

den entsprechenden Wert in der Kontrollkurve übersteigt. Die Ouabainwirkung auf die ATP-ase wird bei gewissen Konzentrationen von  $\text{Ca}^{++}$  beeinflusst. Der die ATP-ase stimulierende Effekt von Ouabain in einer Konzentration  $10^{-5}$  M wird durch das Extra- $\text{Ca}^{++}$  verstärkt. Demgegenüber findet man bei Ouabain  $10^{-6}$  M keine sichere Potenzierung durch  $0,001$  M  $\text{Ca}^{++}$ .

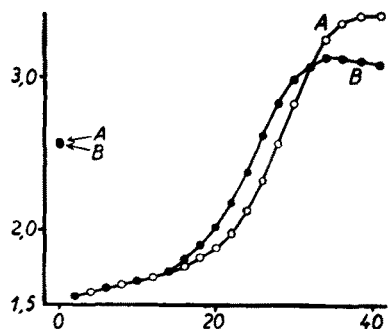


Abb. 2. Wirkung von Ouabain in einer Konzentration von  $10^{-6}$  M auf gewaschenes Aktomyosin von Rinderherzen.

Die Arbeit wird in dieser Richtung fortgesetzt, und eine mehr auf Einzelheiten eingehende Beschreibung soll in Acta Physiol. Scand. veröffentlicht werden.

K. A. P. EDMAN

Pharmakologisches Institut der Universität Uppsala, den 19. April 1950.

#### Summary

The action of ouabain in concentrations from  $10^{-4}$  M to  $10^{-7}$  M on the reaction between actomyosin and ATP has been investigated in both native extract and washed actomyosin from beef heart. The glycoside has a stimulating effect on myosin-ATP-ase, but inhibits the activity of ATP-ase in native muscle extract containing both water soluble and myosinbound ATP-ase. Furthermore, ouabain causes a change in the recovery phase of the viscosity curve, the extent of which depends on the  $\text{Ca}^{++}$  concentration.

### Über einen Di-Cholinester mit hoher Curarewirksamkeit

Im Rahmen einer größeren Untersuchungsreihe wurde uns von den Österreichischen Stickstoffwerken AG. der Bis-Cholinester der Adipinsäure (M111) als Jodsalz zur Verfügung gestellt, dessen Ähnlichkeit mit Bis-trimethylammonium-decan-jodid (C10) muskellähmende Wirkungen erwarten ließ. Diese Ähnlichkeit ist durch die aliphatische Natur und die 10 Kohlenstoffatome enthaltende Kette beider bis-quarternären Ammoniumsalze gegeben.

Am isolierten Zwerchfellpräparat der Ratte nach BÜLBRING<sup>1</sup> erniedrigt im Mittel 1 mg M 111 (in  $60 \text{ cm}^3$  Tyrode) ebenso wie  $100 \mu\text{g}$  Tubocurarinchlorid und 1 mg C 10 die Kontraktionshöhe auf die Hälfte. Diese «curareähnliche» Wirkung des M 111 weist die Besonderheit auf, durch Zusatz von Eserin<sup>2</sup> zur Badeflüssigkeit wesentlich verstärkt zu werden. Die dazu erforderlichen Dosen von Eserin liegen in der Größenordnung jener, die die Wirkung von Tubocurarin voll antagonisieren. Vorbehandlung des Zwerchfells mit  $10 \mu\text{g}$  Eserin durch

10 Minuten setzt die 50% lähmende Dosis von M 111 auf  $80 \mu\text{g}$  herab (Abb. 1). Derselbe Effekt kann durch  $10 \mu\text{g}$  TEPP erzielt werden. Unter denselben Bedingungen liegt bei  $1 \mu\text{g}$  Eserin die 50% lähmende Dosis von M 111 bei  $350 \mu\text{g}$ , bei  $80 \mu\text{g}$  Eserin hingegen erniedrigt sich die 50% lähmende Dosis von M 111 auf  $30 \mu\text{g}$ .

