

ren Kontrakturanstieg und keine Wirkung auf den Abfall bei der denervierten Gruppe, keine Wirkung im Anstieg und steileren Abfall bei der nichtdenervierten Gruppe.

(2a) Die Gruppe der denervierten Muskeln besitzt einen signifikant niederen Kalziumgehalt ( $P = < 1\%$ , Paarvergleichsmethode). Die Impulszahl pro  $\text{Ca}^{++}$ -Netto-gehalt ist als spezifische Aktivität definiert. In diesem Begriff ausgedrückt: Die spezifische Aktivität nimmt linear mit höherer  $[\text{Ca}]_e$  ab, denervierte und nicht denervierte Gruppen unterscheiden sich nicht.

(2b) Der Anteil des Trockengewichts beträgt bei den Denervierten 22,5%, bei den Nichtdenervierten 24,3% (signifikant, Irrtumswahrscheinlichkeit < 1%).

Die Versuche legen die Hypothese nahe, in Verbindung mit den bereits bekannten ionalen und Membranveränderungen<sup>3</sup>, dass der denervierte Muskel Kalzium verliert und außerdem seine Membran für Kalzium durchgängiger wird.

So besitzt die Mechanik des denervierten Muskels eine veränderte Ausgangslage. Die z.T. gegensinnige Beeinflussung durch das äußere Milieu ist prinzipiell verständlich<sup>10</sup>.

Tabelle II. Ergebnisse der  $\text{Ca}^{45}$ -Markierungsversuche

	0,45 mM $\text{CaCl}_2$ ( $n = 8$ )	1,8 mM $\text{CaCl}_2$ ( $n = 6$ )	7,2 mM $\text{CaCl}_2$ ( $n = 8$ )
Nicht Denervierte			
4 min $\text{Ca}^{45}$ -Kontrolle	2311 (0,23)	1340 (0,44)	1700 (1,39)
2 min $\text{Ca}^{45}$ + 2 min $\text{K}^+$ -Tyrode + $\text{Ca}^{45}$	2071 (0,23)	1400 (0,36)	1830 (1,49)
Denervierte			
4 min $\text{Ca}^{45}$ -Kontrolle	2000 (0,22)	1470 (0,30)	1580 (1,05)
2 min $\text{Ca}^{45}$ + 2 min $\text{K}^+$ -Tyrode + $\text{Ca}^{45}$	1600 (0,18)	1530 (0,31)	1530 (1,12)

Obere Zahl: die Zahl der Impulse pro 0,1 g Feuchtgewicht ( $n = \text{Anzahl der Streifen}$ ). Untere Zahl: Kalziumnettogehalt in  $\mu\text{Aq}/0,1 \text{ g Feuchtgewicht}$ .

**Summary.** The denervated diaphragm of the rat possesses a lower calcium concentration and dry weight than the non-denervated muscle. Decrease of  $[\text{Ca}]_e$  causes a faster rise and fall of the K-contracture in the non-denervated diaphragm of the rat. Increase of  $[\text{Ca}]_e$  has the reverse effect. The behaviour of the denervated muscle is different. TEA and carbachol influence the potassium contracture in almost the opposite way.

M. ADLER

Deutsche Forschungsanstalt für Psychiatrie, 8 München 23 (Deutschland), 16. Mai 1967.

<sup>10</sup> Ich danke Frau SCHWAAB und Herrn PD Dr. REUTER, Pharmakologisches Institut Mainz, für Hilfe und Ratschläge bei den Versuchen.

### Zur «Lipoidlöslichkeit» von Arzneimitteln

Die Löslichkeit in Wasser und Lipoiden spielt für die Resorption, Verteilung, Biotransformation und Ausscheidung von Arzneimitteln eine wesentliche Rolle. Als Mass der «Lipoidlöslichkeit» werden von verschiedenen Autoren entweder die Löslichkeit in Olivenöl, Zetylalkohol, Heptan (Benzin) oder Chloroform angegeben. Auf die Problematik bei der Benutzung von Olivenöl oder Zetylalkohol insbesondere für die Löslichkeitsbestimmungen von Narkotika wurde bereits hingewiesen<sup>1</sup>.

DIBBERN<sup>2</sup> setzt in seinem Resorptionsmodell Chloroform als «Lipoidphase» ein. Nach GAUDETTE und BRODIE<sup>3</sup> wird ein Arzneimittel um so schneller durch Lebermikrosomen oxydiert, je besser lipoidlöslich es ist und eine Lipoidbarriere zu durchdringen vermag: als Mass der Lipoidlöslichkeit wurde die Löslichkeit in Chloroform herangezogen. McMAHON und EASTON<sup>4,5</sup> benutzten für die gleiche Fragestellung Heptan und kommen zum gleichen Schluss wie GAUDETTE und BRODIE<sup>3</sup>. MAZEL und HENDERSON<sup>6</sup> machen auf die nur grobe Korrelation zwischen Oxydationsgeschwindigkeit durch Lebermikrosomen und Löslichkeit in Chloroform bzw. Heptan aufmerksam und bringen weitere Beispiele einer nur unbefriedigenden Übereinstimmung zwischen Umsatzgeschwindigkeit in vitro mit Lebermikrosomen und Lipoidlöslichkeit, wiederum gemessen als Löslichkeit in Chloroform.

