

u. U. sogar einfacherer Arbeitsmethoden rechtfertigen. Endlich ist der Preis für den Großeinsatz von Vulcollan von ausschlaggebender Bedeutung. In einer Zeit, in der Naturgummi sehr billig angeboten wird und in der drückende Bestimmungen auf der Industrie lasten, kann die Frage nach der Wirtschaftlichkeit noch nicht klar beantwortet werden<sup>34).</sup>

### Elastomere der Polyesterreihe anderen Aufbaus

Im In- und Auslande wurde seit 1938 über gummielastische Kunststoffe auf Polyesterbasis gearbeitet. Dabei muß man zwei Typen von Elastomeren unterscheiden. Die eine Arbeitsrichtung befaßt sich mit vernetzten Polyestern, die ohne Zusatz von Isocyanaten hergestellt sind, die andere verwendet dazu ebenfalls Diisocyanate<sup>34a).</sup>

Bei der Betrachtung der Estergummitypen ohne Isocyanate seien zunächst die Arbeiten von *Karl Wolf*, (I.G. Ludwigshafen) angeführt.

*Wolf* beschäftigte sich 1938–1940 recht eingehend mit Polyestern aus Dicarbonsäuren einerseits und Glykolen und 3-wertigen Alkoholen andererseits und beobachtete bereits, daß vernetzte Polyester aus Adipinsäure, Glykol und Glycerin Stoffe mit einer echten Kautschuk-Elastizität ergeben, wengleich auch derartige Massen, die zur Herstellung von Linoleum technisch Verwendung gefunden haben, keinerlei Festigkeit und Kerbzähigkeit aufweisen.

In einem ausführlichen Referat im Rahmen der wissenschaftlichen Kautschuk-Kommission der ehem. I.G.-Farbenindustrie am 22. 7. 1943 hat er sich eingehend mit den theoretischen Grundlagen dieses Phänomens auseinandergesetzt. Danach dürften, wenn es gelänge, derartige Polyester in ihrer Kettenlänge wesentlich zu verlängern und infolgedessen die Vernetzungsstellen auch in größeren Abständen zu halten, die mechanischen Eigenschaften derartiger Elastomeren gesteigert werden. Seine Voraussagen sind durch unsere Arbeiten über das Vulcollan weitgehend bestätigt.

In den Laboratorien der Bell Telephone Comp. wurden Arbeiten über Polyester unternommen, welche geringe Mengen an ungesättigten Komponenten enthalten. Es wurde z. B. ein Äthylenglykol-Sebacinsäure-Polyester entwickelt, welcher bis zu 3% Maleinsäure einkondensiert enthält<sup>35).</sup> Dieses Material läßt sich durch Erhitzen mit Benzoylperoxyd zu einem vernetzten Kunststoff mit gummielastischen Eigenschaften umsetzen. Dabei werden anscheinend zwischen den einzelnen linearen Polyesterketten C–C-Bindungen geknüpft<sup>36).</sup> Das erhaltene Material

<sup>34)</sup> Die anwendungstechnischen Arbeiten zur Entwicklung des Vulcollans wurden von der Lack- und Kunststoffprüfstelle und von dem Kautschuk-Zentrallaboratorium Leverkusen (Leitung: *E. Konrad*) weitgehend gefördert. Es waren hieran vor allem die Herren: *A. Höchlein* und *H. Pfeffer*, später *E. Weinbrenner* und *C. Mühlhausen* beteiligt.

<sup>34a)</sup> S. auch diese Ztschr. 59, 269 [1947]; Lit.-Zitate 75–80.

<sup>35)</sup> *B. S. Biggs, R. H. Erickson, C. S. Fuller*, Ind. Chem. Engng. 39, 1090 [1947].

<sup>36)</sup> *W. O. Baker*, J. Amer. Chem. Soc. 69, 1125 [1947].

ist unter dem Namen Paracone in den Handel gekommen. Durch Füllung mit Calciumcarbonat oder Eisenoxyd lassen sich die mäßigen mechanischen Eigenschaften verbessern. Es werden Reißfestigkeiten bis 130 kg/cm<sup>2</sup> angegeben. Technische Bedeutung haben diese Produkte anscheinend nicht erlangen können.

Wichtiger sind die mit Diisocyanaten modifizierten Polyester. Neben den beschriebenen deutschen Produkten, dem I-Gummi und dem Vulcollan wurden in Amerika und England Elastomere auf dieser Grundlage entwickelt. Die Firma DuPont besitzt ebenfalls ein Patent<sup>37)</sup> über die Umsetzung von Polyester und Polyesteramiden mit Diiso-(thio)-cyanaten im Überschuß, wobei „kreuzweise gebundene Polymere“ entstehen sollen. Die oben beschriebene Bedeutung des Wassers bei dieser Vernetzungsreaktion wurde nicht erkannt, da „vorzugsweise in Abwesenheit von Sauerstoff und Feuchtigkeit gearbeitet werden soll“. Hauptsächlich wurde im Ausland wohl mit Polyesteramiden gearbeitet.

DuPont und die J. C. J. verwenden z. B. Polyesteramide aus Adipinsäure, Äthylenglykol und Monoäthanolamin. Der auf ein Mol-Gewicht von 5000 vorkondensierte Ester wird mit der theoretischen Menge eines Diisocyanates verlängert, und das noch lineare Gebilde in einer getrennten Stufe vernetzt. Dazu verwendet man Formaldehyd oder Formaldehyd-abgebende Mittel, Bichromate oder auch Polyisocyanate. Der Formaldehyd greift an den Amid-Resten der Amidester ein. Der vernetzte Kunststoff ohne bemerkenswerte Strukturfestigkeit trägt den Namen „Vulcaprene“ und dient zur Gewebeimprägnierung, zum Kleben und Lackieren<sup>38).</sup>

Neuerdings sind auch gummielastische Produkte aus Polyestern von di- bzw. polymerisiertem Sojabohnenöl beschrieben worden, welche mit Diisocyanaten umgesetzt wurden<sup>39).</sup>

Die mechanischen Eigenschaften unseres Materials werden von diesen Typen bei weitem nicht erreicht. Durch FIAT-Berichte wurden unsere Ergebnisse teilweise im Ausland veröffentlicht<sup>40).</sup>

Zur gegebenen Zeit werden wir über die weiteren Erkenntnisse und Fortschritte dieses Gebietes und die von uns entwickelten theoretischen Grundlagen sowie über die anwendungstechnischen Arbeiten berichten.

Eintrag am 22. Oktober 1949.

[A 237]

<sup>37)</sup> *E. Christ u. E. Hanford*, Am. P. 2333639 v. 2. 6. 1940 (DuPont). Vgl. auch <sup>38)</sup>.

<sup>38)</sup> I.C.I.-Patente: *D. H. Coffey, I. G. Cook, W. H. Lake* E. P. 574134 (v. 26. 10. 1942); *W. F. Smith, J. M. Buist, D. A. Harper, G. N. Welding E. P. 581143* (v. 21. 12. 1942); *W. F. Furness, L. E. Perrins*, E. P. 581144 (v. 10. 2. 1943); *D. H. Coffey, G. H. White*, E. P. 581146 (v. 25. 6. 1943); *W. F. Smith, G. H. White, D. A. Harper*, E. P. 585083 (v. 28. 2. 1945); s. auch *D. A. Harper, W. F. Smith, H. G. White*, Proc. of the Second Rubber Technologie Conference 1948, S. 61–68 und E. P. 585205; DuPont: *G. T. Vaala, C. E. Frank*, Am. P. 2422271 [1943].

<sup>39)</sup> *J. C. Cowan u. Mitarb.*, Ind. Engng. Chem. 41, 1647 [1949].

<sup>40)</sup> The Rubber Industry in Germany, British Intelligence Objectives Overall Report No. 7, BIOS Final Report No. 1166 (Interrogation vom August 1946; CIOS File XXV–34; s. auch Modern Plastics 1945, 152 J.

## Die Verbrennung der Fettsäuren im tierischen Organismus

Von Prof. Dr. F. L. BREUSCH, z. Chemisches Institut der Universität Istanbul, Türkei\*).

Die verschiedenen möglichen Wege des Fettsäurenabbaues,  $\beta$ -,  $\alpha$ - und  $\alpha$ ,  $\gamma$ -Oxydation, 9,10-Dehydrerierung, der Abbau durch Lipoxydase, die  $\omega$ - sowie die alternierende  $\beta$ -Oxydation und die Abbauwege der mittleren und höheren Fettsäuren werden dargestellt. Aus dem Tricarboxylsäurecyclus und dem Zusammenwirken von Zucker- und Fettverbrennung ergibt sich die Gesamtbilanz des Fettsäurestoffwechsels.

### 1) Einleitung

Es gibt fünf Experimentalstufen der Untersuchung des Umsatzes einer Substanz im tierischen Körper: 1) Fütterungsversuche am ganzen Tier; 2) Durchströmungsversuche an überlebenden Einzelorganen, 3) Bebrütungsversuche eines Substrats mit überlebenden Gewebeabschnitten oder mit Gewebebrei; 4) Bebrütung eines Substrats mit extraktiv angereicherten Enzymsystemen; 5) Quantitative Untersuchung der Substratsveränderung mit Lösungen reiner krystallisierten Enzyme.

Während die Biochemie des Zucker- und Aminosäure-Stoffwechsels teilweise schon bei Stufe 4 und 5 angekommen ist, ist

\* Nach einem auf der deutschen Physiologentagung im Oktober 1948 in Frankfurt gehaltenen Vortrag.

die Biochemie des Fettsäurestoffwechsels bis vor wenigen Jahren nicht über Stufe 1 und 2 gediehen.

