

- [3] Hemmingsen, R., Kramp, P.: Effects of acute ethanol intoxication, chronic ethanol intoxication, and ethanol withdrawal on magnesium and calcium metabolism in the rat. *Psychopharmacology* **67** (1980) 255.
- [4] Kalbfleisch, J. M., Lindeman, R. D., Ginn, H. E., Smith, W. O.: Effects of ethanol administration on urinary excretion of magnesium and other electrolytes in alcoholic and normal subjects. *J. Clin. Invest.* **42** (1963) 1471.
- [5] Kramp, P., Hemmingsen, R., Rafaelsen, O. J.: Magnesium concentration in blood and cerebrospinal fluid during delirium tremens. *Psychiatr. Res.* **1** (1979) 161.
- [6] Leinert, J., Hötzel, D.: Untersuchungen zum Magnesiumstatus von Industriearbeitern. *Ernährungs-Umschau* **27** (1980) 293.
- [7] Linkola, J., Fyhrquist, F., Ylikahri, R.: Adenosine 3', 5' cyclic monophosphate, calcium and magnesium excretion in ethanol intoxication and hangover. *Acta Physiol. Scand* **107** (1979) 333.
- [8] Meyer, J. G.: Electrolyte changes and acid base balance after alcohol withdrawal. *J. Neurol.* **215** (1977) 135.
- [9] Nielsen, R. H.: Magnesium metabolism in acute alcoholics. *Dan. Med. Bull.* **10** (1963) 225.
- [10] Peng, T.-C.: Ethanol-induced hypocalcemia, hypermagnesemia and inhibition of the serum calcium-raising effect of parathyroid hormone in rats. *Endocrinology* **94** (1974) 608.
- [11] Sargent, W. Q.: The effect of acute and chronic ethanol administration on divalent cation excretion. *J. Pharm. Exp. Ther.* **190** (1974) 507.
- [12] Schmidt, P.: Störungen des extra- und intrazellulären Wasser- und Elektrolythaushalts im Delirium tremens. *Dtsch. med. Wschr.* **8** (1971) 332.
- [13] Seelig, M. S., Heggveit, H. A.: Magnesium interrelationships in ischemic heart disease: a review. *Am. J. Clin. Nutr.* **27** (1974) 59.
- [14] Shah, J. H., Bowser, E. N., Hargis, G. K., Wongsurawat, N., Banerjee, P., Henderson, W. J., Williams, G. A.: Effect of ethanol on parathyroid hormone secretion in the rat. *Metabolism* **27** (1978) 257.
- [15] Wessels, F.: Beziehungen zwischen Mg-, Ca- und Parathormonstoffwechsel. *Med. Klinik* **73** (1978) 705.

(Anschritt der Verfasser über; Prof. Dr. D. Hötzel: Institut für Ernährungswissenschaft, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Endenicher Allee 11-13, 5300 Bonn)

Diurese und Salurese bei Ratten nach intravenöser Applikation von Pteridinderivaten

Von E. Mutschler, G. Vollmer und K.-D. Völger

Pharmakologisches Institut für Naturwissenschaftler, Johann Wolfgang Goethe-Universität, Frankfurt/Main (Direktor: Prof. Dr. Dr. med. E. Mutschler)

Zusammenfassung

In Diurese-Versuchen bei Ratten wurde die Ausscheidung von Harn und den Elektrolyten Na^+ , K^+ , Ca^{++} und Mg^{++} über 48 Stunden nach i. v.-Applikation von Triamteren (TA), Hydroxytriamteren-schwefelsäureester (OH-TA-Ester) und 4-Carboxybutoxy-triamteren (Val-O-TA) geprüft.

Es zeigte sich in 8 verschiedenen Sammelperioden eine rasch einsetzende Natriurese und eine schwach ausgeprägte Calciurese. Eine absolute Kaliumretention konnte nur nach Gabe von TA und Val-O-TA beobachtet werden. Der OH-TA-Ester führte dagegen nur zu einer relativen Kaliumretention. Während OH-TA-Ester und Val-O-TA nur zu einer kurzfristigen Hemmung der Mg^{++} -Ausscheidung führten, zeigte TA eine ausgeprägte, langdauernde Magnesiumretention bis zu 30 Stunden nach Gabe.

