

developed following obstruction of the common bile duct depends upon the interrelationship of one variable factor (the rate of biliary secretion) with another (the resistance to flow of the biliary membrane).

The results of these experiments suggest a biliary tree with two components. The first, an elastic component, distending in response to pressure in a predictable manner, but which attains maximal distension at around 16 cm bile pressure. The second component consisting of potential holes, which become patent at about 12 cm bile pressure, enlarge in response to increasing pressure, and reach a maximal effective area at about 50 cm bile pressure.

**Résumé.** L'écoulement reflux, la capacité et la résistance des voies biliaires du rat ont été mesurés à différentes pressions. On a pu démontrer: (1) que les ramifications des voies biliaires ont une composante reflux et une composante dilatable; (2) que la régurgitation de bile ne se produit pas à des pressions normales; (3) que la «pression sécrétrice maximum» dépend du débit de la sécrétion et de la résistance de la membrane.

G. BARBER-RILEY

*Department of Physiology, University of Malaya, Kuala Lumpur (Malaysia), March 4, 1965.*

### Effet du 5,6-diméthyl-benzimidazolyl-cobamide-coenzyme sur l'incorporation des acides aminés dans les protéines

La présente note décrit les conditions expérimentales qui nous ont permis de mettre en évidence une stimulation par le 5,6-Diméthyl-benzimidazolyl-Cobamide-Coenzyme (DBC-Coenzyme) de l'incorporation des acides aminés, d'une part dans les protéines de coupes de foie provenant de rats carencés ou non en vitamine B<sub>12</sub> (cyanocobalamine) et incubées in vitro, d'autre part dans les protéines plasmatiques du sang circulant chez le rat non carencé.

**Matériel et méthodes.** Nous avons utilisé des rats Wistar mâles, d'environ 150 g provenant d'un élevage homogène. En effet (travaux non publiés) des rats de même sexe, de

même poids, provenant d'un élevage homogène, après un jeûne d'au moins 24 h placés dans des conditions expérimentales identiques, ont en général un comportement analogue: ainsi dans une même série d'expériences, la dispersion des résultats concernant l'incorporation des acides aminés, dans les coupes de foie ou dans les protéines sanguines des animaux, est très faible.

Les rats carencés en cyanocobalamine ont été préparés en les soumettant pendant plusieurs semaines avant l'expérience à un régime dépourvu de cette vitamine<sup>1</sup>. Le DBC-Coenzyme est la même préparation que celle utilisée lors d'un travail qui a fait l'objet d'une publication antérieure<sup>2</sup>, les autres détails techniques sont donnés dans les légendes des Tableaux.

**Résultats.** L'examen des Tableaux I et II montre que l'incorporation des acides aminés dans les protéines des coupes de foie d'animaux carencés en cyanocobalamine est nettement inférieure à celle qui a lieu dans les coupes de foie d'animaux non carencés.

L'administration de cyanocobalamine 16 h avant l'expérience, aux animaux carencés, semble ramener l'incorporation des acides aminés à un niveau voisin de celui que nous trouvons pour les animaux non carencés. La cyanocobalamine n'a que peu d'effet si elle est seulement

Tableau I. Incorporation de leucine <sup>14</sup>C dans les protéines de coupes de foie d'animaux carencés (les valeurs sont données en c.p.m. pour 10 mg de coupe)

Série	Expériences	Témoins	Cyano-cobalamine	DBC-Coenzyme
I	a	770	1240	1530
	b	690	1210	1720
	c	350	670	840
II	a	690	860	1590
	b	540	760	1710
	c	590	750	910

**Série I.** Les animaux ont reçu 16 h avant l'expérience 250 µg de cyanocobalamine ou de DBC-Coenzyme pour 100 g de poids d'animal, par sondage gastrique. Les témoins reçoivent une solution de sérum physiologique.

**Série II.** La cyanocobalamine et le DBC-Coenzyme sont ajoutés à la concentration de  $8 \cdot 10^{-4} M$  au milieu d'incubation. Chaque expérience a, b, c, correspond à une manipulation différente. Les coupes faites à partir d'animaux à jeun depuis 24 h sont incubées à raison de 150 mg de poids humide (pesées à la balance de torsion après essorage sur papier-filtre) pour 2 ml de milieu de base: solution de EARLE<sup>13</sup> sans calcium, contenant 2 % de glucose, 0,25 µc/ml de L-leucine uniformément marquée au <sup>14</sup>C (radioactivité spécifique 630 µc/mg) et 50 mµM de chacun des 19 autres acides aminés communs, non radioactifs. Incubation à 37°C pendant 30 min en aérobiose. L'incubation est arrêtée par addition d'acide trichloracétique, puis les échantillons sont décontaminés et leur radioactivité déterminée<sup>2</sup>.

