

## Die Reizbewegungen der Mimosoideen und ihre Hormone\* \*\*

Von GERHARD HESSE, BASUDEV BANERJEE<sup>1</sup> und HERMANN SCHILDKNECHT

Überall in unseren Gewächshäusern findet man heute die «Sinnpflanze» *Mimosa pudica* L., deren Heimat das tropische Amerika ist, die sich aber als Unkraut über den gesamten Tropengürtel verbreitet hat (Fig. 1). Der vielgereiste Arzt und Naturforscher CAROLUS CLUSIUS stellte sie 1608 seinen Zeitgenossen mit folgenden Sätzen vor: «Die Natur dieser Pflanze ist so merkwürdig, dass der menschliche Geist ihr nicht nachkommen kann. Denn wenn sie am schönsten grünt, ist sie lieblich anzusehen. Wenn sie jemand anzufassen wünscht, zieht sie sofort die Blätter zusammen und verbirgt sie unter die zarten Zweigchen. Wenn man sie aber anfasst, wird sie plötzlich so welk, dass man glaubt, sie vertrockne. Was aber noch bewunderungswürdiger ist: wenn man die Hand zurückzieht, gewinnt sie (sofort)

die Natur dieser Pflanze zu ergründen, verrückt geworden.»

Es handelt sich also um den nicht gerade häufigen Fall, dass eine Pflanze mit ihren Blättern rasche, weit-hin sichtbare Bewegungen ausführt, wenn ein äusserer Reiz sie trifft. Dieser kann eine Berührung oder Erschütterung sein oder durch Säuren, Laugen oder andere Chemikalien veranlasst werden. Am schönsten sieht man die Erscheinung, wenn die Spitze eines Blattes mit einer Flamme angesengt wird.

Was man weiter bemerkt, ist eine Reizleitung. Von der gesengten Stelle aus klappen zuerst die Fiederblättchen des betroffenen Blattstrahls zusammen; dann läuft die Bewegung die benachbarten Strahlen aufwärts, sie legen sich zusammengefaltet gegeneinander, und schliesslich neigt sich auch der Blattstiel zum Stamm hin. Nach langer Zeit, wenn man den Vorgang schon beendet glaubt, beginnt bei anderen Blättern aufwärts und abwärts am Stamm das gleiche Spiel.

Der arme Philosoph aus Malabar hat nichts zur Klärung dieser Vorgänge beigetragen. Seitdem haben sich viele Forscher um das Rätsel der Mimose bemüht. Einen entscheidenden Einblick gewann RICCA<sup>2</sup>, als er feststellte, dass der Reiz durch eine chemische Substanz weitergetragen werden kann, also durch ein pflanzliches Hormon. Er durchschnitt den Stamm einer



Fig. 1.  
Blühender Zweig von *Mimosa pudica* (etwas verkleinert).  
G. HESSE phot.

ihren früheren Glanz zurück, und so oft wird sie welk und ergrünt wieder, als man sie anfasst und die Hand zurückzieht. Mir ist aber berichtet worden, ein gewisser Philosoph in Malabar sei über dem zu grossen Eifer,

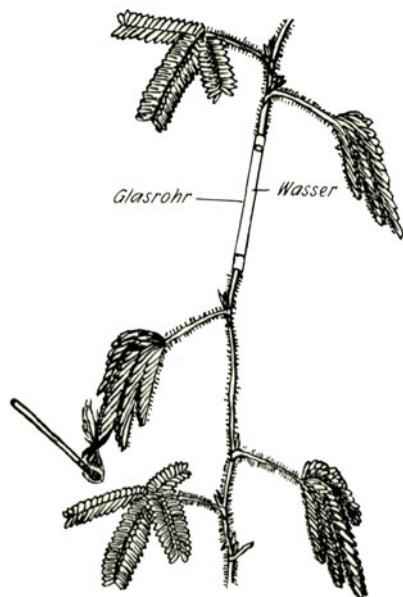


Fig. 2.

\* Herrn Prof. ARTHUR STOLL zum 70. Geburtstag gewidmet.  
\*\* Aus dem chemischen Institut der Universität Freiburg i. Br. und dem Institut für organische Chemie an der Universität Erlangen.

<sup>1</sup> Mein lieber Freund Dr. B. BANERJEE hat die Fortsetzung dieser Untersuchung nicht mehr erlebt. Noch während seines Aufenthalts in Deutschland überfiel ihn die tückische Krankheit, der er kurz nach seiner Heimkehr erlag.

Reizleitung: Das angesengte Blatt klappt zusammen und senkt sich; nach einiger Zeit erfolgt an den Nachbarblättern das gleiche – selbst dann noch, wenn der Zweig durchschnitten ist und nur eine wassergefüllte Röhre die Teile zusammenhält.

<sup>2</sup> U. RICCA, Nuovo G. bot. ital., N. s. 23, 52 (1916).

Pflanze und fügte das abgeschnittene Ende dem Stumpf wieder an, ein wassergefülltes Stück Glasrohr dazwischen. Der Bewegungsreiz ging dann über eine solche Stelle hinweg (Fig. 2). Damit ist die Reizbewegung der Mimose auch zu einem chemischen Problem geworden.

