

biliaires sont d'une parfaite netteté (réactions de PETTENKOFER, de URDANSKY et de JOLIES). De plus, le produit est soluble dans l'eau, et sa solution aqueuse mousse fortement. Nous avons séparé les acides biliaires de la solution aqueuse par moussage (technique des mousses essorées¹), et les résultats furent bien conformes à ce que l'on pouvait attendre d'une solution de sels biliaires. (La teneur en azote du produit purifié par moussage fut 2 %.) Nous avons donc bien affaire à des acides biliaires typiques. Ils ne contiennent pas de soufre en quantité décelable, il ne s'agit donc pas d'acide taurocholique. Pour confirmer nos conclusions, nous avons fait étudier leur absorption de la lumière ultra-violette en comparant les spectres à ceux obtenus pour de l'acide glycocholique. Nous remercions M^{me} GILMART qui a réalisé les spectres. Les courbes d'absorption sont pratiquement superposables dans la région spectrale comprise entre 1000 et 1100 Å. Mais notre acide n'est pas encore rigoureusement pur, et l'on note une petite bande d'absorption parasite dans la région avoisinant 750 Å. En somme, nous avons bien affaire à un acide biliaire, et il est possible qu'il s'agisse d'acide glycocholique.

Revenons au résidu d'alcoolyse resté insoluble dans l'alcool chaud. Ce résidu est bien un coagulum protéique, car l'hydrolyse acide libère une série d'acides aminés dont l'étude microchromatographique sur papier² n'a rien révélé d'anormal³. Mais la teneur en azote était seulement 13 %. Il devait donc se trouver encore dans le coagulum des impuretés non protéiques que l'alcool chaud n'avait pas enlevées. Nous avons pu identifier ces impuretés, il s'agit de glycogène que l'on peut facilement extraire par de l'eau. Le coagulum lavé à l'eau, puis séché, contient maintenant 15 % d'azote, comme il se doit pour une protéine.

Avant l'alcoolyse, la fraction primitive avait été abondamment lavée par de l'eau, et ceci n'avait pas éliminé le glycogène qui part maintenant si facilement après que les protéines aient été coagulées par l'alcool. Ce glycogène avait d'ailleurs précipité avec la fraction par dialyse. Il devait donc ne pas être libre, mais cénapsé avec les protéines.

Voici nos résultats quantitatifs en % de la fraction:

Protéines	Cérébrosides	Glycogène	Acides biliaires
74	10	15	1

Notons que ces chiffres n'ont rien d'absolu. En effet, les cérébrosides tels qu'ils furent pesés ici contenaient encore des sels biliaires dont la séparation est très difficile et ne fut obtenue que par des fractionnements non quantitatifs. Le chiffre de 1 % donné pour les sels biliaires est donc trop faible, tandis que celui de 10 % donné pour les cérébrosides est trop fort.

Conclusions. Les vers délipidés à basse température par l'alcool absolu et l'éther cèdent ensuite à l'eau distillée des protéines et diverses autres substances. Si l'on soumet la solution à une dialyse prolongée, on voit précipiter une fraction curieuse assez abondante qui n'est plus soluble dans l'eau, même si l'on ajoute du sel. Cette fraction contient: protéines, glycogène, cérébrosides et acides biliaires. Ces constituants ne sont pas indépen-

dants les uns des autres, car 1^o le glycogène et les acides biliaires ne se laissent pas extraire par l'eau tant que l'on n'a pas dénaturé les protéines; 2^o avant la dialyse, les cérébrosides étaient à l'état dissous dans l'eau qui ne les dissout plus lorsqu'ils sont isolés.

N. KENT et M. MACHEBŒUF,
avec la collaboration de B. NEIADAS.

Institut Pasteur, Paris, le 3 mars 1948.

Summary

The authors have already shown that bile acids existed associated with proteins in some protein fractions isolated from the tapeworm (*Moniezia expansa* of sheep).

The worms are delipidated at very low temperature (−15°C) by absolute alcohol and ether. The dry product is extracted with distilled water. When the solution thus obtained is dialysed for a long time against water (at 0°C) to eliminate the salts and other dialysable substances (such as puric and pyrimidic bases), a peculiar fraction of protein precipitates.

This fraction is no longer soluble in water even after addition of NaCl or at higher p_H . This fraction contains proteins (but only 8,6 % nitrogen), glycogen, cerebrosides, and bile acids.

After hydrolysis, the aminoacids were identified using the microchromatographic technique of CONSDEN, MARTIN, and GORDON (1943).

Glycogen was identified and the quantity of sugar estimated as well as the glucosazone prepared after hydrolysis.

The cerebrosides were hydrolysed by a 10 % alcoholic solution of H₂SO₄, the fatty acid esters isolated and estimated. The sphingosine yield was also determined. The microchromatographic method of PARTRIDGE was used to identify the sugar in these cerebrosides. Results confirmed the presence of galactose. There is no doubt that the substance associated with the proteins is a cerebroside.

