

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Bern
(Direktor: Prof. Dr. W. WILBRANDT).

Die Rattenschwanzsehne als Testobjekt für adstringierende Wirkung*.

Von

W. WILBRANDT, H. RYSER und P. N. WITT.

Mit 9 Textabbildungen.

(Eingegangen am 31. Januar 1952.)

Die Adstringentien gehören chemisch sehr verschiedenen Gruppen an. Neben den organischen Gerbmitteln wie Tannin und anderen Gerbsäuren rechnet man zu ihnen den Formaldehyd, ferner Schwermetallsalze, Aluminiumsalze und Calcium.

Gemeinsam ist allen diesen Verbindungen bis zu einem gewissen Grade eine Wirkung, nämlich die Fällung löslichen Eiweißes. Auf diesen Zusammenhang ist vielfach hingewiesen worden. Die Wirkung auf das gelöste Eiweiß ist auch direkt zur Deutung der adstringierenden Wirkung in der Weise herangezogen worden, daß die Bildung einer Schutzschicht ausgefällten Eiweißes supponiert wurde, die die Zellen gegen äußere Reize abschirmen sollen^{11,14}. Auf die Unzulänglichkeit dieser Deutung hat HEUBNER schon 1924⁶ aufmerksam gemacht.

Eine andere Möglichkeit, die gemeinsame Eiweißwirkung zur Deutung zu verwenden, liegt in der Wirkung auf Gerüsteiweißkörper. In diesem Fall kann die Wirkung allerdings nicht in einer Ausfällung bestehen, sondern wäre in Vorgängen zu suchen, die eiweißchemisch der ausfällenden Wirkung am löslichen Eiweiß entsprechen müßte.

Ein Beispiel solcher Wirkungen an Gerüsteiweiß wurde in der Beeinflussung der Zellmembran gefunden, für die die Untersuchungen von WYSS¹⁹, sowie von HEIMANN²⁰ und von GERBER⁴ Belege erbracht haben (siehe auch ^{16, 17}). Der Formaldehyd löst an diesen Zellen eine Wirkung aus, die mit größter Wahrscheinlichkeit als Membranwirkung gedeutet werden darf und die zu einer starken Verzögerung von Penetrationsprozessen führt, also offenbar mit einer Herabsetzung der Membrandurchlässigkeit verbunden ist. Auch für Tannin konnte eine ähnliche, wenn auch schwächere Wirkung nachgewiesen werden. Möglicherweise besteht sie auch bei Schwermetall, wo sie jedoch noch genauer analysiert werden muß.

* Herrn Prof. Dr. W. HEUBNER zum 75. Geburtstag gewidmet.

Ein anderes Objekt, an dem Gerüsteiweißwirkungen als Modell der Adstriktion benützt werden können, ist die Rattenschwanzsehne^{3, 8, 14}. Die ersten Untersuchungen, die an diesem Objekt durchgeführt worden sind, sind diejenigen von FRIEDBERG. Er benützte vor allem die Dehnbarkeit der Sehne als Kriterium der Wirkungen.

In einer späteren Arbeit von KOMIYAMA⁸, ebenfalls aus dem STRAUBschen Institut, wurde dann ein anderes Phänomen als Modell der adstringierenden Wirkung benützt, nämlich die Verkürzung der Sehne in Lösungen von Adstringentien. Da die Wirkung der Adstringentien von jeher mit der Vorstellung einer „Zusammenziehung“ in Verbindung gebracht worden ist (worauf schon der Name Adstriktion hinweist, ferner die immer wieder gemachte Angabe, der Geschmack der Adstringentien sei „zusammenziehend“), schien die Beobachtung von KOMIYAMA ein besonders anschauliches Bild der adstringierenden Wirkung zu geben. Die Adstriktion im Sinne der zusammenziehenden Wirkung schien hier unmittelbar augenfällig gemacht.

Trotzdem dürfte die Deutung KOMIYAMAS eine Fehldeutung gewesen sein. Es fiel schon frühzeitig auf, daß die von KOMIYAMA beschriebene Kontraktion der Sehne nicht durch alle Adstringentien bewirkt werden. Tanninlösungen rufen sie so gut wie gar nicht hervor, auch Formaldehydlösungen nur unter Bedingungen, die von denjenigen der therapeutischen Verwendung weit entfernt sind.

Der KOMIYAMASche Effekt ist als Modell der adstringierenden Wirkung jedoch nicht nur deshalb unzulänglich, weil er gewisse Adstringentien nicht erfaßt, sondern er ist direkt falsch in dem Sinne, daß er eine Eiweißwirkung zeigt, die der adstringierenden Wirkung eiweißchemisch entgegengesetzt ist. Dies zu zeigen ist neben anderem Zweck der vorliegenden Arbeit.

Die Untersuchungen gingen aus von der Beobachtung, daß neben den Adstringentien eine zweite Gruppe eiweißchemisch charakterisierter Verbindungen eine typische Wirkung auslösen, nämlich die Eiweißdenaturantien. Man erhält mit ihnen ähnliche Spannungsentwicklungen wie mit gewissen Adstringentien, etwa Aluminiumacetat¹⁵. Für eine eingehendere Analyse dieser Wirkungen schien es empfehlenswert, nicht nur eine einzelne Spannungsmessung als Kriterium zu benützen, sondern das Verhalten der Sehne in einem weiteren Bereich zu prüfen, mit anderen Worten ganze Längenspannungsdiagramme aufzunehmen¹³. Das Resultat dieser Untersuchungen ergab nicht nur ein einheitlicheres, lückenloseres Bild der adstringierenden Wirkungen, sondern auch eine experimentell sowohl als theoretisch gut gestützte Abgrenzung gegenüber den denaturierenden Wirkungen. Die beiden Wirkungstypen erweisen sich als im Grundmechanismus entgegengesetzt, indem die denaturierende

Wirkung auf Lösung, die adstringierende offenbar auf Neubildung seitlicher Verknüpfungen der Eiweißketten beruht. Der KOMIYAMAsche Verkürzungseffekt gehört offenbar zur Gruppe der denaturierenden Wirkungen.

