

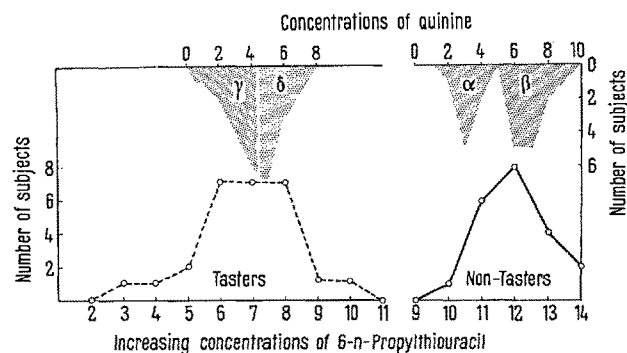


Fig. 2. Classification of 6-n-propylthiouracil 'non-tasters' into a low quinine threshold (α) and high quinine threshold (β)-taste group; the γ - and δ -taste group embraces 6-n-propylthiouracil tasters of the low and high quinine threshold category respectively.

'tasters' ($N = 21\sigma + 6\varphi$) and 21 'non tasters' ($N = 16\sigma + 5\varphi$). Figure 1 (B) shows a division at threshold 5 of our 6-n-propylthiouracil 'non-tasters' into (α) a low quinine threshold category ($N = 8\sigma$) and (β) a high quinine threshold category ($N = 8\sigma + 5\varphi$).

An analogous dichotomy results for hydrochloric acid if two categories are set apart through partition at concentration 11. The low hydrochloric acid category ($N = 10\sigma + 2\varphi$) contains 10 healthy males only, 8 of whom are identical with those of the α -low quinine threshold category.

The phenomenon repeats itself when dividing the sodium chloride thresholds of our 6-n-propylthiouracil 'non-tasters' at number 15.5 (see Fig. 1D). The low sodium chloride threshold category ($N = 8\sigma$) contains again the very same eight males of the α low-quinine and low hydrochloric acid categories. These 8 males re-appear once more among the total of 10 males of the low D-sucrose category which results (Fig. 1D) through partition at number 16.5 of D-sucrose thresholds. These data—and data obtained through determination of taste thresholds of 6-n-propylthiouracil and quinine on additional 21 subjects—suggest that in 'non-tasters' of 6-n-propylthiouracil low thresholds for the four classical taste qualities are likely to be the result of a common genetic mechanism.

It is also of interest to record another observation (to be published in detail with Wm. HUNT et al.) according to which subjects (of another separate study) with paroxysmal vascular headache (migraine) with a strong family trend and with no visible electroencephalographic anomaly apparently *exclusively* belong to the *high* quinine threshold category of 6-n-propylthiouracil 'non-tasters' (Fig. 1B). More specifically such patients are clustered between quinine thresholds 7 to 10, i. e., they can only taste *very high* quinine concentrations.

The re-occurrence of our (α) low quinine threshold subjects in the low threshold category for the other taste qualities probably justifies our defining this category as the α -Taste Group. The phenomenon of clustering of migraine patients *exclusively* among the very high quinine tasters, on the other hand, probably justifies the use of the term β -Taste Group for the category of these 'non-tasters' of 6-n-propylthiouracil as well as quinine. We, therefore, tentatively introduce the terms α - and β -Taste Group in analogy to the blood group concept (see Fig. 2) and also assume at least hypothetically (and hope to publish later on supporting experimental evidence) the existence of γ - and δ -Taste Groups⁶.

Another interesting corollary: 78% of our healthy subjects of the γ -Taste Group are people showing high selec-

tivity and culinary sensitivity in food preferences, whereas 75% of our β -Taste Group subjects have very few or no food dislikes⁴.

It is our contention that the elucidation of the genetic mechanism underlying the described quinine dimorphism of 6-n-propylthiouracil will eventually justify the introduction of our Taste Groups.

Zusammenfassung. Geschmacksblinde gegenüber 6-n-Propylthiouracil zerfallen in zwei Gruppen (Dimorphismus): eine mit niedrigen und eine mit hohen Geschmacksschwellenwerten gegenüber Chinin. Jene der ersten Gruppe haben niedrige Schwellenwerte auch gegenüber den anderen Geschmacksqualitäten – sauer, salzig und süß – und gehören zur α -Geschmacksgruppe. Vertreter der zweiten Gruppe, das heisst 6-n-Propylthiouracil-Geschmacksblinde mit hohen Geschmacksschwellenwerten gegenüber Chinin gehören zu der β -Geschmacksgruppe. Patienten mit paroxysmal vasculärem Kopfschmerz (Migräne mit familiärer Komponente), jedoch ohne elektronencephalographische Anomalie, gehören ausschliesslich zu der β -Geschmacksgruppe. Die Eltern von mongoloiden Kindern weisen hohe Geschmacksschwellenwerte gegenüber Chinin auf, wobei die Väter zur β -Geschmacksgruppe gehören.