As stated above, the presence of bile acids in tapeworms has been established by the authors for the first time. These acids were estimated by different colorimetric and spectrographic methods.

Über ein Adenosintriphosphorsäure (ATP) spaltendes Enzym der Schlangengifte

Schon lange wurde auf die Ähnlichkeit eines Teils der Vergiftungserscheinungen nach Schlangenbiß mit dem anaphylaktischen Schock hingewiesen. In Übereinstimmung mit der Annahme, daß der letztere durch eine Histaminausschüttung bedingt sei, wurde gefunden, daß zahlreiche Schlangengifte die schlagartige Entleerung der Histamindepots der Säuger veranlassen¹.

Für die Ausbildung verschiedener Schockarten werden in zunehmendem Maß auch andere Reaktionen verantwortlich gemacht, beispielsweise das Verschwinden von ATP², die als eine der wichtigsten Energiequellen der Zellen gilt. Im Muskel spielt sie bekanntlich eine zentrale Rolle beim Zustandekommen der Kontraktion. Mit der Annahme eines ATP zerstörenden Enzyms in den Schlangengiften könnte somit die Auslösung von Schock und Muskellähmung als Folgen des Schlangengiftbisses dem Verständnis nähergebracht werden.

¹ Zusammenfassung: C. H. KELLAWAY, *Animal Poisons*, Ann. Rev. Biochem. 8, 541 (1939).

² G. A. LEPAGE, *Am. J. Physiol.* 147, 446 (1946).

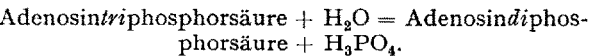
¹ M. ABRIBAT, C. R. Acad. Sci. 269, 244 (1939).

² R. CONSDEN, A. H. GORDON et P. MARTIN, *Biochem. J.* 38, 224 (1944).

³ Les clichés chromatographiques ont été publiés dans la thèse de doctorat de l'un de nous: N. KENT (Neuchâtel 1947).

Methodik: Das aus dem käuflichen Dibariumsalz dargestellte Natriumsalz (0,002—0,007molar) wird in Veronalpuffer gelöst (Gesamt volumen der Ansätze 0,5 bis 1,0 cm³) und mit 0,05 bis 0,5 mg Rohgift bei 38° zehn Minuten lang inkubiert. Die in Freiheit gesetzte Phosphorsäure wird nach dem Verfahren von BERENBLUM und CHAIN¹ bestimmt, wobei die angegebene Methode nach mehreren Richtungen hin verändert und zu einer Routinemethode entwickelt wurde. Eine einzelne Bestimmung erfordert 9 Minuten, und ihre Genauigkeit beträgt 1 γ Phosphor. Das mit Stannochlorid aus der Phosphormolybdänsäure erzeugte blaue Reduktionsprodukt wird im Stufenphotometer (Filterschwerpunkt 750 mμ, Schichtdicke 1 mm) gemessen.

Ergebnisse: Die Gifte aller bisher untersuchten Arten (*Bungarus fasciatus*, *Dendraspis angusticeps*, *Naia bungarus*, *Naia melanoleuca*, *Notechis scutatus*, *Bitis arietans*, *Bitis gabonica*, *Bothrops alternatus*, *Vipera ammodytes*, *Vipera aspis*, *Vipera-aspis*-Varietät aus dem Département du Gers²) zerlegen die ATP. Die Reaktion verläuft bis kurz vor der Erschöpfung der ATP mit konstanter Geschwindigkeit. Sie bleibt völlig stille stehen, wenn genau eine Molekel Phosphorsäure pro Molekel ATP in Freiheit gesetzt worden ist. Mit verdünnter Schwefelsäure kann aus dem Reaktionsprodukt in üblicher Weise eine zweite Molekel Phosphorsäure abgespalten werden. Die enzymatisch beeinflusste Reaktion läßt sich somit durch folgende Gleichung darstellen:



Schlangengifte sind somit die einzigen der bisher bekanntgewordenen ATP-ase-Quellen, die ohne jede Reinigung und Abtrennung von Begleitfermenten die gebildete Adenosindiphosphorsäure unverändert lassen.

Die ATP-ase-Aktivität der Gifte schwankt von Art zu Art. Die aktivsten Präparate setzen bei einem p_H = 8,4 und in Gegenwart von 0,002molarem Magnesiumsulfat 2000 γ Phosphor pro mg Gift und pro Stunde frei, was der Zerlegung von 33 mg ATP entspricht. Dieser Wert ist sehr viel höher als derjenige aller übrigen ATP-asen des Tier- und Pflanzenreiches³.