Methodik.

Methodisch wurden zwei Anordnungen benützt. Die eine (Methode I) bestimmt die Länge der Sehne als Funktion der Spannung, die andere (Methode II) die Spannung als Funktion der Länge. Die Methode II ist

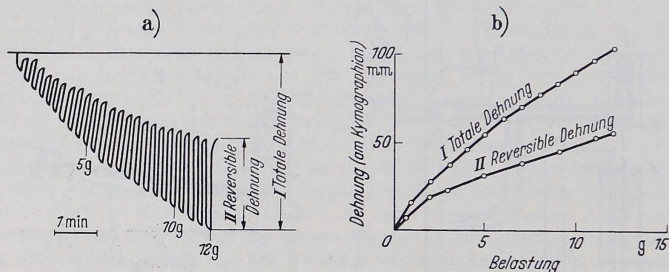


Abb. 1. a) Dehnungskurve eines Sehnenfadens. Verlängerung des Fadens nach unten gezeichnet. Durchgepauste Originalrußkurve. — b) Auswertung der Kurve a. Hebelübersetzung 1:47 (47 mm Dehnung am Kymographion = 1 mm Dehnung der Sehne).

die bequemere und präzisere. Sie kann auch benützt werden zur Messung bzw. Registrierung von Spannungen, die durch chemische Einwirkungen ausgelöst werden (KOMIYAMAscher Effekt).

Die Methode I ist die von KOMIYAMA benützte, bei der die Sehne zwischen einem Fixpunkt und einem Muskelschreiber eingespannt und ihre Verkürzung direkt am Kymographion registriert wird. Längenspannungsdiagramme können mit dieser Anordnung leicht aufgenommen werden, indem der Schreibhebel auf der der Sehne entgegengesetzten Seite des Drehpunkts belastet und die Verkürzungen aufgezeichnet werden.

Eine Dehnungskurve, die auf diese Weise gewonnen wurde, zeigt Abb. 1a. Die Sehne wurde in gleichen Zeitabständen mit steigenden Gewichten (in Stufen von 0,5 g) belastet und wieder entlastet. Die Kurve zeigt, daß die Verlängerung der Sehne zwei Anteile enthält, einen reversiblen und einen irreversiblen bzw. schlecht reversiblen (Dehnungsrückstand). Ein Längenspannungsdiagramm läßt sich demnach auf zwei verschiedene Arten erhalten (Abb. 1b): durch Auftragen des reversiblen Teils der Dehnung (Kurve I) oder der gesamten Verlängerung (Kurve II) gegen die Belastung.

Als die aufschlußreichere Komponente wurde die reversible Dehnbarkeit betrachtet. Sie ist die im Folgenden als „Dehnbarkeit“ bezeichnete Größe, beispielsweise in den Messungen der Abb. 8.

Die zweite Methode, die sich im ganzen besser bewährt hat und bei den späteren Versuchen ausschließlich benützt worden ist, ist in Abb. 2 dargestellt. Sie benützt ein früher beschriebenes¹⁸ pneumatisches Übertragungsprinzip. Die Sehne ist auch hier zwischen zwei Punkten *A* und *B*

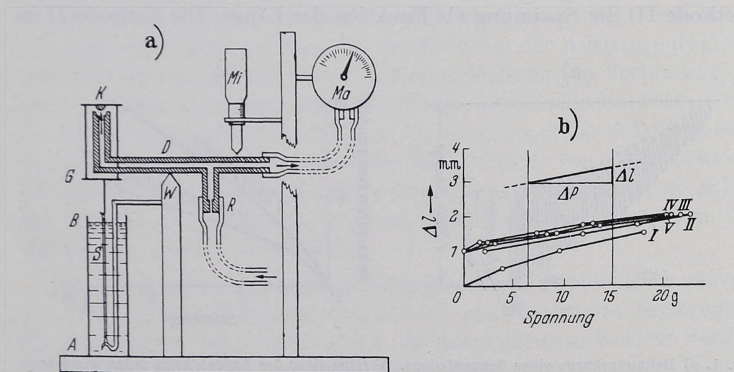


Abb. 2. a) Schema der Anordnung Methode II. *S* = Sehne, *A* und *B* = Einspannpunkte der Sehne, *G* = Gehänge, *K* = Kugel, *D* = Düsenrohr, *W* = Drehpunkt, *R* = Widerstand, *Mi* = Mikrometerschraube, *Ma* = Manometer; näheres im Text. — b) Dehnungskurven, die mit der Anordnung *A* gewonnen wurden. Ordinate: Verlängerung der Sehne (Ablesung an der Mikrometerschraube). Abszisse: Spannung in Gramm (aus den Ablesungen an *Ma* und der zugehörigen Eichkurve gewonnen).

eingespannt, die bei der Aufnahme von Dehnungskurven gegeneinander verschoben werden (s. unten), bei der Registrierung des KOMIYAMAschen Effektes dagegen nahezu unveränderlichen Abstand haben. Es wird also die entwickelte Spannung beim KOMIYAMAschen Effekt weitgehend isometrisch gemessen. (Über den Grad der Annäherung an isometrische Bedingungen siehe unten.)

Das Prinzip der Spannungsmessung ist folgendes. Aus einem Druckreservoir strömt durch den Widerstand *R* in das Düsenrohr *D* ein (mit Pfeilen angedeuteter) Luftstrom, der an der Kugel *K* entweichen kann. Die Kugel *K* ist in die Ausgangsöffnung der Düse eingeschliffen und mit einem starren Gehänge *G* verbunden, das den Aufhängungspunkt *B* der Sehne trägt. Entwickelt die Sehne Spannung, so wird die Kugel *K* gegen die Düse gepreßt und die Luft zurückgestaut. Der entstehende Staudruck *P* kann am Manometer *Ma* abgelesen oder mit einer Registrierkapsel registriert werden. Eichungen der Anordnung durch Anhängen von Gewichten an *G* haben gezeigt, daß in einem genügend großen Bereich der Druck *P* der Spannung *t* proportional ist.

