

71. Über die Wirkung von weiblichen Sexualhormonen auf die Meerschweinchenzitze.

Weitere Untersuchungen zur quantitativen Auswertung des lokalen *Nipple*-Test

von W. Jadassohn, H. E. Fierz-David und G. Ruffoni.

(25. IV. 40.)

„Unter ‚lokaler *Nipple*-Test‘ verstehen wir ein Verfahren, bei dem der Längenzuwachs der Zitze eines männlichen Meerschweinchens bestimmt wird, nachdem während einer bestimmten Zeit eine Hormonlösung auf diese Zitze aufgetropft wurde.“ Frühere Untersuchungen aus unserem Laboratorium haben gezeigt, „dass dieses Verfahren zur Eichung von Präparaten geeignet ist, die Oestron enthalten“. Was die Technik des Verfahrens anbelangt, so sei hier auf die früheren Mitteilungen verwiesen^{1) 2) 3) 4) 5) 6) 7) 8) 9)}.

Oestronversuche.

In der letzten Mitteilung über den *Nipple*-Test⁹⁾ wurden 7 Lösungen untersucht, die verschiedene Mengen Oestron enthielten. Jede Lösung wurde auf 20 Zitzen täglich aufgetropft, und es wurde für jede Konzentration das arithmetische Mittel der Zitzenzuwachsweite berechnet. Für jede Konzentration wurde ferner der mittlere Fehler berechnet und dieser mit 2,6 multipliziert. Der Anteil der Versuche, bei denen ein grösserer Unterschied zwischen gefundenem und wahren Mittelwert beobachtet wird, ist dann ca. 1:100. Diesen Fehler bezeichnen wir mit $\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$ (vgl. *Burn*¹⁰⁾). Die Resultate haben wir in Kurven wiedergegeben, bei denen wir in der Abszisse den dekadischen Logarithmus der Dosis und in der Ordinate den durchschnittlichen Zuwachs von 20 Zitzen auftrugen.

1) W. Jadassohn, E. Uehlinger und W. Zürcher, *Helv. med. acta* **4**, 199 (1937).

2) W. Jadassohn, E. Uehlinger und W. Zürcher, *Klin. Wochschr.* **9**, 313 (1937).

3) W. Jadassohn, E. Uehlinger und A. Margot, *Verh. Schweiz. Naturf. Ges.* **1937**, 186.

4) W. Jadassohn, E. Uehlinger und A. Margot, *J. invest. dermat.* **1**, 31 (1938).

5) H. E. Fierz, W. Jadassohn, E. Uehlinger und R. Monnier, *Nature* **141**, 974 (1938).

6) W. Jadassohn, E. Uehlinger und A. Margot, *Rev. path. comp. et hyg. gén.* **38**, 1056 (1938).

7) H. E. Fierz, W. Jadassohn und E. Uehlinger, *Schweiz. med. Wochschr.* **37**, 1056 (1938).

8) P. Looser, *Diss. Zürich* 1939.

9) F. Fierz, *Helv.* **22**, 989 (1939).

10) J. H. Burn, *Biol. Auswertungsmethoden*, Springer, Berlin (1937).

Wir haben jetzt weitere 5 Oestronlösungen an je 20 Zitzen untersucht. Früher haben wir das Oestron in Wasser gelöst, dem auf je 0,005 γ Oestron 4 γ Aceton und 0,5 γ Igepon hinzugefügt worden waren. Die neu untersuchten Lösungen haben wir so hergestellt, dass wir das Oestron in Aceton und Wasser zu gleichen Teilen lösten. Vom November 1938 bis zum März 1940 haben wir jetzt im ganzen 12 verschiedene Oestronlösungen untersucht, jede an 20 Zitzen. Wir geben die Resultate der bereits publizierten und der neuen Untersuchungen in der Tabelle I.

Tabelle I.

