

# HANDBUCH DER HISTOCHEMIE

HERAUSGEGEBEN VON

WALTHER GRAUMANN und KARLHEINZ NEUMANN

Tübingen

Köln

## BAND V LIPIDE

ERSTER TEIL

Mit 25 zum Teil farbigen Abbildungen  
und 10 Tafeln



GUSTAV FISCHER VERLAG · STUTT GART

4 103

BAND V

# LIPIDE

ERSTER TEIL

BIOCHEMIE DER FETTE UND LIPOIDE  
METHODEN DER LIPIDHISTOCHEMIE

Von

H. DEBUCH

Physiologisch-chemisches Institut  
der Universität Köln

MAX CLARA

Histologisch-embryologisches Institut  
der Universität Istanbul

Mit 25 zum Teil farbigen Abbildungen und 10 Tabellen



GUSTAV FISCHER VERLAG STUTTGART

1965

©

Gustav Fischer Verlag Stuttgart 1965

Alle Rechte vorbehalten

Satz und Druck: Ungeheuer & Ulmer, Ludwigsburg

Einband: Sigloch, Künzelsau/Württemberg

Printed in Germany

HANDBUCH DER HISTOCHEMIE

---

BAND V/1

# HANDBUCH DER HISTOCHEMIE

MIT BEITRÄGEN VON

L. ARVY-Jouy-en-Josas · K. ATERMAN-Buffalo · W. B. ATKINSON-Louisville ·  
R. J. BARNETT-New Haven · E. P. BENDITT-Seattle · J. BRACHET-Brüssel ·  
A. M. BRESLAU†-Los Angeles · M. S. BURSTONE-Bethesda · M. CLARA-Istanbul ·  
A. M. DALCQ-Brüssel · H. W. DEANE-New York · H. DEBUCH-Köln · A. M. DE  
LERMA-Bari · P. B. DIEZEL-Heidelberg · F. DUSPIVA-Freiburg · W. EGER-Göt-  
tingen · D. EICHNER-Münster · R. A. ELLIS-Providence · O. ERÄNKÖ-Helsinki ·  
J. FAUTREZ-Gent · M. GABE-Paris · P. GEDICK-Marburg · H. G. GOSLAR-Bonn ·  
W. GÖSSNER-München · G. GOTTSCHESKI-Mariensee · W. GRAUMANN-Tübin-  
gen · E. HARBERS-Göttingen · F. H. KASTEN-Pasadena · J. W. KELLY-Boston  
J. KRUSZYNSKI-Liverpool · S. LAGERSTEDT-Lund · C. LEUCHTENBERGER-  
Lausanne · R. LEUCHTENBERGER-Lausanne · H. v. MAYERSBACH-Nijmegen ·  
W. MONTAGNA-Providence · W. MÜLLER-Köln · J. MULNARD-Brüssel ·  
D. NAIDOO-Toronto · H. NAORA-Tokyo · K. NEUMANN-Köln · J. PASTEELS-  
Brüssel · E. REALE-Lausanne · C. G. ROSA-Philadelphia · R. M. ROSENBAUM-  
New York · F. ROSSI-Genua · J. H. C. RUYTER-Amsterdam · W. SANDRITTER-  
Giessen · H. G. SCHIEMER-Frankfurt · W. J. SCHMIDT-Giessen · A. M. SELIGMAN-  
Baltimore · H. SWIFT-Chicago · F. TIMM-Göttingen · D. S. VAN FLEET-Athens/  
Georgia · J. T. VELARDO-New Haven · C. VENDRELY-Villejuif · R. VENDRELY-  
Villejuif · M. VIALLI-Pavia · M. WACHSTEIN-Brooklyn · R. WEGMANN-Paris ·  
M. WOLMAN-Tel Hashomer

