**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:** 6 (1950)

**Heft:** 5-6

**Artikel:** Der Stoffwechsel der Essigsäure im tierischen Organismus

Autor: Bernhard, Karl

**DOI:** https://doi.org/10.5169/seals-309062

### 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:** 02.12.2025

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

# Wissenschaftliche Sitzung vom 21. September 1949 in Basel

D. K. 612.015.3

# Der Stoffwechsel der Essigsäure im tierischen Organismus Von Karl Bernhard, Basel

Stoffwechseluntersuchungen mit Hilfe der Isotopen als Indikatoren haben als Ergebnis von fundamentaler Bedeutung den dynamischen Zustand der Körperbestandteile erkennen lassen. Mit erstaunlicher Rapidität werden sowohl «große» als «kleine Moleküle» von der lebenden Zelle auf- und abgebaut, deren Stabilität durch die exakte Ausbalancierung exergoner und endergoner Reaktionsfolgen bedingt ist.

Dank der Isotopentechnik sind wir heute in der Lage, auch das Schicksal der kleinen Bausteine der Zelle zu verfolgen und ihre Beteiligung am Aufbau der letzteren festzustellen. So haben Rittenberg und Mitarb. (1) von einer einfachen Aminosäure, dem Glykokoll, gezeigt, daß es zur Synthese des Glutathions, des Kreatins, der Protoporphyrine und der Purine verwendet wird und ferner in Serin und Cystein übergehen oder als NH<sub>2</sub>-Donator zur Bildung anderer Aminosäuren dienen kann.

Obwohl in der Essigsäure ein Intermediärprodukt des Stoffwechsels vermutet wurde, war ihre Rolle innerhalb desselben bis vor kurzem unbekannt. Das mag nicht zuletzt auch daher rühren, daß ihr Nachweis und ihre quantitative Bestimmung erschwert sind und die Auffindung wesentlicher Mengen dieser Verbindung im tierischen Organismus nie gelang.

Ihre Entstehung wurde indessen sowohl von Knoop (2) und Dakin (3) beim  $\beta$ -oxydativen Abbau der Fettsäuren vorausgesetzt. Theoretische Überlegungen führten zur Annahme, das abgespaltene  $C_2$ -Bruchstück wäre Essigsäure, was indessen nicht bewiesen werden konnte. Auch als Intermediärprodukt des Kohlenhydratstoffwechsels, etwa durch Bildung aus Brenztraubensäure, wurde an Essigsäure gedacht. Schließlich stellte man sich auch den Abbau gewisser Aminosäuren zu Essigsäure vor.

Das Studium des Essigsäurestoffwechsels blieb indessen in der Hauptsache auf die zu den Entgiftungsreaktionen gezählten Acetylierungen körperfremder Amine beschränkt, Vorgänge, die im Zusammenhang mit der therapeutischen Anwendung der Sulfanilamide auch praktisches Interesse gewannen (Klein und Harris, Miescher und Zehnder). Das Ausmaß dieser Acetylierungen ist weitgehend von der Tierart und von der

Beschaffenheit und Menge der aufgenommenen Verbindungen abhängig. Es gelang indessen nicht, durch Fütterungsversuche die Natur des Acetyldonators aufzuklären, da letzterer im Stoffwechsel in viel größeren Mengen zur Verfügung steht, als für die Acetylierung körperfremder Amine benötigt werden. Durch Zugabe von Essigsäure, Brenztraubensäure oder Acetessigsäure zur Nahrung konnte eine wesentliche Beeinflussung nicht erwartet werden; die Ergebnisse solcher Versuche sind daher auch widersprechend, indem gefunden wurde, daß Acetatgaben die Acetylierung sowohl steigern als auch senken. Klein und Harris (4) bewiesen die Acetylierung von Sulfanilamid in vitro durch Schnitte von Rattenlebern und beobachteten erhöhte Ausbeuten an Acetylsulfanilamid bei gleichzeitigen Zusätzen von Salzen der Essig-, Brenztrauben-, Milchund Acetessigsäure.

Wir konnten zeigen, daß die Acetylierungen durch Essigsäure erfolgen und damit in prinzipieller Weise auf die Bedeutung dieser Verbindung im Intermediärstoffwechsel hinweisen. Das Studium der Acetylierungen mit signierten Verbindungen war für die Erforschung des Essigsäurestoffwechsels von großem Werte (5).

Nach Fütterung von Deuterioessigsäure und von Sulfanilamid an Kaninchen (6) enthielt das im Harn ausgeschiedene Acetylsulfanilamid in der Acetylgruppe schweren Wasserstoff, womit die Beteiligung der Essigsäure an diesem Vorgang bewiesen war:

$$NH_2SO_4 \cdot C_6H_4 \cdot NH_2 + HOOCCH_3 \longrightarrow NH_2SO_4 \cdot C_6H_4 \cdot NHCOCH_3$$

Die Tiere erhielten pro 1 g Sulfanilamid 1,05 g Deuterioessigsäure. Die Acetylverbindungen wurden weitgehend quantitativ isoliert. Die experimentellen Daten ergeben sich aus der Tab. 1.

Tab. 1. Fütterung von Sulfanilamid und Deuterioacetat  $(6.06 \pm 0.15 \text{ Atom-}\% \text{ D})$  an Kaninchen.

Tier-Nr.	Sulfanilamid mg/kg/die	Acetylverbindung		
		Ausbeute in %	Atom-% D in der Acetyl- gruppe	
1	220	30,2	0,30	
2	398	29,3	0,97	
2	398	36,0	0,76	
. 3	424	29,7	0,53	
4	615	33,3	1,13	
5	574	34,7	0,33	
6	474	27,8	0,83	
		A N		

Auf Grund der eingetretenen Isotopenverdünnung kann berechnet werden, daß sich die verfütterte Deuterioessigsäure zu 5, 16, 13, 9, 19, 5 und 14, im Mittel zu 12% an der Acetylierung beteiligte. Auch ein Selbstversuch führte zu einem analogen Resultat; die Acetylgruppe wies 0.56 Atom-% D auf, die Beteiligung der Essigsäure betrug 9%. Nach Fütterung von p-Amino-benzoesäure und Deuterioessigsäure  $(8.1 \pm 0.15$  Atom-% D) an ein Kaninchen enthielt der Harn p-Acetylaminobenzoesäure mit einem Gehalt der Acetylgruppe an Deuterium von 0.54 Atom-%.

