

Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft

76. Jahrg. Nr. 9/10. — Abteilung A (Vereinsnachrichten), S. 99—119. — 6. Oktober

Karl Zeile: Über Cytochrom.

[Vortrag, gehalten in der Sitzung der Deutschen Chemischen Gesellschaft am 19. April 1943; eingegangen am 10. September 1943.]

Bei der Erforschung der biologischen Oxydationsvorgänge stand immer am Anfang die Frage: Wie ist es möglich, daß der Organismus unter den ihm gemäßen Reaktionsbedingungen die Oxydation der Nährstoffe, z. B. der Kohlenhydrate zu Kohlensäure und Wasser, vollzieht, während dieselbe Reaktion *in vitro* unter nicht vergleichbaren Voraussetzungen und Erscheinungen abläuft? Die früher gestellte Alternative, ob eine Aktivierung des Sauerstoffs oder des Substrats dafür verantwortlich sei, ist heute der Erkenntnis gewichen, daß auf dem Wege zwischen Substrat und Sauerstoff eine ganze Reihe von Redoxsystemen liegt, die sich nach Maßgabe der Lage ihres Potentials miteinander ins Gleichgewicht setzen, wobei die Geschwindigkeit der Gleichgewichtseinstellung, die schließlich für die Gesamtgeschwindigkeit maßgebend ist, von der Konstitution der Redoxsysteme und ihrer spezifischen gegenseitigen Abstimmung abhängt. Gleichzeitig wird damit der Zelle die Möglichkeit gegeben, die bei der Verbrennung freiwerdende Energie in die für den Ablauf der Lebensvorgänge geeignete Form umzuwandeln, denn sie verbrennt nicht Nährstoffe, um allein Wärme zu erzeugen, sondern um Arbeit, nämlich mechanische und chemische Arbeit zu gewinnen.

Allgemeines über häminhaltige Fermente.

Fast alle aeroben Zellen besitzen ein Katalysatorsystem, dessen Komponenten als gemeinsames Merkmal Wirkgruppen vom Bautyp des Blutfarbstoffs tragen. Die Kennzeichnung dieser Wirkgruppen wurde dadurch entscheidend erleichtert, daß sie die charakteristischen Absorptionsspektren der Blutfarbstoffabkömmlinge aufweisen. Das ist besonders wichtig in Anbetracht der kleinen Konzentrationen, in denen die Katalysatoren in der Zelle vorkommen; es handelt sich um 10^{-8} bis 10^{-9} Mol je Gramm Trockensubstanz.

Das erste dieser Fermente und der Fermente überhaupt, dessen prosthetische Gruppe erkannt wurde, ist das von Warburg entdeckte sauerstoffübertragende Ferment der Atmung. Hier gelang die Charakterisierung durch Aufnahme des Absorptionsspektrums als photochemisches Wirkungsspektrum auf Grund der lichtreversiblen Kohlenoxydhemmung der Zellatmung in der intakten Zelle, ohne daß es möglich wäre, das Ferment überhaupt aus der Zelle abzutrennen. Beim Cytochrom, dessen spektroskopische Erscheinung

1925 von Keilin, der auf ältere Beobachtungen von MacMunn zurückgriff, beschrieben wurde, ergibt sich die Zuordnung zu den Hämderivaten ohne weiteres aus dem direkt beobachtbaren Absorptionsspektrum.

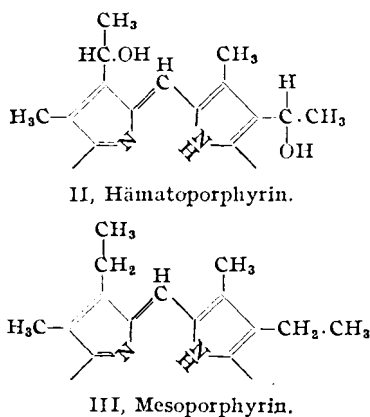
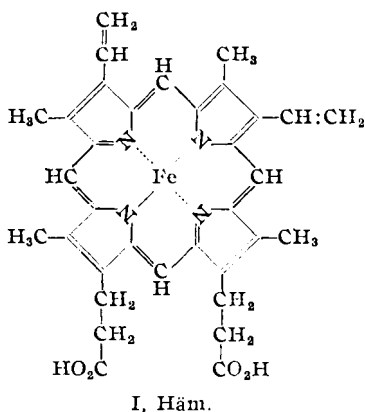
Noch zwei weitere Fermente sind hier zu nennen: die Katalase, das wasserstoffperoxydspaltende Ferment, das in allen aeroben Zellen vorhanden ist, und dessen prosthetische Hämingruppe wir nach geeigneter Reinigung aus tierischen und pflanzlichen Präparaten freilegen konnten. Später ist dann derselbe Nachweis Keilin und Mann mit analoger Methodik an der Meerrettichperoxydase gelungen, dem Ferment, das die Oxydation gewisser Chromogene mit Peroxydsauerstoff katalysiert.

Während aber die Funktion der beiden letztgenannten Fermente im Oxydationsmechanismus noch nicht genau zu umschreiben ist, insbesondere die Verbreitung der Peroxydase im Tierreich überhaupt noch nicht feststeht, ist man über das Zusammenwirken des sauerstoffübertragenden Ferments und des Cytochroms und über die Bedeutung dieses Katalysatorsystems für die Zellatmung gut unterrichtet. Insbesondere war es beim Cytochrom möglich, z. Tl. verhältnismäßig weit in die Konstitution einzudringen.

Zur Chemie der Hämverbindungen.

Die Grundlage hierfür bildeten die Ergebnisse der umfassenden Forschungen H. Fischers und seiner Schule in der Chemie der Pyrrolfarbstoffe. Einige für das Verständnis des folgenden unmittelbar wichtige Tatsachen aus diesem Gebiet seien hier vorweg kurz skizziert:

Das Grundgerüst des Blutfarbstoffs und seiner Derivate ist das sog. Porphinsystem, das sich aus vier in α -Stellung verknüpften Pyrrol- bzw. Pyrroleninkernen zusammensetzt (vergl. I). Porphinderivate mit Seitenketten in den β -Stellungen der Pyrrolkerne bezeichnet man als Porphyrine; von ihnen interessieren hier das Protoporphyrin (I), das dem natürlichen Blutfarbstoff zugrunde liegt, ferner das Hämatoporphyrin (II), das als Ergebnis einer Wasseranlagerung an Stelle der beiden Vinylgruppen zwei Oxäthylreste trägt und das Mesoporphyrin (III), in welchem die Vinylreste durch Reduktion in zwei Äthylreste übergegangen sind.



Als Häm bezeichnet man das Fe^{II} -Komplexsalz eines Porphyrins; das in Formel I wiedergegebene Protohäm ist die eisenhaltige prosthetische

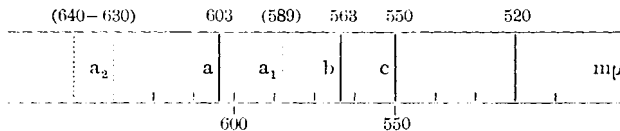
Gruppe des Hämoglobins, aus welchem sie in der Regel in kristallisiertem Zustand als Hämin abgeschieden wird. Hämine enthalten das Eisen in dreiwertigem Zustand mit ionogen gebundenem Chlor. Der Übergang zwischen Porphyrinen und ihren Eisenkomplexsalzen, ebenso zwischen der zwei- und dreiwertigen Stufe des komplexgebundenen Eisens läßt sich leicht experimentell verwirklichen.

