

den GpU und GpC mit 16 % bzw. 15 % Ausbeute erhalten.

Die in diesem Bericht zitierten eigenen Arbeiten sind das Resultat einer glücklichen Zusammenarbeit mit meinen tüchtigen Mitarbeitern; ihnen sei vor allem gedankt. Herrn Dr. Reinhard danke ich für seinen wesentlichen Anteil bei der Abfassung dieses Manuskriptes; Herr Dr.

Eckstein hat die chemisch-präparativen, Herr Dr. Lezius die biochemischen Abschnitte überarbeitet. Finanzielle Impulse erhielten die Arbeiten durch eine Starthilfe der Rockefeller-Stiftung (1958), durch mehrere Sachbeihilfen der Deutschen Forschungsgemeinschaft, des Bundesministeriums für Wissenschaftliche Forschung und des Fonds der Chemischen Industrie.

Eingegangen am 18. November 1965 [A 499]

Die Biosynthese der Cyclite

VON H. KINDL, R. SCHOLDA UND O. HOFFMANN-OSTENHOF
ORGANISCH-CHEMISCHES INSTITUT DER UNIVERSITÄT WIEN (ÖSTERREICH)

Herrn Professor K. Freudenberg zum 80. Geburtstag gewidmet

In letzter Zeit ist es – vor allem mit Hilfe radioaktiv markierter Verbindungen – gelungen, Einblick in die Biosynthese verschiedener Cyclite zu erhalten. Es konnte gezeigt werden, daß für meso-Inosit, den am weitesten verbreiteten Cyclit, ein wahrscheinlich für alle Organismen gültiger Biosyntheseweg existiert, bei dem durch Ringschluß über die beiden endständigen Kohlenstoffatome von D-Glucose der Cyclohexanring entsteht. Aus verschiedenen biologischen Materialien können zellfreie Extrakte oder Enzymsysteme hergestellt werden, welche die Überführung von D-Glucose in meso-Inosit katalysieren. – Die Biosynthese der anderen Hexahydroxycyclohexane (Inosite) verläuft über meso-Inosit als Zwischenprodukt; einzelne Teilschritte der Überführung von meso-Inosit in andere Inosite wurden untersucht.

A. Einleitung

Der von Micheel^[1] geprägte Sammelbegriff „Cyclite“ bezeichnet isocyclische Polyalkohole, deren Hydroxylgruppen an die Ringkohlenstoffatome gebunden sind. Alle bisher bekannten natürlichen Cyclite sind Abkömmlinge des Cyclohexans; innerhalb dieser Verbindungsgruppe sind es die Hexahydroxycyclohexane oder Inosite, denen die größte Bedeutung zukommt.

Schon 1850 isolierte Scherer^[2] aus Muskelextrakten eine Substanz, die er für einen Zucker hielt und als Muskelzucker oder Inosit bezeichnete. Es ist vor allem den Arbeiten von Maquenne^[3] zu verdanken, daß diese Verbindung als Hexahydroxycyclohexan erkannt wurde. Man nannte die Substanz meso-Inosit^[4]; ihre Konfiguration wurde 1942 fast gleichzeitig von zwei Arbeitsgruppen aufgeklärt^[7, 8].

Unter den Inositen ist der zuerst entdeckte meso-Inosit (I)^[9] in der Natur am meisten verbreitet; er dürfte in

[1] F. Micheel, Liebigs Ann. Chem. 406, 77 (1932).

[2] J. Scherer, Liebigs Ann. Chem. 73, 322 (1850); J. prakt. Chem. 50, 32 (1850).

[3] Vgl. dazu L. Maquenne: Les sucres et leurs principaux dérivés. Gauthier-Villars, Paris 1900.

[4] Unter den neun stereoisomeren Hexahydroxycyclohexanen sind sieben optisch inaktiv und könnten deshalb mit gleichem Recht das Präfix meso- tragen. Obgleich von vielen Bearbeitern des Gebietes der Vorschlag, die bisher als meso-Inosit bekannte Substanz myo-Inosit zu nennen [5], begrüßt wurde, fand dieser Name und die von den Autoren vorgeschlagene Systematik der Cyclite doch nicht allgemeine Verbreitung. Die Nomenklatur der Cyclite wird zurzeit von einer Untergruppe der internationalen Nomenklaturkommission für biochemische Verbindungen einer

freier oder gebundener Form in allen Organismen vorkommen. Bereits Eastcott^[10] konnte zeigen, daß meso-Inosit ein essentieller Bestandteil des als „Bios“ bezeichneten Wuchsstoffgemisches für Hefe ist. Für Mäuse und andere Säugetiere wurde eine Vitaminfunktion des meso-Inosits postuliert^[11], und auch verschiedene Stämme von Zellkulturen menschlichen Ursprungs benötigen ihn in ihrem Nährmedium^[12]. Die Hauptfunktion des meso-Inosits besteht vermutlich darin, daß er ein Baustein der Phosphoinositide ist, die eine heute noch nicht völlig klare Rolle im Stoffwechsel spielen. Kürzlich konnte eine Mitwirkung dieser Phospholipide bei der adenosintriphosphat-abhängigen Kontraktion

Revision unterzogen. Im vorliegenden Referat bedienen wir uns der Nomenklatur, die in der ausgezeichneten Monographie von Posternak [6] verwendet wird.

[5] H. G. Fletcher, L. Anderson u. H. Lardy, J. org. Chemistry 16, 1238 (1951).

[6] T. Posternak: Les cyclitols. Hermann, Paris 1962.

[7] T. Posternak, Helv. chim. Acta 25, 746 (1942).

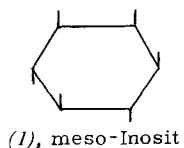
[8] G. Dangschat u. H. O. L. Fischer, Naturwissenschaften 30, 146 (1942).

[9] Obwohl die Cyclite in der Sesselform darzustellen wären, werden sie der Übersichtlichkeit halber hier in der hexagonalen Form geschrieben.

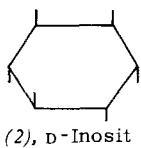
[10] E. V. Eastcott, J. physic. Chem. 32, 1094 (1928).

[11] Vgl. z. B. D. W. Woolley, J. biol. Chemistry 136, 113 (1940); 139, 29 (1941); J. exp. Med. 75, 277 (1942).

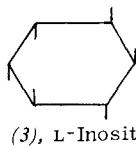
[12] H. Eagle, B. Agranoff u. E. E. Snell, Science (Washington) 123, 845 (1956); H. Eagle, V. Oyama, M. Levy u. A. E. Freeman, J. biol. Chemistry 226, 191 (1957); R. P. Geyer u. R. S. Chang, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 95, 315 (1957).



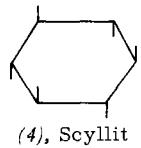
(1), meso-Inositol



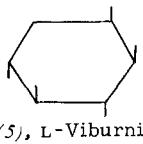
(2), D-Inositol



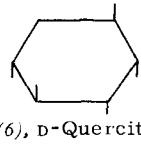
(3), L-Inositol



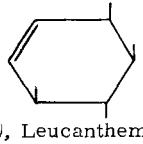
(4), Scyllitol



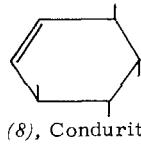
(5), L-Viburnit



(6), D-Quercitol



(7), Leucanthemitol



(8), Conduritol

der Mitochondrien nachgewiesen werden [13]. Allgemein muß angenommen werden, daß diejenigen Zellen und Organismen, welche meso-Inositol als Wuchsstoff oder als Vitamin benötigen, nicht oder nur in ungenügendem Maß imstande sind, die für den Aufbau der Phosphoinositide erforderliche Menge der Substanz selbst zu bilden.

Vor allem in höheren Pflanzen, aber z. B. auch in Vogelerythrocyten, findet man den meso-Inositol auch in Form der Phytinsäure (Hexaphosphorsäureester des meso-Inosits) oder als Salz dieser Säure. In einigen höheren Pflanzen und möglicherweise auch vereinzelt im Tierreich [14] kommen Monomethyl- und Dimethyläther des meso-Inosits vor.

