

Tabelle II

Der Stickstoffgehalt in den Kontrollpflanzen und in den durch Methioninsulfoximin gehemmten Erbsenpflanzen. Alle Werte sind auf Trockengewicht berechnet

		Trockengewicht in %	Gesamt-N in %	Eiweiss-N in %	Nichteiweiss-N in %
Kontrolle . . . . .		22,10 $s = \pm 0,20$	4,26 $s = \pm 0,22$	3,25 $s = \pm 0,33$	1,02 $s = \pm 0,12$
MSI $10^{-3}$ M . . . . .		28,18 $s = \pm 0,20$	4,71 $s = \pm 0,37$	4,39 $s = \pm 0,32$	0,32 $s = \pm 0,25$
Differenz zwischen den Kontroll- und MSI- gehemmten Pflanzen	Kontrolle . . . . .	100	100	100	100
	MSI $10^{-3}$ M. . . . .	127,51	110,36	135,41	30,82
	Statistik . . . . .	FG = 4; $P < 0,01$	FG = 4; $P < 0,1$	FG = 4; $P < 0,01$	FG = 4; $P < 0,01$

FG = Freiheitsgrad ( $N+1-2$ ;  $N$  = Zahl der Bestimmungen).  $s$  = mittlere Abweichung der einzelnen Bestimmung.

Wurzeln und Blätter, die kürzer als bei den Kontrollpflanzen bleiben. Die Hemmung ist in der Konzentration  $10^{-6}$  MSI noch sichtbar.

Die freien Aminosäuren in Erbsen wurden nur soweit berücksichtigt, als sie zum Thema gehörten. Im übrigen wurden sie für das erwähnte Material bereits ausführlich beschrieben<sup>10,11</sup>.

Bei zweidimensionaler Papierchromatographie konnten wir zeigen, dass durch die durch MSI hervorgerufene Hemmung Veränderungen nur im qualitativen Bild der freien Aminosäuren der Wurzeln erfolgen. Mit steigender Hemmung sinkt der Gehalt an Asparagin bis zum Verschwinden (Konzentration  $10^{-4}$ ). In den Wurzeln der so gehemmten Pflanzen ist der Gehalt an freien Aminosäuren und Peptiden erniedrigt, manche Peptide fehlen sogar völlig. In den Blättern kamen keine Veränderungen des Aminosäurenbildes zur Beobachtung. Bei einer Konzentration  $10^{-2}$  bis  $10^{-3}$  M MSI verschwindet Asparagin in den ganzen Pflanzen und auch der Gehalt an verschiedenen Peptiden ist erniedrigt.

Jedoch waren in den sauren Hydrolysaten des Pflanzenmaterials nach Extraktion der freien Aminosäuren und Peptide keine Veränderungen gegenüber den Kontrollen festzustellen.

Der Stickstoffgehalt der Kontrollpflanzen und der mit MSI gehemmten Pflanzen ist in der Tabelle II angegeben.

Als erstes Keimungskriterium des Samens kann das Auftreten des freien Asparagins<sup>12,13</sup> und des Prolins<sup>14</sup> gelten. Bei der durch MSI hervorgerufenen Hemmung sinkt im Gegenteil die Menge des Asparagins stark oder verschwindet ganz. Die Hemmung der Keimung der Erbsensamen durch MSI ist durch eine Vermehrung des Trockengewichtes und des Eiweißstickstoffgehalts sowie durch eine Erniedrigung des Nichteiweißstickstoffgehalts und Verschwinden des Asparagins gekennzeichnet. Alle Befunde zeigen, dass eine steigende Konzentration von MSI eine steigende Hemmung der Proteolyse sowie Proteosynthese zur Folge hat. Würde die Wirkung des MSI nur in der Hemmung der Amidbildung bestehen, dann müsste der Ammoniakgehalt im Gewebe ansteigen, was

auch eine Vermehrung des Nichteiweißstickstoffgehaltes verursachte, was aber nicht der Fall ist: der Nichteiweißstickstoffgehalt sinkt ab. Die Menge des Eiweißstickstoffs im Trockengewicht der Versuchspflanzen ist um 35% höher als in den Kontrollpflanzen; was wiederum dafür spricht, dass das MSI eine Hemmung der Proteolyse hervorruft. Auf Grund unserer Befunde kommen wir zur Auffassung, dass es sich beim MSI um einen Hemmstoff der Proteolyse handelt.

J. KOLOUŠEK und V. JIRÁČEK

*Physiologisches Institut der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften und Biochemisches Institut der Karlsuniversität, Prag, 12. November 1958.*

Summary

The influence of the D,L-Methioninesulphoximine on the nitrogen metabolism of germinating seeds has been studied on peas. It has been shown that D,L-Methioninesulphoximine, even at low concentrations, inhibited the germination of seeds and produced a decrease of growth of the roots. The inhibited germinating seeds contained less non-protein-nitrogen and less asparagine than the control plants. On the basis of the experimental results, D,L-Methioninesulphoximine could be considered as an inhibitor of proteolysis.

