochem. J. 50, 18 [1952].

⁹⁾ Arch. Biochem. Biophys. 33, 186 [1951].

Es entsteht Uridin-Triphosphat (UTP). Als Mechanismus ist eine Pyrophosphorylyse anzusehen, analog der Kornberg-Reaktion in der Reihe der Dinucleotide. Die radioaktive UTP reagiert langsam mit Glucose-1-Phosphat analog dem von Trucco¹⁰) vorgeschlagenen Vorgang:



Eine ähnliche Reaktion wird auch mit Ribose-1-Phosphat möglich sein.

Citronensäure-Cyclus.

Die Rolle des Krebs-Cyclus als Hauptwerkzeug der biologischen Oxydation wurde in einem Symposium mit zusammenfassenden Referaten von D. E. Green

(Madison, Wisc.), C. Mar-tius (Tübingen), F. L. Breusch (Istanbul), H. A. Krebs (Sheffield), F. Lipmann (Boston, Mass.), R. A. Peters (Oxford), S. Ochoa (New York), F. Leuthardt (Zürich), E. S. Guzman Barron (Chicago) und W. A. Engelhardt (Moskau) und zahlreichen Einzel-Vorträgen betont.

Sein Vorkommen wurde bei fast allen Klassen der Tierwelt und bei einigen Pflanzen als Endstufe der aeroben Energiebildung sichergestellt, da alle diese oxydativen Schritte mit der Bildung von ATP und damit der Akkumulierung von Energie in Form energiereicher Phosphate einhergehen. Für niedere Pflanzen und Mikroorganismen kann diese Verallgemeinerung aber nicht gelten, wie H. A. Krebs (Sheffield) zeigte. Dort werden andere Mechanismen zur oxydativen Energieproduktion verwendet. *Rizopus nigricans* hat einen partiellen Dicarbonsäure-Cyclus, ebenso auch Aerobakter, während Hefen einen noch vollständig unbekannten Weg gehen. Durch Behandlung mit Aceton bei -70°C permeabel gemachte Hefezellen oxydieren Acetat und Glucose, nicht aber Citrat und Fumarat. Werden also markiertes Acetat und unmarkiertes Succinat gleichzeitig oxydiert, liegt die gesamte Radioaktivität im Kohlendioxyd, das aus dem Acetat stammt.

Aus Bernsteinsäure gebildetes Fumarat und Malonat sind nicht markiert. Der Tricarbonsäure-Cyclus ist nur dann Endschritt der biologischen

Oxydation, wenn seine Stufen in den Zellen genügend rasch und mit der oxydativen Bildung von energiereichen Phosphor-Bindungen im ATP oder dgl. verlaufen. Für *Mycobacterium tuberculosis avium* konnte Y. Yamamura und S. Akabori (Osaka, Japan) den vollständigen Cyclus sicherstellen, und auch bei *Pseudomonas fluorescens* gehen die Oxydationen auf diesem Weg. M. Kogut (Sheffield) beobachtete damit die Oxydation von Succinat über Fumarat, Malat, Oxalacetat, Pyruvat zu Acetat, das dann in den Citronensäure-Cyclus eintritt. Die nur langsam oxydierte α -Ketoglutaräure (nachgewiesen durch die spezifische Transaminase-Methode von Krebs¹¹) häuft sich an. Die verschiedenen Möglichkeiten, die in Mikroorganismen verwirklicht sind, unter Abänderung oder Vereinfachung des Tricarbonsäure-Cyclus Zucker zu oxydieren, diskutierte E. S. G. Barron (Chicago). Dem primären Abbau bis zum Pyruvat folgt die Oxydation entweder über Glycolsäure oder über den Dicarbonsäure-Cyclus, in dessen Mittelpunkt die Bernsteinsäure steht. Die meiste Energie wird aber beim Tricarbonsäure-Cyclus, mit Citronensäure als Cyclusbeginn, gewonnen. Die gebildete Energie wird zum Teil für andere Zwecke gespeichert, und zwar können je Mol Glucose bis zu 30 Mol energiereicher Substanzen synthetisiert werden.

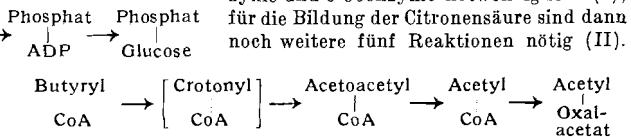
Die im Krebschen Cyclus zusammenwirkenden Fermente und Cofermente sind in den Mitochondrien zu Fermentsystemen unter optimalen räumlichen und energetischen Bedingungen zusammengefaßt. In den Mitochondrien befinden sich darüber hinaus zahlreiche weitere Systeme, die an den Cyclus angeschlossen sind, wodurch die Mikrosomen, über deren morphologischen Ausbau sich noch nicht viel sagen läßt, zu einer großen Menge anderer energieverbrauchender Reaktionen befähigt sind. D. E. Green (Madison) faßt die Cyclus-Fermente in den Mitochondrien in zugleich funktioneller wie struktureller Betrachtungsweise als Cyclophorase-Mitochondrien-(CM)-System zusammen. Um in vitro mit Suspensionen von Mitochondrien zu arbeiten¹²), muß die Struktur der Teilchen unverletzt bleiben, da besonders die Fermente der oxydativen Phosphorylierung, der „Atemkette“ nach Lynen, an

¹⁰) Arch. Biochem. Biophys. 34, 482 [1951].

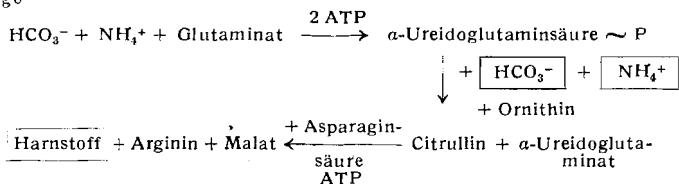
¹¹) Biochemic. J. 47, 605 [1950].

¹²) Lehninger, J. biol. Chemistry 179, 957 [1949].

die Struktur gebunden sind. Das CM-System ist räumlich so ausbalanciert, daß sich kein Zwischenprodukt der Reaktionen anhäufen kann. Wie das im einzelnen geschieht, ist unbekannt. Zur Funktionsfähigkeit müssen Mg^{2+} -Ionen, Phosphat und ATP vorhanden sein. Diese Stoffe verhindern auch das strukturzerstörende Schwellen der Mikrosomen, das J. Raafaub (Zürich) durch die Extinktionsabnahme und die parallel-gehende Aktivitätsminderung nachwies. Die Fermente des Tricarbonsäure-Cyclus sind löslich. Nach Zugabe von Cofermenten und einer Mikrosomen-Fraktion, die die Enzyme der aeroben Atemkette enthält, kann *in vitro* der Vorgang nachgebildet werden. Die Einzelreaktionen sind häufig sehr komplex. Als Beispiel wird die Oxydation der α -Ketoglutaräure zu Bernsteinsäure unter Veresterung von Phosphat angegeben, die folgende fünf Schritte umfaßt, zu denen 3 Enzyme und 6 Coenzyme notwendig sind (I);



Die strukturelle Organisation der Mitochondrien muß für derartige multienzymatische Vorgänge überaus kompliziert sein, da die thermodynamische Wirksamkeit der Reaktionen sehr groß ist. Die Mikrosomen des Gehirns vermögen alle Schritte des Cyclus mit Ausnahme der Citronensäure-Bildung auszuführen. J. D. Judah und Mitarbb. (London) fanden, daß das Hirnzym bereits bei 38° zerstört wird. Zugabe von ATP wirkt stabilisierend. In den Mitochondrien der Leber wird der Ornithin-Cyclus zur Bildung des Harnstoffs mit dem Tricarbonsäure-Cyclus durch folgende zwei Reaktionen verbunden: 1) Bildung von ATP, 2) Bildung von Asparaginsäure, deren Amino-Gruppe auf Citrullin zu Arginin übertragen wird, so daß nach F. Leuthardt (Zürich) die gesamte Reaktion folgendermaßen dargestellt werden kann:



Daß auch die Pflanzen-Plastiden (Leukophoren, Chloroplasten, Chromoplasten) ein Depot von Biokatalysatoren darstellen, zeigte N. M. Sissakyan (Moskau), der daran eine Betrachtung über die milieuedingten ontogenetischen Veränderungen knüpfte.

Die enzymatischen Fähigkeiten der einzelnen Mikrosomen sind nicht gleich. C. D. Duve und Mitarbb. (Louvain) versuchte, Sucrose-Homogenisate von Rattenlebern durch fraktioniertes Zentrifugieren in verschiedenen wirkenden Anteile aufzutrennen. Säure Phosphatase ist in dem am langsamsten sedimentierenden, Cytochromoxydase und Rhodanese in den größeren Partikeln enthalten. Die Sucrose dient in hypertoner Lösung dazu, die labilen Teilchen zu konservieren.

Die oxydative Phosphorylierung wird in Mitochondrien durch Hexokinase stimuliert, ein interessanter struktureller Mechanismus zwischen strukturellen Elementen und dem Cytoplasma¹³). L. Ernster und O. Lindberg (Stockholm) fanden, daß arbeitende Mitochondrien die Hexokinase aktivieren, die mikrosomale Myokinase-Reaktion zur Bildung von ATP verschoben und diese dann zur Phosphorylierung verwendet wird.

Der Stoffwechsel des Tyrosins in der Leber gibt eine Moleköl Alanin, eine Moleköl Acetessigsäure (2 C-Atome aus dem Ring, 2 aus der Seitenkette) und 2 Moleköl Kohlendioxyd neben einer noch unbekannten Substanz. Alanin entsteht aus Pyruvat durch Ummannierung. Die p-Oxyphenylbrenztraubensäure, die dadurch gebildet wird, wird anschließend decarboxyliert und der aromatische Ring geöffnet. Hierbei wirkt Vitamin C mit (L. Roka (Frankfurt/M.)¹⁴)). Die entstandene Acetessigsäure geht über in „aktives Acetat“, das im Tricarbonsäure-Cyclus verbrannt wird.

Die beiden letzten Probleme dieses seit etwa 15 Jahren bekannten Kreisprozesses¹⁵) wurden durch die Entdeckung des acetylierenden Coenzymes A durch Lynen¹⁶) und die Isolierung des „condensing enzyme“ durch Ochoa¹⁷) gelöst.

¹³) V. R. Potter, ACS-Lecture, Cleveland, Ohio, April 1951.

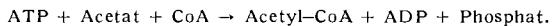
¹⁴) Vgl. Knox, Biochemic. J. 49, 686 [1951].

¹⁵) Marius u. Knoop, Hoppe-Seyler Z. physiol. Chem. 246, 1 [1937]; 257, 29 [1938]. Krebs u. Johnston, Biochemic. J. 31, 645 [1937].

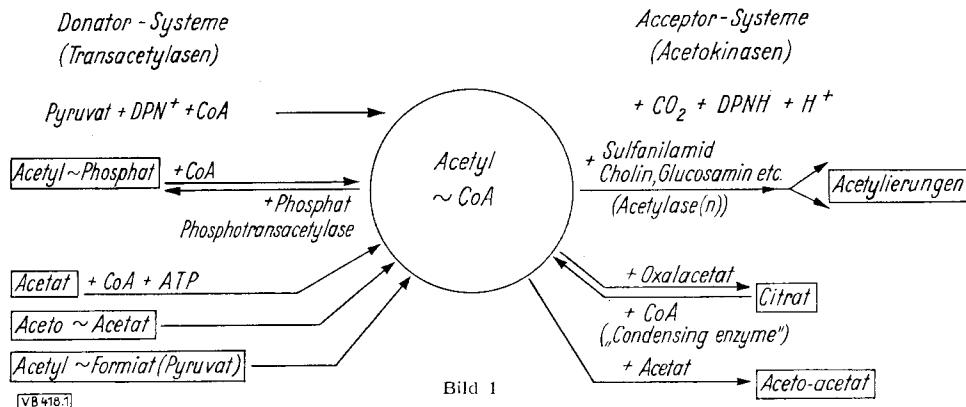
¹⁶) Liebigs Ann. Chem. 574, 1 [1951].

¹⁷) J. biol. Chemistry 193, 703, 721 [1951].

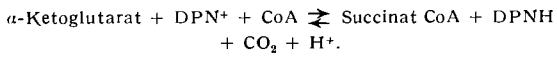
Die chemischen Eigenschaften der „aktiven Essigsäure“, die als S-Acetyl-CoA von F. Lynen (München) identifiziert wurde, sind gekennzeichnet durch die energiereiche Bindung von $\Delta F = -12,5$ Kcal/Mol. Um sie aufzubauen, muß ATP folgendermaßen hydrolysiert werden:



Die Fermentsysteme wurden aus Hefepreß-Saft gewonnen. CoA-SH kann durch sie auch mit Propionsäure und Brenztraubensäure zu den entspr. Acyl-thiolen verbunden werden. F. Lipmann (Boston) fand bei der Fermentreaktion an Stelle von ADP, AMP und formuliert den Mechanismus unter Bildung von CoA-Pyrophosphat, das dann umacyliert wird. Diese „ATP-CoA-Acetat-Reaktion“ ist neben dem Acetylphosphat der wichtigste Donator der Acetylierungsprozesse, die schematisch skizziert sind:

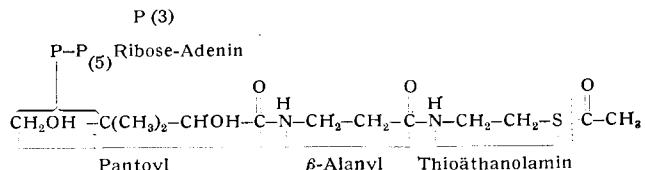


Die Rolle des CoA bei der Oxydation von α -Ketoglutarsäure und Brenztraubensäure wird von D. R. Sanadi und J. W. Littlefield (Madison, Wisc.) untersucht. Die aus Schweineherz isolierte α -Ketoglutarsäure-Oxydase katalysiert die Reaktion:



Succinyl-CoA konnte an Kohle adsorbiert, daraus mit Phenol extrahiert und seine Reaktionen untersucht werden, die in allem mit denen des Acetyl-CoA übereinstimmen. Die oben angegebene Reaktion benötigt nach E. D. Green¹⁸ ein von der Acetyl-Coenzym A-Deacetylase unterschiedenes Ferment, die Succinyl-CoA-Deacetylase. Diese wurde nun von J. Gergely (Madison) sehr hoch gereinigt. Die entsprechende Acetyl-CoA-Deacetylase kann Arsenat bei dem durch CoA und Phospho-transacetylase katalysierten Abbau des Acetylphosphats ersetzen, was das andere Ferment nicht tut.