Im Gegensatz zur ubiquitären Verbreitung des meso-Inosits und mancher seiner Abkömmlinge ist das Vorkommen der optisch aktiven Inosite [D- (2) und L-Inositol (3)] und ihrer Methyläther D-Pinit, L-Quebrachit und L-Pinit auf einzelne Pflanzenfamilien beschränkt. Scyllitol (4) konnte sowohl in Pflanzen als auch in Tieren nachgewiesen werden. Von den Cycliten, die nicht mit meso-Inositol isomer sind und sich auch nicht von einem Isomeren ableiten, kommen in Algen und Muscheln zwei C-Methylinosite, Mytilit und Laminit, in höheren Pflanzen zwei Pentahydroxycyclohexane, L-Viburnit (5) und D-Quercitol (6), sowie zwei Tetrahydroxycyclohexene, Leucanthemitol (7) und Conduritol (8), vor.

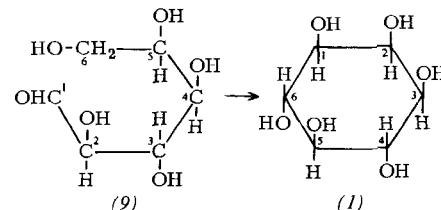
B. Biosynthese des meso-Inosits

Schon Maquenne vermutete, daß zwischen meso-Inositol und den einfachen Monosacchariden eine biogenetische Beziehung besteht. Als Mechanismus der meso-Inositolbildung stellte er sich eine Art Aldolkondensation zwis-

[13] P. V. Vignais, P. M. Vignais u. A. L. Lehninger, J. biol. Chemistry 239, 2022 (1964); P. M. Vignais, P. V. Vignais u. A. L. Lehninger, ibid. 239, 2011 (1964).

[14] D. Ackermann u. G. Hoppe-Seyler, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 336, 1 (1964).

schen den beiden Kettenenden eines Monosaccharids vor [15]. Da meso-Inositol an vier aufeinanderfolgenden Kohlenstoffatomen die gleiche Konfiguration wie D-Glucose hat, wäre eine interne Aldolkondensation des D-Glucosemoleküls (9) durchaus möglich [16]. Wie im folgenden gezeigt wird, scheint diese Vorstellung den Tatsachen zu entsprechen.



Für Untersuchungen über die Biosynthese des meso-Inosits kommen vor allem die Technik der Einfach- und Mehrfachmarkierung durch Isotope, die Mutantenblockmethode und kinetische Studien in Frage. Fast alle bisherigen Arbeiten auf diesem Gebiet, sowohl mit intakten Organismen als auch mit Zellhomogenaten oder Enzympräparaten, wurden mit Hilfe der radioaktiven Markierung durchgeführt.

Nach Fernandez und Mitarbeitern [17] sind Aprikosenblätter imstande, D-Glucose und deren Phosphorsäureester bei Einwirkung ultravioletter Strahlung in meso-Inositol zu überführen. Die Autoren [18] berichteten sogar über ein aus dem gleichen Material isoliertes Enzym, die „Cyclase“, die zur Synthese von meso-Inositol aus D-Glucose und D-Glucosephosphaten geeignet sei. Es muß aber als zweifelhaft angesehen werden, daß es mit Hilfe einer einfachen colorimetrischen Methode, d. h. ohne Verwendung der Papierchromatographie und ohne radioaktive Markierung, möglich gewesen sein sollte, die sehr niedrigen Umsätze zu messen, welche bei intaktem Pflanzengewebe unter 1 % und bei Enzympräparaten eher noch niedriger liegen.

I. Vorversuche mit $^{14}\text{CO}_2$ und ^{14}C -markierter D-Glucose

Die Bildung von meso-Inositol aus $^{14}\text{CO}_2$ durch Photosynthese wurde zuerst an Gramineen [19] und Leguminosen [20] studiert; bei diesen Untersuchungen wurden 0,07 % der gesamten Radioaktivität eingebaut. Bei späteren Experimenten an *Petroselinum* [21], *Pisum sativum* [22] und *Chrysanthemum leucanthemum* [23] konnten wesentlich höhere Aktivitätsausbeuten – im letztgenannten Fall bis zu 3,5 % – erreicht werden. Über den Aufbauweg geben derartige Versuche keinen Aufschluß; sie zeigen aber den bevorzugten Ort der Bio-

[15] Zitat [3], S. 189.

[16] H. O. L. Fischer, Harvey Lectures 40, 156 (1945).

[17] O. Fernandez, G. Izquierdo u. E. Martinez, Farmac. nueva (Madrid) 9, 563 (1944).

[18] O. Fernandez, M. de Mingo u. E. Martinez, Farmac. nueva (Madrid) 10, 541 (1945).

[19] K. E. Richardson u. B. Axelrod, Plant Physiol. 32, 334 (1957).

[20] E. A. Moscatelli u. J. Larner, Arch. Biochem. Biophysics 80, 26 (1959).

[21] R. Scholda, G. Billek u. O. Hoffmann-Ostenhof, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 335, 180 (1964).

[22] J. N. Ahuja, Ph. D. Thesis, Michigan State University, East Lansing, 1962.

[23] H. Kindl, unveröffentlichte Versuche.

synthese und erleichtern die Auswahl günstiger Pflanzenobjekte.

Die postulierte Vitaminfunktion des meso-Inosits für manche Tiere führt zu der Frage, ob die schon früh nachgewiesene Bildung von meso-Inositol in tierischem Gewebe einer Biosynthese im Gewebe selbst entspricht oder durch Mikroorganismen bedingt ist. *Halliday* und *Anderson*^[24] injizierten eine Lösung von markierter D-Glucose in die Beinmuskulatur von Ratten und konnten anschließend aus dem gesamten Rattenkörper meso-Inositol mit einer radiochemischen Ausbeute von 0,07 % isolieren. Eine analoge Untersuchung mit einer Lösung von [μ -¹⁴C]-D-Glucose, die in das Chorion von 7 Tage lang vorinkubierten Hühnereiern eingebracht worden war, ergab nach 64 Std. einen 0,01-proz. Einbau in meso-Inositol^[25]. Menschliche Zellkulturen (HeLa und KB), die meso-Inositol als Wuchsstoff benötigen^[12], können aus [μ -¹⁴C]-D-Glucose meso-Inositol aufbauen. Gleiches gilt für Mäusefibroblasten, für die meso-Inositol als Wuchsstoff nicht erforderlich ist^[26]. Bei Versuchen mit keimfrei aufgezogenen Ratten konnte eine Biosynthese von meso-Inositol aus markierter D-Glucose nachgewiesen werden^[27]; innerhalb von 3 bis 6 Std. wurden 0,03 bis 0,08 % der Aktivität der D-Glucose in meso-Inositol eingebaut. Damit ist gesichert, daß das tierische Gewebe selbst und nicht etwa die Darmflora der Ratten für die Biosynthese des meso-Inosits verantwortlich ist. Nach *Eisenberg* und *Bolden*^[28] wird der Cyclit in der männlichen Ratte zum größten Teil im Hoden synthetisiert.

II. Bestimmung des Einbaus der C-Atome von D-Glucose in meso-Inositol

Außer der Biosynthese durch direkte Cyclisierung von D-Glucose sind noch andere Möglichkeiten in Betracht zu ziehen, so vor allem die Bildung von meso-Inositol aus zwei oder mehreren kleineren Bruchstücken. Besonders seit *Charalampous*^[29] bei seinen Arbeiten über die Biosynthese von meso-Inositol in der Hefe *Candida utilis* zu Ergebnissen kam, die auf einen solchen Mechanismus deuten, wurde versucht, zwischen der Biosynthese aus kleineren Bausteinen und der direkten Cyclisierung von D-Glucose zu unterscheiden. Dabei ging man von der Überlegung aus, daß bei einer direkten Cyclisierung alle C-Atome des Zuckers gleich stark in meso-Inositol eingebaut werden müßten, ein unterschiedlicher Einbau hingegen auf einen Aufbau aus Bruchstücken hindeuten sollte.

