

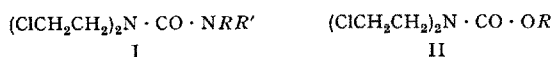
Schwarz stained bands which did not exhibit esterase activity were found in only one instance, in the slowest hemolymph component of *Pachygrapsus transversus*.

At this stage, the principal uncertainty concerning the crustacean hemocyanins is whether the multiple copper-positive protein bands actually represent different molecular species of hemocyanins or dissociation products of a larger hemocyanin polymer. Multiple copper-positive, and presumably hemocyanin, protein bands occur quite commonly in Crustacea. Several aspects suggest a similarity between the copper-positive proteins: the general size and staining intensity of the bands, their adjacency, their consistent pattern of being the slowest moving components in the hemolymph, and the general tendency of these hemocyanin bands to exhibit esterase activity. These characteristics could be shared by different molecular species or hemocyanin dissociation products. Since ERICKSSON-QUESNEL and SVEDBERG⁹ have demonstrated that hemocyanins of a number of crustacea display considerable stability up to pH 9.0 and above, it is probable that the multiple copper-positive protein bands resolved from crustacean hemolymph represent distinct molecular species of hemocyanin. More data on the structure and behavior of these fractions will be required, however, before any generalizations may be proposed.

Nouvelles considérations sur les moutardes azotées

Les urées substituées de formule générale I sont dépourvues tant de l'action cytotatique que de la toxicité des moutardes azotées, mais dans l'organisme, sous l'action des amidases appropriées, quelques-unes de ces urées substituées peuvent être scindées en bis-(β -chloréthyl)-amine (nor-HN2), composé nettement cytotatique et relativement peu toxique, et en $RR'NH$. Pour que le composé I soit scindé dans la cellule, il faut que $RR'NH$ soit un des composés organiques qui participent aux réactions de la cellule. Si $RR'NH$ est un des amino-acides qui prennent part à la construction des protéines de la cellule ou une des bases présentes dans les acides nucléiques, le composé I sera bien mieux scindé dans les cellules cancéreuses que dans les cellules normales de l'organisme, car les cellules cancéreuses ont besoin de quantités beaucoup plus élevées d'acides-amino et de bases pyrimidiques et puriques que les cellules normales de l'organisme: la teneur en nucléo-protéides du tissu néoplasique est nettement supérieure à celle du tissu sain correspondant^{1,2}.

Des considérations analogues sont valables pour les uréthanes substitués de formule générale II: dans l'organisme, sous l'action des estérases appropriées, quelques-uns des composés du type II peuvent être scindés en nor-HN2 et en ROH; si ROH est un des hydroxy-amino-acides naturels ou une des bases nucléiques, le composé II sera bien mieux scindé dans les cellules cancéreuses que dans les cellules normales de l'organisme².



Dans les formules générales I et II, Cl peut être remplacé par Br.

Il est fort probable que même si $RR'NH$ (ou ROH) est une substance à structure semblable à celle d'un amino-acide (ou hydroxy-amino-acide) naturel ou à celle d'une base nucléique, le composé I (ou II) sera bien mieux

Zusammenfassung. Haemolymph Proteine von 10-dekapoden Krebsen aus den Bermudas wurden mit Hilfe der «Starch-Gel»-Elektrophorese untersucht. In acht Arten erwiesen sich die zwei langsamsten Proteinkomponenten als Kupfer-positiv, in zwei Arten wurde nur eine einzige Kupfer-positive Bande ermittelt. Die Esteraseaktivität war mit den meisten Kupfer-positiven Banden verbunden, wobei 10^{-4} Eserinsulfat keine Hemmung der Aktivität herbeiführte. Diese und weitere Versuche legen die Vermutung nahe, dass bei einigen Crustaceen zwei Molekülarten von Haemocyan vorkommen.

R. R. COWDEN¹⁰ and J. R. COLEMAN

Division of Cell Biology, Institute for Muscle Disease, Inc., New York (USA), and Bermuda Biological Station for Research, Inc., St. George's Nest (Bermuda), January 22, 1962.

