Über die Fettsäuren aus grünen Blättern und das Vorkommen der Δ^3 -*trans*-Hexadecensäure

Von HILDEGARD DEBUCH

Aus dem Physiologisch-chemischen Institut der Universität zu Köln,
(Direktor: Prof. Dr. Dr. E. KLENK)

(Z. Naturforschg. 16 b, 561—567 [1961]; eingegangen am 12. Mai 1961)

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. KLENK zum 65. Geburtstag gewidmet

Es wurden in Analogie zu früheren¹ Untersuchungen über die Fettsäuren aus Chloroplasten nun die Fettsäuregemische aus grünen Blättern von Spinat (*Spinacia oleracea*) und Löwenmaul (*Anthirrhinum majus*, Sippe 50) dargestellt und mit Hilfe gaschromatographischer Methoden analysiert. Dabei zeigte sich:

1. Das Vorkommen einer C_{16} -Monoensäure (sowohl in den Spinat- als auch in den Löwenmaul-Fettsäuren), die auf Grund von IR-Spektren und oxydativem Ozonidabbau einwandfrei als Δ^3 -*trans*-Hexadecensäure anzusprechen ist.

2. Die Fettsäuregemische vorgenannter grüner Blätter unterscheiden sich nur unwesentlich voneinander. Allerdings konnten nur im Spinat bestimmbare Mengen einer Hexadecatriensäure, nur im Löwenmaul solche einer Octadecatetraensäure nachgewiesen werden.

3. Die Untersuchung der UV-Spektren der nicht isomerisierten Säuren verglichen mit isomerisierten Proben ergibt keinen Anhalt für das Vorhandensein größerer Mengen von konjugierten Polyensäuren.

4. Beim Vergleich der Fettsäuren aus Löwenmaulblättern und Chloroplasten aus Löwenmaul ist ein niedrigerer Gehalt ersterer an Linolensäure zugunsten von Linol- und Palmitinsäure festzustellen. C_{20} -Fettsäuren konnten nur in Blatt- nicht aber in Chloroplasten-Fettsäuren aufgefunden werden.

Über die Fettsäuren aus grünen Blättern liegen bisher nur wenige Mitteilungen vor. Untersucht wurden vor allem verschiedene Arten von Futtergräsern, die den Weidetieren als ausschließliche Nahrungsquelle dienen. Durch Bestimmung der Fettsäure-Zusammensetzung des Futters und die der Lipide verschiedener Tierarten konnten so gewisse Aussagen über den Umbau des Nahrungsfettes gemacht werden. Vergleicht man die Ergebnisse verschiedener Autoren über die Fettsäuren aus Futtergräsern²⁻⁵, Kohlblättern⁶, Spinat⁷ oder anderen grünen Blättern^{8,9}, so fällt stets der hohe Gehalt an C_{18} -Polyensäuren (Linol- und vor allem Linolensäure) auf. Unter den gesättigten Fettsäuren war stets Palmitinsäure neben nur kleinen Mengen von Stearinsäure vorhanden.

Die in pflanzlichen Samenlipoiden und Lipoiden

tierischer Herkunft so weit verbreitete und oft mengenmäßig vorherrschende Ölsäure stellt nur einen kleinen Teil der Blattfettsäuren dar neben einer etwa in gleichem Prozentsatz stets aufgefundenen Hexadecensäure.

Seit der Auffindung der Vaccensäure, die von ihrem Entdecker BERTRAM¹⁰ als Δ^{11} -*trans*-Octadecensäure angesprochen und von ihm als Bestandteil des Rinder-, Schaf- und Butterfettes als erste in der Natur aufgefundene *Trans*-Fettsäure beschrieben wurde, konnte sie häufig vor allem im Fett von Wiederkäuern¹¹⁻¹⁴ aufgefunden werden. Durch Unterschiede der IR- und Röntgenspektren von synthetischer Δ^{11} -Octadecensäure (*trans*) und natürlicher „Vaccensäure“ suchte man später nach weiteren Isomeren. So konnten HILDITCH und Mitarbb.¹⁵ neben der Δ^{11} - auch Δ^{10} -Octadecensäure (*trans*) im

¹ H. DEBUCH, Z. Naturforschg. 16 b, 246 [1961].

