

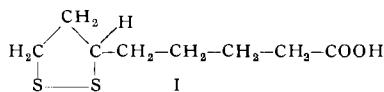
Chemie und Biochemie der α -Liponsäure

Von Dr. HANS GRISEBACH*)

Die α -Liponsäure ist ein Coenzym, welches an der oxydatischen Decarboxylierung der Brenztraubensäure beteiligt ist. Sie besitzt einen fünfgliedrigen Disulfid-Ring, der interessante physikalische und chemische Eigenschaften zeigt. Ihre biologische Funktion als Überträger von Acetyl-Gruppen ist gesichert. Möglicherweise ist sie auch an weiteren biochemischen Prozessen beteiligt.

Einführung**)

Die oxydative Decarboxylierung der Brenztraubensäure nimmt eine zentrale Stellung im Stoffwechselgeschehen ein. Schon lange ist bekannt, daß Aneurinpyrophosphat bei dieser Reaktion als Coenzym beteiligt ist. Später konnten Lipmann, Lynen und andere Forscher zeigen¹⁾, daß der Acetyl-Rest, der bei der Decarboxylierung der Brenztraubensäure entsteht, auf das Coenzym A unter Bildung von S-Acetyl-Coenzym A übertragen wird. Durch Wachstumsversuche bei Mikroorganismen wurde in den letzten Jahren ein neues Coenzym entdeckt, welches an der Übertragung der Acetyl-Gruppe auf das Coenzym A beteiligt ist. Infolge seiner ungewöhnlichen Struktur (I) erregte es bei Chemikern und Biochemikern großes Interesse.



Da es von mehreren Forschergruppen gleichzeitig entdeckt wurde, erhielt es verschiedene Namen: Acetat ersetzender Faktor (*acetate replacing factor*), Protopon A, Brenztraubensäure-Oxydationsfaktor (*pyruvate oxydation factor*, POF), Thioctansäure oder genauer 6,8-Thioctansäure (*6,8-thioctic acid*) und α -Liponsäure. Im folgenden soll die Bezeichnung α -Liponsäure verwendet werden.

Entdeckung der α -Liponsäure

1946 fanden Guirard, Snell und Williams²⁾, daß das Wachstum verschiedener Milchsäurebakterien von der Acetat-Konzentration abhängig ist und daß in Abwesenheit von Acetat das Wachstum durch bestimmte Hefen und Leberextrakte stimuliert wird. Bei *Lactobacillus casei* besaß eine gereinigte Fraktion aus Brauhefe eine 440 mal größere Wachstumswirkung als die gleiche Gewichtsmenge Natriumacetat. Der „acetate replacing factor“ war löslich in Methanol, stabil gegen Säure und Alkali, ließ sich mit Schwermetallsalzen fällen und wurde durch Oxydationsmittel zerstört. Kline und Barker³⁾ erhielten das gleiche Ergebnis mit dem *Butyribacterium rettgeri* als Testorganismus, und Colio und Babb⁴⁾ fanden diesen Faktor auch in verschiedenen pflanzlichen Materialien. Mit *Streptococcus lactis* fanden später Reed und Mitarbeiter⁵⁾ in Hefeextrakten und Extrakten aus tierischen Geweben mehrere wuchsstoffaktive Faktoren mit charakteristischen R_f-Werten, die nach Säurehydrolyse in eine Mischung von zwei aktiven Verbindungen verwandelt wurden. Durch Extraktion eines sauren Leberhydrolysates mit Benzol, Ausschütteln des Benzols mit Bicarbonat-Lösung und anschließende Chromatographie an Silicagel wurde ein Öl mit sehr hoher Aktivität erhalten.

*) Anschrift: Organisch-Chemisches Institut der Technischen Universität, Berlin-Charlottenburg 2, Straße des 17. Juni Nr. 115.

**) In der englischen Literatur erschienen Zusammenfassungen über die α -Liponsäure von C. Long, Science Progr. 41, 659 [1953], 43, 672 [1955].

1) F. Lynen, diese Ztschr. 67, 463 [1955].

2) B. M. Guirard, E. E. Snell u. R. J. Williams, Arch. Biochem. 9, 281, 361 [1946].

3) L. Kline u. H. A. Barker, J. Bacteriol. 60, 394 [1950].

4) L. G. Colio u. V. Babb, J. biol. Chemistry 174, 405 [1948].

5) L. J. Reed, B. G. De Busk, P. M. Johnston u. M. E. Getzendauer, ebenda 79, 851 [1951].

Schon 1954 hatten Kidder und Dewey⁶⁾ beobachtet, daß die Ciliaten *Tetrahymena pyriformis* außer dem üblichen Medium eine Substanz, die aus Leber erhältlich ist, zum Wachstum benötigt. Dieser Faktor wurde von Stokstad und seinen Mitarbeitern⁷⁾ näher untersucht. Sie fanden, daß er in zwei Formen existiert, denen sie die Namen Protopon A und B gaben, da es ein Wachstumsfaktor für Protozoen war.

