

Elektrocortin-Wirkung im Glykogentest

Für Versuche im sogenannten Glykogentest wurde uns von den Herren Dr. WETTSTEIN und Dr. NEHER unserer chemischen Forschungslaboratorien eine geringe Menge reinen Elektrocortins zur Verfügung gestellt.

Nach Befunden von SIMPSON *et al.*¹, DESAULLES *et al.*² und GROSS³ hat sich Elektrocortin auf die Elektrolyt-ausscheidung als bedeutend wirksamer erwiesen als freies Desoxycorticosteron. Da Desoxycorticosteron nur geringe Wirksamkeit im Glykogentest zeigt und bei Nebennierensteroiden im allgemeinen eine Abnahme der Kohlehydrataktivität mit zunehmender Elektrolyt-wirksamkeit angenommen wird, stellt sich die Frage, welche Wirksamkeit Elektrocortin im Glykogentest im Vergleich zu Desoxycorticosteron und anderen Nebennierensteroiden besitzt. Damit könnte eine weitere Ein-gruppierung der qualitativen Wirkung des Elektro-cortins erzielt werden. Der Befund von KNAUFF *et al.*⁴, dass weitgehend an elektrolytwirksamem Faktor ange-reicherte, gereinigte Extrakte aus Nebennieren im Leberglykogentest nach VENNING *et al.*⁵ unwirksam sind, könnte im Sinne der geringen Kohlehydratwirk-samkeit von Elektrocortin gegenüber Desoxycorticoste-ron gedeutet werden, doch geben die Autoren die auf Elektrolytaktivität bezogene Dosierung ihrer Extrakte nicht an.

Wir haben die Kohlehydrataktivität von reinem Elek-trocortin mit der uns zur Verfügung gestellten geringen Menge im Leberglykogentest nach VENNING *et al.*⁵, modifiziert nach SPRECHLER⁶, an nebennierenlosen F.f.a.-Mäusen geprüft. Die Glykogenbestimmung erfolgte nach GOOD *et al.*⁷ mit der Modifikation, dass die Leber sofort nach Tötung der Tiere schnellstens entfernt, so-fort in flüssiger Luft gefroren, auf einer Mikrotorsions-waage gewogen und in gefrorenem Zustande in die kochende Lauge eingebracht wurde.

Insgesamt standen uns etwas mehr als 2 mg Elek-trocortin zur Verfügung, die wir in Dosen von 30, 100 und 300 γ an je 5 Tiere subkutan verabreicht haben. Die maximale Dosis von 300 γ wählten wir, weil sich freies Desoxycorticosteron in dieser Dosis als eben nachweis-bar wirksam erwiesen hat.

In Tabelle I sind die von uns mit Elektrocortin ge-fundenen Werte in Milligramm Leberglykogen pro 100 g Körpergewicht eingetragen, nebst einigen Vergleichs-werten anderer bekannter Nebennierensteroiden, die aus Dosiswirkungskurven stammen, welche wir mit grossem Tiermaterial gewonnen haben und demnächst gesondert mitteilen werden.

In Tabelle II sind für Elektrocortin und die Vergleichs-steroiden die Dosen angegeben, welche nach unseren Versuchen eine Zunahme des Leberglykogens um 200 % gegenüber den Kontrollen bewirken (E.D. 200).

Es ergibt sich, dass in einem gewissen Dosenbereich Elektrocortin etwa 30mal wirksamer als freies Desoxy-corticosteron ist, das Leberglykogen um einen gleichen

Tabelle I

Behandlung	Tier-zahl	Dosis γ /20 g Maus	mg Leberglykogen pro 100 g Körpergewicht	
			absolut	Glykogen-zunahme (mg/100 g)
Kontrollen	30	—	18,0	—
Elektrocortin	5	30	42,0	+ 24,0
Elektrocortin	5	100	56,0	+ 38,0
Elektrocortin	5	300	180,0	+162,0
Zum Vergleich				
Cortison (frei)	30	30	60,5	+ 42,5
Corticosteron (frei)	30	60	55,0	+ 37,0
Desoxycorticosteron (frei)	30	300	35,0	+ 17,0
Desoxycorticosteron (frei)	30	3000	52,0	+ 32,0

Tabelle II

Behandlung	Tierzahl	E.D. 200 Dosis, die den Glyko- gehalt der Leber um 200 % steigert.
Cortison (frei)	30	30 γ /Tier
Corticosteron (frei)	30	60 γ /Tier
Elektrocortin	5	100 γ /Tier
Desoxycorticosteron (frei)	30	3000 γ /Tier

Betrag zu erhöhen, dass es aber etwas weniger wirksam ist als Cortison und Corticosteron.

