

traktion gehemmt, die ATPase dagegen ebenso wie im Kontraktionsversuch unverändert gelassen hat] der größte Teil des ATP noch erhalten ist. Zur gleichen Zeit ist ein Zuwachs an anorganischem Phosphat in einer entsprechenden Größenordnung festzustellen, zum Beispiel 148 γ anorganisches P (Kontraktionsversuch) gegenüber 48 γ P (ohne Kontraktion); Summe aus anorganischem und säurelabilem P: 404 bzw. 448 γ .

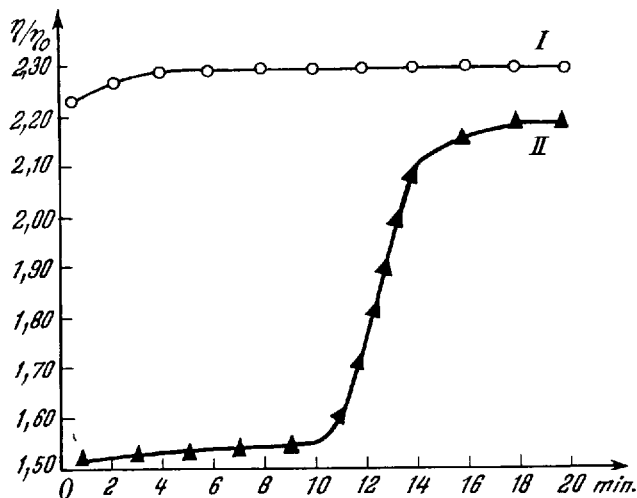


Abb. 1.

Verschwinden von ATP bei der «Kontraktion» von Aktomyosin-Gel. Abszisse: Zeit in Minuten; Ordinate: relative Viskosität. Ansatz I: 5 cm³ AM-Gel (etwa 1,4 mg N/cm³), 1 cm³ ATP-Lösung (5 mg luft-trockenes Ba-ATP umgefällt als Mg-Salz/cm³), nach etwa 10 s 1 cm³ Oxarsanlösung (4,7 mg/cm³), sofort dazu 1 cm³ Salyrganlösung (5 mg/cm³) zur Ausschaltung der ATPase, die von Oxarsan nicht gehemmt wird, 2 cm³ Wasser, abzentrifugiert. Volumen des superpräzipitierten Gels 0,5 cm³, 0,75 cm³ der überst. Lösung + 0,25 cm³ 4 mKCl + 0,3 cm³ BAL (0,1 cm³/14 cm³ Wasser) zur Ausschaltung der Hemmung durch die Schwermetallverbindungen; + 2 cm³ AM-Sol; 2 cm³ zur Viskositätsmessung. – Ansatz II: wie I, aber zunächst 1 cm³ Oxarsanlösung 10 min (Zimmertemperatur) einwirken lassen, dann ATP-Zusatz usw. Volumen des abzentrifugierten Gels 3,2 cm³. – 0 = Beginn der viskosimetrischen Messung.

Ein Verschwinden von ATP durch Adsorption an das Protein ist auch deshalb auszuschließen, weil nach Trichloressigsäure-Behandlung nicht wesentlich mehr ATP nachzuweisen ist. Wir sind damit beschäftigt, die entstandenen Ab- und Umbauprodukte des ATP chemisch zu identifizieren. Das bei der Kontraktion beobachtete Verschwinden von ATP unterscheidet sich durch die große Geschwindigkeit des Vorgangs von der als ATPase bezeichneten Fermentwirkung. Ob es sich auch im ersten Fall um eine echte Fermentwirkung handelt, ist zunächst nicht zu entscheiden. Wenn man ATP zu AM-Sol hinzufügt, findet sich im Gegensatz zu den oben beschriebenen Befunden Unterschied im ATP-Gehalt der Lösungen in Abhängigkeit von dem Eintritt oder der Hemmung der Dissoziation (Abb. 2) (Versuchsanordnung in Parallele zur «Kontraktion» bei niederen Ionenstärken). Auch dieses Ergebnis weist darauf hin, daß ATP nur unter den Bedingungen, die zu einer «Kontraktion» führen, in der oben beschriebenen Weise verändert wird. Im Zusammenhang mit den Resultaten von WEBER liegt also die Annahme einer Freisetzung von Energie aus dem ATP während der «Synärese» des AM-Gels nahe. Das läßt sich in Einklang mit Befunden von SARKAR, SZENT-GYÖRGYI und VARGA¹ bringen, wo-

¹ N. K. SARKAR, A. G. SZENT-GYÖRGYI und L. VARGA, *Enzymologia* 14, 267 (1950).

