Vergleich zu Testsubstanzen identifiziert und an Hand der Extinctionskoeffizienten⁷ bzw. von Einwaagen⁵ bestimmt (vgl. l. c.⁶). Die Ausbeuten betragen für Uroporphyrin 91%⁶, für Coproporphyrin 87%⁶, für Protoporphyrin 70%⁸ und für Protohäm in 70 Prozent⁸. Die Abweichungen der Einzelwerte vom arithmetischen Mittel liegen unter 6 Prozent. Die Uroporphyrinisomere I und III wurden in bekannten Systemen⁷ auf Celluloseplatten differenziert (vgl. l. c.⁶). Protohämin-di-ME wurde mit der Eisensulfatmethode⁷ in Protoporphyrindi-ME überführt (vgl. l. c.⁵).

Ergebnisse. Das Gesamtwachstum in Gegenwart von AT betrug 0,73 mg Bakterientrockengewicht (80 °C)/ml, in den AD-Kulturen 0,55 mg/ml gegenüber 0,97 mg/ml in der Kontrollserie. Die Tab. 1 zeigt die in den einzelnen Ansätzen gefundenen Mengen von Uroporphyrin (vorwiegend Isomer I), Protoporphyrin und Eisenprotoporphyrin; diese werden wegen der wechselnden Verteilung zwischen Zellinhalt und Kulturüberstand (vgl. l. c.^{4,5}) auf das bewachsene Kulturvolumen bezogen.

Coproporphyrin und die in relativ geringer Menge vorliegenden Porphyrine mit 3, 5, 6 und 7 Carboxylgruppen, welche sich als ME in System I ebenfalls auf-

trennen, wurden nicht quantitativ bestimmt; die Chromatogramme zeigten jedoch, daß der Anteil der 3–7-Carboxylporphyrine in den AT-Ansätzen weit geringer war als in den übrigen Kulturen.

In Gegenwart von AD tritt demzufolge, bei stark vermindertem Zellzuwachs, eine relative, im Falle des Uroporphyrins sogar eine absolute Erhöhung der Porphyrinproduktion ein: AT verursacht eine Mehrsynthese von Dicarboxylporphyrin (s. die Werte „P+H“ der Tab. 1) auf Kosten der Biomasse und möglicherweise der 3–8-Carboxylporphyrine. Da diese Wirkungen wahrscheinlich nicht die Enzyme der Porphyrinsynthese aus ALA direkt betreffen^{1,2}, ist an eine Beeinflussung von Kontrollmechanismen zu denken. Der Katalaseinhibitor AT⁹ kommt als Stimulus der Häminenzym-synthese¹⁰, aber auch als Ursache peroxydativen Porphyrin- und Häminabbaues mit beschleunigter Alterung der Kulturen in Betracht.

Die Verfasser sind Herrn Dr. R. J. PORRA, C. S. I. R. O., Division of Plant Industry, Canberra, für die Überlassung von Vergleichssubstanzen zu Dank verpflichtet. — Die Arbeit wurde mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt.

[Std.n.]	Adenosin [$3 \cdot 10^{-3}$ M]				Kontrolle				Aminotriazol [$5 \cdot 10^{-3}$ M]			
	26	52	74	125	26	52	74	125	26	52	74	125
U	0,43	4,06	7,47	23,2	0,25	1,27	5,02	18,2	0,13	1,35	4,17	15,8
P	0,08	0,15	0,15	0,15	0,20	0,18	0,28	0,24	0,11	0,25	0,22	0,22
H	1,03	0,96	0,88	0,81	0,92	0,92	0,88	0,92	1,76	1,54	0,88	0,88
P+H	1,11	1,11	1,03	0,96	1,12	1,10	1,16	1,16	1,87	1,79	1,10	1,10

Tab. 1. Wirkungen von Adenosin und Aminotriazol auf die Bildung von Uroporphyrin I (U), Protoporphyrin (P) und Protohäm in (H) (in Nanomol/ml der bewachsenen Kultur) durch *A. metalcaligenes* in einem δ -Aminolävulinsäure-Lactat-Fumarat-Mineralmedium.

⁹ W. MANNHEIM, Pathol. Microbiol. **29**, 341 [1966].

¹⁰ R. K. CLAYTON, J. cellular comparat. Physiol. **55**, 1 [1960].

