

Tabelle II

	Schmelzpunkte (alle korrigiert)	Elementaranalyse			
			C %	H %	N %
Raugustin-Hydrat $C_{32}H_{38}O_9N_2 \cdot H_2O$	160–170° (Zers.) (im Vakuumröhrchen)	Ber. Gef.	62,73 62,52	6,58 6,87	4,57 4,51
Raugustin-Nitrat $C_{32}H_{38}O_9N_2 \cdot HNO_3$	262–263° (Zers.) (im Vakuumröhrchen)	Ber. Gef.	58,44 58,68	5,98 6,08	6,39 6,38
Monoacetyl-Raugustin $C_{34}H_{40}O_{10}N_2$	232–234° (Zers.) (Kofler-Block)	Ber. Gef.	64,14 63,93	6,33 6,22	4,40 4,34
1 Acetyl: Ber. 2,36; Gef. 2,55%.					

deckt sich das IR-Spektrum des neuen Alkaloides im kürzerwelligen Teil vollständig mit demjenigen des Reserpins. Chemisch lässt sich diese Hydroxylgruppe durch die Bildung eines O-Acetylderivates (vgl. Tabelle II) mit Acetanhydrid in Pyridin nachweisen.

Einen konfigurativen Hinweis vermittelt das IR-Spektrum durch die Gestalt der Absorptionsbande bei $3,4 \mu$, welche auf ihrer längerwelligen Seite eine schwach ausgebildete Schulter aufweist. Sie deutet darauf hin, dass das Kohlenstoffatom 3 entsprechend der von WENKERT und ROYCHAUDHURI²⁰ beobachteten Gesetzmässigkeit die β -Konfiguration besitzt.

Gewisse physikalisch-chemische und biologische Eigenschaften des Raugustins erhärten seine strukturelle Verwandtschaft mit dem Isoraunescin. So verhalten sich, zum Beispiel, beide Basen praktisch gleichartig gegenüber Zweiphasen-Verteilungssystemen und bei der Papierchromatographie. Andererseits haben pharmakologische Versuche gezeigt, dass Raugustin²¹ wie Isoraunescin¹ nicht reserpinähnlich wirkt, insbesondere keine sedativ-hypnotische Wirkung besitzt. Beide Tatsachen legen nahe, dass auch bei unserem neuen Alkaloid die Verknüpfungsstelle des 3,4,5-Trimethoxybenzoyl-Restes nicht derjenigen der biologisch wirksamen Verbindungen I, III, IV und VI entspricht und dieser sich wohl in Stellung 17 befindet.

Alle bis heute bekannten Eigenschaften stützen die für Raugustin vorgeschlagene Strukturformel V, wenn auch für die Konfiguration der Asymmetriezentren C 15, 16, 17, 18 und 20 noch keine hinreichenden Beweise bestehen. Zur Abklärung dieser Frage haben wir versucht, unser Alkaloid in ein mit Pseudoreserpin gemeinsames Abbauprodukt überzuführen. Da letztere Verbindung das Ringgerüst des Reserpins besitzt²², wäre bei Identität der Reaktionsprodukte die Konstitution des Raugustins ebenfalls bewiesen.

Für die Methanolyse der beiden Alkaloide stand jedoch nur sehr wenig Material zur Verfügung, und es gelang jeweils nur, die 3,4,5-Trimethoxybenzoesäure, nicht aber das Methylpseudoreserpat in kristallisierter Form zu isolieren. Sobald mehr Ausgangsmaterial vorhanden ist, soll dieser Identitätsnachweis durch direkten Vergleich der stickstoffhaltigen Komponenten noch erbracht werden.

J. M. MÜLLER

Forschungslaboratorien der CIBA Aktiengesellschaft,
Pharmazeutische Abteilung, Basel, 24. September 1957.

²⁰ E. WENKERT und D. K. ROYCHAUDHURI, J. Amer. chem. Soc. 78, 6417 (1956).

²¹ Die pharmakologischen Prüfungen wurden in der Biologischen Abteilung der CIBA AG durchgeführt und seien Herrn PD Dr. H. J. BEIN bestens verdankt.

