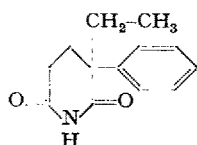
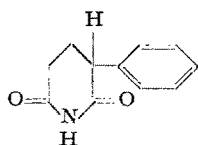


In erster Linie wurden die Ausscheidungsprodukte des bereits in der Therapie eingeführten Doriden (I) untersucht. Während es bekanntlich gelingt, im Harn von zum Beispiel mit Barbituraten behandelten Tieren diese Substanzen teilweise unverändert wiederzufinden, gelang uns der Nachweis von Doriden selbst im Hundeharn bisher in keinem einzigen Fall. Isoliert wurde dagegen eine farblose kristallisierte Verbindung, die bei 143° schmolz. Die UV.- und IR.-Spektren des Abbauproduktes in Kombination mit dem Analysenresultat wiesen auf ein desäthyliertes Derivat hin. Das zum Beweis synthetisch hergestellte α -Phenylglutarimid (II) war in jeder Hinsicht mit dem Abbauprodukt identisch (Mischsm., UV.- und IR.-Spektrum).

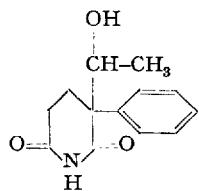


I «Doriden»

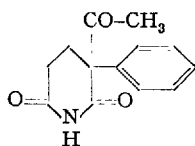


II

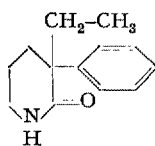
Das α -Phenylglutarimid ist eine ungiftige Verbindung, die keinerlei sedative Eigenschaften mehr besitzt. Die Abspaltung der Äthylkette auf oxydativem Wege ist ein seltsamer Befund, der keine Parallele in den bisherigen Ergebnissen beim Abbau von Kohlenwasserstoffketten hat. Es können kaum Zweifel darüber bestehen, dass die Äthylkette auf oxydativem Wege entfernt wurde, obwohl die bekannten biologischen Oxydationsmechanismen, wie die sogenannte β -Oxydation und Methyloxydation (ω -Oxydation), im vorliegenden Fall dem biologischen Vorgang nicht zugrunde liegen können. Der wahrscheinlichste Ort des oxydativen Angriffes ist die Methylengruppe der Äthylkette (das ω -1 C-Atom). Der Ablauf der Verbrennung vollzieht sich möglicherweise über die Zwischenstufen III⁹ und IV¹⁰.



III



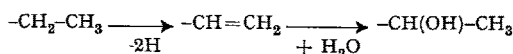
IV



V

Das vermutliche Zwischenprodukt IV kann als instabil angesehen werden, gelang doch die von uns versuchte Synthese dieser Verbindung nicht. Unter den Reaktionsbedingungen der Synthese wurde die Azetylgruppe eliminiert, und als Endprodukt der Reaktionsfolge entstand das α -Phenylglutarimid II.

⁹ Die Zwischenstufe III müsste nicht unbedingt durch eine direkte Hydroxylierung des (ω -1)-C-Atoms entstanden sein. In Anbetracht der Arbeiten von K. BERNHARD, U. GLOOR und E. SCHEITLIN [Z. physiol. Chem. 299, 235 (1955)] liesse sich die Entstehung dieser Verbindung auch nach dem Schema



erklären, das heisst durch Wasseranlagerung nach erfolgter ω , (ω -1)-Dehydrierung der Äthylkette.

¹⁰ Die Verbindung IV könnte entweder direkt (Säurespaltung) in Verbindung II übergehen oder zum α -Phenyl- α -carboxyglutarimid biologisch weiteroxydiert werden, welches als Malonsäure-Derivat die freie Carboxylgruppe durch Kohlensäureabspaltung leicht verlieren würde.

Zur weiteren Abklärung des biologischen Abbau-mechanismus von Doriden haben wir den Stoffwechsel eines partiell reduzierten Produktes des letzteren, nämlich des 3-Phenyl-3-äthyl-piperidons-(2) (V), untersucht. Überraschenderweise liess sich aus dem Harn eines mit diesem Piperidonderivat behandelten Hundes α -Phenylglutarimid (II) isolieren, das heisst dasselbe Abbauprodukt wie bei der Verfütterung von Doriden. Mit andern Worten: es wird auch bei dieser Verbindung die Äthylkette eliminiert, wobei aber auch das C5-Atom des Piperidinrings bis zur Oxogruppe oxydiert wird¹¹. Die Frage, ob zuerst das Piperidon zum Doriden oxydiert und dann die Äthylkette abgebaut wird oder ob die biologische Reaktionsfolge umgekehrt verläuft, bleibt noch offen.

Stoffwechselversuche mit weiteren Glutarimidabkömmlingen sind im Gange, wobei die Hoffnung besteht, dass das neue Tatsachenmaterial vermehrten Einblick in das biologische Geschehen mit dieser Verbindungsklasse erlauben wird¹².

