

Einführung in die Chemie der Hämine

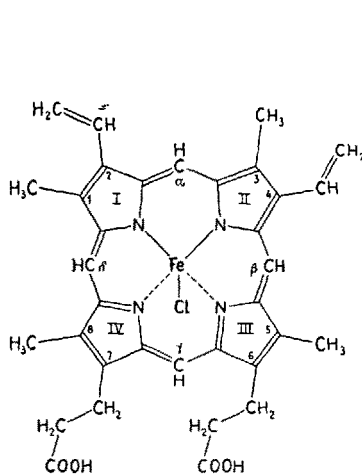
Von ARTHUR STOLL¹, Basel

Die beiden augenfälligsten Farbstoffe der Natur, das Chlorophyll, welches das grüne Kleid der Erde bedingt, und der rote Farbstoff des Blutes, «eines ganz besonders Saftes», sind schon früh bei den Chemikern und Biologen lebhaftem Interesse begegnet. Als einer der ersten hat sich M. NENCKI, dessen 100. Geburtstag wir in diesem Jahre feiern, schon vor mehr als 60 Jahren mit dem Blutfarbstoff beschäftigt und in genialer Weise Pionierarbeit geleistet. Aber nicht nur durch ihre ubiquitäre Verbreitung und ihre fundamentale Bedeutung für die Lebewelt gleichen sich Blattgrün und Blutfarbstoff; im Grundskelett ihres chemischen Aufbaus zeigen sie eine weitgehende Ähnlichkeit.

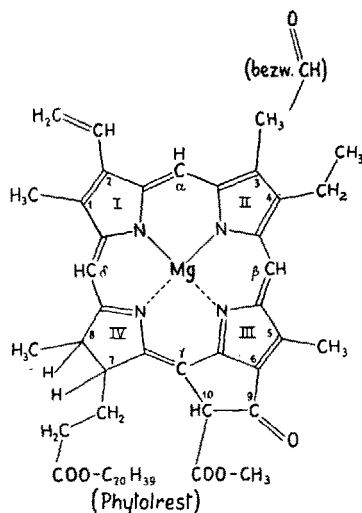
durch ihr komplex gebundenes Eisen *oxydativen* Vorgängen dienen, während das *Chlorophyll* durch sein komplex gebundenes Magnesium — vielleicht als prosthetische Gruppe eines assimilatorischen Ferments — unter dem Einfluß des Lichtes der *Reduktion* der atmosphärischen Kohlensäure zur Kohlehydratstufe dient.

Die Konstitution des Hämins ist heute bekannt und durch die Totalsynthese bewiesen. Die Totalsynthese des Chlorophylls steht noch aus; es bestehen aber in bezug auf seine Konstitution kaum noch Unsicherheiten.

Der chemische Bau des Hämins, wie er in Fig. 1 links, auf eine Ebene projiziert, dargestellt ist, weist



Hämin



Chlorophyll a (bez. b)

Fig. 1.

In einem Beitrag zur Festschrift zu Ehren von Prof. W. LÖFFLER² in Zürich «Über die Verwandtschaft des Blutfarbstoffes mit dem Blattgrün» sind die Parallelen und die Verschiedenheiten sowohl im chemischen Bau der Moleküle wie in funktioneller Hinsicht umschrieben worden. Die Verwandtschaft bezieht sich nicht nur auf das Grundskelett der beiden Farbstoffe, sondern auch auf die Form, in der sie in der Natur vorkommen. Beide sind an hochmolekulare Eiweißstoffe gebunden, sind also Bestandteile sogenannter *Chromoproteide*. Die funktionelle Verschiedenheit beruht im wesentlichen darauf, daß das *Hämin* bzw. seine Derivate in allen ihren Formen, in denen sie in der Natur vorkommen,

im Gegensatz zu vielen höhermolekularen Naturstoffen, die aus aneinandergereihten Bausteinen Ketten bilden, eine beachtenswerte Symmetrie auf. Ein zentral gelegenes, komplex gebundenes Eisenatom ist von einem 16gliedrigen, heterozyklischen Ringsystem umschlossen. 4 substituierte Pyrrolkerne sind in symmetrischer Weise durch 4 Methinbrücken miteinander verbunden und bilden den sogenannten Porphinkern. Die 8 β -Stellungen der Pyrrolkerne sind durchwegs substituiert, die 1,3,5- und 8-Stellung durch Methylgruppen, die 2- und 4-Stellung durch Vinylreste und die einander benachbarten 6- und 7-Stellungen durch je einen Propionsäurerest. Es kommt auf diese Weise ein außerordentlich schönes Formelbild zustande.

Die in der Fig. 1, rechts, abgebildete Konstitutionsformel des Blattgrüns, das übrigens aus 2 Komponenten, Chlorophyll a und Chlorophyll b, besteht, weist

¹ Vortrag, gehalten am 31. August in Genf auf Einladung der Schweizerischen Medizinisch-Biologischen Gesellschaft. Herrn Dr. E. WIEDEMANN sei für seine Mitwirkung bei der Bearbeitung der umfangreichen Literatur bestens gedankt.

² A. STOLL und E. WIEDEMANN, Schweiz. med. Wschr. 77, 664 (1947).

in bezug auf den 16gliedrigen Porphinring eine ähnliche Symmetrie auf, die jedoch durch Verschiedenheiten der Substituenten in der Peripherie vom regelmäßigen Bau des Hämins stark abweicht. Der Propionsäurerest an C_7 ist mit dem hochmolekularen Alkohol Phytol verestert. Der Propionsäurerest an C_6 hat unter Oxydation zu einem Azetessigester einen isozyklischen Seitenring gebildet. Nur C_2 trägt eine Vinylgruppe. Die Seitenkette an C_4 ist der gesättigte Äthyl-

enthält. Es ist mit 2 Hauptvalenzen und 2 Nebenvalenzen an die Stickstoffatome des Porphinkerns gebunden und bindet mit einer dritten Hauptvalenz ein Chloratom. Hämin ist eigentlich ein Kunstprodukt, das bei der hydrolytischen Spaltung des Hämoglobins durch warmen Eisessig in Gegenwart von Chlorionen entsteht. Es kann in präparativem Maßstab aus Rinderblut, oder mit Vorteil aus dem Blutkörperchenbrei des Pferdeblutes nach den in den Grundzügen von

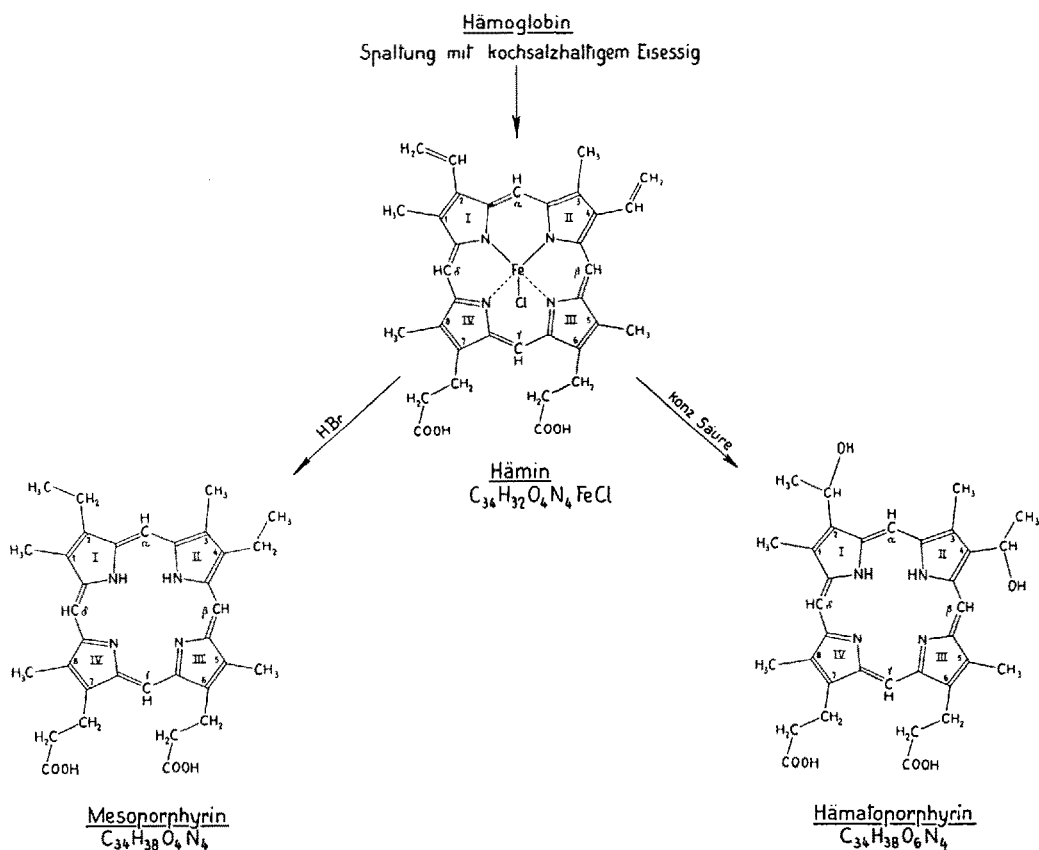


Fig. 2.

rest. Im Chlorophyll b ist die Methylgruppe an C_3 des Chlorophylls a durch eine Aldehydgruppe ersetzt. Als charakteristischer Unterschied gegenüber Hämin ist noch hervorzuheben, daß beim Blattgrün sehr wahrscheinlich der Ring 4 durch 2 Wasserstoffatome teilweise hydriert ist, ein Umstand, der zur grünen Farbe des Chlorophylls und seiner Derivate beiträgt. Der Hydrierungsgrad des Hämins und seiner Porphyrine, wie man die eisenfreien Abkömmlinge des Hämins nennt, ist — im Gegensatz zum Chlorophyll — der niedrigst mögliche, d.h. der eines aromatischen Systems. Die durchlaufende Konjugation der Doppelbindungen, also der aromatische Charakter, ist für die relativ große Stabilität dieser Verbindungen verantwortlich; sie bedingt auch die intensive Farbe und die charakteristischen Absorptionsspektren.

Unter Hämin versteht der Chemiker die in Fig. 1 aufgezeichnete Substanz, die das Eisenatom dreiwertig

M. NENCKI und N. SIEBER¹, von F. HOPPE-SEYLER² oder von M. SCHALFEJEFF³ angegebenen Verfahren bereitet werden. Die ersten Häminkristalle wurden bekanntlich von L. TEICHMANN⁴ vor bald 100 Jahren beschrieben.

Die blauviolett schillernden Kristalle des leicht zugänglichen Hämins haben als Ausgangsmaterial für zahlreiche chemische Umsetzungen gedient. M. NENCKI und N. SIEBER¹ beschrieben die Bildung von *Hämatin* aus Hämin, wobei das am Eisenatom stehende Chloratom durch Hydroxyl ersetzt wird und bestätigten die von F. HOPPE-SEYLER² aufgefundene Darstellung von *Hämatoporphyrin* (Fig. 2) aus Hämin durch die Behandlung mit konzentrierter Salzsäure, wobei das

¹ M. NENCKI und N. SIEBER, Ber. dtsch. chem. Ges. 17, 2267 (1884).

² F. HOPPE-SEYLER, Ber. dtsch. chem. Ges. 18, 603 (1885).

³ M. SCHALFEJEFF, Le physiologiste russe 1, 15 (1898).

⁴ L. TEICHMANN, Z. rat. Med. (N.F.) 3, 375 (1853); 8, 141 (1857).

komplex gebundene Eisenatom entfernt und an den beiden Stickstoffatomen durch Wasserstoff ersetzt wird. Gleichzeitig treten an den beiden ungesättigten Seitenketten 2 Moleküle Wasser ein. Etwas später gelang M. NENCKI und J. ZALESKI¹ die Reduktion des Hämins zum *Mesoporphyrin* (Fig. 2). Der für die Reduktion verwendete Bromwasserstoff entfernt nicht nur das komplex gebundene Eisenatom, er sättigt auch die beiden Doppelbindungen der Seitenketten ab.

Diese Umsetzungen erfolgen unter Erhaltung des 16gliedrigen Porphinrings. Über dessen Bausteine gab einerseits die reduktive, anderseits die oxydative Auf-

Durch energischen reduktiven Abbau von Hämin mit Jodwasserstoff erhielt O. PILOTY⁸ ein Gemisch von Pyrrolbasen, aus dem 4 verschieden substituierte Pyrrole: *Hämopyrrol*, *Phyllopyrrol*, *Kryptopyrrol* und *Opso-pyrrol* isoliert worden sind^{5, 6, 8, 9}; sie sind in Fig. 3 aufgezeichnet. O. PILOTY² beobachtete neben diesen Basen auch die entsprechenden Monocarbonsäuren, nämlich Hämopyrrol-, Phyllopyrrol-, Kryptopyrrol- und Opso-pyrrol-carbonsäure, die anstelle der β -Äthylgruppe einen Propionsäurerest tragen. Diese Säuren wurden später von H. FISCHER und seinen Mitarbeitern in reinem Zustande dargestellt^{6, 9}.

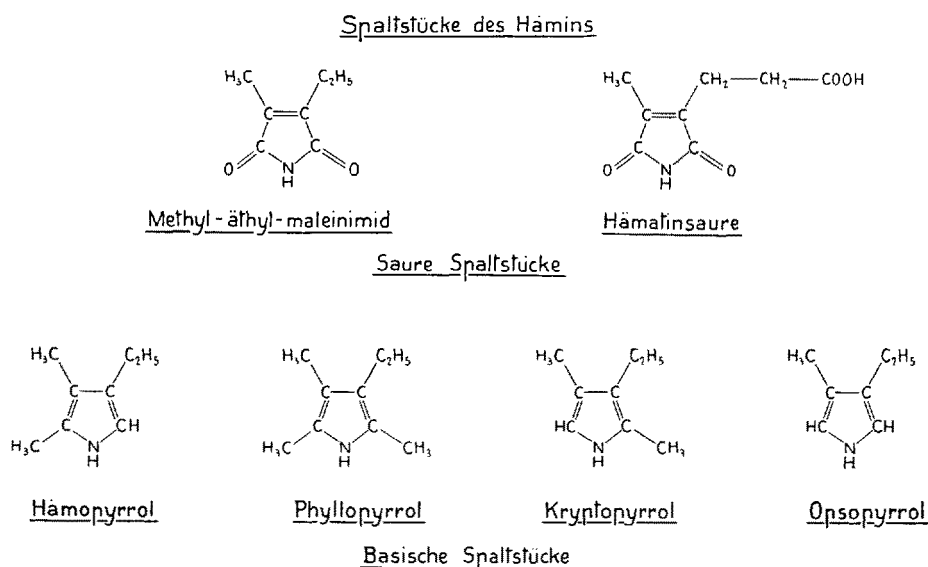


Fig. 3.

spaltung des Rings Aufschluß. Dieser Abbau, der von M. NENCKI und J. ZALESKI¹ eingeleitet und von O. PILOTY² und seinen Schülern sowie von W. KÜSTER³ und von L. MARCHLEWSKI⁴ fortgesetzt wurde, führte einerseits zu substituierten Pyrrolen, anderseits zu Abkömmlingen des Methyl-äthyl-maleinimids. Seit 1911 wurden die Abbauprodukte auch von R. WILLSTÄTTER⁵ sowie von H. FISCHER⁶ und von W. KÜSTER⁷ näher untersucht.

