

publication<sup>16</sup>, the benzyl glucofuranoside, Glyvenol®, which is also an anti-inflammatory compound, exerts its prostaglandin-antagonistic action at about the same concentration at which it antagonizes histamine and other spasmogens in the guinea-pig intestine<sup>16, 17</sup>. That this effect is not the result of an anti-histamine activity is revealed by the fact that tripeleannamine (Pyribenzamine®) inhibits PGE<sub>1</sub> only at concentrations far in excess of those capable of antagonizing equi-effective histamine concentrations. From the evidence available so far it may be concluded that, in the guinea-pig intestine, PGE<sub>1</sub> possesses a mode of action practically identical with that of AAP described in 2 previous papers<sup>18, 19</sup>, the only difference being a quantitative one inasmuch as PGE<sub>1</sub> is the more potent stimulant of the two. On the other hand, the finding that morphine and similar compounds are

powerful antagonists of the prostaglandin action in the intestine together with the observation that PGE<sub>1</sub> causes diarrhoea in man<sup>11</sup> may serve to explain the fact why opiates have been used in the treatment of diarrhoea.

In connection with some of the findings outlined above, still another point of quite a different and apparently unrelated interest arises. It is conceivable that AA, either directly or through biosynthetic transformation into PGE<sub>2</sub><sup>3, 4, 7</sup> possessing activities similar to those of PGE<sub>1</sub> in the small intestine<sup>1</sup>, accelerates intestinal transit and/or causes diarrhoea in man in much the same way as it does in the guinea-pig<sup>12</sup>, i.e. in a manner identical with that described for PGE<sub>1</sub> by MISIEWICZ et al.<sup>11</sup>. AA being an important ingredient of diets rich in unsaturated fatty acids that are claimed to possess lipid-lowering properties<sup>18</sup>, one should consider the possibility that such diets may owe their hypolipidaemic action, at least partly, to a non-specific effect, namely accelerated intestinal transit<sup>19</sup>.

Antagonistic action of some narcotic and non-narcotic analgesics, anti-inflammatory drugs and other compounds on PGE<sub>1</sub>-induced contractions of the isolated guinea-pig ileum or jejunum

Compound	ED <sub>50</sub> (μg/ml ± S.E.) <sup>a</sup>
Morphine	0.01 ± 0.002
Etonitazene	0.000023 ± 0.000002
Nalorphine	0.014 ± 0.002
Aminopyrine	100 <sup>c</sup>
C. 21,401-Ba <sup>b</sup> (Glyvenol®)	5.0 ± 0.40
Atropine	0.34 ± 0.04
Azamethonium	100 <sup>c</sup>
Tripeleannamine	6.2 ± 0.08
Fluoride (sodium)	30 <sup>c</sup>
Cyanide (sodium)	22 ± 2.8

<sup>a</sup> n = 4. <sup>b</sup> Ethyl-3,5,6-tri-O-benzyl-glucofuranoside. <sup>c</sup> No effect observed at concentration shown.

*Zusammenfassung.* Es wird gezeigt, dass Analgetika vom Morphintypus die am isolierten Meerschweinchendünndarm nach Zugabe von Prostaglandin E<sub>1</sub> erfolgenden Kontraktionen ähnlich wie die durch Arachidonsäure (-peroxid) erzeugten Kontraktionen in spezifischer Weise zu antagonisieren vermögen.

R. JAQUES

Research Laboratories  
of the Pharmaceutical Department of Ciba Limited,  
4000 Basel 7 (Switzerland), 25 June 1969

- <sup>16</sup> R. JAQUES and B. SCHÄR, Schweiz. med. Wschr. 97, 553 (1967).
- <sup>17</sup> R. JAQUES, G. HUBER, L. NEIPP, A. ROSSI, B. SCHÄR and R. MEIER, Experientia 23, 149 (1967).
- <sup>18</sup> R. HESS, Adv. Lipid Res. 2, 295 (1964).
- <sup>19</sup> Professor SUNÉ BERGSTRÖM (Chemistry Department 1, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden), kindly provided the sample of PGE<sub>1</sub> used in the present study.

## Amin-Transport hypothalamischer Vesikel

Subzelluläre, noradrenalin-speichernde Vesikel des Hypothalamus nehmen durch einen ATP-Mg<sup>++</sup>-unabhängigen und einen ATP-Mg<sup>++</sup>-abhängigen Mechanismus Noradrenalin auf<sup>1</sup>. Die ATP-Mg<sup>++</sup>-unabhängige Aminaufnahme findet bei 0° und 37°, die ATP-Mg<sup>++</sup>-abhängige Aufnahme dagegen nur bei 37°C statt. Es wird deshalb angenommen, dass im Zentralnervensystem Noradrenalin sowohl passiv als auch durch einen aktiven, ATP-Mg<sup>++</sup>-abhängigen Mechanismus in die subzellulären Partikel aufgenommen werden kann. In der vorliegenden Arbeit wurde die Abhängigkeit der beiden Prozesse von der Zeit sowie der Einfluss von Kalziumionen auf den Amininflux untersucht.

