

Über die Brenzkatechamine im Froschherzen und in der Froschhaut vor und nach Verabfolgung von α -Methyldopa

Der von LOEWI¹ 1921 als adrenalinähnlich charakterisierte «Acceleransstoff» des *Froschherzens* konnte später von ihm selbst², sowie von anderen Autoren^{3,4} als Adrenalin identifiziert werden. Demgegenüber ist der sympathische Überträgerstoff im *Warmblüterherzen* Noradrenalin; Adrenalin ist nur zu 5–10% am Brenzkatechaminengehalt beteiligt^{5–9}. Während das Noradrenalin des *Warmblüterherzens* sich zu einem erheblichen Teil in der bei 100 000 g in der Ultrazentrifuge aus Herzhomogenaten gewonnenen partikulären Fraktion fand^{10,11}, die nach elektronenmikroskopischen Untersuchungen von WOLFE und POTTER¹² Vesikel sympathischer Nervenendigungen enthält, war Adrenalin unspezifisch über alle Fraktionen verteilt¹³.

Wir haben Herzhomogenate von *Rana temporaria* (20 bis 30 g schwer) nach der von SCHÜMANN et al.¹³ angegebenen Methode differentialzentrifugiert und die Brenzkatechamine in den einzelnen Fraktionen nach Extraktion mit 0,4 n HClO₄ und säulenchromatographischer Auftrennung papierchromatographisch und fluorimetrisch bestimmt. (Methodische Einzelheiten bei SCHÜMANN et al.¹⁴.) Die von uns untersuchten Froschherzen (Januar–April) enthielten im Mittel $1,48 \pm 0,12 \mu\text{g/g}$ Adrenalin ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$, $n = 5$), davon $1,76 \pm 0,19 \mu\text{g/g}$ in der Ventrikel- und $0,95 \pm 0,11 \mu\text{g/g}$ in der Vorhofmuskulatur. Noradrenalin war unter diesen Bedingungen nicht nachweisbar.

(1) Aus der Figur 1 ist zu ersehen, dass das Adrenalin, bezogen auf mg Eiweiß (Mikrokjeldahl), selektiv in der partikulären Fraktion 100 000 g angereichert ist, d.h. eine ähnliche subzelluläre Verteilung aufweist wie das Noradrenalin des *Warmblüterherzens*.

(2) Nach Vorbehandlung mit α -Methyldopa tritt im *Warmblüterherzen* α -Methylnoradrenalin auf¹⁵ und kann das Noradrenalin quantitativ ersetzen^{16,17}. Bei der offensichtlich hohen N-Methyltransferaseaktivität des *Froschherzens*¹⁸ war es von Interesse, zu untersuchen, ob nach Verabfolgung von α -Methyldopa (300–500 mg/kg) sich α -Methyladrenalin nachweisen liesse. Das in Figur 2 dargestellte Papierchromatogramm zeigt, dass neben α -Methyldopamin und α -Methylnoradrenalin auch deutlich sichtbare Mengen α -Methyladrenalin entstanden waren. Bei Fröschen, die zum Vergleich mit entsprechenden Dosen L-Dopa behandelt worden waren, ließen sich Dopamin und Adrenalin, aber kein Noradrenalin nachweisen. Anscheinend wird Noradrenalin leichter als α -Methylnoradrenalin N-methyliert.

(3) Bei den mit α -Methyldopa bzw. Dopa behandelten Fröschen kam es zu charakteristischen Veränderungen

der Hautfarbe. Während die «Dopa-Frösche» im Verlauf einiger Stunden maximal aufhellten, trat bei den « α -Methyldopa-Fröschen» eine intensive Dunkelfärbung auf (Figur 3). In vivo aufgenommene Mikrophotogramme der Schwimmhautmelanophoren zeigten, dass Dopa eine Kontraktion, α -Methyldopa hingegen eine Expansion der Melanophoren verursachte. Dopa hob die Wirkung des α -Methyldopa auf, ebenso Dopamin und Adrenalin.

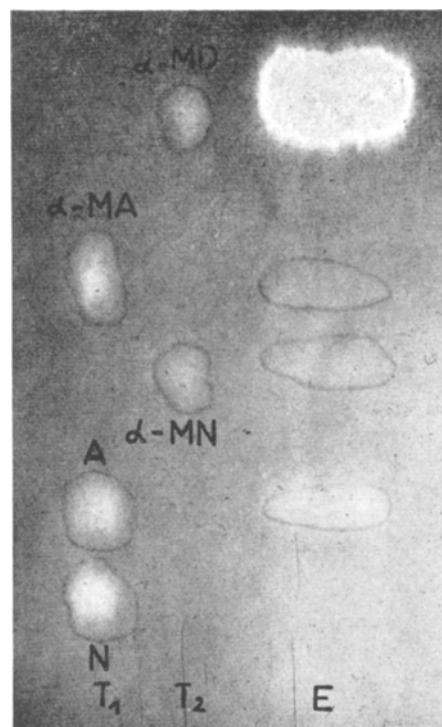


Fig. 2. Papierchromatogramm eines Froschherzextraktes nach Vorbehandlung mit α -Methyldopa (3 Tage je 500 mg/kg; Tötung 20 h nach der letzten Injektion). T₁ (Test): je 1 μg N (Noradrenalin), A (Adrenalin), α -MA (α -Methyladrenalin). T₂ (Test): je 1 μg α -MN (α -Methylnoradrenalin), α -MD (α -Methyldopamin). E: Froschherzextrakt. 40 h descendierend in Butanol/HCl. Entwicklung nach ELLMAN²³.

