

valuable laboratory aid in the rapid identification of pathogenic and non-pathogenic microorganisms². Major obstacles to a more widespread use of this procedure have been the laborious preparation of the labelling dye and its instability, the problem of protein denaturation due to organic solvents used in the labelling reaction and insufficient labelling of the protein. These difficulties have largely been overcome by the use of more stable fluorescent labelling agents such as fluorescein isothiocyanate³, the modified method of conjugation with the aid of filter paper⁴ or the use of the solid labelling agents without organic solvents⁵. However, none of these techniques is entirely free of disadvantages. Thus, some fluorescent dyes are not readily prepared in solid form; others may be too insoluble in organic solvents for convenient preparation of filterpaper strips containing the desirable concentration of dye or they may be too reactive to remain stable on cellulosic materials for prolonged periods of time.

We believe to have found an alternative method which affords great convenience in preparing a variety of fluorescent labelling materials and incorporates all the advantages of the above mentioned modifications of COONS' original technique. The procedure used in our laboratories consists of adsorption of the labelling dye onto specially dried diatomaceous earth (Celite, hyflo super-cel, Johns-Manville Co.) or the like and is reported below in detail. Such 'fluorescent Celite powders' are more conveniently prepared and stored in quantity than impregnated filter paper and are easier to dispense than the latter or the minute quantities of solid dye required for fluorescent labelling. Their tremendously large reactive surface permits drastic reduction of the reaction time; 30 min or less have been found adequate for satisfactory labelling of protein solutions compared with 12 to 24 h used in the older techniques.

Materials and Methods. The following three fluorescent dyes were investigated: (1) 5-dimethylaminonaphthalene-sulfonylchloride⁶, (2) Lissamine Rhodamine B 200 (sulfonylchloride)⁶, and (3) fluorescein isothiocyanate⁶. The preparation of our labelling agents is illustrated in the following example. 2 g of Lissamine Rhodamine B 200 (red fluorescence) were suspended in a solution of 4 g phosphorus pentachloride in 40 ml ethyleneglycol dimethyl-ether (dried over calcium hydride) and heated under reflux for 30 min. The solvent and phosphorus oxychloride were then removed in a rotary evaporator under reduced pressure, the excess phosphorus pentachloride extracted three times with carbontetrachloride and the Rhodamine B 200-chloride dissolved in 150 ml dry chloroform. After filtration from insoluble material the chloroform solution was added to 15 g of Celite (hyflo super-cel) which had been dried by heating at 300°C for 10 min. The chloroform was then distilled under reduced pressure in a rotary evaporator and traces of solvent removed from the residual powder with a high vacuum pump. Such preparations, when stored at room temperature in a tightly closed container retained satisfactory labelling activity for at least one year (longest period tested). The amount of active labelling dye on the Celite was assayed colorimetrically by extraction with specially dried chloroform and alkaline hydrolysis of the extract. The readings obtained with the hydrolysate were compared with a standard curve prepared with Lissamine Rhodamine B 200 (sodium salt). Similar fluorescent labelling powders were prepared in this way from 5-dimethylaminonaphthalenesulfonylchloride and fluorescein isothiocyanate.

For the labelling tests 10–40 mg of 'fluorescent Celite powder' was added to 3 ml of rabbit serum and 3 ml of 0.05 M sodium carbonate-bicarbonate buffer (pH 9) in a centrifuge tube. The mixture was shaken mechanically

for 30 min and centrifuged. The supernatant was dialysed for three days against running water and subjected to paper-strip electrophoresis. Satisfactory labelling of the proteins was observed in each case.

Acknowledgements. I wish to express my thanks to Miss TIU REBANE for technical assistance, Mr. M. BALLAS for the assays of the fluorescent dyes, Mr. J. FONTANA for the electrophoresis determinations, and Dr. J. GARVEY of the Calif. Institute of Technology for a gift of Rabbit serum.

H. RINDERKNECHT

California Corporation for Biochemical Research, Los Angeles (Calif.), February 1, 1960.

Zusammenfassung

Es wird eine neue Arbeitsweise zur Fluoreszenzmarkierung von Proteinen beschrieben unter Verwendung auf Celite adsorbierter Fluoreszenzfarbstoffe. Die neue Methode bietet gegenüber andern heute gebräuchlichen Verfahren bedeutende Vorteile.

² For review of the pertinent literature see H. UEHLEKE, *Z. Naturforsch.* 13b, 722 (1958).

³ J. L. RIGGS, Masters Thesis, Univ. Kansas (1957).

⁴ M. GOLDMAN and R. K. CARVER, *J. exp. Med.* 105, 549 (1957).

