

Versuchs- person	Klinische Diagnose	Ausgeschiedene Menge Nebennierenrindenhormon in Milligramm, als Desoxykortikosteron berechnet		
		Vor Verabreichung von Desoxykortikosteron	4,5 h nach Verabreichung von 10 mg Desoxykortikosteron- glukosid intravenös	24 h nach Verabreichung von 10 mg Desoxykortikosteron- azetat intramuskulär
K. J.	Magenkarzinom	0	—	—
B. L.	Ösophaguskarzinom	0	—	—
F. J.	Ösophaguskarzinom	0	—	—
C. R.	Nierenkarzinom	0	—	—
P. J.	Gesund	0	—	—
P. J.	Gesund	0	—	—
R. G.	Gesund	0	0,400	—
N. B.	Gesund	0	—	0
N. B.	Gesund	0	0,420	—
L. L.	Gesund	0	—	0
L. L.	Gesund	0	0,350	—
K. F.	Gesund	—	0,380	—

wendig vorher filtriert), der Rückstand in 4 cm³ Eisessig¹ gelöst, mit 12 cm³ 3 n HCl versetzt und während 15 min am Rückflußkühler gekocht. Nach Abkühlen wurde zur Reinigung zweimal mit 10 cm³ Petroläther extrahiert, dann wieder mit 24 cm³ Wasser versetzt und die Hormone viermal mit 10 cm³ Chloroform extrahiert, das Chloroform in Vakuum bei 45–50°C verdampft, der Rückstand in 1 cm³ Chloroform gelöst, 4 cm³ Dimethylsulfat² zugesetzt, in ein trockenes Reagenzglas übergeführt und im Wasserbade 20 min gekocht. Bei höherer Konzentration wird entsprechend verdünnt, so daß 1 cm³ Chloroform nicht mehr als 8 γ Hormon enthält.

Nach Abkühlen wird die Intensität der aufgetretenen Fluoreszenz mit derjenigen einer bekannten Menge des zu bestimmenden Nebennierenrindensteroids, in diesem Falle mit Desoxykortikosteron, verglichen. Die Farbe der Fluoreszenz ist je nach Steroid verschieden und variiert zwischen Gelb, Rot und Orange³. Auch sind die Reaktionszeiten, vom Beginn der Färbung bis zur Erreichung ihres Maximums, unterschiedlich. Die Messung ist am genauesten, wenn die zu bestimmende Menge pro 1 cm³ Chloroform und 4 cm³ Dimethylsulfat 1 bis 8 γ beträgt, das heißt 0,2 bis 1,6 γ pro Kubikzentimeter Reaktionsgemisch. Für kleinere Mengen Hormon kann dementsprechend weniger Chloroform, bzw. Dimethylsulfat verwendet werden, so daß die Konzentrationsverhältnisse dieselben bleiben. Die Farbintensität bleibt im Dunkeln unter Luftabschluß tagelang konstant. Eine chromatographische Trennung der verschiedenen Nebennierenrindensteroiden war nicht notwendig. Wie die Tabelle zeigt, finden wir im Urin männlicher Versuchspersonen von 25 bis 73 Jahren keine der mit Dimethylsulfat reagierenden Nebennierenrindensteroiden. Auch nach intramuskulärer Verabreichung von 10 mg Desoxykortikosteronazetat wird im Gegensatz zu den Befunden von STAUDINGER und SCHMEISSER (l. c.), keines dieser Hormone im Urin nachgewiesen. Hingegen fanden wir nach intravenöser Verabreichung von 10 mg Desoxykortikosteronglukosid einen geringen Teil davon als solches im Urin wieder.

Kontrollversuche haben ergeben, daß 10 γ dem Urin beigegefügt Desoxykortikosteronglukosid mittels unserer Methode mit einem Fehler von ± 10 % bestimmt werden können. Die Streuung ist wesentlich kleiner, wenn Deso-

xykortikosteron oder Desoxykortikosteronazetat zugegeben wird. Es wird die Aufgabe weiterer Arbeiten sein, zu untersuchen, wie die Nebennierenrindensteroiden im menschlichen Organismus umgewandelt werden und ob bei verschiedenen Funktionsstörungen nach Verabreichung von Desoxykortikosteronglukosid Veränderungen in der Ausscheidung feststellbar sind.

L. LASZT und B. NEYMAN

Physiologisches Institut der Universität Fribourg, den 4. August 1951.

Summary

A method is described for the chemical estimation of corticosteroids in the urine. The method is suitable for the determination of all corticosteroids, except 11-dehydrocorticosterone and cortisone, and allows the evaluation of fractions of 1 γ of biologically active steroids.