W. SCHULER, P. DESAULLES und
R. MEIER

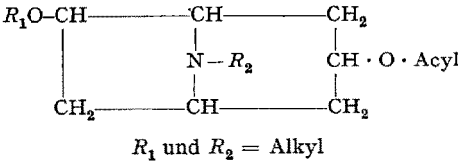
Aus den wissenschaftlichen Laboratorien der Ciba
Aktiengesellschaft, Basel den 2. Februar 1954.

Summary

Elektrocortin is 30 times as active as Desoxycorti-costerone in raising the liver glycogen to the same degree.

Über einige pharmakologische Untersuchungen
synthetischer Alkoxy-tropinderivate

Die erstmalige Darstellung von O-Alkyl-äpfelsäure-dialdehyden¹ gestattete die Synthese von neuartigen 6-Alkoxy-tropeinen² der allgemeinen Formel:



Die schon seit einiger Zeit sich im Gang befindliche pharmakologische Untersuchung dieser Substanzen er-

¹ S. A. SIMPSON, J. F. TAIT, A. WETTSTEIN, R. NEHER, J. V. EUW und T. REICHSTEIN, Exper. 9, 333 (1953).
² P. DESAULLES, J. TRIPOD, W. SCHULER, Schw. med. Wschr. 83, 1088 (1953).
³ F. GROSS, Acta endocrinol. 15, 1954 (im Druck).
⁴ R. E. KNAUFF, E. D. NIELSON und W. J. HAINES, Amer. J. Chem. Soc. 75, 4868 (1953).
⁵ E. H. VENNING, E. KAZMIN, und J. C. BELL, Endocrinology 38, 79 (1946).
⁶ M. SPRECHLER, Acta Endocrinol. 6, 133 (1951).
⁷ C. A. GOOD, H. KRAMER und M. SOMOGYI, J. Biol. Chem. 100, 485 (1933).

¹ A. STOLL, A. LINDENMANN und E. JUCKER, Helv. chim. Acta 36, 1500 (1953).
² A. STOLL, E. JUCKER und A. LINDENMANN, Helv. chim. Acta 37, (1954) (im Druck).

	Isolierter Kaninchen-Dünndarm Hemmung von		Darmhemmung <i>in vivo</i> bei Katze und Hund		Ober- flächen anä- sthesie Cocain = 100	Mydria- tische Wirkung	Saliva- tions- hemmung	Toxizität LD ₅₀ i.v. Kaninchen mg/kg
	Acetyl- cholin	Pilocarpin	Vagusreiz	Pilo- carpin				
Präparat A _{III} : 6-Methoxytropin-benzoesäureester · HCl . . .	0,05	0,05	1,0	1,0	40	—	—	3–5
Präparat A _{IV} : 6-Methoxytropin-benzoesäureester- brommethylat	<0,05	<0,05	3,5	2,8	0	—	—	10–15
Präparat B _{III} : 6-Methoxytropin-benzilsäureester · HCl . . .	0,6	2	1,5	1,5	150	0,2	—	ca. 5
Präparat B _{IV} : 6-Methoxytropin-benzilsäureester- brommethylat	4	3,3	21–28	21	0	4	5	20–25
Scopolamin-Brombutylat	2	2	14	14	—	2	2,5	—
Atropin	100	100	100	100	—	100	100	68

öffnet weitere Möglichkeiten für die Analyse der Beziehungen zwischen Konstitution und Wirkung innerhalb dieser biologisch interessanten Körperklasse. Neben anderen Verbindungen wurden auch 4 Derivate des Methoxytropins untersucht. Einige wesentliche, hiebei gewonnene Ergebnisse sind in der Tabelle zusammengefasst und werden nachfolgend kommentiert.

