

STEFAN GOLDSCHMIDT, HEINRICH REHBERG, VERA VON BRAND  
und KARL H. DESING

## ZUR BIOSYNTHESE VON FETTSÄUREN

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Technischen Hochschule München und dem  
Isotopen-Laboratorium der Medizinischen Poliklinik der Universität München

(Eingegangen am 28. Januar 1957)

*Herrn Kollegen Helferich zum 70. Geburtstag gewidmet*

Ein Verfahren zur Trennung höherer gesättigter und ungesättigter Fettsäuren mittels Papierchromatographie wird beschrieben. Bei Verwendung eines wasserlöslichen Enzymsystems aus Taubenleber werden aus  $^{14}\text{C}_1$ -Natriumacetat hauptsächlich Palmitin-, Stearin- und Ölsäure aufgebaut. Aus  $^{14}\text{C}_1$ -Natriumbutyrat und  $^{14}\text{C}_1$ -Capronat entstehen keine höheren Fettsäuren, aus  $^{14}\text{C}_1$ -Caprylat nur in geringem Umfang. Die aus letzterem gebildete  $^{14}\text{C}$ -Palmitinsäure liefert beim Schmidtschen Abbau Pentadecylamin, das noch 86.5% der Radioaktivität der eingesetzten Säure enthält. Schlußfolgerungen aus diesen Ergebnissen werden diskutiert.

Von R. O. BRADY und S. GURIN wurde ein wasserlösliches Enzymsystem (Cyclophorasesystem) aus Taubenleber<sup>1,2</sup> beschrieben, das erlaubt, aus Na-Acetat höhere Fettsäuren aufzubauen. Unter Verwendung dieses Enzymsystems sollte untersucht werden, ob sich neben den aus  $^{14}\text{C}_1$ -Natriumacetat entstandenen höheren Fettsäuren, wie Palmitin-, Stearin- und Ölsäure, auch die als Zwischenprodukte auftretenden Fettsäuren niederer Molekülgröße unter den Reaktionsprodukten nachweisen lassen. Weiterhin war zu klären, ob Fettsäureaufbau und -abbau reversibel verlaufen. So erschien möglich, daß die Palmitinsäure nicht nur durch fortlaufende Kondensation von Acetyl-CoA, sondern auch durch Kondensation größerer Bruchstücke, z. B. aus zwei Caprylsäureresten, gebildet werden kann. Daher war zu prüfen, ob eine Fettsäuresynthese nicht nur unter Einbau von Acetat, sondern auch von anderen Substraten wie Butyrat, Capronat oder Caprylat, z. B.  $\text{C}_4 + \text{C}_4$ ,  $\text{C}_6 + \text{C}_6$ ,  $\text{C}_8 + \text{C}_8$  usw. erfolgt und eventuell welche Zusammensetzung das so gebildete Fettsäuregemisch besitzt.

Eine Beantwortung der angegebenen Fragen erschien nur bei Einsatz radioaktiv markierter niederer Fettsäuren möglich, da nur dann die Reaktionsprodukte in geringsten Spuren nachzuweisen sind. Ferner war es nötig, über chromatographische Verfahren zur Trennung von gesättigten und ungesättigten Fettsäuren verschiedener Kettenlänge sowie über eine möglichst quantitativ verlaufende Decarboxylierungsmethode für kleinste Mengen von Fettsäuren verfügen zu können, mit deren Hilfe

<sup>1)</sup> J. biol. Chemistry **189**, 371 [1951]; R. O. BRADY, F. D. W. LUKENS und S. GURIN, ebenda **193**, 459 [1951]; R. O. BRADY und S. GURIN, ebenda **199**, 421 [1952].

<sup>2)</sup> Verbesserung der Darstellung V. VON BRAND und E. HELMREICH, Biochem. Z. **328**, 146 [1956].

Einsicht in die Verteilung der radioaktiv markierten Atome in einer Fettsäure, z. B. Palmitinsäure, gewonnen werden konnte.

