

Probleme des Zwischenstoffwechsels. Gedenkblatt für Franz Knoop

von Prof. Dr. PAUL OHLMEYER. Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut der Universität Tübingen.

Den Forscher in der physiologischen Chemie beschäftigt eine dreifache Aufgabe: Aus dem komplexen Stoffbestand des Organismus isoliert er einzelne Substanzen, um ihren chemischen Aufbau zu erkennen; aus dem komplexen Lebensgeschehen isoliert er einzelne Vorgänge, um ihren Ablauf physikalisch-chemisch zu verstehen; er studiert den großen Zusammenhang, in dem Stoffe durch Reaktionen miteinander verknüpft sind, den Stoffwechsel also. Daß alle Substanzen im Organismus in vielfältiger Beziehung zueinander stehen, ist die chemische Eigentümlichkeit der Lebewesen und der Stoffwechsel daher das Hauptthema der physiologischen Chemie.

Unter Zwischenstoffwechsel verstehen wir die Gesamtheit koordinierter Reaktionen, durch die der Organismus seine Bausteine über eine Reihe einfacher Verbindungen ineinander oder unter Verwertung ihrer physiologisch verwertbaren Energie oxydativ, katalytisch und reversibel in ausscheidungsfähige Endprodukte überführt.

Diese Definition betrifft also den Stoffwechsel zwischen zwei Zuständen der Körpersubstanz, zwischen den an chemischer Energie reichen Bausteinen und den energiearmen Endprodukten des Gesamtstoffwechsels.

Unter Bausteinen verstehen wir die aus höheren Verbindungen durch Hydrolyse entstandenen Spaltprodukte, die sowohl durch Verdauung der Nährstoffe wie durch Spaltung lebendiger Substanz in der Zelle gebildet und als solche im Blut oder in der Lymphe transportiert werden, wie z. B. Monosaccharide, Fettsäuren, Aminosäuren u. a.

Die Anzahl der Bausteine ist vergleichsweise gering. Da sie, kaum entstanden, weiterreagieren, finden sie sich durchweg in geringer Konzentration im Gewebe und es bedarf zu ihrer Erforschung besonderer Hilfsmittel. Zu diesen gehören: Erfassung bei pathologischer Vermehrung; Ausschaltung oder Behinderung eines Organs (*Ecksche Fistel* an der Leber); Versuch mit dem isolierten Organ (Leberdurchströmung, *G. Embden*); mit Gewebsschnitten, Brei oder homogenem Extrakt (Fermentgemisch, *O. Meyerhof*); Einwirkung von reinen Fermenten (*O. Warburg*).

Zu den Forschern, die unsere Kenntnisse auf dem Gebiet des Zwischenstoffwechsels durch Auffindung von Einzeltatsachen und allgemeinen Gesichtspunkten bedeutend gefördert haben, gehört der Mann, dessen Andenken diese Betrachtung gewidmet ist.

Franz Knoop wurde 1875 in Schanghai als Sohn eines deutschen Kaufmanns geboren. Er besuchte das Johanneum in Hamburg, studierte in Freiburg, Kiel und Berlin und wurde 1900 in Freiburg zum Doktor der Medizin promoviert. Der Weg zur phy-

siologischen Chemie wurde ihm von *Eugen Baumann* gewiesen; weitere Ausbildung genoß er bei *Franz Hofmeister* in Straßburg. 1904 habilitierte sich *Knoop* mit einer Arbeit über den Abbau der Fettsäuren im Tierkörper. Nachdem er Berufungen an das Rockefeller Institute for Medical Research in New York und nach Leipzig abgelehnt hatte, ernannte ihn die Freiburger Fakultät 1920 zum Ordinarius für physiologische Chemie. Später schlug er noch Leyden aus, übernahm aber 1927 das älteste deutsche, von *Felix Hoppe-Seyler* gegründete Institut seines Faches in Tübingen. Hier setzte am 2. August 1946 der Tod seinem reichen Leben ein Ende.

Mit *Knoop* hat die Medizin einen vielseitigen Gelehrten verloren, die physiologische Chemie einen originellen und sehr verdienten Forscher, die Universität einen hervorragenden Lehrer. Tatkräftig und gewandt, im Besitze des Vertrauens von Kollegen und Studenten, hat der hochangesehene und beliebte Professor für manche Sache, vor allem für die Geltung seines Faches an der deutschen Universität erfolgreich gekämpft.

Sein wissenschaftlicher Geist suchte in erster Linie nach durchgehenden Prinzipien, unter denen sich die Einzeltatsachen im Lebensgeschehen ordnen und verstehen lassen. So mußte ihn als Chemiker das Gebiet des intermediären Stoffwechsels, das um die Jahrhundertwende erst wenig erforscht war und heute das Bild eines überschaubaren, aber noch sehr lück-

enhaften Systems bietet, zur Suche nach Zwischenreaktionen und ihren Zusammenhängen besonders verlocken.

Will man *Knoops* Ergebnisse und Gedanken im einzelnen darstellen, so muß man vom Abbau der Fettsäuren, vom Stoffwechsel der Aminosäuren, vom Übergang der physiologischen Bausteine ineinander und von der Reversibilität biochemischer Reaktionen sprechen.

1. Die β -Oxydation

Zu Beginn des Jahrhunderts, als *Knoop* mit seinen Untersuchungen begann, hatte die Stoffwechselforschung über die Verdauung der Nährstoffe zwar nähere Kenntnisse gewonnen, aber deren weiteres Schicksal im Tierkörper war noch dunkel. Der intermediäre Stoffwechsel war nicht viel mehr als ein Begriff. Immerhin war die Aufklärung von Abbauwegen durch Verfütterung physiologischer und unphysiologischer Substanzen und durch das Studium harnfähiger Umwandlungsprodukte schon in Angriff genommen. So hatten *Nencki*, *Baumann* und die beiden *Salkowski* zahlreiche aromatische Verbindungen mit carboxylierter Seitenkette verfüttert, um Näheres über ihren oxydativen Abbau zu erfahren. Solche Untersuchungen hatten u. a. zwei Tatsachen ergeben: 1. Der Abbau führte – außer beim Phenylalanin – höch-

