

Zeitschrift:	Bulletin der Schweizerischen Akademie der Medizinischen Wissenschaften = Bulletin de l'Académie suisse des sciences médicales = Bollettino dell' Accademia svizzera delle scienze mediche
Herausgeber:	Schweizerische Akademie der Medizinischen Wissenschaften
Band:	5 (1949)
Heft:	5-6: Introduction à l'étude d'isotopes utilisés en biologie, clinique et thérapeutique : travaux édités par la Commission des Isotopes de l'Académie Suisse des Sciences Médicales = Einführung in die Anwendung der Isotopentechnik in Biologie, Klinik und Therapie : Veröffentlichungen der Isotopenkommission der Schweizerischen Akademie der Medizinischen Wissenschaften
Artikel:	Neuere Ergebnisse der Stoffwechselforschung mit Hilfe der Isotopenmethode
Autor:	Bernhard, Karl
DOI:	https://doi.org/10.5169/seals-309185

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

Download PDF: 03.01.2026

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Neuere Ergebnisse der Stoffwechselforschung mit Hilfe der Isotopentechnik

Von Karl Bernhard, Basel

A. Einleitung

Neue Methoden von fundamentaler Bedeutung und allgemeinem Anwendungsbereich vermögen die naturwissenschaftliche Forschung und damit die Medizin stets in entscheidender Weise zu fördern und ihren Zielen näher zu bringen. Das gilt in besonderem Maße für die *Isotopentechnik*. Den ersten Signierungen mit Isotopen durch *Hevesy* folgten die grundlegenden Arbeiten von *Schoenheimer* und *Rittenberg*; seit dem Kriege ist dank der leichteren Zugänglichkeit der radioaktiven Isotopen das neue Verfahren jedenfalls in den Vereinigten Staaten Allgemeingut der meisten biologisch-chemischen Laboratorien geworden. Mit der Erzeugung von radioaktivem Kohlenstoff C^{14} und der verbilligten Gewinnung von schwerem Kohlenstoff C^{13} stehen uns nun von den wichtigsten, aber auch von allen übrigen Bioelementen für Signierungen anwendbare Isotope zur Verfügung.

Die Isotopentechnik ermöglicht uns bei kritischer Anwendung Stoffwechselforschungen, denen mit den früheren experimentellen Möglichkeiten wenig oder kein Erfolg beschieden wäre. Zweifellos haben jene Arbeitsweisen, etwa die Verwendung körperfremder Verbindungen, Bilanzversuche usw., eine Fülle wichtiger Tatsachen erkennen lassen. Mitunter brachten Versuche mit Isotopensignierungen lediglich Bestätigungen bekannter Befunde. Auch solche Gewissheiten sind indessen erwünscht und bedeuten zumeist eine Vertiefung unserer Einblicke in die chemischen Reaktionen *in vivo*.

In besonderem Maße sind wir am Schicksal solcher Verbindungen interessiert, die nicht unbedingt als Bestandteile der Nahrung figurieren, sondern vom Organismus selbst gebildet werden können. Das Studium ihres Verhaltens vermittelt uns neben Kenntnissen über ihren Einbau in die Struktur des Protoplasmas und ihr Verschwinden aus demselben, vor allem auch solche über ihre Entstehung aus kleinen Einheiten. Einfache Bausteine sind es, von welchen die Bildung der Zellbestandteile ausgeht; so wissen wir heute, daß sich das *Glykokoll* an der Synthese des Glutathions, des Kreatins, Protoporphyrins und der Purine beteiligt, in

Serin und Cystin übergehen oder als NH₂-Donator zur Bildung anderer Aminosäuren beitragen kann (1). Auch über die *Essigsäure* als Baustein besitzen wir seit der Isotopensignierung wichtige Informationen (2).

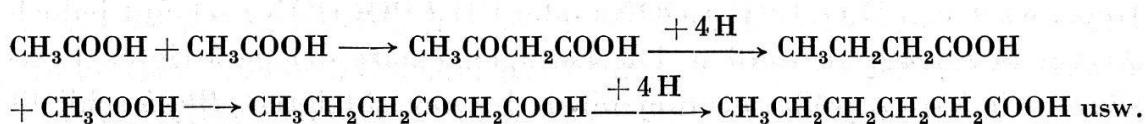
Um den Übergang einer Verbindung in eine andere im Zellgeschehen einwandfrei festzustellen oder die Beteiligung bestimmter Gruppen eines Moleküls an einem synthetischen Vorgang zu beweisen, ist es oft notwendig, mehrere «Marken» anzubringen, d. h. zum Beispiel das Kohlenstoffatom der Carboxylgruppe mit C¹⁴, diejenigen von Methyl- oder Carboxylgruppen mit C¹³, die Wasserstoffatome mit Deuterium, den Stickstoff mit N¹⁵ zu signieren. Ein Beispiel möge die Verhältnisse illustrieren. *Tarver* und *Schmidt* (3) fanden nach Gaben von S³⁵-haltigem *Methionin*, CH₂(SCH₃) · CH₂ · CH(NH₂) · COOH, radioaktiven Schwefel im *Cystein*, CH₂(SH) · CH(NH₂) · COOH, dessen Bildung daher aus dem Methionin erwiesen schien. Eine Formulierung dieses Vorganges stieß jedoch auf Schwierigkeiten. Um zu erfahren, ob auch die C-Kette des Methionins zur Cysteinbildung beitrage oder lediglich der «Schwefel» geliefert werde, synthetisierten *du Vigneaud* u. Mitarb. (4) ein Methionin, das neben S³⁴ in β- und γ-Stellung C¹³ enthielt, und fütterten diese Verbindung an Ratten. Aus den Haaren derselben gewonnenes Cystin enthielt wohl große Mengen S³⁵, aber in keinem merklichen Ausmaß den schweren Kohlenstoff. Die C-Kette des Cysteins bzw. des Cystins stammt also nicht aus dem Methionin. *Stetten* (5) hatte bereits früher beobachtet, daß Ratten, welche N¹⁵-haltiges Serin aufnahmen, Cystin mit bedeutend höheren N¹⁵-Gehalten aufwiesen, als gleichzeitig in der Glutaminsäure vorgefunden wurde. Transaminierungen konnten dafür nicht verantwortlich gemacht werden, vielmehr eine direkte Verwendung des Serins zur Cystinbildung. Wir erhalten also sehr oft nur dann ein richtiges Bild über die chemischen Vorgänge, an denen sich eine Verbindung *in vivo* beteiligt, wenn wir ihre verschiedenen Atome oder Atomgruppen dank differenzierter Signierung gesondert verfolgen können. Die Zahl der hergestellten, mit Isotopen markierten Verbindungen ist bereits beträchtlich.

Seit der Heranziehung der Isotopen als Indikatoren haben unsere Kenntnisse auf dem Gebiete des intermediären Stoffwechsels in kurzer Zeit eine große Erweiterung erfahren. Bereits existieren verschiedene Monographien, welche das Erreichte darstellen und vor allem auch die technischen Voraussetzungen behandeln. Wir wollen hier lediglich versuchen, an Hand neuester und wichtiger Ergebnisse dank der Isotopen-technik auf einigen Gebieten der Stoffwechselforschung erreichte Fortschritte hervorzuheben. Eine Vollständigkeit konnte bei der sehr ausgedehnten Literatur nicht erstrebt werden und war in diesem Rahmen auch nicht beabsichtigt.

B. Fettstoffwechsel

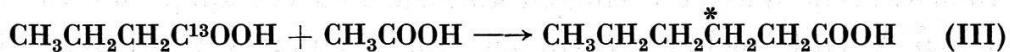
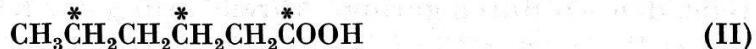
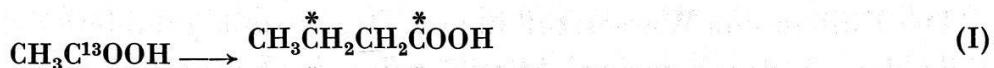
Auf dem Gebiete der Biochemie der Lipide sind in neuester Zeit Diskussionen über die *Entstehung der Fettsäuren in vivo* besonders aktuell.

Der Einbau von Wasserstoff in vom Organismus gebildete Zellbestandteile, den wir durch geringe Anreicherung der Körperflüssigkeit der Tiere an schwerem Wasser verfolgen können, ließ vor allem den raschen zeitlichen Ablauf solcher Synthesen und offenbar verschiedene Bildungsmechanismen für die gesättigten und die einfach ungesättigten Fettsäuren, z. B. die Ölsäure, erkennen (6). Bereits vor einigen Jahren wurde gezeigt, daß die Verlängerung der Fettsäure-Kohlenstoffkette durch C₂-Bruchstücke erfolgt, indem nach Fütterung von Deuterio-Palmitinsäure an Ratten Deuterio-Stearin-, nach Gaben von Deuterio-Laurinsäure D-haltige Myristin- und nach solchen von Deuterio-Myristin-, D-haltige Palmitin- und Stearinsäure isoliert wurden (7). Es lag daher auf der Hand, anzunehmen, dem Aufbau der Fettsäuren liege ein ähnlicher Reaktionsmechanismus wie ihrem Abbau zugrunde. *Rittenberg* und *Bloch* (8) fanden nach Gaben von *Acetat*, das sowohl mit Deuterium als mit schwerem Kohlenstoff signiert war, in den Fettbeständen der Mäuse und Ratten Fettsäuren mit über die ganze C-Kette verteilten Isotopen. Nachdem von denselben Autoren bewiesen wurde, daß sich das bei der β-Oxydation abgespaltene C₂-Bruchstück wie Essigsäure verhält (9) und deren Kondensation zu Acetessigsäure gleichfalls dank Untersuchungen mit C¹³ und C¹⁴ als Indikator feststand (20–23), wurde die Synthese der Fettsäuren *in vivo* aus Essigsäure als Baustein folgendermaßen formuliert:



Auch Beobachtungen über die Ausnutzung von Acetat durch *Bakterien* lassen die Essigsäure bzw. die C₂-Bruchstücke als Bausteine der Fettsäuren erkennen. Wird Hefe in einer signierten Acetat enthaltenden Nährösung gezüchtet, so enthalten sowohl die Fettsäuren wie das Universeifbare Isotope (10). Auch Versuche von *White* und *Werkman* (11) lassen keinen Zweifel an der Herkunft des von der Hefe synthetisierten Fettes aus der zugefügten Essigsäure, CH₃C¹³OOH, aufkommen. Nach Zugabe von NaHC¹³O₃ und gewöhnlicher Essigsäure war in den entstandenen Fettsäuren C¹³ nicht vorhanden, woraus zu schließen ist, dieselbe werde als C₂-Körper und nicht erst nach Oxydation zu CO₂ zur Lipidsynthese verwendet. *Butter-* (I) und *Capronsäure* (II), welche durch *Bact. Kluyveri* in Gegenwart von CH₃C¹³OOONa synthetisiert wurden, wiesen den schweren Kohlenstoff in den C-Atomen 1 und 3 bzw. 1, 3 und 5 auf.

Aus Carboxyl-signierter Buttersäure wurde mit gewöhnlichem Acetat der Nährösung *Capronsäure* (III) mit schwerem Kohlenstoff am β -C-Atom und nicht am Carboxyl-C-Atom gebildet (12):



Alle diese Befunde lassen sich durch die Kondensation von Essigsäure erklären. Es sei indessen hervorgehoben, daß wir das eigentliche, reaktionsfähige C_2 -Bruchstück nicht kennen, so daß also, wenn wir von Essigsäure sprechen, gewisse Vorbehalte noch am Platze sind.

Versuche über Lipidbildung aus Glukose beim Schimmelpilz *Phycomyces Blakesleeanus* unter Anwendung von Deuterium als Indikator, brachten Hinweise für eine Entstehung der Fettsäuren durch Aldolkondensation (13).

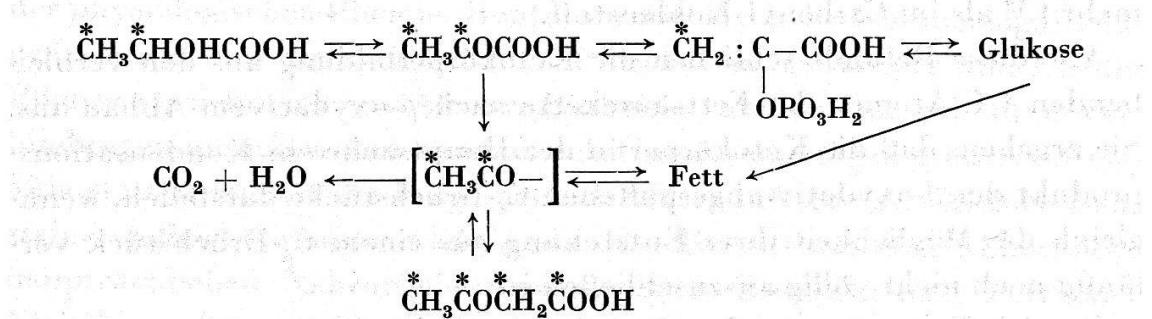
Beim Tier sind auch *Brenztraubensäure* oder *Milchsäure* Fettbildner. Nach *Bloch* und *Kramer* (14) bedingt erstere eine starke Förderung der Fettbildung aus Acetat. In Leberschnitten stimuliert Insulin in Gegenwart von Brenztraubensäure die Fettsynthese. *Anker* (15) fand nach Injektion von $\text{CH}_3\text{C}^{14}\text{OCOOH}$ an Ratten die Hauptmenge des C^{14} in den Fettsäuren. *Gurin* u. Mitarb. (16) fütterten Ratten eine Milchsäure, die in α - oder β -Stellung C^{14} aufwies, und konnten gleichfalls in den Fettsäuren der Tiere radioaktiven Kohlenstoff nachweisen. Nach den Untersuchungen von *Bloch* (17) über Fettsäurebildung in Leberschnitten in Gegenwart von D_2O , $\text{C}^{13}\text{H}_3\text{COONa}$ oder $\text{CH}_3\text{C}^{14}\text{OCOONa}$ scheint jedoch Acetat bevorzugt zu werden. Die Isotopengehalte der gesättigten Fettsäuren sind stets größer als diejenigen der ungesättigten. *Bloch* schließt sich der Ansicht von *Bernhard* und *Bullet* (6) an, wonach die einfach ungesättigten Säuren offenbar auf einem anderen Weg als die gesättigten entstehen.

