

Der Einbau von ³⁵S in die Kostalknorpel von Meerschweinchen unter Einfluss verschiedener Glucocorticoide

Von LAYTON^{1,2} wurde erstmals mittels radioaktiv markiertem Natriumsulfat untersucht, ob Cortison die Chondroitinsulfat-Synthese zu beeinflussen vermag. Das Mucopolysaccharid Chondroitinsulfat ist Hauptbestandteil von Knorpel- und Bindegewebe (Grundsubstanz und Kollagen) und spielt im Organismus eine vielseitige und wichtige Rolle. LAYTON¹ stellte bei cortisonbehandelten Ratten in der Grundsubstanz und im Kollagen der Haut einen geringeren ³⁵S-Gehalt fest als bei normalen Kontrolltieren. Dieser Befund konnte später von BOSTRÖM und ODEBLAD³ und von SCHILLER und DORFMAN⁴ bestätigt werden. Ausserdem fanden BOSTRÖM und ODEBLAD³ im Kostalknorpel von Versuchsratten eine stark verminderte ³⁵S-Einlagerung unter Cortisoneinfluss. Ergänzend beobachtete HUBLÉ⁵ in den Röhrenknochen von Cortison-Küken eine Hemmung der Chondrogenese, eine Verschrämlerung der Knorpelzone, eine verlangsamte Verknöcherung und insgesamt ein verzögertes Wachstum. Übereinstimmend konnte auch bei *in-vitro*-Versuchen mit Kalbs- oder Rattenknorpel ein verminderter ³⁵S-Einbau in das Chondroitinsulfat bei Zugabe von Cortison festgestellt werden (BOSTRÖM und ODEBLAD³, CLARK und UMBREIT⁶). In früheren *in-vitro*-Versuchen von LAYTON² an Wundgewebe von Küken liess sich sogar eine völlige Hemmung der Chondroitinsulfat-Synthese bei Zugabe von Cortisonazetat beobachten. In ähnlichen Versuchen mit Meerschweinchen-Wundgewebe trat nach KODICEK und LOEWI⁷ mit Cortisonazetat keine Hemmung der Schwefelaufnahme auf, während mit Cortisonalkohol eine gewisse Förderung festzustellen war.

Zusammenfassend ergibt sich somit, dass das Glucocorticoid Cortison – abgesehen vom letzterwähnten *in-vitro*-Befund – die Chondroitinsulfatsynthese hemmt. Dies ist sowohl *in vivo* wie *in vitro* für verschiedene Gewebe, wie Knorpel, Haut, u. a., von den bisherigen Autoren übereinstimmend festgestellt worden.

Da Cortison im Organismus nicht oder doch nur in geringen Mengen gebildet wird, so schien es uns interessant,

vergleichsweise auch das natürliche Nebennierenrinden-Glucocorticoid, das Hydrocortison und das ihm nächstverwandte Prednisolon in bezug auf die Chondroitinsulfat-Synthese zu prüfen. Ferner sollten auch die in neuester Zeit synthetisierten und therapeutisch empfohlenen Corticoide, das 6 α -Methyl-prednisolon und die beiden 9 α -Fluor-derivate, das Triamcinolon und Dexamethason, in die Untersuchung einbezogen werden⁸. Der Schwefeleinbau in Knorpelgewebe unter Hydrocortison-Einfluss ist schon untersucht worden, während für die anderen der genannten Glucocorticoide noch keine entsprechenden Arbeiten vorliegen. CLARK und UMBREIT⁶ stellten bei *in-vitro*-Versuchen an Rattenknorpel eine erhöhte Schwefelaufnahme unter Zugabe von Hydrocortison fest, während sich in den Vergleichsversuchen mit Cortison, wie schon erwähnt, eine gewisse Hemmung ergeben hatte. COLLINS und ANILANE¹⁰ fanden in ihren jüngst durchgeführten *in-vivo*-Versuchen, dass der Einbau von ³⁵S in die Kostalknorpel von Ratten durch Hydrocortison weder in förderndem, noch in hemmendem Sinne beeinflusst wird; die Knorpelsubstanz enthielt gleichviel markierten Schwefel wie jene der Kontrolltiere. Der Vollständigkeit wegen sei noch die Arbeit von SCHILLER und DORFMAN⁴ angeführt; die Autoren prüften allerdings nicht den ³⁵S-Einbau an sich, sondern die zeitliche Abnahme des ³⁵S-Gehaltes in der Rattenhaut unter Hydrocortison-Einfluss. Sie fanden vom vierten Tage an einen etwas verlangsamten «turnover».

