

Die einzelnen Proteinfraktionen dienten zur Bestimmung der Fermentaktivitäten.

1. Die Lactoperoxydase wurde durch die „Rothenfusser-sche Reaktion“<sup>1)</sup> nachgewiesen. Diese Reaktion wurde so modifiziert, daß eine kolorimetrische Bestimmung möglich wurde. Es zeigte sich, daß die Lactoperoxydase-Aktivität an den Proteinfraktionen 8 und 9 haftet.

2. Die alkalische Milchphosphatase wurde durch Spaltung spezifischer Substrate wie z.B. Di-natrium-phenyl-phosphat, Phenolphthaleinphosphat erkannt. Die Milchphosphatase-Aktivität haftet an den Proteinfraktionen 5 und 6.

3. Die Milchamylase wurde mit Hilfe der Jod-Stärke-Reaktion bestimmt. Ein kolorimetrisches Verfahren von NIKKILÄ<sup>2)</sup>, welches sich als sehr geeignet erwiesen hat, wurde entsprechend durchgearbeitet. Die stärkste Fermentaktivität wurde an den Fraktionen 7, 8 und 9 ermittelt.

Damit sind wichtige Erkenntnisse über die Fermentorte an den verschiedenen Proteinfraktionen gewonnen worden. Diese Versuchsergebnisse werden an anderer Stelle näher beschrieben.

Institut für Chemie an der Landwirtschaftlich-Gärtnerischen Fakultät der Humboldt-Universität, Berlin (Direktor: Prof. Dr. L. REICHEL)

LUDWIG REICHEL und HORST KONRAD

Eingegangen am 6. März 1958

<sup>\*)</sup> Herrn Professor Dr. W. GRASSMANN zum 60. Geburtstag gewidmet.

<sup>1)</sup> ROTHENFUSSER, S.: Z. Unters. Lebensmittel 16, 68 (1908). — <sup>2)</sup> NIKKILÄ, E. u. Mitarb.: Acta chem scand. 6, 617 (1952).

#### Alkaloide aus Hymenocallis-Arten

Von den annähernd 50 bekannten Arten der Amaryllidoideen-Gattung *Hymenocallis* sind bisher *H. littoralis* Salisb.<sup>1)</sup> *H. caymanensis* Herb.<sup>1)</sup>, *H. occidentalis* Kunth. (*H. crassifolia* Herb.)<sup>1)</sup>,<sup>2)</sup> und *H. speciosa* Salisb.<sup>3)</sup> auf ihren Alkaloidgehalt geprüft worden. In allen vier Pflanzen fanden sich Tazettin und Lycorin, die in *H. occidentalis* von Nivalin, in *H. speciosa* von Nerinin, Hippeastrin und Haemanthamin begleitet waren. Wir haben nunmehr die ebenfalls zur Sect. *Euhymenocallis* gehörende *H. rotata* Herb. (*H. lacera* Salisb.) sowie die beiden einander nahe verwandten *Ismene*-Arten *H. amancaes* Nichols. und *H. calathina* Nichols. untersucht.

Tabelle 1. Alkaloidgehalt in % der Gesamt-Alkaloide

|                      | <i>H. amancaes</i> | <i>H. calathina</i> | <i>H. rotata</i> | <i>H. speciosa</i> <sup>3)</sup> |
|----------------------|--------------------|---------------------|------------------|----------------------------------|
| Gesamt-Alkaloide (%) | 0,10               | 0,04                | 0,12             | 0,03                             |
| Lycorin              | 55                 | 15                  | 4                | 66                               |
| Tazettin             | 18                 | 41                  | 71               | 1                                |
| Haemanthamin         | 7                  | 16                  | 15               | 2                                |
| Galanthamin          | 11                 | 5                   | 1                | —                                |
| Hippeastrin          | 1                  | —                   | 1                | 10                               |
| Nerinin              | 1                  | 2                   | —                | 16                               |
| Homolycorin          | —                  | 5                   | 1                | —                                |
| Galanthin            | 3                  | —                   | —                | —                                |
| Vittatin             | —                  | 2                   | —                | —                                |

Aus frischen dreijährigen Zwiebeln dieser drei Arten, die im November in Holland ausgegraben worden waren und einen Monat gelagert hatten, isolierten wir Lycorin, Tazettin, Haemanthamin und Galanthamin in unterschiedlichen Mengenverhältnissen; Hippeastrin, Nerinin und Homolycorin wurden in jeweils zwei, Galanthin und Vittatin in jeweils einer der drei Pflanzen aufgefunden. Die Ausbeuten sind zusammen mit den früher bei *H. speciosa* ermittelten Zahlen in der Tabelle 1 verzeichnet.

