

de croissance pour certaines bactéries, il était intéressant de rechercher si la bactériostase due aux pyridazones étudiées pourrait être inhibée par addition d'uracile au milieu de culture; l'expérience montre qu'il n'en est rien (Fig. 2), et que l'uracile ne semble pas se comporter comme un stimulant de la croissance du bacille tuberculeux (Fig. 1).

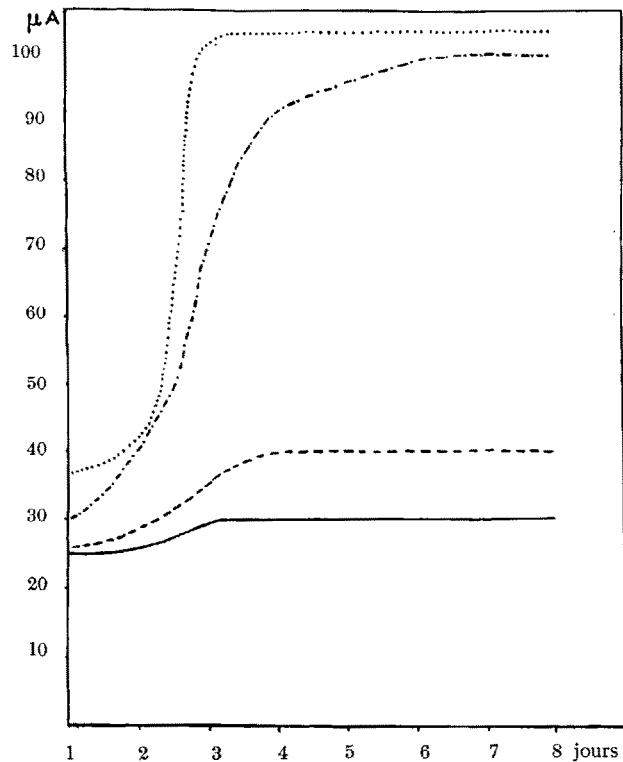


Fig. 2. Concentrations de  $10^{-4}$  pour l'uracile comme pour les composés (I), (II) et (III)  
composé (II) + uracile: ———— composé (I) + uracile: - - - - -  
composé (III) + uracile: - - - - - témoin: ..... .

En résumé, il a été montré que certaines pyridazones substituées possèdent une activité tuberculostatique *in vitro*, qui n'est pas inhibée par l'uracile; ce dernier corps n'apparaît pas comme étant un facteur stimulant de la croissance du bacille tuberculeux.

Nous remercions Mlle L. SCHEMBRI pour l'aide qu'elle nous a apportée dans ces recherches.

N. P. BUU-HOÏ, R. RIPS et R. ROYER

*Institut du Radium de l'Université de Paris, Département de Chimie organique, le 2 février 1956.*

### Summary

4,5-Dibromo-3-pyridazone is shown to have notable *in vitro* tuberculostatic activity; 4,5-dichloro-3-pyridazone is somewhat less active, and 6-methyl-3-pyridazone considerably less so. This effect is not reversed by aracil, which does not act as a growth-stimulant for tubercle bacilli.

### Schutzwirkung von polysaccharidartigen Fraktionen bakterieller Herkunft bei einer experimentellen Virusinfektion

GINSBERG und HORSFALL und Mitarbeiter<sup>1</sup> haben gezeigt, dass mit Kapselsubstanz von Friedländerbazillen eine therapeutische Wirkung bei der Infektion der Maus mit PVM-Virus, oder des Hühnerembryos mit Mumps-virus erzielt werden kann. Eigene Untersuchungen haben ergeben, dass Polysaccharide von anderen Bakterien eine Reihe von Wirkungen auf mesenchymale Reaktionen haben<sup>2</sup>, und dass einzelne eine Schutzwirkung bei bakterieller Infektion besitzen<sup>3</sup>. Untersuchungen des einen von uns ergaben<sup>4</sup>, dass natürliche virushemmende Serumfaktoren durch *in vitro* virushemmende hochpolymere Verbindungen meist in hemmendem Sinne beeinflusst werden können. Weiter wurde von PILLEMER<sup>5</sup> gezeigt, dass verschiedenartige Polysaccharide mit dem Properdinfaktor des Serums reagieren können und dadurch in vorläufig nicht übersehbarer Weise einen Einfluss auf Infektionsschutzsysteme gewinnen können. Polysaccharide und andere Polymere üben offenbar einen Einfluss auf Infektionsprozesse im Tier nur aus, wenn ganz bestimmte Bedingungen erfüllt sind. Es ist für die Erkenntnis des Spezifitätsgrades dieser Wirkung von besonderem Interesse, dass es uns möglich war, bei einer bestimmten Virusinfektion mit einer gewissen Bakterien-polysaccharidfraktion einen ausgesprochenen Schutzeffekt zu erzielen. Es handelt sich um die Wirkung einer Polysaccharidfraktion bei der Col.SK.-Encephalomyelitis an Mäusen. Die von uns verwendeten polysaccharidartigen Fraktionen aus Bakterien wurden von F. W. KAHNT in den chemischen Laboratorien der Pharmawissenschaftlichen Abteilung hergestellt.

