

niumoxyd (*Merck*, standardisiert nach *Brockmann*) chromatographisch gereinigt. Die ersten mit Benzol eluierten Anteile gaben tief und unscharf schmelzende Krystalle. Die weiteren mit Benzol sowie mit Benzol-Äther eluierten Fraktionen (zusammen 33 mg) gaben nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Aceton-Äther 8 mg farblose Nadeln vom Smp. 175—178°. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +210,7^{\circ} \pm 3^{\circ}$ ($c = 0,676$ in Aceton).

6,758 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_{\text{D}}^{22} = +1,425^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$.

Zur Analyse wurde das von der Drehung regenerierte Material im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

4,000 mg Subst. gaben 10,50 mg CO₂ und 2,85 mg H₂O

C ₂₃ H ₃₀ O ₅ (386,47)	Ber. C 71,48	H 7,82%
	Gef. „ 71,64	„ 7,97%

Eine Probe reinstes natürliches Dehydro-corticosteron-acetat zeigte unter denselben Bedingungen den Smp. 177—179°, die Mischprobe schmolz bei 175—178°. Da die spez. Drehung des Dehydro-corticosteron-acetats bisher in Aceton noch nicht gemessen worden war, wurde diese Bestimmung mit einer reinsten aus Rinder-Nebennieren isolierten Probe ausgeführt. Gefunden wurde: $[\alpha]_{\text{D}}^{23} = +210,3^{\circ} \pm 3^{\circ}$ ($c = 0,794$ in Aceton)

7,942 mg Subst. zu 0,9994 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_{\text{D}}^{23} = +1,67^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

in bester Übereinstimmung mit dem oben erhaltenen Wert.

Da die Verseifung von (XVIII) zu freiem Dehydro-corticosteron (II) mit methylalkoholischer Salzsäure¹⁾ oder wässrig-methylalkoholischem Kaliumhydrogencarbonat²⁾ leicht durchführbar ist, so ist auch das freie Oxyketon damit teilsynthetisch zugänglich.

Die Mikroanalysen wurden im mikroanalytischen Laboratorium der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich (Leitung *H. Gubser*), ausgeführt.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

79. Studien zu einem Plasmamodell

von *Ch. Wunderly*.

(9. III. 43.)

Mit der zunehmenden Kenntnis von der Gestalt verschiedener Makromolekeln zeigt sich immer deutlicher, dass manche kolloidchemischen Eigenschaften davon stärker beeinflusst werden wie von der Grösse der betreffenden Kolloidteilchen. *Hückel*³⁾ hat diese Form-

¹⁾ *T. Reichstein*, *Helv.* **20**, 953 (1937).

²⁾ *T. Reichstein*, *J. von Euw*, *Helv.* **21**, 1181 (1938).

³⁾ *Hückel*, *Theoret. Grundl. d. Org. Chemie*, Bd. II, 306 (Leipzig 1941).

abhängigkeit der Eigenschaften am Vergleich von Cellulose (Fadenkolloid), Glykogen (Sphärokolloid) und Stärke beschrieben. Aber nicht nur bei den Polysacchariden zeigen sich solche Formunterschiede, sondern ebenso bei den Proteinen. So findet sich im Blutplasma neben den kugelförmigen Albuminteilchen stets das stäbchenförmige Fibrinogen vergesellschaftet, wobei wir die Gestalt der Globuline noch offen lassen wollen. Da schon kleine Verschiebungen im gegenseitigen Verhältnis dieser verschieden gestalteten Proteine beträchtliche Änderungen in der Viskosität des Blutplasma herbeiführen, war zu erwarten, dass dadurch die wichtigste Reaktion des klinisch-chemischen Laboratoriums, nämlich die Senkungsreaktion der roten Blutkörperchen, entsprechend stark beeinflusst wird. Es ist das Ziel dieser Untersuchung, an zweckmässig angelegten Modellversuchen die Wirkung der einzelnen Komponenten auf das Gesamtsystem quantitativ zu verfolgen; dabei ist eine Gliederung der Untersuchungsreihen nach der Messmöglichkeit der Teilprobleme durchgeführt. Im Interesse der Vergleichbarkeit der Resultate war es angezeigt, von Substanzen auszugehen, welche während den Versuchsreihen in immer gleicher Reinheit vorhanden waren und deren Teilchengestalt hinreichend definiert ist. Deshalb wurde an Stelle von physiologischen Proteinen als Modellsubstanzen die Gelatine (fibrilläres Protein), Glykogen (Sphärokolloid) und weitere Polysaccharide gewählt. Als Messgrössen dienen Viskosität, Senkungsgeschwindigkeit der roten Blutkörperchen, *Rayleigh*-Streulicht und dessen Depolarisationsgrad.

Methodik: Die Viskosität wird nach dem Vorschlage von *Staudinger* als spezifische Viskosität λ_{sp} berechnet; mit Hinsicht auf die kleinen Viskositäten, welche zur Messung gelangen, wird λ_{sp} noch multipliziert mit dem *Hagenbach*'schen Korrekturfaktor für die kinetische Energie. Seine Berechnung geschieht nach den Angaben von *Schulz*¹⁾; die Werte v_1 und v_2 für die kinematische Viskosität werden dem Buche von *Philippoff*²⁾ entnommen. Sind t_1 und t_2 die zugehörigen Durchlaufzeiten, so wird

$$B = t_1 \cdot t_2 \frac{v_2 \cdot t_1 - v_1 \cdot t_2}{v_2 \cdot t_2 - v_1 \cdot t_1}$$

und wir erhalten für die korrigierte spezifische Viskosität

$$\lambda_{sp}^{korr} = \lambda_{sp} \left(1 + \frac{2B}{t_{LM}^2} \right)$$

worin t_{LM} die Durchlaufzeit des Lösungsmittels bei der betreffenden Messtemperatur bedeutet. Um die Sole möglichst isodispers zu haben, werden sie erst 3' bei 10000 und 3' bei 15000 T. zentrifugiert; darauf in den Thermostaten gestellt und die Dichte bestimmt. Anschliessend werden 3 cm³ in das *Ostwald*-Viskosimeter pipetiert; dasselbe steht völlig eingetaucht in dem neuen Laboratoriumsthermostaten³⁾, welcher auch die Ablesung des Viskosimeters in der untergetauchten Lage gestattet. Damit werden Unregelmässigkeiten als Folge von Wärmekonvektion ausgeschlossen; die Stellung des Viskosimeters bleibt während einer Messreihe unverändert. Die Genauigkeit der Viskositätsmessung hätte noch weiter gesteigert werden können durch höhere Konzentration der Stoffe, welche dieselbe

