

Ausserdem vermochten wir in einem uns zur Verfügung stehenden Fall von Viruspneumonie den Titer der *Kälteagglutination* von 1:128 auf 1:512 zu erhöhen. Die Sensibilisierungszunahme der Erythrozyten manifestierte sich ferner darin, dass diese im Gegensatz zu normalen Blutkörperchen in schwachem Masse auch bei 37°C agglutiniert wurden.

Die Empfindlichkeitssteigerung roter Blutkörperchen durch das von uns benutzte Ferment ist keine generelle in dem Sinne, dass alle Stoffe, welche mit Erythrozyten reagieren, eine Verstärkung zeigen. Bienengifthämolysine, geprüft gegenüber Erythrozyten des Menschen, konnten von uns bis jetzt durch das beschriebene Verfahren nicht intensiviert werden, ebenso wenig wie Hämolysine von Streptokokken und Staphylokokken. Wechselnde Resultate wurden erhalten mit einem durch Autolyse gewonnenen Hämolysin von Paratyphus-B-Bazillen. Negative Ergebnisse waren bis jetzt bei den Kombinationen Erythrozyten+Influenzabazillen (Hirst-Test) und Paratyphus-B-Bazillen+spezifischem Immuns serum zu verzeichnen. Auch WHEELER und Mitarbeiter erwähnen Beispiele für das Ausbleiben von Titererhöhungen bei Verwendung trypsinmodifizierter Erythrozyten und bei Prüfung mit Antiseren gegen verschiedene Blutgruppenantigene.

E. BERGER

Rhesus-Laboratorium des Kinderspitals Basel, den 10. März 1952.

Summary

- (1) Papain causes the red blood corpuscles to undergo an increase in sensitivity to serum haemolysines, haemolysing snake venoms and agglutinating phytotoxins.
- (2) Papain is suitable for the demonstration of incomplete Rhesus antibodies.
- (3) Ferments like trypsin and papain produce a change in the erythrocytes which can be demonstrated by the action of haemolysines and haemo-agglutinines of various sorts.

Über die Hemmung der Arginase durch Stickstofflost

In der Literatur wird verschiedentlich berichtet, dass Stickstofflost die Arginaseaktivität nicht beeinflusse<sup>1</sup>. Zwar gehen die Meinungen über die Bedeutung von Sulfhydrylgruppen für die Arginaseaktivität auseinander<sup>2</sup>, so dass nicht von vornherein die Hemmbarkeit durch Lost vermutet oder abgelehnt werden kann, doch haben wir bei Einhaltung geeigneter Versuchsbedingungen eine vollständige Hemmung der Arginaseaktivität erzielen können, über die im folgenden kurz berichtet sei.

Die Reaktion von Lostverbindungen mit Proteinen bzw. ihren reaktiven Gruppen benötigt eine gewisse Zeit und ein pH dicht am Neutralpunkt; zugleich zur Vermeidung einer Enzymdenaturierung durch frei werdende HCl inkubieren wir daher die zu untersuchende Fermentlösung vor Beginn des Versuches 2 Stunden bei 37°, während auf pH 7 gepuffert ist. Je nach dem pH-Optimum des zu untersuchenden Enzyms wird nach 2 Stun-

den das neue pH eingestellt. Zur Untersuchung der Arginase gingen wir so vor, dass die Fermentlösung mit Lost (bzw. mit Wasser zur Kontrolle) und der berechneten Menge Glykokollösung versetzt wurde; nach zwei Stunden wurde dann die zur Einstellung von pH 9,5 erforderliche Menge NaOH zugegeben. Die Versuche wurden im übrigen, wie früher beschrieben<sup>1</sup>, durchgeführt.

Wie die Tabelle I zeigt, wird die Arginaseaktivität durch Tris-( $\beta$ -chloräthyl)-aminhydrochlorid vollständig gehemmt.

Tabelle I  
Arginasehemmung durch Stickstofflost  
( $\gamma$ gespaltenes Arginin, berechnet aus N-Zuwachs nach Urease-Einwirkung)

	Nach 5 min	Nach 20 min	% Hemmung
Kontrolle . . . . .	1310	2090	100 100
N-Lost $6,2 \cdot 10^{-4}$ m . .	0	0	
Kontrolle . . . . .	1150	2120	100 100
N-Lost $4,6 \cdot 10^{-4}$ m . .	0	0	
Kontrolle . . . . .	1140	1980	100 92
N-Lost $4,25 \cdot 10^{-4}$ m . .	0	160	
Kontrolle . . . . .	1100	2060	59 47
N-Lost $3,1 \cdot 10^{-4}$ m . .	480	1100	
Kontrolle . . . . .	1190	2140	
N-Lost $2,3 \cdot 10^{-4}$ m . .	1190	2170	0 0

Versuche mit  $1,5 \cdot 10^{-4}$  m sowie  $6,2 \cdot 10^{-5}$  m ergaben ebenso wie mit  $2,3 \cdot 10^{-4}$  m (siehe Tabelle I) keine Hemmung mehr. In Kontrollversuchen fand sich mit den Lostmengen, die bei der Analyse mit Urease maximal auf dieses Enzym einwirken können, kein Einfluss auf dieses Enzym, so dass eine Störung der Analysenmethode durch Lostverwendung nicht erfolgt, wie Tabelle II zeigt.

