

einer das ganze Individuum umschliessenden Membran, im einen Fall die Cuticula, im andern die das Korn als ganzes einschliessende Membran.

Die Ähnlichkeit im Aufbau des Stärkekorns mit dem der Bastfasern ergibt sich zweifellos aus dem Vorhandensein einer Cuticula einerseits, aus der Anwesenheit der die einzelnen Bastfaserzellen einschliessenden Sekundärlamellen andererseits. Im Stärkekorn besitzen wir ein komplex aufgebautes Gebilde, umhüllt ebenso mit einer Primärlamelle, wobei die einzelnen Schichten ebenso von Sekundärlamellen eingeschlossen sind, die zurückbleiben, wenn die durch chemische Modifikation veränderte Zwischensubstanz durch geeignete Mittel gelöst wird.

Riehen bei Basel, 9. April 1940.

77. Über die Co-Enzymwirkung von Inosinsäure beim Glucose- und Glykogenabbau in Extrakten der Retina

von H. Süllmann.

(8. V. 40.)

Die enzymatische Kohlenhydratspaltung vollzieht sich unter Teilnahme von Adenin-Nucleotiden, die als Co-Enzyme bei den Phosphorylierungsreaktionen wirksam sind. Diese Funktion hat sich zuerst für die von *Lohmann*¹⁾ aus Muskel isolierte Adenosin-triphosphorsäure ergeben, die, wie in der Folge zahlreiche Untersuchungen²⁾ mit verschiedenen enzymatischen Systemen zeigten, Phosphorsäure an Kohlenhydrat abzugeben vermag. Die dabei entstehenden niederen Phosphorylierungsprodukte des Adenosins (Adenosin-5-phosphorsäure = Muskel-adenylsäure, Adenosin-diphosphorsäure³⁾) treten als Phosphatacceptoren auf, indem sie Phosphorsäure von der intermediär gebildeten 1,3-Diphospho-glycerinsäure⁴⁾ und der Phospho-brenztraubensäure (ausserdem von Kreatin-phosphorsäure) übernehmen, dadurch die Weiterreaktion dieser Zwischenprodukte ermöglichen und selber wieder zur Phosphatübertragung auf Kohlenhydrate befähigt werden. Je nach dem Enzymsystem vermögen auch Adenosin-

¹⁾ *K. Lohmann*, Naturw. **17**, 624 (1929); Bioch. Z. **237**, 445 (1931).

²⁾ Ausführliche Literatur über den anaeroben Kohlenhydratabbau in den zusammenfassenden Darstellungen: *O. Meyerhof*, Ergebn. Physiol. **39**, 10 (1937); *J. K. Parnas*, Ergebn. Enzymforsch. **6**, 57 (1937).

³⁾ *K. Lohmann*, Bioch. Z. **282**, 109, 120 (1935).

⁴⁾ *O. Warburg* und *W. Christian*, Bioch. Z. **303**, 40 (1939); *E. Negelein* und *H. Brömel*, ebenda **301**, 135 (1939).

diphosphorsäure und selbst Adenylsäure¹⁾ als Phosphatdonatoren zu wirken. Die Co-Enzymfunktion des „Adenylsäuresystems“ (bzw. des Adenosin-Adenylsäuresystems in der Hefe¹⁾) beruht also auf der Fähigkeit, mit einer für den Gesamtvorgang der Kohlenhydratspaltung genügend grossen Geschwindigkeit Phosphatgruppen bestimmter organischer Verbindungen zu übernehmen und auf Kohlenhydrat zu übertragen.

Die Einschaltung von anorganischem Phosphat in den glykolytischen Prozess erfolgt entweder in Verbindung mit „Oxydoreduktionen“, die durch Pyridin-Nucleotid katalysiert werden, oder ohne Teilnahme einer analogen Reaktion. Der erste Reaktionsweg liegt vor, wenn Hexosen oder Hexose-monophosphat mit anorganischem Phosphat verestert werden. Nach neueren Untersuchungen von *Warburg* und Mitarbeitern (l. c.) erfolgt die Aufnahme von anorganischem Phosphat in der gekoppelten Reaktion über Glycerinaldehyd-diphosphorsäure, die durch Pyridin-Nucleotid und das spezifische Protein (reversibel) zu 1,3-Diphospho-glycerinsäure oxydiert wird; das Adenylsäuresystem (des *Lebedew*-Saftes) übernimmt eine Phosphatgruppe dieser Verbindung und gewährleistet dadurch deren Übergang in 3-Phospho-glycerinsäure und in Phospho-brenztraubensäure des *Embden-Meyerhof*'schen Abbauschemas. Dem Adenylsäuresystem kommt hier also dieselbe Rolle zu wie bei den eingangs erörterten Umesterungen; es ist offenbar an der Aufnahme des anorganischen Phosphats nicht direkt beteiligt.