*Methoden.* Noradrenalin-speichernde Vesikel des Schweinehypothalamus wurden, wie früher beschrieben<sup>2</sup>, durch Differentialzentrifugieren in 0,3 M Saccharose isoliert und in 0,17 M Histidin-HCl-Puffer pH 7,4 suspendiert. Die Inkubationsansätze enthielten 3 ml Vesikelsuspension, 0,5 ml Histidinpuffer pH 7,4, 0,5 ml 30 × 10<sup>-3</sup> M ATP, 0,5 ml 30 × 10<sup>-3</sup> M MgCl<sub>2</sub> oder CaCl<sub>2</sub> und 0,5 ml Amin (5 × 10<sup>-7</sup> bzw. 3 × 10<sup>-6</sup> M). Alle Substanzen wurden in Histidinpuffer gelöst. Die Ansätze wurden unter Schütteln (Frequenz: 100/min) 15 min lang inkubiert, zentrifugiert, die Rückstände mit 10 ml Histidinpuffer gewaschen,

erneut zentrifugiert und mit 4 ml 0,4 N HClO<sub>4</sub> extrahiert<sup>2</sup>. Die Amine wurden im Überstand<sup>3</sup>, das Eiweiß im Rückstand<sup>4</sup> bestimmt.

*Versuche.* Figur 1 zeigt die Zeitabhängigkeit der ATP-Mg<sup>++</sup>-bedingten Noradrenalin-aufnahme in die hypothalamischen Vesikel. Während in Abwesenheit von ATP und Magnesium der Noradrenalinglehalt der Vesikel ständig abnimmt (Noradrenalkonzentration im Inkubationsmedium: 5 × 10<sup>-7</sup> M), verursacht die Zugabe von ATP-Mg<sup>++</sup> eine starke Zunahme des Noradrenalingehaltes. Bei 37°C findet sowohl Freisetzung des endogenen als auch Aufnahme des zugegebenen Noradrenalins zum grössten Teil innerhalb der ersten 6 min statt.

Zur Untersuchung der Zeitabhängigkeit der ATP-Mg<sup>++</sup>-unabhängigen Noradrenalin-aufnahme wurden hypothalamische Vesikel mit einer grösseren Noradrenalkonzentration (3 × 10<sup>-6</sup> M) inkubiert. Bei dieser Aminkonzentra-

<sup>1</sup> A. PHILIPPU, U. BURKAT und H. BECKE, Life Sci. 7, 1009 (1968).

<sup>2</sup> A. PHILIPPU und H. PRZUNTEK, Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. exp. Path. 258, 238 (1967).

<sup>3</sup> J. F. PALMER, J. Pharm. Pharmacol. 15, 777 (1963).

<sup>4</sup> O. H. LOWRY, N. J. ROSEBROUGH, A. L. FARR und R. J. RANDALL, J. biol. Chem. 193, 265 (1951).

tration im Inkubationsmedium wird Noradrenalin auch in Abwesenheit von ATP und Magnesium, also passiv, in die Vesikel aufgenommen (Figur 2). Auch unter diesen Bedingungen findet der grösste Teil der Aminaufnahme bei 37 °C innerhalb der ersten 6 min statt. In Abwesenheit von ATP und Magnesium ist die Aufnahme von Noradrenalin bei 37 °C höher als bei 0 °C. Die Temperaturabhängigkeit dieses Influx deutet darauf hin, dass auch in Abwesenheit von ATP-Mg<sup>++</sup> ein Teil der Noradrenalin-aufnahme auf einem aktiven Transport beruht; wobei das während der Inkubation freiwerdende ATP aus den

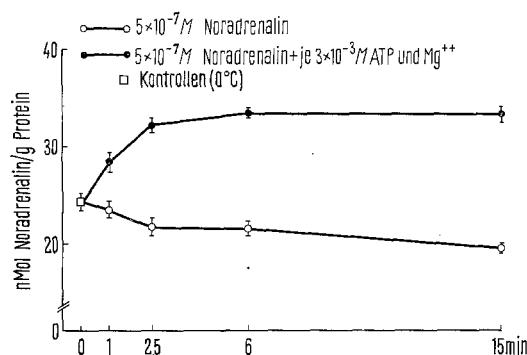


Fig. 1. Zeitabhängige Noradrenalaufnahme durch ATP-Mg<sup>++</sup> bei 37 °C. Mittelwerte von 4 Versuchen und deren mittlere Fehler.

Vesikeln die Aufnahme aktiviert. Für diese Annahme spricht auch die Tatsache, dass bei 0 °C die passive Noradrenalaufnahme schon innerhalb von 1 min ihr Maximum erreicht; bei 37 °C ist diese schnelle Initialaufnahme etwa gleich hoch wie bei 0 °C, wird jedoch von einer zweiten Influxphase gefolgt, die 5 min dauert. Diese zweite Phase der Noradrenalaufnahme könnte auf die Aktivierung des Aufnahmeprozesses durch endogenes ATP zurückgeführt werden. Wie bei den in der Figur 1 abgebildeten Ergebnissen, so erreicht auch hier die spontane Noradrenalinfreisetzung ihr Maximum schon nach 6 min.