² J. A. B. SMITH u. A. C. CHIBNALL, Biochem. J. 26, 218 [1932].

³ J. A. B. SMITH u. A. C. CHIBNALL, Biochem. J. 26, 1345 [1932].

⁴ F. B. SHORLAND, Nature [London] 153, 168 [1944].

⁵ G. A. GARTON, Nature [London] 187, 511 [1960].

⁶ A. C. CHIBNALL u. H. J. CHANNON, Biochem. J. 21, 479 [1927].

⁷ J. H. SPEER, E. C. WISE u. M. C. HART, J. biol. Chemistry 82, 105 [1929].

⁸ W. M. CROMBIE, J. exp. Botany 9, 254 [1958].

⁹ F. B. SHORLAND, Nature [London] 156, 269 [1945].

¹⁰ S. H. BERTRAM, Biochem. Z. 197, 433 [1928].

¹¹ J. GROSSFELD u. A. SIMMER, Z. Unters. Lebensmittel 59, 237 [1930].

¹² P. C. RAO u. B. F. DAUBERT, J. Amer. chem. Soc. 70, 1102 [1948].

¹³ D. G. CORNWELL, R. BACKDERF, C. L. WILSON u. J. B. BROWN, Arch. Biochem. Biophysics 46, 364 [1953].

¹⁴ L. HARTMANN, F. B. SHORLAND u. I. R. C. McDONALD, Biochem. J. 61, 603 [1955].

¹⁵ S. S. GUPTA, T. P. HILDITCH, S. PAUL u. R. K. SHRIVASTAVA, J. chem. Soc. [London] 1950, 3484.

Körper- und MilCHFett von Rindern und Schafen nachweisen.

In bezug auf die Entstehung dieser *Trans*-Fettsäure wurde von SWERN und Mitarbb.¹⁶ zunächst angenommen, daß es bei evtl. Wanderung der Doppelbindung durch Einwirkung von Oxydasen zu einer *Cis-Trans*-Umlagerung bei Wiederkäuern kommt, die dann in ihrem Depotfett die *Trans*-Fettsäuren ablagern. Oxydasen wurden jedoch auch in Nicht-Wiederkäuern gefunden, bei denen *Trans*-Fettsäuren nur spurenweise vorkommen. Deshalb suchte man in der Nahrung der Weidetiere nach *Trans*-Fettsäuren. Sie wurden unseres Wissens erst durch SHORLAND und Mitarbb.¹⁴ in Futtergräsern in Mengen von 0,6 bis 2,2% der Gesamtfettsäuren aufgefunden. Diese wurden nicht auf ihre Kettenlänge hin untersucht. Da jedoch vorgenannte Autoren annehmen, daß der überwiegende Teil der *Trans*-Fettsäuren durch Bakterieneinwirkung im Pansen der Wiederkäuer entsteht, wobei es zur teilweisen Hydrierung vor allem der Linolensäure der Nahrung und damit sowohl zu *Cis-Trans*-Isomerisierung als auch zur Umlagerung der Doppelbindung kommen kann, ist anzunehmen, daß die Autoren in den Futtergräsern keine *trans*-Hexadecensäure vermuten.

Auch GARTON⁵ fand bei der gaschromatographischen Untersuchung der Fettsäuren eines Gemisches von Futtergräsern eine Hexadecensäure, die er als Palmitoleinsäure^{5,17} (Δ^9 -*cis*-Hexadecensäure) bezeichnete.

Um so auffallender ist das Auftreten einer Hexadecensäure im Fettsäuregemisch von Spinat- und Löwenmaulblättern*, die sich als identisch mit einer erst kürzlich¹⁸ in der Algenart *Scenedesmus* erstmals aufgefundenen Säure erwies. Sie kommt zwar nur in kleinen Mengen in den hier untersuchten Blättern vor, (Spinat 2,6%; Löwenmaul 1,3% der Gesamtfettsäuren) konnte jedoch mit Sicherheit als Δ^3 -*trans*-Hexadecensäure erkannt werden. Im Gaschromatogramm der Gesamtfettsäuren aus Spinat und Löwenmaul (s. Abb. 3) fiel zunächst ein Maximum kurz hinter der Palmitinsäurezacke auf, das sich von letzterer deutlicher abgrenzte als die der Palmitoleinsäure. Durch Zugabe von jeweils Palmitin-, Palmitolein- oder einer C_{16} -Diensäure zu der zu untersuchenden Substanz, die sich durch fraktionierte Tief-

kühlkristallisation anreichern ließ (s. Abb. 5 a – c), wurde eine *trans*- C_{16} -Monoensäure vermutet (s. Abb. 1).

