

b Azetylierung von p-Aminoazobenzol<sup>9</sup>

## Versuchsansätze:

Wie unter a angegeben.

## «Reaktionsgemisch» pro Ansatz (0,5 ml)

	mg	$\mu\text{M}$
Na-Bikarbonat	6,7	80
Glutathion	3,38	11
ATP (Di-Na-Salz)	2,39	4,34
Na-Zitrat	7,14	20
Na-Azetat $\times 3 \text{ H}_2\text{O}$	3,4	25
p-Aminoazobenzol	0,065	0,33
Coenzym A*	49 $\gamma$ (etwa 15–20 Einheiten)	

Konzentration des Inhibitors wie unter a angegeben; pH  $\sim 7,2$ ; Temperatur = 37°. Inkubationszeit = 30 min, in den besonders angezeichneten Fällen 2 h.

<sup>9</sup> R. E. HANDSCHUMACHER, G. C. MUELLER und F. M. STRONG, J. biol. Chem. 189, 335 (1951).

tend, die zum Teil sehr aktive Inhibitoren darstellen.  $\alpha$ - und  $\beta$ -Naphthol erwiesen sich zum Beispiel als ebenso wirksam wie  $\alpha$ -p-Biphenylbuttersäure und p-Biphenylglyoxylsäure. Zwischen diesen und der nicht hemmenden Phenyllessigsäure und Benzoesäure stehen eine grosse Anzahl von Säuren der verschiedensten Konstitution mit allmählich abfallendem Hemmungsvermögen. In der Reihe der arylsubstituierten Essigsäuren scheint durch Anwesenheit eines zweiten Substituenten in Form einer Äthylgruppe stets eine Verstärkung der Inhibitorwirkung aufzutreten (vgl. in der Tabelle Nr. 4 mit Nr. 9, Nr. 17 mit Nr. 30 und Nr. 35 mit Nr. 37). Bemerkenswert ist auch die Überlegenheit der Hemmwirkung des Amides der  $\alpha$ -Phenylbuttersäure (Nr. 24) über diejenige des entsprechenden Na-Salzes (Nr. 35). Alle als stark wirksame Inhibitoren erkannten Säuren sind in Wasser schwer löslich; diese Regel ist nicht umkehrbar.

Es wird von Interesse sein, festzustellen, ob die geprüften *in vitro*-Inhibitoren der Acetylierung auch imstande sind, im Tierexperiment den Blutcholesterinspiegel zu senken.

Die Enzymversuche wurden, zum Teil unter Mitwirkung von Dr. RUDOLF GRIOT, durch Herrn WALTER VOGEL durchgeführt. Eine grosse Anzahl der in der Tabelle I angeführten Substanzen wurden von Dr. HANS SANER hergestellt.

TH. WAGNER-JAUREGG

Forschungsabteilung der Siegfried AG., Zofingen, den 1. März 1957.

## Summary

It is demonstrated that the acetylation of sulfanilamide and of p-amino-azobenzene, in the presence of pigeon liver extract and coenzyme A, is not only inhibited by  $\alpha$ -phenyl fatty acids but also by a considerable number of other substances. The most effective inhibitors contain at least two benzene nuclei and one acidic group (phenolic hydroxyl or a carboxyl group).

Über die Wirkung von Cobalt-II-nitrat auf Kern und Cytoplasma von *Acetabularia mediterranea*\*

Nachdem die Wirkungen von Dunkelheit<sup>1</sup>, 2,4-Dinitrophenol<sup>2</sup> und Monojodessigsäure<sup>3</sup> einerseits, sowie von

Trypaflavin andererseits<sup>4</sup> auf Zytoplasma und Kern von *Acetabularia* näher untersucht waren, schien es wünschenswert, auch die Wirkung von Cobalt (Co) zu untersuchen, das ebenfalls als zytostatisches Zellgift bekannt ist<sup>5</sup>.

