

ANGEWANDTE CHEMIE

HERAUSGEGEBEN VON DER GESELLSCHAFT DEUTSCHER CHEMIKER

66. Jahrgang · Nr. 12 · Seite 313–344 · 21. Juni 1954

FORTSETZUNG DER ZEITSCHRIFT »DIE CHEMIE«

Der Citronensäurecyclus

Nobel-Vortrag am 11. Dezember 1953 in Stockholm*)

Von Prof. Dr. H. A. KREBS, Department of Biochemistry, Universität Sheffield/England

Die Entdeckung, daß Citronensäure im Organismus nicht nur sehr schnell abgebaut, sondern auch leicht gebildet wird, führte zur ersten Formulierung eines Citronensäure-Cyclus, dessen Zwischenreaktionen die Hauptenergiequelle der höheren Organismen darstellen. Der Cyclus spielt nicht nur beim Kohlenhydrat-Abbau, sondern auch beim Fettsäure- und Protein-Abbau eine wesentliche Rolle; alle Nahrungsstoffe haben gemeinsame Oxydations-Endstufen. Die Reaktionen des Cyclus, die in Vertretern aller Lebensformen aufgefunden wurden, stellen Zwischenprodukte zur Aminosäure-Synthese zur Verfügung. Das Studium des Intermediärstoffwechsels zeigt, daß die grundlegenden Stoffwechselprozesse, die synthetischen und die abbauenden, bei allen Formen des Lebens gleich sind.

In den zwanziger und dreißiger Jahren erbrachten die Arbeiten über die Zwischenreaktionen bei der anaeroben Vergärung von Zucker zu Milchsäure, bzw. Alkohol und Kohlendioxyd große Fortschritte. Die Erfolge waren hauptsächlich den vereinten Anstrengungen der Schulen von Meyerhof, Embden, Parnas, von Euler, Warburg und Cori zu verdanken, die ihrerseits auf die Pionierarbeit von Harden und Neuberg aufbauten. Diese Arbeiten klärten die wichtigsten Zwischenstufen der anaeroben Gärungen auf. Über die Zwischenstufen der Zuckeroxydation in lebenden Zellen war dagegen Anfang der dreißiger Jahre sehr wenig bekannt. Als ich 1930 das Laboratorium von Otto Warburg verließ, unter dessen Leitung ich seit 1926 gearbeitet hatte, und von dem ich mehr gelernt habe als von irgendeinem anderen Lehrer, stand ich vor der Frage, ein Hauptarbeitsgebiet zu wählen. Ich fühlte mich von den Problemen der Zwischenreaktionen bei den Oxydationsvorgängen stark angezogen. Diese Reaktionen repräsentieren die Hauptenergiequelle bei höheren Organismen. In Anbetracht der Bedeutung der Energieproduktion für lebende Organismen, deren sämtliche Tätigkeiten von einer kontinuierlichen Energieversorgung abhängen, schien das Problem eines eingehenden Studiums wert.

Die Anwendung der experimentellen Methoden, die beim Studium der anaeroben Gärung zum Erfolg führten, war nicht möglich. Im Gegensatz zu den Gärungen wurden in zellfreien Extrakten keine Oxydationsreaktionen erhalten. Eine weitere Schwierigkeit war die schnelle Inaktivierung der Oxydationsreaktionen, die bei Geweben eintrat, die durch Mahlen oder Reiben aufgeschlossen oder in wäßrigen Lösungen suspendiert waren.

Wir kennen heute die Gründe für diesen Aktivitätsverlust. Der hauptsächlichste ist die Zerstörung der Coenzyme vom Nucleotid-Typus unter dem Einfluß hydrolysierender Fermente. In intakten Geweben sind diese Cofaktoren anscheinend getrennt von den Fermenten, die sie angreifen können, werden aber ihrer Wirkung ausgesetzt, wenn die Gewebestruktur zerstört wird.

Es ist heute möglich, diese störenden Reaktionen zu unterbinden. Schnelles Fraktionieren der Gewebe beim Zentrifugieren in der Nähe des Gefrierpunktes trennt die zerstörenden Fermente ab; die Cofaktoren, die hierbei ebenfalls entfernt werden, sind bekannt und können durch Zusatz der reinen Substanzen ersetzt werden. Über diese Kenntnisse verfügten die früheren Bearbeiter nicht, sie mußten sich daher mehr indirekter Methoden bedienen.

Die ersten Versuche

Die erste grundlegende Untersuchung zum Zwischenstoffwechsel der Oxydationsvorgänge war die von Thunberg¹⁾, der systematisch die Oxydierbarkeit von organischen Substanzen in isolierten tierischen Geweben prüfte. Von 1906 bis 1920 testete er die Oxydation von über 60 organischen Verbindungen, insbesondere im Muskelgewebe. Er entdeckte die schnelle Oxydation von Salzen einer Anzahl von Säuren, wie Lactat, Succinat, Fumarat, Malat, Citrat und Glutamat. Thunbergs Ergebnisse wurden von Batelli und Stern²⁾ und anderen bestätigt und erweitert. Batelli und Stern erkannten schon 1910 ihre Bedeutung, sie schrieben: „Man kann annehmen, daß der Prozeß, der die Oxydation dieser Säuren bewirkt, mit dem der Hauptatmung der Gewebe identisch ist“.

