

Arzngemittel Forsch. 13/10. 913-914 Oct 1963

13. Jahrgang

Reske / Tabakrauch

0071 915

Kaffees nur in geringem Maße nachweisbar; er nahm dagegen deutlich zu nach Applikation eines unbehandelten und eines coffeinfreien Kaffees.

Summary

The Effect of Coffee on Bile Production and Intestinal Motility

In investigations of rats and mice, the effect on bile production and intestinal motility was tested of unprocessed, processed (according to Lendrich*) and caffeine-free coffee as well as of caffeine corresponding in quantity to that found in unprocessed coffee.

The following results were obtained:

1. All types of coffee tested resulted in increased bile production and intestinal motility.
2. This effect was much less marked after administration of unprocessed and caffeine-free coffee (approx. identical values) and least after administration of pure caffeine.
3. In one unprocessed coffee sample, the presence of caffeine accounted for 25% of its effect on bile

* By this is meant the processing method applied to "Idea" Coffee as prepared in the Federal Republic of Germany.

production and for 55% of the effect on intestinal motility.

4. Effects on bile production and intestinal motility not attributable to caffeine were only moderately demonstrable after the administration of coffee processed after Lendrich; they increased substantially, however, after administration of unprocessed as well as caffeine-free coffee.

Literatur

- [1] Apel, G. u. Schenk, V., *Arztl. Forschung* 15, 18 (1961)
- [2] Behrens, B. u. Malorny, G., *Arch. Exp. Path. Pharmacol.* 194, 369 (1960)
- [3] Czok, G. u. Lang, K., *Arzngem.-Forsch.* 11, 545 (1961)
- [4] Czok, G. u. Lang, K., *Klin. Wschr.* 41, 440 (1963)
- [5] Kaden, O. F., *Medizin u. Ernährung* 3, 74 (1962)
- [6] Kiermeier, K. u. Rickerl, E., *ZUL* 100, 441 (1957)
- [7] Klempner, G. u. Rost, E., *Handb. der allg. u. spez. Arzneiverordnungslehre f. Ärzte*, Julius Springer, Berlin 1959, S. 210
- [8] Kühne, P., *Medizin u. Ernährung* 3, 274 (1962)
- [9] Mohr, W. u. Radtke, H., *Unveröffentlichte Versuche*
- [10] Nishimura, H. u. Nakai, K., *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 164, 140 (1960)
- [11] Sondheimer, E., *Arch. Biochem. u. Biophys.* 74, 171 (1958)
- [12] Steffen, H., *Die Medizin. Welt* Nr. 14, 763 (1962)
- [13] DAB, 6, I. Bd. S. 309 (1926)

Für die Verf.: Prof. Dr. Dr. K. Lang, Direktor des Physiologisch-Chemischen Instituts der Universität, 65 Mainz, Saarstr. 21

Aus dem Institut für physikalische Biochemie und Kolloidchemie der Universität Frankfurt am Main

Eiweißschädigung durch Tabakrauch in vitro und ihre Hemmung durch Filter aus reduzierter Wolle

Von Günter Reske

IX-1-23

Unter den zahlreichen, bekannten chemischen Agentien mit tumorinduzierender Wirkung nimmt der Tabakrauch wegen seiner Verwendung als Genussmittel eine Sonderstellung ein. Seit die statistischen Untersuchungen über die Korrelation zwischen der rapide ansteigenden Häufigkeit des Bronchialcarcinoms und dem Zigarettenkonsum durch zuerst von Wynder, Graham u. Croninger [25] durchgeführte tierexperimentelle Arbeiten über die Krebsregung mit Tabakraucher erhärtet wurden, ist die Diskussion über die Ursachen der schädlichen Folgen des Tabakrauchgenusses nicht mehr zur Ruhe gekommen. Trotz umfangreicher Forschungen (s. z.B. Druckrey [5] Wynder [22]) ist es nicht gelungen, eine chemisch einheitliche Komponente etwa der Teerfraktion des Tabakrauchs als Träger der Carcinogenität zu identifizieren. Die bisher im Tabakraucher nachgewiesenen krebserregenden Kohlenwasserstoffe kommen wegen der geringen Mengen mindestens allein als Ursache nicht in Frage. Beim derzeitigen Stand scheint die Tumorinduktion vielmehr durch ein kompliziertes Zusammenwirken verschiedener Einflüsse zustande zu kommen.

Experimentelle Beobachtungen verschiedener Autoren haben gezeigt, daß der Gehalt an Sulfhydrylgruppen in physiologischen Systemen durch Wechselwirkung mit carcinogenen und cocarcinogenen Agentien verändert wird und umgekehrt die Wirkung der schädlichen Agentien durch Sulfhydryl (SH)-Verbindungen gebremst wird (z.B. Di Paola u. Niedbala [2], Schultze [14], Calcutt [1], Emmelot u. Mizraki [4], Schöntal [13], Wood u. Kraynak [21]). Insbesondere ergaben Untersuchungen in vitro an Proteinfermenten mit von SH-Gruppen abhängiger Aktivität (Gaetani [5], Graffi, Kriegel, Schneider u. Sydow [6], Mills u. Wood [9], Rondoni u. Barbieri [10], Rondoni u. Bassi [11]), daß ihre enzymatische Wirkung unter dem Einfluß carcinogener Stoffe gehemmt wird.

