

überführt, nachfolgend mit Trifluoressigsäure/Anisol⁷ die Aminoschutzgruppe abgespalten und das entstandene H-Glu(NH₂)-Asp(NH₂)-Cys(Bzl)-Pro-Leu-Gly-NH₂·Trifluoracetat nach Entfernung des Säurerestes mit Z-Cys(Bzl)-Phe-Val-ONP [aus Z-Cys(Bzl)-Phe-OH⁸ und H-Val-ONP·HBr¹¹ – Schmp. 178–179° (Acetonitril); $[\alpha]_D^{25} = -45,3^\circ$ ($c = 1,0$, DMF);

$C_{38}H_{40}N_4O_8S$ (712,8) Ber. C 64,03, H 5,66, N 7,86; Gef. 64,10, 5,88, 8,03]

zur Reaktion gebracht. Das so erhaltene vollgeschützte IV: Ausbeute: 77%; Schmp. 244–245° (DMF/Äthanol); $[\alpha]_D^{25} = -54,8^\circ$ ($c = 1,0$, DMF);

$C_{64}H_{84}N_{12}O_{18}S_2$ (1293,5) Ber. O 16,08, N 13,00, S 4,96; Gef. 16,25, 12,97, 5,18

ergab nach Abspaltung der Schutzgruppen mit Natrium in flüssigem Ammoniak und Aufarbeitung analog II das elektrophoretisch einheitliche IV mit der Aminosäureanalyse (Hydrolyse 72 h, 105°): Asp_{1,00}, Glu_{1,08}, Pro_{1,09}, Gly_{1,14}, Val_{1,01}, Cys_{1,62}, Leu_{1,01}, Phe_{1,00}, NH₃ 2,44¹⁵.

Summary. Four new analogues of oxytocin, i.e. Phe²-Ser⁴-Ileu⁸-oxytocin, Phe³-Ser⁴-Ileu⁸-oxytocin, Gly⁴-Ileu⁸-oxytocin and Phe²-Val³-oxytocin have been synthesized and their biological activities compared with those of oxytocin (Syntocinon®).

E. KLEIGER

Hauptlaboratorium der Schering AG., Berlin-West (Deutschland), 13. März 1967.

¹¹ K. LÜBKE und E. SCHRÖDER, Z. Naturf. 16b, 765 (1961).

¹² P.-A. JAQUENOUD und R. A. BOISSONNAS, Helv. chim. Acta 42, 788 (1959).

¹³ M. BODANSKY und V. DU VIGNEAUD, J. Am. chem. Soc. 81, 6072 (1959).

¹⁴ K. JOŠT, J. RUDINGER und F. ŠORM, Coll. Czech. chem. Commun. Engl. Edn 28, 1706 (1963).

¹⁵ Für die Durchführung der präparativen Arbeiten danke ich Frl. I. BAGANZ und Herrn P. NOWACK, für die biologischen Teste Herrn Dr. R. HEMPEL.

Die Veränderung des Stärke-, Protein- und RNS-Gehaltes von *Lemna minor* L. unter dem Einfluss von Kinetin (6-Furfurylaminopurin)

Kinetin vermag in einer Konzentration von $3 \cdot 10^{-8}$ M/ml Nährösung das Wachstum (Vermehrung der Gliederzahl) der Wasserlinse *Lemna minor* L. nahezu vollständig zu hemmen¹. Da die Photosynthese primär von der hemmenden Wirkung nicht betroffen wird, resultiert eine ungewöhnliche Stärkeanhäufung in den Chloroplasten, welche eine sekundäre Hemmung der CO₂-Fixierung verursacht und nach einiger Zeit zum Platzen der Chloroplasten führt².

Eine ähnliche Speicherung von Stärke, jedoch ohne sichtbare Zerstörung der Plastiden, wurde bei Stickstoffmangel^{3,4} und bei höheren CO₂-Konzentrationen (2%) und Beleuchtungsstärken (30 000–50 000 Lux) beobachtet². Es liegt die Vermutung nahe, dass die kinetininduzierte Stärkeanhäufung in den Gliedern der *Lemna minor* durch eine Störung des Stickstoff- bzw. Proteinmetabolismus bedingt ist.

Kinetin scheint vor allem in den Stoffwechsel der Proteine und Nucleinsäuren, namentlich der RNS einzugreifen^{5–7}. Wir hielten es deshalb für sinnvoll, die Veränderungen des Stärke-, Protein- und RNS-Gehaltes unserer Versuchspflanzen unter dem Einfluss von $3 \cdot 10^{-8}$ M Kinetin/ml Nährösung über eine gewisse Zeit zu verfolgen. Da Vorversuche eine rasche Kinetinwirkung andeuteten, ernteten wir im Unterschied zu den meisten bisher publizierten Untersuchungen mehrere Proben bereits im Laufe der ersten 60 min.

