

In der Tabelle sind die Charakteristiken der Hauptpigmente einiger Pflanzen aus der Centrospermenreihe angegeben, wobei das Hauptgewicht auf die Betacyane gelegt wurde. Die einzelnen Farbstoffkomponenten eines Extraktes wurden zuerst auf Papier durch Elektrophorese oder Chromatographie voneinander getrennt und gereinigt, dann eluiert und der entsprechenden Analyse unterworfen. Wir halten es für sehr wahrscheinlich, dass es sich bei solchen Betacyanen von verschiedenen Pflanzen, welche sehr ähnliche Farbe,  $E_B$ - und  $R_B$ -Werte aufweisen, um die gleiche Substanz handelt.

Aus der Tabelle geht hervor, dass das Betanin wahrscheinlich am häufigsten vorkommt; es scheint in Vertretern der Chenopodiaceen, Phytolaccaceen, Nyctaginaceen, Portulacaceen, Aizoaceen und Cactaceen vorhanden zu sein. Ebenfalls häufig ist das Amarantin; es kommt hauptsächlich in den Amarantaceen vor. Das Aglykon Betanidin (begleitet von wenig Isobetanidin) wurde bis jetzt nur in Aizoaceen gefunden. Einzeln dastehend sind die Hauptbetacyane der *Gomphrena globosa* (Gomphrenin), der *Monvillea spegazzini* (Monvillein), der *Parodia tilcarensis* (Parodin), der *Basella rubra* (Basellain-v und -r) und die verschiedenen violett-roten und rot-violetten Pigmente der *Bougainvillea* (die Bougainvilleine).

Die Betacyane lassen sich in zwei Farbtypen aufteilen a) rot-violette und b) violett-rote. Das Aglykon Betanidin ist violett. Diese Typen unterscheiden sich nur wenig im Absorptionsmaximum, etwas deutlicher aber in der Form der Absorptionskurve. Die strukturelle Ursache dieses Unterschiedes ist noch nicht bekannt.

Einige Betacyane aus allen Betacyan-haltigen Familien der Centrospermen wurden kurz unter sauren Bedingungen hydrolysiert. Die Hydrolysenprodukte (Aglykone) wurden wiederum auf ihre Farbe,  $E_B$ - und  $R_B$ -Werte untersucht. Die Resultate, welche in der Tabelle angegeben sind, zeigen die frappante Vereinfachung, dass es sich bei allen Aglykonen um Betanidin (begleitet von Isobetanidin) zu handeln scheint.

Um diese mikroanalytischen Schlussfolgerungen zu bestätigen, wurden die Aglykone des Amarantins, des Phyto-

laccanins und des Bougainvilleins-v-0.80, sowie das native Hauptbetacyan aus *Mesembrianthemum roseum* isoliert und als Hydrochloride kristallisiert. Ein Vergleich der Röntgendiagramme sowie der UV-, sichtbaren und IR-Spektren mit denjenigen des Aglykons des Randfarbstoffes Betanin zeigte, dass es sich in allen Fällen um Mischkristalle von Betanidin- und Isobetanidin-hydrochlorid handelte. Unter den Hydrolyseprodukten des Betanins, des Amarantins, des Phytolaccanins und des Bougainvilleins-v-0.80 wurde Glukose festgestellt.

Da das gleiche Aglykon in allen Betacyan-haltigen Familien vorgefunden wurde, scheint es möglich, dass Betanidin und Isobetanidin die Grundkörper aller Betacyane darstellen. Auf welche Weise sich die verschiedenen Betacyane unterscheiden, ist noch nicht abgeklärt. Da in Betanidin und Isobetanidin eindeutig Stickstoff festgestellt wurde<sup>7</sup>, bestätigt dieser Befund die früher auf Grund von nur drei Analysen<sup>8,9</sup> vermutete Annahme, dass der Stickstoffgehalt ein gemeinsames Charakteristikum der Betacyane ist.

**Summary.** A micro-examination of the hydrolyzed red-violet pigments of some centrospermae families, called *betacyanins*, led to the conclusion that they are derived from betanidin and isobetanidin, and are thus all nitrogenous.

