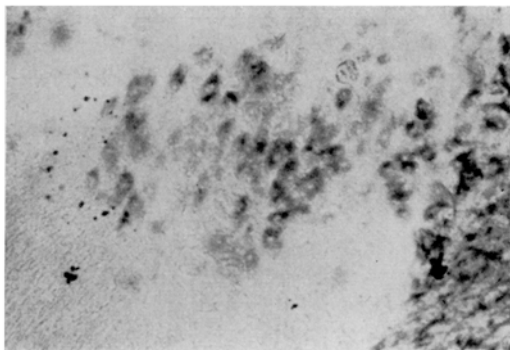
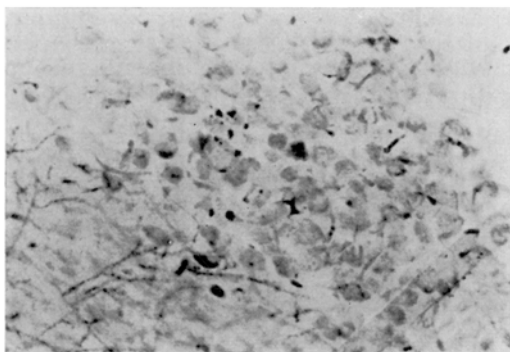
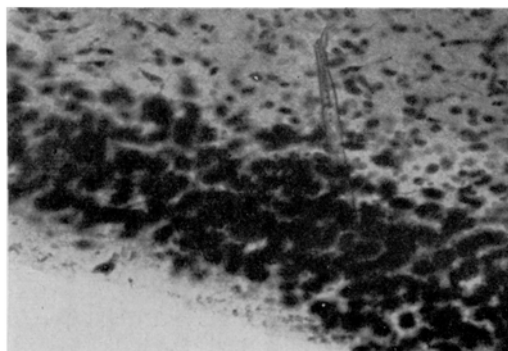




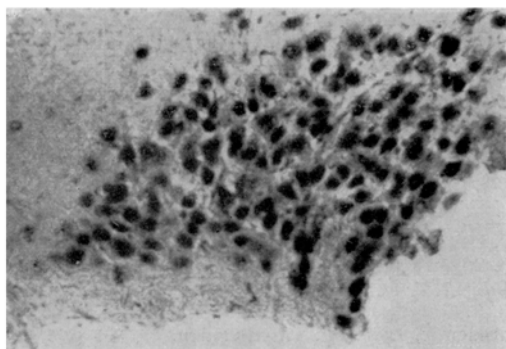
A



B



C



D

A Distribution of acetylcholinesterase in the nucleus supraopticus of control rat. B The same after administration of chlorpromazine. C Acid phosphatase activity in the nucleus supraopticus of control rat. D The same after chlorpromazine treatment. All 180 $\times$.

The normal acetylcholinesterase and acid phosphatase of the hypothalamic supraoptic and paraventricular nuclei were confirmed to be in accordance with earlier results, whereas the succinic dehydrogenase activity is slightly stronger in our opinion, than is shown by the earlier investigations. On comparison between the acetylcholinesterase, acid phosphatase and succinic dehydrogenase activities in the said nuclei of the animals under chlorpromazine administration and the controls, a moderate reduction in activity was observed for each enzyme with the animals that had been given chlorpromazine.

Our results are in agreement with our previous investigation, in which we showed that chlorpromazine lowers the discharge of antidiuretic hormone from the supraoptic nucleus and the paraventricular nucleus⁸. They are also in agreement with biochemical investigations, which have shown that chlorpromazine generally depressed the enzyme system in the brain¹⁰. It is further conceivable that the reduced activity of these various enzyme systems is connected with the sedative effects caused by chlorpromazine.

E. KIVALO*, U. K. RINNE*, and S. MÄKELÄ

Department of Anatomy, University of Turku (Finland), June 2, 1958.

Zusammenfassung

Der Einfluss des Chlorpromazins auf die Acetylcholinesterase, saure Phosphatase- und Bernsteinsäuredehydrogenaseaktivität des Nucleus supraopticus und Nucleus paraventricularis wurde histochemisch untersucht. Es wurde festgestellt, dass Chlorpromazin bei sämtlichen Enzymen eine mässige Herabsetzung der Aktivität bewirkt. Die Vermutung wird ausgesprochen, dass mit der Sedativwirkung des Chlorpromazins eine Verminderung der Enzymaktivität verknüpft ist.

¹⁰ J. BERNISOHN, I. NAMAJUSKA, and B. BOSSES, *J. Neurochemistry* 1, 145 (1956).

* Aided by a grant from the Sigrid Jusélius Stiftelse.