HERAUSGEGEBEN VON

WALTHER GRAUMANN und KARLHEINZ NEUMANN  
Tübingen Köln



GUSTAV FISCHER VERLAG STUTTGART

1965

# Inhaltsverzeichnis

H. DEBUCH

## Biochemie der Fette und Lipide

Einleitung . . . . .	1
I. Fettsäuren . . . . .	2
A. Gesättigte Fettsäuren . . . . .	2
B. Ungesättigte Fettsäuren . . . . .	3
II. Fette (Glyceride) . . . . .	9
III. Wachse und Glycerinäther . . . . .	11
IV. Lipide . . . . .	12
A. Glycerinphosphatide (glycerophosphatides, phospholipids) . . . . .	13
1. Gemeinsame Bausteine . . . . .	13
a) Glycerinphosphorsäure (glycerophosphoric acid) . . . . .	13
b) Fettsäuren . . . . .	14
2. Stickstoffhaltige Glycerinphosphatide . . . . .	14
a) Lecithine (lecithin, phosphatidylcholine) . . . . .	15
b) Kephaline (cephalin) . . . . .	15
c) Plasmalogene (plasmalogens) (früher Acetalphosphatide) . . . . .	17
3. Stickstofffreie Glycerinphosphatide . . . . .	20
a) Diglyceridphosphorsäuren (phosphatidic acids) . . . . .	20
b) Cardiolipin (Cardiolipin) . . . . .	21
c) Inositphosphatide (phosphoinositides) . . . . .	21
Monophosphoinositid (phosphatidyl inositol) . . . . .	22
Polyphosphoinositide . . . . .	22
d) Andere stickstofffreie Glycerinphosphatide . . . . .	23
B. Produkte enzymatischer Hydrolyse von Glycerinphosphatiden . . . . .	23
C. Sphingolipoide (sphingolipids) . . . . .	27
1. Gemeinsame Bausteine . . . . .	27
a) Sphingosin . . . . .	27
b) Fettsäuren . . . . .	29
2. Phosphorhaltige Sphingolipoide . . . . .	30
3. Zuckerhaltige Sphingolipoide oder Glycosphingolipoide (glycosphingo- lipids) . . . . .	31
a) Cerebroside (cerebrosides) . . . . .	31
b) Ganglioside (gangliosides) . . . . .	32
Hexosaminhaltige Ganglioside . . . . .	34
Hexosaminfreie Ganglioside . . . . .	35
c) Andere Glycosphingolipoide . . . . .	38
Literatur . . . . .	38

MAX CLARA

**Methoden der Lipidhistochemie**

I. Allgemeine Grundlagen . . . . .	54
1. Begriffsbestimmung und Einteilung der Lipide . . . . .	54
2. Fixierungsmethoden . . . . .	60
II. Topochemischer Lipidnachweis . . . . .	73
A. Physikalische Verfahren . . . . .	73
1. Extraktionsmethoden . . . . .	73
2. Polarisationsmikroskopische Methoden . . . . .	80
3. Fluoreszenzmikroskopische Methoden . . . . .	84
4. Methoden mit fettlöslichen Farbstoffen (Lysochrome) . . . . .	96
a) Die sogenannten Fettfarbstoffe . . . . .	96
$\alpha$ ) Azofarbstoffe . . . . .	97
$\beta$ ) Benzochinonfarbstoffe . . . . .	104
$\gamma$ ) Naphthochinonfarbstoffe . . . . .	104
$\delta$ ) Anthrachinonfarbstoffe . . . . .	105
$\epsilon$ ) Phenazinfarbstoffe . . . . .	106
$\zeta$ ) Oxazinfarbstoffe . . . . .	107
$\eta$ ) Cyaninfarbstoffe . . . . .	118
$\vartheta$ ) Naturfarbstoffe . . . . .	119
b) Allgemeine Charakteristik der Fettfarbstoffe . . . . .	120
c) Der Färbevorgang . . . . .	123
d) Lösungsmittel der Fettfarbstoffe . . . . .	125
B. Allgemeine histochemische Methoden . . . . .	133
1. Fettsäuren und Seifen . . . . .	133
a) Nachweismethoden mit Hilfe von Metallseifen . . . . .	134
b) Nachweismethoden mit Hilfe von Farbsalzen . . . . .	139
2. Ungesättigte Lipide . . . . .	142
a) Nachweismethoden mit Oxydationsreaktionen . . . . .	144
$\alpha$ ) Osmiumtetroxyd . . . . .	144
$\beta$ ) Chromsäure und Chromsalze . . . . .	151
$\gamma$ ) Persäuren . . . . .	156
$\delta$ ) Ultraviolett-Oxydation . . . . .	159
b) Nachweismethoden mit Additionsreaktionen . . . . .	161
$\alpha$ ) Blockierungsmethoden . . . . .	161
$\beta$ ) Halogenadditionsmethoden . . . . .	162
3. Chromotrope Lipide . . . . .	166

