

## Untersuchungen an Ionenaustauschmodellen zum Verständnis der Physiologie biogener Amine. Austauschgleichgewichte zwischen Natrium und Aminen an schwefelsäure- und karboxylgruppentragenden Ionenaustauschern

In vorangegangenen Arbeiten haben wir auf mögliche biologische Funktionen von Makromolekülen, speziell von sauren Polysacchariden, hingewiesen. Verschiedene spezifische Reaktionsabläufe, bei denen solche Makromoleküle beteiligt sind, können auf ihren Polyelektrolytcharakter zurückgeführt und damit als Folgen eines Ionenaustauschvorganges gedeutet werden<sup>1-3</sup>. Auch HIGGINBOTHAM und DOUGHERTY<sup>4</sup> weisen auf die Austauschfunktion von Mucopolysacchariden hin, die sie unter gewissen Umständen befähigt, toxische Produkte zu entgiften. In unseren bisherigen Versuchen wurden zur Hauptsache Austauschreaktionen an sauren synthetischen Ionenaustauschern verfolgt, um daraus gewisse Aufschlüsse über pharmakodynamische Reaktionsabläufe zu erhalten, bei denen saure Polysaccharide eine Rolle spielen. Es konnte unter anderem gezeigt werden, dass solche Modellversuche es gestatten, Verbindungen verschiedenster pharmakodynamischer Charakteristik im Hinblick auf ihre möglichen histamin-freisetzenden Eigenschaften näher zu definieren<sup>5</sup>. Da unter physiologischen Bedingungen Amine an Polyelektrolyten nicht nur mit anderen Aminen biogener oder exogener Herkunft, sondern auch mit anorganischen Kationen in Wechselbeziehung treten dürften, lag es nahe, zu untersuchen, in welchem Masse das Verhalten einer Anzahl Amine an synthetischen Ionenaustauschern durch gleichzeitiges Angebot eines der biologisch wichtigen Kationen (Natrium) beeinflusst wird. Mit den gewählten Versuchsbedingungen wurde nicht in erster Linie die Aufstellung einer Selektivitätsreihe im streng physikalischen Sinne angestrebt; sie sollten vielmehr dazu dienen, die Verteilung von Natrium, Wasserstoff und Amin am Ionenaustauscher zu erfassen, um Hinweise auf gewisse pharmakodynamische Austauschphänomene zu gewinnen.

Bei unseren Versuchen wurden zwei verschiedene saure Kationenaustauscher (Dowex 50 W  $\times$  2 und Amberlite IRC 50 mit schwefelsäuren bzw. mit Carboxyl-Gruppen als aktiven Zentren) verwendet, wobei eine definierte Menge Harz (Kapazität =  $10 \times 10^{-4}$  Val) mit äquivalenten Anteilen von NaOH und Aminhydrochlorid (gelöst in 20 ml Wasser) ins Gleichgewicht gebracht wurde. Die potentiometrische Titration der Lösung nach dem Austausch ergab (auch Zusatz von Dioxan) mit  $n/10$  HCl den Anteil freier Aminbase entsprechend dem Wasserstoffanteil auf dem Austauscher und mit  $n/10$  NaOH die Gesamtvale des in der Aussenlösung befindlichen ungebundenen Amins.

Aus den ermittelten Werten wurde durch Differenzberechnung die Verteilung der einzelnen Ionen auf dem Austauscher bestimmt. Daraus lässt sich eine Aktivitätsreihe aufstellen, wobei der Wert angibt, wieviel von 100 sauren Gruppen des Ionenaustauschers vom jeweiligen Amin neben Natrium und Wasserstoff belegt sind (siehe Tabellen I und II).

Zunächst zeigt sich, dass die pH-Werte der Gleichgewichtslösungen in beiden Systemen variieren. Dies ist auf Grund der gewählten Versuchsbedingungen durchaus verständlich, da jeder Ionenaustauscher eine mehr oder weniger starke Affinität zu  $H^+$ -Ionen aufweist oder in Form von undissoziierten Gruppen vorliegt, so dass der entsprechende Anteil des Amins als Base in gelöster Form oder als Bodenkörper auftritt. Im Rahmen unserer Problemstellung dürfte dieser Faktor jedoch vorerst nicht

von Bedeutung sein, da wohl auch im Organismus gewisse pH-Schwankungen an Zellstrukturen denkbar sind. Neue Versuchsreihen dieser Art bei physiologischem pH-Wert sind im übrigen vorgesehen.