Die Gründe liegen darin, daß im Gegensatz zu den Substraten des Zucker- und Aminosäure-Stoffwechsels die Substrate des Fettsäurestoffwechsels wasserunlöslich sind. Will man für die Versuche nicht undefinierte kolloidale künstliche Fettemulsionen oder ebenso undefinierbare Phosphatid-Suspensionen verwenden, so muß man die Gewebebebrütung mit wasserlöslichen Natriumsalzen der Fettsäuren ausführen, die aber in Gewebeabschnitten oder in Gewebebrei nur langsam durch die Zellwände zu den Enzymen diffundieren und außerdem (wenigstens bei höheren Seifen) schon in kleiner Konzentration wegen Oberflächenspannungs-Änderungen Störungen der Enzymproteine verursachen.

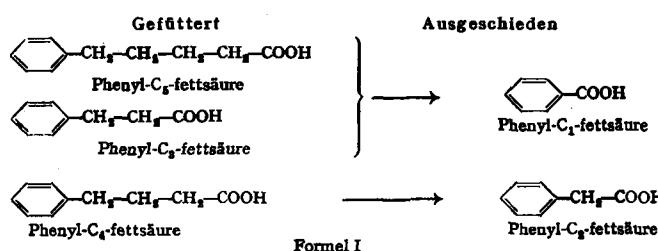
Man mußte einen Kompromiß schließen und mit mittleren Fettsäuren, etwa  $C_8$ , arbeiten, deren Na-Salze noch nicht giftig wirken und noch leicht wasserlöslich sind.

Ein weiterer Fortschritt in der Aufklärung der Biochemie des Zellstoffwechsels der Fettsäuren trat aus diesen Gründen erst ein, nachdem es gelungen war, als Zwischenabbauprodukte der Fettsäuren wasserlösliche Produkte wie Acetessigsäure festzustellen.

## 2) Die bisher bekannten, Fettsäure angreifenden Enzymsysteme

### a) $\beta$ -Oxydation

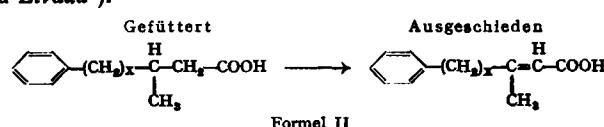
Die ersten klassischen Grundlagen des Fettsäurestoffwechsels wurden vor 45 Jahren von dem vor zwei Jahren gestorbenen Franz Knoop<sup>1)</sup> gelegt. Er zeigte durch Fütterungsversuche an Hunden, daß Fettsäureketten, deren Paraffin-Ende durch Phenyl-Gruppen schwer verbrennbar gemacht worden war, als Fettsäuren mit (um 2 C oder 4 C oder eine andere gerade Zahl von C) verkürzter Kette ausgeschieden werden.



Knoop gründete darauf seine Theorie der  $\beta$ -Oxydation. Er nahm an, daß in  $\beta$ -Stellung erst eine Hydroxyl- oder Keto-Gruppe oxydativ eingeführt wird. Hydrolytische Spaltung der  $\beta$ -Ketofettsäuren zwischen dem zweiten und dritten C-Atom der Kette sollte zu einer um 2 C kürzeren Fettsäure und zu einem unbekannten 2 C-Bruchstück, vermutlich Essigsäure führen. Da enzymatische Mechanismen zur weiteren Verbrennung der Essigsäure bis vor kurzem nicht bekannt waren, das vermutete Zwischenprodukt Oxalsäure sogar giftig ist, wurde die Idee nicht weiter verfolgt.

Als ähnlicher Mechanismus war auch eine  $\alpha,\beta$ -Dehydrierung der Fettsäurekette mit nachträglicher Anlagerung von  $H_2O$  unter Bildung einer  $\beta$ -Oxyfettsäure vermutet worden<sup>2)</sup>. Diese Theorie ist unwahrscheinlich, da es bis jetzt weder gelang, Enzyme der  $\alpha,\beta$ -Dehydrierung, noch solche der  $\alpha,\beta$ -Wasseranlagerung nach Analogie der Fumarase und Aconitase aufzufinden. Die umgekehrte Reaktion, Anlagerung von 2 H an  $\alpha,\beta$ -Doppelbindungen findet dagegen nach Versuchen von F. G. Fischer<sup>3)</sup> und von R. Kuhn<sup>4)</sup> in vielen lebenden Zellen statt und hat vermutlich eher eine Funktion in der Biosynthese als im Abbau der Fettsäuren.

Die einzige bisher nachgewiesene  $\alpha,\beta$ -Dehydrierung ist die Überführung verfütterter  $\beta$ -Methyl- $\omega$ -phenylfettsäuren in  $\alpha,\beta$ -ungesättigte  $\beta$ -Methyl- $\omega$ -phenyl-fettsäuren nach einer vorläufigen Mitteilung von Carter, Osman, Levine, Gamm<sup>5)</sup>, und nach Kuhn und Livada<sup>6)</sup>.

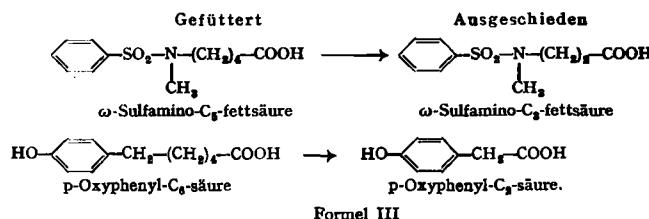


Es kann nicht ausgeschlossen werden, daß diese Säuren aus einer primär entstandenen  $\beta$ -Oxysäure durch Wasserabspaltung entstanden sind.

Die Versuche Knoops über die  $\beta$ -Oxydation sind inzwischen von vielen Nachuntersuchern mit anderen Fettsäuren, deren Paraffin-Kettenenden durch schwer verbrennliche Gruppen blockiert waren, bestätigt worden, so aus den Schulen von

<sup>1)</sup> F. Knoop, Hoffm. Beiträge 6, 150 [1904]; vgl. auch P. Ohlmeyer, „Probleme des Zwischenstoffwechsels. Gedenkblatt für Franz Knoop“, diese Ztschr. 60, 29 [1948].  
<sup>2)</sup> G. Quagliariello, diese Ztschr. 46, 370 [1934].  
<sup>3)</sup> Ebenda, 63, 461 [1940].  
<sup>4)</sup> R. Kuhn, F. Koehler, L. Koehler, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 242, 17 [1936].  
<sup>5)</sup> J. biol. Chemistry 128, XIII [1939].  
<sup>6)</sup> Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 220, 235 [1933].

Thomas<sup>7)</sup>, Flaschenträger<sup>8)</sup>, Bernhard<sup>9)</sup>, Raper<sup>10)</sup> und anderen.



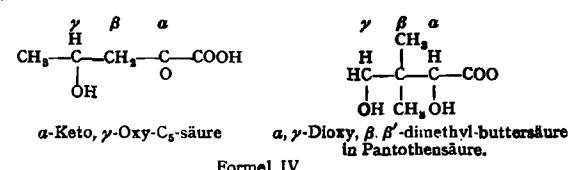
Nach Thaler und Mitarbeitern<sup>11, 12)</sup> verwandelt *Penicillium glaucum* sowohl höhere  $\beta$ -Oxyfettsäuren, als auch  $\alpha,\beta$ -ungesättigte Fettsäuren über  $\beta$ -Ketofettsäuren unter  $CO_2$ -Abspaltung in die um 1 C-Atom kürzeren Methylketone.  $\alpha$ -Methylfettsäuren geben Atiylketone;  $\beta$ -Methylfettsäuren bleiben unangegriffen<sup>13)</sup>.

Alle diese Fütterungsversuche bestätigen die  $\beta$ -Oxydation, sagen aber nichts über den eigentlichen Mechanismus, den Ort der Fettverbrennung im Tierkörper oder das Schicksal der 2 C-Bruchstücke. Dazu kommt, daß bisher kein einziges der bei der  $\beta$ -Oxydation höherer Fettsäuren beteiligte Enzyme isoliert oder auch nur nachgewiesen werden konnte. Nur Lang<sup>14)</sup> stellte fest, daß Präparate von  $\beta$ -Oxybuttersäure-dehydrogenase auch höhere  $\beta$ -Oxy-fettsäuren bis  $C_9$  oxydieren. Breusch und Tulus<sup>14)</sup> zeigten, daß im Thunberg-Versuch Hungerkatzenleber  $\beta$ -Oxyfettsäuren bis  $C_{14}$  oxydiert.

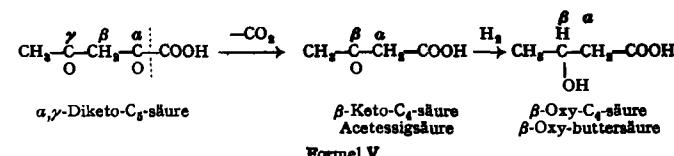
### b) $\alpha$ und $\alpha,\gamma$ -Oxydation

Theorien, die  $\alpha$ -Oxydation der Fettsäuren vermuteten, sind unwahrscheinlich, da  $\alpha$ -Oxy- und  $\alpha$ -Ketofettsäuren im Gewebe (Leber) durch oxidative Decarboxylierung in ungeradzahlige Fettsäuren übergehen, die bisher in lebenden Geweben kaum gefunden wurden. Dagegen ist von Klenk<sup>15)</sup> und von Chibnall, Piper, Williams<sup>16a)</sup> im Phrenosin eine ungesättigte  $\alpha$ -Oxy-te-tracosansäure, Oxynervensäure, gefunden worden.

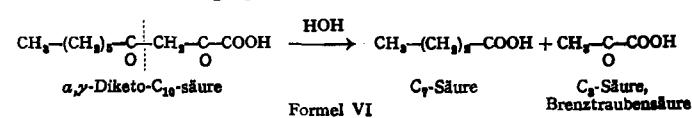
Eine Theorie, daß Fettsäuren in  $\alpha$ - und  $\gamma$ -Stellung oxydiert werden, wurde von Witzemann<sup>16)</sup> aufgestellt. Bis jetzt hat sich keine experimentelle Unterlage finden lassen, obwohl in der Natur  $\alpha,\gamma$ -Oxy- und Ketofettsäuren vorkommen. So haben Fosdick und Rapp<sup>17)</sup> aus *Staphylococcus albus*  $\alpha$ -Keto- $\gamma$ -oxy-pentansäure isoliert, während  $\alpha,\gamma$ -Dioxy- $\beta,\beta'$ -dimethyl-buttersäure ein Bestandteil der Pantothenäure ist.



