

4,0% H bzw. 15,5% N berechnet und 47,8% C; 4,3% H bzw. 15,7% N gefunden. Schwefel war nicht nachweisbar. Die Werte dieser Elementaranalyse des Pikrates lassen sich am besten mit der Annahme in Einklang bringen, daß ein Peptid aus Pyrrolidincarbonsäure und Glutaminsäure, welches eine N-methyl- und eine Säureamidgruppierung enthält, mit dem Oxyindol verknüpft ist.

Die Spektralanalyse scheint diese Annahme zu stützen. Das Ultraviolettpektrum der freien Verbindung besitzt ein Maximum bei 265 m μ , welches offenbar den Indolring anzeigt. Die Absorptionskurve im Infrarot weist eine Bande bei 2,9 bis 3,2 μ auf und im Anschluß daran einen flachen Gipfel, der bis 4 μ reicht, sowie Maxima bei 5,8, 6,15 und 6,5 μ . Daraus folgt, daß sehr wahrscheinlich eine Hydroxylgruppierung, eine Peptidbindung sowie eine Carbonylfunktion vorliegt. Aus dem weiteren Kurvenverlauf kann lediglich auf eine große und komplizierte Molekel geschlossen werden, ohne daß nähere Angaben möglich sind.

Mit diesen Ergebnissen dürfte erwiesen sein, daß die in vitro erkannte Grundreaktion der Melaninbildung aus Tyrosin – wenigstens bis zur Stufe des 5,6-Dioxyindols – in der Melaninbildung in gleicher Weise abläuft. 5,6-Dioxyindol wird demnach auch unter pathologischen Bedingungen gebildet. Es wird offenbar in der Tumorzelle mit Pyrrolidincarbonsäure bzw. dem oben beschriebenen Peptid substituiert und im Harn ausgeschieden.

Die Untersuchungen wurden mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt. Den Herren Professor SIEDEL und Dr. HARTMANN (Farbwerke Hoechst) danke ich für die Infrarot-Messungen und wertvolle Ratschläge. Die Ausführung der Elementaranalysen verdanke ich den Herren Dr. MEYER und Dipl.-Chem. GORBACH (Farbwerke Hoechst).

Universitäts-Hautklinik Frankfurt a. M. (Direktor: Prof. Dr. Dr. O. GANS). GOTTFRIED LEONHARDI.

Eingegangen am 11. November 1954.

¹⁾ LEONHARDI, G.: Naturwiss. 40, 621 (1953); 41, 141, 305 (1954).

Studies on the Free Amino Acid Composition of Germinating *Phaseolus Radiatus*.

Changes that take place in the composition of the free amino acids of *Phaseolus radiatus* during germination have recently been reported¹⁾. During that period free amino acids increase both in number and concentration. Asparagine has been found to be the predominating amide which is originally absent as such but appears with a rapid increase in concentration as the germination progresses. Distribution of the free amino acids in different parts of the seedlings and the effect of light and the soluble nitrogen on their formation during germination have been investigated. The present communication is a brief report on these results.

The procedure adopted for the germination and extraction of the free amino acids from the seedlings is the same as has been described in the earlier communication¹⁾. Identification of the amino acids and their estimation have been done by applying the unidimensional paper chromatographic technique as modified by the author²⁾. A germination period up to 120 hours has been taken for this study. For determining the distribution of free amino acids in different parts of the seedlings, roots, cotyledons and leaves have been detached and subjected to extraction individually as done in the case of whole seedlings. It has been observed that in cotyledons originally there are present aspartic acid, glutamic acid, glycine, threonine, lysine and valine and with 48 hours' germination there is no appreciable change in number and concentration of these acids. But after 72 hours except aspartic and glutamic acids all the other remaining acids have disappeared. Practically no amino acid is detectable in the cotyledons with further progress in germination.

In the root aspartic and glutamic acids increase in concentration up to a germination period of 72 hours after which there is a slow decrease. Asparagine appears within 48 hours and after its appearance its concentration increases throughout the next periods of germination. The other amino acids which appear between 24 to 48 hours are serine, threonine, lysine, valine, alanine and leucines which keep more or less to their original concentrations during the subsequent period. Only phenylalanine and proline appear at the later period of germination. In the leaves which develop after 48 hours of germination, only aspartic and glutamic acids first appear. Asparagine appears after 72 hours. During the subsequent

germination period there appear in the leaves only serine, threonine, lysine and valine. From these results and by comparing them with our previous findings¹⁾ where free amino acid contents have been determined for the whole seedlings during germination and not in different parts as in the present case, it will appear that the site of the increased formation of free amino acids is mostly the root and not leaves or cotyledons.

