

dargestellten Verbindungen ist eindeutig; die zwei Carboxylgruppen sind in Orthostellung zum phenolischen Hydroxyl in das Molekül eingetreten. Beim Östron hingegen wäre noch eine zweite Formel möglich. Wir halten aber die obenstehende für wahrscheinlich, weil nach umfassenden Versuchen an Modellschubstanzen die Carboxylgruppe nur dann zwischen phenolisches Hydroxyl und C-haltigen Rest eintritt, wenn keine andere freie Orthostellung zur Verfügung steht.

Die Prüfung auf östrogene Wirksamkeit bei Ratten verlief bei den Carbonsäuren II und III bis zu Dosen von 100 µg, bei I sogar bis 150 µg negativ.

Wegen des nahen Zusammenhanges mit der Salizylsäure wurden auch einige bakteriologische Prüfungen vorgenommen. Die Hemmung auf die Säurebildung aus Glukose wurde nach der Methode von A. FLEMING¹ an a) *B. Shiga Kruse disenteriae*, b) *B. Coli* und c) *Staphylococcus Oxford* untersucht. II und III zeigten erst in 10⁻²molarer Konzentration an a und b Hemmung. Auch von Salizylsäure ist die gleiche Konzentration nötig. Gegen c sind sowohl II als auch III und Salizylsäure bis zu Konzentrationen von 10⁻² nicht wirksam.

Auch konnte in keinem einzigen Fall eine nennenswerte bakteriostatische Wirksamkeit festgestellt werden.

Experimenteller Teil

Dicarbonsäure des Hexöströls

6,0 g Hexöströl wurden mit 30 g wasserfreiem Kaliumcarbonat innig vermischt, in den Autoklaven eingebracht, 40 atü CO₂ kalt aufgebracht und 12 Stunden auf 260° erhitzt. Zur Aufarbeitung löste man das Reaktionsprodukt in Wasser, filtrierte unverändertes Hexöströl (ca. 2 g) ab und ätherte einmal aus. Die wässrige Lösung wurde mit Salzsäure angesäuert und mit Äther extrahiert. Nach Verdampfen des Äthers wurden 5,0 g (d. i. 63% d. Th.) Hexöströldicarbonsäure vom Äquivalentgewicht 184 (ber.: 179) erhalten.

Durch Umlösen aus Eisessig wurde die Säure in Form feiner Nadeln vom Schmelzpunkt 283–285° erhalten. Die Säure gibt mit Eisenchlorid in alkoholischer Lösung Blaufärbung.

Acetylierung

0,50 g rohe Hexöströldicarbonsäure wurden mit 13 cm³ Essigsäureanhydrid und 0,9 cm³ Phosphorsäure erhitzt, bis – nach kurzer Zeit – klare Lösung eintrat. Nach Stehen über Nacht, entsprechender Aufarbeitung und Umlösen der rohen Kristalle aus Alkohol wurden 0,28 g, d. i. 45% d. Th., Diacetat erhalten. Bei der Schmelzpunktbestimmung im Apparat nach KOFLER beobachtet man im polarisierten Licht bei 240° Umwandlung der Kristalle in eine isotrope Form, die bis 350° nicht schmilzt.

Dicarbonsäure des Diäthylstilböstrols

2,5 g Diäthylstilböstrol wurden mit 25 g (10fache Menge!) Kaliumcarbonat und CO₂ unter Druck bei 200°, wie beim Hexöströl beschrieben, carboxyliert. Es resultierten 0,96 g rohe Dicarbonsäure, d. i. 27% d. Th.; Äquivalentgewicht 183 (ber.: 178).

Die Säure fiel bei mehreren Ansätzen amorph an. Versuche, sie unter Verwendung der verschiedensten Lösungsmittel kristallisiert zu erhalten, führten nicht zum Ziel. Diese Säure wurde daher über den Methyltester gereinigt. Dabei wurden 0,16 g Ester, der aus der Rohsäure mit Diazomethan dargestellt worden war (Smp. 160–166°) mit 20 cm³ n/2 alkoholischer Kalilauge (ca. 10 Mol) bei Zimmertemperatur verseift. Die rohe Säure war kristallin und zeigte einen Schmelzpunkt (KOFLER) von 255–260° (SINTERN 245°). Nach Umkristallisieren aus Eisessig und Trocknen über Kalilauge bei 100° wurden 0,07 g reine Diäthylstilböstroldicarbonsäure vom Smp. 270–275° erhalten.

