

of their nuclei and a great multiplication of cytoplasm (Figure 2). Others underwent sustained divisions (Figure 3) and grew into cell clusters (Figure 4) within 20 days.

Summary. Mesophyll protoplasts of *Hyoscyamus niger* var. *annuus* could be isolated enzymatically. They showed cell division and developed into cell clusters.

H. W. KOHLENBACH and E. BOHNKE

Fachbereich Biologie-Botanik — der Universität, Siesmayerstrasse 70, D-6000 Frankfurt am Main 1 (German Federal Republic, BRD), 30 June 1975.

⁴ O. L. GAMBORG and L. R. WETTER, *Plant Tissue Culture Methods* (published by the National Research Council of Canada 1975).

Einfluss verschiedener Kombinationen von Silybin, Silydianin und Silychristin auf das embryonale Wachstum von Gartenkresse (*Lepidium sativum* L.)

Influence of Various Combinations of Silybine, Silydianine and Silychristine on the Embryonic Growth of Garden Cress (*Lepidium sativum* L.)

In einer früheren Mitteilung¹ ist über den Einfluss von Silymarin auf Keimung und embryonales Wachstum von Gartenkresse (*Lepidium sativum* L.) berichtet worden. Darin wurde gezeigt, dass die drei Hauptkomponenten des nativen Silymarins²⁻⁴, die Polyhydroxyphenylchromanone Silybin (I), Silydianin (II) und Silychristin (III), unterschiedliche aber signifikante und dosisabhängige Wirkungen auf das Wurzelwachstum der Kressekeimlinge

ausüben, auf die Samenkeimung aber keinen äusserlich erkennbaren Einfluss zeigen.

Diesen drei Verbindungen wird andererseits von VOGEL⁵ eine gleichartige, auf die Leber gerichtete Aktivität zugeschrieben; zwischen den hepatischen Wirksamkeiten von I, II und III sollen keine qualitativen Unterschiede bestehen⁵. Die zuletzt genannte auf den Ergebnissen zahlloser tierexperimenteller Untersuchungen beruhende Aus-

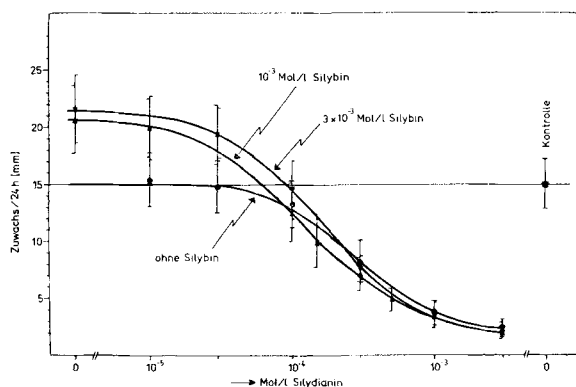


Fig. 1. Dosis-Wirkungs-Kurven und Standardabweichungen von Silydianin und von zwei Kombinationen Silydianin + Silybin im Wuchstest an Kressekeimlingen.

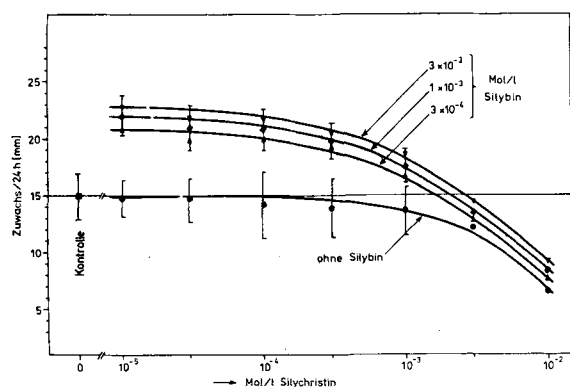


Fig. 2. Dosis-Wirkungs-Kurven und Standardabweichungen von Silychristin und von drei Kombinationen Silychristin + Silybin im Wuchstest an Kressekeimlingen.

¹ H. KOCH, *Experientia* 31, 281 (1975).

