

## Das Cyclophorase-System

Von Prof. Dr. Dr. K. LANG\*)

Physiologisch-Chemisches Institut der Universität Mainz

Die wichtigsten energieliefernden Prozesse sind in den Zellen des tierischen Organismus strukturgebunden und in den Mitochondrien lokalisiert. Der hierbei beteiligte Enzymkomplex ist ein geordnetes Multienzymsystem und wird auch als „Cyclophorase-System“ bezeichnet. Seine wichtigsten Eigenschaften werden geschildert.

O. Warburg<sup>1)</sup> beobachtete 1913, daß die Atmung von Zellen an den leicht sedimentierbaren Granula lokalisiert ist. Dies war der erste Hinweis, daß die biologische Oxydation der Nährsubstrate wie alle anderen lebenswichtigen Prozesse in den tierischen Zellen strukturgebunden ist. In der neueren Zeit hat sich die biochemische Forschung in einer Reihe von Laboratorien intensiver mit der Lokalisation der Stoffwechselprozesse an den Strukturen der Zellen zu beschäftigen angefangen. Eine erfolgreiche Bearbeitung solcher Fragen war verständlicherweise erst möglich, nachdem Methoden entwickelt worden waren, die einzelnen Strukturelemente der Zellen in präparativem Maßstabe zu isolieren. Durch vorsichtiges Einreißen der Zellmembran und fraktioniertes Zentrifugieren des Zellinhaltes in bestimmten Medien, zumeist konzentrierteren Anelektrolytlösungen, gelingt es den Zellinhalt in vier Fraktionen zu zerlegen:

- 1) in die Zellkerne, die infolge ihres hohen spezifischen Gewichtes leicht sedimentieren,
- 2) in die größeren Granula oder Mitochondrien,
- 3) in die submikroskopischen Partikelchen (Mikrosomen),
- 4) in das unstrukturierte Cytoplasma.

Zusammenfassende und kritische Übersichten über die Darstellungsmethoden der erwähnten Zellstrukturen, siehe<sup>2, 3, 4)</sup>. Mit derartigen Methoden sind schon Zellen der verschiedensten tierischen und auch pflanzlichen Organe fraktioniert worden. Weitaus die Mehrzahl aller Untersuchungen wurde an Leberzellen und Nierenzellen angestellt.

Über die Verteilung des Stoffbestandes der tierischen Zellen (Zellen innerer Organe) orientiert die Tabelle 1.

	% des Stoffbestandes der gesamten Zelle			
	Masse	Stickstoff	Ribonucleinsäure	Desoxyribonucleinsäure
Zellkerne . . . .	6–8	15	9	100
Mitochondrien	15–25	30–35	35	0
Mikrosomen . .	15–20	18–20	35	0
Cytoplasma . . .	47–64	30–44	21	0

Tabelle 1

Die Verteilung des Stoffbestandes von Leberzellen und Nierenzellen auf die einzelnen Strukturen.

\*) Nach einem Vortrag im Chem. Kolloquium der Universität Mainz am 21. 5. 1953.

<sup>1)</sup> O. Warburg, Pflügers Arch. ges. Physiol. Menschen, Tiere 154, 599 [1913].

<sup>2)</sup> W. C. Schneider u. G. H. Hogeboom, Cancer Res. 11, 1 [1951].

<sup>3)</sup> K. Lang, 2. Kolloquium der Ges. f. Physiolog. Chemie in Mosbach (Baden). Berlin-Göttingen-Heidelberg 1951.

<sup>4)</sup> K. Lang u. G. Siebert, Lehr- u. Handb. d. Physiolog. Chemie v. Flaschenträger u. Lehnartz. Band II. Im Druck.

Untersuchungen über den Enzymgehalt der einzelnen Zellfraktionen zeigten bald, daß die Fermente der biologischen Oxydation großenteils nur in den Mitochondrien zu finden sind.

Mitochondrien sind Partikelchen, die in genuinem Zustande zumeist eine längliche Gestalt haben und einen Durchmesser von 0,5–2,0  $\mu$  besitzen. Aus den Dimensionen eines Mitochondrions läßt sich berechnen, daß es etwa  $10^6$  Protein-Molekeln enthalten kann. Weitere Daten über Mitochondrien gibt Tabelle 2.

Zahl der Mitochondrien pro Zelle . . .	2500
Zahl der Mitochondrien pro g Leber	$33 \cdot 10^{10}$
mg N in einem Lebermitochondrion	$22,3 \cdot 10^{-12}$
Trockengewicht eines Mitochondrions	$1,6-2,3 \cdot 10^{-10}$ mg
Zahl der Zellen in 1 g Leber . . . . .	$133 \cdot 10^6$

Tabelle 2

Zahlenangabe über Mitochondrien (Leber erwachsener Ratten)<sup>5)</sup>

Arbeitet man eine Zelle in einer stark hypertonischen Lösung eines Anelektrolyten (Rohrzucker oder Mannit) auf, z. B. nach der Methode von Hogeboom, Schneider und Pallade<sup>6)</sup>, so erhält man die Mitochondrien als nicht verklumpte, diskrete Partikelchen, die zugesetzte, im tierischen Organismus leicht verbrennbare Substrate, etwa Bernsteinsäure oder eine andere Substanz des Citronensäure-Cyclus, mit großer Geschwindigkeit völlig zu  $H_2O$  und  $CO_2$  oxydieren. Die Succinoxidase-Aktivität von derart dargestellten Mitochondrien entspricht einem  $Q_{O_2}$ -Wert von 100–200.

Leloir und Munoz<sup>7)</sup> gelang es 1939 als ersten, eine Oxydation von Fettsäuren durch ein zellfreies Enzymsystem zu bewirken. Ihre Versuche wurden von Lehninger<sup>8)</sup> bestätigt, der dann später zusammen mit Kennedy<sup>9)</sup> zeigte, daß alle diese Enzympräparate aus Mitochondrien bestanden und daß die Oxydation der Fettsäuren durch die Mitochondrien geschieht.

In Verfolgung solcher Untersuchungen beschrieben dann Green und Mitarbeiter (zusammenfassende Darstellung<sup>10)) ein Enzympräparat, das sie „Cyclophorase-System“</sup>

<sup>5)</sup> C. Allard, R. Mathieu, G. de Lamirande u. A. Cantero, Cancer Res. 12, 407 [1952]. C. Allard, G. de Lamirande u. A. Cantero, ebenda 12, 580 [1952].

<sup>6)</sup> G. H. Hogeboom, W. C. Schneider u. G. E. Pallade, J. biol. Chemistry 172, 619 [1948].

<sup>7)</sup> L. F. Leloir u. J. M. Munoz, Biochemic. J. 33, 734 [1939]; J. biol. Chemistry 147, 355 [1943]; 153, 53 [1944].

<sup>8)</sup> A. L. Lehninger, J. biol. Chemistry 161, 437 [1945]; 164, 291 [1946]; 173, 753 [1948].

<sup>9)</sup> E. P. Kennedy u. A. L. Lehninger, J. biol. Chemistry 179, 957 [1949].

<sup>10)</sup> D. E. Green, Biol. Rev. Cambridge philos. Soc. 26, 410 [1951].

nannten und das nach Ergänzung mit gewissen Substanzen (Phosphat, Magnesium, Cytochrom c und ATP) und nach Zusatz katalytischer Mengen eines Gliedes des Citronensäure-Cyclus Fettsäuren, die Glieder des Citronensäure-Cyclus, Brenztraubensäure und manche Aminosäuren vollständig zu  $H_2O$  und  $CO_2$  oxydiert. Sie wählten den Namen Cyclophorase-System, weil es offensichtlich die gesamten Enzyme des Citronensäure-Cyclus und das Cytochrom-Cytochromoxydase-System enthält. Bei der Totaloxydation der genannten Substanzen durch das Cyclophorase-System erhält man im allgemeinen  $Q_{O_2}$ -Werte von 20–40.