Wir möchten darauf hinweisen, dass die Löslichkeit von Arzneimitteln in Heptan und Chloroform sehr unterschiedlich sein kann und dass beide Lösungsmittel ungeeignet sind, die «Lipoidlöslichkeit» zu ermitteln. KURZ<sup>7</sup> fand die Löslichkeit von Barbituraten in «Fett» bis zu 100mal grösser als in Heptan, die Löslichkeit im Fettgewebe war deutlich geringer als im Fett. Wie eigene Löslichkeitsbestimmungen von Phenazon 4-Aminophenazon und Dimethylaminophenazon belegen, kann die Löslichkeit in Triglyzeriden wiederum stark von der in Phosphatiden abweichen (s. Tabelle).

Die Substanzen wurden aus der bei 37 °C gesättigten lipophilen Phase mit Wasser ausgeschüttelt. Die spektral-photometrische Bestimmung in der wässrigen Phase erfolgte für Phenazon durch Nitrosierung nach DAVIDSON

<sup>1</sup> E. M. PAPPER und R. J. KIRZ, *Uptake and Distribution of Anesthetic Agents* (McGraw-Hill Book Company Inc., New York, Toronto, London 1963).

<sup>2</sup> H.-W. DIBBERN, Arzneimittel-Forsch. 16, 1304 (1966).

<sup>3</sup> L. E. GAUDETTE und B. B. BRODIE, Biochem. Pharmac. 2, 89 (1959).

<sup>4</sup> R. E. McMAHON, J. mednl pharm. Chem. 4, 67 (1961).

<sup>5</sup> R. E. McMAHON und N. R. EASTON, J. mednl pharm. Chem. 4, 437 (1961).

<sup>6</sup> P. MAZEL und J. F. HENDERSON, Biochem. Pharmac. 74, 92 (1965).

<sup>7</sup> H. KURZ, Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. 255, 33 (1966).

und MCINTYRE<sup>8</sup>, für 4-Aminophenazon durch oxydative Kondensation mit Phenol nach HASLINGER und STRUNZ<sup>9</sup> und für Dimethylaminophenazon durch das Jodatverfahren nach MADAUS und MEYER<sup>10</sup>.

Besonders bemerkenswert ist die Löslichkeit in der Lezithinmischung. Das Lezithin musste zur Erhöhung der Viskosität mit Benzin (1:1, g/g) versetzt werden. Es kann angenommen werden, dass die Löslichkeit der Arzneimittel in reinem Lezithin noch grösser ist. Demnach lassen sich bei den von uns untersuchten Verbindungen erhebliche Unterschiede in der Löslichkeit in Benzin,

Löslichkeit von Phenazon, 4-Aminophenazon und Dimethylaminophenazon in g/100 g Benzin, Rinderklaunöl, Schweineschmalz, Lezithin + Benzin (1 + 1) und Chloroform bei 37 °C

	Phenazon	4-Amino-phenazon	Dimethyl-amino-phenazon
Benzin, Kp 59 °C	0,072	0,075	0,81
Rinderklaunöl	0,74	0,36	2,00
Schweineschmalz	0,56	0,45	1,70
Lezithin-Benzin (1 + 1)	13,0	14,0	12,6
Chloroform	90,5	87,9	120,6

Chloroform, Triglyzeriden und Phosphatiden feststellen. Bei der Bestimmung des sogenannten Antipyrinraumes als Mass des Gesamtkörperwassers können diese Unterschiede nicht vernachlässigt werden und bieten eine Erklärung für den bekannten Fehler dieser Methode<sup>11</sup>.

**Summary.** The solubility of phenazon, 4-aminophenazon and aminophenazon in heptan, neatsfoot oil, lard, lecithin and chloroform was determined. The results demonstrate that the solubility in chloroform or heptan cannot be taken as a measure of the fat-solubility, and that the solubility of phenazon in lipids has to be taken into consideration in determining the so-called antipyrin-space as a measure of total body water.

H. HANKE und W. KLINGER

*Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie und  
Institut für Pharmakologie der Friedrich-Schiller-  
Universität, Jena (DDR), 27. April 1967.*

<sup>8</sup> D. DAVIDSON und I. MCINTYRE, Biochem. J. 62, 37 (1956).

