

## UBER EINE HEMMUNG DER 5-HYDROXYTRYPTAMIN- UND NIKOTINWIRKUNG AM ISOLIERTEN DARM DURCH ADENOSINDERIVATE

E. WERLE und H. SCHIEVELBEIN

Klinisch-Chemisches Institut an der Chirurgischen Klinik,  
Universität München, München, Germany

(Received 14 January 1964; accepted 26 February 1964)

**Abstract**—The contractile effect of 5-hydroxytryptamine (5-HT) and nicotine on the isolated guinea pig ileum is inhibited by adenosine and several adenosine derivatives. The following substances are active inhibitors: ATP, ADP, AMP, adenosine, 3'-adenylic acid, and under specific conditions adenosine-3',5'-phosphate (cyclic 3,5-AMP). Ineffective are adenine, inosine, desoxyadenosine, cytidine, xanthosine and guanosine. The inhibitory derivatives of adenosine do not affect the contractions of the isolated guinea pig ileum caused by histamine, acetylcholine, kallidin, angiotensine and vasopressine. ATP inhibits the contractions of the isolated rabbit ileum, caused by 5-HT and nicotine, but does not inhibit the 5-HT effect on the isolated rat uterus.

The effect of 5-HT, angiotensine or noradrenaline on the isolated rabbit aorta is not inhibited by ATP. Angiotensine diminishes the reactivity of the ileum to 5-HT, histamine and angiotensine but not to kallidin. The importance of the results for the differentiation of receptors on the same biological substrate is briefly discussed.

5-HYDROXYTRYPTAMIN (Serotonin, 5-HT) wird durch Nikotin und andere Alkaloide aus den Orten seiner Speicherung, z.B. den enterochromaffinen Zellen des Dünndarms oder aus den Blutplättchen freigesetzt.<sup>1, 2</sup> Über die Natur der Bindung des 5-HT in den Depots ist nichts Sicheres bekannt. Noradrenalin und Adrenalin sind in den sie speichernden Grana des Nebennierenmarks mit grösster Wahrscheinlichkeit an ATP gebunden<sup>3, 4</sup> und können aus dieser Bindung durch Reserpin verdrängt werden, also durch das gleiche Alkaloid, das 5-HT aus den Orten seiner Speicherung im Gehirn freisetzt. Eine 5-HT-ATP-Bindung war daher denkbar, jecoch ergab sich uns spektrophotometrisch und papierchromatographisch für eine derartige Bindung kein Hinweis. In diesem Zusammenhang prüften wir auch, ob die Wirkung von 5-HT am isolierten Meerschweinchen-Dünndarm durch ATP beeinflusst wird. Von dem Gedanken ausgehend, dass die darmkontrahierende Wirkung von Nikotin durch eine Liberierung von 5-HT aus den enterochromaffinen Zellen mitverursacht sein könnte, wurde ferner untersucht, ob ATP die Ansprechbarkeit des Darmes für Nikotin verändert.

### METHODIK

Die isolierten Organe wurden in der Versuchsanordnung von Magnus in Tyrodelösung suspendiert. Küvetteninhalt: 20 ml, Hebelübertragung 1:5, Inkubationstemperatur 37°. Bei den nur in saurem Milieu löslichen Substanzen wurden Kontrollen ausgeführt, die den Einfluss des Säuregrades allein auf die Ansprechbarkeit des Darmes ermitteln sollten. Ein Einfluss der Säure war unter unseren Versuchsbedingungen aber

in keinem Fall festzustellen. Die Substanzen wurden in Volumina von 0.1 bis 0,5 ml der Suspensionsflüssigkeit des Darmes zugegeben.

### ERGEBNISSE

Wie aus den Abb. 1 und 2 zu ersehen ist, vermag ATP die 5-HT- und die Nikotinwirkung aufzuheben. Die Hemmung ist nach kurzem Auswaschen reversibel. Sie wird durch 2 Min. lange Vorinkubation von ATP gegenüber einer gleichzeitigen Verabreichung von ATP und 5-HT nicht verstärkt. Das Mol-Verhältnis für eine 50 bis 100%ige Hemmung einer 5-HT-Wirkung beträgt 2 bis 4 Mol ATP zu 1 Mol 5-HT (Abb. 1).

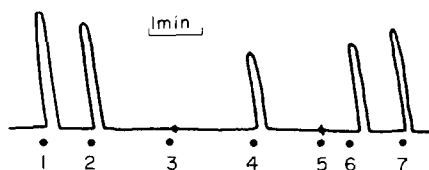


ABB. 1. Hemmung der 5-HT-Wirkung durch ATP. Isolierter Meerschweinchendünndarm  
1.  $10\text{ }\mu\text{g}$  5-HT  $6\times$ , 2.  $10\text{ }\mu\text{g}$  5-HT  $6\times$ , 3.  $10\text{ }\mu\text{g}$  5-HT +  $20\text{ }\mu\text{g}$  ATP gleichzeitig  $6\times$ , 4.  $10\text{ }\mu\text{g}$  5-HT  $6\times$ ,  
5.  $20\text{ }\mu\text{g}$  ATP  $6\times$ , 6.  $10\text{ }\mu\text{g}$  5-HT  $6\times$ , 7.  $10\text{ }\mu\text{g}$  5-HT.

