

der Monaminoxydase ist<sup>18</sup>. Der Hauptanteil des 16 h nach der letzten  $\alpha$ -Methyl-Dopa-Injektion nur noch in geringen Mengen vorhandenen  $\alpha$ -Methyl-Dopamins ist in der Granulafraktion lokalisiert. Hier findet vermutlich die  $\alpha$ -Methyl-Noradrenalinbildung aus  $\alpha$ -Methyl-Dopamin statt, da normalerweise die Noradrenalin synthese aus Dopamin in diesen Granula vor sich geht.

Während Noradrenalin und  $\alpha$ -Methyl-Noradrenalin im Meerschweinchenherzen in Partikeln angereichert werden, die bei 100 000 g sedimentieren, wird der Hauptanteil des Adrenalins (592,6 nMol/kg Körpergewicht) der Meerschweinchennebennieren in grösseren Granula gespeichert, die bereits bei 15 000 g sedimentieren (Tabelle II). Im grobpartikulären Sediment (800 g) und im Überstand 15 000 g (Cytoplasma) werden demgegenüber im Mittel nur 142,2 nMol, bzw. 46,5 nMol, gefunden. Nach  $\alpha$ -Methyl-Dopa ist der Adrenalingehalt der Granulafraktion um 53% auf 277,8 nMol vermindert, im grobpartikulären Sediment ebenfalls um 53% auf 46,7 nMol. Bemerkenswert ist die Zunahme des Adrenalingehaltes im Cytoplasma von 46,5 nMol bei den Kontrollen auf 91,3 nMol nach  $\alpha$ -Methyl-Dopa. Der Verlust an Adrenalin wird nicht durch entsprechende Mengen  $\alpha$ -Methyl-Noradrenalin ausgeglichen. Die geringen Mengen des zur Kontrolle der fluorimetrischen Bestimmung auch durch zweidimensionale Papierchromatographie identifizierten  $\alpha$ -Methyl-Noradrenalins finden sich zum grössten Teil in der

Tabelle II. Verteilung der Brenzcatechamine (nMol/kg Körpergewicht) auf die durch Differentialzentrifugieren gewonnenen Fraktionen der Meerschweinchennebennieren vor und nach Behandlung mit 1- $\alpha$ -Methyl-Dopa (200 mg/kg i.m. über 8 Tage). Mittelwerte und mittlerer Fehler der Mittelwerte von 4 Versuchen

Fraktion	Kontrollen		Nach $\alpha$ -Methyl-Dopa		
	Adrenalin	Adrenalin	$\alpha$ -Methyl-Noradrenalin	$\alpha$ -Methyl-Dopamin	—
Sediment (800 g)	142,2 $\pm$ 9,9	46,7 $\pm$ 8,5	6,6 $\pm$ 0,9	—	
Sediment (15 000 g)	592,6 $\pm$ 25,3	277,8 $\pm$ 46,6	28,3 $\pm$ 4,6	4,6 $\pm$ 2,1	
Überstand (15 000 g)	46,5 $\pm$ 2,8	91,3 $\pm$ 10,2	11,9 $\pm$ 2,4	—	

Granulafraktion,  $\alpha$ -Methyl-Adrenalin konnten wir papierchromatographisch nicht nachweisen. Es lässt sich zurzeit nicht entscheiden, ob dieser Befund durch die Unfähigkeit des Nebennierengewebes  $\alpha$ -Methyl-Adrenalin zu bilden oder zu speichern bedingt ist. Außerdem konnten in der Granulafraktion nur kleine Mengen  $\alpha$ -Methyl-Dopamin nachgewiesen werden.

Unsere Versuche unterstützen die zuerst von CARLSSON und LINDQUIST<sup>11</sup> geäusserte und durch eigene Ergebnisse bestätigte Hypothese, nach der Noradrenalin durch  $\alpha$ -Methyl-Noradrenalin quantitativ ersetzt wird, und, da es wie Noradrenalin subzellulär im Herzen verteilt ist, die Folgerung, dass es als falscher Überträgerstoff auch die physiologischen Funktionen des Noradrenalins übernehmen kann. — Der mehr als quantitative Ersatz des Noradrenalins durch  $\alpha$ -Methyl-Noradrenalin im Überstand 100 000 g (Cytoplasma) könnte, wie bereits erwähnt, durch den unterschiedlichen Abbau der Amine durch die Monoaminoxydase bedingt sein. Von besonderem Interesse ist in diesem Zusammenhang die Beobachtung, dass das als falscher Überträgerstoff synthetisierte und in den Herzgranula gespeicherte  $\alpha$ -Methyl-Noradrenalin eine stärkere Affinität zu den aminspeichernden Strukturen besitzt als Noradrenalin. Es wird nämlich durch Reserpin aus Meerschweinchenherzen *in vivo* und durch Segontin aus Herzgranula *in vitro* wesentlich schlechter freigesetzt (SCHÜMANN, GROBECKER und SCHMIDT<sup>18</sup>).