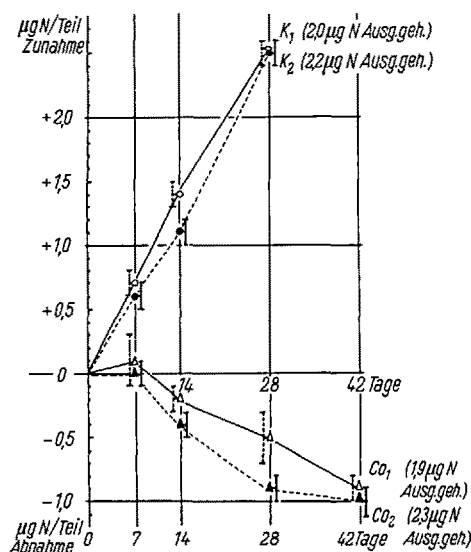


Abb. 1. Verringerung des nicht in Trichloressigsäure löslichen N bei Co-behandelten, kernhaltigen, basalen Stielteilen ( $\text{Co}_1$ ,  $\text{Co}_2$  = Versuchsserien 1 und 2; dieselbe Kultur zu verschiedenen Zeiten).  $K_1$  und  $K_2$  die entsprechenden, nicht mit Co behandelten Kontrollserien. Ausgangs-Stiellängen für alle Versuchsserien 10 mm. Alle Bestimmungen erfolgten nach Abtrennung der Rhizoide. Zur Methode siehe WERZ<sup>6</sup>. Jeder Messpunkt: Mittelwert aus 5 Bestimmungen je an mindestens 20 Teilen. Streuungsangaben als 3facher mittlerer Fehler.

Co-II-nitrat wirkte bei der geprüften Kultur von *Acetabularia mediterranea* sehr giftig. In der Konzentration von  $5 \times 10^{-4} \text{ g/cm}^3$  Erdschreiber waren nach 3–4 Wochen viele Teile stark kontrahiert, eine Reihe irreversibel geschädigt oder abgestorben. Bereits nach 4tägiger Einwirkung, nach der alle Teile (10 mm lange kernhaltige Hinterstücke von Hutpflanzen mit maximalem Kern<sup>7</sup>) noch reversibel geschädigt waren, begann das Wiederwachsen des Stieles erst nach 30–40 Tagen; er war zudem anfänglich sehr dünn. Aus diesen Gründen konnten Versuche mit langfristiger Einwirkung von Co nicht durchgeführt werden.

\* Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

<sup>1</sup> H. STICH, Z. Naturforsch. 6b, 319 (1951); 8b, 36 (1953); Chromosoma 7, 693 (1956).

<sup>2</sup> H. STICH, Chromosoma 7, 693 (1956). – J. BRACHET, Exper. 7, 347 (1952).

<sup>3</sup> H. STICH, Chromosoma 7, 693 (1956).

<sup>4</sup> H. STICH, Chromosoma 7, 693 (1956); Naturwissenschaften 18, 435 (1951). – G. WERZ, Z. Naturforsch. (1957) im Druck.

<sup>5</sup> H. B. LEVY, E. T. SKUTCH und A. L. SCHADE, Arch. Biochem. 24, 198 (1949).

<sup>6</sup> G. WERZ, Exper. 13, 79 (1957).

<sup>7</sup> K. BETH, Z. Naturforsch. 8b, 771 (1953).

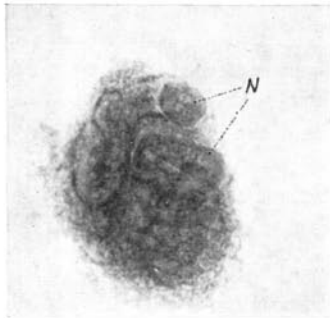
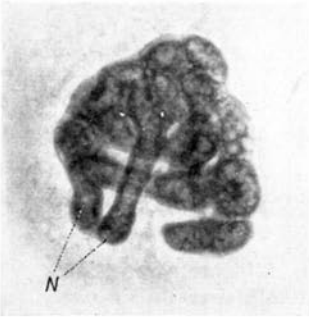
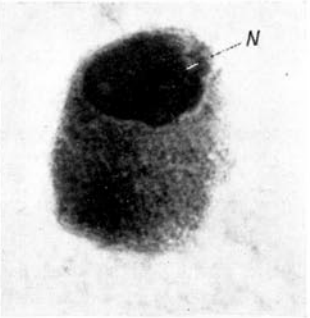
	a) Ausgangssysteme: Hutpflanzen auf 10 mm Stiel amputiert	b) Kontrollen nach 4 Tagen Dauerbeleuchtung; Regene- ratlängen nicht bestimmt	c) nach 4 Tagen Dauer- beleuchtung und Co; voll- ständige Wuchshemmung
			
