

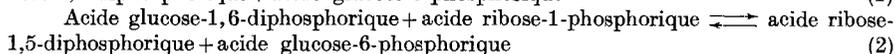
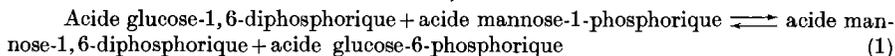
31. Action de la phosphoglucomutase du muscle sur des acides aldose-1-phosphoriques.

Transformation de l'acide galactose-1-phosphorique

par Th. Posternak et J. P. Rosselet.

(14 XII 53)

On a montré que les préparations de phosphoglucomutase agissent, en présence d'acide α -glucose-1,6-diphosphorique, sur les acides mannose-1-phosphorique¹⁾ et ribose-1-phosphorique²⁾, en les convertissant en esters acido-stables. Ces derniers représentent très probablement les acides mannose-6-phosphorique et ribose-5-phosphorique. Les coferments nécessaires prennent naissance à partir de l'acide α -glucose-1,6 diphosphorique d'après les équations suivantes:



La réaction (1) en particulier a été rendue très probable par les propriétés de l'acide α -mannose-1,6-diphosphorique synthétique³⁾.

Tout récemment, on a constaté qu'en présence d'acide α -glucose-1,6-diphosphorique, l'acide glucosamine-6-phosphorique est transformé, par une réaction analogue, en un composé qui représente probablement l'acide glucosamine-1-phosphorique⁴⁾.

Nous avons étendu ces observations à un autre composé d'intérêt biologique, l'acide α -galactose-1-phosphorique.

Sous l'action d'une préparation de phosphoglucomutase de muscle, cette substance est transformée en un produit acidostable qui est vraisemblablement l'acide galactose-6-phosphorique (fig. 1). La conversion atteint 96 %, ce qui est du même ordre de grandeur que dans le cas des acides glucose-1-phosphorique⁵⁾ et mannose-1-phosphorique³⁾. Ici encore la transformation nécessite la présence d'acide glucose-1,6-diphosphorique ou encore d'acide mannose-1,6-diphosphorique dont l'effet activant est même un peu supérieur. L'activation maximum par les deux coferments exige des concentrations relativement très élevées en ces derniers, environ $1 \cdot 10^{-4}$ -m. (fig. 2). Par la même occasion, signalons, pour compléter notre communication antérieure³⁾, que

¹⁾ Leloir, Phosphorus Metabolism 1, 75 (1951); Th. Posternak & J. P. Rosselet, Helv. 36, 1614 (1953).

²⁾ Klenow & Larsen, Arch. Biochem. 37, 488 (1952).

³⁾ Th. Posternak & J. P. Rosselet, Helv. 36, 1614 (1953).

⁴⁾ D. Brown, J. Biol. Chem. 204, 877 (1953).

⁵⁾ Colowick & Sutherland, J. Biol. Chem. 144, 423 (1942).

l'activation maximum de la conversion de l'acide mannose-1-phosphorique par le ferment du muscle nécessite elle aussi des concentrations en cofermement du même ordre (fig. 3).

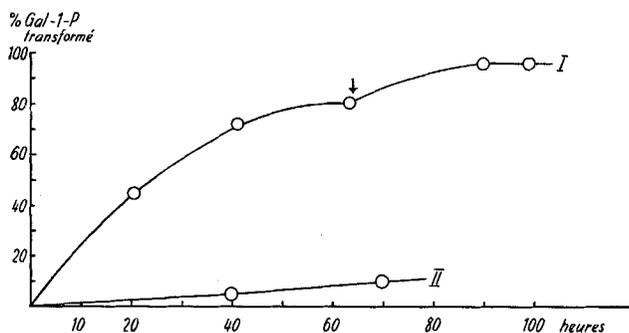


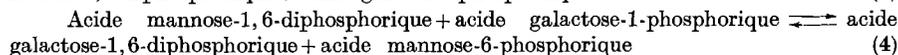
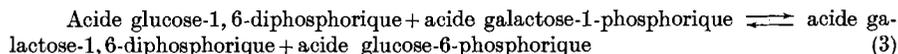
Fig. 1.

