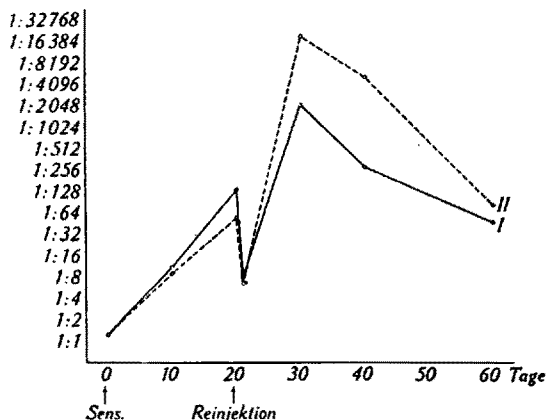


aber treten nach solchen Reinjektionen oft unerwünschte anaphylaktische Erscheinungen auf (Allgemeinreaktionen wie Atemnot, Kollaps etc.).

Nun ist bekannt, daß mit sogenannten Antihistaminstoffen das Auftreten anaphylaktischer Reaktionen weitgehend verhindert werden kann (siehe HALPERN¹ u. a.). Es wäre daher wichtig, zu wissen, wie weit man von dieser Schutzfunktion der Antihistaminstoffe Gebrauch



machen darf, ohne daß dadurch die Antikörperbildung beeinträchtigt wird. Um darüber Aufschluß zu bekommen, haben wir gleiche Gruppen von je 9 Kaninchen mit Eieralbumin (als Antigen) sensibilisiert. 20 Tage später erhielt eine Gruppe (I) 20 cm³ 2prozentige Eieralbuminlösung intravenös reinjiziert. Alle Tiere dieser Gruppe reagierten mit schweren anaphylaktischen Symptomen (Seitenlage, Stuhl- und Urinlassen, Atemnot etc.). Eine andere Gruppe (II) erhielt 20 cm³ einer 10prozentigen Eieralbuminlösung reinjiziert. Vorgängig (1/2 Stunde) dieser Reinjektion erhielten die Tiere jedoch 20 mg/kg eines hochwirksamen Antihistaminstoffes subkutan (z. B. Antistin-Ciba (2-[N-phenyl-N-benzylaminomethyl]imidazolin)). Trotz der fünfmal größeren Eieralbumindosis zeigten diese Tiere keinerlei anaphylaktische Symptome. Das Verhalten des Antikörpertiters (Serumpräzipitine) dieser beiden Gruppen ist aus der obenstehenden Tabelle ersichtlich.

Aus diesen Versuchen ergibt sich folgendes: Auch unter der Wirkung eines Antihistaminstoffes ruft eine Reinjektion Antikörperbildung hervor. Diese ist bedeutend höher als bei den Kontrolltieren. Unter dem Schutz des Antihistaminstoffes kann eine wesentlich höhere, sonst nicht tolerierte Antigenmenge gegeben werden. Diese Möglichkeit ist die Grundlage der verbesserten Antikörperproduktion.

ROLF MEIER und KARL BUCHER

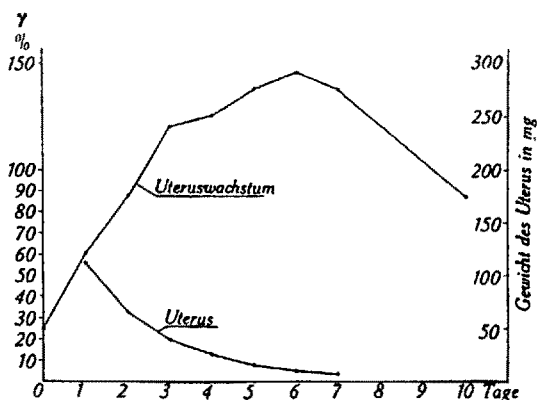
Wissenschaftliche Laboratorien der Ciba Aktiengesellschaft, Basel, den 6. März 1946.

Summary

To produce antisera of high antibody concentration animals after sensitization with protein have been reinjected with lethal doses of the antigen, protected against the shock-effect by substances with antihistamin properties (as example Antistin). The antibody concentration was considerably higher in these animals as in the other non-protected group reinjected with the highest tolerated antigen dosage.

