

## Mikrosomale Redoxasen

Hj. Staudinger, Gießen

Biochemisches Colloquium Gießen, am 6. Juli 1962

Mikrosomen sind Trümmer des endoplasmatischen Retikulums. Neben vielen anderen Enzymen findet man in dieser Zellfraktion auch Enzyme des Wasserstoff- bzw. des Elektronen-Transportes. Die Enzyme, die Elektronen von den reduzierten Pyridinnucleotiden bis zum Sauerstoff transportieren, lassen sich – zumindest formal – ihrem Normalpotential entsprechend zu einer Art Elektronentransportkette ordnen. Glieder dieses „mikrosomalen Elektronentransportes“ sind: eine kohlenoxyd-empfindliche terminale Oxydase von Cytochrom-Charakter, Cytochrom  $b_5$  (bzw. damit verwandte Cytochrome), mehrere verschiedene „Cytochrom-Reductasen“. Ein ascorbinsäure-abhängiges Enzym, das den Wasserstoff vom reduzierten DPNH auf die radikalische Monodehydroascorbinsäure überträgt, gehört hierher. Es konnte neuerlich aus Mikrosomen gelöst und angereichert werden. Die zellphysiologische Bedeutung der verschiedenen mikrosomalen Elektronentransportmechanismen ist unbekannt. Am Gesamt-Sauerstoff-Umsatz der Zelle haben sie nur einen sehr kleinen Anteil. Die Affinität der Mikrosomen zum Sauerstoff ist 100-mal geringer als die Affinität der Mitochondrien (bzw. Cytochrom  $a_3$ ). Der Umsatz der Mikrosomen pro Gramm Protein ist bei Sättigung mit  $O_2$  etwa 3-mal kleiner als der von Mitochondrien. Bei dem niedrigen intrazellulären  $O_2$ -Partialdruck macht der Anteil des mikrosomalen  $O_2$ -Umsatzes nur etwa 1 % von der Gesamtatmung einer Zelle aus. Der mikrosomale Elektronentransport hat Bedeutung für die verschiedenartigen auch in Mikrosomen lokalisierten Hydroxylierungsreaktionen (Aromaten, Steroide usw.). Ein vorläufiger Mechanismus für die Hydroxylierungs-Reaktion wurde diskutiert. Neben dem mikrosomalen „Elektronen-Transport“ findet man in Mikrosomen auch wasserstoff-übertragende Enzyme, z. B. Enzyme, die die  $\Delta^4$ -3-Ketogruppe von Steroidhormonen reduzieren und damit die Steroidhormone inaktivieren. Die „Lehrmeinung“, daß nur TPNH Wasserstoffdonator für diese Reaktion sei, ist irrig. Auch DPNH ist ein H-Donator; Voraussetzung ist allerdings die Gegenwart von Orthophosphat. Die Reaktionsgeschwindigkeit des mikrosomalen Enzyms ist von der Konzentration an Orthophosphat abhängig und strebt einem Sättigungswert zu, der bei etwa  $2 \cdot 10^{-1}$  m Phosphat erreicht wird. Orthophosphat kann durch Arsenat ersetzt werden.

Andere Anionen sind unwirksam. Eine Transhydrierung auf endogenes TPN<sup>o</sup> oder eine Transphosphorylierung, wodurch DPNH in TPNH umgewandelt würde, konnte durch verschiedene Kontrolluntersuchungen mit Sicherheit ausgeschlossen werden. Das Phosphat ändert  $V_{max}$ , nicht aber  $K_M$  für das Enzym:  $DPNH + \text{Testosteron}$ . [VB 613]

## Über das toxische, entzündliche und cocarcinogene Prinzip des Crotonöls

Erich Hecker, München

Kolloquium des Max-Planck-Instituts für Medizinische Forschung, Heidelberg, am 18. Juni 1962

Crotonöl ist ein offizinelles, laxierend wirkendes Öl, das aus den Samen der in tropischen Zonen verbreiteten Euphorbiacee *Croton tiglium* L. gewonnen wird. Die laxative sowie die toxische und entzündliche bis blasenziehende Wirkung des Öls ist seit langem bekannt und hat vielfach zur chemischen Bearbeitung des Öls angeregt. Darüber hinaus wurde gefunden [1], daß Crotonöl die Eigenschaft besitzt, aus potentiellen Tumorzellen massive Geschwülste zu entwickeln. Diese co-carcinogene Wirkung des Öls hat in der experimen-

[1] I. Berenblum, Cancer Res. 1, 44, 807 (1941).

tellen Krebsforschung große Bedeutung erlangt, da man von ihr tiefere Einblicke in den komplizierten Mechanismus der Carcinogenese erhoffte. Die aus entsprechenden Versuchen abgeleitete sog. 2-Stufen-Hypothese der Carcinogenese ist aber bis heute umstritten, weil es trotz zahlreicher Bemühungen nicht gelang, das cocarcinogene Prinzip des Öls rein darzustellen.