Die Ergebnisse von Thunberg und von Batelli und Stern blieben jedoch isolierte Beobachtungen, da sie nicht zu dem wichtigsten Oxydationsprozeß der Muskelgewebe, der Kohlenhydratoxydation, in Beziehung gebracht werden konnten. Noch weitere zwanzig Jahre mußten vergehen, bis sie in eine zusammenfassende Betrachtung über die Atmung eingefügt werden konnten.

1935 kam aus dem Szegeder Laboratorium von Szent-Györgyi³⁾ eine wichtige Weiterentwicklung. Er entdeckte, daß Taubenbrustmuskel (der wichtigste und deshalb besonders aktive Teil der Flugmuskulatur) speziell zum Studium der oxydativen Reaktionen geeignet ist, da dieses Gewebe seine oxydative Fähigkeit nach Zermahlen in der „Latapie“-Mühle und Suspendieren im wäßrigen Medium

*) Das liebenswürdige Entgegenkommen des Autors und des Nobel-Komitees für Chemie, Stockholm, hat es uns ermöglicht, den Nobelvortrag, der erst später in den Veröffentlichungen des Nobel-Komitees herauskommen wird, schon jetzt zu bringen.

¹⁾ T. Thunberg, Skand. Arch. Physiol. 24, 23 [1910]; 40, 1 [1920].

²⁾ F. Batelli u. L. Stern, Biochem. Z. 37, 478 [1910].

³⁾ A. Szent-Györgyi, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 236, 1 [1935]; 244, 105 [1936].

beibehält. Er bestätigte mit diesem Material, daß die C₄-Dicarbonsäuren (Bernsteinsäure, Fumarsäure, Äpfelsäure und Oxalacettsäure) schnell oxydiert werden, und kam zu dem neuen Ergebnis, daß ein Teil der Wirksamkeit dieser Substanzen katalytischer Natur sei, im Gegensatz zur Oxydation, bei der die Säuren als Substrat dienen. Ein endgültiger Beweis für diesen katalytischen Effekt wurde von *Stare* und *Baumann*⁴⁾ im Dezember 1936 erbracht. Diese Forscher zeigten, daß sehr kleine Mengen der Säuren genügen, um eine Zunahme der Atmung zu bewirken, und daß die Zunahme ein Mehrfaches der Sauerstoffmenge beträgt, die für die Oxydation der zugesetzten Substanzen notwendig ist (Tabelle 1). Zudem wurden die zugefügten

Konzentration des zugesetzten Fumarats	Mittlere Zunahme der O ₂ -Aufnahme (beobachtet) (μl)	Für die komplette Oxydation des zugesetzten Fumarats berechnete O ₂ -Menge (μl)
0,0001 m	151	20
0,0002 m	235	40

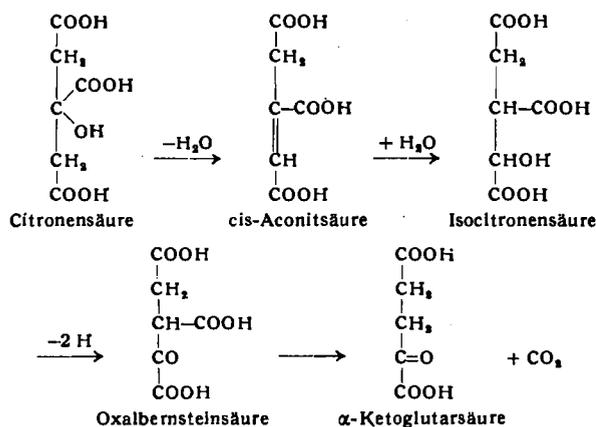
Tabelle 1

Katalytische Wirkung von Fumarat auf die Atmung von gemahltem Taubenbrustmuskel (*Stare* und *Baumann*, 1936)

C₄-Dicarbonsäuren bei der Stimulierung der Oxydation nicht verbraucht und konnten anschließend im Medium nachgewiesen werden. Es blieb demnach kein Zweifel, daß die Säuren bei der Atmung als Katalysatoren fungieren können, aber weder *Szent-Györgyi* noch *Stare* und *Baumann* konnten eine befriedigende Erklärung für die katalytische Wirkungsweise erbringen. Sie nahmen an, daß die Dicarbonsäuren als Wasserstoff-Überträger zwischen den Nahrungsstoffen und Cytochrom fungieren.

