

Unsere Ergebnisse zeigen zunächst eine erhebliche Resistenz des oxydativen Glucoseabbaus gegen die depressorische Wirkung «toxischer» Biguaniddosen. Mit 4 µg/ml Inkubationsmedium wurde keine signifikante Verminderung, mit 500 µg/ml eine deutliche, jedoch nicht völlige Hemmung der CO₂-Bildung beobachtet. Die CO₂-Bildung aus C-1-Stellung am Glucosemolekül wurde stärker erniedrigt als aus C-6-Stellung, was auf eine relativ stärkere Beeinflussung des Dickens-Horrecker-Shunts schliessen lässt. Mit Konzentrationen, wie sie bei der therapeutischen Anwendung der Biguanide üblich sind (1–5 µg/ml) liessen sich keine signifikanten Veränderungen der CO₂-Bildung beobachten.

Nach unseren Untersuchungen ist es unwahrscheinlich, dass eine Beeinflussung der Arteriosklerose Biguanid-behandelter Diabetiker auf dem Wege der Fettsäuresynthese in der Gefässwand stattfindet¹⁵.

Summary. The influence of biguanides on glucoseoxidation was studied in intima-preparations of rabbit aortae. With high doses (500 µg/ml) an inhibition of CO₂-formation predominantly from position C-1 of glucose was found. With 4 µg/ml there was no significant change of CO₂-formation from glucose.

E. RITZ, R. SANWALD und P. WAHL

Medizinische Universitätsklinik (Ludolf-Krehl-Klinik),
69 Heidelberg (Deutschland), 28. Dezember 1967.

¹⁵ Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

Untersuchungen zur Verbreitung von Indolglucosinolaten in Cruciferen

GMELIN und VIRTANEN¹ hatten 1961 als erste die Existenz von Indolglucosinolaten (Glucobrassicin und Neoglucobrassicin) in Brassica-Arten nachgewiesen. Inzwischen fand man diese Verbindungen in weiteren Vertretern der Cruciferen, Resedaceen, Capparidaceen und Tovariaceen^{2,3}. Dagegen fehlen Indolglucosinolate in Caricaceen, Tropaeolaceen, Limnanthaceen und Moringaceen^{3,4}.

Im Verlauf unserer Untersuchungen zur Verbreitung der Indolglucosinolate häuften sich Hinweise, dass diese Verbindungen vor allem für die jungen, speziell etiolierten Keimlinge typisch sind, während ihre Syntheserate und ihr Gehalt mit zunehmendem Alter der Pflanze abnehmen. Die zunächst als Hauptglucosinolat vorhandenen Indolderivate werden dann durch die bekannten, artspezifischen Spektren der Glucosinolatzusammensetzung abgelöst. Erst im Verlauf der Ontogenie kommt es zu einer fortschreitenden Chemodifferenzierung der jeweiligen Spezies (siehe auch ⁵).

Es galt zu überprüfen, inwieweit diese zunächst an einigen Arten gemachten Beobachtungen verallgemeinert werden dürfen. Dazu wurden jeweils 0,4 bis 0,8 g FG etiolierte Keimlinge von 50 Arten der Familie Cruciferae in S-35-Sulfat (0,5 µC/ml; trägerfrei) bzw. 2-C-14-Indol (0,4 µC/ml; 1 µC/0,5 Mol) flottierend im Dunkeln bei 24°C inkubiert. Auf 20 h Inkubationszeit folgte eine weitere Umsetzungszeit von 24 h. Anschliessend wurden die Keimlinge nach GMELIN und VIRTANEN¹ extrahiert, die Extrakte auf ein konstantes Volumen von 2 ml eingengt und aliquote Mengen einer papierchromatographischen Auftrennung unterworfen.

