

be made: after several thiamin or riboflavin test doses have been administered to the organism, the urinary excretion after the test injections does not increase, but changes irregularly. After the vitamin has been given for a long time, the excretion gradually diminishes.

In order to explain this behavior, we had to examine on what the excretion of water-soluble vitamins depends in the healthy, well-supplied organism.

For the present we observed the excretion of riboflavin in normal rats¹. Riboflavin, as a component of the yellow ferment, is used in the tissues in phosphorylated form. In one series of experiments we poisoned the rats with monoiodoacetic acid in order to paralyze phosphorylation, in another series we gave adenosin triphosphate (Atriphos) in order to increase the phosphorylation rate.

The excretion of riboflavin decreased in the first group of rats and increased in the second group. Thus phosphorylation influences the excretion of administered riboflavin in that it raises the excretion when increased and decreases it when depressed.

Decreased excretion after several injections of riboflavin in the normal organism is probably caused by the decrease and perhaps by the exhaustion of phosphorylation. As regards the exhaustion of the phosphorylation process in case of sugar in the kidney, RUSZNYÁK *et al.*² already have given data.

Administration of dextrose to rats decreased the urinary excretion of riboflavin. We observed the same after thiamin. Both materials are phosphorylated when used in the tissues. We suppose that after administration of dextrose or thiamin, the mechanism of phosphorylation was sooner exhausted.

The urinary excretion of riboflavin and thiamin depends first of all on the state of saturation of the organism, while in a normally supplied organism it rather depends on the phosphorylation. The more vitamin undergoes phosphorylation in the body, the more appears in the urine, and the lower is the level of phosphorylation, the smaller is the urinary excretion.

The fate of the not excreted and, according to our experiments, unphosphorylated riboflavin in the organism is quite unexplained. Experiments in which we determine the riboflavin content of several organs and of the whole body of rats after administration of this vitamin are going on.

I. MAGYAR

I. Medical Clinic of the Pázmány Péter University of Budapest, September 18, 1947.

Zusammenfassung

In einem genügend mit Vitaminen versorgten Organismus hängt die Ausscheidung der wasserlöslichen Vitamine von der Phosphorylierung ab. Bei Versuchen an Ratten zeigte sich folgendes: Wird die Phosphorylierung durch Monojodessigsäure gehemmt, so wird weniger Riboflavin ausgeschieden. Nach Darreichung von Adenosintriphosphat erscheint dagegen mehr Riboflavin im Harn. Die Verminderung der Ausscheidung nach Dextrose oder Thiamin ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß diese Substanzen den Mechanismus der Phosphorylierung in größerem Ausmaß in Anspruch nehmen.

Prévention de l'œdème aigu expérimental du poumon par un antihistaminique de synthèse dérivé de la thiodiphénylamine¹

L'œdème aigu du poumon est dû à une transsudation brusque de sérosité dans les alvéoles et les tissus interstitiels du poumon à travers les capillaires pulmonaires. Cette sérosité mêlée à l'air remonte vers les voies respiratoires supérieures et, est expectorée sous forme de spume sanguinolente. L'œdème du poumon se distingue des autres œdèmes de l'économie par son apparition soudaine, son évolution rapide et éventuellement sa résolution complète.

Il est aisé de provoquer un œdème aigu du poumon chez le lapin en lui injectant une dose suffisante d'adrénaline par voie intraveineuse².

Aussitôt après l'injection d'adrénaline, la pression artérielle monte verticalement à 20–22 cm/Hg et s'y maintient 2 à 3 minutes. Le lapin présente une apnée de 20 à 30 secondes après quoi la respiration redevient régulière. Au bout de 5 à 6 minutes, la pression revient à son niveau initial tout en continuant sa courbe descendante; la respiration devient dyspnéique et cette dyspnée s'aggrave rapidement. L'animal s'affaisse, il est cyanosé, une crise convulsive annonce l'exitus; une écume rosée apparaît aux narines et à la bouche; la pression est voisine de 0 et l'animal meurt, 10 minutes environ après l'injection.

L'autopsie révèle un cœur très dilaté, des poumons énormes, très œdématiés, non collabescents à l'ouverture du thorax. Ils sont couverts sur de grandes surfaces de plaques hémorragiques.

A la dose de 0,25 mg/kg d'adrénaline, 60% de nos lapins (17 sur 27) ont présenté ce tableau et ont succombé au plus tard 10 minutes après l'injection. Les autres ont survécu plusieurs heures. Tous ont présenté à l'autopsie des lésions nettes d'œdème pulmonaire.

Or nous avons constaté que l'injection préalable de 20 mg/kg de N-diméthylamino-2-propyl-1-thiodiphénylamine (3277 RP) empêche d'une manière saisissante l'apparition de ce syndrome extrêmement grave dans la totalité de nos essais (portant sur 15 animaux).

