

3. Der Einfluss der Nebennierenrinde auf die Glykogen- Phosphorylierung im Muskel

II. Mitteilung.

Die Wirkung von Desoxy-corticosteron

von F. Verzár und C. Montigel.

(22. XI. 41.)

In der I. Mitteilung¹⁾ haben wir über Versuche berichtet, welche gezeigt haben, dass die Phosphorylierung des Glykogens durch anorganisches Phosphat — die als Phosphorolyse bezeichnete erste Phase des Glykogenabbaues — beim adrenalektomierten Tier im Sinne einer starken Verzögerung des Reaktionsablaufs gestört ist. Nachdem es sich um eine reversible Reaktion handelt (die also auch beim Glykogenaufbau verlangsamt sein wird), erklärt das die Störung des Glykogenstoffwechsels beim adrenalektomierten Tier.

Desoxy-corticosteron, das auch synthetisch hergestellte Hormon der Nebennierenrinde, erhält adrenalektomierte Tiere am Leben und behebt ihre Stoffwechselstörungen²⁾. Es war deshalb von Interesse zu untersuchen, ob die Verminderung der Glykogenphosphorylierung auch *in vitro* wieder rückgängig gemacht werden kann. Es ist bisher keine biologische Reaktion bekannt, auf welche Desoxy-corticosteron ausserhalb des Tierkörpers einwirken würde, und sein Wirkungsmechanismus ist ungeklärt.

Wir haben deshalb untersucht, ob Desoxy-corticosteron *in vitro* die beim nebennierenlosen Tier gestörte Phosphorylierung des Glykogens wieder herstellt.

Experimentelles.

Die Versuchsanordnung und Ausführung war im wesentlichen dieselbe, wie in der I. Mitteilung beschrieben wurde. Der Versuchsansatz bestand aus 0,5 g Muskelbrei, 1,0 cm³ 0,5-proz. Glykogenlösung, 1 cm³ einer Mischung von gleichen Teilen 2-proz. Natriumhydrogencarbonat und 3,5-proz. Natriumfluorid. In einem parallelen Ansatz wurde hierzu 0,1 cm³ einer 1-proz. Lösung von Desoxy-corticosteron in 1,2-Propandiol-Wasser 2 : 1 zugesetzt³⁾. Kontrollen wurden mit diesem Lösungsmittel allein und ferner mit ebenso konzentrierten Lösungen von Oestradiol, Progesteron und Testosteron ausgeführt.

¹⁾ F. Verzár und C. Montigel, Helv. **25**, 9 (1942).

²⁾ F. Verzár, s. z. B. Vitamine und Hormone **1**, 85 (1941).

³⁾ Wir danken der Gesellschaft für chemische Industrie in Basel für gütige Überlassung der Hormone und des Lösungsmittels.

Den zeitlichen Verlauf der Phosphorylierung stellen wir in Kurvenform dar, so wie das in den letzten zwei Abbildungen der vorigen Arbeit geschehen ist. Es wird die Phosphor-Aufnahme des Muskels in mg P/100 g dargestellt.

Versuche.

Die Tabelle I zeigt Versuche mit Muskeln von normalen Ratten mit und ohne Desoxy-corticosteron-Zusatz und Kontrollen, in welchen nur Propandiol-Wasser zugesetzt wurde.

Tabelle I.

Ver- such Nr.	Tier Nr.	Ge- wicht g	Ver- suchs- dauer Min.	Tempe- ratur ° C	Zunahme der veresterten Phosphorsäure mg P / 100 mg Muskel		
					ohne Zusatz	mit Propan- diol-Wasser 2 : 1	mit Desoxy-corti- costeron in Propan- diol-Wasser 2 : 1
1.	90	210 ♀	60	20	59	59	58
2.	91	114 ♀	60	20	48	50	48
3.	92	234 ♀	60	20	60	62	58
4.	93	200 ♂	60	20	50	48	50
5.	94	210 ♂	60	20	48	50	50

Bei normalen Tieren finden wir die Phosphorylierung in der selben Größenordnung wie in der vorigen Mitteilung, nämlich 53 mg P, Aufnahme pro 100 g Muskel. Hinzufügen von Desoxy-corticosteron im Lösungsmittel oder nur das Lösungsmittel allein, hat gar keinen Einfluss. Figur 1 gibt auch den zeitlichen Verlauf der Versuche Nr. 91 und 92 wieder und man sieht deutlich, dass keine Beeinflussung vorhanden ist.

