

# ANGEWANDTE CHEMIE

87. Jahrgang 1975  
Heft 5  
Seite 143–178

## Prostaglandine

Von Wilhelm Bartmann<sup>[\*]</sup>

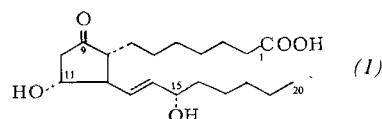
Die Prostaglandine sind lipidlösliche C<sub>20</sub>-Carbonsäuren mit einem fünfgliedrigen Ring, mehreren Sauerstoff-Funktionen und mindestens einer Doppelbindung. Sie kommen im tierischen Organismus vor, wo sie u. a. die glatte Muskulatur anregen. In den letzten 10 Jahren hat man mehr über das Vorkommen, die Biosynthese, den Metabolismus und die pharmakologischen Eigenschaften von Prostaglandinen gelernt. Analytische Verfahren zu ihrer Bestimmung und Synthesen für die Naturprodukte und deren künstliche Analogen wurden entwickelt. In diesem Fortschrittsbericht wird versucht darzulegen, warum diese Ergebnisse die pharmazeutische Forschung außerordentlich stimulieren.

### 1. Einführung

1965 erschien in dieser Zeitschrift ein Aufsatz, der sich vorwiegend mit der Strukturaufklärung und der Biosynthese der Prostaglandine befaßte<sup>[1]</sup>. Im gleichen Jahre waren insgesamt ca. 60 Beiträge über Prostaglandine veröffentlicht worden. Zur Zeit erscheinen pro Tag etwa vier Mitteilungen über diese Naturstoffe. Im vorliegenden Fortschrittsbericht wird deshalb nicht versucht, eine Bibliographie der Prostaglandinforschung zu erstellen, zumal einige ausgezeichnete Übersichten spezieller Aspekte der Prostaglandine z. T. schon in Buchform<sup>[2–8]</sup> vorliegen.

Sehr verallgemeinernd lässt sich die bisherige Prostaglandinforschung aus der Sicht des pharmazeutisch interessierten Chemikers in drei Phasen einteilen:

1. Die Phase der Strukturaufklärung, die 1966 mit der Ermittlung der absoluten Konfiguration des Prostaglandins E<sub>1</sub> (1)<sup>[9]</sup>



(1), Prostaglandin E<sub>1</sub> (PGE<sub>1</sub>) = (–)-11 $\alpha$ ,15(S)-Dihydroxy-9-oxo-13-trans-prostensäure [\*\*]

[\*] Dr. W. Bartmann  
Hoechst AG, Pharma Synthese  
623 Frankfurt (M) 80, Postfach 800320

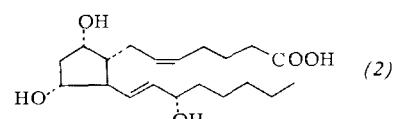
[\*\*] Zur Struktur weiterer Prostaglandine und zur Nomenklatur siehe [6] sowie Formel (2), (4), (7) und (47).

durch eine gemeinsame Publikation der Arbeitskreise um Bergström und van Dorp beendet wurde.

2. Die synthetische Phase, in der zwischen 1965 und 1973 grundsätzlich die wissenschaftlichen Probleme der Totalsynthese gelöst wurden.

3. Die molekularbiologische Phase, in der man zuerst 1964<sup>[10]</sup>, verstärkt dann etwa ab 1970 die vielfältigen, sich zum Teil anscheinend widersprechenden physiologischen Eigenschaften der Prostaglandine durch die Erkenntnis ihrer molekularbiologischen Rolle in der Natur zu verstehen begann (siehe u. a. [7]).

Eine vierte Phase, die des breiten Einsatzes natürlicher Prostaglandine oder ihrer künstlichen Analoga in der Medizin, hat trotz intensiver weltweiter Anstrengungen der pharmazeutischen Industrie noch nicht begonnen, wenn man von der Ausbietung des PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  (2) als Abortivum absieht<sup>[11]</sup>.



(2), Prostaglandin F<sub>2 $\alpha$</sub>  (PGF<sub>2 $\alpha$</sub> ) = (–)-9 $\alpha$ ,11 $\alpha$ ,15(S)-Trihydroxy-5-cis,13-trans-prostadiensäure

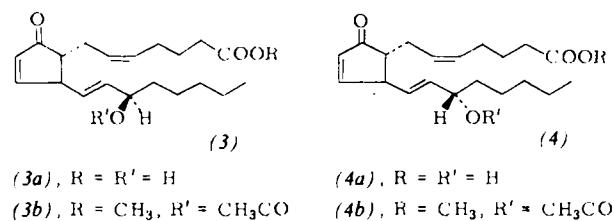
Wenn trotz einer gewissen Ernüchterung das Interesse an den Prostaglandinen unvermindert anhält, dann ist dies zum einen auf das ubiquitäre Vorkommen dieser den langkettigen Fettsäuren strukturell und biogenetisch verwandten Natur-

stosse zurückzuführen, zum anderen auf ihre vielfältigen biologischen Eigenschaften.

## 2. Vorkommen

In nahezu allen tierischen Geweben können Prostaglandine nachgewiesen werden, wenn auch in geringen, von Gewebe zu Gewebe wechselnden Mengen<sup>[12]</sup>. Alle bisherigen Experimente deuten darauf hin, daß sie am Wirkort durch einen Enzymkomplex, die Prostaglandin-Synthetase<sup>[13]</sup>, synthetisiert und durch spezifische Enzyme rasch wieder deaktiviert<sup>[14]</sup> werden.

In verhältnismäßig großen Mengen kommen Prostaglandine der A-Reihe oder ihre Ester sowohl in der in tierischen Geweben physiologisch inaktiven (15*R*)-Form (3) als auch in der aktiven (15*S*)-Form (4) in einer Koralle des Karibischen Mees-



res vor<sup>[15]</sup>. Dabei wurden bis zu 1.5 Gew.-% der Cortex nasser, gefrorener Hornkorallen *Plexaura Homomalla* als Gemisch mehrerer Prostaglandine isoliert. Diese natürliche Quelle wird bereits kommerziell ausgebeutet<sup>[16]</sup>, wobei die so gewonnenen Prostaglandine A vornehmlich als Ausgangsmaterial für andere natürliche und synthetische Prostaglandine dienen.

Nach den vorliegenden Ergebnissen scheint es wenig wahrscheinlich, daß diese biologische Quelle für die industrielle Herstellung von Prostaglandinen eine ähnliche Bedeutung erlangen wird, wie sie die Gewinnung des Diosgenins aus *Dioscorea*-Arten für die Partialsynthese von Steroidhormonen hatte.

Die physiologische Rolle der in den maritimen Organismen vorkommenden Prostaglandine ist ungeklärt<sup>[15]</sup>, desgleichen ihre Entstehung<sup>[17]</sup> in diesen niederen Lebewesen. Während Prostaglandine im Tierreich entwicklungsgeschichtlich sehr früh auftreten, sind sie mit Sicherheit im Pflanzenreich noch nicht nachgewiesen worden<sup>[18]</sup>.

Prostaglandin-Synthetase wurde in Primaten, Schweinen, Schafen, Ratten bis hin zu Fischen, Muscheln und Hummern nachgewiesen; dies deutet auf eine elementare regulatorische Rolle der Prostaglandine hin<sup>[13]</sup>.

### 3. Analytik

Die Bestimmung von Prostaglandin-Synthetase-Aktivitäten und Prostaglandin-Konzentrationen in Geweben ist deshalb für das Verständnis der physiologischen Rolle von Prostaglandinen unerlässlich, weil es z. B. Hypothesen gibt, die von der Norm abweichende Prostaglandin-Gewebespiegel in ursächlichem Zusammenhang mit bestimmten Erkrankungen bringen (siehe Abschnitt 6).

