Die elektrische Untersuchung der alkoholischen Nervenextraktemulsoidteilchen. I.

Über den Einfluss verschiedener Alkaloide auf die elektrische Ladung der Emulsoidteilchen von alkoholischem Nervenextrakt.

Von

Kuranosuke Kumagai.

Aus dem anatomischen Institut der Universität Okayama, Japan.
(Director: Prof. Dr. K. Kosaka)

Eingegangen am 27. Januar 1927.

Es ist wohl bekannt, dass die meisten Alkaloide heftige Gifte sind und besonders auf das Nervensystem wirken.

Wenn man das Alkaloid auf das Nervensystem wirken lässt, so wird seine Funktion entweder erregt oder gehemmt.

K. Hashida sagt in seiner Abhandlung: „Also wenn wir diejenigen Tatsachen, die die heutigen Theorien der Narkose als ihre Ausgangspunkte benützen, zusammenfassen, können wir die Wirkungsweise der Narkotika folgendermassen auffassen: 1. Das Verdrängen der wirksamen Substanz aus der Zelloberfläche, 2. das Eindringen in die Zelle, um dort (Plasmahaut, oder Zellmembran inbegriffen) irgend einen Kolloidprozess hervorzurufen."

Meiner Meinung nach kommt die Adsorption bei der Wirkung des Alkaloids zunächst in Betracht, indem die Teilchen des Mittels der Zelloberfläche fest anhaften. Erst dann machen sich andere Faktoren z. B. der chemische Vorgang geltend.

Weiter sagt Hashida: „Es ist ja unleugbar, dass die Lipoide (in der Zelle) eine wichtige Rolle bei der Narkose spielen."

Nach Tsutsumi geraten die Nerven in die Narkose, wenn sie eine gewisse Menge Ionen verloren haben, und zwar unabhängig von den angewendeten Narkotica und ihrer Konzentration.

Wenn diese Ansicht zu Recht besteht, so liegt es nahe, dass das Alkaloid direkt auf Nervenemulsoidteilchen, welche hauptsächlich aus Lipoiden bestehen, seine Wirkung ausüben und ihre elektrische Ladung verändern kann.

Daher ist es dringend wichtig diesen Gegenstand einmal einer Probe zu unterwerfen, um so mehr, als die Sache unter dem Mikroskop mit Hilfe der Kataphorese leicht untersucht werden kann.

Mit diesem Gedanken wurden die vorliegenden Untersuchungen angefangen und ausgeführt.

Die untersuchten Alkaloide waren Morphin, Strychnin, Atropin, Cocain, Physostigmin, Pilocarpin, Chinin und Nicotin. Sie wurden alle in Form von Neutralsalzen angewendet, eine Ausnahme davon ist Nicotin, welches ich in reiner Form (Merck Darmstadt) benutzte, weil ich sein gutes Neutralsalz nicht bekommen konnte.

Untersuchungsmethoden.

1. Herstellung des Emulsoides.

Die Untersuchungsmaterialien entnahm ich vom vorher ganz gesunden erwachsenen Kaninchen, das schnell getötet wurde.

Dazu gehören die von Pia mater und Blutgefässen befreite Grosshirnrinde, das Vorderhorn des Rückenmarks und der Nervus ischiadicus.

Jedes Material wird fein zerschnitten und gewogen. Zu edem Gram desselben setzt man 10 ccm Absolutalkohol hinzu und lässt das ganze 48 Stunden lang in Zimmertemperatur stehen bleiben, nachdem es 5 Minuten lang stark geschüttelt worden ist.

Danach verdünnt man dieses alkoholische Extrakt des Nervengewebes mit 0.9% iger Kochsalzlösung langsam aufs 60 fache. Dabei muss man die Kochsalzlösung mit einer Pipette langsam an der Wand des Gefässes entlang herabfliessen lassen, sonst erhält man eine klare Flüssigkeit, worin die mikroskopisch sichtbaren Kolloidteilchen zu spärlich sind.