Zur Beeinflussung der RNS- und Proteinsynthese in Asciteszellen

WERNER FRANK

Max-Planck-Institut für Virusforschung, Abt. für Physikal. Biologie, Tübingen

(Z. Naturforschg. **22 b**, 360–361 [1967]; eingeg. am 2. November 1966)

Vor kurzem war aus Rattenleber eine Proteinfraction^{1,2} isoliert worden, die in Ascitestumorzellen der Ratte³ nach ein bis zwei Std. die RNS-Synthese zu hemmen vermag. LIEBERMAN und OVE⁴ fanden in Roh-

extrakten aus Kaninchenleber eine starke Hemmwirkung auf Leber- und Nierenzellen und gaben einige Gründe dafür an, daß es sich bei dem hemmenden Prinzip um Arginase handeln müsse. Arginin als essentielle Aminosäure wird aus dem Inkubationsmedium entfernt, und die fehlende Aminosäure soll die Hemmung bewirken.

Im folgenden sind einige Versuche beschrieben, die sich mit dem Einfluß von Enzymen, basischen Proteinen, einem Folsäureantagonisten und Actinomycin D auf die RNS- und Proteinsynthese von Rattenasciteszellen innerhalb der ersten Inkubationsstunden beschäftigen.

¹ W. FRANK, Z. Naturforschg. **20 b**, 479 [1965].

² W. FRANK, Z. Naturforschg. **21 b**, 461 [1966].

³ H. WRBA, Deutsches Krebsforschungszentrum, Heidelberg.

⁴ J. LIEBERMAN u. P. OVE, Biochim. biophysica Acta [Amsterdam] **38**, 153 [1960].

⁵ R. DULBECCO u. G. BREEMAN, Virology **8**, 396 [1959].

⁶ K. KECK, Arch. Biochem. Biophysics **63**, 446 [1956].

Die Asciteszellen wurden in EAGLES Medium⁵, das aber nur 10% der normalen Leucinmenge enthielt, 6 Stdn. unter schwacher CO₂-Begasung bei 37 °C inkubiert. In einer Plastik Kulturschale (Ø 5 cm) befanden sich 0,02 ml locker gepackte, mit Medium gewaschene Asciteszellen in 5 ml Medium; zur Messung der RNS- und Proteinsynthese wurden ³H-Uridin (0,5 µC/ml Medium, spez. Aktivität 1 mC pro 0,02 mg) und ¹⁴C-L-Leucin (0,03 µC/ml Medium, spez. Aktivität 1 mC pro 0,57 mg) ins Medium gegeben. Bei jedem Versuch wurden 3 parallele Ansätze gemacht und die Ergebnisse gemittelt.

Am Ende der Inkubationszeit wurden die Zellen abzentrifugiert, mit kaltem isotonischem Puffer gewaschen und in 4 ml Wasser eingefroren. Nach mehrmaligem Tauen und Einfrieren wurden die lysierten Zellen in einem Potter-Homogenisator zerrieben und 21-proz. Trichloressigsäure bis zu einer Endkonzentration von 7% zugegeben. Nach Zentrifugation wurde das Sediment mehrmals mit kalter 7-proz. Trichloressigsäure gewaschen und in zwei gleiche Hälften geteilt. Die eine Hälfte wurde in 3 ml 5-proz. Trichloressigsäure 30 min im siedenden Wasserbad hydrolysiert und nach der Zentrifugation in je 1 ml des Überstandes der DNS-Gehalt nach der Indol-Methode⁶ und der Tritium-Gehalt in Dioxan-Zählerflüssigkeit im Tricarb-Szintillationszähler bestimmt. Der Tritium-Gehalt, der dem Uridineinbau und damit der Gesamt-RNS-Neusynthese proportional ist, wurde auf den DNS-Gehalt bezogen. Die andere Hälfte des Trichloressigsäure-Präzipitates wurde in 0,5 ml Hyamine-Hydroxyd-X 10 (Packard Comp.) unter schwachem Erwärmen gelöst und der Tritium- und Kohlenstoff-¹⁴C-Gehalt in Toluol-haltiger Zählerflüssigkeit im Tricarb-Szintillationszähler gemessen. Der Quotient von Tritium- und Kohlenstoff-¹⁴C-Aktivität gibt das Verhältnis von RNS- und Proteinsynthese während der Inkubationszeit wieder.

Arginase, Glutaminsäuredecarboxylase, saure und alkalische Phosphatase, Lactat- und α-Glycerophosphatdehydrogenase wurden von Mann Research Laboratories, New York, RNase und Kalbsthymushistone (Gesamthistonfraktion) von Worthington Biochem. Corp., Freehold, N. J., Protaminsulfat von der Deutschen Hoffmann-La Roche AG., Grenzach-Basel, 4-Amino-¹⁰N-Methylpteroylglutaminsäure von der American Cyanamid Corp. bezogen; Actinomycin D wurde von den Farbwerken Bayer, Leverkusen, zur Verfügung gestellt. Die Substanzen wurden in 0,01-m. Phosphatpuffer pH 7,8 gelöst und die Proteine gegen denselben Puffer dialysiert. In der Tab. 1 sind die Ergebnisse aufgeführt.

