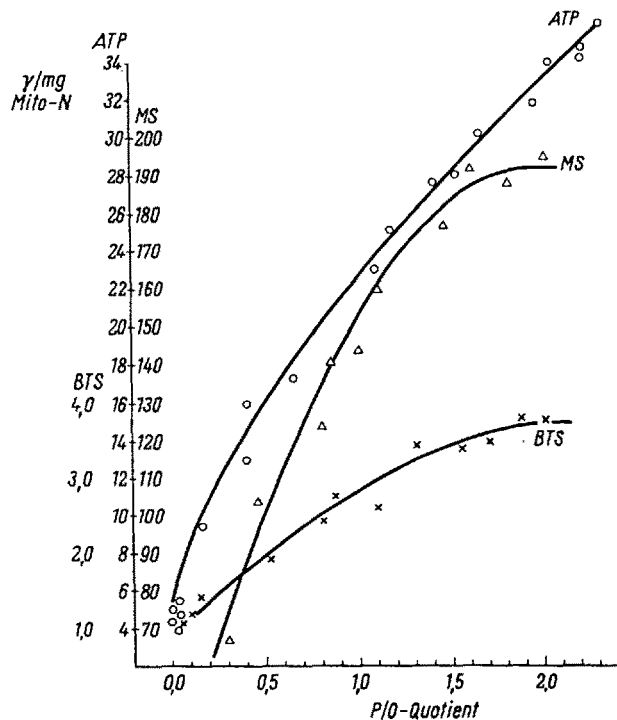


## Summary

In left ventricular myocardium of 9 hypertrophic (artificial aortic insufficiency) and 12 normal rabbit hearts, ribonucleic and desoxyribonucleic acids were determined. In hypertrophy DNA-P was significantly reduced, whereas RNA-P was higher than in normal myocardium. The RNA-P/DNA-P ratio was 2.9 in normal as compared to 4.0 in hypertrophic heart muscle.

## Die oxydative Phosphorylierung isolierter Mitochondrien und ihre Abhängigkeit von strukturgebundenen Faktoren

Untersuchungen von RAAFLAUB<sup>1</sup> *et al.* haben gezeigt, dass isolierte Mitochondrien zu schwellen beginnen, wenn der intramitochondriale Gehalt an Adenosintri-phosphat (ATP) unter einen kritischen Wert sinkt. Im Warburg-Versuch bewirkte die Abnahme der strukturgebundenen ATP eine Hemmung der Oxydationsfähigkeit der Mitochondrien für Substrate des Zitronensäurezyklus: die Sauerstoffaufnahme ging kontinuierlich zurück.



Abhängigkeit der Höhe des P/O-Quotienten vom Gehalt an intramitochondrialer ATP, MS und BTS

In Ergänzung dieser Untersuchungen interessierte uns, ob auch für die Phosphorylierungsfunktion der Mitochondrien ähnliche Abhängigkeiten von strukturgebundenen Faktoren nachgewiesen werden können.

**Methodik.** In zwei Versuchsreihen (90 Einzelversuche) wurde der P/O-Quotient intakter und durch «ag-ing» geschwollener Mitochondrien aus Kalbs- und Rinderlebern mit Ketoglutarat/Malonat bzw. Succinat als Substrat er-

mittelt. Bei jedem Einzelversuch wurden die Mitochondrien gleichzeitig auf ihre Konzentration an strukturgebundenen Adenosinnukleotiden, an intramitochondrialer Milchsäure (MS), Brenztraubensäure (BTS) und  $\alpha$ -Ketoglutarat (KGS) mittels optisch-enzymatischer Methoden untersucht; ausserdem wurde ihr Gehalt an strukturgebundenem Eisen und Kupfer auf chemischem Wege bestimmt.