Summary

The diuretic effect of triamterene (TA), hydroxytriamterene sulfuric acid ester (OH-TA-ester) and 4-carboxy-butoxy-triamterene (Val-O-TA) intravenously administered was investigated in rats. The electrolytes Na^+ , K^+ , Ca^{++} and Mg^{++} were measured for 48 hours over 8 periods differing in length of time.

An immediate natriuretic and weak calciuretic effect could be demonstrated with all the substances. TA and Val-O-TA

showed an absolute retention of K^+ . OH-TA-ester was associated with a relative retention of K^+ . The reduction in excretion of Mg^{++} by OH-TA-ester and Val-O-TA was short-lived. A long lasting reduction in the excretion of Mg^{++} in the urine up to 30 hours could be shown after application of TA.

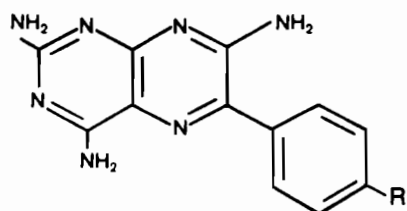
Résumé

Au cours d'expériences sur le rat l'effet diurétique a été contrôlé après application intraveineuse du triamterène (TA), de l'hydroxytriamterène-ester d'acide sulfurique (OH-TA-ester) et du 4-carboxy-butoxy-triamterène (Val-O-TA). Les électrolytes Na^+ , K^+ , Ca^{++} et Mg^{++} ont été mesurés sur 8 cycles de collection d'urine différents s'étendant sur 48 heures.

Un effet immédiat d'excrétion urinaire du sodium ainsi qu'un léger effet d'excrétion urinaire du calcium ont pu être démontrés avec toutes les substances. Une rétention absolue de potassium n'a pu être constatée qu'après administration de TA et de Val-O-TA. L'OH-TA-ester n'a par contre entraîné qu'une rétention relative de potassium. Tandis que l'OH-TA-ester et le Val-O-TA n'ont entraîné qu'une inhibition à court terme de l'excrétion de Mg^{++} , le TA a montré une importante rétention de magnésium se prolongeant 30 heures après administration.

In einer vorangegangenen Arbeit [8] berichteten wir über das Ausscheidungsmuster von Natrium, Kalium, Calcium und Magnesium nach Gabe des Diuretikums Triamteren und seines Phase-II-Metaboliten, des Hydroxytriamterenschwefelsäure-esters. Mit inzwischen durchgeführten Diurese-Versuchen kann heute ein noch differenzierteres Bild des Ausscheidungsverhaltens dieser beiden Substanzen gegeben werden. Gleichzeitig wird in dieser Arbeit ein neues Triamteren-Derivat vorgestellt.

Triamteren (Abb. 1) ist als kaliumsparendes Diuretikum seit über zwei Jahrzehnten bekannt. Die schlechte Wasserlöslichkeit dieser Substanz läßt die intravenöse Applikation nicht zu. Auch Hydroxytriamterenschwefelsäureester (Abb. 1) [3, 6] ist, trotz der Schwefelsäurehalbester-Gruppe, interessanterweise nicht befriedigend wasserlöslich [12]. Außerdem wirkt die Substanz [7, 8] nur relativ und nicht wie Triamteren absolut kaliumretinierend. Es wurde daher nach einer neuen Klasse von kaliumsparenden Diuretika gesucht, bei der gute Wasserlöslichkeit mit den erwünschten diuretischen Eigenschaften gepaart ist. Um dieses Ziel zu erreichen, wurde, ausgehend von dem Phase-I-Metaboliten des Triamteren, dem Hydroxytriamteren, eine Reihe von Hydroxytriamteren-Ethern synthetisiert [12].