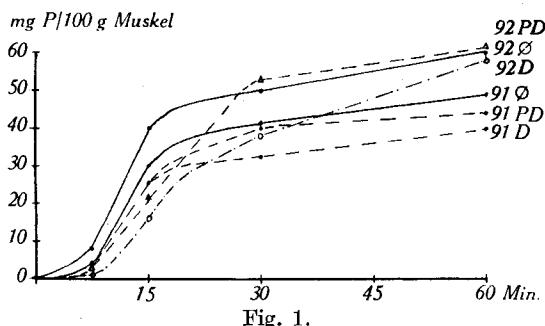


Fig. 1.

Normale Tiere (20° C).

Ø ohne Zusatz. D mit Desoxy-corticosteron. PD Propandiol-Kontrolle.

In Tabelle II sind Versuche an 18 nebennierenlosen Tieren zusammengestellt, die in derselben Weise ausgeführt sind. Bei allen

diesen nebennierenlosen Tieren ist die Phosphat-Aufnahme herabgesetzt, so wie wir das in der vorigen Arbeit beschrieben haben. Die Tiere wurden am 4. bis 8. Tag nach der Adrenalektomie untersucht, nur in einem Fall (Nr. 15) am 2. Tag, weil das Tier auffallende Adynamie zeigte. In 16 von diesen Fällen, in welchen die Phosphataufnahme der Muskeln deutlich vermindert war, hat Desoxy-corticosteron sie wieder auf normale oder nahezu normale Werte erhöht. Die Zunahme beträgt 42—275 %, z. B. von 8 auf 30 mg oder von 28 auf 40 mg in 20 Minuten bei 37° C oder in 60 Minuten bei 20° C. Abbildung 2 und 3 geben den zeitlichen Verlauf dieser Versuche bei je 3 Beispielen bei 20 bzw. 37° C wieder. Weitere Beispiele findet man in den Abbildungen 4a bis c, 5, 6.

Tabelle II.

Ver- such	Tier	Tier Ge- wicht	Tem- pera- tur	Ver- suchs- dauer	Zunahme der verester- ten Phosphorsäure mg P 100 g			Zunahme der Veresterung mit Desoxy- corticosteron		Tag nach der Neben- nieren- extirpa- tion
					ohne Zusatz	mit Pro- pandiol- Wasser	mit Desoxy- corti- costeron	mg	%	
Nr.	Nr.	g	° C	Min.						
1.	108	65♂	20	60	20	—	36	16	80	4
2.	117	160	20	60	42	—	54	12	29	4
3.	95	118	20	60	48	56	68	20	42	5
4.	96	102	20	60	50	42	50	0	0	5
5.	101	110	20	60	36	36	64	28	78	5
6.	118	170	20	60	50	—	56	6	12	5
7.	98	104	20	60	28	28	52	24	86	6
8.	103	100	20	60	26	24	40	14	54	6
9.	104	120	20	60	40	40	40	0	0	6
10.	100	115	20	60	39	38	62	23	59	7
11.	119	160	20	60	44	—	60	16	36	7
12.	120	140	20	60	38	—	56	18	47	7
13.	121	146	20	60	38	—	50	12	24	7
14.	107	100	20	60	10	—	19	9	90	8
15.	116	72	37	20	28	—	40	12	42	2*)
16.	102	95	37	20	22	18	50	28	128	5
17.	105	85	37	20	8	—	30	22	275	7
18.	106	125	37	20	18	—	30	12	67	8

*) junges Tier.

Nr. 4 ist keine Ausnahme. Die Phosphorylierung ist in diesem Fall noch normal. Deshalb ist auch keine Steigerung durch Desoxy-corticosteron zu bemerken. Nr. 9 ist der einzige Fall, bei welchem trotz geringer Abnahme der Phosphorylierung keine Zunahme nach Hormonzusatz zu sehen ist.

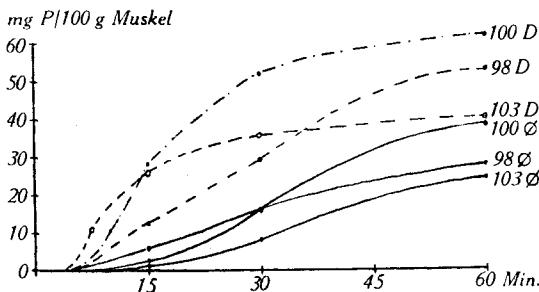


Fig. 2.

