

8 mg kg<sup>-1</sup> i.v. injection dose are given in the Table. The radioscan (details given in Figure a-d) provided evidence for 4 metabolites which were separately eluted by previous techniques<sup>16-19</sup> and characterized by co-chromatography with standard samples<sup>21</sup>, as benzoylecgonine, benzoylecgonine, norcocaine and an unidentified metabolite. Details of separation of norcocaine from cocaine on ITLC (silica gel) and ITLC (alumina) are shown in Figure e-f. Norcocaine was also detected as a metabolite of cocaine in rat brains within 1 min of onset of convulsions following a 10 mg kg<sup>-1</sup> i.v. dose of [<sup>3</sup>H] cocaine. A single peak of radioactivity in solvent systems S<sub>1</sub> (Figure g), S<sub>2</sub>, S<sub>4</sub> and paper chromatogram and co-chromatography with standard ecgonine confirmed the identify of Amberlite XAD-2-unadsorbed metabolite as ecgonine. The brain debris remaining after the extraction with 0.5 M HCl

after washing with water, re-centrifugation and counting by earlier procedure<sup>22</sup> showed significant bound radioactivity.

Oxidation of cocaine at ambient temperature with hydrogen peroxide reportedly<sup>23</sup> leads to the formation of fairly stable nitroxide free radical and such radicals in vivo have been reported<sup>24</sup> to be reduced to norcompounds by membrane sulphydryl groups. The formation of norcocaine as a metabolite of cocaine in rat brain conceivably may play an important role in the systemic toxicity of cocaine. The lack of persistence of cocaine in rat brain for a prolonged period is similar to that observed previously<sup>19, 25</sup> with thebaine, an opioid stimulant which also possesses little or no physical dependence liability. In contrast, depressant narcotic analgesic drugs such as morphine<sup>22</sup> and methadone<sup>16, 18</sup> with very high tolerance and physical dependence liability, persisted in the rat brain for prolonged periods even after a single s.c. injection. These observations may have some relevance to the absence of tolerance and physical dependence liability with cocaine<sup>26</sup>.

<sup>21</sup> H.-L. SCHMIDT and G. WERNER, Liebigs Annln Chem. 653, 184 (1962).

<sup>22</sup> A. L. MISRA, C. L. MITCHELL and L. A. WOODS, Nature, Lond. 232, 48 (1971).

<sup>23</sup> E. G. ROZANTSEV and V. D. SHOLLE, Dokkl. Akad. Nauk. USSR 187, 1319 (1969); Chem. Abstr. 71, 128619s (1973).

<sup>24</sup> G. J. GIOTTA and H. H. WANG, Biochem. biophys. Res. Commun. 46, 1576 (1972).

<sup>25</sup> A. L. MISRA, R. B. PONTANI and S. J. MULE', Experientia 29, 1108 (1973).

<sup>26</sup> This work was supported by the U.S. Army Medical Research and Development Command under Research Contract No. DADA-17-73-C-3080.

**Zusammenfassung.** Nach s.c. und i.v. Injektionen von Cocain in Ratten wurde Cocain im Hirn rasch metabolisiert. Ausser Benzoylecgonin, Benzoylecgonin und Ecgonin wurde Norcocain als wichtiger Metabolit identifiziert.

A. L. MISRA, P. K. NAYAK, M. N. PATEL, N. L. VADLAMANI and S. J. MULE'

New York State Drug Abuse Control Commission,  
Testing and Research Laboratory,  
80 Hanson Place, Brooklyn (New York 11217, USA),  
26 April 1974.

## Stimulation des tubulären Transportes organischer Basen bei Ratten verschiedenen Alters

Für die renale Ausscheidung von Fremdstoffen wie von körpereigenen Stoffen haben die Carrier-systeme für den Transport organischer Säuren und organischer Basen grosse Bedeutung. Diese Carrier haben eine limitierte Transportkapazität, die in der frühen postnatalen Periode geringer ist als im Erwachsenenalter<sup>1</sup>. An Nierenrinden-schnitten wurde nachgewiesen, dass durch die wiederholte Gabe von Fremdstoffen eine Aktivierung jenes Carrier-systems eintritt, das den betreffenden Fremdstoff transportiert<sup>2,3</sup>. Durch die wiederholte Zufuhr von organischen Säuren kann eine beschleunigte renale Ausscheidung von *p*-Aminohippursäure erreicht werden, die durch den Säurecarrier tubulär sezerniert wird<sup>4</sup>.

An jungen und erwachsenen Ratten wurde untersucht, ob durch die wiederholte Zufuhr der organischen Base *Tris*(-hydroxymethyl)aminomethan (Trometamol, THAM) eine beschleunigte renale Ausscheidung dieser Verbindung erreicht werden kann, deren renale Exkretion bei Zufuhr grosser Mengen vorzugsweise durch den Basen-carrier erfolgt<sup>5</sup>.

