

Chinoxalinderivat. 55 mg Chinon wurden in wenig Eisessig gelöst und mit 30 mg o-Phenylen-diamin versetzt. Nach einiger Zeit schieden sich gelbe Krystalle ab, welche abfiltriert und aus Benzol bis zum konstanten Schmelzpunkt von 181—182° umkrystallisiert wurden.

4,139 mg Subst. gaben 12,95 mg CO₂ und 1,97 mg H₂O

C₂₃H₁₈N₂ Ber. C 85,69 H 5,62%
Gef. „ 85,38 „ 5,33%

Die Analysen sind von den HH. *H. Gubser* und *W. Manser* ausgeführt worden.

Organisch-chemisches Laboratorium der Eidg.
Techn. Hochschule, Zürich.

185. Cholin-esterase und Geschlechtsfunktion beim Meerschweinchen¹⁾.

Zugleich 5. Mitteilung über Beziehungen zwischen Sexualhormonen und Fermenten²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾

von *H. v. Wattenwyl*, *A. Bissegger*, *A. Maritz* und *E. A. Zeller*.

(13. IX. 43.)

In den ersten vier Mitteilungen dieser Untersuchungsreihe (l. c.) wurde gezeigt, dass die Serum-ChE verschiedener Spezies durch die Tätigkeit der Geschlechtsdrüsen beeinflusst wird. Bei der weiblichen weissen Ratte konnte eindeutig das Follikelhormon als die primäre Ursache dieser Veränderungen experimentell bestimmt werden. Es fanden sich in diesen Arbeiten, deren Ausgangspunkt Beobachtungen waren, die an B₁-avitaminotischen Ratten gemacht wurden⁶⁾, Hinweise, dass auch das männliche Sexualhormon eine ähnliche Funktion ausübe (4. Mitt., l. c.). Da wir annehmen, dass die durch das Follikelhormon bedingten ChE-Veränderungen in Zusammenhang mit der Kreislaufwirkung dieses Hormons stehen (vgl. Diskussion der Ergebnisse), müssten sie auch beim männlichen Hormon nachweisbar sein; denn auch beim männlichen Tier treten bei der Geschlechtsreifung nach den Untersuchungen von *Steinach*⁷⁾ weitgehende Umstellungen der Blutzirkulation auf.

Als Versuchstier wählten wir das Meerschweinchen, das den Vorteil bot, dass im Gegensatz zur Ratte auch das Männchen relativ

¹⁾ Ein Ausschnitt aus der vorliegenden Arbeit wurde von *H. v. Wattenwyl* und *E. A. Zeller* an der Tagung der Schweiz. Naturforschenden Gesellschaft am 29. August 1943 vorgetragen.

²⁾ 1. Mitteilung: *H. Birkhäuser* und *E. A. Zeller*, *Helv.* **23**, 1460 (1940).

³⁾ 2. Mitteilung: *E. A. Zeller* und *H. Birkhäuser*, *Helv.* **24**, 120 (1941).

⁴⁾ 3. Mitteilung: *E. A. Zeller*, *H. Birkhäuser*, *R. Wenner*, *H. v. Wattenwyl*, *Helv.* **24**, 962 (1941).

⁵⁾ 4. Mitteilung: *E. A. Zeller*, *H. Birkhäuser*, *R. Wenner*, *H. v. Wattenwyl*, *Helv.* **24**, 1465 (1941).

⁶⁾ *E. A. Zeller* und *H. Birkhäuser*, *Helv.* **23**, 1457 (1940).

⁷⁾ *E. Steinach*, *O. Peczenik* und *H. Kuhn*, *Wien. Klin. Woch.-sehr.* **H.** 5/6 (1938).

hohe Serum-ChE-Werte aufweist, und dass durch Herzpunktion das Blut gewonnen werden kann, womit es möglich wurde, an ein und demselben Tier eine Reihe von Bestimmungen durchzuführen und die Wirkungen von Kastration, Applikation des Hormons usw. an den gleichen Tieren zu verfolgen. Bei den Rattenversuchen musste für jede Bestimmung ein Tier geopfert werden.