## METHODEN

### *1. Trennung der durch Biosynthese erhaltenen Fettsäuren*

Die meisten der zur Trennung von Fettsäuren vorgeschlagenen chromatographischen Verfahren<sup>3)</sup> versagen bei Säuren, die mehr als 10 C-Atome enthalten. Wir untersuchten nach Durchsicht der Literatur zwei Methoden mit Erfolg:

1. Das Verfahren von G. A. HOWARD und A. J. P. MARTIN<sup>4)</sup>, mittels dessen sich Säuren von C<sub>10</sub>–C<sub>18</sub> an einer mit Dichlorsilan imprägnierten Kieselgur-Säule mit Hilfe von Aceton verschiedenen Wassergehaltes trennen lassen<sup>5)</sup>, 2. die Trennung auf acetyliertem Papier<sup>6)</sup> (Acetylgehalt 16–18%) nach F. MICHEEL und H. SCHWEPPE<sup>7)</sup>, die den erforderlichen Bedingungen angepaßt und erweitert wurde. Das Fettsäuregemisch wurde hierbei zuerst in das Gemisch seiner Hydroxamate übergeführt, das mit einer Mischung von Essigsäureäthylester, Tetrahydrofuran und Wasser 1:6:8 getrennt wurde.

*R<sub>F</sub>-Werte der Hydroxamate (aufsteigend), t = 20°*

C <sub>2</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>6</sub>	C <sub>8</sub>	C <sub>10</sub>	C <sub>12</sub>	C <sub>14</sub>	C <sub>16</sub>	C <sub>18</sub>	Ölsäure	Dihydrostearinsäure
0.98	0.88	0.72	0.50	0.35	0.26	0.19	0.12	0.09	0.12	0.30

Das im biologischen Ansatz erhaltene Fettsäuregemisch (bzw. eine künstl. Mischung der gleichen Fettsäuren) wurde deshalb nach D. SWERN<sup>8)</sup> mit Wasserstoffperoxyd und Ameisensäure behandelt, wobei ungesättigte Säuren in die entsprechenden Dihydroxysäuren übergeführt werden.

Die im biologischen Ansatz erhaltene Petrolätherlösung des Fettsäuregemisches (bzw. die Lösung der künstlich bereiteten Mischung) wurde auf 0.5ccm eingeeengt und mit 1ccm 99-proz. Ameisensäure, 1ccm Ameisensäureäthylester sowie 0.25ccm 30-proz. Wasserstoffperoxyd 4 Stdn. auf 45° erhitzt. Das eingedampfte Reaktionsgemisch wurde mit einer äther. Diazomethanolösung verestert und der Äther verdampft. Der Rückstand wurde mit 3ccm einer alkalischen Hydroxylaminlösung (1ccm *m* NH<sub>2</sub>OH·HCl-Lösung in Methanol und 2ccm *m* KOH in Methanol) zum Sieden erhitzt und dann 20 Stdn. bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Die Lösung der K-Hydroxamate wurde mit Tetrahydrofuran-Eisessig (Vol.-Verh. 4:1) schwach angesäuert und chromatographiert<sup>9)</sup>. Das Chromatogramm (Laufzeit 16 Stdn.) wurde nach dem Trocknen mit 2% FeCl<sub>3</sub> in *n*-Butanol möglichst gleichmäßig besprüht. Zur quantitativen Bestimmung wurde ein gleich großes Papierstück für jeden Flecken (2 × 4cm) ausgeschnitten, mit 5ccm Methanol extrahiert und die Extinktion im Photometer (Eppendorf, Cd-Lampe, Filter 509m $\mu$ , breites Absorptionsband bei 520m $\mu$ ) bestimmt<sup>9)</sup>. Da das zuerst erwähnte Verfahren nur bei Einsatz größerer Fettsäuremengen durchführbar ist, wurde ausschließlich das zweite unseren Versuchen zugrunde gelegt.

<sup>3)</sup> Literaturübersicht s. H. REHBERG, Dissertat. Techn. Hochschule München 1956, S. 9ff.; vgl. auch K. H. DESING, Dissertat. Universität München 1955.

<sup>4)</sup> Biochem. J. 46, 532 [1950]. <sup>5)</sup> Ergebnisse s. H. REHBERG, l. c.<sup>3)</sup> S. 12 und 34.

