

## LITERATURVERZEICHNIS

- [1] H. WYLER & ANDRÉ S. DREIDING, *Helv.* **42**, 1699 (1959).
- [2] O. TH. SCHMIDT, P. BECHER & M. HÜBNER, *Chem. Ber.* **93**, 1296 (1960).
- [3] H. WYLER & ANDRÉ S. DREIDING, *Experientia* **17**, 23 (1961).
- [4] H. WYLER, G. VINCENTI, M. MERCIER, G. SASSU & ANDRÉ S. DREIDING, *Helv.* **42**, 1696 (1959).
- [5] M. PIATELLI & L. MINALE, *Phytochemistry* **3**, 307 (1964).
- [6] M. PIATELLI & L. MINALE, *Phytochemistry* **3**, 547 (1964).
- [7] O. TH. SCHMIDT & W. SCHÖNLEBEN, *Z. Naturforsch.* **12b**, 262 (1957).
- [8] H. WYLER, unveröffentlichte Arbeiten.
- [9] T. J. MABRY, H. WYLER, G. SASSU, M. MERCIER, I. PARIKH & ANDRÉ S. DREIDING, *Helv.* **45**, 640 (1962).
- [10] H. WYLER, T. J. MABRY & ANDRÉ S. DREIDING, *Helv.* **46**, 1745 (1963).
- [11] H. WYLER, M. E. WILCOX & ANDRÉ S. DREIDING, *Helv.* **48**, 361 (1965).
- [12] M. PIATELLI, L. MINALE & G. PROTA, *Tetrahedron* **20**, 2325 (1964).
- [13] M. PIATELLI, L. MINALE & G. PROTA, *Ann. Chimica* **54**, 955 (1964).
- [14] M. E. WILCOX, H. WYLER, T. J. MABRY & ANDRÉ S. DREIDING, *Helv.* **48**, 252 (1965).
- [15] H. WYLER & ANDRÉ S. DREIDING, *Helv.* **45**, 638 (1962).
- [16] TH. WIELAND, *Z. physiol. Chem.* **273**, 24 (1942).
- [17] J. P. GREENSTEIN & M. WINITZ, *Chemistry of the Amino Acids* **2**, 1309 (1961).
- [18] J. W. PATTERSON & W. R. BRODE, *Arch. Biochemistry* **2**, 247 (1943).

### 123. Über die Herkunft der C-Atome 2 und 8 der Harnsäure bei *Drosophila melanogaster*

von O. Brenner-Holzach und F. Leuthardt

(15. V. 65)

Wir haben in einer früheren Arbeit [1] mitgeteilt, dass bei Verfütterung von C-1- bzw. C-6-markierter Glucose an Larven von *Drosophila melanogaster* mit Glucose-[6-<sup>14</sup>C] eine höher aktive Harnsäure erhalten wird als mit Glucose-[1-<sup>14</sup>C]. (Ähnliche Beobachtungen haben auch WEYGAND und Mitarb. [2] bei der Untersuchung der Biosynthese von Leukopterin beim Kohlweissling gemacht: Das C-Atom 2 des Pteridinskeletts zeigte nach Injektion von Glucose-[1-<sup>14</sup>C] eine wesentlich geringere Radioaktivität als nach Verfütterung von Glucose-[6-<sup>14</sup>C].) Wir vermuteten auf Grund dieser Beobachtungen, dass das C-6 der Glucose in spezifischer Weise für die Synthese der Harnsäure verwendet wird und zwar auf dem Weg Glucose-6-phosphat → Triosephosphat → Glycerinsäure → Hydroxypyruvat → Serin → aktiviertes Formiat. Um diese Annahme weiter zu stützen, untersuchten wir die Verteilung der Radioaktivität im Puringerüst der Harnsäure nach Verfütterung von Serin-[1-<sup>14</sup>C] und Serin-[3-<sup>14</sup>C] an *Drosophila*-Larven. Wir bauten die aus den frisch geschlüpften Fliegen isolierte Harnsäure nach der Methode von BRANDENBERGER [3] ab, bei welcher die Aktivität des C-8 der Harnsäure als Differenz der spezifischen Aktivitäten von Harnsäure und Alloxan berechnet werden kann. Wir nahmen dabei an, dass die spezifische Aktivität in den beiden Ureid-C-Atomen C-2 und C-8 gleich ist. Die Resultate unserer Versuche sind in Fig. 1 zusammengefasst. Man kann daraus schliessen, dass das C-Atom 3 des Serins die hauptsächlichste Quelle für das für die Purinsynthese benötigte aktivierte Formiat ist.