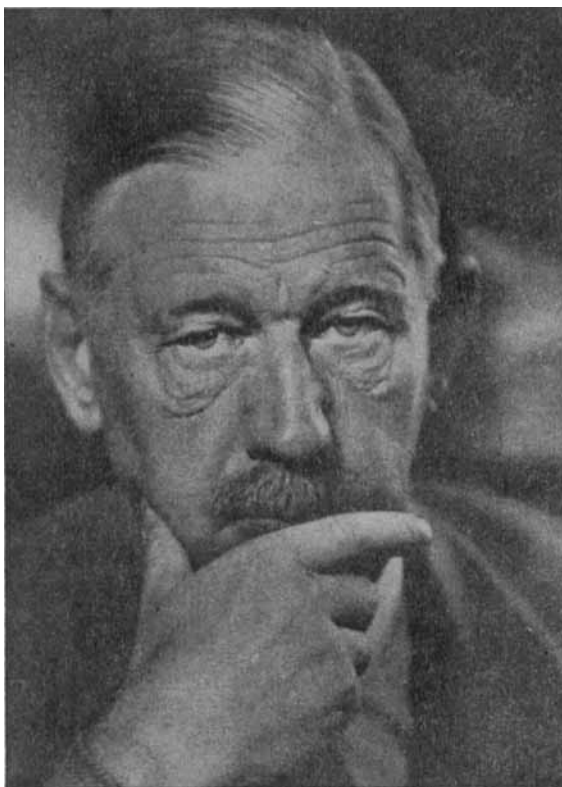


Photo: Tita Binz

stens bis zur Benzoesäure; der Phenyl-Rest war also im allgemeinen unverbrennlich. 2. Phenylessigsäure und Mandelsäure wurden überhaupt nicht angegriffen; Benzoesäure und Phenylessigsäure fanden sich mit Glykokoll gepaart als Hippursäure und Phenacetursäure im Harn wieder.

Als Schüler von *Baumann* nahm *Knoop* diese Methode des unverbrennlichen Restes auf und in systematischen Versuchen gelang es ihm, eine Hypothese von *Salkowski* über die Bildung von Benzoesäure aus ihren Homologen durch eine gesicherte Theorie zu ersetzen. Er fand nämlich, daß die Länge der Seitenkette für das Ausscheidungsprodukt maßgebend ist: paarzahlige Ketten liefern Benzoesäure, unpaarzahlige Phenylessigsäure.

Aus dieser Tatsache zog er den Schluß, daß die Kettenverkürzung durch fortschreitende Abspaltung von C_2 -Stücken zustandekommt, die Oxydation also jeweils am β -Kohlenstoffatom angreift. Dieses Prinzip der β -Oxydation erwies sich auch im Falle von verschiedenen Veränderungen der Seitenkette durch Doppelbindung oder Substitution, z. B. bei Phenylisocrotonsäure als gültig. *Knoop* machte es 1904 bekannt¹⁾ und erweiterte es spekulativ schon gleich auf die natürlichen Fettsäuren, indem er es zur Erklärung des Vorkommens aller paarzahligen Fettsäuren von C_4 bis C_{18} in der Milch heranzog.

Daß Oxydation am β -Kohlenstoffatom den physiologischen Abbau der Fettsäuren beherrscht, ist heute wohl sicher. So konnten *Schoenheimer* und *Rittenberg*²⁾ durch Anwendung der deuterium-haltigen Säuren zeigen, daß der Tierkörper Stearinsäure zu Palmitinsäure abbaut. Es ist auch sehr wahrscheinlich, daß der Mechanismus gilt, an den *Knoop* gedacht hat: Dehydrierung zur α , β -ungesättigten Säure, Wasseranlagerung, Dehydrierung der β -Oxy- zur Ketosäure, Spaltung zwischen β - und γ -Kohlenstoffatom³⁾.

Von der Desaturation der Fettsäuren handeln eine Reihe neuerer Arbeiten. Unter Benutzung von Deuterium erhielten *Schoenheimer* und *Rittenberg*⁴⁾ im Rattenversuch Ölsäure aus Stearinsäure, *Stetten jr.* und *Schoenheimer*⁵⁾ Palmitinölsäure aus Palmitinsäure. Nach *Lang*⁶⁾ läuft diese Dehydrierung mit Gewebsextrakt in Gegenwart von Adenylsäure ab; *Annau* und Mitarbeiter⁷⁾ fanden mit dem Ferment der Rinderleber eine Aktivierung der Reaktion durch Hypoxanthin; *Hindemith*⁸⁾ sah nach hohen Coffeindosen den Fettstoffwechsel und den Gehalt an ungesättigten Fettsäuren in der Rattenleber erhöht; in Versuchen von *Shapiro* und *Wertheimer*⁹⁾ ist die Desaturation auch von einer Codehydrase abhängig. Sie dürfte also mit Phosphorylierungsreaktionen verknüpft sein, bei denen das Adenylsäuresystem beteiligt ist. (Vgl. *Mazza* und *Marfori*¹⁰⁾).

Als Beweis für die Richtigkeit der Vorstellung von *Knoop* über den Mechanismus der β -Oxydation müßte aber die Bildung einer $\Delta_{1,2}$ -Fettsäure beobachtet werden, und diese erschlossen neuerdings *Mazza* und *Marfori* aus dem Auftreten einer Absorptionsbande bei 240 μ unter der Wirkung von Fettsäuredehydrase. Diese Dehydrierung gelang jedoch nur bei Fettsäuren mit mindestens 12 C-Atomen. Aber auch niedere, die schon eine Hydroxyl-Gruppe tragen (β -Oxyvaleriansäure . . . — Oxypelargonsäure), werden nach *Lang*¹¹⁾ von „ β -Oxybuttersäuredehydrase“ weiteroxydiert.

Der Einfluß der Kettenlänge scheint sich auch nach oben hin geltend zu machen. *Karrer* und *Koenig*¹²⁾ konnten Ratten, die auf fettfreier (*Steenbock*-) Diät von Akrodyne befallen und mit Linolsäure heilbar waren, mit $\Delta_{11,14}$ -Eikosadiensäure nicht heilen. β -Oxydation, die zur Linolsäure geführt hätte, ist hier offenbar nicht eingetreten. Der Grund dafür könnte allerdings auch in den vorgegebenen Doppelbindungen zu suchen sein; denn *Lang* und *Annau* geben an, daß das Ferment der Rinderleber Ölsäure nur sehr schwer dehydriert, ein

Befund, dem Angaben von *Mazza* und *Marfori* jedoch widersprechen.

