

Results. First-trial latency: Analysis of variance of the first trial latencies (corrected for non-homogeneity of variance by the $\sqrt{x}$ and $\sqrt{x+1}$ transformation; WINER¹⁴) revealed no effect of injection or unconditioned stimulus (UCS) intensity (Table I).

Conditioned avoidance responding (CAR): The design of the present testing situation was such that the subject could avoid footshock in the starting arm by leaving it during the 5-sec period between conditioned stimulus (CS) onset and UCS onset. Analysis of variance of such avoidance responses (Table II) revealed significant (df 2, 60; F 6.65; $p < 0.01$) interaction of injection, behavioral reactivity and UCS intensity. Using the error MS in the denominator of a t -test, individual comparisons of mean values showed that injections of ACTH significantly ($p < 0.05$) increased the number of CARs of group B subjects at 0.2 mA UCS intensity over those of saline or vehicle control subjects; the 2 control treatments did not differ in effects. Moreover, at the 0.4 mA UCS level ACTH significantly ($p < 0.05$) increased total CAR of group A subjects over those of saline or vehicle treatments, which did not differ in effect.

Errors: The number of errors during acquisition of the two-choice discrimination by groups A and B was differentially influenced by ACTH at the 0.4 mA UCS intensity, but not at the 0.2 mA level. At the higher UCS level injection of ACTH significantly ($p < 0.01$) increased the errors to acquisition of group A subjects and significantly ($p < 0.01$) decreased the errors of group B subjects (Table III).

It might be suggested that the large differences in error scores represent a selective bias introduced by dividing the treatment groups according to first trial latency. Such a bias could conceivably have been introduced if group A included a larger proportion of subjects making errors on trial one. However, examination of the data shows that most subjects (72%) made a correct choice (i.e. entered the non-electrified arm) on trial one, and eliminating the effect of the subjects making an incorrect response on trial one did not alter the relationships or statistical probabilities reported here.

Discussion. It could be argued that the number of conditioned avoidance responses a subject would score in leaving the starting arm of the Y-maze might be a function of the stage of learning of the 2-choice discrimination, and thus that the CAR (Table II) and error (Table III) data are not independent. Comparison of Tables II and III reveals a more complex situation. At the low level of footshock ACTH had no effect upon errors, but did affect CARs of group B, while at the higher level of footshock ACTH affected the errors of both groups A and B, but only influenced the CARs of group A.

The disjunction in this task between the effect on the avoidance component and the discrimination component has considerable theoretical significance. It has been suggested that the behavioral influence of pituitary-adrenal interventions may be maximal under conditions of low fear-arousal⁶. The tasks on which this notion is based include one-way active avoidance extinction, passive avoidance and CER⁶. In each of these tasks there is some form of response suppression under latency-sensitive conditions. The results in the present study of the latency-sensitive (avoidance) component of the Y-maze task support and extend this suggestion in that the behavioral effect of ACTH is present in the hyper-reactive subjects at the lower footshock level, and is obscured in these subjects by the more intense footshock. Moreover, these data also show that at the higher footshock level the effects of ACTH on CAR are revealed in subjects of a different activation level. However, the discrimination (error) measure presents a different pattern of effects altogether. The maximum effect of ACTH appears at the higher footshock level and is obscured at the lower level of intensity.

In more general terms these results clearly show that ACTH effects will be seen as varying with the type of behavioral measure used as well as with the type of situation. The theoretical and experimental literature provides neither explanation nor precedent for these results; our conclusion is that exploration of the behavioral and physiological effects of ACTH using a wide range of behavioral situations and indices will be essential before more robust theoretical statements can be justified.

Zusammenfassung. Andauernde ACTH-Behandlung beeinflusst sowohl Vermeidungs- als auch Fehlerkomponenten im Zweiwahl-Y-Labyrinthtest. Die Einwirkungen waren von der Intensität des Elektroschocks wie auch von der Reaktionsfähigkeit der Tiere abhängig.

K. F. LEY and J. A. CORSON¹⁵

Department of Psychiatry, McGill University,
Montreal 112 (Québec, Canada), 12 January 1971.

¹⁴ B. J. WINER, *Statistical Principles in Experimental Design* (McGraw-Hill, New York 1962).

