

Versuch mit Acetat-[1- <sup>14</sup> C]			Versuch mit Acetat-[2- <sup>14</sup> C]	
[Imp./Min./mMol]	Aktivität von Trinitrophloroglucin [%]	[Imp./Min./mMol]	Aktivität von Trinitrophloroglucin [%]	
Trinitrophloroglucin $\text{Br}_3\text{CNO}_2$ (C <sub>1,3,5</sub> ) C <sub>2,4,6</sub>	836 ± 18 16 ± 5 —	100 2 98	1285 ± 26 1071 ± 25 —	100 83 17

Tab. 2. Brompikrinabbau mit Trinitrophloroglucin aus Cyanidin.

Die Aktivität der C-Atome 2, 4 und 6 erhielt man nur durch Differenzbildung, was aber bei der Genauigkeit der Aktivitätsmessung in der Gasphase zulässig ist. Die neu erhaltenen Werte zeigen noch eindeutiger als die verfälschten Werte der ersten Mitt., daß die eine Sauerstoff-Funktion tragenden C-Atome des Phloro-

glucinringes des Cyanidins aus den Carboxylgruppen und die anderen 3 C-Atome aus den Methylgruppen des Acetats stammen.

Herrn Professor WEYGAND danke ich für die Förderung dieser Arbeit. Weiterhin danke ich Herrn G. BIESSALSKI für die radioaktiven Messungen.

### Über den Stoffwechsel von meso-Inosit

Von H. HERKEN, D. MAIBAUER und F. WEYGAND

Pharmakol. Institut der Freien Universität Berlin und Organ.-chem. Institut der Techn. Universität Berlin (Z. Naturforsch. **12 b**, 598–599 [1957]; eingegangen am 11. Juli 1957)

In den bisherigen Untersuchungen über den Stoffwechsel von meso-Inosit wurde die kontinuierliche Freisetzung dieses Stoffes aus Schnitten von Gehirngewebe durch HERKEN und MAIBAUER<sup>1</sup> nachgewiesen. Weiterhin konnte die intrazelluläre Verteilung des meso-Inosits bestimmt werden, wobei eine Anreicherung im Zellplasma, besonders des Gehirns, gegenüber dem Blut

gefunden wurde<sup>2</sup>. Diese Untersuchungen wurden jetzt mit Hilfe von uniform <sup>14</sup>C-markiertem meso-Inosit, der von WEYGAND und SCHULZE<sup>3</sup> synthetisiert wurde, nachgeprüft und erweitert.

Einer männlichen Ratte von 250 g Gewicht wurde 1 mg <sup>14</sup>C-markierten meso-Inosits in wässriger Lösung i.v. injiziert und 24 Std. später die Zellen von Gehirn und Leber in der früher beschriebenen Weise fraktioniert und neben der Menge meso-Inosit/mg N auch die Aktivität/mg N in den Fraktionen bestimmt.

Bei der Aufarbeitung der Zellfraktionen stellte sich heraus, daß die Aktivität 0,1–1,6% der gesamten Inositmenge in der jeweiligen Zellfraktion entsprach (Tab. 1). Das Verhältnis der Aktivität der einzelnen Zellfraktionen bezogen auf die Kernfraktion = 1,0 war in keinem Fall exakt 1,0, was auf die unterschiedliche Verteilung des radioaktiven Isotops in den Zellfraktionen hindeutet.

Organ	Zellfraktion	$\gamma$ meso-Inosit/mg N	Aktivität entsprach. $\gamma$ meso-Inosit- <sup>14</sup> C/ mg N	Aktivität entsprach. % meso-Inosit- <sup>14</sup> C d. Gesamt-Inositmenge	Mengen bezogen auf Kernfraktion = 1,	
					meso-Inosit	Aktivität entsprach. meso-Inosit- <sup>14</sup> C
Leber	Kerne	4	0,04	1,0	1	1
	Mitochondrien	15	0,19	1,3	3,75	4,75
	Mikrosomen	32	0,36	1,1	8,0	9,0
	Plasma	9	0,14	1,6	2,25	3,5
Gehirn	Kerne	37	0,04	0,1	1	1
	Mitochondrien	18	0,04	0,2	0,5	1
	Mikrosomen	35	0,1	0,3	1,0	2,5
	Plasma	137	0,33	0,2	3,7	8,25

Tab. 1. Die Bestimmung des meso-Inosits erfolgte mikrobiologisch in der bereits beschriebenen Weise (MAIBAUER und HERKEN<sup>2</sup>) mit Hilfe von *Saccharomyces Carlsbergensis* 4228 ATCC 9080, die <sup>14</sup>C-Bestimmung durch Trockenverbrennung und Messung der CO<sub>2</sub>-Aktivität im Gaszählrohr (F. WEYGAND, Naturwissenschaften **44**, 169 [1957]).