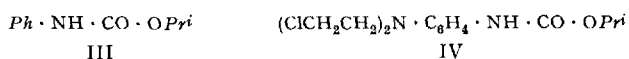
⁹ I.-B. ERICKSSON-QUESNEL and T. SVEDBERG, Biol. Bull. 71, 498 (1936).

¹⁰ Present address: Department of Pathology, J. Hollis Miller Health Center, University of Florida, Gainesville (Florida U.S.A.)

scindé dans les cellules cancéreuses que dans les cellules normales de l'organisme. En outre, dans ce cas $RR'NH$ (ou ROH) pourrait être un antagoniste d'un des constituants des nucléo-protéides.

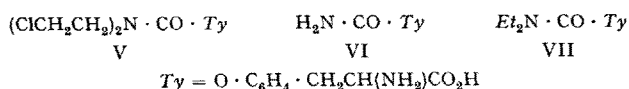
Bref, l'action cytotatique de certains composés des types I et II est en fonction de l'activité enzymatique appropriée de la cellule cancéreuse. Or cette activité enzymatique peut être considérablement exaltée.

En administrant aux animaux cancérisés le composé III et quelques jours plus tard le composé IV, on obtient des résultats nettement supérieurs à ceux obtenus uniquement avec le composé IV³. (Pour d'autres exemples, voir ⁴.)



En conséquence:

(1) Le traitement avec un uréthane substitué du type II doit être précédé par un traitement de «préparation» avec un uréthane analogue non moutarde azotée. Par exemple, le traitement avec le composé V² doit être appliqué après une certaine période de «préparation» avec un des composés VI, VII, etc.; il est bien entendu que pendant le traitement avec le composé V, ainsi que pendant le traitement de «préparation», le malade doit suivre un régime alimentaire très pauvre en L-phényl-alanine et en L-tyrosine.



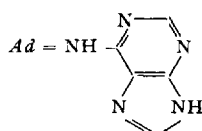
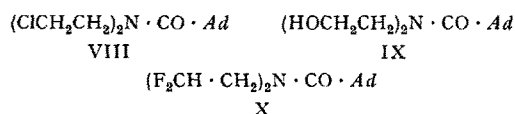
¹ C.-S. DONGOROZI, Exper. 16, 351 (1960).

² C.-S. DONGOROZI, J. Pharm. Belgique 15, 362 (1960).

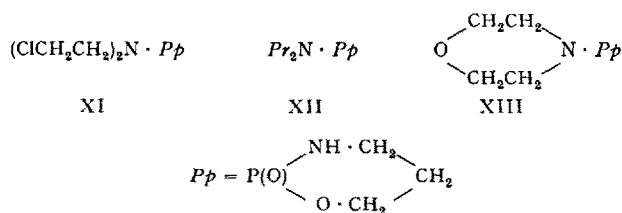
³ J. F. DANIELLI, P. J. BARNARD, D. M. COTTON, C. G. DRUCE, L. HAMILTON, and M. S. MAY, Rep. Brit. Emp. Cancer Campgn. 35, 410 (1957).

⁴ J. F. DANIELLI, K. A. MONTAGU, P. J. BARNARD, A. PYE, F. W. PRICE, J. L. HAMERTON, and W. A. M. COURTNEY, Rep. Brit. Emp. Cancer Campgn. 37, 575 (1959).

(2) Le traitement avec une urée substituée du type I doit être précédé par un traitement de «préparation» avec une urée analogiquement substituée, mais non moutarde azotée. Par exemple, le traitement avec le composé VIII² ne doit être appliqué qu'après l'administration d'un des composés IX, X, etc.; pendant toute la durée du traitement, le malade doit suivre un régime alimentaire très pauvre en adénine.



(3) Le traitement avec l'Endoxan (XI)^{5,6} doit être appliqué après une certaine période de «préparation» avec un des composés XII, XIII, etc., et pendant toute la durée du traitement le malade doit suivre un régime alimentaire très pauvre en composés phosphorés.