¹⁵ This work was supported by Medical Research Council Grant No. MA 1746. Some of the work was done while the first author held a pre-doctoral terminal year grant from the USPHS and while the second author held a Research Career Award from the Canadian Association for Retarded Children. We are indebted to SUSANNA KERTESZ for help in running the subjects in these studies. Requests for reprints should be sent to Dr. J. A. CORSON, Allan Memorial Institute, 1033 Pine Avenue West, Montreal 112 (P.Q., Canada).

Modifikationen der Nebennierenrindenfunktion in vitro durch 3- und 4-Pyridinderivate¹

In unseren beiden letzten Mitteilungen über dieses Thema haben wir die Bedeutung von Steroiden als Hemmstoffe bzw. Regulatoren diskutiert² und über verschiedene N-Heterocyklen wie Glutarimide und Benzylimidazole als Blocker der Desmolase bzw. der 11 β -Hydroxylase und der 17-Hydroxylase berichtet³.

In der vorliegenden Arbeit wird eine Reihe von Pyridinderivaten, die die Nebennierenrindenfunktion in vitro in differenzierter Weise modifizieren, beschrieben. Auf die Spezifität der Hemmwirkung einiger bereits länger bekannter Derivate, wie Metopiron®, Su-9055, Su-10603, haben wir vor einigen Jahren hingewiesen.⁴

Wir benützten die gleichen Nebennierengewebepräparationen und Inkubationstechniken und bedienten uns der gleichen Analytik und Interpretation, wie wir sie an anderer Stelle ausführlich beschrieben haben^{3,5}. Als Mass

¹ Mitteilung IV «Über die adrenale Steroidbiosynthese in vitro».

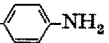
² F. W. KAHNT und R. NEHER, *Helv. chim. Acta* 49, 123 (1966).

³ F. W. KAHNT und R. NEHER, *Helv. chim. Acta* 49, 725 (1966).

⁴ F. W. KAHNT und R. NEHER, *Experientia* 18, 499 (1962).

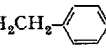
⁵ F. W. KAHNT und R. NEHER, *Helv. chim. Acta* 48, 1457 (1965).

Tabelle I. Spezifität der Hemmung einiger 3- und 4-Pyridinderivate in vitro; EC_{25-50} $\mu\text{g/ml}$ (Nebennierenrindenhomogenat, Rind)

		Aldosteron	18-HO-B	19-HO-B	Cortisol	Corti- costeron (B)	Cortisol/ Aldosteron
1.	$\text{Py}^3\text{-}\overset{\text{CH}_3}{\underset{\text{CH}_3}{\text{C}}}\text{-CO-Py}^3$ (Metopiron®)	6	6	6	30	30	5
2.	$\text{Py}^3\text{-}\overset{\text{CH}_3}{\underset{\text{CH}_3}{\text{C}}}\text{-CH(OH)-Py}^3$ (*Dihydrometopiron*)	3	3	3	30	30	10
3.	$\text{Py}^4\text{-}\overset{\text{CH}_3}{\underset{\text{CH}_3}{\text{C}}}\text{-CO-Py}^4$ (Su-5482) (Py ⁴ -Isomer von 1)	6	6	5	200	200	33
4.	$\text{Py}^4\text{-}\overset{\text{CH}_3}{\underset{\text{CH}_3}{\text{C}}}\text{-CH(OH)-Py}^4$ (Su-14060) (Py ⁴ -Isomer von 2)	6	6	4	300	300	50
5.	$\text{Py}^4\text{-C(CH}_3)_2\text{-CH}_2\text{-Py}^4$ (Ba-37169)	1,2	1,2	1,5	15	30	12
6.	$\text{Py}^4\text{-C(CH}_3)_2\text{-CH}_2\text{-}$ 	0,6	0,6	0,6	15	60	25
7.	$\text{Py}^4\text{-C(CH}_3)_2\text{-CH}_2\text{-}$ 	6	6	12	>30	>30	> 5
8.	$\text{Py}^3\text{-}\overset{\text{CH}_3}{\underset{\text{COCH}_3}{\text{C}}}\text{-Py}^3$ (Su-5159)	1,5	1,5	1,5	30	30	20
9.	$\text{Py}^3\text{-CH=CH-}$ 	1,2	1,2	6	30	>300	25
10.	$\text{Py}^3\text{-CH=CH-}$ 	3	3	30	3	> 30	1
11.	$\text{Py}^3\text{-C=CH-}$  (Su-8398)	0,7	0,7	30	1,5	>300	2
12.	$\text{Py}^3\text{-C(=C(CH}_3)_2\text{)-}$  R=H (Su-8651)	1,2	1,2	1,2	30	30	25
13.	$\text{Py}^3\text{-C(=C(CH}_3)_2\text{)-}$  R=CH ₃ (Su-8652)						
14.	$\text{Py}^4\text{-}$  R=Py ³ (Su-16471)	150	150	150	1,5	>150	0,01
15.	$\text{Py}^4\text{-}$  R=CONHNH ₂ (Su-16543)	>150	>150	>150	6	>150	>0,04
16.	$\text{Py}^3\text{-}$  R=H (Su-9055)	0,3	6	>150	1,2	>150	4
17.	$\text{Py}^3\text{-}$  R=Cl (Su-10603)	6	6	30	1,2	>150	0,2
18.	$\text{Py}^4\text{-CH}_2\text{-}$ 	1,5	1,5	100	100	150	67
19.	$\text{Py}^4\text{-CH(OH)-}$  R=H	6	6	30	30	300	5
20.	$\text{Py}^4\text{-CH(OH)-}$  R=CH ₃	3	3	30	6	> 30	2
21.	$\text{Py}^4\text{-C(OH)-}$  Maggioni 3062	30	30	30	6	>150	0,2
22.	$\text{Py}^4\text{-CO-}$ 	6	6	15	90	150	1,5
23.	$\text{Py}^4\text{-S-}$ 	0,3	3	30	0,3	300	1
24.	$\text{Py}^4\text{-S-}$  R=H (Ba-20995)	0,3	0,3	0,6	12	300	40
25.	$\text{Py}^4\text{-S-}$  R=OCH ₃ (Ba-29996)	0,6	0,6	30	0,6	300	1
26.	$\text{Py}^4\text{-CONH-}$ 	6	6	6	150	300	25
27.	$\text{Py}^4\text{-CONH-}$ 	6	6	6	300	300	50
28.	$\text{Py}^4\text{-NHCO(CH}_2)_4\text{CH}_3$	6	6	6	>30	>30	> 5