Über das Glucosid von 1,2-Diphenyl-3,5-dioxo-4-*n*-butyl-pyrazolidin (Phenylbutazon)

Von einer Reihe therapeutisch wichtiger Glykoside, die schon lange unseren Arzneischatz bereichern, ist bekannt, dass das Aglykon allein eine zum Teil viel schwächere Wirkung als das Glykosid besitzt. Andererseits sind zum Beispiel von dem als Tuberkulostaticum bekannten Isonikotinsäurehydrazid-Hydrazone mit Aldosen bekannt, die sich durch eine bessere Verträglichkeit, das heisst grössere therapeutische Breite auszeichnen¹. Ausserdem ist es möglich, mit solchen Derivaten die Resorption zu verändern und so eventuell eine protrahierte Wirkung zu erzielen². Da Phenylbutazon als β -Dicarbonylverbindung leicht enolisiert, erschien es uns interessant, das Enolglucosid darzustellen. Von BALLOU und LINK³ sind eine

¹ H. LÜDHOF und E. KRÖGER, *Klin. Wschr.* 34, 451 (1956). – G. BROUET, B. N. HALPERN, J. MARCHE und J. MALLET, *Presse méd.* 61, 863 (1953). – J. KIMMIG, F. KRÜGER und J. MEYER-TOHN, *Arzneimittelforsch.* 7, 157 (1957).

² CH. A. COLWELL, A. R. HESS, C. J. WOODS und E. J. DRAUTELS, *J. Lab. clin. Med.* 46, 597 (1955).

³ C. E. BALLOU und K. P. LINK, *J. Amer. chem. Soc.* 72, 3147 (1950); 73, 1134 (1951).

Reihe solcher Glucoside mit Acetessigester und ähnlichen Verbindungen dargestellt worden. Nach derselben Methode erhielten wir aus Acetobromglucose⁴ und Phenylbutazon 1- β [1',2'-Diphenyl-3'-keto-4'-*n*-butyl-pyrazol-5'-yl]-2,3,4,6-tetra-acetyl- β -glucosid (I) in einer Ausbeute von 32,5%. Aus Essigester/Äther F. 155–156°. $[\alpha]_D^{20} = -44^\circ$ (in CHCl_3 ; $C = 0,51$). Die Abspaltung der Acetylgruppen nach ZEMPLÉN oder mit NH_3 in der Kälte gelang erwartungsgemäss infolge der Alkaliempfindlichkeit des Glucosides nicht. Kürzlich wurde nun von BREDERECK *et al.* am Beispiel der β -Pentaacetyl-glucose und des Tetraacetyl- α -methylglucosids die Acylspaltung mit Diazomethan beschrieben⁵. Wir erhielten bei der Einwirkung einer Diazomethanolösung auf I nach obiger Methode neben unverändertem Ausgangsmaterial eine Verbindung vom Schmelzpunkt 85–86° (aus Methanol) in einer Ausbeute von 65%, deren Summenformel nach der Analyse gut mit dem Methylenoläther des Phenylbutazons übereinstimmte.

Diese Struktur wird durch die Absorptionsspektren im UV.- (Max. 250 m μ , $\log \epsilon = 4,22$ in Methanol) und IR.-Gebiet ($\nu \text{ C=O}$ 5,95 μ , $\nu \text{ C=C}$ 6,13 μ , CH_2Cl_2 -Lösung) bestätigt⁶.

Wir untersuchten noch die Resorption und Verteilung des tetraacetylierten Glucosides des Phenylbutazons bei der Ratte, dem Kaninchen und beim Menschen⁷, da wir infolge der leichten Spaltbarkeit der Verbindung angenommen haben, dass eine Verseifung im Magen bzw. Darm stattfinden würde. Die D.l. 50, *per os*, von I bei der Maus lag über 5000 mg/kg. Da der prozentuale Anteil des glykosidisch gebundenen Phenylbutazons bei I etwa 50% beträgt, wurden, um vergleichbare Daten über die orale Resorption zu erhalten, die doppelten Dosen an I verabreicht. Die Bestimmungen des Phenylbutazons wurden nach BURNS *et al.*⁸ ausgeführt. Damit festgestellt werden konnte, ob im Plasma noch die intakte Glucosid-Bindung vorliegt, wurden parallele Analysenproben vor der Bestimmung einer sauren Hydrolyse unterworfen.

Interessanterweise wurde nun gefunden, dass beim Menschen bei einer Dosis von 1 g oral und bei der Ratte (0,2 g/kg oral) I praktisch kaum resorbiert wird. Beim Kaninchen hingegen wurde nach 6, 8 und 24 h ein gewisser Plasmaspiegel erreicht, und es konnten auch in Leber, Niere und Herzmuskel Phenylbutazon nachgewiesen werden. Die Werte erreichen jedoch nicht diejenigen des Phenylbutazons allein. Es liegen im übrigen keine Anhaltspunkte dafür vor, dass I als intaktes Molekül, das heisst mit erhaltener glykosidischer Bindung im Blut erscheint.

CH. J. MOREL

Pharmakologische Laboratorien der J. R. Geigy AG., Basel, 29. Mai 1958.

Summary

The synthesis and properties of the acetylated glucoside of phenylbutazon are described. The deacetylation of this enol-glucoside, even under neutral conditions, failed because of the lability of this compound.