Oestron γ/cm^3	nach 10 Tagen		nach 20 Tagen		nach 30 Tagen	
	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$
0,005 ⁺	0,82	0,13	1,47	0,23	2,40	0,29
0,01 ⁺	1,17	0,20	2,30	0,20	3,17	0,30
0,01 [*]	1,43	0,30	2,68	0,29	3,75	0,30
0,02 ⁺	1,70	0,24	2,92	0,28	3,80	0,37
0,05 ⁺	2,22	0,34	4,12	0,42	5,54	0,49
0,05 [*]	2,00	0,32	3,64	0,32	4,97	0,45
0,2 ⁺	2,45	0,29	4,65	0,32	6,38	0,34
0,5 ⁺	2,92	0,31	5,82	0,36	7,62	0,52
0,5 [*]	3,08	0,35	5,78	0,33	6,83	0,38
1,0 ⁺			5,98	0,38	7,40	0,37
2,0 ⁺	3,45	0,38	5,95	0,40	7,40	0,39
2,0 [*]	3,18	0,33	5,25	0,42	7,05	0,48

* gelöst in Aceton+Wasser (1:1).

+ gelöst in Wasser+Igepon+Aceton, s. o.

M: arithmetischer Mittelwert der Zuwachswerte.

$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$: s. Text.

Tragen wir die gefundenen „30 Tage Punkte“ in der oben angegebenen Weise auf Logarithmenpapier auf und bemühen wir uns dann, eine möglichst gut passende Kurve zu legen, so kommen wir zur Figur 1 (siehe Tafel).

Wir betrachten diese Kurve noch keineswegs als eine definitive Eichkurve. Abgesehen davon, dass die Anzahl der Punkte wohl noch nicht genügt und abgesehen davon, dass die Kurve noch nicht mit dem internationalen Oestronstandard kontrolliert ist, sind die Lösungen nicht mit der Genauigkeit hergestellt worden, wie dies für eine Eichkurve notwendig wäre. Die Streuung der einzelnen Punkte kann sehr wohl zu einem erheblichen Teil durch Wägungsfehler bedingt sein. Wenn aber auch mit Lösungen, die mit allen Kautelen (mikroanalytische Waage) hergestellt sind, die Streuung so bliebe,

wie sie auf Figur 1 erkennbar ist, so könnte man ruhig sagen, dass im Bereich von 0,005 γ Oestron pro cm^3 bis etwa 0,2 γ Oestron pro cm^3 der lokale *Nipple*-Test für quantitative Bestimmungen sehr gut verwertbar ist. Diese Behauptung wird durch Tab. II belegt, in der gegenübergestellt werden: die abgewogenen Oestronmengen und die durch den lokalen *Nipple*-Test unter Zuhilfenahme der Kurve abgelesenen Oestronwerte.

„Beim Auftragen der Logarithmen der Dosen auf die Abszisse ergibt unsere Wirkungskurve im Bereich von 0,005 γ bis etwa 0,2 γ Oestron pro cm^3 annähernd eine Gerade.“

Dieser unserer letzten Mitteilung entnommene Satz wird durch die beiden in diesen Bereich hinzugekommenen Punkte gestützt. Es gilt hier also das *Weber-Fechner*'sche Gesetz. Eine Erhöhung der Dosis über 0,5 γ hinaus führt nicht mehr zu einer Vergrößerung des Effektes im lokalen *Nipple*-Test.

Tabelle II.

Die abgewogene Oestronmenge		entspricht, an der Oestronkurve abgelesen, folgenden Oestronmengen		Abgel. Oestronmenge Abgew. Oestronmenge
γ/cm^3	Einh./1	γ/cm^3	Ein./1	
0,005	50	0,004	40	0,8
0,01	100	0,009	90	0,9
0,01	100	0,014	140	1,4
0,02	200	0,015	150	0,7
0,05	500	0,041	410	0,8
0,05	500	0,065	650	1,3
0,2	2000	0,150	1500	0,7

Man könnte dies so erklären, dass bei etwa 0,5 γ Oestron pro cm^3 die Zitze ihre maximale Grösse erreicht hat. Eine solche Annahme liesse es gerechtfertigt erscheinen, die Oestronkurve den scharfen Knick machen zu lassen, wie wir ihn auf Figur 1 eingezeichnet haben. Gegen diese Annahme bestehen aber Bedenken; wir kommen hierauf bei der Besprechung der Stilboestrolwirkung kurz zurück.

Oestradiolversuche.

Nach den Angaben der Literatur ist α -Oestradiol erheblich wirksamer als Oestron. Es wird eine 2,5- bis 12-mal grössere Wirkung angenommen (siehe *Parkes*¹⁾). Bei solchen Vergleichen spielt nun aber, wie man weiss, aber nicht immer genügend berücksichtigt, die Art der Prüfung eine grosse Rolle, und deswegen erschien es uns lohnend, die Wirkung von Oestradiol im Vergleich zu Oestron im lokalen *Nipple*-Test zu untersuchen.

