

## Untersuchungen über das Verhalten des denervierten Rattenzwerchfellstreifens in verschiedenen konzentrierten $[Ca^{++}]$ - und $[K^+]$ -Lösungen

Das mechanische Verhalten eines quergestreiften Muskels hängt entscheidend vom umgebenden  $[Ca^{++}]$ -Gehalt einer Lösung ab<sup>1</sup>. Bei dem in seiner Mechanik veränderten denervierten Muskel<sup>2</sup> kann man u.a. eine Erhöhung der Membranpermeabilität für  $[K^+]$  nachweisen<sup>3</sup>. So scheinen  $Ca^{++}$ - und  $K^+$ -Ionen eine Schlüsselstellung zwischen mechanischen und chemischen Prozessen bei der Verkürzung des quergestreiften Muskels einzunehmen, die sich am denervierten Muskel besonders deutlich zeigt.

Als Modell einer Muskelverkürzung kann eine sogenannte  $K^+$ -Kontraktur dienen<sup>4</sup>. Unter der Einwirkung von Tetraäthylammonium und Carbachol, Substanzen, die die Membranpermeabilität für Kalium gegensinnig beeinflussen<sup>5,6</sup>, sollen die Kontrakturen näher untersucht werden.

Aufschluss über die Bewegung des  $Ca^{++}$  im Muskel sollen radioaktive Markierungsversuche ergeben.

**Methodik.** (a) Von 100–150 g schweren Ratten wurde das Zwerchfell herauspräpariert und in Tyrodelösung von jeder Zwerchfellhälfte ein Streifen von ca. 5 mm Breite in Faserlängsrichtung abgeschnitten und in einem Organbad in isometrischer Anordnung aufgehängt. Einem Teil der Tiere wurde 9–16 Tage vor dem Versuch der rechte N. phrenicus exhärtet.

Weitere Einzelheiten der Versuchsanordnung siehe<sup>7</sup>. Die pharmakologischen Substanzen wurden jeweils 15 min vor dem Umhängen der Präparate in  $K^+$ -Tyrodelösung in das Bad gegeben. Als Anstieg der Kontraktur gelten die ersten 20 sec, als Abfall gilt die Zeit von 20–180 sec nach Eintauchen in die  $K^+$ -Tyrodelösung.

(b)  $Ca^{45}$  Versuche: Vorbereitung der Tiere wie bei (a). Von jeder Zwerchfellseite des Tieres wurden 2 Streifen in Faserrichtung herausgeschnitten, in eine Tyrodelösung

gehängt und mit 1 g belastet. Einzelheiten der Versuchsanordnung siehe<sup>8</sup>. Die Streifen wurden vor dem Umhängen in die  $K^+$ -Tyrodelösung +  $Ca^{45}$  zunächst 2 min in normaler Tyrode +  $Ca^{45}$  voräquiliert. Versuchsschema siehe unten.

Die Kalziumkonzentrationen wurden nach der Mikromethode von KLAUS bestimmt<sup>9</sup>.

**Ergebnisse.** (1) Aus Tabelle Ia und Ib ist zu sehen, dass eine Verminderung von  $[Ca]_e$  nur bei den nichtdenervierten Muskeln einen steileren Anstieg und schnelleren Abfall der Kontraktur bewirkte. Eine Erhöhung der  $[Ca]_e$  verursachte am nichtdenervierten Präparat einen verzögerten Anstieg und Abfall. Der denervierte Streifen zeigte nur bei 7,2 mM Ca einen steileren Anstieg und flacheren Abfall der Kontraktur. Nach Gabe von Carbachol entwickelte sich am denervierten Zwerchfell eine vorübergehende Kontraktur. Anschliessender Aufenthalt im  $K^+$ -Lösung hatte bei allen untersuchten  $[Ca]_e$  keine Wirkung mehr. Bei nichtdenervierten Zwerchfellen hatte Carbachol keinen Effekt auf den Verlauf der  $K^+$ -Kontraktur. Die TEA-Wirkung war bei denervierten und nichtdenervierten Präparaten ebenfalls unterschiedlich. Bei ersteren zeigte TEA fast keine Wirkung, bei letzteren schwächte es die Kontraktur stark ab. Die KCl-Vorgabe entfaltete in beiden Gruppen entgegengesetzte Wirkungen: flache-

<sup>1</sup> H. C. LÜTTGAU, J. Physiol. 168, 679 (1963).

<sup>2</sup> H. REICHEL, *Muskelphysiologie* (Springer Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg 1960).

<sup>3</sup> H. LÜLLMANN, Pflügers Arch. ges. Physiol. 267, 188 (1958).

<sup>4</sup> A. L. HODGKIN und P. HOROWITZ, J. Physiol. 153, 386 (1960).

<sup>5</sup> H. SCHMIDT, Pflügers Arch. ges. Physiol. 282, 351 (1965).

<sup>6</sup> W. TRAUTWEIN, Ergebn. Physiol. 51, 131 (1961).

