

sich erst im Laufe der Inkubation aus natürlichen Vorstufen im Nebennierenhomogenat gebildet hat. Damit bestätigt sich unser früherer Befund: Cortexon wird tatsächlich durch Nebennierenenzyme *in vitro* in Aldosteron umgewandelt. Die geringe Umsetzung lässt aber darauf schliessen, dass die natürlichen Aldosteronvorstufen in Rinder-Nebennieren nicht ausschliesslich Cortexon sein können, welches bekanntlich nur in äusserst kleiner Menge in Nebennieren vorkommt.

Durch Perjodsäureabbau des amorphen radioaktiven Aldosterons zu dem bekannten (20→18)-Lakton¹ konnte ersteres einerseits zusätzlich charakterisiert werden. Andererseits bewies die beobachtete Inaktivität des unter Verlust des radioaktiven Kohlenstoffatoms 21 gebildeten Laktons, dass es sich beim radioaktiven Aldosteron, wie erwartet, ausschliesslich um die 21-C¹⁴-Verbindung gehandelt hat. Diese wird also direkt aus dem 21-C¹⁴-Cortexon, das heisst durch Oxygenierung und Dehydrierung, entstanden sein und nicht auf dem Umweg über Cortexonabbauprodukte. Entsprechend erwies sich der bei der Perjodsäureoxydation des radioaktiven Aldosterons entstandene und als Dimedonverbindung isolierte Formaldehyd als deutlich radioaktiv.

Gleichzeitig wurde auch die Bildung von Corticosteron aus Cortexon untersucht, obwohl die gewählten Bedingungen für diese Umwandlung nicht optimal waren. Aus Fraktion *c*₁ erhielten wir 32,3 mg Corticosteron, welches grösstenteils kristallisiert werden konnte und insgesamt 91900 cpm aufwies. Dies entspricht 23,9% der eingesetzten Aktivität. Somit sind mindestens 27,2 mg oder 84% des Corticosterons aus dem zugesetzten Cortexon entstanden und nur 16% oder 5,1 mg stammten aus den Nebennieren.

Bei der Untersuchung der unter anderem das Hydrocortison enthaltenden Fraktion *b*₂ wurde überraschend ebenfalls starke Radioaktivität aufgefunden. Diese konnte jedoch bei weiterer chromatographischer Reinigung der Fraktion gänzlich einer noch unidentifizierten Verbindung zugeschrieben werden, während sich das reine, kristallisierte Hydrocortison als inaktiv erwies. Diese Beobachtung bestätigt erneut den von verschiedener Seite erhobenen Befund, dass die Einführung von Hydroxylgruppen, zum Beispiel in Progesteron, bei der Inkubation mit Nebennierengewebe vorwiegend in der Reihenfolge der 17-, 21- und 11-Stellung erfolgt².

F. W. KAHNT, R. NEHER und A. WETTSTEIN

Forschungslaboratorien der CIBA Aktiengesellschaft, Basel, Pharmazeutische Abteilung, den 26. August 1955.

Summary

Cortexone labeled in the 21-position with C¹⁴ yielded radioactive Aldosterone through incubation with beef adrenal homogenate. Its activity, due entirely to the 21 carbon atom, showed that about 48% of the Aldosterone had arisen from a direct conversion of cortexone without intermediate degradation. The low yield by weight in this conversion suggests, however, that cortexone is not the only natural precursor for Aldosterone in the adrenal.

The radioactivity of the corticosterone obtained showed that about 84% of it originated from added cortexone. Lack of radioactivity of the hydrocortisone confirmed that it does not essentially result from cortexone.

¹ S. A. SIMPSON, J. F. TAIT, A. WETTSTEIN, R. NEHER, J. V. EUW, O. SCHINDLER und T. REICHSTEIN, Exper. 10, 132 (1954); Helv. chim. Acta 37, 1201 (1954).

² Literatur siehe in S. ROBERTS und C. M. SZEGO, Ann. Rev. Biochem. 24, 549 (1955).