Krebs und Johnson<sup>18)</sup> konnten zeigen, daß  $\alpha,\gamma$ -Diketo-pentansäure durch Leber und Muskel teilweise in  $\beta$ -Oxybuttersäure und Acetessigsäure übergeht, was Lehninger<sup>19)</sup> bestätigte.



Neuerdings zeigten Meister und Greenstein<sup>20)</sup>, daß die von Breusch und Keskin<sup>21)</sup> synthetisierten höheren  $\alpha,\gamma$ -Diketofettsäuren in Leber leicht zu Brenztraubensäure und einer um 3 C kürzeren Fettsäure gespalten werden.



<sup>7)</sup> K. Thomas, H. Schotte, ebenda 104, 141 [1919].  
<sup>8)</sup> B. Flaschenträger, F. Peters, K. Watanabe, E. Beck, P. Halle, ebenda 150, 258, 261, 278, 287 [1926].  
<sup>9)</sup> K. Bernhard, E. Vischer, Helv. Chim. Acta, 29, 929 [1946].  
<sup>10)</sup> H. S. Raper, E. J. Wayne, Biochem. J. 22, 188 [1928].  
<sup>11)</sup> H. Thaler, G. Geiss, Biochem. Z. 302, 369 [1939].  
<sup>12)</sup> H. Thaler, W. Eisenlohr, ebenda 308, 88 [1941].  
<sup>13)</sup> Tagung Dtsch. Ges. f. Fettwissenschaft, Münster, Sept. 1949.  
<sup>14)</sup> Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 277, 114 [1942].  
<sup>15)</sup> Enzymologia 11, 352 [1944].  
<sup>16)</sup> Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 186, 268 [1927].  
<sup>16a)</sup> Biochem. J. 30, 100 [1936]. <sup>18)</sup> Adv. Enzymology 2, 265 [1942].  
<sup>17)</sup> Arch. Biochemistry 1, 379 [1943]. <sup>19)</sup> Biochem. J. 31, 772 [1937].  
<sup>19)</sup> J. biol. Chemistry 148, 393 [1943]. <sup>20)</sup> Ebenda 175, 573 [1948].  
<sup>21)</sup> Enzymologia 11, 356 [1944].

Trotzdem widerspricht die Theorie der  $\alpha, \gamma$ -Oxydation allen bisher bekannten Ergebnissen, die alle auf die  $\beta$ -Oxydation hindeuten; schon deswegen, weil bei diesem Abbau ungeradzahlige Fettsäuren entstehen müssten, die in natürlichen Quellen praktisch nicht vorkommen; abgesehen von den niedrigen ungeradzahligen Fettsäuren  $C_3$  und  $C_5$ , die aus Aminosäuren stammen. Dagegen scheint es nicht ausgeschlossen, daß die  $\alpha, \gamma$ -Diketofettsäuren eine Rolle in der Biosynthese der Fette spielen, falls die Formel VI reversibel ist.

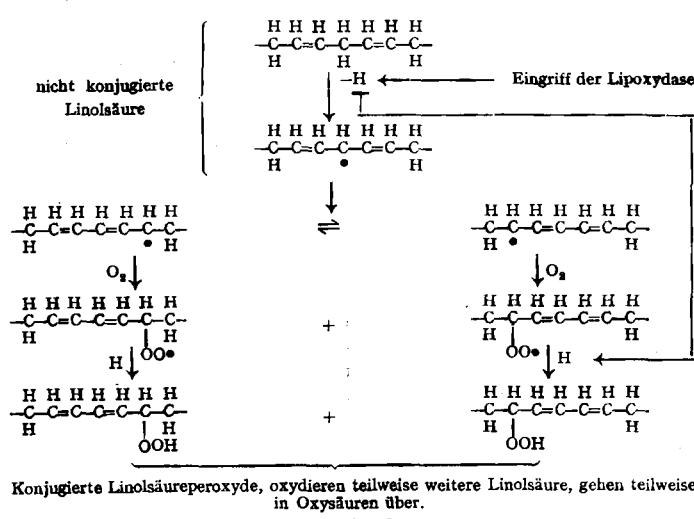
### c) 9,10-Dehydrierung

Eine weitere Vermutung, daß die enzymatische Dehydrierung der Fettsäuren, die von *Lang* und *Mayer*<sup>22)</sup> als ausschließliche 9,10-Dehydrierung festgestellt wurde, ein einleitender Mechanismus des Abbaus der Fettsäuren sei, ist unwahrscheinlich, da nach dem oxydativen Aufbrechen der Fettsäurekette zwischen dem 9ten und 10ten C-Atom die im Körper schwer verbrennliche und großenteils im Urin ausgeschiedene Azelainsäure ( $C_9$ -Dicarboxylsäure) entstehen müßte. Das ist aber nach Fütterung von großen Mengen Triolein nach *Verkade* und *van der Lee*<sup>23)</sup> nicht der Fall. Zudem bleibt nach *Annau*, *Eperjessy*, *Felszeghy*<sup>24)</sup> die Gewebsoxydation der Stearinsäure bei Ölsäure stehen, die nicht mehr direkt weiter oxydiert wird (s. a. *Franke*<sup>25)</sup>).

*Bernhard*<sup>26)</sup> fand weiter, daß Deuterium enthaltende Dicarboxylsäure Azelainsäure ( $C_9$ ), die zum großen Teil unverbrannt wieder ausgeschieden wird, bei gemeinsamer Fütterung mit nicht deuterium-haltiger Ölsäure nach der Körperpassage genau den gleichen Deuterium-Gehalt hatte, wie die verfütterte. Das schließt aus, daß sie im intermediären Stoffwechsel mit normaler Azelainsäure verdünnt wurde, was der Fall hätte sein müssen, wenn die Kette der Ölsäure in 9,10-Stellung gesprengt worden wäre.

### d) Lipoxydinasen

Die Lipoxydinasen endlich, die hauptsächlich in Pflanzen vorkommen (*Strain*<sup>27)</sup>, *Süllmann*<sup>28)</sup>), aber auch in Muskeln, oxydieren nur unkonjugiert doppelt ungesättigte Fettsäuren, wie Linolsäure. Lipoxydase aus *Soja* konnte von *Theorell*, *Holman*, *Åheson*<sup>29)</sup> krystallisiert erhalten werden. Sie ist erstaunlicherweise ein metallfreies Protein. Die verwinkelte chemische Reaktionsfolge ist durch *Bergström*<sup>30)</sup> und *Holman*<sup>31)</sup> aufgeklärt worden<sup>32)</sup>. (Zusammenfassung bei *Frank*<sup>22a)</sup>).

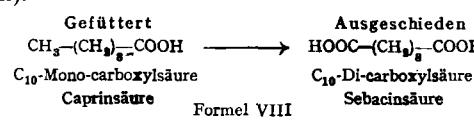


9,10-Dehydrierung und Lipoxydase-Aktion sind keine Abbaumechanismen der Fettsäuren. Sie sind nicht zur wesentlichen Reaktion imstande, die Fettsäurekette zu spalten und zu verkürzen.

- <sup>22)</sup> Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 262, 120 [1939].
- <sup>23)</sup> Proc. Kon. Akad. Wetensch. Amsterdam 37, 109 [1934].
- <sup>24)</sup> Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 277, 58 [1942].
- <sup>25)</sup> Diese Ztschr. 60, 252 [1948].
- <sup>26)</sup> Helv. Chim. Acta 24, 1412 [1941].
- <sup>27)</sup> J. Amer. Chem. Soc. 63, 3542 [1941].
- <sup>28)</sup> Helv. Chim. Acta 24, 1360 [1941].
- <sup>29)</sup> Arch. Biochemistry 14, 250 [1947].
- <sup>30)</sup> Arkiv. Kemi. Mineral. Geol. A, 21, No. 15 [1945].
- <sup>31)</sup> Arch. Biochemistry 15, 403 [1947].
- <sup>32)</sup> S. Bergström, R. T. Holman, Adv. Enzymology 8, 425 [1948].
- <sup>33)</sup> Fette u. Seifen, Sondernummer z. Tagung d. Dtsch. Ges. f. Fettwissenschaft. Münster 1949.

### e) $\omega$ -Oxydation

Ein vollkommen neuer Weg der biologischen Fettsäureverbrennung schien 1932 von *Verkade* und *van der Lee*<sup>23)</sup> gefunden worden zu sein, die fanden, daß Fettsäuren der Kettenlänge  $C_9$ ,  $C_{10}$ , und  $C_{11}$  bei der Körperpassage zu etwa 1–2% durch Oxydation der Endmethyl-Gruppe der Paraffinkette zur Carboxyl-Gruppe als Dicarboxylsäuren im Urin ausgeschieden werden ( $\omega$ -Oxydation).



*Verkade* und seine Schule gründeten darauf eine Theorie, daß der normale biologische Fettsäureabbau über  $\omega$ -Oxydation verlaufe. *Verkades* Versuchsergebnisse wurden von vielen Seiten bestätigt, von *Flaschenträger*<sup>34)</sup>, *Bernhard*<sup>35)</sup>, *Kuhn*<sup>36)</sup>, *Keil*<sup>37)</sup>, *Thomas*<sup>38)</sup> und ihren Mitarbeitern.

