

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 μ 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 réticulocytes². Des travaux²⁻¹², 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 B₁₂ an der Regulation der Eiweiss-Synthese mitwirkt.

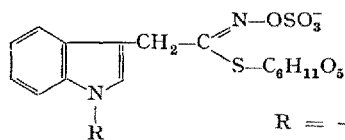
J. P. ZALTA et F. MEYER

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.

- ³ S. R. WAGLE, R. MEHTA et B. C. JOHNSON, *J. biol. Chem.* **230**, 137 (1958); **233**, 619 (1958).
- ⁴ R. MEHTA, S. R. WAGLE et B. C. JOHNSON, *Biochim. biophys. Acta* **35**, 286 (1959).
- ⁵ M. J. FRASER et Es. HOLDSWORTH, *Nature* **183**, 519 (1959).
- ⁶ H. R. V. ARNSTEIN et J. L. SIMKIN, *Nature* **183**, 523 (1959).
- ⁷ M. WEBER, W. OSTROWSKI et B. STACHURSKA, *Bull. Acad. pol. Sci. Cl. II Sér. Sci. biol.* **11**, 13 (1963).
- ⁸ L. YA ARESHKINA, L. S. EUTSEVA, E. P. SKOROBOGATOVA et I. G. EHUKOJA, *Dokl. Akad. Nauk SSSR* **148**, 704 (1963).
- ⁹ H. R. V. ARNSTEIN et A. M. WHITE, *Biochim. biophys. Acta* **36**, 286 (1959).
- ¹⁰ G. R. SEAMAN, *Biochim. biophys. Acta* **55**, 889 (1962).
- ¹¹ L. JAENICKE, *Ann. Rev. Biochem.* **33**, 287 (1964).
- ¹² A. DEVI et N. SARKAR, *Biochim. biophys. Acta* **68**, 254 (1963).
- ¹³ 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 VIRTANEN¹ nachgewiesen. Nach der Gattung, aus der die erste Isolierung erfolgte, wurden sie Glucobrassicin (GLUC) bzw. Neoglucobrassicin (NEOGLUC) benannt^{1,2}.



R = -H = Glucobrassicin
R' = -OCH₃ = Neoglucobrassicin

Bei beiden Verbindungen handelt es sich um Derivate des Tryptophans³⁻⁵. 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^{6,7}; 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 können¹. Allerdings liessen sich auch bei hoher C¹⁴-Markierung des GLUC in vivo – innerhalb der Empfindlichkeit der Tracermethodik – keine markierten Indoloxine nachweisen^{4,5}.

GLUC und NEOGLUC sind in wechselnden Mengenanteilen und unterschiedlichen Relationen innerhalb der Cruciferen weit verbreitet⁸. 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

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

bzw. Myrosinase oder auch das Vorhandensein von IAN nachgewiesen worden war.

Die Verbreitung von GLUC und NEOGLUC innerhalb der untersuchten Arten dieser Spermatophytengruppen ist in der Tabelle zusammengefasst.

Der Nachweis der Indolglucosinolate erfolgte in allen angeführten Species einmal durch vergleichende Papierchromatographie in drei Lösungsmittelsystemen (Butanol:Eisessig:Wasser 4:1:2; Isopropanol:Ammoniak:Wasser 8:1:1; 5% Essigsäure) in Verbindung mit spezifischen Farbreaktionen (*p*-Dimethylaminozimtaldehyd, Ferri-Nitrat-HNO₃-Lösung¹, nach Sprühen mit Myrosinase Nachweis des entstandenen Rhodanids), zum andern durch Fütterung mit ringmarkiertem DL-C¹⁴-Tryptophan und Nachweis von Indolaktivität in den entsprechenden Rf-Bereichen.

Mit Ausnahme von *Carica papaya* L. bzw. Musa-Arten, von denen nur Blatt- und Sprossmaterial zur Verfügung stand, erfolgte der Nachweis in 5–10 Tage alten, etiolierten Keimlingen, die bei 24°C auf feuchtem Filtrierpapier angezogen worden waren. Aufgearbeitet wurde jeweils 1 g frisches Pflanzenmaterial. Die Extraktion erfolgte zur Inaktivierung der Myrosinase in kochendem Methanol.

