

## Über die Entstehung von Serotonin aus 5-Hydroxytryptophan nach UV.-Bestrahlung

Im Jahre 1927 äusserte TRENDELENBURG<sup>1</sup> auf Grund unveröffentlichter Befunde die Ansicht, dass manche in der Haut sich abspielenden Strahlenwirkungen ihre Erklärung in einer Entstehung von Histamin aus der in den Zellen der Haut vorhandenen Aminosäure Histidin finden könnten. ELLINGER<sup>2</sup> griff diese Frage auf und konnte zeigen, dass bei der Bestrahlung von Histidinlösung mit UV.-Licht eine Substanz entsteht, die bei der Testierung am Blutdruck der Katze sowie am isolierten Meerschweinchendünndarm in ihrer Wirkung von Histamin nicht zu unterscheiden ist. Der chemische Beweis für die Identität des Bestrahlungsproduktes mit Histamin wurde von HOLTZ<sup>3</sup> durch Darstellung des Pikrats, des Gold- und Platinsalzes bzw. deren Analyse erbracht.

Neuere Befunde deuten darauf hin, dass zumindest bei einzelnen Tierspezies dem Serotonin ähnliche Funktionen zukommen, wie sie allgemein bis dahin dem Histamin zugeschrieben wurden. Serotonin darf heute wohl mit Recht als zu den von LEWIS<sup>4</sup> postulierten H-Substanzen gerechnet werden. Damit wird auch für Serotonin die Frage einer eventuellen Mitbeteiligung bei cutaner Strahlenwirkung aktuell. Es erschien uns deshalb interessant, die Möglichkeit einer Decarboxylierung von 5-Hydroxytryptophan durch UV.-Strahlung zu untersuchen sowie gleichzeitig die quantitativen Verhältnisse dieses biologischen Entstehungsmodus der beiden Amine zu klären.

**Methode.** Für die Bestrahlung verwendeten wir eine «Belmag»-Lampe mit einer Leistung von 300 W. Als Ausgangssubstanzen benützten wir Histidinchlorid und 5-Hydroxytryptophan-Base je in 1%iger Lösung. Alle Lösungen wurden in Petrischalen bei einem Lampenabstand von 30 cm dem UV.-Licht während 2½, 5, 10, 20 und 40 min ausgesetzt. Die Schichtdicke der Lösungen betrug 2,5 mm, die pro Ansatz bestrahlte Menge etwa 20 ml. Die Petrischalen waren auf einer Waage montiert und die während der Bestrahlung durch Verdunstung auftretenden Wasserverluste wurden laufend durch Zugabe von aqua dest. kompensiert. Die Testierung der bestrahlten Lösungen auf ihren Gehalt an entstandenem Amin erfolgte im Falle des Histamins am isolierten Meerschweinchendünndarm, im Falle des Serotonins am isolierten Rattenuterus, wobei in beiden Fällen der von SCHILD<sup>5</sup> beschriebene «four point assay» zur Anwendung gelangte. Alle Angaben beziehen sich auf die freie Base.

**Ergebnisse.** In Vorversuchen hatte sich gezeigt, dass die von ELLINGER für Histidin gefundene UV.-Decarboxylierung grundsätzlich auch für 5-Hydroxytryptophan möglich ist. Das dabei entstehende Serotonin war bei der Prüfung am isolierten Rattenuterus von synthetischem Serotonin nicht zu unterscheiden. Wie Abbildung 1 zeigt, ließen sich beide in gleichem Ausmass durch den spez. Serotonin-Antagonisten LSD-25 hemmen. Umgekehrt liess sich zeigen, dass beim Stehenlassen an der Luft und analogem Erwärmen sowohl im Falle des Histidin als auch des 5-Hydroxytryptophan keine nachweisbaren Mengen der entsprechenden Amine entstehen.

Zum quantitativen Vergleich wurden für beide Amine Zeitwirkungskurven aufgestellt. Die nach 2½, 5, 10, 20

<sup>1</sup> P. TRENDELENBURG, zitiert bei <sup>2</sup>.