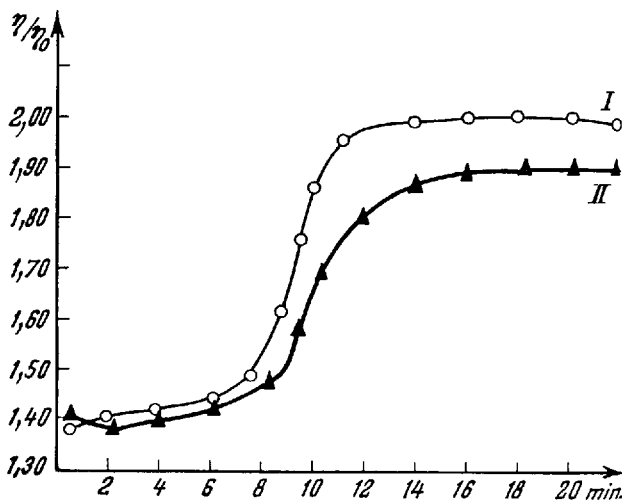


Abb. 2. – Verhalten des ATP im Versuch mit AM-Sol unter den in Abbildung 1 angegebenen Versuchsbedingungen. Abweichend davon statt 2 cm³ Wasser 2 cm³ Trichloressigsäure (40%), danach Trichloressigsäure fünfmal mit Äther ausgeschüttelt.

nach in der glyzerinextrahierten Muskelfaser Freisetzung von Phosphat und entwickelte Spannung einander parallel gehen.

Der Notgemeinschaft der deutschen Wissenschaft danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

G. KUSCHINSKY, F. TURBA und I. KÖHLER

Pharmakologisches Institut der Universität Mainz, den 15. Oktober 1951.

Summary

(1) In the synerizing («contraction») of actomyosin gel, the ATP added disappears almost completely, while in the control experiment (contraction inhibited, ATPase intact), the greater part of the ATP remains.

(2) At the same time there is a corresponding increase in free inorganic phosphate.

(3) In analogous experiments with actomyosin sol, in contrast to the findings mentioned above, no difference in the ATP content of the solutions is found, irrespective of whether the dissociation into actin and myosin occurs or is inhibited.

Azione dell'insulina e della difosfotiamina sull'ATP (Adenosinatrifosfato) del fegato

Nel diabete sperimentale da allossana e nel diabete mellito l'insulina agisce favorendo i processi di fosforilazione della tiamina¹. Questi processi in tali condizioni patologiche risultano nettamente alterati². È anche noto che nel diabete pancreatico (da spancreatizzazione e da allossana) esiste una deficienza di ATP e di fosfocreatina³. Tenendo presenti le osservazioni di LIPTON e ELVEHJEM⁴ e di WEIL-MALHERBE⁵ secondo le quali in

¹ D. SILIPRANDI e N. SILIPRANDI, *Nature*, 1951 (in corso di stampa). – N. SILIPRANDI e F. NAVAZIO, *Acta med. Scand.* 1951 (in corso di stampa).

² D. SILIPRANDI e N. SILIPRANDI, *Acta vitaminologica* 5, 3 (1951).

³ A. MOSCHINI, *C. r. Soc. Biol.* 111, 668 (1932). – TH. CAHN e J. HOUGET, *C. r. Acad. Sci. Paris* 203, 354 (1936). – V. BACCARI, *Boll. Soc. it. Biol. Sper.* 25, 356 (1949).

⁴ M. A. LIPTON e C. A. ELVEHJEM, *J. Biol. Chem.* 136, 637 (1940).

⁵ H. WEIL-MALHERBE, *Bioch. J.* 33, 1997 (1939).

vitro (in presenza di vari substrati: lievito o estratti di tessuti animali) la fosforilazione della tiamina avviene per trasferimento di radicali fosforici dall'ATP alla tiamina libera o alla tiamina monofosfato, si può avanzare l'ipotesi che deficienza di esteri fosforici ricchi di energia e difetto di fosforilazione della tiamina nell'organismo diabetico siano in qualche modo legati fra di loro.

Se tale ipotesi è esatta, la somministrazione di insulina dovrebbe essere seguita nell'organismo diabetico oltre che da un aumento della difosfotiamina, anche da un aumento di ATP.

Abbiamo preso in considerazione nella presente ricerca il comportamento del fosforo labile (P_{ATP}) (costituito, come è noto, essenzialmente dal fosforo che si libera per idrolisi dell'ATP) nell'animale diabetico in rapporto all'azione dell'insulina. Poiché d'altra parte avevamo dimostrato che la difosfotiamina esplica nel diabete pancreatico un'azione insulinosimile¹, ci è parso interessante studiare anche il comportamento del P_{ATP} dopo somministrazione di questo coenzima.

A tale scopo abbiamo determinato il P_{ATP} del fegato secondo il metodo di POTTER et collaboratori² in 11 ratti normali, in 11 ratti diabetici ed in 11 ratti diabetici dopo trattamento rispettivamente con insulina e con difosfotiamina (DPT)³.