Die Teilnahme eines unbekannten Faktors aus Hefe an der Oxydation von Brenztraubensäure durch ruhende Zellen von *Streptococcus faecalis* wurde zuerst von O'Kane und Gunsalus⁸⁾ gefunden. Spätere Arbeiten^{9, 10)} zeigten, daß der „pyruvate oxydation factor“ in mehreren Formen existiert, die nach Säurehydrolyse in eine Mischung von zwei Substanzen übergehen. Daß es sich bei dem Acetat ersetzenden Faktor, dem Protopon und dem Brenztraubensäure-Oxydationsfaktor um dieselbe Substanz handelt, wurde erstmals von Snell und Broquist¹¹⁾ vermutet. Sie beobachteten, daß sowohl gereinigter „pyruvate oxydation factor“ als auch Protopon hohe Wachstumsaktivität bei *L. casei* in Abwesenheit von Acetat besaß. 1951 konnten Reed, De Busk, Gunsalus und Hornberger¹²⁾ erstmals eine kristallisierte Verbindung aus Leber gewinnen, die hohe Wachstumsaktivität für *S. lactis* in Abwesenheit von Acetat besaß und als Cofaktor für die Brenztraubensäure-Oxydation in *S. faecalis* diente. Auf Grund ihrer Löslichkeit in Fettlösungsmitteln und ihrer Säurenatur nannten sie die Verbindung „ α -lipoic acid“ (die Bezeichnung β -lipoic acid erhielt der zweite aktive Faktor, der sich später als das Sulfoxid der Liponsäure erwies). Spätere Arbeiten von Slater¹³⁾ und Seaman¹⁴⁾ zeigten, daß diese Verbindung auch das Protopon-Bedürfnis von *T. pyriformis* vollständig ersetzen kann.

Strukturaufklärung und Synthesen

Die Strukturaufklärung der α -Liponsäure gelang etwa gleichzeitig Reed und Mitarbeitern^{15, 16)} sowie der Lederle-Gruppe^{17, 18)}. Aus 10 t Leberrückständen wurden 30 mg kristallisierte (+)- α -Liponsäure isoliert. Die Säure hatte einen p_K von 4,7 und enthielt Schwefel in Form eines Disulfides, da der Nitroprussidnatrium-Test erst nach Reaktion mit Natriumcyanid positiv war. Die Form der polarographischen Kurve sprach für ein cyclisches Disulfid.

6) G. W. Kidder u. V. C. Dewey, Arch. Biochem. 8, 293 [1945].

7) E. L. R. Stokstad, C. E. Hoffmann, M. A. Regan, D. Fordham u. T. H. Jukes, ebenda 20, 75 [1949].

8) D. J. O'Kane u. I. C. Gunsalus, J. Bacteriol. 54, 20 [1947]; 56, 499 [1948].

9) I. C. Gunsalus, M. I. Dolin u. L. J. Struglia, J. biol. Chemistry 194, 849 [1952].

10) I. C. Gunsalus, L. Struglia u. D. J. O'Kane, ebenda 194, 859 [1952].

11) E. E. Snell u. H. P. Broquist, Arch. Biochem. 23, 326 [1949].

12) L. J. Reed, B. G. De Busk, I. C. Gunsalus u. C. S. Hornberger, Science [Washington] 114, 93 [1951].

13) J. V. Slater, ebenda 115, 376 [1952].

14) G. R. Seaman, Proc. Soc. exper. Biol., N. Y. 79, 158 [1952].

15) L. J. Reed, B. G. De Busk, I. C. Gunsalus u. G. H. F. Schnakenberg, J. Amer. chem. Soc. 73, 5920 [1951].

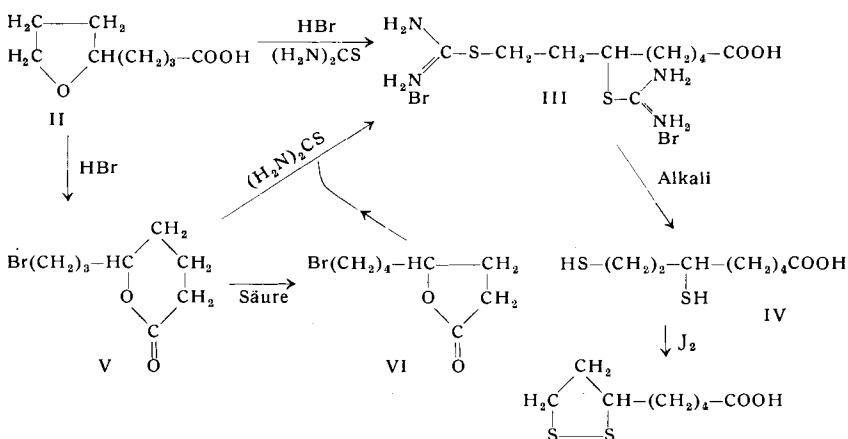
16) L. J. Reed, I. C. Gunsalus, G. H. F. Schnakenberg, Q. F. Soper, H. E. Boatz, S. F. Kern u. T. V. Parke, ebenda 75, 1267 [1953].

17) E. L. Patterson, J. V. Pierce, E. L. R. Stokstad, C. E. Hoffmann, J. A. Brockmann, Jr., F. P. Day, M. E. Macchi u. T. H. Jukes, ebenda 76, 1823 [1954].

