

rund 84% an. Gleichzeitig war dagegen wieder die Hemmung der Phosphat- und Sauerstoffaufnahmen durch  $10^{-4}$  m Persantin/Ansatz; höhere Konzentrationen führten dann zu einer völligen Entkopplung von Atmung und Phosphorylierung. Alle Versuchsergebnisse waren mit einer Schwankungsbreite der Messwerte von  $\pm 8\%$  gut reproduzierbar.

Die Befunde sprechen dafür, dass Persantin bei geschädigten Sarkosomen eine bessere Sauerstoffutilisation bewirken kann, das heißt zu einer festeren Kopplung von Atmung und Phosphorylierung führt. Bei gleichbleibender Sauerstoffaufnahme steigende P/O-Quotienten bedeuten eine eindeutige Steigerung der ATP-Synthese.

Damit besteht eine deutliche Korrelation zu den Versuchsergebnissen *in vivo*, bei denen eine Zunahme der ATP-Konzentration im geschädigten Myocard unter der Persantintherapie nachgewiesen wurde<sup>6</sup>.

Zusammenfassend ergibt sich, dass die direkte und günstige Beeinflussung der Sarkosomenfunktion durch Persantin *in vitro* möglicherweise auch die Ursache für die *in vivo* beobachtete Wirkung dieser Substanz auf den Herzstoffwechsel ist.

*Summary.* Addition of Persantin to respiring beef heart mitochondria leads to a considerable increase of the P/O-ratios in the presence of various substrates. Apparently Persantin is capable of bringing about a tighter coupling of oxidation and phosphorylation.

G. LAUDAHN

Hauptlabor des Städtischen Krankenhauses Berlin-Wilmersdorf, Berlin (Deutschland), 12. Juni 1961.

### Étude sur le choc produit par le polysaccharide du bacille du colon chez le rat porteur de tumeur (Note préliminaire)

Plusieurs auteurs<sup>1,2</sup> ont déjà signalé assez indépendamment l'observation selon laquelle la présence d'une tumeur augmentait singulièrement la mortalité chez des animaux qui recevaient une certaine quantité de polysaccharide bactérien. Des travaux, comme ceux de JONES et HOWELL<sup>3</sup>, renforcent l'idée d'une sélectivité d'action.

Nous avons utilisé pour cette étude deux vieilles préparations, l'une domestique et l'autre commerciale, de polysaccharides provenant de l'*Escherichia coli*. Ces produits injectés à hautes doses chez la rate porteuse de tumeur provoquaient un choc particulièrement violent et l'animal mourait en 4 à 8 h, tandis que chez des rates ne portant pas de tumeur, des doses beaucoup plus fortes étaient très bien tolérées.

Nos expériences étaient effectuées chez des rates de souche Sprague-Dawley, de 200 à 300 g, porteuses ou non de tumeur (e.g. lymphosarcome de Murphy-Sturm). Les tumeurs employées avaient été repiquées plusieurs dizaines de fois chez des rates de cette souche et ne régressaient jamais spontanément. Dès que la tumeur dépassait la grosseur d'environ 2 cm de diamètre, une injection unique de polysaccharide d'*E. coli* (e.g. souche 0127, Difco, Détroit), à la dose d'une fraction de mg à 10 mg intra-péritonéale, ou à la dose de 10 à 100 mg sous-cutanée, devenait rapidement très meurtrière et les animaux succombaient au cours d'une forme de syndrome d'alarme dont quelques auteurs ont déjà parlé et qui ressemble à celui que provoque une très forte dose de polysaccharide chez un animal sans tumeur. DONNELLY et HAVAS<sup>4</sup> ont déjà d'ailleurs entrepris une étude histologique en rapport plus spécialement avec ce syndrome. Les injections intra-tumorales se montraient encore plus sélectives, mais nous ne les avons utilisées que pour vérifier l'effet des médications adjuvantes dont nous parlons plus loin.

Si la tumeur était trop petite, l'animal entrait en «stress» aigu au bout de 4 à 6 h, mais dans les heures suivantes ces symptômes disparaissaient et l'animal se rétablissait rapidement.

Chez les rats qui ne portaient pas de tumeur, on pouvait évidemment provoquer un choc violent avec de fortes injections intra-péritonéales, mais nous n'avons jamais tué ces animaux avec des injections sous-cutanées.