Das Vorkommen beider Indolglucosinolate scheint auf die Gruppe der Capparidaceae beschränkt. Der nicht eindeutige Hinweis auf ein Vorkommen von GLUC, der nur bei Verwendung von markiertem Tryptophan in Sprossen von *Carica papaya* erzielt werden konnte, muss mit Keimlingen überprüft werden. Da andererseits alle untersuchten Keimlinge der Familien Cruciferen, Resedaceen, Capparidaceen und Tovariaceen mindestens eines der beiden bekannten Indolglucosinolate enthalten, scheint es sich bei diesen Verbindungen um die am weitesten verbreiteten Senfölglicoside zu handeln. Ob dieser weiten Verbreitung eine spezielle physiologische Funktion, eventuell im Wuchsstoffhaushalt, zugrunde liegt, muss noch als vollkommen offen angesehen werden. Darüber hinaus bedarf es einer vertieften Untersuchung, ob etwa der N-

gebundenen Sulfatgruppe oder der Thioglucose eine spezielle Stoffwechselfunktion zukommt. Die scharfe Abgrenzung von den Papaveraceae, welche die Capparidaceae auch hinsichtlich dieser weit verbreiteten Inhaltsstoffe auszeichnet, kann als ein weiterer Hinweis für die Vermutung TAKHTAJANS einer unterschiedlichen Herkunft beider Gruppen der Rhocadales (sensu Wettstein) gewertet werden^{9,10}. Zumindest aber muss im Nachweis beider Verbindungen in *Tovaria pendula* Ruiz et Pavon ein weiteres Argument für den Anschluss dieser Familie an die Gruppe der Capparidaceae im Sinne von HALLIER gesehen werden.

In den mengenmässigen Anteilen von GLUC und NEOGLUC ergeben sich bei den einzelnen Familien beträchtliche Unterschiede. Innerhalb der Cruciferen sind in den verschiedenen Arten wechselnde Verhältnisse im Anteil beider Verbindungen zu beobachten. Dagegen ist NEOGLUC nur in einer der von uns untersuchten Arten der Resedaceen und auch in dieser nur in verschwindender Menge nachzuweisen. Umgekehrt stellt bei allen untersuchten Capparidaceen NEOGLUC die vorherrschende Verbindung dar.

Da in *Lepidium*keimlingen neben Glucotropaeolin auch GLUC nachzuweisen ist, schliessen sich beide aromatischen Senfölglicoside in ihrem Vorkommen nicht etwa aus, wie aus dem Fehlen der Indolverbindung in *Tropeolum majus* geschlossen werden könnte. Die Existenz von Senfölglicosiden, freiem Tryptophan und Myrosinase führt demnach nicht zwangsläufig zur Synthese von Indolglucosinolaten. Da das Vorkommen von IAN neben Cruciferen auch für andere Familien beschrieben wurde, so z. B. von BALLIN¹¹

⁹ A. TAKHTAJAN, *Die Evolution der Angiospermen* (Gustav Fischer Verlag, Jena 1959).
¹⁰ R. HEGNAUER, *Planta med.* 9, 37 (1961).
¹¹ G. BALLIN, *Planta* 58, 261 (1962).

Verbreitung von Glucobrassicin, Neoglucobrassicin und freiem Tryptophan in etiolierten Keimlingen aus unterschiedlichen Spermatophytenfamilien. Die Kennzeichnung entspricht der jeweiligen Farbtintensität mit *p*-Dimethylaminozimtaldehyd-Reagenz

Art	Familie	GLUC	NEOGLUC	Tryptophan
<i>Reseda alba</i> L.	Resedaceen	++	–	++
<i>Reseda luteola</i> L.	Resedaceen	+++	–	++
<i>Reseda lutea</i> L.	Resedaceen	++	–	+
<i>Reseda phyteuma</i> L.	Resedaceen	++	–	++
<i>Reseda crystallina</i> Webb.	Resedaceen	+	–	+
<i>Reseda odorata</i> L.	Resedaceen	++	–	+
<i>Reseda complicata</i> Bory.	Resedaceen	++	+	++
<i>Cleome arborea</i> H.B. et K.	Capparidaceen	+	+++	+
<i>Cleome monophylla</i> L.	Capparidaceen	+	+++	+
<i>Cleome graveolus</i> Rafin.	Capparidaceen	+	+	+
<i>Cleome trachysperma</i> (Torr et Gray) Pax et K. Hoffm.	Capparidaceen	+	++	+
<i>Gynandropsis pentaphylla</i> DC.	Capparidaceen	+	++++	+
<i>Gynandropsis gynandrae</i> Briquet	Capparidaceen	+	+++	++
<i>Tovaria pendula</i> Ruiz et Pav.	Tovariaceen	++	++	+
<i>Sinapis alba</i> L.	Cruciferen	++	+	++
<i>Brassica oleracea</i> L.	Cruciferen	++	++	++
<i>Lepidium sativum</i> L.	Cruciferen	++	+	++
<i>Papaver somniferum</i> L.	Papaveraceen	–	–	+
<i>Glaucium corniculatum</i> (L.) Curt., Fl. Londin	Papaveraceen	–	–	++
<i>Eschscholtzia californica</i> Cham.	Papaveraceen	–	–	+
<i>Impatiens balsamina</i> L.	Balsaminaceen	–	–	++
<i>Tropeolum majus</i> L.	Tropeolaceen	–	–	+
<i>Carica papaya</i> L.	Caricaceen	?	–	++
<i>Viola tricolor</i> L.	Violaceen	–	–	+