Es zeigte sich auch, dass eine wässrige Abkochung von Mimosenblättern das Hormon reichlich enthält. Stellt man nämlich ein abgeschnittenes Blatt von *Mimosa pudica* in Wasser ein (Fig. 3), so entfaltet es sich nach einigen Minuten wieder wie an der Pflanze selbst. Tauscht man dann vorsichtig genug die «Vase» gegen eine andere aus, die ebenfalls nur Wasser enthält, so bleibt das Blatt ausgebreitet. Es faltet sich aber nach einigen Sekunden oder Minuten zusammen, wenn diese andere Vase mit dem Kochsaft gefüllt ist. Hierauf haben wir einen *Test* aufgebaut<sup>3</sup>, mit dem das Hormon nachgewiesen und seine Menge abgeschätzt werden kann. Dazu wurde die Lösung so lange verdünnt, bis der Erfolg unsicher wurde. Eine Lösung, die innerhalb von 20 min bei 3 von 6 Blättern die Reaktion noch auslöst, nennen wir eine Grenzlösung, ihren Gehalt die *Grenzkonzentration*. Die Abkochung von 1 g frischen Mimosenblättern kann man im allgemeinen auf 0,1 l verdünnen, bis diese Grenze erreicht wird.

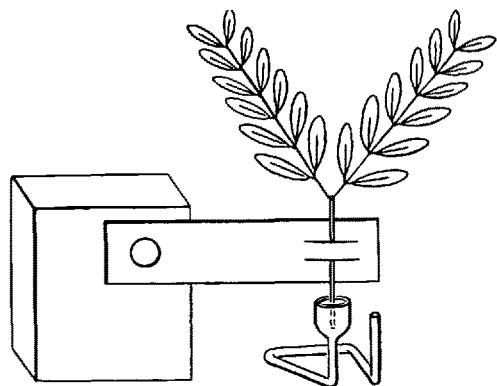


Fig. 3.

Testanordnung. In der schematischen Zeichnung ist ein zweistrahliges Blatt von *Mimosa pudica* dargestellt. Die normalen Blätter haben vier Strahlen.

Mit einer ähnlichen Methode hatte vor uns schon H. FITTING<sup>4</sup> ausgedehnte Untersuchungen angestellt. Seine Zahlenwerte sind aber mit unseren nicht unmittelbar zu vergleichen, weil die Bedingungen andere waren. Er fand, dass sehr viele Chemikalien in hoher Konzentration die Bewegungen auslösen können; sie wirken dann unspezifisch als Reiz, wie das Feuer oder die Berührung. In grösserer Verdünnung waren nur einige Anthrachinonderivate und  $\alpha$ -Aminosäuren wirksam, besonders das Alanin. Man glaubte daher lange Zeit, dass der Reizstoff eine Aminosäure sein müsse.

FITTING hat auch zuerst versucht, das Hormon der Mimose zu isolieren. Aus seinen Experimenten schien

hervorzugehen, dass es eine recht beständige Säure ist. Sie wurden später in Graz von dem Chemiker SOLTYS zusammen mit dem Botaniker UMRATH<sup>5,6</sup> erfolgreich weitergeführt. Diese fanden zunächst, dass die Mimose auch auf die Kochsäfte anderer sensibler Pflanzen anspricht. Aus praktischen Gründen wählten sie *Nepetunia plena* als Hormonlieferanten, prüften die Lösungen aber an Blättern von *Mimosa pudica*. Sie konnten Präparate erhalten, die noch in der Verdünnung 1:10<sup>8</sup> wirksam waren. Sie haben solche Konzentrate auch analysiert und das Molekulargewicht der wirksamen Substanz nach einem Diffusionsverfahren ermittelt. Sie fanden es auffallend klein, unter 250. Die saure Natur des Hormons wurde von ihnen bestätigt. Aber in einem anderen Punkt stimmen sie mit FITTING nicht überein: während dieser seine Hormonlösungen bis zu acht Jahre ohne Abnahme der Wirksamkeit aufheben konnte, erwies sich ihr angereichertes Hormonpräparat als äusserst zersetztlich. Nach wenigen Stunden war oft die Arbeit von Wochen verloren.

Gleichzeitig mit den Arbeiten von SOLTYS an *Nepetunia plena* haben wir<sup>3</sup> die Arbeit am Wirkstoff von *Mimosa pudica* selbst begonnen. In allen Reinigungs-schritten verhielt er sich vollkommen gleich, und wir teilen daher die Ansicht, dass es sich um denselben Stoff handelt. Auch er wird von einer bestimmten Reinheitsstufe an unbeständig, aber nur bei Zutritt von Luft. Wird diese ausgeschlossen, so kann man das Hormon ohne Verlust an Wirksamkeit sogar auf 200° erhitzen (mit B. BANERJEE). Es liess sich zeigen, dass bei der Inaktivierung *Sauerstoff* verbraucht wird. Auch der Versuch, dem oxydierten Hormon den Wasserstoff wieder zurückzugeben, war erfolgreich. Leitet man in eine unwirksam gewordene Hormonlösung Schwefelwasserstoff ein, so kehrt ihre Wirksamkeit teilweise zurück und die Lösung trübt sich durch ausgeschiedenen Schwefel. Verwendet man bei der Herstellung der Blattextrakte Wasser, das mit Schwefelwasserstoff gesättigt wurde, so erhält man etwa fünfmal so wirksame Hormonlösungen als mit Wasser allein.

Bevor der Zusammenhang der Inaktivierung mit dem Luftsauerstoff erkannt war, wurde versucht, die empfindliche Substanz dadurch zu schonen, dass das Kochen vermieden wurde. Frische Triebe von *Mimosa pudica* wurden auf einer hydraulischen Presse bei 300 at ausgepresst. Ein solcher Preßsaft war wohl wirksam, verlor aber seine Aktivität schon in wenigen Minuten unter Aufnahme von Sauerstoff. Kocht man ihn gleich nach der Gewinnung, so absorbiert er keinen Sauerstoff mehr und ist jahrelang haltbar, wenn er mit etwas Toluol steril gehalten wird. Setzt man aber etwas frischen Preßsaft dieser haltbaren Hormonlösung zu, so verbraucht sie wieder Sauerstoff und verliert dabei ihre Aktivität rasch.