Untersuchungen über den Stoffwechsel des *Aortengewebes*, die im Hinblick auf das Problem der Atherosklerose von *Chaikoff* u. Mitarb. (18) unternommen wurden, zeigten, daß überlebendes Aortengewebe gleichfalls befähigt ist, aus Acetat ($\text{C}^{14}\text{H}_3\text{C}^{14}\text{OONa}$) Fettsäuren zu synthetisieren. Auch ein Einbau von anorganischem Phosphat ließ sich mit P^{32} als Indikator nachweisen.

Stetten und *Boxer* (19) beobachteten unter Verwendung von Deuterium als Indikator, daß bei der alloxandiabetischen Ratte, deren Futter 60% Kohlenhydrate aufweist, $3/4$ der Harnglukose aus den Kohlenhydraten

${}^*\text{C} = \text{C} + \text{C}^{13}$

der Nahrung stammen und nur $\frac{1}{4}$ selbst synthetisiert wurde. Bei diesen Tieren betrug die Fettbildung nur noch 5% des Ausmaßes, die sie bei gesunden Ratten erreicht. Die mit dem Harn zur Ausscheidung gelangende Glukose entsprach größtenteils derjenigen Menge, die beim normalen Tier in Fettsäuren umgewandelt wird. Die Unfähigkeit, aus Glukose Fett aufzubauen, ist demnach ein Hauptmerkmal der diabetischen Erkrankung. Gurin u. Mitarb. (16) fanden bei ihren bereits erwähnten Fütterungen signierter Milchsäure an phlorrhizindiabetische Ratten in der Harnglukose 28%, in den Fettsäuren und den Ketokörpern des Harnes hingegen etwa 50% des verabreichten radioaktiven Kohlenstoffs. Alle 4 C-Atome der Acetessigsäure und der β -Oxybuttersäure erwiesen sich als aktiv, so daß an eine direkte Entstehung dieser Verbindungen ohne den Umweg über die Fettsäuren zu denken ist:

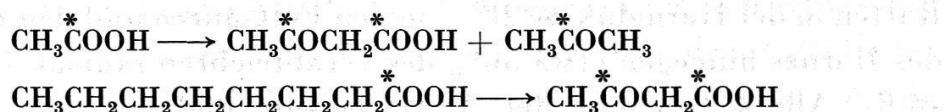


Die Fettsynthese ist beim phlorrhizindiabetischen Tier gegenüber der Norm nur wenig herabgesetzt im Gegensatz zu den Verhältnissen beim Alloxandiabetes. Bei analogen Versuchen mit *Alanin*, dessen Carboxylgruppe C¹³ aufwies, waren nur 1–5% des schweren Kohlenstoffes in der Harnglukose enthalten. Die nach Fütterung dieser glukoplastischen Aminosäure im Harn erscheinende Glukose ist demnach aus Kohlenstoffatomen aufgebaut, die mit denjenigen des Alanins nicht identisch sind.

Bekanntlich glaubte man, nach sukzessiver β -Oxydation der Fettsäurekette würde ein Molekül β -Oxybuttersäure bzw. Acetessigsäure als Endprodukt verbleiben, eine Auffassung, die durch irrtümliche Befunde über den Abbau ungeradzahliger, angeblich nicht ketogener Fettsäuren bestärkt wurde. Quantitative Messungen der Ketokörper, zumeist unter Hungerbedingungen oder nach abnormal großen Fettgaben, führten zu Acetonmengen, die solchen Voraussetzungen des β -Oxydation-Abbaues nicht entsprachen und verschiedene Forscher zu neuen und, wie sich herausstellte, unrichtigen Deutungen der Fettsäureoxydation veranlaßten.

Bereits *Loeb* und auch *Friedmann* hatten nach Leberperfusion mit Acetat das Auftreten von Acetessigsäure beobachtet, ein Befund, der unter verschiedenen Bedingungen bestätigt wurde. Endgültig beweisend

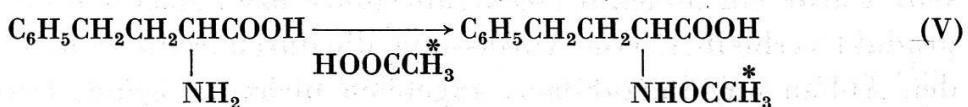
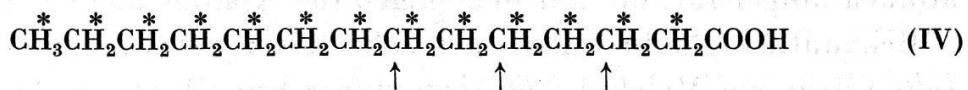
für die Kondensation von zwei Molekülen Essigsäure zu Acetessigsäure waren die Experimente von *Swendseid* u. Mitarb. (20), welche hungernden Ratten eine carboxyl-signierte Essigsäure fütterten und in den ausgeschiedenen Ketokörpern den schweren Kohlenstoff auffanden. Bebrütung von Leberschnitten mit solchem Acetat (21) ergaben schweren Kohlenstoff sowohl in der CO- als in der COOH-Gruppe der Acetessigsäure. Auch in Gegenwart signierter Caprylsäure fand Acetessigsäurebildung statt mit gleichmäßiger Verteilung des C¹³ auf die CO- und COOH-Gruppe (22).



Buchanan, Sakami und *Gurin* (23), welche diese Versuche mit signierter Caprylsäure wiederholten, fanden im Carboxyl-Kohlenstoff indessen mehr C¹³ als im Carbonyl-Kohlenstoff.

Alle diese Befunde schließen die Ketokörperbildung aus den verbleibenden 4 C-Atomen der Fettsäurekette nach β-oxydativem Abbau aus. Sie ergeben, daß die Ketokörper in der Hauptsache ein Kondensationsprodukt der β-oxydativ abgespaltenen C₂-Bruchstücke darstellen, wengleich die Möglichkeit ihrer Entstehung aus einem C₄-Bruchstück vorläufig noch nicht völlig auszuschließen ist.

Da sich Essigsäure an den Acetylierungen körperfremder Amine und Aminosäuren im Tierkörper beteiligt (24), gelang auf diese Weise die Identifizierung des aus Fettsäuren β-oxydativ abgespaltenen C₂-Bruchstückes. Nach Fütterung von *Deutero-Myristin-* (IV), -*Butter-*, -*Valerian-* und -*Isovaleriansäure* an Ratten bei gleichzeitigen Gaben von Phenylaminobuttersäure schieden die Tiere im Harn Acetyl-phenylaminobuttersäure (V) mit D-haltiger Acetylgruppe aus (9).



Die aus den signierten Fettsäuren abgespaltenen C₂-Bruchstücke verhalten sich wie Essigsäure.

Der β-oxydative Fettsäureabbau in vivo konnte jedenfalls für die höheren Glieder unter völlig physiologischen Bedingungen bewiesen werden. Fütterung signierter *Behen-* oder *Stearinsäure* führte zur Auf-findung D-haltiger Fettsäuren mit niedrigerer C-Zahl (25).

Die Oxydation der C₂-Körper oder ihres Kondensationsproduktes, der

$$\overset{*}{\text{H}} = \text{H} + \text{D}.$$

Acetessigsäure, über den *Tricarbonsäurezyklus* setzt ein durch Kondensation mit Oxalessigsäure und verläuft offenbar über mehrere Tricarbonsäuren und Rückbildung von Oxalessigsäure. Zur Aufklärung dieser Vorgänge, denen eine allgemeine Gültigkeit für niedrige wie höhere Lebewesen zukommt, wurden die Isotopen zu Substratsignierungen sehr erfolgreich herangezogen. Vor allem die Kohlenstoff-Isotopen, aber auch der schwere Wasserstoff leisteten nützliche Dienste. Wesentlich ist, daß damit die engen Beziehungen zwischen Fett- und Kohlenhydratstoffwechsel einer plausiblen Erklärung zugänglich wurden. Verschiedene Einzelreaktionen sind noch unbekannt; es ist indessen anzunehmen, daß die Bemühungen zahlreicher Arbeitsgruppen in dieser Hinsicht bald zum Ziele führen werden.

Die *Umwandlung von Fetten in Zucker* ist ein viel diskutiertes Problem der physiologischen Chemie. Heute, wo wir durch die Isotopensignierungen wissen, daß die synthetischen Prozesse im Tierkörper und bei der Pflanze vornehmlich von kleinen Einheiten, also einfach gebauten Verbindungen ausgehen und kaum durch Umgruppierungen größerer Moleküle stattfinden, ist die Frage nach der Herkunft gewisser kleiner Bausteine vielleicht weniger wichtig, da dieselben oft aus dem Abbau aller hauptsächlichen Nahrungsbestandteile, d. h. Kohlenhydrat, Fett oder Eiweiß resultieren. Chaikoff u. Mitarb. (26) gaben alloxandiabetischen Ratten in Maisöl gelöst *Palmitinsäure*, deren sechstes Kohlenstoffatom C¹⁴ aufwies. Aus dem Harn wurde die Glukose als Osazon und Osatriazol isoliert und auf C¹⁴ geprüft. In einem analog durchgeföhrten Kontrollversuch erhielten die Tiere an Stelle der signierten Palmitinsäure NaHC¹⁴O₃. Unter diesen Bedingungen stammten 16% des Glukose-Kohlenstoffes bzw. 1 C-Atom des Glukosemoleküls aus dem Bicarbonat, ein Wert, der höher war als nach den Palmitinsäure-Gaben. Daraus wird geschlossen, dem Einbau des aus der Palmitinsäure stammenden radioaktiven C-Atoms in die Glukose lägen andere Vorgänge als bloße CO₂-Fixierung zugrunde. Man darf wohl annehmen, der Eintritt von C₂-Bruchstücken aus der Palmitinsäure in die Glukose erfolge über den Tricarbonsäurezyklus. Nach Fütterung von signiertem Acetat lassen sich die Isotopen nämlich auch in der *Glukose* aus dem *Leber-Glykogen* nachweisen. Buchanan u. Mitarb. (27), ferner Wood u. Mitarb. (28) fanden nach Gaben von isotoper *Essigsäure* signiertes *Glykogen*, aus dem in allen C-Atomen aktiven Kohlenstoff enthaltende Glukose isoliert wurde. Es ist kaum anzunehmen, daß Acetat direkt Hexose bildet, dessen Beteiligung am KH-Aufbau verläuft wohl über den Tricarbonsäurezyklus. Acetat kann auch durch Carboxylierung Pyruvat bilden, das als Quelle für das Glykogen dient, doch dürfte es sich dabei nicht um einen wesent-

lichen Weg der Acetatausnützung zur Glykogensynthese handeln. In diesem Zusammenhang sei darauf hingewiesen, daß die Bezeichnungen glykogen und ketogen für eine Verbindung mit Vorsicht anzuwenden sind und oft nur innerhalb beschränkter Bedingungen die Tatsachen richtig wiedergeben.

In sehr ausgedehntem Maße wurde *radioaktiver Phosphor*, P³², namentlich durch *Hevesy* u. Mitarb. (29), für biologische Versuche verwendet. Nach Injektion signierten anorganischen Phosphates kann der Phosphor sehr rasch in den *Phospholipiden* der Leber nachgewiesen werden. Besonders Untersuchungen von *Chaikoff* u. Mitarb. (30) ließen erkennen, daß die *Plasmaphospholipide* hauptsächlich aus der Leber stammen, jedoch Niere und Intestinaltractus von diesem Organ unabhängig selbst auch Phospholipide bilden (31).

C. Biochemie steroider Verbindungen

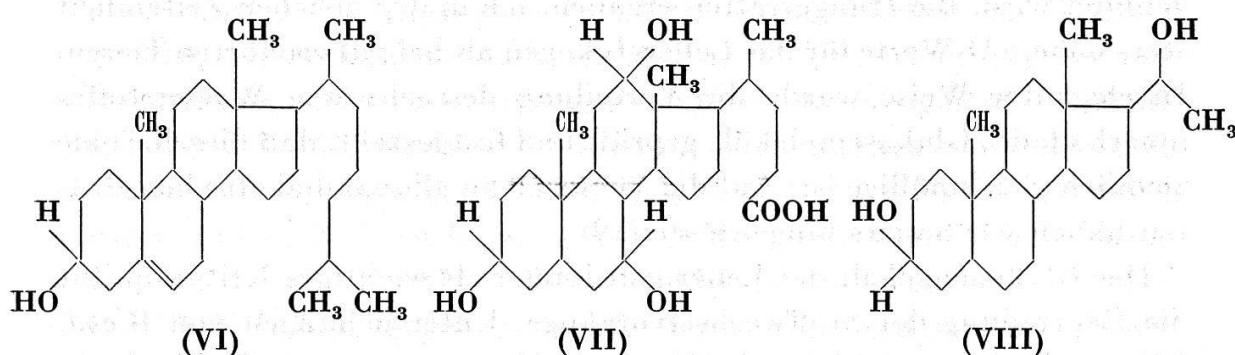
Die *Synthese des Cholesterins* (VI) dieses ubiquitärsten Sterols im Tierkörper stellte man sich früher ausgehend von Squalen oder höheren Fett-säuren, etwa der Ölsäure, vor. *Bloch* und *Rittenberg* (32) fütterten ausgewachsenen Mäusen während 8 Tagen *Deuterio-Acetat*, isolierten nach Tötung der Tiere die *Fettsäuren* und das *Cholesterin* und fanden in letzterem sowohl im Cyclopentanoperhydrophenanthren als auch in der Seitenkette wesentliche Anteile an Deuterium, welche keinen Zweifel ließen, daß Essigsäure einen Baustein des Cholesterins darstellt. Nach Zusätzen von signierter Propion-, Butter- oder Bernsteinsäure zum Futter ließ sich jedoch kein schwerer Wasserstoff im Cholesterin der Tiere nachweisen; diese Verbindungen sind daher an seinem Aufbau nicht beteiligt.

