

# Deutsche Gesellschaft für Physiologische Chemie

Hamburg, den 25. bis 27. September 1952

Die Tagung der Gesellschaft fand im Universitätskrankenhaus Eppendorf statt. Die gleichzeitig tagende *Deutsche Gesellschaft für Neurologie* verband einen Teil ihrer Vorträge mit dem Programm der Physiologischen Chemiker, wodurch einige spezielle, klinisch-diagnostische Probleme, besonders zahlreiche Ergebnisse der papierelektrophoretischen Eiweiß-Analyse diskutiert wurden. Den Tagungsvorsitz führte Prof. Dr. J. Kühnau, der in seiner Begrüßungsansprache die Notwendigkeit und Nützlichkeit der nationalen Tagungen betonte, da sie eine vertraulichere Besprechung der Themen erlaubten, als sie auf den großen internationalen Kongressen möglich ist. Er begründete damit den Entschluß der Gesellschaft, die Tagung, trotz des wenigen Wochen vorher stattgehabten Internationalen Biochemie-Kongresses in Paris, abzuhalten, und sprach die Hoffnung aus, daß Verlauf und Ergebnisse der Tagung diesen Entschluß rechtfertigten.

In der gemeinsamen Eröffnungs-Sitzung der beiden Gesellschaften wurden biochemische und medizinische Probleme des Nervensystems behandelt.

## Nervensystem und Zellstoffwechsel

In einem zusammenfassenden Referat berichtete E. Klenk (Köln) über den chemischen Aufbau des Nervensystems nach eigenen Arbeiten. Eine besonders wichtige Aufgabe kommt den Lipoiden zu. Etwa die Hälfte der Trockensubstanz des Gehirns ist lipoider Natur, ein Gemisch von Cholesterin, Glycerinphosphatiden, Sphingomyelin und Cerebroiden. Unter den Glycerinphosphatiden unterscheidet man Lecithin, Kephalin, Serin-Kephalin<sup>1)</sup> und Acetal-phosphatide<sup>2)</sup>. Eigentliche Kephaline sind bisher noch nicht isoliert worden; es sind vermutlich höhernukleare Acetalphosphatide mit Colamin. Die in den Glycerinphosphatiden vorkommenden Aldehyde haben eine Kettenlänge von 14–18 C-Atomen, die Säuren bis zu 22 C-Atomen. Die Hauptmenge der Lipide ist in der Markscheide lokalisiert. Sie besteht aus vielen übereinander gelagerten zylindrischen Schichten von Lipoid und Eiweiß. Erstere sind so aufgerichtet, daß die hydrophoben Paraffinketten in radiärer Stellung den inneren Teil jeder Schicht bilden, während die hydrophilen Gruppen nach außen gerichtet sind und in die wäßrige Eiweiß-Schicht hineinragen. Die Lipoid-Schichten bilden eine polarisierbare Membran, und den Sitz der Potential-Spannung, durch deren Schwankungen Ruhe- und Aktions-Strom des Nerven hervorgerufen werden. Die chemische Zusammensetzung der Lipide ist von großer Bedeutung für die Größe des Potentials. Serin-Kephalin und die Schwefelsäure-Ester der Cerebroide haben ihren isoelektrischen Punkt mehr oder weniger weit im sauren Gebiet, Lecithin und Sphingomyelin im schwach alkalischen. Bilden die sauren Lipide die eine Seite der Membran, die basischen die andere, entsteht ein hohes Potential auch dann, wenn auf beiden Seiten das gleiche pH und die gleiche Elektrolytkonzentration herrschen. Die Aufrechterhaltung dieser Struktur erfordert Energie und erklärt den Ruhestoffwechsel des Gehirns.

Da die bisherigen Verfahren der Acetalphosphatid-Bestimmung<sup>3)</sup> zu niedrige Werte geben, entwickelte F. Leupold (Kiel) eine Methode zur Serum-Bestimmung. Als Modellsubstanzen wurde reiner Palmitin- und Stearin-Aldehyd nach Rosenmund synthetisiert. Die daraus dargestellten Dimethylacetale lassen sich durch 90 proz. Essigsäure quantitativ spalten. Die Kinetik wurde UV-spektroskopisch verfolgt.

Der Energiestoffwechsel des Nervengewebes wurde von H. Weil-Malherbe (Wickford, Essex) besprochen. Er ist grundsätzlich der gleiche wie der anderer Zellen und wird hauptsächlich durch Verbrauch von Kohlenhydraten gedeckt. Gehirn-Schnitte vermögen aber in Glucose-freiem Medium beträchtliche Mengen Ammoniak zu entbinden, und zwar je Stunde und 100 g Frischgewicht 5–10 mg NH<sub>3</sub>. Das Ammoniak stammt aus einem proteolytischen Prozeß aus Glutaminsäure (GS), die es wiederum bei der Desaminierung der Adenylysäure aufnimmt. Als besonderes Ferment des Stoffwechsels kommt im Gehirn die GS-dehydrogenase vor, die auf die zentrale Rolle der Glutaminsäure hinweist. Das Potential der Reaktion liegt zu Gunsten der GS-

Synthese. Die atmende Hirnzelle besitzt alle Glieder des Citronensäure-Cyclus, also auch  $\alpha$ -Ketoglutaräure in bestimmter Konzentration. Tritt Ammoniak auf, kommt es zwangsläufig zur reduktiven Aminierung der Ketoglutaräure. Dadurch wird das Nervengift, das als Abfallprodukt der Atemkette anfällt, beseitigt. Gehirnschnitte sind imstande, GS in Gegenwart von Glucose und Sauerstoff, entgegen einem Konzentrationsgefälle, anzureichern. Glucose ist erforderlich, da die GS-Oxydation nicht die nötige Energie liefern kann. Enthält das Suspensions-Medium K<sup>+</sup>-Ionen, werden diese mit der GS zusammen in die Zelle eingeführt. Jedoch ist die Anreicherung der GS von Kalium unabhängig; dieses ist nur das Kation, das sich vorzugsweise mit der GS verbindet. Die GS hat in relativ kleinen Mengen auch noch eine Blutzucker senkende Wirkung, die auch Arginin, Glykokoll und p-Aminobenzoesäure aufweisen. Es konnte in allen diesen Fällen gezeigt werden, daß der Beseitigung eines hypoglycämischen Schocks durch solche Aminosäuren ein Anstieg des Adrenalin im Blut vorangeht. Die Wirkung der Glutaminsäure geht also über das Nebennierenmark.