Durch Oxydation des Hämins und seiner Derivate, z. B. mit Chromsäure, erhielt zuerst W. KÜSTER¹⁰ Derivate des Maleinimids, die als *Methyl-äthyl-maleinimid* und *Hämatinsäureimid* identifiziert worden sind¹¹ (siehe obere Hälfte der Fig. 3).

Auf Grund der genaueren Kenntnis der Spaltstücke und der Elementaranalyse des Hämins war es W. KÜ-

¹ M. NENCKI und J. ZALESKI, Ber. dtsch. chem. Ges. 34, 997 (1901).

² O. PILOTY, Liebigs Ann. Chem. 366, 237 (1909). — O. PILOTY und S. MERZBACHER, Ber. dtsch. chem. Ges. 42, 3253, 3258 (1909). — O. PILOTY und E. QUITMANN, Ber. dtsch. chem. Ges. 42, 4693 (1909).

³ W. KÜSTER, Liebigs Ann. Chem. 315, 174 (1901). — W. KÜSTER, in: ABDERHALDENS Hb. d. biol. Arbeitsmethoden, Abt. I, Teil 8, S. 201ff.

⁴ L. MARCHLEWSKI, J. prakt. Chem. (2) 65, 165 (1902).

⁵ R. WILLSTÄTTER und Y. ASAHINA, Ber. dtsch. chem. Ges. 44, 3707 (1911); Liebigs Ann. Chem. 385, 188 (1912).

⁶ H. FISCHER, Z. physiol. Chem. 73, 204 (1911); Ber. dtsch. chem. Ges. 46, 1575 (1913). — H. FISCHER und R. MEYER-BETZ, Z. physiol. Chem. 75, 240 (1911); 82, 101 (1912). — H. FISCHER und E. BARTHOLOMÄUS, Ber. dtsch. chem. Ges. 44, 3313 (1911); 45, 466 (1912); 45, 1922, 1979 (1912); 46, 512 (1913); Z. physiol. Chem. 77, 185 (1912); 78, 420 (1912); 80, 6 (1912); 83, 50 (1913); 84, 279 (1913).

— H. FISCHER und F. KROLLPFEIFER, Z. physiol. Chem. 82, 266 (1912). — H. FISCHER und H. RÖSE, Ber. dtsch. chem. Ges. 45, 3274 (1912); Z. physiol. Chem. 87, 39 (1913); 91, 190 (1914). — H. FISCHER und K. EISMAYER, Ber. dtsch. chem. Ges. 47, 1820 (1914).

⁷ W. KÜSTER, Ber. dtsch. chem. Ges. 45, 1945 (1912). — W. KÜSTER und P. DEIHLE, Z. physiol. Chem. 82, 463 (1913).

⁸ O. PILOTY und S. J. TANNHAUSER, Liebigs Ann. Chem. 390, 191 (1912). — O. PILOTY und J. STOCK, Liebigs Ann. Chem. 392, 215 (1912); Ber. dtsch. chem. Ges. 46, 1008 (1913). — O. PILOTY und A. BLÖMER, Ber. dtsch. chem. Ges. 45, 3749 (1912). — O. PILOTY und K. WILKE, Ber. dtsch. chem. Ges. 46, 1598 (1913). — O. PILOTY und E. DORMANN, Liebigs Ann. Chem. 388, 314 (1912); Ber. dtsch. chem. Ges. 46, 1007 (1913); 47, 402 (1914). — O. PILOTY, J. STOCK und E. DORMANN, Ber. dtsch. chem. Ges. 47, 400 (1914).

⁹ Vgl. auch: H. FISCHER und A. TREIBS, Liebigs Ann. Chem. 450, 143 (1926).

¹⁰ W. KÜSTER in: ABDERHALDENS Hb. d. biol. Arbeitsmethoden, Abt. I, Teil 8, S. 251.

¹¹ W. KÜSTER und K. HAAS, Liebigs Ann. Chem. 345, 10 (1905). — W. KÜSTER und J. WELLER, Z. physiol. Chem. 99, 253 (1917).

STER¹ schon 1912/13 möglich, für das Hämin eine in allen wesentlichen Teilen richtige Konstitutionsformel aufzustellen, die Ende der zwanziger Jahre von H. FISCHER² durch die Totalsynthese des Hämins bestätigt wurde.

Der totale Aufbau des Hämins aus seinen Bausteinen gehört zu den großartigsten Leistungen organischer Synthese. Dutzende von Chemikern arbeiteten unter der genialen Leitung von H. FISCHER allein schon an der Herstellung der schwer zugänglichen substituierten Pyrrole, die als Bestandteile für die Kondensation zum 16gliedrigen Porphinring dienen mußten. Bei der Kompliziertheit der Moleküle ist die Bildung einer großen Zahl von Isomeren möglich, z. B. schon im Hinblick auf die Reihenfolge der β -Substituenten der 4 Pyrrolkerne. So sind durch Vertauschen dieser β -Substituenten 15 Isomere des Hämins möglich, wenn auch ein Teil davon auf Grund der Ergebnisse des reduktiven und oxydativen Abbaus auszuschließen war.

Die Feststellung der Anordnung der β -Substituenten gelang H. FISCHER und seinen Schülern an dem leichteren Beispiel der Synthese des Mesoporphyrins³, bei dem die Seitenketten in 2- und 4-Stellung nicht als Vinylreste wie im Hämin, sondern als Äthylgruppen vorhanden sind. Von den 15 möglichen isomeren Mesoporphyrinen war es nach der Bezeichnung von H. FISCHER Nr. IX, das sich mit dem aus Blutfarbstoff gewonnenen Mesoporphyrin als identisch erwies. Auf die Kautelen, die bei einer solchen Identifizierung zu beachten sind, soll hier nicht eingegangen werden, dagegen sei die *Totalsynthese des Hämins* in ihren wichtigsten Etappen anhand der Fig. 4 demonstriert.

Es wurde bereits darauf hingewiesen, welcher Anstrengung es bedurfte, um die verschiedenen substituierten Pyrrole als Ausgangsmaterial für die Konstruktion des 16gliedrigen Porphinrings herzustellen. Die Behandlung dieses schwierigen

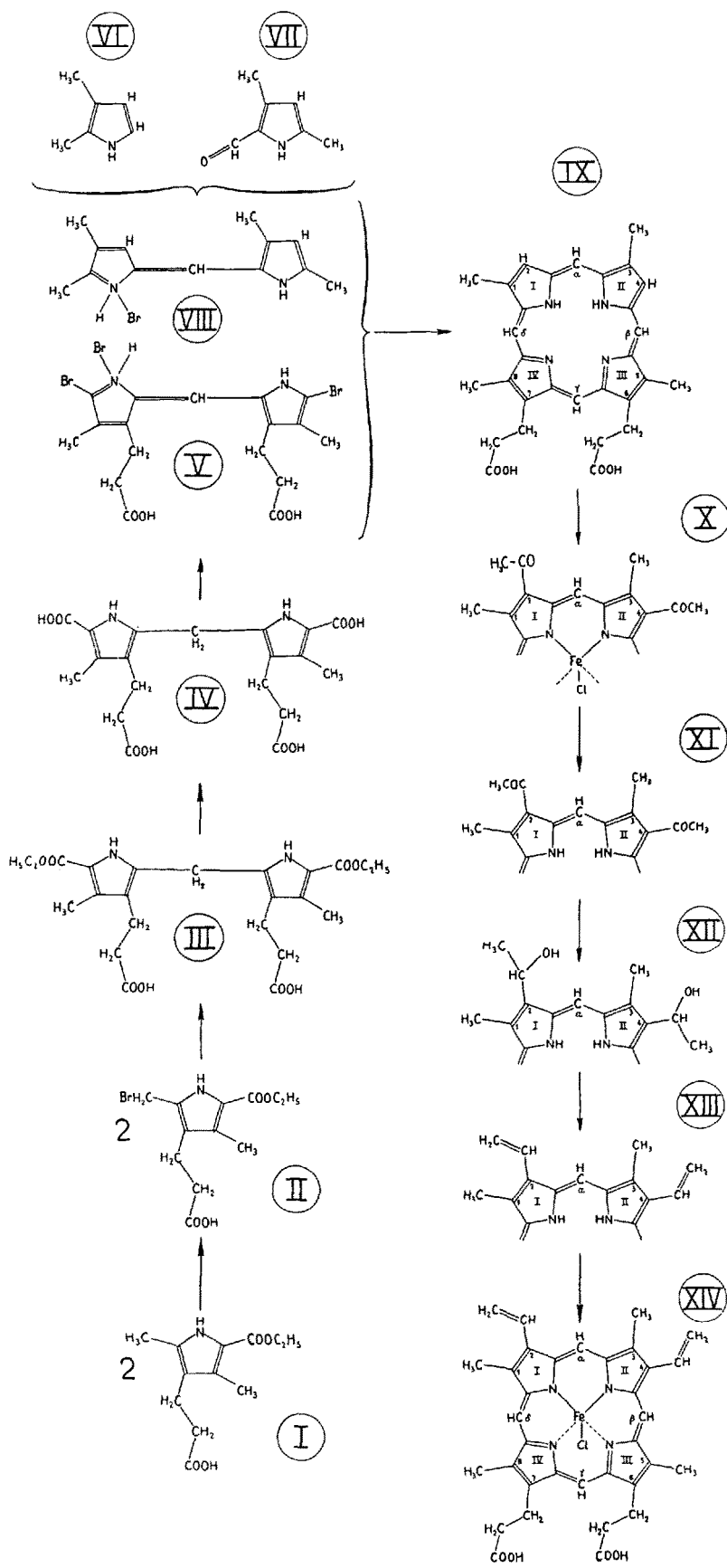


Fig. 4.

Hämmin
 $C_{34}H_{32}O_4 N_4 Fe Cl$

¹ W. KÜSTER, Ber. dtsch. chem. Ges. 45, 1945 (1912). – W. KÜSTER und P. DEIHLE, Z. physiol. Chem. 82, 463 (1913).

² H. FISCHER und K. ZEILE, Liebigs Ann. Chem. 468, 98 (1929). – H. FISCHER, Naturw. 17, 611 (1929); Nobelvortrag 1930.

³ H. FISCHER und G. STANGLER, Liebigs Ann. Chem. 459, 64 (1927).

rigen Teils der Pyrrolchemie würde zu weit vom Thema wegführen; dagegen seien die Verknüpfung der substituierten Pyrrole zum Porphinsystem und dessen Umwandlungen zum Hämin eingehender dargestellt.

Eine dieser Ausgangssubstanzen ist die an sich schon recht komplizierte α -Carbäthoxy-kryptopyrrol-carbonsäure (I). Durch Bromierung wird die Methylgruppe in 2-Stellung in das α' -Brommethylderivat (II) verwandelt, von dem sich beim Verkochen mit Wasser 2 Moleküle zum Dipyrpyrrol-methan (III) kondensieren. Die Verseifung dieses Dipyrpyrrolmethans liefert intermediär die α - α' -Dicarbonsäure (IV), die bei der nachfolgenden Bromierung in das 3,3'-Dipropionsäure-4,4'-dimethyl-5,5'-dibrom-dipyrpyrrol-methen bzw. sein Hydrobromid (V) verwandelt wird. Damit ist die eine Hälfte des Ringsystems für die Schlußkondensation vorbereitet.

Die Synthese der anderen Ringhälfte ist einfacher. Man geht nämlich von 2 relativ einfachen, aber unter sich verschiedenen Bausteinen aus, nämlich vom 2,3-Dimethylpyrrol (VI) und vom 2-Aldehyd-3,5-dimethylpyrrol (VII), die man zum 3,5,4',5'-Tetramethyldipyrpyrrolmethen bzw. dessen Hydrobromid (VIII) kondensiert. Damit sind bereits je 2 substituierte Pyrrole durch Methinbrücken miteinander verbunden. Die Bromatome der Substanz V reagieren bei der nächstfolgenden Kondensation mit dem Wasserstoff der α -ständigen Methylgruppen der Substanz VIII und es schließt sich unter Bildung von 2 neuen Methinbrücken in β - und δ -Stellung der 16gliedrige Ring zum *Deuteroporphyrin* (IX). Zur Vervollständigung der Substituenten an der Peripherie des Moleküls, wie sie im Hämin vorliegen, müssen die Stellungen 2 und 4 noch substituiert werden. Nun wird das Eisenkomplexsalz des Deuteroporphyrins hergestellt und dieses mit Essigsäureanhydrid in 2- und 4-Stellung acetyliert. Das 2,4-Diacetyl-deuterohämin (X) liefert nach dem Zerlegen des Eisenkomplexsalzes das 2,4-Diacetyl-deuteroporphyrin (XI).

Nun erfolgt die Reduktion der Acetylgruppen mit alkoholischem Kali zu sekundären Alkoholgruppen, wobei das dem Hämin bereits sehr nahestehende Hämatoporphyrin (XII) entsteht. Beim Erhitzen im Hochvakuum spalten seine Seitenketten 2 Moleküle Wasser ab. Es entstehen die für Hämin charakteristischen ungesättigten Vinylgruppen in 2- und 4-Stellung. Die Synthese des Protoporphyrins (XIII) ist damit erreicht. Durch Einführung des Eisens in Protoporphyrin bei Gegenwart von Kochsalz entsteht das Hämin (XIV). Die Häminsynthese ist um so bewundernswerter, als viele Umsetzungen dieser langen Reihe mit Ausbeuten von nur wenigen Prozenten verlaufen und einzelne davon mit nur sehr geringen Substanzmengen, z.B. 10 mg, durchgeführt werden können.