Wegen der geringen Substanzmenge ließ sich diese Säure zwar nicht rein isolieren, jedoch konnte eine Fraktion erhalten werden, die praktisch nur aus Palmitin- und der gesuchten Säure bestand (s. Abb. 5 c). Diese Fraktion zeigte im IR-Spektrum eine deutliche Absorption bei 965 cm^{-1} , was für das Vorhandensein einer Doppelbindung mit *trans*-Konfiguration spricht (s. Abb. 6).

Nach oxydativem Ozonidabbau konnte als einzige Monocarbonsäure neben der in dem Ausgangsgemisch vorhandenen Palmitinsäure nur Tridecansäure (s. Abb. 7), als einzige Dicarbonsäure nur Malonsäure (s. Abb. 8) nachgewiesen werden. Aus diesen Ergebnissen muß geschlossen werden, daß der C_{16} -Monoensäure die Δ^3 -*trans*-Konfiguration zukommt. Unseres Wissens wurde diese Fettsäure hiermit erstmals in grünen Blättern aufgefunden. Über ihre Bedeutung kann nichts ausgesagt werden, jedoch scheint es sich bei der Hexadecensäure in Chloroplasten-Fettsäuren¹ ebenfalls um die Δ^3 -*trans*-Hexadecensäure zu handeln, da sie im Gaschromatogramm das gleiche Retentionsvolumen besitzt.

Was die Zusammensetzung der hier untersuchten Blattfettsäuren anbetrifft, so lassen sich keine wesentlichen Unterschiede hervorheben (s. Tab. 1).

Im Ganzen ist eher eine auffallende Übereinstimmung der beiden Fettsäuregemische festzustellen. Lediglich das Auftreten der C_{16} -Trien- und der C_{18} -Tetraensäure war in beiden Blattsorten deutlich verschieden. (Erstere ist in Rapsblättern zu etwa 10% der Gesamtfettsäuren vorhanden⁹.) Die Menge der Ölsäure im Spinat übertrifft diejenige im Löwenmaul um das Dreifache. Allerdings können die Befunde von SPEER und Mitarbb.⁷ nicht bestätigt werden, nach denen 26,3% der Gesamtfettsäuren der Triglyceride aus Spinat aus Ölsäure bestehen sollen. Es muß jedoch erwähnt werden, daß in der vorliegenden Arbeit die Gesamtfettsäuren erfaßt wurden.

Bei der Gegenüberstellung der Blatt- und Chloroplasten-Fettsäuren von *Antirrhinum majus* zeigt sich, daß letztere einen größeren Prozentsatz von Polyensäuren, vor allem Linolensäure besitzen. Ob das Fehlen der Arachinsäure ein typisches Chloroplasten-

¹⁶ D. SWERN, H. B. KNIGHT u. C. R. EDDY, J. Amer. Oil Chemists' Soc. **29**, 44 [1952].

¹⁷ G. A. GARTON, Nutrit. Abstr. a. Rev. **30**, 1 [1960].

* Für die Überlassung der Pflanzen danke ich Herrn Prof. Dr. W. MENKE aufs herzlichste sowie für sein Interesse an der Arbeit.

¹⁸ W. KNIPPRATH, Dissertation, Köln 1961.

Abb. 1. Gaschromatographische Untersuchung der C_{16} -Monoensäure aus Spinat. Argon Chromatograph W. G. Pye und Co. Ltd. Granta Works, Cambridge, England. Ionisationsdetektor, Säule 123 cm, Durchmesser 4 mm, Stationäre Phase Reoplex 400, Trägermaterial: Celite (Perkin Elmer Präparat 098-1504 gewaschen und gesiebt). T. Säule: 181°C ; Zelle: 181°C ; Verdampfer: 273°C . a) Fettsäurefraktion A der destillierten Fettsäuremethylester aus Spinatblättern (s. Abb. 4). b) Substanz A + Palmitinsäure. c) Substanz A + Palmitoleinsäure. d) Substanz A + Palmitinsäure + C_{16} -Diensäure.

merkmal ist, kann z. Zt. noch nicht entschieden werden.