1. Benzoe- und Benzilsäureester des 6-Methoxytropins (Präparate A_{III} und B_{III}).

Die Prüfung auf Hemmung der Acetylcholinwirkung am isolierten Kaninchendünndarm ergibt eine um mehr als das 10fache stärkere Wirksamkeit des Benzilsäureesters (B_{III}) gegenüber dem Benzoesäureester (A_{III}). Pilocarpin wird im gleichen Test durch B_{III} sogar 40mal stärker gehemmt als durch A_{III}. Bezogen auf Atropin weist B_{III} aber immer noch eine rund 170mal schwächere Acetylcholin- bzw. eine 50mal schwächere Pilocarpin-Hemmung auf. Gegenüber BaCl₂-Spasmen sind die beiden Ester A_{III} und B_{III}, wie Atropin selber, weitgehend wirkungslos. Bedeutend geringere Unterschiede zwischen der Wirksamkeit des Atropins und der beiden Methoxytropinester zeigen sich bezüglich der Hemmung neural ausgelöster Darmspasmen *in vivo*. Diese spezifische Wirkung ist bei den quaternisierten Derivaten der Ester A_{III} und B_{III} jedoch noch bedeutend stärker ausgeprägt und wird im folgenden Abschnitt besprochen.

Scopolamin, mit der Sauerstoffbrücke zwischen C₆ und C₇ des Tropingerüsts, zeichnet sich gegenüber Atropin vor allem durch eine stärkere zentralnervöse Wirkung aus. Da das Einführen einer Methoxygruppe am C₆ die Wirksamkeit in ähnlicher Richtung verschieben könnte, wurden die Ester A und B im Vergleich zu Scopolamin auf zentralnervöse Wirksamkeit geprüft. Die durch subcutane Chloraloseinjektion ausgelöste Erregung von Mäusen kann durch Scopolamin in der Dosis von 50–100 mg/kg s.c. gehemmt werden, während höhere Dosen Scopolamin selbst erregend wirken. Präparat B_{III} erweist sich in diesem Test qualitativ und quantitativ gleich gut wirksam wie Scopolamin, während Präparat A_{III} keine erregungshemmende Wirkung zeigt, sondern schon in Dosen von 25 mg/kg s.c. aufwärts zu ausgesprochenen Erregung und selbst zu Krämpfen führt, also Wirkungen, die weitgehend analog sind den zentralnervösen Effekten eines anderen Körpers, zu welchem die chemischen Beziehungen auf der Hand

liegen, nämlich zum Cocain (Benzoesäureester des Methyl-Ekgonin). Aus letzterem Grund wurden die Präparate A_{III} und B_{III} auch auf eventuelle lokalanästhetische Wirksamkeit geprüft. Überraschenderweise ergibt sich, dass der Benzilsäureester des 6-Methoxytropins (B_{III}) an der Kaninchencornea zu stärkerer Anästhesie führt als der Benzoesäureester (A_{III}), indem A_{III} etwa 2,5mal schwächere, B_{III} jedoch etwa 1,5mal stärkere Aktivität als Cocain aufweist.

2. Brommethyle der Benzoe- und Benzilsäureester des 6-Methoxytropins (Präparate A_{IV} und B_{IV}).

Die schon mehrfach durchgeführte Quaternisierung des Stickstoffs in verschiedenen Tropinderivaten führt zu bemerkenswerten Änderungen der pharmakologischen Aktivität der entsprechenden Präparate¹. Zumeist wird berichtet, dass die acetylcholinhemmende Wirkung dabei zunimmt und eine stärkere ganglienblockierende Wirkung in Erscheinung tritt. Ausserdem soll es eher zu Abschwächung der Reizwirkungen auf das Zentralnervensystem und zu Verstärkung einer eventuellen curareähnlichen Wirkung kommen.

