

Acknowledgements—Mr. Richard Tarrant is thanked for his excellent technical assistance and I am grateful to Mr. J. Furness and Mr. M. Millar for their help with statistical analysis of the results.

*Radiobiological Research Unit,
Cancer Institute Board,
278 William Street,
Melbourne,
Australia*

DANA JAMIESON

REFERENCES

1. H. A. S. VAN DEN BRENK and D. JAMIESON, *Aust. J. exp. Biol. med. Sci.* **40**, 37 (1962).
2. D. JAMIESON and H. A. S. VAN DEN BRENK, *Aust. J. exp. Biol. med. Sci.* **40**, 309 (1962).
3. D. JAMIESON and H. A. S. VAN DEN BRENK, *Aust. J. exp. Biol. med. Sci.* **40**, 51 (1962).
4. J. W. BEAN and D. ZEE, *J. appl. Physiol.* **20**, 525 (1965).
5. J. A. CAMPBELL, *J. Physiol., Lond.* **90**, 91P (1937).
6. D. JAMIESON and H. A. S. VAN DEN BRENK, *J. appl. Physiol.* **18**, 869 (1963).
7. R. GERSCHMAN, D. L. GILBERT and D. CACCAMISE, *J. appl. Physiol.* **192**, 563 (1958).
8. D. JAMIESON, *Third International Conference on Hyperbaric Medicine*. Academic Press, New York (in press).

Biochemical Pharmacology, 1966, Vol. 15, pp. 2122-2124. Pergamon Press Ltd., Printed in Great Britain.

Histidine decarboxylase gastrique et ulcerés experimentaux chez le rat

(Received 7 July 1966; accepted 10 August 1966)

BIEN que le mécanisme de formation des ulcères gastriques expérimentaux soit imparfaitement élucidé, on admet généralement que deux facteurs principaux concourent à leur apparition: l'augmentation de la sécrétion acide et les troubles vasomoteurs locaux.¹

Etant donné que l'histamine de la muqueuse gastrique paraît être le médiateur de la sécrétion acide provoquée par divers agents² et que, par ailleurs, cette amine semble jouer un rôle physiologique important dans la régulation de la microcirculation,³ nous avons voulu vérifier si la production de différents types d'ulcères expérimentaux était liée à des modifications du taux d'histidine décarboxylase dans l'estomac. Une telle relation a été suggérée récemment par Fischer et Snyder⁴ qui ont constaté une augmentation marquée du taux de l'enzyme synthétisant l'histamine gastrique chez des rats porteurs d'une anastomose portocave.

Des ulcères gastriques médicamenteux ont été obtenus suivant le protocole de Brodie *et al.*,⁵ sur des rats Wistar mâles, de 130-150 g, à jeun depuis 24 h, au moyen d'injections intraperitoneales de réserpine (8 mg/kg), phénylbutazone (100 mg/kg) ou sérotonine (8 mg/kg). Les animaux ont été sacrifiés 4 h après l'administration de l'agent ulcérogène.

Chez d'autres animaux l'ulcération a été provoquée par mise en contrainte durant 14 h.⁶

A l'issue des expériences les estomacs ont été prélevés et, après examen direct de l'aspect de la muqueuse glandulaire, on a procédé au dosage de l'histidine décarboxylase. L'activité de l'enzyme a été évaluée suivant la méthode de Kobayashi.⁷ La partie glandulaire de l'estomac a été homogénéisé dans 5 vol. d'eau puis on a centrifugé cette préparation à basse température (20,000 g pendant 10 min). On a alors prélevé une prise aliquote de 1,5 ml du liquide surnageant à laquelle on a ajouté 0,7 ml de solution contenant: 0,12 mM de tampon phosphate pH 7, 40 μ M de phosphate de pyridoxal, 32 μ M de D,L-histidine à carboxyle ^{14}C Amersham (11,8 mc/mM) et 45 μ M de L histidine. Les incubations ont été pratiquées à 37°, pendant 1 h, au contact de l'air et l'activité enzymatique a été rapportée au gramme de tissu frais.

Le Tableau 1 montre que la formation d'ulcères dans la partie glandulaire de l'estomac des rats traités par la réserpine n'est pas liée à une variation du taux d'histidine décarboxylase du tissu. Cela indique que l'action sécrétagogue de la réserpine, qui pourrait résulter d'une libération locale d'histamine,^{8, 9} ne s'accompagne pas, dans la période de formation des ulcères, d'une augmentation de la biosynthèse de l'amine.

TABLEAU 1. EFFETS DE DIVERS TRAITEMENTS ULCEROGENES SUR LE TAUX D'HISTIDINE DECARBOXYLASE DE L'ESTOMAC GLANDULAIRE DU RAT

Animaux	Traitement	Nombre total d'animaux	Nombre d'animaux porteurs d'ulcères	Histidine décarboxylase (m μ M/3/h)
à jeun 24 h	Sol. NaCl 0,9% réserpine	23	0	0,79 \pm 0,08
	phénylbutazone	7	7	0,80 \pm 0,16
	sérotonine	11	9	1,72 \pm 0,19*
		10	8	1,33 \pm 0,16*
à jeun 14 h	Sol. NaCl 0,9%	9	0	0,95 \pm 0,19
	Contrainte 14 h	13	12	2,06 \pm 0,46*
Nourris <i>ad libitum</i>	Sol. NaCl 0,9%	11	0	5,78 \pm 0,88
	phénylbutazone	6	0	5,46 \pm 0,97

* $P < 0,05$.

