

Another compound deserving interest is nikethamide (Coramin®), a respiratory stimulant, which inhibits histamine release in our test system at roughly the same concentration at which it has been reported to suppress anaphylactic histamine release in a guinea-pig mast cell or lung slice system²⁸. Nicotinamide, which is an inhibitor of diphosphopyridine nucleotidase like nikethamide but lacks respiratory stimulant activity, has previously been shown to inhibit anaphylactic histamine release from various tissues^{26, 28, 36} and is also active in our system. On the other hand, very low concentrations of the glucufuranoside derivative, tribenoside, protect rat mast cells against histamine release induced by compound 48/80 or C44 680-Ba, the ED₅₀ being 0.02 mM (10 µg/ml) in both cases (Figure 1). Besides being more active than flufenamic acid, tribenoside is also less easily washed off from

treated cells. In the experiment outlined in Figure 2, the concentration of these compounds was chosen so as to produce a 50% inhibition. It is evident that after 1 washing tribenoside caused about 40% and flufenamic acid about 20% inhibition, whereas after 3 washings the inhibitory capacity of tribenoside still remained about 20% and flufenamic acid displayed no activity at all.

Zusammenfassung. In einem Peritonealzell-System der Ratte zeigt ein Alkyl-Prolyl-Derivat von Corticotrophin (C44 680-Ba) eine grössere Histamin-freisetzende Wirkung als Compound 48/80. Dieser Effekt der beiden Substanzen kann durch Verbindungen gehemmt werden, die anti-inflammatorische und/oder anti-allergische Eigenschaften besitzen. Tribenosid (Glyvenol®) und Polyphloretinphosphat erweisen sich als sehr aktive Inhibitoren dieser chemisch induzierten Histamin-Freisetzung, während Diaethylcarbamazin und Dinatriumcromoglycat nur einen geringen Hemmeffekt ergeben.

M. RÜEGG and R. JAGUES³⁷

Biological Department, Pharmaceutical Division,
Ciba-Geigy Ltd., CH-4002 Basel (Switzerland),
3 October 1973.

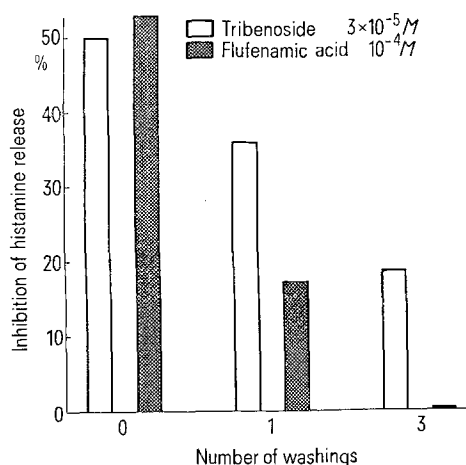


Fig. 2. Inhibition of histamine-release by tribenoside and flufenamic acid after washing-out procedures. The left-hand columns represent the inhibitory effect obtained in the presence of the inhibitors, and the middle and right-hand columns the results obtained after the cell suspensions had been washed once or 3 times, respectively. In these cases the supernatant pipetted off was replaced by fresh cell-free peritoneal fluid, diluted 1:1 with the medium in which the substances were dissolved.

²³ P. EYRE, Br. J. Pharmac. 43, 302 (1971).

²⁴ B. FREDHOLM and K. STRANDBERG, Int. Conf. on Prostaglandins, Vienna 1972.

²⁵ M. C. HINES, G. F. MOSS and J. S. G. COX, Biochem. Pharmac. 21, 171 (1972).

²⁶ CH. D. MAY, B. B. LEVINE and G. WEISSMANN, Proc. Soc. exp. Med. 133, 758 (1970).

²⁷ J. L. MONGAR and H. O. SCHILD, J. Physiol., Lond. 135, 301 (1957).

²⁸ I. MOTA, W. D. DA SILVA and J. F. FERNANDES, Br. J. Pharmac. 15, 405 (1960).

²⁹ S. NORN, Acta pharmac. toxic. 22, 369 (1965).

³⁰ S. NORN, Acta pharmac. toxic. 30, suppl. 1, 1 (1971).

³¹ R. P. ORANGE, M. D. VALENTINE and K. F. AUSTEN, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 127, 127 (1968).

³² W. SMITH and J. H. HUMPHREY, Br. J. exp. Path. 30, 560 (1949).

³³ K. STRANDBERG and A. A. MATHÉ, Life Sci. 17, 701 (1972).

³⁴ E. R. THRETHEWIE, Aust. J. exp. biol. med. Sci. 29, 443 (1951).

³⁵ E. R. THRETHEWIE, Aust. J. exp. Biol. 35, 541 (1957).

³⁶ E. MIDDLETON and A. DEVI, J. Allergy 34, 331 (1963).

³⁷ The skilful technical assistance of Miss S. THORWIRTH and Mr. U. NIEDERHAUSER is gratefully acknowledged.