Die Cholesterinsynthese aus Acetat konnte auch *in vitro* durch Bebrütung von Leberschnitten mit Deuterio-Acetat oder mit D- und C¹³-signiertem Acetat ($CD_3C^{13}OOH$) bewiesen werden. Das entstandene Cholesterin enthielt beide Isotopen (33). Es wies den schweren Wasserstoff auch auf, wenn Leberschnitte unter aeroben Konditionen in Gegenwart eines Phosphatpuffers in D₂O-haltigem Wasser bebrütet wurden. Unter anaeroben Bedingungen, ferner in Gewebsschnitten von Niere, Testes, Milz oder Magendarmkanal findet keine Cholesterin-Synthese statt. Letztere verläuft in Leberschnitten maximal, wenn Acetat das alleinige Substrat darstellt. Wird gleichzeitig Pyruvat zugefügt, das eine Steigerung der Fettsynthese bewirkt, so kann ein deutlicher Rückgang des Einbaues von Acetat-Kohlenstoff in das Cholesterin beobachtet werden. Brenztraubensäure ist kein wesentlicher Baustein desselben (17).

Nach Fütterung von Deuterio-Acetat enthielt das Cholesterin aus der

Leber, dem Serum und der Milz die höchsten D-Werte (34). Keine nennenswerten D-Mengen sind im Cholesterin aus dem Gehirn, einem an dieser Verbindung bekanntlich besonders reichen Organ, vorhanden. Analoge Resultate ergaben sich nach Injektion von *Deuterio-Cholesterin* an einem Hund (35); Gehirn und Rückenmark waren davon frei, während alle übrigen Organe signiertes Cholesterin aufwiesen. Die Herstellung deuterierter Cholesterins ist durch Austausch der H-Atome gegen D-Atome in schwerem Wasser in Gegenwart von Essigsäure und Platinoxyd unter Druck und höherer Temperatur möglich (36). Cholesterin-Bildung oder -Einbau in die Gehirnsubstanz findet offenbar nur in einem sehr frühen Stadium, später nicht mehr statt. *Waelsch* und *Sperry* (37) fanden bei Ratten unter Verwendung von Deuterium als Indikator eine Cholesterinbildung nur vor der Myelination.

Sehr eindrucksvoll sind die Versuche von *Bloch*, *Berg* und *Rittenberg* (35), welche einem Hund deuteriertes *Cholesterin* injizierten, nachdem durch Anastomose zwischen Gallenblase und Nierenbecken eine Ausscheidung der Galle in den Harn erzielt worden war. Aus letzterer isolierte *Cholsäure* (VII) erwies sich als D-haltig.



Eine Frau, welche im achten Monat der Schwangerschaft signiertes Cholesterin aufnahm, schied, wie Bloch (38) feststellte, D-haltiges *Pre-gnandiol* (VIII) aus. Cholesterin geht demnach *in vivo* sowohl in *Gallen-säuren* als auch in das Corpus-luteum-Hormon *Progesteron* über. Letztere Verbindungen werden demnach nicht aus den kleinen Bausteinen direkt aufgebaut, offenbar beginnt der Organismus mit der Differenzierung erst auf einer höheren Stufe; Cholesterin ist wohl die Ausgangssubstanz für die übrigen Sterine.

D. Aufbau des Glykogens

Zum Studium des *Kohlenhydratstoffwechsels* wurde frühzeitig durch *Parnas, Hevesy und Meierhof* der radioaktive Phosphor P^{32} herangezogen, um die bei der anaeroben Glykolyse vor sich gehenden Phosphorylierungen zu verfolgen. Anorganisches, mit P^{32} signiertes Phosphat kann

auf alle Intermediärprodukte verteilt angetroffen werden. In-vitro-Versuche ergaben, daß ein Gleichgewicht zwischen anorganischem Phosphat und dem labilen Phosphat der Adenosintriphosphorsäure und den intermediären Estern der Glykolyse besteht.

Das bereits erwähnte Verfahren, nach Anreicherung der Körperflüssigkeiten an D₂O, den Einbau von schwerem Wasserstoff in von der Zelle gebildete Verbindungen zum Studium ihrer Synthese in vivo zu benützen, haben Stetten und Boxer (39) auch erfolgreich zu Forschungen über Kohlenhydratstoffwechsel angewandt. Rund 33% der Wasserstoffatome des Glykogens sind gegen Wasser leicht austauschbar; an solchen Stellen eingebautes Deuterium geht daher bei der Isolierung des Glykogens verloren, was natürlich zu berücksichtigen ist. Während in Übereinstimmung mit früheren Befunden aus den experimentellen Daten für die Leberfettsäuren eine Halbwertzeit von 1,9 Tagen ermittelt wurde, betrug dieselbe für das Glykogen der Leber 1,0 und für das der Muskulatur und der übrigen Gewebe 3,6 Tage. Aus den D-Gehalten konnte berechnet werden, daß etwa die Hälfte des Leberglykogens direkt aus dem Kohlenhydrat der Nahrung und der Rest aus anderen kleinen Bruchstücken gebildet wird. Bei Hungerratten ergaben sich in der gleichen Zeiteinheit stets höhere D-Werte für das Leberglykogen als bei gut ernährten Tieren. In eleganter Weise wurde die Verteilung des schweren Wasserstoffes innerhalb des Glukosemoleküls geprüft und festgestellt, daß dieselbe eine ziemlich gleichmäßige ist. Auf die Versuche an alloxandiabetischen Ratten haben wir bereits hingewiesen (19).

Der Glykogengehalt der Leber galt immer als wichtiges Kriterium für die Beurteilung der Stoffwechselvorgänge. Untersuchungen von Wood, Lifson, Lorber und Sakami (40) unter Verwendung der Kohlenstoff-Isotopen haben die Bedeutung der tierischen Stärke innerhalb des Gesamtstoffwechsels unter neuen Aspekten hervorgehoben. Nach weitgehender Reduktion der Glykogenbestände der Tiere, welche bekanntlich schon nach kurzem Hunger in Erscheinung tritt, führte Fütterung bestimmter signierter Verbindungen zur charakteristischen Verteilung ihrer C-Atome in der Glukose des neu gebildeten Glykogens. Schon nach 2 1/2 Stunden sind die Isotopen darin bereits nachweisbar. Wood u. Mitarb. (28, 41) haben eine Reihe C¹³-haltiger Säuren synthetisiert und verfüttert und durch geeignete Abbaureaktionen der aus dem gebildeten Glykogen gewonnenen Glukose die Verteilung bzw. Lokalisation des schweren Kohlenstoffes innerhalb der sechs C-Atome der Hexose festgestellt. Die Resultate gehen aus der folgenden Übersicht hervor.

Hydrogencarbonat und carboxyl-signierte Essigsäure, Propion- oder Buttersäure führen zu in Stellung 3,4-markierter Glukose, desgleichen

Verfütterte Verbindung	Lokalisation des C ¹³ in der Glukose					
	C	C	*C	*C	C	C
NaHCO ₃	C	C	*C	*C	C	C
CH ₃ [*] COOH	C	C	*C	*C	C	C
CH ₃ [*] COOH	C	C	C'	C'	*C	C
CH ₃ CH ₂ [*] COOH	C	C	C	*C	C	C
CH ₃ CH ₂ COOH	C	C	C'	C'	*C	C
CH ₃ CH ₂ COOH	C	C	C'	C'	*C	C
CH ₃ CH ₂ CH ₂ [*] COOH	C	C	C	*C	C	C
CH ₃ CH ₂ CH ₂ COOH	C	C	C'	C'	*C	C
CH ₃ CH ₂ CH ₂ COOH	C	C	C	*C	C	C

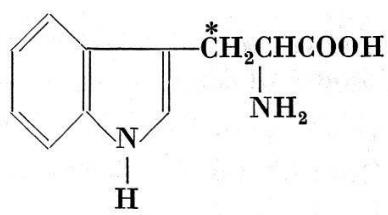
* C = höhere C¹³-Konzentration, C' = tiefe C¹³-Konzentration.

die β -signierte Buttersäure, welch letztere wahrscheinlich in Essigsäure umgewandelt wird, die ihrerseits zum Baustein der 3,4-gekennzeichneten Glukose wird. Die übrigen geprüften Verbindungen ließen ein Glykogen entstehen, dessen Glukose hauptsächlich in 1, 2, 5, 6 und in geringerer Konzentration auch in 3,4-Stellung C¹³ enthielt. Aus α -signiertem Laktat, CH₃C^{*}HOHCOOH, resultierte Glukose, deren zweites und fünftes C-Atom die Hauptmenge an C¹³ enthielt, während in 1,6-Stellung deutlich weniger und in 3,4- noch geringere C¹³-Konzentrationen nachweisbar waren (C°-C*-C'-C'-C*-C°). Wurde indessen α,β -signiertes Laktat, C^{*}H₃C^{*}HOHCOOH, gegeben, so war der Isotopengehalt der C-Atome 1, 2, 5 und 6 gleich, der C-Atome 3, 4 indessen geringer (C*-C*-C'-C'-C*-C*). Die Befunde erlauben interessante Einblicke und Diskussionen der in vivo sich abspielenden Mechanismen des Kohlenhydrat-Auf- und Abbaues.

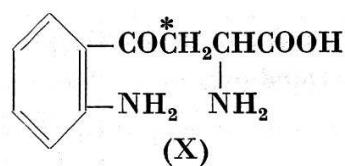
E. Stoffwechsel der Aminosäuren

Eine intensive Bearbeitung hat der Stoffwechsel der Aminosäuren dank der Isotopentechnik erfahren.

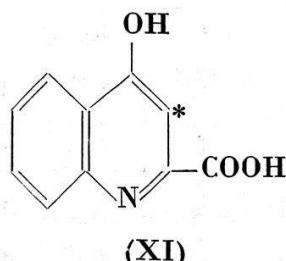
Heidelberger u. Mitarb. (42) bestätigten durch Gaben von C¹⁴-haltigem *Tryptophan* (IX) die bereits 1904 von Ellinger gezeigte Umwandlung dieser Aminosäure im Hundeorganismus zu *Kynurensäure* (XI) und die von Kotake und von Butenandt u. Mitarb. bewiesene Entstehung von *Kynurenin* (X) bei Kaninchen. Es gelang nach Fütterung von am β -C-Atom der Seitenkette signiertem Tryptophan die Isolierung der genannten Umwandlungsprodukte, welche den C¹⁴-Kohlenstoff enthielten.



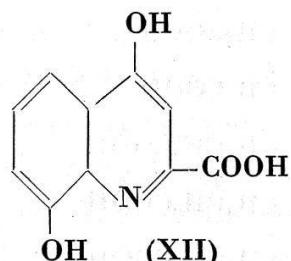
(IX)



(X)

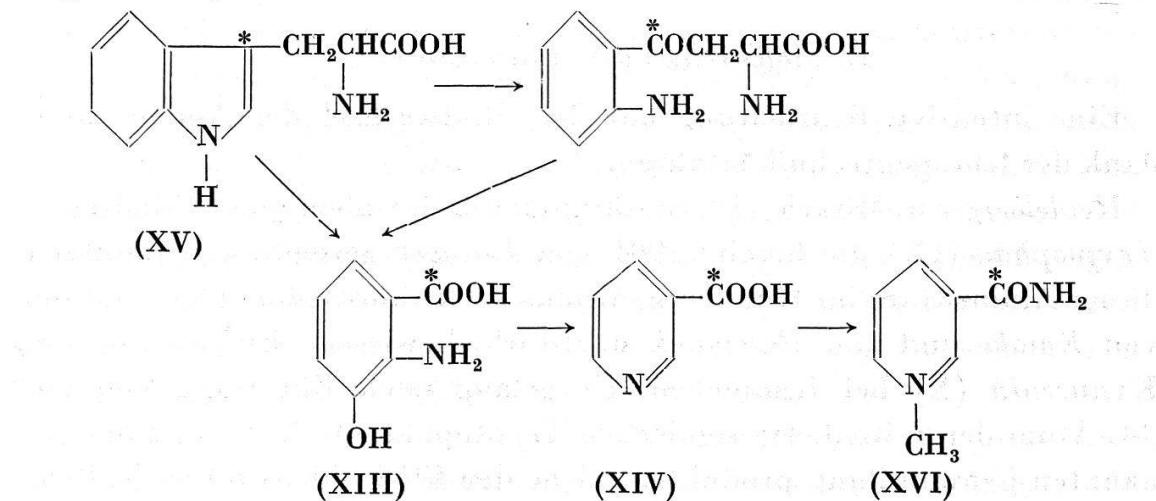


(XI)



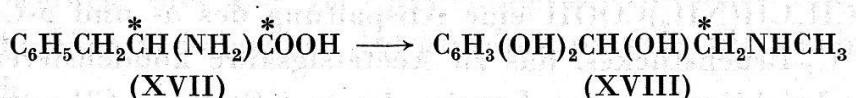
(XII)

Ein drittes Stoffwechselprodukt, die *Xanthurensäure* (XII), konnte aus dem Harn von an Pyridoxinmangel leidenden Ratten isoliert werden, die vorangehend mit Tryptophan gefüttert wurden (43). *Nikotinsäureamid* wird vom Menschen und einer Reihe von Säugern als N-Methyl-nikotinsäureamid ausgeschieden. *Hundley* und *Bond* (44) fanden nach Gaben einer in der COOH-Gruppe C¹³ enthaltenden Nikotinsäure 95,7% desselben im N-Methyl-nikotinsäureamid des Harns. Tryptophanaufnahme bewirkt vermehrte Ausscheidung an N-Methyl-nikotinsäureamid (45), was annehmen ließ, Tryptophan werde auch in Nikotinsäure umgewandelt und später für den Menschen und gewisse Säuger bestätigt wurde (46). *Beadle* u. Mitarb. (47) konnten zeigen, daß Kynurenin und *3-Oxyanthranilsäure* (XIII) Intermediärprodukte des Tryptophanabbaues zu Nikotinsäure (XIV) bei einem Neurospora-Mutanten und auch im Stoffwechsel der Ratte darstellen. Nach Fütterung des in der Seitenkette signierten Tryptophans (IX) enthielt das N-Methyl-nikotinsäureamid kein C¹⁴, die Seitenkette geht also bei dieser Umwandlung verloren. Wurde den Ratten indessen ein DL-Tryptophan-3-C¹⁴ (XV) verabreicht (48), so gelang im Harn die Auffindung von signiertem N-Methyl-nikotinsäureamid (XVI), dessen Entstehung folgende Reaktionsfolge zugrundeliegen dürfte:



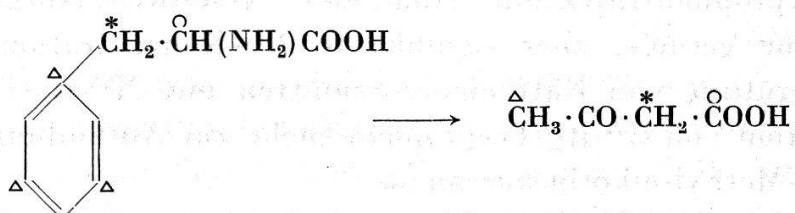
Einen anderen Weg zum Studium des Tryptophan-Stoffwechsels beschritten Shemin u. Mitarb. (49) durch Verwendung eines im Indolring N¹⁵ enthaltenen D- und L-Tryptophans. Nach intraperitonealer Injektion von N¹⁵-L-Tryptophan an Ratten und Kaninchen wiesen das isolierte Kynurenin, die Kynurensäure und die Xanthurensäure approximativ dieselbe N¹⁵-Konzentration auf wie der Ring-Stickstoff des Tryptophans. N¹⁵-signiertes Kynurenin wurde von Ratten in Xanthurensäure desselben Isotopengehaltes umgewandelt. Aus dem Rattenharn nach N¹⁵-DL-Tryptophan-Injektion erhaltenes N-Methyl-nikotinsäureamid enthielt eine geringe, aber signifikante N¹⁵-Konzentration. Dagegen führte Bebrütung von Rattenleber-Schnitten mit N¹⁵-DL-Tryptophan oder Injektion von C¹⁴-DL-Tryptophan nicht zur Auffindung isotopenhaltigen N-Methyl-nikotinsäureamids.

