

# Hydratwasseraustausch und Alkanol-induzierte Molekulare Umordnungen an Kollagen\*

## Exchange of the Structural Water of Collagen and Alcanol-Induced Molecular Rearrangement

Th. Nemetschek, E. Knörzer, W. Folkhard, W. Geerken, K. Jelinek, C. Kuhlemann, E. Mosler und H. Nemetschek-Gansler

Pathologisches Institut der Universität Heidelberg, Abteilung für Ultrastrukturforschung, Im Neuenheimer Feld 326, D-6900 Heidelberg

Z. Naturforsch. **38c**, 815–828 (1983); received July 8, 1983

Alcanol, Collagen, Long-Spacing, Small Angle X-Ray Diffraction, Synchrotron-Radiation

The exchange of the structural water of collagen for alcanols was investigated using X-ray diffraction combined with mechanical measurements.

The stepwise dehydration with methanol, ethanol or 1-propanol is reflected by the reversible loss of the characteristic equatorial reflexions of native rat tail tendons.

The exchange for 1-alcanols in ascending homologous order is characterized by:

1. an increase in the distance between the axes of the triple helices depending on the number of carbon atoms of the alkyl chain,
2. a shortening of the long-spacing of 67 nm characteristic of native collagen and
3. the herewith correlated increase in tension on isometrically measured fibres.

The stepwise dehydration with 2-propanol leads first to a loss of the equatorial reflexions that are characteristic of native collagen, then to their reappearance at smaller diffraction angles. The exchange for 2-alcanols in ascending homologous order is characterized by:

1. a splitted equatorial reflexion at  $4.1 \pm 0.1$  nm, that stays constant up to 2-nonanol, and moves to  $4.8-5.0 \pm 0.1$  nm with more than 9 carbon atoms in the alkyl chain,
2. a shortening of the long spacing of 67 nm characteristic of native collagen and
3. the herewith correlated increase in tension on isometrically measured fibres.

Stereochemical requirements are discussed as well as consequences for the structural model of collagen.

### Einleitung

Schon Szent-Györgi [1] hat die Auffassung vertreten, daß dem Wasser im biologischen Geschehen nicht nur die Funktion eines Lösungsmittels oder gelegentlichen Reaktionspartners zukommt, sondern daß dieses auch als tragender Bestandteil von Biostrukturen anzusehen ist. So zeigen z. B. nativ-feuchte Kollagenfasern ebenso wie wasserfeuchte DNS-Fasern im Röntgenbeugungsdiagramm einen höheren Ordnungszustand als dehydratisierte Objekte [2–4]. Entsprechend führt eine Rehydratisierung von Kollagen unter geeigneten Bedingungen zum Ordnungszustand nativ-feuchter Fasern zurück [5]. Als kooperativ mittragende Elemente dieser Proteinstruktur werden über H-Bindungen verknüpfte Wasserbrücken angesehen, wie sie rönt-

genographisch und mit Hilfe von Kernresonanzmessungen [6–10] wahrscheinlich gemacht werden konnten. Kettenartige Wasserassoziate dürften dabei in der Dreierschraubenstruktur des Kollagens günstige stereochemische Bedingungen finden, um sich wie an einer Schablone aufzureihen. Am Raummodell läßt sich zeigen, daß hierbei Acceptor- und Donator-Gruppen der  $\alpha$ -Ketten geeignete Anknüpfungspunkte darstellen und ohne Schwierigkeit in diese Grenzflächen-Wasserstruktur miteinbezogen werden können.

Dem Konzept dieser Studie liegt somit die Prämisse zugrunde, daß Proteinstrukturen nicht nur durch Wechselwirkungen zwischen den Atomgruppen der Polypeptidketten, sondern auch durch Wechselwirkungen dieser Ketten mit ihrer Umgebung beeinflusst werden. Es war davon auszugehen, daß jede Einwirkung auf die Hydratwasserstruktur und entsprechend ein Hydratwasseraustausch durch andere geeignete Moleküle Auswirkungen auf die Molekularstruktur von Kollagen

\* Herrn Professor Wilhelm Doerr gewidmet.

Reprint requests to Prof. Dr. Th. Nemetschek.

0341-0382/83/0900-0815 \$ 01.30/0

haben würde [11]. Es erscheint dabei besonders vorteilhaft, die zu erwartenden komplexen Abläufe sowohl in Röntgen- als auch in Spannungs-Zeit-Diagrammen [12] zu erfassen.

## Material und Methoden

Als *Untersuchungsmaterial* dienten Fasern aus Schwanzsehnen von Ratten unterschiedlichen Alters. Der *nativ-feuchte Zustand* der Fasern wurde bei 4 °C in Blutersatzflüssigkeiten (Ringerlösung oder Haemacel) aufrechterhalten. Als Kriterium für die ungestörte Struktur dieser Fasern diente das Röntgen-Kleinwinkeldiagramm mit den für diesen Ordnungszustand charakteristischen Äquatorialreflexen [2, 3].

Als *Indikator für molekulare Deformationen* dienten die meridionalen Kleinwinkelspektren mit der für natives Kollagen charakteristischen Langperiode von 67 nm. Langperiodenänderungen stellen dabei eine sichere Anzeige erfolgter Einwirkungen auf die Dreierschraubenkonformation [13] dar.

*Dehydratisierung* erfolgte durch stufenweisen Wasseraustausch gegen Methanol, Äthanol oder 2-Propanol in aufsteigender Konzentrationsreihe an sorgfältig ausgesuchten nativen Fasern, die in gestrecktem Zustand zwischen den Haltehaken einer Küvette [14] befestigt waren. Die Fasern konnten durch Fenster aus 6 µm dicken Hostaphan-R6®-Folien beobachtet werden, die zugleich auch als Fenster für den Röntgenstrahl dienten. Der mit dem H<sub>2</sub>O-Austausch korrelierte Spannungsanstieg an isometrisch vermessenen Fasern bzw. das Erreichen eines konstanten Wertes diente als Anzeige für einen abgeschlossenen Austausch. Je nach Faserdicke war dieser nach mehrmaligem Wechsel des absoluten Alkanols innerhalb von 3–4 h erreicht. Unabhängig davon blieben die Fasern im allgemeinen bis zum Beginn einer Meßreihe für mehrere Tage unter überschüssigem absolutem Alkanol.

Der *Eintausch* langkettiger Alkanole erfolgte in aufsteigender homologer Reihe an dehydratisierten Fasern. Die Alkanole waren Produkte der Firmen: BRITISH DRUGHOUSE LTD., FLUKA, MERCK und SCHUCHARDT, in der jeweils vorhandenen höchsten Reinheit und mit niedrigstem H<sub>2</sub>O-Gehalt. Unmittelbar vor dem Einsatz wurden die Alkanole, so erforderlich, über ein 0,3 nm Molekularsieb (MERCK) nachgetrocknet.

Die Austauschzeiten sind aus [11] bzw. aus den Spannungs-Zeit-Diagrammen zu entnehmen.

Die *Spannungs-Zeit-Diagramme* wurden unter Verwendung der o.a. Küvette und der beschriebenen elektronischen Meßanordnungen [14, 15] aufgezeichnet. Zu Beginn einer jeden Messung wurden die Fasern konditioniert [14].

Zur *zyklischen Spannungsmessung* wurden die Fasern im Verlauf von 10 min auf  $\sigma_0$  entlastet und danach der Alkanolaustausch vollzogen. Die Entlastungszeiten wurden mit Rücksicht auf die Realisierung geschlossener Meßreihen (ab Abb. 6) konstant gehalten, wiewohl beim Eintausch von 1-Alkanolen mit >6 C-Atomen in der Alkylkette ein bleibender spannungsfreier Zustand erst nach mehrmaligem Entlasten der Fasern, d.h. erst nach verlängerten Austauschzeiten, zu erreichen war (s. a. Abb. 5a). Zur *Berechnung der Spannung*  $\sigma = F/A$  aus der gemessenen Kraft  $F$  benötigt man den Faserquerschnitt  $A = (F/\epsilon) \cdot (1/E) = S \cdot (1/E)$ , der aus der Steigung  $S$  des Zug-Dehnungs-Diagramms und dem altersabhängigen  $E$ -Modul  $E$  [14] für die native Ausgangsfaser ermittelt wird. Damit ist  $\sigma = F/A = F \cdot (E/S)$  und bezieht sich, wie bei viskoelastischen Stoffen üblich, auf den Faserquerschnitt zu Versuchsbeginn.

*Beugungsdiagramme* wurden unter Verwendung der CuK $\alpha$ -Strahlung von Hochleistungsröhren mit Hilfe von Kiessig- und Kratky-Kammern auf Osray M3-DW-Film (Gevaert) registriert. Die Kiessig-Kammern wurden unter Helium gehalten. Abstand Objekt–Film: 51,5, 100, 200 und 400 mm bzw. 233 mm bei der Kratky-Kammer. Die Objekte befanden sich entweder in der Universalküvette unter den jeweiligen Alkanolen bei vertikaler Faserausrichtung mit dem Flüssigkeitsspiegel unterhalb des Röntgenstrahleintritts oder alkanolfeucht in dünnwandigen zugeschmolzenen Glaskapillaren (Markröhrchen).

Meridionale *Kurzzeitbeugungsspektren* wurden unter Einsatz der Synchrotronstrahlung am Speicherring DORIS (DESY/Hamburg) unter Verwendung der Kleinwinkelkammer X 13 [16] und eines orts-empfindlichen Detektors mit einer Argon/CO<sub>2</sub>-Füllung [17] registriert. Auf diese Weise wurde das Kleinwinkelspektrum von der 1. bis 9. bzw. 1. bis 7. Ordnung gleichzeitig registriert, wodurch Schwankungen der Primärintensität keinen Einfluß auf die relativen Reflexintensitäten haben. Die Meßzeiten lagen zwischen 15 und 60 s.

