

consideration of glacier movement, which can be regarded — in spite of the crystalline structure — as the movement of a viscous fluid, the viscosity of which varies from place to place and also changes in course of time. The way in which the solid and the liquid states are acting together deserves special attention.

In Switzerland the knowledge gained by snow researches is being used first of all in assisting the fight against avalanches. Definitive, provisional and pro-

phylactic measures are being extended to prevent avalanche accidents. For glacier knowledge the High Alpine Research Institute on the Jungfraujoch offers the possibility of coordinating the investigation methods; this, in order to study the phenomenons of glaciers, starting at the point of firm snow and progressing in the natural developing direction of the process, using as an example the Great Aletsch Glacier which is the most considerable glacier of the Alps.

## Das Ganzheitsproblem in der Biochemie

Von S. EDLBACHER, Basel

### I.

Das allgemeinste Kriterium eines lebenden Systems ist seine Fähigkeit, sich selbst zu regenerieren. Es besitzt demnach einen Stoffwechsel, so daß beständig Materie durch dieses System durchströmt.

Von dem Moment des Eintrittes bis zum Moment des Austrittes unterliegen die beteiligten Stoffe einem komplexen Chemismus, den man als die «Lebensphase» der Materie bezeichnen kann. Die Selbstregeneration sowie die ständige Energieproduktion bedingen, daß innerhalb dieser Lebensphase die Stoffe Eigenschaften zeigen, die nur in ganz unvollkommener Weise modellmäßig *in vitro* reproduzierbar sind. Isolierte Plasmabausteine, wie zum Beispiel Kohlehydrate, Aminosäuren usw., erweisen sich *in vitro* als durchaus stabile Gebilde, die nur durch ziemlich energische Angriffe zur Reaktion gebracht werden können. *In vivo* hingegen werden sie mit größter Leichtigkeit umgesetzt, und zwar bei ganz niederen Temperaturen.

Aus der Fähigkeit zur Selbstregeneration ergibt sich ein *harmonischer Handlungsvollzug* (DRIESCH), indem alle Stoffwechselvorgänge, die in größter Mannigfaltigkeit gleichzeitig ablaufen, sich in koordinierter Weise abspielen. Es besteht im Leben also ein komplexes System von chemischen Gleichgewichtsreaktionen, die sich zu einer höchst charakteristischen *rhythmischen Reaktionsart* ordnen. Ein lebendes System vollzieht in erster Linie keine thermodynamische, sondern eine chemodynamische Maschinenleistung. Das will sagen, daß die durch Oxydation gewonnene Energie nicht etwa nur in Form von Wärmeenergie auftritt, sondern zum größten Teil in Form von «freier» Energie, die dann in andere Energieformen transformierbar ist und daher auch Arbeit leisten kann. Eine rationell arbeitende thermodynamische Maschine bedarf Wärme von hoher Temperatur. Dies ist natürlich im Leben ausgeschlossen. Aus dieser einfachen Überlegung ergibt sich auch, daß es theoretisch eigentlich falsch ist, den Nährwert in Kalorien auszudrücken, worauf E. BARON und M. POLANYI<sup>1</sup> schon hingewiesen haben. Die Anwen-

dung der Kalorienrechnung in der Stoffwechsellehre fußt auf dem nur *bedingt* gültigen BERTHELOTschen Prinzip, welches aussagt, daß von allen möglichen Reaktionen immer die mit größter Wärmetönung eintreten müsse. Es stimmt für die meisten Stoffwechselvorgänge jedoch praktisch mit genügender Genauigkeit<sup>1</sup>.

Es erscheint durchaus nicht überflüssig, auf diese Tatsache hinzuweisen. Einem Vorschlage von H. M. KALCKAR und C. D. CORYEL<sup>2</sup> folgend, bezeichnen wir daher chemische Reaktionen, die mit einem Wechsel der *freien* Energie verknüpft sind, als *exergonisch* oder *endergonisch*, während Reaktionen mit positiver oder negativer Wärmetönung als *exotherm* oder *endotherm* bezeichnet werden. Die chemodynamische Maschinenleistung der Lebensphase ist nun durch die exergonischen Reaktionen bedingt. Diese dominieren, so daß dem lebenden System immer freie Energie zur Verfügung gestellt wird. Parallel jedoch verlaufen ständig auch endergonische Reaktionen. Daraus ergibt sich die genannte rhythmische Reaktionsart.

Die *Reaktionsbereitschaft* lebender Systeme, die sich dadurch zeigt, daß bei Bedarf sofort große Energiebeträge produziert werden können, macht es nun notwendig, daß *zerfallsbereite* Moleküle mit hohem Potential in minimalen Zeitabschnitten weitgehend abgebaut werden müssen. Daraus ergibt sich weiter, daß solche Stoffe mit hohem Potential auch immer wieder neu aufgebaut werden müssen, was wieder nur unter Verbrauch von Energie möglich ist. *Energief liefernde Reaktionen der Lebensphase müssen daher immer im Prinzip so verlaufen, daß sie umkehrbar sind*, das heißt sie müssen im Sinne des Abbaues exergonisch und im Sinne der Resynthese endergonisch verlaufen. *Zerfallsbereite molekulare Ungleichgewichte* brechen also ständig zusammen und bilden Gleichgewichte, wie außerhalb der Lebensphase. Nun aber kommt eine den Lebensvorgang kennzeichnende Reaktionsart dazu: die Gleichgewichte werden systematisch immer wieder zu

<sup>1</sup> Vgl. C. O. OPPENHEIMER, «Chemische Grundlagen der Lebensvorgänge» (Berlin 1933).

<sup>2</sup> H. M. KALCKAR, Biological Rev. of the Cambridge Philos. Soc., 17, 28 (1942).

<sup>1</sup> Biochem. Z. 53, 1 (1913).

den ursprünglichen Ungleichgewichten aufgebaut. Dadurch kommt die genannte rhythmische Reaktionsart zustande, durch die nun auch wieder die Grundlage zur ständigen Selbstregeneration geschaffen wird. Der hohe Energiegehalt der Nährsubstratmoleküle hat nun zu der Vorstellung des *stufenweisen Abbaues* derselben geführt. Die Energieproduktion vollzieht sich in erster Linie durch das Ablösen des Wasserstoffs von den Kohlenstoffketten, durch die Bildung von Wasser, während die Energiebereitstellung durch Kohlenstoff indirekt durch Wasseraddition und darauffolgende Oxydation des Wasserstoffs sich vollzieht. Diese von THUNBERG<sup>1</sup> und von WIELAND<sup>2</sup> zuerst ausgesprochene Vorstellung wurde nun mit derjenigen des stufenweisen Abbaues vereinigt. Durch eine ganz allmählich sich vollziehende Ablösung des Wasserstoffs soll die Energieproduktion demnach weitgehend unterteilt werden.

Der Sinn der zahlreichen komplizierten Abstufungen des desmolytischen Stoffwechsels birgt daher nach dieser Auffassung ein *regulatives Prinzip* in sich, indem auch durch dazwischengeschaltete endergonische Synthesen ein explosionsartiger Zerfall der Nährsubstratmoleküle verhindert wird. Die von THUNBERG und H. WIELAND entwickelte Dehydrierungstheorie sowie namentlich auch die Lehre von den Redoxpotentialen haben dieser Vorstellung des stufenweisen Abbaues zur Entwicklung verholfen. Es wird weiter unten wieder darauf zurückzukommen sein.

Es muß weiterhin auch hervorgehoben werden, daß selbstverständlich alle in der Lebensphase reagierenden Stoffe sich gegenseitig beeinflussen. In unseren Enzymversuchen schaffen wir übersichtliche Bedingungen, die womöglichst immer nur das Verhalten eines Substrates betreffen. Im Leben jedoch greift jeder Stoffwechselkreis auf alle anderen über. Es gibt keinen getrennten Eiweiß-, Fett- oder Kohlehydratstoffwechsel, denn alle Reaktionen, die diese Stoffe betreffen, stehen durch definierbare Reaktionsfolgen untereinander in Beziehung. Metabolite wie Ketonensäuren, Aldehyde usw. bilden diese Verbindungsglieder.

Diese *stoffliche Koppelung* muß aber auch mit einer *energetischen Koppelung* parallel gehen. So ist zum Beispiel die *induzierende* Reaktion eine freiwillig verlaufende mit freier Energie, diese bildet die Ursache der unfreiwillig verlaufenden *induzierten* Reaktion, die zu einer Erhöhung des Potentials führt.

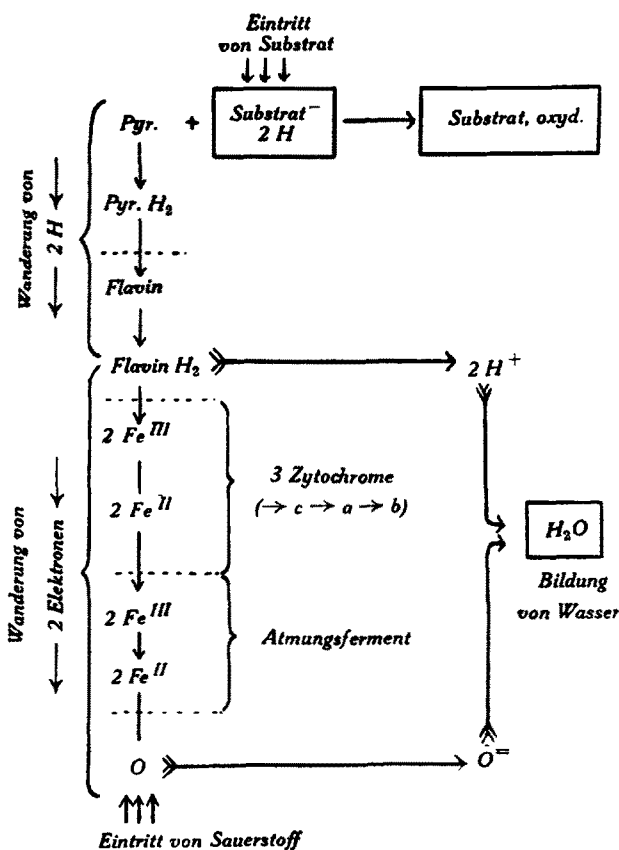
Die vorhin genannte Vorstellung des sukzessiven, stufenweisen Abbaues und Wiederaufbaues der Bausteine durch induzierte Reaktionen führt demnach zur Aufstellung von *Reaktionszyklen*, von denen weiter unten ausführlich gesprochen wird. Es muß aber schon hier hervorgehoben werden, daß damit vorläufig dahingestellt bleibt, wie weit solche Reaktionsschemata den tatsächlichen Verhältnissen im Leben entsprechen

oder ob sie nur den Wert von *Modellvorstellungen* haben.