Das Cyclophorase-System ist offensichtlich zu denselben Stoffwechselleistungen befähigt wie die Mitochondrien. Dies legte den Verdacht nahe, daß das Cyclophorase-System im wesentlichen aus Mitochondrien besteht. Das nach Green dargestellte Cyclophorase-System ist ein Gel. Harman<sup>11)</sup> hat dann bewiesen, daß es nichts anderes ist als durch Nucleotid-Material aus zerstörten Zellkernen verklebte Mitochondrien. Im folgenden werden daher die Bezeichnungen Mitochondrien und Cyclophorasesystem synonym gebraucht werden. Da die Darstellung des Cyclophorase-Systems wesentlich einfacher ist als die von isolierten Mitochondrien, wurden die meisten Untersuchungen mit dem Cyclophorase-System angestellt.

Mitochondrien sind ein geordnetes Multienzymsystem, in dem die Enzyme strukturgebunden vorliegen. Die einzelnen Enzyme sind hierbei offensichtlich so angeordnet, daß sie für längere Reaktionsketten, wie z. B. den Citronensäure-Cyclus, in der richtigen Reihenfolge vorliegen, so daß die Wege, welche die Substrate zurücklegen müssen, minimal gehalten werden. Durch Zerstörung der Mitochondrien, z. B. durch Ultraschall, lassen sich kleinste Partikelchen gewinnen, die nur noch Teile der Enzymausstattung der Mitochondrien besitzen. Hogeboom und Schneider<sup>12)</sup> erhielten auf diese Weise Anhaltspunkte dafür, daß in den intakten Mitochondrien das Succinoxidase-System und das Cytochromoxydase-System oder Cytochrom c und DPN-Cytochromreduktase nahe beieinander gelegen sein müssen.

Auch die Coenzyme sind im Cyclophorase-System fest gebunden. Daher werden die Umsätze des Systems durch die Zugabe von DPN, TPN oder Flavinnucleotiden nicht gesteigert. Die hinsichtlich der Dissoziation der Pyridinproteide oder Flavinproteide in vitro aufgefundenen Gesetzmäßigkeiten treffen daher für das Cyclophorase-System nicht zu. In vitro werden infolge der Dissoziation der erwähnten Enzyme große Überschüsse an den Coenzymen benötigt. Im Organismus werden jedoch solche großen Überschüsse nicht angetroffen. In den Körperzellen kommen auf 200–500  $\mu M$  DPN (Diphosphopyridinnucleotid) + TPN (Triphosphopyridinnucleotid) etwa 100–200  $\mu M$  Fermentprotein.

Präparationen des Cyclophorase-Systems sind sehr labil und verlieren rasch an Wirksamkeit. Neben anderen Momenten ist die Ursache hierfür die, daß die Coenzyme rasch aufgespalten werden. Die beiden wichtigsten, die Pyridinnucleotide spaltenden Enzyme DPN-Nucleosidase (bzw. TPN-Nucleosidase) und Nucleotidphosphorylase kommen im Cyclophorase-System in hohen Aktivitäten vor. Pro mg Trockensubstanz können im Gehirn bis zu 1,56  $\mu M$  DPN/h gespalten werden, allerdings erst nach Zerstörung der Struktur. Aus diesen Gründen ist es verständlich, daß ein gealtertes Cyclophorase-System im Gegensatz zu einem

frisch hergestellten durch Zugabe von Coenzymen in seiner Aktivität gesteigert wird.

Die einzelnen Enzyme sind im Cyclophorase-System mit unterschiedlicher Festigkeit gebunden und können daher verschieden leicht von ihm abgetrennt werden. Leicht abtrennbar sind z. B. Äpfelsäure-dehydrogenase, Milchsäure-dehydrogenase, Glycerophosphat-dehydrogenase und Ribonuclease. Andere Enzyme lassen sich überhaupt nicht oder nur sehr schwer von den Partikelchen abtrennen. Zu ihnen gehören das Succinoxidase-System und die Cytochromoxydase. Maßnahmen, durch die man eine Abtrennung von Enzymen aus den Mitochondrien bewirken kann, sind u. a. osmotische Schädigungen, Einwirkung von oberflächenaktiven Lösungsmitteln, Einfrieren und Wiederauftauen, Behandlung mit hohen Drucken oder Ultraschall.

Nach dem Gesagten ist es leicht verständlich, daß die aus dem Cyclophorase-System abgetrennten Enzyme in Lösung teilweise andere Eigenschaften aufweisen, als sie strukturgebunden im Verband des Mitochondrions zeigen. Als Beispiel sei das Verhalten der Äpfelsäure-dehydrogenase wiedergegeben (Tabelle 3).

	In den Mitochondrien	frei
Bedarf an DPN .....	—	+
Hemmung durch Oxallessigsäure	—	+
Hemmung durch Dinitrophenol	+	—
$pH$ -Optimum .....	7–8	9,5

Tabelle 3

Verhalten der Äpfelsäure-dehydrogenase in den Mitochondrien und nach Abtrennung aus ihnen (Huennekens<sup>13)</sup>)

Über die Art der (submikroskopischen) Struktur, an der die Enzyme in den Mitochondrien gebunden sind, ist nichts Näheres bekannt. Es ist wahrscheinlich, daß beim Aufbau dieser Strukturen Ribonucleotide und Lipide, insbes. Phosphatide, beteiligt sind. Durch Anfärben mit basischen Farbstoffen haben wir alle bisher untersuchten strukturgebundenen Enzyme des Zellkerns hemmen können<sup>14)</sup> und nach Untersuchungen von Leuthardt<sup>15)</sup> trifft dies anscheinend auch für die Mitochondrien zu. Die Hemmung durch Anfärben hat nichts mit der atmungssteigernden Wirkung zu tun, die man durch Behandlung von manchen Objekten, z. B. Erythrocyten, mit Methylenblau-Lösungen geringerer Konzentration erhält und die auf einer Katalysierung der Oxydation der Flavinenzyme durch Sauerstoff beruht<sup>16)</sup>. Die Hemmung durch Anfärben beruht m. E. darauf, daß lokal an den Strukturen infolge ihres Gehalts an Ribonucleotiden und Bindung des Farbstoffs an die Nucleotide eine hohe Farbstoffkonzentration entsteht, welche eine Inaktivierung der an die Nucleotide gebundenen oder zumindest ihnen nahe benachbarten Enzyme durch Oxydation (vermutlich von SH-Gruppen) durch diese Redoxfarbstoffe hervorruft. In manchen Fällen mag auch eine direkte Bindung des Farbstoffs an das Enzym eintreten, wodurch Enzymstellen, die der Bindung des Enzyms an sein Substrat dienen, blockiert werden. Ein solcher Mechanismus wird z. B. für die Methylenblau-Wirkung auf die Cholinesterase in den Lebermitochondrien diskutiert<sup>17)</sup>.

Hinsichtlich der Beteiligung von Lipiden an der Struktur und der Bindung von Enzymen im Sinne von

<sup>13)</sup> F. M. Huennekens, Exper. Cell Res. 2, 115 [1950].

<sup>14)</sup> K. Lang, Ber. ges. Physiol. exp. Pharmacol. 145, 228 [1951].

<sup>15)</sup> F. Leuthardt u. A. F. Müller, Experientia 4, 278 [1948]. F. Leuthardt u. B. Exer, Helv. chim. Acta 36, 519 [1953].