C. Spezielle histochemische Methoden . . . . .	173
1. Neutralfette (Triglyzeride) . . . . .	173
2. Wachse . . . . .	176
3. Glycerinphosphatide . . . . .	177
a) Übersicht . . . . .	177
$\alpha$ ) Esterphosphatide . . . . .	178
$\beta$ ) Plasmalogene . . . . .	179
$\gamma$ ) Inositphosphatide . . . . .	182
b) Physikalische Nachweisverfahren für Esterphosphatide . . . . .	182
$\alpha$ ) Polarisationsoptische Methoden . . . . .	182
$\beta$ ) Extraktionsmethoden . . . . .	182
c) Histochemische Nachweismethoden für Esterphosphatide . . . . .	183
$\alpha$ ) Methode von McMANUS (1946) . . . . .	183
$\beta$ ) Methode von LILLIE und LASKEY (1951) . . . . .	184
$\gamma$ ) Methode von MENSCHIK (1953) . . . . .	184
$\delta$ ) Chromierungsmethoden . . . . .	186
$\epsilon$ ) Methoden mit Cadmiumsalzen . . . . .	191
$\zeta$ ) Quecksilberniträt-Methode von OKAMOTO, SHIMAMOTO, UEDA, KUSU- KOTO und SHIBATA (1947) . . . . .	193
$\eta$ ) Eisen-Hydroxamat-Reaktion nach ADAM und DAVIDSON (1959) . . . . .	195
$\iota$ ) Jodcyanmethode nach ALSTERBERG (1941) . . . . .	196
$\kappa$ ) Molybdän-Methoden . . . . .	198
$\lambda$ ) Kupferphthalocyanin-Methode nach KLÜVER und BARRERA (1953) . . . . .	199
d) Histochemische Nachweismethoden der Plasmalogene . . . . .	201
$\alpha$ ) Plasmalreaktion . . . . .	202
$\beta$ ) Pseudoplasmalreaktionen . . . . .	215
4. Sphingolipoide . . . . .	220
a) Übersicht . . . . .	220
b) Histochemische Nachweisverfahren . . . . .	223
5. Steroide . . . . .	226
a) Sterine . . . . .	226
$\alpha$ ) Übersicht . . . . .	226
$\beta$ ) Histochemische Nachweisverfahren . . . . .	230
b) Steroidhormone . . . . .	239
6. Carbonyllipide . . . . .	239
a) Übersicht . . . . .	239
b) Lipidaldehyde . . . . .	240
$\alpha$ ) Reaktionen der Markscheiden . . . . .	240
$\beta$ ) Reaktionen der elastischen Fasern . . . . .	241
$\gamma$ ) Methoden zur Unterscheidung zwischen genuinen Lipidaldehyden, Plasmalen und autoxydativ entstandenen Lipidaldehyden . . . . .	244

c) Lipidketone . . . . .	246
$\alpha$ ) Histochemische Nachweisverfahren der Ketosteroide . . . . .	246
$\beta$ ) Methoden zur Unterscheidung von Ketosteroiden und Lipid- aldehyden . . . . .	256
7. Isoprenabkömmlinge . . . . .	259
a) Carotinoide . . . . .	259
$\alpha$ ) Übersicht . . . . .	259
$\beta$ ) Histochemische Nachweisverfahren . . . . .	263
b) Vitamin A . . . . .	265
$\alpha$ ) Übersicht . . . . .	265
$\beta$ ) Histochemische Nachweisverfahren . . . . .	266
c) Sehpurpur . . . . .	268
$\alpha$ ) Übersicht . . . . .	268
$\beta$ ) Histochemische Nachweisverfahren . . . . .	269
8. Lipopigmente (Chromolipoide) . . . . .	271
a) Übersicht . . . . .	271
b) Physikalische Nachweisverfahren der Chromolipoide . . . . .	275
c) Histochemische Nachweisverfahren . . . . .	277
d) Methoden zur Abgrenzung der Chromolipoide gegen Melanine und Carotinoide (Lipochrome) . . . . .	283
e) Formale Genese der Chromolipoide . . . . .	285
$\alpha$ ) Lipofuszine . . . . .	291
$\beta$ ) Vitamin-E-Mangel-Pigment . . . . .	295
$\gamma$ ) Ceroid . . . . .	297
$\delta$ ) Haemofuszin . . . . .	298
9. „Maskierte“ Lipide . . . . .	301
a) Übersicht . . . . .	301
b) Histochemische Methoden zur Darstellung der feindispersen Lipide	304
c) Histochemische Methoden zur Darstellung der gebundenen Lipide	305
Literatur . . . . .	312
Autorenverzeichnis . . . . .	374
Sachverzeichnis . . . . .	388

# Biochemie der Fette und Lipide

Von

H. DEBUCH

Physiologisch-chemisches Institut der Universität Köln

Mit 2 Abbildungen und 10 Tabellen

## Einleitung

Einer Besprechung der bisher bekannten in der Natur vorkommenden Verbindungen, die wir unter der Bezeichnung „Fette“ und „Lipide“ zusammenfassen, müssen einige Bemerkungen über die Nomenklatur (KLENK, DEBUCH und ZÖLLNER 1961) vorausgeschickt werden, läßt diese doch sehr zu wünschen übrig. In den englischsprechenden Ländern ist es bereits weitgehend üblich geworden, die Fette und fettähnlichen Verbindungen gemeinsam als „lipids“ zu bezeichnen. Dagegen vermeiden wir im deutschen Sprachgebrauch diese Vereinheitlichung. Wir grenzen die Fette (Triglyceride und Wachse) deutlich von den übrigen Lipoiden (Glycerinphosphatide, Sphingolipide und andere), dem Cholesterin, den Steroiden usw. ab. Es können mehrere Gründe dafür angeführt werden:

1. Obwohl die ersten Schritte der Biosynthese zum mindesten für die Fette und Glycerinphosphatide nach unserer heutigen Kenntnis dieselben zu sein scheinen, dienen die Fette den Organismen wohl vorwiegend als Reservestoffe, wohingegen den Lipoiden sicher eine ganz andere Bedeutung zukommt.

2. Der Fettgehalt eines Organismus unterliegt großen Schwankungen, je nach dem Ernährungszustand, während der Lipoidgehalt selbst in Hungerzeiten kaum von der Norm abweicht.