Besonders sei hier noch auf den Typus der Hämochromogene hingewiesen. Er kommt dadurch zustande, daß an das Eisen eines Häms zwei Mol. einer stickstoffhaltigen Base angelagert werden. Als solche eignen sich Amine, heterocyclische Stickstoffbasen, Aminosäuren, Eiweißstoffe. Die Bindung ist im allgemeinen eine lockere Komplexbindung. In einem Hämochromogen sind alle 6 Koordinationsstellen des Eisenatoms, die oktaedrisch angeordnet zu denken sind, durch N-Atome besetzt; vier durch die N-Atome des Porphingerüsts, zwei durch die N-Atome der hämochromogenbildenden Base. Das zweiwertige Eisen der Hämochromogene ist leicht autoxydierbar. Charakteristisch ist das Absorptionsspektrum der Hämochromogene im sichtbaren Spektralgebiet: Zwei Absorptionsbanden in Gelb und Grün, von denen die erstgenannte besonders ausgeprägt ist.

Das Cytochromsystem.

Im folgenden sollen nun die Erscheinungsform, die Konstitution und die biologische Funktion, d. h. das Zusammenwirken mit den Reaktionspartnern, des Cytochroms besprochen werden:

Das Absorptionsspektrum des Cytochroms, wie es besonders charakteristisch im Bienenmuskel oder in der Bäckerhefe in Erscheinung tritt, zeigt im sichtbaren Gebiet Absorptionsbanden bei 603, 563, 550 und etwa 520 μ (Abbild. 1).



Abbild. 1. Schema des Cytochromspektrums.

Das Mehrbandenspektrum kommt durch Überlagerung der Absorptionsspektren dreier Häminderivate zustande, die man als Komponenten a, b und c bezeichnet. Die Komponenten b und c sind Hämochromogene, was sich ohne weiteres aus dem Vergleich des Typs ihrer Absorptionsbanden mit anderen Hämochromogenen ergibt, während die Natur der Komponente a mit ihrer weit im Rot liegenden Hauptabsorptionsbande des sichtbaren Gebietes noch nicht geklärt ist. Wie alle Häminderivate besitzen die Cytochrome auch die höchste Absorptionsbande im Violett.

Später ist in verschiedenen Zellen das Vorkommen einer Anzahl modifizierter Absorptionsspektren beobachtet worden, bei denen im wesentlichen bei fehlender a-Bande in zwei weiteren Spektralbereichen, nämlich um 590 μ im Gelb oder zwischen 630 und 640 μ im Rot selektive Absorptionen liegen (a_1 und a_2)²⁾. Außerdem findet man gelegentlich die b- und c-Bande ver-

¹⁾ D. Keilin, *Proceed. Roy. Soc. (London)*, Ser. B, **98**, 312 [1925].

²⁾ s. Zeile in *Methoden der Fermentforschung*, herausgeg. v. E. Bamann u. K. Myrbäck, Verlag G. Thieme, Leipzig 1941, S. 2595.

schmolzen, das bedeutet, daß zwischen beiden noch die Absorption des gewöhnlichen Protohämochromogens zu liegen kommt. Z. B. findet man bei Essigbakterien, bei Azotobakter, bei Colibakterien die Banden a_1 und a_2 , bei Colibakterien, bei Staphylokokken und einigen anderen Bakterienarten fehlt Cytochrom c³⁾. Im Gegensatz zur stark atmenden Oberhefe zeigt Unterhefe nur die Bande a_1 bei verschmolzener b- und c-Bande, ein Merkmal, das nach H. Fink direkt zur Kennzeichnung der beiden Hefearten geeignet ist⁴⁾.

Über die Komponenten a und b ist bislang hinsichtlich der Konstitution noch wenig zu sagen, da sie sich nicht aus der Zelle in einwandfreiem Zustande abtrennen lassen. Bei der Komponente b handelt es sich wahrscheinlich um gewöhnliches Blutfarbstoffhämochromogen. Zwar liegen dessen Absorptionsbanden, soweit sie aus Messungen in Lösungsmitteln bekannt sind, um etwa 8 μ nach kürzeren Wellenlängen verschoben, indes kann diese Verschiebung ihre Ursache lediglich im abweichenden Verteilungszustand des Farbstoffs in der Zelle haben; vielleicht ist die Lage der Absorptionsbanden auch von der Natur der hämochromogenbildenden Base abhängig. Einer Notiz von E. Yakushiji⁵⁾ zufolge soll die Absorptionsbande eines Hämochromogens aus Lactoflavin und Protohäm mit der des Cytochroms b übereinstimmen.

Über die Konstitution der Cytochromkomponente c.

Bei der Komponente c liegen die Voraussetzungen für eine Konstitutionsermittlung entschieden günstiger als bei den anderen beiden Komponenten, weil sie wesentlich stabiler ist und in reiner Form aus der Zelle abgetrennt werden kann. Die ersten Versuche wurden von D. Keilin⁶⁾ mit Hefe als Ausgangsmaterial vorgenommen; schon mit den grob vorgereinigten Präparaten konnten wir in einem besonderen Adsorptionsverfahren⁷⁾ durch Wägung die bei der Adsorption auf das Cytochrom c entfallene Substanzmenge ermitteln, die einem Chromoproteid mit einem Eiweißträger vom Äquivalentgewicht etwa 16000 je Eisenatom entsprach. Damit war die Substanz als Chromoproteid charakterisiert und gleichzeitig die durch Adsorptionsmethoden erreichbare Reinheitsgrenze angegeben, die wir in präparativen Adsorptionsversuchen auch nahezu erreichten. Später beschrieben H. Theorell⁸⁾ und D. Keilin⁹⁾ die Gewinnung von Cytochrom c aus Rinder- und Pferdeherzmuskel in größerem Maßstab. Mit einem Eisengehalt von 0.34% entsprach der Reinheitsgrad der an Hefepräparaten ermittelten Reinheitsgrenze. Neuerdings ist es H. Theorell¹⁰⁾ gelungen, durch Elektrophorese nochmals etwa 15% farblose Substanz abzutrennen, so daß das Äquivalentgewicht mit 13000 anzunehmen ist. Das reine Cytochrom ist ein wasserlösliches, hellrotbraunes Pulver, das Erhitzen in salzreicher Lösung

³⁾ S. K. Shibata, *Ergebnisse der Enzymforschung*, 4. Bd., Akad. Verlagsges., Leipzig 1935, S. 348.

⁴⁾ *Ztschr. physiol. Chem.* **210**, 197 [1932].

⁵⁾ E. Yakushiji u. T. Mori, *Acta phytochim.* **10**, 113 [1937].

⁶⁾ *Proceed. Roy. Soc. (London)*, Ser. B, **106**, 418 [1930].

⁷⁾ K. Zeile u. F. Reuter, *Ztschr. physiol. Chem.* **221**, 101 [1933]; K. Zeile, ebenda, **236**, 212 [1935]; vergl. a. K. Zeile u. H. Meyer, ebenda, **262**, 178 [1939].

⁸⁾ *Biochem. Ztschr.* **279**, 463 [1935]; **285**, 207 [1936].

⁹⁾ D. Keilin u. E. F. Hartree, *Proceed. Roy. Soc. (London)*, Ser. B, **122**, 298 [1937]; vergl. a. H. Theorell, *Biochem. Ztschr.* **298**, 242 [1938].

¹⁰⁾ H. Theorell u. A. Akesson, *Journ. Amer. chem. Soc.* **63**, 1804 [1940].

ohne Veränderungen verträgt. Als wesentlichstes Merkmal ist hervorzuheben, daß Cytochrom c, obwohl es auf Grund seines Absorptionsspektrums ausgesprochenen Hämochromogencharakter besitzt, im Gegensatz zu allen bisher bekannten künstlichen Hämochromogenen nicht autoxydabel ist.