Coenzym A selbst wurde von J. B. Gregory (Boston, Mass.) gereinigt und seine chemische Struktur untersucht. Nach Reduktion mit Zink und Salzsäure wurde das Coferment als Quecksilbersalz gefällt und durch Ionenaustausch zu 90 % rein erhalten. Es enthält eine Molekel Pantotheninsäure, ein 2-Mercapto-äthylamin, ein Adenosin und drei Phosphat-Reste, von denen einer säurkatalytisch ist. Die von J. Baddiley (London) vorgeschlagene Formel



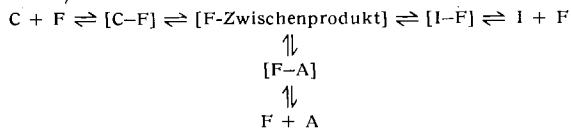
konnte bestätigt werden. Kurzzeitige alkalische Hydrolyse gab durch intramolekulare Phosphorylierung das cyclische Pantotheninsäure-2',4'-phosphat, wie sie auch bei Flavin-adenin-dinucleotiden, UDPG und Nucleinsäuren zu den in jüngster Zeit immer wieder isolierten cyclischen Phosphorsäure-estern (W. E. Cohn, R. Markham u. J. Smith, Vgl. Nucleinsäuren) geführt hat. Saure Hydrolyse des Coenzymes A ergibt das 4'-Phosphat. Die Pyrophosphat-Bindung greift also an dieser Stelle des Pantotheninsäure-Restes an. Die Biosynthese des Cofermentes erfordert Cystin, wie W. S. Pierpont und D. E. Hughes (Sheffield) bei *Lactobacillus arabinosus* 17/5 zeigten. Synthetisches Pantothein ist eine Zwischenstufe, es wird sehr rasch aufgenommen. Der β -Mercapto-äthylamin-Rest wird durch das Cystein gebildet, wobei nicht klar ist, ob nur das S-Atom oder die ganze Molekel verwendet werden.

¹⁸⁾ Phosphorous Metabolism, John Hopkins Press, Baltimore 1951/I.

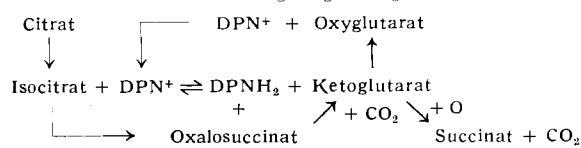
Coenzym A wird bei einer großen Anzahl biosynthetischer Reaktionen gebraucht. G. S. Boyd (Edinburgh) zeigte, daß Pantotheninsäure-arm ernährte Ratten, die also kein CoA bilden konnten, wenig Cholesterin synthetisierten. Fettfütterung ließ die Sterinbildung wieder ansteigen. Es scheint demnach, als ob sich CoA nicht nur durch kurzkettige Fettsäuren acylierten ließe, sondern auch durch höhere Fettbruchstücke, die direkt zum Aufbau des Triterpen-Ringes verwendet werden. R. Dorfman (Shrewsbury, Mass.) berichtete über Synthesen von Steroidhormonen aus markiertem Acetat in Hoden und Nebennieren; R. Croes und R. Ruyssen (Gand, Belgien) über die Biosynthese der Fette. Durch das den Stoffwechsel verlangsamt Urethan wird der Einbau von Acetat gesteigert; diabetogenes Alloxan erniedrigt ihn. C. Pretti (Bern) fand markiertes Acetat, das als einzige Kohlenstoffquelle gegeben wurde, in den Carotinoid-Pigmenten von Mucorinen wieder. Sein Anteil macht bis zu 75 % der gesamten Molekel aus. Alle diese Vorgänge zeigen, an welcher zentraler Stelle die Essigsäure und damit das Coenzym A steht.

Die wichtigste Reaktion ist jedoch die Kondensation mit Oxalessigsäure zu Citronensäure, die durch das „condensing enzyme“ von S. Ochoa (New York) katalysiert wird. Das Ferment wurde aus Schweineherz kristallisiert erhalten. Es bewirkt zusammen mit DPN, Diphosphothiamin und Mangansalz die Oxydation der Brenztraubensäure und die Bildung von

Citrat, das damit auch als Primärprodukt des Citronensäure-Cyclus endgültig erkannt wurde. C. Martius (Tübingen) konnte dies bereits vor zwei Jahren durch Isotopenversuche mit Dideutero-Citronensäure zeigen¹⁹. Die L-Verbindung wird fermentativ zu einer α -Ketoglutarsäure abgebaut, die noch das gesamte Deuterium enthält, die D-Form gibt eine völlig inaktive α -Ketoglutarsäure. Das wird verständlich, wenn man annimmt, daß das Ferment drei spezifische Zentren besitzt, an die sich die pseudoasymmetrische Verbindung anlagert. Der weitere Abbau der Citronensäure führt zur Isocitronensäure durch die Aconitase, ein Ferment, das auf drei verschiedene stabile Substrate wirksam ist, da sie auch noch in einer Nebenreaktion *cis*-Aconitsäure aus Citrat zu bilden vermögen. Schematisch dürfte sich diese Umwandlung in folgender Weise vollziehen (F = Ferment; C = Citrat; I = Isocitrat; A = *cis*-Aconitat):



Im weiteren Verlauf des Abbaus der Isocitronensäure ist besonders die reversible Stufe: Oxalbernsteinsäure \rightleftharpoons Ketoglutaräure + CO_2 interessant. Die Isocitricodehydrase scheint mit der Oxalbernsteinsäure-Decarboxylase identisch zu sein. Um im Falle eines Sauerstoff-Mangels sich im Körper anhäufendes Citrat, das durch Komplexbindung des Calciums gefährlich werden könnte, zu zerstören, hat der Organismus in der „Oxyglutarsäure-Gärung“ einen Ausweg geschaffen. Hierbei wird Citrat auf dem skizzierten Weg in die ungiftige Oxyglutarsäure verwandelt. Daneben entstehen stets geringe Mengen Succinat.



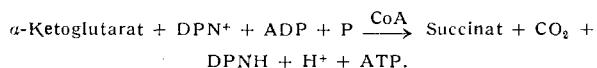
Die Bildung der Bernsteinsäure aus Ketoglutaräure ist ein dem oben bei der Brenztraubensäure beschriebenen ganz analogen Vorgang. H-Acceptor ist in allen Fällen DPN^+ (CoII). Die Bildung des DPNH ($\lambda_{\text{max}} 340 \text{ m}\mu$) wird spektrophotometrisch verfolgt. Sie gestattet übrigens die Energie der Acetyl-Mercaptid-Bindung unabhängig, aber in guter Übereinstimmung zu Lynens Messungen zu 13 Kcal/Mol bei $\text{pH} 7,2$ festzulegen. Die Elektronenübertragung des reduzierten Pyridin-Nucleotids von Bernsteinsäure auf mole-

¹⁹⁾ Liebigs Ann. Chem. 570, 143 [1950].

kularen Sauerstoff²⁰) ist die Quelle der Energie, die in energiereichen Phosphat-Bindungen gespeichert wird. 14 der 15 während der vollständigen Oxydation des Pyruvats gebildeten Phosphorsäure-ester entstehen durch diese oxydative Phosphorylierung, deren Mechanismus im einzelnen noch nicht geklärt ist (Atmungsketten-Phosphorylierung). Die Gesamtreaktion wird in der Tabelle angegeben:

		gebildete P-Bindungen
a) Pyruvat + Oxalacetat + DPN	\rightarrow Citrat + CO_2 + DPNH_2	0
a') DPNH_2 + $\frac{1}{2} \text{O}_2$	\rightarrow DPN + H_2O	3
b) Isocitrat + TPN	\rightarrow α -Ketoglutarat + CO_2 + TPNH_2	0
b') TPNH_2 + $\frac{1}{2} \text{O}_2$	\rightarrow TPN + H_2O	3
c) α -Ketoglutarat + DPN	\rightarrow Succinat + CO_2 + DPNH_2	1
c') DPNH_2 + $\frac{1}{2} \text{O}_2$	\rightarrow DPN + H_2O	3
d) Succinat + $\frac{1}{2} \text{O}_2$	\rightarrow Fumarat + H_2O	2
e) Malat + DPN	\rightarrow Oxalacetat + DPNH_2	0
e') DPNH_2 + $\frac{1}{2} \text{O}_2$	\rightarrow DPN + H_2O	3
zusammen:	$\frac{5}{2} \text{O}_2$	15
		P/O-Quotient = 3

Da bei der Oxydation von Triose zu Pyruvat fünf weitere energiereiche P-Bindungen entstehen, werden bei der vollständigen Verbrennung von 1 Mol Hexose 40 Mol energiereichen Phosphats erhalten. Die Reaktion wird durch Dinitrophenol und Thyroxin-Derivate gehemmt (vgl. unten). Die Phosphorylierung ist aerob mit α -Ketoglutarsäure besonders groß, da dabei TPN mitwirkt. Von *Judah*²¹⁾ und *H. A. Krebs* wurden P/O-Quotienten bis zu 4,0 gefunden. Bei der Dismutation von α -Ketoglutarat mit Taubenherzpräparaten beobachtete *S. Kaufmann* (New York) Phosphorylierung, die gegen Diuithrophenol und Jodacetat unempfindlich ist. Der Mechanismus dieser gekoppelten Phosphorylierung ist:



Durch Konkurrenzreaktionen erreichte der P/CO_2 -Quotient nicht den theoretischen Wert 1, sondern lag zwischen 0,3 und 0,5. Pyruvat- und α -Ketoglutarat-Oxydation haben die Synthese eines energiereichen acylierten CoA-Derivates gemeinsam. Im oxydativen Stoffwechsel wird die Energie des Succinyl-CoA zur Bildung einer energiereichen Phosphat-Bindung verwendet, im Citronensäure-Cyclus die des Acetyl-CoA. Die für den ersten Schritt erforderliche Energie von 8 Kcal/Mol wird durch den Cyclus (12 \sim P) selbst bereitgestellt.

Kohlendioxyd-Bindung.

Nachdem *Wood* und *Werkman* gezeigt hatten, daß CO_2 an Pyruvat gebunden wird und Äpfelsäure gibt, wurde das hierbei notwendige Mangan-haltige „*malic enzyme*“ von *S. Ochoa* angereichert und weitere Reaktionen dieser Art manometrisch oder durch die Reduktion von DPN^+ spektrophotometrisch bei 340 μm verfolgt. Die Reduktion von DPN^+ oder TPN^+ ist durch belichtete Chloroplasten möglich (*Hill-Reaktion*). Durch Koppelung dieser Reaktion mit der reduktiven CO_2 -Bindung konnte von *Vishniac* und *Ochoa*²² ein Photosynthese-Modell betrieben werden nach den Gleichungen:

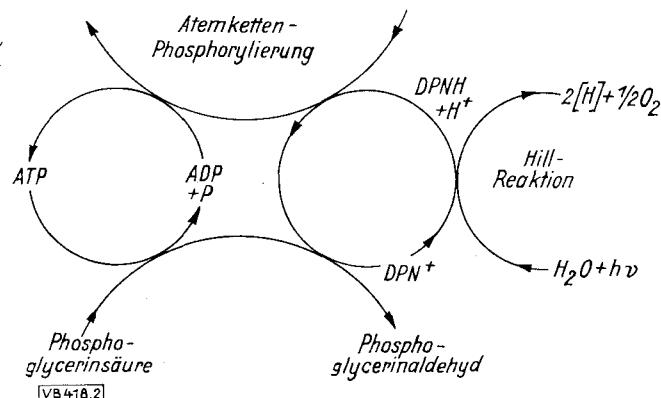
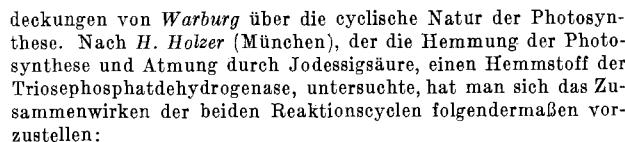
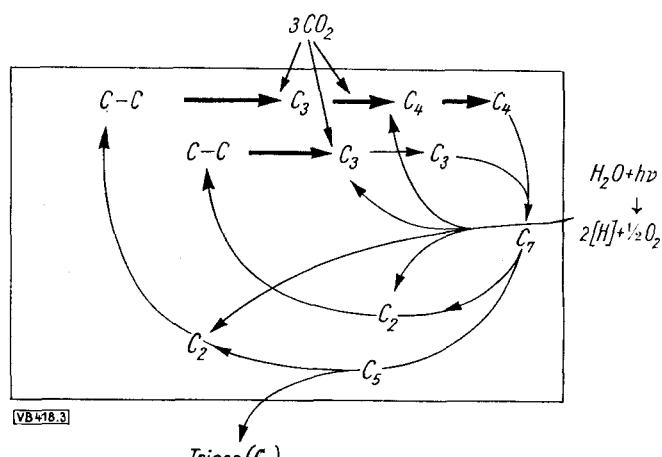


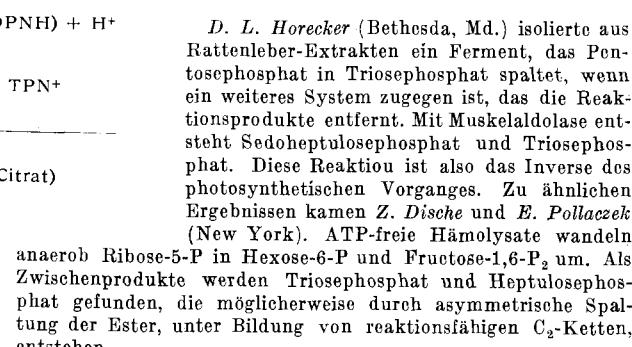
Bild 2

Die Photosynthese braucht also die aerobe Phosphorylierung, die ihrerseits Kohlehydrat verbraucht.

