

# Über den Abbau der $\beta$ -Ketonsäuren im tierischen Organismus.

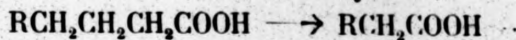
Von

**Leo Hermanns.**

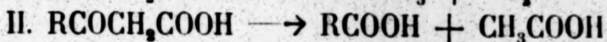
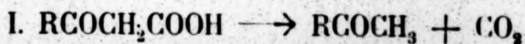
(Aus der medizinischen Universitäts-Poliklinik zu Freiburg i. Br.)

(Der Redaktion zugegangen am 26. April 1913.)

Der Abbau der Fettsäuren im Organismus erfolgt, wie die Untersuchungen von Franz Knoop und H. D. Dakin einwandfrei erwiesen haben, durch  $\beta$ -Oxydation:



Als intermediäre Produkte treten hierbei  $\beta$ -Ketonsäuren auf, die vielleicht  $\beta$ -Oxysäuren als Vorstufe haben. Derartige Säuren können nun auf zwei von einander verschiedenen Wegen abgebaut werden: entweder durch Keton- oder durch Säurespaltung.



Es wäre natürlich von großem Interesse zu wissen, welchen Weg der Organismus einschlägt, ob intermediär Ketone, die ja vielleicht zu Synthesen verwendet würden, auftreten oder nicht. A priori lassen sich für beide Vorstellungen Tatsachen geltend machen.

Nach Verabreichung von Phenylpropionsäure an Hunde fand H. Dakin bemerkenswerte Mengen von Acetophenon im Urin des Tieres.<sup>1)</sup> Blum und Koppel verfütterten Diäthylessigsäure und konnten aus dem Urin das Propylmethylketon darstellen.<sup>2)</sup> Ferner treten bekanntlich beim Acetonuriker stets große Mengen von Aceton in Urin und Atemluft auf. Also alles dies spräche für das intermediäre Auftreten von Ketonen. Andererseits ist an die Versuche von Embden und

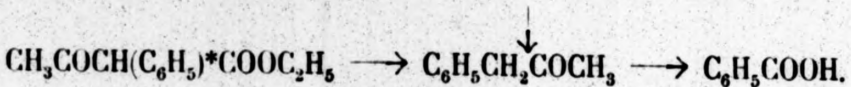
<sup>1)</sup> Oxidations and Reductions in the animal body. London 1913.

<sup>2)</sup> Ber., Bd. 44, S. 3576.

Michaud zu erinnern.<sup>1)</sup> Diese stellten fest, daß Acetessigsäure vom lebensfrischen Leberbrei in erheblichem Umfange zerstört wird, Aceton dagegen nur in geringem Maße. Dem Kliniker ist ferner schon seit langem bekannt, daß größere Einfuhr von Fett beim Diabetiker Steigerung der Acetonausscheidung bewirkt, während die Acetonausscheidung beim normalen Individuum kaum davon berührt wird.

Ich stellte mir also die Frage: Welche Art der Spaltung nimmt der normale Organismus vor, Keton- oder Säurespaltung? Was geschieht unter pathologischen Verhältnissen? Zur Lösung dieser Fragen ging ich vom Verhalten der Arylacetessigester im Organismus aus, und zwar wurden solche an Hunde verfüttert, die eine gleichmäßige Kost bekamen. Im 24stündigen Urin wurde dann nach den Abbauprodukten gefahndet. Einen weiteren wichtigen Beitrag sollte endlich noch die Verfütterung des Phenylbutylketons liefern, also eines Ketons mit langer Kohlenstoffkette.

Der zunächst gegebene Phenylacetessigester ergab als Abbauprodukte Benzylmethylketon und Hippursäure. Beides konnte isoliert werden. Die Spaltung war demnach in folgender Weise verlaufen:

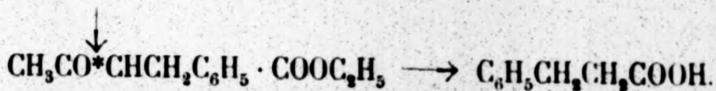


Das intermediär entstandene Benzylketon war in Benzoesäure übergegangen. Eine Bestätigung hierfür brachte die Verfütterung von dem Keton selbst. Es wurde ebenfalls in Hippursäure umgewandelt und als solche ausgeschieden.

Nun, daß der Organismus imstande ist, Ketonspaltung vorzunehmen, bestätigt und ergänzt die oben erwähnten Ergebnisse von Dakin, ferner von Blum und Koppel.