Eine entsprechende Untersuchung von Lange [7] hat gezeigt, daß durch Tabakrauchkondensat einige SH-Enzyme irreversibel inaktiviert werden. Diese Arbeit und eine neuere Publikation von Tonge [19] über den Einfluß von Tabakrauchkondensat auf die Luftoxydation von Cystein veranlaßt dazu, über die im folgenden beschriebenen Untersuchungen zur Wirkung des Tabakrauchs auf von SH-Gruppen abhän-

gige Proteinreaktionen zu berichten. Wegen der komplizierten chemischen Zusammensetzung des Tabakrauchs erschien es vorteilhaft, eine SH-Proteinreaktion zu untersuchen, die mit einer physikalischen Methode verfolgt werden kann.

Eine solche Reaktion bietet sich in der Aggregation von β -Lactoglobulin bei seiner Hitzedenaturierung, die über einen SH-Mechanismus verläuft (Stauff u. Uhlein [17], Stauff [15], Stauff, Barthel, Jänicke, Krekel u. Uhlein [16], Stauff u. Uhlein [18]).

Die durch die Aggregation verursachte Änderung der mittleren Teilchengröße bedingt eine entsprechende Änderung der Lichtstreuungsverhältnisse der Proteinlösung, Geschwindigkeit und Ausmaß der Denaturierungsreaktion sind deshalb durch Messung der Intensität des gestreuten Lichts ohne chemischen Eingriff der Beobachtung zugänglich.

Experimentelles Verfahren und theoretische Grundlagen

a) Lichtstreuung

Zur Messung der Änderung der Streulichtintensität erwärmter β -Lactoglobulinlösungen mit der Zeit wurde die nach Stauff, Barthel, Jänicke, Krekel u. Uhlein [16] modifizierte Form der Apparatur benutzt, die von Uhlein u. Stauff [20] in ihren wesentlichen Teilen beschrieben wurde. Die Anordnung gestattet die gleichzeitige Messung des zeitlichen Verlaufs der relativen 90°-Streulichtintensität von 6 Proben. Dabei befindet sich jede Probe (in Küvetten mit quadratischem Querschnitt von 1 cm Kantenlänge) im Abstand von 5 mm je 1 min im Strahlengang. Als Primärstrahlung wurde das durch ein Interferenzfilter (Sohott & Gen) für 436 m μ gefilterte Licht einer Quecksilberdampf-Hochdrucklampe (Typ St 75, Quarzlampegesellschaft Hanau) verwendet.

Zur Prüfung der Wirkung des Tabakrauchs wurden die Bedingungen für die Denaturierungsreaktion (pH, Proteinkonzentration, Temperatur u. Ionenstärke) so gewählt werden, daß das Ausmaß der Reaktion genügend Spielraum gewährte, deutliche quantitative Unterschiede außerhalb der Meßfehlergrenzen zu beobachten. Da bei gleichzeitiger Messung mehrerer Proben pro Stunde 12 Meßpunkte von jeder Lösung aufgenommen werden konnten, sollte die Reaktion nicht in wenigen Minuten ablaufen, sich aber auch nicht über zu lange Zeit hinziehen. Als Bezugssystem geeignet erschien aus diesen Gründen die 90°-Hitzedenaturierung 0,2%iger β -Lactoglobulinlösungen in Phosphatpuffer, pH 7, Ionenstärke 0,1, die in ihren wesentlichen Phasen sich über etwa 90 min erstreckt.

Die Aggregationsgeschwindigkeit von β -Lactoglobulin bei seiner Hitzedenaturierung in gepufferter wässriger Lösung nimmt mit dem Quadrat der Proteinkonzentration zu (Stauff u. Uhlein [17], Stauff u. Mizraki [16]). Der Aggregationsgeschwindigkeit proportional ist die Zunahme der Streulichtintensität S mit der Zeit t (s. Abb. 1 Kurve 1b/c). Folglich ist dort der Quotient aus dem ersten Ableitungen der relativen Streulichtintensität zweier Proteinlösungen verschiedener Konzentrationen nach der Zeit gleich dem Verhältnis der Quadrate der Proteinkonzentration. Die Aggregation des