Die Phosphorylierung des Glykogens (Phosphorolyse) ist nicht an den Ablauf der Triose-phosphatoxydation oder an eine andere bekannte Reaktion gebunden. Sie erfordert, wenigstens in Gewebsextrakten²⁾, ebenfalls Nucleotid. Als solches ist Adenylsäure wirksam, nicht aber, bei Abwesenheit von Pyrophosphatase, Adenosin-triphosphat³⁾⁴⁾). Adenosin-diphosphat vermag in Muskelextrakten Adenylsäure als Co-Enzym der Glykogen-phosphorylierung zu ersetzen, ohne selbst als Phosphatdonator für Glykogen zu wirken⁵⁾. Dass die Glykogen-phosphorylierung nicht auf dem Wege der Umesterung erfolgt, in die das Adenylsäuresystem in bekannter Weise eingeschaltet wäre, ergibt sich auch aus Versuchen⁶⁾, nach denen mit grossen Mengen Adenyl-pyrophosphat oder mit Adenylsäure + Phospho-brenztraubensäure bei Abwesenheit von anorganischem Phosphat keine Phosphorylierung des Polysaccharids erfolgt.

¹⁾ *P. Ostern, T. Baranowski und J. Terszakowé, Z. physiol. Ch. 251, 258 (1938).*

²⁾ Zum Unterschied von dem „vollständigen Enzymsystem“ (Gewebsextrakte) erfordert die Gleichgewichtsreaktion: Phosphat + Glykogen \rightleftharpoons Glucose-1-phosphorsäure mit dem isolierten System (Protein C) nach *W. Kiessling (Bioch. Z. 302, 50 (1939))* kein Co-Enzym.

³⁾ *G. T. Cori, S. P. Colowick und C. E. Cori, J. Biol. Chem. 123, 381 (1938).*

⁴⁾ *E. Bauer, H. v. Euler und K. Lundberg, Z. physiol. Ch. 255, 89 (1938).*

⁵⁾ *G. T. Cori, S. P. Colowick und C. E. Cori, loc. cit.*

⁶⁾ *W. Kiessling, Bioch. Z. 298, 421 (1938).*

Parnas und *Mochmacka*¹⁾ haben zuerst beobachtet, dass sich Adenylsäure bei der Phosphorolyse im Muskelextrakt durch Inosinsäure ersetzen lässt; in ihren Versuchen war letztere fast so wirksam wie Adenylsäure. Diese Befunde sind wiederholt bestätigt worden²⁾³⁾⁴⁾, wobei sich Inosinsäure als Aktivator der Phosphorolyse jedoch weniger wirksam erwies ($1/2$ — $1/10$) als Adenylsäure. Die Aktivität der Inosinsäure schwankt augenscheinlich mit der Art der Herstellung und dem Zustand der zur Verwendung gelangten Muskel-extrakte (Skelettmuskulatur).

Mit Extrakten aus Herzmuskel fand *Augustin*⁵⁾, dass Adenylsäure und Inosinsäure „in qualitativ verschiedener Weise aktivierend wirken“. Adenylsäure bewirkt auch hier Phosphorolyse, während Inosinsäure die Hydrolyse des Glykogens aktiviert. Diese Wirkung der Inosinsäure besteht in der Aufhebung einer durch Phosphat bedingten Hemmung des hydrolysierenden Enzyms⁶⁾.

