

shows that, after repeated saline washings, the bulk of the bound DLF remains attached to both human red cells and osmotic ghosts. Similar results were obtained for the guinea-pig and sheep red cells and ghosts.

Calculation of the amounts of DLF bound at the end of 2 h incubation gave  $1.2 \cdot 10^{-9}$   $\mu\text{g}$  DLF per  $100 \mu^2$  for the resistant sheep red cells (surface area  $67 \mu^2$ ) and  $4.3 \cdot 10^{-9}$   $\mu\text{g}$  DLF per  $100 \mu^2$  for the more sensitive human red cells (surface area  $163 \mu^2$ ) (data on guinea-pig red cell surface area were not available). In contradistinction, the amount of DLF bound to the ghost surface,  $16.6 \cdot 10^{-9}$   $\mu\text{g}$  DLF per  $100 \mu^2$  for sheep and  $10.5 \cdot 10^{-9}$   $\mu\text{g}$  DLF per  $100 \mu^2$  for human, bears no relationship to the type of red cell sensitivity.

The above data would fit with the hypothesis that the red cell sensitivity to the direct lytic action of cobra venom is a function of its capacity to bind DLF. It was demonstrated in a previous study<sup>2</sup> that DLF enables phospholipase A to split phospholipids in the osmotic ghosts from sensitive red cells but not in those from the resistant ones. Since the amount of DLF bound per unit surface area to the latter exceeds that to the former, the degree of sensitivity of osmotic ghost phospholipids to DLF must be determined by a particular membrane structure, possibly deriving from different phospholipid composition, strength of phospholipid binding within the membrane, and fatty acid pattern<sup>8-11</sup>.

**Résumé.** Le taux du facteur lytique (DLF) provenant du venin du serpent Ringhals, lié aux érythrocytes de différentes espèces animales, correspond à leur sensibilité à l'action du venin. Cette correspondance n'est plus valable pour les membranes érythrocytaires obtenues par hémolyse osmotique. La capacité de ces membranes de lier DLF est supérieure à celle des érythrocytes intacts. La cinétique de liaison du DLF aux membranes est différente de celle aux érythrocytes intacts.

E. CONDREA, I. KENDZERSKY,  
and A. DE VRIES

*Rogoff Medical Research Institute, Department of Experimental Biology of the Tel Aviv University and Labour Sickfund, Beilinson Hospital, Petah Tikva (Israel), February 19, 1965.*

<sup>7</sup> E. PONDER, *Hemolysis and Related Phenomena* (Grune and Stratton, New York 1948), p. 14.

<sup>8</sup> J. DE GIER and L. L. M. VAN DEENEN, *Biochim. biophys. Acta* **49**, 286 (1961).

<sup>9</sup> F. KÖGL, J. DE GIER, J. MULDER, and L. L. M. VAN DEENEN, *Biochim. biophys. Acta* **43**, 95 (1960).

<sup>10</sup> J. DE GIER, J. MULDER, and L. L. M. VAN DEENEN, *Naturwissenschaften* **48**, 54 (1961).

<sup>11</sup> B. ROLEFSON, J. DE GIER, and L. L. M. VAN DEENEN, *J. cell. comp. Physiol.* **63**, 233 (1964).