Die Untersuchung des 6-Methoxytropin-benzoesäureester-brommethyلات (Präparat A_{IV}) und des 6-Methoxytropin-benzilsäureester-brommethyلات (Präparat B_{IV}) hat folgendes ergeben:

a) *Isolierter Kaninchendünndarm.* Die hemmende Wirkung gegenüber Acetylcholin wird durch Quaternisierung des Benzilsäureesters um das 6–7fache gesteigert, die pilocarpinhemmende Wirkung jedoch nur 1,6–1,7mal. Quaternisierung des Benzoesäureesters steigert weder den Acetylcholin- noch den Pilocarpin-antagonismus.

b) *Vagal ausgelöste Darmspasmen bei Katze und Hund in vivo.* Die durch Vagusreizung am Hals erzeugten Darmkontraktionen werden mittels einer in den Darm eingeführten Ballonsonde übertragen und fortlaufend registriert. Atropin vermag in Dosen, welche die durch Vagusreizung ausgelöste Bradykardie und Blutdrucksenkung bereits eindeutig hemmen, den gleichzeitig auftretenden Darmspasmus nicht zu verhindern. Das vollständig umgekehrte Bild ergibt sich mit den quaterni-

¹ B. VON ISSEKUTZ, Z. exp. Path. Ther. 19, 99 (1917). – E. NYMAN, Acta physiol. Scand. 3, Suppl. X (1942). – L. GYERMEK und K. NADOR, Acta physiol. (Hung.) 4, 341 (1953).

sierten Präparaten A_{IV} und B_{IV}, von denen vor allem das Brommethylnat des 6-Methoxytropin-benzilsäureesters (Präparat B_{IV}) hochwirksam ist. Intravenöse Dosen von nur 25–50 µg/kg des letzteren genügen bereits, um den Vagusreizeffekt am Darm abzuschwächen und selbst aufzuheben. Die Wirkung des Vagusreizes auf den Blutdruck wird bedeutend weniger gehemmt (Abb.). Um Vergleichswerte zu erhalten, wurde das Scopolamin-Brombutylat mitgeprüft, dessen spezifische Hemmwirkung auf neurogen ausgelöste Darmspasmen bekannt ist¹. Präparat A_{IV} wirkt in Versuchen an 12 Katzen und 3 Hunden etwa 4mal schwächer, Präparat B_{IV} jedoch regelmässig 1,5–2mal stärker als Scopolamin-Brombutylat. Die nicht quaternisierten 6-Methoxytropinester wurden an diesem Test ebenfalls geprüft, sind jedoch erwartungsgemäss weniger wirksam. So wirkt zum Beispiel Präparat B_{III} bis 20mal schwächer als das entsprechende quaternisierte Präparat B_{IV}.

c) *Durch Pilocarpin ausgelöste bzw. verstärkte Darmrhythmik bei Katze und Hund in vivo*. Die Prüfung des hemmenden Einflusses der oben erwähnten Präparate auf den Darm ergibt praktisch identische Resultate wie in dem unter b beschriebenen Test, das heisst, Präparat B_{IV} ist auch hier 1,5mal stärker, Präparat A_{IV} 4–6mal und die Präparate A_{III} und B_{III} mindestens 10mal schwächer wirksam als Scopolamin-Brombutylat.

d) *Toxizität*. Im Rahmen von Kaninchenversuchen, die zur Prüfung auf eventuelle nicotinolytische Wirkung² der besprochenen 6-Methoxytropinderivate durchgeführt wurden, konnten gleichzeitig Toxizitätsdaten gesammelt werden. Das wirksamste Präparat B_{IV} hat sich mit einer i.v. LD₅₀ von 20 bis 25 mg/kg als am we-

nigsten giftig erwiesen, während das entsprechende nichtquaternisierte Präparat B_{III} etwa 4–5mal toxischer ist. An der Maus beträgt die i.v. LD₅₀ für Präparat B_{IV} 15 mg/kg.

e) *Mydriatische und salivationshemmende Wirkung*. Es wurde nur das durch seine besonders ausgeprägte Darmwirkung charakterisierte 6-Methoxytropin-benzilsäureester-brommethylnat (Präparat B_{IV}) untersucht und mit Atropin verglichen. Auf die Pupille der Maus wirkt Präparat B_{IV} 25mal schwächer erweiternd als Atropin. Die durch Pilocarpin stimulierte Speichelsekretion bei der Katze wird durch Präparat B_{IV} rund 20mal schwächer gehemmt als durch Atropin.

