

intestine decreases postnatally, while other enzyme activities increase. At the present no explanation for this phenomenon can be offered.

Finally it might be assumed that continued lactose feeding would prevent the fall in  $\beta$ -galactosidase activity. It is evident from Table III that activity was higher in the proximal and distal part of the intestine in rats having access to a lactose diet than in rats fed with a diet containing, instead of lactose, a corresponding amount of glucose and galactose. Following adrenalectomy on day 15 or feeding the lactose diet from day 14 prevents the usual postnatal change in enzyme distribution along the intestine. Thus the proximo-distal gradient is preserved while in the control animals activity becomes the same proximally and distally. It thus appears that the decrease of  $\beta$ -galactosidase activity in the small intestine during the postnatal development is influenced at least by two factors. One seems to be the adrenals, the other the content of lactose in the diet. The same seems to apply to the development of glucose absorption in the small intestine of the rat (FALTOVÁ et al.<sup>17</sup>). The effect of lactose in the diet on the  $\beta$ -galactosidase activity raises the question whether the activity of this enzyme during this period of post-

natal development is not regulated by the substrate in the diet, as was described, for instance, for liver tryptophanpyrolase in adult animals (CHYTIL<sup>18</sup>).

**Zusammenfassung.** Die  $\beta$ -Galaktosidaseaktivität im Rattendünndarm nimmt nachgeburtlich zwischen dem 15. und 20. Tag ab. Wird am 15. Tag adrenalektomiert oder wird Laktosediät verabreicht, so erhöht sich die  $\beta$ -Galaktosidaseaktivität am 19. Tag um den mehrfachen Betrag als bei den Kontrollratten.

O. KOLDOVSKÝ,  
F. CHYTIL, and H. MUZYČENKOVÁ

*Institute of Physiology, Czechoslovak Academy of Sciences, Praha-Podolí (Czechoslovakia), October 7, 1963.*

<sup>17</sup> E. FALTOVÁ, P. HAHN, and O. KOLDOVSKÝ, in Proc. Vth Nat. Congr. Czechoslov. Physiol. Soc. 1961 (Publ. House Czechoslov. Ac. Sci. 1963), p. 128.

<sup>18</sup> F. CHYTIL, Coll. Czech. Chem. Comm. 26, 1393 (1961).

## Über ein gebundenes Gibberellin aus *Phaseolus coccineus* L.<sup>1</sup>

Unreife, reife und gekeimte Samen sowie grüne Fruchtschalen (Hülsen) von *Phaseolus coccineus* L. var. *coccineus* cv. «Preisgewinner» wurden auf Gibberelline untersucht. Hierzu wurden die angesäuerten, wässrigen Konzentrate der methanolischen Auszüge von jeweils 1 kg Pflanzenmaterial mit Essigester sowie anschliessend mit *n*-Butanol extrahiert und deren Rückstände dünnenschichtchromatographisch untersucht<sup>1</sup>. Dabei diente diese Methode nicht nur zur Identifizierung bzw. Charakterisierung der vorkommenden Gibberelline, sondern auch zur mikropräparativen Reinigung und Gewinnung der nachgewiesenen Substanzen für die biologische Testung. Für den Nachweis der Gibberellinwirksamkeit der so gewonnenen, dünnenschichtchromatographisch einheitlichen Präparate wurde der Zwergerbsentest<sup>2</sup> herangezogen.

Im einzelnen liessen sich ausser den für unreife Bohnensamen bereits beschriebenen<sup>3</sup> Gibberellinen A<sub>1</sub>, A<sub>5</sub>, A<sub>6</sub> und A<sub>8</sub> weitere in Tabelle I angeführte gibberellinartige Substanzen nachweisen. Hierbei wurden nur solche berücksichtigt, die sowohl biologische Wirksamkeit als auch eine für Gibberelline charakteristische Nachweisfluoreszenz zeigten.

