

Tabelle II
Veränderung der Eigenschaften von Schwangerenharnextrakt durch RDE.-Behandlung

Harnextrakt	Virus-Hämagglutination: 4 Hämagglutinationsdosen werden gehemmt durch c)	Hormonaktivität: einer internationalen Einheit entsprechend d)	Leukozytotaktischer Effekt: e)		
			+	±	0
Unbehandelt a) Behandelt mit RDE. b) . . .	26 γ 800 γ	~ 1,5 γ 6 γ	3 γ 3 γ	0,6 γ 0,6 γ	0,1 γ 0,1 γ

a) Hormonpräparat 5390/471 in Ca-Boratpuffer-NaCl-Lösung.

b) Hormonpräparat wie a) + RDE. 20%. Kontaktzeit Hormon + RDE.: 3 h auf 37°C. Herstellung des RDE. nach BURNET und STONE¹; Agarfiltrat von *Vibrio cholerae*, Stamm Ogawa; Titer 1:620. Für die Hämagglutinationsproben wurden die Reaktionsgemische 30 min auf 65°C erhitzt zur Inaktivierung des RDE. Das verwendete RDE.-Präparat zeigt für sich allein keine Wir-

kung auf Uterusgewicht und Leukozytenwanderung.

c) PR8-Influenza-Virus; Allantoisflüssigkeit in physiologischer NaCl-Lösung, 30 min lang auf 56°C inaktiviert.

d) Juvenile Ratten. Applikation: Gesamtdosis verteilt auf täglich 2 Dosen an 3 aufeinanderfolgenden Tagen. Uterusgewichtsbestimmung.

e) Gemäss R. MEIER und B. SCHÄR¹.

hormonal unwirksamen Männerharnextrakt. Andererseits kommt die Virus-Rezeptor-Eigenschaft nicht allen gonadotrop wirksamen Hormonpräparaten zu, wie aus dem Vergleich mit dem nur niedrigen Hemmtiter der Hormonpräparate von anderer Herkunft als Urin (Stutenserum und Schafshypophysen) hervorgeht. Der Hemmtiter solcher Stutenserum- oder Hypophysenpräparate schwankt je nach Provenienz der Produkte (gewöhnliche Handelspräparate), doch standen alle von uns geprüften Präparate mit ihrer virus-hämagglutinationshemmenden Aktivität deutlich hinter den aus Harn gewonnenen Fraktionen zurück.

Auf Grund dieser Befunde lag die Annahme nahe, dass die Virus-Substrat-Eigenschaft der gonadotropen Präparate auf Begleitstoffen beruhen könnte.

MEIER und SCHÄR¹ haben andersartige Wirkungen, die den aus Urin gewonnenen gonadotropen Hormonpräparaten anhaften, aufgefunden. Sie konnten zeigen, dass im Urin Schwangerer neben dem gonadotropen auch ein *in vitro* wirksames Prinzip mit anlockender und beweglichkeitsfördernder Wirkung auf die weissen Elemente des Blutes vorhanden ist. Die Wirkung dieser Stoffe wird im Gegensatz zur Hormonwirkung durch Hitzebehandlung nicht beeinträchtigt. Aus diesem Grunde nahmen die obigen Autoren die Anwesenheit besonderer Begleitstoffe an.

Während die Virus-Rezeptor-Eigenschaft einheitlich allen hier geprüften Harnextraktpräparaten zukommt, fanden MEIER und SCHÄR nur einzelne der hormonal wirksamen Fraktionen aktiv im Leukozytenversuch.

Diese Beobachtungen ermöglichten die Frage der besonderen Natur der wirksamen Stoffe in den aus Urin hergestellten Hormonpräparaten so zu analysieren, dass der Stoff dem enzymatischen Abbau unterworfen und festgestellt wird, welche Veränderungen seine verschiedenen Eigenschaften dadurch erfahren. So prüften wir einen gonadotropen Extrakt aus Schwangerenharn vor und nach Kontakt mit RDE. auf seine Hormonaktivität und seine Wirkung auf die lokomotorische Reaktion der Leukozyten und die Hemmung der Virus-Hämagglutination. Wir stellten fest (Tab. II), dass die Hormonaktivität dadurch relativ wenig (etwa auf ein Viertel)², die leuko-

taktische Wirkung gar nicht beeinträchtigt wurde. Die gleiche Probe zeigte hingegen eine Einbusse in der agglutinationshemmenden Aktivität auf ein Dreissigstel. Auf Grund dieser Ergebnisse möchten wir vorläufig feststellen, dass die Unterschiedlichkeit der RDE.-Empfindlichkeit dieser drei Wirkungstypen eine weitere Stütze für die Annahme sein kann, dass in Harnextraktstoffen ein Gemisch verschiedener, chemisch wohl nahe verwandter Wirkstoffe vorliegt. Des weiteren ergibt sich daraus die Möglichkeit, an solchen Stoffen durch enzymatischen Abbau einzelne Wirkfaktoren herauszuarbeiten.

