

0.04 M NaIO<sub>4</sub> in a water-bath for 1,000 minutes at 50°C, (4) hydrolysis with about 0.5 N HCl for 90 minutes at 100°C, (5) and (6) digestion with 0.01 p.c. crystalline trypsin solution for 60 minutes at 25°C,  $\text{pH}$  8.50, (6) followed by heating in a water-bath for 60 minutes at 100°C. After this treatment the samples (2–6) were dialysed against distilled water. The effect of these preparations and of the untreated solutions (0) on the coagulation process is summarized in the figures.

Dialysis had a somewhat diminishing effect, heating and tryptic digestion had no effect, whereas periodate oxidation and acid hydrolysis decreased or destroyed the impeding effect on blood clotting by both heparin and the jelly-coat substance. These studies demonstrate that the jelly-coat substance exerts an antithrombic action which, however, is about twenty times weaker than that of heparin. An inhibitory effect on blood coagulation is

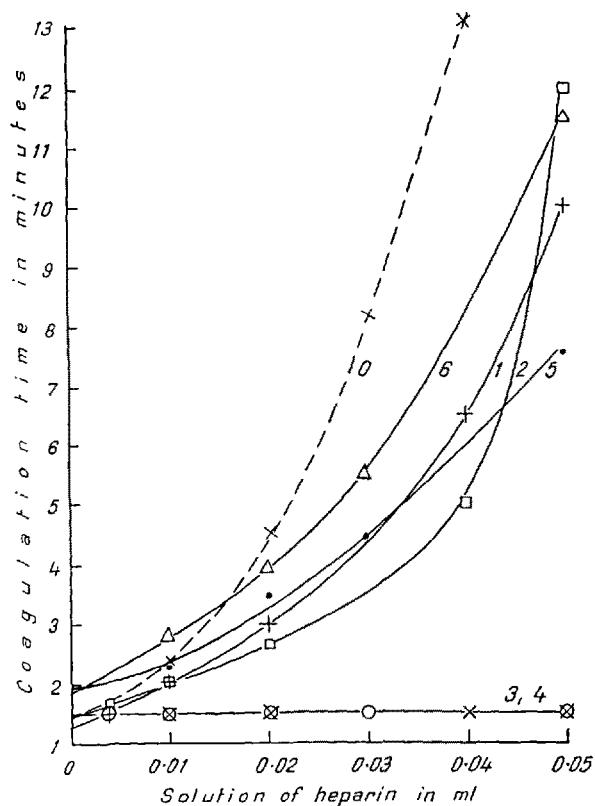


Fig. 1 a. – Influence of heparin (Vitrum) solution (0.250 mg p. ml) on the coagulation of citrated pig plasma.

- 0 × ——× untreated solution
- 1 + ——+ dialysed
- 2 □ ——□ heated and dialysed
- 3 × ——× oxidized and dialysed
- 4 ○ ——○ hydrolysed and dialysed
- 5 ■ —■● digested and dialysed
- 6 Δ —Δ△ digested, heated, and dialysed

also obtained with jelly-coat solutions from other sea-urchin species.

The chemical composition of the jelly-coat substance is indeed rather similar to heparin. With a refined modification of the orcinol reaction of SØRENSEN and HAU-GAARD the polysaccharide nature<sup>1</sup> has been confirmed. Sulphate determinations bear evidence that the acid groups<sup>1</sup> depend on ester-linked sulphuric acid (cf. VASSEUR<sup>2</sup>). The jelly coat *in situ* presents a typical meta-

chromatic staining with toluidine blue. It is interesting to note that the agglutinating power of the jelly-coat solution of *Echinus esculentus* is only feebly affected by heating and by tryptic digestion, but is not resistant against periodate oxidation and acid hydrolysis.

J. IMMERS and E. VASSEUR

Wenner-Gren's Institute for Experimental Biology,  
University of Stockholm, Sweden, August 16, 1948.