Tabelle I. In *Phaseolus coccineus* L. nachgewiesene «Gibberelline»

Pflanzenteil	Extrakt	Nachgewiesene «Gibberelline» <sup>4</sup>
Hülsen	Essigester	A <sub>1</sub> , A <sub>3</sub> , A <sub>5</sub> , A <sub>6</sub> , A <sub>8</sub> , «Phaseolus $\beta$ , $\gamma$ , $\delta$ »
Unreife Samen	<i>n</i> -Butanol	A <sub>8</sub> , «Phaseolus $\varepsilon$ »
	Essigester	A <sub>1</sub> , A <sub>5</sub> , A <sub>6</sub> , A <sub>8</sub> , «Phaseolus $\alpha$ , $\beta$ »
Reife Samen	<i>n</i> -Butanol	A <sub>8</sub> , «Phaseolus $\beta$ »
Gekeimte Samen	Essigester	Kein Gibberellin nachweisbar
	<i>n</i> -Butanol	«Phaseolus $\varepsilon$ »
	Essigester	A <sub>1</sub> , A <sub>5</sub> , A <sub>6</sub> , A <sub>8</sub> , «Phaseolus $\alpha$ , $\beta$ »

Die mit bekannten Gibberellinen nicht identischen Substanzen «Phaseolus  $\alpha$ - $\varepsilon$ » sind durch die in Tabelle II angeführten R<sub>standard</sub>-Werte charakterisiert. Während «Phaseolus  $\alpha$ » im Dünnschichtchromatogramm mit allen geprüften Entwicklungsgemischen zwischen A<sub>8</sub> und A<sub>3</sub> nachzuweisen ist, besitzen alle übrigen neuen Substanzen kleinere R<sub>f</sub>-Werte als A<sub>8</sub>.

Arbeiten zur präparativen Isolierung der nachgewiesenen Gibberelline sind in Angriff genommen worden. Nach ersten Ergebnissen, die bei Aufarbeitung von 770 kg grünen Hülsen gewonnen wurden, handelt es sich bei «Phaseolus  $\varepsilon$ » um ein «gebundenes Gibberellin» mit eindeutig gesicherter biologischer Wirksamkeit. Es verhält sich polar (vgl. Tabelle II) und bleibt bei der Dünnschichtelektrophorese<sup>5</sup>, im Gegensatz zu den bekannten, anodisch wandernden Gibberellinen, am Startpunkt zurück, was auf seinen neutralen Charakter hinweist. Nach Hydrolyse mit 2 n H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (5 h unter Rückfluss) liess sich

<sup>1</sup> Gibberelline, II. Mitteilung. – I. Mitt. siehe G. SEMBDNER, R. GROSS und K. SCHREIBER, Exper. 18, 584 (1962).

<sup>2</sup> B. O. PHINNEY und C. A. WEST, *Handbuch der Pflanzenphysiologie* (herausgegeben von W. RUHLAND, Berlin, Göttingen, Heidelberg 1961), Bd. 14, p. 1185. – R. KNAPP, *Moderne Methoden der Pflanzenanalyse* (herausgegeben von H. F. LINSKENS und M. V. TRACEY, Berlin, Göttingen, Heidelberg 1963), Bd. 6, p. 203. – Als Versuchspflanzen dienen *Pisum sativum* L. s.l. ssp. *sativum* convar. *sativum* var. *nanoanglicum* Körn. cv. «Monopol» und var. *cimitari* Alef. s.l. cv. «Meteor».

<sup>3</sup> C. A. WEST und B. O. PHINNEY, J. Amer. chem. Soc. 81, 2424 (1959). – J. MACMILLAN, J. C. SEATON und P. J. SUTER, Tetrahedron 11, 60 (1960); 18, 349 (1962).

<sup>4</sup> Als vorläufige Bezeichnung für die unbekannten, gibberellinwirksamen Substanzen werden bis zu ihrer endgültigen Charakterisierung, die erst nach präparativer Isolierung möglich ist, griechische Buchstaben in Verbindung mit dem jeweiligen Gattungsnamen verwendet.