1 L. L. LAYTON, Arch. Biochem. Biophys. 32, 224 (1951).
2 L. L. LAYTON, Proc. Soc. exp. Biol. Med., N.Y. 76, 596 (1951).
3 H. BOSTRÖM und E. ODEBLAD, Ark. Kemi 6, 39 (1953).
4 S. SCHILLER und A. DORFMAN, Endocrinology 60, 376 (1957).
5 J. HUBLÉ, Acta endocr. 25, 59 (1957).
6 I. CLARK und W. W. UMBREIT, Proc. Soc. exp. Biol. Med., N.Y. 86, 558 (1954).
7 E. KODICEK und G. LOEWI, Proc. R. Soc. [B] 144, 100 (1955).
8 Für nähere Angaben über Chemie und Wirkungsweise der natürlichen und synthetischen in der Therapie gebräuchlichen Corticoid-Derivate sei auf die ausgezeichnete Übersicht von BEIGLBÖCK⁹ verwiesen.
9 W. BEIGLBÖCK, Wien. med. Wschr. 109, 585 (1959).
10 E. J. COLLINS und J. ANILANE, Exper. 15, 116 (1959).
11 K. BAILEY, Biochem. J. 31, 1396 (1937).

Schwefeleinbau (³⁵S) in die Kostalknorpel von Meerschweinchen, unter Einfluss von Corticosteroiden

Während 7 Tagen täglich Injektion bzw. Verfütterung von Corticosteroiden. Am 7. Tag intraperitoneal 1 ml trägerfrei Na₂ ³⁵SO₄ (2,3 × 10⁵ cpm). Am 9. Tag Sektion

Verwendete Corticosteroide	Anzahl Versuchstiere	Injektion bzw. Verfütterung	Tägliche Dosis pro Tier	cpm/g Knorpeltrockengewicht	Statistische Sicherung: Unterschied gegenüber den Kontrolltieren
Kontrollen	28	—	—	1540 ± 106	— σ = 560
Cortison (-azetat) Cortone Merck	13	subkutan (Suspension)	3,0 mg	945 ± 118	gesichert P > 0,01 σ = 425
Hydrocortison (-azetat) Cortisol Organon	14	subkutan (Suspension)	2,0 mg	1550 ± 152	Kein Unterschied σ = 570
Prednisolon (Na-tetrahydro-phthalicum) Ultracorten H Ciba	16	subkutan (Lösung)	0,5 mg	1710 ± 220	nicht gesichert P = 0,5 σ = 887
6 α -Methyl-Prednisolon Suprametil Geistlich	10	oral (Tabletten)	0,5 mg	810 ± 94	gesichert P > 0,01 σ = 297
9 α -fluoro-16 α -hydroxy-Prednisolon = Triamcinolon, Ledercort Lederle	10	oral (Tabletten)	0,5 mg	1060 ± 146	gesichert P = 0,01 σ = 460
9 α -fluoro-16 α -methyl-Prednisolon = Dexamethason, Decadron Merck	10	subkutan (Lösung)	0,1 mg	940 ± 103	gesichert P > 0,01 σ = 325

