

nachzuweisen ist, schlossen sie auf einen hohen Gehalt bzw. Umsatz von Phosphatverbindungen, die nach KORN¹⁸ in der Form von ATP für den Einbau von Sulfatgruppen ins Heparinmolekül notwendig sind. SCHAUER und EDER¹⁷ konnten ferner zeigen, dass Phosphatverbindungen wie ATP oder AMP eine papierchromatographisch nachweisbare Verbindung mit Histamin einzugehen vermögen, wobei das Bindungsverhältnis für ATP am höchsten ist.

Aus diesen Befunden der Literatur ist anzunehmen, dass die biogenen Amine wie etwa Histamin nicht nur mit biogenen Polyelektrolyten, die Sulfat- oder Carboxylgruppen als aktive Zentren enthalten, sondern auch mit solchen, die Phosphorsäuregruppen aufweisen, in Wechselbeziehung treten können. Unsere bisherigen Untersuchungen wurden deshalb durch Bestimmungen von Austauschgleichgewichten an einem synthetischen Kationenaustauscher mit Phosphatgruppen (Duolite) ergänzt. Es war nicht beabsichtigt, eine Selektivitätsreihe im streng physikalischen Sinne aufzustellen; vielmehr sollten – wie schon in unseren früheren Arbeiten – Aufschlüsse über die Verteilung von Natrium, Wasserstoff und Amin am Ionenaustauscher und daraus Hinweise über mögliche pharmakologische Austauschphänomene gewonnen werden.

Entsprechend unseren früheren Versuchen wurde eine bestimmte Menge ($10 \cdot 10^{-4}$ Val) Duolite C-63 («phosphonic acid resin», Chemical Process Company, Redwood City

(California USA)) mit $R-PO(OH)_2$ als aktiven Zentren mit äquivalenten Mengen von NaOH und Aminhydrochlorid (gelöst in 20 ml Wasser) ins Gleichgewicht gebracht und der Anteil der freien Aminbase bzw. der Anteil des sich in der Lösung befindlichen Amins potentiometrisch titriert. Durch eine Differenzberechnung wurde die Verteilung der einzelnen Ionen auf dem Austauscher bestimmt und eine Aktivitätsreihe aufgestellt, deren Werte angeben, wieviele von 100 sauren Gruppen des Ionenaustauschers vom jeweiligen Amin neben Natrium und Wasserstoff belegt sind (siehe Tabelle).

Wie schon bei den Untersuchungen am Dowex- und Amberlite-Ionenaustauscher, zeigt sich auch aus den am Duolite ermittelten Werten, dass ein Teil des Harzes von Wasserstoffionen abgesättigt ist, so dass in der Lösung der entsprechende Anteil des Amins als Base vorliegt und die pH-Werte variieren. Dies wurde wie in den früheren Versuchen vorerst ausser acht gelassen.

Die Aktivitätsreihe am Duolite-Harz zeigt, dass die einzelnen Amine in Gegenwart äquivalenter Mengen Natriumionen unterschiedlich stark eingetauscht werden, wobei mit wenigen Ausnahmen die Aminiumionen vor den anderen Ionen bevorzugt werden. Auffallend ist auch in diesem System, dass die beiden biogenen Amine Histamin und Tryptamin zu mehr als 2/3 vom Harz festgehalten werden und die als Liberatoren bekannten Substanzen Spermin und *n*-Octylamin noch deutlich stärker auf das Harz aufziehen. Diese Modellversuche sprechen dafür, dass biogene Amine nicht nur durch die sauren Gruppen körpereigener Polysaccharide, sondern auch durch Phosphorsäuregruppen tragende Polyelektrolyte gebunden werden können. Aus dieser Lokalisation können sie durch gewisse basische Liberatoren verdrängt werden, wenn diese eine selektivere Bindung mit dem Polyelektrolyten eingehen. Als biogene Kationenaustauschsysteme dürften demnach nicht nur Schwefelsäure- oder Carboxylgruppen tragende Polyelektrolyte in Frage kommen, sondern auch Makromoleküle mit Phosphorsäureresten, wie sie etwa in Kernstrukturen eingebaut sind¹⁹.