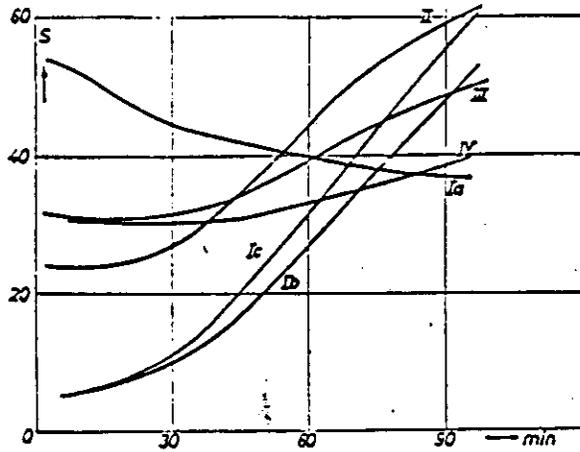


Abb. 1: Relativer zeitlicher Verlauf der 90°-Streulichtintensitäten von β -Lactoglobulinlösungen, 0,2% in Phosphatpuffer der Ionenstärke 0,1, pH 7 bei 80° C nach verschiedener Vorbehandlung von 15 ml Lösung mit ungesüßtem Tabakrauch. Kurve Ia: Lösung mit Rauch einer rasch (in ca. 30 sec) abgerauchten Zigarette behandelt; Kurve Ib: Behandlung analog Ia mit Luft; Kurve Ic: Native Lösung; Kurve II: Lösung mit 4 Zügen Zigarettenrauch (100 mm Wassersäule Druckabfall am Unterdruckreservoir, s. Abb. 2) behandelt; Kurve III: Behandlung mit 8 Zügen analog II; Kurve IV: Behandlung mit 15 Zügen analog II.

Proteins wird durch Zusatz SH-Gruppen blockierender Substanzen gehemmt (Stauff u. Mitarb. [16]). Ein quantitatives Maß für den Grad der Proteinschädigung erhält man durch Vergleich der Denaturierungskurven von vorbehandelten und nicht vorbehandelten Proteinlösungen der gleichen Konzentration C_0 . Unter der in guter Näherung gerechtfertigten Annahme, daß die Steigung der von der mit SH-Blockern versetzten Lösung gelieferten Streulichtkurve dem unbeeinflussten Proteinanteil, also einer scheinbaren kleineren Ausgangskonzentration C , entspricht, erhält man für die prozentuale Proteinschädigung F

$$1. F (\%) = (1 - \frac{C}{C_0}) \times 100 (\%), \text{ wobei}$$

$$2. \frac{C}{C_0} = \sqrt{\frac{dS/d\Omega}{dS_0/d\Omega}}$$

mit den den Konzentrationen entsprechend indizierten relativen Streulichtintensitäten S . Diese Beziehungen gelten analog für Tabakrauch als schädigendes Agens.

Die Pufferlösungen wurden aus analysenreinen Präparaten der F4. Merck, Darmstadt, und bidestilliertem Wasser aus einer Quarzapparatur hergestellt. Das Protein wurde von Pentec Inc., Kankakee, Ill., USA, geliefert.

b) Behandlung der Lösungen mit Tabakrauch

Angesichts der allgemeinen Unsicherheit hinsichtlich der Ursachen der gesundheitsschädlichen Wirkung des Tabakrauchs können zur Zeit quantitative Aussagen über die Qualität verschiedener Tabakrauchsorten nur mit solchen Verfahren gewonnen werden, durch die der integrale Effekt des Tabakrauchs erfasst wird. Der integrale Effekt ist die Summe aus

1. Einflüssen des energetischen Zustandes des Tabakrauchs (angeregte Zustände seiner Komponenten, Temperatur u. ä.).
2. Einflüssen der Aerosolstruktur (Größe und Oberflächenbeschaffenheit der Aerosolpartikel) und
3. Einflüsse der substantiellen Zusammensetzung des Tabakrauchs, die nur hinsichtlich der flüssigen und festen Bestandteile durch Untersuchungen des Kondensats erfasst werden können.

Der Leitgedanke bei der Wahl des Verfahrens zur Applikation des Tabakrauchs auf die Versudlösung war aus diesen Gründen, den Prozedur beim Zigarettenrauchen des Menschen im Rahmen der durch das Modellsystem gegebenen Grenzen so weit wie möglich beizubehalten^{*)}.

Die unter diesen Gesichtspunkten gewählte Versuchs-Anordnung ist in Abb. 2 wiedergegeben. Ein Volumen $V = 2,4$ l wurde auf einen bestimmten Unterdruck gebracht und anschließend durch entsprechende Einstellung der Dreiweghähne 4 und 3 Druckausgleich über die brennende Zigarette hergestellt. Dabei strömte der Rauch entweder durch die vorgelegte Proteinlösung oder durch die zum Vergleich vorgelegte Pufferlösung (Gefäße 4). Die hinter Hahn 3 geschalteten Waschlflaschen mit konzentrierter Schwefelsäure verhindern das Verschnitzen der Pumpe durch den Restrauch.

Vor dem ersten Zug an einer Zigarette wurde zuerst das gesamte Volumen einschließlich der Waschlflaschen bei geschlossenem Hahn 3 auf den Enddruck nach einem Zug eingestellt und anschließend das Unterdruckreservoir V allein bei geschlossenem Hahn 2 auf den Anfangsdruck.