Schon aus den ersten Beobachtungen war zu entnehmen, daß im Cytochrom c der Häminkern verhältnismäßig fest am Eiweißträger verankert sein muß. In erster Linie war an eine Verknüpfung über Seitenketten durch normale chemische Bindungen zu denken, während im Gegensatz hierzu, z. B. beim Hämoglobin, nur eine lockere Bindung des Häms an das Globin durch Vermittlung des Eisenatoms vorliegt, die schon durch p_H -Verschiebungen gelöst und wieder geknüpft werden kann. Andererseits läßt sich aus dem Hämochromogencharakter des Cytochroms c nach den Kenntnissen vom Bau der Hämochromogene ableiten, daß außer einer Seitenkettenbindung an das Eiweiß das Häm in durch sein Eisenatom mit zwei stickstoffhaltigen Basenresten in koordinativer Bindung stehen muß. Das Konstitutionsproblem des Cytochroms c gliedert sich demnach wie folgt:

1) Anordnung und Art der Seitenketten der prosthetischen Gruppe, insbesondere derjenigen, die die Verknüpfung mit dem Eiweiß vermitteln.

2) Natur der mit dem Eisen koordinativ verknüpften hämochromogenbildenden Base; ist sie für sich abgegrenzt, beispielsweise ein kleines Molekül und nur durch Koordinationsbindung mit dem Eisenatom verknüpft, oder ist der Eiweißträger selbst mit seinen Stickstoffgruppierungen gleichzeitig die hämochromogenbildende Substanz?

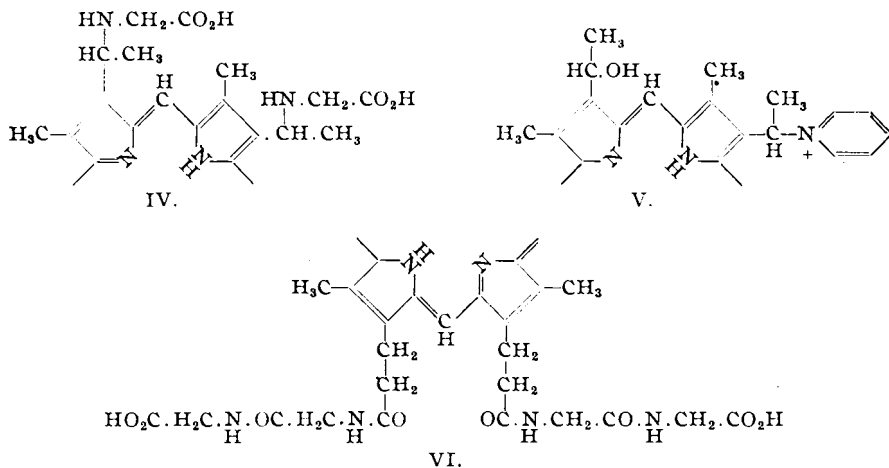
3) Bau des Eiweißträgers.

Beim Abbau von Cytochrom c mit Bromwasserstoff-Eisessig¹¹⁾ isolierten wir Hämatoporphyrin¹²⁾, das nach der Reduktion mit Jodwasserstoff in Mesoporphyrin übergeführt und mit Mesoporphyrinester aus Bluthäm in identifiziert werden konnte. Damit war die Konstitution der prosthetischen Gruppe in bezug auf die Anordnung der Seitenketten auf die des natürlichen Blutfarbstoffs zurückgeführt. Es blieb die Frage: Aus welchen Seitenketten bilden sich die des Hämatoporphyrins bei der Abtrennung des Farbstoffs aus dem Eiweiß? Bei schonendem Abbau des Cytochroms c entsteht ein typisch hydrophiles Porphyrin mit ausgesprochener Wasserlöslichkeit, von dem anzunehmen war, daß ihm noch Bruchstücke des Eiweißträgers anhaften. Als Modell solcher Porphyrine synthetisierten wir Porphyrine (IV, V, VI), die in den Seitenketten Aminosäuren oder Peptide tragen¹³⁾. Tatsächlich zeigen die Porphyrine in den hydrophilen Eigenschaften, die nach IV und V gebauten auch in der Lage der Absorptionsbanden, Übereinstimmung mit dem Abbauporphyrin des Cytochroms c. Der Unterschied der Modellporphyrine vom Naturprodukt besteht aber darin, daß sie im Gegensatz zu diesem die Seitenketten nicht mit Eisessig-Bromwasserstoff abspalten lassen; das gelang nur beim Pyridinderivat, aber es gab keine Anhaltspunkte, daß im natürlichen Porphyrin gerade eine solche oder ähnliche Anordnung vorliege. Eine Antwort konnte nur der Abbau bringen.

¹¹⁾ R. Hill u. D. Keilin, *Proceed. Roy. Soc. (London)*, Ser. B, **107**, 286 [1930].

¹²⁾ K. Zeile u. F. Reuter, *Ztschr. physiol. Chem.* **221**, 101 [1933].

¹³⁾ K. Zeile, *Ztschr. physiol. Chem.* **207**, 35 [1932]; K. Zeile u. P. Piutti, *ebenda*, **218**, 52 [1933].



Zur endgültigen Aufklärung der Seitenketten kam es beim Abbau des Naturprodukts zunächst darauf an, den Eiweißträger möglichst vollständig, jedoch unter Schonung des der Farbkomponente unmittelbar angegliederten Bruchstücks zu entfernen. Solche Versuche hatten H. Theorell¹⁴⁾ zu schwefelhaltigen Porphyrinprodukten geführt, aus denen er Cystin isolierte und denen er eine Konstitution im Sinne von VII zugrunde legte. Die Produkte waren aber nicht definiert, der Schwefelgehalt schwankte in Abhängigkeit von den Hydrolysenbedingungen zwischen 3% und 8%. Außerdem wies Theorell nach, daß es sich um Sekundärprodukte handelt¹⁵⁾, denn er fand, daß unter den Bedingungen der Eiweißhydrolyse Hämatoporphyrin und Cystein — beides Produkte des totalen Abbaues — schwefelhaltige Porphyrinprodukte liefern.

Wir führten dann den Nachweis, daß in der prosthetischen Gruppe des Cytochroms c zwei Cysteinreste an die Porphyrinseitenketten gebunden sind¹⁶⁾. Die Möglichkeiten einer Resynthese während des Abbaus wurden durch Anwendung großer Flüssigkeitsvolumina ausgeschaltet, z. B. wurden 5 g Cytochrom in 25 l 20-proz. Schwefelsäure hydrolysiert. In Kontrollversuchen hatten wir uns überzeugt, daß unter diesen Bedingungen auch nicht spurenweise eine Resynthese erfolgen kann. Die Isolierung des Farbstoffs aus den großen Flüssigkeitsmengen erfolgte durch Kaolinadsorption. Weiterhin wurde die für die präparative Bearbeitung hinderliche ausschließliche Wasserlöslichkeit durch Veresterung aufgehoben und so die Möglichkeit gegeben, den Porphyrinester zwischen zwei nicht mischbaren Lösungsmitteln zu verteilen, eine Methode, die, von Willstätter eingeführt, sich für die Reinigung zahlreicher Naturfarbstoffe immer wieder bewährt hat. Hier kamen uns die Kenntnisse zustatten, die wir in früheren unter allgemeinen Gesichtspunkten angestellten quantitativen Versuchen über die Verteilungscharakteristik der Porphyrine gewonnen hatten¹⁷⁾. Als schwache zweisäurige Base läßt sich ein Porphyrin nach Maßgabe seiner Salzbildung aus seiner

¹⁴⁾ *Enzymologia* [Den Haag], **6**, 88 [1939]; *Biochem. Ztschr.* **298**, 242 [1938].

¹⁵⁾ *Biochem. Ztschr.* **301**, 201 [1939].

¹⁶⁾ K. Zeile u. H. Meyer, *Ztschr. physiol. Chem.* **262**, 178 [1939].

¹⁷⁾ K. Zeile u. B. Rau, *Ztschr. physiol. Chem.* **250**, 197 [1937].