Tabelle II  
Ureaseaktivität in Gegenwart von Stickstofflost ( $\gamma$ gespaltenen Harnstoff, berechnet aus N-Zuwachs)

	Nach 5 min	Nach 20 min	% Hemmung
Kontrolle . . . . .	51	24	—
N-Lost $6,3 \cdot 10^{-4}$ m . .	50	25	—

Auch an isolierten Zellkernen, die bekanntlich Arginase enthalten<sup>1</sup>, liess sich die Arginasehemmung durch Stickstofflost erweisen, allerdings in etwas geringerem Ausmass als beim dialysierten Leberhomogenat, was wohl auf die Permeabilitätsverhältnisse der nach LANG und SIEBERT<sup>2</sup> in stark hypertonischer Lösung gewonnenen Zellkerne zurückzuführen ist; siehe Tabelle III.

Wurde die Vorbehandlung der Enzymlösung mit Lost abgewandelt, so war keine Hemmung erreichbar; weder reagierte das Fermentprotein bei pH 9,5 mit Stickstofflost in merklichem Ausmass, noch zeigte bei pH 7 mit Lost inkubierte Fermentlösung eine Hemmung, wenn die nachfolgende Messung der Arginaseaktivität bei pH 7

<sup>1</sup> E. S. G. BARRON, G. R. BARTLETT und Z. B. MILLER, J. exp. Med. 87, 489 (1948). – G. R. MCKINNEY, J. Pharmacol. exp. Therap. 101, 345 (1951).  
<sup>2</sup> S. EDLBACHER, J. KRAUS und G. WALTER, Z. physiol. Chem. 206, 65 (1932). – E. WALDSCHMIDT-LEITZ, A. SCHÄFFNER und R. KOCHOLATY, Naturwiss. 19, 964 (1931). – D. M. GREENBERG und SUMNER-MYRBÄCK, The Enzymes, Vol. I (Acad. Press, New York 1951).

<sup>1</sup> K. LANG, G. SIEBERT, S. LUCIUS und H. LANG, Biochem. Z. 321, 538 (1951).  
<sup>2</sup> K. LANG und G. SIEBERT, Biochem. Z. 322, 360 (1952).

Tabelle III

Hemmung der Arginase in isolierten Rattenleberzellkernen durch Stickstofflost ( $\gamma$ -gespaltenes Arginin, berechnet aus N-Zuwachs nach Urease-Einwirkung)

	Nach 5 min	Nach 20 min	% Hemmung
Kontrolle . . . . .	2300	2400	70 55
N-Lost $4,25 \cdot 10^{-4}$ m .	690	1070	

vorgenommen wurde. Im erstgenannten Fall waren vermutlich die Reaktionsbedingungen Lost:Protein unzureichend, im zweiten Fall war die Aktivität so gering, dass eine partielle Hemmung möglicherweise nicht mehr zu messen war. Rückschlüsse auf das Vorliegen zweier verschiedener Arginasen (MOHAMED<sup>1</sup>) möchten wir hieraus jedenfalls nicht ziehen.

Unsere Versuche zeigen, dass Untersuchungen über den Einfluss von Stickstofflost auf Enzyme sehr genau einzuhaltende Versuchsbedingungen erfordern und dass Experimente aus verschiedenen Laboratorien nur bei Kenntnis aller methodischen Einzelheiten miteinander verglichen werden können. Sonst hätte zweifellos auch BARRON<sup>2</sup>, der  $1 \cdot 10^{-3}$  Stickstofflost anwandte, eine Hemmung der Arginase gefunden. Entsprechend den Angaben dieses Autors liegt die  $DL_{50}$  bei etwa  $1 \cdot 10^{-5}$  m. Nach unseren Versuchen ist zur annähernd vollständigen Arginasehemmung *in vitro* die etwa 40fache Menge Stickstofflost erforderlich; eine Bedeutung für die akut toxischen Lostwirkungen im intakten Organismus dürfen daher unsere Ergebnisse nicht haben.

Der Firma Nordmark-Werke, Uetersen/Holstein, danken wir für die freundliche Überlassung ihres Präparates «Sinalost».

K. LANG, G. SIEBERT und S. LUCIUS

Physiologisch-chemisches Institut der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz, den 21. Januar 1952.

### Summary

Liver arginase is completely inhibited by nitrogen mustard [tris-( $\beta$ -chloroethyl)amine, HCl] at a final concentration of  $4.6 \times 10^{-4}$  M. This holds true for isolated liver cell nuclei also. The experimental conditions are described exactly.