Die Photosynthese in den Pflanzen ist eine Umkehrung der Glykolyse. Bei Untersuchungen mit $^{14}\text{CO}_2$ fanden A. A. Benson und M. Calvin (Berkeley) als erstes Produkt des stationären Zustandes Phosphoglycerat. Dies erfordert zur Bildung einen C_2 -Körper. Durch Papierchromatographie des wässrigen Auszuges von Grünalgen nach kurzzeitiger Belichtung konnten Sedoheptulose, ein C_7 -Zucker, und Ribulose, eine C_5 -Ketose, nachgewiesen werden. Sie wurden auch überall in höheren Pflanzen vorgefunden, so daß man annehmen muß, sie stellen die Initialprodukte der CO_2 -Assimilation dar. Durch Spaltung des C_7 -Körpers entsteht die C_5 -Substanz und die zur Synthese der C_3 -Verbindung notwendige C_2 -Stufe, wie es in dem folgendem Schema dargestellt ist:



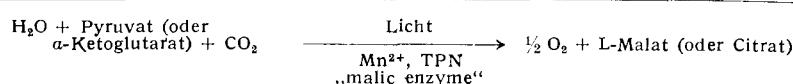
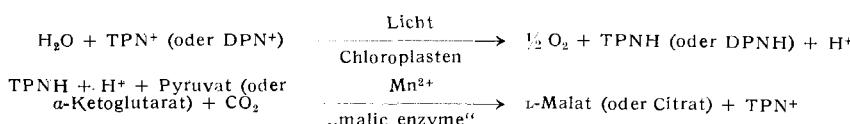
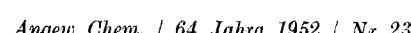
3)



Im Muskel gibt es folgenden Weg der Glycogenogenese:



der von *S. Akabori* (Osaka) in die einzelnen durch Fermente aus



„Malic enzyme“ wird am besten aus Taubenlebern oder aus Petersilienblättern gewonnen. Durch das Chloroplasten-System können energiereiche P-Bindungen synthetisiert werden. Durch diese Kuppelung von photochemischer Reduktion mit der oxydativen (chemosynthetischen) Bildung von Phosphat-Bindungen wird eine Verbindung hergestellt zu den grundlegenden Ent-

²⁰⁾ Hunter: Phosphorous Metabolism, John Hopkins Press, Baltimore 1951/I.

²¹ Biochemic. J. 49, 271 [1951].

22) J. biol. Chemistry 195, 75 [1952].

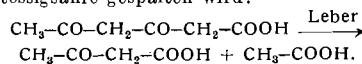
diese nicht polar, wie Paraffinöl, sind ausschließlich *van der Waals*-Kräfte wirksam; in den polaren langkettigen Alkoholen oder Polyäthern besonders auch Wasserstoff-Bindungen. Das relative Retentionsvolumen von primären, sekundären und tertiären Aminen liegt auf distinkten Geraden, so daß sich unbekannte Verbindungen oder Oxyamine indentifizieren und einordnen lassen.

Der Mechanismus der Fettaufnahme im Intestinal-Trakt birgt das Problem der völligen oder teilweisen Hydrolyse, also der lipolytischen und der Verteilungs-Hypothese der Absorption. A. C. Frazer (Birmingham) zeigte, daß langkettige Triglyceride nicht vollständig hydrolysiert zu werden brauchen und daß die wasserlösliche, durch Pankreas-Lipolyse entstandene Fraktion (Intestinal-Phase), Fettsäuren und niedere Triglyceride, als feine Emulsion mit Gallensalzen, vom Duodenum aufgenommen wird. Paraffinöl kann in Gegenwart von Olivenöl auf die gleiche Weise absorbiert werden. In den Darm-Zellen verläuft die Rekonstruktion der Bruchstücke zu Triglyceriden und Phospholipoiden (Zellular-Phase). Die Phosphorsäure-haltigen stark polaren Lipoide spielen aber keine große Rolle in dem Mechanismus der Fett-Absorption (M. Levy (Paris)). Negative Teilchen werden bevorzugt von den Lymph-Gängen aufgenommen, so auch langkettige Triglyceride, während die kurzketten einen anderen Weg in das portale Blut nehmen (Distributive Phase). Auch dies spricht für die Verteilungs-Hypothese. Die Resorption von markierten Glyceriden und freien Fettsäuren untersuchte S. Bergström und B. Borgström (Lund). Diese Substanzen wurden im Chylus wiedergefunden, ohne daß dadurch die Frazer'sche Hypothese berührt zu werden brauchte.

Die Eigenschaften wässriger Lösungen von Natriumeholat studierte P. Ekwall (Åbo, Finnland). Sie enthalten, abhängig von der Konzentration und dem pH, Assoziationsmizellen der Cholat-Ionen, die sich wie Laurylsulfat-Ionen verhalten. Sie vermögen Kohlenwasserstoffe, Steroidhormone und polycyclische carcinogene Aromaten fein verteilt stabil zu lösen. Die Wirksamkeit dieser Stoffe bleibt dabei bestehen; sie dringen besonders leicht durch die Haut durch, so daß damit die percutane Application von Steroiden möglich ist, deren Wirksamkeit die von öligen Lösungen übertrifft und länger anhält. Die Krebs-erregende Dosis ist in diesen kolloidalen Lösungen geringer als bei dem direkten Aufstreichen der Substanz auf die Haut.

Bei der fermentativen Fettspaltung beobachtete B. Borgström (Lund) mit Hilfe ^{14}C -markierter Palmitinsäure, daß während der Pankreas-Lipolyse *in vivo* und *in vitro* zugleich mit der Hydrolyse eine Resynthese von Glycerid-Bindungen eintritt. Dieser Vorgang ist auf den Einbau freier Fettsäuren in Mono- und Diglyceride beschränkt. Phosphatide zeigten die Reaktion nicht. Die Rieinus-Lipase wird in wässriger Emulsion bei 18° binnen 3 h zu 50 % autoxydativ inaktiviert. Durch Extraktion mit Äther isolierten C. Ravazzoni und Mitarb. (Mailand) einen sehr autoxydablen Stabilisator (Fp 130° ²⁶), Dioxystearinsäure (Fp $142/43^\circ$) und eine Substanz $\text{C}_{17}\text{H}_{34}\text{O}_4$ (Fp 132°), die offenbar der eigentliche Inaktivator der Lipase ist.

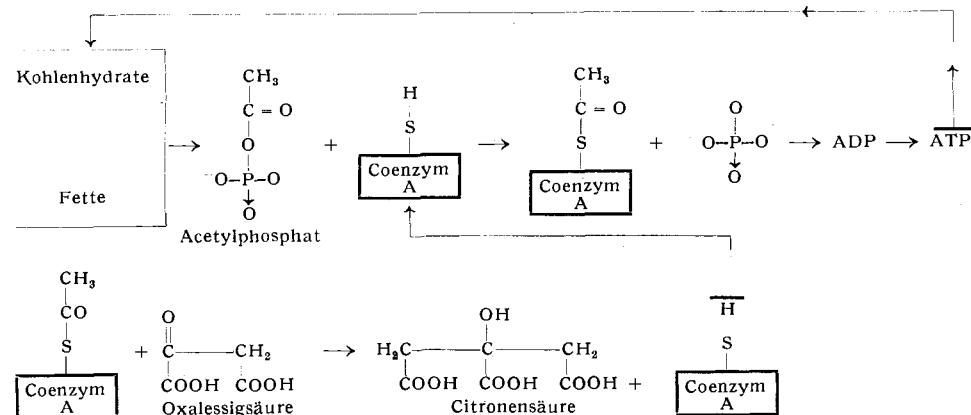
Der Fettsäure-Abbau im Citronensäure-Cyclus wurde von F. L. Breusch (Istanbul) besprochen. Neben dem bekannten allgemeinen Vorgang der β -Oxydation für sämtliche Fettsäuren scheint nur die alternierende β -Oxydation noch eine Rolle beim Abbau natürlicher Kohlenwasserstoffketten zu spielen. Bei diesem Mechanismus werden in der Leber Keto-Gruppen nicht nur in β -Position, sondern auch in β' , β'' usw. eingeführt. Es konnte nachgewiesen werden, daß Triacetsäure (-lacton) von der Leber rasch in Acetessigsäure gespalten wird:



Die ω -Oxydation ist kein Abbauweg normaler Fettsäuren. Die C_2 -Bruchstücke werden im Triacbonsäure-Cyclus zur Energie-Gewinnung verbrannt. Acetessigsäure kann durch ein vor allem im Taubenmuskel, aber auch in Leber und Niere enthaltenes Ferment mit Oxalessigsäure zu Citronensäure und Essigsäure über das acetylierte Coenzym A kondensiert werden. Der Vorgang

stellt sich also so dar, daß in der Leber die wasserunlöslichen Fettsäuren zur wasserlöslichen Acetessigsäure vorbereitet werden, die noch $\frac{2}{3}$ der Energie enthält. Diese wird mit dem Blut abtransportiert. Die Endverbrennung findet in den energiebedürftigen peripheren Organen statt. Die Umsatzverhältnisse zwischen Leber und Muskel sind aber sehr groß, sie betragen oft 1:50, auch der biochemische Mechanismus der β -Oxydation und die Frage der alternierenden β -Oxydation sind noch ungeklärt.

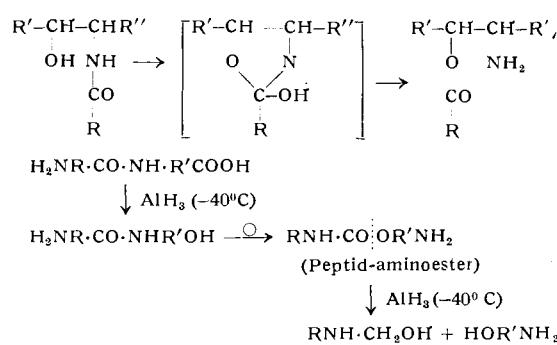
Daß Citronensäure bei der Verbrennung der Acetessigsäure entsteht, konnte durch deren Isolierung als Chinin-Salz und durch die Isolierung des kristallisierenden Enzym-Proteins sichergestellt werden.



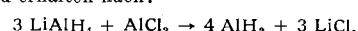
Aminosäuren, Proteine und deren Stoffwechsel

Die Synthese wasserlöslicher Polyaminosäuren durch Polymerisation von Carbobenzoxy-aminosäuren in Substanz oder in benzolischer Lösung bearbeiteten E. Katchalsky und Mitarb. (Rehovoth, Israel). Es wurde über die Synthese von Polycystein aus S-Carbobenzoxy-N-carboxy-cystein, von Polytyrosin aus o-Carbobenzoxy-N-carboxy-tyrosin und von Poly-p-aminophenylalanin aus N-Carbobenzoxy-p-phenylalanin berichtet. Der Polymerisationsgrad beträgt 20–70. Die Polyaminosäuren kuppeln mit Diazoniumsalzen zu polymeren roten Farbstoffen. Die basischen Polyaminosäuren hemmen in Mengen von 1–15 γ /ml das Wachstum von Gram-positiven und -negativen Bakterien, neutrale und saure nicht, Polyasparaginsäure hebt im Gegenteil die Wirkung der basischen Polymeren auf. Durch Einwirkung von Trypsin auf Poly-L-lysin erhielten S. G. Waley und J. Watson (Maidenhead, England) Di- und Tri-L-lysin. Das beweist, daß das Ferment endständige Peptidbindungen nicht angreift. Die Spaltungsgeschwindigkeit steigt mit der Zahl der Aminosäure-Reste.

J. L. Bailey (Cambridge) verwendete Aluminiumhydrid zum schrittweisen Abbau von Peptiden. Mit Lithium-borhydrid wird die Peptidbindung nur unter bestimmten Bedingungen abgebaut, und auch Lithium-aluminiumhydrid reduziert nur die endständigen Carboxyle. Bei der Reduktion des Insulins wurde so Glycin erhalten. Es wurde daraus auf eine Beteiligung des Glykokolls an der Verknüpfung der Ketten geschlossen. Im Gegensatz dazu ist Aluminiumhydrid zur Spaltung von $\text{CO}-\text{NH}$ -Bindungen befähigt, und es werden interessante Umlagerungen beschrieben, die sich durch die Bildung von cyclischen Zwischenstufen (Bergmann) etwa in der Art erklären lassen:

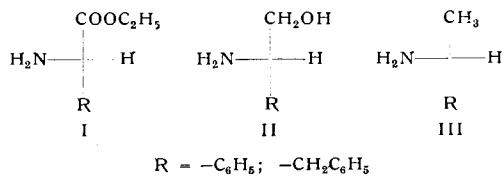


Als Endprodukte werden Aminoacyl-substituierte Aminoalkohole erhalten. Aluminiumhydrid wird bei -40°C durch Umsetzen von Lithium-aluminiumhydrid mit der berechneten Menge Aluminiumchlorid erhalten nach:

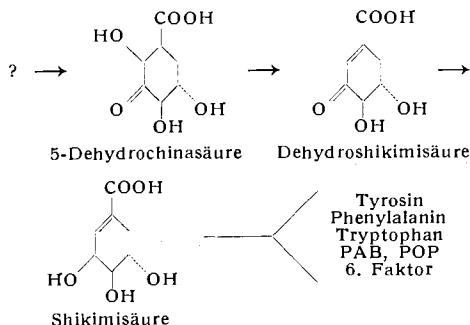


²⁶ Hoth, Nature [London] 167, 115 [1951].

Durch die sog. „kinetische Inversion“ konnten *R. Pratesi* und Mitarbb. (Pavia) die optische Konfiguration der Aminosäuren und ihrer Derivate bestimmen. Die Methode beruht darauf, daß die Ester der natürlichen Aminosäuren die Decarboxylierung der L-Camphoercarbonsäure begünstigen. Sie hat sich nicht nur für die aliphatische Reihe, sondern auch für aromatische Alanin- und Glycin-Derivate (I) bewährt. Eine Ausnahme machen die von diesen Säuren abgeleiteten Aminoalkohole (II) und Amine (III).

