

Hinsichtlich der Blockierung der Physostigmin-EEG-Aktivität (*Benešová* und Mitarb. 1962) bei Kaninchen mit eingekleiteten kortikalen und subkortikalen Elektroden hat Prothiaden die gleiche Wirkung wie Amitriptylin.

Beim Test der Autostimulation an Ratten (*Olds, Milner* 1954) zeigte sich eine signifikante Erhöhung der Selbstreizung nach Prothiaden-Gabe (1,5 mg/kg i.p.). Dieser Befund kann Bedeutung für den Gebrauch von Prothiaden als antidepressivem Heilmittel erlangen, wenn man *Steins* Theorie (1962) in Betracht zieht, wonach Depressionen beim Menschen durch eine Hemmung des Zentrums für positive Motivation hervorgerufen werden.

## Reserpin und Harnstoff-Bildung

*H. Balzer und D. Palm, Frankfurt/M.*

An Mäusen bewirkt Reserpin (5 mg/kg s. c.) eine Hemmung der Harnstoff-Ausscheidung innerhalb 17 h um 50% (-19 mg). Der Serumharnstoff steigt auf Grund der Ausscheidungshemmung um 40% an, jedoch nicht auf den der gemessenen Retention entsprechenden Wert. Es wurde daher die Harnstoffbildung in vivo mit Hilfe von  $^{14}\text{C}$ -Harnstoff bestimmt. Reserpin steigert die Harnstoffbildung in der ersten Stunde von 26 auf 42  $\mu\text{g}/\text{min}$  und vermindert sie von der ersten bis zur 20. Stunde von 41 auf 23  $\mu\text{g}/\text{Minute}$ . 50 mg/kg Cortisol® haben keinen Einfluß auf die Harnstoffbildung. Bei nephrektomierten Mäusen steigt innerhalb 24 h die Harnstoffkonzentration im Serum auf ca. 3000  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Nach Reserpin (5 mg/kg s. c.) findet sich auch bei nephrektomierten Tieren in der ersten Stunde eine erhöhte Zunahme des Serumharnstoffs; eine Harnstoffkonzentration von 3000  $\mu\text{g}/\text{ml}$  wird aber erst nach 48 h erreicht. Die mittlere Überlebenszeit nephrektomierter Kontrolltiere beträgt 32 h; Reserpin verlängert die Überlebenszeit auf 50 Stunden. 50 mg/kg Luminal und 7,5 mg/kg Chlorpromazin s.c. verursachen in den ersten 10 h ebenfalls eine Einschränkung der Harnstoffbildung. Auf Grund der kürzeren Wirkungsdauer tritt keine wesentliche Verlängerung der Überlebenszeit nephrektomierter Tiere ein. Der Vergleich der Wirkung von Reserpin und Cortisol ergibt, daß, obwohl beide Substanzen einen Anstieg des Organglykogens auf Grund einer Gluconeogenese hervorrufen, keine kausalen Beziehungen zwischen Harnstoffbildung und Gluconeogenese bestehen.

## Bildung und Ausscheidung von Vanillinsäure beim Menschen

*W. Dirscherl, A. Wirtzfeld, B. Brisse und H. Thomas, Bonn*

*Dirscherl* und *Schmidtman* haben 1958 erstmalig Vanillinsäure aus menschlichem Harn isoliert. Die Ausbeute (40 mg aus 1000 l) konnte inzwischen auf mindestens das 100fache gesteigert werden. Die Vanillinsäure-Ausscheidung zeigt beträchtliche Schwankungen; im Harn von 12 gesunden Versuchspersonen wurden Werte von etwa 4 bis etwa 20 mg/Tag (im Mittel 10 mg) ermittelt.

In Selbstversuchen (2 Personen) konnte gezeigt werden, daß die Vanillinsäure-Ausscheidung bei Weglassen pflanzlicher Nahrung stark absinkt (unter 1 mg/Tag). Die Hauptmenge der Vanillinsäure ist pflanzlichen Ursprungs. Die Einnahme von Lignin führte zu vermehrter Ausscheidung von Vanillinsäure.

Die endogene Vanillinsäure ist das Endabbauprodukt von Adrenalin und Noradrenalin, wie *Dirscherl, Thomas* und *Schriebers* (1962) in Durchströmungsversuchen an der Rattenleber bereits nachgewiesen haben. Auch menschliche Leber ist zur Vanillinsäure-Bildung befähigt (Homogenate von operativ gewonnener und Autopsie-Leber).

Bei den Durchströmungsversuchen an Rattenleber zeigte sich, daß ein Teil der Vanillinsäure als Konjugat mit Glycin vorliegt; es konnte einwandfrei isoliert und identifiziert werden.