Zur Dehnung der Sehnenfäden dient die Mikrometerschraube *Mi*, mit der das Düsenrohr *D* um den Auflagepunkt *W* gedreht werden kann. Die Abstände

der Mikrometerschraubenspitze und der Zuglinie der Sehne vom Drehpunkt sind gleich, so daß die an *Mi* abgelesene Zahl unmittelbar die Dehnung der Sehne in mm angibt.

Mit Hilfe der Dehnovorrichtung wurde auch geprüft, inwieweit Isometrie der Messung erreicht werden kann. Die Sehne kann sich bei Spannungsentwicklung noch um den Betrag verkürzen, um den der Spalt zwischen Kugel und Düse verengt wird. Er kann folgendermaßen bestimmt werden.

Ersetzt man die Sehne durch einen starren Metallstab und betätigt die Mikrometerschraube, so verengt man den Spalt um die an *Mi* abgelesene Millimeterzahl *m* und erzeugt so meßbare Staudrucke *P*. Entnimmt man die zugehörigen Spannungswerte *t* aus der Spannungseichkurve (*P* gegen *t*, siehe oben), so erhält man durch Auftragen von *m* gegen *t* die Verkürzung pro Spannungseinheit.

Es ergab sich eine Verkürzung von etwa 0,002 mm/g Spannung. Mit dieser Größe wären an sich auch die gemessenen Dehnungen bei Aufnahme der Längenspannungsdiagramme zu korrigieren. Die Korrektur beträgt etwa 6% der gemessenen Dehnung. Da keine Absolutmessungen bezweckt waren, sondern nur Änderungen der Dehnbarkeit interessierten, bei denen die Korrekturen weitgehend herausfallen würden, wurde auf ihre Anwendung verzichtet*.

Längenspannungsdiagramme, die an einem normalen Sehnenfaden mit der Methode II gemessen wurden, zeigt Abb. 2b. Der Faden wurde mehrmals gedehnt. Die erste erhaltene Kurve ist die steilste, die späteren sind flacher. Auch hier erweist sich so die Dehnbarkeit als zusammengesetzt aus einem reversiblen und einem irreversiblen Anteil. Um den letzteren auszuschalten, wurden alle Sehnenfäden mehrmals gedehnt und erst die 3. oder 4. Kurve wurde verwertet.

Als Maß der Dehnbarkeit wurde die Neigung der Kurve, $\Delta l / \Delta t$ (*l* = Länge, *t* = Spannung) gewählt. Sie wurde in dem mit bester Annäherung linearen Kurvensteil (zwischen 6,5 und 15 g Spannung) bestimmt und betrug im Mittel etwa 0,38 mm/8,5 g Spannung. Diese Größe ist in den folgenden Darstellungen der Bezugswert (1,0) der „relativen Dehnbarkeit“.

Eine Berechnung in absoluten Einheiten muß die Länge *l* und den Querschnitt *q* der Sehnenfäden berücksichtigen. Die Länge der verwendeten Fäden war einheitlich 70 mm, der Querschnitt wurde in der Regel nicht ausgemessen, es wurden jedoch nur Sehnenfäden eines mittleren Querschnitts benützt, für den als Näherungswert 0,1 mm² eingesetzt werden kann. Mit diesen Zahlen ergibt sich für die Dehnungszahl (= Elastizitätskoeffizient):

$$\alpha = \frac{\Delta l \cdot q}{1 \cdot \Delta t}$$

der Wert $\frac{0,38 \cdot 0,1}{70 \cdot 0,0085} = 0,0655 \text{ mm}^2/\text{kg}$ bzw. für den Elastizitätsmodul $\left(E = \frac{1}{\alpha}\right)$
 der Wert 15,66 kg/mm²**.

Die Sehnenfäden wurden frischgetöteten Ratten entnommen und in isotonischer Kochsalzlösung im Kühlschrank aufbewahrt. Das Vorgehen bei der Entnahme wurde von FRIEDBERG ausführlich beschrieben. Die Fäden wurden meist am gleichen Tag, niemals später als am 2. Tag benützt.

* *Anmerkung bei der Korrektur:* Neuere Versuche scheinen zu zeigen, daß die Längenänderungen der Sehnenfäden doch größer waren als diese Korrektur (Verbiegbarkeit und Dehnung der zur Verbindung von Sehne und Gehänge benützten Glashaken und Zwirnfäden). Näheres in der demnächst erscheinenden Dissertation RYSER (Bern 1952).

** Dieser Wert ist erheblich kleiner als diejenigen von FRIEDBERG (150—200), vermutlich weil FRIEDBERG viel höhere Spannungen verwendete.

Alle Lösungen waren, wenn nicht ausdrücklich anders vermerkt, mit isotonischer Kochsalzlösung hergestellt bzw. verdünnt. Das entspricht zwar insofern nicht dem therapeutischen Vorgehen, als die praktisch therapeutisch verwendeten Lösungen im allgemeinen mit Leitungswasser verdünnt werden. An den lebenden Zellen, vor allem auf Schleimhäuten, werden aber doch durch die Anwesenheit von Drüsensekreten und Gewebssäften die Bedingungen sich den unseren mehr