Entscheidende Versuche

Der nächste Schritt war die in Sheffield Anfang 1937 gemachte Entdeckung, daß Citrat genau so wie Succinat als Katalysator wirken kann. Einen entscheidenden Beitrag zu dem Problem lieferten im März 1937 *Martius* und *Knoop*⁵⁾, die das Schicksal der Citronensäure bei ihrer Oxydation im biologischen Material aufklärten. Während schon lange bekannt war, daß Citrat in Pflanzen, Tieren und Mikroorganismen oxydiert werden kann, waren die Zwischenstufen unklar geblieben, bis *Martius* und *Knoop* erkannten, daß α-Ketoglutarat ein Produkt der Citratoxydation ist. Sie wiesen diese Reaktion in Extrakten aus Leber und Gurkensamen nach und postulierten cis-Aconitat und Isocitrat als Zwischenprodukte, wie es im Reaktionsschema 1 formuliert ist. Diese Deutung war im Einklang



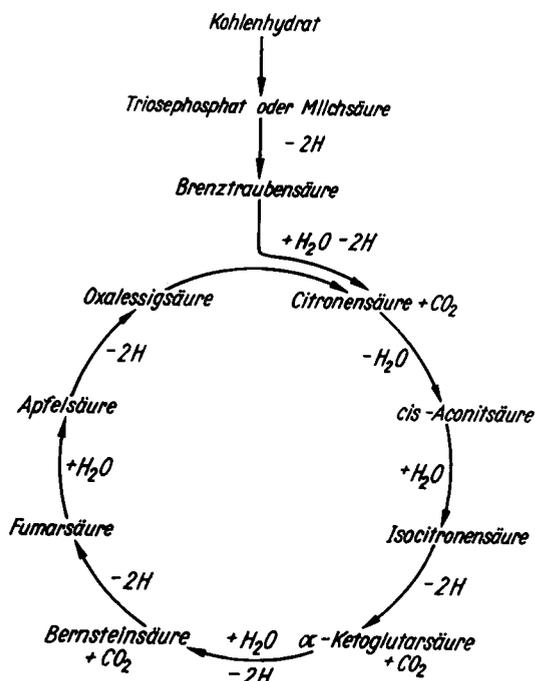
Reaktionsschema 1

Überführung von Citronensäure in α-Ketoglutar säure nach *Martius* und *Knoop* (1937)

⁴⁾ F. J. *Stare* u. C. A. *Baumann*, Proc. Roy. Soc. [London]; Ser. B 121, 338 [1936].
⁵⁾ C. *Martius* u. F. *Knoop*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 246, 1 [1937]; C. *Martius*, ebenda 247, 104 [1937].

mit der vorhergehenden Entdeckung von *Wagner-Jauregg* und *Rauen*⁶⁾, daß Isocitrat sich in Extrakten aus Gurkensamen ebenso verhält wie Citrat.

Weitere wesentliche Beobachtungen wurden zwischen März und Juni 1937 im Sheffielder Laboratorium gemacht⁷⁾. Es wurde gezeigt, daß die Reaktion, die *Martius* und *Knoop* in der Leber demonstriert hatten, mit großer Geschwindigkeit in Muskeln und anderen Geweben abläuft. Die Geschwindigkeit wurde groß genug gefunden, um die Annahme zu rechtfertigen, daß die Reaktion ein Teil des Hauptatmungsprozesses dieser Gewebe ist. Die Bildung von Ketoglutarat aus Citrat konnte mit zwei Methoden demonstriert werden, entweder durch Zusatz von Arsenit oder durch Erhöhung der Citratkonzentration. Arsenit hemmt bevorzugt die Oxydation von Ketosäuren, wahrscheinlich durch Reaktion mit der Sulfhydrylgruppe des Coenzym A, das für den Abbau der α-Ketosäuren notwendig ist. Eine hohe Substratkonzentration hemmt durch Konkurrenz-Reaktionen die Oxydation anderer Substanzen. Bei Zusatz von Malonat war Succinat das Hauptprodukt der Citrat-Oxydation. Von besonderer Bedeutung war eine andere Beobachtung: Citrat wird in Muskeln und anderen Geweben nicht nur sehr schnell abgebaut, sondern auch leicht gebildet, wenn man Oxalacetat zufügt. Dies konnte durch die Annahme erklärt werden, daß ein Teil des Oxalacetats zu Pyruvat oder Acetat abgebaut wird, und daß die Citrat-Bildung das Ergebnis einer Kombination zwischen dem restlichen Oxalacetat einerseits und Pyruvat oder Acetat andererseits sei. Die Entdeckung der Citrat-Synthese aus Oxalacetat und einer Substanz, die aus Kohlenhydrat entstehen kann, etwa Pyruvat oder Acetat, ermöglichte es, ein vollständiges Schema der Kohlenhydratoxydation zu formulieren⁷⁾. Nach Reaktionsschema 2 kondensiert Pyruvat oder ein Derivat des Pyruvats mit Oxalacetat zu Citronensäure. Durch eine Reaktionsfolge, bei der cis-Aconitat, Isocitrat, α-Ketoglutarat,



A 28.7

Reaktionsschema 2

Der ursprüngliche Citronensäure-Cyclus (*Krebs* u. *Johnson*, 1937; *Krebs*, 1943)

⁶⁾ T. *Wagner-Jauregg* u. H. *Rauen*, ebenda 237, 228 [1936].
⁷⁾ H. A. *Krebs* u. W. A. *Johnson*, Biochem. J. 31, 645 [1937].