Die durch Totalsynthese bewiesene Konstitutionsformel des Hämins bildet die Grundlage für die nachfolgenden Ausführungen. Bevor wir indessen auf die

Funktionen des Hämins bzw. seiner Derivate als prosthetische Gruppen von Chromoproteiden übergehen, seien noch einige Derivate des Hämins, die als solche isoliert worden sind, erwähnt. Der dem Hämin unmittelbar zugrunde liegende eisenfreie Farbstoff, das Protoporphyrin, ist aus ganz verschiedenen natürlichen Ausgangsmaterialien isoliert worden. E. DERRIEN¹ isolierte es aus der HARDERSchen Drüse der Nagetiere, H. FISCHER² aus zahlreichen Pflanzen. Auch der rote Farbstoff gefleckter Eierschalen, z.B. der Möwen und Kiebitze, ist nach H. FISCHER und F. KÖGL³ Protoporphyrin.

Nach Magenblutungen und nach Blutgenuß läßt sich in den Faeces *Deuteroporphyrin* nachweisen⁴. Die Bildung dieses Farbstoffes im Verdauungskanal zeigt, daß der biologische Abbau der prosthetischen Gruppe des Hämoglobins neben der Abspaltung des Eisens zunächst die ungesättigten Seitenketten erfaßt.

Von medizinischer Bedeutung ist das Auftreten der *Koproporphyrine* und der *Uroporphyrine*, die sich vom Hämin, wie Fig. 5 zeigt, dadurch unterscheiden, daß sie statt nur 2 Carboxylgruppen deren 4, ja sogar 8 tragen. Blei- und Sulfonalvergiftungen können zur Ausscheidung von Koproporphyrin III führen⁵. Es ist die dem Protoporphyrin entsprechende 2,4,6,7-Tetrapropionsäure. Sie wird in allen Fällen von toxischer Porphyrrie gefunden, während bei kongenitaler Porphyrrie ein Isomeres des Koproporphyrins III, das Koproporphyrin I ausgeschieden wird⁶. Die beiden Koproporphyrine unterscheiden sich durch die vertauschte Stellung der Methyl- und der Propionsäuregruppen in den Stellungen 7 und 8 des Ringes IV. Koproporphyrin I scheint im Knochenmark gebildet zu werden⁷. In kleinen Mengen tritt es auch bei perniziöser Anämie, Nierenerkrankungen, Leberzirrhose und hämolytischem Ikterus auf⁸. Spuren davon finden sich in normalen Ausscheidungsprodukten: Faeces⁹,

¹ E. DERRIEN, C. R. Soc. Biol. 91, 634 (1924).

² H. FISCHER und H. HILMER, Z. physiol. Chem. 153, 167 (1926). – Vgl. auch: H. FISCHER und F. SCHWERTDEL, Z. physiol. Chem. 159, 120 (1926) sowie: O. SCHUMM, Z. physiol. Chem. 152, 147 (1926); 154, 171 (1926).

³ H. FISCHER und F. KÖGL, Z. physiol. Chem. 131, 241 (1923); 138, 270 (1924).

⁴ O. SCHUMM, Z. physiol. Chem. 144, 272 (1925); 147, 288 (1925); 149, 111 (1925); 152, 8 (1926); 153, 246 (1926); 159, 194 (1926); 169, 3 (1927).

⁵ H. FISCHER und W. ZERWECK, Z. physiol. Chem. 130, 317 (1923); 137, 184 (1924). – H. FISCHER und R. DUESBERG, Arch. exp. Pathol. Pharmacol. 166, 96 (1932).

⁶ H. FISCHER, Erg. Physiol. 15, 185 (1916). – ABDERHALDENS Hb. d. biol. Arbeitsmethoden, Abt. I, Teil 11, S. 197. – H. FISCHER und H. HELBERGER, Liebigs Ann. Chem. 480, 254 (1930).

⁷ H. FISCHER, H. HILMER, F. LINDNER und B. PÜTZER, Z. physiol. Chem. 150, 53 (1925). – Vgl. auch die vorhergehende Fußnote.

⁸ C. J. WATSON, J. clin. Invest. 14, 106 (1935). – J. WALDENSTRÖM, Acta med. Scand. 83, 281 (1934); Dtsch. Arch. klin. Med. 178, 38 (1935); Z. physiol. Chem. 239, 111 (1936). – J. WALDENSTRÖM, H. FINK und W. HOERBURGER, Z. physiol. Chem. 233, 1 (1935).

⁹ H. FISCHER und K. SCHNELLER, Z. physiol. Chem. 135, 290 (1924). – H. FISCHER, Ber. dtsch. chem. Ges. 60, 2628 (1927). – R. FIKENTSCHER, Klin. Wschr. 14, 571 (1935).

Harn¹, Meconium², ferner neben Protoporphyrin im Speichel und in den Talgdrüsen³. Koproporphyrin I ist ferner ein normaler Bestandteil der Hefe⁴. Die Struktur der beiden Koproporphyrine, wie sie das Bild zeigt, ist durch Synthese bewiesen⁵. Den beiden Koproporphyrinen I und III entsprechen 2 isomere Säuren mit 8 Carboxylgruppen, die als Uroporphyrine⁶ bezeichnet worden sind. Die 8 Carboxyle sind auf alle 8 β -Stellungen des Porphinkerns verteilt, so daß sie als Tetra-essigsäure-tetra-propionsäure-porphyrine zu bezeichnen sind⁷.

Die erwähnten Abkömmlinge des Hämins zeigen eine lichtsensibilisierende Wirkung, die beim Hämatoporphyrin besonders ausgeprägt ist¹.

Die bis jetzt besprochenen Derivate des Hämins, die als freie Farbstoffe in der Natur angetroffen werden, sind nicht die Substanzen, die in *funktioneller Hinsicht* den Biologen interessieren. Vielmehr sind es *Chromoproteide*, die wichtige Oxydationsvorgänge katalytisch einleiten und beschleunigen, also spezifische Eiweißkörper, die eisenhaltige Derivate des Hämins als prosthetische Gruppen tragen. Biologen und Mediziner ver-

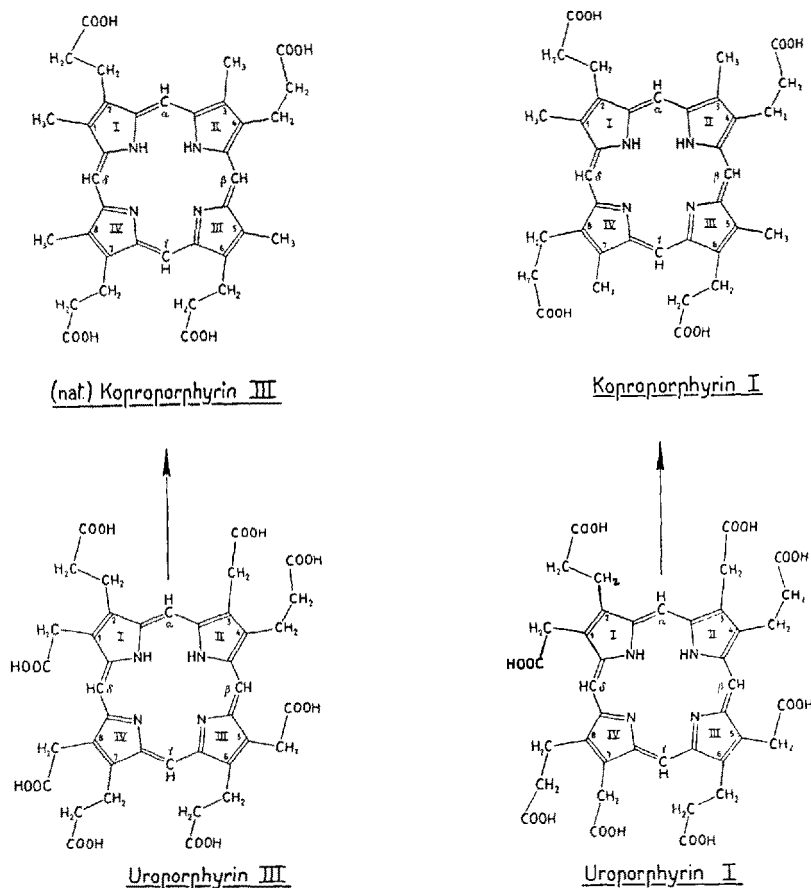


Fig. 5.

¹ H. FINK, Naturw. 22, 292 (1934). – H. FISCHER, Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 45, 21 (1933). – H. KÄMMERER, Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 45, 30 (1933).

² J. WALDENSTRÖM, Z. physiol. Chem. 239, 4 (1936).

³ A. A. HIJMAN VAN DEN BERGH, Vers. Akad. Wetensch. Amsterdam, Wiss. nat. Afd. 36, 1096 (1927); Dtsch. med. Wschr. 36, 1492 (1928). – E. DERRIEN, C. R. Soc. Biol. 8, 135 (1926). – A. GARROD, Quart. J. Med. 19, 357 (1925/26). – S. BOMMER, Klin. Wschr. 6, 1142 (1927).

⁴ H. FISCHER und H. FINK, Z. physiol. Chem. 140, 57 (1924); 150, 243 (1925).

⁵ Koproporphyrin I: H. FISCHER und H. ANDERSAG, Liebigs Ann. Chem. 458, 117 (1927); Koproporphyrin III: J. HIERNEIS, Diss. München 1930.

⁶ H. FISCHER, Z. physiol. Chem. 95, 34 (1915); 96, 148 (1915); 96, 309 (1915); 97, 109, 148 (1916); 98, 14, 78 (1916).

⁷ Vgl. H. FISCHER und H. ORTH, Die Chemie des Pyrrols, Bd. II, 1. Hälfte, S. 512 und 517. Leipzig 1937.

stehen unter «Häminen» vielfach Chromoproteide der Derivate des Hämins, also Farbstoff + Eiweiß. Weniger mißverständlich wäre es, diese Verbindungen als *Häminproteide* zu bezeichnen, wie es HUGO THEORELL² tut, oder sie in Analogie zu Hämoglobin *Hämo*-*proteide* zu nennen.

Vom funktionellen Gesichtspunkt aus betrachtet, hat das komplizierte Gerüst des Porphinkerns die Bedeutung eines Trägers von aktiviertem Eisen. Wie kein

¹ W. HAUSMANN, Wiener klin. Wschr., Jg. 1909, S. 1620. – W. HAUSMANN und M. SPIEGEL-ADOLF, Klin. Wschr. 6, 2128 (1927). – W. HAUSMANN, Strahlentherapie 28, 81 (1928). – H. FISCHER und F. MEYER-BETZ, Arch. klin. Med. 112, 476 (1929).

² H. THEORELL, Erg. Enzymforschung 9, 231 (1943).

anderes Element vereinigt das Eisen Eigenschaften, die es als Katalysator für Oxydationsprozesse geeignet machen. Nicht nur besitzt es eine hohe Affinität zu Sauerstoff, es kann durch Übergang von der 3- in die 2wertige Form und umgekehrt selbst in Oxydationsprozesse eingreifen und sich andererseits als komplexbildendes Element durch Partialvalenzen, oder, wie man sich heute vielfach ausdrückt, durch Aufnahme von Elektronenpaaren aus basischen Gruppen des Porphinkerns oder von Proteinen verbinden. Die Reak-

2. Das Eisen schwingt physiologisch zwischen zwei- und dreiwertig, so daß ein Elektron immer wieder aufgenommen und nach anderer Seite hin weitergegeben wird. Beispiel: Cytochrom c: $\text{Fe}^{+++} + e \rightleftharpoons \text{Fe}^{++}$.

3. Das Eisen bleibt physiologisch immer dreiwertig. Wasserstoffsuperoxyd wird angelagert und entweder gespalten (Katalasen) oder zu oxydativen Funktionen aktiviert (Peroxydasen).»

Unserer Übersicht sei diese Einteilung zugrunde gelegt und als typisches Beispiel eines Hämoproteids

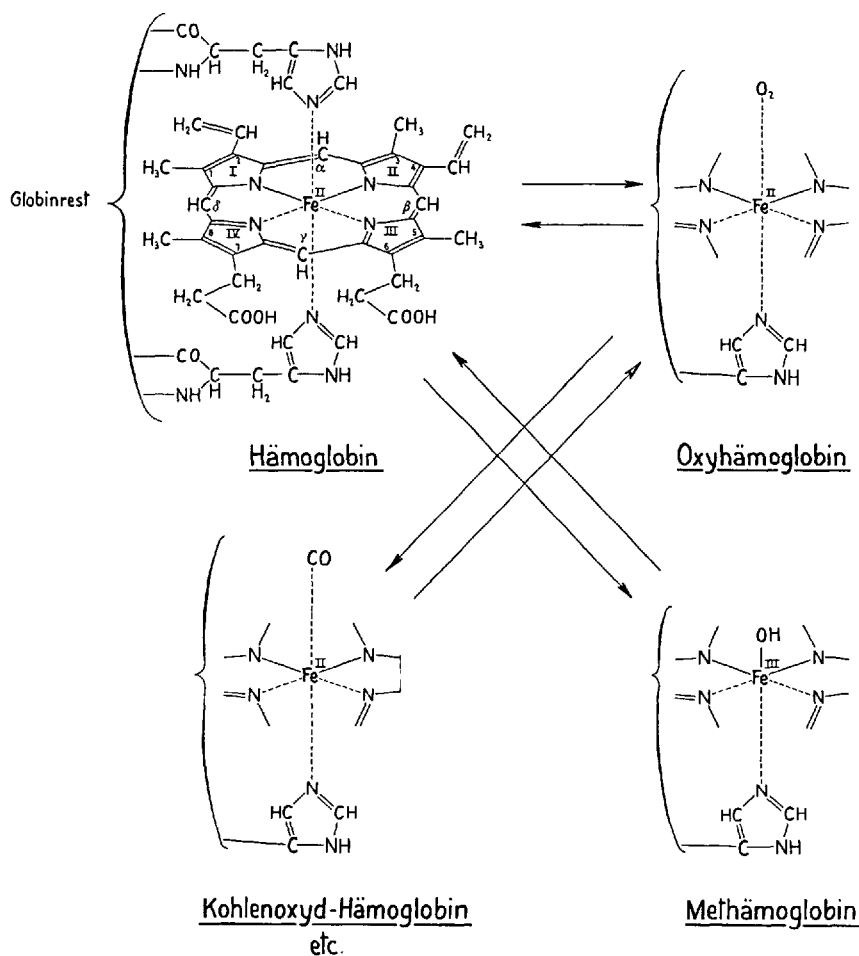


Fig. 6.

tionen, die durch die Hämoproteide katalytisch beschleunigt werden, spielen sich deshalb am Eisen ab. H. THEORELL hat den Wirkungsmechanismus der Hämoproteide in seinem Berner Vortrag 1943¹ auf die einfachste Weise präzisiert, indem er schreibt:

«Die Häminproteide können auf drei prinzipiell verschiedene Arten reagieren.