² B. JANIAK und R. HÄNSEL, *Planta med.* 8, 71 (1960). – R. HÄNSEL und G. SCHÖPFLIN, *Tetrahedron Lett.* 1967, 3645. – A. PELTER und R. HÄNSEL, *Tetrahedron Lett.* 1968, 2911. – R. HÄNSEL, J. SCHULZ, A. PELTER, H. RIMPLER und A. F. RIZK, *Tetrahedron Lett.* 1969, 4417. – A. PELTER und R. HÄNSEL, *Chem. Ber.* 108, 790 (1975). – R. HÄNSEL, J. SCHULZ, und A. PELTER, *Chem. Ber.* 108, 1482 (1975).

³ H. WAGNER, L. HÖRHAMMER und R. MÜNSTER, *Naturwissenschaften* 52, 305 (1965); *Arzneimittel-Forsch.* 18, 688 (1968). – H. WAGNER, *Arzneimittel-Forsch.* 18, 696 (1968). – D. J. ABRAHAM, S. TAKAGI, R. D. ROSENSTEIN, R. SHONO, H. WAGNER, L. HÖRHAMMER, O. SELIGMANN und N. R. FARNSWORTH, *Tetrahedron Lett.* 1970, 2675. – H. WAGNER, O. SELIGMANN, L. HÖRHAMMER und M. SEITZ, *Tetrahedron Lett.* 1971, 1895. – H. WAGNER, P. DIESEL und M. SEITZ, *Arzneimittel-Forsch.* 24, 466 (1974).

⁴ G. HALBACH und K. GÖRLER, *Planta med.* 19, 293 (1971). – G. HALBACH und K. WINKLER, *Z. Naturforsch.* 26b, 971 (1971).

⁵ G. VOGEL, W. TROST, R. BRAATZ, K. P. ODENTHAL, G. BRÜSEWITZ, H. ANTWEILER, R. SEEGER und M. ULBRICH, *Arzneimittel-Forsch.* 25, 82, 179 (1975).

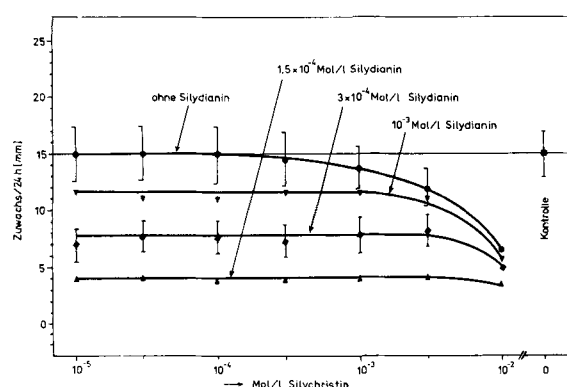
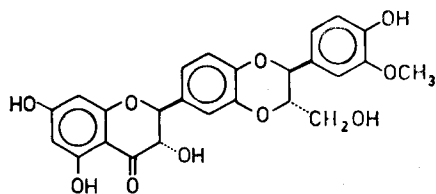


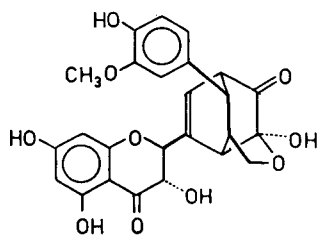
Fig. 3. Dosis-Wirkungs-Kurven und Standardabweichungen von Silydianin und von drei Kombinationen Silydianin + Silychristin im Wuchstest an Kressekeimlingen.

sage steht in deutlichem Gegensatz zu den von uns an pflanzlichen Testorganismen bzw. an Enzymen pflanzlicher Herkunft in vitro gewonnenen Befunden^{1,6}. Allem Anschein nach liegt hier ein grundsätzlicher Unterschied zwischen den Reaktionen der tierischen und pflanzlichen Lebewesen auf die Wirkung der Silymarin-Substanzen (I–III) vor.

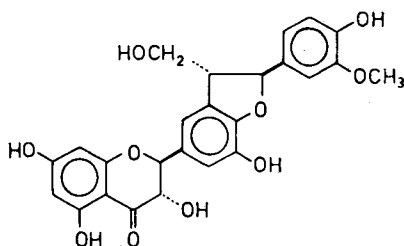
Um die Wirkungsqualitäten von I, II und III noch besser zu charakterisieren und um etwaige Interferenzen zwischen den drei untereinander sehr nahe verwandten Stoffen^{1–4} festzustellen, haben wir nun Kombinationen von je zwei der drei Verbindungen¹ an unserem pflanzlichen Testsystem geprüft. Die Methodik ist bereits früher ausführlich beschrieben worden^{1,7}.



