

Zusammenfassung. Die Resultate der älteren Proton-Proton-Streuexperimente konnten durch die Annahme erklärt werden, dass Protonen, die einen Zentralstoss erleiden, sich bei Annäherung auf etwa 3×10^{-13} cm stark anziehen. Die Form des entsprechenden Potentialtopfes konnte nicht festgelegt werden. Auf Grund späterer Experimente konnte die zulässige Form des Potentials begrenzt, aber nicht eindeutig bestimmt werden.

Für Protonen mit höherem Bahndrehimpuls zeigen sich unterhalb 20 MeV nur kleine Abweichungen von der Rutherford'schen Streuung, und nur wenig ist bekannt über die Natur der Wechselwirkung.

Die experimentellen Probleme, welche der weiteren Verbesserung der Messgenauigkeit im Wege stehen, werden diskutiert.

Chemie und Stoffwechsel der Polyenfettsäuren *

Von E. KLENK**

Für das Problem, auf welches im folgenden näher eingegangen werden soll, sind zwei schon längere Zeit zurückliegende Entdeckungen von besonderer Bedeutung. Es handelt sich einerseits um die Auffindung einer C_{20} -Tetraensäure in den Leberphosphatiden durch HARTLEY¹, und andererseits um den wohlbekannten Befund von BURR und BURR² über die essentielle Natur der im Nahrungsfett vorkommenden Polyensäuren von der Art der Linol- und Linolensäure.

Die C_{20} -Tetraensäure, die später den Namen Arachidonsäure erhielt, erwies sich als regelmässiger Baustein der Phosphatide der Leber und anderer Organe. Sie besitzt ebenfalls die Eigenschaften einer essentiellen Fettsäure³. Ihre biologische Wirksamkeit übertrifft die der Linolsäure um ein mehrfaches. Nach SMEDLEY-MACLEAN⁴ ist die Arachidonsäure $\Delta^{5,8,11,14}$ -Eicosatetraensäure. Von der endständigen Methylgruppe aus gerechnet befinden sich die ersten beiden Doppelbindungen an derselben Stelle wie in der Linolsäure. Wegen dieser Ähnlichkeit der chemischen Konstitution hat auch SMEDLEY-MACLEAN bereits angenommen, dass die Arachidonsäure im Tierkörper aus exogen zugeführter Linolsäure durch Kettenverlängerung und Dehydrierung entsteht. Der exakte Beweis dafür wurde erst viele Jahre später von MEAD et al.⁵ mit Hilfe der Tracermethode erbracht.

Im Anfang der dreissiger Jahre hatten wir⁶ gefunden, dass in den Organophosphatiden außer den C_{20} -Polyensäuren von der Art der Arachidonsäure auch regelmässig noch C_{22} -Polyensäuren vorkommen und dass diese letzteren noch stärker ungesättigt sind als die Arachidonsäure. Sie gleichen ihrem Verhalten nach der Clupanodonsäure der Fischöle, die damals als eine Docosapentaensäure angesprochen wurde. Es war offensichtlich, dass die C_{20} - und C_{22} -Polyensäuren der Organophosphatide der Säugetiere und die Polyensäuren der Fischöle in naher Beziehung zueinander stehen mussten.

Nach einer über zehnjährigen Unterbrechung, bedingt durch die Kriegsergebnisse, konnten diese Untersuchungen erst im Jahre 1950 wieder aufgenommen werden. Als besonders wertvoll für alle weiteren Versuche auf diesem Gebiet erwies sich eine von uns⁷ ausgearbeitete Methode des oxydativen Ozonidabbaus der Polyensäuren und der quantitativen chromatographischen Bestimmung der dabei auftretenden Abbau-dicarbonsäuren. Nimmt man als Beispiel die Arachidonsäure (siehe die Konstitutionsformel), so führt theoretisch der oxydative Abbau zu einem Mol Glutar-säure und drei Mol Malonsäure/Mol Polyensäure. Bei den bisherigen Abbaumethoden tritt Malonsäure nicht oder nur spurenweise auf, zu fassen sind nur die höheren Dicarbonsäuren. Mit der neuen Methode erhält man Malonsäure in reichlichen Mengen, in der Regel 50% der Theorie, die höheren Dicarbonsäuren jedoch in nahezu quantitativer Ausbeute. Diese Methode ermöglicht es auch, die Dicarbonsäuren, die vom Carboxylende stammen, und diejenigen, die aus der Mitte der Kohlenstoffkette herausgespalten werden, zu unterscheiden. Wird nämlich der Abbau mit dem Ester

* Nach einem Vortrag auf der gemeinsamen Tagung der deutschen, französischen und schweizerischen Biochemiker in Zürich vom 10.-12. Oktober 1960.

** Physiologisch-Chemisches Institut der Universität Köln.

¹ T. HARTLEY, J. Physiol. 88, 353 (1909).

² G. O. BURR und M. M. BURR, J. biol. Chem. 82, 345 (1929); 86, 587 (1930).

³ O. TURPEINEN, J. Nutrition 15, 351 (1938).

⁴ L. C. A. NUNN und I. SMEDLEY-MACLEAN, Biochem. J. 32, 2187 (1938). – D. E. DOLBEY, L. C. A. NUNN und I. SMEDLEY-MACLEAN, Biochem. J. 34, 1422 (1940). – C. L. ARCUS und I. SMEDLEY-MACLEAN, Biochem. J. 37, 1 (1943).