Es sollen nun zuerst einige solche Reaktionsfolgen besprochen werden, um das gemeinsame Kennzeichen derselben hervorzuheben.

Als erster Fall sei das bekannte *Atmungsschema* besprochen, wie es sich aus den Untersuchungen von O. WARBURG, H. WIELAND, KEILIN, THEORELL und anderen ergibt.

Das Substrat wird dehydriert und übergibt seinen Wasserstoff an das Pyridinferment. Dieses gibt ihn weiter an das Flavinferment. Mit der hydrierten Form desselben reagiert nun das erste Zytochrom. Der Wasserstoff gibt sein Elektron an das Ferrizytochrom ab und bildet Protonen. Diese scheiden zunächst aus der Reihe aus. Das Ferrizytochrom wird dadurch zur Ferroform reduziert, und nun wandern die Elektronen



Oxydationsreihe nach Warburg, Wieland, Keilin, Theorell

Fig. 1.

über die anderen Zytochrome und das Atmungsferment. Dort angelangt, treffen sie in der Ferroform des Atmungsfermentes mit dem Sauerstoff zusammen. Nur diese letztere Häminverbindung ist *autoxydabel* und kann mit dem molekularen Sauerstoff reagieren, indem dieser die Elektronen übernimmt und so Sauerstoffionen bildet. Diese vereinigen sich mit den gebildeten Wasserstoffionen endlich zu Wasser (Fig. 1).

<sup>1</sup> Zentralbl. f. Physiol. 37, 91 (1916), und Skand. Arch. 40, 1 (1920).

<sup>2</sup> Ber. d. Dtsch. chem. Ges. 54, 2353 (1921).

Durch spektroskopische Untersuchungen an verschiedenen Mikroorganismen, wie Hefe, Essigsäurebakterien und Azotobakterien, konnte WARBURG zeigen, daß abwechselnd die Banden des Atmungsfermentes und der Zytochrome erscheinen und verschwinden<sup>1</sup>. Ferner hat die Untersuchung über die Redoxpotentiale der Zytochrome und der Dehydrasen zur Aufstellung dieser Reihe geführt. Sie zeigt, wie durch eine synergistische Wirkung von Dehydrasen und Häminfermenten eine Steuerung der Zellatmung erzielt wird.

Ein zweites Beispiel für die Koppelung von ex- und endergonischen Reaktionen bildet die bekannte Cannizzaro-Reaktion. Schüttelt man Hefezellen nach

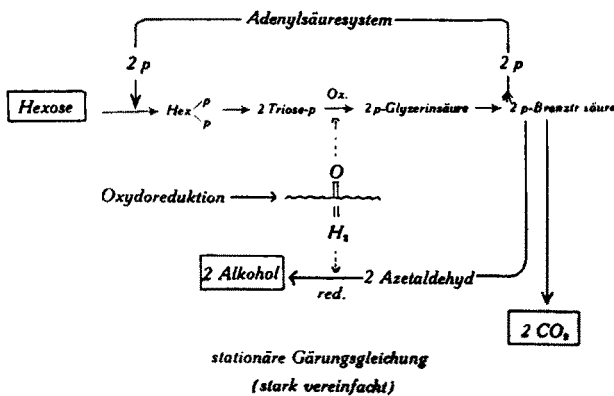
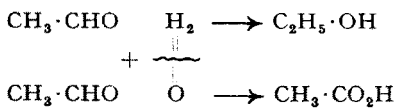


Fig. 2.

H. WIELAND 20 Stunden mit Sauerstoff, so sind sie an Reservestoffen verarmt und vermögen jetzt Azetaldehyd zu oxydieren. Geht die Reaktion in höherer Konzentration vor sich, so erfolgt eine *Oxydoreduktion*:



Es bildet sich Alkohol und Essigsäure.

Es ist ohne weiteres klar, daß sowohl bei dem Atmungsschema als auch bei der Cannizzaro-Reaktion übersichtliche Beispiele von stofflicher und energetischer Koppelung vorliegen.

Es soll nun als drittes Beispiel die sogenannte «stationäre Gärungsgleichung» nach dem EMBDEN-MEYERHOFschen Schema genannt werden:

Unter dem Einfluß der verschiedenen Teilfermente reagiert die Triosephosphorsäure mit dem vorhandenen Acetaldehyd im Sinne einer Cannizzaro-Reaktion, so daß einerseits die Triose zu Glyzerinsäure oxydiert, andererseits Acetaldehyd zu Alkohol reduziert wird (Fig. 2).

Es liegt hier zugleich auch ein typischer Fall eines biochemischen Reaktionszyklus vor, indem ein in der Reihe später auftretendes Reaktionsprodukt (Acetaldehyd) mit einem voranstehenden Metaboliten (Triosephosphorsäure) reagiert.

In dem obigen Schema ist die Rolle der Phosphorsäure nur unter dem Schlagworte «Adenylsäuresystem» angedeutet. Wie weiter unten noch mehrmals hervorgehoben werden wird, ist wahrscheinlich gerade die Umesterung der Phosphorsäure ein energieliefernder Prozeß von größter Wichtigkeit.

Die Koppelung von Auf- und Abbauvorgängen, die den rhythmischen Chemismus der Lebensphase beherrschen, hat nun zur Aufstellung von weiteren solchen Zyklen geführt. In eine kreisförmig gedachte Reaktionsfolge, bei der sich die einzelnen Stufen immer wieder regenerieren, werden, einem Schaufelrade gleich, ständig Substratmoleküle hereingeschöpft, um an anderen Stellen des Zyklus entweder als Endprodukte oder als weiter zu verarbeitende Metabolite aus demselben ausgestoßen zu werden<sup>1</sup>. Dabei kann der ganze Zyklus bilanzmäßig ex- oder endergonisch verlaufen. Die Harnstoffbildung zum Beispiel ist ein endergonischer Vorgang. Sie vollzieht sich in der Säugerleber nach dem sogenannten Ornithin-Zitrullin-Argininzyklus. Im folgenden Schema ist sie nun dargestellt. Die Verknüpfung von 1 CO<sub>2</sub> mit 2 NH<sub>3</sub> erfolgt indirekt in der folgenden Weise:

1. Aus den durch Oxydationen entstandenen Carbonsäuren wird CO<sub>2</sub> gebildet.
2. Nach WOOD und WERKMANN<sup>2</sup> bindet Brenztraubensäure das CO<sub>2</sub> unter Bildung von Oxalessigsäure. Diese Reaktion ist endergonisch (siehe unten) «Carboxylierung» der Brenztraubensäure.
3. Das durch oxydative Desaminierung gebildete Ammoniak wird von der Oxalessigsäure als Amid gebunden.
4. Diese Amidgruppe wird auf das Ornithin übertragen, wobei sich Brenztraubensäure wieder zurückbildet und somit den ersten Zyklus schließt.
5. Aus dem Ornithin ist das Zitrullin entstanden.
6. Dieses nimmt nun neuerdings ein Ammoniak auf und geht in Arginin über.
7. Das Arginin zerfällt nun durch die Arginase hydrolytisch in Ornithin, das den zweiten Zyklus schließt, und Harnstoff wird als Endprodukt ausgestoßen (Fig. 3).

Dieses von KREBS, BORSOOK, LEUTHARDT und anderen aufgestellte Schema zeigt in ausgezeichneter Weise die Verknüpfung zweier Reaktionszyklen: die Brenztraubensäure schöpft die Kohlensäure, die Oxalsäure und das Zitrullin schöpfen das Ammoniak aus dem Stoffwechsel. Die stoffliche Koppelung aller dieser Vorgänge ist einleuchtend, jedoch nicht die *energetische Koppelung*. Die Harnstoffsynthese ist ein endergonischer Vorgang. Die dazu nötige Energie muß durch gleichzeitig ablaufende exergonische Reaktionen geliefert werden. Aus diesem Grund kann die Neubildung von Arginin und Oxalessigsäure nur stattfinden, wenn gleichzeitig Kohlehydrat veratmet wird. Demnach ist

<sup>1</sup> S. EDLBACHER, Schweiz. med. Wschr. 74, 251 (1944).

<sup>2</sup> Biochem. J. 30, 48 (1936); 32, 1262 (1938); 34, 7 und 129 (1940).

