Short Communications

Zur Strahlenschutzwirkung eines SH-haltigen Vitamin B₆-Derivates

RUPRECHT KOCH*

Radiologisches Institut der Universität Freiburg/Brsg., Deutschland; Institut für Organische Chemie und Biochemie der Universität Stockholm, Schweden

Vor kurzem beschrieben wir den Strahlenschutzeffekt eines sulfhydrylhaltigen Pyridoxinderivates bei der Maus¹. Der Beobachtung kommt insofern sowohl praktische als auch theoretische Bedeutung zu, als wir selbst früher ausführlich dargestellt haben²⁻⁴, dass offenbar nur Sulfhydrylkörper der sogenannten Cystein-Cysteaminreihe beim Tier in der Lage seien gegen eine Einwirkung energiereicher Strahlen zu schützen. Die Körper dieser Reihe haben die allgemeine Struktur:

dazu gehören alle entsprechenden α -Aminosäuren. Auf die Bedeutung von x , R_1 und R_2 soll hier nicht eingegangen werden; wir verweisen auf unsere früheren Arbeiten. Unter cyclischen Verbindungen mit freier SH-Gruppe sind mit Sicherheit bisher keine strahlenschützenden gefunden worden. Das sulfhydrylhaltige Pyridoxinderivat stellt die erste Ausnahme dar. Es handelt sich um das 3-Mercaptomethyl-4-hydroxymethyl-5-hydroxy-6-methylpyridin**, ein echtes Derivat (I) des Vitamin B₆ (kurz B₆-SH genannt):

Es lassen sich, wie wir früher ausgeführt haben¹, keine Unterlagen gewinnen, dass Pyridoxin selbst in der Lage ist eine Strahlenschutzwirkung zu entfalten. — Wie im Falle anderer Schutzstoffe^{5,6} ist zu prüfen, ob auch nach peroraler Applikation ein Effekt zu erzielen ist. Ferner interessiert, ob die Wirkung an das unversehrte Mercapto-Pyridoxinmolekül gebunden ist.

Experimenteller Teil. Material und Methode: Weibliche 120—150 g schwere Ratten im Falle des B₆-SH-Fütterungsversuches und weibliche 20 g schwere Mäuse bei der Prüfung des 3-Mercaptomethylpyridins werden einer Röntgenganzkörperbestrahlung unterworfen. Beide Tierarten entstammen institutseigenen Inzuchtstämmen. Die Fütterung erfolgt bei den Ratten mit Latz-Rattenkekse und Wasser *ad libitum*, bei den Mäusen mit Hafer/Weizen und einem Milchgriespudding. B₆-SH wird morgens nach 12 stündigem Fasten 100 mg/120 g Ratte per Schlundsonde und 60 min vor der Bestrahlung als wässrige Lösung appliziert. Diese B₆-SH-Dosis wird sehr gut vertragen. Wir richten uns in der Dosierung nach anderen Versuchen mit Homocysteinethiolacton⁵ und β -Aminoäthyl-isothiuronium-Br-HBr (AET)⁶. — Die Mäuse erhalten 5 min vor dem Strahleninsult 3 mg 3-Mercaptomethylpyridin (wiss. Abt. Fa. E. Merck A.G./Darmstadt)/20 g Maus intraperitoneal. Es handelt sich ebenfalls um eine wässrige Lösung. Die Dosis entspricht etwa dem in früheren Versuchen injizierten B₆-SH und wird von den Mäusen gerade noch vertragen. D.h. es treten keine Todesfälle auf, jedoch schon die ersten Intoxikationserscheinungen.

* Herrn Professor Philipp/Freiburg zum 65. Geburtstag gewidmet.

** Die Substanz, die von der Fa. E. Merck A.G./Darmstadt (Deutschland) zum Patent angemeldet ist, wurde uns von dieser in lebenswürdigerweise zur Verfügung gestellt. Herrn Dr. O. Zima danken wir für seine Hilfe.

Die Bestrahlungsbedingungen sind folgende: Apparatur der Fa. C. H. F. Müller/Hamburg, M.G. 300, 200 kV, 15 mA, HWS: 0,57 mm Cu, 306 r/min, Fokus-Tierabstand 30 cm. Jeweils 3 Ratten bzw. 6 Mäuse werden in einem dafür konstruierten Celluloidbehälter bestrahlt. Kontrolltiere erhalten nur eine Röntgenbestrahlung und keinerlei Behandlung.

Die Ergebnisse des B_6 -SH-Versuches sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Hieraus ergibt

Tabelle 1.

Dosis in r	Zahl d. Tiere B_6 -SH	Prozent tot	Zahl d. Tiere Kontrolle	Prozent tot
300	—	—	50	10
400	25	4	50	22
500	50	12	50	58
550	75	21,3	150	47,4
600	50	32	50	80
700	75	84	—	—

sich nach der Probit-Analyse die Regressionsgleichung für:

$$\begin{aligned} B_6\text{-SH: } y &= 13,34 x - 32,27 \\ \text{Kontrolle: } y &= 5,91 x - 11,04 \\ \text{DL } 50 &= 622,1 \pm 20,1 \text{ r} \\ \text{DL } 50 &= 517,6 \pm 29,6 \text{ r} \end{aligned}$$

Zwischen den beiden DL 50-Werten besteht eine gesicherte Differenz ($P = 0,01-0,001$). In Figur 1 sind die Regressionslinien aufgetragen. Sie vermitteln uns deutlich das Bild des Schutzeffektes.

