

D.N. ist demgemäß 39,5 mg %; bei der Nephrosklerose II H. F. 25,3 mg % und in drei Rinderseren durchschnittlich 15,2 mg %.

Gegenwärtige Aufgaben lassen mich bei der Wiederbelebung und Nutzbarmachung der Ideen von I. BANG und A. HAHN⁷⁾ auf neuer methodischer Grundlage nur langsam fortschreiten, deswegen scheint es mir angebracht, auf die aus den Versuchen sich ergebenden Forschungsziele hinzuweisen:

Wenn genügendes Untersuchungsmaterial gesammelt wird, sollen Filtrate zur polarographischen Krebsreaktion bereitet werden, die auch den aufsteigenden Ast der E.N.C. der Untersuchung zuführen. Die Bestimmung des D.N. — die zusätzlich durch die Bestimmung des Differenzschwefels ergänzt werden könnte — gegebenenfalls unter Berücksichtigung des Stickstoffwertes in peptidreichen Filtraten (N.P.N.) und des Verhältnisses D.N./N.P.N. (l'indice d'insuffisance de clivage) sei zur physio-pathologischen Kennzeichnung heranzuziehen.

Prag, Städtisches Ambulatorium der Hauptstadt Prag, den 9. Juli 1943. A. F. RICHTER.

¹⁾ A. F. RICHTER a V. WACHTFEIDL, Čas. čes. lékařnictva 18, 179 (1938).

²⁾ M. HOFMAN a A. F. RICHTER, Čas. čes. lékařnictva 19, 51 (1939).

³⁾ A. F. RICHTER a J. F. MAIER, Čas. čes. lékařnictva 20, 1 (1940); 21, 207 (1941).

⁴⁾ F. RAPAPORT und J. REIFER, Microchimica Acta 1, 221 (1937).

⁵⁾ A. F. RICHTER, Sborn. lék. 44, 29 (1942).

⁶⁾ A. HAHN, Biochem. Z. 121, 262 (1921).

Zur Teilungsgeschwindigkeit der Zellen des Mäuse-Ascites-Tumors.

Unter Zugrundelegung der Annahme, daß die Vermehrungsgeschwindigkeit der Zellen des Ascitestumors proportional der Anzahl der vorhandenen Zellen (Z) ist (Gleichung 1), wurde früher¹⁾ eine Bestimmung dieser Größe durchgeführt, die zu einem Wert von 2—2,5 Tagen für die Zeit der Verdopplung der Zellzahl führte. Die Integration

$$\frac{dZ}{dt} = K \cdot Z \quad (1) \quad Z_t = Z_0 \cdot e^{Kt} \quad (2) \quad Z_t = Z_0 \cdot 2^{\frac{t}{T_M}} \quad (3)$$

von Gleichung (1) führt zu Gleichung (2) oder bei Umformung auf die Basis 2 zur Gleichung (3), worin t_M die Zeit der Verdopplung der Zellzahl darstellt, also die Zeit, in der eine Zelle heranwächst und eine Teilung in zwei neue Zellen durchführt. In einer weiteren Arbeit²⁾ wurde gezeigt, daß bei Verwendung der Ascitesmenge als Maßstab der Vermehrung, die der Zellzahl proportional läuft, bei 200 Mäusen eine statistische Verteilung der Zeiten t_M um den häufigsten Wert von 2—2,5 Tagen vorliegt.

Die Exponentialformeln (2) und (3) verlangen eine unbegrenzte Vermehrung der Zellen und damit der Ascitesmenge, während tatsächlich der Kurvenverlauf des Gewichtes der Tiere durch ein Maximum charakterisiert ist, dem nach einiger Zeit der Tod der Tiere folgt, das jedoch durch den früheren Tod der Tiere nicht immer zu beobachten ist. Auf Anregung von Herrn Dozenten Dr. K. SCHÄFER, Göttingen, habe ich zur Berechnung des wirklichen Kurventyps folgenden Ansatz verwendet:

$$\frac{dZ}{dt} = K_1 \cdot dt - K_2 \cdot t \cdot dt. \quad (4)$$

Nach diesem Ansatz (4) würde die Vermehrung der Zellen nicht mehr konstant sein, sondern im Laufe der Zeit abnehmen. Allgemeiner wäre für die vermehrungsbeschränkende Funktion eine Funktion der Zeit einzusetzen, für die hier der einfachste Fall angenommen wurde, daß die Hemmung der Zeit direkt proportional ist. Die Integration von Gleichung (4) ergibt Gleichung (5) und bei Übergang auf die Basis 2 Gleichung (6). Die Gleichungen (5) und (6)

$$Z_t = Z_0 \cdot e^{K_1 t - \frac{1}{2} K_2 t^2} \quad (5) \quad Z_t = Z_0 \cdot 2^{a t - b t^2} \quad (6)$$

führen zu einem Maximalwert der Kurve, der für (6) bei der Zeit $t_{\max} = \frac{a}{2b}$ liegt. Die Zellzahl zur Zeit des Maximums

$$t_{\max} \text{ ist gleich } Z_0 \cdot 2^{\frac{a^2}{4b}}$$

Als Zahlenbeispiele seien die häufig vorkommenden Werte verwendet, daß aus je 0,2 ccm Ascites in 12 Tagen

9,6 ccm, in 13 Tagen 10,4 ccm, in 14 Tagen 11,2 ccm Ascites als Maximalwerte gefunden werden. Die Ausrechnung ergibt für a die Werte 0,933, 0,880 und 0,833, für b die Werte 0,039, 0,034 und 0,030. Welche Bedeutung haben diese Zahlen? Der reziproke Wert von a entspricht der Zeit t_M in Gleichung (3), für die angegebenen a -Werte also 1,07, 1,14 und 1,20 Tagen. In dieser Zeit wäre also tatsächlich eine Verdopplung der Zellzahl vor sich gegangen. Von diesen Zellen geht aber ein Teil zugrunde, wofür der b -Wert einen Maßstab abgibt. Für die wahre Zeit t_M erhält man nach dieser Berechnung einen kleineren Wert als nach der früheren bilanzmäßigen Berechnung, die zu einem zu hohen Wert führt³⁾. Eine genauere Angabe der statistischen Schwankungen der Zahlenwerte bei größerem Tiermaterial wird an anderer Stelle angegeben. Welche konkrete Bedeutung man dem der Zellvermehrung entgegenwirkenden Faktor zuschreiben soll, muß zunächst offengelassen werden. Er kann ein Maß für das Absterben der Zellen, für die im Laufe der Entwicklung des Tumors geringer werdende Versorgung der Zellen mit Nährstoffen, für eine Überschwemmung des Ascites mit schädigenden Stoffwechselprodukten und schließlich für eine Schwächung des Wirtstieres darstellen.

Diese Berechnung hat durch eine unabhängige Methode eine wertvolle Stütze erfahren. H. BRODERSEN⁴⁾ hat durch Auszählung der Mitosen in Ausstrichen aus dem Ascitestumor den Einfluß der Wirkung chemischer Faktoren nachweisen können und z. B. gefunden, daß nach der Injektion von 20 γ Colchicin nach 10 Stunden ein Maximum an Mitosen zu finden ist. Durch Probepunktionen kann man nach dieser Methode den zeitlichen Ablauf der Mitosevorgänge verfolgen. Wir haben nun die Abhängigkeit der Zahl der Mitosen von der Zeit und der Konzentration des Colchicins untersucht und gefunden, daß in Übereinstimmung mit BRODERSEN der Maximalwert meist um 10 Stunden liegt. Mit kleinen Dosen Colchicin von 1—50 γ bei einmaliger Injektion beobachtet man ein ständiges Ansteigen der Zahl der arretierten Mitosen, während eine Erhöhung der Dosis ein Absinken der Zahlen zur Folge hat und schließlich mit hohen Dosen gar keine Steigerung der Mitosenzahl mehr zu beobachten ist.

Tabelle 1. Zahl der Mitosen aus 1000 Zellen ermittelt.