3. Es werden im Gegensatz zu den Fetten nur einige Lipide gespeichert und diese auch nur unter pathologischen Verhältnissen.

Um dem Leser das Verständnis anderer, vor allem ausländischer Literatur zu erleichtern, werden in den folgenden Kapiteln jeweils einmal die englischen Bezeichnungen in Klammern eingefügt. Dort werden wir jeweils auf spezielle Nomenklaturfragen zu sprechen kommen.

In dem hier vorgesehenen Rahmen ist es unmöglich, auf die zum Teil recht lange und interessante Geschichte der einzelnen Stoffe einzugehen. Sie ist ausführlich, soweit sie die „klassischen“ Lipide betrifft, bei THIERFELDER und KLENK (1930) beschrieben. Die Geschichte vor allem im Gehirn vorkommender Lipide findet sich bei DEBUCH (1956) und KLENK und DEBUCH (1960, 1963). Außerdem liegt eine Reihe umfassender Darstellungen über die hier zu besprechenden Verbindungen vor: DEUEL (1951, 1955, 1957); HOLMAN, LUNDBERG, MALKIN (1952, 1954); HILDITCH (1956); LOVERN (1957); GUNSTONE (1958); MEAD und HOWTON (1960); HANAHAHAN et al. (1960); BLOCH (1960). Jeweils sehr zeitnahe Zusammen-

fassungen über Teilgebiete der Lipoid-Biochemie finden sich in dem jährlich erscheinenden Annual Review of Biochemistry.

Es kann an dieser Stelle natürlich nur über eine Auswahl bisher bekannter Substanzen berichtet werden. Diese Auswahl wurde zunächst auf die „Lipide im engeren Sinne“ beschränkt, d. h. alle Sterine und Steroide wurden in diesem Beitrag nicht besprochen. Ebenso blieben fast alle Lipide, die nicht im tierischen Organismus vorkommen, unberücksichtigt. Selbst über die ausgewählten Verbindungen kann hier nicht erschöpfend berichtet werden, so daß nur die dem Autor besonders wichtig erscheinenden physikalischen Eigenschaften, Vorkommen usw. erwähnt wurden.

## I. Fettsäuren

Alle hier aufgeführten Stoffe enthalten Fettsäuren als Bestandteile. Fettsäuren sind also ein gemeinsamer Baustein der Fette und Lipide, obgleich die in den einzelnen Stoffklassen vertretenen Fettsäuren sich z. T. außerordentlich stark voneinander unterscheiden. Die überwiegende Mehrzahl der in der Natur vorkommenden Fettsäuren sind solche mit einer geradzahligen Anzahl von Kohlenstoffatomen und unverzweigter Kohlenstoffkette. Jedoch finden sich vor allem in Bakterien viele hochmolekulare Carbonsäuren, die sowohl verzweigte Ketten als auch eine ungradzahlige Anzahl von Kohlenstoffatomen besitzen (ASSELINEAU und LEDERER 1961). Neben der Isovaleriansäure, die seit langem als Bestandteil des Delphinfettes bekannt ist, wurde in den vergangenen zehn Jahren eine Reihe von verzweigt-kettigen, ungradzahligen Fettsäuren in tierischen Fetten aufgefunden (SHORLAND 1956). Sie kommen jedoch nur in kleinen Mengen (etwa 1% der Gesamtfettsäuren) vor. Auch unverzweigte, ungradzahlige Fettsäuren wurden in letzter Zeit, vor allem in Wiederkäuern, (auch im menschlichen Schweiß, JAMES und WHEATLEY 1956) aufgefunden. Da der Histochemiker wohl niemals über spezifische Nachweismethoden verfügen wird, soll hier auf eine ausführliche Darstellung verzichtet werden (Näheres siehe KLENK 1955).

### A. Gesättigte Fettsäuren

Diese Fettsäuren, zu deren Synthese der Organismus fähig ist, werden im Prinzip aus  $C_2$ -Bruchstücken (der sogenannten „aktivierten Essigsäure“) aufgebaut. Infolgedessen besitzen die allermeisten der in der Natur aufgefundenen eine gerade Anzahl von C-Atomen. Sie haben die gemeinsame Summenformel  $C_nH_{2n}O_2$  ( $CH_3 \cdot [CH_2]_n \cdot COOH$ ). Nur der Vollständigkeit halber seien in Tabelle 1 auch die sogenannten „niederer Fettsäuren“ genannt, obwohl sie außer im Milchfett nur spurenweise aufgefunden werden. Dagegen sind die Palmitin- ( $C_{16}H_{32}O_2$ ) und Stearinsäure ( $C_{18}H_{36}O_2$ ) sowohl im Pflanzen- als auch im Tierreich außerordentlich weit verbreitet.

Wie aus Tabelle 1 zu ersehen ist, steigt von der Buttersäure an der Schmelz- und Siedepunkt, d. h. die höheren Fettsäuren, etwa von der Caprylsäure an, sind bei Zimmertemperatur fest, sie sind im Wasser mit zunehmender Kettenlänge zunehmend unlöslich und lösen sich immer besser in organischen Lösungsmitteln, wie Alkohol, Aceton, Chloroform, Benzol und vor allem in Äther. Gegen Oxydationsmittel sind sie — jedenfalls bei  $37^\circ C$  — sehr resistent.