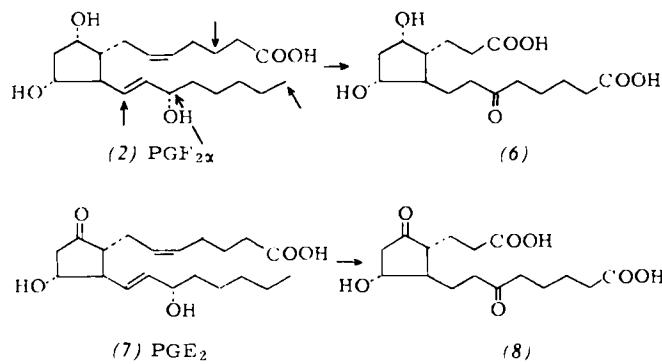
Der Bestimmung der normalerweise in verschiedenen Geweben produzierten Prostaglandine stehen Schwierigkeiten entgegen. Die Prostaglandine werden sehr rasch deaktiviert: z. B. wird PGE<sub>1</sub> (1) bei einer einzigen Passage durch die Hundeniere zu 43 % in weniger polare Metaboliten übergeführt<sup>[20]</sup>, und bei einer einzigen Passage durch die Lungen von Katze, Hund oder Kaninchen werden die Prostaglandine E<sub>1</sub> (1), E<sub>2</sub> (7) und F<sub>2x</sub> (2) zu 90–95 % metabolisiert<sup>[19]</sup>. Es finden sich aber auch Hinweise, daß während der Aufarbeitung der Prostaglandine aus tierischen Geweben die Prostaglandin-Synthetase stimuliert wird<sup>[13, 27]</sup> und Prostaglandinspiegel vorgetäuscht werden, die im „Normalzustand“ nicht in dieser Höhe vorhanden sind.

Die relativ aufwendige chemisch-analytische Technik der Aufbereitung der Gewebe, der Isolierung und der Anreicherung von Prostaglandinen neben verhältnismäßig großen Mengen von Lipiden und Fettsäuren mit ähnlichen physikalischen Parametern ist Gegenstand zahlreicher Veröffentlichungen, in denen über den Nachweis der Prostaglandine durch Gaschromatographie spezieller Derivate<sup>[21]</sup>, der mit der Gaschromatographie kombinierten Massenspektrometrie<sup>[22-24]</sup>, dem Radioimmunoassay<sup>[25]</sup> und dem enzymatischen Test<sup>[26]</sup> berichtet wird. Für die Erfassung „normaler“ Prostaglandinspiegel im Blutplasma scheint zur Zeit die massenspektrometrische Bestimmung von Prostaglandin-Metaboliten die verlässlichste Methode zu sein<sup>[27]</sup>.

Nachdem die Grundlagen für die Erfassung von Prostaglandin-Konzentrationen unter normalen und pathologischen Bedingungen geschaffen sind, wird die Standardisierung und die Verbilligung der Analysenmethoden mit großer Wahrscheinlichkeit eine Forschungsrichtung stimulieren, die die Bestimmung von Prostaglandin-Konzentrationen als diagnostische Methode benutzt.

#### 4. Metabolismus

Der Metabolismus der Prostaglandine unterscheidet sich nur in den beiden einleitenden, für die Desaktivierung geschwindigkeitsbestimmenden Schritten wesentlich von dem der langketigen Fettsäuren. Die stereospezifische 15(S)-Hydroxyprostaglandin-Dehydrogenase oxidiert die Alkoholfunktion zum Keton, die 13-14-Prostaglandin-Reduktase hydriert die Doppelbindung, daran schließen sich  $\beta$ - und  $\omega$ -Oxidation an. Schema 1 zeigt den Abbau von PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  (2)<sup>[28]</sup> und PGE<sub>2</sub> (7)<sup>[29]</sup> im



Schema 1. Abbau der Prostaglandine PGF<sub>2α</sub> (2) und PGE<sub>2</sub> (7) zu 19-Carboxy-9 $\alpha$ ,11 $\alpha$ -dihydroxy-15-oxo- (6) bzw. 19-Carboxy-11 $\alpha$ -hydroxy-9,15-dioxo-2,3,4,5-tetranorprostansäure (8). Die Pfeile in (2) deuten auf die Stellen des enzymatischen Angriffs.

Menschen zu den Dicarbonsäuren (6) bzw. (8) (weitere Metaboliten siehe<sup>[30, 31]</sup>).

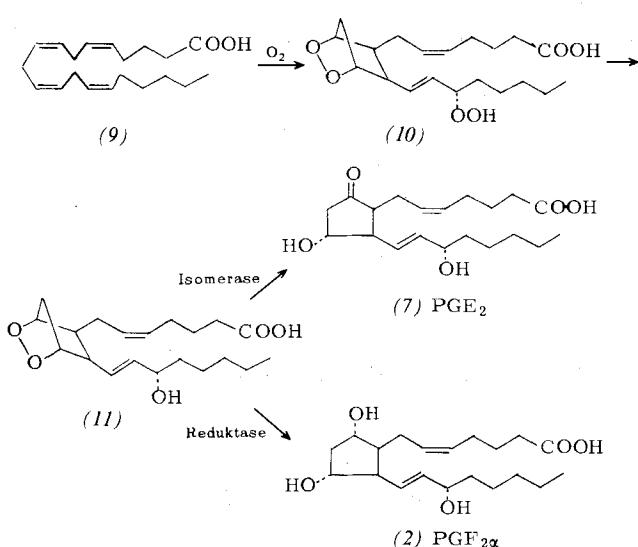
Nach Wegen, die Desaktivierung der Prostaglandine zu verlangsamen, wird mit therapeutischer Zielsetzung gesucht. Bei dem ubiquitären Vorkommen der Prostaglandine sollten die abbauenden Enzyme nach Möglichkeit lokal gehemmt werden. Auf die Synthese von Antagonisten, die die Prostaglandine vom Rezeptor verdrängen, wird in Abschnitt 5 näher eingegangen werden. Dorthin gehören auch die synthetischen Prostaglandin-Analogen, bei denen durch geeignete Strukturvariationen die bekannten biochemischen Abbaureaktionen verhindert oder verlangsamt werden.

## 5. Biosynthese

Liegt ein Mangel oder eine Überproduktion lokaler Hormone<sup>[32]</sup> vor – als solche sind Prostaglandine bezeichnet worden – dann wird man nach Wegen suchen, ihre Biosynthese zu stimulieren bzw. zu hemmen.

1964 wurde aus zwei Laboratorien berichtet, daß ungesättigte Fettsäuren Vorläufer der Prostaglandine sind<sup>[33, 34]</sup>, und 1965, daß die beiden Sauerstoffatome am Ring der primären Prostaglandine E und F dem gleichen Molekül Sauerstoff entstammen<sup>[35, 36]</sup>. Die Reaktion wird durch einen Multienzymkomplex katalysiert, die Prostaglandin-Synthetase, die zur oxidativen Umlagerung der essentiellen Fettsäuren in Prostaglandine mehrere Cofaktoren benötigt. 1966<sup>[37]</sup> und 1967<sup>[38]</sup> wurden mechanistische Vorstellungen über den Ablauf der Reaktion entwickelt<sup>[7]</sup>.

1973 konnten bis dahin hypothetische Zwischenstufen der enzymatischen Synthese von Prostaglandinen E aus mehrfach ungesättigten Fettsäuren isoliert werden<sup>[42–44]</sup>. Die Biosynthese vollzieht sich in Übereinstimmung mit den früher entwickelten Vorstellungen in wenigstens drei aufeinanderfolgenden Reaktionsschritten. Dem zweifachen Angriff von Sauerstoff schließen sich dabei eine Reduktion und eine Isomerisierung oder eine weitere Reduktion an. Schema 2 beschreibt diese Reaktionsschritte.



Schema 2. Biosynthese von Prostaglandin E<sub>2</sub> (7) und F<sub>2α</sub> (2) aus Arachidonsäure (9).

[\*] Über Einzelheiten der Aufklärung der Biosynthese informiert man sich zweckmäßigerweise anhand der zusammenfassenden Artikel [39–41].