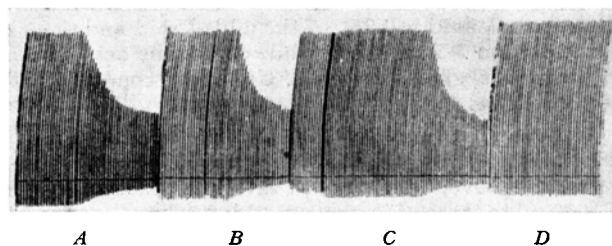


Abb. 1. Rattenzwerchfell. Zuckungen bei rhythmischer übermaximaler Reizung des N. phrenicus alle 10 Sekunden. Vergleich von M 111 und C 10, Verstärkung der M-111-Wirkung durch Eserin. Alle Dosen zu  $60 \text{ cm}^3$  Badeflüssigkeit zugesetzt. Einwirkungsdauer 5 Minuten, dann Auswaschen.

A: 1 mg C 10

B: 1 mg M 111

C:  $10 \mu\text{g}$  Eserin salicylicum

D:  $80 \mu\text{g}$  M 111, 10 Minuten nach Eserin.

An dezerebrierten Katzen bewirken  $50 \mu\text{g/kg}$  M 111 bei intravenöser Injektion eine flüchtige, insgesamt 2 Minuten dauernde Senkung der Kontraktionshöhe des vom Nervus ischiadicus rhythmisch gereizten Musculus gastrocnemius um maximal 30%. Das nach der Methode von GADDUM<sup>1</sup> fortlaufend registrierte Atemvolumen bleibt dabei unverändert. Blutdruck sowie Kontraktionshöhe der vom präganglionären Halssympathikus rhythmisch im Abstand von 2 Minuten gereizten Nickhaut werden nicht beeinflusst. Durch  $300 \mu\text{g/kg}$  M 111 wird der M. gastrocnemius für indirekte Reizung durch 2 Minuten vollkommen gelähmt und erreicht erst nach etwa 10 Minuten die anfängliche Kontraktionshöhe. Die Atmung sistiert für ca. 30 Sekunden. Nach  $25 \mu\text{g/kg}$  Eserin (intravenös) bewirken  $50 \mu\text{g/kg}$  M 111 durch 5 Minuten vollständige Lähmung des M. gastrocnemius bei gleichzeitigem Aussetzen der Spontanatmung. Nach weiteren 10 Minuten wird während künstlicher Beatmung der Muskel wieder normal erregbar. Die Kontraktionshöhe der Nickhaut bleibt während dieser Zeit unverändert.

Der Vergleich der Wirksamkeit von M 111 mit C 10 wurde am M. tibialis ant. von Katzen mittels der Methode der «close arterial injection» von G. L. BROWN<sup>2</sup> durchgeführt.  $10 \mu\text{g/kg}$  M 111 bewirken in dieser Versuchsanordnung eine kurze Muskelkontraktion wie  $5 \mu\text{g}$  Azetylcholin. Die Kontraktion ist von einer flüchtigen Lähmung von etwa 3 Minuten Dauer gefolgt (Abb. 2). Intravenöse Injektion von  $30 \mu\text{g/kg}$  Eserin steigert die Wirkung von M 111 so, daß  $2 \mu\text{g}$  in gleichem Ausmaß wie  $4 \mu\text{g}$  C 10 die Kontraktionshöhe auf 12% herabsetzen. Dabei ist die Wirkung von M 111 mit 20 Minuten nicht ganz doppelt so lang wie die von C 10 (Abb. 3). Die lähmende Wirkung von M 111 auf den M. gastrocnemius nach intraarterieller Injektion in die Arteria ilica (Katze) wird durch Tetraäthylammonium (bis zu 3 mg) nicht antagonisiert. Dieselbe Dosis von TEA hebt prompt die Lähmung nach  $500 \mu\text{g}$  Tubocurarin auf<sup>3</sup>,

<sup>1</sup> J. H. GADDUM, J. Physiol. 99, 257 (1941).

<sup>2</sup> G. L. BROWN, J. Physiol. 92, 22P (1938).

<sup>3</sup> C. J. KENSLEY, Brit. J. Pharmacol. 5, 204 (1950).