Tabelle I. Gesättigte n-Carbonsäuren mit gerader Zahl an C-Atomen

Summenformel	Mol-Gewicht	Trivialname	Systematische Bezeichnung	F °C	Kp*
C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	60,05	Essigsäure	Äthansäure	16,5	118,1
C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	88,10	Buttersäure	n-Butansäure	—7,9	162,5
C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	116,16	Capronsäure	n-Hexansäure	—1,5	205
C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	144,21	Caprylsäure	n-Octansäure	16,3	236–237
C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	172,26	Caprinsäure	n-Decansäure	31,3	268,7
C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	200,31	Laurinsäure	n-Dodecansäure	44,0–45,0	225 <sub>100</sub>
C <sub>14</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	228,36	Myristinsäure	n-Tetradecansäure	54,0	250,5 <sub>100</sub>
C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	256,42	Palmitinsäure	n-Hexadecansäure	62,85	268,5 <sub>100</sub>
C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	284,47	Stearinsäure	n-Octadecansäure	70,1	291,0 <sub>100</sub>
C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub>	312,55	Arachinsäure	n-Eicosansäure	75,2	203–205 <sub>1</sub>
C <sub>22</sub> H <sub>44</sub> O <sub>2</sub>	340,57	Behensäure	n-Docosansäure	80,0	306 <sub>60</sub>
C <sub>24</sub> H <sub>48</sub> O <sub>2</sub>	368,62	Lignocerinsäure	n-Tetracosansäure	84,0	
C <sub>26</sub> H <sub>52</sub> O <sub>2</sub>	396,68	Cerotinsäure	n-Hexacosansäure	87,8–88,0	

\* wo nichts anderes angegeben bei 760 mm Hg

## B. Ungesättigte Fettsäuren

Vom biologischen Standpunkt aus sollte man diese Gruppe von Fettsäuren zum mindesten im Hinblick auf den tierischen Organismus wiederum in zwei Gruppen unterteilen: in solche, zu deren Biosynthese der Säugetierorganismus fähig ist, und in solche, auf deren Zufuhr mit der Nahrung er angewiesen ist (essentielle Fettsäuren). So wichtig dieses Unterscheidungsmerkmal auch ist (siehe unten), sollen die ungesättigten Fettsäuren hier doch gemeinsam besprochen werden, denn ohne Isolierung lassen sich keine Aussagen machen über ihre Struktur, die Anzahl und Lage der Doppelbindungen usw.

Den ungesättigten Fettsäuren mit einer Doppelbindung in der Kohlenstoffkette (Monoensäuren) kommt demnach die allgemeine Summenformel: C<sub>n</sub>H<sub>2n-2</sub>O<sub>2</sub> (CH<sub>3</sub> · [CH<sub>2</sub>]<sub>a</sub> · CH = CH[CH<sub>2</sub>]<sub>b</sub> · COOH) zu, denjenigen mit mehreren Doppelbindungen (Polyensäuren) entsprechende. An den Doppelbindungen lagern sich unter bestimmten Bedingungen leicht Wasserstoff oder Halogen an. Darauf beruht die sogenannte Jodzahl, die angibt, wieviel Gramm Jod von 100 g einer Verbindung aufgenommen werden (siehe Tabelle 2).

An den Doppelbindungen sind die ungesättigten Fettsäuren leicht oxydierbar. Im Experiment lassen sich die beiden C-Atome der C=C-Bindung bis zu COOH-Gruppen oxydieren, wodurch die Kohlenstoffkette in kleinere Bruchstücke, Mono- und Dicarbonsäuren, aufgespalten wird. Damit ist eine zuverlässige Methode zur Bestimmung der Struktur gegeben. Aber auch mit dem Sauerstoff der Luft können ungesättigte Fettsäuren reagieren (Autoxydation). Während sie in reiner Form farblose bis gelbliche, bei Zimmertemperatur leicht flüssige, ölige Substanzen sind, werden sie bei Einwirkung von Licht und Luft dunkelbraun, hart und unlöslich in organischen Lösungsmitteln; ihre Wasserlöslichkeit nimmt deutlich zu.