Summary. A synthetic ion exchanger containing $R-PO(OH)_2$ as active groups was shown to retain histamine and other basic substances selectively and, in most cases, with marked preference over the other cations (Na^+ , H^+) present in the system. The results are taken to indicate that similar exchange reactions may occur on biogenic polyelectrolytes bearing similar active groups.

K. KÜTTNER, G. HUBER und R. JAQUES

Forschungslaboratorien der CIBA Aktiengesellschaft, Pharmazeutische Abteilung, Basel (Schweiz), 11. Dezember 1961.

¹⁸ E. KORN, J. biol. Chem. 234, 1647 (1959).

¹⁹ Frau V. ISLER danken wir für ihre wertvolle Mitarbeit.

Austauschgleichgewicht am Ionenaustauscher Duolite mit $R-P=O(OH)_2$ als aktiven Zentren

Amin · HCl	Aktivitätsreihe ^a %	Äquivalentverteilung auf dem Harz ($\times 10^{-4}$ Val)			GleichgewichtspH der Lösung
		Amin	Wasserstoff	Natrium	
Nupercain	23,7	2,37	5,37	2,26	6,6
Compound 48/80 ^b	30,1	3,01	2,85	4,14	8,5
<i>d</i> -Glucosamin	37,7	3,77	2,46	3,77	7,2
Xylocain ^c	40,5	4,05	3,55	2,40	7,9
Priscol	53,6	5,36	1,61	3,03	9,4
Antistin	59,1	5,91	2,99	1,10	8,6
Mezcalin	60,3	6,03	1,59	2,38	9,3
Otrivin	66,2	6,62	1,68	1,70	9,3
Regitin	68,5	6,85	1,82	1,33	7,6
Histamin	69,4	6,94	1,59	1,47	7,3
Pyribenzamin	71,8	7,18	1,74	1,08	8,5
Privin	74,6	7,46	1,17	1,37	9,6
Tryptamin	79,9	7,99	0,98	1,03	9,4
<i>n</i> -Octylamin	89,0	8,90	0,45	0,65	9,4
Spermin	89,4	8,94	0,55	0,51	8,4

^a Vom Harz zurückgehaltener Aminanteil.

^b Herrn Dr. A. C. WHITE, Wellcome Research Laboratories, Beckenham (England), danken wir auch an dieser Stelle für die Überlassung einer grösseren Versuchsmenge.

^c Die Substanz wurde uns freundlicherweise von der Firma Astra, Södertälje (Schweden), zur Verfügung gestellt.

Fatty Acids of White Matter of Human Brain¹

Histologically normal areas of cerebral white matter from patients with multiple sclerosis and also from some patients with extracranial tumors have been reported to show moderate depletion of phospholipids and plasmalogens²⁻⁴. These lipids contain an array of both saturated and unsaturated fatty acids⁵. With the exception of the recent report by BAKER⁶ data on distribution of these acids in white matter are not available. A study of their

¹ These studies were supported by the U.S. Veterans Administration and by U.S. Public Health Service Grant No. B-1667.

² J. N. CUMINGS, Brain 78, 554 (1955).

³ C. M. PLUM and S. E. HANSEN, Acta psychiat. neurol. scand. 35, 84, Suppl. 141 (1960).

⁴ B. GERSTL, M. J. KAHNKE, J. K. SMITH, M. G. TAVASTSTJERNA, and R. B. HAYMAN, Brain 84, 310 (1961).

⁵ E. KLENK and H. DEBUCH, in J. M. LUCK, F. W. ALLEN, and G. MACKINNEY, Annual Review of Biochemistry (Palo Alto, Calif.), 28, 39 (1959) (Annual Reviews, Inc.).

⁶ R. W. R. BAKER, Biochem. J. 79, 642 (1961).

concentration in controls, a case of multiple sclerosis and one of Hodgkin's disease was therefore undertaken. The latter was selected because of the rapid demyelination sometimes occurring in patients with this disease⁷.

