

HEMMUNG DER ENZYMSYNTHESE DURCH ANTIRHEUMATIKA

H. WESTPHAL, H. KRÖGER, W. DUNTZE und H. HOLZER

Biochemisches Institut der Universität Freiburg im Breisgau (Germany)

(Received 14 November 1966; accepted 16 February 1967)

Abstract—(1) In protoplasts from yeast the synthesis of NAD-dependent glutamic acid dehydrogenase and glutamine synthetase is inhibited by 15·6 mM sodium salicylate, 0·07 mM Butazolidin^R and about 0·39 mM Tanderil^R. The incorporation of ¹⁴C-uracil into RNA is not or only slightly influenced under these conditions. These anti-rheumatic agents do not interfere either with the induced synthesis of β -galactosidase in *Escherichia coli* K 12 or the polyuridylic acid-dependent synthesis of polyphenylalanin in a cell-free system from *Escherichia coli*. The increase of the specific activity of tyrosine- α -ketoglutarate transaminase in rat liver induced by L-tyrosine is inhibited to about 50 per cent by 50 mg/kg Butazolidin^R and Tanderil^R, respectively.

EINLEITUNG

BEI STUDIEN über die Wirkung von Antibiotika auf die Synthese von GluDH* in Hefe¹ beobachteten wir, daß das dem Antibiotikum Toyomycin beigegebene Salicylat die Synthese des Enzyms hemmt. Wir haben hierauf geprüft, ob Salicylsäure und andere Antirheumatika generell eine Hemmung der Enzymsynthese bewirken.

PRÄPARATE

Salicylsäure wurde von der Firma E. Merck AG, Darmstadt, bezogen. Für Butazolidin^R (1-Phenyl-2-(*p*-hydroxyphenyl)-3,5-dioxo-4-*n*-butyl-pyrazolidin) und Tanderil^R (1,2-Diphenyl-3,5-dioxo-4-*n*-butyl-pyrazolidin) danken wir der Firma J. R. Geigy, Basel, Schweiz. Polyuridylsäure ist das Fabrikat der Firma Miles Chemical Company, Clifton, N.J., USA. Pyruvatkinase lieferte Firma C. F. Boehringer & Söhne, Mannheim.

²⁻¹⁴C-Uracil (spez. Radioaktivität = 5·38 mC/mMol) und ¹⁴C-Phenylalanin (spez. Radioaktivität = 165 mC/mMol) wurden von der New England Corp. bezogen.

METHODEN

Gewinnung von Protoplasten aus Hefe und Inkubationsansätze mit Antirheumatika

Aus *Saccharomyces carlsbergensis* NCYC 74 wurden Protoplasten in Anlehnung an das Verfahren von Eddy und Williamson² auf folgende Weise präpariert: 50 ml Subkultur in YBM-Medium (Optimalmedium nach Wickerham³: 3 g Yeast Extract, 5 g Bacto-Peptone, 3 g Malt Extract und 10 g Glucose pro 1000 ml) wurden aus der Stammkultur beimpft und 72 Std. bei 30° (Gasraum Luft) unter Schütteln inkubiert.

* Abkürzungen: GluDH = Glutaminsäure-Dehydrogenase; NAD = Nicotinsäureamid-adenin-dinucleotid; NADH = NAD reduziert; TMG = Thiomethylgalaktosid.

† Herrn Dr. B. M. Tonino, Utrecht, dankt Herr Dr. H. Westphal für Einführung in die Methodik.