Es stand somit fest, daß Acetylierungen körperfremder Amine mit Essigsäure erfolgen. Da letztere dem Tierkörper aus verschiedenen Quellen zur Verfügung steht, ist die beobachtete Isotopenverdünnung begreiflich. Wir versuchten, ob Bernsteinsäure einen Acetyldonator darstelle, fanden aber nach Gaben von Deuteriobernsteinsäure und Sulfanilamid an Kaninchen im Acetylsulfanilamid keinen schweren Wasserstoff (7). Wenn bei der Dehydrierung zu Fumarsäure der schwere Wasserstoff nicht völlig ausgetauscht wird, kann geschlossen werden, der Abbau der Bernsteinsäure führe nicht zu einem Acetyldonator. Essigsäurebildung aus Bernsteinsäure treffen wir nach Slade und Werkman (8) bei gewissen Bakterien an.

Bereits 1910 wies *Knoop* auf die Möglichkeit der Entstehung von Acetylderivaten als Intermediärprodukte der Aminosäuresynthese in vivo hin, Vorstellungen, die in der Folge durch Arbeiten von du Vigneaud und Mitarb. erweitert wurden. Wir hatten in früheren Untersuchungen festgestellt (9), daß L-, D- oder DL-Hexahydrophenylalanin acetyliert ausgeschieden werden, und versuchten die Beteiligung der Essigsäure an der Acetylierung von Aminosäuren an diesem Beispiel zu beweisen (10). Tatsächlich erwies sich die nach L- oder D-Hexahydrophenylalanin-und Deuterioessigsäure-Gaben an Hunde ausgeschiedene Acetyl-L-hexahydrophenylamino-propionsäure als deuteriumhaltig.

$$\begin{array}{c} C_6H_{11}\cdot CH_2\cdot CH\cdot COOH \,+\, C\overset{*}{H}_3COOH \longrightarrow C_6H_{11}CH_2CH\cdot COOH \\ & \stackrel{|}{N}H_2 & \stackrel{|}{N}HOC\overset{*}{H}_3 \end{array}$$

Aus den D-Gehalten der Acetylgruppe ließ sich berechnen, daß sich die verfütterte Deuterioessigsäure zu 13, 18, 25 und 19 an der Acetylierung beteiligte.

Essigsäure erwies sich somit zur Acetylierung zweier verschiedener Typen von Aminen, des Sulfanilamids bzw. der p-Aminobenzoesäure einerseits und des Hexahydro-phenylalanins andererseits als adäquat wirksamer Acetyldonator, und es darf geschlossen werden, daß Essig-

Tab. 2. Fütterung von Hexahydrophenylalanin und Deuterioessigsäure an Hunde.

	Hexahydro- phenylalanin		Deuterioessigsäure		Acetylverbindung	
Hund		mg/kg/die	Atom-% D	mg/kg/die	Atom-% D der Acetyl- gruppe	Ausbeute %
A	L–	73	7,8	146	0,76	28,1
B	L–	87	8,7	174	1,14	26,8
<b>A</b>	L–	69	8,7	207	1,64	9,8
<b>B</b>	D–	85	7,8	169	1,14	32,5

säure überhaupt die Hauptquelle für die Acetylgruppen bei solchen Reaktionen darstellt.

Wir haben schließlich im Aethylalkohol einen weiteren Acetyldonator feststellen können und damit den sicheren Beweis der Oxydation des Aethanols im Tierkörper über Essigsäure als Intermediärprodukt erbracht (11). Alkohol wird bekanntlich selbst in großen Dosen rasch abgebaut, im Harn sind lediglich die flüchtigen Säuren leicht vermehrt. Die Oxydation läßt sich folgendermaßen formulieren:

$$CH_3CH_2OH \longrightarrow CH_3CHO \longrightarrow CH_3COOH$$

Es bestand durch Verwendung von Deuterioalkohol CD<sub>3</sub>CD<sub>2</sub>OH bei gleichzeitigen Gaben von Sulfanilamid die Möglichkeit, intermediär entstehende Essigsäure auf Grund ihrer Beteiligung an der Acetylierung des Sulfanilamids nachzuweisen. Wie aus folgender Tabelle ersichtlich ist, schieden Kaninchen, denen mit der Schlundsonde Deuterioalkohol und Sulfanilamid gegeben wurde, ein D-haltiges Acetylprodukt aus:

Tab. 3. Fütterung von Deuterioalkohol und Sulfanilamid (1,6+2,0 g in 48 Std.) an Kaninchen.

Ka-	Alk	ohol	Acetylverbindung		
nin- chen Nr.	mg/kg/die	Atom-% D	Ausbeute %	Atom-% D der Acetyl- gruppe	
1	294	11,0	42,5	1,60	
2	410	11,0	43,0	1,43	
3	328	11,0	_	1,43	
4	300	11,0	29,7	0,86	
4 5	381	10,5	23,4	0,90	
6	313	10,5	27,9	1,16	
6	315	10,5	34,6	1,37	
6	313	10,5	33,6	1,50	

Die intermediär gebildete Essigsäure beteiligte sich in 8 Versuchen zu einem Sechstel bis zu einem Drittel, d. h. zu 29, 26, 26, 16, 17, 22, 26 und 29% an der Acetylierung, also bereits in einem wesentlichen Ausmaße. Es scheint somit die in vivo aus dem Alkohol entstehende Essigsäure sei reaktionsfähiger als die zugeführte. Der Abbau des Alkohols im Tierkörper über Essigsäure als Zwischenprodukt ist damit bewiesen.

Unsere Versuche, die wir durch die Unmöglichkeit der Beschaffung von deuterierten Verbindungen und schwerem Wasser im Kriege unterbrechen mußten, wurden durch amerikanische Autoren weitergeführt und bestätigt (12, 13).