Die Isolierung der Alkaloide und ihre Identifizierung erfolgte in der früher beschriebenen Weise<sup>3)</sup>.

Chemisches Institut der Humboldt-Universität, Berlin

HANS-G. BOIT und WERNER DÖPKE

Eingegangen am 16. April 1958

<sup>1)</sup> WILDMAN, W.C., u. C. J. KAUFMAN: J. Amer. Chem. Soc. 76, 5815 (1954). — <sup>2)</sup> BRIGGS, C.K., P. F. HIGHER, R. J. HIGHER u. W.C. WILDMAN: J. Amer. Chem. Soc. 78, 2899 (1956). — <sup>3)</sup> BOIT, H.-G., u. W. DÖPKE: Chem. Ber. 90, 1827 (1957).

#### Alkaloide von *Papaver paeoniflorum*

Gelegentlich einer Untersuchung einheimischer *Papaver*-Arten haben wir den sog. gefüllten Pönnienmohn, eine kultivierte Form von *Papaver paeoniflorum* Hort., auf seinen Alkaloidgehalt geprüft. Aus 25 kg frischem Kraut von Pflanzen, die bei Erfurt angebaut und kurz vor der Blüte geerntet worden waren, erhielten wir 1,4 g Basengemisch, das durch Chromatographie an Aluminiumoxyd in 50% Codein, 18% Thebain, 6% Narcotin und 1% Papaverin aufgeteilt wurde. Außer diesen auch in *Papaver somniferum* und seinen Varietäten vorkommenden Alkaloiden isolierten wir 2% Rhoeadin, das bisher nur als Inhaltsstoff von *Papaver rhoeas* bekannt war. Die Identität der genannten Basen wurde durch direkten Vergleich mit authentischen Präparaten sichergestellt.

Chemisches Institut der Humboldt-Universität, Berlin

HANS-G. BOIT und HORST EHMKE

Eingegangen am 16. April 1958

#### Acetylitaloxin, ein neues Glykosid aus den Blättern von *Digitalis lanata* Ehrh.\*)

Nach der Isolierung von Gitaloxin<sup>1a)</sup> und Verodoxin<sup>1b)</sup> aus den Blättern von *Digitalis purpurea* haben wir uns mit der Frage beschäftigt, ob auch andere *Digitalis*-Arten, insbesondere die therapeutisch bedeutungsvolle *Digitalis lanata*, mit Ameisensäure veresterte Herzglykoside enthalten. Diese Frage konnte inzwischen von FAUCONNET, FAZAN und KUTTER<sup>2)</sup> auf Grund der Ergebnisse papierchromatographischer Untersuchungen von Extrakten aus getrockneten Blättern von *Digitalis lanata* positiv beantwortet werden.

Im Verlaufe unserer eigenen Untersuchungen an Extrakten aus fermentierten und unfermentierten Blättern von *Digitalis lanata* haben wir papierchromatographisch sechs neue Glykoside aufgefunden, bei denen es sich mit hoher Wahrscheinlichkeit um mit Ameisensäure veresterte Cardenolidglykoside handelt. Zwei davon konnten wir inzwischen in Substanz isolieren. Das eine ist identisch mit Verodoxin<sup>1b, c)</sup>, das andere ist ein am C-Atom 16 formyliertes Acetylitaloxin, also ein 16-Formylacetylitaloxin oder Acetylitaloxin.

Das neue Glykosid hat im mit Xylol-Methyläthylketon 1:1 (X-MÄK)<sup>3)</sup> entwickelten Papierchromatogramm den gleichen  $R_f$ -Wert wie Digitoxigenin. Die Isolierung des Glykosids gelang auf folgende Weise: die aus mehreren Formamidcellulosepulver-Säulen [Methode s. 1<sup>a)</sup>] mit X-MÄK erhaltene Acetyldigitoxin, Digitoxigenin, Acetylitaloxin, Digitoxin und Acetylitaloxin enthaltende Fraktion wurde mit Äther von Digitoxigenin und einem Teil der nicht herzwirksamen Ballaststoffe befreit. Aus dem Rückstand wurde das Acetylitaloxin durch mehrfach aufeinanderfolgende Chromatographie an Formamidcellulosepulver-Säulen mit den Lösungsmittelgemischen Cyclohexan-Tetrahydrofuran 3:2, Benzol-Tetrahydrofuran 8:1 und Heptan-Chloroform 2:3 von Acetyldigitoxin, Digitoxin und Acetylitaloxin abgetrennt und durch Umkristallisation aus Chloroform-Äther rein erhalten.

