

## Nachweis und thanatologische Bedeutung von $\delta$ -Aminovaleriansäure

W. Bonte und J. Theusner

Institut für Rechtsmedizin der Universität Göttingen, Windausweg 2, D-3400 Göttingen,  
Bundesrepublik Deutschland

### Identification and Significance of $\delta$ -Aminovaleric Acid in Putrefaction Materials

**Summary.** During former putrefaction experiments regularly a proteogenic substance has been found which by means of modern analytical methods now was identified as  $\delta$ -aminovaleric acid (DAVA). DAVA seems to appear in guinea pig as well as human organs and some body fluids under experimental conditions never before the 3rd (20°C) to 5th day (10°C). It is characterized by statistically significant increases until the end of the 2nd (20°C) to 5th week (10°C) and relatively stable values thereafter. Considering storage temperature measurement of DAVA concentration can be of relevance for the estimation of the time of death in cases of putrescent corpses.

**Key words:** Putrefaction materials,  $\delta$ -Aminovaleric acid – Ptomaines –  $\delta$ -Aminovaleric acid – Protein degradation,  $\delta$ -Aminovaleric acid

**Zusammenfassung.** Eine bei früheren Faulversuchen schon öfter gefundene proteogene Substanz wurde mit Hilfe moderner analytischer Methoden als  $\delta$ -Aminovaleriansäure (DAVA) identifiziert. DAVA konnte im Fäulnisexperiment niemals vor dem 3. (20°C) bis 5. Tag (10°C) nachgewiesen werden und zeigte dann eine signifikante Konzentrationszunahme bis zum Ende der 2. (20°C) bis 5. Woche (10°C), später annähernd gleichbleibende Werte. Die Feststellung der DAVA-Konzentration könnte unter Berücksichtigung der Umgebungstemperatur für die Schätzung der Leichenzeit in dieser Phase von Bedeutung sein.

**Schlüsselwörter:** Fäulnismaterial,  $\delta$ -Aminovaleriansäure – Ptomaine –  $\delta$ -Aminovaleriansäure – Eiweißdegradation,  $\delta$ -Aminovaleriansäure

Bei unseren Untersuchungen über die lagerungsbedingten Konzentrationsveränderungen der Aminosäuren und Amine in Fäulnismaterial [3—6] war uns immer wieder eine offenbar proteogene Substanz aufgefallen, deren Herkunft

und chemische Natur nicht geklärt werden konnte. Diese Substanz zeigte von allen bisher untersuchten Proteinabbauprodukten die klarste und eindeutigste zeitliche Korrelation, nämlich eine fast lineare Konzentrationszunahme während der späten Leichenphase, während sie in allen untersuchten Substraten in der frühpostmortalen Phase niemals nachzuweisen war, auch nicht in Spuren. Im Rahmen unserer Ptomain-Untersuchungen [3] hatten wir bereits über 50 im Handel erhältliche denkbare Abbauprodukte auf Identität mit der unbekanntem Substanz überprüft, ohne zu einem positiven Ergebnis zu kommen. Wir stellten uns daher die Aufgabe, die Substanz zu isolieren und mit Hilfe moderner chemisch-analytischer Methoden zu identifizieren. Hiermit befaßt sich der erste Teil dieser Arbeit. Im zweiten ist den zeitabhängigen Konzentrationsveränderungen der Substanz während des Fäulnisprozesses in breiterem Rahmen nachgegangen.