Nous avons cherché à définir quelques modalités dans l'apparition de ce choc, surtout en associant d'autres médications susceptibles d'en modifier l'aspect. C'est ainsi que nous avons vu que certaines médications pré-administrées (comme l'hyposulfite de soude, la dibenzylidine et l'acide ascorbique), aggravaient le syndrome, tandis que d'autres (comme le chlorure de magnésium, le salicylamide et le composé «S» de REICHSTEIN) pouvaient retarder plus ou moins l'*exitus*. L'examen post-mortem chez les animaux ainsi traités montrait des lésions variées; outre la liquéfaction ou la nécrose hémorragique du centre de la tumeur qui était constante, même sans ces dernières médications, on observait fréquemment un œdème tissulaire généralisé et présence d'une urine très pigmentée dans la vessie, et plus rarement une diarrhée également pigmentée, des surrénales atrophiques, une distension intestinale exagérée et même de la nécrose aiguë du foie.

En général, les hormones stéroïdes que nous avons administrées, jusqu'à des doses de quelques milligrammes, 1 h avant le polysaccharide, malgré leur diversité reconnue d'action (e.g. cortisone, désoxycorticostérone, estradiol, déhydroépiandrostérone, Presuren<sup>5</sup>) et sauf le composé «S» mentionné plus haut, apportaient une protection efficace contre la léthalité et souvent contre le choc. On a déjà partiellement investigué cet effet de protection chez des animaux sans tumeur<sup>6</sup>.

Certaines autres hormones comme l'ACTH, la GTH et la STH, pouvaient protéger de la léthalité, mais le choc général restait souvent violent. Dans le cas des hormones stéroïdes, l'action du polysaccharide au niveau de la tumeur était manifestement atténuée, ce que beaucoup d'auteurs ont déjà noté, du moins avec les glucocorticoïdes<sup>2,7</sup>. On peut facilement vérifier cette action en injectant le polysaccharide dans la tumeur. Dans le cas du

<sup>1</sup> M. J. SHEAR, J. Nat. Cancer Inst. 4, 461 (1943–1944). – P. A. ZAHL, J. Nat. Cancer Inst. 11, 279 (1950–1951). – H. F. HAVAS, A. J. DONNELLY et S. I. LEVINE, Cancer Res. 20, 393 (1960).

<sup>2</sup> H. TAUBER et W. GARSON, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 97, 886 (1958).

<sup>3</sup> R. S. JONES et E. V. HOWELL, Amer. J. Pathol. 35, 704 (1959).

<sup>4</sup> A. J. DONNELLY, H. F. HAVAS et M. E. GROESBECK, Cancer Res. 18, 149 (1958).

<sup>5</sup> Presuren: 21-OH prégénane 3,20-dione, Schering AG, Berlin-Ouest.

<sup>6</sup> H. J. BEIN et R. JAQUES, Exper. 16, 24 (1960).

<sup>7</sup> N. PRADHAN, B. ACHINSTEIN et M. J. SHEAR, Cancer Res. 16, 1062 (1956). – I. C. DILLER, B. BLAUCH et L. V. BECK, Cancer Res. 8, 591 (1948).

lymphosarcome de Murphy-Sturm, cette tumeur finissait toujours par disparaître après traitement intense au polysaccharide, mais cela se produisait de façon différente suivant l'hormone injectée. Il faut dire que la tumeur dont nous nous servions régressait souvent sous l'effet des médications adjuvantes seules.

Des expériences ont été effectuées chez des rats portant la tumeur de Walker 256. Dans cette série le choc initial pouvait être moins marqué, mais les rats survivaient assez facilement, à moins que les tumeurs soient beaucoup plus grosses ou qu'on ait ajouté des médications qui accentuaient le stress. Dans aucun cas d'ailleurs, cette dernière tumeur n'a régressé complètement, même si certaines médications causaient une involution initiale prononcée. On sait déjà l'action préférentielle des polysaccharides au niveau des sarcomes.

Les polysaccharides que nous utilisions avaient été isolés deux ans auparavant et gardés ensuite à la température du laboratoire, et comme on a déjà remarqué<sup>8</sup> que le pouvoir actif anti-tumoral diminuait avec le temps dans ces préparations, cela peut expliquer pourquoi nous devions utiliser des doses beaucoup plus fortes et moins critiques que celles qu'on emploie généralement. Nous avons remarqué d'ailleurs que nos préparations une fois dissoutes (nous dissolvions la poudre de polysaccharide

dans une quantité minime d'eau distillée), perdaient rapidement après quelques jours tout pouvoir de provoquer un choc chez l'animal cancéreux.

Dans les mêmes circonstances expérimentales, nous avons aussi utilisé à hautes doses une préparation de polysaccharide, également vieille de deux ans, extraite de culture de *Serratia marcescens*; celle-ci ne provoquait pas de choc initial et la mort des animaux, si elle survenait, n'apparaissait que tardivement au bout de 24 à 72 h, due probablement aux métabolites provenant de la tumeur nécrosée.

*Summary.* Aged preparations of polysaccharide from *E. coli* were highly effective in inducing a lethal shock in rats bearing a tumor. This effect may be increased by some medications, while various steroid hormones afforded an efficient protection.