Die Feststellung, daß Essigsäure an den Acetylierungen teilnimmt, bot die Möglichkeit, der Essigsäurebildung im Tierkörper nachzugehen. Aus der beobachteten Isotopenverdünnung schlossen wir, daß der Acetyldonator aus einem Gemisch von Nahrungsessigsäure und endogener Essigsäure bestand. Die als Acetylverbindung im Harn ausgeschiedene Essigsäure durfte demnach als ein repräsentativer Vertreter der im Organismus selbst vorhandenen Essigsäure betrachtet werden. Bloch und Rittenberg (14) berechneten auf Grund des Isotopenverdünnungsfaktors die im Tierkörper sich bildenden Essigsäuremengen und fanden für Ratten Werte von 0,9 bis 1,2 g pro 24 Stunden und 100 g Gewicht, d. h. also approximativ eine Essigsäureproduktion von 1% des Körpergewichtes. Ratten erhielten mit Phenylaminobuttersäure deuterierte Essigsäure, welche zudem in der COOH-Gruppe mit C<sup>13</sup> signiert war. Das Verhältnis C<sup>13</sup>: D war in der verfütterten Säure und im ausgeschiedenen Acetylprodukt dasselbe, der Wasserstoff der Methylgruppe der Essigsäure tauscht nicht aus. Da die Essigsäure die Hauptquelle der für die zur Acetylierung körperfremder Amine benötigten Acetylgruppen darstellt, dürften andere Acetyldonatoren die Berechnungen kaum beeinflussen; da ferner die Isotopenkonzentration der ausgeschiedenen Acetylverbindungen sich als direkt proportional der verabreichten signierten Essigsäure erweist, findet offenbar keine Bevorzugung der exogenen oder endogenen Essigsäuren, vielmehr eine rasche Durchmischung beider statt. Nach Klein und Harris (4) erfolgt die Acetylierung in der Leber, der als Acetylverbindung ausgeschiedene Essigsäureanteil würde daher nur Rückschlüsse auf den Essigsäurestoffwechsel der Leber erlauben, die extrahepatogen durch Fettsäureoxydation entstehende Essigsäure wäre nicht erfaßt. Lorber und Mitarb. (15) fanden indessen bei der Herzperfusion mit signierter Essigsäure eine Verdünnung derselben durch endogenes Acetat, die den für die Ratte berechneten Essigsäurebildungen entspricht.

Wohl die erste Voraussetzung für eine mengenmäßig bedeutsame

Essigsäurebildung im Tierkörper ergab sich, wie bereits erwähnt, aus den Versuchen von Knoop über den Abbau phenylsubstituierter Fettsäuren. Der Beweis, daß durch  $\beta$ -Oxydation Essigsäure abgespalten wird, gelang indessen erst Bloch und Rittenberg, welche deuterierte Fettsäuren mit über die ganze C-Kette verteiltem schwerem Wasserstoff herstellten (12, 16). Wurde Deuterio-Myristin-, -Butter-, -Valerian-oder -Isovaleriansäure gleichzeitig mit Phenylaminobuttersäure an Ratten verfüttert, so schieden dieselben im Harne Acetyl-phenylaminobuttersäure mit D-haltiger Acetylgruppe aus. Die  $C_2$ -Bruchstücke, welche aus den signierten Fettsäuren abgespalten werden, verhielten sich demnach wie Essigsäure.

$$\begin{array}{c} \text{CH}_{3} \cdot \text{CH}_{2} \cdot \text{COOH} \\ \text{C}_{6} \text{H}_{5} \text{CH}_{2} \text{CH}_{2} \cdot \text{CH} \cdot \text{COOH} & \longrightarrow \\ & | & | & | & | \\ \text{NH}_{2} & \text{NHOC} \cdot \text{CH}_{3} & | & | \\ \text{NHOC} \cdot \text{CH}_{3} & & | & | \\ \end{array}$$

Dieselbe wird als Intermediärprodukt des Fettstoffwechsels im Tierkörper dauernd gebildet, ohne daß es indessen zu einer Anreicherung käme. Gewissermaßen als ein Stabilisierungsprodukt kann die Acetessigsäure betrachtet werden. Schon Loeb und Friedmann beobachteten nach Durchströmung der Leber mit Essigsäure das Auftreten von Acetessigsäure. Swendseid und Mitarb. (17) erbrachten endgültige Beweise: Sie verfütterten hungernden Ratten signiertes Acetat und fanden in der Acetessigsäure des Harnes den schweren Kohlenstoff auf. Auch Bebrütung von Leberschnitten mit solchem Acetat führte zu isotopem Kohlenstoff sowohl in der Carbonyl- als auch in der Carboxylgruppe der Acetessigsäure.

$$\mathrm{CH_{3}C^{13}OOH} \longrightarrow \mathrm{CH_{3}C^{13}OCH_{2}C^{13}OOH}$$

Schließlich isolierten Weinhouse, Medes und Floyd (18) nach Bebrütung von signierter Caprylsäure Acetessigsäure mit gleichmäßiger Verteilung des C<sup>13</sup> in der CO- und COOH-Gruppe.

$$\mathrm{CH_{3}\cdot CH_{2}CH_{2}CH_{2}CH_{2}CH_{2}CH_{2}CH_{2}CH_{2}C^{13}OOH} \longrightarrow \mathrm{CH_{3}C^{13}OCH_{2}C^{13}OOH}$$

Ohne Zweifel entsteht die Acetessigsäure nicht direkt aus der Caprylsäure, welche vielmehr in C<sub>2</sub>-Bruchstücke zerfällt, aus denen sich erstere aufbaut. Auch Buttersäure verhält sich in solchen Versuchen wie die Caprylsäure (19).

In der Leber und auch in der Niere kann also ein großer Teil zugesetzten Acetates in Acetessigsäure umgewandelt werden (20). Trotzdem ist diese Ketosäure, welche bekanntlich beim Diabetiker in wesentlichen Mengen auftreten kann, kein unbedingtes Intermediärprodukt der Essigsäureoxydation. Auf Grund der Isotopenverteilung zu schließen,

wird von der Niere nur etwa die Hälfte Acetat über Acetessigsäure abgebaut. Im Herzmuskel entsteht bei der Oxydation der Essigsäure keine Acetessigsäure. Medes und Mitarb. stellten sich vor, es würde im Gewebe aus Essigsäure eine «aktive Form» gebildet und über den Zitronensäurecyclus abgebaut, während in der Leber und Niere infolge Mangels an Oxalessigsäure Acetessigsäure entstünde und erst später, nach Aufspaltung in aktive Essigsäure, dasselbe Schicksal erleide. Breusch (21) glaubt indessen, der Fettabbau verlaufe in der Leber generell zu Acetessigsäure, welche im peripheren Gewebe weiter oxydiert werde durch direkte Kondensation der Oxalessigsäure.

