

Biochemical Pharmacology, 1965, Vol. 14, pp. 185-186. Pergamon Press Ltd., Printed in Great Britain.

Beeinflussung der Hydrazintoxizität durch L-Arginin

(Received 25 September 1964; accepted 13 October 1964)

VON HYDRAZINVERBINDUNGEN ist bekannt, daß sie Carbonylreagentien und damit Hemmer Pyridoxal-5-Phosphat-abhängiger Fermente sind¹⁻⁵. Ausserdem wurde von verschiedenen Autoren ein Schutzeffekt von Pyridoxin und Pyridoxamin gegenüber der Toxizität von Hydrazinokörpern festgestellt. Auch Pyridoxal-5-Phosphat ist in der Lage pharmakologische Effekte von Hydrazino-derivaten abzuschwächen. Pyridoxal steigert deren Toxizität⁶⁻¹⁰. In letzter Zeit wurde von Roberts *et al.* auch über einen Schutzeffekt von L-Arginin berichtet.¹¹ Durch Vorbehandlung mit 6 mM/Kg mM/kg L-Arginin (i.p.) konnte er die Sterblichkeitsrate einer nachfolgenden Hydrazin-injektion (3 mM/kg i.p.) deutlich herabsetzen. D-Arginin oder L-Arginin mit substituierter α -Amino- bzw- Karboxylgruppe zeigten keinen Schutzeffekt. Während der Publikation dieser Arbeit wurde von Roberts in einer weiteren veröffentlicht noch über einen Schutzeffekt von L-Alanin und L-Glutaminsäure berichtet¹⁴. Diese interessanten Befunde veranlassten uns zu ähnlichen Versuchen.

Die *Versuchsbedingungen* wählten wir ähnlich den Verhältnissen bei Roberts. Als Tiermaterial benutzten wir männliche weisse Mäuse mit einem Gewicht von 15-25 g. L-Arginin (Fluka) wurde in 1/15 M Phosphatpuffer gelöst und genau auf pH 7.4 eingestellt. Hydrazinhydrat (Reanal "Ungarn") wurde wie Arginin gelöst und eingestellt und wie dieses stets frisch vor Versuchsbeginn zubereitet. Pro 10 g Maus wurden 0,2 ml injiziert.

Bei Gabe von 6 mM/kg L-Arginin 30 Minuten vor Injektion variierter Hydrazindosen konnten wir keinen Unterschied in der Sterblichkeitsquote zwischen vorbehandelten und nichtvorbehandelten Tieren feststellen. Auch bei Veränderung der Applikationsart (s.c. statt i.p.) zeigte sich keine Erhöhung der Überlebensrate.

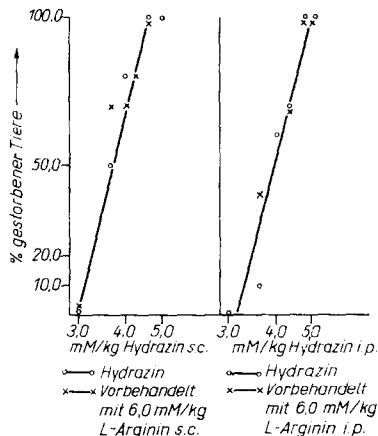


Abbildung 1: Sterblichkeit von Mäusen nach Hydrazingabe innerhalb von 60 Minuten. Pro Versuchsgruppe 10 Tiere.

Auch bei Verdoppelung der Arginindosis war kein Effekt sichtbar und auch der zeitliche Verlauf des Absterbens wurde dadurch nicht im Sinne eines protektiven Effektes verändert. Verlängerung der Vorbehandlungszeit auf 18 Stunden brachte ebenfalls keine Schutzwirkung.

Wird mit subcutanen Arginininjektionen vorbehandelt, analog den Bedingungen von Abb. 2, so zeigte sich ebenfalls keine Verminderung der Toxizität. Zuletzt untersuchten wir die Verhältnisse bei

intravenöser Gabe. Hydrazinhydrat wurde dazu ($4,3 \text{ mM/kg}$) mit gleichbleibender Geschwindigkeit in die Schwanzvene von Mäusen infundiert; Arginin (6 mM/kg) wurde 30 Minuten vorher als Injektion ebenfalls intravenös gegeben. Der Mittelwert der Zeit (\bar{x} für $n = 10$) bis zum Eintritt des Exitus betrug dabei für die Gruppe Arginin + Hydrazin 16 Minuten von Beginn der Hydrazininfektion und für Hydrazin allein 18 Minuten. Auch die Zeit bis zum Eintritt des Krampfes war für beide Versuchsgruppen gleich. Die von Roberts *et al.* zuletzt publizierten Ergebnisse über Schutzwirkung von L-Alanin und L-Glutaminsäure bzw. von Aminosäuregemischen konnten wir ebenfalls nicht reproduzieren.

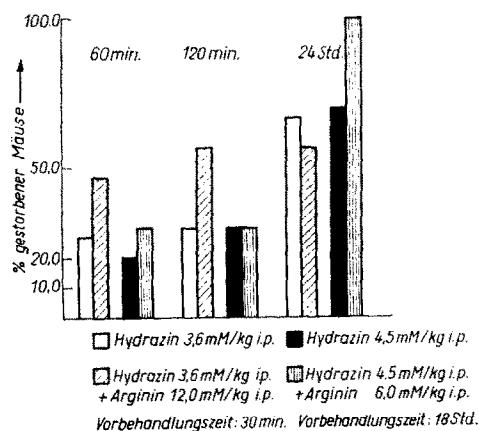


Abbildung 2: Beeinflussung der Hydrazintoxizität durch varierte Dosen von L-Arginin. Pro Gruppe 30 (bei 30-min. Vorbeh.), sonst 10 Tiere.