Bereits Schoenheimer und Moss (50) bewiesen die Oxidation von Phenylalanin zu Tyrosin im Organismus der Ratte. Phenylalanin erwies sich auch als Muttersubstanz des Adrenalins: Gurin und Dellaqua (51) injizierten Ratten Phenylaminopropionsäure (XVII), deren Carboxyl- und α -Kohlenstoffatome mit C¹⁴ gekennzeichnet waren, töteten die Tiere nach sechs Stunden und nahmen die Nebennieren heraus. Zur Isolierung des Adrenalins (XVIII), das nur in sehr geringen Mengen vorliegen konnte, wurde das Verdünnungsverfahren angewendet, d. h. dem Drüsensbrei eine bekannte Quantität des Hormons zugeführt und zusammen mit dem bereits vorhandenen Adrenalin wieder präparativ gewonnen und gereinigt. Es erwies sich als radioaktiv und enthielt das Kohlenstoff-Isotop in der Seitenkette, womit die Entstehung aus der verabreichten Aminosäure erwiesen ist.



Der völlige Abbau der zyklischen Aminosäuren *Phenylalanin* und *Tyrosin*, zu dessen Aufklärung Arbeiten von *Felix* beitrugen, konnte ebenfalls durch Verwendung der Isotopen erfolgreich erforscht werden. Der Benzolring beider Aminosäuren wird unter Bildung von *Acetessigsäure* aufgespalten. Beim Phenylalanin entsteht letztere aus einem C₄-Bruchstück, herstammend aus dem Ring und der Seitenkette, offenbar ohne Beteiligung von C₂-Bruchstücken. Erhielten phlorrhizindiabetische Ratten (52) im Carboxyl- und α -Kohlenstoff der Seitenkette signiertes DL-Phenylalanin, so war sowohl in den Harn-Ketokörpern als in der Atmungskohlensäure C¹⁴ nachweisbar. Bebrütung mit Leberschnitten führte zur Bildung in der Carboxylgruppe signierter Acetessigsäure. Wurden analoge Versuche mit in den Kohlenstoffatomen 1, 3 und 5 des

Ringes markiertem Phenylalanin durchgeführt, so ergab sich nach Fütterung an die phlorrhizindiabetischen Ratten C¹⁴-haltige Atmungskohlenäsüre und im «Acetonteil» signierte Acetessigsäure. Bebrütung der ring-signierten Verbindung ließ hauptsächlich in der endständigen Methylgruppe radioaktiven Kohlenstoff enthaltende Acetessigsäure auffinden. Das α -C-Atom des Phenylalanins wird zum Carboxyl-Kohlenstoff der Acetessigsäure, während entweder C-Atom 1 oder 3 des Ringes den endständigen Kohlenstoff derselben abgeben:

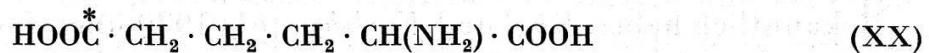


Weinhause und Millington (53) bebrüteten Leberschnitte mit am β -C-Atom der Seitenkette signiertem Tyrosin und erhielten Acetessigsäure, die nach van Slyke in CO₂ und Aceton gespalten wurde. Dieses wies eine hohe, die Kohlensäure nur eine geringe C¹⁴-Konzentration auf. Es ergab sich, daß praktisch der gesamte C¹⁴ im α -C-Atom der Acetessigsäure lokalisiert war. Dieser Befund spricht für die Annahme des Abbaues des Tyrosins zu p-Oxy-phenylbrenztraubensäure, Homogentisinsäure und Acetessigsäure. Das α - und β -C-Atom des Tyrosins geben offenbar den Carboxyl- und α -Kohlenstoff der Acetessigsäure und zwei der Ring-C-Atome den β - und γ -Kohlenstoff derselben.

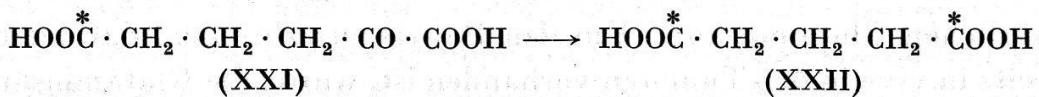
Zu den ketogenen Aminosäuren gehört auch das Leucin. Wie Gurin u. Mitarb. (54) fanden, ergibt sich im Stoffwechsel dieser Verbindung (CH₃)₂CHCH₂CH(NH₂)COOH eine Abspaltung des α - und β -C-Atoms, also eines C₂-Bruchstückes, das zu Acetessigsäure kondensieren kann. Subcutane Injektion von DL-Leucin, das in β -Stellung C¹⁴ aufwies, an eine phlorrhizindiabetische Ratte führte im Harn zu radioaktivem Aceton. Bebrütung von Leberschnitten lieferte Acetessigsäure, welche zu Ameisen- und Essigsäure oxydiert wurde. Beide waren aktiv. Der Methyl- und Methylen-Kohlenstoff der Acetessigsäure hatte approximativ dieselbe C¹⁴-Konzentration.

Über den Stoffwechsel des Lysins war aus den Untersuchungen Schoenheimers u. Mitarb. (55) bekannt, daß diese lebensnotwendige Aminosäure nach Gaben N¹⁵-haltiger Verbindungen nie schweren Stickstoff aufwies, d. h. ihre α -Aminogruppe nicht an den reversiblen Umaminierungen teilnimmt. Borsook u. Mitarb. (56) stellten eine in ε -Stellung mit C¹⁴ signierte Diaminocapronsäure (XIX) her und trennten das Racemat in die D- und L-Form. Nach Bebrütung von Meerschweinchen-Leberhomogenat in

Gegenwart des signierten L-Lysins konnte durch chromatographische Trennung des Reaktionsgemisches α -Amino-adipinsäure (XX), deren eine Carboxylgruppe radioaktiven Kohlenstoff enthielt, erhalten werden:

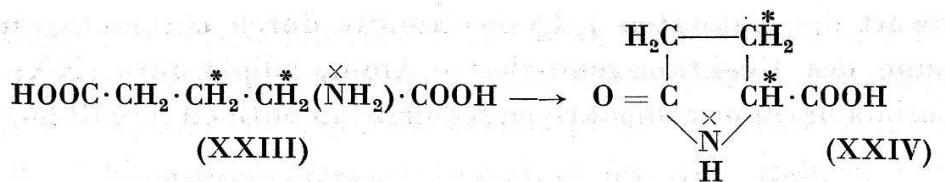


D-Lysin reagierte nicht in dieser Weise. Die Versuche zeigen demnach die Desaminierung des natürlichen Lysins zu Aminoadipinsäure. Letztere vermag nach *Mitchell* und *Houlahan* (57) das L-Lysin in Lysin-benötigenden Neurospora-Mutanten zu ersetzen. Der Abbau in ε -Stellung mit C¹⁴-signierter α -Aminoadipinsäure und damit im weiteren Sinne derjenige des Lysins verläuft im Leberhomogenat (Meerschweinchen) über α -Keto-adipinsäure (XXI) und Glutarsäure (XXII):



Die Desaminierung der α -Amino-adipinsäure erfolgt dabei viel langsamer als ihre Bildung aus dem L-Lysin, die Decarboxylierung der α -Keto adipinsäure wiederum rascher als die Desaminierung der α -Aminoadipinsäure (58). Andererseits fand *Miller* (59) nach Gaben von DL-Lysin- ε -C¹⁴ an einen Hund nach Hydrolyse der Gewebsproteine der Tiere radioaktives Arginin. Es wurde in Ornithin, Kohlensäure und Ammonium umgewandelt. Das Ornithin enthielt etwa 50% der im Arginin vorhandenen Aktivität. Die aus dem Proteinhydrolysat erhaltene Glutaminsäure war etwa viermal stärker radioaktiv als das Ornithin. *Miller* glaubt, daß Glutaminsäure und Ornithin aus einer gemeinsamen Muttersubstanz gebildet werden, und hält die Entstehung des Ornithins aus der Glutaminsäure über verschiedene Intermediärprodukte für weniger wahrscheinlich.

Während L-Glutaminsäure sowohl in vivo als in vitro sehr rasch desaminiert und reaminiert wird, trifft dies für die D-Form nicht zu. Deren Schicksal im Tierkörper untersuchte S. Ratner (60) durch Fütterung einer mit N¹⁵ signierten und gleichzeitig am α - und β -C-Atom Deuterium aufweisenden DL-Glutaminsäure (XXIII). Im Harn der Tiere fand sich neben stark N¹⁵-haltigem Ammoniak und Harnstoff aus dem Abbau der L-Form, rechtsdrehende Pyrrolidoncarbonsäure (XXIV). Es ließ sich berechnen, daß in dieser Weise 75% der aufgenommenen D-Form zur Ausscheidung gelangten. Da der Deuteriumgehalt gegenüber dem Ausgangsmaterial unverändert war, steht fest, daß keine, die am α - und β -C-Atom vorhandenen Wasserstoffatome betreffende Reaktion im Stoffwechselgeschehen stattgefunden haben.



Bekanntlich haben Kögl und Erxleben (61) 1939 über das Vorkommen von Aminosäuren der D-Reihe, besonders von D-Glutaminsäure im Eiweiß maligner Tumoren berichtet und von dieser Beobachtung ausgehend eine neue Krebstheorie entwickelt. In zahlreichen Laboratorien konnten diese Befunde nicht reproduziert werden, was nach neuesten Angaben Kögls (62) seinen Grund in den veränderten Bedingungen der Proteinhydrolyse hat. Auch mit Hilfe der Isotopen-Verdünnungsmethode, d. h. durch Zugabe von Deuterio-Glutaminsäure zu den Proteinhydrolysaten fanden Kögl u. Mitarb. stets wesentliche Mengen der unnatürlichen Glutaminsäure. Um den Beweis zu erbringen, daß letztere bereits in vivo in den Tumoren vorhanden ist, wurde die Glutaminsäure-Bildung bei Ratten mit Benzpyren- oder Methylcholanthrentumoren nach Anreicherung der Körperflüssigkeit mit schwerem Wasser verfolgt. Dabei zeigte es sich, daß der Deuteriumgehalt der L-Form des Glutaminsäurebausteins der malignen Geschwülste stets größer war als derjenige der D-Form und z. B. 0,44 und 0,51 gegenüber 0,06 und 0,23% betrug. Der Einbau des schweren Wasserstoffes erfolgt also in die unnatürliche Form in den Tumoren langsamer als in die L-Glutaminsäure. Schließlich erhielten Tumor-Ratten per os oder subcutan deuterierte DL-Glutaminsäure mit dem Ergebnis, daß der D-Gehalt der aus den Tumoren isolierten D-Glutaminsäure stets höher war als derjenige der L-Form, wo der Verdünnungseffekt infolge des größeren Gehaltes stärker in Erscheinung tritt. Diese biochemischen Deuterium-Versuche ließen erkennen, daß die D-Glutaminsäure bereits in vivo gebildet und nicht durch Racemisierung bei der Hydrolyse entstanden war, denn sonst müßten beide Formen gleiche Mengen schweren Wasserstoffes enthalten und könnten nicht Gehalte von 0,08 gegenüber 0,66 Atomprozent aufweisen. Shemin und Rittenberg (63) hatten B₂-avitaminotischen Ratten N¹⁵-markierte DL-Glutaminsäure gefüttert und im Harn D-Pyrrolidoncarbonsäure derselben N¹⁵-Konzentration gefunden. Sie schlossen daraus, daß im Organismus solcher Tiere und sehr wahrscheinlich auch von normalen Ratten keine D-Glutaminsäure synthetisiert werde. Barendregt und Halberstadt (64) injizierten D-Glutaminsäure mit C¹⁴ im α-Carboxyl- und α-C-Atom, ^{*}COOH^{*}CH(NH₂)CH₂CHCOOH. Aus dem Harn der Tumor-Ratten iso-

$$\overset{\times}{\text{N}} = \text{N}^{14} + \text{N}^{15}$$

lierte Glutaminsäure wies nur 88%, bei Normaltieren hingegen 98% der ursprünglichen Aktivität auf. Bei der Aufarbeitung der Tumorproteine wies die L-Form der Glutaminsäure keine, die D-Form 8,9% der Aktivität des injizierten Präparates auf, Ergebnisse, die durch Heranziehung von Deuterium als Indikator erhaltenen, bestätigen und ergänzen. Sollten weitere Beweise in dieser Richtung erbracht werden, so wäre die Isotopentechnik auch für diagnostische Zwecke von Bedeutung (62).