Action de la phosphoglucomutase du muscle sur l'acide galactose-1-phosphorique (Gal-1-P).
 Courbes: I. En présence d'acide mannose-1,6-diphosphorique $2 \cdot 10^{-5}$ -m.
 II. En l'absence de cofermement.

Concentrations initiales: acide galactose-1-phosphorique $4,6 \cdot 10^{-3}$ -m.; $MgSO_4$ $1,5 \cdot 10^{-3}$ -m.; hydroxyquinoléine $2 \cdot 10^{-3}$ -m. Température 30° ; pH = 7,5. ↓ signifie l'introduction d'une quantité additionnelle de ferment.

A des concentrations pareilles en cofermement, l'action de l'enzyme sur l'acide glucose-1-phosphorique¹⁾ est considérablement inhibée (fig. 4) comme nous l'avons constaté il y a un an. *D. Brown*²⁾ a publié récemment des observations analogues sur cette inhibition qui est due probablement à un antagonisme compétitif avec le substrat³⁾. Nous avons trouvé que la dite inhibition diminue et finit par disparaître complètement si l'on élève la concentration du milieu en ions magnésium. Nous reviendrons sur ces phénomènes dans une communication ultérieure.

Il s'effectue très probablement des réactions (3) et (4) analogues à celles exprimées par les équations (1) et (2):



Des essais sont en cours pour synthétiser l'acide α -galactose-1,6-diphosphorique.

1) Cette action comporte dans nos conditions opératoires une concentration optimum en cofermement comprise entre $4 \cdot 10^{-6}$ -m. et $8 \cdot 10^{-6}$ -m. L'inhibition par des quantités supérieures de cofermement s'observe aussi bien en présence d'hydroxy-quinoléine que de cystéine.

2) J. Biol. Chem. **204**, 877 (1953).

3) La molécule du ferment contient probablement deux emplacements réactifs. Dans la forme activée, le cofermement occupe seulement l'un d'entre eux, alors que l'autre est lié au substrat.

A des concentrations optimum en coferment, l'action de l'enzyme sur l'acide galactose-1-phosphorique est, dans nos conditions opératoires, environ 400 fois plus lente que sur l'acide glucose-1-phosphorique. Nous laissons ouverte la question de la signification physiologique de cette réaction.

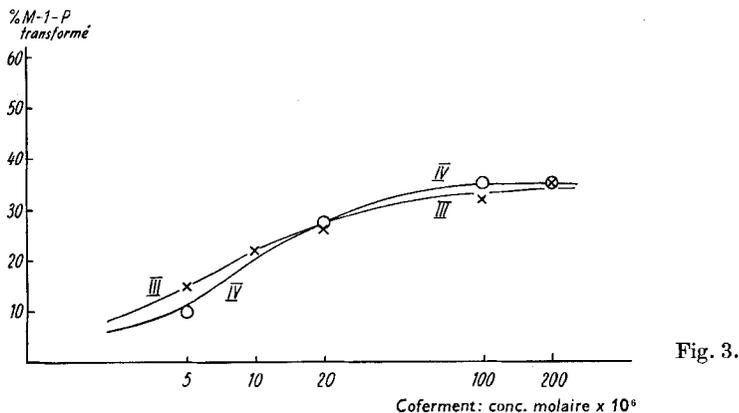
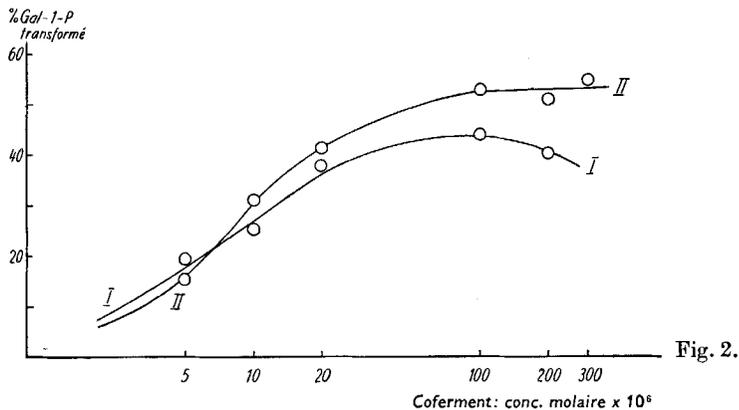


Fig. 2 et 3.