## Experimentelle Untersuchungen

### *Isolierung der unbekanntem Substanz*

Als Ausgangsmaterial wurden die Nieren eines Hundekadavers verwendet, welcher 4 Jahre bei konstanter Temperatur von 10°C in einer verschlossenen Emaillewanne gelegen hatte. Die Nieren wurden in einem Mörser zerrieben, in Portionen zu 5 g aufgeteilt und mit 10 ml 96%igem Äthanol versetzt und 5 min unter Eiskühlung mit einem Ultra-Turrax-Gerät homogenisiert. Die vereinigten Homogenate wurden mit 150 ml Äthanol bei 20°C 24 h gerührt und filtriert, das Filtrat im Vakuum-Rotationsexsikkator zur Trockne gebracht. Der Rückstand wurde dann mit 400 ml 0,1 N HCl aufgenommen und zur Lipidentfernung mit 350 ml und noch einmal mit 200 ml Äther ausgeschüttelt. Nach Verwerfung der Ätherphase wurde erneut über Calciumchlorid bei 40°C zur Trockne eingengt. Der hell graubraune Rückstand (13,5 g) wurde mit 25 ml 0,1 N HCl gelöst.

Die Isolierung der gesuchten Substanz wurde mit Hilfe der präparativen Dünnschichtchromatographie nach Honegger vorgenommen [10, 11]. Wir verwendeten 2 mm dicke Kieselgel-Fertigplatten mit Fluoreszenzindikator (Kieselgel 60 F<sub>254</sub>, Merck) und ein Laufmittelgemisch aus 96% Äthanol/25% Ammoniak (7:3). Die im UV-Licht und mit Hilfe streifenförmiger Besprühung mit Ninhydrin auf der einen und Isatin-Reagens auf der anderen Seite markierte Zone mit der gesuchten Substanz wurde dann ausgeschabt, mit aqua dest. versetzt und zentrifugiert, der Überstand im Vakuum eingetrocknet und mit 1,5 ml Wasser gelöst. Es folgte nun ein zweiter Lauf mit n-Butanol/Eisessig/Wasser (3:1:1), welchem sich dieselbe Prozedur anschloß. Da auch nach diesem zweiten Isolierungsschritt noch Reste von bekannten Begleit-substanzen nachweisbar waren, wurde bis zur vollständigen Reinigung rechromatographiert. Schließlich wurden 52,8 mg Reinsubstanz erhalten; es handelte sich um weißlich amorphes Material, welches nach Abkühlung und Reiben an der Glaswand kristallisierte. Umkristallisierungsversuche aus den Systemen Wasser-Methanol und Wasser-Äthanol führten zu keiner besseren Kristallbildung.

### *Identifizierung*

Wie üblich, wurde zunächst eine Schmelzpunktbestimmung vorgenommen, wobei sich ein scharfer Schmelzpunkt bei 37°C ergab. Bei der Überprüfung von Schmelzpunktstabellen fand sich kein in Frage kommender Stoff. Es wurde daher zunächst eine saure Hydrolyse durchgeführt, nach deren Ergebnis das Vorliegen eines kurzkettigen Peptids ausgeschlossen werden konnte. Bei der Dünnschichtelektrophorese in mehreren Systemen zeigte sich, daß der isoelektrische Punkt der unbekanntem Substanz zwischen etwa 6 und 7,5 liegt.

Die *IR-Spektroskopie* mit dem Infrarot-Spektrophotometer Perkin-Elmer 221 wurde am Kaliumbromid-Preßling durchgeführt. Hierfür wurden 1 mg Substanz mit 300 mg Kaliumbromid verrieben und gepreßt. Im Spektrum imponierte im Valenzschwingungsbereich von Bindungen, an denen Wasserstoff beteiligt ist (zwischen  $\nu = 3650\text{ cm}^{-1}$  und  $2800\text{ cm}^{-1}$ ), eine breite Bande mit Maximum bei  $3400\text{ cm}^{-1}$ . Zu kleineren Frequenzen hin war dieser breiten Valenzschwingung eine weitere bei  $2930\text{ cm}^{-1}$  aufgesetzt. Das Gebiet der Doppelbindungs-schwingungen zeigte eine von einer breiten Bande überlagerte Absorption bei  $1620\text{ cm}^{-1}$ ; weitere Absorptionen lagen bei  $1555\text{ cm}^{-1}$  und bei  $1400\text{ cm}^{-1}$ . Die Befunde im Finger-print-gebiet waren nicht eindeutig zuzuordnen. Das Spektrum ließ also am ehesten an eine gesättigte Carbonsäure als Carboxylat, Aminosäure oder Säureamid denken.