Die Primärintensität wurde vor jeder Messung mittels einer Gaskammer gemessen und zur Normierung der Spektren verwendet. Zur Auswertung wurde eine Methode zur Anpassung der Beugungsspektren durch eine nicht-lineare Regressionsanalyse [18] eingesetzt, die eine Glättung der Kurven, den Abzug des Untergrundes und eine Berechnung der Flächen unter den Peaks beinhaltet mit einer Peakortbestimmung von 0,3% Genauigkeit. Die zur *Fourier-Synthese* benutzten Strukturparameter wurden aus der Quadratwurzel der Flächen unter den ersten neuen Ordnungen der Langperiodenreflexe bestimmt; die Elektronendichteverteilung wurde unter Verwendung der von Hulmes *et al.* [19] angegebenen Phasen ermittelt.

## Ergebnisse

### Dehydratisierung

Der Austausch des Hydratwassers von Kollagen durch Alkanole steht im Vordergrund dieser Betrachtungen, da er die Grundlage ist für das zu besprechende Versuchsmodell Alkanol-induzierter Abläufe [20]. Der Wasseraustausch durch einen kurzkettigen Alkanol mußte dabei stufenweise in aufsteigender Konzentration erfolgen. Dieser Vorgang wurde zeitaufgelöst mit Hilfe der Röntgenbeugung analysiert. In Abb. 1 sind einige meridionale Kleinwinkelspektren aus einer größeren Meßreihe zusammengestellt. Verwendet wurde jeweils das letzte Spektrum aus einer Meßserie, die für jede Alkanolkonzentration 20 min dauerte und aus 10 Aufzeichnungen von je 60 s bestand. Man findet zunächst beim Eintauch des 25prozentigen (v/v) Äthanol eine geringe Intensitätsabnahme einiger Reflexe, die in Abb. 1 wegen des gewählten Verkleinerungsmaßstabes kaum sichtbar ist.

Bei höheren Alkanolkonzentrationen ist ein Intensitätsanstieg zu verzeichnen.

Die für Kollagen charakteristische Langperiode von 67 nm erfährt mit ansteigender Äthanolkonzentration einen linearen Abfall bis auf  $66,4 \pm 0,2$  nm.

Die Elektronendichte in axialer Richtung wurde aus den für den Untergrund korrigierten Reflexamplituden berechnet und ist in Abb. 2 wiedergegeben. Das Ansteigen der gesamten Elektronendichte mit steigender Äthanolkonzentration ist aus der niedrigen Elektronendichte des Alkanols im Vergleich zu Wasser bzw. Ringer zu erklären. Die

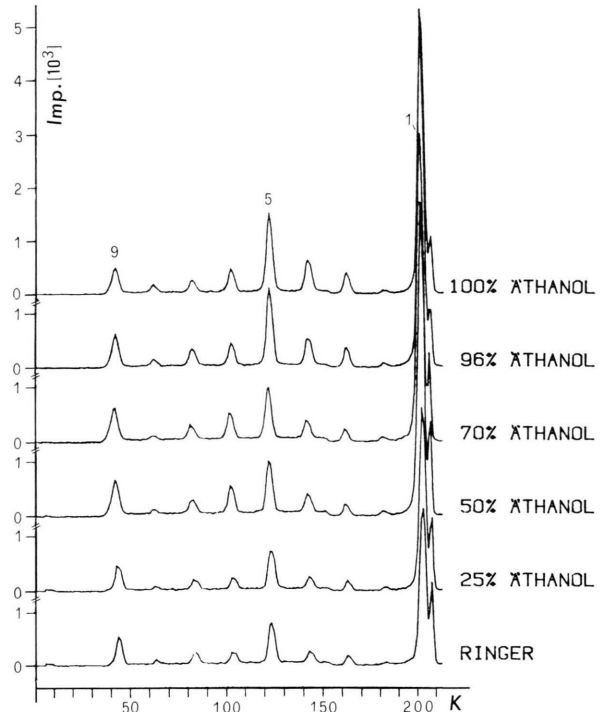


Abb. 1. Meridionale Kurzzeitbeugungsspektren einer stufenweise dehydratisierten 11 Monate alten Faser aus Rattenschwanzsehne. Die Ordinate gibt die mit dem ortsempfindlichen Zähler registrierte Anzahl der Impulse pro Kanal (K) wieder. Vor der 1. bis 3. Ordnung des Kleinwinkelreflexes befand sich ein Filter, der die Intensität um den Faktor 5 abschwächte. Die Spektren sind auf die Absorption durch die Flüssigkeit in der Küvette und die Intensität des Primärstrahls korrigiert. Meßzeit: 60 s.

Beugungsdiagramme, aus denen die Differenz-Fourier-Synthese von Abb. 3 berechnet wurde, wurden anhand der 1. Ordnung skaliert und die Elektronendichte-Differenz jeweils aus dem Kleinwinkelspektrum einer ringerfeuchten Bezugsfaser und dem einer stufenweise dehydratisierten Faser berechnet. Man erkennt zunächst eine relative Dichteabnahme innerhalb der polaren Bereiche. Diese entsprechen den als Balken eingetragenen Ladungsschwerpunkten einer im Elektronenmikroskop dargestellten quergestreiften Fibrille.

### Durch 1-Alkanole induzierte molekulare Umordnungen

Bei der stufenweise Dehydratisierung der Objekte über Äthanol kommt es bereits nach Austausch des 70prozentigen (v/v) durch 75prozentigen (v/v) Äthanol zu einem Auftreten einer Spannung an isometrisch vermessenen Fasern. Unter absolutem

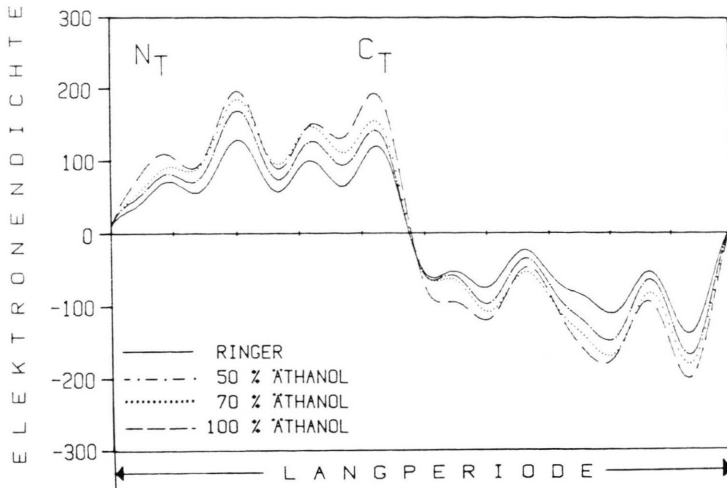


Abb. 2. Elektronendichte-Verteilung in axialer Richtung aus der Fourier-Synthese der Amplituden der ersten neun Ordnungen des Langperiodenreflexes unter Verwendung der von Hulmes *et al.* [19] angegebenen Phasen.  $N_T$ :  $NH_2$ -Terminus.  $C_T$ :  $COOH$ -Terminus.

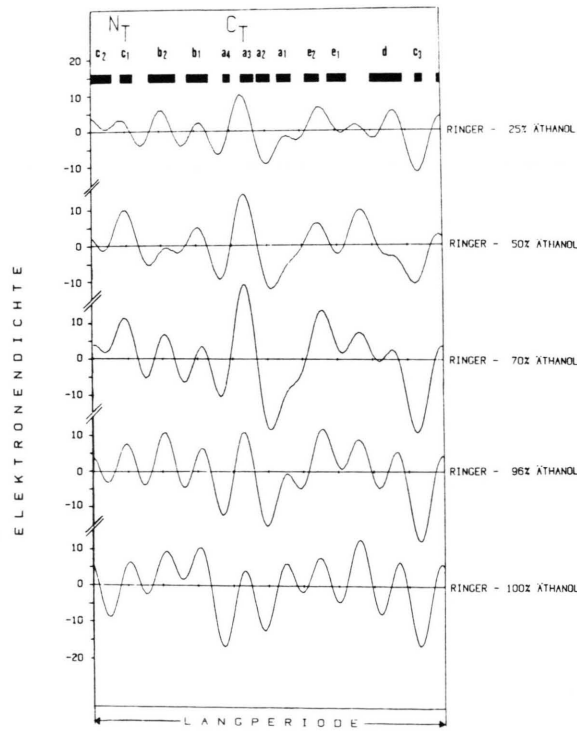


Abb. 3. Differenz-Fourier-Synthese aus den Amplituden einer ringerfeuchten Bezugsfaser und den jeweiligen Spektren einer stufenweise entwässerten Faser berechnet. Die Intensitäten der 1. Ordnungen wurden gleichgesetzt und die Intensitäten der anderen Ordnungen nach diesen skaliert. Die Ordinaten sind auf denselben Maßstab wie die der ringerfeuchten Faser in Abb. 2, d. h. die ermittelten relativen Dichteänderungen betragen bis max. 10%. Die eingezeichneten Balken geben die Positionen der Querstreifen einer mit Phosphorwolframsäure kontrastierten Fibrille an.

