

# Über die Reaktion von $\Delta^{9,12}$ -Linolsäureäthylester in Wasser. III. Mitt.

Gärungshemmung durch das wasserlösliche Reaktionsprodukt

(Kurze Mitteilung)

Von

**E. Schauenstein und G. Schatz**

Aus dem Institut für Physikalische Chemie der Universität Graz

(Eingegangen am 14. Januar 1959)

Dispergiert man  $\Delta^{9,12}$ -Äthyllinolat in destilliertem Wasser einige Stunden bei etwa 40°, so erhält man wasserlösliche Produkte. Ihre bisher ermittelten, wesentlichsten chemischen Charakteristika sind ihr Gehalt an konjugierten C=C-Bindungen, Hydroxyl- und Carboxylgruppen<sup>1</sup>.

Diese Produkte zeigen, wie bereits kurz berichtet, in Versuchen mit gesunder Rattenleber überraschende biologische Eigenschaften, nämlich eine Hemmung des Sauerstoffverbrauches und der Glykogenolyse und eine Beschleunigung der Lipidoxydation um das Drei- bis Vierfache<sup>2</sup>.

Eine Erklärungsmöglichkeit für die beiden erstgenannten Hemmwirkungen wäre entweder in einer Hemmung der glykolytischen Reaktionsfolge oder des „Glucose-Shunts“ zu suchen.

Dagegen könnte eine primäre Hemmung der Atmungskette zwar wohl die Senkung des Sauerstoffverbrauches, nicht aber die verminderte Glykogenolyse erklären: Dies zeigten auch eigene Versuche mit KCN in kleinen Dosen, bei denen keinerlei merkbare Verminderung der Glykogenolyse auftrat<sup>3</sup>.

Trifft nun tatsächlich die erstgenannte Erklärungsmöglichkeit zu, so wäre auch eine Hemmung der alkoholischen Hefegärung zu erwarten, was im folgenden untersucht werden sollte.

<sup>1</sup> E. Schauenstein, H. Bayzer, J. Biheller und H. Gaisch, Mh. Chem. **89**, 258 (1958).

<sup>2</sup> E. Schauenstein, H. Bayzer und H. Krings, Mh. Chem. **89**, 455 (1958).

<sup>3</sup> E. Schauenstein und H. Bayzer, bisher unveröffentl. Versuche.

Wir verwendeten gewöhnliche Backhefe, von der wir 0,06-proz. Suspensionen in der von *Braun* und *Flexner* angegebenen Nährlösung herstellten. Der Glucosezusatz betrug 1,1%. Diesen Suspensionen wurden wäßrige Lösungen des wasserlöslichen Reaktionsproduktes aus Äthyllinolat beigefügt, wobei zunächst wieder, wie bisher, das Produkt V b des bereits beschriebenen Arbeitsganges<sup>1</sup> verwendet wurde; (bei der weiteren präparativen Aufarbeitung des wasserlöslichen Reaktionsproduktes aus Äthyllinolat ist es inzwischen gelungen, eine einheitliche Substanz zu isolieren, die offenbar der eigentliche Träger aller bisher bei Präp. V b beobachteten biologischen Effekte ist. Darüber wird demnächst ausführlich berichtet werden).

Die Suspensionen wurden in die Reaktionsgefäße der *Warburg*-Apparatur (Fa. B. Braun, Melsungen) gefüllt und unter Stickstoff bei 37° der Gärung unterworfen, die manometrisch leicht und sehr genau gemessen werden konnte. Das Lösungsvolumen betrug stets 4,5 ml, das pH 4,5.

Es ergab sich bei allen Versuchen ausnahmslos eine eindeutige Hemmung der Hefegärung durch das Präparat V b. Die folgende Tabelle orientiert über das Ausmaß der festgestellten Effekte.

mg Subst. V b pro 4,5 ml Lösg.	Gärungshemmung in %	Fehlerbreite
0,23	2	
0,47	10	± 2
0,71	14	
0,94	44	± 9
2,3	93	± 1
4,7	89	± 2
7,1	83	
9,4	79	

Man sieht aus der Tabelle, daß die Hemmwirkung mit steigender Konzentration an Subst. V b rasch zunimmt, ein Maximum durchläuft und anschließend langsam wieder abnimmt.

Wenn auch eine Erklärung für dieses Wirkungsmaximum derzeit nicht gegeben werden kann, so scheint doch der Hinweis von Interesse, daß auch die Atmungshemmung der Leberzelle durch Subst. V b ein Wirkungsmaximum aufweist<sup>3</sup>.

Um die festgestellte Hemmwirkung beurteilen zu können, muß die zur Erzielung der maximalen Wirkung notwendige Konzentration an Präp. V b in Molen pro Liter angegeben werden. Nach kryoskopischen Messungen liegt das Durchschnittsmolekulargewicht von Präp. V b bei rund 270. Daher beträgt die zur Erreichung des Maximaleffektes erforderliche Konzentration an Präp. V b angenähert  $2 \cdot 10^{-3}$  Mol/l.

Nach *Damaschke* und *Mundt*<sup>4</sup> ist bei Hefesuspensionen eine Wirkung bei Hemmstoffkonzentrationen von  $\leq 0,01$  m/l als Giftwirkung anzusehen, da oberhalb dieses Wertes sich bereits unspezifische, zum Teil rein osmotische Effekte bemerkbar machen.

Danach erscheint die Annahme einer spezifischen Wirkung von Präp. V b durchaus gerechtfertigt. Dies geht auch aus der Tatsache hervor, daß die Hemmwirkung keineswegs bei den wasserlöslichen Produkten aus allen mehrfach ungesättigten Fetten und Ölen auftritt: So blieben beispielsweise wasserlösliche Produkte aus Lebertran, die sonst die gleichen physikalischen und annähernd die gleichen chemischen Eigenschaften zeigten, völlig wirkungslos.

Die hiemit festgestellte Hemmung der Hefegärung durch Präp. V b legt die Annahme nahe, daß das Präparat tatsächlich die Glykolyse hemmt, die ja sowohl in Hefe, als auch in Tiergeweben in den wesentlichen Schritten analog verläuft.

Dies spricht für die erste der beiden eingangs erwähnten Erklärungsmöglichkeiten, wonach die primäre Wirkung von Präp. V b in einer Hemmung der Glykolyse besteht.

Zum weiteren Studium dieser Frage sind Versuche mit anderen glykolytischen Systemen, sowie mit wasserlöslichen Reaktionsprodukten aus Fettsäureestern mit mehr als zwei Doppelbindungen im Gange.

Wir erlauben uns, an dieser Stelle unseren wärmsten Dank auszusprechen: Der Österreichischen Akademie der Wissenschaften in Wien und der Nitritfabrik, G. m. b. H. & Co., Feldkirchen bei München, für die Gewährung von Forschungstipendien, der Rockefeller Foundation, New York, für die Bereitstellung wertvoller Apparaturen.

<sup>4</sup> *H. Damaschke* und *H. P. Mundt*, *Z. Naturforsch.* **12 b**, 237 (1957).