Auch die kernmagnetische *Resonanzspektroskopie*<sup>1</sup> brachte kein eindeutiges Ergebnis. Wir untersuchten parallel mit dem Brucker-HFX-90-Spektrometer mit D<sub>2</sub>O als Lösungsmittel und dem Natriumsalz der 3-(Trimethylsilyl)-Propansulfonsäure ((CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>-Si-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-SO<sub>3</sub>Na) als innerem Standard und mit dem Varian-HY-100-Spektrometer mit Hexadeutero-dimethylsulfoxid und deuteriertem Aceton als Lösungsmittel und Tetramethylsilan als innerem Standard. In beiden Spektren fanden sich lediglich Signale, die auf Methyl- und/oder Methylenprotonen an gesättigten C-Atomen hindeuteten.

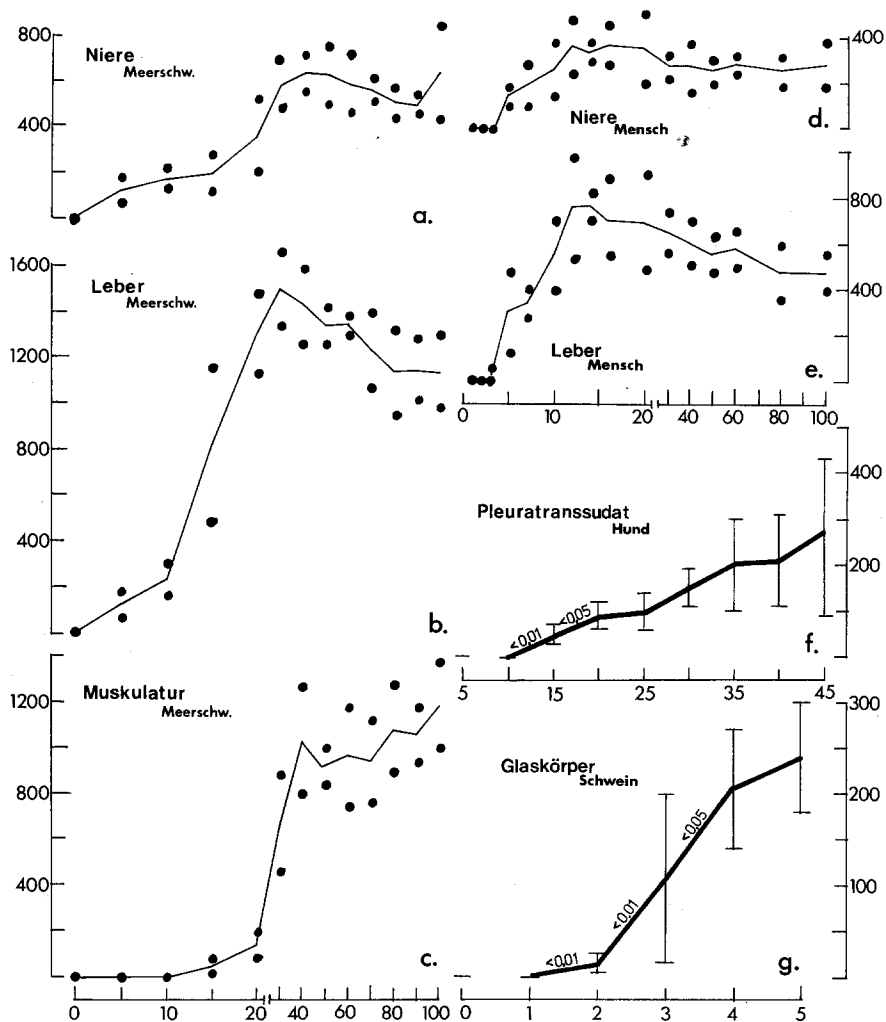
Bei der anschließenden *Massenspektrometrie*<sup>1</sup> mit einem Varian MAT 731 im Direkt-einlaßverfahren lag das Signal größter Masse bei  $m/e = 105$ . Wegen der auf das Fragment mit der größten Häufigkeit bezogenen relativen Intensität von nur 3 konnte es sich dabei aber nicht um das Molekülion handeln, denn bei einer Massendifferenz von 6 Einheiten fand sich bei  $m/e = 99$  ein Peak der Intensität 62, welcher wegen der „unmöglichen“ Massendifferenzen von 4—14 und 21—25 Masseneinheiten kein Fragment eines Moleküls mit dem Molgewicht 105 darstellen konnte. Bei der Hochauflösung des Massenpeaks bei  $m/e = 99$  wurde eine Massenzahl von exakt 99,06806 ermittelt, welcher die Bruttoformel C<sub>5</sub>H<sub>9</sub>NO zugeordnet werden konnte [21]. 29 Masseneinheiten tiefer lag bei  $m/e = 70$  ein Fragment, welches durch Abspaltung eines C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>-Kohlenwasserstoff-Radikals entstanden sein konnte. Daneben gab es Peaks bei  $m/e = 55$ , 44, 43, 42 und 41 sowie Basepeaks bei  $m/e = 30$  und 28. Das Ion  $m/e = 44$  wies auf ein Säureamid hin, welches wegen des Fehlens eines deutlichen Signals bei  $m/e = 59$  wahrscheinlich nicht primär gebunden vorlag.