⁵ J. F. MEAD, G. STEINBERG und D. H. HOWTON, J. biol. Chem. 205, 683 (1953).

⁶ a) E. KLENK, Z. physiol. Chem. 192, 217 (1930); b) 200, 51 (1931); c) 208, 25 (1932). – d) E. KLENK und O. v. SCHÖNEBECK, Z. physiol. Chem. 194, 191 (1931); e) 209, 112 (1932). – f) E. KLENK und J. DITTMER, Z. physiol. Chem. 244, 203 (1936).

⁷ E. KLENK und W. BONGARD, Z. physiol. Chem. 290, 181 (1952).

durchgeführt, so stammen alle freien Dicarbonsäuren aus der Mitte der Kohlenstoffkette. Wir⁸ fanden, dass das Estergemisch der C₂₂-Polyensäuren genau so wie das der C₂₀-Polyensäuren beim Abbau als einzige freie Dicarbonsäure Malonsäure ergibt. Allen C₂₀- und C₂₂-Polyensäuren der Organophosphatide musste also ebenso wie der Arachidonsäure Divinylmethanstruktur zu kommen. In entsprechender Weise konnte auch die Divinylmethanstruktur der in den Fischölen vorkommenden Polyensäuren bewiesen werden⁹. Bisher hatte man diesen Säuren neben der Divinylmethan- auch Divinyläthanstruktur zugeschrieben. Dadurch sollten sich die Polyensäuren der Fischöle in charakteristischer Weise von den Polyensäuren anderer Herkunft unterscheiden.

Schon diese ersten orientierenden Versuche zur Konstitutionsaufklärung der Polyensäuren der Organophosphatide zeigten, dass als höchstungesättigte Fettsäuren neben der Arachidonsäure auch noch die Δ_{5,8,11,14,17}-Eicosapentaensäure und die Δ_{4,7,10,13,16,19}-Docosahexaensäure vorkommen (siehe die Konstitutionsformeln). Sowohl die Pentaen- wie auch die Hexaensäure konnten auch unter den Polyensäuren der Fischöle nachgewiesen werden. Die Versuche haben weiter gezeigt, dass diese höchstungesättigten Fettsäuren stets noch von grösseren oder kleineren Mengen schwächer ungesättigten C₂₀- und C₂₂-Polyensäuren begleitet werden.

Polyensäuren vom Linolsäuretyp

$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_4-\overset{\parallel}{\text{CH}}-\text{CH}_2-\overset{\parallel}{\text{CH}}-\text{CH}-(\text{CH}_2)_7-\text{COOH}$	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_4-\overset{\parallel}{\text{CH}}-\text{CH}_2-\overset{\parallel}{\text{CH}}-\text{CH}_2-\overset{\parallel}{\text{CH}}-\text{CH}_2-\overset{\parallel}{\text{CH}}-\text{CH}-(\text{CH}_2)_3-\text{COOH}$
Δ ^{9,11} -Octadecadiensäure (Linolsäure)	Δ ^{5,8,11,14} -Eicosatetraensäure (Arachidonsäure)

Polyensäuren vom Linolensäuretyp

$\text{CH}_3-\text{CH}_2-\overset{\parallel}{\text{CH}}-\text{CH}_2-\overset{\parallel}{\text{CH}}-\text{CH}-(\text{CH}_2)_7-\overset{\parallel}{\text{CH}}-\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_5-\overset{\parallel}{\text{CH}}-\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}$	$\text{CH}_3-\text{CH}_2-\overset{\parallel}{\text{CH}}-\text{CH}_2-\overset{\parallel}{\text{CH}}-\text{CH}-(\text{CH}_2)_5-\overset{\parallel}{\text{CH}}-\text{CH}_2-\overset{\parallel}{\text{CH}}-\text{CH}-(\text{CH}_2)_5-\overset{\parallel}{\text{CH}}-\text{CH}_2-\overset{\parallel}{\text{CH}}-\text{CH}-(\text{CH}_2)_2-\text{COOH}$
Δ ^{9,12,15} -Octadecatriensäure (Linolensäure)	Δ ^{5,8,11,14,17} -Eicosapentaensäure
Δ ^{4,7,10,13,16,19} -Docosahexaensäure	

In der Folge haben wir uns dann mit dem nicht ganz einfachen Problem der Zerlegung des sehr komplexen Polyensäuregemisches in die einzelnen Komponenten beschäftigt. Tabelle I gibt einen Überblick über die isolierten Polyensäuren und deren Konstitution. Isolierbar sind alle Polyensäuren, soweit sie sich in der Kettenlänge und dem Grad der Ungesättigung von einander unterscheiden. Nicht trennbar sind Isomergemische. Jedoch konnte auch in diesen Fällen die Konstitution der einzelnen Komponenten ermittelt werden. Die Tabelle enthält einerseits die Polyensäuren der Organophosphatide der Säugetiere und andererseits die der Fischöle (Heringsöl).

