

Dieser Wert liegt sehr nahe dem des aktiven Niederschlags einerseits und anderseits dem der Gonadendosis, die in der Schweiz bis 1959 von den Röntgenapparaten für Schuhdurchleuchtung herrührt (3,5 mr pro Jahr)<sup>1</sup>.

Im Frühling 1958 schätzte LIBBY<sup>4</sup> die jährliche Gonadendosis des Niederschlags (<sup>137</sup>Cs und nicht unterscheidbare Radioelemente) auf 3 bis 4% der natürlichen Strahlung der Ambianz (also auf 4 bis 6 mr). Allein für <sup>137</sup>Cs fand MARLEY<sup>5</sup> im Jahre 1957 in England eine mittlere Aktivität des Menschen von 5,4  $\mu\mu\text{C}$ , was 35  $\mu\mu\text{C/g}$  Kalium entspricht, mit einer jährlichen Gonadendosis von etwa 1 mr. Mitte 1958 gaben für USA LANGHAM und ANDERSON<sup>6</sup> für <sup>137</sup>Cs eine Gonadendosis von 1 bis 2 mr, was 45  $\mu\mu\text{C/g}$  Kalium entspricht<sup>7</sup>.

Es bestätigt sich also, dass die von den Leuchtzifferblättern ausgehende Gonadendosis bei der gesamten Bevölkerung zwar nicht sehr hoch ist, aber doch ungefähr derjenigen gleichkommt, die vom aktiven Niederschlag herrührt und ebenfalls einer Kontrolle unterzogen werden muss.

### Summary

In 24 persons, men and women, the gonade dose corresponding to a defined radium charge on the wrist, was measured. The  $\beta$ - and  $\gamma$ -radioactivity of more than 300 watches and clocks was analysed and the average activities determined. The proportion of men and women in Switzerland wearing luminous watches or having luminous clocks, was statistically determined in function of age. For the whole of the Swiss population, the *genetic dose* for a generation (30 years) amounts to 100 mr  $\pm$  25%.

<sup>4</sup> W. F. LIBBY, in *Symposium über schädliche Wirkungen schwacher Strahlendosen* (Benno Schwabe, Basel 1958), p. 309.

<sup>5</sup> W. G. MARLEY, in *Symposium über schädliche Wirkungen schwacher Strahlendosen* (Benno Schwabe, Basel 1958), p. 434.

<sup>6</sup> W. LANGHAM und E. C. ANDERSON, in *Symposium über schädliche Wirkungen schwacher Strahlendosen* (Benno Schwabe, Basel 1958), p. 434.

<sup>7</sup> Es ist aber zu bemerken, dass die  $\gamma$ -Strahlendosis, die vom Depot des aktiven Niederschlags auf der Oberfläche der Erde herrührt, hier nicht berücksichtigt wird. Nach den Messungen von PEIRSON und SALMON<sup>8</sup> und den Messungen und Voraussetzungen von SPIERS<sup>9</sup> betrug diese zusätzliche  $\gamma$ -Strahlendosis Mitte 1959 etwa 3 mr pro Jahr; nach SPIERS<sup>9</sup> steigt dieser Anteil der Gonadendosis zur gleichen Zeit um 2 bis 4 mr pro Jahr.

<sup>8</sup> D. H. PEIRSON und L. SALMON, *Nature* 184, 1678 (1959).

<sup>9</sup> F. W. SPIERS, *Nature* 184, 1680 (1959).

## Brèves communications - Kurze Mitteilungen Brevi comunicazioni - Brief Reports

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces communications. — Für die kurzen Mitteilungen ist ausschliesslich der Autor verantwortlich. — Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. — The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed by their correspondents.

### Preparation of Monoaminoxidase<sup>1</sup>

The importance of monoaminoxidase in a variety of clinical conditions has recently been emphasized by studies of its inhibitors<sup>2</sup>. Review of the literature<sup>3,4</sup> revealed an extensive body of information concerning inhibitors and the kinetics of the enzyme, but it was felt that there was a paucity of knowledge concerning the preparation of a stable source of enzyme<sup>3</sup>. Almost all monoaminoxidase activity is found in mitochondria<sup>5,6</sup> and by differential centrifugation an accurate mitochondrial phase isolation is possible. Recent work of the authors necessitated a simple and reliable method for preparing the enzyme from kidney tissue. The purpose of this paper is to report such a method.