R. FISCHER⁷ and F. GRIFFIN⁸

Research Division, Biochemistry Branch Columbus Psychiatric Institute and Hospital, Ohio State University Health Center, Columbus (Ohio), July 28, 1960.

⁶ A preliminary pilot trial with 20 parents of mongoloids revealed that all fathers and 40 % of the mothers belong to the β -taste group, whereas 60% of the mothers belong to the δ -taste group. It is of extreme interest that all parents belong to taste groups characterized by high quinine thresholds ('quinine-non-tasters').

⁷ *Meiner Alma Mater*, der Universität Basel, zu ihrem 500jährigen Jubiläum in Dankbarkeit gewidmet.

⁸ *Acknowledgements.* This work has been supported by the State of Ohio, Department of Mental Hygiene and the U.S. Public Health Service, National Institutes of Health, Division of Mental Health, Grant No. M-2731. The active interest and helpful suggestions of Dr. B. PASAMANICK is thankfully acknowledged. Our very special and sincere thanks go to Mr. S. ENGLAND for his most valuable assistance, advice, and skillful help during many phases of this study.

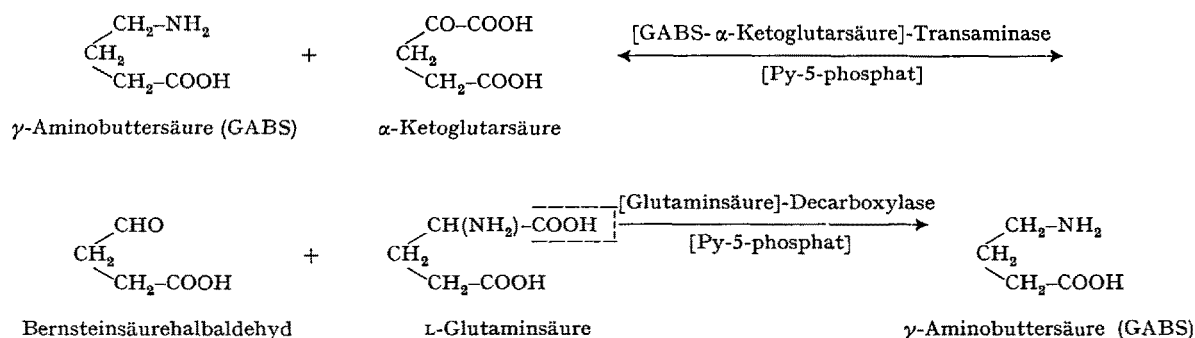
Reserpin und γ -Aminobuttersäuregehalt des Gehirns

1. Die Annahme kausaler Beziehungen zwischen den zentralen Wirkungen des Reserpins und dem Aminostoffwechsel des Gehirns kann sich auf folgende Tatsachen stützen: a) nach Reserpin, das zu Sedation, Verlängerung der Evipannarkose¹ und Erniedrigung der Krampfschwelle für Elektroschock und Cardiazol führt², nimmt der Amingehalt des Gehirns ab³: Serotonin, Noradrenalin, Dopamin. b) Iproniazid (Isonicotinyl-isopropylhydrazin), das die pharmakologischen Wirkungen des Reserpins

¹ A. GOLDIN, D. DENNIS, J. VENDITTI und S. HUMPHREYS, *Science* 121, 364 (1955). – J. R. FOUTS und B. B. BRODIE, *J. Pharmacol. exp. Therap.* 116, 480 (1956). – F. M. STURTEVANT, *Naturwissensch.* 43, 67 (1956).

² G. CHEN, C. R. ENSOR und B. BOHNER, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, N. Y. 86, 507 (1954).

³ B. B. BRODIE, J. S. OLIN, R. G. KUNTZMAN und P. H. SHORE, *Science* 125, 1293 (1957).



verhindert, verhindert auch die Abnahme des Aminogehaltes des Gehirns⁴. c) Die «precursor»-Aminosäuren L-Dopa und 5-Hydroxytryptophan verursachen nach Vorbehandlung der Versuchstiere mit Iproniazid zentrale Erregung, Verkürzung der Narkosedauer⁵ und Erhöhung der Krampfschwelle⁶.