<sup>2</sup> F. ELLINGER, Arch. exp. Path. Pharmakol. 136, 129 (1928); Arch. exp. Path. Pharmakol. 149, 343 (1930); Arch. exp. Path. Pharmakol. 153, 120 (1930).

<sup>3</sup> P. HOLTZ, Arch. exp. Path. Pharmakol. 175, 97 (1934); Klin. Wschr. 2, 1613 (1933).

<sup>4</sup> T. LEWIS, Heart 14, 19 (1927-29).

<sup>5</sup> H. O. SCHILD, J. Physiol. 101, 115 (1942).

und 40 min Bestrahlungszeit entstandene Menge Histamin bzw. Serotonin wurde in Promille, bezogen auf die entsprechende Menge Aminosäure als Ausgangssubstanz, in

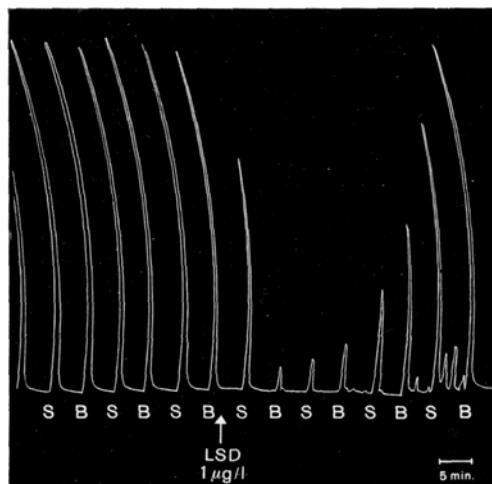


Abb. 1. Hemmung der durch wechselweise Zugabe äquivalenter Dosen Serotonin bzw. bestrahlter 5-Hydroxytryptophanlösung ausgelösten Kontraktionen des isolierten Rattenuterus mit LSD-25.

S: 0,5 µg Serotonincreatininsulfat.  
B: 0,05 ml während 40' bestrahlte 5-Hydroxytryptophanlösung 1%oo.  
Bad: 50 ml.

Abbildung 2 dargestellt. Es zeigt sich, dass bei logarithmischer Darstellung die Zeitwirkungskurven linear und, wie die statistische Prüfung ergab, auch parallel verlaufen. Pro Zeiteinheit geht jedoch die Decarboxylierung im Falle von 5-Hydroxytryptophan mit etwa 6,7mal grösserer Ausbeute vor sich.

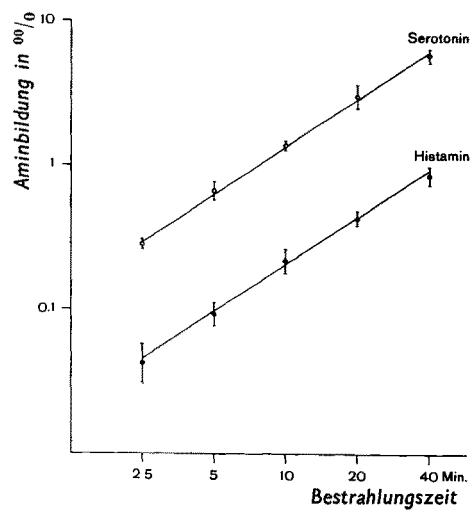


Abb. 2. Serotonin- bzw. Histaminbildung durch zunehmende UV.-Strahlenexposition von 5-Hydroxytryptophan – bzw. Histidinlösungen. Bestrahlung während 10 min von gleichen Mengen der beiden Aminosäuren (20 ml) führt beispielsweise zur Bildung von 4,0 µg Histamin, jedoch zur wesentlich höheren Menge von 26,8 µg Serotonin.