Trotzdem konnte *Bernhard*<sup>39)</sup> schließlich beweisen, daß die  $\omega$ -Oxydation nichts mit der normalen Fettsäureoxydation zu tun hat. Wenn Fettsäuren stufenweise durch  $\beta$ -Oxydation verbrannt werden, muß als Zwischenstufe Caprinsäure und daraus die Dicarboxylsäure  $C_{10}$ , Sebacinsäure auftreten. Verfütterte Sebacinsäure wird zu 20–40% unverändert wieder im Urin ausgeschieden (*Flaschenträger*<sup>40)</sup>). *Bernhard* verfütterte deuterium-haltige Dicarboxylsäuren mit genau bekanntem Deuterium-Gehalt. Wenn intermediär nach der  $\beta$ -Oxydationstheorie Fettsäuredicarboxylsäuren als Zwischenprodukt im Stoffwechsel normaler, nicht deuterierter Fettsäuren auftreten, so muß der Deuterium-Gehalt der wieder ausgeschiedenen deuterierten Dicarboxylsäuren kleiner sein als der der verfütterten. Tatsächlich haben nach *Bernhard* die ausgeschiedenen Dicarboxylfettsäuren genau den gleichen Deuterium-Gehalt wie die verfütterten; sie sind also nicht durch intermediär entstandene verdünnt worden. Damit ist die  $\omega$ -Oxydation, die überhaupt nur für die mittleren Fettsäuren festgestellt wurde, als genereller Fettsäureabbau-mechanismus unwahrscheinlich geworden.

Als Ort der  $\omega$ -Oxydation der Fettsäuren ist die Leber anzusehen, da nach *Emmrich*<sup>41)</sup> bei Leberparenchymenschäden bis 70% verfütterter Sebacinsäure wieder im Urin erscheinen, gegen nur 20–40% beim Lebergesunden; der Rest verbrennt.

Verzweigte Fettsäuren, wie sie in synthetischen Fettsäuren aus Fischer-Gatsch-Paraffinen zu etwa 15% vorkommen, bei denen die in der Leber vor sich gehende Kettenoxydation sterisch behindert ist, unterliegen leichter und in höherer Ausbeute der  $\omega$ -Oxydation nach *Verkade*, als gewöhnliche unverzweigte Fettsäuren. So wird Geraniunsäure großenteils als  $\omega$ -oxydierte Hildebrandsäuren ausgeschieden (*Kuhn*, *Livada*<sup>42)</sup>). Mit radioaktivem Brom markierte Fettsäuren gehen im Körper nach Fütterung rasch in Depots und in den Stoffwechsel über, verzweigte dagegen nur langsam (*Buu-Hoi*, *Berger*, *Daudel*, *May*, *Mignet*<sup>43)</sup>). Vor allem verzweigte Äthylfettsäuren geben hohe Ausbeuten an Dicarboxylsäuren (*Keil*<sup>43</sup>), *Thomas*, *Weitzel*<sup>44)</sup>). Sie werden nur wenig ins Depotfett eingelagert. (*Appel*, *Böhm*, *Keil*, *Schiller*<sup>44)</sup>)

Alkylsubstituierte Bernsteinsäuren werden im Körper ebenfalls teilweise  $\omega$ -oxydiert; daneben wird viel Bernsteinsäure ausgeschieden (*Bernhard*, *Linke*<sup>45</sup>); *Thomas*, *Weitzel*, *Neumann*<sup>46)</sup>)

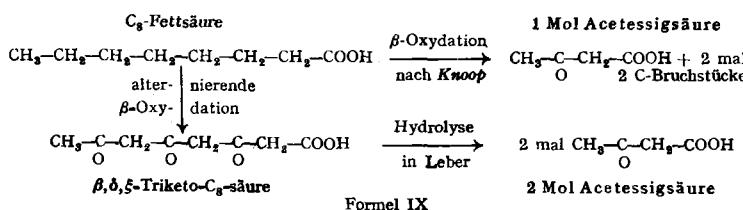
Eine mehr physikalisch-chemische Theorie der  $\omega$ -Oxydation, die auch das Phänomen berücksichtigt, daß ein anderer Angriffsmechanismus auf die Fettsäurekette, die 9-10 Dehydrierung, ebenfalls am neunten und zehnten C-Atom der Fettsäure vor sich geht, ist aufgestellt worden<sup>47)</sup>. Ihre Darstellung überschreitet den Rahmen dieses Aufsatzes.

- <sup>23)</sup> Proc. Kon. Akad. Wetensch. Amsterdam 36, 251 [1932]; 36, 3 [1933]; 37, 109 [1934]; *P. E. Verkade, J. van der Lee u. A. J. S. Alphen, Hoppe-Seylers physiol. Chem.* 282, 163 [1938].
- <sup>24)</sup> Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 240, 19 [1936].
- <sup>25)</sup> Ebenda 246, 133 [1937]; 256, 49 [1938].
- <sup>26)</sup> Ebenda 247, 197 [1937]. <sup>27)</sup> Ebenda 274, 175 [1942].
- <sup>28)</sup> Dtsch. Med. Wschr. 71, 18 [1946].
- <sup>29)</sup> Helv. Chim. Acta, 24, 1412 [1941].
- <sup>30)</sup> Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 189, 297 [1926].
- <sup>31)</sup> Dtsch. Arch. Klin. Med. 187, 504 [1941].
- <sup>32)</sup> Helv. Chim. Acta 29, 1334 [1946].
- <sup>33)</sup> Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 274, 175 [1942]; 276, 26 [1944]; 282, 137 [1947].
- <sup>34)</sup> Ebenda 282, 220 [1947]. <sup>45)</sup> Helv. Chim. Acta 30, 1457 [1946].
- <sup>35)</sup> Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 282, 192 [1947].
- <sup>36)</sup> F. L. Breusch, Adv. Enzymology 8, 343 [1948].

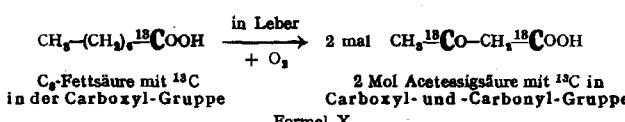
## f) Alternierende $\beta$ -Oxydation

Die Konsequenzen der *Bernhardschen* Versuche gehen weiter, als dem bloßen Widerspruch gegen die *Verkadesche* Theorie entspricht. Sie machen es wahrscheinlich, daß mittlere Fettsäuren im biologischen Fettsäureabbau überhaupt nicht auftreten, wie sie bei Gültigkeit der klassischen *Knoopschen* Theorie der  $\beta$ -Oxydation auftreten müßten. Dann ist aber auch die Theorie der  $\beta$ -Oxydation, die einen gleichmäßigen stufenweisen Abbau der höheren Fettsäuren über alle geradzahligen Fettsäuren zwischen  $C_{18}$  und  $C_8$  vorsieht, in dieser Form unwahrscheinlich.

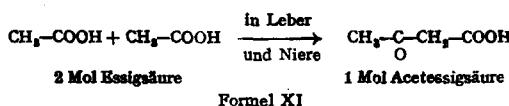
Nachdem schon *Magnus-Levy*<sup>48</sup> 1899 vermutete, daß die Fette die Hauptquelle der im Körper gebildeten Keton-Körper darstellen, stellte *Hurtley* 1916<sup>49</sup> auf Grund des beträchtlichen Ketonbildungsvermögens der Leber die Theorie auf, daß neben der normalen  $\beta$ -Oxydation eine alternierende  $\beta$ -Oxydation stattfinde; so, daß in der Fettsäurekette an jedem zweiten C-Atom eine Keto-Gruppe eingeführt würde. Die entstandene Polyketofettsäure sollte dann in soviel Acetessigsäure-Molekülen zerfallen, als die Gliederzahl der Fettsäure durch 4 teilbar war. Diese Theorie wurde, da experimentelle Beweise zu dieser Zeit nicht gegeben werden konnten, wieder vergessen. Erst zwanzig Jahre später konnten *Jowett* und *Quastel*<sup>50</sup> zeigen, daß bei Bebrütung von überlebenden Leberschnitten mit Octansäure nicht, wie nach der *Knoopschen* Theorie zu erwarten war, eine Molekel Acetessigsäure, sondern zwei Moleküle gebildet wurden.



Diese Versuche wurden von *Blixenkrone-Möller*<sup>51</sup>, von *Lehninger*<sup>52</sup>, außerdem von *Weinhouse*, *Medes*, *Floyd*<sup>53</sup> bestätigt. Letztere stellten beim Arbeiten mit einer Octansäure, die in der Carboxyl-Gruppe isotopen  $^{14}\text{C}$  enthielt, fest, daß der  $^{14}\text{C}$  in der gebildeten Acetessigsäure nicht nur in der Carboxyl-Gruppe, sondern auch in der Carbonyl-Gruppe enthalten war. Sie vermuteten daher, daß die nach der *Hurtleyschen* Theorie gebildeten Polyketofettsäuren nicht direkt zu Acetessigsäure, sondern primär zu  $C_4$ -Bruchstücken gespalten werden, die in der Leber sofort wieder zu Acetessigsäure rekondensiert werden. Diese Ergebnisse wurden von *Buchanan*, *Sakami*, *Gurin*, *Wilson*<sup>50</sup> bestätigt, die außerdem quantitativ feststellten, daß die Carboxyl-Gruppe etwa 50 % mehr  $^{14}\text{C}$  enthielt, als die Carbonyl-Gruppe.



Schon vorher war durch eine große Zahl von Untersuchern festgestellt worden, daß Leber und Niere Essigsäure rasch zu Acetessigsäure kondensieren<sup>51, 54-59</sup>.