### Zusammenfassung

Es wird gezeigt, daß die Gallerthüllensubstanz des Seeigels, die vielleicht mit Fertilizin identisch ist, jedenfalls aber dieses enthält, wie Heparin auf die Koagula-

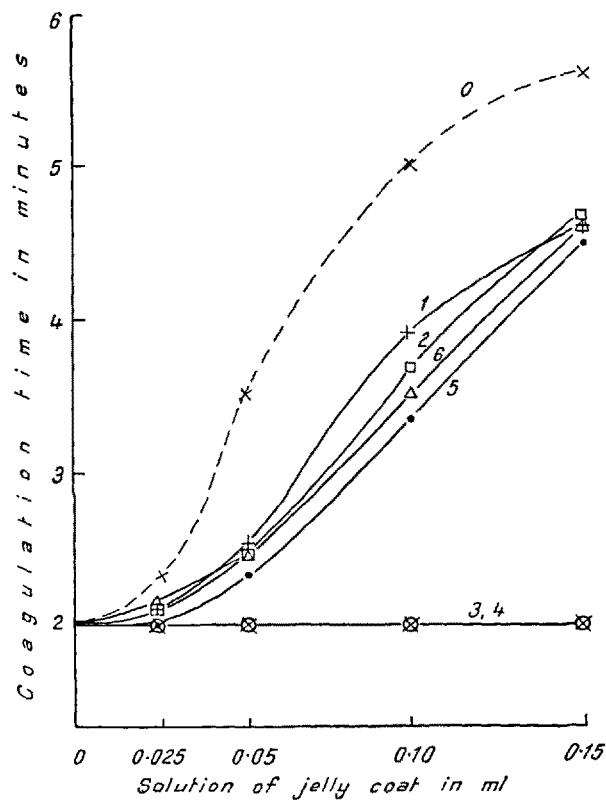


Fig. 1 b. – Influence of jelly-coat solution of *Echinus esculentus* L. (1.050 mg p. ml) on the coagulation of citrated pig plasma.

tion des Blutes hemmend wirkt. Diese Wirkung wird durch Perjodatoxydation sowie durch saure Hydrolyse zerstört, nicht aber durch Erhitzung oder tryptische Spaltung.

### Über die Nachweisbarkeit des Äthylesters der 3,3'-Dicumarinylessigsäure und des Dicumarols im menschlichen Blut

Eine Erschwerung der Dicumarolbehandlung ist die lange Wirkungsdauer einer einmal gegebenen Dosis. Versuche, die Gründe dieser längeren Wirkungsweise näher zu analysieren, sind uns bisher nicht bekannt geworden.

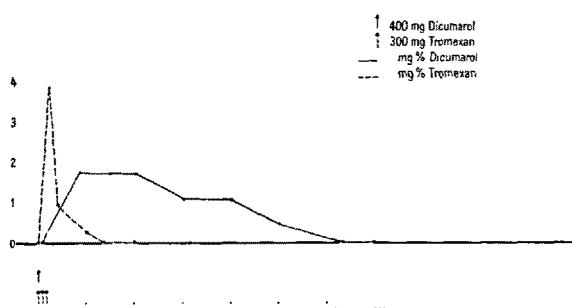
Die Einführung von Dicumarolderivaten mit wesentlich kürzerer Wirkungsdauer in die Therapie hat diese Frage in den Vordergrund gestellt. Insbesondere wäre es interessant, die Ursachen dieses unterschiedlichen Verhaltens der Derivate zu erfahren.

<sup>1</sup> J. RUNNSTRÖM, A. TISELIUS, and E. VASSEUR, Ark. Kemi Mineral., Geol. 15 A, No. 16 (1942).

<sup>2</sup> E. VASSEUR, Ark. Kemi, Mineral. Geol. 25 B, No. 6 (1947).