Wirkungsverstärkung von Adrenalin und Noradrenalin durch Azetylcholin am isolierten Iris-dilatator des Kaninchens

Der isolierte Irisdilatator des Kaninchens wird durch Eserin gegenüber Adrenalin und Noradrenalin sensibilisiert¹. Falls die Empfindlichkeitssteigerung über eine Hemmung der Cholinesterase zustande kommt, müssten ausser Eserin auch andere Anticholinesterasen sensibilisieren. Es stellt sich die Frage, ob dabei die sensibilisierende Wirkung lokal gebildetem Azetylcholin zukommt, welches sich unter dem Einfluss von Anticholinesterasen im Irisgewebe anreichert. Daher soll geprüft werden, ob grundsätzlich Azetylcholin die Wirkung von Adrenalin und Noradrenalin verstärken kann.

Wir untersuchten radiäre Dilatorsektoren der isolierten Kanincheniris mit der an anderer Stelle beschriebenen Methode². Einem Teil der Tiere wurde zur chronischen Denervierung des Dilatator 4–15 Tage vor dem Versuch das rechtsseitige Ganglion *cervicale superius* (aseptisch) entfernt. Die Dilatorsektoren hingen in konstant fliessender Tyrodelösung (pH = 7,2; T = 37°C). Registriert wurde die isometrische Kraftentwicklung bei Umströmung des Präparates mit Lösungen verschiedener Wirkstoffkonzentration.

Wie Eserin verstärkt auch Prostigmin in einer Konzentration von 10⁻⁶–10⁻⁵ m die Wirkung von Adrenalin und Noradrenalin. Allein gegeben führt Prostigmin nur zu einer geringfügigen langsamen Tonuszunahme des Dilatator.

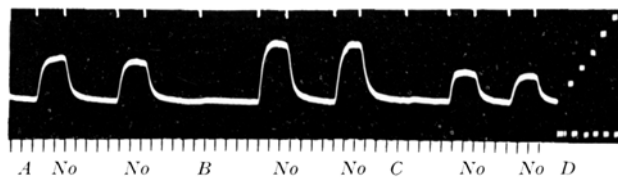


Abb. 1. Kaninchendilatator. Verstärkung der durch Noradrenalin hervorgerufenen Kontraktionen unter Azetylcholin. Jedesmal bei No: L-Noradrenalin 2,5 · 10⁻⁶ m. Von A–B: ohne A. Ch. Von B–C: unter A. Ch. 5 · 10⁻⁶ m. Von C–D: Nach Auswaschen des A. Ch. t = Minuten. D: Eichkurve, zeigt Ausschläge des isometrischen Registrierhebels bei Belastung mit 15, 20, 25, 30 und 35 mg.

Azetylcholin verstärkt schon in Konzentrationen von 5 · 10⁻⁷ m bis 5 · 10⁻⁶ m die durch Adrenalin und Noradrenalin hervorgerufenen Kontraktionen (Abb. 1). Die Wirkungsverstärkung von Adrenalin ist ungefähr gleich gross wie diejenige von Noradrenalin (Tab. 1). Der Azetylcholineffekt ist leicht auswaschbar und während eines mehrstündigen Versuches beliebig repetierbar. Der gegenüber Adrenalin und Noradrenalin sehr empfindliche chronisch denervierte Dilatator³ erfährt durch Azetylcholin noch eine zusätzliche Sensibilisierung gegenüber Adrenalin und Noradrenalin (Abb. 2). In einer Konzentration von 5 · 10⁻⁶ m allein gegeben hat Azetylcholin in der Regel keine deutliche Wirkung auf den normalen Dilatator. Die Eigenwirkung des Azetylcholins im Sinne einer Kontraktion (siehe auch⁴) ist jedoch stärker am chronisch sympathektomierten Präparat. Warum trotz möglichst konstanter Versuchsbedingungen die Dilatatorpräparate von einem Teil der Kaninchen durch Azetylcholin nicht sensibilisiert werden, können wir nicht beurteilen.

¹ J. C. RÜEGG, Helv. Physiol. Acta 13, C29 (1955).

² J. C. RÜEGG, erscheint in Helv. Physiol. Acta.

³ J. C. RÜEGG, Helv. Physiol. Acta 13, C 29 (1955).

⁴ J. C. RÜEGG und W. R. HESS, Helv. Physiol. Acta 11, 216 (1953).

