



Fig. 5. — A section through a viscose fiber. Magnification 17,000 \times .

SCHRAMEK and KÜTTNER¹, who found that the technical sulfided product always shows the diffraction lines of alkali cellulose.

It would be necessary to investigate artificial silk from other manufacturers before generalizing from the results of these experiments. There is reason to believe, however, that much the same structure would be found in other viscose fibers spun in the same way, though perhaps with different relative amounts of fragments and dissolved materials.

This work was carried out in the laboratory of RALPH W. G. WYCKOFF, whom I wish to thank for many helpful discussions.

KURT MÜHLETHALER²

Laboratory of Physical Biology, Experimental Biology and Medicine Institute, National Institutes of Health, Bethesda, Md., October 31, 1949.

Zusammenfassung

Mit Hilfe des Elektronenmikroskops wurde die Feinstruktur einer Viskoseseide untersucht. Es zeigte sich, daß diese Fasern sehr heterogen zusammengesetzt sind. Wir fanden Teilchen mit typischer Zellwandstruktur und stark verquollene Fibrillen, welche in einer fein strukturierten Grundmasse, die als Auflösungsprodukt von Zellulosexanthogenat zu betrachten ist, eingebettet waren. Aus den Bildern geht hervor, daß die Zellulosemoleküle nicht einzeln, sondern gruppenweise in Lösung gehen. Beim Auspressen ins Fällbad werden diese Teilchen fixiert und bilden so den Kitt, um die übrigen Beimengungen miteinander zu verbinden. Alle Unebenheiten werden dadurch ausgefüllt, und die fertige Faser erscheint gleichmäßig glatt.

¹ W. SCHRAMEK and E. KÜTTNER, *Kolloid-Beih.* 62, 331 (1935).

² Special Fellow of the National Institutes of Health. Permanent Address: Pflanzenphysiologisches Institut der ETH., Zürich, Switzerland.

Die Elution von Fettfarbstoffen durch Albumin und Polyvinylpyrrolidon

Im Organismus des Warmblüters finden ständig Austauschreaktionen statt zwischen Blutstrom und den angrenzenden Geweben; bald sind es Vitamine und Hormone, die durch Adsorption und Diffusion in das Gewebe überreten, bald sind es Abbauprodukte, Pigmente und Toxine, welche das Blut durch Elution aus den Geweben herauslöst. Nachdem die Elution in erster Linie von den Proteinen des Blutserums bewirkt wird, welche anschließend im Sinne BENNHOLDS¹ den Transport zum Ausscheidungsorgan übernehmen, haben wir ein Modell² entwickelt, an welchem die eluierende Fähigkeit von Serumproteinen und von Plasmaersatzmitteln geprüft werden kann. Neuerdings können an der solchermaßen standardisierten Elution neben den hydrophilen Eigenschaften der Proteine auch deren lipophile Eigenschaften in meßtechnisch einfacher Weise bestimmt werden. Dazu werden aus Hautfasermembran tierischer Abkunft (nicht Cellophan, dessen Anfärbung ungenügend wasserecht ist) Scheibchen gestanzt von 9 cm Durchmesser. Entsprechende Membranen sind bei Firmen des Fleischwarengroßhandels leicht erhältlich. Es ist zweckmäßig, die Hautfasermembranen in der feuchten Atmosphäre eines Eisschränkes aufzubewahren. Die Membranscheibchen werden alsbald in Petrischalen gelegt von 9,5 cm Durchmesser und mit den folgenden Lösungen, deren Volumen stets 30 cm³ beträgt, allseitig überspült. Vorerst werden die Fettfarbstoffe zwecks Reinigung zweimal aus Wasser/Alkohol-Gemischen umgefällt; darauf stellt man Stammlösungen her von 100 mg % Sudanrot I (Grübler, Leipzig), Sudanschwarz B (Hollborn, Leipzig) und Blau BZL (Ciba, Basel) in Alkohol 96% (vgl. L. LISON³ und B. ROMEIS⁴). Von der Stammlösung des Sudanrot I wird 1 cm³ zu 13 cm³ Alkohol 96% und 16 cm³ H₂O zugefügt; mit den übrigen Fettfarbstoffen wird analog verfahren. In diesen Farblösungen verbleiben die Fasermembranen (je eine auf 30 cm³ Farbstofflösung) für 24 Stunden (Zimmertemperatur). Darauf werden die Membranen mit der Pinzette umgedreht und weitere 72 Stunden in der Lösung belassen. Nach total 96 Stunden läßt sich aus dem Farbstoffschwund kolorimetrisch ermitteln (Korr. f. Verdunstung), daß von den Membranen 650–700 μ Sudanrot, 350–400 μ Sudanschwarz und 900–950 μ Blau BZL aufgenommen wurden. Die Membranen werden alsbald mit Wasser kräftig abgespült und sind für die Elutionsversuche bereit. Um das Ergebnis genau quantitativ zu gestalten, schreibt man von jeder Membran ihren Farbstoffgehalt auf. Für den Vergleich der Elution hydrophiler Azofarbstoffe (siehe WUNDERLY²) werden von Evans-Blue (British Drug House, London), Benzoblaupurpur, Trypanblau und Victoria-blau (alle Grübler, Leipzig) soviel in je 30 cm³ H₂O gelöst, daß die Konzentration mol/100 000 beträgt. Nach 48 Stunden sind die Farbstoffe quantitativ auf die Fasermembran gezogen; es wird kräftig mit H₂O abgespült und die noch feuchten Membranen in 30 cm³ der Elutionsflüssigkeit eingetaucht (Petrischalen, bedeckt). Diese Elutionsflüssigkeit enthält für alle Farbstoffe gleichermaßen 0,166 g % Albumin, von dem salzarmen Albuminkonzentrat, das die Cutter Laboratories (USA) für Injektionszwecke herausbringen. Die Reinheit des Präparates wurde von uns elektrophoretisch geprüft

