

the Table. The pyrrolidine nitrogen of the nicotine is seen to contain 0.774 atom-% excess  $^{15}\text{N}$ , 7 times as much excess  $^{15}\text{N}$  as does the pyridine nitrogen, and the isotopic incorporation is very low.

To exclude the possibility that this result might have been caused by elimination of the terminal nitrogen atom of the lysine during the formation of a ring compound, by analog with some other biological systems<sup>7</sup>, 4.0 mg L(+)-lysine, uniformly labeled in the carbon chain with  $^{14}\text{C}$ , was administered to 20 tobacco root cultures, using the same techniques as before. The cultures were harvested after 5 days and yielded 5.7 mg of nicotine as its dipicrate. The specific radioactivities of the compounds involved are shown in the Table:

	15N atom-% excess	$^{14}\text{C}$ $\mu\text{c}/\text{umole}$
Isotopic L(+)-lysine	49.2 (in one position)	153
Nicotine . . . . .	0.427	0.008,2*
Nicotinic acid . . . .	0.110	0.002,6*

\* Corrected for dilution with carrier.

In both feedings of the labeled lysines, the transfer of isotope from lysine to nicotine was of very low order of magnitude, and there was a pronounced preference for isotopic enrichment of the pyrrolidine rather than the pyridine ring. These results indicate that lysine is apparently sufficiently removed from nicotine in the chemical economy of the plant that it not only fails to enter the pyridine ring of nicotine directly, but parts of the lysine molecule actually appear in the pyrrolidine ring in preference to the pyridine ring.

We wish to express our appreciation to Drs. S. C. MADDEN and F. M. SINEX for generous gifts of the labeled lysines.

A. A. BOTHNER-BY, R. F. DAWSON,  
and D. R. CHRISTMAN

Departments of Chemistry and Biology, Brookhaven National Laboratory, Upton, Long Island, New York, November 18, 1955.

#### Zusammenfassung

Gibt man L(+)-Lysin- $\epsilon$ - $^{15}\text{N}$  oder in allen Stellungen mit  $^{14}\text{C}$  markiertes L(+)-Lysin zu keimfreien Kulturen von abgeschnittenen Wurzeln von *Nicotiana tabacum*, so erzeugen die Wurzeln Nikotin, welches kleine Mengen  $^{15}\text{N}$  oder  $^{14}\text{C}$  enthält. Ferner enthält das Nikotin mehr  $^{15}\text{N}$  oder  $^{14}\text{C}$  im Pyrrolidinring als im Pyridinring. Lysin liegt daher nicht auf dem direkten biogenetischen Weg zum Nikotin.

<sup>7</sup> H. J. VOGEL and B. D. DAVIS, J. Amer. chem. Soc. 74, 109 (1952).

#### Histaminantagonistische Wirkungen von Adrenochrom-Monosemicarbazone<sup>1</sup>

Bei Versuchen an der Meerschweinchenhaut beobachteten wir histaminantagonistische Wirkungen von

<sup>1</sup> «Adrenoxyl» ORION Helsinki, unter Lizenz LABAZ Brüssel.

Adrenochrom-Monosemicarbazone (*ACHR*). Dieser Effekt wurde quantitativ mit der histaminantagonistischen Wirkung der spezifischen Antihistaminika (*A.H.*) Pyrilamin maleat (NNR)<sup>2</sup> und Antazolin methansulfonat (NNR)<sup>3</sup> verglichen. Dabei wurde der Einfluss sowohl auf die durch «exogenes» als auch auf die durch «endogenes» in der Haut selbst freigesetztes Histamin hervorgerufene vaskuläre Permeabilitätssteigerung geprüft.

