

die Dosiswirkungsbeziehung für eine Reihe von Teil-effekten im gesamten Wirkungsbereich zu ermitteln. Allerdings gibt auch diese Art der Untersuchung zellteilungshemmender Wirkungen bei vorwiegender oder alleiniger Berücksichtigung des morphologischen Zustandsbildes nur eine formale Charakteristik der Wirkung. Erst die Abtrennung der zwangsläufigen Ablaufmechanismen von den ursächlichen Induktionsmechanismen der Wirkung kann eine weitergehende Analyse der zellteilungshemmenden Wirkung und ihrer Angriffsmechanismen ergeben.

Literatur

BUCHER, O., Z. Zellforsch. 29, 283 (1939); 30, 438 (1940). — BUJARD, E., Schweiz. med. Wschr. 74, 303 (1944). — BROCK, N., DRUCKREY, H., und HERKEN, H., Arch. exp. Path. u. Pharm. 193, 679 (1939). — HAAS, H.T.A., Arch. exp. Path. u. Pharm. 197, 284 (1941). — LETTRÉ, H., Naturwiss. 12, 184 (1942); Hoppe-Seyler's Ztschr. 278, 175, 201, 206 (1943). — MÖLLENDORFF, W., Z. Zellforsch. 32, 35 (1942). — PERK, P., Z. Zellforsch. 32, 1 (1942). — POLITZER, G., Protopl. Monogr. 7 (1934) (zitiert nach Bujard). — SENSTEIN, P., C. r. Soc. Biol. 137, 133 (1943). — THOMANN, O., Z. Zellforsch. 32, 152 (1942). — THOMAS, A., C. r. Soc. Biol. 137, 12 (1943).

R. MEIER und M. ALLGÖWER

Aus den wissenschaftlichen Laboratorien der Ciba, Basel, den 17. April 1945.

Die Inaktivierung des Fleckfieber-Virus mittels Organextrakten

Nachdem auf Grund der Studien von FLEMING *in vitro* die Entdeckung des Chemotherapeutikums Penicillin *in vivo* ermöglicht war, gingen wir dazu über, eine Inaktivierung des Fleckfiebervirus *in vitro* zu versuchen. Dies gelang durch Verwendung petroätherlöslicher Fraktionen, gewonnen aus Leber und Milz gesunder oder fleckfieberkrank gewesener Meerschweinchen, indem wir die Experimente wie folgt ausführten.

Mit Nährbouillon wurden pneumonische rickettsienreiche Mäuselungen eines murinen Stammes (Ri. mooseri) im Verhältnis von 1:40 und in einem zweiten Ansatz in der Relation von 1:100 verdünnt. Die beiden Aufschwemmungen mischten wir mit den petroätherlöslichen Fraktionen, und zwar so, daß jeder cm³ der verdünnten Lungenaufschwemmung 50 mg bzw. 10 mg Rückstand (siehe Tabelle) enthielt. Nach einstündigem Aufenthalt bei Zimmertemperatur injizierten wir weißen Mäusen intraperitoneal je 1 cm³ der Gemische, deren *Giftigkeit* und *Infektiosität* sich nunmehr als beeinträchtigt oder gar völlig aufgehoben erwies. Die hohe Giftigkeit der verdünnten Lungenemulsionen, ohne Zusatz der petroätherlöslichen Leber- und Milzextrakte, zeigt das Verhalten der Kontrollmäuse, die gleichzeitig mit den Versuchstieren injiziert wurden. Das aus Gründen der Übersicht in Tabellenform wiedergegebene Protokoll läßt den Unterschied zwischen Versuchs- und Kontrolltieren zu Tage treten.

Aus den mitgeteilten Versuchen geht hervor, daß das *Fleckfiebervirus*, gegen das bisher kein Chemotherapeutikum existiert, *in vitro* durch Organextrakte beeinflußt wird, eine «Rohstoffquelle» die bisher für chemotherapeutische Studien nicht benutzt wurde.

Hingegen wurden eiweißfreie petroätherlösliche Organextrakte von anderer Seite (W. H. LUDWIG, Medizin und Chemie, Verlag Chemie, Berlin, 1942, S. 505) auf

Tabelle

Petroätherlösliche Fraktion (= Rückstand)	Lungenverdünnung	Versuchstiere			Kontrolltiere		
		Zahl der Versuchstiere	davon tot nach		Zahl der Kontrolltiere	davon tot nach	
			1 Tag	2-14 Tage		1 Tag	2-14 Tage
50 mg	1:40	10	1	2	20	10	8
10 mg	1:40	10	0	4			
50 mg	1:100	10	0	3	10	0	9

ihr *antitoxisches* Verhalten gegen *bakterielle Toxine* geprüft, wobei positive Ergebnisse erhalten wurden, die mit den von uns mitgeteilten Befunden über die Entgiftung des Fleckfiebervirus in Einklang stehen. Die giftwidrigen Organsubstanzen dürften aber in stofflicher Beziehung nichts mit den echten Antitoxinen gemein haben; auch als deren wirksame Spaltprodukte kommen sie kaum in Betracht, welche Möglichkeit von LUDWIG (l. c.) diskutiert wird. Fehlt doch nach allen bisherigen experimentellen Erhebungen den aus den Organen extrahierten Substanzen jene Fähigkeit, welche als Hauptmerkmal der Antitoxine gilt, nämlich die Spezifität.