Dosis in γ	Prozentzahl der Mitosen nach		
	0 Stunden	10 Stunden	24 Stunden
0	1,5	1,0	1,1
5	2,5	5,4	2,6
10	3,4	13,6	4,0
25	2,3	7,1	4,0
50	2,1	41,0	4,0
70	1,8	29,5	1,4
90	1,1	0,8	0,7
100	1,1	1,9	2,3

Für die von DUSTIN⁴⁾ angenommene Förderung der Zellteilung durch Colchicin besteht nach den Untersuchungen von BUCHER⁵⁾ und von COHEN und BRUES⁶⁾ kein experimenteller Anhalt. „Es kann als feststehend betrachtet werden, daß Colchicin die Mitose nicht anregt. Dieser Eindruck einer Anregung ist durch die Anhäufung der arretierten Mitosen gegeben“ [LEVAN und OESTEREGREN⁷⁾]. Die Zahl der unter der Wirkung des Colchicins beobachteten Mitosen wird bei einer geeigneten Dosis mit der zu identifizieren sein, die im gleichen Zeitraum auch normalerweise abgelaufen wäre. Mit geringen Dosen Colchicin werden nicht alle Mitosen arretiert, zu große Dosen hindern den Beginn der Mitosen [s. hierzu auch⁸⁾]. Da auch mit einem Absterben der arretierten Zellen zu rechnen ist, wird sich ein beobachteter Maximalwert dem wahren Wert nur annähern können. Die höchsten experimentell beobachteten Werte wird man aber vielleicht als Grundlage einer weiteren Berechnung benutzen dürfen.

Nehmen wir den 50 γ -Wert aus Tabelle 1, so ist in 10 Stunden eine Steigerung von 2,1 auf 41,0 %, also eine Zunahme von 38,9 % festzustellen. Normalerweise wären 38,9 % Mitosen in 10 Stunden abgelaufen, dann würden 100 % Mitosen 25,7 Stunden erfordern. Das wäre wieder die Zeit, in der eine Verdopplung der Zellzahl eingetreten wäre. Dieser Wert von 25,7 Stunden fügt sich sehr gut den nach der obigen Berechnung erhaltenen Werten von 1,07, 1,14 und

1,20 Tagen = 25,7, 27,7, 28,8 Stunden ein. In analoger Rechnung erhalten wir aus dem 70 γ -Wert eine Zeit von 36,1 Stunden, die vielleicht schon zu groß ist. Es ist selbstverständlich, daß dieser Wert bei verschiedenen Individuen Abweichungen zeigen wird, die nur an einem größeren Material zu erfassen sind. Die Übereinstimmung der beiden Methoden spricht jedoch dafür, daß der wahre Wert damit einigermaßen angegeben werden kann. Keinesfalls darf dieser Wert für eine andere Tumorstudie übernommen werden. Für das Testobjekt des Mäuseascitestumors ist die Kenntnis dieser Größe aber von Wichtigkeit, und wir werden diese Größe weiter festlegen.

Die durch das Colchicin in den 10 Stunden arretierten Mitosen wären normalerweise zum Ablauf gekommen, so daß beim unbehandelten Tier nach 10 Stunden ebenso viele Mitosen wie zu Versuchsanfang zu finden wären, d. h. normalerweise wären in 10 Stunden 38,9 Mitosen abgelaufen, so daß sich für die Dauer der einzelnen Mitose eine Zeit von durchschnittlich 15 Minuten berechnet. Die Zelle des Ascitestumors braucht also etwas mehr als einen Tag, um zur Teilung heranzuwachsen, und teilt sich dann in einer Viertelstunde in zwei neue Zellen.

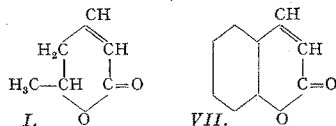
Es erscheint von Interesse, analoge Zahlen auch von normalem Gewebe zu erhalten, um beurteilen zu können, welche Unterschiede hier vorliegen. Wahrscheinlich wird es sich nur um quantitative Abstufungen, nicht um ein völliges Abweichen bei normalem sog. ruhendem Gewebe handeln.