H. WYLER und A. S. DREIDING<sup>11</sup>

Organisch-chemisches Institut der Universität Zürich, 26. Oktober 1960.

<sup>8</sup> F. HAVERLAND, Inaugural-Dissertation Erlangen (1892).

<sup>9</sup> J. R. PRICE & R. ROBINSON, J. chem. Soc. 1937, 449.

<sup>10</sup> W. OSTWALD, *Farbnormenatlas* (Verlag Unesma Leipzig 1925). – *Die Farbenfibel* (Verlag Unesma, Leipzig 1928).

<sup>11</sup> Herr H. DIETRICH leistete wertvolle Hilfe in den ersten Phasen dieser Arbeit. Die untersuchten Pflanzen wurden uns grösstenteils aus dem Botanischen Garten der Universität Zürich und aus der Zürcher Sukkulentsammlung zur Verfügung gestellt. Diese Arbeit wurde in grosszügiger Weise von der Firma F. HOFFMANN-La Roche & Co. AG., Basel unterstützt. Eine ausführliche Beschreibung der Resultate wird in *Helvetica Chimica Acta* erscheinen.

<sup>a</sup> Chen. = Chenopodiaceen, Am. = Amarantaceen, Phy. = Phytolaccaceen, Nyc. = Nyctaginaceen, Port. = Portulacaceen, Bas. = Basellaceen, Aiz. = Aizoaceen, Cact. = Cactaceen.

<sup>b</sup> Roh abgeschätzter Anteil im Pigmentgemisch. Nur die Hauptpigmente sind in dieser Tabelle aufgeführt.

<sup>c</sup> Die hier angegebenen Farben der auf dem Papier beobachteten reinen Pigmentflecken entsprechen den folgenden *Farbtonnummern* des Ostwaldschen Farbsystems<sup>10</sup>: Rot-violett 9, violett-rot 10, violett 11, gelb 1 oder 2. Je nach der aufgetragenen Pigmentmenge geben die Flecken auf dem Papier den Eindruck der Ostwaldschen *Farbzeichen* von *pa* bis *ga*.

<sup>d</sup>  $E_B(Pi_{4,5})$  = Papierelektrophoretisches Wanderungsvermögen relativ zu Betanin in 0.05 *n* Pyridinium-formiat-Puffer, pH 4.5. Bei den hydrolysierten Pigmenten sind hier gewöhnlich zwei Werte angegeben; der erste bezieht sich auf Betanidin und der zweite (meist wesentlich weniger intensiv) auf Isobetanidin, welche in diesem Medium voneinander getrennt werden und als zwei Flecken sichtbar sind.

<sup>e</sup>  $E_B(F_{2,4})$  = Papierelektrophoretisches Wanderungsvermögen relativ zu Betanin in 0.1 *n* Ameisensäure, pH 2.4.

<sup>f</sup>  $R_B(F_{2,4})$  = Papierchromatographisches Wanderungsvermögen relativ zu Betanin in 0.1 *n* Ameisensäure, pH 2.4, ermittelt im absteigenden Durchlaufverfahren.

<sup>g</sup> In diesem Fall mussten stärkere Hydrolysenbedingungen angewandt werden, um Betanidin zu erhalten. Unter den für die anderen Pigmente gebrauchten milderer Bedingungen entstand ein blau-violettes Zwischenprodukt, welches in der vollen Publikation beschrieben werden soll.

<sup>h</sup> In diesem Falle wurde das native Pigment (ohne Hydrolyse) kristallisiert.

## Increase of Pyruvic and Lactic Acid in Rat Blood by Inhibitors of Monoamine Oxidase

Inhibitors of monoamine oxidase (MAO) induce an increase of lactic acid in rat blood<sup>1</sup>. The present paper shows that the same is true for pyruvic acid and reports further evidence that these effects are due to alterations of monoamine metabolism.

**Experimental.** In female Wistar rats of 120–150 g fasted for 16 h prior to decapitation lactic acid was determined colorimetrically in blood serum<sup>1,2</sup> or together with pyruvic acid enzymatically in whole blood<sup>3,4</sup>. Furthermore, in rats weighing 60–80 g manometric determinations of MAO activity in the washed particulate

<sup>1</sup> K. F. GEY and A. PLETSCHER, *Helv. physiol. pharmacol. Acta* 18, C70 (1960).