Methodik. Die auf einer mineralischen Nährösung «H₈»² unter konstanten Bedingungen (Dauerbelichtung mit Philips Fluoreszenzröhren TL 40W/33, 4700 \pm 50 Lux und 27 \pm 0,5°C auf der ganzen Kulturfäche) aseptisch kultivierten Versuchspflanzen *L. minor* L. No. 11 02 wurden 24 h vor Versuchsbeginn auf neue Nährösung (40 ml in 150 ml-Erlenmeyerkolben mit Schaumstofftek-

turen) überimpft. Zur Zeit 0 wurde der Hälften der Kulturen Kinetin bis zur obigen Konzentration zugegeben. Nach 1/4, 1/2, 1, 2, 4, 8, 24 h und nach 2, 3 und 4 Tagen ernteten wir die Pflanzen von je 6–8 Kulturgefäßen aus der Kinetin- und Kontrollreihe, spülten kurz mit destilliertem Wasser und töteten das Material mit heißem 80%igem Methanol. Nach Abfiltrieren wurde der getrocknete Rückstand gewogen und zur Bestimmung des Stärke-, Protein- und RNS-Gehaltes verwendet. Die Filtrate der beiden Versuchsreihen zeigten in bezug auf die Menge der gelösten Stoffe keine Unterschiede. Die Extraktion geschah nach^{8,9}. Die RNS wurde spektralphotometrisch bei 260 nm bestimmt, wobei als Standard gleichbehandeltes Na-Nucleat purum Fluka diente. Zur Ermittlung der Proteinkonzentration verwendeten wir die «Micro-tannic»-Methode¹⁰ und zur Bestimmung der Stärke einen modifizierten Anthrontest¹¹.

Resultate und Diskussion. Der Stärkegehalt der Kinetinkulturen steigt in der beobachteten Zeit sowohl absolut als auch relativ zu den Kontrollen ständig an (Figur 1),

¹ K. H. ERISMANN, in Vorbereitung.

² K. H. ERISMANN und F. WEGNER, Flora, Jena im Druck (1967).

³ A. MOYSE, in *Biochemistry of Chloroplasts* (Ed. T. W. GOODWIN; Academic Press London und New York 1967), p. 91.

⁴ J. RUFENER, Dissertation, Pflanzenphysiologisches Institut und Institut für Organische Chemie der Universität Bern (1966).

⁵ Y. OOTA, A. Rev. Pl. Physiol. 15, 17 (1964).

⁶ H. BRANDES und M. BOPP, Naturwissenschaften 52, 521 (1965).

⁷ A. SWEKOWSKA und A. HANDSU, Acta Soc. Bot. Pol. 34, 73 (1965).

⁸ R. WOLLGIEHN und B. PARTHIER, Flora, Jena 154, 325 (1963).

⁹ N. W. PIRIE, in *Moderne Methoden der Pflanzenanalyse* (Ed. K. PAACH und M. V. TRACEY; Springer Verlag Göttingen, 1955) vol. 4, p. 246.

¹⁰ W. MEJBbaum-KATZENELLENBOGEN, Acta biochim. pol. 2, 279 (1955).

¹¹ R. FLURI, Arch. Mikrobiol. 33, 195 (1959).

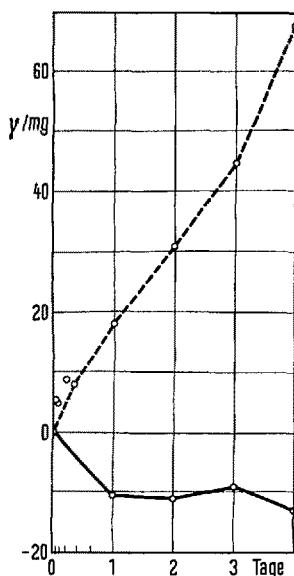


Fig. 1. Der Stärkegehalt von *Lemna minor* in aseptischer Kultur auf modifizierter HUTNER-Nährösung mit und ohne Kinetin. Darstellung der Abweichungen vom Ausgangswert (unmittelbar vor Kinetinzugabe) in γ Stärke/mg Trockengewicht. — Kontrollkulturen, - - - Kinetinkulturen; Kinetinkonzentration $3 \cdot 10^{-8} M/ml$ Nährösung; Ausgangswert des Stärkegehaltes $49,4 \gamma/mg$.

