

tivité enzymatique n'atteint son maximum qu'après 9 jours, c'est-à-dire au moment de la maturité sexuelle (différenciation protopéritheciale) des mycéliums.

Relevons enfin que, contrairement à l'isocitratase, un enzyme de type adaptatif, inductible par l'acétate¹⁵⁾ mais réprimé en présence de saccharose⁸⁾, la transaminase alanine-glyoxylate de *Neurospora* se comporte en enzyme de type constitutif, formé et actif en présence du saccharose comme de l'acétate (tableau I). On peut cependant penser que son degré d'activité *in vivo* dépend, pour une part tout au moins, de celui de l'isocitratase pour ce qui concerne la disponibilité en partenaire glyoxylique.

Nous remercions le FONDS NATIONAL SUISSE DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE et le FONDS MARC BIRKIGT de leur précieux appui.

SUMMARY

Extracts from acetate-grown *Neurospora crassa* showed alanine-glyoxylate activity only after dialysis.

The activity of these extracts has been compared to that of similar, dialyzed extracts from sucrose cultures which were already active, though less without dialysis.

Endogenous levels of glycine in acetate cultures were not higher than in sucrose cultures. There are reasons to suspect a quicker turn-over of glycine in the conidiogenous cultures on acetate.

Institut de Botanique générale, Université de Genève

¹⁵⁾ H. L. KORNBERG, *Ann. Rev. Microbiol.* 13, 49 (1959).

274. Verteilung der Radioaktivität in der Ratte nach Verabreichung von [¹⁴C]-*d,l*- α -Tocopheryl-acetat

von U. Gloor, F. Weber, J. Würsch und O. Wiss

(21. IX. 63)

Für die Beurteilung des Wirkungsmechanismus des Vitamins E im tierischen Organismus sind sichere Kenntnisse über den Gehalt von α -Tocopherol in den Geweben wichtig. Im Zusammenhang mit der partiellen Ersetzbarkeit des Vitamins E durch unnatürliche Antioxydantien, wie z. B. Diphenylparaphenylendiamin und Ethoxyquin¹⁾ stellt sich die Frage, ob für deren Wirksamkeit geringere Mengen von α -Tocopherol in den Geweben vorhanden sein müssen, d. h., ob sie nur als Synergisten wirksam sind oder das Vitamin E ersetzen können. Publizierte Ergebnisse²⁻⁶⁾ über den

¹⁾ = 2,2,4-Trimethyl-1,2-dihydrochinolin.

²⁾ E. E. EDWIN, A. T. DIPLOCK, J. BUNYAN & J. GREEN, *Biochem. J.* 79, 91 (1961).

³⁾ J. GREEN, A. T. DIPLOCK, J. BUNYAN & E. E. EDWIN, *Biochem. J.* 79, 108 (1961).

⁴⁾ Q. CRIDER, P. ALAUPOVIČ & B. C. JOHNSON, *J. Nutrition* 73, 64 (1961); *Biochem. biophysic. Research Commun.* 2, 293 (1960); P. ALAUPOVIČ, B. C. JOHNSON, Q. CRIDER, H. N. BHAGAVAN & B. C. JOHNSON, *Amer. J. Clin. Nutrition* 9, No. 4, Pt. II, 76 (1961).

⁵⁾ A. S. CSALLANY & H. H. DRAPER, *Arch. Biochemistry Biophysics* 92, 462 (1961).

⁶⁾ J. G. BIERI, C. J. POLLARD, I. PRANGE & H. DAM, *Acta chem. scand.* 15, 783 (1961).

Gehalt an α -Tocopherol in Organen und Geweben bei Vitamin-E-Mangeltieren widersprechen sich teilweise. So fanden z. B. GREEN und Mitarbeiter^{2) 3)} auch nach mehrwöchiger Depletierung in der Kaninchenleber ca. 7 $\mu\text{g/g}$ Tocopherol, während CSAL-LANY & DRAPER⁵⁾ bei Kaninchen, die unter ähnlichen Bedingungen gehalten wurden, praktisch kein, d. h. weniger als 0,08 μg α -Tocopherol pro g des gleichen Organs nachweisen konnten.

Aus verschiedenen Gründen scheint es schwierig, mit den konventionellen analytischen Methoden, die auf der EMMERIE-ENGEL-Methodik beruhen, sichere Ergebnisse zu erhalten. Die Analyse bewegt sich bei diesen geringen Konzentrationen von α -Tocopherol an der Grenze der Nachweisbarkeit. Es erscheint auch fraglich, ob bei der Aufarbeitung das oxydationsempfindliche α -Tocopherol vollständig vor Zersetzung geschützt werden kann. Diskrepanzen können auch dadurch entstehen, dass das zur Depletierung verwendete Futter unterschiedliche Mengen von restlichem α -Tocopherol enthält, deren genaue Erfassung aber wiederum auf Grund der Unzulänglichkeit der analytischen Methodik kaum möglich sein dürfte.