Wir haben in Aceton und Wasser 0,01 γ , 0,05 γ und 0,5 γ α -Oestradiol gelöst und mit diesen Lösungen an je 20 Zitzen den *Nipple*-Test durchgeführt. Tab. III gibt die gefundenen Werte.

¹⁾ Ergebnisse der Vitamin- und Hormonforschg. Akad. Verl.-Ges., Leipzig (1940).

Tabelle III.

Oestradiol γ pro cm^3	nach 10 Tagen		nach 20 Tagen		nach 30 Tagen	
	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$
0,01	1,11	0,36	2,54	0,32	3,54	0,42
0,05	1,83	0,37	4,25	0,33	5,28	0,39
0,5	3,28	0,36	5,68	0,51	7,30	0,63

Wenn wir nun die gefundenen Oestradiolwerte an der Oestronkurve ablesen, so ergibt sich folgendes:

Tabelle IV.

Die abgewogene Oestradiolmenge		entspricht, an der Oestronkurve abgelesen, folgenden Oestronmengen		$\frac{\text{Abgel. Oestronmenge}}{\text{Abgew. Oestradiolmenge}}$
γ/cm^3	Einh./l	γ/cm^3	Einh./l	
0,01	100	0,0115	115	1,1
0,05	500	0,0550	550	1,1
0,5	5000	> 0,3	> 3000	

Im lokalen *Nipple-Test* kann ein Unterschied in der Wirkung von α -Oestradiol und Oestron nicht festgestellt werden. Wir haben hier wieder einen Beweis dafür, dass man nicht einfach sagen kann, dass ein bestimmtes Sexualhormon wirksamer oder weniger wirksam ist als ein anderes, sondern dass man hinzufügen muss, in welchem Test das Resultat erzielt wurde. Diese längst bekannte, aber wie schon erwähnt zu wenig berücksichtigte Tatsache ist allgemein biologisch und vielleicht sogar praktisch von Bedeutung. Es ist wichtig zu wissen, dass auf zwei verschiedene Sexualhormone ein Organ gleich gut ansprechen kann, während ein anderes durch die beiden Sexualhormone ganz verschieden stark beeinflusst wird.

Oestradiol-dipropionat-Versuche.

Durch *K. Miescher*¹⁾ und seine Mitarbeiter ist festgestellt worden, dass unter bestimmten Versuchsbedingungen die Ester von Sexualhormonen ausserordentlich viel stärker und länger wirken als die freien Hormone. Die Autoren machen hierfür die Resorptions- und Ausscheidungsgeschwindigkeit verantwortlich. *Parkes*²⁾ schreibt:

„It seems certain, however, that the esterified androgens owe their prolonged action to decreased solubility in the body fluids and consequent delay of absorption from the actual site of injection.“

Dies legte die Vermutung nahe, dass im lokalen *Nipple-Test*, wenn die Sexualhormonlösungen nur aufgetropft werden, durch eine

¹⁾ *K. Miescher* und Mitarbeiter. *Bioch. Z.* **294**, 39 (1937).

²⁾ Ergebnisse der Vitamin- und Hormonforschg. Akad. Verl.-Ges., Leipzig (1940).

Veresterung eine Verminderung der Wirkung eintreten könnte. In dieser Richtung sprach auch der Befund von *Deansly* und *Parkes*¹⁾, dass, wenn man Testosteron, resp. Testosteron-propionat in ölicher Lösung bei Ratten einreibt, der Effekt auf die Samenblase beim Propionat geringer ist als beim freien Hormon. Eine ähnliche Beobachtung machten *Moore, Lamar* und *Beck*²⁾. Es ist dies auch der Grund dafür, dass die *Gesellschaft für chemische Industrie* in Basel für Injektionen Testosteron-propionat resp. Oestradiol-dipropionat in den Handel bringt, während die von ihnen angeführten Salben Testosteron resp. Oestradiol enthalten.

Wir haben im lokalen *Nipple*-Test Lösungen von α -Oestradiol-dipropionat in Aceton und Wasser untersucht, die 0,005 γ , 0,01 γ , 0,05 γ und 0,5 γ pro cm^3 enthielten. Die Resultate finden sich in Tabelle V.

Tabelle V.