Um festzustellen, ob die Zugabe von Magnesiumionen für die Aktivierung der Aufnahme von Bedeutung ist, wurden hypothalamische Vesikel in Gegenwart und in Abwesenheit von Magnesium mit Noradrenalin und ATP inkubiert. Wie aus der Figur 3 hervorgeht, findet die Aktivierung der Noradrenalaufnahme auch in Abwesenheit von Mg<sup>++</sup> statt. Werden jedoch die Vesikel in Gegenwart von Äthyldiamintetraessigsäure ( $10^{-3}$  M) präpariert, so ist die Zugabe von Magnesium notwendig, um die Noradrenalaufnahme zu aktivieren. Demnach sind

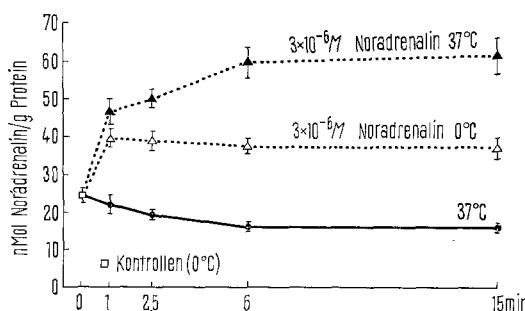


Fig. 2. Zeitabhängige Noradrenalaufnahme und -freisetzung bei 0° bzw. 37°C. Mittelwerte von 5 Versuchen und deren mittlere Fehler.

Magnesiumionen für die aktive Noradrenalaufnahme in die Vesikel tatsächlich erforderlich, wobei das in der Vesikelsuspension vorhandene Magnesium den Amintransport schon maximal aktiviert. Demgegenüber sind nach Vorbehandlung der Vesikel mit EDTA Kalziumionen nicht in der Lage, in Gegenwart von ATP die Aminaufnahme in die Vesikel zu steigern (Figur 3). Somit ist die früher beobachtete Erhöhung der Noradrenalaufnahme durch Kalzium<sup>1</sup> auf das in der Vesikelsuspension vorhandene Magnesium zurückzuführen. Es ist erstaunlich, dass Kalziumionen in Gegenwart von ATP den Influx von Noradrenalin nicht zu erhöhen vermögen, obwohl sie die vesikuläre ATPase aktivieren<sup>5</sup>. Kalzium verursacht jedoch in Abwesenheit von ATP und Magnesium im Inkubationsmedium eine starke Steigerung der spontanen Noradrenalinfreisetzung<sup>2</sup>. Unter diesen Bedingungen nimmt der Amingehalt der Vesikel ab, weil der Influx nicht entsprechend aktiviert wird. Es ist sehr wahrscheinlich, dass bei der Zugabe von ATP und Magnesium Kalziumionen sowohl Influx als auch Efflux des Amins im gleichen Umfang erhöhen; dadurch wird der Amin austausch beschleunigt, während der Noradrenalingehalt der Vesikel unverändert bleibt<sup>6</sup>.

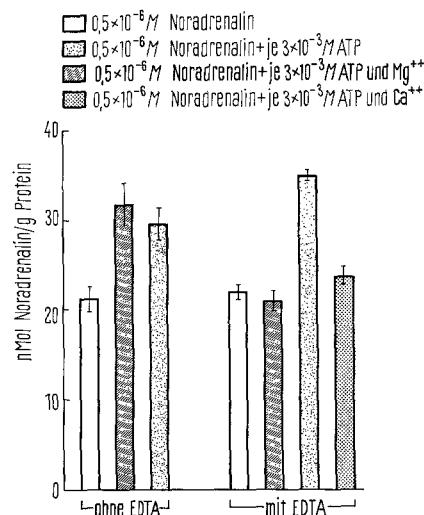


Fig. 3. Einfluss von EDTA auf die durch ATP-Mg<sup>++</sup> bzw. ATP-Ca<sup>++</sup> bedingte Noradrenalaufnahme. Mittelwerte von mindestens 8 Versuchen und deren mittlere Fehler.

**Summary.** Noradrenaline storing vesicles were isolated from the pig hypothalamus and incubated at 0° and 37 °C. In the presence of ATP the uptake of noradrenaline is activated by Mg<sup>++</sup> but not by Ca<sup>++</sup>. At 37 °C the passive transport of noradrenaline is practically accomplished within 1 min, the active one within 6 min.

A. PHILIPPU<sup>7</sup> und H. BECKE

Pharmakologisches Institut,  
Klinikum Essen der Ruhr-Universität,  
D-43 Essen (Deutschland), 29. April 1969.

<sup>5</sup> A. PHILIPPU, H. BECKE und A. BURGER, Eur. J. Pharmacol., im Druck.

<sup>6</sup> A. BURGER, A. PHILIPPU und H. J. SCHÜMANN, Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. exp. Path. 262, 208 (1969).

<sup>7</sup> Ausgeführt mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.