

Propandiol-(1.3)-fettsäureester als Metaboliten der postmortalen Fettspaltung*

Gerhard Döring¹, Helmut Lackner², Gottfried Mieskes² und Robert Vogel¹

¹ Institut für Rechtsmedizin der Universität, Windausweg 2, D-3400 Göttingen

² Organisch-Chemisches Institut, Tammannstraße 2, D-3400 Göttingen

Propane-diol-(1.3) Fatty Acid Esters as Metabolites of Postmortal Triglyceride Catabolism

Summary. The investigation of 72 samples of human subcutaneous fat tissue stored in closed small bottles at room temperature showed that every third sample decomposed with the formation of unknown metabolites. The presence of these compounds could already be recognized in the crude lipid extracts by characteristic ¹H-NMR signals, increasing in intensity with time of storage. After isolation, the unknown metabolites could be identified as di- or mono fatty acid esters of propane-diol-(1.3). Thus, the known scheme of postmortal breakdown of triglycerides is to be supplemented by a further remarkable pathway.

Zusammenfassung. Die Untersuchung von 72 verschlossen bei Zimmertemperatur gelagerten menschlichen Fettgewebeproben zeigte, daß jede dritte davon unter Bildung unbekannter Metaboliten abgebaut wurde. Die Anwesenheit dieser Verbindungen gab sich bereits im Rohlipidextrakt durch charakteristische, vom Alter der Probe abhängige ¹H-Kernresonanzsignale zu erkennen. Nach der Isolierung konnten sie als Di- oder Monofettsäureester des Propandiol-(1.3) identifiziert werden. Damit erweitert sich das bekannte Schema des postmortalen Abbaus von Triglyceriden um einen weiteren bemerkenswerten Weg.

Key words. Postmortaler Fettabbau – Propandiol-(1.3)-fettsäureester – NMR-Spektroskopie.

1. Einleitung

Lindlar und Gröbe beobachteten 1968 bei ihren Untersuchungen zum autolytischen Abbau des subcutanen Fettgewebes anfangs eine bevorzugte Abspaltung von Palmitinsäure aus den Triglyceriden und hielten es für möglich, daß dieser Effekt zu Liegezeit-

* Auszugsweise vorgetragen auf der 53. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin vom 24.–28.9.1974 in Göttingen

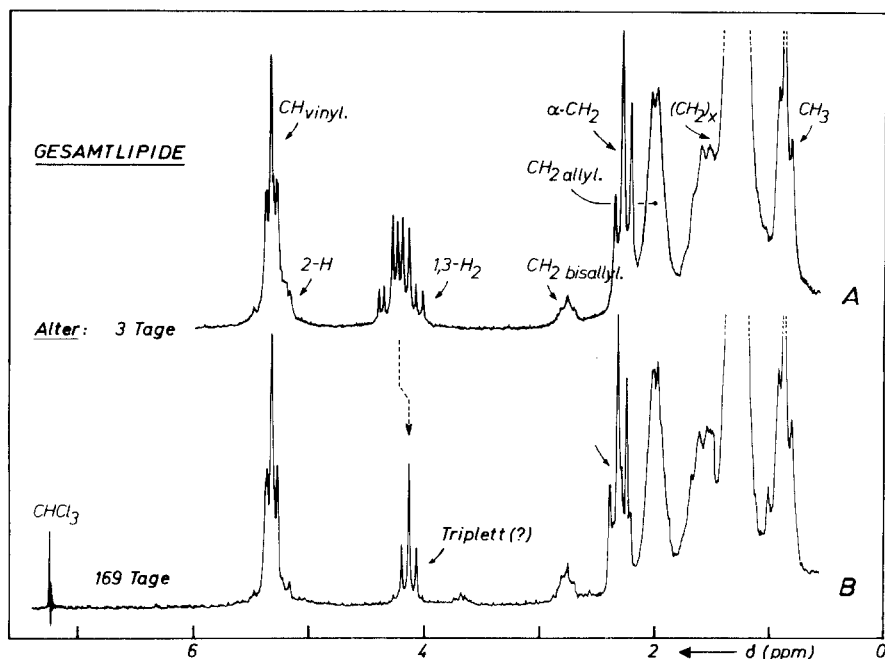
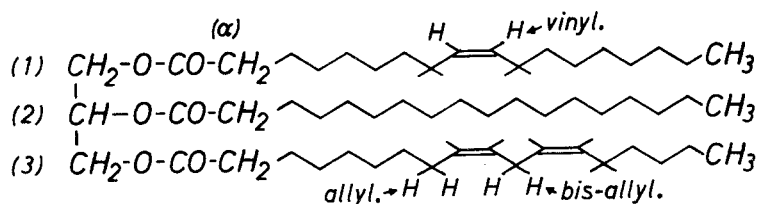


Abb. 1. Protonen(^1H)-NMR-Spektren der Gesamtlipid-Extrakte aus einer frischen (Kurve A; vgl. hierzu Formel 1) und einer 169 Tage alten Fettgewebsprobe (Kurve B) in Deuteriochloroform



Formel 1. Triglycerid-Modell mit Oel-, Stearin- und Linolsäureresten sowie einigen vinyllischen, allyllischen und bisallyllischen Protonen (zu Abb. 1)

bestimmungen herangezogen werden könne. Da in der Praxis aber fast ausschließlich Material zur Untersuchung gelangt, das nicht steril gelegen hat, interessierte uns die Frage, ob es auch in diesen Fällen zeitabhängig zu einer bevorzugten Abspaltung bestimmter Fettsäuren kommt. Wir verfolgten daher den Fettabbau unter möglichst natürlichen, heterolytischen Bedingungen, indem wir zu verschiedenen Zeiten post mortem aus subcutanem Fettgewebe Lipidextrakte herstellten und diese zunächst NMR-spektroskopisch untersuchten. Der Abbau der Triglyceride durch successive Abspaltung von Fettsäuren dokumentiert sich im NMR-Spektrum im wesentlichen dadurch, daß die ausgeprägte 8-Linien-Signalgruppe der C-1- und C-3-Wasserstoffe des Glycerinteils (Abb. 1, A- δ 4,1) langsam verschwindet und schließlich das Spektrum der freien Fettsäuren (vgl. in Abb. 2 das der Stearinsäure) resultiert. Überraschenderweise lieferten die Lipidextrakte unserer Versuchsreihen in etwa einem Drittel der Fälle nicht die normalen Glycerid/Fettsäure-Gemisch-Spektren, sondern Spektren, in denen anstelle des abnehmenden Glycerin-Multipletts ein mit steigendem