*Summary.*  $\alpha$ -Methyl-noradrenalin synthesized after pretreatment of the guinea-pig with  $\alpha$ -methyl-dopa was found to be localized, like noradrenalin, mainly in the granular fraction 100 000 g of the heart and in the fraction of the chromaffin granules of the suprarenal medulla (15 000 g).  $\alpha$ -Methyl-adrenalin could not be found.

H. GROBECKER und H. J. SCHÜMANN<sup>19</sup>

*Pharmakologisches Institut der Universität Frankfurt a. M. und Pharmakologisches Institut des Klinikums Essen der Universität Münster (Deutschland),*  
20. Juli 1965.

<sup>18</sup> H. BLASCHKO, D. RICHTER und H. SCHLOSSMANN, Biochem. J. 31, 2187 (1937).

<sup>19</sup> Ausgeführt mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

## UV-Induced Photodimerization of Thymine and 5-Hydroxymethyluracil in Frozen Water Solutions

Thymine dimer formation, which was first demonstrated experimentally by BEUKERS and BERENDS<sup>1,2</sup>, has now been shown to be one of the major factors responsible for many biological effects resulting from the UV-irradiation of deoxyribonucleic acids, both *in vivo* and *in vitro*<sup>3,4</sup>.

Recently, the replacement of thymine residues by 5-hydroxymethyluracil has been reported in the bacteriophage SP 8 (*B. subtilis*) deoxyribonucleic acid<sup>5,6</sup>. Since

the photochemical dimerization of 5-hydroxymethyluracil in the frozen water solution was not emphasized until now, a comparative study on the rate of dimer conversion of both thymine and 5-hydroxymethyluracil *in vitro* has been proposed, having regard to a potentially great biological importance of such findings in the photochemistry and/or photobiology of phage SP 8 deoxyribonucleic acid.

Alternating current oscillographic polarography<sup>7</sup> has been used for this study, as in papers formerly published<sup>8-11</sup>. Water solutions ( $5 \cdot 10^{-4} M$  and  $10^{-3} M$ ) of both thymine and 5-hydroxymethyluracil were irradiated at 2.537 Å in the frozen state under a Philips TUV, 30 W, bactericidal lamp. Small Petri-discs have been applied

and a distance of 5 cm was kept between the lamp and samples.

Thawed samples were then analysed oscillopolarographically and the results obtained are presented in the Table. Further, a splitting of the dimers mentioned above has been seen after a short time of additional UV-irradiation, using the same method<sup>11</sup>. Nearly complete regeneration of the original thymine monomer was noted in the alkaline solution at pH 12.0<sup>8</sup>, whilst adequate results in the case of 5-hydroxymethyluracil were obtained only in neutral solutions, as to a fairly high rate of an irreversible photolysis of 5-hydroxymethyluracil taking place in alkaline media at about pH 8.0–12.0<sup>12</sup>.

The results mentioned above have been confirmed also by the descendant paper chromatography in a solvent mixture of *n*-butanol + water (86:14).

Thus the considerably low rate of dimer conversion of 5-hydroxymethyluracil (see Table), which has been ascertained in the frozen water solution subjected to UV-light

at 2.537 Å, might be very important with regard to a possible elucidation of mechanisms involved in the eventual UV-induced damage of bacteriophage SP 8 deoxyribonucleic acid.

**Zusammenfassung.** Die UV-bewirkte Dimerisierung des Thymins und 5-Hydroxymethyluracils in gefrorenen wässrigen Lösungen wurde verglichen. Eine kleinere Dimerbildung des 5-Hydroxymethyluracils, in Desoxyribonucleinsäure vom Bakteriophag SP 8 dem Thymin substituiert, konnte die photochemischen Eigenschaften dieser Desoxyribonucleinsäure wesentlich beeinflussen.

D. KALÁB

Research Department of Bioveta n.p., Ivanovice na Hané (Czechoslovakia), February 5, 1965.

Dimer conversion of thymine and 5-hydroxymethyluracil (5-HMU) subjected to UV-irradiation at 2.537 Å in frozen water solution

Compound	Irradiated concentration	Time of UV-irradiation	Conversion to photodimer (%)
Thymine	$5 \cdot 10^{-4} M$	5 min	30%
Thymine	$10^{-3} M$	10 min	24%
Thymine	$10^{-2} M$	60 min	55%
5-HMU	$5 \cdot 10^{-4} M$	5 min	5%
5-HMU	$10^{-3} M$	10 min	6%
5-HMU	$10^{-2} M$	60 min	18%

