

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 additionnés 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.

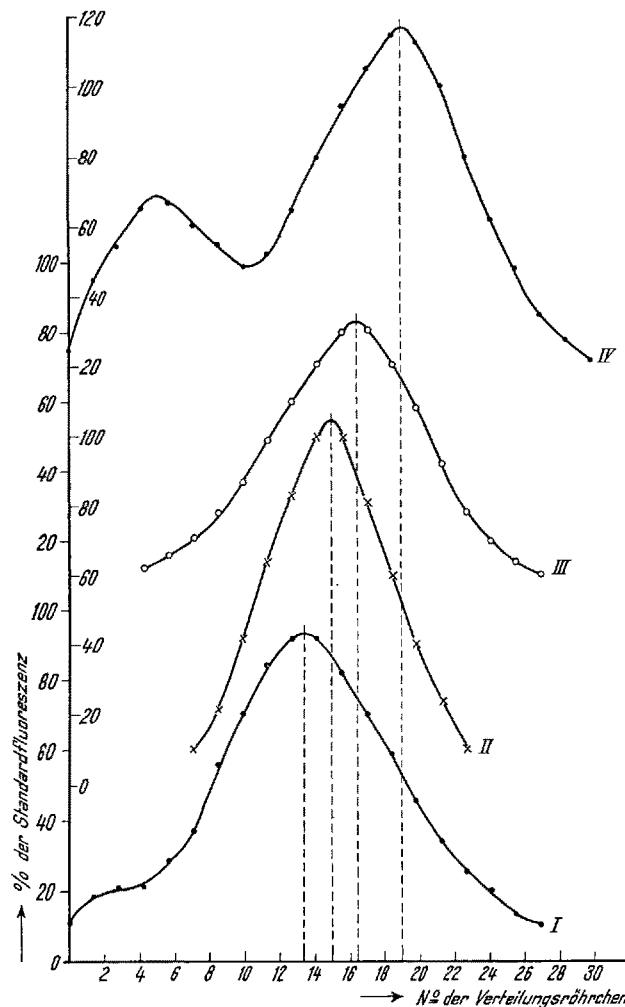
Die Verteilungskurve des 8-Aldehyds hat 2 Gipfel. Nach Rücksprache mit Prof. Dr. F. WEYGAND, der uns das Präparat freundlicherweise zur Verfügung stellte, scheint der erste Gipfel dem isomeren 9-Aldehyd zuzugehören, welcher dem Präparat von der Synthese her anhaftet. Vor kurzem berichteten F. WEYGAND,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



WACKER und V. SCHMIED-KOWARZIK<sup>1</sup> über die papierchromatographische Trennung von 8- und 9-Carbonsäuren. Die Gegenstromverteilung im genannten System ist also neben der Papierchromatographie<sup>1,2</sup> eine weitere empfindliche Methode zur qualitativen Identifizierung von Pterinen und bietet darüber hinaus noch die Möglichkeit der präparativen Trennung von Verbindungen dieser Reihe mit nicht zu ähnlichen Verteilungskoeffizienten (vgl. obiges Beispiel) und schließlich nach Aufstellen von Eichkurven für die einzelnen Vertreter auch der quantitativen Bestimmung.

H. M. RAUEN und H. WALDMANN

Institut für vegetative Physiologie der Universität Frankfurt a.M., den 9. Juni 1950.

#### Summary

Incubation of folic acid with liver homogenate causes a degradation product with remarkable blue fluorescence. The enzymatic reaction requires oxygen and is completely inhibited by HCN. The degradation product is not identical with xanthopterine, 2-amino-6-hydroxypteridine-aldehyde-8 or 2-amino-6-hydroxypteridine-carbonate (8) as is shown by some fluorescence properties and counter-current distribution. With the latter, 8-pteridinealdehyde and 9-pteridinealdehyde can be separated.

<sup>1</sup> F. WEYGAND, A. WACKER und V. SCHMIED-KOWARZIK, Exper. 6, 184 (1950).

<sup>2</sup> P. M. GOOD und A. W. JOHNSON, Nature 163, 31 (1949).

#### Über die Wirkung des Colchicins *in vivo* auf die alkalische Phosphatase der Rattenleber

Bei der Untersuchung über die Wirkung bestimmter karzinogener Substanzen auf die alkalische Phosphatase der Leber standen wir aus methodischen Gründen vor der Notwendigkeit, zunächst zu prüfen, ob das zur Arretierung auftretender Mitosen verwendete Colchicin von sich aus bereits die Aktivität des zu untersuchenden Fermentes beeinflusst. Aus der Literatur sind hierüber keine verwertbaren Angaben zu erhalten, da anscheinend entsprechende Untersuchungen *in vivo* bisher nicht durchgeführt wurden.

