Zeitschrift: Verhandlungen der Schweizerischen Naturforschenden Gesellschaft = Actes de la Société Helvétique des Sciences Naturelles = Atti della Società Elvetica di Scienze Naturali

Herausgeber: Schweizerische Naturforschende Gesellschaft

Band: 136 (1956)

Artikel: Aldosteron und andere Nebennierenrinden-Hormone

Autor: Wettstein, A.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-90509

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 05.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Aldosteron und andere Nebennierenrinden-Hormone

Von

A. Wettstein

Das Forschungsgebiet der Nebennierenrinde (NNR), ihrer Inhalts- und Wirkstoffe hat heute einen solchen Umfang angenommen, daß es sachlich und historisch kaum noch von einem Einzelnen umfaßt werden kann. Sachlich wäre es hiebei von den verschiedensten Disziplinen aus zu beleuchten, vom Standpunkte des Anatomen, Physiologen und Pharmakologen, des organischen und Bio-Chemikers und nicht zuletzt des Klinikers. Historisch müßte man bei der Veröffentlichung von Eustachius («*De Renibus Libellus*», Venedig 1563) beginnen, in der erstmals Nebennieren (NN) als *glandulas renibus incumbentes* abgebildet wurden. Von hier bis zu einem neuzeitlichen mikroskopischen Schnitt durch die verschiedenen morphologischen Zonen der menschlichen NN ist ein weiter Weg. Auf einem solchen Schnitt würde man das Gebiet der Rinde mit ihren verschiedenen Zonen sehen, ferner das Mark, das in unserem Zusammenhang nicht interessiert. Schon bisher sprachen viele Befunde[1] dafür, daß vorwiegend die *zona fasciculata* der Rinde verantwortlich sei für die Produktion der sogenannten Glucocorticoid-Hormone, wie Hydrocortison, die *z. glomerulosa* speziell für diejenige der Mineralcorticoide, also Aldosteron. Diese Annahme wurde aber erst in den letzten Monaten direkt bewiesen[2], nämlich durch aerobe Inkubation der einzelnen Gewebe tierischer NNR und physicochemische und biologische Analyse der entstandenen Corticoide.

Das Intervall von nahezu 400 Jahren zwischen den erst- und letztgenannten Befunden können wir hier natürlich nicht ausfüllen. Einige Schlaglichter müssen genügen, worauf wir uns dann eingehender der chemischen und biologischen Erforschung der NNR-Hormone in den vergangenen drei Jahren zuwenden wollen. Bei dieser Betrachtungsweise geschieht leider den klassischen Arbeiten Unrecht. Sie beginnen bereits im letzten Jahrhundert mit dem Nachweis der Notwendigkeit der NN für das menschliche und tierische Leben durch Addison und Brown-Séquard und führen zur Gewinnung wirksamer NNR-Extrakte um 1930 durch Hartman, Rogoff sowie Swingle und zur Erkennung der Bedeutung der NN für den Elektrolytstoffwechsel durch Loeb. Ihren Höhepunkt erreichen sie in den folgenden zehn Jahren mit der Isolierung und Konstitutionsaufklärung einer ganzen Anzahl kristallisierter Steroide

aus NN-Extrakten durch WINTERSTEINER, KENDALL und insbesondere REICHSTEIN[3]. Bis heute sind so 33 Verbindungen beschrieben worden, die (neben Cholesterin) alle Klassen der Steroidhormone und ihrer Derivate umfassen, nämlich Oestron, Testosteron[4] und vier weitere Androstanderivate und Progesteron sowie 25 Abkömmlinge davon. Von den letzteren erwiesen sich die meisten als physiologisch inaktiv, zu ihnen gehören aber auch die bereits in den dreißiger Jahren isolierten *sechs klassischen Hormone* mit typischer NNR-Wirkung (Abb. 1): Hydrocortison

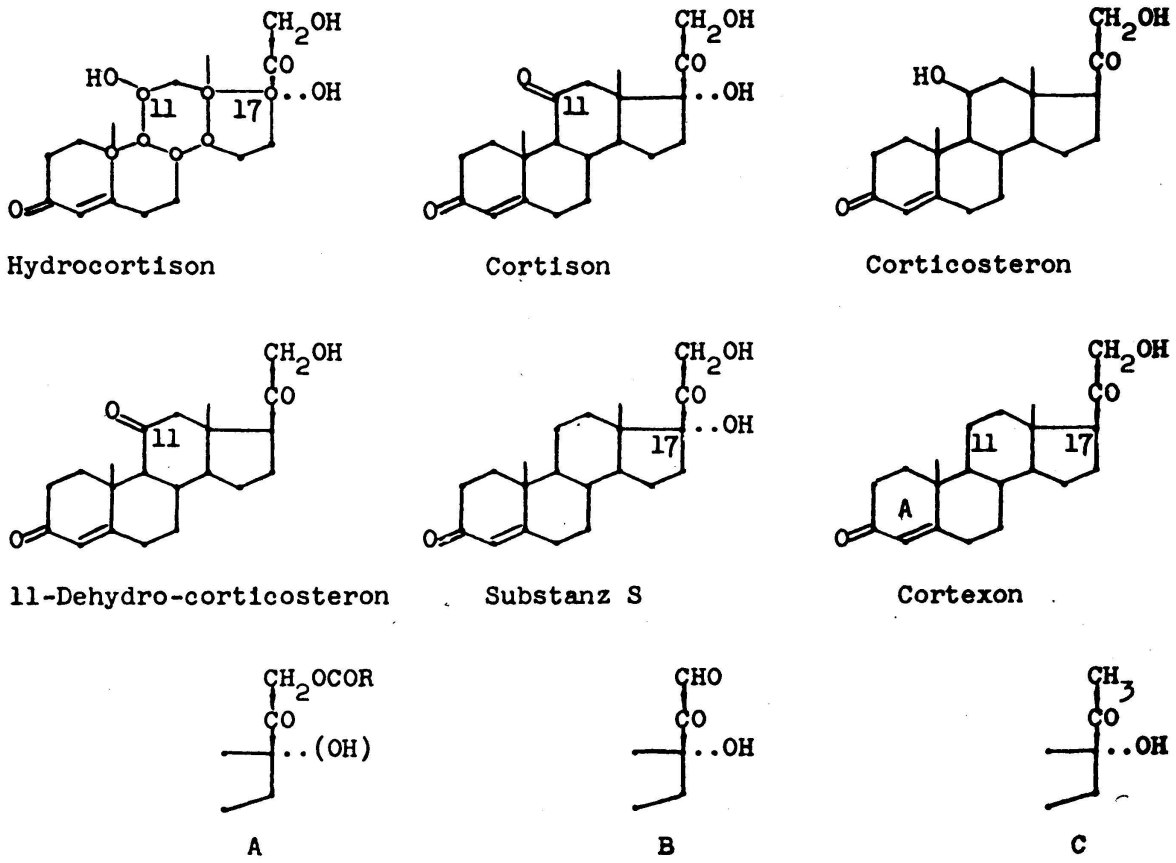


Abbildung 1
Die 6 klassischen Nebennierenrinden-Hormone und einige ihrer Abwandlungen

(Cortisol) und Corticosteron als hauptsächliche Sekretionsprodukte, ferner Cortison, 11-Dehydro-corticosteron, 17α-Hydroxy-cortexon (Substanz S) sowie Cortexon (11-Desoxy-corticosteron). Vom Cortexon, das bereits die typische Ketolseitenkette und die α, β-ungesättigte Ketogruppe enthält, leiten sich die übrigen genannten NNR-Hormone dadurch ab, daß zusätzlich Hydroxylgruppen bzw. eine Oxogruppe eintreten.

Diese weiteren Substituenten entscheiden nun über den *Wirkungscharakter* der einzelnen Verbindungen. Sie sind (Abb. 1), um bei der

eingangs erwähnten rohen Einteilung in Glucocorticoide und Mineralcorticoide zu bleiben, in der Reihenfolge abnehmender Glucocorticoid- bzw. zunehmender Mineralcorticoid-Eigenschaften abgebildet. Für die Glucocorticoide sind charakteristisch u. a. ihre Fähigkeit, die Umwandlung von Protein in Zucker zu befördern und damit langdauernde Muskelarbeit zu ermöglichen, die Nierenfunktion (Diurese) zu gewährleisten und allgemein entzündungswidrige und antiarthritische Wirkungen auszuüben. Demgemäß ergibt z. B. der repräsentative Test der Ablagerung