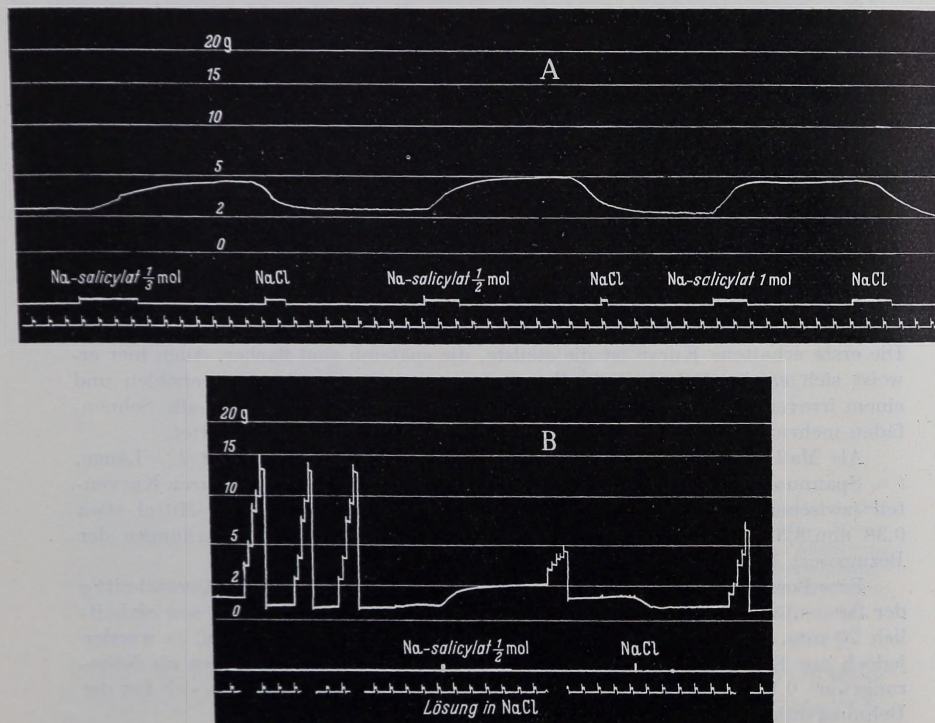


Abb. 3. A Spannungsentwicklung eines Sehnenfadens in verschiedenen konzentrierten Lösungen von Natriumsalicylat. — B Dehnungskurven vor, während und nach der Einwirkung von $\frac{1}{2}$ mol. Natriumsalicylat auf einen Sehnenfaden. Während der Einwirkung des Natriumsalicylats ist eine spontane Spannung von 1 g entwickelt worden und die in diesem Zustand registrierte Dehnungskurve zeigt beträchtlich erhöhte Dehnbarkeit (geringere Spannungsentwicklung bei Dehnung). Die Spannungsentwicklung geht nach Auswaschen der Salicylatlösung vollständig zurück, die Dehnbarkeitsänderung teilweise. — Zeitsignal: 7,5 sec.

annähern als denjenigen in elektrolytfreiem Wasser, so daß sie uns zweckmäßiger erschienen.

Um die Dehnbarkeit unter verschiedenen Einwirkungen zu vergleichen, wurden teils Messungen an verschiedenen Sehnen durchgeführt, mit und ohne Anwesenheit des zu prüfenden Agens, teils Messungen an der gleichen Sehne, vor und nach der Einwirkung. Das zweite Vorgehen ist zweckmäßiger. Beim ersten erhält man, vermutlich wegen der Streuung der Fadendicke, stärker streuende Resultate, die statistisch beurteilt werden müssen und größere Versuchszahlen erforderlich machen. Die in den Abb. 4, 5 und 6 wiedergegebenen Versuche sind mit dem *t*-Test von STUDENT⁹ geprüft. Die Resultate sind statistisch gesichert.

I. Die Wirkung eiweißdenaturierender Agentien.

Über die spannungserzeugende Wirkung von Eiweißdenaturantien an Sehnenfäden wurde schon in einer kurzen Mitteilung von WEBER und ROWEDDER¹⁵ berichtet. Eine ausführlichere Veröffentlichung darüber erfolgt demnächst an anderer Stelle.

Abb. 3 A zeigt Registrierungen solcher Wirkungen, die mit Natriumsalizylat gewonnen wurden. Die Lösungen erzeugten Spannungen von einigen Gramm, die nach Auswaschen mit Kochsalzlösung rasch wieder zurückgingen. Bei Steigerung der Konzentration erreichte die entwickelte Spannung bald ein Maximum. Höhere Konzentrationen bewirken in diesen Versuchen nur noch eine Beschleunigung der Spannungsentwicklung. Bei den höchsten Konzentrationen nimmt die Spannung wieder ab, schließlich kann die Sehne bei Dehnung reißen.

Andere Denaturantien, die mit ähnlichen Resultaten geprüft wurden, sind Guanidin, Rhodanid und Iodid.

Man erhält also mit diesen eiweißdenaturierenden Agentien gleiche Wirkung wie KOMIYAMA sie beschrieben hat, obwohl sie keine Adstringentien sind.

Prüft man die Dehnbarkeit eines Sehnenfadens unter diesen Bedingungen, so erweist sie sich als erhöht. Der Elastizitätskoeffizient kann auf ein Vielfaches des Normalwertes steigen. Abb. 4 zeigt Messungen für Harnstoff und Salicylat.

Abb. 3 B zeigt eine Registrierung der Spannungsentwicklung und der erhöhten Dehnbarkeit unter Salicylat an der gleichen Sehne. Nach Aufnahme von zwei Dehnungen wird die Kochsalzlösung durch Natriumsalizylatlösung ersetzt. Die Sehne entwickelt nun ohne Dehnung eine Spannung von 1—2 g. Die darauf folgende neuerliche Dehnung dagegen erzeugt fast keine Spannung mehr, der Elastizitätskoeffizient ist stark angestiegen. Die Spannungsentwicklung geht in Kochsalzlösung sofort ganz zurück, die Änderung der Dehnbarkeit teilweise bzw. langsamer.

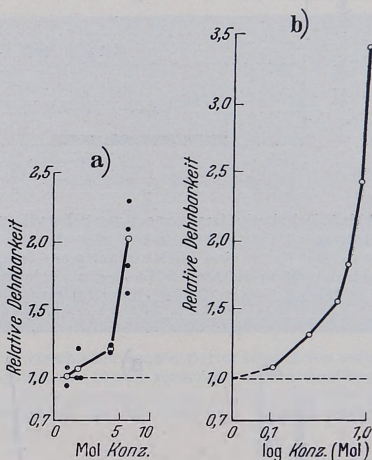


Abb. 4. Dehnungskurven von Sehnenfäden in a) Harnstoff- und b) Salicylatlösungen. — Ordinate: Relative Dehnbarkeit (siehe Text). — Abszisse: Konzentration der Lösungen in logarithmischem Maßstab. In Abb. 4 a) geben die Kreise die Mittelwerte aus den Einzelmessungen (Punkte) an. — Einwirkungszeit 5 min.