5 ml dieser Subkultur wurden auf 2000 ml YBM-Medium überimpft. Die Hauptkultur wurde 13 Std. bei $26 \pm 0.1^\circ$ belüftet und mit dem Magnetrührer gerührt, um ein Absetzen der Zellen zu vermeiden. Die Ernte betrug 7.5 g Zellen (Feuchtgewicht). Nach dreimaligem Waschen in Aqua dest. wurden die Zellen in 100 ml Citrat-Mannit-Phosphat-Puffer (5 mM Phosphat, 5 mM Citrat, 10% Mannit, pH 5.8) unter Zusatz von Ammoniumsulfat (Endkonzentration 10 mM) und 3 Ampullen 'Suc d'Helix Pomatia' (Industrie Biologique Française) bei 30° im Warburg-Apparat 90 min schwach bewegt. Die gewonnenen Protoplasten wurden bei 3000 g und 0° 10 min abzentrifugiert und zweimal in eiskaltem Acetat-Mannit-Puffer (10 mM Acetat, 10% Mannit, pH 5.8) gewaschen. Die Ernte betrug 2.2 g (Feuchtgewicht). Je 100 mg Protoplasten wurden in 4 ml Minimalmedium nach Tavlitzki,⁴ enthaltend 0.05 M Na-Glutamat, 100 m μ C ^{14}C -Uracil pro ml und 10% Glucose, mit den in der Tabelle angegebenen Mengen an Antirheumatika, in Servallgläsern suspendiert und bei 30° 60 min schwach bewegt. Butazolidin^R, Tanderil^R und Na-Salicylat wurden konzentriert vorgelöst, auf das pH des Mediums (pH 6.2) eingestellt und den Testansätzen beigegeben.

Bereitung von Extrakten aus Hefeprotoplasten

Nach Inkubationsende wurden alle Proben in Eis-Kochsalz abgekühlt, 10 min bei 3000 g abzentrifugiert und anschließend nach Zusatz von je 2 ml 0.04 M Tris-Puffer pH 8.0 bei 0° durch Potter-Elvehjem-Homogenisation mit dicht schließendem Teflon-pistill aufgeschlossen.

RNA-Bestimmung

Je 1 ml des Extraktes wurden sofort nach Gewinnung mit 5 ml 0.6 M HClO_4 versetzt und weiter nach dem Verfahren von Schmidt und Thannhauser⁵ zur RNA-Bereitung behandelt. Der nach Fällung mit HClO_4 erhaltene Niederschlag wurde dreimal mit je 10 ml 0.2 M HClO_4 , einmal mit 10 ml 96% Alkohol und einmal mit Alkohol-Äther 3:1 gewaschen. Es folgte alkalische Hydrolyse mit 1 ml 0.8 M KOH 12 Std. bei 37° . Nach Ansäuern mit 0.2 ml 10% HClO_4 und Abzentrifugieren des säureunlöslichen Niederschlags wurde nach Neutralisieren mit KOH die Radioaktivität durch Messung im Liquid Scintillations Counter der Firma Packard, USA (Dioxan-Scintillationslösung) bestimmt.

Bestimmung von Enzymen in Hefeextrakten und Definition der Einheiten

NAD- und NADP-abhängige GluDH (L-Glutamat:NAD oxidoreductase (deaminiert), EC 1.4.1.2., bzw. L-Glutamat:NADP oxidoreductase (deaminiert), EC 1.4.1.4.) wurden im optischen Test nach WARBURG (vgl. Schmidt und Bergmeyer⁷) bestimmt. 1 Aktivitätseinheit bewirkt den Umsatz von 1 μMol NAD bzw. NADP pro min. Glutaminsynthetase (L-Glutamin:Ammoniak Ligase (ADP), EC 6.3.1.2.) Aktivität wurde nach Kohlhaw *et al.*⁸ bestimmt. Die Aktivitätseinheit 1 liegt vor, wenn 1 μMol γ -Glutamylhydroxamat pro Std. unter den angegebenen Testbedingungen gebildet wird. Spezifische Enzymaktivität ist jeweils definiert als Enzymaktivität pro mg Protein (Proteinbestimmung nach Lowry *et al.*⁹).