Zusammenhang zwischen Konzentration der 7-Methylbisdehydrodoisynsäure im Uterus und ihrem Wachstumseffekt

Für die Analyse des Angriffspunktes pharmakologischer Wirkungen ist die Bestimmung des Wirkstoffes in den von der Wirkung betroffenen Organen, Zellen und gegebenenfalls ihren Teilen eine wesentliche Voraussetzung. Die Beziehung der Konzentration des Wirkstoffes zur Konzentration von Zellbestandteilen, das Verteilungsgleichgewicht Lösung zu Zelle, bietet Anhaltspunkte für die Beurteilung der der Wirkung zugrunde liegenden chemisch-physikalischen Reaktion. Für die Sterinhormone ist bisher nicht bekannt, ob ihre hohe Wirksamkeit durch Anreicherung in den spezifisch reagierenden Organen oder durch besonders hohe Empfindlichkeit derselben zustande kommt. Nachdem der eine von uns¹ die besonders hohe perorale Wirksamkeit der Bisdehydrodoisynsäure, eines den natürlichen Hormonen chemisch nahestehenden, von MIESCHER² synthetisch gewonnenen Östrogens, festgestellt hatte, wurde es möglich, eine einfache biologische Bestimmungsmethode dieses Wirkstoffes in den Organen der behandelten Tiere auszuarbeiten. Einzelheiten dieser Methode und Angabe von Organkonzentration und Ausscheidungswerten werden andernorts mitgeteilt. Die besonders interessierende Frage war die Feststellung der wirksamen Konzentration im Uterus als desjenigen Organs, das spezifisch auf den Wirkstoff reagiert. In der anliegenden Kurve sind die Werte der Konzentration im Uterus und die Wachstumskurve des Organs nach einmaliger Gabe von 1 mg/kg an der Ratte zusammengestellt. Aus diesen Werten ergibt sich, daß ein Wachstumsgleichgewicht des Uterus bei Konzentrationen von



Gehalt des Uterus an Methylbisdehydrodoisynsäure in % (Ratte) nach einmaliger stomachaler Gabe von 1 mg/kg.

3–4 g/100 g Uterus vorhanden ist, höhere Konzentrationen bewirken Gewichtsanstieg, bei niederen kommt es zu Gewichtsabnahme. Der Zusammenhang zwischen konstanter Konzentration im Uterus und Wachstumsvorgang wird weiter untersucht.

Die absoluten Werte im Uterus liegen bei Vergleich mit anderen Organen etwas höher als die Werte der Muskulatur und tiefer als die der Leber, das durchschnittliche Verhältnis in den gut bestimmbarsten Werten beträgt: Muskel:Uterus:Leber = 1:2:5. Es kommt also zu einer gewissen Anreicherung im Uterus, doch ist der

¹ E. TSCHOPP, Schweiz. med. Wschr. 74, 1310 (1944).

² K. MIESCHER, Schweiz. Naturf. Ges. vom 3. September 1944. Helv. chim. acta 27, 1153 (1944).

¹ B. N. HALPERN, Arch. int. Pharmacodyn. 68, 339 (1942).

Uterus gegenüber anderen Organen keineswegs durch eine besondere Anhäufung ausgezeichnet. Die Organkonzentration im spezifisch beeinflussten Organ liegt also bei etwa $3 \cdot 10^{-8}$, das heißt bei einer Konzentration des östrogenen Stoffes, die etwa derjenigen der autonomen Wirkstoffe entspricht.

R. MEIER und E. TSCHOPP

Aus den wissenschaftlichen Laboratorien der Ciba Aktiengesellschaft, Basel, den 6. März 1946.

Summary

After administration of methylbisdehydrodisynolic acid (1-ethyl-2-methyl-7-methoxy-tetrahydro-phenantryl-2-carbonic acid) the content of this oestrogen in the uterus of the spayed rat has been determined. It has been found, that a concentration of 3–4 μ /100 g uterus tissue is necessary for the growth reaction of the organ. The concentration in the uterus lies between the concentration of muscle and liver. So the specific sensitivity of the uterus must be responsible for his reaction to an oestrogen.

La spécificité de la réaction de Feulgen pour la détection de l'acide thymonucléique

La réaction de Feulgen est employée couramment pour la détection de l'acide thymonucléique; mais récemment STEDMAN et STEDMAN^{1,2,3} et CARR⁴ ont émis certains doutes sur sa spécificité. STEDMAN et STEDMAN pensent que le colorant formé au cours de la réaction entre l'acide thymonucléique et l'acide fuchsine sulfureux serait soluble: il ne se fixerait pas *in situ* sur l'acide thymonucléique, mais il surcolorerait secondairement une protéine acide, fortement basophile, présente dans la chromatine (chromosomine). C'est pourquoi STEDMAN doute fortement de ce que l'acide thymonucléique soit un constituant de la chromatine; ce point de vue audacieux a été d'ailleurs critiqué par CALLAN⁵, par CASPERSSON⁶ et par SERRA⁷. Quant aux objections de CARR, elles résident notamment dans le fait que l'hydrolyse acide préalable à la réaction colorée détruirait presque tout le cytoplasme sans toucher le noyau: celui-ci seul donnerait la réaction parce que le cytoplasme se serait réduit à un «fantôme» au cours de l'hydrolyse. En outre, CARR estime que la réaction de Feulgen est due à une adsorption du colorant formé au niveau des chromosomes et non à une réaction chimique localisée, pour la raison suivante: si on ajoute un excès considérable de SO_2 au réactif ou si on traite une coupe hydrolysée par de l'eau riche en SO_2 avant de la plonger dans le réactif, on obtient une réaction normale; or, selon CARR, le désoxyribose aurait du réagir avec l'excès de SO_2 et la réaction aurait donc dû être négative.

