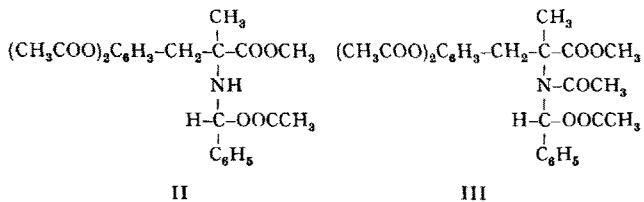
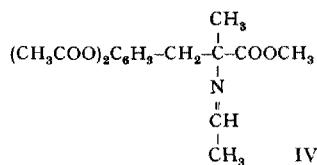


ester) = 1775 cm^{-1} , νCO (aliph. Ester) = 1730 cm^{-1} , $\nu\text{C}=\text{N}$ = 1630 cm^{-1} .



Da diese Verbindungen mit Säuren stabile Salze liefern, können sie mit optisch aktiven Säuren in die optischen Antipoden gespalten werden. So konnten wir z. B. die beiden enantiomeren N-Benzaldehyd- α -methyldopa-methylester aus ihrem Racemat mit *d*-Weinsäure als Spaltmittel herstellen.



Durch Kristallisieren der Salze aus Aceton haben wir N-Benzaldehyd-*d*- α -methyldopa-methylester-*d*-tartarat erhalten ($[\alpha]_D^{20} = -56^\circ$, C = 2 in Wasser) bis aus Methanol N-Benzaldehyd-*L*- α -methyldopa-methylester-*d*-tartarat ($[\alpha]_D^{20} = +73^\circ$, C = 2 in Wasser) gewonnen wurde.

Aus letzterem Salz wurde N-Benzaldehyd-*L*-methyldopa-methylester in Freiheit gesetzt (Schmp. 173-174°C, $[\alpha]_D^{20} = +32^\circ$, C = 1 in Methanol; -48° , C = 2 in Dimethylformamid).

Die IR-Aufnahmen wurden mit einem Zeiss-UR-10 Apparat in Kaliumbromid-Pastillen aufgenommen.

Summary. By reacting dopa, α -methyl- and α -ethyldopa and the corresponding esters with aldehydes geminate amino-carbinols of the general formula I can be prepared. The acetylation of the adduct of α -methyldopa-methylester with acetaldehyde and benzaldehyde and the resolution of the latter compound with *d*-tartaric acid is described.

A. HAJÓS und P. SOHÁR

*Institut für Arzneimittelforschung, Budapest (Ungarn),
8. Februar 1965.*

Histochemische Untersuchungen zur Natur der Cytoplasma-Einschlüsse des Lungentumors der Maus

In induzierten wie spontanen Lungentumoren der Maus wurden elektronenmikroskopisch regelmässig charakteristische Cytoplasma-Einschlüsse gefunden, die nach Form, Grösse, Lage in der Tumorzelle und Häufigkeit weitgehend lichtmikroskopisch nachweisbaren PAS-positiven Cytoplasma-Einschlüssen entsprechen^{1,2}.

Zur näheren histochemischen Untersuchung dieser Einschlüsse wurden 6 bis 8 Wochen alte weibliche Mäuse des Stammes A/J Han³ innerhalb von 3 Tagen zweimal i. p. mit 1 mg Äthylurethan pro g Körpergewicht behandelt. Tötung durch Äther nach 3-4 Monaten. Die Lungen wurden nach CARNOY oder mit Formol fixiert und einige Tumoren nach Paraffineinbettung in Serien geschnitten. Von einem Tumor wurden nach Fixierung in Osmiumtetroxyd und Einbettung in Vestopal Serien von Halbdünnsschnitten (1-2 μ) hergestellt. - An Paraffinschnitten wurden folgende Färbungen bzw. Reaktionen angewandt: PAS (HOTCHKISS⁴) mit MAYER's Hämalaun; BEST-sches Karmin⁵; PAS bzw. BEST-sches Karmin nach einstündiger Speichel-Einwirkung bei 20°C; PAS nach 6-stündiger α -Amylase-Einwirkung⁴; Alcianblau⁴; Astrablau⁴; Gallocyanin-Chromalaun⁶; Kresylviolett⁶; Toluidinblau⁴; Pyronin⁴ (Färbedauer 50 min); Kresylviolett bzw. Toluidinblau nach Ribonuclease-Einwirkung (s. u.); FEULGEN⁵; Berlinerblau⁵; TURNBULL-Blau⁵. - An den Vestopal-Halbdünnsschnitten erwiesen sich folgende Verfahren als brauchbar: PAS (HOTCHKISS⁴, modifiziert: 70% Alkohol, 0,5% Perjodsäure 20 min, SCHIFF's Reagens 30 min, WEIGERT's Eisenhämatoxylin⁶ 30 min); Kresylviolett⁶; Kresylviolett nach Ribonuclease-Einwirkung; FEULGEN⁵. - Ribonuclease (N.B.C., Cleveland, Ohio) kam in der Konzentration 0,5 mg/ml *Aq. dest.*, bei Halbdünn-