Ratti	No animali	P_{ATP} mg p. 100 g fegato fresco media $\pm$ errore standard
Normali	11	23,8 $\pm$ 1,04
Diabetici	11	12,9 $\pm$ 0,41
Diabetici + insulina	11	20,3 $\pm$ 0,95
Diabetici + DPT	11	21,8 $\pm$ 1,03

Media dei valori del P_{ATP} di fegati di ratti normali e diabetici per allossana. Ai ratti diabetici l'insulina è stata iniettata per via intramuscolare alla dose di 30 U.I./kg e la difosfotiamina (DPT) alla dose di 45 mg/kg. Gli animali trattati venivano uccisi per decapitazione 60 e 90 minuti dopo la somministrazione dell'insulina e della DPT rispettivamente.

Questi risultati dimostrano che nei ratti diabetici per allossana si ha una diminuzione del P_{ATP} del fegato: ciò conferma le precedenti ricerche di MOSCHINI, CAHN e HOUGET e di BACCARI⁴. Sia l'insulina che la DPT riportano i valori del P_{ATP} alla norma.

Siamo quindi autorizzati ad ammettere che entrambe queste sostanze agiscono in ugual misura sulla sintesi dell'ATP nell'animale diabetico.

L'incremento dell'ATP dopo somministrazione di insulina si può ascrivere alla normalizzazione del metabolismo glicidico da parte di questo ormone.

Per quanto riguarda l'azione della DPT si possono più particolarmente prendere in considerazione i due seguenti possibili meccanismi:

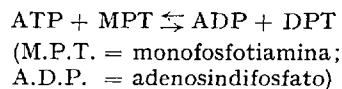
1° Apporto diretto di radicali fosforici dalla DPT all'ATP secondo il seguente equilibrio reversibile:

¹ N. SILIPRANDI, Acta Vitaminologica 4, 249 (1950).

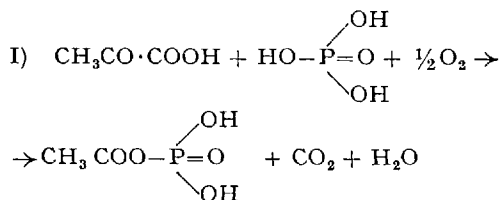
² V. R. POTTER, G. A. LE PAGE e H. L. KLUG, J. Biol. Chem. 175, 619 (1948).

³ La difosfotiamina ci è stata gentilmente fornita dalla Ditta Cutolo di Napoli.

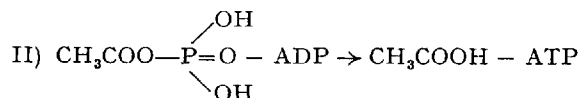
⁴ A. MOSCHINI, C. r. Soc. Biol. 111, 668 (1932). - TH. CAHN e J. HOUGET, C. r. Acad. Sci. Paris 203, 354 (1936). - V. BACCARI, Boll. Soc. it. Biol. Sper. 25, 356 (1949).



2° Sintesi dell'ATP per l'energia che si libera in seguito alla decarbossilazione ossidativa dell'acido piruvico secondo il seguente schema:



Reazione catalizzata dalla DPT.



Sono in corso ricerche per confermare i meccanismi prospettati.

E. CUTOLO e NORIS SILIPRANDI

Istituto di Chimica Biologica dell'Università di Roma, il 25 agosto 1951.

Summary

The labile phosphate (P_{ATP}) of the liver of alloxan diabetic rats is lower than that of normal rats. Both insulin and diphosphothiamine administration bring the P_{ATP} content of the liver of diabetic rats back to normal values.

Suggestions are made as to the probable mechanism of action.

Triosephosphates and Pyruvic Acid Intermediates in Fermentations of Pentoses by Living Cells of *Clostridium acetobutylicum*

The fermentation of pentoses, according to the theories generally adopted, may take place in one of two different ways:

(a) by fission between the carbons 2 and 3 of pentoses with formation of glycolaldehyde and glyceraldehyde or their phosphorylated derivatives¹;

(b) by oxydative decarboxylation yielding tetroses and trioses².

As indirect evidence in support to the first hypothesis, there are the recent experimental results of RAPPOPORT *et al.*³ and LAMPEN *et al.*⁴ obtained from the fermentation of 1-arabinose-1-C¹⁴ and d-xylose-1-C¹⁴ by *Lactobacillus pentoaceticus*.

This bacterium converts both the pentoses, almost quantitatively, into acetic and lactic acids in equi-

¹ E. B. FRED, W. H. PETERSON, and A. J. DAVENPORT, J. Biol. Chem. 39, 347 (1919); 42, 175 (1920); 53, 111 (1922). - I. B. VAN DER LEK (Dissertation, Delft 1930). - M. J. JOHNSON, W. H. PETERSON, and E. B. FRED, J. Biol. Chem. 91, 570 (1931).

² F. LIPMANN, Nature 138, 588 (1936). - O. WARBURG and W. CHRISTIAN, Biochem. Z. 292, 287 (1937). - F. DICKENS, Biochem. J. 32, 1626, 1645 (1938).

³ D. A. RAPPOPORT, H. A. BARKER, and W. Z. ASSID, Arch. Biochem. Biophys. 31, 326 (1951).

⁴ J. O. LAMPEN, H. GEST, and J. C. SOWDEN, J. Bact. 61, 97 (1951).