P. LINDSAY

*Faculté de Médecine, Université Laval, Québec (Canada),  
le 21 avril 1961.*

<sup>8</sup> H. J. CREECH, L. H. KOEHLER, H. F. HAVAS, R. M. PECK et J. ANDRE, Cancer Res. 14, 817 (1954).

## Isolation from Rat Brain of a Metabolic Product, Desmethylimipramine, that Mediates the Anti-depressant Activity of Imipramine (Tofranil)<sup>1</sup>

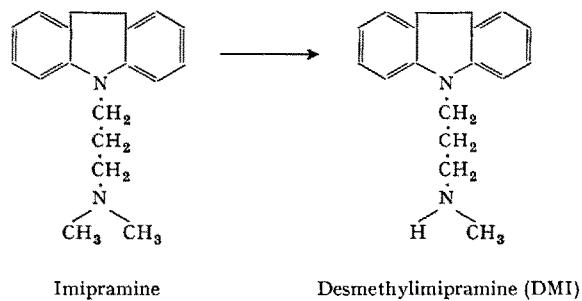
The effectiveness of imipramine (Tofranil) in the treatment of endogenous depression, first reported by KUHN<sup>2</sup>, has now been confirmed by numerous clinical studies. The drug exerts weak chlorpromazine-like effects in normal animals and man, while it exerts an antidepressant action in depressed patients only after repeated doses over a period of several weeks. Recent studies from this laboratory have shown that imipramine counteracts the syndrome of central effects elicited in rats by reserpine and by a synthetic benzoquinolizine, without inhibiting the actions of chlorpromazine<sup>3</sup>. Again, there is a delay in onset of action, several hours elapsing before this action appears. These considerations suggested to us that both the anti-reserpine and the clinical antidepressant effects of imipramine might be mediated through a metabolic product.

The present communication describes the isolation and identification from brain of a metabolite of imipramine which appears to be responsible for the antidepressant action of the drug. The metabolite, desmethylimipramine (DMI), is derived from imipramine *in vivo* by the removal of one methyl group from the sidechain nitrogen as follows:

The antidepressant activity of imipramine was determined in male Sprague Dawley rats (160-180 g) by the prevention or reversal of the reserpine-like syndrome<sup>4</sup> elicited by the intraperitoneal administration of 10 mg/kg of RO-4-1284<sup>5</sup>, or the intravenous injection of 2 mg/kg of reserpine. The concentration of imipramine in brain was assayed by a fluorometric procedure<sup>6</sup>.

Brain levels of imipramine were measured in rats after the intraperitoneal injection of 40 mg of imipramine per kg. The drug readily entered the brain and in 45 min had attained a level of 14  $\mu$ g/g; the level then declined rapidly and in 3 h was less than 3  $\mu$ g/g. If RO-4-1284 was injected 45 min after imipramine, the latter compound had no obvious effect on the reserpine-like syndrome elicited by

the benzoquinolizine. However, if RO-4-1284 was given 3 h after imipramine, the central effects of the benzoquinolizine were now prevented even though the imipramine level was less than 3  $\mu$ g/g of brain. From these results it is clear that the anti-reserpine activity of imipramine was not directly related to its concentration in brain.



<sup>1</sup> Presented in part as an abstract in Fed. Proc. 20, 321 (1961). Some of the material in this communication is taken from a dissertation by J. V. DINGELL to be submitted to the Graduate School of Georgetown University in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy.

<sup>2</sup> R. KUHN, Schweiz. med. Wschr. 87, 1135 (1957).

<sup>3</sup> F. SULSER, J. WATTS, and B. B. BRODIE, N.Y. Acad. Sci., in press.

<sup>4</sup> Rats treated with RO-4-1284 (10 mg/kg i.p.) or reserpine (2 mg/kg i.v.) exhibit blepharospasm and an almost complete lack of spontaneous motor activity, remaining motionless in a peculiar hunched-back position. In addition they show little response to stimuli such as sound or touch. In imipramine pretreated animals, these signs are prevented or reversed. Reversal is evidenced by a pronounced and persistent hyperactivity of a 'compulsory' exploratory nature.

<sup>5</sup> The reserpine-like properties of synthetic benzocouinoxazolines were

- The reserpine-like properties of synthetic benzoquinolizines were first described by A. PLETSCHER et al., Arch. exp. Path. Pharmacol. 232, 499 (1958). The chemical structure of RO-4-1284 is 2-hydroxy-2-ethyl-3-isobutyl-9,10-dimethoxy-1,2,3,4,6,7-hexahydrobenzo(a)quinolizine. This compound was generously donated by Hoffmann-La Roche Inc.

<sup>6</sup> J. R. GILLETTE, J. V. DINGELL, and G. P. QUINN, Fed. Proc. 19, 137 (1960).