Oestradiol-dipropionat γ/cm^3	nach 10 Tagen		nach 20 Tagen		nach 30 Tagen	
	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$
0,005	1,32	0,22	2,80	0,36	3,70	0,42
0,01	1,13	0,30	2,97	0,40	4,29	0,43
0,05	2,43	0,34	4,50	0,43	5,70	0,58
0,5	3,43	0,25	5,85	0,41	7,63	0,52

Wenn wir die gefundenen Oestradiol-dipropionat-Werte an der Oestronkurve ablesen, so ergibt sich folgendes:

Tabelle VI.

Die abgewogene Oestradiol-dipropionatmenge γ/cm^3	entspricht, an der Oestronkurve abgelesen, folgenden Oestronmengen γ/cm^3	Abgel. Oestronmenge Abgew. Oestradiol-dipropionatmenge
0,005	0,013	2,6
0,01	0,022	2,2
0,05	0,075	1,5
0,5	> 0,3	

Hieraus ergibt sich, dass durch die Veresterung des Oestradiols nicht eine Wirkungsverminderung im lokalen *Nipple*-Test erzielt wird, sondern eine allerdings geringgradige Verstärkung des Effektes. Das Oestradiol-dipropionat wird also von der Haut aus nicht schlechter resorbiert als das freie Hormon. Es ist dies vielleicht für die Erklärung der viel stärkeren Wirkung der subcutan injizierten Ester

¹⁾ zit. nach ²⁾.

²⁾ J. Amer. med. Assoc. **111**, 11 (1938).

im Vergleich zu der Wirkung der subcutan injizierten freien Hormone von Interesse.

Stilboestrolversuche.

„Wir haben zeigen können, dass Stilboestrol (Diäthyl-p-dioxystilben) sich nicht nur, wie *Dodds, Lawson und Noble*¹⁾ gefunden haben, im *Allen-Doisy*-Test bezüglich Paarungsreaktion und in bezug auf den Rattenuterus wie Oestron verhält, sondern auch im lokalen *Nipple-Test* (Vergrößerung der Zitze bei Auftropfen der Lösung).“

Es wurde im allgemeinen angenommen, dass das Präparat wirksamer ist als Oestron. Ein Vergleich von Stilboestrol und Oestron im lokalen *Nipple-Test* erschien uns von Interesse. In Tabelle VII finden sich die für verschiedene Stilboestrolmengen (gelöst in Aceton und Wasser) festgestellten Zitzenzuwachswerte.

Tabelle VII.

Stilboestrol γ/cm^3	nach 10 Tagen		nach 20 Tagen		nach 30 Tagen	
	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$
0,005	1,63	0,30	2,75	0,43	3,93	0,38
0,01	1,59	0,36	3,50	0,39	4,69	0,37
0,02	2,40	0,26	4,03	0,41	5,00	0,56
0,05	3,13	0,41	5,35	0,41	6,18	0,57
0,5	3,50	0,44	5,53	0,48	6,15	0,67
0,5	2,68	0,32	4,53	0,36	5,90	0,69
2,0	3,32	0,42	4,80	0,45	6,40	0,83

Figur 2 (siehe Tafel) zeigt die Stilboestrolkurve im Vergleich zur Oestronkurve, wobei allerdings zu betonen ist, dass die Stilboestrolkurve wegen der geringen Anzahl der Punkte nur mit einer gewissen Reserve wiedergegeben werden darf.

Wenn wir die gefundenen Oestronwerte an der Oestronkurve ablesen, so ergibt sich folgendes:

Tabelle VIII.

Die abgewogene Stilboestrolmenge γ/cm^3	entspricht, an der Oestronkurve abgelesen, folgenden Oestronmengen γ/cm^3	Abgel. Oestronmenge Abgew. Stilboestrolmenge
0,005	0,016	3,20
0,01	0,031	3,10
0,02	0,041	2,05
0,05	0,120	2,40
0,5	0,110	0,22
0,5	0,090	0,18
2,0	0,140	0,07

¹⁾ *Lancet*, 142, 292 (1938).