<sup>5</sup> Kieselgel-G, Puffer nach Theorell-Stenhagen, 150 V, 10–20 mA, pH 7,0 bzw. pH 12,0. Über diese und weitere Ergebnisse der Dünnschichtelektrophorese auf dem Gibberellingebiet wird demnächst an anderer Stelle ausführlich berichtet.

Tabelle II. Dünnschichtchromatographisches Verhalten der in *Phaseolus coccineus* L. nachgewiesenen neuen Gibberelline «Phaseolus  $\alpha$ - $\epsilon$ »

Substanz	Entwicklungs-gemisch*	R <sub>St.</sub> (bez. auf R <sub>f</sub> A <sub>3</sub> = 1,00)
$\alpha$	I	0,82
$\beta$	II	0,30
$\gamma$	II	0,24 <sup>b</sup>
$\delta$	II	0,11
$\epsilon$	I, II	0,00
	III	0,38

\* I: Chloroform/Essigester/Eisessig (60:40:5), R<sub>St.</sub> A<sub>8</sub> = 0,50; II: Chloroform/Essigester/Eisessig (70:30:5), R<sub>St.</sub> A<sub>8</sub> = 0,50; III: n-Propanol/5 n NH<sub>3</sub> (5:1), R<sub>St.</sub> A<sub>8</sub> = 0,70. Mit I 4 h, mit III 12 h aufsteigende und mit II 15 h aufsteigend durchlaufende Entwicklung bei 20°C an Kieselgel-G (Merck); vgl.<sup>1</sup>. Ausser den angegebenen wurden weitere Entwicklungsgemische zur Charakterisierung der Substanzen herangezogen.

<sup>b</sup> Beim H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-Nachweis gelbe Fluoreszenz.

eine im Vergleich zu « $\epsilon$ » weniger polare Substanz mit Essigester extrahieren, die bei H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-Detektion ähnlich wie die herkömmlichen Gibberelline fluoresziert. Bei Dünnschichtchromatographie mit Gemisch I bzw. III (vgl. Tabelle II) wurde R<sub>St.</sub> 0,70 bzw. 0,85 festgestellt. Dieses Spaltprodukt zeigt ein gleiches dünnschichtelektrophoretisches Verhalten<sup>5</sup> wie die bekannten Gibberelline (anodische Wanderung). Im Hydrolysat von «*Phaseolus  $\epsilon$* » (wässrige Phase nach Essigester-Ausschüttung) konnten dünnschichtchromatographisch zusätzlich folgende Substanzen nachgewiesen werden: (1) mindestens 2 mit Anilinhydrogenphthalat positiv reagierende Verbindungen, von denen eine in mehreren Entwicklungsgemischen<sup>6,7</sup> mit Glucose übereinstimmt und die andere stets einen kleineren R<sub>f</sub>-Wert aufwies; (2) mindestens 3 ninhydrinpositive Substanzen<sup>8</sup>, deren Identifizierung noch aussteht.

Zusammenfassend sei festgestellt, dass in *Phaseolus coccineus* L. neben Gibberellin A<sub>1</sub>, A<sub>5</sub>, A<sub>6</sub> und A<sub>8</sub><sup>3</sup> zu-

sätzlich A<sub>3</sub> sowie 5 neue gibberellinwirksame Substanzen, «*Phaseolus  $\alpha$ - $\epsilon$* », aufgefunden wurden. Nach bisher vorliegenden Ergebnissen handelt es sich zumindest bei « $\epsilon$ » um ein an Kohlenhydrate und ninhydrinpositive Komponenten gebundenes Gibberellin. Ein Vorkommen von Gibberellin A<sub>3</sub> in höheren Pflanzen ist unseres Wissens bisher nicht sicher festgestellt worden. Hingegen wurden stark polare, gibberellinwirksame Substanzen sowohl in Kartoffelknollen als auch in Bohnen- und Salatpflanzen bereits nachgewiesen<sup>8,9</sup>. Über die Bildung eines Gibberellinsäureglucosids *in vitro* ist gleichfalls berichtet worden<sup>10</sup>. Die Existenz gebundener Gibberelline wurde gelegentlich diskutiert<sup>8,11</sup>.