Versuche dieser Art mit [1 -¹⁴C]-D-Glucose, [2 -¹⁴C]-D-Glucose und [6 -¹⁴C]-D-Glucose an verschiedenen Objekten ergaben unterschiedliche Resultate. Während *Posternak* und Mitarbeiter^[30] sowie *Imai*^[31] bei Ratten einen etwa gleich starken Einbau der C-Atome 1, 2

- [24] *J. W. Halliday u. L. Anderson*, *J. biol. Chemistry* 217, 797 (1955).
- [25] *W. H. Daughaday, J. Larner u. C. Hartnett*, *J. biol. Chemistry* 212, 869 (1955).
- [26] *H. Eagle, B. W. Agranoff u. E. E. Snell*, *J. biol. Chemistry* 235, 1891 (1960).
- [27] *N. Freinkel u. R. M. C. Dawson*, *Biochem. J.* 81, 250 (1961).
- [28] *F. Eisenberg, jr. u. A. H. Bolden*, *Nature (London)* 202, 599 (1964).
- [29] *F. C. Charalampous u. P. Abrams*, *J. biol. Chemistry* 225, 575 (1957); *F. C. Charalampous*, *J. biol. Chemistry* 225, 585, 595 (1957).
- [30] *T. Posternak, W. H. Schopfer u. B. Boetsch*, *Arch. Sci. (Genève)* 12, 467 (1959).
- [31] *Y. Imai*, *J. Biochemistry (Tokyo)* 53, 50 (1963).
- [32] *G. Hauser u. V. Finelli*, *J. biol. Chemistry* 238, 3224 (1963).

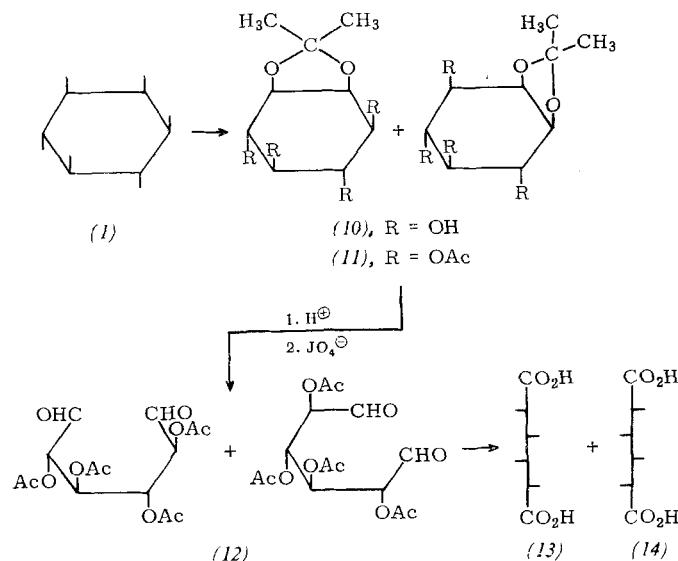
und 6 feststellten, berichteten *Hauser* und *Finelli*^[32], daß in Gewebschnitten aus Rattenmäusen [1 -¹⁴C]-D-Glucose und [2 -¹⁴C]-D-Glucose 1,8- bis 2,4-mal besser in meso-Inositol übergeführt werden als [6 -¹⁴C]-D-Glucose; auch *Charalampous* fand bei *Candida utilis* einen unterschiedlichen Einbau^[29]. Die Deutung der zuletzt angeführten Ergebnisse als Beweis für eine Fragmentierung der D-Glucose vor dem Einbau in meso-Inositol muß allerdings angezweifelt werden; man darf nicht vergessen, daß sowohl Ausgangsstoff als auch Endprodukt im intakten Organismus und auch im Gewebschnitt einem starken Stoffwechsel unterliegen.

III. Einbau selektiv markierter Vorstufen und anschließender Abbau des meso-Inosits

Um die Frage des Übergangs von D-Glucose in meso-Inositol zu klären, waren Einbauversuche mit selektiv markierten D-Glucose-Präparaten erforderlich. Der meso-Inositol mußte dann so abgebaut werden, daß sich die Radioaktivität der einzelnen Atome des Moleküls bestimmen ließ. Es wurden mehrere Abbauwege ausgearbeitet; wegen ihrer Bedeutung für die Lösung des Problems sollen sie hier kritisch betrachtet werden.

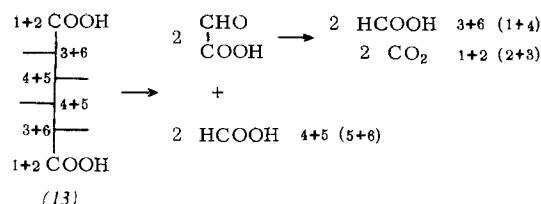
1. Abbaumethode von *Charalampous*^[29]

Bei dieser Methode wird der meso-Inositol nach einem von *Dangschat*^[8] angegebenen Verfahren bis zur DL-Idarsäure (DL-Idosaccharinsäure) (13) + (14) abgebaut (Schema 1a). Für den weiteren Abbau wird eine Modifikation der Methode von *Fleury* und *Lange*^[33] angewendet (Schema 1b): Das Gemisch der beiden Stereoisomeren wird durch fraktionierte Kristallisation der Diacetalen getrennt und jede der beiden Zuckersäuren für sich mit Perjodsäure zu Ameisensäure und Glyoxylsäure oxidiert. In Schema 1b ist bei der D-Idarsäure (13) und den daraus entstehenden Oxidationsprodukten neben den C-Atomen angemerkt, welchen C-Atomen



Schema 1a. Abbau des meso-Inosits zur DL-Idarsäure (13) + (14).

- [33] *P. Fleury u. J. Lange*, *J. Pharmac. Chim.* 17, 313 (1933).



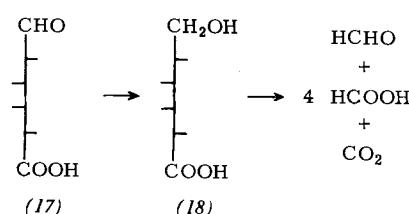
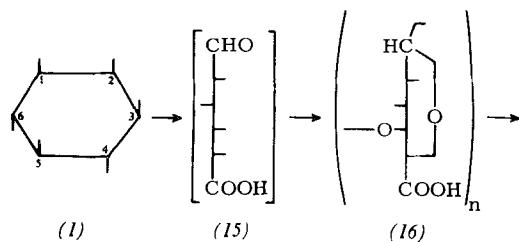
Schema 1b. Perjodat-Abbau der D- und L-Idarsäure.

des meso-Inosits sie entsprechen; in Klammern finden sich die Angaben für L-Idarsäure (14).

2. Abbaumethode von Loewus und Kelly [34]

Ein anderer selektiver Abbau, bei dem auch biologische Umwandlungen Anwendung finden, wurde von *Loewus* und *Kelly* bei der Untersuchung der Biosynthese von meso-Inositol in *Petroselinum* verwendet. [1-¹⁴C]-D-Glucose wurde in Blätter injiziert und diese nach 2 Tagen auf meso-Inositol aufgearbeitet; das Produkt enthielt 0,2 % der vorgegebenen Radioaktivität.

Den so erhaltenen markierten meso-Inositol ließ man in unreife Erdbeeren infundieren, wo er in das sich dort reichlich bildende Pectin (16) eingebaut wird. Dieses wurde mit einem Enzym mikrobiellen Ursprungs zu D-Galakturonsäure (17) abgebaut, die man durch



Ionenaustrausch-Chromatographie (Gradientenelution) reinigte [35]. Die D-Galakturonsäure wurde mit Natriumborhydrid zur L-Galaktolsäure (18) reduziert und diese mit Perjodat oxidiert [36].