Durch Dialyse wird die Aktivität der ATP-ase der Gifte herabgesetzt. Sie kann durch Kalzium- und Magnesiumionen teilweise wiederhergestellt werden. Magnesium wirkt in dieser Hinsicht stärker und aktiviert auch undialysierte Enzymlösungen. Damit unterscheidet sich die ATP-ase der Schlangengifte von den entsprechenden Enzymen des Säugermuskels und des elektrischen Organs von *Torpedo*⁴:

	Kalziumionen	Magnesiumionen
Myosin-ATP-ase . . .	Aktivierung	Hemmung
ATP-ase des elektrischen Organs. . . .	Hemmung	Aktivierung
ATP-ase der Schlangengifte	Aktivierung	Aktivierung

¹ I. BERENBLUM und E. CHAIN, Biochem. J. 32, 295 (1938).
² Für die Überlassung der angeführten Giftpräparate schulde ich den Herren Dr. O. BIER (Butantan), Prof. Dr. E. GRASSET (Genève), Dr. C. H. KELLAWAY (London), Prof. Dr. F. ROULET (Basel), Prof. Dr. P. STERN (Zagreb) und Prof. Dr. J. TRÉFOUËL (Paris) meinen besten Dank.
³ Zusammenfassung: V. A. ENGELHARDT, Adenosintriphosphatase Properties of Myosin, Adv. in Enzymol. 6, 147 (1946).
⁴ Zusammenfassung: E. A. ZELLER, Enzymes of Snake Venoms and Their Biolog. Signific. Adv. in Enzymol. 8, 459 (1948) (im Druck). – E. A. ZELLER und A. MARITZ, Helv. chim. acta 27, 1888 (1944).

Die ATP-ase der Schlangengifte ist somit deutlich von ähnlichen Enzymen abzugrenzen, in analoger Weise, wie es früher für die Aminosäureoxydase und die Cholinesterase der Schlangengifte gezeigt wurde¹. Dem bisherigen Gebrauch entsprechend¹ wird daher das vorliegende Ferment als Ophio-Adenosintriphosphatase bezeichnet.

E. A. ZELLER

Pathologisch-anatomische Anstalt der Universität Basel, den 6. April 1948.

Summary

In the venoms of different snake species an enzyme was found which liberates one molecule of phosphoric acid from ATP. The extremely powerful enzyme can be activated by calcium and magnesium ions.

¹ E. A. ZELLER, Helv. physiol. acta 6, C 36 (1948).

Zum Problem des Stoffwechsels der Brenztraubensäure in vivo

II. Mitteilung¹

Injiziert man Kaninchen in nicht zu langsamem Strom intravenös größere Dosen Alloxan (200–250 mg/kg in 60–100 Sek.) und wartet man mit der Fütterung bzw. mit der subkutanen Glukosezufuhr ab, bis die kritische hypoglykämische Krampfphase erreicht ist (etwa nach 5–7 Stunden), dann entwickelt sich bei den meisten Tieren ein fortschreitender Diabetes mit hochgradiger Hyperglykämie und Glykosurie, an dem sie innerhalb weniger Tage zugrunde gehen. Das Endstadium dieser progressiven Form des Alloxandiabetes ist durch schwere Azidose mit niedriger Alkalireserve und Ketonkörperausscheidung gekennzeichnet; äußerliche Symptome sind Gewichtssturz, allgemeiner Tonusverlust, völlige Inappetenz und Somnolenzneigung. Unter den Säuren, die beim alloxandiabetischen Koma eine Rolle spielen, hat uns speziell die Brenztraubensäure (BTS) beschäftigt, über deren Vermehrung im Blut wir bereits berichtet haben².

Als wesentlichen Regulator für die Umsetzung dieser Säure im lebenden Organismus können wir das Vitamin B₁ (= Aneurin) ansprechen. Im Belastungsversuch mit Na-Pyruvat, der zu «exogener Hyperpyruviämie» führt, vermag dieses Vitamin die verzögerte BTS-Beseitigung beim Alloxandiabetes zu normalisieren. Es ergab sich von selbst die Aufgabe, den Einfluß des Aneurins auf die BTS-Verwertung auch bei der progredienten Diabetesform mit gesteigerter «endogener Pyruviämie» zu untersuchen. Wir haben dabei folgende Feststellungen gemacht:

Zu Beginn der Dekompensation des Diabetes mit relativ niedrigen BTS-Werten gelingt es, durch Aneurin allein (5–8 mg/kg) eine Senkung zur Norm zu erreichen. Ist die Azidose ausgesprochen, nimmt die Hyperglykämie zu, dann wird die gleichzeitige Verabreichung von Vitamin B₂ = Laktoflavin (1–2 mg/kg intravenös oder als subkutan Depot) notwendig, um die BTS-Steigerung akut zu beheben. Wird schließlich der Zustand kritisch, droht das Tier im Koma dem Stoffwechselzusammenbruch zu erliegen, dann wirken die beiden Vitamine nicht mehr. In dieser letzten Phase ist es uns aber wiederholt gelungen, den Komazustand

¹ Ein Teil der Experimente wurde mit Unterstützung der Roche-Studienstiftung durchgeführt.
² S. MARKEES und F. W. MEYER, Exper. 4, fasc. 1, 31 (1948).