FR. KRADOLFER, B. SCHÄR und R. MEIER

Wissenschaftliche Laboratorien der Ciba, Aktiengesellschaft, Basel, den 1. November 1951.

Summary

Substances obtained from urinary extracts were investigated for their inhibitory effect on virus hemagglutination (HIRST), and a comparison was made with the gonadotropic hormone activity of these substances. No clear-cut parallelity between these characteristics was demonstrable. An urinary extract substance was further tested both prior to and subsequent to contact with the virus receptor destroying enzyme (R.D.E.), for the three established properties, hormonal activity, leucocytotoxic effect and influenza-virus-receptor characteristics. R.D.E. did not affect these three properties to the same degree. These results support the assumption that urinary extracts represent a mixture of chemically closely related substances.

¹ R. MEIER und B. SCHÄR, Exper. 7, 308 (1951).

Über Aktivierung von Cholinesterasen durch Alkylphosphate *in vivo*¹

Nach durch Alkylphosphate, wie DFP. (Diisopropyl-Fluorophosphat), Parathion, Pestox III (Bis-bis-Dimethyl-amino-Phosphorsäureanhydrid) und TEPP (Tetraäthylpyrophosphat), *in vivo* bewirkte Hemmung verschiedener Cholinesterasen (ChE) verstreicht meist ein Zeitraum

¹ F. M. BURNET und J. D. STONE, Austr. J. Exp. Biol. Med. Sci. 25, 227 (1947).

² R. MEIER und B. SCHÄR, Exper. 7, 308 (1951).

³ Die Werte für die gonadotrope Wirksamkeit verdanken wir Herrn Professor W. SCHULER.

¹ Vorläufige Mitteilung.

von mehreren Tagen¹, bis die ChE sich wieder regeneriert und 100prozentige Aktivität zeigt. Im folgenden sollen einige Untersuchungen mitgeteilt werden, welche mit den Alkylphosphaten *Pestox III*, *Pestox XIV* (Bis-Dimethyl-amino-Fluorphosphinoxid), *Pestox XV* (Bis-Monoisopropylamino-Fluorphosphinoxid) und *Parathion* (*p*-Nitrophenyl-Diäthylthiophosphat) durchgeführt und über längere Zeiträume ausgedehnt wurden, wobei nach eingetretener Wiederherstellung unter Umständen lang dauernde Steigerung in der Aktivität von ChE gefunden werden konnte.

Es wurde die ChE-Aktivität von Erythrozyten, Plasma, Gehirn und Leber an 57 Meerschweinchen und von Erythrozyten und Plasma bei 4 Ratten (hierbei nach Blutentnahme aus dem Schwanz) bestimmt. Verwendet wurde die manometrische Methode nach AMMON², Substrat war 0,05% Acetylcholin-Cl; Plasma, welches 1prozentiges «Heparin BDH.» enthielt, und hämolysierte Erythrozyten wurden 1:20 verdünnt, Hirn und Leber nach POTTER³ bei Verdünnung 1:5 homogenisiert und dann auf 1:20 weiter verdünnt. Gesamt-CO₂ in Kubikmillimeter für 5 Viertelstunden minus den Werten für nicht enzymatische Hydrolyse, Karbonanhydrase (Erythrozyten) und Glykolyse (Leber und Gehirn) wurden zum Ausgangspunkt für die Ermittlung der prozentuellen Abweichungen nach Behandlung mit verschiedenen Dosen der angegebenen Substanzen genommen. Die Alkylphosphate wurden in wässriger Lösung (bzw. bei 10 mg Parathion/kg in Emulsion) i.p. injiziert. Abweichungen über 15% sind statistisch gesichert.

Pestox III, einmal 10 mg/kg, ruft nach 24 Stunden eine 39%ige Steigerung der Gehirn-ChE hervor (Abb. 1), nach 48 Stunden ist die Aktivität normal.