in *Impatiens* und von SHANMUGAVELU und RANGASHWAMI¹² für *Musa*, wir in beiden Arten aber ein gleichzeitiges Vorkommen von Indolglucosinolen ausschliessen müssen, sollte die Bildung des IAN nicht ausschliesslich über GLUC erfolgen müssen. Die Frage der Herkunft der Indolauxine in den beschriebenen Familien ist noch offen und Gegenstand laufender Untersuchungen¹³.

Summary. Indoleglucosinolates were detected in seedlings of 14 species of the families Capparidaceae, Resedaceae and Tovariaceae. They contained either glucobrassicin or neoglucobrassicin, or both of them. The

taxonomic and physiological significance of this broad distribution is discussed.

H. SCHRAUDOLF

Botanisches Institut der Universität, Giessen (Deutschland), 10. Mai 1965.

¹² K. G. SHANMUGAVELU und G. RANGASHWAMI, *Nature* 194, 775 (1962).

¹³ Die Untersuchungen wurden unterstützt durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft und das Ministerium für wissenschaftliche Forschung. – Fraulein I. PULS danke ich für technische Mitarbeit, Dr. R. GMELIN und Ing. N. MICHAJLOVSKIJ für freundliche Überlassung von Glucobrassicin.

Histidindecarboxylaseaktivität in Samenblasen unreifer und testosteronbehandelter Ratten

Die Frage nach einem Einfluss von Testosteron auf die Histaminbildung in Vesikulardrüsen und anderen Sexualorganen ist aus verschiedenen Gründen von Interesse. KAHLSON et al.¹ stellten 1960 die Hypothese auf, dass rasch wachsendes Gewebe (normales und bösartiges) eine besonders hohe Histidindecarboxylaseaktivität besitzt. Diese Auffassung konnte bisher mit wenigen Ausnahmen bestätigt werden^{2–12}. Es liegt die Frage nahe, ob auch Gewebe, dessen Wachstum von einem Sexualhormon beschleunigt wird, vermehrte Histaminbildung aufweist.

Weitere Anregungen zu dieser Arbeit entstammen Forschungen über Wechselwirkungen zwischen Östrogenen bzw. Gestagenen und Histamin beim weiblichen Geschlecht^{13–18}. Östrogene und Progesteron sollen Dezipualreaktion und Ovumimplantation über eine Freisetzung von Histamin induzieren. Die Zellproliferation wird hierbei auf Hyperämie und gesteigerte Kapillarpermeabilität infolge verstärkter Histaminbildung zurückgeführt.

Ein dritter Grund für unsere Untersuchungen ist die von KIM^{19,20} und NETTER et al.²¹ gemachte Beobachtung, dass männliche Tiere weniger Histamin ausscheiden als weibliche. Es liegt also nahe zu prüfen, ob die Histaminbildung in wichtigen männlichen Sexualorganen durch Testosteron entsprechend beeinflusst wird.

Die angeführte Literatur liess teils Anstieg teils Abfall der Histaminbildung nach Testosteronbehandlung erwarten. Wir wählten möglichst einfache physiologische Bedingungen. Unreife Ratten wurden mehrere Tage mit physiologischen Dosen Testosteron vorbehandelt, um ein unterschiedliches Wachstum der Vesikulardrüsen zu erreichen. Die Histaminbildungsraten wurden dann *in vitro* bestimmt.

