

# Über intermediäre Reduktionsprozesse beim physiologischen Abbau.

Von

F. Knoop und Richard Oeser.

(Aus der medizinischen Abteilung des chemischen Laboratoriums zu Freiburg i. B.)  
(Der Redaktion zugegangen am 19. Dezember 1913.)

Im Verlaufe weiterer Untersuchungen über den physiologischen Abbau von Fettsäuren und Aminosäuren, sowie über physiologische Reduktionsprozesse haben sich eine Anzahl von Feststellungen machen lassen, die zwar nicht solche Gesetzmäßigkeiten, wie die Regel über den Fettsäureabbau, oder so neue Gesichtspunkte wie die Aminosäuresynthese ergeben, die aber im Rahmen der ganzen Betrachtungsweise des intermediären Stoffwechsels offene Fragen klären helfen.

Die Ergebnisse der bisherigen Forschung sind von H. D. Dakin in seinem Buche: «Oxidations and Reductions in the animal body»<sup>1)</sup> in so ausgezeichnete Weise zusammengestellt, daß es keiner neuerlichen Charakterisierung des gegenwärtigen Standes der behandelten Fragen bedarf.<sup>2)</sup> Bei einer Betrachtung der Reduktionsprozesse, die sich im Tierkörper nachweisen lassen, ist es nun auffallend, daß in exaktem chemischen Versuche kaum ein Befund gemacht werden konnte, der eine andere Reduktionsform am C-Atom darstellt, als die eines

<sup>1)</sup> Longmans, Green and Co. London.

<sup>2)</sup> Lediglich auf eine Arbeit von Blum und Koppel (Ber., Bd. 44, S. 3576, 1911) sei hingewiesen, die die nicht recht verständliche Behauptung einer Acetonbildung aus Diäthylelessigsäure dahin korrigiert, daß das beobachtete Oxydationsprodukt nicht Aceton, sondern Methylpropylketon war. Darnach bedürfen vermutlich eine größere Anzahl von Arbeiten, deren Ergebnisse auf quantitativen Acetonbestimmungen basieren, einer erneuten Überarbeitung; denn ihre Resultate sind falsch, wenn statt des Acetons homologe Ketone gebildet waren, die als Aceton in Rechnung gestellt sind.

Der Befund ist andererseits von großem Interesse, weil er zeigt, daß der Eintritt des Sauerstoffes ebenfalls in  $\beta$ -Stellung erfolgt, trotzdem eine  $\text{>CH}$ -Gruppe in  $\alpha$ -Stellung den Angriff des Sauerstoffes nach rein chemischer Analogie begünstigen sollte. Hier sei noch einmal auf eine Zusammen-

Carbonyls zum Alkohol, bzw. unter Ammoniaklagerung zur Aminogruppe, weder Hydrierung einer Doppelbindung noch Reduktion eines Alkohols zu Methyl oder Methylen erscheint sichergestellt; ja wir können für einzelne Fälle sogar sicher sagen, daß eine Reduktion von CO zu  $\text{CH}_2$  sich ausschließt; so z. B. an der offenbar reaktionsfähigsten Stelle eines  $\alpha$ -Carbonyls in  $\alpha$ -Ketonsäuren, die so leicht und vielfach zu  $\alpha$ -Oxysäuren reduziert werden. Wenn Phenyl- oder Benzylbrenztraubensäure in Phenylpropionsäure oder Phenylbuttersäure übergangen, so müßten sie im Tierkörper Hippur- bzw. Phenacetursäure liefern — und beides ist nicht der Fall. Ebenso liefert Phenylglyoxylsäure zwar Mandelsäure, beide aber keine Phenylessigsäure.