Die synthetischen Fähigkeiten des Zellkerns untersuchte K. Lang (Mainz). Isolierte Zellkerne vermögen Peptid-Bindungen herzustellen und bauen in vitro  $\beta$ -<sup>14</sup>C-Glykokoll in das Eiweiß ein. Die Aktivitätsverteilung ist folgende: Lipoide 210, Nucleotide 431, Protein 29. Damit ist der endgültige Beweis erbracht für die Fähigkeit des Kerns, Eiweiß zu synthetisieren, das z. B. im Pankreas das 40fache des Kern-Gewichtes betragen kann. Die beträchtliche Aktivität der Lipoide beruht auf der Umwandlung des Glykokolls zu Serin, Äthanolamin und Cholin, die Aktivität der Nucleotide auf dem Einbau der Moleköl in den Purin-Kern, deren Aufbau in der Zelle damit klar ist. Das synthetisierte Eiweiß ist Ferment-Eiweiß. Ein Teil davon, wie die Leber-Arginase, liegt allerdings völlig inaktiv vor, da die notwendigen Metall-Ionen in ungenügender Menge vorhanden sind. In Pankreas-Kernen entstehen Trypsin und Lipase. Die Lipasen der verschiedenen Organe unterscheiden sich in ihrer Hemmbarkeit durch Atoxyl und Chinin, sind aber jeweils in Zellkern und Zellplasma gleich, sie stehen also in einem genetischen Zusammenhang. Pankreas-Kerne enthalten vier- bis fünfmal mehr Trypsin als das Plasma; es ist aber vollkommen gehemmt und wird erst durch Behandlung mit Enterokinase aktiv. Der Zellkern bildet das Fermentprotein und gibt es in das Cytoplasma ab. Zu analogen Ergebnissen kommt G. Siebert (Mainz) durch Verwendung von <sup>32</sup>P. Dieser wird in vitro von Zell-Kernen aufgenommen und in organische Bindung gebracht. Die energetische Seite des Vorgangs ist noch unklar. In Gegenwart von ATP entsteht hochaktives Glucose-1-phosphat, dagegen wird die Synthese von Nucleotiden und Proteinen dadurch nicht gefördert. Diese nehmen den Phosphor rascher auf als die Phospholipide. Unter den Nucleotiden ist der Umsatz der Ribose-Derivate rascher als der der Desoxyribose und der der Purinkörper rascher als der der Pyrimidine.

Hefe setzt aerob nur ein Drittel bis die Hälfte der Kohlenhydratmenge um wie anaerob. Dieser „Pasteur-Effekt“ ist energetisch sinnvoll, da aerob Glucose 10- bis 12 mal mehr Energie liefert als anaerob. Den Mechanismus dieser Regulation untersuchte H. Holzer (München). Nach Lyman ist die Triosephosphat-Dehydrierung der Geschwindigkeits-bestimmende Schritt des Kohlenhydrat-Umsatzes. Aerob liegt stationär weniger anorganisches Phosphat vor und die Triosephosphat-Dehydrierung verläuft dadurch langsamer. Der Kohlenhydrat-Umsatz ist bei dieser Stufe gehemmt, d. h. Phosphoglycerinaldehyd muß sich im stationären Zustand gegenüber den anaeroben Bedingungen aufzustauen. Die Richtigkeit dieser Anschauung konnte durch Messung der Kinetik der Jodacetat-Hemmung von atmender und gärernder Bäckerhefe nachgewiesen werden<sup>4)</sup>. Die Triosephosphat-Dehydriase wird im ersten Fall langsamer gehemmt, da sie durch den liegegebliebenen Phosphoglycerin-aldehyd geschützt wird. Dessen direkte Bestimmung mit dem kristallisierten Ferment gab im Zellsaft der Hefe aerob 0,4 · 10<sup>-4</sup> Mol/l, anaerob 0,3 · 10<sup>-4</sup> Mol/l.

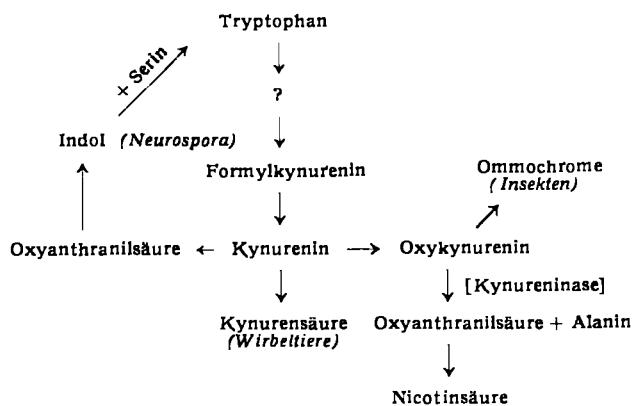
Tryptophan steht im Zellstoffwechsel an einer zentralen Stelle. Die Zusammenhänge zwischen ihm und seinen Umwandlungs-Produkten sind in dem Schema wiedergegeben, das durch die Untersuchungen der Genabhängigkeit von Fermentreaktionen bei Mikroorganismen und Insekten gewonnen wurde.

<sup>1)</sup> Folch, J. biol. Chemistry 174, 439 [1948].

<sup>2)</sup> Feulgen u. Bersin, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 260, 217 [1939].

<sup>3)</sup> Feulgen u. a., ebenda 287, 90 [1951].

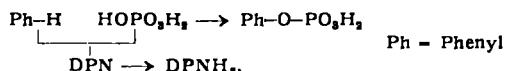
<sup>4)</sup> Holzer, ebenda 291, 67 [1952].



H. Hellmann (Tübingen) untersuchte die Oxydation des Kynurenins zu Oxykynurenin, die biologisch durch das  $cn^+$ -Gen der *Drosophila* bewirkt wird, mittels Leberzellhomogenisaten in vitro: Das Ferment ist ein o-Oxy-Gruppen einführender Katalysator. Tryptophan wurde mit Ratten- oder Schweineleber-Homogenaten bei 37 °C aerob bebrütet. Nach dem Enteiweißen mit Aceton wird lyophilisiert und papierchromatographiert. Im Chromatogramm findet sich neben den bekannten, im UV-Licht fluoreszierenden Metaboliten des Tryptophans, die in der Tabelle zusammengestellt sind.

Substanz	Fluoreszenz	R <sub>f</sub> -Wert
5-Oxy-kynurenin . . . . .	grün	0,36
3-Oxy-kynurenin . . . . .	grün	0,40
Kynurenin . . . . .	hellblau	0,45
3-Oxy-anthralsäure . . . . .	hellblau	0,63