<sup>2</sup> S. B. BARKER and W. H. SUMMERSON, *J. biol. Chem.* 138, 535 (1941).

<sup>3</sup> Biochemica Test, Boehringer (Mannheim, Germany 1960).

<sup>4</sup> H. J. HOHORST and F. H. KREUTZ, *Biochem. Z.* 332, 18 (1959).

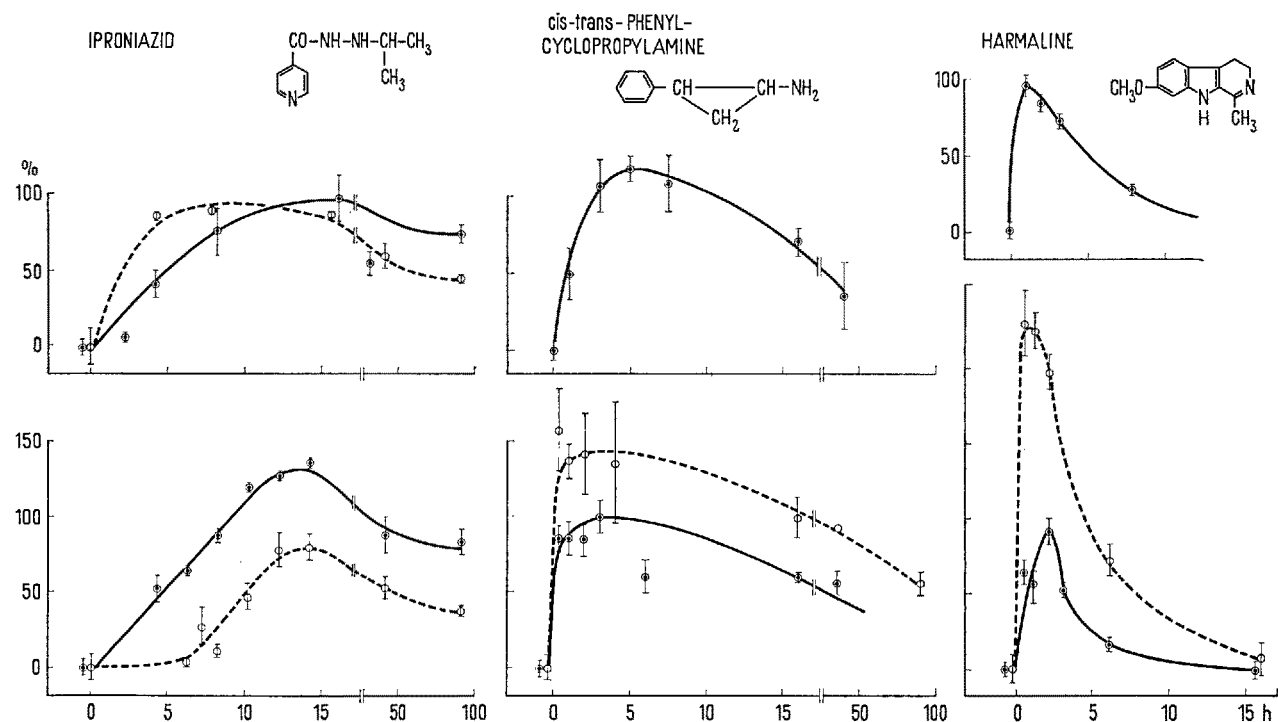


Fig. 1. Accumulation of 5-hydroxytryptamine in brain and increase of pyruvic and lactic acid of blood in rats receiving single doses of different monoamine oxidase inhibitors.

Ordinates: % change in comparison with untreated controls.

Abscissae: h after i.p. administration of MAO inhibitors.

