

Untersuchung antileukämischer Substanzen an der Hühnerleukose

Antileukämische Wirkung des Butazolidins

Die durch Maretin hervorgerufene Leukose bei Hühnern zeigte sich als geeignete Untersuchungsmethode für antileukämische Substanzen<sup>1</sup>. Ihre Eigenschaften leisten den Grundanforderungen an eine solche Methode Genüge. Die Leukozytenzahl steigt nach Maretin schnell über den Normalwert, und ein spontaner Rückgang kommt nach unseren Erfahrungen nicht zustande, und – was als wichtigstes Ergebnis anzusehen ist – die Leukozytenzahl reagiert auf die bekannten antileukämischen Substanzen mit einem Sturz. Als Standardsubstanz für Präparate mit zytostatischem Effekt gebrauchen wir Äthylurethan. Bisher untersuchten wir auf diese Weise ausser Urethan auch noch Aminopterin, TEM, GT-41 und Röntgenstrahlen. Es zeigte sich, dass zur Erzeugung einer derartigen «Leukämie» nicht unbedingt Maretin notwendig ist (1-[m-Tolyl]semicarbasid), da wir den gleichen Effekt zum Beispiel auch mit Cryogenin (3-semicarbasido-benzamid) erreichen konnten. Das Semicarbasid allein hat gar keinen Effekt auf die Leukozytenzahl der Hühner<sup>2</sup>. Es ist also notwendig, dass das Semicarbasid in der Hydrazingruppe substituiert ist. Wir nehmen an, dass es ein Benzolringderivat sein muss, obwohl wir ausser Maretin und Cryogenin keine anderen Verbindungen untersuchten. Ausser den erwähnten Präparaten haben wir mit dieser Methode systematisch auch andere antileukämische und antineoplastische Substanzen geprüft. Da

HEILMEYER, HARWERTH, DOXIE und KRAUS<sup>1</sup> und andere zeigen konnten, dass Butazolidin (3,5-Dioxy-1,2-diphenyl-4-n-butylpyrazolidin-Natrium) das klinische Bild der Leukämie, des Lymphogranuloms und anderer neoplastischer Prozesse günstig beeinflusst, beschlossen wir, auch dieses Präparat zu untersuchen. Diese Verbindung erschien uns für weitere Untersuchungen besonders interessant, da die genannten und einige weitere Autoren bei ihren Fällen ausser Butazolidin auch andere zytostatische Wirkstoffe oder Röntgenstrahlen anwendeten. Sie konnten zwar an Fibroblastenkulturen *in vitro* zeigen, dass Butazolidin zur Zelldegeneration führt, doch erscheint wegen der Durchführung von Kombinationsbehandlungen ihrer klinischen Fälle die Frage unabgeklärt, ob Butazolidin bei neoplastischen Erkrankungen auch allein im Sinne eines Zytostatikums wirkt. Eine orientierende Untersuchung von Butazolidin bei der spontanen Leukämie der Maus hatte negative Resultate erbracht (FREEDLANDER und FÜRST<sup>2</sup>). WILHELMI<sup>3</sup> stellte fest, dass das Präparat den Regenerationsprozess beim Axolotl, bei Planarien und an der Rattenhaut praktisch nicht bzw. nur sehr schwach hemmt. Das Wachstum des spontanen Fibroadenoms und des Benzpyrensarkoms wurde durch Butazolidin kaum beeinflusst, während beim spontanen Mammakarzinom der Maus eine geringe Hemmwirkung festzustellen war<sup>3</sup>. Auch diese Befunde liessen eine Nachprüfung der zytostatischen Wirkung von Butazolidin als notwendig erscheinen.

Unsere Versuche. Wir verabreichten nach an anderer Stelle beschriebener Methode den Hühnern im Laufe von

<sup>1</sup> P. STERN und L. SPRUNG, Acta Med. Jug. 7, 1 (1953); Veterinaria 2, 269 (1953).  
<sup>2</sup> Unveröffentlichte Versuche.