Py³=, Py⁴=

Tabelle II. Verschiedenartige Wirkungen von Pyridin-4-Derivaten auf die Corticosteroidogenese in vitro (Nebennierenrindenhomogenat, Rind)

R = 		Aldosteron	18-HO-B	19-HO-B	Cortisol	Corticosteron (B)
R-CH ₂ - 	(Ba-33216)	1,5 [⊖]	1,5 [⊖]	100 [⊖]	100 [⊖]	150 [⊖]
R-CH ₂ CH ₂ - 		1,2 [⊖]	1,2 [⊖]	1,2 [⊖]	30 [⊖]	1,5-6 [⊕] 300 [⊖]
R-CH ₂ CH ₂ CH ₂ - 		60 [⊖]	60 [⊖]	60 [⊖]	60 [⊖]	1,5-30 [⊕] 300 [⊖]
R-CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ - 	(Ba-35991)	30 [⊖]	30 [⊖]	60 [⊖]	90 [⊖]	300 [⊖]
R-CH ₃	(Ba-35846)	300 [⊖]	300 [⊖]	600 [⊖]	1200 [⊖]	30-300 [⊕]
R- 		30 [⊖]	30 [⊖]	90 [⊖]	6-30 [⊕]	6-30 [⊕]
R-CH=CH- 	(Ba-35988)	1,2 [⊖]	1,2 [⊖]	1,2 [⊖]	300 [⊖]	0,3-30 [⊕] 300 [⊖]

In µg/ml, [⊖] für Hemmung auf 25–50% der Kontrollen; in µg/ml, [⊕] für Stimulierung bis auf 200–400% der Kontrollen.

der quantitativen Hemmwirkung wird mit EC_{25–50} diejenige Konzentration in µg/ml Inkubat angegeben, welche die Steroidbildung auf 25–50% des Kontrollwertes herabsetzt (50–75% Hemmung⁶). Als Mass der Spezifität der Hemmwirkung kann z.B. der Quotient von EC_{25–50} von Cortisol/Aldosteron herangezogen werden. Die zum Teil neuen Verbindungen wurden nach bekannten Methoden synthetisiert⁶.