Die bisherigen Untersuchungen weisen bereits auf wesentliche Unterschiede des Verhaltens von Aminen an ver-

Tab. I. Austauschgleichgewicht am Ionenaustauscher Dowex mit Schwefelsäuregruppen als aktiven Zentren

Amin · HCl	Aktivitätsreihe <sup>a</sup> %	Äquivalentverteilung auf dem Harz ( $\times 10^{-4}$ Val)	Natrium	Gleichgewichts-pH der Lösung
		Amin	Wasserstoff	
d-Glucosamin	47,9	4,79	0,21	5,00
Compound 48/80 <sup>b</sup>	61,9	6,19	0,10	3,71
Xylocain <sup>c</sup>	71,2	7,12	0,43	2,45
Priscol	73,6	7,36	0,32	2,92
Mezcalin	75,2	7,52	0,25	2,23
Histamin	80,7	8,07	0,17	1,76
Regitin	83,2	8,32	0,38	1,29
Tryptamin	86,1	8,61	0,20	1,19
Pyribenzamin	87,8	8,78	0,29	0,93
Otrivin	88,9	8,89	0,18	0,93
Antistin	90,4	9,04	0,17	0,79
n-Octylamin	90,8	9,08	0,13	0,79
Privin	93,2	9,32	0,17	0,51
Nupercain	96,5	9,65	0,06	0,29
Spermin	97,3	9,73	0,13	0,14

<sup>a</sup> Vom Harz zurückgehaltener Aminanteil.

<sup>b</sup> Herrn Dr. A. C. WHITE, Wellcome Research Laboratories, Beckenham (England), danken wir für die Überlassung einer Versuchsmenge.

<sup>c</sup> Die Substanz wurde uns freundlicherweise von der Firma Astra, Södertälje (Schweden), zur Verfügung gestellt.

Tab. II. Austauschgleichgewichte am Ionenaustauscher Amberlite mit Carboxylgruppen als aktiven Zentren

Amin · HCl	Aktivitätsreihe <sup>a</sup> %	Äquivalentverteilung auf dem Harz ( $\times 10^{-4}$ Val)	Natrium	Gleichgewichts-pH der Lösung
		Amin	Wasserstoff	
Xylocain	18,3	1,83	3,59	4,58
Nupercain	22,3	2,29	6,94	0,77
Compound 48/80	25,6	2,56	0,79	6,65
Priscol	29,3	2,93	1,56	5,51
Privin	35,9	3,59	3,59	2,82
d-Glucosamin	37,0	3,70	2,54	3,76
Mezcalin	37,0	3,70	1,64	4,66
Regitin	37,9	3,79	5,36	0,85
Otrivin	39,4	3,94	2,69	3,37
Pyribenzamin	49,4	4,94	2,19	2,87
Antistin	54,2	5,42	1,71	2,87
Tryptamin	65,0	6,50	0,91	2,59
Histamin	68,3	6,83	1,50	1,67
n-Octylamin	85,1	8,51	0,11	1,38
Spermin	92,9	9,29	0,16	0,55

<sup>a</sup> Vom Harz zurückgehaltener Aminanteil.

<sup>1</sup> R. JAQUES und K. KÜTTNER, *Helv. physiol. Acta* 19, Heft 3 (1961), im Druck.

<sup>2</sup> K. KÜTTNER, *Dissertation Bern* (1961).

<sup>3</sup> K. KÜTTNER, H. MAJER, G. HUBER und R. JAQUES, *Exper.* 17, 371 (1961).

<sup>4</sup> R. D. HIGGINBOTHAM und T. F. DOUGHERTY, *Fed. Proc.* 16, 58 (1957).

schiedenartigen Kationenaustauschern hin, die unter anderem auch eine Erklärungsmöglichkeit für die Organospezifität gewisser Amine abgeben. Ein synthetischer Ionenaustauscher mit Sulfosäuregruppen als aktiven Zentren vermag in Gegenwart einer äquivalenten Menge Natriumionen Amine im allgemeinen sehr bevorzugt einzutauschen, wobei von den gewählten Aminen nur *d*-Glucosamin schwächer als Natrium festgehalten wird. Entsprechend diesen Modellversuchen ist anzunehmen, dass auch physiologische makromolekulare Polyelektrolyte, die – wie etwa Heparin – ähnlich aktive Zentren besitzen, im Organismus mit Aminen biogener oder exogener Natur in stärkere Wechselbeziehung treten können als mit anorganischen Kationen.

Ganz andere Verhältnisse finden sich jedoch am sauren Ionenaustauscher mit Carboxylgruppen als aktiven Zentren. Hier werden die Amine ganz unterschiedlich stark eingetauscht; die Natriumionen spielen eine sehr wichtige Rolle und werden zum Teil bedeutend stärker aufgenommen. Analog zu diesen Befunden können wohl Carboxylgruppen tragende Organstrukturen, wie sie etwa in neuraminsäurehaltigen Grenzflächen vorliegen, nur mit gewissen Aminen bevorzugt in Wechselbeziehung treten, währenddessen andere Amine infolge des Einflusses anorganischer Kationen weniger selektiv aufgenommen werden.

Ein Vergleich der Aktivitätsreihen der beiden Harze zeigt außerdem, dass gewisse Amine in den beschriebenen Systemen sehr unterschiedlich stark eingetauscht werden

können: So wird beispielsweise Mezcalin vom Sulfosäureharz mit 75,2% ausgesprochen bevorzugt festgehalten. Seine Aufnahme am Karboxylgruppenharz ist mit 37% geringer als die der Natriumionen mit 46,6%.