Materials and Methods. The diagnoses, status of nutrition and age of the cases, as well as the water content of the brains, are listed in Table I. In case No. 4, only white matter grossly free of lesions, and in the multiple sclerosis case, both histologically normal white matter and plaque material, were analyzed. Known procedures were employed for extraction and purification⁸, and for determination of carboxyl esters⁹, sialic acid⁹, transmethylation of fatty acids and their purification by sublimation¹⁰. The peaks obtained by gas liquid chromatography on a polar and non-polar stationary liquid phase¹¹ were identified by

plotting the logarithm of the retention volume relative to myristate according to JAMES¹², and according to their equivalent chain length (ECL) as recommended by Miwa et al.¹³. Purified acids were used for calibration. The location of peaks of unsaturated acids was confirmed by hydrogenation according to FARQUHAR et al.¹⁴.

White matter contains large amounts of plasmalogens⁴. The aldehyde dimethyl acetals derived therefrom were recovered nearly completely after the interesterification and sublimation procedure. These were separated in 2 experiments according to GRAY¹⁵ and chromatographed for the purpose of identifying their peaks.

The results obtained by gas liquid chromatography of fatty acids have been reported so far^{6,16,17} in ratios. In

Table I

Case Number	Diagnosis	Status of nutrition	Age	Water content
1	Arteriosclerotic heart disease	Emaciated	63	71.3%
2	Ca. lung	Well nourished	51	71.0
3	Pulmonary abscess	Well nourished	45	FL ^a 68.1 TL ^b 67.5
4	Hodgkin's disease	Well nourished	61	FL 72.9 TL 77.0
5	Multiple sclerosis	Well nourished plaques	40	FL 66.0 TL 57.9

^a Frontal lobe – ^b Temporal lobe

⁷ K. E. ASTROM, E. L. MANCALL, and E. P. RICHARDSON, Jr., *Brain*, **81**, 93 (1958).

⁸ F. SNYDER and N. STEPHENS, *Biochim. biophys. Acta* **34**, 244 (1959).

⁹ L. WARREN, *J. biol. Chem.* **234**, 1971 (1959).

¹⁰ W. STOFFEL, F. CHU, and E. H. AHRENS, JR., *Anal. Chem.* **31**, 307 (1959).

¹¹ W. STOFFEL, W. INSULL, and E. H. AHRENS, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **99**, 238 (1958).

¹² A. T. JAMES, *J. Chromatography* **2**, 552 (1959).

¹³ T. K. MIWA, K. L. MIKOLAJCZAK, F. R. EARLE, and I. A. WOLFF, *Anal. Chem.* **32**, 1739 (1960).

¹⁴ J. W. FARQUHAR, W. INSULL, P. ROSEN, W. STOFFEL, and E. H. AHRENS, *Nutrit. Rev.* **17**, 1, Suppl. 8 (1959).

¹⁵ G. M. GRAY, *J. Chromatography* **4**, 52 (1960).

¹⁶ A. T. JAMES, J. E. LOVELOCK, J. WEBB, and W. R. TROTTER, *Lancet* **272**, 705 (1957).

¹⁷ M. G. MAC FARLANE, G. M. GRAY, and L. W. WHEELDON, *Biochem. J.* **77**, 626 (1960).