E. BERGER und ST. BRZEZINSKI

Wissenschaftliches Laboratorium (Fleckfieber-Abteilung) der Aristopharm Fabrikations A.-G., Basel, den 18. April 1945

Über eine vierte Aktionssubstanz des Nerven

v. MURALT^{1, 2} hat gezeigt, daß bei der Erregung eines peripheren Nerven (Froschischadicus) eine Substanz freigesetzt wird, die mit der polarographischen Methode nachweisbar ist. Es handelt sich dabei weder um Acetylcholin, noch um Kaliumionen oder Aneurin (wie wir zeigen werden), weshalb die unbekannte Substanz vorläufig den Namen A₄ erhalten soll.

Mit dem Einfrierverfahren wird in gereizten Nerven immer mehr gefunden als in ungereizten¹. A₄ tritt auch aus einem frischen Nervenquerschnitt in die Badelösung über²; nach einiger Zeit klingt dieser Effekt ab; wird der Nerv jetzt gereizt, so tritt eine neue Menge von A₄ aus dem Querschnitt aus. Bei der Degeneration scheint der Gehalt im Nerven langsam abzusinken.

A₄ verändert das Polarogramm einer gewöhnlichen Ringerlösung so, daß der Anstieg bei 1,9 Volt früher einsetzt (Abb. 1). Durch Messung der erreichten Höhe bei einem bestimmten Potential läßt sich die Konzentration von A₄ in willkürlichen Einheiten ermitteln. Die Deutung des polarographischen Effekts ist ungeklärt. Ein VAN 'T HOFFScher Koeffizient von 1,9 spricht jedoch dafür, daß A₄ als Katalysator in irgendeine Reaktion an der tropfenden Quecksilberelektrode eingreift.

Um einige Eigenschaften der unbekannten Substanz zu bestimmen, wurden Nervenextrakte benutzt, in denen A₄ polarographisch gut nachweisbar ist. Bisher liegen folgende Ergebnisse vor:

1. A₄ ist dialysabel und bleibt bei einer Sulfosalizylsäurefällung in Lösung. Es handelt sich also nicht um ein Eiweißmolekül.

¹ v. MURALT, A., Pflügers Archiv 245, 604 (1942).

² v. MURALT, A., Helv. Physiol. Acta I, C 20—C 22 (1943).

2. A_4 ist thermostabil. 2stündiges Kochen bei p_H 7, in n/10 HCl oder n/10 NaOH vermindert seine Aktivität nicht.
 3. A_4 wird durch ultraviolettes Licht zerstört¹.

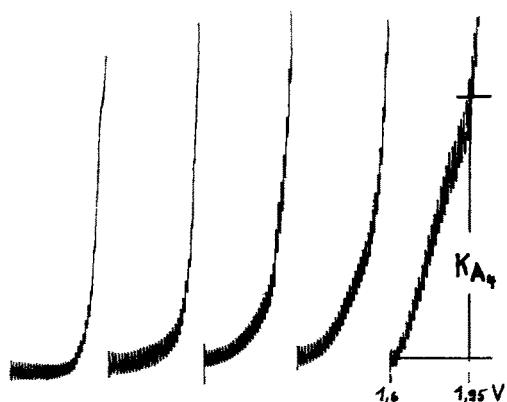


Abb. 1. Links außen Ringerlösung. Rechts Nervenextrakte, die A_4 in steigender Konzentration enthalten.

4. Die Aktivität von A_4 ist in ganz charakteristischer Weise p_H -abhängig:

Aus Abb. 2 und 3 ist abzuleiten, daß A_4 im Alkalischen und Säuren in eine aktiver Form übergeht, oder aber daß sich ein Gleichgewicht zwischen A_4 und einer andern Substanz im Sauren und Alkalischen zugunsten von A_4 verschiebt. Im p_H -Bereich 7,5—4,5 nimmt die Aktivität des Regenerates allgemein mit der Zeit ab und

Eigenschaft darstellt, ist die Substanz im Blut höchst wahrscheinlich mit A_4 identisch.

