

lung wird nach dem Auswaschen mit Salzsäure und Trocknen im Vakuum fast vollständig in absolutem Alkohol gelöst und die alkoholische Lösung mit dem mehrfachen Volumen Petroläther versetzt. Es entsteht ein rotbrauner Niederschlag, der mit alkoholischer Kalilauge die für Osazonderivate des Dinitro-phenylhydrazins charakteristische Violettfärbung gibt. Der gelbe Rückstand der alkoholisch-petrolätherischen Lösung gibt mit alkoholischer Kalilauge Rotfärbung, wie sie mit Hydrazonderivaten erhalten wird. Das eiweissfreie Filtrat eines entsprechenden Ansatzes mit erhitzter Enzymlösung gibt mit dem Reagenz nur eine ganz geringe Trübung, die auf Oxydationsprodukte infolge einer Autoxydation der Linolensäure zurückzuführen sein dürfte.

Bei der Oxydation der Linolensäure durch die Lipoxydase entstehen somit Carbonylverbindungen, die zur Bildung von Hydrazon- und Bishydrazon- bzw. Osazonderivaten führen.

Aldehyde und Ketone treten bekanntlich auch bei dem durch Autoxydation und Mikroorganismen verursachten Fettverderben auf.

Es ist wahrscheinlich, dass nach dem beschriebenen Vorgehen nicht die gesamten entstehenden Carbonylverbindungen erfasst werden, auch deshalb nicht, weil sie weiteren Umwandlungen unterliegen können. Die Frage nach der chemischen Natur dieser Stoffe und ihrer Bildungsweise soll weiter untersucht werden.

Basel, Augenklinik der Universität.

56. Über die inhibitorische Wirkung der Sulfonamide

von Emil Baur und H. Rütz.

(26. III. 42.)

In einer Abhandlung von A. Ercoli¹⁾ „Sul meccanismo d'azione dei Chemioterapici solforati“ wird die Vermutung ausgesprochen, dass die therapeutische Wirkung der Sulfonamide auf inhibitorischer Beeinflussung des Stoffwechsels der bakteriellen Krankheitserreger beruhen möchte. Nach C. Arnaudi und A. Ercoli²⁾ ist in der Tat hemmende Wirkung von Sulfanilamid auf Hefen beobachtet worden; desgleichen berichten A. Ercoli und Ravazzoni³⁾ von hemmender Wirkung von Sulfanilamid auf Amylase von *Asparagillus oryzae* und auf Saccharase aus Hefe.

¹⁾ Giorn. Batteriologia e Immunologia, **26**, Nr. 2 (1940).

²⁾ Boll. Sec. Ital. Soc. Int. Microbiol. **12**, 5 (1940).

³⁾ Rend. Ist. Lomb. Sc. Lett., Adunanza, **20**, VI (1940).

Um nun genaueren Einblick zu gewinnen, ob die Sulfonamide solche Antikatalysen hervorbringen, welche von der Hemmungsformel *Baur's* gefordert werden, und ob dieselben sich auch auf enzymatische Substrate erstrecken, musste man an geeigneten Modellen den quantitativen Hemmungsverlauf der Sulfonamide studieren. Nach brieflichem Übereinkommen mit Herrn *Ercoli* sollten wir uns mit der Durchführung dieser Aufgabe befassen. Wir teilen nachfolgend unsere einschlägigen Versuche mit.

Material. Als Substrate wurden verwendet: 1) Die Oxydation von Hydrochinon, Präparat von *Schering-Kahlbaum*, reinst; 2) die Oxydation von Tyrosin mit Tyrosinase (*l*-Tyrosin, Präparat von *Hoffmann-La Roche*; Tyrosinase, hergestellt aus Kartoffelschalen¹).