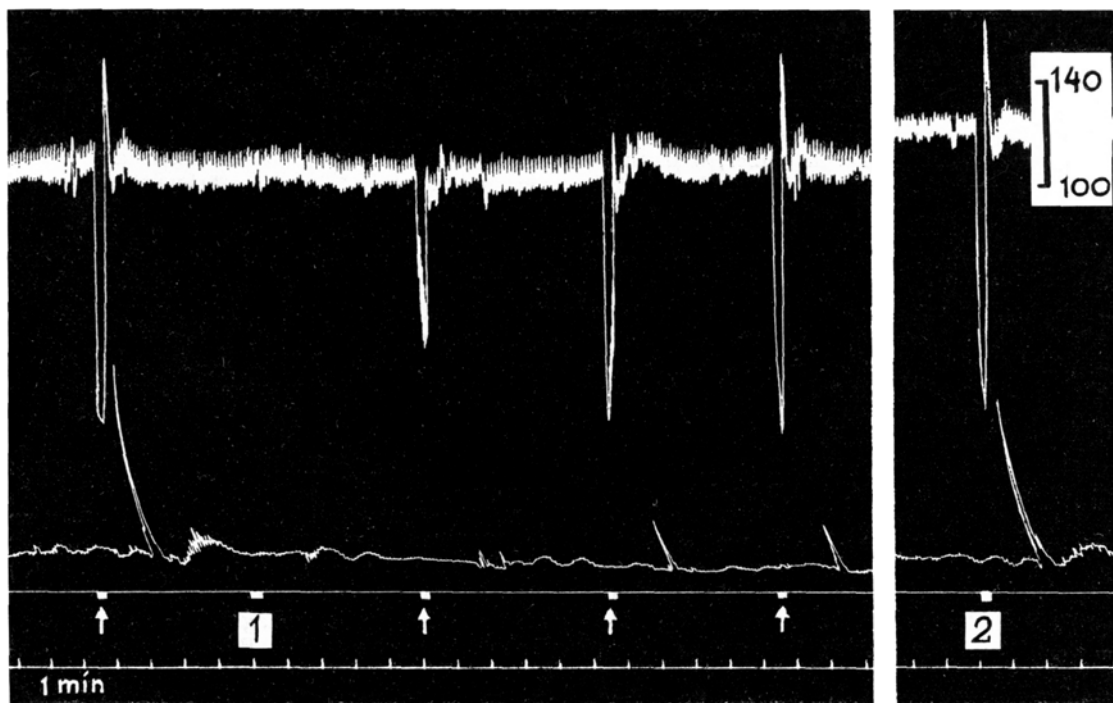
f) *Wirkung auf den Blutdruck*. Eine signifikante Beeinflussung des Blutdrucks von Katze und Hund durch die untersuchten 6-Methoxytropinderivate wird erst bei höherer Dosierung beobachtet. Insbesondere führt Präparat B_{IV} in Dosen von 0,5 mg/kg an aufwärts zu einer relativ flüchtigen Drucksenkung. Nach i.v. Verabreichung von 1–2 mg/kg des Präparats B_{IV} ist die nicotinähnliche Wirkung von Acetylcholin (Blutdrucksteigerung am atropinisierten Tier) aufgehoben. Ebenfalls werden durch diese Dosis die Nicotinwirkung auf den Blutdruck sowie der Carotisocclusionsreflex signifikant gehemmt. Während diese Ergebnisse für den ganglienblockierenden Charakter dieses quaternisierten Methoxytropinderivates sprechen, haben Beobachtungen beim Kaninchen ergeben, dass subtoxische Dosen (15 mg/kg i.v.) in Form des «head drop phenomenon» eine gewisse curareähnliche Wirkung entfalten.

3. 6-Äthoxytropin-benzilsäureester-brommethylnat und 6-Methoxytropin-benzilsäureester-brombutylat.

Angeichts der für den quaternisierten Benzilsäureester des 6-Methoxytropin ermittelten pharmakologi-

¹ H. WICK, Arch. exp. Path. (D) 213, 485 (1951).

² D. BOVER und V. G. LONGO, J. Pharmacol. (Am.) 102, 22 (1951).