Machen Ergebnisse dieser Art die β -Oxydation als den Hauptweg des Fettsäureabbaus sehr wahrscheinlich, so zeigen doch andere Versuche, daß der Tierkörper unter besonderen Bedingungen noch andere Möglichkeiten der Kettenverkürzung kennt. Schon vor vierzehn Jahren hat *Verkade* zeigen können, daß auch Methyloxydation bei Fettsäuren vorkommt. Sie leitet dann eine β -Oxydation „von der anderen Seite“ ein, und es kann nach neueren Arbeiten dieses Autors¹³⁾ auf diesem Wege zur Bildung der für den Zwischenstoffwechsel bedeutsamen C_4 -Dicarbonsäuren kommen. Auch auf den Verlauf der Methyloxydation ist die Kettenlänge von Einfluß. *Bernhard*¹⁴⁾ hat in Fortsetzung der Versuche mit *Flaschenträger* den Abbau von alkyl-substituierter Malonsäure studiert und gefunden, daß Tricarbonsäure entsteht, und zwar besonders leicht bei Nonylsubstitution. Methyloxydation überhaupt tritt hier aber deswegen in größerem Umfang ein, weil eine α -ständige Carboxyl-Gruppe vorliegt; Nonylmalonsäure liefert sehr viel mehr an Tricarbonsäure als Pelargonsäure an Dicarbonsäure: Die β -Oxydation wird durch α -Substitution verhindert.

Unterdrückung der β -Oxydation bei β -substituierten Kohlenstoffketten hatte schon früher *Kuhn* mit *Livada*¹⁵⁾ bei der Oxydation von Geraniol zu „*Hildebrandt-Säure*“ im Körper des Hundes beobachtet und dann mit *Köhler* und *Köhler*¹⁶⁾ deutlich gemacht: Bei der Verfütterung von β -Methyl- β -n-Hexyl-Acrylsäure-Methylester an Kaninchen bildete sich 2-Methyl-Hepten (1,2) -1,7-Dicarbonsäure.

Eine Verhinderung der β -Oxydation liegt auch bei Fettsäuren mit verzweigter Kette vor, wie sie auf dem Wege des Abbaus von Aminosäuren liegen. So kann z. B. Isovaleriansäure Methyloxydation erleiden.

Das schwierigste Problem in der Theorie der β -Oxydation geben Natur und Verbleib des C_2 -Spaltstückes auf. *Knoops* Hypothese, daß es sich um Essigsäure handelte, die nach bimolekularer Dehydrierung ihren Weg über Bernsteinsäure, wie *Thunberg*¹⁷⁾ ihn angibt, nähme, scheint nicht zuzutreffen. Zwar ist die Bildung von Succinat aus Acetat in Hefen und Bakterien durch Arbeiten von *Wieland* und anderen^{18), 19), 20)} bewiesen. Aber schon aus Heferversuchen mit deuterierter Essigsäure von *Sonderhoff* und *Thomas*²¹⁾ und aus Ergebnissen von *Lynen* und *Neciullah*²²⁾ folgt, daß Essigsäure vorwiegend durch Kondensation mit Oxal-essigsäure zum Abbau kommt und erst auf diesem Wege den Hauptanteil an Bernsteinsäure bildet. Im Tierkörper ist nun ein Ferment für die bimolekulare Dehydrierung von Essigsäure sicherlich nicht in ausreichender Konzentration vorhanden.

Zudem fragt es sich, ob das gesuchte C_2 -Stück überhaupt als Essigsäure oder — nach Vorstellungen von *Wieland* — als Säure in unbekanntem status nascendi auftritt. *Breusch*²³⁾ hat 1943 aus seinen Untersuchungen den Schluß gezogen, daß die aus der Fettsäure entstandene β -Ketosäure mit Oxal-essigsäure unter Bildung von Citronensäure und der um 2 C-Atome verkürzten Fettsäure reagiert, eine intermediäre C_2 -Verbindung also gar nicht entsteht. Zu diesem Fragenkomplex gehören auch Arbeiten von *Deuel* und Mitarbeitern²⁴⁾ und von *Jovett* und *Quastel*²⁵⁾, denen zufolge aus den Fettsäuren intermediär Polyketosäuren mit alternierender Substitution werden, die in mehrere Molekeln Acetessigsäure zerfallen sollen. Nach Versuchen von *Weinhouse*, *Medes* und *Floyd*²⁶⁾ bildet nun Acetessigsäure, deren Carboxyl-Gruppe von ^{13}C gebildet ist, mit Oxal-essigsäure Citronensäure. Der Abbau der Fettsäuren im Tricarbonsäurecyklus (siehe unten) scheint also so gut wie gesichert, nur ist die Natur des aus ihnen entstehenden Kondensationspartners der Oxal-essigsäure noch unklar.

¹³⁾ P. E. Verkade, *Enzymologia* [Den Haag] 9, 289 [1941].

¹⁴⁾ Recueil Trav. chim. Pays-Bas 55, 278 [1936].

¹⁵⁾ Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 220, 235 [1933].

¹⁶⁾ R. Kuhn, F. Köhler u. L. Köhler, ebenda 242, 171 [1936].

¹⁷⁾ Skand. Arch. Physiol. 40, 1 [1920].

¹⁸⁾ W. Wieland u. R. Sonderhoff, *Liebigs Ann. Chem.*, 499, 213 [1932].

¹⁹⁾ W. S. Butkewitsch u. M. W. Fedoroff, *Biochem. Z.* 219, 87 [1930].

²⁰⁾ W. Franke u. H. Rudloff, ebenda 310, 207 [1941].

²¹⁾ Liebigs Ann. Chem., 530, 195 [1937].

²²⁾ F. Lynen u. N. Neciullah, ebenda 541, 203 [1939]; F. Lynen, ebenda 552, 270 [1942].

²³⁾ C. v. Soc. Turque Sci. Phys. Nat. 10, 55 [1943].

²⁴⁾ H. J. Deuel jr., L. F. Hallmann, J. S. Butts u. S. Murray, *J. biol. Chemistry* 116, 621 [1936].

²⁵⁾ *Biochem. J.* 29, 2143 [1935].

²⁶⁾ *J. biol. Chemistry* 166, 691 [1946] (Priv. Information).

¹⁾ Beitr. chem. Physiol. Pathol. 6, 150 [1904].