1) *Schulz*, Z. El. Ch. **43**, 478 (1937).

2) *Philippoff*, Viskosität der Kolloide (Dresden 1942), S. 423.

3) Gebaut von der *A. G. für Chemie-Apparatebau*, Zürich, Scheuchzerstr. 71.

bedingen, allein es hätte dann die Wahrscheinlichkeit einer teilweisen Aggregation, also einer Wechselwirkung der Teilchen untereinander, bestanden. Als Folge davon wäre eine erhöhte Polydispersität aufgetreten, welche ihrerseits eine Strukturviskosität mit sich bringt. Ebenso wäre die Streulichtmessung ungünstig beeinflusst worden, indem Teilchengrößen entstehen, welche nicht mehr zum *Rayleigh*-Bereich gehören. Die gleichzeitige Bestimmung mehrerer Messgrößen wird erst sinnvoll, wenn man die Versuchsbedingungen den einzelnen Messbereichen anpassen kann.

Die Bestimmung der Senkungsgeschwindigkeit der roten Blutkörperchen geschieht in *Linzenmeyer*-Röhrchen, ihr innerer Durchmesser ist 7 mm und die Blutsäule hat eine Höhe von 10 cm; Blut und 3,5% Citrat stehen im Verhältnis von 1:3; technische Einzelheiten bei *Reichel*¹⁾.

Die Messung des Streulichts wird im Stufenphotometer von *Zeiss* mit Einrichtung zur Trübungsmessung vorgenommen; als Küvette dient die Mikroküvette mit 1 cm³ Fassungsvermögen; als Lichtfilter L₂ mit einer mittleren Wellenlänge von 530 m μ . Die Apparatur zur Messung der Depolarisation haben wir beschrieben²⁾; die Einstellgenauigkeit konnte seither noch verbessert werden.

Wirkung verschiedener Polysaccharide auf die Senkungsgeschwindigkeit der roten Blutkörperchen.

Mit der vergleichenden Messung von Lösungen von Maltose, Inulin, Dextrin, Amylose und Glykogen sollte Stellung genommen werden zu der Beziehung zwischen Teilchengröße, Solstruktur und Wirkung auf die Aggregation der Erythrocyten. In die Senkungsröhrchen kommen stets 1 cm³ der Kohlenhydratlösung, in welcher 35 mg Natriumcitrat gelöst ist; durch zweimaliges Kippen wird homogene Durchmischung mit den 3 cm³ Frischblut (Mensch) erreicht. Aus der Gruppe der nichtreduzierenden Disaccharide wird die Maltose gewählt, weil sie das Abbauprodukt darstellt von Stärke und Glykogen.

Tabelle 1.

Nr.	Maltose-Konz.	Spez. Gew.	λ_{sp}^{korr}	Senkung der roten Blutkörperchen in mm nach Minuten				
				60	90	120	180	240
	g %		20°C	Blut ohne Zusatz (Standard)				
1				1	2,5	3	6	8
2	1	1,0050	0,0948	1	2,5	3	6	8
3	3	1,0123	0,1565	—	—	—	—	—
4	5	1,0196	0,2374	0,8	2	2,5	4,5	5,5
5	7	1,0312	0,3701	0,6	1,5	2	3,5	4,5

Das Inulin ist ein Reservematerial der Pflanzen; aus seiner äusserst leichten Hydrolysierbarkeit hat man auf das Vorhandensein labiler Fructosereste (Fructofuranose) geschlossen; seine Teilchengröße in Wasser beträgt nach *Berner*³⁾ etwa 3500; neuerdings wurde

¹⁾ *Reichel*, Blutkörperchensenkung (Wien 1936).

²⁾ *Wunderly*, Helv. **25**, 1053 (1941).

³⁾ *Berner*, B. **63**, 1356 (1930).

mit Inulin eine Nierenfunktionsprüfung entwickelt; da gezeigt werden konnte, dass keine tubuläre Rückresorption stattfindet, gelingt es, die Glomerulusfiltration quantitativ zu messen (vgl. *Spühler*)¹⁾.

Tabelle 2.

Nr.	Inulin-Konz.	Spez. Gew.	λ_{sp}^{korr}	Senkung der roten Blutkörperchen in mm nach Minuten.				
				30	60	90	120	180
	g %		20° C					
6	0,5	1,0024	0,1138	0,7	1	2,5	3	6
7	1	1,0041	0,1199	0,5	0,8	2,0	2,5	3,8
8	1+2% Gluconsäure	1,0120	0,1781	0,5	0,5	0,8	1,2	2,0

Beim Hitzeabbau der Stärke entstehen als Zwischenstufe die Dextrine; es sind kürzere Ketten mit reduzierenden Eigenschaften; als Hauptbaustein erscheint die Maltose; *Haworth*)²⁾ nimmt als Mol.-Gew. einige Tausend an.

Tabelle 3.