- 1 R. BEUKERS and W. BERENDS, *Biochim. biophys. Acta* **41**, 550 (1960).
- 2 R. BEUKERS and W. BERENDS, *Biochim. biophys. Acta* **49**, 181 (1961).
- 3 A. ŚMIETANOWSKA and D. SHUGAR, *Bull. Acad. Polon. Sci., Cl. II.*, **9**, 375 (1961).
- 4 A. D. MCLAREN and D. SHUGAR, *Photochemistry of Proteins and Nucleic Acids* (Oxford 1964), p. 184.
- 5 R. G. KALLEN, M. SIMON, and J. MARMUR, *J. mol. Biol.* **5**, 248 (1962).
- 6 J. MARMUR, C. M. GREENSPAN, E. PALEČEK, F. M. KAHAN, J. LEVINE, and M. MANDEL, *Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol.* **28**, 191 (1963).
- 7 J. HEYROVSKÝ and R. KALVODA, *Oszillographische Polarographie mit Wechselstrom* (Akad. Verlag, Berlin 1960).
- 8 E. PALEČEK, *Coll. Czech. Chem. Commun.* **25**, 2283 (1960).
- 9 E. PALEČEK and D. KALÁB, *Chem. listy* **57**, 13 (1963).
- 10 D. KALÁB, *Exper.* **19**, 392 (1963).
- 11 D. KALÁB, *Chem. zvesti* **18**, 435 (1964).
- 12 D. KALÁB, unpublished results.

## Die biosynthetische Inkorporation von externem $S^{35}O_2$ in Glucobrassicin

Glucobrassicin (GLUBR), ein Thioglykosid, das in Vertretern zahlreicher Gattungen der Familie Brassicaceae<sup>1</sup>, wie auch in Pflanzen der Familie Resedaceae, Capparidaceae und Tovariaceae<sup>2</sup> vorkommt, ist physiologisch interessant. Als Indolkomplex wird GLUBR mit dem Metabolismus der Auxine in den genannten Pflanzen in Zusammenhang gebracht<sup>3</sup>. Darüber hinaus ist GLUBR auch eine natürliche Vorstufe strumigen wirkender Rhodanidionen<sup>4</sup>. Die Biosynthese des GLUBR wurde bisher mit Hilfe von Tryptophan-3-C<sup>14</sup> untersucht, dabei wurde festgestellt, dass diese Aminosäure direkt in den Indolteil des GLUBR-Moleküls eingebaut wird<sup>5,6</sup>. Das Problem der Biosynthese der Isothiocyanatgruppe und des Sulfatesters im Molekül des GLUBR wurde sowohl mit Hilfe markierten Sulphats<sup>6</sup>, wie auch mittels Thio-glukose<sup>7</sup> studiert. Wir haben  $S^{35}O_2$  angewendet, eine Verbindung deren Umsetzung in Pflanzen auch im Zusammenhang mit Industrieabgasen von besonderem Interesse ist.

Die Versuche wurden mit Blätterkohl und Blumenkohljungpflanzen durchgeführt. Die in Töpfen – die mit einer Polyäthylenfolie bis zur Pflanzenachse umhüllt waren – gezogenen Pflanzen (9 Pflanzen pro Versuchsgruppe)

wurden in einer speziellen Plexiglaskammer (Volumen 5,8 l) der  $S^{35}O_2$  enthaltenden Atmosphäre mit einer Aktivität von 1,7 mc/l ausgesetzt. Nach 6 h Inkubation wurde das  $S^{35}O_2$  abgesaugt und die Pflanzen wurden in reiner Atmosphäre unter Beleuchtung (Glühlampe 500 W) noch weitere 24 h belassen. Sie absorbierten sehr aktiv das mit der Atmosphäre gebotene  $SO_2$ . Eine Hälfte der unbeschädigten Pflanzen wurde unmittelbar für eine Dauer von 2 min in siedendes Methanol eingebracht, das die endogene Myrosinase inaktivierte und damit die Analyse des im Extrakt unzersetzten GLUBR ermöglichte<sup>5</sup>, die zweite wurde unter Beigabe von Wasser zerkleinert. Dabei spaltet die endogene Myrosinase im Homo-

- 1 M. KUTÁČEK und K. OPLIŠTILOVÁ, *Fiziologia rastění* **11**, 867 (1964).
- 2 H. SCHRAUDOLF, *Exper.* **21**, 520 (1965).
- 3 M. KUTÁČEK, *Festschrift des Int. Symp.: Physiologie, Ökologie und Biochemie der Keimung*, Greifswald (1963) und *Biol. Plant.*, Praha **6**, 88 (1964).
- 4 R. GMELIN und A. I. VIRTANEN, *Ann. Acad. sci. fenn. Ser. A. II, Chemica* **107** (1961).
- 5 M. KUTÁČEK, Ž. PROCHÁZKA, and E. VEREŠ, *Nature* **194**, 393 (1962).
- 6 H. SCHRAUDOLF und F. BERGMANN, *Planta*, im Druck.
- 7 V. JIRÁČEK, persönliche Mitteilung.