Das Studium der Fettsäureoxydation wurde erleichtert durch die Beobachtungen von Leloir und Muñoz (22), daß auch Leberbrei und Leberhomogenat gesättigte Fettsäuren abzubauen vermögen. Ausgehend von der Caprylsäure als Substrat prüfte Lehninger (23) die für den Abbau verantwortlichen Enzymsysteme und stellte fest, daß in Gegenwart von Malonat aus der Caprylsäure quantitativ Acetessigsäure gebildet wird, bei Zugabe von Fumarat indessen Zitronensäure. Hingegen bildet sich aus Acetacetat und Oxalacetat mit den untersuchten Enzympräparaten, denen, wie schon Leloir zeigte, anorganisches Phosphat, Mg- oder Mn-Salze, ATP und Cytochrom c zugegeben sind, keine Zitronensäure. Man hat also auch aus diesem Verhalten wieder einen Hinweis, daß aus den Fettsäuren ein reaktionsfähiger C2-Körper, «Essigsäure», entsteht, der mit Oxalacetat zu Zitronensäure kondensiert.

Jedenfalls muß die Essigsäure in einer aktiven Form vorliegen, da eine bestimmte Oxydationsenergie für ihre Umwandlung zu Acetessigsäure oder für die Kondensation mit Oxalessigsäure erforderlich ist. Was in Reaktion tritt, ist offenbar ein auf der gleichen Oxydationsstufe der Essigsäure liegendes C<sub>2</sub>-Bruchstück, z.B. eine Verbindung der Essigsäure mit Phosphorsäure. Lipmann (24) hat auf das Acetylphosphat hingewiesen, und neuere Untersuchungen lassen vermuten, das Coferment A spiele eine Rolle.

Essigsäure kann aber auch aus anderen Quellen als den Fetten gebildet werden. Schon Long und Peters (25) beobachteten bei der Decarboxylierung der Brenztraubensäure im Hirnbrei von Tauben die Entstehung von Essigsäure. Long (26) fand unter aeroben Bedingungen 25% der abgebauten Brenztraubensäure als Essigsäure vor. Leberpräparate vermögen, wie Lehninger (27) zeigte, Brenztraubensäure beinahe quantitativ in Acetessigsäure überzuführen. Schließlich ist von vielen Aminosäuren, vor allem den essentiellen, bekannt, daß sie ketoplastisch wirken, d. h. zu Acetessigsäure abgebaut werden, womit der Anschluß an das C<sub>2</sub>-Bruchstück gegeben ist.

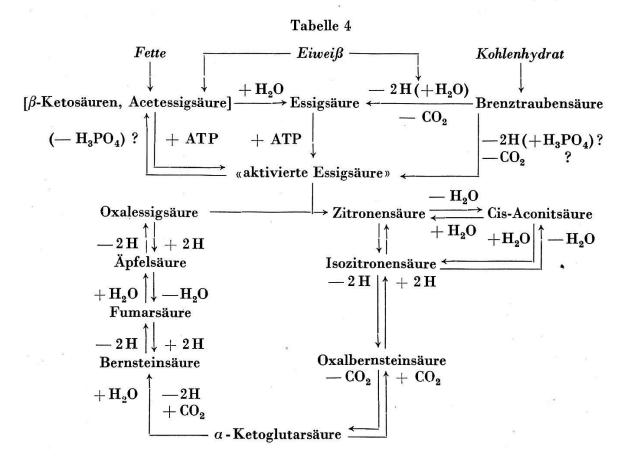
Den Abbau der Essigsäure hatte man sich früher immer über die Bernsteinsäure verlaufend vorgestellt, in dem Sinne, daß zwei Moleküle Essigsäure ein Molekül Bernsteinsäure bilden, dessen weitere Oxydation über Fumarsäure-Apfelsäure bekannt war.

Bereits Wieland und Sonderhoff (28) fanden unter aeroben Bedingungen mit Hefe aus Acetat Bernsteinsäure- und Zitronensäurebildung, und die Isotopenversuche von Sonderhoff und Thomas (29) ergaben, daß trideuterierte Essigsäure zur Entstehung zweifach deuterierter Zitronensäure führt. Aus den Untersuchungen von Elliott und Mitarb. (30) war die Fähigkeit der Niere, der Leber, des Hirns und der Hoden zu Acetatoxydation bekannt, Elliott und Greig (31) hatten in Versuchen mit Nieren- und Leberschnitten bereits Bernsteinsäure nachweisen können. Von großer Bedeutung war die Beobachtung der Hemmung dieses Acetatabbaues durch Malonat, da bekannt war, daß letzteres in spezifischer Weise die Bernsteinsäurehydrogenase beeinflußt.

Knoop und Martius gelang 1936 (32) die Synthese der Zitronensäure aus Brenztraubensäure und Oxalessigsäure, ein Reaktionsverlauf, von dem angenommen werden durfte, er könnte sich auch in vivo abspielen. Eine Reihe von Forschern, besonders Krebs und Mitarb. ferner Breusch, vermochten in der Folge nachzuweisen, daß im sogenannten Tricarbonsäurezyklus oder Zitronensäurezyklus ein allgemeiner, prinzipiell gültiger Abbauweg zur Oxydation der C2-Körper im lebenden Organismus vorliegt. Offenbar ist für die Zelle der direkte, die Sprengung der C-C-Bindung bewirkende oxydative Angriff auf den C2-Körper unmöglich oder sehr schwierig. Es gelingt ihr das nur auf einem weiten Umweg der mit der Kondensation des C2-Bruchstückes – der «aktiven Essigsäure» - mit Oxalessigsäure beginnt und über Zitronensäure, Isozitronensäure zu α-Ketoglutarsäure führt. Letztere kann zu Bernsteinsäure decarboxyliert werden, wobei über Fumarsäure-Apfelsäure erneut Oxalessigsäure entsteht. Das Resultat dieses Kreisprozesses ist demnach die vollständige Verbrennung der C<sub>2</sub>-Körper, d. h. der aktiven Essigsäure, welche sowohl aus den Fetten, den Kohlehydraten, als auch aus dem Eiweiß entstehen kann, zu Kohlensäure und Wasser (vgl. Tab. 4 [33] [34]).