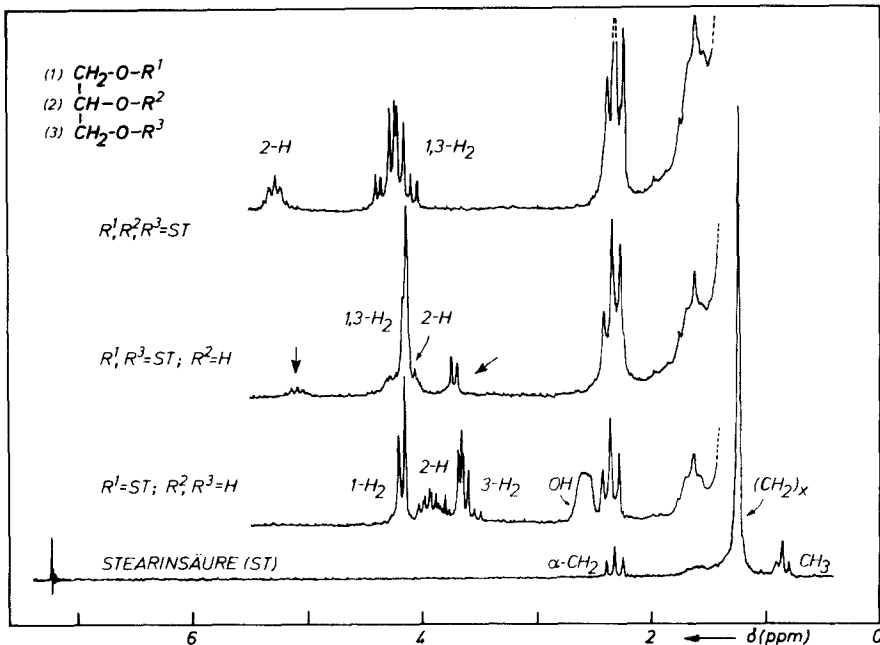


Abb. 2. Vergleich der ^1H -NMR-Spektren von einem Triglycerid (oben), einem 1,3-Diglycerid mit beigemengtem 1,2-Diglycerid (Pfeile), einem 1-Monoglycerid und einer freien Fettsäure in Deuteriochloroform

Probenalter intensiver werdendes, zunächst nicht deutbares Triplettssignal erschien (Abb. 1, B- $\delta 4,1$). Daß dieses nicht von bekannten Metaboliten wie Di- und Monoglyceriden oder Hydroxyfettsäuren herrührte, war sicher, denn solche Verbindungen unterscheiden sich im NMR-Spektrum besonders gut (Abb. 2).

Das untersuchte Material mußte demnach offenbar noch unbekannte Metaboliten des postmortalen Lipidabbaus enthalten, die wir nach Möglichkeit isolieren und identifizieren wollten.

2. Experimentelles

a) Entnahme und Aufarbeitung der Proben

Acht verschiedenen Leichen wurde bei der Obduktion 1 – 3 Tage nach dem Tode ohne besondere sterile Vorkehrungen, jedoch unter möglichst weitgehender Vermeidung einer künstlichen Infektion, Unterhautfettgewebe der Bauchregion entnommen. Die Proben wurden auf je 12 Schnappdeckelgläschen verteilt und verschlossen bei Zimmertemperatur gelagert. In der Regel wurde dann in wöchentlichen Abständen bis etwa 10 Wochen post mortem aus dem gesamten Inhalt (feste und verflüssigte Probenanteile) je eines Fläschchens jeder Serie ein Lipidextrakt (s.u.) hergestellt und dieser NMR-spektroskopisch kontrolliert. Die Probe, die bereits in der 4. Woche das ausgeprägteste Triplettssignal zeigte, wurde noch bis zum 169. Tage – d.h. bis praktisch alles Triglycerid abgebaut war – gelagert und dann quantitativ aufgearbeitet.

Hierzu wurden 4.0 g des homogenisierten Fettgewebes erschöpfend mit äthanolfreiem Chloroform extrahiert und der Eindampfrückstand des Gesamtlipides (3.0 g) an einer Säule mit 50 g basischem Aluminiumoxid (Aktivitätsstufe II-III) und mit Chloroform als Laufmittel in die durchlaufende *Neutrallipid*-Fraktion (0.72 g) und die Fraktion der freien Fettsäuren (2.2 g) aufgetrennt. Diese konnte dann mit einem Chloroform/Methanol-Chloroform/Methanol/Essigsäure-Gradienten von der Säule eluiert werden (Mieskes). Ein anderer Gesamtlipidextrakt aus dem gleichen Fettge-