Peptidsynthese im NIRENBERG-System

Der Einbau von ^{14}C -Phenylalanin in Trichloressigsäure-unlösliches Material wurde in dem von Nirenberg¹⁰ angegebenen zellfreien System aus *Escherichia coli*

untersucht. Es wurde der Überstand der 30,000 g Zentrifugation (S-30 Fraktion nach Nirenberg) als Inkorporationssystem verwendet. Die Inkubationsansätze enthielten in 0·25 ml: 26 μ Mol Tris/HCl-Puffer, je 0·05 μ Mol sämtlicher ^{12}C -Aminosäuren mit Ausnahme von ^{12}C -Phenylalanin, 0·05 μ Mol ^{14}C -Phenylalanin (spezifische Radioaktivität 4 $\mu\text{C}/\mu\text{Mol}$), 0·25 μMol ATP, 0·075 μMol GTP, 1·5 μMol Mercaptoäthanol, 2 μMol Phosphoenolpyruvat Na-Salz, 4 μg Pyruvatkinase, 5 μMol Mg-Aacetat, 12·5 μMol KCl, 0·4 μMol $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 1–2 mg der S-30 Protein Fraktion und 21 μg Polyuridylsäure. Wenn angegeben, wurde pro Inkubationsansatz 1 mg transfer RNA aus *Escherichia coli* zugesetzt, die nach der Methode von Zubay¹¹ gewonnen worden war.

Bei allen Untersuchungen wurden zwei parallele Ansätze 30 min bei 37° inkubiert. Die Inkubation wurde durch Zusatz von 3 ml eiskalter Trichloressigsäure (TCS) beendet. Das Präzipitat wurde abzentrifugiert, in 5 ml 5% TCS aufgenommen und 20 min in einem kochenden Wasserbad inkubiert. Es wurde dann auf Filterpapierplättchen (Fa. Schleicher & Schüll, Nr. 597, 2·7 cm) aufgebracht, mit 20 ml 5% TCS, 10 ml Äthanol und 5 ml Äther gewaschen und auf Aluminiumplättchen aufgeklebt. Die Proben wurden, nachdem sie unter der Infrarotlampe getrocknet worden waren, in einem fensterlosen Methandurchflußzähler mit Kathodengitter (FHZ 407 der Fa. Frieske & Höpfner, Erlangen) ausgezählt. Die Zählausbeute betrug 30%.

*Bestimmung der Aktivität von β -Galaktosidase in *Escherichia coli* K 12*

β -Galaktosidase wurde nach der von Pardee *et al.*¹⁷ angegebenen Methode mit Hilfe der Spaltung von *o*-Nitrophenyl- β -D-galaktosid gemessen. 1 Aktivitätseinheit ist als die Enzymmenge definiert, die unter den Testbedingungen 1 μMol *o*-Nitrophenyl-galaktosid pro min spaltet.

Tyrosin-induzierte Synthese von Tyrosin- α -Ketoglutarat-Transaminase in Rattenleber

Für die Versuche wurden weibliche Wistar-Ratten im Gewicht von 120–150 g eingesetzt. Den Tieren wurde 50 mg/kg Butazolidin® bzw. 50 mg/kg Tanderil® subcutan gegeben. 10 min später erhielten sie 600 mg/kg L-Tyrosin intraperitoneal. Nach 4 Std. wurde die Leber entnommen und darin die Tyrosin- α -Ketoglutarat-Transaminase in der früher beschriebenen Weise bestimmt (Kröger und Greuer¹²). Die Aktivität des Enzyms ist angegeben als μMol gebildete *p*-Hydroxyphenylbrenztraubensäure/Std./mg Protein.