## Einfluss von Psychopharmaka auf die nichtveresterten Fettsäuren im Blutplasma

Die Bestimmung der nichtveresterten Fettsäuren (NFS) im Blutplasma gibt einen Einblick in die Dynamik des Fettstoffwechsels. Ihre Konzentration ist abhängig vom Ernährungszustand, von den energetischen Bedürfnissen, von nervösen und hormonalen Einflüssen und nicht zuletzt von der verfügbaren Glucosemenge. Insulin, oral wirksame Antidiabetika und Salicylat verbessern die Glucoseverwertung und bewirken eine Abnahme der NFS im strömenden Blut<sup>1,2</sup>. Von blutzuckersteigernden Substanzen mit hemmendem Einfluss auf die Glucose-Utilisation ist dagegen zu erwarten, dass sie eine Zunahme der NFS im Plasma verursachen. Zu dieser Gruppe gehören auch Chlorpromazin, Chlorprothixen und einige andere Psychopharmaka<sup>3,4</sup>. In Versuchen an Ratten und Schweinen haben wir nach Verabreichung von Chlorpromazin tatsächlich einen bedeutenden Anstieg der zirkulierenden NFS festgestellt<sup>1,5</sup>. Diese Beobachtung wurde bestätigt. So fand z.B. HOLLISTER<sup>6</sup>, dass Chlorpromazin auch beim Menschen eine beträchtliche Zunahme der NFS im Plasma verursacht. Über den Mechanismus dieser Wirkung ist freilich wenig bekannt. Nachstehend wird über den Einfluss folgender Substanzen auf die Konzentration der NFS im Blutplasma von Ratten berichtet: Promazinphosphat, Chlorpromazin · HCl, Chlorpromazinsulfoxid · HCl, Trifluorpromazin · HCl, Chlorprothixen · HCl, Chlorprothixensulfoxid · HCl, Prothipendyl · HCl Hydrat, Haloperidol, Imipramin · HCl, Amitriptylin · HCl, Chlordiazepoxid · HCl, Äthyltryptaminacetat (D,L- $\alpha$ -Äthyltryptaminacetat, Etryptamin), «Tradon-L» (2-Diäthylamino-4-oxo-5-phenyl-oxazolin) und Pipradol · HCl.

Als Versuchstiere dienten ausgewachsene männliche und weibliche Wistar-Ratten. Die in Wasser gelösten Substanzen wurden intramuskulär injiziert (2 ml/kg). Unmittelbar vor und 2 bzw. 4 h nach der Injektion wurden Blutproben aus einer Zungenvene der nicht narkotisierten Tiere entnommen. Die Bestimmung der NFS in 0,2 oder 0,5 ml Plasma erfolgte mit einer kolorimetrischen Methode<sup>7</sup>. Die Ergebnisse wurden statistisch bearbeitet (Student's *t*-Test).

Tabelle I zeigt, dass die untersuchten Pharmaka mit Ausnahme von Chlorprothixensulfoxid, Imipramin, Pipradol und Phenobarbital eine signifikante Zunahme der NFS im Plasma verursachen. Zur näheren Charakterisierung dieser Wirkung wurden einige zusätzliche Versuche mit Chlorpromazin (und Chlorprothixen) durchgeführt. Zunächst stellte sich heraus, dass Chlorpromazin keine weitere Vermehrung der NFS im Plasma bewirkt, wenn ihre Konzentration schon zu Versuchsbeginn durch Hunger oder Vorbehandlung mit Reserpin erhöht war (Tabelle II). Weiterhin wurde geprüft, ob sich die Wirkung der

<sup>1</sup> K. OPITZ, *Med. u. Ernähr.* **5**, 60 (1964).

<sup>2</sup> A. BIZZI, A. M. CODEGONI, S. GARATTINI, *Nature*, Lond. **204**, 1205 (1964).

<sup>3</sup> K. OPITZ, *Arzneimittelforsch.* **12**, 333; 525; 618 (1962).

<sup>4</sup> A. BONACCORSI, S. GARATTINI, A. JORI, *Brit. J. Pharmacol.* **23**, 93 (1964).

<sup>5</sup> K. OPITZ, Vortrag, gehalten anlässlich der Tagung der Deutschen Gesellschaft für Fettwissenschaft, Karlsruhe (23. Oktober 1963).

<sup>6</sup> L. E. HOLLISTER, *Arch. int. Pharmacodyn.* **149**, 362 (1964).

<sup>7</sup> K. KONITZER, S. VOIGT, M. SOLLE, *Acta biol. med. german.* **12**, 502 (1964).