Da bei der enzymatischen Hydrolyse von Pectin, das sich aus [2-¹⁴C]-meso-Inositol gebildet hatte, [5-¹⁴C]-D-Galakturonsäure entsteht [37], andererseits aber zumindest im tierischen Gewebe [38] und in einem Mikroorga-

[34] F. A. Loewus u. S. Kelly, Biochem. biophys. Res. Commun. 7, 204 (1962).

[35] F. A. Loewus u. S. Kelly, Arch. Biochem. Biophys. 102, 96 (1963).

[36] C. G. Seegmiller, B. Axelrod u. R. M. McCready, J. biol. Chemistry 217, 765 (1955).

[37] F. A. Loewus, Federat. Proc. 21, 88 (1962).

[38] F. C. Charalampous, J. biol. Chemistry 235, 1286 (1960).

nismus [39] Enzyme vorliegen, die meso-Inositol zu D-Glucuronsäure (15) abbauen, ist es sehr wahrscheinlich, daß in der Erdbeere der Weg vom meso-Inositol zum Pectin über D-Glucuronsäure mit anschließender Epimerisierung zur D-Galakturonsäure verläuft. Damit ist die Stelle der Ringöffnung festgelegt; auf dem von *Maquenne* und *Fischer* postulierten Bildungsweg müßte aus [1-¹⁴C]-D-Glucose [6-¹⁴C]-meso-Inositol entstehen, der beim Abbau über [1-¹⁴C]-D-Glucuronsäure schließlich [6-¹⁴C]-L-Galaktolsäure ergeben sollte. Tatsächlich wurden nach Perjodatoxidation der L-Galaktolsäure 81 % der Aktivität im Formaldehyd und 11 % im CO₂ nachgewiesen. Die Verteilung der Aktivität dürfte mindestens zum Teil durch den biologischen Abbau über Pectin bedingt sein.

Der gleiche Abbauweg wurde benutzt, um den Weg der Biosynthese von meso-Inositol in zellfreien Extrakten tierischer Herkunft aufzuklären. *Eisenberg* und *Bolden* [40] konnten Homogenate aus Rattenhoden herstellen, die meso-Inositol aus D-Glucose bilden. Es wurde 2 Std. mit markierter D-Glucose inkubiert. Der entstandene meso-Inositol wurde isoliert und über das Hexaacetat gereinigt. Die beim Abbau nach *Loewus* und *Kelly* erhaltenen L-Galaktolsäure (18) wurde in das Amid übergeführt, das bei der Perjodatoxidation nur 3 Mol Ameisensäure ergibt. Dadurch konnte indirekt auch C-2 des meso-Inosits erfaßt werden [41].

Nach Applikation von [1-¹⁴C]-D-Glucose fand man 80 % der Aktivität des meso-Inosits im C-6; nach Gabe von [2-¹⁴C]-D-Glucose waren 88 % der Aktivität den C-Atomen 3, 4 und 5, und 95 % den C-Atomen 2, 3, 4 und 5 zuzuordnen, während mit [6-¹⁴C]-D-Glucose als Substrat 96 % der Aktivität des meso-Inosits im C-1 enthalten waren. Diese Ergebnisse lassen den Schluß zu, daß man einen ohne Fragmentierung des Zuckermoleküls verlaufenden Aufbau des meso-Inosits aus D-Glucose im Sinne der Vorstellungen von *Maquenne* und *Fischer* auch im tierischen Gewebe annehmen muß.

3. Abbaumethode von Kindl und Hoffmann-Ostenhof [42]

Zum Studium der Biosynthese von meso-Inositol in Senf pflanzen (*Sinapis alba*) wurde in unserem Laboratorium ein anderer selektiver Abbauweg ausgearbeitet, bei dem nur chemische Reaktionen Verwendung finden; dadurch sollten Ungenauigkeiten, die durch Stoffwechselvorgänge bedingt sind, vermieden werden.

Ausgangspunkt dieses Abbaupfades ist eine Cyclose (Inosose); da alle Cyclite leicht in Cyclosen übergeführt werden können, ist die Methode allgemein anwendbar. Bei biologischer oder katalytischer (Pt/O₂) Oxidation werden axiale OH-Gruppen bevorzugt in Ketogruppen

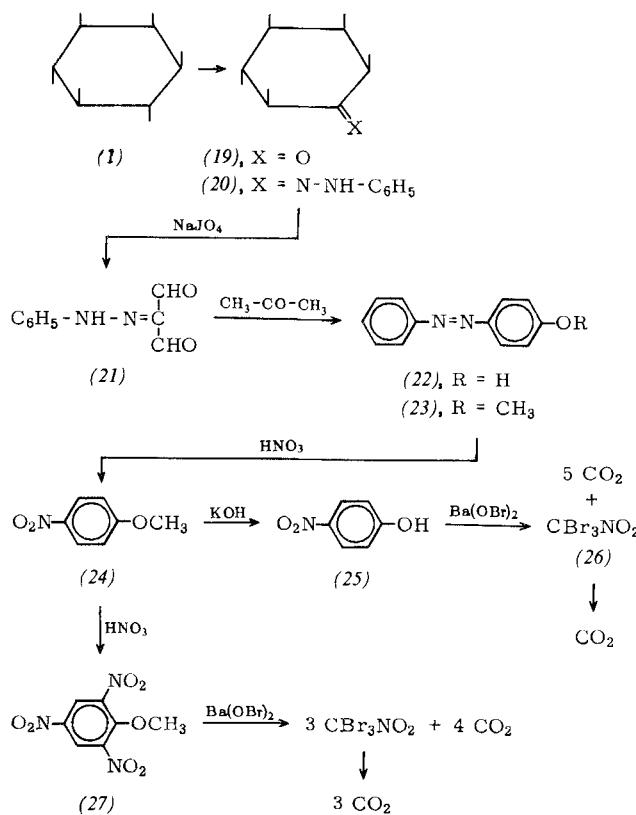
[39] A. Sivak u. O. Hoffmann-Ostenhof, Biochem. Z. 336, 229 (1962); R. Thonet u. O. Hoffmann-Ostenhof, Mh. Chem., im Druck.

[40] F. Eisenberg, jr. u. A. H. Bolden, Biochem. biophys. Res. Commun. 12, 72 (1963).

[41] F. Eisenberg, jr., A. H. Bolden u. F. A. Loewus, Biochem. biophys. Res. Commun. 14, 419 (1964).

[42] H. Kindl u. O. Hoffmann-Ostenhof, Biochem. Z. 339, 374 (1964); Abstr. 6th intern. Congr. Biochem., New York 1964, S. 515.

umgewandelt; mit Salpetersäure allerdings läßt sich meso-Inositol in ein racemisches Gemisch von meso-Inosose-4 und -6 überführen. Aus der Cyclose [z. B. (\pm)-epi-meso-Inosose, (19)] wird das Phenylhydrazone (20) hergestellt, das mit Perjodat zum Mesoxaldialde-



hyd-phenylhydrazone (21) oxidiert wird. Um das zentrale C-Atom dieses C₃-Bruchstücks von den beiden äußeren C-Atomen zu trennen, kondensiert man (21) mit Aceton zum p-Hydroxyazobenzol (22) und oxidiert dieses nach Methylierung zum p-Methoxynitrobenzol (24). Das daraus durch Entmethylierung gewonnene p-Hydroxynitrobenzol (25) wird zu Brompikrin (26) abgebaut, welches das zentrale C-Atom des C₃-Bruchstücks enthält und dessen Radioaktivität nach Oxidation zum Bariumcarbonat gemessen werden kann. Ist die Radioaktivität hingegen in den beiden äußeren C-Atomen des C₃-Bruchstücks zu erwarten, kann über das 2,4,6-Trinitroanisol (27) abgebaut werden.

Mit dieser Abbaumethode konnte bewiesen werden, daß [¹⁻¹⁴C]-D-Glucose in *Sinapis alba* einen meso-Inositol ergibt (0,2 % Einbau), in dem die Aktivität im C-Atom 6 (oder C-4) lokalisiert ist [42]. Aus [²⁻¹⁴C]-D-Glucose entsteht in derselben Pflanze [⁵⁻¹⁴C]-meso-Inositol [43].