Und doch müssen solche Reduktionen im Tierkörper eine große Rolle spielen, wenn wir annehmen, daß aus Kohlenhydraten auf irgend einem Wege Fette entstehen, Ölsäure usw. vielleicht in gesättigte Säuren übergehen. Dabei ist es gleichgültig, ob wir einen Zerfall der Kohlenstoffketten annehmen und Acetaldehyd oder ähnliche Bruchstücke als Kondensationsmaterial betrachten wollen, das dann die Fette bildet, oder ob wir die —CHOH-Gruppen irgend wie in situ reduziert ansehen. Denn auch bei der gedachten Kondensation entstehen —CHOH-Gruppen oder Doppelbindungen, Komplexe, die gleichwertig erscheinen und durch Wasseranlagerung oder -abspaltung ineinander übergehen können; dafür hat zuerst Dakin in der Zimtsäure das physiologische Paradigma beigebracht.

stellung von R. Meyer, *Annalen*, Bd. 220, S. 56 (1883) verwiesen, der auf Grund von Arbeiten v. Millers, Fittigs u. a. zeigt, wie tertiärer Wasserstoff von Fettsäuren in  $\alpha$ -,  $\beta$ - und  $\gamma$ -Stellung bei der Oxydation in vitro stets zuerst angegriffen wird, so daß sich z. B. aus Isobutter-Isovalerian- und Isocaprönsäure die entsprechenden tertiären Oxysäuren mit Hydroxyl in  $\alpha$ -,  $\beta$ - bzw.  $\gamma$ -Stellung bilden.

Gegenüber diesen Tatsachen ist der angeführte Befund ein besonders beweiskräftiger Beleg für die Spezifität der physiologischen Oxydation, die tertiären Wasserstoff hier selbst in  $\alpha$ -Stellung schwerer angreift, als — $\text{CH}_2$ — in  $\beta$ -Stellung. Die Regel, daß Fettsäuren den Eintritt des Sauerstoffes in  $\beta$ -Stellung zeigen, hat also eine weitere Gültigkeit, als ihr ursprünglich beigelegt werden konnte.

Diese Frage der Reduktion kann nun offenbar besser an Stellen studiert werden, die dem bestimmenden Einfluß der Carboxylgruppe weiter entrückt sind, als  $\alpha$ - oder  $\beta$ -Substituenten. Denn das einzige Beispiel eines Überganges von CO in  $\text{CH}_2$  ist nicht bei einer  $\alpha$ - oder  $\beta$ -Ketonsäure, sondern bei einer  $\gamma$ -Ketonsäure gefunden, der Benzoylpropionsäure,<sup>1)</sup> die als Phenyllessigsäure ausgeschieden wird:  $\text{CO} \rightarrow \text{CH}_2$ .

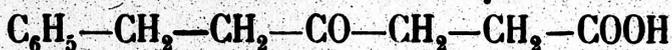
Wie die  $\gamma$ -Ketonsäure verhält sich auch die  $\beta$ - $\gamma$  ungesättigte Phenylisocrotonsäure.<sup>1)</sup> Die entsprechende  $\gamma$ -Oxysäure wurde seinerzeit als Lacton verfüttert, das aber fast quantitativ wieder ausgeschieden wurde und nicht gestattete, Schlüsse über das Verhalten dieser Säure zu machen. Diese Lücke wurde ausgefüllt und die  $\gamma$ -Oxysäure als Natronsalz verfüttert. Dabei fand sich auch hier reichlich unveränderte Oxysäure im Harn, aber daneben viel Phenacetursäure, so daß jetzt feststeht, daß  $\gamma$ -Ketonsäure,  $\gamma$ -Oxysäure und  $\beta$ - $\gamma$  ungesättigte Säure die gleiche Reduktion erleiden. Dieses bleibt der einzige bisher beschriebene Fall einer solchen Reduktion, die über das Alkoholstadium hinausgeht. Eine Verallgemeinerung dieses Befundes kann aber nur mit Vorsicht geschehen; sie müßte sich den Einwand gefallen lassen, daß hier die kernbenachbarte Stellung der Carbonylgruppe ihre Resistenz gegen Oxydationsmittel erhöht, zur Reduktion dagegen besonders disponiert; denn nach Neubauer<sup>2)</sup> werden z. B. von der Phenylglyoxylsäure nur geringe Mengen zu Benzoesäure oxydiert, dagegen größere Mengen zu Oxysäure reduziert, als von ihren Homologen; und die gebildete Mandelsäure zeigt eine ganz ungewöhnliche Resistenz im Tierversuch. Deshalb erscheint es wünschenswert, diesen Befund an Beispielen weiter zu verfolgen, in denen das Carbonyl von solchen Einflüssen freier ist und in offener Kette vorliegt.