Allen diesen Polyensäuren, sowohl denen der Organophosphatide wie denen der Fischöle, kommt demnach in der Tat Divinylmethanstruktur zu. Außerdem ergibt sich eine auffallende Regelmässigkeit in der Lage der Doppelbindungen. Sie wird am besten ersichtlich, wenn man die Stellung in bezug auf die endständige Methylgruppe betrachtet. Die erste Doppelbindung befindet sich dann jeweils an derselben Stelle wie in der Öl-, der Linol- oder der Linolensäure, also in Stellung 9, 6 oder 3. Es handelt sich also durchwegs um Polyensäuren vom Öl-, Linol- oder Linolensäuretyp. Die vom Ölsäuretyp sind in den Organophosphatiden normalerweise nur in sehr geringen Mengen vorhanden. Sie fehlen in den Fischölen überhaupt vollständig. In den Fischölen kommen auch die vom Linolsäuretyp nur in verhältnismässig kleinen Mengen vor, vorherrschend sind die vom Linolensäuretyp²¹.

Eine Ausnahme von dieser Regel machen die C₁₆-Polyensäuren der Fischöle, die in den Organophosphatiden der Säugetiere fehlen. Diese gehören der Hauptsache nach einem ganz andersartigen Typ an. Im übrigen sind von AHRENS et al.²² aus Menhadenöl fast genau dieselben Polyensäuren isoliert worden. Zu erwähnen ist auch die Arbeitsgruppe um HAHN, SILK, WHITCUT und SUTTON²³, die fast gleichzeitig mit uns

- ⁸ a) E. KLENK und W. BONGARD, Z. physiol. Chem. 291, 147 (1952). – b) E. KLENK und A. DREIKE, Z. physiol. Chem. 300, 213 (1955).
- ⁹ E. KLENK und W. BONGARD, Z. physiol. Chem. 292, 51 (1953). – E. KLENK, Intern. Conference on Biochemistry. Problems of Lipids (Koninklijke Vlaamse Academie voor Wetenschappen, Letteren en schone Kunsten van België, Brüssel 1953), p. 33.
- ¹⁰ E. KLENK und F. LINDLAR, Z. physiol. Chem. 301, 156 (1955).
- ¹¹ E. KLENK und W. MONTAG, Liebigs Ann. 604, 4 (1957).
- ¹² E. KLENK und F. LINDLAR, Z. physiol. Chem. 299, 74 (1955).
- ¹³ E. KLENK und H. J. TOMUSCHAT, Z. physiol. Chem. 308, 165 (1957).
- ¹⁴ E. KLENK und W. MONTAG, J. Neurochem. 2, 233 (1958).
- ¹⁵ E. KLENK und W. MONTAG, J. Neurochem. 2, 226 (1958).
- ¹⁶ E. KLENK und H. STEINBACH, Z. physiol. Chem. 316, 31 (1959).
- ¹⁷ E. KLENK und H. BROCKERHOFF, Z. physiol. Chem. 310, 153 (1958).
- ¹⁸ E. KLENK und H. BROCKERHOFF, Z. physiol. Chem. 307, 272 (1957).
- ¹⁹ E. KLENK und L. BRUCKER-VOIGT, Z. physiol. Chem., im Druck.
- ²⁰ E. KLENK und D. EBERHAGEN, Z. physiol. Chem. 307, 42 (1957).
- ²¹ E. KLENK in H. M. SINCLAIR, *Essential Fatty Acids*, Proc. 4. Intern. Conf. Biochem. Probl. Lipids (Oxford 1957), p. 57.
- ²² W. STOFFEL und E. H. AHRENS jr., J. Amer. chem. Soc. 80, 6604 (1958).
- ²³ M. H. SILK und H. H. HAHN, Biochem. J. 57, 582 (1954). – J. M. WHITCUT und D. A. SUTTON, Biochem. J. 63, 469 (1956). – J. M. WHITCUT, Biochem. J. 67, 60 (1957).

Tab. I. Zusammenstellung der in den Organophosphatiden und Fischölen vorkommenden Polyensäuren

	Aus Organophosphatiden von Säugetieren	Lage der Doppelbindungen bezogen auf endständige Methylgruppe	Aus Fischölen (Heringsöl)		
				Lage der Doppelbindungen, bezogen auf endständige Methylgruppe	
C ₁₆					
C ₁₈	$\Delta^{9,12}$ -Diensäure ^{8a,8b} $\Delta^{9,12,15}$ -Triensäure ^{8a}	6 9 3 6 9		$\Delta^{9,12}$ -Diensäure ¹⁶ $\Delta^{6,9,12,15}$ -Triensäure ¹⁶ $\Delta^{6,9,12,15}$ -Tetraensäure ¹⁶ $\Delta^{4,7,10,13}$ -Tetraensäure ¹⁶ $\Delta^{9,12}$ -Diensäure ¹⁷ $\Delta^{9,12,15}$ -Triensäure ¹⁷ $\Delta^{6,9,12,15}$ -Tetraensäure ¹⁸	4 7 4 7 10 1 4 7 10 3 6 9 12 6 9 3 6 9 3 6 9 12
C ₂₀	$\Delta^{8,11}$ -Diensäure ¹¹ $\Delta^{11,14}$ -Diensäure ^{10,11} $\Delta^{5,8,11}$ -Triensäure ^{10,11} $\Delta^{8,11,14}$ -Triensäure ^{10,11} $\Delta^{5,8,11,14}$ -Tetraensäure ^{10,11} $\Delta^{5,8,11,14,17}$ -Pentaensäure ¹¹ $\Delta^{10,13}$ -Diensäure ¹³ $\Delta^{7,10,13}$ -Triensäure ^{13,14} $\Delta^{7,10,13,16}$ -Tetraensäure ^{13,13} $\Delta^{4,7,10,13,16}$ -Pentaensäure ^{12,14} $\Delta^{7,10,13,16,19}$ -Pentaensäure ^{13,14} $\Delta^{4,7,10,13,16,19}$ -Hexaensäure ¹² $\Delta^{9,12,15,18}$ -Tetraensäure ¹⁵	9 12 6 9 9 12 15 6 9 12 6 9 12 15 3 6 9 12 15 9 12 9 12 15 6 9 12 15 6 9 12 15 18 3 6 9 12 15 3 6 9 12 15 18		$\Delta^{11,14}$ -Diensäure ¹⁹ $\Delta^{8,11,14}$ -Triensäure ¹⁹ $\Delta^{11,14,17}$ -Triensäure ¹⁹ $\Delta^{5,8,11,14}$ -Tetraensäure ¹⁹ $\Delta^{8,11,14,17}$ -Tetraensäure ¹⁹ $\Delta^{5,8,11,14,17}$ -Pentaensäure ^{19,20}	6 9 6 9 12 3 6 9 6 9 12 15 3 6 9 12 3 6 9 12 15
C ₂₂				$\Delta^{7,10,13,16,19}$ -Pentaensäure ¹⁷ $\Delta^{4,7,10,13,16,19}$ -Hexaensäure ¹⁷	3 6 9 12 15 3 6 9 12 15 18
C ₂₄					