¹ H. BENNHOLD, H. OTT und M. WIECH, *Dtsch. med. Wschr.* 75, 11 (1950).

² CH. WUNDERLY, *Ärztl. Forsch.* 4, 1/29 (1950).

³ L. LISON, *Histochemie animale* (Paris 1936).

⁴ B. ROMEIS, *Mikroskopische Technik* (München 1948).

(Abbildung des Diagramms in WUNDERLY und WUHRMANN¹); ferner die UV-Absorption identisch gefunden mit jener von kristallisiertem Rinderalbumin (Armour & Co., Chicago). Nach E. COHN und Mitarbeiter² enthält Reinalbumin höchstens 0,04% Cholesterin, ein Gehalt, der zu gering ist, um meßbare lipophile Wirkungen hervorzubringen.

Die Hautfasermembranen werden für 48 Stunden bei Zimmertemperatur im wasserklaren Albuminsol belassen; darauf wird der Farbstoffgehalt der Elutionsflüssigkeit in 1-cm³-Küvetten des Stufenphotometers von Zeiß bestimmt. Als Vergleichslösung dient eine 0,166%-Albuminlösung. Für die blauen Farbstoffe wird Filter S₆₁ verwendet, für Sudanrot S₅₀.

Tabelle I

Farbstoff	γ Farbstoff an der Membran	Elution nach 48 Std.	
		in % des gesamten Farbstoffes	γ Farbstoff pro mg Albumin
<i>Fettfarbstoffe:</i>			
Blau B.Z.L.	920	1,10	0,20
Sudanschwarz B	360	0,58	0,04
Sudanrot I	700	3,41	0,47
<i>Wasserlösliche Farbstoffe:</i>			
Evans-Blue, sauer	285	57	3,2
Benzoblaau, sauer	272	27	1,5
Trypanblau, sauer	285	15	0,8
Victoriablau, basisch	136	8	0,2

Die Zahlen der letzten Kolonne geben eine Vergleichsmöglichkeit der lipophilen und der hydrophilen Eigenschaften von Reinalbumin. Wir sind gegenwärtig damit beschäftigt, diese Charakterisierung mit Patientenserien durchzuführen, wo die Lipoidtragenden Unterfraktionen der α - und β -Globuline pathologisch vermehrt sind.

Unterstehend ist das Ergebnis der Prüfung der eluierenden Wirksamkeit einer Konzentrationsreihe von Albumin. Vergleichshalber wurden gehaltgleiche Lösungen von «Subtosan» mitgemessen. «Subtosan» ist ein französisches Plasmaersatzmittel, dem ähnlich wie bei «Periston» das hydrophile, kolloide Polyvinylpyrrolidon (zyklisches Säureamid) als Basis dient. Der mittlere Farbstoffgehalt der Membran war 660 γ Sudanrot I.