Nr.	Dextrin-Konz.	Spez. Gew.	λ_{sp}^{korr}	Senkung der roten Blutkörperchen in mm nach Minuten				
				60	90	120	180	240
	g %		20° C					
9	0,5	1,0030	0,1194	1	2,5	3	6	8
10	0,5+3,5% Gluconsäure	1,0179	0,2336	0,5	0,8	1,2	2,2	3,5
11	3	1,0122	0,3521	1	2,5	3	6	8
12	5	1,0191	0,5769	1	2,5	3	6	8

Auch bei der durch Hitzeeinwirkung gewonnenen löslichen Stärke muss man starke Polydispersität der Teilchen annehmen, indem auch bei diesem relativ schonenden Verfahren Abbaureaktionen einsetzen können (*Purr*)³⁾; immerhin dürfte die mittlere Teilchengröße beträchtlich grösser wie jene der bisher besprochenen Polysaccharide sein. Was die Teilchenform anbelangt, so werden die Produkte, welche sich vom Amylopektin ableiten, eine gewisse Verzweigung aufweisen, während bei den Amylose-Teilchen *Signer*)⁴⁾ auf Grund ihrer geringen Strömungsdoppelbrechung Mikrosphärite annimmt.

Glykogen, der tierische Kohlenhydratreservestoff, ist ein typisches Sphärokolloid; das Streulicht seiner Lösungen gehorcht genau dem Gesetze von *Rayleigh* und ebenso wird das *Einstein*'sche Gesetz über einen grossen Viskositätsbereich erfüllt. Seine spezifische Viskosi-

¹⁾ *Spühler*, Deut. Arch. klin. Med. **190**, 20 (1942).

²⁾ *Haworth, Hirst und Waine*, Soc. **1935**, 1299.

³⁾ *Purr*, Meth. d. Fermentforschg. **2**, 182 (Leipzig 1940).

⁴⁾ *Signer*, aus *K. H. Meyer*, Die hochpolymeren Verbindungen, S. 375 (Leipzig 1940).

Tabelle 4.

Nr.	Stärke-Konz.	Spez. Gew.	λ_{sp}^{korr}	Senkung der roten Blutkörperchen in mm nach Minuten					
				20° C	10	20	30	40	60
	g %								
13	1	1,0046	0,1895	—	—	—	—	—	—
14	2	1,0084	0,4197	0,4	0,8	1	1,6	4	5,5
15	2+1,3% Gluconsäure	1,0150	0,5049	0,4	0,6	0,8	1	2,5	4,0
16	3	1,0116	0,5592	0,5	1	1,5	2	4,5	6

tät ist ferner abhängig von der Grösse der Solvatation (vgl. *Mohr*¹⁾); nehmen wir mit *Staudinger*²⁾ den Durchschnittspolymerisationsgrad des Glykogens mit 5000 an, so kommen wir auf ein Mol.-Gew. von etwa 900 000. *K. H. Meyer*³⁾ vermutet, dass in Glykogenlösungen die Teilchen eine micellare Aggregation erfahren. Nach *Boehm*⁴⁾ sind Glykogenlösungen in geringer Konzentration strömungsisotrop und lagern sich erst bei höheren Konzentrationen zu länglichen Aggregaten zusammen. In der Glykogen-Makromolekel sind die Glucoseketten ähnlich stark verknäuelte wie die Polypeptidfäden in einem globulären Protein (vgl. *Astbury*)⁵⁾.

Tabelle 5.

Nr.	Glykogen-Konz.	Spez. Gew.	λ_{sp}^{korr}	Glykogenkonz. im Senkungsröhrchen	Senkung der roten Blutkörperchen in mm nach Minuten					
					20° C	10	20	30	40	60
	g %			g %						
17	1	1,0051	0,1330							
18	2	1,0092	0,2316	0,50	0,8	2	4,5	6	10	15
19	2+1,3% Gluconsäure	1,0152	0,3884	0,50	0,5	1,8	3,5	5	8	12
20	3	1,0119	0,4240	0,75	1	2,5	5	7	12	17

Um die Vergleichbarkeit der Blutsenkungswerte zu gewährleisten, wurden die Versuche 1—20 gleichzeitig nach einer einzigen Blutentnahme gemacht; die unbeeinflusste Senkung dieses Normalblutes erscheint unter Versuch 1. Ein Überblick der Ergebnisse zeigt, dass Maltose und Inulin in leicht erhöhter Konzentration die Senkungsgeschwindigkeit hemmen, Dextrin lässt diese unbeeinflusst, die Stärke dagegen erhöht sie leicht und Glykogen noch etwa dreimal stärker.

¹⁾ *Mohr*, Meth. d. Fermentforschg. **3**, 655 (1940 Leipzig).

²⁾ *Staudinger*, Org. Kolloidchemie (Braunschweig 1940), S. 78.

³⁾ *K. H. Meyer*, Die hochpolymeren Verbindungen (Leipzig 1940).

⁴⁾ *Boehm*, Verh. Ver. Schweiz. Physiol., Jan. 1940.

⁵⁾ *Astbury*, Meth. d. Fermentforschg. **3**, 516 (Leipzig 1940).

Somit gelingt dieser stark verzweigten Makromolekel die stärkste Aggregation der Erythrocyten, obwohl die durch die Stärke bedingte Viskositätszunahme grösser ist. Die senkende Wirkung dieser Polysaccharide hängt somit nicht in einfacher Weise von der Viskosität ihrer Lösungen ab, sondern dürfte bestimmt sein durch den Ordnungszustand ihrer Makromolekeln, die Grösse derselben sowie die Wirkungsbereitschaft ihrer Endgruppen.