ätherischen Lösung mit einer starken Säure entziehen. Demgemäß wird die Verteilung im wesentlichen durch den Ausdruck

$$\frac{c_p \cdot c_H^{+2}}{c_p^{++}} = K$$

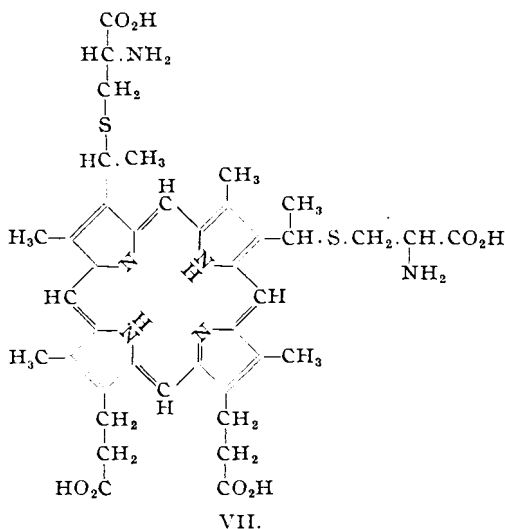
c_p = Konzentration des ungeladenen Porphyrins in Äther,

c_H^{+} = H-Ionenkonzentration der wäßrigen Phase,

c_p^{++} = Konzentration des Porphyrin-Kations in der wäßrigen Phase,

der gleichzeitig für die Salzbildung gilt, wiedergegeben. Der Verteilungsquotient hängt von der Basizität des Porphyrinsystems und von der Acidität der wäßrigen Phase ab, außerdem aber auch vom Verhältnis der Löslichkeit des Porphyrins im organischen und wäßrigen Lösungsmittel, das in die Konstante K eingeht.

Das veresterte Cytochromporphyrin zeigt eine Bevorzugung der wäßrigen Phase, was einer Verkleinerung des Wertes K gleichkommt, noch insofern, als es schon bei verhältnismäßig sehr niedriger Acidität sich der ätherischen Lösung entziehen läßt. Wir haben daher die Fraktionierung und Aufnahme der Verteilungscharakteristik mit Phosphatpuffergemischen im p_H -Bereich zwischen 3 und 5 durchgeführt und so nach Abtrennung geringer Nebenfaktionen ein einheitliches Porphyrin gewonnen. Die genaue Kontrolle auf Einheitlichkeit, die aber hier mit aller Schärfe zu führen war, war besonders nötig, da das Porphyrin nicht kristallisiert.



Die Elementaranalysen ergaben dann einwandfrei die Konstitution als ein Dicystein-protoporphyrinaddukt. Gleichzeitig gelang es uns, synthetisch aus Hämin über sein HBr-Additionsprodukt oder Hämatoporphyrin (II) durch Verschmelzen mit Cysteinhydrochlorid ein Addukt VII zu gewinnen, das in bezug auf das Verteilungsverhalten, das Absorptionsspektrum und die Elementaranalyse mit dem analytischen Präparat übereinstimmte. Die Konstitutionsformeln lassen optische Isomere voraussehen; das natürliche Porphyrin zeigt eine spezifische Drehung von -172° , das synthetische von

+27°. Offen bleibt zunächst noch, ob im natürlichen Porphyrin die An- gliederung der Cysteinreste in α - oder β -Stellung der Seitenketten erfolgt; sicher liegt im synthetischen Produkt auf Grund der für das Hämatorporphyrin feststehenden Konstitution die α -Verknüpfung vor.

Die Frage der hämochromogenbildenden Base gab zu einer gesonderten Studie Anlaß¹⁸⁾. Die Bildung eines Hämochromogens, die in der Anlagerung zweier Moleküle einer stickstoffhaltigen Verbindung an ein Häm besteht, war immer als ein Gleichgewichtsvorgang aufgefaßt worden, ohne daß eine quantitative Überprüfung erfolgt wäre. Das Nächstliegende wäre, einen solchen Gleichgewichtszustand durch eine Konstante zu definieren. Im Fall der Hämochromogengleichgewichte ist das jedoch, wie wir am Beispiel des Pyridinhämochromogens fanden, nicht möglich, da die Reaktionspartner — Häm und Hämochromogen — in hochaggregierter Form vorliegen. Nach Diffusionsversuchen dürfte ein mittleres Teilchengewicht bei 50000 liegen. Außerdem ist der Aggregationsgrad sicher nicht einheitlich und abhängig von der Konzentration. Daß es sich aber tatsächlich um Gleichgewichte handelt, konnten wir an Eiweißhämochromogenen zeigen. Wir haben Mischungen von verschiedenen Hämochromogenen, und zwar eingehend Meso- und Protohämochromogen mit Globin als Base untersucht, um zu sehen, inwieweit sich die beiden Hämkomponenten, die durch ihr verschiedenes Absorptionsspektrum nebeneinander meßbar sind, reversibel verdrängen können. Gibt man z. B. zu einer Lösung von Protohämochromogen freies Mesohäm oder umgekehrt, oder läßt man die Hämochromogene in entsprechender Mischung mit dem Globin erst entstehen, so bildet sich stets derselbe definierte Gleichgewichtszustand heraus, das bedeutet, daß die Farbkomponenten tatsächlich reversibel verdrängbar sind. Beim Cytochrom c liegen die Verhältnisse jedoch anders; hier gelingt es nicht, durch eine noch so hohe Konzentration von Fremdhäm in auch nur andeutungsweise in das Hämochromosystem einzudringen. Die Affinität zwischen Häm und Base ist beim Cytochrom c jedenfalls außerordentlich hoch. Wenn es schon nicht gelingt, die hämochromogenbildende Base im intakten Cytochrom in Reaktion mit einem Fremdhäm zu bringen, so müßte das möglich sein, wenn sie durch Eliminierung des Cytochromeisens freigelegt wird, falls es sich überhaupt um ein selbständiges Molekül handelt.

Tatsächlich ist es möglich, das Eisen durch einen sehr schonenden Eingriff zu entfernen, nämlich durch ganz kurzes Erwärmen mit $n/10$ -HCl auf 50° in Gegenwart von Natriumhydrosulfit oder katalytisch erregtem Wasserstoff. Es entsteht dabei das eiweißhaltige Cytochromporphyrin, jedoch ist seine Kupplung mit Fremdhäm in zu Hämochromogen im physiologischen pH-Bereich nicht möglich. Der hämochromogenbildende Bezirk ist also dem von außen zugeführten Häm nicht zugänglich. Wir müssen daraus schließen, daß die hämochromogenbildende Base kein selbständiges Molekül ist, sondern im Eiweiß verankert, ganz spezifisch dem eingebauten Häm zur Verfügung steht.

Daß eine solche innermolekulare Hämochromogenbildung möglich ist, konnten wir außerdem am analytischen und synthetischen Cystein-Addukt nach der Einführung von Eisen zeigen: Hier ist der Zusatz einer N-haltigen Substanz zur Erzeugung des Hämochromogensystems nicht nötig; aus dem Eisenkomplexsalz entsteht schon allein bei der Reduktion das Hämochromo-

¹⁸⁾ K. Zeile u. G. Gnant, Ztschr. physiol. Chem. **263**, 147. [1940].

gen. Die Aminogruppen der Cysteinseitenketten können also dem Eisenatom die zur Auffüllung der Koordinationszahl 6 benötigten Stickstoffatome zur Verfügung stellen. Dagegen können die vorher erwähnten Modellsubstanzen IV, V, VI mit Aminosäuren in der Seitenkette kein innermolekulares Hämochromogen liefern, da es die räumlichen Verhältnisse nicht zulassen; der Stickstoff steht hier zu nahe am Pyrrolkern.

Mit dem festen Einbau der hämochromogenbildenden Gruppe im Cytochrom c hängt zweifellos die im Vergleich mit anderen Hämochromogenen auffallende Beständigkeit des Cytochrom-c-Hämochromogens gegen die Dissoziationseinflüsse zusammen. Sie gibt ferner eine anschauliche Vorstellung von der Beständigkeit des reduzierten Cytochroms c gegen molekularen Sauerstoff, die es von allen anderen bisher künstlich erzeugten Hämochromogensystemen unterscheidet. Man kommt auf Grund der Konstitutionsermittlung somit zwangsläufig zu einem Bild von Cytochrom c, nach welchem der Häminkern als flache Scheibe durch Hauptvalenzseitenketten mit einem Eiweißträger verknüpft ist, der gleichzeitig mit zwei stickstoffhaltigen Atomgruppen zum Eisenatom auf beiden Seiten des Häminringes herübergreift.