*Methode.* Weisse Meerschweinchchen von etwa 300 g Gewicht erhielten 2 ml/kg einer 1%igen Lösung von Trypanblau «Grübler» intravenös. 4-5 min danach wurden in die enthaarte Rückenhaut links und rechts parallel zur Mittellinie intrakutan injiziert: Histamin-2HCl als «exogenes Histamin» ( $10^{-5}$  g/ml); Verbindung 48/80 als «endogenes Histamin» freisetzende Substanz<sup>4</sup> in äquieffektiver Konzentration ( $10^{-4.5}$  g/ml); Histamin + Antagonist; 48/80 + Antagonist; physiologische Kochsalzlösung. Die Injektionsvolumina betragen 0,05 ml, alle Wirkstoffe wurden unmittelbar vor dem Versuch in physiologischer Kochsalzlösung gelöst. Die Bestimmung der Wirkungsstärke der intrakutanen Injektionen erfolgte 10-15 min danach durch Bewertung der Intensitätsstufe des Farbstoffaustretts in den Quaddelbereichen. Unbeeinflusste Reaktionen bestanden in einem kreisförmigen scharf begrenzten Fleck von gleichmässig dunkelblauer Farbe. Bei «fast vollständigem Antagonismus» fand sich im Injektionsbereich angedeutet kreisförmige unscharf begrenzte diffuse oder fleckförmig vereinzelte, noch sehr schwach hellblaue Anfärbung.

*Ergebnisse.* Die Wirkung jeder geprüften Antagonistenkonzentration wurde aus mindestens 10 Einzelinjektionen bestimmt. Die Konzentrationen<sup>5</sup> der Antagonisten, welche bei gleichzeitiger intrakutaner Injektion den Farbstoffaustritt fast vollständig verhinderten, betrugen für

Pyrilamin gegen Histamin:  $10^{-6}$  g/ml, gegen 48/80:  $10^{-3.5}$  g/ml; Antazolin gegen Histamin:  $10^{-5}$  g/ml, gegen 48/80:  $10^{-3.5}$  g/ml; *ACHR* gegen Histamin:  $10^{-3.4}$  g/ml, gegen 48/80:  $10^{-3.4}$  g/ml.

Gegenüber «exogenem Histamin» wirkt Pyrilamin demnach 10mal stärker als Antazolin und 400mal stärker als *ACHR*. Gegenüber 48/80 («endogenem Histamin») sind beide *A.H.* gleich wirksam, Pyrilamin jedoch erst in etwa 300mal und Antazolin in etwa 30mal höherer Konzentration als gegenüber «exogenem Histamin». *ACHR* hemmt in der gleichen Konzentration die Wirkung «exogenen» und «endogenen Histamins» gleich stark. *ACHR* ist demnach gegenüber «endogenem Histamin» annähernd ebenso wirksam wie die spezifischen *A.H.*

In einer zweiten kleineren Versuchsreihe wurden die antagonistischen Substanzen zuerst intraperitoneal verabreicht. Etwa 35-40 min danach wurde Trypanblau intravenös, anschliessend an jedem einzelnen Versuchstier sowohl Histamin als auch 48/80 in verschiedenen jeweils äquieffektiven Konzentrationen intrakutan injiziert.

*Ergebnisse.* Die Wirksamkeit der Antagonisten ergab sich aus dem Verhältnis der am nichtvorbehandelten und am vorbehandelten Tier gleich wirksamen Konzentrationen von Histamin beziehungsweise 48/80; dieses betrug nach

$10^{-3.5}$  g/g Tier Pyrilamin<sup>5</sup> für Hist. 1:10-32, für 48/80 1:3,2;  $10^{-4.5}$  g/g Tier Antazolin<sup>5</sup> für Hist. 1:10-32, für 48/80 1:3,2;  $10^{-4.8}$  g/g Tier *ACHR* für Hist. 1:3,2-10, für 48/80 1:3,2.

<sup>2</sup> Mepyramin. maleat. NFN.

<sup>3</sup> Imidamin. methansulfonat. NFN.

<sup>4</sup> W. D. M. PATON, Brit. J. Pharmacol. 6, 499 (1951).

<sup>5</sup> Die Konzentrations- bzw. Dosisangaben beziehen sich auf die Salze.

