

although in an overall fashion closely parallel with changes of glutamic acid, attained the mature level apparently somewhat earlier. In newborn animals, glutamic acid amounted to approximately 65%, glutamine to 97% and GABA to 75% of values estimated in brains of adult animals. Closer scrutiny of individual results in the group of newborn kittens revealed values of GABA sometimes even higher than some of the concentrations found in adult animals. As could be seen in the graph, the greatest, the steepest and statistically highly significant increments of both glutamic acid ( $p < 0.001$ ) and GABA ( $p < 0.01$ ) occurred within the first week of postnatal development.

Morphological investigations of the developing feline cortex showed that most remarkable changes, involving the maximal neuron growth and maturation of superficial and deep neuropil, accompanied by a decreased density of cells, take place during the first two weeks of postnatal development<sup>3,4</sup>. The extraneuronal space, during the same maturational period, was found to consist mostly of interstitial fluid and only a few glial cells<sup>5,6</sup>. The fact that the most dramatic changes in glutamic acid and GABA concentrations encountered in our experiments, coincided with morphogenetic stage characterized by the highest neuronal index, i.e. neuron/neuroglia density, indicate that the biochemical alterations observed should be related primarily to postnatal development of neurons and their processes. The mature level of glutamine in the newborn animal seems to justify the teleological inference

that the detoxication of ammonia is of major significance for the neonatal animal<sup>1</sup>, which, of course, should not preclude the importance of glutamine for glycolysis and protein synthesis in the early period of postnatal development<sup>2</sup>.

*Résumé.* La teneur en glutamine dans le cerveau des chatons nouveau-nés au cours de la maturation cérébrale est comparable à celle des animaux adultes. Les concentrations en acide glutamique et en GABA augmentent et vers la fin du premier mois postnatal correspondent au niveau des adultes.

LJ. T. MIHAILOVIĆ and LJ. KRŽALIĆ

*Institute of Pathological Physiology, Faculty of Medicine, University of Belgrade (Yugoslavia), November 3, 1963.*

<sup>3</sup> C. R. NOBACK and D. P. PURPURA, *J. comp. Neurol.* 117, 291 (1960).

<sup>4</sup> D. P. PURPURA, M. CHAMICHAEL, and E. M. HOUSEPIAN, *Exp. Neurol.* 2, 324 (1960).

<sup>5</sup> K. R. BRIZZEE and I. A. JACOBS, *Acta anatom.* 38, 292 (1959).

<sup>6</sup> K. R. BRIZZEE and I. A. JACOBS, *Anat. Record* 134, 97 (1959)

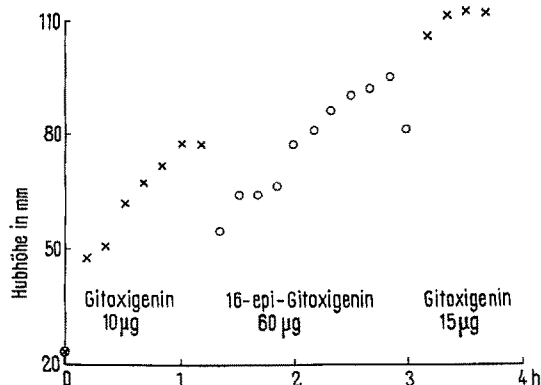
<sup>7</sup> This work has been supported by a grant from the Yugoslav Foundation for Scientific Research, Contract No. 490/1.

### Einfluss der 16-Hydroxylgruppe auf die Aktivität der Kardenolide. Die inotrope Aktivität des 16-epi-Gitoxigenin

Beim systematischen Studium des kardiotonischen Prinzips von *Digitalis lanata* haben wir festgestellt, dass Lanatosid D am Katzenpapillarmuskel weniger wirksam ist als Lanatosid C<sup>1</sup>. Ein noch deutlicherer Unterschied wurde am Meerschweinchen mit der Knaffl-Lenz Methode gefunden. Lanatosid D unterscheidet sich vom Lanatosid C einzig durch die Anwesenheit der OH-Gruppe in der 16 $\beta$ -Position. Ein ähnlicher ungünstiger Einfluss der 16 $\beta$ -Hydroxylgruppe wurde für das Lanatosidenpaar A und B am Frosch und an der Katze, für Digitoxin und Gitoxin an der Katze und für das Paar Digitoxigenin und Gitoxigenin an der Katze<sup>2</sup> und am isolierten ungeschädigten Meerschweinchenvorhofpräparat gefunden<sup>3</sup>. Daraus ergibt sich, dass die 16 $\beta$ -Hydroxylgruppe der Kardenolide (aber nicht der Bufadienolide<sup>3</sup>) für die Senkung der kardiotonischen Aktivität und Toxizität von entscheidender Bedeutung ist. Die Frage stellt sich somit, inwieweit bei diesem ungünstigen Effekt, ausser der blossen Substituierung des C<sub>16</sub>-Atoms, auch die sterische Orientierung der Hydroxylgruppe beteiligt ist. Zu diesem Zweck wurde im Forschungsinstitut für Naturarzneimittel das 16-epi-Gitoxigenin (dessen OH-Gruppe in der 16 $\alpha$ -Position steht) präpariert<sup>4</sup> und dessen inotrope Aktivität aus elektrisch gereizten Katzenpapillarmuskeln mit Gitoxigenin verglichen. Die Badeflüssigkeit war 25 ml, die Tyrodelösung (9 g NaCl, 0,42 g KCl, 0,12 g CaCl<sub>2</sub>, 1 g Glucose, 0,12 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, pH 7,2-7,4, Temperatur 38°C) wurde reichlich mit O<sub>2</sub> durchperlt. Die isotonischen Kontraktionen wurden photokymographisch registriert. Die Genine haben wir in