1. Das Eisen bleibt bei der physiologischen Funktion zweiwertig. Beispiel: die reversible Gasanlagerung beim Hämoglobin oder Myoglobin. $\text{Fe}^{++} + \text{O}_2 \rightleftharpoons \text{Fe}^{++}\text{O}_2$.

mit stets *zweiwertigem* Eisen zunächst das *Hämoglobin* besprochen.

Das Hämoprotein der roten Blutkörperchen ist seit langem in reiner und kristallisierter Form leicht zugänglich. Es hat ein mittleres Teilchengewicht von 68000 und besteht aus 4 gleichen Bruchstücken vom Molekulargewicht 17000, die im Hämoglobin zu einer Scheibe vereinigt sind und von denen jedes ein Eisenatom besitzt¹. Die Hämoglobine verschiedener Spezies zeigen bekanntlich in ihrer Kristallform Unterschiede, die sich aber chemisch in ihrem Proteinanteil nur

¹ H. THEORELL, Konstitution und Wirkung einiger Häminproteide, in: Zur Chemie, Physiologie und Pathologie des Eiweißes. Bern 1944.

¹ Vgl. THE SVEDBERG und KAI O. PEDERSEN, Die Ultrazentrifuge, S. 320. Leipzig 1940.

wenig bemerkbar machen. Sie alle enthalten als prosthetische Gruppe dasselbe chlorfreie Derivat des Hämins, das *Häm*¹. Nach H. FISCHER, A. TREIBS und K. ZEILE² ist dieses Häm der Ferrokomples des Protoporphyrins. Die sog. Svedberg-Einheit des Hämoglobins vom Molekulargewicht 17000 setzt sich somit aus einem Molekül Häm und einem Molekül Globin zusammen. Die Verbindung der beiden Komponenten erfolgt über zwei Partialvalenzen des zweiwertigen Eisens³ mit zwei Stickstoffatomen von Imidazolringen zweier Histidinreste, die als wichtige Aminosäuren im Globin eingebaut sind (Fig. 6). Hierüber sowie über die Anordnung der 4 Hämoproteide im Hämoglobin und über die Anlagerung des Sauerstoffs am Eisen hat L. PAULING⁴ aufschlußreiche Untersuchungen durchgeführt. Elektromagnetische Messungen haben dabei eine wichtige Rolle gespielt.

Dem leicht reversiblen, vom Sauerstoffpartialdruck abhängigen Übergang von Hämoglobin zu Oxyhämoglobin sind die stabileren Verbindungen des Hämoglobins mit *Kohlenoxyd*, *Cyan*, *Stickoxyd* usw. gegenüberzustellen. Wie aus Fig. 6 ersichtlich ist, erfolgt die Anlagerung dieser Gase und des Sauerstoffs an das Eisen unter Aufhebung einer Bindung des Metalls mit Imidazolstickstoff. Ihre Absorptionsspektren sind untereinander und dem Spektrum der Hämochromogene ähnlich. In jedem dieser Fälle bleibt das Eisen zweiwertig⁵.

Anders verhält es sich bei der Bildung des *Methämoglobins* aus Hämoglobin oder Oxyhämoglobin, da in diesem Fall das Eisen von der zweiwertigen in die dreiwertige Form übergeht⁶. Das Methämoglobin ist daher zur reversiblen Anlagerung von Sauerstoff nicht mehr fähig und unterscheidet sich bekanntlich im Spektrum charakteristisch vom Hämoglobin. Bei der Spaltung des Methämoglobins entsteht neben Globin das Hämatin⁷, das am Eisen eine Hydroxylgruppe trägt. Chemisch läßt sich Methämoglobin unter Valenzwechsel des Eisenatoms in Hämoglobin zurückver-

wandeln¹, da die Bindung des Hydroxyls im Methämoglobin schwächer ist als im Hämatin.

Die Spaltung des Hämoglobins² führt — wie Fig. 7 zeigt — einerseits zum Globin, einem Protein von Albumincharakter, und dem leicht oxydablen Häm, das unter Addition von 2 Molekülen einer organischen Base, z. B. Pyridin, reversibel in *Hämochromogen*³ übergehen kann. Wie im Hämoglobin ist bei den Hämochromogenen ein Molekül der Base durch Cyan, Kohlenoxyd und dergleichen ersetzbar⁴. Die Hämochromogene zeigen wie Oxyhämoglobin charakteristische zwei-bandige Absorptionsspektren. Im übrigen geht das in ihnen gebundene zweiwertige Eisen, wie beim Hämin, durch Oxydation leicht in den dreiwertigen Zustand über, sofern es eine monovalente, negative Gruppe, z. B. Halogen oder Hydroxyl, binden kann. So entstehen aus Hämen Hämine⁵ bzw. Hämatine⁶.

¹ Vgl. O. SCHUMM in: HIRSCHFELD-HITTMAYER, Hb. d. allg. Hämatologie, S. 126. Berlin 1932.

² R. HILL und F. HOLDEN, Biochem. J. 20, 1326 (1926).

³ F. PREGL, Z. physiol. Chem. 44, 173 (1905). — E. KALMUS, Z. physiol. Chem. 70, 217 (1910). — R. v. ZEYNECK, Z. physiol. Chem. 70, 224 (1910). — CH. DHÉRE, C. R. Acad. Sci. 79, 1087 (1916); 97, 1660 (1927).

⁴ M. L. ANSON und E. A. MIRSKY, J. Physiol. 60, 50 (1925). — J. gen. Physiol. 12, 273 (1928). — R. HILL, Proc. Roy. Soc., B, 100, 419 (1926); 105, 112 (1929). — J. ROCHE, Bull. Soc. Chim. biol. 8, 363 (1926). — O. WARBURG und E. NEGELEIN, Bio. Z. 200, 414 (1928).

⁵ H. FISCHER, A. TREIBS u. K. ZEILE, Z. physiol. Ch. 195, 1 (1931).

⁶ H. FISCHER, A. TREIBS u. K. ZEILE, Z. physiol. Ch. 193, 140 (1930).

¹ D. KEILIN, Proc. Roy. Soc. London, B, 98, 312 (1925). — M. L. ANSON und E. A. MIRSKY, J. gen. Physiol. 12, 273 (1928).

² H. FISCHER, A. TREIBS und K. ZEILE, Z. physiol. Chem. 196, 1 (1931).

³ F. HAUROWITZ und H. WAELSCH, Z. physiol. Chem. 182, 82 (1929).

⁴ L. PAULING und C. D. CORYELL, Proc. nat. Acad. Sci. 22, 210 (1936). — C. D. CORYELL, F. STITT und L. PAULING, J. Am. Soc. 59, 633 (1937). — CH. D. RUSSELL und L. PAULING, Proc. nat. Acad. Sci. 25, 517 (1939). — C. D. CORYELL und L. PAULING, J. biol. Chem. 132, 769 (1940).

⁵ J. B. CONANT, J. biol. Chem. 57, 401 (1923).

⁶ Vgl. z. B.: J. BARCROFT, Die Atmungsfunktion des Blutes. Berlin 1929.

⁷ A. HANSIK, Z. physiol. Chem. 186, 263 (1930).

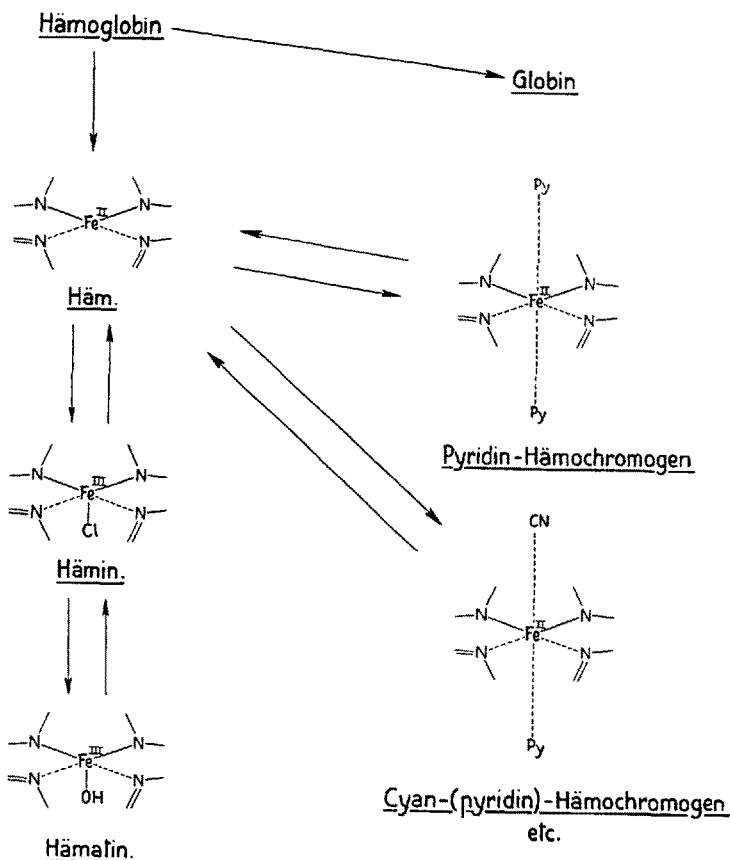


Fig. 7.

Der Aufbau des Hämoglobins aus 4 gleichen Hämoproteidmolekülen ist für die Klasse der Säuger, der Vögel und der Fische wahrscheinlich gemacht worden. Bei Amphibien und Reptilien weist das Chromoprotein der roten Blutkörperchen das doppelte oder vierfache Molekulargewicht auf¹, infolge noch größerer Assoziation der Teilmoleküle vom Molekulargewicht 17000.

Es scheint, daß die respiratorischen Chromoproteide um so größere Moleküle aufweisen, je niedriger die Organismen sind. So finden wir bei den Avertebraten die *Erythrocrurine*², die *Chlorocrurine*³ und die *Hämocyanine*⁴, die als Assoziationen von Teilmolekülen Teilchengewichte aufweisen, die bis in die Millionen gehen. Es sei beiläufig daran erinnert, daß für das *Chloroplastin*⁵, das Chromoprotein grüner Blätter, ähnlich große Teilchengewichte gefunden wurden.

Dieprothetische Gruppe des Erythrocrurins scheint dieselbe zu sein wie im Hämoglobin⁶. Der Ferroporphinkomplex der Chlorocrurine ist von H. MUNRO FOX⁷ entdeckt und dann von O. WARBURG⁸ aus *Spirographis Spallanzii* isoliert und beschrieben worden. H. FISCHER und C. v. SEEMANN⁹ haben gezeigt, daß das *Spirographisporphyrin* sich vom Protoporphyrin des Hämoglobins dadurch unterscheidet, daß es anstelle der Vinylgruppe in 2-Stellung eine Aldehydgruppe aufweist. Die Hämocyanine enthalten bekanntlich anstelle des Eisens komplexgebundenes Kupfer.

Das Chromoprotein des Muskels von Wirbeltieren, das *Myoglobin*¹⁰, ist dem Hämoglobin so ähnlich, daß die beiden lange Zeit für identisch gehalten wurden, um so mehr als das aus ihm hergestellte Hämin sich vom Hämin des Blutfarbstoffes nicht unterscheidet¹¹. Die Reindarstellung und Kristallisation des Myoglobins durch H. THEORELL¹² hat eine genaue Untersuchung dieses Chromoproteids ermöglicht und die Verschiedenheit von Hämoglobin endgültig festgestellt. Der Eisengehalt, 0,34 bis 0,35%, ist bei beiden derselbe, doch wurde die Sedimentationskonstante des Myoglobins

bei der Ultrazentrifugierung niedriger gefunden als jene des Hämoglobins. Sie entsprach nach A. G. POLSON¹ einem Molekulargewicht von 17600. Die Affinitätskonstanten des Myoglobins für Sauerstoff und Kohlenoxyd sind von denjenigen des Hämoglobins verschieden. Die beiden Gase werden vom Myoglobin weniger fest gebunden. Kohlenoxydmyoglobin gibt Kohlenoxyd leicht ab und geht dabei in Metamyoglobin² über. Der p_H -Stabilitätsbereich des Myoglobins ist größer als der des Hämoglobins.

Während das Eisen im Myoglobin wie im Hämoglobin ausschließlich in der zweiwertigen Form auftritt, so finden wir bei den *Cytochromen*³ die zweite der möglichen Reaktionsweisen, wobei das Eisen zwischen der zwei- und der dreiwertigen Stufe schwingt. Die Cytochrome lassen sich besonders gut aus Muskeln mit großem Energieumsatz, wie den Herzmuskeln der Vertebraten oder den Brustmuskeln der Insekten, aber auch aus Hefe, wo sie der Zellatmung dienen, isolieren. Sie sind von C. A. McMUNN⁴ entdeckt und von D. KEILIN⁵ zuerst untersucht worden und durch sehr charakteristische Absorptionsspektren ausgezeichnet. Die große Bedeutung der Cytochrome erhellt schon aus ihrer ubiquitären Verbreitung in den verschiedensten Organismen von den Bakterien bis zu den Säugetieren⁶, wogegen sie den Anaerobiern gänzlich fehlen. Man unterscheidet 3 Gruppen von Cytochromen: die einander sehr ähnlichen Cytochrome a_1 bis a_3 , die Cytochrome b_1 und b_2 sowie die Cytochrome c und c_1 . Sie unterscheiden sich sowohl spektroskopisch wie in ihren übrigen Eigenschaften voneinander⁷. Während sich die Cytochrome der Gruppe a und b , weil sie in den Geweben fest gebunden sind, noch nicht rein herstellen ließen, gelang es H. THEORELL⁸ sowie D. KEILIN und E. F. HARTREE⁹ aus Herzmuskeln bzw. Bäckereihefe relativ reine Cytochrom- c -Präparate herzustellen. Etwas später konnten H. THEORELL und Å. ÅKESON¹⁰ Cytochrom- c -Lösungen mit Hilfe der Elektrophorese noch weiter reinigen und zeigen, daß Cytochrom c 0,43% Eisen enthält. Von K. J. I. ANDERSON und K. O. PEDERSEN¹¹ durchgeführte Ultrazentrifugierungen ergaben zusammen mit von A. G. POLSON¹ vorgenommenen Diffusionsmessungen ein Molekulargewicht von 16500. Der aus Eisen- und Schwefelbestim-

¹ THE SVEDBERG und A. HEDENIUS, Biol. Bull. 66, 191 (1934).