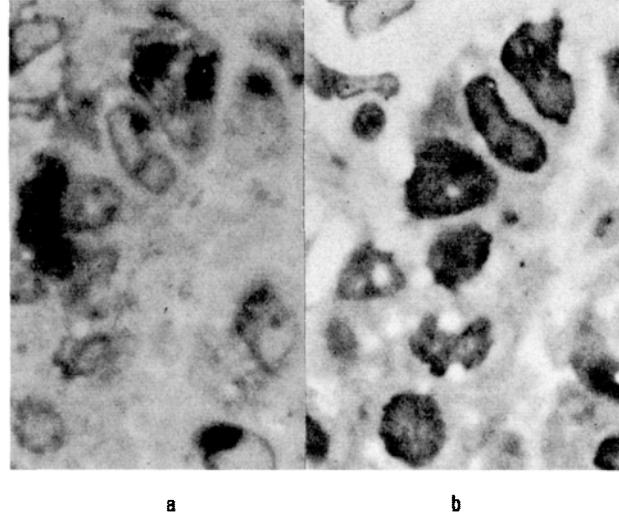


Fig. 1. Vestopal-Halbdünnsschnitt des Lungentumors der Maus. Die Tumorzellen in Fig. 1a sind mit denen in Fig. 1b identisch. Kresylviolett-positive Cytoplasma-Einschlüsse (a) sind nach Ribonuclease-Behandlung und erneuter Anfärbung desselben Schnittes nicht mehr nachweisbar (b). $\times 1600$.

¹ P. KLÄRNER und R. GIESEKING, Z. Krebsforsch. 64, 7 (1960).

² P. KLÄRNER und R. GIESEKING, Frankfurt. Z. Path. 73, 138 (1963).

³ Zentralinstitut für Versuchstierzucht, Hannover.

⁴ A. G. E. PEARSE, *Histochemistry, Theoretical and Applied* (Little, Brown & Cie., Boston 1960).

⁵ B. ROMEIS, *Mikroskopische Technik* (Leibniz-Verlag, München 1948).

⁶ C. RITTER, H. S. DI STEFANO und A. FARAH, J. Histochem. Cytochem. 9, 97 (1961).

schnitten 1 mg/ml. *Aq. dest.*, zur Anwendung. Vor der Inkubation der Schnitte – 15 bis 20 h bei 42°C – wurde die Ribonuclease-Lösung zur Inaktivierung von Proteasen 10 min auf 80°C erhitzt.

Färbung/Reaktion	Einschlüsse
PAS	+
PAS nach Speichel-Behandlung	0
PAS nach Amylase-Behandlung	0
BESTSCHES-KARMIN	+
BESTSCHES-KARMIN nach Speichel-Behandlung	0
Astrablau	0
Alcianblau	0
Hämalaun	(+)
Gallocyanin-Chromalaun	+
Pyronin	+
Kresylviolett	+
Kresylviolett nach Ribonuclease (Fig. 1)	0
Toluidinblau	+
Toluidinblau nach Ribonuclease	0
FEULGEN	0
Berlinerblau	0
TURNBULL-Blau	0

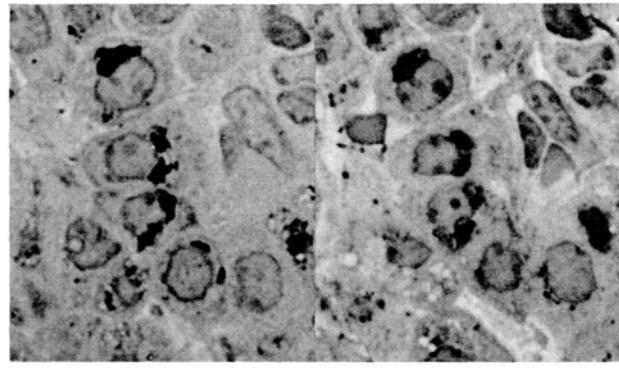


Fig. 2. Benachbarte Vestopal-Halbdünnabschnitte des Lungentumors der Maus. Die kräftig PAS-positiven Cytoplasma-Einschlüsse (a) sind in denselben Tumorzellen auch durch Kresylviolett (b) darstellbar. $\times 1600$.