Aneurin, Cocarboxylase und Adenosintriphosphorsäure, wie sie als reine Substanzen käuflich sind, zeigen denselben Effekt im Polarprogramm wie A_4 , was der Grund war, warum v. MURALT¹ die Substanz als Aneurin oder aneurinverwandt angesprochen hat. Die genannten Stoffe wirken aber polarographisch nur in

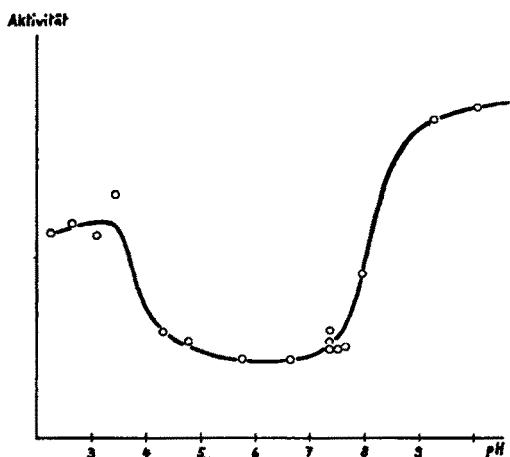


Abb. 3. Ein Nervenextrakt wird während 12 Stunden bei verschiedenen bestimmten p_H stehengelassen und unmittelbar vor der polarographischen Analyse auf p_H 7 zurückgebracht. Ordinate: Aktivität bei p_H 7. Abszisse: p_H , bei dem der Extrakt stehengelassen wurde.

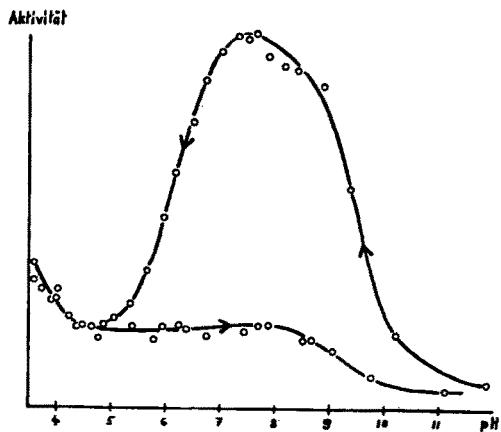


Abb. 2. Das p_H eines Nervenextraktes wird durch Zugabe von NaOH resp. HCl in Richtung der Pfeile geschoben, indem man unterwegs ständig die polarographische Aktivität von A_4 bestimmt.

zwar bei p_H 5 schneller als bei p_H 7. Die Halbwertszeit bei p_H 6,5 beträgt 25 Minuten ($17^\circ C$).

Es besteht noch völlige Ungewißheit darüber, welche chemischen Vorgänge dieser Regeneration und Inaktivierung zugrunde liegen. Das Mitwirken eines Fermentes ist ausgeschlossen, da sich A_4 sowohl im Dialysat als auch im gekochten oder mit Sulfosalizylsäure behandelten Nervenextrakt regenerieren und inaktivieren läßt.

Eine Substanz, die sich in sämtlichen 4 Punkten gleich verhält wie A_4 , ist im Blutplasma vorhanden. Da zumindest die p_H -Abhängigkeit eine sehr spezifische

Konzentrationen, in denen sie im Nerven nicht vorkommen, und keine dieser Substanzen erfüllt die hiermit neu beschriebene, für A_4 charakteristische p_H -Abhängigkeit.

S. WEIDMANN

Hallerianum, Bern, den 20. April 1945.

¹ v. MURALT, A., Pflügers Archiv 245, 604 (1942).

Gleichzeitiger Nachweis der 4. Aktionssubstanz mit dem Polarographen und am Froschherzen

In der vorhergehenden Mitteilung¹ wurde über einen polarographisch nachweisbaren Stoff A_4 in Nervenextrakten berichtet.

Bei der Prüfung von Nervenextrakten am Froschherzen zeigte sich neben der bekannten Acetylcholinwirkung ein mit einer Latenzzeit von etwa 1 Minute auftretender, positiv inotroper Effekt. Die dafür verantwortliche Substanz, welche schwer wieder auswaschbar ist, dürfte mit derjenigen von LISSAK² identisch sein, der sie in Badeflüssigkeiten von Nerven und im Blut findet. BERGAMI und Mitarbeiter³ weisen am Blutegelpräparat eine vom gereizten Nerven an die Badeflüssigkeit abgegebene Substanz nach, die sie «sostanza antiacetylcholinasimile» nennen. Endlich erwähnt KAHLSON verschiedene «störende Faktoren» bei der Acetylcholinbestimmung am Froschherzen.

¹ WEIDMANN, S., Exper. 2, 61 (1945).

² LISSAK, K., Americ. J. of Physiol. 127, 264 (1939).

³ BERGAMI, G., Arch. Istit. Biochimico Ital. 3, 3 (1936).

⁴ KAHLSON, G., Arch. f. Exper. Pathol. u. Pharmak. 175, 198 (1939).

¹ v. MURALT, A., Pflügers Archiv 245, 604 (1942).