Für die Lichtstreuungsmessungen wurden die berandeten Lösungen wie die Vergleichslösungen durch 30 min Zentrifugieren bei ca. 1500 U/min in einer Phywe-Zentrifuge, Typ Pirouette, gereinigt.

^{*)} In diesem Zusammenhang verdient erwähnt zu werden, daß Untersuchungen über die Wirkung der Inhalation von Tabakrauch auf Versudstoffe von Leuchteuberg u. Leuchteuberg u. Leuchteuberg [8] Dosis-Effekt-Abhängigkeiten ergaben, die sich in charakteristischer Weise von den Ergebnissen der tierexperimentellen Versuche mit Tabakrauchkondensat (man vgl. z. B. Druckroy [3], Wyndor [21]) unterscheiden.

^{**)} Von Langc [7] wurde der Tabakrauch in Phosphatpuffer pH 7,4 aufgefungen. Tonzo [19] hat den Tabakrauch direkt in die Cysteinlösungen eingeleitet.

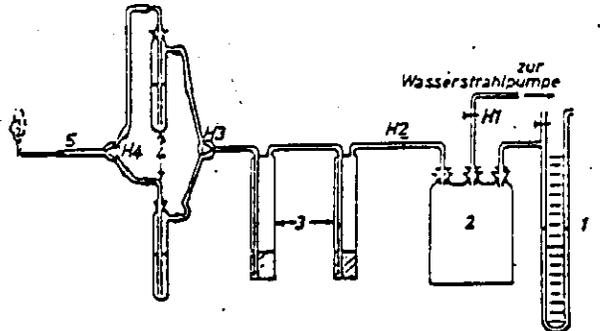


Abb. 2: Apparatur zur Tabakrauchbehandlung der Lösungen. 1: Manometer; 2: Unterdruckreservoir $V = 2,4$ l; 3: Waschlflaschen mit konz. Schwefelsäure zur Vermeidung von Verschnitzung der Pumpe durch Restrauch; 4: Versudlösungen (je 15 ml); 5: Zigarette; 11, 11a, 11b: Dreiweghähne; 11a, 11b: Hähne.

Ergebnisse

In Abb. 3 u. Tab. 1 sind die Ergebnisse einer orientierenden Versuchsserie mit einer handelsüblichen Zigarettensorte ohne Filter dargestellt. Wie daraus ersichtlich, nimmt die Aggregation des Proteins bei seiner Hitzedenaturierung sehr deutlich mit der Zahl der vorher durch die Lösung gesogenen Rauchzüge ab. Gleichzeitig erhöht sich die Streulichtintensität am Anfang. Der Effekt ist stark abhängig von der Abrauchgeschwindigkeit der Zigaretten (Druckabfall im Unterdruckreservoir). So repräsentieren die Kurven I und IV jeweils die Wirkung einer ganzen Zigarette auf die gleiche Lösungsmenge. Bei Versuch IV wurde die Zigarette in 15 Zügen mit 100 mm Wassersäule Druckabfall am Unterdruckreservoir, bei Versuch I in einem einzigen Zug mit der Wasserstrahlpumpe abgeraucht^{*)}.

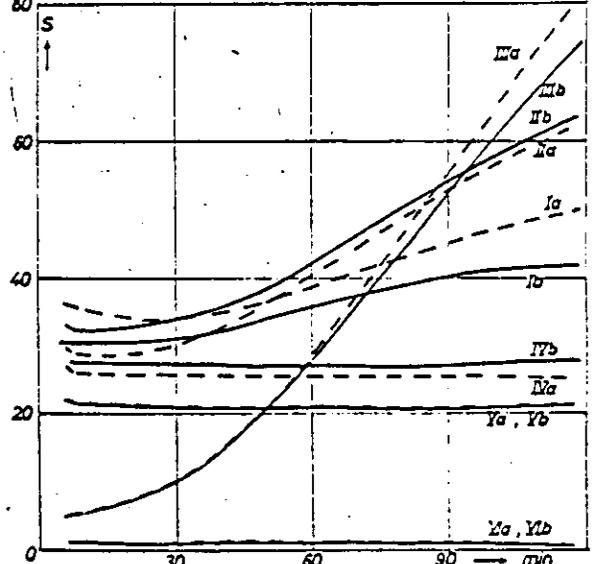


Abb. 3: Relativer zeitlicher Verlauf der 90°-Streulichtintensitäten bei 80° C von β -Lactoglobulin und Pufferlösungen zum Vergleich der Wirkung verschiedener Filter. Versuchsbedingungen für die Behandlung der Lösungen mit Zigarettenrauch: 100-110 mm Wassersäule Druckabfall am Unterdruckreservoir. Je 6 Züge alternierend durch 15 ml Phosphatpuffer, Ionenstärke 0,1, pH 7 zur Bestimmung des Blindwertes und durch 15 ml β -Lactoglobulinlösung, 0,2%. Ia: Zigarette ohne Filter - Proteinlösung. Ib: Zigarette ohne Filter - Pufferlösung. IIa: Zigarette mit Filter - Proteinlösung. IIb: Zigarette mit Filter - Pufferlösung. IIIa: Zigarette ohne Filter - Proteinlösung. IIIb: Zigarette ohne Filter - Pufferlösung. IVa: Zigarette ohne Filter - Proteinlösung. IVb: Zigarette ohne Filter - Pufferlösung. Va und Vb: SH-Filterzigarette - Proteinlösung. VIa und VIb: reine Pufferlösung. Mit gleichen Buchstaben indizierte Kurven wurden gleichzeitig aufgenommen.