Die Tatsache, dass die Ureid-C-Atome der Harnsäure und der Pterine mit Glucose-[6- $^{14}\text{C}$ ] wesentlich mehr Aktivität aufnehmen als mit Glucose-[1- $^{14}\text{C}$ ], lässt sich durch die Annahme erklären, dass in der *Drosophila* die Glucose nicht nur nach der EMBDEN-MEYERHOF-Reaktion, sondern zu einem guten Teil auch durch direkte Oxydation des Glucose-6-phosphats (Hexosephosphatzyklus) abgebaut wird. Würde nur der glykolytische Weg eingeschlagen, so müsste ein rascher Ausgleich der Aktivität auf der Stufe des Triosephosphats von C-1 und C-6 auftreten, d. h. es würde mit beiden verschiedenen markierten Glucosen aktiviertes Formiat von annähernd gleicher Radioaktivität entstehen, und die Ureid-C-Atome der Harnsäure hätten nach Ver-

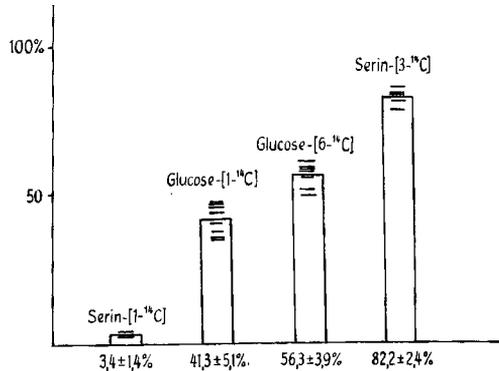


Fig. 1. Aktivität im C-2 des durch oxydativen Abbau der Harnsäure erhaltenen Alloxans, bezogen auf die Gesamtaktivität des letztern (= 100%), bei Verfütterung von Glucose-[1- $^{14}\text{C}$ ] und -[6- $^{14}\text{C}$ ] sowie Serin-[3- $^{14}\text{C}$ ] und -[1- $^{14}\text{C}$ ]