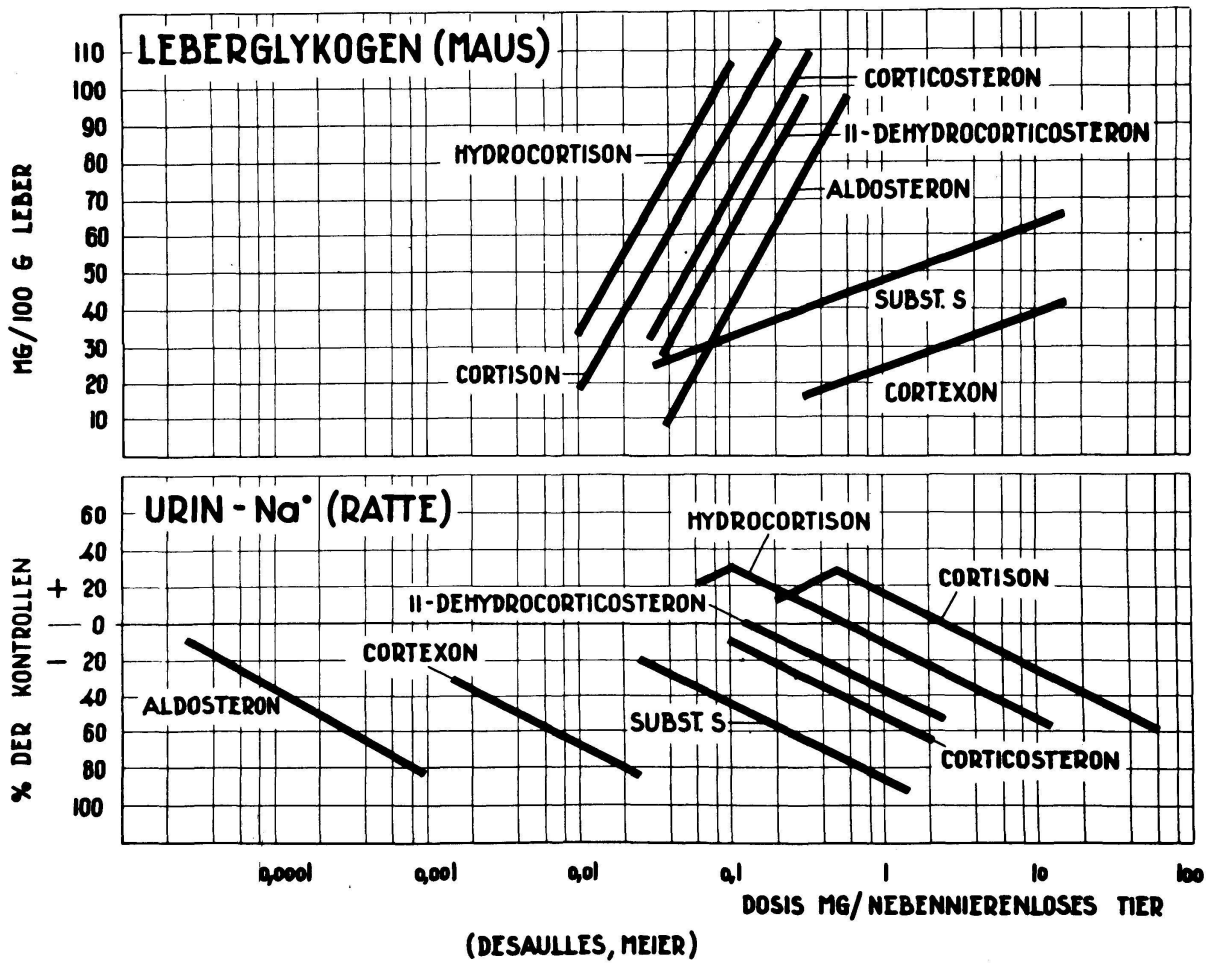


Abbildung 2
Glucocorticoid- und Mineralcorticoid-Aktivität der 6 klassischen Nebennierenrinden-Hormone und des Aldosterons

von Glykogen in der Leber (Abb. 2) die bekannte Tatsache, daß die Wirksamkeit vom Hydrocortison zum Cortexon sich kontinuierlich vermindert[5]. Als typisch für die Mineralcorticoide können u. a. gelten die Gewährleistung des Überlebens unter Erhaltung des Körpergewichts nach Ausfall der Nebennieren, ein Effekt, der insbesondere auf der Regulation des Elektrolytstoffwechsels (durch Na-Retention und K-Ausscheidung) und des Wasserhaushaltes beruht. In Abbildung 2 ist auch die charakteristische, stark verminderte Na-Ausscheidung insbesondere mit den Mineral-

corticoiden ersichtlich, während die hier viel weniger wirksamen Glucocorticoide in kleinen Dosen sogar eine Mehrausscheidung, übrigens auch von Wasser, bewirken. Der letzte Effekt scheint wesentlich durch herabgesetzte Ausschüttung von antidiuretischem Hormon aus dem Hypophysenhinterlappen bedingt. Sämtliche NNR-Hormone verursachen vermehrte K-Ausscheidung. Betrachtet man noch einmal die Formelbilder nur dieser klassischen Hormone, so scheinen die glucocorticoiden Eigenschaften vor allem durch das Vorliegen einer Sauerstoffunktion in 11-Stellung, in weit geringerem Maße durch eine Hydroxylgruppe in 17α-Stellung bedingt, während das Fehlen dieser Substituenten, besonders am C-Atom 11, ausgesprochen mineralcorticoide Eigenschaften verleiht.

Die praktisch äußerst wichtigen Arbeiten über die *Teilsynthese* dieser Hormone aus anderen Naturstoffen und ihre *Totalsynthese* aus einfachsten chemischen Bausteinen fallen im wesentlichen in die Jahre 1937 bis 1952 und damit außerhalb unserer Betrachtung. Sie sind verknüpft mit den Namen Reichstein, Kendall, Miescher, Peterson, Sarett, Woodward und anderen.

Die sehr zahlreichen Bemühungen zur *Abwandlung der Grundsubstanzen* haben zu recht interessanten Ergebnissen geführt (Übersichten s. [6], [7]). Vorausgeschickt werden muß, daß sich an ihrem sterischen Aufbau ohne weitgehenden Verlust der typischen Wirkungen nichts ändern läßt. Allerdings sind von den z. B. beim Hydrocortison infolge der sieben asymmetrischen C-Atome (in Abb. 1 mit kleinen Ringen bezeichnet) möglichen 128 stereoisomeren Formen bisher nur einige wenige bekannt. Was die Seitenkette anbelangt, so führte die Veresterung (oder Glykosidierung) der endständigen Hydroxylgruppe zu Verbindungen (Abb. 1, A) mit therapeutisch besonders geeignetem Wirkungsablauf. Die Derivate (B) von Hydrocortison, Cortison und Substanz S, in denen diese primäre Carbinol- zur Aldehydgruppe oxydiert ist, besitzen noch ungefähr die gleiche Wirksamkeit wie die ursprünglichen Hormone. Ersetzt man umgekehrt in Substanz S diese endständige Hydroxylgruppe durch Wasserstoff, so erhält man eine ebenfalls in den NN vorkommende Verbindung (C = 17α-Hydroxy-progesteron) mit schwacher, nur androgener Aktivität; analog geht Cortexon unter weitgehendem Verlust der lebenserhaltenden Wirkung in Progesteron, das genuine Hormon des Gelbkörpers, über. Reduktion der Ketogruppe in der Seitenkette oder im Ring sowie der Doppelbindung wirkt sich ebenfalls ungünstig aus.

In neuester Zeit hat sich nun gezeigt, daß die NN und die Nieren das Steroidgerüst auch in anderen als den «klassischen» Stellungen 11, 17 und 21 zu hydroxylieren vermögen, nämlich am C-Atom 6, 18 und 19 bzw. 16. Die Untersuchung von solchen *Derivaten mit zusätzlicher Hydroxylgruppe* (Übersicht s. [6]) wurde insbesondere dadurch erleichtert, daß auch Mikroorganismen solche Reaktionen herbeiführen. Allerdings gelang die Einführung der 6α, 18- und 19-Hydroxylgruppe bis heute auf diesem Wege nicht, dafür diejenige einer ganzen Anzahl weiterer Hydroxylgruppen. Diese Umwandlungen, die eingehend auch bei uns

bearbeitet wurden[8], s. a.[9], erfolgen nach Methoden der aeroben Inkubation, wie sie ebenfalls zur Herstellung der Antibiotika dienen. Während aber die mikrobiologische Einführung der 11α- oder 11β-Hydroxylgruppe zur technischen Produktion u. a. von Cortison und Hydrocortison von größter Bedeutung ist, haben die auf diese Weise gewonnenen übrigen, neuen Hydroxylderivate bisher eher enttäuscht, da sie bestenfalls einen Bruchteil der Wirksamkeit der Grundsubstanz aufweisen. Die interessante Oxygenierung in 18-Stellung wird im Zusammenhang mit der Biosynthese von Aldosteron noch zu besprechen sein.

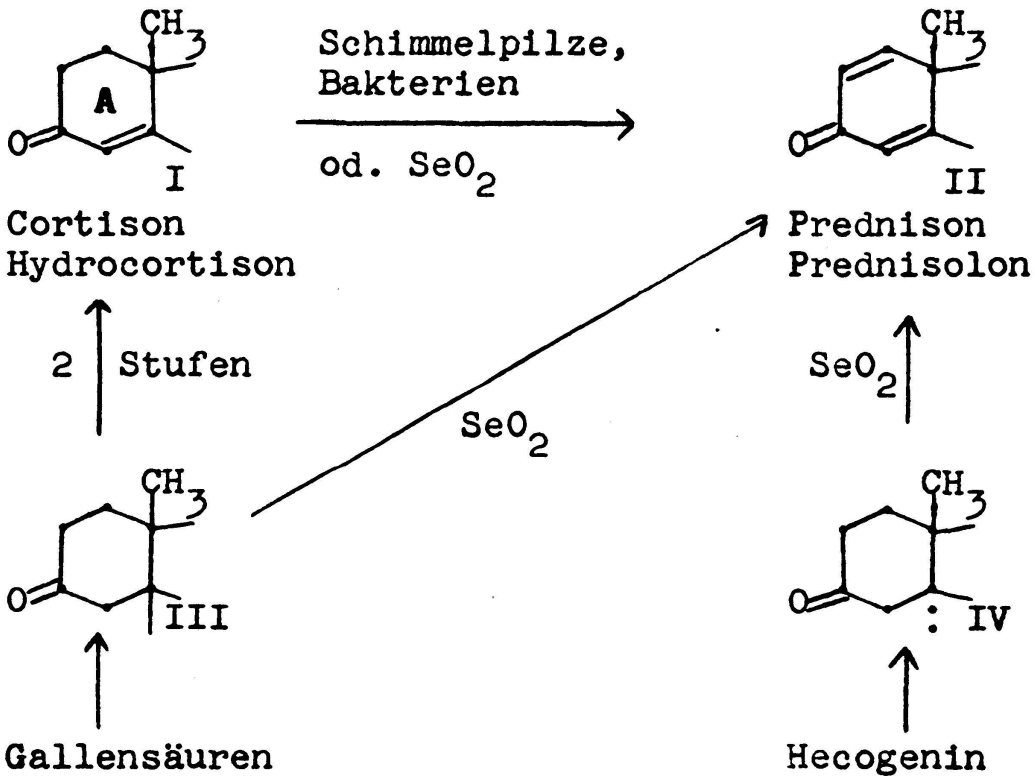


Abbildung 3
Herstellung von Prednison und Prednisolon (Teilformeln mit Ring A)

Die zurzeit therapeutisch wichtigsten neuen Verbindungen sind die 1955 von Herzog und Mitarbeitern [10] beschriebenen Derivate von Cortison und Hydrocortison (Abb. 3, Teilformel I), das *Prednison* und *Prednisolon* (II). Sie enthalten in 1-Stellung des Ringes A eine zusätzliche Doppelbindung. Die Einführung derselben kann auf eine von uns angegebene Weise[11] durch Dehydrierung mittels Schimmelpilzen erfolgen, nach anderen Arbeiten[12] mittels Bakterien. Kürzlich haben nun wir sowie holländische Autoren in der Einwirkung von Selendioxyd[13] ein äußerst einfaches chemisches Verfahren für diesen Zweck gefunden. Es gestattet in *einer* Reaktion die zweite Doppelbindung in die Verbindungen I einzuführen. Geht man aber von den gesättigten Ausgangsstoffen III oder IV aus, wie sie z. B. aus Gallensäuren oder dem Sisal-Abfallprodukt Heco-

genin erhältlich sind, so werden sogar beide Doppelbindungen zugleich eingeführt. Auf diese Weise stellten wir nicht nur Prednison und Prednisolon, sondern auch eine Reihe anderer interessanter *1-Dehydro-Hormone* her. Prednison scheint im Organismus nicht in Cortison zurückverwandelt zu werden[14]; neuerdings [15] wurde dagegen *in vivo* 1-Dehydrierung von Progesteron[11] (unter Seitenkettenabbau) beobachtet.