Transformations des acides galactose-1-phosphorique (Gal-1-P) et mannose-1-phosphorique (M-1-P) en présence de quantités variables de coferment introduit (abscisses logarithmiques).

- Courbes: I. Acide galactose-1-phosphorique en présence d'acide glucose-1,6-diphosphorique.
 II. Acide galactose-1-phosphorique en présence d'acide mannose-1,6-diphosphorique.
 III. Acide mannose-1-phosphorique en présence d'acide glucose-1,6-diphosphorique.
 IV. Acide mannose-1-phosphorique en présence d'acide mannose-1,6-diphosphorique.

Concentrations initiales: acide galactose-1-phosphorique $4,6 \cdot 10^{-3}$ -m.; acide mannose-1-phosphorique $5 \cdot 10^{-3}$ -m.; $MgSO_4$ $1,5 \cdot 10^{-3}$ -m.; hydroxyquinoléine $2 \cdot 10^{-3}$ -m. Température 30°; pH = 7,5. Durées d'incubation: courbes I et II 21 h.; courbes III et IV 210 min.

D'après des essais préliminaires, l'action de la phosphoglucomutase de la levure sur l'acide galactose-1-phosphorique semble encore beaucoup plus lente. Il sera intéressant de répéter ces expériences avec un enzyme obtenu à partir d'une levure adaptée à la fermentation du galactose.

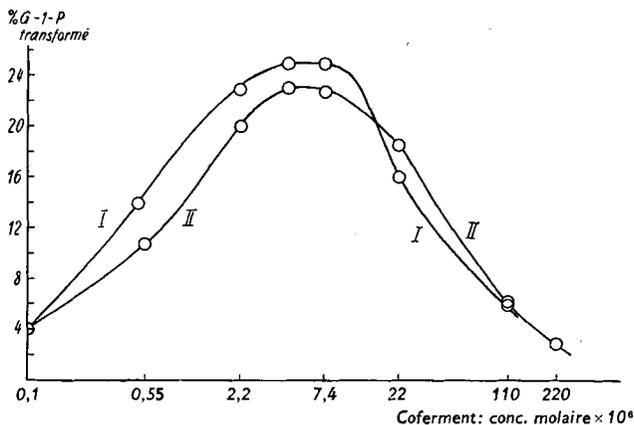


Fig. 4.

Transformations de l'acide glucose-1-phosphorique (G-1-P) en présence de quantités variables de cofacteur introduit (abscisses logarithmiques).

Courbes: I. En présence d'acide glucose-1,6-diphosphorique.

II. En présence d'acide mannose-1,6-diphosphorique.

Concentrations initiales: acide glucose-1-phosphorique $5 \cdot 10^{-3}$ -m.; MgSO_4 $1,5 \cdot 10^{-3}$ -m.; cystéine $2,5 \cdot 10^{-2}$ -m. Température 30° ; $\text{pH} = 7,5$. Durée d'incubation 5 min.

Nous remercions la *Fondation Rockefeller*, New York, de l'aide qu'elle nous a apportée.

Partie expérimentale.

Enzyme, coferments et substrats employés. La phosphoglucomutase du muscle de lapin, préparée d'après *Najjar*¹⁾, a encore été soumise à une dialyse de 16 h. contre de l'eau distillée à 4° , ce qui a eu pour effet d'éliminer la majeure partie de l'activateur (acide glucose-1,6-diphosphorique?) qu'elle contient.

Nous avons employé comme substrats des préparations synthétiques²⁾ d'acide α -galactose-1-phosphorique (sel de K cristallisé) et d'acide α -mannose-1-phosphorique. Les coferments étaient également des substances synthétiques (acide α -glucose-1,6-diphosphorique³⁾ et acide α -mannose-1,6-diphosphorique⁴⁾.