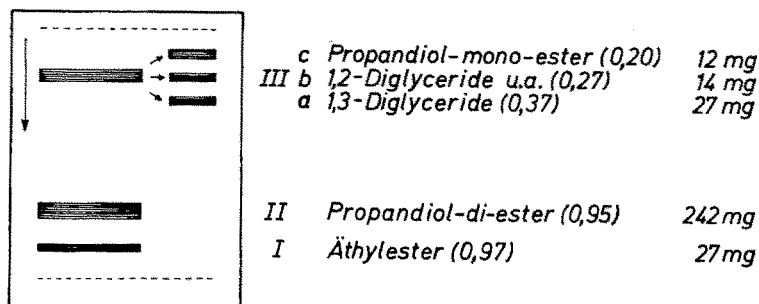


Abb. 3. Schichtchromatographische Auftrennung des hydrierten Neutrallipids (350 mg) auf Kieselgelplatten und Tabelle der isolierten Inhaltsstoffe. In Klammern: R_F -Werte auf Plastikfolien Polygram Sil G/UV₂₅₄ („Macherey u. Nagel“) im System II; der R_F -Wert für Triglyceride liegt in diesem System ebenfalls bei 0.95. Lokalisierung der Zonen: methanolische Schwefelsäure, Rhodamin B in Äthanol oder kurzweiliges UV-Licht

webehomogenisat wurde zur Kontrolle potentiometrisch in Tetrahydrofuran/Wasser (7 : 3) titriert, wobei sich wie oben ein Gehalt an freien Fettsäuren von etwa 75 % ergab. Damit war auch eine mögliche Hydrolyse von Triglycerid am Aluminiumoxid ausgeschlossen.

Die Hälfte der Neutrallipide (350 mg) wurde in Gegenwart von Palladiummohr bei 25° C in 6 – 9 Stdn. unter Normdruck aushydriert und die *hydrierten Neutrallipide* schichtchromatographisch an 20 x 40 cm-Platten auf neutralem Kieselgel mit Fluoreszenzindikator („Merck“ PF₂₅₄; 35 g pro Platte) in 3 Fraktionen (I-III, Abb. 3) getrennt. Aufgetragen wurden 40 mg Lipidgemisch je Platte, das Laufmittel war n-Hexan/Diäthyläther/Essigsäure/Methanol (90 : 20 : 2 : 6; System I). Die durch Fluoreszenzlöschung oder gegebenenfalls durch Anfärben der Plattenränder mit Rhodamin B in Äthanol erkennbaren Zonen wurden von den Platten geschabt und mit Chloroform vom Kieselgel eluiert. Die langsam laufende Fraktion III ließ sich auf 25 x 25 cm-Fertigfolien Polygram Sil G/UV₂₅₄ „Macherey u. Nagel“ mit n-Hexan/Diäthyläther/Essigsäure/Methanol (90 : 20 : 2 : 3; Brown und Johnston; System II) in drei weitere Fraktionen (IIIa, b, c - vgl. die R_F -Werte und Mengenangaben in Abb. 3) zerlegen.

Die in Chloroform gelösten Eindampfrückstände aller 5 Eluate wurden mit Wasser gewaschen, filtriert und nach erneutem Verdampfen der Lösungsmittel zur spektroskopischen und chromatographischen Charakterisierung und Strukturermittlung eingesetzt (Ausbeuten: vgl. Abb. 3). – Die andere Hälfte der Neutrallipide wurde ohne vorherige Hydrierung für analoge Trennversuche und spektroskopische Messungen verwandt.

b) Spektroskopische Methoden

¹H-NMR-Spektren: Die Protonenspektren wurden bei 100 MHz im Gerät „VARIAN“ HA-100 mit Tetramethylsilan (TMS) als innerem Standard und Deuteriochloroform (CDCl₃) als Solvens bei ca. 35° C aufgenommen.

Massenspektren:¹ Diese wurden in einem Spektrometer „VARIAN MAT“ CH-7, teilweise unter Verwendung eines integrierten Gaschromatographen VARIAN-Aerograph 1700, gemessen. Die Temperatur der Ionenquelle betrug 220° C, der Emissionsstrom 300 μ A und die Energie 70 eV. Der Gaschromatograph war mit einer 1,5 m Trennsäule (1,5 mm Durchmesser, stationäre Phase 3 % SE 30 auf Chromosorb W) versehen, die Ofentemperatur betrug 200° C und die Trägergasmenge 20 ccm/min. Helium.

c) Präparative Methoden

Umesterung von Neutrallipid mit 2,2-Dimethoxypropan nach Lorette und Brown: 40 – 80 mg Lipid wurden mit 0.2 ccm konz. Salzsäure, 5 ccm 2,2-Dimethoxypropan und 2 ccm Methanol

¹ Wir danken Herrn Prof. Dr. G. Spiteller und Herrn Dr. G. Remberg für die Aufnahme der Massenspektren.

2 Stdn. lang bei 20° gehalten. Der Eindampfrückstand wurde mit 20 ccm Toluol/Petroläther (1:1) abgedampft, in 3 ccm Chloroform/Methanol (2:1) aufgenommen und mit 0.7 ccm Wasser bis zur Phasentrennung geschüttelt. Die organische Phase enthielt die Fettsäureester, die wässrige Phase Glycerin und Propandiol-(1.3).

Synthese des Propandiol-(1.3)-distearinsäureesters: Eine Mischung von 28.4 g Stearinsäure und 18 g Thionylchlorid wurde 15 Min. am Rückfluß gekocht und der Eindampfrückstand mit 3.8 g Propandiol-(1.3) eine Stunde auf 100° C erhitzt. Das Rohprodukt wurde in Wasser gegossen, die abfiltrierte Festsubstanz in Chloroform gelöst und der Verdampfungsrückstand aus Methanol umkristallisiert. (Ausbeute 21.3 g, 70 % d.Th.; Schmp. 64° C; Elementaranalyse: C₃₉H₇₆O₄ (608.0), ber. C 76.97, H 12.50; gef. C 76.87, H 12.26).