*Method.* Rabbit or dog kidney was removed surgically, sliced, weighed, and then homogenized in a high speed blender with four volumes of 0.25 M sucrose after the pH had been adjusted to 7 with potassium hydroxide (this was necessary because kidney brei is acid<sup>7</sup>). The kidney brei was then placed in a 50-ml vitrex tube and the preparation further homogenized for 1 min with a motor driven pestle. The brei was centrifuged for 10 min at 700 g and the sediment discarded. The supernatant was again centrifuged for 10 min at 700 g and the sediment discarded. The resulting supernatant was centrifuged for 20 min at 11000 g. After discarding the supernatant, the sediment was washed with 10–20 cm<sup>3</sup> of 0.25 M sucrose and spun

down at 11000 g for an additional 20 min. All of the above procedure was performed in a cold room. The final precipitate (mitochondrial phase) was weighed and suspended in 0.067 M phosphate buffer at pH 7.4 (1 cm<sup>3</sup> of buffer was used for each 50 mg of wet sediment). This suspension was quick-frozen, lyophilized, and the resulting powder stored at  $-10^{\circ}\text{C}$ .

Enzymatic activity was tested manometrically in a Holdane-Warburg apparatus utilizing potassium cyanide and semicarbazide as inhibitors of other enzymes<sup>8</sup>; the substrate was tyramine. A number of determinations on the same sample on successive days as well as at several monthly intervals were made.

<sup>1</sup> This investigation was supported in part by the United States Public Health Service, Grant H 444 (C 9) and by United States Army Grant DA-49-007-MD-429.

<sup>2</sup> Ann. N. Y. Acad. Sci. 80, 551 (1959).

<sup>3</sup> H. BLASCHKO, Pharmacol. Rev. 4, 415 (1952).

<sup>4</sup> E. A. ZELLER, *The Enzymes, Chemistry and Mechanism of Action*, Vol. II, Part I (J. B. SUMNER and K. MYRBACK, Academic Press Inc. New York 1951), p. 536.

<sup>5</sup> H. BLASCHKO, J. M. HAGEN, and P. HAGEN, J. Physiol. 139, 316 (1957).

<sup>6</sup> G. C. COTZIAS and V. P. DOLE, Proc. Soc. exp. Biol. Med., N.Y. 78, 157 (1951).

<sup>7</sup> D. E. GREEN, W. F. LOOMIS, and V. H. AUERBACH, J. biol. Chem. 172, 389 (1948).

<sup>8</sup> N. H. CREASEY, Biochem. J. 64, 176 (1956).

**Discussion.** During the differential centrifugation all fractions were tested for enzymatic activity. There was no activity found in any of the discarded fractions.

In the authors' experience this method has proven rapid, reliable, and simple to perform. The Table demonstrates that after 6 months and 13 months the enzymatic activity was essentially unchanged from the initial determination. The acetone-powder method produces a relatively unstable preparation in Warburg blanks, whereas our method showed no activity in the enzyme blanks. In addition, the influence of acetone on monoaminooxidase is still in doubt<sup>3</sup>. Finally, preparation of the enzyme from the 'large granular fraction'<sup>5</sup> where it is found seems a more logical approach than utilizing whole kidney tissue.

*Monoaminooxidase activity before and after prolonged storage*

Preparation rabbit kidney	Microliters of O <sub>2</sub> uptake per mg N <sub>2</sub>					% N <sub>2</sub> per mg dry pre- paration
	10 min	20 min	30 min	60 min	Q <sub>O<sub>2</sub></sub> (N)	
1.	23	20	24	73	140	4.8
2.	26	25	27	70	148	5.1
3.	20	27	25	76	148	5.3
4.	21	24	24	74	143	5.0
5.	28	31	29	80	168	5.6
6.	25	28	26	74	153	5.0
after 6 months	25	30	26	66	147	5.0
after 13 months	30	29	26	66	151	5.0
7.	26	29	23	78	156	5.1
after 6 months	21	25	28	76	150	5.1
Mean . . . . .	24.5	26.8	25.8	73.3	150.4	5.1
S. D. . . . .	3.2	3.2	1.8	4.8	7.3	0.2

C. GIORDANO, J. BLOOM,  
and J. P. MERRILL

*Renal Laboratory, Peter Bent Brigham Hospital and  
Harvard Medical School, Boston (Mass.), December 15,  
1959.*

*Zusammenfassung*

Eine einfache Methode zur Gewinnung eines Extraktes (Pulver) von starker Monoaminoxydase-Aktivität aus Hunde- oder Kaninchennieren wird beschrieben. Differenzielles Zentrifugieren und rasches Einfrieren sind die wichtigsten Schritte dieser Methode. Die enzymatische Aktivität des Präparates bleibt über mehrere Monate erhalten.

**Struktur und Wirkung  
von muscarinähnlichen Verbindungen**

In früheren Arbeiten wurde die grosse Ähnlichkeit der Wirkung des Muscarins und seiner Isomeren mit der des Acetylcholins beschrieben<sup>1,2</sup>. Besonders Muscaron, welches eine Carbonyl- an Stelle der Hydroxylgruppe im Muscarin besitzt, ist auffallend aktiv auf cholinergische Synapsen im Bereich des peripheren Parasympathicus, der autonomen Ganglien und der Muskelendplatten. Daraus lassen sich Vorstellungen über die Bindung dieser Stoffe am cholinergischen Rezeptor ableiten, nach denen mindestens 3 pharmophore Gruppen (Carbonyl- oder Hydroxylgruppe, Äther-Sauerstoff und quartärer Stickstoff) für eine maximale Wirkung notwendig sind. Diese funktio-

nellen Gruppen müssen in eine mehr oder weniger starke Bindung mit den Pharmorezeptoren bestimmter Substrate treten, damit eine pharmakologische Wirkung zu-stande kommt.