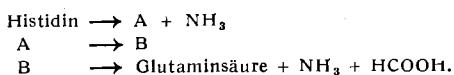


Die Kenntnis der Biosynthese der einzelnen Aminosäuren wurde besonders durch Untersuchungen an auxothrophen (Defekt-)Mutanten von Mikroorganismen gefördert. *D. B. Davis* (New York) berichtete über die Biosynthese des Prolins und Ornithins aus Glutaminsäure, während die erste bekannte Vorläufer des Histidins das Histidinol ist. *E. Work* (London) fand in der α, α' -Diaminopimelinsäure den Vorläufer des Lysins. Sie wird durch eine spezifische Carboxylase aus Coli-Bakterien (*D. C. Dewey* (London)) in die Aminosäure umgewandelt. Die aromatischen Aminosäuren entstehen aus Kohlehydraten in folgender Weise:



Para-aminobenzoësäure und p-Oxybenzoësäure sind mit der Synthese des Methionins und Lysins auf noch nicht geklärte Weise verknüpft. An dieser Stelle greifen aber die Chemotherapeutica ein.

Der Abbau der Aminosäuren verläuft auf den verschiedensten Wegen. So fand *R. L. Wickremasinghe* (Sheffield), daß aus L-Histidin Glutaminsäure entsteht über zwei noch nicht identifizierte Zwischenstufen nach



A gibt ein Pikrat (F_p 220°), hat eine C=C-Doppelbindung und kuppelt zu einem orangen Farbstoff. Es ist vielleicht Histidinol. B kuppelt nicht und gibt bei der alkalischen Spaltung DL-Glutaminsäure und Ameisensäure. C. E. Dalglish fand, daß aus Tryptophan, neben den bekannten Verbindungen Kynurenin, Kynuren- und Xanthurensäure, bei der Vitamin-B₆-Mangel-Ratte L-3-Oxykynurenin entsteht. Alle diese Stoffe haben noch das Tryptophan-Skelett. An der Abspaltung der Kette, sowie an der Resynthese des Tryptophans aus Indol und Serin nimmt offenbar Vitamin B₆ teil. Der Abbau des Tyrosins zu Acetessigsäure nach vorheriger Umaminierung wurde bereits oben berichtet.

Zur Trennung von Aminosäuren, Peptiden und Proteinen unter kontinuierlicher Indizierung entwickelte *B. Drake* (Uppsala) eine Technik mit steigendem Elutionsgradienten und

gleichzeitiger amperometrischer oder konduktometrischer Messung²⁷). R. X. Porter (London) reinigt Peptide durch Gegenstromverteilung mit dem Zweiphasen-System Äthylenglykol-Äther-Wasser-Ammonsulfat. Dadurch konnten bei Ribonuclease und Insulin gezeigt werden, daß es einheitliche Moleküle sind. Die Methode der kontinuierlichen Extraktion von R. K. Zahn (Frankfurt) kombiniert die Vorteile der fraktionierten Extraktion (E. J. Cohn) mit denen der Gegenstromverteilung. In einem speziellen Apparat wird die Extraktionslösung kontinuierlich in gewünschter Weise geändert, so daß praktisch stets Gleichgewicht zwischen der sättigenden Substanz und dem Lösemittel herrscht. Variabel sind die Parameter: Dielektrizitäts-Konstante, Ionenstärke, p_{H} und Temperatur. Meist wird man nur einen ändern und die übrigen konstant halten. Durch Änderung der Ammonsulfat-Konzentration wurden Hefeproteine fraktioniert und im Hefeauteolyvat verschiedene fermentative Proteine gereinigt. In großer Reinheit konnte vor allem Cytochrom c erhalten werden. Die Brückenchromatographie, eine Modifikation der Papierchromatographie diente E. Kawerau (London) zur Identifizierung von Melaninen im Urin²⁸). Im Prinzip besteht sie darin, daß Elutionsflüssigkeit durch den schräggestellten Papierstreifen aus einem Vorratsgefäß in ein Aufnahmegeräß fließt und dabei eine auf dem Papier befindliche Mischung fraktioniert wird. Sie ist bei größeren Substanzmengen der Papierchromatographie überlegen. Die Papierelektrophorese wurde von H. Simmonet und Mitarbb. (Paris) verwendet, um die Frage nach der kathartischen Wirksamkeit des Pepsins festzustellen. Bei p_{H} 2,5–3,5 entstehen zwei Zonen, mit unterschiedlichem Wirkungsmaximum. Im Alkalischen bildet sich nur eine Bande von unveränderter Aktivität.

Über die Isolierung und Chemie von Polypeptiden wurde in verschiedenen Zusammenhang berichtet. J. Gross (Cambridge, Mass.) fand im Pancreas-Saft und in Rohtrypsin Proteinfäden, die aus zwei spiralig umeinander gewundenen Einzelfäden von 120 Å Länge bestanden. Aus Trypsinogen konnten sie in größeren Mengen dargestellt werden. Sie geben mit Wasser milchige Suspensionen, die sich bei pH 2,5 plötzlich klären. Neutralisation ließ die Fäden wieder hervortreten. Sie verhalten sich physikalisch und chemisch wie ein typisches Protein. V. N. Orjekowitsch (Moskau) berichtete über das Procollagen. Es läßt sich durch Extraktion von Bindegewebe oder Haut mit 0,1 m Citrat-Puffer, pH 4, gewinnen und elektrophoretisch einheitlich kristallisieren. Procollagene, die sich bei den verschiedenen Tierspezies nicht wesentlich qualitativ und quantitativ in ihrer Aminosäure-Zusammensetzung unterscheiden, sind Collagen-artige Eiweiße. Sie enthalten aber kein Tyrosin, dafür mehr Histidin. Am Stoffwechsel sind diese Proteine noch wesentlich stärker beteiligt als das Collagen. Untersuchungen mit Isotopen-Markierungen zeigten, daß es sich um die Vorstufe der Bindegewebs-Keratine handelt.

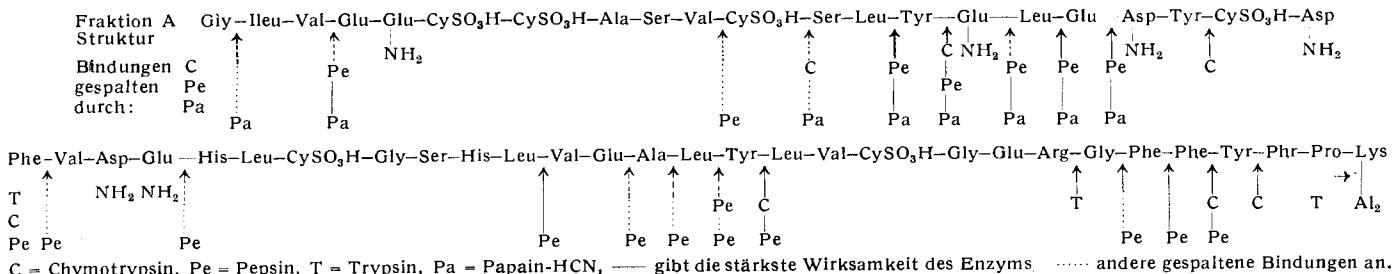
F. Sanger, E. O. P. Thompson und H. Tuppy (Cambridge) klärten die Aminosäure-Folge des Insulins auf. Durch Perameisensäure ($\text{H}_2\text{O}_2 + \text{HCOOH}$) werden die S-S-Brücken aufoxydiert und zwei einheitliche Protein-Fraktionen A und B erhalten. Die Hauptmerkmale dieser Fraktionen sind in der Tabelle zusammengefaßt.

	Faktion A	Faktion B
Zahl der Aminosäuren	21	30
Zahl der S-Atome	4	2
Basische Endgruppe	Glycin	Phenylalanin
Mol.-Gewicht	2600	3400

Durch partielle Hydrolyse mit verschiedenen Agentien, Säuren und Enzymen, wurden die Fraktionen gespalten, die Peptide durch verschiedene Methoden, Papierchromatographie, Austauscher- und Kohle-Chromatographie sowie Elektrophorese, getrennt und die N-Endgruppen durch Fluor-dinitrobenzol markiert.

²⁷⁾ *Tisetius*, *Endeavour* 11, 5 [1952].

²⁸⁾ Biochemic. J. 48, 281 [1951].



Weitere Hydrolyse der Peptide gab ihre Zusammensetzung; aus der Tri- und Tetrapeptide konnte in bewunderungswürdiger Arbeit die Folge der einzelnen Aminosäuren festgelegt werden. In beiden Fraktionen ließ sich keine spezifische Aminosäure-Folge finden; die Blutzucker-senkende Wirksamkeit ist der ganzen Moleköl zuzuschreiben. In der Insulin-Moleköl, deren genaues Molekular-Gewicht 11464 ist, sind zwei A- und zwei B-Ketten durch Disulfid-Bindungen miteinander verknüpft (s. vorangehende Seite unten).

Nach der gleichen Technik begann *J. H. Bowes* die Struktur-Aufklärung des Collagens. Die intakte Moleköl besitzt keine freien α -Amino-Gruppen. Nur 50 % der ϵ -Amino-Gruppen reagieren mit Fluor-dinitrobenzol. Als Endgruppen liegen nach der Spaltung Asparaginsäure und Glutaminsäure vor, die in der Reihe folgende Moleköl ist Glykokoll. Es ist wahrscheinlich, daß das Eiweiß Ringstruktur besitzt.

Die Carboxyl-Endgruppen spaltet *S. Akabori* (Osaka, Japan) mit wasserfreiem Hydrazin aus Proteinen ab, wobei die folgende Aminosäure in das Hydrazid verwandelt wird. Durch Umsetzung mit Benzaldehyd erhält man die unlösliche Benzal-Verbindung. Mit dieser Methode wurden u. a. folgende Ergebnisse erhalten:

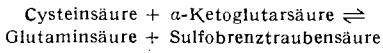
Protein	Carboxyl-endständige-Aminosäuren
α -Chymotrypsinogen ..	Glycin, Alanin, Asparaginsäure
α -Chymotrypsin	Glycin, Alanin, Asparaginsäure
Taka-Amylase	Glycin, Alanin, Serin, Asparaginsäure
Bakterien-Anylase ...	Alanin, Serin, Histidin
Leber-Katalase (Rind)	Glycin, Alanin, Lysin (Serin)
Insulin (Rind)	Glycin, Alanin
Insulin (Bonito)	Glycin, Lysin (Alanin)

Bemerkenswert ist die Häufigkeit des Glycins und Alanins in den terminalen C-Amino-Gruppen und, daß bei der Umwandlung von Chymotrypsinogen in Chymotrypsin das C-Ende nicht verändert wird. Die Angaben über das Insulin lassen sich mit den Befunden von *Sanger* für die Fraktion B vereinbaren. Nach diesen Analysen sind aber die Insuline untereinander nicht identisch.

Die Faltung der Peptid-Ketten wurde von *L. Pauling* (Pasadena, Calif.) am Moleköl-Modell gezeigt. Das α -Keratin hat eine Spiral-Struktur mit 3,7 Resten je Windung. Diese Struktur ermöglicht Wasserstoff-Bindungen zwischen jeder CO- und NH-Gruppe der Kette und wird zugleich der Tatsache gerecht, daß die Peptid-Bindung planar ist. Sie kann ja durch Resonanz in eine Doppelbindung übergehen. Diese α -Spiral-Struktur hat eine Distanz von 1,5 Å je Rest im Faden und der Faden die Form eines elliptischen Zylinders von 10–13 Å Länge. Er kann um 100 % gedehnt werden und geht dabei in β -Keratin über, das die Struktur eines gefalteten Tuches hat. Diese Ergebnisse wurden von *M. F. Perutz* (Cambridge) an der Hämoglobin-Moleköl bestätigt und erweitert. Dies ist ein Ellipsoid (55 zu 56 Å Durchmesser). Bei der Oxydation und Reduktion ändert Hämoglobin seine makroskopische Kristallstruktur, das oxydierte Hämoglobin ist monoklin, das reduzierte trigonal. Der dieser Erscheinung zu Grunde liegende Gittervorgang sind die Änderung der Kupplung zwischen Häm und Globin und die Änderung in der relativen Orientierung der vier Häm-Gruppen im Hämoglobin. Bei der Reduktion kommen sie in stärker symmetrische Positionen. Die *Pauling-Corey-Spirale* ist noch dadurch kompliziert, daß sie zahlreiche Seitenketten besitzt. Beim Aneinanderlagern solcher Ketten entsteht ein überaus kompliziertes Zusammenspiel chemischer Kräfte. Das bedingt die Spezifität des entstandenen Eiweißes und die Sero-Reaktionen. *J. F. Haurowitz* (Bloomington, Ind.) ging auf die Synthesen von normalen Serum-Proteinen und Antikörpern ein, die in zwei Schritten verläuft. Zuerst wird an einer Matrix eine Nachahmung der Aminosäure-Folge in der Kette aufgebaut und die Peptidbindungen geschlossen. Diese Stufe ist von Außenfaktoren unabhängig. Als zweites folgt die Faltung der Moleköl, die von der Gegenwart von Antigenen abhängt. In diesem Falle werden spezifische Antikörper an Stelle des normalen β -Serum-Globulins gebildet. Die Phasen der Reaktion finden in den Granula der Zellen, besonders, im Falle der Antikörper, in Leber und Milz statt. Diese Organe weisen den höchsten Gehalt an injizierten Antigenen auf. Die Änderung der freien Energie ΔF bei der Peptid-Synthese beträgt bei 30 °C –8,8, bei 33 °C –9,7 Kcal/Mol Antikörper. Die Reaktionswärme ΔH ist dementsprechend –4,5 Kcal/Mol, die Entropie ΔS +16,6. Diese positive Entropie wird einer Wasserabspaltung zugeschrieben. Sie ist ein Maß für die räumliche „Adaptation“ des Antikörpers und die Spezifität.

J. R. Marrack (London) nimmt an, daß die Rezeptoren eines Antikörpers am Ende der stäbchenförmigen Moleköl liegen und dadurch die Zahl der Antikörper-Moleköl, die mit einem Antigen reagieren, begrenzt ist.