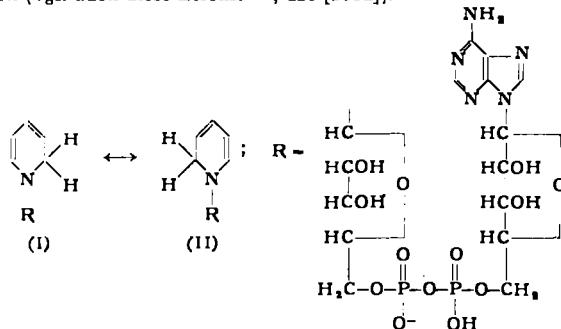
ein intensiv blauviolett fluoreszierender Fleck mit dem  $R_f$ -Wert 0,80. Die gleiche Substanz entsteht beim Inkubieren von Kynurenin (nicht jedoch bei 3-Oxykynurenin und 3-Oxyanthranilsäure), am stärksten aber bei Anthranilsäure, die durch die im Homogenat enthaltene Kynureninase aus Kynurenin entsteht<sup>9</sup>. Die Substanz ist diazotierbar und kupplt auf dem Papier<sup>8</sup>, hat ein UV-Maximum bei 350  $\mu\text{m}$  wie Oxyanthranilsäure und ein freies Carboxyl. Sie ist ein O-Ester der 3-Oxyanthranilsäure, und zwar, wie die IR-Bande bei 1240  $\text{cm}^{-1}$  zeigt, ein Phosphorsäure-Ester. Die Phosphorsäure lässt sich nach der Hydrolyse mit Molybdat nachweisen. Die Rattenleber-Homogenate führen also Anthranilsäure in P-Ester der 3-Oxyanthranilsäure durch oxydative Phosphorylierung über. Das katalysierende Ferment ist nicht an die Struktur gebunden und die Reaktion vermutlich von ganz allgemeiner Bedeutung. Th. Bücher wies auf die Beteiligung der DPN an diesem Vorgang hin, nach



eine „Phosphoroklastische Dehydrierung“, und die Möglichkeit, die Reaktion photometrisch zu verfolgen. Energetisch steht einer solchen Oxydation wegen der hohen Resonanzenergie der Oxy-amine nichts im Wege.

Der wichtigste biologische Redoxkatalysator Cozymase (DPN) wurde von *K. Wallenfels* (Tutzing) in einem einfachen Verfahren dargestellt. DPN wird als Silbersalz gefällt, dies an stark sauren Austauscher-Harzen (Amberlite 21) zerlegt, das Coferment an schwach basischem Amberlite 4 B adsorbiert, und davon mit verdünnten Säuren eluiert. Man erhält ein 78 proz. Präparat, das als Chininsalz mit 57 % DPN (2DPN:3Chinin) kristallisiert wird. Die Zerlegung gelingt an schwach basischem Ionenaustauscher-Acetat; DPN bleibt in der Säule, von der es mit Säuren geeigneter Dissoziations-Konstanten heruntergewaschen wird. Der optische Test, die Reduktion mit Alkoholdehydrogenase und Acetaldehyd in Gegenwart von Semicarbazid<sup>7)</sup> zeigte den Extinktions-Koeffizienten  $\epsilon = 9,43 \text{ cm}^2/\text{mg}$ , der beweisend für 100 proz. DPN ist. Die Papierelektrophorese des hydrierten DPN gab zwei durch Alkoholdehydrogenase/Acetaldehyd reoxydierbare, bei 366  $\mu\text{m}$  absorbierende Bestandteile, die

vielleicht den beiden Formen der  $\text{DPNH}_2$  (I) und (II) entsprechen (vgl. auch diese Ztschr. 64, 419 [1952]).



*H. Hanson* (Halle) lokalisiert die Peptidasen im Serum durch Papierelektrophorese und Papierchromatographie<sup>8)</sup>. Die Fermentwirkung ist fast stets an das  $\alpha_2$ -Globulin geknüpft und einheitlich wirksam gegen verschiedene Di- und Tripeptide. Dadurch wird die Anschlauung gestützt, daß Dipeptidase, Aminopeptidase, Leucylglycyl-peptidase und Proteasen den gleichen Enzym-Grundkörper haben, der lediglich durch verschiedene Aktivatoren, z. B. Mn- oder Co-Ionen spezifisch auf die verschiedenen Peptid-Substrate eingestellt wird. *Th. Bücher* (Hamburg) untersuchte die Aktivität von Fermenten des Intermediärstoffwechsels in Serum, Liquor und Gehirn-Substanz. Die Versuche wurden mit Enzymen aus den verschiedensten Gruppen angestellt, die eine hohe Umsatz-Zahl haben und optisch (mit dem Photometer „Ecpendorf“, vgl. <sup>9)</sup>) testbar sind:

- 1) dem Phosphat-übertragenden Gärungsferment (Phosphoglyceratmutase) (A),  
 2) dem reduzierenden Gärungsferment (Milchsäure-dehydratase) (B) und  
 3) der Triose-phosphat-Isomerase (C).

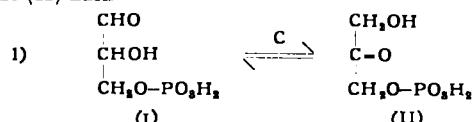
Die Konzentration der Fermente ist in der Tabelle, bezogen auf Volumen und Gesamt-Protein, zusammengestellt:

Ferment	Test nach	Liquor		Serum	
		Einh./ml	Einh./mg Ges.-Prot.	Einh./ml	Einh./mg Ges.-Prot.
A	Bücher 1942 <sup>10)</sup>	3	12	60	0,7
B	Kubowitz u. Ott 1943 <sup>11)</sup>	4	16	60	0,7
C	Garbade u. Bücher 1952 <sup>12)</sup>	90-150	600	85	1,1

Während also bei B und C der Unterschied zwischen Serum und Liquor nur etwa eine Zehnerpotenz beträgt, ist sie in Hirnsubstanz in ungefähr 1000-facher Menge enthalten:

Ferment	Liquor	weiße	graue
		Hirnsubstanz	
B	7 E/ml	$10 \cdot 10^3$ E/g	$33 \cdot 10^3$ E/g
C	24 E/ml	$48 \cdot 10^3$ E/g	$52 \cdot 10^3$ E/g

Es genügen also 100 mg Gehirnsubstanz, um beim Zerfall das Liquor-Fermenteweiß zu verdoppeln. Dadurch ist eine Möglichkeit gegeben, Tumoren nachzuweisen. Das Ferment Triosephosphat-Isomerase (C) wurde von *G. Beisenherz* isoliert und kristallisiert. Es katalysiert die Umwandlung von  $D$ -(+)-3-Glyceraldehyd-phosphat (*Fischer-Ester*) (I) in Dioxyaceton-Phosphat (II) nach



Zur Messung der Aktivität in Muskelextrakten wurde ein zusammengesetzter optischer Test benutzt. In der Hilfsreaktion 2) wird Dioxyaceton-phosphat durch das *Baranowsky*-Ferment (Glycerophosphat-Dehydrogenase, GDH) zu Glycerin-Phosphorsäure hydriert:



<sup>8)</sup> *Hanson*, *Naturwiss.* **39**, 403 [1952].

10) *Bücher-Nachrichten* 32, 758 [1952].

10) *Bücher Naturwiss.* 30, 756 [1942].  
11) *Kuhawitz u. Ott. Biochem.* Z. 314, 81.

<sup>12)</sup> Garbade u. Bücher, ebenda 323 [1952] im Druck.