Äthanol erreicht diese Spannung den Wert von  $\sigma_1$  in Abb. 4. Der anschließende Eintausch langkettiger 1-Alkanole führt zu einem stufenförmigen Spannungsanstieg, dessen Charakteristik unabhängig davon ist, ob die Einlagerung an spannungsfrei befestigten oder, wie in Abb. 4, an einer unter der Spannung  $\sigma_1$  stehenden Faser erfolgte. Die registrierten  $\sigma_{max}$ -Werte der jeweiligen Alkanole unterliegen

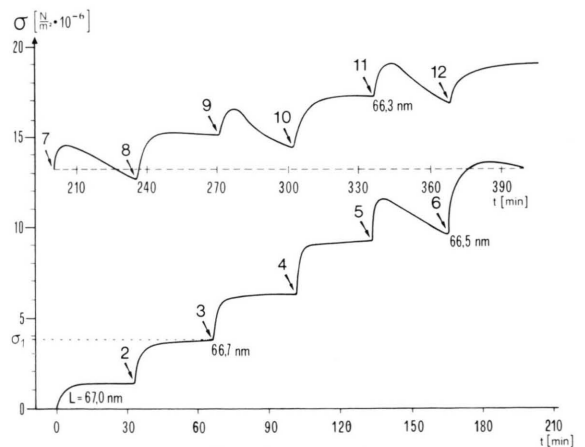


Abb. 4. Durch 1-Alkanole in aufsteigender homologer Reihe induzierter stufenförmiger Spannungsverlauf als Funktion der Zeit unter isometrischen Bedingungen an einer 11 Monate alten Faser gemessen. In den mit Pfeilen markierten Kurvenpunkten wurde jeweils der nächst höhere Homologe eingetauscht; die Bezifferung gibt hier, wie in den folgenden Abbildungen, die C-Atomzahl der Alkylkette an. Die Skalierung der Ordinate wurde mit Parallelmessungen abgestimmt. L: Langperiode, simultan mit der Synchrotronstrahlung registriert; Meßzeit: 60 s.

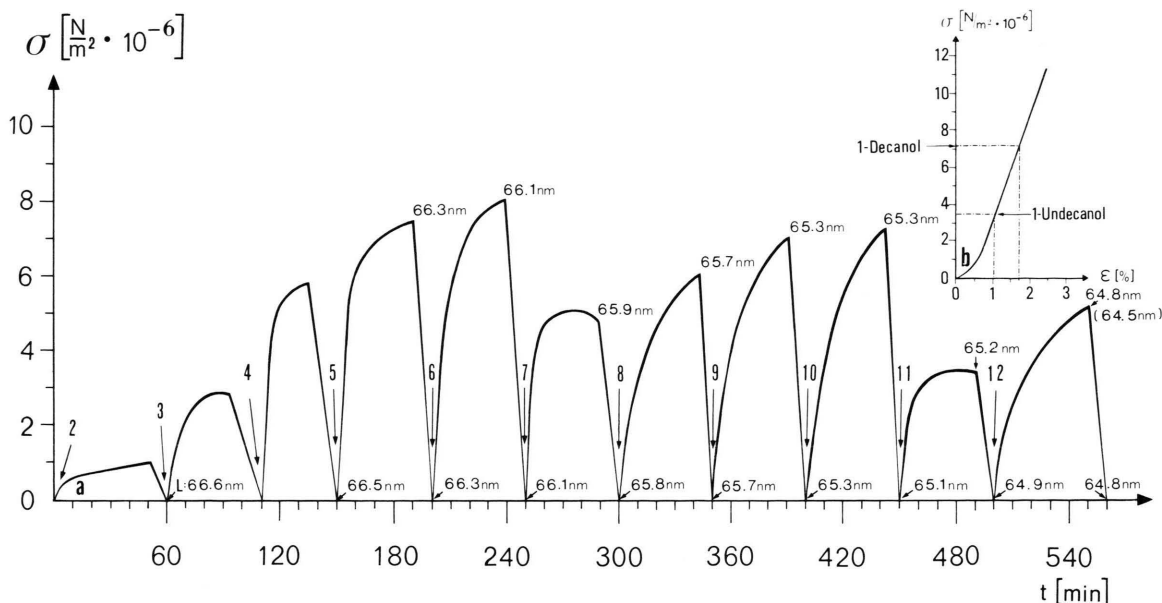


Abb. 5. a. Durch 1-Alkanole in aufsteigender homologer Reihe induzierter zyklischer Spannungsverlauf der als Funktion der Zeit an einer 12 Monate alten Faser unter isometrischen Bedingungen gemessen wurde. Ebenso wie bei der Aufzeichnung in Abb. 7 wurde nach Erreichen von  $\sigma_{\text{max}}$  vor Austausch des Alkanols die Faser auf  $\sigma_0$  gestellt. Bei den nachfolgenden Messungen wurden die Austauschzeiten aus versuchstechnischen Gründen kürzer gehalten. L: Langperiode, simultan mit der Synchrotronstrahlung registriert; der bei 1-Dodecanol in Klammern gesetzte Wert wurde erst nach 12 Stunden registriert. Meßzeit: 30 s; b. Spannungs-Dehnungskurve einer 12 Monate alten Äthanol-feuchten Faser; aus a) wurde die isometrisch gemessene Spannung nach Eintauch von 1-Decanol und 1-Undecanol mit der entsprechenden Faserdehnung ( $\epsilon$ ) korreliert.

allerdings Schwankungen; auch war der Spannungsabfall bei 1-Pentanol nicht immer reproduzierbar.

Parallel zu dem Auftreten einer Spannung registriert man auf molekularer Ebene neben einer reversiblen Aufweitung lateraler Zwischenräume [20] auch eine reversible Verkürzung der für natives Kollagen charakteristischen 67 nm-Langperiode. Um eine Verfälschung der Langperiodenverkürzung durch eine unter isometrischen Bedingungen einwirkende Kontraktionsspannung auszuschließen, wurde im folgenden nach dem jeweiligen Erreichen von  $\sigma_{\text{max}}$  vor Austausch des nächst höheren Homologen die Faser auf  $\sigma=0$  entlastet (Abb. 5) und simultan zur Spannung auch die Langperiode mit Hilfe von Kurzzeitbeugungsspektren registriert. In Abbildung 5b wird der Alkanol-induzierten Faserspannung die Spannungs-Dehnungskurve einer Äthanol-feuchten Faser zugeordnet.

#### Durch 2-Alkanole induzierte molekulare Umordnungen

Die nun folgenden Messungen sollten Aufschluß geben über den Einfluß der Stellung der alkoholi-

schen OH-Gruppe auf die Anordnung der Alkylketten und auf die hierdurch an der Dreierschraube induzierten Abläufe.

Bei der stufenweisen Dehydratisierung der Fasern mit 2-Propanol registriert man erst nach Austausch des 95-prozentigen (v/v) durch 100prozentigen 2-Propanol eine Spannung an bei konstanter Länge gehaltenen Fasern. Demgegenüber führte bei Äthanol bereits der Austausch von 70prozentigem (v/v) durch 75prozentigen (v/v) Alkanol zum Auftreten einer Faserspannung. In Abb. 6 ist der durch 2-Alkanole in aufsteigender homologer Reihe induzierte stufenförmige Spannungsverlauf gegen die Zeit aufgetragen. Vor Austausch von 2-Propanol gegen 2-Butanol wurde die Faser entlastet. Im Vergleich mit Abb. 4 ist die Aufzeichnung gleichmäßiger und zeigt keine Abhängigkeit von einer geraden oder ungeraden Anzahl der C-Atome in der Alkylkette. Ähnlich wie bei den 1-Alkanolen ist die aufgebaute Spannung rückläufig, sofern ein höherer Alkanol gegen einen nächst kürzeren ausgetauscht wurde. Erfolgt jedoch der Austausch eines 2-er Alkanols gegen einen 1-er Alkanol mit der gleichen

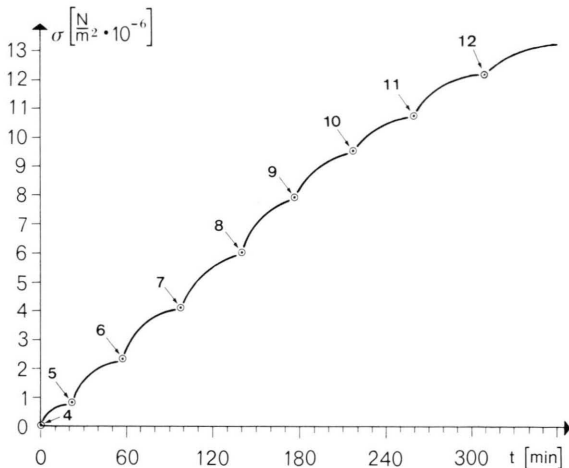
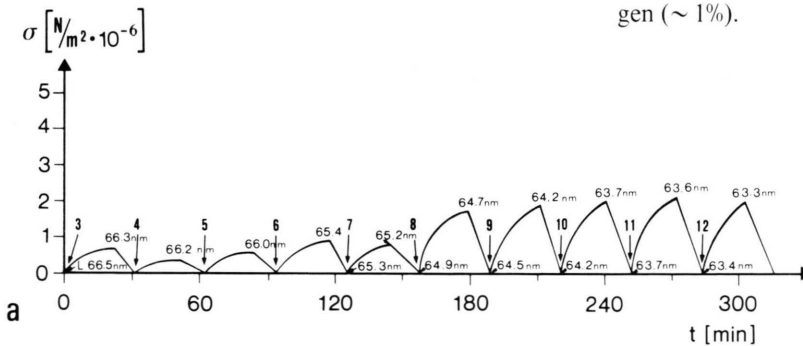
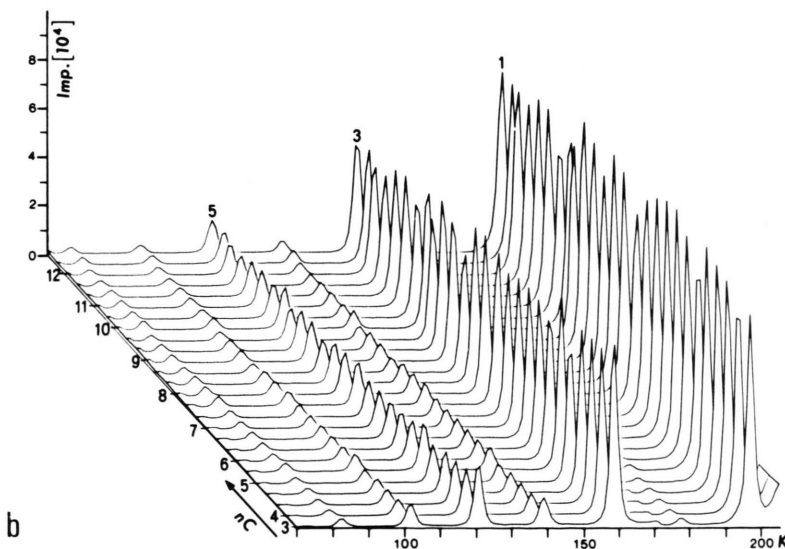


Abb. 6. Durch 2-Alkanole in aufsteigender homologer Reihe induzierter stufenförmiger Spannungsverlauf als Funktion der Zeit an einer 12 Monate alten Faser unter isometrischen Bedingungen gemessen.



a



b

C-Atomzahl in der Alkylkette, so ist stets ein Spannungsanstieg zu registrieren.