**Methode.** Wistar-Ratten (Jena) verschiedenen Alters erhielten über 4 Tage zweimal täglich um 8 h und um 16 h 94 mg/100 g KG THAM i.p. Am 5. Tag wurde die Geschwindigkeit der renalen Ausscheidung von THAM in einem 3stündigen Diureseversuch im Vergleich zu Kontrollen bestimmt. Die Tiere waren am Tag des Diurese-Versuchs 5, 15, 33, 55, 105 bzw. 240 Tage alt. Kontrollen und vorbehandelte Tiere erhielten zu Beginn des 3stündigen Diureseversuchs 94 mg/100 g KG THAM i.p., wobei die Kontrolltiere im Versuchszeitraum nur etwa die Hälfte der applizierten Menge ausscheiden

können. 33 und 55 Tage alte Ratten erhielten die doppelte Dosis, um bei der grösseren Ausscheidungsfähigkeit dieser Tiere im Vergleich zu jungen und alten Ratten eine beschleunigte renale Ausscheidung nachweisen zu können<sup>6</sup>. Das Lösungsmittelvolumen betrug unabhängig von der Dosis 5 ml/100 g KG. Die Bestimmung von THAM erfolgte nach der Methode von ROSEN<sup>7</sup>. Es werden arithmetische Mittelwerte mit Standardfehler angegeben. Die im Versuchszeitraum von 3 h ausgeschiedenen THAM-Mengen wurden auf 100 g KG bezogen. Bei Ratten aller Altersgruppen war die bei der Vorbehandlung applizierte THAM-Menge zu Beginn des Diurese-Versuchs ausgeschieden.

**Ergebnisse und Diskussion.** Wie die Figur zeigt, führt die wiederholte Gabe von THAM bei Ratten aller Altersgruppen zu einer beschleunigten renalen Ausscheidung dieser Verbindung. Bei 33 und 55 Tage alten Ratten sind die ausgeschiedenen THAM-Mengen grösser als bei den

<sup>1</sup> M. NEW, H. McNAMARA und N. KRETSCHMER, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 102, 558 (1959).

<sup>2</sup> G. H. HIRSCH und J. B. HOOK, J. Pharmac. exp. Ther. 171, 103 (1970).

<sup>3</sup> G. H. HIRSCH, Can. J. Physiol. Pharmac. 50, 533 (1972).

<sup>4</sup> G. BERNHARDT, H. BRÄUNLICH, C. DIETZE, W. LUNGERHAUSEN und R. SCHADE, Acta biol. med. germ. 31, 423 (1973).

<sup>5</sup> G. G. HASAS, R. J. REVEILLAUD, J. STRAUSS, J. SCHWARTZ und M. VEROISKY, Amer. J. Physiol. 204, 113 (1963).

<sup>6</sup> H. HELWIG und H.-J. NEUHAUSEN, Pharm. Clin. 1, 188 (1969).

<sup>7</sup> H. ROSEN, Ann. N.Y. Acad. Sci. 92, 414 (1961).

Ratten der anderen Altersgruppen, weil die doppelte Dosis zu Versuchsbeginn appliziert wurde. Nur bei 5 Tage alten Ratten sind die in 3 h ausgeschiedenen Mengen an THAM bei Kontrollen und vorbehandelten Tieren nicht signifikant verschieden. Auch für die Stimulierung des Transports organischer Säuren ist der geringe Aktivierungseffekt in der Neonatalperiode charakteristisch<sup>4</sup>. Bei in vitro Untersuchungen hat HIRSCH<sup>3</sup> nachweisen können, dass die Akkumulationsfähigkeit von Nierenrindenschnitten für die organische Base N-Methylnikotinamid durch die einmalige vorherige Gabe von Uranylnitrat gesteigert werden kann. Dabei sind jedoch Dosierungen erforderlich, in denen Uranylnitrat

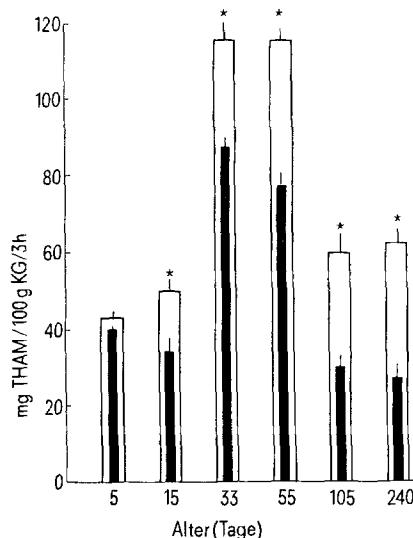
eine ausgeprägte nephrotoxische Wirkung hat. THAM ist eine organische Base, die den Basencarrier in nicht toxisch wirkenden Dosen aktiviert. Ferner wurde mit den vorliegenden Versuchen der Nachweis erbracht, dass neben der Steigerung der renalen Ausscheidungsfähigkeit für organische Säuren auch eine erhöhte Ausscheidungsleistung des Basencarriers erreicht werden kann. Nach den bisher vorliegenden Untersuchungsergebnissen über die Stimulierbarkeit von Ausscheidungsfunktionen der Niere ist es wenig wahrscheinlich, dass die beobachtete Beschleunigung der renalen THAM-Ausscheidung auf andere Weise zustande kommt als durch eine Aktivierung des Carriers. Da nach Gabe von THAM eine Alkalisierung des Harns eintritt, kommt eine Verminderung der Rückdiffusionsrate als Ursache der beschleunigten renalen Ausscheidung dieser Verbindung bei wiederholter Applikation nicht in Betracht. An Nierenrindenschnitten soll untersucht werden, ob eine Erhöhung der glomerulären Filtrationsrate oder eine Mehrdurchblutung der Niere an der beschleunigten renalen THAM-Ausscheidung Anteil hat.