R = H

Triamteren (TA)

R = OSO₃H

p-Hydroxy-triamteren-schwefelsäureester (OH-TA-Ester)

Phase-II-Metabolit

R = O(CH₂)₄ COO(H) Na⁺

4-Carboxy-butoxy-triamteren (Val-O-TA)

Aus dieser Gruppe wird über die wirksamste Verbindung, das 4-Carboxy-butoxy-triamteren (Val-O-TA) (Abb. 1), berichtet. Es handelt sich um eine Verbindung, in der das phenolische Hydroxyl von Hydroxytriamteren verethert und gleichzeitig zur Erhöhung der Wasserlöslichkeit am Ende der Seitenkette eine Carboxylgruppe eingeführt wurde.

Bei den von uns und anderen Arbeitsgruppen früher durchgeführten Diurese-Versuchen mit Triamteren-Derivaten wurde das Ausscheidungsmuster nur innerhalb von 5 Stunden nach Applikation beurteilt und dazu nur eine einzige Messung durchgeführt. Daher interessierte uns einerseits eine genauere Differenzierung der diuretischen Wirkung während der ersten Stunden nach Applikation, und andererseits dehnten wir die Beobachtungszeit auf 48 Stunden aus, um Spätetfekte nicht zu übersehen. Ein Grund für dieses Vorgehen lag darin, daß Hänze und Mitarbeiter [5] einen magnesiumretinierenden Effekt bei Versuchen am Menschen erst 6—10 Stunden nach Gabe von Triamteren gefunden, dann allerdings den Versuch abgebrochen hatten. Es erschien daher sinnvoll, einen Überblick über die Gesamtdauer der magnesiumretinierenden Wirkung zu gewinnen.

Methodik

1. Materialien

Die Versuche wurden mit Triamteren (TA) und p-Hydroxy-triamteren-schwefelsäureester (OH-TA-Ester) der Firma Röhm Pharma GmbH Weiterstadt durchgeführt. 4-Carboxy-butoxy-triamteren (Val-O-TA) wurde von uns synthetisiert. Die Dosis betrug je 0,03 Mol Substanz pro kg Körpergewicht. Um injizierbare Zubereitungen zu erhalten, wurden Val-O-TA und OH-TA-Ester in Form der Natriumsalze gelöst, für das in Wasser sehr schlecht lösliche Triamteren mußte eine 75 %ige Polyethylenglycol-Zubereitung gewählt werden.

2. Versuchsablauf

Die Diurese-Versuche wurden an Wistar-Ratten (ca. 200 g) mit Gruppen zu je 10 Tieren in Anlehnung an eine Vorschrift aus Meng und Loew [9] durchgeführt. Die Substanzen wurden durch Injektion in die Schwanzvene appliziert. Die Kontrollgruppen wurden entweder mit physiologischer Kochsalzlösung oder mit PEG-Lösung behandelt.

Nach der Applikation wurde der Harn in 8 Sammelperioden gewonnen. Aus dem Urin wurden Natrium und Kalium flammenphotometrisch, Calcium und Magnesium mittels Atomabsorption bestimmt.

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem parameterfreien *Wilcoxon-Mann-Whitney-Test* [10].

Ergebnisse

In den Abb. 2—6 sind die Differenzen zwischen den Kontroll- und Verum-Werten nach Gabe der 3 Verbindungen dargestellt. Die unterschiedliche Breite der Säulen erklärt sich aus der unterschiedlichen Länge der Sammelperioden. Die Höhe der Flächen entspricht der Ausscheidung pro Stunde, die Fläche der Gesamtausscheidung in einem Zeitabschnitt. Abb. 2 zeigt die Wirkung auf die Harnausscheidung nach Gabe der 3 Verbindungen.

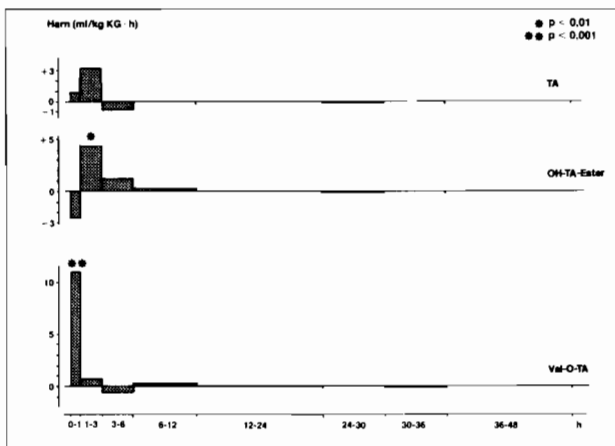


Abb. 2: Änderung der Harnausscheidung nach Gabe von TA, OH-TA-Ester und Val-O-TA.