<sup>1</sup> E. BÜLBRING, Brit. J. Pharmacol. 1, 38 (1946).

<sup>2</sup> Alle Eserinangaben beziehen sich auf Eserinum salicylicum.

die in dieser Anordnung mit 100  $\mu\text{g}$  M 111 annähernd wirkungsgleich sind.

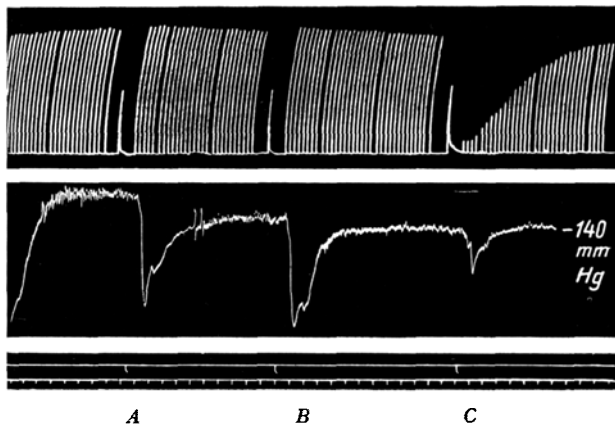


Abb. 2. Katze 3,4 kg, männlich, dezerebriert. «Close arterial injection». Obere Kurve: Zuckungen des M. tibialis ant. bei rhythmischer übermaximaler Reizung des tibialen Anteils des N. ischiadicus alle 10 Sekunden. Untere Kurve: Blutdruck in mm Hg, Zeit: 30 Sekunden. Vergleich von M 111 und Azetylcholin.

A: 2,5  $\mu\text{g}$  Azetylcholin intraarteriell  
B: 5,0  $\mu\text{g}$  Azetylcholin intraarteriell  
C: 10,0  $\mu\text{g}$  M 111 intraarteriell

Erregende Wirkungen des M 111 sind auch am Ganglion cervicale sup. der Katze in der Präparation von KIBJAKOW<sup>1</sup> nachzuweisen. Die auszuwertenden Lösungen wurden nach der von v. BRÜCKE<sup>2</sup> angegebenen Modifikation in die Arteria carotis externa rückläufig während gleichzeitiger Abklemmung der Carotis communis injiziert. 50  $\mu\text{g}$  M 111 wirken rein erregend, erst 100  $\mu\text{g}$  sind, nachdem sie eine maximale Kontraktion der Nickhaut wie bei elektrischer Reizung des präganglionären Halssympathikus bewirken, von einer etwa 5 Minuten dauernden Lähmung der elektrischen Erregbarkeit gefolgt. Nach Injektion von 10  $\mu\text{g}$  Eserin in die Arteria carotis externa erregen 50  $\mu\text{g}$  M 111 das Ganglion maximal; nach dem Rückgang der Nickhautkontraktion ist das Ganglion gelähmt und erreicht erst im Verlaufe von ca. 30 Minuten seine volle Erregbarkeit wieder.

<sup>1</sup> A.W. KIBJAKOW, Pflügers Arch. ges. Physiol. 232, 432 (1933).

<sup>2</sup> F. BRÜCKE, W. MACHO und G. WERNER, Wiener klin. Wschr. 59, 1 (1948).

Am M. rectus abdom. <sup>1</sup> des Frosches verhält sich die Wirksamkeit von Azetylcholin zu M 111 wie 3:2 bis 4:2. Eserinvorbehandlung ( $10^{-5}$ ) erhöht die Empfindlichkeit des Muskelpräparates gegen beide Substanzen. Lähmende Wirkungen des M 111 wurden dabei nicht mit Sicherheit gefunden.

Am nichtnarkotisierten Hund kann durch 0,1–0,4 mg/kg M 111 intravenös komplette Muskellähmung für 3–7 Minuten Dauer erzielt werden. Etwa 15 Minuten nach intravenöser Injektion von 30  $\mu\text{g}/\text{kg}$  Eserin genügen 20–30  $\mu\text{g}/\text{kg}$  M 111, um denselben Effekt zu erzielen.