Obwohl die Befunde von *Loewus* und *Kelly* [34] an *Petroselinum* und unsere eigenen an *Sinapis alba* [42, 43] auf verschiedene Weise erhalten wurden, zeigen sie übereinstimmend, daß meso-Inositol in höheren Pflanzen nach der Theorie von *Maquenne* und *Fischer* durch

[43] H. Kindl u. O. Hoffmann-Ostenhof, *Mh. Chem.* 95, 548 (1964).

[44] H. Kindl, unveröffentlicht.

[45] J. Biedl-Neubacher u. H. Kindl, unveröffentlicht.

Ringschluß zwischen C-1 und C-6 der D-Glucose entsteht.

Wir konnten kürzlich zeigen, daß [^{u-14}C]-scyllo-meso-Inositol (^{u-14}C]-meso-Inositol-2) in Blättchen von *Sinapis alba* zu 25 % und in Blättchen von *Chrysanthemum leucanthemum* zu 40 % in meso-Inositol eingebaut wird [44]; das macht eine Rolle dieser Cyclose als Vorläufer bei der meso-Inositol-Synthese in den höheren Pflanzen möglich, kann aber nicht als Beweis dafür angesehen werden. Aus Senfpflanzen konnte auch ein zellfreier Extrakt hergestellt werden, welcher die Bildung von meso-Inositol aus D-Glucose bewirkt [45].

Nachdem die Versuche an Extrakten aus Rattenhoden [41] für tierische Gewebe und die Ergebnisse an *Petroselinum* [34] und *Sinapis alba* [42, 43] für höhere Pflanzen übereinstimmend gezeigt hatten, daß meso-Inositol aus D-Glucose durch Verknüpfung der endständigen C-Atome des Zuckers gebildet wird, war die Frage von Interesse, ob dieser Vorgang in der Hefe *Candida utilis* völlig abweichend verläuft, wie das von *Charalampous* postuliert worden war [29].

Kürzlich gelang es *Chen* und *Charalampous* [46], aus *Candida utilis* ein Enzympräparat zu gewinnen, das D-Glucose und D-Glucose-6-phosphat in meso-Inositol überführt. Mit D-Glucose als Substrat sind Adenosintriphosphat (ATP), Nicotinamid-adenindinucleotid (NAD) und Mg²⁺ als Cofaktoren für das Zustandekommen der Reaktion erforderlich; für den Übergang von D-Glucose-6-phosphat in meso-Inositol genügen NAD und Mg²⁺.

Wir konnten diese Ergebnisse bestätigen und verwendeten das Enzympräparat von *Chen* und *Charalampous* [46] dann (mit geringen Modifikationen in der Herstellung) zur Aufklärung des Bildungsweges von meso-Inositol. Mit dem von uns ausgearbeiteten Abbaupfad konnte zunächst bewiesen werden, daß das Enzympräparat [²⁻¹⁴C]-D-Glucose in [⁵⁻¹⁴C]-meso-Inositol überführt [47]. Eine ausführlichere Untersuchung [48], bei der verschiedene markierte D-Glucosepräparate sowie [¹⁻¹⁴C]-D-Glucose-6-phosphat angewandt wurden, zeigte vor allem, daß mit D-Glucose-6-phosphat als Substrat die Ausbeute an meso-Inositol 3- bis 5-mal höher war als mit D-Glucose; außerdem verteilte sich die Aktivität bei Gabe von D-Glucose-6-phosphat wesentlich weniger über das Inositmolekül als bei Verwendung markierter D-Glucose. Das stimmt mit den Befunden von *Chen* und *Charalampous* [46] überein und läßt den Schluß zu, daß D-Glucose-6-phosphat oder eine daraus entstehende Substanz im Aufbauweg des meso-Inosits diesem näher steht als D-Glucose selbst.

Der aus [¹⁻¹⁴C]-D-Glucose-6-phosphat entstandene meso-Inositol wurde über Mesoxaldialdehyd-phenylhydrazone (21) und p-Hydroxynitrobenzol (25) abgebaut (Tabelle 1), wobei 96 % der Aktivität dem C-6 oder C-4 des meso-Inosits zugeordnet werden konnten. Um hier eine Unterscheidung treffen zu können, wurde eine weitere Variante des Abbaupfads zu Hilfe genommen: Der aus dem an C-1 markierten Zuckerphosphat entstandene

[46] I. W. Chen u. F. C. Charalampous, *Biochem. biophys. Res. Commun.* 12, 62 (1963); *J. biol. Chemistry* 239, 1905 (1964).

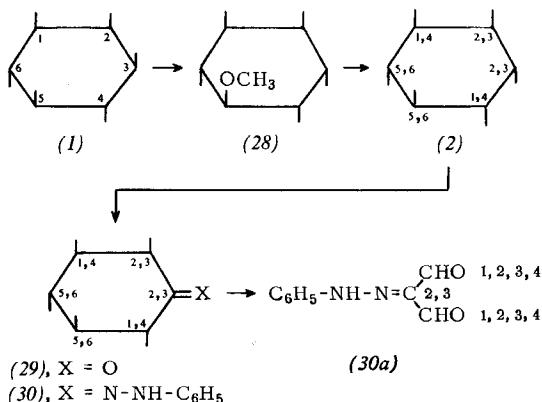
[47] J. Neubacher, H. Kindl u. O. Hoffmann-Ostenhof, *Biochem. J.* 92, 56 P (1964).

[48] H. Kindl, J. Biedl-Neubacher u. O. Hoffmann-Ostenhof, *Biochem. Z.* 341, 157 (1965).

Tabelle 1. Aktivitätsverteilung in Abbauprodukten von meso-Inositol, der aus [$1-^{14}\text{C}$]-D-Glucose-6-phosphat (A) oder [$6-^{14}\text{C}$]-D-Glucose (B) mit Enzympräparaten aus *Candida utilis* synthetisiert wurde [48]; vgl. Schema 3.

Verbindung	Relat. spez. Aktivität	
	[22] = 1,00	
A	B	
(\pm)-epi-meso-Inosose (19)	2,17	—
scyllo-meso-Inosose	—	1,06
(\pm)-epi-meso-Inosose-phenylhydrazone (20)	2,10	—
scyllo-meso-Inosose-phenylhydrazone	—	1,03
Mesoxaldialdehyd-phenylhydrazone (21)	1,06	0,97
p-Hydroxyazobenzol (22)	1,00	1,00
p-Methoxyazobenzol (23)	1,06	0,98
p-Methoxynitrobenzol (24)	1,06	0,96
p-Hydroxynitrobenzol (25)	1,14	—
2,4,6-Trinitroanisol (27)	—	1,01
BaCO_3 aus C-1 von (25)	1,06	—
BaCO_3 aus C-2 und C-6 von (25)	0,02	—
BaCO_3 aus C-4 von (27)	—	0,08
BaCO_3 aus C-3 und C-5 von (27)	—	0,98

meso-Inositol wurde in die Blättchen von *Trifolium incarnatum* infundiert; diese Pflanze überführt meso-Inositol in D-Pinit (28) (4-O-Methyl-D-inositol) [49]. Der D-Pinit wurde isoliert, zum D-Inositol (2) entmethyliert und zu meso-Inosose-3 (29) oxidiert. Das Phenylhydrazone (30) dieser Inosose ergibt bei der Perjodatoxidation das Bruchstück Mesoxaldialdehyd-phenylhydrazone (30a), das die C-Atome 1, 2, 3 und 4 des ursprünglich eingesetzten meso-Inosits repräsentiert.



Beim Abbau des aus [$1-^{14}\text{C}$]-D-Glucose-6-phosphat entstandenen meso-Inosits war das Bruchstück (30a) inaktiv, was zusammen mit dem vorher berichteten Befund beweist, daß das C-1 des D-Glucose-6-phosphats zum C-6 des meso-Inosits wird.