Es wird nun kaum möglich sein, unter Erhaltung einer längeren fetten Seitenkette solche Reduktion zu erweisen und die reduzierte  $\text{CH}_2$ -Gruppe direkt darzustellen, wie das

<sup>1)</sup> Habilitationsschrift, Freiburg i. B. 1904, S. 36 u. 37. Hofmeisters Beitr., Bd. 6, S. 159.

<sup>2)</sup> Neubauer, Habilitationsschrift. Leipzig, Vogel. 1908.

hier gelungen war, weil sie bei Fütterungsversuchen zu leicht wieder der Oxydation verfallen und völlig verschwinden wird. Ich habe deshalb versucht, auf indirektem Wege zum Ziele zu kommen, und das Verhalten der  $\delta$ -Benzylävlinsäure



zu prüfen. Wird bei dieser  $\gamma$ -Ketosäure die Ketongruppe, wie bei den  $\alpha$ -Ketosäuren zum Angriffspunkt für die Oxydation, so entsteht zunächst Phenylpropionsäure, die als Hippursäure erscheinen muß. Tritt dagegen zunächst  $\beta$ -Oxydation und keine Reduktion ein, so muß sich Benzylbrenztraubensäure



bilden, deren Verhalten bekannt ist: es wäre Hippursäure neben Phenyl-Acetylaminobuttersäure und Phenyl- $\alpha$ -Oxybuttersäure zu erwarten. Wird aber die Ketongruppe reduziert, so entsteht Phenylcapronsäure, die über Phenylbuttersäure Phenacetursäure liefern muß.

Wir haben diese Untersuchung ausgeführt und der Befund zeigte, daß sich die Säure der Hauptsache nach verhält wie Phenylcapronsäure. Es wurde reichlich Phenacetursäure gebildet, daneben fand sich in kleinerer Menge Phenyl- $\alpha$ -oxybuttersäure, aber keine nachweisbare Hippursäure. Dieser Befund läßt sich ungezwungen nur so deuten, daß wie bei der Benzoylpropionsäure CO zu  $\text{CH}_2$  reduziert worden ist. Der Reduktionsprozeß führt über die Oxysäure als Zwischenprodukt, von der ein kleiner Teil vor der völligen Reduktion in  $\beta$  oxydiert wird und im Stadium der Oxysäure als Phenyl- $\alpha$ -oxybuttersäure zur Ausscheidung kommt. Von ihr kann sich aber intermediär nur wenig bilden, denn sonst müßte auch hier Hippursäure und Phenyl- $\alpha$ -acetylaminobuttersäure erscheinen, die in kleiner Menge auch aus Phenyl- $\alpha$ -oxybuttersäure entsteht und dem Nachweis nicht leicht entgeht. Für die Hauptmenge bleibt nur ein Übergang von CO in  $\text{CH}_2$  anzunehmen.<sup>1)</sup>

Für das Nebeneinandergehen von Reduktions- und Oxy-

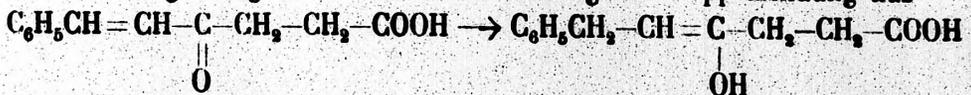
<sup>1)</sup> Die Annahme einer Bildung von Doppelbindungen und von Umlagerungen schließt sich wohl aus, da sie hier, wie bei dem Lacton der Ävlinsäure, zunächst zu  $\text{C}_6\text{H}_5-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COH} = \text{CH}-\text{CH}_2-\text{COOH}$  führen und damit nur noch eher Phenylpropion- bzw. Hippursäure bilden müßte.

dationsprozessen, die sich gewiß oft wie Ursache und Wirkung verhalten und sich gegenseitig bedingen, sind ja beim Studium des physiologischen Abbaues so viele Beispiele bekannt geworden, daß einer solchen Erklärung nichts im Wege steht. Eben dadurch unterscheidet sich aber die Oxydation im Tierkörper ausgesprochen von der im Reagenzglase, die bei der Verwendung der meisten Oxydationsmittel der Laboratorien in diesem Falle vor allem Phenylpropionsäure und Benzoesäure liefern würde. Zugleich aber zeigt dieser Befund, daß im Tierkörper  $\beta$ -Oxydation und die Abspaltung einer geraden Anzahl von C-Atomen bevorzugt wird, auch wenn die Oxydation am  $\gamma$ -C-Atom so erleichtert erscheint, wie durch eine CO-Gruppe. Und für diese Tatsache, die dem entwickelten Prinzip der physiologischen Oxydation am  $\beta$ -C-Atom wiederum eine weitere Gültigkeit zuweist, hat sich ein zweiter noch auffälligerer Beleg gefunden. Die ungesättigte Benzallävulinsäure