^{*)} Bei starkem Berandeten der Lösungen (z. B. Kurve I, Abb. 1) wurde Trübung durch ausgeschiedene Tabakrauchbestandteile beobachtet. Bestimmung der Proteinkonzentrationen mit Biuretreauch nach Fällung mit Trifluoressigsäure zeigten, daß dabei keine Proteinausscheidung stattgefunden hatte.

Tab. 1: Relative Werte von dS/dt und nach Gl. (1) berechnete Werte für die prozentuale Proteinschädigung F_0 0,2%iger β -Lactoglobulinlösungen nach Behandlung mit verschiedenen Mengen Rauch aus Zigaretten ohne Filter (s. Abb. 1).

Versuch Nr.	Zugzahl (100 mm WS) pro 15 ml Lösung	dS/dt	dS_0/dt Proteinlösung nativ	dS_0^*/dt Proteinlösung belüftet	F_0 (%) (berechnet aus dS/dt)	F_0^* (%) (berechnet aus dS_0^*/dt)
I	(1 Zigarette; schnell abgeraucht)	(negativ; keine Aggregation zu beob.)	4,8	4,3	100	100
II	4	3,6	4,6†	4,4† (MW)	11,5	10
III	8	2,0	5,5†	4,5†	40	33
IV	15	1,1	4,7†	4,6†	52	51

† = nicht in Abb. 1 enthalten

Bei nativen Lösungen von β -Lactoglobulin beträgt die Messfehlerschwankung von dS/dt etwa 10%. Zur Prüfung des Einflusses, den das Durchströmen von Gas durch die Proteinlösungen auf die anschließende Denaturierung ausübt, wurde durch einige native β -Lactoglobulinlösungen in analoger Weise wie bei den Zigarettenversuchen Luft geblasen. Im Mittel lagen die Werte von dS/dt bei den belüfteten Lösungen um etwa 10% niedriger als bei den nativen Lösungen. Ein Gang mit der Dauer der Belüftung wurde bei mehr als drei Zügen nicht mehr beobachtet.

Die durch die orientierende Versuchsserie nachgewiesene signifikante Hemmung der von SH-Gruppen abhängigen Wärmeaggregation von β -Lactoglobulin nach der Einwirkung von Tabakrauch auf seine Lösungen legte nahe, zu untersuchen, wie weit diese Hemmung unterbleibt, wenn der Tabakrauch vorher durch Filter geleitet wird, die einen hohen Gehalt an SH-Gruppen besitzen. Als Grundstoff für solche Filter eignet sich in vorzüglicher Weise Wolle, deren zahlreiche Disulfidbrücken nach bekannten Verfahren zu SH-Gruppen reduziert werden können. Für die im folgenden beschriebenen Versuche wurde ein Filtermaterial verwendet^{*)}, das aus Wolle^{**)} durch Reduktion mit Thiohlykolsäure bei pH 8 (nach Schöberl [12] S. 649) gewonnen worden war. Nach der Reduktion wurde das Material mit viel Wasser gewaschen, zur Vermeidung von Rückoxydation im leichten Stickstoffstrom bei 50°C getrocknet und von Hand zu Filtermundstücken von 15 mm Länge verarbeitet. Die Filter wurden mit Tesafilm® an Filterzigaretten einer handelsüblichen Sorte angeklebt, von denen vorher das fabrikmäßige Zelluloseacetatfilter entfernt worden war. Für Vergleichsversuche mit ungefilterten Zigaretten wurde statt des SH-Filters ein gleich langes Stück Zigarettenstrang angeklebt.

Wegen der Abhängigkeit des Effektes von der Zugzahl und der Abrauchgeschwindigkeit wurde bei allen Vergleichsversuchen auf die Einhaltung der gleichen Versuchsbedingungen geachtet: Der Druckabfall am Unterdruckreservoir betrug pro Zug 130–140 mm Wassersäule. Das ergab pro Zigarette 12 Züge. Die Züge wurden alternierend durch 15 ml Protein und 15 ml Pufferlösung (s. Abb. 2) gesogen. Durch die so erzielte Verteilung der je 6 pro Lösung angewendeten Züge über die ganze Zigarettenlänge, wurden die Unterschiede der Rauchbeschaffenheit zwischen der ersten und der zweiten Zigarettenhälfte (man vgl. Wynder [22]) gemittelt. Einschließlich des Zeitbedarfs durch die Manipulationen an der Apparatur entsprach die Dauer des Rauchversuchs etwa der Zeitspanne, die ein Raucher zum Rauchen einer Zigarette benötigt. Die Ergebnisse einiger Versuche sind in Abb. 3 und den Tab. 2 u. 3 dargestellt und zusammengefaßt. Einer Proteinschädigung F_0 von 50 bis 60% durch ungefilterten Zigarettenrauch, die sich bei Verwendung

*) DBP und USP angemeldet.