Aus pharmazeutischer Sicht sind einerseits die Entdeckung Vanes, daß sich diese Biosynthese durch nichtsteroidale Antiphlogistika wie Aspirin oder Indometacin hemmen läßt, und andererseits die Beobachtungen zahlreicher Arbeitskreise, daß Prostaglandine oder ihre Vorprodukte Fieber und Schmerzerregen und Entzündungen hervorrufen, von außerordentlicher Bedeutung<sup>[32]</sup>. Die Hemmung der Prostaglandin-Synthetase durch nichtsteroidale Antiphlogistika, z. B. in der Versuchsanordnung von Takeuchi und Sih<sup>[45]</sup>, ist bereits die Grundlage für einen Test bei der Suche nach neuen Antiphlogistika. Prostaglandine üben in einer Tierspezies in verschiedenen Geweben unterschiedliche Wirkungen aus. Im Magen beispielsweise haben sie offenbar eine Schutzfunktion gegen eine Überproduktion an Magensäure<sup>[46]</sup>. Es wird verständlich, daß bei hoher Dosierung von nichtsteroidalen Antiphlogistika, wie sie bei rheumatischen Erkrankungen mitunter notwendig sind, Ulzera beobachtet werden.

Das Problem, ein nichtsteroidales Antirheumaticum zu finden, das nicht den Magen beeinträchtigt, ist demnach grundsätzlich schwer lösbar.

Prostaglandin-Synthetasen aus verschiedenen Geweben sind gegenüber Medikamenten vom Wirkungstyp des Aspirins unterschiedlich empfindlich. Hier liegt die Erklärung, daß es aspirinähnliche antipyretische Medikamente ohne eine antiinflammatorische Komponente gibt<sup>[32]</sup>. Der Komplex Prostaglandine und Schmerzerregung, Entzündung, Fieber – speziell Rheuma und Magengeschwüre – wird einerseits die rein wissenschaftlichen, andererseits die stärker praxisorientierten pharmazeutisch-wissenschaftlichen Industrielabotorien auf Jahre hin beschäftigen

## 6. Pharmakologische Wirkung

### 6.1. Abortive und luteolytische Wirkung

Trotz ihrer „Nachbarschaft“ zum cyclischen AMP (siehe weiter unten) weisen die Prostaglandine eine Anzahl von biologischen Qualitäten auf, die man – im Gegensatz zum cyclischen AMP, das bis heute in der Medizin nicht angewendet wird – praktisch zu nutzen hofft. Dabei wird man zunächst an lokale Anwendungen zu denken haben, die auf der Beeinflussung der glatten Muskulatur durch Prostaglandine beruhen. PGF<sub>2α</sub> und seine künstlichen Analogen werden zur Zeit weltweit als Abortiva im 2. Trimenon der Schwangerschaft geprüft und von mehreren medizinischen Schulen als das Mittel der Wahl beschrieben<sup>[5]</sup>. Für das 1. und 3. Trimenon der Schwangerschaft haben die Prostaglandine zur Einleitung des legalen Aborts noch nicht die herkömmlichen Methoden erreichen können.

Die grundlegenden Untersuchungen, die die Frage beantworten sollten, ob PGF<sub>2α</sub> in Säugern ein luteolytisches Hormon ist, haben beim Schaf<sup>[47]</sup> ein positives Ergebnis gehabt. Auch bei Stuten, Kühen und Schweinen lässt sich durch PGF<sub>2α</sub> oder seine künstlichen Analogen die Ovulation einleiten. Hier zeichnet sich eine praktische Anwendung von Prostaglandinen bei der Brunftsynchronisation großer Tierherden ab<sup>[48]</sup>.

Die viel diskutierte Frage, ob Prostaglandine bei der Geburtsregelung die Präparate auf Steroidbasis ergänzen können – die zugleich mit der Frage verknüpft ist, ob PGF<sub>2α</sub> ein luteolytisches Hormon in Primaten ist – bedarf bis zu ihrer Beantwortung noch weiterer Grundlagenforschung.

## 6.2. Bronchospasmolytische Wirkung

Eine andere Wirkung speziell von Prostaglandinen der E- und A-Reihe zeigt wieder die vermeintliche Widersprüchlichkeit der biologischen Eigenschaften der Prostaglandine auf. Man erkennt diese Prostaglandine im biologischen Versuch an ihrer spasmogenen Wirkung auf die isolierte glatte Muskulatur, z. B. am isolierten Rattenmagen (Abb. 1).

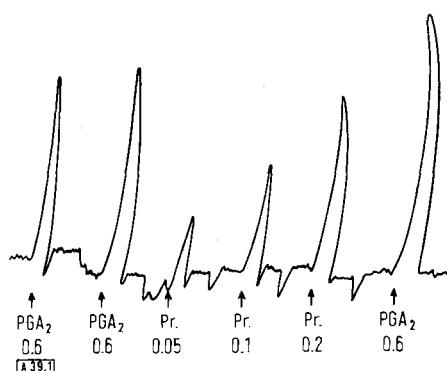


Abb. 1. Dosisabhängige, kontraktile Wirkung des synthetischen Prostaglandins ( $\pm$ )-10,11-Dihydro-PGA<sub>1</sub> (Pr.) (13a) auf isolierte Rattenmagenstreifen im Vergleich zu natürlichem PGA<sub>2</sub> (47). Die Zahlen bedeuten Konzentrationen in  $\mu\text{g}/\text{ml}$ .

Auf die glatte Muskulatur des Bronchialtraktes wirken diese Prostaglandine jedoch relaxierend, was sie oder ihre künstlichen Analogen für die Bekämpfung des akuten Asthmaanfalls geeignet erscheinen lassen.

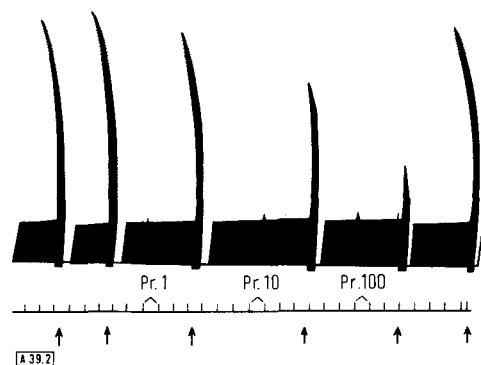


Abb. 2. Dosisabhängige Schwächung des durch jeweils 4  $\mu\text{g}$  Histamin/kg (Pfeile) ausgelösten Bronchialkrampfs am Meerschweinchen durch ( $\pm$ )-10,11-Dihydro-PGA<sub>1</sub> (Pr.) (13a). Die Zahlen bedeuten Dosen in ng/Tier. 1 Teilstrich = 1 min.

In Abb. 2 wird gezeigt, wie sich der durch Histamin ausgelöste Bronchialkrampf am Meerschweinchen durch Vorbehandlung mit ( $\pm$ )-10,11-Dihydro-PGA<sub>1</sub> (13a) dosisabhängig abschwächen lässt. Die auf der raschen Metabolisierung beruhende flüchtige Wirkung der Prostaglandine ist in diesem Falle vorteilhaft; z. B. führt die mehrfache Anwendung dieses Bronchospasmolyticums nicht zu einer Akkumulierung der aktiven Substanz.

## 6.3. Magensaftsekretionshemmung

Die Kontrolle der Magensaftsekretion durch Prostaglandine lässt sich zur Bekämpfung der Hyperacidität und damit mög-

licherweise auch zur Ulcusterapie durch Prostaglandinderivate nutzen<sup>[49]</sup>.

Es ist nicht eindeutig erwiesen, daß die Beeinflussung der Magensaftsekretion durch Prostaglandine ausschließlich auf einer veränderten Durchblutung der Magenschleimhaut beruht<sup>[50]</sup>.

## 6.4. Herz-Kreislauf-Wirkung

Die blutdrucksenkende und zugleich diuretische und natriuretische Wirkung der renal produzierten Prostaglandine ist für grundlegende Untersuchungen der Behandlung des essentiellen Hochdruckes von großer Bedeutung<sup>[51, 52]</sup>. Die Hypothese, daß Prostaglandine der A- oder E-Reihe natürliche Antagonisten der pressorischen Peptide Angiotension I oder II sind, scheint sich zu bestätigen.

Dabei ist die Frage, ob PGA<sub>2</sub> (47) oder PGE<sub>2</sub> (7) das – hypothetische – renale, natriuretische und antihypertensive Hormon ist<sup>[53, 54]</sup>, vom Standpunkt des synthetisch arbeitenden Chemikers zunächst von untergeordneter Bedeutung. Die Eigenschaften von Prostaglandinanalogen – und nur solche hätten bei oraler Applikationsmöglichkeit und verlängerter Wirkdauer für die Therapie des essentiellen Hochdruckes eine praktische Bedeutung – entsprechen besonders in der A- und E-Reihe qualitativ keineswegs immer den der natürlich vorkommenden Muttersubstanzen.