<sup>1</sup> L. HEILMEYER, H. G. HARWERTH, J. DOXIE und R. KRAUS, Arzneimittelforschung 1953, 161.  
<sup>2</sup> B. L. FREEDLANDER und J. FÜRST, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 81, 638 (1952).  
<sup>3</sup> G. WILHELMI, Arch. exper. Path. Pharmacol. 218, 101 (1953); Giornale ital. Chemioter. 1, 111 (1954).

Tier Nr.	Leukozyten pro mm <sup>3</sup>						
	Normalwerte zu Beginn des Versuches	Nach Maretin-verabreichung	Nach 8tägiger Butazolidin-verabreichung	Nach 14tägiger Butazolidin-verabreichung	11–12 Tage nach Sistieren der Butazolidin-verabreichung	36–42 Tage nach Sistieren der Butazolidin-verabreichung	Butazolidindosis
1	32 532	442 000	26 400				20 mg
2	82 000	296 000					
3	16 930	204 000	24 664				
4	10 066	412 000	176 000				
5	41 000	143 000	100 000	65 000	36 000	100 000	
6	54 000	125 000	70 000	50 000	30 000	124 000	10 mg
7	25 000	144 000	64 000	60 000	33 000	68 000	
8	29 000	104 000	62 000	47 000	32 000	104 000	
9	54 000	108 000	82 000	44 000	28 000	69 000	
10	29 000	152 000		68 000	35 000	106 000	
11	29 000	103 000		68 000	24 000	86 000	5 mg
12	35 000	107 000		80 000	29 000	71 000	
13	30 000	98 000	82 000	78 000	33 000	104 000	
14	29 000	107 000		70 000	40 000	106 000	
15	27 000	146 000	117 000	70 000			
16	30 000	120 000		63 000	40 000	124 000	Urethan 0,5 cm <sup>3</sup> intramuskulär
17	23 000	103 000		60 000	41 000	100 000	
18	39 000	141 000	126 000	55 000	31 000	112 000	
19	35 000	190 000		47 000	35 000	78 000	
20	29 000	103 000		59 000	25 000	84 000	
21	38 000	109 000		69 000	38 000	76 000	
22	40 000	126 000	73 000	40 000	32 000	84 000	
23	31 000	154 000	88 000	61 000	53 000	104 000	

zwei bis drei Wochen eine 0,25%ige Maretinlösung, und zwar jeden 7. Tag 0,5 cm<sup>3</sup> intramuskulär.

Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, wurde Butazolidin in täglichen Dosen von 20, 10 und 5 mg intramuskulär verabreicht. Alle angewendeten Dosen, auch diejenige von 5 mg, verursachten einen klar ersichtlichen Sturz der Leukozytenzahl. Wenn nach 14 Tagen, während welcher wir 10 und 5 mg verabreichten, die Medikation unterbrochen wurde, so war in den folgenden 14 Tagen eine weitere Leukozytenverminderung zu beobachten. Nach einem Monat erreichte die Leukozytenzahl wieder die Höhe, auf der sie sich vor der Butazolidinanwendung befand. Bei Hühnern, die 20 mg Butazolidin erhielten, haben wir die Dauer des Effektes nicht verfolgt. Es sei erwähnt, dass sich die Hühner während der Therapie normal verhielten, wobei Appetit und Eierlegen unverändert blieben. Im Differenzialblutbild waren keine besonderen Veränderungen festzustellen.

Aus diesen Untersuchungen scheint hervorzugehen, dass Butazolidin, zumindest bei Leukämien, nicht nur durch einen ausgeprägten antiphlogistischen und antipyretischen Effekt sowie eine eventuelle Wirkung über Hypophyse und Nebennierenrinde gekennzeichnet ist, sondern auch über einen direkten zytostatischen Effekt verfügt.

P. STERN und A. MISIRLIJA

*Pharmakologisches Institut der Medizinischen Fakultät in Sarajevo, den 14. Juli 1954.*

#### Summary

In leukosis of chickens caused by administration of 1-m-Tolylsemicarbazide (MARETIN-BAYER) Butazolidin caused a reduction of the number of leucocytes to normal values. This action might be attributed to a cytostatic effect of Butazolidin.