<sup>6)</sup> Lieferbar von SCHLEICHER & SCHÜLL. 2043 B, Acetylgehalt 18%.

<sup>7)</sup> Naturwissenschaften 39, 380 [1952].

<sup>8)</sup> Org. Reactions 7, 378 [1953].

<sup>9)</sup> Neben jedem im biologischen Versuch erhaltenen Hydroxamat-Gemisch (a) wurde ein künstliches ähnlicher Zusammensetzung (b) aufgetragen und chromatographiert; a wurde gegen b gemessen. Fehler ± 8%.

## II. $^{14}\text{C}_1$ -markierte Fettsäuren

Darst. analog der von  $^{14}\text{C}_1$ -Essigsäure<sup>10)</sup>. Ausbeuten: Buttersäure 99%, Capronsäure 93% d. Th.

## III. Fettsäuresynthese

Fermentsystem<sup>1,2)</sup>

Inkubationsgemisch	Molarität im Endvol. (3ccm)
2.4ccm lösl. Phase des Enzymsystems	—
0.1ccm Na-Citrat (10.44%)	$1 \cdot 10^{-2}$
0.1ccm 0.06 m $\text{MgCl}_2$	$2 \cdot 10^{-3}$
1 mg Cytochrom c (Boehringer)	$2.8 \cdot 10^{-5}$
1.5 mg DPN <sup>*)</sup> (ber. als 100%)	$7 \cdot 10^{-4}$

0.4ccm der Lösung des $^{14}\text{C}_1$ -fettsauren Salzes	Aktivität l/Min.**)	Molarität im Endvol. (3ccm)
Na-Acetat 2mg	$1.7 \cdot 10^5$	$8 \cdot 10^{-3}$
Na-Butyrat 5.5	$1.7 \cdot 10^5$	$1.6 \cdot 10^{-2}$
Na-Capronat 7.0	$1.0 \cdot 10^5$	$1.7 \cdot 10^{-2}$
Na-Caprylat 8.4	$2.0 \cdot 10^4$	$1.7 \cdot 10^{-2}$

Inkubation: 4 Stdn.;  $t = 37.0^\circ$  aerob;  $p_{\text{H}}$  vor und nach Versuch 7.2 – 7.4

<sup>\*)</sup> DPN = Diphosphopyridinnucleotid.      <sup>\*\*)</sup> 1 = Impulse.

Nach Beendigung jeden Versuches wurde der gesamte Ansatz mit alkohol. Lauge verseift und das Fettsäuregemisch nach Ansäuern der zentrifugierten, alkalischen Lösung mit Petroläther extrahiert<sup>1)</sup>. Zur Testung der Aktivität des verwendeten Enzymsystems wurden jeweils Vergleichsversuche mit  $^{14}\text{C}_1$ -Acetat ausgeführt. Die Messung der Radioaktivität erfolgte nach C. ENTENMAN<sup>11)</sup>.

## IV. Bestimmung der synthetisierten $^{14}\text{C}$ -Fettsäuren

Auf den Chromatogrammen finden sich die in der Taubenleber enthaltenen Fettsäuren an der gleichen Stelle wie die enzymatisch synthetisierten  $^{14}\text{C}$ -Fettsäuren. Letztere lassen sich sowohl autoradiographisch, wie mit Hilfe eines Radiopapierchromatographen nachweisen und bestimmen.

a) *Autoradiographie*: Streifen der Papierchromatogramme ( $10 \times 48$ cm) wurden mit einem Röntgenfilm (Perutz Typ S mit normal. Kontrast) bedeckt, 2–3 Wochen unter Lichtausschluß zwischen 2 mit Eisenplatten beschwerten Glasplatten bewahrt und dann entwickelt. [Die Menge der synthet.  $^{14}\text{C}$ -Fettsäure wurde aus Größe und Intensität der geschwärzten Stelle unter Berücksichtigung des Schwarzschild-Exponenten ( $0.95$  für den verwendeten Film) geschätzt.]

b) *Radiopapierchromatograph* (Frieseke & Hoepfner, Erlangen): Hier besteht die Möglichkeit, ein Chromatogramm kontinuierlich mit einem Schreiber oder schrittweise mit vorgeählter Impulszahl und einem Zeitdrucker (FH 49) quantitativ auszuwerten. Im ersten Fall

<sup>10)</sup> W. LAMPRECHT und H. REHBERG, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **301**, 46 [1955].