Die Versuche ergaben tatsächlich eine Abhängigkeit der Serum-ChE vom männlichen Sexualhormon. In der vorliegenden Arbeit sollen vor allem die methodischen Probleme, die es zu lösen galt, und die sich bei der Durchführung der Experimente erhoben, behandelt werden, während die biologischen an anderer Stelle demnächst zusammenfassend dargestellt werden. Die Versuche mussten aus äusseren Gründen vorläufig abgebrochen werden, so dass wir jetzt schon die bisherigen Ergebnisse mitteilen, obwohl beabsichtigt war, sie nach verschiedenen Richtungen hin zu ergänzen.

Methodisches.

Das Blut wurde durch Herzpunktion, die grosse Übung erfordert und die von Frau *E. v. Wattenwyl* ausgeführt wurde, gewonnen. Das Blut wurde sofort nach der Entnahme zentrifugiert, das Serum abpipettiert und mit der fünffachen Menge Hydrogencarbonat-Ringer-Lösung versetzt. Es gelangten 14 normale reife männliche Meerschweinchen in den Versuch, bei welchen während 4—6 Monaten im Abstand von 2—3 Wochen die Aktivität der Serum-ChE bestimmt wurde. Vier dieser Tiere blieben als Kontrollen ohne jede Behandlung, bei den andern 10 Meerschweinchen erfolgte nach 2—4 ChE-Messungen im normalen Zustand die operative Kastration. In den folgenden 10—12 Wochen wurde dann bei jedem Tiere der Einfluss dieses Eingriffs auf die ChE durch 3—4 weitere Bestimmungen in den genannten Intervallen geprüft. Schliesslich wurde dann bei diesen gleichen Kastraten je eine Tablette zu 100 mg Testosteron¹⁾ subkutan implantiert, und zwar bei der einen Hälfte der Tiere nach einer Kastrationsdauer von 1½ Monaten, bei den andern nach einer solchen von 8 Monaten. In früheren Untersuchungen²⁾ konnte der eine von uns feststellen, dass diese Art der Behandlung nicht nur die Kastrationsveränderungen an Samenblasen und Prostata vollständig verhindert oder rückgängig macht, sondern darüber hinaus diese Organe sogar zu besonders starker Entwicklung bringt und somit offensichtlich eine sehr intensive Hormonwirkung entfaltet. Die subcutane Zufuhr des Hormons erschien uns besonders vorteilhaft, weil dabei durch einen einmaligen kleinen chirurgischen Eingriff der chemisch reine Stoff

¹⁾ Der *Gesellschaft für chemische Industrie* in Basel danken wir für die freundliche Überlassung der erforderlichen Versuchsmenge von Perandren Ciba.

²⁾ *H. v. Wattenwyl*, Tierexperimentelle Untersuchungen über die Wirkung langdauernder Follikelhormonapplikation und die hormonale Tumorentstehung, Basel 1943.

zur Anwendung gelangte und so ein störender Einfluss der Lösungsmittel und der mit den wiederholten Injektionen verbundenen Traumatisierung ausgeschaltet werden konnte. In den auf die Testosteron-Implantation folgenden Monaten verfolgten wir dann durch 4—5 weitere, in mehrwöchigen Abständen vorgenommene Bestimmungen die Wirkung des Hormons auf die Serum-ChE. Auf diese Weise wurden bei den 14 Versuchstieren insgesamt 118 Messungen ausgeführt, und zwar 44 bei normalen Tieren, 33 bei kastrierten Tieren und 41 nach der Testosteron-Implantation bei diesen Kastraten.

In einer früheren Mitteilung (2. Mitt., Tab. 1, l. c.) konnte ein Einfluss des weiblichen Follikelhormons auf die kastrierte männliche Ratte nachgewiesen werden. Wir führten deshalb bei den weiblichen Meerschweinchen den analogen Versuch durch. Die Tiere wurden in kastriertem und nicht kastriertem Zustande mit Testosteron behandelt, das ebenfalls durch Implantation appliziert wurde.