Als Inhibitoren dienen folgende Präparate:

Sulfanilamid, Sulfanilamido-pyridin, Sulfanilamido-thiazol = Cibazol. Diese Präparate verdanken wir der *Gesellschaft für chemische Industrie*, Basel. — Ausserdem wurden untersucht: Sulfanilsäure und *p*-Aminobenzoesäure, Präparate von *Schering-Kahlbaum*.

p-Aminobenzoesäure wird identifiziert mit Vitamin H²). Es ist bekannt, dass die genannten Stoffe physiologisch und therapeutisch von grösster Bedeutung sind.

Versuchsanordnung. Vgl. die Beschreibungen bei *E. Baur* und *H. Preis*³) und mit *M. Obrecht*⁴). Thermostat von $20 \pm 0,1^{\circ}$. Schaukeltisch mit 60 Perioden in der Minute. Die Konstanz der Schüttelzahl ist wichtig. Zylindrische Reaktionsgefässe, enthaltend 65 cm³ Reaktionslösung. Sauerstoff-Füllung. Ablesung des Gasverbrauchs an Büretten von 10 cm³. Ablesegenauigkeit 5×10^{-2} cm³. Zusammensetzung: A) 50 cm³ Hydrochinon 2×10^{-2} Mol/L. + 10 cm³ Phosphatpuffer, bestehend aus 915 Teilen *n*/15 KH₂PO₄ und 85 Teilen *n*/15 Na₂HPO₄ (*p*_H = 7,8), + 5 cm³ Inhibitorlösung wechselnder Konzentration. Der Phosphatpuffer macht das System unempfindlich gegen Kupferspuren. — B) 50 cm³, enthaltend 25 mg *l*-Tyrosin + 17,7 mg Na₂HPO₄ · 2 H₂O + 8,5 mg KH₂PO₄ (*p*_H = 7) + 10 cm³ Fermentlösung, wie am angegebenen Ort beschrieben + 5 cm³ Inhibitorlösung wechselnder Zusammensetzung.

Messung und Berechnung. Während der Laufzeit, gewöhnlich 30—40 Minuten für Hydrochinon, 90—120 Minuten für Tyrosin, geht die Aufnahme des Sauerstoffs praktisch linear, so dass die Reaktionsgeschwindigkeit

$$\Delta (\text{O}_2) \text{ cm}^3 \text{ absorb.} / \Delta t \text{ Minuten}$$

mit Sicherheit graphisch zu entnehmen ist.

¹) Vgl. *E. Baur*, Inhibitoren der Katalase und Tyrosinase, *Helv.* **22**, 817 (1939).

²) *Rich. Kuhn*, *B.* **74**, 1605 (1941).

³) Oxydationshemmungen von Cystein und Ascorbinsäure, *Z. physikal. Ch.* [B] **32**, 65 (1936).

⁴) Oxydationshemmung des Adrenalins, *Z. physikal. Ch.* [B] **41**, 167 (1938).

Die folgende Tabelle enthält die gemessenen und berechneten Geschwindigkeiten, sowie die β -Werte und Halbwertkonzentrationen.

Tabelle 1.

Inhibitor	Oxydation von Hydrochinon				Oxydation von Tyrosin mit Tyrosinase			
	$D \times 10^{-5}$ Mol/L.	v % gemessen	v % berechnet	β	$D \times 10^{-5}$ Mol/L.	v % gemessen	v % berechnet	β
Sulfanil- säure	1	94	97,5	23	0,5	96	99	52
	3	89,5	93,5		1	88	95	
	15	74	74		5	77	79	
	30	57	59		20	39,5	50	
	50	49	48					
	100	30,5	30,5		100	16	16	
	300	15	12,5					
H.W. 44		50		H.W. 19		50		
Sulfanil- amid	5	96	92	19	10	95	94	6,5
	10	82	84		50	83	76	
	50	60	51		100	60	60	
	100	35	35					
	H.W. 51		50		H.W. 150		50	
Sulfanil- amido- pyridin	10	90	97	3	10	90	98	2,3
	100	77	77		100	81	81	
	H.W. 330		50		H.W. 440		50	
Sulfanil- amido- thiazol = Cibazol	5	97	90,5	21	1	89	97	25
	10	83	80,5		10	67	80	
	20	70,5	70,5		50	44,5	44,5	
	100	47 (?)	32,5		100	30	28,5	
	200	19,5	19		200	28	16,5	
H.W. 48		50	H.W. 40		50			
p-Amino- benzoesäure (Vitamin H')	2	81	94	34	1	87	94	55
	5	75	85,5		10	67	80	
	10	68	74,5		50	33	27	
	50	30,5	30,5		100	15,5	15,5	
	100	25	23					
	H.W. 29		50		H.W. 18		50	