## Der Stoffwechsel von N-(2,6-Dioxo-3-piperidyl)-phthalimid (Thalidomid)

*J. W. Faigle, H. Keberle, W. Riess und Karl Schmid, Basel*

An der Ratte wurden Resorption, Verteilung und Ausscheidung des Thalidomids nach oraler Verabreichung eines im Phthalyl-Rest mit  $^{14}\text{C}$  markierten Präparates ermittelt [1]. Untersuchungen an Hunden zeigten, daß die Verbindung im Organismus fast vollständig durch hydrolytische Reaktionen abgebaut wird. Im Urin der Hunde konnte durch Isotopenverdünnungsanalysen die Anwesenheit aller theoretisch möglichen, durch die Art der  $^{14}\text{C}$ -Signierung erfaßbaren Hydrolyseprodukte des Thalidomids bestimmt werden. Wie Tabelle 1 zeigt, wurden so 75% der im Harn vorliegenden Radioaktivität zugeordnet.

1. Thalidomid	1,8 %
2. N-Phthalyl-D,L-glutaminsäure	9,1 %
3. N-Phthalyl-D,L-glutamin	13,7 %
4. N-Phthalyl-D,L-isoglutamin	2,0 %
5. N-(o-Carboxybenzoyl)-D,L-glutaminsäureimid	22,8 %
6. N-(o-Carboxybenzoyl)-D,L-glutaminsäure	4,7 %
7. N-(o-Carboxybenzoyl)-D,L-glutamin	6,4 %
8. N-(o-Carboxybenzoyl)-D,L-isoglutamin	8,4 %
9. Phthalsäure	6,1 %
Summe	75,0 %

Die in der Bilanz fehlenden 25% verteilen sich möglicherweise auf hippursäure-analoge Paarungsprodukte der Verbindungen 5, 6, 7 und 8. Eine Hydroxylierung des Thalidomids bzw. seiner Metaboliten in 3-Stellung des Phthalsäure-Rings konnte entgegen der Vermutung von *R. T. Williams* [2] nicht bestätigt werden. Desgleichen wurden keine Anhaltspunkte für eine enzymatische Decarboxylierung der Metaboliten 2, 3, 6 und 7 zu Phthalsäure-Derivaten der  $\gamma$ -Aminobuttersäure [1] gefunden.

Die biologischen Umwandlungsprodukte des Thalidomids sind körperfremde Derivate der Glutaminsäure; die Ursache für die Nebenwirkungen des Präparates kann daher in einer Störung des Glutaminsäure-Stoffwechsels liegen.

## Schutzwirkung von Äthylpalmitat gegen Röntgenstrahlen

*K. Flemming und Christa Flemming, Heiligenberg*

Literaturangaben weisen auf Beziehungen zwischen der Milz und der Strahlenempfindlichkeit von Versuchstieren hin; in diesem Zusammenhang wurde über eine Strahlenschutzwirkung der operativen Milzentfernung (Splenektomie) berichtet. Es erschien interessant, den Einfluß des Äthylpalmitats auf die Strahlenwirkung bei Mäusen zu prüfen, denn dieser Stoff soll destruktive Veränderungen in der Milz herbeiführen, die nach Art und Ausmaß als „chemische Splenektomie“ bezeichnet worden sind. — Wir fanden zunächst an unbestrahlten Mäusen, daß der Reinheitsgrad des Präparates für die Verträglichkeit intravenös injizierter Äthylpalmitat-Emulsionen wichtig ist. 100 mg hochgereinigtes Äthylpalmitat (puriss.) wirkten bei mehr als 80% der Tiere tödlich, eine gleich große Dosis eines weniger reinen Präparates (techn.) dagegen nur bei 5 bis 20%. Die weiblichen Mäuse waren etwas empfindlicher als die männlichen.

Äthylpalmitat hatte eine erhebliche Strahlenschutzwirkung (53%), wenn es in Dosen von 25 bis 100 mg 24 bis 72 h vor der Bestrahlung intravenös injiziert wurde; das hochgereinigte und das weniger reine Präparat wirkten gleich stark. Die Äthylpalmitatwirkung war dosisabhängig; sie nahm mit steigender Dosis zu. Es fand sich ferner eine Zeitabhängigkeit der Strahlenschutzwirkung. Sie war am stärksten, wenn das

[1] *J. W. Faigle, H. Keberle, W. Riess u. K. Schmid, Experientia* 18, 389 (1962).

[2] *R. L. Smith, R. A. D. Williams u. R. T. Williams, Life Sciences* 1962/7, 333.

Äthylpalmitat 48 h vor der Bestrahlung gegeben wurde; wenn es 96 h vor der Bestrahlung injiziert wurde, war es wirkungslos.