Changes in the contents of free amino acids that take place when seeds are allowed to germinate in the dark with water or soluble nitrogen media have also been investigated. It has been observed that when the seeds are germinated with water in the dark, the soluble nitrogen content increases more than it does in presence of light. The concentration of most of the amino acids mentioned above appear earlier and attain to higher levels during germination in the absence of light than in its presence. When seeds are germinated in 0.5% ammonium nitrate solution as the sole nitrogen source, instead of water media, the soluble nitrogen increases more, but the concentration of the amino acids which appear during germination are comparatively less than they do when germinated in water media. With regard to the appearance and the concentration of the free amino acids the effect of light and darkness is the same, provided the germination takes place in nitrogen media.

An interpretation of the above results requires further investigation in the line which is in progress. The results are in general conformity with the observations recently made by Virtanen and Miettinen³⁾ during their work with PEA and ALDER.

Details of the paper will be published elsewhere.

The author greatly acknowledges the kind interest shown by Dr. S. C. ROY of the Department of Applied Chemistry, University College of Science and Technology, Calcutta.

Department of Applied Chemistry, University College of Science and Technology, Calcutta-9. N. C. GANGULI.

Eingegangen am 2. November 1954.

¹⁾ GANGULI, N. C.: Naturwiss. 41, 110 (1954).

²⁾ GANGULI, N. C.: Naturwiss. 41, 282 (1954).

³⁾ VIRTANEN, A. I., and J. K. MIETTINEN: Biochim. et Biophysica Acta 12, 181 (1953).

Über die Bedeutung kupferhaltiger Enzyme für die Kultur von Koniferengewebe in vitro.

Die Kultur von Koniferengewebe in vitro gelang bisher nur selten. BALL¹⁾ isolierte und kultivierte Kallusgewebe junger, grüner Triebe von *Sequoia sempervirens* zeitlich unbegrenzt auf synthetischer Nährlösung (KNO \times 1/2, Zucker und Auxin), während LOEWENBERG und SKOOG²⁾ mit Keimlingen von *Pinus banksiana* Erfolg hatten. Neben Salzen, Zucker, Aminosäuren, Vitaminen und Wuchsstoff enthielt das Medium für *Pinus*gewebe eine nicht eindeutig definierte Komponente, nämlich *Pinussamen-* oder *Malzextrakt*. Im Gegensatz zu jenen Ergebnissen mit jungen, weitgehend unverholzten Geweben sollte jetzt unbegrenzt kultivierbares Kallusgewebe aus normalem und aus Tumorgewebe [vgl. ³⁾] völlig differenzierter Stämme von *Picea glauca* isoliert werden. Solche Kulturen, auf Nährmedien ohne unbekannte Komponente, versprechen Erfolg bei der Untersuchung der Natur und des Wachstums der Tumoren dieser Fichte.

Es wurde ein Nährmedium übernommen⁴⁾, das neben der Nährlösung nach WHITE^{5a)} Wuchsstoff (Naphthyllessigsäure), mehrere Vitamine (hauptsächlich der B-Gruppe) und viele Aminosäuren enthielt^{5b)}. Bei Verwendung in flüssiger Form mit Filterpapier als Substrat gewährleistete es gutes Kalluswachstum; aber es gelang nicht, die neugebildeten Gewebe abzutrennen und weiter zu kultivieren. Nach etwa 4 Wochen zeigten die Kulturen eine starke, stets mit abnehmendem Wachstum verbundene Bräunung. Bei völlig weißen, jungen Kalli trat die Pigmentierung – es sind wahrscheinlich chinoiden Farbstoffe oder Melanine – sofort nach der Abtrennung vom Ausgangsmaterial ein. Durch verschiedene Veränderungen der Nährlösung, Verwendung eines anderen Wuchsstoffes (2,4-Dichlorphenoxyessigsäure, 5 · 10⁻⁸ g/ml), Zusatz eines Purinderivates (Hypoxanthin, 2,5 · 10⁻⁵ g/ml) und die Herausnahme der p-Aminobenzoesäure, die neben Folsäure vorlag, konnte eine etwa 70%ige Verlängerung der Lebensdauer der Kulturen erreicht werden. Die immer bei beginnender Pigmentierung einsetzende Wachstumshemmung ließ sich aber auch so nicht verhindern.

Die Parallelen zwischen abnehmendem Wachstum und zunehmender Bräunung und die Tatsache, daß Polyphenoloxylase schon früher in Koniferen nachgewiesen worden ist⁶⁾,