### The Role of Amino-acids in Inducing Hormone Secretion

In a previous work we demonstrated<sup>1</sup> the role of anterior pituitary (via thyroid) in the deamination of amino-acids. Our further work started from the reversal of the question: instead of investigating the role of various hormones on the different phases of metabolism, the influence of different foods on hormone secretion was investigated. We supposed that if the pituitary has a role in protein metabolism, the amino-acids of the absorbed protein stimulate hormone secretion of the pituitary.

To study this assumption, the following experiments were carried out:

(1) *Eosinophile count.* (a) In men. We found eosinopenia in men 4 h after administration of the white of 5 boiled eggs or 1–2 g amino-acid (average change of –31%), in contrast with the average increase of 18% in the fasting condition on the same subjects. In 3 Addisonian patients leucin had no eosinopenic effect (Fig. 1).

(b) In rats. 0.02 leucin, methionin, valin, glycine, phenylalanin, tryptophan, histidin or isoleucin were administered in 1 ml of 0.85% saline solution by stomach

tube to normal fasting rats. Before, and 3 h after administration, eosinophiles were counted by the method of BACH and al.<sup>1</sup> While in 20 out of 25 control animals (given saline solution), the eosinophile count decreased

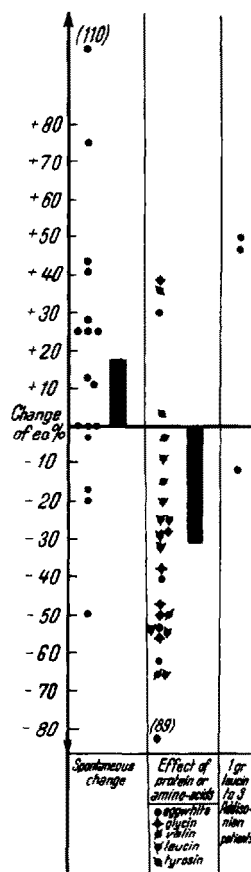


Fig. 1.—Effect of protein on eosinophile count.

less than 30%, we obtained very significant eosinopenia after the administration of leucin and methionin, and significant eosinopenia after the administration of valin, phenylalanin and tryptophan. Glycine, histidin and isoleucin produced no effect. In the statistical analysis, we used (WILCOXON method) the 5% significance level. On adrenalectomized rats 0.04 g leucin failed to cause eosinopenia (Fig. 2).

HARRIS and LANG<sup>2</sup> demonstrated the lymphopenic effect of aspartic and glutaminic acid in rats. VARTIAINEN and APALAJAHTI<sup>3</sup> and HISSINK<sup>4</sup> found eosinopenia following administration of casein or tyrosin.

(2) *Effect of human serum on animals.* (a) On blood sugar: 2–3 ml serum taken before and 4 h after ingestion of the white of 5 boiled eggs, was injected to fasting rats. The blood sugar (HAGEDORN and JENSEN method) of rats receiving fasting serum showed slight decrease (average: –8.4 mg%), the serum taken after a protein meal exerted a definite blood sugar raising effect (average: +24 mg%). The difference between the two groups is

<sup>1</sup> E. BACH, E. SZMUK, L. GYULAI, and A. VIRÁNYI, *Orvosi Hetilap* 92/33, 1117 (1951).

<sup>2</sup> M. HARRIS and B. LANG, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 80, 664 (1952).

<sup>3</sup> M. VARTIAINEN and J. APALAJAHTI, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 13, 1502 (1953).

<sup>4</sup> G. HISSINK, *Med. J. Australia* 1953, 631 and 746.

<sup>1</sup> A. GÓTH, L. BORSODI, E. BENCZE, and L. LENGYEL, *Magyar Belorv. Arch.* No. 1 (1952). *Zeitschrift f. Vitamin-, Hormon- und Fermentforsch.* (im Druck).