Es zeigt sich deutlich, daß innerhalb von 6 Stdn. der RNS-Stoffwechsel und die Proteinsynthese durch die im

Konzentration pro ml Medium	Uridineinbau [%]	³ H/ ¹⁴ C	Leucineinbau [%]
Kontrolle	100	1,0	100
Actinomycin D 0,1 γ	41	0,47	88
Arginase 100 γ	102	0,95	95
Glutaminsäure-decarboxylase 100 γ	100	0,97	97
Saure Phosphatase 100 γ	94	0,90	104
Alkal. Phosphatase 100 γ	116	0,88	102
Lactatdehydrogenase 300 γ	100	1,0	100
α-Glycerophosphatdehydrogenase 100 γ	102	0,97	100
RNase 10 γ	97	0,88	110
Histone 300 γ	98	1,30	75
Protaminsulfat 300 γ	92	1,45	64
4-Amino- ¹⁰ N-methylpteroylglutaminsäure 100 γ	92	0,92	100

Tab. 1. Doppeleinbau von ³H-Uridin und ¹⁴C-Leucin in Rattenasciteszellen unter dem Einfluß verschiedener, dem Medium zugesetzter Stoffe. Inkubationsdauer 6 Stdn. in Eagles Medium.

Medium anwesenden Enzyme nicht wesentlich beeinflußt werden. Überraschend sind nur die Effekte der Histone und des Protaminsulfates. Während man von diesen basischen Proteinen eine primäre Wirkung auf die RNS-Synthese infolge Blockierung der DNS-Matrize erwarten sollte, wird diese in dem untersuchten Zeitraum kaum beeinflußt. Dagegen fällt die Proteinsynthese, gemessen am Einbau von ¹⁴C-L-Leucin, merklich ab. Eine Erklärungsmöglichkeit hierfür wäre die Maskierung der m-RNS der Mikrosomen des Cytoplasmas, so daß diese für die Proteinsynthese nicht mehr codieren kann.

Zur Chemie chilenischer Flechten XVI¹
Über die Inhaltsstoffe einiger Roccellaceen

SIEGFRIED HUNECK

Institut für Pflanzenchemie der Technischen Universität
 Dresden in Tharandt bei Dresden und

GERHARD FOLLMANN

Kryptogamenabteilung des Botanischen Museums, Berlin²
 (Z. Naturforschg. **22 b**, 362—363 [1967]; eingeg. am 20. Januar 1967)

Im Zuge einer geplanten monographischen Bearbeitung der Roccellaceen untersuchten wir folgende Arten auf ihre Inhaltsstoffe: *Darbishirella gracillima* (KREMPH.) ZAHLBR., *Ingaderia pulcherrima* DARB., *Rocella arboricola* FOLLM. und *Rocella cervicornis* FOLLM. Die beiden ersten können mit dem Exsikkatenwerk *Lichenes chilenses* des zweiten Verfassers über das Botanische Museum Berlin bezogen werden.

In unserer ersten Mitteilung zur Chemie chilenischer Flechten³ berichteten wir über das Vorkommen von Psoromsäure in *Ingaderia pulcherrima* DARB. Wie sich erst jetzt herausstellte, handelte es sich bei der damals untersuchten Probe nicht um *Ingaderia pulcherrima* DARB., sondern um *Darbishirella gracillima* (KREMPH.) ZAHLBR. Um jeden Zweifel auszuschließen, haben wir die letzte Flechte daher erneut untersucht.

Darbishirella gracillima (KREMPH.) ZAHLBR. mit feinen, oft zerschlitzen, hellgrauen bis bräunlichgrauen, schlaffen Strauchlagern und seitenständigen, rundlichen und angedrückten Apothecien ist ein halophiler, sonst aber substratvager Begleiter des Humboldtstroms an der südamerikanischen Westküste. Er stellt eine Charakterart des hygrophilen *Rocelletum portentosae* FOLLM. der pazifischen Küstenfelsen dar⁴.

28,0 g Flechte von *Cupressus macroparpa* L. bei Zapallar (20 m ü. M., Provinz Aconcagua) (Lich. chil. 17091), die sowohl mit Kalilauge als auch mit *p*-Phenylendiamin gelb reagiert, liefern bei der Extraktion mit Äther und Kristallisation des ausgeschiedenen Materials aus Aceton 4,0 g (14,2%) *Psoromsäure* vom Schmp. 266—267°. Damit wird unser erster Befund bestätigt und gleichzeitig wahrscheinlich gemacht, daß HESSE⁵ statt *Ingaderia pulcherrima* DARB. ebenfalls *Darbishirella gracillima* (KREMPH.) ZAHLBR. in Händen hatte. Beide Flechten lassen sich in sterilem Zustand morphologisch kaum unterscheiden, insbesondere, wenn feinästige Thalli von *Darbishirella gracillima* (KREMPH.) ZAHLBR. vorliegen; dagegen können sie auf Grund ihrer chemischen Farbreaktionen leicht auseinandergehalten werden: *Ingaderia pulcherrima* DARB. gibt mit Natriumhypochlorit eine blutrote Farbe, im Gegensatz zu *Darbishirella gracillima*

(KREMPH.) ZAHLBR., die damit keine Reaktion zeigt.