<sup>9</sup> R. HASLINGER und W. STRUNZ, Arzneimittel-Forsch. 4, 299 (1954).

<sup>10</sup> G. MADAUS und F. MEYER, Arzneimittel-Forsch. 1, 375 (1951).

<sup>11</sup> D. P. MERTZ, *Die extrazelluläre Flüssigkeit* (Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart 1962).

## Wirkung von Actinomycin auf das Enzymmuster der Ratteniere während der Entwicklung

Während der Organogenese nimmt die Aktivität zahlreicher Enzyme laufend zu. Die hierbei wirksamen Regulationssysteme sind noch weitgehend unbekannt. Es bedarf der Klärung, ob die Aktivitätszunahme durch Regelkreise innerhalb der Zelle gesteuert werden kann, oder ob allein übergeordnete Systeme (z.B. das Endokrinium) eine Rolle spielen. Eine experimentelle Bearbeitung dieser Fragestellung scheint durch Eingriffe in die (Enzym-) Eiweißsynthese der Zelle möglich. Actinomycin D unterbindet die Bildung von Messenger-RNS und damit die Transskription der genetischen Information<sup>1</sup>. Als Modell für diese Untersuchungen eignet sich die Niere der Ratte besonders gut, da dort Zonen unterschiedlicher Aktivität bestehen (Rinde, Zona subcorticalis)<sup>2</sup>, und der Terminplan der Entwicklung für eine Reihe von Enzymen bekannt ist. — Wir haben männlichen und weiblichen Ratten beginnend am 12., 13., 14. und 15. Lebenstag je 3 Tage lang pro Tag pro 10 g Körpergewicht 2 µg Actinomycin D (50 µg in 1 ml 0,9%iger NaCl-Lösung) i.p. verabfolgt. Die Injektionen erfolgten jeweils zwischen 17.00 und 19.00 Uhr, die Tötung zwischen 08.00 und 09.00 Uhr am Tage nach der letzten Injektion. Zur Kontrolle erhielten Tiere statt Actinomycin D eine entsprechende Menge 0,9%ige NaCl-Lösung injiziert; außerdem untersuchten wir unbehandelte Kontrolltiere. Die Tötung erfolgte durch Dekapitation. 10 µ dicke Kryostatschnitte. Nachweis der alkalischen Phosphatase nach GOMORI (Modifikation nach PEARSE<sup>3</sup>) und v. DEIMLING<sup>4</sup>, der sauren Phosphatase nach BARKA<sup>5</sup> sowie von Leucinaminopeptidase, unspezifischer Esterase, NADH, Glucose-6-Phosphatase und β-Hydroxybuttersäuredehydro-

genase. — Von allen nachgewiesenen Fermenten zeigt sich ein deutlicher Effekt bei Tieren beiderlei Geschlechts nur für alkalische Phosphatase. Betroffen sind in erster Linie die geraden Abschnitte der Hauptstücke (Zona subcorticalis). Nach dreitägiger Behandlung mit Actinomycin kommt es beim Weibchen zu einer deutlichen Aktivierung der alkalischen Phosphatase in der Zona subcorticalis. Die Aktivität dieses Fermentes, die bei den Kontrolltieren in dieser Zone zwischen dem 12. bis 28. Lebenstag geringer als in der Rinde ist, überschreitet nach Behandlung die Rindenaktivität. Beim Männchen wird durch Actinomycinbehandlung ebenfalls die Zona subcorticalis aktiviert, jedoch erreicht die Aktivität nur die der Rinde. Ähnlich verhält sich bei männlichen Tieren die saure Phosphatase. In lokalisatorischer Hinsicht tritt durch Actinomycin bei keinem der Fermente lichtmikroskopisch eine nachweisbare Veränderung ein: alkalische Phosphatase ist an den Bürstensaum, saure Phosphatase an das Cytoplasma gebunden.

Unsere Ergebnisse weisen darauf hin, dass Actinomycin an der Ratteniere während der Entwicklung nicht unmittelbar in das Bildungssystem der Phosphatasen eingreift. Wäre dies der Fall, hätte es zu einer Verminderung

<sup>1</sup> F. H. GOLDBERG und E. REICH, Fedn Proc. Fedn Am. Soc. exp. Biol. 20, 958 (1964).

<sup>2</sup> O. v. DEIMLING und H. NOLTENIUS, Histochemistry 3, 500 (1964).

<sup>3</sup> A. E. G. PEARSE, *Histochemistry*, 2nd edn (Churchill Ltd., London 1960).

<sup>4</sup> O. v. DEIMLING, Histochemistry 4, 48 (1964).

<sup>5</sup> T. BARKA und P. J. ANDERSON, *Histochemistry* (Harper and Row, Inc. 1963).