Angesichts der Häufigkeit von biogenen Makromolekülen mit Polyelektrolytcharakter dürften im Organismus Ionenaustauschvorgänge, sei es an Depot- oder an Rezeptorstrukturen, eine bedeutsame Rolle spielen, wobei die biogenen Ionenaustauschsysteme – in ähnlicher Weise wie die von uns verwendeten Harze – ihre spezifische Funktion vor allem der Art ihrer ladungstragenden Gruppen verdanken.

**Summary.** The influence of an inorganic cation (sodium) was studied upon the distribution of physiologically or pharmacologically important amines on two different acid ion exchangers. When cation and amine are added in equivalent amounts to an exchange system of corresponding capacity, the distribution pattern of the amine shows differences which are characteristic of the active groups ( $\text{SO}_3\text{H}$ ,  $\text{COOH}$ ) of the relevant exchanger. Such reactions are thought to be of importance in biological activities of polyelectrolytes.

K. KÜTTNER, G. HUBER und R. JAQUES

Forschungslaboratorien der CIBA Aktiengesellschaft, Pharmazeutische Abteilung, Basel (Schweiz), 14. August 1961.

## Calcification of the Parathyroids Induced by Calciphylaxis<sup>1</sup>

Calciphylaxis is a condition of hypersensitivity in which during a 'critical period' after sensitization by a systemic calcifying factor (e.g., vitamin-D compounds, parathyroid hormone), treatment with certain challengers (e.g. metallic salts), causes an acute local tissue calcification followed by inflammation and sclerosis. A topical calciphylaxis thus induced by subcutaneous injection of challengers results in a cutaneous calcinosis reminiscent of calcareous scleroderma. However, in suitably sensitized (e.g., dihydrotestosterone-treated) rats, calciphylactic reactions can also be elicited rather selectively at predetermined sites (e.g. in the pancreas, bile ducts, uterus, spleen, Kupffer cells, lungs, salivary glands, lacrimal glands) by the intravenous administration of challengers that have a particular affinity for one or the other organ<sup>2-4</sup>.

Here we should like to report on the production of an almost selective parathyroid calcification by the use of chromium salts as calciphylactic challengers.

**Materials and Techniques.** Fifty female Holtzman rats with an initial body weight of 105 g (range 100–110 g) were subdivided into five equal groups treated as follows: Group 1: Dihydrotestosterone (DHT); Group 2:  $\text{CrCl}_2$ ; Group 3:  $\text{CrCl}_3$ ; Group 4: DHT +  $\text{CrCl}_2$ ; Group 5: DHT +  $\text{CrCl}_3$ . DHT (Calcamin®, Wander) was given at the dose of 1 mg in 0.5 ml corn oil by stomach tube once on the first day. Chromous chloride ( $\text{CrCl}_2$ , 3.5 mg in 0.35 ml of water) and chromic chloride ( $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 10 mg in 1 ml water) were injected intravenously once on the second day. All animals were killed with chloroform on the sixth day. After inspection with a stereoscopic loupe, specimens of various organs were fixed in alcohol-formol for the subsequent histochemical demonstration of calcium by the v. Kóssa technique.

**Results.** At autopsy, the most striking finding was the intense calcification of the parathyroids. The rat possesses

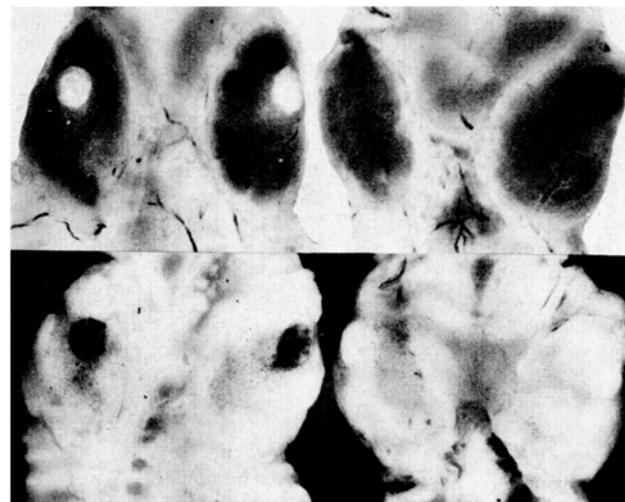


Fig. 1. Selective calcification of the parathyroids, in two rats sensitized with DHT. In addition, one (left) received  $\text{CrCl}_3$ . The calcified parathyroids are white in the fresh (top) and black in the  $\text{AgNO}_3$ -stained specimen (bottom).

<sup>1</sup> This work was supported by the National Institute of Health, U.S. Public Health Service (Grants Nos. A-1641/C3, B-2037/C2, and H-6182) and by the Office of the Surgeon General, U.S. Army Medical and Research Command, Contract No. DA-193-MD-2039.

<sup>2</sup> H. SELYE, P. JEAN, and R. VEILLEUX, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 104, 409 (1960).

<sup>3</sup> H. SELYE and K. NIELSEN, Acta morphol., Acad. Sci. Hungar. 10, 327 (1961).

<sup>4</sup> H. SELYE, Allergie und Asthma, in press.