Da also der Mechanismus der Co-Enzymfunktion bei der Glykogen- bzw. Hexosen-phosphorylierung nach den bisher gemachten Beobachtungen nicht identisch ist, erscheint die Frage von Interesse, ob Inosinsäure auch beim Abbau von Hexosen als Aktivator (Co-Enzym) wirksam ist. Als Enzymlösungen verwendeten wir Retina-extrakte, die sowohl aus Glykogen als besonders auch aus Glucose (sowie aus Mannose und Fructose) Milchsäure unter Phosphatbindung zu bilden vermögen⁷⁾. Durch kurze Dialyse können glykolytisch inaktive Enzymlösungen erhalten werden, die nach Zusatz von Muskeladenylsäure und von Glykogen oder Glucose wieder zur Veresterung von anorganischem Phosphat und zur Milchsäurebildung befähigt sind⁷⁾. In den hier mitzuteilenden Versuchen handelt es sich hauptsächlich darum, festzustellen, ob die mit Adenylsäure erreichbare Reaktivierung auch mit Inosinsäure zu erzielen ist. Inosinsäure tritt vielleicht unter physiologischen oder pathologischen Verhältnissen in der Netzhaut auf; jedenfalls verfügt die Retina über die zur Desaminierung von Adenylsäure befähigte Amidase⁸⁾.

Die Ergebnisse dieser Versuche zeigen, dass Inosinsäure im Retina-extrakt als Co-Enzym sowohl der Glykogen- als auch der

1) *J. K. Parnas* und *J. Mochmacka*, *C. r. Soc. Biol.* **123**, 1173 (1936).

2) *W. Kiessling*, *Bioch. Z.* **298**, 421 (1938).

3) *Cori* c. s., loc. cit.

4) *L. P. Kendal* und *L. H. Stickleland*, *Biochem. J.* **32**, 572 (1938).

5) *Z. Augustin*, *Z. physiol. Ch.* **255**, 61 (1938).

6) Die einfachen Nucleoside und Nucleotide sind als Aktivatoren nicht nur für den Kohlenhydratstoffwechsel von Bedeutung. Nach *K. Lang* und *H. Mayer*, *Z. physiol. Ch.* **262**, 120 (1939), sind Adenosin, Adenylsäure, Adenosin-triphosphorsäure und Inosinsäure als Co-Enzyme von Fettsäure-dehydrasen wirksam.

7) *H. Süllmann* und *T. A. Vos*, *Enzymol.* **6**, 246 (1939).

8) *H. Rösch* und *W. T. Kamp*, *Z. physiol. Ch.* **175**, 158 (1928). — *H. Rösch*, ebenda, **186**, 237 (1930).

Glucose-phosphorylierung wirkt, ebenfalls wird bei Anwesenheit von Inosinsäure aus beiden Substraten Milchsäure gebildet. Wenn für die Glucoseveresterung auch im Netzhaut-extrakt die (wahrscheinlich zutreffende, aber noch nicht bewiesene) Annahme gemacht werden kann, dass sie auf dem Wege der eingangs erörterten Umesterungsreaktionen erfolgt, so ergibt sich die Rolle der Inosinsäure als Phosphatübertragendes Nucleotid: sie vermag, wie Adenylsäure, als Acceptor für die Phosphatgruppen phosphorylierter Intermediärprodukte zu dienen und das übernommene Phosphat an Glucose (und Hexose-monophosphat) abzugeben. Die Fähigkeit zur Phosphatübertragung zwischen den in Betracht kommenden organischen Verbindungen wird auch durch die festgestellte Milchsäurebildung aus Kohlenhydrat in Anwesenheit von Inosinsäure gefordert, da wir annehmen können¹⁾²⁾, dass die Milchsäurebildung im Retina-extrakt auf dem „Phosphorylierungswege“ erfolgt.

Die Hexose-phosphorylierung durch tierische Gewebe und Gewebsextrakte bedarf noch der eingehenderen Untersuchung³⁾. Da dialysierte, glykolytisch inaktive Netzhaut-extrakte allein durch Zusatz von Adenylsäure wieder zur Glucose-phosphorylierung und zum weiteren glykolytischen Abbau befähigt werden, ist zur Ingangsetzung der Phosphorylierung wahrscheinlich die Möglichkeit zur initialen Bildung von Adenosin-polyphosphorsäure gegeben. Hierfür wird das in den dialysierten Extrakten noch vorhandene organische Phosphat Bedeutung haben (s. Versuchsteil).