Es mag erwähnt sein, dass es *Uhlenhuth* und *Remy*¹⁾ gelungen ist, Glykogen so an Aluminiumoxyd-Suspensionen zu fixieren, dass es im Tierversuch antigene Wirkung entfaltet; *Sumner* und *Howell*²⁾ finden, dass Concanavalin A, ein kristallisiertes Globulin mit haemagglutinierender Wirkung, durch Glykogen ausgeflockt wird. Ferner haben *Marrack* und *Carpenter*³⁾ den Einfluss von Pflanzengummipräparaten, welche Glucuronsäure enthalten, auf die Präzipitations-Reaktion von Antipneumokokkus-Typ II-Sera gemessen und aus ihren Ergebnissen den Schluss gezogen, dass diese Uronsäure als determinante Gruppe angesehen werden muss. *Goebel*⁴⁾ und *Tauber*⁵⁾ haben die Glucuronsäure in den Schleimhüllen von Pneumokokken festgestellt, während *Pauli* mit *Szper*⁶⁾ sie im Dextrin und der löslichen Stärke wiederfinden.

Um die Wirkung der Glucuron- und Gluconsäure auf die Aggregation der Erythrocyten kennen zu lernen, machen wir die Versuche, wie sie in Tabelle 6 zusammengestellt sind. Dazu werden Lösungen hergestellt, wie sie unter Ansatz beschrieben sind; je 1 cm³ davon wird in je ein *Linzenmeyer*-Senkungs-Röhrchen pipetiert und darin 35 mg Natriumcitrat gelöst; anschliessend wird mit 3 cm³ Frischblut (Mensch) gut homogenisiert und die Senkung abgelesen.

Tabelle 6.

Nr.	Glykogen		Ansatz:				Senkung der roten Blutkörperchen in mm nach Minuten						
	g %	im Senk.- Röhr. g %	Gluconsäure		Glucuron- säure		10	20	30	40	60	90	120
			g %	im S.-R. g %	g %	im S.-R. g %							
21	—	—	—	—	—	—	—	0,5	0,5	1	3	5	
22	—	—	3,5	0,87	—	—	—	0,5	0,5	0,8	2	3	
23	—	—	—	—	3,5	0,87	—	—	0,5	0,5	0,8	2	3
24	2	0,50	3,5	0,87	—	—	0,5	0,8	1,5	2	4	6,5	10
25	2	0,50	—	—	3,5	0,87	0,5	1	1,5	2	4	6,5	10
26	2	0,50	—	—	—	—	0,8	2	4,5	6	10	15	22

Obige Versuche zeigen, dass Glucon- wie Glucuronsäure die Aggregation der roten Blutkörperchen in ähnlichem Masse hemmen wie die Maltose; ebenso ergeben die Versuche 24—25 eine merkliche

1) *Uhlenhuth* und *Remy*, Z. Immunitätsforschung **92**, 171 (1938).

2) *Sumner* und *Howell*, J. Biol. Chem. **115**, 583 (1936).

3) *Marrack* und *Carpenter*, Brit. J. exptl. Pathol. **19**, 53 (1938).

4) *Goebel*, J. Biol. Chem. **110**, 391 (1935).

5) *Tauber*, J. Biol. Chem. **125**, 191 (1938).

6) *Pauli* und *Szper*, Koll.-Z. **82**, 335 (1938); *Pauli* und *Sternbach*, Helv. **24**, 317 (1941).

Hemmung der Glykogenwirkung und bestätigen damit die Versuche 8, 10, 15 und 19; die zusatzfreie Glykogen-Wirkung wird zum Vergleich in Versuch 26 gemessen. Da sich Glucon- und Glucuronsäure genau gleich verhalten, kann die Wirkung nicht von der Aldehydgruppe der letzteren ausgehen, sondern ist bedingt durch die stark hydrophile Natur der Molekeln und ihre durch die Säuregruppe gesteigerte Reaktionsfähigkeit. Insofern die an der Aggregation beteiligten Substanzen nicht nur mit der äussersten Membranschicht der Erythrocytenhülle reagieren, sondern (vgl. *Winkler* und *Bungenberg*)¹⁾ ebenfalls mit weiter nach innen gelegenen, so wäre mit Diffusionsprozessen zu rechnen; in solchem Falle haben die molekulardispersen Hexonsäuren eine grössere Wirkungsmöglichkeit wie die grosse Makromolekel des Glykogens; damit liesse sich erklären, weshalb die Glykogenwirkung durch die Hexonsäuren auf 40 % herabgesetzt wird.

Einfluss der Wasserstoffionenkonzentration auf gemischte Sole von Gelatine und Glykogen.

Im normalen Blutplasma (Mensch) werden nach *Cullen* und *Van Slyke*²⁾ folgende Werte als obere Grenze betrachtet: 8 g % Gesamtprotein; davon 5,5 g % Albumin, 3,0 g % Globulin und 0,35 g % Fibrinogen. Von dem letzteren, strukturbildenden Eiweisskörper haben *Boehm* und *Signer*³⁾ festgestellt, dass sich die Teilchen zu Fademicellen zusammenlagern und dass die Ultrateilchen (Stäbchen) ähnlich lang sind wie bei der Gelatine. Das war die Voraussetzung, um im Plasmamodell das Fibrinogen durch Gelatine zu ersetzen, sowie die übrigen Proteine von kugelförmiger bis ellipsoider Gestalt durch Glykogen. Mit der Verwendung dieses Polysaccharides musste es sich erweisen, ob die Ähnlichkeit von Gestalt und Ordnungszustand dieser Makromolekeln hinreicht, um eine analoge Wirkung auf die Erythrocyten zu erzielen, ungeachtet ihrer verschiedenen chemischen Zusammensetzung. Im Blutplasma verhält sich mengenmässig das Fibrinogen zu den übrigen Proteinen wie 1 : 24,3; dementsprechend wurden Mischungen untersucht, wo sich Gelatine zu Glykogen wie 1 : 25 verhalten. Werden die Albumine vernachlässigt, da ihnen keine senkende Wirkung zukommt, so stellt sich das Verhältnis von Fibrinogen zu Globulin im Plasma wie 1 : 8,6; deshalb wurde noch die Mischung: Gelatine/Glykogen wie 1 : 4 mitgemessen. Als Puffermischung wird diejenige von *McIlvaine*⁴⁾ verwendet, welche sich in entsprechendem Verhältnis aus 0,1 mol. Citronensäure und 0,2 mol. Dinatriumphosphat zusammensetzt. Die Pufferlösungen werden mit hochohmiger Glaselektrode und Röhrenverstärkungspotentiometer kontrolliert.