²⁾ *J. biol. Chemistry* 120, 155 [1937].

³⁾ Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 67, 491 [1910].

⁴⁾ *J. biol. Chemistry* 113, 505 [1936].

⁵⁾ *J. biol. Chemistry* 133, 329 [1940].

⁶⁾ K. Lang u. H. Mayer, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 262, 120 [1939].

⁷⁾ E. Annau, A. Eperjessy u. O. Felszeghy, ebenda 277, 58 [1942].

⁸⁾ Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Pathol. Pharmacol. 199, 167 [1942].

⁹⁾ *Biochem. J.* 37, 102 [1943], zit. nach Chem. Zbl. 1943, II, 1638.

¹⁰⁾ *Arch. Sci. Biol.* 27, 142 [1941]; zit. nach Chem. Zbl. 1943.

¹¹⁾ Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 277, 114 [1942].

¹²⁾ *Helv. chim. Acta* 26, 619 [1943].

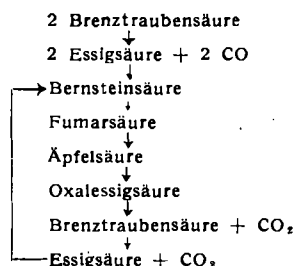
Was den Aufbau von Fettsäuren anlangt, so hat *Knoop* die Brenztraubensäure als Muttersubstanz in Betracht gezogen. Im aeroben Abbau aus Oxalessigsäure entstanden und als Intermediärprodukt im anaeroben Kohlehydratabbau steht sie reichlich zur Verfügung. Bildete sie carboxylatisch Acetaldehyd, so könnte dieser durch Aldol-Verknüpfung längere Kohlenstoffketten bilden. Da Acetaldehyd im Tierkörper nicht gefunden wird, so müßte man – unter Beibehaltung der Aldol-Hypothese – wiederum an die Bildung einer noch undefinierten C_2 -Verbindung aus Brenztraubensäure denken. (Vgl. *Martius*²⁷). Diesen Aufbau von Fettsäuren aus C_2 -Stücken möchte *Kaufmann*²⁸) aus dem Vorkommen von konjugiert ungesättigten Säuren in Naturfett herleiten. Daß dagegen Ölsäure nach einem anderen Mechanismus entsteht, besagen Ergebnisse von *Bernhard* und *Bullet*²⁹), die fettfrei ernährten Ratten schweres Wasser injizierten und in der Ölsäure der Tiere vergleichsweise viel weniger Deuterium wiederfanden als in ihren gesättigten Fettsäuren.

II. Der oxydative Abbau der Brenztraubensäure

1936 synthetisierten *Knoop* und *Martius*³⁰) Citronensäure durch Kondensation von Oxalessigsäure mit Brenztraubensäure in vitro. Ein halbes Jahr später entdeckte *Martius*³¹) den physiologischen Abbau der Citronensäure.

Damit war für eine bedeutsame Erweiterung unserer Kenntnisse von der biologischen Oxydation der Grund gelegt. Um diese Leistung würdigen zu können, müssen wir uns älterer Theorien erinnern.

Arbeiten von *Thunberg*³²) und von *Knoop*³³) aus den zwanziger Jahren hatten für den Abbau der Brenztraubensäure, dieses wichtigen Intermediärprodukts, folgenden Reaktionszyklus zur Diskussion gestellt:



Später schlugen *Toenissen* und *Brinkmann*³⁴) einen Mechanismus vor, in dem Essigsäure nicht vorkommt und 2 Molekeln Brenztraubensäure zu Diketo adipinsäure polymerisiert werden sollen, die unter Bildung von Bernsteinsäure und Ameisensäure zerfiel. Es hatte die Tatsache gegen sich, daß Diketo adipinsäure im Tierkörper weniger rasch abgebaut wird als Brenztraubensäure (*Wille*³⁵), ferner die Gründe, die schon gegen das *Thunberg-Knoop*-Schema, insbesondere gegen die unmittelbare Bildung von Succinat aus Acetat sprechen, und die wir oben erwähnt haben. So eröffnete denn die Einschaltung der Citronensäure durch *Martius* eine Betrachtungsweise, deren Fruchtbarkeit sich bald erweisen sollte. Die Einzelheiten des Abbaus der Citronensäure nach *Martius* sind in die Lehrbücher eingegangen und brauchen hier nicht dargestellt zu werden.

Nachdem schon *Martius* und *Knoop* auf die Reversibilität der aufgefundenen Reaktionen hingewiesen hatten und insbesondere auf den Umstand, daß der Abbau wieder zu Oxalessigsäure, dem Kondensationspartner der Brenztraubensäure im Anfang des Reaktionszuges führt, schrieb *Krebs*³⁶) diese Reaktionen, kombiniert mit dem C_4 -Dikarbonsäureschema von *Szent-Györgyi*³⁷) als Zyklus auf und zog neben Brenztraubensäure ein anderes Zuckerspaltstück in Betracht. Der „Citronensäurezyklus“ ist zu bekannt, als daß er noch einmal wiedergegeben werden sollte (vgl. z. B. *Franke*³⁸)).

²⁷) Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 279, 96 [1943].

²⁸) Diese Ztschr. 59, 24 [1947].

²⁹) Helv. chim. Acta 26, 1185 [1943].

³⁰) Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 242, 1 [1936].

³¹) Ebenda 246, 1 [1937].

³²) Skand. Arch. Physiol. 40, 1 [1920].

³³) Klin. Wschr. 2, 60 [1923].

³⁴) Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 187, 137 [1930].

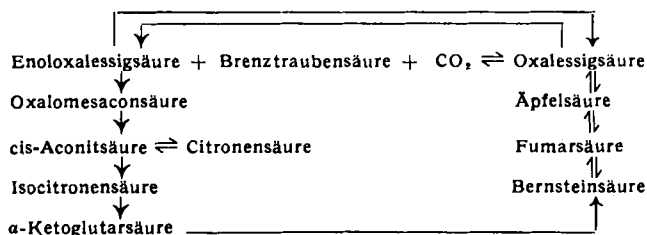
³⁵) Liebigs Ann. Chem., 538, 237 [1939].

³⁶) Enzymologia [Den Haag], 4, 148 [1937].

³⁷) A. v. Szent-Györgyi u. Mitarb., Biochem. Z. 162, 399 [1925]. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 224, 1 [1934]; 236, 1 [1935]; 244, 105 [1936]; 247, 1 [1937].