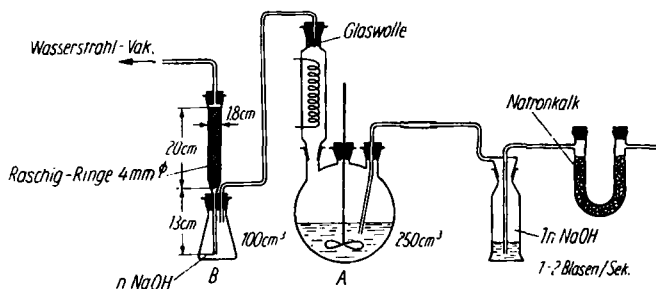
<sup>11)</sup> C. ENTENMAN und Mitarbb., Proc. Soc. exp. Biol. Med. **70**, 364 [1949].

erhält man eine Kurve, deren Genauigkeit mit steigender Aktivität der Flecken<sup>12)</sup> wächst. Bei schwachen Aktivitäten führt der zweite Weg zu genaueren Resultaten.

#### V. Verteilung von $^{14}\text{C}$ in der aus $^{14}\text{C}_1$ -Caprylat synthetisierten Palmitinsäure

In der aus  $^{14}\text{C}_1$ -Caprylat gebildeten Palmitinsäure kann je nach dem Weg ihrer Entstehung  $^{14}\text{C}$  verschiedenartig im Molekül verteilt sein. Um hierüber Aussagen machen zu können, mußte die biochemisch entstandene Palmitinsäure decarboxyliert werden. Für diesen Zweck kamen der Lossensche Abbau der Palmitinhydroxamsäure, der Hofmannsche Abbau des Palmitinsäureamids und der Schmidtsche Abbau der Palmitinsäure selbst zum Pentadecylamin in Betracht. Nur der letztere lieferte bei der Durchführung in präparativem Maßstab befriedigende Ergebnisse (90–95% d. Th.).

*Abbau der  $^{14}\text{C}$ -Palmitinsäure:* Die vereinigten Fettsäuregemische aus 20 Versuchen mit  $^{14}\text{C}_1$ -Caprylat wurden nach Hydroxylierung in Hydroxamsäuren übergeführt und, wie beschrieben, auf 5 Bogen acetyliertem Papier zur chromatographischen Trennung verteilt<sup>3)</sup>. Nach Identifizierung der Flecken wurde aus einem der Bogen ein 4cm breiter Kontrollstreifen herausgeschnitten und hierauf die Verteilung der Radioaktivität mittels des Radiopapierchromatographen bestimmt. Nunmehr wurden die Zonen der Palmitinsäure herausgeschnitten, mit Methanol extrahiert und den vereinigten Extrakten 256mg inaktiver Palmitinsäure zugesetzt (bessere Handhabung). Nach Verseifung des Hydroxamats und Ansäuern mit 30-proz. Schwefelsäure wurde das Methanol abgedampft und der Rückstand 3mal mit je 10ccm Benzol extrahiert. Die vereinigten Benzolextrakte wurden über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und auf 50ccm aufgefüllt. Die Radioaktivität wurde in einem aliquoten Teil der Lösung bestimmt und der Rest in der abgebildeten Apparatur dem Schmidtschen Abbau



Apparatur zum Schmidtschen Abbau der Palmitinsäure

unterworfen. Die im Dreihalskolben befindliche Fettsäurelösung versetzte man mit 3ccm konz. Schwefelsäure, erwärmte sie auf 45° und saugte nach Zugabe von 0.4g Na-Azid unter kräftigem Rühren  $\frac{1}{2}$  Stde. einen  $\text{CO}_2$ -freien Luftstrom (1–2 Blasen/Sek.) durch das Gemisch. Dann erhitzte man noch weitere 30 Min. auf 50°, trennte nach Abkühlung die Schwefelsäureschicht ab und ließ sie in Eiswasser eintropfen. Das abgesaugte Aminsulfat wurde in Wasser aufgeschlämmt und die Suspension mit 40-proz. Kalilauge alkalisiert. Das freie Amin wurde ausgeäthert und in einem aliquoten Teil der Lösung die Radioaktivität bestimmt.