Hierzu ist zu sagen: bis zur Dosis von $0,05 \gamma$ pro cm^3 erweist sich das Stilboestrol, geprüft im lokalen *Nipple*-Test, als erheblich wirksamer als Oestron. Bei den höheren Dosen tritt eine Vergrößerung des Effektes nicht mehr auf. Beim Oestron wird die maximale Wirkung auf die Zitze erst zwischen $0,2 \gamma$ und $0,5 \gamma$ erreicht. Die maximalen Zitzenzuwachswerte werden also mit Stilboestrol früher erreicht als mit Oestron; das Maximum liegt aber für das Stilboestrol, trotzdem es in geringeren Dosen wirksamer ist als das Oestron, niedriger als bei diesem Präparat. Hierzu könnte man nun allerdings einwenden, dass bei den höheren Stilboestrolkonzentrationen der mittlere Fehler erheblich grösser ist als bei allen anderen geprüften Substanzen. Da bei Stilboestrol eine Wirkungszunahme bei der Erhöhung der Dosis über $0,05 \gamma$ nicht mehr festzustellen ist, haben wir zur Bestimmung der Höhe des horizontallaufenden Kurvenabschnittes und ihres mittleren Fehlers die 4 auf ihm liegenden Punkte zusammengenommen. Ganz analog sind wir beim Oestron vorgegangen. Die Oestronkurve verläuft von $0,5 \gamma$ an parallel zur Abszisse, und wir haben daher die 5 auf diesem Kurvenabschnitt liegenden „Oestronpunkte“ zusammengenommen. Die Höhe des horizontalen Abschnittes der Stilboestrolkurve, die auf diese Weise berechnet wurde, beträgt $6,15 \pm 0,33$. Für das Oestron beträgt die entsprechende Zahl $7,26 \pm 0,21$. Die beiden Kurven scheinen also tatsächlich, wie auf Figur 2 eingezeichnet ist, sich zu kreuzen.

Wir haben weiter oben darauf hingewiesen, dass, wenn zwei Sexualhormone in ihrer Wirksamkeit verglichen werden, angegeben werden muss, in welchem Test der Vergleich vorgenommen wurde. Dies genügt aber unter Umständen noch nicht, denn es muss, zum mindesten im lokalen *Nipple*-Test, auch noch angeführt werden, welche Dosis geprüft wurde. Hätten wir z. B. den Vergleich zwischen Oestron und Stilboestrol nur mit einer Lösung vorgenommen, die $0,01 \gamma$ pro cm^3 Stilboestrol resp. Oestron enthielt, so wäre dieser Vergleich sehr zugunsten des Stilboestrols ausgefallen. Hätten wir die gleiche Untersuchung nur mit Lösungen durchgeführt, die 2γ Sexualhormon pro cm^3 enthielten, so hätten wir gefunden, dass das Oestron wirksamer ist. Man kann also beim Vergleich zweier Sexualhormone nicht einfach angeben, welches sich als wirksamer erwiesen hat, sondern muss unbedingt hinzufügen, welcher Test und welche Hormonmenge verwendet wurde. Letzteres gilt vorläufig für den lokalen *Nipple*-Test. Es wird die Aufgabe späterer Untersuchungen sein, festzustellen, inwiefern Analoges bei anderen Testmethoden zu berücksichtigen ist.

Sowohl die Oestron- wie die Stilboestrolkurve erreichen ein Maximum; d. h. von einer gewissen Grösse der Dosis an nimmt die Zitzenlänge nicht mehr zu. Dies kann nicht so erklärt werden, dass

die Zitze, nachdem sie eine gewisse Länge erreicht hat, sich nicht mehr weiter vergrössern kann. Wenn nämlich diese Erklärung zuträfe, dann müsste der maximale Zuwachswert der „Oestron-“ und der „Stilboestrolzitze“ der gleiche sein. Dies ist aber nicht der Fall, wie aus Figur 2 ersichtlich ist. Wir begnügen uns einstweilen, auf diese Tatsache hinzuweisen und unterlassen theoretische Erklärungsversuche.

Versuche mit dem Natriumsalz des Stilboestrols.

Wir haben uns für die Wirksamkeit dieser Substanz interessiert, weil sie in Wasser leicht löslich ist. Tabelle IX ergibt die im lokalen *Nipple*-Test erzielten Resultate.

Tabelle IX.