Zur Abklärung der Frage der Spezifität der beschriebenen Azetylcholinwirkung haben wir einerseits Cholin, anderseits Atropin untersucht. *Cholin* führt in einer Konzentration von $5 \cdot 10^{-6}$ m nicht zu einer Wirkungssteigerung von Adrenalin und Noradrenalin, während im gleichen Versuch Azetylcholin schon in 10mal geringeren Konzentrationen die durch Adrenalin und Noradrenalin hervorgerufenen Kontraktionen deutlich

cholin ist auch an der Mäusepupille¹, an der Nickhaut², am isolierten Darm³ und am perfundierten Herzen³ festgestellt worden.

J. C. RÜEGG⁴ und H. LANGEMANN

Pharmakologisches Institut der Universität Zürich, den 2. August 1955.

Summary

Radial strips of the isolated iris of rabbits were suspended in streaming Tyrode's solution and their contractions were registered isometrically. The contractions produced by adrenaline or noradrenaline were increased after the administration of eserine or neostigmine. Acetylcholine in a concentration $5 \cdot 10^{-7}$ – $5 \cdot 10^{-6}$ M enhanced the effect of adrenaline and noradrenaline on both, the normal and the chronically denervated dilator muscle. Acetylcholine did not enhance the contractions by adrenaline and noradrenaline in the presence of atropine. Choline in a concentration of $5 \cdot 10^{-6}$ M had no effect whereas concentrations of $5 \cdot 10^{-5}$ M were slightly effective.

¹ A. W. FORST und R. DEININGER, Arch. exper. Path. Pharmacol. 215, 378 (1952).
² A. ENGELHARDT, K. GREEFF, P. HOLTZ und R. v. LUECKEN, Arch. exper. Path. Pharmacol. 221, 506 (1954).
³ R. J. S. Mc DOWALL, J. Physiol. 106, 1 (1947).
⁴ Gegenwärtige Adresse: Department of Biochemistry, University of Cambridge, England.

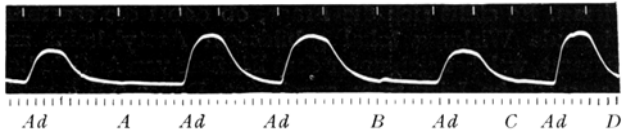


Abb. 2. Kaninchendilatator, chronisch denerviert. Verstärkung der durch Adrenalin hervorgerufenen Kontraktionen unter Azetylcholin. Jedesmal bei Ad: L-Adrenalin $2,5 \cdot 10^{-8}$ m. Von A–B und von C–D: unter A. Ch. $5 \cdot 10^{-7}$ m. *t* = Minuten.

verstärkt. In höheren Konzentrationen von $5 \cdot 10^{-5}$ m hingegen kann auch nach Cholin eine verstärkte Adrenalin- und Noradrenalinwirkung beobachtet werden. Der Cholineffekt ist wie der Azetylcholineffekt leicht auswaschbar und im gleichen Versuch repetierbar. In Gegenwart von *Atropin* (10^{-7} – 10^{-6} m) hat Azetylcholin keine sensibilisierende Wirkung gegenüber Adrenalin und Noradrenalin, während es im gleichen Versuch vor der Zugabe von Atropin die Adrenalin- und Noradrenalin-kontraktionen deutlich verstärkt. Ausserdem haben Adrenalin und Noradrenalin nach Atropinisierung eine schwächere Wirkung als ohne Atropin¹.

Ein 24-Stunden-Rhythmus des Herz- und Milzglykogens der weissen Laboratoriumsratte