Synthese des Propandiol-(1.3)-mono-stearinsäureesters: Das aus 7.1 g Stearinsäure und 4.5 g Thionylchlorid wie oben erhaltene Stearoylchlorid wurde in 15 ccm Chloroform gelöst und langsam in eine auf 55° C erwärmte Mischung aus 1.9 g Propandiol-(1.3), 30 ccm Aceton und einer katalytischen Menge Schwefelsäure getropft. Die noch eine Stunde am Rückfluß gekochte Reaktionsmischung wurde abgedampft und auf präparativen Kieselgelplatten wie unter 2.1. beschrieben mit n-Hexan/Diäthyläther/Essigsäure/Methanol (90 : 20 : 2 : 3) getrennt. Die langsamere der beiden wie oben aufgearbeiteten Zonen enthielt den Monoester (Schmp. 51° C; Elementaranalyse: C₂₁H₄₂O₃ (342.0), ber. C 74.68, H 12.25; gef. C 74.96, H 11.89).

3. Ergebnisse

Das Auftreten der zunächst unerklärbaren, triplettförmigen Protonenresonanzsignale bei δ 4.1 (Abb. 1, B) in einer Reihe von Gesamtlipidextrakten deutete auf die Anwesenheit von bisher unbekannten Fettabbauprodukten hin und warf vor allem vier Fragen auf:

a) Wie häufig erfolgt dieser atypische Abbau, b) ist die Intensität des fraglichen Triplets vom Alter der Probe abhängig, c) wie ist die Struktur der Metaboliten, die ein solches Tripletsignal geben, und d) wodurch wird dieser Abbau verursacht?

Die erste Frage wurde direkt durch die NMR-Spektren der 72 untersuchten Gesamtlipidproben beantwortet, von denen 25 ein mehr oder minder intensives, die Signale der 1.3-Protonen des Glycerins überlagerndes Triplett zeigten (vgl. Abb. 1). Diese Proben wichen auch in der Farbe (gelblich-rosa), dem Geruch („aromatisch“) sowie der Konsistenz (wachsartig fest, porös) von den normal abgebauten (bräunlich-gelb; faulig; zerfließend) ab. Der hier beobachtete atypische Abbau ist somit kein seltener Ausnahmefall. Daß die Intensität des Triplets mit wachsendem Probenalter auf Kosten der Glycerinsignale ansteigt, zeigt eindeutig Abb. 4 (linker Pfeil), in der einige Neutrallipid-Spektren verschieden alter Fettgewebeproben zusammengestellt sind.

Um Näheres über die Struktur der fraglichen Metaboliten zu erfahren, wurde — neben zwei jüngeren — die schon erwähnte 169 Tage alte Probe, die diese Verbindungen dem NMR-Spektrum nach in besonders hoher Konzentration enthalten mußte, quantitativ aufgetrennt (Abb. 3) und analysiert (Mieskes). Der Erfolg der Trennarbeiten konnte, wie in Abb. 5 veranschaulicht, mit Hilfe des δ 4.1-Triplets als Leitsignal kontrolliert werden. Das Zerlegen des Gesamtlipids (Kurve A) in die Fraktion der freien Fettsäuren (76 %) — deren NMR-Spektrum kein Triplett-Signal gab — und den Neutrallipidanteil (24 %) führte zu einer stark erhöhten Triplettintensität (Kurve B) und folglich zu einer Anreicherung der fraglichen Substanzen in der Neutralfraktion. Die Umesterung eines Teils dieser Neutrallipide mit 2.2-Dimethoxypropan ließ weiterhin erkennen, daß die das Triplett verursachenden strukturellen Veränderungen wider Erwarten nicht in der Fettsäure, sondern in der Alkoholkomponente der Lipide zu

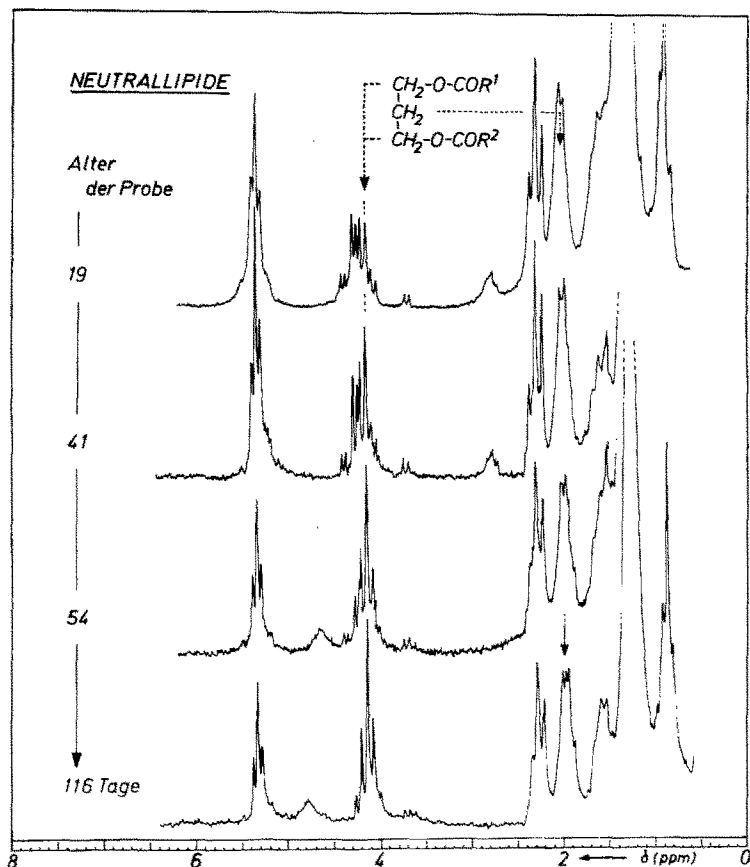


Abb. 4. Anwachsen des Triplettsignals bei δ 4.1 auf Kosten des Glycerinprotonen-Multipletts als Indikator für den mit der Zeit zunehmenden Gehalt der Proben an Propandiol-(1.3)-fettsäure-ester. Rechter Pfeil: unter den Allylprotonensignalen verborgenes Quintett der C_2 -Protonen des Propandiolrestes (vgl. Abb. 5, C)

suchen waren, denn die Spektren der entstandenen Fettsäuremethylester zeigten keinerlei Besonderheiten.