<sup>1</sup> Naturw. 22, 441 (1934).

der ganze Vorgang nur realisierbar, wenn überlebende, atmende Leberzellen zugegen sind. Nur die letzte Stufe, die hydrolytische Spaltung des Arginins zu Harnstoff und Ornithin verläuft in strukturlosem Milieu spontan. *Es entzieht sich vorläufig unserer Kenntnis, wie die durch die Veratmung von Kohlehydrat gewonnene Energie auf die Argininsynthese übertragen wird,*

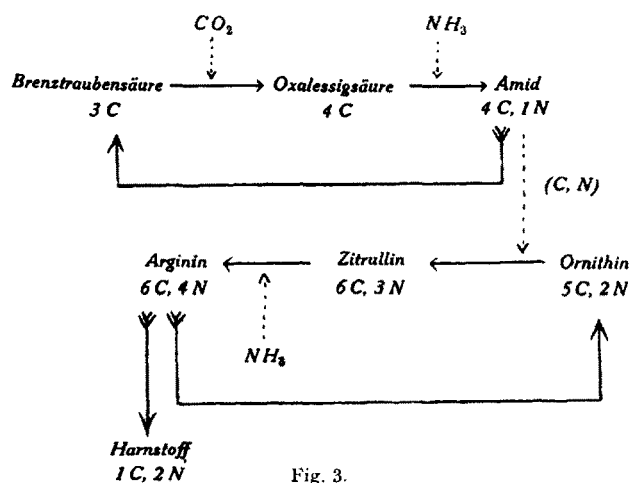


Fig. 3.

da keinerlei direkte stoffliche Koppelung zwischen dem Argininzyklus und dem Kohlehydratstoffwechsel nachgewiesen ist.

Als weiteres Beispiel einer solchen Reaktionsfolge sei hier der sogenannte «Zitronensäurezyklus» nach KNOOP, MARTIUS, KREBS, H. WIELAND und LYNEN dargestellt: Zitronensäure vermag den oxydativen Kohlehydratabbau der Muskulatur zu aktivieren. Daraus wird geschlossen, daß diese Säure einen Metabolit des oxydativen Kohlehydratabbaues bildet. Es wird im folgenden Schema eine stark vereinfachte Darstellung dieses Zyklus gebracht, aus der ersichtlich ist, wie die aus dem Kohlehydratstoffwechsel stammende Brenztraubensäure auf dem Wege einer komplizierten Reaktionsfolge immer wieder abgebaut wird, indem sie zuerst mit Oxallessigsäure kondensiert wird, die sich immer wieder zurückbildet (Fig. 4).

Beim Abbau der Hexosen in der lebenden Zelle wird zunächst die Kette von 6 C-Atomen in 2 Dreierketten zerlegt. Dies ist ein komplizierter Vorgang, auf den wir hier nicht eingehen wollen. In den meisten Fällen kommt es dabei zur Bildung eines Metaboliten der Brenztraubensäure mit 3 C-Atomen.

Durch die Untersuchungen von KNOOP, MARTIUS und von KREBS konnte nun festgestellt werden, daß die Zitronensäure in vielen Zellarten die Veratmung von Kohlehydrat mächtig steigert. Andererseits ist die Zitronensäure auch als Stoffwechselzwischenprodukt bekannt. Es lag demnach die Vermutung nahe, daß sie beim Auf- und Abbau der Kohlehydrate eine Rolle spiele. Durch Kombination rein chemischer Beobachtungen mit biochemischen Tatsachen gelangt man zu dem Bilde, das in der Fig. 4 dargestellt ist.

1. Die vorhin genannte Brenztraubensäure mit 3 C-Atomen vereinigt sich mit der Oxallessigsäure (4 C) zu einem komplizierten Kondensationsprodukt mit 7 C-Atomen.

2. Dieses 7-C-Produkt unterliegt einer ersten Oxydation. Es wird ihm Wasserstoff entzogen, es bildet sich freie Energie.

3. Das 7-C-Oxydationsprodukt spaltet durch Decarboxylierung ein  $\text{CO}_2$  ab. Es bildet sich ein Mol Atmungskohlensäure.

4. Nun ist die Zitronensäure entstanden, die aber sofort weiter reagiert, indem sie einer zweiten Oxydation anheimfällt, wobei wieder durch Dehydrierung Wasser entsteht und freie Energie auftritt.

5. Es resultiert ein Produkt, das nur mehr 6 C-Atome enthält, die sogenannte Oxalbernsteinsäure.

6. In diesem Molekül ist bereits eine sehr starke Anhäufung von Sauerstoffatomen vorhanden, so daß wieder eine Carboxylgruppe als  $\text{CO}_2$  abgespalten wird. Es verbleibt somit die Ketoglutarensäure mit 5 C-Atomen.

7. Dieser 5-C-Körper wird nun oxydiert und nachher wieder decarboxyliert, wobei ein dritter Energiebetrag frei wird und ein drittes Mol Atmungskohlensäure gebildet wird. Es verbleibt die Bernsteinsäure mit 4 C-Atomen.

8. Diese Bernsteinsäure mit 4 C-Atomen unterliegt nun einer vierten Oxydation. Es bildet sich wieder Wasser und freie Energie, und es resultiert die Fumarsäure.

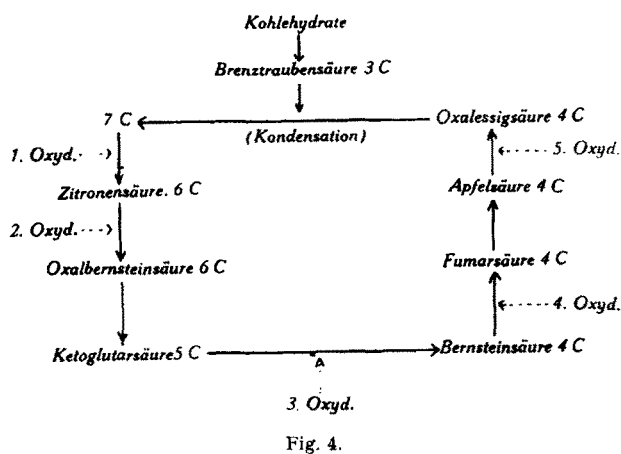


Fig. 4.

9. Diese Fumarsäure lagert Wasser an und geht dadurch in die Apfelsäure über.

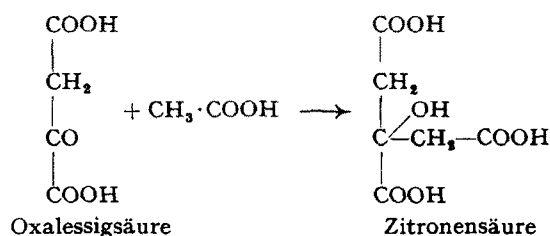
10. Die Apfelsäure unterliegt nun einer fünften Oxydation, es entsteht dabei wieder die Oxallessigsäure neben Wasser und freier Energie.

Der Zyklus ist geschlossen, und nun beginnt das Spiel von vorne.

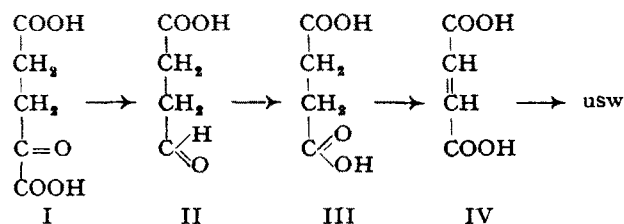
Die Brenztraubensäure wird also – bildlich gesprochen – durch die Oxallessigsäure aus dem Kohlehydratstoffwechsel herausgeschöpft. Jede Stufe des Abbaues ist durch ein bestimmtes Energiepotential gekennzeichnet und wird durch ein spezifisches Enzym

katalysiert. Immer dort, wo eine Dehydrierung stattfindet, bildet sich freie Energie. Diese wird also scheinbar in ganz *unterteilter Form* entwickelt. Es entsteht somit durch das Zusammenwirken aller dieser Faktoren eine enzymatische Ganzheitsleistung.

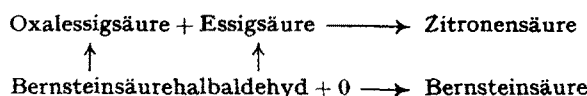
Nun bewegen sich die Untersuchungen von H. WIELAND<sup>1</sup> und die von LYNEN über den Abbau der Essigsäure durch Hefe in ganz ähnlicher Richtung. Sie finden, daß zum Abbau der Essigsäure die Gegenwart von Oxallessigsäure notwendig ist. Beide kondensieren sich zu Zitronensäure:



Diese Kondensation ist endergonisch. Sie kann nur eintreten, wenn gleichzeitig ein Aldehyd zur Säure dehydriert wird, wodurch die nötige Energie geliefert wird: «Die Essigsäure wird nur am Feuer des Aldehyds angegriffen.» Nun geht nach dem geschilderten Zitronensäurezyklus die Zitronensäure in einem Abbaustadium in Ketoglutarsäure (I) über. Diese wird decarboxyliert, es bildet sich Bernsteinsäure-Halbaldehyd (II), der nun zu Bernsteinsäure (III) oxydiert werden muß. Die Bernsteinsäure geht nun in Fumarsäure (IV) über usw., wie im vorigen Schema.