Methode: Im Laufe der Monate Juli–Dezember 1959 führten wir vier Versuchsreihen mit 250–350 g schweren, weiblichen Meerschweinchen durch. Abgesehen von den Kontrollen erhielten die Tiere während 7 Tagen einmal täglich die zu prüfenden Corticoide, entweder subkutan injiziert oder einzeln verfüttert. Die tägliche Menge war entsprechend den in der Humanmedizin gebräuchlichen Dosen abgestuft: zum Beispiel Hydrocortison $\frac{1}{3}$ mal schwächer als Cortison, Prednisolon 6mal schwächer, Dexamethason 30mal schwächer usw. (vgl. Tab.). Am 7. Tag erhielten alle Tiere, inkl. die Kontrollen, zusätzlich 1 ml radioaktive, trägerfreie Natriumsulfat-Lösung (^{35}S) intraperitoneal injiziert ($2,3 \times 10^6$ cpm). Zwei Tage danach erfolgte die Sektion. Insgesamt kamen 28 Kontrolltiere und 73 Corticoid-Tiere zur Untersuchung. Für jedes Tier wurden die präparierten Kostalknorpel einzeln weiter verarbeitet. Nach Aufschliessen des Knorpelmateri als mit der Methode nach BAILEY¹¹ und Zugabe von 0,25 ml normaler Natriumsulfat-Lösung als Trägersubstanz wurde der Gesamtschwefel durch Bariumchlorid gefällt. Die Radioaktivität (cpm) des Sulfatniederschlages wurde bestimmt, entsprechend aufgewertet (Halbwertszeit von ^{35}S = 87 Tage) und auf 1 g Knorpeltrockengewicht umgerechnet.

Obwohl in den vier Versuchen gleiche Bedingungen vorlagen, wiesen die Mittelwerte der 6–8 Kontrolltiere jeder Reihe doch gewisse Unterschiede auf. Um nun die cpm-Werte der Corticoid-Gruppen nicht nur innerhalb ihrer eigenen Versuchsreihen mit dem Kontroll-Mittelwert in Vergleich setzen zu können, war es nötig, die für die Kontrolltiere erhaltenen cpm-Werte auf den Mittelwert einer einzelnen Versuchsreihe umzurechnen und danach auch die Werte der einzelnen Corticoid-Gruppen mit dem entsprechenden Rechnungsfaktor zu multiplizieren, bzw. zu dividieren. In der Tabelle ist das so erhaltene Zahlenmaterial niedergelegt.

Ergebnis: Die sechs von uns geprüften Glucocorticoide können in ihrer Wirkung in zwei deutlich unterscheidbare Gruppen eingeteilt werden. Vier der Corticoide ergaben eine statistisch stark gesicherte Hemmung des ^{35}S -Einbaus in den Kostalknorpel, während bei den beiden anderen der ^{35}S -Gehalt des Knorpelmateri als mit jenem der Kontrolltiere übereinstimmte (Tabelle). Es sind dies das natürlicherweise im Organismus vorkommende Hydrocortison und das sich nur durch eine Doppelbindung zwischen C1 und C2 von diesem unterscheidende Prednisolon. Eine Erhöhung der Schwefelaufnahme unter Hydrocortison-Einfluss, wie dies von CLARK und UMBREIT⁶ in ihren *in-vitro*-Versuchen beobachtet werden konnte, scheint im lebenden Tier nicht aufzutreten. Die vier hemmenden Glucocorticoide dagegen weisen im Vergleich zu Hydrocortison bestimmte chemische Veränderungen auf: Cortison C11-Ketogruppe, Methyl-prednisolon $6\alpha\text{-CH}_3$ -Gruppe, Triamcinolon $9\alpha\text{-Fluor-16}\alpha\text{-OH}$ -Gruppe, Dexamethason $9\alpha\text{-Fluor-16}\alpha\text{-CH}_3$ -Gruppe.