Um die Zahl der Komponenten in der Neutrallipidfraction zu vermindern und die Signale der Vinyl- und Allylprotonen (δ 5.3 und 1.9 ppm) im NMR-Spektrum zu beseitigen, wurden 0.35 g Neutrallipid schonend hydriert. Das Ergebnis zeigt Kurve C der Abb. 5: bei unverändertem Triplet (δ 4.1) erscheint bei δ 2.0 eine zweite triplett-artige, zuvor durch die Allylprotonensignale verdeckte und in normalen Lipidspektren unbekannte Signalgruppe. Diese, und nicht wie anfangs vermutet die der Allylwasserstoffe, koppelte nun mit dem fraglichen δ 4.1-Triplett. Beide Signale mußten, da die Fettsäureketten hierfür entfielen, zu einer Lipidkomponenten mit einem abgewandelten Glycerinteil gehören.

Die schichtchromatographische Trennung der hydrierten Neutrallipide gelang schließlich an präparativen Kieselgelplatten, wobei zunächst die einheitliche Hauptfraktion II (242 mg) isoliert wurde. Deren Protonenspektrum (Abb. 6 Kurve B) zeigte

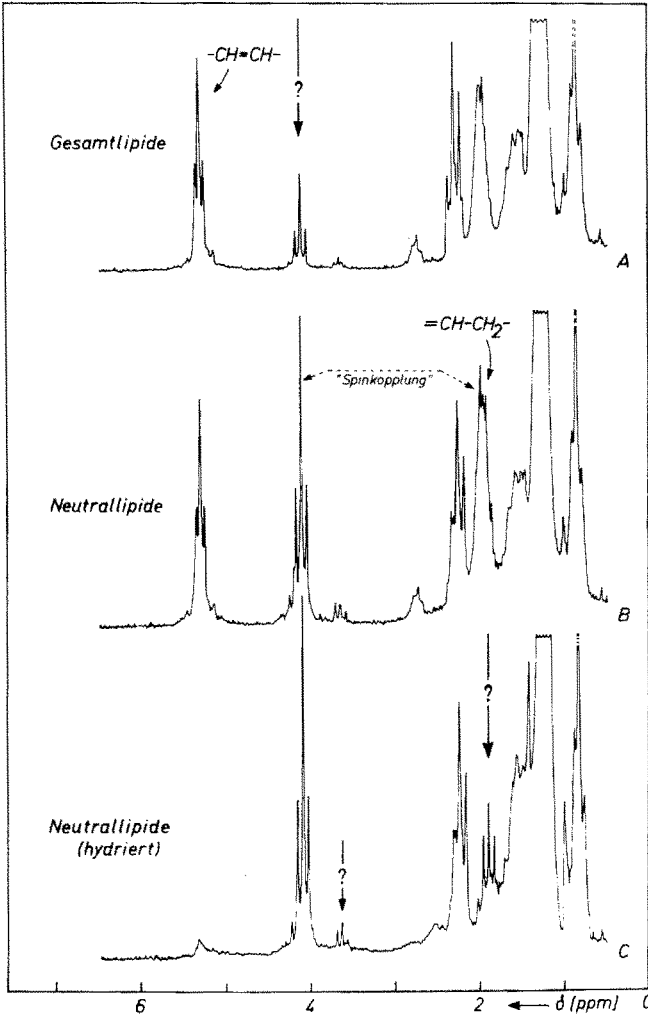
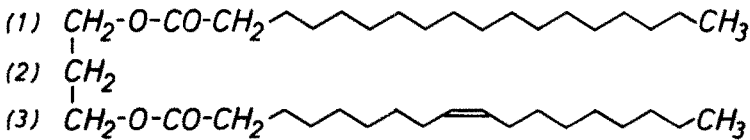


Abb. 5. ^1H -NMR-Spektren der Gesamtlipide (A), der mit den unbekannten Metaboliten angereicherten Neutrallipid-Fraktion (B) sowie der hydrierten Neutrallipide (C; Fehlen der Vinyl- und Allylprotonensignale bei δ 5.3 und 1.9)



Formel 2a. Propandiol-(1.3)-difettsäureester

b. wie a, jedoch Doppelbindung hydriert

c. wie b, jedoch eine der beiden Fettsäureketten durch H ersetzt (Propandiol-(1.3)-monofettsäureester)