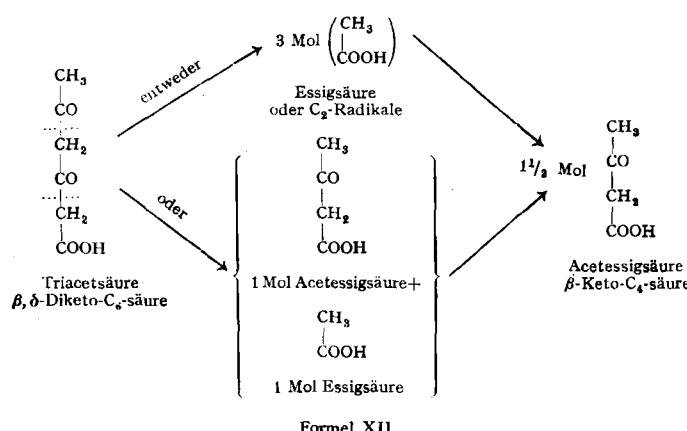
Diese Reaktion, von der man zuerst annahm, daß sie zu einem reversiblen Bildungs-Zerfallsgleichgewicht in der Leber führt, ist

- <sup>48</sup>) Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **42**, 149 [1899]; **45**, 389 [1901].  
<sup>49</sup>) Quart. J. Med. **9**, 301 [1916].  
<sup>50</sup>) Biochemic. J. **29**, 2159, 2181 [1935].  
<sup>51</sup>) Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **252**, 117, 137 [1938].  
<sup>52</sup>) J. biol. Chemistry **161**, 437 [1946].  
<sup>53</sup>) Ebenda **155**, 143 [1944]; **157**, 35 [1945]; **158**, 411 [1945].  
<sup>54</sup>) G. Embden, A. Loeb, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **83**, 246 [1913].  
<sup>55</sup>) E. Friedmann, Biochem. Z. **55**, 436 [1913].  
<sup>56</sup>) E. M. Mackay, A. N. Wick, C. P. Barnum, J. biol. Chemistry **130**, 503 [1940].  
<sup>57</sup>) W. C. Stadie, J. A. Stadie, F. D. Lukens, ebenda **137**, 63, 75 [1941].  
<sup>58</sup>) E. M. Swenseid, R. H. Barnes, A. Hemingway, A. O. Nier, ebenda **142**, 47 [1942].  
<sup>59</sup>) G. Medes, S. Weinhouse, N. F. Floyd, ebenda **157**, 35, 751 [1945].

nach *Buchanan* und Mitarbeitern<sup>50</sup>) irreversibel, da Acetessigsäure mit  $^{14}\text{C}$  in Carboxyl und Carbonyl-Gruppe, mit gewöhnlicher Essigsäure und Leberschnitten bebrütet, keine  $^{14}\text{C}$ -Essigsäure bildet, wie das bei einem enzymatischen Gleichgewicht der Fall sein müßte. Wahrscheinlich steht jedoch nicht Essigsäure, sondern ein kompliziertes Anhydrid aus Essigsäure mit einer noch unbekannten Phosphorsäure im enzymatischen Gleichgewicht mit Acetessigsäure (*Kaplan, Lipmann*<sup>60a</sup>).

Die Polyketofettsäure  $\beta, \delta, \xi$ -Triketo- $C_8$ -säure, die nach Formel IX auftreten muß, ist synthetisch nicht zugänglich, so daß sie nicht in Bebrütungsversuchen untersucht werden kann; Versuche, die nötig waren, um festzustellen, ob das hypothetische Zwischenprodukt von Leberenzymen überhaupt weiter umgesetzt wird.

Durch Benutzung der bekannten nächstniedrigen Polyketosäure, der  $\beta, \delta$ -Diketo-hexansäure (Triacetsäure) konnten *Breusch* und *Ulusoy*<sup>61</sup> zum Ziel kommen. Krystallisierte Triacetsäure liegt als inneres Enol-lacton vor und ist deshalb stabiler als Acetessigsäure, verhält sich aber im biologischen Versuch wie eine  $\beta, \delta$ -Diketosäure. In der Leber ließ sich ein spezifisches Enzymsystem auffinden, das  $\beta, \delta$ -Diketo-hexansäure rasch und quantitativ in Acetessigsäure überführt (Umsatzkapazität 3-5 mg/g Leber  $\times$  h).



Dabei entstehen zwischen 1 und 1,3 Mol Acetessigsäure, die als Aceton-dinitro-phenylhydrazone rein isoliert werden konnten. Damit ist es wahrscheinlich geworden, daß ev. entstandene alternierende  $\beta$ -oxydierte Polyketofettsäuren in der Leber zuerst hydrolytisch entweder in 2 C-Bruchstücke zerfallen, oder daß die  $C_6$ -Kette in ein Mol Acetessigsäure und ein Mol Essigsäure (oder ein 2 C-Radikal nach *Martius*) auseinanderbricht, mit nachfolgender Rekondensation der Essigsäure zu  $1\frac{1}{2}$  Mol Acetessigsäure. Das würde vielleicht auch das von *Bloch*<sup>61a</sup>) betonte nicht qualitativ, aber quantitativ verschiedene Verhalten der 2 C-Bruchstücke aus D-Fettsäuren und aus D-Brenztraubensäure in der Acetylierung fremder Amine in der Leber erklären. Möglich ist auch eine Erklärung, daß bei der alternierenden  $\beta$ -Oxydation alle nicht wegoxydierten Wasserstoffatome der Fettsäurekette enolisierbar und damit gegen Körper-H austauschbar geworden sind, während das bei der Oxydation der Brenztraubensäure nicht der Fall ist, so daß im ersten Fall deuterium-freie, im zweiten Fall deuterium-haltige Acetyl-Gruppen entstehen.

Die Versuche müssen auf höhere Polyketofettsäuren ausgedehnt werden, für die eine Synthese erst gefunden werden muß.

Das Interessante an diesem Enzymsystem, das in der Leber in großen Mengen vorhanden ist, ist die Tatsache, daß es in anderen Organen wie Muskel und Hirn fehlt, in der Niere nur in geringerem Maß vorkommt. Dieser Umstand ist wichtig; es ist nachher darauf zurückzukommen. Es scheint so wahrscheinlich, daß die Leber bei den höheren Fettsäuren durch einfache  $\beta$ -Oxydation, bei den mittleren und niedrigen durch alternierende  $\beta$ -Oxydation die Fettsäuren über phosphorylierte

<sup>50</sup>) Ebenda **169**, 411 [1947].

<sup>50a</sup>) Ebenda **176**, 459 [1948].

<sup>51</sup>) Arch. Biochemistry **14**, 183 [1947].

<sup>51a</sup>) Physiologic. Rev. **27**, 574 [1947].

2 C-Bruchstücke in Acetessigsäure verwandelt und in wasserlöslicher Form dem peripheren, eigentlich energieverbrauchenden Stoffwechsel von Muskel und Niere präsentiert.

Leber selbst hat praktisch nur eine geringe Fähigkeit, Acetessigsäure oder  $\beta$ -Oxybuttersäure weiter abzubauen<sup>62-67</sup>). Acetessigsäure ist das erfaßbare Endprodukt der Fettsäureoxydation in der Leber. Überlebende Leber, mit Deuteriumaceton bebrütet, synthetisiert daraus eine geringe Menge D-Cholesterin und wenig D-Essigsäure (Borek, Rittenberg<sup>67a</sup>).

Die Spaltungsreaktion der Triacetsäure wurde von Witter und Stotz<sup>67b</sup>) bestätigt. Die Autoren stellten aus dem bisher allein bekannten, recht stabilen Enollacton der Triacetsäure die zersetzbare freie Triacetsäure (Fp. 29-31°) her und fanden, daß sie von Leber noch schneller als Triacetsäurelacton gespalten wird.

Das kettenspaltende Ferment ist vermutlich identisch mit einem von Meister und Greenstein<sup>67c</sup>) aus der Leber isolierten System, das die von Breusch und Keskin<sup>67d</sup>) hergestellten höheren 2,4-Diketo-fettsäuren in Brenztraubensäure und n-3-Fettsäuren spaltet (Formel VI). Meister<sup>67e</sup>) trennte das Triacetsäure-lacton hydrolyzierende, und das Triacetsäure spaltende Ferment durch Zentrifugieren von Leberhomogenaten. Das erste Enzym ( $p_H$ -Optimum 6,2) geht in den Bodensatz; das zweite ( $p_H$ -Optimum 7,2) bleibt im überstehenden. Gleiche Resultate fanden Connors und Stotz<sup>67f</sup>).

Zentrifugerversuche von Kennedy und Lehninger<sup>67g</sup>) zeigten, daß fast die ganze Aktivität der enzymatischen Fettverbrennung in den Mitochondrien konzentriert ist.

Nach persönlicher Mitteilung von Stotz ist es ihm gelungen, aus Leber Fraktionen zu isolieren, die zwar aus Hexansäure noch Ketonkörper bilden, aber Triacetsäure nicht abbauen. Danach würden, soweit von den niederen Fettsäuren überhaupt Rückschlüsse auf den Abbau höherer Fettsäuren zulässig sind, in der Leber eventuell zwei verschiedene Mechanismen des Fettsäure-abbaus nebeneinander vorliegen: die klassische  $\beta$ -Oxydation und die alternierende  $\beta$ -Oxydation.

### g) Abbauweg der mittleren und der höheren Fettsäuren

Nur die mittleren Fettsäuren  $C_6$ ,  $C_8$ ,  $C_{10}$  geben bei der Bebrütung mit Leberschnitten große Mengen Acetessigsäure, die höheren,  $C_{12}$  bis  $C_{18}$  abnehmend weniger.

Nur die mittleren Fettsäuren  $C_6$  bis  $C_{11}$  geben bei der Körperpassage teilweise  $\omega$ -oxydierte Dicarboxylsäuren nach Verkade. Weder in normalem noch in pathologischem Harn sind bis jetzt jemals Dicarboxylsäuren aufgefunden worden. Nach den vorhin erwähnten Experimenten von Bernhard mit deuterium-markierten Dicarboxyl-fettsäuren  $C_6$ ,  $C_8$  und  $C_{10}$ , deren Deuterium-Gehalt sich bei Körperpassage nicht ändert, können die mittleren Fettsäuren  $C_6$  und  $C_{10}$  im normalen biologischen Fettabbau nicht in nennenswerter Menge als Zwischenstufen auftreten. Für sie gilt, wenigstens in der Leber, nicht mehr der Knoopsche Abbau der einfachen  $\beta$ -Oxydation. Sie werden, wie in Formeln IX bis XII auseinandergesetzt, wahrscheinlich über Polyketofettsäuren in Acetessigsäure übergeführt.