Die erhebliche Verstärkung der erregenden und lähmenden Wirkungen des Bis-Cholinesters M 111 durch Eserin und TEPP ließ vermuten, daß er durch die Cholinesterase gespalten würde: wenn 10  $\mu\text{g}$  M 111 mit 1  $\text{cm}^3$  Serum inkubiert werden ( $37^\circ\text{C}$ ), so ist bei Testung am M. rectus abdominis des Frosches nach 15 Minuten keine erregende Wirkung mehr festzustellen. Es wurden zumindest 90% des Esters in dieser Zeit gespalten. Die Spontanhydrolyse ist in Parallelansätzen stets geringer als 10%. Die Spaltung von M 111 durch Cholinesterase kann ferner durch elektrometrische Titration<sup>2</sup> verfolgt werden: Bei einer Substratkonzentration von  $7,94 \cdot 10^{-2}$  Mol/l bis  $0,58 \cdot 10^{-3}$  Mol/l beträgt die Hydrolysegeschwindigkeit etwa  $\frac{1}{6}$  jener von Azetylcholin ( $1,4 \cdot 10^{-3}$  Mol/l). Die Hydrolyse wird durch Eserin gehemmt.

Bei Titration von Ansätzen, die 0,029 bzw. 0,059 mM M 111 in 50  $\text{cm}^3$  enthielten, wurde ein Endpunkt der Spaltung nach insgesamt 0,030 bzw. 0,061 mM Natronlauge erreicht. Da 1 Mol M 111 bei Spaltung beider Esterbindungen 2 Mol NaOH verbrauchen müßte, zeigen diese Titrationen, daß bei der enzymatischen Hydrolyse der Monoester entsteht, der nicht weiter gespalten wird.

Eine ausführliche Veröffentlichung dieser Versuchsergebnisse ist in Vorbereitung. Wir danken Herrn Prof. F. v. BRÜCKE für Anregung und förderndes Interesse.

K. H. GINZEL, H. KLUPP und G. WERNER

Pharmakologisches Institut der Universität Wien, den 4. August 1950.

#### Summary

The bis-cholinester of adipinic acid exhibits nicotine like stimulating actions as well as neuromuscular and

<sup>1</sup> H.C. CHANG und J.H. GADDUM, J. Physiol. 79, 255 (1933).

<sup>2</sup> A.L. DELAUNOIS und H. CASIER, Arch. int. Pharmacodyn. 75, 371 (1948).

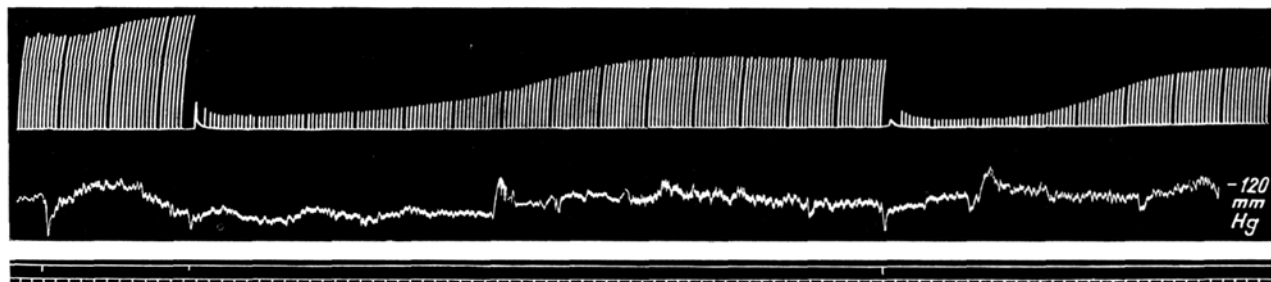


Abb. 3. Katze 3,4 kg, männlich, dezerebriert. «Close arterial injection». Legende wie Abb. 2. Verstärkung der M-111-Wirkung durch Eserin und Vergleich mit C 10.