Primärkernvolumen in 10 <sup>-4</sup> mm <sup>3</sup> . . .	2,00 ± 0,61*	2,47 ± 0,62*	2,21 ± 0,43*
Nukleolusvolumen in 10 <sup>-4</sup> mm <sup>3</sup> . . .	0,93 ± 0,22*	1,26 ± 0,30*	0,50 ± 0,14*
Nukleolusanteil in % des Kernvolumens .	46,4	51,0	22,5
Untersuchte Pflan- zen (n) . . . . .	15	18	14

Abb. 2. Vergleich der Kern- und Nukleolengrößen. *a* Ausgangskerngrößen; *b* Kontrollen nach 4 Tagen Dauerlicht; *c* Kerne nach 4tägiger Co-Behandlung und Dauerlicht (*N* = Nukleolen; Fixierung in Carnoy, Färbung mit Azokarmin-B-Eisessig; Berechnung der Kern- und Nukleolenvolumina als kompakt angenommenes Rotationsellipsoid nach  $\frac{4}{3}\pi a b^2$ ; *b* = kleinere Halbachse).

\* Mittelwert ± 3facher mittlerer Fehler.

In der angewendeten Konzentration erfolgte im Zytoplasma sofortige, vollständige Wuchshemmung und Blockierung der Proteinsynthese, später auch eine Abnahme des Proteingehaltes (Abb. 1). Der Kern erwies sich bereits nach 4 Tagen ebenfalls als stark betroffen: das Gesamtvolumen war (noch?) nicht wesentlich zurückgegangen, dagegen sehr stark das der Nukleolen, von denen nur ein Nukleolus übrig blieb. Hierdurch verschob sich der Anteil des Nukleolusvolumens am Kernvolumen auf grob 20% gegenüber 50% bei den Ausgangssystemen und Kontrollen (Abb. 2). Nach Fixierung und Ammoniumsulfidbehandlung wiesen die Kerne Co-behandelter Pflanzen eine starke Anlagerung von Co an Kernsaft und Nukleolen auf. Hieraus kann

jedoch nicht gefolgert werden, dass diese Speicherung bereits *in vivo* erfolgte. Diese Frage muss vielmehr offen bleiben. Der Polyphosphat Spiegel war nach 6 Tagen nicht oder nur unwesentlich verändert (Abb. 3). Nach

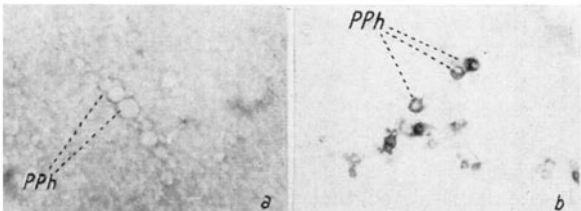


Abb. 4. *a*) Polyphosphatgrana (PPh) von 6 Tage mit Co behandelten Pflanzen: keine Co-Reaktion mit verdünntem Ammoniumsulfid nach Fixierung; *b*) Polyphosphatgrana von unbehandelten Pflanzen, die erst nach der Fixierung kurz mit Co-Lösung behandelt wurden: es erfolgte Co-Anlagerung.

Fixierung Co-behandelter Teile konnte in den Polyphosphatgrana im Gegensatz zum Kern kein Co nachgewiesen werden. Demnach tritt auch keine *in-vivo*-Speicherung ein (Abb. 4a). Es sei darauf hingewiesen, dass bei unbehandelten Pflanzen, die erst *nach* Fixierung kurz mit Co behandelt wurden, eine starke Anlagerung erfolgte, das heisst offenbar nach einer durch die Fixierung bedingten Veränderung<sup>8</sup> (Abb. 4 b).

Die Wirkung des Co erstreckt sich also sowohl auf das Zytoplasma als auch auf den Kern. Sie ist sehr stark. Es bleibt jedoch wegen der bisher nicht überschreitbaren,

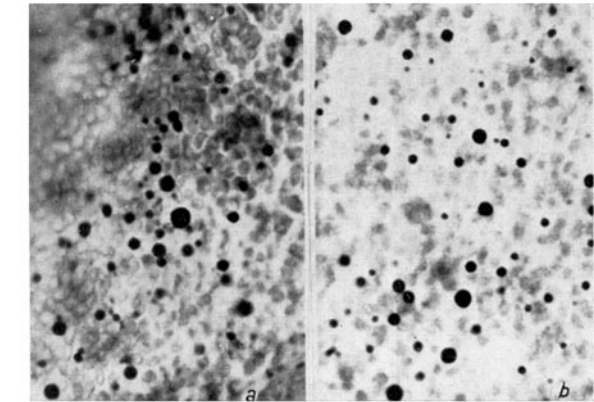


Abb. 3. Grösse und Verteilung der Polyphosphatgrana bei *a* Kontrollpflanzen und *b* bei 6 Tage mit Co behandelten Pflanzen (Technik: Ausstriche der Stielinhalte in Carnoy fixiert; Färbung Gallocyanin-Chromlack; Polyphosphatgrana schwarz; Chloroplasten grau).