Horizontale Striche: Einzelwerte; Säulen: Mittelwerte

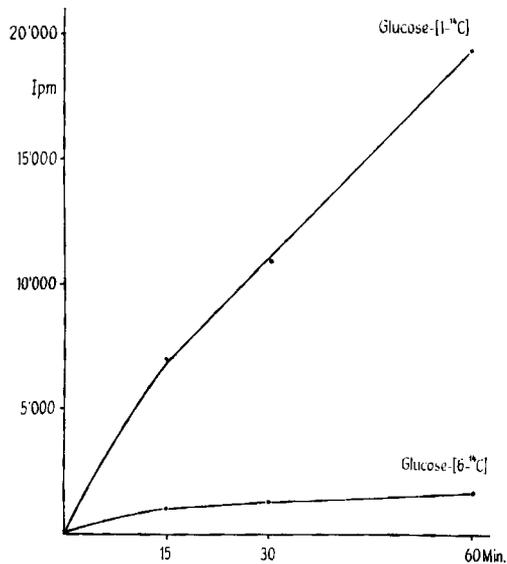


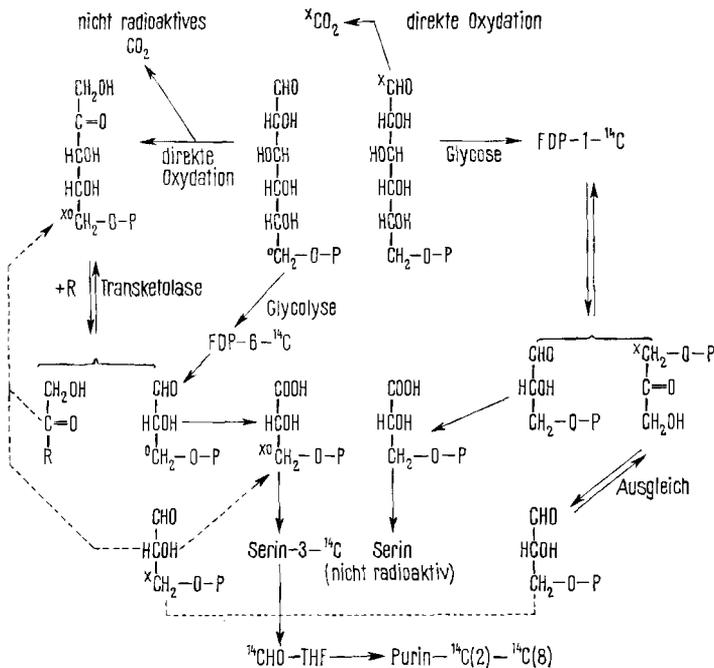
Fig. 2. Totale Radioaktivität der Atmungskohlensäure nach Inkubation von Puppenhomogenat mit Glucose-[6- $^{14}\text{C}$ ] und Glucose-[1- $^{14}\text{C}$ ]

fütterung von Glucose-[1-<sup>14</sup>C] die gleiche spezifische Aktivität wie nach Verfütterung von Glucose-[6-<sup>14</sup>C].

Der Abbau der Glucose durch direkte Oxydation des Glucose-6-phosphats lässt sich direkt nachweisen, wenn man die Aktivität der Atmungskohlensäure bei der Veratmung von Glucose-[1-<sup>14</sup>C] und Glucose-[6-<sup>14</sup>C] vergleicht.

Wir haben Puppenhomogenat mit Glucose-[1-<sup>14</sup>C] und Glucose-[6-<sup>14</sup>C] inkubiert und anschliessend die Aktivität des entstandenen CO<sub>2</sub> gemessen. Wie aus der Tabelle und Fig. 2 ersichtlich ist, ging während den ersten 80 Minuten der Inkubation 10–80 mal mehr C-1 der Glucose in CO<sub>2</sub> über als C-6. Dass beim Einbau des C-6 der Glucose in das Puringerüst der Unterschied zwischen der in Stellung 1 markierten und der in Stellung 6 markierten Glucose nicht mehr so eklatant ist, lässt sich leicht verstehen. Die Zahl der Zwischenstufen, die zum aktivierten Formiat führen, ist ziemlich gross, und ausserdem verstreicht zwischen der Verfütterung der <sup>14</sup>C-Verbindungen an die Larven und der Isolierung der Harnsäure aus den Fliegen eine Zeit von mehreren Tagen. Es kann also ein weitgehender Ausgleich der Aktivität zwischen den verschiedenen Verbindungen stattfinden.

Das untenstehende Schema zeigt den Weg des Leit isotops bei den wichtigsten Umsetzungen. Bei direkter Oxydation geht das C-1 verloren. Das markierte C-6 kann dagegen nicht nur beim glykolytischen Abbau der Hexosen direkt in Phosphoglycerin-



Schema: Wege des Leit isotops bei verschiedener Markierung der Glucose\*)

Punktierete Pfeile: Übergang des C-1 der Glucose in C-3 des Phosphoglycerinaldehyds und C-5 der Ribulose

\*) Im Schema lies Glycolyse statt Glycose. In der Formel des Glycerinaldehyd unten rechts ist ein Kreuz zu setzen: <sup>x</sup>CH<sub>2</sub>-O-P.

aldehyd und anschliessend in Glycerat und Serin übergehen; es bleibt auch bei der direkten Oxydation in einer C-Kette erhalten und kann durch eine Ketolasereaktion der Ribulose unmittelbar Phosphoglycerinaldehyd liefern.