Summary. The cytostatic action of several urethanes and ureas-nitrogen mustards, as well as that of Endoxan, depends on the appropriate enzymatic activity of the cancerous cell. This enzymatic activity can be considerably stimulated by non-mustard analogues.

C.-S. DONGOROZI

Bucarest (Roumanie), Str. Sfinții Apostoli 61, le 6 octobre 1961.

⁵ H. ARNOLD und F. BOURSEAUX, *Angew. Chem.* 70, 539 (1958).

⁶ H. ARNOLD, F. BOURSEAUX und N. BROCK, *Arzneim.-Forsch.* 11, 143 (1961).

The Dynamics of Serum Lipoprotein Patterns in Vitamin C-Saturated and Vitamin C-Deficient Guinea-Pigs after Carbon Tetrachloride Poisoning

It follows from studies of a clinical nature¹ that vitamin C modifies, to a certain extent, the proportion of serum α - and β -lipoproteins in atherosclerotic patients. The purpose of the present study was to investigate on experimental material the problem of the influence of scurvy on the lipoprotein metabolism in an intact organism and in an organism affected with a hepatic lesion.

The work was conducted on mature guinea-pigs, mainly males, weighing 300–400 g and kept on a scorbutogenic diet². All animals were divided into two groups. The animals of the first group received 5 mg *l*-ascorbic acid daily by mouth, while the animals of the second group had no vitamin C. After 7 days the animals of both groups were divided into 4 subgroups, containing 7 animals each. The animals of the first subgroups, in both the vitamin C-saturated and scorbutic group, were sacrificed by decapitation. These animals served as controls without liver injury. The rest of the animals were administered 0.2 ml carbon tetrachloride diluted in olive oil by mouth and were sacrificed after 18, 48, and 168 h, always in two

parallel subgroups the first of which represented the animals saturated with vitamin C and the other subgroup the scorbutic animals. The blood serum of the animals was used for the determination of lipoprotein fractions by the method of paper electrophoresis according to SWAHN³. The regularly obtained 4 fractions were signed, in view of their mobility, α_1 -, α_2 -, β -, and 0 (fraction situated at the start).

The comparison of the results obtained in the animals saturated with vitamin C, and in the scorbutic animals in which no lesion was produced, showed that early phases of C avitaminosis caused significant changes in the lipoprotein patterns of the serum of the guinea-pigs. The situation is illustrated in the Table.

The administration of carbon tetrachloride caused in both normal and scorbutic guinea-pigs pronounced changes in all fractions of serum lipoproteins. These changes are illustrated in the Figures 1–4.

Our results point to the fact that carbon tetrachloride poisoning, producing an extensive liver damage, represents also a great interference with the lipoprotein metabolism which involves all their serum fractions. The changes observed take place very soon after the administration of the hepatotoxin. A comparison of the course of the serum lipoprotein changes in the scorbutic animals and in those saturated with vitamin C suggests that, disregarding the different initial values, the course of the changes in the majority of the fractions is analogous in both groups studied and may be characterised as follows: in the first phases there are marked departures from the initial values, on the seventh day after carbontetrachloride administration, one may, however, observe in saturated as well as in vitamin deficient animals, a pronounced tendency of all fractions to return to normal levels. This finding is further

Serum lipoprotein levels (expressed in %) in the guinea-pigs saturated with vitamin C and in vitamin C deficient animals

Fraction	Mean $\pm$ standard deviation of mean Saturated group	Vitamin deficient group	Statistical significance
α_1	13.0 $\pm$ 0.9	18.0 $\pm$ 0.6	$P < 0.001$
α_2	46.5 $\pm$ 1.1	35.2 $\pm$ 2.4	$P < 0.01$
β	23.5 $\pm$ 1.5	28.4 $\pm$ 1.9	—
0	17.0 $\pm$ 1.0	18.4 $\pm$ 0.6	—

¹ N. M. LOBANOVA, *Ateroskleroz i infarkt miokarda* (Medgiz, Moskva 1959), p. 124.

² H. HANKE, *Vitamine und Chirurgie* (Leipzig 1943).

³ B. SWAHN, *Scand. J. clin. lab. Invest.* 5, Suppl. 9, 1 (1953).