

of phyto-hormone-like substances. The fact also that BÜNGELER¹ was able to induce leucaemia and sarcomata by chronic indol-poisoning of mice, makes further investigation of the indol-derivatives well worth while.

B. C. DE LANDSHEERE

Interne Kliniek, Ghent (Belgium), February 20, 1951.

I wish to thank Prof. BRADLEY and Dr. J. E. CROSS, Senior Lecturer, Department of Colour Chemistry, Leeds University, for kindly supplying a sample of indirubin.

Résumé

L'indirubine a été isolée par RIMINGTON, HOLIDAY et JOPE par extraction d'urines humaines. FRIEDMANN et JACOBSON ont par la suite extrait d'urines de malades atteints de leucémie myélogène chronique un produit cristallin pourpre, qui a été identifié comme étant aussi de l'indirubine.

Une dose unique d'indirubine en injection souscutanée (1 mg dans $\frac{1}{2}$ ml d'huile d'olive) provoque chez le cobaye une leucopénie, une granulocytopénie et une éosinopénie, dont l'effet le plus manifeste se produit douze heures après l'injection.

L'auteur suppose que l'indirubine pourrait être un simple produit de catabolisme du tryptophane protidique et que son action sur le système hémopoïétique ne serait que purement toxique. D'autre part, l'acide bêta-indolyl-acétique (auxine *b*) a aussi été extrait d'urines humaines. Il est possible que l'indirubine soit un produit du métabolisme de substances de croissance (phytohormones). Le fait encore que des leucémies et des sarcomes ont pu être provoqués chez la souris par intoxication chronique d'indol, rend l'étude plus approfondie de dérivés de l'indol intéressante.

¹ W. BÜNGELER, Frankf. Z. Path. 44, 202 (1933).

Wirkung von Harnextraktstoffen auf die Bewegungsreaktionen der Leukozyten

Es ist bekannt, daß aus Schwangerenharn Stoffe gewonnen werden können, die nach Injektion am Menschen und am Tier zu Veränderungen des weißen Blutbildes führen; diese Stoffe werden dargestellt mit jenen oder analogen Verfahren, die zur Gewinnung von gonadotropem Hormon aus Urin angewendet werden¹. Weiterhin sind Fraktionen vorhanden, welche auf die Magensaftsekretion und auf die Ulkusbildung des Magens wirken². Aus diesen Untersuchungen geht hervor, daß entweder gonadotropen Fraktionen andere Wirkstoffe beigemischt sind, welche allgemeine Zellwirkungen besitzen, oder daß aus den gonadotrop wirkenden Fraktionen solche bei verschiedenartiger chemischer Bearbeitung gewonnen werden können.

Es wurde, um etwas einfachere Versuchsbedingungen zu schaffen, der Versuch gemacht, festzustellen, ob «gonadotrope Fraktionen» Stoffe enthalten, welche direkte Zellwirkungen besitzen. Es wurde hierzu die Wirkung auf die Lokomotion der Leukozyten untersucht, und zwar wurde sowohl die Wirksamkeit auf die Wanderungsgeschwindigkeit der Zellen als auch ihre chemo-

taktische Wirksamkeit bestimmt. Die Versuchsanordnung war die gleiche, wie sie bereits in früheren Arbeiten benutzt wurde¹.

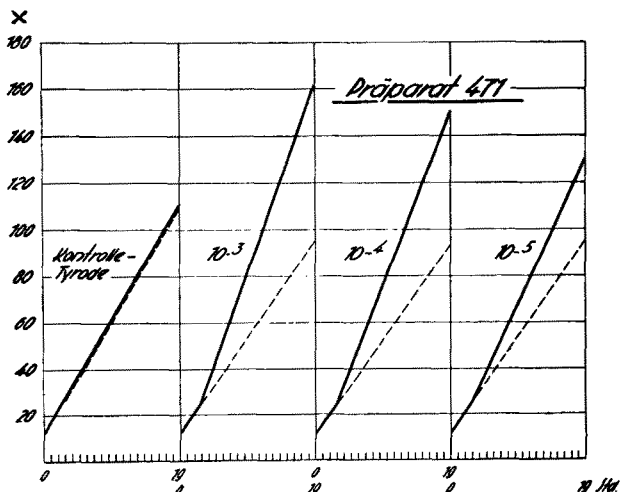


Abb. 1. Beschleunigung der Auswanderung von Leukozyten *in vitro* durch verschiedene Konzentrationen von Schwangerenharnextrakt. Abszisse: Auswanderungsfläche in relativem Maß. Ordinate: Zeit in Stunden.