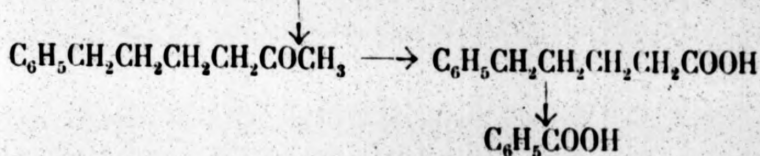
Es galt zu prüfen, ob sich die andern Homologen dieser Reihe ebenso verhalten würden. Nach subcutaner Zufuhr des Benzylacetessigesters fand sich im Urin des betreffenden Hundes außer einer geringen Menge Phenyläthylmethylketon ausschließlich Hippursäure, ein Zeichen, daß der Abbau folgendermaßen verlaufen war:

<sup>1)</sup> Hofmeisters Beitr., Bd. 11.



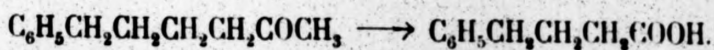
Der Ester war offenbar zunächst zu Phenylpropionsäure abgebaut worden und diese war sehr wahrscheinlich durch Säurespaltung entstanden. Darüber orientierte ein Versuch mit dem Phenäthylmethylketon, das ausschließlich Phenacetursäure im Urin lieferte.

Den Grund dafür, daß in diesem Falle vollkommen glatt Säurespaltung eingetreten war, während der Phenylester in Keton übergeführt worden war, suchte ich in dem Einfluß der Phenylgruppe auf das  $\alpha$ -Kohlenstoffatom des Esters. Um diesen Einfluß noch besser kennen zu lernen, ging ich an die Darstellung eines Esters, der einen Substituenten mit noch längerer Kohlenstoffkette trug, nämlich des Phenylpropylacetessigesters. Dieser Ester besaß noch einen anderen Vorteil. Es konnte aus ihm durch Spaltung mit Kalilauge in einfacher Weise ein Keton mit langer Kohlenstoffkette dargestellt werden. Ein derartiges Keton mußte sich zur Entscheidung der Frage nach der Möglichkeit eines Auftretens von Ketonen im intermediären Stoffwechsel eignen. Fand nämlich eine Absprengung des endständigen Methyls statt, so würde diese Frage zu bejahen sein. Es hätte dann Hippursäure entstehen müssen



Nach Verabreichung von 4 g des Esters wurde im Urin eine reichliche Menge von Hippursäure ausgeschieden, neben geringen Mengen Phenylbutylketon.

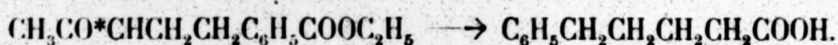
Von großem Interesse mußte, wie bereits erwähnt, der folgende Versuch sein. Der Hund bekam 3,0 g Phenylbutylmethylketon. Er schied darauf große Mengen von Phenacetursäure aus. Diese Resultate sind eindeutig. Das Keton war offenbar zwischen Carbonyl und Methylen-Kohlenstoff gespalten worden:



Als intermediäres Produkt war offenbar zunächst Phenylbuttersäure entstanden.



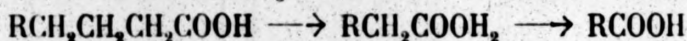
Der Ester hingegen war zunächst in Phenylvaleriansäure übergegangen. Diese geht bekanntlich, wie F. Knoop bewiesen hat,<sup>1)</sup> in Hippursäure über:



Waren demnach die beiden Ester der Benzyl- und der Phenylpropylacetessigester zum weitaus größten Teile auf dem Wege der Säurespaltung abgebaut worden, so blieb noch zu erklären, weshalb im Gegensatz dazu der Phenylacetessigester ausschließlich in Keton übergegangen war? Nun, aus dem Verhalten der beiden anderen Ester geht wohl mit Sicherheit hervor, daß die Vermutung über den störenden Einfluß der Phenylgruppe auch hier vollkommen den Tatsachen entspricht.

Als Nebenprodukt wurde jedesmal das entsprechende Keton im Urin gefunden. Es geht wohl daraus hervor, daß das normalerweise in Urin und Expirationsluft vorhandene Aceton derselben Nebenreaktion seine Entstehung verdankt. Spalten doch bekanntlich die  $\beta$ -Ketonsäuren mit größter Leichtigkeit Kohlensäure ab. Die Vorstellung, daß es sich bei der Entstehung des Acetons um eine durch die labile Beschaffenheit des Acetessigsäuremoleküls bedingte Reaktion handelt, wirft auch ein Licht auf Vorgänge, die unter pathologischen Verhältnissen im intermediären Stoffwechsel ablaufen. Findet wie beim Diabetes mellitus ein gesteigerter Fettabbau statt, so wird der Organismus mit Acetessigsäure überschwemmt. Er ist dann nicht mehr imstande, diese letztere zu bewältigen, sie in ihrer ganzen Menge zu Essigsäure abzubauen, der Abbau schlägt einen falschen Weg ein, und ein großer Teil der Acetessigsäure geht in Form von Aceton dem Körper verloren.<sup>2)</sup>

Aus dem Übergang von Phenylbutylmethylketon geht wohl mit Bestimmtheit hervor, daß der Abbau der Fettsäuren im intermediären Stoffwechsel nicht über die Ketone führt, sondern daß eine «paarige» Abspaltung von Kohlenstoffatomen stattfindet. Müßte doch im andern Falle die Kohlenstoffkette jeweils drei C-Atome verlieren:



<sup>1)</sup> Habilitationsschrift, Freiburg 1904.