die Isolierung und Konstitutionsermittlung der höchstungesättigten C₁₈-, C₂₀- und C₂₂-Polyensäuren von Fischölen durchführte. Diese Arbeitsgruppe hat auch die in ihrer Konstitution so eigenartige C₁₆-Tetraensäure ($\Delta^{6,9,12,15}$ -Hexadecatetraensäure) entdeckt.

Unsere Befunde über die Konstitution der in den Organophosphatiden der Säugetiere vorkommenden Polyensäuren war von besonderem Interesse für die Frage nach ihrer Biogenese. Ich erwähnte bereits die Hypothese von SMEDLEY-MACLEAN, wonach die Arachidonsäure aus Linolsäure durch Kettenverlängerung und Einführung weiterer Doppelbindungen entsteht und dass MEAD diese Hypothese auf eine gesicherte experimentelle Grundlage gestellt hat. Es ist nun naheliegend anzunehmen, dass alle anderen Polyensäuren vom Linolsäuretyp ebenfalls aus Linolsäure und die vom Linolensäuretyp in entsprechender Weise aus Linolensäure entstehen. Linol- und Linolensäure aber müssen bekanntlich als essentielle Fettsäuren mit der Nahrung zugeführt werden. Der tierische Organismus ist nicht in der Lage, sie selbst zu bilden. Dies gilt zum mindesten für die Ratte. Wir²⁴ haben deshalb schon vor einiger Zeit den Einbau von Acetat in die Polyensäuren der Leberphosphatide bei der Ratte studiert, wobei das Acetat mit ¹⁴C markiert war. Unter den beim oxydativen Ozonidabbau der Polyensäuren entstehenden Dicarbonsäuren war nahezu die Gesamtaktivität in der Bernsteinsäure und den höheren Dicarbonsäuren, also in denjenigen Dicarbonsäuren, die vom Carboxylenende stammen. Die aus der Mitte der Kohlenstoffkette herausgespaltene Malonsäure zeigte demgegenüber nur eine geringe Aktivität. Das Versuchs-

ergebnis sprach also durchaus für die Bildung der C₂₀- und C₂₂-Polyensäuren aus einer inaktiven exogenen Vorstufe von der Art der Linol- bzw. Linolensäure.

Aufschluss über die Natur der aus Linolsäure einerseits und aus Linolensäure andererseits gebildeten Polyensäuren erhielten wir²⁵ aus einfachen Fütterungsversuchen mit Ratten ohne Anwendung von Isotopen. Die Tiere wurden in drei Gruppen eingeteilt. Die eine Gruppe erhielt eine fettfreie Grunddiät ohne Zulage, die zweite die Grunddiät mit Linolsäurezulage, die dritte die Grunddiät mit einer Zulage von Linolensäure. Von jeder Gruppe wurde die Zusammensetzung der Polyensäurefraktion der Leberphosphatide bestimmt. Das Ergebnis ist in Tabelle II zusammengestellt. Der Polyensäuregehalt der Lebern unterscheidet sich kaum voneinander, aber die Zusammensetzung differiert in jeder Gruppe sehr stark, wie dies wohl erstmals SMEDLEY-MACLEAN² gezeigt hat, die bei fettfrei ernährten Tieren hauptsächlich eine C₂₀-Triensäure, bei Linolsäuretieren Arachidonsäure antraf. Bei den Linolensäuretieren fanden HOLMAN et al.²⁶ Pentaen- und Hexaensäure vorherrschend.

Bei unseren fettfrei ernährten Tieren findet sich in grössten Mengen eine C₂₀-Triensäure und außerdem noch merkliche Mengen einer C₂₀-Tetraensäure. Bei den Linolsäuretieren ist die C₂₀-Triensäure fast ganz verschwunden. Statt dessen ist in grossen Mengen eine C₂₀-Tetraensäure vorhanden. Bei den Linolensäuretieren

²⁴ E. KLENK, Naturw. 41, 68 (1954); Z. physiol. Chem. 302, 268 (1955).