Der aus [$6-^{14}\text{C}$]-D-Glucose entstandene meso-Inositol wurde über meso-Inosose-2, Mesoxaldialdehyd-phenylhydrazone (21) und 2,4,6-Trinitroanisol (27) abgebaut. Die Radioaktivität befand sich in C-1 (oder C-3) (Tabelle 1).

Die damit bewiesene Umwandlung von C-1 der D-Glucose in C-6 des meso-Inosits, von C-2 der D-Glucose in C-5 des meso-Inosits und von C-6 der D-Glucose in C-1 (oder C-3) des meso-Inosits lassen kaum einen Zweifel daran, daß auch in *Candida utilis* die Biosynthese von meso-Inositol unter direktem Ringschluß des Zuckermoleküls verläuft. Damit scheint bewiesen, daß dies der all-

[49] R. Scholda, G. Billek u. O. Hoffmann-Ostenhof, Biochem. J. 89, 31 P (1963).

gemeine Weg der Biosynthese des meso-Inosits ist, da vor kurzem auch Chen und Charalampous [50] aus neuen Versuchen mit dem Enzympräparat aus *Candida utilis* den gleichen Bildungsweg für meso-Inositol ableiteten und so die früheren Ergebnisse [29] widerriefen.

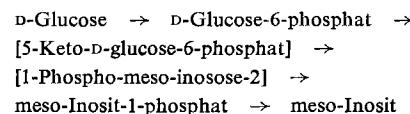
IV. Untersuchungen über den Mechanismus des Ringschlusses

Die Beteiligung von NAD läßt auf intermediäre Redoxvorgänge schließen. Aus Analogiegründen kommt für den Ringschluß eine Aldol- oder eine Acyloinkondensation in Frage.

Versuche mit dem Enzympräparat aus *Candida utilis* in $^3\text{H}_2\text{O}$ scheinen eine Acyloinkondensation auszuschließen. Bei Einbauversuchen mit [$6-^3\text{H}_2, 6-^{14}\text{C}$]-D-Glucose – sowohl bei intakten Pflanzen als auch mit dem Enzymextrakt aus *C. utilis* – beobachtet man eine Änderung im Verhältnis $^3\text{H}/^{14}\text{C}$, die für eine Aldolkondensation spricht [50a].

Chen und Charalampous [50b] berichteten kürzlich, daß sie aus Mg^{2+} -armen Ansätzen mit dem Enzympräparat aus *C. utilis* L-meso-Inositol-1-phosphat anreichern konnten, das als Zwischenprodukt fungieren soll.

Somit erhält der folgende Reaktionsweg von der D-Glucose zum meso-Inositol die größte Wahrscheinlichkeit (noch nicht isolierte Zwischenstufen stehen in eckigen Klammern):



C. Biosynthese der anderen Hexahydroxycyclohexane und ihrer Methyläther

I. Scyllit

Auf Grund der Beobachtung, daß bei reichlicher Aufnahme von meso-Inositol mit der Nahrung beim Menschen eine deutliche Scylliturie auftritt, postulierte Helleu [51], daß im Körper ein Übergang von meso-Inositol in Scyllit (4) möglich sei. Diese Vorstellung konnte durch Versuche mit markierten Vorstufen an der Ratte bestätigt werden [52]; im Organismus besteht offenbar ein Gleichgewicht zwischen beiden Cycliten, bei dem meso-Inosose-2 (31) ein Zwischenprodukt ist. Markierter meso-Inositol wird in der Ratte in Scyllit (4), markierter Scyllit in meso-Inositol überführt. Nach der Applikation von markierter meso-Inosose-2 (31) wird die Aktivität sowohl im meso-Inositol als auch im Scyllit

[50] J. W. Chen u. F. C. Charalampous, Biochem. biophys. Res. Commun. 17, 521 (1964).

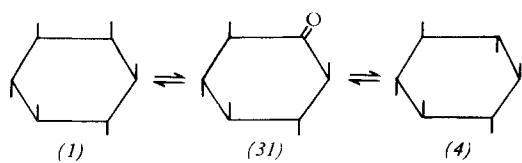
[50a] H. Kindl u. J. Biedl-Neubacher, unveröffentlicht.

[50b] J. W. Chen u. F. C. Charalampous, Biochem. biophys. Res. Commun. 19, 144 (1965).

[51] C. Helleu, Bull. Soc. Chim. biol. 39, 633 (1957).

[52] T. Posternak, W. H. Schopfer, B. Kaufmann-Boetsch u. S. Edwards, Helv. chim. Acta 46, 2676 (1963).

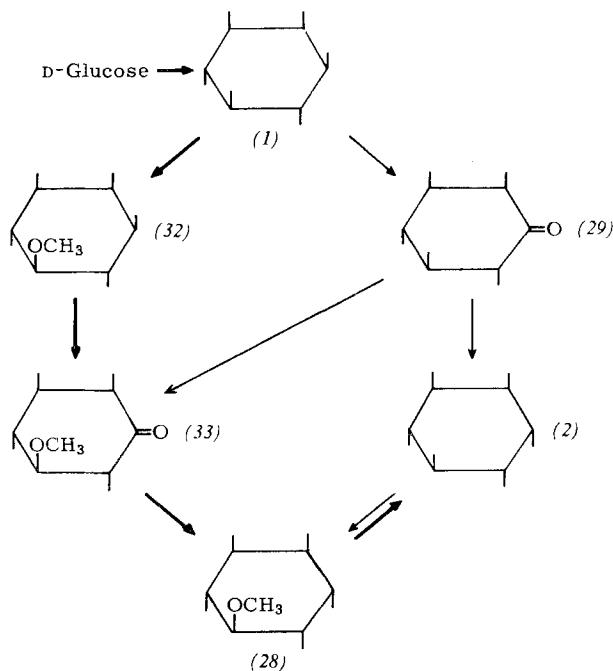
in stark wechselnden Proportionen wiedergefunden: die radiochemischen Ausbeuten für meso-Inositol schwanken zwischen 2,9 und 12,3 %, die für Scyllit sogar zwischen 0,9 und 46,1 %.



Ähnliche Verhältnisse scheinen auch in Pflanzen vorzuliegen, die Scyllit enthalten. Radioaktiv markierter meso-Inositol, den man in Blätter von *Callycanthus occidentalis* infundierte, wurde um fast zwei Größenordnungen stärker in Scyllit eingebaut als markierte D-Glucose^[53]; meso-Inositol-2 (31) wurde zu ca. 8 % in meso-Inositol und zu 30 % in Scyllit überführt. Diese Vorgänge scheinen aber von der Jahreszeit abzuhängen; nur im Frühling wird ein Einbau in Scyllit beobachtet, während man im Herbst nur Aktivität im meso-Inositol findet.

II. D-Inositol und D-Pinit

Die Biosynthese des D-Inosits (2) und des D-Pinit (28) in *Trifolium incarnatum* wurde kürzlich in unserem Laboratorium aufgeklärt. Es war bekannt, daß diese Pflanze D-Pinit enthält^[54]; papierchromatographisch ließen sich außerdem kleinere Mengen von meso-Inositol, D-Inositol und Sequoyit (5-O-Methyl-meso-inositol) (32) nachweisen^[49,55]. Zur Klärung der Frage, ob die Pflanze gesonderte Aufbauwege für D-Inositol und D-Pinit



Schema 2. Mögliche Wege für die Synthese der Cyclite in *Trifolium incarnatum*.

[53] R. Scholda, G. Billek u. O. Hoffmann-Ostenhof, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 339, 28 (1964).

[54] V. Plouvier, C. R. hebd. Séances Acad. Sci. 230, 125 (1950).

[55] R. Scholda, G. Billek u. O. Hoffmann-Ostenhof, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 335, 180 (1964).

besitzt, oder ob beide über meso-Inositol entstehen, wurden D-Glucose, D-Galaktose oder meso-Inositol in markierter Form appliziert^[55,56]. Meso-Inositol wurde besser in D-Pinit eingebaut als die Monosaccharide, d. h. meso-Inositol oder eine aus diesem entstehende Substanz ist eine direkte Vorstufe des D-Pinit.

