

von Alkohol. Auf diese Weise sollte festgestellt werden, wieviel Alkohol erforderlich ist, um den Beginn einer Niederschlagsbildung hervorzurufen. Es wurde dabei gefunden, daß die erforderlichen Alkoholkonzentrationen proportional mit dem Anwachsen des Oxydationsgrades ansteigen (s. Tabelle).

Übersicht der für die oxydierte Stärke charakteristischen Zahlen

	Konzentration des zur Oxydation der Stärkeproben verwendeten H_2O_2	Charakteristische Zahlen				Beginn der Niederschlagsbildung (Alkoholkonzentration in Vol. %)
		Kupferzahl	Karbonylzahl	Benzidinzahl	COOH %	
1	12 %	7,70	6,72	6,90	0,169	43
2	6 „	4,95	3,64	4,74	0,115	38
3	4 „	3,19	2,66	3,45	0,084	30
4	2 „	1,54	1,12	2,39	0,058	20

Experimenteller Teil

Die Versuche wurden an oxydierten Kartoffelstärken (*Amylum solani*) ausgeführt, welche durch Behandlung mit Wasserstoffsuperoxyd verschiedener Konzentration (2–12%) gewonnen wurden. Zu je 10 g Stärke wurden bei jeder Probe 40 ml H_2O_2 in der angegebenen Konzentration zugesetzt. Die Operation erfolgte in einem gedeckten Becherglase bei Zimmertemperatur und nahm 17 Tage in Anspruch. Der Inhalt wurde von Zeit zu Zeit umgerührt. Dann wurde die Flüssigkeit durch Dekantieren abgegossen und die oxydierte Stärke mit Alkohol ausgewaschen. Zur vollkommenen Entfernung der letzten Reste von anhaftendem H_2O_2 wurden den Proben dreimal je 10 ml Alkohol zugesetzt und jedesmal die bearbeitete Substanz unter gelindem Erwärmen (50°) zur Trockene gebracht.

Die Bestimmung der Karbonylzahl in den oxydierten Stärken wurde folgendermaßen vorgenommen: Zu etwa 1 g Oxyamylum wurden 20 ml einer 0,1 n Hydroxylaminchlorhydratlösung und 10 ml 0,1 n NaOH zugesetzt. Mit der frisch bereiteten Reagenslösung war die Oxyamylum schon nach 20 Minuten bei gewöhnlicher Temperatur vollendet. Durch Titration mit 0,1 n Salzsäure wurde der Überschuß des bei der Oxydation nicht aufgebrauchten NH_2OH bestimmt, wobei Methylorange als Indikator diente. Zum Vergleich wurde ein unter den gleichen Bedingungen ausgeführter blinder Versuch angestellt.

Die Berechnung der Karbonylzahl erfolgt nach der folgenden Formel:

$$CO\text{-Zahl} = \frac{2,8 (a - b)}{e} \cdot \cdot$$

Dabei ist a die Anzahl ml 0,1 n Salzsäure, die bei dem blinden Versuche verbraucht wurde, b die Anzahl ml 0,1 n Salzsäure, die bei dem Oxydationsversuch verbraucht wurde, und e die Abwaage der oxydierten Stärke in Gramm.

Somit drückt die Karbonylzahl in Milligramm die Menge an Karbonyl (CO) aus, die in einem Gramm oxydierter Stärke enthalten ist.

Ermittlung der Benzidinzahl zum Zwecke der quantitativen Bestimmung der COOH-Gruppen in den durch Oxydation modifizierten Stärken: 1–2 g oxydierter Stärke werden in einen mit eingeschlippenem Stöpsel versehenen Kolben gebracht. Sodann gibt man 100 ml 0,001 M-Lösung Benzidin hinzu. Nach 50stündiger Einwirkung – oder bei ständigem Schütteln schon nach 4 Stunden – werden von der Lösung genau 50 ml abpipettiert und hierin die Diazotierung des Benzidinüberschusses durchgeführt. Zu diesem Zweck erfolgt eine Zugabe von 6 ml 10%iger HCl- und 4 ml 5%iger $NaNO_2$ -Lösung. Nach 20 bis 30 Minuten ist der Diazotierungsprozeß beendet. Durch Zugabe von Natriumazetat wird der Überschuß an HCl neutralisiert. Das auf diese Art erhaltene tetrazotierte Benzidin wird quantitativ an R-Säure gekuppelt, indem man 30 ml 0,02 M-Lösung hinzugibt. Nach 5–10 Minuten ist die Kuppelung beendet und man verdünnt mit Wasser auf 1000 ml. Unter Anwendung einer blinden Probe wird die so entstandene Farblösung mit dem Duboscq-Kolorimeter geprüft. Die zum Vergleich herangezogene Farblösung wird auf die gleiche Art aus 50 ml 0,001-M-Originalbenzidinlösung entwickelt. Die Benzidinzahl drückt in Milligramm die Menge an addiertem Benzidin

aus, die in 1 g oxydierter Stärke enthalten ist. (Die gleiche Reaktion kann in modifizierter Form zum qualitativen Nachweis von oxydierter Stärke angewendet werden. Zu diesem Zwecke könnten neben Benzidin auch noch andere aromatische Diamine (p-Phenylendiamin, Toluyldiamin usw.) verwendet werden, die nach Addition an die oxydierte Stärke durch Diazotierung und Kuppelung an Entwickler (β -Naphthol, 1-Phenyl-3-methyl-5-pyrazolon u.dgl.) zu Farbstoffen entwickelt werden können.)