None of the corticosteroids determined is excreted by the urine, either under normal conditions or after intra-muscular injection of 10 mg of desoxycorticosterone-acetate. If, however, it is intravenously injected in the glucoside form, part of the desoxycorticosterone is excreted by the urine.

PRO EXPERIMENTIS

Chemoresistenz von Bakterien und Newcombe-Test

Von NEWCOMBE¹ wurde 1949 ein Plattentest angegeben, mit dessen Hilfe es gelingt, aufzuklären, ob phagenresistente Bakterienvarianten aus sensiblen Formen durch spontane oder induzierte Mutationsschritte hervorgehen, die nicht an die Anwesenheit des Phagen gebunden sind, oder ob die Resistenz erst unter der Einwirkung des Phagen entsteht.

Eine ähnliche Fragestellung ist bei Chemoresistenzen gegeben. Auch bei Chemoresistenzen läßt sich das von NEWCOMBE angegebene Testverfahren in etwas modifizierter Form anwenden, um aufzuklären, ob chemoresistente Bakterienvarianten vor oder erst unter der Einwirkung des chemischen Agens (allein oder in Kombination mit anderen Noxen) entstehen.

Dem Newcombe-Test liegt der einfache Gedanke zugrunde, daß durch Verteilen der in einer einzigen Mikrokolonie enthaltenen Bakterien zahlreiche Kolonien erhalten werden können. Dies gilt auch, wenn auf demselben Nährboden nebeneinander verschiedene Bakterienarten, bzw. Varianten der gleichen Art gewachsen

¹ Eisessig pro Analyse Merck.
² Das Dimethylsulfat (reines Handelsprodukt) darf weder gefärbt sein noch freie Schwefelsäure enthalten.
³ CH. DHÉRÉ und L. LASZT, C. r. Acad. Sci., Paris 224, 681 (1947).

¹ H. B. NEWCOMBE, Nature 164, 150 (1949).

sind. Beginnt jedoch ein chemisches Agens nach der Neuverteilung zu wirken, dann wird das weitere Wachstum aller chemosensiblen Arten bzw. Varianten unterdrückt, und die Neuverteilung führt zu einer Erhöhung der Kolonienzahl nur der chemoresistenten Keime. Eine solche Zunahme der Kolonienzahl ist bei entsprechender Kleinheit der primären Mikrokolonien jedoch nicht zu erwarten, wenn chemoresistente Varianten erst unter der Einwirkung des chemischen Agens entstehen.

Bei Chemoresistenzen ist eine Modifikation des von NEWCOMBE zur Prüfung von Phagenresistenzen angegebenen Testverfahrens erforderlich, die eine gut definierte Änderung des Nährmediums ohne Läsion der Mikrokolonien gewährleistet. Man geht dabei am einfachsten so vor, daß die Bakterien nicht unmittelbar auf die Agaroberfläche, sondern auf sterile, bakterien-dichte Membranfilter gebracht werden (zum Beispiel Membranfilter «mittel» \varnothing 9 cm der Firma Sartorius, Göttingen). Die Membranfilter lassen sich nacheinander auf halbfeste Nährböden verschiedener Zusammensetzung legen und bebrüten. Es kommt zu einem schnellen Austausch des Nährmediums. Die Bakterien wachsen auf den Filtern zu gut erkennbaren Kolonien aus.

Nach diesem Verfahren wurde der Entstehungsmechanismus chemoresistenter Bakterienvarianten geprüft. Über das Ergebnis dieser Untersuchung wird an anderer Stelle¹ berichtet werden. WOLFGANG DITTRICH

Universitäts-Frauenklinik Hamburg-Eppendorf, den 6. Juli 1951.

Summary

A new form of the Newcombe test is described which gives a good possibility of testing mechanism of the origin of chemoresistant bacteria.

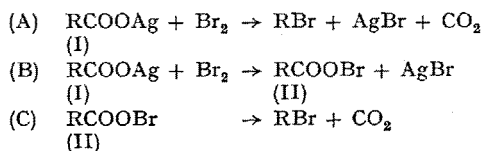
¹ H. BORNSCHNEIN, W. DITTRICH und G. HÖHNE Naturwissenschaften 38, 383 (1951).

DISPUTANDUM

Concerning the Mechanism of the Silver Salt-Bromine Reaction

Introduction. In the course of synthetic and degradative work, extensive use has been made in this laboratory and elsewhere of the silver salt-bromine reaction (cf.¹ for a review). The question as to the mechanism of this useful reaction was of obvious interest, and this question still forms a subject of active controversy (cf.² for recent discussions). A study of the pertinent literature revealed that certain stereochemical considerations apparently have not as yet been put forward in connection with this reaction, and it therefore seems appropriate to give a brief review on the present state of the problem.

