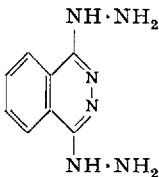
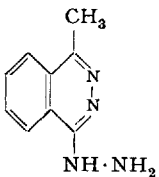
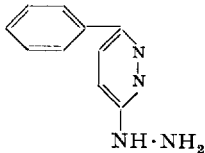
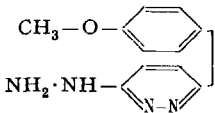
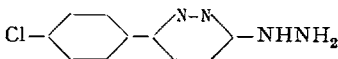
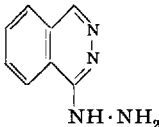
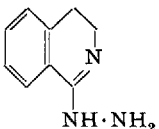


	Formel	Hemmung der Histaminaseakti- vität um 50%	Blutdrucksenkung am Kaninchen		
			Dosis	Druckabfall	Wirkungsdauer
1		$2,3 \cdot 10^{-6}$	$2,5 \cdot 10^{-7}$	30 mm	>60'
2		$2,5 \cdot 10^{-6}$	$2,5 \cdot 10^{-7}$	20 mm	>70'
3		$3 \cdot 10^{-6}$	$2,5 \cdot 10^{-7}$	16 mm	>60'
4		$4 \cdot 10^{-6}$	$2,5 \cdot 10^{-7}$	20 mm	>120'
5		$5 \cdot 10^{-6}$	$2,5 \cdot 10^{-7}$	20 mm	>120'
6		$6 \cdot 10^{-6}$	$2,5 \cdot 10^{-7}$	30 mm	>120'
7		$8 \cdot 10^{-6}$	$2,5 \cdot 10^{-7}$	30 mm	>70'

Zur Hemmung der Diaminoxidase (Histaminase)

Der Befund¹, dass Hydrazinophthalazine mit blutdrucksenkender Wirkung eine ausgesprochene Hemmwirkung auf die Diaminoxidase (DO.) zeigen, gab Veranlassung, auch einfachere Verbindungen ähnlicher Art auf ihre DO.-Hemmwirkung zu untersuchen. Dies um so mehr, als Untersuchungen von ZELLER², BLASCHKO³ und WERLE⁴ zahlreiche, mehr oder weniger stark DO.-hemmende Stoffe besonders in der Gruppe der Karbonylreagenzien ergeben haben, mit Semikarbazid als dem stärksten bisher bekannten Hemmstoff. Darunter

finden sich auch Phenylhydrazin mit ebenfalls zwei direkt benachbarten Aminogruppen und Guanidin, nicht aber unsubstituiertes Hydrazin und das zwei benachbarte Aminogruppen tragende Aminoguanidin. Wir haben deren Hemmwirkung auf DO. (aus Schweinenieren) mit Cadaverin als Substrat manometrisch untersucht und sie als die stärksten bisher bekannten Hemmstoffe befunden.

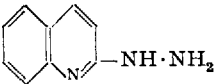
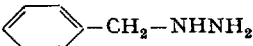
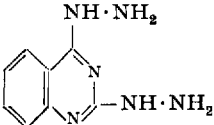
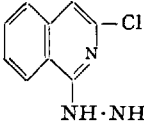
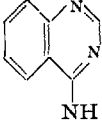
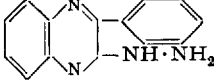
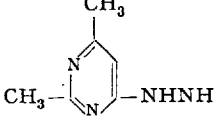
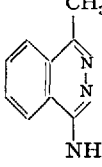
Methodisch verwenden wir als Fermentlösung Azeton-trockenpulver aus frischen Schweinenieren mit *m*/15-Phosphatpufferlösung pH 7 zwei Tage gegen Puffer dialysiert. In den Hauptraum von Doppelanhang-Warburggefäßen geben wir Phosphatpuffer (*m*/15, pH 7) und die zu prüfende Hemmsubstanz, in den einen Anhang 0,5 cm³ der Fermentlösung, in den anderen Anhang Cadaverin-HCl (EK. *m*/200). Gesamtvolumen 2 cm³. 0,4 cm³ KOH im Mittelstück. Temperaturausgleich 20 min, Versuchsdauer 2 h. Der Fermentextrakt ist so eingestellt, dass in 2 h abzüglich dem meist sehr kleinen Leerwert etwa 100 mm³ O₂ verbraucht werden.

¹ F. GROSS, W. SCHULER, J. TRIPOD und R. MEIER, Exper. 8, 229 (1952).

² E. A. ZELLER, Helv. chim. acta 21, 880, 1645 (1938); 23, 3 (1940); Adv. Enzymology 2, 93 (1942).

³ H. BLASCHKO, J. Physiol. 95, P 30 (1939).