Bernsteinsäure, Fumarsäure, Äpfelsäure und Oxalacetat-Zwischenprodukte sind, wird ein Essigsäure-Äquivalent oxydiert und die Oxalacetat, die für die Kondensation notwendig ist, regeneriert. Diese Konzeption erklärte die katalytische Wirkung der Di- und Tricarbonsäuren, die Oxydierbarkeit dieser Säuren in Kohlenhydrat-oxydierenden Geweben und die Ähnlichkeit der Oxydation dieser Substanzen mit der Hauptatmung, die *Batelli* und *Stern* 1910 bereits bemerkt hatten. Das Schema gibt im Detail das Schicksal der Kohlenstoffatome der Substrate wieder und zeigt die Reaktionsstufen, bei denen Wasserstoff abgelöst und CO_2 freigesetzt wird.

Es ist zweckmäßig, einen kurzen Namen für dieses Schema zu benutzen. Sein wesentlicher Inhalt ist die periodische Bildung verschiedener Di- und Tricarbonsäuren. Da es keinen Ausdruck als gemeinsame Bezeichnung aller dieser verschiedenen Säuren gibt, schien es richtig, den Cyclus nach einer oder mehreren seiner charakteristischen und spezifischen Säuren zu benennen. Auf Grund solcher Überlegungen wurde 1937 der Name „Citronensäurecyclus“ vorgeschlagen.

Weitere Beweise

Die Belege für den angeführten Cyclus können in zwei Hauptgruppen eingeteilt werden: erstens sind alle Teilreaktionen des Cyclus in tierischen Geweben nachgewiesen worden, und die Reaktionsgeschwindigkeiten sind groß genug, um die Ansicht zu rechtfertigen, daß sie Komponenten des Hauptatmungsprozesses sind; zweitens wurde gezeigt, daß die Di- und Tricarbonsäuren unter geeigneten Bedingungen Oxydationsprozesse katalysieren.

Eine dritte Gruppe von Experimenten, die die Theorie stützen, verwendet als Hemmstoff Malonat, das erstmalig von *Quastel*⁸⁾ als spezifisches Agens für Bernsteinsäuredehydrase erkannt worden war. Malonat hemmt kompetitiv Succinat an der Reaktion mit dem Ferment, ein Effekt, der auf die Ähnlichkeit der Strukturen dieser beiden Verbindungen zurückzuführen ist.

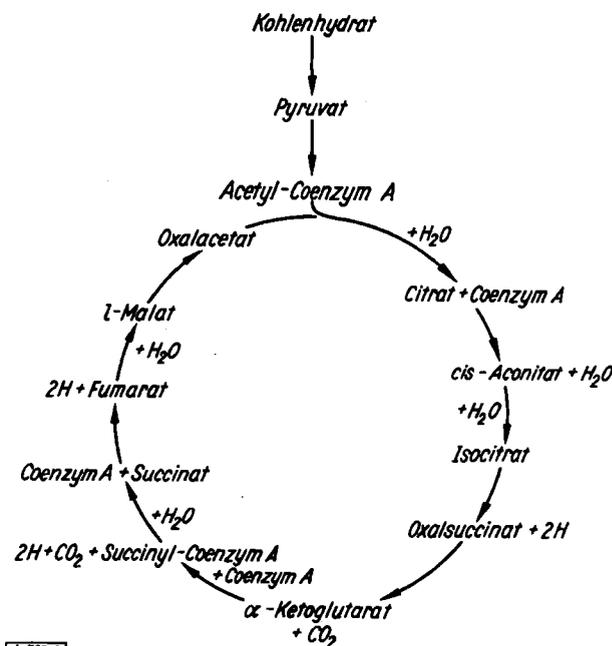
Die Blockierung der Bernsteinsäuredehydrase in irgendeinem System, bei dem Succinat Zwischenprodukt ist, verursacht eine Anhäufung von Succinat. Ein besonderer Vorteil der Hemmstoff-Technik ist, daß sie ohne vorherige Zerstörung des Gewebes, also ohne ernsthafte Störung der natürlichen Bedingungen, angewandt werden kann (obwohl in einigen Fällen Permeabilitätsschranken die Penetration des Hemmstoffs zu den Fermenten verhindern). Malonat hemmt die Atmung aller tierischen Gewebe, und die erwartete Anhäufung von Succinat wird gefunden, selbst wenn der Hemmstoff in intakte Organismen injiziert wird^{9, 10)}. Diese Beobachtungen können als unabhängiger Beweis für die Beteiligung der Bernsteinsäuredehydrase an der Atmung tierischer Gewebe gewertet werden.

Neuerdings hat *Peters*¹¹⁾ einen anderen wertvollen spezifischen Hemmstoff entdeckt. Die Injektion von Fluoracetat in intakte Organismen führt bei tierischen Geweben zur Anhäufung von Citrat. Der wirksame Hemmstoff ist wahrscheinlich eine Fluortricarbonsäure, die aus Fluoracetat und Oxalacetat entsteht und anscheinend kompetitiv den Abbau von Citrat verhindert. Die Anhäufung von Citrat im vergifteten Organismus kann ganz analog der Anhäufung von Succinat als Hinweis für die intermediäre Bildung gewertet werden.