<sup>8</sup> Vgl. zum Beispiel E. KRÜGER-THIEMER, *Untersuchungen an den Granula von Mycobakterien* (Dissertation, Kiel 1951). – E. KRÜGER-THIEMER und A. LEMBKE, *Naturwissenschaften* 41, 146 (1954).

kurzfristigen Versuchsdauer noch offen, ob die Wirkung über den Energiestoffwechsel der *Acetabularienzelle*<sup>9</sup> geht, wie es in Dunkelheit<sup>1</sup>, 2,4-Dinitrophenol<sup>2</sup> und Monojodessigsäure<sup>3</sup> der Fall ist – unter diesen Bedingungen erfolgt ebenfalls Wuchshemmung und Nukleolenreduktion – oder über eine mehr oder weniger direkte Blockierung der Proteinsynthese, wie sie für Co angegeben worden ist.<sup>10</sup>

G. WERZ

Max-Planck-Institut für Meeresbiologie, Wilhelms-  
haven, den 27. Februar 1957.

### Summary

The effect of Cobalt-II-nitrate was tested on the marine green alga *Acetabularia*. Application of Co immediately stopped regeneration as well as synthesis of cytoplasmic proteins. Later on a decrease of the protein contents was observed. Without affecting the size of the nucleus, Co caused a reduction of the nucleolar size and shape within 4 days. By histochemical methods, Co was found to be stored in the nucleus and nucleolus. However, it is not clear whether the Co was already bound *in vivo*. Size and distribution of the polyphosphate bodies were not changed within 6 days. No storage of Co *in vivo* could be observed within the polyphosphates.

<sup>9</sup> J. HÄMMERLING, *Vortrag Internat. Genetic. Symposia* (Tokio 1954). – J. HÄMMERLING und H. STICH, *Z. Naturforsch.* 11b, 162 (1956).

<sup>10</sup> H. B. LEVY, E. T. SKUTCH und A. L. SCHADE, *Arch. Biochem.* 24, 198 (1949). – J. C. HEATH, *Exp. Cell Res.* 6, 311 (1954). – J. S. ROTH, *Exp. Cell. Res.* 10, 146 (1956).

## Über die Umwandlung von markiertem Glykokoll durch *Fusarium lycopersici*

Zahlreiche Untersuchungen mit verschiedenartig markiertem Glykokoll haben gezeigt, dass diese Aminosäure vom pflanzlichen und tierischen Körper in mannigfaltiger Weise umgewandelt wird<sup>1</sup>. Neben Purinen, Porphyrinen und anderen entstehen dabei verschiedene Aminosäuren. Die Hefe *Torulopsis utilis* (Henneb.) Lodd. bildet aus carboxylmarkiertem Glykokoll vor allem markiertes Serin und Prolin und nur geringe Mengen von Asparaginsäure, Glutaminsäure und Lysin<sup>2</sup>. In ähnlicher Weise erhielt man mit Leberhomogenisaten aus methylenmarkiertem Glykokoll vor allem markiertes Serin und nur geringe Mengen von Asparaginsäure, Glutaminsäure und Arginin<sup>3</sup>. GREENBERG und WINNICK<sup>4</sup> fütterten Ratten mit carboxylmarkiertem Glykokoll und fanden die Hauptmenge der Radioaktivität der Proteinhydrolysate wiederum im Glykokoll und wesentlich geringere Anteile in Asparaginsäure, Glutaminsäure und Arginin; Serin, Prolin und Tyrosin waren inaktiv. In diesen Versuchen entwichen während der ersten

18 Stunden rund 50% des radioaktiven Kohlenstoffes mit dem Kohlendioxyd. Das Bakterium *Diplococcus glycinophilus* Cd. et B. bildet aus carboxylmarkiertem Glykokoll viel, aus methylenmarkiertem dagegen nur wenig radioaktives Kohlendioxyd<sup>5</sup>.