Inosinsäure vermag mithin, wenigstens qualitativ, Adenylsäure beim Glucose- und Glykogenabbau im Retina-extrakt zu ersetzen. In quantitativer Beziehung erweist sich Inosinsäure als Aktivator der Adenylsäure in den meisten Versuchen bedeutend unterlegen. Mit Glucose als Substrat und Inosinsäure als Aktivator reicht der beobachtete Phosphatschwund nie an die in den Parallelversuchen mit Adenylsäure erzielte Phosphatabnahme heran⁴⁾, auch nicht bei Verwendung grosser Mengen Inosinsäure. Dasselbe trifft auch für die Milchsäureausbeute zu. Die zur Erzielung der maximal erreichbaren Phosphorylierung notwendigen Inosinsäuremengen liegen in den einzelnen Extrakten verschieden hoch. In der in Tabelle III (s. Versuchsteil) wiedergegebenen Versuchsreihe z. B. bewirkt eine Steigerung der Inosinsäurekonzentration von m./650 auf m./325 eine um nahezu das Dreifache vermehrte Phosphatabnahme, während in einer

1) H. Süllmann und T. A. Vos, loc. cit.

2) H. Süllmann und R. Brückner, *Enzymol.* **8**, 167 (1940).

3) In Nierenextrakten findet die Hexose-phosphorylierung unter Aufnahme von Sauerstoff statt: H. Kalckar, *Biochem. J.* **33**, 631 (1939). Adenylsäure wirkt bei dieser aeroben Phosphorylierung als Co-Enzym; Adenosin-triphosphorsäure vermag jedoch nicht als Phosphatdonator für Glucose aufzutreten. Vgl. S. P. Colowick, M. S. Welch und C. E. Cori, *J. Biol. Chem.* **133**, 359 (1940).

4) In einem früheren gelegentlichen Versuch (Süllmann und Vos, l. c.) mit m./1500 Inosinsäure und Glucose als Substrat betrug die Phosphatabnahme 20% der mit gleich grosser Menge Adenylsäure + Glucose gefundenen. Die Frage nach der Aktivatorwirkung der Inosinsäure im Retina-extrakt wurde noch offen gelassen.

anderen Versuchsreihe (Tabelle II) Erhöhung der Inosinsäuremenge über m./1200 hinaus keine wesentliche Änderung der Phosphatveresterung mehr erkennen lässt.

Bei der Phosphorylierung des Glykogens, die in Retina-extrakten mit wechselnder und mit fast immer erheblich geringerer Intensität als die Glucoseveresterung verläuft, erweist sich Inosinsäure in den meisten Versuchen als mit Adenylsäure gleichwertig. In einzelnen Versuchen wirkt Inosinsäure deutlich schwächer als die gleichen Mengen Adenylsäure, häufiger wird umgekehrt mit Inosinsäure und Glykogen als Substrat sogar ein etwas grösserer Phosphatschwund beobachtet als in gleich langer Versuchszeit mit Adenylsäure. Höhere Konzentrationen Inosinsäure scheinen manchmal weniger wirksam zu sein als niedrigere.

Die Kurven in den beiden Abbildungen veranschaulichen die geschilderten Verhältnisse (vgl. auch die im experimentellen Teil aufgeführten Tabellen).

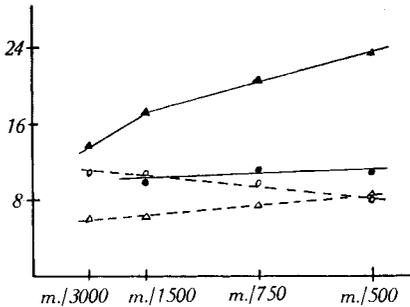


Fig. 1.

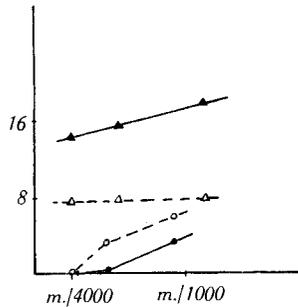


Fig. 2.

Zu den Kurven in Fig. 1 und Fig. 2. Ordinate: Abnahme des anorgan. P in mg/100 cm³ Versuchslösung. Abszisse: Molarität der zugesetzten Nucleotide in der Versuchslösung. Versuchszeit 60 Min. 37°.