liefert ebenfalls Phenacetursäure, während sich eine Vermehrung der Hippursäure nicht nachweisen ließ. Also selbst wenn zu der  $\gamma$ -Ketongruppe noch eine konjugierte Doppelbindung<sup>1)</sup> zwischen  $\delta$  und  $\epsilon$  tritt, sprengt die physiologische Oxydation weder die Doppelbindung noch oxydiert sie Carbonyl zu Car-

<sup>1)</sup> Man könnte hier an eine Hydrierung im Sinne der Thieleschen Theorie (Annalen, Bd. 306, S. 99) über Addition an konjugierte Doppelbindungen denken derart, daß das erste Molekül Wasserstoff sich in 1 : 4 Stellung anlagert und unter Wanderung der Doppelbindung aus



wird. Wenn die Säure in diesem Stadium, bevor sie sich in die gesättigte Ketonsäure (Benzylävulinsäure) umlagert, an der Doppelbindung aufgesprengt würde, so müßte sich Phenylelessigsäure bilden, deren Entstehung dann also anders zu deuten wäre. Ob aber eine solche Ableitung einen Vorzug bedeuten würde, ist doch recht fraglich wegen der reichlicheren Bildung derselben Phenylelessigsäure aus der gesättigten Benzylävulinsäure, für die ein solcher Mechanismus nur in Betracht käme, wenn man annehmen wollte, daß die Benzylävulinsäure überhaupt in der tautomeren Form einer  $\gamma$ - $\delta$  ungesättigten Oxysäure im Organismus reagierte. Solchen Überlegungen fehlt leider einstweilen jede experimentelle Grundlage.

boxyl — hier wird vielmehr mit Sicherheit beides reduziert. Denn auch hier wurde eine kleine Menge Phenyl- $\alpha$ -oxybutter-säure isoliert, und diese Tatsache stellt nun die Annahme einer Reduktion, die dem Eintritt von mindestens 4 H-Atomen entspricht, völlig sicher. Der Befund von Phenacetursäure spricht aber für eine intermediäre weitergehende Reduktion des Carbonyls bis zu  $\text{CH}_2$ . Zugleich ist hier der erste Beweis für die Hydrierung einer Doppelbindung im Organismus gegeben, die bislang für die Phenylisocrotonsäure nur wahrscheinlich gemacht, aber für kein Beispiel exakt erwiesen war. Und wenn nun sichergestellt ist:

1. Daß Ketonensäuren, Oxysäuren und ungesättigte Säuren die gleichen Produkte liefern (Phenylbutterssäurederivate),
  2. Keto- und Oxysäuren in ungesättigte Säuren übergehen können (Phenylpropionsäurederivate) und
  3. ungesättigte Säuren hydriert werden,
- so ist also die Fähigkeit, Keton- und Oxysäuren zu den gesättigten Säuren zu reduzieren, für den Tierkörper erwiesen.

#### Experimenteller Teil.

Nach den Angaben von Henke<sup>1)</sup> wurde  $\delta$ -Benzallävulin-säure aus Benzaldehyd und Lävulinsäure bei alkalischer Reaktion kondensiert und zu der gesättigten  $\delta$ -Benzyllävulinsäure reduziert. Von dieser Säure  $\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH}$  wurden im Laufe von drei Tagen 15 g als Natronsalz verfüttert. Die Isolierung der Oxydationsprodukte aus dem Harn erfolgte nach den oft beschriebenen Methoden: Vakuumkonzentration, langdauernde Ätherextraktion, Wasserdampfdestillation fraktionierte Krystallisation, deren Details nicht wiederholt zu werden brauchen. Die Trennung der N-haltigen Produkte und der Oxysäuren geschah teilweise durch fraktionierte Krystallisation, zum Teil durch Benzol, das die Oxysäuren leicht löst. Es wurden 3,6 g Phenacetursäure gewonnen, die durch Schmelzpunkt  $142^\circ$  und Spaltung identifiziert wurde. Die gewonnene Phenylessigsäure schmolz bei  $76^\circ$ , das Glykokoll wurde als Esterchlorhydrat charakterisiert. Die gewonnenen 0,8 g Phenyl- $\alpha$ -oxy-