ZIRM und Mitarbb.¹⁹ teilten 1955 mit, daß sie in verschiedenen grünen Blättern u. a. auch in Spinatblättern „große Mengen“ konjugierter Fettsäuren durch Untersuchung der UV-Spektren der nicht isomerisierten Säuren fanden. Wir führten eine Alkali-

isomerisierung mit der bei -70°C in Aceton gelösten Fraktion (s. Abb. 4) nach fraktionierter Tiefkühlkristallisation der destillierten Fettsäuren sowohl von Spinat als auch von Löwenmaul durch und nahmen unter gleichen Bedingungen das UV-Spektrum einer nicht isomerisierten Probe auf (s. Abb. 2).

Ausgangssubstanz	C_{14} Myristinsäure.	C_{16}			C_{18}					C_{20}
		Palmitinsäure.	Δ^3 -trans-Monoensäure.	Trien-säure.	Stearinsäure.	Ölsäure.	Linol-säure.	Linolensäure.	Tetraensäure.	
<i>Spinacia oleracea</i> (Blatt)	0,2	12,9	2,6	4,6	Spur	6,6	16,3	56,2	Spur	0,6
<i>Antirrhinum majus</i> (Blatt)	0,1	13,4	1,3	Spur	2,4	1,8	17,7	57,9	3,6	1,8
<i>Antirrhinum majus</i> (Chloroplasten)	Spur	9,5	1,3	0,2	1,0	1,6	15,1	71,3	—	—

Tab. 1. Zusammensetzung der destillierten Fettsäuremethylester (in % der Gesamtfettsäuren).

¹⁹ K. J. ZIRM, A. PONGRATZ u. W. POLESOFKY, Biochem. Z. **326**, 405 [1955].

Abb. 2. UV-Spektrum der —, — — — isomerisierten und — — — — — nicht isomerisierten hochungesättigten Fettsäurefraktionen aus Spinatblättern (Sp) und Löwenmaulblättern (L) (1-proz. Lösung, $d=1$ cm).

Wie aus Abb. 2 zu ersehen ist, kann es sich nur um kleine Mengen konjugierter Fettsäuren handeln, die möglicherweise bei der Aufarbeitung (2-maliges Verseifen und Verestern und Destillieren!) gebildet wurden. Damit dürften die Befunde von CROMBIE⁸ bestätigt werden, die konjugierte C_{18} -Polyensäuren in grünem und weißem Blattgewebe verschiedener Arten nur spurenweise finden konnte.

Beschreibung der Versuche

1. Darstellung der Fettsäuren*

Die frisch geernteten grünen Blätter aus Spinat und Löwenmaul wurden bei etwa 4°C durch eine 3-Walzenmühle gemahlen und gefriergetrocknet.

798,6 g (905,4 g) des getr. Materials dreimal jeweils mit der $1\frac{1}{2}$ -fachen Menge Chloroform : Methanol (1 : 3 V/V) 1 Stde. unter Rückfluß extrahiert und abgesaugt. Die vereinigten Extrakte i. V. eingengt, Rückstand in Äther aufgenommen. Ätherunlösliches abzentrifugiert.

Ätherlösung (dunkelgrün gefärbt) i. V. eingengt und diesen Rohlipoidextrakt sofort $1\frac{1}{2}$ Stdn. mit der 15-fachen Menge 4-proz. trockener methanolischer HCl unter Rückfluß gespalten. Lösung wiederholte Male mit Petroläther (bis 56° siedend) ausgeschüttelt, die vereinigten Petrolätherextrakte neutral gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, abdestilliert.