Die Bestimmung der ChE geschah in der genau gleichen Weise, wie sie in den vorangehenden Mitteilungen beschrieben wurde (Manometrische Methode nach *Ammon*). Die Ablesungen erfolgten alle 10 Minuten. Die Konzentration des Acetyl-cholins (ACh) war so hoch, dass bis zu Werten von 200 mm³ Kohlendioxyd der Reaktionsverlauf durch eine Gerade dargestellt wurde. Das bedeutet, dass die ChE „gesättigt“ war und die Reaktionsgeschwindigkeit ein Optimum darstellte. Die Messmethode ist daher geeignet, die tatsächlich vorhandenen ChE-Aktivitäten zu erfassen. Da die Zahl der Kubikmillimeter Kohlendioxyd nach einer Stunde mit ganz wenigen Ausnahmen kleiner als 200 war, wurden die 60 Minuten-Werte als Mass der ChE-Aktivität verwendet.

Die regelmässig durchgeführte Bestimmung der Leerwerte (Ansätze ohne Substrat) ergab nur wenige Kubikmillimeter Kohlendioxyd, die gegenüber den Ansätzen mit Substrat ohne weiteres vernachlässigt werden können. Es ist wohl auch auf Grund folgender Überlegungen richtiger, diese Leerwerte nicht von den Hauptwerten (Versuche mit Substrat) zu subtrahieren, wie es allgemein üblich ist. Nach den Versuchen von *Richter* und *Croft*¹⁾ kann die Serum-ChE neben ACh auch einfache Ester aliphatischer Fettsäuren mit nichtbasischen Alkoholen hydrolysieren. Die Leerwerte sind deshalb entweder auf die Aufspaltung von ACh oder von andern Estern zurückzuführen. Da aber die Fermente mit ACh gesättigt sind, führen die schon im Serum vorhandenen Substratmengen nicht zu einer Steigerung des Umsatzes. Handelt es sich um ACh, dann bleibt die Reaktionsgeschwindigkeit unverändert, liegen aber andere Ester vor, könnte sogar eine, wenn auch sehr geringfügige, Abnahme

¹⁾ *D. Richter* und *P. G. Croft*, *Biochem. J.* **36**, 746 (1942).

der Umsatzgeschwindigkeit erfolgen, weil ACh mit diesen nicht-basischen Estern um das Ferment konkurrieren muss. Zerfiel der Ferment-Substrat-Komplex im letztern Fall langsamer als beim ACh, dann müsste, wie erwähnt, die Reaktionsgeschwindigkeit kleiner werden. Auf ähnliche „Leerwertprobleme“ bei der ChE wurde schon früher in einem andern Zusammenhang hingewiesen¹⁾. Auch wenn, wie in vorliegendem Falle, die Leerwerte bei der Auswertung der Ergebnisse nicht berücksichtigt werden, sind sie in jedem Falle mit zu bestimmen.

Ergebnisse.

1. Versuche an männlichen Meerschweinchen.

Wenn sämtliche Bestimmungen bei den normalen, kastrierten und mit Perandren behandelten Tieren zusammengefasst werden, erhalten wir die in Tabelle 1 angeführten Zahlenwerte. Die Definition von σ , ϵ , Δ usw. ist in der 3. Mitteilung (l. c.) angeführt worden.

Tabelle 1.
Serum-Cholin-esterase von männlichen Meerschweinchen.

	Zahl der Bestimmungen	mm ³ CO ₂ /Std.	ϵ	Δ
Normal	44	149 ± 38	5,8	
kastriert	33	122 ± 29	5,0	normal/kastriert: 3,5
kastriert+Perandren	41	149 ± 40	6,2	kastr./kastr.+Per.: 3,4

Es ist ohne weiteres zu erkennen, dass durch Kastration die ChE eine deutliche Abnahme (18%) erfährt, auch wenn diese nicht so gross ist, wie sie beispielsweise bei der Kastration der weiblichen Ratte gefunden wurde (1. und 2. Mitteilung, l. c.). Die Differenz ist signifikant. Durch Zufuhr des männlichen Wirkstoffes wird die Abnahme vollständig kompensiert. Auch der Unterschied der Serum-ChE-Werte zwischen kastrierten und kastrierten und mit Perandren behandelten Tiere ist signifikant.