Das Schema lässt erkennen, wie beim glykolytischen Abbau der Glucose-[1-<sup>14</sup>C] durch Isomerisierung der Triosephosphate ebenfalls markierter Phosphoglycerinaldehyd-[3-<sup>14</sup>C] entstehen kann, der durch eine Transketolasereaktion in Pentosephosphat übergehen und damit in die Synthese des Pyrazinrings im Pteridin einbezogen werden kann (BRENNER & LEUTHARDT [4]).

*Radioaktivität der Atmungskohlensäure nach Inkubation von Puppenhomogenat mit Glucose-[6-<sup>14</sup>C] und Glucose-[1-<sup>14</sup>C]*

Versuch Nr.	Zucker	Im Inkubationsgemisch	Gesamtaktivität
		eingesetzte Aktivität Ipm	des Atmungs-CO <sub>2</sub> nach angegebener Zeit Ipm
1	Glucose-[6- <sup>14</sup> C]	2,2 · 10 <sup>8</sup>	3520 (80 Min.)
	Glucose-[1- <sup>14</sup> C]	2,2 · 10 <sup>8</sup>	281680 (80 Min.)
2	Glucose-[6- <sup>14</sup> C]	2,2 · 10 <sup>8</sup>	10400 (80 Min.)
	Glucose-[1- <sup>14</sup> C]	2,2 · 10 <sup>8</sup>	520000 (80 Min.)
3	Glucose-[6- <sup>14</sup> C]	1,1 · 10 <sup>7</sup>	860 (30 Min.)
	Glucose-[1- <sup>14</sup> C]	1,1 · 10 <sup>7</sup>	23800 (30 Min.)

**Experimentelles.** – 1. *Ernährung der Versuchstiere* siehe [4].

2. *Die Herstellung der Extrakte* aus den Fliegen erfolgte wie bei den Arbeiten mit den Pterinen [4], ebenso

3. *die Chromatographie der Extrakte* [4].

4. *Elution der Harnsäure*: Die Harnsäure wurde aus den Papierchromatogrammen mit ungefähr 10 ml Wasser pro Chromatogramm eluiert. Die Eluate aus 10–12 Chromatogrammen (entsprechend 350–400 Fliegen) wurden mit H<sub>2</sub>O auf 300 ml verdünnt und mit 2 g Harnsäure als Träger versetzt. Durch Zugabe von 2 N NaOH wurde die Harnsäure in Lösung gebracht und mit 2 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wieder ausgefällt. Der voluminöse Niederschlag geht im Laufe von 2–3 Std. in Nadeln über. Waschen mit H<sub>2</sub>O, Trocknen über CaCl<sub>2</sub>.

5. *Abbau der Harnsäure zu Alloxan* [5]: 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<sub>2</sub>O vom 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 & RUTSCHMANN [6] und Messung der Aktivität des CO<sub>2</sub> bestimmt.

7. *Veratmung markierter Glucosen durch Puppenhomogenat*: 6 g Puppen (ca. 3 Tage alt) wurden mit 8 ml 0,05 M Phosphatpuffer pH 7,6 im POTTER-Apparat homogenisiert. Zu 3 ml dieses Homogenats wurden im WARBURG-Apparat 0,5 ml Glucose-[1-<sup>14</sup>C] bzw. Glucose-[6-<sup>14</sup>C] zugegeben und das entstehende CO<sub>2</sub> im Einsatz in KOH aufgefangen. Ein aliquoter Teil der Kalilauge wurde mit Hyamin und Methanol versetzt und im Scintillationszähler gemessen.

