

nachher neutralisiert und 3-mal mit *n*-Butanol extrahiert. Der Ätherextrakt wurde darauf im Vakuum zur Trockene eingedampft und der Rückstand zur Entfernung des Dinitrophenols 2-mal sublimiert. Die DNP-Aminosäuren wurden mittels Dünnschichtchromatographie nach BRENNER *et al.*⁶⁾ bestimmt. Die als Testsubstanzen verwendeten DNP-Aminosäuren wurden nach SANGER⁷⁾ und der modifizierten Methode nach ISHERWOOD & CRUICKSHANK¹⁵⁾ dargestellt.

Der Firma GEBRÜDER BÜHLER, Uzwil, danken wir für die grosszügige finanzielle Unterstützung dieser Arbeit.

SUMMARY

The principal glycoprotein fraction of the water soluble wheat flour pentosans has been degraded by pure chymotrypsin, trypsin and PRONASE. In all cases an alcohol soluble glycopeptide containing galactose and arabinose (but no xylose) was obtained in addition to an alcohol insoluble arabinoxylan fraction. Chymotrypsin also produced free tyrosin and tryptophan which are thought to be N-terminal amino acid residues. In the hydrolysate obtained with PRONASE P all of the common amino acids were found. It was noticed that during degradation of proteins by PRONASE 3-hydroxy-anthranilic acid is formed.

Agrikulturchemisches Institut der
Eidg. Technischen Hochschule, Zürich

¹⁵⁾ F. A. ISHERWOOD & D. H. CRUICKSHANK, *Nature* 174, 123 (1954).

158. Über den Einbau des Kohlenstoffs der Glucose in die Harnsäure bei *Drosophila melanogaster*

Vorläufige Mitteilung

von O. Brenner-Holzach und F. Leuthardt

(20. V. 63)

Im Zusammenhang mit Untersuchungen über die Pterinsynthese bei *Drosophila melanogaster* haben wir den Einbau des aus Glucose stammenden Kohlenstoffs in die Harnsäure untersucht. Wie schon früher mitgeteilt wurde¹⁾, erhält man bei Verfütterung von in C1 und C6 markierter Glucose an *Drosophila melanogaster* mit der C6-markierten Verbindung eine Harnsäure mit höherer spezifischer Aktivität als mit der C1-markierten Glucose. Wir äusserten die Vermutung, dass das C6 der Glucose in spezifischer Weise zur Harnsäuresynthese verwendet wird. Da dafür in erster Linie die C-Atome 2 und 8 in Frage kommen (C-Atome 4 und 5 stammen aus Glykokoll, C6 aus CO₂), muss das C6 der Glucose offenbar besonders leicht in aktiviertes Formiat übergehen. Darauf weisen auch unsere Versuche mit Pterinen hin¹⁾, bei denen sich mit Glucose-[6-¹⁴C] im Isoxanthopterin eine unerwartet hohe spezifische Aktivität nachweisen liess, die sich wahrscheinlich zum grössten Teil im C2 findet. Auch WEYGAND *et al.*²⁾ haben bei Verabreichung von Glucose-[6-¹⁴C] an Kohlweisslingspuppen beim Leucopterin eine hohe Konzentration des Isotops im C2 gefunden.

¹⁾ O. BRENNER-HOLZACH & F. LEUTHARDT, *Helv.* 44, 1480 (1961).

²⁾ F. WEYGAND, H. SIMON, G. DAHMS, M. WALDSCHMIDT, J. SCHLIEP & H. WACKER, *Angew. Chem.* 73, 402 (1961).

Zur genaueren Lokalisation der Radioaktivität in der Harnsäure nach Verfütterung von Glucose-[6-¹⁴C] benützten wir die Methode von BRANDENBERGER³⁾, bei der die Aktivität des C8 der Harnsäure als Differenz der spezifischen Aktivitäten von Harnsäure und Alloxan berechnet wird. Wir erhielten dabei, unter der Annahme, dass die spezifische Aktivität in C2 und C8 gleich ist, folgende Verteilung der Radioaktivität im Alloxanring:

mit Glucose-[6- ¹⁴ C]:	C2 (= C8)	65–70%
	C4 + C5 + C6	30–35%
mit Glucose-[1- ¹⁴ C]:	C2 (= C8)	40–55%
	C4 + C5 + C6	45–60%

Vermutlich wird das aktivierte Formiat aus dem C3 des Serins gebildet, welches seinerseits aus Glycerinsäure über Hydroxypyruvat entstehen kann. Würde Glucose nur nach der EMBDEN-MEYERHOF-Reaktion abgebaut, so müsste eine Randomisierung von C1 und C6 auftreten, d. h., es würde mit beiden markierten Zuckern aktiviertes Formiat in gleicher Radioaktivität entstehen. Die nach Verfütterung von Glucose-[1-¹⁴C] und -[6-¹⁴C] gebildete Harnsäure müsste in beiden Fällen die gleiche spezifische Aktivität der Ureid-C-Atome aufweisen.

Wir haben schon aus früheren Versuchen geschlossen, dass bei *Drosophila* der Pentosephosphatzyklus beim Glucoseabbau eine wichtige Rolle spielt. Die zum Auf-

Atmungsversuche mit Puppenhomogenat und C1- bzw. C6-markierter Glucose

Zucker	Im Inkubationsgemisch eingesetzte Aktivität in cpm	Aktivität im Atmungs-CO ₂ nach 80' in cpm
Glucose-[1- ¹⁴ C]	7,08 · 10 ⁶	1,56 · 10 ⁶
Glucose-[6- ¹⁴ C]	6,85 · 10 ⁶	0,03 · 10 ⁶

bau des Pyrazinrings der Pterine verwendete Ribose enthält das C1 der Glucose. Ein Teil der Ribose muss also durch eine Transketolasereaktion entstanden sein¹⁾.