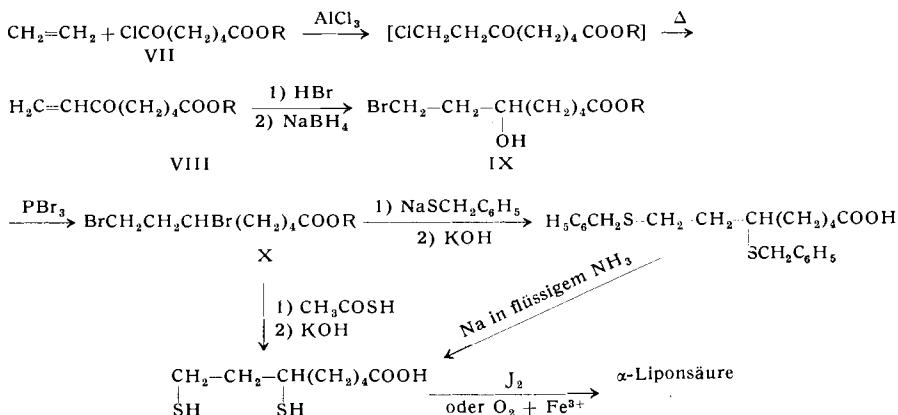
18) J. A. Brockmann, Jr., E. L. R. Stokstad, E. L. Patterson, J. V. Pierce u. M. E. Macchi, ebenda 76, 1827 [1954].

Die Desulfurierung mit Raney-Nickel ergab n-Caprylsäure. Da der negative Kuhn-Roth-Test und das Infrarotspektrum die Abwesenheit einer Methyl-Gruppe anzeigen, mußte eines der Schwefel-Atome am endständigen C-Atom sitzen. Durch weitere chemische Befunde, Röntgenstrukturanalyse und das Infrarotspektrum, wurde auf die Struktur eines cyclischen Disulfides geschlossen, das sich von der 4,8-, der 5,8- oder der 6,8-Dimercapto-n-caprylsäure ableite. Der endgültige Strukturbeweis über die Ringgröße des Disulfid-Ringes wurde erst durch die Synthese erbracht¹⁹⁾.

Noch bevor die Struktur der α -Liponsäure endgültig aufgeklärt war, gelang Reed²⁰⁾ die Synthese der kristallisierten Verbindung. Durch Umsatz von 4-(α -Tetrahydrofurfuryl)-buttersäure (II) mit Thioharnstoff und HBr bildet sich das Diisothiuroniumsalz (III). Die alkalische Hydrolyse von III ergibt die entspr. Mercaptosäure (IV), die durch Oxydation mit Jod in α -Liponsäure übergeht.



Bessere Ausbeuten werden erhalten, wenn man den Furan-Ring mit HBr und Schwefelsäure öffnet, wobei sich vorwiegend das Bromlacton (V) bildet und dieses dann mit Thioharnstoff zu III umsetzt. V lagert sich durch Säure oder durch Destillation in das γ -Lacton (VI) um, welches ebenfalls mit Thioharnstoff III ergibt. Die Synthese läßt also keinen Schluß auf die Größe des Disulfid-Ringes zu.



Die Ausbeuten an D,L- α -Liponsäure betragen etwa 4%. Öffnet man den Furan-Ring von II mit Kaliumjodid und Phosphorsäure an Stelle von HBr und Schwefelsäure, so erhält man bei sonst gleicher Reaktionsfolge das 6-Ring-Isomere der α -Liponsäure¹⁹⁾.

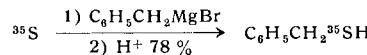
Bedeutend bessere Ausbeuten liefert eine weitere Synthese von Reed²¹⁾. Äthylen wird an δ -Chlorformyl-

¹⁹⁾ M. W. Bullock, J. A. Brockmann, Jr., E. L. Patterson, J. V. Pierce, M. H. von Saltza, F. Sanders u. E. L. R. Stokstad, ebenda 76, 1828 [1954].

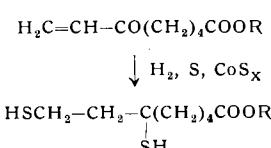
²⁰⁾ C. S. Hornberger, Jr., R. F. Heitmüller, I. C. Gunsalus, G. H. F. Schnakenberg u. L. J. Reed, ebenda 75, 1273 [1953].

²¹⁾ L. J. Reed u. Ching-I Nin, J. Amer. chem. Soc. 77, 416 [1955].

valeriansäureester (VII) addiert, wobei sich nach Destillation der 6-Oxo-7-octensäureester (VIII) bildet. Durch Addition von wasserfreier HBr und anschließende Reduktion mit Natriumborhydrid erhält man den 8-Brom-6-oxyoctansäureester (IX), der mit PBr_3 zum 6,8-Dibromooctansäureester (X) umgesetzt wird. Der Ersatz von Brom durch die Sulphydryl-Gruppe ist durch Umsatz mit Kaliumthioacetat und anschließende alkalische Hydrolyse möglich. Bessere Ausbeuten liefert jedoch der Weg über das Dibenzylmercaptal, das sich aus X durch Umsatz mit Natriumbenzylmercaptid gewinnen läßt. Durch Reduktion mit Na in flüssigem Ammoniak erhält man die Dimercapto-Verbindung, welche mit Jod oder mit Luftsauerstoff in Gegenwart von Fe^{3+} zur α -Liponsäure oxydiert wird. Die Ausbeuten, bezogen auf die Dibrom-Verbindung X, betragen etwa 65%. In der gleichen Weise wurden von Adams²²⁾ und von Reed²³⁾ auch die ^{35}S markierte α -Liponsäure synthetisiert. Die Darstellung des ^{35}S -Benzylmercaptans gelang über die Grignard-Reaktion mit elementarem Schwefel und Benzylmagnesiumbromid.