Der durch Reserpin verursachten Abnahme des Aminogehaltes des Gehirns liegt nicht eine Hemmung des aminbildenden Fermentes, der L-Dopadecarboxylase, zugrunde, sondern eine Aufhebung der Speicherungsfähigkeit des Gewebes⁷.

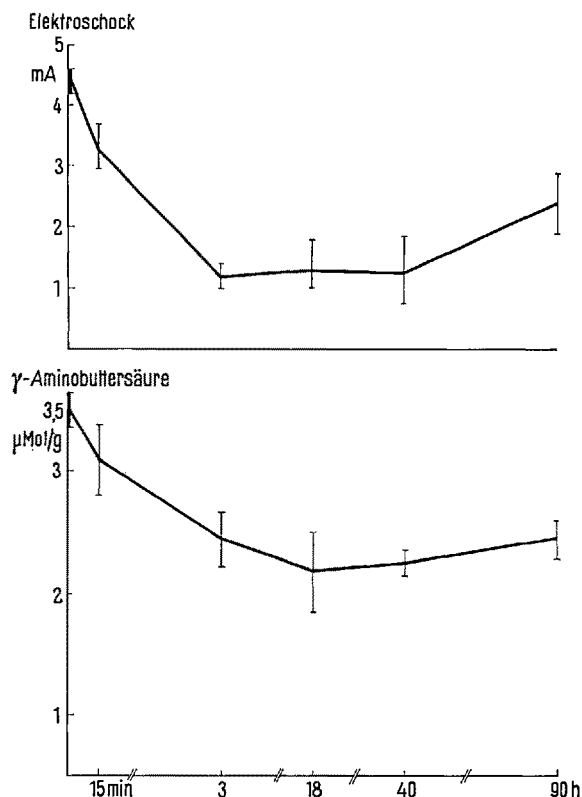
2. Säurehydrazide, zum Beispiel Semicarbazid, Carbohydrazid, Thiocarbohydrazid, verursachen bei Mäusen und Ratten klonisch-tonische Krämpfe⁸ und erniedrigen den γ -Aminobuttersäuregehalt des Gehirns^{9,10}. Der γ -Aminobuttersäure (GABS) werden centralinhibitorische Wirkungen zugeschrieben¹¹.

Die Abnahme des γ -Aminobuttersäuregehaltes, der eine Hemmung der L-Glutaminsäuredecarboxylase durch funktionelle Ausschaltung des Cofementes (Pyridoxal-5-phosphat) zugrunde liegt, kann aber nicht die Ursache der Krämpfe sein, da Pyridoxin zwar die Krämpfe verhindert, den durch die Hydrazide erniedrigten GABS-Gehalt des Gehirns jedoch noch mehr erniedrigt¹⁰. Krampfverhütende Pyridoxindosen aktivieren offensichtlich die zum Verschwinden von GABS führende Transaminierungsreaktion mit α -Ketoglutarinsäure stärker als die zur Entstehung von GABS führende Decarboxylierung der L-Glutaminsäure. Nicht der γ -Aminobuttersäuregehalt an sich, sondern die Höhe des «turn-over» scheint entscheidend zu sein¹⁰.

3. Injiziert man Mäusen 5 mg/kg Reserpin, so nimmt der γ -Aminobuttersäuregehalt des Gehirns ab. Schon 15 min nach der Injektion ist er, allerdings noch nicht signifikant, gegenüber den unbehandelten Kontrollen vermindert; nach 1 h hat er um ungefähr 30% abgenommen und ist auch 90 h nach der Injektion von Reserpin gegenüber der Norm noch signifikant erniedrigt. Zeitlich parallel geht die Erniedrigung der Krampfschwelle für den Elektroschock (Abb.). Iproniazid, das die Erniedrigung der Krampfschwelle durch Reserpin verhindert, verhindert auch die Erniedrigung des γ -Aminobuttersäuregehaltes des Gehirns (Tab.).

Der durch Reserpin verursachten Abnahme des GABS-Gehaltes des Gehirns liegt keine Hemmung des GABS-bildenden Fermentes, der Glutaminsäuredecarboxylase, zugrunde, wie Versuche mit Gehirnhomogenaten der reserpinbehandelten Tiere und L-Glutaminsäure als Substrat ergaben.