Die mögliche Rolle, die die essentiellen Fettsäuren bei der Prophylaxe von Kreislauferkrankungen spielen, fände in ihrer Bedeutung als biogenetische Vorläufer der Prostaglandine eine plausible Erklärung<sup>[55, 56]</sup>.

Grundsätzlich ist es möglich, die flüchtige – maximal zehnminütige – blutdrucksenkende Wirkung der natürlichen Prostaglandine E und A durch Synthese geeigneter Derivate zu verlängern und dabei die intravenöse Applikation zumindest im Tierversuch durch die orale Gabe zu ersetzen<sup>[57]</sup>. Ohne Zweifel wird die Beschäftigung mit den Prostaglandinen zu praktischen Resultaten bei der Bekämpfung des Bluthochdruckes führen, wann und in welcher Form ist nicht voraussehbar. Eine große Anzahl weiterer physiologischer Eigenschaften sind noch Gegenstand der Grundlagenforschung und interessieren deshalb zunächst mehr den Biologen als den Chemiker, der nach Kriterien sucht, die es ihm gestatten, ein von der Natur vorgegebenes Grundprinzip so zu variieren, daß bestimmte Eigenschaften optimiert und andere unterdrückt werden. Es sei hier nur an die zahlreichen Modifikationen des Steroidgrundgerüstes erinnert, die zu Arzneimitteln geführt haben.

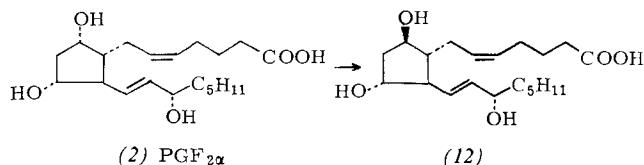
## 7. Struktur-Wirkungs-Beziehungen

Um Arzneimittel mit den gewünschten Wirkungen herstellen zu können, müssen zunächst Struktur-Wirkungs-Beziehungen sichtbar sein. Qualitative Unterschiede (an einem Organ bei einer Tierspezies) lassen sich deutlich bei den natürlichen Prostaglandinen der E- und F-Reihe erkennen: beispielsweise übt Prostaglandin F<sub>2 $\alpha$</sub>  (2) auf die Bronchialmuskulatur eine spasmogene Wirkung aus, während PGE<sub>2</sub> (7) spasmolytisch wirkt<sup>[58]</sup>.

Man kann noch nicht entscheiden, ob der – wahrscheinlich pharmazeutisch nutzbare – physiologische Unterschied zwischen den Prostaglandinen E und A qualitativer oder quantitativer Art ist. Der qualitative Unterschied zwischen den Prostaglandinen der E- und F-Reihe ließ sich auch durch molekularbiologische Untersuchungen sichern<sup>[59]</sup>. Ob Zwischenprodukten der Biosynthese besondere Wirkqualitäten zukommen, die den relativ stabilen Endprodukten, den Prostaglandinen, fehlen, bleibt abzuwarten. Wenn man auch weit davon entfernt ist, einen Katalog der Struktur-Wirkungs-Beziehungen aufstellen zu können, kann man aufgrund der vorliegenden biologischen Resultate doch davon ausgehen, daß Prostaglandine nicht unspezifisch oberflächenaktive Stoffe sind, sondern daß für ihre Wirkqualitäten definierte Strukturen, Konfigurationen und möglicherweise Konformationen notwendig sind.

Dies sei an einigen Beispielen erläutert.

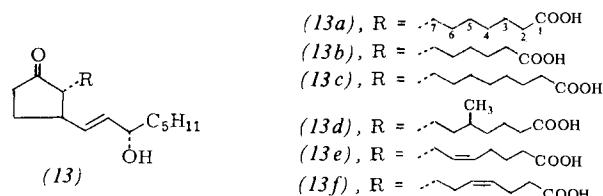
- Alle Untersuchungen an den literaturbekannten Strukturvariationen deuten darauf hin, daß die charakteristische Wirkung natürlicher Prostaglandine, die Beeinflussung des Tonus der glatten Muskulatur, mit einem Cyclopentanring verknüpft ist, der wenigstens eine Sauerstoff-Funktion trägt.
  - Die räumliche Anordnung der Sauerstoffsubstituenten ist für die Qualität der Wirkung essentiell; die bronchospasmogenen Eigenschaften des PGF<sub>2α</sub> (2) werden z. B. bei Konfigurationsumkehr des Substituenten an C<sup>9</sup> in bronchospasmolytische Eigenschaften umgewandelt<sup>[60]</sup>.



3. Die Länge der carboxygruppenhaltigen Seitenkette in Verbindungen vom 10,11-Dihydro-PGA-Typ (13) ist wichtig für eine optimale Wirkung. Verkürzung oder Verlängerung dieser Kette um nur eine Methylengruppe reduziert z. B. drastisch die spasmogene Wirkung<sup>[61]</sup>.
  4. Auch die Konformation dieser Seitenkette beeinflußt die Wirkung.

Substituiert man beispielsweise nacheinander in dem dem natürlichen PGA<sub>1</sub> in Struktur und biologischen Qualitäten nahe verwandten 10,11-Dihydroprostaglandin A<sub>1</sub> (*13a*) jeweils in 2-, 3-, 4-, 5- oder 6-Stellung ein Proton durch eine Methylgruppe, Maßnahmen, bei denen die Lipophilie der zu vergleichenden Moleküle weitgehend erhalten bleibt und sich die sterischen Verhältnisse ändern, dann ist hinsichtlich der spasmogenen Wirkung am isolierten Rattenmagen die 5-Methylverbindung (*13d*) die wirksamste<sup>[61]</sup>. Eine Erklärung könnte sein, daß in der 5-Methylverbindung die durch Röntgen-Strukturanalyse nachgewiesene<sup>[62]</sup> und für die Lösung geforderte Zickzack-Anordnung<sup>[63]</sup> der Seitenkette der natürlichen Prostaglandine am wenigsten beeinträchtigt ist. Die 5-Methylverbindung ist hinsichtlich der spasmogenen Wirkung jedoch dem 10,11-Dihydroprostaglandin A<sub>1</sub> (*13a*) deutlich unterlegen.

Eine abschließende Aussage wird erst nach Racemat- und Diastereomerentrennung möglich sein. Beim Übergang vom 10,11-Dihydroprostaglandin A<sub>2</sub> (*13e*) zur doppelbindungsisoneren 7-[2-(3-Hydroxy-1-*trans*-octenyl)-5-oxocyclopentyl]-4-*cis*-heptensäure (*13f*) tritt eine deutliche Trennung (Split) der blutdrucksenkenden und spasmogenen Wirkungen von (*13e*) auf, die sich darin äußert, daß (*13f*) den Blutdruck nicht mehr senkt, während die spasmogene Wirkung von (*13f*) der von (*13e*) vergleichbar ist<sup>[61]</sup>.



Diese Ergebnisse führen zu den indirekten Schlußfolgerungen, daß es für Prostaglandine an deren Erfolgsort spezifische Rezeptoren gibt, die auf sterische Änderungen empfindlich reagieren, und daß Rezeptoren aus dem Gewebe verschiedener Organe durch Struktur- und Konfigurationsänderungen der mit ihnen in Wechselwirkung tretenden Prostaglandine unterschiedlich beeinflußt werden.

## 8. Rezeptoren

Der Nachweis spezieller, die Prostaglandine bindender Proteine, die als Rezeptoren für Prostaglandine E fungieren, ist in isolierten Mäuseovarien<sup>[64]</sup>, im Rattenmagen<sup>[65]</sup>, in der Leber<sup>[66]</sup>, in der Schilddrüse<sup>[68]</sup> und in den Lutealzellen mehrerer Tierspezies<sup>[67]</sup> gelungen. Diese Experimente machen außerdem wahrscheinlich, daß solche Rezeptoren in der Zellmembran lokalisiert sind.