Dem entspricht auch die vielfach untersuchte Tatsache, daß verfütterte mittlere Fettsäuren unter  $C_{12}$  nicht in die Fettdepots des Körpers eingebaut werden, das heißt im Gegensatz zu höheren Fettsäuren, die in die Depots wandern, rasch verbrannt werden.

<sup>62</sup> J. Snapper, A. Grünbaum, Biochem. Z. 185, 223 [1927]; 201, 464, 473 [1928].

<sup>63</sup> W. Griesbach, Z. ges. exp. Med. 69, 123 [1928].

<sup>64</sup> N. Blixenkrone-Möller, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 253, 261 [1938].

<sup>65</sup> A. Mirsky, Nelson, Grayman, J. biol. Chemistry 130, 179 [1939].

<sup>66</sup> H. J. Deuel Jr., L. F. Hallman, P. O. Greeley, J. W. Butts, N. Halliday, ebenda 133, 173 [1940].

<sup>67</sup> G. Ehrlich, H. Waelch, ebenda 163, 195 [1946].

<sup>67a</sup> J. biol. Chemistry 179, 843 [1949].

<sup>67b</sup> Ebenda 176, 485, 501 [1948].

<sup>67c</sup> Ebenda 176, 573 [1948].

<sup>67d</sup> Enzymologia 11, 356 [1945].

<sup>67e</sup> J. biol. Chemistry 178, 577 [1949].

<sup>67f</sup> Ebenda 178, 881 [1949].

<sup>67g</sup> Ebenda 179, 957 [1949].

den<sup>68-75, 108b</sup>). Sie unterliegen somit wahrscheinlich einem anderen Abbaumechanismus als die hohen Fettsäuren.

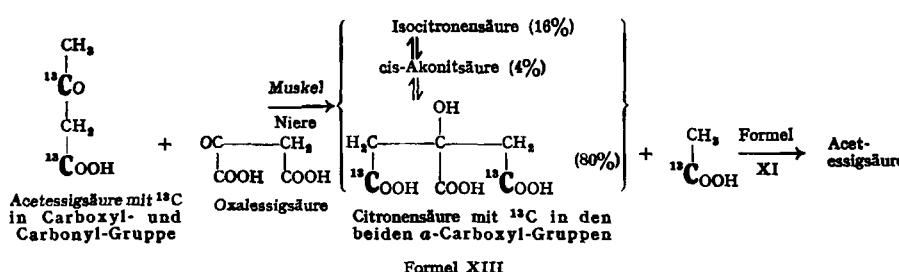
Anders verhalten sich die hohen Fettsäuren. Sie werden vom Tierkörper nur einfach  $\beta$ -oxydiert, um 2 C verkürzt und ebenso leicht um 2 C verlängert. Das geht aus Versuchen von Schoenheimer und Rittenberg<sup>76</sup>) hervor, die nach Verfütterung von D-Stearinsäure ( $C_{18}$ ) im Depotfett D-Palmitinsäure ( $C_{16}$ ) fanden; weiter aus Versuchen von Bernhard und Vischer<sup>77</sup>), die nach Verfütterung von D-Behensäure ( $C_{22}$ ) im Depotfett D-Stearinsäure ( $C_{18}$ ) fanden.

Der biochemische Abbau der Fettsäuren in der Leber ist deshalb auch in der Leber wahrscheinlich so zu verstehen, daß die höheren Fettsäuren zuerst rein  $\beta$ -oxydativ um je 2 C verkürzt werden. Hat die Kettenlänge einmal  $C_{12}$  oder  $C_{10}$  erreicht, so tritt in der Leber mit großer Geschwindigkeit alternierende  $\beta$ -Oxydation ein, so daß die Stufe der mittleren Fettsäuren nicht nennenswert durchlaufen wird, wie es die Theorie der reinen  $\beta$ -Oxydation verlangt hatte.

Der Fettsäureabbau bis zur  $C_2$ -Stufe bzw. bis zur  $C_4$ -Stufe der Acetessigsäure, findet fast ausschließlich in der Leber statt. In der Acetessigsäure, in Mischung mit ihrem enzymatischen Reduktionsprodukt, der  $\beta$ -Oxybuttersäure liegen etwa  $\frac{1}{2}$  der Verbrennungsenergie der ursprünglichen Fettsäuren in leicht wasserlöslicher und durch Zellwände diffundierbarer Form vor.

### 3) Rolle des Tricarboxylsäure-Cyclus im Fettsäureabbau

Vor 6 Jahren entdeckte Breusch<sup>78</sup>), daß in peripheren Geweben, vor allem in Muskel und Niere, ein starkes Enzymsystem existiert, das in geringer Ausbeute hohe  $\beta$ -Ketofettsäuren, in großer Ausbeute  $\beta$ -Ketobuttersäure, Acetessigsäure, mit einer aus dem intermediären Zuckerstoffwechsel stammenden Säure, Oxalessigsäure, zu Citronensäure oder einer der damit nach Martius und Knoop<sup>79</sup>) enzymatisch im Gleichgewicht stehenden Säuren, Isocitronensäure  $\rightleftharpoons$  cis-Aconitsäure kondensiert. Unabhängig davon wurde die Kondensationsreaktion von Acetessigsäure mit Oxalessigsäure in Niere in Gegenwart von Barium-Ionen von Wieland und Rosenthal<sup>80</sup>) fast gleichzeitig gefunden. Die enzymatisch gebildete Citronensäure wurde sowohl von Wieland und Rosenthal als auch von Breusch und Keskin<sup>81</sup>) in Substanz isoliert. Weinhouse, Medes und Floyd<sup>82</sup>) prüften auf Anregung des Verf. die enzymatische Kondensationsreaktion



unter Verwendung von  $^{13}\text{C}$ -Acetessigsäure. Sie fanden, daß die  $\alpha$ -Carboxyl-Gruppen der dann in Substanz isolierten Citronensäure  $^{13}\text{C}$  enthielten.

Die Ausbeute an  $^{13}\text{C}$ -Carboxyl-citronensäure ist nur 40-70% und nicht 100% des theoretisch zu erwartenden. Denn daneben wird gleichzeitig nach einer von Ochoa<sup>83</sup>) entdeckten Reaktion durch reversible enzymatische Addition von  $\text{CO}_2$  an  $\alpha$ -Ketoglutaräure etwa 30% Citronensäure gebildet, die am  $\alpha$ -Carboxyl frei von  $^{13}\text{C}$  ist, bei der nach Leberbebrütung von  $\alpha$ -Ketoglutaräure mit  $^{13}\text{CO}_2$ , das Isotope  $^{13}\text{C}$  nur an der sekundären Carboxylgruppe sitzt.

<sup>68</sup> R. E. Davis, J. biol. Chemistry 88, 67 [1930].

<sup>69</sup> M. Powell, ebenda 89, 547 [1930].

<sup>70</sup> W. M. Cox Jr., 103, 777 [1933].

<sup>71</sup> R. H. Hughes, E. J. Wimmer, ebenda 108, 141 [1935].

<sup>72</sup> H. J. Channon, G. N. Jenkins, J. A. B. Smith, Biochemic. J. 31, 41 [1937].

<sup>73</sup> R. Schoenheimer, J. biol. Chemistry 119, IXXXVII [1937].

<sup>74</sup> H. E. Longenecker, T. P. Hilditch, Biochemic. J. 32, 784 [1938].

<sup>75</sup> H. E. Longenecker, J. biol. Chemistry 130, 167 [1939].

<sup>76</sup> Ebenda 120, 155 [1937].

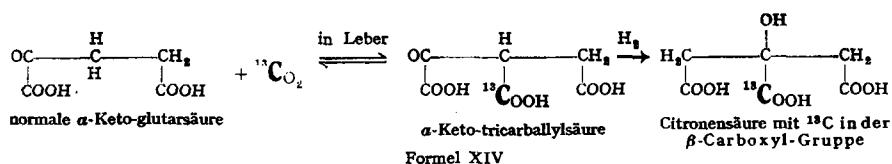
<sup>77</sup> Helv. Chim. Acta 29, 929 [1946].

<sup>78</sup> Science [New York] 87, 490 [1943].

<sup>79</sup> Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 246, 1 [1937]; 247, 104 [1937]; 257, 29 [1938].

<sup>80</sup> Liebigs Ann. Chem. 554, 241 [1943]. <sup>81</sup> Enzymologia 11, 243 [1944].

<sup>82</sup> J. biol. Chemistry 166, 691 [1946]. <sup>83</sup> Ebenda 159, 243 [1945].



Die von Krebs und Johnson<sup>84</sup>) nach einer Idee von Knoop und Martius<sup>85</sup>) aus einer angeblichen enzymatischen Kondensation von Brenztraubensäure und Oxalessigsäure entstandene „Citronensäure“ erwies sich als ein Kunstprodukt (wahrscheinlich Glyoxylcitramalsäure), die nach eingehenden Isolierungsversuchen von Breusch<sup>86</sup>) nicht mit Citronensäure identisch ist. Krebs war einem Irrtum über die Spezifität der Citronensäure-Mikrobestimmungsmethode nach Pucher, Sherman, Vickery<sup>87</sup>) zum Opfer gefallen. Die Methode ist nicht beweisend für die Anwesenheit von Citronensäure<sup>88</sup>). Nur Isolierung in Substanz ist beweisend.

Das kondensierende Enzymsystem wurde ohne Kenntnis der Einzelmechanismen Citrogenase genannt, weil als Hauptprodukt Citronensäure entsteht. Es ist ganz in den Mitochondrien der Zellen konzentriert und braucht Phosphat und  $Mg^{2+}$ <sup>89a</sup>). Citronensäure steht an dem in allen Organen in großer Menge vorkommenden Enzym Aconitase (Martius, Knoop<sup>89</sup>) mit cis-Aconitsäure und Iso-citronensäure im Gleichgewicht, so daß bis jetzt nicht definitiv entschieden werden konnte, welche von den Säuren primär entsteht (s. Formel XIII).