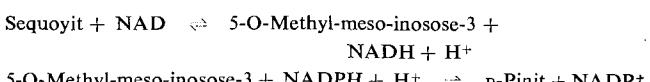
Auch die Teilschritte des Wegs vom meso-Inositol zum D-Pinit wurden aufgeklärt^[57,58]. Markierter meso-Inositol wird zum Teil auch in D-Inositol und Sequoyit eingebaut. Beide Cyclite kommen als Zwischenprodukte für die Umwandlung von meso-Inositol in D-Pinit in Frage, schließen sich aber gegenseitig aus. Es mußte also entschieden werden, ob die Methylgruppe vor, während oder nach der Epimerisierung in das Molekül eintritt, d. h. ob die Methylierung am meso-Inositol, an der meso-Inosose-3 (29) oder am D-Inositol (2) erfolgt.

Tabelle 2. Einbau markierter Verbindungen in D-Inositol und D-Pinit in Blättchen von *Trifolium incarnatum* [55–57].

Vorstufe	Einbau in	
	D-Pinit [%]	D-Inositol [%]
D-Glucose	0,72	—
D-Galaktose	0,52	—
meso-Inositol	14,2	2,1
D-Inositol	<0,1	(80,7)
Sequoyit	72,8	—
5-O-Methyl-meso-inosose-3	31,2	6,9
meso-Inosose-3	1,75	50,2
D-Pinit	(25,8)	5,9

Man sieht aus Tabelle 2 und Schema 2, daß radioaktiv markierter D-Inositol nicht in D-Pinit eingebaut wird. Im Gegensatz dazu werden sowohl markierter Sequoyit (32) als auch 5-O-Methyl-meso-inosose-3 (33) mit ausgezeichneter Ausbeute in D-Pinit übergeführt. Wenn man der Pflanze dagegen markierten D-Pinit appliziert, erfolgt eine teilweise Entmethylierung zu D-Inositol. Damit sind die biogenetischen Beziehungen der Cyclite in *Trifolium incarnatum* festgelegt; sie sind im Schema 2 mit dicken Pfeilen hervorgehoben.

Das Enzymsystem, das die Epimerisierung von Sequoyit zu D-Pinit katalysiert^[60], scheint aus zwei spezifischen Oxidoreduktasen zu bestehen, deren Wirkungen durch die Gleichungen



wiedergegeben werden können.

[56] R. Scholda, G. Billek u. O. Hoffmann-Ostenhof, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 337, 277 (1964).

[57] R. Scholda, G. Billek u. O. Hoffmann-Ostenhof, Mh. Chem. 94, 1311 (1964).

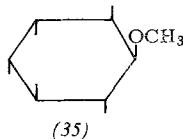
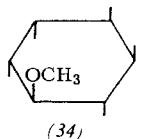
[58] Die bei diesen Untersuchungen verwendeten Präparate von markiertem D-Pinit und Sequoyit wurden durch Photosynthese mit ¹⁴C in derselben Pflanze gewonnen; markierter D-Inositol wurde durch Entmethylierung von D-Pinit hergestellt. Der biosynthetisch gewonnene markierte Sequoyit konnte durch katalytische Oxidation mit Luft [59] in guter Ausbeute in 5-O-Methyl-meso-inosose-3 überführt werden.

[59] K. Heyns u. H. Paulsen, Chem. Ber. 86, 833 (1953); L. Anderson u. G. Post, Abstr. 134th Meeting Amer. chem. Soc. 1958, S. 12 D.

[60] G. J. Kremlicka u. O. Hoffmann-Ostenhof, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem., im Druck.

III. L-Inosit, L-Pinit und L-Quebrachit

Versuche über die Biosynthese von L-Inosit (3) und seinen Methyläthern wurden an zwei *Artemisia*-Arten durchgeführt. Der gemeine Beifuß *A. vulgaris* enthält L-Quebrachit (35) [61]; papierchromatographisch konnten daneben L-Inosit und Spuren von L-Pinit (34) nachgewiesen werden [62]. Dagegen ist in der Estragonpflanze



A. dracunculus L-Pinit (34) der mengenmäßig überwiegende Cyclit [61]; daneben treten L-Inosit, L-Quebrachit sowie Sequoyit (32) in wechselnden Mengen auf [62]. Nach der Infusion einer Lösung von markiertem meso-Inosit in die Blätter beider Pflanzen findet man jedesmal wesentlich größere Mengen von radioaktiven Cycliten als nach der Applikation von markierter D-Glucose (Tabelle 3). Das spricht dafür, daß der meso-Inosit oder

Tabelle 3. Einbau markierter Verbindungen in die Cyclite von *Artemisia vulgaris* und *Artemisia dracunculus* nach Infusion in die Blättchen dieser Pflanzen [62, 63].

Vorstufe	Einbau in	[%]
<i>Artemisia vulgaris</i>		
D-Glucose	meso-Inosit	0,027
	L-Inosit	0,018
	L-Quebrachit	0,27
meso-Inosit	L-Inosit	0,82
	L-Quebrachit	13,6
L-Inosit	L-Quebrachit	12,4
<i>Artemisia dracunculus</i>		
D-Glucose	meso-Inosit	0,02
	L-Inosit	0,035
	Sequoyit	0,02
	L-Pinit	0,17
meso-Inosit	L-Inosit	1,31
	Sequoyit	1,60
	L-Pinit	1,62
Sequoyit	L-Pinit	0,05
L-Inosit	L-Pinit	8,04

eine aus diesem entstehende Substanz auch im Aufbauweg des L-Inosits und seiner Methyläther liegt. In Analogie zu den Versuchen über die Biosynthese des D-Pinits wurde der Weg vom meso-Inosit zu den beiden L-Inositmethyläthern unter Verwendung der wahrscheinlichen Zwischenstufen in markierter Form untersucht [63]. Im Gegensatz zur D-Pinitbildung in *Trifolium* erfolgt bei der Bildung von L-Inositmethyläthern die Epimerisierung vor der Methylierung; markierter L-Inosit (3) wird in beiden *Artemisia*-Arten mit guter radiochemischer Ausbeute in die entsprechenden Methyläther eingebaut (Tabelle 3).

[61] V. Plouvier, Ann. pharmac. franc. 7, 192 (1949); C. R. hebd. Séances Acad. Sci. 243, 1913 (1956).

[62] R. Scholda, G. Billek u. O. Hoffmann-Ostenhof, Mh. Chem. 95, 541 (1964).

[63] R. Scholda, G. Billek u. O. Hoffmann-Ostenhof, Mh. Chem. 95, 1305 (1964).

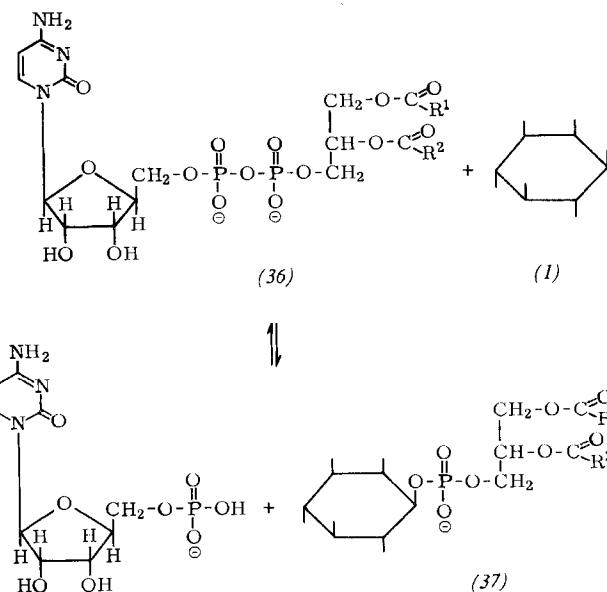
In Analogie zu den Verhältnissen bei der Biosynthese von D-Pinit in *Trifolium* muß auf Grund der vorliegenden Ergebnisse angenommen werden, daß beide *Artemisia*-Arten ein aus zwei Dehydrogenasen bestehendes Epimerasesystem besitzen, das am meso-Inosit direkt angreift und ihn über meso-Inosose-1 in L-Inosit überführt. Die Methylierung erfolgt dann am L-Inosit, was auch dadurch bewiesen scheint, daß Sequoyit in *A. dracunculus* nicht in L-Pinit eingebaut wird.