1. *Schutzwirkung in Mäusen gegen Col.SK.-Encephalomyelitis-Virus.* Weisse MM-Mäuse von 15 g Gewicht wurden intraperitoneal mit abgestuften Infektionsdosen infiziert. Zur Infektion diente Hirnmaterial von Passagermäusen, die typische Paralysen aufgewiesen hatten. Je nach Höhe der Infektionsdosis zeigten die erkrankten Mäuse frühestens am 4. Tag Lähmungen der Hinterextremitäten; der Exitus erfolgte in der Regel spätestens bis zum 8. Tag. Die zu prüfende Substanz wurde einmal 48 h vor der Infektion intravenös in der Dosis von 5 mg/kg injiziert.

Tabelle I

Einfluss der Behandlung mit hochmolekularer Fraktion A aus gram-negativen Bakterien auf die Sterberate virusinfizierter Mäuse

Behandlung der Mäuse	Infektionsdosis, LD <sub>50</sub>			
	1000	100	10	1
Unbehandelt . . . . .	gestorb. Mäuse / infiz. Mäuse			
Fraktion A 1 × 5 mg/kg intraven. 48 h vor Infektion	22/24	31/33	26/33	12/24
	21/24	16/29	8/30	5/23

<sup>1</sup> H. S. GINSBERG und F. L. HORSFALL, J. exper. Med. 87, 385 (1948); 93, 161 (1951). — F. L. HORSFALL und M. McCARTY, J. exper. Med. 85, 623 (1947).

<sup>2</sup> R. MEIER und B. SCHÄR, Exper. 9, 93 (1953); 10, 376 (1954). — R. MEIER, P. A. DESAULLES und B. SCHÄR, Arch. exp. Path. Pharm. 224, 104 (1955).

<sup>3</sup> R. MEIER und L. NEIPP, Schweiz. med. Wschr. (im Druck).

<sup>4</sup> F. KRADOLFER, Schweiz. Z. Path. Bakt. 18, 1112 (1955).

<sup>5</sup> L. PILLEMER, L. BLUM, J. H. LEPOW, O. A. ROSS, E. W. TODD und A. C. WARDLAW, Science 120, 279 (1954). — L. PILLEMER, M. D. SCHOENBERG, L. BLUM und L. WIRZ, Science 122, 545 (1955).

Die in Tabelle I zusammengefassten Daten von 10 gleichartig durchgeföhrten Versuchen lassen den Schluss zu, dass noch mit 100 Infektionsdosen ( $LD_{50}$ ) infizierte Mäuse signifikant geschützt werden können (Beobachtungsdauer 12 Tage). Irrtumswahrscheinlichkeit  $P = < 0,1\%$  bei 10  $LD_{50}$  und bei 100  $LD_{50}$ . In ergänzenden Versuchen hatte sich ergeben, dass der optimale Effekt einer einmaligen Polysaccharidinjektion abhängig ist vom Behandlungstermin.

**2. Beeinflussung von Virus und Serumfaktoren *in vitro*.** Zur Abklärung des Wirkungsmechanismus wurde die Wirkung gegenüber Virus *in vitro* untersucht. Die erwähnte polysaccharidartige Fraktion und mehrere andere, durch chemische Behandlung aus Bakterien erhaltenen Stoffe vermögen die Virushämaggglutination von Influenzavirus nicht zu hemmen. Dies im Gegensatz zu gewissen Mucopolysacchariden und zu den Polysacchariden von GINSBERG<sup>6</sup> oder MACPHERSON *et al.*<sup>7</sup>. Im Brutei wurde gegen Influenzavirus A keine Hemmwirkung festgestellt. Bei Mischung mit Serum *in vitro* wird die virushemmende Wirkung des Serums herabgesetzt.

