

## NON-EXCHANGEABLE SODIUM IN THE BODY

by

R. E. DAVIES AND H. L. KORNBERG\*

*Medical Research Council Unit for Research in Cell Metabolism, Department of Biochemistry,  
University of Sheffield (England)*

AND

G. M. WILSON\*\*

*Department of Pharmacology and Therapeutics, University of Sheffield (England)*

Intravenously injected  $^{24}\text{Na}$  is known to exchange rapidly and completely with the sodium in the extracellular fluid and soft tissues, but no precise information is available on the extent of exchange between plasma sodium and that of bone, which represents the largest single store of body sodium.

Ribs were obtained from 13 adult patients during thoracic surgical operations after  $^{24}\text{Na}$  had been injected intravenously 1 to 24 h previously. The marrow was removed and the radioactivity of the bones, dissolved in nitric acid, was compared with that of the plasma. The total sodium content of plasma was estimated by flame photometry, and that of bone by the procedure of DAVIES, KORNBERG AND WILSON<sup>1</sup>. The percentage of bone sodium exchanged (Fig. 1) increased to approx. 25% after 12 h, thereafter showing no measurable increase during the 24 h periods studied (*cf.* FORBES AND PERLEY<sup>2</sup>; MILLER AND WILSON<sup>3</sup>). In order to extend these observations, further experiments were carried out with rabbits, where the steady state distribution of  $^{24}\text{Na}$  was reached after about 1 h (*cf.* HAHN, HEVESY AND REBKE<sup>4</sup>; MANERY AND BALE<sup>5</sup>). Measurements were made with 8 adult rabbits up to 96 h after injection, *i.e.* after over 90 equilibration periods. Even after this time some 65% of the bone sodium had not exchanged with plasma  $^{24}\text{Na}$  (see also STERN, COLE, BASS AND OVERMAN<sup>7</sup>; EDELMAN, JAMES AND MOORE<sup>8</sup>). This means that 28% of the total sodium of the rabbit was unavailable for exchange. This figure was confirmed by direct measurements of the total and exchangeable sodium of minced whole rabbits.

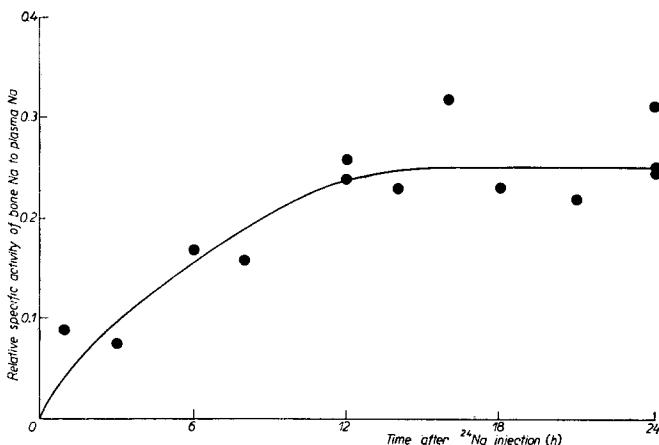


Fig. 1. The relation between the specific activities of the sodium of human bone and plasma after intravenous injection of  $^{24}\text{Na}$ .

\* John Stokes Research Fellow.

\*\* Present address: Department of Surgery, Peter Bent Brigham Hospital, Boston 15, Mass., U.S.A.

## REFERENCES

- 1 R. E. DAVIES, H. L. KORNBERG, AND G. M. WILSON, *Biochem. J.*, 52 (1952) (in the press).
- 2 I. S. EDELMAN, A. H. JAMES, AND F. D. MOORE, *Fed. Proc.*, 11 (1952) 40.
- 3 G. B. FORBES AND A. PERLEY, *J. Clin. Invest.*, 30 (1951) 558.
- 4 L. A. HAHN, G. C. HEVESY, AND O. H. REBBE, *Biochem. J.*, 33 (1939) 1549.
- 5 J. F. MANERY AND W. F. BALE, *Am. J. Physiol.*, 132 (1941) 215.
- 6 H. MILLER AND G. M. WILSON, *Clinical Science* (in the press).
- 7 T. N. STERN, V. V. COLE, A. C. BASS, AND R. R. OVERMAN, *Am. J. Physiol.*, 164 (1951) 437.