Die Konstitutionsaufklärung des Eiweißkörpers findet ihre Grenze vorläufig dort, wo sie heute für die Eiweißchemie noch allgemein liegt. Im wesentlichen kann man die einzelnen Aminosäuren ihrer Anzahl nach bestimmen; solche Versuche wurden in letzter Zeit von Theorell¹⁰⁾ ausgeführt (vergl. Tafel 1). Es ergab sich dabei ein auffallend hoher Lysingehalt für das Cytochromeiweiß, weiterhin haben sich gewisse Anhaltspunkte dafür ergeben, daß zwei Histidinmoleküle des Eiweißrestes es sind, die die Hämochromogenbildung am Eisenatom übernehmen¹⁰⁾.

Tafel 1: Zusammensetzung des Eiweißträgers von Cytochrom c.

	Moleküle
Histidin	3
Arginin	2
Lysin	22
Cystein	3 (?)
Tyrosin	5
Tryptophan	1
Glutamin, Asparaginsäure	19
Leucin + Isoleucin + Phenylalanin	9
(Alaun + Glycin + Valin)	33)

Funktion des Cytochroms in der biologischen Oxydation.

Es stellt sich nun die Frage: Wie ist das Cytochromsystem in den Oxydationsablauf eingeschaltet? Die ersten Anhaltspunkte hierfür ergaben Versuche von Keilin schon aus dem Jahre 1930⁶⁾. Er setzte ein sauerstoffverbrauchendes System zusammen aus

- 1) einer Oxydase, einem die Sauerstoffübertragung katalysierenden Ferment in Form einer Gewebszellensuspension aus Herzmuskel,
- 2) Cytochrom c,
- 3) als eigentlichem Substrat, das endgültig oxydiert wird, Cystein.

Cystein selbst ist in reinem Zustand nicht autoxydabel, es reduziert jedoch Cytochrom c und wird dabei selbst dehydriert. Da Cytochrom c

¹⁰⁾ H. Theorell u. A. Akesson, Journ. Amer. chem. Soc. **63**, 1818 [1940].

ebenfalls nicht autoxydabel ist, bleibt die Reaktion nach diesem einmaligen Umsatz stehen. Erst wenn durch die Vermittlung der Oxydase Cytochrom c mit dem Luftsauerstoff zu reagieren vermag, wird die ganze Reaktionskette zu einer katalytischen. Die Reaktionsfolge ist demnach: Sauerstoff \rightarrow Oxydase \rightarrow Cytochrom c \rightarrow Cystein. Das Wesen des Vorgangs, der als Modell für die zahlreichen Redoxstufen des Abbauwegs der Kohlenhydrate gelten kann, liegt darin, daß die einzelnen Redoxsysteme, in unserem Fall das des Cysteins, des Cytochroms c, der Oxydase und letzten Endes des Sauerstoffs miteinander mit angemessener Geschwindigkeit ins Gleichgewicht treten.

Die Cytochromoxydase.

Zur Charakterisierung der Oxydase ist folgendes anzuführen: Das Ferment war schon lange unter der Bezeichnung Indophenoloxydase bekannt, da es die Oxydation von *p*-Phenylendiamin zu blauem Indophenolfarbstoff katalysiert. Zunächst wurde also gefunden, daß es sich in gleicher Weise auch zur Oxydation des Cytochroms c eignet. Die Indophenolbildung sowohl als auch die Cytochromoxydation erwiesen sich durch Kohlenoxyd hemmbar, und zwar läßt sich die Hemmung durch Belichtung rückgängig machen.

Gerade dies ist aber eine bekannte charakteristische Eigenschaft des sauerstoffübertragenden Ferments, die zur Aufnahme des photochemischen Wirkungsspektrums ausgewertet wurde. Warburg fand bekanntlich, daß der Sauerstoffverbrauch von Hefezellen sich in Kohlenoxyd gegenwart verringert. Belichtet man die in ihrer Atmung durch Kohlenoxyd gehemmten Zellen, so steigt die Atmung für die Dauer der Belichtung um einen gewissen Betrag an, um im Dunkeln wieder abzusinken. Durch das Kohlenoxyd wird das Atmungsferment zum Teil in einen unwirksamen Komplex übergeführt, der beim Belichten dissoziiert. Das Ausmaß der Dissoziation, damit also auch der Atmungsanstieg, ist von der aufgenommenen Lichtenergie abhängig; sie ist bei verschiedenen Wellenlängen verschieden, und da ja ein Abbild für die Energieaufnahme bei verschiedenen Wellenlängen das Absorptionsspektrum einer Substanz ist, war es möglich, aus der verschiedenen Atmungssteigerung der Hefe bei Belichtung mit verschiedenen Wellenlängen das Absorptionsspektrum der aktiven Gruppe des Ferments aufzunehmen. Es ist das eines Hämins, dessen Konstitution, soweit man es aus der Lage der Absorptionsbanden entnehmen kann, zwischen Blut- und Blattfarbstoff steht²⁰).

Da die in vitro von Keilin untersuchte Herzmuskeloxydase wie das Warburgsche Ferment die bisher an anderen Oxydasen nicht beobachtete lichtreversible Kohlenoxydhemmung zeigt, da sie wie dieses spezifisch blausäurehemmbar ist und wie das Atmungsferment in fast allen aeroben Zellen vorkommt, schließt man auf eine Identität der Oxydase mit dem Warburgschen Ferment.

Später stellte sich durch Untersuchungen von D. Keilin²¹) und von E. Stotz²²) heraus, daß die Oxydase gar nicht direkt *p*-Phenylendiamin

²⁰) S. Fußn. 2, S. 2505.

²¹) D. Keilin u. E. F. Hartree, *Proceed. Roy. Soc. (London)*, Ser. B, **124**, 171 [1938].

²²) E. Stotz, E. A. Sidwell u. T. R. Hogness, *Journ. biol. Chem.* **124**, 733 [1938].

oxydieren kann, sondern daß diese Fähigkeit auf kleinen Begleitmengen von Cytochrom c beruht, die durch geeignete Behandlung zu entfernen waren. Als das eigentliche und soweit man bis jetzt sieht, einzige und streng spezifische Substrat der Oxydase ist nunmehr Cytochrom c zu betrachten, das dann als Vermittler erst weitere Substrate, also z. B. Phenylendiamin, Cystein und dergl. oxydieren kann. Nach der in der Fermentchemie üblichen Nomenklatur ist die Oxydase als Cytochromoxydase zu bezeichnen, v. Euler nennt sie auch Cytochromase.

Das Substrat des Cytochroms.

Weiterhin interessiert hier die Reaktion des Cytochroms mit seinem Substrat in der Zelle. Die Tatsache, daß dem Cytochrom c ein verhältnismäßig hohes Redoxpotential zukommt (+0.26 Volt) bedeutet, daß zunächst, thermodynamisch betrachtet, die Reaktion mit einer Vielzahl von Zellsubstraten möglich ist. Eine Auswahl derjenigen Stoffe, die nun tatsächlich mit dem Cytochrom in Reaktion treten, ist so zu erbringen, daß jeweils spektroskopisch geprüft wird, ob ein Stoff Cytochrom c reduziert, oder ob er in Gegenwart von Cytochrom und Oxydase Sauerstoff aufnimmt. Man fand eine ganze Reihe von zellvertrauten Stoffen, die Cytochrom c reduzieren können, eine Auswahl ist in der folgenden Tafel 2 zusammengestellt.

Tafel 2.