II. Die Wirkung von Gerbstoffen.

Tannin bewirkt keine Spannungsentwicklung. Dagegen wird die Dehnbarkeit durch Tannin herabgesetzt. Abb. 5 zeigt Messungen in verschiedenen Konzentrationen. Die Wirkung ist in einem beträchtlichen Bereich unabhängig von der Konzentration. Mazerat aus Eichenrinde zeigt sie in gleicher Weise (Abb. 5b).

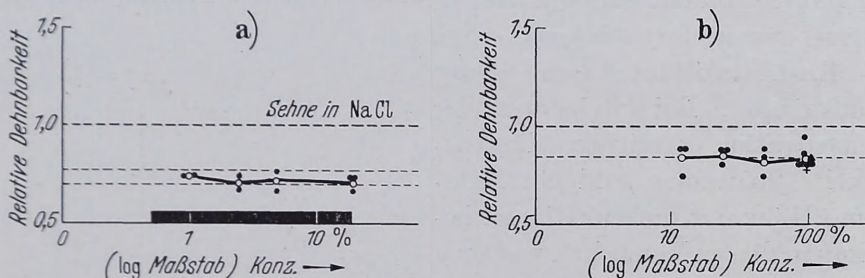


Abb. 5. Dehnbarkeitsmessungen von Sehnenfäden in a) Tanninlösungen und b) Eichenrinde-Macerat. — Ordinate: Relative Dehnbarkeit (siehe Text). — Abszisse: Konzentration in logarithmischem Maßstab. Die Kreise sind die Mittelwerte aus den Einzelmessungen (Punkte). Die gestrichelten Linien geben die Meßresultate bei Messungen an ein und derselben Sehne vor und nach der Einwirkung an.

Das schraffierte Gebiet entspricht etwa den therapeutisch gebräuchlichen Verdünnungen. Einwirkungszeit 5 min.

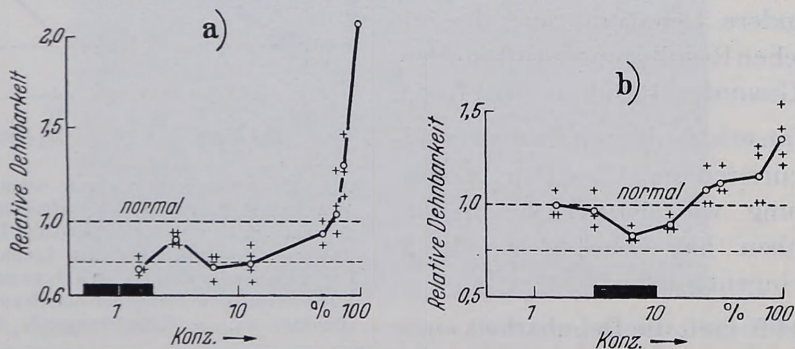


Abb. 6. Dehnbarkeitsmessungen von Sehnenfäden in Lösungen von a) essigsaurer Tonerde und b) Bleiwasser. — Ordinate: Relative Dehnbarkeit (siehe Text). — Abszisse: Konzentration in logarithmischem Maßstab. (100 % = schweizerische offizinelle Lösung unverdünnt.) Schraffiert sind die therapeutisch etwa gebräuchlichen Verdünnungen angegeben. Kreise: Mittelwerte aus den Einzelmessungen (Kreuze). Gestrichelte Linie: Resultat von Messungen an ein und derselben Sehne (vgl. Abschnitt Methodik). Einwirkungszeit 5 min.

III. Die Wirkung metallischer Adstringentien.

Die Wirkung von Metallsalzlösungen ist komplex. Abb. 6 zeigt Dehnbarkeitsmessungen in verschiedenen Konzentrationen von essigsaurer Tonerde und Bleiwasser. In einem Konzentrationsbereich, der etwa den therapeutisch gebräuchlichen Verdünnungen entspricht, ist die Dehnbarkeit nach 5 min Einwirkung herabgesetzt wie bei Tannin. In höheren Konzentrationen ist sie stark gesteigert wie bei Denaturantien.

Hier bestehen offenbar zwei Wirkungen, die sich möglicherweise überlagern: eine gerbende und eine lockernde. Sie können (in Anlehnung an analoge gebräuchliche Bezeichnungen) nach den Agentien, die sie in reiner Form erzeugen, als „tanninartige“ und als „harnstoffartige“ Wirkung bezeichnet werden.

Abb. 7 zeigt die Prüfung auf Spannungsentwicklung in verschiedenen konzentrierten Lösungen von essigsaurer Tonerde. In unverdünnter Lösung tritt beträchtliche Spannung auf, in 1/10 Verdünnung ist sie schon

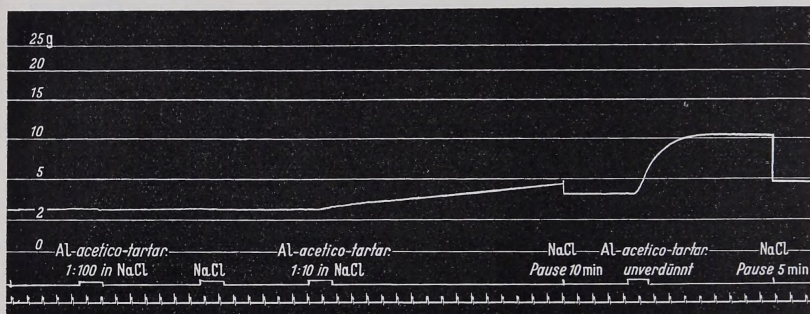


Abb. 7. Spannungsentwicklung eines Sehnenfadens in verschieden konzentrierter Lösung von essigsaurer Tonerde. Die unverdünnte Lösung erzeugt starke, die 10fach verdünnte noch geringfügige Spannung, die 100fach verdünnte ist wirkungslos. Beim Auswaschen mit Natriumchloridlösung wurde die Registrierung unterbrochen, weil der Rückgang der Spannung sehr langsam erfolgt. Zeitsignal: 7,5 sec.

fast verschwunden, in 1/100 ganz. Sie ist also vor allem dann stark, wenn die Dehnbarkeit erhöht ist, im Gegensatz zu der KOMIYAMAschen Angabe (aber in Übereinstimmung mit seinen Messungen, siehe unten).