Triamteren führt zu einer nicht signifikanten Vermehrung des Harnvolumens bis zur 3. Stunde post applicationem. OH-TA-Ester erhöht signifikant in der 2. und 3. Stunde das Harnvolumen. Nach Gabe von Val-O-TA setzt sofort die Diurese ein und ist sehr früh beendet.

Die Natriurese (Abb. 3) setzt bei allen genannten Verbindungen sehr rasch ein und ist früh beendet. Val-O-TA wirkt besonders schnell, bei dem OH-TA-Ester setzt die Wirkung etwas verzögert ein und hält dafür länger bis zu 6 Stunden nach Applikation an. Der auftretende Reboundeffekt ist bei OH-TA-Ester hochsignifikant, bei Val-O-TA signifikant.

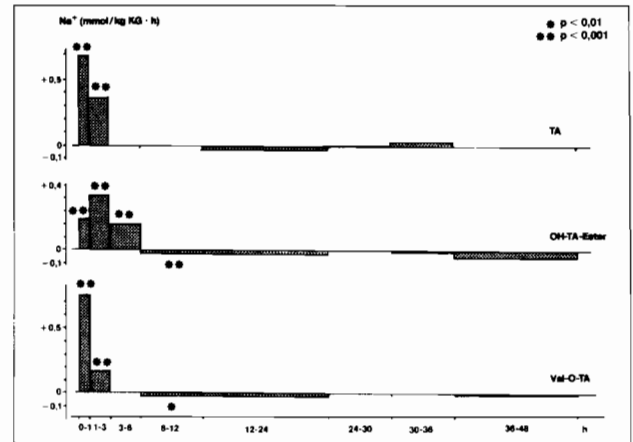


Abb. 3: Änderung der Natriumausscheidung nach Gabe von TA, OH-TA-Ester und Val-O-TA.

Abb. 4 zeigt die Werte für die Kaliumausscheidung. Hier fällt sofort ein entscheidender Unterschied zwischen Triamteren und Val-O-TA einerseits und OH-TA-Ester andererseits auf. TA und Val-O-TA wirken kaliumretinierend, der Ester verändert dagegen die Kaliumwerte kaum. Der Ester wirkt somit, da er bei deutlicher Erhöhung der Natriumausscheidung im Unterschied zu anderen Diuretika die Kaliumausscheidung nicht verändert, relativ kaliumretinierend. Die absolute Kaliumretention der beiden anderen Verbindungen manifestiert sich besonders in der Sammelperiode zwischen der 2. und 3. Stunde.

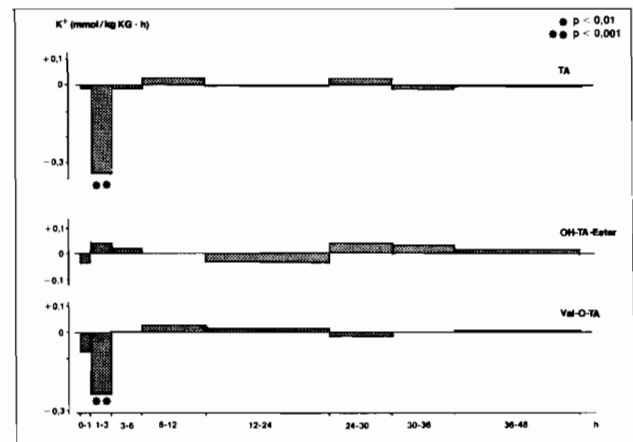


Abb. 4: Änderung der Kaliumausscheidung nach Gabe von TA, OH-TA-Ester und Val-O-TA.