Durch Kombination von kontinuierlichen und diskontinuierlichen, multiplikativen Verteilungen [2] mit chromatographischen Verfahren sowie eigens entwickelten Entzündungs- und Cocarcinogen-Testen haben Votr. u. Mitarb. kürzlich [3] zwei farblose, glasartig amorphe Substanzen a und b aus Crotonöl isoliert, die für die gesamte toxische, entzündliche und cocarcinogene Wirkung des Öls verantwortlich sind. Beide Verbindungen erscheinen chromatographisch einheitlich, zeigen  $R_F$ -Werte von 0,6 bzw. 0,7,  $[\alpha]_D^{47^\circ}$  bzw.  $46^\circ$  und enthalten nach UV- und IR-Spektrum freie Hydroxylgruppen, Esterfunktionen und Doppelbindungen [4]. Substanz a läßt sich mit 4'-Nitro-azobenzol-carbonsäure-(4)-chlorid [5] in einen intensiv roten, kristallisierenden Ester (Fp  $86-87^\circ C$ ,  $\nu_{OH}$  2,95;  $\nu_{CH}$  3,43, 3,51;  $\nu_{CO}$  5,8–5,85;  $\nu_{C=C}$  6,1–6,15  $\mu$  (KBr);  $\lambda_{max}$  (230), 330,5, (345), (460)  $m\mu$ ;  $\epsilon_{max}$  (15000), 30880, (26800), (634) (in Äthanol) überführen. Analyse und Molekulargewicht stimmt am besten mit der Bruttozusammensetzung  $C_{51}H_{64-66}O_{12}N_3$  überein [6].

Die  $LD_{50}$  der beiden Substanzen liegt bei 10  $\gamma$ /50 g Frosch, ihre Entzündungseinheit (E.E.) bei  $10^{-2}$   $\gamma$ /Mäuseohr. Im Papillomtest werden bei einmaliger dorsaler Applikation von 300  $\gamma$  9.10-Dimethyl-1.2-benzanthracen (DMBA)/Maus und nachfolgender 2mal wöchentlicher Behandlung mit jeweils 0,5  $\gamma$  Substanz a bzw. b nach 12 Wochen bei 100% der Mäuse gutartige Tumoren und zwar durchschnittlich 10 bzw. 11/Maus erhalten. Nach weiteren 16 Wochen ohne jede weitere Behandlung hat sich ein Teil der Tumoren in bösartige wuchernde Plattenepithelcarcinome umgewandelt. Daneben werden auch Sarkome und Leukämien beobachtet. Orale Verabfolgung von DMBA und dorsale Applikation von Substanz a bzw. b führt in ähnlicher Weise zu Plattenepithelcarcinomen und Sarkomen. Weder bei alleiniger Anwendung von 300  $\gamma$  DMBA noch bei ausschließlicher Applikation von Substanz a bzw. b treten bösartige Tumoren auf.

Die Isolierung der Cocarcinogene a und b eröffnet erstmals die Möglichkeit, die Struktur dieser hochwirksamen Verbindungen zu klären, sowie die 2-Stufen-Hypothese der Carcinogenese zu überprüfen und einer biochemischen Analyse zuzuführen. [VB 608]

## Neuere Beiträge zur Chemie und Biochemie der Aminosäuren

B. Witkop, Bethesda-Washington (USA)

GDCh-Ortsverband Gießen, am 19. Juli 1962

Eine neue natürliche Oxy-Aminosäure ist das 3-Oxyprolin, ein Isomeres des 4-Oxyprolins. Beide Aminosäuren sind charakteristische Bausteine des Stütz- und Binde-Gewebes, in dessen Eiweiß, Collagen, 3-Oxyprolin nur zu einem Bruchteil des 4-Oxyprolins vorkommt, ein Umstand der gemeinsam mit der schweren Trennbarkeit auf dem nach dem Prinzip von Stein und Moore arbeitenden automatischen Aminosäure-

[2] E. Hecker: Verteilungsverfahren im Laboratorium, Weinheim, Bergstraße, 1955; Z. analyt. Chem. 181, 284 (1961); Chem. Ztg. 86, 272 (1962).

[3] Erstmals vorgetragen auf einem von der Deutschen Forschungsgemeinschaft vom 2.–5. 1. 1962 in Homburg/Saar veranstalteten Krebs-Symposium.

[4] Dissertation J. G. Meyer, München 1962.

[5] E. Hecker, Chem. Ber. 88, 1666 (1955).

[6] Diplomarbeit H. Bresch, München 1962.