ERGEBNISSE

1. Versuche mit Hefe-Protoplasten

Kultiviert man Hefezellen auf einem NH_4^+ -Ionen enthaltenden Nährmedium, so wird die Synthese von NAD-abhängiger Glutamatdehydrogenase^{13, 14} und von Glutaminsynthetase⁸ reprimiert. Nach Auswaschen des NH_4^+ und Zufügen einer anderen *N*-Quelle, z.B. Glutaminsäure, erfolgt rasche Synthese dieser beiden Enzyme im Zuge der 'Derepression'. Verwendet man Protoplasten aus Hefe, so kann die bei Derepression stattfindende Enzymsynthese besonders einfach studiert werden, da auf Grund des Fehlens von Zellwänden ein leichter und rascher Aufschluß zur Enzymbestimmung möglich ist.¹⁵

Aus Tabelle 1 sieht man die Wirkung von Butazolidin^R, Tanderil^R und Natrium-Salicylat auf die Synthese von NAD-GluDH und Glutaminsynthetase in Hefeprotoplasten. Eine etwa 50%ige Hemmung der Enzymsynthese wird durch 0.07 mM Butazolidin^R bzw. 0.39 mM Tanderil^R bzw. 15.6 mM Na-Salicylat bewirkt.

TABELLE 1. HEMMUNG DER SYNTHESE VON PROTEIN UND RNA DURCH
ANTIRHEUMATIKA

Enzymaktivitäten und ¹⁴C-Uracil-Einbaurate in % einer Kontrolle ohne Antirheumatikum.

| | Butazolidin ^R (mM) | | | | | Tanderil ^R (mM) | | | Na-Salicylat (mM) | | |
|-----------------------------------|-------------------------------|------|------|-------|-------|----------------------------|------|------|-------------------|-----|-----|
| Glu(NH ₂)-Synthetase | 0.81 | 0.41 | 0.16 | 0.064 | 0.016 | 1.54 | 0.77 | 0.39 | 15.6 | 6.2 | 3.1 |
| NAD-GluDH | 1 | 5 | 29 | 41 | 44 | 7 | 22 | 40 | 47 | 50 | 66 |
| NADP-GluDH | 7 | 9 | 25 | 51 | 78 | 13 | 17 | 36 | 54 | 67 | 90 |
| Einbau von ¹⁴ C-Uracil | 107 | 110 | 107 | 105 | 99 | 85 | 100 | 99 | 96 | 100 | 107 |
| | 24 | 68 | 85 | 92 | 96 | 95 | 99 | — | 97 | 101 | — |

Zur Kontrolle wurden die Antirheumatika den Testansätzen direkt zugesetzt. 0.15 mM Tanderil^R und 0.07 mM Butazolidin^R hemmen bei den in der vorliegenden Arbeit verwendeten optischen Testen zur Bestimmung der NAD- bzw. NADP-GluDH-Aktivitäten nicht. Diese Konzentrationen sind 20fach höher als die Konzentrationen, die sich bei Annahme von Gleichverteilung der Antirheumatika auf Medium und Protoplasten bei den höchsten in unseren Versuchen angewandten Konzentrationen ergeben würden. Die Aktivität der Glutaminsynthetase wird durch 0.075 mM Tanderil^R bzw. 0.04 mM Butazolidin^R nicht beeinflusst, bei den doppelten Konzentrationen beobachtet man eine 17%ige bzw. 20%ige Hemmung. 0.078 mM Na-Salicylat (das ist die Konzentration, die sich bei Annahme von Gleichverteilung auf Medium und Protoplasten bei Einsatz der höchsten von uns geprüften Salicylat-Konzentration im Test ergibt) hemmt den Glutaminsynthetase-Test nicht. Höhere Konzentrationen bewirken Störungen des Testes. Auch der NAD-GluDH-Test wird durch 0.078 mM Na-Salicylat nicht beeinflusst. 0.78 mM hemmt um etwa 10%. Die NADP-GluDH-Aktivität wird durch 3.12 mM Na-Salicylat nicht beeinflusst. Eine Hemmung der GluDH aus Ochsenleber durch Na-Salicylat haben Gould *et al.*¹⁶ beschrieben.