Die biologische Umwandlung von L-Serin in Glykokoll bewies Shemin (65) durch Injektion von N¹⁵-signierten Aminosäuren und von Benzoesäure an Ratten und Meerschweinchen. Aus dem Harn isolierte Hippursäure wurde auf ihre N¹⁵-Konzentration untersucht und auf Grund des Verdünnungsfaktors C₀/C (C₀ = N¹⁵-Gehalt der injizierten Verbindung, C = N¹⁵-Gehalt der Hippursäure) festgestellt, daß L-Serin Glykokoll bildet. Analoge Versuche mit L-Serin, das sowohl mit schwerem Stickstoff als auch in der Carboxylgruppe mit schwerem Kohlenstoff markiert war, ließen erkennen, daß die Amino-oxypropionsäure unter Abspaltung des β-C-Atoms in die Aminoessigsäure übergeht; das N¹⁵/C¹³-Verhältnis des injizierten Serins und der isolierten Hippursäure war praktisch gleich.

Daß auch der umgekehrte Weg, d. h. die Umwandlung von Glykokoll zu Serin vor sich geht, zeigten Ehrensvärd u. Mitarb. (66) bei der Hefe und Greenberg u. Mitarb. (67) für Leberschnitte. Nach Untersuchungen von Sakami (68) scheint dieser Übergang der Aminoessigsäure zur Oxyaminopropionsäure durch Kondensation mit Ameisensäure zu erfolgen:



Dabei zeigte es sich, daß das Glykokoll selbst durch Desaminierung und Decarboxylierung Ameisensäure bildet:



welche mit Glykokoll unter Serin-Bildung in Reaktion tritt. Nach Gaben von mit C¹⁴ signiertem Glykokoll isolierte Sakami das Leber-Serin der Tiere (69). Wurde dieses nach der genannten Vorstellung gebildet, so mußten seine α- und β-C-Atome aus dem Methyl-Kohlenstoff des Glykokolls stammen, also C¹⁴ enthalten. Das war tatsächlich der Fall, wobei die Aktivität des β-C-Atoms beträchtlicher war als diejenige des α-C-Atomes. Wurde C¹³-Carboxyl-signiertes Glykokoll und C¹⁴-signierte Ameisensäure an Ratten gegeben, so enthielt das Serin aus der Leber C¹³ in der Carboxylgruppe und viel C¹⁴ im β-C-Atom. Aber auch nach Gaben von C¹⁴-methylsigniertem Cholin war im β-Kohlenstoff des Serins C¹⁴. Eine oder mehrere Methylgruppen des Cholins können daher offenbar im Sinne der Ameisensäure mit Glykokoll unter Serin-Bildung kondensieren (70).

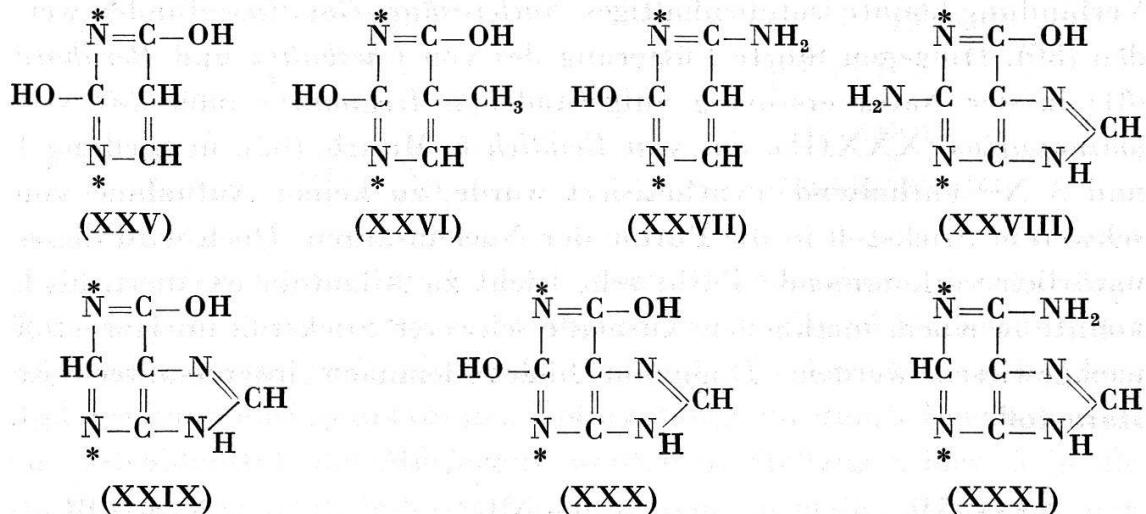
F. Transmethylierungen

Aus Fütterungsversuchen von *du Vigneaud* u. Mitarb. (71) ging hervor, daß dem Organismus die zur *Methylierung* gewisser stickstoff- und schwefelhaltiger Verbindungen nötigen Methylgruppen in leicht ausnutzbarer Form z. B. durch Cholin und Methionin mit der Nahrung zur Verfügung stehen müssen. Endgültige Beweise erbrachte die Isotopen-technik. Durch Signierung der Methylgruppe mit Deuterium konnte ihre Übertragung im Tierkörper verfolgt und eine Reihe an der Transmethylierung beteiligter Verbindungen, wie Cholin, Betain, Methionin, Kreatin, Anserin, Dimethylaminoäthanol, Monomethylaminoäthanol, Sarcosin und Dimethylglycin eruiert werden. Bei diesen Ummethylierungen, denen eine grundlegende Bedeutung zukommt, wurde angenommen, die Methylgruppe werde *in toto* transferiert. Kürzlich haben *Keller*, *Rachele* und *du Vigneaud* (72) diese Voraussetzung bewiesen. Nach Verabreichung eines in der Methylgruppe mit radioaktivem Kohlenstoff und Deuterium signierten, durch Mischung von Deuterio-L-Methionin $CD_3SCH_2CH_2CHNH_2COOH$ und Radio-L-Methionin $C^{14}H_3SCH_2CH_2CHNH_2COOH$ gewonnenen Methionins, wurden im aus den Geweben isolierten Cholin und Kreatin C^{14} - und D-Bestimmungen durchgeführt. Das Verhältnis C^{14} zu D war in den Methylgruppen dieser Verbindungen genau dasselbe wie im gefütterten Methionin. Bei der Transmethylierung findet demnach kein Austausch der Wasserstoffatome der Methylgruppe statt, letztere wird als «Einheit» übertragen. Der Versuch beweist erneut wieder die Brauchbarkeit des schweren Wasserstoffes in Methylen- und Methylgruppen zu Signierungen.

G. Bildung und Abbau der Nucleinsäuren und Purine

Auch auf dem Gebiet des *Purinstoffwechsels* hat die Isotopentechnik zu einer bemerkenswerten Erweiterung unserer Kenntnisse geführt. Auf Grund der klassischen Arbeiten von *Miescher* und *Kossel* steht fest, daß der tierische Organismus die zur Nucleinsäure-Bildung nötigen Purine selbst aufbauen kann.

Von Tauben nach Aufnahme N^{15} -haltigen *Arginins* ausgeschiedene Harnsäure enthielt keinen schweren Stickstoff (73); im Imidazolring signiertes *Histidin*, welches gleich dem Arginin als Baustein der Purine diskutiert wurde, führte nach Verabreichung an Ratten auch nicht zum Einbau von N^{15} in die Purine (74). *Schoenheimer* und *Plentl* (75) fütterten Ratten und Tauben markiertes *Guanin* (XXVIII), *Uracil* (XXV) und *Thymin* (XXVI), ohne den schweren Stickstoff in den Purinen der Gewebs-Nucleinsäuren auffinden zu können; indessen gelang der Nachweis der Umwandlung in Allantoin, Harnsäure und Ammoniak.

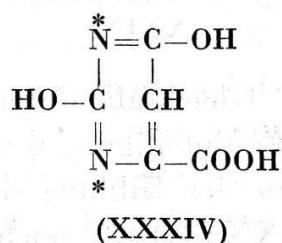
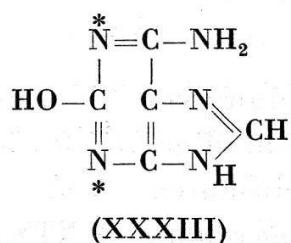
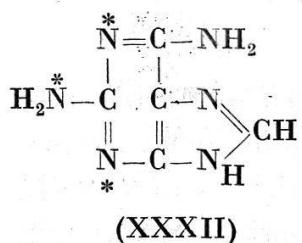


Gleichfalls unter Verwendung von N^{15} prüften Brown u. Mitarb. (76) die Beteiligung weiterer Pyrimidine und Purine, also höherer Bausteine, an der Bildung der Nucleinsäuren. Weder nach Gaben von *Cytosin* (XXVII) (77) noch von *Hypoxanthin* (XXIX) oder *Xanthin* (XXX) (78) an Ratten enthielten die Nucleinsäure-Purine der Tiere schweren Stickstoff. Diese Pyrimidine und Purine der Nahrung finden also zum Aufbau der Nucleoproteine keine Verwendung. Daß sie sich nicht mit den entsprechenden, in den Nucleinsäuren enthaltenen Verbindungen in einem dynamischen Gleichgewicht befinden, war überraschend. Sie nehmen lediglich am Purinabbau, nicht aber am Aufbau teil.

Adenin (XXXI) ist bekanntlich nicht nur in Nucleinsäuren enthalten, sondern auch ein wichtiger Bestandteil vieler Enzyme und der Adenosintriphosphorsäure des Muskels. Adenin, das entsprechende Nucleosid und Nucleotid zeigen zudem pharmakologische Eigenschaften, welche z. B. beim Guanin nicht vorhanden sind. Brown u. Mitarb. (79) fanden nach Fütterung von N^{15} -haltigem Adenin in den *Pentosenucleinsäuren* des Cytoplasmas eine hohe, in den *Desoxynucleinsäuren* der Zellkerne eine niedrigere N^{15} -Konzentration. N^{15} war in Adenin und Guanin der Nucleinsäuren, ferner im Adenosintriphosphat und im Allantoin vorhanden; z. B. ließ sich berechnen, daß 13,7% des Adenins der Nucleinsäuren und 8,2% des Guanins derselben aus dem Nahrungs-Adenin stammten. In den Pyrimidinen war kein schwerer Stickstoff anzutreffen, das Adenin ist also keine Muttersubstanz für dieselben. In der Adenosintriphosphorsäure war der N^{15} -Gehalt bedeutend geringer. Als ein Zwischenprodukt der Umwandlung von Adenin in Guanin erwies sich das *2,6-Diaminopurin* (XXXII). Nach Verabreichung dieser mit schwerem Stickstoff in Stellung 1 und 3 und in der Aminogruppe in 2 signierten

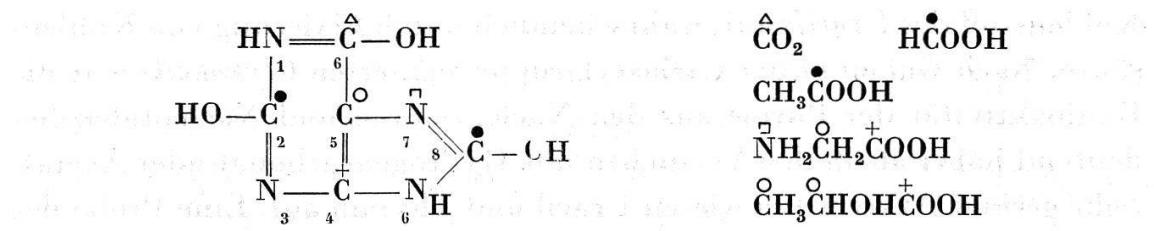
${}^*\text{N} = \text{N}^{14} + \text{N}^{15}$

Verbindung konnte isotopenhaltiges *Nucleinsäure-Guanin* gefunden werden (80). Hingegen führte Fütterung des von *Cherbuliez* und *Bernhard* (81) in der Natur erstmalig aufgefundenen *Isoguanins* oder *2-Oxy-6-aminopurins* (XXXIII), das von *Bendich* u. Mitarb. (82), in Stellung 1 und 3 N¹⁵ enthaltend, synthetisiert wurde, zu keiner Aufnahme von schwerem Stickstoff in die Purine der Nucleinsäuren. Doch wird dieses natürlich vorkommende Purin sehr leicht zu Allantoin oxydiert, auch konnte in einem merklichen Ausmaße schwerer Stickstoff im Harnstoff nachgewiesen werden. Isoguanin bildet demnach interessanterweise Harnstoff.



In den letzten Jahren ergaben sich Hinweise, daß der *Orotsäure* (2,6-Dioxy-pyrimidincarbonsäure [4]) (XXXIV) eine Bedeutung für die Biosynthese der *Pyrimidine* bei *Neurospora* zukommt. *Bergström* u. Mit-
arb. (83) injizierten Ratten N¹⁵-haltige Orotsäure und gewannen aus den Lebern die Polynucleotide und daraus die Riboside. Sowohl im *Cytidin* als im *Uridin* war der N¹⁵-Gehalt beträchtlich, aber nur insignifikant im Adenin und Guanin und in den Proteinen. Orotsäure wird demnach in vivo zur Bildung des Uracils und Cytosins verwendet.