Im Zusammenhang mit Untersuchungen über die Biosynthese des Welketoxins Fusarinsäure<sup>6</sup> verfolgten wir die Umwandlung von Glykokoll durch den Pilz *Fusarium lycopersici* Sacc., den Erreger einer Welkekrankheit der Tomatenpflanzen. Wir verwendeten dazu in der Methylengruppe mit C<sup>14</sup> markiertes Glykokoll (Radiochemical Centre, Amersham, Bucks., England) mit einer spezifischen Aktivität von 14,9  $\mu$ C/mg, das je nach Bedarf mit inaktivem Glykokoll verdünnt wurde.

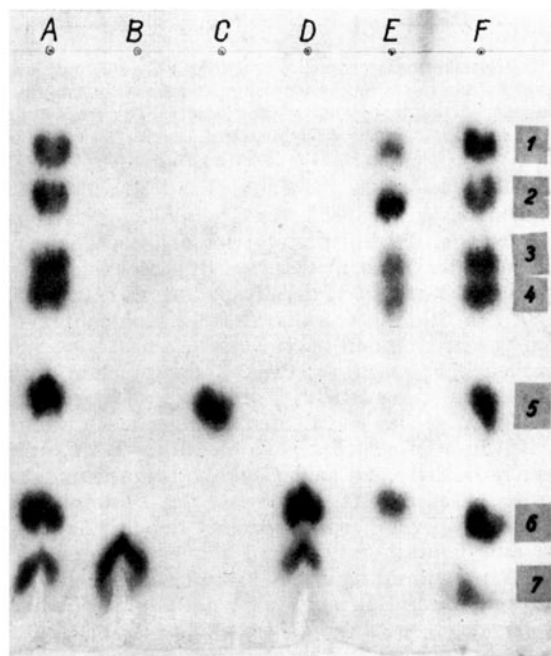


Abb. 1. Papierchromatogramm des Proteinhydrolysats von *Fusarium lycopersici* (Phenol-Wasser-Ammoniak). A alle Aminosäuren gemischt; B Valin; C Alanin; D Leucin + Valin; E Proteinhydrolysat; F Proteinhydrolysat, stärker konzentriert. 1 Asparaginsäure; 2 Glutaminsäure; 3 Serin; 4 Glykokoll; 5 Alanin, nicht radioaktiv; 6 Leucin; 7 Valin.

**Versuchsordnung.** Zu wachsenden Kulturen von *Fusarium lycopersici* (Stamm ETH 4406) gaben wir 1 mg markiertes Glykokoll pro Gramm Myzelgewicht. Das in den folgenden 24 h gebildete Kohlendioxyd wurde aufgefangen und seine Radioaktivität nach Überführung in Bariumcarbonat bestimmt<sup>6</sup>. Die Hydrolyse des mehrmals mit destilliertem Wasser gewaschenen und durch Extraktion mit einem siedenden Alkohol-Äther-Gemisch (3:1) gereinigten Myzels erfolgte mit 15 Teilen Salzsäure (6 n) in einer luftdicht verschlossenen Flasche bei 120°C während 12 h. Nach Entfernung der Pigmente und der Salzsäure wurde das Hydrolysat in Wasser aufgenommen und chromatographiert (WHATMAN Nr. 1, Phenol-Wasser-Ammoniak). Die radioaktiven Stellen des Chromatogramms wurden ausgeschnitten, eluiert und wieder chromatographiert. Die radioaktiven Aminosäuren konnten auf diese Weise gereinigt und durch

<sup>1</sup> K. LANG, in: *Künstliche Radioaktive Isotope in Physiologie, Diagnostik und Therapie* (Springer, Berlin, Göttingen und Heidelberg 1953), S. 222. – S. WEINHOUSE, in: *Symposium on Amino Acid Metabolism* (John Hopkins Press, Baltimore 1955), S. 637.

<sup>2</sup> G. EHRENSVÄRD, E. SPERBER, E. SALUSTE, L. REIO und R. STJERNHOLM, *J. biol. Chem.* 169, 759 (1947).

<sup>3</sup> T. WINNICK, J. MORING-CLAESON und D. M. GREENBERG, *J. biol. Chem.* 175, 127 (1948).

<sup>4</sup> D. M. GREENBERG und T. WINNICK, *J. biol. Chem.* 173, 199 (1948).

<sup>5</sup> H. A. BARKER, B. E. VOLCANI und B. P. CARDON, *J. biol. Chem.* 173, 803 (1948).

<sup>6</sup> B. D. SANWAL, *Phytopath. Z.* 25, 333 (1956).