Figur 1 enthält als Beispiel die Messungen an Hydrochinon mit Sulfanilsäure als Inhibitor. Man bildet das Verhältnis v der inhi- bierten zur nichtinhibierten Geschwindigkeit. Man berechnet aus einem passend herausgegriffenen Wert von v die Konstante β von *Baur's* Inhibitionsformel

$$v = \frac{1}{0,01 + \beta (D)}$$

wo v in Prozenten auszudrücken ist und D (= Desensitator) die Kon- zentration des Inhibitors in Mol/Liter bedeutet. Mit dem gefundenen

β werden die v -Werte zurückgerechnet, insbesondere die Halbwertkonzentration

$$\beta D = 0,01$$

ausgewertet, d. h. die Inhibitorkonzentration, bei der die Umsatzgeschwindigkeit auf 50 % herabgesetzt ist.

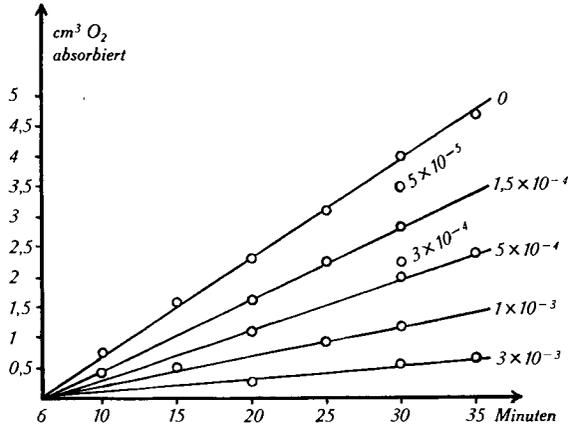


Fig. 1.

Inhibitor: Sulfanilsäure.

Figur 2 gibt einen Überblick über die v -Werte in Abhängigkeit von der Inhibitor-Konzentration D .

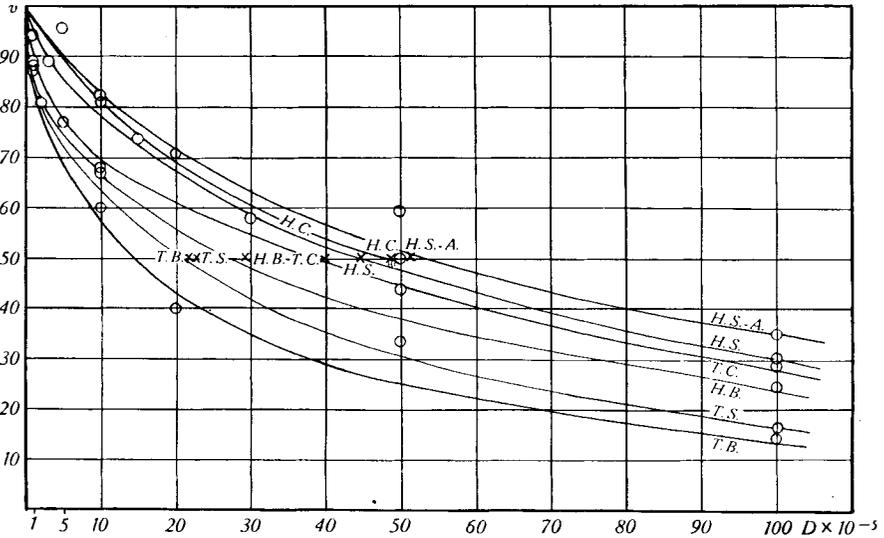


Fig. 2.