Katze ♀, 3,4 kg, Chloralose-Urethan-Narkose. Es werden registriert: arterieller Blutdruck und Dünndarm-Motilität (Ballonsonde). An den mit Pfeil bezeichneten Stellen werden beide Halsvagi während 15 s gereizt. Es erfolgt steiler Druckabfall und gleichzeitig eine spastische Darmkontraktion. Nach i.v. Verabreichung von 50 µg/kg Präparat B_{IV} (Signal 1) ist der Vagusreizeffekt am Darm völlig aufgehoben, am Blutdruck abgeschwächt. Die Wirkung ist gut reversibel, und nach 90 min (Signal 2) wird der Reiz wieder normal beantwortet.

schen Daten wurden analoge Untersuchungen u.a. auch mit obigen 2 Substanzen durchgeführt. Ohne auf weitere Details einzugehen, steht fest, dass beide Verbindungen eindeutig schwächer wirksam sind. Hierüber sowie über die Ergebnisse mit weiteren Tropinderivaten soll später berichtet werden.

E. ROTHLIN, M. TAESCHLER,
H. KONZETT und A. CERLETTI

Aus dem pharmakologischen Laboratorium der Sandoz AG., Basel, den 10. Februar 1954.

Summary

Some pharmacological properties of new synthetic alkoxy-tropine derivatives are reported. The tertiary compounds were relatively potent local anaesthetics with a low anti-cholinergic action. Acetylcholine inhibition, as well as the spasmolytic activity *in vivo* of the benzoic acid esters were markedly increased by quaternisation while their toxicity decreased. 6-Methoxy-tropine benzoic acid ester brom-methylate was the most active compound of this series. A pronounced inhibitory activity on neurogenically induced intestinal constriction was found in low doses, whereas larger doses exerted a ganglionic blocking effect.

Über die Sekretion saccharosespaltender Transglukosidasen im pflanzlichen Nektar¹

Die Resultate der histologischen und physiologischen Untersuchungen verschiedener Autoren² lassen es als gesichert erscheinen, dass der pflanzliche Nektar direkt aus dem Phloem stammt. WANNER³ untersuchte den Phloemsaft von *Robinia Pseud-Acacia* und fand keine andern Zucker als Saccharose, die infolge des Fehlens einer Invertasewirkung stabil ist. Im Gegensatz zum Siebröhrensaft sind im Nektar von *Robinia Pseud-Acacia* neben Saccharose noch Glukose und Fruktose vorhanden. Während der Sekretion muss die Saccharose also teilweise gespalten werden.

In früheren Untersuchungen⁴ wurde festgestellt, dass die extrafloralen Nektarien von *Impatiens Holstii* unter gewissen Bedingungen mit dem Nektar eine Invertase ausscheiden. Es war nun anzunehmen, dass die Verhältnisse bei *Robinia* ähnlich sind, da im Phloemsaft nur Saccharose, im Nektar neben Saccharose auch Glukose und Fruktose zu finden sind.

Es zeigte sich tatsächlich, dass die Saccharose des gesammelten Nektars im Verlauf der Zeit weiter zerfällt und dabei einige Oligosaccharide entstehen. Die quantitativen Bestimmungen nach SOMOGYI-NELSON⁵ wurden für die Hexosen direkt, für Saccharose und die Oligosaccharide nach der Hydrolyse mit British-Drug-House-Invertase durchgeführt. Dann wurden die Mengen der einzelnen Zucker in % der totalen Hexose-

menge umgerechnet. Die Resultate sind in Abbildung 1 dargestellt: Die Zerfallskurve von Saccharose nimmt den üblichen Verlauf. Das Bemerkenswerte daran ist aber, dass die freie Fruktose bedeutend rascher zunimmt als die Glukose. Wir müssen es also hier im Gegensatz zu allen bisher untersuchten Invertasen¹ mit einer saccharosespaltenden Transglukosidase zu tun haben.