Die charakteristischen biologischen Eigenschaften (vgl. u. a.[16]) einiger 1-Dehydro-Hormone sind aus Abbildung 4 ersichtlich [5]: Einführung der zusätzlichen Doppelbindung in Corticosteron bis Hydrocortison be-

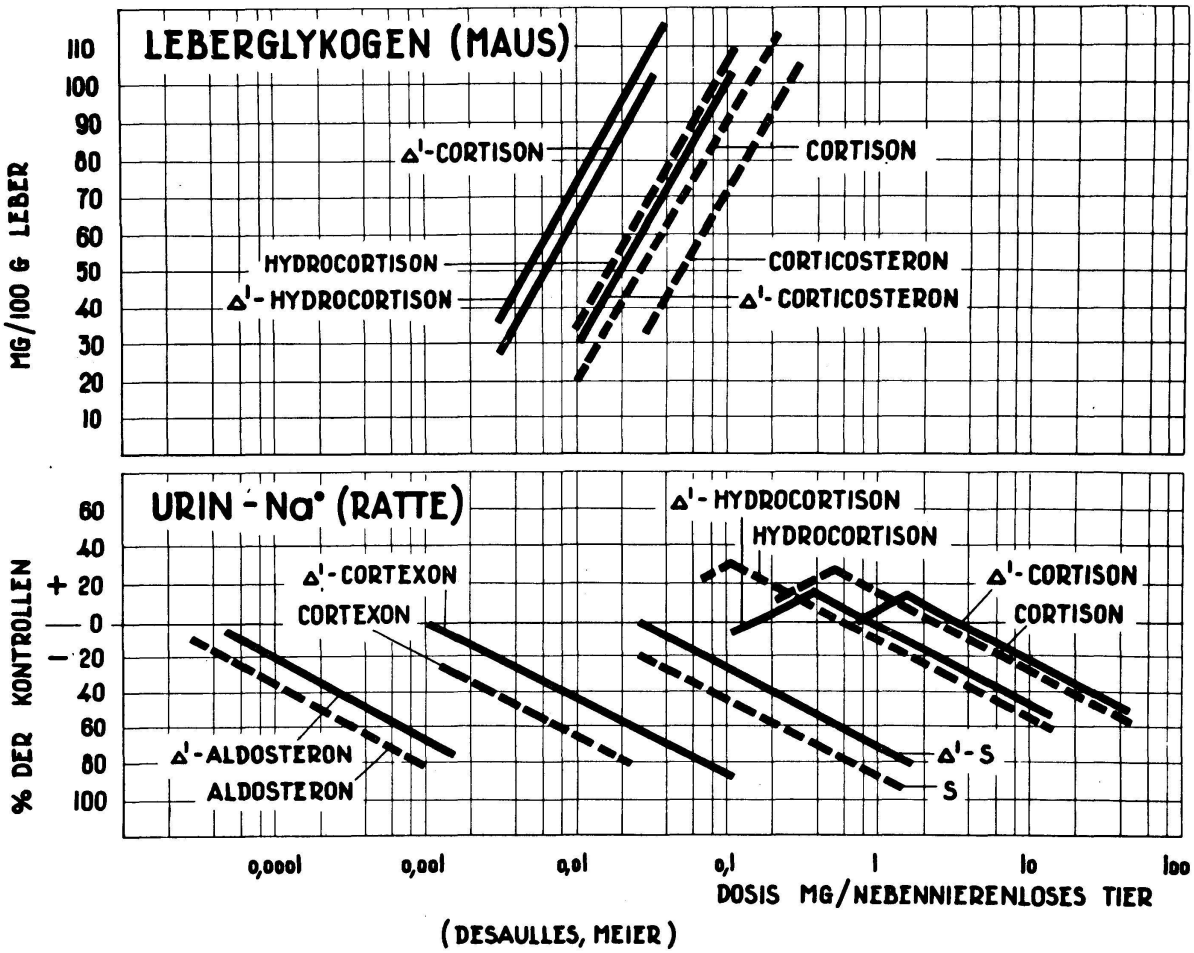
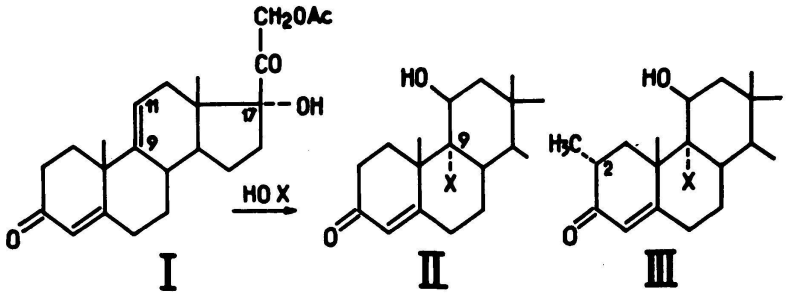


Abbildung 4
Glucocorticoid- und Mineralcorticoid-Aktivität von 1-Dehydro-Hormonen

wirkt eine Erhöhung der Leberglykogen ablagernden Wirksamkeit auf das Drei- bis Fünffache; die ausgezogenen Kurven sind gegenüber den gestrichelten alle nach links verschoben. Gleichzeitig nimmt die Na-retinierende Wirkung auf zirka die Hälfte bis ein Drittel ab, übrigens auch bei Substanz S, Cortexon und Aldosteron; die ausgezogenen Kurven sind hier alle nach rechts verschoben. Die vielen weiteren experimentellen Befunde zeigen ebenfalls, daß beim Übergang z. B. vom Cortison zum Prednison eine absolute und relative Verstärkung der glucocorticoiden Eigenschaften eintritt. Zahlreiche klinische Arbeiten (s. z. B. [17]) bestätigen dies, indem Prednison sich u. a. in antirheumatischer, antiphlogisti-

scher und antiallergischer Hinsicht als wirksamer erwies als Cortison und zu weniger Nebenwirkungen von Seite des Elektrolyt- und Wasser-Stoffwechsels Anlaß gab. 1-Dehydrocortexon [11] zeigte etwas geringere Überlebenswirkung als Cortexon[18]. Bei Einführung von zusätzlichen Doppelbindungen in anderer Stellung der NNR-Hormone wurde bisher keine Erhöhung des glucocorticoiden Effektes beobachtet; immerhin waren die 11,12- und 9,11-Dehydro-cortexone ungefähr so wirksam wie Cortexon im Überlebenstest (Lit. in [6]). Der Prednison entsprechende 21-Aldehyd erwies sich als wirksames Glucocorticoid[19]. SPERO und Mitarbeiter[19a] er-



9α-SUBSTITUENT X =	LEBER-GLYKOGEN (CORTISON-ACETAT=1)	Na-RETENTION (CORTEXON-ACETAT=1)
IN II:(a) F	11	2-5
(b) Cl	5	11
(c) F(-17α-OH)	3-5	15-30
IN III:(a) H	10	2,6
(b) F	38	54
(c) H(-11-OH)	?	0,09

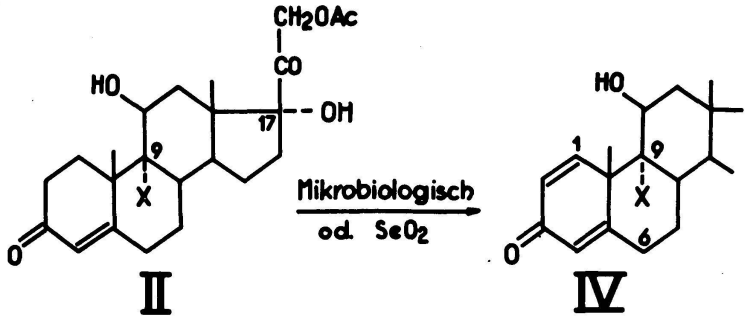
9α-HALOGENIERTE UND 2α-METHYL-HYDROCORTISON-DERIVATE

Abbildung 5

hielten neuerdings bei Einführung einer 6α-Methylgruppe in Hydrocortison oder Prednisolon Derivate, welche oral verabreicht im Rattentest bis 16mal höhere Leberglykogen-Wirksamkeit aufwiesen als Hydrocortison und keine Salzretention verursachten.

Vom Acetat der 9,11-dehydrierten Substanz S (Abb. 5, I), einer Verbindung, die man leicht durch mikrobiologische Hydroxylierung von S in 11-Stellung und anschließende Wasserabspaltung gewinnen kann (Lit. in [6]), leitet sich nun eine weitere Gruppe therapeutisch interessanter Substanzen ab. Bereits 1953 beschrieben FRIED und SABO[20] Anlagerungsprodukte von unterhalogenigen Säuren an die 9,11-Doppelbindung, die *9α-halogenierte Derivate von Hydrocortison* darstellen und ursprünglich als Zwischenprodukte für die Synthese des letzteren gedacht waren. Überraschenderweise zeigten die Verbindungen mit den kleinen Halogenatomen Fluor und Chlor (IIa, b) in zahlreichen Untersuchungen (u. a.

[9], [21]) wesentlich höhere Glucocorticoid-Wirkungen als die Grundsubstanzen (z. B. 9α-Fluor-Derivat, IIa, 11mal mehr Leberglykogen ablagernd als Cortison-acetat). Ihre Aktivität auf den Elektrolyt-Stoffwechsel (s. Kolonne rechts) erwies sich aber unverhältnismäßig viel stärker gesteigert und übertraf damit sogar diejenige des damals höchstwirksamen Cortexon-acetat erheblich. Wegen dieses Wirkungsverhältnisses wird die wichtigste Verbindung dieser Reihe, das 9α-Fluor-hydrocortison (IIa) im allgemeinen klinisch[22] nur lokal und nicht allgemein appliziert. Das 9α-Fluor-corticosteron (IIc) zeigt eine weitere Verschiebung in Richtung auf überwiegende Elektrolytwirkung.