<sup>16)</sup> O. Warburg: „Wasserstoff übertragende Fermente“, Berlin 1948.

<sup>17)</sup> S. I. Zacks u. J. H. Welsh, Amer. J. Physiol. 166, 620 [1951].

<sup>11)</sup> J. W. Harman, Exper. Cell Res. 1, 382 [1950].

<sup>12)</sup> G. H. Hogeboom u. W. C. Schneider, J. biol. Chemistry 194, 513 [1952].

Lipoproteiden sei an Vorstellungen erinnert, wie sie für den Feinbau der Markscheiden von Nerven entwickelt worden sind<sup>18)</sup>.

Die große Bedeutung der Phosphatide zur Bindung von Enzymen an die Struktur geht aus der folgenden Beobachtung von *Nygaard* und *Sumner*<sup>19)</sup> hervor. Durch die Einwirkung von kristallisierter Lecithinase wird die Bernsteinsäure-Oxydation in Lebermitochondrien völlig unterbunden, ohne daß die dabei beteiligten Einzelenzyme (Bernsteinsäure-dehydrogenase, Cytochromoxydase) im geringsten beeinträchtigt werden. Durch die Beseitigung des Phosphatids wird also der Ablauf einer längeren Reaktionskette unmöglich gemacht, weil die geordnete Bindung der Einzelenzyme vernichtet wurde.

Die Phosphatide der Mitochondrien zeichnen sich durch einen auffallend hohen Gehalt an Polyensäuren aus. Dies gab zu Spekulationen Anlaß, ob die Bedeutung der essentiellen Fettsäuren etwa in dieser Richtung zu suchen sei. Von solchen Erwägungen ausgehend wurde untersucht, ob man den Enzymgehalt von Mitochondrien durch Mangel an essentiellen Fettsäuren beeinflussen kann. Nach *Tulpule* und *Patwardhan*<sup>20)</sup> wird in der Tat bei Ratten durch eine an den essentiellen Fettsäuren freie Diät der Gehalt der Lebermitochondrien an Bernsteinsäure-oxydase und Glutaminsäure-dehydrogenase erniedrigt.

Stoffwechsel und Struktur bedingen sich gegenseitig. Durch Zerstörung der Struktur werden die Stoffwechselleistungen der Mitochondrien vermindert bzw. unmöglich gemacht<sup>21, 22, 23, 24)</sup>. Die Ursache dürfte in einer Desorientierung der Enzyme zu suchen sein. Die kleinsten Schädigungen der Struktur führen sofort zu einem Absinken des Quotienten P:O bei der biologischen Oxydation. Umgekehrt ist die Aufrechterhaltung der Struktur an das Abfließen energieliefernder Prozesse in den Mitochondrien gebunden. Mitochondrien, denen man kein Substrat zum Oxydieren anbietet oder die man nicht mit ATP versetzt, fangen an zu quellen<sup>25)</sup>. Unterbindung der oxydativen Phosphorylierung führt gleichfalls zu sichtbaren Strukturveränderungen<sup>26)</sup>. Offensichtlich wird energiereiches Phosphat zur Aufrechterhaltung der Struktur benötigt. Dies hängt damit zusammen, daß die Bestandteile von Strukturen, die neben Proteinen Ribonucleotide und Lipoide sein dürften, mit ihren Bausteinen in einem dynamischen Gleichgewicht stehen und mit einer beträchtlichen Geschwindigkeit erneuert werden.

Die Bedeutung der Struktur für die Stoffwechselprozesse zeigt sich auch darin, daß durch elektrische Reizung der Mitochondrien *in vitro* die Umsätze vergrößert werden. Grenzflächen müssen demnach bei diesen Prozessen eine Rolle spielen<sup>27)</sup>. Lösliche Enzymsysteme wie z. B. die Glykolyse werden durch elektrische Reizung nicht beeinflusst.

*Green* und Mitarbeitern<sup>28)</sup> ist es gelungen, eine Art künstliches Cyclophorase-System durch Vereinigung kleinster Partikelchen, die vermutlich Mikrosomen sein dürften, mit löslichen Zellbestandteilen zu erhalten. Die Partikelchen enthalten das Succinoxidase-System und die Häminfermente, die lösliche Fraktion Dehydrogenasen,

Aconitase, DPN-Cytochromreduktase, die bei der  $\beta$ -Oxydation der Fettsäuren beteiligten Enzyme und das Acetyl-Coenzym A deacetylierende Enzymsystem. Dieses „künstliche“ Cyclophorase-System oxydiert Fettsäuren zu  $\text{CO}_2$  und  $\text{H}_2\text{O}$ , wobei eine oxydative Phosphorylierung zu beobachten ist. Aber gegenüber dem eigentlichen Cyclophorase-System besteht doch ein großer Unterschied: In dem künstlichen System ist die oxydative Phosphorylierung wenig ergiebig; der Quotient P:O beträgt weniger als 0,5. Beim intakten System mißt man Quotienten von 2–3.

Die wichtigste Aufgabe der Mitochondrien im intermediären Stoffwechsel ist die Endoxydation der Nährstoffe und Gewinnung verwertbarer Energie durch die Atmungsketten-phosphorylierung. In ihnen ist daher der Citronensäure-Cyclus und das System des Elektronentransports lokalisiert. Da über die Endoxydation der Substrate im Citronensäure-Cyclus in der neueren Zeit eine Reihe zusammenfassender Darstellungen erschienen sind, soll im folgenden auf diesen Fragekomplex nicht näher eingegangen werden<sup>29, 30, 31)</sup>.

Das Cyclophorase-System vermag Fettsäuren vollständig zu  $\text{CO}_2$  und  $\text{H}_2\text{O}$  zu oxydieren. In ihm sind also auch die Enzyme der  $\beta$ -Oxydation der Fettsäuren vorhanden. In diesem Zusammenhange sei auf einige noch ungeklärte Fragen hingewiesen, bei denen sich die Verhältnisse wesentlich von denen im gesamten Organismus unterscheiden. Das Cyclophorase-System oxydiert nicht nur alle Fettsäuren mit einer geraden und einer ungeraden Anzahl von C-Atomen, sondern auch alle ungesättigten Säuren, unbeschadet ihrer cis- oder trans-Konfiguration. Beispielsweise werden Ölsäure und Elaidinsäure in gleicher Weise von Mitochondrien angegriffen<sup>32)</sup>, während der intakte Organismus zwischen beiden im Stoffwechsel unterscheidet. Elaidinsäure (trans- $\Delta^9$ -Octadecensäure) ist für ihn praktisch eine fremde Substanz. Ein weiterer Unterschied ist bei den Oxyssäuren zu beobachten, bei denen der intakte tierische Organismus immer nur die eine Form angreift, etwa die linksdrehende Form der  $\beta$ -Oxybutter-säure, während die Mitochondrien beide optische Antipoden mit derselben Geschwindigkeit oxydieren<sup>33)</sup>. Auch die sonst im intermediären Stoffwechsel praktisch völlig inerten essentiellen Fettsäuren (Linolsäure, Arachidonsäure) werden durch das Cyclophorase-System oxydiert<sup>32)</sup>. Die erwähnten Diskrepanzen zwischen isoliertem System und Gesamtorganismus sind interessant und zeigen deutlich, daß der Stoffwechsel eines komplizierteren Lebewesens offensichtlich nicht allein durch die Enzymsausstattung bestimmt wird, sondern daß hier auch noch andere Faktoren mitwirken. Im vorliegenden Falle dürfte die Ursache darin gelegen sein, daß die sonst nicht umsetzbaren Substanzen überhaupt nicht bis zu den Mitochondrien gelangen und daß der Stoffwechsel auch stark von den Permeabilitätsverhältnissen abhängig ist.