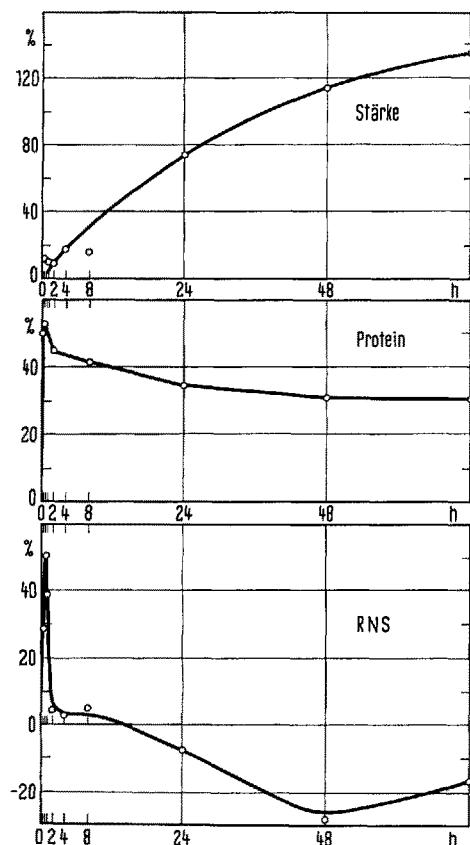


Fig. 2. Veränderung des Stärke-, Protein- und RNS-Gehaltes (bezogen auf das Trockengewicht) von *Lemna minor* in Abhängigkeit von der Dauer der Kinetineinwirkung. Darstellung der prozentualen Abweichung von den Kontrollen, $3 \cdot 10^{-8} M$ Kinetin/ml Nährösung.

und zwar erreicht der Stärkeanteil am 4. Tag 12% des Trockengewichts. Dieser Wert darf jedoch nicht als der maximal erreichbare betrachtet werden, da in den stark bewachsenen Kulturgefäßen ein CO_2 -Defizit infolge ungenügender Belüftung auftritt (vergl. hierzu⁴). In diesem Fall kann ein vorübergehender Zutritt von Luft mit höherem CO_2 -Gehalt bei kurzzeitigem Öffnen der Kulturgefäße deutliche Stoffwechselschwankungen verursachen¹².

Der Vergleich mit einer Kontrollkultur erwies sich deshalb als notwendig; die gewählten Versuchsbedingungen waren nicht geeignet, einen steady state aufrecht zu erhalten. Dies geht deutlich hervor aus der Abnahme des Stärkegehaltes in den Kontrollkulturen am ersten Tag nach der Überimpfung der Versuchspflanzen aus der 14-tägigen Vorkultur in die frische Nährösung. Da die Protein- und RNS-Werte der Kontrollkulturen während der Versuchsdauer ebenfalls änderten, wurden in Figur 2 die prozentualen Abweichungen der Kinetinkulturen von den Kontrollen dargestellt. Dies gestattet eine erste vergleichende Betrachtung der Kinetinwirkung auf den RNS-, Protein- und Kohlenhydratstoffwechsel. Während der Stärkegehalt sich blass allmählich ändert, steigen RNS- und Proteingehalt unmittelbar nach der Kinetinzugabe steil an und erreichen bereits nach 30 min Spitzenwerte von + 51% bzw. + 53% Abweichung von den Kontrollen. Der Proteingehalt der behandelten Kulturen bleibt in der Folgezeit stets über den Kontrollen; indessen fällt der RNS-Gehalt innerhalb 2 h auf den Ausgangswert ab und sinkt in den nächsten Tagen – bezogen auf das Trockengewicht – sogar unter die Kontrollwerte. Dabei ist allerdings zu berücksichtigen, dass der Kurvenverlauf stark durch die infolge Anhäufung von Assimilaten rasch sich ändernde Bezugsgroesse (Trockengewicht) bestimmt wird. Es darf deshalb nicht abgeleitet werden, dass der RNS-Gehalt der einzelnen Zellen in den behandelten Pflanzen unter demjenigen der Kontrollen steht. Da andererseits das Trockengewicht in den ersten 2–3 h nur unbedeutend ändert, gibt dieser Teil des Kurvenverlaufes die wirklichen Verhältnisse in der Zelle besser wieder.

Aus der raschen Veränderung des RNS- und Protein gehaltes schliessen wir auf eine relativ rasche Aufnahme des Kinetins aus der Nährösung durch *Lemna minor*. Die Wirkung auf die RNS- und Proteinsynthese erscheint unmittelbar und ausgeprägt. Die übermässige Stärkeakkumulation betrachten wir als eine mehr oder weniger direkte Folge des gestörten Proteinmetabolismus.

Summary. Kinetin (6-furfurylaminopurine) is rapidly absorbed by *Lemna minor* L. $3 \cdot 10^{-8} M/ml$ medium cause an immediate but temporary stimulation of RNA and protein synthesis during the first hour of the treatment. The following excessive accumulation of starch is considered to be more or less a direct consequence of a disturbed RNA and protein metabolism.

K. H. ERISMANN und MARGRIT FANKHAUSER

Pflanzenphysiologisches Institut der Universität Bern (Schweiz), 27. März 1967.

¹² MARGRIT FANKHAUSER und K. H. ERISMANN, in Vorbereitung.