Die Wirkung auf die Ausscheidung von Calcium (Abb. 5) ist bei allen Verbindungen weniger ausgeprägt als auf die von Alkaliionen und tritt später auf. So wirkt Triamteren schwach calciuretisch, signifikante Werte werden in der Sammelperiode von der 13. bis zur 24. Stunde erhalten.

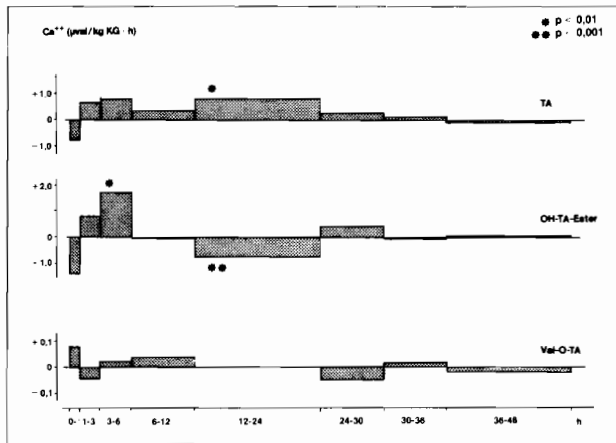


Abb. 5: Änderung der Calciumausscheidung nach Gabe von TA, OH-TA-Ester und Val-O-TA.

Der Ester führt zu deutlichen Schwankungen in der Calciumausscheidung gegenüber den Kontrollen, während der 4. bis 6. Stunde ist diese signifikant vermehrt, während der 13. bis 24. Stunde hochsignifikant verringert.

Val-O-TA beeinflusst die Calciumausscheidung, über die gesamte Untersuchungszeit betrachtet, nicht.

Auch bei der Magnesiumausscheidung (Abb. 6) zeigt sich die Wirkung vor allem erst in den späteren Sammelperioden. So verringert Triamteren von der 7. bis zur 30. Stunde nach Applikation signifikant die Magnesiumausscheidung. Für den Ester ist das Bild uneinheitlicher: In der ersten Sammelperiode und in der zwischen der 7. und 12. Stunde findet man eine hochsignifikante Verringerung, danach eine signifikante Erhöhung der Magnesiumausscheidung. Val-O-TA wirkt in der ersten Stunde magnesiuretisch, doch wird dieser Effekt anschließend teilweise wieder aufgehoben.

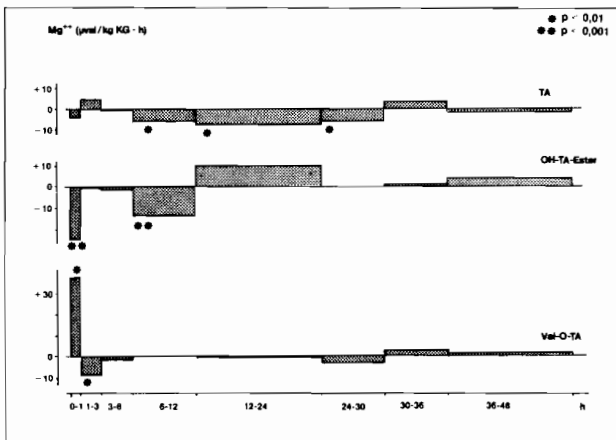


Abb. 6: Änderung der Magnesiumausscheidung nach Gabe von TA, OH-TA-Ester und Val-O-TA.

Diskussion

Ziel dieser Untersuchungen war es, festzustellen, ob die 3 Substanzen Triamteren (TA), p-Hydroxytriamteren-schwefelsäureester (OH-TA-Ester) und 4-Carboxy-butoxy-triamteren (Val-O-TA) eine längerfristige Änderung des Ausscheidungsmusters der Ionen Natrium, Kalium, Calcium und Magnesium im Rattenharn bewirken.

Es konnte gezeigt werden, daß einerseits die Gabe von 4-Carboxy-butoxy-triamteren nur zu einer kurzfristigen Änderung im Ausscheidungsverhalten bei allen 4 untersuchten Ionen führt, und andererseits nach Applikationen von TA und OH-TA-Ester das Ausscheidungsmuster der Erdalkalitionen Calcium und Magnesium langfristig beeinflusst wird.