<sup>11)</sup> Garbade u. Bücher, ebenda 323 [1952] im Druck.

und die Extinktions-Abnahme der DPNH<sub>2</sub> bei 356 m $\mu$  gemessen. Eine Ferment-Einheit ist 1 E =  $-\Delta I_0/I \cdot 10^3/\text{min}$  bei 20 mm Schichtdicke (Photometer „Eppendorf“). Das Ferment wird aus Kalbsmuskel durch Ammonsulfat- und Aceton-Fällungen in wenigen Schritten isoliert. Es wird aus 0,62% gesättigter Ammonsulfat-Lösung kristallisiert. Die molare Umsatz-Zahl beträgt bei 26° 985000 Mol/min durch 100 g Protein; es ist damit eins der aktivsten Enzyme überhaupt. Je Minute und ml Ferment-Lösung werden  $3,6 \times 10^{-8}$  Mol (I) umgesetzt.

### Naturstoffe und deren Trennung

Über die chemische und biologische Analyse hochgereinigter Bakterien-Polysaccharide (PS) referierte O. Westphal (Säckingen). Diese PS sind an der Oberfläche des Bakterienleibes am Aufbau der Grenzflächen, der Kapseln und Membranen beteiligt, die die Mikroorganismen gegen das umgebende Medium abgrenzen und an denen äußere stoffliche Einflüsse zuerst angreifen. Es sind häufig diejenigen Substanzen, die bei der Infektion eine besondere Rolle in der Auseinandersetzung der Bakterien mit dem infizierten Organismus spielen. Beim intensiven Wachstum werden die vom Bakterium gebildeten großen Mengen PS in das Kulturmedium abgegeben, das dadurch neben den Bakterien-Leibern als Ausgangsmaterial zur Darstellung dienen kann. Die PS sind die antigenen Substanzen, die besonders bei den Gram-positiven Keimen, den Pneumokokken und Streptokokken untersucht wurden. Avery, Heidelberger und Goebel haben seit 1924 die Kapselsubstanzen der Pneumokokken studiert und außerordentlich bedeutende Ergebnisse erzielt, die weit über das eigentliche Gebiet hinaus die Vorgänge der Immunisierung, der Typenspezifität und sogar der Vererbung befürchtet haben. Die spezifisch-serologischen Antigen-Eigenschaften lassen sich auf die chemische Struktur bestimmter niedermolekularer, determinanter Gruppen zurückführen; durch Immunisierung mit hochgereinigten, Stickstoff-freien Pneumokokken-PS, die vielfach nur zwei bis drei Zuckerbausteine enthalten, konnten reine Antikörper aus der Globulin-Fraktion des Serums isoliert werden. Schließlich führten die enzymatischen Untersuchungen von Dubos zur Entdeckung spezifischer Lysine, mikrobieller Exofermente, die die Pneumokokken-Kapselsubstanz auflösen, so daß „nackte Kokken“ entstehen. Letztere werden, im Gegensatz zu den kapseltragenden Kokken, von den Leukozyten rasch phagozytiert. Daraus entwickelte sich dann die Entdeckung und Erforschung der Antibiotica<sup>13</sup>). 1944 fanden Avery und Hotchkiss die Typenumwandlung bei Pneumokokken, die genetische Abhängigkeit der Bildung typenspezifischer PS von der Gegenwart einer typ-eigenen Desoxyribo-nucleinsäure (Griffiths). Die konsequente Fortführung dieser Untersuchungen brachte Hotchkiss zum Verständnis der Resistenz der Bakterien gegen Antibiotica, die auf einem analogen Prinzip beruht<sup>14</sup>). Die gram-negativen Bakterien wurden weniger bearbeitet. Ihre gekapselten Formen, wie Ruhr, Para-Ruhr und Typhus-Bazillen, enthalten darin die O-Endotoxine (Morgan, Partridge). Diese Kapsel-PS sind weitauß komplexer zusammengesetzt als die der Kokken. Es sind Symplexe aus Kohlenhydrat, Protein und Lipoid, die durch den T-(=Toxizitäts)-Faktor zusammengehalten werden (Goebel), und äußerst wirksame pyrogene Reizstoffe<sup>15</sup>). Zur Extraktion dient die Verteilung zwischen Phenol und Wasser. In der wässrigen Lösung bleiben die PS, die von der Nucleinsäure getrennt und durch Ultrazentrifugieren vollständig gereinigt werden. Die Ausbeute beträgt 1–1,2% eines wasserlöslichen Lipo-PS, das ein Mol-Gew. von ca. 2 Millionen besitzt und bei pH 9 zu langen perl-schnurartigen Ketten aggregiert. Im Gegensatz zu den Pneumokokken-PS wirkt das aus *E. coli* und anderen gram-negativen Bakterien bereite bei i.v. -Gaben von 0,001 bis 0,002% Fiebererregend, gleichzeitig gibt es charakteristische Veränderungen des Blutbildes: Lympho- und Eosinopenie und Leukozytose und Stimulierung des Hypophysen-Nebennieren-Systems (Tonutti). Analytisch fanden sich 25% einer säurelabilen Lipoids, das der eigentliche Reiz-wirksame Anteil ist, wie die Inaktivierung nach milder Oxydation mit Wasserstoffperoxyd zeigt, und 75% phosphoryliertes Kohlenhydrat. Dessen Zuckerbausteine wurden papierchromatographisch identifiziert und quantitativ mit der Triphenyltetrazoliumchlorid-Methode<sup>16</sup>) bestimmt. Die Tabelle zeigt

die Zusammensetzung des PS aus Enteritis-Breslau-Bazillen:

Rhamnose	38,6%	unbekannte, schnell-	
Xylose	10 %	wandernde Hexose	5,5%
Fructose	10 %	N-Acetyl	1,8%
Galactose	2,5%	Ester-phosphat	6,5%

Aus Rauh-Formen konnte ein pyrogenes Lipoproteid gewonnen werden. Für den Wirkungsmechanismus ist anzunehmen, daß die Stoffe an die Zelle adsorbiert werden, dort eine lokale Entzündung durch spezifische endogene Peptide (Necrosine (Merkin)) verursachen, und diese in die Blutbahn gelangen. Durch Zugabe Permeabilität-erhöhender Hyaluronidase kann die Ausbreitung des Reizes beschleunigt werden. Die Reizsubstanz aus *E. coli* und das PS aus *Bact. prodigiosum* sind außerordentlich ähnlich. Dieses necrotisiert Tumoren und erzeugt dabei hochgiltige Spaltprodukte, vermutlich niedere Peptide.