<sup>1</sup> H. HERKEN u. D. MAIBAUER, Naturwissenschaften **42**, 166 [1954].

<sup>2</sup> D. MAIBAUER u. H. HERKEN, Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **227**, 456 [1956].

<sup>3</sup> F. WEYGAND u. E. SCHULZE, Z. Naturforsch. **11 b**, 370 [1956].

nen zueinander war etwa das gleiche wie das der Gesamt-Inositmenge der Fraktionen. Aus den erhaltenen Werten läßt sich schließen, daß der Umsatz der Höhe des Inositgehaltes annähernd proportional ist. Hierauf wird in einer späteren Veröffentlichung noch näher eingegangen werden.

Damit ist jedoch noch nicht bewiesen, daß die gemessene Strahlung allein auf dem Einbau von markiertem *meso*-Inositol beruht. Bei der Untersuchung der Ausatmungsluft einer Ratte, der markierter *meso*-Inositol verabfolgt wurde, konnte radioaktives CO<sub>2</sub> nachgewiesen werden, so daß der Schluß gezogen werden muß, daß eine äquivalente Menge des Cyclits im Stoffwechsel aufgespalten und quantitativ bis zu den Endprodukten oxydiert wurde.

In diesem Experiment wurde die Exspirationsluft einer 250 g schweren männlichen Ratte durch 4-n. NaOH geleitet, das entstandene Carbonat mit Bariumhydroxyd gefällt und die Aktivität des Bariumcarbonats ermittelt. Etwa 21% der zugeführten Menge (850 γ *meso*-Inositol-<sup>14</sup>C i.v.) wurde als CO<sub>2</sub> innerhalb 24 Std. ausgeschieden. Ein Maximum der Ausscheidung erfolgte zwischen der 6. und 12. Stunde. Vor kurzem berichteten MOSCATELLI und LARNER<sup>4</sup> über etwa die gleichen Ergebnisse, die mit einer ähnlichen Methode gewonnen wurden.

Die Tatsache, daß der *meso*-Inositol im intermediären Stoffwechsel teilweise verbrannt wird, läßt das Entstehen einer Reihe von Zwischenprodukten vermuten, deren Aktivität ebenfalls in den Zellfraktionen enthalten sein muß. Schon früher hatten STETTEN und STETTEN<sup>5</sup> sowie POSTERNAK, SCHOPFER und REYMOND<sup>6</sup> auf Grund von Versuchen mit deuterium-markiertem *meso*-Inositol festgestellt, daß eine intermediäre Umwandlung dieser Substanz in Glucose möglich ist. Diese Ergebnisse waren jedoch noch nicht vollständig beweiskräftig, weil eine Abspaltung von Deuterium auch ohne Sprengung des Kohlenstoffringes nicht ausgeschlossen werden konnte. Die von uns gewonnenen Ergebnisse bestätigen endgültig die Richtigkeit dieser These.

Eine seit 48 Std. hungernde männliche Ratte (250 g) erhielt 960 γ markierten *meso*-Inositol i.v. und wurde anschließend wieder normal ernährt. Dadurch wurde erreicht, daß die von ihren Glykogenreserven nahezu vollständig entblößte Leber sich wieder mit Glykogen anfüllte. Auf diese Weise sollte aus dem *meso*-Inositol gebildete Glucose in dem neu synthetisierten Glykogen fixiert und der weiteren Umsetzung so weit als möglich entzogen werden. 26 Std. nach der Injektion wurde das Tier durch Dekapitation getötet, die Leber und die Oberschenkel-Muskulatur entnommen und das Glykogen nach der Methode von STAUDINGER<sup>7</sup> isoliert. Die molare Aktivität (berechnet auf Glucose) wurde in einer Probe bestimmt, das Glykogen erneut 5-mal mit Wasser und Äthanol umgefäßt und die Aktivität wiederum ermittelt. Anschließend wurde durch Hydrolyse des Glyko-

gens Glucose und daraus das Osazon dargestellt und dessen Aktivität nach mehrfacher Umkristallisation gemessen. Die Ergebnisse sind in Tab. 2 zusammengefaßt.