Genauere Kenntnisse über die chemischen Vorgänge der Fettsynthese in vivo besitzen wir noch nicht, auch in fermentativer Hinsicht ist diesbezüglich wenig bekannt. Neuere Untersuchungen machen die Annahme sehr wahrscheinlich, der Aufbau der Fettsäureketten erfolge durch multiple Kondensation eines C<sub>2</sub>-Bruchstückes, das sich z. B. durch Oxydation der Brenztraubensäure ergeben könnte. Stetten und Schönheimer (35) bewiesen nämlich die Verlängerung der C-Kette um zwei

C-Atome, indem sie nach Fütterung von Deuteriopalmitinsäure an Ratten Deuteriostearinsäure auffanden. Klem (36) konnte nach Gaben von Deuteriolaurinsäure aus den Fettdepots der Ratten D-haltige Myristin-, Palmitin- und Stearinsäure isolieren. Bereits 1932 beobachteten Smedley-MacLean und Hoffert (37) die Bildung von Fett aus Acetat durch Hefe; Versuche von Sonderhoff und Thomas (38) unter Verwendung von Deuterioacetat und von White und Werkman (39) mit



 ${\rm CH_3C^{13}OOH}$  ergaben eine starke Zunahme der Fettbildung durch Acetat und für die gebildeten Fettsäuren stets viel höhere Isotopengehalte als für die Kohlenhydratanteile der Hefe, so daß ein direkter Einbau der Essigsäure in die Fettsäuremoleküle ohne Umweg über ein Kohlenhydrat-Intermediärprodukt angenommen wurde. Baker, Kamen und Bornstein (40) fanden, daß Butter- und Capronsäure, welche in Gegenwart carboxylsignierter Essigsäure durch Cl. kluyveri gebildet wurden,  ${\rm C^{13}}$  in den Kohlenstoffatomen 1 und 3 bzw. 1,3 und 5 enthielten. Diese Befunde lassen eine Kondensation zu Acetessigsäure und nachfolgende Reduktion der Ketosäure annehmen. Aus Carboxyl-signierter Buttersäure wurde in Gegenwart von gewöhnlichem Acetat Capronsäure gebildet, die nicht in der Carboxylgruppe, sondern am  $\beta$ -C-Atom den schweren Kohlenstoff aufwies:

 $\mathrm{CH_{3}CH_{2}CH_{2}C^{13}OOH} + \mathrm{CH_{3}COOH} \longrightarrow \mathrm{CH_{3}CH_{2}CH_{2}C^{13}H_{2}CH_{2}COOH}$ 

Die Verlängerung der C-Kette erfolgte also von der Carboxylgruppe der Buttersäure aus.

Die Verwendung der Essigsäure zur Fettsynthese beim Tier bewiesen Rittenberg und Bloch (41), indem sie Natriumacetat mit hohen C<sup>13</sup>-Gehalt der Carboxylgruppe und D-Gehalt der Methylgruppe während 8 Tagen an Mäuse verfütterten. Ferner erhielten junge Ratten während 3 Tagen mit kohlenhydratreicher Nahrung C-signierte Essigsäure. Die Aufarbeitung der Tiere führte zu Fettsäuren mit merklichen C<sup>13</sup>- und D-Gehalten. Ein Einbau von durch Essigsäureoxydation entstehender Kohlensäure in die Fettsäuren konnte ausgeschlossen werden; auf Grund der C<sup>13</sup>- und D-Verteilung ist zu schließen, daß beide C-Atome der Essigsäure zur Fettbildung verwendet wurden. Es läßt sich die Fettsäuresynthese aus «Essigsäure» als Baustein folgendermaßen formulieren:

$$\begin{array}{c} \mathrm{CH_{3}COOH} + \mathrm{CH_{3}COOH} \longrightarrow \mathrm{CH_{3}COCH_{2}COOH} \xrightarrow{+ \ 4\mathrm{H}} \mathrm{CH_{3}CH_{2}CH_{2}CH_{2}COOH} \\ + \mathrm{CH_{3}COOH} \longrightarrow \mathrm{CH_{3}CH_{2}CH_{2}COCH_{2}COOH} \xrightarrow{+ \ 4\mathrm{H}} \rightarrow \mathrm{CH_{3}CH_{2}CH_{2}CH_{2}CH_{2}COOH} \\ & \quad \mathrm{usw.} \end{array}$$

Versuche mit signierter Essigsäure ergaben, daß dieselbe auch für die Glukose Kohlenstoffatome in allen Stellungen der Hexosekette liefern kann. Buchanan und Mitarb. (42), ferner Lorber, Lifson und Wood (43) fanden nach Fütterung von isotoper Essigsäure aktives Glykogen, aus dem in allen C-Atomen radioaktiven Kohlenstoff enthaltende Glukose isoliert wurde. Es ist aber kaum anzunehmen, daß Acetat direkt Hexose bildet, vielmehr dürfte seine Beteiligung am Kohlenhydrataufbau über den Tricarbonsäurezyklus verlaufen.

Auch für den Aufbau der *Pyrrolfarbstoffe*, d. h. der Protoporphyrine bestätigt sich die Feststellung, daß es immer kleine Bruchstücke sind, welche als Bausteine der Synthesen in vivo dienen. Nicht das Prolin oder die aus Glutaminsäure mögliche Pyrrolidincarbonsäure, in denen der Pyrrolring schon vorgebildet ist, sind, wie man annahm, Ausgangsverbindungen der Synthese, sondern die Aminoessigsäure, die Brenztraubensäure, Milchsäure und *Essigsäure* (44).

Nach Fütterung von Deuterioacetat enthält aus den Erythrocyten isoliertes Hämin schweren Wasserstoff; werden die Versuche auf längere Zeit ausgedehnt, so ist dessen D-Konzentration beträchtlich. Mit Hilfe von C-signiertem Acetat konnte gezeigt werden, daß sowohl der Methylals der Carboxylkohlenstoff der Essigsäure am Aufbau des Hämins teilnehmen, wobei die Isotopenkonzentration nach Fütterung von C¹⁴H₃COONa bedeutend höher ist als nach CH₃C¹⁴OONa. Es steht heute vor allem durch die Untersuchungen von Shemin und Rittenberg (44) fest, daß mindestens 22 C-Atome des Protoporphyrins aus Bausteinen, wie Glykoll und Essigsäure, stammen.