Die Tabelle zeigt die charakteristischen Zahlen, wie sie bei den einzelnen oxydierten Stärken gefunden wurden. Sie enthält ferner die Angaben über die Alkoholkonzentrationen, welche eine Niederschlagsbildung in den alkalischen Lösungen einzelner oxydierter Stärkeproben herbeiführen.

Schlußfolgerung: Oxydierte Stärken enthalten Keto- und Carboxylgruppen. Zu ihrer Bestimmung wurden Verfahren ausgearbeitet, die sich bereits bei der quantitativen Bestimmung dieser Gruppen in der Oxyzellulose bewährt haben.

M. KRAJČINOVIĆ

Institut für organische Technologie, Technische Fakultät der Universität Zagreb (Jugoslawien), den 28. November 1947.

Summary

Oxydized starches contain keto groups and carboxyl groups. A procedure for their determination is described which already has proved satisfactory for the quantitative determination of these groups in oxycellulose.

The Effect of Ultrasonic Vibration on Benzopyrene

The carcinogenous effect of benzopyrene is well known. Generally it is applied dissolved in a lipid-dissolving fluid, and the solution is usually dropped several times in series onto the hairless skin of animals. Tumors are caused almost in 100 % of the cases.

It was a question whether benzopyrene injected intravenously could equally produce a cancer. This problem became important during Dr. BERENCSI's proceeding investigations, and its solution has significance from the point of view of further experiments.

For the experiments, it was necessary to dissolve benzopyrene in water. This became possible by ultrasonic irradiation produced by GARAY's oscillator¹. The instrument worked with a frequency of 300 kHz, the intensity of the high-frequency current being 450 mA. The voltage used was 13,0 kV, the time of irradiation 60 min. By ultrasonic vibrations benzopyrene could be brought into a bluish-green fluorescent colloidal solution. This solution was stable for weeks. Under the fluorescence microscope the colloidal solution showed a lively fluorescent, seemingly microcrystalline Brownian movement.

In our experiments about 0.10 g benzopyrene was dissolved in 5 cm³ of water. This solution was injected intravenously into rabbits and mice. Mice received once a week 0.10 cm³ of the solution, rabbits 3.0 cm³. Number of the injections was 4–6. After treatment the animals were observed for a long time. Mice were observed till their death. Dissection took place in all cases. In the organs of the animals no tumorous pathological changes were ever found. During the treatment no mouse died. Death occurred for other reasons 3–11 months after treatment. The rabbits continued to live for 1½ years and no pathological changes were observed. The experiments had to be left unfinished on account of war difficulties.

¹ K. GARAY, M. Orv. Arch. 44, 5 (1943).

Number of animals used: 12 mice and 9 for control. 5 rabbits and 4 for control.

Two explanations are possible for this result: (1) The benzopyrene was not carcinogen as the irradiation changed its structure and the carcinogenous factor disappeared. (2) The intravenous benzopyrene, which reaches the inner organs and does not come into contact with the skin, cannot produce its carcinogenous effect. If the latter explanation is true, it might lead to interesting investigations in the field of cancer therapy.

GARAY's work has been supported by the "Széchenyi Scientific Society" and the Hungarian Board of Industry.

K. GARAY and G. BERENCSI

Institute of General Pathology, University of Budapest, January 8, 1948.

Zusammenfassung

Benzopyren wurde durch Ultraschallbestrahlung in Wasser gelöst und Kaninchen und Mäusen intravenös injiziert. Es wurde keine karzinogene Wirkung beobachtet.

Mise en évidence d'un système de corrélations intervenant dans la régénération des Planaires d'eau douce