Bereits die Befunde Schoenheimers und Barnes (84), daß N¹⁵-haltiges Ammoniumcitrat im Futter von Ratten und Tauben zur Einführung des schweren Stickstoffes in die Gewebsproteine und in die Harnsäure bzw. das Allantoin führt, legten nahe, der Ureido-Kohlenstoff der Harnsäure stamme aus kleinen Intermediärprodukten. Es gelang in letzter Zeit nachzuweisen, daß Ammoniak, Essigsäure, Milchsäure, Glykokoll und CO₂ Harnsäure-Bausteine darstellen. Sonne, Buchanan und Dellaqua (85) verfütterten an Tauben die folgenden Verbindungen: C¹³O₂, HC¹³OOH, CH₃C¹³OOH, NH₂·CH₂C¹³OOH, CH₃CH(OH)C¹³OOH und C¹³H₃C¹³H(OH)COOH. Durch geeignete Abbaureaktionen der ausgeschiedenen Harnsäure konnten deren C-Atome auf ihren Isotopengehalt geprüft und ihre Herkunft aus den verabreichten, signierten Verbindungen sichergestellt werden. Da durch Versuche von Shemin und Rittenberg (86) bereits feststand, daß der Stickstoff in Stellung 7 der Harnsäure aus dem Glykokoll stammt, ergibt sich für den Aufbau des Trioxypurins folgendes Bild:



Durch eine bisher unbekannte Assimilationsreaktion kommt das Kohlenstoffatom 6 aus der Kohlensäure. Der Carboxyl-Kohlenstoff des Glykokolls ist die Quelle für den Kohlenstoff in Position 4, der α -Kohlenstoff der Aminoessigsäure für den Kohlenstoff in Position 5. Der Carboxyl- und α -Kohlenstoff der Milchsäure werden in Stellung 4 bzw. 5 in die Harnsäure eingebaut, indessen in geringerem Ausmaße, als das für den Carboxyl-Kohlenstoff der Aminoessigsäure der Fall ist. Es ist daher anzunehmen, die Milchsäure werde in Glykokoll umgewandelt und als solches verwendet. Der Carboxyl-Kohlenstoff der Ameisensäure und Essigsäure kann den Kohlenstoff in Stellung 2 und in Stellung 8 liefern. Auch der β -Kohlenstoff der Milchsäure ist in Stellung 5 der Harnsäure nachweisbar.

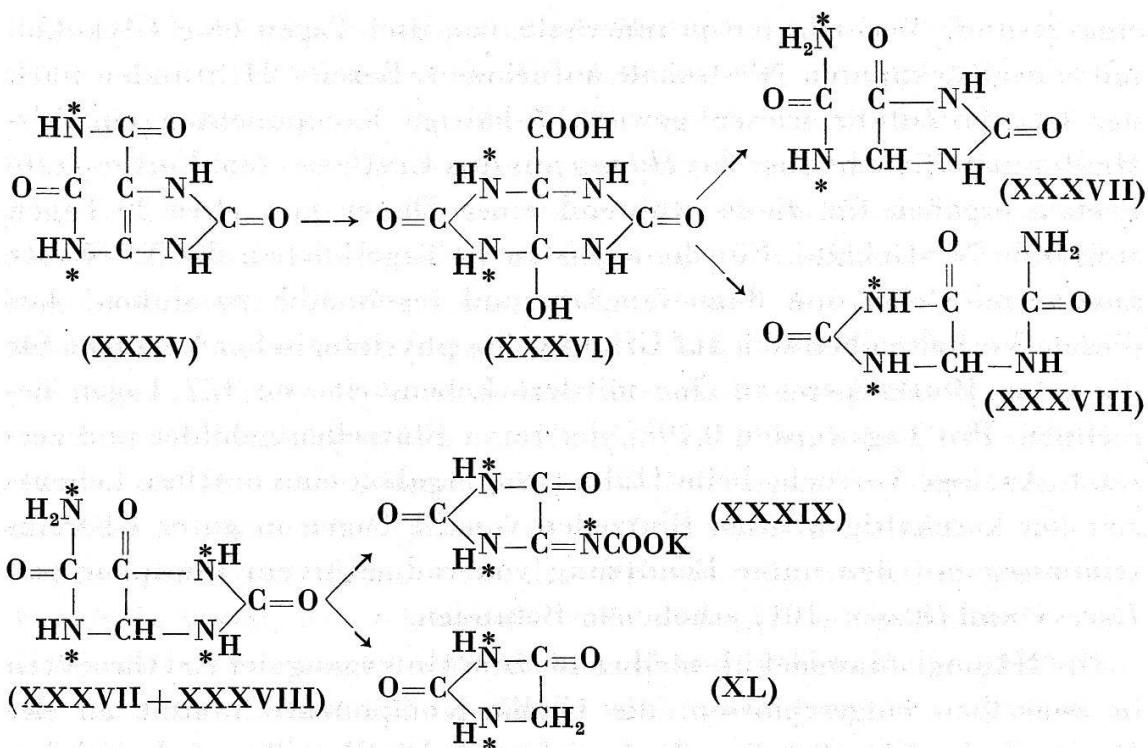
Diese Befunde wurden von Karlsson und Backer (87) bestätigt, welche Tauben im Hinblick auf eine biologische Gewinnung verschiedener signierter Harnsäuren C¹⁴-markierte Verbindungen, nämlich NaHCO₃, HCOOH, CH₂NH₂^{*}COOH und CH₂NH₂COOH, gaben. Hydrogencarbonat führte zu in Stellung 6, Ameisensäure in Stellung 2 und 8 und Carboxyl-signiertes Glykokoll in Stellung 4 radioaktiven Kohlenstoff aufweisender Harnsäure. Der Methyl-Kohlenstoff des Glykokolls ließ sich indessen auch in Position 2, 4 und 8, also nicht wie erwartet, nur in 5 nachweisen.

Wurde Hefe in Gegenwart von N¹⁵-haltigem Glykokoll gezüchtet, so stellten Hammarsten u. Mitarb. (88) eine spezifische Aufnahme desselben in das gebildete Guanin und Adenin fest. Auch hier erwies sich das Glykokoll als spezifischer Donator des Stickstoffes in Stellung 7 des Guanins.

Heinrich, Wilson und Gurin (89) fanden 7 Stunden nach Injektion C¹⁴-haltigen Hydrogencarbonates an Ratten im Nucleotid-Adenin und im Nucleinsäure-Adenin, -Guanin und -Uracil eine geringe Aktivität. Permanganat-Oxydation führte zur Lokalisation des C-Isotopes im Nicht-Ureido-Kohlenstoff des Guanins und im Ureido-Kohlenstoff des Uracils. Wenn eine approximativ adäquate C¹⁴-Menge in Form von Carboxyl-sigiertem Acetat injiziert wurde, war weder im Ureido- noch Guanidino-C des Guanins C¹⁴ nachweisbar. Die höchste Aktivität wies der Ureido-

Kohlenstoff des *Uracils* auf, wahrscheinlich durch Fixierung von Kohlensäure. Nach Gaben in der Carboxylgruppe signierten *Glykokolls* war die Radioaktivität der Purine aus den Nucleinsäuren und Nucleotiden bedeutend höher als in den Versuchen mit Hydrogencarbonat oder Acetat. Sehr geringe Aktivitäten wiesen Uracil und Thymin auf. Eine Probe des Nucleinsäure-Guanins wurde mit HCl zu Glykokoll hydrolysiert, dessen COOH-Gruppe aus dem Kohlenstoff 4 des Guanins stammte und praktisch den gesamten, im Guanin vorhandenen C¹⁴ enthielt. Nach Gaben von Carboxyl-C¹⁴-signiertem *Glykokoll* an Ratten (90) wurde aus dem Harn das *Allantoin* isoliert. Dessen Abbau zu Glyoxylsäure und Harnstoff ließ den Kohlenstoff C¹⁴ in der Glyoxylsäure auffinden, d. h. also in den C-Atomen 4 und 5 des Allantoin-Moleküls. Nach intraperitonealer Verabreichung von carboxyl-signiertem *Acetat* an Ratten war die Aktivität des Allantoins eine nur geringe im Gegensatz zu den Befunden an Tauben, wo Acetatgaben zum Einbau des isotopen Kohlenstoffes in Stellung 2 und 8 der Harnsäure führten. Auch *Marsch* (91) fand nach Gaben signierten *Formiats* an Tauben oder Ratten in den *Nucleinsäuren* eine gewisse Aktivität; sowohl *Adenin* als *Guanin* enthielten C¹⁴. Formiat wird von der Taube in den ersten Stunden nur langsam oxydiert, so daß die Aktivität der Purine nur zu einem geringen Anteil durch CO₂-Fixierung bedingt ist. Bei den Ratten liegen die Verhältnisse gerade umgekehrt, hier stammt der C¹⁴-Gehalt der Purine dank der leichten Oxydierbarkeit des Formiats fast ausschließlich aus der CO₂-Fixierung.

Harnsäure gilt bekanntlich beim Menschen, anthropoiden Affen und beim Dalmatinerhund als Endprodukt des Purinstoffwechsels, während die übrigen Säuger durch von ihnen gebildete Uricase aus dem Trioxypurin *Allantoin* bilden. Als Intermediärprodukt dieser Umwandlung wurde bei der Oxydation mit Kaliumpermanganat *in vitro* die *Oxy-acetylen-diureido-carbonsäure* von *Schuler* und *Reindel* (92) als Silbersalz isoliert. Bei der Oxydation von *Allantoin* (XXXVII und XXXVIII) gewonnen aus in Stellung 1 und 3 mit N¹⁵-signierter *Harnsäure* (XXXV) (93) zu *Kaliumoxonat* (XXXIX) bzw. *Hydantion* (XL) ergab die Isotopenanalyse dieser beiden Verbindungen gleiche N¹⁵-Gehalte wie für das Allantoin (94). Der Übergang der Harnsäure oder des Adenins zu Allantoin führt sowohl *in vitro* als *in vivo* zu einer gleichmäßigen Verteilung des in Stellung 1 und 3 vorhandenen schweren Stickstoffes, zwischen dem Harnstoff- und Imidazolanteil des Allantoin-Moleküls (95). Die Oxydation muß demnach auch *in vivo* über ein symmetrisches Zwischenprodukt, d. h. die *Oxy-acetylen-diureido-carbonsäure* (XXXVI), verlaufen.



Brown u. Mitarb. (96) untersuchten das Verhalten signierter Harnsäure im Stoffwechsel gesunder Versuchspersonen. Nach Aufnahme von 150 mg wurde der Harn während 7 Tagen gesammelt und auf Gesamt-N, Harnsäure, Harnstoff und Ammoniak untersucht. Im Verlauf von vier Tagen erschienen 80% des verabreichten schweren Stickstoffs im Harn. Davon war die Hälfte als *Harnstoff-Stickstoff* und ein Drittel als *Harnsäure-Stickstoff* vorhanden. Die Befunde sind interessant im Hinblick auf uricolytische Vorgänge im menschlichen Organismus oder bakterielle Veränderungen der Harnsäure im Darm und schließlich auch in bezug auf die Beteiligung des Purin-Stickstoffs am Harnstoff- und Harnsäure-Stickstoff.

H. Hämoglobinstoffwechsel

Als Bausteine für die *Pyrrolfarbstoffe* wurden von verschiedenen Autoren zufolge der strukturellen Ähnlichkeit *Prolin* und *Glutaminsäure* bzw. dessen Anhydrid vermutet. Nach Gaben dieser mit N¹⁵ markierten Aminosäuren enthielt der Farbstoff der Erythrocyten aber keine merklichen Mengen schweren Stickstoffs (97). Indessen wird *Glykokoll* in vivo zum Aufbau des Hämoglobins verwendet. Diese Feststellung ergab sich aus Versuchen mit signierter Aminoessigsäure, welche Deuterium, N¹⁵ oder C¹⁴ entweder im α -Methylenkohlenstoff oder in der COOH-Gruppe enthielt. Nach Fütterung solcher Verbindungen konnten die Isotopen stets im Hämoglobin nachgewiesen werden (98), jedoch ergaben sich wesentliche Unterschiede hinsichtlich ihrer Verteilung auf den Farbstoff- oder Globin-Anteil des Moleküls. *Shemin* und *Rittenberg* (99) ließen durch

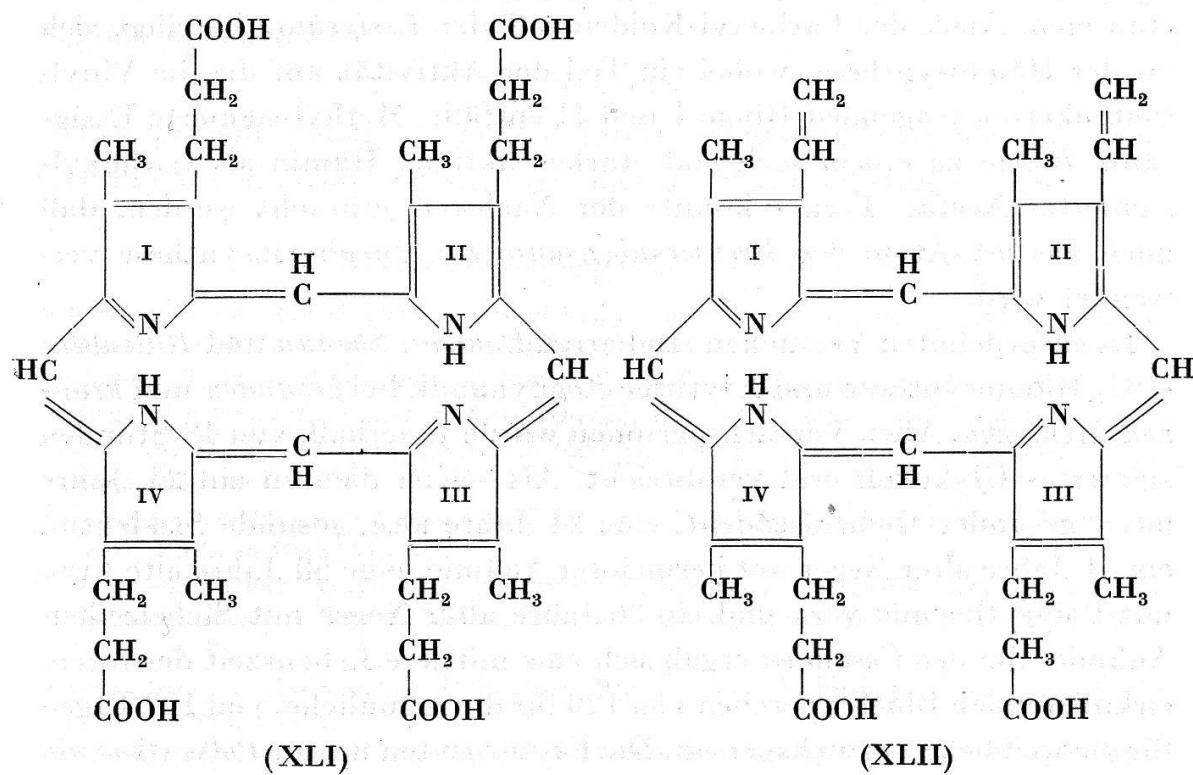
eine gesunde Versuchsperson innerhalb von drei Tagen 66 g Glykokoll mit einem bekannten N¹⁵-Gehalt aufnehmen. Bereits 24 Stunden nach der letzten Zufuhr wiesen gewisse N-haltige Komponenten ein N¹⁵-Maximum auf, nicht aber das *Hämin* aus den Erythrocyten. Fortgesetzte Proben ergaben für dieses während einer Dauer von etwa 20 Tagen steigende N¹⁵-Gehalte. Für die nächsten 70 Tage blieben die N¹⁵-Werte annähernd gleich, um dann langsam und regelmäßig zu sinken. Aus diesem Verhalten ließ sich auf Grund völlig physiologischer Versuche für die roten Blutkörperchen eine mittlere Lebenszeit von 127 Tagen berechnen. Pro Tag wurden 0,79% der roten Blutzellen gebildet und zerstört. Analoge Versuche beim Huhn (100) ergaben eine mittlere Lebenszeit der kernhaltigen roten Blutzellen von 28 Tagen in guter Übereinstimmung mit den unter Benützung von radioaktivem Phosphor von Hevesy und Ottesen (101) erhobenen Befunden.