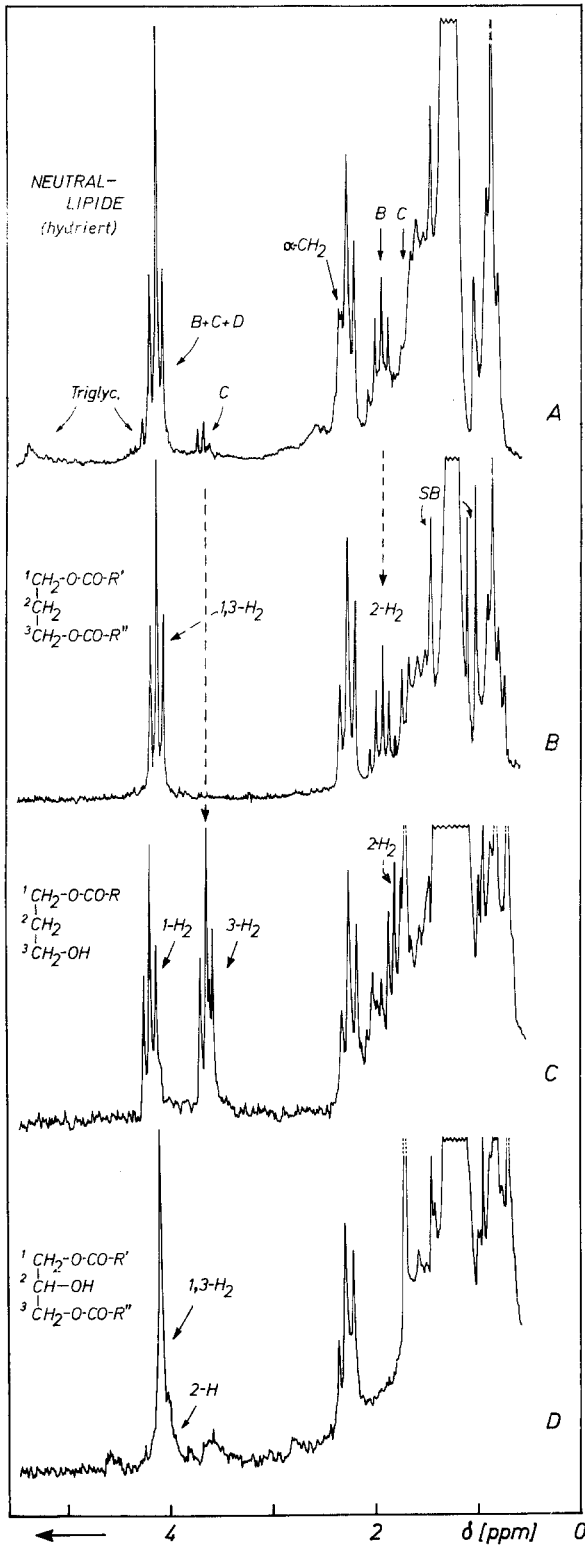


Abb. 6. ^1H -NMR-Spektren der aus der hydrierten Neutrallipid-Fraktion (Kurve A) isolierten Metaboliten: Propandiol-(1.3)-difettsäureester (2b, Kurve B), Propandiol-(1.3)-monofettsäureester (2c, Kurve C) sowie 1.3-Diglycerid (Kurve D). — Deuteriochloroform; SB: Seitenbanden; B, C, D in Kurve A: Charakteristische Signale der verschiedenen Komponenten im Spektrum der hydrierten Neutrallipid-Fraktion

das δ 4.1-Triplett unverzerrt und dazu bei δ 2.0 das nach dem Hydrieren des Neutrallipids erschienene Signal, jetzt als Quintett mit der Hälfte der Intensität des δ 4.1 Signals. Nach den üblichen Auswerteregeln ließ sich aus den verschiedenen Parametern (δ -Werte, Intensitäten, Spinkopplungen) von Spektrum B bereits die Struktur dieser Hauptkomponente ableiten: ein mit zwei Fettsäuren verestertes Propandiol-(1.3) (2b). (Formel 2 s. S. 291).

Das fragliche, schon im Gesamtlipid beobachtete Triplettsignal gehörte somit zu den 1.3-Protonen des Propandiolteils. Es entsteht aus dem Multiplett der 1.3-Protonen des Glycerinteils nach Abspaltung der mittleren Fettsäurekette und Reduktion von Kohlenstoffatom 2. Die dabei gebildete CH_2 -Gruppe verursacht das Quintett bei δ 2.0. – Daß die abgeleitete Struktur richtig ist, zeigte sich auch im Massenspektrum, wo neben dem Molekülion des Propandiol-(1.3)-distearates ($m/e = 608$) mehrere Komponenten mit um jeweils 28 verminderter Massenzahl sowie ganz typische Bruchstücke auftraten. Einen weiteren Strukturbeweis für den neuen Metaboliten lieferte der dünn-schichtchromatographische sowie NMR- und massen-spektrometrische Vergleich des isolierten Produktes mit einem synthetisierten Propandiol-(1.3)-distearat (vgl. Abb. 7). Analog ließen sich auch aus dem *nichthydrierten* Neutrallipid Propandiol-derivate mit ungesättigten Fettsäuren (vorwiegend Ölsäure) isolieren. Daß Propandiolester keinesfalls bei dem Hydrierungsschritt aus z.B. 1.3-Diglyceriden entstehen können, wurde zusätzlich durch Modellversuche abgesichert.

Aus der langsamer wandernden Nebenzone IIIc (Abb.3) konnten wir Propandiol-(1.3)-monofettsäureester 2c isolieren (12 mg), wobei die Struktur ebenfalls durch NMR-Daten (Abb. 6, Kurve C), Massenspektren und den Vergleich mit einem synthetisierten Propandiol-(1.3)-monostearat bewiesen wurde. Noch drei weitere Fraktionen wurden isoliert und identifiziert: das 1.3-Diglycerid (Zone IIIa, NMR-Daten in Kurve D), ein 1.2-Diglycerid (Zone IIIb) sowie eine größere Menge Fettsäureäthylester (Abb. 3; Zone I). – Im eingeeengten wässrigen Extrakt der rohen, homogenisierten Fettgewebsprobe sowie in der eingeeengten Wasserphase, die beim Umestern der Neutrallipide mit 2.2-Dimethoxypropan entstand, ließ sich NMR-spektroskopisch neben Glycerin einwandfrei Propandiol-(1.3) nachweisen. Über die Zusammensetzung der Fettsäuren in den einzelnen Komponenten soll in anderem Zusammenhang berichtet werden.

4. Diskussion

Nach den Ergebnissen unserer Untersuchungen muß angenommen werden, daß neben dem bekannten postmortalen Triglycerid-Abbau durch schrittweise hydrolytische Abspaltung der Fettsäuren ein weiterer Abbauweg besteht. Dieser führt wohl über die hydrolytische Abspaltung der Fettsäure am Kohlenstoff 2 des Glycerinrestes zunächst zu einem 1.3-Diglycerid, das dann durch Reduktion der Alkoholgruppe in einen Propandiol-(1.3)-difettsäureester verwandelt wird. (Theoretisch käme als erster Schritt auch eine Reduktion am C_2 -Atom unter *gleichzeitigem* Verlust einer Fettsäurekette in Betracht). Aus den Propandioldifettsäureestern entstehen durch weitere Abspaltung einer Fettsäure Monoester, aus denen schließlich hydrolytisch Propandiol-(1.3) und freie Fettsäuren gebildet werden. Alle Glieder dieser Abbaukette – 1.3-Diglycerid, Propandiol-(1.3)-difettsäureester, Propandiol-(1.3)-monofettsäureester, Propandiol-