Insgesamt mußte die gesuchte Substanz also folgende Eigenschaften haben: Molgewicht 99 mit der Summenformel C<sub>5</sub>H<sub>9</sub>NO (Massenspektrum), C-C-Bindungen gesättigt (Infrarot- und Kernresonanzspektren), Säureamid (IR), das sekundär oder tertiär vorlag (MS). Von den in Frage kommenden Verbindungen N-Methyl-Cyclopropylcarbonsäureamid, einem alkylierten Aziridinon, einem alkylierten  $\beta$ -Propiolactam, einem methylierten  $\alpha$ -Pyrrolidon und  $\delta$ -Valerolactam erfüllte lediglich die letztere Verbindung sämtliche Bedingungen. Im Handel bezogenes  $\delta$ -Valerolactam schmolz bei einem Reinheitsgrad von 98—99% tatsächlich zwischen 37 und 38°C. Das Massenspektrum dieser Substanz zeigte die gleichen Peaks bei  $m/e = 99$ , 70, 55, 44—41, 30 und 28. Da  $\delta$ -Valerolactam sich im gewählten Verfahren dünn-schichtchromatographisch nicht darstellen ließ, mußte es sich um ein Kunstprodukt des Extraktionsvorganges handeln. Es lag nahe, daß sich die Verbindung durch Ringschluß aus  $\delta$ -Aminovaleriansäure gebildet hatte. Im Handel beschaffte  $\delta$ -Aminovaleriansäure verhielt sich dünn-schichtchromatographisch mit der unbekanntem Substanz identisch.

#### *Nachweis in Fäulnismaterial*

Wir hatten bereits in früheren Publikationen über die damals noch unbekanntem Substanz berichtet und teilweise auch schon zeitabhängige Intensitätsveränderungen abgebildet, welche mangels Referenzsubstanz aber noch nicht quantitativ umgerechnet werden konnten [5]. Da grundsätzlich mit standardisierter Methodik unter Mitführung eines inneren Standards gearbeitet worden war, war es möglich, nachträglich eine adäquate Eichkurve mit der jetzt bekannten  $\delta$ -Aminovaleriansäure zu erstellen und die Daten zu quantifizieren.