Die technisch mögliche Synthese von Bullock und Hand²⁴⁾ verläuft zunächst über die gleichen Stufen. Das Zwischenprodukt VIII wird dann durch Druckhydrierung in Gegenwart von Schwefelwasserstoff, der im Reaktionsgefäß aus elementarem Schwefel und Wasserstoff gebildet wird, und Kobaltpolysulfid als Katalysator direkt in den Ester der Dihydro- α -liponsäure übergeführt.



Weitere Synthesen der α -Liponsäure, die aber im wesentlichen auf den gleichen Reaktionen beruhen, wurden von Stokstad und Mitarbeitern²⁵⁾ und von Pohland und Mitarbeitern²⁶⁾ ausgeführt.

Die Synthese der optischen Antipoden der α -Liponsäuregelang Folkers und Mitarbeitern²⁷⁾. Die Addition von Thioessigsäure an 7-Carbäthoxy-2-heptensäure (XI) ergibt die D,L-3-Acetylthio-7-carbäthoxy-heptansäure (XII).

Aus einer ätherischen Lösung von XII kristallisiert mit L-Ephedrin das Salz der linksdrehenden Form. Die (–)-Form von XII wird dann in das Säurechlorid (XIII) verwandelt, welches durch Reduktion mit Natriumborhydrid

²²⁾ P. Adams, J. Amer. chem. Soc. 77, 5357 [1955].

²³⁾ R. C. Thomas u. L. J. Reed, ebenda 77, 5446 [1955].

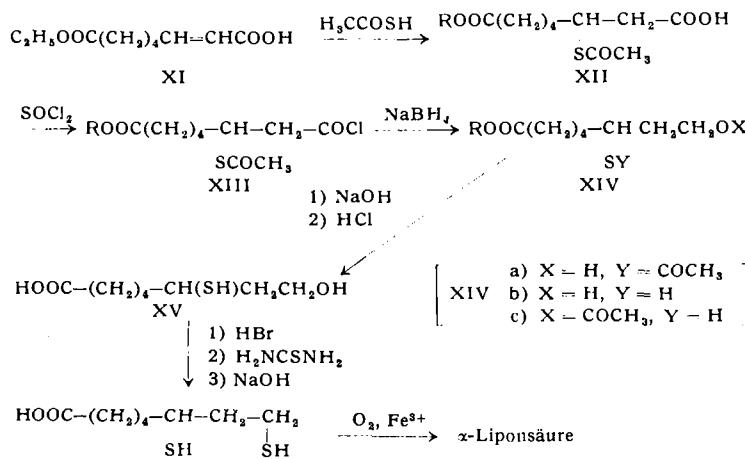
²⁴⁾ M. W. Bullock u. J. J. Hand, Chem. Engng. News, 33, 1526 [1955].

²⁵⁾ M. W. Bullock, J. A. Brockmann, Jr., E. L. Patterson, J. V. Pierce, M. H. von Saltza, F. Sanders u. E. L. R. Stokstad, J. Amer. chem. Soc. 76, 1828 [1954].

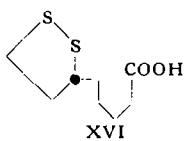
²⁶⁾ Q. F. Soper, W. E. Buting, J. E. Cochran, Jr. u. A. Pohland, ebenda 76, 4109 [1954].

²⁷⁾ E. Walton, A. F. Wagner, F. W. Bachelor, L. H. Peterson, F. W. Holly u. K. Folkers, ebenda 77, 5144 [1955].

in eine Mischung von drei Estern (XIV, a, b, c) übergeht, die durch alkalische Hydrolyse die (−)-8-Oxy-6-thiol-octansäure (XV) ergeben. Der Ersatz der Hydroxyl-Gruppe durch die Sulfhydryl-Gruppe über das Bromid mit Thioharnstoff führt zur (+)-Dihydro- α -liponsäure, welche in erwähnter Weise zur (−)- α -Liponsäure oxydiert wird. Entsprechend wurde die rechtsdrehende Verbindung dargestellt. Die (+)-Säure hat einen Drehwert von $[\alpha]^{23} +104^\circ$ ($c = 0,88$, Benzol), die (−)-Säure $[\alpha]^{23} -113^\circ$ ($c = 1,88$, Benzol). Im enzymatischen Brenztraubensäure-Oxydationstest²⁸⁾ zeigt die (+)- α -Liponsäure die doppelte Aktivität wie die D,L-Form. Die (−)-Säure ist inaktiv.



Nach Mislow und Meluch²⁹⁾ hat die (+)- α -Liponsäure die Konfiguration XVI.



Physikalische und chemische Eigenschaften der α -Liponsäure

Die in gelben Nadeln vom Fp 60,5–61,5 °C kristallisierende D,L-Form zeigt ein charakteristisches UV-Spektrum mit $\lambda_{\max} 332 \text{ m}\mu$, $\lambda_{\min} 280 \text{ m}\mu$ und $\epsilon_{\max} 157 [\text{l} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}]$. Beim Vergleich des Spektrums der α -Liponsäure mit dem Spektrum der entsprechenden Verbindung mit einem Sechsring und einem offenkettigen Disulfid³⁰⁾ (Bild 1) sieht man bei der α -Liponsäure sowohl eine Verschiebung des Absorptionsmaximums nach längeren Wellen, als auch eine Abnahme der Intensität. Calvin³¹⁾ deutete die Verschiebung des Absorptionsmaximums nach längeren Wellen durch das Auftreten einer Spannung im cyclischen Disulfid-Ring der α -Liponsäure. Die Spannung ist mehr oder weniger in der S–S-Bindung lokalisiert und entsteht aus bisher noch nicht völlig geklärten Gründen. Es ist diese Ringspannung des fünfgliedrigen Disulfid-Ringes, der die α -Liponsäure ihre besondere Stellung in der Biochemie verdankt. Die entsprechende Säure mit einem 6-Ring (5,8-Thioctansäure) ist biologisch völlig unwirksam.