<sup>3</sup> G. HESSE, Biochem. Z. 303, 152 (1939).

<sup>4</sup> H. FITTING, Jb. wiss. Botanik 83, 270–314 (1936).

<sup>5</sup> A. SOLTYS und K. UMRATH, Biochem. Z. 284, 247 (1936).

<sup>6</sup> A. SOLTYS, K. UMRATH und Ch. UMRATH, Protoplasma 31, 454 (1938).

Das Rätsel der *Restitution* war damit gelöst, die Frage nämlich, wie es möglich ist, dass die Pflanze nach Beendigung eines Reizes ihre normale Gestalt wieder annimmt. Eine gereizte Pflanze ist ja mit dem Hormon durchsetzt; seine Ausscheidung kann bei dem langsamem Stofftransport der Pflanzen unmöglich so rasch vor sich gehen, wie die Erholung tatsächlich geschieht. Selbst die Abgabe als Gas ist ausgeschlossen, denn es ist weder beim Kochen mit dem Wasserdampf flüchtig noch im Hochvakuum bei 200° destillierbar. Die Versuche zeigen nun, dass im Zellsaft der Mimose ein Ferment vorhanden ist, das das Hormon in wenigen Minuten durch Oxydation unwirksam macht. Das Ferment wird beim Kochen zerstört, und dadurch wird die aufgekochte Lösung luftbeständig. Der erforderliche Sauerstoff ist in einer assimilierenden Pflanze stets reichlich vorhanden. Im Schatten erfolgt die Restitution langsamer, und bei Nacht nimmt die Pflanze ihre Reizstellung ein: sie «schläft». Man versteht nun auch die hohe Wärmetönung, die mit den Reizbewegungen der Mimose verbunden ist. Bei der Ausschüttung des Reizstoffs beginnt alsbald seine Oxydation, also die Verbindung von molekularem Sauerstoff mit Wasserstoff des Hormons zu Wasser. Man kann abschätzen, dass diese Umsetzung viel Wärme freimachen muss, denn das Hormon gibt seine Wasserstoffatome leichter her als das Wasserstoffmolekül; selbst dieses reagiert aber mit Sauerstoff unter grosser Wärmeentwicklung.

Die Luftempfindlichkeit der Hormonpräparate und ihre saure Natur sind charakteristische Eigenschaften einer Körperklasse, die man *Reduktone*<sup>7</sup> nennt. Das bekannteste Reduktone ist Vitamin C, die Askorbinsäure. Andere Reduktone kann man aus Zuckern erhalten, wenn man sie für kurze Zeit mit Laugen erwärmt. Alle Reduktone geben eine Reihe von charakteristischen chemischen Reaktionen, und alle diese fanden wir an unseren Hormonlösungen und -konzentraten wieder. Daher kommen wir zu der Auffassung, dass das Bewegungshormon in dieser Stoffklasse zu suchen ist.

Diese Meinung besteht nicht ohne Widerspruch. Aus seinen umfassenden Modellversuchen mit mehr als 1500 chemischen Stoffen hatte FITTING<sup>4</sup> geschlossen, dass es eine Aminosäure sein müsse. SOLTYS<sup>5,6</sup> und UMRATH, die auf dem Wege der Isolierung am weitesten vorgestossen sind und sogar eine reversible Azetylierung durchgeführt haben, schlossen auf eine Amino- oder Oxsäure. BANERJI, BHATTACHARYA und BOSE<sup>8</sup> schrieben dem Reizstoff «ungesättigte Kohlenstoffatome in Doppel- oder Dreifachbindung» zu und vermuteten ein Karotinoid, evtl. Crocetin als wirksamen Stoff. Eine andere aktive Fraktion reihen sie in die Verwandtschaft der Gerbstoffe ein.

<sup>7</sup> H. V. EULER und H. HASSELQUIST, *Die Reduktone* (Verlag Enke, Stuttgart 1950).

<sup>8</sup> B. BANERJI, G. BHATTACHARYA und D. M. BOSE, *Trans. Bose Res. Inst.* 18, 1944 bis 1946, 155 (1946).

Es muss hier auf eine *Unsicherheit des Testverfahrens* eingegangen werden, die darauf beruht, dass das unwirksam gewordene Hormon durch Reduktionsmittel wieder aktiv werden kann. Das für den Test vorbereitete Blatt ist durch das Abschneiden und Hantieren stark gereizt worden, also nach unseren Befunden auch nach der Erholung noch mit dem oxydierten Hormon durchsetzt. Jedes starke Reduktionsmittel, das darin aufsteigt, kann also durch eine chemische Umsetzung wieder aktives Hormon bilden und dadurch die Bewegungen auslösen. So wirken zum Beispiel Askorbinsäure, Schwefelwasserstoffwasser und Dithionitlösungen bei hinreichender Konzentration. Wir glauben, dass auch die Hormonwirkung der  $\alpha$ -Aminosäuren so zu verstehen ist, dass sie auf dem Wege über eine fermentativ katalysierte Wasserstoffübertragung nach Art der Stickland-Reaktion zu Reduktionsmitteln für das oxydierte Hormon werden. Eine sichere Unterscheidung zwischen dieser mittelbaren Hormonwirkung und der unmittelbaren ist kaum möglich. Wir glauben aber doch eine grössere Sicherheit für die Beurteilung der Teste zu haben, wenn wir gegenüber FITTING die Beobachtungszeit abkürzen und ausserdem verlangen, dass die Reizbewegung typisch verlaufen muss. Untypisch ist sie zum Beispiel beim Alanin in höherer Verdünnung: man findet dann, dass die Faltung einige Fiederblättchen überspringt oder nicht bis zur Blattspitze fortschreitet, so dass solche Blätter ein «struppiges» Aussehen annehmen.