<sup>7</sup> W. KLAUS, H. LÜLLMANN und E. MUSCHOLL, Pflügers Arch. ges. Physiol. 272, 316 (1961).

<sup>8</sup> C. P. BIANCHI und A. M. SHANES, J. gen. Physiol. 42, 803 (1959).

<sup>9</sup> W. KLAUS, Klin. Wschr. 40, 1123 (1962).

Tabelle I. Verlauf der Kaliumkontrakturkurven von Rattenzwerchfellstreifen bei verschiedenen Calciumkonzentrationen und unter Einwirkung von TEA und Carbacol. (Alle Konzentrationen in mM)

Vergleich	Konstant gehaltene Bedingung	n	Kontrakturkurvenverlauf der Präparate der Testlösung ist steiler (+) oder flacher (–) als derjenige der Kontrolle 1% Signifikantes Niveau = ++ (–), 5% = + (–)	
Kontrolle	Testlösung		Anstieg	Abfall
(a) nichtdenervierte Präparate				
1,8 $Ca^{++}$	0,45 $Ca^{++}$	–	20	steiler (+)
1,8 $Ca^{++}$	7,2 $Ca^{++}$	–	10	flacher (–)
ohne Carb.	$2,2 \times 10^{-5}$ Carb.	1,8 $Ca^{++}$	10	flacher (–)
ohne TEA	10 TEA	0,45 $Ca^{++}$	8	steiler (+)
ohne TEA	10 TEA	1,8 $Ca^{++}$	11	flacher (–)
ohne TEA	10 TEA	7,2 $Ca^{++}$	4	flacher (–)
ohne KCl	30 KCl	1,8 $Ca^{++}$	4	steiler (++)
(b) denervierte Präparate				
1,8 $Ca^{++}$	0,45 $Ca^{++}$	–	10	–
1,8 $Ca^{++}$	7,2 $Ca^{++}$	–	12	flacher (–)
ohne Carb.	$2,2 \times 10^{-5}$ Carb.	0,45 $Ca^{++}$	3	flacher (–)
ohne Carb.	$2,2 \times 10^{-5}$ Carb.	1,8 $Ca^{++}$	6	flacher (–)
ohne Carb.	$2,2 \times 10^{-5}$ Carb.	7,2 $Ca^{++}$	2	–
ohne TEA	10 TEA	0,45 $Ca^{++}$	2	flacher (–)
ohne TEA	10 TEA	1,8 $Ca^{++}$	7	–
ohne TEA	10 TEA	7,2 $Ca^{++}$	4	steiler (+)
ohne KCl	30 KCl	1,8 $Ca^{++}$	6	flacher (–)

ren Kontrakturanstieg und keine Wirkung auf den Abfall bei der denervierten Gruppe, keine Wirkung im Anstieg und steileren Abfall bei der nichtdenervierten Gruppe.

(2a) Die Gruppe der denervierten Muskeln besitzt einen signifikant niederen Kalziumgehalt ( $P = < 1\%$ , Paarvergleichsmethode). Die Impulszahl pro  $\text{Ca}^{++}$ -Netto-gehalt ist als spezifische Aktivität definiert. In diesem Begriff ausgedrückt: Die spezifische Aktivität nimmt linear mit höherer  $[\text{Ca}]_e$  ab, denervierte und nicht denervierte Gruppen unterscheiden sich nicht.

Tabelle II. Ergebnisse der  $\text{Ca}^{45}$ -Markierungsversuche

	0,45 mM $\text{CaCl}_2$ ( $n = 8$ )	1,8 mM $\text{CaCl}_2$ ( $n = 6$ )	7,2 mM $\text{CaCl}_2$ ( $n = 8$ )
Nicht Denervierte			
4 min $\text{Ca}^{45}$ -Kontrolle	2311 (0,23)	1340 (0,44)	1700 (1,39)
2 min $\text{Ca}^{45}$ + 2 min $\text{K}^+$ -Tyrode + $\text{Ca}^{45}$	2071 (0,23)	1400 (0,36)	1830 (1,49)
Denervierte			
4 min $\text{Ca}^{45}$ -Kontrolle	2000 (0,22)	1470 (0,30)	1580 (1,05)
2 min $\text{Ca}^{45}$ + 2 min $\text{K}^+$ -Tyrode + $\text{Ca}^{45}$	1600 (0,18)	1530 (0,31)	1530 (1,12)

Obere Zahl: die Zahl der Impulse pro 0,1 g Feuchtgewicht ( $n$  = Anzahl der Streifen). Untere Zahl: Kalziumnetto-gehalt in  $\mu\text{Äqu}/0,1$  g Feuchtgewicht.

(2b) Der Anteil des Trockengewichts beträgt bei den Denervierten 22,5%, bei den Nichtdenervierten 24,3% (signifikant, Irrtumswahrscheinlichkeit  $< 1\%$ ).