Daß Metalle an Kollagenfasern in verschiedenen Richtungen wirken können, ist aus anderen Beobachtungen bekannt und bei der hohen Reaktionsfähigkeit der Metalle nicht überraschend. Calciumsalze senken beispielsweise die Schrumpfungstemperatur (siehe unten) und erhöhen die Dehnbarkeit³ wie es Eiweißdenaturantien tun, Chromsalze erhöhen sie¹³.

Nach unseren bisherigen Beobachtungen wird das gegenseitige Verhältnis der beiden Wirkungen bei Metalladstringentien nicht nur durch die Konzentration bestimmt, sondern noch durch andere Faktoren, wie die Anwesenheit oder Abwesenheit anderer Elektrolyte, die Einwirkungszeit und vermutlich weitere. Eine Analyse dieser Faktoren und ihres Einflusses würde beträchtlich mehr Beobachtungsmaterial erfordern als bisher vorliegt. Für den Augenblick möchten wir uns auf die Feststellung beschränken, daß unter unseren Versuchsbedingungen, die wir der therapeutischen Situation anzupassen bestrebt waren (5 min Einwirkungszeit,

isotonische Kochsalzlösung als Lösungsmittel), die untersuchten metallischen Adstringentien in therapeutischen Verdünnungen tanninartig wirken, in höheren Konzentrationen harnstoffartig.

Abb. 8 zeigt eine Zusammenstellung von Dehnungskurven nach der Methode I, Abb. 9 Meßresultate nach der Methode II. Neben den bisher genannten Agentien ist hier noch Formaldehyd aufgenommen, der ähnlich wie die Metalle bei mäßigen Konzentrationen tanninartige, bei sehr hohen harnstoffartige Wirkung zeigt.

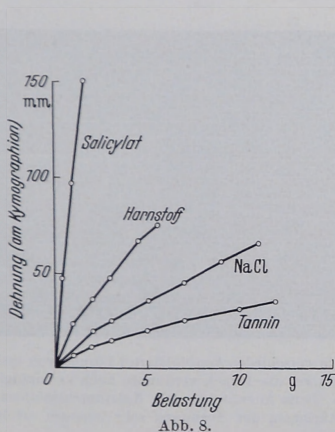


Abb. 8.

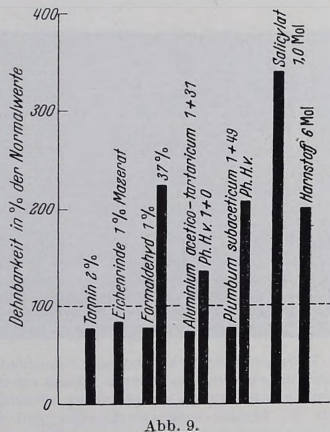


Abb. 9.

Abb. 8. Dehnungskurven nach Methode I in verschiedenen Lösungen. Konzentrationen: Natrium-Salicylat 1,0 mol. Harnstoff 6 mol. NaCl isotonisch (0,95%), Tannin 5%. Einwirkungszeit 5 min.

Abb. 9. Zusammenfassung der Resultate mit Methode II. — Ordinate: Relative Dehnbarkeit in Prozent des normalen Werts. Einwirkungszeit 5 min.

Es ergibt sich so als gemeinsame Wirkung aller geprüften Adstringentien die Herabsetzung der Dehnbarkeit in Verdünnungen, die etwa den therapeutisch gebräuchlichen entsprechen, daneben eine dehnbarkeitssteigernde Wirkung der Denaturantien sowie einiger Adstringentien in hohen bis höchsten Konzentrationen. Spannungsentwicklung an der ungedehnten Sehne ergibt sich im allgemeinen dann, wenn die Dehnbarkeit erhöht ist.

IV. Die Grundwirkungen am Eiweißmolekül und ihre pharmakologische Bedeutung.

Kollagen ist ein Fadeneiweiß, d. h. die Moleküle sind langgestreckte Polypeptidketten, die in der Richtung der Faser parallel zueinander liegen. Die Faser erhält ihre Festigkeit durch seitliche brückenartige Verbindungen zwischen den Kettenmolekülen. Im Kollagen bestehen sie vorwiegend aus Wasserstoffbrücken, z. B. zwischen $-\text{NH}$ und $-\text{CO}$ -Gruppen, sowie aus salzartigen Bindungen zwischen $-\text{COO}^-$ und

— NH_3^+ -Gruppen an Seitenketten von Diamino- und Dicarboxyl-Aminosäuren. Daneben können auch andersartige Brücken vorkommen. Im Keratin z. B. sind —S-S-Brücken von großer Bedeutung, die den Hauptangriffspunkt keratolytischer Wirkungen (z. B. durch SH-Gruppen) bilden. Eine Zusammenstellung der möglichen Brückenarten findet sich bei LUNDGREN¹⁰.