Produkte der *Autoxydation* sind außerordentlich schwer charakterisierbar, da die Fettsäuren zugleich auch polymerisieren. Die in natürlich vorkommenden Fettsäuren „isolierten“ Doppelbindungen werden dabei zum Teil „konjugiert“ (s. u.), und es erfolgt teilweise eine Cis-Trans-Isomerisierung. Der

Tabelle 2. Ungesättigte Fettsäuren

Summenformel	Mol.-Gewicht	Trivialname	Systematische Bezeichnung**	Jodzahl	F ° C
C <sub>16</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	254,40	Palmitoleinsäure	$\Delta^9$ -Hexadecensäure	99,8	+ 1
C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	282,45	Ölsäure	$\Delta^9$ -Octadecensäure	89,9	+ 13
C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	280,44	Linolsäure	$\Delta^9,12$ -Octadeca- diensäure	181,4	— 5,8
C <sub>18</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	278,42	Linolensäure	$\Delta^9,12,15$ -Octadeca- triensäure	273,8	
C <sub>20</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>	310,50	Gadoleinsäure	$\Delta^9$ -Eicosensäure	81,7	+24,5
C <sub>20</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	304,46	Arachidonsäure	$\Delta^5,8,11,14$ -Eicosa- tetraensäure	334	
C <sub>22</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	328,48	(Clupanodon- säure*)	$\Delta^{4,7,10,13,16,19}$ - Docosahexaensäure	464	
C <sub>24</sub> H <sub>46</sub> O <sub>2</sub>	366,61	Nervensäure	$\Delta^{15}$ -Tetracosensäure	69,2	+41,5-42

\* Bei der früher als „Clupanodonsäure“ bezeichneten Substanz handelt es sich um ein Gemisch mehrerer Polyenfettsäuren mit 22-C-Atomen aus Fischölen, in dem diese nun rein dargestellte Hexaensäure in größeren Mengen enthalten ist.

\*\* Es wird hier daran erinnert, daß  $\Delta$  die Lage der Doppelbindung, gerechnet vom Carboxyl(COOH)-Ende aus angibt.  $\Delta^9$  heißt demnach: die Doppelbindung liegt zwischen dem neunten und zehnten C-Atom von der COOH-Gruppe aus.

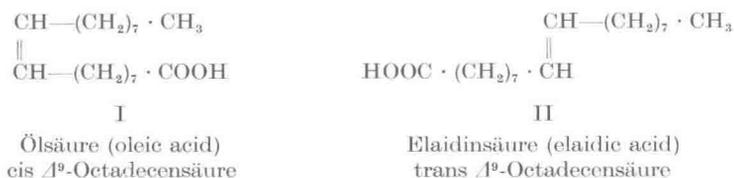
Mechanismus der Autoxydation ist trotz umfangreicher Literatur nicht endgültig aufgeklärt (zusammenfassende Darstellung siehe: HOLMAN [1954]). Die bei der Autoxydation ablaufenden Reaktionen, die zuerst von FARMER und SUTTON (1943) und BOLLAND und KOCH (1945) diskutiert wurden, sind in Abbildung 1 dargestellt.

Der erste Schritt dieser Kettenreaktion ist die Radikalbildung, die durch die Abspaltung eines Wasserstoffatoms der Methylengruppe ( $-\text{CH}_2-$ ), die zur Doppelbindung in  $\alpha$ -Stellung steht, erfolgt ( $B_1-B_3$ ). Dabei kann es zum Umlappen einer Doppelbindung kommen, wie in  $B_1$  und  $B_3$  angedeutet. An das radikalische C-Atom ( $-\text{CH}-$ ) lagert sich nun  $\text{O}_2$  an unter Bildung eines Peroxyradikals ( $C_1-C_3$ ). Dieses Peroxyradikal lagert im dritten Schritt der Oxydation nun wiederum ein Wasserstoffatom an, das von einem anderen Polyenfettsäuremolekül stammt, wodurch neue Radikale entsprechend  $B_1-B_3$  entstehen. Wie aus Abbildung 1 zu ersehen ist, können verschiedene Hydroperoxyde ( $D_1-D_3$ ) gebildet werden, von denen der größere Teil die Doppelbindungen nun nicht mehr wie in der Ausgangssubstanz in Stellung 9-10 und 12-13, sondern sowohl in 10-11 und 12-13 als auch in 9-10 und 11-12 besitzt. Dabei kommt es teilweise zu einer Umlagerung der Cis- in die Trans-Konfiguration. In Gegenwart von Sauerstoff kann die Reaktion nun weitergehen, dabei zerfallen wieder einige Hydroperoxyde unter Bildung neuer Radikale. Durch Reaktion von Radikalen miteinander entstehen u. a. Polymere, die nun auch ganz andere physikalische Eigenschaften besitzen wie die Ausgangssubstanzen.

**Monoensäuren:** Wenngleich auch niedrigere Monoensäuren bekannt sind, so sollen sie hier wegen ihrer Seltenheit doch nicht erwähnt werden. Dagegen ist die Palmitoleinsäure ( $\Delta^9$ -Hexadecensäure) regelmäßig in Depot- und Milchfetten, in den Fetten und Phosphatiden der Leber und anderer Organe aufzu-



finden (KLENK und v. SCHOENEBECK 1932, HILDITCH und SHORLAND 1937, SCHUWIRTH 1943). Der wichtigste Vertreter der Monoensäuren und zugleich die am weitesten verbreitete Fettsäure überhaupt ist die Ölsäure, die 18 C-Atome und die Doppelbindung in der Mitte des Moleküls besitzt. Sie findet sich praktisch in allen pflanzlichen und tierischen Fetten und Glycerinphosphatiden.