Die Versuche legen die Hypothese nahe, in Verbindung mit den bereits bekannten ionalen und Membranveränderungen<sup>3</sup>, dass der denervierte Muskel Kalzium verliert und ausserdem seine Membran für Kalzium durchgängiger wird.

So besitzt die Mechanik des denervierten Muskels eine veränderte Ausgangslage. Die z.T. gegensinnige Beeinflussung durch das äussere Milieu ist prinzipiell verständlich<sup>10</sup>.

**Summary.** The denervated diaphragm of the rat possesses a lower calcium concentration and dry weight than the non-denervated muscle. Decrease of  $[\text{Ca}]_e$  causes a faster rise and fall of the K-contracture in the non-denervated diaphragm of the rat. Increase of  $[\text{Ca}]_e$  has the reverse effect. The behaviour of the denervated muscle is different. TEA and carbachol influence the potassium contracture in almost the opposite way.

M. ADLER

Deutsche Forschungsanstalt für Psychiatrie, 8 München 23 (Deutschland), 16. Mai 1967.

<sup>10</sup> Ich danke Frau SCHWAAB und Herrn PD Dr. REUTER, Pharmakologisches Institut Mainz, für Hilfe und Ratschläge bei den Versuchen.

## Zur «Lipoidlöslichkeit» von Arzneimitteln

Die Löslichkeit in Wasser und Lipoiden spielt für die Resorption, Verteilung, Biotransformation und Ausscheidung von Arzneimitteln eine wesentliche Rolle. Als Mass der «Lipoidlöslichkeit» werden von verschiedenen Autoren entweder die Löslichkeit in Olivenöl, Zetylalkohol, Heptan (Benzin) oder Chloroform angegeben. Auf die Problematik bei der Benutzung von Olivenöl oder Zetylalkohol insbesondere für die Löslichkeitsbestimmungen von Narkotika wurde bereits hingewiesen<sup>1</sup>.

DIBBERN<sup>2</sup> setzt in seinem Resorptionsmodell Chloroform als «Lipoidphase» ein. Nach GAUDETTE und BRODIE<sup>3</sup> wird ein Arzneimittel um so schneller durch Lebermikrosomen oxydiert, je besser lipoidlöslich es ist und eine Lipidbarriere zu durchdringen vermag: als Mass der Lipoidlöslichkeit wurde die Löslichkeit in Chloroform herangezogen. McMAHON und EASTON<sup>4,5</sup> benutzten für die gleiche Fragestellung Heptan und kommen zum gleichen Schluss wie GAUDETTE und BRODIE<sup>3</sup>. MAZEL und HENDERSON<sup>6</sup> machen auf die nur grobe Korrelation zwischen Oxydationsgeschwindigkeit durch Lebermikrosomen und Löslichkeit in Chloroform bzw. Heptan aufmerksam und bringen weitere Beispiele einer nur unbefriedigenden Übereinstimmung zwischen Umsatzgeschwindigkeit in vitro mit Lebermikrosomen und Lipoidlöslichkeit, wiederum gemessen als Löslichkeit in Chloroform.

Wir möchten darauf hinweisen, dass die Löslichkeit von Arzneimitteln in Heptan und Chloroform sehr unterschiedlich sein kann und dass beide Lösungsmittel ungeeignet sind, die «Lipoidlöslichkeit» zu ermitteln. KURZ<sup>7</sup> fand die Löslichkeit von Barbituraten in «Fett» bis zu 100mal grösser als in Heptan, die Löslichkeit im Fettgewebe war deutlich geringer als im Fett. Wie eigene Löslichkeitsbestimmungen von Phenazon 4-Aminophenazon und Dimethylaminophenazon belegen, kann die Löslichkeit in Triglyzeriden wiederum stark von der in Phosphatiden abweichen (s. Tabelle).

Die Substanzen wurden aus der bei 37°C gesättigten lipophilen Phase mit Wasser ausgeschüttelt. Die spektral-photometrische Bestimmung in der wässrigen Phase erfolgte für Phenazon durch Nitrosierung nach DAVIDSON

<sup>1</sup> E. M. PAPPER und R. J. Kirtz, *Uptake and Distribution of Anesthetic Agents* (McGraw-Hill Book Company Inc., New York, Toronto, London 1963).

<sup>2</sup> H.-W. DIBBERN, *Arzneimittel-Forsch.* 16, 1304 (1966).

<sup>3</sup> L. E. GAUDETTE und B. B. BRODIE, *Biochem. Pharmac.* 2, 89 (1959).

<sup>4</sup> R. E. McMAHON, *J. mednl pharm. Chem.* 4, 67 (1961).

<sup>5</sup> R. E. McMAHON und N. R. EASTON, *J. mednl pharm. Chem.* 4, 437 (1961).

<sup>6</sup> P. MAZEL und J. F. HENDERSON, *Biochem. Pharmac.* 14, 92 (1965).

<sup>7</sup> H. KURZ, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmac.* 255, 33 (1966).