A: 30  $\mu\text{g}/\text{kg}$  Eserinum salicylicum intravenös  
B: 2  $\mu\text{g}$  M 111 intraarteriell  
C: 4  $\mu\text{g}$  C 10 intraarteriell

ganglionic blocking actions; this actions can be reinforced by cholinesterase inhibiting substances (Eserine, TEPP). This increase of activity depends on the inhibition of the enzymatic hydrolysis of M 111 by cholinesterase. In the non-anaesthetised animal prevails the neuromuscular blocking action as it is known for  $C_{10}$ .

Under the condition of suitable inhibition of cholinesterase the true activity of this substance appears: in this case M 111 becomes more potent than  $C_{10}$  and *d*-tubocurarinchlorid in the preparations used, e.g. as measured on the rat-diaphragm, M 111 exceeds the activity of  $C_{10}$  thirty times.

### Die Beeinflussung der kompensatorischen Nierenhypertrophie durch Cortisone und andere Nebennierenrindensteroidoide

Cortisone besitzt neben seiner ausgesprochenen lymphoklastischen Eigenschaft<sup>1</sup> eine hemmende Wirkung auf die Bindegewebsneubildung, wie an der Beeinflussung der Fremdkörpergranulombildung<sup>2</sup> oder der verzögerten Wundheilung<sup>3</sup> gezeigt werden konnte. Auch die Proliferation von Knorpelgewebe am wachsenden Knochen ist durch Cortisone zu hemmen<sup>4</sup>. Durch Cortisone wird jedoch nicht nur die Entwicklung bestimmter Gewebe beeinträchtigt, sondern es kommt bei Anwendung entsprechender Dosen auch zu einer allgemeinen Entwicklungshemmung, die sich als Gewichtsabnahme oder Gewichtsstillstand nachweisen läßt<sup>5</sup>. Die bisher mitgeteilten Befunde lassen noch keine Entscheidung darüber zu, ob durch die Beeinträchtigung des Allgemeinzustandes alle Teile des Gesamtorganismus in gleicher Weise betroffen werden oder ob sich diese Wirkung von Cortisone nur an bestimmten Organen oder Geweben manifestiert. Um diese Frage für die Niere abzuklären, wurde an der Ratte die Wirkung von Cortisone, Substanz S und Desoxycorticosteron auf die Ausbildung der kompensatorischen Nierenhypertrophie nach einseitiger Nephrektomie untersucht.

**Methodik:** Ratten im Gewicht von 100–120 g wurde die linke Niere entfernt. 40 Tage nach der Operation wurden die Tiere getötet und die zurückgebliebene rechte Niere herausgenommen. Von den Nieren wurde jeweils das Feucht- und Trockengewicht bestimmt. Es wurden 5 Gruppen zu je 10 Tieren eingesetzt. Cortisone wurde in Dosen von 5 und 1 mg pro Tier alle 2 Tage in Form der Mikrosuspension (Cortisoneacetat) subkutan injiziert. Da unter der Behandlung mit 5 mg eine zu starke Gewichtsabnahme auftrat, wurde vom 19. Behandlungstage an die Dosis auf 2,5 mg alle 2 Tage vermindert. Die Tiere der dritten Gruppe erhielten alle 2 Tage 5 mg pro Tier einer Mikrosuspension von Substanz S (11-Desoxy-17-hydrocorticosteronacetat), diejenigen der vierten Gruppe 5 mg Desoxycorticosteronacetat in ölicher Lösung. Die fünfte Gruppe diente als Kontrolle.

In Abbildung 1 sind zunächst die Gewichtskurven der fünf Versuchsgruppen zusammengestellt. Jeder Punkt der Kurven stellt das Mittel aus 10 Einzelwerten dar. Die mit Substanz S oder DCA behandelten Tiere zeigen eine annähernd normale Entwicklung, entsprechend derjenigen der Kontrollgruppe. Dagegen führt Cortisone in der hohen Dosierung zu einer erheblichen Gewichtsabnahme, die innerhalb 15 Tagen annähernd 20 % beträgt. Nach Verminderung der Cortisonedosis auf die Hälfte tritt dann zwar ein Gewichtsstillstand und nach einigen Tagen sogar eine langsame Zunahme auf. Verglichen mit der Kontrollgruppe oder den mit DCA behandelten sind die Tiere dieser Gruppe jedoch zu Versuchsende noch stark untergewichtig. Wird von Beginn des Versuches an eine niedrigere Cortisonedosis (1 mg) gegeben, so kommt es zu annäherndem Gewichtsstillstand. Auch diese Tiere sind zu Versuchsende in der Entwicklung gegenüber denjenigen der Kontrollgruppe zurückgeblieben.