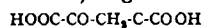
³⁸) Diese Ztschr. 53, 589 [1940].

Nun machten *Evans* und *Slotin*³⁹) 1940 die bemerkenswerte Entdeckung, daß Brei von Taubenleber, dem Pyruvat und ^{11}C angeboten wird, α -Ketoglutarinsäure bildet, die ^{11}C in einer Carboxyl-Gruppe enthält. *Wood*, *Werkman* und Mitarbeiter⁴⁰) untersuchten diese Bildung der Dicarbonsäure genauer und schlugen auf Grund ihrer Forschungen mit schwerem Kohlenstoff folgendes Schema für den Brenztraubensäureabbau vor:

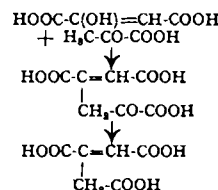


An diesem Schema sind vor allem drei Punkte neu:

1. Brenztraubensäure ist für die Kondensation nicht auf Oxaloesigsäure angewiesen, die aus dem Zyklus stammt, sie kann sie vielmehr auch mit Kohlensäure neu bilden.
2. Als Kondensationsprodukt sind Oxalomesaconsäure („Brenztraubenfumarsäure“) angenommen:



*Krebs*⁴¹) hält statt ihrer Oxalocitraconsäure (das cis-Isomere) für wahrscheinlicher und läßt sie wie folgt sich bilden und weiterreagieren:



3. Die entstandene cis-Aconitsäure führt im Gleichgewicht zur Citronensäure, die nicht eigentlich im Kreislauf liegt.

Mit Leberschnitten ließen *Evans* und *Slotin*⁴²) α -Ketoglutarinsäure aus Brenztraubensäure und ^{11}C entstehen und fanden eine Verteilung des ^{11}C , die durch Zusatz von Citronensäure nicht zu beeinflussen war und schlossen deswegen ihre Beteiligung sogar völlig aus.

Dieser Widerspruch bleibt noch aufzuklären, wie denn überhaupt gegenwärtig unter den Problemen des Zwischenstoffwechsels die Definition des gesuchten Kondensationsproduktes im „Tricarbonsäurecyclus“ wohl das interessanteste ist.

Um ein Bild von den übrigen, mannigfaltigen Reaktionsmöglichkeiten der Brenztraubensäure zu geben, führen wir in Kürze die folgenden Umsetzungen an:

1. Kondensation mit sich selbst zu Acetacetat (*Emden* und *Oppenheimer*⁴³); *Annau*⁴⁴); *Edson*⁴⁵); *Barron* und Mitarbeiter⁴⁶).
2. Kondensation mit sich selbst zu Acetyl-Methyl-carbinol. (*Silverman* und *Werkman*⁴⁷); *Green* und Mitarbeiter⁴⁸).
3. Hydrierung zu Milchsäure (mit Acetaldehyd als Wasserstoffdonator: *Green* und Mitarbeiter⁴⁹).
4. Reduktion zu Propionsäure (*Carson* und Mitarbeiter⁵⁰).
5. Oxydation unter Bildung von Essigsäure (z. B. *Barron* und *Lyman*⁵¹).
6. Dismutation zu Lactat und Acetat (*Krebs* und *Johnson*⁵²); *Weil-Malherbe*⁵³).
7. Reduktive Aminierung zu Alanin; Umaminierung (*Braunstein* und *Kritzmann*⁵⁴).
8. Decarboxylierung.

³⁹) J. biol. Chemistry 136, 301 [1940].

⁴⁰) H. G. Wood, C. H. Werkman, A. Hemingway u. A. O. Nier, ebenda 142, 31 [1942].

⁴¹) Biochemic. J. 36, IX [1942]; Adv. in Enzym. 3, New York 1943.

⁴²) J. biol. Chemistry 141, 439 [1941].

⁴³) Biochem. Z. 45, 186 [1912].

⁴⁴) Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 224, 141 [1934].

⁴⁵) Biochem. J. 29, 2082 [1935].

⁴⁶) E. S. G. Barron, C. M. Lyman, M. A. Lipton u. I. M. Goldinger, J. biol. Chemistry, 141, 957 [1941].

⁴⁷) Ebenda 138, 35 [1941].

⁴⁸) D. E. Green, W. W. Westerfeld, B. Vennesland u. W. E. Knox, ebenda 140, 683 [1941].

⁴⁹) D. E. Green, D. M. Needham u. J. G. Devan, Biochemic. J. 31, 2327 [1937].

⁵⁰) S. F. Carson u. S. Ruben, Proc. natl. Acad. Sci. USA. 26, 422 [1940]; zit. n. Barron, Adv. Enzym., New York, 3 [1943].

⁵¹) J. biol. Chemistry 127, 143 [1939].

⁵²) Biochemic. J. 31, 645 [1937].

⁵³) Ebenda 31, 2202 [1937].

⁵⁴) Enzymologia [Den Haag] 2, 129, 138 [1937].