⁴ E. WERLE, Biochem. Z. 304, 202 (1940).

	Formel	Hemmung der Histaminaseakti- vität um 50%	Blutdrucksenkung am Kaninchen		
			Dosis	Druckabfall	Wirkungsdauer
8		$1,5 \cdot 10^{-6}$	10^{-5}	35 mm	1'
9		$3 \cdot 10^{-6}$	10^{-5}	8 mm	3'
10		$3,5 \cdot 10^{-6}$	$2,5 \cdot 10^{-5}$	30 mm	5'
11		$4,5 \cdot 10^{-6}$	$2,5 \cdot 10^{-6}$	25 mm	2'
12		$5 \cdot 10^{-6}$	$5 \cdot 10^{-5}$	25 mm	1'
13		$5 \cdot 10^{-6}$	10^{-5}	30 mm	1'
14		$6 \cdot 10^{-6}$	$2,5 \cdot 10^{-6}$	12 mm	2'
15		$2,5 \cdot 10^{-5}$	10^{-6}	14 mm	1'

In der Tabelle sind die Konzentrationen von Aminoguanidin und Hydrazin im Vergleich zu denjenigen von Semikarbazid, Thiosemikarbazid und Guanidin angegeben, welche nach unseren Befunden nötig sind, um die DO.-Cadaverin-Reaktion minimal, maximal (zu 90–100%) und 50%ig zu hemmen:

Die für Semikarbazid, Thiosemikarbazid und Guanidin gefundenen Hemmwerte der DO.-Cadaverin-Reaktion stimmen mit den von ZELLER¹ mit der Ammoniakbestimmungsmethode gefundenen Werten grössenord-

¹ E. A. ZELLER, *Helv. chim. acta* 21, 1645 (1938).

	Endkonzentrationen für					
	beginnende Hemmung		maximale Hemmung		50% Hemmung	
	g/cm ³	molar	g/cm ³	molar	g/cm ³	molar
Aminoguanidinbikarbonat (Kodak) . .	$< 10^{-9}$	$< 10^{-8}$	$2 \cdot 10^{-7}$	10^{-6}	$7 \cdot 10^{-9}$	$5 \cdot 10^{-8}$
Hydrazinsulfat	etwa 10^{-8}	etwa 10^{-7}	$2 \cdot 10^{-6}$	10^{-5}	10^{-7}	$8 \cdot 10^{-7}$
Semikarbazidhydrochlorid	$< 10^{-7}$	$< 10^{-6}$	10^{-5}	10^{-4}	$6 \cdot 10^{-7}$	$5 \cdot 10^{-6}$
Thiosemikarbazid	$4 \cdot 10^{-6}$	$4 \cdot 10^{-5}$	$> 10^{-4}$	$> 10^{-3}$	$4 \cdot 10^{-5}$	10^{-4}
Guanidinhydrochlorid	$> 10^{-5}$	$> 10^{-4}$	—	—	10^{-4}	10^{-3}

nungsmässig überein. Aminoguanidin und Hydrazin aber hemmen die DO.-Cadaverin-Reaktion wesentlich stärker: Konzentrationen gleicher Hemmwirkung liegen für Hydrazin um eine, für Aminoguanidin um zwei Zehnerpotenzen unter der für Semikarbazid. Offenbarkommt den direkt benachbarten Aminogruppen Bedeutung zu, von denen eine substituiert sein kann.

Ob diese Hemmstoffe auch die DO.-Wirkung auf andere Substrate, die DO. anderer Herkunft und inwieweit sie auch die Histidindecaboxylase hemmen, bleibt noch zu untersuchen.

W. SCHULER

Wissenschaftliche Laboratorien der Ciba Aktiengesellschaft, Basel, den 28. März 1952.

Summary

It has been found that Aminoguanidine and Hydrazine are at present the most active inhibitors of diamine oxidase from hog kidneys with cadaverine as substrate.

Antidiuretic Action of Pure Synthetic Enteramine in Hydrated Rats

Enteramine, the specific hormonal product of the enterochromaffin cell system, has been recently obtained in a pure form, both from natural sources¹ and synthetically².

The substance has been definitely identified as 5-hydroxytryptamine.

Table I

	Percent excretion after hours				
	1	1½	2	3	7
<i>Water</i>					
Controls	30.0	59.0	67.8	76.5	99.8
Enteramine picrate 0.2 mg/kg	11.2	32.1	50.3	61.8	90.9
Enteramine picrate 2 mg/kg	3.8	9.6	22.2	41.8	79.6
<i>Creatinine</i>					
Controls	33.8	52.8	56.4	60.2	73.8
Enteramine picrate 0.2 mg/kg	14.8	41.8	54.3	60.8	76.3
Enteramine picrate 2 mg/kg	4.4	16.3	34.1	55.5	77.7
<i>PAH</i>					
Controls	49.6	69.4	71.8	73.2	75.4
Enteramine picrate 0.2 mg/kg	19.8	51.9	63.0	67.2	70.2
Enteramine picrate 2 mg/kg	6.3	20.4	43.8	65.2	73.2

Serotonin, as described by RAPPORT *et al.*³, is nothing but circulating enteramine.