Die spezifische Aktivität von NADP-GluDH in Hefeprotoplasten wird durch die untersuchten Antirheumatika nicht beeinflusst. Dies dürfte darauf zurückzuführen sein, daß dieses Enzym im Gegensatz zu NAD-GluDH und Glutaminsynthetase unter den vorliegenden Versuchsbedingungen keinen messbaren turnover zeigt.

Um etwas über die Beeinflussung der RNA-Synthese zu erfahren, wurde die Inkorporation von ¹⁴C-Uracil in RNA gemessen. Wie man aus der untersten Zeile von Tabelle 1 sieht, haben Tanderil^R und Na-Salicylat keinen Einfluss. Bei Butazolidin^R bewirken Konzentrationen, die die Enzymsynthese zu 50% hemmen, nur eine geringfügige Hemmung. Höhere Konzentrationen Butazolidin^R hemmen die RNA-Synthese deutlich.

2. Peptidsynthese im NIRENBERG-System

Die Wirkung von Butazolidin^R und Tanderil^R auf die Synthese von Poly-Phenylalanin unter dem Einfluß von Poly-Uridylsäure wurde im zellfreien *E. coli*-System

untersucht. Wie Tabelle 2 zeigt, bewirkt Butazolidin^R (K-Salz) in Konzentrationen von 0·13 bis 1·5 mM keine Hemmung der Peptidsynthese. Die Inkorporation von ¹⁴C-Phenylalanin wurde auch dann nicht beeinflußt, wenn das System nicht durch zusätzliche transfer RNA aktiviert worden war. Tanderil^R (K-Salz) zeigt in Konzentrationen von 0·5 mM bzw. 1·5 mM nur eine geringe Hemmung der Peptidsynthese um 12% bzw. 15%.

TABELLE 2. INKORPORATION VON ¹⁴C-PHENYLALANIN UNTER DEM EINFLUSS VON BUTAZOLIDIN^R UND TANDERIL^R

| Butazolidin ^R | Tanderil ^R | $\mu\text{Mol inkorp. Phenylalanin}$ |
|-------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|
| — | — | 4·0 |
| $1\cdot3 \times 10^{-4} \text{ M}$ | — | 4·1 |
| $2\cdot6 \times 10^{-4} \text{ M}$ | — | 4·4 |
| $5\cdot2 \times 10^{-4} \text{ M}$ | — | 4·6 |
| $7\cdot8 \times 10^{-4} \text{ M}$ | — | 4·3 |
| $15\cdot6 \times 10^{-4} \text{ M}$ | — | 4·3 |
| — | $4\cdot8 \times 10^{-4} \text{ M}$ | 3·5 |
| — | $14\cdot8 \times 10^{-4} \text{ M}$ | 3·4 |

3. Induktion von β -Galaktosidase in *E. coli* K 12

Die Wirkungslosigkeit von Butazolidin^R und Tanderil^R in dem aus *E. coli* präparierten Nirenberg-System ließ vermuten, daß diese Substanzen auch in intakten Coli-Zellen im Gegensatz zu Hefe wirkungslos sind. Daher wurde der Einfluß von Butazolidin^R auf das Wachstum und die Induktion von β -Galaktosidase in Kulturen von *E. coli* K 12 (Stamm 3000, B₁) untersucht. Die Zellen wurden in dem von Pardee *et al.*¹⁷ angegebenen Medium M 63, dem pro Liter 10^{-4} Mol Thiamin-HCl zugesetzt wurde, gezüchtet. Die Generationszeit betrug unter diesen Bedingungen 1·2–1·4 Stunden. Nach Erreichen einer Zelldichte von ca. 4×10^8 Zellen/ml wurde die Synthese der β -Galaktosidase durch Zusatz von 10^{-4} Mol/l. TMG induziert. In Abständen von 30 min wurden Proben entnommen, in denen die Enzymaktivität nach der von Pardee *et al.*¹⁷ angegebenen Methode bestimmt wurde. Es zeigte sich dabei (Abb. 1), daß 0·8 mM Butazolidin^R weder das Wachstum noch die Induktion der β -Galaktosidase durch TMG beeinflußte, wenn Butazolidin^R gleichzeitig mit TMG dem Kulturmedium zugesetzt wurde. Auch bei Zusatz von Butazolidin^R vom Beginn des Wachstums an und nachfolgender TMG-Induktion nach 6 Std. beobachtete man nur eine geringfügige Hemmung der differentiellen Synthesegeschwindigkeit des Enzyms. Das Wachstum der Zellen wurde auch in diesem Falle nicht gehemmt.

