abfall auf, der bei Methoxylierung oder Glucosidierung in 6-Stellung ausbleibt. Scopoletin und Äsculin sind sich verhältnismäßig ähnlich, jedoch sind zwei Unterschiede vorhanden, die auch bei den an Lösungen durchgeführten Messungen hervortraten^{2, 6}: 1. Im Bereich zwischen p_H 3 und p_H 5,5 wird die Fluoreszenzintensität von Äsculin relativ mehr geschwächt als die von Scopoletin. 2. Der Anstieg der Fluoreszenzintensität beim Übergang nach höheren p_H -Werten erfolgt bei Äsculin früher (unterhalb p_H 6) als bei Scopoletin (oberhalb p_H 6). Die abgebildeten Kurven stimmen weitgehend mit den

an Lösungen gewonnenen überein^{2, 6}. Es muß jedoch allgemein beachtet werden, daß für einen strengen Vergleich derartiger Kurven auch eine gleiche Versuchsanordnung erforderlich ist, da Faktoren wie z. B. Art des Puffers, Fluoreszenzlösung durch Verunreinigungen, spektrale Empfindlichkeit der Photozelle, Art des Sperrfilters und anderes die Meßergebnisse beeinflussen⁷.

Herrn Professor Dr. A. KÜHN, Max-Planck-Institut für Biologie, Tübingen, bin ich für die freundliche Erlaubnis zur Benutzung des Fluorometers zu Dank verpflichtet.

Über den Einfluß von Kochsalz auf die Ribonuclease und ihre Hemmung durch Heparin

VON BRUNO LORENZ, RITA LORENZ UND NEPOMUK ZÖLLNER

Medizinische Poliklinik der Universität München,
(Direktor: Prof. Dr. W. SEITZ)

(Z. Naturforsch. 15 b, 62–63 [1960]; eingeg. am 26. Oktober 1959)

Heparin hemmt die Ribonuclease des Pankreas in einer qualitativ gut zu beschreibenden Weise¹; die Ribonuclease-Hemmung ist demgemäß zur Heparinbestimmung prinzipiell brauchbar. Die Anwendung entsprechender Methoden auf eiweißhaltige Versuchsansätze stößt jedoch auf Schwierigkeiten, da unter den Bedingungen der Kunitz'schen Ribonuclease-Methode² dabei Trübungen durch Nucleoprotein-Bildung auftreten, welche die Durchführung dieses optischen Tests verhindern. Diese Trübung kann durch Zusatz von Kochsalz hintangehalten werden, doch beeinflußt der Salzzusatz sowohl die Aktivität der Ribonuclease als auch ihre Hemmung durch Heparin.

CARTER und GREENSTEIN³ und seither eine Reihe von Autoren^{4–7} haben mit verschiedenen Methoden beobachtet, daß Salze die Ribonuclease aktivieren. Wir selbst haben mit einer Methode, bei der die Spaltprodukte vom Ansatz abgetrennt und ihre Extinktion gemessen wird⁸ durch 0,04-m. Kochsalzzusatz eine Aktivierung auf das Dreifache der Reaktionsgeschwindigkeit in salzfreier Lösung erreicht; die Wirkung einiger anderer Chloride, Sulfate und Phosphate von Alkalien und Erdalkalien war quantitativ ähnlich.

Die Durchtestung verschiedener NaCl-Konzentrationen mit der Kunitz-Methode ergab zunächst ein scheinbares Maximum der Aktivierung bei 0,05-m. NaCl, NaCl-Konzentrationen über 0,2-m. schienen sogar hemmend zu wirken. Mit dem Kochsalzzusatz nimmt jedoch auch die Extinktion sowohl des Ribonucleates als auch der Spaltprodukte erschöpfender Ribonuclease-Einwirkung ab, die Veränderungen der Lichtabsorption