<sup>2)</sup> Vgl. Hermanns, Ber. des Kongresses f. inn. Med., Wiesb. 1913.

es müßte z. B. aus Phenylbuttersäure Hippursäure werden, was bekanntlich nicht der Fall ist.

Es werden demnach in großer Menge Essigsäuremoleküle intermediär gebildet. Es sei in diesem Zusammenhange an die interessanten Befunde von Acetylierungsvorgängen im Organismus erinnert (Baumann, Kohn, Knoop, Neubauer).

Von A. Loeb<sup>1)</sup> wurde vor kurzem die überraschende Feststellung gemacht, daß Essigsäure den Umfang der Acetessigsäurebildung in der Leber beträchtlich steigert; und er spricht die Vermutung aus, daß der Prozeß der Acetessigsäurebildung reversibel verlaufe. So verlockend diese Vorstellung auf den ersten Blick auch erscheinen mag, so stehen ihr doch sehr große Bedenken entgegen, und zwar zum Teil aus denselben Gründen, wie sie Parnas und Baer in ihrer Arbeit<sup>2)</sup> über den Zuckerabbau dargelegt haben. Auch ist die Acetylierung einer Methylgruppe schwer vorstellbar. Größere Wahrscheinlichkeit besitzt die andere von A. Loeb geäußerte Vorstellung, daß hier der Acetaldehyd, der ja starker Acetessigsäurebildner ist, eine Rolle spielt.

### Versuche.

Die Darstellung des Phenylacetessigesters<sup>3)</sup> geschah durch Kondensation von Essigestern mit Benzylecyanid.<sup>3)</sup> Das zunächst entstehende Zwischenprodukt, das Acetobenzylecyanid, wurde aus Alkohol + Wasser umkrystallisiert und im Vakuumexsikkator getrocknet (S. P. 90°). Dann wurde 1 Teil Substanz in 2 Teilen Alkohol aufgelöst und ein kräftiger Salzsäurestrom bis zur Sättigung unter Eiskühlung eingeleitet. Das Reaktionsgemisch wurde in einem Exsikkator 8 Tage über Natronkalk stehen gelassen, wobei eine reichliche Abscheidung von Salmiak auftrat, und dann in Eiswasser gegossen und ausgeäthert. Das so erhaltene Öl wurde im Vakuum bei 11 mm Druck fraktioniert und ging schließlich bei 145—147° über. Diese Art gibt bessere Ausbeuten als die von Beckh angegebene.

<sup>1)</sup> Biochem. Zeitschrift, Bd. 47, S. 124.

<sup>2)</sup> Biochem. Zeitschrift, Bd. 41, S. 386.

<sup>3)</sup> Beckh, Ber. 31 (3160).

Durch mehrstündiges Kochen mit 10%iger Kalilauge wurde aus dem Ester das Benzylmethylketon gewonnen, dessen Phenylhydrazon im Kapillarröhrchen erhitzt bei 83° schmolz.

I. Versuch. Einem Hunde von 7500 g Gewicht wurden 3,0 g Phenylacetessigester subcutan injiziert. Der 24 stündige Urin wurde destilliert und auf 150 ccm eingeeengt. Die erste Portion des Destillates wurde mit Äther ausgeschüttelt, und dieser dann verdunstet. Das hinterbleibende Öl (ca. 0,1 g) wurde mit basischem Phenylhydrazin versetzt, kurz auf dem Wasserbade erwärmt, wobei eine Trübung auftrat, und darauf in stark verdünnten Eisessig gegossen. Das so erhaltene Phenylhydrazon zeigte aus Alkohol umkrystallisiert einen Schmelzpunkt von 82°. Es handelte sich demnach um das Phenylhydrazon des Benzylmethylketons.

Der eingeeengte, kongosauer gemachte Urin wurde dann mit Äther 24 Stunden im Extraktionsapparat extrahiert und der Extrakt in üblicher Weise verarbeitet. Der braune Sirup wurde mit heißem Wasser aufgenommen und mit Tierkohle entfärbt; dann wurde filtriert. Aus dem klaren Filtrat krystallisierte eine Säure vom Schmelzpunkt 186°, die mit Salzsäure gekocht Benzoesäure gab. Es wurden in 2 Fraktionen 0,9 g Hippursäure erhalten.