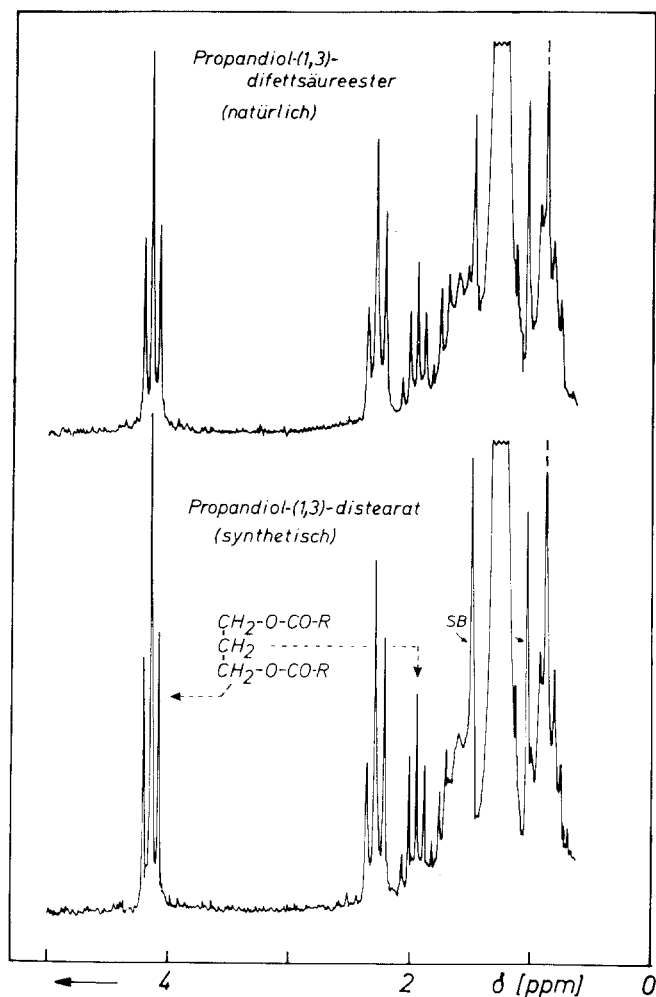


Abb. 7. ^1H -NMR-spektrometrischer Vergleich der isolierten Propandiol-(1,3)-difettsäureester-Fraktion (obere Kurve) mit einem synthetisierten Propandiol-(1,3)-distearat (SB: Seitenbanden)

(1,3) und freie Fettsäuren – wurden aus zerfallendem Fettgewebe isoliert und einwandfrei identifiziert. Die Propandiolester enthalten die gleichen Fettsäuren wie die Glyceride, allerdings in etwas abweichendem Mengenverhältnis, worüber an anderer Stelle berichtet werden soll.

Die Auswertung von 8 Versuchsreihen und die NMR-spektrometrische Untersuchung von 72 der Einzelproben zeigte, daß der hier diskutierte Abbauweg in etwa einem Drittel der Fälle – also relativ häufig – beschriftet wurde. Das wirft die Frage auf, warum dieser Abbauweg unseres Wissens bisher noch nicht beobachtet wurde. Der Grund hierfür dürfte darin zu suchen sein, daß sich Glycerin- und Propandiol-fettsäureester (vgl. die R_F -Werte in Abb. 3) nur sehr schwer trennen lassen. Eine Trennung gelang auch uns nur dadurch, daß der Erfolg der Trennoperationen durch die besonders spezifischen NMR-Daten beider Verbindungsgruppen kontrolliert werden konnte.

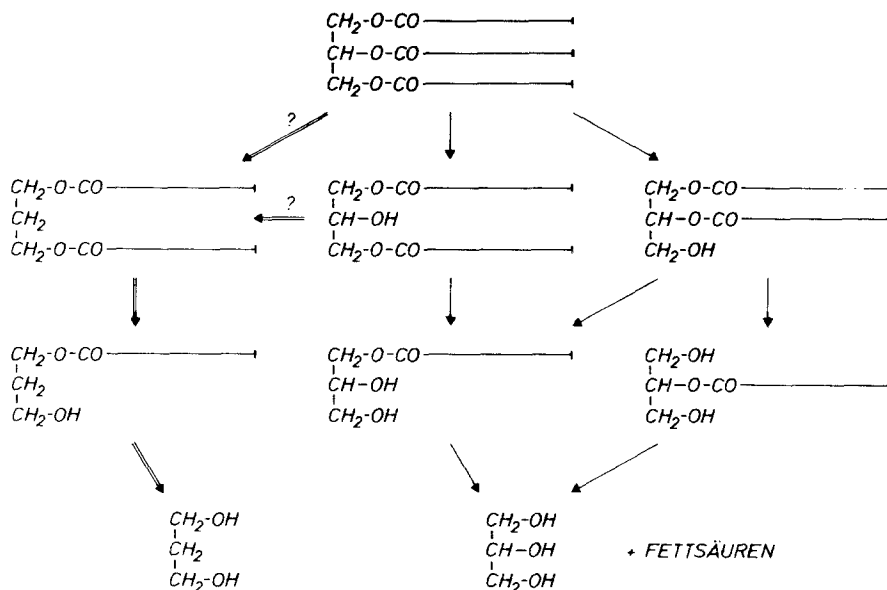


Abb. 8. Übersicht über mögliche postmortale Abbauwege von Triglyceriden (~~~~~ Fettsäureketten)

Als Ursache des beschriebenen Abbaus können schon jetzt mit sehr hoher Sicherheit Fremddermente angenommen werden. Hierfür spricht, daß die Propandiolester-Bildung erst mit einer gewissen Latenz einsetzt, sich dann rasch beschleunigt und schließlich wieder sehr langsam wird, d.h. dem Bild einer Bakterienwachstumskurve entspricht. Ferner fiel auf, daß die Propandiolester in einigen Serien – von offenbar abweichend infiziertem Probenmaterial – ganz gehäuft, in anderen gar nicht oder selten auftraten. Schließlich konnte in Proben, die nach wochenlanger Lagerung noch keine Propandiolester gebildet hatten, durch Überimpfen von wenig Material aus propandiolester-haltigen Proben eine schnelle Propandiolester-Bildung induziert werden. Die Frage, welche Mikroorganismen den Abbau bewerkstelligen, soll noch durch mikrobiologische Untersuchungen überprüft werden.