Substrat	Zur Reaktion mit Cytochrom erforderlich:		
	Dehydrase	Co-Enzym	Überträger
Cystein, Ascorbinsäure, Adrenalin ²³	—	—	—
Glycerinphosphorsäure ²⁴	Dehydrase	—	—
Bernsteinsäure ²⁵	Dehydrase	—	Diaphorase (I)
Triose, Triosephosphat ²⁴	Dehydrase	Codehydrase I	Diaphorase (I)
Milchsäure (Muskel) ²⁴	Dehydrase	Codehydrase I	Diaphorase (I)
Äpfelsäure ²⁴	Dehydrase	Codehydrase I	Diaphorase (I)
β -Oxy-buttersäure ²⁴	Dehydrase	Codehydrase I	Diaphorase (I)
Alkohol ²⁴	Dehydrase	Codehydrase I	Diaphorase (I)
Hexosemonophosphorsäure ²⁶	Dehydrase	Codehydrase II	Diaphorase (II)

Nur wenige vermögen in direkte Reaktion mit dem Cytochrom zu treten, alle übrigen brauchen dazu ihre spezifischen wasserstoffaktivierenden Fermente, die Dehydrasen. Von einigen Dehydrasen kennt man ihre reversibel ablösbare aktive Gruppe, die Codehydrasen I und II. Codehydrase I ist

²³) D. Keilin u. E. F. Hartree, *Proceed. Roy. Soc. (London)*, Ser. B, **125**, 171 [1938].

²⁴) J. G. Dewan u. D. E. Green, *Biochem. Journ.* **32**, 626 [1938].

²⁵) F. J. Ogston u. D. E. Green, *Biochem. Journ.* **29**, 1983 [1935]; O. Rosenthal, ebenda, **31**, 1710 [1937]; H. v. Euler u. H. Hellström, *Svensk kem. Tidskr.* **51**, 68 [1939]; H. v. Euler, H. Hellström, G. Günther, L. Elliot u. S. Elliot, *Ztschr. physiol. Chem.* **259**, 201 [1939].

²⁶) E. Haas, B. I. Horecker u. T. R. Hogness, *Journ. biol. Chem.* **130**, 425 [1939].

identisch mit Cozymase. Codehydrase II, die 1 Mol. Phosphorsäure mehr enthält, ist spezifisch auf die Dehydrase der Hexosemonophosphorsäure eingestellt. Aber auch zwischen diesen Überträgern und Cytochrom c ist nach den Untersuchungen von H. v. Euler²⁷⁾ und D. E. Green²⁸⁾ ein weiterer Vermittler eingeschaltet, die nach v. Euler so benannte Diaphorase. Soweit man sieht, bedürfen alle durch Cozymase komplettierten Systeme der Diaphorase, indessen auch die Bernsteinsäuredehydrase, die ohne Coferment wirkt. Ein vollständiges Reaktionsschema ist demnach folgendermaßen zu formulieren:

O₂ → Oxydase → Cytochrom → Diaphorase → Codehydrase → Dehydrase → Substrat.

F. B. Straub²⁹⁾ hat die aktive Gruppe der Diaphorase als ein Alloxazin-Nucleotid gekennzeichnet. Die von E. Haas³⁰⁾ entdeckte Diaphorase II wirkt mit der Codehydrase II zusammen, sie hat offenbar dieselbe prosthetische Gruppe wie Diaphorase I. In der oben erwähnten Tafel 2 vermindert sich also die Auswahl der mit dem Cytochrom c direkt reagierenden Substrate erheblich, die Diaphorase beherrscht die unmittelbare Reaktion mit dem Cytochrom. Im übrigen wird es sich nach den jeweils in der Zelle herrschenden lokalen Konzentrationsverhältnissen richten, inwieweit neben ihr andere Substrate bei der Reaktion mit Cytochrom zum Zuge kommen.

Mengenmäßig spielen zweifellos die Produkte des Kohlenhydratabbaus die Hauptrolle, sie sind die vorherrschenden Wasserstofflieferanten der Diaphorase. Auf Grund der Untersuchungen von Szent-Györgyi, Knoop und Martius und von Krebs kann man sich ein Bild vom Ablauf der anaeroben Phase des Kohlenhydratabbaues machen³¹⁾, das seinen Ausdruck in der Aufstellung des sogenannten C₄-dicarbonsäurecyclus und Citronensäurecyclus gefunden hat; wahrscheinlich greifen beide Abbauwege ineinander³²⁾. Als wesentliche Endprodukte treten dabei Äpfelsäure und Bernsteinsäure auf; als ein Hauptweg der Oxydase-Cytochromatmung dürfte also die durch die Diaphorase vermittelte Bernstein- und Äpfelsäuredehydrierung zu betrachten sein. Die unmittelbar mit dem Cytochrom in Zusammenhang stehenden Reaktionsphasen des Wasserstofftransports sind in Tafel 3 im einzelnen wiedergegeben. Am Cytochromeisen wird der aus dem anaeroben Teil der Zellatmung übernommene Wasserstoff endgültig zu Wasser oxydiert. Hier geht auch die bisher paarig verlaufende Dehydrierung in eine monovalente über. Wesentlich ist, daß das Cytochrom selbst nicht autoxydabel ist, sondern daß seine Oxydation dem sauerstoffübertragenden Ferment untersteht und damit auch der ganze hier einmündende Reaktionsweg.

²⁷⁾ E. Adler, H. v. Euler u. H. Hellström, Svensk Vet. Akad. Arkiv f. Kemi **12** B, 38 [1938]; H. v. Euler u. H. Hellström, Ztschr. physiol. Chem. **252**, 31 [1937].

²⁸⁾ D. E. Green, D. M. Needham u. J. G. Dewan, Biochem. Journ. **31**, 2327 [1937]; J. G. Dewan u. D. E. Green, ebenda, **32**, 626 [1938].

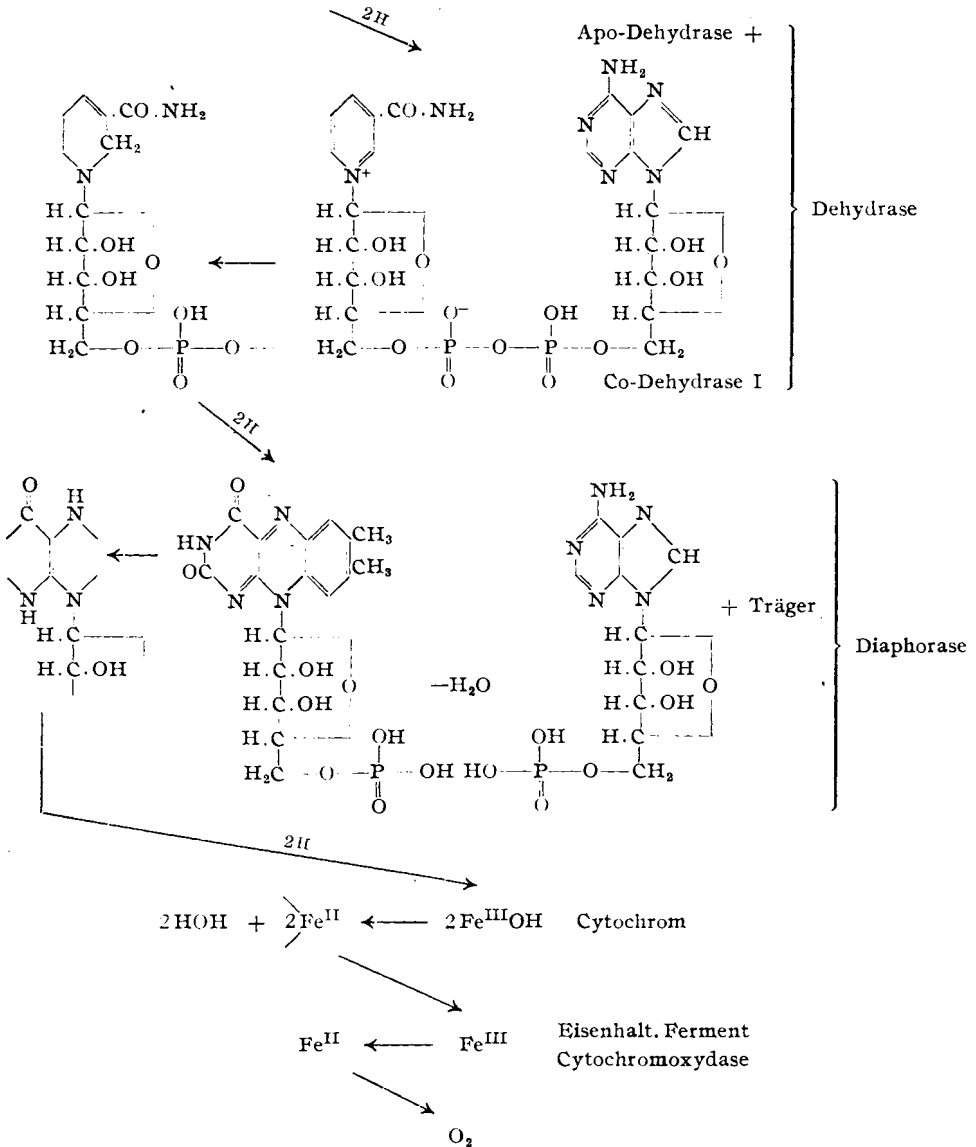
²⁹⁾ Biochem. Journ. **33**, 787 [1939]; H. S. Corran, D. E. Green u. F. B. Straub, ebenda, **33**, 793 [1939].