Mit der Aktivierbarkeit von Carriersystemen für den renalen Transport organischer Säuren und organischer Basen ist die Möglichkeit verbunden, dass bei der wiederholten Gabe von Arzneimitteln eine Änderung ihres pharmakokinetischen Verhaltens eintritt. Bei einer geeigneten Vorbehandlung könnte auch die Elimination von körpereigenen Stoffen beeinflusst werden, wenn deren renaler Transport über solche Carriersysteme erfolgt.

**Summary.** The rate of renal excretion of Tris(hydroxymethyl)aminomethane (THAM) can be accelerated by repeated administration of this organic base. An increase in renal excretion by stimulation of active tubular base transport is possible in young and adult rats.

H. BRÄUNLICH, K. LUTHER und S. RUDOLPH

*Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Friedrich-Schiller-Universität Jena, Holzmarkt, DDR-69 Jena (DDR), 20. März 1974.*



Einfluss einer 4tägigen Vorbehandlung mit THAM auf die renale THAM-Ausscheidung während einer 3stündigen Versuchsperiode. ■, Kontrollen; □, vorbehandelte Tiere. \* Signifikante Unterschiede bei  $p < 0,01$ ;  $n = 12$ .

### Differenzierung der biologischen Aktivität von Eledoisin- und Substanz P-Analogen in Affinität und Wirkaktivität am isolierten Meerschweinchen-Ileum und Vergleich mit der Aktivität am Ratten-Colon

Die Wirksamkeit einer Substanz am biologischen Objekt ist Ausdruck ihrer Affinität zum spezifischen Rezeptor und ihrer Fähigkeit, nach Bindung an den Rezeptor eine Reaktion auszulösen (Wirkaktivität, «intrinsic activity»<sup>1,2</sup>, «efficacy»<sup>3</sup>, «intrinsic efficacy»<sup>4,5</sup>). Nach der Methode von FURCHGOTT<sup>4</sup> mittels Ausschluss einer bestimmten Rezeptorfaktion durch irreversible

Antagonisten gelang es, für cholinerge Substanzen und biogene Amine zwischen Affinität und Wirkaktivität zu differenzieren und Dissoziationskonstanten an biologischen Objekten mit Rezeptorreserve<sup>6,7</sup> zu bestimmen<sup>4,8,9</sup>.

Da für Tachykinine gegenwärtig keine spezifischen, irreversiblen Antagonisten bekannt sind, wurde versucht, eine Blockade der Rezeptoren durch die kontinuierliche

Tabelle 1. Vergleich von relativer Wirkaktivität am isolierten Meerschweinchen-Ileum und Maximalkontraktion am isolierten Ratten-Colon

	Relative Wirkaktivität Meerschw.-Ileum	Maximale Kontraktion Ratten-Colon
E-H	100,0	100
SP-H	8,9	68
SP-P	8,6	72

<sup>1</sup> E. J. ARIENS, J. M. VAN ROSSUM und A. M. SIMONIS, Pharmac. Rev. 9, 218 (1957).

<sup>2</sup> J. M. VAN ROSSUM, Arzneimittelforschung 16, 1412 (1966).

<sup>3</sup> R. P. STEPHENSON, Br. J. Pharmac. 11, 379 (1956).

<sup>4</sup> R. F. FURCHGOTT, Adv. Drug Res. 3, 21 (1966).

<sup>5</sup> R. F. FURCHGOTT und P. BURSZTYN, Ann. N.Y. Acad. Sci. 144, 882 (1967).

<sup>6</sup> J. M. VAN ROSSUM und E. J. ARIENS, Archs int. Pharmacodyn. Thér. 136, 385 (1962).

<sup>7</sup> M. NICKERSON, Nature, Lond. 178, 697 (1956).

<sup>8</sup> B. V. RAMA SASTRY und H. C. CHENG, J. Pharmac. exp. Ther. 180, 326 (1972).

<sup>9</sup> D. R. WAUD, J. Pharmac. exp. Ther. 170, 117 (1969).