benzoquinone. Since it was shown that II could be formed by oxidation of I with benzoquinone, its presence here is probably due to the redox equilibria:

Similar radicals have been observed in the reaction of benzoquinone with tributyl- and tri(β -cyanoethyl)-phosphines and their splitting constants are given in Table 1. The hyperfine structure of the electron spin resonance of these and related radicals will be the subject of a forthcoming communication.

Phosphine	Splitting Constants. (gauss)	
	^{31}P	^1H
Triphenyl	4.25 ± 0.05	1.40, 1.60, 5.50 ± 0.05
Tributyl	4.75 ± 0.05	1.60, 1.60, 4.90 ± 0.05
Tri(β -cyanoethyl)	4.45 ± 0.05	1.80, 1.50, 5.95 ± 0.05

Table 1. Hyperfine splitting constants of free-radical phosphobetaines in methylene chloride solution.

Über die teratogene Wirkung organischer Verbindungen I

Eine Laboratoriums-Testmethode *

Von R. RIEMSCHEIDER, K. BROCKMEYER und H. SOMMER ¹

Institut für Biochemie der Freien Universität Berlin-Dahlem
(Z. Naturforsch. **18** b, 167—168 [1963]; eingegangen am 9. August 1962)

Die Mitteilungen über die teratogene Wirkung ² des als Sedativum und Hypnoticum entwickelten *N*-Phthalylglutaminsäureimids (I) warfen eine Reihe von Fragen auf, wie z. B.: Hat man I selbst oder Hydrolysen- bzw. Abbauprodukte von I, z. B. Verbindungen vom Typ II, für die beobachteten teratogenen Effekte verantwortlich zu machen? Lassen sich hypnotisch und sedativ

wirkende I-Analoga bzw. -Derivate entwickeln, die keine „teratogenen Nebenwirkungen“ besitzen? — Die experimentelle Bearbeitung dieser und anderer Fragen setzt eine geeignete Laboratoriums-Testmethode voraus.

Bis zu Beginn der eigenen Versuche im Dezember 1961 sind nur klinische Beobachtungen über Handelspräparate auf I-Basis [Contergan, Thalidomide, Distaval, Isomin, Sedalis u. a.] bekannt geworden ².

Im folgenden sei über einige Ergebnisse unserer Versuche zur Entwicklung einer Testmethode für das Laboratorium berichtet: Durch Verfütterung von I an schwangere Mäuse, Kaninchen und Schweine versuchten wir teratogene Effekte bei Neugeborenen zu erzeugen. Es wurde ein bei 270° schmelzendes I-Präparat verwendet, das in unserem Laboratorium synthetisiert und durch sein UV-Spektrum ³ charakterisiert worden ist. Mit weißen Kaninchen ⁴, und zwar einem Stamm, der schon seit Jahren von Herrn K. LANGE gezüchtet wird, haben wir verhältnismäßig gute Resultate erzielt. Nach einer Reihe negativer Versuche (85 Tiere) erwies sich folgende Arbeitsweise zur Erzeugung teratogener Effekte unter dem Einfluß von I als brauchbar: Perorale Gaben von je 200 mg I/kg an 12–13 Monate alte Muttertiere vom siebten bis zum vierzehnten Tag nach Schwangerschaftsbeginn und anschließend von je 150 mg I/kg bis zum achtzehnten Tag. Die Trächtigkeitsdauer betrug 30–32 Tage. Das Geburtsgewicht der Jungen lag zwischen 48 und 61 Gramm. Die auffallenden Mißbildungen der Nachkommen bestanden in einer Verkürzung der Vorderbeine und Defekten verschiedener Art an den Hinterbeinen — vergleichbar mit den congenitalen Abnormalitäten bei neugeborenen Kindern ². In Tab. 1 sind die Resultate einiger Ver-

* Referiert am 4. 9. 1962 vor der Medizinischen Gesellschaft in Buenos Aires (Sociedad de Obstetricia y Ginecología de Buenos Aires und Sociedad Argentina para el Estudio de la Esterilidad).

¹ Anschrift für den Schriftverkehr: Prof. Dr. R. RIEMSCHEIDER, Berlin-Charlottenburg 9, Bolivarallee 8.

² W. KOSENOW u. R. A. PFEIFFER, Mschr. Kinderheilk. **109**, 227 [1961]; M. MCBRIDE, Lancet **1961**, 1458; W. LENZ, Vortrag vom 18. Nov. 1961 in Hamburg.

³ R. BECKMANN u. H. H. KAMPE, Arzneimittelforsch. **11**, 45 [1961].

