

Untersuchungen über die Biosynthese der Cyclite, 4. Mitt.:

Bildung von meso-Inosit-5-¹⁴C aus Glucose-2-¹⁴C

Von

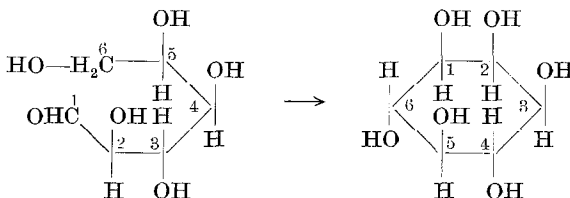
H. Kindl und O. Hoffmann-Ostenhof

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Wien

(Eingegangen am 28. Februar 1964)

Glucose-2-¹⁴C wurde jungen Pflänzchen von *Sinapis alba* appliziert und der daraus entstandene meso-Inosit isoliert. Durch selektiven Abbau konnte gezeigt werden, daß mehr als 90% der Aktivität im C-5 des meso-Inosits lokalisiert waren. Dies wird als Beweis dafür gewertet, daß Glucose ohne vorhergehende Fragmentierung in meso-Inosit umgebaut wird, wobei das C-2-Atom der Glucose zum C-5-Atom des meso-Inosits wird.

In der 2. Mitteilung dieser Reihe¹ berichteten wir über Einbauversuche mit Glucose-1-¹⁴C an jungen Pflänzchen von *Sinapis alba*, wobei der aus der Glucose entstandene meso-Inosit isoliert wurde. Dieser konnte dann mit Hilfe eines neu ausgearbeiteten Abbauweges, der die Lokalisierung der Radioaktivität an einzelnen Kohlenstoffatomen des meso-Inosits ermöglicht, abgebaut werden. Die Ergebnisse dieser Versuche — es konnten 89% der Aktivität in den C-Atomen 4 und 6 wiedergefunden werden — machen es wahrscheinlich, daß Glucose durch direkten Ringschluß, d. h. ohne vorhergehende Fragmentierung, in meso-Inosit umgebaut wird. Obwohl es auch schon durch diese Resultate wahrscheinlich wird, daß bei einem solchen Ringschluß entsprechend der strukturellen



Schema 1: Hypothetischer Ringschluß der D-Glucose zum meso-Inosit

¹ H. Kindl und O. Hoffmann-Ostenhof, Biochem. Z. **339**, 374 (1964).

Verwandtschaft zwischen meso-Inosit und D-Glucose (vgl. Schema 1) das C-1-Atom der Glucose das C-6-Atom des meso-Inosits wird, war dieser Schluß noch nicht eindeutig. Die hier vorgelegten Versuche mit Glucose-2-¹⁴C wurden durchgeführt, um einen weiteren beweiskräftigen Befund über den Mechanismus der meso-Inosit-Bildung aus Glucose zu erheben.

Methoden

Applikation von Glucose-2-¹⁴C bei Sinapis alba und Isolierung des markierten meso-Inosits. 100 Stück 2 Wochen alte Pflänzchen von *Sinapis alba* wurden in eine wäßrige Lösung von Glucose-2-¹⁴C (Radiochemical Centre, Amersham, Berks.; 250 μ C, 2,5 mC/mMol) eingebracht und 2 Tage darin belassen, wobei nach Bedarf mit Leitungswasser aufgefüllt wurde. Das Pflanzenmaterial wurde dann nach unserem bereits beschriebenen Verfahren¹ aufgearbeitet und der daraus gewonnene meso-Inosit durch Papierchromatographie und Hochvakuumsublimation gereinigt.

Selektiver Abbau des meso-Inosits. Der an anderer Stelle bereits ausführlich beschriebene Abbau¹ wurde bis zum p-Hydroxyazobenzol durchgeführt. Ein Teil (10%) des Zwischenproduktes (\pm)-epi-meso-Inososephenylhydrazon und ein Teil (70%) des Zwischenproduktes Mesoxaldialdehydphenylhydrazon wurden durch Naßoxydation² in BaCO₃ übergeführt und dessen Aktivität in unendlich dicker Schichte bei geeichten geometrischen Bedingungen bestimmt (Fehlergrenze \pm 5%).

Ergebnisse und Diskussion

Die Ergebnisse des selektiven Abbaus (Schema 2) des aus Glucose-2-¹⁴C in *Sinapis alba* gebildeten meso-Inosits finden sich in Tab. 1.