Fettsäuremethylester und Unverseifbares: 47,0 g (41,0 g); entsprechend 5,9% (4,5%) der Ausgangssubstanz. Verseifung: 1 Stde. mit der 30-fachen Menge $\frac{1}{2}$ -n. methanol. NaOH unter Rückfluß. Nach Stehen über Nacht bei 0°C feste Seifen abgesaugt, 3-mal in Petroläther suspendiert, jeweils abgesaugt. Die flüssigen Seifen 3-mal mit Petroläther gewaschen. Vereinigte Petrolätherextrakte zunächst mit 50-proz. Methanol, schließlich mit Wasser seifenfrei gewaschen, dann getrocknet. Rückstand: Unverseifbares 11,0 g (10,8 g).

Feste und flüssige Seifen einschließlich Wasch-Methanol und -Wasser mit verdünnter HCl angesäuert und mit Petroläther-Äther (1 : 1 V/V) extrahiert. Vereinigte Ätherextrakte nach Trocknen über Na_2SO_4 eingengt. Rückstand: Fettsäuren: 31,4 g (27,0 g).

Reinigung der dunkelbraun-grün gefärbten Fettsäuren: Diese wieder mit methanol. HCl in die Ester überführt. 30,6 g (25,6 g) davon ohne Fraktionierung im Hochvakuum bei 10^{-4} Torr schnell überdestilliert. Destillat nur schwach gelb gefärbt: 25,6 g (22,1 g). Gaschromatographische Untersuchung des Fettsäuregemisches (s. Abb. 3).

Abb. 3. Gaschromatogramm der dest. Fettsäuremethylester. a) Gesamtdestillat aus Spinatblättern, b) Gesamtdestillat aus Löwenmaulblättern. Chromatograph Barber Colman (näheres s. l. c.¹⁾ T. Säule: 191°C ; Zelle: 238°C ; Verdampfer: 307°C .

* Die in Klammern befindlichen Zahlen gelten für Löwenmaul.

Zur Berechnung der Zusammensetzung, die auf die bereits früher¹ beschriebene Weise erfolgte, wurde jeweils eine Probe hydriert (s. Tab. 1).

Die Berechnung der hydrierten Gemische ergab: C_{14} : 0,2% (0,1%); C_{16} : 20,1% (14,7%); C_{18} : 79,1% (83,4%); C_{20} : 0,6% (1,8%).

2. Tiefkühlkristallisation*

Methylester verseift. Mit 22,0 g (18,7 g) der freien Fettsäuren Tiefkühlkristallisation nach SHINOWARA und BROWN²⁰ durchgeführt: Substanz jeweils in der 15-fachen Menge trockenen Acetons gelöst, sehr langsam in Trockeneis-Aceton abgekühlt. Nach 2-stdg. Stehen bei der gewünschten Temperatur, Kristalle mit Umkehrnutsche abgetrennt, kurz i. V. getrocknet, erneut in der 15-fachen Menge Aceton gelöst und behandelt wie vorher.

Aceton-Lösungen vereinigt, eingengt, Rückstand behandelt wie oben (s. Abb. 4).

Abb. 4. Übersicht über die Tiefkühlkristallisation der Fettsäuren aus Spinat.

Von jeder der gewonnenen Fettsäurefraktionen wurde eine kleine Menge auf die übliche Weise verestert und gaschromatographisch untersucht.

Wie aus Abb. 5 a–c zu ersehen ist, gelang es durch fraktionierte Tiefkühlkristallisation ein Fettsäuregemisch zu gewinnen, das praktisch nur aus Palmitin- und der C_{16} -Monoensäure bestand.

Daß es sich dabei um das *Trans*-Isomere handelt, ist aus der Absorption bei 965 cm^{-1} im IR-Spek-

trum (Abb. 6) zu ersehen. (Das IR-Spektrum der entsprechenden Fettsäurefraktion aus Löwenmaul zeigte die gleiche Absorptionsbande.)

Abb. 5. Gaschromatographische Untersuchung der durch fraktionierte Tiefkühlkristallisation gewonnenen Fettsäure-Fractionen (s. Abb. 4) aus Spinat. a) Substanz A (s. Abb. 4). Chromatograph: Pye (näheres s. Abb. 1) T. Säule: 181°C ; Zelle: 181°C ; Verdampfer: 273°C . b) Substanz B (s. Abb. 4) Chromatograph: Pye s. Abb. 1. T. Säule: 182°C ; Zelle: 182°C ; Verdampfer: 266°C . c) Substanz C (s. Abb. 4). Chromatograph: Barber-Colman (näheres s. l. c.¹) T. Säule 190°C ; Zelle: 231°C ; Verdampfer: 289°C .