J. KEHRLE und K. HOFFMANN

Forschungslaboratorien der CIBA Aktiengesellschaft, Pharmazeutische Abteilung, Basel, den 14. November 1955.

Summary

In view of the therapeutic interest glutarimides have been found recently, the metabolism of α -Phenyl- α -ethyl-glutarimide and 3-Phenyl-3-ethyl-2-piperidone have been studied by feeding experiments upon dogs. Both derivatives were degraded to α -phenyl glutarimide, the ethyl side chain was thereby very probably eliminated by oxidation.

¹¹ Die Tatsache, dass ein stickstofftragendes C-Atom oxydativ angegriffen wird, ist im Hinblick auf die Befunde von H. STREUDEL [Z. physiol. Chem. 213, 11 (1932)], wonach N-Methyl-piperidin im Tierkörper zu δ -Methylamino-valeriansäure aufgespalten wird, nicht ungewöhnlich. Ähnliche oxydative Angriffe werden auch bei der Biogenese von Alkaloiden vermutet [E. WENKERT, Exper. 10, 346 (1954)].

¹² Der experimentelle Teil über die Isolierung und Konstitutionsaufklärung der in dieser Mitteilung erwähnten biologischen Abbauprodukte wird in Bälde in den Helvetica Chimica Acta veröffentlicht werden.

Isolation of Crystalline Aldosterone from the Urine of Patients with Congestive Heart Failure¹

Recently² we succeeded in isolating the so-called sodium retaining factor³ from the urine of a nephrotic child in crystalline form and in identifying it with aldosterone from adrenals. The occurrence of a presumably identical sodium retaining factor has been established since 1950 in the urine of normal persons and especially of patients also with other diseases accompanied generally by low sodium excretion.⁴

¹ Communication No. 137 "On Steroids". No. 136 compare A. WETTSTEIN, Exper. 11, 465 (1955).

² J. A. LUETSCHER, JR., R. NEHER, and A. WETTSTEIN, Exper. 10, 456 (1954). – J. A. LUETSCHER, JR., A. DOWDY, J. HARVEY, R. NEHER, and A. WETTSTEIN, J. biol. Chem. 217, 505 (1955).

³ A. B. DEMING and J. A. LUETSCHER, JR., Proc. Soc. exper. Biol. Med. 73, 171 (1950).

⁴ Literature in: R. NEHER and A. WETTSTEIN, Acta endocrinol. 18, 386 (1955).

We have now been able to isolate this sodium retaining factor in crystalline form from the urine of two patients with congestive heart failure. It proved to be identical again with aldosterone.

One of the patients studied, Mrs. L. B., 50 years of age, suffered from chronic congestive heart failure with heavy edema, ascites and hydrothorax. Therapy included bed rest, digitalis, and low sodium diet. No steroids or corticotrophins were given. The total pool of urine originating from collection over a period of 15 days consisted in 6.42 l and contained a total of 9.6 mEq. of sodium and 265 mEq. of potassium. The other patient, Mr. C. G., 53 years of age, suffered from rheumatic heart disease and congestive cardiac failure. He showed mild icterus secondary to congestion of the liver and probably to pulmonary infarction. He was treated with bed rest, digitalis, and low sodium diet, but the cardiac failure did not respond to this treatment. Urine was collected over 6 days. The total volume was 4.44 l, containing a total of 8.9 mEq. of sodium and 162 mEq. of potassium.

Each of these urine pools was acidified to pH 1 and extracted promptly with chloroform as described earlier^{3, 4}. These extracts (A) were set aside, and the urine was allowed to stand for 24 h at pH 1, and extracted again. In all subsequent work the second extracts (B) only were used. On paper chromatography in the system propylene glycol/toluene for 6 days, the zone around cortisone was cut out and eluted with 95% ethanol. Paper-chromatographic analysis¹ of a sample of this biologically active eluate (12.5 mg) in Bush's system C and in formamide/chloroform using UV-absorption, reductive capacity (bluetetrazolium) and soda fluorescence as indicators pointed to the presence of a total amount of about 2.5 mg of aldosterone. The whole eluate was chromatographed preparatively therefore on 7 paper sheets (Whatman No. 1, washed) in Bush's system C and the UV-absorbing band corresponding to aldosterone eluted in the usual manner. It yielded 2.8 mg of an amorphous residue which crystallized from ether-aceton–water upon inoculation with aldosterone.

The crystals (1.25 mg) showed the same melting point as authentic aldosterone (110°/163°C) and gave no melting point depression in mixture with the latter. For final identification the IR-spectra⁵ (in CHCl₃-solution) were compared and proved to be identical.

In these two cases the mean output of aldosterone was at least as high as 130 µg/24 h.