Der Nachweis der Indolglucosinolate erfolgte durch vergleichende Papierchromatographie in 2 Systemen (Butanol, Eisessig, Wasser 4:1:2; Isopropanol, Ammoniak, Wasser 8:1:1) in Verbindung mit spezifischen Farbreaktionen⁶, in Zweifelsfällen auch durch Spaltung der entstandenen Produkte mit Myrosinase und Nachweis der Umsetzungsprodukte (S-35-Rhodanid, C-14-Hydroxymethylindol, C-14-Diindolylmethan bzw. C-14-Ascorbigen¹). Ein Vergleich der jeweiligen Syntheserate der Indolglucosinolate mit der Rate anderer Senfölglicoside war durch quantitative Bestimmung der Einbaurate von S-35-Sulfat in die einzelnen Komponenten möglich.

Die Verbreitung von Glucobrassicin und Neoglucobrassicin innerhalb der untersuchten Arten ist in der Tabelle zusammengefasst.

Generell werden die bisher erzielten Ergebnisse durch die neuen Untersuchungen bestätigt. In fast allen jungen etiolierten Keimlingen der Cruciferen waren Glucobrassicin bzw. Neoglucobrassicin in nachweisbaren Mengen vorhanden.

Eine interessante Ausnahme ist zweifellos *Camelina sativa*, die auch bei hohen Aufnahmeraten von S-35-Sulfat bzw. hoher Syntheserate von C-14-Tryptophan aus dem gefütterten C-14-Indol keine nachweisbaren Mengen an Glucobrassicin bzw. Neoglucobrassicin enthält. Dies ist auch nach einer Verlängerung der Umsetzungszeit auf 72 h nicht der Fall, so dass zumindest dem jungen, etiolierten Keimling dieser Spezies die Fähigkeit zur Synthese von Indolglucosinolaten zu fehlen scheint. Da gleichzeitig hohe Einbauraten von S-35-Sulfat in indolfreie Glucosinolate nachweisbar sind, scheint diese Spezies hinsichtlich ihres Glucosinolathaushalts eine ausgezeichnete Stellung einzunehmen.

Dies ist zweifellos nicht der Fall bei einigen *Draba*-Arten, deren methanolische Extrakte ebenfalls negative Farbreaktionen auf Indolglucosinolate geben. Im Gegensatz zu *Camelina* zeigen diese hohe S-35- bzw. C-14-Markierungsraten im Rf-Bereich des Glucobrassicins. Es muss daher angenommen werden, dass auch hier Indolglucosinolate die primären Senfölglicoside des jungen Keimlings sind, dass aber die vorhandenen Mengen für eine Farbreaktion nicht ausreichen.

Damit erwies sich, mit Ausnahme von *Camelina sativa*, in 49 aus 50 untersuchten Arten Glucobrassicin als das durch die höchste Syntheserate im jungen etiolierten Keimling ausgezeichnete Glucosinolat. Alle weiteren durch S-35-Markierung und Umsetzung mit Myrosinase gekennzeichneten Senfölglicoside sind zumindest in diesem Entwicklungsstadium von geringerer Bedeutung.

Ob die im Verlauf der Ontogenie einsetzende Chemodifferenzierung und die damit erfolgende Synthese neuer

¹ R. GMELIN und A. I. VIRTANEN, Suomal. Tiedekad. Toim. A II, No. 107, 25 (1961).

² M. KUTACEK, Fiziologiya Rast. 11, 867 (1964).

³ H. SCHRAUDOLF, Experientia 21, 520 (1965).

⁴ H. SCHRAUDOLF, Experientia 23, 103 (1967).

⁵ E. JOSEFSON, Phytochemistry 6, 1617 (1967).

⁶ H. SCHRAUDOLF und F. BERGMANN, Planta 67, 75 (1965).