Wir haben unsere Reduktonhypothese weiter verfolgt und zunächst die *chromatographische Reinigung* an basischem Aluminiumoxyd<sup>9</sup> genauer untersucht. Wir fanden (mit Dr. BANERJEE), dass es mehrere hormonwirksame Stoffe gibt, da zwei getrennte Zonen den typischen *Mimosatest* geben. Beide reduzieren auch TILLMANS Reagens, und dies ist eine der sichersten Nachweismethoden für Reduktone. Durch Hochvakuumdestillation bei 200° konnte aber aus einem Hormonkonzentrat noch ein Stoff erhalten werden, der zwar auch die Reduktionswirkung hat, im Pflanzen- test aber unwirksam ist. Es ist daher leider nicht möglich, den Hormongehalt der Lösungen durch Titration mit TILLMANS Reagens zu bestimmen, und auch qualitativ kam man zunächst noch nicht ohne den Pflanzen- test aus. Die *Papierchromatographie* (mit Dr. SCHILDKNECHT) führt hier weiter, da sie ausser der gruppenspezifischen Farbreaktion noch die für jeden Stoff kennzeichnende Lage im Chromatogramm, den  $R_f$ -Wert ergibt. Ausserdem ist sie überaus empfindlich und kann deshalb mit kleinsten Mengen noch durchgeführt werden. Benutzt wurde sie in aufsteigender Form mit der von WEYGAND<sup>9,10</sup> für Reduktone ausgearbeiteten Lösungsmittelkombination Butanol-Eisessig-Wasser 4:1:5 (obere Phase), weil für diese schon

<sup>9</sup> F. WEYGAND, *Arkiv Kemi* 3, 11 (1950).

<sup>10</sup> S. M. PARTRIDGE und L. W. MAPSON, *Biochem. J.* 164, 479 (1949).

eine Reihe von  $R_f$ -Werten bekannt sind; notwendig war das Arbeiten unter Schwefelwasserstoff oder Kohlendioxyd wegen der Luftrömpfindlichkeit der Stoffe, die bei der grossen Oberfläche des Papiers und der langen Zeitdauer solcher Analysen stark ins Gewicht fällt. Von den beiden Schutzgasen ist ersteres vorzuziehen, weil es nicht nur die weitere Oxydation verhindert, sondern auch eine bereits eingetretene wieder rückgängig machen kann. Wir haben aber die Beobachtung gemacht, dass Schwefelwasserstoff zusammen mit den organischen Dämpfen besonders giftig ist. Wir arbeiten daher nicht nur unter einem Abzug, sondern zusätzlich noch mit einer Atemmaske und unter grosser Vorsicht.

Es zeigte sich bald, dass die bearbeiteten Pflanzenextrakte eine grosse Zahl von Stoffen enthalten, die durch das Tillman-Reagens oder mit Titantrichlorid und Pyridin nach WEYGAND<sup>11</sup> angezeigt werden. Nicht alle diese Stoffe werden Reduktone sein, aber es scheint doch so, dass diese Körperklasse, von der bisher nur ganz wenige Vertreter als Naturstoffe aufgefunden worden sind, eine recht grosse Verbreitung hat. Die übliche Bestimmungsmethode für Vitamin C in Nahrungsmitteln bedarf deshalb einer Überprüfung.

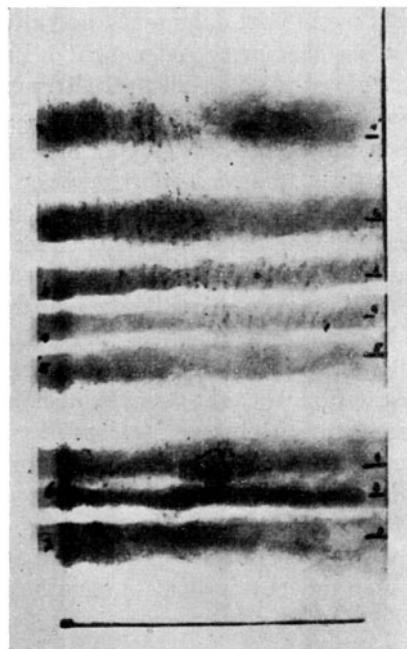


Fig. 4

Fig. 4. Chromatogramm eines Extraktes aus *Mimosa spegazzini*. Aufsteigend, Butanol-Eisessig-Wasser 4:1:5, hervorgerufen mit Titantrichlorid-Pyridin und Luftoxydation.