Die Leukozyten vom Huhn wurden in der üblichen Weise aus dem Plasmagerinnel nach Zentrifugieren isoliert und die Leukozyten enthaltenden Plasmastückchen in Carrelflaschen angesetzt. Für die zwei verschiedenen Versuchsanordnungen wurden die Fraktionen des gonadotropen Hormons entweder auf den festen Nährboden in Tyrode gelöst überschichtet oder als feste amorphe Substanz, bzw. in Lösung in einem Abstand von etwa 4 mm von der «Leukozytenkultur» auf die Oberfläche des Plasmalnährbodens angebracht. Das Resultat der Versuche wurde nach 19 Stunden festgestellt.

Resultate. Nach Prüfung einer größeren Reihe von Urinextrakten wurden solche Fraktionen gonadotropen Hormons gefunden, welche sowohl eine stark positive Wirkung auf die Auswanderungsgeschwindigkeit als eine chemotaktische Wirkung besitzen. Die Versuchsergebnisse sind in den anliegenden Abbildungen gekennzeichnet. Gewisse Fraktionen sind imstande, besonders die Auswanderungsgeschwindigkeit der Leukozyten noch in Konzentrationen von etwa 10^{-5} zu erhöhen. Andere Fraktionen enthalten mit großer Wahrscheinlichkeit Substanzen, welche eine negative Wirkung in dieser Versuchsanordnung haben, so daß es nicht ganz ausgeschlossen ist, daß auch «Rohextrakte», die in dieser Versuchsanordnung vorläufig unwirksam gefunden wurden, zufällig durch eine Mischung von positiv und negativ wirkenden Stoffen nur scheinbar unwirksam sind, so daß bei weiterer Separation der Wirkstoffe auch solche sich noch als wirksam ergeben könnten. Diese Frage bedarf weiterer Abklärung.

Die Untersuchung der von der chemotaktischen Reaktion betroffenen Zellen zeigt, daß es sich im wesentlichen um Elemente handelt, die im Plasma azidophile Granula aufweisen, aber keine Peroxydasereaktion geben. Dies ist auch bei anderen chemotaktisch wirksamen Prinzipien, wie zum Beispiel Bakterien usw., der Fall, so daß offenbar die in diesen Fraktionen nachweisbaren chemotaktisch wirksamen Stoffe sich ähnlich verhalten wie die als Bakterienchemotaxine zu bezeichnenden.

¹ R. MEIER, Helv. chim. acta 24, 134 (1941).

¹ R. ABDERHALDEN, Z. Vitamin-, Hormon- und Fermentforsch. 2, 365 (1948/49); – H. DE WATTEVILLE, Gynaecologia 126, 207 (1948). – R. MEIER, W. SCHULER und F. BENZ (Unveröffentlichte Arbeiten).

² Siehe bei F. R. SKELTON und G. A. GRANT, Canad. J. Res. 23, 85 (1950).

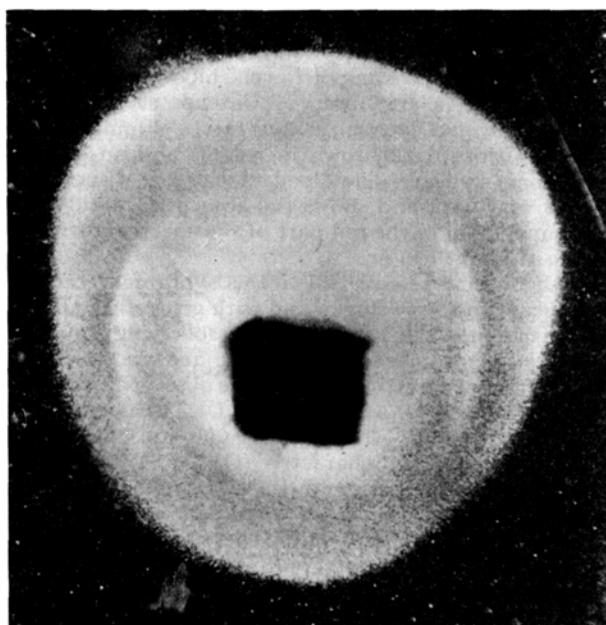
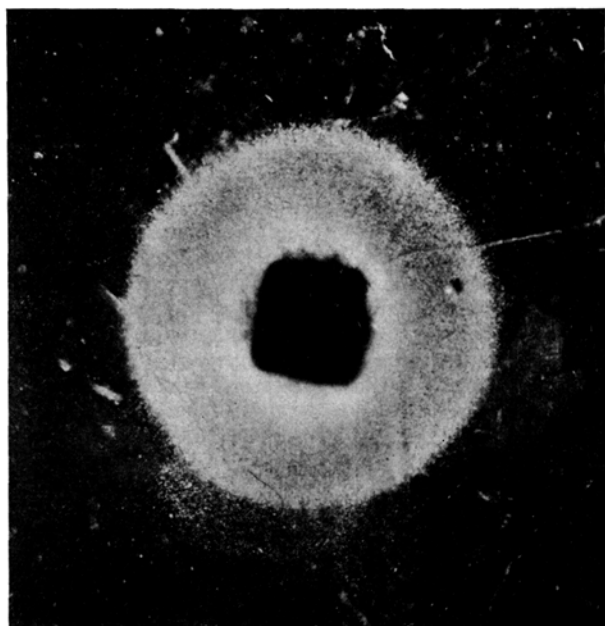


Abb. 2. Leukozytenkulturen *in vitro*.
 a Unbeeinflusste Auswanderung der Leukocyten. – b Chemotaktisch verstärkte Wanderung durch Harnextrakte
 (Vergleiche die Breite der Auswanderungszonen).