Tabelle I enthält eine Auswahl von Substanzen mit teils recht spezifischer Hemmung auf die Bildung eines oder mehrerer der folgenden Steroide aus endogenem oder exogenem Cholesterin als Vorstufe: Aldosteron, 18-Hydroxycorticosteron, 19-Hydroxycorticosteron, Cortisol (Hydrocortison), Corticosteron. Wie ersichtlich, variiert der als Mass für die Spezifität gewählte Quotient Cortisol/Aldosteron über 4–5 Zehnerpotenzen, nämlich zwischen 0,01 (präferentielle Cortisolblockade) und 50 (präferentielle Aldosteronblockade). Die kleinsten Werte für EC_{25–50} (stärkste Hemmer) liegen dabei zwischen 0,3 und 6 µg/ml. Allen wirksamen, strukturell teilweise sehr verschiedenen Verbindungen ist gemeinsam, dass es sich um 3- und 4-monosubstituierte Pyridinderivate handelt. Zahlreiche entsprechende 2-substituierte, polysubstituierte Derivate oder Pyridiniumverbindungen erwiesen sich in der Regel als uninteressant.

Unter den in Tabelle I angeführten Inhibitoren können schon geringfügig erscheinende Änderungen der Struktur zu beträchtlichen Verschiebungen in der Spezifität der Wirkung führen, ob nun die Bildung nur eines oder mehrerer Steroide beeinflusst wird. So zeigen die 4-Pyridyl-Isomeren (Nr. 3 und 4) von Metopiron® (Nr. 1) und seinem Dihydro-Derivat (Nr. 2) eine selektivere Hemmung der Bildung von Aldosteron als derjenigen von Cortisol (und in diesem Fall Corticosteron). Das gleiche lässt sich z.B. auch für die Verbindung Nr. 9 gegenüber Nr. 10 anführen, oder von Nr. 18 gegenüber Nr. 19 und 20, oder ganz besonders von Nr. 24 gegenüber von Nr. 25. Andererseits verhalten sich strukturell so verschiedene Verbindungen wie Nr. 4 und Nr. 27 wirkungsmässig relativ und absolut gemessen völlig gleich.

Als beste spezifische Aldosteronblocker – die Hemmung der 18-Hydroxylierung eingeschlossen – heben sich die Substanzen Nr. 4, 18, 24 und 27 hervor. Als spezifische

Cortisolblocker (17-Hydroxylaseblocker) lassen sich hingegen Verbindungen Nr. 17, 21 und mit deutlichem Vorsprung die beiden Pyrazol-Derivate 14 und 15 charakterisieren. Eine präferentielle Corticosteronblockade konnte in dieser Reihe bisher überhaupt nicht beobachtet werden. Immer, wenn die Corticosteronbildung gehemmt wird, wie z.B. bei Nr. 1, 2, 5, 8 und 12, handelt es sich um sogenannte Totalblocker (Desmolaseblocker) oder 11β-Hydroxylaseblocker (siehe auch ^{3,4}).

Bei einigen der erwähnten Stoffe war im Gegenteil bei relativ niedrigen Konzentrationen von 0,75–30 µg/ml eine deutliche Mehrbildung von Corticosteron nachzuweisen, die sich nicht nur als Kompensation erklären liess. In Tabelle II sind in diesem Zusammenhang einige 4-Pyridin-Derivate ähnlicher Struktur zusammengestellt. Sie sind insofern bemerkenswert, als kleine Variationen den Wirkungstypus so verändern können, dass in einigen Fällen statt einer Hemmung eine Aktivierung, speziell der Bildung von Cortisol und Corticosteron, gefunden wird (vergleiche insbesondere 4-Benzylpyridin und 4-Methylpyridin). Im Zusammenhang mit neueren Befunden werden wir an anderer Stelle noch näher auf die theoretischen und praktischen Möglichkeiten der Blockierung bzw. Stimulierung dieser beiden Corticosteroide eingehen.

Summary. Within a new series of 3- and 4-monosubstituted pyridin derivatives, some have been found to modify qualitatively and quantitatively the adrenocortical function in vitro as preferential inhibitors of aldosterone or cortisol and as stimulators of corticosterone and cortisol respectively.

F. W. KAHNT⁷ und R. NEHER⁷

Chemische Forschungslaboratorien der Division
Pharmazeutika der CIBA-GEIGY AG,
CH-4002 Basel (Schweiz), 5. April 1971.

⁶ Für die Überlassung zahlreicher anderer Derivate sind wir den Herren Drs. J. J. CHART und KONRAD MEIER sehr zu Dank verpflichtet.

⁷ Gegenwärtige Adresse: Friedrich-Miescher-Institut, Postfach 273, CH-4002 Basel (Schweiz).