Das Acetylitaloxin bildet bei Behandlung mit verdünntem Ammoniak<sup>1a)</sup> oder mit Bleiacetatlösung<sup>2)</sup> Acetylitaloxin, das den gleichen  $R_f$ -Wert aufweist wie das natürliche Acetylitaloxin- $\alpha$ . Bei der Behandlung mit sehr verdünnter Salzsäure in Aceton entsteht neben Gitoxigenin-mono- und -bis-digitoxosid und Gitoxigenin das Gitaloxigenin. Damit ist die Stellung der Formylgruppe im Genin an C-Atom 16 und die der Acetylgruppe an der endständigen Digitoxose bewiesen.

Ameisensäure und Essigsäure wurden ferner gaschromatographisch nach Umesterung zu den entsprechenden Methylestern nachgewiesen und quantitativ bestimmt<sup>4)</sup>.

Acetylitaloxin:  $C_{44}H_{66}O_{16}$ , (850,93). Ber.: C 62,1, H 7,82, HCO 3,41,  $CH_3CO$  5,06. Gef.: C 62,1, H 7,93, HCO 3,67,  $CH_3CO$  5,54.  $[\alpha]_D^{20} = +4,5^\circ \pm 1,0^\circ$  (Pyridin),  $\lambda_{max} = 216 \mu$  ( $\log \epsilon = 4,19$ ). Schmelzpunkt: 243 bis 245°.

Pharmakologie: Die Titration am Meerschweinchen ergab eine im Bereich des Gitaloxins liegende tödliche Dosis<sup>5)</sup>.

Das genuine Glykosid des Acetylitaloxins, Gluco-acetylitaloxin, findet sich in unseren mit Chloroform-Tetrahydrofuran-Formamid 50:50:6,5 entwickelten Papierchromatogrammen von Extrakten aus unfermentierten *Digitalis lanata*-Blättern mit  $R_f = 0,77$  dicht unter Lanatosid A.

Gluco-acetylitaloxin ist eines der von KUTTER<sup>2)</sup> papierchromatographisch in Lanata-Extrakten identifizierten Formylglykoside<sup>6)</sup>.

Acetylglucosin ist offenbar ein in Digitalis-Arten weit verbreitetes Glykosid. Wir haben es papierchromatographisch auch in *D. ferruginea*, *D. thapsi*, *D. lutea* und *D. parviflora* aufgefunden.

Forschungslaboratorien der Firma C. F. Boehringer und Söhne G.m.b.H., Mannheim-Waldhof.

E. HAACK, F. KAISER, M. GUBE und H. SPINGLER

Eingegangen am 14. April 1958

\*) XI. Mitteilung über Herzglykoside.

\*\*) Die pharmakologischen Untersuchungen wurden von Herrn Dozent Dr. G. KRONEBERG im Pharmakologischen Laboratorium der C. F. Boehringer u. Söhne G.m.b.H. ausgeführt.

\*\*\* Zusatz bei der Korrektur. Inzwischen ist dieses genuine Glykosid isoliert und Lanatoid E genannt worden: ANGLIKER, E., F. BARFUSS und J. RENZ: *Helv. chim. Acta* 41, 480 (1958).

1) HAACK, E., F. KAISER u. H. SPINGLER: a) *Chem. Ber.* 89, 1353 (1956). — *Naturwiss.* b) 43, 130 (1956); c) 45, 241 (1958). — 2) FAUCONNET, L., u. R. FAZAN: *Pharmac. Acta Helvetica* 32, 361 (1957). — KÜTTER, D.: *Diss. Lausanne* 1957. — 3) KAISER, F.: *Chem. Ber.* 88, 556 (1955). — 4) Die Beschreibung der Methode erfolgt in Kürze an anderer Stelle.

