

Trotzdem beansprucht für die weitere Aufklärung des Wirkungsmechanismus der Nachweis oder der Abschluß eines lokalen Effektes des Cortisone auf das Bindegewebswachstum erhebliches Interesse. Wird die Granulombildung bei Ratten bestimmt, denen auf der linken und rechten Körperseite je ein Wattepreßling implantiert wurde, wobei jedoch nur der eine mit steigenden Cortisonedosen imprägniert wurde, so ergibt sich eindeutig, daß eine wesentlich stärkere Hemmwirkung bei dem imprägnierten Wattepreßling auftritt. Bei entsprechenden Dosen kann eine weitgehende Hemmung des Bindegewebswachstums um den imprägnierten Preßling auftreten, ohne daß an dem zweiten Preßling ein deutlicher Effekt vorhanden ist (Tab. 1). Es kann naturgemäß nicht ohne weiteres die Konzentration des Cortisone in der Umgebung des imprägnierten Wattepreßlings angegeben werden. Nur wenn dieses möglich

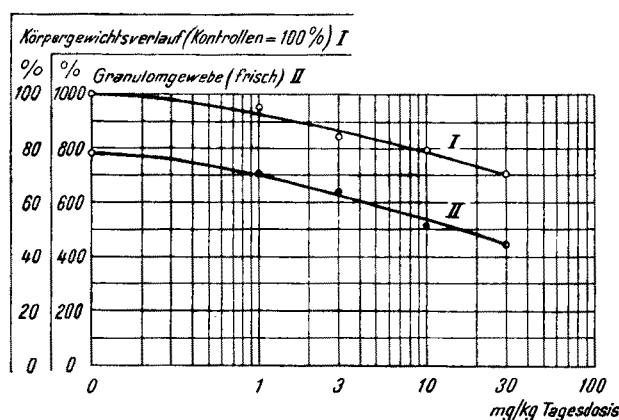


Abb. 3. Beeinflussung des Granulomgewichts und des Körpergewichtes durch verschiedene Dosen von Cortisone. Ordinate: I Prozentuale Veränderung des Tiergewichtes. Gewicht zu Beginn des Versuches = 100%. II Prozentuale Gewichtszunahme des implantierten Wattepreßlings. Gewicht vor Implantation = 100%.

ist, kann auf eine volle Identität mit einer bestimmten Situation bei allgemeiner Applikation geschlossen werden. Gleiche Wirkungen werden etwa erhalten bei allgemeiner Gabe von täglich 3,0 bzw. 30,0 mg/kg Cortisone, gegenüber 0,1 bzw. 1,0 mg Cortisone bei Imprägnation des Fremdkörpers. Das Gewicht des angefeuchteten Fremdkörpers, bzw. sein Volumen zum Gewicht des Tieres verhält sich wie 1:250. Die Relation der sich aus obigen Dosen ergebenden Lokalkonzentrationen ist 1:30. Wenn man die Verschiedenartigkeit der Resorption und Verteilung bei lokaler und allgemeiner Anwendung berücksichtigt, dürfte es bei Schätzung der durchschnittlich wirksamen Konzentration größer sein und damit angenähert dem Verhältnis Tiergröße: Granulomgröße entsprechen.

Es darf auf Grund dieser Befunde geschlossen werden, daß Cortisone sowohl bei allgemeiner, wie bei lokaler Applikation ähnlicher Konzentrationen eine Hemmung des Bindegewebswachstums hervorruft.

Es scheint somit zunächst, daß ein gleichartiger Mechanismus der Wachstumshemmung des Bindegewebes sowohl bei allgemeiner wie bei lokaler Applikation des Cortisone vorliegt.

R. MEIER, W. SCHULER und P. DESAULLES

Wissenschaftliche Laboratorien der Ciba Aktiengesellschaft Basel, den 13. Oktober 1950.