**Ergebnisse.** Die Fähigkeit isolierter Mitochondrien zur Durchführung der oxydativen Phosphorylierung ist von einem bestimmten Gehalt an intramitochondrialen Adenosinphosphaten, Substraten und Schwermetallen abhängig. Abnahme dieser Faktoren bewirkt eine Senkung des P/O-Quotienten, wobei die Phosphorylierungsfunktion wesentlich schneller geschädigt wird als die Oxydationsfähigkeit.

Die optimale Konzentration – gemessen an der Höhe des P/O-Quotienten – betrug für Adenosinmonophosphat 0,009  $\mu M$ , Adenosindiphosphat 0,017  $\mu M$  und ATP 0,063  $\mu M$ /mg Mitochondrien-Stickstoff.

Für KGS lagen die optimalen Werte bei 3,00  $\gamma$ , für BTS bei 3,75  $\gamma$ , für MS bei 195,0  $\gamma$ , für Fe bei 1,29  $\gamma$  und für Cu bei 2,56  $\gamma$ /mg Mitochondrien-Stickstoff.

Besonders der Gehalt an intramitochondrialer ATP, BTS und MS steht in einer echten Korrelation zur Funktion des phosphatübertragenden Systems: eine Abnahme der genannten Konzentrationen senkt kontinuierlich die Phosphataufnahme und erniedrigt dadurch den P/O-Quotienten (vgl. Abb.); die Oxydationsfähigkeit bleibt zunächst voll erhalten. Erst wenn eine Grenzkonzentration von etwa 0,01  $\mu M$  gebundener ATP und BTS sowie etwa 0,4  $\mu M$ /mg-N MS unterschritten wird, wird auch die Oxydationsfähigkeit der Mitochondrien für exogenes Substrat zunehmend gehemmt. Zu diesem Zeitpunkt setzen sich mit der Schwellung die strukturellen Schäden ein.

Eine ausführliche Darstellung der Untersuchungen erfolgt an anderer Stelle.

G. LAUDAHN

Innere Abteilung des Städtischen Krankenhauses, Berlin-Wilmersdorf, 5. September 1958.

## Summary

The ability of isolated mitochondria in coupling phosphorylation to oxidation depends on sufficient concentrations of intramitochondrially bound adenine nucleotides (especially ATP), compounds of oxidative metabolism (pyruvic and lactic acid) and iron ions. Continuous loss of these components by ageing causes at first a parallel lowering of phosphate uptake and does not affect respiration. Later on, a decrease of oxidative ability begins when the loss of intramitochondrial components reaches a limiting concentration, and now mitochondria show more and more swelling and structural damages.

## Porter-Silber-Reaktion mit C<sub>18</sub> substituierten Corticosteroiden

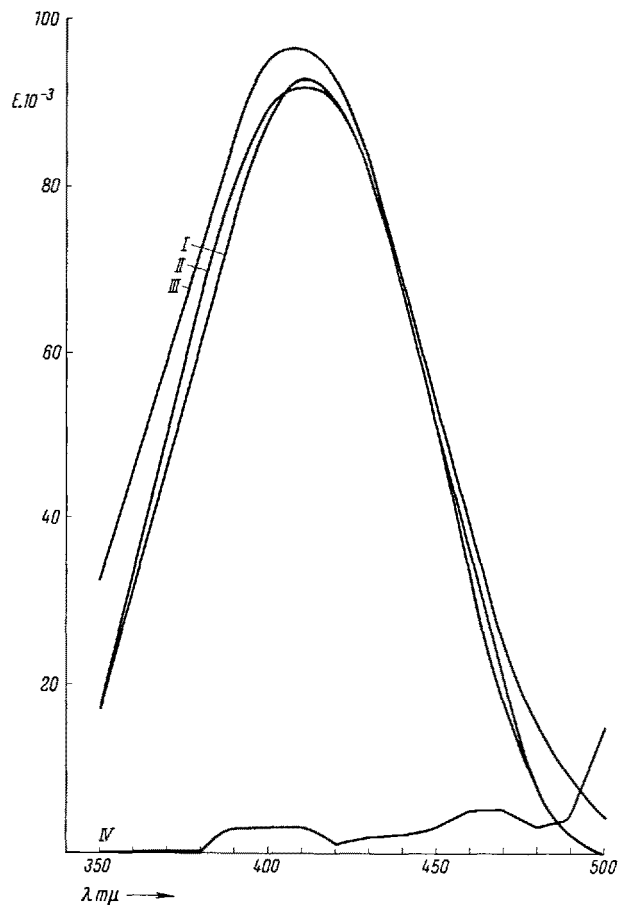
Zur Untersuchung der Nebennierenrindenfunktion des Menschen werden die 17-Hydroxycorticoide im Blute und Urin mit der Reaktion nach Porter-Silber bestimmt<sup>1,2</sup>. Die Methode hat den Vorteil, relativ einfach und spezi-