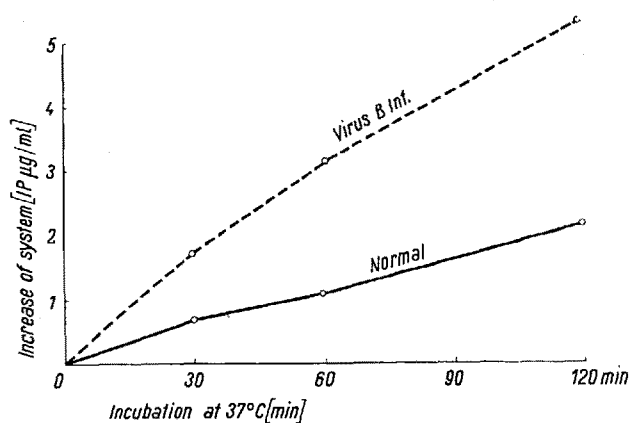
²² M. W. KLOHS, F. KELLER, R. E. WILLIAMS und G. W. KUSSEROW, J. Amer. chem. Soc. 79, 3763 (1957).

Summary

Twenty-one alkaloids have been identified from the root of *Rauwolfia ligustrina* R. & S. The more important ones are reserpine, pseudoreserpine and raugustine, a new base which is isomer to pseudoreserpine. The structure of the latter compound is discussed.

The Effect of Virus B on Enzyme-Systems of the Host, *in vivo* and *in vitro*¹

Virus B was first isolated and thoroughly studied by SABIN². For the present study rabbits were infected intracerebrally or intramuscularly with 0.2 ml of $1/100$ diluted infected tissue culture (TC) fluid. The animals were killed after exhibiting typical symptoms of the disease³. Fluids of Maitland-type of cultures, suspect for harboring virus B, were inoculated into TC of Rhesus kidney cortex and incubated for 6 days at 37°C; repeated subcultures helped to reach the final diagnosis. Supernatant of centrifuged brain homogenates (2000 r.p.m. for 10 min) of 4 animals and roller tube TC (6 batches) were assayed⁴. Standard techniques served for enzyme determinations⁵. Table I shows typical results. The decrease of common phosphomonoesterases and DNA-ases was in contrast with the great increase of RNA-ases and 5-nucleotidases (5-NT-ase, Figure).



¹ This work was supported by a Public Health Grant of the Ontario Department of Health, Canada.

² A. M. SABIN, Brit. J. exp. Path. 25, 321 (1934). – A. B. SABIN and A. M. WRIGHT, J. exp. Med. 59, 115 (1934).

³ A. M. SABIN, Brit. J. exp. Path. 25, 321 (1934).

⁴ Courtesy of Dr. D. L. McLEOD and Dr. G. H. MACMORINE, Connaught Medical Research Laboratories, University of Toronto.

⁵ E. KOVACS, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 92, 183 (1956).

Table I
Effect of Virus B in Phosphomonoesterases and Nucleases of Brain

Extract of fresh frozen rabbit brain in water	Phosphatases ¹		Simple ¹ nucleotid- ase	RNA-ases ² acid alkaline		DNA-ases ³ acid alkaline		Turbidity Klett units/ml of system
	acid	alkaline		pH 5	pH 7-6	pH 5	pH 7	
	pH 5	pH 10-9	pH 8-5					
<i>Normal</i> supernatant of 10% 'Brei' mean of duplicate assays.	5-6	2-4	1-0	11-3	0-0	12-2	6-4	1950
<i>Infected</i> intracerebrally inocula- tion with virus B.	4-1	1-7	0-5	34-0	2-0	6-4	3-0	1700

¹ Activity, as increase in IP μ g/ml of system; incubation 4 h at 37°C. Composition: 0-2 ml extract + 1-8 ml water + 6 ml buffered substrate (5-7).
² Activity, as increase in TASP μ g/ml of system; incubation 4 h at 37°C. Composition: 0-2 ml homogenate + 1-8 ml water + 2 ml of 0-5% RNA in buffer (5-7).
³ Activity, as % decrease of viscosity of system; incubation 2 h at 37°C. Composition: 0-2 ml + 2 ml buffer + 2 ml 0-5% DNA in water (5).