4. Induktion von Tyrosin- α -Ketoglutarat-Transaminase in Rattenleber

Die bei Hefe beobachtete Hemmung der Enzymsynthese durch Antirheumatika veranlaßte uns, entsprechende Experimente mit Tieren durchzuführen. Hierzu wurde die durch L-Tyrosin in der Leber von Ratten induzierte Synthese von Tyrosin- α -Ketoglutarat-Transaminase (EC 2.6.1.5.) studiert. Wie man aus den Kontroll-Werten in Tabelle 3 sieht, wird unter unseren Versuchsbedingungen die spezifische Aktivität des Enzyms nach Verabreichung von L-Tyrosin mehr als verdoppelt.

Butazolidin^R hemmt ebenso wie Tanderil^R die induzierte Enzymsynthesen deutlich. Die ohne Injektion von Tyrosin nach Verabreichung von Butazolidin^R bzw. Tanderil^R beobachtete spezifische Aktivität des Enzyms ist niedriger als die von Kontrollen. Dies deutet ebenso wie die durch Antirheumatika verringerte, Tyrosin-induzierte Zunahme der spezifischen Aktivität auf eine Hemmung der Enzymsynthese.

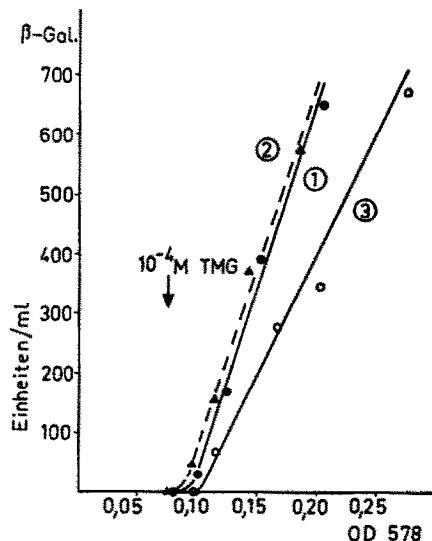


ABB. 1. Wirkung von Butazolidin^R auf die Induktion von β -Galaktosidase in *E. coli* K 12 durch Thiomethylgalaktosid (TMG).

Zusatz von 0.1 mM TMG während der logarithmischen Wachstumsphase nach sechs Stunden Wachstum auf Medium M 63. (1) = Kontrollkultur ohne Butazolidin^R; (2) = Zusatz von 0.8 mM Butazolidin^R zusammen mit TMG; (3) = Zusatz von 0.8 mM Butazolidin^R 6 Std vor TMG.

TABELLE 3. EINFLUSS VON ANTRHEUMATIKA AUF DIE SUBSTRAT-INDUKTION DER TYROSIN- α -KETOGLUTARAT-TRANSAMINASE IN RATTENLEBER

Angegeben sind μ Mol *p*-Hydroxyphenylbrenztraubensäure/mg Protein/Std. und die einfache Standardabweichung der Werte. Anzahl der Tiere in Klammern.

| Kontrolle | Behandelte Tiere | |
|---------------------|--|-------------------------------------|
| | + 50 mg/kg Butazolidin ^R | + 50 mg/kg Tanderil ^R |
| — | 0.81 ± 0.15 (5) | 0.54 ± 0.24 (3) |
| 600 mg/kg L-Tyrosin | 1.87 ± 0.41 (6) | 1.21 ± 0.37 (9) |
| | | 1.20 ± 0.25 (7) |