Essigsäure beteiligt sich auch am Aufbau der Harnsäure. Untersuchungen mit Hilfe signierter Verbindungen haben auf dem Gebiete des Purinstoffwechsels in letzter Zeit zu zahlreichen neuen Erkenntnissen geführt. Sonne, Buchanan und Delluva (45) erbrachten durch Fütterung von C¹³O₂, HC¹³OOH, CH₃C¹³OOH, NH₂CH₂C¹³OOH, C¹³H₃C¹³H(OH) COOH und CH₃CH(OH)C¹³OOH an Tauben wertvolle Ergebnisse über die Herkunft der Kohlenstoffatome der Harnsäure. Der Carboxylkohlenstoff der Essigsäure liefert die Ureido-C-Atome in Stellung 2 und 8 des Trioxypurins:

$$\begin{array}{c|c} HN = C - OH \\ HO - C^* & C - N \\ \parallel & \parallel \\ N - C - N_H \end{array} C^* - OH$$

Es ist heute noch nicht möglich, auf Grund der vorliegenden experimentellen Daten überzeugende Formulierungen für die Synthese der Harnsäure zu geben, von Interesse ist indessen, daß sich unter den Abbauprodukten der Harnsäuregärung durch Clostridium acidi urici Ammoniak, CO<sub>2</sub>, Essigsäure und kleine Mengen Aminoessigsäure finden (46).

Von dem im Tierkörper sehr verbreiteten Cholesterin wurde auf Grund von Bilanzversuchen angenommen, es werde in vivo synthetisiert, wobei man als Ausgangsverbindungen z.B. an Oelsäure oder Squalen dachte. Bereits 1937 wiesen Rittenberg und Schönheimer (47) auf die Wahrscheinlichkeit der Cholesterinbildung aus kleinen Bruchstücken des Fett- und Kohlenhydratstoffwechsels hin. Sonderhoff und Thomas (48) fanden im Unverseifbaren aus Hefe, welche in einer deuterioacetat-haltigen Nährlösung gezüchtet wurde, reichlich schweren Wasserstoff und schlossen auf einen direkten Übergang der Essigsäure in die Sterine. Erhielten ausgewachsene Mäuse während 8 Tagen Deuterioacetat, und wurde darauf das Cholesterin der Tiere isoliert, so enthielt es sowohl im Ringgerüst als in der Seitenkette schweren Wasserstoff (49). Die höchsten D-Werte wurden dabei im Cholesterin der Leber, dem Serum und der Milz angetroffen, keine nennenswerten Mengen an schwerem Wasserstoff aber im Cholesterin des Gehirns, eines an diesem Sterol bekanntlich besonders reichen Organes. Cholesterin wird also offenbar im Gehirn nicht synthetisiert und auch nicht von anderen Organen dahin rasch transportiert. Injektion von Deuteriocholesterin an einen Hund (50) führte zu ähnlichen Ergebnissen; Gehirn und Rückenmark wiesen kein D-Cholesterin auf. Damit sind die von Waelsch und Mit. (51) durch Verwendung von Deuterium als Indikator erhobenen Befunde, daß bei der Ratte eine Cholesterinbildung nur vor der Myelinisierung stattfindet, bestätigt und erweitert. Cholesterinbildung oder Einbau desselben findet im Gehirn offensichtlich nur in einem frühen Lebensabschnitt statt.

Auch in vitro durch Bebrütung von Leberschnitten mit Deuterioacetat oder mit D- und C13-signierter Essigsäure (CD3C13OOH) konnte die Cholesterinsynthese aus Acetat bewiesen werden (52). Selbst wenn lediglich Leberabschnitte unter aeroben Konditionen in Gegenwart von Phosphatpuffer in schwerem Wasser bebrütet wurden, enthielt das aufgefundene Cholesterin Deuterium, nicht aber unter anaeroben Bedingungen oder mit anderen Gewebsschnitten (Niere, Testes, Milz, Intestinaltractus). Der Isotopengehalt der Fettsäuren war unter diesen Bedingungen stets kleiner als derjenige des Cholesterins, obwohl, wie erwähnt wurde, Essigsäure auch als Baustein für erstere dient. Die Cholesterinsynthese verläuft optimal, wenn Acetat das alleinige Substrat bei der Inkubation darstellt. Wird indessen gleichzeitig Pyruvat zugefügt, womit eine merkliche Stimulierung der Fettsäuresynthese auftritt, so kann ein deutlicher Rückgang des Einbaues von Acetatkohlenstoff in das Cholesterin beobachtet werden. Die Rolle des Pyruvates als Quelle für den Cholesterinkohlenstoff konnte durch Bebrütung der Leberschnitte mit C13-Acetat (C13H3COONa) und C14-Pyruvat (CH<sub>3</sub>C<sup>14</sup>OCOONa) aufgeklärt werden. Der Isotopengehalt des Cholesterins war am höchsten, wenn Acetat allein verwendet wurde, und senkte sich um die Hälfte bei Zugabe äquivalenter Mengen von Pyruvat. Brenztraubensäure ist keine wesentliche C-Quelle für das Cholesterin. Pyruvat kann wohl ein zur Fettsynthese wichtiges C2-Bruchstück liefern, dasselbe vermag indessen die Essigsäure bei der Cholesterinbildung nicht zu ersetzen (53).

Durch die Bebrütung von Leberschnitten mit Carboxyl- oder Methylsigniertem Acetat als auch mit solchem, das sowohl C<sup>13</sup> als auch C<sup>14</sup> enthielt, bewiesen *Little* und *Bloch* (54) die Verwendung beider C-Atome der Essigsäure als Kohlenstoffquelle sowohl für das Cholesterinringgerüst als auch für die Seitenkette. Die Methylgruppe der Essigsäure liefert die C-Atome in Stellung 18, 19, 26 und 27 des Cholesterins, während dessen C-Atome in Position 25 und 10 aus ihrer Carboxylgruppe stammen.

Die Essigsäure – offenbar in einer besonders aktiven Form, welche noch zu charakterisieren bleibt – ist somit ein wichtiges Intermediärprodukt, dessen Bildung aus Verbindungen, wie z. B. den Fetten, bewiesen und dessen Verwendung zur Synthese körpereigener Substanzen, wie Fettsäuren, Sterine, Harnsäure, Protoporphyrine, gesichert ist.

### Zusammenfassung

Dank der Isotopentechnik besitzen wir heute die Möglichkeit, auch das Schicksal einfacher, unspezifischer physiologischer Verbindungen im Organismus zu verfolgen und damit der Erforschung ihrer Bedeutung für den Auf- und Abbau der Zellbestandteile. Obwohl in der Essigsäure ein Intermediärprodukt des Stoffwechsels vermutet wurde, war ihre Rolle innerhalb desselben bis vor kurzem wenig bekannt.