Die umfangreichen Untersuchungen Sutherlands<sup>[69]</sup> haben gezeigt, daß in der Zellmembran die Adenyl-Cyclase lokalisiert ist, die die Gewebe- und Spiegel des cyclischen AMP, des „second messenger“, kontrolliert.

Bereits 1964 war über Wechselwirkungen zwischen cyclischem AMP und Prostaglandinen berichtet worden<sup>[10]</sup>. Es ist heute gesichert, daß die Wirkung der Prostaglandine E an den oben- genannten Rezeptoren auf einer Beeinflussung des Spiegels des cyclischen AMPs beruht und im allgemeinen mit einer gesteigerten Synthese dieses Stoffes verbunden ist<sup>[59]</sup>.

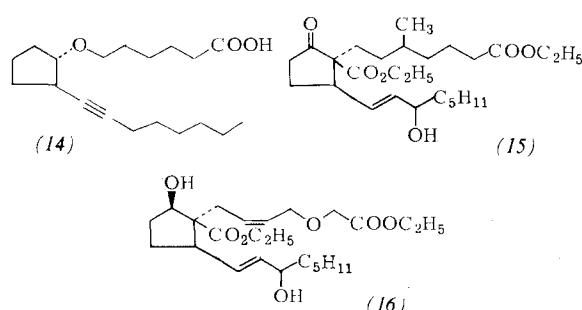
Auch für PGF<sub>2α</sub> ist kürzlich ein Rezeptor in Schaflutealzellen nachgewiesen worden<sup>[70]</sup>. PGF<sub>2α</sub> beeinflusst in physiologischen Konzentrationen jedoch nicht den Spiegel des cyclischen AMPs, sondern wahrscheinlich den des cyclischen GMPs<sup>[59]</sup>.

Eine generelle Hypothese, die widerspruchslös die Prostaglandine als Glied einer Informationskette einordnet, existiert noch nicht. Jedoch konnte die Stimulierung der Progesteron-synthese in Mäuseovaren als Wirkung des Messengers PGE<sub>2</sub> wahrscheinlich gemacht werden<sup>[64]</sup>.

## 9. Prostaglandin-Antagonisten

An Prostaglandin-Rezeptoren können grundsätzlich auch andere Verbindungen als die natürlichen Prostaglandine angreifen und deren Wirkung kompetitiv oder nichtkompetitiv hemmen.

Den Naturstoffen strukturverwandt sind die 7-Oxaprostaglandine (14)<sup>[71]</sup>, welche die spasmogene Wirkung der Prostaglandine kompetitiv hemmen; diese Verbindungen können auch PGE<sub>2</sub> (7) vom Receptor verdrängen<sup>[64]</sup>. Kürzlich sind die 8-Äthoxycarbonyl-10,11-dihydro-prostaglandine A (15) und (16) synthetisiert worden, die die spasmogenen Wirkungen von natürlichen Prostaglandinen mehrfach besser als die 7-Oxaprostaglandine hemmen<sup>[61]</sup>.



Als weitere Prostaglandin-Antagonisten sind Dibenzoxazinderivate und Polyphloretinphosphat zu nennen<sup>[\*]</sup>.

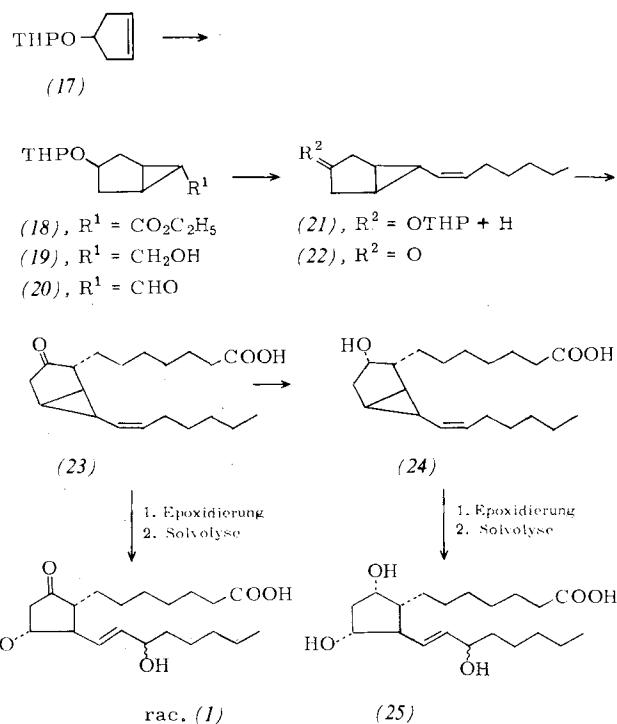
Die Prostaglandine E stimulieren die Bildung von cAMP in Rattenhirnhomogenaten. Diese Stimulierung wird durch Morphin gehemmt<sup>[73]</sup>. Morphin hemmt jedoch nicht die Prostaglandin-Biosynthese. Weitere Versuche müssen klären, ob es sich hier um einen echten Antagonismus handelt und ob die analgetische Wirkung einiger zentral angreifender Analgetica widerspruchlos aus ihren Eigenschaften als Prostaglandin-Antagonisten abgeleitet werden kann.

## 10. Chemie der Prostaglandine

Während die physiologische Rolle der Prostaglandine und ihr möglicher therapeutischer Nutzen trotz einer Flut von Publikationen noch weitgehend Gegenstand der Grundlagenforschung ist, sind die wissenschaftlichen Probleme der Synthese grundsätzlich gelöst.

Über die erste Totalsynthese der Prostaglandine E<sub>1</sub> und F<sub>1α</sub> berichteten Just und Simonovitch 1967<sup>[74]</sup>; sie bildete, obwohl ihre Reproduktion anfänglich Schwierigkeiten bereitete, die Grundlage für ausgedehnte synthetische Arbeiten der Firma Upjohn, die von 1968 bis 1973 Modifikationen des ursprünglichen Syntheseprinzips veröffentlichte<sup>[75–77]</sup>. Der entscheidende Schritt der Justschen Synthese besteht in der stereospezifischen Öffnung eines Cyclopropylepoxids von (23), bei der die α-Hydroxygruppe in Position 11 zusammen mit der *trans*-Doppelbindung in 13,14-Stellung stereospezifisch eingeführt wird, während man an C<sup>15</sup> Epimere erhält. Die wesentlichen Reaktionsschritte sind Schema 3 zu entnehmen.

[\*] Ausführliche Informationen über Substanzen, die die Wirkung von Prostaglandinen hemmen und über ihre eventuellen therapeutischen Möglichkeiten findet man in [72].



Schema 3. Wichtigste Schritte der Synthese von rac. Prostaglandin E<sub>1</sub> (1) und F<sub>1α</sub> (25) nach Just und Simonovitch [74]. THP = Tetrahydropyranyl.

Die erste Synthese eines optisch aktiven Prostaglandins gelang Corey an der Harvard Universität 1969<sup>[79]</sup>, nachdem er 1968<sup>[78]</sup> bereits über die Totalsynthese der Racemate der Prostaglandine E<sub>1</sub> und F<sub>1</sub> berichtet hatte. Die Synthese der Harvardgruppe<sup>[80]</sup>, mit deren Hilfe vornehmlich Prostaglandine der E<sub>2</sub>- und F<sub>2α</sub>-Reihe neben einer Vielzahl von nicht natürlich vorkommenden Analogen synthetisiert werden können und die heute in den Laboratorien der Industrie bis zur Technikumsreife entwickelt worden ist, benutzt als einleitenden Schritt die Diels-Alder-Reaktion. Aus dem dadurch erhaltenen Zwischenprodukt (28) wird das Synthon (34) aufgebaut, das vier der fünf chiralen Zentren des PGF<sub>2α</sub> enthält. Auf früher Stufe ist außerdem eine Racemattrennung möglich (Schema 4)<sup>[80]</sup>.