Die Lauge im Absorptionsturm (B) wurde in einen Erlenmeyer gespült, mit 5ccm 4  $n$   $\text{NH}_4\text{Cl}$  kurz auf 70° erwärmt und mit überschüssiger 20-proz. Bariumchloridlösung das Bariumcarbonat gefällt, das abgesaugt wurde. In einem aliquoten Teil des gewogenen und fein zerriebenen Bariumcarbonats wurde, wie üblich, die Radioaktivität direkt ausgezählt.

<sup>12)</sup> Fehler =  $a/\sqrt{n}$ ;  $n$  = Zahl der Impulse/Zeiteinheit,  $a$  = Wahrscheinlichkeitsfaktor.

## ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Tab. 1 zeigt, daß im natürlichen Fett der Taubenleber hauptsächlich Palmitinsäure, Stearinsäure und Ölsäure (zusammen 96%) vorkommen, während es Laurinsäure, Myristinsäure und Arachinsäure nur in äußerst kleiner Menge enthält. Ferner ist zu ersehen, daß das als Substrat im enzymatischen Versuch eingesetzte  $^{14}\text{C}_1$ -Acetat

Tab. 1. Fettsäureverteilung im Fett der Taubenleber

	inakt. Fettsäuren %	Aus $^{14}\text{C}_1$ -Acetat durch Biosynthese $^{14}\text{C}_1$ -Fettsäuren %
Caprinsäure $\text{C}_{10}$	1*) $\pm 0.1$	1*)
Laurinsäure $\text{C}_{12}$	1*)	1*)
Myristinsäure $\text{C}_{14}$	2*) $\pm 0.2$	3
Palmitinsäure $\text{C}_{16}$	35 $\pm 2.8$	40
Stearinsäure $\text{C}_{18}$	24 $\pm 1.9$	20
Ölsäure	37 $\pm 3$	35
Arachinsäure $\text{C}_{20}$	2 $\pm 0.2$	?

\*) Geschätzte Werte.

praktisch ausschließlich zur Synthese der gleichen Säuren ( $\text{C}_{16}$ ,  $\text{C}_{18}$ , Ölsäure) Verwendung findet, deren Mengen praktisch im gleichen Verhältnis zueinander stehen wie im natürlichen Fett der Taubenleber. Auf dem Chromatogramm läßt sich trotz unvollkommenen Umsatzes kein  $^{14}\text{C}_1$ -Acetat nachweisen. Dies erklärt sich aus der Aufarbeitung des Inkubationsgemisches. Hierbei werden die Säuren in Petroläther übergeführt, der zwar höhere Säuren aus wäßriger Phase aufnimmt, aber keine Spur von Essigsäure, wie wir durch besondere Versuche mit aktiver Essigsäure festgestellt haben.

Tab. 2. Synthese höherer Fettsäuren aus  $^{14}\text{C}_1$ -markierten niederen Säuren(Enzymssystem nach BRADY und GURIN<sup>2)</sup>)