Beziehungen zwischen Amin- und Glutaminsäurestoffwechsel des Gehirns ergeben sich auch dadurch, dass die tonische Phase der Hydrazidkrämpfe sich durch Injektion von Iproniazid + L-Dopa unterdrücken lässt¹⁰.



Beeinflussung der Krampfschwelle und des γ -Aminobuttersäuregehaltes des Gehirns von Mäusen durch Reserpin (siehe Methodik)

⁴ B. B. BRODIE, A. PLETSCHER und P. A. SHORE, J. Pharmacol. exp. Therap. 116, 9 (1956).

⁵ P. HOLTZ, H. BALZER, E. WESTERMANN und E. WEZLER, Arch. exp. Path. Pharmacol. 231, 333 (1957).

⁶ W. KOBINGER, Arch. exp. Path. Pharmacol. 233, 559 (1958).

⁷ P. A. SHORE, S. L. SILVER und B. B. BRODIE, Science 122, 284 (1955).

⁸ E. H. JENNEY und C. C. PFEIFFER, J. Pharmacol. exp. Therap. 122, 110 (1958).

⁹ K. F. KILLAM und J. A. BAIN, J. Pharmacol. exp. Therap. 119, 255 (1957).

¹⁰ H. BALZER, P. HOLTZ und D. PALM, Arch. exp. Path. Pharmacol., 239, 520 (1960).

¹¹ H. GRUNDFEST, Inhibition in the Nervous System and γ -Aminobutyric Acid (Pergamon Press, New York 1960), p. 47.

¹² J. T. LITCHFIELD und F. WILCOXON, J. Pharmacol. exp. Therap. 96, 99 (1949).

Iproniazid verhindert die durch Reserpin verursachte Erniedrigung des γ -Aminobuttersäuregehaltes des Gehirns und der Krampfschwelle (siehe Methodik)

	Ver- suchs- zahl	γ -Aminobutter- säure $\mu\text{Mol/g}$	Elektroschock 100 Hz, 5 msec, 5 sec
Kontrollen	60	$3,49 \pm 0,14$	4,4 mA (4,2–4,6)
Iproniazid 100 mg/kg (20 h)	7	$3,92 \pm 0,19$	5,0 mA (4,8–5,2)
Reserpin 5 mg/kg (3 h)	20	$2,45 \pm 0,22$	1,2 mA (1,0–1,4)
Reserpin 5 mg/kg (3 h) + Iproniazid 100 mg/kg (20 h)	12	$3,48 \pm 0,23$	5,9 mA (5,5–6,3)

Methodik. Weisse Mäuse (18–20 g). *Reserpin* (5 mg/kg) wurde subkutan, in den Versuchen, in denen schon 15 min nach der Injektion GABA-Gehalt und Krampfschwelle bestimmt wurden, intraperitoneal injiziert. *Iproniazid* (100 mg/kg) intramuskulär 20 h vor Tötung der Tiere (GABA-Bestimmung) bzw. vor Elektroschock.

GABA-Bestimmung. Äthylalkoholische Extrakte aus je 3 Gehirnen. Nach Eindampfung zur Trockne Aufnahme in 0,7 ml Aqua dest. + 0,2 ml HClO_4 (1,2 N). Hochspannungselektrophoretische Auftrennung des in der Ultrazentrifuge gewonnenen klaren Überstandes. Quantitative Bestimmung mit dem Spinco-Analytrol (Beckman Instr.) nach Anfärbung mit Ninhydrin und Stabilisierung der Farbflecke mit Cu-Reagens.

Elektroschock. Cornealelektroden. Reizung mit 100 Hz, 5 msec., Reizdauer 5 sec. Ermittlung der Stromstärke (mA), bei der 50% der Tiere krampften, an Gruppen von mindestens je 15 Mäusen. Berechnung nach LITCHFIELD und WILCOXON¹².

Summary. 1. In mice, *reserpine* (5 mg/kg) causes a long-lasting depletion of the brain for γ -aminobutyric acid (GABA), which corresponds temporally to the lowered seizure threshold (electroschock).

2. *Iproniazid* prohibits both the depletion of GABA and the lowering of seizure threshold.

3. Relations between amine- and GABA-metabolism of the brain are pointed out.

H. BALZER, P. HOLTZ und D. PALM

Pharmakologisches Institut der Universität Frankfurt a. M. (Deutschland), 1. August 1960.