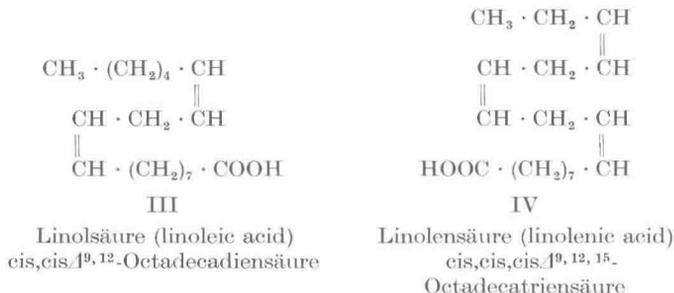


An derselben Stelle des Moleküls, ebenfalls zwischen den Kohlenstoffatomen 9 und 10 sowohl von der Carboxyl- (übliche Bezeichnung) als auch von der endständigen Methylgruppe aus gerechnet, liegt die Doppelbindung der stereoisomeren Form der Ölsäure, der Elaidinsäure. Jedoch handelt es sich, wie aus den Formeln I und II ersichtlich, um eine Cis-Trans-Isomerie. Wie sehr sich die physikalischen Eigenschaften durch eine Cis-Trans-Umlagerung (die z. B. durch Einwirkung von salpetriger Säure auf Ölsäure erzielt werden kann) ändern können, wird ersichtlich am Schmelzpunkt. (Ölsäure F: + 13° C; Elaidinsäure F: + 43° C.)

Obwohl trans-ungesättigte Fettsäuren regelmäßig im Depotfett der Wiederkäuer gefunden werden (HARTMANN et al. 1955; HARTMANN und SHORLAND 1959) — sie werden wahrscheinlich in deren Verdauungstrakt durch Einwirkung von Bakterien gebildet (SHORLAND 1956) —, fehlen sie praktisch in der übrigen Tierwelt.

Monoensäuren können vom tierischen Organismus selbst gebildet werden, möglicherweise durch Dehydrierung der entsprechenden gesättigten Fettsäuren, wie BERNHARD und SCHOENHEIMER bereits 1940 aus Versuchen mit deuteriummarkierten Fettsäuren schlossen.

*Polyensäuren:* Fettsäuren mit mehreren Doppelbindungen. Polyensäuren sind ebenfalls weit in der Natur verbreitet. Im Pflanzenreich finden sich, besonders in den Samen, große Mengen von Polyensäuren der C<sub>18</sub>-Reihe (siehe Formeln III und IV). Aber auch in grünen Blättern und Chloroplasten wurden sie nachgewiesen (DEBUCH 1961 b).



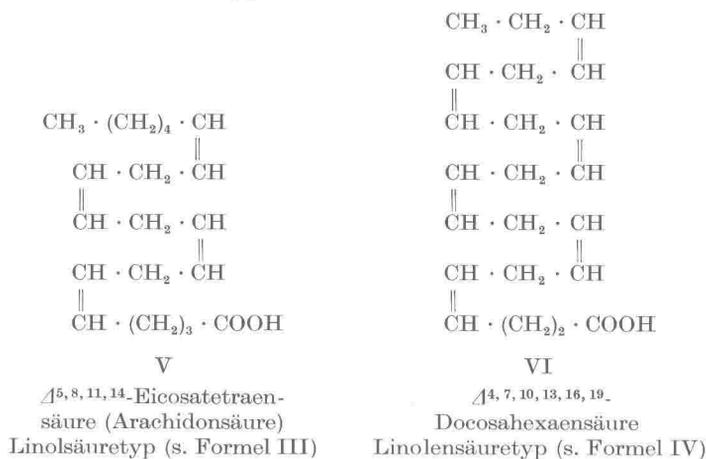
Die Fette der Kaltblüter und die Glycerinphosphatide der Warmblüter sind besonders reich an Polyensäuren der C<sub>20</sub>- und C<sub>22</sub>-Reihe, von denen die Arachidonsäure (C<sub>20</sub>-Tetraensäure) und die C<sub>22</sub>-Hexaensäure Hauptvertreter sind.

Arachidonsäure wurde schon 1909 von HARTLEY nachgewiesen und ihre Struktur von SMEDLEY-MACLEAN und Mitarbeitern (ARCUS et al. 1943; DOLBY et al. 1940) als  $\Delta^{5,8,11,14}$ -Eicosatetraensäure angegeben. In dem letzten Jahrzehnt wurden vor allem von KLENK und seinen Mitarbeitern (KLENK und BONGARD 1952 b; KLENK und DREIKE 1955; KLENK und LINDLAR 1955 a, 1955 b; KLENK und MONTAG 1957, 1958 a, b; KLENK und TOMUSCHAT 1957) viele neue Polyensäuren aufgefunden, in ihrer Struktur aufgeklärt und z. T. rein isoliert.