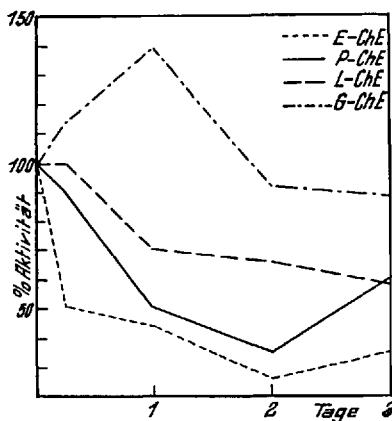


Abb. 1. *Pestox III* 10 mg/kg. E-ChE: Erythrozyten-ChE, P-ChE: Plasma-ChE, L-ChE: Leber-ChE, G-ChE: Gehirn-ChE.

Nach *Pestox XIV*, einmal 1 mg/kg (Abb. 2), nimmt innerhalb von 3 Tagen die zunächst über 80% gehemmte Plasma-ChE-Aktivität wieder zu; die Gehirn-ChE, welche nach 1 Tag die stärkste Hemmung aufweist, ist nach 3 Tagen über 30% gesteigert, in ähnlicher Weise die Leber-ChE. *Pestox XV*, einmal 10 mg/kg (Abb. 3),

ruft (Versuche an Ratten) nach 4 Tagen eine Steigerung der Erythrozyten-ChE hervor, welche nach 7 Tagen beinahe 40% erreicht und nach 11 Tagen verschwunden ist, während die Plasma-ChE, welche zuerst wesentlich

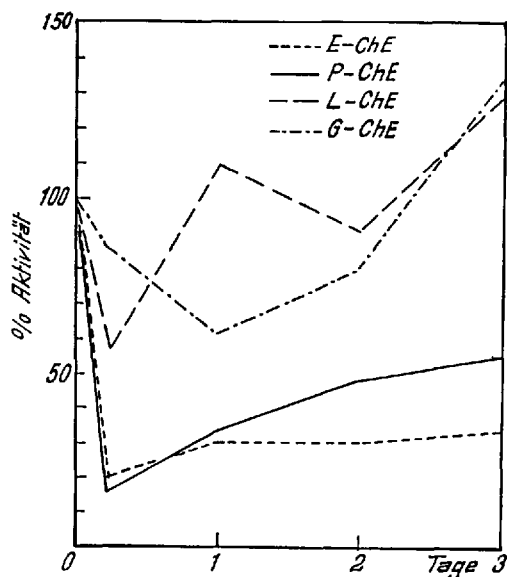


Abb. 2. *Pestox XIV* 1 mg/kg. E-ChE: Erythrozyten-ChE, P-ChE: Plasma-ChE, L-ChE: Leber-ChE, G-ChE: Gehirn-ChE.

stärker als die Erythrozyten-ChE gehemmt erscheint, nach 7 Tagen nur eine Erhöhung von 22% erfährt. *Parathion* lässt nach drei verschiedenen Dosierungen (Abb. 4–6) eine schnell eintretende und langdauernde Steigerung der Plasma-ChE erkennen; auch die Gehirn-

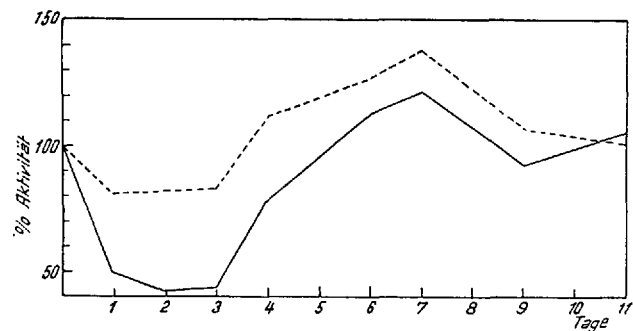


Abb. 3. *Pestox XV* 10 mg/kg.

ChE steigt bei 1 mg/kg nach vorangegangener Hemmung am 2. Tag zu etwa 30% an (Abb. 5), während Leber- und Erythrozyten-ChE auch bei niedriger Dosierung keine der Hemmung nachfolgende Aktivierung zeigen.