The tissue mass was also reduced in the infected brains as revealed by turbidimetry⁵. Results of assays on TC are shown in Table II. The decrease of phosphomonoesterases was noted simultaneously with the marked increase of both RNA-ases. The agreement between *in vitro* and *in vivo* findings is of special interest and means that some enzyme-changes are independent from inflammatory reactions. Additional aspects were investigated. For instance 8% increase in the activity of 5-NT-ase of infected 'brei' was found upon addition of 0-5 ml γ -globulin (commercial brand of Connaught M. R. Lab.). Similar amount had no effect on normal specimen. The 5-NT-ase activity of Russel's Viper venom (Haffkin Institute, Bombay) was significantly reduced (12%) when incubated for 30 min at 37°C, with normal and slightly with infected homogenate. The inhibition of

The decrease of common phosphomonoesterases and DNA-ase of brain extracts of virus B infected animals at the terminal stage of the disease, are in striking contrast with highly increased 5-NT-ase and RNA-ase activities. These latter are regarded as specific and fairly resistant biocatalysts, but there is much suggestion for a change in their kinetics or real increase in their concentration⁷. The changes may be causally connected with the cytopathogenic process⁸, but the time sequence and exact correlation has to be clarified. The agreements and discrepancies of experiments in animals and in TC cannot be explained at the present time. The similarity of increase of 5-NT-ase activity in some TC⁹, and in animals infected with MM virus¹⁰ may be an additional evidence for the primary nature of the enzyme-changes.

E. KOVACS* and J. KOVACS

Department of Public Health, School of Hygiene, University of Toronto, July 5, 1957.

Zusammenfassung

Im Hirnbrei von mit Virus B infizierten Kaninchen und in Gewebezuchten von Affennieren-Epithelien werden Veränderungen des Fermentgehaltes beobachtet. In beiden Fällen zeigt sich eine starke Zunahme der RNA-ase, während sich Nucleotidase, DNA-asen und Phosphomonoesterasen *in vivo* und *in vitro* nicht gleich verhalten.

⁷ E. KOVACS, J. exp. Med. 104, 356 (1956); Minerva Medica 48, 2157 (1957); G. Malatt. infett. parasit. (in press).
⁸ A. M. SABIN, Brit. J. exp. Path. 25, 321 (1934). – A. B. SABIN and A. M. WRIGHT, J. exp. Med. 59, 115 (1934). – E. KOVACS, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 92, 183 (1956); J. exp. Med. 104, 356 (1956).
⁹ E. KOVACS, Minerva Medica 48, 2157 (1957); Biochem. Z. (in press).
¹⁰ E. KOVACS, Naturwissenschaften 44, 520 (1957).
* Present address: Hamburg, Stiftung zur Erforschung der spinalen Kinderlähmung und der multiplen Sklerose.

Table II
Effect of Virus B on Cultivated Rhesus Kidney Cells

TC in medium 597	5-nucleo- tidases	RNA-ases	
	pH 8-5	pH 5	pB 7-6
Normal monkey epithelium 14 days old cultures. Pool of 5 original tubes*	3-23	2-3	0-60
Similar cultures infected with Virus B. 6 days incu- bation	1-75	10-1	15-70

* Incubation for tests, 2 h at 37°C; for technique E. KOVACS, J. exp. Med. 104, 356 (1956); Minerva Medica 48, 2157 (1957); G. Malatt. infett. parasit. (in press).
5-NT-ase by polyvalent antivenom is of greater order in the infected (17 to 19%), than in the controls (5 to 10%). These not tabulated observations mean that some specific substance is missing in the latter, as suggested also by the different turbidity values and illustrate the altered biochemical behaviour of virusinfected tissues⁶.

⁶ E. KOVACS, J. exp. Med. 104, 356 (1956). – D. F. BAUER in: The Nature of Virus Multiplication, II. Symp. Soc. General microbiol. (Cambridge University press, 1953).