Der durch 2-Alkanole induzierte zyklische Spannungsverlauf an Fasern, die vor jedem neuen Alkanolwechsel entspannt wurden, ist in Abb. 7a wiedergegeben. Die eingetragenen Langperioden wurden aus simultan mit dem Alkanolaustausch registrierten meridionalen Kleinwinkelspektren (Abb. 7b) ermittelt.

Das Auftreten einer Faserspannung ist auch bei den 2-Alkanolen mit einer Verkürzung der für natives Kollagen charakteristischen 67 nm Langperiode korreliert.

In Abb. 8 sind diese Werte in Abhängigkeit von der C-Atomzahl der eingelagerten 1- und 2-Alkanole dargestellt. Man findet eine mit ansteigender C-Atomzahl annähernd linear kürzer werdende Langperiode, die an entspannt vermessenen Fasern zu niedrigeren Werten führt als unter isometrischen Bedingungen. Der meridionale Weitwinkelreflex bei 0,286 nm zeigte hingegen nur geringe Abweichungen ( $\sim 1\%$ ).

Abb. 7. a. Durch 2-Alkanole in aufsteigender homologer Reihe induzierter zyklischer Spannungsverlauf, der als Funktion der Zeit an einer 12 Monate alten Faser unter isometrischen Bedingungen gemessen wurde. L: Langperiode aus den in b) wiedergegebenen Spektren ermittelt. b. Serie von Kurzzeitkleinwinkelspektren, die eine 2-Alkanol-induzierte Änderung der Langperiode in Abhängigkeit der C-Atomzahl ( $n_C$ ) der Alkylkette durch größer werdende Peakabstände anzeigen; die 1., 3. und 5. Ordnung ist markiert. Die Ordinate gibt die mit dem ortsempfindlichen Zähler registrierte Anzahl der Impulse pro Kanal (K) wieder; Meßzeit 30 s; Filter s. Abb. 1.

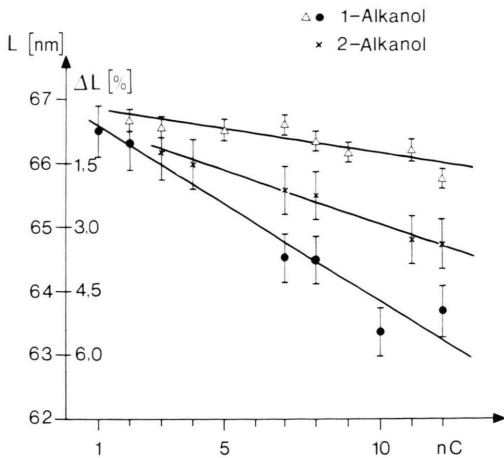


Abb. 8. Änderung ( $\Delta L$ ) der Langperiode ( $L$ ) in Abhängigkeit von der Zahl  $nC$  der Kohlenstoffatome in der Alkylkette der in Kollagen eingelagerten 1- und 2-Alkanole.  $\times$  ● Registrierung der Kleinwinkelspektren mit der Kratky-Kammer an spannungsfreien Fasern, Meßzeit:  $\sim 12$  h;  $\Delta$  Registrierung unter isometrischen Bedingungen mit der KW-Kammer X 13 unter Einsatz der Synchrotronstrahlung.

Der spannungsfreie Zustand wurde an diesen Objekten nach Wartezeiten von mehreren Stunden erreicht.

#### Äquatoriale Kleinwinkelreflexe

Die stufenweise Dehydratisierung durch Äthanol führt über eine anfängliche Schwächung der für nativ feuchte Fasern charakteristischen Äquatorreflexe (Abb. 9a) zu deren reversiblen Ausfall [5]. Der in einen Einzel- und Doppelreflex aufgesplante äquatoriale Hauptreflex ( $\square$  in Abb. 9a), verschmilzt in ähnlichen Etappen wie in Abb. 9b–e bei 2-Propanol zu einem Einzelreflex, dessen Lage (Abb. 10a) unter 100prozentigem 1-Alkanol eine Abhängigkeit von der C-Atomzahl der Alkylkette zeigt (Tab. I).

Der stufenweise Hydratwasseraustausch durch 2-Propanol führt ebenso über eine anfängliche Schwächung der für nativ-feuchte Fasern charakteristischen Äquatorreflexe zu deren Ausfall (Abb. 9). Der Achsenabstand verkleinert sich auf 1,24 nm. Nach Austausch des 95prozentigen (v/v) durch 99,7prozentigen (v/v) bzw. 100prozentigen 2-Propanol findet man im Röntgendiagramm, wie aus den Abb. 9f und 10b ersichtlich, bemerkenswerterweise eine äquatoriale Reflexfolge ähnlich der an nativ-feuchten Fasern aus Schwanzsehnen,

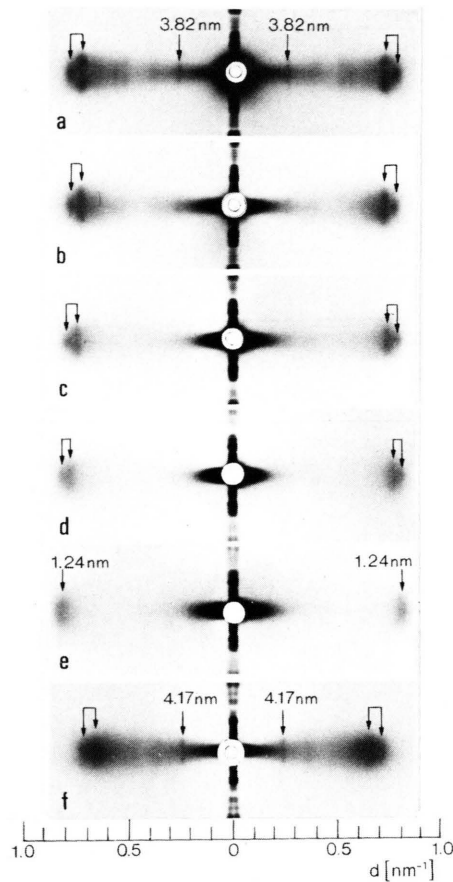


Abb. 9. Äquatoriale Kleinwinkelröntgendiagramme gespannter Fasern aus Schwanzsehnen 12 Monate alter Ratten. a) nativ-feucht unter Ringerlösung, b) nach Austausch von Ringerlösung durch 25% (v/v) 2-Propanol; c) nach Austausch von 25% (v/v) durch 50% (v/v) 2-Propanol; d) nach Austausch von 50% (v/v) durch 70% (v/v) 2-Propanol; e) nach Austausch von 70% (v/v) durch 95% (v/v) 2-Propanol; f) nach Austausch von 99,7% (v/v) durch 100% 2-Propanol. Die vertikal ausgerichteten Fasern befanden sich in einer Küvette; der Flüssigkeitsspiegel reichte stets bis knapp unterhalb des Strahleintritts. Kiessig-Kammer unter Helium; Abstand Präparat-Film: 200 mm; CuK $\alpha$ -Strahlung.

jedoch bei kleineren Beugungswinkeln. So beobachtet man – besonders gut am Originalfilm – Reflexe bei  $\sim 1,45$  nm (1,26–1,28 nm), bei  $\sim 1,52$  nm als angedeuteter Doppelreflex (1,35–1,37 nm), bei  $\sim 2,2$  nm ( $\sim 1,91$  nm) und bei  $\sim 2,8$  nm ( $\sim 2,59$  nm) sowie einen intensiven Doppelreflex bei  $4,1 \pm 0,1$  nm ( $3,82 \pm 0,1$  nm) mit am Meridian ausgebildeten Schichtlinien. Die in Klammern gesetzten Werte sind Vergleichsdaten einer nativ-feuchten Faser. In Abb. 10c ist eine

Tab. I. Achsenabstand  $d$  der durch 1-Alkanole modifizierten Dreierschrauben in Abhängigkeit von der Zahl  $nC$  der Kohlenstoffatome in der Alkylkette.  $r$  = abgeleiteter Radius der Dreierschraube;  $g$  = geradzählige,  $ug$  = ungeradzählige C-Atomzahl;  $\alpha$ : Neigungswinkel der Alkylketten zur Achse der Dreierschraube.

| $nC$       | $d$<br>[nm] | $r$<br>[nm] | $\Delta r$<br>$g \rightarrow ug$ | $\Delta r$<br>$ug \rightarrow g$ | $\alpha$ |
|------------|-------------|-------------|----------------------------------|----------------------------------|----------|
| 1          | 1,47        | 0,735       |                                  |                                  |          |
| 2          | 1,58        | 0,79        |                                  | 0,055                            |          |
| 3          | 1,72        | 0,86        | 0,07                             | 0,06                             |          |
| 4          | 1,84        | 0,92        |                                  | 0,075                            | 22°      |
| 5          | 2,06        | 1,03        | 0,11                             |                                  |          |
| 6          | 2,21        | 1,105       | 0,12                             | 0,15                             | 32°      |
| 7          | 2,45        | 1,225       |                                  |                                  |          |
| 8          | 2,75        | 1,375       | 0,125                            | 0,1                              | 45°      |
| 9          | 3,0         | 1,5         |                                  | 0,1                              |          |
| 10         | 3,2         | 1,6         | 0,1                              |                                  | 50°      |
| 11         | 3,4         | 1,7         |                                  | 0,1                              |          |
| 12         | 3,6         | 1,8         |                                  |                                  | 51°      |
| Mittelwert |             |             | 0,105                            | 0,09                             |          |

schematische Darstellung des äquatorialen Doppelreflexes bei 4,17 nm im Vergleich mit dem einer nativ-feuchten Faser (N) wiedergegeben. Ferner beobachtet man an den meridionalen Kleinwinkelreflexen, ähnlich wie bei verstreckten nativ-feuchten

Fasern [21], eine fächerartige Aufspaltung. Die Qualität dieser Diagramme wird wesentlich vom Grad des Wasseraustausches und somit vom wasserfreien Zustand des 2-Propanols bestimmt.