Die Serumphosphatasen der Ratte  
in verschiedenen Lebensaltern

Die alkalische Blut-Serumphosphatase normaler Tiere stammt hauptsächlich aus den Knochen, die saure Serumphosphatase dagegen grösstenteils aus Leber, Milz, Nieren und nur zum kleinern Teil aus den Knochen<sup>1</sup>. Beim Menschen liegen die Aktivitäten beider Serumphosphatasen im Kindesalter hoch und nehmen zur Zeit der Pubertät ab<sup>2</sup>. Gleichzeitig steigt die Ausscheidung der sauren Phosphate im Harn an<sup>3</sup>. Die Schwankungen der alkalischen Phosphataseaktivität werden den Veränderungen der osteoblastischen Tätigkeit zugeschrieben<sup>2</sup>. Diese beim

<sup>10</sup> J. K. MIETTINEN, Ann. Acad. Sci. fenn. [A.S.], 1955, 520.

<sup>11</sup> A. J. VIRTANEN, A. M. BERG und S. KARI, Acta chem. scand. 7, 1423 (1953).

<sup>12</sup> J. BONNER, Plant Biochemistry, 1. Aufl. (Academic Press Inc., New York 1950), p. 293.

<sup>13</sup> D. N. PRJANIŠNIKOFF, zitiert nach <sup>12</sup>.

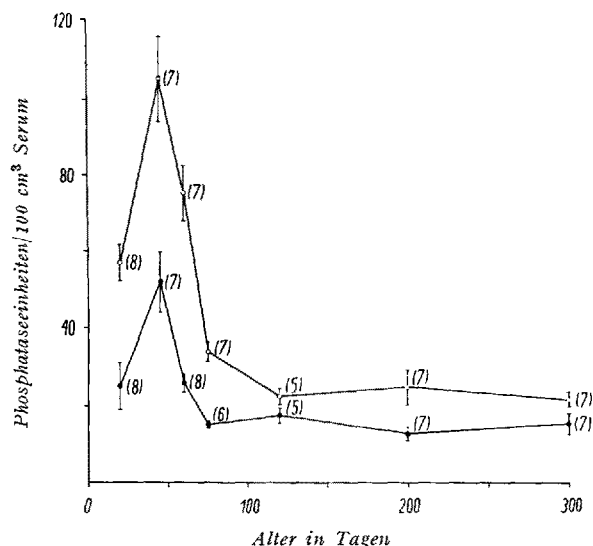
<sup>14</sup> E. NĚMCOVÁ-FABIÁNOVÁ und J. KOLOUŠEK, Sborník čsl. akad. zeměděl. věd, Rostlinná výroba 29, 155 (1956).

<sup>1</sup> A. B. GUTMAN, J. Amer. med. Assoc. 120, 1112 (1942).

<sup>2</sup> L. C. CLARK, E. I. BECK und N. W. SHOCK, J. Gerontol. 6, 7 (1951). – R. EMMRICH und H. SCHEFFLER, Z. Altersforschung 6, 156 (1952).

<sup>3</sup> D. KNORR, Klin. Wschr. 36, 760 (1958).

Menschen beobachteten Aktivitätsveränderungen sollten bei der Ratte, einem Tier mit lebenslänglichem Wachstum, untersucht werden. So wurden 1. die Serumphosphataseaktivitäten bei 52 männlichen Albinoratten im Alter von 20, 45, 60, 75, 120, 200 und 300 Tagen, 2. die Körpergewichtszunahme dieser Tiere und 3. der Einfluss der Kastration auf die Serumphosphatasen geprüft. Bei den etwa 18 h fastenden Tieren sind die Phosphatasen nach der HUGGINS-TALALAYschen Methode<sup>4</sup> wie bereits beschrieben bestimmt worden<sup>5</sup>. Am gleichen Tag wurden jeweils Ratten verschiedener Altersgruppen in den Versuch genommen. Um jahreszeitliche Einflüsse auszuschalten, wurden alle Beobachtungen im Monat Mai durchgeführt.



Die Aktivität der Serumphosphatasen männlicher Ratten in Abhängigkeit vom Alter. ○ = alkalische, ● = saure Serumphosphatase (Mittelwerte). I = Standardfehler des Mittelwertes. In Klammern Anzahl der Tiere