²⁵ E. KLENK und K. OETTE, Z. physiol. Chem. 318, 86 (1960).

²⁶ C. WIDMER und R. T. HOLMAN, Arch. Biochem. 25, 1 (1950).

Tab. II. Gehalt der Polyensäurefraktionen der Rattenphosphatide an C₂₀- und C₂₂-Polyensäuren in Mol%

	I fettfreie Grunddiät	II Grunddiät und Linol- säure	III Grunddiät und Lino- lensäure
C ₂₀ -Diensäure	Spur	Spur	Spur
C ₂₀ -Triensäure	28	5	10
C ₂₀ -Tetraensäure	15	40	7
C ₂₀ -Pentaensäure	Spur	Spur	18
C ₂₂ -Triensäure	0,5	—	Spur
C ₂₂ -Tetraensäure	1,5	6	—
C ₂₂ -Pentaensäure	—	—	2
C ₂₂ -Hexaensäure	2,5	6	21

findet man wieder in beträchtlichen Mengen die C₂₀-Triensäure, wenig Tetraensäure, aber nun besonders grosse Mengen einer C₂₀-Pentaensäure und einer C₂₂-Hexaensäure. Es sind dies die bereits erwähnten Polyensäuren vom Linolensäuretyp, die offensichtlich aus der verfüllerten Linolensäure gebildet werden. Die C₂₀-Tetraensäure der Linolensäuretiere erwies sich als Arachidonsäure, eine Säure vom Linolensäuretyp, die ja aus Linolsäure gebildet wird. Bei den fettfrei ernährten Tieren wurde die C₂₀-Triensäure als Δ^{5,8,11}-Eicosatriensäure identifiziert, in Bestätigung der Befunde von MEAD²⁷. Die C₂₀-Tetraensäure enthält außer der Arachidonsäure auch die isomere Δ^{4,7,10,13}-Eicosatetraensäure. Die Triensäure ist vom Ölsäuretyp, die Tetraensäure vom Palmitoleinsäuretyp. Sie werden möglicherweise durch Totalsynthese auf dem Weg über Ölsäure bzw. Palmitoleinsäure gebildet. Die letztere findet sich im Depotfett der Ratte in der Tat in reichlichen Mengen. Man gewinnt den Eindruck, dass die aus Linol- und Linolensäure der Nahrung gebildeten Polyensäuren

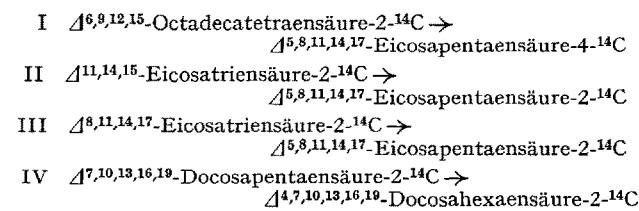
vom Linol- und Linolensäuretyp eine lebenswichtige Zellfunktion zu erfüllen haben und dass bei Mangeldiät Polyensäuren anderen Typs entstehen, welche durch Totalsynthese gebildet werden können und welche die ersten bis zu einem gewissen Grad in ihrer Funktion zu ersetzen vermögen.

Nachdem die schon wiederholt erwähnten Untersuchungen von MEAD bereits weitgehend Aufschluss gebracht haben über die Bildung der Arachidonsäure aus Linolsäure, haben wir²⁸ versucht, nun den Bildungsmechanismus der C₂₀-Pentaen- und C₂₂-Hexaensäure aus Linolensäure etwas genauer zu studieren. Die Figur zeigt ein Schema, in dem alle Polyensäuren vom Linolensäuretyp enthalten sind, welche als theoretisch mögliche Zwischenprodukte bei der Bildung der C₂₂-Hexaensäure in Frage kommen.

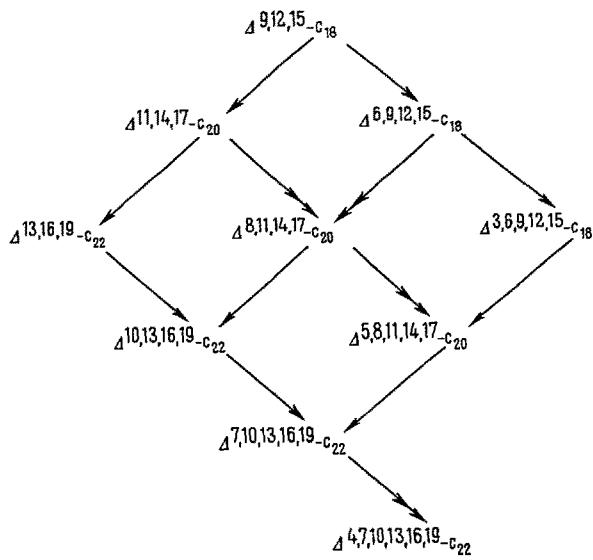
Alle diese Polyensäuren sind in den Organophosphatiden, ebenso wie in den Fischölen, in der Tat auch vorhanden, mit Ausnahme der Δ^{3,6,9,12,15}-Octadecapentaensäure, der Δ^{13,16,19}-Docosatriensäure und der Δ^{10,13,16,19}-Docosatetraensäure.