Upper part: —○— 5-hydroxytryptamine in brain  
 —○— inhibition of MAO activity in brain

Lower part: —○— lactic acid of blood serum  
 —○— pyruvic acid of whole blood

Doses: Iproniazid phosphate: 20 mg/kg for MAO activity of brain, 155 mg/kg for 5-hydroxytryptamine and acids. *cis-trans*-Phenylcyclopropylamine sulfate: 3 mg/kg for 5-hydroxytryptamine, 30 mg/kg for both acids. Harmaline hydrochloride: 10 mg/kg for both acids, 30 mg/kg for 5-hydroxytryptamine. Each point represents average values  $\pm$  standard errors of 8 rats for MAO activity, 4–11 rats for 5-hydroxytryptamine content, 4–12 rats for the concentration of pyruvic and lactic acid.

Absolute figures of control animals: MAO activity:  $92 \pm 6 \mu\text{l O}_2/\text{g}_{\text{fr}}/\text{h}$ . 5-hydroxytryptamine:  $0.53 \pm 0.02 \mu\text{g}/\text{g}_{\text{fr}}$ . Pyruvic acid of blood serum:  $0.52 \pm 0.02 \text{ mg}\%$ . Lactic acid of blood serum:  $25 \pm 1 \text{ mg}\%$  (of total blood  $16 \pm 1 \text{ mg}\%$ ).

fraction of brain<sup>5</sup> as well as spectrophotofluorometric measurements of 5-hydroxytryptamine in total brain<sup>6</sup> were carried out.

**Results and discussion.** MAO inhibitors like iproniazid<sup>7</sup>, phenylcyclopropylamine, and harmaline caused an increase of pyruvic acid in rat blood which corresponded to that of lactic acid (Fig. 1). Estimation of both carboxylic acids in the same blood sample after administration of the mentioned MAO inhibitors revealed a slight but not significant increase of the pyruvic/lactic acid ratio (up to  $32 \pm 3$ ) as compared to untreated controls ( $29 \pm 3$ ).

Since a rise of lactic acid<sup>8</sup> and a corresponding accumulation of pyruvic acid<sup>9</sup> in blood is the most reliable index of an increased glycolysis *in vivo*, these findings suggest that MAO inhibitors enhance glycolysis.

The increase of lactic and pyruvic acid induced by MAO inhibitors is probably, at least partly, related to an alteration of monoamine metabolism. This may be concluded from the following findings:

a) MAO inhibitors of different chemical structure (iproniazid, phenylcyclopropylamine, harmaline) elevated both acids in rat blood simultaneously with an accumulation of 5-hydroxytryptamine in brain (Fig. 1).

b) Monoamines, e.g. 5-hydroxytryptamine, norepinephrine, have metabolic effects similar to MAO inhibitors,

i.e. they also induce an increase of lactic and pyruvic acid in blood. This metabolic action of monoamines was intensified by pretreatment with iproniazid as shown for lactic acid previously<sup>1</sup> and for pyruvic acid by the present investigation. Thus, pretreatment of rats with iproniazid phosphate ( $0.56 \text{ mM}/\text{kg} = 155 \text{ mg}/\text{kg}$  i.p.) 16 h prior to D(-)-norepinephrine bitartrate ( $0.015 \text{ mM}/\text{kg} = 5.06 \text{ mg}/\text{kg}$  s.c.) or to 5-hydroxytryptamine creatinine sulfate ( $0.015 \text{ mM}/\text{kg} = 6.08 \text{ mg}/\text{kg}$  s.c.) enhanced the increase of pyruvic acid within 30 min from  $123 \pm 21\%$  to  $298 \pm 15\%$  and from  $232 \pm 13\%$  to  $385 \pm 11\%$  respectively (6–7 rats in each group;  $p < 0.01$ ).

The enhancement of metabolic effects of monoamines by MAO inhibitors is probably not caused by anoxia of

<sup>5</sup> K. F. GEY and A. PLETSCHER, J. Neurochem. 6, in press.

<sup>6</sup> D. F. BOGDANSKI, A. PLETSCHER, B. B. BRODIE, and S. UDEN-FRIEND, J. Pharmacol. exp. Therap. 117, 82 (1956).

<sup>7</sup> Iproniazid = N<sub>2</sub>-isopropyl isonicotinic acid hydrazide, Marsilid®.

<sup>8</sup> O. WARBURG, K. GAWERN, and A. W. GEISSLER, Z. Naturf. 12b, 115 (1957).