Von den Acetylierungen körperfremder Amine, welche im Zusammenhang mit der Applikation der Sulfanilamide neuerdings vielfach quantitativ verfolgt wurden, glaubte man, daß sie ausschließlich unter Verwendung der Brenztraubensäure als Acetyl-Donator vor sich gingen. Wir zeigten, daß sich die Essigsäure an solchen Reaktionen beteiligt, indem wir Kaninchen gleichzeitig mit Sulfanilamid deuteriertes Natriumacetat fütterten und in der Acetylgruppe des Acetylsulfanilamides den schweren Wasserstoff auffanden. Ferner bewiesen wir auch die Acetylierung der Aminosäuren, einer offenbar bedeutsamen Intermediärreaktion ihrer Synthese und ihres Abbaues, mit Essigsäure in vivo. Nach Verabreichung von Sulfanilamid und Deuterio-Athylalkohol fanden wir im Harne der Kaninchen wieder ein stark D-haltiges Acetylprodukt, womit die Oxydation des Alkohols über Essigsäure als Zwischenprodukt erwiesen ist. Die Essigsäure konnte somit nicht weiterhin als ein inerter Zellbestandteil betrachtet werden. Rittenberg und Bloch gelang es, das beim  $\beta$ -oxydativen Abbau der Fettsäureketten abgespaltene C<sub>2</sub>-Bruchstück als Essigsäure oder jedenfalls als eine aktive Form der Essigsäure zu identifizieren. Durch Verwendung einer mit schwerem oder radioaktivem Kohlenstoff signierten Essigsäure trugen amerikanische Autoren zur Aufklärung der Bedeutung dieser Verbindung als Baustein im Organismus bei, auf welch grundlegende Befunde für den Gesamtstoffwechsel zusammenfassend hingewiesen wird.

### Résumé

Il nous est possible aujourd'hui grâce aux isotopes de poursuivre dans l'organisme le destin de substances physiologiques simples et non spécifiques. Quoique l'on supposait depuis longtemps que l'acide acétique fût un produit intermédiaire du métabolisme, l'on n'en connaissait toutefois aucun détail.

On admettait que l'acétylation d'amines étrangères qui a fait l'objet d'études approfondies en relation avec la sulfamidothérapie, se faisait uniquement par l'intermédiaire de l'acide pyruvique comme source du groupe acétyl. Nous avons montré que l'acide acétique joue un rôle dans ces réactions en donnant à des lapins avec un sulfamide, de l'acétate de sodium dont le groupe méthyl contenait du Deutérium. Nous avons en effet retrouvé dans l'urine le deutérium (hydrogène lourd) dans le groupe acétyl du sulfanilamide acétylé. De plus nous avons prouvé l'acétylation des acides aminés par l'acide acétique, lequel semble donc jouer un rôle dans leur formation et leur destruction in vivo. Après avoir administré à des lapins du sulfanilamide et de l'alcool éthylique marqué avec du Deutérium (CD<sub>3</sub>CD<sub>2</sub>OH), le produit acétylé qui passe dans l'urine est riche en Deutérium. Ce qui prouve bien que l'oxydation de l'alcool se fait par l'acide acétique comme produit intermédiaire. Il n'est plus possible de considérer l'acide acétique comme un constituant cellulaire inerte. Des auteurs américains sont arrivés en utilisant de l'acide acétique signé avec le carbone radioactif ou lourd (C<sup>14</sup>, C<sup>13</sup>) à démontrer le rôle de cet acide dans le métabolisme, fait qui ouvre de nouveaux horizons pour la compréhension du métabolisme animal en général.

### Riassunto

Il destino di sostanze fisiologiche di carattere semplice e non specifico, può essere seguito grazie alla tecnica degli isotopi, rendendo cosí possibile le ricerche sulla loro importanza nei processi ana- e catabolici dei componenti cellulari. Sebbene si potesse già supporre che l'acido acetico fosse un componente intermediario del ricambio, non se conosceva ancora il suo ruolo esatto.

Si credeva che i processi di acetilazione delle amine estranee, studiati quantitativamente in rapporto all'applicazione dei sulfamidici, si svolgessero unicamente per tramite dell' acido piruvico, quale acetildonatore.

Noi abbiamo dimostrato che anche l'acido acetico partecipa a tali processi. Infatti in esperimenti eseguiti sul coniglio, somministrando contemporaneamente sulfamidici e acetato di sodio deuterizzato, abbiamo potuto ritrovare l'idrogeno pesante nel gruppo acetilico dell'acetilsulfanilamide. Impiegando l'acido acetico in vivo, abbiamo inoltre dimostrata l'acetilazione degli aminoacidi, reazione intermediaria che riveste grande importanza nei processi di desintegrazione e sintesi degli aminoacidi.

Somministrando al coniglio, per via orale, del sulfanilamide e alcool etilico deuterizzato, abbiamo ritrovato nell'orina un prodotto acetilico con alto tenore di deuterio, per cui é provato che l'ossidazione dell'alcool si svolge tramite l'acido acetico, quale prodotto intermediario.

L'acido acetico cessa cosí di essere considerato un componente cellulare inerte.

Rittenberg e Bloch riuscirono a dimostrare, nel processo di  $\beta$ -ossi-

dazione della catena degli acidi grassi che il prodotto di disintegrazione  $C_2$  é l'acido acetico meno una forma attiva dello stesso.

Autori americani in esperimenti eseguiti con carbonio pesante o radioattivo, contribuirono pure a dimostrare l'importanza dell'acido acetico nell'organismo.

## Summary

Thanks to the isotope technique we can today also trace the fate of simple, nonspecific physiological compounds in the organism and thus also investigate their significance for the synthesis and destruction of cell constituents. Although an intermediary product of metabolism was suspected in acetic acid, its specific role therein was little known until a short time ago.

Acetylations of foreign amines, which were often traced quantitatively recently in connection with the application of the sulfanilamides, were believed to proceed exclusively together with the use of tartaric acid as an acetyl donor. We showed that acetic acid participates in such reactions by feeding rabbits deuterized sodium acetate simultaneously with sulfanilamide, and finding heavy hydrogen in the acetyl group of the acetyl sulfanilamide. We further showed the acetylization of the amino acids, an obviously significant intermediary reaction of their synthesis and their decomposition, with acetic acid in vivo. After dispensation of sulfanilamide and deutero-ethyl alcohol we again found an acetyl product containing large quantities of D in the urine of the rabbits, wherewith the oxidation of alcohol over acetic acid as intermediate product is demonstrated. Acetic acid could thus no longer be regarded as an inert cell constituent. Rittenberg and Bloch succeeded in identifying the  $C_2$  fragment split off in the  $\beta$ -oxydative decomposition of fatty acid chains as acetic acid or at any rate as an active form of acetic acid. American authors contributed to the clarification of the significance of this compound as a structural unit in the organism through the use of an acetic acid marked with heavy or radioactive carbon; these basic findings for the total metabolism are pointed out in summarizing.