### Summary

A method is described which makes quantitative studies of the action of Cortisone on connective tissue possible. Foreign body granulomas are provoked in rats by subcutaneous implantation of pellets of compressed cotton. Application of Cortisone results in a diminution of granuloma formation, which can be expressed quantitatively by determining the fresh and the dry weight. Cortisone was effective by local as well as by general application, similar concentrations producing the same degree of inhibition of connective tissue.

### Hyaluronidase and Prothrombin Consumption

The interrelations between hyaluronidase and heparin have been already investigated in the past: it is known that heparin is able to inhibit *in vitro* the hyaluronidase effect even at very low concentration (see references in BOLTRAFFIO<sup>1</sup>): the technique employed has been generally that of the determination of the effect of heparin in modifying the hyaluronidase activity by means of the viscosimetric and diffusion methods.

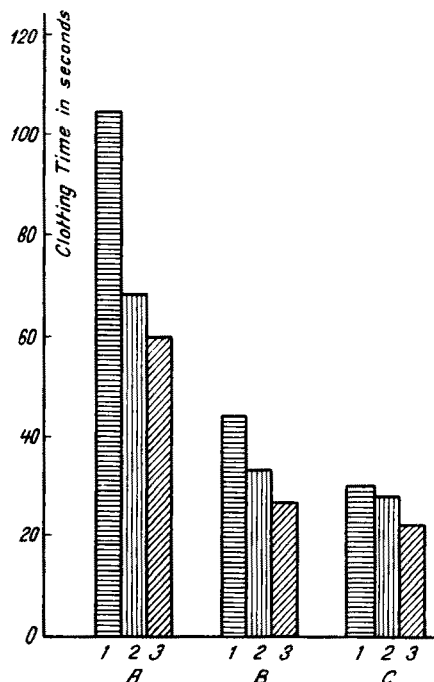


Fig. 1. – Inhibition of the antithrombic activity of heparin after incubation with hyaluronidase; plasma of a human subject given heparin, at different times after the injection: A: 1, before; 2, 15'; 3, 30' after the addition of 8 v. u./cm<sup>3</sup> of hyaluronidase; B: 1, before; 2, 15'; 3, 45' after the addition of 4 v. u./cm<sup>3</sup> of hyaluronidase; C: 1, before; 2, 15'; 3, 45' after the addition of 2 v. u./cm<sup>3</sup> of hyaluronidase.

We have investigated the direct effect of testis hyaluronidase (kindly supplied by the Vister Laboratories) on coagulation. We first confirmed that such hyaluronidase preparation acts as an inhibitory effect upon the antithrombin activity of heparin (kindly supplied by Hoffmann-La Roche Laboratories): the intensity of this effect is in direct proportion to the incubation time *in vitro* (Fig. 1) (heparinase mechanism similar to that of chondroitinase demonstrated in

<sup>1</sup> C. BOLTRAFFIO, *Il Farmaco* 4, 51 (1949).

mammals mesomucinase? FAVILLI<sup>1</sup>) (method of KOLLER and FRITSCHY<sup>2</sup>); further we have noted the following facts:

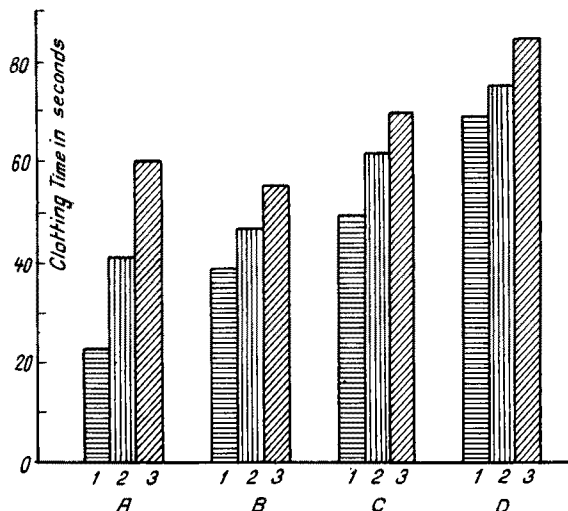


Fig. 2. – Prothrombin time in serum obtained by means of centrifugation of the blood 15' after the formation of a solid clot; determinations of the prothrombin time<sup>3</sup> were carried out 15' (1), 30' (2), 60' (3) after the coagulation; A, control; B, C, D, addition of resp.  $12\frac{1}{2}$ ,  $2\frac{1}{2}$ ,  $\frac{1}{2}$  v. u. of hyaluronidase to normal human blood.