<sup>9</sup> W. E. HUCKABEE, J. clin. Invest. 37, 244 (1958).

<sup>10</sup> L. GOLDBERG and A. SJOERDSMA, J. Pharmacol. exp. Therap. 127, 212 (1959).

the tissue due to vasoconstriction. It has been shown that MAO inhibitors do not increase and may even decrease the sensitivity of the vascular system to norepinephrine<sup>10-13</sup>.

c) Release of stored, presumably biologically inactive monoamines by reserpine<sup>14,15</sup> or by a benzoquinolizine derivative<sup>16-18</sup> also increased lactic acid in rat blood (Fig. 2). Since monoamine releasers produce sedation, it seems unlikely that the increase of lactic acid in blood after administration of MAO inhibitors or monoamines is due to exaggerated activity in the skeletal muscles.

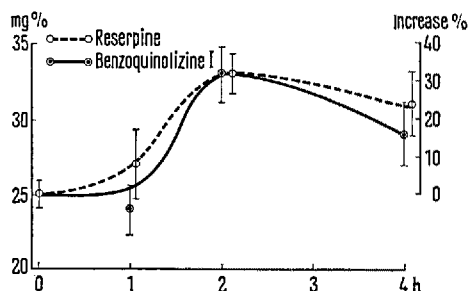


Fig. 2. Increase of lactic acid in rat blood after administration of monoamine releasers.

*Ordinate:* % increase of lactic acid in blood serum in comparison with untreated controls. *Abcissa:* h after i.p. injection of 5 mg/kg reserpine or 30 mg/kg benzoquinolizine I. Each point represents average values  $\pm$  standard error of 4 estimations. Lactic acid concentration of untreated controls:  $25 \pm 1$  mg%.

d) Typical inhibitors of diamine oxidase had no effect on lactic or pyruvic acid of rat blood. Thus, 4 and 16 h after i.p. application of 0.56 mM/kg each of aminoguanidine hydrocarbonate or semicarbazide hydrochloride the concentration of lactic and pyruvic acid did not differ significantly from that of controls ( $p > 0.05$ ).

In blood of guinea pigs, iproniazid also elevated lactic acid and enhanced the 5-hydroxytryptamine- and norepinephrine-induced rise of this acid. An increase of lactic and pyruvic acid has furthermore been described in blood of patients with angina pectoris after successful treatment with MAO inhibitors<sup>19</sup>.

MAO inhibitors exert a beneficial effect in angina pectoris. The mechanism of action has not been elucidated but might be related to the present findings. Lactic acid seems to be an important energy source of the heart<sup>20</sup>. Continuous rise of this acid in blood as caused by MAO inhibitors might therefore improve the conditions of the ischemic myocardium. Pain relief in angina pectoris by a preparation containing lactic acid has recently been reported<sup>21</sup>.

**Zusammenfassung.** Monoaminoxidase(MAO)-Hemmer verschiedener chemischer Klassen sowie Monoamin-Freisetzer erhöhen den Milch- und Brenztraubensäuregehalt im Rattenblut. Der zeitliche Verlauf dieser Vermehrung verhält sich ähnlich wie die 5-Hydroxytryptamin-Akkumulation bzw. -Freisetzung im Gehirn. Im weiteren verstärkt der MAO-Hemmer Iproniazid den durch 5-Hydroxytryptamin oder Noradrenalin bedingten Anstieg von Milch- und Brenztraubensäure im Blut.

K. F. GEY and A. PLETSCHER

Medizinische Forschungsabteilung der F. Hoffmann-La Roche & Co. AG., Basel, November 4, 1960.