Das Enzymsystem Citrogenase kommt in relativ großer Menge in Niere und Muskel, in geringer Menge in Hirn, und fast gar nicht in Leber vor. Das ist insofern interessant, als umgekehrt die Enzymsysteme, die Fettsäuren in alternierender  $\beta$ -Oxydation in Acetessigsäure überführen, in der Leber in großer Menge vorkommen, dagegen in Niere fast und Muskel vollkommen fehlen.

In einer vorläufigen Mitteilung teilen Stern und Ochoa<sup>89b</sup>) mit, daß sie aus Taubenacetontrockenleber Fraktionen extrahieren konnten, die Essigsäure mit Oxalessigsäure direkt zu Citronensäure kondensieren. Zusatz von Adenosin-triphosphat,  $Mg^{2+}$  und einem neuen Faktor „Coenzym A“ ist nötig. In frischen Lebersuspensionen läßt sich die Reaktion nicht in nennenswertem Umfang nachweisen. Da die von Stern und Ochoa verwendeten Extrakte keine Aconitase mehr enthielten, muß direkt Citronensäure entstanden sein, wie das Breusch auch für die eigentliche Oxalessigsäure-Acetessigsäurekondensation annahm, und nicht cis-Aconitsäure, wie Krebs vermutete.

Wenn diese Angaben stimmen, dann gibt es zwei enzymatische Systeme, die Citronensäure bilden; eines, das nach Formel XII aus Acetessigsäure und Oxalessigsäure Citrat bildet, und ein zweites, das aus Essigsäure und Oxalessigsäure direkt Citrat bildet, wie es schon Arbeiten aus dem Wielandschen Institut von Sonderhoff und Lynen<sup>89c,d,e</sup>) für Hefe gezeigt hatten.

### Das Zusammenwirken von Zucker- und Fettverbrennung

Brenztraubensäure ist im tierischen Gewebe, besonders im Muskel das Endprodukt des glykolytischen Zerfalls der Kohlehydrate nach Meyerhof, Embden, Neuberg, Parnas und Cori. Brenztraubensäure wird in der Leber nicht, wie in Hefe, durch Gärung zu Acetaldehyd decarboxyliert, sondern oxydativ zu Essigsäure resp. Acetylphosphat abgebaut<sup>84,89,91</sup>). Essigsäure ist in der Leber aber auch das Hauptabbauprodukt der Fettsäuren.

<sup>84</sup>) Biochem. J. 31, 645 [1937].

<sup>85</sup>) Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 242, 1 [1936].

<sup>86</sup>) Adv. Enzymology 8, 395 [1948].

<sup>87</sup>) J. biol. Chemistry 113, 235 [1936].

<sup>88</sup>) F. L. Breusch, R. Tulus, Biochimica Biophysica Acta 1, 77 [1947].

<sup>89a</sup>) G. Kainitsky, J. biol. Chemistry 179, 1015 [1949].

<sup>89b</sup>) Ebenda 179, 491 [1949].

<sup>89c</sup>) Liebigs Ann. Chem. 499, 213 [1932].

<sup>89d</sup>) R. Sonderhoff u. H. Thomas, ebenda 530, 195 [1937].

<sup>89e</sup>) F. Lynen, N. Nechulka, ebenda 541, 203 [1939].

<sup>89f</sup>) S. Gurin, A. M. Della, D. W. Wilson, J. biol. Chemistry 171, 101 [1947].

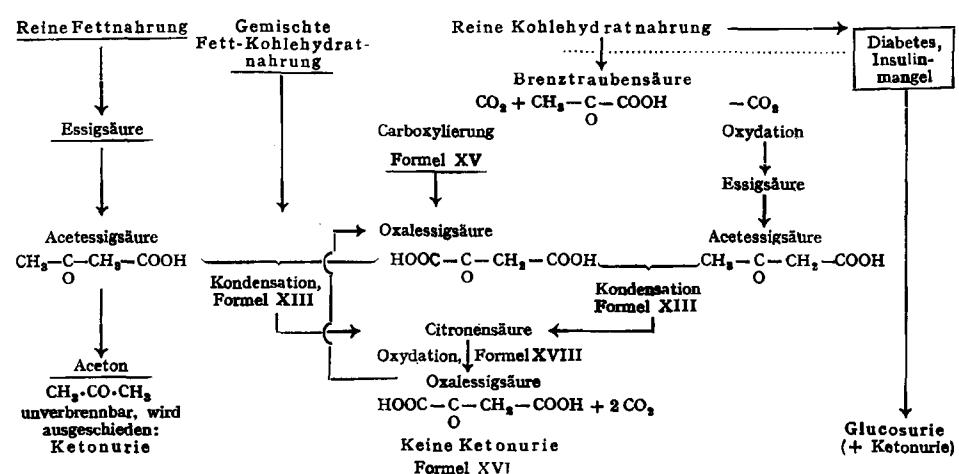
Essigsäure oder in *statu nascendi*, ein  $C_2$ -Radikal, wie Marius vermutet<sup>90</sup>), kondensiert sich in Leber rasch zu Acetessigsäure<sup>91</sup>). Nach diesem Mechanismus wird auch die Brenztraubensäure über den Tricarboxylsäure-Cyclus abgebaut; anders als Krebs und Eggleston<sup>93</sup>) angenommen hatten.

In der Acetessigsäure treffen sich die Hauptabbaulinen der Fettsäuren und Zucker. Acetessigsäure ist im Körper als solche fast unverbrennlich. Erst durch die Oxalessigsäure wird sie über die Kondensation zu Tricarboxylsäuren verbrennbar (Formel XII).

Oxalessigsäure ihrerseits entsteht sowohl in Bakterien, wie auch in Leber nach der enzymatischen Wood-Werkman-Kondensation<sup>92-95</sup>) durch Addition von  $CO_2$  an Brenztraubensäure.



Fehlt die nur aus der Kohlehydratspaltung, nicht aber aus der Fettsäurespaltung entstehende Brenztraubensäure, so kann intermedial keine Oxalessigsäure entstehen und die aus dem Fettsäurestoffwechsel entstehende Acetessigsäure kann nicht verbrannt werden; sie wird so, neben ihrem Reduktionsprodukt,  $\beta$ -Oxybuttersäure und ihrem spontanen Decarboxylierungsprodukt, Aceton, im Urin ausgeschieden. Es tritt die Erscheinung der Ketonurie auf.



Diese Annahme klärt eine Reihe von schon lang bekannten klinischen Erscheinungen der Fettsäureketonurie von Hungertieren, die durch Kohlehydrate unterdrückt werden können.

Füttert man an Hungertiere geradzahlige Fettsäuren, so kommt es zur Ketonurie, da die nur via Glucose-Brenztraubensäure gebildete, zur Entfernung der Acetessigsäure via Tricarboxylsäure-Cyclus nötige Oxalessigsäure nicht genügend gebildet werden kann.

Ganz anders verhalten sich ungeradzahlige Fettsäuren<sup>96-102</sup>). Bei ihnen bleibt auch bei Hungertieren als letztes Bruchstück der Fettsäurekette nach der alternierenden  $\beta$ -Oxydation eine Molekül Propionsäure übrig, die als einzige  $\alpha$ -oxydierbare Fettsäure über Milchsäure  $\rightarrow$  Brenztraubensäure nach Formel XV in Oxalessigsäure übergeht<sup>103-105</sup>), so daß die Verfütterung

<sup>90</sup>) Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 279, 96 [1943].

<sup>91</sup>) K. A. C. Elliott, F. H. Elliott, J. biol. Chemistry 127, 457 [1939].

<sup>92</sup>) H. Wood, C. H. Werkman, Biochem. J. 38, 1262 [1938].

<sup>93</sup>) Ebenda 34, 1383 [1940].

<sup>94</sup>) E. Evans, B. Vennestrand, L. Slotin, J. biol. Chemistry 147, 771 [1943].

<sup>95</sup>) M. Utter, H. Wood, ebenda 164, 445 [1946].

<sup>96</sup>) G. Embden, Kalberlah, Salomon, Schmidt, Hoffmeisters Beitr. 8, 121, 129 [1906].

<sup>97</sup>) G. Embden, Marx, ebenda 11, 318 [1908].

<sup>98</sup>) G. Embden, A. Loeb, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 88, 246 [1913].

<sup>99</sup>) G. Embden, Isaac, ebenda 99, 297 [1917].

<sup>100</sup>) H. J. Deuel Jr., L. F. Hallman, J. S. Butts, S. Murray, J. biol. Chemistry 146, 621 [1936].

<sup>101</sup>) L. F. Leloir, J. M. Muñoz, Biochem. J. 33, 743 [1939].

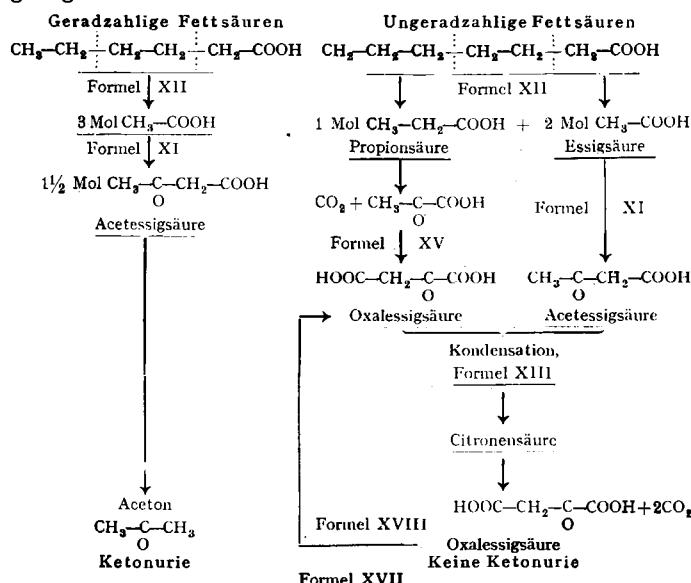
<sup>102</sup>) H. G. Kralnick, Klin. Wschr. 19, 803 [1940].

