

Arch. exper. Path. u. Pharmakol., Bd. 220, S. 83—99 (1953).

Aus dem „Merck Institute for Therapeutic Research“ Rahway, N. Y.
und der pharmakol. Abteilung des Mount Sinai Hospitals, N. Y.

Über Hemmungs- und Potenzierungs-Phänomene am quergestreiften Muskel*.

Von

F. P. PICK, H. L. HOLLINCK und G. ZACHARELLIS.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 3. März 1953.)

In einer früheren Mitteilung³⁰ wurde gezeigt, daß der Zusatz von Glutathion und Thiamin zu dem in RINGER-Lösung suspendierten M. Rectus abdominis von Esculenten und Temporarien denselben vor der Kontraktion mit kräftigen Muskelgiften, wie Prostigmin, Ryanodin und Neoarsphenamin schützt. Dabei ergab sich, daß der durch Curare sowie Thiole vorbehandelte Muskel in zweifacher Art mit Acetylcholin reagieren kann: einmal derart, daß durch Zusatz von kleinen, an sich motorisch unwirksam gewordenen Acetylcholindosen (0,1—0,5 γ) der Muskel für nachfolgende *Prostigminbehandlung* und dadurch erzeugte Kontraktion überaus empfindlich wird, andererseits in der Weise, daß Prostigminzusatz, dessen motorische Muskelwirkung durch Curare oder Thiole gehemmt worden war, am Muskel eine hohe Empfindlichkeitssteigerung für *nachfolgend zugesetztes Acetylcholin* bewirkt. Die contractionserregende Muskelwirkung des Prostigmins und seine sensibilisierende Fähigkeit sind demnach voneinander verschieden. Um über diese beiden Empfindlichkeitsphänomene des quergestreiften Muskels und die dabei beobachtete Funktion des Acetylcholins und Prostigmins neue Aufschlüsse zu gewinnen, wurden die folgenden Untersuchungen angestellt. Dieselben beschäftigten sich mit der Einwirkung zahlreicher organischer Substanzen, deren Hemmungseffekt auf die quergestreifte Muskulatur teilweise bekannt war, die aber mit modernen Erregungsmitteln bisher nicht in Verbindung gebracht worden waren.

Methode.

Die hier besprochenen Untersuchungen wurden wie jene vorher (PICK u. TULLIUS³¹, PICK u. HOLLINCK³⁰) am M. rectus von männlichen Esculenten und Temporarien durchgeführt; der in 8 cm³ mit O₂ durchlüfteten RINGER-Lösung bei pH 7,5 in üblicher Weise aufgehängte Muskel schrieb seine Bewegungen mit dem in Gleichgewicht gehaltenen Schreiber an dem berußten Kymographion bei Zimmertemperatur von 24° C.

* Zur Feier des 80. Geburtstages von Professor Dr. OTTO LOEWI in alter Freundschaft und aufrichtiger Verehrung.

Die benützten Pharmaka waren meist hergestellt von Merck u. Co. Inc. in Rahway, N. J., Prostigminmethylsulfat in Lösung von 1:1000 von HOFFMANN-LA ROCHE, Nutley. Die prostigminähnlichen neuen Muskelstimulantien RO 2-3198 (Tensilon) und RO 2-2561 waren lebenswürdigerweise dem einen von uns (E. P. P.) von Dr. LEO A. PIRK der gleichen Firma überlassen, das Tetraäthylpyrophosphat, gelöst in Propylenglykol, war von Victor Chemical Works in Chicago 4, Ill., geliefert worden. Hydro-Stilbamidin verdanken wir Prof. Dr. I. SNAPPER, Synthalin war einem von uns durch Dr. W. GRAUBNER (H. Boehringer's Sohn), Ingelheim a/Rh. und Dr. R. TISLOW der Schering Corp. in Bloomfield, N. J., gütigst überlassen worden; reinstes Paludrin entstammte der Freundlichkeit von Dr. KR. K. CHEN der Lilly Research Labs. in Indianapolis. Für die gütige Unterstützung sind wir allen genannten Herren und Institutionen zum großen Dank verpflichtet.