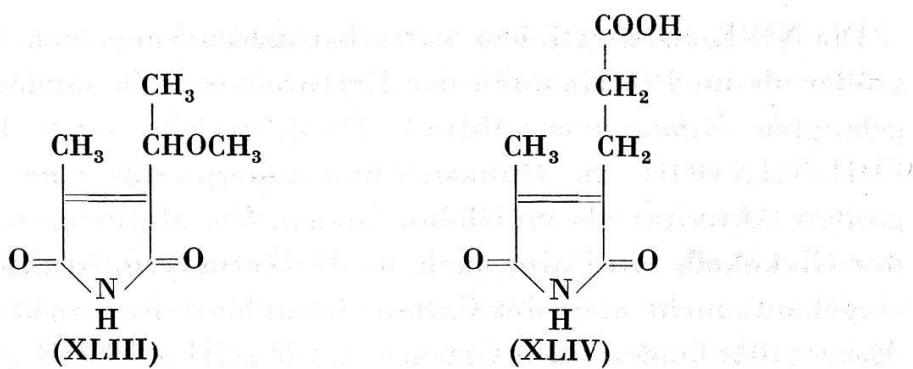
Die Hämoglobinmoleküle bleiben bis zum Untergang der Erythrocyten in denselben eingeschlossen, die Globin-Komponente nimmt an der Dynamik des Eiweißstoffwechsels nicht teil. Die Beteiligung des Glykokolls ist durchaus spezifisch; eine Reihe anderer N-haltiger Verbindungen (97) vermögen am Aufbau des Blutfarbstoffes nicht mitzuwirken, indessen wohl das *Acetylglykokoll* und das *Serin*. Ersteres wird hydrolysiert und tritt als Aminoessigsäure in Wirkung, vom Serin ist sein Übergang *in vivo* in Glykokoll bekannt (65). Da Glykokoll also Serin und Serin Glykokoll bilden kann, blieb die Frage zu entscheiden, von welcher der beiden Aminosäuren die Häminsynthese ausgeht. Es wurde daher einerseits Blut mit isotoper Aminoessigsäure und gewöhnlichem Serin und anderseits mit gewöhnlichem Glykokoll und isotopem Serin bebrütet. Die N¹⁵-Konzentration des Hämins war im ersten Falle beträchtlich, während der zweite Versuch mit dem Gemisch von gewöhnlichem Glykokoll und signiertem Serin nicht zum Einbau der Isotopen in das Hämin führte. Das Glykokoll ist demnach der unmittelbare Baustein (100).

Kernhaltige rote Blutzellen der Vögel, z. B. der Ente, vermögen auch *in vitro* aus Glykokoll Hämin zu bilden (102). Bei 0–5° unter aeroben Bedingungen findet die Synthese nicht statt. Zugabe von Eisen, Glukose, Acetat, α -Ketoglutarsäure oder Pyridoxal vermag sie nicht zu beeinflussen. Lagerung des Blutes während 2 Tagen bei 5° und Herabsetzung der Sauerstoffspannung von 95 auf 20% bleiben ohne Einfluß. Gewaschene Erythrocyten sind zur Synthese befähigt; werden sie zerstört, so findet keine Häminbildung mehr statt. Acetylglycin kann von den Enten-Erythrocyten nicht ausgenutzt werden, indem die fermentative Spaltung in Essigsäure und Aminoessigsäure ausbleibt.

Die N¹⁵-Konzentrationen waren bei diesen Versuchen im Häm stets größer als im Proteinanteil der Erythrocyten. Zu analogen Resultaten gelangten Altmann u. Mitarb. (103), welche nach Fütterung von C¹⁴H₂NH₂COOH im Hämoglobinprotoporphyrin eine 7- bis 10fach größere Aktivität als im Globin fanden. Das Methylen-Kohlenstoffatom des Glykokolls wird also auch in die Tetrapyrrolstruktur des Hämins eingebaut, nicht aber der Carboxyl-Kohlenstoff. Grinstein, Kamen und Moore (104) fanden nach Gaben von CH₂(NH₂)C¹⁴OOH wohl im Globin, nicht aber im Protoporphyrin radioaktiven Kohlenstoff. Sie berechneten für die roten Blutkörperchen von Hunden auf Grund der Globin-Aktivität eine mittlere Lebensdauer von 78–95 ± 5 Tagen. Aus dem Harn und den Faeces isolierter *Koproporphyrin-I-tetramethylester* erwies sich als inaktiv. Offenbar nimmt an der Protoporphyrinsynthese nur der -CH₂·NH₂-Anteil des Glykokolls teil, während es gesamthaft zum Globinaufbau verwendet wird, da sowohl sein Stickstoff, der Methylen- und Carboxyl-Kohlenstoff im Globin nachweisbar sind. Es sei denn, es werde bei der Pyrrol-Kondensation zu Tetrapyrrol CO₂ abgespalten. Auch aus Versuchen mit C¹⁴-Glykokoll geht hervor, daß das Globin der intakten Erythrocyten am Eiweißstoffwechsel nicht teilnimmt, sondern in der Blutzelle bis zu deren Zerstörung verbleibt.

Nach Gaben von N¹⁵-Glykokoll konnte der schwere Stickstoff aber auch im *Koproporphyrin I* (XLI) und im *Protoporphyrin IX* (XLII) nachgewiesen werden (105). Aus den oben genannten und diesen Befun-





den folgt, daß das Koprotoporphyrin I des Kotes ein Nebenprodukt der Protoporphyrin-IX-Bildung darstellt. Im Protoporphyrin IX tragen die Pyrrolringe I und II Methyl- und Vinyl-Seitenketten, die Pyrrolringe III und IV Methyl- und Propionsäure-Seitenketten. Um festzustellen, ob die beiden Ringtypen in verschiedener Weise aufgebaut werden, untersuchten Shemin u. Mitarb. (100) die N¹⁵-Verteilung in dem nach Glykokoll-Gaben erhaltenen signierten Hämin. Das Hämatoporphyrin wurde als Dimethyläther oxydiert und aus den Ringen I und II *Methyl-methoxy-äthyl-maleinimid* (XLIII), aus den Ringen III und IV *Hämatinsäure* (XLIV) erhalten. Die N¹⁵-Konzentration war dieselbe; alle Ringe des Porphyrins verwenden zu ihrem Aufbau Glykokoll; man darf wohl annehmen, daß für die verschiedenen Pyrrolringe des Protoporphyrins ein gemeinsamer Pyrrolbaustein vorliegt. Aus Vergleichen der C¹⁴- und N¹⁵-Konzentration des nach Gaben von N¹⁵- oder C¹⁴-signierten Glykokolls isolierten Hämins schlossen Radin, Rittenberg und Shemin (106), daß mehr als 4 C-Atome desselben aus den α-C-Atomen der Aminoessigsäure stammen. Auch der Carboxyl-Kohlenstoff der *Essigsäure* beteiligt sich an der Häminsynthese, wobei ein Teil der Aktivität auf die die Vinyl-Seitenketten tragenden Ringe I und II entfällt. Methyl-signierte Essigsäure führte zu einem sechsmal stärker aktiven Hämin als Carboxyl-signiertes Acetat. Ferner konnte der Nachweis erbracht werden, daß auch das α-C-Atom der *Brenztraubensäure* zur Porphyrinsynthese verwendet wird.

In ausgedehnten Versuchen studierten London, Shemin und Rittenberg (107) Häminsynthese und Erythrocytendynamik bei gesunden und kranken Menschen. Allen Versuchspersonen wurde innerhalb von 48 Stunden signiertes Glykokoll oral verabreicht. Als solche dienten ein 23 Jahre alter, gesunder Medizinstudent, eine 24 Jahre alte, gesunde Studentin, ein 51 Jahre alter Neger mit perniciöser Anämie, eine 58 Jahre alte Frau mit Polycythaemia vera und ein 26 Jahre alter Neger mit Sichelzellen-Anämie. Bei den *Gesunden* ergab sich eine mittlere Lebenszeit der roten, zirkulierenden Blutkörperchen von 120 für die männliche, von 109 Tagen für die weibliche Versuchsperson. Die Erythrocyten der an *Polycythaemia*

vera erkrankten Patienten wiesen eine Lebenszeit von 131 Tagen auf und es bestanden bezüglich der roten Blutzellen normale Verhältnisse. Indessen war das Ausmaß der Erythrocyten- und Hämoglobinproduktion etwa 2½mal größer als in der Norm. Diese gesteigerte Aktivität des hämatopoetischen Systems wird durch das Vorliegen eines benignen neoplastischen Prozesses erklärt, unter der Voraussetzung, daß die Polycythämie im Sinne von *Minot* und *Buchman* zu den Neoplasmen zu zählen ist. Bei der *Sichelzellen-Anämie* werden die roten Blutzellen, die auch *in vitro* zur Häminsynthese befähigt sind (108) zielloos und nicht als Funktion ihres Alters zerstört. Ihre Halb-Lebenszeit betrug 29 Tage. Das Ausmaß der Hämoglobin- und Erythrocytenbildung und -zerstörung war 2,8mal größer als in der Norm. Die Untersuchung des an *perniciöser Anämie* leidenden Negers ergab vor der Behandlung ein anormales Bild des Erythrocytenzerfalls. Die Hämoglobinproduktion war auf $\frac{4}{5}$ der Norm herabgesetzt, die Erythrocytenbildung auf die Hälfte. Nach Behandlung mit Leberextrakt stellten sich normale Verhältnisse ein und die mittlere Lebenszeit der roten Blutkörperchen betrug 129 Tage.

Die Ausnutzung mit der Nahrung zugeführten Glykokolls zur Protoporphyrinsynthese erfolgt sehr rasch; schon einige Stunden nach Gaben signierter Glykokolls sind isotopenhaltige Erythrocyten im Blute nachweisbar.

Zusammenfassung

Die vorliegenden Ausführungen betreffen neuere Ergebnisse aus dem Gebiete der Stoffwechselforschung unter Anwendung der Isotopen als Signierungsmittel.

Summary

The present synopsis concern latest results on research on intermediary metabolism applying isotopes as tracer substances.

Neueste zusammenfassende Darstellungen

Schoenheimer, R.: The dynamic state of body constituents. Cambridge, Massachusetts, Harvard University Press 1946, 78. S.

Buchanan, J. M., und Hastings, A. Baird: The use of isotopically marked carbon in the study of intermediary metabolism. *Physiol. Rev. (Am.)* **26**, 120–155 (1946).

Kamen, M. D.: Radioactive tracers in biology. Academic Press Inc. Publishers, New York 1948, 281 S.

A Symposium on the use of Isotopes in Biology and Medicine. The University of Wisconsin Press, Madison 1948, 445 S.

Cold Spring Harbor Symposia on quantitative Biology, Vol. 13: Biological Applications of Tracer Elements. The Biological Laboratory, Cold Spring Harbor, New York 1948, 221 S. in 4°.

Hevesy, George: Radioactive Indicators, Interscience Publishers, Inc. New York, London 1948, 556 S.

Calvin, M., Heidelberger, C., Reich, J. C., Tolbert, B. M., und Yankwich, P. E.: Isotope

Carbon. Techniques in its measurement and chemical manipulation. J. Wiley and Sons Inc., New York/Chapman and Hall Ltd., London 1949, 376 S.
Siehe auch: *Advances in Biology and Medical Physics*, Vol. I. Academic Press Inc., New York 1948, 448 S.