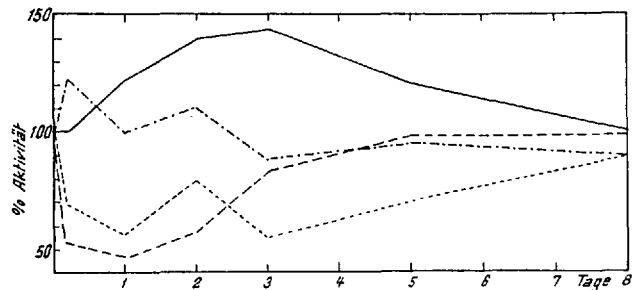


Abb. 4. *Parathion* 10 mg/kg.

¹ C. HEYMANS und H. CASIER, *Exper.* 4, 75 (1948). – A. M. FREEDMAN, A. WILLIS und H. E. HIMWICH, *Amer. J. Physiol.* 157 80 (1949). – K. P. DuBois, J. DOULL, P. R. SALERNO und J. M. COON, *J. Pharmacol. exp. Ther.* 95, 79 (1949). – K. P. Du Bois, J. DOULL und J. M. COON, *J. Pharmacol. exp. Ther.* 99, 376 (1950). – F. HOBBERGER, *Brit. J. Pharmacol.* 6, 21 (1951).

² R. AMMON, *Pflügers Arch.* 233, 486 (1933).

³ V. R. POTTER und C. A. ELVEHJEM, *J. Biol. Chem.* 114, 495 (1936).

Nach verschiedenen *In-vivo*-Beeinflussungen, wie grossem Blutverlust, anaphylaktischem Schock, experimenteller Verbrennung oder Erfrierung sowie nach Chloroformvergiftung, wurde eine bisweilen beträchtliche Zunahme von Serum-ChE gefunden¹. Da dieselbe aber in der Leber gebildet wird², muss ursächlich für die

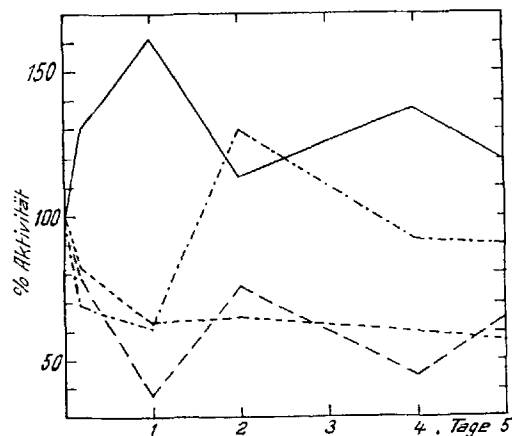


Abb. 5. Parathion 1 mg/kg.

beobachtete Aktivitätssteigerung angenommen werden, dass die Bildung oder Abgabe des Fermentes verstärkt ist oder dass aus der Leber und auch anderen Geweben Aktivatoren der ChE bzw. Stoffe, welche Inaktivatoren hemmen, vermehrt ins Blut abgegeben werden (SCHÜMMELFEDER³). In solchen Fällen kann aber auch vermutet

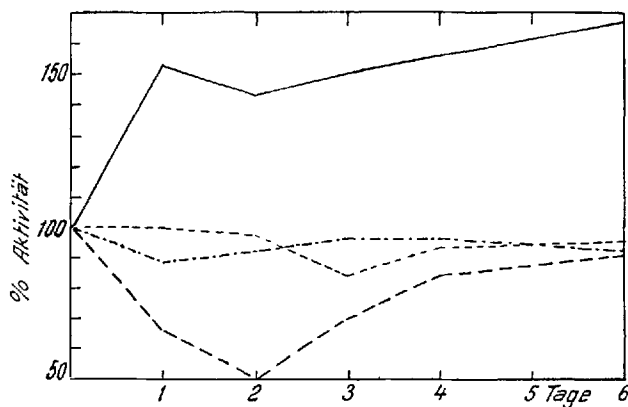


Abb. 6. Parathion 0,1 mg/kg.

werden, dass die ChE-Aktivität der Bildungsstätte selbst ebenfalls erhöht ist. Wenn von den Alkylphosphaten ein Teil zerstört⁴ oder ausgeschieden wird⁵ und nur mehr geringe Konzentrationen übrigbleiben, könnten diese ebenso wie die erwähnten Noxen stimulierend auf die Bildungsstätten der ChE wirken bzw. die Aktivität