Nachdem schon ÅGREN und seine Mitarbeiter¹ an weissen Ratten trotz gleichmässiger Nahrungszufuhr den Glykogengehalt der Leber zwischen 0,33 und 10 % schwanken sahen, konnte schliesslich FORSGREN² nachweisen, dass der Glykogengehalt der Kaninchenleber einem ganz bestimmten 24-Stunden-Rhythmus mit je einem Maximum um 2 h und 16 h und je einem Minimum um 10 h und 20 h folgt. In diesem Rhythmus wechselt also jeweils eine vorwiegend assimilatorische mit einer vorwiegend dissimilatorischen Phase ab. Diese grundlegenden Erkenntnisse FORSGRENS wurden später an Hand umfangreicher Versuchsreihen nachgeprüft und für die Leber des Kaninchens³, der Ratte⁴ sowie der Maus¹ grundsätzlich bestätigt. Lediglich die Zeitpunkte der jeweiligen Maxima und Minima zeigen bei den einzelnen Tierarten gewisse Unterschiede, doch bleibt die grundsätzliche Tatsache des 24-Stunden-Rhythmus durchaus eindeutig bestehen. Dabei wurde auch die ebenfalls bereits schon von FORSGREN² beobachtete weitgehende Unabhängigkeit des Leberglykogenrhythmus von der Nahrungsaufnahme bestätigt¹. In den folgenden Jahren wurden schliesslich auch in anderen Organen⁵, darunter in der Skelettmuskulatur¹, ähnliche rhythmische Schwankungen des Glykogengehaltes nach-

Tabelle I. Verstärkte Adrenalin- und Noradrenalin-kontraktionen unter Azetylcholin (A.Ch.).

Isolierter Kaninchendilatator	Serie	Kontraktionen durch Adrenalin (A) oder Noradrenalin (N). Mittelwerte der Spannungszunahmen in mg			Verstärkungsfaktor	Anzahl Versuche*
		ohne A.Ch.	unter A.Ch.	Nach Auswaschen von A.Ch.		
normal chronisch denerviert	1	(N) 10	(N) 17	(N) 8	1,9 ×	6
	2	(A) 11	(A) 17	(A) 9	1,7 ×	5
	3	(N) 11	(N) 18	(N) 9	1,8 ×	3
	4	(A) 10	(A) 18	(A) 9	1,9 ×	4

Pro Versuch 6–15 Kontraktionen durch dieselbe Konzentration Adrenalin (A) oder Noradrenalin (N). Um vor Zugabe des Azetylcholins einheitliche Kontraktionen entsprechend etwa 10 mg Spannungszunahme zu erhalten, waren folgende Konzentrationen notwendig: 1. Serie: $2,5 \cdot 10^{-6}$ – $5 \cdot 10^{-6}$ m; 2. Serie: $2,5 \cdot 10^{-7}$ – $5 \cdot 10^{-7}$ m, 3. und 4. Serie: $2,5 \cdot 10^{-8}$ – 10^{-7} m. Azetylcholin in Schwellenkonzentrationen (für Eigenwirkung) beim normalen Dilator $5 \cdot 10^{-6}$ bis $5 \cdot 10^{-5}$ m, beim denervierten Dilator $5 \cdot 10^{-7}$ – $5 \cdot 10^{-6}$ m.

* 18 Präparate von 10 Kaninchen (nicht inbegriffen sind 6 Präparate von 4 Kaninchen ohne Wirkungsverstärkung).

Es bleibt offen, auf welche Weise die azetylcholinbedingte Wirkungsverstärkung zustande kommt. Die von uns am isolierten Kaninchendilatator unter übersichtlichen Versuchsbedingungen gefundene Beziehung zwischen Azetylcholin und Adrenalin bzw. Noradrenalin lässt sich mit ähnlichen Befunden an andern Organen weiterer Tierarten vergleichen. Eine Verstärkung der Adrenalin- und Noradrenalinwirkung durch Azetyl-

¹ G. ÅGREN, O. WILANDER und E. JORPES, Biochem. J. 25, 777 (1931).
² E. FORSGREN, Scand. Arch. Physiol. 55, 144 (1929); Klin. Wschr. 1, 1110 (1929); Dtsch. med. Wschr. 21, 737 (1938).
³ H. v. EULER und A. HOLMQUIST, Pflügers Arch. Physiol. 234, 210 (1934). – T. NORDENSKJÖLD und Mitarbeiter, Pflügers Arch. Physiol. 240, 427 (1938).
⁴ G. ÅGREN, O. WILANDER und E. JORPES, Biochem. J. 25, 777 (1931). – H. HOLMGREN, Morph. Jb. 81, 653 (1932). – A. HOLMQUIST, Z. mikrosk.-anat. Forsch. 25, 30 (1931).
⁵ A. JÖRES, Erg. inn. Med. 48, 574 (1935).

¹ E. SACHS und P. HEATH, Arch. Ophthalm. 24, 142 (1940).