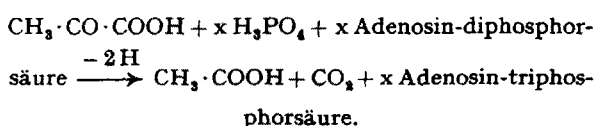


Es soll also ein Energieaustausch nach WIELAND in der folgenden Weise stattfinden:



Eine direkte stoffliche Koppelung beider Reaktionen ist aber bisher nicht bekannt, sondern nur eine Energieübertragung. Schon weiter oben wurde die «Carboxylierung» der Brenztraubensäure zu Oxallessigsäure genannt. Auch diese Reaktion ist endergonisch, und man nimmt an, daß sie Energie aus dem gleichzeitigen Abbau von Alkohol schöpft. Es wurde nun schon hervorgehoben, daß bei den einzelnen Teilreaktionen des Zyklus immer freie Energie auftritt, die dann für die Synthesen teilweise verbraucht wird. Es ist nun wie bei der Harnstoffbildung die Frage zu

stellen, *wie denn diese energetische Koppelung eigentlich zustande kommt!*<sup>1</sup> Dazu muß eine weitere Hilfsannahme gemacht werden, indem man annimmt, daß die *Phosphorsäure* hier in die Reaktion eingreift, wie dies von WOOD und WERKANN<sup>2</sup> vermutet wird. Nach der Vorstellung dieser Autoren wird die Bildung von Kohlen-säureestern der Phosphorsäure als stoffliches Bindeglied dieser «energetischen Koppelung» angenommen. KALCKAR<sup>3</sup> hat zum Beispiel nachgewiesen, daß beim enzymatischen Abbau von Glutaminsäure oder Zitronensäure in der Niere Phosphorylierungen eine Rolle spielen, und F. LIPMANN<sup>4</sup> nimmt an, daß bei dem oxydativen Abbau der Brenztraubensäure durch Bakterien ebenfalls die Phosphorsäure eingreift, indem Azetylphosphorsäure intermediär entsteht:



Auch bei dem Übergang von Bernsteinsäure in Fumarsäure wird eine Phosphorylierung angenommen (BELITZER und TSIBAKOV<sup>5</sup>, COLOWICK, WELCH und CORI<sup>6</sup>, OCMOA<sup>7</sup>).

In diesem Sinne nimmt man auch an, daß bei der Muskelzuckung die Spaltung und der Wiederaufbau der gelösten Adenosin-triphosphorsäure (ATP) in dem Sinne mit dem Kohlehydratstoffwechsel verbunden ist, daß sie bei der Zuckung gespalten, bei den Dehydrierungsreaktionen wieder synthetisiert wird und so die freie Energie der Dehydrierungsvorgänge überträgt. Da nun wenig ATP in der Muskulatur vorhanden ist, steht der Zelle als Phosphatreserve die Kreatin- bzw. beim Wirbellosen die Argininphosphorsäure zur Verfügung. Dies sind nur einige wenige Beispiele für die von vielen Forschern vertretene Ansicht, daß gerade die Phosphatübertragung bei dem Phänomen der energetischen Koppelung eine große Rolle zu spielen scheint.

Wenn wir also auf Grund aller dieser Tatsachen einmal annehmen, daß die induzierenden und induzierten Reaktionen immer in irgendeiner Weise auch stofflich gekoppelt sein müssen, so ist es selbstverständlich, daß die beschriebenen Reaktionszyklen immer erst einen kleinen Ausschnitt aus einem viel komplexeren Geschehen darstellen, das sich auf immer weitere Reaktionszyklen erstrecken muß.

Wasserstoffübertragungen, Elektronenwanderung durch Valenzwechsel und andere Vorgänge, von denen also besonders die Phosphatübertragung hervorge-

<sup>1</sup> Naturw. 30, 398 (1942).

<sup>2</sup> Biochem. J. 34, 13 (1940).

<sup>3</sup> Enzymolog. 6, 209 (1939).

<sup>4</sup> J. biol. Chem. 134, 483 (1940).

<sup>5</sup> Biochimia 4, 516 (1939).

<sup>6</sup> J. biol. Chem. 133, 359 (1940).

<sup>7</sup> Nature 146, 267 (1940).

<sup>1</sup> Lieb. Ann. 552, 270 (1942).

hoben werden muß, greifen bei dem Vorgange der energetischen Koppelung ineinander.

Es läßt sich also sagen, daß man die enzymatischen Ganzheitsleistungen von Enzym- und Metabolitengruppen in Reaktionszyklen darstellen kann, die die rhythmische Reaktionsart der Lebensphase in zeitlicher Reihenfolge wiedergeben. Endergonische und exergonische Reaktionen erscheinen dabei gekoppelt und wechseln ab. Dieser *scheinbar stufenweise und chronologische Ablauf* wird in der Weise untersucht und erkannt, daß man versucht, einzelne Metabolite und sogenannte «reine» Teilfermente mit eng umschriebener spezifischer Wirkung zu isolieren. Besonders die Untersuchungen über die Abstufung der Redoxpotentiale hat die Annahme eines *sukzessiven, chronologischen* Ablaufes gefördert. Man legt, bildlich gesprochen, möglichst zahlreiche Querschnitte durch die Vorgänge und erhält dann durch Rekonstruktion die chronologisch ablaufend gedachten Reaktionszyklen.

Dies ist vorläufig auch die einzige Möglichkeit, die sich der experimentellen Forschung eröffnet, und der enorme heuristische Wert dieser Methode ist nicht zu leugnen. Ebenso wenig läßt sich aber verschweigen, daß allen diesen Vorstellungen etwas Künstlich-Modellmäßiges anhaftet, so daß die Frage wohl durchaus berechtigt erscheint, zu untersuchen, *wieweit* sie denn überhaupt für das Leben Gültigkeit haben.

Um auf dieses Problem einzugehen, ist es aber notwendig, vorerst die Anschauungen über die *Natur der Enzyme* kennenzulernen.

## II.

Soweit die Enzyme ihrer Natur nach bekannt sind, lassen sie sich zunächst in zwei Gruppen einteilen: nämlich in *Proteinenzyme* und *Symplexe*. Erstere sind scheinbar nur aus Proteinen aufgebaut. Sie sind vielfach in kristallisierter Form erhalten worden. Die von SUMNER und namentlich die von NORTHROP dargestellten Proteasen wie Trypsin, Pepsin, Chymotrypsin usw. seien als Vertreter hier genannt. Die Tatsache, daß diese Enzyme als wohldefinierte Kristalle erhalten werden können, schließt natürlich nicht die Möglichkeit aus, daß es sich trotzdem um Mischungen verschiedener Proteine handelt. Es scheint aber dennoch so zu sein, daß diese Gruppe von Enzymen nur von Eiweißkörpern gebildet wird, die, in ihre Moleküle *eingebaut*, bestimmte Atomgruppen enthalten, die für die katalytische Aktivität verantwortlich gemacht werden müssen, wie zum Beispiel die Tyrosingruppen im Pepsin und andere mehr. Mit Ausnahme der Urease sind alle diese Enzyme bezüglich ihrer Wirkung *gruppenspezifisch*.

Die andere Gruppe wurde von R. WILLSTÄTTER als Symplexe bezeichnet. Alle derartigen Enzyme bestehen aus einer wohldefinierten Wirkungsgruppe von niederem Molekulargewicht und einem hochmolekularen Kolloid, das, soweit bekannt, immer ein spezifisches

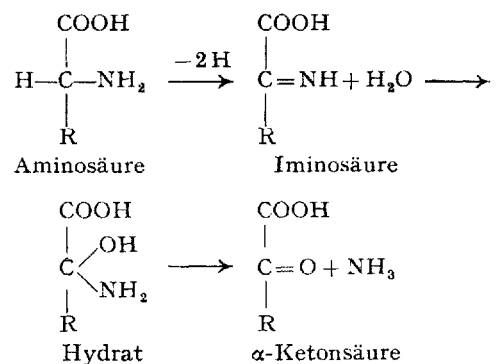
Protein ist. Die Wirkungsgruppe wird auch *Koferment* oder *Agon*, das Trägerprotein auch *Apoferment* oder *Pheron* genannt. Solche Symplexe haben also den Charakter von *Proteiden*, die aus Protein + prosthetischer Gruppe bestehen.

Die Symplexenzyme zeigen demnach gegenüber den Proteinenzymen einen höheren Organisationsgrad. Als prosthetische Gruppen können bekanntlich einfache Metalle wie Kupfer, Zink, Mangan figurieren (zum Beispiel Arginase als Manganprotein<sup>1</sup> oder ein Kupferprotein als Phenoloxydase usw.).

Eine Anzahl von Symplexen enthält aber Kofermente organischer Natur, und von dieser Gruppe interessieren in diesem Zusammenhang speziell die sogenannten Alloxazinfermente, die alle das Riboflavin (Vitamin B<sub>2</sub>) in das Koferment eingebaut enthalten.

Unter diesen Flavinenzymen findet sich nun speziell dasjenige, das nach den Untersuchungen von H. A. KREBS als *d-Aminosäureoxydase* bezeichnet wird. Durch die klassischen Untersuchungen von O. WARBURG und seiner Mitarbeiter ist seine Natur genau bekannt. Es enthält als Koferment das Alloxazin-Adenin-Dinukleotid, das an ein spezifisches Trägerprotein gebunden ist, stellt also ein typisches Symplexenzym im Sinne von R. WILLSTÄTTER dar.

Die Rolle der *d-Aminosäureoxydase* besteht nun darin, die sogenannten «unnatürlichen» *d-Aminosäuren* zu dehydrieren, wobei unter geeigneten Bedingungen die entsprechenden  $\alpha$ -Ketonsäuren entstehen. Das Enzym katalysiert also die oxydative Desaminierung der *d-Aminosäuren*. In vereinfachter Form kann demnach die Reaktion durch die folgende Formulierung dargestellt werden:



Das Enzym nimmt dabei in seinem Alloxazinanteil die 2 H auf und wird reduziert. Nun sei in diesem Zusammenhang daran erinnert, daß die *d-Aminosäuren* in normalen Geweben nur in Spuren nachweisbar sind, während deren optische Antipoden, die *l-Aminosäuren*, die sogenannten «natürlichen» Bausteine der Eiweißkörper bilden. Nur bei pathologischen Verhältnissen im Krebsgewebe gelingt es, größere Mengen von

<sup>1</sup> S. EDLBACHER und A. ZELLER, Z. phys. Chem. 245, 65 (1936), und S. EDLBACHER und H. PINÖSCH, Z. phys. Chem. 250, 241 (1937).