⁵ J. D. MARSHALL, W. C. EVELAND, and C. W. SMITH, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, N. Y. 98, 898 (1958).

⁶ Available from California Corporation for Biochemical Research, Los Angeles (California).

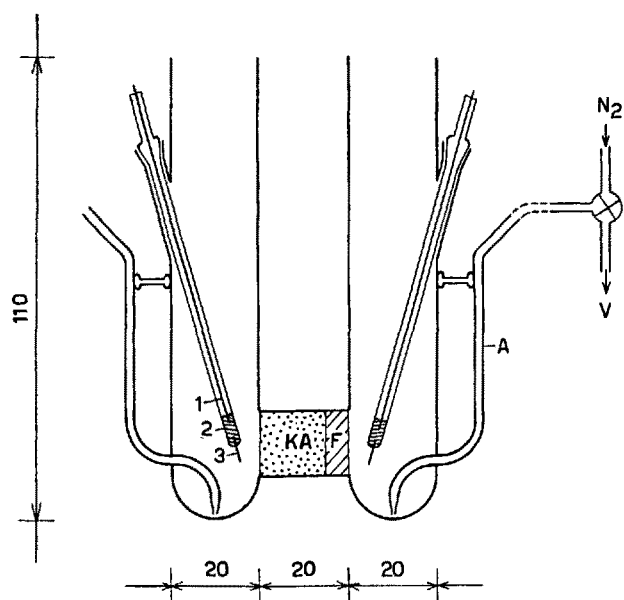
PROLABORATORIO

Eine einfache Apparatur zur serienweisen Redox titration

Für redoxpotentiometrische Titrations von säulen-chromatographisch aufgetrennten Stoffen (Polyphenole, Ascorbinsäure, Redoxfarbstoffe) ist eine Schnellmethode vorteilhaft, da meist mit einer grösseren Anzahl von Fraktionen gerechnet werden muss. Die nachstehend beschriebene Apparatur erlaubt in kurzer Zeit eine grosse Anzahl von Fraktionen zu titrieren.

Im linken Tubus befindet sich das Vergleichshalbelement (zum Beispiel Chinhydron) mit einer Platinelektrode. Es steht über eine KCl-Agar-Brücke (KA) und eine Glasfritte (F) mit dem Titrationsgefäss in Verbindung, in das eine zweite Elektrode eintaucht. Diese wurden nach dem von BIRNSTIEL¹ angegebenen Verfahren hergestellt. Quecksilber (2) gewährleistet die Verbindung zwischen dem Kupferdraht (1) und dem ins Glasrohr eingeschmolzenen Platindraht (3) vom Durchmesser 1 mm. Diese Elektroden münden schräg von der Seite her ein, damit die obere Tubusöffnung zum Einbringen der zu titrierenden Fraktion und der Titerlösung frei bleibt. Zur Gewährleistung steter Mischung während der Titration wird durch den Stutzen A ständig reinster Stickstoff zugeführt. Nach erfolgter Titration kann die Zelle mittels Wasserstrahlvakuum (V) ebenfalls über den Stutzen A geleert und gespült werden, wonach sie zur Aufnahme der nächsten Fraktion bereit ist. Auf die gleiche Weise kann auch der linke Tubus gereinigt werden. Die Grösse des Titrationsgefässes ist für Fraktionen von 7–20 ml berechnet.

¹ M. L. BIRNSTIEL, Diss. ETH. Zürich 1960.



H. V. LOTT

Institut für Allgemeine Botanik, Eidgenössische Technische Hochschule, Zürich, 8. Mai 1960.

Summary

The use of the described apparatus for redoxpotentiometric titrations enables very rapid estimations with little manual effort.

ACTA COMPARATA

Fortschritte der Arzneimittelforschung¹

Dem organischen Chemiker, befasse er sich mit der Isolierung, Konstitutionsaufklärung, Total- oder Partialsynthese eines Naturstoffes oder mit der synthetischen Gewinnung eines Heilmittels, stehen heute eine Reihe chemischer, physikalischer und analytischer Methoden zur Verfügung, die ihm erlauben, die gestellten Probleme, soweit sie eindeutig definierbar sind, meist innert relativ kurzer Zeit zu lösen. Für die Testierung und Evaluierung der hergestellten Präparate durch den Biologen und Mediziner sind ebenfalls moderne Methoden entwickelt worden, die wesentlich dazu beitragen, die pharmakologische Beurteilung eines Präparates in qualitativer und quantitativer Hinsicht zu beschleunigen. Es ist deshalb nicht verwunderlich, dass sich die Arzneimittelforschung in den letzten Jahrzehnten, insbesondere aber in den letzten 15 Jahren, geradezu stürmisch entwickelt hat; es ist weiter voraussehbar, dass diese Entwicklung mit noch gesteigerter Geschwindigkeit fortschreiten wird, wobei auch Gebiete, wie die Antivirus- und Antitumor-wirksamen Substanzen, wo noch keine praktisch befriedigende Lösung gefunden ist, einer solchen entgegengeführt werden.