² RAY LANKESTER, J. anat. Physiol. 2, 114 (1868). – THE SVEDBERG und I.-B. ERIKSSON, J. Am. Soc. 55, 2834 (1933).

³ RAY LANKESTER, J. anat. Physiol. 2, 114 (1868).

⁴ FRÉDÉRICQUE, Arch. Zool. 7, 535 (1878). – THE SVEDBERG und E. CHIRNOAGA, J. Am. Soc. 50, 1393 (1928).

⁵ A. STOLL und E. WIEDEMANN, Atti del X^o Congr. int. di Chimica V, 206 (1938/39). – A. STOLL, E. WIEDEMANN und A. RÜEGGER, Verh. schweiz. naturf. Ges., S. 125, Basel 1941. – A. STOLL und E. WIEDEMANN, Schweiz. med. Wschr. 77, 664 (1947).

⁶ H. FISCHER und A. KIRRMANN, Liebigs Ann. Chem. 475, 273 (1929).

⁷ H. MUNRO FOX, Proc. Cambridge phil. Soc. 1, 204 (1924); Proc. Roy. Soc. London, B, 99, 199 (1926).

⁸ O. WARBURG, Bio. Z. 227, 171 (1930); 244, 9 (1932); 244, 239 (1932).

⁹ H. FISCHER und C. v. SEEMANN, Z. physiol. Chem. 242, 133 (1936); Z. angew. Chem. 49, 461 (1936).

¹⁰ K. A. H. MÖRNER, Nord. med. Ark., Festband 1897. – R. P. KENNEDY und G. H. WHIPPLE, Am. J. Physiol. 70, 685 (1926). – O. SCHUMM, Strahlentherapie 28, 142 (1928).

¹¹ K. A. H. MÖRNER, Nord. med. Ark., Festband 1897.

¹² H. THEORELL, Bio. Z. 252, 1 (1932); 268, 46, 55, 64, 73 (1934). – H. THEORELL und CH. DE DUVE, Arch. Biochem. 12, 113 (1946).

¹ A. G. POLSON, Thesis. Stellenbosch 1937.

² H. THEORELL, Bio. Z. 252, 1 (1932); 268, 46, 55, 64, 73 (1934).

– H. THEORELL und CH. DE DUVE, Arch. Biochem. 12, 113 (1946).

³ Vgl. D. KEILIN, Erg. Enzymforschung 2, 239 (1933).

⁴ C. A. McMUNN, Phil. Trans. 177, 267 (1886); J. Physiol. 8, 57 (1887); Z. physiol. Chem. 13, 497 (1889).

⁵ D. KEILIN, Proc. Roy. Soc. London, B, 98, 312 (1925).

⁶ Vgl. D. KEILIN, Erg. Enzymforschung 2, 239 (1933).

⁷ Vgl. H. THEORELL, Erg. Enzymforschung 9, 231 (1943).

⁸ H. THEORELL, Bio. Z. 285, 207 (1936).

⁹ D. KEILIN und E. F. HARTREE, Proc. Roy. Soc. London, B, 122, 298 (1937).

¹⁰ H. THEORELL und Å. ÅKESON, Science 90, 67 (1939); Am. chem. Soc. 63, 1804 (1941).

¹¹ K. J. I. ANDERSON und K. O. PEDERSEN, unveröffentlicht; erwähnt in: THE SVEDBERG und K. O. PEDERSEN, Die Ultrazentrifuge, S. 352. Leipzig 1940.

mungen abgeleitete Wert betrug etwa 13000¹, so daß Cytochrom c wie das Myoglobin ein Atom Eisen im Molekül enthält.

Das konstitutionell Verschiedene am Cytochrom c gegenüber Hämoglobin und Myoglobin ist die verstärkte Bindung des eisenhaltigen Porphinsystems an das Protein. Während im Hämoglobin und Myoglobin die Bindung über Partialvalenzen des Eisens mit Imidazolstickstoff von Histidinresten erfolgt, so existieren im Cytochrom c noch Hauptvalenzbindungen von

und 4-Stellung nicht Vinylgruppen, sondern cystein-tragende Äthylgruppen stehen. Die *Porphyrin c* genannte Substanz ist chemisch als Di-thioäther des Hämatoporphyrins aufzufassen. Diese Formulierung wurde von K. ZEILE und Mitarbeitern^{1,2} durch synthetische Versuche gestützt, obschon, wohl infolge von Isomerien, zwischen dem natürlichen Porphyrin c und dem aus Protoporphyrin und Cystein synthetisch dargestellten in der optischen Drehung noch Unterschiede bestehen³.

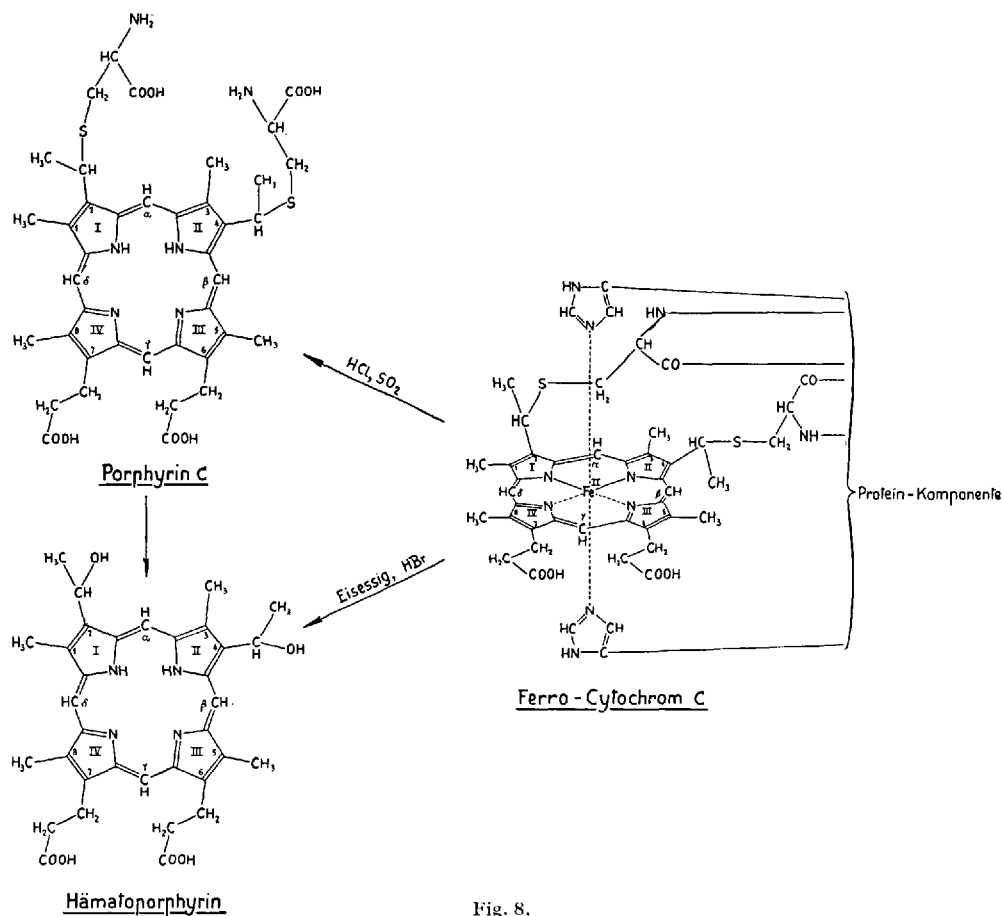


Fig. 8.

Aminosäureresten mit der Peripherie des Porphin-rings.

Behandelt man Cytochrom c nach R. HILL und D. KEILIN² mit in Eisessig gelöster Bromwasserstoffsäure, so erhält man, wie aus Hämoglobin, Hämatoformporphyrin (vgl. Fig. 8). Durch eine mildere Behandlung, z.B. mit Salzsäure-Schwefeldioxyd² oder verdünnter Schwefelsäure³, entsteht indessen ein anderes, hydrophiles Porphyrin, das nach H. THEORELL⁴ bzw. K. ZEILE und H. MEYER³ ein Protoporphyrin ist, in dem in 2-

Eine direkte, feste Verbindung des Proteinrests mit dem Porphinsystem im Cytochrom c erhöht dessen Beständigkeit, die in Anbetracht des Valenzwechsels des Eisens während dessen katalytischen Funktionen notwendig erscheint.

Die Festigkeit des molekularen Gefüges von Cytochrom c äußert sich auch darin, daß es innerhalb des großen p_H -Bereichs von doppelt normaler Salzsäure bis zu normaler Natronlauge stabil bleibt, jedoch unter

¹ K. ZEILE und H. MEYER, Naturwiss. 27, 596 (1939); Z. physiol. Chem. 262, 178 (1939).

² R. HILL und D. KEILIN, Proc. Roy. Soc. London, B. 107, 286 (1930).

³ K. ZEILE und H. MEYER, Naturwiss. 27, 596 (1939); Z. physiol. Chem. 262, 178 (1939).

⁴ H. THEORELL, Bio. Z. 298, 242 (1938).

³ Vgl. H. THEORELL in: NORD-WEIDENHAGEN, Hb. d. Enzymologie, S. 860. Leipzig 1940.

dem Einfluß des p_H , neben einer Ferroform, 5 spektroskopisch verschiedene Ferriformen bildet¹. Die Ferroform von Cytochrom c bindet wie Hämoglobin² unter Lösung einer Bindung des Eisens zum Imidazolstickstoff Sauerstoff oder Kohlenoxyd³.

Das Auftreten der Formen I bis V des Ferricytochroms c entspricht dem durch die p_H -Änderung bedingten Ladungswechsel der Imidazolstickstoffatome. Starke Säure sättigt die Imidazolstickstoffe gänzlich ab und löst daher ihre Bindungen mit dem Eisen voll-

auch im Spektrum zeigt es eine weitgehende Ähnlichkeit mit dem Methämoglobin in schwach saurer Lösung. Bei ungefähr neutraler Reaktion, von der auch der p_H -Wert der Gewebe in der Regel nicht allzu weit entfernt ist, entsteht Ferricytochrom III (vgl. Fig. 9); in ihm sind 2 Imidazolreste mit dem Eisen verbunden, der eine über eine Hauptvalenz, der andere über eine Nebervalenz. Das bei höheren p_H -Werten existenzfähige Ferricytochrom IV unterscheidet sich von III nur durch den Ladungswechsel von mit dem Eisen

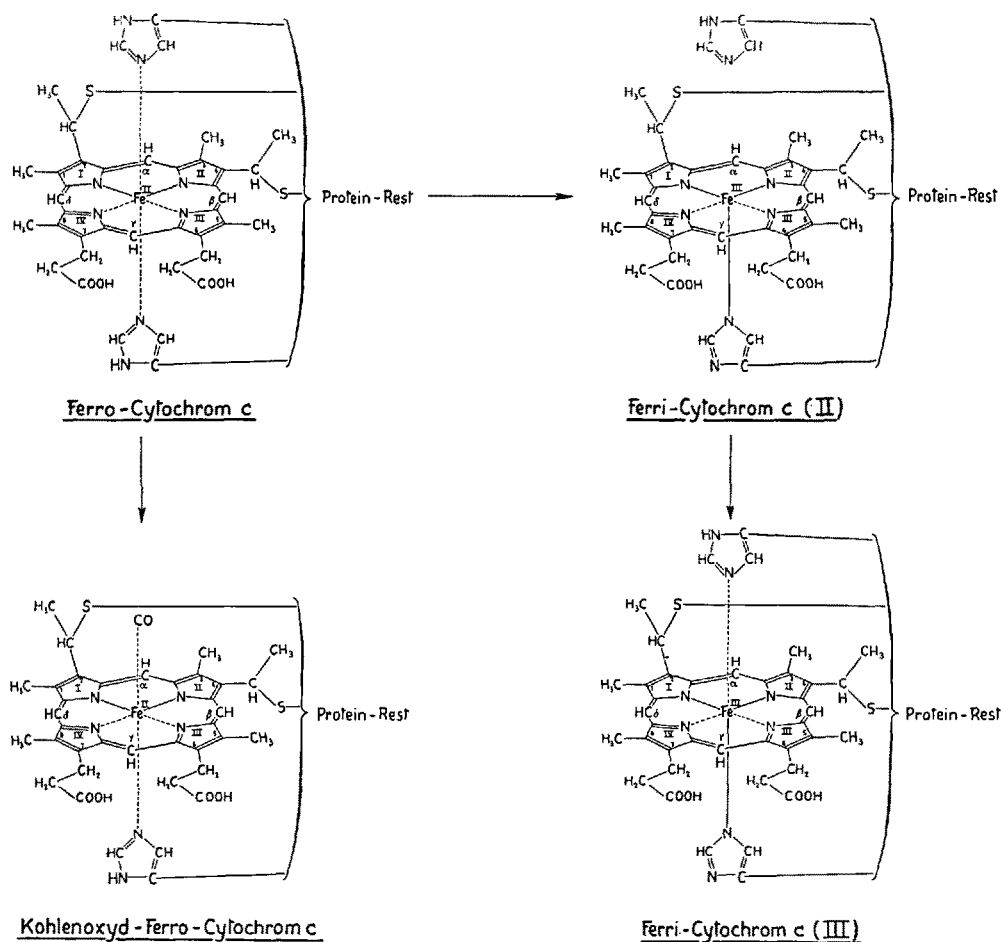


Fig. 9.

ständig, wie das beim Ferricytochrom I der Fall ist⁴. Porphinsystem und Protein sind in ihm nur noch über die Thioätherbrücken miteinander verbunden. Im schwach sauren Bereich bildet sich Ferricytochrom II. In diesem ist, wie im Methämoglobin⁵, ein Imidazolrest an das zentrale Eisenatom gebunden⁶ (vgl. Fig. 9);

nicht verbundenen Imidazolresten¹, während im Ferricytochrom V, das sich in stark alkalischem Milieu bildet, eine der Bindungen des Eisens mit Imidazolstickstoff wieder gelöst ist und vielleicht ein Hydroxyl trägt¹.

Die Stabilität des Ferro- wie des Ferricytochroms c innerhalb eines großen p_H -Bereichs läßt zusammen mit den variablen Bindungsverhältnissen der Ferriform, wie H. THEORELL² sich ausdrückt, «verstehen, daß das Eisen im Cytochrom c leicht und schnell oxydoreduzierbar ist», während andererseits die feste Bindung der hämochromogenbildenden Gruppen mit dem Eisen

¹ H. THEORELL, *Bio. Z.* 285, 207 (1939). – H. THEORELL und A. ÅKESON, *Science* 90, 67 (1939); *J. Am. chem. Soc.* 63, 1812 (1941).