Im Tierversuch konnte auf Grund einer neuen Analysenmethode<sup>1</sup>, welche erlaubt, den Blutspiegel von Dicumarolderivaten im Blut zu messen, gezeigt werden, daß Dicumarol sehr viel länger im Blut nachweisbar bleibt als sein flüchtiger wirkendes Derivat, der

Tromexan- und Dicumarolblutspiegel beim Menschen nach einmaliger Dosis

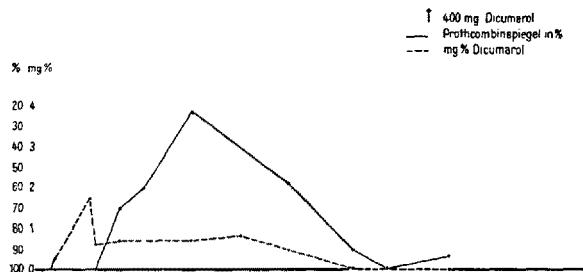


Kurve I: Dicumarol- und Tromexanblutspiegel nach einmaliger Dosis.

Äthylester der 3,3'-Dicumarinylsuccäure (Tromexan). Auch beim Menschen bestätigte sich das rasche Verschwinden des letzteren nach einmaliger Dosis.

Bezüglich Dicumarol und wiederholter Tromexandosen sind solche Untersuchungen am Menschen noch nicht unternommen worden. In der obigen Kurve I sind am Menschen eine einmalige wirksame Dosis von Tromexan (900 mg) und Dicumarol (400 mg) verglichen worden. Der Tromexanspiegel steigt rasch an, um alsbald wieder abzufallen. Das Medikament ist bereits nach 36 Stunden nicht mehr im Blut zu finden. Anders Dicumarol: es ist nach einer einzigen Dosis von 400 mg noch nach 5 Tagen im Blut nachweisbar. Hier dürfte ein Schlüssel zur Erklärung seiner prothrombinen Wirkung liegen und zugleich für die Erfahrung, daß Bluttransfusionen bei dicumarolbedingter Prothrombinsenkung oft nur einen vorübergehenden Effekt haben und daß nach Verbrauch des zugeführten Prothrombins Dicumarol weiterwirkt.

W-B.M.



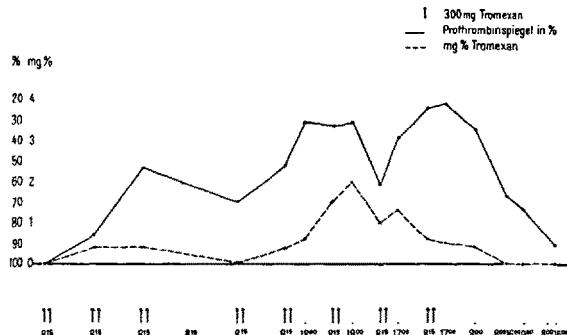
Kurve II: Dicumarolblutspiegel und Prothrombinspiegel nach einmaliger Dosis.

Kurve II zeigt hinsichtlich des Dicumarolspiegels, ebenfalls nach einer einzigen Dosis von 400 mg, die gleichen Verhältnisse; zugleich ist der Prothrombinspiegel mit eingetragen: seine Senkung kann naturgemäß erst dann eintreten, wenn das Medikament resorbiert worden ist und seine Wirksamkeit in der Leber entfalten kann. Die Prothrombinverminderung tritt erst in Erscheinung, nachdem in der Leber die Prothrombinsynthese blockiert wurde und das noch im Kreislauf vorhandene Prothrombin «aufgebraucht» worden ist. Interessant ist die Beobachtung, daß bei sinkendem Dicumarolspiegel offenbar die Prothrombinsynthese wieder in Gang kommt. Die Normalwerte sind hier 24 Stunden, in anderen Fällen etwa 48 Stunden nach dem Verschwinden des Dicumarols aus dem Blute, wieder erreicht.

Ähnlich liegen die Verhältnisse beim Tromexan. Hier verschwindet das Medikament jedoch viel schneller. Es verschwindet so rasch, daß es bei der Untersuchung 24 Stunden nach der letzten Gabe, nicht mehr immer, zumindest nicht bei seinen Maximalwerten, zu erfassen ist. Durch zusätzliche Abendkontrollen bei morgendlicher Dosierung gelingt diese Erfassung besser.