Göttingen, Allgemeines Chemisches Universitätslaboratorium, den 12. Juli 1943. HANS LETTRÉ.

- 1) H. LETTRÉ, Hoppe-Seylers Z. 268, 59 (1941).
- 2) H. LETTRÉ, Hoppe-Seylers Z. 271, 190 (1941).
- 3) H. BRODERSEN, Strahlenther. 73, 196 (1943).
- 4) Siehe RIES, Naturwiss. 27, 505 (1939).
- 5) O. BUCHER, Z. Zellforsch. 29, 283 (1939).
- 6) A. M. BRUES u. A. COHEN, Biochemic. J. 30, 1363 (1936).
- 7) A. LEVAN u. G. OESTERGREN, Hereditas 29, 381 (1943).

Über die chemische Natur der Blastokoline und ihre Einwirkung auf keimende Samen, Pollenkörner, Hefen, Bakterien, Epithelgewebe und Fibroblasten.

Blastokolin (β lástólos = Keim, Sproß, Wachstum; κ ολάζω = im Raum halten, bändigend) ist der Name, den A. KÖCKEMANN¹) einer in reifen Früchten und Samen vorkommenden, in Alkohol und Äther löslichen Substanz von unbekannter Konstitution gegeben hat, welche die Keimung von Samen unterdrückt. Unser Testobjekt waren Samen von *Lepidium sativum* (Kresse), unser bisher bestes Ausgangsmaterial reife Früchte von *Sorbus aucuparia* (Vogelbeeren). Das aus diesen 1859 von A. W. HOFMANN²) isolierte rechtsdrehende Sorbinöl, dessen Konstitution R. KUHN und D. JERCHEL³) durch Abbau und Synthese des Racemats im Sinne von I bewiesen haben, hat sich im Blastokolintest als hochwirksam erwiesen. Die Frage, ob die aus Tomaten- und Apfelsaft sehr weit angereicherten Wirkstoffe⁴) mit dem Sorbinöl identisch sind, ist noch nicht entschieden. Vergleichend mit natürlichem I (Parasorbinsäure, $\Delta\alpha\beta$ -Hexen- δ -lacton, Hexen-2-olid-5,1) haben wir geprüft: synth. d, l-Sorbinöl (II), Hexen-2-olid-4,1 (III), Hexen-4-olid-5,1 (IV), dl- δ -Capro-lacton (V) und das Lactam der δ -Amino- $\Delta\alpha\beta$ -hexensäure (VI).



I. Kressesamen. I unterdrückt die Keimung völlig in einer Verdünnung 1:1000. Bei 1:10000 bleibt die Länge

Substanz 1:1000	von 100 Samen keimen	Substanz 1:10000	Wurzellänge (mm)
I	0	I	5,7
II	0	II	7,0
III	0	III	7,0
IV	20	IV	9,4
V	75	V	16,8
VI	63	VI	13,6
—	98	—	17,0

der gebildeten Wurzeln hinter derjenigen in den Kontrollen (17 mm) deutlich zurück.

Cumarin (VII) ist noch wirksamer. Es läßt bei 1:10000 nur 2% der Samen keimen, während I bei 1:10000 noch 70—80% Keimung ergibt. d- und l- α -Oxy- β -dimethyl- γ -butyrolacton sowie α -Keto- β , β -dimethyl- γ -butyrolacton waren ohne Wirkung (1:1000).

2. Pollen von *Antirrhinum* (sp.). I, II, III und V unterdrücken die Bildung von Pollenschläuchen völlig, wenn man 1:1000 zugibt. Bei 1:10000 hemmen I und II noch stark, III und V nicht mehr. d,l-Pantothensäure als krist. Natriumsalz (1:1000) schwächt die Wirkung nicht ab. VII hemmt das Wachstum der Pollenschläuche noch 1:100000.