<sup>1</sup> J. RAAFLAUB, *Helv. phys. Acta* 11, 142, 157 (1953). – O. BRENNER-HOLZACH und J. RAAFLAUB, *Helv. phys. Acta* 12, 242 (1954). – G. LAUDAHN und E. RASCH, *Biochem. Z.* 330, 509 (1958). – G. LAUDAHN, *Z. physiol. Chem.* (im Druck).

<sup>2</sup> C. C. PORTER und R. H. SILBER, *J. biol. Chem.* 185, 201 (1950).

<sup>3</sup> R. H. SILBER und C. C. PORTER, *J. biol. Chem.* 210, 923 (1954).

fisch zu sein. Die Spezifität beruht auf der Dihydroxyacetonkonfiguration an  $C_{17}$  von Cortisol und den direkten Cortisolmetaboliten, welche mit Phenylhydrazin in Schwefelsäure reagieren<sup>3</sup>. Verschiedene synthetische Corticosteroide, die für therapeutische Zwecke oft verwendet werden, besitzen die gleiche  $C_{17}$ -Seitenkette. In letzter Zeit

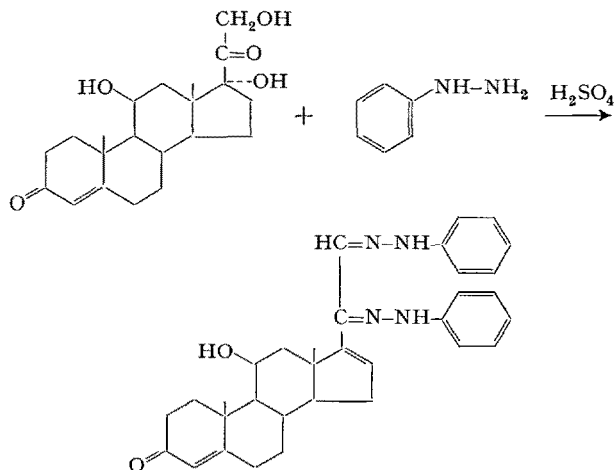


wurden 2 neue Corticosteroide entwickelt, welche ebenfalls die gleiche Konfiguration an  $C_{17}$  besitzen, dazu aber noch an  $C_{16}$  substituiert sind. Triamcinolon ist 9α-Fluoro-16α-Hydroxyprednisolon und Hexadecadrol ist 9α-Fluoro-16α-Methylprednisolon. Beide Stoffe sind pharmakologisch stark wirksam und führen zu einer Hemmung der unter der Kontrolle von ACTH stehenden Nebennierensteroiden. Es wurde deshalb untersucht, ob diese  $C_{16}$  substituierten Steroide zu einer Veränderung der Porter-Silber-Reaktion und ihrem typischen Absorptionsmaximum bei 410 mμ führen. Die Steroide wurden aus der Handelsform durch Extraktion mit Aceton erhalten. Die Porter-Silber-Reaktion wurde in üblicher Weise mit Lösung von 10–100 γ Substanz in Methanol mit Phenylhydrazin-Schwefelsäure während 20 min bei 60°C ausgeführt. Nach Abkühlen wurde mit Quarzküvetten im Zeiss-Spektralphotometer PMQ II photometriert. Als Vergleich dienten aliquote Lösungen von Cortisol und 9α-Fluorocortisol in Methanol.