Tabelle II

Elutionsmittel in 30 cm ³ NaCl phys. gelöst	Elution bei 18° C	
	nach 48 Std.	nach 120 Std.
γ Sudanrot pro mg Elutionsmittel		
200 mg	Albumin 0,24	0,37
	Subtosan 0,09	
400 mg	Albumin 0,17	0,25
	Subtosan 0,08	
600 mg	Albumin 0,13	0,19
	Subtosan 0,08	
800 mg	Albumin 0,11	0,16
	Subtosan 0,07	

¹ Ch. WUNDERLY und F. WUHRMANN, Brit. J. Exp. Path. 28, 286 (1947).

² E. COHN *et al.*, J. Amer. Chem. Soc. 68, 459 (1946).

Mithin ist die eluierende Wirkung der verdünnten Lösungen von Albumin größer als die der gehaltreichen. Demgegenüber bleiben die lipophilen Eigenschaften von «Subtosan» stark zurück, was für seine klinische Verwendungsmöglichkeit nicht ohne Bedeutung ist.

CH. WUNDERLY

Medizinische Universitätsklinik Zürich, den 10. Februar 1950.

Summary

In order to gain a model for the standard elution of the fat-dyes: Sudanred, Sudanblack, and Blue BZL, the latter are adsorbed on membranes of fibrous tissue. The following elution of the adsorbed fat-dyes by Albumin (human), as well as the french plasma Substitute "Subtesan", are followed colorimetrically. The results are compared with the elution of the hydrophile dyes: Evans-Blue, Benzoblaau, Trypanblue, and Victoriablau. Such a comparison shows, that the elution of hydrophilic dyes by albumin is appreciably stronger than the elution of lipophilic dyes. The elution of Sudanred by Albumin is between 2 and 4 times stronger than by Subtosan.

Study of Some Constituents of Vitamin B₁₂

Through the kindness of Prof. T. REICHSTEIN and Dr. O. SCHINDLER of the University of Basle, who placed several specimens of crystalline vitamin B₁₂ (prepared by them from liver) at our disposal, we were able to carry out a number of orienting experiments on the composition of this compound. Filter paper chromatography was employed in all experiments in the course of which a total of about 10 mg of the vitamin was used.

In view of the rather obscure relationship between vitamin B₁₂ and the desoxyribose nucleosides¹ it appeared of interest to search for the presence of pyrimidines and of other nucleic acid constituents, such as desoxypentose, in hydrolysates of the vitamin. Several hydrolysis experiments were carried out in which the compound was degraded with concentrated formic acid (2 hours at 175° in a bomb tube), i. e. under conditions that bring about the complete cleavage of nucleic acids to free purines and pyrimidines². The hydrolysates were examined chromatographically with some of the solvent systems (*n*-butanol-water, *n*-butanol-diethylene glycol-water with and without NH₃) that are normally used for the separation of purines and pyrimidines³. Test mixtures of the purines and pyrimidines were run alongside. Neither thymine nor any other pyrimidine or purine could be detected nor, for that matter, any compound giving the characteristic absorption shadow on the paper chromatogram in the ultraviolet light of the "Mineralight" lamp (Ultraviolet Products Corp., Los Angeles, Calif.

¹ W. SHIVE, J. M. RAVEL, and R. E. EAKIN, J. Amer. Chem. Soc. 70, 2614 (1948). - L. D. WRIGHT, H. R. SKEGGS, and J. W. HUFF, J. Biol. Chem. 175, 475 (1948). - W. SHIVE, J. M. RAVEL, and W. M. HARDING, J. Biol. Chem. 176, 991 (1948). - C. E. HOFFMANN, E. L. R. STOKSTAD, A. L. FRANKLIN, and T. H. JUKES, J. Biol. Chem. 176, 1465 (1948). - V. KOCHER and O. SCHINDLER, Intern. Z. Vitaminforsch. 20, 441 (1949). - E. KITAY, W. S. McNUTT, and E. E. SNELL, J. Biol. Chem. 177, 993 (1949). - R. M. TOMARELLI, R. F. NORRIS, and P. GYÖRGY, J. Biol. Chem. 179, 485 (1949).

² E. VISCHER and E. CHARGAFF, J. Biol. Chem. 176, 715 (1948). - E. CHARGAFF, E. VISCHER, R. DONIGER, C. GREEN, and F. MISANI, J. Biol. Chem. 177, 405 (1949).

³ E. VISCHER and E. CHARGAFF, J. Biol. Chem. 176, 703 (1948).