Calvin^{30, 31)} hat die Spannungsenergie der α -Liponsäure theoretisch und experimentell zu bestimmen versucht. Beim 5-Ring mit der Disulfid-Bindung muß der diedrische Winkel zwischen den C–S-Bindungen einen Wert von nahe 0° haben, während er in einem offenkettigen Disulfid jeden beliebigen Wert annehmen kann. An-

²⁸⁾ I. C. Gunsalus u. W. E. Razzell: Methods of Enzymology, Bd. III; Academic Press, New York, N. Y. 1955, im Druck.

²⁹⁾ K. Mislow u. W. C. Meluch, J. Amer. chem. Soc. 78, 2341 [1956].

³⁰⁾ J. A. Bartrop, P. M. Hayes u. M. Calvin, J. Amer. chem. Soc. 76, 4348 [1954], vgl. a. diese Ztschr. 68, 253 [1956].

³¹⁾ M. Calvin, Feder. Proc. 13, 697 [1954].

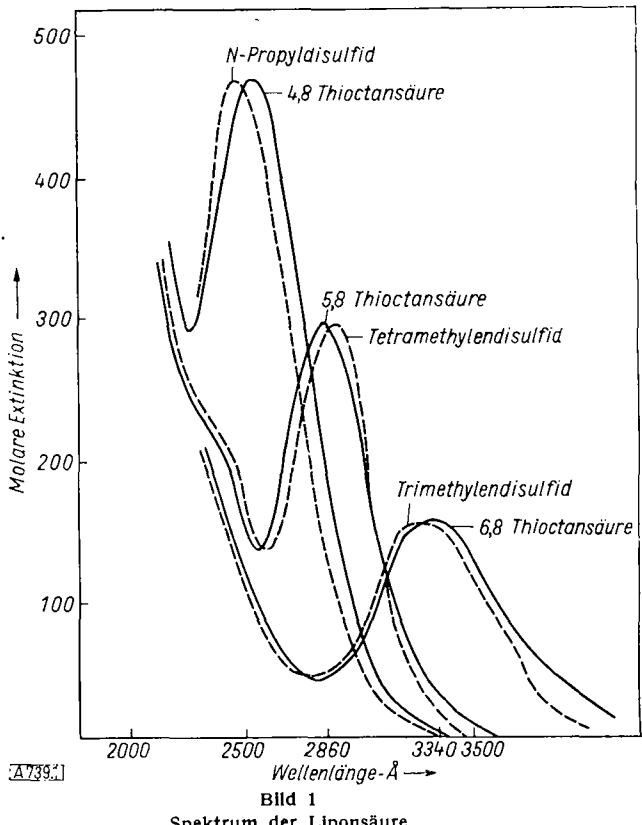


Bild 1
Spektrum der Liponsäure

haltspunkte für die Größe der dadurch im Ring auftretenden Spannung, lassen sich aus Messungen über die Behinderung der freien Drehbarkeit bei einfachen offenkettigen Disulfiden gewinnen. Wärmekapazitätsmessungen an Dimethyldisulfid und Diäthyldisulfid ergaben eine Behinderung der freien Drehbarkeit zur coplanaren Stellung – Winkel zwischen den C–S-Bindungen 180° – mit einer Energieschwellen von ungefähr 10–15 Cal³²⁾. Die Geometrie des C–S–S–C-Systems ist in Bild 2 dargestellt. Ein möglicher Grund für die Behinderung der freien Drehbarkeit ist ein Überlappen der p_z „orbitals“ der beiden S-Atome³³⁾. Die stabile Konfiguration ist dann ein Disulfid mit einem Winkel von 90° zwischen den C–S-Bindungen.

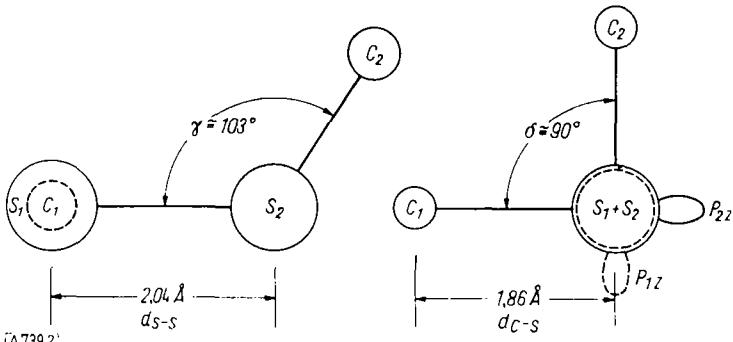


Bild 2
Geometrie des C–S–S–C-Systems

Jede Abweichung von diesem Winkel ergibt eine Spannung, deren Energie etwa 10–12 Cal für die 180° Stellung beträgt und für die 0° Stellung (5-Ring) als noch größer zu erwarten ist, da hier eine Veränderung der C–S-Bindungswinkel hinzukommt. Eine weitere Abschätzung der Spannungsenergie im cyclischen Disulfid ergibt sich nach Cal-

³²⁾ D. W. Scott, H. L. Finke, J. P. McCullough, M. E. Gross, R. E. Pennington u. G. Waddington, J. Amer. chem. Soc. 74, 2478 [1952].