#### Untersuchungen über den Zusammenhang zwischen Nukleinsäure- und Eiweißstoffwechsel in grünen Blättern

Die Bewurzelung isolierter Blätter führt bei geeigneter Ernährung und nicht zu starker Belichtung zu einer physiologischen Regeneration selbst „alter“ und stark vergilbter Blätter. Diese äußert sich in einer Wiederergrünung, in starkem und anhaltendem Wachstum (im wesentlichen durch Zellvergrößerung), verbunden mit Plastidenvermehrung und einer dem Wachstum konform gehenden Eiweißsynthese<sup>1)</sup>. Gleichzeitig wird der „lösliche Stickstoff“ vermehrt, wobei es zu bedeutender Akkumulation von Nitrat oder von charakteristischen „Wurzelstoffen“ in der Blattspreite kommen kann, von Glutamin und Nikotin bei *Nicotiana*, von Allantoin bei *Phaseolus* usw. Der Gesamt-Purin-Stickstoff folgt dem Eiweiß-Stickstoff in so strenger Weise, daß wir die Bildung von Nukleoproteiden vermuteten<sup>1)</sup>. Diese Prozesse können für mehr als 100 Tage einen linearen, ungestörten Verlauf nehmen und Frisch- und Trockengewicht wie auch den Eiweißgehalt der Blattspreiten auf das 20fache erhöhen.

Die sorgfältigere Fraktionierung der phosphatenthaltenden Verbindungen führte zu dem Ergebnis, daß während der Bewurzelung der Blätter von *Nicotiana rustica* der Nukleinsäure-P relativ zum Eiweiß-N ansteigt, danach bis etwa zum 25. Tag abfällt, und nun bis zum 125. Tag völlig konstant bleibt. Diese Konstanz der Relationen gilt sowohl für RNS-Protein wie auch für DNS-Protein. Die Reinheit der NS-Fractionen wurde durch papierchromatographischen Nachweis von Uracil und Thymin geprüft.

Wurden solche „Verjüngungsversuche“ mit fast völlig ausgebleichten Blättern verschiedener Sorten von *Nicotiana tabacum* an der Pflanze durchgeführt, indem diese Pflanzen der konkurrierenden Knospen und Blätter beraubt und bis auf ein oder zwei Versuchsblätter zurückgeschnitten wurden, so zeigten diese Blätter ebenfalls starkes Wachstum und starke Eiweißsynthese. Dieser folgte aber nur die RNS, während die DNS nur in geringem Maße zunahm.

Bei der natürlichen Folge der Blätter einer unbehandelten Pflanze von *Nicotiana tabacum* nimmt absolut die Eiweißmenge von den oberen (jüngeren) zu den mittleren Blättern zu, zu den unteren (älteren) Blättern aber wieder ab. Diesen Veränderungen folgt der RNS- und DNS-Gehalt nicht völlig, so daß von oben nach unten der Quotient Nukleinsäure:Eiweiß erst abnimmt und im vergilbenden Blatt wieder zunimmt.

Aus diesen Untersuchungen geht hervor, daß für die Beurteilung der Nukleinsäure-Eiweiß-Beziehungen der Entwicklungszustand und artspezifische Charakter von großer Bedeutung sind. Wird eine rapide Eiweiß-Synthese herbeigeführt, nehmen auch die NS zu, und zwar bei Blattstecklingen von *Nicotiana rustica* in einer solch übereinstimmenden Weise, daß man den Nukleinsäuren eine noch weitergehende Funktion bei der Eiweißsynthese zusprechen möchte, als sie in der Matrizentheorie zum Ausdruck kommt. Wieweit der offenbar stöchiometrische Nukleinsäure-Eiweiß-Komplex im Steckling und an der Pflanze verschieden dissoziiert, bedarf weiterer Untersuchungen. Bei dem großen Anteil der Plastiden am gesamten Zell-Eiweiß war es wahrscheinlich, daß die Chloroplasten NS in größeren Mengen enthalten. Wir wiesen durch Nacharbeitung bekannter Methoden in der Plastidenfraktion von Blatthomogenaten RNS und DNS nach. Es muß aber betont werden, daß trotz sorgfältigster Reinigung eine von

Kernfragmenten völlig freie Plastidenfraktion nicht erhalten werden konnte, so daß über den wahren Gehalt der Plastiden an RNS und DNS noch keine eindeutigen Urteile abgegeben werden können<sup>2)</sup>.

Arbeitsstelle für Biochemie der Pflanzen in Halle a. d. Saale der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin

K. MOTHES, I. BÖTTGER und R. WOLLGIEHN

Eingegangen am 24. April 1958

1) MOTHES, K., u. L. ENGELBRECHT: *Flora [Jena]* 143, 428 (1956). — 2) Die ausführliche Mitteilung erfolgt durch I. BÖTTGER u. R. WOLLGIEHN in *Flora [Jena]* 146 (1958).