² Vgl. J. B. CONANT, *The Harvey Lectures* 28, 159 (1932/33). – J. WYMAN, *J. biol. Chem.* 127, 1, 581 (1939). – H. THEORELL und A. ÅKESON, *J. Am. chem. Soc.* 63, 1818 (1941).

³ H. THEORELL, *Erg. Enzymforsch.* 9, 255 (1943).

⁴ H. THEORELL, *Erg. Enzymforsch.* 9, 252 (1943).

⁵ C. D. CORVELL und L. PAULING, *J. biol. Chem.* 132, 769 (1940).

⁶ H. THEORELL und A. ÅKESON, *Ark. Kemi Mineral. Geol.* 16, A, n:o 14 (1943).

¹ H. THEORELL, *Erg. Enzymforsch.* 9, 255 (1943).

² H. THEORELL, *Erg. Enzymforsch.* 9, 256 (1943).

bei physiologischen p_H -Werten, im Gegensatz zum Hämoglobin, eine Reaktion mit molekularem Sauerstoff, Kohlenoxyd, Cyan usw. verhindert.

Die Analyse der Eiweißkomponente des Cytochroms c ist von D. KEILIN und E. F. HARTREE¹, ganz besonders aber von H. THEORELL und Å. ÅKESON² im Hinblick auf ihren Gehalt an Aminosäuren sowohl qualitativ wie quantitativ sorgfältig durchgeführt worden.

Vom Myoglobin wie von den Cytochromen spektroskopisch verschieden ist das grünlich gefärbte, autoxydable *Atmungsferment* von O. WARBURG³. Die prosthetische Gruppe dieses weit verbreiteten Hämoproteids ist mit dem Häm des Spirographisporphyrins nahe verwandt, aber anscheinend nicht identisch. Es zeichnet sich durch seine Reaktionsfähigkeit mit molekularem Sauerstoff aus und soll daher die Sauerstoffübertragung in der lebenden Zelle einleiten⁴ oder abschließen⁵.

Eine ganz besonders hohe und augenfällige Aktivität entwickeln die Hämoproteide in Form der Peroxydasen und Katalasen, in denen das Eisen in der Regel dreiwertig bleibt.

Die *Peroxydasen* erhielten ihren Namen von der Fähigkeit, Sauerstoff von Hydroperoxyd auf Polyphenole zu übertragen. Am besten untersucht sind bis jetzt die *Meerrettichperoxydase*⁶, die *Cytochromperoxydase*⁷, die grünliche *Verdoperoxydase*⁸ aus Eiter und die ebenfalls grünliche *Lactoperoxydase*⁹ aus Milch. Die Peroxydasen sind im Pflanzenreich allgemein verbreitet. Im Tierreich werden sie nur in gewissen Organen angetroffen und sind früher vielfach mit Oxydasen verwechselt worden.

Das geeignetste Ausgangsmaterial für die Herstellung von Peroxydasepräparaten bildete seit langem

der Meerrettich. Die ersten Versuche zur Herstellung von Peroxydasepräparaten und zur Messung ihrer Wirksamkeit wurden in Genf vor mehr als 40 Jahren von A. BACH und R. CHODAT¹ ausgeführt. Diese Forscher haben auch bereits die Oxydation von Pyrogallol mit Hydroperoxyd zu Purpurogallin in Gegenwart von Peroxydase als Maß für die Wirksamkeit von Enzympräparaten benützt, eine Reaktion, die unter abgeänderten Versuchsbedingungen auch heute noch zur Bestimmung der sog. Purpurogallinzahl als Wert für die Wirksamkeit von Peroxydasepräparaten dient. Eine bedeutende Steigerung der Wirksamkeit, d.h. Anreicherung des Enzyms, wurde vor etwa 30 Jahren im WILLSTÄTTERSchen Laboratorium erreicht², wo möglichst reine Peroxydasepräparate als Katalysatoren bei photosynthetischen Versuchen mit reinem Chlorophyll benötigt wurden. Die Photosynthese außerhalb der Zelle blieb damals und ist auch heute noch ein ungelöstes Problem, doch war dieser Versuch zur Reinigung von Peroxydasepräparaten die erste Arbeit in der langen Reihe von Untersuchungen über Enzyme, die R. WILLSTÄTTER und seine Schüler³ durchgeführt haben. Nach heutiger Beurteilung dürften die besten Meerrettich-Peroxydasepräparate des WILLSTÄTTERSchen Laboratoriums höchstens 50% des reinen Enzyms enthalten haben. Eisen wurde in jenen Präparaten nachgewiesen⁴. Der Eisengehalt schien mit der enzymatischen Wirksamkeit parallel zu gehen, doch war er, nach heutiger Beurteilung, bestimmt zu hoch, um dem Enzym allein anzugehören. Die später einsetzende Diskussion, auf Grund der Arbeiten von R. WILLSTÄTTER und A. POLLINGER⁵ sowie von R. KUHN, D. B. HAND und M. FLORKIN⁶, ferner von K. A. C. ELLIOTT und D. KEILIN⁷ und von D. KEILIN und T. MANN⁸, hat die Eisenfrage nicht klar zu lösen vermocht, bis es H. THEORELL⁹ gelang, aus weitgehend gereinigten Präparaten mit Aceton-Salzsäure Hämin abzuspalten und die farblose, inaktive Proteinkomponente durch Umsetzung mit Hämatin in das Enzym zurückzuverwandeln. Damit war die Meerrettichperoxydase als Hämoprotein charakterisiert.

¹ D. KEILIN und E. F. HARTREE, Proc. Roy. Soc. London, B, 122, 298 (1937).

² H. THEORELL und Å. ÅKESON, J. Am. chem. Soc. 63, 1804 (1941).

³ O. WARBURG und E. NEGELEIN, Bio. Z. 202, 202 (1928); 214, 64 (1929); 262, 237 (1933). – O. WARBURG, E. NEGELEIN und E. HAAS, Bio. Z. 266, 1 (1933). – E. NEGELEIN und W. GERISCHER, Bio. Z. 268, 1 (1934).

⁴ O. WARBURG, Naturwiss. 22, 441 (1934).

⁵ Vgl. H. THEORELL, Konstitution und Wirkung einiger Häminproteide, in: Zur Chemie, Physiologie und Pathologie des Eiweißes, S. 73ff. Bern 1944.

⁶ A. BACH und R. CHODAT, Ber. dtsch. chem. Ges. 36, 600 (1903); 37, 1342 (1904); 37, 2434 (1904). – A. BACH, Ber. dtsch. chem. Ges. 37, 3785 (1904). – A. BACH und J. TSCHERNIACK, Ber. dtsch. chem. Ges. 41, 2345 (1908). – A. BACH, Ber. dtsch. chem. Ges. 47, 2122, 2125 (1914). – R. WILLSTÄTTER und A. STOLL, Liebigs Ann. Chem. 416, 21 (1918). – R. WILLSTÄTTER, Liebigs Ann. Chem. 422, 47 (1921). – R. WILLSTÄTTER und A. POLLINGER, Liebigs Ann. Chem. 430, 269 (1923); Z. physiol. Chem. 130, 281 (1923). – R. WILLSTÄTTER und H. WEBER, Liebigs Ann. Chem. 449, 156 (1926); 449, 175 (1926). – R. WILLSTÄTTER, A. POLLINGER und H. WEBER in: R. WILLSTÄTTER, Untersuchungen über Enzyme, Bd. I, 516, 521. Berlin 1928. – R. WILLSTÄTTER, Ber. dtsch. chem. Ges. 59, 1871. (1926).

⁷ A. M. ALTSCHUL, R. ABRAMS und T. R. HOGNESS, J. biol. Chem. 130, 427 (1939); 136, 777 (1940). – R. ABRAMS, A. M. ALTSCHUL und T. R. HOGNESS, J. biol. Chem. 142, 303 (1942).

⁸ K. AGNER, Acta physiol. Scand. Bd. II, Suppl. VIII (1941).

⁹ H. THEORELL und Å. ÅKESON, Ark. Kemi Mineral. Geol. 17, B, n:o 7 (1943). – H. THEORELL und K. G. PAUL, Ark. Kemi Mineral. Geol. 18, A, n:o 12 (1944).

¹ A. BACH und R. CHODAT, Ber. dtsch. chem. Ges. 36, 600 (1903.) Vgl. auch Fußnote 6, Kol. 1.

² R. WILLSTÄTTER und A. STOLL, Liebigs Ann. Chem. 416, 21 (1918). – Vgl. auch Fußnote 6, Kol. 1.

³ Vgl. R. WILLSTÄTTER, Untersuchungen über Enzyme. Springer, Berlin 1928.

⁴ R. WILLSTÄTTER und A. STOLL, Liebigs Ann. Chem. 416, 60 (1918).

⁵ R. WILLSTÄTTER und A. POLLINGER, Liebigs Ann. Chem. 430, 269 (1923). – R. WILLSTÄTTER, A. POLLINGER und H. WEBER in: R. WILLSTÄTTER, Untersuchungen über Enzyme, Bd. I, 516, 521. Berlin 1928.

⁶ R. KUHN, D. B. HAND und M. FLORKIN, Z. physiol. Chem. 201, 255 (1931).

⁷ K. A. C. ELLIOT und D. KEILIN, Proc. Roy. Soc. London, B, 114, 210 (1934).

⁸ D. KEILIN und T. MANN, Proc. Roy. Soc. London B, 122, 119 (1937).

⁹ H. THEORELL, Ark. Kemi Mineral. Geol. 14, B, n:o 20 (1940).

Durch Elektrophorese konnte H. THEORELL¹ die Präparate weiter reinigen und sie schließlich aus wässrigen Ammonsulfatlösungen kristallisieren. Die in doppelbrechenden Nadeln kristallisierende Meerrettichperoxydase erwies sich auf Grund von Löslichkeitsbestimmungen¹, ferner bei der Elektrophorese, bei der Ultrazentrifugierung und bei Diffusionsversuchen als einheitliche Substanz. Ihr Hämingehalt beträgt 1,48%, ihr Eisengehalt daher 0,127%. Aus diesen Werten und

liert¹. Bei gleicher Purpurogallinzahl ist ihr Stickstoffgehalt höher, was vermutlich von einem teilweisen Verlust des Kohlehydratanteils herrührt².

Es wurde bereits erwähnt, daß es H. THEORELLS Experimentierkunst ermöglichte, Peroxydase in prosthetische Gruppe und Protein so schonend zu spalten, daß die Eiweißkomponente in ihrer Feinstruktur erhalten blieb, aber unwirksam war. Die Vereinigung des wieder in Lösung gebrachten Proteins mit der äqui-

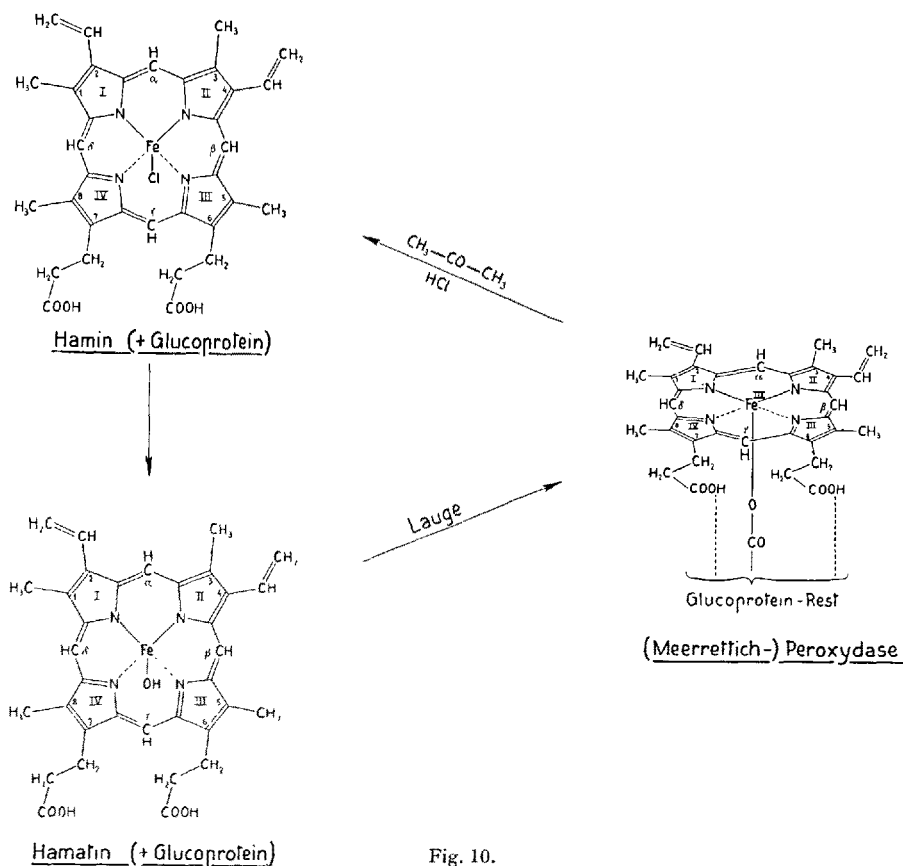


Fig. 10.

aus der Sedimentationskonstante errechnete sich ein Molekulargewicht von 44 000². Dieses Molekül enthält ein Atom Eisen.

Die Wirksamkeit der kristallisierten Meerrettichperoxydase entspricht nach H. THEORELL einer Purpurogallinzahl von rund 1000. Höhere, in der Literatur vorkommende Werte werden von H. THEORELL angezweifelt. In Übereinstimmung mit dem etwas unerwarteten Molekulargewicht von 44 000, das kein ganzes Vielfaches der Svedberg-Einheit von 17 000 darstellt, steht die Tatsache, daß die Proteinkomponente der Peroxydase erhebliche Mengen – gegen $\frac{1}{5}$ – von Kohlehydraten enthält².

Neben oder anstelle der Peroxydase hat H. THEORELL die labilere sogenannte *Paraperoxydase* iso-

valenten Menge von reinem Hämatin ergab eine Peroxydase mit identischem Absorptionsspektrum und gleicher Wirkung wie die nichtgespaltene, natürliche Peroxydase¹ (vgl. Fig. 10). Eigentümlicherweise läßt sich Hämin durch nahe Verwandte substituieren, wenn dabei auch eine herabgesetzte Wirksamkeit entsteht². Mesohämin lieferte eine Peroxydase mit etwa halber, Deuterohämin mit fast $\frac{2}{3}$ Wirksamkeit der natürlichen Peroxydase, während fernerstehende Häminderivate und auch Eisenkomplexsalze von Chlorophyllderivaten, wie Phäophorbid a, Chlorin e₆ usw. mit Peroxydaseprotein keine wirksamen Chromoproteide ergaben. Immerhin ist an den Beispielen mit Mesohämin und Deuterohämin die Darstellung «künstlicher», d.h. in

¹ H. THEORELL, Ark. Kemi Mineral. Geol. 16, A, n:o 2 (1942).