Die bisherigen Versuchsergebnisse können noch nicht als ein Beweis dafür angesehen werden, daß eine „chemische Splenektomie“ an der Strahlenschutzwirkung des Äthylpalmitats ursächlich beteiligt ist.

### Erhöhung der Kapillardurchlässigkeit für Makromoleküle durch einige Polypeptide

M. Frimmer, Gießen

Nach schonender Säurehydrolyse von Kalbsthymushomogenat konnte durch Chromatographie an CM-Sephadex ein Polypeptid gewonnen werden, das die Kapillardurchlässigkeit der Kaninchenhaut schon in kleinen Dosen erheblich steigert (Messungen mit Evans-Blau und Radiogold-Methode). Die wirksamsten Präparate ergaben bei der Hochspannungselektrophorese noch 2 fast gleich schnell wandernde Fraktionen. Die Präparate waren Ninhydrin-, Biuret-, Sakaguchi- und Bromphenolblau-positiv.

Im Gegensatz zu den Plasmakinen steigert das isolierte Thymuspeptid zwar die Kapillardurchlässigkeit, führt aber am isolierten Darm und Uterus nicht zur Kontraktion. Es senkt den Blutdruck nicht (Kaninchen).

Mit der Radiogold-Methode wurden neben dem Thymuspeptid Nukleinsäurepräparate, Protamine und Histone sowie mehrere gefäßaktive Polypeptide quantitativ auf ihre die Kapillardurchlässigkeit steigernde Wirkung untersucht. Am stärksten wirksam waren Bradykinin und Kallidin. Weit weniger wirksam war Eledoisin. Bradykinin-analoge Oktapeptide steigerten z.T. die Kapillardurchlässigkeit oder waren unwirksam. Die Kapillarwirksamkeit geht nicht mit der Wirkung am isolierten Darm parallel. Substanz-P-Präparate von mittlerer Reinheit steigerten die Kapillardurchlässigkeit für kolloidales Gold mäßig stark.

Es wird postuliert, daß bei entzündlichen Prozessen neben den enzymatisch präformierten Polypeptiden der Plasmakinin-Reihe auch unspezifische Abbauprodukte der Zellkerne (Histonbruchstücke) eine wesentliche Rolle spielen.

### Synthese organischer Stoffe aus Kohlensäure in wässriger Lösung unter Einwirkung von UV-Licht (ohne Anwesenheit von Chlorophyll)

N. Getoff, Wien

Es wurde gezeigt, daß  $\text{CO}_2$  in wässriger Lösung auch ohne Chlorophyll durch Bestrahlung mit UV-Licht reduziert und in organische Substanzen umgewandelt werden kann. Als Primärprodukte wurden bisher Formaldehyd und Ameisensäure neben Kohlenmonoxyd und Wasserstoffperoxyd nachgewiesen. Die Ausbeute ist vom pH-Wert der Lösung stark abhängig. So fällt die Geschwindigkeitskonstante der Aldehydbildung von  $1,05 \cdot 10^{-3} \text{ sek}^{-1}$  bei pH = 4 auf  $0,68 \cdot 10^{-3} \text{ sek}^{-1}$  bei pH = 8,7 ab. Es sind Lichtquanten verschiedener Wellenlängen am Reaktionsprozeß beteiligt.  $\text{Fe(II)}$ -Ionen in saurem Medium (pH = 3,5) geben eine Ausbeuteerhöhung.

Außerdem wurde festgestellt, daß Kohlensäure durch UV-Licht als Carboxyl-Gruppe in organische Substanzen eingeführt werden kann. Beispielsweise wurde bei UV-Bestrahlung einer 0,1 m wäßrigen Lösung von n-Butanol in Gegenwart von Kohlensäure  $\alpha$ -Oxyvaleriansäure erhalten, während bei Bestrahlung einer 0,1 m Acetaldehyd-Lösung neben Milchsäure auch ein noch nicht identifiziertes Estergemisch nachgewiesen werden konnte. Essigsäure läßt sich unter den gleichen Bedingungen zu Malonsäure carboxylieren. Diese Ergebnisse beweisen die Möglichkeit der Bildung höherer organischer Substanzen aus  $\text{CO}_2$  durch Bestrahlung mit UV-Licht in wässriger Lösung ohne die Anwesenheit von Chlorophyll.