⁸⁾ J. H. Quastel u. A. H. M. Wheatley, ebenda 25, 117 [1930].
⁹⁾ H. A. Krebs, E. Salvin u. W. A. Johnson, ebenda 32, 113 [1938].
¹⁰⁾ H. Busch u. V. R. Potter, J. biol. Chemistry 198, 71 [1952].
¹¹⁾ R. A. Peters, R. W. Wakelin, P. Buffa u. L. C. Thomas, Proc. Roy. Soc. Ser. B. 140, 497 [1953]; R. A. Peters, Brit. Med. Bull. 9, 116 [1953].

Weitere Zwischenstufen

Seit der ursprünglichen Formulierung des Cyclus im Jahre 1937 sind drei zusätzliche Zwischenprodukte identifiziert worden. 1948 wiesen *Ochoa*¹²⁾ und unabhängig davon *Lynen*¹³⁾ endgültig Oxalberneinsäure als Zwischenprodukt nach, wie es vorher von *Martius* und *Knoop* postuliert worden war. Sie fanden eine spezifische Decarboxylase, die Oxalsuccinat in α -Ketoglutarat umwandelt. Ein sehr wichtiger Fortschritt war die Identifizierung des Brenztraubensäure-Derivates, das zusammen mit Oxalacetat Citrat bildet. Dank der Arbeiten von *Lipmann*¹⁴⁾, *Stern* und *Ochoa*¹⁵⁾ und *Lynen*^{16, 18)} ist dieses jetzt als Acetyl-Coenzym A bekannt. Schließlich haben Experimente aus den Schulen von *Ochoa*¹⁷⁾ und *Green*¹⁸⁾ gezeigt,



[A 565.3]

Reaktionsschema 3

Ausführliche Darstellung des Citronensäure-Cyclus

daß Coenzym A auch an der Überführung von α -Ketoglutarat zu Succinat teilnimmt, und daß Succinyl-Coenzym A hierbei ein Zwischenprodukt ist. Die Stellung dieser drei Zwischenprodukte im Cyclus ist im Reaktionsschema 3 wiedergegeben.

Gemeinsame Endstufen der Oxydation der Nahrungsstoffe

Das Konzept des Citronensäurecyclus war ursprünglich als Schema für die Oxydation der Kohlenhydrate entwickelt worden. Es war jedoch schon von Anfang an klar, daß der Cyclus auch bei der Oxydation beträchtlicher Teile der Proteinmolekel eine wichtige Rolle spielen müsse. Von den 20 Aminosäuren, die im allgemeinen als Bestandteile der Proteine gefunden werden, bilden drei — Glutaminsäure, Asparaginsäure und Alanin — Derivate, die Zwischenprodukte im Citronensäurecyclus sind. Von fünf anderen Aminosäuren — Histidin, Arginin, Citrullin, Prolin, Oxyprolin — ist bekannt, daß sie im tierischen Organismus

¹²⁾ S. Ochoa, J. biol. Chem. 174, 115 [1948]; F. Lynen u. H. Scherer, Liebigs Ann. Chem. 500, 163 [1948].

¹³⁾ G. D. Novelli u. F. Lipmann, J. biol. Chemistry 182, 213 [1950].
¹⁴⁾ J. R. Stern u. S. Ochoa, ebenda 179, 491 [1949]; 197, 161 [1951]; 193, 691 [1951].

¹⁵⁾ F. Lynen u. E. Reichert, diese Ztschr. 63, 47 [1951].

¹⁶⁾ J. R. Stern, S. Ochoa u. F. Lynen, J. biol. Chemistry 198, 313 [1952].

¹⁷⁾ S. Kaufman, Feder. Proc. 12, 704 [1953].

¹⁸⁾ D. R. Sanadi u. J. W. Littlefield, J. biol. Chemistry 201, 103 [1953].

Glutaminsäure bilden, und sie können deshalb über α -Ketoglutarinsäure in den Citronensäurecyclus eintreten. Fünf weitere Aminosäuren — die drei Leucine, Tyrosin und Phenylalanin — ergeben Acetyl-Coenzym A und Äpfelsäure. Die 13 aufgeführten Aminosäuren machen einen großen Teil der gewöhnlichen Proteine aus; im Falle des Casein sind es mehr als 75%. Das Stoffwechsel-Schicksal der Kohlenstoffkette der meisten übrigen Aminosäuren ist noch nicht vollständig aufgeklärt, wahrscheinlich werden aber zukünftige Arbeiten weitere Beziehungen zwischen diesen Aminosäuren und dem Citronensäurecyclus aufdecken. Es wird so offensichtlich, daß ein gewichtiger Anteil der Proteine bei der Oxydation den Citronensäurecyclus durchläuft.