○-----○ Glykogen + Inosinsäure ●-----● Glucose + Inosinsäure
 Δ-----Δ „ + Adenylsäure ▲-----▲ „ + Adenylsäure

Hervorzuheben ist, dass die Co-Enzymwirkung der Inosinsäure in den Retina-extrakten nicht so regelmässig zum Ausdruck kommt wie mit Adenylsäure. In einigen Versuchsreihen mit Inosinsäure fand (in der meist einstündigen Versuchszeit) überhaupt keine nachweisbare Veresterung von Glucose mit anorganischem Phosphat statt; erst eine Ausdehnung der Versuchszeit auf mindestens zwei Stunden liess dann in den untersuchten Fällen eine mehr oder weniger deutliche Co-Enzymwirkung (Phosphatschwund) hervortreten. Diese etwas unsichere Aktivatorwirkung wird mit Adenylsäure nie beobachtet. Das nach einer Stunde im Extrakt mit Adenylsäure und Kohlenhydrat erreichte Veresterungsniveau erfährt bei längerer Inkubation (2 Stunden) keine wesentliche Änderung.

Aktivierung mit beiden Nucleotiden lässt keine deutliche Änderung des Phosphatschwundes gegenüber den entsprechenden Versuchen mit Adenylsäure als alleinigem Co-Enzym erkennen (vgl. Tabellen II, III und IV). Dasselbe trifft in den meisten Versuchen auch für die Milchsäurebildung zu; in einigen der kombinierten Versuche findet sich jedoch eine grössere Milchsäuremenge als in den Vergleichsansätzen mit Adenylsäure. Die Versuche erlauben den Schluss, dass Inosinsäure in den angewendeten Mengen die Adenylsäurewirkung im Retina-extrakt jedenfalls nicht hemmt.

Nach diesen Ergebnissen ist Inosinsäure bei der Phosphorylierung des Glykogens im Retina-extrakt relativ wirksamer als bei der Glucoseveresterung. (Wir betrachten hierbei die im Vergleich zu Adenylsäure mit Inosinsäure erzielbare Phosphorylierung der beiden Substrate, ohne Rücksicht auf die verwendeten Nucleotidmengen.) Vielleicht beruht dieser Unterschied auf einer geringeren Aktivität der Inosinsäure bei den Umesterungen, die zur Phosphorylierung von Glucose und Hexose-monophosphat führen. Die Folge davon sollte eine „Anhäufung“ des aus Glykogen und anorganischem Phosphat gebildeten Hexose-monophosphats sein, das, wenn ausschliesslich Inosinsäure als phosphorylierendes Co-Enzym vorliegt, nur langsam weiterreagieren könnte. Hiermit würde übereinstimmen, dass wir in mehreren Versuchen mit Glykogen und Inosinsäure einen etwas grösseren Phosphatschwund finden als mit Adenylsäure, die Milchsäurebildung aber im ersten Fall keineswegs grösser war als im letzten (vgl. Figur 1 sowie Tabellen I und II).

Über die Frage, ob Inosinsäure, ausser der nachgewiesenen Aktivierung der Phosphorolyse, eine hydrolytische Spaltung des Glykogens¹⁾ in Enzymlösungen der Retina zu aktivieren vermag, soll im Zusammenhang mit Untersuchungen über Vorkommen und Bedeutung von Amylasen in der Retina berichtet werden. Die hier verwendeten wässerigen Extrakte zeigen nach früheren Versuchen²⁾ ohne Adenylsäure- oder ohne Phosphatzusatz einen nur geringen Glykogenschwund, dürften also, wenn überhaupt, nur eine schwache amylytische Wirksamkeit besitzen. Jedenfalls überwiegt in diesen, bei Anwesenheit von Phosphat sowie von Adenylsäure oder auch, wie wir aus den hier mitgeteilten Ergebnissen schliessen können, von Inosinsäure, die phosphorylatische Glykogenspaltung.