<sup>1</sup> M. S. MOHAMED, Acta chem. scand. 4, 978, 990 (1950).

<sup>2</sup> E. S. G. BARRON, G. R. BARTLETT und Z. B. MILLER, J. exp. Med. 87, 489 (1948).

### Hemmung der Diaminooxydase (Histaminase) durch Phthalazinderivate

Unter den von DRUEY hergestellten basisch substituierten Phthalazinderivaten<sup>1</sup> fanden sich Verbindungen, die am Tier und beim Menschen ausgesprochene blutdrucksenkende Eigenschaften zeigten<sup>2</sup>. Der langsame Eintritt der Blutdrucksenkung und die lange Wirkungsdauer deuten auf einen besonderen Wirkungsmechanismus dieser Substanzen hin. Diese Vermutung wird weiterhin dadurch nahegelegt, dass diese Verbin-

dungen antagonistische Eigenschaften gegenüber Pitresin, Serotonin und auch partiell gegenüber Adrenalin besitzen<sup>1</sup>. Auf der Suche nach weiteren für die blutdrucksenkende Wirkung möglicherweise verantwortlichen Faktoren zeigte sich, dass Phthalazin-Hydrazinderivate eine ausgesprochene hemmende Wirkung auf die Diaminooxydase (Histaminase) ausüben. Dieser zunächst überraschende Befund legte die Vermutung nahe, dass zwischen dem Einfluss auf die Diaminooxydaseaktivität und der Blutdrucksenkung eine direkte Beziehung besteht. Die vergleichende Untersuchung ergab aber keine einfache Parallelität zwischen diesen beiden Eigenschaften, da auch Verbindungen ähnlicher Konstitution, jedoch ohne entsprechende Wirkung auf den Blutdruck, eine gleiche Hemmung der Diaminooxydase hervorrufen können. In den Tabellen sind die Wirkungen auf die Diaminooxydaseaktivität und den Blutdruck für eine Reihe der untersuchten Verbindungen einander gegenübergestellt. Die für die Phthalazinderivate und gewisse weitere Hydrazino-Heterozyklen charakteristische, langsam einsetzende, über Stunden anhaltende Drucksenkung wird bei anderen analog substituierten Heterozyklen nicht beobachtet, obwohl diese Stoffe die Diaminooxydase etwa gleich stark hemmen wie die blutdruckwirksamen Vergleichspräparate.

Mit Ausnahme von Nr. 15 sind alle in den Tabellen zusammengestellten Präparate Hydrazinderivate. Nr. 15, ein Aminophthalazin, zeigt eine relativ schwache Diaminooxydasewirkung; es fehlt aber auch die langdauernde Blutdrucksenkung der Hydrazinophthalazine.

Gegen eine massgebende Beteiligung der Hemmwirkung auf die Diaminooxydase an der Blutdrucksenkung spricht der Befund, dass sich der drucksenkende Effekt der Hydrazinophthalazine durch Antihistaminika nicht sicher beeinflussen lässt. Trotzdem ist auffallend, dass unter den untersuchten Hydrazinophthalazin-Derivaten bisher keine Substanzen mit starker Blutdruckwirkung gefunden wurden, bei welchen die Wirkung auf die Diaminooxydase fehlt. Falls ein Zusammenhang zwischen den beiden Phänomenen Diaminooxydasehemmung und Blutdrucksenkung besteht, so ist dieser in der Richtung zu suchen, dass die Diaminooxydasewirkung allein zwar nicht die Vorbedingung für die Blutdrucksenkung darstellt, dass aber dieser Effekt so eng mit der Blutdrucksenkung bedingenden Eigenschaft verknüpft ist, dass eine Trennung derselben vorläufig nicht möglich erscheint. Eine Hemmwirkung auf andere Fermente, die möglicherweise Histamin oder analoge Substanzen abbauen, ist nicht auszuschliessen.

F. GROSS, W. SCHULER, J. TRIPOD und R. MEIER

Aus den wissenschaftlichen Laboratorien der Ciba Aktiengesellschaft, Basel, den 28. März 1952.

### Summary

Different Hydrazinophthalazine derivatives which have a hypotensive action in animals and human beings inhibit the activity of diaminooxydase *in vitro*. There is no evidence that there is a parallelism between hypotensive action and inhibition of diaminooxydase activity.

<sup>1</sup> F. GROSS, J. DRUEY und R. MEIER, Exper. 6, 11 (1950). – H. J. BEIN, J. TRIPOD und R. MEIER, Exper. 8, 74 (1952). – R. D. TAYLOR, I. H. PAGE und A. C. CORCORAN, Arch. int. Med. 88, 1 (1951).

<sup>1</sup> J. DRUEY und B. H. RINGIER, Helv. chim. acta 34, 195 (1950).

<sup>2</sup> F. GROSS, J. DRUEY und R. MEIER, Exper. 6, 11 (1950).