

Zusammenfassung. Während am Ende der ersten Hälfte dieses Jahrhunderts auf dem Gebiet der Epitaxie niedermolekularer organischer Stoffe bereits ein sehr umfangreiches Beobachtungsmaterial vorlag, führten die Bemühungen, auch hochmolekulare Stoffe zur orientierten Aufwachsung zu bringen, erst 1957 mit der Auffindung der Epitaxie von Polyäthylen auf NaCl zum Erfolg.

Das Polyäthylen wächst in Form kleiner, lichtmikroskopisch erkennbarer Nadeln auf. Nachdem die Suche nach weiteren Beispielen dieser Art mit dem Lichtmikroskop vergeblich geblieben war, gelang es, mit einem neu entwickelten, indirekten Verfahren auf Grundlage von «Kontaktfilmen» auch die Epitaxie von Nylon 6, Nylon 66 und Nylon 6, 10 sowie Polyacrylnitril nachzuweisen. Zur Aufklärung des Verwachsungsgesetzes wurden vor allem die Methoden der Licht- und Elektronenmikroskopie sowie der Elektronenbeugung angewandt.

Unter dem Gesichtspunkt der biologischen Ultrastruktur ist in der weiteren Entwicklung die Feststellung der Epitaxie von Polyäthylen auf Polyoxymethylen, also von 2 verschiedenen makromolekularen Stoffen miteinander, besonders bemerkenswert.

Die Arbeiten der letzten Jahre brachten als neue makromolekulare Verwachsungspartner Polypropylen, Penton, Polystyrol, Polyäthylenterephthalat, Polyäthylenoxid, Nylon 7, Nylon 8 und Polyurethan, als

neue anorganische Träger weitere Alkalihalogenide sowie Muskowit und Quarz. Eine experimentell erhaltene orientierte Aufwachsung eines natürlichen, makromolekularen organischen Stoffes, z. B. eines Proteins, die unter biologischem Gesichtspunkt von besonderem Interesse wäre, ist jedoch auch bisher nicht bekannt geworden.

Die Epitaxieuntersuchungen erwiesen sich als wertvolles Hilfsmittel zur Aufklärung von Kristallstrukturen solcher makromolekularer Stoffe, von denen es, wie bei den Polyamiden, noch nicht gelungen ist, Einkristalle herzustellen.

Auf technischem und biologischem Gebiet liegen erste Ansätze einer Auswirkung der vorliegenden Ergebnisse vor.

Auf technischem Gebiet ist ein Verfahren zu erwähnen, nach dem Oberflächen von Gebilden aus Kunststoffen durch Aufbringen eines orientiert verwachsenen Gaststoffes vergütet werden.

Auf biologischem Gebiet wurde die epitaktische Bildung eines charakteristischen Netzwerks von Polyamid-Fibrillen im Kontakt mit einer Kristallgitterfläche als Modell für die Bildung von Antikörpern gegen Antigene vorgeschlagen. Diese Modellvorstellung wurde in neuester Zeit im Zusammenhang mit dem allgemeinen Problem der Informationsübertragung diskutiert.

SPECIALIA

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces brèves communications. – Für die Kurzmitteilungen ist ausschliesslich der Autor verantwortlich. – Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. – The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed in the authors' brief reports. – Ответственность за короткие сообщения несёт исключительно автор. – El responsable de los informes reducidos, está el autor.

Versuche zum enzymatischen Abbau der «gebundenen» Gibberelline von *Pharbitis purpurea*

Bei der Untersuchung von Samen und Kapseln von *Pharbitis purpurea* auf Gibberelline wurden in den Äthylazetat- und Butanolausschüttelungen der Acetonextrakte neben den Gibberellinen A₀, A₁, A₂, stärker polare, gibberellinaktive Substanzen gefunden. Diese zeigen ein gleiches chromatographisches Verhalten wie «gebundene» Gibberelline, d.h. sie bleiben bei der Dünnschichtchromatographie auf Kieselgel G mit unpolaren Entwicklungsgemischen am Startpunkt zurück^{1,2}. Wie SEMBDNER und SCHREIBER¹ sowie SEMBDNER, SCHNEIDER WEILAND und SCHREIBER² durch säurehydrolytischen Abbau nachwiesen, können Gibberelline an Kohlenhydrate und Eiweisskomplexe gebunden sein. McCOMB³ sowie JONES⁴ versuchten gebundene Gibberelline enzymatisch abzubauen. Sie fanden nach der Behandlung der wässrigen Rohextrakte von *Phaseolus multiflorus*-Samen

mit Ficin teilweise eine Erhöhung der mit Äthylazetat extrahierbaren freien Gibberelline.