Table II. Fatty acids of white matter of human brain

	mMoles/100 g wet weight Range of controls (No. 1–3)		No. 4 FL ^a	TL ^b	No. 5 M.S. ^c	Plaques
C 14:0	0.05	0.33	0.16	0.22	0.20	0.07
C 16:0	1.83	3.70	2.00	2.44	1.78	1.86
C 18:0	2.12	3.88	0.76	1.53	1.00	1.31
C 20:0	0.04	0.08	0.09	0.04	0.08	0.04
C 22:0	0.12	0.22	0.36	0.08	0.27	0.11
C 24:0	1.36	2.80	2.37	1.48	1.94	0.58
C 26:0	0	0.38	–	–	–	0.32
Range						
Total even-numbered saturated fatty acids	8.03	8.66	5.74	5.79	5.27	4.29
C 13:0, 15:0, 17:0, 19:0	0.03	0.54	0.16	0.12	0.15	0.02
C 14:1	0	0.02	–	0.01	0.05	0.01
C 16:1	0.11	0.51	0.31	0.44	0.29	0.08
C 18:1	5.05	6.30	4.05	4.24	3.75	3.95
C 18:2	0.05	0.08	0.10	0.06	0.08	0.06
C 18:3	0	0.04	0.31	0.03	–	0.04
C 20:1	0.35	0.56	0.40	0.36	0.35	0.12
C 20:2	0.07	0.12	0.30	0.28	0.15	0.06
C 20:3	0.08	0.24	0.35	0.17	0.24	0.10
C 20:4	0.43	0.79	1.08	1.03	0.66	0.30
C 20:5	0.14	0.24	0.39	0.09	0.26	0.12
C 22:1	0	0	0.34	0.09	–	–
C 22:2	0.25	0.51	0.64	0.17	0.51	0.18
C 22:4	0.52	1.23	1.46	0.76	0.79	0.29
C 22:5	0	0.53	0.69	0.25	–	0.19
C 22:6	0.26	0.75	1.19	0.34	0.77	0.53
C 22:α-hydroxy	0.59	0.71	1.68	0.49	0.57	1.35
Unknowns						
C > 24:0 or C 25:0	0	1.00	1.89	1.12	0.77	0.39
C > 24 unsaturated ECL ^d 25.2	0	1.57	–	–	1.33	–
ECL ^d 26.6	0	0.34	0	–	1.19	0.22
ECL ^d 27.7	0	0	–	0.44	–	–

^a Frontal lobe. ^b Temporal lobe. ^c Multiple sclerosis ^d Equivalent chain length

order to arrive at values in absolute amounts per 100 g wet weight, the fatty acid methyl esters were subjected to alkaline saponification, the fatty acids, after acidification, recovered in hexane, washed¹⁸ and titrated according to ALBRINK¹⁹. The hexane phase was free of sialic acid, amino nitrogen, phosphorus and short chain fatty acids (C2–C8). The values reported are based on the assumption that the total acidity was present in the form of monocarboxylic fatty acids.

Results. All of the unsaturated fatty acids of the chain lengths and degree of unsaturation reported by KLENK et al.⁵, except the C22:3 and C24:4, could be demonstrated on the chromatograms (Table II). Our analyses, however, were concerned only with white matter, while KLENK used total brain, and the two missing acids may be components of the cortex.

The amount of saturated fatty acids in the 2 pathologic brains was less than in the controls (Table II), with the lower concentration of stearic acid accounting mainly for the difference. In the multiple sclerosis plaques, the lignoceric acid was considerably less than in the controls, probably due to loss of sphingomyelin. A substantial amount of C18:3 was found only in the brain with Hodgkin's disease. The hydroxy fatty acids were tentatively identified by comparing their retention time with authentic samples²⁰. The pathologic brains contained greater quantities of C22- α -hydroxy acid and of an unidentified acid listed as C > 24:0 or C25:0. This unidentified acid would be C25:0 when plotted according to MIRA¹³. It fell between the C24:0 and C26:0 acids on James' plot. Another C > 24:0 acid could not be accommodated on either plot; its peak disappeared after hydrogenation, and it is listed therefore as 'unsaturated'. The problem of these and 2 other unknown long chain acids (ECL 26.6 and 27.7) is under investigation.

The C20:4 and its precursor, C18:2²¹ in the multiple sclerosis brain were within the range of the controls; in the case of Hodgkin's disease they were higher. These acids are abundantly present in the cellular organelles¹⁷ which may not be involved in the biochemical alterations leading to demyelination.

The carboxyl esters in the controls varied from 13.2 to 14.9 mEq; they were only 7.4 mEq in the multiple sclerosis plaques. Aldehydes of chain lengths reported by DEBUCH²² in brain plasmalogens could be identified by gas liquid chromatography.