Es scheint, dass die Reaktionen vorzugsweise in folgender Richtung verlaufen: Δ^{9,12,15}-C₁₈ → Δ^{6,9,12,15}-C₁₈ → Δ^{8,11,14,17}-C₂₀ → Δ^{5,8,11,14,17}-C₂₀ → Δ^{7,10,13,16,19}-C₂₂ → Δ^{4,7,10,13,16,19}-C₂₂.

Durch *in vivo*-Versuche konnten die im Schema mit Doppelpfeil bezeichneten Übergänge experimentell bewiesen werden. Die Reaktionsgleichungen I–IV geben noch etwas genauer Aufschluss über die im einzelnen beobachteten Umsetzungen. In Reaktion I liegt eine Kettenverlängerung mit anschliessender Dehydrierung vor. Bei den Reaktionen II–IV werden nur neue Doppelbindungen eingeführt, und zwar in Richtung auf die Carboxylgruppe, so dass der Divinylmethanrythmus erhalten bleibt.



Für diese Versuche wurden Polyensäuren verwendet, die in Stellung 2 mit ¹⁴C markiert waren. Man verfüllte sie an Ratten und arbeitete nach einigen wenigen Stunden die Lebern auf Polyensäuren auf. Von den Abbaucarbonsäuren bestimmte man die Radioaktivität. In allen vier Versuchen fand sich über 90% der Gesamtaktivität der Polyensäurefraktion in den vom Carboxylen stammenden Dicarbonsäuren, und zwar enthält in den Versuchen I–III die Glutarsäure 57, 43 bzw. 53%, in Versuch IV die Bernsteinsäure 43% der Gesamtaktivität. Die in grösseren Mengen anfallende Malonsäure enthielt nur 2–6% der



Schema für die Überführung von Linolensäure (Δ^{9,12,15}-C₁₈) in die C₂₀- und C₂₂-Polyensäuren vom Linolensäuretyp. Linkslaufende Pfeile bezeichnen Kettenverlängerung um 2 C-Atome, rechtslaufende Pfeile die Einführung einer Doppelbindung in Richtung auf die Carboxylgruppe.

²⁷ J. F. MEAD und W. H. SLATON jr., J. biol. Chem. 219, 705 (1956).

²⁸ E. KLENK und H. MOHRHAUER, Z. physiol. Chem. 320, 218 (1960).

Tab. III. Ergebnis des oxydativen Abbaus und spezifische Aktivitäten der Abbaudicarbonsäuren aus den Leberpolyensäuren von Wirbeltieren
(Ausbeute in Mol/Mol Polyensäuren; Aktivität in Ipm/mg)

	Azelainsäure		Korksäure		Pimelinsäure		Adipinsäure		Glutarsäure		Bernsteinsäure		Malonsäure		
	Aus-beute	Aktivi-tät	Aus-beute	Aktivi-tät	Aus-beute	Aktivi-tät	Aus-beute	Aktivi-tät	Aus-beute	Aktivi-tät	Aus-beute	Aktivi-tät	Aus-beute	Aktivi-tät	
Ratte	1	—	—	—	—	—	—	—	0,24	1 000	0,15	600	0,71	50	
Taube	1	—	3 380	—	5 640	—	3 320	—	0,12	4 733	0,08	2 800	0,58	103	
	2	—	9 993	—	10 893	—	8 033	—	0,16	7 680	0,08	3 430	0,64	160	
Schild-kröte	1	0,39	117 500	0,06	112 770	0,08	40 090	0,07	25 240	0,22	13 010	—	—	0,56	403
Frosch	1	0,35	1 807	0,06	3 045	0,08	10 225	0,04	631	0,29	252	0,12	965	0,94	35
	2	0,33	3 897	0,06	5 160	0,07	18 825	0,06	1 115	0,23	757	0,11	1 740	0,75	60
Forelle	1	0,17	86 020	0,04	63 310	0,05	100 400	0,08	27 730	0,15	10 640	0,27	8 940	0,90	145
	2	0,20	75 330	0,06	63 210	0,06	91 490	0,09	27 700	0,22	9 360	0,30	8 460	1,22	98
Karpfen	1	0,23	20 620	0,06	20 530	0,07	53 890	0,07	15 690	0,14	6 516	0,23	19 000	0,86	67
	2	0,23	45 870	0,04	49 460	0,07	95 520	0,05	53 210	0,16	13 020	0,25	24 120	1,01	220
Flunder	1	0,21	1 076	0,05	1 012	0,07	2 124	0,05	605	0,21	183	0,19	366	0,87	17
	2	0,19	795	0,05	654	0,08	1 250	0,04	426	0,23	88	0,19	227	0,86	12
Scharbe	1	0,22	604	0,05	1 115	0,12	674	0,09	355	0,17	195	0,15	188	0,89	17
	2	0,23	676	0,05	820	0,13	470	0,09	175	0,17	111	0,12	86	0,84	12
Stint ^a	1	0,09	5 020	0,06	663	0,15	1 655	0,13	685	0,19	103	0,28	74	1,10	12
	2	—	—	0,07	532	0,09	1 410	0,05	665	0,32	110	0,36	63	1,92	3
Hering	1	—	—	—	—	—	—	—	0,12	3 375	0,17	572	1,14	45	

* Versuch 1: Polyensäure aus Phosphatiden; Versuch 2: über Polybromide gereinigte Polyensäuren aus Triglyceriden.