Tabelle I. Einfluss einiger psychotroper Substanzen auf die Konzentration der nichtveresterten Fettsäuren (NFS) im Blutplasma von Ratten. Mittelwerte aus je 8 Einzelversuchen

Substanz	Dosis (mg/kg)	NFS ( $\mu$ val/l)			$\Delta^*$	P
		0 h	2 h	4 h		
(physiol. Kochsalzlösung)		448	418	–	– 7%	n.s. <sup>b</sup>
(physiol. Kochsalzlösung)		408	–	409	$\pm$ 0%	n.s.
Promazin	10	370	469	–	+ 27%	P < 0,025
Chlorpromazin	10	404	622	–	+ 54%	P < 0,005
Chlorpromazin	10	373	–	722	+ 94%	P < 0,001
Chlorpromazinsulfoxid	10	356	–	445	+ 25%	P < 0,050
Triflupromazin	10	374	557	–	+ 49%	P < 0,001
Triflupromazin	10	440	–	795	+ 81%	P < 0,005
Chlorprothixen	10	379	607	–	+ 60%	P < 0,001
Chlorprothixen	10	478	–	708	+ 48%	P < 0,001
Chlorprothixensulfoxid	10	418	–	434	+ 4%	n.s.
Prothipendyl	10	370	–	548	+ 48%	P < 0,001
Haloperidol	5	380	–	618	+ 63%	P < 0,001
Imipramin	10	362	374	–	+ 3%	n.s.
Amitriptylin	10	306	461	–	+ 51%	P < 0,005
Chlordiazepoxid	50	418	520	–	+ 24%	P < 0,050
Äthyltryptamin	20	443	571	–	+ 29%	P < 0,050
«Tradon-L»	20	380	477	–	+ 26%	P < 0,005
Pipradol	20	373	417	–	+ 12%	n.s.
Phenobarbital-Na	20	434	–	429	– 1%	n.s.

\* $\Delta$  = Zunahme bzw. Abnahme der NFS im Plasma. <sup>b</sup> n.s. = nicht signifikant.

Tabelle II. Einfluss von Chlorpromazin bzw. Chlorprothixen auf die nichtveresterten Fettsäuren (NFS) im Blutplasma von Ratten nach verschiedenen Vorbehandlungen. Mittelwerte aus je 8 Einzelversuchen

Art der Vorbehandlung	Substanz	Dosis (mg/kg)	NFS ( $\mu$ val/l)			$\Delta^*$	P
			0 h	2 h	4 h		
Hunger: 24 h Nahrungsentzug	Chlorpromazin	10	764	832	–	+ 9%	n.s. <sup>b</sup>
Reserpin: 15 und 30 h vor Versuchsbeginn je 5 mg/kg i.p.	Chlorpromazin	10	771	–	664	– 14%	n.s.
Chlorisondamin: 1 h vor Versuchsbeginn 2 mg/kg s.c.	Chlorpromazin	10	427	632	–	+ 48%	P < 0,005
Chlorisondamin: 1 h vor Versuchsbeginn 2 mg/kg s.c.	Chlorprothixen	10	453	585	–	+ 29%	P = 0,050
Hypophysektomie (vollständig)	Chlorpromazin	10	470	587	–	+ 25%	P < 0,050
Hypophysektomie (unvollständig)	Chlorpromazin	10	537	774	–	+ 44%	P < 0,020

\* $\Delta$  = Zunahme bzw. Abnahme der NFS im Plasma. <sup>b</sup> n.s. = nicht signifikant.