Carbonsäure des Östrons

0,148 g Östron wurden mit 1,4 g Kaliumcarbonat und CO₂ bei 230° 14 Stunden wie oben carboxyliert. Die in weißen Flocken ausfallende Säure wurde in einer Ausbeute von 0,053 g, d. i. 31% d. Th. erhalten.

Nach Umlösen aus Äther-Petroläther zeigte die Säure einen Schmp. von 245–250° (Zersp.). Äquivalentgewicht: 310 (ber.: 314).

¹ A. FLEMING, Brit. Med. J. 627 (1947).

Der mit Diazomethan in der üblichen Weise dargestellte Ester zeigte nach dem Umlösen aus Äther-Petroläther den Schmp. 171–173°.

F. WESSELY, K. BENEDIKT und H. BENDER

II. Chemisches Laboratorium und medizinisch-chemisches Institut der Universität Wien, den 28. April 1949.

Summary

Preparation of carboxylic acids derived from stilboestrol, hexoestrol, and oestrone is described. The acids have neither oestrogenic nor bacteriostatic properties.

Zur Frage der Leistungsspezifität abnormer Induktoren

Ich habe früher¹ eine Anzahl abnormer Gewebsinduktoren mit deutlicher leistungsspezifischer Wirkung auf die Gastrula des als Wirtstier verwendeten Molchs *Triton taeniatus* veröffentlicht. Seither habe ich versucht, durch sukzessive, auf verschiedenem Wege vorgenommene Weiterfraktionierung der Gewebe die Natur der in ihnen enthaltenen aktiven Faktoren zu analysieren. Besonders habe ich mich dabei dem Leber- und Nierengewebe vom Meerschweinchen zugewandt, die sich bei meinen früheren Versuchen als verschiedenartig leistungsspezifische Induktoren erwiesen haben.

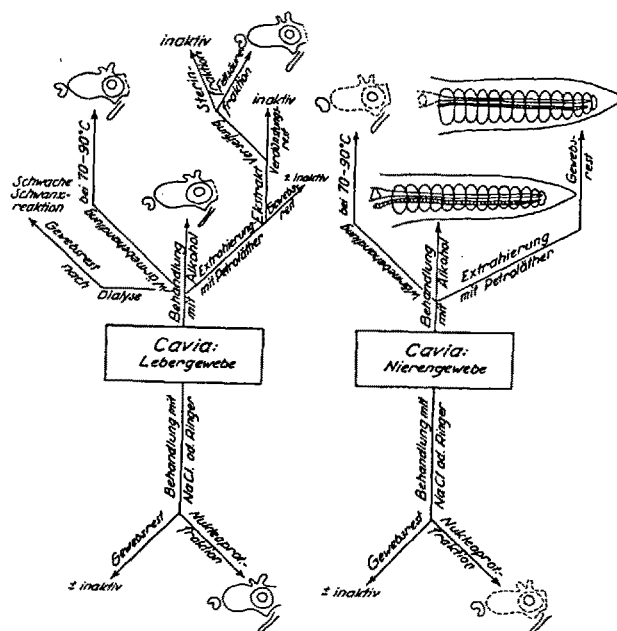


Abb. 1. Schematische Darstellung über die Induktionsleistungen der auf verschiedene Weise hergestellten Fraktionen von Leber und Niere des Meerschweinchen. Nähere Erklärung im Text.

Die Hauptpunkte meiner Befunde lassen sich in einem Schema zusammenfassen (Abb. 1). Aus diesem ist zu ersehen, daß mit Alkohol behandelte Meerschweinchenleber, mein typisch archenzephal² Induktor, bei Extraktion mit Petroläther seine Aktivität mehr oder minder einbüßt und danach nur noch ausnahms-

¹ S. TOIVONEN, Ann. Zool. Soc. «Vanamo» 6, 5 (1938); Ann. Acad. Sci. Fenn., Ser. A, 55, 6 (1940).