2. Das weitere Verfahren.

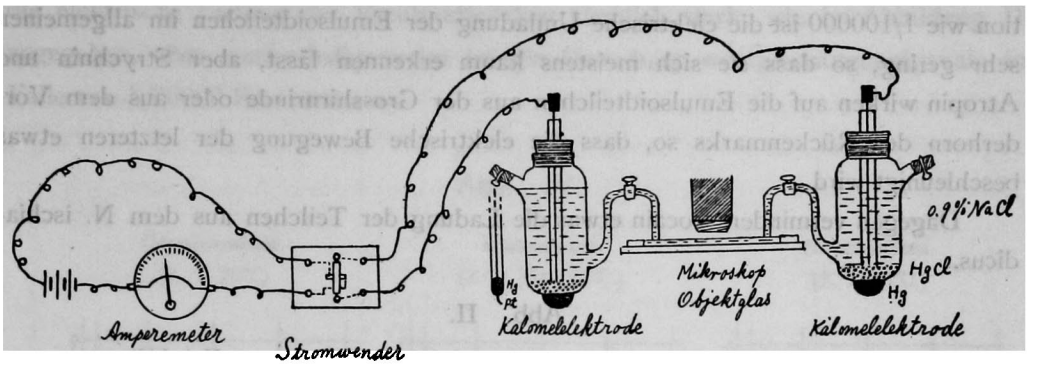
Das auf diese Weise hergestellte Emulsoid wird in einem kleinen Reagenzglas mit einer gewissen Menge der zuprüfenden Alkaloid-Wasserlösung gemischt und dazu fügt man im Mengenverhältnis von 1/10 das Serum hinzu, das von einem gesunden Kaninchen abgenommen worden ist, um die Wasserstoffionenkonzentration konstant zu erhalten. Dieses Verfahren ist auch wichtig für den Schutz vor Schwingung der Emulsoidteilchen, die sonst bei der kataphorischen Untersuchung zu leicht zum Vorschein kommt.

Es unterliegt keinem Zweifel, dass die Konzentration des Alkaloides und ihre Wirkungszeit für die elektrische Umladung der Emulsoidteilchen eine grosse Rolle spielen. Daher bereitete ich verschiedene Alkaloidemulsoidmischungen zu, welche jedes Alkaloid im Verhältnis wie 1/100000, 1/30000, 1/10000, 1/5000 und 1/1000 enthalten, und nach Verlauf von verschiedenen Zeiten wie 10, 30 und 60 Minuten, 2, 4 und 8 Stunden wurde die kataphorische Untersuchung gemacht, wobei ich jedenfalls die elektrische Bewegung der Teilchen des alkaloidfreien Emulsoides als Kontrolle beobachtete.

Die kataphorische Untersuchung wurde auf folgende Weise ausgeführt.

Ein viereckiges Kämmerchen mit einem 400 μ hohen Rahmen auf einem grösseren Objektglas wird mit 0.9% iger Kochsalzlösung gefüllt, in die man an beiden Enden des Kämmerchens die Schnabelspitzen grösserer Kalomelelektroden eintaucht (Fig. 1).

Fig. 1



Nachdem der Kämmerchenflüssigkeit einige Tropfen der zu prüfenden Emulsoid-Alkaloid-Serummischung zugesetzt worden sind, beobachtet man unter dem Mikroskop (Leitz: Objektiv 5, Okular 3), das mit Okularmikrometer versehen ist, die kataphorische Bewegung der Teilchen.