Über den Einfluss der Kettenlänge bei C-terminalen Sequenzen der Substanz P — in Vergleich mit analogen Physalaemin- und Eledoisin-Peptiden — auf die Wirksamkeit am Meerschweinchen-Ileum

Der von EULER und GADDUM¹ in Hirn und Darm des Pferdes entdeckte und als Substanz P (SP) bezeichnete Faktor konnte von VÖGLER et al.², BOISSONNAS et al.³ und ZUBER⁴ (auch aus anderen Spezies) isoliert und gereinigt werden. An der von LEMBECK⁵ gefundenen, die Speichelsekretion stimulierenden Wirkung konnten CHANG und LEEMAN⁶ die Identität mit einem aus Ratten- und Rind-Hypothalamus isolierten sialogenen Peptid nachweisen und dessen Sequenz⁷ aufklären. Durch

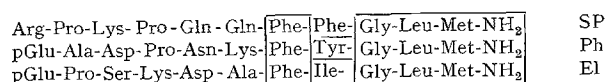


Fig. 1. Vergleich der Sequenzen von Substanz P (SP), Physalaemin (Ph) und Eledoisin (El)

Synthese erhaltenes Material war hinsichtlich hypotensiver, sialogener Wirkung, Kontraktion am Meerschweinchen-Ileum und Ratten-Duodenum vergleichbar⁸. STUDER et al.⁹ fanden für SP aus Pferdendarm die gleiche Sequenz.

Das mit Eledoisin, aus der Speicheldrüse des Octopoden *Eledone moschata*¹⁰ und Physalaemin, aus der Haut des Frosches *Physalaemus fuscumaculatus*¹¹ vergleichbare Wirkungsbild spiegelt sich auch in der Strukturähnlichkeit dieser drei hypotensiven Peptide wider (Figur 1).

LÜBKE et al.¹² fanden an C-terminalen Sequenzen des Eledoisins, dass, beginnend vom Pentapeptid, die Wirksamkeit schrittweise zunimmt und das Okta- bzw. Nonapeptid mehrfache Wirkung des Undekapeptides zeigen. Dies bestätigten BERNARDI et al.¹³ auch für das Ph, wobei hier das Hexapeptid 6–11 bereits volle Wirkung zeigt.

OEHME et al.¹⁴ fanden für C-terminale Eledoisinpeptide durch Einbau von Hydrazidbindungen, dass diese Wirkungszunahme bei Störung der normalen Polyamidstruktur ausbleibt. Bei allen Analogen des El und Ph stimmen hypotensiver Effekt und glattemuskuläre Wirkung hinsichtlich ihrer Grössenordnung gut überein¹⁵, so dass zur Prüfung der Sequenzabhängigkeit der Wirksamkeit auch Befunde am Meerschweinchen-Ileum aussagefähig sind.

Material und Methoden. Die SP-Sequenzen wurden durch schrittweise Anknüpfung der Boc-Aminosäuretrichlorphenylester bzw. bei Boc-Gln und Boc-Arg(NO₂) über die gemischten Anhydride aufgebaut. 3-Lys wurde über Bpoc-Lys(Boc)-OTcp, 2-Pro als Bpoc-Pro-OTcp und 1-Arg als Boc-Arg(NO₂) angekuppelt. Die Aminoschutzgruppen wurden mit HCl, die NO₂-Gruppe mit HF abgespalten. Alle Peptide waren nach Reinigung elektrophoretisch und chromatographisch einheitlich. Sie zeigten die erwarteten Aminosäureanalysen. Die Synthese ist als Schema in Figur 2 dargestellt. Eine ausführliche Veröffentlichung darüber ist in Vorbereitung¹⁶. Zur biologischen Methodik und Versuchsauswertung vgl. OEHME et al.^{17,18}. Die Penta- bis Undekapeptide wurden in dieser Arbeit am Organ stets mit einem Lys-Phe-Ile-Gly-Leu-Met-NH₂-Standard verglichen.

Ergebnisse und Diskussion. In der Tabelle sind die relativen Aktivitäten der freien Peptide 5b bis 11c sowie einige analytische Daten zusammengestellt. Die relativen Aktivitäten (Verhältnis der ED₅₀-Werte) wurden auf SP = 100 bezogen. Die ED₅₀ für SP wurde am Meerschweinchen-Ileum in vitro mit 5×10^{-9} M ermittelt. SP-Sequenzen zeigen wie bei El und Ph, dass die Wirksamkeit bei 8 bis 9 Aminosäureresten ein Maximum durchläuft. Die Abhängigkeit der Wirkung von der Kettenlänge ist für diese 3 Peptide in Figur 3 dargestellt.

Der Gang der biologischen Aktivität weist eine grössere Ähnlichkeit zwischen den entsprechenden SP- und Ph-Sequenzen gegenüber El auf, was durch die grösseren Gemeinsamkeiten im C-terminalen Bereich in Position 8 (vgl. Figur 1) zu erklären ist.