On the Inhibition of Alcoholic Fermentation in *Brettanomyces* Yeasts under Anaerobic Conditions

As was shown by CUSTERS¹, the yeast *Brettanomyces clausenii* ferments glucose at a higher rate under aerobic than under anaerobic conditions. CUSTERS introduced the term 'negative Pasteur effect' (neg. P. E.) for this phenomenon. As WIKÉN and RICHARD^{2,3} observed a similar effect in *Saccharomyces* strains under particular conditions, a closer study of the effect seemed to be of interest. As the neg. P. E. is characteristic of all *Brettanomyces* species⁴, efforts were concentrated on *Br. clausenii*, strain CBS 76.

In Warburg experiments (direct method at 30°C) anaerobiosis was obtained by flushing for 30 min with pure N_2 , freed from traces of O_2 by means of a Pd-asbestos catalyst saturated with H_2 . Assuming a respiratory quotient (R. Q.) of 1 for the oxidation of carbohydrate, gas production under aerobic conditions essentially represents the aerobic fermentation. If R. Q. would be lower than 1, e.g. in oxidation of ethanol, the actual aerobic fermentation would be even higher than that directly observed.

Cells of *Br. clausenii*, harvested from aerobic shake cultures on various liquid media after different times of incubation at 30°C, invariably showed a neg. P. E. (Fig. 1, curves A and B) in fermentation of all sugars examined (galactose after adaptation), in distilled water as well as in phosphate solution at pH 3.5 to 6.5 and in buffers at pH 4.5, prepared with a large number of organic acids⁵. The rate of aerobic fermentation strongly depends on the concentrations of K^+ and Na^+ present⁵.

Studies on the elimination of the neg. P. E. were performed in KH_2PO_4 buffer at pH 4.5 with yeast, harvested from a synthetic substrate containing glucose, minerals, biotin, and thiamine, at a culture age (42–48 h) characterized by maximum fermentation activity per unit of cell dry weight.

The anaerobic fermentation is appreciably stimulated even by minute amounts of O_2 (e.g. 0.1% in the gas phase) or by aerobic addition of glucose previous to flushing with N_2 (as in *Saccharomyces* ssp.⁶). This cannot be due to storage of fermentable substrate within the cells under aerobic conditions, because on anaerobic addition of glucose after completed fermentation of this sugar, added aerobically, the anaerobic fermentation rate also approaches the aerobic one. In addition, a stimulating effect on anaerobic fermentation may be seen on anaerobic addition of the clear supernatant, obtained by shaking washed cells of *Br. clausenii* or baker's yeast aerobically in glucose solution at 30°C for a few hours and centrifuging the suspension. When suspensions of *Br. clausenii* and baker's yeast are mixed in the Warburg vessels, the rates of the aerobic fermentations appear to be additive, but the rate of the anaerobic fermentation of the mixture equals or even surpasses the sum of the anaerobic rate of baker's yeast and the aerobic rate of *Br. clausenii* (Fig. 1). These results suggest that some substance(s), formed in fermentation of glucose, may replace O_2 in eliminating the neg. P. E. This stimulation is not caused by CO_2 , ethanol, or acetic acid, but can be produced by acetaldehyde ($10^{-2} M$) and by pyruvic acid ($5 \times 10^{-3} M$).

In order to study a possible effect of lipid components, acetone-ether extracts of *Br. clausenii* and baker's yeast were mixed with water and the solvents evaporated *in vacuo*, leaving emulsions of the extracted material, which strongly stimulated the anaerobic fermentation in *Br. clausenii*. However, in control experiments, acetone ($10^{-2} M$) produced the same effect. Ether ($5 \times 10^{-2} M$ or even less) also stimulates to an appreciable extent. In addition to acetaldehyde, acetone, and pyruvic acid, also other carbonyl compounds are active in eliminating the

¹ M. TH. J. CUSTERS, *Onderzoekingen over het gistgeslacht Brettanomyces*, Thesis Delft (1940).

² T. WIKÉN and O. RICHARD, *Exper.* 9, 417 (1953).

³ T. WIKÉN and O. RICHARD, *Antonie van Leeuwenhoek* 20, 385 (1954); *Schweiz. Z. allg. Path. Bakt.* 17, 475 (1954).

⁴ T. WIKÉN, W. A. SCHEFFERS, and A. J. M. VERHAAR, to be published before long.

⁵ T. WIKÉN, A. J. M. VERHAAR, and W. A. SCHEFFERS, to be published before long.

⁶ T. WIKÉN and N. PFENNIG, *Antonie van Leeuwenhoek* 25, 193 (1959).