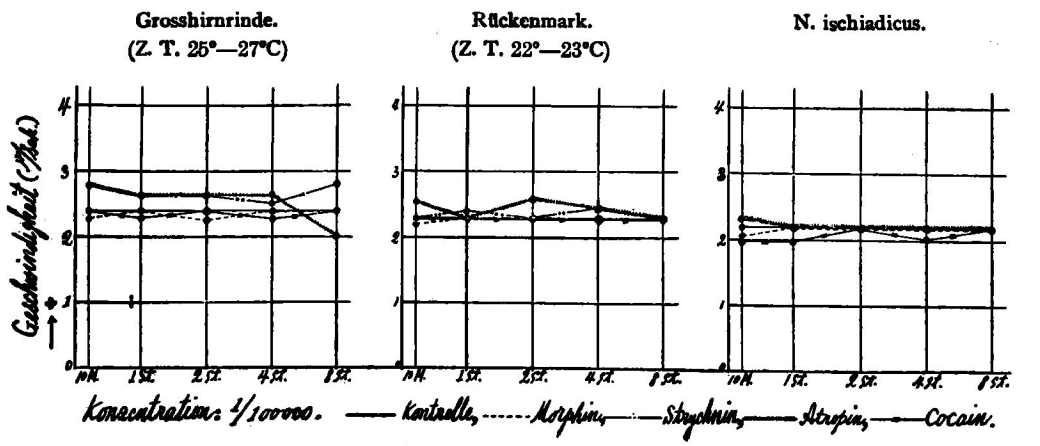
Dabei wird ein elektrischer Strom von etwa 5 Milliampère und 150 Volt gebraucht. Da die Flüssigkeitsbewegung manchmal die genaue Messung der kataphorischen Bewegung schwierig macht, so ist es vorteilhaft, der Flüssigkeit mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschene Kaninchenerythrozyten beimzumengen und die Geschwindigkeitsdifferenz zwischen diesen und den Emulsoidteilchen zu beobachten. Die roten Blutkörperchen des Kaninchens in 0.9% iger Kochsalzlösung laden sich, wie Prof. Dr. K. Kosaka und Dr. M. Seki festgestellt haben, elektrisch sehr schwach positiv und wandern im Stromgefälle langsam nach der Kathode.

Die elektrische Ladung der Emulsoidteilchen ist daher aus Vergleich mit der der Blutkörperchen leicht zu ermitteln.

Resultate der Untersuchungen.

Sie sind in folgenden Abbildungen angegeben:

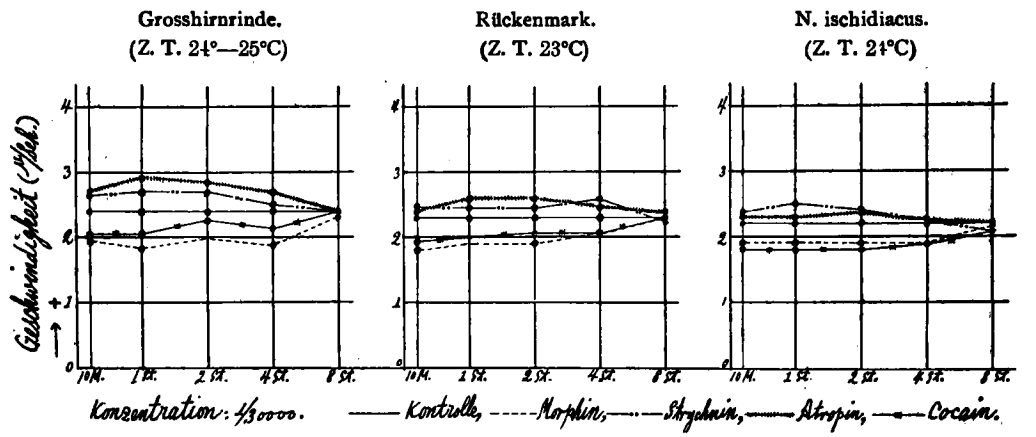
Abb. I.



Bei Anwendung der Alkaloidemulsoidmischung von einer sehr dünnen Konzentration wie 1/100000 ist die elektrische Umladung der Emulsoidteilchen im allgemeinen sehr gering, so dass sie sich meistens kaum erkennen lässt, aber Strychnin und Atropin wirken auf die Emulsoidteilchen aus der Grosshirnrinde oder aus dem Vorderhorn des Rückenmarks so, dass die elektrische Bewegung der letzteren etwas beschleunigt wird.