Als Hemmungsstoffe erwiesen sich 4 verschiedene Gruppen organischer Substanzen am isolierten rectus abd. recht wirksam: 1. neben Acetamid mannigfache aliphatische und aromatische Amidine, 2. Guanidin, Creatin und die Diguanidine Synthalin und Paludrin, 3. Lokalanästhetika wie Cocain, Procain und Magnesiumsulfat und schließlich 4. die schon früher angewandten Thiole Glutathion und Thiamin.

Als Erregungsmittel des durch diese Stoffe gehemmten Muskels dienten die bereits von einer Reihe von Autoren (RANDALL³², RIKER u. WESKOE³³, HOBBIER¹⁹, UNNA u. Mitarb.³⁷) sorgfältig geprüften Prostigmin-Derivate: das 3-Hydroxyphenyltrimethylammoniumbromid (RO 2-2561) und das 3-Hydroxyphenyldimethyläthylammoniumchlorid (RO 2-3198)/Tensilon. Diese beiden als Anticurarestoffe auch am Menschen benützten quaternären Ammoniumbasen sind viel weniger giftig als Prostigmin* und besitzen nach RANDALL nur etwa $\frac{1}{100}$ der Anticholinesterasewirkung des Prostigmins; der geringe muscarinartige Effekt des Tensilons (etwa $\frac{1}{5}$ des Prostigmins) befähigt diesen kurzwirkenden Curare-Antagonisten zum Ersatz des stark vagotropen und die Reizleitung des Herzens blockierenden Prostigmins. Weiter verwendeten wir das Tetraäthylpyrophosphat, eines der stärksten Anticholinesterasen, welches von BURGEM⁴ und von GROB u. HARVEY¹⁶ sowohl experimentell an Tieren, wie therapeutisch an Menschen bei Myasthenia gravis verwendet wurde.

Ergebnisse.

1. Hemmung durch Acetamid und Amidine.

In diese Gruppe gehören neben Acetamid ($\text{CH}_3 \cdot \text{CO} \cdot \text{NH}_2$) und dem Acetamidin $\text{CH}_3 \cdot \text{C} = \text{NH}$

|
 $\text{NH}_2 \cdot \text{HCl}$

eine Reihe aromatischer Amidine, die wertvolle Chemotherapeutika gegen menschliche Trypanomiasis, Kala-Azar, Leishmaniosis, Histoplasma capsulatum und Blastomyces-Dermatitides sind, vor allem das von SNAPPER, LIEBEN u. Mitarb.³⁵ klinisch und experimentell untersuchte *Stilbamidin* und das weniger toxische *2-HO-Stilbamidin* (4-4-diamidinostilben); beide sind nach NACHMAN-SOHN²,²⁶ kräftige Antagonisten der Acetylcholinesterase und sollen nach ihm nicht nur die neuromuskuläre Übertragung wie Curare blockieren, sondern auch die nervöse Leitung im Axenzylinder hemmen.

* Vgl. auch die günstigen Erfahrungen mit Tensilon am Menschen bei A. G. DOUGHTY and W. D. WYLIE: Brit J. Anaesth. **24**, 67 (1952).

Weitere hierher gehörige *Diamidine*, die ebenfalls als Chemotherapeutica gegen Trypanosomen benützt werden, sind *Propamidin*, *Pentamidin* und *Phenamidin*. Nach unseren Untersuchungen hemmen alle diese Amidine wie auch Acetamid die quergestreifte Muskulatur und die von uns benützten Stimulantien Tensilon, RO 2 - 2561, Prostigmin und Tetraäthylpyrophosphat nach einer Einwirkungsdauer von 10—20 min. Die von uns verwendeten Dosen dieser Hemmungstoffe betragen in der Regel 40—50 γ , um 100—200 γ Tensilon oder RO 2—2561, bzw. 50 γ Prostigmin und 100—200—500 γ Tetraäthylpyrophosphat zu neutralisieren; es genügte aber zuweilen von manchen Diamidinen Dosen von 2—10 γ , wie z. B. von HO-Stilbamidin, um die obigen Muskel-Stimulantien zu hemmen.