Das Cyclophorase-System baut auch die homologen Dicarbonsäuren ab, wobei die Affinität des Systems mit wachsender C-Atomzahl der Dicarbonsäuren steil abnimmt (Tabelle 4, s. S. 412).

Wie bei den Monocarbonsäuren häufen sich keine Zwischenprodukte an. Eine einmal durch das Cyclophorase-System angegriffene Molekel wird gleich vollständig zu  $\text{CO}_2$  und  $\text{H}_2\text{O}$  abgebaut.

<sup>18)</sup> W. J. Schmidt, Z. wiss. Mikroskopie 54, 159 [1937].

<sup>19)</sup> A. P. Nygaard u. J. B. Sumner, J. biol. Chemistry 200, 723 [1953].

<sup>20)</sup> P. G. Tulpule u. V. N. Patwardhan: Arch. Biochem. 39, 450 [1952].

<sup>21)</sup> E. C. Ball u. O. Cooper, J. biol. Chemistry 180, 113 [1949].

<sup>22)</sup> M. G. McFarlane, Biochemic. J. 47, XXIX [1950].

<sup>23)</sup> D. Keilin, u. E. F. Hartree, Biochemic. J. 44, 205 [1949].

<sup>24)</sup> E. C. Slater, Biochemic. J. 45, 1 [1949].

<sup>25)</sup> J. Raaflaub, Helv. physiol. Acta 10, C 22 [1952].

<sup>26)</sup> J. W. Harman u. M. Feigelson, Exper. Cell Res. 3, 47, 58, 509 [1953].

<sup>27)</sup> L. G. Aboud, R. W. Gerard u. S. Ochs, Amer. J. Physiol. 171, 134 [1952].

<sup>28)</sup> D. M. Green, H. Beinert, M. Fuld, D. Goldman, M. H. Paul u. N. K. Sarkar, Exper. Cell Res. 4, 422 [1953].

<sup>29)</sup> C. Martius u. F. Lynen, Adv. Enzymol. 10, 167 [1950].

<sup>30)</sup> II Congrès international de Biochimie, Symposium sur le cycle tricarboxylique. Paris 1952. Vgl. auch diese Ztschr. 64, 646 [1952].

<sup>31)</sup> K. Lang: Der intermediäre Stoffwechsel. Berlin, Göttingen, Heidelberg 1952.

<sup>32)</sup> E. P. Kennedy u. A. L. Lehninger, J. biol. Chemistry 185, 275 [1950].

<sup>33)</sup> A. L. Grafflin u. D. E. Green, ebenda 176, 95 [1948].

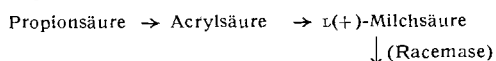
Dicarbonsäure	O <sub>2</sub> -Aufnahme mm <sup>3</sup> in 120 min	
	beobachtet	Theorie
Glutarsäure .....	100–405	560
Adipinsäure .....	100–440	728
Pimelinsäure .....	60–315	896
Korksäure .....	70–260	1064
Azelainsäure .....	12–170	1232
Sebacinsäure .....	0–300	1400

Tabelle 4

Oxydation von Dicarbonsäuren durch das Cyclophorasesystem  
(Lang und Bässler)<sup>34)</sup>  
Im Ansatz je 5 Mikromol der Substanzen

Lynen<sup>35)</sup> hat gezeigt, daß sich der Abbau der Fettsäuren nach Bindung an das Coenzym A vollzieht. Sanadi und Littlefield<sup>36)</sup> haben wahrscheinlich gemacht, daß sich auch Bernsteinsäure an das Coenzym A binden kann. Denn sie wiesen nach, daß sich eine der Transacetylierung analoge Transsuccinylierung unter bestimmten Bedingungen bewirken läßt. Da es nicht unwahrscheinlich erschien, daß sich auch die höheren Dicarbonsäuren an Coenzym A binden, wurde von uns untersucht<sup>37)</sup>, ob man eine Adipinylierung von geeigneten Substraten erhält. Zu diesem Zwecke haben wir Adipinsäure zusammen mit Sulfanilamid Kaninchen injiziert und den Harn auf etwaiges Adipinyl-sulfanilamid aufgearbeitet. Wir fanden jedoch immer nur Acetylsulfanilamid. Auch Versuche in vitro verliefen stets negativ und ließen nie eine Übertragung von Adipinsäure auf Sulfanilamid erkennen. Über den Mechanismus der Oxydation von Dicarbonsäuren durch das Cyclophorase-System lassen sich daher zur Zeit noch keine konkreten Angaben machen.

Weniger gut erforscht als die Endoxydation des C<sub>2</sub>-Bruchstücks, das im Kohlenhydratstoffwechsel und Fettstoffwechsel in Form von acetyliertem Coenzym A anfällt, ist die des C<sub>3</sub>-Bruchstücks, das bei der  $\beta$ -Oxydation von Fettsäuren mit einer ungeradzahigen Anzahl von C-Atomen in Form von Propionsäure übrig bleibt. Die Anhäufung von Propionsäure in Nieren-mitochondrien nach Zusatz von ungeradzahigen Fettsäuren wurde von Atchley<sup>38)</sup> durch Isolierung der Substanz bewiesen. Leber-mitochondrien können nach Angaben der Literatur Propionsäure u. U. direkt zu CO<sub>2</sub> und H<sub>2</sub>O oxydieren, mitunter erst, wenn man ihnen ein im Cytoplasma lokalisiertes Enzym, Milchsäureracemase, zusetzt. Nierenmitochondrien sollen unter allen Umständen die Zugabe der Milchsäureracemase benötigen. Nach Huennekens und Mitarbeitern<sup>39)</sup> vollzieht sich der Endabbau der Propionsäure auf dem folgenden Wege:



Von den Autoren wurde jedoch keines der erwähnten Zwischenprodukte isoliert. Cheldelin und Beinert<sup>40)</sup> haben Propionsäure immer durch Lebermitochondrien auch ohne Zusatz eines cytoplasmatischen Faktors (Milchsäureracemase) abbauen können.

Auch wir haben uns mit dem Endabbau der Propionsäure durch das Cyclophorase-System befaßt. Bei allen Autoren, die den Abbau von Fettsäuren durch das Cyclo-

phorase-System studiert haben, besteht Einigkeit darin, daß die Oxydation erst dann in Gang kommt, wenn man dem System kleine, katalytisch wirkende Mengen eines leicht oxydablen Substrats, etwa ein Glied des Citronensäure-Cyclus, zusetzt. Worauf die Wirkung der Zugabe einer als „Sparker“ dienenden Substanz berührt, ist noch ungeklärt. Zwei Arbeitshypothesen, eine mehr die stoffliche Seite und eine andere mehr die energetische Seite des Problems in den Vordergrund stellend, pflegen angeführt zu werden. Nach der einen Hypothese wirkt der Sparker so, daß er zur Bildung von ausreichend Oxalacetat Anlaß gibt, so daß das bei der  $\beta$ -Oxydation der Fettsäuren entstehende Acetyl-Coenzym A in den Citronensäure-Cyclus eingefädelt werden kann. Als Stütze für diese Auffassung ließe sich anführen, daß ein ungenügend ausgewaschenes Cyclophorase-System immer etwas Brenztraubensäure enthält. Versetzt man ein solches System mit Bicarbonat, so kommt die Fettsäureoxydation auch ohne anderweitigen Sparker in Gang, da offensichtlich durch die Carboxylierung von Pyruvat Oxalacetat gebildet wird. Nach der anderen Auffassung erfordert die Oxydation einer Fettsäure die gleichzeitige Oxydation eines anderen Substrats, um die Energie aufzubringen, die zunächst bei der  $\beta$ -Oxydation durch Bindung an Coenzym A (Schaffung einer energiereichen Bindung, die etwa 12000 cal erfordert), Dehydrierung der gesättigten Fettsäure u. dgl. investiert werden muß. Zusatz von ATP allein bringt jedoch die Fettsäureoxydation durch das Cyclophorase-System nicht in Gang<sup>41)</sup>. Für eine energetische Beteiligung des Sparkers kann man den Umstand werten, daß sich die Oxydation von Fettsäuren anregende Wirkung von Fumarat (oder ähnlichen Substanzen) durch Dinitrophenol unterdrücken läßt. Green<sup>42)</sup> und Mitarbeiter haben nachgewiesen, daß im allgemeinen während der Oxydation von 10–15 Molen einer Fettsäure auch 1 Mol Citronensäure durch das Cyclophorase-System oxydiert wird.