Kurve III zeigt eine Abhängigkeit des Prothrombinspiegels vom Tromexanblutspiegel. Aus dieser Kurve sind zwei Befunde ersichtlich: einmal ist bei fortlaufender Dosierung das Medikament im Gegensatz zu Dicumarol 48 Stunden nach der letzten Dosis aus dem

W-J.F.



Kurve III: Tromexanblutspiegel und Prothrombinspiegel nach wiederholter Dosierung.

Blute verschwunden und zum anderen kommt es nach Absetzen beim Zurückgehen des Medikamentblutspiegels zu einer Steigerung der Prothrombinaktivität. Die Norm ist hier, etwa 48 Stunden, nachdem Tromexan nicht mehr nachweisbar ist, wieder erreicht. Die Leber braucht eine gewisse Zeit, bis sie nach Abklingen der Prothrombinsynthesehemmung Prothrombin in nachweisbaren Mengen nachliefern kann. Die Inaktivierungsverhältnisse beim Tromexan sind ungleich günstiger als beim Dicumarol, die Analyse erfaßt nicht nur das Tromexan selbst, sondern auch noch bereits praktisch unwirksame Abbaustufen.

Unsere Untersuchungen basieren auf insgesamt 26 Fällen. Ein sicherer Schluß aus der Höhe des Tromexan- oder Dicumarolblutspiegels auf die Prothrombinsenkung kann nicht gezogen werden. Jedoch geht der Wiederanstieg des Prothrombinspiegels nach Absetzen der Medikamente mit dem Maß des Verschwindens derselben aus dem Blut parallel, wenn auch die Norm erst 1–2 Tage nach dem Verschwinden wieder erreicht wird. Es scheint, als ob zur Wirkungsentfaltung von Dicumarol bzw. Tromexan diese in einer gewissen Konzentration im Blut vorhanden sein müssen und daß die Leber nach Unterschreiten dieser Konzentration ihre prothrombinbildenden Funktionen wieder aufnehmen kann. Wir haben auch beobachtet, daß der Prothrombinspiegel selbst beim Vorhandensein kleiner Tromexan-

<sup>1</sup> R. PULVER und K. N. v. KAULLA, Schweiz. med. Wschr. 78, 956 (1948).

mengen im Blut normal werden kann. Die Leber besitzt eine unterschiedliche Empfindlichkeit gegenüber diesen Medikamenten.

Über das Wesen dieses Inaktivierungsmechanismus selbst kann auf Grund unserer Versuche noch keine Aussage gemacht werden. Interessant wäre das Verhalten des Prothrombinspiegels zum Medikamentblutspiegel bei Vorliegen erwiesener Funktionsstörungen der Leber. Unser Material stammt von Wöchnerinnen und frisch gynäkologisch Operierten. Es ist noch zu klein, um bindende Schlüsse zu erlauben. Es geht aber daraus die lange Verweildauer des Dicumarols im Blut und die kürzere Verweildauer des Tromexans hervor, und es zeigt sich, daß ein Sinken des Tromexan- bzw. Dicumarolspiegels nach Absetzen der Medikation von einem Wiederanstieg der Prothrombinwerte begleitet ist. Es bestehen individuelle Schwankungen. Es kann daher – bei allem Vorbehalt – geschlossen werden, daß für die Dauer der Hemmung der Prothrombinbildung in der Leber (beim Lebergesunden) eine gewisse Konzentration von Dicumarol bzw. seinen Derivaten im Blut vorhanden sein muß. Die Fortführung dieser Versuche wird weitere Erkenntnisse über den Wirkungsmechanismus dieser wichtigen Medikamente bringen.

C. V. GIANELLA und K. N. v. KAULLA

Frauenklinik des Kantonsspitals Luzern und Forschungsabteilung der Firma J. R. Geigy, AG., Basel, den 23. November 1948.