Bemerkenswert ist, daß HO-Stilbamidin und die übrigen Amidine ähnlich wie d-Tubocurarin auch die Acetylcholincontraction hemmen, aber dadurch dem gehemmten Muskeleine hohe Empfindlichkeit für den nachfolgenden Zusatz eines der sonst gehemmten Muskel-Stimulantien verleihen. Umgekehrt veranlassen die von diesen Amidinen gehemmten Muskel-Stimulantien für eine nachfolgende, am unvorbehandelten Muskel unwirksame Acetylcholin- oder Kaliumchlorid-Dosis eine derartig hohe Empfindlichkeit, daß die vorherige

Hemmung nunmehr von einer maximalen Acetylcholin- oder KCl-Muskelcontraktion abgelöst wird. Als Beispiel mag hier angeführt sein, daß ein mit HO-Stilbamidin oder Phenamidin vergifteter Froschmuskel imstande ist, das stark wirksame Erregungsmittel Tetraäthylpyrophosphat in Mengen von 500 γ an der Erzeugung von Kontraktion und Kontraktur zu verhindern und trotzdem den Muskel 15 min später für 2 γ Acetylcholin hochempfindlich zu machen; andererseits ist eine Vorbehandlung des mit den genannten Diamidinen gehemmten Muskels mit an sich für eine Contraction unwirksamen Mengen von 0,1 γ — 2 γ Acetylcholin genügend, um den bis dahin erschlafften Muskel für einen Zusatz der gleichen Dose Tetraäthylpyrophosphat rasch zu einer kräftigen Kontraktion zu bringen, wiewohl dieselbe Menge des Stimulans bei dem mit Acetylcholin unvorbehandelten Muskel völlig versagt hat (vgl. Abb. 1, sowie Versuchsprotokolle 2 und 3, bei denen der Kurvenverlauf sehr ähnlich war, wie auf Abb. 1). Diese Beispiele, die noch später ausführlicher

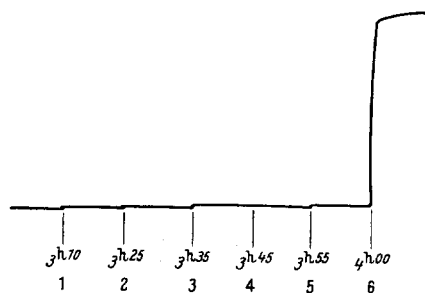


Abb. 1. Versuch 1: Hemmung von *Tetraäthylpyrophosphat* durch *Propamidin* und *Sensibilisierung* von *Acetylcholin* durch den motorisch gehemmten Erreger. Bei 1 40 γ Propamidin, 15 min später bei 2 500 γ Tetraäthylpyrophosphat: völlige motorische Hemmung durch 35 min; hier bei 6 5 γ Acetylcholin mit sehr kräftiger, bei RINGER-Wechsel teilweise reversibler Kontraktion in 5 min.

besprochen werden sollen, zeigen den entscheidenden Einfluß der kleinsten Acetylcholinmengen für die Muskelkontraktion und den Muskelstoffwechsel scheinbar unabhängig von der chemischen Natur des Hemmungsgiftes.

Versuch 2: Hemmung von *Tetraäthylpyrophosphat* durch *Phenamidin* und Potenzierung des Acetylcholins durch das gehemmte Tetraäthylpyrophosphat.

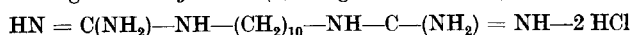
Zusatz von 10 γ Phenamidinchlorhydrat ohne Wirkung, 10 min später 500 γ Tetraäthylpyrophosphat, dessen Wirkung durch 32 min gehemmt bleibt, bis das dann zugesetzte, durch das gehemmte Tetraäthylpyrophosphat potenzierte Acetylcholin (2 γ) eine starke, durch RINGER-Wechsel teilweise reversible Muskelkontraktion hervorruft.

Versuch 3: Hemmung des *Tetraäthylpyrophosphats* durch *2-Hydro-Stilbamidin* und Potenzierung des *Acetylcholins* durch das gehemmte Tetraäthylpyrophosphat. Zunächst 40 γ Hydro-Stilbamidin, 15 min später 500 γ Tetraäthylpyrophosphat, das durch weitere 15 min gehemmt bleibt, aber das dann zugesetzte Acetylcholin (2 γ) zu einer sehr kräftigen, irreversiblen Muskelkontraktur erregt.