III. Beziehungen zwischen Ketosäuren und Aminosäuren

Wenige Jahre nach der Entdeckung der β -Oxydation stellte *Knoop* fest, daß dieses Prinzip je nach der Substitution in der Fettsäure Ausnahmen zuläßt. Er verfütterte γ -Phenyl- α -Aminobuttersäure und isolierte aus dem Harn keine Phenacetursäure (die infolge β -Oxydation hätte entstehen sollen), sondern Hippursäure, γ -Phenyl- α -Oxybuttersäure und γ -Phenyl- α -Acetylaminobuttersäure⁵⁵⁾. Diese Beobachtung führte ihn zu einer neuen Entdeckung: Nach Verfütterung der entsprechenden α -Ketosäure erhielt er dieselben drei Säuren, hatte also den Eintritt von Stickstoff in organische Bindung nachgewiesen. *Embs* und *Schmitz*⁵⁶⁾ bestätigten bald darauf im Durchblutungsversuch, daß eine Ketosäure in der Leber reduktiv aminiert wird und daß auf diese Weise natürliche Aminosäuren erhalten werden können. *Knoop* wurde durch diese Tatsachen auf die Reversibilität physiologischer Vorgänge gebracht, auf einen Gedanken, der von da ab seine weitere Forschungstätigkeit beherrschen sollte. Er erklärte die Entstehung der Oxyssäure durch Hydrierung der Ketosäure, die ihrerseits durch Oxydation der Aminosäure entstehen kann (*Neubauer*⁵⁷⁾). Die Umkehr des letzteren Vorgangs verwirklichte er anschließend in vitro, indem er Phenylketosäuren in Gegenwart von Ammoniak durch naszierenden Wasserstoff in Phenylaminosäuren überführte⁵⁸⁾. Für den Übergang der Aminosäure in die Ketosäure diskutierte *Knoop* anfangs die intermediäre Bildung einer Oxyamino- oder einer Iminosäure. Dann zog er die letztere vor, weil er sah, daß statt Ammoniak auch primäre Amine (unter Bildung der alkylsubstituierten Aminosäure) reagieren, nicht aber sekundäre Amine, die keine *Schiffsche* Base bilden können. Diese Erkenntnisse wurden später bekanntlich durch Arbeiten von *Krebs*⁵⁹⁾ vertieft, der fand, daß natürliche und unnatürliche Aminosäuren durch Schnitte von Leber und Niere, durch Extrakte aber nur unnatürliche oxydativ desaminiert werden⁶⁰⁾. *Von Euler* und Mitarbeiter⁶¹⁾ studierten mit einer gereinigten Dehydrase die Reversibilität der Hydrierung einer Iminosäure und ihrer Hydrolyse zu Ketosäure und Ammoniak am Beispiel der L-Glutaminsäure.

Knoops Entdeckung der acetylierenden Aminierung (Bildung von N-Acetylaminosäure aus der entsprechenden Ketosäure⁶²⁾ wurde von *du Vigneaud* und *Irish*⁶³⁾ bestätigt; diese Autoren fanden weiterhin, daß sowohl rechts- wie linksdrehende Phenylaminobuttersäure vom Körper in das rechtsdrehende Acetyl-Derivat verwandelt und ausgeschieden werden, d. h. daß der Organismus d-Aminosäuren in ihre natürliche l-Form überführen kann.

Was im übrigen den Abbau der natürlichen Aminosäuren auf ihren verschiedenen Wegen betrifft, ist in dieser Zeitschrift in einem Referat von *Felix*⁶⁴⁾ nachzulesen.

Die Beziehungen zwischen Amino- und Ketosäuren spielen aber noch in anderer Beziehung eine wichtige Rolle. Fußend auf Ergebnissen von *Herbst* und *Engel*⁶⁵⁾ haben *Braunstein* und *Kritzmann*⁶⁶⁾ 1937 gefunden, daß α -Ketosäuren und die Aminodicarbonsäuren mit Muskelbrei auf dem Wege einer reversiblen Umaminierung Aminosäuren und Ketodicarbonsäuren geben können. Die Vorstellungen der Autoren über eine Zwischenverbindung bei dieser Reaktion konnten *Knoop* und *Martius*⁶⁷⁾ durch die Synthese einer Modellschubstanz, nämlich des Octopins, aus Brenztraubensäure und Arginin bestätigen.

Die Bedeutung der Umaminierung liegt in folgendem: Die beiden Ketodicarbonsäuren Oxalessigsäure und Ketoglutarinsäure können den Stickstoff von Aminomonocarbonsäuren auf Ketomonocarbonsäuren übertragen, sie haben insofern katalytische Wirkung⁶⁸⁾. Möglicherweise vermitteln sie die Aminierung aller Ketosäuren, denen physiologische Aminosäuren entsprechen. So

konnten *Rose* und Mitarbeiter⁶⁹⁾ finden, daß Leucin, Isoleucin, Phenylalanin und Tryptophan, an sich unentbehrliche Bestandteile der Nahrung, durch ihre Ketosäuren ersetzt werden können.

Die beiden Ketodicarbonsäuren liegen nun, wie oben dargestellt, auf dem Wege des Abbaus der Brenztraubensäure; so ist denn eine Beziehung zwischen dem Stoffwechsel von Kohlenhydrat und von Eiweiß deutlich geworden.

Der ernährungsphysiologisch wichtige Übergang der Nährstoffgruppen ineinander, insbesondere das Vorkommen gewisser Intermediärprodukte, die mehreren, an sich getrennten Reaktionszügen gemeinsam sind, hat *Knoop* schon sehr früh und immer wieder beschäftigt⁷⁰⁾. Das klassische Beispiel der Brenztraubensäure hat er oft hervorgehoben⁷¹⁾. Deswegen soll über die Möglichkeiten der Bildung von Kohlenhydrat aus Eiweiß noch einiges ausgeführt werden.

Soweit Eiweiß Asparaginsäure, Glutaminsäure und Alanin enthält oder bilden kann, kommt es, wie wir soeben sahen, als Quelle für Brenztraubensäure in Betracht. Nun kann Glutaminsäure entstehen aus Histidin (*Edlbacher* und *Kraus*⁷²⁾), Prolin, Citrullin, Arginin, Ornithin (*Krebs*⁷³⁾, *Neber*⁷⁴⁾) und Oxyprolin (*Weil-Malherbe* und *Krebs*⁷⁵⁾); Glutaminsäure kann aber über Ketoglutarinsäure Brenztraubensäure bilden. Hierdurch ist nun auch der Anschluß an die Kohlenhydratsynthese vollzogen. Für diesen in summa endothermen Reaktionszug, dessen Energiebedarf aus Verbrennungen gedeckt werden müßte, ist zu erwarten, daß Brenztraubensäure im phosphorylierten Zustand den Rückweg der Glykolyse antritt, und in der Tat hat *Kalcker*⁷⁶⁾ die Bildung phosphorylierter Brenztraubensäure mit Nierenferment gefunden.

Fettbildung aus Eiweiß konnten *Bernhard* und Mitarbeiter⁷⁷⁾ bei Albinoratten beobachten, denen D₂O-Getränk verabreicht wurde. Bildung von Kohlenhydrat aus Fett in der Säugetierleber fanden zuerst *Gemill* und *Holmes*⁷⁸⁾, später *Blixenkrone-Møller*⁷⁹⁾. Letzterer durchströmte eine Katzenleber mit butyrat-haltigem Blut und zieht zur Erklärung der Zuckerbildung Methyloxydation, also intermediäre Bildung von Bernsteinsäure . . . Brenztraubensäure heran.