Die enzymatische Peptid-Synthese wurde von *H. Borsok* (Pasadena) im Hinblick auf die Biosynthese der Proteine behandelt. Freie Aminosäuren kommen in so geringer Konzentration vor, daß das Massenwirkungsgesetz in vivo vermutlich kein Faktor der Peptid-Synthese ist. Der Energiebedarf der Reaktion $\text{COO}^- + \text{NH}_3^+ \rightarrow \text{CO-NH} + \text{H}_2\text{O}$ hängt von der Zahl und gegenseitigen Entfernung der Reaktionspartner ab und sinkt mit steigender Kettenlänge, so daß die Synthese dadurch begünstigt wird. Als energiereichere Vorstufen sind nach *J. S. Fruton* (New Haven, Conn.) Acyl-substituierte Aminosäuren und Peptide anzusehen. Umpeptidierungen und Transaminierungen sind dementsprechend sehr wohl möglich. *S. Darling* (Aarhus, Dänemark) untersuchte die Transaminierungen der α -Ketosäuren durch Alanin, Asparaginsäure und Cysteinsäure. Die letzte Reaktion wird durch eine spezifische Cysteinsäure-Transaminase katalysiert, die aus Rinderherz-Extrakten durch Ammonsulfat-Fraktionierung angereichert wurde. Bis zu 50 % Sättigung erhält man die Alanin-Transaminase, bis 65 % vorwiegend Asparaginsäure-Transaminase und das Cystein-Ferment am stärksten wirksam bei 85 % Sättigung. Es enthält noch ca. 15 % des vorhergehenden Enzyms. Die Gleichgewichtskonstante der Transaminierungs-Reaktion:



ist bei pH 7,5 und 30° K = 0,11.

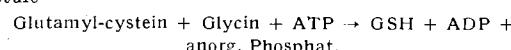
Zur Aktivierung der Peptid-synthetisierenden Fermente oder aber auch der Substrate mit bisher noch nicht isolierten energiereichen Zwischenstufen ist ATP oder ein ATP-liefernder oxydative Prozeß notwendig. *H. Waelsch* (New York) wies auf die Tatsache hin, daß Glutamin, Asparagin und Glutathion bei der Biosynthese der Amino-Verbindungen den Transport des Ammoniaks besorgen. Weiter können sie mit ihren Peptid-Bindungen die Zwischenstufen darstellen, die die Energie der in der Atemkette entstandenen energiereichen Phosphat-Bindungen auf die Reaktionspartner der Proteinsynthese übertragen. In Mikroorganismen wurde eine spezifische β -Asparagyl-, in Pflanzen und Tieren eine γ -Glutamyl-Transferase gefunden²⁹).

Die peptidatischen Enzyme reagieren in vitro unspezifisch, in vivo werden sie durch die Zellstruktur in einheitlicher Richtung arbeiten.

M. Brenner (Basel) konnte Dipeptide aus freien Aminosäuren durch Rattenleber-Homogenate im schwach alkalischen Milieu erhalten. Die Reaktion ist nicht von oxydativen Vorgängen abhängig, sondern nur von der Konzentration der Teilnehmer und der Wasserstoffionen-Konzentration. Im schwach sauren Gebiet spaltet das System die Dipeptide, im alkalischen wird aber das Dipeptid an das Fermentprotein gebunden und so aus dem Gleichgewicht herausgenommen. Der chemische Mechanismus des Aminosäure-Einbaus in die Proteine der Reticulocyten hängt von verschiedenen synergistischen Faktoren, gewissen Aminosäuren, der Glycolyse und einem niedermolekularen, thermostabilen Co-Faktor ab, der in zahlreichen Geweben gefunden wurde.

Protein wird nicht nur aus Aminosäuren synthetisiert, sondern auch aus anderen Proteinen ohne vorherigen vollständigen Abbau. *T. S. Work* und Mitarbb. (London) zeigten, daß natives Blutplasma-Protein die Vorstufe der Milchproteine, Casein und Molkeneiweiß, ist. Nach Gaben von radioaktiven Aminosäuren werden diese Proteine stärker aktiv, das Verhältnis der Aktivitäten ist aber nicht gleich. Eine völlige Hydrolyse des präformierten Plasma-Eiweißes kann also nicht stattgefunden haben.

Die enzymatische Synthese des Glutathions (GSH) erfordert ATP. Identifiziert wurde von *K. Bloch* (Chicago) bisher die Endstufe



Es wird angenommen, daß bei der Peptid-Synthese die Carboxyl-Gruppe phosphoryliert wird und nach Art des acetylierten Coenzyms A reagiert.

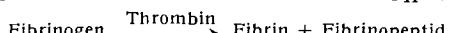
Die Wirkung der Proteasen Chymotrypsin, Trypsin, Pepsin und aktiviertes Papain konnte *F. Sanger* (Cambridge) nach der Struktur-Aufklärung des Insulins an diesem Protein prüfen. In dem vorher angegebenen Schema der Struktur der Fraktionen A und B ist gleichzeitig die Spaltbarkeit durch diese Fermente eingezeichnet. Trypsin greift demnach nur Arginyl- und Lysyl-Peptid-Bindungen an, Chymotrypsin ist etwas weniger spezifisch. Das Pepsin dagegen spaltet Peptidbindungen ganz unspezifisch. Papain hat als besonderen Ansatzpunkt freie Amino-Gruppen bei Amino-dicarbonsäure-Resten.

²⁹) *Hanes*, c. s. *Nature* [London] 166, 288 [1950].

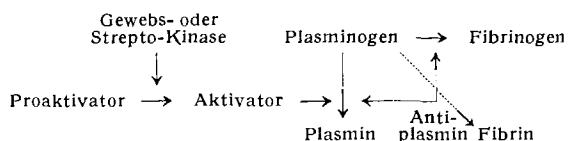
Blutgerinnung

A. L. Copley (New York) fand, daß die Blutgerinnung aus drei Phasen besteht, der Thrombin-Bildung, der Fibrinogen-Spaltung und der Gelierung des Fibrins. Diese ist unabhängig von der Prothrombin-Konzentration. Dicumarol und Tromexan, die die Prothrombin-Bildung hemmen, sind daher keine wahren Anticoagulantien, sondern vielmehr Heparin und die Polysaccharid-schwefelsäure-ester, die eine starke „geloplastische“ Wirkung haben, d. h. die dritte Phase unterbrechen. Kleine Mengen Calcium-Ionen wirken „antigeloplastisch“, große haben dagegen den umgekehrten Effekt³⁰). Geloplastische Substanzen finden sich auch im Plasma und besonders in Gefäßwand-Extrakten. M. M. Rappoport zeigte, daß die Umwandlung des Prothrombins in Thrombin durch Phospholipide nur dem Phosphatidylserin zukommt. Die Reaktion wurde nur mit Säugetier-Prothrombin gefunden, nicht mit dem von Küken. Trypsin verhindert ebenfalls die Blut-Gerinnung. Es vermag sogar Blutthromben *in vivo* aufzulösen. Intravenös gegeben verursacht es Blutdruckabfall und vorübergehendes Frösteln. Es wurde bereits zur klinischen Behandlung der peripheren Thrombophlebitis mit Erfolg verwandt, wie I. Innerfield (New York) mitteilte.

F. R. Bettelheim (Cambridge) und L. Lorand (Leeds) untersuchten den Mechanismus der Fibrin-Gerinnung. Thrombin ist eine spezifische Protease und spaltet aus Fibrinogen ein Fibrinopeptid ab, das ein Mol.-Gew. von ca. 8000, Glutaminsäure als Endgruppe und einen isoelektrischen Punkt von pH 3,3 besitzt.



Proportional zur Menge entstandenem Fibrin lassen sich Glycin-Endgruppen nachweisen. Es wird angenommen, daß die Assoziation der Fibrin-Partikel an solchen neu entstandenen „demaskierten“ Stellen stattfindet. Die Fibrinfäden bestehen aus β -Keratin-Mizellen, die durch Wasserstoff-Brücken verbunden sind. Über die Vorstufe dieser Reaktion wird von S. Müller berichtet. Spontan fibrinolytisch aktives Blut enthält einen Aktivator, der die Bildung des Plasmins katalysiert, aber nicht identisch ist mit der Fibrokinase von Astrup³¹). Es wird folgendes Schema gegeben, das auch zeigt, weshalb Kinase-Zugabe zu Rinderblut unwirksam ist; diesem fehlt der Proaktivator.



Über das Anticoagulans „Trebinon“, ein sulfatiertes Polygalacturonsäure-methylglucosid berichtete L. O. Randall (Nutley, N. J.). Es besitzt 25 % der Wirksamkeit des Heparins und ist intravenös und intramuskulär gut verträglich. C. R. Ricketts (Birmingham) stellte Dextran-Schwefelsäure-ester als gerinnungshemmende Substanzen dar. Mit 1,2 Sulfat-Gruppen je Glucose-Einheit wurde ein Anticoagulans erhalten, das 15 Heparin-Einheiten im Milligramm besitzt. Es ist ungiftig und wird zum klinischen Gebrauch empfohlen.

Zur Bestimmung der Prothrombinzeit versetzt A. Winterstein (Basel) Citratblut mit Thrombokinase, Faktor VII und Calcium-Ionen, zieht es rasch in einer Rekordspritze hoch, nimmt den Stempel heraus und läßt das Blut durch eine weite Kanüle auslaufen. Die Gerinnungszeit bei festgelegter Temperatur ist durch die Zeitspanne des Austropfens gegeben. Die Änderung der Ultraschall-Absorption verwendet V. Tomberg (Brüssel) zur Anzeige des Gerinnungspunktes und zu kinetischen Messungen in kolloiden Lösungen. Die Beschallungsenergie darf nicht groß gewählt werden, weil sonst die Erythrozyten-Membran rasch zerstört wird. Aus dem Verlauf der Ultraschall-Absorptionskurve lassen sich noch weitergehende Schlüsse auf pathologische Veränderungen ziehen, als es mit der relativ unspezifischen Gerinnungszeit möglich ist.

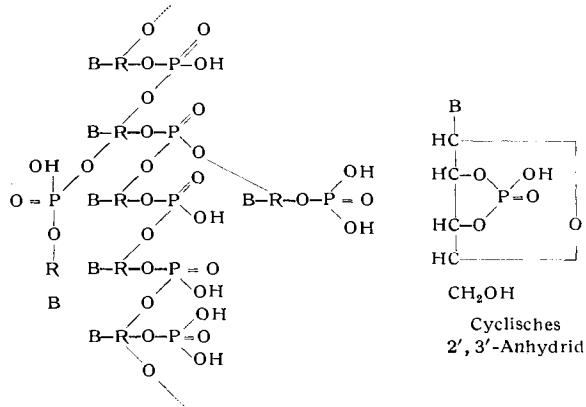
Nucleinsäuren

Der Grundbaustein der Nucleinsäuren ist das Nucleotid, der Phosphorsäure-ester eines Nucleosides, das wiederum aus einer heterocyclischen Base und Pentose bzw. Desoxypentose besteht. Die Nucleotide sind in den hochpolymeren Nucleinsäuren untereinander durch P—O-Bindungen verknüpft. Die Desoxyribonucleinsäure (DNS) ist nur im Kern enthalten und dort die Grundlage der Gen-Substanz. Eine diploide Körper-Zelle enthält die doppelte Menge DNS, die in einer haploiden Ei- oder Sperma-Zelle enthalten ist. Da sie sich recht leicht bestimmen läßt, bietet sie bei Stoffwechseluntersuchungen eine sehr brauch-

³⁰) Fed. Proc. 11, 27 [1952]. ³¹) Biochemic. J. 50, 5 [1951].

bare Bezugsgroße. Die Ribonucleinsäure (RNS) findet sich in den Nucleolen, den Mitochondrien und dem Zellplasma. Sie hat Stoffwechselfunktionen, die mit dem Aufbau des Eiweißes verknüpft sind. Bei Sekretionsvorgängen kann man beobachten, wie die Nucleolen in der Endphase zusammen mit dem im Kern gebildeten Exkret aus diesem herausgeschleudert werden. Von den RNSen nimmt nach J. N. Davidson (Glasgow) die des Kernes aktiver am Stoffwechsel teil als die des Plasmas. 32 P wird rascher in sie eingebaut; dies Ergebnis wurde auch bei Versuchen mit markierten Purinen und Pyrimidinen erhalten. E. Chargaff (New York) unterscheidet bei den DNSen der Mikroorganismen solche mit vorwiegend Adenin und Thymin (AT-Typ) von denen mit vorwiegend Guanin-Cytosin (GC-Typ). Der biologische Sinn dieser Unterschiede ist noch nicht klar. Die alte „Tetranucleotid“-Ansicht, nach der die Nucleinsäure in regelmäßiger Folge aus den vier Nucleotiden aufgebaut ist, muß jedenfalls verworfen werden. In der Moleköl findet man nach C. Tamm (New York) eine Kette aus vorwiegend Pyrimidin-Nucleotiden, die gegen chemische und fermentative Einflüsse beständig ist („Apurinsäure“) abwechselnd mit Purin-Nucleotiden³²). Die Kinetik der Wirkung der Desoxyribonuclease wurde von L. F. Cavalieri (New York) untersucht und gefunden, daß die Spaltprodukte die Reaktion hemmen, so daß die Reaktions-Ordnung nach der Zeit größer ist als die nach der Konzentration. Das Verhältnis berechnete/beobachtete Geschwindigkeit erreicht einen Grenzwert.

Die chemische Spaltung der makromolekularen RNS gelang L. Jaenike (Marburg) durch Metallhydroxyde, die mit der Nucleinsäure hydrolysierbare Komplexe bilden. Mittelstarke Basen (Pb, La) spalten Riboside, schwache (Zn, Cd) Ribotide ab. Mit $Al(OH)_3$ wurden Mischungen von Oligonucleotiden erhalten, von denen einzelne identifiziert wurden. Durch geeignete papier-elektrophoretische Verfahren lassen sich die 3'- und die 5'-Nucleotide in Hydrolysaten nachweisen. Das Vorkommen beider Phosphorsäure-ester macht eine Verknüpfung der Nucleotide zwischen diesen Ribose-Hydroxylen wahrscheinlich. R. Markham (Cambridge) kam zu gleichen Ergebnissen bei Virus-RNS. Nach enzymatischer Hydrolyse wurden Dinucleotide und cyclische Mononucleotide gefunden und durch Papierelektrophorese getrennt. Diese sind der Ursprung der a- und b-Formen der Mononucleotide, die von J. R. Todd (Cambridge) als 2'- bzw. 3'-Phosphorsäure-ester angesprochen werden. Der enzymatisch schwer angreifbare Kern besteht aus kleinen Polynucleotiden, deren durchschnittliche mittlere Kettenlänge 6 Nucleotid-Reste, die der ursprünglichen Nucleinsäure dagegen 53 beträgt. Die Existenz von Oligonucleotiden und isomeren Nucleotiden wurde von W. E. Cohn (Oak Ridge, Tenn.) nach enzymatischer Spaltung und Ionenaustauscher-Trennung erwiesen. Gleichzeitig konnten die 2'- und 3'-Ribosephosphate auf äußerst elegante Weise getrennt werden. Die intermedienen cyclischen 2',3'-Anhydride wurden von D. M. Brown (Cambridge) näher untersucht und die Spezifität der Ribonuclease für 3'-Ribose-phosphorsäure sowie Pyrimidin-nucleotide an Modellen erwiesen³³), während Cohn mit Schlangengift-phosphatase ausschließlich die 5'-Nucleotide erhalten hat, da diese spezifisch die 5'-Positionen hydrolysiert. Nach RNase-Spaltung konnte er dagegen aus den gleichen RNSen wiederum Di- und Trinucleotide isolieren, deren End-Phosphorsäure-Gruppe in 3'-Stellung haftet. Das Vorliegen von triphosphorylierter Ribose in der intakten RNS-Moleköl ist anzunehmen. Für native RNS kann man nach diesen Untersuchungen folgende Struktur annehmen, mit der auch die Abbauversuche die Anderson und Mitarb. an der methylierten RNS unternahmen, übereinstimmen³⁴).