<sup>1)</sup> Henke, phil. Diss., Halle 1891.

buttersäure schmolzen scharf bei  $114^{\circ}$  und zeigten mit d-Phenyl- $\alpha$ -oxybuttersäure vermischt keine Schmelzpunktsdepression.

Die Verfütterung der  $\delta$ -Benzallävulinsäure gestaltete sich schwieriger, da der Hund nach jeder Art der Verfütterung des Na-Salzes Erbrechen und Durchfall bekam. Es gelang schließlich, durch Verreiben mit rohem Hühnerei, Koagulation und Verfütterung mit Fleisch zusammen in mehreren Tagen ca. 15 g Säure beizubringen, von denen der größere Teil jedenfalls beibehalten wurde. Von dem gewonnenen Harn mußte wiederum manches verworfen werden, damit nur ganz sauberes Material zur Verarbeitung kam. Die Menge der ihm entsprechenden verfütterten Säure können wir deshalb nicht angeben. Da der Hund einmal nach subcutaner Injektion des Na-Salzes starke Schmerzen äußerte, sahen wir von dieser Applikationsform ab. — Die Isolierung der Abbauprodukte war schwieriger, da sich aus den wässrigen Lösungen des Ätherextraktes stets Öl ausschied. Das Öl wurde in viel Wasser aufgenommen und die Lösung schied im Vakuum nacheinander über 1,4 g Phenacetursäure vom Schmelzpunkt  $142^{\circ}$  und 0,18 g Phenyl- $\alpha$ -oxybuttersäure aus, die durch Mischschmelzpunkt und Krystallform bei der Abscheidung aus verschiedenen Lösungsmitteln mit aller Sicherheit als solche identifiziert werden konnte. — Über die Natur des nicht krystallisierenden Öles können wir vorderhand nur soviel sagen, daß es nicht das eventuell zu erwartende Lacton war, denn es löste sich in kalter Soda.

Phenyl- $\gamma$ -oxybuttersäure wurde aus Phenylisocrotonsäure gewonnen. Die Angabe Erdmanns,<sup>1)</sup> der durch Kochen von Phenylparakonsäure mit verdünnter Schwefelsäure quantitativ das Lacton der Phenyloxybuttersäure erhalten haben will, kann nicht bestätigt werden. — 8 g der Säure wurden als Natronsalz per os verfüttert. Bei der Wasserdampfdestillation des sauren Ätherextraktes trat im Destillat der charakteristische Geruch nach Phenylbutyrolacton auf. Es wurden deshalb ca. 6 l Wasser durchgeblasen, das Destillat mit Kalilauge eingedampft, mit Schwefelsäure angesäuert, kurz aufgeköcht und

<sup>1)</sup> Erdmann, Hugo, phil., Diss. Straßburg.

mit Äther extrahiert. Der Äther hinterließ mit Soda geschüttelt und getrocknet ein Öl, das beim Impfen mit festem Lacton momentan typisch krystallisierte. Es wurden 3,8 g Phenylbutyrolacton zurückgewonnen, die sofort bei 37° schmolzen. — Aus dem wässerigen Ätherextrakt konnten 1,3 g Phenacetursäure vom Schmelzpunkt 142° isoliert werden, die bei der Hydrolyse Phenylelessigsäure vom Schmelzpunkt 76° lieferte.

### Ergebnisse.

1. Ungesättigte Säuren können im Tierkörper in gesättigte übergeführt werden.
2. —CO- und —CHOH-Gruppen können zu Methylengruppen reduziert werden.
3. Die Gesetzmäßigkeiten über den Abbau von Säuren werden durch die Anwesenheit von Carbonylgruppen oder Doppelbindungen in dem vom Carboxyl entfernten Teil eines Säuremoleküls nicht beeinträchtigt; dort scheinen vielmehr reduktive Prozesse leichter einzusetzen als in der Nachbarschaft der Carboxylgruppe.