Les lapins ayant reçu une injection hypodermique de 20 mg/kg de 3277 RP présentent dans les trente minutes qui suivent quelques troubles banaux: légère ataxie ou atonie musculaire. Or, si nous injectons alors la même dose d'adrénaline, 0,25 mg/kg, nous constatons que son effet hypertensif est intégralement conservé. L'apnée habituelle est moins prononcée. Cependant la dyspnée ne se produit pas et les animaux ne manifestent pas de tirage respiratoire ni de cyanose. La pression descend progressivement vers la normale ou un peu au dessous de sa valeur initiale et s'y maintient. L'animal détaché présente quelques troubles ataxiques dus au 3277 RP et se rétablit complètement dans les heures qui suivent.

Les animaux traités par l'antihistaminique montraient une augmentation de volume du cœur comparable aux témoins. Par contre, leurs poumons collaient normalement et ne présentaient que dans de rares exceptions une légère augmentation de poids. C'est ainsi que le poids moyen des poumons des témoins est de 32 g tandis que celui des poumons des lapins traités est de 13 g, le poids moyen des poumons d'un lapin normal étant de 10 à 12 g environ.

¹ Detailed data in *Acta medica Hungarica*, in print.

² St. RUSZNYÁK, M. FÖLDI, and G. SZABÓ, *Exper.* 3, 420 (1947).

¹ B. N. HALPERN, *Arch. int. Pharmacol. Théor.* 74, 314 (1947); *J. Allergy* 18, 263, 272 (1947).

² HALLION et NEPPER, *J. Physiol. Pathol. gén.* 13, 887 (1911).

Par quel mécanisme le 3277 RP exerce-t-il cette action protectrice?

Il a été établi expérimentalement que dans le déterminisme de l'œdème aigu du poumon le facteur tensionnel ne joue qu'un rôle accessoire alors que le degré de la perméabilité capillaire revêt un rôle de grande importance. Or, STAUB¹ a montré récemment que, chez l'homme tout au moins, l'injection d'adrénaline s'accompagne d'une décharge d'histamine dont le taux s'accroît dans le plasma. On peut donc admettre que cette libération d'histamine entraîne un accroissement de la perméabilité capillaire au moment même où les capillaires sont soumis à une pression considérable; la combinaison de ces deux facteurs déclencherait l'œdème. L'antihistaminique en élevant le seuil de la perméabilité capillaire leur permet de résister à la poussée hémodynamique et empêche ainsi le déclenchement de l'œdème aigu du poumon.

Nous avons pu constater en outre que l'injection intraveineuse de 3277 RP pratiquée 4 minutes après l'injection d'adrénaline c'est-à-dire au moment où l'œdème semble amorcé, arrête son évolution fatale dans la totalité des cas traités (7 animaux).

En résumé, l'injection préalable d'un antihistaminique de synthèse, le N-diméthylamino-2-propyl-1-thiodiphénylamine (3277 RP) empêche régulièrement l'œdème aigu du poumon, généralement mortel que détermine chez le lapin l'injection intraveineuse d'une dose appropriée d'adrénaline. Une injection intraveineuse de l'antihistaminique faite au moment où l'œdème semble amorcé est susceptible d'enrayer son évolution fatale. Cette action sur l'œdème aigu du poumon, remarquable, semble relever d'une élévation du seuil de la perméabilité capillaire pulmonaire par l'antihistaminique de synthèse.

B. N. HALPERN (Paris) et S. CRUCHAUD (Lausanne)

Laboratoire de pathologie expérimentale de la Clinique médicale universitaire propédeutique, et Centre national de la recherche scientifique, Paris, le 12 novembre 1947.

Summary

N-dimethylamino-2-propyl-1-phenothiazine (3277 R.P.) has been shown to possess an antihistamine and anti-anaphylactic activity that is unequaled up to now.

Hypodermic preventive injections regularly protect the rabbit against acute pulmonary oedema provoked by epinephrine. An intravenous injection of this substance made 3 to 4 minutes after an intravenous injection of epinephrine, that is at the time an acute pulmonary oedema seems to begin, is able to prevent fatal consequences.

The hypertensive action of adrenaline, and the resulting dilatation of the heart is not prevented by the phenothiazine derivative.

The antihistamine substance seems to exercise an effect on capillary permeability when preventing acute pulmonary oedema.

¹ H. STAUB, *Helv. physiol. pharmacol. Acta* 4, C 54 (1946).