IV. „Physiologische Umkehrbarkeit“

Nach der Entdeckung des Übergangs zwischen Keto- und Aminosäuren hat *Knoop* den Begriff der physiologischen Umkehrbarkeit geprägt; er hat diesen Gedanken in seinen Publikationen immer wieder mit eigenen und fremden Befunden erläutert und variiert. In einer Würdigung seiner Lebensarbeit muß diesem seinem größten Anliegen besondere Aufmerksamkeit gewidmet werden.

Es ist zu betonen, daß *Knoop* den hier gemeinten Sachverhalt, in dem er ein Charakteristikum des Lebens sah, von streng physikalisch-chemischer Reversibilität deutlich abgehoben hat. Zwar finden sich unter den Beispielen, mit denen er argumentiert, eine große Anzahl in vitro studierter Gleichgewichtsreaktionen: Glycerinsäure – Glycerinaldehyd, Ketosäure – Aminosäure, Umaminierung, Citronensäure-Schema, Cofermenthydrierung u. a., er hebt jedoch hervor, daß sie als reversible Reaktionen im Organismus nicht zu fassen seien, und erblickt Umkehrbarkeit eigentlich darin, daß eine Verbindung, die auf dem einen Wege verschwunden ist, auf dem anderen wieder entsteht, wobei streng reversible Vorgänge am Wege liegen mögen. Es fragt sich indes, ob damit ein Moment erkannt ist, das zur Bildung des neuen Begriffs der physiologischen Reversibilität zwingt.

Es scheint, daß die Auffassung *Knoops* richtig interpretiert wird, wenn man statt der Begriffe physiologische und physikalische Umkehrbarkeit die Begriffe dynamisches und thermodynamisches Gleichgewicht vorzieht⁸⁰⁾. Auf thermody-

⁵⁵⁾ F. Knoop, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 71, 552 [1910]; F. Knoop u. E. Kertess, ebenda 71, 489 [1911].

⁵⁶⁾ Biochem. Z. 29, 423 [1910]; 38, 393 [1912].

⁵⁷⁾ Dtsch. Arch. klin. Med. 95, 211 [1909].

⁵⁸⁾ F. Knoop u. H. Oesterlin, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 148, 294 [1925]; 170, 186 [1927].

⁵⁹⁾ Ebenda 217, 191 [1933]; Biochemic. J. 29, 1620 [1935].

⁶⁰⁾ Siehe auch S. Edlbacher u. H. Grauer, Helv. chim. Acta 27, 151 [1944].

⁶¹⁾ H. v. Euler, E. Adler, G. Günther u. N. B. Das, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 254, 61 [1938].

⁶²⁾ J. biol. Chemistry 122, 349 [1938].

⁶³⁾ Diese Ztschr. 59, 71 [1947].

⁶⁴⁾ J. biol. Chemistry 107, 505 [1934].

⁶⁵⁾ Enzymologia [Den Haag] 2, 129, 138 [1937].

⁶⁶⁾ Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 258, 238 [1939].

⁶⁷⁾ A. E. Braunstein, Enzymologia [Den Haag] 7, 25 [1939].

⁶⁸⁾ Science 86, 298 [1937]; C. P. Berg, W. C. Rose u. C. S. Marvel, J. biol. Chemistry 85, 219 [1929].

⁶⁹⁾ Vgl.: Oxydationen im Tierkörper, Stuttgart 1931.

⁷⁰⁾ Klin. Wschr. 2, 60 [1923].

⁷¹⁾ Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 195, 267 [1931].

⁷²⁾ Enzymologia [Den Haag] 7, 53 [1939].

⁷³⁾ Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 240, 70 [1936].

⁷⁴⁾ Biochemic. J. 29, 2077 [1935].

⁷⁵⁾ Enzymologia [Den Haag] 5, 365 [1939]; Biochemic. J. 33, 631 [1939].

⁷⁶⁾ K. Bernhard, H. Steinhäuser u. A. Matthey, Helv. chim. Acta 27, 1134 [1944].

⁷⁷⁾ Biochemic. J. 29, 338 [1934].

⁷⁸⁾ Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 252, 137 [1938].

⁷⁹⁾ Vgl. F. Knoop, Münchener med. Wschr. 1926, S. 2151.

namische Betrachtung überhaupt hat er ja schon früh Wert gelegt, die Messung der Redoxpotentiale in physiologischen Systemen gefordert und im Anschluß an *Wieland*⁸⁰⁾ Rechnungen zur Ermittlung von Reaktionsmöglichkeiten angestellt (Brenztraubensäure, Alanin), denen er allerdings noch das *Berthelotsche* Prinzip und nicht die Änderung der freien Energie zugrundelegte. Später sind Gleichgewichte bei Fermentreaktion im Reagensglas streng durchgerechnet worden (*Meyerhof*⁸¹⁾, *Ohlmeyer*⁸²⁾), und wir müssen annehmen, daß sie in der Zelle unter denselben Gesetzen stehen, solange wir nicht gezwungen sind, den Organismus von der Gültigkeit des Zweiten Hauptsatzes auszuschließen.

Nun ist das Lebendige unter dem Gesichtspunkt der chemischen Thermodynamik charakterisiert durch das dynamische Gleichgewicht (*Hopkins*), also einerseits durch Distanz vom thermodynamischen Gleichgewicht (daher die Arbeitsfähigkeit des Organismus), andererseits durch eine gewisse Konstanz. Konstanz der Zusammensetzung im Wechsel der Komponenten, stationäres oder Fließgleichgewicht hat *v. Bertalanffy*⁸³⁾ dieses Moment genannt. Es imponiert in erster Näherung als stationärer Zustand zwischen Assimilation und Dissimilation und ist nach *Bertalanffy* der mathematischen Behandlung in einer Weise zugänglich, die, wie er hervorhebt, gewisse vitalistische Vorstellungen erübrigt.

V. Schlußbetrachtung

Die zuletzt angeführte Problematik betrifft den Stoffwechsel als ein komplexes Geschehen. Sehen wir vom vielzelligen Organismus ab, betrachten wir nur die einzelne Zelle, so bleibt für den Physiologen die schwerste Aufgabe, zu verstehen, auf welche Weise alle Stoffe und Teilreaktionen quantitativ und zeitlich koordiniert werden, also zu jener Ordnung gelangen, die für die Aufrechterhaltung des Lebens erforderlich ist oder in der das Leben besteht. Zellen betätigen zugleich eine Reihe von Funktio-

nen wie Atmung, Wachstum, Umbau und Teilung: werden diese Vorgänge von einer übergreifenden Gesetzlichkeit beherrscht, die sich exakt fassen läßt, oder ist eine Antwort auf diese Frage von Experiment und Rechnung nicht mehr zu erwarten?