¹⁾ *Winkler* und *Bungenberg de Jong*, Arch. Néerl. physiol. **25**, 431, 467 (1940/41).

²⁾ *Cullen* und *van Slyke*, J. Biol. Chem. **41**, 587 (1920).

³⁾ *Boehm* und *Signer*, Klin. Wschr. **11**, 599 (1932); *Boehm*, Bioch. Z. **294**, 325 (1937).

⁴⁾ *McIlvaine*, J. Biol. Chem. **49**, 183 (1921).

Ansatz I enthält 3 cm³ eines gemischten Soles, welches 0,1% Gelatine und 2,5% Glykogen¹⁾ enthält; dazu kommen je 1 cm³ der Puffermischungen. Ansatz II enthält 3 cm³ von 0,5% Gelatine (*Kahlbaum*-Golddruck) und 2,0% Glykogen, nebst 1 cm³ Puffer. Thermostattemperatur 20°; Trübungsmessung im Stufenphotometer mit Mikroküvette (d = 6,5); Spezifisches Gewicht von Ansatz I ist 1,0162; von Ansatz II 1,0082.

Tabelle 7

p _H	Ansatz I (Verh. 1:25)		Ansatz II (Verh. 1:4)	
	Rayleigh-Trübung abs. x 10 ⁻²	λ _{sp} ^{korr}	Rayleigh-Trübung abs. x 10 ⁻²	λ _{sp} ^{korr}
3,4	5,34	0,3224	6,06	0,4512
4,2	5,30	0,3243	6,71	0,5540
4,6	5,26	0,3267	7,11	0,5936
5,0	5,23	0,3296	6,61	0,6301
5,4	5,20	0,3312	6,34	0,6564
6,0	5,17	0,3339	6,23	0,6750
6,6	5,14	0,3351	6,19	0,6800
7,3	5,11	0,3361	6,17	0,6804

Wie zu erwarten war, überwiegt in Ansatz I vollständig der Einfluss des Glykogen; dementsprechend zeigt die Trübung mit steigendem p_H-Wert ein leichtes Absinken, während die Viskosität im beobachteten p_H-Bereich nahezu konstant bleibt. Im Ansatz II, wo 1 Teil Gelatine nur 4 Teile Glykogen gegenüberstehen, zeigt die Trübungskontrolle bei p_H 4,6 ein deutliches Maximum; übereinstimmend damit wurde der I.E.P. der verwendeten Gelatine bei p_H 4,7 gefunden. Entsprechend dem Überwiegen des fibrillären Proteins und seiner wechselnden Hydratation im Ansatz II zeigt die Viskosität eine stärkere Zunahme; dagegen wird im Gebiete von p_H 4,7 ein Minimum der Viskosität nicht messbar; dieselbe zeigt bei den niederen p_H-Werten ein ziemlich rasches Ansteigen, während sich die p_H-Abhängigkeit der Viskosität bei höheren p_H-Werten rasch verflacht.

Neutralsalzeinfluss auf gemischte Sole von Gelatine und Glykogen.

Um die Neutralsalzwirkung auf die hydrophilen Sole wie sie in Ansatz I und II vorliegen, zu messen, wurden molare Lösungen von Natriumsulfat, Natriumcitrat, Natriumacetat, Natriumchlorid und Natriumrhodanid zugegeben. Nachdem überall dasselbe Kation vorhanden ist, ergeben die Messungen einen Vergleich der lyotropen Eigenschaften der Anionen. Zu je 3 cm³ von Ansatz I (Verh. Gelatine/Glykogen wie 1:25) und Ansatz II (Verh. 1:4) kommen 1 cm³ mol. Lösungen obiger Salze; alle Messungen bei 20°.

Die grösste Viskosität bringt Natriumcitrat im Ansatz II; gleichzeitig wird dort die geringste Trübung gemessen, was die Folge der hydrotropen Eigenschaften diese Anions sein dürfte (vgl. *Wunderly*²⁾).

¹⁾ Das Glykogen wurde von der Firma *F. Hoffmann-La Roche & Co.*, Basel, in verdankenswerter Weise zur Verfügung gestellt.

²⁾ *Wunderly*, Koll.-Z. **98**, 76 (1942).

Tabelle 8.

Neutralsalz: mol.	Ansatz I		Ansatz II	
	Rayleigh- Trübungs abs. $\times 10^{-2}$	λ_{sp}^{korr}	Rayleigh- Trübungs abs. $\times 10^{-2}$	λ_{sp}^{korr}
Na ₂ SO ₄	5,67	0,4486	4,56	0,5726
Natriumcitrat	4,34	0,5560	3,78	0,9718
Natriumacetat	4,78	0,4501	4,11	0,8195
NaCl	5,11	0,3233	4,45	0,6878
NaCNS	4,45	0,2677	4,22	0,4471

Die stark lyotropen Ionen Cl' und CNS' vermindern die Hydratation der lyophilen Kolloide und erniedrigen dadurch die Viskosität. Dieser Zusammenhang macht sich im Ansatz II stärker bemerkbar, weil sich hier Schrumpfung resp. Spreizung der Gelatineteilchen im Sinne von *Ettisch* und *Schulz*¹⁾ mehr auswirken. Wenn *Philippoff*²⁾ bemerkt, dass sich Proteine und hochmolekulare Kohlehydrate gegenüber Elektrolytzusatz weitgehend gleich verhalten, so gilt die Voraussetzung, dass man Teilchen ähnlicher Gestalt vergleicht; im vorliegenden Plasmamodell aber ist absichtlich einem fibrillären Protein ein globuläres Polysaccharid gegenübergestellt. Es ist gegeben, dass die mögliche Vertretbarkeit dieser beiden Stoffgruppen bei biologischen Abläufen von weitreichender Bedeutung ist.