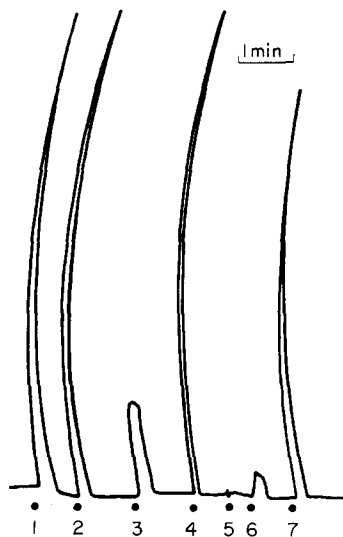


ABB. 2. Hemmung der Nikotinwirkung durch ATP. Isolierter Meerschweinchendünndarm  
1.  $5\text{ }\mu\text{g}$  Nikotin  $6\times$ , 2.  $5\text{ }\mu\text{g}$  Nikotin  $6\times$ , 3.  $5\text{ }\mu\text{g}$  Nikotin +  $15\text{ }\mu\text{g}$  ATP gleichzeitig  $6\times$ , 4.  $5\text{ }\mu\text{g}$  Nikotin  $6\times$ ,  
5.  $15\text{ }\mu\text{g}$  ATP  $6\times$ , 6. ohne Spülen  $3\text{ }\mu\text{g}$  Nikotin  $6\times$ , 7.  $5\text{ }\mu\text{g}$  Nikotin.

Die darmkontrahierende Wirkung von Histamin und Acetylcholin sowie der Polypeptide Kallidin, Angiotensin und Vasopressin wurde durch ATP nicht beeinflusst. Bei diesen Versuchen ergab sich, dass Angiotensin ( $0,5$  bis  $1\text{ }\mu\text{g}$ ) die Ansprechbarkeit des Darmes für Histamin, 5-HT und Angiotensin selbst, nicht aber für Kallidin, Nikotin und Acetylcholin stark herabsetzt.

In orientierenden Versuchen prüften wir, ob ATP auch an anderen Testobjekten die 5-HT-Wirkung hemmt. Der Effekt war auch am isolierten Kaninchendünndarm zu beobachten, nicht aber am isolierten Rattenuterus oder an der isolierten Kaninchenaorta bei Gaben von 5-HT, Noradrenalin oder Angiotensin.

Ausser durch ATP wird die 5-HT-Wirkung gehemmt durch ADP, AMP und Adenosin, wobei die Wirkung äquimolekularer Mengen der Substanzen einschliesslich ATP praktisch gleich gross ist. Der Hemmeffekt fehlte bei Inosin, Adenin, Desoxyadenosin, Cytidin, Xanthosin und Guanosin. Das cyclische 3',5'-AMP gewinnt die Hemmwirkung erst nach einer Vorinkubationszeit von 3 bis 5 Min. Alle Adenosinderivate, die am isolierten Darm die 5-HT-Wirkung hemmen, setzen auch die Ansprechbarkeit für Nikotin herab (Abb. 2). Für eine 50 bis 100%ige Hemmung ist das Mol-Verhältnis etwa 1:3. In der Tabelle 1 sind unsere Befunde noch einmal zusammengestellt.

ATP war auf die 5-HT-Wirkung am Blutdruck des narkotisierten Hundes ohne Einfluss.

Im Gegensatz zum ATP und den übrigen blockierenden Adeninderivaten ist Angiotensin am isolierten Darm nur schwer auswaschbar. Oft ist die Ansprechbarkeit für 5-HT und Histamin sowie für Angiotensin selbst nach einer ersten oder zweiten Angiotensingabe irreversibel aufgehoben. Es handelt sich aber nicht um eine allgemeine Schädigung des Darmes, da seine Ansprechbarkeit zwar für Angiotensin, 5-HT und Histamin rasch abnimmt, für Kallidin aber unverändert bleibt.

TABELLE 1. HEMMUNG DER WIRKUNG VON 5-HYDROXYTRYPTAMIN UND NIKOTIN AM ISOLIERTEN MEERSCHWEINCHENDARM DURCH ADENOSINDERIVATE

Substanz	5-HT	Nikotin
ATP	+	+
ADP	+	0
AMP	+	0
Adenosin	+	+
Adenin	—	—
Inosin	—	0
Hefeadenylsäure	+	+
3'm5'-AMP	+*	0
Desoxyadenosin	—	0
Cytidin	—	0
Xanthosin	—	—
Guanosin	—	0

\* Nach längerer Vorinkubation.

