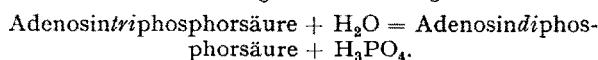


Methodik: Das aus dem käuflichen Dibariumsalz dargestellte Natriumsalz (0,002—0,007molar) wird in Veronalpuffer gelöst (Gesamtvolume der Ansätze 0,5 bis 1,0 cm³) und mit 0,05 bis 0,5 mg Rohgift bei 38° zehn Minuten lang inkubiert. Die in Freiheit gesetzte Phosphorsäure wird nach dem Verfahren von BERENBLUM 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 Moleköl Phosphorsäure pro Moleköl ATP in Freiheit gesetzt worden ist. Mit verdünnter Schwefelsäure kann aus dem Reaktionsprodukt in üblicher Weise eine zweite Moleköl 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 $p_{\text{H}} = 8,4$ und in Gegenwart von 0,002 molarem 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-ases 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. TRÉFOUET (Paris) meinen besten Dank.

³ Zusammenfassung: V. A. ENGELHARDT, Adenosinetriphosphatase 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 ausgesprochener, nimmt die Hyperglykämie zu, dann wird die gleichzeitige Verabreichung von Vitamin B₂ = Laktoflavin (1—2 mg/kg intravenös oder als subkutanes 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-Stiftung durchgeführt.

² S. MARKEES und F. W. MEYER, Exper. 4, fasc. 1, 31 (1948).

durch Verabreichung von *Cocarboxylase* (5–6 mg/kg i.v.), d.h. von Aneurin in der phosphorylierten Form, zu durchbrechen, wobei wiederum gleichzeitig Laktoflavin gegeben wurde. Unter der Wirkung der Cocarboxylase trat innerhalb von 40–60 Minuten eine ganz erstaunliche Änderung des Zustandsbildes ein. Die Tiere begannen sich wieder zu putzen und zu lecken, liefen umher, fraßen und tranken und waren offensichtlich über die Stoffwechselkrise hinweggebracht. Parallel dazu ließ sich ein sukzessives Absinken der Blut-BTS beobachten. Auf den Blutzucker haben die B-Vitamine ebenso wie die Cocarboxylase keine eindeutige Wirkung gezeigt.

Die Möglichkeit, eine B_1 -Wirkung durch Verabreichung des fertigen Coferments noch zu erzielen, wenn das Vitamin selbst nicht mehr zur Wirkung kommen kann, scheint uns von prinzipieller Bedeutung zu sein, da wir daraus schließen dürfen, daß in der dem Komatod vorausgehenden Phase eine Phosphorylierungsstörung mit im Spiele ist. Wir hätten damit eine erste Indikation für die Anwendbarkeit eines Vitamins in der Form des Fermentbestandteils gefunden. Die Ausdehnung solcher Versuche auf weitere Vitamine bei verschiedenen Stoffwechselstörungen liegt auf der Hand und ist bereits in Angriff genommen worden.

Die geschilderten Experimente an Kaninchen mit progressivem Diabetes sind durch die ganz verschiedene und nicht zum voraus bestimmbare Empfindlichkeit und Reaktionsform des Einzelindividuums auf die Alloxanvergiftung sehr erschwert. Neben Blutzucker- und Säurebestimmungen liefert der Grad der Lipämie einen bequem erfaßbaren Anhaltspunkt für die Schwere der Stoffwechselstörung. Im Endzustand ist das Plasma milchigweiß, das Blut eigentümlich himbeer-crèmeefarben. Einer geglückten Kompensation der azidotischen Krise geht immer ein Verschwinden der Lipämie parallel. – Im Zusammenhang mit der Aneurinwirkung auf den BTS-Umsatz erhob sich die Frage, wieweit man durch Insulinverabreichung imstande ist, das Fortschreiten des schweren Alloxandiabetes aufzuhalten. Die von uns erreichte Blutzuckersteigerung war in der Regel hoch, die Werte betragen etwa 72 Stunden nach der Alloxaninjektion zwischen 650 und 900 mg%, es waren aber auch verschiedentlich Anstiege bis auf 1600 und 1900 mg% zu beobachten. Zur Insulinwirksamkeit in diesen diabetischen Zuständen kann folgendes festgestellt werden:

Im Beginn der Endphase in mittlerer Dosis (2 E/kg) gespritzt, vermag Insulin allein die Kompensation zu erreichen. Es kommt zu langsamem Blutzuckerabfall, Wiederauftreten von Freßlust und bei Fortführung der Insulinbehandlung zur Stabilisierung des Blutzuckers auf 250–400 mg% und längerem Überleben der Tiere. Setzt man später mit der ersten Insulingabe ein, d.h. bei Vorliegen einer deutlichen Lipämie, dann ist uns eine Dauercompensation *nie* gelungen. Auch wenn der Blutzucker mit Senkung reagiert, bleiben die Tiere schwach, die Azidoseneigung besteht weiter und sie gehen an Inanition zugrunde. In dieser Situation läßt sich jedoch wiederum durch Zuhilfenahme der Vitamine B_1 und B_2 die volle Kompensation erreichen, so lange die oben beschriebene Phosphorylierungsstörung noch nicht ausgeprägt ist. Liegt sie aber vor, dann kann durch Insulin ein Fortschreiten des Diabetes nur noch verhindert werden, wenn zuvor die akute Überwindung der komatösen Azidosephase durch Cocarboxylase und Laktoflavin gelungen ist. Wir haben bei mehreren Tieren die Rettung aus dem Koma mit dem phosphorylierten Vitamin B_1 und gleichzeitiger Insulinverabreichung durchgeführt und uns von der Unwirksamkeit der zu

spät eingesetzten, alleinigen Insulinbehandlung überzeugt.

Unsere Versuche am alloxandiabetischen Kaninchen beweisen das enge Zusammenwirken von Hormon und Vitamin bei der Regulation definierter intermediärer Stoffwechselvorgänge. Sie lassen vermuten, daß eine wesentliche Ursache für den veränderten Ablauf der physiologischen Umsetzungen in dem Unvermögen des azidotischen Organismus liegt, die Phosphorylierungen normal durchzuführen. Es drängt sich die Schlußfolgerung auf, zur Unterstützung der behinderten Wirksamkeit des Insulins bei der diabetischen Stoffwechselkrise das Coferment der Carboxylase zu erproben. Die Zweckmäßigkeit einer unterstützenden B_1 - und B_2 -Therapie beim dekompensierten Diabetes hat sich tierexperimentell begründen lassen. S. MARKEES und F. W. MEYER

Medizinische Universitätspoliklinik Basel und Pharmakologisches Laboratorium der Firma F. Hoffmann-La Roche & Co., AG., Basel, den 19. März 1948.

Summary

In the end-stage of progressive alloxan diabetes of the rabbit we have been able to overcome the acute pyruvic acidosis by the use of phosphorylated vitamin B_1 (cocarboxylase) together with vitamin B_2 , while it is impossible to cure the endogen hyperpyruviæmia with simple vitamin B_1 . The superiority of the coferment over the vitamin, which is only effective at the beginning of the decompensation, implies the existence of a disturbance in the phosphorylation during the crisis of diabetic metabolism. We have been successful in preventing the inevitable death in coma of diabetic rabbits by doses of cocarboxylase + riboflavin, and we were able to keep them alive by continuous doses of insulin together with vitamin B_1 and B_2 .

Über den Angriffspunkt des Morphins am Atmungszentrum

In Erweiterung der grundlegenden Befunde von MARCKWALD¹, LUMSDEN², u.a. konnte gezeigt werden³, daß beim Kaninchen im Hirnstamm (speziell im Pons) ein Substrat vorhanden ist, das die expiratorischen vagalen Atmungsreflexe stark hemmt. Durch operative Querdurchtrennung des Hirnstamms in der kaudalen Hälfte des Pons kann der Einfluß dieses hemmenden Substrates weitgehend ausgeschaltet werden. Als Folge davon erscheinen die vagalen Atmungsreflexe bedeutend verstärkt. Andererseits äußert sich auch die Wirkung des Morphins auf die Atmung in erster Linie in einer Verstärkung der expiratorischen Vagusreflexe. Auf Grund dieser und noch anderer Parallelen wurde die Ansicht geäußert⁴, daß zumindest ein Angriffspunkt des Morphins an dem genannten pontinen Hemmungssubstrat gelegen sein dürfte. Morphin sollte demnach dieses Substrat *pharmakologisch* ausschalten können.

Es soll nun versucht werden, diese Ansicht direkt experimentell zu beweisen. Die Idee dazu ist kurz folgende: Den Kaninchen wird der Hirnstamm etwa in der Mitte des Pons operativ quer durchtrennt. Dadurch werden erwartungsgemäß die expiratorischen Vagusreflexe bereits ein bißchen verstärkt (vgl. Kol. I mit Kol. II in

¹ M. MARCKWALD, Z. Biol. 23, 149 (1887); 26, 259 (1890).

² T. LUMSDEN, J. Physiol. (Brit.) 57, 153, 354 (1923); 58, 111 (1923/24).

³ K. BUCHER, Pflügers Arch. 245, 537 (1942).

⁴ K. BUCHER, Helv. physiol. et pharmacol. acta 2, 5 (1944).