Um sicheren Aufschluss über die Konzentrationen in den Geweben im Verlaufe der Depletierungsperiode zu erhalten, wurde Ratten in einem ersten Versuch ¹⁴C-markiertes *d,l*- α -Tocopheryl-acetat in einmaliger Dosierung peroral verabreicht und während acht Tagen in den verschiedenen Organen durch Verbrennung die Radioaktivität bestimmt (Tab. I).

Tabelle I. α -Tocopherolgehalt in μg pro g Organfrischgewicht bei der Ratte nach einmaliger Verabreichung von 2 mg *d,l*- α -Tocopherylacetat

Organ	$\frac{1}{2}$ h	2 h	4 h	24 h	4 Tage	8 Tage
Blut	0,2	1,1	1,9	2,2	0,4	0,3
Leber	0,3	8,7	16,7	7,4	1,5	1,3
Muskel	0,05	0,2	0,3	0,6	0,4	0,5
Niere	0,1	0,5	0,9	2,5	1,1	1,1
Nebenniere	0,5	3,1	12,1	62,3	10,6	2,7
Herz	0,2	0,6	1,1	1,8	1,5	2,2
Hoden	0,05	0,1	0,1	0,9	0,4	0,5
Hirn	0,05	0,2	0,2	0,4	0,3	0,6
Lunge	1,5	1,5	3,7	7,0	2,0	2,0
Milz	0,06	1,7	3,7	11,7	2,7	2,1
Haut	0,08	0,4	0,4	1,4	0,7	0,7

Für eine längere Versuchsdauer wurde Ratten an fünf aufeinanderfolgenden Tagen ¹⁴C-markiertes *d,l*- α -Tocopheryl-acetat peroral verabreicht und die Radioaktivität in den verschiedenen Organen auf die gleiche Weise wie im ersten Versuch über eine Zeitspanne von 88 Tagen bestimmt (Tab. II).

Da, wie in früheren Versuchen gezeigt wurde⁷⁾, die gesamte Radioaktivität in den Geweben dem α -Tocopherol zugeordnet werden konnte und ausserdem das verabreichte *d,l*- α -Tocopherol eine erhebliche spezifische Aktivität aufwies, war ein empfindlicher und spezifischer Nachweis gewährleistet. Es konnten Konzentrationen bis zu 0,05 $\mu\text{g/g}$ ermittelt werden.

⁷⁾ F. WEBER & O. WISS, *Helv. physiol. pharmacol. Acta* 21, 131 (1963); S. KRISHNAMURTHY & J. G. BIERI, *J. Lipid Res.* 4, 330 (1963).

Tabelle II. α -Tocopherolgehalt in μg pro g Organfrischgewicht bei der Ratte nach fünfmaliger Verabreichung von je 1 mg d,l- α -Tocopherylacetat

Organ	4 Tage	11 Tage	18 Tage	32 Tage	47 Tage	68 Tage	88 Tage
Blut	4,2	1,6	1,1	0,6	0,2	—	0,1
Leber	14,4	6,7	3,1	1,7	0,6	0,7	0,4
Muskel	6,4	3,8	2,8	1,6	0,9	0,7	0,2
Niere	13,0	6,3	3,8	2,1	0,9	0,7	0,2
Nebenniere	97,0	52,5	25,6	11,6	4,1	4,0	2,3
Hypophyse	34,2	15,3	11,4	5,8	8,1	3,4	1,5
Herz	17,8	10,2	6,3	4,3	1,5	1,4	0,5
Hoden	8,4	4,6	3,5	3,3	1,7	2,3	1,0
Hirn	5,5	4,0	4,4	4,0	2,9	3,1	3,1
Haut	10,5	4,5	3,2	1,1	0,5	1,3	0,4
Fett	12,5	14,5	7,0	3,2	1,7	2,3	0,8

Experimentelles. -- Der experimentelle Teil dieser Arbeit wurde von Frau R. SCHIEDT selbständig bearbeitet.

Tierversuche: Für Versuch I wurden männliche Tiere von 100–150 g vor der einmaligen peroralen Dosierung von [^{14}C]-d,l- α -Tocopherylacetat über Nacht nüchtern gehalten und erhielten 4 Std. nach der Verabreichung Normalfutter. Für Versuch II hatten die Tiere ein Anfangsgewicht von ca. 50 g und erhielten Vitamin-E-freie Diät folgender Zusammensetzung:

Zucker	50%	Schweineschmalz	5%
Cascin	25%	Cocosfett	5%
Trockenhefe	10%	Salzmischung	5%

Pro kg Futter wurden 2 g Cholinchlorid und 10 g der folgenden Vitaminmischung beigemischt:

Biotin	0,1 mg	<i>p</i> -Aminobenzoessäure	70,0 mg
Folsäure	0,1 mg	Inosit	30,0 mg
Thiamin	10,0 mg	Ascorbinsäure	10,0 mg
Riboflavin	10,0 mg	Menadioldiphosphat	2,0 mg
Pyridoxin	10,0 mg	Retinol	3000 I.E.
Calciumpantothenat	10,0 mg	Cholecalciferol	300 I.E.
Nicotinsäureamid	10,0 mg	Zucker	<i>ad</i> 10 g

[^{14}C]-d,l- α -Tocopherylacetat wurde mit Tween 80 (Endkonzentration 2%) und physiologischer NaCl-Lösung emulgiert. Die Ratten von Versuch I erhielten eine einmalige Dosis von 0,5 ml Emulsion entsprechend 2 mg d,l- α -Tocopherylacetat, die von Versuch II fünfmal 0,25 ml, d. h. total in fünf Malen 5 mg d,l- α -Tocopherylacetat.

Nach verschiedenen Zeitabständen wurden je zwei Ratten decapitiert und das Blut, bzw. die Organe entnommen. Jedes Tier wurde einzeln aufgearbeitet. Für alle Organe wurden Doppelbestimmungen durchgeführt. Die in den Tabellen I und II angegebenen Werte bedeuten Durchschnittswerte von zwei Tieren.

Bestimmung des α -Tocopherol-Gehaltes in den Organen durch Radioaktivitätsmessung: Das verabreichte [^{14}C]-d,l- α -Tocopherylacetat hatte eine spezifische Aktivität von 3,7 $\mu\text{C}/\text{mg}$.

Die in den frisch entnommenen Organen noch vorhandene Aktivität wurde nach der Methode von KALBERER & RUTSCHMANN⁸⁾ durch Verbrennung unter Sauerstoff zu CO_2 und H_2O und anschließende Messung im PACKARD Tri-Carb Scintillationszähler (Mod. 314 A) bestimmt.

⁸⁾ F. KALBERER & J. RUTSCHMANN, Helv. 44, 1956 (1961).

Ergebnisse und Diskussion. – Die Ergebnisse sind in den Tabellen I und II zusammengestellt. Es geht daraus hervor, dass nach Applikation von 2 mg *d,l*- α -Tocopherylacetat der Anstieg der α -Tocopherol-Konzentration in den verschiedenen Organen unterschiedlich ist. In der Leber ist das Maximum bereits nach vier Stunden, in den anderen Organen erst nach vierundzwanzig Stunden und im Hirn erst nach acht Tagen erreicht. Es scheint somit, dass Vitamin E primär von der Leber aufgenommen, aber im Gegensatz z. B. zum Vitamin A, das längere Zeit dort gespeichert wird, relativ schnell an andere Organe und Gewebe abgegeben wird. Die Versuche bestätigen die schon früher gefundene selektive Speicherfähigkeit der Nebenniere und der Hypophyse für das Vitamin E. Die Verfolgung der Vitamin-E-Konzentration über längere Zeit zeigt deutlich, dass nach relativ kurzfristigem Abfall eine ausgeprägte Tendenz besteht, eine gewisse minimale Vitamin-E-Menge in den Organen festzuhalten. Es ist bemerkenswert, dass 88 Tage nach Verabreichung von *d,l*- α -Tocopherol noch Werte von 0,1 $\mu\text{g/g}$ bis zu 3,1 $\mu\text{g/g}$ gefunden werden. Das nach 88tägiger Depletierungsperiode noch vorhandene radioaktive α -Tocopherol liegt immer noch in der Grössenordnung der für andere Vitamine bei normaler Versorgung gefundenen Menge vor. Der tiefste Wert mit 0,1 $\mu\text{g/g}$ nach 88 Tagen findet sich im Blut. In Übereinstimmung damit wurde erhöhte Hämolyse-Neigung als einziges Ausfallssymptom bei diesen Tieren festgestellt.

Wenn man in Betracht zieht, dass sogenanntes Vitamin-E-freies Futter vermutlich immer noch Spuren von Vitamin E enthält – GREEN *et al.*²⁾ haben z. B. in dem von ihnen verwendeten Futter 2,4 $\mu\text{g/g}$ festgestellt – und andererseits die ausgeprägte Speicherfähigkeit des Organismus für α -Tocopherol berücksichtigt, so ist einzusehen, dass es nur sehr schwer gelingt, eine vollständige Vitamin-E-Verarmung zu erreichen.

SUMMARY

1. The radioactivity in various organs of rats was determined after peroral administration of 2 and 5 mg of [¹⁴C]-*d,l*- α -tocopheryl acetate at intervals of half an hour to 88 days.
2. In all the organs examined, radioactive α -tocopherol was found in concentrations of 0,1 $\mu\text{g/g}$ (blood) to 3,1 $\mu\text{g/g}$ (brain), even 88 days after administration.
3. The adrenals and hypophysis were found to be especially enriched with α -tocopherol.

Forschungsabteilung der
F. HOFFMANN-LA ROCHE & Co.
Aktiengesellschaft
Basel