**) Das verwendete Rohmaterial, gewaschene und gekämmte Schurwolle, wurde freundlicherweise von Herrn J. J. Wetzstein, Kammergarnspinnerei Thüringia, Strinz-Trinitatis ab. Idstein/Ta. zur Verfügung gestellt.

Tab. 2: Vergleichsversuche mit SH-Filterzigaretten gegen Zigaretten mit Zelluloseacetatfiltern oder ohne Filter (Versuche 1 u. 3 in Abb. 3 dargestellt). SH-Filtergewichte: 130–150 mg. ZA-Filtergewichte: 150–160 mg. Proteinschädigung durch Rauch aus Zelluloseacetatfilterzigaretten oder Zigaretten ohne Filter:

$$F_0 = (1 - \sqrt{dS_0/dt / dS/dt}) \times 100 \quad (\text{s. Gl. 1}).$$

Proteinschädigung durch Rauch aus SH-Filterzigaretten:

$$F_1 = (1 - \sqrt{dS_1/dt / dS/dt}) \times 100 \quad (\text{s. Gl. 1}).$$

Verminderung der Proteinschädigung durch das SH-Filter:

$$\Delta F = 100 \times (F_0 - F_1) / F_0 \quad (\text{s. Gl. 3}).$$

Bei den mit * versehenen Größen wurde der Belüftungseffekt bei nativen Proteinlösungen (s. Text) durch Multiplikation der Werte für dS_0/dt mit dem Faktor 0,9 korrigiert.

Versuch Nr.	dS_0/dt ohne Filter	dS_0/dt ZA-Filter	dS_0/dt SH-Filter	dS_0^*/dt Proteinlösung nativ	dS_0^*/dt Proteinlösung korrig.	F_0 (%)	F_1 (%)	F_0^* (%)	F_1^* (%)	ΔF (%)	ΔF^* (%)
1	1,2	—	2,6	5,5	4,9	53	31	51	27	42	47
2	0,8	—	2,9	5,3 (MW)	4,7 (MW)	61	26	59	22	57	63
3	—	1,1	2,5	5,0	4,5	53	29	51	25	45	51

Tab. 3: Vergleichsversuche mit SH-Filtern verschiedener Dichte (Bezeichnungen wie bei Tab. 2).

Versuch-Nr.	Filtergewichte mg	dS_0/dt	dS_0^*/dt	dS_0^*/dt	F_0 (%)	F_0^* (%)
1	145	2,7	5,5	4,9	50	26
2	155	2,2	5,0	4,5	74	30
3	174	3,0	5,3	4,8	25	21

von Celluloseacetatfiltern nicht vermindert, steht unter vergleichbaren Bedingungen eine Schädigung F_1 von nur noch 25 bis 50% durch den über SH-Filter geleiteten Zigarettenrauch gegenüber. Die Verminderung der Schädigung ΔF durch die Filterwirkung ist gegeben durch den Ausdruck

$$\Delta F (\%) = 100 \times (F_0 - F_1) / F_0.$$

Im Mittel erhält man für das SH-Filter $\Delta F = 50\%$ (s. Tab. 2, Spalten 11 u. 12).

Im Bereich der verwendbaren Filterdichten (s. Tab. 3) wurde kein Gang der Proteinschädigung mit dem Filtergewicht und damit mit der Durchlässigkeit beobachtet. Die signifikante Verminderung der Proteinschädigung durch die SH-Filter ist deshalb mindestens nicht allein auf eine stärkere unspezifische Absorption des Filters zurückzuführen, die sich durch die starke Braunfärbung des Filters nach dem Abrauchen bemerkbar macht.*)

Die Vergleichsmessungen an Pufferlösung zeigen, daß eine zeitliche Veränderung der Streulichtintensität durch die solvatisierten Tabakrauchpartikel allein nicht bewirkt wird (s. Abb. 3). Im reinen wässrigen Puffersystem wird der Rauch aus SH-Filterzigaretten in geringerem Umfang solvatisiert als der Rauch aus ungefilterten oder Zelluloseacetatfilterzigaretten. Bei den Proteinlösungen kann auf Grund der Anfangsstreuwerte (s. Abb. 3) kein signifikanter Unterschied der Solvation der verschiedenen Tabakrauchsorten festgestellt werden.