9α - SUBSTITUENT X =	LEBER-GLYKOGEN (CORTISON-ACETAT=1)	Na-RETENTION (CORTEXON-ACETAT=1)
IN II:(a) F	11	2-5
IN IV:(a) F	25-50	2-5
(b) F (-21·OH)	4	< 0,1
(c) F (+Δ6)	5	20-30

1-DEHYDRO-9α-HALOGEN-HYDROCORTISON-DERIVATE

Abbildung 6

Vor kurzem konnten Hogg und Mitarbeiter[23] zeigen, daß eine Substanz mit ähnlichem biologischem Spektrum[24] und der Wirkungsintensität von Fluorhydrocortison erhalten wird, wenn man in Hydrocortison anstelle des 9α-Fluoratoms eine *2α-Methylgruppe* einführt (IIIa). Kombinierten sie die 2α-Methylgruppe mit dem 9α-Fluoratom, so resultierte eine Verbindung (IIIb), die bei weiter verstärkter Wirkung im Leberglykogen - aber nicht in anderen Glucocorticoid-Testen eine außerordentlich hohe Mineralcorticoid-Wirksamkeit (ca. 54mal Cortexon-acetat) besaß. Hinsichtlich Na-Retention scheint sie damit sogar dem Aldosteron etwas überlegen, wirkt aber auch wesentlich mehr K-diuretisch als letzteres. Die Befunde mit 2α-Methyl-cortexon (IIIc) wie auch mit 2α-Methylcortison zeigen, daß die Einführung der Methylgruppe in Abwesenheit des 11β-Hydroxyls keine Steigerung, sondern einen Abfall der mineralcorticoiden Eigenschaften hervorruft.

Für die therapeutisch so wichtigen Glucocorticoideffekte steht eine andere Kombination von Prinzipien zur Wirkungssteigerung im Vordergrund, diejenige des *9α-Fluoratoms mit* der *Doppelbindung in 1-Stellung* (Abb. 6). Sie wurde 1955 von einer ganzen Reihe von Arbeitskreisen, darunter dem unseren, beschrieben[25]. Auch hier läßt sich mit Vorteil unsere Selenoxyd-Dehydrierungsmethode[13] verwenden. Das 1-Dehydro-9α-fluor-hydrocortison-acetat (IVa) zeigt in der Tat die höchste bisher beobachtete Glucocorticoid-Wirkung, während seine Na-retinierende Wirksamkeit derjenigen des Ausgangsmaterials entspricht. Das analoge Progesteronderivat (IVb) weist eine sogar noch günstigere Relation auf, allerdings bei absolut wesentlich niedrigeren Aktivitäten. Soeben beschreiben BERNSTEIN und Mitarb.[25a] 16α-Acetoxy-Derivate von IIa sowie IVa, die bei leicht verminderter Glykogen-Aktivität praktisch keine Na-Retention mehr bewirken. Eintritt einer dritten Doppelbindung, in 6-Stellung von IVa, wobei man Verbindung IVc erhält, führt zu einer Umkehr der Wirkungsqualitäten.

Die interessante Frage, auf welche Weise die beschriebenen Umwandlungen die biologische Wirksamkeit der genuinen Hormone erhöhen, läßt sich heute nur ganz unvollständig beantworten. Sie hängt eng mit der Aufklärung der praktisch noch unbekannten biochemischen Mechanismen zusammen, die den Wirkungseintritt bei den Grundsubstanzen bedingen. Die genannten chemischen Modifikationen dürften Elektronenverschiebungen und damit Veränderungen in der Reaktionsfähigkeit spezifischer benachbarter Gruppen, insbesondere des Hydroxyls an C-11 und der angulären Methylgruppe an C-10 (vgl. Wirkung der 19-Norsteroide), herbeiführen. In unseren totalsynthetischen Reihen konnten wir gelegentlich ganz frappante Erhöhung der Reaktionsfähigkeit bei geeigneter Substitution, selbst in nicht unmittelbarer Nachbarstellung beobachten. Für die 9α-halogenierten Derivate ist übrigens verlangsamte enzymatische Inaktivierung und Ausscheidung im Organismus und damit protrahierte Wirkung nachgewiesen worden (LIDDLE [24]).

Damit kommen wir nun zu neuen, genuinen Hormonen aus der NNR, unter ihnen als weitaus wichtigstem zum *Aldosteron*. Seine Bearbeitung ist in einem wesentlichen Teil hier in Basel erfolgt (Übersichten s. [6], [7], [26]). Wie eingangs bemerkt, war die Isolierung der klassischen NN-Wirkstoffe anfangs der vierziger Jahre abgeschlossen. Nach Abtrennung dieser Kristallisate verblieb aber eine sog. «amorphe Fraktion». Von den verschiedenen Forschergruppen wurde sie übereinstimmend in den Überlebens- und Erhaltungstesten als nahezu so wirksam oder viel aktiver als die bekannten Hormone befunden. Insbesondere ergab sich, daß ihre Effekte auch qualitativ nicht durchwegs identisch waren mit denjenigen des damals höchstwirksamen Mineralcorticoids Cortexon. Die Frage, ob diese Restwirkung dem Synergismus mehrerer bekannter Hormone oder dem Vorliegen neuer Wirkstoffe zuzuschreiben sei, blieb allerdings unbeantwortet. So findet sich noch 1949 in der Literatur das Diskussionsvotum eines bekannten Forschers, der ausrief: «Ich hoffte, die amorphe Fraktion würde endlich begraben.»

Die Wiedererweckung der Problemstellung erfolgte prompt. Ab 1950 publizierte LUETSCHER in den USA eine Reihe von Arbeiten über einen Na-retinierenden Faktor aus Urin, und zwei Jahre später berichteten SIMPSON und TAIT aus England über eine NN-Fraktion mit ähnlichen biologischen Eigenschaften. Unter Verwendung einer Testmethode mit radioaktiven Alkali-Isotopen fanden sie bei der Auftrennung von NN-Extrakten im Papierchromatogramm, daß die mit Cortison laufende Bande sehr hohe biologische Aktivität aufwies, viel höher, als wenn sie ausschließlich aus Cortison bestanden hätte. Daraus schlossen sie auf das Vorliegen eines *neuen* Hormons, das sie provisorisch Elektrocortin nann-

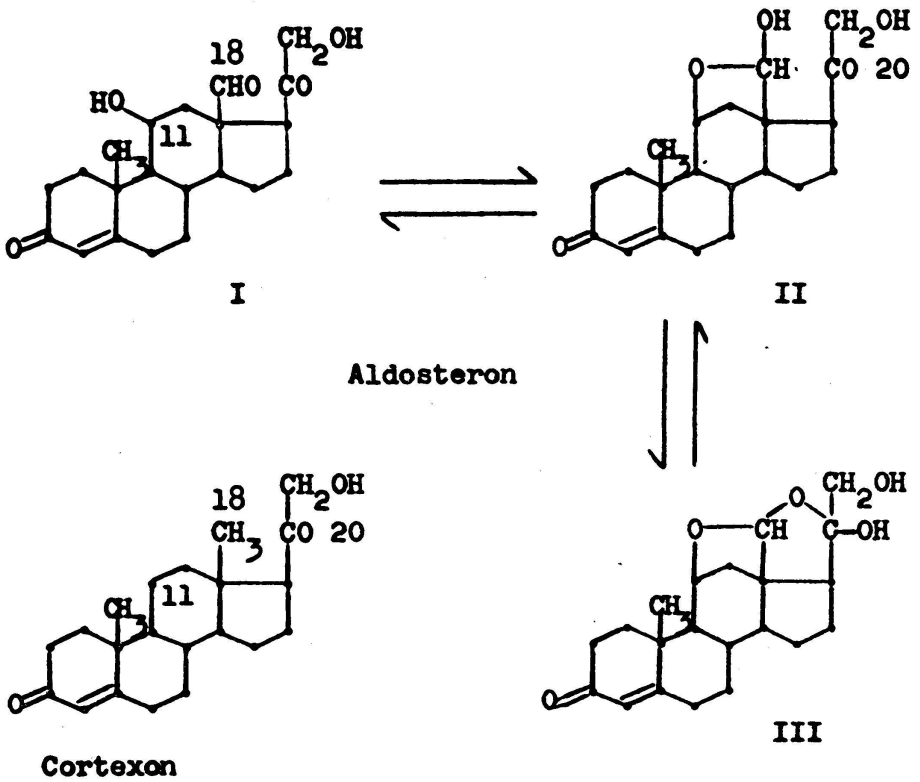


Abbildung 7

ten. Bereits 1953 gelang dann Prof. REICHSTEIN, in Zusammenarbeit mit den britischen Forschern und mit unserer Gruppe von der CIBA, die *Isolierung* dieses Hormons, später Aldosteron genannt, in kristalliner Form[27]. In den vielen seither durchgeführten Aufarbeitungen sind pro Tonne Rinder- bzw. Schweine-NN 44 bis 140 mg kristallines Aldosteron erhalten worden, wobei also eine Anreicherung auf zirka das Zwanzigmillionenfache notwendig war. Diese Befunde konnten durch zwei unabhängig arbeitende amerikanische Forschergruppen, diejenigen von MATTOX und MASON und von SARETT, bestätigt werden. Schließlich gelang uns mit LUETSCHER und NEHER[28] die Isolierung des bei gewissen Erkrankungen im Urin vermehrt auftretenden Na-retinierenden Faktors in kri-