² H. THEORELL, Ark. Kemi Mineral. Geol. 15, B, n:o 24 (1942).

¹ H. THEORELL, Ark. Kemi Mineral. Geol. 14, B, n:o 20 (1940); 16, A, n:o 2 (1942).

² H. THEORELL, Erg. Enzymforsch. 9, 263 (1943).

der Natur bisher nicht beobachteter Enzyme von hoher Wirksamkeit erwiesen.

In bezug auf die Bindung der Proteinkomponente an den Protoporphyrin-Eisen-Komplex hat H. THEORELL wahrscheinlich gemacht, daß eine Hauptvalenz des Eisens mit einer freien Carboxylgruppe des Proteins verbunden ist und daß daneben, wie im Hämoglobin, weitere schwache Bindungen zwischen Protein und den Propionsäure-Carboxylen des Porphinsystems bestehen¹ (vgl. Fig. 10).

Für den Mechanismus der Peroxydasereaktion mit Wasserstoffsuperoxyd wird angenommen, daß das dreiwertige Eisen unter Übergang in die grüne Hydroperoxydperoxydase ohne Valenzwechsel ein Hydroperoxydmolekül binde und aktiviere. In Gegenwart eines Sauerstoffakzeptors wird dieser oxydiert und unter Bildung von Wasser die Peroxydase zurückgebildet. Auf diese Weise kann, wie H. THEORELL berechnete, unter geeigneten Bedingungen ein Atom Eisen in der Minute etwa eine Million, also in der Sekunde mehr als 16000 Hydroperoxydmoleküle umsetzen².

Im Gegensatz zu dieser altbekannten Sauerstoffübertragung aus Hydroperoxyd ist die Funktion der Peroxydase als Dioxymaleinsäureoxydase, wie H. THEORELL und B. SWEDIN³ zeigen konnten, mit einem Valenzwechsel des Eisens verknüpft. Auf den komplizierteren Mechanismus dieser Reaktion möchten wir hier nicht eingehen, aber festhalten, daß — wie beim WARBURGSchen Atmungsferment — unter gewissen physiologischen Bedingungen auch eine Übertragung von molekularem Sauerstoff unter Mitwirkung von Peroxydase möglich erscheint.

A. M. ALTSCHUL, R. ABRAMS und T. R. HOGNESS⁴ haben aus Bäckerhefe eine Peroxydase erhalten, die reduziertes Cytochrom c hemmbar oxydiert und deshalb *Cytochromperoxydase* genannt wurde. Ihre Reinigung ist bis zu einem «Hämin»gehalt von etwa 1% gelungen⁵. Es ist wahrscheinlich, daß sie ebenfalls Protoporphyrin enthält. Sie vermag pro Eisenatom ebenfalls ein Molekül Hydroperoxyd zu binden⁵.

Als erste tierische Peroxydase ist von R. AGNER⁶ die *Verdoperoxydase* beschrieben worden. Sie ist von grünlicher Farbe, findet sich in erheblichen Mengen im Eiter und konnte auch aus weißen Blutkörperchen isoliert werden. Die Verdoperoxydase ist 10–20mal weniger aktiv als Meerrettichperoxydase. Mit Aceton-Salzsäure ist sie im Gegensatz zu dieser nicht spaltbar. Auch sie wird als Hämoproteid angesehen.

Vor wenigen Jahren gelang H. THEORELL und K. AGNER¹ die Reindarstellung einer weiteren tierischen Peroxydase, der ebenfalls grünlich gefärbten *Lactoperoxydase* aus Milch. Der Eisengehalt der beiden grünen Peroxydasen ist ungefähr derselbe, doch scheinen im Eisen-Porphin-Komplex Verschiedenheiten zu bestehen.

Außerordentlich verbreitet im Tier- und im Pflanzenreich sind Enzyme, die einer weiteren Gruppe von Hämoproteiden angehören: die *Katalasen*². Sie haben ihren Namen von der Fähigkeit, Hydroperoxyd katalytisch zu spalten. Die Beobachtung, daß H₂O₂ von Zellsubstanz gespalten wird, wurde schon 1811³ gemacht und ist ebenso alt wie die erste Darstellung von Hydroperoxyd. Bis 1900 hat man geglaubt, daß die Katalasereaktion eine Äußerung lebender Zellen sei, bis O. LOEW⁴ sie besonderen Substanzen zuschrieb, die man als Fermente bezeichnete.

Die Katalasen kommen in fast allen tierischen Organen vor, erreichen jedoch ihre höchste Konzentration in der Leber, weshalb sie zumeist aus diesem Organ präparativ dargestellt werden⁵. Man hat Katalase aber auch aus anderen tierischen Organen, z. B. aus roten Blutkörperchen⁶ und zuletzt auch aus Bakterien⁷ rein dargestellt. Im Pflanzenreich sind besonders Keimlinge, z. B. Kürbiskotyledonen, reich an Katalase⁸.

Die Leberkatalase ist 1937 von J. B. SUMNER und A. L. DOUNCE aus dioxanhaltiger Ammonsulfatlösung zum erstenmal kristallisiert erhalten worden⁹. Die Aktivität solcher Präparate wurde zu 43000 «Kat. f.»¹⁰ später aber auch geringer, bis herab zu 22000¹¹ ermittelt. Im Gegensatz hierzu fand K. AGNER¹² die Aktivität von kristallisierter Pferdeleberkatalase als konstant, und zwar zu 60000 «Kat. f.». Der Eisengehalt

¹ Vgl. H. THEORELL in: Zur Chemie, Physiologie und Pathologie des Eiweißes, S. 78. Bern 1944.

² Der Abschnitt über Katalasen wurde zur Vervollständigung dieses Übersichtsreferates nach dem Vortrag, den Prof. H. THEORELL gleichen Tages in Genf gehalten hat, ergänzt; siehe die in einem der nächsten Hefte erscheinende Arbeit von H. THEORELL über die Katalasen.

³ L. J. DE THÉNARD, Ann. Chim. Phys. 11, 85 (1819).

⁴ O. LOEW, U. S. Dept. Agric. Report No. 68 (1901).

⁵ H. v. EULER und K. JOSEPHSON, Liebigs Ann. Chem. 452, 158 (1927); 455, 1 (1927). — K. ZEILE und H. HELLSTRÖM, Z. physiol. Chem. 192, 171 (1930). — K. ZEILE, Z. physiol. Chem. 195, 39 (1931). — J. B. SUMNER und A. L. DOUNCE, Science 85, 366 (1937); J. biol. Chem. 121, 417 (1937). — A. L. DOUNCE und O. FRAMPTON, Science 89, 300 (1940). — J. B. SUMNER, A. L. DOUNCE und V. L. FRAMPTON, J. biol. Chem. 136, 343 (1940). — K. AGNER, Biochem. J. 32, 1702 (1938).

⁶ K. AGNER, Ark. Kemi Mineral. Geol. 17, B, n:o 9 (1943).

⁷ D. HERBERT und A. PINSENT, Nature 160, 125 (1947).

⁸ K. ZEILE, Z. physiol. Chem. 195, 39 (1931).

⁹ J. B. SUMNER und A. L. DOUNCE, Science 85, 366 (1937); J. biol. Chem. 121, 417 (1937). — A. L. DOUNCE, J. biol. Chem. 143, 497 (1942).

¹⁰ «Kat. f.» = Katalasefähigkeit ist die Reaktionsgeschwindigkeitskonstante dividiert durch g/Präparat pro cm³ bei 0° in neutralem Phosphatpuffer. Das in Zeitintervallen noch vorhandene H₂O₂ wird mit KMnO₄ in schwefelsaurer Lösung titriert (H. v. EULER und K. JOSEPHSON, Liebigs Ann. Chem. 452, 158 (1927). — J. B. SUMNER und A. L. DOUNCE, J. biol. Chem. 127, 439 (1939).

¹¹ J. B. SUMNER, A. L. DOUNCE und V. L. FRAMPTON, J. biol. Chem. 136, 343 (1940).

¹² K. AGNER, Biochem. J. 32, 1702 (1938).

¹ H. THEORELL, Erg. Enzymforsch. 9, 274 (1943).

² H. THEORELL, Erg. Enzymforsch. 9, 276 (1943).

³ H. THEORELL und B. SWEDIN, Naturwiss. 27, 95 (1939). — Vgl. auch: H. THEORELL, Erg. Enzymforsch. 9, 278 (1943).

⁴ A. M. ALTSCHUL, R. ABRAMS und T. R. HOGNESS, J. biol. Chem. 130, 427 (1939).

⁵ A. M. ALTSCHUL, R. ABRAMS und T. R. HOGNESS, J. biol. Chem. 142, 303 (1942).

⁶ K. AGNER, Acta physiol. Scand. 2, Suppl. 8 (1941).

der Rinderleber- wie der Pferdeleberkatalase ist zu 0,09 bis 0,1% ermittelt worden. Da das Molekulargewicht dieser Katalasen nach J. B. SUMNER und N. GRALÉN¹ 248000 bzw. nach K. AGNER² 225000 beträgt, muß ein Katalasemolekül 4 Atome Eisen enthalten.

Eine Besonderheit der Leberkatalasen schien darin zu bestehen, daß die frischen Präparate zwei verschiedenen gefärbte prosthetische Gruppen enthielten: eine rotbraune, die als Protohäm in abgespalten werden kann³, und eine blaue, die nach K. G. STERN mit Aceton-Salzsäure abtrennbar ist⁴ und von R. LEMBERG, M. NORRIE und J. W. LEGGE⁵ als Biliverdin kristallisiert erhalten wurde. Es konnte gezeigt werden, daß bei der Pferdeleberkatalase mit einem Eisengehalt von 0,091 bis 0,094%, einem Molekulargewicht von 225000 und einer Aktivität von 60000 drei der vier Eisenatome des Moleküls mit der rotbraunen prosthetischen Gruppe verbunden, also Bestandteile von Hämatinen sind, während es unsicher blieb, ob das vierte Eisenatom der blauen Biliverdinkomponente angehört oder nicht. Andererseits durfte vermutet werden, daß in der Rinderleberkatalase von gleichem Eisengehalt und Molekulargewicht, aber geringerer Aktivität (28000 bis 35000) vielleicht nur zwei der vier Eisenatome in der rotbraunen Porphingruppe gebunden sind⁶.

Schwankungen in der Aktivität von kristallisierten Katalasepräparaten konnten wenigstens zum Teil von Ungenauigkeiten der Bestimmungsmethode herrühren. Durch eine Modifikation der älteren Methode von H. VON EULER und K. JOSEPHSON konnte H. THEORELL die Bestimmung der katalytischen Aktivität verbessern. Durch Erhöhung der Katalasekonzentration auf das 40–50fache war über eine meßbare Zeit hinweg eine konstante Aktivität aufrechtzuerhalten, so daß anstelle der Extrapolation auf die Zeit Null eine direkte Messung treten konnte. Die Reaktion verläuft dann genau proportional mit der Konzentration des H_2O_2 und liefert genauere Werte als die alte Methode.

Die in den erwähnten Untersuchungen von J. B. SUMNER und K. AGNER zutage getretenen Divergenzen der Aktivität von Leberkatalasen wurden neulich von H. THEORELL und Mitarbeitern aufgeklärt. Sie konnten zeigen, daß die blaue Biliverdinkomponente dieser Katalasen höchstwahrscheinlich ein Artefakt ist, das bei der Aufarbeitung der Katalasepräparate entsteht, und daß mit Zunahme des relativen Anteils der blauen Komponente die katalytische Aktivität entsprechend abnimmt. Es gelang die Darstellung von biliverdinfreier Leberkatalase, die nach der neuen Be-

stimmungsmethode eine Aktivität von 90000 aufwies. Ferner konnte gezeigt werden, daß die Katalasepräparate aus verschiedenen Organen ein und desselben Tieres identisch sind¹.

Die Ergebnisse von H. THEORELL fanden eine schöne Bestätigung durch die Isolierung einer kristallisierten Katalase aus *Micrococcus lysodeikticus* durch D. HERBERT und A. J. PINSENT². Diese Bakterienkatalase besitzt ein Molekulargewicht von 226000 bis 248000 und einen Hämingehalt von 1,05 bis 1,15%, sie ergibt also ähnliche Werte wie die tierischen Katalasen; sie weist die Biliverdinkomponente *nicht* auf und besitzt ebenfalls die hohe Aktivität von 90000. Die Annahme erscheint daher berechtigt, daß in den Katalasen mit der Aktivität 90000 alle vier Hämingruppen als gleiche Eisenkomplexe des Protoporphyrins vorhanden sind.

Katalasen *pflanzlichen* Ursprungs scheinen viel weniger aktiv zu sein; so besitzt elektrophoretisch einheitliche Kürbiskatalase eine Aktivität von nur etwa 1000³. Wahrscheinlich unterscheidet sich ihre Proteinkomponente erheblich von jener der bisher kristallisiert erhaltenen Katalasen.

Der Stickstoffgehalt der Proteinkomponente der Pferdeleberkatalase ist von K. AGNER zu 16,8% bestimmt worden⁴. Über die Zusammensetzung dieses Proteins aus seinen Bausteinen haben H. THEORELL und Å. ÅKESON⁵ eingehende Untersuchungen durchgeführt und vor allem den Gehalt an Histidin (3,87%), Arginin (7,72%) und Lysin (7,70%) festgestellt, so daß auf ein Fe 16 Mol Histidin, 27 Mol Arginin und 32 Mol Lysin treffen; diese Werte entsprechen allen «Bergmann-Zahlen», die sich als $2^n \cdot 3^m$ ausdrücken lassen. Auch Cytochrom c und die Meerrettichperoxydase scheinen in ihrem Gehalt an Aminosäuren mit der BERGMANN-NIEMANNSchen Frequenztheorie übereinzustimmen.

In den Katalasen ist das Eisen in der dreiwertigen Form gebunden, womit übereinstimmt, daß ihr Spektrum dem des Methämoglobins ähnlich ist⁶. L. MICHAELIS und S. GRANICK⁷ sowie H. THEORELL und K. AGNER⁸ konnten diese Auffassung durch Messungen der Suszeptibilität an Rinder- bzw. Pferdeleberkatalase bestätigen.