*d*-Glutaminsäure und *d*-Asparaginsäure nachzuweisen. KÖGL hat bekanntlich auf Grund dieser Beobachtung eine Theorie des malignen Wachstums aufgestellt. Andererseits fand H. A. KREBS, daß die natürlichen *l*-Aminosäuren nur bei Gegenwart intakter Zellen oxydativ abgebaut werden und nur in ganz geringen Mengen. Diese minimale Wirksamkeit der zellgebundenen *l*-Aminosäureoxydase gegenüber der sehr starken Aktivität der extrahierbaren *d*-Aminosäureoxydase ist höchst bemerkenswert, denn letztere wirkt etwa 25–50mal stärker als das *l*-Enzym. Es besteht also die sonderbare Tatsache, daß im Organismus ein Enzym von großer Aktivität auftritt, das auf Substrate eingestellt ist, die im Leben höchstens spurenweise nachweisbar sind, während der Abbau der «natürlichen» Eiweißbausteine durch das *l*-Enzym bei dessen minimaler Aktivität kaum erklärbar ist.

Die optische Selektivität der Enzyme zeigt nun ein gewisses Variationsvermögen, das wir an verschiedenen Beispielen untersuchten.

Die vorzugsweise in der Säugerleber auftretende *Arginase* spaltet normalerweise nur natürliches *l*-Arginin. Erhöht man jedoch die Enzymkonzentration, so wird auch der *d*-Antipode gespalten, wie ich gemeinsam mit A. ZELLER zeigen konnte<sup>1</sup>.

Die von mir in der Leber gefundene *Histidase* zerlegt im Gegensatz dazu nur das natürliche *l*-Histidin<sup>2</sup>. Läßt man aber *Histidase* bei gleichzeitiger Gegenwart von überschüssigem *d*-Histidin auf die *l*-Form einwirken, so beobachtet man eine starke Hemmung des Abbaues des «natürlichen» *l*-Histidins. Diese von mir und H. BAUR<sup>3</sup> gefundene «antipodische Hemmung», die auch bei *d*- und *l*-Peptiden zu beobachten ist, zeigt also im Verein mit den obengenannten Versuchen über *Arginase*, daß die *l*- und *d*-Formen der Aminosäuren sich gegenseitig beeinflussen können. Gemeinsam mit O. WISS<sup>4</sup> haben wir nun zuerst das Verhalten der *d*-Aminosäureoxydase in bezug auf die antipodische Hemmung untersucht. Arbeitet man mit rohen Enzymlösungen, so ergibt sich eindeutig ebenfalls das Prinzip antipodischer Hemmung. Es wird also der oxydative enzymatische Abbau der verschiedensten *d*-Aminosäuren durch die gleichzeitige Gegenwart verschiedener *l*-Aminosäuren antipodisch gehemmt. Aus diesen Versuchen ergibt sich also wieder der Schluß, daß die *l*- und *d*-Formen der Aminosäuren beim enzymatischen Abbau sich beeinflussen. In Fortsetzung dieser Versuche haben wir nun das Enzym nach NEGELEIN und BRÖMEL<sup>5</sup> gereinigt, um festzustellen, ob die antipodische Hemmbarkeit durch die Begleitstoffe bedingt ist, oder ob sie eine essentielle Eigenschaft des

reinen Symplex ist. Bekanntlich werden bei dieser Reinigung verschiedene Proteinfractionen abgespalten, und man erhält das Apoferment, das durch Wiedervereinigung mit dem Koferment, dem Dinukleotid, das Reinferment ergibt:

1. Läßt man nun dieses Reinferment in relativ großer Konzentration auf eine *d*-Aminosäure einwirken, so erfolgt die antipodische Hemmung durch Zusatz von *l*-Aminosäuren.

2. Bei mittlerer Enzymkonzentration ist die Zugabe der *l*-Aminosäure ohne Einfluß.

3. Bei kleiner Enzymkonzentration jedoch, bei der der Abbau der *d*-Aminosäure kaum mehr zu beobachten ist, bewirkt nun der Zusatz einer *l*-Aminosäure eine eminente Aktivierung des Abbaues der *d*-Aminosäure.

Das heißt also, daß der enzymatische oxydative Abbau der *d*-Aminosäuren durch die *l*-Aminosäuren je nach der Enzymkonzentration im positiven oder negativen Sinne gesteuert wird. Wir haben dieses eindrucksvolle Verhalten mit allen uns zugänglichen Aminosäuren untersucht und immer bestätigt gefunden. Bezüglich der Einzelheiten sei auf unsere Publikationen (l.c.) verwiesen. Die *l*-Aminosäuren sind also als Effektoren des oxydativen Abbaues der *d*-Aminosäuren zu bezeichnen. Die weitere Ausdehnung der Versuche ergab dann, daß aber für den Aktivierungseffekt (nicht für die Hemmung) die Konfiguration gleichgültig ist, denn sowohl *l*- als *d*-Aminosäuren wirken gleich stark als Aktivatoren. Als stärkster Aktivator hat sich dabei immer wieder das *Histidin* erwiesen, das noch in m/50000 Molarität eminent wirkt; dann folgen Asparaginsäure, Glutaminsäure, Arginin, und dann erst die anderen Monoaminomonocarbonsäuren. Biogene Amine, Purine und andere Stoffwechselprodukte sind mit Ausnahme des Histamins unwirksam. Wir haben nun die Versuche auch auf die verschiedensten Proteine ausgedehnt, und es gelang O. WISS, zu zeigen, daß diese ebenfalls eminente Aktivatoren des *d*-Aminosäureabbaues sind, und zwar wirken sie um so stärker aktivierend, je reicher an Histidin sie sind. So wirkt zum Beispiel das histidinfreie Clupein nur schwach, das histidinhaltige Sturin stärker und am intensivsten das an Histidin reiche Globin. Es lag daher nahe, auch den Einfluß derjenigen Proteinfractionen zu untersuchen, die bei der Enzymreinigung als sogenannte «unwirksame» Begleitproteine abgetrennt wurden. Setzt man nun die in dem Schema mit I und II bezeichneten Proteinfractionen (die für sich allein vollkommen unwirksam sind!), einer verdünnten «Reinfermentlösung» zu, so aktivieren diese Proteine in stärkster Weise den *d*-Aminosäureabbau (Fig. 5).

Diese Versuche beweisen, daß also alle diese scheinbar «unwirksamen» Proteinfractionen in Wirklichkeit essentielle Komponenten des Systems der *d*-Aminosäureoxydase sind. Alle diese Tatsachen drängen daher zu dem Schlusse, daß die *d*-Aminosäureoxydase mit

<sup>1</sup> Z. phys. Chem. 242, 253 (1936).

<sup>2</sup> Z. phys. Chem. 110, 241 (1920); 191, 225 (1930); 195, 267 (1931); 224, 261 (1934).

<sup>3</sup> Z. phys. Chem. 265, 61 (1940); 270, 176 (1941).

<sup>4</sup> Helv. chim. acta 27, 1060, 1824, 1831 (1944); 28, 797, 1079, 1111 (1945).

<sup>5</sup> Bioch. Z. 300, 225 (1939).



anderen *l*- oder *d*-Aminosäuren sowie mit Proteinen Komplexe bilden kann. Das «Symplexenzym» geht also in die verschiedensten «Komplexenzyme» über und jedesmal entsteht dabei eine neue Variante der *d*-Aminosäureoxydase mit spezifischem Reaktionsvermögen.

Wir erweitern also den Begriff des Enzyms, indem wir neben den beiden Gruppen der Proteinenzyme und der Symplexenzyme eine dritte Gruppe, die der

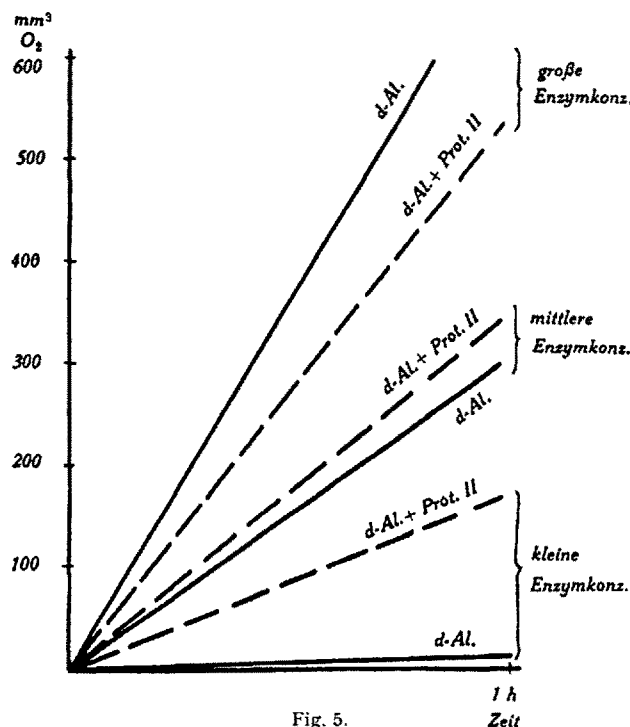


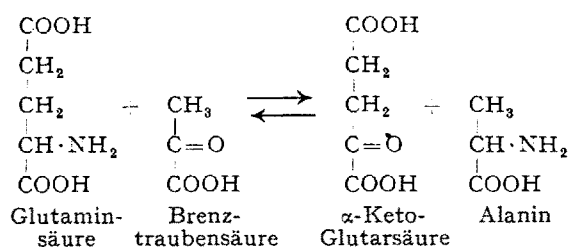
Fig. 5.