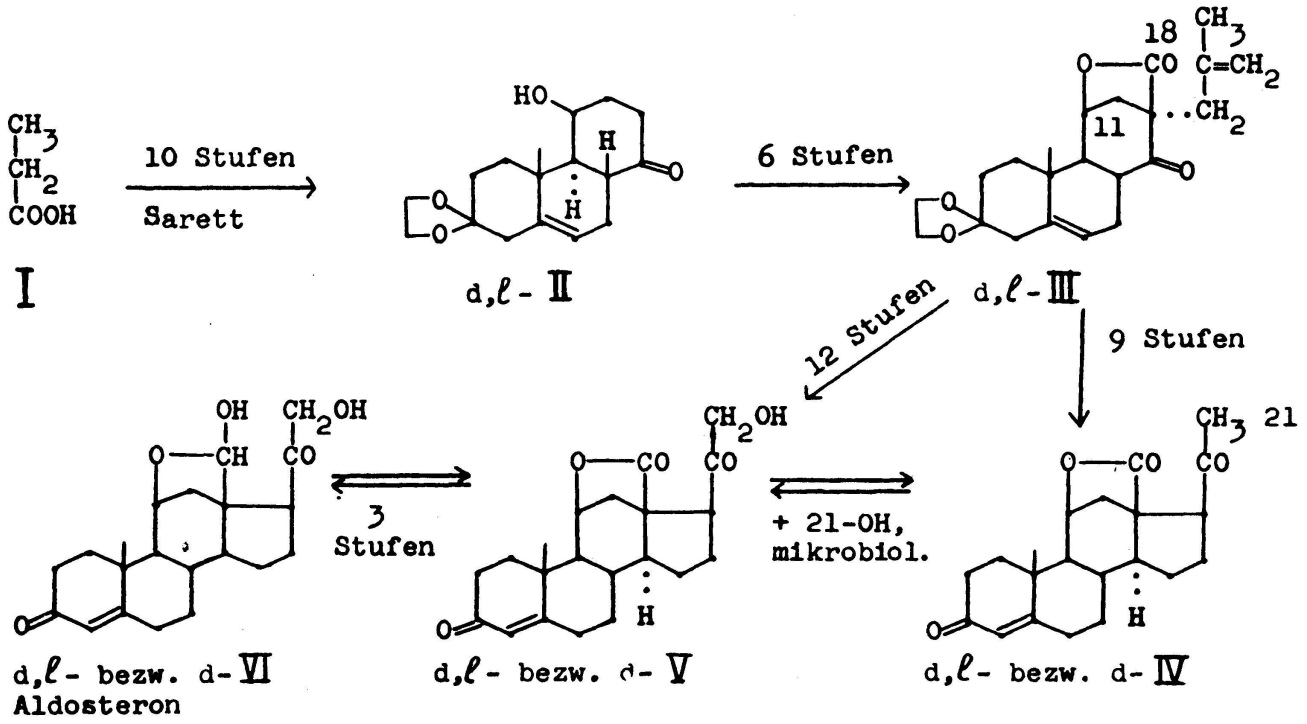
stalliner Form und mit LLAURADO und NEHER[29] sein eindeutiger chemischer Nachweis im Harn nach Operationen: Er erwies sich als identisch mit Aldosteron aus NN.

Das Rätselraten über die *chemische Konstitution* des neuen Hormons (Abb. 7), von dem vorerst nur 22 mg zur Verfügung standen, fand schon 1954 seinen Abschluß, indem Prof. REICHSTEIN mit unserer englisch-schweizerischen Arbeitsgemeinschaft[30] Formel I bzw. II bewies. Es handelt sich also auch hier um ein Steroid, aber nicht, wie von anderer Seite vermutet, um ein monohydroxyliertes, sondern um ein dioxygeniertes Cortexon. In Cortexon ist dabei, wie übrigens schon im Corticosteron und Hydrocortison, die 11β-Hydroxylgruppe eingetreten; ferner liegt, und zwar erstmals bei genuinen Steroidhormonen, das auch sonst bei Naturstoffen nur ganz ausnahmsweise substituierte C-Atom 18 in Form einer Aldehydgruppe vor. Deshalb wurde das neue Hormon jetzt Aldosteron benannt. Es kann als 18-Oxo-corticosteron (I) aufgefaßt werden, das in Lösung vorzugsweise als Cyclohemiacetal II reagiert oder, wie SARETT[31] nachwies, sogar als dessen Halbketal mit der Carbonylgruppe 20 (III).

Der Konstitutionsbeweis des Aldosterons[30] beruhte insbesondere auf seiner Überführung in zwei Arten von γ-Lactonen, einerseits 18 $\rightarrow$ 11, anderseits 20 $\rightarrow$ 18, und Reduktion der potentiellen Aldehydgruppe in letzterem zur Methylgruppe. Danach war die Identifizierung mit einem bekannten Ätiosäure-Ester möglich.

In Kenntnis dieser Formeln schrieb FINCH aus Sir Robert Robinson's Institut in einem Übersichtsreferat, daß die Aussichten für eine Synthese von Aldosteron schlecht seien. Dies war kein Grund für uns, sie nicht wenigstens zu versuchen. Bei den großen gemeinsamen Anstrengungen von Prof. REICHSTEINS Gruppe in Basel, von Prof. PRELOG und Mitarbeitern in Zürich, der N.V. Organon in Oss sowie der CIBA in Basel stellte sich, mit einigem Glück, der Erfolg zuerst beim letztgenannten Arbeitsteam ein: Vor einem Jahr konnten wir so mit SCHMIDLIN, ANNER und BILLETER[32] als Resultat ausgedehnter Untersuchungen, bei denen mehrere hundert neue Verbindungen hergestellt wurden, über die *Totalsynthese* des Aldosterons berichten (Abb. 8). Sie führt von Propionsäure (I) in 10 bereits früher von SARETT durchgeführten Stufen zur trizyklischen Verbindung II. Die Schwierigkeiten der weiteren Synthese liegen, neben den stereochemischen Problemen, besonders in der Einführung und der Aufrechterhaltung über viele Reaktionen von einer Sauerstoffunktion am späteren C-Atom 18, welche starke Tendenz zeigt, mit andern Substituenten unerwünschte Ringbildungen einzugehen. Diese Eigenschaft wurde positiv ausgewertet, indem wir zuerst ein entsprechend substituiertes γ-Lacton (18 $\rightarrow$ 11) der Formel III herstellten und es fast bis zum Schluß beibehielten. Dies brachte den Vorteil, daß durchwegs gut kristallisierende Substanzen resultierten, in denen die Anwesenheit der unveränderten Lactongruppe neben den andern Substituenten jederzeit durch IR-Spektren sichergestellt werden konnte. Ohne laufende Aufnahme solcher Spektren und ohne papierchromatographische Kontrolle wäre

die äußerst komplizierte Synthese ganz undenkbar gewesen. Auf weitere Einzelheiten kann ich hier nicht eingehen und möchte lediglich feststellen, daß nach insgesamt über 30 Reaktionen, davon mehr als 20 neuen Stufen, tatsächlich *razemisches Aldosteron* (VI) erhalten wurde. Dabei war die Möglichkeit gegeben, die razemischen Zwischenprodukte IV und V mit den entsprechenden, von Prof. REICHSTEIN[33] aus natürlichem *d*-Aldosteron (rückwärts) hergestellten optisch aktiven *d*-Verbindungen zu vergleichen.



Totalsynthese von Aldosteron

Abbildung 8

Schließlich fanden wir mit VISCHER und SCHMIDLIN[34], daß bei der früher erwähnten mikrobiologischen 21-Hydroxylierung[35], angewandt auf das razemische Methylketon IV, nur der natürliche *d*-Antipode angegriffen wird. Die optisch spezifisch verlaufende mikrobiologische Umsetzung von *d,l*-IV in *d*-V bewirkte also außer Hydroxylierung auch Razematspaltung. Da *d*-V bereits früher von REICHSTEIN[33] in *d*-Aldosteron zurückverwandelt worden war, stellte die neuartige Reaktion die noch fehlende letzte Stufe in der Synthese des *natürlichen d-Aldosterons* dar. Diese Razematspaltung wurde inzwischen auch auf chemischem Wege durchgeführt. Ferner hat die Arbeitsgruppe REICHSTEIN[36] einen weiteren Weg von *d,l*-II zu *d,l*-V aufgezeigt, diejenige von Organon[37] über ein neues trizyklisches Zwischenprodukt berichtet.

Erlauben Sie mir nun einige Worte über die *Biosynthese* des Aldosterons aus einfacheren Pregnanverbindungen. Die Untersuchungen von HAINES, DORFMAN, SAMUELS u. a. an den klassischen NNR-Hormonen hatten gezeigt, daß die Einführung der für die biologische Wirksamkeit ausschlaggebenden Hydroxylgruppen vorzugsweise in der Reihenfolge 17-, 21- und 11-Stellung erfolgt. Wir stellten uns mit KAHNT und NEHER zuerst die Aufgabe, die geringen aus NN erhältlichen Aldosteronmengen zu erhöhen. Durch aerobe Inkubation von Homogenaten von Rinder-NN unter Zugabe von Säuren des KREBS-Zyklus, wie Brenztrauben-, Zitronen-,

