

physiologischer Kochsalzlösung deckt sich ebenfalls weitgehend mit den Veränderungen, welche wir bei trüber Schwellung in anderen Zellen verfolgen konnten. Weiter spricht die partielle Wandverdickung der geschwollenen Granula (siehe Abb. 2a) für eine ähnliche Struktur, wie wir sie für die Mitochondrien festgestellt haben. Und schließlich sollen nach COWDRY<sup>1</sup> u. a. alle lebenden Zellen der Fauna und der Flora Mitochondrien enthalten. Da wir jedoch neben den Mz-Granula keine weiteren korpuskulären Protoplasmaelemente finden konnten, scheint es uns wahrscheinlich, daß die Mz-Granula durch Heparinspeicherung umgewandelte Mitochondrien sind.

H. U. ZOLLINGER

Pathologisches Institut der Universität Zürich, den 15. April 1950.

#### Summary

Cytologic investigation with the phase microscope in connection with toluidinblue stain shows that the granules of the peritoneal mast cells contain heparin. These granules release the heparin *in vitro* immediately if suspended in distilled water and more slowly when suspended in physiological saline. A granular skeleton remains which apparently consists of protein. The presence of ribose- or desoxyribosenucleoprotein could not be proved. It seems highly probable that the heparin-containing granules of mast cells represent a special form of mitochondria.

<sup>1</sup> E. COWDRY, *General Cytology* (Univ. Chicago Press, Chicago, 1924).

#### Sur l'action biochimique des esters amides polyphosphoriques de l'aneurine et des polyphosphates de sodium

Nous avons précédemment rapporté<sup>1</sup> comment nous avions été amenés à synthétiser des esters amides polyphosphoriques de l'aneurine (E.A.P.P.) qui se distinguaient chimiquement de l'ester pyrophosphorique de LOHMANN et SCHUSTER<sup>2</sup> et de l'ester triphosphorique de KARRER et VISCONTINI<sup>3</sup> par la présence de deux chaînes polyphosphoriques de longueur variable fixées l'une par liaison d'ester sur l'alcool primaire du noyau thiazol, l'autre par liaison d'amide sur l'arylamine du noyau pyrimidique (Formula).

Nous pensions dès lors que le nombre élevé et d'ailleurs variable d'atomes de phosphore portés par la molécule d'aneurine pouvait lui conférer des propriétés biochimiques nouvelles.

Nous avons d'abord étudié l'activité cocarboxylasique de ces corps. Nous exposons ici les résultats que nous avons obtenus.

<sup>1</sup> H. ROUX, Y. TEYSSEIRE et G. DUCHESNE, Bull. Soc. Chim. biol. 30, 592 (1948).

<sup>2</sup> K. LOHMANN et P. SCHUSTER, Biochem. Z. 294, 188 (1937).

<sup>3</sup> P. KARRER et M. VISCONTINI, Helv. chim. acta 29, 711 (1946). — M. VISCONTINI, G. BONETTI et P. KARRER, 32, 1478 (1949).

Nous phosphorylons l'aneurine conformément à notre technique<sup>1</sup>. Nous effectuons un premier fractionnement grossier du produit brut de phosphorylation par précipitation acétone (liqueur totale). Nous séparons ensuite de cette fraction les seuls E.A.P.P. par précipitation avec le sel de Roussin<sup>2</sup>. Nous isolons enfin de la solution obtenue les E.A.P.P. les plus chargés en phosphore par précipitations fractionnées acétone (esters purifiés). La molécule d'aneurine dans les différentes solutions est dosée par la méthode spectrophotométrique de ROUX<sup>3</sup>; le phosphore est dosé par la méthode de BERENBLUM et CHAIN<sup>4</sup> après hydrolyse (phosphore hydrolysable) ou minéralisation (phosphore total). L'activité cocarboxylasique est déterminée au moyen de la méthode classique décrite par LOHMANN et SCHUSTER<sup>5</sup>.

Nous comparons l'activité de nos corps à celle de la cocarboxylase pure synthétisée par notre méthode<sup>1</sup>. Nous devons à l'obligeance de M. le Pr. VISCONTINI de l'Institut de chimie de l'Université de Zurich un échantillon de phosphate de cocarboxylase pur qui nous a permis d'établir que notre propre cocarboxylase présentait une activité égale à celle synthétisée par KARRER et VISCONTINI<sup>6</sup>.

Les différents résultats que nous avons obtenus sont rapportés dans le tableau I.

Tableau I

Activité cocarboxylasique des E.A.P.P. de l'aneurine en fonction du nombre d'atomes de phosphore total (P.T.) et facilement hydrolysable (P.H.) fixé sur la molécule.