H. S.-A. = Hydrochinon-Sulfanilamid; H. C. = Hydrochinon-Cibazol; H. S. = Hydrochinon-Sulfanilsäure; T. C. = Tyrosin-Cibazol; T. S. = Tyrosin-Sulfanilsäure; T. B. = Tyrosin-p-Aminobenzoessäure; H. B. = Hydrochinon-p-Aminobenzoessäure.

Ergebnis. Die Frage, ob die Sulfonamide nach demselben Gesetz hemmend wirken, wie die in den ausgedehnten Untersuchungen des hiesigen Institutes geprüften Redoxmittel¹⁾, erfährt durchgehend bejahende Beantwortung. Die verhältnismässig stärksten Wirkungen erhalten wir, sowohl auf Hydrochinon, wie auf Tyrosin, mit Sulfanilsäure und mit Cibazol. Da die Tyrosin-Oxydation eines Fermentes bedarf, so sieht man, dass die Sulfonamide auch Ferment-Reaktionen hemmend beeinflussen können, also Fermente zu lähmen vermögen. Dies ist in Übereinstimmung mit den Beobachtungen der italienischen Autoren, von denen wir ausgegangen sind. Dagegen haben wir die Rohrzuckerinversion durch Saccharase aus autolyseierter Hefe mit den Sulfonamiden nicht zu beeinflussen vermocht. Saccharase erwies sich auch von anderen Redoxmitteln nur ausnahmsweise beeinflussbar²⁾.

Ein kräftiger Inhibitor ist p-Aminobenzoesäure. Die antagonistische Wirkung der letzteren bei der Verdrängung von Sulfanilsäure aus deren Verbindung mit irgendwelchen Proteinen des Bakterienleibes, die man bemerkt hat³⁾, muss daher irgendwie anders erklärt werden.

Zürich, Physikalisch-chemisches Laboratorium
der Eidg. Techn. Hochschule. März 1942.

57. Kinetik der Pyrogallol-carbonsäure

von Emil Baur und P. Giger.

(26. III. 42.)

Im letzten Heft dieser Zeitschrift kommt *D. Porret*⁴⁾ zurück auf seine, bei *A. Berthoud* ausgeführten, Arbeiten über die Kinetik der Bildung und des Zerfalls von Pyrogallol-carbonsäure aus Pyrogallol in wässriger, hydrogencarbonatalkalischer Lösung. Es wurde damals bestritten⁵⁾, dass der im hiesigen Laboratorium von *O. Widmer*⁶⁾ gefundene Knick auf der Δ -v-Kurve existiert. Allerdings fehlten in den Messungen von *Porret* Bestimmungen gerade im entscheidenden Gebiet. Trotzdem musste es unsere Aufgabe sein, *Widmer's* Effekt in unbezweifelbarer Weise zu bestätigen. Elektrometrische Titration mit der Glaselektrode bot dafür neuerdings eine Handhabe. Mit der Durchführung solcher Messungen sind wir eben beschäftigt. Wir werden darüber später zusammenhängend berichten. Um aber den neuen Ausführungen von *Porret* sofort zu begegnen, teilen wir

¹⁾ Vgl. Zusammenstellung bei *E. Baur*, Desensitisation und Antikatalyse, *Helv.* **24**, 747 (1941).

²⁾ *E. Baur*, Inhibitoren der Saccharase, *Helv.* **22**, 1114 (1939).

³⁾ *Rich. Kuhn*, *B.* **74**, 1605 (1941).

⁴⁾ *Helv.* **25**, 472 (1942).

⁵⁾ *J. chim. phys.* **30**, 396 (1933).

⁶⁾ *Z. physikal. Ch.* **140**, 161 (1929).