<sup>103</sup>) A. I. Ringer, J. biol. Chemistry 12, 514 [1912].

<sup>104</sup>) J. Greenwald, ebenda 16, 375 [1914].

<sup>105</sup>) L. Blum, Worringen, Bull. Soc. Chim. biol. 2, 8 [1920].

ungeradzahliger Fettsäuren an Hungertiere nicht oder nur zu geringer Ketonurie führt.



In ihrem Stoffwechselverhalten am normalen, gemischt ernährten Tier, der Verbrennbarkeit, Stapsefähigkeit in Fettdocks und in ihrem Verhalten gegen Lipasen sind geradzahlige und ungeradzahlige Fettsäuren praktisch identisch<sup>108-108b</sup>.

Ahnlich ist wahrscheinlich die Ketonurie der Diabetiker zu erklären. Wie durch Untersuchungen von *Gemmill*<sup>109</sup>, *Colowick, Cori, Stein*<sup>110</sup>, *Verzdr, Wenner*<sup>111</sup>, *Riesser*<sup>112</sup> u. a. gezeigt wurde, liegt die Hauptstörung des diabetischen Insulinmangels in der Verhinderung der Glucose-phosphorylierung im Muskel, so daß Glucose aus dem Blut nicht genügend phosphorolytisch zu Milchsäure-Brenztraubensäure aufgespalten wird und deshalb im Urin ausgeschieden werden muß. Beim Diabetes scheinen auch noch andere Störungen vorzuliegen, so daß selbst bei gebil-

deter Brenztraubensäure aus dieser vorzugsweise oxydativ nach Formel XVI (siehe reine Kohlehydratdiät) Essigsäure-Acetessigsäure gebildet wird, während die Bildung der Oxalacetatsäure durch Carboxylierung nach Formel XV ungenügend ist. Eine Diskussion der vielen sekundären, auch hormonalen Komplikationen siehe bei *Markees*<sup>113</sup>.

### 5) Gesamtbilanz des Fettsäurestoffwechsels und Zusammenarbeit der Körperorgane

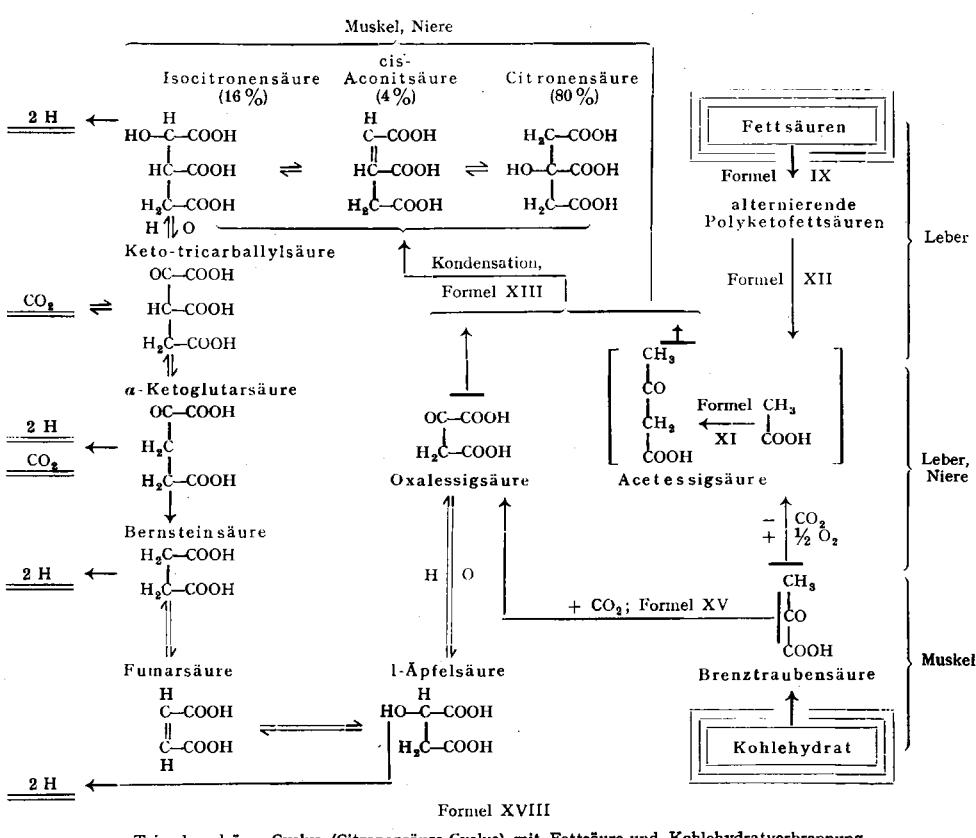
Im peripheren Muskelgewebe findet nach *Cuthbertson*<sup>114</sup>, *Griesbach*<sup>116</sup> und *Heilesen*<sup>118</sup> praktisch keine direkte Fettverbrennung statt. Das einzige Organ, das Fettsäuren in größerem Umfang bis zur Acetessigsäure verbrennt, ist die Leber.

Periphere Organe, wie Muskel und Niere verbrennen in der Hauptsache das primäre Umwandlungsprodukt der Fettsäuren in der Leber, die Acetessigsäure über den Citronensäure-Cyclus. Die Hauptrolle in der Citronensäure-Synthese haben die Muskeln (*Stoppani*<sup>118a</sup>).

Im tierischen Organismus arbeiten Leber (enthalt alle Enzyme der alternierenden  $\beta$ -Oxydation bis zur Acetessigsäure, aber wenig Citrogenase) und periphere Organe, Muskel und Niere (enthalten nur wenig Enzyme der alternierenden  $\beta$ -Oxydation, aber das Citrogenase-System und alle Enzyme der Citronensäure-Verbrennung) am Abbau der Fettsäuren zusammen. Der Abbau der Fettsäuren stellt sich als Ganzes so dar: (s. Formel XVIII).

Der Weg der Fettverbrennung geht im tierischen Körper über eine schrittweise chemische Zusammenarbeit der Körperorgane. In der Leber werden die Fettsäuren durch einfache oder alternierende  $\beta$ -Oxydation in die wasserlöslichen Acetessigsäure +  $\beta$ -Oxybuttersäure überführt, die dann durch das Blut den peripheren Organen wie Muskel und Niere angeboten und dort über den Tricarboxylsäure-Cyclus (Formel XVIII) definitiv zu H<sub>2</sub>O und CO<sub>2</sub> verbrannt werden.

Nach *Rein*<sup>117</sup>) zirkulieren pro Tag bei einem erwachsenen Menschen in Ruhe etwa 4500 l Blut durch Muskel und Niere. Nach verschiedenen Autoren<sup>118-120</sup> verschwinden zwischen arteriellem und venösem Blut etwa 5 mg Acetessigsäure pro Liter, bei Fettbelastung maximal 70 mg. Das entspricht einer Gesamtverbrennung von minimal 20 g, maximal etwa 300 g Acetessigsäure pro Tag. Von ähnlicher Größenordnung ist die Spaltungs Kapazität der Leber für Poly-ketofettsäuren von etwa 5 g /Kilo Leber und Stunde; für einen erwachsenen Mann mit 1,5-2 kg Leber also etwa 240 g/ Tag. Nach alten Untersuchungen von *Rubner*<sup>121</sup>) liegt sowohl die pro Tag durch den Darm resorbierbare maximale Fettmenge, als auch die maximal verbrennbare bei 250-300 g/Tag. In der gleichen Größenordnung liegt die vom schweren Diabetiker pro Tag im Urin ausgeschiedene maximale Menge von Ketonkörpern von etwa 120-150 g. Dabei ist zu berücksichtigen, daß auch im schweren Diabetes noch etwas Ketonkörper verbrannt werden<sup>122</sup>). Die so bekannten enzymatischen Fettsäureabbau reaktionen passen sich gut in die klinischen Daten ein. Ob dieses Bild schon richtig ist oder modifiziert werden muß, muß sich aus weiterer Arbeit ergeben.



- <sup>108</sup> W. Kell, H. Appel, G. Berger, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 257, 1 [1939].  
<sup>109</sup> R. E. Nebe, ebenda 266, 174 [1940].  
<sup>110</sup> G. Kabelitz, Biochem. Z. 316, 409 [1944].  
<sup>111</sup> H. Kraut, A. Weicher, R. Hägel, Biochem. Z. 317, 187 [1944].  
<sup>112</sup> Dieselben, ebenda 318, 472 [1948].  
<sup>113</sup> Bull. Johns Hopkins Hosp. 68, 50 [1941].  
<sup>114</sup> J. Biol. Chem. 168, 583 [1947].  
<sup>115</sup> Bull. Soc. Chim. biol. 29, 304 [1947].  
<sup>116</sup> Biochimia Biophysica Acta 1, 208 [1947].

- <sup>117</sup> Klin. Wschr. 20, 1260 [1941].  
<sup>118</sup> Biochem. J. 19, 896 [1925].  
<sup>119</sup> Z. ges. exp. Med. 59, 123 [1938].  
<sup>120</sup> Acta Physiol. Scand. 13, 181 [1947].  
<sup>121</sup> An. Asoc. quim. argentina 34, 26 [1946].  
<sup>122</sup> Physiologie des Menschen, Springer, Berlin 1941.  
<sup>123</sup> L. A. Grandjean Jr., H. B. Iv, G. I. Ehrt Amer. J. Physiol. 131, 10 [1940]; J. biol. Chemistry 138, 123 [1941].  
<sup>124</sup> A. Krautwald, Klin. Wschr. 22, 17 [1943].  
<sup>125</sup> J. G. Agrell, Acta Physiol. Scand. 12, 372 [1946].  
<sup>126</sup> Z. Biol. 15, 115 [1879].  
<sup>127</sup> S. J. Thannhauser: Stoffwechsel und Stoffwechselkrankheiten, Verlag Bergmann, München 1929.