² F. E. LEHMANN, Einführung in die physiologische Embryologie (Basel 1945).

weise zu schwach archenzephalen Induktionen befähigt ist – das Gewebe hat danach in einigen Fällen auch eine schwache spinale Reaktion (z. B. Flossensaum) hervorgerufen. Diese Wandlung kann nicht anders gedeutet werden, als daß der Hauptteil der aktiven Faktoren, die ursprünglich den Anlaß zur archenzephalen Reaktion gaben, in den Petroläther übergegangen ist. Der Verdunstungsrückstand des Petroläthers auszusaugen, als solcher implantiert, hat sich indessen als völlig inaktiv erwiesen. Dies möchte ich so erklären, daß die freie Diffusion der im Verdunstungsrückstand enthaltenen aktiven Stoffe aus dem Implantat durch die übrigen Bestandteile, die fettartigen Substanzen, verhindert wird. Die nach vorgenommener Verseifung gewonnene Sterinfraction erwies sich als inaktiv, während die Fettsäurefraction wieder eine archenzephalie Leistung zeigte und zur Hauptsache dem Bereich dieser Region zugehörige Sinnesorgane (Nasen, Balancer, Augen, isolierte Linsen) und auch eigentliche Gehirnteile induzierte.

Wärmebehandlung des alkoholbehandelten Gewebes in Holtfreter-Ringer-Lösung bei 70–90° C beeinträchtigt die Leistungsintensität des Induktors, doch vermag das Gewebe weiterhin archenzephalie Sinnesorgane und ebenso nach kürzerer Wärmebehandlung Gehirnteile zu induzieren.

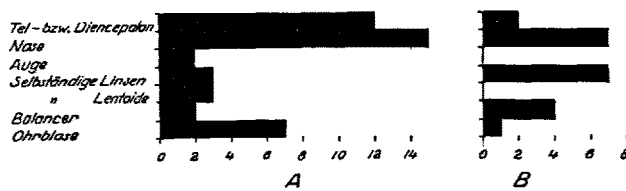


Abb. 2. Induktionsleistungen von Nukleoproteidfraktionen aus dem Lebergewebe (A) und dem Nierengewebe (B) des Meerschweinchens. Unten: die Anzahl der positiven Fälle.

Das Gewebe büßt bei Dialyse (in Dialyseröhren in fließendem Leistungswasser) sein archenzephalies Induktionsvermögen ein und induziert hiernach schwach spinal (das diesbezügliche Material ist allerdings beschränkt).

Aus einem frischen, mit Seesand zerriebenen Gewebe verschwindet die Induktionswirkung bei Durchschütteln in Holtfreter-Ringer- oder 1-n-NaCl-Lösung so gut wie vollständig. Das aus der Lösung mit Alkohol ausgefällte Koagulat, das offenbar u. a. die Nukleinstoffe enthält, induziert archenzephalie Gehirnteile und entsprechende Sinnesorgane.

Meerschweincheniere, die nach Vorbehandlung mit Alkohol als typischer leistungsspezifischer *spinaler*¹ Induktor wirkt, induziert in der Regel mehr oder minder vollständige Schwänze, dazu meistens auch Rhombenzephalon mit Ohrblasen. Läßt man auf die Alkoholbehandlung eine Extraktion mit Petroläther folgen, so wird die Schwanzwirkung des Gewebes gesteigert. Diese Induktionsgebilde lassen jedoch gegenüber solchen, die von nur mit Alkohol behandelten Geweben hervorgerufen wurden, den Unterschied erkennen, daß die Neuralkomponente, jetzt deutlich zurücktritt (Rhombenzephalon nebst Ohrblasen nur selten, Neuralrohr schwach); dagegen weist die Mesodermkomponente in den Induktionen offenbar zunehmende Tendenz auf.