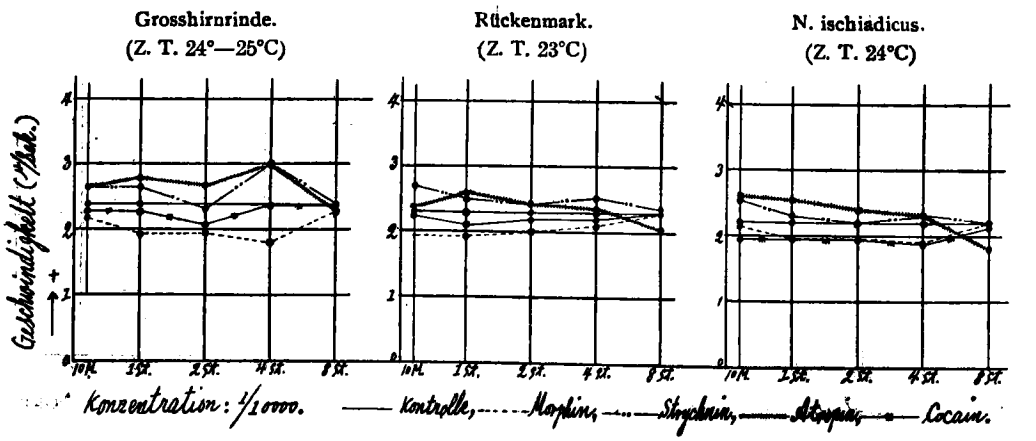
Dagegen vermindert Cocain etwas die Ladung der Teilchen aus dem N. ischiadicus.

Abb. II.



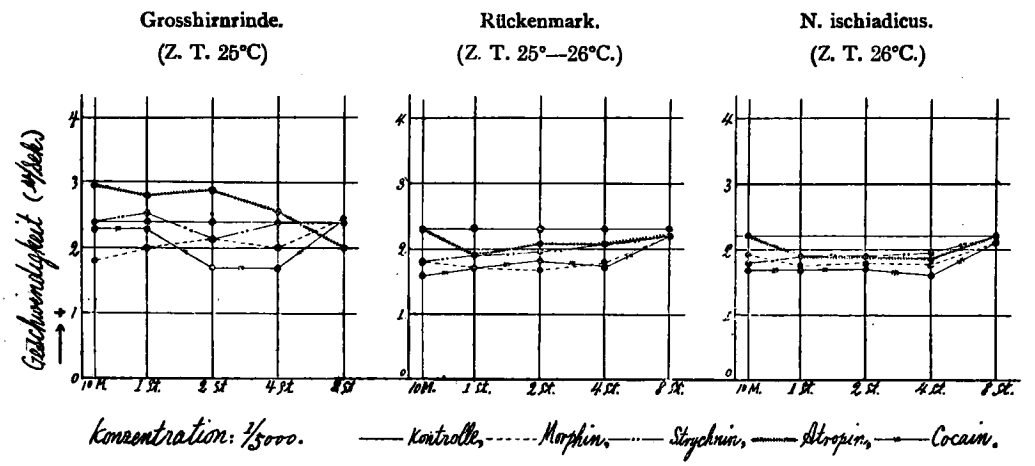
Bei Untersuchung mit einer Mischung von 1/30000 Konzentration tritt die elektrische Umladung der Teilchen am deutlichsten zu Tage. Ihre kataphorische Geschwindigkeit wird durch Morphin und Cocain stark vermindert, dagegen durch Strychnin und Atropin bedeutend beschleunigt.

Abb. III.



Bei Anwendung der Mischung von 1/10000 Konzentration verändert sich auch die elektrische Ladung der Emulsoidteilchen ziemlich stark, wie in Abbildung III angegeben, aber merkwürdigerweise ist die Umladung weniger ausgeprägt als im Falle von 1/30000 Konzentration.

Abb. IV.



Wenn die Konzentration der Mischung auf 1/5000 erhöht wird, so erfährt die Wirkung des Strychnins und Atropins eine auffallende Veränderung, indem die elektrische Ladung der Emulsoidteilchen aus dem Rückenmark oder Nervus ischiadicus durch beide Reagenzien verringert wird im Gegensatz zum Falle von dünnerer Konzentration, wo die Ladung aufsteigt.