<sup>1</sup> Herrn Prof. Dr. H. Lackner und Herrn Dr. G. Remberg, Organisch-Chemisches Institut der Universität Göttingen, danken wir für die freundliche Hilfe bei der Durchführung der Messungen



**Abb. 1 a—g.**  $\delta$ -Aminovaleiansäure in Fäulnismaterial. a—c, f = Kadaverversuche bei 10°C. d, e, g = in-vitro-Versuche bei 20°C. a—e = Einzelwerte aus je 2 Versuchsreihen mit Mittelwertkurven. f = Mittelwerte aus 4—6 Einzelergebnissen mit Vertrauensbereich  $\pm s \cdot t/\sqrt{n}$ . g = Mittelwerte aus 3—5 Einzelergebnissen mit Vertrauensbereich. Ordinate: Konzentration in mg/kg bzw. mg/l (f). Abszisse: Versuchsdauer in Tagen

Bei in-vitro-Versuchen mit enucleierten Schweineaugen [5] bei 20°C konnte  $\delta$ -Aminovaleiansäure im Glaskörper grundsätzlich nicht vor dem 2. Versuchstag aufgefunden werden. Danach stellte sich eine beinahe lineare Konzentrationszunahme bis zum Versuchsende am 5. Tag ein (Abb. 1g), die sich anfangs auf dem 0,01-, später dem 0,05-Niveau als statistisch signifikant erwies. Im Fäulnisstranssudat aus der Brusthöhle von Hundekadavern, die bei 10°C konstanter Temperatur gelagert wurden, konnte  $\delta$ -Aminovaleiansäure frühestens am 15. Tag nachgewiesen werden und zeigte dann ebenfalls einen anfangs signifikanten, in etwa linearen Anstieg bis zum 45. Tag nach Versuchsbeginn (Abb. 1f).

Um eine breitere Basis für die Beurteilung der postmortalen Konzentrationsveränderungen der  $\delta$ -Aminovaleiansäure und ihre Bedeutung für die Todeszeitbestimmung zu gewinnen,

wurden weitere Fäulnisexperimente durchgeführt. Hierzu wurden 200—250 g schwere männliche Meerschweinchen vom Stamm Pirbright White W 58 durch Halothan-Überdosis getötet, einzeln in Plastikfolie eingeschweißt und bei 10°C gelagert. Die Tiere wurden in fünftägigem Abstand seziiert; den Kadavern wurden dann die Leber, beide Nieren und die Mm. Psoas entnommen. Die weitere Bearbeitung erfolgte nach unserer früheren Arbeitsanleitung [6]. Die Untersuchungsergebnisse sind in Abb. 1a—c dargestellt.  $\delta$ -Aminosäure konnte frühestens am 5. (Leber, Niere) bzw. 10. (Muskulatur) Tag p.m. nachgewiesen werden und zeigte etwa bis zum 30. Lagerungstag eine annähernd lineare Konzentrationszunahme. Danach blieben die Werte bis zum Versuchsende am 100. Tag annähernd gleich.

Ferner wurden in-vitro-Versuche mit menschlichem Leber- und Nierenhomogenat durchgeführt. Die Organe stammten von zwei gesunden, durch Unfall verstorbenen Personen. Die Lagerungsversuche wurden bei 20°C durchgeführt; zur weiteren Bearbeitung vgl. oben. Die Ergebnisse sind in Abb. 1d,e wiedergegeben.  $\delta$ -Aminovaleriansäure ließ sich im Leberhomogenat frühestens am 3. Tag, im Nierenhomogenat ab dem 5. Tag nach Versuchsbeginn nachweisen. In beiden Fällen stellte sich dann eine steile Konzentrationszunahme bis etwa zum 10. bzw. 15. Tag ein; danach ergaben sich keine wesentlichen Veränderungen mehr.

## Diskussion

Daß die anfängliche Suche nach der Identität der zunächst unbekanntem Verbindung mit Hilfe zahlreicher theoretisch in Frage kommender Referenzsubstanzen nicht zum Erfolg führte, ist — nachträglich gesehen — leicht zu verstehen. Als Richtschnur waren nämlich die Zusammenstellungen typischer Fäulnisstoffe von Gadamer [8] (67 Verbindungen), Marozzi und Lodi [13] (86 Verbindungen) und G. Schmidt [18] (289 Verbindungen) herangezogen worden, welche die  $\delta$ -Aminovaleriansäure nicht enthalten. DAVA war aber jedenfalls in der älteren Fäulnisforschung keine Unbekannte, und es bestanden auch bereits Vorstellungen über ihre Biogenese.