Zur weiteren Charakterisierung der wirksamen Stoffe wurde einerseits die Ultrafiltration und andererseits die Hitzewiderstandsfähigkeit derselben bestimmt. Bei Ultrafiltration nach BECHHOLD-KÖNIG bleiben die gesamten Wirkstoffe im Ultrafiltrerrückstand, während das Ultrafiltrat auch bei erheblichem Einengen negativ bleibt. Damit soll allerdings nicht gesagt sein, daß die Stoffe tatsächlich selber nicht ultrafiltrierbar sind, da sie nur an größeren Molekülen adsorbiert sein können. Die Thermostabilität des Präparates zu prüfen, war besonders deswegen interessant, um zu zeigen, daß sie nicht mit der gonadotropen Wirksamkeit derselben einhergeht. Die gonadotrope Wirksamkeit der Präparate wird nach dreißigminütigem Erhitzen auf 100°C zerstört. Die Prüfung derartiger erhitzter Präparate zeigt eine unveränderte Wirkung auf die Wanderungsgeschwindigkeit der Leukozyten.

Die besten positiven Resultate gaben regelmäßige Schwangerenarnextrakte, während Extrakt aus Männerharn, Harn klimakterischer Frauen und Harn nicht gravid Frauen in den gleichen Konzentrationen sowie auch Serum- und Hypophysenextrakte ein negatives Resultat zeigten. Die Harnpräparate, darunter auch die wirksamen, wurden nach dem gleichen Benzoesäureadsorptionsverfahren gewonnen. Alle Präparate wurden von BENZ in unserem chemischen Laboratorium hergestellt. Diese Befunde scheinen dafür zu sprechen, daß im Schwangerenarn besondere Stoffe vorhanden sind, möglicherweise in chemischer Hinsicht dem gonadotropen Hormon nahestehend, welche eine ziemlich spezifische Wirkung auf die Lokomotion der weißen Blutzellen besitzen. Es wird weiter zu prüfen sein, ob diese Stoffe auch bei den von ALLGÖWER¹ gemachten Beobachtungen, daß das γ -Globulin chemotaktische Wirkungen besitzt, eine Rolle spielen und ob sie für pathologische oder physiologische Verhältnisse eine analoge Rolle in Geweben spielen können.

R. MEIER und BERTHA SCHÄR

Wissenschaftliche Laboratorien der Ciba-Aktiengesellschaft, Basel, den 26. Mai 1951.

¹ M. ALLGÖWER und H. SÜLLMANN, Exper. 6, H. 3, 107 (1950).

Summary

It could be demonstrated that extracts prepared from urine of pregnant women besides their gonadotropic activity contain also substances with an action on the migration of leucocytes *in vitro*. They have chemotactic effects and enhance the velocity of the migration of the leucocytes.

Production of Severe Anemia without Diabetes by Combined Action of Ascorbic Acid and Alloxan

Ascorbic acid, referred¹ to as having no preventive action on alloxan diabetes, would appear, according to LAZAROW², LEVEY and SUTER³, PATTERSON⁴, to act synergically with alloxan potentiating the effect of this substance. Moreover, according to PATTERSON, the oxidized form of ascorbic acid seems to possess a diabetogenic activity. My own experiments disagree completely with these findings. So far I have been unable⁵ to confirm the diabetogenic activity of dehydroascorbic acid, and had previously ascertained⁶ that simultaneous intravenous injections, in rabbits, of ascorbic acid in doses isomolar to alloxan, cause a severe and sometimes fatal intoxication. If the animal survives, a mild diabetes follows which disappears in a few days. If the doses of ascorbic acid are increased, death occurs almost immediately.

In the dog, however, larger doses of ascorbic acid prevent the alloxan diabetes⁷ but cause complex symptoms with severe anemia. 10% ascorbic acid (1.42 mM/kg) and 5% alloxan (75 mg/kg) were used: one half of the initial dose of ascorbic acid was injected intravenously and

¹ S. BANERJEE, Science 106, 128 (1947).

² A. LAZAROW, Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 61, 441 (1946).

³ S. LEVEY and B. SUTER, Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 63, 341 (1946).

⁴ J. W. PATTERSON, J. Biol. Chem. 183, 81 (1950).

⁵ D. MERLINI, Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. 26, 1005 (1950).

⁶ D. MERLINI, Folia Endocrinologica 3, 669 (1950).

⁷ D. MERLINI, Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. 26, 1248 (1950).