Struktur der Ribonucleinsäure

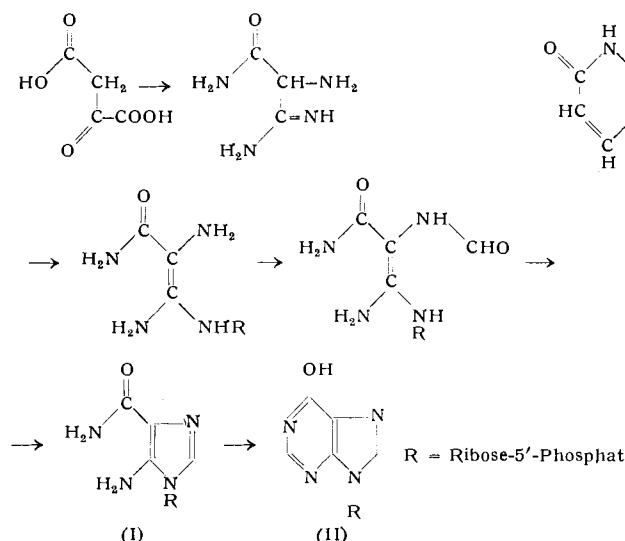
³²) J. biol. Chemistry 195, 49 [1952].

³³) J. Chem. Soc. [London] 1952, 52.

³⁴) Ebenda 1952, 396.

Die DNS ist wesentlich höher molekular als die RNS und auch weniger verzweigt. Auch ihr fermentativer Abbau gibt Dinucleotide, die zur Aufhellung der Struktur dienen werden. *J. D. Smith* (Cambridge) zeigte dadurch, daß die Reste in der DNS 3',5'-nucleotidisch verbunden sind, z. B. ist das Dinucleotid AC ein 3'-(Adenosin-5'-phosphat)ester-5'-phosphat, wie weitere enzymatische und chemische Abbauversuche erweisen. Der „Kern“ der DNS hat eine mittlere Kettenlänge von 5–6 Nucleotid-Resten. Eine reine DNS ist das „transformierende Prinzip“ der Influenza-Bazillen (*S. Zamenhoff* (New York)), die gen-artige Substanz, deren Zusatz zu Glatt-Formen der Pneumokokken diese vererblich in Rauh-Formen, d. h. kapseltragende Stämme, umwandelt und auch andere Änderungen von bestimmten Eigenschaften bewirken (*Avery*). *R. D. Hotchkiss* (New York) konnte durch ein entsprechendes Prinzip aus gegen Penicillin resistenten Pneumokokken-Stämmen deren Resistenz auf Penicillin-empfindliche Formen übertragen. Die Annahme dieser Eigenschaft erfolgt in mehreren etwa gleich hohen Stufen bis zur maximalen Widerstandskraft.

Der Stoffwechsel der Nucleinsäuren ist Gegenstand zahlreicher Untersuchungen. *G. B. Brown* und Mitarbb. (New York) fanden, daß bei *Lactobacillus casei* verfüttertes Adenin zunächst mit Ribose-phosphat zu einem Nucleotid kondensiert und dann erst in die Nucleinsäure eingebaut wird. Die b-Nucleotide werden im Stoffwechsel rascher verbraucht als die a-Formen und stellen sicher das primär gebildete 3'-Phosphat dar. Die Purine Adenin und Guanin wurden von *L. leichmanii* 315 nicht ineinander umgewandelt, wie *F. Weygand* (Heidelberg) berichtete. *E. Goldwasser* (Kopenhagen) brüttete Leberhomogenate mit hochaktivem Adenin-8-¹⁴C. Dies wird in die Nucleotid-Fraktion aufgenommen, ist in AMP, ADP und ATP in steigender Menge nachzuweisen, sowie in einem noch unbekannten Adenosinphosphat. Es wird zum Teil aus diesen Verbindungen, zu Hypoxanthin desaminiert, wieder abgespalten. Die rückläufige Aminierung untersuchte *J. Wajzer* (Paris) an Muskelextrakten, die bei der Erregung ATP in Inosin-monophosphat umwandeln. Die Reaktion verläuft ohne Zwischenstufen. Durch Verwendung von ³²P und ¹⁵N-Orotsäure, die der Vorläufer der Pyrimidine ist, zeigten *E. P. Anderson* und *S. E. G. Åqvist* (Stockholm), daß normale und regenerierende Leber DNS viel langsamer aufbaut als die Kern-RNS. Darüber hinaus hat die des Cytoplasmas einen beschleunigten Phosphat-Stoffwechsel. Der Zusammenhang von Protein-Aufbau mit dem Phosphat-Umsatz beim verstärkten Gewebeansatz wird dadurch unterstrichen. *R. Nimmo-Smith* (Oxford) untersuchte die Biosynthese der Purine (II) bei der Coli-Mutanten 8242. Es wurde nachgewiesen, daß die unmittelbare Vorstufe 4(5)-Amino-imidazol-5(4)-carbonsäure-Derivate (I) sind und der gesamte Vorgang etwa folgenden Verlauf nimmt, der wiederum den Zusammenhang auch der Nucleinsäure-Synthese mit dem Kohlehydratstoffwechsel illustriert:



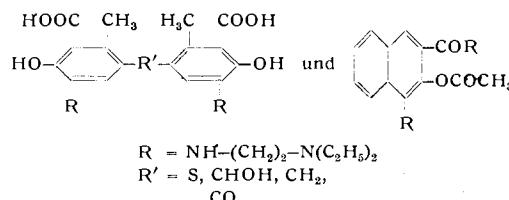
Tumoren sind rasch wachsende Gewebe mit verstärktem Nucleinsäure-Stoffwechsel. Durch dessen Blockierung kann folglich der Krebs beeinflußt werden. Am wirksamsten sind 2,6-Diaminopurin und 8-Azaadenin, die von *G. B. Elion* (New York) zu einem Vergleich im Stoffwechsel von *L. Casei* verwendet wurde. Sie greifen beide an der gleichen Stelle im Aufbau der Nucleinsäuren an. Die Carzinogenese durch aromatische Kohlenwasserstoffe sehen *K. J. Booth* und *E. Boyland* (London) in einer Kom-

plexbildung mit der DNS, so daß Chromosomenbrüche und Mutationen entstehen. Urethan dagegen hemmt die zur Thymin-Bildung notwendige Transmethylierung und schädigt dadurch das Gen-Material. Thymidin kann deshalb den Effekt aufheben und auch den von Vitamin B_{12} , das an der Übertragung von C_1 -Körpern beteiligt ist, nachahmen.

Über außerordentlich interessante Beziehungen zwischen Krebs und Vitamin B₁₂ berichtete D. W. Woolley (New York). Mäusejunge von Müttern mit spontanem Mammacarzinom vermögen einen Vitamin-B₁₂-Mangel länger auszuhalten als normale. Es wird daher angenommen, daß das Tumorgewebe, im Gegensatz zum normalen, den Wirkstoff in so großen Mengen synthetisiert, daß ein Depot für die nächste Generation geschaffen werden kann. Man müßte also durch spezielle Antimetaboliten des Vitamins B₁₂ gleichzeitig auch das neoplastische Gewebe, für dessen Stoffwechsel es die Grundbedingung ist, selektiv schädigen. Daß unendifferenziertes Gewebe in der Lage ist, einen notwendigen Stoff zu synthetisieren, während das differenzierte Strukturen nicht mehr vermögen, ist in der Botanik von Pflanzengallen und Cambium-Gewebe bekannt.

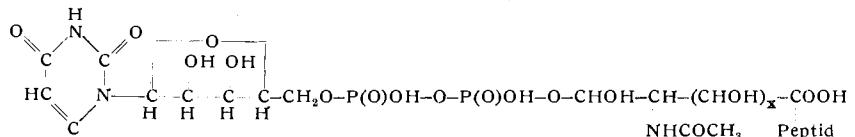
Zu den wirksamen Carzinogenen gehört 3,3'-Dioxy-benzidin, Fp 286° (K. R. Baker (Clayton, England)) sowie die im β -Naphthylamin enthaltenen Verunreinigungen 1,2,5,6-Dibenzphenazin, Pyren und 3,4,5,6-Dibenzarbazol (R. A. M. Case (London)). Hochgereinigtes β -Naphthylamin erzeugt keinen Krebs, wohl aber, nach D. B. Cleyton (London), sein Stoffwechselprodukt, β -Amino- α -naphtholsulfosäure oder β -Amino- α -naphthol.

Zur Chemotherapie des Krebses verwendet man Mitosegifte. Ein solches ist p-Oxypropiophenon, über dessen Wirkung *R. Truhaut* (Paris) und über dessen klinische Anwendung *H. Cramer* (Berlin) berichteten. *J. Scholler* und Mitarbb. (Washington) synthetisierten Antikrebs-Chemotherapeutica folgender Konstitution:



Sie sind wenig giftig und gegen Tiertumoren wirksam. Erfahrungen am Menschen wurden noch nicht gemacht.

J. F. Park (Camp Detrick, Maryland) fand, daß drei verschiedene Uridin-5'-pyrophosphat-aminozucker-Derivate sich während des Wachstums von *Streptococcus aureus* in Gegenwart von Penicillin anreichern. Diese labilen Phosphat-Verbindungen wurden aus Trichloressigsäure-Filtraten als Bariumsalze ausgefällt und durch Verteilungschromatographie getrennt. Die Struktur der einfachsten Verbindung ist in der Formel wiedergegeben:



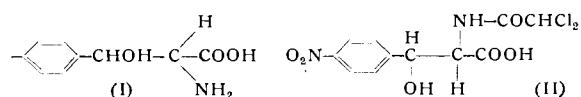
Der Zucker wurde noch nicht identifiziert. In der angegebenen Struktur müßte er jedoch überaus labil sein (*Chargaff*). Die anderen Verbindungen sind Peptide mit L-Lysin, D-Glutaminsäure und drei Alanin-Resten, von denen einer in der D-Form vorliegt. Diese Uridin-Verbindungen sind möglicherweise mit der Synthese von Nucleinsäuren und Proteinen verknüpft, an der die Penicillin-Wirkung angreift und über die *E. F. Gale* (Cambridge) referierte. Die zur Synthese notwendige Komplexbildung zwischen Nucleinsäure und den direkten Vorläufern des Proteins wird durch Penicillin gehemmt, die Ablösung des Proteins von der Matrize durch Chloromycetin. Die Zellwandpermeabilität hängt von Eigenschaften einer osmotischen Barriere in oder an der Oberfläche der Zellen ab. Sie wird durch oberflächenaktive Substanzen verändert. So bewirkt z. B. das Tyrocidin einen Austritt von Stickstoff- und Phosphor-haltigen Substanzen in das Kulturmedium. Unter ihnen findet man besonders freie Aminosäuren (Lysin) und freie Purine und Pyrimidine. Die Wirkung des Tyrocidins ist daher bei allen Klassen der Bakterien gleich und nicht reversibel. Die Aufnahme von Aminosäuren ist von gleichzeitigen Stoffwechselvorgängen abhängig. Substanzen, die den Abbau der Glucose hemmen, wie Jodessigsäure oder Fluoride, verhindern deshalb beispielsweise die Aufnahme der Glutaminsäure. Unter den Antibiotics zeigt das Patulin diesen Effekt. Auch Entkoppler der Atemkette greifen an dieser Stelle der Synthese von Zellbestandteilen ein. Beim Aureomycin konnte dies in Konzentrationen

von 100 μ /ml bewiesen werden, und auch Penicillin zeigt ähnliche Wirkungen. Die Bildung von Peptiden wird von keinem der bekannten Antibiotica unterbunden. Die Zusammenhänge zwischen Protein-Synthese und Nucleinsäure-Stoffwechsel sind komplizierter und die Aktion der Antibiotica in diesem System aus der Tabelle zu entnehmen:

Antibioticum	Nucleinsäure-Synthese	Protein-Synthese	Purin-stimulierte Protein-Synthese
Penicillin	x	(+)	x
Bacitracin	x	x	x
Aureomycin	x	+	+
Terramycin	—	+	+
Chloramphenicol	—	+	+
Neomycin	—	+	+
Streptomycin	—	x	—
Polymyxin	—	—	—

- + merkliche Hemmung bei Grenz-Konzentration der Wirksamkeit.
- (+) merkliche Hemmung nur bei Wachstum in Gegenwart des Antibioticums
- x Hemmung bei 100-1000facher Überdosierung.
- keine Hemmung

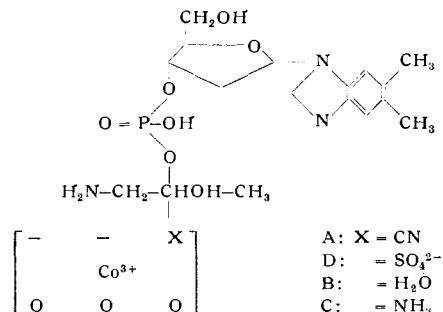
D. Bilié und C. Marnay (Paris) untersuchten Strukturanaloga des „Chloromyctins“ (Chloramphenicols) und konnten zeigen, daß nur solche Phenylserin-Derivate (I) wirksam sind, die die gleiche Threo-Konfiguration haben wie „Chloromyctin“ (II) und das D-Serin, dessen Hemmwirkung auf die Kreuzung von Coli-Bakterien bemerkenswert ist.