| | A | B | C |
|---|------------|------------|-------------|
| Alysseae | | | |
| <i>Alyssum corymbosum</i> Boiss. | ++ (1, 2) | - | 0,22 (1, 2) |
| <i>A. montanum</i> L. | ++ (1, 2) | - | |
| <i>A. orientale</i> Ard. | ++ (1, 2) | - | |
| <i>A. saxatile</i> L. | ++ (1, 2) | - | |
| <i>A. trichostachium</i> Rubr. | ++ (1, 2) | - | |
| <i>A. ovirens</i> Rechb. | ++ (1, 2) | - | |
| <i>Berteroa incana</i> (L.) DC. | ++ (1, 2) | - | 0,22 (1, 2) |
| <i>Vescaria utriculata</i> DC. | ++ (1, 2) | - | |
| Arabideae | | | |
| <i>Arabis caerulea</i> All. | ++ (1, 2) | - | 0,22 (1, 2) |
| <i>A. drummondii</i> A. Gray | ++ (1, 2) | - | 0,22 (1, 2) |
| <i>A. pumila</i> Jacq. | ++ (1, 2?) | - | 0,22 (1, 2) |
| <i>Barbarea vulgaris</i> R. Br. | ++ (1, 2) | - | |
| <i>Phoenicaulis cheiranthoides</i> Nutt. | ++ (1, 2) | - | |
| Brassicaceae | | | |
| <i>Brassica nigra</i> (L.) Koch | ++ (1, 2) | - | |
| <i>Cacile maritima</i> Scop. | ++ (1, 2) | ++ (1, 2) | 0,25 (1, 2) |
| <i>Crambe cordifolia</i> Stev. | ++ (1, 2) | - | 0,22 (1, 2) |
| <i>C. maritima</i> L. | ++ (1, 2) | ++ (1) | |
| <i>C. orientalis</i> L. | ++ (1, 2) | ++ (1) | 0,20 (1, 2) |
| <i>Diplotaxis tenuifolia</i> (Juslen) DC. | ++ (1, 2) | ++ (1, 2?) | |
| <i>Eruca sativa</i> Mill. | ++ (1, 2) | - | |
| <i>Moricandia arvensis</i> (L.) DC. | ++ (1, 2) | ++ (1, 2) | 0,19 (2) |
| Drabeae | | | |
| <i>Draba aizoides</i> L. | ? (1) | - | |
| <i>D. borealis</i> L. | ? (1, 2) | - | |
| <i>D. canadensis</i> Brunet | ++ (1, 2) | - | |
| <i>D. carinthiaca</i> Hoppe | ? (1) | - | |
| <i>D. incana</i> L. | ? (1, 2) | - | 0,21 (1, 2) |
| <i>D. sibirica</i> (Pall.) Thell. | ? (1) | - | |
| <i>D. siliquosa</i> Bieb. | ++ (1) | - | |

| | A | B | C |
|-------------------------------------|------------|------------|-------------|
| Hesperideae | | | |
| <i>Cheiranthus cheiri</i> L. | ++ (1, 2) | - | |
| <i>Erysimum canescens</i> Roth | ++ (1, 2) | - | |
| <i>E. crepidifolium</i> Reichb. | ++ (1, 2) | - | |
| <i>E. helveticum</i> (Jacq.) DC. | ++ (1, 2) | - | |
| <i>E. pannonicum</i> Crantz | ++ (1, 2) | - | |
| <i>E. rupestre</i> DC. | ++ (1, 2) | - | |
| <i>E. silvestre</i> (Cr.) Scop. | ? (1, 2) | - | |
| Lepidieae | | | |
| <i>Aethionema cordifolium</i> DC. | ++ (1, 2) | - | 0,22 (1, 2) |
| <i>Ae. creticum</i> Boiss et Heldr. | ++ (1, 2) | ? (1, 2) | 0,20 (1, 2) |
| <i>Cardaria draba</i> (L.) Desv. | ++ (1, 2) | - | |
| <i>Cochlearia officinalis</i> L. | ++ (1, 2) | +++ (1, 2) | |
| <i>Isatis glauca</i> Auch. | +++ (1, 2) | +++ (1, 2) | |
| <i>I. tinctoria</i> L. | +++ (1, 2) | +++ (1, 2) | |
| <i>Thlapsi arvense</i> | +++ (1, 2) | +++ (1, 2) | |
| Lunarieae | | | |
| <i>Lunaria annua</i> L. | ++ (1, 2) | - | |
| <i>Pellaria turkmena</i> Lipsky | ++ (1, 2) | ++ (1, 2) | |
| Mathioleae | | | |
| <i>Aubrietia croatica</i> Schott | ++ (1, 2) | - | |
| <i>Matthiola incana</i> (L.) R. Br. | ++ (1, 2) | - | |
| Sisymbrieae | | | |
| <i>Camelina sativa</i> (L.) Crantz | - | - | |
| <i>Sisymbrium austriacum</i> Jacq. | ++ (1, 2) | +++ (1, 2) | |
| <i>S. irio</i> L. | ++ (1, 2) | +++ (1, 2) | |
| <i>S. tanacetifolium</i> L. | ++ (1, 2) | ++ (1, 2) | |