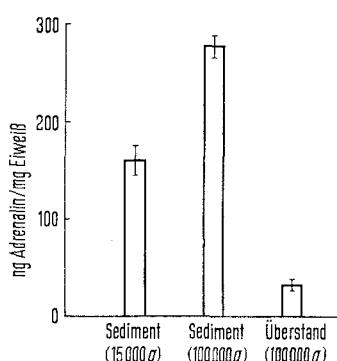


Fig. 1. Subzelluläre Verteilung des Adrenalin im Froschherzen (Methodik siehe¹³).

- O. LOEWI, Arch. ges. Physiol. 189, 239 (1921).
- O. LOEWI, Arch. ges. Physiol. 237, 504 (1936).
- U. S. v. EULER, J. Physiol. 105, 38 (1946).
- P. HOLTZ, G. KRONEBERG und H. J. SCHÜMANN, Arch. exp. Path. Pharmak. 212, 551 (1951).
- McC. GOODALL, Acta physiol. scand. 24, Suppl. 85 (1951).
- P. A. SHORE, V. H. COHN JR., B. HIGMAN und H. M. MAILING, Nature 181, 848 (1958).
- E. MUSCHOLL, Exper. 14, 344 (1958).
- M. K. PAASONEN und O. KRAYER, Exper. 15, 75 (1959).
- M. A. KLOUDA, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 112, 728 (1963).
- A. WEGMAN und K. KAKO, Nature 192, 978 (1961).
- L. T. POTTER und J. AXELROD, Nature 194, 581 (1962).
- D. E. WOLFE und L. T. POTTER, Anat. Rec. 145, 301 (1963).
- H. J. SCHÜMANN, K. SCHNELL und A. PHILIPPU, Arch. exp. Path. Pharmak. 249, 251 (1964).
- H. J. SCHÜMANN, H. GROBECKER und K. SCHMIDT, Arch. exp. Path. Pharmak. 251, 48 (1965).
- A. CARLSSON und M. LINDQVIST, Acta physiol. scand. 54, 87 (1962).
- E. MUSCHOLL und L. MAITRE, Exper. 19, 658 (1963).
- H. J. SCHÜMANN und H. GROBECKER, Arch. exp. Path. Pharmak. 247, 297 (1964).
- J. AXELROD, Proc. Second Catecholamine Symposium, Milano (July 1965), Pharmacol. Rev., in press.

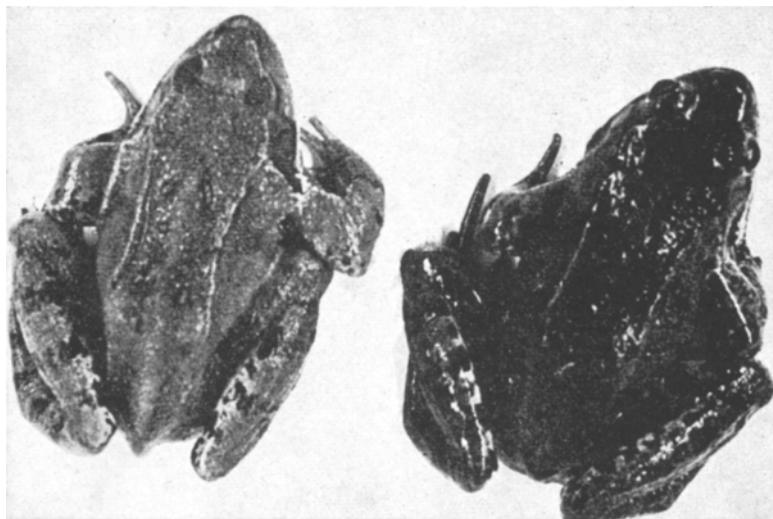


Fig. 3. A, 12 h nach Injektion von 300 mg/kg 1-Dopa. B, 12 h nach Injektion von 300 mg/kg 1- α -Methyldopa in den Brustlymphsack.