Nebennierenlose Tiere (20° C).

— Ø ohne Desoxy-corticosteron. — — D mit Desoxy-corticosteron.

mg P/100 g Muskel

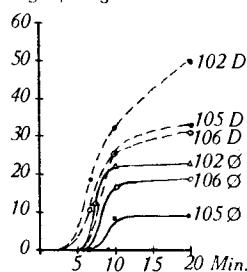


Fig. 3.

Nebennierenlose Tiere (37° C).

— Ø ohne Desoxy-corticosteron. — — mit Desoxy-corticosteron.

Es sollte nun untersucht werden, inwiefern diese Reaktionsbeschleunigung spezifisch ist. Es sind deshalb Versuche mit Oestradiol, Progesteron sowie Testosteron-Zusatz gemacht worden. Ihre Zahl ist allerdings — durch äussere Umstände bedingt — vorerst noch gering. Diese zeigen (siehe Tabelle III), dass weder von Oestradiol, noch von Progesteron oder Testosteron die Wirkung des Desoxy-corticosterons auch nur annähernd erreicht wird. Letzteres hatte in allen Fällen eine sehr starke Wirkung. Alle diese Hormone wurden in derselben Konzentration, also $0,1 \text{ cm}^3$ einer 1-proz. Lösung in Propandiol-Wasser, zugesetzt. Die hier benützten Tiere waren z. T. noch nicht sehr adynam und die Abnahme der Phosphorylierung ist deshalb in einigen Versuchen in 15—30 Minuten deutlicher als in den 60 Minuten-Werten. In den Figuren 4, 5 und 6 ist der zeitliche Verlauf abgebildet, der besonders deutlich die fördernde Wirkung des Desoxy-corticosterons gegenüber den andern Substanzen erkennen lässt.

Tabelle III.

Ver- such Nr.	Tier Nr.	Ge- wicht g	Ver- suchs- dauer Min.	Tem- pera- tur ° C	Zunahme der veresterten Phosphor- säure					Tag nach Neben- nieren- exstirpa- tion
					Ohne Zusatz	mit Deso- xy-corti- costeron	mit Oestra- diol	mit Proge- steron	mit Testo- steron	
1.	117	160 ♂	60	20	42	54	46	—	—	4
	117a		60	20	42	54	44	—	—	4
2.	118	170 ♂	60	20	50	56	49	—	—	5
	118a		60	20	52	58	52	—	—	5
3.	119	160 ♂	60	20	44	60	38	—	—	7
4.	120	140 ♂	60	20	38	56	—	46	—	7
5.	121	146 ♂	60	20	38	50	—	—	30	7

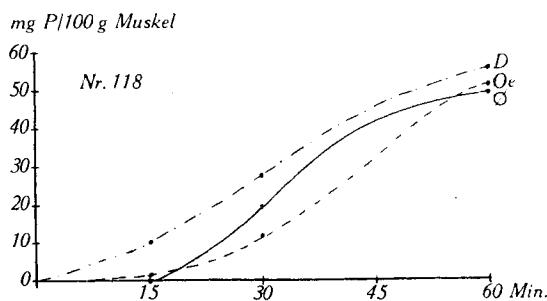


Fig. 4 a.

Nebennierenloses Tier (20°C).

— ohne Zusatz. - - - mit Oestradiol. - · - mit Desoxy-corticosteron.

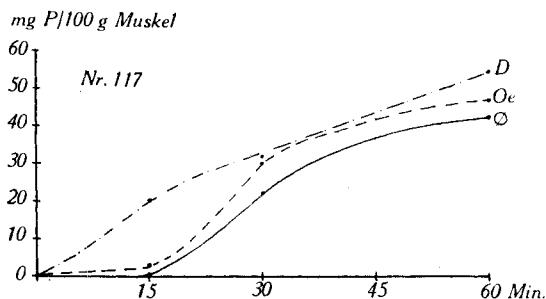


Fig. 4 b.

Nebennierenloses Tier (20°C).

— ohne Zusatz. - - - mit Oestradiol. - · - mit Desoxy-corticosteron.