2. Hemmung durch Guanidin, Creatin und die Diguandine Synthalin und Paludrin.

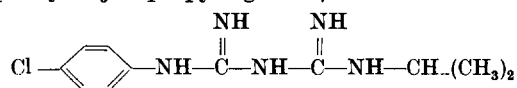
Daß Guanidin den quergestreiften Muskel für Acetylcholin bedeutend steigert und den isolierten Froschmuskel in der Konzentration von 0,2% curareähnlich lähmt, ist bereits vor langer Zeit durch E. FRANK, NOTHMANN u. GUTTMANN¹³ festgestellt worden; die Besserung der neuerdings beobachteten Muskelfunktion bei Myasthenia gravis (siehe MINOT, DODD u. RIVEN²⁵, HARVEY¹⁸) durch Darreichung von Guanidin ist deswegen in unseren nachfolgend berichteten Versuchen von Interesse, weil diese Steigerung der Muskelfunktion auf eine Sensibilisierung durch Acetylcholin zurückgeführt wird, wiewohl Guanidin keine Anticholinesterase ist. Es darf daher angenommen werden, daß auch in unseren Versuchen dort, wo es sich um den mit Guanidin gehemmten und mit scheinbar unwirksamen Acetylcholidosen sensibilisierten Muskel handelt, so daß die Muskel-Erregungsmittel wieder kräftige Kontraktionen herbeiführen können, nicht um eine durch Anticholinesterase im Muskel freigewordene Acetylcholinmenge handelt; ebensowenig wahrscheinlich mag es sein, daß die schwachen und überdies durch Guanidin gehemmten Anticholinesterasen Tensilon und RO 2-2561 den mit Guanidin vergifteten Muskel auf diesem Wege für Acetylcholin hochempfindlich machen.

Auch das Diguandin *Synthalin* (1,10-diguandino-decan)



ist seit lange sorgfältigen Untersuchungen durch FRANK, NOTHMANN u. WAGNER¹⁴ unterworfen worden als Insulinersatz und Hemmungstoff der Leberglykogenbildung bei Hypoglykämie und dabei anwachsender Bildung und Ausscheidung der Milchsäure, die übrigens auch bei Darreichung von Guanidin auf das 10fache ansteigt. Gleichzeitig hemmt Synthalin die Aminooxydase und die Desaminofunktion der Leber, wodurch eine ansehnliche Ausscheidung des Aminostickstoffes manchmal auftritt. Nach JUNKMANN³⁶ und STAUB^{36a} schädigt Synthalin die Atmung der Muskelzellen und daher auch die Resynthese der Milchsäure zu Glykogen; eine ähnliche Störung in dem Sauerstoffverbrauch des quergestreiften Muskels durch Guanidin und verschiedene Harnstoffderivate ist von GRANT u. KRANTZ¹⁵ beobachtet worden. Es mag hier schließlich bemerkt werden, daß LOURIE u. YORKE²⁸ auf Grund der eben erwähnten Wirkungen vermuteten, daß dem Synthalin und den verwandten Diguandinen trypanocide Eigenschaften innewohnen.

Unsere Versuche zeigten, daß neben Synthalin auch *Paludrin* (N_1 -p-chlorophenyl- N_5 -isopropylbiguanid)



oder Chlorguanid, das vortreffliche Antimalariamittel, sogar schon in kleinen Dosen von 3γ — 5γ — 10γ die erregenden Dosen von Prostigmin, Tensilon, RO 2 - 2561 und Tetraäthylpyrophosphat in ähnlicher Weise hemmen, wie Guanidin-HCl und Creatin-HCl. Gleich dem Guanidin-hydrochlorid, wurden auch die mit den übrigen Guanidin-Derivaten *Creatin-Hydrochlorid*, *Synthalin* und *Paludrin* gehemmten Muskel durch schwache Zusätze von $0,1 \gamma$ — $0,5 \gamma$ Acetylcholin für nachfolgende,

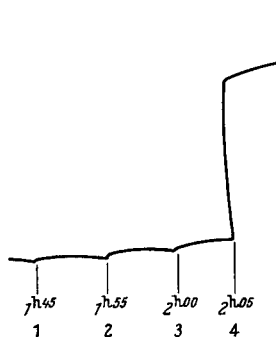


Abb. 2.