³³⁾ L. Pauling: The Nature of the Chemical Bond; Cornell University Press, 1948, S. 90.

vin aus der Verschiebung des Absorptionsmaximums bei der α -Liponsäure gegenüber einem offenkettigen Disulfid. Nimmt man an, daß beim angeregten Zustand der ersten Absorptionsbanden die S-S-Bindung gesprengt wird, dann hat in erster Annäherung der angeregte Zustand für alle Disulfide etwa die gleiche Konfiguration, und die Energiedifferenz der Spektren beruht auf der Energiedifferenz der Grundzustände. Die verschiedenen Energiestufen lassen sich dann als Funktionen des S-S-Abstandes durch einfache Morse-Kurven darstellen (Bild 3). Der Übergang

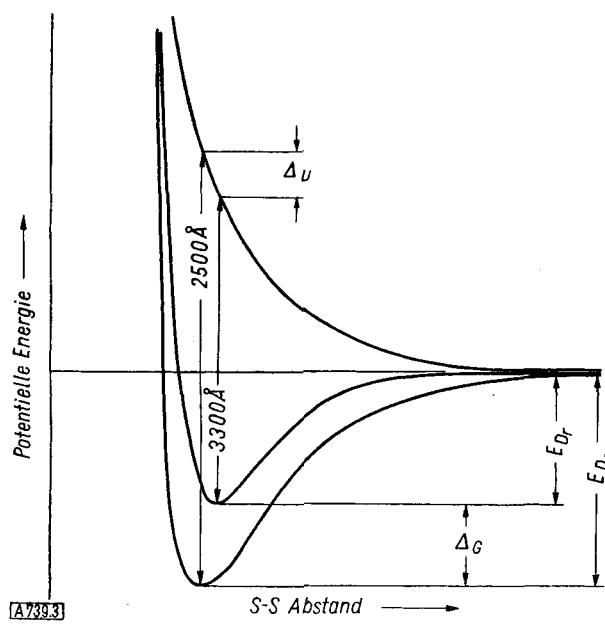
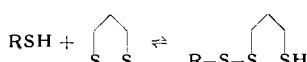


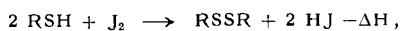
Bild 3
Energiestufen und S-S-Abstand

beim Absorptionsmaximum für den 5-Ring (3300 \AA) entspricht 86 Cal, für die offenkettige Verbindung (2500 \AA) 113 Cal. Da die Energie der angeregten Zustände $\Delta U \approx 0$ ist, ergeben sich 27 Cal als Energiedifferenz der Grundzustände, welche einer Spannungsenergie von 27 Cal für den 5-Ring entspräche.

Weitere Anhaltspunkte über die Größe der Spannungsenergie lassen sich aus kinetischen Messungen gewinnen. Bei einem p_{H_2} um 8 reagiert das Trimethylendisulfid, welches alle charakteristischen Reaktionen des Disulfid-Ringes der α -Liponsäure zeigt, mit Mercaptan unter Bildung eines offenkettigen Disulfides.



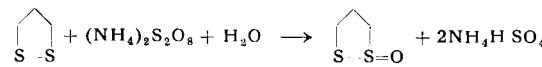
Durch Messung des Gleichgewichtes bei 25°C und 35°C wurde ein ΔH von ~ 7 Cal für diese Reaktion gefunden³⁰⁾. Da die Bindungen auf beiden Seiten die gleichen sind, stellt das ΔH in erster Annäherung die Spannung des Ringes dar. Die Messung ist jedoch sehr ungenau, da sie nur bei zwei verschiedenen Temperaturen ausgeführt werden konnte. Kürzlich bestimmte Sunner (S. Sunner, Nature [London] 176, 217 [1955]) aus der Reaktion



die Ringspannung bei der α -Liponsäure zu 3,5 kcal und die des Trimethylendisulfides zu 4 kcal. Dieser experimentell nun gesicherte erscheinende sehr kleine Wert läßt sich wahrscheinlich dadurch erklären, daß die Berechnungen für die Behinderung der freien Drehbarkeit der S-S-Bindung sich auf den Gaszustand beziehen, während obiger Wert im

flüssigen Zustand gemessen wurde. Die Berechnungen der Spannungsenergie aus dem Spektrum, werden von Sunner als unrealistisch bezeichnet.

Mit Ammoniumpersulfat läßt sich das Disulfid zum Sulfoxid oxydieren. Die Geschwindigkeitskonstanten dieser



bimolekularen Reaktion für verschiedene Disulfide sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

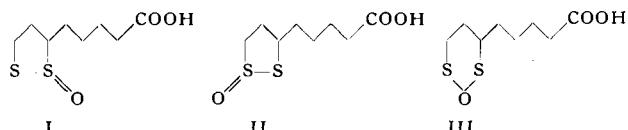
| | k |
|--|-----|
| 6,8-Thioctansäure (α -Liponsre.) | 141 |
| 5,8-Thioctansäure | 4,2 |
| 8-Methyl-6,8-thioctansäure | 220 |
| Offenkettiges Disulfid | 0 |

Tabelle 1

Oxydation von $\begin{array}{c} \text{S} \\ \diagdown \\ \text{S}=\text{O} \\ \diagup \\ \text{S} \end{array}$ durch $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ zu $\begin{array}{c} \text{S} \\ \diagdown \\ \text{S}=\text{O} \\ \diagup \\ \text{S} \end{array}$ bei 25°C in H_2O nach Calvin³¹⁾

Man sieht auch hier die bemerkenswert größere Reaktionsfähigkeit des 5-Ring-Disulfides. Die 8-Methyl-6,8-thioctansäure, der einzige bisher bekannte Antagonist der α -Liponsäure, ist noch reaktionsfähiger als die α -Liponsäure selbst, während ein offenkettiges Disulfid unter den angewandten Reaktionsbedingungen überhaupt nicht oxydiert wird. Auch bei der Reduktion mit Zink und Salzsäure wird das 5-Ring-Disulfid augenblicklich bei Zimmertemperatur reduziert, während ein 6-Ring-Disulfid bedeutend langsamer reagiert, und ein offenkettiges Disulfid erhitzt werden muß.