³⁰⁾ E. Haas, B. L. Horecker u. T. R. Hogness, Journ. biol. Chem. **137**, 1 [1940]; E. Adler, H. v. Euler, G. Günther u. M. Plass, Skand. Arch. Physiol. **82**, 61 [1939].

³¹⁾ S. die Zusammenfassungen von W. Franke, Angew. Chem. **53**, 580 [1940]; Chemie **56**, 55, 71 [1943].

³²⁾ H. A. Krebs, Biochem. Journ. **34**, 775 [1940].

Tafel 3.

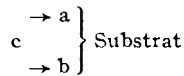


Wirkungsbereich und Leistung des Oxydase-Cytochromsystems.

Wie weit neben dem Cytochrom c auch die Komponenten a und b beteiligt sind, wurde durch Vergleich der Redoxpotentiale der drei Komponenten abzuschätzen versucht. Sie liegen für a bei +0,28, c +0,26 und b +0,04 Volt³³⁾. Die nächstliegende Annahme wäre, daß die Redoxsysteme

³³⁾ S. H. Theorell, Handbuch der Enzymologie, herausgeg. v. F. F. Nord u. R. Weidenhagen, Akad. Verlagsges., Leipzig 1940, S. 862.

der Komponenten in der Reihenfolge a, c, b hintereinandergeschaltet sind, bei der Ähnlichkeit der Potentiale von a und c ist aber auch eine Anordnung



denkbar. Das würde eine Verbreiterung des Aktionsbereiches bedeuten, wofür nach mehreren Befunden Anhaltspunkte bestehen. Jedenfalls wurde schon früher von E. Haas³⁴⁾ für die Hefe festgestellt, daß ihre ganze Atmung über Cytochrom c abläuft. Zu diesem Zweck wird das cytochromoxydierende Ferment durch Blausäure blockiert und die Geschwindigkeit der nunmehr unbeeinflussten Cytochrom-c-Reduktion spektrophotometrisch gemessen. Der daraus für die Zeiteinheit errechnete Substratumsatz ist praktisch gleich mit der manometrisch ermittelten Sauerstoffaufnahme. Es bleibt daher für einen anderen Atmungsweg als über Cytochrom c kein Raum. Aus den gemessenen Daten ergibt sich auch der anschauliche Begriff der Wechselzahl. Sie gibt an, wie oft am Cytochrom ein Valenzwechsel in der Minute stattfinden muß, um dem gemessenen Substrat- und Sauerstoffumsatz zu genügen. Für das Hefecytochrom wurden Werte bis zu 4000³⁵⁾ gefunden.

Oft ist die Frage gestellt worden, ob es außer der hämigesteuerten Atmung in gewissen Zellen auch noch andere Wege des aeroben Stoffwechsels gäbe. Meist hat man zur Entscheidung die Blausäurehemmung der Atmung herangezogen, weil Blausäure als spezifischer Hemmungsstoff der Oxydase gilt. Eine vollständige Hemmung der Atmung durch etwa $\frac{1}{1000}$ -mol. Blausäure würde bedeuten, daß die gesamte Atmung über das Oxydasesystem abläuft; ein verbleibender Atmungsrest würde noch auf einen anderen Weg der Oxydation schließen lassen. Folgt man Warburgs Argumenten³⁶⁾, so ist diese Möglichkeit zu verneinen. Die Gründe sind folgende: Der Entdecker der Blausäurewirkung, Claude Bernard³⁷⁾, hat gefunden, daß das Blut von Tieren, die mit Blausäure getötet worden sind, noch nach vielen Stunden hellrot ist, während das Blut auf andere Art getöteter Tiere schon wenige Minuten nach dem Tod bei der Obduktion violett ist. Es hat also bei Blausäurevergiftung keine Reduktion außerhalb des blausäureblockierten Fermenteisens stattgefunden, demgemäß bleibt auch eine Reduktion des Oxyhämoglobins völlig aus. Wenn trotzdem in Organschnitten in vitro blausäureunempfindliche Sauerstoffaufnahme beobachtet wurde wie von M. Dixon und K. A. C. Elliot³⁸⁾ oder B. Kisch³⁹⁾, so beruht das darauf, daß die Zellen teilweise nicht mehr intakt sind. „Bei der Zerstörung der Zelle werden die gelben Fermente von dem unlöslichen Eisensystem abgelöst, die Fermentkette wird dadurch zerrissen, und dann übertragen die gelben Fermente, die vorher mit dem Eisensystem verbunden waren, direkt Sauerstoff. Das aber ist kein physiologischer Vorgang.“

In gewissen Zellarten sind allerdings in geringem Ausmaß Nebenwege der Atmung möglich: So fand Warburg, daß in Bäckerhefe etwa 0.5%, in Essigbakterien 0.1% unter Umgehung des Eisensystems Sauerstoff veratmen können³⁵⁾.

³⁴⁾ Naturwiss. **22**, 207 [1934].

³⁵⁾ O. Warburg, Naturwiss. **22**, 441 [1934].

³⁶⁾ Z. Tl. nach Privatmittel. wörtlich angeführt.

³⁷⁾ Substances toxiques, Paris 1857.

³⁸⁾ Biochem. Journ. **23**, 812 [1929].

³⁹⁾ Biochem. Ztschr. **263**, 75 [1933].

Für die Beurteilung der quantitativen Zusammenhänge zwischen der gesamten Atmungsleistung verschiedener Zellarten und dem Oxydase-Cytochromsystem ist eine Kenntnis der Konzentration seiner Komponenten im Gewebe nötig. In letzter Zeit ist von A. Fujita⁴⁰⁾ in zahlreichen Geweben der Cytochrom-c-Bestand aufgenommen worden; einen Auszug aus diesen Daten bringt die Tafel 4. Da für die Bestimmung des Cytochrom extrahiert werden muß, um es der spektrophotometrischen Bestimmung zugänglich zu machen, können die Werte nur untere Grenzwerte darstellen.