Neuroleptika auf den Fettsäurestoffwechsel durch Vorbehandlung mit dem Ganglienblocker Chlorisondamin-Chlorid ebenso aufheben lässt wie beispielsweise die von Äthanol<sup>8</sup>. Aber Chlorisondamin bewirkte nur eine Abschwächung dieser Wirkung. Auch bei hypophysektomierten Ratten verursachte Chlorpromazin noch einen signifikanten Konzentrationsanstieg der NFS im Blutplasma (Tabelle II). – Da die Nachuntersuchung gewisser «Stoffwechselwirkungen» von Chlorpromazin ergeben hatte, dass diese nicht durch die Substanz selbst hervorgerufen werden, sondern lediglich eine Folge der durch das Neuroleptikum ausgelösten Hypothermie darstellen<sup>9</sup>, wurden auch Versuche bei verschiedenen Umgebungstemperaturen durchgeführt. Dabei zeigte sich, dass Chlor-

promazin auch dann noch eine deutliche Zunahme der NFS im Plasma bewirkt, wenn die Körpertemperatur annähernd konstant gehalten wird (Tabelle III). Allerdings war der Anstieg viel grösser, wenn es bei einer Umgebungstemperatur von 21°C zu einem Absinken der Körpertemperatur kam.

<sup>8</sup> R. PAOLETTI, R. P. MAICKEL, R. L. SMITH, B. B. BRODIE, in Proc. First Int. Pharmacol. Meeting, 2, 29–41 (Pergamon Press, Oxford 1963).  
<sup>9</sup> L. SHUSTER und R. V. HANNAM, J. biol. Chem. 239, 3401 (1964); vgl. auch Dtsch. med. Wschr. 89, 2489 (1964).

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass viele Psychopharmaka mit zum Teil gegensätzlichen zentralen Wirkungen einen Konzentrationsanstieg der NFS im Blutplasma verursachen. Diese Zunahme der mobilen Fettsäuren kann durch eine vermehrte Freisetzung in den Fettdepots und/oder durch eine verminderte Utilisation in der Muskulatur bedingt sein. Die Wirkung von Chlorpromazin und ähnlichen Substanzen dürfte auf beiderlei Weise zustande kommen. Der mässige, nach Vorbehandlung mit einem Ganglienblocker oder bei konstant gehaltener Körpertemperatur noch feststellbare Anstieg der NFS im Plasma ist wahrscheinlich das Ergebnis einer

verminderten Utilisation, während die mit der Chlorpromazin-Hypothermie einhergehende Ausschüttung der adipokinetisch wirkenden Hormone Noradrenalin und Adrenalin<sup>10</sup> eine vermehrte Freisetzung von Fettsäuren zur Folge hat. Dagegen scheint Corticotropin (ACTH) keine wesentliche Rolle zu spielen, denn Chlorpromazin war auch bei hypophysektomierten Tieren wirksam. Die Übereinstimmung von hier mitgeteilten experimentellen Ergebnissen mit entsprechenden Beobachtungen an Menschen<sup>6</sup> – auch hier war Chlorpromazin wirksam, Imipramin nicht – lässt vermuten, dass auch die übrigen untersuchten Psychopharmaka beim Menschen ähnlich auf den Fettsäurestoffwechsel wirken wie bei Ratten.

**Summary.** Several neuroleptics, thymoleptics, tranquilizers, and psychoenergizers were found to elevate plasma-free fatty acid levels in the rat. Chlorpromazine and related substances probably affect both mobilization and utilization of fatty acids.

K. OPITZ

*Pharmakologisches Institut der Universität Münster (Westfalen, Deutschland), 20. April 1965.*

Tabelle III. Einfluss von Chlorpromazin (10 mg/kg intramuskulär) auf die nichtveresterten Fettsäuren (NFS) im Blutplasma von Ratten bei verschiedenen Umgebungstemperaturen. Mittelwerte aus *n* Einzelversuchen

Umgeb.- Temp.	<i>n</i>	NFS ( $\mu$ val/l) 0 h	NFS ( $\mu$ val/l) 2 h	$\Delta^a$	P	$\Delta t^b$
31°C	12	291	436	+ 50%	$P < 0,001$	+ 0,3°C
21°C	11	283	755	+ 167%	$P \ll 0,001$	- 4,7°C

<sup>a</sup> $\Delta$  = Zunahme bzw. Abnahme der NFS im Plasma. <sup>b</sup> $\Delta t$  = Änderung der Rectaltemperatur während 2 h Versuchsdauer.