DISKUSSION

Die Antirheumatika Salicylat, Butazolidin^R und Tanderil^R hemmen die Synthese von NAD-Glutamatdehydrogenase und Gluaminsynthetase in Hefe. Wir haben nicht geprüft, ob dies auch für die Synthese anderer Hefeenzyme gilt. Eine gewisse Spezifität der Wirkung bezüglich des betroffenen Organismus liegt vor, da bei *E. coli*

weder das Wachstum noch die induzierte Synthese von β -Galaktosidase durch Butazolidin^R deutlich gehemmt wird. Auch in dem aus *E. coli* präparierten zellfreien System nach Nirenberg wird die Polyuridylsäure-abhängige Synthese von Polyphenylalanin nicht gehemmt. Da im Zusammenhang mit der Wirkungsweise von Antirheumatika tierische Gewebe interessieren, haben wir auf weitere Versuche mit Mikroorganismen verzichtet.

In der Leber von Ratten erniedrigen Butazolidin^R und Tanderil^R die spezifische Aktivität von Tyrosin- α -Ketoglutarat-Transaminase. Auch die durch Tyrosin bewirkte Zunahme der spezifischen Aktivität wird verringert. Vermutlich liegt demnach eine Hemmung der Enzymsynthese vor. Im Zusammenhang damit ist die Beobachtung von Dawkins *et al.*¹⁸ interessant, wonach 3 mM Salicylat den Einbau von ^{14}C -Leucin in das Protein des Rattendiaphragmas zu 50% hemmt. Weiter sei die Beobachtung von Jungblut¹⁹ erwähnt, wonach der Einbau von ^{14}C -Leucin in gewisse Plasmaproteine bei chronischer Verfütterung von Butazolidin^R an Ratten verlangsamt ist. Vermutlich kommt die Hemmung der Enzymsynthese nicht durch eine Hemmung des Energiestoffwechsels zustande. In Ratten, die mit extrem hohen Dosen von Butazolidin^R behandelt waren, fanden wir nämlich in früheren Untersuchungen keinen signifikant veränderten Gehalt an ATP in der Leber und im Blut (Sedlmayr und Holzer²⁰).

Weitere Studien müßten klären, ob eine Spezifität bezüglich der betroffenen Enzyme vorliegt und ob ein Zusammenhang mit der antirheumatischen Wirkung besteht. Hierbei ist zu berücksichtigen, daß Butazolidin^R (Sedlmayr, Kemnitz und Holzer²¹) ebenso wie Tanderil^R (Holzer und Ullrich²²) in schwach saurem Milieu suspendierte Zellen stärker beeinflußt als solche, die sich in neutralem Milieu befinden. Diese pH-Abhängigkeit der Wirkung könnte eine gewisse Selektivität der Wirkung im Entzündungsgebiet erklären.

Es gibt viele Hinweise darauf, daß Butazolidin^R ebenso wie gewisse andere Pharmaka die Synthese von Enzymen induziert, die den Abbau des Pharmakons katalysieren (vgl. z.B. Burns²³). Dieser Effekt kann sehr wohl neben einer spezifischen Repression oder einer allgemeinen unspezifischen Hemmung der Enzymsynthese verifiziert sein. Bei der Induktion abbauender Enzyme wirkt das Pharmakon als 'Inducer', daneben könnte dasselbe Pharmakon als 'Corepressor' bei der Repression der Synthese gewisser Enzyme wirken. So induziert z.B. Glucose in *E. coli* und Hefe die Synthese Glusose-abbauender Enzyme und gleichzeitig reprimiert Glucose die Synthese anderer Enzyme ('Glucose-Effekt').

Anerkennung—Dem Bundesministerium für wissenschaftliche Forschung und der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für Beihilfen, die die vorliegende Arbeit ermöglicht haben.