Versuch Nr. a)	Substrat in mg	Ferment- system aus	Zusatz von Mitochon- drien	Radioaktivität I/Min.		Umsatz %
				eingesetzt	höhere Fettsäuren	
	I	II	III	IV	V	VI
1.	$^{14}\text{C}_1$ -Acetat 2	Taubenleber	+	170000	19000	11
2.	$^{14}\text{C}_1$ -Acetat 2	Taubenleber	+	170000	34000	20
3.	$^{14}\text{C}_1$ -Acetat 2	Taubenleber	+	170000	24000	14
4.	$^{14}\text{C}_1$ -Acetat 2	Taubenleber	-	170000	17000	10
5.	$^{14}\text{C}_1$ -Acetat 2	Taubenleber	-	170000	31000	18
6.	$^{14}\text{C}_1$ -Acetat 6	Schweineleber	+	510000*)	25000	5
7.	$^{14}\text{C}_1$ -Acetat 2	Schweineleber	+	170000	3500	6
8. - 10.	$^{14}\text{C}_1$ -Butyrat 5.5	Taubenleber	-	170000	0	0
11. - 13.	$^{14}\text{C}_1$ -Capronat 7	Taubenleber	-	100000	0	0
14.	$^{14}\text{C}_1$ -Caprylat 20**)	Taubenleber	-	40000	400	1.0
15. - 16.	$^{14}\text{C}_1$ -Caprylat 8.4	Taubenleber	-	20000	100	0.5
17.	$^{14}\text{C}_1$ -Caprylat 8.4	Taubenleber	-	20000	200	1.0
18.	$^{14}\text{C}_1$ -Caprylat 8.4	Taubenleber	-	48000	250	0.5
19.	$^{14}\text{C}_1$ -Caprylat 8.4	Taubenleber	-	48000	500	1.0

a) Jede Versuchs-Nr. stellt den Mittelwert aus 3 Parallelsätzen dar.

Puffer: Vers. 1—14, Phosphat-Hydrogencarbonat,  $p_{\text{H}}$  7.4; Vers. 15—19, Hydrogencarbonat,  $p_{\text{H}}$  7.4.

\*) dreifacher Ansatz. \*\*) 8.4 mg + 11.6 mg inakt. Acetat.

Tab. 2 gibt eine Übersicht über die durchgeführten Versuchsreihen, bei denen sowohl das Enzymssystem (aus Tauben- bzw. Schweineleber) als auch das Substrat

( $^{14}\text{C}_1$ -Acetat, -Butyrat, -Capronat, -Caprylat) gewechselt wurde. Auch der Puffer (Phosphat-Hydrogencarbonat bzw. Hydrogencarbonat) wurde variiert. Die prozentuale Verwertung des jeweiligen Substrats unter den gewählten Bedingungen (Spalte VI) ergibt sich aus dem Quotienten der Spalten V/IV. Die Versuche (1–5) bezweckten die Feststellung, welchen Schwankungen die Verwertung von  $^{14}\text{C}_1$ -Acetat unterliegt, wenn man das gleiche Enzymsystem mehrfach, jedoch aus der Leber verschiedener Tiere (Tauben) herstellt. Die Schwankungen sind nicht unbeträchtlich, doch werden im Mittel etwa 15% des eingesetzten Acetats in höhere Fettsäuren eingebaut. Zur Leistungssteigerung des Systems wurde der Zusatz eines Trockenpräparates aus Mitochondrien empfohlen<sup>1)</sup>. Wir konnten eine solche Wirkung nicht feststellen (Vers. 1–3, Mittel 15%, 4 und 5 Mittel 14%). Da Taubenleber nur in sehr kleinen Mengen zugänglich ist, untersuchten wir auch, ob diese sich vielleicht durch die Leber eines größeren Tieres (Schwein) ersetzen läßt (Vers. 6 und 7). Dies ist zwar möglich, doch bleibt die Leistung des aus Schweineleber hergestellten Enzymsystemes<sup>13)</sup> weit hinter der des aus Taubenleber gewonnenen zurück (etwa 5 anstatt 15%).

Weitere Untersuchungen dienten der Feststellung, ob niedere Homologe der Essigsäure vom Enzymsystem in höheren Säuren eingebaut werden. Mehrfache Ansätze mit  $^{14}\text{C}_1$ -Butyrat und -Capronat (8–13) zeigten, daß das entstandene Fettsäuregemisch keine radioaktiven Anteile enthält, also kein Einbau dieser Säuren eingetreten ist.