<sup>10</sup> G. E. JOHNSON, *Acta physiol. scand.* 60, 181 (1964); vgl. auch H.-J. HAPKE, *Arch. exp. Path. Pharmacol.* 247, 307 (1964).

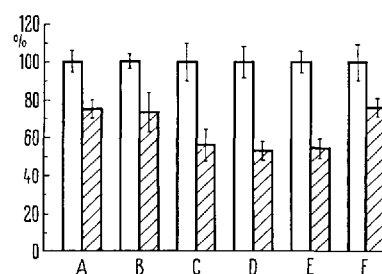
## The Effect of Corticotrophine on Free Fatty Acid Content in Rat Adrenal

It has been known for some years that the adrenal glands of rats are extremely rich in lipids and that stress or administration of ACTH causes depletion of lipids, particularly of cholesterol<sup>1,2</sup>. There is now good evidence that cholesterol is utilized by adrenal cortex as a precursor of steroid hormones, but little specific information is available on the fate of the lipids other than cholesterol, and on the relation of adrenal fats to functional activity of the gland. In previous studies, an increase of lipase activity in adrenal glands after ACTH administration was demonstrated<sup>3,4</sup>; and therefore it has been deemed reasonable to study the level of free fatty acids in the adrenals under ACTH stimulation.

Adult male Wistar rats from Dobrá Voda and Lysolaje breeding stations weighing 160–180 g were used. The control groups of rats were injected with 0.2 ml of 0.9% NaCl solution and experimental groups received 2 IU of ACTH/100 g of body weight, i.p., in 0.2 ml saline solution (Corticotrophine, Léčiva, Prague). The animals of both groups were sacrificed by decapitation 10 and 30 min, 1, 2, 6, and 12 h after the injection. The adrenals were quickly removed, weighed and homogenized in ice-cooled saline solution (25 mg of fresh tissue per ml of saline solution). To 1 ml of this homogenate 5 ml of extraction mixture were added and free fatty acids (FFA) extracted and titrated according to the method of DOLE et al.<sup>5,6</sup>.

The results of our experiments are demonstrated in the Figure. The values of FFA in the adrenals of rats treated with ACTH are expressed as a percentage of those in controls. It was found that the content of FFA in

adrenal glands decreases after ACTH administration, with a maximum decrease between 1–6 h after ACTH injection.



The content of FFA in adrenal glands of rats treated with ACTH (hatched bars) expressed as % of the control values (solid bars). Mean  $\pm$  S.E. A – 10 min after ACTH injection (number of rats in control and experimental group 25, 25); B – 30 min (10, 14); C – 1 h (10, 10); D – 2 h (20, 20); E – 6 h (20, 18); F – 12 h after ACTH (18, 16). The mean value of FFA in adrenals of control animals was  $4.22 \pm 0.39$   $\mu$ Eg/100 mg. The injection of saline solution has no significant effect on FFA content in the adrenals.

<sup>1</sup> E. ADAMS and M. BAXTER, *AMA Arch. Path.* 48, 13 (1949).

<sup>2</sup> G. SAYERS, *Physiol. Rev.* 30, 241 (1950).

<sup>3</sup> M. PALKOVIČ, L. MACHO, and B. MOSINGER, *Nature* 205, in press (1965).

<sup>4</sup> P. PIGAFELTA and E. MACCHITELLA, *Chirg. Pathol. sper.* 5, 397 (1957).

<sup>5</sup> V. P. DOLE, *J. clin. Invest.* 35, 150 (1956).

<sup>6</sup> V. P. DOLE and H. MEINERTZ, *J. biol. Chem.* 235, 2595 (1960).