Trägt man die Analysenlösung auf dem Papier als Tropfen auf, wie es üblich ist, so überdecken sich die bei der Analyse erhaltenen Farbflecken teilweise. Es war daher besser, mit einer Reissfeder längs der Startlinie einen langen feinen Strich aufzubringen. Nach der

Entwicklung findet man die Bestandteile dann in parallelen Bändern übereinander angeordnet (Fig. 4). Um aus dieser Musterkarte der reduzierenden Substanzen die hormonally wirksamen herauszufinden, mussten

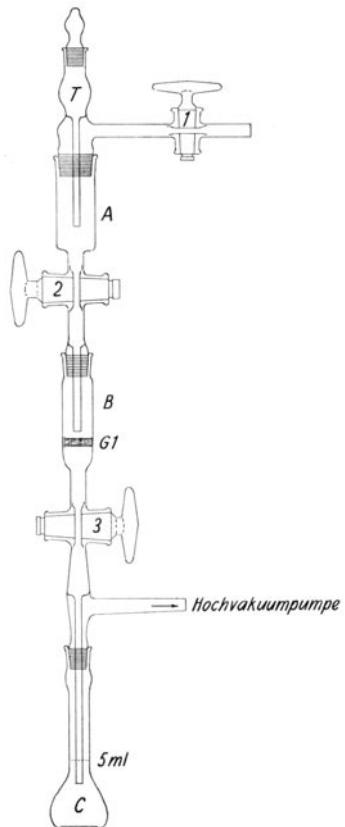


Fig. 5. Anordnung zur Extraktion luftempfindlicher Stoffe aus dem zerschnittenen Papierchromatogramm

sie einzeln ohne Veränderung durch die Nachweisreaktion an Mimosenblättern getestet werden. Auch dies lässt sich bei der abgewandelten Methode leicht durchführen, wenn man die Farbentwicklung nur mit zwei abgeschnittenen Randstreifen durchführt und diese dann zur Markierung benutzt, indem man den ungefärbten Hauptstreifen entsprechend der Lage der Zonen zerschneidet. Die einzelnen schmalen Streifen wurden in einer Spezialanordnung (Fig. 5) eluiert und anschliessend getestet.

Der aufgerollte Streifen wird in A bei geschlossenem Hahn 2 und offenem Hahn 1 fünfmal nacheinander durch T mit soviel Schwefelwasserstoffwasser versetzt, dass er vollständig eintaucht. Man saugt jedesmal die erhaltene Lösung in das Messkölbchen C ab und verdampft sie dort vollständig im Hochvakuum unter Erwärmung mit Heissluft (Föhn), wobei Hahn 3 geschlossen wird. Zum Schluss verreibt man den Streifen in einem kleinen Mörser mit Schwefelwasserstoffwasser und filtriert den Papierbrei unter Saugen durch die Fritte G1. Wenn auch diese letzte Charge im Hochvakuum eingedampft ist, gibt man einige kleine Stückchen Trockeneis in das Messkölbchen und verschliesst es mit einem lose aufgesetzten Stopfen. Erst unmittelbar

<sup>11</sup> F. WEYGAND und E. CSENDÉS, Ber. dtsch. chem. Ges. 85, 45 (1952).

vor dem Test versetzt man den Rückstand mit einer genau abgemessenen Menge abgekochten Wassers oder füllt C bis zur Marke damit auf.

Auf diese Weise wurden im Extrakt von *Mimosa spegazzini* zwei hervorragend wirksame Fraktionen mit den  $R_f$ -Werten 0,11 und 0,23 und zwei gut wirksame mit den Werten 0,42 und 0,55 ermittelt, während die Zonen mit den  $R_f$ -Werten 0,48, 0,65 und 0,78 kaum oder gar nicht wirksam waren. Auch die aktiven Lösungen verloren ihre Wirksamkeit beim Stehen an der Luft in einigen Stunden.

Die nahe verwandte Art *Mimosa spegazzini* mit gelben Blüten gleicht *M. pudica* sehr im Aussehen und in den Reizbewegungen, aber sie ist weniger empfindlich. An *Pudicablättern* getestet, übertrifft die Hormonlösung aus *M. spegazzini* jedoch die aus *M. pudica* ausserordentlich; sie ist etwa fünfzigmal so wirksam. Das Papierchromatogramm enthält neun deutliche Zonen, die grösstenteils mit den Zonen aus *M. pudica* zusammenfallen (Tabelle II, S. 17). Alle vier als wirksam angesprochenen Stoffe finden sich in beiden Arten. Auch andere Pflanzenkochsäfte, selbst solche aus nicht-sensitiven Pflanzen, können die Reizbewegungen an *M. pudica* auslösen. In der Hoffnung, ein leichter zugängliches Material für die Isolierung der eigentlichen Hormone zu bekommen, haben wir verschiedene Pflanzen getestet und teilen im folgenden die Grenzverdünnungen der Kochextrakte mit (Tabelle I):

Tabelle I. Grenzverdünnungen der wässerigen Abkochungen von verschiedenen Pflanzen, getestet an *Mimosa pudica*

<i>Mimosa pudica</i> . . . . .	1 g/ 100 ml
<i>Mimosa spegazzini</i> . . . . .	1 g/5000 ml
<i>Neptunia plena</i> <sup>5</sup> . . . . .	1 g/ 200 ml
<i>Dionaea muscipula</i> . . . . .	1 g/ 1 ml
<i>Biophytum sensitivum</i> . . . . .	1 g/ 1 ml
<i>Thea chinensis</i> *:	
a) Grüner Tee . . . . .	1 g/ 750 ml
b) Schwarzer Tee . . . . .	1 g/ 500 ml
<i>Robinia pseudacacia</i> . . . . .	1 g/ 100 ml

\* Getrocknete Blätter.

Die Ergebnisse an sensitiven Pflanzen aus anderen Familien sind verhältnismässig enttäuschend. Bereits UMRATH<sup>12</sup> hat die Vermutung ausgesprochen, dass wahrscheinlich jede grössere Gruppe von Pflanzen, «etwa vom Range einer Familie oder Unterfamilie», ihre eigene Erregungssubstanz habe.