(4) Schon LIEBEN¹⁹ hatte beobachtet, dass Adrenalin die Melanophoren kontrahiert. KAHN²⁰ hatte neben einer hormonalen (MSH), auch eine nervale Beeinflussbarkeit der Melanophoren auf Grund einer sympathischen Innervation für möglich gehalten. Auch SIEGLITZ²¹ postulierte eine nervale Steuerung der Melanophorenbewegung bei *Rana temporaria*, lehnte jedoch eine Identität des von ihr in Froschhautextrakten nachgewiesenen pharmakologisch wirksamen Stoffes mit Adrenalin und Noradrenalin ab.

Nach Reinigung der gelblich gefärbten Hautextrakte von normalen Fröschen an Dowex-Säulen konnten wir papierchromatographisch und fluorimetrisch Adrenalin nachweisen, das 48 h nach Reserpin (25 mg/kg) verschwunden war (Figur 4). Nach Injektion von α -Methyldopa liessen sich in den Hautextrakten α -Methyldopamin und α -Methyladrenalin nachweisen.

Wenn das Adrenalin der Froschhaut Überträgerstoff einer adrenergischen Innervation der Melanophoren ist,

so könnte diese sich antagonistisch zu der durch das melanophorenerweiternde Hormon (MSH) ausgeübten Wirkung verhalten und auf diese Weise eine nerval-hormonale Regulation ermöglichen. Adrenalin hemmte die durch reines α - und β -MSH am Frosch verursachte Expansion der Melanophoren²². Wenn wir auch in Hautextrakten der mit α -Methyldopa behandelten Frösche α -Methyldopamin in größerer Menge neben kleineren Mengen α -Methyladrenalin nachweisen konnten, so bleibt der Mechanismus der zur Melanophorenexpansion führenden Wirkung des α -Methyldopa zunächst noch unklar.

Neben der Verdrängung des physiologischen Überträgerstoffes durch einen unphysiologischen wäre eine vermehrte Melaninbildung (Dopaoxydase) in Erwägung zu ziehen. Als alleinige Ursache käme diese wohl schon wegen der «Reversibilität» der Wirkung nicht in Frage: die nach α -Methyldopa fast schwarzen Frösche hellten 30–60 min nach der Injektion von Dopa (300–500 mg/kg), Dopamin und Adrenalin (25–50 μ g) auf.

Versuche über die Wirkung von α -Methyldopa auf den Serotoninengehalt der Froschhaut sind im Gange, da auch 5-Hydroxytryptophan eine starke Expansion der Melanophoren verursachte.

Summary. (1) The adrenalin of the frog heart was found to be localized mainly in the granular fraction (100,000 g). After pretreatment with α -methyldopa (α -MD), the heart also contained α -methyldopamine, α -methylnoradrenalin, and α -methyladrenalin. (2) α -MD caused a maximal expansion of the melanophores. This action was counteracted by l-dopa, which per se caused a contraction of the melanophores. After pretreatment with α -MD the skin contained besides adrenalin also α -methyldopamine and α -methyladrenalin. In addition also 5-hydroxytryptophan expanded the melanophores.

H. GROBECKER und P. HOLTZ

Pharmakologisches Institut der Universität
Frankfurt/Main (Deutschland), 1. September 1965.

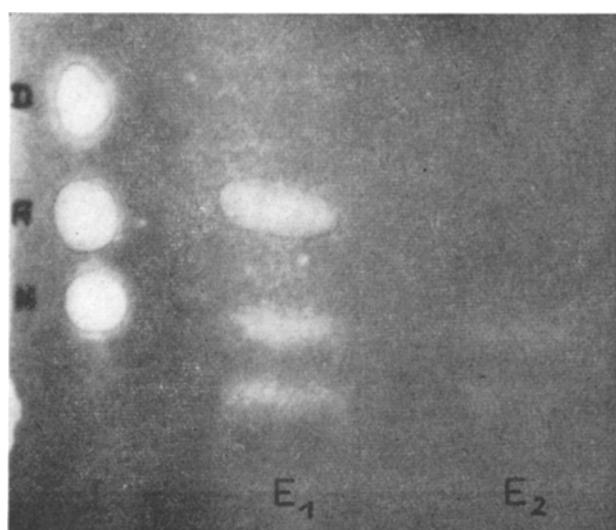


Fig. 4. Papierchromatogramm der salzauren Eluate (*n* HCl) von Hautextrakten normaler Frösche (E₁) und von Fröschen, die 48 h vorher 25 mg/kg Reserpin erhalten hatten (E₂). T (Test): je 1 μ g N (Noradrenalin), A (Adrenalin), D (Dopamin).

¹⁹ S. LIEBEN, Zbl. Physiol. 20, 18 (1906).

²⁰ R. H. KAHN, Arch. ges. Physiol. 195, 337 (1922).

²¹ G. SIEGLITZ, Z. vgl. Physiol. 33, 99 (1951).

²² B. K. BHATTACHARYA and D. P. SEN, Arch. int. Pharmacodyn. 155, 388 (1965).

²³ G. L. ELLMAN, Nature 181, 768 (1958).