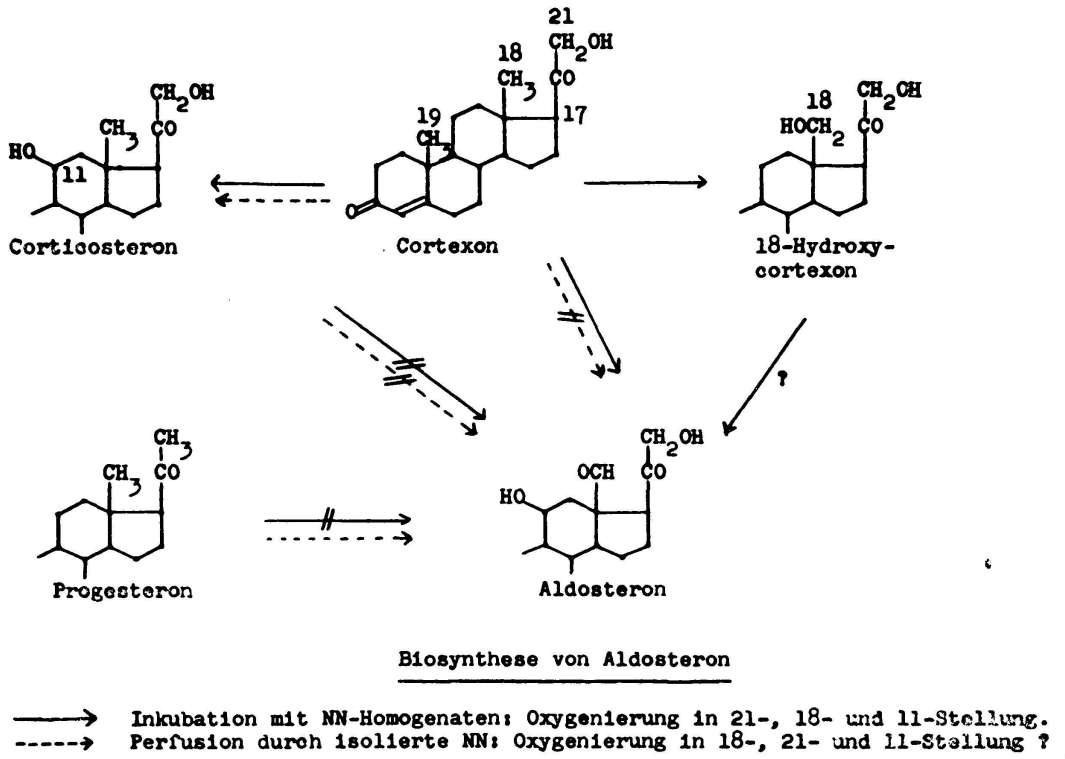


Abbildung 9

Fumar- oder Maleinsäure sowie von ATP wurden in der Tat bis 19mal höhere Aldosteronausbeuten (zirka 1,1 mg pro kg NN*) erhalten[38], verglichen mit denjenigen aus nichtinkubierten NN-Homogenaten. Hierauf suchten wir nach den natürlichen Vorstufen, die hier offenbar in Aldosteron umgewandelt worden waren (Abb. 9). Von den verschiedenen bei der Inkubation zugesetzten Steroiden vermochte Cortexon, nicht aber z. B. Progesteron oder Corticosteron (das aus Cortexon als Hauptprodukt entsteht) die Aldosteronbildung eindeutig zu erhöhen, auf über 3 mg pro kg NN. Diese Umwandlung wurde durch Überführung von radioaktivem Cortexon in signiertes Aldosteron sichergestellt[40], verlief allerdings in sehr geringer Ausbeute (0,79%), bezogen auf das eingesetzte Cortexon. Damit kommt man zur Auffassung, daß Cortexon wohl *eine*, aber nicht die einzige

* Etwa fünfmal größere Mengen erhielten kürzlich Giroud und Mitarb. [39] bei der Inkubation von Ratten-NN.

natürliche Vorstufe für Aldosteron in den NN darstellt. Soweit diese Biosynthese *in vitro* über Cortexon führt, erfolgen die Oxygenierungen offensichtlich in der Reihenfolge 21-, 18- und 11-Stellung. Daß im Cortexon tatsächlich eine primäre 18-Hydroxylierung stattfinden kann, bewiesen wir[41] schließlich durch Isolierung dieses kristallinen Reaktionsproduktes, neben viel 19-Hydroxycortexon, bei der aeroben Inkubation von Cortexon mit NN-Homogenaten. Kürzlich haben DORFMAN und Mitarbeiter[42] mögliche Vorstufen von Aldosteron durch isolierte Kalbs-NN perfundiert. Die erhaltenen Produkte wurden allerdings teilweise unzureichend papierchromatographisch gereinigt und lediglich biologisch testiert. Corticosteron ergab auch in diesen Versuchen keine Vermehrung von Na-retinierender Substanz, während im Gegensatz zu unseren Befunden Progesteron diese erhöhte, Cortexon sogar zur Bildung eines Na-diuretischen Faktors führte. Diese Resultate legen weitere Biosynthesewege nahe, z. B. einen solchen, der vom Progesteron unter Oxygenierung in 18-, 21- und 11-Stellung zum Aldosteron führt.

Über die *biologischen Wirkungen* des Aldosterons, insbesondere an adrenalektomierten Tieren, erschienen, trotz den bisher sehr beschränkten Substanzmengen, bereits eine große Anzahl von Publikationen. Ich kann sie hier nur kurz streifen und muß im weiteren auf entsprechende Übersichten verweisen[7, 43, 44, 45, 46]. Wichtige Arbeiten sind auch auf diesem Gebiet in den CIBA-Laboratorien durchgeführt worden. Aldosteron ist danach das auf den Elektrolytstoffwechsel weitaus wirksamste genuine NNR-Hormon: Den Quotienten der Na/K-Ausscheidung erniedrigt es 100- bis 120mal stärker als Cortexon; hinsichtlich Na-Retention allein ist es 25- bis 30mal aktiver als Cortexon (vgl. Abb. 2). Ungefähr dieselbe relative Wirksamkeit, anders ausgedrückt die 500fache von Cortison, entfaltet es im Erhaltungstest am Hund, der mit 1 bis 2 γ Aldosteron pro Kilogramm Körpergewicht im Kompensationszustand gehalten werden kann. K-ausscheidend wirkt es ebenfalls wesentlich, wenn auch nur noch 5mal stärker als Cortexon, wird also in diesem praktisch meist unerwünschten Effekt vom synthetischen 2α-Methyl-fluorhydrocortison stark übertroffen. Mit den zur Lebenserhaltung notwendigen Dosen Aldosteron ändert sich die Wasserausscheidung praktisch nicht. Der Blutdruck und der entzündungshemmende Effekt von Hydrocortison wird durch Aldosteron, trotz der relativ viel höheren Elektrolytwirkung, quantitativ nicht stärker beeinflußt als von Cortexon.

Aldosteron bewirkt neben den genannten auch starke, durch die Anwesenheit der 11β-Hydroxylgruppe bedingte Glucocorticoideffekte. Im Leberglykogentest z.B. (vgl. Abb. 2) ist es ebenfalls etwa 30mal aktiver als Cortexon und erreicht damit immerhin einen Drittel bis einen Fünftel der Wirksamkeit von Cortison, wobei es den steilen Gradienten der Glucocorticoide, nicht den flachen der Mineralcorticoide aufweist. Eine ähnliche Wirkungsrelation gegenüber Cortison ergibt sich auch hinsichtlich Eosinopenie und Antagonismus zum adrenocorticotropen Hypophysenhormon (normale Ratte), dagegen nicht zum antidiuretischen Hormon. Die Diurese nach Wasserbelastung der adrenalektomierten Ratte, nicht

aber des Hundes, vermag Aldosteron sogar in denselben Dosen aufrechtzuerhalten wie Hydrocortison, ebenso die Nierenfunktion (glomeruläre Filtration). Im Kältestreßtest besitzt Aldosteron ungefähr die gleiche Wirksamkeit wie Cortison. Die Elektrolytpermeabilität des Diaphragmas erhöht es nach VERZAR mindestens 10mal stärker als Hydrocortison.

Wenn man Aldosteron schlechthin als Mineralcorticoid bezeichnet, so ist dies also nur deshalb zulässig, weil sein Na-retinierender Effekt gegenüber der absolut recht erheblichen Glucocorticoidwirksamkeit stark hervortritt. Im übrigen unterscheiden sich die meisten seiner Wirkungen quantitativ von denjenigen des Cortexons, einige (z. B. die lokale Stimulierung des Fremdkörpergranuloms, MEIER) auch qualitativ.

Die heute vorliegenden, preliminären *klinischen Resultate* mit Aldosteron entsprechen nach MACH, KEKWICK, PRUNTY, SOFFER, THORN, HENCH u. a. (vgl. [46], [50]) im wesentlichen den tierexperimentellen Befunden. Beim ADDISON-Patienten ist, insbesondere zur Kontrolle der Elektrolytstörungen und der Asthenie, eine tägliche Erhaltungsdosis von nur 0,1 bis 0,2 mg erforderlich, gegenüber dem 20- bis 30fachen an Cortexon-acetat. Außer physiologischer Na-Retention und K-Ausscheidung tritt dabei eine Normalisierung des Blutdrucks, aber keine Hypertension ein. Wasserretention (Ödeme) beobachtet man nur mit hohen Dosen und unter Kochsalzgaben. Eine antirheumatische Wirkung war bis 1 mg täglich nicht feststellbar; ob man umgekehrt prophlogistische Effekte im Sinne SELYES Theorie des Adaptationssyndroms annehmen darf, ist zweifelhaft. Abschließend muß man sagen, daß, obschon viele Befunde über die Wirkungen des Aldosterons in normalen, physiologischen Dosen vorliegen, unsere Kenntnisse über seine pharmakologischen Effekte bei Überdosierung noch recht lückenhaft sind. Anscheinend besitzt es eine größere therapeutische Breite als Cortexon.

Im Zusammenhang mit gewissen Krankheitsbildern hat in letzter Zeit die *Bestimmung von Aldosteron* in den NN, gelegentlich im Speichel und insbesondere im Urin erhebliche Bedeutung erlangt. Dabei wird den biologischen Bestimmungen meist eine physicochemische Methode vorgezogen, z. B. diejenige, die wir mit NEHER[47] ausgearbeitet haben. Sie beruht auf saurer Hydrolyse, Extraktion, Papierchromatographie in zwei verschiedenen Lösungsmittelsystemen und Nachweis durch eine Kombination von Farbreaktionen. Es ergeben sich so beim Menschen folgende Befunde (Abb. 10, weitere Tabellen s. [7], [26]): Der Gehalt der NN, die ohnehin nur nach Operation zur Verfügung stehen, scheint nicht allzuviel auszusagen über deren Produktivität und ist nur bei Tumoren stark erhöht. Im Gegensatz dazu geben die Urinwerte zweifellos ein brauchbares Abbild der pro Zeiteinheit gebildeten Aldosteronmenge (das allerdings wegen des bei gewissen Erkrankungen veränderten Metabolismus vorsichtig zu bewerten ist). Schon bei Gesunden[48] läßt sich unter Na-Entzug, K-Belastung oder bei Wasserverlust (Schwitzen, Diurese) erhöhte Ausscheidung feststellen. VENNING fand bei einem Vortragenden während eines Kongresses einen zehnmal höheren Wert als vorher; diesen Streß darf man anscheinend etwa einem operativen Trauma (LLAURADO)

Abbildung 10

Aldosterongehalte beim Menschen

Nebennieren	μg/kg Gewebe
Hyperplasie	250
Tumoren (CONNS primärer Aldosteronismus)	1375–8700
Urin	μg/24 Std.
Gesunde	1–13
» unter Na-Entzug	9–14 (–32)
» unter K-Belastung	7–30
» schwitzend	10–65
» unter Diurese	15–29
» Vortragender an Kongreß	20
» unter operativem Trauma	8*–18
Schwangere	4–30
» mit Toxämie	5–30
Patienten – primärer Aldosteronismus,	
» CONNS Syndrom (Tumor)	17–111
» MACHS Syndrom (Na-Retention)	18
» VAN BUCHEM (Hyperplasie)	34
» sekundärer Aldosteronismus	
» Nephrose	16–183*
» Lebercirrhose (dekompensiert)	10–120
» Herzfehler mit Stauungen	8–130*
» zyklische Ödeme, Anasarca	53–116
» Hypertension	5,5–8,5
nach Hypophysektomie	1,7–2,5

* Aldosteron oder -Derivat kristallin isoliert

gleichsetzen. Schwangerschaft bedingt ebenfalls vermehrte Ausscheidung, die bei Toxämie kaum weiter ansteigt (VENNING). Außerordentlich hohe Werte finden sich dann beim CONNschen Syndrom (primärer Aldosteronismus), bei NN-Hyperplasie (VAN BUCHEM), bei Nephrose, dekompensierter Lebercirrhose (WOLFF), bei Herzfehler mit Stauungen (LUETSCHER) und beim zyklischen Ödem (THORN), erhöhte Werte auch bei MACHS Syndrom (idiopathische Ödeme) und bei Hypertension (GENEST).