Seit 1943 ist klar geworden, daß der Citronensäurecyclus auch bei den letzten Stufen der Fettsäure-Oxydation mitspielt. Die klassischen Arbeiten über die β -Oxydation der höheren Fettsäuren hatten gezeigt, daß das Kohlenstoffskelett der Fettsäuren durch Freisetzung von C_2 -Körpern abgebaut wird und daß Acetessigsäure und β -Oxybuttersäure Oxydationsprodukte sind. Von diesen „Ketonkörpern“ war angenommen worden, daß sie aus den letzten vier Kohlenstoffatomen der Kette stammen. Frühere Arbeiten mit isolierten Geweben von Quastel¹⁹⁾, Edson²⁰⁾, Stadie²¹⁾ und anderen erbrachten neben vielen bestätigenden Befunden für die β -Oxydation zusätzlich die neue Beobachtung, daß im Gegensatz zu älteren Annahmen mehr als eine Molekel Ketonkörper aus einer Fettsäuremolekel entstehen kann. Weiterhin müssen hier die Hemmstoffexperimente mit Malonat von Quastel und Wheatley⁵⁾ und Edson und Leloir²⁰⁾ erwähnt werden, die schon 1935 wahrscheinlich machten, daß der oxydative Ketonkörperabbau mit dem Stoffwechsel der C_4 -Dicarbonsäuren verknüpft ist. Entscheidende Fortschritte auf diesem Gebiet wurden von 1943 an erzielt. In diesem Jahr berichteten Breusch²²⁾ und Wieland und Rosenthal²³⁾ unabhängig voneinander, daß Acetacetat in tierischen Geweben zur Bildung von Citronensäure führen kann, wenn Oxalacetat anwesend ist. Die von diesen Forschern vorgelegten Befunde waren nicht beweiskräftig, denn Oxalacetat bildet auch allein viel Citrat, und die Zunahme der Ausbeute könnte man erklären, ohne eine direkte Teilnahme von Acetacetat an der Bildung der Tricarbonsäuren anzunehmen²⁴⁾. Die von amerikanischen Bearbeitern ab 1944 durchgeführten Isotopenversuche beseitigten jedoch jeden Zweifel. Sie bewiesen, daß die Kohlenstoffatome von den Fettsäuren und von Acetacetat in den Säuren des Citronensäurecyclus erscheinen, und daß diese Säuren deshalb Zwischenprodukte der völligen Oxydation der Fettsäuren sind²⁵⁾.

Dies wurde durch neuere Untersuchungen mit Fermentpräparaten der Schulen von Lynen, Lipmann, Ochoa, Stern und Green^{26–30)} bestätigt, die die Details des von den Fettsäuren zum Citronensäurecyclus führenden Weges demonstrieren. Acetyl-Coenzym A ist die Form, in der alle Kohlenstoffatome der Fettsäuren in den Cyclus eintreten.

Es ist in der Tat bemerkenswert, daß die Endstufen der Verbrennung aller Nahrungsstoffe in einer gemeinsamen Reaktionsfolge bestehen. Etwa $\frac{2}{3}$ der Energie, die von

höheren Lebewesen aus der Nahrung gewonnen werden kann, wird beim Durchlaufen dieser gemeinsamen Reaktionsfolge freigesetzt; etwa $\frac{1}{3}$ stammt aus den Reaktionen, die die Nahrungsstoffe für die Einschleusung in den Citronensäurecyclus vorbereiten. Die biologische Bedeutung dieses gemeinsamen Weges könnte in der Tatsache zu suchen sein, daß eine solche Anordnung eine Ökonomie des notwendigen chemischen Apparates gewährleistet. Eine Analyse der energieliefernden Reaktionen (die hier nicht im Detail gegeben werden kann, siehe dazu Zitat³¹⁾) zeigt, daß trotz der Vielzahl der Energiequellen die Zahl der Schritte, bei welchen Energie ausgenutzt wird, erstaunlich klein ist: es sind nur sieben. Der gemeinsame Oxydationsweg ist eine der Vorrichtungen, die die Zahl der Schritte reduzieren, bei denen chemische Mechanismen für die Energietransformierung benötigt werden.

Der Citronensäurecyclus in verschiedenartigen Zellen und Organismen

Die wichtigsten Experimente, die für das Konzept des Citronensäurecyclus grundlegend waren, wurden mit quergestreiften Muskeln, hauptsächlich Taubenmuskel, und mit Taubenleber ausgeführt. Sie sind mit vielen anderen tierischen Materialien wiederholt worden und sprechen dafür, daß der Cyclus in allen atmenenden Geweben aus allen Tierarten, von den Protozoen bis zu den höchsten Säugetieren, dieselbe Rolle spielt. Zwar erhielt man bei einigen Geweben und Materialien anfangs negative Ergebnisse, doch fand man später, daß dies auf spezielle Komplikationen, wie Permeabilitätsschranken oder Zerstörung von Enzymsystemen durch die Aufarbeitung der Gewebe, zurückzuführen ist. Diese experimentellen Schwierigkeiten sind in vielen Fällen durch verbesserte Methoden der Handhabung atmenenden Materials überwunden worden und, wo immer dies möglich war, konnte die Existenz des Cyclus demonstriert werden.