Received October 27th, 1952

## RÉACTIONS COLORÉES SPÉCIFIQUES DE L'ARGININE ET DE LA TYROSINE RÉALISÉES APRÈS CHROMATOGRAPHIE SUR PAPIER

par

ROGER ACHER ET CHARITY CROCKER

*Laboratoire de Chimie biologique de la Faculté des Sciences, Paris (France)*

Les réactions colorées spécifiques de certains acides aminés, lorsqu'elles sont aussi fournies par leurs peptides, sont très précieuses pour la détection de ces derniers, et pour leur purification par chromatographie sur papier à partir d'hydrolysats partiels de protéines; il est cependant nécessaire que les colorations soient relativement stables et suffisamment sensibles pour être décelées sur des quantités de produits de l'ordre du  $\mu\text{g}$ . Quoique plusieurs modifications de techniques fondamentales connues aient déjà été proposées, nous croyons intéressant de décrire deux procédés qui, précisément au point de vue de la sensibilité et de la stabilité des colorations, nous ont été particulièrement utiles dans la recherche des peptides de l'arginine et de la tyrosine<sup>1,2</sup>.

*Arginine.* La réaction de SAKAGUCHI est faite sur le papier de la façon suivante: on dispose de deux solutions de stockage, l'une constituée par l' $\alpha$ -naphtol à 0.01% dans l'alcool contenant 5% d'urée, l'autre par de l'hypobromite de soude à 5% (0.7 ml de Br dans 100 ml de NaOH 5%). Avant emploi, on dissout environ 5% de potasse (5 pastilles pour 10 ml) dans la solution d' $\alpha$ -naphtol, et on pulvérise. L'arginine et ses peptides apparaissent en rouge sur fond blanc, et la coloration est stable plusieurs jours. Les autres acides aminés ne réagissent pas. Après chromatographie sur papier Whatman n° 1 dans le butanol-acide formique, on peut distinguer 0.2  $\mu\text{g}$  d'arginine. La réaction est réalisable sans soins particuliers lorsque le solvant utilisé est le butanol, le phénol ou la collidine. Elle peut être effectuée après la réaction à la ninhydrine ou à l'isatine<sup>3</sup>: dans ce cas, les colorations données par les autres acides aminés avec ces réactifs s'effacent et l'arginine apparaît en rouge. Toutefois la sensibilité est alors un peu moins grande.

Cette réaction s'effectue aussi avec tous les dérivés de l'arginine ayant le groupement guanidyle libre: en particulier elle a été précieuse pour l'identification de la 2,4-dinitrophénylarginine provenant de la copulation d'arginyl-peptides avec le réactif de SANGER<sup>1</sup>; après chromatographie sur papier et révélation, la teinte passe du jaune au rouge. Elle a également permis de détecter sur papier des peptides contenant de l'arginine et ne réagissant pratiquement pas à la ninhydrine<sup>2</sup> (prolyl-arginine).

*Tyrosine.* GERNGROSS, VOSS ET HERFELD<sup>4</sup> ont signalé que les phénols *para*-alkylés donnent avec l' $\alpha$ -nitroso- $\beta$ -naphtol une coloration rouge très sensible à condition que les positions en ortho de la fonction phénol ne soient pas substituées, ou seulement l'une d'entre elles par un groupement méthyle. Récemment, un dosage colorimétrique de la tyrosine à l'aide de ce réactif a été proposé<sup>5</sup>.

La réaction est faite sur le papier de la façon suivante: On pulvérise d'abord une solution d' $\alpha$ -nitroso- $\beta$ -naphtol à 0.1% dans l'alcool à 95°. Après séchage à air chaud, on effectue une seconde pulvérisation avec une solution aqueuse d'acide nitrique à 10%. La feuille est alors placée 3 minutes au four à 100°; la tyrosine et ses dérivés apparaissent en rouge sur fond vert pâle; la coloration subsiste une demi-heure environ, puis vire à l'orange et s'affaiblit peu à peu. 1 à 2  $\mu\text{g}$  sont décelables