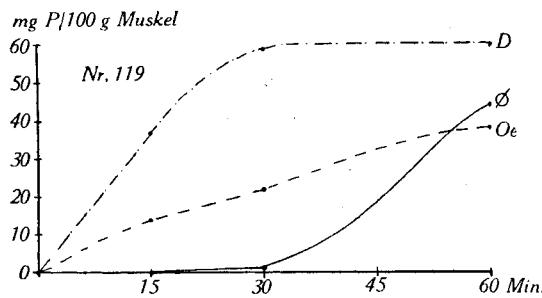


Fig. 4 c.

Nebennierenloses Tier (20° C).

— ohne Zusatz. - - - mit Oestradiol. - - - mit Desoxy-corticosteron.

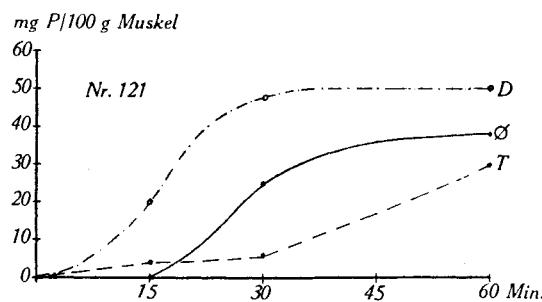


Fig. 5.

Nebennierenloses Tier (20° C).

— ohne Zusatz. - - - mit Testosteron. - - - mit Desoxy-corticosteron.

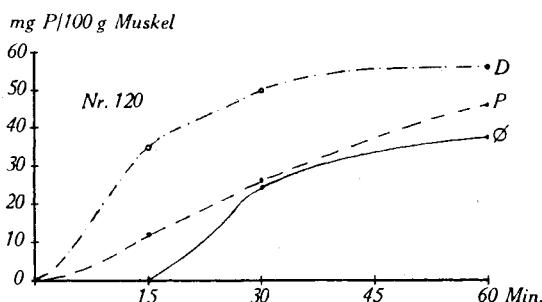


Fig. 6.

Nebennierenloses Tier (20° C).

— ohne Zusatz. - - - mit Progesteron. - - - mit Desoxy-corticosteron.

Diskussion.

Die obigen Versuche bestätigen und ergänzen vor allem die Befunde der vorigen Mitteilung. Zusammen mit den Tieren der ersten Mitteilung liegen nun übereinstimmende Erfahrungen über

herabgesetzte Phosphorylierung bei über 40 adrenalektomierten Tieren vor.

Der Zusatz von 1 mg Desoxy-corticosteron zu 0,5 g Muskelbrei in unserem Phosphorylierungsansatz gibt bei adrenalektomierten Tieren eine deutliche Vergrößerung des Phosphorylierungsprozesses, die bis zu 275 % (Vers. 105) erreichen kann. Dabei werden Werte, wie beim Muskel normaler Tiere erreicht.

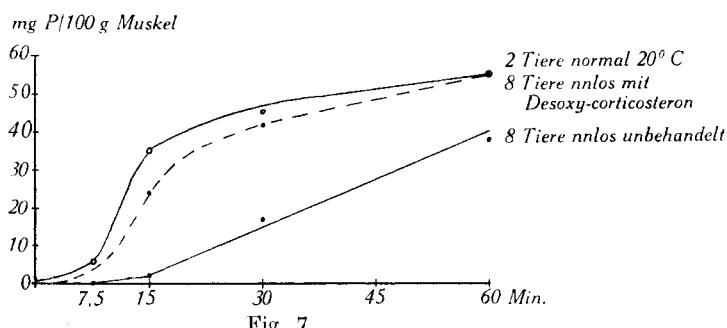


Fig. 7.

Mittelwert-Kurven aus den Verss. 98, 100, 103, und 117 bis 121; sowie von zwei Normaltieren.

Die Phosphorylierungsgrösse normaler Muskeln wird jedoch nicht überschritten. An letzteren ist ein Hormonzusatz wirkungslos.

Kontrollversuche zeigen, dass das als Lösungsmittel für Desoxy-corticosteron benutzte Propandiol-Wasser in den angewandten Mengen weder bei normalen, noch bei nebennierenlosen Tieren die Phosphorylierung des Glykogens beeinflusst.