Substanz	Imp./min/mMol	Entspr. γ Inosit/mMol	% der applizierten Aktivität/Organ
Leberglykogen	5670*	3,67	2
Muskelglykogen	20412*	13,22	5
Leberglykogen**	6156*	3,99	2
Muskelglykogen**	19764*	12,81	5
Glucosephenylosazon (Leberglykogen)	6103	4,02	—
Glucosephenylosazon (Muskelglykogen)	20399	13,22	—

\* berechnet auf Glucose.

\*\* 5-mal umgefäßt.

Tab. 2. Spezifische Aktivität von Leber- und Muskelglykogen 26 Std. nach Applikation von 960 γ Inositol-<sup>14</sup>C.

Es ergab sich, daß die spezifische Aktivität in allen Versuchen nahezu unverändert blieb und somit eine Verunreinigung durch andere markierte Substanzen ausgeschlossen werden konnte. Außerdem stellte sich heraus, daß unter den gewählten Versuchsbedingungen die molare Aktivität des Muskelglykogens (ebenfalls auf Glucose berechnet) mehr als 3-mal höher war als die des Leberglykogens. Der Anteil des zugeführten *meso*-Inosits, der in Glucose umgewandelt wird, beträgt unter Zugrundelegung der Maximalwerte des Glykogengehaltes von Leber und Muskel etwa 7 Prozent.

Inzwischen sind auch andere <sup>14</sup>C-markierte Substanzen nach Gabe von *meso*-Inositol-<sup>14</sup>C gefunden worden. So hat CHARALAMPOU<sup>8</sup> zeigen können, daß ein Enzymsystem, welches in der Rattenniere lokalisiert ist, einen Teil des markierten *meso*-Inosits in Glucuronsäure umzuwandeln imstande ist.

Bei unseren Versuchen wurde gleichzeitig die Ausscheidung radioaktiver Substanzen gemessen. Sie betrug etwa 3–5% der applizierten Menge. Die Identifizierung dieser Produkte konnte noch nicht vorgenommen werden. Im Stuhl ließ sich nur eine minimale Aktivität nachweisen.

Welche Zwischenprodukte bei den Umsetzungen im intermediären Stoffwechsel durchlaufen werden, ist zur Zeit noch nicht bekannt. Ob die Glucose direkt durch Spaltung des Cyclohexanringes oder indirekt durch Aufbau aus kleineren Bruchstücken entsteht, bedarf noch der Klärung. Die Frage, in welchem Ausmaß ein Einbau des intakten *meso*-Inositol-Moleküls in die Lipide der Zelle erfolgt, wird zur Zeit untersucht. Nach den bisher vorliegenden Ergebnissen scheint ein kleiner Teil des zugeführten *meso*-Inosits in die Gehirnlipide eingebaut zu werden.

Fraulein I. HOFFMEISTER danken wir für die Mithilfe bei den Tierversuchen, Herrn J. F. KLEBE und Herrn G. BIESSALSKI für die <sup>14</sup>C-Bestimmungen im Gaszählerrohr und die Osazondarstellung.

<sup>4</sup> E. A. MOSCATELLI u. J. LARNER, Fed. Proc. **16**, 223 [1957].  
<sup>5</sup> M. R. STETTEN u. D. STETTEN JR., J. biol. Chemistry **164**, 85 [1946].

<sup>6</sup> TH. POSTERNAK, W. H. SCHOPFER u. D. REYMOND, Helv. chim. Acta **38**, 1283 [1955].

<sup>7</sup> HJ. STAUDINGER, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **275**, 122 [1942].

<sup>8</sup> Hoppe-Seyler/Thierfelder, 10. Aufl., V, S. 483, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1955.

<sup>9</sup> F. CHARALAMPOU u. CHR. LYRAS, Fed. Proc. **16**, 164 [1957].