Esters de l'aneurine	mm <sup>3</sup> de CO <sub>2</sub> dégagés en 20 min. par		
	10 µg	30 µg	100 µg
	exprimés en aneurine		
Cocarboxylase { P.H. = 1 P.T. = 2 }	76	270	290
E.A.P.P. { P.H. = 2 P.T. = 4 } Liqueur totale Esters purifiés	45 42	145 128	175 185
E.A.P.P. { P.H. = 3 P.T. = 5 } Liqueur totale Esters purifiés	65 67	90 130	137 185
E.A.P.P. { P.H. = 5 P.T. = 7 } Liqueur totale Esters purifiés	— —	24 75	96 145

<sup>1</sup> H. ROUX, Y. TEYSSEIRE et G. DUCHESNE, Bull. Soc. Chim. biol. 30, 592 (1948).

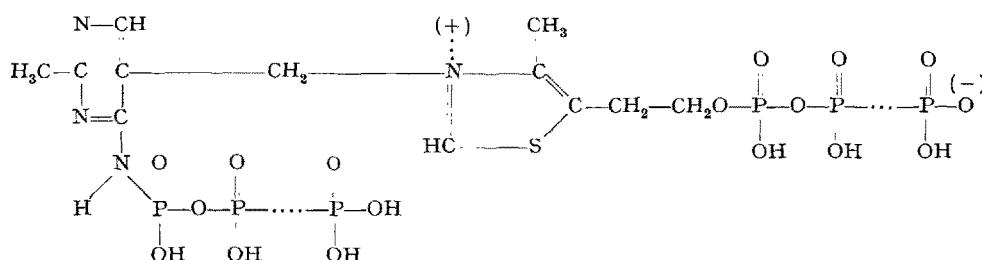
<sup>2</sup> H. ROUX, D. TEYSSEIRE et G. DUCHESNE, Bull. Soc. Chim. biol. 30, 600 (1948).

<sup>3</sup> H. ROUX, Bull. Soc. Chim. biol. 24, 1209 (1942).

<sup>4</sup> I. BERENBLUM et E. CHAIN, Biochem. J. 32, 295 (1938).

<sup>5</sup> K. LOHMANN et P. SCHUSTER, Biochem. Z. 294, 188 (1937).

<sup>6</sup> P. KARRER et M. VISCONTINI, Helv. chim. acta 29, 711 (1946).



On constate tout d'abord que l'activité cocarboxylasique des E.A.P.P. est inférieure à celle de la cocarboxylase. Les esters à 5 atomes de phosphore hydrolysable n'offrent plus qu'une activité cocarboxylasique égale à 30 % seulement de l'activité de la cocarboxylase. Le fait que cette activité n'est pas nulle pour des composés de l'aneurine dont l'amine est bloquée n'est pas en accord avec l'hypothèse suivant laquelle l'aneurine participerait à un cycle de LANGENBECK dans la décarboxylation de l'acide pyruvique.

Nous constatons de plus que toutes choses étant égales par ailleurs, l'activité de la liqueur totale offre des valeurs assez variables, et le plus souvent inférieures à celles des fractions purifiées correspondantes. Nous avons même obtenu de nombreuses fois une inaktivité complète de nos liqueurs totales. Ce résultat suggérait l'existence possible d'un effet inhibiteur de composés présents dans la liqueur totale aux côtés de nos E.A.P.P. Nous avons été ainsi conduits à étudier l'action des polyphosphates de sodium obtenus par neutralisation ménagée de notre réactif phosphorique (oxychlorure de phosphore hydraté à 20-25 % d'eau<sup>1</sup>).

Tableau II

mm<sup>3</sup> de CO<sub>2</sub> dégagés en 20 minutes par 52 µg = 88,10<sup>-7</sup> molécule de cocarboxylase additionnées de quantités variables de polyphosphates de sodium.

Quantité de phosphore en chaîne ajoutée µg	Molécule cocarboxylase	mm <sup>3</sup> de CO <sub>2</sub> dégagés
	atomes de phosphore en chaîne	
-	-	260
10,7	$\frac{1}{3,92} = 0,255$	145
85,5	$\frac{1}{31,2} = 0,032$	90
107	$\frac{1}{39,3} = 0,0254$	35

Les polyphosphates à longues chaînes sont précipités par l'acétone. Nous dosons le phosphore libre de nos solutions et le phosphore libéré après hydrolyse acide au bain-marie bouillant; la différence de ces deux valeurs nous fournit la quantité de phosphore en chaîne utilisée. Nous avons étudié l'influence de ces corps sur la réaction de décarboxylation de l'acide pyruvique au moyen de la méthode classique. Les résultats figurent au tableau II.

On remarquera que l'inhibition est quasi totale quand le rapport du nombre de molécules de cocarboxylase au nombre d'atomes de phosphore libérés après hydrolyse est égal à 0,025 environ.

Les résultats que nous venons d'exposer établissent la faible activité cocarboxylasique des esters amides polyphosphoriques de l'aneurine. Ils montrent, de plus, l'influence inhibitrice des polyphosphates de sodium sur l'activité cocarboxylasique.

HENRY ROUX et ANNA CALLANDRE

Laboratoire de physique, Faculté de médecine de Marseille et Institut national d'hygiène, Paris, le 6 juin 1950.