Um derartige Oligopeptide zu trennen, entwickelte B. Kickhöfer (Säckingen) eine papierelektrophoretische Methode bei hohen Spannungen, die nach dem Prinzip von Michl<sup>17</sup>) bei Potentialen bis zu 120 Volt/cm arbeitet. Der mit Pufferlösung getränkten und mit der Substanz versehene Streifen hängt in einem Glasstutzen aus dem Anoden-Trog in die Kathodenlösung am Boden des Stützstens. Darüber ist Toluol zur Abführung der Stromwärme gefüllt. Auf diese Weise konnten bei pH 1,9 in 1 bis 2 h synthetische Gemische von Di- und Tripeptiden sowie die sekundären Reizstoffe aus Harn und mit Perameisensäure gespaltenes Ei-Albumin getrennt werden. Die Trennung kann durch anschließende Papierchromatographie vervollständigt werden. In einer wesentlich komplizierteren Anordnung mit möglichst weitgehender Temperaturkonstanz und ca. 15 Volt/cm Spannungs-Abfall führt K. D. Voigt (Hamburg) die Serien-Elektrophorese von Blut-Seren binnen 2 h befriedigend aus, wobei allerdings zuweilen noch ungeklärte Effekte einer gegen-sinnigen Wanderung (durch Konvektion?) auftreten. Da die Banden sehr gerade sind, ist die Methode auch präparativ mit 25 cm breiten Streifen aussichtsreich. Kristallisiertes Albumin trennt sich bei niederen Ionenstärken in mehrere Zonen.

Mit der Papierelektrophorese des Liquor cerebrospinalis beschäftigten sich mehrere Vortragende. Da Liquor nur geringe Mengen Eiweiß enthält, muß er zunächst konzentriert werden. H. Esser (Düsseldorf) und H. J. Tepe (Hamburg) verwendeten dazu ein spezielles Mikro-Ultrafilter<sup>18</sup>), G. Steger (Würzburg) dialysiert gegen Kollidon-Lösung und bewirkt damit zugleich den erforderlichen Salzentzug. Nach Bücher, Matzelt und Pette<sup>19</sup>) enthält Liquor neben dem Albumin und den auch im Serum enthaltenen 4 Globulin-Fraktionen noch diesen fehlende V- und τ-Fraktionen, die sich stets nachweisen lassen, und von denen letztere einen Teil der spezifischen Fermente enthält, während der Untergrund des Pherogramms durch anderes Ferment-Eiweiß gebildet wird (Bücher). Bei der Fällung des Eiweißes mit Aceton nach Bücher ist die β-Globulin-Fraktion, der Haupt-Lipoid-Träger, meist niedriger als bei den anderen Anreicherungs-Verfahren. Die Tabelle gibt einen Vergleich zwischen Serum- und Liquor-Eiweiß (Esser), quantitativ bestimmt mit der Amidoschwarz-Methode nach Elektrophorese (Grassmann).

Fraktion	Serum	Liquor
V	—	1,2
Albumin	56,0	56,1
α <sub>1</sub> -Globulin	5,7	4,7
α <sub>2</sub> -Globulin	9,4	7,5
β-Globulin	12,4	24,1 (14,1)
τ	—	10,0
γ-Globulin	16,5	6,4

Verschiedene Krankheiten zeigen charakteristische Veränderungen des Liquor-Eiweißes. H. Bauer (Hamburg) unterscheidet als pathologische Abweichungen den α-Typ bei der Frühphase entzündlicher Erkrankungen, den β-Typ bei Cerebralschäden und die γ-Gruppe bei chronischen entzündlichen Prozessen. Misch-pherogramme mit Serum findet man bei Gefäß-Schäden; sie sind Ausdruck einer Permeabilitäts-Störung der Blut-Liquor-Schranke. In diesem Fall sind V- und τ-Fraktion sehr niedrig.

Die Transport-Funktion einzelner Serum-Eiweiß-Fraktionen für Phosphatide untersuchte W. Maurer (Köln) durch papierelektrophoretische Isotopen-Verfahren. Nach Injektion von <sup>32</sup>P lassen sich die organischen Phosphor-Verbindungen, die zu 80% aus Phosphatiden bestehen, bei kurzer Laufzeit bei den

<sup>13</sup>) Oxford, Ann. Rev. Biochem. 14, 751 [1945].

<sup>14</sup>) Hotchkiss, II. Intern. Congr. Biochemie vgl. diese Ztschr. 64, 654 [1952].

<sup>15</sup>) Westphal, Lüderitz u. Keiderling, Zbl. Bakteriol. I, 158, 152 [1952]; Westphal, Lüderitz u. Bister, Z. Naturforsch. 7b, 148 [1952]; dazu auch Keiderling u. a., Naunyn-Schmiedeberg, in Vorber. [1952]. Verh. dtsch. Ges. Inn. Med. 57, 66 [1951].

<sup>16</sup>) K. Wallenfels, Naturwiss. 37, 491 [1950]; Ärztl. Forschg. 5, 430 [1951]; Lüderitz u. Westphal, Z. Naturforsch. 7b, in Vorber. [1952].

<sup>17</sup>) Michl, Mh. Chemie 82, 489 [1951].

<sup>18</sup>) Esser, Klin. Wschr. 30, 228 [1952].

<sup>19</sup>) Bücher, Matzelt u. Pette, ebenda 30, 325 [1952].

Albuminen finden (Svensson). Mit längerer Wanderungszeit trennen sie sich aber davon und bleiben liegen. Um eine Eiweiß-Probe ohne Entmischung zu zerlegen, muß ein Milieu konstanter Eiweiß-Konzentration aufrechterhalten werden. Die Papierstreifen wurden daher an Stelle des Puffers in eine Eiweiß-Lösung gebracht<sup>20</sup>. Während der Elektrophorese ändert sich das Milieu nicht, und nur die Probe wird zerlegt. Um diese aufzufinden, wurde sie durch gefüttertes radioaktives Methionin markiert. Da <sup>32</sup>P und <sup>35</sup>S sehr verschiedene Aktivitäten besitzen, können Eiweiß und Lipoide nebeneinander nachgewiesen werden: Entweder wird die weiche  $\beta$ -Strahlung durch Al-Folie abfiltriert oder das Lipoide mit Methanol extrahiert. Es zeigte sich, daß die Phosphatide fast die gleiche Wanderungs-Geschwindigkeit haben wie die Albumine und daß keine feste Bindung zwischen beiden besteht, sondern nur eine lose Koppelung, und die Albumine die Lipoide mit-schleifen.

Zur präparativen Trennung von Protein-Gemischen bis 10 g verwendet R. K. Zahn (Frankfurt) die kontinuierliche Extraktion unter der Vorstellung, daß das beste Kriterium der Einheitlichkeit eines Proteins auch am günstigsten zu seiner Abtrennung sein muß, nämlich das Verhältnis von Bodenkörper zu überstehender Lösung, ähnlich wie es E. J. Cohn zur Auf trennung von menschlichem Blutplasma ausgearbeitet hat. Sein Verfahren der fraktionierten Extraktion ist aber nur dann wirksam, wenn die Zusammensetzung des Protein-Gemisches konstant ist. Ist dies nicht der Fall, trennt nur eine kontinuierliche Extraktion zuverlässig. Es wird eine automatische Apparatur angegeben, in der mg- bis kg-Mengen verarbeitet werden können. Die Hähne der beiden Vorratsgefäße mit Ammonsulfat-Lösungen verschiedener Konzentration werden mittels einer variablen Kontaktwalze geöffnet. Die dadurch abgemessene Menge läuft durch eine Pumpe in das Mischgefäß und von dort durch die in einer Glasritten-Nutsche (17 G 3) befindliche Substanz zum Fraktions-Sammler. Es können somit Dielektrizitäts-Konstante,  $p_H$ , Ionenstärke und Temperatur verändert werden. Die auslaufenden Fraktionen sind mit der zu extrahierenden Phase gesättigt und sehr rein. Aus einem Hefe-Autolysat wurde z. B. Cytochrome c in großer Reinheit dargestellt und Serum-Albumin in drei Fraktionen getrennt.