Abb. 1. Der Einfluß von Kochsalz auf die Lichtabsorption von Ribonucleat (obere Kurve) und ihres Ribonuclease-Abbauproduktes (untere Kurve). Der Ansatz enthielt 2 mg Ribonucleat und Kochsalz, um die angegebene Molarität zu erreichen, in 5 cm³ eines 0,04-m. Natriumacetat-Puffers von p_H 5,0. Zum erschöpfenden Abbau wurden 5 γ Ribonuclease verwendet. Ordinate: Extinktion · 10³ (1-cm-Küvette) bei 300 m μ . Abszisse: NaCl-Konzentration.

laufen aber nicht parallel (Abb. 1). (Der Abfall der Extinktion des Ribonucleates bei steigender NaCl-Konzentration stimmt quantitativ überein mit Befunden von SHACK, JENKINS und THOMPSETT⁹, die an Desoxyribonucleinsäure aus Kalbsthymus ebenfalls einen Abfall der Lichtabsorption mit steigender Salzkonzentration fanden.) Die für die Berechnung der Ribonuclease-Aktivität wesentliche Differenz zwischen Extinktion der Ribonucleinsäure und ihrer Spaltprodukte ($E_0 - E_t$) nimmt also im Bereich der geprüften Salzkonzentrationen laufend ab. Daraus folgt, daß zwar die erwähnte Beschleunigung des Extinktionsabfalles bei der Einwirkung von Ribonuclease auf Ribonucleinsäure durch Salze eine echte Aktivierung darstellt, daß aber in Versuchen, in denen der Extinktionsabfall bei Salzzusatz geringer als ohne diesen ist, geprüft werden muß, ob die Verringerung des Extinktionsabfalles Ausdruck einer Hemmung der Ribonuclease oder die Folge der Verkleinerung von $E_0 - E_t$ ist.

Die Berechnung der Aktivierung der Ribonuclease durch Salz ergibt unter Anwendung der Kunitz'schen

¹ N. ZÖLLNER u. J. FELLIG, Amer. J. Physiol. **173**, 223 [1953]; Naturwissenschaften **39**, 523 [1952].

² M. KUNITZ, J. biol. Chemistry **164**, 563 [1946].

³ C. E. CARTER u. J. P. GREENSTEIN, J. nat. Cancer Inst. **7**, 29 [1946/47].

⁴ C. LAMANNA u. M. F. MALLETT, Arch. Biochemistry **24**, 451 [1949].

⁵ H. EDELHOCH u. J. COLEMAN, J. biol. Chemistry **219**, 351 [1956].

⁶ S. R. DICKMAN, R. B. KROFF u. J. P. AROSKAR, Biochim. biophysica acta [Amsterdam] **21**, 539 [1956].

⁷ S. R. DICKMAN u. B. RING, J. biol. Chemistry **231**, 741 [1958].

⁸ N. ZÖLLNER, Habilitationsschrift, München 1954.

⁹ J. SHACK, R. J. JENKINS u. J. M. THOMPSETT, J. biol. Chemistry **203**, 373 [1953].

Formeln² bei 0,05-m. NaCl eine Aktivierung auf das 2,2-fache. Bei 0,5-m. NaCl betrug der Extinktionsabfall in den ersten 10 Min. 0,040, während unter sonst gleichen Bedingungen ohne Salzzusatz der Extinktionsabfall 0,067 ausmachte. Setzt man die Werte für $E_0 - E_t$ ein (0,065 für den Versuch mit 0,5-m. NaCl, 0,171 für den ohne), so ergibt sich dennoch eine Aktivierung

NaCl-Konzentration	Versuch mit Heparinzusatz (50 γ) (H)	Kontrollversuch (K)	H:K
[-m.]			
0	0,001	0,032	0,03
0,03	0,024	0,048	0,50
0,05	0,035	0,052	0,67
0,1	0,050	0,048	1,04

Tab. 1. Die Wirkung von Kochsalz auf die Hemmung der Ribonuclease durch Heparin. Ansatz wie in Abb. 1. Die Zahlen in Spalte 2 und 3 geben den Abfall der Extinktion bei 300 m μ zwischen 15 Sek. und 10 Min. nach Versuchsbeginn wieder.

durch Salz; direkte Bestimmungen unter Messung der Reaktionsprodukte haben wir bei dieser Salzkonzentration aber nicht angestellt.