RUTH LOTMAR

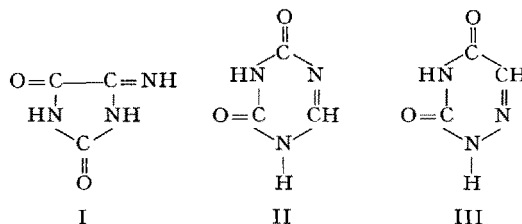
Rheumaklinik und Institut für Physikalische Therapie der Universität Zürich, 24. Februar 1960.

Summary

The uptake of ^{35}S , in the chondroitin sulfate of the costal cartilage of guinea pigs, is inhibited by cortisone, methyl-prednisolon, triamcinolon, and dexamethason. No inhibition could be seen under the influence of the natural adrenal hormone hydrocortisone and its nearest relation, prednisolon.

Antagonism between 5-Azauracil and Pyrimidine Precursors of Ribonucleic Acids in *Escherichia coli*

5-Azauracil was known in the older literature under the name of allantoxaidine^{1–3}, and was originally considered to be 2,5-dioxo-4-imino-imidazolidine (I). The correct formulation of allantoxaidine structure, however, was arrived at later, and it was BRANDENBERGER and BRANDENBERGER⁴, CANELLAKIS and COHEN⁵, and most recently GUT *et al.*⁶, who showed that allantoxaidine is actually 2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydro-1,3,5-triazine (II). The results presented in this communication confirm the last-named structure.



In analogy to 6-azauracil (III) allantoxaidine was later⁷ named 5-azauracil.

Biological effects of 5-azauracil were studied by HAKALA, LAW, and WELCH, who found that 5-azauracil in the doses applied does not affect the growth of experimental lymphoma L 1210. On the other hand, ELION *et al.*⁸ found that 5-azauracil acts as a powerful inhibitor of growth of adenocarcinoma 755, at non-toxic doses.

As far as the antibacterial effect of 5-azauracil is concerned, no data are available in the existing literature. Therefore, we attempted to study the inhibitory effect of 5-azauracil on the growth of *E. coli* B and devoted our attention to the antagonistic relation of 5-azauracil to a number of purine and pyrimidine components of nucleic acids.

Experimental and Results. The inhibition of growth of *E. coli* B, and the antagonism of 5-azauracil toward purine and pyrimidine derivatives, were studied in a synthetic medium containing glucose and inorganic salts⁹. The bacteria were grown in 10 ml of medium in test-tubes provided with Kapsenberg stoppers at 37°C for 15 h, analogously as in previous work⁹. The growth was estimated turbidimetrically at 575 mμ.

5-Azauracil used in the work described was prepared by a modification⁶ of HARTMAN's method¹⁰.

¹ H. BILTZ and R. ROBL, Ber. deutsch. chem. Ges. 53, 1967 (1920).

² C. S. VENABLE, J. Amer. chem. Soc. 40, 1099 (1918).

³ F. J. MOORE and R. M. THOMAS, J. Amer. chem. Soc. 40, 1120 (1918).

⁴ H. BRANDENBERGER and R. H. BRANDENBERGER, Helv. chim. Acta 37, 2207 (1954).

⁵ E. S. CANELLAKIS and P. P. COHEN, J. biol. Chem. 213, 379 (1955).

⁶ J. GUT *et al.*, in press.

⁷ M. T. HAKALA, L. W. LAW, and A. D. WELCH, Proc. Amer. Assoc. Cancer Res. 2, 113 (1956).

⁸ G. B. ELION, S. BIEBER, H. NATHAN, and G. H. HITCHINGS, Cancer Res. 18, 802 (1958).

⁹ J. ŠKODA and F. ŠORM, Coll. czech. chem. Comm. 21, 1331 (1956).

¹⁰ S. C. HARTMAN and J. FELLIG, J. Amer. chem. Soc. 77, 1051 (1955).

¹¹ F. ŠORM and J. ŠKODA, Coll. czech. chem. Comm. 21, 487 (1956).

¹² A. M. MOORE and J. B. BOYLEN, Arch. Biochem. Biophys. 54, 312 (1955).