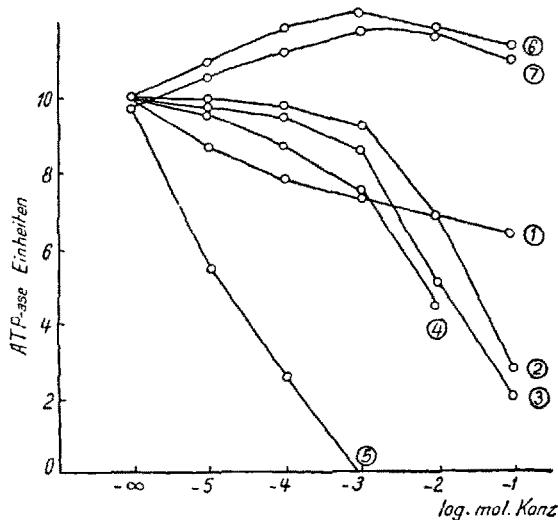
#### Summary

A new analytical method enables the content of Dicoumarol or Tromexan (ethyl ester of 3,3'-dicoumarinyl-acetic acid) in human blood to be followed. After a single dose, Dicoumarol can be traced in the blood for a longer period than Tromexan. No material amount of Tromexan remains in the blood for more than 36 hours after discontinuation of medication, even after repeated doses. In patients with intact liver functions, with both medicaments the prothrombin level of the blood increases as the Tromexan or Dicoumarol level decreases. Normal prothrombin levels in the blood are generally reached 1–2 days after discontinuation of the medicaments. It is thought that a certain concentration of these compounds must be present in the blood to ensure duration of action of both Dicoumarol or Tromexan.

Wir stellen fest, daß Natriumarseniat, Natriumsalizylat, Kaliumzyanid, Morphin, Azetylcholin, Pilokarpin, Adrenalin, Perkorten, Pikrotoxin die ATP-ase-Aktivität nicht beeinflußten. Chloralhydrat, Urethan, Natriumoxalat, Natriumfluorid, Kupfersulfat, Veratrin bewirkten dagegen eine deutliche Hemmung der ATP-ase (Abbildung). Diese Untersuchungen bestätigen somit bereits früher teilweise von POTTER und von SZENT-GYÖRGYI<sup>1</sup> erhobene Befunde.

Andererseits konnte mit zwei herzwirksamen Glykosiden, nämlich mit Strophosid und mit Digilanid eine regelmäßige, wenn auch geringgradige Steigerung der ATP-ase-Aktivität erzielt werden (Abbildung).

Klinisch kann bei Intoxikation durch eine der beschriebenen, die ATP-ase hemmenden Substanzen das Syndrom der sog. energetisch-dynamischen Herzinsuffizienz beobachtet werden.



Graphische Darstellung der ATP-ase-Beeinflussung durch verschiedene Substanzen.

1 Urethan, 2 Oxalat, 3 Fluorid, 4 Veratrin, 5 Kupfersulfat, 6 Strophosid, 7 Digilanid.

Das Ergebnis dieser Untersuchungen stützt die Vermutung, daß die ATP-ase-Aktivität für die Kraft der Herzmuskelkontraktion von ausschlaggebender Bedeutung ist. Diese Vermutung gründet sich auf die neueren Theorien der Muskelkontraktion, nach welchen die Energie für die Muskelerholung (energiereichere Phase) einzigt und allein vom von der ATP-ase-Aktivität gesteuerten Zerfall der Adenosintriphosphorsäure geliefert wird.

Die Steigerung der ATP-ase-Aktivität des Herzmuskels durch herzwirksame Glykoside andererseits gibt möglicherweise einen Hinweis auf den Wirkungsmechanismus dieser Substanzen bei der Herzinsuffizienz.

R. HEGGLIN, H. GRAUER und R. MÜNCHINGER

Medizinische Universitätsklinik Zürich, den 29. November 1948.

#### Summary

ATP-ase-activity of fresh cardiac muscle is decreased by substances which produce clinically the so-called energetic dynamic heart failure. On the other hand ATP-ase activity is increased by cardiac glycosids.

<sup>1</sup> K. P. DUBOIS und V. R. POTTER, J. Biol. Chem. 150 (1943).