Wir haben versucht, die polaren Gibberelline von *Pharbitis purpurea*, vorläufig *Pharbitis* α und β benannt, nach dünn-schichtchromatographischer Anreicherung enzymatisch abzubauen. Diese beiden Substanzen finden sich in geringer Menge in Samen, in hoher Konzentration dagegen in den Kapseln. Sie lassen sich teilweise mit Äthylazetat, vollständig mit Butanol aus dem wässrigen Rückstand der Acetonextrakte ausschütteln.

Reife und unreife Kapseln von *Pharbitis purpurea* wurden gefriergetrocknet und fein gepulvert. 51 g dieses Materials wurden zweimal mit je 500 ml Aceton und

¹ G. SEMBDNER und K. SCHREIBER, *Phytochemistry* 4, 49 (1964).

² G. SEMBDNER, G. SCHNEIDER, J. WEILAND und K. SCHREIBER, *Experientia* 20, 89 (1964).

³ A. J. McCOMB, *Nature* 192, 575 (1961).

⁴ D. F. JONES, *Nature* 202, 1309 (1964).

anschliessend dreimal mit 500 ml 40% Aceton in Wasser extrahiert. Das Aceton wurde in Vakuum abdestilliert, der zurückbleibende, wässrige Extrakt mit 2N HCl auf pH 2 eingestellt und fünfmal mit je 1 l Äthylazetat, anschliessend fünfmal mit je 1 l Butanol ausgeschüttelt. Die Äthylazetat- und die Butanolphase wurden eingengt und daraus dünnschichtchromatographisch die «gebundenen» Gibberelline angereichert. Hierzu wurden beide auf Kieselgel-G-Platten mit dem Entwicklungsgemisch Chloroform/Äthylazetat/Eisessig (50:40:10) chromatographiert. Dabei bleiben die «gebundenen» Gibberelline am Start zurück, während die freien Gibberelline genügend weit vom Startpunkt entfernt werden. Elution der am Start zurückgebliebenen gibberellinaktiven Substanzen erfolgte mit Methanol. Durch wiederholte Chromatographie konnten so die «gebundenen» Gibberelline gereinigt und mikopräparativ angereichert werden. Für die nachfolgend beschriebenen Abbauversuche wurden die «gebundenen» Gibberelline der Äthylazetatphase benutzt. Diese sind mit denen der Butanolphase

identisch, soweit sich das aus ihrem dünnschichtchromatographischen Verhalten mit verschiedenen Laufmittelmischungen schliessen lässt.

Zum enzymatischen Abbau wurden gleiche Mengen der «gebundenen» Gibberelline in je 2 ml Pufferlösung von pH 6,2 (136 g KH_2PO_4 , 24 g KOH auf 1 l Wasser) gelöst: (I) zusammen mit 1,4 mg Ficin und 0,3 mg Cystein, (II) zusammen mit 1,4 mg Emulsin und (III) nur in Pufferlösung als Kontrolle.

Die Substanzen in den Enzymlösungen und der Pufferlösung wurden 12 h bei 30°C inkubiert. Danach wurden die Proben mit 2N HCl auf pH 2,8 eingestellt und mit 4 ml Äthylazetat je viermal ausgeschüttelt. Die Rückstände der Äthylazetatausschüttelungen wurden auf Kieselgel-G-Platten mit Chloroform/Äthylazetat/Eisessig (50:40:10) chromatographiert. Nach dem Entwickeln der Platte wurde die Laufstrecke der Extrakte in schmale Zonen eingeteilt und das Kieselgel zonenweise von der Platte entfernt. Die Eluate der einzelnen Zonen wurden im Erbsentest⁵ auf ihre biologische Aktivität geprüft. Die Ergebnisse sind in der Figur dargestellt. Die Substanzen, die nur mit Pufferlösung behandelt wurden, blieben unverändert am Startpunkt zurück. Nach der Emulsinbehandlung waren neben aktiven Substanzen am Start noch weitere im Rf-Bereich von Gibberellin A_5 und A_8 nachzuweisen. Behandlung mit Ficin ergab biologisch aktive Substanzen im Rf-Bereich von Gibberellin A_3 und A_5 .

Durch beide Enzyme liessen sich also die «gebundenen» Gibberelline von *Pharbitis purpurea* in weniger polare Bruchstücke abbauen.