Da auch der Aufbau der *trans*-Doppelbindung in der unteren Seitenkette durch die Horner-Emmons-Wittig-Reaktion (34) → (35) und die Einführung der *cis*-Doppelbindung in der oberen Seitenkette durch eine Variante der Wittig-Reaktion (37) → (38) stereospezifisch verläuft, war zunächst der einzige nicht stereospezifische Schritt dieser Synthese die Reduktion der 15-Keto-Verbindung (35) zum entsprechenden Alkohol. Durch Einsatz spezieller Reduktionsmittel konnte jedoch dieser Reaktionsschritt stereoselektiv gestaltet werden<sup>[81]</sup>. Sowohl in den Laboratorien der Harvard-Universität als auch in mehreren Industrielaboratorien ist die Synthese variiert und ergänzt worden. So wurde z. B. die Darstellung des Zwischenproduktes (34) auf neuen Wegen beschrieben<sup>[82–84]</sup>.

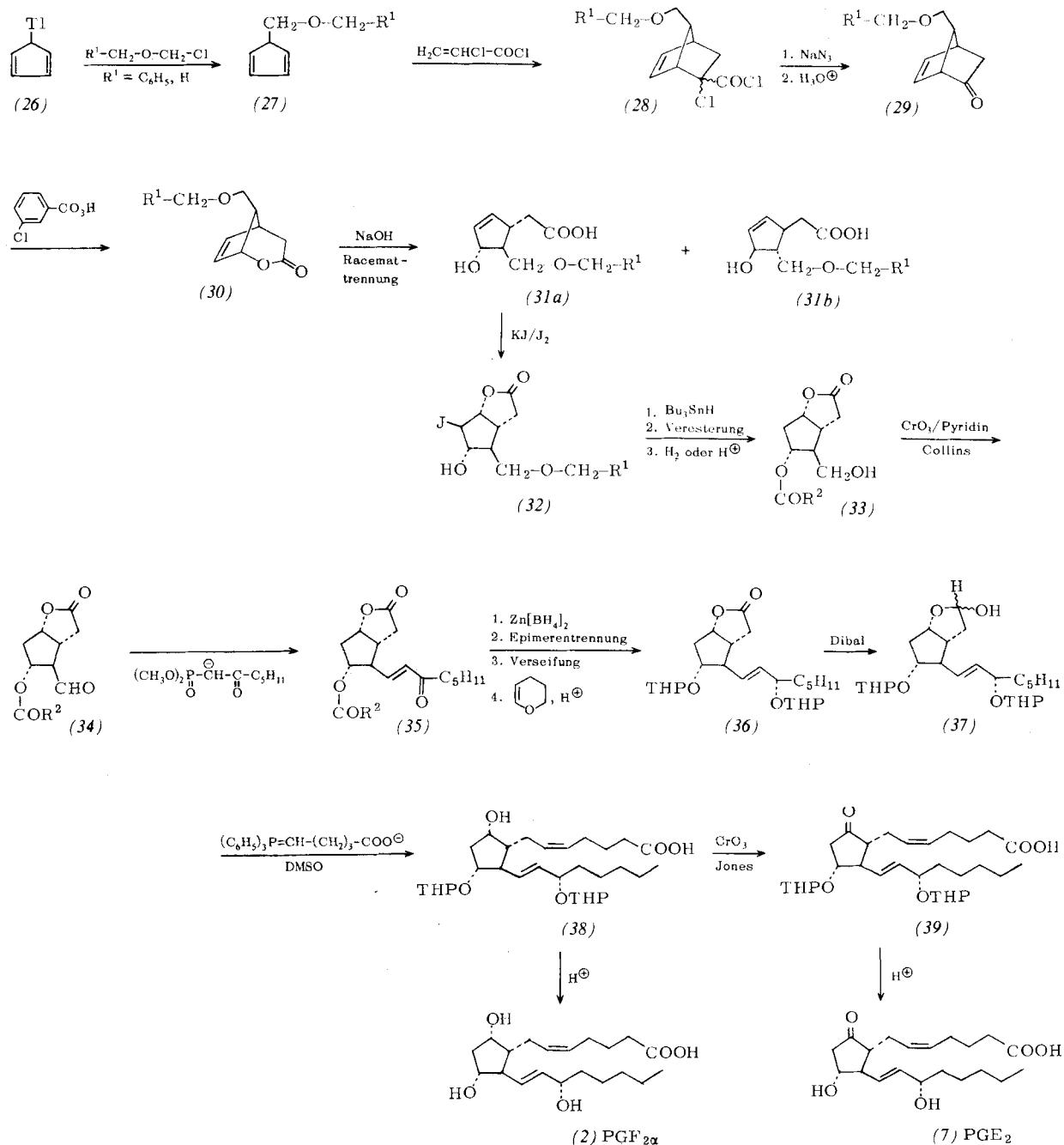
Eine Kommentierung aller bisher publizierten Totalsynthesen muß aus Platzmangel unterbleiben. Von den Synthesen, mit deren Hilfe auch die S-konfigurierte OH-Gruppe an C<sup>15</sup> stereospezifisch eingeführt wird, sei die Totalsynthese des Prostaglandins A<sub>2</sub> (47) von Mathieu et al. (Roussel-Uclaf) erwähnt, deren wesentlicher Schritt in einer intramolekularen SN2'-Reaktion besteht, mit der die asymmetrischen Kohlen-

stoffatome in 12- und 15-Stellung eingeführt werden (Schema 5)<sup>[85]</sup>.

Sowohl die Syntex-Gruppe<sup>[87]</sup> als auch Sih<sup>[86]</sup> von der Universität Wisconsin haben etwa gleichzeitig über den Aufbau von Prostaglandinen mit Hilfe der konjugierten Addition von Organokupfer-Verbindungen an substituierte Cyclopentenone

schen Totalsynthesen der Naturstoffe interessiert ist als vielmehr an Synthesen, die eine Vielzahl von Struktur- und Konfigurationsanaloga hervorbringen können.

Dabei sollen mit künstlichen Analoga a) eine Aufspaltung (Split) der pharmakologischen Wirkungen und b) im allgemei-

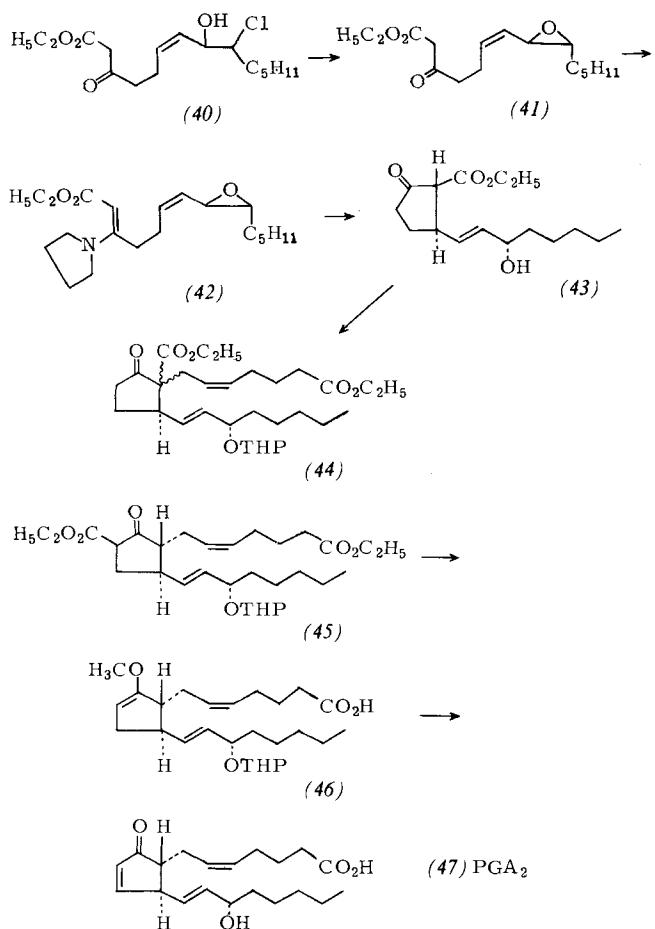


Schema 4. Synthese von Prostaglandin F<sub>2α</sub> (2) und E<sub>2</sub> (7) nach Corey et al. [80]. THP = Tetrahydropyranyl, Dibal = Diisobutylaluminiumhydrid.

berichtet. Sih<sup>[86]</sup> wendet bei der in Schema 6 skizzierten stereospezifischen Totalsynthese zusätzlich eine mikrobiologische Reduktion und eine mikrobiologische Esterverseifung an.