Es ist schon lange bekannt, daß Zusatz von Propionsäure den Stoffwechsel mancher Lebewesen (insbes. von Schimmelpilzen) stark hemmt. Propionsäure wird ja auch als Konservierungsmittel in der Nahrungsmittelindustrie in großem Umfange praktisch verwendet. Die Hemmung der Zellatmung läßt sich nun auch bei Warmblüterorganen nachweisen (Lang und Bässler<sup>42)</sup>). Man hat es aber vollkommen in der Hand, je nach Zugabe einer mehr oder minder großen Sparkermenge die Hemmung der Gewebsatmung in eine durch die Verbrennung der zugesetzten Propionsäure bedingte Steigerung zu verwandeln (Tabelle 5).

Succinat-Zusatz	Zu- oder Abnahme der O <sub>2</sub> -Aufnahme in mm <sup>3</sup> gegenüber dem Leerwert	
	Niere	Leber
2 Mikromole .....	– 100	– 20
5 Mikromole .....	+ 23	0
15 Mikromole .....	+ 110	+ 200

Tabelle 5

Wirkung der zugesetzten Succinat-Menge auf die Oxydationsgröße des Cyclophorase-Systems für Propionsäure (Lang und Bässler)

Wie Tabelle 5 weiterhin zeigt, wird Propionsäure bei Zusatz einer genügenden Menge Sparker durch das Cyclophorase-System sowohl der Leber als auch der Niere, und zwar ohne Anwesenheit einer Milchsäureracemase oxydiert. Wir sehen daher keinen Grund, die Beteiligung einer Racemase bei der Endoxydation der Propionsäure anzunehmen.

<sup>41)</sup> E. P. Kennedy u. A. L. Lehninger, J. biol. Chemistry 190, 361 [1951].

<sup>42)</sup> K. Lang u. K. H. Bässler, Biochem. Z., im Druck.

<sup>34)</sup> K. Lang u. K. H. Bässler, Biochem. Z. 323, 456 [1953].

<sup>35)</sup> F. Lynen, L. Wessely, O. Wieland u. L. Rueff, diese Ztschr. 64, 687 [1952].

<sup>36)</sup> D. R. Sanadi u. J. W. Littlefield, J. biol. Chemistry 193, 683 [1951].

<sup>37)</sup> K. H. Bässler u. K. Lang, Biochem. Z., im Druck.

<sup>38)</sup> W. A. Atchley, J. biol. Chemistry 176, 123 [1948].

<sup>39)</sup> F. M. Huennekens, H. R. Mahler u. J. Nordmann, Arch. Biochem. 30, 66 [1951].

<sup>40)</sup> V. H. Cheldelin u. H. Beinert, Biochim. biophys. Acta 9, 661 [1952].

Vermutlich spielt sich auch der Abbau der Propionsäure unter Bindung an das Coenzym A ab. Dies wird durch Befunde von Shreeve<sup>43)</sup> wahrscheinlich gemacht, der zeigte, daß überlebende Organschnitte den Acetylierungen analoge Propionylierungen bewirken, z. B. Propionsäure auf Phenylaminobuttersäure übertragen. Bekanntlich entsteht im Organismus oder in überlebendem Gewebe aus Fettsäuren mit einer ungeraden C-Atomzahl, insbes. aus Propionsäure, keine Acetessigsäure. Als Ursache wurde angenommen, daß Propionsäure Brenztraubensäure liefert, die durch Carboxylierung in Oxalessigsäure bzw. unter Mitwirkung des Malic-Enzyms in Äpfelsäure übergeht, so daß unter allen Umständen die Kondensation von acetyliertem Coenzym A zu Citronensäure sichergestellt sei. Unsere Untersuchungen haben jedoch ergeben, daß hier ein ganz anderer Reaktionsmechanismus vorliegt. Das Cyclophorase-System der Leber bildet aus Essigsäure bzw. aus niederen Fettsäuren in großem Umfange Acetessigsäure. Erst bei höheren C-Atomzahlen der Fettsäuren tritt die Acetessigsäure-Bildung in den Hintergrund und die Oxydation zu CO<sub>2</sub> und H<sub>2</sub>O wird begünstigt (Tabelle 6).

Fettsäure	CO <sub>2</sub> -Bildung	Acetessigsäure-bildung
Hexansäure .....	0,5	3,1
Octansäure .....	0,9	3,1
Decansäure .....	1,1	2,3
Myristinsäure .....	3,0	0,76
Palmitinsäure .....	3,4	1,16

Tabelle 6

Einfluß der C-Atomzahl auf die Oxydation von Fettsäuren durch Lebermitochondrien (Kennedy u. Lehninger<sup>44)</sup>. Alle Werte sind in Mikromolen angegeben

Dies ist eine Eigenheit der Lebermitochondrien, die zugesetzte oder entstandene Acetessigsäure kaum umzusetzen vermögen, während Acetessigsäure von Mitochondrien anderer Organe spielend leicht verbrannt wird und sich daher nie in ihnen anhäuft. Wir haben nun gefunden, daß Lebermitochondrien in Gegenwart von Propionsäure keine Acetessigsäure aus niederen Fettsäuren bilden (Tabelle 7).

Zugesetzte Acetat	Mikromole Propionat	Entstandene Mikromole Acetessigsäure
0	0	1,4
40	0	3,3
40	20	0,3
40	10	0,9
40	5	1,0

Tabelle 7

Hemmung der Acetessigsäure-Bildung durch Propionsäure im Cyclophorase-System der Leber (Lang u. Baessler<sup>42)</sup>)

Wie man sieht, genügen schon kleine Propionsäure-Konzentrationen, um die Acetessigsäure-Bildung zu unterdrücken. Wir nehmen an, daß dies durch eine Verdrängung des acetylierten Coenzym A von dem Fermentprotein, das bei der Kondensation von 2 Molen Acetylcoenzym A zu Acetessigsäure beteiligt ist, durch das fester an das Protein gebundene und weniger leicht dissoziierte Propionyl-coenzym A bedingt ist.

Ob sich die Endoxydation der Propionsäure in allen Lebewesen auf dieselbe Art vollzieht, scheint uns zweifelhaft zu sein. Wir haben in der *Torula*-Hefe einen Mikroorganismus gefunden, der im Gegensatz zu vielen anderen Propionsäure spielend und ohne jeden weiteren Zusatz verbrennt. Acrylsäure wird im Gegensatz zur Propionsäure

von der *Torula* entweder überhaupt nicht oder in nur ganz geringem Umfange angegriffen und hemmt den Abbau der Propionsäure. Man kann daher in diesem Falle unmöglich annehmen, daß Acrylsäure ein Zwischenprodukt beim Abbau der Propionsäure durch *Torula* ist. Dieser Effekt der Acrylsäure ist beim Cyclophorase-System tierischer Zellen nicht zu beobachten. Man muß es daher für wahrscheinlich erachten, daß es mehrere verschiedene Mechanismen zur Oxydation der Propionsäure gibt.

