

## Studies on the Biosynthesis of Cyclitols, XXXV<sup>[1]</sup> On the Mechanism of Action of *myo*-Inositol-1-phosphate Synthase from Rat Testicles

Fritz PITTNER and Otto HOFFMANN-OSTENHOF

Institut für Allgemeine Biochemie der Universität Wien, and  
Ludwig-Boltzmann-Forschungsstelle für Biochemie, Wien

(Received 16 September/8 November 1976)

**Summary:** The animal *myo*-inositol-1-phosphate synthase is competitively inhibited by pyridoxal phosphate and trinitrobenzenesulphonate, both compounds known to prevent Schiff's base formation. When incubated with labelled substrate and then treated with NaBH<sub>4</sub>, label can be recovered in the enzyme protein. In analogous experiments with tritiated NaBH<sub>4</sub> the enzyme pro-

tein also becomes labelled; after hydrolysis of such protein only one labelled compound, derived from lysine and D-glucose 6-phosphate, could be isolated. Its exact structure is not yet known. From these results it can be concluded that during its action *myo*-inositol-1-phosphate synthase forms a Schiff's base with its substrate, in analogy to the class I aldolases.

### *Untersuchungen über die Biosynthese der Cyclite, XXXV* *Über den Wirkungsmechanismus von myo-Inositol-1-phosphat-Synthase aus Rattenhoden*

**Zusammenfassung:** Die tierische *myo*-Inositol-1-phosphat-Synthase wird durch Pyridoxalphosphat und durch Trinitrobenzolsulfonat kompetitiv gehemmt, beides Substanzen, von denen bekannt ist, daß sie die Bildung von Schiff'schen Basen hemmen. Nach Inkubation mit radioaktiv markiertem Substrat und Behandlung mit NaBH<sub>4</sub> kann Aktivität im Enzymprotein wiedergefunden werden. In analogen Experimenten mit tritiumhaltigem NaBH<sub>4</sub> wird Tritium in das Protein ein-

gebaut. Nach Hydrolyse dieses Proteins wird nur eine einzige markierte Verbindung isoliert, die ein Produkt aus Lysin und D-Glucose-6-phosphat darstellt. Die genaue Struktur dieser Substanz ist allerdings noch unbekannt. Aus den Ergebnissen läßt sich schließen, daß *myo*-Inositol-1-phosphat-Synthase während ihrer Wirkung eine Schiff'sche Base mit ihrem Substrat bildet und sich somit analog den Aldolasen der Klasse I verhält.

**Key words:** 1L-*myo*-inositol 1-phosphate, D-glucose 6-phosphate, *myo*-inositol-1-phosphate lyase, Schiff's base mechanism

#### *Enzymes:*

Alkaline phosphatase, orthophosphoric monoester phosphohydrolase (alkaline optimum) (EC 3.1.3.1);  
*myo*-Inositol-1-phosphate synthase, 1L-*myo*-inositol-1-phosphate lyase (isomerizing) (EC 5.5.1.4);  
Fructose-bisphosphate aldolase, D-fructose-1,6-bisphosphate D-glyceraldehyde-3-phosphate lyase (EC 4.1.2.13).

#### *Abbreviations:*

HEPES, 2-[4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazinyl]ethanesulfonic acid; butyl-PBD, 5-(4-biphenyl)-2-(4-*t*-butylphenyl)-1,2,3-oxadiazole.