Für den Spezialisten, sei er Chemiker, Biologe oder Mediziner, wird es dabei immer schwieriger, sich einen Überblick über die eigenen und insbesondere die von ihm nicht

direkt bearbeiteten Forschungszweige zu verschaffen. Zwar existieren spezialisierte Zeitschriften mit Kurzmitteilungen und gelegentlich Übersichtsreferaten und natürlich auch umfangreiche Monographien in Buchform über Spezialgebiete. Die meisten Informationen müssen aber aus einer Vielzahl von Zeitschriften mit im wesentlichen völlig anderer Hauptrichtung ausgesondert werden. Diese Tatsache hat zur Herausgabe der *Fortschritte der Arzneimittelforschung* geführt, in denen in zusammenfassenden Referaten periodisch über aktuelle Themen der Arzneimittelforschung berichtet werden soll. Natürlich kann und will eine solche Veröffentlichung das Studium der Originalliteratur nicht ersetzen; sie wird dem Forscher aber sicher den Zugang zu einem neuen Arbeitsgebiet wesentlich erleichtern oder ihn auf Arbeiten hinweisen, die er vielleicht übersehen hat.

Im ersten Band der genannten neuen Reihe, der sich in gediegener Aufmachung präsentiert, sind zuerst Beiträge über 5 Spezialgebiete enthalten. J. BÜCHI referiert über die chemischen Grundlagen der Ionenaustauscher und ihre praktische Anwendung bei der Herstellung von Heilmitteln. TSUNG-MIU LIU und K. K. CHEN geben dann einen Überblick über den Stand der Forschung auf dem Gebiet der Arteriosklerose. Die relativ grosse Zahl von Präparaten verschiedener chemischer Konstitution und Wirkungsweise, die zur Behandlung bzw. Prophylaxe der Arteriosklerose vorgeschlagen worden sind, sich aber nicht durchsetzen konnten, zeigt eindeutig, dass dieser Forschungszweig noch in den Anfängen steckt, mit anderen Worten, dass die chemischen und biologischen Anmarschwege noch ungenügend erschlossen sind. In neuester Zeit wurden besonders Substanzen diskutiert, die sich von den Östrogenen ableiten, aber möglichst geringe östrogene Wirkung besitzen. Dem Problem der Wurmkrankheiten, die in tropischen Ländern noch ungeheure Verbreitung haben, werden zwei Kapitel gewidmet: H. A. OELKERS behandelt ihre Chemotherapie, und J. BALLY legt neuere chemische Aspekte der Anthelminticaforschung dar. Sehr eingehend wird von H. HAAS, H. FINK und G. HÄRTFELDER das Placeboproblem erläutert, das bei der klinischen Erprobung von Pharmaka, speziell bei gewissen Indikationen, immer wieder eine wichtige Rolle spielt und zur Forderung einer «double blind evaluation» geführt hat. Die Autoren stellen insbesondere das von amerikanischen Forschern publizierte umfangreiche Tatsachenmaterial in übersichtlicher und anregender Weise dar. Über stereochemische Faktoren, die die biologische Aktivität beeinflussen, referiert A. H. BECKETT im Kapitel *Stereochemical Factors in Biological Activity*. An zahlreichen Beispielen werden die biologischen Effekte von Wirksubstanzen in Abhängigkeit ihres räumlichen Baus erläutert. Das in dieser Beziehung besonders anschauliche und deshalb interessierende Gebiet der Steroide ist dabei jedoch etwas zu summarisch behandelt worden.

Zum Schlusse folgt eine Übersicht der neueren Arzneimittel aus den letzten fünf Jahren von W. KUNZ. Die umfassende, aber zwangsläufig knappe Darstellung veranschaulicht erneut die überaus rasche Entwicklung auf dem Gebiet der Arzneimittelforschung. Diese Entwicklung geht naturgemäss überwiegend in die Breite, hat aber in einer ganzen Anzahl von Fällen auch zu völlig neuartigen chemischen Typen oder zu solchen mit bisher nicht erreichbarem Wirkungsspektrum geführt.

A. WETTSTEIN

¹ Fortschritte der Arzneimittelforschung. Herausgegeben von E. JUCKER, Vol. 1, 1959 (Birkhäuser Verlag, Basel).