Pyrilamin wirkt auch hier 10mal stärker als Antazolin und beide *A.H.* hemmen die Wirkung «exogenen Histamins» stärker als die Wirkung von 48/80. *ACHR* wirkt etwas schwächer antagonistisch gegenüber «exogenem Histamin», ist jedoch gegenüber 48/80 ebenso stark wirksam wie die doppelte Dosis Antazolin und die 5mal niedrigere Dosis Pyrilamin. In dieser Versuchsanordnung erreicht *ACHR* demnach annähernd die Größenordnung der Wirksamkeit spezifischer *A.H.*

**Diskussion.** Im Vergleich zu den Ergebnissen bei intrakutaner Applikation zeigt *ACHR* bei intraperitonealer Anwendung eine deutliche relative Zunahme der antagonistischen Wirkungsstärke. Diese Beobachtung wird durch folgende Überlegung erweitert: Bei Annahme einer annähernd gleichmässigen Verteilung der intraperitoneal injizierten Substanzen im Organismus innerhalb des Versuchszeitraumes kann die aus der Dosis berechnete Konzentration in g/g Gewebe überschlagsweise mit der Konzentration in g/ml bei intrakutaner Applikation verglichen werden. Dabei ergibt sich für die spezifischen *A.H.* gute Übereinstimmung der Wirkung bei beiden Applikationsarten. Die theoretische Gewebskonzentration von intraperitoneal injiziertem *ACHR* beträgt dagegen weniger als  $\frac{1}{20}$  der bei intrakutaner Anwendung wirksamen Konzentration. Diese beträchtliche Differenz lässt vermuten, dass am Zustandekommen der antagonistischen Wirkung von intraperitoneal gegebenem *ACHR* auch indirekte Mechanismen wesentlich beteiligt sind. Es wird für möglich gehalten, dass die Nebennierenrinden-stimulierende Wirkungseigenschaft von *ACHR*<sup>6</sup> dabei eine Rolle spielt.

Die erheblichen Wirksamkeitsdifferenzen der spezifischen *A.H.* gegenüber intrakutan injiziertem Histamin und 48/80 führen zu der Annahme, dass der Effekt des «Histaminfreisetzers» 48/80 nur zum Teil auf die Wirkung freigesetzten Histamins zurückzuführen ist. Neben den Auswirkungen primärer Zellschädigungen wäre eine Freisetzung auch andersartiger, nicht mit Histamin identischer Wirkstoffe, neben Histamin in Betracht zu ziehen. Der Mechanismus der hier beschriebenen antagonistischen Wirkung von *ACHR* wird daher eher in einer primären mittelbaren und unmittelbaren Beeinflussung der Gefäßpermeabilität vermutet als in einer spezifischen Blockierung von Histamin. Dieser Annahme entsprechen die Beobachtungen anderer Autoren, dass durch *ACHR* die Gefäßpermeabilität vermindert<sup>7</sup> und die Kapillarresistenz erhöht<sup>8</sup> wird.

Die erweiterte Arbeit wird ausführlich an anderer Stelle publiziert.

Wir danken Dr. E. J. DE BEER, The Wellcome Research Laboratories, Tuckahoe 7, N.Y., für die freundliche Überlassung von Versuchsmengen der Verbindung 48/80.

J. ALBERTY und RIITTA TAKKUNEN

Pharmakologisches Laboratorium der Arzneimittelfabrik «Lääketehdas Orion O.Y.», Helsinki, Finnland, den 24. Oktober 1955.

#### Summary

In experiments on the skin of the guinea pig, the monosemicarbazone of adrenochrome is shown to prevent increase of vascular permeability due to intradermal injection of histamine or “endogenous histamine” liberating substance 48/80. By simultaneous intradermal in-

jection with histamine or 48/80, it is equally effective as specific antihistamines in suppressing the skin reaction to 48/80, whereas the antihistamines are considerably stronger antagonists to exogenous histamine. Administered intraperitoneally, adrenochrome monosemicarbazone shows about the same order of antagonistic efficacy as the typical antihistamines. The findings are briefly discussed.