Die Versuche dauerten über ein Jahr. Dabei konnte bei mehreren Tieren, deren Serum-ChE immer wieder bestimmt wurde, die Beobachtung gemacht werden, dass in den ersten Monaten des Jahres die ChE-Werte höher als in den Sommermonaten lagen. Diese Änderungen scheinen sowohl bei normalen wie bei kastrierten Tieren aufzutreten (Tabelle 2, S. 2067).

Wir finden somit ein Minimum der Serum-ChE in den Monaten Juli und August. Die Werte werden aber mit dieser Zeit nicht nur kleiner, sondern sie streuen wesentlich weniger als in den übrigen Monaten, was an der Abnahme von ϵ leicht zu erkennen ist. Bei normalen Tieren sinkt ϵ von 14 auf 6, bei den kastrierten Tieren von

¹⁾ E. A. Zeller, Helv. 25, 216 (1942).

9 auf 5 ab. Die Zahl der Bestimmungen ist zu klein, um in allen Fällen signifikante Unterschiede zu finden. Für die kastrierten Tiere ist Δ (März/Juli) = 2,1.

Tabelle 2.

Jahreszeitliche Schwankungen der Serum-Cholin-esterase bei männlichen Meerschweinchen.

Monat	Normale Tiere		Kastrierte Tiere	
	Zahl der Tiere	mm ³ CO ₂ /Std.	Zahl der Tiere	mm ³ CO ₂ /Std.
Februar. . .	8	161	4	133
März			5	133
Juni	10	157		
Juli	6	134	5	111
August . . .	6	143		

Wenn aber derartige jahreszeitliche Schwankungen bestehen, dann muss zuerst untersucht werden, ob die in Tabelle 1 zusammengefassten Ergebnisse zufälligerweise nicht dem Testosteron, sondern diesen saisonbedingten Änderungen zuzuschreiben sind. Wir vergleichen deshalb auch die in den einzelnen Monaten erhaltenen Ergebnisse miteinander (Tabelle 3).

Tabelle 3.

Serum-Cholin-esterase von männlichen Meerschweinchen in den Monaten Juni und Juli.

	Zahl der Messungen	mm ³ CO ₂ /Std.	ϵ	Δ
normal	16	152 ± 37	11,0	
kastriert	5	111 ± 11	4,8	normal/kastriert 3,8
kastr.+Perandren	9	154 ± 45	15,1	kastr./kastr.+Perandren: 2,7

Aus der Tabelle 3 geht hervor, dass die Berücksichtigung der jahreszeitlichen Schwankungen an dem Ergebnis der Tabelle 1 nichts ändert.

2. Versuche an weiblichen Meerschweinchen.

Die Versuche wurden in gleicher Weise wie bei den männlichen Tieren durchgeführt und dienten zur Ergänzung der Ergebnisse, die bei diesen erhalten wurden.

Tabelle 4.

Serum-Cholin-esterase bei weiblichen Meerschweinchen.

	Zahl der Messungen	mm ³ CO ₂ /Std.	σ	Δ
normal	29 (9 Tiere)	184 ± 44	8,1	
kastriert	28 (9 Tiere)	148 ± 37	7,0	normal/kastriert: 3,4
kastr.+Perandren	27 (9 Tiere)	158 ± 38	7,3	kastr./kastr.+Perand.: 1,0

Mit den in Tabelle 4 dargestellten Versuchen ist die früher an einer kleinern Zahl von Tieren festgestellte Abnahme der Serum-ChE durch Kastration bei weiblichen Meerschweinchen bestätigt worden (4. Mitt., Tabelle 1, l. c.). Die Abnahme ist ungefähr gleich gross (19,5 %) wie bei den männlichen Tieren (18 %). Hingegen bewirkt Perandren nur eine geringe Steigerung der Serum-ChE, die nicht zu einer Kompensation des durch die Kastration bedingten Abfalles führt. Die Differenz ist nicht signifikant.