Im Cyclophorase-System sind einige Umsetzungen im Bereich des Aminosäure-Stoffwechsels nachgewiesen worden (Tabelle 8). Bei der Oxydation von Prolin und

Glykokoll	↔	Serin <sup>45)</sup>
L-Alanin	→	CO <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O <sup>47)</sup>
L-Asparaginsäure	→	CO <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O <sup>46)</sup>
D-Asparaginsäure	→	CO <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O <sup>47)</sup>
D-Glutaminsäure	→	CO <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O
L-Glutaminsäure	→	CO <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O
L-Prolin	→	CO <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O <sup>48)</sup>
L-Oxyprolin	→	CO <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O <sup>48)</sup>
L-Methionin	→	CH <sub>3</sub> -S-CH <sub>3</sub> <sup>49)</sup>

Tabelle 8

Umsetzungen von Aminosäuren im Cyclophorase-System

Oxyprolin ist das Enzym Prolinoxidase beteiligt, das L-Prolin zu Glutaminsäurehalbaldhyd und L-Oxyprolin zum Halbaldehyd der  $\gamma$ -Oxyglutaminsäure oxydiert (Lang und Mitarbeiter<sup>50)</sup>). Bei Schädigung des Cyclophorase-Systems (z. B. durch starkes Auswaschen) häufen sich die erwähnten Substanzen in den Ansätzen an.

Merkwürdig liegen die Verhältnisse bei der Harnstoff-Synthese. Während die Bildung von Citrullin aus Ornithin in den Mitochondrien lokalisiert ist<sup>51)</sup>, vollzieht sich die Synthese von Arginin aus Citrullin in dem Cytoplasma der Leberzelle<sup>52)</sup>.

Über die in Mitochondrien ablaufenden Synthesen orientiert die Tabelle 9.

Knüpfung von Peptidbindungen (Einbau von Aminosäuren in Proteine <sup>53-58)</sup> )
Synthese von Hippursäure <sup>57-59)</sup>
Synthese von Ribonucleotiden <sup>60, 61)</sup>
Synthese von Phosphatiden <sup>62)</sup>
Veresterung von Aneurin zu Cocarboxylase <sup>58)</sup>
Bildung von Glutamin aus Glutaminsäure <sup>63)</sup>

Tabelle 9

Die in den Mitochondrien ablaufenden Synthesen

Der Umfang der Proteinsynthese und der Synthese von Ribonucleotiden ist anscheinend in den Mitochondrien nicht groß, obwohl sie die Stätte der Atmungskettenphosphorylierung sind. Dagegen läuft eine sehr lebhaft Phosphatid-Synthese in ihnen ab.

<sup>45)</sup> F. Leuthardt u. H. Nielsen, *Helv. chim. Acta* 34, 1618 [1951].  
<sup>46)</sup> N. K. Sarkar, H. Beinert, M. Fuld u. D. E. Green, *Arch. Biochem.* 37, 140 [1952].

<sup>47)</sup> H. I. Nakada u. S. Weinhouse, *J. biol. Chemistry* 187, 663 [1950].  
<sup>48)</sup> J. L. Still, M. V. Buell, W. E. Knox u. D. E. Green, ebenda 179, 831 [1949].

<sup>49)</sup> J. V. Taggart u. R. B. Krakaur, ebenda 177, 641 [1949].

<sup>50)</sup> E. S. Canellakis u. H. Tarver, *Arch. Biochem.* 42, 387, 446 [1953].

<sup>51)</sup> K. Lang u. G. Schmid, *Biochem. Z.* 322, 1 [1951]. K. Lang u. U. Mayer, *Biochem. Z.*, im Druck.

<sup>52)</sup> A. F. Müller u. F. Leuthardt, *Helv. chim. Acta* 32, 2289, 2349 [1949].

<sup>53)</sup> F. Leuthardt u. M. Staehelin, *Helv. physiol. Acta* 11, 30 [1953].

<sup>54)</sup> H. Borsook, C. L. Deasy, A. J. Haagen-Smit, G. Keighley u. P. H. Lowy, *J. biol. Chemistry* 187, 839 [1950].

<sup>55)</sup> E. A. Peterson u. D. M. Greenberg, ebenda 194, 359 [1952].

<sup>56)</sup> S. Kit u. D. M. Greenberg, ebenda 194, 377 [1952].

<sup>57)</sup> P. Siekevitz, *J. biol. Chemistry* 195, 549 [1952].

<sup>58)</sup> P. P. Cohen u. R. W. McGilvery, ebenda 171, 121 [1947].

<sup>59)</sup> H. Nielsen u. F. Leuthardt, *Helv. physiol. Acta* 7, C 53 [1949].

<sup>60)</sup> R. K. Kielly u. W. C. Schneider, *J. biol. Chemistry* 185, 869 [1950].

<sup>61)</sup> J. N. Davidson, W. M. McIndoe u. R. M. S. Smellie, *Biochemic. J.* 49, XXXVI [1951].

<sup>62)</sup> R. B. Hurlbert u. V. R. Potter, *J. biol. Chemistry* 195, 257 [1952].

<sup>63)</sup> E. P. Kennedy, ebenda 201, 399 [1953].

<sup>64)</sup> I. Frey u. F. Leuthardt, *Helv. chim. Acta* 32, 1137 [1949].

<sup>43)</sup> W. W. Shreeve, *J. biol. Chemistry* 195, 1 [1951].

<sup>44)</sup> E. P. Kennedy u. A. L. Lehninger, *J. biol. Chemistry* 185, 275 [1950].

Die Mitochondrien haben vermutlich eine Bedeutung für die Immunitätsreaktionen. Nach den Untersuchungen von *Haurowitz*<sup>64)</sup> werden Antigene in den Mitochondrien am stärksten angereichert (Tabelle 10).

	Relat. Aktivität (Gesamthomogenat = 1) Leber                      Milz	
Zellkerne .....	1,85	1,03
Mitochondrien .....	2,69	3,1
Mikrosomen .....	0,54	1,0
Cytoplasma .....	0,27	0,24

Tabelle 10

Anreicherung von Ovalbumin (mit <sup>131</sup>I markiert) in den Zellelementen<sup>64)</sup>. Kaninchen. Analyse 24 h nach der i. v. Injektion des Antigens

Jodierung von Thyreoglobulin in der Schilddrüse<sup>65)</sup>  
Oxydation von Aldehyden zu Säuren<sup>66)</sup>  
Oxydation von Rutin<sup>67)</sup>  
Oxydation von Cholin zu Betain<sup>68, 69)</sup>  
Oxydative Desaminierung von Aminen<sup>70)</sup>  
Allantoin-Bildung aus Harnsäure<sup>71, 72)</sup>  
Rhodän-Bildung<sup>73)</sup>  
Hydroxylierung von Desoxycorticosteron am C-Atom 11<sup>73a)</sup>

Tabelle 11

Weitere vorwiegend oder ganz in den Mitochondrien lokalisierte Reaktionen

Die Mitochondrien erzeugen laufend viel Energie, verbrauchen selber aber nur wenig. Da nun die Phosphat-Konzentration in den Zellen, insbes. im Cyclophorase-System nieder ist und zudem das Adenylsäure-System nur in beschränkter Menge zur Verfügung steht, pflegt die Atmung der Mitochondrien mangels Phosphats und Phosphat-acceptoren rasch abzusinken. Man kann daher die Sauerstoff-Aufnahme durch das Cyclophorase-System gewaltig steigern, wenn man ihm irgend ein ATP verbrauchendes System zufügt, etwa Zellkerne oder Cytoplasma<sup>74)</sup>, oder Glucose + Hexokinase<sup>75, 76)</sup> oder wenn man ihm eine umfangreiche Citrullin-Synthese<sup>77)</sup> ermöglicht. Steigerung des Sauerstoff-Verbrauchs und Citrullin-Bildung gehen dann bei einem konstanten Verhältnis ATP:ADP vonstatten, mit anderen Worten also bei einer erhöhten Umsatzgeschwindigkeit der beiden Nucleotide.