In Abb. 4 ist der Verlauf der Kurven (Versuch 1 aus Tab. 2) aus Abb. 3 nach 14-tägigem Stehen der Lösungen im Kühlschrank dargestellt. Nach eintägigem Stehen ist der Verlauf noch nicht merklich verändert. Er gleicht qualitativ dem der Kurve I aus Abb. 1. Für alle Lösungen ist der relative Wert für dS/dt etwa gleich $-0,5$.

Das gleiche Ergebnis erhält man nach 30 min Stehen der Proteinlösung über durch Ausfrieren in flüssiger Luft aufgefangenem Tabakrauchkondensat, woraus zu schließen ist, daß unter diesen Bedingungen eine Teilchenverkleinerung der solvatisierten Tabakrauchpartikel in der Hitze stattfindet. Unterschiede in der Solvation sind auch bei frischen Lösungen nicht aus-

*) Die mit SH-Filtern ausgestatteten Zigaretten zeichnen sich durch angenehmen Geschmack aus. Unterschiede in der Zugigkeit und im Geschmack zwischen der ersten und der zweiten Zigarettenhälfte wurden nicht beobachtet.

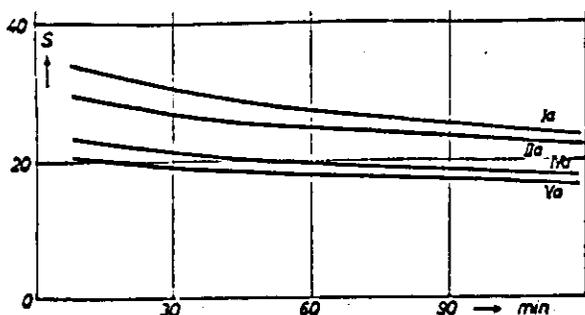


Abb. 4: Relativer zeitlicher Verlauf der 90°-Streulichtintensitäten bei 80° C der Ansätze Ia, IIa, IVa und Va aus Abb. 3 nach längerem Stehen (14 Tage) der zentrifugierten Lösungen im Kühlschrank.

zuschießen, sind dort aber durch die Aggregation des Proteins verdeckt. Betrachtet man die Größenordnung der Effekte, so folgt sofort, daß die signifikanten Ergebnisse in den Tab. 2 u. 3 durch etwaige Unterschiede im Solvationsverhalten ebensowenig entscheidend verändert werden wie durch die Schwankungen der Messergebnisse für die Hitzeaggregation des nativen Proteins.

Zusammenfassung

Die über einen Sulfhydryl (SH)-Mechanismus verlaufende Wärmeaggregation von β -Lactoglobulin in wässriger gepufferter Lösung ist gehemmt, wenn in die Lösungen Zigarettenrauch eingeleitet wurde. Die Größe des Effektes ist abhängig von den Abrauchbedingungen. Ein Einfluß gebräuchlicher Zelluloseacetatfilter wurde nicht beobachtet.

Die Proteinschädigung durch Zigarettenrauch ist unter vergleichbaren Bedingungen bei Filtration des Rauchs über ein an SH-Gruppen reiches Filtermaterial wie reduzierte Wolle um ca. 50% vermindert.

Für sein förderndes Interesse an dieser Arbeit danke ich Herrn Prof. Dr. Joachim Stauff.

Aus dem Klinisch-Chemischen Institut an der Chirurgischen Klinik der Universität München;
Vorstand: Professor Dr. Dr. E. Werle

Der Einfluß von 1-[2-(Benzylcarbamoyl)-äthyl]-2-isonicotinoylhydrazin (Nialamid) auf die Freisetzung von 5-Hydroxytryptamin

Von H. Schievelbein

Die pharmakologisch aktiven biogenen Amine, wie z. B. Adrenalin, Noradrenalin oder 5-Hydroxytryptamin (Serotonin) sind in der Zelle in bestimmten Organellen, den sogenannten Granula, gespeichert. Aus diesen Speicherorten können sie durch physiologische und pharmakologische Reize in das Cytoplasma freigesetzt werden. Erst nach dieser Freisetzung kommt ihre individuelle biologische Aktivität zur Geltung.

Die Menge der freiwerdenden Amine hängt von der Art des entscheidenden Reizes und von der Höhe der Speicherung in den Granula ab. Das Ausmaß der Wirkung der freigesetzten Amine hängt ab von der im Cytoplasma erreichten Konzentration der Amine und von der Geschwindigkeit ihres Abbaus nach der Liberierung. Diese 3 Faktoren können elektiv beeinflusst werden:

1. kann durch Hemmung ihrer Bildung die Speicherung der Amine auf niedrigem Niveau gehalten werden. Dies ist z. B. möglich durch Verwendung von Decarboxylase-Hemmstoffen wie α -Methyl-dihydroxyphenylalanin;
2. kann die Speicherkapazität, d. h. die Speichermöglichkeit der Granula, herabgesetzt werden und
3. kann die enzymatische Inaktivierung der freien Amine durch Hemmstoffe verhindert werden, z. B. im Falle des Serotonins durch Hemmstoffe der Aminoxydase.