Durch die verschiedenartige Neigung beider Kurven ist der Unterschied im Bereich der höheren Strahlendosen nicht so ausgeprägt wie bei niederen, z. B. 300 r, 400 r oder 500 r. Eine eventuelle Parallelität beider Kurven kann ausgeschlossen werden ($P = < 0,001$).

Nachdem sowohl nach parenteraler als peroraler Applikation des B_6 -SH ein Strahlenschutzeffekt bei Maus und Ratte auftritt, erhebt sich die Frage, ob derselbe streng an die Pyridoxinkonfiguration gebunden ist. Wir untersuchen daher entsprechend unseren ersten B_6 -SH-Versuchen die Wirkung des 3-Mercaptomethylpyridins (II), eines Körpers, dem 3 Substituenten des Pyridinringes im Vergleich zum Pyridoxin fehlen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 zusammengestellt.

Mortalität in Probiteinheiten

Fig. 1. Dosis-Wirkungskurve bei Ganzkörperbestrahlung.

— · — · — : Kontrollen

+ — + : B_6 -S

Abszisse: log. der in r gemessenen Dosis, darunter die regelrechten r-Werte.

Ordinate: Prozent der gestorbenen Tiere in Probiteinheiten.

Tabelle 2.

Dosis in r	Zahl d. Tiere Mercapto- methyl- pyridin	Prozent tot	Zahl d. Tiere Kontrolle	Prozent tot
500	50	18	50	8
550	50	22	—	—
575	—	—	50	22
600	50	74	—	—
620	—	—	50	64
700	50	94	50	92

Aus ihnen ergeben sich die Regressionsgleichungen für:

3-Mercaptomethylpyridin:

$$y = 18,31 x - 45,54; \text{DL } 50 = 575,7 \pm 14,8 \text{ r}$$

Kontrolle:

$$y = 20,19 x - 51,16; \text{DL } 50 = 604,8 \pm 7,2 \text{ r}$$

Fig. 2. Dosis-Wirkungskurven bei Ganzkörperbestrahlung.

--- : Kontrollen.

+—+ : 3-Mercaptomethylpyridin.

Abszisse: log. der in r gemessener Dosen, darunter die regelrechten r-Werte.

Ordinate: Prozent der gestorbenen Tiere in Probiteinheiten.

Zwischen den beiden DL 50-Werten besteht keine gesicherte Differenz ($P = 0,8-0,9$). Eine weitere Prüfung gibt die Gewähr, dass beide Regressionslinien parallel verlaufen (für Nicht-Parallelität: $P = 0,9-0,8$). Figur 2 zeigt die Verhältnisse graphisch. Die leichte Linksverschiebung der 3-Mercaptomethylpyridin-Kurve ist sehr wahrscheinlich auf eine gewisse Giftwirkung des Mercaptans zu beziehen und auf keinen Fall im Sinne einer Sensibilisierung zu deuten.

Diskussion. Die vorliegenden Ergebnisse bestätigen unsere ersten Beobachtungen, dass im Mercapto-Pyridoxin ein Schutzkörper gegenüber energiereichen Strahlen vorliegt. Derselbe tritt sowohl nach parenteraler als auch peroraler Applikation auf und entspricht damit den Schutzstoffen der Cystein-Cysteaminreihe. Der perorale Schutz lässt sich mit dem nach Homocysteinethiolacton oder AET vergleichen. Mit diesem Befund lässt sich die Vorstellung einer spezifischen Strahlenschutzwirkung der Sulfhydrylkörper der Cystein-Cysteaminreihe nicht mehr aufrecht erhalten.

Entsprechend unseren Untersuchungen im Bereich der Cysteaminreihe prüfen wir auch beim Mercapto-Pyridoxin, welche Bedeutung den einzelnen Substituenten des Pyridinringes zukommt. Dabei zeigt sich, dass das einfache 3-Mercaptomethylpyridin vollkommen unwirksam ist.

Wie im Falle der Schutzwirkung der Cystein-Cysteaminkörper ist auch im vorliegenden eine Deutung des Schutzmechanismus nicht möglich.

Die Untersuchungen wurden mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft ausgeführt.

1. Koch, R. und Langendorff, M. *Strahlentherapie* 107 (1958) 121.
2. Koch, R. *Fortschr. Gebiete Röntgenstrahlen u. Nuklearmed.* 86 (1956) 767.
3. Langendorff, H. und Koch, R. *Strahlentherapie* 99 (1956) 567.
4. Langendorff, H., Koch, R. und Hagen, U. *Strahlentherapie* 100 (1956) 137.
5. Langendorff, M. und Koch, R. *Strahlentherapie* 106 (1958) 451.
6. Langendorff, H. und Koch, R. *Naturwiss.* 43 (1956) 524.

Eingegangen am 27. September, 1958.

On the Significance of the Release of two Different Peptides from Fibrinogen during Clotting

TORVARD C. LAURENT and
BIRGER BLOMBACK

Department of Chemistry, Karolinska
Institutet, Stockholm, Sweden

The first step in the clotting process when fibrinogen is incubated with thrombin is a release of two different peptides, A and B^{1,2}. It has been shown that clotting also occurs after incubation with reptilase when only peptide A is released^{3,4}. This raises the question of the biological significance of the release of peptide B.

The second step in the clotting process with thrombin has been shown to be a formation of an intermediate polymer with a varying length and a width corresponding to two parallel fibrinogen molecules⁵. Casassa⁶ showed that it is possible by means of light-scattering to obtain the ratio of the molecular weight and molecular length (M/L) of this polymer. The second