Komplexenzyme aufstellen. Die eminente Aktivierung, die bei der Bildung der letzteren auftritt, läßt sich wahrscheinlich nach den von L. MICHAELIS<sup>1</sup> entwickelten Vorstellungen der «One step reaction» erklären: Es ist nämlich unwahrscheinlich, daß an zwei räumlich entfernten Stellen des Flavins gleichzeitig zwei H-Atome gebunden werden. Es ist vielmehr wahrscheinlicher, daß nur ein H vom Flavin übernommen wird, und dabei ein freies Radikal gebildet wird. Die Bildung solcher Radikale kann man tatsächlich am Laktoflavin beobachten (R. KUHN und STRÖBELE<sup>2</sup>). Sie werden beständig, wenn sie an das Trägerprotein gebunden sind, wie HAAS<sup>3</sup> zeigen konnte. Dadurch ist eine Erklärung gegeben, warum bei der Bindung des Kofers an das Protein eine so große katalytische Wirkungssteigerung durch die Symplexbildung eintritt. Wenn nun das «Reinferment» das Symplex, aber mit Aminosäuren oder Proteinen sich zu den verschiedensten Komplexenzymen verbindet, so entstehen bei der Reaktion dann jedesmal freie Radikalkomplexe von spezifischer Leistungsfähigkeit. Die Bildung dieser

Komplexenzyme erinnert übrigens auch an das Verhalten von anorganischen «Mischkatalysatoren».

Die ungemein große Zahl von möglichen Variationen der *d*-Aminosäureoxydase mit abgestufter Wirksamkeit würde es verständlich machen, daß durch abwechselnde Bildung und Zerfall solcher Komplexenzyme eine Steuerung des Proteinstoffwechsels im Leben durchgeführt werden könnte, wenn auch der Beweis erbracht würde, daß *d*-Aminosäuren wirklich in nennenswertem Ausmaß als Metabolite in Frage kommen. Dies ist nicht direkt zu beweisen.

Nun ist der tierische Organismus jedoch tatsächlich befähigt, beträchtliche Mengen solcher *d*-Aminosäuren zu verwerten. Die Untersuchungen von COX und ROSE<sup>1</sup> haben zum Beispiel ergeben, daß man bei der wachsenden Ratte das *l*-Histidin durch die *d*-Form ersetzen kann. SCHÖNHEIMER und RITTENBERG<sup>2</sup> haben mit der Isotopenmethode gezeigt, daß verabreichte *d*-Aminosäuren als *l*-Formen in die Gewebsproteine eingebaut werden. In ausführlichen Untersuchungen gemeinsam mit K. SCHMID<sup>3</sup> konnten wir zeigen, daß verabreichte *d*-Aminosäuren vom Organismus weitgehend verarbeitet werden. Alle diese Beobachtungen drängen zu der Annahme, daß die *d*-Aminosäureoxydase nicht etwa nur eine Schutzfunktion hat, um die «optische Reinheit» der Körperproteine zu erhalten, sondern man wird ihr vielmehr eine aktive Rolle im Stoffwechsel zuschreiben müssen. Um diese Funktion zu verstehen, muß man sie mit der von BRAUNSTEIN<sup>4</sup> entdeckten Umaminierungsreaktion in Beziehung bringen. Wie dieser fand, findet sich namentlich in der Muskulatur ein Enzymsystem, durch dessen Wirkung  $\alpha$ -Ketonsäuren und Aminosäuren unter Austausch der Aminogruppe miteinander reagieren können.



Es ist bei dieser Reaktion besonders bemerkenswert, daß durch die Bildung der Ketonsäure die optische Aktivität vernichtet und durch Bildung der Aminosäure aus der Ketonsäure ein neues Asymmetriezentrum geschaffen wird. Nun kann die Bildung der Aminosäure möglicherweise nicht streng spezifisch, sondern teilweise *razemisch* verlaufen. Aus den Untersuchungen von BRAUNSTEIN läßt sich wenigstens ein solcher Hinweis ableiten. Nimmt man nun eine solche, vielleicht ganz geringfügige Razemisierung der gebil-

<sup>1</sup> J. biol. Chem. 134, 635 (1940).

<sup>2</sup> Ber. Dtsch. chem. Ges. 70, 753 (1937).

<sup>3</sup> Bioch. Z. 290, 291 (1937).

<sup>1</sup> J. biol. Chem. 68, 78 (1926).

<sup>2</sup> J. biol. Chem. 127, 385 (1939).

<sup>3</sup> Helv. chim. acta 28, 1079 (1945).

<sup>4</sup> Enzymolog. 7, 25 (1939).



deten Aminosäuren an, so läßt sich daraus ableiten, daß die durch die Neubildung ständig entstehenden geringen Mengen von *d*-Aminosäuren denjenigen Anteil der Eiweißbausteine bilden, der durch die *d*-Aminosäureoxydase dem Abbau anheimfällt. Da nun, wie oben erwähnt, der Einbau von *d*-Formen als *l*-Formen tatsächlich erwiesen ist, so gewinnt die Vermutung, daß die sogenannten «unnatürlichen» *d*-Aminosäuren in Wirklichkeit die Abbauförmungen der Aminosäuren sind, sehr viel an Wahrscheinlichkeit. Wir haben gemeinsam mit K. SCHMID versucht, die Frage noch von einer anderen Seite her zu beweisen. Wenn wirklich auch *in vivo* durch Aminosäuren die Bildung von komplexen *d*-Aminosäureoxydasen stattfindet, dann muß sich durch parenterale Verabreichung von Histidin als stärkstem Effektor eine Steigerung des Eiweißumsatzes am Gesamtorganismus nachweisen lassen. Dies ist nun tatsächlich der Fall. Histidininjektion bewirkt tatsächlich eine starke Mehrausscheidung von Stickstoff, die weit über der Menge des verabreichten Histidinstickstoffes liegt. Auch hat schon GREMELS<sup>1</sup> nachgewiesen, daß diese Aminosäure eine solche Ankurbelung des Stoffwechsels bewirkt. Alle diese Versuche zeigen also, daß die *spezifisch dynamische Wirkung* einzelner Aminosäuren durch die Bildung von hochaktiven Komplexenzymen teilweise erklärt werden kann. Speziell in bezug auf den Proteinstoffwechsel gewinnen also die *d*-Formen der Aminosäuren und das zugeordnete *d*-Enzym auf Grund unserer Untersuchungen ein besonderes Interesse. Es würde den Rahmen dieser Zusammenfassung weit überschreiten, alle Konsequenzen zu schildern, die sich aus diesen Beobachtungen für den normalen und pathologischen Proteinstoffwechsel entwickeln lassen. Da aber nun in bezug auf die *d*-Aminosäureoxydase die Bildung von Komplexenzymen erwiesen ist, erhebt sich die Frage, ob dieses Prinzip auch für andere Enzyme gilt. In ausgedehnten Untersuchungen, die in allernächster Zeit zur Veröffentlichung gelangen, konnte gemeinsam mit O. WISS<sup>2</sup> gezeigt werden, daß die beschriebene positive Effektorenwirkung von Aminosäuren auch für eine ganze Anzahl von anderen Reinenzymen oder Enzymsystemen Gültigkeit hat, und zwar an den folgenden Beispielen:

1. So wird das nach NORTHROP<sup>3</sup> gereinigte Pepsin durch Spuren von Aminosäuren stark aktiviert. Die Bildung von Komplexenzymen ist also nicht nur bei Symplexen, sondern auch bei Proteinenzymen zu beobachten.

2. Aminosäuren aktivieren die Leeratmung des Leberextraktes.

3. Histidin aktiviert die Oxydation der Glutaminsäure im Muskel.

4. Kreatin aktiviert die Veratmung der Milchsäure in der Muskulatur.

5. Die Veratmung von Brenztraubensäure und ähnlicher Metabolite durch Leberextrakte wird in ganz eminenter Weise durch die verschiedensten Aminosäuren aktiviert. Besonders eindrucksvoll ist diese letztere Reaktion. Wir fanden nämlich im Leberextrakt ein bisher ganz unbekanntes, äußerst thermolabiles Oxydasesystem, das, wie oben erwähnt, durch Spuren von Aminosäuren in enormer Weise aktivierbar ist. Diese Wirkung von minimalen Mengen von Aminosäuren drängt zu der Annahme, daß es sich hier ebenfalls um die Bildung von Komplexenzymen handelt, durch die die desmolytischen Vorgänge des Kohlehydratstoffwechsels katalysiert werden. Es ist daher auch von großem Interesse, daß ein typischer Komplexbildner, die Blausäure, das reine Symplex der *d*-Aminosäureoxydase ebenfalls mächtig aktivieren kann, wie A. WALSER und O. WISS in unserem Institute fanden<sup>4</sup>. Bei diesen Untersuchungen zeigte es sich, daß die nach H. A. KREBS gegen Blausäure scheinbar ganz unempfindliche *d*-Aminosäureoxydase sich um so stärker aktivieren läßt, je weiter ihre Reinigung getrieben wird. Dieses Verhalten steht daher in voller Übereinstimmung mit der entwickelten Vorstellung, daß bei dem Rohenzym die meisten Restaffinitäten durch die Koadsorbenzien abgesättigt sind und erst nach deren Abtrennung die anderen Effektoren neue aktive Komplexverbindungen bilden können.

Zahlreiche in der Enzymlehre beschriebene Aktivierungserscheinungen werden wahrscheinlich auch durch die Bildung von Komplexenzymen zustande kommen. Man denke zum Beispiel an die Wirkung der Blausäure auf gewisse Proteasen, an die Wirkung der Sulfhydrylkörper, an die von Metallionen usw.