The present report deals with the antidiuretic effects caused in hydrated rats by pure synthetic enteramine picrate (m.p. 196–197.5° with decomposition).

The experimental procedure here followed is just like the one described in our previous communications⁴.

96 adult rats (24 groups of 4 animals each) were used as controls, and two groups of 96 rats each were injected subcutaneously with 0.2 mg and, respectively, with 2 mg of enteramine picrate per kilogram of body weight.

The most important results obtained are set down in Tables I and II. Table I shows the percent excretion of

administered water and test substances (creatinine and PAH), Table II the relative percent excretion of water and test substances when considering = 100 the excretion of the control groups.

Several experiments were also carried out in order to establish the smallest dose of enteramine active on the diuresis. In these experiments the urine flow only, not the excretion of test substances was recorded. It was thus possible to ascertain that out of 10 groups of 12 rats each, injected subcutaneously with 10 µg/kg of enteramine picrate, 8 groups showed diuresis values significantly lower than those of the respective control groups (10 groups of 12 animals each), whereas out of 10 groups of rats injected with 5 µg/kg, as many as 7–8 groups showed diuresis values practically identical with those of the controls.

Table II

	Relative percent excretion (controls = 100) after hours				
	1	1½	2	3	7
<i>Water</i>					
Enteramine picrate 0.2 mg/kg	37.3	54.4	74.2	80.8	91.1
Enteramine picrate 2 mg/kg	12.8	16.3	32.7	54.6	79.8
<i>Creatinine</i>					
Enteramine picrate 0.2 mg/kg	44.0	79.1	96.2	101.0	103.5
Enteramine picrate 2 mg/kg	13.0	30.9	60.5	92.2	105.4
<i>PAH</i>					
Enteramine picrate 0.2 mg/kg	39.9	74.8	87.7	91.9	93.0
Enteramine picrate 2 mg/kg	12.7	29.4	61.0	89.1	97.0

The dose of 10 µg/kg of enteramine picrate (= 4, 1 µg/kg of enteramine base) may, therefore, be considered as the smallest dose active on the diuresis of hydrated rats.

Enteramine picrate possesses a sure hypotensive action in the non-anesthetized, intact rat when injected subcutaneously in doses of 2 mg/kg or in larger doses, an insignificant or doubtful action in doses of 1 mg/kg, and no action at all in smaller doses.

Owing to the low solubility of the picrate, the LD₅₀ has not been established as yet in the rat. In any case such a dose is larger than 200 mg/kg.

It follows that the smallest antidiuretic dose of enteramine is at least 50–100 times inferior to the smallest hypotensive dose, and at least 20,000 times inferior to the LD₅₀.

These Figures seem to us highly indicative on the one hand of the electivity of the renal point of attack of the substance, and, on the other, of its very low acute toxicity.

The remarkable diuresis reduction caused by 0.2 mg/kg of enteramine picrate is surely independent of any extrarenal pressure modification; the powerful antidiuretic action exercised by 2 mg/kg of enteramine picrate may, on the contrary, also depend, though surely only in moderate measure, on the fall of the systemic blood pressure. We shall return upon this point in the work *in extenso*.

The data shown in the Tables, particularly those concerning the excretion of creatinine and PAH, once again confirm that the enteramine antidiuresis is due to a spasm of the contractile structures of the *afferent* vascular bed of the glomerulus, with ensuing fall of the intraglomerular hydrostatic pressure, and slowing of the blood flow through the intertubular capillary network.

The obvious conclusion, which may be drawn from the results obtained in the present investigation and in

¹ V. ERSFAMER and B. ASERO, *Nature* (in Press); *Ricerca scient.* 21, 2132 (1951); *J. Biol. Chem.* (in Press).

² B. ASERO, V. COLÒ, V. ERSFAMER, and A. VERCELLONE, *Liebigs Ann.* 576, 69 (1952).

³ M. M. RAPPORT, A. A. GREEN, and J. H. PAGE, *J. Biol. Chem.* 174, 735 (1948); 176, 1237, 1243 (1948). – M. M. RAPPORT, *J. Biol. Chem.* 180, 961 (1949).

⁴ V. ERSFAMER and A. OTTOLENGHI, *Exper.* 8, 31 (1952).