Offenbar existieren also für die in der Natur vorkommenden Isomeren des meso-Inosits und ihre Methyläther keine selbständigen Biosynthesewege. In allen Fällen scheint primär die Cyclisierung der D-Glucose abzulaufen, und erst nachdem meso-Inosit oder eine diesem sehr nahestehende Verbindung gebildet wurde, schließt sich der weitere Umbau zu den meso-Inositol-Isomeren an. Niemals findet sich ein Hinweis auf die Bildung einer solchen Substanz direkt aus D-Glucose oder aus einem anderen Monosaccharid, obwohl derartige Ringschlüsse durchaus denkbar sind.

D. Phosphorylierte Derivate des meso-Inosits

I. Phosphoinositide [64]

Der Weg des Einbaus von meso-Inosit in die Phosphoinositide ist heute weitgehend aufgeklärt. Es steht fest, daß dabei kein meso-Inositolphosphat als Zwischenprodukt auftritt, obwohl derartige Substanzen in den Organismen nachweisbar sind [65]. Bei der Bildung von Phosphoinositiden wird primär aus Phosphatidsäure und Cytidintriphosphat (CTP) ein Cytidindiphosphat-diglycerid [CDP-Diglycerid (36)] gebildet, welches dann mit freiem meso-Inosit unter Abspaltung von Cytidinmonophosphat (CMP) zum Monophosphoinositid (37)

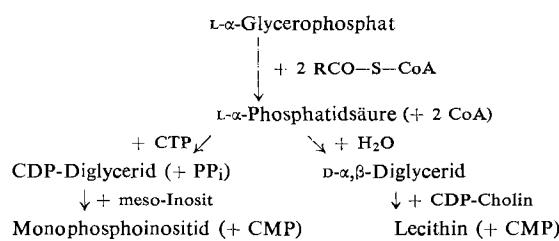


[64] Vgl. G. B. Ansell u. J. N. Hawthorne: Phospholipids. Elsevier, Amsterdam 1964.

[65] G. Hübscher u. J. N. Hawthorne, Biochem. J. 67, 523 (1957).

reagiert. Die für diese Reaktionsfolge verantwortlichen Enzyme sind bekannt [66].

Damit unterscheidet sich der Aufbauweg der Phosphoinositide grundlegend von dem der stickstoffhaltigen Phospholipide. Bei der Bildung von Lecithinen und Cephalinen werden die – in ihrer Stellung im Phospholipidmolekül dem meso-Inosit formal analogen – Stickstoffbasen Cholin oder Äthanolamin primär phosphoryliert und reagieren dann mit CTP unter Bildung von CDP-Cholin bzw. CDP-Äthanolamin. α, β -Diglycerid, das durch Hydrolyse aus Phosphatidsäure entsteht, reagiert mit beiden Verbindungen zu Lecithin bzw. Cephalin. Auch hier sind die verantwortlichen Enzyme bekannt [67]. Die Bildungswege für Phosphoinositide und Lecithine und ihre Zusammenhänge sind im Schema 3 zusammengestellt.



Schema 3. Bildungswege von Phosphoinositiden und Lecithin.

Die höheren Phosphoinositide (Diphospho- und Triphosphoinositide) entstehen vermutlich durch schrittweise Phosphorylierung von Monophosphoinositid, wobei ATP als Phosphatdonor fungieren dürfte [68–70].

II. Phytinsäure

Phytinsäure, der Hexaphosphorsäureester des meso-Inosits, kommt vor allem in Form der Calcium- und Magnesiumsalze in höheren Pflanzen, aber auch in den Erythrocyten von Vögeln und Reptilien vor. Obwohl es sich um einen schon seit langem bekannten Stoff handelt, dem die biologische Funktion einer Phosphatreserve zugeschrieben wird, ist über die Biosynthese noch sehr wenig bekannt. Nach Ahuja [22] und

[66] H. Paulus u. E. P. Kennedy, J. biol. Chemistry 235, 1303 (1960).

[67] E. P. Kennedy u. S. B. Weiss, J. biol. Chemistry 222, 193 (1956).

[68] H. Brockerhoff u. C. E. Ballou, J. biol. Chemistry 237, 49 (1962).

[69] H. Wagner, Ä. Lissau, J. Höglz u. L. Hörhammer, J. Lipid Res. 3, 177 (1962).

[70] R. B. Ellis u. J. N. Hawthorne, Biochem. J. 84, 19 P (1962).

eigenen Untersuchungen [71] wird meso-Inosit wohl in höheren Pflanzen in Phytinsäure eingebaut, doch scheint es, daß meso-Inosit selbst kein direkter Vorläufer der Phytinsäure ist. Es konnte gezeigt werden, daß spezifisch mit ^3H markierter meso-Inosit nicht als Einheit in die Phytinsäure eingebaut wird [75].

Der Einbau von radioaktivem Phosphat in die Phytinsäure der Vogelerythrocyten im Organismus geht sehr langsam vor sich [72, 73]. Ob freier meso-Inosit hier ein direkter Vorläufer der Phytinsäure ist, scheint noch nicht untersucht worden zu sein. Während in den Erythrocyten der Säugetiere stets verhältnismäßig große Mengen von 2,3-Diphosphoglycerinsäure vorkommen, scheint diese Substanz in den roten Blutkörperchen der Vögel durch Phytinsäure ersetzt zu sein.

E. Die übrigen in der Natur vorkommenden Cyclite

Über die Biosynthese der in Algen und Muscheln vorkommenden C-Methylinosite Mytilit (1-C-Methylscyllit) und Laminit (6-C-Methyl-meso-inosit) ist noch nichts bekannt. Auch über die Pentahydroxycyclohexane L-Viburnit (5) und D-Quercit (6) sowie die Tetrahydroxycyclohexane Leucanthemithem (7) und Condurit (8) liegen noch keine genaueren Untersuchungen vor. Auf Grund phylogenetischer Betrachtungen postulierte Plouvier [74], daß im Stamm *Anthemideae*, bei dem nebeneinander L-Inosit und seine Methyläther sowie L-Viburnit und Leucanthemithem vorkommen, L-Inosit der Vorläufer der anderen Substanzen sein sollte. Vorversuche in unserem Laboratorium [75] scheinen aber diese Vorstellung nicht zu bestätigen, sondern dafür zu sprechen, daß es für die Pentahydroxycyclohexane einen eigenen Biosyntheseweg gibt, der von dem des meso-Inosits – und damit auch von dem des L-Inosits – zumindest in den letzten Schritten abweicht. Markierter meso-Inosit, der in Pflanzen infundiert wurde, welche L-Viburnit, D-Quercit oder Leucanthemithem enthalten, wurde jedenfalls nicht in diese Substanzen eingebaut, obwohl meso-Inosit direkt zu L-Inosit epimerisiert werden kann.

Die hier beschriebenen Untersuchungen aus unserem Laboratorium wurden durch Förderungsbeiträge der Ludwig-Boltzmann-Gesellschaft, Wien, sowie der Sektion IV (Verstaatlichte Betriebe) des Bundeskanzleramts der Republik Österreich in großzügiger Weise unterstützt, wofür wir auch an dieser Stelle unseren Dank aussprechen.

Eingegangen am 4. Januar 1965 [A 495]

[71] H. Kindl, unveröffentlicht.

[72] S. Rapoport, E. Leva u. T. M. Guest, J. biol. Chemistry 139, 633 (1941).

[73] E. Gerlach, A. Fleckenstein u. K. J. Freundt, Pflügers Arch. ges. Physiol. 263, 682 (1957).

[74] V. Plouvier, Bull. Soc. Chim. biol. 45, 1079 (1963).

[75] H. Kindl, unveröffentlicht.