**Diskussion.** Wie die mitgeteilten Befunde zeigen, ist *in vitro* eine Decarboxylierung von 5-Hydroxytryptophan durch UV.-Strahlung grundsätzlich möglich. Der im Vergleich zu Histidin zeitlich raschere Ablauf dieses Gesche-

hens bzw. die quantitativ bessere Ausbeute an biogenem Amin legen die Vermutung nahe, dass diesem Effekt auch *in vivo* eine gewisse Bedeutung zukommen könnte. Dies zumindest bei gewissen Tierspezies mit relativ hohem Tryptophan- bzw. 5-Hydroxytryptophangehalt der Haut. Gegen die von ELLINGER für Histidin mitgeteilten Befunde wurden später von BOURDILLON *et al.*<sup>6</sup> hinsichtlich ihrer Bedeutung bei physiologischer Sonnenbestrahlung Einwände erhoben. Bei Bestrahlung von Histidinlösung mit UV.-Licht verschiedener Wellenlänge zeigte sich nämlich, dass nur im Bereich unter 290 m $\mu$  eine Decarboxylierung eintritt, wobei das Optimum, wie zu erwarten, mit dem Absorptionsmaximum zusammenfällt. Da jedoch bei normaler Sonnenbestrahlung praktisch nur Strahlen von 290 m $\mu$  und länger die Erdoberfläche erreichen, ist eine Histaminneubildung auf diesem Wege ziemlich ausgeschlossen. Anders scheint es im Falle des Serotonin zu sein, dessen eines Absorptionsmaximum im Bereich der die Erdoberfläche erreichenden UV.-Strahlung liegt. Ob und wie weit Serotonin bei biologischen Strahlenwirkungen beteiligt ist, bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten.

W. DOEPFNER und A. CERLETTI

Pharmakologisches Laboratorium, Sandoz AG., Basel,  
26. Juli 1958.

### Summary

UV.-irradiation of a 5-hydroxytryptophan solution results in formation of 5-hydroxytryptamine (serotonin) the yield being higher than that of histamine in a histidine solution under similar conditions. The possible importance of these findings, for biological effects of UV.-irradiation is discussed.

<sup>6</sup> R. B. BOURDILLON, J. H. GADDUM und R. G. C. JENKINS, Proc. Roy. Soc. [B] 106, 388 (1930).

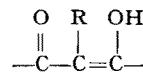
### Novobiocin as Uncoupling Agent

Following the early observation by HOTCHKISS<sup>1</sup> on gramicidin, several antibiotics and chemotherapeutics have been shown to be uncoupling *in vitro*: tetracycline group<sup>2</sup>, usnic acid<sup>3</sup>, atebrin<sup>4</sup>. Conversely, some uncoupling substances (dinitrophenols included) show antibacterial activity<sup>5</sup>. Although there is no definitive evidence of relationship between chemotherapeutic activity of these drugs and their ability to inhibit oxydative phosphorylation, indirect proofs make this hypothesis likely: usnic acid uncouples at the same concentration at which it exerts antibacterial activity<sup>6</sup>; both uncoupling<sup>7</sup>

and antibiotic<sup>8</sup> actions of tetracyclines are counteracted by Mg ions<sup>9</sup>.

Novobiocin has a bacterial spectrum similar to tetracyclines, and, like tetracyclines, its activity against Gram-negative bacteria can be counteracted *in vitro* by Mg ions<sup>10</sup>. Furthermore the methyl-coumarinic structure of novobiocin molecule leads us to relate this antibiotic to the anticoagulants coumarin and indandione derivatives which have shown to exert antibacterial<sup>11</sup> and uncoupling<sup>12</sup> activity.

Finally, it is to be pointed out that a group



is present in novobiocin, as well as in tetracyclines and in usnic acid molecule.

These facts suggested us to test novobiocin as uncoupling substance *in vitro*.