Insgesamt bestätigen unsere tierexperimentellen Untersuchungen die von Hänze und Mitarbeitern (l. c.) beim Menschen erhobenen Befunde bezüglich der Ausscheidung von Erdalkalitionen nach Gabe von Triamteren. Hänze schreibt [5]: „Möglicherweise war zu diesem Zeitpunkt (gemeint ist nach 10 Stunden) noch gar nicht das Maximum der Ausscheidungshemmung erreicht“. Tatsächlich fanden wir, wie erwähnt, zumindest bei Ratten eine Hemmung der Magnesiumausscheidung bis zur 30. Stunde. Die Versuche zeigen somit, daß zur Beurteilung eines Effektes auf die Calcium- und Magnesiumausscheidung ein Beobachtungszeitraum von 5 Stunden, der häufig in der Diuretikaforchung gewählt wird, zumindest bei Triamteren-Derivaten nicht ausreichend ist.

Dies steht im Einklang mit Befunden von Fleckenstein und Mitarbeiter [2], die in Untersuchungen zur kardioprotektiven Wirkung von Triamteren feststellten, daß bei Ratten nach Gabe dieser Substanz Magnesium-Plasma-Spiegel über 12 Stunden erhöht bleiben. Sie führen diese Elektrolitwirkung von Triamteren auf seine renale Ausscheidungshemmung zurück.

Die langandauernde magnesiumsparende Wirkung durch Triamteren muß besonders hervorgehoben werden, da Diuretika vom Thiazid-Typ und auch Schleifendiuretika wie Furosemid sogar im besonderen Maße [1, 4, 5, 11] vermehrt Magnesium ausscheiden. Triamteren ist also nicht nur ein Kaliumsparer, sondern auch ein Magnesiumsparer. Es ist daher für die Kombinationstherapie mit Thiaziden oder Schleifendiuretika aus den genannten Gründen sehr gut geeignet.

Literatur

- [1] Abdelhamid, S., Seyberth, H., Hänze, S.: Untersuchungen zur Wirkung verschiedener Diuretika und Aldosteronant-

- agonisten auf die renale Magnesiumausscheidung. *Verh. Dtsch. Ges. inn. Med.* **75** (1969) 935.
- [2] *Fleckenstein, A., Janke, J., Frey, M., Hein, B.*: Zum Mechanismus der kardioprotektiven Wirkung von Triamteren an Rattenherzen-Myokardschutz durch Steigerung der extrazellulären K^+ - und Mg^{++} -Konzentration. *Arzneim.-Forsch./Drug. Res.* **27** (1977) 382—389.
- [3] *Grebian, B., Geissler, H. E., Knauf, H., Mutschler, E., Schnippenkoetter, I., Völger, K.-D., Wais, U.*: Zur Pharmakokinetik von Triamteren und seinen wirksamen Metaboliten bei eingeschränkter Nierenfunktion. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.* **28** (1978) 1420.
- [4] *Hänze, S.*: Untersuchungen zur Wirkung verschiedener Diuretika auf die renale Magnesium- und Calcium-Ausscheidung. *Klin. Wschr.* **38** (1960) 1168.
- [5] —, *Seyberth H.*: Untersuchungen zur Wirkung der Diuretika Furosemid, Etacrynsäure und Triamteren auf die renale Magnesium- und Calciumausscheidung. *Klin. Wschr.* **45** (1967) 313.
- [6] *Lehmann, K.*: Trennung, Isolierung und Identifizierung von Stoffwechselprodukten des Triamterens. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.* **15** (1965) 812.
- [7] *Leilich, G.*: Einfluß von Triamteren und Hydroxytriamteren-Schwefelsäureester auf Diurese und Salurese von Ratten nach oraler und intravenöser Applikation. Dissertation, Frankfurt/M. 1979.
- [8] —, *G., Knauf, H., Mutschler, E., Völger, K.-D.*: Ausscheidung von mono- und bivalenten Kationen im Rattenharn nach Applikation von Triamteren und seinem Phase-II-Metaboliten. *Magnesium-Bulletin* **1** (1980) 8.
- [9] *Meng, K., Loew, D.*: Diuretika. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974, 188—189.
- [10] *Sachs, H.*: Statistische Methoden. Springer Verlag, Berlin — Heidelberg — New York 1964.
- [11] *Sotornik, J., Schück, O.*: Influence of diuretics on renal excretion of magnesium. *Cas. Lek. ces.* **114** (1975) 16.
- [12] *Vollmer, G.*: Über die Synthese und pharmakologische Prüfung von sauren und neutralen Ethern des Hydroxytriamteren. Dissertation, Frankfurt/M. 1980 (in Vorbereitung).