<sup>1.</sup> Rittenberg, D.: Cold Spring Harbor Symp. on quant. Biol. 13, 173 (1948). – 2. Knoop, F.: Beitr. chem. Physiol. u. Path. 6, 150 (1905). – 3. Dakin, H. D.: J. biol. Chem. 6, 221 (1909). – 4. Klein, J. R., und Harris, J. S.: J. biol. Chem. 124, 613 (1938). – 5. Bloch, K.: Physiol. Rev. 27, 574 (1947). – 6. Bernhard, K.: Z. physiol. Chem. 267, 91 (1940). – 7. Bernhard, K.: Z. physiol. Chem. 271, 208 (1941). – 8. Slade, H. S.. und Werkman, C. H.: Arch. Biochem. 2, 97 (1943). – 9. Bernhard, K.: Z. physiol. Chem. 256, 49 (1938). – 10. Bernhard, K., und Steinhauser, H.: Z. physiol. Chem. 273, 31 (1942). – 11. Bernhard, K.: Z. physiol. Chem. 267, 99 (1940). – 12. Bloch, K., und Rittenberg, D.: J. biol. Chem. 155, 243 (1944). – 13. Bloch, K., und Borek, E.: J. biol.

Chem. 164, 483 (1946). - 14. Bloch, K., und Rittenberg, D.: J. biol. Chem. 159, 45 (1945). - 15. Lorber, V., Lifson, N., Wood, H. G., und Barcroft, J.: J. Physiol. 145, 557 (1946). - 16. Bloch, K.: J. biol. Chem. 155, 255 (1944). - 17. Swendseid, M. E., Barnes, R. H., Hemingway, A., und Nier, A. O.: J. biol. Chem. 142, 47 (1942). - 18. Weinhouse, S., Medes, G., und Floyd, N. F.: J. biol. Chem. 153, 689; 155, 143 (1944). - 19. Medes, G., Weinhouse, S., und Floyd, N. F.: J. biol. Chem. 157, 35 (1945). - 20. Medes, G., Floyd, N., und Weinhouse, S.: J. biol. Chem. 162, 1 (1946); Weinhouse, S., Medes, G., und Floyd, N. F.: J. biol. Chem. 158, 411 (1945). - 21. Breusch, F. L.: Advanc. in Enzymology 8, 343 (1948); Z. Angew. Chem. 62, 66 (1950). – 22. Leloir, L. F., und Muñoz, J. M.: Biochem. J. 33, 734 (1939). – 23. Lehninger, A. L.: J. biol. Chem. 157, 363 (1945); **161**, 437 (1945); **164**, 291 (1946). – 24. *Lipmann*, F.: Advanc. in Enzymology 6, 231 (1946). - 25. Long, C., und Peters, R. A.: Biochem. J. 33, 759 (1939). - 26. Long, C.: Biochem. J. 32, 1711 (1938). – 27. Lehninger, A. L.: J. biol. Chem. 164, 291 (1946). – 28. Wieland, H., und Sonderhoff, R.: Ann. 499, 213 (1932). - 29. Sonderhoff, R., und Thomas, H.: Ann. 530, 195 (1937). – 30. Elliott, K. A. C., und Schröder, E. F.: Biochem. J. 28, 1920 (1934) usw. - 31. Elliott, K. A. C., und Greig, M. E.: Biochem. J. 31, 1021 (1937). - 32. Knoop, F., und Martius, C.: Z. physiol. Chem. 242, 1 (1936); Martius, C., und Knoop, F.: Z. physiol. Chem. 246, 1 (1937). - 33. Bernhard, K., und Lincke, H.: Fschr. Chemie organ. Naturstoffe 4, 188-346 (1945). - 34. Martius, C., und Lynen, F.: Advanc. in Enzymology 10, 167 (1950). - 35. Stetten, De Witt, und Schönheimer, R.: J. biol. Chem. 133, 329 (1940). - 36. Klem, A.: Fette und Seifen 51, 184 (1944). - 37. Smedley-MacLean, I. S., und Hoffert, D.: Biochem. J. 20, 343 (1926). – 38. Sonderhoff, R., und Thomas, H.: Ann. 530, 195 (1937). - 39. White, A. G. C., und Werkman, C. H.: Arch. Biochem. 13, 27 (1947). - 40. Barker, H. A., Kamen, M. D., und Bornstein, B. T.: Proc. Natl. Ac. Sci. 31, 373 (1945). - 41. Rittenberg, D., und Bloch, K.: J. biol. Chem. 160, 417 (1945). - 42. Buchanan, J. M., Hastings, A. B., und Nesbett, F. B.: J. biol. Chem. 150, 413 (1943). – 43. Lorber, V., Lifson, N., und Wood, H. G.: J. biol. Chem. 161, 411 (1945). – 44. Shemin, D.: Cold Spring Harbor Symp. on quant. Biol. 13, 185 (1948). - 45. Sonne, J. C., Buchanan, J. M., und Delluva, A. M.: J. biol. Chem. 173, 69, 81 (1948). - 46. Barker, H. A., und Beck, J. V. J.: J. biol. Chem. 141, 3 (1941). -47. Rittenberg, D., und Schönheimer, R.: J. biol. Chem. 121, 235 (1937). - 48. Sonderhoff, R., und Thomas, H.: Ann. 530, 195 (1937). - 49. Bloch, K., und Rittenberg, D.: J. biol. Chem. 143, 297 (1942); 145, 625 (1942). – 50. Bloch, K., Berg, B. N., und Rittenberg, D.: J. biol. Chem. 149, 511 (1943). - 51. Waelsch, H., Sperry, W. M., und Stoyanoff, V. A.: J. biol. Chem. 135, 297 (1940). - 52. Bloch, K., Borek, E., und Rittenberg, D.: J. biol. Chem. 162, 441 (1946). - 53. Bloch, K.: Cold Spring Harbor Symp. 13, 29 (1948). 54. Little, H. N., und Bloch, K.: J. biol. Chem. 183, 33 (1950).