g Körpergewicht

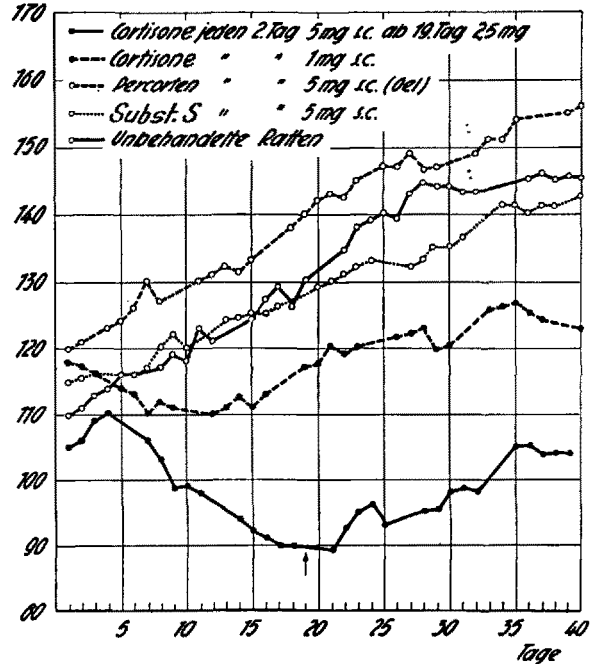


Abb. 1. Durchschnittsgewichte der verschieden behandelten Versuchsgruppen von je 10 Tieren. Wegen zu starker Gewichtsabnahme wurde die Dosis in Gruppe I am 19. Tag von 5 mg auf 2,5 mg Cortisone jeden zweiten Tag vermindert (Pfeil).

Die Nierengewichte zu Beginn und zu Ende des Versuches sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Daraus geht zunächst hervor, daß sich ohne zusätzliche Behandlung nach einseitiger Nierenexstirpation eine deutliche kompensatorische Hypertrophie entwickelt. Bezogen auf 100 g Körpergewicht ist bei der Kontrollgruppe die rechte Niere zu Ende des Versuches um annähernd 55 % schwerer als die linke zur Zeit der Exstirpation. Die Nieren der mit Cortisone behandelten Tiere weisen aber noch eine wesentlich stärkere Hypertrophie zu Versuchsende auf, und zwar unabhängig von der angewandten Dosis. Bezogen auf 100 g Körpergewicht wurden unter Behandlung mit 5 bzw. 2,5 mg 95 %, mit 1 mg 104 % Nierengewichtszunahme festgestellt. Im Gegensatz dazu konnte weder durch Substanz S noch durch DCA eine gegenüber der Kontrollgruppe sicher veränderte Nierenhypertrophie hervorgerufen werden. Die im

<sup>1</sup> T. F. DOUGHERTY und A. WHITE, Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 53, 132 (1943). — J. D. FELDMAN, Endocrinology 46, 552 (1950).

<sup>2</sup> R. S. MACH und P. DUCOMMUN, La Semaine des Hôpitaux 26, 3170 (1950). — R. MEIER, W. SCHULER und P. DESAULLES, Exper. 6, 469 (1950).

<sup>3</sup> CH. RAGAN, E. L. HOWES, CH. M. PLOTZ, K. MEYER und J. W. BLUNT, Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 72, 718 (1939).

<sup>4</sup> P. DUCOMMUN, Acta Endocrinol. 4, 343 (1950).

<sup>5</sup> C. A. WINTER, R. H. SILBER und H. C. STOERK, Endocrinol. 47, 60 (1950).