(Anschrift der Verfasser über: Prof. Dr. Dr. med. E. Mutschler, Direktor des Pharmakologischen Instituts für Naturwissenschaftler, Johann Wolfgang Goethe-Universität, Sandhofstraße 75 A, 6000 Frankfurt/Main)

Die Nierenschädigung bei Magnesiummangel*)

Von *O. Leder, K. Paschen* und *T. Günther*

Anatomisches Institut der Universität Freiburg i. Br., Zentrallaboratorium und Blutbank des Städtischen Krankenhauses Kaiserslautern, Institut für Molekularbiologie und Biochemie der Freien Universität Berlin

Zusammenfassung

Die Ernährung von Ratten mit 220 ppm Mg enthaltendem Futter über 4 Wochen hatte eine Verlegung und schwere Schädigung von proximalen Tubuli im Außenstreifen der Außenzone des Nierenmarks und eine Nephrohydrose zur Folge. Der Magnesiummangel führte nicht zu Myokardnekrosen und verstärkte auch nicht eine Isoproterenol-bedingte Zerstörung von Myokardfasern.

Summary

Rats fed a diet with 220 ppm Mg for 4 weeks showed an obstruction of proximal kidney tubules within the outer strip of the outer zone of the medulla, a severe degeneration of their epithelium and a nephrohydrose. The deprivation of Magnesium produced no myocardial necroses and did not augment isoproterenolinduced myocardial fibres damage.

Résumé

La nutrition des rats avec une diète contenant 220 ppm Mg mena à une obstruction des parties rectilignes des tubules proximales dans la zone médullaire, une dégénération sévère des cellules épithéliales et une nephrohydrose. Le dénuement du Magnésium ne provoqua point des nécroses du myocardi et n'aggrava pas la lésion des fibres myocardiales provoqué par isoprénaline.

* * *

Seit langem sind Nierenveränderungen bei einem experimentellen Magnesiummangel bekannt

[15, 18, 20]. Geschädigt werden vor allem der Außenstreifen der Außenzone des Nierenmarks [3, 5, 8, 9, 13, 14, 16, 17] oder der Innenstreifen und die Nierenrinde bzw. dicke, aufsteigende Teile der Henle-Schleife, gewundene distale Tubuli und Sammelrohre [8, 12, 13, 22, 23]. In Anbetracht dieser unterschiedlichen Angaben der Literatur sollen eigene Beobachtungen über Nierenschäden nach chronischem Magnesiummangel mitgeteilt werden. Dies ist um so mehr angebracht, als die festgestellten Veränderungen sehr ausgeprägt sind und solche Schäden bei Untersuchungen über die Folgen eines Magnesiummangels am Myokard unter Umständen von Bedeutung sind.

Methode

Männliche Siv-50-Ratten mit einem Gewicht von 80—100 g wurden 2 Tage vor Versuchsbeginn zufällig auf 4 Gruppen mit je 6 Tieren verteilt. Die Ratten einer Gruppe wurden zu dritt in Plastikwannen mit 13 l Rauminhalt in unserem Tierstall bei einer Temperatur von 23 bis 24° C versorgt. Der Raum wurde zwischen 7.00 und 19.00 MEZ künstlich beleuchtet. Die Ratten der Gruppe I und II wurden mit dem magnesiumarmen Futter Altromin C 1035, das mit Mg^{++} auf 220 ppm angereichert war, ernährt. Die Diät enthielt nach Angaben der Fa. Altrogge-Spezialfut-

*) Herrn Professor Dr. Jochen Staubesand zum 60. Geburtstag gewidmet.