Diese Zahlen interessieren uns hier deshalb, weil sie eine Grundlage bilden zur Beantwortung der Frage nach der *Regulierung der Aldosteronproduktion*. Beim primären Aldosteronismus nach CONN[49], vgl.[46], stellt sich die Frage zwar kaum, da er eindeutig durch NN-Tumoren verursacht ist. Dagegen möchten wir zur Diskussion stellen, ob das klinische Bild dieses Syndroms, das u. a. durch K-Verlust und entsprechende intermittierende Tetanie gekennzeichnet ist, wirklich ausschließlich vom hohen Aldosteronspiegel herrührt. Kürzlich hat nämlich dabei NEHER[48] in den NN auch auffallend viel Corticosteron nachgewiesen, das relativ stark K-ausscheidend wirkt. Das MACHsche Syndrom[50], das ohne NN-Tumor nur unter Na-Retention und Ödemen, aber ohne K-Verlust auf-

tritt, scheint eher einen reinen Aldosteroneffekt darzustellen. Die physiologischen Untersuchungen, auf die ich hier nicht eingehen kann, die Umstände, die bei Gesunden vorübergehende Mehrausscheidung von Aldosteron und bei Patienten kompensatorischen sekundären Aldosteronismus bedingen, führen zur Auffassung, daß nicht in erster Linie der Na-Entzug bzw. -Verlust oder die K-Belastung für die erhöhte Aldosteronproduktion verantwortlich sind, sondern die Reduktion des extrazellulären Flüssigkeitsvolumens. Offenbar liegt also eine homeostatische Regulierung vor[50], [51], [52], [46]. Sie dürfte, nur wenig abhängig von der Hypophyse, unter der direkten Kontrolle des Hypothalamus stehen; der

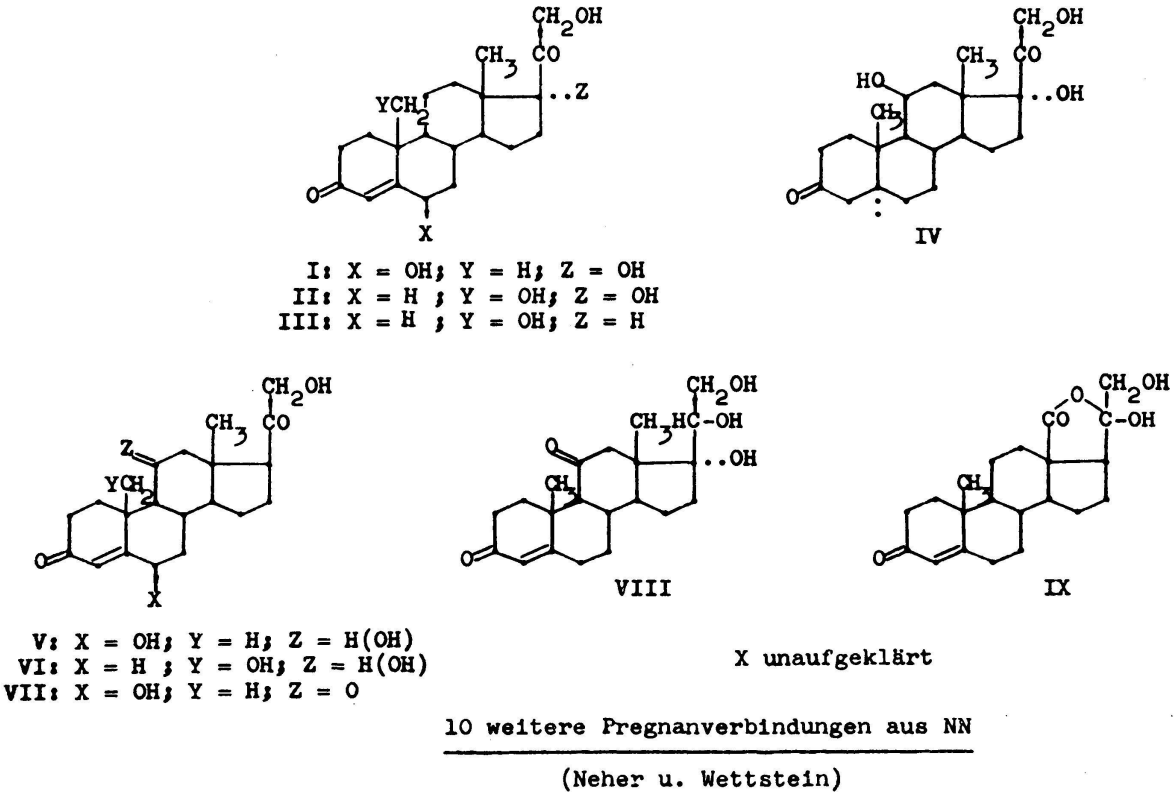


Abbildung 11

Aldosteronspiegel wird nämlich im Gegensatz zu demjenigen der anderen NNR-Hormone, durch Hypophysektomie (und auch durch somatotropes Hormon) nicht stark beeinflußt, durch ACTH nur leicht erhöht[39], [53], mehr unter besonderen Bedingungen[50] (MÜLLER; LIDDLE[51]).

Im Amphenon liegt eine chemische Substanz vor, die die Produktion von Aldosteron sowie der Glucocorticoide zu blockieren vermag[52].

Da nun also die Palette der NNR-Hormone durch das wichtige Aldosteron ergänzt ist, bleibt zu untersuchen, wie weit sich jetzt damit die gesamten biologischen Effekte der NNR erklären lassen. Diese Problemstellung haben wir jüngst nochmals von der chemischen Seite aus bearbeitet. Im Verlaufe fortgeführter Fraktionierungen von NN-Ex-

trakten gelang mit NEHER[54] tatsächlich die *Isolierung weiterer zehn Pregnanverbindungen* (Abb. 11). Von neun derselben konnte die Konstitution bereits aufgeklärt werden: Es handelt sich um vier an sich bekannte Stoffe, nämlich 6β-Hydroxy- bzw. 19-Hydroxy-Substanz S (I und II) und 4,5α-Dihydro-hydrocortison (IV), die bisher nicht aus NN gewonnen worden waren, ferner um 19-Hydroxy-cortexon (III), das früher wohl aus Rinder-, nicht aber aus Schweine-NN anfiel. Die sechs neuen Verbindungen stellen das 6β-Hydroxy- und 19-Hydroxy-corticosteron (V und VI) dar, das 6β-Hydroxy-11-dehydro-corticosteron (VII), das in 20-Stellung Isomere (VIII) von REICHSTEINS Substanz U, ein neuartiges Hydroxy-lacton (18 → 20) der Formel IX, abgeleitet von der Cortexon-18-säure, sowie die noch unaufgeklärte Verbindung X. Verbindung IX hat besonderes biochemisches Interesse, weil ihr Vorkommen beweist, daß die NN Cortexon nicht nur, wie von uns früher gezeigt, an C18 zu hydroxylieren, sondern auch weiter zur Säure zu oxydieren vermögen, wobei man als Zwischenprodukt eine Aldehydgruppe wie im Aldosteron annehmen darf. Diese Umwandlungen sowie die leichte Hydroxylierung insbesondere in 11β-Stellung erklären wohl auch die nur geringen Mengen Cortexon, die sich in den NN befinden. Mit den neuen Substanzen steigt die Gesamtzahl der aus NN isolierten Steroide auf 42, diejenige der Pregnanderivate auf 35. Die Testierung dieser neuen Verbindungen brachte bisher keine überraschenden Ergebnisse.

Interessanter zeigte sich ein Zugangsweg von der biologischen Seite her. Bereits 1952 hatten WILKINS und Mitarbeiter[55] zur Erklärung des Salzverlustsyndroms beim Säugling die Existenz eines durch ACTH regulierten, stark Na-ausscheidenden NNR-Hormons diskutiert. Inzwischen wiesen eine Reihe anderer Beobachtungen in gleiche Richtung. Erst letzten Winter haben dann PRADER, SPAHR und NEHER[56] auf Grund eigener Befunde die pathologische Bedeutung eines solchen Wirkstoffes wieder sehr betont. Kürzlich gelang nun in unserem Laboratorium durch Arbeiten mit DESAULLES und NEHER[57] die Isolierung eines hochaktiven *Na-diuretischen Faktors* in kristalliner Form. Er beeinflußt die Na-Ausscheidung in ähnlichen Dosen wie Aldosteron, aber in umgekehrtem Sinne. Ob er auch weitere antagonistische Wirkungen gegenüber Aldosteron besitzt, muß sich noch zeigen. Diese vorläufige Mitteilung soll lediglich auf kommende Entwicklungen hinweisen.