Überraschend ist die hohe Wirksamkeit von *chinesischem Tee*. Da obige Zahlen, weil sie an getrocknetem Material gewonnen wurden, mit den anderen Werten nicht ohne weiteres vergleichbar sind, wurde in einem besonderen Versuch lufttrockener grüner Tee mit lufttrockenen Blättern von *M. pudica* verglichen. Beide waren vorher nebeneinander im selben Glasgefäß aufbewahrt worden, damit der restliche Feuchtigkeitsge-

halt sich ausgleichen konnte. Es ergab sich, dass der Teextrakt mindestens zehnmal so wirksam ist wie die Abkochung der gleichen Gewichtsmenge *Mimosa*-blätter. Das Chromatogramm aus grünem Tee gab bei der Entwicklung mit Titantrichlorid noch mehr Zonen als die beiden Mimosenextrakte; nur die wichtigsten sind in untenstehender Tabelle aufgenommen.

Es war von Interesse, die einzelnen Zonen durch die bisher erprobten Reinigungsstufen hindurch zu verfolgen. Bei der Vorfällung von Verunreinigungen mit Bleiazetat bei pH < 5 werden die weiter wandernden Stoffe zum grössten Teil entfernt (Tabelle II, I). Die anschliessende Fällung der wirksamen Stoffe mit Quecksilber-II-azetat und nachfolgende Zerlegung des Niederschlags durch Schwefelwasserstoff ändert an diesem Bilde kaum noch etwas (Tabelle II, II), obwohl dabei fast 90% der gesamten Masse abgetrennt wird. Die chromatographisch erfassten wirksamen Stoffe folgen also dem Reinigungsgang, der nach dem Pflanzentest entwickelt und quantitativ kontrolliert wurde.

Tabelle II.  $R_f$ -Werte der Hauptzonen im Papierchromatogramm, kursiv gedruckt die Zonen, die sich im Mimosatest als wirksam erwiesen haben

<i>Mimosa pudica</i>			<i>Mimosa spegazzini</i>	<i>Thea chinensis</i>
frisch	I	II	frisch	frisch
0,87				0,83
0,79			0,78	0,71
0,66			0,66	0,62
0,55	0,59	0,55	0,55	
	0,49	0,50	0,48	
0,43	0,41	0,43	0,42	0,43
0,30	0,29	0,30		0,32
0,23	0,22	0,21	0,23	0,24
0,19			0,19	0,19
	0,15			
0,11	0,10	0,12	0,11	0,13

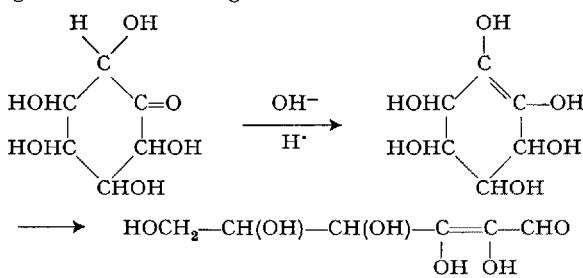
I und II bedeuten die beiden ersten Stufen der Reinigung.

Ähnliche Chromatogramme erhält man nach der Farbentwicklung mit *Tillmans Reagens*. Diese Methode trägt zur Charakterisierung der Stoffe als Reduktone Wesentliches bei, ist aber viel weniger empfindlich und gibt keine so klaren Zonenbilder. Umgekehrt ist es bei der Entwicklung mit *Triphenyltetrazoliumchlorid* und Natronlauge, die weniger spezifisch ist, aber den empfindlichsten Nachweis der Hauptzonen bei 0,23 und 0,43 erlaubt; bei höherer Konzentration findet man auch die Zone 0,11. Hier ergeben sich noch charakteristische Unterschiede in der Farbnüance und in der Zeit, nach der die Färbung erscheint. So ist die Zone 0,11 auffallend blaurot und bildet sich sofort; die starke Zone 0,23 braucht dagegen mehrere Minuten zu ihrer Ausbildung. Achtet man auf diese Besonderheiten, so wird die Identität der drei Stoffe in den verschiedenen Extrakten noch überzeugender.

<sup>12</sup> K. UMRATH, Ergeb. Biol. 14, 1-142 (1937).

Es scheint demnach so zu sein, dass bei der Reizbewegung der Mimosoideen die Funktion des Hormons von Stoffen übernommen wird, die auch in anderen Pflanzen vorkommen und durchaus nicht nur im Dienste der Reizübertragung stehen. Bei den sensitiven Pflanzen hat man die Möglichkeit, die Bildung dieser Stoffe (oder wenigstens ihre Sekretion) anzuregen, wenn man sie während ihrer Entwicklung sehr häufig in den Reizzustand bringt. Solche Pflanzen nehmen ein anderes Aussehen an als normal herangewachsene<sup>13</sup>: sie bleiben gedrungener, bilden mehr Achselsprosse, entwickeln stärkere Stacheln und Wurzeln. Der Reizstoff oder seine Begleiter hemmen also das Streckungswachstum und befördern die Zellteilung und die Differenzierung der Gewebe. Dies brachte uns auf den Gedanken, Beziehungen zu den Wuchsstoffen der *Bios*-gruppe zu suchen.

Von diesen ist der *meso-Inosit* am längsten bekannt, und es ist wie eine Fügung, dass er zuerst aus Teestaub isoliert worden ist. Zum Inosit gehört eine Reihe von Inososen, zyklischen Zuckern. Sie entstehen daraus durch verschiedene Oxydationsmittel, aber auch durch Einwirkung von *Azetobacter suboxydans* oder von tierischem Gewebe sehr leicht. Aus einem der möglichen Razemate, der *d,l-epi-meso-Inosose*, haben v. EULER und GLASER<sup>14</sup> kürzlich ein typisches Redukton erhalten, das sie «aci-Redukton AG» nennen. Es bildet sich bei der Einwirkung von sehr verdünnter Natronlauge schon bei Raumtemperatur, vermutlich nach folgender allgemeinen Gleichung:



Dabei entstehen mehrere Stoffe von Reduktoncharakter. Leider geben die Autoren den  $R_f$ -Wert des von ihnen isolierten reinen Reduktons für ein Lösungsmittelgemisch an, das wir nicht benutzt haben. Das rohe Spaltprodukt haben sie aber auch in dem «klassischen» System der Reduktone untersucht und finden die  $R_f$ -Werte 0,12; 0,25; 0,44; 0,50.