Schon 1883 wurden E. und H. Salkowski [16] bei der Untersuchung von Fäulnisprodukten aus Muskelfleisch und Fibrin auf eine Verbindung mit der Summenformel  $C_5H_{11}NO_2$  aufmerksam, die 1899 [17] auch aus Gelatine isoliert und als  $\delta$ -Aminovaleriansäure identifiziert werden konnte. Ackermann gelang es 1906, aus 22 kg Rinderpankreas die Verbindung zu gewinnen, deren Zusammensetzung er jedoch erst 1908 [1] nach Vergleich mit den Produkten von E. und H. Salkowski erkannte. Auch bei der putriden Zersetzung von Albumin trat die Verbindung regelmäßig auf.

Da DAVA im Eiweiß nicht vorgebildet zu finden war, suchte man zunächst nach einer Muttersubstanz, die durch geringfügige Modifikationen in das Fäulnisprodukt übergeht. Man dachte vor allem an Arginin. Bei Fäulnisversuchen mit größeren Mengen Arginin reicherte sich DAVA jedoch nicht an, obwohl die Aminosäure fast vollständig verschwunden war. Indes fanden sich größere Mengen Ornithin, was auf die Einseitigkeit der Zusammensetzung der Nährböden zurückgeführt wurde. Beseitigte man andererseits das Arginin beispielsweise aus Casein, dann wurde durch den Fäulnisprozeß keine  $\delta$ -Aminovaleriansäure mehr gebildet.

Neuberg [14] konnte in Faulversuchen außerdem die Entstehung der Säure aus racemischem Prolin sicherstellen. Auch Specht [19] erwähnt DAVA als Zwischenprodukt bei der bakteriellen Zersetzung von Prolin, ferner als Abbauprodukt von Ornithin.

Auf eine weitere Möglichkeit der Biogenese von DAVA hat Stickland [22] aufmerksam gemacht. Bei Versuchen mit *Clostridium sporogenes* beobachtete er einen wechselseitigen Oxidations-Reduktionsvorgang zwischen zwei Aminosäuren, der diesen und einigen anderen Bakterien zur alleinigen Energiegewinnung zur Verfügung steht. In der „Stickland-Reaktion“ treten zwei gleiche oder verschiedene Aminosäuren in Wechselwirkung, wobei eine als Wasserstoff-Donator und die andere als H-Acceptor fungiert. Stickland konnte beweisen, daß *Cl. sporogenes* durch l-Prolin-Reduktion unter Ringöffnung und Alanin-Oxidation  $\delta$ -Aminovaleriansäure bildet [23]. *Cl. botulinum* soll zu derselben Reaktion fähig sein [7]. Auch d- und l-Ornithin gehen mit d-Alanin als H-Donator unter reduktiver Desaminierung der  $\alpha$ -Aminogruppe in das Produkt über. Andere H-Donatoren sind l-Leucin, d-Valin, l-Histidin und l-Phenylalanin [24]. *Cl. sporogenes* besitzt eine aus zwei Komponenten bestehende Prolin-Reduktase, eine Racemase zur Umwandlung des Prolins in die d-Form (EC-Nr. 5.1.1.4.), und eine d-Prolin-Reduktase (EC-Nr. 1.4.1.6.). Die direkte Reduktion von l-Prolin ist demnach nicht möglich [20]. Nach neueren Mitteilungen scheinen auch zahlreiche andere Bakterienspezies, die teilweise ubiquitär vorkommen und als häufiger Bestandteil der Fäulnisflora gelten, zu der „Stickland-Reaktion“ befähigt zu sein [2].