Die niedere Konzentration an anorganischem Phosphat und an den Adeninnucleotiden ist für die Zellen von einer großen Bedeutung für die Selbstregulation des Stoffwechsels. Bei einem geringen Energieverbrauch und daher einer unbedeutenden Aufspaltung von ATP sinken die Umsätze rasch ab, da sich ATP anhäuft und Mangel an Phosphat-Acceptoren entsteht. Umgekehrt bedingt eine vermehrte Aufspaltung von ATP infolge der Kopplung zwischen Atmung und Phosphorylierung sofort eine Vergrößerung der Substratoxydation und vermehrten Sauerstoff-Verbrauch.

Es ist daher verständlich, daß man bei der Oxydation von geeigneten Substraten (Glieder des Citronensäure-Cyclus, Fettsäuren, Brenztraubensäure u. dgl.) durch das Cyclophorase-System Q<sub>0</sub>-Werte von etwa 20–40 erhält. Dies entspricht unter Berücksichtigung des Umstandes,

daß die Mitochondrien rund 1/4 bis 1/5 der Zellmasse ausmachen, etwa dem aus der Atmung der intakten Zelle theoretisch zu erwartenden Wert. Die Zelle und auch das Cyclophorase-System arbeiten im allgemeinen auf einem sehr niederen Niveau der Umsätze.

Stellt man Untersuchungen über die maximalen Stoffwechselleistungen an, indem man unter den für das zu untersuchende Enzym optimalen Bedingungen arbeitet (Aufhebung aller Diffusionsschwierigkeiten, Ausschaltung aller Inhibitoren, enzymzerstörender Faktoren und unter günstigsten Konzentrationen an Substraten und Effektoren), gelangt man zu wesentlich höheren (zumeist um mindestens eine, wenn nicht zwei Zehnerpotenzen höheren) Umsätzen als bei Arbeiten mit intakten Zellen bzw. intakten Mitochondrien. Die Stoffwechselleistungen der Zellen des tierischen Organismus sind also nicht etwa durch die Enzymkonzentrationen begrenzt, sondern durch andere Faktoren, in erster Linie die niederen Substratkonzentrationen und, speziell bei der biologischen Oxydation, durch die niederen Konzentrationen an Phosphat und den Adenin-nucleotiden. Im intakten höheren tierischen Organismus ist die Höhe der erreichbaren Umsätze im wesentlichen durch die Leistungsfähigkeit von Kreislauf und Atmung bedingt.

Soweit es sich heute übersehen läßt, besitzen die Mitochondrien aller Zellen, auch die von Tumoren<sup>78)</sup> und von Pflanzenzellen<sup>79)</sup>, grundsätzlich dieselbe Enzymausstattung. Unterschiede ergeben sich nur insofern, als das eine

Oxydierbares Substrat	Leber	Niere	Muskel	Gehirn	Milch-drüse	Tumor	Pflanze
Glieder des Citronensäurecyclus	+	+	+	+	+ <sup>1)</sup>	+	+
Brenztraubensäure	+	+	+	+	+	+	+
Fettsäuren .....	+	+	—	—	+	—	—
Dicarbonsäuren .	—	+	—	—	—	—	—
Alanin .....	+	+	—	—	—	—	—

Tabelle 12

Leistungen der Mitochondrien verschiedener Zellarten

<sup>1)</sup> Citronensäure wird aber nur langsam abgebaut<sup>84)</sup>.

oder andere Zubringerenzym zum Citronensäure-Cyclus fehlen oder vorhanden sein kann. Beispielsweise enthalten die Pflanzenmitochondrien im Gegensatz zu denen der Tiere Hexokinase und können daher unvorbehandelte Zucker umsetzen, eine Stoffwechselleistung, die den tierischen Mitochondrien versagt ist. Letztere greifen in den Kohlenhydratstoffwechsel erst auf der Stufe der Brenztraubensäure ein<sup>80)</sup>. Die Glykolyse ist praktisch quantitativ im Cytoplasma der Zellen lokalisiert.

Die Mitochondrien der Tumoren unterscheiden sich (soweit man es heute übersehen kann) von denen der anderen Zellen dadurch, daß sie wesentlich unbeständiger sind. Insbes. verlieren sie sehr leicht DPN<sup>81, 82)</sup>. Ob dies auf einer vermehrten enzymatischen Aufspaltung der DPN oder auf einer weniger festen Bindung der Substanz beruht, ist unbekannt.

Die Krebszelle unterscheidet sich in ihrem Stoffwechsel in manchen Punkten wesentlich von dem der gewöhnlichen Körperzellen, besonders durch ihre herabgesetzte Fähigkeit zur biologischen Oxydation. Eine Tumorzelle enthält wesentlich weniger Mitochondrien als eine normale Zelle (bisher nur für die Leber sichergestellt).

<sup>64)</sup> C. F. Crampton u. F. Haurowitz, J. Immunol. 69, 457 [1952].  
<sup>65)</sup> B. Weiss, J. biol. Chemistry 201, 31 [1953].  
<sup>66)</sup> S. S. Walkenstein u. S. Weinhouse, ebenda 200, 515 [1953].  
<sup>67)</sup> K. Lang u. H. Weyland, unveröffentl. Versuche.  
<sup>68)</sup> C. J. Kensler u. H. Langemann, J. biol. Chemistry 192, 551 [1951].  
<sup>69)</sup> J. N. Williams jr., ebenda 197, 709 [1952].  
<sup>70)</sup> G. C. Cotzias u. V. P. Dole, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 78, 157 [1951].  
<sup>71)</sup> A. H. Shein, E. Podber u. A. B. Novikoff, J. biol. Chemistry 190, 331 [1951].  
<sup>72)</sup> W. C. Schneider u. G. H. Hogeboom, ebenda 195, 161 [1952].  
<sup>73)</sup> S. Ludewig u. A. Chanutin, Arch. Biochem. 29, 441 [1950].  
<sup>73a)</sup> M. Hayano u. L. T. Samuels, J. biol. Chemistry 201, 175 [1953].  
<sup>74)</sup> V. R. Potter, G. G. Lyle u. W. C. Schneider, J. biol. Chemistry 190, 293 [1951].  
<sup>75)</sup> M. Rabinowitz, M. P. Stulberg u. P. D. Boyer, Science [New York] 114, 641 [1951].  
<sup>76)</sup> H. A. Lardy u. H. Wellmann, J. biol. Chemistry 195, 215 [1952].  
<sup>77)</sup> P. Siekevitz u. V. R. Potter, ebenda 201, 1 [1953].

<sup>78)</sup> O. Lindberg, M. Ljunggren, L. Ernster u. L. Révész, Exp. Cell Res. 4, 243 [1953].  
<sup>79)</sup> J. Bonner u. A. Millard, Arch. Biochem. 42, 135 [1953]. A. Millard, ebenda 42, 149 [1953].  
<sup>80)</sup> E. H. Kaplan, J. L. Still u. H. R. Mahler, ebenda 34, 16 [1951].  
<sup>81)</sup> R. K. Kielly, Cancer Res. 12, 124 [1952].  
<sup>82)</sup> C. E. Werner u. S. Weinhouse, Cancer Res. 13, 21 [1953].