Wieweit die von uns beobachteten Veränderungen zu *Liegezeitbestimmungen* herangezogen werden können, läßt sich noch nicht endgültig angeben. Wie die Abb. 1 und 4 zeigen, sind sehr grobe Altersschätzungen über qualitative Merkmale sicher möglich. Die Veränderungen manifestieren sich außer im Anstieg des Triplettsignals bei δ 4.1 in vielen Fällen auch im Verschwinden der Bisallylprotonen-Signale. Eine genauere quantitative Auswertung der Spektren der Rohlipidextrakte ist wegen des Fehlens geeigneter Bezugssignale und der Überlagerung des Triplets durch das Glycerin-Multiplett schwierig. Am geeignetsten erschien vorerst noch die Ermittlung des Quotienten aus den Intensitäten der Signalgruppen bei δ 5.3 (olefinische Protonen) und bei δ 4.1 (Glycerin- + Propandiolwasserstoffe).

Über diese Ergebnisse und die einiger Modelluntersuchungen an Propandiol-/Glycerinester-Gemischen soll noch in anderem Zusammenhang ausführlicher berichtet werden. Hier sei nur zusammenfassend gesagt, daß sich noch eine relativ große Streu-

ung der Einzelwerte ergab, die lediglich drei längere Phasen des Abbaus unterscheiden ließ: eine Anlaufphase bis zur 3. und 4. Woche, eine Phase der schnellen Propandiolester-Bildung von der 4. bis zur 6. Woche, sowie anschließend eine langdauernde Phase, in der es offenbar zu keiner wesentlichen Neubildung, aber bei der vergleichsweise großen Stabilität der Produkte auch zu keinem nennenswerten Abbau kommt. Nach etwa 270 Tagen waren aber auch die Propandiol-diester weitestgehend abgebaut; übrig blieben in der Neutralfraktion im wesentlichen geringe Mengen 1.3-Diglycerid und Propandiolmonoester. Insgesamt gesehen verläuft der Abbau der Fette auf dem Propandiolesterwege rascher als der auf dem normalen Wege über die Di- und Monoglycerinester. Eine nähere Eingrenzung der Liegezeit scheint möglich, indem nicht nur die NMR-Spektren der Rohextrakte gemessen werden, sondern nach vorheriger chromatographischer Auftrennung die mehrerer Fraktionen, so daß man einen Überblick über die Konzentrationen aller Metaboliten des Fettabbaus bekommt. Ferner läßt sich in günstig gelegenen Fällen wahrscheinlich durch mehrfache Probenahme in gewissen Zeitabständen genauer ermitteln, in welcher Phase des Abbaus das Untersuchungsmaterial sich zur Auffindezeit befand.

Schließlich ist zu berücksichtigen, daß die hier angewandte Entnahmeweise auf eine andere Fragestellung zugeschnitten und zum Verfolgen von Altersveränderungen der gefundenen Art nicht optimal war. Läßt man für die Versuchsreihen größere Fettgewebeproben liegen, aus denen in bestimmten Zeitabständen kleine Proben entnommen werden sollen, so kommt es durch die bald einsetzende partielle Fettverflüssigung zu einer Entmischung. Die Lipide des festbleibenden Gewebes zeigen dann eine andere Zusammensetzung als die ablaufende Flüssigkeit (Ahrens). Da das Mengenverhältnis von Geweberesten und Flüssigkeit nicht genau bestimmbar ist, erhält man bei dieser Versuchsanordnung keine Stoffwechselbilanzen. Für die ursprüngliche Fragestellung – Vergleich der Zusammensetzung der abgespaltenen zu den noch veresterten Fettsäuren – erschien es daher günstiger, das Versuchsmaterial zu Beginn in kleine Portionen aufzuteilen, die später vollständig aufgearbeitet werden konnten. Dieses Vorgehen hat den Nachteil, daß bei Verzicht auf Sterilität die Proben sich nicht homogen, sondern je nach Art und Grad der Infektion verschieden verändern. Als Modell für Liegezeitbestimmungen wären daher Versuchsreihen günstiger, in denen nebeneinander die Veränderungen von Fettflüssigkeit und verbleibendem Fettgewebe sukzessiv verfolgt werden können. Über Versuche dieser Art soll noch berichtet werden.

Literatur

- Ahrens, B.: Die postmortale Fettgewebs-Hydrolyse in Beziehung zur Todeszeitbestimmung. Med. Diss. Göttingen 1973
- Brown, J.L., Johnston, J.M.: Radioassay of lipid components separated by thin-layer chromatography. *J. Lipid Res.* 3, 480–481 (1962)
- Lindlar, F., Gröbe, R.: Abspaltung höherer Triglycerid-Fettsäuren während der Autolyse des Fettgewebes. *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.* 349, 1493–1496 (1968)
- Lorette, N.B., Brown Jr. J.H.: Use of Acetone Dimethyl Acetal in Preparation of Methyl Esters. *J. Org. Chem.* 24, 261–262 (1959)
- Mieskes, G.: Isolierung und Strukturuntersuchung spezifischer Inhaltsstoffe von Leichenlipiden. Diplomarbeit, Göttingen 1974

Eingegangen am 7. November 1975