Natriumsalz des Stilboestrols γ/cm^3	nach 10 Tagen		nach 20 Tagen		nach 30 Tagen	
	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$
50,0	2,93	0,47	4,80	0,54	6,08	0,46
5,0	2,78	0,33	4,38	0,31	5,50	0,37
0,5	2,23	0,42	4,18	0,54	5,45	0,55

Hieraus ergibt sich, dass bei den geprüften Konzentrationen das wasserlösliche Natriumsalz des Stilboestrols eine starke Wirkung aufweist; eine Wirkung, die kaum hinter derjenigen des in Aceton und Wasser gelösten Stilboestrols zurücksteht. (Dieser Vergleich wurde für die niedrigen Konzentrationen nicht durchgeführt. Bei diesen könnten sich Wirkungsunterschiede ergeben (s. o.)) Wir haben also festgestellt, dass das Natriumsalz des Stilboestrols ein wasserlösliches, weibliches Sexualhormon ist, dessen Wirksamkeit im lokalen *Nipple*-Test festgestellt werden konnte.

Es erschien uns wichtig, zu untersuchen, wie sich das Natriumsalz des Stilboestrols verhält, wenn es subcutan injiziert wird. Wir verwendeten für diese Untersuchung den *Nipple*-Test, aber nicht den lokalen, sondern den mit subcutaner Injektion. Verglichen wurden 5 γ pro cm^3 enthaltende Lösungen des Natriumsalzes des Stilboestrols in Wasser und des Stilboestrols in Sesamöl (täglich 1 cm^3 injiziert). Wir geben in Tabelle X nur die 10- und 20-Tagewerte, weil die Sesamöl-Tiere eine sehr hohe Mortalität aufwiesen.

Während das in Sesamöl gelöste Stilboestrol sich im subcutanen *Nipple*-Test als deutlich wirksam erwies, liess sich ein sicherer Effekt mit der wässrigen Lösung von Natriumstilboestrol nicht nachweisen. Wir werden in einer späteren Mitteilung zeigen, dass dem Präparat eine Wirkung als weibliches Sexualhormon bei subcutaner Injektion

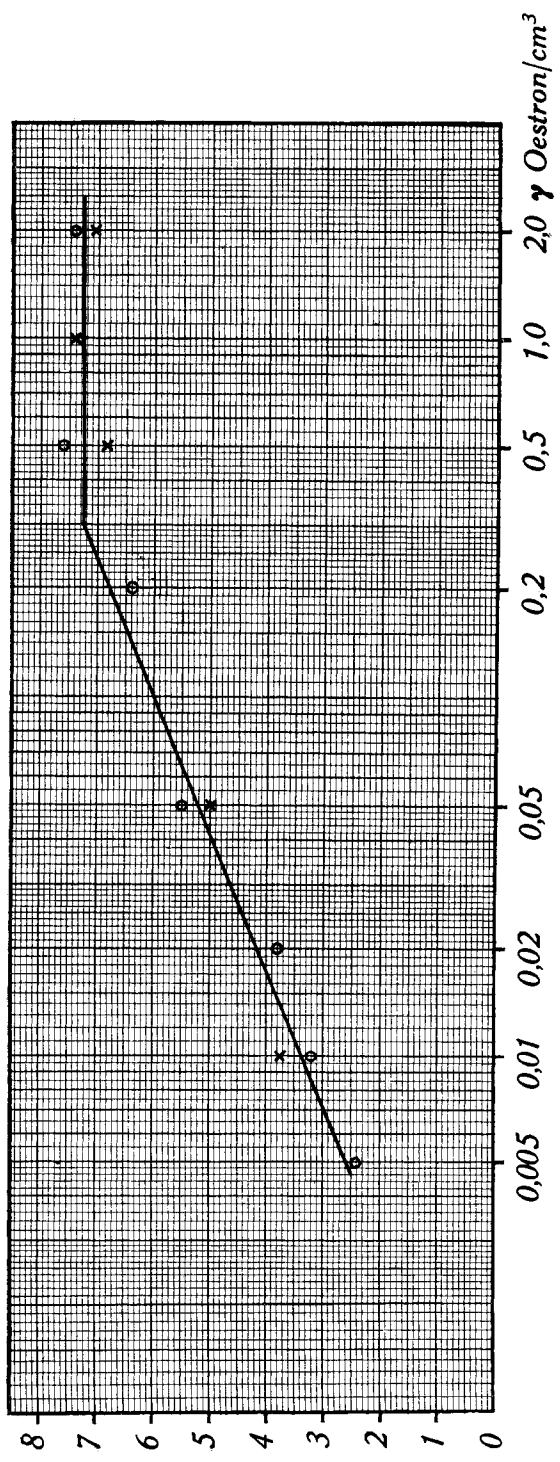


Fig. 1.