Alkoholbehandelte Meerschweincheniere verliert ihre induzierende Wirkung, wenn man das Gewebe eine

halbe Stunde lang oder mehr bei 70–90° C in Holtfreter-Ringer-Lösung hält. Dagegen induziert sie jetzt archenzephalie Sinnesorgane bzw. deren Teile (Linsen) und nur im Ausnahmefall eigentliche Gehirnteile.

Bei gründlicher Durchschüttelung des fein zerriebenen Gewebes in Holtfreter-Ringer- oder 1-n-NaCl-Lösung wird dieses mehr oder minder inaktiv. Der aus dem Extrakt mit Alkohol gewonnene, wahrscheinlich die Nukleoproteine enthaltende Niederschlag induziert archenzephal, und zwar in erster Linie selbständige Linsen, Nasengruben und Balancer und nur ausnahmsweise eigentliche Gehirnteile.

Meine Auffassung ist nun auf Grund der oben dargestellten Versuchsergebnisse die, daß in der *Meerschweinchenleber* ein *archenzephaler Induktionsstoff* oder eine *Substanzgruppe* enthalten ist, zu deren Kennzeichen eine mehr oder minder große Wärmebeständigkeit, Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln und (möglicherweise dank geringerer Molekülgröße) leichtere Dialysierbarkeit aus dem Gewebe gehören. Bei Fraktionierung geht das Agens in die Fettsäuren und Nukleoproteine enthaltende Fraktionen über. Daneben enthält das Lebergewebe als geringe «Verunreinigung» ein spinale Induktionsagens, dessen Wirkung schwach zum Vorschein kommt, wenn man das Gewebe gründlich mit Petroläther extrahiert oder einer Dialyse unterwirft und auf diese Weise das archenzephalie Agens unterdrückt.

Das *Nierengewebe* des Meerschweinchens enthält dagegen einen *spinal induzierenden aktiven Stoff* oder eine *Substanzgruppe*, die thermolabil und in Petroläther unlöslich ist und auch nicht mit den Nukleoproteinen in die oben erwähnten Fraktionen übergeht. Außerdem ist in der Meerschweincheniere als «Verunreinigung» ein archenzephal wirkendes Induktionsagens vorhanden. Dieses letztgenannte bestimmt die Reaktionen des Wirtes dann, wenn zuerst das spinale Agens durch Wärmebehandlung oder Herstellung der Nukleoproteidfraktionen entfernt worden ist. Dabei gerät das spinale Agens wahrscheinlich in die Salzlösung und läßt sich aus dieser nicht mit Alkohol koagulieren. Der experimentelle Nachweis des spinalen Agens in der Lösung bietet wegen seiner Thermolabilität Schwierigkeiten; deshalb kann es auch nicht zu einem Agar- oder Eialbuminpräparat verarbeitet werden.

Auf Grund dieser Befunde beharre ich auf meiner früheren Ansicht, wonach für Induktion mehrere *qualitativ verschiedene Substanzen* verantwortlich sind. Am deutlichsten sind in unseren Versuchen zwei Stoffe oder Stoffgruppen: das archenzephalie und das spinale Induktionsagens. Beim Vergleich der Leistungen der verschiedenen Fraktionen von Meerschweinchenleber und -niere möchte ich neuerdings, im Gegensatz zu meiner früheren Anschauung, auch mit der Möglichkeit rechnen, daß der in der archenzephalen Induktionsleistung dieser beiden Gewebe hervortretende Unterschied – auch in der qualitativen Leistungsverchiedenheit – auf quantitativen Unterschieden ein und desselben archenzephalen Agens beruhen könnte: in der Leber reicht seine Menge wohl zum Induzieren eines vollständigen Archenzephalons mit Sinnesorganen aus, während das im Nierengewebe als kleinere Beimengung auftretende Archenzephalagens nur ausnahmsweise zum Hervorrufen eigentlicher Gehirnteile ausreicht und darum im allgemeinen nur für die Überschreitung des Schwellenwertes für die Induktion gewisser Sinnesorgane, meistens nur Nasengruben, Linsen und Balancer genügt.