Neuberger und Sanger [15] vermuteten, daß DAVA auch als Lysin-Metabolit aufzufassen sei. Den Nachweis erbrachten Hagihira et al. [9]. Sie isolierten aus *Pseudomonaden* eine l-Lysin-Oxidase, die die Umwandlung von Lysin in stöchiometrischen Ausbeuten zu  $\delta$ -Aminovaleriansäure, Kohlendioxid und Ammoniak katalysiert. Bei Inkubation mit isotopem  $^{18}\text{O}$ -Sauerstoff zeigte sich, daß dabei ein  $^{18}\text{O}$ -Atom in die Säure eingebaut wurde, die Reaktion also direkte Sauerstoff-Beteiligung voraussetzt [12]. Die Lysin-Oxidation wäre demnach wohl nur in der agonalen und frühpostmortalen Phase denkbar, in der bakterielle Prozesse in der Regel noch keine Bedeutung haben.

Daß die „Stickland-Reaktion“ auch in den hier beschriebenen Faulversuchen bei der Synthese der  $\delta$ -Aminovaleriansäure eine Rolle gespielt hat, ist zu vermuten. Bei den eigenen Untersuchungen, bei denen Prolin separat in einem eindimensionalen System (HPTLC-Platten Kieselgel 60, Merck) mit dem spezifischen Isatinreagens nachgewiesen wurde, fand sich eine auffallende Gegenläufigkeit der Konzentrationsveränderungen von Prolin und DAVA. In der Fäulnisflüssigkeit aus der Brusthöhle des Hundes fand sich diese hingegen nicht. Lysin bot nie etwas Bemerkenswertes. Offenbar besteht aber auch eine Beziehung zwischen Arginin und  $\delta$ -Aminovaleriansäure, worauf wir schon früher aufmerksam gemacht hatten, ohne die Natur der damals noch nicht identifizierten Verbindung zu kennen [5].

Das eigentliche Ziel unserer Versuche war die Klärung der Frage, ob die postmortale Konzentrationsveränderung von  $\delta$ -Aminovaleriansäure eine ausreichende Korrelation zur Leichenzeit besitzt und damit bei der forensischen Todeszeitbestimmung verwendet werden kann; Voraussetzung hierfür wäre natürlich auch eine gebührende Berücksichtigung der Lagerungsbedingungen. Nach dem Ergebnis der Fäulnisversuche ist diese Frage zu bejahen. In allen Experimenten erwies sich  $\delta$ -Aminovaleriansäure als geradezu klassischer Indikator des zeitlichen Übergangs von der Autolyse — in die Fäulnisphase. Bei 20°C war die Aminosäure niemals vor dem 3. bis 5. Tag o.m., bei 10°C nicht vor dem 5. bis 15. Tag nach-

zuweisen, wobei Zeitdifferenzen zwischen den einzelnen Körperflüssigkeiten und -organen zu bestehen scheinen.

Danach folgte ein fast linearer Konzentrationsanstieg bis etwa zum 10.—15. (20°C) bzw. bis zum 30.—45. Tag (10°C), innerhalb dessen eine relativ genaue zeitliche Einordnung vorgenommen werden könnte. Da die Werte danach weitgehend konstant bleiben (womöglich längere Zeit; auch im 4 Jahre alten Ausgangsmaterial für die Identifizierung war die Substanz ja gefunden worden), wird zudem eine Verwechslung mit längeren Leichenzeiten nicht in Betracht kommen.