Von Roberts wurde die Ansicht geäussert, daß der Antagonismus zwischen Hydrazin und Arginin auf einer Interferenz zwischen Hydrazino und Guanidinogruppe beruhen könne und dadurch Membranstorungen auftreten. Eine Herabsetzung der Toxizität von Ammoniak durch Arginin und Ornithin wurde von verschiedenen Autoren beschrieben und mit einer vermehrten Harnstoffbildung erklärt^{12, 13)}. Eine ähnliche Möglichkeit konnte man auch erwägen. Ein echter Schutzeffekt von L-Arginin scheint uns aber nach unseren Versuchen fraglich, vor allem, da von Roberts Arginin als auch Hydrazin intraperitoneal appliziert wurden und damit unübersichtliche Resorptionsbedingungen bei einem 30-Minuten-Intervall existieren.

*Institut für Pharmakologie der
Humboldt—Universität und
Pharmakologisches Institut der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin.*

P. OEHME
K. SCHWARZ
P. LANGE

LITERATUR

1. A. N. DAVISON, *Biochem. biophys. Acta (Amsterdam)* **19**, 131 (1956).
2. R. G. WIEGAND, *J. Amer. chem. Soc.* **78**, 5307 (1956).
3. R. W. VILTER, J. P. PIEHL, J. F. MUELLER und B. I. FRIEDMAN, *Federat. Proc.* **13**, 776 (1953).
4. T. HADO, *Nagoya J. md. Sci.*, **5**, 203, (1959).
5. P. OEHME, H. REX, und E. ACKERMANN, *Acta biol. med. germ.* **12**, 234 (1964).
6. B. DUBNICK, G. A. LEESON, und C. SCOTT, *Toxicol. appl. Pharmacol.* **2**, 403 (1960).
7. R. KAMRIN, und A. KAMRIN: *J. Neurochem.* **6**, 219 (1961).
8. R. E. PARKS, G. W. KIDDER, und V. C. DEWEY, *Proc. Soc. exp. Biol.* **78**, 287, (1952).
9. E. ACKERMANN, P. OEHME, H. REX und H. P. LANGE, *Acta. biol. med. germ.* **12**, 322 (1964).
10. H. REX, E. ACKERMANN und P. OEHME, *Vortrag auf dem Internat. Symposium über Tranquillizer, Wroclaw*, 1963.

11. E. ROBERTS, D. G. SIMONSEN und E. ROBERTS, *Biochem. Pharmacol.* **12**, 1445, (1963).
12. T. KITA, *Jap J. Pharmacol.* **10**, 93, (1961).
13. R. T. MANNING, D. THORNING und I. FALLETA, *Nature (Lond.)* **202**, 89 (1964).
14. E. ROBERTS, D. G. SIMONSEN und E. ROBERTS, *Biochem. Pharmacol.* **13**, 1454 (1964).

Biochemical Pharmacology, 1965, Vol. 14, pp. 187-188. Pergamon Press Ltd., Printed in Great Britain.

The phase reversal phenomenon of the GABA-action on the hind gut of the crayfish caused by the change in the ionic composition of the external medium

(Received 1 May 1964; accepted 25 September 1964)

THE ISOLATED crayfish hind gut preparation was first described by Florey¹ and it was recently reported that this new method is simpler and more sensitive² than that using crayfish stretch receptors. Using the hind gut of *Astacus astacus* L., which is a different species from that used by Florey, Jones recently found that L-glutamic acid caused contractions.³

We confirmed Florey's data using the American crayfish. Acetylcholine (ACh) at a concentration of $10^{-7} \sim 10^{-5}$ g/ml caused contraction, and γ -aminobutyric acid (GABA) at a concentration of $10^{-4} \sim 10^{-5}$ g/ml caused relaxation of the preparation. The ACh-induced contraction of the gut was blocked by pretreatment of the preparation with GABA. We studied the relationship between the action of GABA and the ionic composition of the external medium. The results obtained are shown in the figure.

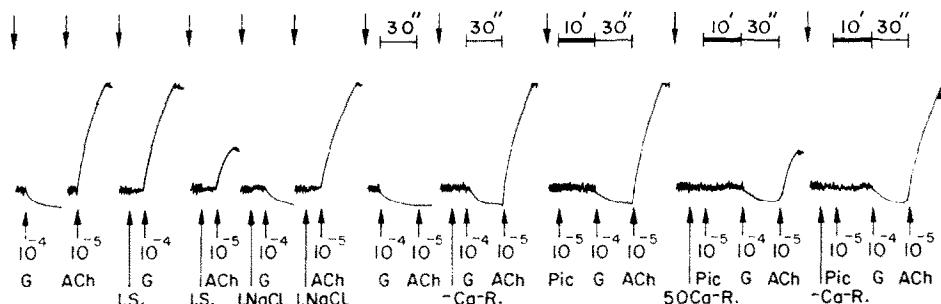


FIG. 1. The GABA and ACh-action on the hind gut of the crayfish caused by change in the ionic composition of the external medium.

The arrows at the top indicate the change of Florey's Ringer solution, and the row of numbers refers to time. The numbers 10^{-4} or 10^{-5} refer to the dilution. The bottom row refer to the dilution of the external medium.

The abbreviations used are as follows. G: γ -aminobutyric acid, ACh: acetylcholine, Pic: picrotoxin, I.S.: isotonic sucrose, I.NaCl: isotonic 1.2% NaCl solution, -Ca-R: Ca^{2+} free Ringer solution, 50 Ca-R: 50% Ca-Ringer solution.