SULO TOIVONEN

¹ F. E. LEHMANN, *Einführung in die physiologische Embryologie* (Basel 1945).

Zoologisches Laboratorium der Universität Helsinki, den 12. Mai 1949.

Summary

Implantation experiments in which heterogenous inductors are used show that at least two inductive substances or substance groups with specific action are included in those inductors: One, the archencephalic inductive agent, is thermostable, soluble in organic solvents, and passes over into the fractions with fatty acids and nucleoproteins; the other, the spinal inductive agent, is already destroyed at 70–90° C, is not soluble in organic solvents, and does not pass over into the fractions with fatty acids and nucleoproteins.

Die Bedeutung des Vorderhirns für das Verhalten von Eidechsen

Das Verhaltensinventar von normalen Eidechsen haben KRAMER¹ und besonders KITZLER² ausführlich beschrieben. Das Ziel der vorliegenden Untersuchung war, an diese Ergebnisse anknüpfend, die Bedeutung des Vorderhirns für das Verhalten durch operative Ausschaltung zu prüfen. Angaben darüber in der Literatur liegen von STEINER³ sowie von DIEBSCHLAG⁴ vor. Beide beinhalten aber relativ wenig Beobachtungen des Verhaltens in biologisch relevanten Situationen.

Die Tiere wurden in geräumigen, gut durchwärmten (Heizlampe) Terrarien gehalten. Die Operation bestand in einer osteoplastischen Eröffnung des Schädeldachs mit nachfolgender teilweiser oder gänzlicher Ausschaltung des Vorderhirns (Skalpell bzw. Thermokauter). Insgesamt 42 operierte und unter möglichst natürlichen Verhältnissen beobachtete Zauneidechsen (*Lacerta agilis*) wurden nach 4–32 Tagen getötet und die Gehirne mikroskopisch untersucht. Die dabei auftretenden Ausfallserscheinungen wurden nur dann gewertet, wenn sie gleich nach der Operation auftraten und über die ganze Beobachtungszeit unverändert anhielten, wenn man also annehmen konnte, daß es sich tatsächlich um spezifische Veränderungen handelte.

Ergebnisse. Gänzliche Ausschaltung des Vorderhirns (26 Tiere, davon 5 Tiere 32 Tage lang beobachtet) ohne Verletzung des Zwischenhirns schädigte sofort nach der Operation die Spontanität schwer, wie es auch schon STEINER³ beschrieben hat (einseitige vollständige Abtragung des Vorderhirns [4 Tiere] hatte bis nach 32 Tagen keine merklichen Veränderungen zur Folge). Die Tiere verloren ihre Orientierung im bekannten Raum, suchten nicht mehr die gewohnten Verstecke, Sonnenplätze usw. auf, gruben sich nicht ein und liefen nicht vor der zugreifenden Hand weg, was mit den Beobachtungen von DIEBSCHLAG⁴ übereinstimmt. Bewegte Nahrung (kriechender Mehlwurm) wurde vereinzelt noch fixiert, aber nicht gefressen. Wasser wurde nicht beachtet. Der Tonus war nicht eindeutig verändert, bald verstärkt, bald vermindert. Der Kopf wurde nicht mehr, wie normal, erhoben getragen, sondern die Kehle streifte auch während des Laufens den Boden. HACKER⁵ fand die gleiche Erscheinung nach Ausfall des Kleinhirns.

Die Atmung war viel regelmäßiger als beim normalen Tier, das kurze «Schnaufen» beim Weglaufen erhalten,

ebenso Gähnen. Lokomotion trat, mit einigen Ausnahmen, nur nach Reizung (Kneifen, Stechen usw.) des Tieres auf. Das Laufen war verlangsamt, normal koordiniert und vor allem eckig, «hampelmannartig» und bald ermüdbar. Die sehnige Gespanntheit normaler Tiere war völlig verschwunden. Die Eidechsen sprangen jedoch noch überraschend viel. Operierte Tiere schwammen nur mehr schlängelnd mit nach hinten gestreckten Vorderextremitäten (vielleicht homologe Bewegung zur Schwimmweise der Urodelen als «phylogenetischer Rückfall»).