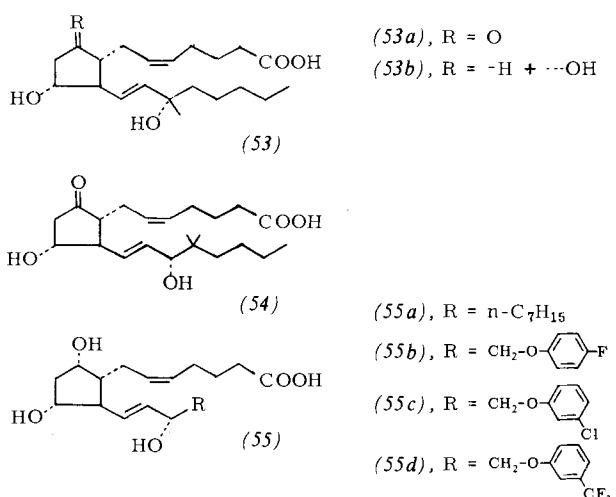
Der Schwerpunkt der Forschungen über Prostaglandinsynthesen liegt zur Zeit in der Industrie, die weniger an stereospezifi-

nen die Verlängerung einer bestimmten Wirkung erreicht werden. 15-Methyl-PGF<sub>2α</sub> (53b), 15-Methyl-PGE<sub>2</sub> (53a) und 16,16-Dimethyl-PGE<sub>2</sub> (54)<sup>[49, 88]</sup> sind Substanzen, die infolge des verhinderten oder erschwerten Angriffes der 15(S)-Prostaglandin-Dehydrogenase langsamer metabolisiert werden und



Schema 5. Synthese von Prostaglandin A<sub>2</sub> (47) nach Mathieu et al. [85]. THP = Tetrahydropyranyl.

die aufgrund ihrer verlängerten Halbwertszeit bessere abortive oder magensaftsekretionshemmende Wirkung aufweisen als die unsubstituierten Verbindungen. Weitere Analoga von PGF<sub>2α</sub>, (55a)–(55d)<sup>[48]</sup>, zeigen im Tiermodell eine verbesserte luteolytische Wirkung. Verständlicherweise stehen bei dieser Arbeitsrichtung einem ungehinderten Informationsfluß wirtschaftliche Interessen entgegen.

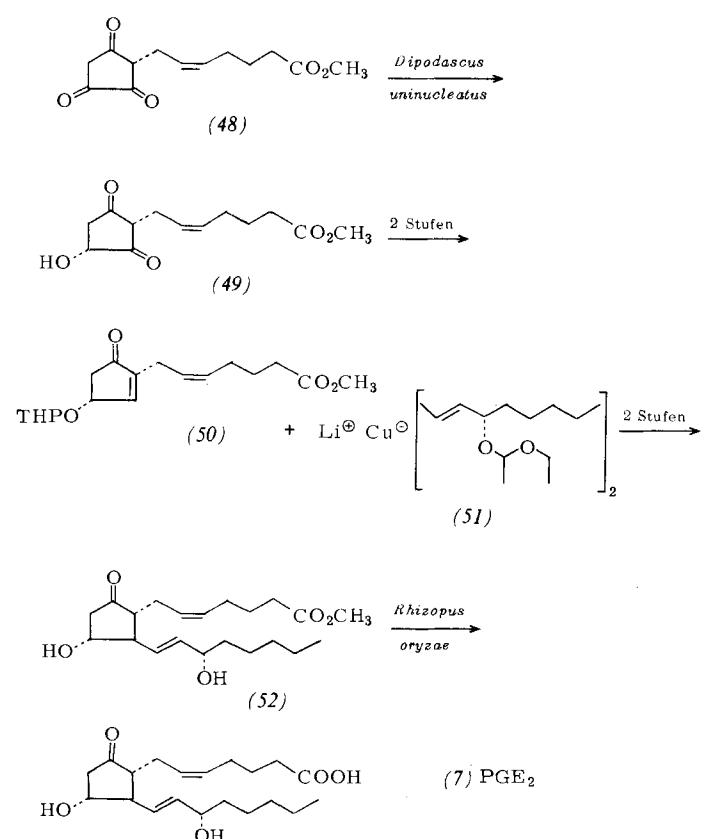


te luteolytische Wirkung. Verständlicherweise stehen bei dieser Arbeitsrichtung einem ungehinderten Informationsfluß wirtschaftliche Interessen entgegen.

## 11. Schlußbemerkung

Bei dem Umfang des zur Diskussion stehenden Arbeitsgebietes bleibt die Auswahl einzelner Aspekte der Prostaglandinforschung mit einer gewissen Willkür behaftet. Diese Beschränkung beeinträchtigt jedoch nicht die Feststellung, daß sich aus der intensiven Beschäftigung mit dieser Naturstoffklasse wesentliche Fortschritte in Medizin, Pharmazie und Chemie abzeichnen.

*Herrn Dr. Babej danke ich für die Überlassung von biologischen Versuchsergebnissen, Herrn Dr. Kunstmann für die kritische Durchsicht des Manuskriptes.*



Schema 6. Synthese von Prostaglandin E<sub>2</sub> (7) nach Sih [86]. THP = Tetrahydropyranyl.

Eingegangen am 30. August 1974 [A 39]

- [1] B. Samuelsson, Angew. Chem. 77, 445 (1965); Angew. Chem. internat. Edit. 4, 410 (1965).
- [2] P. W. Ramwell u. J. E. Shaw: „Prostaglandins“, Ann. N. Y. Acad. Sci. 180, 1–568 (1971).
- [3] S. Bergström u. S. Bernhard: Advances in the Biosciences 9. International Conference on Prostaglandins, Vienna, September 1972. Pergamon, Oxford, and Vieweg, Braunschweig 1973.
- [4] M. F. Cuthbert: The Prostaglandins, Pharmacological and Therapeutic Advances. William Heinemann Medical Books, London 1973.
- [5] E. M. Southern: The Prostaglandins, Clinical Application in Human Reproduction. Futura Publ. Comp., New York 1972.
- [6] P. W. Ramwell: The Prostaglandins. Plenum Press, New York 1973.
- [7] R. H. Kahn u. W. E. M. Lands: Prostaglandins and Cyclic AMP. Academic Press, New York 1973.
- [8] T. O. Oesterling, W. Morozowich u. T. J. Roseman, J. Pharm. Sci. 61, 1861 (1972).
- [9] D. H. Nugteren, D. A. van Dorp, S. Bergström, M. Hamberg u. B. Samuelsson, Nature 212, 38 (1966).