Meso-Inosit wird zuerst mit HNO₃ zu (\pm)-epi-meso-Inosose oxydiert, aus der das Phenylhydrazon hergestellt wird, das man dann mit Perjodat abbaut. Dabei entsteht Mesoxaldialdehydphenylhydrazon, ein C₃-Bruch-

Tabelle 1. Selektiver Abbau des nach Applikation von Glucose-2-¹⁴C an *Sinapis alba* isolierten meso-Inosits

Substanz*	Menge mMol	chem. Ausb., %	Gesamtaktivität in dpm	spezif. Aktivität μ C/mMol
meso-Inosit (I)	1,20	—	210 000	$7,88 \cdot 10^{-2}$
(\pm)-epi-meso-Inosose (II + III)	1,40	**	31 500	$1,01 \cdot 10^{-2}$
(\pm)-epi-meso-Inososephenylhydrazon (IV + V)	1,33	95	30 500	$1,03 \cdot 10^{-2}$
BaCO ₃ (VI)	1,60	101	3 050	$0,85 \cdot 10^{-3}$
Mesoxaldialdehydphenylhydrazon (VII)	0,13	11	2 800	$0,97 \cdot 10^{-2}$
BaCO ₃ (VIII)	0,80	103	1 920	$1,08 \cdot 10^{-3}$
p-Hydroxyazobenzol (IX)	0,02	49	500	$1,12 \cdot 10^{-2}$

* Die römische Ziffer bezieht sich auf das Schema 2 (S. 550).

** Chemische Ausbeute wegen der Verdünnung ohne Bedeutung; radiochemische Ausbeute 15%.

² H. Schmid und K. Schmid, Helv. chim. Acta 36, 498 (1953).

Aus Tab. 1 sieht man, daß bei der Oxydation des meso-Inosits zu (\pm)-epi-meso-Inosose ein starker Abfall der spezifischen Aktivität erfolgt, da an dieser Stelle mit inaktivem Material verdünnt wurde. Hingegen haben (\pm)-epi-meso-Inosose, deren Phenylhydrazon, Mesoxaldialdehydphenylhydrazon und p-Hydroxyazobenzol fast die gleiche spezifische Aktivität. Mesoxaldialdehydphenylhydrazon zeigt nur eine um den Faktor 0,94 geringere Aktivität pro mMol als (\pm)-epi-meso-Inososephenylhydrazon.

Dieses Ergebnis erlaubt zusammen mit demjenigen der früheren Mitteilung¹ den Schluß, daß der Umbau von D-Glucose zu meso-Inosit in höheren Pflanzen auf dem in Abb. 1 dargestellten Weg vor sich geht, d. h. daß die C-Atome 1 bis 6 der Glucose zu den C-Atomen 6 bis 1 des meso-Inosits werden, und bestätigt auch die von *Loewus* und *Kelly*³ mit Glucose-1-¹⁴C an *Petroselinum* mit Hilfe einer indirekten Abbaumethode erhobenen Befunde. In Hefe (*Torulopsis utilis*) soll hingegen nach *Charalampous*⁴ ein anderer Mechanismus, der eine Fragmentierung einschließt, für den Umbau der Glucose zum meso-Inosit verantwortlich sein.

Was die Umwandlung in der höheren Pflanze betrifft, so muß, obwohl keine Fragmentierung eintritt, doch angenommen werden, daß diese über verschiedene Zwischenprodukte verläuft. Hierbei könnten Oxydationsprodukte der Glucose, wie z. B. Dialdo-D-glucose oder 5-Keto-D-glucose bzw. deren Derivate, durch Benzoin- oder Aldolkondensation zu einer Inosose reagieren, die dann zu meso-Inosit reduziert werden sollte.

Wir nehmen an, daß meso-scylo-Inosose hier als Zwischenprodukt fungiert, da wir in Vorversuchen in derselben Pflanze sowohl einen ausgezeichneten Einbau von meso-scylo-Inosose-(G)-¹⁴C in meso-Inosit beobachten konnten als auch ein diese Inosose reduzierendes Enzym gefunden haben.⁵

Die vorliegende Arbeit wurde durch einen Förderungsbeitrag der *Ludwig Boltzmann-Gesellschaft*, Wien, in großzügiger Weise unterstützt, wofür wir unseren Dank aussprechen.

³ *F. A. Loewus* und *S. Kelly*, *Biochem. biophys. Res. Commun.* **7**, 204 (1962).

⁴ *F. C. Charalampous*, *J. biol. Chem.* **225**, 595 (1957).

⁵ *J. Neubacher*, *H. Kindl* und *O. Hoffmann-Ostenhof*, in Vorbereitung.