(1) By adding *in vitro* respectively  $12\frac{1}{2}$ ,  $2\frac{1}{2}$ ,  $\frac{1}{2}$  viscosimetric hyaluronidase units per cm<sup>3</sup> of normal human blood, we have observed that the consumption of prothrombin determined according to the technique of QUICK and FAVRE-GILLY<sup>4</sup> is increased (Fig. 2) (diminution of the residual prothrombin: see<sup>5</sup>);

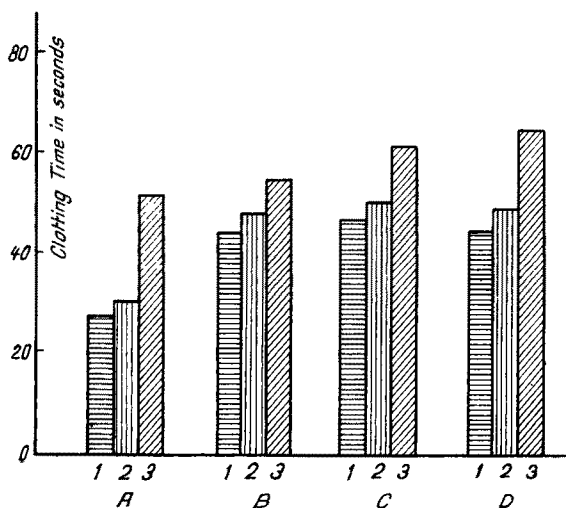


Fig. 3. – Prothrombin time in serum obtained by means of centrifugation of the blood 15' (1), 30' (2), 60' (3) after the formation of a solid clot; determinations of the prothrombin time<sup>3</sup> were carried out 60' after the coagulation; A, before; B, C, D, 15, 30, 45' after the injection in the blood stream of a rabbit of 125 v. u./kg of hyaluronidase.

<sup>1</sup> G. FAVILLI, Relaz. Giornate Med. Svizzera-Italiane, Venezia, 1950.

<sup>2</sup> F. KOLLER and W. FRITSCHY, Helv. med. acta 14, 263 (1947).

<sup>3</sup> Prothrombin-free plasma has been used as source of fibrinogen according to the technique of QUICK and FAVRE-GILLY (*l. c.*).

<sup>4</sup> A. J. QUICK and J. FAVRE-GILLY, Blood 4, 1281 (1949).

<sup>5</sup> A. J. QUICK, Amer. J. Med. Sci. 214, 272 (1947). – A. BASERGA and P. DE NICOLA, Schweiz. med. Wschr. 79, 801 (1949); *Le malattie emorragiche*, Soc. Editrice Libreria, Milano, 1950.

(2) Hyaluronidase injected in the blood stream of a rabbit at the quantity of 125 v.u./kg has also produced an increase of prothrombin consumption (Fig. 3).

A. BASERGA, P. DE NICOLA, and R. VAHÍ

Medical Department of the University of Pavia, Italy, August 4, 1950.

### Zusammenfassung

Testikularhyaluronidase bewirkt *in vivo* und *in vitro* eine Vermehrung des Prothrombinverbrauches bestimmt mit dem «Consumption-Test» nach QUICK und FAVRE-GILLY.