* Der Einfachheit halber wird diese nur für die Fettsäuren aus Spinat beschrieben. Die Tiefkühlkristallisation für die Löwenmaul-Fettsäuren wurde analog durchgeführt.

²⁰ G. Y. SHINOWARA u. J. B. BROWN, J. biol. Chemistry **134**, 331 [1940].

Abb. 6. IR-Spektrum der Fettsäure-Fraktion C aus Spinat (s. Abb. 4 und Abb. 5 c).

3. Isomerisierung

Zur Prüfung auf Konjuensäuren wurde 1 mg der bei -70° in Aceton in Lösung befindlichen, vom Lösungsmittel befreiten Fettsäurefraktion in 0,5 ml 23-proz. KOH-Glykol 8 Min. bei 180°C isomerisiert²¹ und das Spektrum aufgenommen²². Zum Vergleich wurde von einer 1-proz. Lösung der gleichen Fettsäure-Fraktion in Methanol das UV-Spektrum aufgenommen (s. Abb. 2).

4. Ozonisierung und oxydative Spaltung der *Trans*-Monoensäure-Fraktion (nach KLENK und BONGARD)²³

58,81 mg (52,6 mg) der Fettsäure-Fraktion C aus Spinat (und der entsprechenden aus Löwenmaul) in 8 ml Eisessig: Methylacetat (1 : 1 V/V) gelöst. Bei Zim-

mer-Temperatur ozonisiert. Indikator: Sudanrot. Weitere Oxydation: Ozonidlösung mit 10 ml Eisessig in Schliffkölbchen überführt, mit 1,5 ml Perhydrol versetzt und 3 Tage bei 36°C stehen gelassen. Um die entstandene Peressigsäure zu zerstören, wurde kurz aufgekocht. Lösungsmittel bei 40°C über eine Kolonne (40 cm) i. V. restlos entfernt. Rückstand mit 7 ml Petroläther versetzt, 2 Stdn. bei 0° stehen gelassen. Die Dicarbonsäuren kristallisierten aus. Petroläther abdekantiert, mit Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und abdestilliert.

Rückstand: Monocarbonsäuren: 53,1 mg (40,5 mg), die zur gaschromatographischen Untersuchung verestert wurden.

Wie aus Abb. 7 zu ersehen ist, handelt es sich um ein Gemisch von Palmitinsäure und Tridecansäure.

Abb. 7. Gaschromatogramm der Abbau-Monocarbonsäuren. a) Fettsäure-Fraktion C aus Spinat, (s. Abb. 4, 5 und 6). Chromatograph: Pye s. Abb. 1. T. Säule: 174°C ; Zelle: 174°C ; Verdampfer: 239°C . b) Entsprechende Fettsäure-Fraktion aus Löwenmaul. Chromatograph: s. oben. T. Säule: 169°C ; Zelle: 169°C ; Verdampfer: 228°C .

²¹ R. T. HOLMAN u. G. O. BURR, Arch. Biochemistry **19**, 474 [1948].

²² E. KLENK u. F. LINDLAR, Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. **299**, 74 [1954].

²³ E. KLENK u. W. BONGARD, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **290**, 181 [1952].

Letztere war aus der C_{16} -Monoensäure durch oxydativen Abbau entstanden.

Die im Kölbchen befindlichen Kristalle wurden im Waschwasser gelöst und gefriergetrocknet. Rückstand: Abbaudicarbonsäuren: 17,7 mg (11,2 mg). Wegen der kleinen Menge wurden diese lediglich papierchromatographisch untersucht (nach KLENK und TOMUSCHAT²⁴).