Wird eine Faser gedehnt, so können entweder Kettenmoleküle aneinander gleiten („Fließen“ der Sehne) oder die Hauptvalenzketten selbst gestreckt werden. Letzteres geschieht gegen elastische Kräfte, die in der gegenseitigen Anziehung gewisser Gruppen begründet sind, und führt daher zu Spannungsentwicklung. Je starrer das System durch Brückenbindungen gefügt ist, desto größer wird die entwickelte Gegenspannung sein, d. h. desto kleiner die Dehnungszahl (Elastizitätskoeffizient) und desto größer der Elastizitätsmodul. „Vernetzung“ durch Seitenbrücken ist demnach ein möglicher Mechanismus der tanninartigen Wirkung. Tatsächlich wird der Mechanismus der Ledergerbung auf solche Vernetzungsvorgänge bezogen (eine ausführliche Darstellung findet sich bei GUSTAVSON⁵), die zum Teil gut bekannt sind (z. B. beim Formaldehyd, Literatur dazu siehe bei FRENCH und EDSALL²). Auf die Parallele zwischen Ledergerbung und Adstriktion ist wiederholt, so z. B. bei HEUBNER und SCHREIBER 1937⁷, hingewiesen worden.

Die Wirkung der Denaturantien am löslichen Globulareiweißmolekül wird heute in der Lösung von Brückenbindungen gesehen, z. B. mit Angriff an Wasserstoffbrücken durch Moleküle, die selbst Wasserstoffbindungen eingehen (Harnstoff, Salicylat u. a.) oder durch Entladung der ionisierten Gruppen der Salzbindungen (Säure, Alkali). Am löslichen Eiweiß ist die Folge eine Entfaltung der Polypeptidkette, die sich in erhöhter Viskosität, erhöhter Reaktionsfähigkeit gewisser Gruppen (z. B. SH) verminderter Löslichkeit u. a. äußert. (Eine ausführlichere Diskussion findet sich bei ANSON.)

Am unlöslichen Fadenmolekül wird die gleiche Wirkung sich zunächst in erhöhter Dehnbarkeit äußern müssen, wie sie tatsächlich beobachtet wird. Wird die Zahl der geöffneten Brücken sehr groß, so „zerfließt“ die Sehne bei Dehnung, die Moleküle gleiten aneinander vorbei, ohne daß noch die Möglichkeit zur Bildung elastischer Gegenkräfte bestehen würde.

Wird die Sehne nicht gedehnt, so äußert sich die Lösung der Brücken unter der Wirkung von Denaturantien in freierer thermischer Beweglichkeit der Ketten in der Querrichtung zur Faser. Die Folge davon muß eine Erhöhung der Spannung sein, in Übereinstimmung mit der Beobachtung. Für den Fall der Hitzedenaturierung ist diese Anschauung schon 1937 von MEYER und FERRI¹² thermodynamisch begründet und experimentell belegt worden. Die Verkürzung der freien Sehne bei der Hitzedenaturierung (die der Spannungszunahme der isometrisch fixierten

Sehne entspricht) ist seit langem bekannt und das schmale Temperaturgebiet der Hitzedenaturierung spielt als „Schrumpfungstemperatur“ in der Gerbereichemie die Rolle eines wichtigen Tests. Sie ist eine Funktion der Zahl der Seitenbrücken, bei Vernetzung steigt sie an, bei Entnetzung („Denaturierung“) sinkt sie. Die so molekularkinetisch erzeugte Spannung zeichnet sich durch einen (thermodynamisch begründeten) positiven Temperaturkoeffizienten aus, wie er für die Spannung von Kautschuk bekannt ist. Das Verhalten wird daher auch als „Kautschukelastizität“ bezeichnet.

Erweisen sich so die Spannungserzeugung durch Denaturantien und die Dehnbarkeitsverminderung durch Gerbstoffe als im Wesen antagonistisch, so ergibt sich in der Tat die Folgerung, daß die KOMIYAMASche Beobachtung nicht als Modell der adstringierenden Wirkung betrachtet werden darf, sondern einen gegensinnigen Effekt darstellt.

Es geht auch aus allen von KOMIYAMA wiedergegebenen Kurven hervor, daß in seinen Versuchen die Dehnbarkeit der Sehne stark erhöht war, wenn eine Verkürzung durch Adstringentien ausgelöst worden war. In der KOMIYAMASchen Diskussion wird das dadurch verschleiert, daß er von „Verringerung der absoluten, Erhöhung der relativen Dehnbarkeit“ spricht. Gemeint ist mit dieser unverständlichen und irreführenden Bezeichnung vermutlich die Tatsache, daß die etwa durch Aluminiumacetat verkürzte Sehne sich bei Belastung mit 8 g zwar stärker dehnt als die unbehandelte (etwa um einen fünffach höheren Betrag!), aber doch noch nicht die Länge des unbehandelten Fadens erreicht. Das ist jedoch offenbar nur eine Frage der angesetzten Belastung. Verstärkt wird die Irreführung dadurch, daß in der Zusammenfassung der Veröffentlichung überhaupt nur noch die Rede ist von „Verminderung der Dehnbarkeit“.

Für die Gruppe der konzentrationsabhängig wirkenden Agentien, d. h. für die Metalle, aber auch für den Formaldehyd ist demnach anzunehmen, daß sie sowohl vernetzen, also neue Brücken bilden, als auch bestehende lösen können.

Es ist nicht wahrscheinlich, daß beides an den gleichen Punkten der Kette geschieht. Im Fall des Formaldehyds findet die Vernetzung in erster Linie zwischen NH_2 -Gruppen statt (ausführliche Diskussion bei FRENCH und EDSALL²). Die harnstoffartige Wirkung (Dehnbarkeitszunahme) in hohen Konzentrationen dagegen wird auf die Fähigkeit des Moleküls zurückzuführen sein, Wasserstoffbindungen einzugehen. In den Versuchen von MEYER und FERRI wurde, um den positiven Temperaturkoeffizienten der Spannung an der hitzedenaturierten Sehne zu zeigen, mit verdünnten Lösungen von Formaldehyd vorbehandelt. Dadurch wurden offenbar an Stellen, an denen die Denaturierung nicht angreift, Brücken geschaffen, die dann nach der Denaturierung das „Gleiten“ verhinderten.

Die Eigenschaft metallischer Adstringentien, in hohen Konzentrationen harnstoffartig zu wirken, wird auf die Fähigkeit der Metalle zu beziehen sein, mit verschiedenen Gruppen Bindungen einzugehen. Eine Sprengung von Brücken ist auf diese Weise sowohl an der Stelle der Wasserstoffbindungen als an der Stelle der salzartigen Bindungen denkbar.