Vorkommen von Glucobrassicin (A), Neoglucobrassicin (B) und einem weiteren Indolglucosinolat (C: angegeben der jeweilige Rf-Wert in Butanol:Eisessig:Wasser 4:1:2) in etiolierten Keimlingen

von Cruciferen. Angegeben sind die Farbtintensitäten nach Umsetzung mit DMCA (+) und die Markierung der entsprechenden Zone mit S-35-Sulfat (1) bzw. C-14-Indol (2).

Senfölglicoside eine Folge der Genese neuer Enzyme mit unterschiedlicher Substratspezifität ist, oder durch eine Verschiebung der Mengenverhältnisse des Substratpools verursacht wird, ist Gegenstand einer laufenden Untersuchung (BERGMANN, in Vorbereitung).

Während Glucobrassicin in allen untersuchten Arten nachzuweisen ist, findet sich Neoglucobrassicin bevorzugt in den Tribes Lepidinae und Sysimbrieae. Daneben kommt Neoglucobrassicin auch in Vertretern der Brassiceae und Lunarieae vor. In allen weiteren untersuchten Tribes war Neoglucobrassicin zumindest innerhalb der Empfindlichkeit unserer Methode nicht nachweisbar. Ähnliche Unterschiede waren auch zwischen Capparidaceae, die beide Indolglucosinolate führen, und Resedaceen, die ausschließlich Glucobrassicin enthalten, beobachtet worden⁸.

Besonders reich an Indolglucosinolaten sind die beiden untersuchten *Isatis*-Arten und *Thlapsi arvense*.

Vereinzelt scheint neben Glucobrassicin und Neoglucobrassicin ein weiteres Indolglucosinolat mit Rf-Werten um 0,20 bis 0,22 (But: EE: H₂O) in Cruciferen vorzukommen. Seine Isolierung und Identifizierung ist bislang nicht gelungen. Der parallele Einbau von S-35-Sulfat und C-14-Indol sowie eine Spaltbarkeit durch Myrosinase sind starke Hinweise auf seine Indolglucosinolatstruktur.

Darüberhinaus ist in Keimlingen von *Isatis tinctoria* und *Isatis glauca* nach Fütterung von C-14-Indol schon nach

kurzer Umsetzungszeit eine signifikante Markierung der zum erstenmal von BEIJERINCK^{7,8} beschriebenen Indigo-Vorstufe zu beobachten. Diese Verbindung ist inzwischen durch EPSTEIN, NABORS und STOWE⁹ als Indoxyl-5-Ketogluconat identifiziert worden. Erste Daten zu ihrer Biogenese werden an anderer Stelle veröffentlicht¹⁰.

Summary. In etiolated seedlings of Cruciferae 49 out of 50 species contain indolglucosinolates. In this developmental stage the rate of Glucobrassicin biogenesis surpasses the synthesis of all other mustard oil glucosides. The meaning of these results for the chemodifferentiation of the Cruciferae is discussed.

H. SCHRAUDOLF

Botanisches Institut,
63 Giessen (Deutschland), 6. Dezember 1967.

⁷ M. W. BEIJERINCK, Proc. K. ned. Akad. Wet. 2, 120 (1900).

⁸ M. W. BEIJERINCK, Proc. K. ned. Akad. Wet. 3, 10 (1901).

⁹ E. EPSTEIN, M. W. NABORS and B. B. STOWE, Nature 216, 547 (1967).

¹⁰ Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danke ich für finanzielle Unterstützung, Fräulein F. ONDERKA für technische Hilfe bei der Durchführung der Untersuchung.