Zusammenfassung—(1) 15·6 mM Na-Salicylat, 0·07 mM Butazolidin^R und ca. 0·4 mM Tanderil^R hemmen die Synthese von NAD-abhängiger Glutamatdehydrogenase und von Glutaminsynthetase in Protoplasten aus Hefe. Der Einbau von ^{14}C -Uracil in RNA wird unter diesen Bedingungen nicht oder nur gering beeinflusst.

(2) Auf die induzierte Synthese von β -Galaktosidase in *Escherichia coli* K 12 sowie auf die Polyuridylsäure-abhängige Synthese von Polyphenylalanin im zellfreien System aus *Escherichia coli* haben die genannten Antirheumatika keinen Einfluß.

(3) Die durch L-Tyrosin induzierte Vermehrung der spezifischen Aktivität von Tyrosin- α -Ketoglutarat-Transaminase in der Leber von Ratten wird durch 50 mg/kg Butazolidin^R bzw. Tanderil^R zu etwa 50% gehemmt.

LITERATUR

1. H. WESTPHAL, A. OESER und H. HOLZER, *Beiträge zur Biochemie und Physiologie von Naturstoffen*, S. 551. VEB Gustav Fischer, Jena (1965).
2. A. A. EDDY und D. H. WILLIAMSON, *Nature, Lond.* **179**, 1252 (1957).
3. L. J. WICKERHAM, *J. Bact.* **52**, 293 (1946).
4. J. TAVLITZKI, *Annls. Inst. Pasteur*, **76**, 497 (1949).
5. G. SCHMIDT und S. J. THANNHAUSER, *J. biol. Chem.* **161**, 83 (1945).
6. E. GERLACH und B. DEUTICKE, *Biochem. Z.* **337**, 477 (1963).
7. E. SCHMIDT und U. BERGMAYER, *Methoden der enzymatischen Analyse*, S. 752. Chemie, Weinheim (1962).
8. G. KOHLHAW, W. DRÄGERT und H. HOLZER, *Biochem. Z.* **341**, 224 (1965).
9. O. H. LOWRY, N. J. ROSEBROUGH, A. L. FARR und R. J. RANDALL, *J. biol. Chem.* **193**, 265 (1951).
10. M. W. NIRENBERG, *Methods in Enzymology*, vol. VI, S. 17. Academic Press, New York (1961).
11. G. ZUBAY, *J. molec. Biol.* **4**, 347 (1962).
12. H. KRÖGER und B. GREUER, *Biochem. Z.* **341**, 190 (1965).
13. H. HOLZER und G. HIERHOLZER, *Biochim. biophys. Acta*, **77**, 329 (1963).
14. H. WESTPHAL und H. HOLZER, *Biochim. biophys. Acta*, **89**, 42 (1964).
15. H. HOLZER und H. WESTPHAL, *Nobelpreis-Feier für F. Lynen* 19.12.1964; Fotodruck Franz Frank, 8 München 13, Ziebländstr. 39.
16. B. J. GOULD, A. K. HUGGINS und M. J. H. SMITH, *Biochem. J.* **88**, 346 (1963).
17. A. B. PARDEE, F. JACOB und J. MONOD, *J. molec. Biol.* **1**, 165 (1959).
18. P. D. DAWKINS, B. J. GOULD und M. J. H. SMITH, *Biochem. J.* **99**, 703 (1966).
19. P. W. JUNGBLUT, *Arzneimittel-Forsch.* **9**, 549 (1959).
20. G. SEDLMAYR und H. HOLZER, *Klin. Wschr.* **34**, 133 (1956).
21. G. SEDLMAYR, A. KEMNITZ und H. HOLZER, *Klin. Wschr.* **34**, 1114 (1956).
22. H. HOLZER und B. ULRICH, *Ztschr. klin. Chem.* **2**, 157 (1964).
23. J. J. BURNS, *Am. J. Med.* **37**, 327 (1964).