Die Einheitlichkeit von Protaminen prüft W. Stamm (Frankfurt) durch die Gegenstrom-Verteilung mit dem Verteilungs-System 5% Laurinsäure in n-Butanol/15proz. Natriumacetat. Er konnte zeigen, daß Clupein, Salmin und Iridin uneinheitlich sind. Clupein-Methylester-Hydrochlorid konnte durch 82 Verteilungen in drei Fraktionen zerlegt werden. Durch Extraktion von Hefe-Autolysat nach Willstätter mit 2m KCl/Phosphatpuffer-Kaliumpyrophosphat/Natriumcitrat erhielt I. Pendel (Frankfurt) 70% der Stickstoff-haltigen Substanz in Lösung. Anschließende Reinigung nach Sewag gab Nucleinsäure-freies natives Protein, das in Phosphat-Puffer zu 80% löslich ist. Diese Lösung enthält die aktiven Stoffwechselfermente der Hefe. Sie läßt sich durch Papierelektrophorese in sieben Komponenten auf trennen.

K. Lang (Mainz) berichtete über eine auffällige toxische Wirkung des  $\alpha$ -Valins. Bei Untersuchungen über die Verträglichkeit von Aminosäuren wurde Ratten zu Kartoffel-Eiweiß  $\alpha$ -Valin gefüttert. Bei Zulage von 5 mg/Tag und Tier starben binnen 4 Wochen 50% der Ratten an Blutungen und Nekrosen von Schwanz und Extremitäten. Natürliches  $\alpha$ -Valin ist ungiftig. Es ist noch nicht klar, ob diese Toxicität nur bei Kartoffel-Eiweiß durch spezielle Antagonismen eintritt. J. Kühnau (Hamburg) wies in der Diskussion auf die Beobachtung von Elvehjem hin, daß bei  $\alpha$ -Aminosäuren ein erhöhter Bedarf an Pyridoxal-phosphat besteht und daß auch die Symptome für einen bedingten Pyridoxin-Mangel sprechen.

Die Proteolyse im Magen ist auch bei Anacidität oft nicht wesentlich vermindert. Sie ist aber nicht auf das Magen-Kathepsin von Buchs und Freudenberg zurückzuführen, sondern, wie F. Bramstedt (Hamburg) fand, auf den Rückfluß von Duodenalsaft, der dann im Magen sein  $p_H$ -Optimum wiederfindet. Glutathion hemmt diese tryptische Proteolyse. Therapeutisch muß man daher mit Pankreas-Fermenten substituieren, nicht wie bisher mit Pepsin und Salzsäure, die meist schlecht vertragen werden und nur dann Sinn haben, wenn noch eine Restproduktion der Magen-fermente vorhanden ist.

E. Heinz (Kiel) berichtete über Versuche über die Kationen-Anreicherung im Magensaft. Wird ein Teil des Plasma-Chlorids durch <sup>75</sup>Br ersetzt, wird dies im Magensaft stärker angereichert (Davenport), und zwar umgekehrt proportional der Brom-Konzentration im Plasma. Dagegen wird Chlor mit steigender Plasma-Konzentration stärker im Magensaft angesammelt. Dieser Effekt läßt sich quantitativ erfassen unter der Annahme, daß Brom

1,5 mal schneller in den Magen sezerniert wird als Chlor, nach

$$\frac{[Br]_m}{[Cl]_m} = \frac{[Br]_p \cdot K_{Br}}{[Cl]_p \cdot K_{Cl}}, \text{ wobei } [Br]_m + [Cl]_m = \text{Konst.}$$

Es ergibt sich zwischen dem Quotienten von Plasma- und Magensaft-Konzentration die Beziehung

$$\frac{[Br]_m}{[Br]_p} = \frac{[Hal]_m \cdot K_{Br}}{[Hal]_p \cdot K_{Cl} + K_{Br} \cdot K_{Cl} \cdot [Br]_p}$$

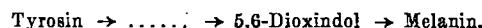
(Index m = Magen-, Index p = Plasma-, K = Konstante der Ausscheidungs-Geschwindigkeit). Die Gleichung, die ebenso für Chlor aufzustellen ist, ließ sich experimentell beweisen. Weshalb aber Brom-Ion rascher als Chlor-Ion sezerniert wird, ist nicht ohne weiteres klar. Sie haben beide nahezu gleiche Wanderungs-Geschwindigkeiten. Es wird diskutiert:

1) Die Ionen müssen eine Lipoide-Membran passieren, in der Brom besser löslich ist; dann stellen  $K_{Br}$  und  $K_{Cl}$  die Verteilungskoeffizienten dar.

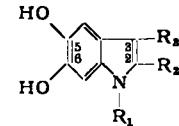
2) Es ist ein „carrier“-Mechanismus eingeschoben, wobei sich der Brom-Überträger leichter bildet, dann sind  $K_{Br}$  und  $K_{Cl}$  die Affinitäts-Konstanten zum „carrier“. In diesem Fall ist die Sekretions-Geschwindigkeit unabhängig von der Konzentration. Die Annahme des Überträger-Vorganges würde aber das Problem stark komplizieren (Netter (Kiel)).

Im Zusammenhang mit Untersuchungen über die optische Spezifität der Fermente beobachtete V. Klingmüller (Hamburg) eine asymmetrische Resorption durch die Darmschleimhaut. 37 °C-warme Lösungen der racemischen Mandelsäure vom  $p_H$  6,8 wurden in das Duodenum von Kaninchen infundiert und der aus dem Blinddarm herausströmende Darm-Inhalt auf Menge und Drehung der nicht resorbierten Mandelsäure untersucht. Es zeigte sich, daß die  $D$ -(-)-Mandelsäure 7 mal rascher als die  $L$ -Säure resorbiert wird und daß diese Aufnahme in gewissem Maß vom Kation abhängig ist. Für die Reaktion wird ein Träger-Mechanismus angenommen, obwohl noch nicht sicher ist, ob nicht auch die Darm-Bakterien eine Rolle bei diesem Abbau spielen.