### Die Reduktion von Perchlorat durch Bakterien

E. Huckenthal und W. Mannheim, Heidelberg

Mit Hilfe von  $^{36}\text{Cl}$ -markiertem Perchlorat ließ sich (entgegen früheren Befunden) nachweisen, daß eine Reihe von Bakterienstämmen aus den verschiedensten Gattungen Perchlorat zu reduzieren vermag. Die Stämme besitzen alle eine Nitratreduktase. Chlorat als mögliches Reaktionsprodukt war nicht nachweisbar. Durch Subkultivierung einiger dieser Stämme (bis zu 40 Passagen) auf Nährböden steigender Perchlorat-Konzentration wurden Varianten mit erhöhter Perchlorat-Toleranz erhalten. Sie unterscheiden sich von den Wildstämmen durch den Verlust des Nitrat- und Perchlorat-Reduktionsvermögens, während sich in den sonst untersuchten biochemischen Eigenschaften (Katalaseaktivität und  $\text{O}_2$ -Werte verschiedener Substrate) kein charakteristischer Unterschied zwischen Variante und Wildstamm fand. Der Versuch, die Identität der Nitrat- und Perchlorat-reduktase an ruhenden Zellen von *Bac. cereus* durch den Nachweis einer gegenseitigen kompetitiven Hemmung der Reduktionen zu beweisen, mißlang. Dagegen konnte gezeigt werden, daß die gegenseitige Beeinflussbarkeit des Umsatzes beider Anionen bei der intakten Zelle als Veränderungen der Permeabilitäten zu deuten sind. An zellfreien Extrakten dieses Keimes dagegen, ließ sich eindeutig eine gegenseitige kompetitive Hemmung nachweisen. Die Michaelis-Konstanten betragen  $0,17 \cdot 10^{-3}$  molar (Nitrat) und  $3,8 \cdot 10^{-3}$  molar (Perchlorat); die Umsatzgeschwindigkeiten verhalten sich wie 1:1,2 (Nitrat: Perchlorat). Die Untersuchung des Coferment-Bedürfnisses für die Reduktion von Nitrat und Perchlorat bei zellfreien Extrakten ergab dementsprechend keinen prinzipiellen Unterschied; es besteht ein absolutes Bedürfnis für DPNH bzw. TPNH und FAD. Die Perchlorat- und Nitratreduktion werden also bei Bakterien von dem gleichen Enzym, der Nitratreduktase, katalysiert. Es sei auf eine selten zu findende Parallelität zwischen anorganischer und enzymatischer Katalyse hingewiesen: Als bestes Reduktionsmittel für Perchlorat gilt z. Zt. Zn- oder Cd-Amalgam mit Molybdän als Katalysator, wobei ein Valenzwechsel zwischen  $\text{MoV}$  und  $\text{MoVI}$  angenommen wird. In allen bisher näher untersuchten Nitratreduktasen ließ sich Molybdän als katalytisch wirksames Element nachweisen, wobei ebenfalls ein Valenzwechsel  $\text{MoV}$  bis  $\text{MoVI}$  wahrscheinlich gemacht werden konnte.

### o-Dihydroxy-Verbindungen als Metaboliten von Oestradiol-(17 $\beta$ ) und Tetralol-(6) in Rattenleber-Mikrosomen in vitro

E. Hecker (mit G. Nowoczek), München

Östradiol-(17 $\beta$ ) (1) sowie Östron werden fast ausschließlich von der Mikrosomenfraktion der Rattenleber metabolisiert. Die Reaktion benötigt TPNH als Cofaktor und ist an die Anwesenheit von Sauerstoff gebunden. So verschwindet Östradiol-(17 $\beta$ )-[16- $^{14}\text{C}$ ] aus dem Inkubationsansatz in 15 min fast vollständig. Die Radioaktivität erscheint zu 75 % in den ätherlöslichen und zu 8 % in den wasserlöslichen Anteilen. 16 % sind homöopolar an das mit Trichloressigsäure fällbare Protein gebunden.

In den ätherlöslichen Anteilen solcher Ansätze ist als p-Hydroxylierungsprodukt das 17 $\beta$ -Hydroxy-östra-p-chinol-(10 $\beta$ ) (2) nachgewiesen worden. Als weiterer Metabolit wird nach papierchromatographischer Abtrennung aus der ätherlöslichen Fraktion, Acetylierung und Umkristallisation bis zur konstanten spezifischen Aktivität 2-Hydroxy-östradiol-(17 $\beta$ ) (3) gefunden. Die Bildung von (3) erfordert TPNH als Cofaktor. Die gleichzeitig ablaufende Bindung von Radioaktivität an das säurefällbare Protein wird unter reinem Sauerstoff wenig stimuliert, unter Kohlenoxyd wenig, unter Stickstoff und mit p-Chloromercuri-benzoat vollständig gehemmt. Es stellt sich die Frage nach der Spezifität der TPNH-abhängigen Östrogenhydroxylase. Daher wurde auch die Hydroxylierung von Tetralol-(6) (4) in ähnlichen Ansätzen untersucht.