Zeitliche Abhängigkeit der Aggregation der Erythrocyten vom Verhältnis der Komponenten im Plasmamodell.

Bei der Beurteilung der Senkungsreaktion durch den Kliniker wird nicht nur der absolute Wert der Senkung etwa nach 1 und 2 Stunden in Betracht gezogen, sondern ebenso sehr der zeitliche Ablauf; denn es hat sich ergeben, dass akute Infekte, welche Fibrinogen- und Globulinvermehrung, Albuminverminderung bringen, die anfängliche Aggregation der Erythrocyten stark beschleunigen, während bei chronischen Entzündungen die Senkung zwar ebenfalls erhöht ist, jedoch zumeist proportional zur Zeit abläuft. Die anschliessenden Versuche mögen zeigen, wie genau sich diese Variationen des Senkungsablaufes mit dem Plasmamodell wiedergeben lassen. Dazu werden 4 gemischte Sole hergestellt, welche Gelatine und Glykogen in folgendem Verhältnis enthalten:

¹⁾ *Ettisch* und *Schulz*, *Bioch. Z.* **239**, 48 (1931).

²⁾ *Philippoff*, *loc. cit.*

Tabelle 9.

Gelatine		Glykogen		Verhältnis	Sol-Nr.
g %	im Senkg.- Röhrchen mg %	g %	im Senkg.- Röhrchen mg %		
0,1	25	4,0	1000	1:40	1
0,1	25	2,5	625	1:25	2
0,5	125	2,0	500	1: 4	3
0,7	150	0,7	150	1: 1	4

Von diesen gemischten Solen wird je 1 cm³ in ein *Linzenmeyer*-Röhrchen pipetiert und noch 35 mg Natriumcitrat darin gelöst. Darauf wird je 3 cm³ Frischblut (Mensch, normal) zufließen gelassen; die während 90 Min. abgelesene Senkung der Erythrocyten ist auf Fig. 1 wiedergegeben, wo Kurve 1 dem Sol 1, Kurve 2 dem Sol 2 etc. entspricht.

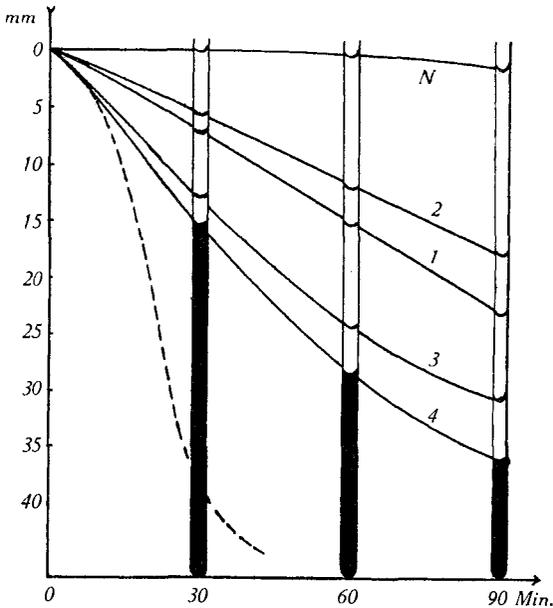


Fig. 1.

Ablauf der Senkung der Erythrocyten in Abhängigkeit von der Konzentration der Modellsbstanz.

Die Kurve N gibt die Standard-Senkung des verwendeten Normalblutes wieder; Kurven 2 und 1 bringen die beschleunigte Senkung als Folge des Glykogenzusatzes; da der Gelatinegehalt in diesen Ansätzen gleich ist, gibt die raschere Senkung von Kurve 1 wie Kurve 2 die Wirkung von 375 mg % Glykogen im Senkungsröhrchen (Volum: 4 cm³) wieder. Der Ablauf beider Kurven verläuft proportional zur Zeit. Sowie jedoch die Gelatine, also die

fibrilläre Komponente erhöht wird, ändert der Kurvencharakter in typischer Weise; die Anfangs-Senkung ist wesentlich beschleunigt (Kurven 3 und 4) und beginnt nach 60 Minuten zu verflachen. Wir erhalten damit den Ablauf wie er typisch ist für akute, ausge dehnte Entzündungen als Folge von Pneumonie, Pleuritis, Polyarthri tis acuta (s. gestrichelte Kurve); werden die Konzentrationen an Ge latine und Glykogen noch erhöht, so gelingt es leicht, auch die ge strichelte Kurve modellmässig zu erzeugen; in der vorliegenden Be trachtung sprachen messtechnische Gründe dagegen, mit der Kon zentration noch höher zu gehen. Die senkungsbeschleunigende Wir kung von Gelatine wurde erstmals 1905 beobachtet durch den Arzt *Brat*¹⁾.

Um zu prüfen, ob in den Mischungen von fibrillärem Protein (Gelatine) und globulärem Polysaccharid (Glykogen) eine Wechselwirkung zustande kommt, werden Viskosität, *Rayleigh*-Streulicht und Depolarisationsgrad zuerst an den reinen Glykogenlösungen ge messen und hernach durch entsprechende Einwage von Gelatine die Sole 1^b—4^b hergestellt.

Tabelle 10.