Summary

Impairment of Proteins by Tobacco Smoke *in vitro* and its Inhibition by Filters of Processed Wool

Heat aggregation of β -lactoglobulin via a sulfhydryl mechanism in a buffered aqueous solution was inhibited when tobacco smoke was introduced into the solution. The degree of this effect was dependent on the conditions of smoke introduction. No influence from the commonly employed cellulose acetate filters was observed. The inactivation of proteins caused by cigarette smoke under comparable conditions was reduced by approximately 50% when filtering the smoke through material rich in sulfhydryl (SH) groups as washed natural wool treated with reducing agents.

Literatur

- [1] Calcutt, G., Brit. J. Cancer 15, 673 (1961)
- [2] Di Paolo, J. A. u. Niedbala, T. F., Proc. Soc. exp. Biol. N. Y. 96, 273 (1957)
- [3] Druckrey, H., Acta Medica Scand. 170 (Suppl.) 24 (1961)
- [4] Emmelot, P. u. Mirzacki, I. J., Nature (London) 192, 42 (1961)
- [5] Cactani, E., Tumori 52, 165 (1946)
- [6] Graffi, A., Krieger, H., Schneider, E. J. u. Sydow, G., Naturwissenschaften 40, 414 (1953)
- [7] Lange, R., Science 134, 52 (1961)
- [8] Leuchtenberger, C. u. Leuchtenberger, R., Acta Medica Scand. 170 (Suppl.), 102 (1961)
- [9] Mills, G. C. u. Wood, J. L., Cancer Research 15, 69 (1955)
- [10] Rondani, P. u. Barbieri, G. P., Enzymologia 14, 10 (1950)
- [11] Rondani, P. u. Bassi, M., Ricerca scient. 18, 1038 (1948)
- [12] Schöberl, A., Angew. Chem. 70, 946 (1958)
- [13] Schoental, R., Nature (London) 192, 679 (1961)
- [14] Schultz, G., Z. ges. exp. Med. 135, 194 (1960)
- [15] Stauff, J., Kolloid-Z. 146, 48 (1956)
- [16] Stauff, J., Barthel, H., Jasnieke, R., Kreckel, R. u. Uhlein, E., Kolloid-Z. 173, 128 (1961)
- [17] Stauff, J. u. Uhlein, E., Kolloid-Z. 143, 1 (1955)
- [18] Stauff, J. u. Uhlein, E., Biocem. Z. 323, 349 (1958)
- [19] Tonge, B. L., Nature (London) 194, 284 (1962)
- [20] Uhlein, E. u. Stauff, J., Kolloid-Z. 142, 150 (1955)
- [21] Wood, J. L. u. Kravack, M. E., Cancer Res. 13, 358 (1953)
- [22] Wynder, E. L., Acta Medica Scand. 170 (Suppl.), 65 (1961)
- [23] Wynder, E. L., Graham, E. A. u. Croninger, A. B., Cancer Res. 13, 855 (1953)

Anspr. d. Verf.: Dr. G. Reske, Institut für physikalische Biochemie u. Colloidchemie im Institut für physikalische Chemie der Universität, 6 Frankfurt a. M., Robert-Mayer-Str. 11

Die erwähnten Inhibitoren besitzen aber, soweit sie Hydrazine oder Hydrazide sind, Eigenschaften, die vermuten lassen, daß sie sowohl den enzymatischen Abbau als auch die Speicherkapazität für biogene Amine beeinflussen.

Es liegen zahlreiche Untersuchungen über die Beziehungen zwischen der Konzentration von biogenen Aminen und Hemmkörpern der Monoaminoxidase (MO) vor, die Hinweise auf die Beeinflussung der Speicherungsmechanismen durch diese Stoffe enthalten [1-14], doch sind Methodik, Versuchsmodelle und eingesetzte MO-Inhibitoren so verschieden, daß ein Vergleich der Ergebnisse nicht möglich ist. Aus diesen Untersuchungen geht lediglich die Möglichkeit der Blockierung der Freisetzung von biogenen Aminen durch MO-Inhibitoren hervor.

Bei früheren Untersuchungen stellten wir fest, daß Substanzen, die eine Freisetzung von Serotonin bewirken, im gleichen Ausmaß die Speicherung von Serotonin durch Thrombocyten hemmen [15]. Wir möchten daher in Betracht ziehen, daß die „Freisetzung“ von Serotonin auf der Hemmung der Aufnahme beruht.

Nicotin bewirkt eine Freisetzung von Serotonin aus Thrombocyten *in vitro* und *in vivo* und hemmt die Aufnahme von Serotonin durch isolierte Kaninchen-thrombocyten [16, 17]. De Schaepe d'ryver u. Mitarb. [3] konnten die Catecholaminfreisetzung durch Nicotin mit Isonicotinsäureisopropylhydrazid (Ipro-