**Phosphataseaktivität und Lebensalter.** Die Aktivitäten der alkalischen und sauren Phosphatase (Abb.) wachen im allgemeinen parallel bis zu einem Maximum im Lebensalter von 45 Tagen an, um danach wieder abzunehmen. Die statistische Auswertung wurde durch den Vergleich des Durchschnittswertes der Altersgruppe von 45 Tagen (höchste Phosphatasenaktivität) mit den durchschnittlichen Werten von allen übrigen Altersgruppen unter Anwendung des «t»-Testes durchgeführt. Diejenigen Einzelbeobachtungen (weniger als 4%), bei denen die quadratische Abweichung erheblich mehr als die Hälfte der Summe aller Quadratabweichungen betrug, wurden nach SEALEY und SONDERN<sup>6</sup> als aberrant angesehen. Die Abbildung enthält diese Werte nicht. Die Aktivitätszunahme der alkalischen Phosphatase vom 20. bis zum 45. Tag ist signifikant ( $p < 0,01$ ). Vom 45. bis zum 60. Tag nimmt sie wahrscheinlich signifikant ( $p < 0,05$ ) und bis zum 75. Tag stark signifikant ( $p < 0,001$ ) ab. Die Aktivitätswerte stabilisieren sich nach dem 120. Tag und zeigen hierauf keine signifikanten Veränderungen mehr bis zum 300. Alterstag. Grundsätzlich gilt dasselbe für die saure Serumphosphatase. Sie nimmt vom 20. Tag bis zum 45. Tag auch signifikant zu ( $p < 0,02$ ), sinkt dann bis zum 60. Tag

hoch signifikant ab ( $p < 0,001$ ), um nach Ablauf einer 75tägigen Lebensdauer praktisch unverändert zu bleiben. Zur Zeit des Aktivitätsmaximums ist die Variabilität für beide Phosphatasen am größten; die Ursache dafür könnte vielleicht darin liegen, dass die verschiedenen Tiere nicht in genau derselben Zeit die höchste Phosphataseaktivität erreichen.

**Phosphataseaktivität und Zuwachsrates.** Die Zuwachsrates unserer Versuchstiere zeigt gewöhnlich im Alter von 75 Tagen maximale Werte und stimmt nicht mit der Zeit der höchsten Phosphataseaktivität überein. Diesbezüglich sind weitere Untersuchungen notwendig, da die Körpergewichtszunahme nicht als zuverlässiges Kriterium für das Wachstum des Skelettes dienen kann.

**Phosphataseaktivitäten und Keimdrüsen.** Nachdem die Abnahme der Phosphataseaktivitäten in die Zeit der sexuellen Reifung der Ratte fällt, wurden die Serumphosphatasen bei kastrierten und normalen männlichen, etwa 100 Tage alten Ratten – also zur Zeit, in welcher bei unseren Tieren die Aktivitäten der sauren Serumphosphatase schon stabilisiert sind – bestimmt. Sechs Normalratten zeigten eine saure Phosphataseaktivität von  $25,5 \pm 3,7$  Einheiten (Standardfehler des Mittelwertes). Bei 8 Ratten, die 40 Tage vorher kastriert wurden, stieg die saure Phosphataseaktivität auf  $46,0 \pm 2,7$  Einheiten (hoch signifikant;  $p < 0,001$ ) und erreichte damit fast die maximalen Werte unserer Tiere. Interessanterweise wurde die alkalische Serumphosphatase durch die Kastration nicht beeinflusst. Zur weiteren Klärung der Frage sollte die Kastration in verschiedenen Lebensaltern unternommen werden.

Für die technische Mithilfe sind wir Herrn GLUŠČEVIĆ besonders verpflichtet.

L. RABADJIJA, M. VRANIĆ,  
N. ALLEGRETTI und N. POKRAJAC

Physiologisches Institut, Medizinische Fakultät der Universität Zagreb (Jugoslawien), 21. Oktober 1958.

### Summary

The serum alkaline and acid phosphatases were examined in male rats between the ages of 20 and 300 days, using the method of HUGGINS and TALALAY<sup>4</sup>. The activities of acid and alkaline phosphatases increase significantly to the age of 45 days, followed by a highly significant decrease up to 120th day for alkaline and to 75th day for acid phosphatase. After castration, highly significant increases in the acid, but no changes in the alkaline serum phosphatase were observed.

### Comparison of Choleric Effects of CYN and Na-Dehydrocholate

1,4 dicaffeylquinic acid (Cynarine or CYN), originally extracted from the large basal leaves of artichoke and later also prepared by synthesis<sup>1</sup>, was found to be the active principle of artichoke (PREZIOSI *et al.*<sup>2-4</sup>).

<sup>1</sup> L. PANIZZI, M. L. SCARPATI, and R. SCARPATI, Gazz. chim. ital. **84**, 806 (1954).

<sup>2</sup> P. PREZIOSI and B. LOSCALZO, Fistoterapia **27**, 666, 690 (1956).

<sup>3</sup> P. PREZIOSI and B. LOSCALZO, Arch. Ital. Sci. Farmacol. **7**, 244 (1957).

<sup>4</sup> P. PREZIOSI and B. LOSCALZO, Arch. int. Pharmacodyn. **117**, 63 (1958).

<sup>4</sup> CH. HUGGINS und P. TALALAY, J. biol. Chem. **159**, 399 (1945). – K. LINHARDT und K. WALTER, Hoppe Seyler's Z. **289**, 245 (1952).

<sup>5</sup> M. VRANIĆ, N. ALLEGRETTI und L. RABADJIJA, Hoppe Seyler's Z. **314**, 1 (1959).

<sup>6</sup> J. L. SEALEY und C. W. SONDERN, Endocrinology **26**, 813 (1940).