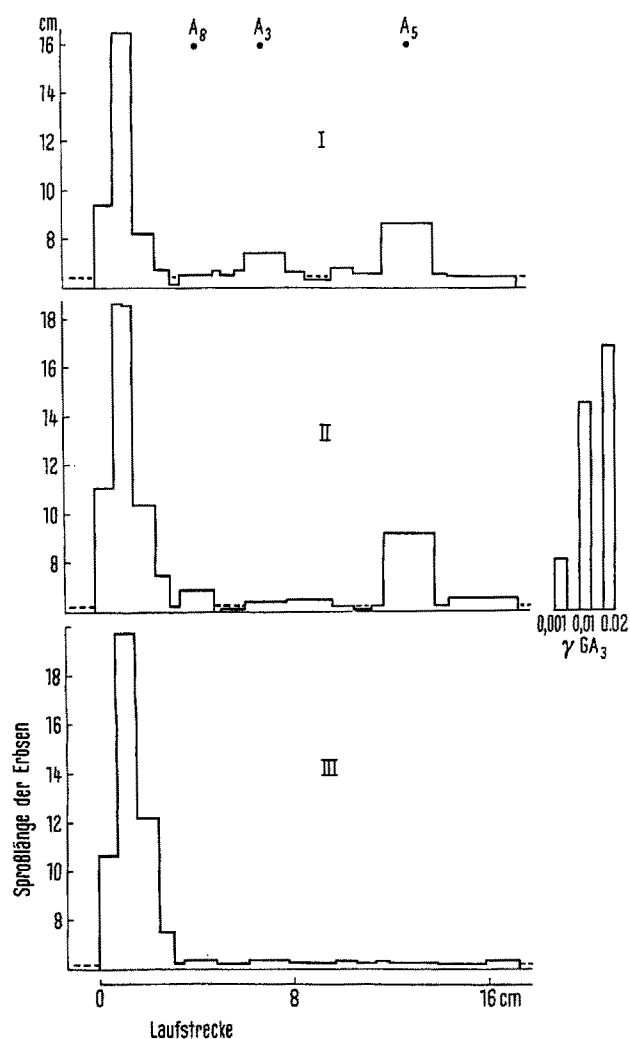
Ob diese Spaltprodukte wirklich die freien Gibberelline darstellen, kann aus den bisherigen Versuchen nicht mit Sicherheit geschlossen werden. Es könnte sich zumindest bei den Substanzen in den Rf-Bereichen von Gibberellin A_8 und A_5 um weniger polare Bruchstücke der gebundenen Formen handeln, wie auch die von uns isolierten «gebundenen» Gibberelline bereits Abbauprodukte von in der Pflanze vorliegenden komplexen Formen sein könnten, da sie sich teilweise mit Äthylazetat ausschütteln lassen. Für Gibberellin A_5 ist das Vorliegen der freien Form jedoch sehr wahrscheinlich. Die nach enzymatischem Abbau erhaltene Substanz besitzt in verschiedenen Entwicklungsgemischen einen sehr hohen Rf-Wert, welcher stets mit dem von authentischem Gibberellin A_5 übereinstimmt. Das Freisetzen von Gibberellin A_5 aus den stärker polaren Formen ist auch deshalb bemerkenswert, weil es in den Extrakten der *Pharbitis*-Kapseln auch in freier Form als hauptsächliches Gibberellin vorliegt.

Summary. Seeds and fruit walls of *Pharbitis purpurea* contain in addition to the free gibberellins A_8 , A_3 , A_5 , more polar gibberellin-like substances, so-called 'bound' gibberellins tentatively named *Pharbitis* α and β . After purification by thin layer chromatography, these 2 substances were treated with both Ficin and Emulsin in buffered solutions of pH 6.2. After treatment with Emulsin, the free gibberellins A_8 and A_5 , after treatment with Ficin the gibberellins A_3 and A_5 , were detectable in thin layer chromatograms.

E. REINHARD und R. SACHER

Pharmakognostisches Institut der Universität
Würzburg (Deutschland), 16. Dezember 1966.

E. REINHARD, Habilitationsschrift, Würzburg (1962).



Biologische Auswertung der Chromatogramme im Zwergerbsentest. Auftrennung der Gibberelline nach Behandlung (I) mit Ficin, (II) mit Emulsin, (III) mit Pufferlösung als Kontrolle. Zum Vergleich Mitte rechts die Wachstumsreaktion der Zwergerbsen auf verschiedene GA_3 -Konzentrationen. Oben die Lage der authentischen Gibberelline in den Chromatogrammen. Gestrichelte Linie: unbehandelte Kontrollen der Zwergerbsen.