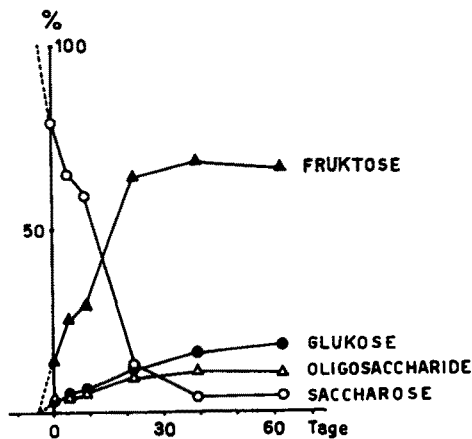
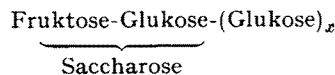


Abb. 1.

Wenn die Ausgangssubstanz 100% Saccharose war, so müssen am Schluss der Reaktion 50% Glukose und 50% Fruktose vorhanden sein. Aus Abbildung 1 aber ist ersichtlich, dass der Fruktosegehalt nach dem Zerfall von etwa 75% Saccharose auf über 50% angestiegen ist. Das ist aber nur scheinbar der Fall, und zwar aus folgendem Grund: Die Hydrolyse der Oligosaccharide vom Typ



vor der quantitativen Bestimmung ist natürlich nur unvollständig, das heisst, die British-Drug-House-Invertase ist eine Fruktosidase und vermag von den Oligosacchariden lediglich die Fruktose abzuspalten. Alle an die Saccharose gebundenen Glukosemoleküle der Oligosaccharide werden daher von der Analyse nicht erfasst. Sehr schön ist das aus Abbildung 2 ersichtlich. Es sind zwei identische Chromatogramme, von denen das links mit Anilin-Oxalsäure² und das rechts mit Naphthoresorzin-Trichloressigsäure³ entwickelt worden ist. In der Mitte ist *Robinianektar* aufgebracht (rund 30 Tage alt). Die Saccharose ist etwa zu 90% zerfallen. Die Oligosaccharide reagieren sowohl auf das Aldosen- wie auch auf das Ketosenentwicklungsmittel. Im Chromatogramm ist links der gleiche Nektar aufgebracht, aber mit British-Drug-House-Invertase hydrolysiert. Die Oligosaccharide sind noch vorhanden, aber sie reagieren nur noch auf das Aldosenentwicklungsmittel, das heisst, die Fruktose ist abgespalten worden. Im Chromatogramm rechts ist zum Vergleich eine mittlere Abbaustufe von Saccharose, verursacht durch die Transfruktosidase des *Impatiens*nektars⁴, aufgebracht.

Wenn man den Verlauf der Kurven in Abbildung 1 verfolgt, so kann man vermuten, dass die Oligosaccha-

¹ Die vorliegenden Untersuchungen erfolgten im Rahmen der Arbeitsgemeinschaft Prof. Dr. A. FREY-WYSSLING, Zürich, und Dr. A. MAURIZIO, Bern, mit Unterstützung der Fritz-Hoffmann-Laroché-Stiftung zur Förderung wissenschaftlicher Arbeitsgemeinschaften in der Schweiz.

² A. FREY-WYSSLING und C. AGTHE, Verh. schweiz. naturforsch. Ges. 1950, 175. – C. AGTHE, Ber. schweiz. bot. Ges. 61, 240 (1951). – E. FREI, Diplomarbeit ETH. (1952). – M. ZIMMERMANN, Ber. schweiz. bot. Ges. 63, 402 (1953).

³ H. WANNER, Ber. schweiz. bot. Ges. 63, 162 (1953).

⁴ M. ZIMMERMANN, Ber. schweiz. bot. Ges. 63, 402 (1953).

⁵ M. SOMOGYI, J. Biol. Chem. 160, 61 (1945). – N. NELSON, J. Biol. Chem. 153, 375 (1944).

¹ F. J. BEALING und J. S. D. BACON, Biochem. J. 53, 277 (1953). – F. J. BEALING, Biochem. J. 55, 93 (1953).

² S. M. PARTRIDGE, Biochem. Soc. Symp. 1951, Nr. 3, 52.

³ S. M. PARTRIDGE und R. G. WESTHALL, Biochem. J. 42, 238 (1948).

⁴ M. ZIMMERMANN, Ber. schweiz. bot. Ges. 63, 402 (1953).