Die Beobachtungen am Fasereiweiß des Kollagens haben auffallende Parallelen an der Zellmembran, die auf ähnliches Verhalten des Membraneiweißes zu beziehen sein dürften.

Tannin verzögert den Durchtritt gelöster Substanzen, wie des Glycerins und in besonders starkem Ausmaß von Anionen. Alle geprüften Denaturantien bewirken Durchlässigkeitssteigerungen, die sich vor allem in kolloid-osmotischer Hämolyse äußern (Kationenpermeabilität), aber auch organische Moleküle wie Saccharose betreffen. Formaldehyd wirkt in mäßigen Konzentrationen penetrationsverzögernd (vor allem auf die Penetration des Wassers und des Formaldehyds selbst), in hohen penetrationsbeschleunigend (kolloid-osmotische Hämolyse). Schwermetalle haben ebenfalls beide Wirkungen: kolloid-osmotische Hämolyse und „Härtung“ (letztere noch nicht genügend analysiert in bezug auf den Angriffspunkt der Vernetzung: Membraneiweiß oder Hämoglobin).

So ergibt sich aus diesen Parallelen eine weitere Stütze für die Annahme, daß das Substrat der biologischen Eiweißwirkung der Adstringentien weniger in gelösten Eiweißkörpern zu suchen ist als in Gerüsteiweißen, vor allem in der Zellmembran.

Zusammenfassung.

Die Sehnenfäden der Rattenschwanzsehne zeigen unter der Einwirkung chemischer Agentien hauptsächlich zwei Reaktionstypen, die als tanninartig und als harnstoffartig bezeichnet werden.

Die tanninartige Wirkung besteht in einer Herabsetzung der Dehnbarkeit der Sehne und wird auf Vermehrung der Brückenbindungen zwischen den Kettenmolekülen der Fadeneiweiße bezogen.

Die harnstoffartige Wirkung, die von einer Reihe als Eiweißdenaturantien bekannten Agentien ausgelöst wird, besteht in einer spontanen Spannungsentwicklung und in einer erhöhten Dehnbarkeit des Fadens. Die spontane Spannungsentwicklung wird als thermoelastischer Effekt im Sinne der Kautschukelastizität (Spannungsentwicklung durch vermehrte thermische Beweglichkeit in der Querrichtung zur Faser) gedeutet. Ihre Ursache wird in der Lösung von Querverbindungen gesehen, die auch als die Grundlage der erhöhten Dehnbarkeit betrachtet wird. Die gelösten Brücken sind in diesem Fall offenbar Wasserstoffbrücken, im Fall der Säure- oder Alkaliwirkung in erster Linie Salzbrücken.

Metalladstringentien und Formaldehyd zeigen beide Wirkungen: in therapeutischen Verdünnungen tanninartige, in höheren Konzentrationen harnstoffartige Wirkung. Auch diese Wirkungen werden in gleicher Weise auf Vermehrung bzw. Verminderung der Querverbindungen bezogen. Die in Frage kommenden Mechanismen werden diskutiert.

Es wird auf die Parallele zu Wirkungen hingewiesen, die an der Zellmembran mit Adstringentien auslösbar sind. Es wird angenommen, daß sich dabei am Membraneiweiß ähnliche Vorgänge abspielen wie an den Fasermolekülen des Kollagens in der Rattenschwanzsehne. Solche Wirkungen an Zellmembraneiweiß werden als das wichtigste Substrat der pharmakologischen adstringierenden Wirkung betrachtet.

Literatur.

- ¹ ANSON, M. L.: *Advances of Protein Chemistry* **II**, 361 (1945). — ² FRENCH, D., and J. T. EDSALL: *Advances of Protein Chemistry* **II**, 278 (1945). — ³ FRIEDBERG, E.: *Arch. exper. Path. u. Pharmacol.* **89**, 66 (1921). — ⁴ GERBER, J.: *Diss.* Bern 1952. — ⁵ GUSTAVSON, K. H.: *Advances of Protein Chemistry* **V**, 354 (1949). — ⁶ HEUBNER, W.: *Klin. Wschr.* **3**, 824 (1924). — ⁷ HEUBNER, W., u. E. SCHREIBER: *Arch. exper. Path. u. Pharmacol.* **184**, 340 (1937). — ⁸ KOMIYAMA, T.: *Arch. exper. Path. u. Pharmacol.* **112**, 22 (1926). — ⁹ LINDER, A.: *Statistische Methoden.* Basel 1951. — ¹⁰ LUNDGREN, H. P.: *Advances of Protein Chemistry* **V**, 305 (1949). — ¹¹ HEYER, H. H., u. E. GOTTLIEB: *Experimentelle Pharmakologie*, S. 245. Wien 1936. — ¹² MEYER, K. H., u. C. FERRI: *Pflügers Arch.* **238**, 78 (1937). — ¹³ RYSER, H., W. WILBRANDT et P. N. WITT: *Helvet. Physiolog. Acta* **8**, C 70. — ¹⁴ STRAUB, W.: *J. of Pharmacol.* **29**, 83 (1926). — ¹⁵ WEBER, J. R., et M. ROWEDDER: *Helvet. Physiol. Acta* **7**, C 64 (1949). — ¹⁶ WILBRANDT, W.: *Arch. exper. Path. u. Pharmacol.* **212**, 9 (1950). — ¹⁷ WILBRANDT, W.: *Schweiz. med. Wschr.* 1952 (im Druck). — ¹⁸ WILBRANDT, W., et J. L. DE LA CUADRA: *Helvet. Physiol. Acta* **5**, 272 (1947). — ¹⁹ WILBRANDT, W., et H. U. WYSS: *Helvet. Physiol. Acta* **5**, 457 (1947). — ²⁰ WILBRANDT, W., et H. HEIMANN: *Helvet. Physiol. Acta* **6**, 750 (1948).

Prof. Dr. W. WILBRANDT, Bern, Pharmacol. Institut der Universität.