⁴ Die Tiere zeigten bei 20-tägiger peroraler Verabreichung von je 200 mg I/kg keine Unverträglichkeits-Erscheinungen und keine morphologischen Veränderungen der Blutkörperchen — in Übereinstimmung mit Versuchen von W. KUNZ, H. KELLER u. H. MÜCKTER, Arzneimittelforsch. **6**, 426 [1956].

suche (von 88, ohne Kontrollen) über Wurfgröße und Zahl der Neugeborenen mit Mißbildungen zusammengestellt. Die Anzahl der totgeborenen Tiere ergibt sich aus der Differenz von Spalte 2 und 3. 67 der 88 Versuche sind negativ oder ohne klares Ergebnis verlaufen.

Beschreibung der Mißbildungen und sonstiger Defekte der Neugeborenen sowie Auswertung werden von medizinischer Seite erfolgen. In unserem Institut setzen wir die Untersuchungen über „Konstitution und teratogene Wirkung“ im Sinne der eingangs formulierten Fragestellungen fort ⁶.

Versuche der peroralen Applikation von markiertem I (¹⁴C) an Kaninchen am 15. Tag nach Schwangerschaftsbeginn in Mengen von 30 mg/kg ergaben, daß I bzw. Hydrolysen- oder Abbauprodukte von I nach 90 Min. im Foetus und Fruchtwasser nachweisbar sind, d. h. die Placentaschranke durchbrochen wird.

⁵ I-Menge in 12 Tagen: 2,2 g/kg. Weitere Versuche ergaben, daß die I-Menge noch herabgesetzt werden kann.

⁶ Während des Drucks wurde uns eine Notiz von G. F. SOMERS [Lancet 1962, 912] bekannt, in welcher über die teratogene Wirkung von I auf 4 Kaninchen berichtet wird.

Versuchstier	Gesamtzahl	davon lebend	davon abnormal
1	6	5	5
2	8	6	5
3	7	4	4
4	9	8	6
5	8	6	5
6	3	3	2
7	8	7	2
8	6	6	4
9	8	7	6
10	4	3	2
11	8	8	8
12	6	6	4
Kontrollen			
13	7	7	0
14	6	6	0
15	9	9	0
16	7	7	0
17	8	7	0
18	6	6	0

Tab. 1. Wurfgrößen mit I ⁵ gefütterter Tiere und Kontrollen.

Plasma protein synthesis in nutritional muscular dystrophy *

By J. F. DIEHL

Department of Biochemistry, University of Arkansas Medical Center, Little Rock

(Z. Naturforsch., 18 b, 168—169 [1963]; eingegangen am 30. August 1962)

Changes in serum electrophoretic patterns of rabbits maintained on a vitamin E-deficient diet have been observed by several authors ^{1, 2}. These changes are noticeable early in the development of the deficiency syndrome and are therefore not secondary to the muscular dystrophy seen in the acute stage of this deficiency disease. It appeared that a study of serum protein turnover rates in vitamin E-deficient and vitamin E-supplemented rabbits might help to clarify the nature of these changes by either confirming or ruling out an effect of vitamin E-deficiency on plasma protein metabolism. A striking increase in the rate of incorporation of glycine-1-¹⁴C into total plasma proteins of vitamin E-deficient rabbits as compared to control rabbits was found in the present work.

Experimental procedure

White New Zealand rabbits, approximately 4 weeks old when purchased, were placed on a vitamin E-deficient semi-synthetic diet. The composition of the diet and the mode of supplementing control animals with

vitamin E were the same as previously described ³. Vitamin E-deficient animals were injected intraperitoneally with 10 μ c of glycine-1-¹⁴C per 100 g body weight (specific activity 5 mc/mmole) when they showed symptoms of advanced muscular dystrophy. Control animals were injected when they had been on the purified diet for a comparable length of time (approximately 3 weeks). Blood was obtained from different animals by heart puncture with a heparinized syringe at 0.5, 1, 4 and 12 hours after injection of the glycine. Plasma was obtained by centrifugation and the proteins were precipitated with trichloroacetic acid in the usual manner, washed and dried. Radioactivity was determined on duplicate samples and counts were corrected for background and self-absorption.

Results and discussion

Results are summarized in Fig. 1. Each experimental point of the graph represents the average specific activity (S. A.) of the plasma proteins obtained with groups of 2 to 5 animals. A total of 13 control and 15 vitamin E-deficient rabbits were used to obtain these data. The S.A. of the mixed plasma proteins of the dystrophic animals increased at a much faster rate and reached a peak at about 4 hours after injection while that of the control animals reached a peak at 12 hours or possibly later. The results obtained with the vitamin E-supplemented animals are thus in agreement with the observation of PENN et al. ⁴, who reported that the isotope

* Supported by a research grant (A-3294) from the National Institutes of Health, U.S. Public Health Service.

¹ J. R. ALLEN, W. R. BEACHTEL, B. A. SULLIVAN and H. L. DOBSON, Metabolism 7, 646 [1958].

² H. OPPENHEIMER, S. SHULMAN, S. ROBERTS and A. T. MILHORAT, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 97, 882 [1958].

³ J. F. DIEHL and W. M. RIDDELL, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 112, 47 [1963].