Die Chemie wird zur Erklärung dieser Regulation nach Stoffen suchen. Es war ihr größter Erfolg, daß sie das Leben als eine Vielfalt von katalytischen Vorgängen stofflich verstehen lernte. Indessen die Katalyse von Synthesen in der Zelle ist, wie wir wissen, schon an Strukturen gebunden, und die Zukunft der Lehre vom Stoffwechsel hängt an der Morphologie. Wir werden das chemische Ordnungsgefüge der Zelle besser verstehen, wenn es gelungen sein wird, die Lokalisierung von Fermenten und den Transport von Substrat zu überblicken. Daß dem Kern in diesem Zusammenhang eine wichtige Rolle zufällt, stellt sich mehr und mehr heraus.

Als geordnetes Geschehen zählt der Stoffwechsel zu den Kriterien des Lebendigen; wir treiben Stoffwechselforschung, um zu verstehen, was ein Lebewesen ist. Dieses Verständnis ist mit der Unterscheidung der belebten von den unbelebten Dingen verknüpft. Daher mag eine Bemerkung zu diesem Punkt unsere Betrachtung beschließen.

Man hat gesagt, zwischen belebten und unbelebten Dingen sei prinzipiell nicht zu trennen, und als Beispiel für ein anorganisches System, das dabei doch Merkmale des Lebendigen aufweist, die Kerzenflamme genannt. Nun ist aber eine solche Flamme nicht rein anorganisch: ihre Selbstregulation in Stoffwechsel und Gestalt und andere dem Organismus vergleichbare Merkmale verdankt sie ihrer Entstehung aus der Hand des Menschen. Was wir herauslesen, haben wir hineingelegt; sie ist für den Nachweis, Unterscheidung zwischen lebendigen und leblosen Systemen sei unmöglich, ein anfechtbares Beispiel. Dieser Einwand besagt auch, daß, wenn es gelänge, ein Lebewesen im Laboratorium zu erzeugen, von Urzeugung jedenfalls nicht gesprochen werden dürfte. Der Geist, der dem Leben begegnet, besitzt es auch in sich und gibt es weiter.

Eingeg. am 14. Oktober 1947. [A 74].

Abbau und Aufbau der Aminosäuren im Tierkörper.

Von Prof. Dr. F. KNOOP †

Der Abbau der Aminosäuren

In der Erkenntnis des Aminosäure-Stoffwechsels sind die ersten Ergebnisse im Gebiet des Abbaus, nicht in dem der Synthese erfolgt, entsprechend der Tatsache, daß physiologisch-chemische Reaktionen sich bis dahin eher im Tierkörper, als in der Pflanze erfassen ließen. Als vor 35 Jahren die ersten Tatsachen über den Abbau gefunden wurden, war über die Synthese in den Pflanzen nichts Grundsätzliches bekannt¹⁾.

Im Tierkörper gelang es mit dem gleichen Kunstgriff, der den Fettsäureabbau aufklärte: der Etikettierung mit einem Phenyl-Rest, zu gesetzmäßigen Resultaten zu kommen. Daß Phenylamidoessigsäure Mandelsäure liefert, war lange bekannt. Später ergab eine Berechnung, daß diese Reaktion endotherm verläuft und das Produkt nur schwer weiteroxydiert wird. Die Nachbarschaft des Kerns, die Unmöglichkeit, etwa eine β -Oxydation oder die Bildung α - β -ungesättigter Verbindungen zu erreichen, verbot die unmittelbare Übertragung der Ergebnisse auf die normalen Aminosäuren. Es wurde deshalb die Phenylaminobuttersäure synthetisiert, deren Untersuchung wertvollere Ergebnisse versprach.

Inzwischen untersuchte *Neubauer*²⁾ den Weg der scheinbar hydrolytischen Desaminierung der Phenylamidoessigsäure. Er fand, daß zunächst die Ketonsäure gebildet, diese aber erst sekundär reduziert wird.

Eine Übertragung der ausgezeichnet gesicherten Ergebnisse *Neubauers* auf physiologische Analoga erschien aus den obigen

Gründen unsicher. Trotzdem erwies sie sich als richtig. Auch die Homologen werden über die α -Ketonsäuren abgebaut, dann aber nicht hydriert, sondern zur nächst niederen Fettsäure oxydiert, entsprechend den Befunden, die früher über α -, Oxy- und -Ketonsäuren gemacht waren. Reduktionen zur Oxysäure wie der Mandelsäure waren Nebenwege, die in anderen Fällen nur in kleinstem Ausmaße beobachtet sind. Die um ein Kohlenstoffatom ärmeren Fettsäuren wurden dann nach den für sie geltenden Gesetzen abgebaut. — Für diesen Abbau zu den Ketonsäuren wurde die primäre Bildung von Iminosäuren diskutiert, ein Weg, der schon durch die drei Jahre später veröffentlichten Anschauungen von *Wieland* über die Dehydrierung sehr wahrscheinlich wurde, aber eine endgültige Bestätigung in Feststellungen fand, die sich erst im Zusammenhang mit der Reversibilität der Reaktionen ergaben. Die Iminosäuren sind so labil, daß sie sich nicht fassen lassen, sie zerfallen durch Hydrolyse in Ammoniak und Keton-säure; und das Ammoniak wird mit Kohlensäure unter Bildung von Arginin an Ornithin angelagert und liefert mit Arginase den Harnstoff.

Dies ist das Schema, nach dem im allgemeinen die Aminosäuren verbrannt werden. Das wurde an zahlreichen Beispielen bestätigt. Die große Menge von intermediären Produkten, die sich so ergeben, sollen hier nicht alle angeführt werden. Wir wollen lediglich auf einige Besonderheiten hinweisen, die einzelne Eiweißspaltstücke betreffen. Das Cystin kann in Taurin, das Arginin in Kreatin, Ornithin, Prolin und Histidin in Glutaminsäure übergeführt werden; Histidin zeigt daneben eine allein-

¹⁾ Knoop, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 67, 489 [1910] u. 71, 252 [1911].
²⁾ Neubauer, Hab.-Schrift, München 1910.