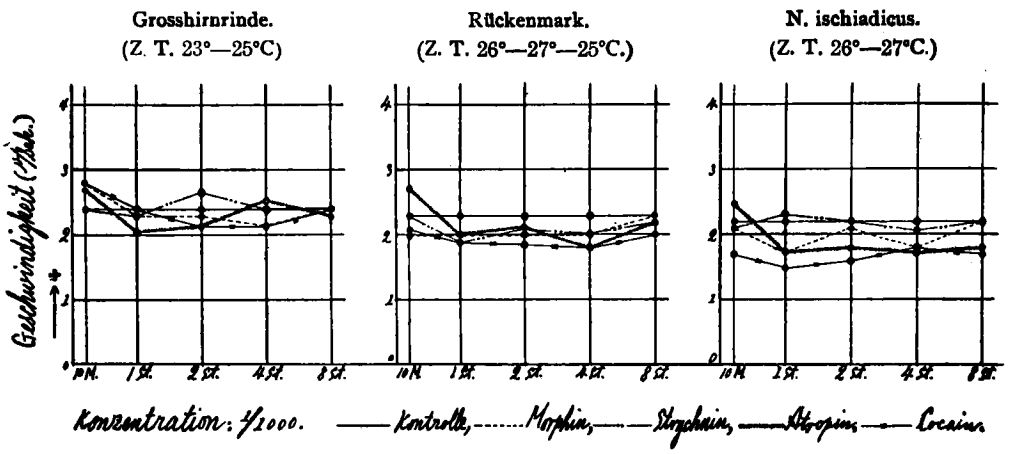
Was die elektrische Ladung der Emulsoidteilchen aus der Grosshirnrinde anlangt, so wird sie durch Strychnin bei dieser Konzentration anfangs nur sehr schwach gesteigert, bald aber herabgesetzt, während Atropin auch in diesem Falle eine beschleunigende Wirkung zeigt.

Beim Falle von 1/1000 Konzentration verhält sich Strychnin wie oben und die beschleunigende Wirkung des Atropins tritt in den Hintergrund, indem die Wirkungen beider Reagenzien sich im grossen und ganzen ähneln.

Dagegen zeigen Morphin, Cocain und Atropin hier anfangs eine beschleunigende Wirkung, obwohl diese bald einer hemmenden Platz macht.

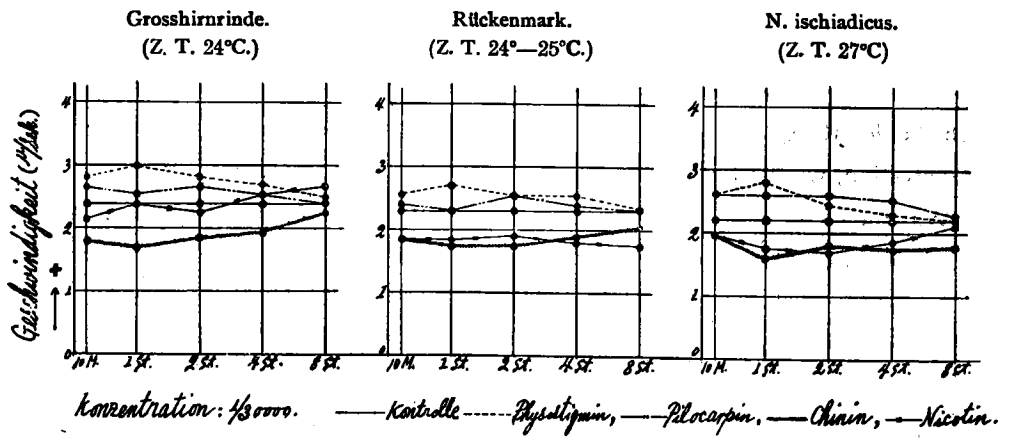
Ferner untersuchte ich die Wirkung des Physostigmins, Pilocarpins, Chinins und Nicotins auf die elektrische Ladung der Nervenemulsoidteilchen und erhielt folgendes Resultat:

Abb. V.



Bei Anwendung von 1/30000 Konzentration wird die elektrische Ladung der Emulsoidteilchen durch Physostigmin und Pilocarpin deutlich vermehrt im Gegensatz zu Chinin und Nicotin, welche sie vermindern (Abb. VI).