Teilreaktionen des Citronensäurecyclus wurden auch in vielen Mikroorganismen³²⁾ und in pflanzlichem Material nachgewiesen. In einigen Materialien sind die Geschwindigkeiten der einzelnen Schritte groß genug, um die durch Isotopenversuche gestützte Annahme zu rechtfertigen, daß der Cyclus den Hauptweg der terminalen Oxydation repräsentiert. Dies trifft für Organismen von so verschiedenem Typus wie *Azotobacter*, *Micrococcus leisodeicticus*, *Rhodospirillum rubrum* und Bohnen- und Erbsenkeimlinge zu³³⁾. Es gibt aber auch andere Materialien, bei denen die Befunde, die für den Cyclus sprechen, zur quantitativen Deutung der Atmung nicht ausreichen. In Hefen z. B. ist die Aktivität der Enzyme, die Malat und Citrat oxydieren, höchstens 5–25% der erwarteten Größe. Zudem bleiben die intrazellulären Dicarbonsäuren unmarkiert, wenn man ¹⁴C-markiertes Acetat mit Bäckerhefe oxydiert, eine Beobachtung, die gegen die Beteiligung der Dicarbonsäuren an der Acetatoxydation spricht³²⁾. Diese Ergebnisse dürfen jedoch nicht als sichere Beweise betrachtet werden, denn Permeabilitätsschranken könnten die Durchmischung der Substanzen, die als Intermediärprodukte auftreten, mit jenen, die in anderen Bezirken der Zelle vorhanden sind, verhindern. Zur Zeit ist es am besten, das Problem der terminalen Oxydation in Hefe und gewissen anderen Mikroorganismen, z. B. *E. coli*, offen zu lassen, obgleich die Reaktionen des Cyclus in diesen Materialien ablaufen.

³¹⁾ H. A. Krebs, Brit. med. Bull. 9, 97 [1953].

³²⁾ H. A. Krebs, S. Gurin u. L. V. Eggleston, Biochem. J. 51, 614 [1952].

³³⁾ A. Millard, J. Bonner, B. Axelrod u. R. Bandurski, Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 37, 855 [1951]; D. D. Davies, J. exp. Bot. 4, 173 [1953].

¹⁹⁾ M. Jowett u. J. H. Quastel, Biochem. J. 29, 2159 [1935]; J. H. Quastel u. A. H. M. Wheatley, ebenda 29, 2773 [1935].

²⁰⁾ N. L. Edson u. L. F. Leloir, Biochem. J. 30, 2319 [1936].

²¹⁾ W. C. Stadie, Physiol. Rev. 25, 395 [1945].

²²⁾ F. L. Breusch, Science 97, 490 [1943]; Enzymologia 11, 169 [1943].

²³⁾ H. Wieland u. C. Rosenthal, Liebigs Ann. Chem. 554, 241 [1943].

²⁴⁾ H. A. Krebs u. L. V. Eggleston, Biochem. J. 39, 408 [1945].

²⁵⁾ H. A. Krebs, Harvey Lecture Series 44, 165 [1950].

²⁶⁾ F. Lynen u. S. Ochoa, Biochim. biophysica Acta 12, 299 [1953].

²⁷⁾ F. Lynen, Feder. Proc. 12, 683 [1953].

²⁸⁾ H. R. Mahler, ebenda 12, 694 [1953].

²⁹⁾ J. R. Stern, M. J. Coon u. A. Del Campillo, Nature [London] 171, 28 [1953]; J. Amer. Chem. Soc. 75, 1517 [1953].

³⁰⁾ M. E. Jones, S. Black, R. M. Flynn u. F. Lipmann, Biochim. biophysica Acta 12, 141 [1953].

Die Bedeutung der Zwischenstufen des Cyclus für Synthesen

Wenn wir annehmen, daß in einigen Zellarten der Cyclus nicht der Hauptmechanismus ist, durch den Energie erzeugt wird, aber die Enzymsysteme, die für Teilreaktionen des Cyclus verantwortlich sind, trotzdem vorliegen, dann ergibt sich die Frage, welche physiologische Bedeutung dem Cyclus in diesen Materialien zukommt. Im Hinblick auf dieses Problem ist bedeutungsvoll, daß es zusätzlich zu den energieliefernden Mechanismen eine andere wichtige Gruppe von chemischen Reaktionen in schnell wachsenden Organismen gibt: die synthetischen Prozesse, die mit dem Wachstum verknüpft sind.

Bezüglich des Kohlenstoff-Umsatzes können beide Reaktionstypen von derselben Größenordnung sein. Die Reaktionen des Cyclus stellen ein wichtiges Zwischenprodukt für eine Anzahl von Synthesen zur Verfügung, nämlich α -Ketoglutaräure, die eine Vorstufe für Glutaminsäure und andere Aminosäuren ist, sowie für die Porphyrine, die für die Synthese der Cytochrome und der Blutpigmente gebraucht werden. Viele Beobachtungen²⁾, insbesondere Isotopenversuche, stützen die Ansicht, daß bei einigen Mikroorganismen der Cyclus primär eher für die Lieferung von Intermediärprodukten verantwortlich ist, als für die Energieerzeugung, während er bei den Tieren und vielen anderen Organismen beides liefert, Energie und Intermediärprodukte.

Gemeinsame biochemische Eigenschaften verschiedener Lebensformen

Bevor ich schließe, möchte ich einen Abstecker in die allgemeine Biologie machen, angeregt durch die bemerkens-

werte Tatsache, daß die Reaktionen des Cyclus in Vertretern aller Lebensformen aufgefunden wurden, von einzelligen Bakterien und Protozoen bis zu den höchsten Säugetieren. Wir sind schon lange mit der Tatsache vertraut, daß die Hauptbestandteile der lebenden Materie, wie Aminosäuren und Zucker, in allen Lebewesen im wesentlichen dieselben sind. Das Studium des Intermediärstoffwechsels zeigt, daß die grundlegenden Stoffwechselprozesse, insbesondere die energieliefernden und die zur Synthese von Zellsubstanz führenden, ebenfalls bei allen Formen des Lebens gleich sind.