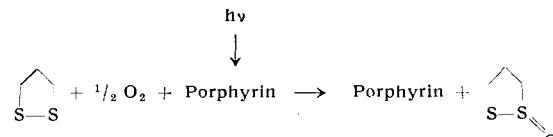
Das Sulfoxid der α -Liponsäure, für dessen Konstitution es drei Möglichkeiten gibt (I, II, III) bildet sich außerordentlich leicht. Es ist noch nicht genau bekannt, durch welche Stoffe die Sulfoxid-Bildung katalysiert wird. Schon bei der Papierchromatographie eines analysenreinen Präparates von α -Liponsäure, erhält man stets etwas Sulfoxid.



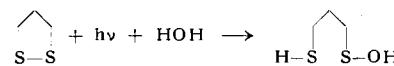
Aus α -Liponsäure und Thiol-Verbindungen, wie z. B. reduziertem Glutathion, Cystein, Thioäpfelsäure und β -Mercapto-äthylamin bilden sich gemischte Disulfide mit biologischer Aktivität³²⁾.

Im Hinblick auf eine mögliche Beteiligung der α -Liponsäure bei der Photosynthese haben Calvin und Mitarbeiter³³⁾ die Photochemie der α -Liponsäure bzw. des Trimethylendisulfids näher untersucht. Die Photolyse des Trimethylendisulfides in neutraler Lösung führt zur Polymerisation, wahrscheinlich über die Stufe eines Biradikals. Säure verhindert die Polymerisation.

Bei Gegenwart eines Porphyrins und Licht wird die Oxydation zum Sulfoxid sensibilisiert.

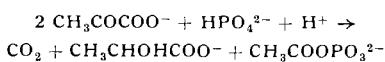


Die Photolyse in Gegenwart von Säure führt wahrscheinlich zu einem Thiol und einer Sulfensäure.

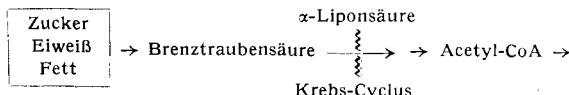


³⁰⁾ L. J. Reed, B. G. De Busk, C. S. Hornberger, jr., u. I. C. Gunsalus, J. Amer. chem. Soc. 75, 1271 [1953].

Die Summe dieser Reaktionen ergibt:



Bei Reaktion 2 kann bekanntlich die Acetyl-Gruppe auch auf andere Acceptor-Moleküle übertragen werden, so z. B. auf die Oxalessigsäure, wobei mit Hilfe des „*condensing enzyme*“ Citronensäure gebildet wird. Die α -Liponsäure steht also im Stoffwechselgeschehen zwischen der Brenztraubensäure und dem Acetyl-CoA.



Für die oxydative Spaltung des Diacetyls durch *S. faecalis* wird außer Thiaminpyrophosphat und Mg^{2+} auch α -Liponsäure gebraucht. Dabei bildet sich ebenfalls die Acetylhydro-liponsäure³⁸⁾.

b) Weitere mögliche biologische Funktionen der α -Liponsäure

Da die α -Liponsäure in einer Vielzahl von Nahrungsmitteln vorkommt, konnten bisher noch keine Mängelercheinungen bei Fehlen von α -Liponsäure festgestellt werden. Es ist also noch nicht entschieden, ob die α -Liponsäure Vitamincharakter hat. Durch Fütterung des Antagonisten der α -Liponsäure, der 8-Methyl- α -liponsäure, besteht die Möglichkeit, bei Versuchstieren einen künstlichen Mangel an α -Liponsäure zu erzeugen. In dieser Hinsicht liegen jedoch noch keine experimentellen Ergebnisse vor. *De Busk* und *Williams*⁴³⁾ konnten lediglich zeigen, daß bei Zusatz von α -Liponsäure zu einer bestimmten Diät bei Kücken und Ratten das Wachstum zunahm und die Nahrungsabsorption besser wurde.

Wie Bradley und Calvin⁴⁴⁾ fanden, wird die Sauerstoff-Entwicklung bei der Hill-Reaktion durch Zusatz von α -Liponsäure beschleunigt. Die α -Liponsäure ist möglicherweise bei der Photosynthese als Elektronen-Acceptor beteiligt. Dies ist bereits von M. Calvin in dieser Zeitschrift ausführlich diskutiert worden⁴⁵⁾.

Da bei der Einwirkung von Licht auf Rhodopsin pro Moleköl Rhodopsin 2 SH-Gruppen frei werden, vermutet Strauss⁴⁶⁾ die Teilnahme von α -Liponsäure beim Sehvorgang.