Die monotypische, fadenförmige *Ingaderia pulcherrima* DARB. ist dagegen normalerweise mit starreren, dichter verzweigten und gelblichgrauen Ästchen sowie länglichen, manchmal ebenfalls verzweigten, seitenständigen Apothecien (Lirellen) ausgestattet. Im chorologischen, ökologischen und soziologischen Verhalten gleicht sie jedoch weitgehend *Darbishirella gracillima* (KREMPH.) ZAHLBR.

22,0 g Flechte von Kakteenresten bei Carrizal Bajo (50 m ü. M., Provinz Atacama) (Lich. chil. 17251) werden gemahlen, getrocknet und 24 Stdn. mit Äther extrahiert. Das im Extrakt ausgeschiedene Material wird abgesaugt und aus Aceton umkristallisiert: 1,4 g (6,3%) *Erythrin* in Nadeln vom Schmp. 145—147°. Im Filtrat läßt sich dünnschichtchromatographisch *Lecanorsäure* nachweisen. Das Flechtenpulver wird getrocknet und anschließend 12 Stdn. mit Aceton extrahiert. Der Auszug wird eingedampft und der Rückstand mit 3 ml Wasser verrieben; nach dem Absaugen des ungelösten Anteils wird das Filtrat eingedampft und der Rückstand unter Kohlen aus Äthanol umkristallisiert: 200 mg (1%) *meso-Erythrit* in Prismen vom Schmp. 121—122°. *Erythrin*, *Lecanorsäure* und *meso-Erythrit* sind für zahlreiche Roccellaceen typische Inhaltsstoffe.

Rocella arboricola FOLLM. ist eine neue, strauchförmige Roccellacee (Sektion Eurocella) mit drehunden, langgestreckten, wenigverzweigten, hängenden, braungrauen Lagergliedern und seitenständigen, rundlichen, bereiften Schlauchfrüchten. (Ihre Diagnose wird andernorts veröffentlicht.) Im Gegensatz zu den übrigen Arten verhält sie sich nicht halophil, bleibt ausschließlich corticol sowie ombrophil und entfernt sich relativ weit von der Meeresküste. Bis jetzt wurde sie nur an rauen Borken in den vorgeschobenen, nebelbedingten Waldrelikten des ariden Teils der chilenischen Pazifikküste gefunden⁶.

0,4 g Flechte von *Beilschmiedia miersii* (GAY) KOSTERM. aus dem Tigertal (500 m ü. M., Provinz Aconcagua) (Lich. chil. 17122), deren Rinde sich stellenweise mit Natriumhypochlorit rot färbt, wird mit Äther extrahiert und der Extrakt eingedampft. Der Rückstand liefert nach Kristallisation aus Aceton/Benzol 15 mg (3,7%) *Lecanorsäure* vom Schmp. 174—176°. Morphologisch ist die Art zum Verwandtschaftskreis von *Rocella portentosa* (MONT.) DARB. zustellen; insofern ist aufschlußreich, daß sie auch phytochemisch mit der chilenischen Population dieser Roccellacee übereinstimmt⁷.

Wie die vorgenannte weicht auch die neue *Rocella cervicornis* FOLLM. vom Ökotyp der übrigen Roccellaceen ab: Hier handelt es sich um eine dem Boden

¹ 38. Mitt. über Flechteninhaltsstoffe; 37. Mitt.: S. HUNECK, G. FOLLMANN, W. A. WEBER u. G. TROTET, Z. Naturforschg., im Druck.

² Anschrift: Botanisches Museum, 1 Berlin 33, Königin-Luise-Str. 6—8.

³ S. HUNECK u. G. FOLLMANN, Z. Naturforschg. **18 b**, 991 [1963].

⁴ G. FOLLMANN, Ber. dtsch. bot. Ges. **77**, 262 [1964].

⁵ O. HESSE, J. prakt. Chem. **57**, 232 [1898].

⁶ G. FOLLMANN u. P. WEISSER, Bol. Univ. Chile **8**, 67 [1966].

⁷ S. HUNECK, G. FOLLMANN, W. A. WEBER u. G. TROTET, Z. Naturforschg., im Druck.