The overall reaction (A) of bromine with the silver salt of a carboxylic acid is known to proceed in two stages, (B) and (C)¹.

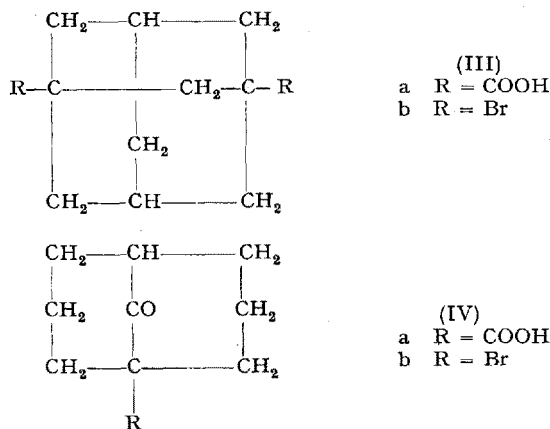


The main question at issue has been whether in the decarboxylation step (C) the group R is attacked by a free bromine atom, Br[•], or by a bromine cation, Br⁺.

¹ J. KLEINBERG, Chem. Rev. 40, 381 (1947).

² W. G. DAUBEN and H. TILLES, J. Amer. Chem. Soc. 72, 3185 (1950).—R. A. BARNES and R. J. PROCHASKA, J. Amer. Chem. Soc. 72, 3188 (1950).—M. HEINTZELER, Ann. Chem. 569, 102 (1950).

Recent experiments¹ in the aromatic series (R = Ar) strongly indicate that in these cases the complex (II) can act as a source of free bromine atoms, and these cases will not be discussed here. In the aliphatic series, on the other hand, there is evidence of an ionic mechanism, and the last word in this respect appears to be the paper by ARCUS, CAMPBELL, and KENVON² which is consistent in itself and has remained unchallenged so far. On treating the silver salt of optically active α -phenylpropionic acid with bromine, the British authors obtained α -phenylethylbromide which was still optically active, the retention of asymmetry amounting to 43%, with inversion of configuration. The authors conclude from their experiment that the reaction of bromine with silver α -phenylpropionate is mainly or entirely a bimolecular substitution with inversion of configuration effected by the electrophilic reagent, positive bromine. Though the proposed mechanism satisfactorily explains the observations in that particular experiment, it follows from information available in the literature that still another mechanism or mechanisms must exist which can definitely not involve any configurational inversion. Thus, SMITH and HULL³ converted the silver salt of *t*-butylacetic acid into neopentylbromide in 62% yield. Since the neopentyl system is known to be unusually stable and inert to substitution reactions involving inversion mechanisms⁴, and since this inertness is of steric rather than of polar origin⁵, the bimolecular course appears unlikely in this case. Furthermore, PRELOG and SEIWERTH⁶ were able to secure, without difficulty, and in fair yield, the dibromide (IIIb) from adamantane-1,3-dicarboxylic acid (IIIa); and similarly, COPE and SYNERHOLM⁷ obtained 1-bromobicyclo [3.3.1] nonan-9-one (IVb) from the acid (IVa) in 74% yield. The two last-named experiments constitute examples of successful transformations at highly hindered bridgehead positions.



¹ W. G. DAUBEN and H. TILLES, J. Amer. Chem. Soc. 72, 3185 (1950).—R. A. BARNES and R. J. PROCHASKA, J. Amer. Chem. Soc. 72, 3188 (1950).—M. HEINTZELER, Ann. Chem. 569, 102 (1950).

² C. L. ARCUS, A. CAMPBELL, and J. KENVON, J. Chem. Soc. 1949, 1510.

³ W. T. SMITH, JR., and R. L. HULL, J. Amer. Chem. Soc. 72, 3309 (1950).

⁴ E. D. HUGHES, Trans. Faraday Soc. 37, 620 (1941).—I. DOSTROVSKY, E. D. HUGHES, and C. K. INGOLD, J. Chem. Soc. 173 (1946).—P. D. BARTLETT and L. J. ROSEN, J. Amer. Chem. Soc. 64, 543 (1942).

⁵ P. D. BARTLETT and L. J. ROSEN, J. Amer. Chem. Soc. 64, 543 (1942).

⁶ V. PRELOG and R. SEIWERTH, Ber. Dtsch. chem. Ges. 74, 1769 (1941).

⁷ A. C. COPE and M. E. SYNERHOLM, J. Amer. Chem. Soc. 72, 5228 (1950).