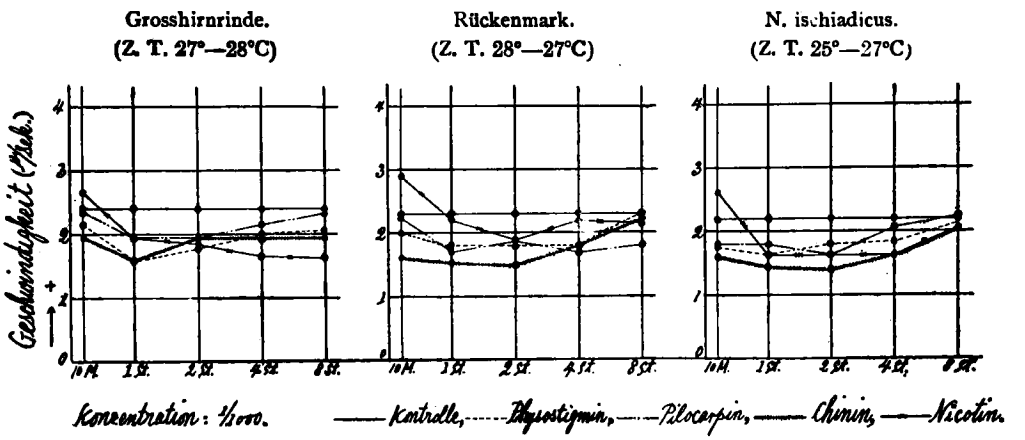
Abb. VI.



Aber bei so stärkerer Konzentration wie 1/1000 verhalten sich Physostigmin und Pilocarpin ganz anders, indem sie hier die elektrische Ladung der Teilchen vermindern.

In diesem Falle behält Chinin auch seine vermindernde Wirkung, während Nicotin anfangs erhöhend, dann aber vermindernd auf die Ladung der Lipoidteilchen wirkt (Abb. VII).

Abb. VII.



Schluss.

Wenn man das Alkaloid direkt auf die Kaninchenemulsoidteilchen aus der Grosshirnrinde oder aus dem Vorderhorn des Rückenmarks oder aus dem N. ischiadicus einwirken lässt, so verändert sich ihre elektrische Ladung. Dabei steigert das erregend wirkende Mittel im allgemeinen die elektronegative Ladung der Nerventeilchen, während das lähmend wirkende Mittel sie verringert. Doch wird diese Wirkung durch die Konzentration der Alkaloide stark beeinflusst.

Obwohl Strychnin, Atropin, Physostigmin und Pilocarpin im allgemeinen die elektronegative Ladung der Emulsoidteilchen erhöhen, tritt diese Wirkung bei einer so niederen Konzentration wie 1/100000 nicht deutlich zu Tage. Indessen vermindert Cocain die Ladung der Ischiadicusemulsoidteilchen in dieser Konzentration im Gegensatz zu Morphin, welches in derselben Konzentration überhaupt keine Wirkung zeigt.

Vom elektrischen Gesichtspunkt betrachtet wirken Atropin, Physostigmin und Pilocarpin auf das Nervenemulsoid wie das erregbarkeitsteigende Strychnin, d. h. sie pflegen die Ladung der Emulsoidteilchen zu erhöhen. Anderseits wird diese Ladung durch Morphin, Cocain, Nicotin und Chinin meistens herabgesetzt.

Die am deutlichsten einwirkende Konzentration des Alkaloides ist annähernd 1/30000. Bei dieser Konzentration steigern Strychnin, Atropin, Physostigmin und Pilocarpin die elektrische Ladung der Emulsoidteilchen am deutlichsten, dagegen wird diese durch Morphin, Cocain, Chinin und Nicotin stark vermindert. Wenn man aber eine viel stärkere Konzentration z. B. 1/1000 Mischung anwendet, so verhält sich die

Sache ganz anders.

Diejenigen, welche in einer niedrigeren Konzentration die Ladung erhöhen, wirken jetzt hemmend, während andere, welche bei einer niedrigeren Konzentration die Ladung vermindern, jetzt eine wenn auch vorübergehende befördernde Wirkung auf die Kataphorese der Emulsoidteilchen ausüben.