Wenn Inosinsäure die Co-Enzymwirkung entfaltet, ohne in den Enzymlösungen eine vorangehende Änderung am Purinring zu erfahren, so ist zu schliessen, dass für diese Wirkung die Aminogruppe der Adenylsäure nicht ausschlaggebend ist³⁾. Im Zusammenhang mit Untersuchungen über die Ammoniakbildung und über den Stoff-

¹⁾ Z. *Augustin*, l. c.

²⁾ H. *Süllmann* und R. *Brückner*, l. c.

³⁾ Das trifft offenbar für ein anderes Pyrimidinderivat und Co-Enzym, die Carboxylase, zu, deren in gleicher Stellung befindliche NH₂-Gruppe nach K. G. *Stern* und J. L. *Melnik* (*J. Biol. Chem.* **131**, 615 (1939)) für die Wirkungsweise nicht von ausschlaggebender Bedeutung ist.

wechsel der Adenylsäure im Muskel wurde eine Reaminierung der Inosinsäure wiederholt erörtert¹⁾. Ob eine Aminierung der Inosinsäure in Enzymlösungen stattfindet, steht noch dahin. Die von anderen Untersuchern und von uns gemachte Beobachtung, wonach Inosinsäure im Verhältnis zu Adenylsäure von unregelmässigerer Wirkung ist, könnte damit in Zusammenhang gebracht werden, dass Inosinsäure, bevor sie als Co-Enzym wirksam sein kann, einer chemischen Veränderung, z. B. einer Aminierung zu Adenylsäure, unterworfen werden muss; die Bedingungen einer solchen (die Co-Enzymwirkung u. U. limitierenden) Reaktion könnten in den verwendeten Enzymlösungen verschiedene sein. Gegen die Annahme, dass die Wirkung der Inosinsäure von ihrer Reaminierung abhängt, sprechen Versuche von *Cori et al.* (loc. cit.), die eine Hemmung der Adenylsäurewirkung durch Inosinsäure bei der Glykogenphosphorylierung im Muskelextrakt gefunden haben. In unseren Versuchen mit Adenylsäure vermochte gleichzeitige Anwesenheit von Inosinsäure den mit Adenylsäure allein (und Glucose als Substrat) erzielten Phosphat-schwund nicht deutlich zu beeinflussen (vgl. Tabellen II, III und IV); dass sich auch dann nicht, wenn unteroptimale Mengen Adenylsäure vorlagen, die Inosinsäurewirkung (Phosphatabnahme) zu derjenigen der Adenylsäure hinzu addierte, spricht ebenfalls gegen die erwähnte Annahme. Eine endgültige Entscheidung erlauben die vorliegenden Beobachtungen jedoch noch nicht. Überdies mögen in dieser Hinsicht die Verhältnisse nicht in allen Systemen und mit allen Substraten gleich liegen; so kann *Augustin* (loc. cit.) aus seinen erwähnten Versuchen mit Herzmuskelextrakten folgern:

„Weil die Adenylsäure und nicht die Inosinsäure die Phosphorolyse des Glykogens aktiviert, so ist die Aminogruppe des Adenins für die Phosphorolyse sehr wichtig.“

Eingehendere Untersuchungen über die Inosinsäurewirkung werden noch den Einfluss des Ionenmilieus, das für die Co-Enzymfunktion ausschlaggebend sein kann²⁾, zu klären haben.

Versuche.

Methodik. Die Extrakte wurden, wie früher angegeben, aus Rindernetzhäuten im Verhältnis von 1 Teil Netzhaut zu 2 Teilen Wasser bereitet³⁾ und in Cellophanschläu-

¹⁾ Vgl. *J. K. Parnas* und *P. Ostern*, Bioch. Z. **234**, 30 (1931). — *T. Korzybski* und *J. K. Parnas*, Z. physiol. Ch. **255**, 195 (1938); hier auch übrige Literatur.

²⁾ Vgl. hierzu die Untersuchungen über die Rolle der Cozymase bei der Phosphatübertragung: *P. Ohlmeyer* und *S. Ochoa*, Bioch. Z. **293**, 338 (1937). — *P. Ohlmeyer*, ebenda **301**, 189 (1939).