- <sup>11</sup> J. CATSGOUNIS, L. GOLDBERG, and W. G. WHITLOCK, *Pharmacologist* 1, 57 (1959).
- <sup>12</sup> B. W. ZWEIFACH and J. CASCARANO, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 80, 939 (1959).
- <sup>13</sup> H. P. BÄCHTOLD and A. PLETSCHER, *Exper.* 15, 265 (1959).
- <sup>14</sup> A. PLETSCHER, *Helv. physiol. pharmacol. Acta* 14, C76 (1956).
- <sup>15</sup> A. PLETSCHER, P. A. SHORE, and B. B. BRODIE, *J. Pharmacol. exp. Therap.* 116, 84 (1956).
- <sup>16</sup> Benzoquinolizine I = tetrabenazine = 2-oxo-3-isobutyl-9,10-dimethoxy-1,2,3,4,6,7-hexahydro-benzo[a]quinolizine methan sulfonate = Nitoman®.
- <sup>17</sup> A. PLETSCHER, *Science* 126, 507 (1957).
- <sup>18</sup> A. PLETSCHER, H. BESENDORF, and H. P. BÄCHTOLD, *Arch. exp. Path. Pharmacol.* 232, 499 (1958).
- <sup>19</sup> R. HEGGLIN, E. LÜTHY, U. ISLER, and A. FORSTER, *Cardiologia* 37, Suppl. 2, 74 (1960).
- <sup>20</sup> R. J. BING, *Struktur und Stoffwechsel des Herzmuskels*, edit. von HAUSS und LOOSE, Thieme-Verlag, Stuttgart, p. 31.
- <sup>21</sup> G. ZIPPEL, *Med. Klin.* 54, 1211 (1959).

### Abhängigkeit der Leukozytenwanderung und ihrer Steigerung durch Proteuslipopolysaccharide von der Glucosekonzentration des Milieus

Lipopolysaccharide aus den verschiedensten gramnegativen Keimen steigern die Auswanderung von buffy-coat-Leukozyten in einen Plasma-Embryonalextrakt Nährboden erheblich. Die Wirkung des Lipopolysaccharids aus *Proteus OX<sub>19</sub>* auf die Auswanderung von Hühnerleukozyten wurde in verschiedenen Arbeiten charakterisiert.

Die Stimulierung der Leukozytenwanderung durch eine Lipopolysaccharidfraktion aus *Proteus OX<sub>19</sub>* (PLPS) ist konzentrationsabhängig<sup>1</sup>. Das Optimum der Wirksamkeit liegt für Leukozyten verschiedener Hähne bei den Konzentrationen  $10^{-5}$  bis  $10^{-7}$ <sup>2</sup>. Das Ausmass der Auswanderungssteigerung in diesem Konzentrationsbereich ist jedoch für die verschiedenen Leukozyten je nach Tier variabel. Massgebend für diese Stimulierbarkeit sind weitgehend die Granulozyten selbst. Die von Tier zu Tier unterschiedliche unbeeinflusste Auswanderung wird durch PLPS nicht um immer denselben Faktor gesteigert. Sowohl schlecht als auch gut auswandernde Leukozyten können unter dem Einfluss einer PLPS-Konzentration  $10^{-7}$  ihr Auswanderungsareal um das 4- bis 5fache oder auch nur um das 2fache vergrössern<sup>3</sup>. Neben den die unbeeinflusste Auswanderung determinierenden Faktoren der Leukozyten können somit zusätzliche PLPS-empfindliche Systeme eine Rolle spielen.

Die ausgesprochene glykolytische Funktion der Leukozyten veranlasste die Untersuchung der Bedeutung des KH-Stoffwechsels für die Leukozytenwanderung. Unter aeroben Bedingungen wurde der Einfluss von verschiedenen Konzentrationen von Glucose auf die unbeeinflusste sowie auf die durch PLPS stimulierte Auswanderung ermittelt. Wir benützten dazu die in früheren Arbeiten beschriebene gewebezüchterische Anordnung. Die Leukozyten wandern in Plasma-Embryonalextrakt Nährböden aus, denen 2, 4, 6 und 8% Glucose zugefügt wurde. Das PLPS wurde in einer Konzentration von  $10^{-7}$  in entsprechend glucosehaltiger Tyrodelösung gelöst den Kulturen überschichtet. Die Kontrollen erhielten die entsprechen-

<sup>1</sup> R. MEIER, P. A. DESAULLES und B. SCHÄR, *Arch. exp. Path. Pharmacol.* 224, 104 (1955).

<sup>2</sup> B. SCHÄR und R. MEIER, *Exper.* 16, 315 (1960).

<sup>3</sup> B. SCHÄR, *Helv. physiol. Acta* 18, 99 (1960).