Vergleichbare Diagramme erhält man auch an Fasern, bei denen 2-Propanol durch 2-Butanol oder 3-Pentanol ausgetauscht wurde. 2-Alkanole mit 5–9 C-Atomen in der Alkylkette führen hingegen zu Beugungsdiagrammen, die nur noch den intensiven Doppelreflex bei  $4,1 \pm 0,1$  nm aufweisen.

Bei 2-Alkanolen mit 10–12 C-Atomen in der Alkylkette verschiebt sich dieser Doppelreflex zu kleineren Beugungswinkeln und erreicht Werte von  $4,8–5,0 \pm 0,1$  nm.

## Diskussion

### Hydratwasser-Austausch durch 1-Alkanole und molekulare Umordnungen

Für einen Austausch des Hydratwassers von Kollagen durch einen kurzkettigen Alkanol ist ein Angebot stufenweise ansteigender Alkanolkonzentration wesentlich [20]. Auffälligerweise findet man

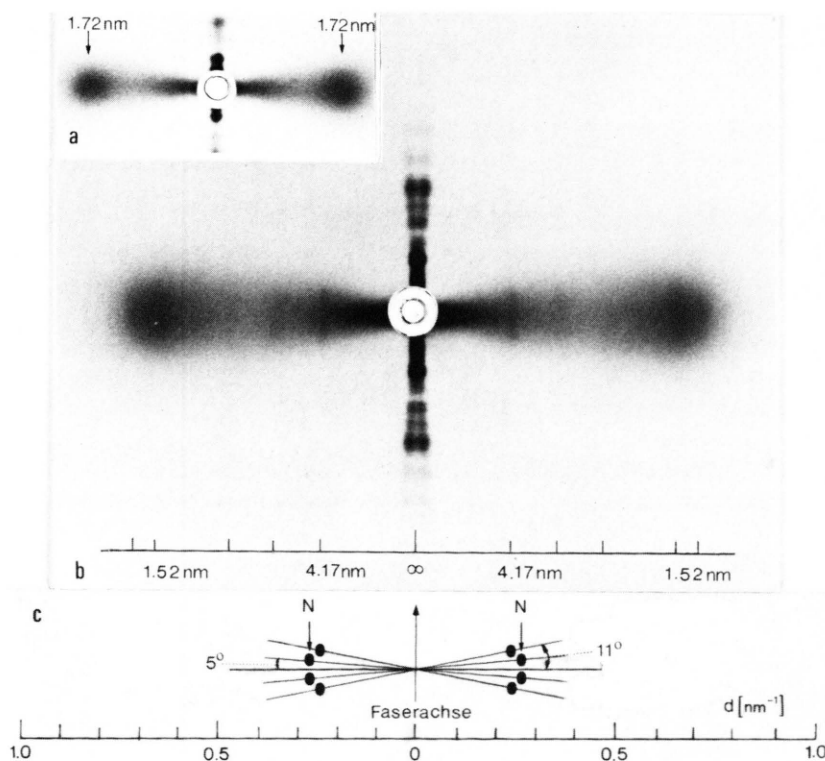


Abb. 10. Äquatoriale Kleinwinkelröntgendiagramme gespannter Fasern aus Schwanzsehnen 12 Monate alter Ratten. a) Nach stufenweiser Dehydratisierung über Äthanol und Austausch von Äthanol durch 1-Propanol; b) Nach Austausch von 99,7% (v/v) durch 100% 2-Propanol; höher vergrößertes Diagramm aus Abb. 9f; c) Schematische Darstellung des äquatorialen Doppelreflexes in 2-Propanol bei 4,17 nm im Vergleich mit dem einer nativ-feuchten Faser bei 3,82 nm (N). Die Reflexe sind auf Geraden angeordnet, deren Neigungswinkel gegen den Äquator des Kleinwinkelröntgendiagramms  $\sim 5^\circ$  für die nativ-feuchte und  $\sim 11^\circ$  für die 2-Propanol-feuchte Faser betragen.

dabei unter 25prozentigem (v/v) Äthanol neben einer Schwächung äquatorialer Reflexe auch eine Abnahme der Intensitäten einiger Reflexe im meridionalen Kleinwinkelspektrum. Unter vergleichbar niedrigen Alkanolkonzentrationen wurde vor längerer Zeit eine Abnahme der Thermostabilität von Kollagen beobachtet [22] und auf eine Störung kooperativer Querbindungskräfte unter Einbeziehung hydrophober Wechselwirkungen [23] zurückgeführt.

Eine Störung hydrophober Wechselwirkungen dürfte aber nicht von einer Beeinflussung vorhandener Wasserstrukturen zu trennen sein. Es erscheint daher naheliegend, in der Intensitätsabnahme einiger meridionaler Kleinwinkelreflexe einen Hinweis auf eine Störung der die Raumordnung von Kollagen stabilisierenden Hydratwasserstruktur zu sehen, ähnlich wie bei der Wirkung sogenannter Strukturbrech-Ionen [24].

Eine weiter ansteigende Alkanolkonzentration ist mit einer zunehmenden Wasserabgabe der Fasern verbunden, widerspiegelt in einer Verkleinerung des Achsenabstandes der Dreierschrauben von 1,38 nm auf ~ 1,24 nm (Abb. 9a und 9e). Auf der hierdurch bewirkten Verdichtung des fibrillären Gefüges dürfte der vor längerer Zeit von Küntzel [25] beobachtete steile Anstieg der Thermostabilität von Fasern unter höheren Alkanolkonzentrationen beruhen.

Eine vergleichbare Abnahme des Achsenabstandes der Dreierschrauben erreicht man auch durch eine nur unvollständig ablaufende Wasserabgabe nativ-feuchter Fasern an 1-Alkanolen mit > 6 C-Atomen. Durch das verbliebene Restwasser werden hierbei die Alkanolmoleküle an einer intermolekularen Einlagerung behindert [11]. Ein abgeschlossener Hydratwasser-Alkanol-Austausch ist demgegenüber mit einer intermolekularen Aufweitung verbunden, die bei 1-Alkanolen in Abhängigkeit von der C-Atomzahl eine ansteigende Tendenz zeigt (Tab. I). Die mittlere Zunahme beträgt 0,098 nm für den Radius ( $r$ ) der Dreierschraube pro C-Atom.

Die Güte der Äquatorreflexe sowie der reproduzierbare Anstieg des Achsenabstandes der Dreierschrauben in Abhängigkeit der C-Atomzahl der Alkylkette lassen eine geordnete, nicht aber eine statistisch verknäulte Anordnung der Alkanolmoleküle an der Dreierschraubenoberfläche erwarten [20].

Die alkoholischen OH-Gruppen sollten dabei in die „van-der-Waals-Dicke“ der Dreierschrauben eintauchen und Wasserstoffbrücken zu Peptid-Carbonyl-Gruppen [26] ausbilden.

Unter der Annahme, daß die Alkylketten in der trans-trans-Konformation gestreckt vorliegen, müßte demnach bei Anordnung der Alkylketten senkrecht zur Schraubenachse (Abb. 11a) für den Dreierschraubenradius ein Zuwachs von 0,126 nm pro CH<sub>2</sub>-Gruppe resultieren, entsprechend der Projektion der C–C-Bindungslänge von 0,154 nm auf die Längsachse einer gestreckten Alkylkette. Abgesehen vom Zuwachs in 1-Octanol, der fast einer vollen C–C-Bindungslänge senkrecht zur Schraubenachse entspricht, findet man jedoch niedrigere Werte (Tab. I). Die Alkylketten sollten deshalb geneigt zur Achse der Dreierschrauben angeordnet sein (Abb. 11b). Eine solche Anordnung erscheint auch aus energetischen Gründen plausibler, da senkrecht stehende Ketten unter den gegebenen Bedingungen und bei Abwesenheit vergleichbar langer Seitenketten eine weniger dichte und somit labilere Packung ergeben würden als geneigte (punktierter Zeichnung in Abb. 11b). Der Radius einer nach diesem Modell mit 1-Alkanol beladenen Dreierschraube berechnet sich wie folgt:

$$r = 0,54 + \sin \alpha \cdot 0,126 \cdot (n - 1) + 0,2 + 0,065,$$

wobei 0,54 nm für den Radius einer dehydratisierten Dreierschraube,  $\alpha$  für den Neigungswinkel zwischen der Längsachse der Alkylkette und der Schraubenachse, 0,126 nm für die C–C-Bindungslänge, 0,2 nm für den Wirkungsradius der CH<sub>3</sub>-Gruppe und 0,065 nm als Anteil für die O–C<sub>1</sub>-Bindungslänge eingesetzt sind. Bei einem Neigungswinkel von 45°, wie er in Abb. 11b dargestellt ist, erhält man auf diese Weise für  $r$  einer mit 1-Octanol beladenen Dreierschraube den experimentell ermittelten Wert von ~1,38 nm.