**Summary.** In addition to gibberellins A<sub>1</sub>, A<sub>5</sub>, A<sub>6</sub> and A<sub>8</sub> previously isolated from *Phaseolus coccineus* L., the occurrence of gibberellin A<sub>3</sub> and of 5 new gibberellin-like substances «*Phaseolus  $\alpha$ - $\epsilon$* » was demonstrated. «*Phaseolus  $\epsilon$* » was proved to be a gibberellin bound to carbohydrates and ninhydrin-positive compounds.

G. SEMBDNER, G. SCHNEIDER,  
J. WEILAND und K. SCHREIBER

Deutsche Akademie der Wissenschaften zu Berlin,  
Institut für Kulturpflanzenforschung, Gatersleben,  
Kreis Aschersleben (Deutschland), 18. Oktober 1963.

<sup>6</sup> E. STAHL, *Dünnschicht-Chromatographie*. Ein Laboratoriumshandbuch (Berlin, Göttingen, Heidelberg 1962).

<sup>7</sup> F. MICHEEL und O. BERENDES, Mikrochim. Acta (Wien) 1963, 519. – V. PREY, H. SCHERZ und E. BANCHER, Mikrochim. Acta (Wien) 1963, 567.

<sup>8</sup> F. HAYASHI, S. BLUMENTHAL-GOLDSCHMIDT und L. RAPPAPORT, Plant Physiol. 37, 774 (1962).

<sup>9</sup> A. W. WHEELER, J. exp. Bot. (London) 13, 36 (1962).

<sup>10</sup> Y. MURAKAMI, Bot. Mag. (Tokyo) 74, 424 (1961).  
<sup>11</sup> L. LAZER, W. E. BAUMGARTNER und R. V. DAHLSTROM, J. agric. Food Chem. 9, 24 (1961). – A. J. McCOMB, Nature (London) 192, 575 (1961).

### The Effects of Intraperitoneal Adaptation to Histamine on the Anaphylactic Shock in the Guinea-Pig

In a previous paper dealing with the influence of inhalatory adaptation to histamine (H) on anaphylactic shock, we found histamine-adapted animals to show increased resistance only when they had been subjected to an additional exposure to histamine aerosols immediately before the lethal H dose or shock-producing dose of antigen was given<sup>1</sup>. On the other hand, it is known that adaptation to H produced by its inhalatory application is first of all a kind of local adaptation of the lungs<sup>2</sup>. In this paper we present the data concerning the influence of intraperitoneal adaptation to H on anaphylactic shock in guinea-pigs.

**Methods.** Experiments were made on male guinea-pigs 300–420 g in weight. Animals were adapted to H for 8 weeks by daily intraperitoneal injections of 0.1 mg histamine dihydrochloride. Before and after adaptation guinea-pigs were tested one by one in histamine aerosols

in order to obtain the curve of susceptibility to H. After adaptation had been produced, we calculated adaptation capacity by a method described elsewhere<sup>3</sup>. D-30 aerosol generator was used to produce H aerosols. Sensitization of animals and the anaphylactic shock were produced by HERBERTS's method<sup>4</sup> with hen's egg albumin.

**Results.** Sensibility to H before and after adaptation is presented in the Figure. Adaptation capacity is for 0.5% of H – 3.0, 0.8% of H – 2.4, 1.6% of H – 1.2. These values show that animals, after their adaptation by intraperitoneal injections of H, are 3 times less sensitive to aerosol

<sup>1</sup> C. MAŚLIŃSKI, S. M. MAŚLIŃSKI and HALINA WEINRAUDER, Exper. 19, 258 (1963).  
<sup>2</sup> C. MAŚLIŃSKI and J. M. WIŚNIEWSKA, Post Hig. Med. Dosw., 17, 571 (1963).  
<sup>3</sup> C. MAŚLIŃSKI, J. Physiol. (P), 55, 298 (1963).  
<sup>4</sup> G. HERBERTS, Acta soc. med. Upsal. 60, 246 (1955).