KESSE<sup>1</sup> fand Colchicin *in vitro* auf Kleinsche Dünndarm-Nukleotidase unwirksam, während die Serum-Nukleotidase gehemmt wird. LANG<sup>2</sup> und Mitarbeiter beobachteten bei Verwendung relativ hochkonzentrierter Colchicinlösungen ebenfalls *in vitro* eine deutliche Nukleotidasehemmung, während SCHOETENSACK<sup>3</sup> über eine Aktivierung sowohl der alkalischen Nierenphosphatase wie auch der Erythrozytenphosphatase *in vitro* durch  $10^{-3}$  mol. Colchicinlösung berichtet.

*Material und Methoden.* Verwendet wurden 24 weibliche Albino-Ratten, 120–150 g schwer. 15 Tiere erhielten pro g Körpergewicht 2 γ Colchicin in 0,5 cm<sup>3</sup> Wasser gelöst subkutan injiziert; wenn nicht anders angegeben, wurden die Tiere 18 Stunden später getötet. 9 Tiere blieben unbehandelt und dienten zur Kontrolle.

Die Bestimmung der Fermentaktivität erfolgte in 150 mg homogenisiertem Gewebsbrei bei 37,0°C und einem pH von 8,8 nach 1-Stündiger Inkubation. Als Substrate wurden Natrium-β-Glycerophosphat, Ribonukleinsäure und Desoxyribonukleinsäure verwendet. Die Bestimmung des anorganischen Phosphors erfolgte photokolorimetrisch nach FISKE und SUBBAROW<sup>4</sup>, modifiziert nach LOHMANN und JENDRASSIK<sup>5</sup>, im Falle der Nukleinsäuren nach einer unveröffentlichten Methode von KÜTSCHER<sup>6</sup>. Zur histochemischen Phosphatasebestimmung nach der Methode von GOMORI<sup>7</sup> wurden dünne Gewebsstücke in eiskaltem Aceton fixiert und entsprechend weiterbehandelt. Als Substrat wurden ebenfalls Natrium-β-Glycerophosphat sowie Ribonukleinsäure verwendet. Die Inkubationszeit betrug 3 Stunden bei pH 9,2. Daneben wurde Material in Formalin bzw. nach CARNOVY fixiert und in üblicher Weise histologisch weiterbearbeitet.

*Befunde.* Die Leber geschlechtsreifer Ratten weist nur eine sehr geringe alkalische Phosphataseaktivität auf. Die quantitative Bestimmung der fermentativen Phosphorabspaltung ergab bei den Kontrolltieren folgende arithmetische Mittelwerte für:

Glycerophosphat	$\bar{x} = 0,53 \pm 0,036$ ; bei $N = 9$ Tieren
Ribonukleinsäure	$\bar{x} = 0,13 \pm 0,0058$ ; bei $N = 9$ Tieren
Desoxyribonukleinsäure	$\bar{x} = 0,288 \pm 0,014$ ; bei $N = 5$ Tieren

Die angegebenen Werte bedeuten fermentativ abgespaltenen anorganischen Phosphor in mg, berechnet auf 1,00 g Lebergewebe; Inkubationszeit 1 Stunde bei 37,0°C bei einem pH von 8,8; Pufferansatz nach KING und DELORY<sup>8</sup> in Abänderung nach AEBI<sup>9</sup>; Substratkonzentration 0,5%.

Nach subkutaner Injektion von 0,2 mg Colchicin je 100 g Körpergewicht ergaben sich folgende arithmetische Mittelwerte der fermentativen Phosphorabspaltung:

Glycerophosphat	$\bar{x} = 2,25 \pm 0,17$ ; bei $N = 12$ Tieren
Ribonukleinsäure	$\bar{x} = 0,61 \pm 0,068$ ; bei $N = 12$ Tieren
Desoxyribonukleinsäure	$\bar{x} = 0,415 \pm 0,062$ ; bei $N = 11$ Tieren (Tötung der Tiere nach 18 Stunden; übrige Bedingungen wie oben.)

<sup>1</sup> W. KESSE, Arch. exp. Pathol. 197, 187 (1941).

<sup>2</sup> K. LANG, G. SIEBERT und H. OSWALD, Exper. 5, 449 (1949).

<sup>3</sup> W. SCHOETENSACK, Arch. exp. Pathol. Pharm. 208, 215 (1949).

<sup>4</sup> C. H. FISKE und Y. SUBBAROW, J. Biol. Chem. 66, 375 (1925).

<sup>5</sup> K. LOHMANN und L. JENDRASSIK, Biochem. Z. 178, 419 (1926).

<sup>6</sup> W. KÜTSCHER, persönliche Mitteilung.

<sup>7</sup> G. GOMORI, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 42, 23 (1939).

<sup>8</sup> E. J. KING und G. E. DELORY, Enzymologia 8, 278 (1940).

<sup>9</sup> H. AEBI, Helv. chim. acta 31, 1761 (1948).