Les expériences suivantes ont eu pour but de rechercher si ces critiques sont réellement valables:

1° CALLAN⁵ et SERRA⁷ ont fait remarquer que la réaction de Feulgen devient négative lorsqu'on traite une préparation microscopique par de la thymonucléodépolymérase. Nous avons pu confirmer ce fait en utilisant une préparation enzymatique très active préparée

suyant la méthode de FISCHER¹ et coll.: à condition d'activer l'enzyme par l'addition d'ions Mg^{++} , on obtient la disparition totale de la réaction de Feulgen et de la basophilie de la chromatine en quelques minutes, tandis que la basophilie cytoplasmique, due à l'acide ribonucléique, se maintient. On retrouve de l'acide thymonucléique libéré dans la solution enzymatique, si on effectue la réaction de DISCHE² sur celle-ci. Ces résultats suggèrent que la basophilie de la chromatine est due, non pas à la chromosomine, mais à l'acide thymonucléique. Notons en passant que l'acide thymonucléique résiste à l'action de l'enzyme dans le cas de certains noyaux (spermatozoïdes de Mammifères, globules rouges de Batraciens): peut-être l'acide thymonucléique se trouve-t-il, dans ces noyaux, sous une forme différente ou est-il lié plus étroitement aux protéines.

2° On n'observe pas de dissolution appréciable du cytoplasme lorsqu'on surcolore par un colorant acide. L'hydrolyse ne détruit donc pas le cytoplasme dans ces conditions, mais elle fait disparaître la basophilie cytoplasmique en attaquant sans doute l'acide ribonucléique.

3° En ce qui concerne les effets d'un excès de SO_2 , nous avons retrouvé les résultats de CARR; mais nous avons constaté que la réaction de Feulgen donnée par l'acide thymonucléique *in vitro* n'est pas non plus influencée par l'addition de grosses quantités de SO_2 . Il faut en conclure que le produit de l'hydrolyse acide de l'acide thymonucléique (acide thyminique) ne réagit pas avec SO_2 . Il réagit par contre avec SO_3NaH (en milieu non acide), dont un excès bloque la réaction de Feulgen *in vitro*; un traitement de coupes microscopiques par SO_3NaH , intercalé entre l'hydrolyse acide et la réaction colorée, bloque également le développement de la réaction de Feulgen, comme l'ont montré FEULGEN et VOIT³ et comme nous l'avons vérifié. Le comportement de l'acide thymonucléique vis-à-vis de SO_2 et de SO_3NaH est donc identique sur coupes et *in vitro*.

4° Enfin, nous avons recherché si l'acide thymonucléique résiste à l'hydrolyse acide ou s'il se dissout au cours de celle-ci. Dans une première série d'expériences, une suspension de globules rouges de Poulet ou de noyaux isolés de ces globules rouges a été traitée par HCl N pendant 5 minutes à 60° C. Dans certains cas, le matériel avait été préalablement fixé au Zenker ou à l'alcool. Après l'hydrolyse, on centrifugeait et dosait l'acide thymonucléique dans le liquide et le culot par la méthode de DISCHE²: la réaction a toujours été négative dans le liquide d'hydrolyse et on retrouvait la totalité de l'acide thymonucléique dans le culot.

Une seconde expérience a consisté à fixer à l'alcool ou au Zenker de l'acide thymonucléique hautement polymérisé préparé par la méthode de FEULGEN; les précipités furent enrobés dans de l'agar, puis de la paraffine et coupés au microtome. Si on effectue la réaction de Feulgen sur ces coupes, on obtient une coloration intense; cette coloration est parfaitement localisée au précipité après fixation au Zenker, plus diffuse après fixation à l'alcool.

Ces deux expériences montrent clairement que l'acide thymonucléique ne se dissout pas de façon appréciable au cours de l'hydrolyse préalable à la réaction de Feulgen. On peut conclure de ces divers essais qu'il

¹ E. STEDMAN, Edinb. medic. J. 51, 353 (1944).

² E. STEDMAN et E. STEDMAN, Nature 152, 267, 505, 556 (1943).

³ E. STEDMAN et E. STEDMAN, Nature 153, 503 (1944).

⁴ J. G. CARR, Nature 156, 143 (1945).

⁵ H. G. CALLAN, Nature 152, 503 (1943).

⁶ T. CASPERSSON, Nature 153, 499 (1944).

⁷ J. A. SERRA, Bol. Soc. Broteriana 17, 203 (1943).

¹ F. G. FISCHER, I. BÖTTGER et H. LEHMANN-ECHTERNACHT, Z. physiol. Chem. 271, 246 (1941).

² Z. DISCHE, Mikrochem. 2, 4 (1930).

³ R. FEULGEN et K. VOIT, Pflügers Arch. ges. Physiol. 206, 389 (1924).