Par contre l'administration de sérotonine et de phénylbutazone, agents ulcérogènes ne déterminant pas d'hypersécrétion gastrique,⁵ a été marquée par un accroissement significatif de l'activité histidine décarboxylasique chez les rats à jeun. Il faut néanmoins noter que cette activité est demeurée moins importante que celle qui est trouvée chez les animaux nourris *ad libitum* et n'ayant subi aucun traitement ulcérogène. De plus lorsque l'administration de phénylbutazone a été effectuée chez des animaux n'ayant pas subi un jeûne préalable on n'a plus observé, dans ces conditions, ni élévation relative du taux de l'enzyme, ni apparition d'ulcères.

Enfin la formation des ulcères de contrainte a été accompagnée d'une élévation marquée du taux de l'histidine décarboxylase. Ce résultat s'accorde avec ceux de Thayer *et al.*¹⁰ qui ont constaté qu'un régime dépourvu de pyridoxine protégeait les rats contre l'effet ulcérogène de la contrainte en abaissant la capacité de formation de l'histamine de la paroi gastrique.

En conclusion, certains types d'ulcères expérimentaux s'accompagnent chez le rat d'une activation de l'histidine décarboxylase gastrique qui ne semble ni être liée à un état d'hypersécrétion, ni résulter indirectement d'altérations de la muqueuse puisque cette activation n'est pas constatée au cours des ulcères provoqués par la réserpine.

SUMMARY

Gastric ulcers, produced in unfed rats by restraint or treatment with phenylbutazone and serotonin were associated with a rise in histidine decarboxylase activity but those produced by reserpine were not. In normally fed animals, phenylbutazone failed to induce both ulcer formation and a rise in enzyme activity.

*Laboratoire de Pharmacodynamie,
Faculté de Pharmacie de Paris,
Paris,
France*

J. C. SCHWARTZ
Y. COHEN
G. VALETTE

BIBLIOGRAPHIE

1. H. L. SEGAL, *Am. J. Med.* **29**, 780 (1960).
2. C. F. CODE, *Fedn Proc.* **24**, 1311 (1965).

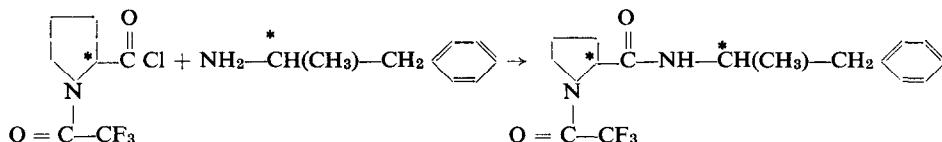
3. R. W. SCHAYER, *Fedn Proc.* **24**, 1295 (1965).
4. J. E. FISCHER et S. H. SNYDER, *Fedn Proc.* **24**, 1334 (1965).
5. D. A. BRODIE, R. W. MARSHALL et O. M. MORENO, *Gastroenterology* **43**, 675 (1962).
6. G. ROSSI, S. BONFILS, F. LIEFFOGH et A. LAMBLING, *C.r. Séanc Soc. Biol.* **150**, 2124 (1956).
7. Y. KOBAYASHI, *Analyst. Biochem.* **5**, 284 (1963).
8. K. S. KIM et P. A. SHORE, *J. Pharmac.* **141**, 321 (1963).
9. R. J. LEVINE, *Fedn Proc.* **24**, 1331 (1965).
10. W. R. THAYER, A. H. TOFFLER, G. CHAPO et H. M. SPIRO, *Yale J. Biol. Med.* **38**, 257 (1965).

Biochemical Pharmacology, 1966, Vol. 15, pp. 2124-2126. Pergamon Press Ltd., Printed in Great Britain.

Gas-chromatographic resolution of optical isomers in microgram samples of amphetamine*

(Received 21 May 1966; accepted 2 August 1966)

DURING the past five years, several enantiomeric pairs have been resolved by gas-liquid chromatography: *d,l*-camphor,¹ *d,l*-amino acids,²⁻⁴ and *d,l*-2-alkanols.⁴ The resolving agent, trifluoroacetyl-*l*-prolyl chloride (hereafter abbreviated TPC), was introduced by Halpern and Westley³ for the gas-chromatographic resolution of amino acids. With amino acids, TPC forms diastereoisomeric trifluoroacetyl-*l*-prolyl peptides which are soluble in organic solvents and sufficiently volatile. This report describes the gas-chromatographic resolution of the optical isomers of amphetamine as the diastereoisomeric pair, *l*-(N-trifluoroacetyl)-prolyl-*d,l*-amphetamine.



* Asymmetric carbon.

MATERIALS

The resolving agent was prepared by the method of Weygand *et al.*:⁵ 1.1 g *l*-proline, dried by heating 15 min at 130° under vacuum, was dissolved in 1.6 ml trifluoroacetic anhydride at -15°, then warmed briefly at 30°. The trifluoroacetic acid and anhydride were evaporated under vacuum. The residue was refluxed 30 min in thionyl chloride and the thionyl chloride evaporated. The product was dissolved in benzene and used without further purification. It has remained in satisfactory condition several months, stored in a desiccator at 4°.

METHODS AND RESULTS

A benzene solution of amphetamine was mixed with the solution of the resolving agent, warmed 1 min on a water bath, and neutralized with tributylamine. The benzene solution was washed with

* Presented in part at the 50th annual meeting of the Federation of American Societies for Experimental Biology, April 1966. Abstracted in *Fedn Proc.* **25**, 690 (1966). Supported in part by U.S. Department of Health, Education and Welfare, AM 03963-06; and in part by Health Research Council of the City of New York, Grant U-1501.