Die gemeinsamen Grundzüge in verschiedenen Formen des Lebens weisen auf Beziehungen zwischen den verschiedenen Organismen hin, und im Einklang mit der Entwicklungslehre sind diese Beziehungen darauf zurückzuführen, daß die höheren Organismen sich stufenweise im Verlauf von Jahrtausenden aus primitiveren Organismen entwickelt haben. Die Entwicklungslehre postuliert, daß die lebenden Organismen einen gemeinsamen Ursprung haben. Die Existenz gemeinsamer Grundzüge im chemischen Geschehen ist eine gewichtige Stütze für dieses Konzept der Entwicklungslehre. Die Existenz eines gemeinsamen Mechanismus der Energieproduktion in allen Lebensformen führt zu zwei weiteren Konsequenzen: erstens, daß der Mechanismus der Energieproduktion sehr früh im Evolutionsprozeß entstanden ist und zweitens, daß das Leben, zumindest in seinen heutigen höheren Formen, nur einmal entstanden ist.

(Übersetzt von Dr. H. Holzer, Hamburg)

Eingeg. am 11. Januar 1954 [A 565]

Über die Trennung der Seltenen Erden durch Verteilen zwischen zwei Lösungsmitteln^{*)}

Von Prof. Dr. WERNER FISCHER, Dipl.-Chem. G. BRAUNE, Dr. W. DIETZ, Dr. O. JÜBERMANN, Dr. GOTTHARD KRAUSE, Dipl.-Chem. K.-E. NIEMANN, Dr. G. SIEKEMEIER
Institut für Anorganische Chemie der T. H. Hannover^{**)}

Eine Trennung der Seltenen Erden durch Verteilen läßt sich unter Verwendung verschiedener Erdverbindungen und zahlreicher Lösungsmittel prinzipiell verwirklichen. Aber nur wenige dieser Stoffsysteme sind für die präparative Praxis brauchbar. Es werden die Grundlagen des Verfahrens, eine geeignete Apparatur und einige Beispiele präparativer Trennungen beschrieben. Der Trenneffekt eines Einzelschrittes erreicht bei der Verteilung die gleiche Größenordnung wie bei den Verfahren der fraktionierten Kristallisation. Diesen ist die Verteilung aber überlegen wegen ihres geringeren Zeit- und Arbeitsaufwandes.

I. Einleitung

Die Trennung der Seltenen Erdelemente im engeren Sinne (Sc, Y und La bis Lu) bereitet besondere Schwierigkeiten. Nur die wenigen Glieder dieser Reihe, die in verschiedenen Wertigkeitsstufen auftreten können, lassen sich leichter isolieren; auf diesem Gebiet sind in letzter Zeit verschiedene Fortschritte¹⁾ erzielt worden. Die meisten Seltenen Erden kommen aber ausschließlich 3wertig vor, und nur von der Trennung der 3wertigen Erden soll hier die Rede sein. Sie können wegen ihrer geringen Unterschiede nur durch vielfache Wiederholung einzelner Tren-

nungsschritte voneinander geschieden werden. Bis vor kurzem bediente man sich hierzu allein der klassischen Methoden der fraktionierten Fällung und Kristallisation.

Wir konnten 1937 erstmals zeigen^{2, 3, 4)}, daß sich die 3wertigen Seltenen Erden vorteilhaft auch durch Verteilen zwischen zwei Lösungsmitteln trennen lassen. Da die Patentschrift²⁾, die die ausführlicheren Angaben über unsere Versuche brachte, wegen der Kriegsumstände nicht mehr im Druck erschien, ist ihr Inhalt in Deutschland wenig bekannt geworden. Wir berichten im folgenden über einige Versuche im präparativen Maßstab, die z. T. 1937 bis 1939, z. T. nach langer Unterbrechung der Arbeiten seit 1951 ausgeführt worden sind. Von anderer Seite sind

^{*)} 11. Mittellg. über die Trennung anorganischer Stoffgemische durch Verteilen. — 10. Mittellg.: W. Fischer u. W. Harre mit W. Freese u. K.-G. Hackstein, diese Ztschr. 66, 165 [1954].

^{**)} Ein Teil der Versuche wurde im Chemischen Laboratorium der Universität Freiburg i. Br. ausgeführt.

¹⁾ Vgl. den Bericht von R. Bock, diese Ztschr. 62, 375 [1950].

²⁾ W. Fischer, W. Dietz u. O. Jübermann, DRP 752865 v. 10. 4. 1937.

³⁾ W. Fischer, W. Dietz u. O. Jübermann, Naturwiss. 25, 348 [1937].

⁴⁾ Vgl.: Naturforsch. u. Medizin in Dtschl. 1939-46. FIAT-Rev. 23, 29-34 [1949], Wiesbaden.