Weitere Kontrollversuche, in welchen anstatt Desoxy-corticosteron die chemisch nahe verwandten Hormone Oestradiol und Testosteron sowie Progesteron zugesetzt wurden, haben keine Wirkung auf den Phosphorylierungsprozess gezeigt. Doch sind letztere Versuche noch nicht zahlreich genug, um endgültige Schlüsse zu erlauben. Weitere Versuche sind im Gange. Gesichert ist jedoch, dass diese Sexualhormone im Vergleich zu Desoxy-corticosteron keine oder nur eine geringe Wirksamkeit haben.

Die schon in der vorigen Arbeit aufgeworfene Frage, ob das Desoxy-corticosteron als Co-Ferment der Muskelphosphatase zu betrachten sei, findet durch diese Versuche eine starke Unterstützung. Bis wir jedoch Gelegenheit haben weitere Einsicht, besonders auch in die quantitative Seite der Wirkung zu erhalten, wollen wir diese Frage noch nicht weiter diskutieren.

Zusammenfassung.

1. Die Phosphorylierung des Glykogens *in vitro* durch Muskelbrei von nebennierenlosen Tieren wird durch Zusatz von Desoxy-corticosteron auf normale Werte restituiert.

2. Auf die Phosphorylierungsgrösse von normalen Muskeln hat Desoxy-corticosteron keine weiter steigernde Wirkung.

3. Ebenso ausgeführte Versuche mit Oestradiol, Testosteron und Progesteron gaben negative Resultate. Der Effekt ist also spezifisch für Desoxy-corticosteron, das Hormon der Nebennierenrinde.

4. Dieser Befund stellt zum erstenmal eine spezifische Wirkung des synthetischen Nebennierenrinden-Hormons *in vitro* dar. Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass es sich um eine Co-Ferment-Funktion der Phosphatase des Muskels handelt.

Physiologische Anstalt der Universität Basel.

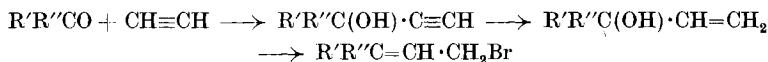
4. Weitere Synthesen von Chroman-Derivaten mit Tocopherol-ähnlicher Struktur

von P. Karrer und F. Kehrer.

(19. XII. 41.)

Die bekannte Synthese des α -Tocopherols und Tocopherol-ähnlicher Verbindungen beruht auf der Kondensation von Allylbromidderivaten $\text{BrCH}_2 \cdot \text{CH}=\text{CR}'\text{R}''^1)$ oder Allylalkoholderivaten $\text{HOCH}_2 \cdot \text{CH}=\text{CR}'\text{R}''^2)$ mit Trimethylhydrochinon bzw. ähnlichen Hydrochinonderivaten. Sie ist grosser Variation fähig. Eine Reihe solcher Verbindungen, in denen verschiedene Allylderivate zur Anwendung kamen, haben wir früher beschrieben^{3).}

Allylbromidderivate der allgemeinen Formel $\text{BrCH}_2 \cdot \text{CH}=\text{CR}'\text{R}''$ können aus jedem Keton auf einfache Weise durch Acetylenanlagerung, partielle Reduktion des Acetylenalkohols und Umsatz des Reduktionsproduktes mit Phosphortribromid gewonnen werden:



Als Beispiele, welche die Vielseitigkeit dieser Synthese Tocopherol-ähnlicher Verbindungen belegen können, beschreiben wir im folgenden die Chromanderivate I, V und IX. Die für die Kondensation erforderlichen Bromverbindungen haben wir aus *c*-Hexanon bzw. Δ^5 -17-Vinyl- $3t$, $17t$ -dioxy-androsten⁴⁾ bzw. Methyl-pentadecylketon auf den durch nachstehende Formeln erläuterten Wegen dar-

¹⁾ P. Karrer, H. Fritzsche, B. H. Ringier, H. Salomon, Helv. **21**, 520 (1938).

²⁾ P. Karrer, H. Fritzsche, Helv. **21**, 1234 (1938).

³⁾ Eine Zusammenstellung findet sich bei P. Karrer und K. S. Yap, Helv. **24**, 639 (1941).

⁴⁾ L. Ruzicka, R. Hofmann, H. F. Meldahl, Helv. **21**, 371 (1938).