Frisches Meerschweinchenserum wurde mit verschiedenen Polysacchariden vermischt und 1 h lang bei 6°C stehengelassen. Das so behandelte Serum wurde zu Krebs-Ringer-Glukose-Medium gegeben (Serum-Endkonzentration 1:30) und mit je 2 etwa 25 mm<sup>2</sup> grossen Stückchen von Chorioallantoismembranen 14tägiger Hühnerembryonen beschickt. Je 12 derartige Proben wurden sodann abgestuft mit Influenzavirus PR<sub>8</sub> beimpft und für 24 h bei 37°C bebrütet. Danach wurde die Virusentwicklung mittels der Hämaggglutination von Hühnererythrozyten festgestellt. In entsprechenden Kontrollen wurde gesichert, dass die zugesetzten Serumproben die Virushämaggglutination nicht hemmten. Während der Infektionstiter des verwendeten Influenzavirus ohne Serumzusatz bei dieser Prüfung  $10^{-6}$  betrug, reduzierte der Serumzusatz den Virustiter regelmässig auf  $10^{-3}$  bis  $10^{-2.5}$ .

Tabelle II

Einfluss verschiedener Bakterienprodukte auf die Virusentwicklung in Gegenwart von Serum

Serum gemischt mit	Infektionstiter in Gegenwart der Serumproben (10 g)
Ohne Serum/ohne Po . . . . .	6
Serum ohne Po . . . . .	2,5
+ Präp. C 1:1000* . . . . .	4,5
+ Präp. B 1:1000 . . . . .	4,0
+ Präp. A 1:1000 . . . . .	4,0

\* Die genauen Formeln werden anderswo publiziert.

Die virushemmende Wirkung des Meerschweinchenserums wird durch Mischung mit Bakteriensubstanzen in einer Konzentration von  $10^{-3}$  um das 30- bis 100fache herabgesetzt. Dabei ist ein schwerlösliches Produkt aus Bakterienrückständen (Präparat C) am stärksten wirksam, während die beiden anderen Präparate (A und B), die aus der von Bakterien abgetrennten Kulturflüssigkeit stammen, etwas weniger stark inaktivieren.

<sup>6</sup> H. S. GINSBERG, W. F. GOEBEL und F. L. HORSFALL, J. exper. Med. 87, 411 (1948).

<sup>7</sup> J. A. MACPHERSON, J. F. WILKINSON und R. H. A. SWAIN, Brit. J. exper. Path. 34, 603 (1953).

Die Bestimmung der virushemmenden Wirkung des Serums nach Applikation von Präparat A bei der Ratte ergibt zwei Phasen. Die virushemmenden Werte sind zunächst während einer Periode von 24 bis 96 h erniedrigt, später steigt die virushemmende Aktivität des Serums wieder an. Abfall und Anstieg der Viruzidewerte der Seren decken sich zeitlich nicht mit den Veränderungen der Komplementaktivität in den gleichen Seren, unter Berücksichtigung der von PILLEMER zur Bestimmung des Properdins angegebenen Methode.

Aus den vorstehenden Befunden ergeben sich folgende Schlussfolgerungen:

1. dass eine Vorbehandlung mit der untersuchten Polysaccharidfraktion bei einer bestimmten Virusinfektion einen Infektionsschutz hervorbringen kann;
2. dass *in vitro* keine direkten virushemmenden Eigenschaften dieser polysaccharidartigen Fraktion nachzuweisen sind;
3. dass eine Änderung des viruziden Verhaltens der Seren durch die angewandten Bakterienprodukte hervorgerufen wird.

Das Ergebnis zeigt, dass die Wirkung der vorliegenden Substanzen sich von derjenigen der von GINSBERG untersuchten Stoffe unterscheidet und dass der Wirkungscharakter nicht dem des von PILLEMER beschriebenen Faktors entspricht. Obschon die Wirkung wahrscheinlich auf der Beeinflussung «normaler Abwehrfunktionen» beruht, besteht außerdem ein hoher Spezifitätsgrad insofern, als offenbar nur ganz bestimmte polysaccharidartige Fraktionen wirksam sind und die Beeinflussung der Virusinfektion von speziellen Konditionen hinsichtlich Virusstamm und Mausmaterial abhängig ist.

R. MEIER und F. KRADOLFER

Wissenschaftliche Laboratorien der CIBA Aktiengesellschaft Basel, den 1. März 1956.

#### Summary

A polysaccharide like substance derived from cultivated bacteria is shown to exert a protective effect in mice infected with SK-Col. Encephalomyelitis. The effect is optimally produced when the substance is applied previous to the infection. Certain changes in sera treated with the substance are observed involving normal virucidal factors of the sera.

#### L'azione protettiva dell'acido tioclico nell'intossicazione da cianuro di potassio

Le ricerche compiute in questi ultimi tempi da uno di noi (CUTOLO<sup>1</sup>) sull'enzima rodanese e sulla costituzione chimica della sua parte coenzimatica, hanno messo in luce la possibilità che tale coenzima contenga acido tioclico.

Allo scopo di avere un dato sperimentale che confermasse tale possibilità, abbiamo voluto vedere se l'acido

<sup>1</sup> E. CUTOLO, non pubbl.