Material und Methoden. Verwendet wurden unreife männliche Sprague-Dawley-Ratten, pro Versuch 8 oder 16 Tiere. Etwa 40% der für einen Versuch bereitgestellten Tiere wurden ab 25. Lebenstag an fünf aufeinanderfolgenden Tagen 100 µg Testosteron in 0,2 ml Sesamöl, den übrigen Tieren reines Sesamöl subkutan injiziert. Sektion der Tiere erfolgte am 30. Lebenstag. Die Vesikulardrüsen der testosteronbehandelten Tiere waren etwa 2–3mal schwerer als die der unbehandelten. Die Tiere wurden dekapitiert und die Vesikulardrüsen auf –18° gekühlt. Die Drüsen der unbehandelten Tiere wurden zusammen auf einem Objekthalter eingefroren. Danach wurden so viele testosteronbehandelte Tiere aufgearbeitet, bis das

Gesamtgewicht der Vesikulardrüsen behandelte Tiere mit dem Gesamtgewicht der Vesikulardrüsen unbehandelter Tiere übereinstimmte. Die beiden Drüsenhaufen wurden in einem Kryostat quantitativ in 20 µ-Schnitte zerlegt. Zum Auffangen der Schnitte wurde ein kleines Gerät entwickelt, das kontinuierliches Arbeiten und bequemes Übertragen der Schnitte in Zentrifugenröhrchen erlaubt. In diesen Zentrifugenröhrchen befanden sich 200 nc oder 1 µc L-Histidin-(2-ring)-¹⁴C mit einer spezifischen Aktivität von 22 µc/µM. Nach dem Einbringen der Schnitte wurden in jedes Röhrchen 2 ml 0,1 *n*-Natriumphosphatpuffer pH 7,4 gegeben, in denen 100 µg Pyridoxalphosphat und 4 mg Glucose gelöst waren. Nach Begasen mit N₂ wurden die Gefässe verschlossen, 3 h bei 37° gehalten und nach Beendigung der Inkubation 50 mg L-Histidinmonohydrochlorid und 66,4 mg Histamin-dihydrochlorid zugesetzt. Gemäss SCHAYER^{22,23} wurde

¹ G. KAHLSON, *Lancet* 1960 *i*, 67.

² G. KAHLSON, E. ROSENGREN und H. WESTLING, *J. Physiol.* 143, 91 (1958).

³ G. KAHLSON, E. ROSENGREN und T. WHITE, *J. Physiol.* 151, 131 (1960).

⁴ G. KAHLSON und E. ROSENGREN, *Nature* 184, 1238 (1959).

⁵ G. KAHLSON, K. NIELSSON, E. ROSENGREN und B. ZEDERFELDT, *Lancet* 1960 *ii*, 230.

⁶ D. MACKAY, P. B. MARSHALL und J. F. RILEY, *J. Physiol.* 153, 31P (1960).

⁷ R. HAKANSSON, *Exper.* 17, 402 (1961).

⁸ G. A. HALLENBECK und CH. F. CODE, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 110, 649 (1962).

⁹ G. KAHLSON, E. ROSENGREN und C. STEINHARDT, *J. Physiol.* 160, 12P (1962).

¹⁰ G. KAHLSON, E. ROSENGREN und C. STEINHARDT, *Nature* 194, 380 (1962).

¹¹ G. KAHLSON und E. ROSENGREN, *Exper.* 19, 182 (1963).

¹² G. KAHLSON, E. ROSENGREN und C. STEINHARDT, *Exper.* 19, 243 (1963).

¹³ P. KRAICER und M. C. SHELESNYAK, *J. Endocr.* 17, 324 (1958).

¹⁴ T. H. JOHNSON und M. C. SHELESNYAK, *J. Endocr.* 17, XXI (1958).

¹⁵ E. SPAZIANI und C. M. SZEGO, *Endocrinology* 63, 669 (1958).

¹⁶ M. C. SHELESNYAK, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 100, 380 (1959).

¹⁷ C. A. FIRM und P. M. KEEN, *Nature* 194, 602 (1962).

¹⁸ G. J. MARKUS, M. C. SHELESNYAK und P. F. KRAICER, *Acta endocr., Copenh.* 47, 2 (1964).

¹⁹ K. S. KIM, *Am. J. Physiol.* 197, 1258 (1959).

²⁰ K. S. KIM, *Am. J. Physiol.* 201, 740 (1961).

²¹ K. J. NETTER und P. A. SHORE, *Fed. Proc.* 19, 9 (1960).

²² R. W. SCHAYER, K. J. DAVIS und R. L. SMILEY, *Am. J. Physiol.* 182, 54 (1955).

²³ R. W. SCHAYER, *Am. J. Physiol.* 187, 63 (1956).