○ frühere Bestimmungen
 × neue Bestimmungen

Abszisse: Logar. der Dosen

Ordinate: Durchschnittlicher Zuwachs bei 20 Zitzen am 30-sten Tag

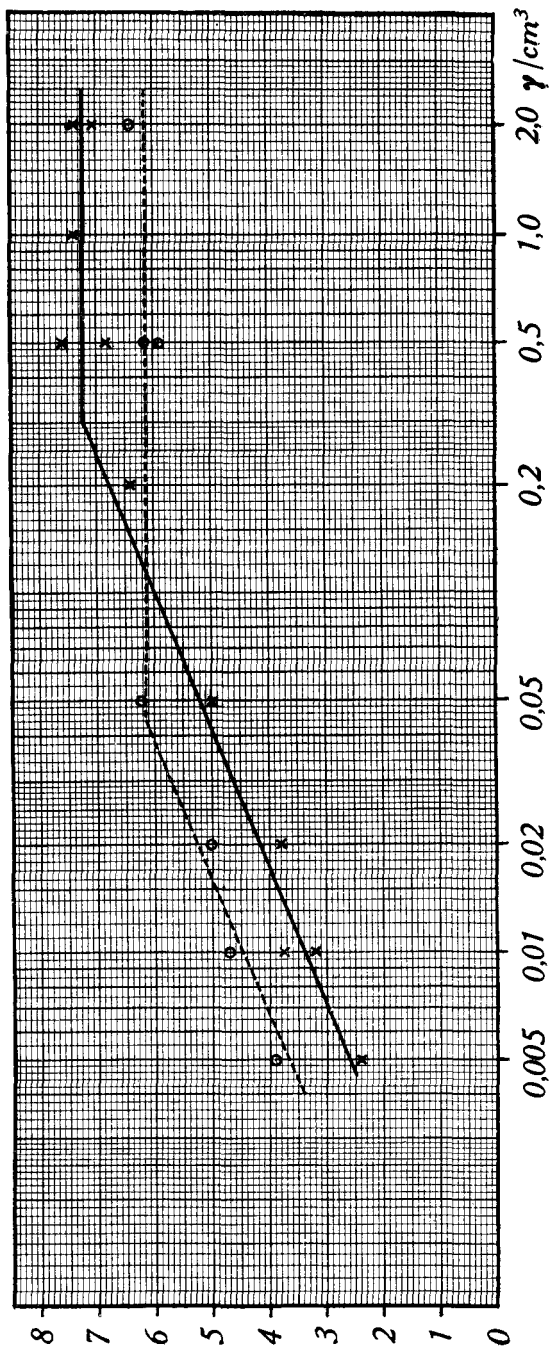


Fig. 2.

x „Oestronpunkte“
 o „Stilboestrolpunkte“
 — „Oestronkurve“
 - - - - „Stilboestrolkurve“

Abszisse: Logar. der Dosis
 Ordinate: Durchschnittlicher Zuwachs bei 20 Zitzen am 30-sten Tag

nicht abgesprochen werden kann, trotzdem der subcutane *Nipple*-Test mit Natriumstilboestrol in wässriger Lösung kein positives Resultat ergab. Die histologische Untersuchung der Zitze von Meer-schweinchen, die mit dieser Substanz subcutan behandelt worden waren, ergab ein für Sexualhormonwirkung einwandfrei positives Ergebnis (Verbreiterung der Epidermis).

Tabelle X.

	nach 10 Tagen		nach 20 Tagen	
	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$	M	$\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \cdot 2,6$
Natriumstilboestrol ¹⁾ , 5,0 γ	0,63	0,31	0,55	0,27
Stilboestrol ²⁾ , 5,0 γ	3,03	0,47	4,55	0,56

Zusammenfassung.

1. Unsere frühere Behauptung, dass der lokale *Nipple*-Test ein Verfahren ist, das sich zur Eichung von Oestron enthaltenden Präparaten eignet, wird durch die vorliegenden Untersuchungen gestützt. Werden die im lokalen *Nipple*-Test gewonnenen Werte auf der Ordinate eines Koordinatensystems aufgetragen, und die Logarithmen der Dosen auf der Abszisse, so ergibt sich eine charakteristische Kurve. Diese Kurve steigt geradlinig an, erreicht ein Maximum, biegt dann ab und verläuft parallel zur Abszisse. Es gilt also bis zur Erreichung des Maximums das *Weber-Fechner*'sche Gesetz. Wir haben früher schon darauf hingewiesen, dass für die Dosierung von Sexualhormonen diese beiden Feststellungen (1. Gültigkeit des *Weber-Fechner*'schen Gesetzes, 2. Erreichung einer Maximalwirkung) von Bedeutung sind.