	Mitochondrien/g Leber $\times 10^{10}$	Zellen/g Leber $\times 10^6$	Mitochondrien/Leberzelle
Normal .....	33	133	2500
Gesamtleber mit Tumor .....	42	92	4550
Tumor .....	39	554	711
Regenerierende Leber			
nach 2 Tagen	26	123	2089
nach 4 Tagen	25	142	1760

Tabelle 13  
Zahl der Mitochondrien der Leberzelle unter verschiedenen Bedingungen<sup>83)</sup>

Außerdem sind die Tumormitochondrien auch bezüglich ihrer Zusammensetzung (z. B. N-Gehalt) verändert. Von verschiedenen Autoren wurde nachgewiesen, daß sie nur etwa  $\frac{2}{3}$  der Succinoxidase-Aktivität normaler Mitochondrien haben<sup>81, 82)</sup>. Auch eine verminderte Fähigkeit zur Oxydation von Fettsäuren wurde beschrieben<sup>83)</sup>. Systematische Untersuchungen über die Stoffwechselleistungen von Tumormitochondrien liegen jedoch noch nicht vor.

Bekanntlich zeichnet sich die Leber durch eine große Regenerationsfähigkeit aus. Man kann im Tierversuch große Teile der Leber entfernen, die dann in verhältnismäßig kurzer Zeit wieder gebildet werden. Durch diese Versuchsanordnung ist man in der Lage, ein rasch wachsendes Gewebe zu untersuchen. Wie die Tabelle 13 zeigt, ist die Zahl der Mitochondrien pro Zelle auch in der regenerierenden Leber stark vermindert. Es sieht also ganz so aus, als ob nach Zellteilungen die alte Zahl der Mitochondrien in der Zelle nur recht langsam erreicht wird.

Die Zahl der Mitochondrien in einem Gewebe geht seiner Stoffwechselbeanspruchung parallel. Ob sich dabei allerdings Veränderungen der Mitochondrienzahl pro Zelle ergeben, ist bisher nie untersucht worden. Ein gutes Beispiel für die Anpassung der Stoffwechselleistung an die Beanspruchung bietet die Milchdrüse, die im Verlaufe des Lebens große Veränderungen durchmacht. In dem nicht aktiven Milchdrüsen Gewebe ist die Aktivität der Succinoxidase und der Cytochromoxydase nur gering. Kurz vor der Geburt eines Kindes steigt die Aktivität beider steil an und bleibt während der ganzen Periode der Laktation hoch. Nach der Entwöhnung und der dadurch eingeleiteten

<sup>83)</sup> C. G. Baker u. A. Meister, J. nat. Cancer Inst. (USA) 10, 1191 [1950].

Involution des Organs sinkt dann der Gehalt an den genannten Oxydationsfermenten wieder auf das alte niedrige Niveau ab<sup>84)</sup>. Wenig beanspruchte Muskeln enthalten eine wesentlich geringere Zahl von Mitochondrien („Sarkosomen“) als stark beanspruchte<sup>85)</sup>.

Bei Mikroorganismen, aber auch in einem gewissen Umfange bei den Zellen des tierischen Organismus beobachtet man, daß unter dem Einfluß von spezifischen Substraten die Bildung von Enzymen induziert wird, daß also beispielsweise eine Hefezelle durch ein Angebot an Galaktose nach kurzer Zeit in der Lage ist, diesen Zucker umzusetzen. Man nennt diesen Prozeß eine adaptive Enzymbildung. Durch die Fähigkeit zur adaptiven Enzymbildung vermag die Zelle ihr Enzymsystem der angebotenen Nahrung anzupassen, was naturgemäß für einen Mikroorganismus eine viel größere Bedeutung hat als für einen hochentwickelten tierischen Organismus. Bei Nichtbeanspruchung adaptiv gebildeter Enzyme nimmt ihre Konzentration rasch wieder auf sehr niedere Werte ab. Virtanen<sup>86)</sup> hat gezeigt, daß dann, wenn man Zellen die Möglichkeit zur Biosynthese von Eiweiß beschneidet (etwa Mikroorganismen auf N-armen Nährböden züchtet), der Gehalt der Zelle an den adaptiven Enzymen stark absinkt, während andere Enzyme, z. B. die der biologischen Oxydation, in unveränderter Menge erhalten bleiben.

Soweit sich die Sachlage heute überblicken läßt, sind die adaptiven Enzyme immer solche, die nicht strukturgebunden sind. Die von Virtanen als „lebenswichtig“ bezeichneten Enzyme, die also durch exogene Einflüsse (Anbietung von Substraten, schlechte Ernährung der Zellen) nicht beeinflussbar sind, sind strukturgebunden und Bestandteile von geordneten Multienzymsystemen. Ihre Mehrproduktion oder Minderproduktion ist daher m. E. nur im Rahmen einer Neubildung oder Vernichtung von Strukturen möglich.

Die Untersuchungen am Cyclophorase-System haben in besonderem Maße dazu beigetragen, unsere Kenntnisse über die Beziehungen zwischen chemischer Leistung und Struktur zu vertiefen.

Eingeg. am 22. Mai 1953 [A 508]

<sup>84)</sup> R. O. Moore u. W. L. Nelson, Arch. Biochem. 36, 178 [1952].

<sup>85)</sup> M. H. Paul u. E. Sperling, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 79, 352 [1952].

<sup>86)</sup> A. J. Virtanen, Ann. Med. exp. Biol. Fenn. 30, 234 [1952].

## Über die fungistatische und kontaktinsektizide Wirkung von Phenyl-trichlormethylsulfiden

Von Privatdozent Dr. ROBERT PFLEGER\*)

Aus dem Institut für Angewandte Chemie der Universität Erlangen

Halogenierte 2,2'-Dioxy-diphenylsulfide haben sich als wirksame, innertherapeutisch verwendbare Fungistatica erwiesen. Bei der systematischen Untersuchung von Abwandlungsprodukten zeigte es sich, daß die Gruppierung  $C_6H_5 \cdot S \cdot CCl_3$  neben fungistatischen Eigenschaften kontaktinsektizide Wirkung hat.

Unter den infektiösen Krankheiten, besonders denen der Haut, spielen die durch pilzliche Parasiten (fungi) verursachten Mykosen eine große Rolle.

Der Mangel an befriedigenden Mitteln gegen diese häufig epidemisch auftretenden Leiden hat mich veranlaßt, in Zusammenarbeit mit dem Erlanger Dermatologen Prof. Dr. R. Richter, nach geeigneteren fungistatisch wirksamen Stoffen zu suchen. Ein besonderes Ziel unserer Arbeits-

gemeinschaft waren Substanzen mit chemotherapeutischen Eigenschaften, die eine innere Anwendung gegen die oft gefährlichen, tiefliegenden, äußerlich nur schwer oder gar nicht zu behandelnden Mykosen ermöglichen.

Unter einer großen Zahl von Verbindungen, die auf ihre fungistatische Wirkung geprüft wurden, ergaben sich als besonders wirksame Fungistatica halogenierte 2,2'-Dioxydiphenylsulfide<sup>1)</sup>.

\*) Herrn Prof. Dr. Walter Noddack zum 60. Geburtstag.

<sup>1)</sup> R. Pflieger, E. Schraufstätter, F. Gehringer, J. Sciuk, Z. Naturforsch. 4b, 344 [1949].