#### Beitrag zur Funktion der Kieselsäure im pflanzlichen Organismus

In einer Reihe früherer Arbeiten hatten wir darauf hingewiesen<sup>1), 2), 3)</sup>, daß die Kieselsäure, die von verschiedenen Pflanzenfamilien bekanntlich in größeren Mengen aufgenommen und gespeichert wird, neben ihrer Funktion als Gerüstsubstanz in der Zellwand und ihren Organen sicher auch andere physiologische Aufgaben in der lebenden Zelle übernimmt. Bei Weizen-Jungpflanzen, die auf phosphatfreien Nährlösungen mit einem Zusatz von Quarzkieselsäure (durch tagelanges Schütteln von gekörntem Bergkristall vom Reinheitsgrad 99,98%  $\text{SiO}_2$  in Aqua dest. erhalten) gezogen wurden, konnte die schnelle Aufnahme dieser strukturierten Kieselsäure in der Wurzel wie im Stengel röntgenographisch verfolgt und

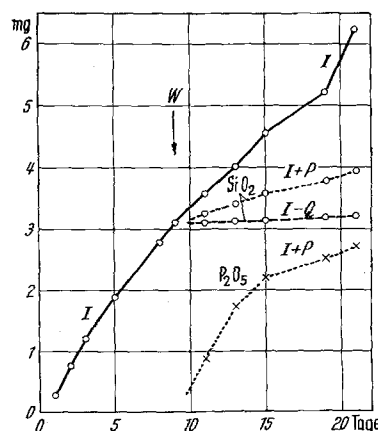


Fig. 1. Gehalt von Weizenkeimlingen, die auf einer Ausgangsnähr-lösung gezogen, zum Teil am 9. Tage auf andere Nährlösungen um-gesetzt wurden, an Kieselsäure ( $\text{SiO}_2$ , O) und an Phosphat ( $\text{P}_2\text{O}_5$ , X) in mg, bezogen auf je 5 Pflanzen Trockengewicht. I Ausgangsnähr-lösung mit Kieselsäure, aber ohne Phosphat (s. unten); I + P Aus-gangslösung I mit Zusatz von Phosphat; I + Q Nährlösung wie I, aber ohne  $\text{SiO}_2$ . W Wechsel der Nährlösung. Abszisse: Alter der Pflanzen. Ausgangsnährlösung I mit Quarzkieselsäure, ohne Phos-phat. Zusammensetzung: 11,0 g  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ , 2,92 g  $\text{K}_2\text{SO}_4$ , 0,23 g  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , 2,5 g  $\text{MgSO}_4$  (phosphatfrei), 5 Tropfen 10%  $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ -Lösung, 8 Liter Aqua dest., 2 Liter Quarzwasser

nachgewiesen werden<sup>2b)</sup>. Ebenso konnten ROTHBÜHR und SCOTT<sup>3)</sup> an Weizenpflanzen, die nach gleicher Methode wie in unseren Versuchen auf Wasserkulturnähr-lösungen gezogen waren, bereits nach 30 min die Aufnahme und Wanderung des <sup>31</sup>Si-Isotops aus der Nährlösung bis in die Blätter hinein quantitativ bestimmen, wobei die Aufnahme und Wanderungs-geschwindigkeit der Kieselsäure gegenüber anderen Nähr-salzen zum Teil erhöht war.

Neu durchgeführte Versuche ergeben nun, daß aus 3 Tage alten Keimlingen gezogene Weizen-Jungpflanzen, denen Quarzkieselsäure in phosphatfreier Nährlösung ange-boten wurde, diese in kurzer Zeit so fest im Gewebe einbauen, daß sie die Kieselsäure, auch wenn die Pflanzen anschließend silikat- und phosphatfrei ernährt werden, aus dem Gewebe nicht mehr abgeben. Das bedeutet, die eingewanderte Kiesel-säure muß so weit wasserunlöslich geworden sein, daß sie trotz des ständigen Ionenaustausches der Nährsalze an den Zell-membranen aus dem Gewebe in die Nährlösung nicht mehr auswandern kann (Fig. 1). Anders verhält es sich im Vergleich hierzu bei der Phosphorsäure. Werden Weizenpflanzen, die auf phosphathaltiger Nährlösung gezogen wurden, nach dem 9. Tage auf phosphatfreie Nährlösung umgesetzt, so wandert die bereits von der Pflanze aufgenommene Phosphorsäure in unge-fähr 10 Tagen fast vollständig aus dem Pflanzengewebe