Discussion. These studies, like others of its kind^{2,6,23}, by virtue of their complexity, were limited to a small number of cases, and a statistical analysis is therefore not feasible. Comparison of the multiple sclerosis and Hodg-

kin's brain with the controls does, however, reveal differences that seem to go beyond the range of variation between individuals. One is the lower concentration of saturated fatty acids in the 2 pathologic brains. This could not be ascribed to differences in water content (Table I) or status of nutrition. The lower content of lignoceric acid and aldehydes in the multiple sclerosis brains corresponds to the loss of sphingomyelin and plasmalogens in these lesions^{2,4}. The brain with Hodgkin's disease showed higher concentrations of C18:3, 20:2 and 20:4. This may be due to glial cell proliferation in the grossly normal tissue or infiltration by lymphocytes. It is noteworthy that the levels of C22:5 and C22:6 acids, which according to KLENK²⁴ originate from C18:3, are also higher than in the controls.

Fatty acid values in this study represent those of total lipids and differ, therefore, somewhat from those given by BAKER⁶ which included only the acylesters of the phospholipids. The absence of hydroxy fatty acids and acids with odd number of carbon in his data may be due to the same factor.

Zusammenfassung. Histologisch unveränderte weisse Substanz eines menschlichen Gehirns mit multipler Sklerose hatte weniger gesättigte Fettsäuren als die 4 Kontrollen. Die multiple Sklerose-Herde hatten fast alle C24:0 verloren, enthielten aber mehr C22- α -Hydroxysäuren. Die weisse Substanz eines Falles von Lymphogranulom zeigte niedrigere Werte für die gesättigten, aber höhere für Polyensäuren.

B. GERSTL, R. B. HAYMAN,
M. G. TAVASTSTJERNA, and J. K. SMITH

Oakland Veterans Administration Hospital, Oakland (Calif. USA), November 28, 1961.

¹⁸ V. P. DOLE, J. clin. Invest. **35**, 150 (1956).

¹⁹ M. J. ALBRINK, J. Lip. Res. **1**, 53 (1959).

²⁰ Gratitude is expressed to Dr. J. F. MEAD, Department of Biophysics and Nuclear Medicine, University of California School of Medicine at Los Angeles, for making available purified acids.

²¹ J. F. MEAD, G. STEINBERG, and D. R. HOWTON, J. biol. Chem. **205**, 683 (1953).

²² H. DEBUCH, Physiol. Chem. **304**, 109 (1956).

²³ P. V. JOHNSTON and F. A. KUMMEROW, Proc. Soc. exp. Biol. Med. **104**, 2011 (1960).

²⁴ E. KLENK, Exper. **17**, 199 (1961).

²⁵ Department of Pathology, School of Medicine, University of California, San Francisco (Calif. USA).

Lichthemmung der Oxydation von Krebscyclus-Säuren durch Blumenkohl-Mitochondrien

Die pflanzlichen Atmungssysteme unterliegen, wie viele Beobachtungen zeigen, einem Einfluss des sichtbaren Lichts. Die Lichtatmung mancher nichtassimilierender Gewebe weicht vorübergehend stark von der Dunkelatmung ab¹. Unsere spärlichen Kenntnisse über den Einfluss von eingestrahltm Licht auf einzelne Atmungsprozesse lassen eine Erklärung dieser Phänomene noch nicht zu². Wir haben uns daher zum Ziel gesetzt, das Problem der Lichtatmung unter anderem auf der Stufe der isolierten Mitochondrien zu studieren.

Mitochondrien wurden aus frischem Blumenkohl nach dem Verfahren von LATIES³ gewonnen. Auch in der Aus-

führung der manometrischen Messungen von Aktivitäten der isolierten Partikel folgten wir zumeist den Angaben dieses Autors. Als Lichtquellen dienten Philips-HPL-Lampen (125 Watt), welche unter der Plexiglaswanne der Warburgapparatur montiert waren. Sie folgten den Schüttelbewegungen der Manometer, so dass eine konstante Bestrahlung der Kölbchen (ca. 13 mWatt/cm²) gewährleistet war. Gleichzeitig mit der Sauerstoffaufnahme von substratversorgten Mitochondrien im Licht und im Dunkel, wurden die endogenen Aktivitäten unter beiden Bedin-

¹ PH. MATILE, Beih. Z. Schweiz. Forstver. **30**, 199 (1960).

² G. ROSENSTOCK und A. RIED, Handbuch der Pflanzenphysiologie **12/2**, 259 (1960).

³ G. G. LATIES, Plant Physiol. **28**, 557 (1953).