- [10] D. Steinberg, M. Vaughan, P. J. Nestel, O. Strand u. S. Bergström, *J. Clin. Invest.* 43, 1533 (1964).
- [11] Dinoprost®, Fa. Upjohn & Co.
- [12] S. Bergström, L. A. Carlson u. J. R. Weeks, *Pharmacol. Rev.* 20, 1 (1968).
- [13] E. J. Christ u. D. A. van Dorp in [3], S. 35.
- [14] S. H. Ferreira u. J. R. Vane, *Nature* 216, 868 (1967).
- [15] A. J. Weinheimer u. R. L. Spraggins, *Tetrahedron Lett.* 1969, 5185; W. P. Schneider, R. D. Hamilton u. L. E. Rhuland, *J. Amer. Chem. Soc.* 94, 2122 (1972), und dort zit. Lit.
- [16] *Chem. Unserer Zeit* 7, 95 (1973), und dort zit. Lit.
- [17] E. J. Corey u. W. N. Washburn, *J. Amer. Chem. Soc.* 96, 934 (1974).
- [18] M. Attrep, K. A. Attrep u. J. M. Mariani, *Lipids* 8, 484 (1973).
- [19] P. J. Piper, J. R. Vane u. H. J. Wyllie, *Nature* 225, 600 (1970).
- [20] J. Nakano, *Brit. J. Pharmacol.* 40, 317 (1970).
- [21] P. W. Ramwell u. E. G. Daniels in *G. V. Marinetti: Lipid Chromatographic Analysis*. Vol. 2. Marcel Dekker, New York 1969, S. 313.
- [22] K. Green in [3], S. 91.
- [23] U. Axen, L. Baczyński, D. J. Duchamp, K. T. Kirton u. J. F. Zieserl, Jr. in [3], S. 109.
- [24] K. Gréen, E. Granström, B. Samuelsson u. U. Axen, *Anal. Biochem.* 54, 434 (1973).
- [25] L. Levine, R. M. Gutierrez-Cernosek u. H. V. Yunakis in [3], S. 71.
- [26] E. Ånggård, F. M. Matzchinsky u. B. Samuelsson, *Science* 163, 479 (1969).
- [27] B. Samuelsson in [3], S. 7.
- [28] E. Granström u. B. Samuelsson, *J. Amer. Chem. Soc.* 91, 3398 (1969).
- [29] B. Samuelsson, E. Granström, K. Gréen u. M. Hamberg in [2] S. 138.
- [30] M. Hamberg u. M. Wilson in [3], S. 39.
- [31] E. Granström in [3], S. 49.
- [32] J. R. Vane in [3], S. 395.
- [33] S. Bergström, H. Danielsson u. B. Samuelsson, *Biochim. Biophys. Acta* 90, 207 (1964).
- [34] D. A. van Dorp, R. K. Beertuis, D. H. Nugteren u. H. Vonkeman, *Biochim. Biophys. Acta* 90, 204 (1964).
- [35] R. Ryhage u. B. Samuelsson, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 19, 279 (1965).
- [36] D. H. Nugteren u. D. A. van Dorp, *Biochim. Biophys. Acta* 98, 654 (1965).
- [37] D. H. Nugteren, R. K. Beertuis u. D. A. van Dorp, *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas* 85, 405 (1966).
- [38] B. Samuelsson, *Progr. Biochem. Pharmacol.* 3, 59 (1967).
- [39] B. Samuelsson, *Progr. Biochem. Pharmacol.* 5, 109 (1969).
- [40] W. Lands, R. Lee u. W. Smith in [2], S. 107.
- [41] B. Samuelsson: Biosynthesis and Metabolism of Prostaglandins. Seminaire Inserm, Prostaglandins 1973. Editions Inserm, Paris 1973, S. 21.
- [42] M. Hamberg u. B. Samuelsson, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 70, 899 (1973).
- [43] D. H. Nugteren u. E. Hazelhof, *Biochim. Biophys. Acta* 326, 448 (1973).
- [44] M. Hamberg, J. Svensson, T. Wakabayashi u. B. Samuelsson, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 71, 345 (1974).
- [45] C. Takeuchi u. C. J. Sih, *Prostaglandins* 2, 169 (1972).
- [46] Siehe u. a. I. H. M. Main in [4], S. 287.
- [47] J. A. McCracken, B. Barcikowski, J. C. Carson, K. Gréen u. B. Samuelsson in [3], S. 599.
- [48] D. Binder, J. Bowler, E. D. Brown, N. S. Crossley, J. Hutton, M. Senior, L. Slater, P. Wilkinson u. N. C. A. Wright, *Prostaglandins* 6, 87 (1974).
- [49] A. Robert, B. Nylander u. S. Andersson, *Life Sci.* 14, 533 (1974).
- [50] I. H. M. Main u. B. J. R. Whittle, *Brit. J. Pharmacol.* 49, 428 (1973).
- [51] J. B. Lee in [6], S. 133.
- [52] J. Nakano in [6], S. 239.
- [53] J. B. Lee: The Prostaglandins and the Regulation of Systemic Blood Pressure and Sodium and Water Homeostasis. Séminaire Inserm, Prostaglandins 1973, Editions Inserm, Paris 1973, S. 161.
- [54] D. A. Terragno, J. C. Strand, D. A. Pacholczyk u. J. C. McGiff: Prostaglandin E<sub>2</sub>, an Intrarenal Hormone. Séminaire Inserm, Prostaglandins 1973, Editions Inserm, Paris 1973, S. 207.
- [55] W. Förster, *Deut. Gesundheitsw.* 27, 2264 (1972).
- [56] M. Cohen, J. Sztokalo u. E. Hinsch, *Life Sci.* 13, 317 (1973).
- [57] Farbwerke Hoechst, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [58] M. F. Cuthbert in [4], S. 253.
- [59] F. A. Kuehl, Jr., *Prostaglandins* 5, 325 (1974).
- [60] M. E. Rosenthal, A. Dervinis, J. Kassarich, A. Blumenthal u. M. I. Gluckman, *Prostaglandins* 3, 767 (1973).
- [61] Farbwerke Hoechst, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [62] S. Abrahamsson, *Acta Crystallogr.* 16, 409 (1963).
- [63] J. R. Hoyland u. L. B. Kier, *J. Med. Chem.* 15, 84 (1972).
- [64] F. A. Kuehl, Jr., V. J. Cirillo, E. A. Ham u. J. L. Humes in [3], S. 155.
- [65] O. V. Miller u. W. E. Magee in [3], S. 83.
- [66] M. Smigel u. S. Fleischer, *Fed. Proc.* 32, 454 (1973).
- [67] Ch. V. Rao, *Prostaglandins* 4, 567 (1973).
- [68] W. V. Moore u. J. Wolff, *J. Biol. Chem.* 248, 5705 (1973).
- [69] Siehe z. B. E. W. Sutherland, *Science* 177, 401 (1972).
- [70] W. S. Powell, S. Hammarström u. B. Samuelsson, *Eur. J. Biochem.* 41, 103 (1974).
- [71] J. Fried, *Nature* 223, 208 (1969).
- [72] J. H. Sanner, *Arch. of Intern. Med.* 133, 133 (1974).
- [73] H. O. Collier u. A. C. Roy, *Nature* 248, 24 (1974).
- [74] G. Just u. C. Simonovitch, *Tetrahedron Lett.* 1967, 2093.
- [75] G. Just, C. Simonovitch, F. H. Lincoln, W. P. Schneider, U. Axen, G. B. Spero u. J. E. Pike, *J. Amer. Chem. Soc.* 91, 5364 (1969).
- [76] W. P. Schneider, U. Axen, F. H. Lincoln, J. E. Pike u. J. L. Thompson, *J. Amer. Chem. Soc.* 91, 5372 (1969).
- [77] R. C. Kelly, V. Van Rheenen, I. Schletter u. M. D. Pillai, *J. Amer. Chem. Soc.* 95, 2746 (1973).
- [78] E. J. Corey, N. H. Anderson, R. M. Carlson, J. Paust, E. Vedejs, I. Vattas u. R. E. K. Winter, *J. Amer. Chem. Soc.* 90, 3245 (1968).
- [79] E. J. Corey, I. Vattas u. K. Harding, *J. Amer. Chem. Soc.* 91, 535 (1969).
- [80] E. J. Corey, Th. K. Schaaf, W. Huber, U. Koelliker u. N. M. Weinshenker, *J. Amer. Chem. Soc.* 92, 397 (1970).
- [81] E. J. Corey, S. M. Albonico, U. Koelliker, T. K. Schaaf u. R. K. Varma, *J. Amer. Chem. Soc.* 93, 1491 (1971) und dort zit. Lit.
- [82] R. B. Woodward, J. Gosteli, I. Ernest, R. J. Friary, G. Nestler, H. Raman, R. Sitrin, Ch. Suter u. J. K. Whitesell, *J. Amer. Chem. Soc.* 95, 6853 (1973).
- [83] J. K. Sutherland u. T. R. Peel, *J. C. S. Chem. Comm.* 1974, 151.
- [84] E. J. Corey, J. S. Bindra, A. Grodski u. Th. K. Schaaf, *J. Amer. Chem. Soc.* 95, 7522 (1973).
- [85] J. Martel, E. Toromanoff, J. Matthieu u. G. Nomine, *Tetrahedron Lett.* 1972, 1491.
- [86] J. B. Heather, R. Sood, P. Price, G. P. Peruzzotti, S. S. Lee, L. F. H. Lee u. J. Sih, *Tetrahedron Lett.* 1973, 2313.
- [87] F. S. Alvarez, D. Wren u. A. Prince, *J. Amer. Chem. Soc.* 94, 7823 (1972).
- [88] N. Wiqvist, F. Béguin, M. Bygdemann u. M. Toppozada in [3], S. 831.