Auch hinsichtlich der jahreszeitlichen Schwankungen scheinen sich die Weibchen von den Männchen zu unterscheiden, da bei den erstern keine solche gefunden werden konnte (Tabelle 5). Trotzdem wurden, soweit es die Zahl der Messungen erlaubte, auch die Ergebnisse in den einzelnen Monaten miteinander verglichen.

Tabelle 5.
Serum-Cholin-esterase bei weiblichen Meerschweinchen.

Monat	Behandlung der Tiere	Zahl der Messungen	mm ³ CO ₂ /Std.	ε	Δ
Januar (Ende)	normal	6	205 ± 58	23,6	
Januar (Ende)	kastriert	6	139 ± 34	13,7	normal/kastriert: 2,4
Februar (Mitte)	kastriert + Perandren	6	178 ± 47	19,3	kastr./kastr. + Perandren: 1,65
Juli	kastriert	6	138 ± 39	15,9	

Die Berücksichtigung der Jahreszeit ändert nichts an den vorhin erwähnten Resultaten: Abnahme der Serum-ChE bei Kastration, teilweise Kompensation (statistisch nicht gesichert) der Abnahme durch Testosteron-Zufuhr.

Schliesslich hatten wir auch nichtkastrierte Weibchen mit Testosteron behandelt. Bei diesen Tieren war überhaupt kein Einfluss des Testosterons auf die Serum-ChE erkennbar (mm³ CO₂/Std.: 173 ± 10).

Diskussion der Ergebnisse.

Die Kastration der männlichen wie der weiblichen Meerschweinchen führt zu einer Abnahme der Serum-ChE, die bei den ersteren durch Zufuhr von Testosteron rückgängig gemacht werden kann. Es ist deshalb naheliegend anzunehmen, dass die Senkung des ChE-Spiegels bei den Männchen durch den Ausfall des Testosterons bedingt war. Es ist für uns interessant zu sehen, wie Testosteron im kastrierten weiblichen Organismus nicht in gleicher Weise und viel schwächer wie im kastrierten männlichen Organismus wirkt. Das weist darauf

hin, dass am Mechanismus der ChE-Beeinflussung durch die Sexualhormone die übrigen Genitalorgane mitbeteiligt sind. Alle in der Literatur bekannten und durch unsere Versuche aufgedeckten Tatsachen lassen sich, wie das an anderer Stelle ausführlicher dargestellt werden soll, mit der Vorstellung in Einklang bringen, dass die ChE an der durch die Sexualhormone bedingten Änderung der Durchblutung verschiedener Organe, insbesondere derjenigen des Geschlechtsapparates, beteiligt ist. Dieser Hypothese liegt die Annahme zugrunde, dass Acetyl-cholin, das Substrat der ChE, physiologischerweise an der Regulation des peripheren Kreislaufs beteiligt ist.

Die in der 4. Mitteilung (l. c.) angeführten Versuche liessen eine grössere ChE-Aktivität für die männlichen gegenüber den weiblichen Meerschweinchen erkennen. An dem wesentlich grösseren Material der vorliegenden Arbeit dagegen zeigt sich das umgekehrte, dass die Weibchen im Durchschnitt etwas höhere Werte aufweisen. Somit trifft für alle untersuchten Nager (Ratten¹), Mäuse¹), Meerschweinchen) zu, dass im Serum der geschlechtsreifen weiblichen Tiere die ChE aktiver ist als in dem der Männchen. Beim Menschen dagegen ist die Serum-ChE bei Männern höher als bei Frauen. Der Mensch ist überdies der einzige bisher bekannte Fall, bei dem das Follikelhormon eine Senkung der Serum-ChE bewirkt. Ein weiterer Unterschied zwischen beiden Geschlechtern scheint beim Meerschweinchen auch hinsichtlich der jahreszeitlichen Schwankungen zu bestehen, die bisher nur beim Männchen nachweisbar waren.