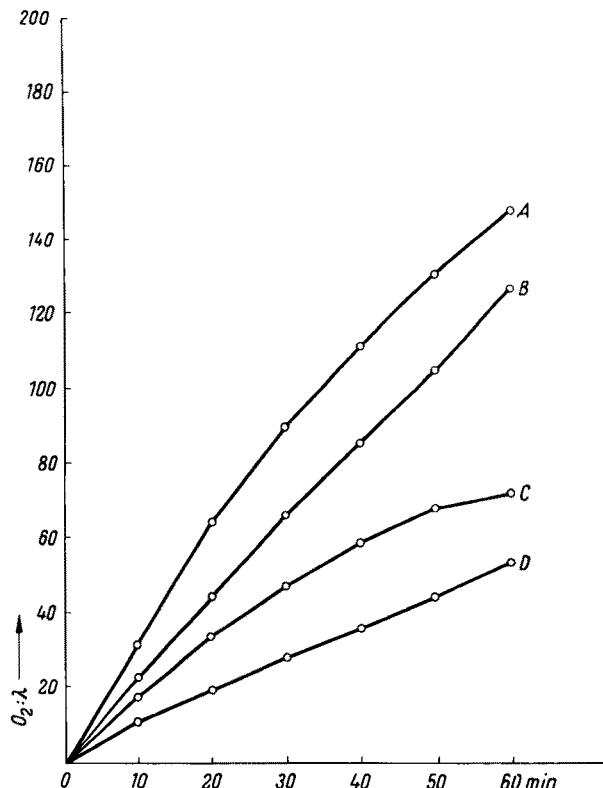


Fig. 1.—Effect of Novobiocin at different concentrations on the oxidation of Na alpha-ketoglutarate by rat liver homogenate. Novobiocin concentrations ( $\times 10^{-4} \text{ M}$ ): A control; B 0.787; C 1.575; D 7.878.

<sup>8</sup> M. HAMBURGER, J. CARLETON, and M. HARCOURT, Antib. Chemother. 7, 274 (1957).

<sup>9</sup> The fact that some of the above mentioned antibiotics inhibit bacterial growth at a concentration considerably lower than that requested for depressing phosphorylation in mammal cell-free preparations, is probably due to a lesser sensitivity of tissue system in comparison with bacterial cells<sup>13</sup>.

<sup>10</sup> T. D. BROCK, J. Bact. 72, 320 (1956). — H. HOEKSEMA, E. L. CARON, and J. W. HINMAN, J. Amer. Chem. Soc. 78, 2019 (1956).

<sup>11</sup> E. GORI, R. C. Ist. Lombardo 86, 667 (1953).

<sup>12</sup> C. MARTIUS and D. NITZ-LITZOW, Biochim. biophys. Acta 12, 134 (1953). — J. P. GREEN, E. SONDERGAARD, and H. DAM, J. Pharmacol. 119, 12 (1957). — U. SODERBERG and C. A. WACHTMAYER, J. Pharmacol. 117, 298 (1956).

<sup>13</sup> A. F. BRODIE and C. T. GRAY, J. Biol. Chem. 219, 853 (1956). — D. F. HERSEY and S. J. AJL, J. gen. Physiol. 34, 295 (1951). — G. B. PINCHOT, J. Biol. Chem. 205, 65 (1953).

<sup>1</sup> R. D. HOTCHKISS, Advanc. Enzymol. 4, 153 (1944).

<sup>2</sup> T. M. BRODY and J. A. BAIN, J. Pharmacol. 103, 338 (1951). — T. M. BRODY, R. HURWITZ, and J. A. BAIN, Antib. Chemother. 4, 864 (1954).

<sup>3</sup> R. B. JOHNSON, G. FELDOTT, and H. A. LARDY, Arch. Biochem. 28, 317 (1950).

<sup>4</sup> W. F. LOOMIS and F. LIPMANN, J. Biol. Chem. 173, 807 (1948).

<sup>5</sup> H. W. DALTON, Lancet 259, 596 (1950). — G. IVANOVICS, Z. Immun. Forsch. 102, 238 (1942). — R. LECOG, J. SOLOMIDES, and P. LANDRIN, Ann. pharm. franç. 7, 326 (1949).

<sup>6</sup> A. MARSHAK and J. HARTIG, J. cell. comp. Physiol. 31, 321 (1948).

<sup>7</sup> T. M. BRODY, R. HURWITZ, and J. A. BAIN, Antib. Chemother. 4, 864 (1954).