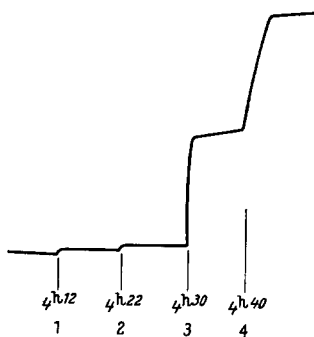


Abb. 3.

Abb. 2. Versuch 5: Hemmung von *Tensilon* durch *Guanidinchlorid* und *Sensibilisierung* des gehemmten *Tensilons* für *KCl*. Bei $1 \text{ } 30 \gamma$ Guanidinhydrochlorid, 10 min später bei $2 \text{ } 5 \text{ mg}$ *KCl* und 5 min nachher bei $3 \text{ } 200 \gamma$ *Tensilon*: beide bleiben motorisch unwirksam. *Tensilon* sensibilisiert, wiewohl selbst gehemmt, den Muskel für 5 mg *KCl*, die bei 4 dem Muskel zugesetzt, ihn in den nächsten Minuten in reversible Kontraktion versetzen.

Abb. 3. Versuch 8: Hemmung von Acetylcholin durch *Synthalin* und *Sensibilisierung* des motorisch unwirksamen Acetylcholins für *Prostigmin*. Bei $1 \text{ } 20 \gamma$ *Synthalin*, dem 10 min später der Zusatz von 2γ Acetylcholin bei 2 folgte; dieser bleibt motorisch unwirksam, sensibilisiert aber den gehemmten Muskel für 50γ *Prostigmin* bei 3 : starke Muskel-Kontraktion in den nächsten 10 min (bei 4).

sonst der Hemmung unterliegende Erregungsmittel sensibilisiert, die wieder ihrerseits selbst im gehemmten Zustande und im gehemmten Muskel eine derartige Potenzierung für Acetylcholin erzeugen, daß die kleinen Acetylcholidosen rasch eine kräftige Muskelkontraktion bewirken (vgl. die Abb. 2 und 3, sowie Versuchsbeispiele 4, 6 und 7).

Versuch 4: Hemmung von *Tetraäthylpyrophosphat* durch *Guanidin* und *Sensibilisierung* durch motorisch völlig gehemmtes *Tetraäthylpyrophosphat* für *Acetylcholin*.

Zusatz von 50γ Guanidinchlorid (ohne Wirkung), 10 min später 100γ *Tetraäthylpyrophosphat*. Nach 25 min wird der voll gehemmte Muskel mit 2γ Acetylcholin versetzt; es folgt in 2 min eine kräftige irreversible Muskelkontraktur.

Versuch 6: Hemmung von Acetylcholin durch *Guanidin* und *Sensibilisierung* durch gehemmtes Acetylcholin für *Tetraäthylpyrophosphat*.

Explore Litigation Insights

Docket Alarm provides insights to develop a more informed litigation strategy and the peace of mind of knowing you're on top of things.

Real-Time Litigation Alerts



Keep your litigation team up-to-date with **real-time alerts** and advanced team management tools built for the enterprise, all while greatly reducing PACER spend.

Our comprehensive service means we can handle Federal, State, and Administrative courts across the country.

Advanced Docket Research



With over 230 million records, Docket Alarm's cloud-native docket research platform finds what other services can't. Coverage includes Federal, State, plus PTAB, TTAB, ITC and NLRB decisions, all in one place.

Identify arguments that have been successful in the past with full text, pinpoint searching. Link to case law cited within any court document via Fastcase.

Analytics At Your Fingertips



Learn what happened the last time a particular judge, opposing counsel or company faced cases similar to yours.

Advanced out-of-the-box PTAB and TTAB analytics are always at your fingertips.

API

Docket Alarm offers a powerful API (application programming interface) to developers that want to integrate case filings into their apps.

LAW FIRMS

Build custom dashboards for your attorneys and clients with live data direct from the court.

Automate many repetitive legal tasks like conflict checks, document management, and marketing.

FINANCIAL INSTITUTIONS

Litigation and bankruptcy checks for companies and debtors.

E-DISCOVERY AND LEGAL VENDORS

Sync your system to PACER to automate legal marketing.