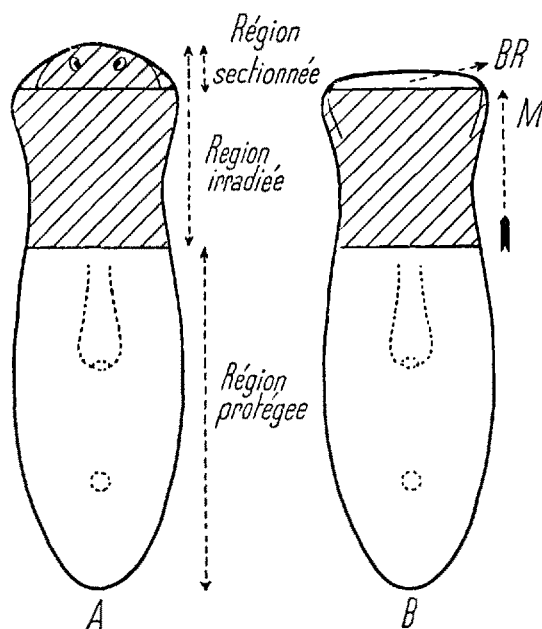
Nous avons montré dans des publications récentes¹ que les cellules de régénération peuvent effectuer des migrations de grande étendue à travers le corps des planaires. Si l'on soumet aux rayons X (dose supérieure à 3000 r) la moitié antérieure de la planaire *Euplanaria lugubris*, on détruit les cellules de régénération dans cette région. La régénération a lieu cependant, grâce aux néoblastes qui affluent de la région saine, mais elle est retardée du temps nécessaire à ces néoblastes pour effectuer leur migration. FR. DUBOIS² a donné récemment une nouvelle démonstration de cette migration. Si l'on irradie une planaire entière, elle est incapable de régénérer une tête. Mais si l'on greffe à l'emporte-pièce un fragment d'une planaire saine, la planaire irradiée peut régénérer une tête, grâce à l'apport des néoblastes du greffon.

La migration des cellules de régénération des planaires est-elle passive ou est-elle déclenchée par certains facteurs? On constate tout d'abord que la partie antérieure irradiée d'une planaire se nécrose et meurt, si l'on ne pratique aucune amputation dans cette région. Elle survit et régénère, si l'on ampute la tête.

Quand l'amputation est faite immédiatement après l'irradiation, la régénération se produit au bout de 28 à 30 jours à la température de 15°C, si la distance à parcourir par les néoblastes est égale aux $\frac{2}{5}$ de la longueur totale de la planaire (figure). Si la tête est sectionnée t jours après l'irradiation ($t = 15$ à 30 jours), la régénération ne se produit qu'après $t + 30$ jours.

Ces résultats prouvent que la migration ne commence qu'après la section de la tête et qu'elle est déclenchée par elle. L'appel des cellules de régénération peut être provoqué par l'amputation d'une partie quelconque du corps, aussi bien dans la région postérieure que dans la région antérieure. Nous nous sommes demandé si une amputation, telle que la section de la tête, est nécessaire au déclenchement de la migration. Nous avons pratiqué,

au niveau de la tranche postérieure de la tête, une incision franche, dont la réparation ne nécessite pas de régénération, mais une simple cicatrisation. Nous savons que, dans les conditions de l'expérience, les cellules de régénération effectuent en 30 jours le trajet qui les sépare de ce niveau à travers la zone irradiée. Si l'appel de migration se produit, les cellules de régénération seront donc en place 30 jours après l'intervention. Effectivement, si l'on sectionne la tête à ce niveau au bout de 30 jours, la régénération commence immédiatement. Une simple incision suffit donc à provoquer l'appel des néoblastes. La migration ne se produit cependant pas, quand la lésion est trop petite, ni sous l'influence des nécroses consécutives à l'irradiation.



Irradiations localisées. A. – Schéma d'une intervention: irradiation de la région antérieure au pharynx, amputation de la tête. B. – Résultat de l'intervention: migration, d'amplitude M , des cellules de régénération. Constitution d'un blastème de régénération BR , en avant de la zone irradiée.

La migration est toujours orientée vers la région d'où vient l'appel, elle ne se produit pas dans les autres directions. Elle s'arrête au niveau où a été faite la lésion stimulatrice. Il a d'autre part été démontré que l'appel de migration se transmet dans les conditions normales à tout le corps d'une planaire¹.

Ces résultats mettent en évidence l'existence d'un système de corrélations entre les différentes parties du corps d'une planaire. De la région lésée part un stimulus, qui déclenche la migration des cellules de régénération de tout le corps vers cette région. Quelle est la nature de ce stimulus? On peut envisager une explication humorale: la région lésée sécréterait des substances qui, diffusant à travers le corps de la planaire, exerceraient leur attraction sur les néoblastes. Nous cherchons actuellement à vérifier cette hypothèse humorale, sans perdre de vue que l'hypothèse de corrélations s'exerçant par la voie nerveuse n'est pas entièrement exclue.

ET. WOLFF et FR. DUBOIS

Laboratoire de zoologie et d'embryologie expérimentale de l'Université de Strasbourg, le 21 avril 1948.

¹ ET. WOLFF et FR. DUBOIS, C. R. Acad. Sci. 224, 1387 (1947); C. R. Soc. Biol. 141, 903 (1947); 141, 906 (1947).

² FR. DUBOIS, C. R. Soc. Biol., séance du 17 avril (1948); C. R. Acad. Sci. 226, séance du 12 avril (1948).

¹ FR. DUBOIS, C. R. Soc. Biol., séance du 13 mars (1948).