D. KEILIN und E. F. HARTREE⁹ haben den Wirkungsmechanismus der Katalase unter Annahme eines

¹ R. K. BONNICHSEN, Arch. Biochem. 12, 83 (1947).

² D. HERBERT und A. J. PINSENT, Nature 160, 125 (1947).

³ L. EMDEN, Festschrift A. STOLL, S. 453, Basel 1947.

⁴ K. AGNER, Ark. Kemi Mineral. Geol. 16, A, n:o 6 (1942).

⁵ H. THEORELL und Å. ÅKESON, Ark. Kemi Mineral. Geol. 16, A, n:o 8 (1942).

⁶ D. KEILIN und E. F. HARTREE, Proc. Roy. Soc. London B, 121, 173 (1936).

⁷ L. MICHAELIS und S. GRANICK, Science 94, 285 (1941); J. gen. Physiol. 25, 325 (1941).

⁸ H. THEORELL und K. AGNER, Ark. Kemi Mineral. Geol. 16, A, n:o 7 (1942).

⁹ D. KEILIN und E. F. HARTREE, Proc. Roy. Soc. London B, 24, 397 (1938).

¹ J. B. SUMNER und N. GRALÉN, J. biol. Chem. 125, 33 (1938).

² K. AGNER, Biochem. J. 32, 1702 (1938).

³ K. ZEILE und H. HELLSTRÖM, Z. physiol. Chem. 192, 171 (1930).

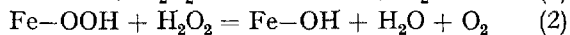
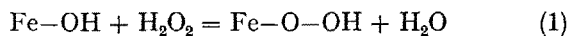
⁴ K. G. STERN, J. biol. Chem. 112, 661 (1935).

⁵ K. G. STERN, J. biol. Chem. 112, 661 (1935).

⁶ R. LEMBERG, M. NORRIE und J. W. LEGGE, Nature 144, 551 (1939).

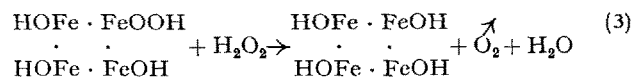
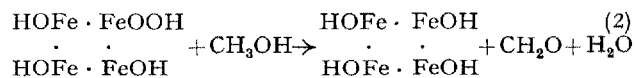
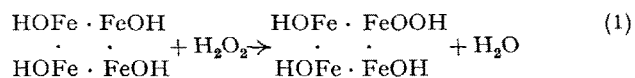
⁷ J. B. SUMNER und A. L. DOUNCE, J. biol. Chem. 127, 439 (1939).

Valenzwechsels des Eisens zu erklären versucht, doch konnten H. THEORELL und K. AGNER¹ bei der Nacharbeitung der Versuche von KEILIN und HARTREE deren Versuchsergebnisse nicht bestätigen. J. B. SUMNER² schlug dann als Modifikation älterer Theorien von F. HABER³, von H. VON EULER⁴ und von L. LIEBERMANN⁵, unter Annahme stets dreiwertigen Eisens die folgende Formulierung vor:



Doch haben erst die neuesten Arbeiten von H. THEORELL⁶ und seinen Mitarbeitern⁷ Licht in den Wirkungsmechanismus der Katalasereaktion hineingebracht und gezeigt, daß diese bei sehr geringen und bei größeren Hydroperoxydkonzentrationen verschieden verläuft. Durch Beobachtung der Änderung der Lichtabsorption in einer Kapillare nach der Methode von HARTRIDGE, ROUGHTON, MILLIKAN, in der eine Lösung von Katalase mit einer sehr verdünnten H_2O_2 -Lösung sich mischen und mit erheblicher Geschwindigkeit (10 m in der Sekunde) vorbeifließen, gelingt es, bei einer Katalasekonzentration von etwa $4 \mu \text{ Mol/l}$ an ein Additionsprodukt von Katalase und Hydroperoxyd nachzuweisen, in dem auf 4 Atome Fe nur 1 Mol H_2O_2 trifft und welches das Eisen dreiwertig enthält. Wie bei der Peroxydase erhält man also gemäß der untenstehenden Gleichung (1) auch bei der Katalase mit H_2O_2 niedriger Konzentration ein grünes Addukt, das über eine kurze Zeit beständig ist.

Bei Gegenwart eines Alkohols, z.B. Methanol, reagiert dieses Addukt nach Gleichung (2): es oxydiert den Alkohol zum Aldehyd unter Rückbildung der Katalase; der Vorgang ist der einer Peroxydasereaktion. Nur die Verbindung der Katalase mit 1 H_2O_2 ist relativ beständig; trifft auf 4 Eisenatome mehr als ein Mol Hydroperoxyd, so verläuft die Reaktion nach Gleichung (3) oder (4) und es wird Sauerstoff «explosionsartig» in Freiheit gesetzt.



¹ H. THEORELL und K. AGNER, Ark. Kemi Mineral. Geol. 16, A, n:o 7 (1942).

² J. B. SUMNER, Adv. in Enzymology 1, 163 (1941).

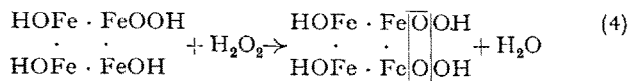
³ F. HABER, Z. anorg. Chem. 18, 40 (1898).

⁴ H. V. EULER, Ref. WIEDEMANN, Beiblätter 24, 949 (1900). – Vgl. G. BREDIG und K. IKEDA, Z. phys. Chem. 37, 1 (1901).

⁵ L. LIEBERMANN, Arch. ges. Physiol. 104, 119 (1904).

⁶ H. THEORELL, Gastvortrag v. d. Schweiz. med. biol. Ges., Genf 1947; I. c., S. 19, Fußn. 2, Kol. rechts.

⁷ B. CHANCE, Acta chem. Scand. 1, 235 (1947).



Die neueste Formulierung von H. THEORELL beleuchtet die Funktion der Katalase lebender Organe in neuartiger Weise. Bei den biologischen Oxydationsvorgängen entsteht Hydroperoxyd immer nur in sehr geringer Konzentration. Die Katalase ist andererseits in so großen Mengen vorhanden (in der Leber z.B. 4 bis 5 g), daß nur ein Addukt gemäß Gleichung (1), wo auf 4 Fe-Atome ein H_2O_2 trifft, entstehen kann. Dieses setzt nicht Sauerstoff in Freiheit, es ist ein kräftiges Oxydationsmittel und dient in gleicher Weise wie die Peroxydase Oxydationsvorgängen. Die H_2O_2 -Konzentration, die zur Bildung von Addukten gemäß Gleichung (3) und (4) nötig wäre, wird in lebenden Organen praktisch nie erreicht. Mit dieser Auffassung von der biologischen Funktion der Katalase als Oxydationsferment steht auch ihr ubiquitäres Vorkommen in relativ großen Mengen im Einklang.

Im Hinblick auf die beträchtliche Erweiterung und Vertiefung unserer Kenntnisse über Oxydationsenzyme ist es nicht uninteressant, auf die Problemstellung zurückzugreifen, wie sie R. WILLSTÄTTER¹ gerade vor 30 Jahren in der ersten Arbeit über Peroxydase einleitend formuliert hat. Es sei noch vorausgeschickt, daß damals, wie sich der Verfasser aus einer Diskussion zwischen FRITZ HABER und R. WILLSTÄTTER wohl erinnert, es noch umstritten war, ob Enzyme überhaupt chemische Individuen seien, oder ob die biologische Katalyse auf Grund bestimmter physikalischer Zustände, z.B. von Oberflächen kolloider *unspezifischer* Substanzen zustande komme. Die Einleitung zu der erwähnten Arbeit von WILLSTÄTTER lautet wie folgt:

«Am Beispiel der Peroxydase aus Meerrettich beginnen wir den Versuch, durch Verbesserung der Herstellungsmethode den Reinheitsgrad eines Enzympräparates mehr und mehr zu steigern, um es schließlich der analytischen Untersuchung zugänglich zu machen. Auf diesem Wege ist in erreichbarer Nähe die Entscheidung zu suchen, ob ein bestimmter Stoff, eine einzige Verbindung, die enzymatische Funktion trägt oder ein System verschiedener zusammenwirkender Verbindungen. Ferner betrifft eine der ersten Fragen die Zugehörigkeit eines Metalls in organischer Bindung zu dem Enzym; es wird sich auf analytischem Wege ergeben, ob, wie man schon vermutet hat, Eisen in komplexer Bindungsweise an der Zusammensetzung des Enzyms teilhat. In weiterer Ferne liegt das Ziel, die besonderen, leicht veränderlichen Atomgruppen zu bestimmen, die an der enzymatischen Funktion wesentlichen Anteil haben, sei es durch eigene Reaktion oder durch die Bindung eines mit Additionsvermögen ausgezeichneten Metallatoms.»

Mit bemerkenswerter Präzision hat WILLSTÄTTER schon damals im Hinblick auf das Eisen die Fragen aufgeworfen, die auf Grund der neuesten Untersuchun-

¹ R. WILLSTÄTTER und A. STOLL, Liebigs Ann. Chem. 416, 21 (1918).

gen an kristallisierten Enzymen bejaht worden sind. Im Grunde genommen wohnt die vielfältige Reaktionsfähigkeit, wie sie bei den Hämoproteiden in Erscheinung tritt, schon dem *Eisenion* inne. Durch die komplexe Bindung im Porphinkern tritt sie indessen deutlicher zutage. Aber erst die Bindung des Eisen-Porphin-Komplexes mit spezifischen Proteinen steigert sie ins Ungeheure und gibt ihr die Richtung, in der das Eisen als Bestandteil spezifischer Fermente zu reagieren vermag.

Summary

This survey on the chemistry of the hemins gives an account of the work of M. NENCKI, F. HOPPE-SEYLER, O. PILOTY, R. WILLSTÄTTER, W. KÜSTER, H. FISCHER, and other research workers, including the synthesis of hemin as carried out by H. FISCHER. As the interest of the biologists is especially directed towards the genuine, biologically active complexes containing hemin or related compounds, an attempt has been made to describe the various kinds of hœmin-containing complexes, such as hemoglobin, myoglobin, cytochromes, peroxidases and catalases from a point of view elucidating not only their common structural principles but also the variations in their functions resulting from the small but essential differences in structure. The term "hemopro-

teids" is suggested for these complexes. Due praise is given to the work of H. THEORELL and others, and, in the light of the most recent theories of this Swedish biologist, the mode of action of the hemoproteids of biological interest is discussed from a general point of view.

Avis de la rédaction - Redaktionelle Bemerkung Annunzio della redazione - Editorial Advertisement

Dans ce numéro et les suivants paraîtront les conférences principales présentées à la Société suisse de biologie médicale lors de la 127^{me} Assemblée générale de la Société helvétique des sciences naturelles) à Genève, le 31 août 1947. Elles se rapportent au rôle des hœmines en biologie.

In diesem und in den folgenden Heften erscheinen laufend die vor der Schweizerischen Medizinisch-Biologischen Gesellschaft in Genf am 31. August 1947 (anlässlich der 127. Generalversammlung der Schweizerischen Naturforschenden Gesellschaft) gehaltenen Hauptreferate zum Thema: Die Rolle der Hämine in der Biologie.

In questo e nei prossimi numeri saranno pubblicate le conferenze principali tenute in seno alla Società Svizzera di Biologia Medica, Ginevra, 31 agosto 1947 (in occasione della 127^a Riunione Generale della Società Elvetica di Scienze Naturali), sul tema: L'importanza delle emine nella biologia.

In this and the following numbers the principal lectures held before the Swiss Society for Biology and Medicine in Geneva, August, 1947, during the 127th General Assembly of the "Schweizerische Naturforschende Gesellschaft" will be published consecutively, the subject of these lectures being "The role of hemins in biology".

Brèves communications – Kurze Mitteilungen Brevi comunicazioni – Brief Reports

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces communications. – Für die kurzen Mitteilungen ist ausschließlich der Autor verantwortlich. – Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. – The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed by their correspondents.

Note sur l'analyse discriminatoire

Introduction. Parmi les méthodes de la statistique mathématique moderne, l'analyse discriminatoire est appelée à rendre d'importants services aux sciences naturelles. Elle permet en effet de faire des distinctions entre différents groupes en se basant sur un ensemble de mesures faites sur des individus et ensuite de classer facilement un individu, rencontré ultérieurement, dans un des groupes déjà déterminés. La méthode a été employée en premier par M. BARNARD¹ sur la suggestion de M. R. A. FISHER²; elle consiste en ceci:

On fait un certain nombre de mesures sur des individus répartis en différents groupes, ces groupes correspondant à une classification suivant une qualité particulière (par exemple le lieu de découverte). On cherche en premier si chacune des mesures prises individuellement est suffisante pour établir une discrimination entre les différents groupes de manière à pouvoir classer dans l'un des groupes un nouvel individu. On constate souvent que chaque mesure prise individuellement est insuffisante et que l'on doit considérer simultanément toutes les mesures pour établir une discrimination valable entre les différents groupes. Pratiquement le problème consiste

à chercher une fonction X qui tienne compte de toutes les mesures envisagées comme variables et qui varie significativement lorsque l'on passe d'un groupe à l'autre.

Par exemple des observations faites par M. MORGENTHALER¹ et ses collaborateurs à la station d'essai du Liebfeld (section pour les maladies des abeilles) ont montré que les abeilles portent certains parasites se répartissant en différents groupes suivant la partie du corps de l'abeille où ils séjournent; deux mesures furent effectuées sur ces parasites (longueur du tarse d'un membre déterminé et distance entre les stigmates). Chacune de ces mesures prise individuellement était insuffisante pour établir une discrimination entre les groupes, cependant M. LINDER² a pu les distinguer en considérant l'ensemble des mesures.

Méthode générale. La méthode suivante permet de résoudre le problème dans le cas général.

Soit j^* groupes désignés par j , chaque groupe contenant i^* individus désignés par i (nombre total d'individus $i^* j^*$). On fait sur chaque individu l^* mesures désignées par l , le résultat de la mesure l sur l'individu ij étant x_{ijl} . On cherche à former une fonction linéaire entre les l mesures

¹ M. M. BARNARD, Ann. Eugenics 6, 352 (1934/35).

² R. A. FISHER, Ann. Eugenics 8, 376 (1937/38).

¹ O. MORGENTHALER, Rev. suisse Zool. 41, 429 (1934).

² A. LINDER, Beih. schweiz. Bienen-Ztg., Heft 15, Februar 1947.