Tafel 4. Cytochrom-c-Konzentration in verschiedenen Geweben nach Fujita.

		mg	%
Dunkelroter Muskel.....	„Katsuo“ (japan. Fischart)	83.00	
Roter Brustmuskel.....	Taube	69.90	
Herzmuskel	}	Rind	21.5
		Pferd	31.8
		Taube	54.6
		Rind	1.44
Niere (Rinde)	Rind	0.96	
Leber.....	Rind	fast 0	
Milz.....	Mensch	fast 0	
Plazenta	Kaninchen	2.69	
Brown-Pearce-Tumor.....	Maus	2.24	
Bushford-Krebs.....	Huhn	0.72	
Rous-Sarkom.....	Mensch	fast 0	
Uterusmyom			

Schwieriger ist es, über die Konzentration oder besser die maximale Leistungsfähigkeit der Cytochromoxydase Werte zu erhalten. E. Stotz⁴¹⁾ vergleicht die Sauerstoffaufnahme in Systemen, die das auf Oxydase zu untersuchende Gewebe in fein verteilter Form enthalten, außerdem im Überschuß Cytochrom c und Hydrochinon, so daß die Reaktion der Oxydase mit dem Luftsauerstoff zur begrenzenden Reaktion wird. Im allgemeinen ergibt sich zwischen den so zu erhaltenden Relativwerten der Oxydasewirksamkeit und der Cytochrom-c-Konzentration eine Parallele, wobei hier aber besonders auf die Möglichkeit der Oxydaseschädigung bei der Verwendung als Gewebessuspension hinzuweisen ist.

Ein Vergleich der Leistungsfähigkeit des rekonstruierten Oxydase-Cytochromsystems in vitro mit dem manometrisch ermittelten Gesamtsauerstoffverbrauch der Organe kann sich wegen fehlendem abgestimmten Zahlenmaterial nur auf wenige Beispiele erstrecken.

Aus einer Überschlagsrechnung, z. B. an der Rattenleber⁴²⁾, gewinnt man den Eindruck, daß im intakten Organ die Leistungsfähigkeit des Oxydationssystems nicht voll ausgenützt ist. Das würde bedeuten, daß die geschwindigkeitsbestimmende Reaktionsphase nicht im Ferment-Eisensystem liegt, sondern an irgendeiner anderen Stelle des gesamten Atmungsweges. Eine hohe Cytochromkonzentration muß demnach kein Anlaß zu hohem Sauerstoffumsatz sein, wohl aber wird man schließen müssen, daß in Fällen geringer Cytochromkonzentration nur ein geringer Sauerstoffumsatz möglich ist.

⁴⁰⁾ A. Fujita, T. Hata, J. Namata u. M. Ajisaku, Biochem. Ztschr. **301**, 376 [1939].

⁴¹⁾ Journ. biol. Chem. **131**, 555 [1939].

⁴²⁾ S. H. A. Krebs, Handbuch der Biochemie des Menschen und der Tiere, herausgeg. v. C. Oppenheimer, Erg.-Werk Bd. 1, Verlag G. Fischer, Jena 1933, S. 866.

Wenn einerseits angenommen werden muß, daß der gesamte Sauerstoffwechsel über Häminsysteme abläuft, so ist es andererseits bekannt, daß dieses nicht der einzige Weg der Energiegewinnung ist, sondern daneben die anaerob verlaufende Glykolyse, eine Spaltung des Zuckermoleküls in zwei Moleküle Milchsäure, besteht. Normalerweise tritt automatisch dieser Mechanismus in Funktion, wenn wegen mangelnden Sauerstoffangebotes die Atmung eingeschränkt wird. Manche Zellen bestreiten ihren Stoffwechsel vorwiegend durch Glykolyse, so Embryonalgewebe. Bei Tumorgewebe stellte bekanntlich Warburg schon vor längerer Zeit fest, daß sowohl die allgemeine Atmungsleistung als auch die Zurückdrängung der Glykolyse durch die Atmung gestört ist. Es liegt nahe, hier Zusammenhänge mit einer Degeneration des Oxydase-Cytochromsystems zu suchen. Tatsächlich ergeben sich in einigen Fällen Anhaltspunkte für eine solche Auffassung. v. Euler⁴³⁾ untersuchte im Verfolg einer solchen Fragestellung den Cytochrom-c-Gehalt des Jensen-Sarkoms und fand ihn, wie auch die Diaphorase als unmittelbares Substrat des Cytochroms c vermindert; man wird also darin die Ursachen einer verminderten Atmungsleistung suchen müssen. Auffallend ist auch ein von Stotz⁴¹⁾ festgestellter geringer Cytochrom-c-Gehalt in gewissen Rattentumoren. Eine einheitliche Linie läßt sich aber bis jetzt nicht auffinden; es sind andererseits Tumoren mit verhältnismäßig hohem Cytochrom-c-Gehalt beschrieben, wie auch aus den älteren Untersuchungen von R. Bierich⁴⁴⁾ hervorgeht, daß zwischen den von ihm untersuchten Tumoren und Normalgewebe kein wesentlicher Unterschied besteht. Daß in Substanz zugesetztes Cytochrom c bei Embryonal- und Tumorgewebe ohne Einfluß auf den Stoffwechsel ist, was von C. Silva-Lafrenz⁴⁵⁾ untersucht wurde, ist nicht überraschend, da eine Wirkung nur innerhalb der Zelle zu erwarten ist und eine Durchlässigkeit der Zellwand für Cytochrom c unwahrscheinlich ist. Man kann also nach dem bisher vorliegenden experimentellen Material den Stoffwechsel entarteten Gewebes nicht unter Verallgemeinerung einfach auf eine Unterfunktion des Oxydase-Cytochromsystems zurückführen, doch sind weitere systematische quantitative Untersuchungen in dieser Richtung, die sich aber auf die ganze Kette der oxydationskatalytischen Reaktionen erstrecken müssen, von großem Interesse. Es wäre wichtig festzustellen, wo die geschwindigkeitsbegrenzende Phase liegt, die den Anlaß zur Atmungs-minderung gibt.

Hier verdient noch ein Befund, der in andere Richtung weist, Beachtung: Nach einer Mitteilung von E. Klar⁴⁶⁾ zeigte sich, allerdings bislang nur an wenigen untersuchten Fällen besonders schwerer Herzstörungen, die schon vor dem letalen Ausgang standen, bei Injektion kleiner Cytochrom-c-Mengen eine rasch einsetzende Besserung des Zustandes mit weitgehender Ausschwemmung der Oedeme. Das im Selbstversuch eingesetzte Cytochrom verhielt sich völlig reaktionslos. Es ist schwer, vorläufig zur Deutung dieser Befunde Stellung zu nehmen. Der Autor denkt an eine mögliche Wirkung auf die Gehirnfunktion, aber auch an eine solche auf den Herzmuskel oder die gesamte intracelluläre Atmung. Die beiden letzten Möglichkeiten, die, soweit man sieht, eine Substitutionswirkung zur Voraussetzung hätten,

⁴³⁾ H. v. Euler u. H. Hellström, Ztschr. physiol. Chem. **255**, 159 [1938].

⁴⁴⁾ R. Bierich u. A. Rosenbohm, Ztschr. physiol. Chem. **155**, 249 [1926].

⁴⁵⁾ Ztschr. Krebsforsch. **48**, 532 [1939].

⁴⁶⁾ Klin. Wschr. **52**, 1216 [1941].

scheinen aber im Hinblick auf die relativ geringe Menge — es handelt sich um Dosen von 5 mg Reincytochrom — wenig wahrscheinlich. Auf alle Fälle erscheint aber die weitere Verfolgung dieser Beobachtungen geboten.

Man weiß, wie es häufig in der Fermentchemie der Fall ist, noch wenig über die letzten Auswirkungen des Biokatalysators auf den Gesamtorganismus. Andererseits sind die Umsetzungen des Cytochroms mit seinen unmittelbaren Reaktionspartnern gut bekannt, die Farbstoffnatur und die chemische Stabilität erleichtern die präparative Handhabung des Cytochroms c, und weiteren Fortschritten in der Synthese, wenigstens soweit sie die prosthetische Gruppe betrifft, stehen keine grundsätzlichen Schwierigkeiten entgegen. In diesen Umständen dürften fruchtbare Voraussetzungen liegen für die zu erstrebende Erforschung und experimentelle Beherrschung der Zusammenhänge zwischen den Cytochromfunktionen und übergeordneten Vorgängen des Organismus.