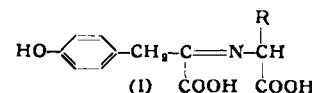
Melanogene (Körperpigmentvorstufen) konnte G. Leonhardi (Frankfurt) papierchromatographisch im Urin von Melanom-Kranken in drei Fraktionen trennen, die auf dem Papier die Ehrlich'sche und Thormähnische Reaktion geben und zu Melanin oxydiert werden können. Sie sind aber nicht identisch mit den Raperschen Zwischenstufen. Die Reaktionen zeigen jedoch Indol-Derivate an, so daß der Mechanismus der Melanogenese bei Makroorganismen, Pflanzen und Tieren identisch ist



Nach Gabe von 5,6-Dioxindol scheiden Kaninchen eine Substanz aus, die mit dem am langsamsten wandernden Melanogen identifiziert werden konnte. Versuche, durch Synthese die Chromogene zu identifizieren, führten noch nicht zum Ziel. Die in  $C_2$  und  $C_3$  unsubstituierten Dioxindole geben die Ehrlich-Reaktion, die Thormähnische Probe fällt nur bei 5,6-substituierten Verbindungen positiv aus.



Der Tyrosin-Abbau selbst beginnt in der Leber mit einer Transaminierung durch Brenztraubensäure,  $\alpha$ -Ketoglutaräure oder Oxalessigsäure. Dabei fand L. Roka (Frankfurt), daß Glutaminsäure nicht notwendiges Zwischenprodukt ist, sondern eine direkte Reaktion mit Pyruvat stattfinden kann; das hieran beteiligte Ferment ist in Aceton-getrockneter Leber völlig inaktiv. Das mit Ketoglutaräure umaminierende Ferment ist dagegen wesentlich unempfindlicher. Es befindet sich in den Mitochondrien und kann durch Elektrolyte ohne Verlust der Aktivität heraus gelöst werden. Für den Abbau eines Moles Tyrosin sind zwei bis vier Mole Ketosäure erforderlich. Gleichzeitig anwesende Aminodicarbonsäuren fördern den Abbau in Gegenwart von Brenztraubensäure (es entsteht Keto-dicarbonsäure), hemmen aber in Gegenwart von Ketoglutar- und Oxalessigsäure. Vermutlich entsteht als primäres Reaktionsprodukt nicht p-Oxyphenyl-brenztraubensäure, sondern zuerst die Schiff'sche Base (I), deren Seitenkette dann umgelagert wird.



<sup>20</sup> Maurer, ebenda 30, 323 [1952].

Konjugiert ungesättigte Fettsäuren (Konjuene) kommen im Serum in kleinen Mengen vor. K. L. Zirm (Lannach) bestimmt sie nach vorsichtiger Extraktion mit Hexan durch eine spektralphotometrische Methode<sup>21</sup>). Obwohl das Vorkommen dritter Diene, Triene und Tetraene wegen der leichten Isomerisierung eine Ausnahme darstellen sollte — natürliche ungesättigte Fette sind immer unkonjugiert —, werden folgende Durchschnittswerte gefunden, bei ca. 300 mg/% Gesamtfett.

	Konjugiertes		
	Dien	Trien	Tetraen
Kleinkind < 1 Jahr .....	12 mg%	4,5 mg%	
Kind 1-7 Jahre .....	7,9 mg%	2,9 mg%	
Erwachsener > 7 Jahre ....	5,4 mg%	1,3 mg%	0,8 mg%

Bei Belastung mit synthetischen Konjuenen bauen Leberkranken diese langsamer ab als der Gesunde. Die konjugierten Systeme werden aus normalen Fettsäuren in der Haut durch die UV-Bestrahlung gebildet und in der Leber gespeichert. Konjugiert ungesättigte Fettsäuren vermögen die Psoriasis (Schuppenflechte) zu heilen. Die Triene haben Lichtschutz-Wirkung, sie absorbieren die Erythem-erzeugenden UV-Strahlen.

#### Biochemie des Zinks

Neben Kupfer und Eisen ist das Zink das wichtigste Biometall. Sein Nachweis im Serum gelingt nach K. Wolff (München) durch eine modifizierte Dithizon-Methode bei  $p_{H_2} 6-6,5$ . Das Metall wird als Chlorid oder leicht resorbierbarer Komplex von der Magenwand aufgenommen und ähnlich wie das Eisen durch Proteine transportiert. Der Serum-Spiegel beträgt etwa 150  $\mu$  g Zink. Er sinkt bei Hepatitis und bei Tumoren, hier etwa parallel zum Krankheitsverlauf und der Albumin-Menge. Keillin konnte zeigen, daß radioaktives Zink rasch aus dem Serum in die Erythrozyten aufgenommen wird. Es ist dort, ebenso wie in Leber, Niere, Prostata, Submandibulardrüse (Unterkiefer-Speicheldrüse) und Magenschleimhaut als Wirkgruppe der Carbo-Anhydrase eingebaut und mit dieser nicht an die Struktur gebunden. In der Niere bewirkt das Zink-haltige Ferment den Austausch von Natrium- gegen Wasserstoff-Ionen und damit den Säuerungs-Mechanismus bei der Harn-Bereitung. Einen sehr hohen Zink-Gehalt weist die Hypophyse und das Insel-Organ auf. Hier ist es selektiv in den  $\beta$ -Zell-Granula enthalten, oder aber in den  $\alpha$ -Zellen fester gebunden als der Dithizon-Komplex und daher dort nicht nachweisbar. Nach Glucose-Belastung verschwindet das Zink, ebenso beim Alloxan-Diabetes. Es wird angenommen, daß das Metall nicht an der Synthese und Wirkung, sondern an dem Substrat-Stoffwechsel des Insulins beteiligt ist. Durch Komplex-Bildung mit Glucose oder Alloxan wird die Ausscheidung des Insel-Hormons gehemmt, und bei starker Glucose-Belastung, also völliger Entzinkung der  $\beta$ -Zellen, entsteht kein Alloxan-Diabetes mehr. Als direkte Antagonisten des Alloxans und des ebenfalls diabetogenen Dithizons dienen Stoffe, die reversibel schwächere Komplexe eingehen, wie Oxin, BAL (Dimercapto-propanol) oder Cystein.

Als Mechanismus der Zink-Ausscheidung gibt G. Weitzel (Göttingen) folgendes Bild: Die Prägungs-Moleküle des Insulins halten Zink fest. Aminozucker, Glucose oder Triose-phosphat binden Zink noch fester und können das Ferment dadurch von seiner Bildungsstätte ablösen. — Zink ist nicht enthalten in der Uricase und Zymohexase. Der Roche-Test, die Zink-Aktivierung der Phosphatase beim Gesunden, deren Ausbleiben beim Carzinomträger, konnte von Bodansky nicht bestätigt werden. In der Retina ist Zink Lipoid-löslich gebunden, über seine Funktionen dort ist nichts bekannt. Das meiste Zink wird in den oberen Dünndarm-Abschnitten im Kot, kleine Mengen durch Galle und Nieren ausgeschieden. Eine wesentlich abweichende Auffassung über die Bedeutung des Zinks im Insulin vertritt G. Weitzel (Göttingen)<sup>22</sup>). Ausgehend von der noch ungeklärten Aufgabe des Zinks im Insulin, wurde geprüft, ob organische Zink-Komplexe der  $\alpha$ -Aminosäuren den Kohlenhydrat-Stoffwechsel beeinflussen. Nach oraler oder parenteraler Gabe von 4 mg Zink-Glykokoll oder 10 mg Zink-Glutamat wurde eine Blutzucker-Steigerung auf 260 mg % beobachtet; 0,0001  $\mu$  Zink erzeugen noch deutlich initiale Hyperglykämie. Ähnlich wirken Kupfer, Nickel oder Eisen. Sehr stabile und sehr lockere Zink-Komplexe geben den Effekt nicht. Somit muß die Affinität des Acceptors in der Zelle zwischen der Komplex-Stärke des Glykokolls und des Cysteins liegen. Im kristallisierten Insulin (Mol-Gew. 11464) ist Zink enthalten. 0,5 % = 1 Mol sind fest komplex, der Rest locker gebun-

<sup>21</sup>) Zirm, Mh. Chemie 83, 1014 [1952].