#### A Binding Site for Histamine in Hog Pyloric Mucosa

Evidence is now so convincing that the bulk of the histamine in a tissue is normally contained in its mast cells<sup>1</sup>, that interest tends to become focussed on possible exceptions to this rule. One such unusual location for histamine appears to be in the mucosa of the pyloric portion of hog stomach<sup>2</sup>.

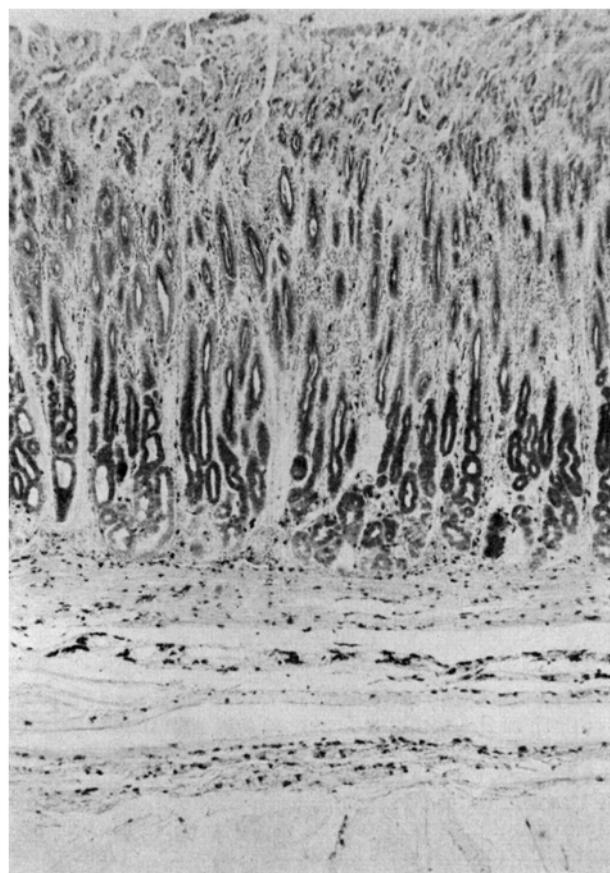


Fig. 1.—Paraffin section through mucosa and submucosa of pyloric portion hog stomach, fixed in Constantinides' fluid and stained with toluidine blue ( $\times 55$ ). The numerous dark spots in the submucosa are the mast cells. A few mast cells occur in the deeper mucosa between the mucus glands which also stain metachromatically with toluidine blue.

Figure 1 shows, at low magnification, a vertical section through the mucosa and submucosa of the pyloric portion of hog stomach, fixed in the fluid recommended for mast cells by CONSTANTINIDES<sup>3</sup> and stained with 0.1% aque-

<sup>6</sup> H. VAN CAUWENBERGE, J. LECOMTE, P. FISCHER, M. VLIERS und J. GOBLET, Arch. internat. Pharmacodyn. 93, 317 (1953).

<sup>7</sup> J.-L. PARROT, C. r. Soc. Biol. 144, 819 (1949).

<sup>8</sup> Z. M. BACQ et al., Arch. internat. Physiol. 57, 295 (1944); 59, 460 (1951). — J. ROSKAM et al., Arch. internat. Pharmacodyn. 69, 348 (1944); 74, 162 (1947); J. Physiol. 108, 1 (1949). — J. LECOMTE und A. HERVE, Arch. internat. Pharmacodyn. 79, 109 (1949).

<sup>1</sup> J. F. RILEY und G. B. WEST, J. Physiol. 120, 528 (1953). — J. F. RILEY, Pharmacol. Revs. 7, 257 (1955).

<sup>2</sup> J. F. RILEY und G. B. WEST, J. Physiol. 130, 3P (1955).

<sup>3</sup> P. CONSTANTINIDES, Science 117, 505 (1953).