Therapeutische Anwendung der α -Liponsäure bei Leberaffektionen

Bei Leberaffektionen, bei denen Störungen im Keton-
säure-Stoffwechsel vermutet wurden, konnte Rausch⁴⁷⁾
durch intravenöse Injektion einer 0,2% wäßrigen Lösung
von α -Liponsäure eine Besserung des vegetativen Sympton-
komplexes erzielen. Beim Leberkoma gelang es die Be-
wußtlosigkeit durch Injektion von α -Liponsäure zu unter-
brechen. Gleiche Ergebnisse erhielten kürzlich auch ameri-
kanische Forscher^{48).}

⁴³) B. G. De Busk u. R. J. Williams, Archiv. Biochem. Biophysics 55, 587 [1955].

⁴⁴) D. F. Bradley u. M. Calvin, ebenda 53, 99 [1954].

⁴⁵⁾ M. Calvin, diese Ztschr. 68, 263 [1956].
⁴⁶⁾ B. S. Strauss, Science [Washington], 118,

⁴⁶) B. S. Strauss, Science [Washington] 118, 330 [1953].
⁴⁷) F. Rausch, Arzneimittelforschg. 5, 32 [1955].

⁴⁸⁾ F. Steigmann u. S. M. Canaknati, Feder. Pr.

, *J. Biogeoogr.* 1999, **26**, 101-110. [1998]

Biologisch aktive Formen der α -Liponsäure

Reed und *De Busk*⁴⁹⁾ schlossen aus Versuchen mit einer *E. Coli*-Mutante, daß ein Amid aus α -Liponsäure und Thiaminpyrophosphat, das sog. „*lipothiamide*“ (LPTT), die biologisch aktive Form der α -Liponsäure bei der oxydativen Decarboxylierung der Brenztraubensäure ist. Diese Befunde konnten aber bisher nicht bestätigt werden und sind auf Widerspruch gestoßen. *Gunsalus*⁴¹⁾ fand, daß die Dialyse der Fraktion A aus *S. faecalis* gegen alkalisches Pyrophosphat und Äthylendiamin-tetraessigsäure das Thiaminpyrophosphat entfernt, wodurch das Enzymsystem inaktiviert wird. Die Aktivität kann dann durch einfaches Zufügen von Thiaminpyrophosphat wiederhergestellt werden. Diese Befunde wären bei einer covalenten Bindung zwischen der α -Liponsäure und dem Thiaminpyrophosphat nicht verständlich. Die synthetischen Experimente zur Darstellung des Lipothiamids waren von *Reed* mit sehr unreiner α -Liponsäure ausgeführt worden und konnten mit der kristallisierten Verbindung nicht wiederholt werden⁵⁰⁾.

Schon *Gunsalus*¹⁰⁾ hatte gefunden, daß die α -Liponsäure in *S. faecalis* in mehreren Formen vorkommt: einer gebundenen Form, einer schwach sauren Form, einer stärker sauren Form und einer neutralen Form. Die schwach saure und stark saure Form wurden später als α -Liponsäure und ihr Sulfoxid identifiziert. Die wasserlöslichen Formen der α -Liponsäure scheinen Protein-Komplexe zu sein^{51, 52)}.

Durch Untersuchung des Stoffwechsels von ^{35}S markierter α -Liponsäure in Grünalgen^{50, 53}) konnten die verschiedenen biologisch aktiven Formen der Säure näher charakterisiert werden. Die neutrale Form ist ein Carboxylester der α -Liponsäure, der in den Chloroplasten lokalisiert ist. Diese Form scheint für die Stimulierung der *Hill*-Reaktion durch die α -Liponsäure verantwortlich zu sein.

Bei der α -Ketobuttersäure-Oxydation ist zur Aktivität der α -Liponsäure ein Enzymsystem, bestehend aus Coenzym A, Cocarboxylase, L-Cystein, $MgCl_2$ und Phosphat, notwendig. Inkubiert man die α -Liponsäure mit diesem Enzymsystem, so erreicht sie erst nach 30 min ihre volle Aktivität und geht dabei in eine gebundene, nicht dialysierbare Form über, die offenbar die eigentlich enzymatisch aktive Form der α -Liponsäure ist⁵⁴⁾.

Die vorliegende Übersicht und die eigenen Arbeiten über die α -Liponsäure machte ich während meines Aufenthaltes im Laboratorium von Prof. Melvin Calvin an der Universität von Californien in Berkeley. Ich möchte auch an dieser Stelle für die gastliche Aufnahme, die ich dort fand, herzlich danken.

Eingegangen am 19. Juni 1956 [A 739]

⁴⁹) L. J. Reed u. B. G. De Busk, J. biol. Chemistry 199, 881 [1952]; Feder, Proc. 13, 723 [1954].

⁵⁰) H. Grisebach, C. Fuller u. M. Calvin, Biochim. Biophys. Acta, im Druck.

⁵¹⁾ D. K. Sanadi, T. W. Littlefield u. R. M. Bock, J. biol. Chemistry 197, 851 [1952].

⁵²⁾ Jagannathan, Venkataraman u. R. S. Schweet, ebenda 196, 551 [1952].

⁵³⁾ R. C. Fuller, H. Grisebach u. M. Calvin, J. Amer. chem. Soc. 77, 2659 [1955].
⁵⁴⁾ E. B. Leach, K. Yasunobu u. L. J. Reed, Biochim. Biophys. Acta

³⁴⁾ F. R. Leach, K. Yasunobu u. L. J. Reed, Biochim. Biophys. Acta 18, 297 [1955].