Genaue Angaben zur Packungsart der alkanol-modifizierten Dreierschrauben sind nicht möglich, da zunächst Klarheit über das Ordnungsprinzip von Kollagen bzw. einer Sekundäreinheit bestehen muß. Die Raumordnung einer nunmehr auch durch chemische Daten [27] gestützten Sekundäreinheit (Subfibrille) [28], müßte in jedem Fall die Voraussetzungen dafür liefern, daß unter dem Einfluß der Alkanolmoleküle eine Lateralaufweitung (Tab. I) möglich ist, begleitet von einer Faserspannung und Langperiodenverkürzung.

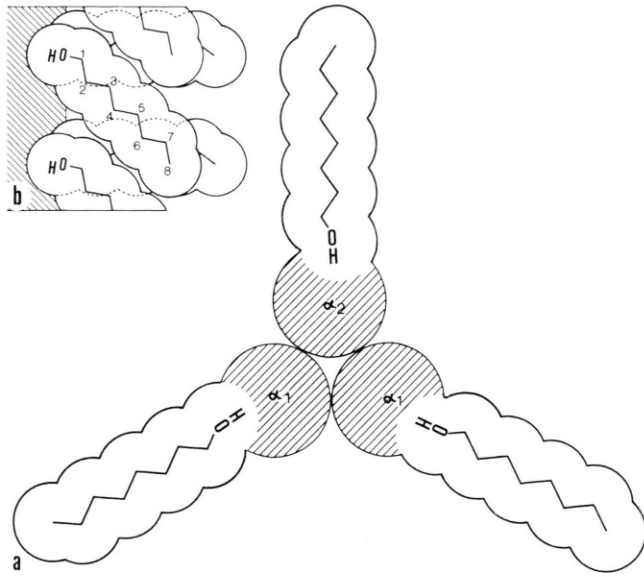


Abb. 11. Schematische Darstellung von 1-Alkanolmolekülen in senkrechter und geneigter Anordnung zur Oberfläche von  $\alpha$ -Ketten einer Dreierschraube, die a) im Querschnitt und b) im Längsschnitt dargestellt ist. Die Alkylketten sind nicht, wie in a) vereinfacht gezeichnet, in einer Schnittebene, sondern in Achsenrichtung der Schrauben versetzt angeordnet.

#### Faserspannung und Langperiodenverkürzung

Eine Faserspannung in Verbindung mit einer Langperiodenverkürzung konnte bereits während des stufenweisen Hydratwasseraustausches registriert werden. Die hierdurch angezeigte Änderung der Ganghöhe der Polypeptidschrauben wird auf den Austausch intramolekularer Wasserbrücken durch Alkanolbrücken und einer hiermit verbundenen Abnahme des O–O-Abstandes annähernd parallel, zur Schraubenachse verlaufenden H-Bindungen zurückgeführt [24]. Die Verkürzung der Langperiode stellt dabei die Summe der Einzelverkürzungen, projiziert auf die Schraubenachse dar. Die bewirkte Längenabnahme reicht aber nicht aus, um auch einen stufenweisen Spannungsanstieg bzw. eine weitere Langperiodenverkürzung in Abhängigkeit der C-Atomzahl der eingelagerten Alkanole erklären zu können. Denkbar wäre eine nicht homogen ablaufende Lateralaufweitung, und zwar an einer Raumstruktur, die in Faserrichtung gegeneinander abgeschlossene Hohlräume enthält, wie z.B. im „Schachtelhalm“-Modell [29]. Die in diesem Modell einer Sekundäreinheit (Subfibrille) vorgesehenen Hohlräume (H) (Abb. 12) müßten sich nämlich verkürzen, wenn z.B. die eingedrungenen 1-Alkanolmoleküle unter Ausbildung energetisch günstiger paraffinartiger Strukturen diese so weit ausfüllen, daß die aus Dreierschrauben bestehenden „Wände“ durch einen „Quellungsdruck“ [12] aus-

gebeult werden (Abb. 12) [30]. Um die registrierte Langperiodenverkürzung erklären zu können, müßten in Faserrichtung alternierend nicht aufgeweitete und aufgeweitete Bereiche vorkommen, die zur Verkürzung der Langperiode bzw. der Faser führen. Das Ausmaß einer aufweitungsbedingten Verkürzung würde bei einer genügend hohen Steifigkeit der ausgebildeten Alkanolassoziate davon abhängen, wie leicht sich das „Wand-

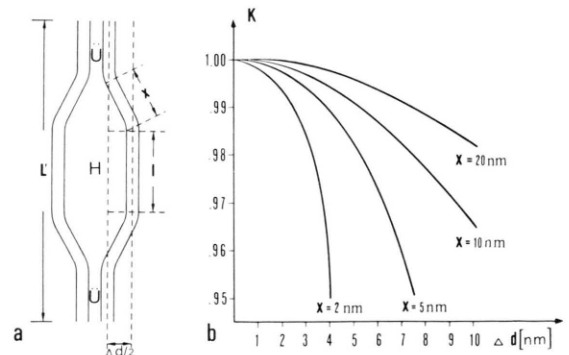


Abb. 12. a. Schematische Darstellung der Verkürzung einer linearen Sekundäreinheit (Subfibrille) durch Aufweitung eines Hohlraumes (H) [30]. Das Ausmaß einer Längenänderung ( $\Delta L$ ) hängt von  $x$  und  $\Delta d$ , nicht aber von  $l$  ab. Unter der Annahme, daß die Subfibrille auf einer Länge von 67 nm neben einer Überlappungszone (Ü) einen Hohlraum (H) besitzt [29], und daß dieser auch aufgeweitet wird, verkürzt sich die Fibrille von  $L$  auf  $L'$  mit  $L' = K \cdot L$  und  $K = (67 - \Delta L)/67$ . In b) ist der Faktor  $K$  als Funktion von  $\Delta d$  für verschiedene Werte von  $x$  aufgetragen.

material“ verformen läßt (*Biegesteifigkeit* der Dreierschrauben) und wie groß infolgedessen der Durchmesserzuwachs  $\Delta d$  ist (Abb. 12). Die bei dieser Deformation auftretende „Wand“-Spannung könnte unter *isometrischen* Bedingungen an die kompakten Überlappungszonen (Ü) weitergeleitet werden. Der hiermit verbundene Kraftfluß [31] dürfte von einer spannungsabhängigen, additiven elastischen Deformierung (Längung) dieser Ü-Zonen begleitet sein und hierdurch einer Langperiodenverkürzung mehr oder weniger stark entgegenwirken. Die niedrigsten Langperioden registriert man deshalb an spannungsfrei durchstrahlten alkanolfuchten Fasern (Abb. 8). Die sich neu aufbauende Spannung an zyklisch entspannten Fasern scheint allerdings nur einen geringeren Einfluß auf die Langperiodenverkürzung zu haben. So steht z. B. bei 1-Decanol der einer solchen Spannung korrelierten 1,7prozentigen Faserdehnung (Abb. 5b) lediglich eine Langperiodenbeeinflussung um +0,3% gegenüber. Dagegen vermag bei einem stufenförmigen und somit additiven Spannungsaufbau die z. B. bei 1-Decanol resultierende hohe Faserspannung einer Langperiodenverkürzung so stark entgegenzuwirken, daß nur eine Verkürzung um 1% resultiert gegenüber einer um 2,5% bei zyklischer Messung. Eine Diskrepanz ergibt sich offensichtlich, wenn man den beim Wechsel von geradzahlig zu ungeradzahlig 1-Alkanolen registrierten Spannungsabfall (Abbn. 4 und 5) mit dem Anstieg der  $d$ -Werte für den Achsenabstand der Dreierschrauben (Tab. I) vergleicht: Der Spannungsabfall könnte durch das bei Alkylketten mit ungerader C-Atomzahl begünstigte Auftreten von Kinken [32] zusammenhängen. Durch Einbau einer *cis*-Bindung und der damit verbundenen Kettenverdrillung würde nämlich nicht nur eine Lageübereinstimmung zwischen OH- und CH<sub>3</sub>-Gruppe hergestellt, sondern auch eine Verkürzung der effektiven Alkylkettenlänge um 1 C-Atom erreicht sein. Der größere Zuwachs des Achsenabstandes aber wäre verständlich, wenn man die unterschiedlichen Winkel berücksichtigt, die die Bindungen C<sub>1</sub>–C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>–C<sub>4</sub> usw. und die Bindungen C<sub>2</sub>–C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>–C<sub>5</sub> usw. zur Schraubenachse einnehmen (Abb. 11b) und den hiervon abhängigen Beitrag zur Aufweitung.

Den Mechanismus einer Molekülverkürzung könnte man auch auf der Basis einer Alkanol-induzierten Konformations-Umwandlung von Polypeptidschrauben zu erklären versuchen. Eine solche

durch 1-Butanl-Carbonyl-Bindung induzierte *trans-cis*-Isomerie der Peptidbindungen, verbunden mit einer Konformationsumwandlung wurde an gelöstem Poly-L-Prolin beobachtet [26, 33]. Da diese Umordnung an den relativ kurzkettigen Modellpeptiden mit einem Sprung aus einer steilen links- in eine flache rechtsgewundene Schraube verbunden ist, resultiert zugleich eine Schraubenverkürzung. Allerdings müßte eine derartige Umordnung an Fasern, sofern nach unseren derzeitigen Vorstellungen überhaupt denkbar, weiterreichende Deformationen auslösen, als es der Fall ist. Die Frage nach einer nur auf bestimmte „Segmente“ sprungartig beschränkten Umordnung ist nicht minder schwer vorstellbar und muß ebenfalls offen bleiben.