Anders verliefen die Versuche mit  $^{14}\text{C}_1$ -Caprylat (14–19), bei denen sich stets ein – wenn auch geringer – Einbau dieser Säure (0.5–1%) im Fettsäuregemisch nachweisen ließ. Die chromatographische Auftrennung eines solchen Gemisches hat gezeigt, daß die entstandene Palmitinsäure radioaktiv ist. Für die Entstehung der  $^{14}\text{C}$ -Palmitinsäure bestehen mehrere Möglichkeiten: a) Bildung aus 2 Moll.  $^{14}\text{C}_1$ -Caprylsäure ( $\text{C}_8 + \text{C}_8$ ), b) Rückbildung von  $^{14}\text{C}_1$ -Essigsäure und b<sub>1</sub>) Reaktion derselben mit  $^{14}\text{C}_1$ -Caprylsäure  $\text{C}_8 + 4 \text{C}_2$  und b<sub>2</sub>) ausschließlicher Aufbau aus  $^{14}\text{C}_1$ -Essigsäure ( $8 \cdot \text{C}_2$ ). Zwischen den Möglichkeiten a) und b) war durch Untersuchung der Verteilung der Radioaktivität auf die Kohlenstoff-Atome im Molekül der Palmitinsäure zu entscheiden. Wir haben deshalb, wie erwähnt, die Palmitinsäure mit Hilfe der Schmidtschen Reaktion decarboxyliert. Die Ergebnisse zeigt Tab. 3. Aus

Tab. 3. Abbau der aus  $^{14}\text{C}_1$ -Caprylat enzymatisch gebildeten  $^{14}\text{C}$ -Palmitinsäure

Gesamt-Radioaktivität	Versuch 1.		Fehler ± %	Versuch 2.		Fehler ± %
	I/Min.	%		I/Min.	%	
$^{14}\text{C}$ -Palmitinsäure	2850 ± 80	100	3	3440 ± 165	100	5
$^{14}\text{C}$ -Heptadecylamin	2575 ± 130	90.5	5	2985 ± ?	86.3	?
$^{14}\text{C}$ -Bariumcarbonat	293 ± 83	10.5	28	511 ± 49	14.8	10

dieser folgt, daß das aus der Palmitinsäure abgespaltene  $\text{CO}_2$  im Mittel etwa 12.6% der eingesetzten Radioaktivität enthält, während im Pentadecylamin im Mittel noch 88.4% nachweisbar sind. Dieses Resultat schließt aus, daß die  $^{14}\text{C}$ -Palmitinsäure aus 2 Moll.  $^{14}\text{C}_1$ -Caprylat entstanden sein kann (Verteilung der Radioaktivität auf

<sup>13)</sup> Darstellung vollkommen analog der aus Taubenleber.

Pentadecylamin und Kohlendioxyd im Verhältnis 1:1 erforderlich). Die Säure muß also unter Verwendung von  $^{14}\text{C}_1$ -Acetat, das nur durch Fettsäureabbau entstanden sein kann, aufgebaut sein. Durch die beschriebenen Versuche läßt sich nicht entscheiden, ob die Palmitinsäurebildung gemäß  $b_1$ ) oder  $b_2$ ) erfolgt ist, da in beiden Fällen zu erwarten ist, daß sich nur 12.5% der eingesetzten Aktivität in der abgespaltenen Carboxylgruppe finden lassen. Wir neigen dazu, den Weg  $b_2$ ) ( $8\cdot\text{C}_2$ ) für den richtigeren zu halten, d. h. daß wir eine Verkettung der Caprylsäure mit  $\text{C}_2$ -Resten für unwahrscheinlich halten. Ein sicherer Entscheid ließe sich nur durch successiven Abbau des Pentadecylamins treffen, der aber in Anbetracht der geringen zur Verfügung stehenden Menge desselben Schwierigkeiten begegnet. Unabhängig von der Beantwortung dieser Fragen ist aus unseren Versuchen zu folgern, daß Fettsäureaufbau und -abbau reversibel verlaufen, wobei unter den gewählten Versuchsbedingungen der Aufbau stark bevorzugt ist. Dies veranschaulicht besonders der äußerst geringe Einbau der Caprylsäure (0.5–1%).

Der DEUTSCHEN FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT sind wir für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit, dem FONDS DER CHEMISCHEN INDUSTRIE und Herrn Dr. e. h. G. SCHÄFER für die Bereitstellung von Apparaten zu radioaktiven Messungen zu besonderem Dank verpflichtet.