Da bei der oxydativen Spaltung, bei der, wie oben erwähnt, die C-Atome der C=C-Doppelbindungen zur Carboxylgruppe oxydiert werden, als praktisch einzige Dicarbonsäure die Malonsäure (COOH · CH<sub>2</sub> · COOH) auftritt, sind die Doppelbindungen nicht konjugiert (R—CH=CH—CH=CH—R), sondern isoliert. Sie liegen in allen bisher daraufhin untersuchten Polyensäuren im sogenannten Divinylmethanrhythmus vor (R—CH=CH—CH<sub>2</sub>—CH=CH—R). Wir dürfen annehmen, daß ihnen die All-Cis-Konfiguration (siehe Formeln III und IV) zukommt.

Das Vorkommen von konjugiert ungesättigten Fettsäuren sei nur der Vollständigkeit halber erwähnt (siehe obengenannte zusammenfassende Monographien).

Wenngleich hier nur auszugsweise berichtet werden kann, so scheint doch folgendes in bezug auf die Struktur der C<sub>20</sub>- und C<sub>22</sub>-Polyensäuren wichtig: Betrachtet man einmal die Lage der ersten Doppelbindung im Molekül dieser Verbindungen von der CH<sub>3</sub>-Gruppe aus und vergleicht sie mit derjenigen der C<sub>18</sub>-ungesättigten Säuren, so stellt man fest, daß es verschiedene Typen gibt. Bei einigen liegt sie hinter dem neunten C-Atom, wie bei der Ölsäure, wir sprechen dann vom Ölsäuretyp, bei anderen finden wir sie hinter dem sechsten C-Atom: Linolsäuretyp und schließlich bei einigen hinter dem dritten C-Atom: Linolensäuretyp.



Die biologische Bedeutung der Polyensäuren wurde zuerst von BURR und BURR (1929) erkannt. Lange Zeit hindurch hatte man angenommen, die Fette seien für den tierischen Organismus nur als Energielieferanten bedeutungsvoll, und ihr Fehlen in der Natur sei bei genügender Kalorienzufuhr ohne Folgen. Obengenannte Autoren zeigten jedoch, daß fettfrei ernährte junge Ratten Wachstumsstörungen, Hautveränderungen und Nierenschäden aufweisen und schließlich zugrunde gehen. (Diese Befunde sind jederzeit reprodu-

Tabelle 3. Zusammenstellung der in den Organophosphatiden und Fischölen vorkommenden Polyensäuren<sup>1</sup>

	Aus Organophosphatiden von Säugetieren		Aus Fischölen (Heringssöl)	
		Lage der Doppelbindungen, bezogen auf endständige Methylgruppe		Lage der Doppelbindungen, bezogen auf endständige Methylgruppe
C <sub>16</sub>			$\Delta^9,12$ -Diensäure	4 7
			$\Delta^6,9,12$ -Triensäure	4 7 10
			$\Delta^6,9,12,15$ -Tetraensäure	1 4 7 10
			$\Delta^4,7,10,13$ -Tetraensäure	3 6 9 12
C <sub>18</sub>	$\Delta^9,12$ -Diensäure	6 9	$\Delta^9,12$ -Diensäure	6 9
	$\Delta^9,12,15$ -Triensäure	3 6 9	$\Delta^9,12,15$ -Triensäure	3 6 9
			$\Delta^6,9,12,15$ -Tetraensäure	3 6 9 12
	$\Delta^8,11$ -Diensäure	9 12	$\Delta^11,14$ -Diensäure	6 9
	$\Delta^11,14$ -Diensäure	6 9	$\Delta^8,11,14$ -Triensäure	6 9 12
	$\Delta^6,8,11$ -Triensäure	9 12 15	$\Delta^11,14,17$ -Triensäure	3 6 9
	$\Delta^8,11,14$ -Triensäure	6 9 12	$\Delta^5,8,11,14$ -Tetraensäure	6 9 12 15
	$\Delta^5,8,11,14$ -Tetraensäure	6 9 12 15	$\Delta^8,11,14,17$ -Tetraensäure	3 6 9 12
	$\Delta^5,8,11,14,17$ -Pentaensäure	3 6 9 12 15	$\Delta^5,8,11,14,17$ -Pentaensäure	3 6 9 12 15
C <sub>22</sub>	$\Delta^10,13$ -Diensäure	9 12		
	$\Delta^7,10,13$ -Triensäure	9 12 15		
	$\Delta^7,10,13,16$ -Tetraensäure	6 9 12 15		
	$\Delta^4,7,10,13,16$ -Pentaensäure	6 9 12 15 18		
	$\Delta^7,10,13,16,19$ -Pentaensäure	3 6 9 12 15		
	$\Delta^4,7,10,13,16,19$ -Hexaensäure	3 6 9 12 15 18	$\Delta^7,10,13,16,19$ -Pentaensäure	3 6 9 12 15
C <sub>24</sub>	$\Delta^9,12,15$ -Tetraensäure	6 9 12 15	$\Delta^14,7,10,13,16,19$ -Hexaensäure	3 6 9 12 15 18

<sup>1</sup> Diese Tabelle wurde übernommen aus KLENK (1961a). Literaturangaben siehe dort.