Tableau II. Incorporation de leucine <sup>14</sup>C dans les protéines de coupes de foie d'animaux non carencés (les valeurs sont données en c.p.m. pour 10 mg de coupe)

Série	Expériences	Témoins	Cyano-cobalamine	DBC-Coenzyme
I	a	1450	1420	2070
	b	1010	1070	1320
	c	1020	1060	1580
II	a	1240	1280	1510
	b	1350	1320	1630
	c	1110	1050	1470

Conditions: voir Tableau I.

<sup>1</sup> W. G. JAFFE et C. A. ELVEHJEM, J. biol. Chem. 287, 169 (1947).

<sup>2</sup> F. MEYER et J. P. ZALTA, C. r. hebdom. Séanc. Acad. Sci., Paris 260, 291 (1965).

ajoutée au milieu d'incubation des coupes de foie d'animaux carencés. Le DBC-Coenzyme non seulement rétablit, mais stimule cette incorporation au-delà de son niveau normal, qu'il soit administré peu de temps avant l'expérience ou simplement ajouté au milieu d'incubation. Avec les coupes de foie d'animaux non carencés alors que la cyanocobalamine n'a jamais aucun effet sur l'incorporation des acides aminés dans les protéines, le DBC-Coenzyme produit une stimulation nette, qu'il soit ingéré avant l'expérience ou ajouté au milieu d'incubation. D'autre part le DBC-Coenzyme administré en injection intrapéritonéale à la dose de 250  $\mu\text{g}$  pour 100 g de poids, 2 h avant l'expérience, à des rats à jeun depuis au moins 36 h produit une stimulation de l'incorporation, dans les protéines plasmatiques, d'acides aminés injectés intrapéritonéalement. Cette stimulation d'amplitude variable est reproductible dans environ 50% des expériences. Il faut souligner que dans les expériences négatives, l'incorporation des acides aminés dans les protéines plasmatiques des rats traités n'est jamais inférieure à celle obtenue avec les rats témoins.

**Conclusion.** Ces résultats confirment et étendent nos observations faites antérieurement sur les réticulocytes<sup>2</sup>. Des travaux<sup>2-12</sup>, dont les résultats sont souvent contradictoires, ont été faits sur le rôle des cobalamines et de leurs coenzymes dans la synthèse des protéines. Il est difficile ici de discuter des raisons possibles de ces divergences. Cependant, il nous semble établi que, bien que l'étude des conditions et du mécanisme d'action du DBC-Coenzyme nécessite d'être développée, ce coenzyme peut stimuler l'incorporation des acides aminés dans les protéines de divers types cellulaires.

**Zusammenfassung.** Der Einbau von Aminosäuren wird durch DBC-Coenzym in vivo und in vitro beschleunigt. Mit Cyanocobalamin ist der Effekt nur an avitaminotischen Ratten zu beobachten. Die Resultate bestätigen die Hypothese, wonach der Cofaktor B<sub>12</sub> an der Regulation der Eiweiss-Synthese mitwirkt.

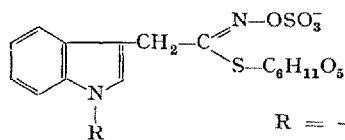
J. P. ZALTA et F. MEYER

Laboratoire de Biochimie, Faculté des Sciences de l'Université de Toulouse, et Département de Biochimie, Faculté des Sciences d'Orsay, (France), le 5 février 1965.