PRO LABORATORIO

Über eine wässrige Carotinlösung

Bei Untersuchungen über die Lipoxydase ergab sich die Aufgabe, eine klare wässrige Lösung von Carotin zu bereiten. Eine für diesen Zweck und wahrscheinlich auch für andere Versuche mit Carotinoiden geeignete

Lösung wurde mit Hilfe der als «Tween»¹ bezeichneten Netzmittel erhalten².

Beispiel für die Herstellung einer Lösung, die 0,5 g Tween 60 und 10 mg Carotin enthält: Je 2 cm³ einer 25proz. Lösung von Tween 60 und einer 0,5proz. Lösung von Carotin (crist., Roche), beide in Chloroform, werden in einem Glasschälchen vermischt. Das Chloroform wird im Vakuum oder unter Überleiten von Stickstoff auf dem fast kochenden Wasserbade verdampft. Der Rückstand wird in wenig Wasser gelöst und die Lösung durch weiteren Zusatz von Wasser auf das gewünschte Volumen gebracht. Für photometrische Messungen wird die Lösung zur Entfernung geringer Verunreinigungen filtriert. – Die nach Verdampfung des Chloroforms erhaltene Lösung von Carotin in Tween 60 verhält sich wie eine übersättigte Lösung; deshalb hat die Vertreibung der letzten Chloroformmengen und der anschließende Zusatz von Wasser möglichst schnell zu erfolgen. Werden größere Mengen Tween 60 oder kleinere Mengen Carotin verwendet, so ist diese Vorsichtsmaßnahme nicht nötig. Tween 80 ist als «Lösungsvermittler» mindestens so gut geeignet wie Tween 60.

Die wässrigen Carotinlösungen erscheinen im durchfallenden Licht auch bei großer Schichtdicke als vollkommen klar. Eine gewisse Inhomogenität der Lösungen ergibt sich jedoch aus einem bei entsprechender Beleuchtung auftretenden Tyndall-Effekt, der auch bei wässrigen Lösungen von Tween allein nachzuweisen ist. Die mit 0,1–1,0 mg % Carotin enthaltenden Lösungen bestimmten Extinktionskoeffizienten (Stufenphotometer, Filter S₄₇) folgen mit befriedigender Genauigkeit dem BEERSCHEN Gesetz. Unter Stickstoff im Eisschrank aufgehoben, ist photometrisch nach 3 Tagen keine, nach einer Woche eine geringe Abnahme der Lichtabsorption festzustellen. Die Lösungen bleiben klar beim Erwärmen, bei der Dialyse gegen Wasser³ sowie nach Zusatz des doppelten Volumens von 0,2-m. Phosphat ($p_H = 4,5-8,3$), 20proz. NaCl, 10proz. CaCl₂, 0,1-n. HCl oder von Glycerin. Ammoniumsulfat (Halbsättigung) und Trichloressigsäure bewirken eine Ausfällung des Tween/Carotin-Komplexes; Zusatz von Alkohol führt zu einer Ausscheidung von Carotin. Das Filtrat einer mit aktiver Kohle behandelten Lösung ist farblos. In natronalkalischer Lösung erfolgt Verseifung des Tween; das zum Teil ausgeschiedene Stearat (in Versuchen mit Tween 60) schließt Carotin ein. Aus der wässrigen Lösung läßt sich Carotin (+ Tween) mit Äther extrahieren, leicht jedoch erst nach Zusatz von Ammoniumsulfat. Der «Komplex» diffundiert in ein 5proz. Gelatinegel: nach 2 Tagen ist eine etwa 3 mm, nach 7 Tagen eine 6–8 mm tiefe gelbe Zone in dem Gel zu beobachten. Im System der Lipoxydase (Sojaenzym + Sojaölsäuren + O₂) wird das in der wässrigen Lösung befindliche Carotin schnell oxydiert. In höheren Konzentrationen hemmt Tween 60 diese Oxydation.

Bei biologischen Versuchen mit Tween-Präparaten ist deren Spaltbarkeit durch Lipasen zu berücksichtigen.

H. SÜLLMANN

Augenklinik der Universität Basel, 7. November 1947.

¹ Atlas Powder Company, Wilmington (USA.). Wir erhielten Tween durch die Firma Bohny & Co. AG., Basel. – Es wurden die technischen, nicht weiter gereinigten Präparate verwendet.

² Über die Verwendung von Tween in biologischen Versuchen vgl. R. J. DUBOS, *Exper.* 3, 45 (1947); H. BLOCH, H. ERLÉNMEYER und E. SUTER, *Exper.* 3, 199 (1947); G. GOMORI, *Proc. Soc. exp. Biol. a. Med.* 58, 362 (1945); R. M. ARCHIBALD, *J. biol. Chem.* 165, 443 (1946).

³ Die Außenflüssigkeit hinterläßt nach dem Eindampfen einen geringen Rückstand mit den Löslichkeitseigenschaften des Tween.