Die Bestimmung der Absorptionskurve der 4 Lösungen (je 10 γ) ergab für Cortisol (Kurve I), 9α-Fluorocortisol (Kurve II) und 9α-Fluoro-16-Methylprednisolon (Hexadecadrol) (Kurve III) identische Werte mit Maximum bei 410 mμ. 9α-Fluoro-16-Hydroxyprednisolon (Triamcino-

lon) (Kurve IV) ergab keine Porter-Silber-Absorptionskurve. Die Ergebnisse der Versuche mit höheren Konzentrationen waren entsprechend. Diese Resultate weisen darauf hin, dass die bisherige Annahme der Bildung eines Osazonen aus Phenylhydrazin und der Dihydroxyacetonkonfiguration von Cortisol, resp. Hexadecadrol, unter den gegebenen Versuchsbedingungen nicht genügen kann, weil Triamcinolon keine typische Porter-Silber Reaktion gibt. Man muss vielmehr annehmen, dass ausser der Osazonbildung noch zwischen  $C_{16}$  und  $C_{17}$  eine Wasserabspaltung stattfindet. Die dabei entstehende Doppelbindung zwischen  $C_{16}$  und  $C_{17}$  muss für die spezifische Absorption von Bedeutung sein. Die positive Reaktion von Hexadecadrol schliesst die Möglichkeit aus, dass eine Wasserabspaltung bei Triamcinolon durch eine sterische Hinderung nicht stattfinden könnte. Wir vermuten, dass beim Triamcinolon durch Wasserabspaltung ein Enol entsteht, das nicht stabil ist und in das entsprechende Keton übergeht. Im gleichen Sinne sprechen die Versuche von MATTOX *et al.*<sup>4</sup>. Diese Autoren stellten fest, dass Δ-16-Pregnen-3α-21-diol, 11, 20-dion, 3, 21-diacetat in typischer Weise mit Phenylhydrazin reagiert. Es ist in diesem Zusammenhang von Interesse, dass ein neues 21-Desoxycorticosteroid durch die Porter-Silber-Reaktion nicht bestimmt werden kann<sup>5</sup>.

Bei der Durchführung klinischer Versuche mit Triamcinolon dürfen die 17-Hydroxycorticoide deshalb nicht mit der Porter-Silber-Reaktion bestimmt werden. Wir nehmen an, dass das Reaktionsendprodukt der Porter-Silber-Reaktion zwischen Phenylhydrazin und Cortisol folgende Struktur aufweist:



A. WALSER UND H. P. SCHLUNKE

II. Med. Abteilung, Bürgerspital Basel, 18. November 1958.

#### Summary

The determination of 17-hydroxycorticoids by the Porter-Silber reaction depends on a typical absorption curve with maximum at 410 mμ. Hexadecadrol with 16-methyl group gives this typical curve but not Triamcinolon containing a hydroxyl group at  $C_{16}$ . It is assumed that besides the formation of an osazone a double bond between  $C_{16}$  and  $C_{17}$  occurs, which is essential for a typical Porter-Silber reaction. This has to be considered in the determination of 17-hydroxycorticoids of patients treated with  $C_{16}$  corticosteroids.

<sup>4</sup> V. R. MATTOX, H. L. MASON und A. ALBERT, Proc. Staff Meetings Mayo Clin. 28, 569 (1953).

<sup>5</sup> M. B. LIPSETT und D. M. BERGENSTAL, J. clin. Endocrinol. Metab. 18, 790 (1958).

<sup>3</sup> E. DICZFALUSY, G. BIRKE und L.-O. PLANTIN, Klin. Wschr. 34, 225 (1956).