steigenden Dosen von 2,5  $\mu$ g appliziert (wechselweise Gitoxigenin und 16-epi-Gitoxigenin). Stets war die Dosis von 16-epi-Gitoxigenin 4-6mal höher als die vorangehende Dosis des Gitoxigenins.

Die Figur zeigt den charakteristischen Verlauf eines Teilversuches.



Inotrope Aktivität des Gitoxigenin und 16-epi-Gitoxigenin auf dem Katzenpapillarmuskel (Hubhöhe alle 10 min gemessen).

<sup>1</sup> A. KOVAŘIKOVÁ, J. PITRA und Z. ČEKAN, *Exper.* 15, 112 (1959).

<sup>2</sup> E. ROTHLIN und R. BRICHER, *Ergebn. inn. Med.* 5, 457 (1954).

<sup>3</sup> W. FÖRSTER, *Acta biol. med. germ.* 9, 341 (1962).

<sup>4</sup> M. S. RAGAB, H. LINDE und K. MEYER, *Helv. chim. Acta* 45, 474 (1962).

Auf Grund von 12 Versuchen konnte die relative inotrope Wirkung des 16-epi-Gitoxigenin berechnet werden, die 21% der Gitoxigeninwirkung entspricht ist (Sicherheitsgrenzen  $\pm 5\%$ ). Latenzzeit und Zeit bis zum maximalen Effekt waren für beide Stoffe gleich.

In Anbetracht der übereinstimmenden räumlichen Anordnung der Substituenten an C<sub>16</sub> ( $\beta$ -OH-Gruppe) und an C<sub>17</sub> ( $\beta$ -Butenolidenring) könnte man die Erklärung für die Senkung der biologischen Aktivität in deren ungünstiger gegenseitiger sterischer Beeinflussung sehen. Dieser Erklärung widerspricht jedoch die Tatsache, dass eine umgekehrte Konfiguration an C<sub>18</sub> ( $\alpha$ ) beim 16-epi-Gitoxigenin zu keiner Erhöhung der Aktivität führt. Soweit man die beim studierten Paar festgestellten Verhältnisse auf die 16-Hydroxykardenolide allgemein übertragen

kann (was noch zu bestätigen ist), wäre vom Standpunkt der pharmakologischen Wirkung aus, sowohl die blosse Anwesenheit der C<sub>16</sub>-OH-Gruppe im Molekül, als auch ihre Raumorientierung, entscheidend.

*Summary.* A comparative study of gitoxigenin and 16-epi-gitoxigenin has shown that epimerization of the C<sub>17</sub>-OH-group substantially lowers the cardiotonic activity.

ALENA KOVAŘIKOVÁ,  
H. KOLÁŘOVÁ und J. PITRA

*Forschungsinstitut für Naturarzneimittel, Prag (Tschechoslowakei), 16. Januar 1964.*

### Adaptation to Histamine. Histaminase Activity

Guinea-pigs adapted to histamine (H) by inhalatory or intraperitoneal route show lower H sensitivity than controls. This was demonstrated with histamine and with anaphylactic shock<sup>1,2</sup>, with histamine ulcerations<sup>3</sup> and by measuring the reactivity of the isolated ileum of guinea-pigs<sup>4</sup>.

In all these experiments, the question arises of whether the decrease in H sensitivity is based on increased rate of H inactivation, e.g. by an increased histaminase (H-ase) activity. This question has been examined by ROSE, KARADY and BROWNE<sup>5</sup>, who found H-ase activity not to be altered in rats adapted to H by subcutaneous injections.

When a better knowledge of histamine adaptation had already been attained, it seemed convenient to examine the H-ase activity in various organs of guinea-pigs adapted to H by inhalatory and intraperitoneal routes.