Die Übereinstimmung mit den vier «magischen Zahlen» unserer Kochsäfte ist verblüffend, wenn man noch berücksichtigt, dass sie absteigend und wir aufsteigend gearbeitet haben. Sie berechtigt wohl zu der Hoffnung, die Reizstoffe der Mimosoideen unter den Umwandlungsprodukten der Inososen zu finden.

<sup>13</sup> E. BÜNNING, *Entwicklungs- und Bewegungsphysiologie der Pflanze*, 3. Aufl. (Springer, Heidelberg 1959), S. 375 f.; E. BÜNNING und Ch. LEMPENAU, Ber. dtsch. bot. Ges. 67, 10 (1953).

<sup>14</sup> H. v. EULER und A. GLASER, Arkiv Kemi 8, 61 (1954).

Nur nebenbei sei erwähnt, dass die Analyse und das Molekulargewicht dieser Reduktone recht gut zu den Ergebnissen stimmen, die SOLTYS und UMRATH für den *Neptuniareizstoff* gefunden haben:

Tabelle III

	C %	H %	N %	Molekulargewicht
Inososeredukton . . . . .	40,5	5,6	—	178
<i>Neptuniahormon</i> . . . . .	38-47	3,4-5,3	1,5-2,5	<250

Der Stickstoffgehalt von im Mittel 2% ist mit dem gefundenen Molekulargewicht nicht vereinbar, denn er verlangt mindestens 700. Es ist daher wahrscheinlich und wird von den Autoren auch vermutet, dass er einer Beimengung zukommt.

Wenn unsere Hypothese sich bestätigen sollte, so würden in ganz verblüffender Weise die verschiedenen Meinungen in Übereinstimmung gebracht werden, die heute noch über die Natur des Mimosenhormons bestehen. Es wäre dann eine «Oxysäure», nämlich ein saurer Stoff mit Hydroxylgruppen (SOLTYS und UMRATH). Es wäre ein Redukton (HESSE). Es wäre eine ungesättigte organische Verbindung mit einer Kohlenstoff-Kohlenstoff-Doppelbindung (BANERJI), und es würde schliesslich auch in die Verwandtschaft der monozyklischen Gerbstoffe gehören (BANERJI), die zum Beispiel im chinesischen Tee den Inosit reichlich begleiten<sup>15</sup>.

Die Schwierigkeit bei der Reindarstellung des Mimosenhormons, an der SOLTYS und UMRATH wie auch wir bisher gescheitert sind, besteht in der *Zersetzungsfähigkeit der angereicherten Präparate*. Sie ist genau so wie die fermentative Desaktivierung in der assimilierenden Pflanze an die Gegenwart von Sauerstoff oder anderer Oxydationsmittel gebunden und kann durch Schwefelwasserstoff aufgehalten und teilweise rückgängig gemacht werden. In einer früheren Arbeit<sup>3</sup> wurde vermutet, dass diese Autoxydation in den abgekochten rohen Pflanzenauszügen durch anwesende Reduktionsmittel, die als Inhibitoren wirken, aufgefangen wird. Erst wenn sie durch die fortschreitende Reinigung entfernt worden sind, tritt die Oxydation des Hormons wieder zutage. Es ist aber noch eine andere Erklärung möglich. Rückschauend ist uns aufgefallen, dass die Lufempfindlichkeit der vorher ganz beständigen Lösung immer nach einer Reinigungsstufe zuerst bemerkbar wird, bei der vorübergehend alkalische Reaktion geherrscht hat. Bei SOLTYS war es die Fällung des Bariumsalzes mit Barytwasser, in unseren Versuchen die Chromatographie an dem stark basischen Aluminiumoxyd nach BROCKMANN (pH etwa 10). Wenn nun in den Kochsäften hauptsächlich die Inosose vorläge

<sup>15</sup> R. A. CARTWRIGHT und E. A. H. ROBERTS, Chem. Ind. 1955, 230. — W. MAYER, R. BACHMANN und F. KRAUS, Chem. Ber. 88, 316 (1955).

(R, 0,24)<sup>14</sup>, die vielleicht in der Pflanze fermentativ erst in die Reduktone übergeht, im alkalischen Medium aber schon *in vitro*, so würde sich auch dieses Rätsel lösen.

Bisher gilt auf Grund der Arbeiten von H. FITTING Alanin als die beste *Modellsubstanz* für das Mimosenhormon. Wir haben es im quantitativen Test mit verschiedenen Reduktonen verglichen und fanden folgende Grenzkonzentrationen:

d, l-Alanin . . . . .	0,1%
Trioseredukton, reinst . . . . .	1 %
Oxytetrosäure . . . . .	1 %

Ascorbinsäure, Dihydrogallussäure und Reduktinsäure waren auch in einprozentiger Lösung noch unwirksam. Ein Trioseredukton, das nach der klassischen Methode<sup>16</sup> aus Glucose hergestellt war und noch höhere Reduktone enthalten haben kann, erwies sich sofort nach dem Auflösen als gut wirksam (Grenzkonzentration 0,005%).