Dem SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTLICHEN FORSCHUNG, mit dessen Hilfe diese Arbeit ausgeführt wurde, möchten wir bestens danken. Ferner sprechen wir FRAU B. PFISTER-SUTER und Frl. V. SPRENGER für ihre wertvolle Mithilfe und ihren Einsatz den besten Dank aus.

## SUMMARY

Uric acid has been isolated from adult *Drosophila melanogaster* fed with glucose-[1-<sup>14</sup>C] and glucose-[6-<sup>14</sup>C]. The specific activities of carbon 2 and 8 of the purine skeleton were considerably higher after feeding glucose-[6-<sup>14</sup>C] than after glucose-[1-<sup>14</sup>C]. The same experiments with serine-[1-<sup>14</sup>C] and serine-[3-<sup>14</sup>C] have shown that the C-3 of serine leads to high activities of C-2 and C-8 of the purine ring.

When homogenates obtained from larvae of *Drosophila* were incubated with labelled glucoses, radioactive carbon dioxide was formed much more rapidly from glucose-[1-<sup>14</sup>C] than from glucose-[6-<sup>14</sup>C].

These results show (1) that in *Drosophila* glucose is metabolized not only by the glycolytic pathway but also by direct oxidation (glucose phosphate shunt) and (2) that most of the active formate used in building the purine skeleton is derived from carbon 3 of serine. Serine is mainly formed from carbons 4 to 6 of the glucose molecule. This explains the different contribution of the carbons 1 and 6 to the formation of active formate.

Aus dem Biochemischen Institut  
der Universität Zürich

## LITERATURVERZEICHNIS

- [1] O. BRENNER-HOLZACH & F. LEUTHARDT, *Helv.* **46**, 1426 (1963).
- [2] F. WEYGAND, H. SIMON, G. DAHMS, M. WALDSCHMIDT, J. SCHLIEP & H. WACKER, *Angew. Chem.* **73**, 402 (1961).
- [3] H. BRANDENBERGER, *Biochim. biophys. Acta* **78**, 519 (1955).
- [4] O. BRENNER-HOLZACH & F. LEUTHARDT, *Helv.* **44**, 1480 (1961).
- [5] H. BILTZ, *Liebigs Ann. Chem.* **413**, 60 (1916).
- [6] F. KALBERER & J. RUTSCHMANN, *Helv.* **44**, 1956 (1961).

## 124. Oxosynthese mit chlorierten Äthylenen

von G. Gut, M. H. El-Makhzangi und A. Guyer

(15. V. 65)

Über die Hydroformylierung<sup>1)</sup> von halogenierten Olefinen finden sich in der Literatur nur spärliche Angaben. Lediglich ADKINS & KRSEK [1], NATTA & PINO [2] sowie REPPE *et al.* [3] erwähnen Versuche mit halogenierten Olefinen, wobei es in keinem Fall gelang, die Bildung der entsprechenden halogenierten Aldehyde nachzuweisen. Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, zu untersuchen, ob es unter keinen Bedingungen möglich ist, durch Oxosynthese solche halogenierte Aldehyde herzustellen.

**I. 1,1-Dichloräthylen.** – Die Hydroformylierung von Dichloräthylen wurde sowohl bei tiefen Temperaturen mit Kobaltdihydrogencarbonyl wie auch unter Bedingungen der Oxosynthese mit Dikobaltoctacarbonyl als Katalysator durchgeführt.

<sup>1)</sup> In der vorliegenden Arbeit wird der von ADKINS & KRSEK [1] vorgeschlagene Name «Hydroformylierung» als Überbegriff für die Anlagerung einer Formylgruppe (H-CHO) verwendet, während unter Oxosynthese die Hydroformylierung im Temperaturbereich von 75–200 °C, 75–300 at Synthese-Gasdruck und in Anwesenheit eines Kobalt-Katalysators verstanden ist.