Unsere Versuche ergaben auch mehrere Hinweise, wie solche künftighin zu gestalten sind. Es ist selbstverständlich, dass diese jahreszeitlichen Änderungen der Serum-ChE in Zukunft bei vergleichenden Fermentuntersuchungen mitberücksichtigt werden müssen, genau so, wie die frühern Untersuchungen zeigten, dass Alter, Geschlecht und Gravidät auf die Fermentaktivität von grösstem Einfluss sein können. Die Tiere, die in bezug auf ihre Serum-ChE miteinander verglichen werden sollen, werden am einfachsten innerhalb relativ kurzer Zeit untersucht. Die variationsstatistische Auswertung lässt erkennen, dass für die Bildung der Mittelwerte 9 bis 10 Einzelwerte zur Verfügung stehen sollten, um in Anbetracht der Fehlerbreite der Methode und der individuellen Abweichungen in rationeller Weise die in Frage stehenden Unterschiede zwischen den einzelnen Tiergruppen erfassen zu können. Wie brauchbar die Mittelwerte werden, wenn diese Forderung erfüllt wird, zeigt das folgende Beispiel: Bei 9 männlichen Meerschweinchen, die kastriert und mit Perandren behandelt wurden, und in deren Serum die ChE monatlich von März bis Juni bestimmt wurde, fanden sich die folgenden Mittelwerte (mm³ CO₂/Stde.) 162, 151, 153, 154. Unter günstigen Umständen lassen sich ausnahmsweise auch 5—6 Einzelwerte verwenden.

¹) J. M. Beveridge und C. C. Lucas, *Science* **93**, 356 (1941).

Wenn die zu vergleichenden Mittelwerte weiter auseinander liegen, wie das bei den Versuchen mit den Ratten der Fall war (1. und 2. Mitt.), kann man auch mit diesen kleinern Zahlen zu einem Entscheid kommen.

Zusammenfassung.

1. Die Serum-Cholin-esterase (ChE) des geschlechtsreifen männlichen Meerschweinchens sinkt bei Kastration und wird bei subkutaner Implantation von Testosteron wieder auf die ursprüngliche Höhe gebracht.

2. Bei kastrierten und bei normalen männlichen Tieren ist die Serum-ChE im Juli und August niedriger als in den übrigen Monaten. Bei weiblichen Meerschweinchen fanden sich bisher keine derartigen jahreszeitlichen Schwankungen.

3. Es wurde erneut und an einem grössern Material sichergestellt, dass die Kastration beim geschlechtsreifen weiblichen Meerschweinchen von einer Abnahme der Serum-ChE gefolgt ist, die nur teilweise, wenn überhaupt, durch Testosteron ausgeglichen wird.

4. Für die rationelle Bildung von Mittelwerten werden auf Grund der gefundenen Variationsbreite der Ergebnisse 9—10 Einzelwerte verlangt.

Wir danken Herrn Prof. Dr. R. Stachelin † und Herrn Prof. Dr. R. Massini für die freundliche Erlaubnis, im Laboratorium der medizinischen Universitätsklinik die Fermentversuche durchführen zu können. Ein Teil der ChE-Bestimmungen wurden in der pharmazeutischen Abteilung der J. R. Geigy, Basel, mit der freundlichen Erlaubnis von Herrn Dr. P. Läuiger durchgeführt, wofür wir bestens danken.

Frauenklinik, Medizinische Klinik und Pharmazeutische Anstalt
der Universität Basel.

186. Die Dihydroderivate der natürlichen linksdrehenden Mutterkornalkaloide

(9. Mitteilung über Mutterkornalkaloide¹⁾)

von A. Stoll und A. Hofmann.

(13. IX. 43.)

I. Einleitung.

In ihren Untersuchungen über die Alkaloide des Mutterkorns haben W. A. Jacobs und seine Mitarbeiter in der Lysergsäure, dem charakteristischen Spaltstück dieser Alkaloide, eine relativ leicht hydrierbare Doppelbindung nachgewiesen²⁾. Sie schrieben dieser

¹⁾ 8. Mitteilung, Helv. **26**, 1602 (1943).

²⁾ W. A. Jacobs und L. C. Craig, J. Biol. Chem. **113**, 767 und **115**, 229 (1936); L. C. Craig, T. Shedlovsky, R. G. Gould jr. und W. A. Jacobs, J. Biol. Chem. **125**, 289 (1938)