### Über den Abbau von Kynurenin, Oxykynurenin und verwandten Substanzen durch Rattenleberenzym

In einer früheren Arbeit haben wir den Nachweis erbracht, daß das Kynurenin im Wachstumsversuch beim Nikotinsäuremangeltier die Nikotinsäure bzw. das Tryptophan ersetzen kann<sup>1</sup>. Kynurenin ist bei parenteraler Zufuhr wirksam, woraus hervorgeht, daß die Umwandlung nicht durch die Darmflora bedingt ist. Da das Kynurenin als normales Abbauprodukt des Tryptophans entsteht<sup>2</sup>, ist aus dieser Beobachtung zu schließen, daß die Nikotinsäure über Kynurenin als Zwischenstufe in Tryptophan umgewandelt wird. Aus Untersuchungen von BEADLE und Mitarbeitern<sup>3</sup> war schon früher bekannt, daß bei einer *Neurospora crassa* Mutanten Kynurenin in analoger Weise die Nicotinsäure ersetzen kann. Sowohl beim *Neurospora* als auch bei der Ratte hat die 3-Oxyanthranilsäure Wachstumswirkung<sup>4</sup>. Im tierischen Organismus kann aus Kynurenin durch Abspaltung von Alanin Anthranilsäure entstehen<sup>5</sup>. Da jedoch diese Substanz beim Nikotinsäuremangeltier keine Wachstumswirkung besitzt<sup>6</sup>, ist anzunehmen, daß Kynurenin vor der Abspaltung von Alanin in Oxykynurenin übergeführt und so die Oxyanthranilsäure gebildet wird. Das Oxykynurenin ist von BUTENANDT und Mitarbeitern<sup>7</sup> aus biologischem Material (*Calliphora*-Frischgruppen) isoliert und anschließend synthetisiert worden. Untersuchungen an *Neurospora* haben ergeben, daß Oxykynurenin die Nicotinsäure ersetzen kann<sup>7</sup>. Wir haben geprüft, ob 1-Oxykynurenin<sup>8</sup> durch die sogenannte Kynureninase ebenfalls gespalten wird und, wie aus Tabelle I hervorgeht, festgestellt, daß das tatsächlich der Fall ist. Diese Beobachtung scheint uns eine wesentliche Stütze zu sein für die Annahme, daß das Oxykynurenin auch im Tier als Zwischenprodukt bei der Nicotinsäuresynthese entsteht und so die unmittelbare Vorstufe der Oxyanthranilsäure ist.

Schon früher haben wir mitgeteilt, daß  $\alpha$ -Amino- $\beta$ -benzoyl-propionsäure analog zum Kynureninabbau

<sup>1</sup> O. WISS, G. VIOLIER und M. MÜLLER, Helv. chim. acta 33, 771 (1950).

<sup>2</sup> Y. KOTAKE, Z. phys. Chem. 195, 139 (1931). – CH. HEIDELBERGER, M. E. GULLBERG, A. F. MORGAN und S. LEPKOVSKY, J. Biol. Chem. 179, 143 (1949). – CH. HEIDELBERGER, E. P. ABRAHAM und S. LEPKOVSKY, J. Biol. Chem. 179, 151 (1949).

<sup>3</sup> G. W. BEADLE, H. K. MITCHELL und J. F. NYC, Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 33, 155 (1947).

<sup>4</sup> H. K. MITCHELL und J. F. NYC, Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 34, (1948). – H. K. MITCHELL, J. F. NYC und R. D. OWEN, J. Biol. Chem. 175, 433 (1948).

<sup>5</sup> O. WISS und F. HATZ, Helv. chim. acta 32, 532 (1949). – O. WISS, Helv. chim. acta 32, 1694 (1949).

<sup>6</sup> W. A. KREHL, L. M. HENDERSON, J. DELAHUERTA und C. A. ELVEHJEM, J. Biol. Chem. 166, 531 (1946).

<sup>7</sup> Vgl. A. BUTENANDT, W. WEIDEL und H. SCHLOSSBERGER, Z. Naturforsch. 4b, 242 (1949).

<sup>8</sup> Das Oxykynurenin verdanken wir Herrn Prof. BUTENANDT.