#### *Sterische Bedingungen bei der Anordnung von 2-Alkanolen*

Vergleicht man die durch Äthanol induzierten Abläufe mit den Einflüssen von 2-Propanol, so findet man übereinstimmend eine mit der Dehydratisierung verbundene Verkürzung der 67 nm Langperiode und eine Aufweitung des – intermediär verkleinerten – Achsenabstandes der Dreierschrauben nach Austausch des 95prozentigen (v/v) durch 99prozentigen bis 100prozentigen Alkanol (Abbn. 9f und 10a). Der Eintauch von 100prozentigem 2-Propanol führt jedoch auffälligerweise zum Wiederauftreten einiger der für nativ-feuchte Fasern charakteristischen Äquatorreflexe (Abbn. 9f und 10b), als Hinweis auf besonders günstige Bedingungen beim Hydratwasseraustausch gegen kurzkettige 2-Alkanole. Die Stellung der alkoholischen OH-Gruppe sowie Größe und Symmetrie des Alkanolmoleküls dürften hierfür von ausschlaggebender Bedeutung gewesen sein.

Mit dem Modell in Abb. 13a wird versucht, diesen Sachverhalt zu veranschaulichen. Im Unterschied zu der Anordnung der 1-Alkanole (Abb. 11b), sollten die Alkylketten der 2-Alkanole nunmehr parallel zu den als Balken dargestellten  $\alpha$ -Ketten angeordnet sein und in die „van-der-Waals-Dicke“ der Dreierschrauben eintauchen (Abb. 14). Der Platz für ein flachliegendes Alkanolmolekül ergibt sich aus der Fläche zwischen zwei sterisch begünstigten Peptid-Carbonyl-Gruppen, die mit den alkoholischen OH-Gruppen über H-Brücken in Wechselwirkung treten. In Abb. 13b ist noch ein

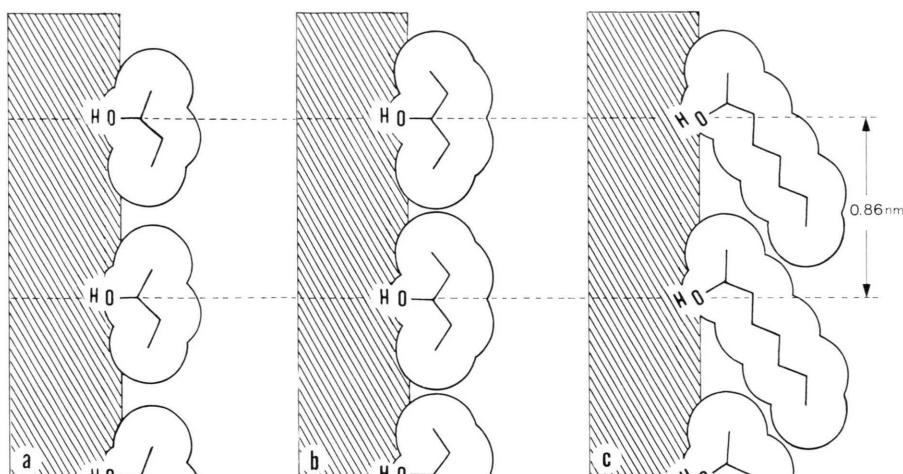


Abb. 13. Anordnung von Alkanolmolekülen an als Balken dargestellten  $\alpha$ -Ketten von Dreierschrauben. a und b: achsenparallele Ausrichtung der Alkylketten zur Schraubenachse der  $\alpha$ -Kette. c: Übereinanderschieben schräggestellter Alkylketten; der Platzbedarf eines flachliegenden Alkanolmoleküls übersteigt die zur Verfügung stehende Fläche zwischen sterisch begünstigten Peptid-Carbonyl-Gruppen einer  $\alpha$ -Kette. Die Alkylketten könnten auch um die C–O-Bindung rotieren und sich dadurch seitlich überlappen.

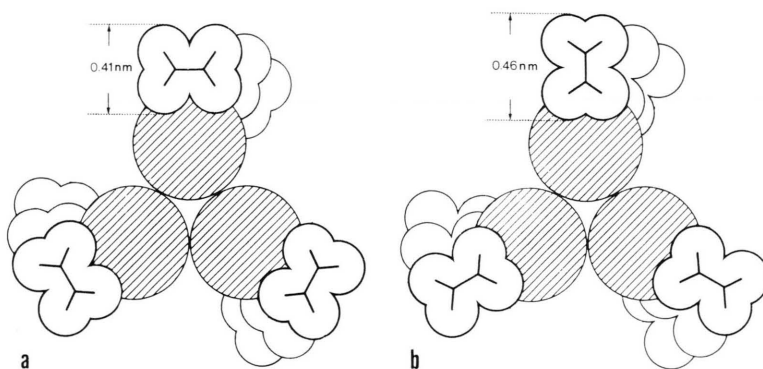


Abb. 14. Anordnungsmöglichkeiten der Alkylketten an den  $\alpha$ -Ketten einer Dreierschraube; halbräumliche Darstellung in Aufsicht mit senkrecht zur Papierebene verlaufenden Alkylketten. a) Ebene der Kohlenstoffatome tangential zur Schraubenachse;  $\alpha_{II}$ -Orientierung [35]; b) Ebene der Kohlenstoffatome radial zur Schraubenachse;  $\alpha_I$ -Orientierung [35].

Vergleich mit 3-Pentanol vorgenommen, da eine Faser bei diesem Alkanol anders als bei 2-Pentanol zu einem mit Abbildung 10b vergleichbaren Diagramm führt.

Mit zunehmender Alkylkettenlänge behindern sich diese gegenseitig und schieben sich übereinander (Abb. 13c). Natürlich könnten auch von der Idealform abweichende Anordnungen vorkommen. Diese müßten jedoch bis zu einer Kettenlänge von 8 C-Atomen mit dem Auftreten des Doppelreflexes bei  $4,1 \pm 0,1$  nm im Einklang stehen. Versucht man einen Zusammenhang zwischen diesem stets besonders intensiven Äquatorreflex und der Anordnung der 2-Alkanolmoleküle mit  $< 9$  C-Atomen in der Alkylkette herzustellen, so erscheint es sinnvoll, zunächst die Gegebenheiten an einer dehydrati-

tierten Dreierschraube ( $r \approx 0,54$  nm) zu veranschaulichen (Abb. 14). Dabei sind für die den  $\alpha$ -Ketten anliegenden Alkanolmoleküle zwei Orientierungsmöglichkeiten zu berücksichtigen. Die Alkylketten werden hierzu nach Lagaly und Weiss [34] in erster Näherung als Rechteck mit Kantenlängen von 0,41 nm und 0,46 nm angesehen. Wenn nun, wie in Abb. 14a, die Ebenen der Kohlenstoffatome der Alkylketten tangential zu den  $\alpha$ -Ketten liegen, berechnet sich der Radius der Dreierschrauben zu  $0,54 + 0,41 = 0,95$  bzw. nach Abzug von 0,151 nm\*

\* Die Eintauchtiefe der Alkylketten erniedrigt sich um die Hälfte, sofern die Alkanolmoleküle gleichzeitig in die „van-der-Waals-Dicke“ von zwei benachbarten Dreierschrauben eintauchen können. Für die  $\alpha_{II}$ -Orientierung in Abbildung 14a würde diese dann nur noch 0,076 nm und für die Anordnung in Abbildung 14b 0,1 nm betragen.

infolge einer Anpassung der Alkanolmoleküle an die  $\alpha$ -Ketten zu  $0,54 + 0,259 = 0,80$  nm. Hieraus folgt für den „van-der-Waals-Durchmesser“ einer monomolekular mit 2-Propanol beladenen Dreierschraube  $\sim 1,69$  nm. Der röntgenographisch ermittelte Wert von  $\sim 1,55$  nm an Fasern unter 2-Propanol, 2-Butanol und 3-Pentanol steht hiermit in gutem Einklang.

Übertragen auf das „Schachtelhalm“-Modell [29] für eine Sekundäreinheit (Subfibrille) würde eine solche Belegung mit Alkylketten einen Anstieg der Gitterkonstante von  $3,82 \pm 0,1$  nm für eine nativfeuchte Einheit auf  $4,1 \pm 0,1$  nm für eine 2-alkanolfeuchte Einheit bei guter Raumerfüllung plausibel erklären.

In Hohlräume der zur Diskussion gestellten Sekundäreinheit [29] eingedrungene 2-Alkanolmoleküle könnten weiterhin, ähnlich wie die 1-Alkanolmoleküle, über eine Hohlraumaufweitung (Abb. 12) zu einer Faserkontraktion führen, die mit einer Langperiodenverkürzung verbunden ist (Abbn. 7 und 8). Die lateralen Aufweitungen sollten jedoch unregelmäßiger als unter dem Einfluß der 1-Alkanole erfolgen, da im Beugungsdiagramm dieser Fasern, abgesehen vom Doppelreflex bei 4,1 nm, keine Anzeige für eine regelmäßig ansteigende Aufweitung des Achsenabstandes der Dreierschrauben anzutreffen ist. Dies dürfte damit zusammenhängen, daß die Anordnung langkettiger 2-Alkanole nicht nur in der Idealform schräggestellt (Abb. 13c), sondern auch verknäult und somit unregelmäßiger als im Falle der 1-Alkanole erfolgen kann. Damit könnte auch der verhaltene Spannungsanstieg unter 2-Alkanolen mit  $< 8$  C-Atomen sowie der sprunghafte Spannungsanstieg ab  $> 8$  C-Atomen in der Alkylkette (Abb. 7) zusammenhängen. Und zwar sollten Alkylketten mit  $> 8$  C-Atomen nicht verknäult, sondern vorwiegend zu Doppelschichten übereinander angeordnet vorliegen (Abb. 13c) und hierdurch zu einem sprunghaften Anstieg der Spannung beitragen. Die auffällige Langperiodenverkürzung an einer zyklisch vermessenen Faser (Abb. 7) läßt sich jedoch in diese Betrachtung aus noch nicht überschaubaren Gründen nur schwer einbeziehen.