Absteigende Chromatographie: (Schleicher & Schüll 2043 b) Mobile Phase: untere Phase eines Gemisches aus 10 Tln. Eisessig, 100 Tln. eines 5-proz. Butanol enthaltenden Chloroforms und 100 Tln. Wasser, das bei 25–28 °C 1 Stde. äquilibriert wurde. Stabile Phase: obere Phase des beschriebenen Gemisches. Jeweils 50 γ Fettsäure aufgetragen. Laufzeit 5–6 Std., T : 25 °C. Vor der Anfärbung wurde geprüft, ob das Papier völlig frei von Essigsäure war. Nachweis der Dicarbonsäuren: 1 Teil 1-n. KJ; 1 Teil 0,2-n. KJO_3 ; 20 Tle. 3-proz. Stärke; 20 Tle. Wasser. (Lösung kurz vor Gebrauch ansetzen. Falls sie blau gefärbt ist, muß mit $Na_2S_2O_3$ (n/10) bis zur Farblosigkeit titriert werden). Das Chromatogramm zeigte nach dem Einsprühen (5 bis 10 Min.) violette Flecken auf weißem Grund.

²⁴ E. KLENK u. H. J. TOMUSCHAT, noch unveröffentlicht.

Abb. 8. Papierchromatogramm der Abbau-Dicarbonsäuren der Fettsäure-Fraktion C aus Spinat (nach KLENK und TOMUSCHAT²⁴). 1. Abbau-Dicarbonsäuren der Fettsäure-Fraktion, 2 Test: Pimelinsäure, 3 Test: Adipinsäure, 4 Test: Glutarsäure, 5 Test: Bernsteinsäure, 6 Test: Malonsäure.

Wie aus Abb. 8 zu ersehen ist, waren als Abbau-Dicarbonsäuren nur Malonsäure nachweisbar.

Die Abbau-Dicarbonsäuren der entsprechenden Fettsäure-Fraktion aus Löwenmaulblättern ergaben das gleiche Bild.

Die Arbeit wurde mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt. Frl. D. BIELEFELD sei für ihre Mitarbeit gedankt.

Über die Phosphatkapazität der Gärung und ihr Modell als Ursachen des *Crabtree*-Effekts der Krebszellen

(Mit einer experimentellen Entgegnung auf eine Arbeit von K. LETNANSKY und F. SEELICH¹)

Von LUTZ KIESOW

Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut der Freien Universität Berlin, Berlin-Dahlem
(Direktor: Prof. Dr. Dr. ERNST SCHÜTTE)
(Z. Naturforschg. 16 b, 567–575 [1961]; eingegangen am 5. Juni 1961)

Da Glucose und 2-Desoxy-D-glucose in Ascites-Krebszellen gleich große Erniedrigungen der Orthophosphat-Konzentration verursachen, hemmen sie die Atmung dieser Zellen gleich stark. Sie führen beide zu gleich großem *Crabtree*-Effekt.

“The tentative conclusion is that the glycolytic activity exerts a significant choking effect on the capacity for respiration of tumour tissue.” Mit diesem Satz faßte CRABTREE² 1929 seine Experimente zusammen, die zu dem Ergebnis führten, das wir heute als *Crabtree*-Effekt bezeichnen. Im Gegensatz zur *Pasteur*-Reaktion, die die normalen, die embryonalen und die Krebszellen besitzen – die letzteren zeigen sie sogar, genau so wie die wachsen-

den Kulturhefezellen³, am ausgeprägtesten⁴ –, kann man den *Crabtree*-Effekt nur bei Zellen beobachten, die aerob gären. Man findet ihn also z. B. bei den Ehrlichschen Ascites-Krebszellen und bei Zellen aus der Gewebekultur, aber nicht bei trypsinierten Leber-, Nieren- und Embryonalzellen⁵, wenn man unter physiologischen Bedingungen mißt. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, daß man den *Crabtree*-Effekt nicht als umgekehrten *Pasteur*-

¹ K. LETNANSKY u. F. SEELICH, Z. Krebsforsch. 64, 1 [1960].

² H. G. CRABTREE, Biochem. J. 23, 536 [1929].

³ L. KIESOW, Z. Naturforschg. 14 b, 224 [1959].

⁴ O. WARBURG, K. GAWERN u. A. W. GEISSLER, Z. Naturforschg. 11 b, 657 [1956].

⁵ L. KIESOW, W. KATTNER u. U. SCHMITZ, Z. Naturforschg. 15 b, 487 [1960].