3. Hefe. Das Wachstum von Hefe (Rasse M) wurde in synth. Nährlösung⁵) bei $p_H = 3,2$ und $p_H = 6,6$ lichtelektrisch (Trübungswerte) gemessen.

4. Staphylokokken. Nach derselben Methode⁶) wurde der Einfluß der ungesättigten Lactone auf das Wachstum von *Staphylococcus pyogenes aureus* (Stamm v R) untersucht.

Substanz 1:2000	Relative Trübungswerte nach 96 Std. bei 28°		
	Hefe ($p_H = 3,2$)	Hefe ($p_H = 6,6$)	<i>Staph. aureus</i>
I	13	15	0
II	0	17	0
III	49	19	28
IV	100	87	92
V	—	—	90
VI	92	60	84
—	100	100	100

5. Milchsäurebakterien, *Streptobacterium plantarum* (Stamm 10 S I. G.) I, II, III, IV, V und VI hemmen nicht (geprüft bis 1:1000).

P. B. MEDAWAR, G. M. ROBINSON und R. ROBINSON⁷) haben vor kurzem aus Malz sowie synthetisch aus Acetaldehyd und Malonsäure in kleinen Mengen ein ungesättigtes Lacton $C_6H_8O_2$ gewinnen können, das als differential growth inhibitor⁸) in der Gewebekultur das Wachstum von tierischem Epithel unbeeinflusst läßt, dasjenige von Fibroblasten und Mesenchymzellen aber noch mit 6—10 γ /ccm ganz unterdrückt. Daraufhin sind unsere Substanzen auch an Gewebekulturen (im Rudolf Virchow-Krankenhaus) geprüft worden.

6. Hühnerherzfibroblasten. I hemmt stark bei 12 γ /ccm, II völlig bei 10 γ /ccm, III erst bei 80 γ /ccm. Ohne Wirkung blieben IV (geprüft bis 300 γ /ccm), V (bis 50 γ /ccm) und VI (bis 333 γ /ccm). Diese Reihenfolge entspricht weitgehend der an Pflanzen und Mikroorganismen gefundenen.

7. Ehrlich-Carcinomgewebe. 10—12 γ /ccm synth. und natürl. Sorbinöl blieben ohne Einfluß auf das Wachstum.

Zusammenfassung: Sorbinöl und andere ungesättigte Lactone vermögen die Keimung von Samen und Pollen sowie das Wachstum von Mikroorganismen und tierischem Gewebe zu unterdrücken. Unter den Bakterien gibt es solche (Milchsäurebakterien), die wie tierische Epithelgewebe (Carcinome) auf die Blastokoline kaum ansprechen, und andere (Staphylokokken), die wie Fibroblasten und Mesenchymzellen gegen diese recht empfindlich sind.

Heidelberg, Kaiser Wilhelm-Institut für Medizinische Forschung, Institut für Chemie, den 4. Juli 1943.

RICHARD KUHN, DIETRICH JERCHEL, FRANZ MOEWUS, ERNST FRIEDRICH MÖLLER.

Berlin, Allgemeines Institut gegen die Geschwulstkrankheiten im Rudolf Virchow-Krankenhaus, den 15. Juli 1943. HANS LETTRÉ.

¹) Ber. dtsh. bot. Ges. 52, 523 (1934) — Beih. bot. Zbl. 55, 191 (1936).

²) Liebigs Ann. 210, 129 (1859). — O. DOEBNER, Ber. dtsh. chem. Ges. 27, 344 (1894).

³) Ber. dtsh. chem. Ges. 76, 413 (1943).

⁴) Diese Präparate sind von Herrn Prof. Dr. F. WEXGAND hergestellt worden.

⁵) Zusammensetzung der Nährlösung wird noch veröffentlicht.

⁶) Ber. dtsh. chem. Ges. 76, 405 (1943).

⁷) Nature (Lond.) 151, 195 (1943).

⁸) Vgl. T. B. HEATON, J. of Path. 29, 293 (1926); 32, 565 (1929). — P. B. MEDAWAR, Quart. J. exper. Physiol. 27, 147 (1937).