Vitamine, Fermente, Hormone

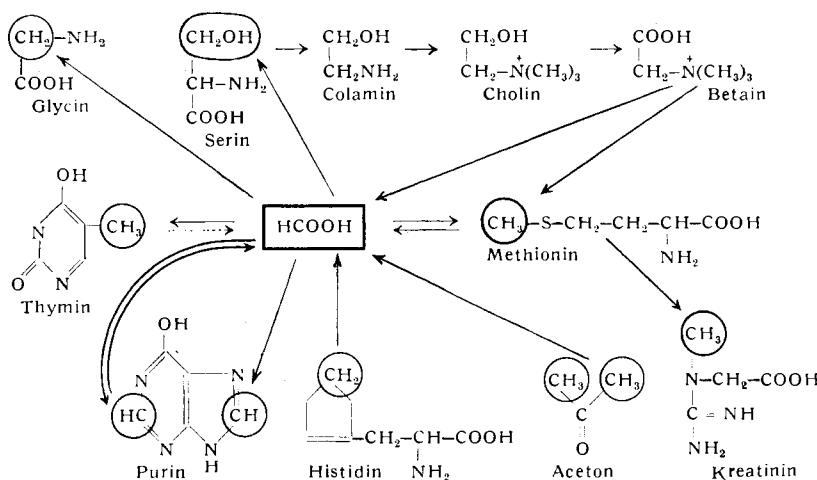
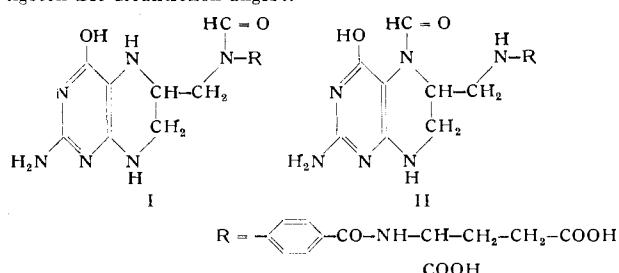
Fortschritte in der Chemie der Vitamin B₁₂-Gruppe wurden von H. G. Wijmenga (Oss, Holland) behandelt: B₁₂ ist ein Anämieverhindernder Kobalt-Komplex, der ein Dimethyl-benzimidazol-Nucleosid enthält. Dies ist über 1-Amino-propan-2-ol mit der planaren „roten Säure“, C₄₀-C₄₃H₅₃-N₉O₄Co, dem eigentlichen Kobalt-haltigen Anteil verbunden. Das Metall ist diamagnetisch, es ist also trivalent und von sechs Gruppen in oktaedrischer Anordnung umgeben. Der Grundkörper des Vitamins B₁₂ wird Cobalamin genannt. Die Nomenklatur ergibt sich aus den in der „roten Säure“ enthaltenen ionogenen oder homöopolaren Komplex-Partner. Die Substanzen der Gruppe A enthalten Cyanid, Nitrit, Sulfat oder andere Anionen, die der Gruppe B Wasser, Ammoniak oder derartige ungeladene Moleküle. Dementsprechend ist der Komplex in diesem Fall einfach positiv (B), im ersten ungeladen (A), aber beim Sulfatocobalamin ein einwertiges Anion (D). Das Spektrum der Grund-Verbindung zeigt Maxima bei 550, 361 und 278 m μ . Aus Pferdemist konnte ein sehr aktives Präparat, Vitamin B_{12m} erhalten werden, dessen Struktur noch unbekannt ist. Es wird diskutiert, ob es sich bei der „roten Säure“ um ein Porphyrin-Derivat handelt. Anhaltspunkte, die entsprechend gedeutet werden könnten, bestehen. Eine Anzahl aktiver B₁₂-Faktoren (A-...D) fanden M. E. Coates und Mitarb. (Shinfield, England) im Darminhalt des Kalbes. Wegen der großen Menge B₁₂-artiger und -ähnlicher Substanzen, die im Lauf der letzten zwei Jahre aus den verschiedensten biologischen Quellen von verschiedener Seite isoliert wurde, ist das Nomenklaturproblem sehr akut. Es zeigt sich immer wieder, daß die gleichen Substanzen unter verschiedenem Namen geführt werden. Die Pseudo-Vitamine B₁₂ enthalten an Stelle des Benzimidazols Adenin. Sie sind inaktiv in der speziellen Funktion des Faktors, der bei der Übertragung von C₁-Körpern („aktives Formiat“) zusammen mit der Gruppe der Folsäure an biosynthetisch entscheidender Stelle steht. Es wird angenommen, daß das im Komplex enthaltene Cyanid der eigentliche

C_1 -Körper ist, der in die, i. a. mit Ameisensäure formulierten, Reaktionen eintritt.



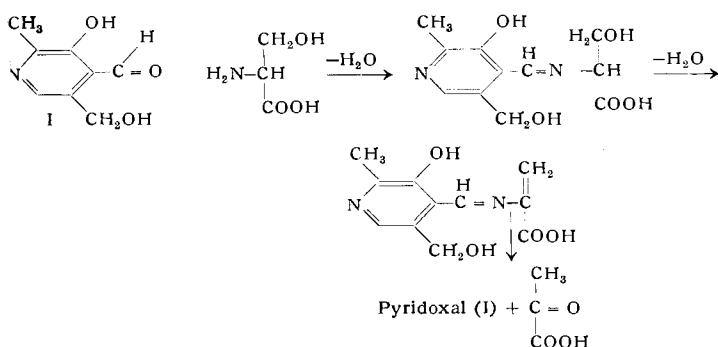
Die Bindung des Vitamins in vivo untersuchte *E. Lester Smith* (Greenford, England) mit ^{60}Co und ^{32}P . Er erhielt ein markiertes Vitamin, das bei der intravenösen Verabreichung rasch in Leber, Milz und Knochenmark übergeht und dort monatelang gespeichert wird. Zur Aufnahme oral gegebenen Vitamins B_{12} ist der „intrinsic factor“ von *Castle* notwendig. Dieser ist nach *A. D. Welch* und Mitarb. (Cleveland, Ohio) ein hitzelabiles Protein. *E. Hoff-Jørgenson* (Kopenhagen) glaubt, daß er dazu dient, die Aufnahme des Vitamins durch die im oberen Darm reichlich vorkommende Coli-Keime zu verhindern und damit die Ausnutzung für den Menschen zu verbessern. Patienten mit perniziöser Anämie scheiden 90 % des verabreichten B_{12} wieder aus. Das resorbierte Vitamin wird vom Protein des Magensaftes, der Schleimhaut und des Serums in die blutbildenden Gebiete des Knochenmarks gebracht. *C. C. Ungle* und Mitarb. (London) konnten diesen Weg durch papierchromatographische Verfolgung des resorbierten Vitamins sichern.

Die zur Blutbildung notwendigen weiteren Faktoren gehören der Pteroylglutaminsäure-Gruppe an. E. L. R. Stokstad (Pearl River N.Y.) berichtete, daß der „Citrovorum-Faktor“ (I) und die Folininsäure (II) Derivate der Folsäure sind, und zwar besitzen sie die beiden unten angegebenen Strukturen. In diesen Verbindungen hat man die eigentliche aktive Ameisensäure vor sich. Ihre biologische Wirkung ist die Übertragung des „C₁-Körpers“, wie es das nachstehende Schema für eine Reihe der wichtigsten Bio-Reaktionen angibt.



Einige Schritte sind, wie ersichtlich, reversibel. Die wichtigsten sind die Transmethylierungen, bei denen das Methionin die Schlüsselstellung einnimmt. Die Biosynthese dieser Aminosäure verläuft über das Serin, wie *F. Gibson* (Oxford) an einer Mutante von *E. coli* zeigte. Dieser Stamm kann Homoserin nur in Gegenwart von Serin und Vitamin B_{12} oder Para-aminobenzoësäure

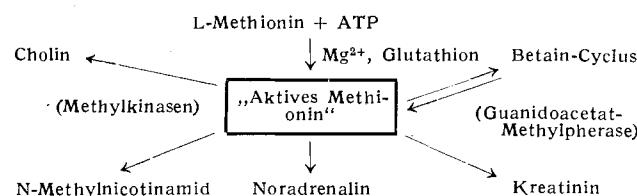
methylieren. Cholin, Betain, Glykokoll oder Formiat sind wirkungslos. Weitere Reaktionen des Serins wurden von *E. D. Sprinson* (New York) am dreifach markierten ($D, ^{14}C(\beta), ^{15}N$) Serin ermittelt. Die Methyl-Gruppe des Cholins und Thymins geht aus dem β -C des Serins hervor. Verschiedenheiten in der Isotopenverteilung werden durch sterische Betrachtungen erklärt. In analogen Versuchen an der Ratte konnten *H. R. V. Arnstein* und *A. Neuberger* (London) die Herkunft der Methyl-Gruppen des Cholins und Betains aus dem β -C des Serins oder aus Formiat beweisen. Vitamin B_{12} spielt hierbei keine fördernde Rolle. Serin wird unter der Wirkung von Vitamin B_6 in Brenztraubensäure verwandelt. Der Mechanismus ist nach *E. E. Snell* (Austin, Tex.) folgender:



Analog wird Cystein zu Brenztraubensäure, Ammoniak und Schwefelwasserstoff abgebaut.

Als wirksamste Methyl-Donatoren an Homocystein sind die Thetine ($(CH_3)_2S^+-CH_2COO^-$) bekannt. Nach Abgabe der Methyl-Gruppe entsteht S-Methylthioglykolsäure, die rasch zu Sulfat oxydiert wird (*G. A. Maw* (London)). Im Schwefel-Stoffwechsel wirkt ein neu entdeckter Cofaktor, der von *Th. P. Singer* und *E. B. Kearney* (Paris) Coenzym III genannt wird. Er findet sich in Hefe und katalysiert die Oxydation der Cysteinsulfinsäure zu Cysteinsäure und die Dehydrierung der β -Sulfinyl-essigsäure. Diese wird dann zu Essigsäure und Sulfat hydrolysiert. Die Wirkgruppe wurde als Nicotinamid-ribose-5-pyrophosphat identifiziert.

Zur Methylierung durch Methionin ist ATP erforderlich. Das „aktive Methionin“ wurde von *G. L. Cantoni* (Cleveland, Ohio) chromatographisch isoliert. Es ist die Methylsulfonium-Verbindung des Adenosins und Methionins. Eines seiner Abbauprodukte ist vermutlich die seit längerem bekannte Thiomethylribose. Seine Methylierungs-Reaktionen zeigt das folgende Diagramm:



Das zur Kreatinin-Synthese notwendige Enzym beschreibt *V. du Vigneaud* (New York). Es wurde durch Ammonsulfat-Fällung und Adsorption aus Schweinelebern erhalten. Es wird nicht durch Cyanid gehemmt, aber durch Reduktionsmittel aktiviert. Sein Wirkungsmaximum liegt bei pH 5,0. Das Ferment ist sehr spezifisch. Es katalysiert die Phosphorylierung von Kreatinin nicht. In Gegenwart von BAL, Glutathion oder Cystein, Guanido-essigsäure, ATP und Methionin werden bei Raumtemperatur 0,001 Mol Kreatinin binnen 45 min gebildet.

Protein-Hormone

Der Hypophysen-Vorderlappen enthält sechs Hormone, die sich in zwei Gruppen ordnen lassen: 1) Gonadotrope Hormone mit dem Follikel-stimulierenden, dem Interstitialzell-stimulierenden und dem Lactogenen Hormon. 2) Adenotrope Hormone, zu denen das Somatotrope (SH), das Adenocorticotrope (ACTH) und das Thyreotrope (TH) Hormon zählen.

Ch. H. Li (Berkeley) isolierte das SH und das ACTH. SH ist ein in Wasser wenig lösliches Protein, isoelektrischer Punkt 6,85, Mol.-Gew. 44000. Es besteht aus zwei Ketten, deren terminale Amino-Gruppen von Alanin und Phenylalanin gebildet werden. Die gleichen Aminosäuren bilden das C-Ende. Dem Protein oder einem Teil davon kommen die Eigenschaften zu, die früher den diabetogenen, glycotropen, glycostatischen usw. Prinzipien zugeschrieben wurden. Für seine biologische Wirksamkeit sind Tyrosin-

Reste wichtig. Seine Wirkungen sind vor allem Förderung des Eiweiß-Ansatzes, Knochenwachstum und Retention von Natrium- und Kalium-Ionen.

Die Wirkgruppe des ACTH ist ein relativ niedermolekulares Polypeptid vom Mol.-Gew. unter 2000. Es enthält keine Thio- oder Oxy-Aminosäuren, sein isoelektrischer Punkt liegt bei etwa 9. Nach *F. G. Young* (Cambridge) sind für die Wirkung des SH freie ϵ -Amino-Gruppen des Lysins erforderlich. Das Hormon wirkt bei jungen normalen Tieren wachstumsfördernd, bei diabetischen erst nach Insulin-Gabe. Bei Erwachsenen ist es diabetogen, bei Alloxan-diabetischen Tieren, deren Hypophysen und Nebennieren entfernt sind, kann man mit SH Hyperglycämie auslösen, die ihren Ursprung in den α -Zellen der *Langerhansschen* Inseln hat. Wachstum hängt also von einem ausbalancierten Antagonismus zwischen SH und Insulin ab. Wenn aus einer der angegebenen experimentellen oder pathologischen Ursachen kein Wachstum eintreten kann, wird das zum Eiweiß-Ansatz bereitgehaltene Material als Zucker ausgeschieden.

Auch die Wirkung der Hormone auf die Milchdrüse ist ein komplexer Vorgang. Hier ist zwischen dem Beginn der Milchabsondierung (Lactogenese) und der Milchproduktion (Galactopoese) zu unterscheiden. Den ersten Schritt vermittelt das Prolactin, den zweiten die generell trophisch wirkenden Hormone des Hypophysen-Vorderlappens. *J. S. Folley* (Reading, England) fand mit reifem Milchdrüsengewebe *in vitro* durch Prolactin weder eine Steigerung des Respirationsquotienten (RQ), noch vermehrte Fettsynthese (FS). Der RQ konnte durch Cortison erhöht werden. Das beweist, daß *in vivo* an der lactogenen Wirkung ACTH beteiligt ist, als dessen Erfolgsprodukt das Cortison anzusehen ist. Bei adrenalektomierten Tieren muß, um die Galactopoese aufrechtzuerhalten, Cortison (0,7 mg/Tag) und DOCA (0,4 mg/Tag) zugesetzt werden. Weiter ist SH notwendig, das ganz allgemein eine sekretionsfördernde Wirkung hat und Nährstoffe vor nutzloser Oxydation schützt.