Wir haben also an zahlreichen Beispielen den experimentellen Hinweis für die Bildung solcher Komplexenzyme erbringen können. Für die Enzymlehre ergibt sich daraus der Schluß, daß wohl in der Mehrzahl der Fälle die sogenannten «Reinenzyme» Präparationen darstellen, die im Leben sicher immer in Form von den verschiedenartigsten Komplexenzymen auftreten werden. Da man nun aber außerdem annehmen muß, daß je nach der Stoffwechsellaage eine ständige Variation derselben eintritt, *erscheint in diesem Phänomen der Bildung und des Zerfalls von Komplexenzymen ein neues regulatives Prinzip des Stoffwechsels.*

Es wird nun eine Sache der Experimentalforschung sein, den Gültigkeitsbereich dieses Prinzips zu ermitteln.

### III.

Im ersten Teil dieser Betrachtungen wurde gezeigt, wie die biochemische Forschung die Hauptreaktionen des Intermediärstoffwechsels in Folgen von zyklisch

<sup>1</sup> Arch. exp. Pathol. u. Pharm. 203, 225 (1944).

<sup>2</sup> Helv. chim. acta: im Erscheinen.

<sup>3</sup> J. gen. Physiol. (Amer.) 16, 615 (1933).

<sup>4</sup> Helv. chim. acta: im Erscheinen.

ablaufenden induzierenden und induzierten Reaktionen darzustellen versucht. Alle diese Zyklen sind Rekonstruktionen. Die Methoden, die zur Aufstellung derselben geführt haben, sind in der Hauptsache die folgenden: Man stört zum Beispiel den normalen Verlauf durch irgendein Enzymgift. Dann können aus dem Reaktionsgemisch «Zwischenprodukte» isoliert werden, von denen man annimmt, daß sie normalerweise sofort weiterverarbeitet werden. Oder man benutzt das sogenannte Abfangverfahren (C. NEUBERG), indem man einen Stoff zugeibt, der mit einem vermuteten Zwischenprodukt eine Verbindung gibt, die nun nicht weiter umgesetzt wird. So ist zum Beispiel der Azetaldehyd als Zwischenprodukt der alkoholischen Gärung isoliert worden. Ein drittes Verfahren besteht darin, ein vermutliches Zwischenprodukt «von außen» in die Reaktion einzuschieben und zu beobachten, ob dieses nun wirklich auch verarbeitet wird. Oder man isoliert die Teilfermente und beweist, daß diese tatsächlich die zugeordneten Zwischenprodukte katalysieren. Endlich untersucht man die Redoxpotentiale und stellt fest, daß «ein Überträger dann am wirksamsten ist, wenn sein Normalpotential in der Mitte zwischen denen der beiden Dehydrasesysteme liegt, die er verknüpfen soll, ....» (R. WURMSER<sup>1</sup>). Durch Kombination aller dieser zahlreichen einzelnen Beobachtungen wird dann das Bild der Reaktionsfolge rekonstruiert. Es ist selbstverständlich, daß es dann etwas Modellmäßiges und Schematisiertes in sich schließen wird. Schon lange bevor die eigentliche Entwicklung dieser Richtung einsetzte, wurde dagegen ein Bedenken laut. KOSTYTSCHEW<sup>2</sup> hat schon 1926 auf das Künstliche solcher Schemata hingewiesen und hob hervor, wie wenig befriedigend die Vorstellung ist, daß jedes Enzym auf einen bestimmten Moment seines Eingreifens warten müßte. C. NEUBERG<sup>3</sup> hat in Fortsetzung dieser Diskussion auch zugeben müssen, daß solche Schreibsymbole nur die einfachste Ausdrucksform sind, um derartige Vorgänge überhaupt schildern zu können. Die unmittelbar darauf einsetzende Ära der Enzymforschung hat aber dann derartige Erfolge gezeigt, daß solche Bedenken ganz in Vergessenheit geraten sind. Die vorhin genannten Methoden der Erforschung der Stoffwechselvorgänge haben daher immer mehr zu der Vorstellung eines sukzessiv-chronologischen Geschehens geführt, und so herrscht demnach heute diese rein chemische bzw. physiko-chemische Betrachtungsweise, die in vielen Fällen einer biologischen Sinngebung nicht mehr gerecht werden kann. An einer großen Zahl von Fällen kann man das Unbefriedigende dieser Situation erkennen. Das klassische Beispiel der zellfreien Gärung zeigt, daß in einem strukturlosen Saft eine enzymatische Ganz-

heit am Werke ist, die sich also sogar von der Zelle ablösen läßt. Wenn auch in dem EMBDEN-MEYERHOF-Schema die sogenannte Initialreaktion durch die vereinfachte Form der sogenannten stationären Gleichung abgelöst wird, so ist der Vorgang mit seinen zahlreichen Stufen dennoch immer noch kompliziert genug, um nicht Zweifel darüber aufsteigen zu lassen, ob die Gärungsgleichungen in so vielen Stufen ablaufen. Neben dieser Tatsache, daß sich also so komplizierte Systeme von der Zelle ablösen lassen, ist als ein weiterer Einwand, die enorme Reaktionsgeschwindigkeit zu beachten, mit der solche Vorgänge im Leben ablaufen. Wenn zum Beispiel ein schnell schwingender Insektenflügel seine Arbeit vollführt, so ist es schwer verständlich, daß die zur Verfügung stehenden Zeiten genügen, um durch den stufenweisen Abbau des Glykogens die Energie zu produzieren, die notwendig ist, um den sogenannten «Phosphatakkumulator» immer wieder aufzuladen. Ein dritter Einwand gegen die Vorstellung des ausschließlich sukzessiv-chronologischen Ablaufes der Intermediärvorgänge liegt darin, daß man bei dieser Reaktionsart annehmen muß, daß in den Zellen alle diese Teilfermente und Metabolite ja immer nebeneinander reagieren, und daß trotzdem ein fortwährender Ablauf in der Hauptrichtung des Stoffwechsels stattfindet. Nun ist es aber schwer erklärlich, daß bei einer so komplizierten stufenweisen Reaktionsart nicht ununterbrochen die folgenschwersten Störungen eintreten, wenn in irgendeinem Teile der Zellmaschine geringe Aberrationen von der Normallage eintreten.

Das im Leben überall durchgreifende Phänomen der Selbstregulation drängt bei derartigen Betrachtungen wohl zu der Annahme, daß bei den bisherigen Untersuchungen über den Stoffwechsel die weitgehende Analyse desselben irgendein regulatives Prinzip außer acht gelassen hat, ein Prinzip, welches natürlich auch somatisch bedingt sein muß. In dem Phänomen der Selbstregulation tritt uns nun das schon mehrfach genannte *Ganzheitsproblem* entgegen. Ein lebendes System ist kein merogener Teilchenhaufen, sondern ein harmonisch-äquipotentielles System, es ist mehr als die Summe der Teile<sup>1</sup>. Es fragt sich nun, ob es möglich ist, eine naturwissenschaftlich fundierte Vorstellung zu finden, die die Phänomene des Stoffwechsels und der Selbstregulation einem Verständnis näherbringt.

Von diesem Gesichtspunkte aus ist nun die im zweiten Teile auf experimenteller Basis entwickelte Theorie der Komplexenzyme zu betrachten. Es wurde gezeigt, daß der Begriff «Reinferment» nur für künstliche Präparationen Gültigkeit hat. Es ist auch ganz undenkbar, daß im lebenden Milieu derartige hochmolekulare Stoffe für sich getrennt existieren oder gar reagieren, sondern sie werden immer in irgendeiner

<sup>1</sup> Zitiert nach NORD-WEIDENHAGEN, Handb. d. Enzymol., S. 314 (1940).

<sup>2</sup> Z. phys. Chem. 154, 262 (1926).

<sup>3</sup> Z. phys. Chem. 157, 312 (1926).

<sup>1</sup> H. DRIESCH, «Die Philosophie des Organischen» sowie «Die Maschine und der Organismus», Bios IV (Leipzig 1935).

Beziehung zu anderen Stoffen stehen müssen. Diese Beziehungen werden bei den geringsten Änderungen der Stoffwechsellage auch ständig wechseln. Der Begriff der Komplexenzyme, in dem wir, wie gesagt, ein regulatives Prinzip des Stoffwechsels erblicken, läßt sich nun aber erweitern. Komplexenzyme katalysieren immer nur *eine* Reaktion. Nimmt man nun aber an, daß solche Komplexenzyme mit verschiedener Wirksamkeit sich zu Komplexen höherer Ordnung organisieren, so entstehen polyvalente Enzymkomplexe, die *nicht nacheinander, sondern gleichzeitig mit allen ihren Potenzen* auf das Substratmolekül einwirken.

In einem solchen Fall kann man annehmen, daß dann das Substratmolekül nicht sukzessive zerfällt, sondern daß es — da es ja unter dem Einfluß aller Teilenzyme steht — sofort weitgehend dissoziiert. Es werden sich wahrscheinlich freie Radikale bilden, die entweder sofort oder nach einigen wenigen Pendelschwingungen die Endprodukte liefern.

Wir nehmen also anstatt eines chronologisch-sukzessiven Geschehens eine *koinzidente Wirkung enzymatischer Ganzheiten* an. Durch diese Koinzidenz bildet sich ein «*enzymatisches Aktionsfeld*» aus<sup>1</sup>. Gerät ein Substratmolekül in ein solches Feld, so ist es durch alle die Teilkomponenten so stark angeregt, daß sein Gefüge so weit gelockert wird, daß sich zwangsläufig das stabilste Endprodukt sofort bilden muß.