Fremdreflexe waren als «Fluchtreflexe» der Extremitäten sowie Wegdrehen des Kopfes von einer in die Nähe gehaltenen heißen Nadel nachweisbar. Beachtenswert ist dabei, daß beide Bewegungen in fünf Fällen in rhythmischem Hin- und Herbewegen ausgeführt wurden. Berühren der Flanken oder seitlichen Thoraxwand hatte Krümmen von der Reizquelle weg, in 30 % nach der Reizquelle hin zur Folge. Alle diese Reflexe zeigt das intakte Tier nicht, da derartige Reize immer nur Flucht auslösen.

Nach ausschließlicher Zerstörung der dorsalen Vorderhirnanteile (12 Tiere, davon 9 Tiere bis zum 32. Tag nach der Operation beobachtet) wurde der Schwanz selbst bei intensiveren Reizen nicht mehr abgeworfen. Es handelt sich hier zweifellos um die Ausschaltung der von SLOPOLSKY¹ vermuteten «zerebralen Komponente» beim Autonomieakt. Ferner hatten – wie manchmal auch normale, aber unterkühlte Eidechsen – regelmäßig einen Greifschwanz, d. h. bei Berührung ringelte sich der Schwanz nach der Seite der Reizeinwirkung (um Finger oder Stäbchen usw.). Auch dies läßt an Homologie zum Greifschwanz von Urodelen denken. Bei zwei Eidechsen trat als Enthemmungserscheinung ein irreversibles Dauer-Rippenspreizen (Sonnenbadstellung) auf. Labyrinth-, Hals- und Stellreflexe sowie der Umdrehreflex waren nach Vorderhirnabtragung verstärkt bzw. weniger ermüdbar. Daraus läßt sich der Schluß ziehen, daß das Vorderhirn besonders dessen dorsale Teile, die extrapyramidale Motorik hemmt.

Die Nahrungsaufnahme war erheblich gestört. Zuzschnappen, Kauen und Schlucken war nicht sinnvoll koordiniert, so daß es regelmäßig zu Leerläufen der genannten Bewegungen kam. Die Vertauschung einzelner Handlungselemente erinnerte stark an Apraxien. Trinken war unmöglich, da die Tiere das Wasser offenbar nicht mehr als solches erkannten. Wassertropfen wurden aber von der Schnauzenspitze abgeleckt. Die Tiere mußten zwangsweise ernährt werden, wobei öfters Schluckstörungen auftraten.

Die von KRAMER² erstmals beschriebene soziale Reaktion des «Tretelns» (d. i. «Demutsgebärde») war bei 75 % der Tiere verstärkt, auch wenn sie sich einem schwächeren Artgenossen gegenüber sahen. Imponieren wurde auch bei kräftigen Männchen nicht mehr beobachtet. Das Drohen (Aufrichten des Körpers und Maulaufreißen – defensives Beißen nach KITZLER³) war hingegen besonders leicht auslösbar. Treteln und Drohen werden offenbar durch das Vorderhirn unter Hemmung gehalten.

Es ist beabsichtigt, diese Ergebnisse durch elektrische Reizungen weiter auszubauen.

H. PRECHTL

Physiologisches Institut der Universität Wien, den 17. April 1949.

¹ G. KRAMER, Morphol. Ökol. d. Tiere 32 (1937).

² G. KITZLER, Z. Tierpsychol. 4, 353 (1941).

³ Js. STEINER, Sitzungsber. Königl. preuß. Akad. Wissensch. zu Berlin XXXII, 539 (1886).

⁴ E. DIEBSCHLAG, Zool. Anz. 124, 30 (1938).

⁵ A. HACKER, Z. vergl. Physiol. 15, 679 (1931).

¹ B. SLOPOLSKY, Z. vergl. Physiol. 9, 82 (1929).

² G. KRAMER, Morphol. Ökol. d. Tiere 32 (1937).

³ G. KITZLER, Z. Tierpsychol. 4, 353 (1941).