³⁾ Der extrahierte Gewebsrückstand besitzt noch ein erhebliches Glykolysevermögen; wiederholte Extraktionen liefern, nach Ergänzung mit den notwendigen Aktivatoren, ebenfalls aktive Enzymlösungen. Ob ein Teil des glykolytischen Systems der Retina „strukturegebunden“ ist und gegebenenfalls einen von dem des löslichen Enzymsystems abweichenden Reaktionsweg beim Kohlenhydratabbau verfolgt, ist Gegenstand weiterer Untersuchungen.

chen 3 Stunden gegen destilliertes Wasser dialysiert. Als Pufferlösung diente in allen Versuchen eine Mischung aus 1 Teil m./5 Phosphat ($p_H = 7,35$) und 1 Teil 3-proz. Natriumbicarbonat-Lösung. Muskel-adenylsäure wurde mit zwei Äquivalenten Natriumbicarbonat neutralisiert, inosinsaures Barium¹⁾ wurde mit Natriumsulfat umgesetzt. Für einige Versuche wurde das in schön krystallisiertem Zustande vorliegende inosinsaure Barium noch aus Wasser umkrystallisiert, um eine etwaige Verunreinigung durch Adenylsäure auszuschliessen. Die in den Tabellen angegebenen Mengen beziehen sich auf krystallwasserfreies Nucleotid. Glykogen wurde vor der Verwendung durch Dialyse gereinigt. In allen Versuchen wurde mit Magnesium-ion (als Sulfat) aktiviert.

Die Milchsäurebestimmungen erfolgten chemisch nach dem *Fürth-Charnaschen* Prinzip und die Bestimmung des anorganischen Phosphats kolorimetrisch.

In den Tabellen werden die in der Versuchszeit aufgetretenen Änderungen im Gehalt an anorganischem Phosphat (P) und an Milchsäure in mg pro 100 cm³ Versuchslösung aufgeführt.

Tabelle I.

6,5 cm³ enthalten: 3 cm³ Extrakt, 1 cm³ Phosphat-Bicarbonat, 1,2 mg Mg⁺⁺; ausserdem je nach Versuch 30 mg Glykogen, 50 mg Glucose, die angegebenen Mengen Nucleotid. — 75 Min. 37°.

	Substrat	mg		P Abnahme	Milch- säure gebildet
		Adenyl- säure	Inosin- säure		
I	Glykogen	2,2	—	10,5	49
II	„	—	3,7	11,1	39
III	„	—	7,5	7,3	35
IV	Glucose	2,2	—	25,8	117
V	„	—	3,7	13,9	67
VI	„	—	7,5	13,1	78

Eine in den Versuchen auftretende Dephosphorylierung der Nucleotide durch Nucleotidasen der Netzhaut²⁾ ist unberücksichtigt geblieben. Die in den Tabellen angegebene Phosphatabnahme ist demnach um den Betrag dieser Dephosphorylierung, deren Höhe wir bei Anwesenheit von Kohlenhydrat nicht kennen, zu niedrig. In einem Ansatz (ohne Kohlenhydrat) mit 5,9 mg Inosinsäure-phosphat/100 cm³ wurden in zwei Stunden bei 37° 3,78 mg P, in einem gleichartigen Ansatz mit 7,8 mg Adenylsäure-phosphat/100 cm³ 3,0 mg P abgespalten. Die Spaltung ist in glykolysierenden Extrakten vermutlich kleiner, so dass sie im Verhältnis zu den in den meisten Versuchen beobachteten Veresterungswerten wohl vernachlässigt werden darf. In dem in Tabelle III aufgeführten Versuch II war keine Dephosphorylierung von Inosinsäure festzustellen.

¹⁾ Muskel-adenylsäure und inosinsaures Barium verdanken wir dem Entgegenkommen der Firma Dr. Georg Henning, Berlin-Tempelhof.

²⁾ Vgl. J. Reis, Bull. soc. chim. biol. **22**, 36 (1940).

Über den Gehalt der Retina-extrakte an Phosphaten und deren Abnahme durch Dialyse gibt folgender Versuch Anhaltspunkte: Ein im Verhältnis von einem Teil Netzhaut und zwei Teilen Wasser bereiteter Extrakt enthielt in der säurelöslichen Fraktion 7,75 mg % anorganisches P und 9,35 mg % organisches P; nach dreistündiger Dialyse enthielt derselbe Extrakt noch 4,6 mg % anorganisches P und 5,4 mg % organisches P.