Im wesentlichen werden die Ergebnisse in der Tabelle wiedergegeben. Vorbehandlung mit Hyaluronidase oder Trypsin besaß keinen Einfluss auf die Nachweisbarkeit der Cytoplasma-Einschlüsse. Die Identität von PAS-positiven und Kresyl-positiven Cytoplasma-Einschlüssen liess sich besonders leicht an benachbarten Halbdünnabschnitten (Figur 2) nachweisen. Die PAS-positiven Cytoplasma-Einschlüsse erwiesen sich auch an benachbarten, nach FEULGEN behandelten Halbdünnabschnitten als FEULGEN-negativ. In PAS-Hämalaun-färbten Paraffinschnitten fanden sich gelegentlich in PAS-positiven Einschlüssen Hämalaun-positive Granula, die bezüglich ihrer Anordnung den elektronenmikroskopisch beobachteten rosettenartigen Gruppen von Elementarpartikeln ähnelten (Fig. 7¹, Fig. 2²).

Aus obigen Befunden ergibt sich mit hoher Wahrscheinlichkeit, dass die Cytoplasma-Einschlüsse des Lungentumors der Maus sowohl ein neutrales Polysaccharid wie Ribonucleinsäure enthalten.

In Ermanglung einer besseren Deutungsmöglichkeit für die elektronenoptischen Befunde an diesem Lungentumor wurde früher eine Virus-Hypothese aufgestellt^{1,2}. Es interessiert hier ein Vergleich mit dem Rous-Sarkom, bei dem das RNS-Virus die zelluläre Produktion eines Mucopolysaccharids hervorruft^{3,4}. Versuche an Zellkulturen lassen auf die Existenz einer RNase-sensitiven vegetativen Form des Rous-Sarkom-Virus schliessen, die nicht mit dem Auftreten von Virus-Partikeln verknüpft ist⁵.

Die früher mitgeteilte Arbeitshypothese wäre somit dahin ergänzbar, dass es sich bei den Cytoplasma-Einschlüssen des untersuchten Lungentumors um die vegetative bzw. inkomplette Form eines kleinen RNS-Virus handeln könnte, dessen aetiologische Bedeutung jedoch noch unklar bliebe.

Résumé. Dans une étude histochimique on a montré que les inclusions cytoplasmiques des tumeurs pulmonaires de la souris (KLÄRNER et GIESEKING) contenaient une polysaccharide neutre jointe à l'acide ribonucléique. Les résultats ont été discutés au sens d'une hypothèse virale.

P. KLÄRNER und URSULA WESTPHAL

Kleinhammerweg 65, Wuppertal (Deutschland),
23. April 1965.

¹ G. ASBOE-HANSEN und H. LEVI, Lab. Invest. 8, 251 (1959).

² A. GOLDÉ und P. VIGIER, Ann. Inst. Pasteur 97, 227 (1959).

³ H. M. TEMIN, Health Lab. Science 1, 79 (1964).

Der Magnesium- und der Zinkgehalt von Chloroplasten

Kürzlich beschrieben BEHRENS et al.¹ in dieser Zeitschrift eine neue Methode zur Isolierung von Chloroplasten, die sich von den seitherigen Methoden der Zellen- und Gewebetrennung dadurch unterscheidet, dass ohne Verwendung von Flüssigkeiten getrennt wird. Bei Anwendung dieses Trennverfahrens, bei dem von Pulvern gefriergetrockneter Blätter ausgegangen wird, können

keinerlei Verluste und Verlagerungen von Substanzen durch Auswaschen, Diffusion und dergleichen auftreten. Es schien daher lohnend, die Konzentrationen einiger Elemente in so isolierten Chloroplasten zu ermitteln. Anstelle der früher benutzten chemischen Elementbestimmungsmethoden wurden die empfindlichen und spezifischen

¹ M. BEHRENS, W. NEU, R. THALACKER und H. J. THIMM, Exper. 20, 607 (1964).