1. Rittenberg, D.: Cold Spring Harbor Symposia **13**, 173 (1948). – 2. Bloch, K.: Physiol. Rev. (Am.) **27**, 574 (1947). – 3. Tarver, H., und Schmidt, C. L.: J. biol. Chem. (Am.) **130**, 67 (1939). – 4. Kilmer, G. W., und du Vigneaud, V.: J. biol. Chem. (Am.) **154**, 247 (1944); du Vigneaud, V., Kilmer, G. W., Rachele, J. R., und Cohn, M.: J. biol. Chem. (Am.) **155**, 645 (1944). – 5. Stetten, D. W. jr.: J. biol. Chem. (Am.) **144**, 501 (1942). – 6. Bernhard, K., und Bullet, F.: Helv. Chim. Acta **26**, 1185 (1943). – 7. Stetten, D. W., und Schoenheimer, R.: J. biol. Chem. (Am.) **133**, 329 (1940); Klem, A.: Fette und Seifen **51**, 184 (1944). – 8. Rittenberg, D., und Bloch, K.: J. biol. Chem. (Am.) **160**, 417 (1945). – 9. Bloch, K., und Rittenberg, D.: J. biol. Chem. (Am.) **155**, 243 (1944); Bloch, K.: J. biol. Chem. (Am.) **155**, 255 (1944). – 10. Sonderhoff, R., und Thomas, H.: Ann. Chem. **530**, 195 (1937). – 11. White, A. G. C., und Werkman, C. H.: Arch. Biochem. **13**, 27 (1947). – 12. Barker, H. A., Kamen, M. D., und Bornstein, B. T.: Proc. Nat. Acad. Sci. (Washington) **31**, 373 (1945). – 13. Bernhard, K., und Albrecht, H.: Helv. Chim. Acta **31**, 2214 (1948). – 14. Bloch, K., und Kramer, W.: J. biol. Chem. (Am.) **173**, 811 (1948). – 15. Anker, H. S.: Fed. Proc. (USA) **7**, 142 (1948). – 16. Gurin, S., Delluva, A. M., und Wilson, D. W.: J. biol. Chem. (Am.) **171**, 101 (1947). – 17. Bloch, K.: Cold Spring Harbor Symposia **13**, 29 (1948). – 18. Chernick, S., Srere, P. A., und Chaikoff, I. L.: J. biol. Chem. (Am.) **179**, 113 (1949). – 19. Stetten, DeW., und Boxer, G. E.: J. biol. Chem. (Am.) **156**, 271 (1944). – 20. Swendseid, M. E., Barnes, R. H., Hemingway, A., und Nier, A. O.: J. biol. Chem. (Am.) **142**, 47 (1942). – 21. Medes, G., Weinhouse, S., und Floyd, N. F.: J. biol. Chem. (Am.) **157**, 751, **158**, 411 (1945). – 22. Weinhouse, S., Medes, G., und Floyd, N. F.: J. biol. Chem. (Am.) **153**, 689, **155**, 143 (1944). – 23. Buchanan, J. M., Sakami, W., und Gurin, S.: J. biol. Chem. (Am.) **169**, 411 (1947). – 24. Bernhard, K.: Z. physiol. Chem. **267**, 91, 99 (1940); **271**, 208 (1941); Bernhard, K., und Steinhauser, H.: Z. physiol. Chem. **273**, 31 (1942). – 25. Bernhard, K., und Vischer, E.: Helv. Chim. Acta **29**, 929 (1946). – 26. Chaikoff, I. L., Lerner, S. R., Entenman, C., und Dauben, W. G.: J. biol. Chem. (Am.) **174**, 1045 (1948). – 27. Buchanan, J. M., und Hastings, A. B.: Physiol. Rev. (Am.) **26**, 120 (1946). – 28. Wood, H. G.: Cold Spring Harbor Symposia **13**, 201 (1948). – 29. Hevesy, G.: Ann. Rev. biochem. **9**, 641 (1940); Adv. Biol. Med. Phys. **1**, 409 (1948). – 30. Chaikoff, I. L.: Adv. Biol. Med. Phys. **1**, 322 (1948). – 31. Fishler, M. C., Entenman, C., Montgomery, M. L., und Chaikoff, I. L.: J. biol. Chem. (Am.) **150**, 47 (1943). – 32. Bloch, K., und Rittenberg, D.: J. biol. Chem. (Am.) **143**, 297, **145**, 625 (1942). – 33. Bloch, K., Borek, E., und Rittenberg, D.: J. biol. Chem. **162**, 441 (1946). – 34. Bloch, K.: The use of isotopes in Biology and Medicine, 243, University of Wisconsin, Madison 1948. – 35. Bloch, K., Berg, B. N., und Rittenberg, D.: J. biol. Chem. **149**, 511 (1943). – 36. Bloch, K., und Rittenberg, D.: J. biol. Chem. (Am.) **149**, 505 (1943). – 37. Waelsch, H., Sperry, W. M., und Stoyanoff, V. A.: J. biol. Chem. **135**, 297 (1940). – 38. Bloch, K.: J. biol. Chem. **157**, 661 (1945). – 39. Stetten, DeW., und Boxer, G. E.: J. biol. Chem. (Am.) **155**, 231 237, **156**, 271 (1944); Stetten, DeW.: J. biol. Chem. (Am.) **159**, 123 (1945); Stetten, DeW., und Stetten, M. R.: J. biol. Chem. (Am.) **165**, 147 (1946). – 40. Wood, H. G., Lifson, N., und Lorber, V.: J. biol. Chem. **159**, 475 (1945). – 41. Wood, H. G.: Isotopes in Biology and Medicine. University Press, Wisconsin 1948, S. 209. – 42. Heidelberger, C., Gullberg, M. E., Morgan, A. F., und Lepkovsky, S.: J. biol. Chem. (Am.) **175**, 471 (1948); **179**, 143 (1949). – 43. Lepkovsky, S., Roboz, E., und Haagen-Smit, A. J.: J. biol. Chem. (Am.) **149**, 195 (1943). – 44. Hundley, J. M., und Bond, H. W.: J. biol. Chem. (Am.) **173**, 513 (1948). – 45. Rosen, F., Huff, J. W., und Perlzweig, W. A.: J. biol. Chem. (Am.) **163**, 343 (1946). – 46. Sarett, H. P., und Goldsmith, G. A.: J. biol. Chem. (Am.) **167**, 293 (1947). – 47. Beadle, G. W., Mitchell, H. K., und Nic, J. F.: Proc. Nat. Acad. Sci. **33**, 155 (1948); Mitchell, H. K., und Nyc, J. F.: Proc. Nat. Acad.

Sci. **34**, 1 (1948); *Mitchell, H. K., Nyc, J. F., und Owen, R. D.*: J. biol. Chem. (Am.) **175**, 433 (1948). – 48. *Heidelberger, C., Abraham, E. P., und Lepkovsky, S.*: J. biol. Chem. (Am.) **179**, 151 (1949). – 49. *Schayer, R. W., Foster, G. L., and Shemin, D.*: Fed. Proc. (USA) **8**, 248 (1949). – 50. *Moss, A. R., und Schoenheimer, R.*: J. biol. Chem. (Am.) **135**, 415 (1940). – 51. *Gurin, S., und Dellaqua, A. M.*: J. biol. Chem. (Am.) **170**, 545 (1947). – 52. *Schepartz, B., und Gurin, S.*: Fed. Proc. (USA) **8**, 248 (1949); J. biol. Chem. (Am.) **180**, 663 (1949). – 53. *Weinhouse, S., und Millington, R. H.*: J. biol. Chem. (Am.) **175**, 995 (1948). – 54. *Coon, M. J., Gurin, S., und Wilson, D. W.*: Fed. Proc. (USA) **8**, 192 (1949). – 55. *Foster, G. L., Rittenberg, D., und Schoenheimer, R.*: J. biol. Chem. (Am.) **125**, 13 (1938); *Weissman, N., und Schoenheimer, R.*: J. biol. Chem. (Am.) **140**, 779 (1941). – 56. *Borsook, H., Deasy, C. L., Haagen-Smit, A. J., Keighley, G., und Lowy, P. H.*: J. biol. Chem. (Am.) **173**, 423 (1948); *Borsook, H., Deasy, C. L., Haagen-Smit, A. J., Keighley, G., und Lowy, P. H.*: J. biol. Chem. (Am.) **176**, 1383 (1948). – 57. *Mitchell, H. K., und Houlahan, M. B.*: J. biol. Chem. (Am.) **174**, 883 (1948). – 58. *Borsook, H., Deasy, C. L., Haagen-Smit, A. J., Keighley, G., und Lowy, P. H.*: J. biol. Chem. (Am.) **176**, 1395 (1948). – 59. *Miller, L. L.*: Fed. Proc. (USA) **8**, 229 (1949). – 60. *Ratner, S.*: J. biol. Chem. (Am.) **152**, 559 (1944). – 61. *Kögl, F., und Erxleben, H.*: Z. physiol. Chem. **258**, 57 (1939). – 62. *Kögl, F.*: Exper. **5**, 173 (1949). – 63. *Shemin, D., und Rittenberg, D.*: J. biol. Chem. (Am.) **151**, 507 (1943). – 64. Vgl. *Kögl, F.*: Exper. **5**, 173 (1949). – 65. *Shemin, D.*: J. biol. Chem. (Am.) **162**, 297 (1946). – 66. *Ehrensvärd, G., Sperber, E., Saluste, E., Reio, L., und Stjernholm, R.*: J. biol. Chem. (Am.) **169**, 759 (1947). – 67. *Winnick, T., Moring-Claesson, I., und Greenberg, D. M.*: J. biol. Chem. (Am.) **175**, 127 (1948). – 68. *Sakami, W.*: J. biol. Chem. (Am.) **176**, 995 (1948). – 69. *Sakami, W.*: J. biol. Chem. (Am.) **178**, 519 (1949). – 70. *Sakami, W.*: Fed. Proc. (USA) **8**, 246 (1949). – 71. *du Vigneaud, V., Chandler, J. P., Cohn, M., und Brown, G. B.*: J. biol. Chem. (Am.) **134**, 787 (1940); *du Vigneaud, V., Cohn, M., Chandler, J. P., Schenk, J. R., und Simmonds, S.*: J. biol. Chem. (Am.) **140**, 625 (1941). – 72. *Keller, E. B., Rachele, J. R., und du Vigneaud, V.*: J. biol. Chem. (Am.) **177**, 733 (1949). – 73. *Bloch, K.*: J. biol. Chem. (Am.) **165**, 477 (1946). – 74. *Tesar, C., und Rittenberg, D.*: J. biol. Chem. (Am.) **170**, 35 (1947). – 75. *Plentl, A. A., und Schoenheimer, R.*: J. biol. Chem. (Am.) **153**, 203 (1944). – 76. *Brown, G. B.*: Cold Spring Harbor Symposia **13**, 43 (1948). – 77. *Bendich, A., Getler, H., und Brown, G. B.*: J. biol. Chem. (Am.) **177**, 565 (1949). – 78. *Getler, H., Roll, P. M., Tinker, J. F., und Brown, G. B.*: J. biol. Chem. (Am.) **178**, 259 (1949). – 79. *Brown, G. B., Roll, P. M., Plentl, A. A., und Cavalieri, L. F.*: J. biol. Chem. (Am.) **172**, 469 (1948); *Brown, G. B., Petermann, M. L., und Furst, S. S.*: J. biol. Chem. (Am.) **174**, 1043 (1948). – 80. *Bendich, A., und Brown, G. B.*: J. biol. Chem. (Am.) **176**, 1471 (1948). – 81. *Cherbuliez, E., und Bernhard, K.*: Helv. Chim. Acta **15**, 464, 978 (1932). – 82. *Bendich, A., Tinker, J. F., und Brown, G. B.*: J. amer. chem. Soc. **70**, 3109 (1948). – 83. *Bergström, S., Arvidson, H., Hammarsten, E., Eliasson, N. A., Reichard, P., und v. Ubisch, H.*: J. biol. Chem. (Am.) **177**, 495 (1949). – 84. *Barnes, F. W., jr., und Schoenheimer, R.*: J. biol. Chem. (Am.) **151**, 123 (1943). – 85. *Sonne, J. C., Buchanan, J. M., und Dellaqua, A. M.*: J. biol. Chem. (Am.) **173**, 69 (1948); *Buchanan, J. M., Sonne, J. C., und Dellaqua, A. M.*: J. biol. Chem. (Am.) **173**, 81 (1948). – 86. *Shemin, D., und Rittenberg, D.*: J. biol. Chem. (Am.) **167**, 875 (1947). – 87. *Karlsson, J. L., und Barker, H. A.*: J. biol. Chem. (Am.) **177**, 597 (1949). – 88. *Abrams, R., Hammarsten, E., und Shemin, D.*: J. biol. Chem. (Am.) **173**, 429 (1948). – 89. *Heinrich, M. R., Wilson, D. W., und Gurin, S.*: Fed. Proc. (USA) **8**, 205 (1949). – 90. *Valentine, J. D., Gurin, S., und Wilson, D. W.*: Fed. Proc. (USA) **8**, 262 (1949). – 91. *Marsh, W. H.*: Fed. Proc. (USA) **8**, 225 (1949). – 92. *Schuler, W., und Reindel, W.*: Z. physiol. Chem. **208**, 248 (1932). – 93. *Cavalieri, L. F., Blair, V. E., und Brown, G. B.*: J. amer. chem. Soc. **70**, 1240 (1948). – 94. *Cavalieri, L. F., und Brown, G. B.*: J. amer. Chem. Soc. **70**, 1242 (1948). – 95. *Brown, G. B., Roll, P. M., und Cavalieri, L. F.*: J. biol. Chem. (Am.) **171**, 835 (1947). – 96. *Bendich, A., Geren, W. D., Bodansky, O., und Brown, G. B.*: Fed. Proc. (USA) **8**, 183 (1949). – 97. *Shemin, D., und Rittenberg, D.*: J. biol. Chem.

(Am.) **166**, 621 (1946). – 98. *Bloch, K.*, und *Rittenberg, D.*: J. biol. Chem. (Am.) **159**, 45 (1945); *Shemin, D.*, und *Rittenberg, D.*: J. biol. Chem. (Am.) **159**, 567 (1945). – 99. *Shemin, D.*, und *Rittenberg, D.*: J. biol. Chem. (Am.) **166**, 627 (1946). – 100. *Shemin, D.*: Cold Spring Harbor Symposia **13**, 185 (1948). – 101. *Hevesy, G.*, und *Ottesen, J.*: Nature **156**, 534 (1945). – 102. *Shemin, D.*, *London, I. M.*, und *Rittenberg, D.*: J. biol. Chem. (Am.) **173**, 799 (1948). – 103. *Altman, K. I.*, *Casarett, G. W.*, *Masters, R. E.*, *Noonan, T. R.*, und *Salomon, K.*: Fed. Proc. (USA) **7**, 2 (1948); J. biol. Chem. (Am.) **176**, 319 (1948). – 104. *Grinstein, M.*, *Kamen, M. D.*, und *Moore, C. V.*: J. biol. Chem. (Am.) **174**, 767 (1948); **179**, 359 (1949). – 105. *Grinstein, M.*, *Kamen, M. D.*, und *Moore, C. V.*: J. Labor. a. clin. Med. (Am.) **33**, 1478 (1948). – 106. *Radin, S. N.*, *Rittenberg, D.*, und *Shemin, D.*: Fed. Proc. (USA) **8**, 240 (1949). – 107. *London, I. M.*, *Shemin, D.*, und *Rittenberg, D.*: J. biol. Chem. (Am.) **173**, 797 (1948); *London, I. M.*, *Shemin, D.*, *West, R.*, und *Rittenberg, D.*: J. biol. Chem. (Am.) **179**, 463 (1949). – 108. *London, I. M.*, *Shemin, D.*, und *Rittenberg, D.*: J. biol. Chem. (Am.) **173**, 797 (1948).