II. Versuch: Demselben Hunde wurden 3,0 g Benzylmethylketon subcutan injiziert. Der Urin der nächsten 24 Stunden zeigte im Polarisationsapparat keine Drehung. Er wurde im Vakuum eingeeengt und wie oben behandelt. In 2 Fraktionen krystallisierten 1,1 g Hippursäure aus (S. P. 187°).

III. Versuch: Derselbe Hund bekam 3,0 g Benzylacetessigester.<sup>1)</sup> Der 24 stündige Urin wurde destilliert und das Destillat mit Äther ausgeschüttelt. Der Äther wurde mit Sulfitlauge geschüttelt und ein aus kleinen Täfelchen bestehender Niederschlag abgenutscht und mit Äther ausgewaschen. Die Analyse dieser in feinen Blättchen krystallisierenden Substanz stimmte mit der des Sulfits des Phenäthylmethylketons überein.<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Der Benzylacetessigester wurde von Kahlbaum bezogen.

<sup>2)</sup> Ehrlich, Annal. S. 187 (16).



0,2998 g Substanz: 0,0803  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ .

$\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_3 + \text{NaHSO}_3 + \text{H}_2\text{O}$ : Ber. Na 8,52%.

Gef. „ 8,6%.

Der eingeengte Urin wurde kongosauer gemacht und aus dem Ätherextrakt konnten 0,6 g Hippursäure (S. P. 186°) isoliert werden.

IV. Versuch: Demselben Hund wurden 4,0 g Benzylacetessigester gegeben. Die 24stündige Urinmenge wurde schwach sauer gemacht und zur Hälfte mit Äther extrahiert, der Äther verdunstet und das zurückbleibende Öl in Alkohol aufgenommen. Es gab keine Eisenchloridreaktion! Die andere Hälfte wurde stark angesäuert und in derselben Weise behandelt. Ebenfalls keine Eisenchloridreaktion! Es geht aus diesen Versuchen hervor, daß das Keton nicht sekundär aus dem Ester entstanden sein konnte.

V. Versuch: Einem Dackel (7000 g) wurden 3,0 g Phenäthylmethylketon injiziert. Der Ätherextrakt des Urins wurde mit heißem Wasser aufgenommen und zur Krystallisation hingestellt. Innerhalb 24 Stunden bildete sich ein Niederschlag von feinen Nadelchen. S. P. 142°. Mit Salzsäure erhitzt, spaltete sich Benzoesäure ab. Es lag demnach Phenacetursäure vor (0,9 g).

Darstellung des Phenylpropylacetessigesters: 2,3 g Natrium werden in 25 g absolutem Alkohol gelöst und darauf 13,2 g frisch destillierten Acetessigesters und 20 g Phenylpropylbromid (aus Hydrozimmtalkohol mit Phosphortribromid)<sup>1)</sup> eingetragen. Dann wurde auf dem Wasserbade bis zum Verschwinden der alkalischen Reaktion (6 St.) erwärmt. Das Reaktionsprodukt wurde mit Wasser versetzt und mit Äther ausgeschüttelt, der Äther mit  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Äther verjagt, das zurückbleibende Öl im Vakuum destilliert bzw. fraktioniert. S. P. bei 11 mm Druck zwischen 175 und 180°. Der Ester stellt ein farbloses, stark lichtbrechendes Öl von schwachem Geruche dar.

Analyse: 0,2320 Substanz: 0,6040  $\text{CO}_2$ , 0,1720  $\text{H}_2\text{O}$ .

<sup>1)</sup> Ber. 43 (178).

$C_{15}H_{20}O_3$ :	Ber.:	Gef.:
	C 72,57%	72,15%
	H 8,07%	8,23%

Das Phenylbutylmethylketon wurde aus dem Ester durch 3stündiges Kochen mit 10%iger Kalilauge erhalten. Es destillierte aus der Retorte bei 149°.

Analyse: 0,1940 Substanz: 0,5790  $CO_2$ , 0,1570  $H_2O$ .

$C_{12}H_{16}O$ :	Ber.:	Gef.:
	C 81,82%	81,39%
	H 9,091%	8,99%

VI. Versuch: Derselbe Dackel erhielt 3,0 g Phenylpropylacetessigester. Das Destillat des Urins zeigte starke Jodoformreaktion. Aus dem wie bisher behandelten Ätherextrakt konnten 0,5 g Hippursäure (S. P. 186°) dargestellt werden.

VII. Versuch: Demselben Hund werden 3,0 g Phenylbutylketon injiziert. Der 24stündige Urin eingedampft, congosauer gemacht und mit Äther extrahiert. Weitere Verarbeitung wie oben! Aus heißem Wasser krystallisiert in feinen Nadelchen eine Säure vom S. P. 143° aus. Das Phenylbutylmethylketon war demnach in Phenacetursäure übergegangen.