- <sup>3</sup> S. R. WAGLE, R. MEHTA et B. C. JOHNSON, J. biol. Chem. 230, 137 (1958); 233, 619 (1958).
- <sup>4</sup> R. MEHTA, S. R. WAGLE et B. C. JOHNSON, Biochim. biophys. Acta 35, 286 (1959).
- <sup>5</sup> M. J. FRASER et Es. HOLDSWORTH, Nature 183, 519 (1959).
- <sup>6</sup> H. R. V. ARNSTEIN et J. L. SIMKIN, Nature 183, 523 (1959).
- <sup>7</sup> M. WEBER, W. OSTROWSKI et B. STACHURSKA, Bull. Acad. pol. Sci. Cl. II Sér. Sci. biol. 11, 13 (1963).
- <sup>8</sup> L. YA ARESHKINA, L. S. EUTSEVA, E. P. SKOROBOGATOVA et I. G. EHUKOJA, Dokl. Akad. Nauk SSSR 148, 704 (1963).
- <sup>9</sup> H. R. V. ARNSTEIN et A. M. WHITE, Biochim. biophys. Acta 36, 286 (1959).
- <sup>10</sup> G. R. SEAMAN, Biochim. biophys. Acta 55, 889 (1962).
- <sup>11</sup> L. JAENICKE, Ann. Rev. Biochem. 33, 287 (1964).
- <sup>12</sup> A. DEVI et N. SARKAR, Biochim. biophys. Acta 68, 254 (1963).
- <sup>13</sup> W. R. EARLE, J. Nat. Cancer Inst. 4, 165 (1943).

## Zur Verbreitung von Glucobrassicin und Neoglucobrassicin in höheren Pflanzen

Die Existenz von Indolglucosinolaten (Indolsenfolglucosiden) in höheren Pflanzen wurde zum ersten Male von GMELIN und VIRTANEN<sup>1</sup> nachgewiesen. Nach der Gattung, aus der die erste Isolierung erfolgte, wurden sie Glucobrassicin (GLUC) bzw. Neoglucobrassicin (NEOGLUC) benannt<sup>1,2</sup>.



R = -H = Glucobrassicin  
R' = -OCH<sub>3</sub> = Neoglucobrassicin

Bei beiden Verbindungen handelt es sich um Derivate des Tryptophans<sup>3-5</sup>. Ihre physiologische Bedeutung liegt einerseits darin, dass aus ihrer enzymatischen Spaltung mit Myrosinase, einem in Cruciferen und anderen Pflanzenfamilien weit verbreiteten Enzym oder Enzymkomplex, Rhodanidionen entstehen, denen eine goitrogene Wirkung zugeschrieben werden muss<sup>6,7</sup>; zum andern in der Möglichkeit, dass es sich bei diesen Indolglucosinolaten um Vorstufen bzw. eine gebundene Form der Indoloxine in den entsprechenden Pflanzenarten handeln könnte. Für letztere Möglichkeit spricht zunächst, dass bei der enzymatischen Spaltung in vitro neben Rhodanid,

Glucose und anderen Indolderivaten auch Indolacetonitril (IAN) und Indolylessigsäure (IES) nachgewiesen werden können<sup>1</sup>. Allerdings liessen sich auch bei hoher C<sup>14</sup>-Markierung des GLUC in vivo – innerhalb der Empfindlichkeit der Tracermethodik – keine markierten Indoloxine nachweisen<sup>4,5</sup>.

GLUC und NEOGLUC sind in wechselnden Mengenanteilen und unterschiedlichen Relationen innerhalb der Cruciferen weit verbreitet<sup>8</sup>. Zusätzlich zu den bekannten Vorkommen konnte die Existenz beider Verbindungen durch uns in *Sinapis alba* L. und *Lepidium sativum* L. nachgewiesen werden. Bei dieser ubiquitären Verbreitung innerhalb der Familie der Cruciferen lag es nahe, auch über diese Familie hinaus Pflanzengruppen zu untersuchen, für die entweder das Vorkommen von Senfölgucosiden

- <sup>1</sup> R. GMELIN und A. I. VIRTANEN, Ann. Acad. Sci. Fennicae, Ser. A. II. Chemica 107.
- <sup>2</sup> R. GMELIN und A. I. VIRTANEN, Acta chem. scand. 16, 1378 (1962).
- <sup>3</sup> M. KUTACEK, Z. PROCHAZKA und K. VERES, Nature 194, 393 (1962).
- <sup>4</sup> H. SCHRAUDOLF und F. BERGMANN, in Vorbereitung.
- <sup>5</sup> H. SCHRAUDOLF, Phytochemistry, im Druck (1965).
- <sup>6</sup> P. LANGER und N. MICHAJLOVSKIJ, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 312, 31 (1958).
- <sup>7</sup> A. I. VIRTANEN, Final Report on Investigation on the Alleged Goitrogenic Properties of Milk (Helsinki 1963).
- <sup>8</sup> M. KUTACEK, Fiziologiya Rast. 11, 867 (1964).