Was die Beziehung der Wirkungszeit der Alkaloide zur Umladung der Emulsoidteilchen anbetrifft, so ist ein zeitlicher Verauf von 30—180 Minuten nach Mischung des Emulsoides mit dem Alkaloid als Optimum zu bezeichnen, in welchem die Umladungserscheinung am deutlichsten zu Tage tritt.

Literatur.

Berzeller, L. und **Hetényi, St.,** Biochem. Zeitschr. Bd. 4, S. 118, 1917. **Hashida, K.,** The journal of biochemistry Vol. II, No. 1, 1922. **Höber,** Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. Fünfte, neuearbeitete Auflage S. 417, 422, 424, 444, 495, 496, 547, 558, 561, 580, 733, 1924. Berlin. **Joel, A.,** Pflüger's Archiv f. d. gesamte Physiologie Bd. 161, 1915. **Kato, S.,** Okayama-Igakkai-Zasshi, Nr. 421, Feb. 1925. **Kosaka, K.** und **Seki, M.,** Ebenda, Nr. 349. **Kosaka, K.** und **Seki, M.,** Ebenda, Nr. 357. **Meyer, H. H.,** Münch. med. Wochenschr. Jahrgang 56, S. 1577, 1909. **Morishima, K.,** Arzneimittellehre IX Auflage, Tokio. **Schmiederberg,** Pharmakologie 7. Auflage, 1913, Leipzig. **Seki, M.,** Okayama-Igakkai-Zasshi, Nr. 393, 1922. **Traube, J.,** Pflüger's Archiv f. d. gesamte Physiologie, Bd. 153, S. 276, 1913. **Traube, J.,** Ebenda, Bd. 161, S. 501, 1915. **Tsutsumi, T.,** Zit. Nippon-Fujinkagakkai-Zasshi, Bd. 18, S. 516, 1923. **Winterstein, E.** und **Trier, G.,** Die Alkaloide. 1910, Berlin.

内 容 大 意

神經『アルコホル』抽出物『エムルゾイド』粒子ノ電氣的研究
I. 特ニ種々ノ『アルカロイド』ガ神經『リポイド』ノ電荷ニ及ボス影響ニ就イテ

岡山醫科大學解剖學敎室（主任上坂敎授）
熊 谷 藏 之 允

健康ナル成熟家兎ヲ速カニ殺シ大腦皮質，脊髓前角竝ニ坐骨神經ヲ採リ之ヲ細切シテ秤量シ其ノ十倍量ノ純「アルコホル」ヲ加ヘテ 5 分間强ク振盪シ 48 時間以上室溫ニ放置シテ得タル神經「アルコホル」抽出物ヲ 0.9% ノ食鹽水ヲ以テ極メテ徐々ニ 60 倍ニ之ヲ稀釋ス玆ニ生ジタル「リポイド」粒子ニ種々ノ「アルカロイド」(「モルフイン」，「ストリヒニン」，「アトロピン」，「コカイン」，「フイソスチグミン」，「ピロカルピン」，「ヒニン」，「ニコチン」)ヲ十萬分ノ一，三萬分ノ一，一萬分ノ一，五千分ノ一，千分ノ一ノ濃度ニ於テ作用セシメ藥物點加後每 10 分，1 時間，2 時間，4 時間，8 時間ニ於テ顯微鏡下ニ於ケル「カタホレーゼ」運動ニ依ツテ粒子ノ電氣的運動ヲ觀察セリ．

神經「リポイド」ニ「アルカロイド」ヲ作用セシムレバ神經「リポイド」ガ本來有スル陰性電荷ニ變化ヲ及ボスモノナリ．此ノ場合興奮性ニ働ク藥物ハ「リポイド」ノ電荷ヲ增シ麻痺性ニ働クモノハ其ノ電荷ヲ減ズ．

「アトロピン」，「ピロカルピン」等モ興奮性ニ働ク藥物ト同ジク其ノ電荷ヲ增ス．

時間的ニハ藥物點加後 30 分乃至 180 分ニ於テ最モ著明ニ作用スルモノノ如シ．

濃度ニ依リテモ亦其ノ作用ニ差異アリ．卽チ最モ著明ニ作用スル濃度ハ三萬分ノ一前後ノモノナリ．