Durch diese Vorstellung wird es nun auch viel verständlicher, daß manche Stoffwechselreaktionen mit so enormer Geschwindigkeit ablaufen. Es wird auch verständlicher, daß die enzymatische Ganzheit des Aktionsfeldes mit großer Konstanz einen harmonischen Handlungsvollzug vollbringen kann, und auch das Phänomen der energetischen Koppelung, auf das im ersten Teile hingewiesen wurde, läßt sich viel zwangloser erklären, wenn man die lange Folge der vielen Teilreaktionen in ein einfaches koinzidentes Geschehen auflöst. Im enzymatischen Aktionsfelde treten also Reinfementwirkungen und Metabolite nur *potentiell* in Erscheinung, denn *sie sind normalerweise gar nicht aktuell vorhanden*.

Wenn nun in einem solchen Aktionsfelde auf experimentellem Wege eine Störung eingeleitet wird, bricht es in irgendeiner Richtung zusammen. In allen diesen Fällen bilden sich dann sofort Stabilisierungsprodukte, die man dann als «*Intermediärprodukte*» isolieren kann. Schiebt man einen solchen Metabolit, bildlich gesprochen, «*von außen*» in ein Aktionsfeld hinein, so wird er natürlich sofort weiterverarbeitet.

Wenn im ersten Teile zitiert wurde: «*die Essigsäure wird nur am Feuer des Aldehyds angegriffen*», indem sie zum Aufbau der Zitronensäure verwendet wird, so ist das wahrscheinlich nur eine bildhafte Ausdrucksweise, denn Essigsäure, Aldehyd, Zitronensäure usw. werden wahrscheinlich nicht aktuell auftreten, sondern

nur potentiell bleiben, solange sie in dem spezifischen Aktionsfeld reagieren. Andererseits sind Abgrenzungen zwischen dem potentiellen und aktuellen Zustande der Metabolite, also zwischen dem sukzessiven und koinzidenten Reaktionsverlauf sicher möglich, denn das Auftreten solcher Stoffe im Leben ist ja in manchen Fällen eine erwiesene Tatsache. All das hat aber nichts mit der grundsätzlichen Vorstellung über die Koinzidenz der Reaktionsart im Aktionsfelde zu tun.

Die experimentelle Methode der Biochemie besteht nun zu einem großen Teile darin, durch systematische Störung der Aktionsfelder deren Teilkomponenten kennenzulernen. Bei diesem Verfahren befindet sie sich in einer ähnlichen Lage wie die Atomphysik, die durch die Beobachtung das zu Beobachtende beeinflusst. Es besteht also auch bei den biologischen Beobachtungen eine sogenannte «*Unsicherheitsrelation*». Es ist wohl klar, daß hierin eine große Gefahr für die Deutung liegt. Es wurde schon im ersten Abschnitte darauf hingewiesen, daß die Bilder der rekonstruierten Reaktionszyklen vielfach wohl nur den Wert von Querschnitten haben, die man durch ein koinzidentes Geschehen legt. Diese Methode muß selbstverständlich weiter gehandhabt werden, denn sie bildet die einzige Möglichkeit, die Komponenten der Aktionsfelder kennenzulernen. Man darf solchen Rekonstruktionen aber wahrscheinlich nur in bestimmten Fällen Realität zusprechen. Es soll aber auch deutlich gesagt sein, daß der Begriff des Aktionsfeldes natürlich einen bestimmten Geltungsbereich hat, der allerdings schwer abzugrenzen sein wird.

Überblickt man die hier abgeleiteten Begriffe, so ergibt sich also, daß man bezüglich des Aufbaues der Enzyme und ihrer katalytischen Leistungen eine Reihe von Organisationsstufen aufstellen kann. Es gibt:

1. *Primitivenzyme* oder *Proteinfemente*. Sie besitzen keine abtrennbaren Kofermente.

2. *Symplexenzyme* oder *Enzymproteide*. Sie bestehen aus Kofermenten + Trägerproteinen. Während die Kofermente vielfach permutieren, sind die Trägerproteine für die Leistung spezifisch.

3. *Beide* Gruppen können mit sogenannten Effektoren zu *Komplexenzymen* zusammentreten. Durch die Bildung von solchen Komplexenzymen tritt eine weitgehende Steuerung der Aktivität und der Spezifität ein. Alle drei Gruppen katalysieren immer nur eine Reaktion.

4. *Enzymatische Aktionsfelder*. Dies sind also Enzymsysteme mit koinzidenter Wirkung. Sie sind wahrscheinlich in vielen Fällen die Ursache der scheinbaren zyklischen Reaktionsart und die Ursache der energetischen Koppelung.

Als Beispiele solcher Aktionsfelder seien genannt: Kohlensäureassimilation, Desmolysen, wie Gärung, Glykolyse, ferner Harnstoffbildung, Umaminierung,  $\beta$ -Oxydation usw.

<sup>1</sup> Vortrag i. d. Med. Ges. Basel, am 21. Dez. 1944, Referat: Schweiz. med. Wschr. 75, 1123 (1945).

<sup>2</sup> Exper.

Es dürfte also aus dieser Darstellung wohl mit genügender Klarheit hervorgehen, daß in diesen vier Stufen eine Organisationsreihe vorliegt, die einen Weg zum Verständnis des biologischen Ganzheitsproblems weist. Ich habe schon 1938<sup>1</sup> darauf hingewiesen, daß sich aus der Vorstellung einer artspezifischen Proteinmatrize bis zu einem gewissen Grade die Entwicklungspotenzen eines lebenden Systems zumindest theoretisch aus der molekularen Struktur des Keimplasmas ableiten lassen. Die in der Lebensphase zweifellos herrschende Entelechie muß ja in irgendeiner Weise stofflich fundiert sein. Auch vom streng naturwissenschaftlichen Standpunkt aus ist daher die Annahme einer solchen Entelechie als regulatives Prinzip gestattet, solange dieses nicht konstitutiv gebraucht wird (KANT).

Die im ersten Teil schon hervorgehobene Eigentümlichkeit des Chemismus der Lebensphase, daß aus den zusammenbrechenden Ungleichgewichten sich immer die ursprünglichen Gleichgewichte durch endergonische Vorgänge wiederherstellen können, birgt eigentlich schon den Begriff der Selbstregeneration in sich, auf welchen am Eingang dieser Betrachtungen hingewiesen wurde. Es wird dadurch der Forschung ein Weg gewiesen, indem sie den Begriff des biochemischen Aktionsfeldes mit dieser Vorstellung vereinigen muß.

Die Analyse der elementarsten Phänomene des Lebens wird daher bei einer Betrachtung des molekularen Geschehens in der Lebensphase beginnen. Durch dieses Verfahren wird die Forschung allmählich eine hierarchische Ordnung von immer höher organisierten

Wirkungseinheiten aufstellen können, die zu einem allmählichen, teilweisen Verständnis desjenigen Bereiches der Lebensvorgänge führen wird, der naturwissenschaftlich überhaupt erkennbar ist.

### Summary

It is demonstrated that in a number of metabolic reactions intermediary reactions are coupled both as regards material and energy with the main metabolic process. In many cases energetic coupling of partial reactions is not at all clear. Our investigations on the *d*-amino-acid-oxydase demonstrated that the so-called true enzyme can, with amino-acids and proteins, yield numerous "complex-enzymes" each having a different action. These investigations have been extended to other enzyme-systems, and the conclusion was reached that simple protein-enzymes are transformed into complex-enzymes in the living-matter. It is assumed that the formation of these complex-enzymes is in principle a regulatory metabolic action. The assumption of chronological action of enzymatic processes is not satisfactory if judged from a biological point of view. It is therefore assumed that in many cases all enzymes act on the substrate simultaneously and that consequently an "enzymatic field of action" (enzymatisches Aktionsfeld) is created. If a molecule of substrate gets into such a field it is probably degraded in a direct way and not chronologically. In many cases partial enzymes and intermediary products exist only potentially and not actually.

If such a "field of action" is disturbed by experimental influences it is possible to isolate intermediary products, which under normal conditions would never be formed owing to the fact that their existence is only potential. In living matter a hierarchic order is therefore assumed. Protein-enzymes, symplex-enzymes and the "field of action" form a higher level of organization and the hypothesis of DRIESCH, which governs every living system, may gradually be recognized.

<sup>1</sup> Protein-Synthese und Gen-Struktur: Schweiz. med. Wschr. 68, 959 (1938).

## On some Problems of Alpine Tectonics

By J. CADISCH, Berne<sup>1</sup>

### 1. The arc structure of the Mountain-Range

Each student of a geological map of the Alps is likely to be struck at a first glance by the subdivision of the structure into the two impressive arcs of the Western and Eastern Alps respectively. These members of the alpine structure may be considered as flow structures of the first order in the exterior crust of the Earth. Much has already been written on the possible origin of this peculiar feature. Two opinions are in diametrical opposition to each other: While the one supposes these arcs to be as such of primary origin, the other presumes that they are produced by strong deflection processes to which the originally straight zones had subsequently been subjected. A point in opposition to this view is the hardly disturbed continuation of the tectonic members from the Western

into the Eastern Alps. Had the arcs been produced by strong deflections a pronounced compression would have resulted on the concave side while intense tension would have acted on the convex side. But no such features of either type can be detected excepting perhaps the rather well marked transverse folding in the area of the Alps of Ticino (South of the St. Gotthard pass). Consequently, it would appear most plausible to assume an original arc-shaped structure from which the present-day features have gradually developed.

We now know, owing to the geophysical researches made by G. CASSINIS, M. DE PISA, E. A. VENING MEINESZ and H. P. COSTER<sup>2</sup> that the alpine structural

<sup>1</sup> Institute of Geology, University of Berne.

<sup>2</sup> H. P. COSTER, The Gravity Field of the Western and Central Mediterranean (Groningen 1945).