Gesamtaktivität. Die Restaktivität verteilte sich auf alle übrigen Dicarbonsäuren. Alle diese Umsetzungen laufen offensichtlich mit erheblicher Geschwindigkeit ab. In keinem der Versuche konnten nennenswerte Mengen des unveränderten Ausgangsproduktes nachgewiesen werden. Als besonders bemerkenswert erscheint das Vorhandensein eines hochaktiven Fermentsystems in der Leber, durch welches die neuen Doppelbindungen in die Kohlenstoffkette der Fettsäuren eingeführt werden.

Als Versuchstiere zur Erforschung des Polyensäurestoffwechsels benützte man bisher fast ausschliesslich Ratten. Dasselbe gilt für die Untersuchungen über ihre Bedeutung als essentielle Fettsäuren. Nun fehlen diese C₂₀- und C₂₂-Polyensäuren im Depotfett der Säugetiere nahezu vollständig. In der absteigenden Wirbeltierreihe treten sie aber in zunehmendem Masse auch im Depotfett auf. Besonders bei den Seefischen sind sie ja darin sehr stark angereichert. Es wäre denkbar, dass der Polyensäurestoffwechsel bei diesen Tieren in ganz anderer Richtung verläuft. Wir²⁹ haben deshalb über die ganze Wirbeltierreihe hinweg vergleichende Versuche ausgeführt. Es wurde der Einbau von Acetat in die Polyensäuren der Leberlipide studiert. Untersucht wurden die Lebern von Ratten, Tauben, Schildkröten, Fröschen und vor allem von Fischen, sowohl von Süßwasser- wie auch von Seefischen. Die Leberschnitte wurden in Ringerlösung mit ¹⁴C-Acetat bebrütet und daraus die Fraktionen der Polyensäuren gewonnen. Aus Tabelle III ist die Ausbeute und spezifische Aktivität der Abbaudicarbonsäuren ersichtlich. Man sieht, dass der Einbau von Acetat nicht immer gleich gut ist, vor allem bei einigen Seefischen ist er verhältnismässig

gering. Wahrscheinlich ist dies auf den hohen Fettgehalt dieser Lebern zurückzuführen, die sich wie das Fettgewebe verhalten dürften. Die Art des Einbaues erfolgt aber offensichtlich überall in derselben Weise. Die Aktivität findet sich durchwegs in den vom Carboxylen stammenden Dicarbonsäuren und die Aktivität der aus der Mitte der Kohlenstoffkette herausgespaltenen Malonsäure ist im Vergleich zu der der anderen Dicarbonsäuren sehr gering. Dabei ist zu beachten, dass die Azelainsäure in der Hauptsache aus Monoensäuren stammt, welche den Polyensäurefraktionen noch beigegeben sind.

Tabelle IV enthält die Ausbeute und die spezifische Aktivität der vom Methylenende der Polyensäuren stammenden Bruchstücke. Sie wurden in Form der Aldehyde durch reduktive Ozonidspaltung erhalten. Man führte sie in die Dinitrophenylhydrazone über und trennte das Gemisch säulenchromatographisch in die Komponenten. Nachzuweisen war Nonanal, Heptanal, Hexanal und Propanal. Nonanal und Heptanal sind so gut wie ausschliesslich Abbauprodukte von Monoensäuren, insbesondere Ölsäure und Palmitoleinsäure. Ihre spezifische Aktivität ist ebenso hoch wie die der Azelainsäure, was auf eine Totalsynthese der Monoensäuren aus Acetat hinweist. Nur Hexanal und Propanal sind Abbauprodukte der Polyensäuren. Ihre spezifische Aktivität ist praktisch gleich Null, jedenfalls sehr gering im Vergleich zu der hohen Aktivität von Nonanal und Heptanal. Nirgendwo ergaben sich irgendwelche Anzeichen für die Totalsynthese der Polyensäuren. Vielmehr spricht alles dafür, dass sie im ganzen

²⁹ E. KLENK und G. KREMER, Z. physiol. Chem. 320, 111 (1960).

Tab. IV. Ergebnis des reduktiven Abbaus und spezifische Aktivitäten der Dinitrophenylhydrazone der Abbaualdehyde aus den Leberpolyensäuren von Wirbeltieren (Ausbeute in Mol/Mol Polyensäuren, bezogen auf 100%; Aktivität in Ipm/mg)

	Nonanal		Heptanal		Hexanal		Propanal	
	Aus-beute	spezi-fische Akti-vität						
Taube	—	—	—	—	—	30	—	5
	2	0,12	3 470	0,24	3 650	0,50	84	0,14
Schildkröte	1	0,06	44 400	0,17	81 750	0,41	325	0,36
	2	0,06	36 750	0,21	84 630	0,38	473	0,35
Frosch	1	0,09	164	0,15	274	0,29	4	0,47
	2	0,07	285	0,13	496	0,32	16	0,48
Forelle	1	0,08	18 700	0,07	13 800	0,24	164	0,61
	2	0,05	17 500	0,04	11 800	0,26	129	0,65
Karpfen	1	0,04	10 600	0,08	11 120	0,12	120	0,76
	2	0,07	11 400	0,10	10 350	0,13	143	0,70
Flunder	1	0,06	402	0,12	542	0,08	48	0,74
	2	0,07	334	0,12	444	0,09	50	0,72
Scharbe	1	0,09	168	0,26	238	0,05	23	0,60
	2	0,09	194	0,22	256	0,05	19	0,63
Stint ^a	1	0,04	7 050	0,09	3 744	0,09	34	0,78
	2	—	—	—	—	—	0,98	0

* Versuch 1: Polyensäuren aus Phosphatiden;
Versuch 2: über Polybromide gereinigte Polyensäuren aus Triglyceriden

Wirbeltierstamm, und zwar auch bei den Seefischen, aus exogenen Vorstufen von der Art der Linol- und Linolensäure durch Kettenverlängerung und Dehydrierung entstehen.