## Literatur

1. Ackermann, D.: Ein Fäulnisversuch mit Arginin. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* **50**, 305—315 (1908)
2. Bender, D. A.: *Amino acid metabolism*. London-New York: Wiley & Sons 1975
3. Bonte, W., Bleifuss, J.: Postmortem dating of putrefied material through Ptomaine estimation. *J. Forens. Sci.* **22**, 558—572 (1977)
4. Bonte, W., Bleifuss, J., Volck, J.: Experimental investigations in postmortem protein degradation. *Forens. Sci.* **7**, 9—22 (1976)
5. Bonte, W., Kleinsorge, V.: Autolysebedingte Konzentrationsveränderungen der freien Aminosäuren im Glaskörper des Auges. *Beitr. Gerichtl. Med.* **35**, 133—143 (1976)
6. Bonte, W., Rustemeyer, J.: Quantitative Untersuchungen zur Entwicklung des Aminosäurespektrums in faulender Leber. *Z. Rechtsmed.* **76**, 293—306 (1975)
7. Clifton, C. E.: The utilization of amino acids and of glucose by *Clostridium botulinum*. *J. Bacteriol.* **39**, 485—497 (1940)
8. Gadamer, J.: *Lehrbuch der chemischen Toxikologie und Anleitung zur Ausmittlung der Gifte*, 2. Ed. Göttingen: Vandenhoeck and Ruprecht 1924
9. Hagihira, H., Hayashi, H., Ichihara, A., Suda, M.: Metabolism of l-Lysine by bacterial enzymes. *J. Biochem.* **48**, 267—276 (1960)
10. Honegger, C. H.: Präparative Dünnschichtchromatographie. *Helv. Chim. Acta* **45**, 1409—1415 (1962)
11. Honegger, C. H.: Neuere Untersuchungen zur präparativen Dünnschichtchromatographie. *Helv. Chim. Acta* **46**, 1772—1776 (1963)
12. Hada, N., Ichihara, A., Makita, T., Hayaishi, O., Suda, M., Sasaki, N.: l-Lysine oxidase, a new oxygenase. *J. Biochem.* **50**, 118—121 (1961)
13. Marozzi, E., Lodi, F.: Cromatografia su carta di estratti di organi i studio della putrefazione etc. *Riv. Med. Legisl. Sanit.* **3**, 497—516 (1961)
14. Neuberger, C.: Biochemische Umwandlung von  $\alpha$ -Pyrrolidoncarbonsäure in n-Valeriansäure und  $\delta$ -Aminovaleriansäure. *Biochem. Z.* **37**, 490—500 (1911)
15. Neuberger, A., Sanger, F.: The metabolism of lysine. *Biochem. J.* **38**, 119—125 (1944)
16. Salkowski, E., Salkowski, H.: Über basische Fäulnisprodukte. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **16**, 1191—1195 (1883)
17. Salkowski, H.: Über  $\delta$ -Aminovaleriansäure. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **31**, 776—783 (1898)
18. Schmidt, G.: Postmortale Veränderungen von Arzneistoffen und Giften in Organen und Körperflüssigkeiten einschließlich Neubildung von Störsubstanzen. In: *Gadamers Lehrbuch der chemischen Toxikologie und Anleitung zur Ausmittlung der Gifte*, F. R. Preuss (Ed.), 3. Ed., Vol. I/1. Göttingen: Vandenhoeck & Ruprecht 1969
19. Specht, W.: Chemische Abaureaktionen bei der Leichenzersetzung. *Ergebn. Allg. Pathol. Path. Anat.* **33**, 138—180 (1937)
20. Stadtman, T. C., Elliot, P.: Studies on the enzymic reduction of amino acids. *J. Biol. Chem.* **228**, 983—997 (1957)
21. Stenhagen, E., Abrahamson, S., McLafferty, F. W.: *Registry of mass spectral data*. New York, London, Sidney, Toronto: Wiley & Sons 1974

22. Stickland, L. H.: The chemical reactions by which *Cl.sporogenes* obtains its energy. *Biochem. J.* **28**, 1746—1759 (1934)
23. Stickland, L. H.: The reduction of proline by *Cl.sporogenes*. *Biochem. J.* **29**, 288—290 (1935)
24. Woods, D. D.: Further experiments on the coupled reactions between pairs of amino acids induced by *Cl.sporogenes*. *Biochem. J.* **80**, 1934—1946 (1936)

Eingegangen am 27. Dezember 1978