Parallel zu den beschriebenen Untersuchungen haben wir Atmungsversuche mit Puppenhomogenat der *Drosophila* unter Zusatz von Glucose-[1-¹⁴C] und Glucose-[6-¹⁴C] durchgeführt. Bei diesen Versuchen zeigte es sich, dass ungefähr 40–60mal mehr C1 der Glucose in CO₂ übergeht als C6 (siehe Tab.). Auch diese Versuche lassen erkennen, dass die Glucose in hohem Masse durch direkte Oxydation abgebaut wird.

Daraus erklärt sich die Bevorzugung des C-Atoms 6 der Glucose gegenüber dem C-Atom 1 bei der Bildung von aktiviertem Formiat. Offenbar wird ein beträchtlicher Teil des C1 durch direkte Oxydation der Glucose eliminiert, und der Ausgleich der Aktivität zwischen C1 und C6 kann nur bei dem Teil der Glucose stattfinden, welcher dem glycolytischen Abbau nach EMBDEN-MEYERHOF unterliegt.

Experimentelles. – 1. *Ernährung der Versuchstiere* siehe ¹⁾.

2. *Die Herstellung der Extrakte aus den Fliegen* erfolgte wie bei den Arbeiten mit den Pterinen¹⁾, ebenso

3. *die Chromatographie der Extrakte*¹⁾.

4. *Elution der Harnsäure*: Die Harnsäure wurde aus den Papierchromatogrammen mit ungefähr 10 ml Wasser pro Chromatogramm eluiert. Die Eluate aus 10–12 Chromatogrammen (ent-

³⁾ H. BRANDENBERGER, *Biochim. biophys. Acta* 18, 519 (1955).

sprechend 350–400 Fliegen) wurden mit H_2O auf 300 ml verdünnt und mit 2 g Harnsäure als Träger versetzt. Durch Zugabe von 2N NaOH wurde die Harnsäure in Lösung gebracht und mit 2N H_2SO_4 wieder ausgefällt. Der voluminöse Niederschlag geht im Laufe von 2–3 Std. in Nadeln über. Waschen mit H_2O , Trocknen über CaCl_2 .

5. *Abbau der Harnsäure zu Alloxan*⁴⁾: 1 g umgefällte Harnsäure wurde in 3 ml Wasser und 0,5 ml Eisessig suspendiert. Bei 60° wurde so lange Chlor eingeleitet, bis die Fällung sich deutlich veränderte und absetzte. Beim Abkühlen kristallisiert weiteres Alloxan aus. Rohprodukt 700–800 mg. Umkristallisation aus 0,5–0,8 ml Wasser bei 80° führt zu Alloxan · 1 H_2O . Smp. ca. 245° (Zers.).

6. *Bestimmung der Radioaktivität von Harnsäure und Alloxan*: Die Radioaktivität wurde einerseits direkt durch Auflösen von Harnsäure und Alloxan in Hyamin und Messung im Scintillationszähler (PACKARD-Tri-Carb), andererseits durch Verbrennung nach KALBERER & RUTSCHMANN⁵⁾ und Messung der Aktivität des CO_2 bestimmt.

7. *Veratmung markierter Glucosen durch Puppenhomogenat*: 6 g Puppen (ca. 3 Tage alt) wurden mit 8 ml 0,05M Phosphatpuffer pH 7,6 im Potter homogenisiert. Zu 3 ml dieses Homogenats wurden im WARBURG-Apparat 0,5 ml Glucose-[1-¹⁴C] oder Glucose-[6-¹⁴C] zugegeben und das entstehende CO_2 während ca. 60 Min. im Einsatz in KOH aufgefangen. Ein aliquoter Teil der Kalilauge wurde mit Hyamin und Methanol versetzt und im Scintillationszähler gemessen.

Wir möchten dem SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTLICHEN FORSCHUNG, mit dessen Hilfe diese Arbeit ausgeführt wurde, unsern besten Dank aussprechen. Fr. B. SUTER sei für ihre wertvolle Mithilfe bei der Durchführung der Versuche herzlich gedankt.

SUMMARY

1. Uric acid was isolated from larvae of *Drosophila melanogaster* to which glucose-[1-¹⁴C] and glucose-[6-¹⁴C] had been fed. The specific activity of the atoms 2 and 8 of the purine skeleton was considerably higher after feeding glucose-[6-¹⁴C] than after glucose-[1-¹⁴C]. The activated formate used in building the purine ring probably derives from the C3 of glyceric acid (glycerate → hydroxypyruvate → serine).

2. In homogenates of the larvae C1 of glucose is much more rapidly transformed into carbon dioxide than C6.

3. This explains the different contribution of the atoms C1 and C6 of glucose to the formation of activated formate. C1 is rapidly eliminated by direct oxidation of the glucose. The activity of the carbons 1 and 6 therefore is not equally distributed between the two halves of the glucose molecule, as would be the case if the MEYERHOF-EMBDEN-reaction were the main pathway of glucose degradation in *Drosophila*.

Aus dem Biochemischen Institut
der Universität Zürich

⁴⁾ H. BILTZ, Liebigs Ann. Chem. 413, 60 (1916).

⁵⁾ F. KALBERER & J. RUTSCHMANN, Helv. 44, 1956 (1961).