Die Wirkung des Insulins auf die Galactopoese kann durch Glycerin ersetzt werden. Da dieses durch Insulin vermehrt gebildet wird, ist dessen Effekt damit verständlich. Cortison hemmt die Insulin-Wirkung, da wiederum ein Antagonismus zwischen Inselorgan und Nebennieren-Rinde besteht.

Die Hormone des Hypophysen-Hinterlappens (HHL), Oxytoxin und Vasopressin erhielt *V. du Vigneaud* (New York) durch Gegenstrom-Verteilung von rohen HHL-Extrakten. Sie bestehen aus 8 verschiedenen Aminosäuren und 3 Mol Ammoniak, wie aus der Tabelle zu entnehmen ist, in folgender Verteilung:

	Oxytoxin	Vasopressin
Leucin	1	—
Isoleucin	1	—
Phenylalanin	—	1
Tyrosin	1	1
Prolin	1	1
Glutaminsäure	1	1
Asparaginsäure	1	1
Glycin	1	1
Ammoniak	3	3
Arginin	—	1
Cystin	1	1

Oxydation mit Perameisensäure, Entschwefelung mit Raney-Nickel und Kupplung mit Dinitrofluorbenzol machen es wahrscheinlich, daß beide Hormone cyclisch unter Einschluß der Disulfid-Bindung gebaut sind.

Die Biosynthese des Thyroxins und die Natur des zirkulierenden Hormons wurde von *M. Michel* (Paris) im Zusammenhang behandelt³⁵⁾. Interessant ist die Beobachtung von *J. Gross* und *R. Pitt-Rivers* (London), daß das im Thyroxin gefundene 3,3',5-Trijodthyronin mehrmals wirksamer ist als das Schilddrüsenhormon selbst. Trijod-thyronin ist identisch mit einer bereits früher von *J. Roche* beschriebenen Jod-haltigen Substanz aus Plasma und dem Butanol-Extrakt unhydrolysiertes Schilddrüse³⁶⁾.

Thyroxin beeinflußt nach *C. Martius* (Tübingen) die ärope Phosphorylierung der Rattenleber-Mitochondrien in der gleichen Weise wie Dinitrophenol (*Zoomis* u. *Lipmann*), d. h. es wirkt entkoppelnd auf die Atemketten-Phosphorylierung. Die Wirkung ist ziemlich spezifisch: L-Thyroxin ist drei Mal wirksamer als der D-Antipode innerhalb der Konzentration von 10^{-3} bis 10^{-5} molar, gelöst in isotonischer Kochsalzlösung³⁷⁾. *H. A. Lardy* (Madison, Wisc.) gründet auf dieser Eigenschaft des Thyroxins eine Bestimmungs-Methode der Thyroxin-Wirksamkeit, bei der der

³⁵⁾ Vgl. diese Ztschr. 63, 570 [1951].

³⁶⁾ C. R. hebdo. Séances Acad. Sci. 232, 2047 [1951].

³⁷⁾ Vgl. diese Ztschr. 64, 513 [1952].

Phosphat-Umsatz in Gegenwart von anorganischem ^{32}P gemessen wird. *F. Lipmann* und *Ch. H. Dutois* (Boston, Mass.) konnten diese Befunde nicht erheben. Bei *in vitro* oder mit Mitochondrien-thyroxin vorbehandelten Ratten konnte keine Wirkung auf den Austausch zwischen ^{32}P und ATP erhalten werden. Als Substrat dient β -Oxybuttersäure bei 20°/15 min. Das steht jedoch nicht im Gegensatz zu der Anschauung von *Martius*, da die Permeabilität der Mitochondrien für mehrfach geladene Körper eine solche Untersuchung erschwert.

Mit der Anti-Thyroxin-Substanz 3,5-Dijod-4-benzyl-oxybenzoësäure in Konzentrationen von 10^{-4} bis 10^{-5} wird völlige Hemmung der Phosphorylierung beobachtet. Das Tetranitro-Analoge des Thyroxins hat etwa 0,1 % von dessen Schilddrüsenwirksamkeit. Hierzu ist vierfache negative Substitution des Thyronins notwendig, da auch sein Tetrabrom-Derivat Thyroxin ersetzen kann.

Eine Urin-Bestimmungsmethode für Parathormon wird von *M. A. Davies* (London) angegeben. Sie beruht darauf, daß bei Nebenschilddrüsen-losen Ratte-Gaben des Hormons einen starken Anstieg des Urin-Phosphats bewirken. 0,1 USP-Einheiten zeigen diesen Effekt noch nicht. Mit höheren Dosen stieg er bis zum Maximum bei 3 Einheiten. Der Phosphor-Wert lag dann 2 bis 3 mal höher als bei den Kontrollen. Mit dieser Methode wurden Extrakte geprüft, die *A. H. Gordon* (London) aus Ochsen-drüsen herstellte. Nach Aceton-Fällung wurde in Gegenwart von stabilisierenden Calcium-Ionen eine präparative Elektrophorese in einem mit Stärke gefüllten Trog bei pH 6 ausgeführt, die eine Trennung in drei Fraktionen gab. Die am raschesten wandernde Substanz ($7 \times 10^{-5} \text{ em}^2/\text{V} \cdot \text{sec}$) hatte bereits mit 1γ je Ratte die höchste Wirksamkeit.

Biogene Amine

Die eigentliche adrenergische Substanz ist das Noradrenalin³⁸. Methoden zur Isolierung und Bestimmung besprach *U. S. von Euler* (Stockholm). Zur Trennung von Adrenalin ist die Ionen-austauscher-Chromatographie am geeigneten. Die Wirkungen des Amins sind:

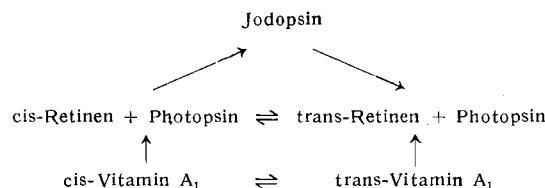
- 1) Stimulierung des Zell-Stoffwechsels, spezifisch des der Zuckers (Anti-Insulin-Effekt).
 - 2) Regulierung der Blut-Zufuhr und damit des Sauerstoff-Verbrauchs³⁹.
 - 3) Beeinflussung der Muskelaktivität.
- Durch Adrenalin wird ACTH vermehrt ausgeschüttet. Als Antagonist wirkt Dihydro-ergotamin. Die biologische Inaktivierung erfolgt durch Oxydation mittels Amin-, Catechol- oder Cyto-

³⁸) *Holtz* c. s., Arch. exp. Path. Pharmakol. 204, 228 [1947].

³⁹) *Bearn*, c. s., J. Physiol. 185, 430 [1951].

chrom-Oxydase und Ausscheidung als Glucuronat⁴⁰). Über die Biosynthese ist bis auf Dioxophenyl-serin nichts bekannt. Die anderen peripheren biologisch wirksamen Amine, Octopin (p-Oxyphenyl-äthanolamin)⁴¹), Serotonin (5-Oxy-tryptamin)⁴² und die Coenzym A-Bruchstücke Cysteamin und Cystinamin, schützen den Körper vor Strahlenschäden, besonders solchen durch Röntgenstrahlen. Sie setzen Histamin in Leber, Muskeln und Haut frei. (Z. M. Baer (Lüttich).)

Einen Beitrag zum Vorgang des Farbensehens gab *G. Wald* (Cambridge, Mass.). Das lichtempfindliche Pigment ist Jodopsin. Es unterscheidet sich vom Rhodopsin aus Stäbchen (Maximum 500 $\text{m}\mu$) durch die Lage seines Absorptions-Maximums bei 562 $\text{m}\mu$. Es bleicht deshalb im roten Licht, das Rhodopsin nicht verändert. Dabei entsteht ein Protein (Photopsin) und inaktives all-trans-Retinen. Durch die in der Retina enthaltene, Cozymase brauchende Reduktase geht dies in Vitamin A über. Die Carotinoid-Hälfte der Moleküle Jodopsin und Rhodopsin ist also identisch, dagegen sind die Proteine verschieden. Das Zapfen-Protein wird Photopsin genannt, das der Stäbchen Skotopsin. Jodopsin bildet sich aus Mischungen dieser Proteine mit Vitamin A und dem oxydierenden System schneller als Rhodopsin. Das Zeitverhältnis beträgt 10 zu 90 min; dementsprechend ist auch die Dunkeladaptation in den Zapfen rascher. Zuvor muß aber der Vitamin A-Aldehyd in das spezifische cis-Isomere umgewandelt werden. Dies wurde von *R. Hubbard* (Cambridge, Mass.) kristallin erhalten. Es ist der mono-cis- α -Aldehyd. Er reagiert als einziger von den möglichen vier Isomeren rasch und vollständig mit Photopsin.



Während der Tagung wurde eine feierliche Gedenksitzung zu Ehren von *Otto Meyerhof* veranstaltet, bei der *D. Nachmannsohn* und *A. von Muralt* die Gedenkreden und *S. Ochoa* einen Plenar-Vortrag über die Mechanismen der Kohlensäure-Fixierung hielten. In der Schluß-Sitzung verlasen *A. Tisarius*, *S. Ochoa*, *R. A. Peters* und *A. Oparin* Dankadressen. Der Vorsitzende des Kongresses, *R. Fabre*, gab bekannt, daß der III. Biochemische Kongreß 1955 in Brüssel stattfinden wird. —J. [VB 418]

⁴⁰) Vgl. diese Ztschr. 63, 147 [1951].

⁴¹) *V. Ersperer*, Nature [London] 169, 275 [1952].

⁴²) *Rapport*, c. s., J. biol. Chemistry 176, 1234 [1948].

Rundschau

Ein neues Molybdän-Carbid erhielten *K. Kuo* und *G. Hägg* bei der Carburierung von Molybdän mit Kohlenoxyd. Dieses Carbid ist hexagonal, die Einheitszelle enthält 4 Molybdän-Atome. Es entspricht wahrscheinlich der Formel MoC und hat ein dem Wolfram-Borid W_2B_5 ähnelndes Gitter. (Nature [London] 170, 245 [1952]). —J. (683)

Die Darstellung eines Sauerstoff-Clathrats des β -Chinols beschreiben *D. F. Evans* und *R. E. Richards*. Eine warme gesättigte Lösung von Chinol in luftfreiem Alkohol wurde in einer Monel-Metallbombe unter einem Sauerstoff-Druck von 25 bis 40 atm, langsam abgekühlt. Es wurden schwach gelbe Kristalle erhalten, die beim Lösen in Wasser Gas entwickelten. Seine Menge entsprach einer Clathrat-Verbindung bei der 40 bis 50 % der „Käfige“ besetzt waren. Das Gas enthielt 97,6 % Sauerstoff. Die Verbindung ist paramagnetisch; zwischen den Sauerstoff-Molekülen im Kristall ist also nur eine geringe Beeinflussung. Diese Clathrat-Verbindungen sind sehr geeignet, um die magnetischen Eigenschaften von Gasen zu untersuchen, die in ihnen unter beträchtlichem Druck enthalten sind. (Nature [London] 170, 246 [1952]). —J. (682)

Tetrafluoräthylen absorbiert die Quecksilberlinie 2537 Å. Diese Reaktion führt zur Polymerisation des Fluorkohlenwasserstoffes, wie *B. Atkinson* fand. Die Hauptprodukte sind bei 30° Hexafluoro-cyclopropan und Polytetrafluor-äthylen; die Quantenausbeute beträgt 0,37. Die Ausbeute an Hexafluoro-cyclopropan steigt mit steigendem Druck. Bei hohen Drucken erniedrigt aber eine Steigerung der Strahlenintensität die Quantenausbeute. Die

Resultate lassen sich durch einen Kettenmechanismus gut wiedergeben, bei dem zunächst Tetrafluoräthylen in Difluormethylen gespalten und die freien Radikale an Tetrafluoräthylen angelagert werden, um das Hexafluorecyclopropan zu bilden oder die Polymerisation zu starten. (J. Chem. Soc. [London] 1952, 2684). —J. (681)

Ein basisches dreikerniges Rutheniumacetat der Formel $[\text{Ru}_3(\text{OAc})_6(\text{OH}_2)_2](\text{OAc})$, 7 H_2O erhielt *F. S. Martin* bei der Reduktion von Ruthenium-tetroxyd mit Acetaldehyd in Eisessig-Tetrachlorkohlenstoff als intensiv dunkelblaue unlöslichen Niederschlag. Der Komplex löst sich in Pyridin zu einer blauen Lösung, die intensiv grün beim Erwärmen wird. Die grüne wäßrige Lösung des Pyridin-Derivats gibt mit Platinchlorwasserstoffsaure ein blaugrünes Salz von der Zusammensetzung $[\text{Ru}_3(\text{OAc})_6(\text{C}_5\text{H}_5\text{N})_5]\text{Cl}$, PtCl_6 , 7 H_2O . Die Wertigkeit des Rutheniums in diesen Verbindungen wurde durch Oxydation mit einer bekannten Menge Cer(IV)-sulfat bestimmt. Nach dem Abdestillieren des flüchtigen Ruthenium(VIII)-oxyds wurde das restliche Cer(IV)-Ion zurücktitriert. Diese Ruthenium-Komplexe sind den von *Weinland* beschriebenen des Chroms und Eisens analog und genau so zu formulieren. (J. Chem. Soc. [London] 1952, 2682). —J. (680)

Homopiperidazine (Diazepine), eine neue Klasse von Siebener-Ringen stellten *C. G. Overberger* und Mitarbb. im Verlauf von Arbeiten über Azonitrile dar. Die Reaktion von Heptandion-2,6 und seiner Homologen mit Natriumcyanid und überschüssigem Hydrazinsulfat in wäßrigem Medium bei Raumtemperatur ergab in ca. 35 % Ausbeute 3,7-Dicyano-3,7-dimethyl-homopiperidazin