(DICKMAN und RING⁷ haben ebenfalls beobachtet, daß nach Salzzusatz sowohl die Lichtabsorption (300 m μ) von Ribonucleat bei p_H 5,0 abnimmt, als auch bei höheren Konzentrationen der Extinktionsabfall unter der Einwirkung von Ribonuclease geringer wird. Bei ihrer Deutung, daß Salz die photometrisch meßbare Reaktion hemmt, haben die Autoren jedoch nicht berücksichtigt, daß $E_0 - E_t$ mit steigender Salzkonzentration ebenfalls kontinuierlich abnimmt.)

Untersucht man nun, wie sich die Hemmung der Ribonuclease durch Heparin bei verschiedenen NaCl-Konzentrationen verhält, so ergibt sich, daß zunehmende NaCl-Konzentrationen die Hemmung weitgehend zurückdrängen (Tab. 1). NaCl-Konzentrationen, wie sie zur Hintanhaltung der eingangs erwähnten Nucleoprotein-Bildung nötig sind (0,2–0,4-m.), drängen die Heparinhemmung soweit zurück, daß in ihrer Anwesenheit die Bestimmung kleiner Heparinmengen mit Hilfe des optischen Ribonuclease-Tests von KUNITZ unmöglich ist.

Über die Schutzwirkung einiger Salicyl-Derivate bei akutem experimentellem Adrenalin-Lungenödem

Von PIETRO DE BONIS und GIUSEPPE LOMEO

Institut Clinica Medica und Terapia Medica der Universität Rom (Direktor: Prof. Dr. LUIGI CONDORELLI)

(Z. Naturforsch. 15 b, 63–65 [1960]; eingeg. am 16. November 1959)

In unseren Untersuchungen zur Klärung des Wirkungsmechanismus antirheumatischer Medikamente fanden wir, daß einige Pyrazolon-Derivate wie Antipyrin, Pyramidon, Novalgin, Butazolidin, bei akutem experimentellem Adrenalin-Lungenödem im Kaninchen eine

Schutzwirkung ausüben¹. Um unsere Versuche zu vervollständigen, haben wir versucht, unter den gleichen Bedingungen die Wirkung einiger Salicyl-Präparate zu ermitteln, da dieselben, trotz ihrer sehr verschiedenen chemischen Konstitution und pharmakologischen Eigenschaften, mit den obengenannten antirheumatischen Substanzen eine erhebliche therapeutische Wirkung auf dem Gebiet der rheumatischen Erkrankungen gemeinsam haben.

Die erhaltenen Resultate sind in Tab. 1 aufgeführt.

Die angeführten Ergebnisse beweisen deutlich, daß die von uns verwendeten Salicyl-Derivate sich wie die in den vorhergehenden Untersuchungen geprüften antirheumatischen Substanzen verhalten, indem sie unter geeigneter

Kaninchen Zahl	Salicyl-Derivate [mg/Kg]	Adrenalin intravenös [mg/Kg]	Tote	Überlebende
5	Natriumsalicylat 500 intravenös	1	5	0
10	„ 500 subcutan	1	10	0
8	„ 100 intravenös	1	3	5
12	„ 40 „	1	0	12
3	Methylsalicylat 30 intraperitoneal	1	1	2
6	„ 60 „	1	2	4
10	„ 90 „	1	0	10
10	Acetylsalicylsäure 20 intravenös	1	10	0
10	„ 40 „	1	3	7
10	„ 100 „	1	6	4
10	„ 150 „	1	10	0
10	p-Amino-Natriumsalicylat 50 intravenös	1	5	5
10	„ 70 „	1	4	6
10	„ 100 „	1	3	7
25	—	1	25	0

Tab. 1. Wirkung einiger Salicyl-Derivate auf das experimentelle Adrenalin-Lungenödem.

¹ G. LOMEO u. P. DE BONIS, Boll. Soc. ital. sperim. 31, 1437 [1955].