Now that the identity of the sodium retaining factor from urine with aldosterone is established unequivocally in 3 cases, there is no doubt that the substance with the same chromatographic and biological properties demonstrated in other urines consists also of aldosterone.

J. A. LUETSCHER, Jr., R. NEHER,
and A. WETTSTEIN

Stanford University School of Medicine, San Francisco, California; Research Laboratories of CIBA Limited, Basle, Switzerland, November 1st, 1955.

Zusammenfassung

Der Natrium-retinierende Faktor aus dem Urin zweier Patienten mit Stauungs-Herzfehlern wurde in kristallisierter Form isoliert und mit Aldosteron identifiziert.

⁵ Our thanks are due to Dr. A. GANZ, Basle, for these determinations.

Effets de l'irradiation sur le métabolisme des acides nucléiques et de leurs dérivés acidodissolubles chez le rat

On a montré que les radiations ionisantes diminuent la quantité d'acides nucléiques dans les tissus. Ce phénomène est très marqué dans le cas de l'acide désoxyribonucléique (ADN) tandis que dans celui de l'acide ribonucléique (ARN), il est beaucoup moins prononcé; on a même observé parfois une augmentation de la synthèse de cet acide après irradiation (HEVESY¹, HOLMES², ABRAMS³, KELLY⁴). Les recherches de KANAZIR⁵ sur les effets des radiations ultraviolettes sur les bactéries ont démontré que la synthèse de l'ADN est bloquée pendant un certain temps et qu'à la suite de ce blocage, il se produit une accumulation de substances acidodissolubles, qui sont probablement des précurseurs de cet acide. Nous avons voulu rechercher si l'action des radiations X provoque le même effet dans la rate du rat.

Nous avons travaillé sur des rats mâles de 95–110 g avec une dose de 1500 r. L'irradiation a été faite avec un appareil de Roentgen-thérapie profonde: 220 kV, 12 mA, 0,5 Cu (90 r/min). Nous avons irradié deux animaux à la fois dans une boîte de bois perforée. 2½ h et 24 h après l'irradiation, nous avons sacrifié les animaux par décapitation; après avoir laissé le sang s'écouler, nous avons prélevé la rate immédiatement et nous l'avons lavée avec une solution physiologique refroidie. Nous avons ensuite lavé la rate découpée en petits morceaux à l'alcool, puis deux fois à l'alcool-éther (3:1) pendant 20 min. Le tissu a ensuite été séché sous vide et nous avons ramené tous les résultats au poids sec. Le tissu séché était alors extrait à 3 reprises par de l'acide perchlorique 2% pendant 30 min. Toutes ces opérations étaient effectuées à 2–4° C. Sur un aliquot de cette fraction acidodissoluble, l'absorption à 260 mµ a été mesurée. Nous avons ensuite déterminé le phosphate organique et inorganique par la méthode d'ALLEN⁶, ainsi que le ribose et le désoxyribose. Le tissu restant a été traité à deux reprises par de l'acide perchlorique à 5% pendant ½ h à 100°C et deux fois avec le même acide à 2%. Nous avons déterminé l'ARN et l'ADN dans cet extrait par la méthode de l'orcinol⁷ et par celle de CERIOTTI⁸, respectivement.

Résultats et discussion. Les résultats sont rassemblés dans le Tableau, et dans les Figures 1, 2 et 3, où les valeurs ont été exprimées en pourcent de celles obtenues pour les animaux témoins.

Le Tableau et les Diagrammes indiquent une diminution précoce de l'absorption UV. dans la fraction acidodissoluble: il n'y a donc pas d'accumulation de bases azotées dans cette fraction (Fig. 1). Le phosphore organique subit une diminution, sans retour à la normale après 24 h (Fig. 2). Le phosphore inorganique augmente rapidement pour se maintenir, pendant 24 h, au-dessus de la normale (Fig. 3).

Le désoxyribose acidodissoluble commence par diminuer, pour augmenter ensuite au delà de la normale. Une petite augmentation s'observe également dans le cas du ribose acidodissoluble, qui diminue ensuite au-dessous de la normale après 24 h.

¹ H. HEVESY, Adv. Enzymol. 7, 3 (1947).

² B. E. HOLMES, Brit. J. Radiol. [N.S.] 22, 487 (1949).

³ H. ABRAMS, Arch. Biochem. Biophys. 30, 90 (1951).

⁴ L. KELLY et H. B. JONES, Proc. Soc. exper. Biol. 74, 493 (1950).

⁵ D. KANAZIR, Thèse, Bruxelles 1955.

⁶ R. J. ALLEN, Biochem. J. 34, 858 (1940).

⁷ W. MEJBAUM, Z. physiol. Chem. 193, 297 (1952).

⁸ G. CERIOTTI, J. biol. Chem. 193, 297 (1952).