Besonders hinzzuweisen ist noch auf die auffallende Verschiebung des Verhältnisses von Hexanal und Propanal in der absteigenden Wirbeltierreihe. Die Menge des Hexanals nimmt stark ab, die Menge des Propanals nimmt demgegenüber stark zu, das heisst, in der absteigenden Wirbeltierreihe treten die Polyensäuren vom Linolsäuretyp immer mehr zurück, bis schliesslich der Linolensäuretyp stark überwiegt.

Der heutige Stand unserer Kenntnis des Stoffwechsels der Polynenfettsäuren lässt sich in wenigen Sätzen zusammenfassen. Wenn auch die Totalsynthese der Monoensäuren auf dem Wege über die gesättigten Fettsäuren als gesichert anzusehen ist, so kann andererseits auch kein Zweifel darüber bestehen, dass die Einführung einer zweiten Doppelbindung in die Kohlenstoffkette offensichtlich dem Organismus gewisse Schwierigkeiten macht. Nur wenn zwei oder drei Doppelbindungen in geeigneter Stellung schon vorhanden sind, vollzieht sich die Einführung weiterer Doppelbindungen sehr leicht. Sie erfolgt stets in Richtung auf die Carboxylgruppe unter Beibehaltung des schon vorgegebenen Divinylmethanrhythmus. Dabei kann die Doppelbindung nicht näher als in Stellung 4 an die Carboxylgruppe herantreten. Eine darüber hinausgehende Anhäufung von Doppelbindungen ist nur möglich nach vorangegangener Verlängerung der Kohlenstoffkette auf der Seite der Carboxylgruppe um jeweils zwei Kohlenstoffatome, so dass die C₁₈-Tetraen-

säure in eine C₂₀-Pentaensäure und diese wieder in die C₂₂-Hexaensäure übergeht.

Da Linol- und Linolensäure normalerweise in der Nahrung der Tiere immer vorhanden sein dürfen, erklärt sich damit das fast ausschliessliche Auftreten von Polyensäuren des Linol- und Linolensäuretyps im Organfett aller Wirbeltiere und bei Kaltblütern auch im Depotfett. Trotzdem scheint unter gewissen Bedingungen die Möglichkeit der Totalsynthese von Polyensäuren gegeben. In diesem Fall aber werden Polyensäuren anderen Typs gebildet.

Was nun die Frage des oxydativen Abbaus der Polyensäuren betrifft, so kann ich mich hier sehr kurz fassen. Wir wissen darüber nur so viel, dass sie im Organismus mindestens ebenso leicht wie die gesättigten Fettsäuren verbrannt werden, wie dies aus Befunden von BERNHARD³⁰ und anderen hervorgeht. Wie dieser Abbau im einzelnen erfolgt, ist noch völlig unbekannt. Es mag sein, dass die Bildung der höchstgesättigten Polyensäuren, in welchen die Doppelbindungen schliesslich gleichmässig über die ganze Kohlenstoffkette hinweg verteilt sind, bereits der erste Schritt zum oxydativen Abbau ist. Aber dies ist vorläufig nur reine Spekulation. Noch wissen wir nicht, an welcher Stelle das Experiment ansetzen muss, um das Problem zu lösen.

Summary. The chemical structure of the polyenoic fatty acids occurring in organ phosphatides and in fish oils is reviewed. The double bonds of all these polyenoic acids are arranged in divinylmethane pattern. Except some of the C₁₆-polyenoic acids of fish oils, these polyenoic acids belong either to the oleic, linoleic or linolenic acid type and have chain lengths C₁₈, C₂₀, and C₂₂. Polyenoic acids of the oleic acid type are present only in small amounts in phosphatides of mammalian origin. Fish oils are lacking in these but predominantly contain polyenoic acids of the linolenic acid type.

Metabolic studies have shown that polyenoic acids of linoleic acid type (e.g. arachidonic acid) originate from linoleic acid and those of the linolenic acid type (e.g. C₂₀-pentaenoic and C₂₂-hexaenoic acid) from linolenic acid—both supplemented exogenous—by extension of the carbon chain by acetate on the side of the carboxylic acid group and introduction of additional double bonds in the divinylmethane pattern directed toward the carboxylic acid group. There is some evidence, however, that a total synthesis of the polyenoic acids of the oleic acid type occurs in the animal body.

The transformation of linolenic to C₂₂-hexaenoic acid and some intermediate reactants have been investigated more precisely by means of the tracer method. As far as the biosynthesis of the polyenoic fatty acids is concerned there are no fundamental differences in different vertebrates.

³⁰ K. BERNHARD, M. ROTHLIN, J. P. VUILLEUMIER und R. Wyss, Helv. chim. Acta 41, 1017 (1958).