+ = Hemmung der Wirkung

— = kein Einfluss

0 = nicht untersucht

#### DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Aus den Ergebnissen der Hemmversuche lässt sich ablesen, wie ein Adenosinderivat beschaffen sein muss, das den Hemmeffekt gegenüber 5-HT aufweisen soll. Die Aminogruppe in 6-Stellung darf nicht fehlen; sie darf auch nicht in die 2-Stellung

des Purins verschoben sein. Das Ribosemolekül ist notwendig. Das Hydroxyl in 2-Stellung ist erforderlich, was aus der Unwirksamkeit des Desoxyadenosins hervorgeht. Das Hydroxyl der 5-Stellung der Ribose kann phosphoryliert sein, auch die Phosphorylierung der Hydroxyle der 3- oder 5-Stellung stört die Hemmfähigkeit nicht, dagegen schwächt ihre cyclische Veresterung durch Phosphorsäure die Hemmwirkung für 5-HT stark ab. Da das 3',5'-Adenosinmonophosphat unter den Bedingungen des Versuches stabil ist, könnte die mit der Vorinkubationszeit zunehmende Hemmwirkung gegenüber 5-HT auf einer verminderten Diffusionsfähigkeit der Cycloadenylsäure oder auf der Aufspaltung ihres Ringes durch ein Enzym der Darmwand beruhen. Das Adeninmolekül kann durch keines der übrigen untersuchten Purine oder Pyrimidine ersetzt werden.

Da, wie eingangs erwähnt, eine ATP-5-HT-Verbindung nicht vorliegt, kommt die Hemmung der 5-HT-Wirkung am isolierten Darm durch eine Blockierung des Rezeptors für 5-HT zustande. Wir dürfen aus unseren Befunden ferner schliessen, dass die Rezeptoren für Histamin, Acetylcholin und Kallidin vom 5-HT-Rezeptor verschieden sind und weiter, dass der 5-HT-Rezeptor des Darms mit dem des Uterus nicht identisch ist.

5-HT und ATP konkurrieren am Rezeptor kompetitiv, d.h. eine Veränderung des Mol-Verhältnisses 1:2–4 zugunsten des 5-HT führt zu einer Abnahme der Hemmwirkung des ATP.

Die Histaminwirkung am isolierten Meerschweinchendünndarm wird nach Schauer u. Eder<sup>5</sup> durch ATP, nach Mihich *et al.*<sup>6</sup> durch Adenosin unterdrückt. Unter unseren Versuchsbedingungen trat diese Hemmung nicht auf.

#### ZUSAMMENFASSUNG

1. Die kontrahierende Wirkung von 5-Hydroxytryptamin (5-HT) und Nikotin am isolierten Meerschweinchendünndarm wird durch Adenosin und verschiedene Adenosinderivate gehemmt. Einen Hemmeffekt üben aus: ATP, ADP, AMP, Adenosin, Hefeadenylsäure und, mit Einschränkungen, 3',5'-AMP. Nicht wirksam sind Adenin, Inosin, Desoxyadenosin, Cytidin, Xanthosin und Guanosin.

2. Durch die hemmenden Adenosinderivate wurde die Darmwirkung von Histamin, Acetylcholin, Kallidin, Angiotensin und Vasopressin nicht beeinflusst, die Hemmwirkung von ATP war auch am isolierten Kaninchendünndarm zu beobachten, nicht aber am isolierten Rattenuterus.

3. Die Wirkung von 5-HT, Angiotensin oder Noradrenalin an der isolierten Kaninchenaorta wurde durch ATP nicht beeinflusst.

4. Angiotensin schwächt die Ansprechbarkeit des Darmes für 5-HT, Histamin und Angiotensin selbst rasch und stark ab—nicht aber für Kallidin.

5. Die Bedeutung der Befunde für die Differenzierung verschiedener Rezeptoren am gleichen Versuchsobjekt wird kurz besprochen.

*Anerkennung*—Wir danken Fr. I. Eckert für technische Mitarbeit.

LITERATUR

1. H. SCHIEVELBEIN, E. WERLE und W. JACOBY, *Naturwiss.* **48**, 602 (1961).
2. H. SCHIEVELBEIN und E. WERLE, *Psychopharmacol.* **3**, 35 (1962).
3. H. BLASCHKO und A. D. WELCH, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharm.* **219**, 17 (1953).
4. H. J. SCHÜMANN, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharm.* **233**, 296 (1958).
5. A. SCHAUER und M. EDER, *Klin. Wschr.* **39**, 76 (1961).
6. E. MIHICH, D. A. CLARKE und F. S. PHILIPS, *J. Pharm. exp. Ther.* **111**, 335 (1954).