

beider Isotope wurden simultan im «Packard»-Tricarb-Szintillationsspektrometer, Mod. 314-EX, bestimmt⁵.

Von dem in das Duodenum injizierten DHEA-Sulfat wurden innerhalb von 4 h 7% resorbiert und wieder ausgeschieden. Durch Verwendung des doppelmarkierten Konjugates konnte nachgewiesen werden, daß C₁₉-Steroidsulfat ohne nennenswerte Hydrolyse sowohl die Darmwand als auch die Leber passiert (Tabelle I), wie aus einem praktisch unveränderten ³H/³⁶S-Quotienten des Sulfates in der Galle und einem verschwindend geringen Anteil freier Steroide in der Darmwand hervorgeht. Ein Teil der im Darm resorbierten und durch die Vena portae der Leber zugeführten Sulfokonjugate gelangt über den peripheren Blutkreislauf in den Urin, jedoch mit deutlichem ³⁶S-Verlust, der auf eine Resulfurylierung deutet. Da frühere Experimente gezeigt hatten, daß in der Leber das Sulfat kaum, wohl aber das Sulfatid hydrolysiert werden kann^{6,7}, handelt es sich bei dem in die Peripherie gelangten Sulfokonjugat wohl vornehmlich um Steroidsulfatid, welches sich auf dem Wege vom Darm zur Leber gebildet hatte, um dort teilweise hydrolysiert und resulfuryliert zu werden. Das in eine Vena mesenterica injizierte DHEA-sulfat erschien ohne ³⁶S-Verlust im Urin. Ein geringer ³H-Verlust des Sulfates in der Galle läßt sich durch 7 α -Hydroxylierung der Steroidkomponente in der Leber erklären.

Bei Injektion von DHEA-glukuronosid in das Duodenum fand man innerhalb von 5 h eine Resorption und Wiederausscheidung von 2,5% des vorgelegten Substrates (Tabelle II). Der größte Teil wurde im Verlaufe der Resorption in der Darmwand hydrolysiert und anschließend rekonjugiert. Hier entstand mehr Sulfat als Glukuronosid, während nur 2% ohne Hydrolyse in den enterohepatischen Kreislauf und in die Galle gelangten. In der Darm-

wand konnten signifikante Mengen freier und sulfokonjugierter Steroide nachgewiesen werden. Das Verhältnis Sulfat/Glukuronosid betrug in der Galle 6,06. Der ursprüngliche ³H/¹⁴C-Quotient des injizierten Glukuronosides von 2,02 stieg in der Galle auf über 100 (³H von Sulfat plus Glukuronosid). Etwa 50% des in eine Vena mesenterica injizierten DHEA-glukuronosides wurden innerhalb von 20 min. ohne Hydrolyse wieder mit der Galle ausgeschieden; 6% der ³H-Aktivität waren nach 3,5 h in den Urin gelangt, wovon sich rund $\frac{1}{3}$ als Glukuronosid mit wenig erhöhtem ³H/¹⁴C-Quotienten, $\frac{2}{3}$ als nur ³H-markiertes Sulfat isolieren ließen.

Summary. By infusing doubly labelled conjugates into the duodenum or into a mesenteric vein it could be demonstrated that DHEA-sulfate passes the intestinal wall as well as the liver nearly without hydrolysis. However, most of the glucuronoside is hydrolysed in the intestine and reconjugated as sulfate.

P. KNAPSTEIN und G. W. OERTEL

Endokrinologische Abteilung des Hygiene-Institutes
der Universität des Saarlandes
Homburg (Saar, Deutschland), 13. Mai 1966.

⁵ Packard Instrument Co., La Grange, Ill., USA, Box 428, Instruction Manual.

⁶ G. W. OERTEL und P. KNAPSTEIN, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem., im Druck (1966).

⁷ W. RINDT, K. WEINANDT und G. W. OERTEL: XII. Symposium Dt. Endokrin. Ges., 22. April 1966.