⁴ Org. Synth. Col. Vol. 3, 10 (1955).

⁵ H. BREDERECK, R. SIEBER und L. KAMPHENKEL, Chem. Ber. 89, 1169 (1956). – Siehe auch Th. WIELAND und R. H. ROTHHAUPT, Chem. Ber. 89, 1176 (1956).

⁶ Vgl. E. GIROD, R. DELLEY und F. HÄFLIGER, Helv. chim. Acta 40, 408 (1957). – Die IR.-Spektren verdanken wir Herrn Dr. E. GIROD und das UV.-Spektrum dem analytischen Labor (R. DELLAY).

⁷ Herrn Dr. B. HERRMANN sind wir für die Durchführung der Tierversuche sehr zu Dank verpflichtet.

⁸ J. J. BURNS *et al.*, J. Pharmacol. exper. Therap. 109, 346 (1953).

Effect of Colchicin on Poliomyelitis Virus Synthesis and Enzyme Activities of Suspended Rhesus Kidney Fragments

Influence of chemical and physical agents on cell multiplication, virus production, and cellular enzymes was studied to elucidate the mechanism of virus multiplication. Observations with colchicin (Cn), an antimitotic¹, are reported. Maitlandtype of tissue cultures (TC) were used² with synthetic medium 697³ containing various concentrations of the drug⁴. Inoculation with 100 TCPD of Mahoney strain was carried out on the sixth day of incubation at 37°C, the virus harvested on the eleventh. TC were pooled, homogenized then assayed for enzymes and virus⁵. Turbidity readings served for comparison of the tissue mass⁶. Table I (group 1) presents findings on non-infected tissues. Increase of monoesterases and doubling of turbidity values in the former is striking. Infected cultures exhibited a significant decrease in 5-nucleotidase, enhanced alkaline phosphatase and a non-significant decrease in acid phosphatase⁴. The moderate increase in turbidity and the high titres are also of interest. Findings on diesterases are shown in Table II. *Virus yield was good in all TC s.* The smallest amount of Cn did not interfere with RN-ases on the sixth day, but depressed the activities (16–18%) till the eleventh. The virus caused insignificant changes⁷. The acid DN-ase displayed moderate, the alkaline DN-ase high activity on the sixth day. Freezing (–70°C) activated the former markedly⁸; less so the latter one. The acid DN-ase increased, the alkaline decreased on the eleventh day. The effect of freezing was the same as before at pH 5, but it was absent at pH 7. Infection depressed the acid DN-ase⁹, without altering the effect of cold. The opposite was found with alkaline DN-ase, emphasizing the existence of two distinct DN-ases⁹. With larger amounts of Cn, the nuclease activities decreased progressively in non-infected (alkaline DN-ase!) but were enhanced in infected TC. This feature was greatest with alkaline DN-ase. There was a < 10% decrease with acid RN-ase. Doubling the Cn concentration enhanced both nucleases (especially the alkaline ones) on the sixth day; this effect was reversed by further incubation. Infection aggravated these changes in the presence of highly toxic Cn doses³. The behaviour of cultures without Cn (both infected and normal controls) has been described³. To conclude, we might say that the Cn *did not interfere with virus synthesis* although it affected specific nucleotidase and nuclease-systems¹⁰. A differential influence on the latter is of interest; the DN-ases are apparently more sensitive to it. Optimal Cn concentrations might be necessary for activation or inhibition¹⁰. The

¹ A. F. W. HUGHES, *The mitotic cycle. The cytoplasm and nucleus during interphase and mitosis* (Butterworth, London 1952).

² E. KOVÁCS, Canad. J. Biochem. Physiol. 34, 600 (1956); Biochem. Z. 330, 113 (1958).

³ G. M. HEALY, D. C. FISCHER, and R. C. PARKER, Canad. J. Biochem. Physiol. 32, 327 (1954). – E. KOVÁCS, Canad. J. Biochem. Physiol. 34, 619 (1956).

⁴ Courtesy of Dr. A. H. FRANKLIN of the Department of Bacteriology, University of Toronto, Ont. (Canada).

⁵ E. KOVÁCS, Canad. J. Biochem. Physiol. 34, 600 (1956).

⁶ E. KOVÁCS, J. exper. Med. 104, 589 (1956); Minerva Med. (Torino) 48, 2157 (1957).

⁷ E. KOVÁCS, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 92, 183 (1956); G. Malat. Infett. Paras. 10, 190 (1958).

⁸ E. KOVÁCS, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 92, 183 (1956); G. Malat. Infett. Paras. 10, 190 (1958); Z. Naturf. 13b, 34 (1958).

⁹ E. KOVÁCS, Canad. J. Biochem. Physiol. 34, 600 (1956); Proc. Soc. exp. Biol. Med. 92, 183 (1956); Z. Naturf. 13b, 34 (1958).

¹⁰ K. LANG, G. SIEBERT, and W. ESTELMAN, Exper. 7, 378 (1951).