I



II



III

Ergebnis. In Figur 1 sind die Dosis-Wirkungs-Kurven (mit Standardabweichungen) von 2 Kombinationen, und zwar von 10^{-3} und von 3×10^{-3} M/l I mit steigenden Konzentrationen von II (von 0 bis 3×10^{-3} M/l) wiedergegeben. Die Kurven zeigen im wirksamen Bereich von II keine signifikanten Abweichungen von der Dosis-Wirkungs-Kurve des Silydianins.

I, das selbst nur eine fördernde Wirkung auf das Wachstum der Kressekeimlinge zeigt¹, vermag also die Hemmwirkung des Silydianins¹ nicht aufzuheben. Der Antagonismus zwischen I und II erweist sich als unübersteigbar, er ist nicht-kompetitiv. I und II greifen in der Pflanze wahrscheinlich an verschiedenen Rezeptoren an.

Figur 2 enthält die Dosis-Wirkungs-Kurven von drei Kombinationen, und zwar von 3×10^{-3} , 1×10^{-3} (mit Standardabweichungen) und 3×10^{-4} M/l I mit steigen-

den Konzentrationen von III (von 10^{-5} bis 10^{-2} M/l) und die Dosis-Wirkungs-Kurve von III (mit Standardabweichungen). Hier zeigt sich, dass I deutlich und dosisabhängig die Hemmwirkung von III antagonisiert. Die beiden Wirkstoffe stehen zueinander im Verhältnis von kompetitiven Antagonisten. Aus der Tatsache, dass III keine «dualistische» Wirkung besitzt (d.h. zuerst Verstärkung, dann Abschwächung des Silybin-Effektes), ist ferner zu schliessen, dass III kein partieller Agonist im Sinne der Silybin-Wirkung ist. I und III greifen am gleichen Rezeptor in der Pflanze an, aber nur I besitzt «intrinsic activity» in bezug auf den Wuchseffekt; III hat wohl «affinity» zum gleichen Rezeptor, aber keine «intrinsic activity».

In Figur 3 schliesslich sind die Dosis-Wirkungs-Kurven von 3 Kombinationen, und zwar von $1,5 \times 10^{-4}$, 3×10^{-4} (mit Standardabweichungen) und 10^{-3} M/l II mit steigenden Konzentrationen von III (von 10^{-5} bis 10^{-2} M/l) und die Dosis-Wirkungs-Kurve von III (mit Standardabweichungen) aufgeführt. Auch III vermag die Hemmwirkung von II nicht aufzuheben, die beiden Wirkstoffe verhalten sich zueinander nicht-kompetitiv. Im hohen Konzentrationsbereich verstärken sich die Hemmwirkungen leicht, II und III wirken dort schwach synergistisch, doch ist dieser Effekt nicht sehr ausgeprägt.

Aus diesen Experimenten geht hervor, dass die drei Silymarin-Substanzen (I–III) ausserordentlich spezifisch und unterschiedlich auf das pflanzliche Testobjekt einwirken. Offenbar entscheidet die Geometrie eines ganz bestimmten Molekülteils über Art und Ausmass der Wechselwirkung mit einem noch unbekannten Rezeptor des biologischen Systems.

Der typische «Silymarin-Effekt» – im vorliegenden Fall die Stimulierung des embryonalen Wachstums der Kressekeimlinge – wird nur von einer Komponente (I) hervorgerufen. Die beiden anderen Verbindungen (II und III) wirken, entgegen dem Befund von⁵, nicht gleichsinnig mit I. Sie antagonisieren den Effekt von I vielmehr und schwächen ihn ab. Alle Effekte sind eindeutig dosisabhängig, und zwar sowohl in bezug auf die Konzentration der einzelnen Wirkstoffe, als auch auf das Mengenverhältnis derselben untereinander.

Summary. The growth-stimulating activity of silymarine on *Lepidium sativum* L.-seedlings is due only to its main component silybine. The minor constituents, silydianine and silychristine, antagonize the effect of silybine in a specific and dose-dependent manner.

H. KOCH

Pharmazeutisch-Chemisches Institut der Universität Wien,
Währingerstrasse 10,
A-1090 Wien (Österreich), 12. Juni 1975.

⁶ H. KOCH, unveröffentlicht.

⁷ H. KOCH, *Scientia pharm.* 39, 209 (1971).