<sup>1</sup> H. Roux, Y. TEYSSEIRE et G. DUCHESNE, Bull. Soc. Chim. Biol., 30, 592 (1948).

### Summary

The polyphosphoric amidic esters of thiamin offer a cocarboxylase activity equal to only 30 per cent of the total cocarboxylase activity. The sodium polyphosphates are inhibitors of these reactions.

### Über ein fermentatives Abbauprodukt der Pteroylglutaminsäure

Im Zusammenhang mit Untersuchungen über die Beziehung zwischen Xanthopterin und Eiweißstoffwechsel<sup>1</sup> wurde geprüft, ob das mit dem Harn des Menschen ausgeschiedene Xanthopterin<sup>2</sup> (2-Amino-6,8-dioxy-pteridin) ein Abbauprodukt der Pteroylglutaminsäure ist. Reine, nichtfluoreszierende Pteroylglutaminsäure wurde bei 38°C und  $p_H$  7,25 mit Schweineleberhomogenat inkubiert und (nach Ausfällen der Zelltrümmer mit Azeton, Einengen des klaren Zentrifugats und fluorometrischer Vermessung mit n/2 Sodalösung oder Puffermischung von  $p_H$  12,0) ein stark himmelblau fluoreszierendes Abbauprodukt beobachtet. Die fermentative Reaktion erfordert Sauerstoff und wird durch n/1000 HCN (Endkonz.) völlig gehemmt. Der prozentuale Abbau steigt mit fallender Substratkonzentration steil ab. Wir vermuten daher, daß ein Teil der dem Organismus mit der Nahrung und durch Synthese der Darmbakterien zugeführten Pteroylglutaminsäure in der Leber in das beobachtete Produkt übergeführt wird<sup>3</sup>.

Die Fluoreszenzintensität des Abbauproduktes verhält sich bei steigender Phosphatpufferkonzentration (0,05-0,3 m,  $p_H$  6,6) anders als diejenigen von 2-Amino-6-oxy-pteridinaldehyd-(8), sowie die der entsprechenden Carbonsäure und des Xanthopterins<sup>4</sup>. Es läßt sich weiter durch eine gleichmäßige Verteilungskurve nach 34facher Gegenstromverteilung im System n/50 Salzsäure + 1 % Kochsalz/n-Butanol charakterisieren (Kurve I). Die Verteilungskurve von (30-60 γ) Xanthopterin (II), 2-Amino-6-oxy-pteridincarbonsäure-(8) (III) und 2-Amino-6-oxy-pteridinaldehyd-(8) (IV) unterscheiden sich durch ihre Maxima von denjenigen der Verteilungskurve des Abbauproduktes. Wir nehmen daher an, daß das Abbauprodukt nicht Xanthopterin, 8-Aldehyd oder 8-Carbonsäure ist. 2-Amino-6-oxy-pteridin, 2-Amino-6,9-dioxy-pteridin (Isoxanthopterin) und 2-Amino-6,9-dioxy-pteridincarbonsäure-(8) (Isoxanthopterin-carbonsäure) werden z. Z. untersucht.

Die Verteilungskurve des 8-Aldehyds hat 2 Gipfel. Nach Rücksprache mit Prof. Dr. F. WEYGAND, der uns das Präparat freundlicherweise zur Verfügung stellte, scheint der erste Gipfel dem isomeren 9-Aldehyd zuzugehören, welcher dem Präparat von der Synthese her anhaftet. Vor kurzem berichteten F. WEYGAND, A.

<sup>1</sup> W. KOSCHARA, Z. physiol. Chem. 240, 127 (1936). — W. KOSCHARA und A. HRUBESCH, ib. 258, 89 (1939). — W. KOSCHARA und H. HAUG, ib. 259, 97 (1939). — W. KOSCHARA, S.V.D. SEIPEN und P.A. ALDRED, ib. 262, 158 (1939). — W. KOSCHARA, ib. 277, 159 (1943). — H.M. RAUEN, Habilitationsschrift (Frankfurt a.M. 1950). — H.M. RAUEN und C.v. HALLER, Z. physiol. Chem., im Druck.

<sup>2</sup> Bzw. einer nichtfluoreszierenden Vorstufe, aus der Xanthopterin durch analytische Maßnahmen (Adsorption an Aktivkohle und alkalische Elution) erst entstehen soll; H. M. KALCKAR, T. FLOYSTRUP und M. SCHOU, Ist. Int. Kongr. Biochem. (Cambridge 19.-25. August 1949).

<sup>3</sup> Mikrobiologische Untersuchungen über seine Wachstums-wirkung bei folsäurebedürftigen Einzellern und bei *Leuconostoc citrovorum* sind im Gange. Vgl. hierzu H.E. SAUBERLICH, J. biol. Chem. 280, 467 (1949).

<sup>4</sup> O.H. LOWRY, O.A. BESSEY und E.J. CRAWFORD, J. biol. Chem. 181, 389 (1949).