Tabelle II.

7,5 cm³ enthalten: 3 cm³ Extrakt, 1 cm³ Phosphat-Bicarbonat, 1,2 mg Mg⁺⁺; ausserdem je nach Versuch 30 mg Glykogen, 50 mg Glucose, die angegebenen Mengen Nucleotid. — 42,7 mg% anorgan. P. — 60 Min. 35^o.

	Substrat	mg		P Abnahme	Milch- säure gebildet
		Adenyl- säure	Inosin- säure		
I	Glykogen	0,45	—	6,1	24
II	„	1,8	—	7,0	33
III	„	—	0,75	8,3	20
IV	„	—	3,0	7,7	25
V	Glucose	0,45	—	19,7	80
VI	„	1,8	—	22,2	98
VII	„	—	0,75	3,8	22
VIII	„	—	3,0	12,7	56
IX	„	1,8	3,0	22,4	106
X	Glykogen	1,8	3,0	7,5	50

Tabelle III.

6,5 cm³ enthalten: 2 cm³ Extrakt, 1 cm³ Phosphat-Bicarbonat, 1,2 mg Mg⁺⁺; ausserdem je nach Versuch die angegebenen Mengen Adenylsäure und Inosinsäure (umkryst.), 50 mg Glucose. — 2 Std. 37^o.

	Versuch	mg		P Abnahme	Milch- säure gebildet
		Adenyl- säure	Inosin- säure		
I	Ohne Substrat	—	—	0	—
II	„ „	—	4,75	0	10
III	+ Glucose	—	—	0,3	0
IV	„	—	3,5	4,2	22
V	„	—	4,75	6,6	44
VI	„	—	7,0	12,0	—
VII	„	0,25	—	19,8	95
VIII	„	2,5	—	27,2	151
IX	„	0,25	3,5	20,5	122
X	„	2,5	3,5	26,6	155

Tabelle IV.

6,75 cm³ enthalten: 2 cm³ Extrakt, 1 cm³ Phosphat-Bicarbonat, 0,6 mg Mg⁺⁺; ausserdem je nach Versuch 50 mg Glucose, 30 mg Glykogen, die angegebenen Mengen Nucleotid. — 43,8 mg% anorg. P. — 2 Stdn. 37°.

	Substrat	mg		P Abnahme	Milch- säure gebildet
		Adenyl- säure	Inosin- säure		
I	Glucose	—	—	0	2
II	„	—	2,0	14,8	84
III	„	—	4,0	15,6	94
IV	„	—	5,0	14,8	84
V	„	—	6,0	15,6	118
VI	„	0,25	—	19,9	166
VII	„	2,5	—	24,3	172
VIII	„	3,75	—	27,5	—
IX	„	2,5	4,0	24,5	177
X	„	3,75	4,0	29,6	193
XI	Glykogen	2,5	—	6,8	89
XII	„	—	4,0	10,6	—

Zusammenfassung.

Inosinsäure wirkt in Extrakten der Retina als Co-Enzym sowohl beim Glykogen- als auch beim Glucoseabbau. Das Ausmass der mit Inosinsäure in den verschiedenen Retina-extrakten erzielten Aktivierung zeigt, im Vergleich mit Adenylsäure als Co-Enzym, beträchtlichere Schwankungen. Die Ergebnisse weisen darauf hin, dass Inosinsäure bei der Glykogen-phosphorylierung relativ wirksamer ist als bei der Glucose-phosphorylierung.

Basel, Augenklinik der Universität.

78. Darstellung und einige physikalische Eigenschaften der
1-Chlor-2, 3, 4, 6-tetra-p-toluolsulfonyl-glucose

von A. L. Bernoulli † und H. Stauffer.

(27. IV. 40.)

I. Einleitung.

Untersuchungen über die Cellulose-ester der p-Toluolsulfosäure veranlassten uns, diese Versuche auf Glucose zu übertragen. Da der Aufbau der Glucose im Vergleich zu dem der Cellulose einfacher ist, lässt sich auch die entstehende Tosyl-glucose („Tosyl“ = p-Toluolsulfonyl)¹⁾ besser identifizieren.

¹⁾ Vgl. K. Hess, R. Pfleger, A. 507, 48 (1933).