<sup>22</sup>) Weitzel, Naturwiss. 39 [1952], im Druck; Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. [in Vorber.].

den. Dieses Zink ruft die bekannte initiale Blutzuckersteigerung nach Insulin-Injektion hervor und ist wohl identisch mit dem „Glucagon“ aus Magenschleimhaut und Pankreas. Das Glucagon-freie Insulin ist weitgehend Zink-frei. Es wird aus dem Inselorgan der Fische hergestellt, das vom Pankreas anatomisch getrennt liegt. Daher tritt bei der Aufarbeitung keine Trypsin-Aktivierung ein. Die untersuchten Glucagon-Präparate erwiesen sich sämtlich als Zink-haltig. In der Diskussion wurde jedoch darauf hingewiesen, daß sich Pankreas-Rohextrakte in vier Protein-Fraktionen auftrennen lassen, in denen Insulin- und Glucagon-Wirkung getrennte Zonen bilden, und daß reines Glucagon Glucosamin, Xylose und Homocysteinsäure enthält, die im Insulin nicht gefunden werden (Leonhardi, Frankfurt). Während Insulin in den  $\beta$ -Zellen des Pankreas entsteht, die selektiv durch Alloxan zerstört werden, bleibt dann die glucogene Wirkung erhalten, da Glucagon in den  $\alpha$ -Zellen gebildet wird (Kühnau (Hamburg)).

#### Analyse

H. J. Hübener (Frankfurt) weist kleine Mengen von Corticosteroiden im mit 25 proz. Methanol angefertigten Papierchromatogramm durch UV-Kontaktphotographie nach. Es lassen sich 1-2  $\mu$  ml auffinden; die Substanz kann unverändert eluiert und im UV-Spektrophotometer bei 256  $\mu$  bestimmt werden. In neutralen Harnextrakten kommen eine Reihe noch unbekannter UV-absorbierender Substanzen vor. Unter den Corticosteroiden fand sich regelmäßig 17-Oxy-corticosteron (Compound F) und 17-Oxy-4-dehydro-corticosteron (Compound E). Daneben fanden sich mindestens vier stärker polare Steroide. Es handelt sich vermutlich um  $\Delta$  4-Ketone oder 6-Oxy-Verbindungen. Diese Stoffe fanden sich auch in Nebennieren-Ekt. akten. Steroide, die keine mit dem 3-Carbonyl konjugierte Doppelbindung besitzen, lassen sich nach dem Verfahren nicht nachweisen, wohl aber 20,21-Diole, die bei Reduktionsproben nicht gefunden werden.

Über Blutzucker-Untersuchungen mit der Anthron-Methode von Durham berichtete C. v. Holt. Anthron, Fp 154/55°, wird durch Reduktion von Anthrachinon mit Zinn/HCl dargestellt und aus Benzol umkristallisiert. Es wird als 0,2 proz. Lösung in 60 proz. Schwefelsäure verwendet und bildet mit Zuckern beim 10-min Erhitzen auf 100° Farbstoffe, mit einem Maximum bei 633  $\mu$  m, die kolorimetriert werden können. Unter den angegebenen Bedingungen reagieren außer Glucose und Fructose auch alle phosphorylierten Hexosen, so daß die Kombination mit dem Reduktions-Wert nach Hagedorn-Jensen die Menge an Phosphorsäure-Ester ergibt. Es wurde gefunden, daß nach Insulin-Gabe die Hexose-phosphate vor den freien Hexosen auftreten, was im Gegensatz zu den Anschauungen über den Insulin-Mechanismus steht. Es ist jedoch zu bedenken, daß die Zuckerphosphate der Erythrozyten oder die durch Transglycosidierungen entstandenen Oligosaccharide geringere Reduktionswerte vortäuschen.

Da sich die Bestimmungsmethoden des Vitamins  $B_{12}$  mit *Lactobacillus lactis* Dorner oder *L. leichmannii* als zu unspezifisch erwiesen und neben dem Vitamin noch Desoxyriboside erfassen, wurde der Test mit der Alge *Euglena gracilis* var. *bacillaris* von H. Heinrich (Hamburg) vervollkommen, so daß damit Vitamin  $B_{12}$  mit einer Empfindlichkeit von 10-15 g/ml nachgewiesen werden kann<sup>23</sup>). Es wird die Photosynthese (Wachstum und Chlorophyll-Bildung) der grünen Alge in einem anorganischen Basal-Medium gemessen, die über den Bereich von  $10^{-11}$  bis  $10^{-10}$  g/ml linear verlaufen. Für eine Zellteilung werden 7400 Moleküle benötigt; höhere Konzentrationen Vitamin  $B_{12}$  hemmen nach Durchschreitung eines Maximums. Durch die Einwirkung von Terramycin entsteht durch genotypischen Chlorophyll-Verlust eine farblose Mutante, die ebenfalls zur Bestimmung verwendet werden kann, indem man die Chemosynthese im organischen Basalmedium mißt. Die Wirkungsweise des Terramycins und des ebenso wirkenden Streptomycins wurde auf einen Antagonismus zum Mesoinositol zurückgeführt: bezüglich des Chlorophyll-Verlustes konnte aher eine solche Wechsel-Wirkung ausgeschlossen werden. Bei Vitamin  $B_{12}$ -Mangel zeigen sich charakteristische reversible Vergrößerungen der Zellkerne und Darniederliegen der Reifung unter Ausbleiben der Mitosen, ähnlich der megalocytären Entartung, die man bei Tumoren kennt.

In der abschließenden Mitgliederversammlung wurde auf Einladung von Prof. R. Ammon (Homburg/Saar) beschlossen, die nächste Tagung nach Möglichkeit in Homburg stattfinden zu lassen, anderenfalls liegt für 1954 eine Einladung nach Kiel vor. Der Termin der Tagung 1953 wird durch den 19. Internationalen Physiologischen Kongreß in Montreal (Kanada) bestimmt, auf dem, im Wunsch, die Disziplinen wieder zu vereinigen, die Physiologische Chemie stärker als bisher vertreten sein soll.

J. [VB 429]

<sup>23</sup>) Heinrich u. Lahann, Z. Naturforsch. 7b, 417 [1952].