*Methods.* Experiments were made on guinea-pigs 320–460 g of body weight.

*Adaptation to histamine. (a) Inhalatory adaptation:* Animals adapted by the use of histamine aerosols. The aerosol generator D-30 was employed. The adaptation was carried on as long as the insensitivity to the concentration of 0.5% of H was obtained. Animals were considered adapted when they could tolerate an exposure of 20 min without symptoms of intoxication. The method was described in more detail elsewhere<sup>6</sup>.

*(b) Intraperitoneal adaptation:* Guinea-pigs previously tested with histamine aerosols were adapted for 6–8 weeks

by daily intraperitoneal injections of histamine dihydrochloride in a dose of 0.05 mg/kg. Every ten days the animals were tested with 0.5% histamine aerosols. Animals were considered adapted by intraperitoneal route if they could tolerate the 20 min inhalations in 0.5% histamine aerosol.

*Histaminase activity:* Histaminase activity was determined by Kapeller-Adler's microvolumetric method<sup>7,8</sup>. 1 PU gives 0.463  $\mu$ g/g/h of inactivated histamine ( $6.95 \times 10^{-5}$   $\mu$  mol H/min).

*Results.* The results are presented in the Table, from which it can be seen that H-ase activity in the blood serum, lungs, kidneys, liver and brain is the same in histamine-adapted animals and in controls. The data of ROSE, KARADY and BROWNE<sup>5</sup> concerning the H-ase activity in rats adapted to H are therefore confirmed in guinea-pigs. In view of the results of the present investigations, it seems probable that a lower sensitivity of adapted animals does not depend on the elevated H inactivation by H-ase. The results are not surprising, for exogenous H is known not to be incorporated but rapidly metabolized<sup>9</sup>. This may be the case with histamine adaptation, too.

The phenomenon of a lower sensitivity of the organs of H-adapted animals is not clear. Further experiments in this laboratory are aimed at answering this question.

*Résumé.* L'activité de l'histaminase de cobayes n'est pas modifiée par l'adaptation à l'histamine, soit par voie inhalatoire soit par voie intrapéritonéale.

Cz. MAŚLIŃSKI and A. NIEDZIELSKI

*Department of General and Experimental Pathology, School of Medicine, Łódź (Poland), November 18, 1963.*

Group	Serum PU/1 ml	Lungs PU/50 mg of acetone powder	Kidneys PU/50 mg of acetone powder	Liver PU/50 mg of acetone powder	Brain PU/50 mg of acetone powder
Control	0.6 $\pm$ 0.6 (10)	5.5 $\pm$ 3.4 (8)	4.4 $\pm$ 2.5 (10)	6.6 $\pm$ 1.6 (10)	1.6 $\pm$ 0.7 (10)
Inhalatory adaptation	1.6 $\pm$ 0.8 (17)	6.3 $\pm$ 2.0 (17)	5.3 $\pm$ 2.3 (17)	7.7 $\pm$ 2.2 (17)	1.5 $\pm$ 0.6 (16)
Intra- peritoneal adaptation	1.3 $\pm$ 0.8 (13)	6.2 $\pm$ 1.9 (13)	3.9 $\pm$ 2.2 (14)	7.2 $\pm$ 2.4 (15)	1.4 $\pm$ 0.7 (15)

Number of experiments in parentheses. Histaminase activity in PU. Statistical analysis – Student's *t*-test.  $P > 0.05$ .

<sup>1</sup> Cz. MAŚLIŃSKI, A. GULCZYŃSKI, and B. PIETRAŚ, *Exper.* 20, 89 (1964).

<sup>2</sup> Cz. MAŚLIŃSKI, S. M. MAŚLIŃSKI, and H. WEINRAUDER, *Exper.* 19, 258 (1963).

<sup>3</sup> J. DMOCHOWSKI and Z. FILIP, *Exper.* 20, 220 (1964).

<sup>4</sup> S. W. ANDRZEJEWSKI and A. AUGUSTYNIAK, *Exper.* 20, 271 (1964).

<sup>5</sup> B. ROSE, S. KARADY, and J. S. L. BROWNE, *Amer. J. Physiol.* 129, 219 (1940).

<sup>6</sup> Cz. MAŚLIŃSKI, J. M. WIŚNIEWSKA, A. WIDERSZAL, and A. MARCIŃSKI, *Post. Hig. Med. Dośw.* 16, 139 (1962).

<sup>7</sup> R. KAPPELLER-ADLER, *Biochem. J.* 44, 70 (1949).

<sup>8</sup> R. KAPPELLER-ADLER, *Biochem. biophys. Acta* 22, 391 (1956).

<sup>9</sup> R. W. SCHAYER, *J. biol. Chem.* 199, 145 (1952).