Es ist unwahrscheinlich, dass die geringe Wirksamkeit der beiden Reduktone auf mittelbare Weise (vgl. S. 15) zustande kommt, denn die unwirksamen Vertreter dieser Körperklasse sind ihnen im Reduktionsvermögen ebenbürtig, ebenso in der Säurestärke. Auch Glutathion, das ein starkes physiologisches Reduktionsmittel ist, war in einprozentiger Lösung wirkungslos. Die neuen Modelle des Reizstoffs sind zwar nicht ganz so wirksam wie Alanin, sie gleichen dem natürlichen Hormon aber in der Lufempfindlichkeit und darin, dass ihre oxydierten Lösungen durch Reduktionsmittel regeneriert werden können.

Von mehreren Reduktonen sind kürzlich einige Eigenschaften bekannt geworden<sup>17</sup>, die vielleicht auch einiges Licht auf die *Wirkungsweise des Mimosenhormons* werfen. Die Pflanzenphysiologen sind sich darüber einig, dass die Reizbewegung auf dem Erschlaffen des Zellgewebes auf der Unterseite der Gelenkpolster beruht. Hiermit ist ein *Flüssigkeitsaustritt* aus den Zellen in die Zellzwischenräume verbunden, den man bei *Mimosa* an einer Farbänderung der Gelenke von Weisslichgrün nach reinem Grün erkennen kann. Bei anderen sensiblen Pflanzen wird die Flüssigkeit sogar nach aussen abgegeben; sie «schwitzen» bei jeder Bewegung. Da die Flüssigkeit in den Zellen unter einem Druck von mehreren Atmosphären steht, würde schon eine Erhöhung der Wanddurchlässigkeit die beobachteten Erscheinungen zur Folge haben: Zellsaft könnte austreten, und die betroffenen Zellen würden dadurch kleiner und leichter verformbar werden.

Verschiedene Reduktone haben nun tatsächlich die Fähigkeit, die Durchlässigkeit pflanzlicher und tierischer Zellwände zu erhöhen<sup>17</sup>. Sie vermindern ausserdem die Zähigkeit von Pektinlösungen. Ob im Zellsaft von *Mimosa pudica* Pektine enthalten sind, ist noch nicht untersucht worden, aber es ist dem Augenschein

nach wahrscheinlich. Eine Verflüssigung der Pektine würde das Auspressen von Zellsaft natürlich erleichtern und beschleunigen. Es ist nachgewiesen, dass diese beiden Eigenschaften bei der Oxydation der Reduktone verschwinden.

Durch die Versuche von RICCA schien bewiesen, dass die *Reizleitung* sich des Hormones selbst bedient, das einfach mit dem Assimilationsstrom weitergetragen wird. Dann sollte aber der Reiz nur sprossaufwärts wandern, jedenfalls viel schneller als in umgekehrter Richtung, da ja das Wasser überwiegend von der Wurzel in die Blätter wandert. Das stimmt aber nicht. Zudem konnte SNOW<sup>18</sup> nachweisen, dass der Reiz schneller läuft als die Flüssigkeit in den Gefässen und dass bei dieser Wanderung regelrechte Aktionsströme abgenommen werden können. So wie sich jeder Pulsenschlag unseres Herzens im Elektrokardiogramm aufzeichnen lässt, so kann man jede Bewegung der Mimoze elektrisch registrieren.

Es könnte nun sein, dass der austretende Zellsaft einer gereizten Zelle selbst wieder Hormon mitbringt und damit die nächste Zelle zur Abgabe von Zellsaft veranlasst und dass auf diese Weise der Impuls von Zelle zu Zelle weitergegeben wird, unabhängig vom Flüssigkeitsstrom in den Gefässen. Die elektrischen Potentiale wären dann eine sekundäre Erscheinung, die auf der Ausbildung von Konzentrationsketten beruhen könnte. Es ist aber auch möglich, dass irgendein differenziertes Gewebe vorhanden ist, das in seiner Funktion mit den tierischen Nerven verglichen werden kann. Dies müsste dann den Reiz bis in die Gelenkpolster weitertragen und dort die Bildung oder Ausscheidung des Hormons veranlassen, das nun an Ort und Stelle die dazu vorgesehenen Zellen veranlasst, ihren Turgor zu vermindern. In diesem Fall wäre das Hormon dem Acetylcholin zu vergleichen und das oxydierende Ferment der Cholinesterase. Die Bewegung bei der Pflanze würde dann dem gleichen Plan folgen wie bei den Tieren, allerdings nach einem andern chemischen Rezept.

Wir danken den Direktoren der botanischen Institute an den Universitäten Freiburg und Erlangen für die Anzucht der Versuchspflanzen und vielen freiwilligen Helfern, von denen hier nur Frau HELGA SCHILDKNECHT genannt sei.

### Summary

The irritation substances of various plants of the family of Mimosoideae are highly sensitive to oxygen, and their chemical behaviour is that of 'reductones'. Just the same substances were also found in non-sensitive plants. Meso-inositol is perhaps one of the original compounds leading to the active substances. It became possible to explain some characteristics of the irritation-process of *Mimosa pudica* by regarding known properties of reductones, i.e. the irritation reaction, the restitution, the influence of sun-light and their 'sleeping' in darkness.

<sup>16</sup> H. v. EULER und C. MARTIUS, Liebigs Ann. Chem. 505, 73 (1933).

<sup>17</sup> H. v. EULER und M. L. STEIN, Makromol. Chem. 15, 60 (1955).

<sup>18</sup> R. SNOW, Proc. roy. Soc., Lond. [B] 96, 349 (1924).