Interpretiert man die mit schrittweiser Sequenzverlängerung auftretende Wirkungssteigerung als Verstärkereffekt und bezieht auf die essentielle C-terminale Pentapeptidsequenz (wie auch aus der Tabelle, Spalte 5, hervorgeht), so ergibt sich für SP ein ähnliches Bild der Wirkungsverstärkung wie für El und Ph-Sequenzen (vgl. auch¹⁴). Das spricht für einen gleichen Wirkungsmechanismus der 3 Peptide. Man kann somit Eledoisin- und Physalaeminpeptide, die bisher als unphysiologische Peptidwirkstoffe anzusehen waren, als Strukturanaloga der bei Warmblütlern vorkommenden und möglicherweise Regulationsfunktionen ausübenden SP betrachten.

Summary. Substance P has been synthesized by stepwise coupling of trichlorophenyl esters or mixed anhydrides of Boc- or Bpoc-protected amino acids. In the guinea-pig ileum the contractions of N-terminal shortened substance P peptides are estimated and discussed in relation to the chain length. The octapeptide is the most effective, similar to what is known of eledosin and physalaemin C-terminal sequences.

J. BERGMANN, M. BIENERT, H. NIEDRICH,
B. MEHLIS und P. OEHME²⁰

Zentralinstitut für Molekularbiologie der Akademie der Wissenschaften der DDR, Bereich Wirkstoffforschung, Wilhelmstrasse 4, DDR-1136 Berlin-Friedrichsfelde (DDR), 3. September 1973.

¹⁶ M. BIENERT, J. prakt. Chem., in Vorbereitung.

¹⁷ P. OEHME, J. BERGMANN, H. NIEDRICH, F. JUNG und G. MENZEL, Acta biol. med. germ. 25, 613 (1970).

¹⁸ P. OEHME, J. BERGMANN, M. FALCK, J. G. REICH, W. E. VOGT, H. NIEDRICH, J. PIRRWITZ, CH. BERSECK und F. JUNG, Acta biol. med. germ. 28, 109 (1972).

¹⁹ E. SCHNABEL und A. OBERDORF, in *Protein and Polypeptide Hormones*, Proc. Int. Sympos., Liège 1968 (Ed. MARGOULIS; Excerpta Med. Int. Congress Series, No. 101) p. 224.

²⁰ Für zuverlässige Assistenz sei den Mitarbeiterinnen M. EICHSTÄDT, M. KÜHLER und M. RUDEL herzlich gedankt.

The Effects of Some Tetracycline Derivates on Ehrlich Ascites Carcinoma and HeLa Cells in vitro

In our screening program of microbial metabolites as the potential cancerostatics, we are interested in the effects of some derivatives of tetracycline (TC) on Ehrlich ascites carcinoma (EAC) and HeLa cells. VDOVČENKO studied the effect of TC on respiration or on the absorption of oxygen by EAC cells, and he found that TC

inhibited the endogenous respiration of cancer cells¹⁻³. From the other substances with tetracycline character, 6-demethyl-6-desoxytetracycline suppressed the growth of mammary adenocarcinoma 755, sarcoma 180, Ehrlich ascites carcinoma and lymphocytic leukemia L 1210⁴. Ekatetron and ekatetron triacetate inhibited the incor-

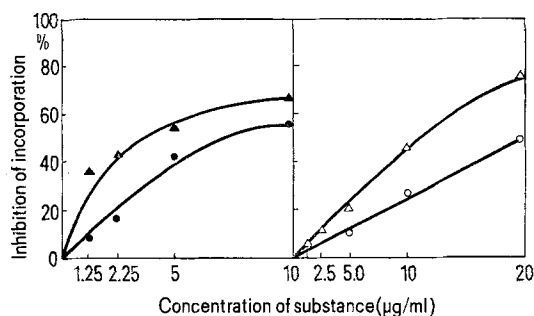


Fig. 1. Inhibition of incorporation of ¹⁴C-labelled precursors of proteo and nucleic acids synthesis in EAC cells by anhydrotetracycline. ●, adenine; ▲, L-valine; ○, thymidine; Δ, uridine.

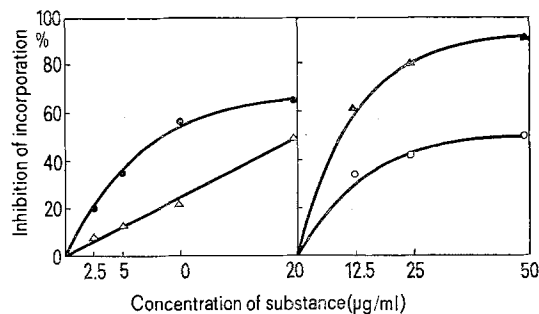


Fig. 2. The effect of 12a-deoxydimethylaminotetracycline on the incorporation of ¹⁴C-labelled precursors into EAC cells. ●, adenine; ▲, L-valine; ○, thymidine; Δ, uridine.