2. Bei den geprüften Dosen konnte im lokalen *Nipple*-Test ein Unterschied zwischen der Wirkung von α -Oestradiol und Oestron nicht festgestellt werden.

3. Die Veresterung des Oestradiols zu Oestradiol-dipropionat bewirkt, wenn die Untersuchung im lokalen *Nipple*-Test vorgenommen wird, keine Verminderung der Wirkung, sondern eine, wenn auch geringgradige, Vermehrung. (Geprüft wurden Lösungen, die 0,005 γ —0,5 γ pro cm^3 enthielten.)

4. Stilboestrol ist im lokalen *Nipple*-Test wirksamer als Oestron, wenn geringe Dosen geprüft werden, während bei hohen Dosen der Oestroneffekt stärker ist.

1) in Wasser gelöst, subcutan injiziert.

2) in Sesamöl gelöst, subcutan injiziert.

5. Das wasserlösliche Natriumsalz des Stilboestrols ist im lokalen *Nipple-Test* gut wirksam. Bei subcutaner Injektion der wässrigen Lösung dieses Präparates (1 cm^3 ($5 \text{ } \mu\text{g/cm}^3$) täglich injiziert) lässt sich, im Gegensatz zur öligen Stilboestrolösung, eine Wirkung durch Zitzenmessung nicht nachweisen, wohl aber durch die histologische Untersuchung.

Für die Überlassung von Substanzen sind wir der *Gesellschaft für chemische Industrie* in Basel, der Firma *F. Hoffmann-La Roche & Co.* in Basel und der *I. G. Farbenindustrie A.G.*, Leverkusen, zu Dank verpflichtet.

Chemisch-technisches Laboratorium
der Eidgen. Techn. Hochschule Zürich.

72. Die Konstitution des sog. Isocarotins

von P. Karrer und G. Schwab.

(3. V. 40.)

Isocarotin, das nach *R. Kuhn* und *E. Lederer*¹⁾ aus β -Carotin-tetrajodid bei der Einwirkung von Aceton entsteht¹⁾, konnte konstitutionell bisher nicht aufgeklärt werden. Zur Beurteilung seiner Struktur bieten die folgenden, an diesem Carotinoid gemachten Beobachtungen eine Unterlage.

- 1) Die Bruttoformel des „Isocarotins“ ist $\text{C}_{40}\text{H}_{56}$ oder $\text{C}_{40}\text{H}_{54}$ ¹⁾.
- 2) Isocarotin enthält 12 Doppelbindungen²⁾. Nach der Lage der Absorptionsbanden — die langwelligste liegt in Schwefelkohlenstoff ca. $22 \text{ m } \mu$ langwelliger als diejenige des β -Carotins — müssen alle 12 Doppelbindungen des Isocarotins konjugiert sein.
- 3) Beim Abbau des Isocarotins mit Ozon entstehen weder Geronensäure noch Isogeronsäure (*P. Karrer, Schöpp* und *Morf*)²⁾.
- 4) Der durchgreifende Abbau der Verbindung mit Kaliumpermanganat führt zu 1,1-Dimethyl-glutarsäure²⁾.
- 5) Isocarotin besitzt keine Vitamin-A-Wirkung²⁾.

Punkt 4) zeigt, dass im Isocarotin mindestens noch einer der beiden Kohlenstoffringe des β -Carotins erhalten ist. Aus 3) und 5) geht hervor, dass in diesem Kohlenstoffring die Doppelbindung nicht die Stellung besitzt, die sie im β -Carotin hat. Auch die Verteilung der ersten beiden Doppelbindungen wie im α -Jononring und der anschliessenden Seitenkette des α -Carotins erscheint nach 3) ausgeschlossen. Daher können die ersten beiden Doppelbindungen im Isocarotin nur die Lage haben, die ihnen an der nachstehenden Isocarotin-formel (A) zugewiesen sind, d. h. sie liegen zwischen den Ringkohlenstoffatomen 4, 5 und semicyclisch zwischen 6 und 7.

¹⁾ B. 65, 637 (1932).

²⁾ *P. Karrer, Schöpp* und *Morf*, *Helv.* 15, 1158 (1932).