Sol. Nr.	Gehalt an:		$\lambda_{sp}^{20^\circ}$	Rayleigh-Streulicht abs. $\times 10^{-2}$	Depolarisation			
	Gelatine %	Glykogen %			$100\Delta_U$	$100\Delta_V$	Δ_H	
						gem.	ber.	
1 ^a	—	4	0,4420	42,92	9,24	2,23	4,81	3,23
2 ^a	—	2,5	0,3361	29,91	6,13	1,54	4,93	3,06
3 ^a	—	2,0	0,2430	26,02	5,34	1,40	5,08	2,87
4 ^a	—	0,7	0,1076	13,68	3,27	1,05	5.21	2,15
1 ^b	0,1	4	0,6402	36,81	7,87	2,06	4,39	2,90
2 ^b	0,1	2,5	0,4086	26,24	5,48	1,58	3,93	2,53
3 ^b	0,5	2,0	0,9053	23,24	4,71	1,44	4,20	2,32
4 ^b	0,7	0,7	1,4762	13,57	3,06	0,92	4,11	2,36

Die beim Glykogen gefundenen Werte der Viskosität liegen etwas höher wie diejenigen von *Staudinger* und *Husemann*²⁾; würden in diesen Solen nur ideal kugelförmige, isotrope Teilchen vorliegen, dann müsste $\Delta_H = 0$ sein und in der Tat sehen wir bei den verdünnteren Lösungen wie 4^a, dass sich die Werte 0 nähern. Δ_H gem. ist bei den Solen 1^a—4^a nahezu konstant; da es ebenso sehr von der Teilchen grösse wie von ihrer optischen Anisotropie beeinflusst wird, bestätigt es die gleichbleibende Dispersion im beobachteten Konzentrationsintervall; die Berechnung von Δ_H erfolgt nach der Formel von *Krishnan*³⁾.

¹⁾ *Brat*, Z. klin. Med. **56**, 380 (1905).

²⁾ *Staudinger* und *Huseman*, A. **527**, 193 (1937).

³⁾ *Krishnan*, Koll.-Z. **84**, 2 (1938).

Wird in diesen Glykogensolen noch soviel Gelatine gelöst, dass die Sole 1^b—4^b entstehen, so ergibt sich bei Sol 1^b und 2^b eine Zunahme der Viskosität, die verschieden stark ist. Obwohl in beiden Fällen 0,1 % Gelatine gelöst werden, beträgt die Zunahme der Viskosität von Sol 1^b gegenüber Sol 1^a 45 %, dagegen von Sol 2^b gegenüber Sol 2^a nur 24 %. Es ergibt sich daraus, dass eine Wechselwirkung der beiden Kolloide stattgefunden hat. Über die Art dieser gegenseitigen Beeinflussung gibt uns das Streulicht Auskunft.

Die eine Komponente, die Gelatine, verursacht ein so geringes Streulicht, dass es praktisch vernachlässigt werden kann; es ist dies messtechnisch besonders vorteilhaft, indem nahezu das gesamte Streulicht von den Glykogenteilchen herrührt. Wir bemerken, dass die Sole 1^b gegenüber 1^a und ähnlich 2^b gegenüber 2^a eine gewisse Streulichtabnahme zeigen, d. h. das durchschnittliche Volum der streuenden Teilchen sinkt etwas (Volumkontraktion).

Diese Streulichtabnahme zeigt sich nur bei den höherprozentigen Glykogensolen 1^b—2^b und ist im Sol 4^b nicht mehr vorhanden. Ebenso ist Δ_H von 1^b deutlich höher wie bei Sol 2^b; da das Volumen des Einzelteilchens eher abnimmt, muss man schliessen, dass die Zunahme von Δ_H auf einer grösseren Anisotropie beruht. Die grössere Sperrigkeit des Einzelteilchens erklärt dann auch die oben erwähnte, starke Zunahme der Viskosität. Die Richtkräfte der fibrillären Komponente (Gelatine) führen wahrscheinlich auf Grund einer Linearaggregation der Glykogenteilchen zu einer gewissen Ordnung derselben; die resultierende grössere Anisometrie der Aggregate ersehen wir aus der Zunahme von Δ_H und der Viskosität. Mit den höheren Gelatinekonzentrationen der Sole 3^b und 4^b steigt erwartungsgemäss die Teilchensperrigkeit stark an und bringt höhere Werte von λ_{sp}^{20} .

Temperaturabhängigkeit der Viskosität der Glykogen/ Gelatine-Sole.

Um den Unterschied der kolloiden Eigenschaften von Sphärokolloid (Glykogen) und fibrillärem Protein (Gelatine) in gemischten Solen noch weiter zu kennzeichnen, wird die Temperaturabhängigkeit der Viskosität der Sole 1^b—4^b, Zusammensetzung s. Tabelle 10, gemessen. Dazu wird diese bestimmt bei 32° und 50°; es ergibt sich überall eine Abnahme derselben mit steigender Temperatur, jedoch ist der Temperaturkoeffizient, T.K., der λ_{rel} wesentlich grösser bei den Solen 3^b und 4^b, wo die höheren Gelatinekonzentrationen vorliegen. Um den T.K. in % pro 1° C zu erhalten, benutzen wir folgende Gleichung:

$$\text{T. K.} = 100 \cdot \left(\frac{\lambda_{rel}^{20}}{\lambda_{rel}^t} - 1 \right) \frac{1}{t - 20}$$

Tabelle 11.

Sol.-Nr.	$\lambda_{\text{rel}}^{32^\circ}$	T. K. $20^\circ-32^\circ$	$\lambda_{\text{rel}}^{50^\circ}$	T. K. $20^\circ-50^\circ$
1 ^b	1,503	0,900	1,397	0,387
2 ^b	1,279	0,908	1,248	0,372
3 ^b	1,420	1,110	1,340	0,470
4 ^b	1,408	1,460	1,291	0,637

Dadurch, dass die Viskosität mit steigender Temperatur angenähert hyperbolisch abnimmt, ist es nicht gleichgültig für welchen Temperaturbereich der T.K. bestimmt wird. Aus den Werten von T.K. in Tab. 11 ergibt sich ein rascheres Absinken der Viskosität pro 1° C im Temperaturbereich von 20—32° wie von 32—50°; ob der Beeinflussung der Kolloidteilchen durch die Temperaturerhöhung sich noch eine gleichfalls veränderte Wechselwirkung überlagert, lässt sich aus diesen Daten nicht ersehen.