vorhandener ChE steigern, wie es *in vitro* für verschiedene Substanzen und auch für ein Alkylphosphat selbst gezeigt werden konnte¹. Hierbei scheint eine gewisse spezifische Wirkung vorzuliegen, indem Parathion scheinend Plasma-ChE stimuliert, während Pestox XV Plasma- und Erythrozyten-ChE (letztere in stärkerem Maße), Pestox XIV Gehirn- und Leber-ChE und Pestox III im untersuchten Zeitraum Gehirn-ChE bevorzugt in aktivierendem Sinne angreifen. Die Ursache für diese Verschiedenartigkeit der Wirkung wird wahrscheinlich vor allem in der Verteilung der Substanzen im Organismus zu suchen sein. Auch dürfte das unterschiedliche Verhalten von Plasma-ChE und Erythrozyten-ChE nach Parathion *in vivo* und *in vitro* (in letzterem Fall sind Plasma- und Erythrozyten-ChE stark gehemmt²) in ähnlicher Weise zu erklären sein wie die Unterschiede zwischen *In-vivo*- und *In-vitro*-Wirkung bei TEPP (HOBBIGER³ und Pestox III⁴).

Pestox III, XIV und XV sowie Parathion wurden uns vom Chemical Research Dept. Pest Control Ltd., Harston, Cambridge, zur Verfügung gestellt. Für Acetylcholin schulden wir der Firma Hoffmann-La Roche, Basel, Dank.

A. LOCKER und H. SIEDEK

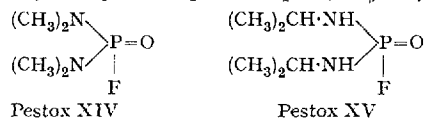
I. Medizinische Klinik der Universität Wien, den 1. Oktober 1951.

Summary

Various alkylphosphates show in certain doses by application *in vivo* a stimulating effect on the cholinesterase activity of plasma, erythrocytes, liver and brain respectively. These effects might be due to a different distribution of the alkylphosphates in the body and a stimulatory effect of low concentrations on the new formation or the activity of the enzymes.

¹ E. KEESER, Klin. Wschr. 17, 1811 (1938). – V. GROSSMANN und B. KASALICKY, C. r. Soc. Biol. 144, 93 (1950). – E. FROMMEL, A. D. HERSCHBERG und J. PIQUET, C. r. Soc. Phys. Hist. nat. Genève 60 (in Arch. Sci. phys. nat. 25) 97 (1943). – K. B. AUGUSTINSSON, Cholinesterases (Stockholm 1948). – A. LOCKER und H. SIEDEK (unveröffentlicht). – A. TODRICK, K. P. FELLOWES und J. P. RUTLAND, Biochem. J. 48, 360 (1951).

² D. GROB, Bull. Johns Hopkins Hosp. 87, 95 (1950).



³ F. HOBBIGER, Brit. J. Pharmacol. 6, 21 (1951).

⁴ A. LOCKER und H. SIEDEK, Mh. Chem. (im Druck).

Mise en évidence et estimation de la Catalase sanguine¹

La catalase sanguine détruirait H₂O₂ dès sa formation au cours des processus d'oxydation et protégerait ainsi les cellules contre la nocivité que possède ce peroxyde dès qu'il atteint une certaine concentration. D'autre part, suivant KEILIN², quand la pression d'oxygène est très basse, la catalase serait susceptible d'intervenir directement dans les oxydations et jouer un rôle autre que celui de diastase de protection.

Le procédé ci-après décrit met en évidence une activité catalasique du sérum frais, aseptiquement prélevé

¹ Le terme «catalase» est employé ici pour déterminer tout ferment susceptible de décomposer les peroxydes.

² M. POLONOWSKY, Biochimie Médicale, III^e éd. (Masson, Paris) p. 666.

¹ M. PIROLI, Boll. Soc. ital. Biol. sper. 17, 437 (1942). – F. HEIM, Klin. Wschr. 24/25, 115 (1946). – N. SCHÜMMELFEDER, Arch. exp. Path. Pharm. 204, 466, 567 (1947). – A. DA CRUZ und F. B. PEREIRA, C. r. Soc. Biol. 144, 1573 (1950).

² M. FABER, Acta med. Scand. 114, 72 (1943). – CH. H. SAWYER und J. W. EVERETT, Amer. J. Physiol. 148, 675 (1947). – M. F. HARRISON und L. M. BROWN, Biochem. J. 48, 151 (1951).

³ N. SCHÜMMELFEDER, Arch. exp. Path. Pharm. 204, 466, 567 (1947).

⁴ A. MAZUR, J. Biol. Chem. 164, 271 (1946).

⁵ D. HOFMANN-CREDNER und H. SIEDEK, Arch. int. Pharmacodyn. (im Druck).