Méthodes analytiques. Les dosages de phosphore ont été effectués d'après *Fiske & Subbarow*⁵⁾. Comme d'habitude, la transformation des acides α -aldose-1-phosphoriques en acides aldose-6-phosphoriques a été mesurée par la diminution du phosphore hydrolysable par 5 min. de chauffe, au bain-marie bouillant, dans H_2SO_4 -n. Des corrections ont été apportées lors de l'emploi de concentrations en coferment supérieures à $1 \cdot 10^{-5}$ -m.; elles sont nécessitées par la présence de phosphore acido-labile dans ces substances.

1) J. Biol. Chem. **180**, 1279 (1949).

2) Th. Posternak, Am. Soc. **72**, 4824 (1950); Helv. **36**, 1614 (1953).

3) Th. Posternak, J. Biol. Chem. **180**, 1269 (1949).

4) Th. Posternak & J. P. Rosselet, Helv. **36**, 1614 (1953).

5) J. Biol. Chem. **66**, 375 (1925).

RÉSUMÉ.

La phosphoglucomutase du muscle de lapin convertit l'acide α -galactose-1-phosphorique en une substance acidostable qui est vraisemblablement l'acide galactose-6-phosphorique.

On a étudié l'action de quantités variables de coferments (acides α -glucose-1,6-diphosphorique et acide α -mannose-1,6-diphosphorique) sur la vitesse de cette réaction, ainsi que sur celle des transformations des acides glucose-1-phosphorique et mannose-1-phosphorique.

Bâle, Institut de Pharmacie de l'Université;
Genève, Laboratoire de Chimie biologique et
organique spéciale de l'Université.

32. Über Steroide und Sexualhormone.

197. Mitteilung¹⁾.

Über die Dehydrierung von α -Dihydro-ergosterin-acetat mit Quecksilber(II)-acetat und Selendioxyd

von G. Saucy, P. Geistlich, R. Helbling und H. Heusser.

(14. XII. 53.)

Im Zusammenhang mit unseren Arbeiten über die Synthese von 11-Keto- und 11-Oxy-Steroiden²⁾ haben wir uns auch etwas näher mit den präparativen Möglichkeiten zur Bereitung der als Ausgangsmaterial verwendeten Ring-B/C-Diene vom Typus des Ergosterin-D-acetats (I) beschäftigt.

Solche Verbindungen sind bekanntlich durch Dehydrierung von 7,8-einfach ungesättigten Steroiden (vgl. II) zugänglich, wobei als Reagenzien für diese Reaktion Quecksilber(II)-acetat³⁾, Brom⁴⁾, Bromsuccinimid⁵⁾, Persäuren³⁾⁶⁾, und Selendioxyd⁷⁾ empfohlen wurden.

¹⁾ 196. Mitt., Helv. **36**, 1918 (1953).

²⁾ H. Heusser, K. Eichenberger, P. Kurath, H. R. Dällenbach & O. Jeger, Helv. **34**, 2106 (1951); H. Heusser, K. Heusler, K. Eichenberger, C. G. Honegger & O. Jeger, Helv. **35**, 295 (1952); H. Heusser, R. Anliker, K. Eichenberger & O. Jeger, Helv. **35**, 936 (1952); H. Heusser, G. Saucy, R. Anliker & O. Jeger, Helv. **35**, 2090 (1952); K. Heusler, H. Heusser & R. Anliker, Helv. **36**, 652 (1953).

³⁾ A. Windaus & E. Auhagen, A. **472**, 185 (1929).

⁴⁾ J. C. Eck & E. W. Hollingsworth, Am. Soc. **64**, 140 (1952); R. C. Anderson, R. Stevenson & F. S. Spring, Soc. **1952**, 2901.

⁵⁾ L. F. Fieser, Am. Soc. **73**, 5007 (1951).

⁶⁾ A. Windaus & A. Lüttringhaus, A. **481**, 119 (1930).

⁷⁾ R. K. Callow & O. Rosenheim, Soc. **1933**, 387; R. K. Callow, Soc. **1936**, 462.