Der Einfluss von Papaverin auf Funktionen der Blutplättchen

Bei Untersuchungen über die Wirkung von Pharmaka auf Blutplättchen fanden wir, dass einige Plättchenfunktionen, welche für die Hämostase von besonderer Bedeutung sind, durch das spasmolytisch wirkende Opiumalkaloid Papaverin gehemmt werden. Im einzelnen prüften wir die Adhäsivität an Glasoberflächen, die durch Adenosindiphosphat (ADP) bewirkte Aggregation und die durch Thrombin ausgelöste visköse Metamorphose menschlicher Blutplättchen. Ferner wurde die durch Thrombin und andere proteolytische Fermente bewirkte Freisetzung von Serotonin, Histamin und ATP aus Kaninchenblutplättchen untersucht. Dabei zeigte sich, dass die geprüften Plättchenreaktionen bei Anwesenheit von Papaverin in Konzentrationen von 10^{-6} – 10^{-4} M deutlich gehemmt oder völlig verhindert werden.

Während sich die Zahl der Plättchen bei Passage der Suspension ($0,3 \cdot 10^9$ Plättchen/ml Tyrodelösung) durch drei Glasfritten G 2 (Schott & Gen., Jena) um 50–60% verringerte, trat bei Anwesenheit von 10^{-4} M Papaverin unter den gleichen Versuchsbedingungen nur eine Veränderung um 10–15% der ursprünglichen Plättchenzahl ein. Die durch Zugabe von 400 ng ADP/ml bewirkte Aggregation der Blutplättchen im Hirudinplasma (Methodik nach ¹) konnte durch vorherige Zugabe von $5 \cdot 10^{-5}$ M

Papaverin völlig verhindert werden. Bei Beobachtung der Plättchen unter dem Phasenkontrastmikroskop und bei fortlaufender Messung der Lichtdurchlässigkeit der Plättchensuspension (Methodik nach ²) zeigte sich, dass die durch Thrombin ausgelöste Agglomeration und visköse Metamorphose der Blutplättchen in hitzedefibriniertem Plasma oder in Tyrodelösung bei Gegenwart von Papaverin deutlich gehemmt wird (Versuchsbeispiel siehe Figur 1).

Die Aminfreisetzung und die Änderung des ATP-Gehaltes unter der Einwirkung von proteolytischen Fermenten und bestimmten Schlangengiften wurde an Kaninchenblutplättchen geprüft (Methodik ^{3–5}). Das Ergebnis der Untersuchungen mit Thrombin ist in der Figur 2 zusammengefaßt. In gleicher Weise wurde auch die durch Trypsin, Subtilisin und die wirksame Komponente des *Crotalus terrificus*-Giftes ausgelöste Freisetzung⁵

¹ F. MARKWARDT und A. HOFFMANN, Naturwissenschaften 51, 388 (1964).

² F. MARKWARDT, Thrombos. Diath. haemorrh. 5, 576 (1961).

³ F. MARKWARDT und W. BARTHEL, Arch. exp. Path. Pharmak. 249, 176 (1964).

⁴ F. MARKWARDT, W. BARTHEL, A. HOFFMANN und E. WITTWER, Arch. exp. Path. Pharmak. 251, 255 (1965).

⁵ F. MARKWARDT, W. BARTHEL, E. GLUSA und A. HOFFMANN, Arch. exp. Path. Pharmak. 252, 297 (1966).

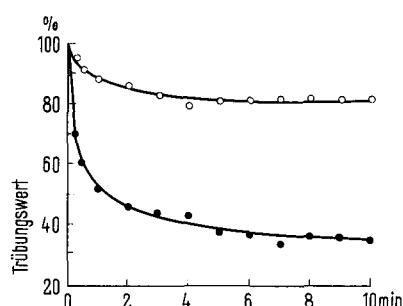


Fig. 1. Einfluss von Papaverin ($10^{-4} M$) auf die durch 5 NIH-E. Thrombin/ml ausgelöste Aggregation menschlicher Blutplättchen ($0,3 \cdot 10^9$ Plättchen/ml) in hitzedefibriniertem Plasma (-o-); Kontrolle ohne Papaverin (-●-). Mittelwerte aus jeweils 5 Einzelbestimmungen.