Eine mögliche Erklärung wäre, daß ein verändertes viskoelastisches Verhalten der Fasern vorliegt infolge einer Alkanol-induzierten Parallelverschieblichkeit kraftübertragender Untereinheiten. Der tatsächliche Wert einer Kontraktionsspannung wäre

somit um den bei dem Gleitvorgang dissipierten Kraftanteil reduziert. Spannungs-Dehnungs-Messungen haben jedoch noch keine Klarheit erbracht. Die Anordnung der Alkanolmoleküle mit  $\geq 9$  C-Atomen in der Alkylkette sollte schließlich auch den sprunghaften Anstieg des 4,1 nm Reflexes auf  $\sim 4,9$  nm verständlich machen. Der Zuwachs des Radius der Dreierschraube und entsprechend der Anstieg der Gitterkonstante einer Sekundäreinheit würde sich aus der Addition der Durchmesser der flach übereinander geschobenen Alkylketten (Abb. 13c) ergeben.

#### *Inhomogenes Verhalten der Polypeptidketten*

Die durch Langperiodenänderung angezeigte Molekülverkürzung ist scheinbar nur von einer geringeren Änderung der Länge eines Aminosäurerestes in der Projektion auf die Schraubenachse begleitet. So verkürzt sich der zugehörige meridionale 0,286 nm Abstand z.B. in 2-Dodecanol nur um  $\sim 1\%$  gegenüber einer Langperiodenverkürzung von  $\sim 5\%$ . Ähnliche Diskrepanzen findet man bei einer Langperiodenverkürzung unter Phosphorwolframsäure [30], sowie auch an gedehnten nativfeuchten Fasern [13]. Eine plausible Erklärung könnte hier eine Theorie von Bonart [36] bieten, nach der sich bei *inhomogener* Deformation eines Gitters die Reflexlage im Unterschied zum Reflexprofil nur gering ändert. Ein inhomogenes Verhalten der Dreierschrauben gegenüber physikalischen Einflüssen erscheint schließlich auch einsichtig, wenn man die sperrigen Pyrrolidinringe von Prolin und Hydroxyprolin in den Polypeptidketten berücksichtigt. Die zu erwartende Änderung der Reflexprofile dürfte sich jedoch wegen der relativ großen Halbwertsbreite dieses meridionalen Reflexes der Beobachtung entziehen.

#### **Ausblick**

Eine Diskussion der vorliegenden Ergebnisse mit Bezug auf die Anordnung des Hydratwassers sowie auf das Raummodell einer Sekundäreinheit von Kollagen soll erst im Zusammenhang mit einer Mitteilung über die Hydratwasserabgabe durch Trocknung erfolgen.

Schon jetzt ist jedoch abzusehen, daß die eingesetzten Alkanomoleküle in Analogie zu der Rolle bifunktioneller Reagentien als *chemische Meßzirkel*

[37] die Aufgabe von *Molekülzirkeln* erfüllen. Der aufgezeigte orientierungsabhängige Einfluß der gegen Hydratwasser eingetauschten 1- und 2-Alkanole ist bei der Suche nach Kriterien, die für oder gegen ein bestimmtes Raummodell sprechen, eine wichtige Hilfe.

Die erzielten Ergebnisse lassen es ferner aussichtsreich erscheinen, bei der Präparation von Proteinkristallen für die Elektronenbeugung [38] deren Hydratwasser durch 2-Propanol auszutauschen und so Beugungsversuche unter Umgehung der Kristallisation von Wasser bei tiefen Temperaturen zu ermöglichen.

# Dank

Für Hilfestellungen an der Kleinwinkelkammer X 13 danken wir Herrn Dr. M. H. J. Koch, EMBL Außenstelle DESY/Hamburg. Herrn Prof. Dr. P. Deufflhard danken wir für Diskussionen, dem Universitätsrechenzentrum für Rechenzeit.

Frau Birgit Hilbert und Frau Pia Ludwig danken wir für ihre Mitarbeit.

Mit Unterstützung durch das Bundesministerium für Forschung und Technologie (05-290 NE P) sowie durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (Ne-102/12-6).

- [1] A. Szent-György, *Science* **124**, 873 (1956).
- [2] A. C. T. North, P. M. Cowan u. J. T. Randall, *Nature* **174**, 1142 (1954).
- [3] J. T. Randall, *J. Soc. Leather Trades' Chem.* **38**, 362 (1954).
- [4] M. H. F. Wilkins, *Angew. Chem.* **75**, 429 (1963).
- [5] Th. Nemetschek, *Naturwissenschaften* **55**, 346 (1968).
- [6] N. G. Esipova, N. E. Andreeva u. T. V. Gatorskaia, *Biofizika* **3**, 529 (1958).
- [7] N. G. Esipova u. Yu. N. Chirgadze, in *water in biolog. Systems* ed. L. P. Kayushin, S. 42 Consultants Bureau New York 1969.
- [8] H. J. C. Berendsen, *J. Chem. Phys.* **36**, 3297 (1962).
- [9] H. J. C. Berendsen, *Fed. Proc.* **25**, 971 (1966).
- [10] G. N. Ramachandran, M. Bansal u. R. S. Bhatnager, *Biochim. Biophys. Acta* **322**, 166 (1973).
- [11] Th. Nemetschek, *Virchows Arch. Abt. B2*, 103 (1969).
- [12] Th. Nemetschek, R. Jonak, H. Nemetschek-Gansler, H. Riedl, V. Schilling, J. Bordas u. M. H. J. Koch, *Naturwissenschaften* **67**, 416 (1980).
- [13] Th. Nemetschek, R. Jonak, H. Nemetschek-Gansler, H. Riedl u. G. Rosenbaum, *Z. Naturforsch.* **33c**, 928 (1978).
- [14] H. Riedl u. Th. Nemetschek, *Sitzungsber. Heidelberg. Akad. Wiss. Math.-Naturwiss. Kl.* (1977), S. 217, 5. Abh.
- [15] J. Bordas, M. H. J. Koch, P. N. Clout, E. Dorrington, C. Boulon u. A. Gabriel, *J. Phys.* **E13**, 938 (1980).
- [16] J. Hendrix, M. H. J. Koch u. J. Bordas, *J. Appl. Cryst.* **12**, 467 (1979).
- [17] A. Gabriel, *Rev. Sci. Instrum.* **48**, 1303 (1977).
- [18] V. Schilling, R. Jonak, Th. Nemetschek, H. Riedl, Chr. Pöppe u. E. Schwander, *Z. Naturforsch.* **36c**, 333 (1981).
- [19] D. J. S. Hulmes, A. Miller, St. W. Withe u. B. Brodsky-Doyle, *J. Mol. Biol.* **110**, 643 (1977).
- [20] Th. Nemetschek, *Z. Naturforsch.* **23b**, 507 (1968).
- [21] Th. Nemetschek u. R. Hosemann, *Kolloid Z. Z. Polymere* **251**, 1044 (1973).
- [22] H. Zahn, *Kolloid Z. Z. Polymere* **197**, 14 (1964); J. Schnell u. H. Zahn, *Makromol. Chem.* **84**, 192 (1965).
- [23] G. Nemethy, *Angew. Chem.* **79**, 260 (1967).
- [24] Th. Nemetschek, K. Jelinek, E. Knörzer, E. Mosler, H. Nemetschek-Gansler, H. Riedl u. V. Schilling, *J. Mol. Biol.* **167**, 461 (1983).
- [25] A. Küntzel, *Stiasny-Festschrift*, Darmstadt 1937, S. 191.
- [26] H. Strassmair, J. Engel u. G. Zundel, *Biopolymers* **8**, 237 (1969).
- [27] W. Henkel u. R. W. Glanville, *Eur. J. Biochem.* **122**, 205 (1982).
- [28] Th. Nemetschek, *Verh. Anat. Ges.* **75**, 47 (1981).
- [29] R. Hosemann, W. Dreissig u. Th. Nemetschek, *J. Mol. Biol.* **83**, 275 (1974).
- [30] Th. Nemetschek, H. Riedl u. R. Jonak, *J. Mol. Biol.* **133**, 67 (1979).
- [31] Th. Nemetschek, H. Riedl, R. Jonak, H. Nemetschek-Gansler, J. Bordas, M. H. J. Koch u. V. Schilling, *Virchows Arch. A* **386**, 125 (1980).
- [32] W. Pechhold, S. Blasenbrey u. S. Woerner, *Kolloid Z. Z. Polymere* **189**, 14 (1963).
- [33] J. Engel u. G. Schwarz, *Angew. Chem.* **82**, 468 (1970).
- [34] G. Lagaly u. A. Weiss, *Kolloid Z. Z. Polymere* **243**, 48 (1971).
- [35] D. M. C. MacEwan, *Trans. Faraday Soc.* **44**, 349 (1948).
- [36] R. Bonart, *Progr. Colloid Polym. Sci.* **58**, 36 (1975).
- [37] H. Zahn, *Angew. Chem.* **67**, 561 (1955).
- [38] W. Hoppe, *Angew. Chem.* **95**, 465 (1983).