Bemerkungen zu den Resultaten.

Die vergleichenden Versuche der Beeinflussung der Senkung der roten Blutkörperchen durch verschiedene Polysaccharide haben den Zweck, die Reaktionsweise aufzuklären. Es zeigt sich, dass molekular-disperse Lösungen von Kohlehydraten wirkungslos bleiben, es braucht die grosse Makromolekel des Glykogens, um gut messbare Wirkungen zu erzielen. Diese Wirkung kann gehemmt werden durch den Zusatz von Glucon- oder Glucuronsäure; daraus folgt, dass diese beweglichen, molekulardispersen Stoffe, welchen die Carboxylgruppe zudem noch erhöhte Reaktionsfähigkeit erteilt, sich mit jenen Stellen der Erythrocytenmembran verbinden, welche sonst mit dem Polysaccharid reagieren (Verdrängungsreaktion). Nehmen wir mit *Winkler* und *Bungenberg de Jong*¹⁾ an, dass die äussere Grenzschicht der Erythrocyten aus Phospholipoiden und Cholesterin besteht, so sind die hydrophilen Gruppen dieser Stoffe, wie etwa des Lecithins, mit Wassermolekeln umgeben und erlangen dadurch eine gewisse Wasserlöslichkeit. Fügen wir nun einen Stoff hinzu, dessen Affinität zum Wasser noch bedeutend grösser ist, so wird er sich an die Stelle dieser Wassermolekeln setzen und eine gewisse, lockere Verbindung aufnehmen mit den Phospholipoiden. Sind neben diesen nach *Wolpers*²⁾ auch noch Eiweissfäden in der Membranaussenschicht, so kann man eine Verbindung erwarten mit Seitenketten, welche hydrophile Endgruppen besitzen, also Tyrosin, Serin oder Oxyprolin. Auf die Affinität von Tyrosin zu Polysacchariden hat *v. Przylecki*³⁾ hingewiesen. Die Uronsäuren können auf Grund ihrer Carboxylgruppen ausserdem

¹⁾ loc. cit.

²⁾ *Wolpers*, Klin. Wschr. **21**, 1049 (1942).

³⁾ *v. Przylecki*, Bioch. Z. 281, 420 (1935); Koll.-Z. **79**, 129 1937); **83**, 52 (1938).

salzartige Verbindungen eingehen mit den basischen Endgruppen der Proteine. Die Reaktionsbereitschaft wird bei der Glucuronsäure noch gesteigert durch die endständige Aldehydgruppe und ermöglicht ihr, zusammen mit den übrigen erwähnten Eigenschaften, determinant zu wirken. Wenn wir auf Grund der Versuchsergebnisse den beiden Hexonsäuren eine verdrängende Wirkung zuerkennen, dann ist auch mit der Möglichkeit zu rechnen, dass das stets zugesetzte stark hydrotrope Citrat einen ähnlichen Einfluss ausübt.

Wie die Bausteinanalysen von Gelatine durch *Hunter* und Mitarbeiter¹⁾ sowie *Town*²⁾ ergeben haben, enthält sie nur wenig aromatische Aminosäuren, Serin und Tyrosin fehlen beinahe ganz; infolgedessen besitzt die Gelatine nur eine ganz beschränkte Reaktionsmöglichkeit mit Glykogen. Unsere Messungen zeigen denn auch erst eine geringe Wechselwirkung bei hohen Konzentrationen von Glykogen.

Zusammenfassung.

Die Studien haben zum Ziel, ein Plasma-Modell aufzustellen, welches auf der kombinierten Wirkung eines fibrillären Proteins (Gelatine) und eines globulären Polysaccharids (Glykogen) beruht. Entsprechend dem Verhältnis dieser Komponenten kann der Ablauf der Senkung der Erythrocyten modellmässig beeinflusst werden; dabei werden analoge Verhältnisse zusammengestellt wie sie im Blutplasma, zwischen fibrillärem Protein (Fibrinogen) und den übrigen globulären Proteinen (Globulin und Albumin) bestehen. Auf die Vertretbarkeit von Protein und Polysaccharid bei einer Reihe von biologischen Reaktionen wird hingewiesen.

Als Teilproblem wird die Beeinflussung der Senkung der Erythrocyten durch verschieden konz. Sole von Maltose, Inulin, Dextrin, Stärke und Glykogen gemessen. Die Wirkung dieser Polysaccharide kann durch Glucon- und Glucuronsäure gehemmt werden, was erlaubt, auf den Mechanismus der Senkungsreaktion einzugehen.

Es wird der Einfluss der p_H -Variation im p_H -Bereich 3,4—7,3, ferner der Zusatz von Natriumsulfat, Natriumcitrat, Natriumacetat, Natriumchlorid und Natriumrhodanid sowie der Einfluss der Temperatur auf die Viskosität der Modell-Mischungen beobachtet.

Die gleichzeitige Messung von Viskosität, *Rayleigh*-Streulicht und dessen Depolarisationsgrad erlaubt Aussagen über die Wechselwirkung von Protein und Polysaccharid in Gemischen von bekannter Zusammensetzung.

Medizin. Universitätsklinik Zürich (Dir. Prof. Dr. *W. Löffler*).

¹⁾ *Hunter* und *Pettigrew*, *Enzymologia* **1**, 341 (1936).

²⁾ *Town*, *Biochem. J.* **30**, 1933 (1936).