Wir haben eine Reihe weiterer muscarinähnlicher Verbindungen, bei denen der Tetrahydro-Furanring durch den Thiophanring ersetzt, die Methylseitenkette fehlt oder verlängert oder der Ring nur teilweise hydriert ist, untersucht und können unsere früheren Schlussfolgerungen bestätigen und erweitern.

Zur Prüfung verwendeten wir Katzen als Ganztiere (für die Messung des Carotis-Blutdruckes, der Atmung, der Nickhautkontraktion mit und ohne präganglionäre Sympathicusreizung sowie der Gastrocnemius-Muskelzuckungen nach Reizung des N. ischiadicus) und isolierte Froschorgane (1/4 Lähmung des perfundierten Herzens nach STRAUB und submaximale Kontraktion des M. rectus abdominis entsprechend 5  $\mu$ ml Acetylcholin).

Das Ergebnis dieser Versuche ist in der Tabelle zusammengefasst. Wird das Sauerstoffatom im heterocyclischen Ring durch Schwefel ersetzt, sinkt die Wirksamkeit bedeutend, auf 1/1500, ab. Gleichzeitig ist auch der Unterschied zwischen der Wirksamkeit des Thio-Analogen des Muscarins (II) mit Substituenten entsprechend der Konformation im natürlich vorkommenden Muscarin und seiner Epi-Verbindung (III) (Hydroxylgruppe in *cis*-Stellung zu einer der Seitenketten) nicht mehr 100-300fach (Muscarin/Epi-Muscarin<sup>1</sup>), sondern nur noch 1,7-2fach. Ein ähnliches Verhalten ist bei *trans*- und *cis*-Desmethyl-Muscarin (VI, VII) und den entsprechenden Thio-Analoga zu beobachten, indem hier der Wirkungsunterschied von 7 auf 2 vermindert wird.

Bemerkenswert ist die 3fache Wirkungssteigerung durch Entmethylierung bei den Thio-Analoga (IV, V), während wir früher für die gleiche Veränderung bei Muscarin und dessen Derivaten 100fache Verminderung feststellten<sup>3</sup>. Kettenverlängerung bis zur Propyl- oder Isobutylgruppe (VIII, IX, X) verkleinert die Aktivität entsprechend dem Volumen und der sterischen Stellung der Substituenten.

*Trans*-4,5-Dehydro-Muscarinjodid (XI) ist etwa gleich wirksam wie D,L-Muscarin. Die isomere *cis*-Verbindung (XII) ist etwas weniger aktiv, wobei diese Verminderung ähnlich, aber umgekehrt wie beim Wechsel von Allo-Muscarin zu Epiallo-Muscarin ist.

Diese Resultate können wie folgt diskutiert werden:

Die von JELLINEK<sup>4</sup> mit Röntgenanalyse ermittelte Raumform des Muscarins ergab, dass das O-Atom des Tetrahydrofuranringes mit den benachbarten C-Atomen einen Bindungswinkel von 109° bildet und von diesen 1,47 Å entfernt ist. Beim 1,4-Dithion beträgt der Bindungswinkel des S-Atoms zu den C-Atomen 99° und die Distanz 1,81 Å<sup>5</sup>. Für das Thio-Analogon des Muscarins (II) ist daher anzunehmen, dass das S-Atom in einem etwas spitzeren Winkel weiter aus dem 5-Ring herausragt als beim Muscarin (Abb.). Dazu kommt, dass der van-der-Waals-Radius für Schwefel 1,85 Å beträgt, für Sauerstoff nur 1,4 Å<sup>6</sup>, so dass das Thiophanringsystem ca. 35% grösser ist.

<sup>1</sup> P. G. WASER, Exper. 14, 356 (1958).

<sup>2</sup> L. GYERMEK und K. R. UNNA, Proc. Soc. exp. Biol. Med., N. Y. 98, 882 (1958).

<sup>3</sup> G. ZWICKY, P. G. WASER und C. H. EUGSTER, Helv. chim. Acta 42, 1177 (1959).

<sup>4</sup> F. JELLINEK, Acta cryst. 10, 277 (1957).

<sup>5</sup> R. E. MARSH, Acta cryst. 8, 91 (1955).

<sup>6</sup> L. PAULING, *The Nature of the Chemical Bond* (Cornell University Press, Ithaca 1944), p. 64 und 189.