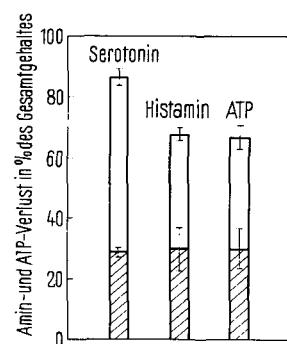


Fig. 2. Freisetzung von Serotonin, Histamin und ATP aus Kaninchenblutplättchen nach 5 min langer Einwirkung von 2 NIH-E. Thrombin/ml in Tyrodelösung pH 7,4 bei 37°C. Gestrichelte Säulen -- Freisetzung nach 30 min langer Vorinkubation mit $10^{-4} M$ Papaverin. Mittelwerte mit Standardabweichung aus jeweils 3-4 Einzelbestimmungen.

durch Papaverin gehemmt. Die Hemmung der geprüften Plättchenfunktionen konnte durch Waschen der Plättchen in papaverinfreier Tyrodelösung aufgehoben werden.

Die zum Vergleich geprüften Derivate des Papaverins, Eupaverin (1-Benzyl-3-äthyl-6, 7-dimethoxyisochinolin) und Äthylpapaverin (6, 7-Diäthoxy-1'-(3', 4'-diäthoxybenzyl)isochinolin), wirkten gleichfalls hemmend auf die untersuchten Plättchenfunktionen, während äquimolare Mengen anderer Opiumalkaloide, wie Morphin, Narkotin und Kodein ohne erkennbaren Einfluss waren.

Summary. The adhesiveness and the ADP-induced aggregation of human blood platelets as well as the agglom-

eration and viscous metamorphosis initiated by thrombin was inhibited by papaverin. The release of biogenic amines and ATP from rabbit blood platelets induced by thrombin or other proteolytic enzymes was diminished. Also eupaverin and ethylpapaverin have an inhibitory effect on the platelet functions.

F. MARKWARDT, W. BARTHEL,
E. GLUSA und A. HOFFMANN

Pharmakologisches Institut der Medizinischen Akademie Erfurt (DDR), 20. April 1966.

Polyamines and Nucleic Acids in Rat Liver Subjected to Ionizing Radiation

Although we now have a wider knowledge of the distribution, metabolism and biosynthesis of the aliphatic polyamines, spermine and spermidine, the effects exercised by them on biological systems are still little known^{1,2}. Recently MORUZZI et al.³ were able to show a strict relationship between the variation of polyamine content and nucleic acids during chick embryo development. BERTOSSI et al.⁴, using explants of artichokes in vitro, demonstrated that spermine exercises a stimulating action on cellular proliferation. Therefore we have decided to make a parallel study on the behaviour of polyamines and hepatic DNA and RNA in rats subjected to ionizing radiation in which the effects of these latter structures are well known. The research that we report here concerns the effects of radiation after 48 h of pan-irradiation.

Male Wistar rats were used, weighing 160-200 g and maintained on a standard laboratory diet. The X-rays were obtained by means of a Philips apparatus with the following characteristics: 180 kV, 0.5 Cu, focal distance 50 cm. The animals were divided into 3 groups: the first group received for every single exposure a total dose of 800 r (400 r dorsally and 400 r ventrally), the second group was exposed under the same conditions with a

total dose of 1000 r (500 r dorsally and 500 r ventrally), while the third group was maintained as control. Each single animal was irradiated after having been placed in a perspex box. After 48 h the animals were sacrificed and the livers removed, frozen and then utilized for the determinations.

The polyamines were isolated by homogenizing the liver on 0.1 N HCl and extracting them with *n*-butanol. The butanolic extract evaporated to dryness was dissolved with 0.1 N HCl and the polyamines separated by paper electrophoresis as indicated by RAINA⁵. The buffer at pH 3.5 contained citric acid-sodium hydroxide, and the voltage was 300 V. Spermine and spermidine stained with amido-black, after elution, were determined by the photometer at 615 nm.

¹ H. TABOR and C. W. TABOR, Pharmac. Review 16, 245 (1964).

² R. B. TURNER, E. M. LANSFORD, J. M. RAVEL, and W. SHIVE, Biochem. 2, 163 (1963).

³ C. M. CALDARERA, B. BARBIROLI and G. MORUZZI, Biochem. J. 97, 84 (1965).

⁴ F. BERTOSSI, N. BAGNI, G. MORUZZI, and C. M. CALDARERA, Experientia 21, 80 (1965).

⁵ A. RAINA, Acta physiol. scand. 60, 1 suppl. 218 (1963).