Abschließend möchte ich Sie nochmals kurz an den Anfang der NN-Forschung zurückführen. Als es THOMAS ADDISON gelang, die nach ihm benannte Krankheit dem Ausfall der NN zuzuordnen, nannte er seine historische Entdeckung «einen ersten kleinen Schritt zur Untersuchung der Funktionen der NN». Beurteilt man die in den seither vergangenen 100 Jahren erfolgte Entwicklung mit etwas weniger Zurückhaltung, so darf man vielleicht feststellen, daß in allerletzter Zeit wieder große, wohl entscheidende Fortschritte erzielt worden sind. Sie betreffen einerseits die klinisch bedeutsamen, partialsynthetisch erhaltenen *Analogen* der natürlichen Hormone, anderseits das eigentliche lebenserhaltende, genuine *Aldosteron*. Seine Isolierung, Konstitutionsaufklärung und Syn-

these, die seit fast 20 Jahren fällig waren, sind durch ein Großaufgebot modernster Methoden möglich geworden. Wir freuen uns, daß ein wesentlicher Teil dieser Arbeiten in Basel durchgeführt werden konnte. Bereits zeichnen sich auch neue Entwicklungen ab, die die physiologische und pathologische Bedeutung der NN zweifellos noch vermehrt hervortreten lassen.

Literatur

[1] FARREL, BANKS und KOLETSKY, Endocrinol. *58*, 104 (1956).
[2] AYRES, GOULD, SIMPSON und TAIT, Biochem. J. *63*, 19 P (1956); GIROUD, STACHENKO und VENNING, Proc. Soc. exp. Biol. Med. *92*, 154 (1956).
[3] REICHSTEIN und SHOPPEE, Vitamins and Hormones *1*, 345 (1943).
[4] ANLIKER, ROHR und MARTI, Helv. Chim. Acta. *39*, 1100 (1956).
[5] Abb. nach DESAULLES und MEIER (1956), unveröffentlichte Versuche.
[6] WETTSTEIN und ANNER, Exper. *10*, 397 (1954).
[7] WETTSTEIN, Verhandl. Dtsche. Ges. Inn. Med. *62*, 214 (1956).
[8] WETTSTEIN, Exper. *11*, 465 (1955).
[9] FRIED, THOMA, PERLMAN, HERZ und BORMAN, Recent Progr. Hormone Res. *11*, 149 (1955).
[10] HERZOG und Mitarb., Science *121*, 176 (1955).
[11] VISCHER und WETTSTEIN, Exper. *9*, 371 (1953); VISCHER, MEYSTRE und WETTSTEIN, Helv. Chim. Acta *38*, 835, 1503 (1955).
[12] NOBILE und Mitarb., J. Amer. Chem. Soc. *77*, 4184 (1955); LINDNER und Mitarb., Naturwiss. *43*, 39 (1956).
[13] MEYSTRE, FREY, VOSER und WETTSTEIN, Helv. Chim. Acta *39*, 734 (1956); SZPILFOGEL, POSTHUMUS, DEWINTER und VAN DORP, Rec. trav. chim. Pays-Bas *75*, 475 (1956).
[14] GRAY und Mitarb., Lancet 1955 II, 1067.
[15] MILLER und Mitarb., J. biol. Chem. *220*, 221 (1956).
[16] PERLMAN und TOLKSDORF, Federat. Proc. *14*, 377 (1955).
[17] BUNIM, PECHET und BOLLET, J. Amer. Med. Ass. *157*, 311 (1955); MOESCHLIN. Schweiz. Med. Wschr., *86*, 81 (1956).
[18] NAIRN, MASSON und CORCORAN, Endocrinol. *57*, 700 (1955); BEYLER, NEUMANN und BURNHAM, Endocrinol. *58*, 471 (1956).
[19] HERZOG, GENTLES und HERSHBERG, J. org. Chem. *21*, 688 (1956).
[19a] SPERO und Mitarb., J. Amer. Chem. Soc. *78*, 6213 (1956).
[20] FRIED und SABO, J. Amer. Chem. Soc. *75*, 2273 (1953); *76*, 1455 (1954); GRABER, HAVEN und WENDLER, ibid. *75*, 4722 (1953); BERNSTEIN und Mitarb., ibid. *75*, 4830 (1953).
[21] Literatur in [7], ferner: LLAURADO, Exper. *11*, 401 (1955); Kliwo *34*, 674 (1956); SINGER und BORMAN, Proc. Soc. exp. Biol. Med. *92*, 23 (1956).
[22] LIDDLE, PECHET und BARTTER, J. Clin. Endocrinol. *14*, 813 (1954); THORN und und Mitarb., Ann. Int. Med. *43*, 979 (1955); Ann. N.Y. Acad. Sci. *61*, 433, 609 (1955); RENOLD und Mitarb., ibid. *61*, 582 (1955).
[23] HOGG und Mitarb., J. Amer. Chem. Soc. *77*, 6401 (1955).
[24] BYRNES und Mitarb., Proc. Soc. exp. Biol. Med. *91*, 67 (1956); LIDDLE und Mitarb., Science *123*, 324 (1956); Clin. Res. Proc. *4*, 125 (1956); Metabolism *5*, 384 (1956).
[25] Literatur siehe in [7].
[25a] BERNSTEIN und Mitarb., J. Amer. Chem. Soc. *78*, 5693 (1956).
[26] WETTSTEIN, in Lettré-Inhoffen-Tschesches «Über Sterine, Gallensäuren und verwandte Stoffe», Vol. 2, Stuttgart (1957), im Druck.
[27] SIMPSON, TAIT, WETTSTEIN, NEHER, VON EUW und REICHSTEIN, Exper. *9*, 333 (1953); dieselben Autoren mit SCHINDLER, Helv. Chim. Acta *37*, 1163 (1954).
[28] LUETSCHER, NEHER und WETTSTEIN, Exper. *10*, 456 (1954); *12*, 22 (1956); dieselben Autoren mit DOWDY und HARVEY, J. biol. Chem. *217*, 505 (1955).

[29] WETTSTEIN, NEHER und LLAURADO, Proc. Univ. Otago Med. School *34*, 7 (1956); Clin. Chim. Acta *1*, 236 (1956).
[30] SIMPSON, TAIT, WETTSTEIN, NEHER, VON EUW, SCHINDLER und REICHSTEIN, Exper. *10*, 132 (1954); Helv. Chim. Acta *37*, 1200 (1954).
[31] HAM, HARMAN, BRINK und SARETT, J. Amer. Chem. Soc. *77*, 1637 (1955).
[32] SCHMIDLIN, ANNER, BILLETER und WETTSTEIN, Exper. *11*, 365 (1955).
[33] VON EUW, NEHER und REICHSTEIN, Helv. Chim. Acta *38*, 1423 (1955).
[34] VISCHER, SCHMIDLIN und WETTSTEIN, Exper. *12*, 50 (1956).
[35] MEYSTRE, VISCHER und WETTSTEIN, Helv. Chim. Acta *37*, 1548 (1954).
[36] LARDON, SCHINDLER und REICHSTEIN, Helv. Chim. Acta, im Druck.
[37] SZPILFOGEL, VAN DER BURG, SIEGMANN und VAN DORP, Rec. trav. chim. Pays-Bas *75*, 1043 (1956).
[38] WETTSTEIN, KAHNT und NEHER, CIBA Found. Colloquia on Endocrinol. *8*, 170 (1955).
[39] GIROUD, SAFFRAN, SCHALLY, STACHENKO und VENNING, Proc. Soc. exp. Biol. Med. *92*, 855 (1956).
[40] KAHNT, NEHER und WETTSTEIN, Exper. *11*, 446 (1955); vgl. neuerdings HEARD und Mitarb., Recent Progr. Hormone Res. *12*, 45 (1956).
[41] KAHNT, NEHER und WETTSTEIN, Helv. Chim. Acta *38*, 1237 (1955).
[42] ROSEMBERG, ROSENFELD, UNGAR und DORFMAN, Endocrinol. *58*, 708 (1956).
[43] GAUNT, CIBA Found. Colloquia on Endrocrinol. *8*, 228 (1955); GAUNT, RENZI und CHART, J. Clin. Endocrinol. *15*, 621 (1955).
[44] MACH, MACH und FABRE, Semaine Hôp. *31*, 67 (1955).
[45] GROSS, Kliwo *34*, 929 (1956).
[46] LUETSCHER, Adv. Int. Med. *8*, 155 (1956).
[47] NEHER und WETTSTEIN, Acta endocrinol. *18*, 386 (1955); J. Clin. Invest. *35*, 800 (1956).
[48] NEHER, Schweiz. Med. Wschr., *86*, 1262 (1956).
[49] S. u. a. CONN, J. Lab. u. Clin. Med. *45*, 3, 661 (1955); Arch. Int. Med. *97*, 135 (1956); CONN u. LOUIS, Ann. Int. Med. *44*, 1 (1956); MADER und ISERI, Amer. J. Med. *19*, 976 (1955); DUSTAN, CORCORAN und FARRELL, Proc. Central Soc. Clin. Res. *28*, 25 (1955); VAN BUCHEM und Mitarb., Ned. Tijdschr. Geneesk. *100*, 1836 (1956).
[50] MACH, FABRE, MULLER und NEHER, Schweiz. Med. Wschr. *85*, 1229 (1955); MACH und MACH, Rev. franç. Etudes clin. biol. *1*, 619 (1956); MACH, Wiener Kliwo *68*, 277 (1956).
[51] LIDDLE, BARTTER und Mitarb., J. Clin. Invest. *34*, 949 (1955); Recent Progr. Hormone Res. *12*, 187, 196 (1956); BARTTER, Metabolism *5*, 369 (1956); BECK, DYRENFURTH, GIROUD und VENNING, Arch. Int. Med. *96*, 463 (1955); FARRELL und Mitarb., Amer. J. Physiol. *184*, 55 (1956); Recent Progr. Hormone Res. *12*, 192 (1956); MULLER, RIONDEL und MANNING, Schweiz. Ges. inn. Med., Interlaken, 9. Juni 1956.
[52] THORN und Mitarb., New Engl. J. Med. *254*, 547 (1956); Helv. Med. Acta *23*, 334 (1956).
[53] LIDDLE und Mitarb., J. Clin. Endocrinol. *15*, 852 (1955); ROSENFELD, ROSEMBERG, UNGAR und DORFMAN, Endocrinol. *58*, 255 (1956).
[54] NEHER und WETTSTEIN, Helv. Chim. Acta *39*, 2062 (1956).
[55] WILKINS und Mitarb., Pediatrics *10*, 397 (1952); s. a. Proc. First Clin. ACTH Conf., Blakiston Philadelphia *1950*, 184.
[56] PRADER, SPAHR und NEHER, Schweiz. Med. Wschr. *85*, 1085 (1955).
[57] DESAULLES, NEHER und WETTSTEIN, unveröffentlichte Befunde.